

培養神経回路網の結合性と論理性の解析手法の提案

A Proposal of Analysis with Connectivity and Logicity in Cultured Neuronal Network

林 勲 満元 弘毅 工藤 卓
 Isao Hayashi Koki Mitsumoto Suguru N. Kudoh
 関西大学大学院 関西大学 関西学院大学
 Kansai University Kansai University Kwansai Gakuin University

Abstract We discuss how to indicate the logicity and connectivity from living neuronal network in vitro. Rat hippocampal neurons are organized into complex networks in a culture dish with 64 planar microelectrodes. We have already proposed a model to analyse logic of signals of three electrodes in a culture dish with t -norm and t -conorm connectives. However, in this paper, we expand the electrode space which is analyzed, and discuss the logicity and connectivity of cultured neuronal network from the view of signal transfer with propagation, spread and convergence. First, we define the transfer pattern of pulse signal with formulation of propagation, spread and convergence. Next, the connectivity of electrodes is defined by contribution of fuzzy sets which represents signal strength. The usefulness of the model is evaluated by experiment data of cultured neuronal network.

1. はじめに

近年、脳で外部機器を制御する Brain Machine Interface(BMI)の研究が行われている [1-3]。脳活動を脳波で解析する以外の方法として、多点電極計測システムを用いたラット培養神経回路網への刺激の応答研究がある [4-10]。Bettencourt ら [7] は相互情報量で発火パルスの包含性を定義し、3 電極間の伝達方向性の発生確率を議論している。しかし、解析法は電極間の静的論理性に限られ、より広範囲な伝達パターンの解析は十分ではない。一方、林や工藤ら [6, 8-10] は、 t -norm 演算子と t -conorm 演算子のファジィ演算子 [11] を用いて電極間の論理性を議論している。しかし、まだ十分に伝達パターンの結合性を議論したとはいえない。

本論文では、ファジィ演算子を用いて多点電極間の論理性を解析し、発火パルスを伝達パターンに分類して、ファジィ包含度により結合性を議論する。具体的には、Schweizer 演算子により AND 演算と OR 演算のパラメータ演算子を構成して、3 電極間の入出力関係の論理性を獲得する。また、発火パルスを時間窓で集約し、発火の伝達を伝搬、拡散、吸収の複数の空間パターンで表現して、その傾向を分析する。さらに、電極間の結合の強さを発火パルスのファジィ包含度で定義し、電極間の結合性を議論する。ここでは、培養神経回路網の実発火データに本分析法を適用し、その有用性を議論する。

2. ファジィ演算子による細胞の活動電位解析

ファジィ結合演算子は t -norm 演算子と t -conorm 演算子からなる。 t -norm T とは、 $(x, y) : [0, 1] \times [0, 1] \rightarrow [0, 1]$ なる関数で、境界条件、短調性、交換性、結合性を満たす。 t -norm 演算子は、論理積、代数積、限界積、激烈積等を含む。また、 t -conorm S は t -norm の

双対な演算であり、論理和、代数和、限界和、激烈和等を含む。一方、パラメータ付きのファジィ結合演算子として Schweizer 演算子が提案されている。 t -norm 演算子のパラメータ p_n や t -conorm 演算子のパラメータ p_c を変更することにより、Schweizer 演算子は論理演算 ($p_n = p_c = \infty$) や代数演算 ($p_n = p_c = 1$)、激烈演算 ($p_n = p_c = 0$) 等を表現できる。

$$T(x, y) = 1 - ((1-x)^{p_n} + (1-y)^{p_n} - (1-x)^{p_n}(1-y)^{p_n})^{1/p_n} \quad (1)$$

$$S(x, y) = (x^{p_c} + y^{p_c} - x^{p_c}y^{p_c})^{1/p_c} \quad (2)$$

いま、多点電極計測システムの 64 個の電極で発火の時刻データが得られたとしよう。64 電極から任意の x, y, z の 3 電極を選択し、その論理性を獲得する。提案アルゴリズムを図 1 に示す。まず、 x 電極と z 電極に注目し、時間窓の発火パルス回数とその偏差から発火パルスのファジィ数を構成する。次に、ファジィ数の一致度 μ_{xz} が高くなるように時間窓と時間幅を調整する。 y 電極と z 電極でも同様に調整する。この時間幅の調整により、 z 電極から x 電極や y 電極、 x 電極や y 電極から z 電極へと伝達する 3 電極間での発火パルスの方向性の推定が可能となる (図 2 参照)。最後に、 x 電極の正規化発火頻度 F_x と y 電極の F_y を入力とし、 z 電極の F_z を出力として、Schweizer 演算子 $f(F_x, F_y) = \{T(F_x, F_y), S(F_x, F_y)\}$ のパラメータ p_n, p_c を調整し、 $\min_{p_n, p_c} |F_z - f(F_x, F_y)|$ が最小となる関係を同定する。

3. 培養神経回路網の結合性

培養神経回路網の結合性は、電極間における発火パルスの伝達パターンとファジィ包含度による発火パルス

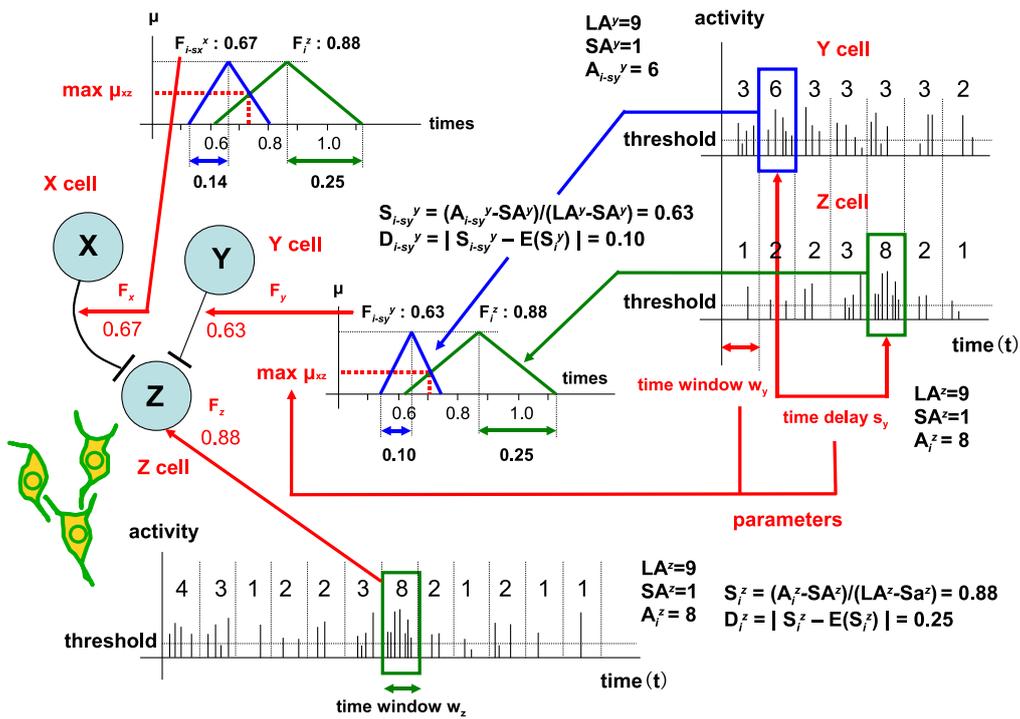


Fig. 1: Algorithm for Analysis of Action Potentials in Cultured Neuronal Network

の伝達効率から決定する．すなわち，培養神経回路網の特性は，ファジィ結合演算子の論理性，伝達パターンとファジィ包含度の結合性により表現される．

ここでは，発火パターンの伝達を伝搬，拡散，吸収の3種類で表現する．図3に伝達パターンを示す．(a)が伝搬を表し，(b)が吸収，(c)と(d)が単方向と多方向の拡散を表す．

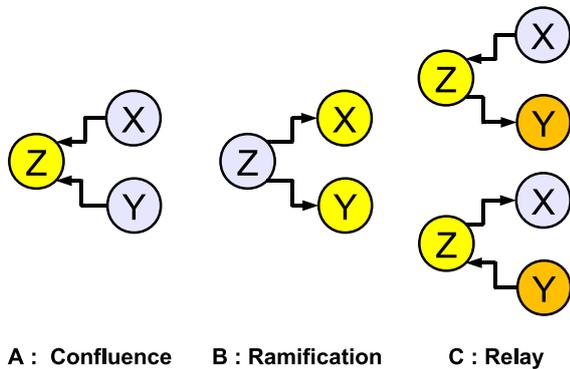


Fig. 2: Connectivity of Electrodes

発火パルスの伝達効率のファジィ包含度は，ある電極の発火パルスのファジィ数が高電極の発火パルスのファ

ジィ数を包含する程度で定義する．図4にファジィ包含度の概念を示す．いま，3電極のファジィ数 X, Y, Z の幅を D_X, D_Y, D_Z で表す．ファジィ包含度 γ を次式で定義する．

$$\gamma = D_X/D_Z \times D_Y/D_Z \quad (3)$$

ただし，包含度が高い場合， γ は1に近づき，発火パルスの伝達効率は良いことを表す．

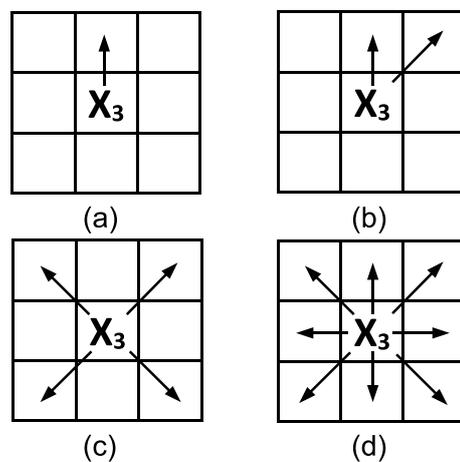


Fig. 3: Propagation Patterns

Electrodes of MED System

1	2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
33	34	35	36	37	38	39	40
41	42	43	44	45	46	47	48
49	50	51	52	53	54	55	56
57	58	59	60	61	62	63	64

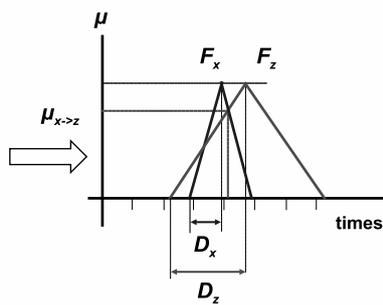


Fig. 4: Inclusion Degree of Fuzzy Numbers

4. 結合性と論理性の解析

まず、発火速度とシナプスの神経伝達物質の放出時間から電極間の伝達パルスの遅延時間を $10ms$ とした。多点電極装置はサンプリング周波数が $20kHz$ であり、全計測時間が 120 秒であるので、時間窓を 4 秒として時間窓は 30 個となる。この時間窓の発火パルス平均回数とその差分から、分析対象の電極を次のように決定する。

- a : (19el, 44s - 48s)
- b : (3el, 88s - 92s), (4el, 88s - 92s), (11el, 88s - 92s)
- c : (31el, 88s - 92s)
- d : (39el, 80s - 84s)

ただし、表記は (電極番号, 時間帯) である。

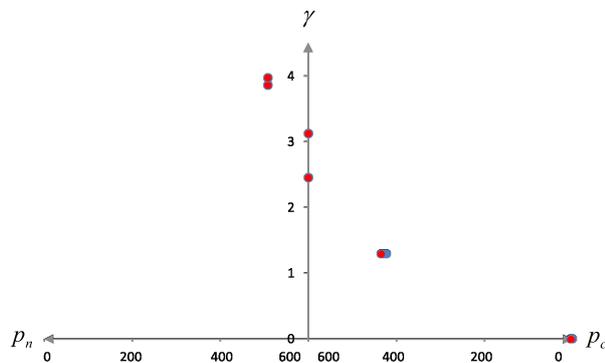


Fig. 5: Transmission of Pulse Frequency

図 5 に伝搬の結果を示す。横軸はファジィ結合演算子のパラメータ p_n と p_c を表し、縦軸は包含度 γ を示す。 $\gamma = 0.0$ と $p_n = 1.0$ 付近に 14 個のパラメータの収束値が存在し、 $\gamma = 1.29$ かつ $p_c = 430.0$ 付近に 75 個のパラメータが存在している。また、 $\gamma = 2.45$ かつ $p_c = 999.9$, $\gamma = 3.12$ かつ $p_c = 999.9$, $\gamma = 3.85$ かつ $p_n = 508.0$, $\gamma = 3.97$ かつ $p_c = 508.0$ 付近にもパラメータが分布している。これらの結果から、 $\gamma = 1.29$ かつ $p_c = 430.0$ に最適パラメータが分布し、 $p_c = 430.0$ が論理和である

ことから、ファジィ結合演算子は弱い OR に調整されていることがわかる。

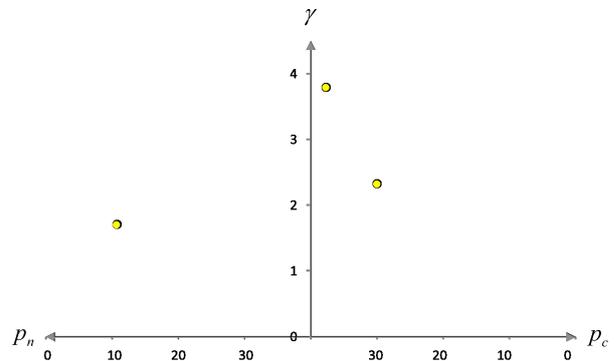


Fig. 6: Narrow Diffusion and Absorption of Pulse Frequency

図 6 に単方向伝搬と吸収の結果を示す。多くのパラメータが $\gamma = 1.72$ かつ $p_n = 10.7$, $\gamma = 2.33$ かつ $p_c = 30.0$, $\gamma = 3.79$ かつ $p_c = 37.7$ 付近に収束している。特に、 $\gamma = 1.72$ かつ $p_n = 10.7$ 付近に分布している。 $p_n = 10.7$ 論理積であることから、ファジィ結合演算子は弱い AND に調整されていることがわかる。

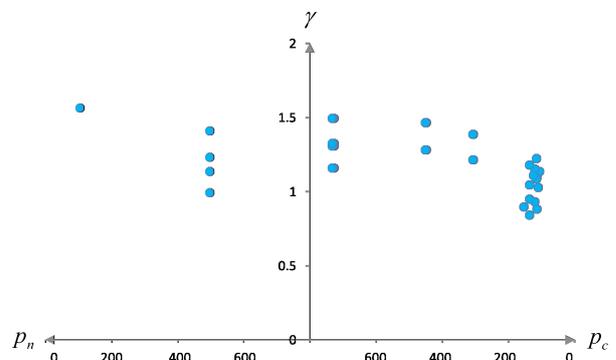


Fig. 7: Wide Diffusion of Pulse Frequency

図 7 に多方向拡散の結果を示す。多くのパラメータは高いファジィ包含度を示し、主なパラメータは、 $p_c = 15.2$ と $p_c = 30.0$ 付近に 23 個、 $p_c = 53.7$ と $p_c = 206.6$ 付近に 18 個、 $p_c = 349.8$ 付近に 26 個、 $p_c = 630.3$ 付近に 104 個、 $p_n = 5.2$ と $p_n = 397.5$ 付近に 4 個分布している。特に、多くのパラメータは $p_c = 630.3$ 付近に存在しており、この演算子が論理和であることから、ファジィ結合演算子は弱い OR に調整されていることがわかる。

最後に、図 8 に全方向拡散の結果を示す。パラメータは広範囲に分布している。この結果から、ファジィ演算

子は特定の収束値をもたないことを示している。すなわち、発火パルスが全方向に拡散する場合、種々の論理性が混在していると考えられる。

全体の結果から、拡散が広範囲になるほど、ファジィ包含度は高くなり、発火パルスは伝達損失がなく確実に伝達していることがわかる。また、ファジィ演算子は論理和や論理積などの多種多様な演算子に収束していることがわかる。

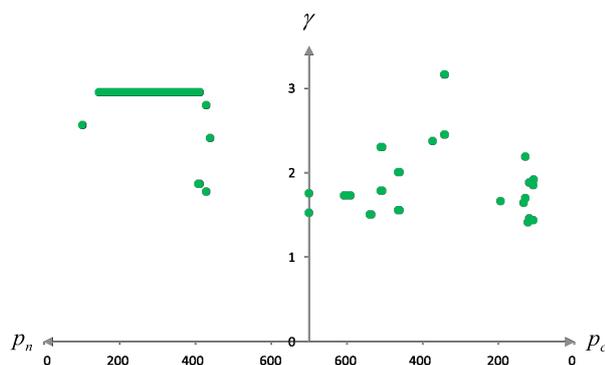


Fig. 8: Whole Diffusion of Pulse Frequency

5. おわりに

本論文では、ファジィ演算子とファジィ包含度を用いて、発火パルスの伝達パターンに応じた多点電極間の論理性と結合性を議論した。今後、スパイクの発火密度を考慮した電極間の論理性と結合性、全電極の解析についても議論する必要がある。

本研究の一部は、関西大学研究拠点形成支援経費「脳認知ロボティクスによる橋梁診断スキームの構築」(2013年～2014年)の助成を得た。

参考文献

[1] M.A.Lebedev, J.M.Carmera, J.E.O'Doherty, M.Zacksenhouse, C.S.Henriquez, J.C.Principe, and M.A.L.Nicolelis, "Cortical Ensemble Adaptation to Represent Velocity of an Artificial Actuator Controlled by a Brain-machine Interface," *Journal of Neuroscience*, Vol.25, No.19, pp.4681-4693 (2005).

[2] S.N.Kudoh, I.Hayashi, and T.Taguchi, "Synaptic Potentiation Re-organized Functional Connections in a Cultured Neuronal Network Connected to a Moving Robot," *Proc. of the 5th International Meeting on Substrate-Integrated Micro Electrode Arrays (MEA2006)*, pp.51-52, Reutlingen, Germany (2006).

[3] K.Warwick, "Implications and Consequences of Robots with Biological Brains," *Journal of Ethics and Information Technology*, Vol.12, No.3, pp.223-234 (2010).

[4] D.J.Bakkum, A.C.Shkolnik, G.Ben-Ary, P.Gamblen, T.B.DeMarse, and S.M. Potter, "Removing Some 'A' from AI: Embodied Cultured Networks," in *Embodied Artificial Intelligence*, edited by F.Iida, R.Pfeifer, L.Steels, and Y.Kuniyoshi, New York, Springer, pp.130-145 (2004).

[5] T.B.DeMarse and K.P.Dockendorf, "Adaptive Flight Control with Living Neuronal Networks on Microelectrode Arrays," *Proc. of 2005 IEEE International Joint Conference on Neural Networks (IJCNN2005)*, pp.1549-1551, Montreal, Canada (2005).

[6] 工藤, 林, 田口: 神経細胞とシナプス可塑性, 知能と情報, Vol.18, No.3, pp.352-368 (2006)

[7] L.M.A.Bettencourt, G.J.Stephens, M.I.Ham, and G.W.Gross: Functional structure of cortical neuronal networks grown in vitro, *Physical Review*, Vol.75, p.02915 (2007).

[8] 林, 清時, 清原, 田口, 工藤: ファジィ演算子による神経培養細胞の活動電位解析, 第25回ファジィシステムシンポジウム講演論文集, No.1B3-01 (2009)

[9] I.Hayashi, M.Kiyotoki, A.Kiyohara, M.Tokuda, S.N.Kudoh: Acquisition of Logicality in Living Neuronal Networks and its Operation to Fuzzy Bio-Robot System, *Proc. of 2010 IEEE International Conference on Fuzzy Systems (FUZZ-IEEE2010)*, pp.543-549 (2010)

[10] I.Hayashi, M.Kiyotoki, A.Kiyohara, M.Tokuda, S.N.Kudoh: Fuzzy Bio-Interface: Indicating Logicality from Living Neuronal Network and Learning Control of Bio-Robot, *Proc. of the International Joint Conference on Neural Networks (IJCNN2011)*, pp.2417-2423 (2011)

[11] 林, 内藤, 若見: 最急降下法を用いた学習型ファジィ結合演算子の提案, 日本ファジィ学会誌, Vol.5, No.5, pp.1132-1141 (1993)

[連絡先]

林 勲 関西大学大学院 総合情報学研究科
〒569-1095 大阪府高槻市霊仙寺町 2-1-1
tel. 072-690-2448
fax. 072-690-2491
e.mail ihaya@cbii.kutc.kansai-u.ac.jp