

環境学専攻人間人工環境コース 2005 年 9 月修了
長時間生体計測データの解析手法に関する研究

36785 郷 真哉

指導教員 佐久間 一郎 教授

The advantageous features of biological information processing are sparse coding, parallel processing and plasticity. To see these biological properties, multi-site recording of neuronal activity has been recently developed. The methods for those recorded signals, however, have not been established yet. Here, I applied conventional spike-sorting method to multi-site recorded neuronal data and evaluated its limitation. I found time-dependent variation of single-neuron derived spike shape. In this work, I propose a new method for spike sorting based on the correlation of spike waveforms. In this paper, I evaluate the feasibility of this new procedure.

Key words: Neuron, Action Potential, Spike Sorting, Electrode Array, Chronic Recording

1. 緒 言

生体情報処理の中核である脳では、ニューロンが発生する活動電位が情報表現・処理の基本単位となっている。特に、複数ニューロンにおける時系列信号相互の関係に情報が分散して表現されていること^{1・2)}が、生体情報処理システムの特徴であり、これが連想記憶など生物ならではの機能を実現する鍵と考えられている。ニューロンの電気信号を記録する方法としては、パッチクランプ法³⁾が標準的な手法として広く用いられているが、電極を直接細胞内部と導通させるため細胞が受けるダメージは避けられない。ゆえに、細胞集団を対象とする長時間計測は不可能である。これに対し、近年、マイクロ加工技術を利用して製作したアレイ電極による細胞外記録が行われるようになり、多数のニューロンが発生する活動電位時系列の長時間記録が現実のものとなってきた^{4・5)}。

細胞外記録は、ニューロンの外部にある微小電極を通じて、活動電位発生時に細胞膜を流れる電流に起因する細胞近傍の電位変化を検出するものであり、非侵襲性が大きな利点である。一方で、その信号解析においては 2 つの要素に注意しなければならない。第 1 は S/N 比の制約である。約 100mV の振幅を有する活動電位が、細胞外記録においては 100 μ V もしくはそれ以下の微小信号計測となり、10-20 μ V の雑音成分の存在下でその後の全ての処理を行わなければならない。第 2 は電極とニューロンとの対応関

係である。1 つの電極で観測される信号中に、電極近傍の複数のニューロンからの成分が重畳しており、これを分離することによって、はじめてニューロン集団の活動時系列の正確な記述が可能となる。本修士論文では、アレイ電極により 1 週間に渡って記録されたニューロン集団の電気活動データから個々のニューロンの活動時系列を記述する信号解析手法につき検討を行った。

2. スパイクソーティング技術

2.1 スパイクソーティングの概要

細胞外記録信号の解析手法としてはスパイクソーティングと言われる方法が知られている⁶⁾。通常、特定の電極で観測される、特定のニューロン由来の波形は一定であるという前提の下に、スパイクソーティング手法を適用するが、長期計測においては、ニューロンの移動や成長に伴って電極との幾何学的な距離に変化が生じ、観測される波形が変化する場合がある。これにより、ニューロンの単体活動を分離する際にエラーを生じる。

また、長時間多細胞多点計測においては、克服すべき課題が 2 つある。1 つは、電極近傍の複数のニューロンが同時に発火した場合、観測される信号が重なり合ってしまう、波形の重畳問題である。もう 1 つは、波形の発火パターンが突発的に乱れる、波形の非定常問題である。この 2 つの問題に関しては、1 時間程度の計測

データを試料として、有効な解決策が講じられてきた⁷⁾。しかし、1 週間という長期間計測データであり、かつ、64 点での多点同時計測データの解析に関する研究は、これまでに行われていない。

2.2 スパイクソーティング手法

従来のスパイクソーティング手法としては、スパイクの振幅とスパイクの幅、もしくはスパイク振幅のピーク間時間をパラメータとして、2 次元プロットを作成する手法が広く用いられている。また、波形の相関関係にある指標を用いて調べ、分類を行うテンプレートマッチングが挙げられる。テンプレートマッチング以外のソーティング手法としては、観測される波形はニューロン単体活動電位の重み付の和であると仮定して、ニューロンの単体活動を抽出する主成分分析や独立成分分析が知られている。

2.3 本スパイクソーティング手法の特徴

本スパイクソーティング手法は、テンプレートマッチングを基本として、ニューロンの移動や成長に由来する波形の変化を長期的に追跡できる手法を目指した。波形の重畳問題や波形の非定常問題については考慮していない。波形の相関関係の指標として、2 つの波形データ群の相関係数と回帰直線の傾きを用いた。相関係数による分類は、振幅の変化をうまく分類できない。例えば、 $x=\sin t$ と $y=1/2\sin t$ は、振幅は明らかに異なるが、その相関係数は 1 であり、誤分類を生じる。しかし、回帰係数は $1/2$ であることから、 x と y は異なる波形だと判断できるため、相関係数による分類の弱点を補っているものと考えられる。この回帰直線の傾きを用いた点が大きな特徴である。

3. 長期計測データ解析手法

2 つの波形振幅データ群をそれぞれ x, y とする。 x の振幅の標準偏差、 y の振幅の標準偏差をそれぞれ、 σ_x, σ_y とすると相関係数は式(1)で求められる。

$$\rho = \frac{E(xy) - E(x)E(y)}{\sigma_x \sigma_y} \quad (1)$$

また、回帰直線の傾き α は、最小二乗法を解いて整理すると式(2)により求められる。

$$\alpha = \frac{E(xy) - E(x)E(y)}{\sigma_x^2} = \rho \frac{\sigma_y}{\sigma_x} \quad (2)$$

式(3)(4)を満たす場合、2 つの波形は同じクラスタに属するものとみなす。

$$r < \rho \quad (3)$$

$$|\alpha - 1.0| < a \quad (4)$$

本修士論文においては、 $(r,a)=(0.70,0.50)$ として解析を行った。

4. 培養神経回路活動解析への適用

電極基板上で 7 週間培養したラット大脳皮質神経回路を試料として、自発活動電位を電極アレイ法により 1 週間計測した。測定点は本スパイクソーティング手法を培養神経回路活動解析へ適用した。結果を図 1, 図 2 に示す。図 1 は、左側が従来のスパイクソーティングによる分類、右側が本手法によるものである。従来の手法では、左上のクラスタの境界がはっきりしない。しかし、本手法による分類では赤と紫のクラスタに分類できた。ただし、紫のクラスタは 2 つあるように見える。これは分離できなかった。図 2 は、初めは左上のクラスタが分離していたが、その後融合している。また、一時的に右上方向に向かってクラスタの分布が広がったが、その後消滅している。紫のクラスタは一定して追跡できていた。

5. 考察

5.1 スパイクソーティング手法

本スパイクソーティング手法を適用することにより、従来のスパイクソーティングでは見分けにくかった、クラスタの境界をはっきりと見分けることができた。ただし、分類がうまく分類されなかったクラスタも存在した。 (r,a) の組み合わせによって分類精度の向上を見込めると考えられる。本スパイクソーティング手法の有効性は認められた。

5.2 長期計測データの解析

長期計測において、本スパイクソーティング手法によりクラスタ追跡は、概ねうまくいった。クラスタの融合や消滅により分類がうまくいかない場合があった。

5.3 計算時間

1週間に渡る約300のデータセットを全て解析するのに要した時間は30時間であった。3分間の計測データ1セットにつき6分の解析時間を要したことになる。計測間隔が30分であるから、計測フェーズと解析フェーズに分けることで、リアルタイム処理が実現可能である。

6 . 結 論

6.1 結論

長期計測データ解析に有効なスパイクソーティング手法を提案した。培養神経回路活動解析を行い、本スパイクソーティング手法の実現可能性について検討を行った。従来のスパイクソーティング手法では見分けにくかったクラスタを判別することができた。長期的な振幅の変化をある程度追跡できることを確認した。また、リアルタイム処理への応用が可能であることが分かった。

6.2 今後の課題

本スパイクソーティング手法の定量的な評価法を確立する必要がある。また、計算速度を保ったまま、ソーティング精度を向上させる工夫をすることにより、計測時間間隔を短くし、より多くのデータを扱えるようになる。さらに、波形の重畳問題や波形の非定常問題を扱うことのできるアルゴリズムを導入することで、より一層分類精度の向上が見込め、ニューロン活動の相互関係が見えてくるはずである。

長期計測データの解析を行うことによって、分散表現や並列処理、可塑性といった脳機能の解明につながると考えられる。ロボット工学やリハビリテーション工学など広い分野への応用が期待される。

文 献

- 1) M. Abeles, H. Bergman, E. Margalit, and E. Vaadia : J. Neurophysiol. , **70** , 1629 (1993).
- 2) M. A. L. Nicolelis, R. C. S. Lin, D. J. Woodward, and J. K. Chapin : Proc. Nat. Acad. Sci. USA , **90** , 2212 (1993).
- 3) G. W. Gross, E. Rieske, G. W. Kreutzberg, and A. Meyer : Neurosci. Lett. , **6** , 101 (1977).
- 4) J. Pine : J. Neurosci. Meth. , **2** , 19 (1980) . .
- 5) O. P. Hamill, A. Marty, E. Neher, B. Sakmann, and F. J. Sigworth : Pflugers Arch. , **391** , 85 (1981).
- 6) M. A. L. Nicolelis eds. : "Methods for Neuronal Ensemble Recordings," 2nd ed., pp. 61-77, CRC Press, (1999) .
- 7) S. Takahashi, Y. Anzai, and Y. Sakurai : J. Neurophysiol. , **89** , 2245 (2003).

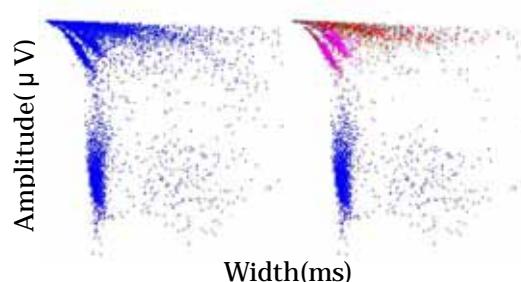


Fig.1 Comparison of the data sorted by the ordinary spike sorting (on the left side) and by the new method (on the right side).

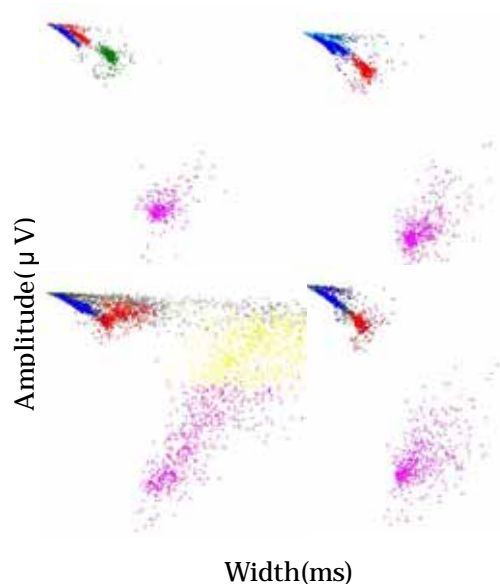


Fig.2 Examples of variation of the clusters recorded at an electrode for 1 week.