

〔研究〕

生体同時多点計測信号の伝搬様式の可視化アルゴリズム (2 段階局所合成ベクトル法)

A Visualization Algorithm of Signal Propagation for Simultaneously Recorded Neural Signals

佐分利 眞久

M. SABURI

It is very important to understand the frameworks of the cooperation and competition among neurons. To do so, new methods of signal analysis are required to be developed as well as the studies of anatomical changes accompanied with neural activities. Recently, optical measurement methods have been used to measure simultaneously global activities of neurons by using voltage sensitive dyes. This paper is concerned with a computer analysis method for such measured data. The proposed method has advantages of visualizing the direction and strength for dynamic information flow in neural tissues.

§ 1 ま え が き

生物での神経情報処理過程では，ニューロン集団間の協調と競合の枠組みを理解する事が重要と云える。その為には，神経細胞間での興奮伝達の動的変化に伴うシナプスでの形態的解析に加えて，情報論的信号解析が要望されている。近年，脳内のニューロン群の神経生理的活動を同時多点計測する為に，膜電位感受性色素を用いた光学的計測技術が利用され^{1,2)}，これによって大域的な神経領域内での情報伝搬様式を解明する技術がより現実的となってきた。本論文もその為の信号解析法の開発を目指したものである。

ここで提案する方法は，神経組織内での信号処理の局所性に観点を置き，神経組織領域を局所単位ブロック毎に分割して解析し，各ピクセル内での信号の動的伝搬様式としての，神経信号の“流れの方向”と，“流れ易さの度合い”とをベクトル的に可視化し，それを統合して神経組織全体としての信号伝搬様式を理解する事を狙いとしている。特に，同

時多点計測の解析での大きな課題として，刺激に対する同一時点の興奮活動領域に対する選好的な信号伝搬経路の推定問題がある。この様な逆問題に対するアプローチとして，新たに“2段階局所合成ベクトル法”を提案した。

本論文ではこの方法について説明すると共に，記憶形成に關与する部位として注目されている，海馬でのラットスライス組織領域内で計測された，時空間同時多点信号に対して，この方法を適用した時の活動伝搬様式の描画結果等について報告する。

§ 2 観測波形の潜時の定義

現在，オクサノール系の吸光色素 RH-155 で染色すると，興奮に伴って 10^{-3} 程度の吸光変化が得られる。そこで，波形データとして計算機に取り込む際には，積算平均化処理等を施して S/N 比を高める必要がある。一般に，光学的計測法では，各ピクセル領域での観測波形は，複数個のニューロン群の膜内電位に伴う信号が重畳された波形として観測されるの

で、波形は多峰性となる。そこで、刺激を加えた後の波形の立ち上がり時間、即ち“潜時”をどのように定義して計測するかは、以後の信号解析の基礎となるため非常に重要となる。ここでは、新たに次のアルゴリズムに従って潜時を定義する事にする³⁾。図1はこの説明の為の模式的な観測波形を示したもので、図中の $\hat{f}(t)$ は観測波形 $f(t)$ の最大値で、 t_{peak} をその最大時間点とし、 $\bar{f}(t)$ を $f(t)$ の平均値、 θ を波形検出の閾値とする。

この時、観測されたピクセル領域の波形の中で有効な波形の条件として、

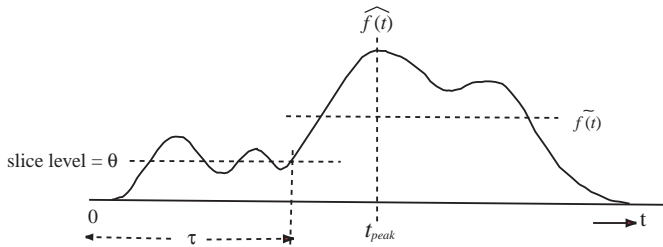


図1 波形の潜時測定法

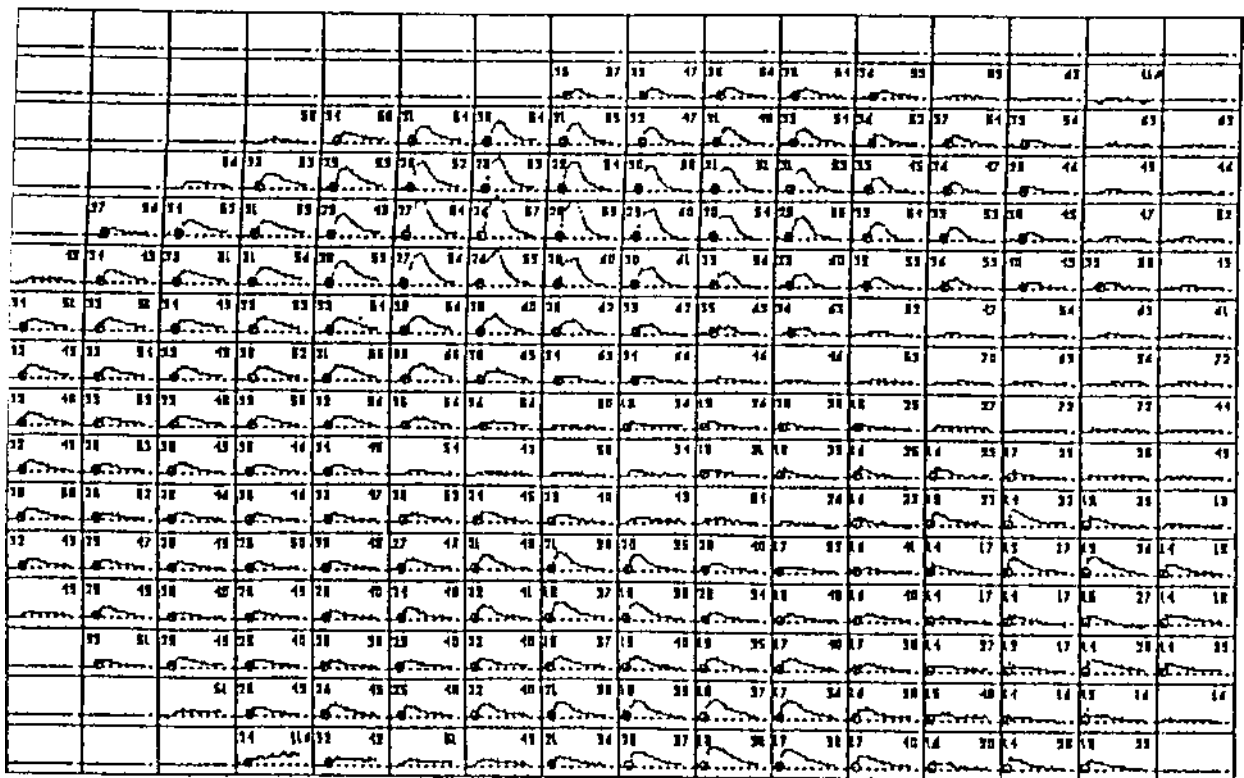
$$\hat{f}(t) \geq \theta \quad \text{or} \quad \hat{f}(t) - \bar{f}(t) \geq \theta \quad (1)$$

の何れかの条件を満足する波形を処理の対象とした。特に、後者の条件は、小振幅のプラトー的波形を除外する為に考慮したものである。そして、この時の潜時 τ を、

$$\tau \equiv \max_k \left\{ t_k \mid t_k < t_{peak}, f(t_k) = \theta \right\} \quad (2)$$

として定義する。この定義によって、ベースライン近くの、波形の立ち上がりの小さな脈波の影響等を取り除く事が可能である。

図2はこの定義に従って、ラットの側頭海馬スライス組織に対して、同図中の右下部の歯状回領域を電氣的に刺激した時の、 16×16 の総ピクセル領域内の観測波形と、潜時の測定結果を示したものである。サンプル間隔は 0.3msec、時間サンプル総数は 126 である。図中では、潜時を刺激開始時点からのサンプル点数として示し、その位置を丸印で表し、又、最大波高値の時点のサンプル点数を併せて示し



e:ccz30154

peak point<k=1, j=6, i=57> <scale>=0.0017

図2 ピクセル領域内での観測波形の潜時測定結果

ている。

図3は、この時の各ピクセル領域と実際の海馬スライス組織領域との解剖学的対応間関係を明示する為に、海馬横断面の各垂域と、構成ニューロンである錐体細胞の形態的模式図⁴⁾を示したものである。

§3 2段階局所合成ベクトル法

近傍の神経組織間の信号は関連性が強いと見なし、信号処理の局在性の観点に立って神経活動伝搬様式を可視化する為に、以下に述べる“2段階局所合成ベクトル法”を提案する^{5,6)}。そこで、全体の観測空間は16×16のピクセル総数から成るものとして、その中で図4に示す様な3×3の局所単位ブロック領域を考える。全空間内でのそのブロック中心ピクセル領域を[K, J]要素と定義し、各ピクセル領域での観測波形の潜時を、 $\tau_{k,j} [K, J]$ ($0 \leq k, j \leq 2; 0 \leq K, J \leq 15$)として表わす。そして、神経活動伝搬の基本的な考え方として、“信号は潜時差の少ない領域の方向に伝搬し易い”と考える事にする。

そこで、中心領域と各隣接領域間との潜時の差を考慮して、各局所単位ブロック毎にその中心領域での活動伝搬の選好ベクトルを求めて、順次、その中心領域座標を1ピクセル単位で“横縦”方向にシフトして、局所単位ブロック領域を移動させながら、全観測空間領域内で同様な処理を繰り返す。

この時に問題となる点として、中心領域と隣接領域との潜時が同じ場合の取扱いがある。これに関しては、同一潜時の隣接領域を同期的活動領域と見な

して、同一潜時の隣接ピクセル領域の活動伝搬選好ベクトルに、以下で記述するような重み付け処理を施して、現在の局所単位ブロックの中心領域の活動伝搬選好ベクトルと合成する方法を考える。以下では、上記の基本的考え方に基づいた2段階処理過程について具体的に説明する。

3.1 第1段階処理

局所単位ブロック内での中心領域の潜時と異なる隣接ピクセル領域だけを処理の対象として選び、その中心領域 [$k=1, j=1$] を始点として、他の隣接領域を終点とするベクトル $T_{k,j}$ を求める。この時のベクトルの大きさを、

$$|T_{k,j}| = 1 / (1 + |\tau_{k,j} - \tau_{1,1}|) \tag{3}$$

で定義し、ベクトルの方向は、 $\tau_{k,j} > \tau_{1,1}$ の時は、中心領域から [k, j] 領域に向かう方向とし、逆の場合は逆ベクトル方向とする。この様にして、局所単位ブロック領域の中心領域と各隣接領域との間でベクトルをそれぞれ求めて、現在の中心領域のベクトルを、次式、

$$L[K, J] = \sum_{\substack{k,j=0 \\ k \neq 1, j \neq 1}}^2 T_{k,j}[K, J] \tag{4}$$

によって算出する。

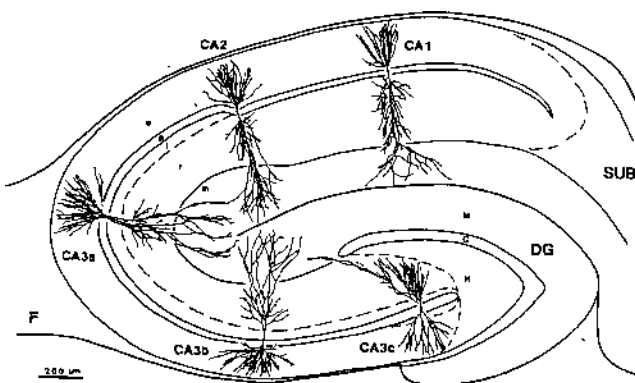


図3 ラット海馬スライス組織の垂域と錐体細胞の形態

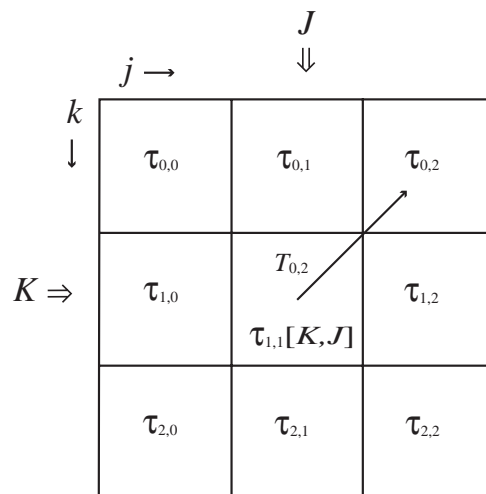


図4 局所単位ブロック領域

更に、第1段階処理では、同一潜時の隣接ピクセル領域に対しては、その隣接領域が局所単位ブロックの中心領域となった時に、現在の局所単位ブロック領域の構成ピクセルの中で共通に使用するピクセル数 $C_{k,j}[K,J]$ を、各同一潜時の隣接領域毎に求める。これをもとにして、現在の局所単位ブロック領域に於ける、同一潜時領域に対する共通使用ピクセル総数 $C[K,J]$ を算出する。

3.2 第2段階処理

全空間領域に於いて、再度、最初から局所単位ブロック領域毎に処理を繰り返す際に、第2段階処理では、潜時が中心領域と同じ隣接ピクセル領域だけを対象とする。図5は模式的に、 $\tau_{1,1}[K,J]$ と $\tau_{1,1}[K,J]$ が同じ潜時の場合を示したものである。第1段階処理で、異なった潜時の隣接ピクセルとの間で求められた各隣接領域の活動伝搬選好ベクトルに、その隣接領域の共通使用ピクセル数の比率 $C_{k,j}[K,J]/C[K,J]$ を掛けた重み付けベクトルを、現在の局所単位ブロック領域の中心ピクセル領域のベクトルと合成する。そこで、この方法を特に“実使用空間重み付け合成処理”と呼ぶ事にする。この処理によって、選好ベクトルの合成に際して考慮される空間が実質的に拡大される事になる。

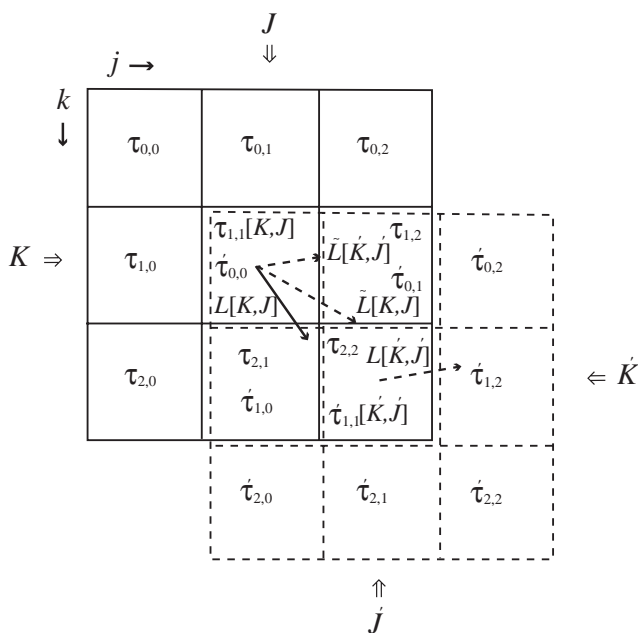


図5 局所領域間でのベクトルの重み付き合成

§4 波形の類似度による重み付け処理

拡張処理として、中心領域と隣接領域の波形 $F_{k,j}(t)$ が類似したピクセル間は相関が高いと見なして、潜時に対して波形類似度による重み付け合成ベクトル処理を施した。この為に、第1段階処理では、次式で定義する波形類似度を考える。

$$\Delta F_{k,j}[K,J] = \left(\sum_{t=0}^{T-1} |F_{k,j}(t) - F_{1,1}(t)| \right) / T \quad (5)$$

ここで、 T は時間サンプル総数である。そして、 $\Delta F_{k,j}$ を潜時差と波形類似度の重み調整用の係数として考えて、次式によって、潜時に対する波形類似度による重み付け合成ベクトルを算出する。

$$L[K,J] = \sum_{\substack{k,j=0 \\ k \neq 1, j \neq 1}}^2 T_{k,j}[K,J] / (1 + \alpha \Delta F_{k,j}[K,J]) \quad (6)$$

§5 海馬スライス組織データに対する適用

5.1 各段階処理での比較

実測した海馬スライス組織でのデータに対して、2段階局所合成ベクトル法による各段階処理での、各ピクセル領域の合成ベクトルを比較した結果が図6-(a),(b)である。同図の写真では下地ピクセルカラーが、潜時によって8段階に色分けして描画されている。この時のピクセル領域 [5,3] のベクトル結果からも判るように、第1段階処理結果に比べると、第2段階目の処理では、隣接したピクセル間のベクトルが或る程度補間処理されている事が判る。

5.2 異なる処理アルゴリズムとの比較

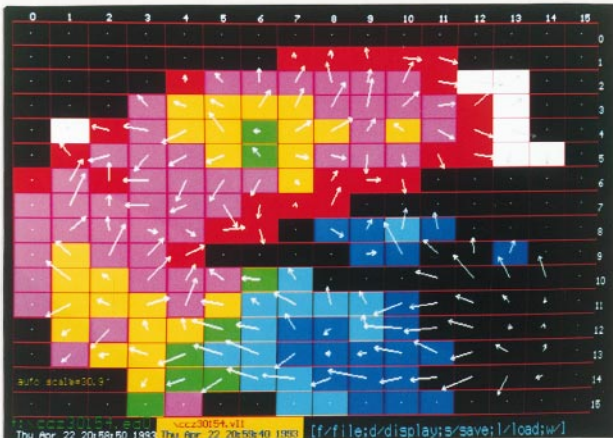
提案した2段階局所合成ベクトル処理とは異なる処理アルゴリズムとして、“単純ベクトル合成処理”による処理結果と比較する。この処理の場合には、第1段階処理では、同一潜時の隣接ピクセル領域に於いて、異なった隣接ピクセル領域を用いて求められたベクトルを、第2段階処理時には、実使用空間重み

付け無しに現在の中心ピクセル領域のベクトルにそのまま加算合成処理を施す方法である。図7-(a)がこの時の処理結果で、図7-(b)が実使用空間重み付け合成処理の結果である。両者を比較すると、実使用空間重み付け合成処理の方が、隣接ピクセル間での合成ベクトルの不自然な変化が余り見られない事が判る。

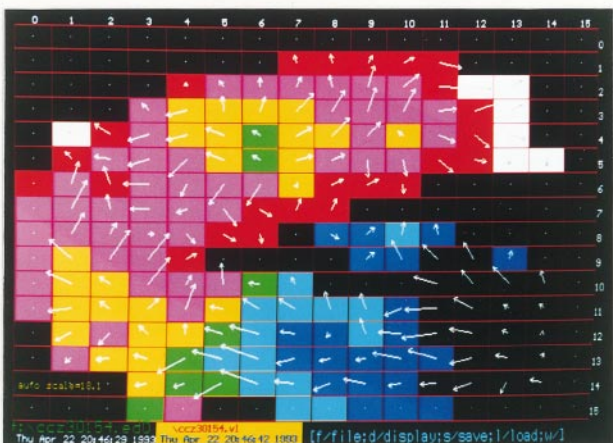
5.3 スライス組織間での比較

海馬体の側頭葉部位から中隔端に向かう間での長軸方向に直交する3個のスライス組織に対して、活動伝搬選好ベクトルをそれぞれ可視化した。その中の最側頭部のスライスの結果は、既に図6-(b)に示した通りである。図8はそれに引き続き隣接した中隔端寄りへの3個のスライス組織に対する可視化結果であ

る。尚、各スライス組織内での刺激位置は右下部位の歯状回とした。海馬では長軸方向の解剖学的性質等が類似しているとする lamellar 説が提唱されているが、本解析結果によると必ずしもこれが成立しない事を示しており、長軸方向の空間位置毎に異なった処理がなされている事が示唆される。又、図中の左下部のCA3領域迄は、信号は錐体細胞層の他にも、顆粒細胞層に沿って或る程度連続的に伝搬している。特に図6-(b)の組織では、細胞配向の主軸とほぼ直交しているが、図8-(b)のスライス組織では、斜め外側方向に向いている点が異っている。そして、全体的な一つの信号伝搬の流れとしては海馬台に向かう流れが存在するが、詳細に見ると各スライス毎に動的な信号伝搬の選好様式が局所的に異なっている

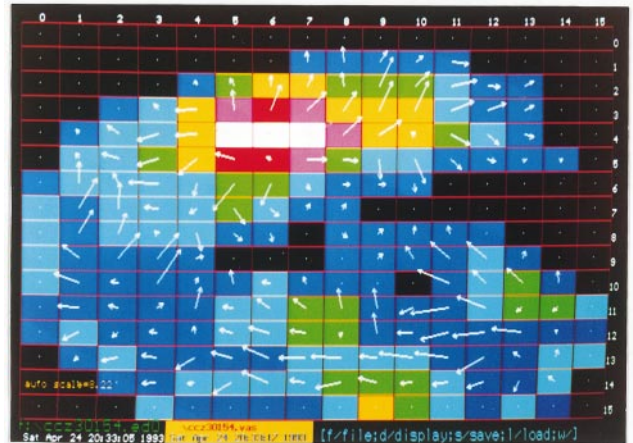


(a) 第1段階処理

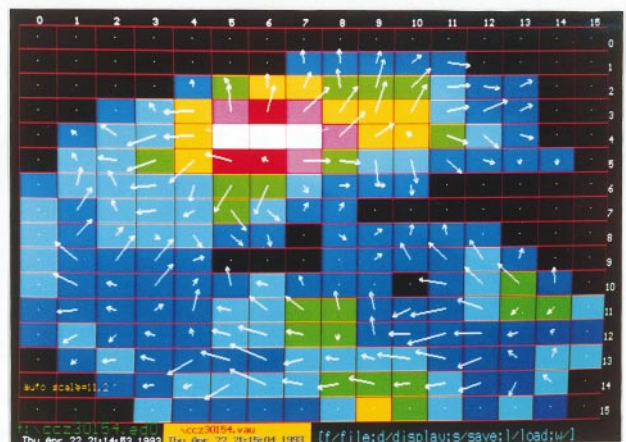


(b) 第2段階処理

図6 各段階処理での合成ベクトルの比較



(a) 単純ベクトル合成処理



(b) 実使用空間重み付け合成処理

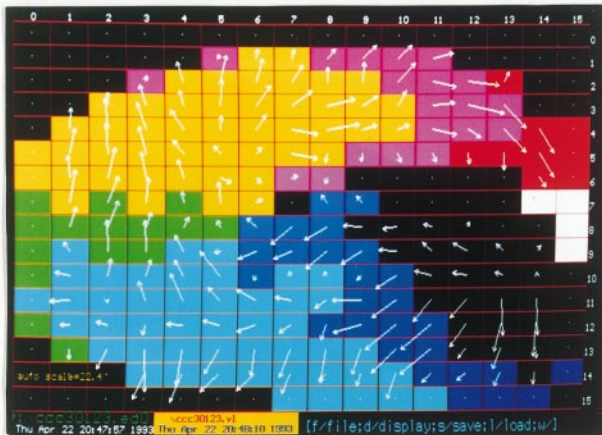
図7 異なる処理アルゴリズムとの比較

事が判る。特に、図6-(b)の信号伝達の特徴としては、CA3領域と同図の中央上部のCA1領域との潜時がほぼ同じであるが、応答電位はCA3では小さくて、CA1はより興奮的であった。又、CA1領域では、図 8-(b)

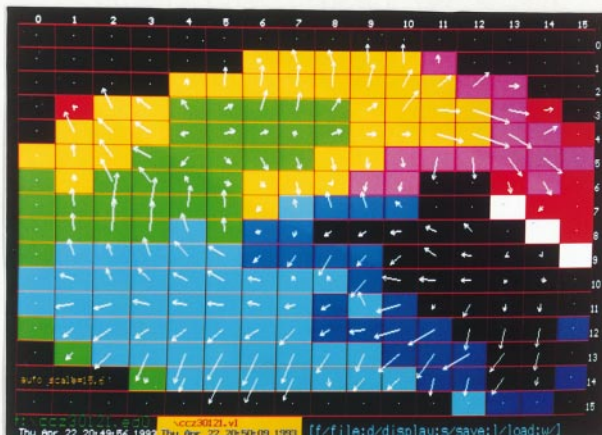
のスライス組織と同様に、活動の分岐発散的伝搬が見られ、CA1とCA3の両領域の中間に位置する領域に向かう、収束的な活動伝搬が観測される。従って、この収束的領域が、顆粒細胞の苔状繊維の透明層の終端であるCA2領域に相当するとすれば、従来からのCA2領域を機能的独立領域として扱うべきか否かの議論に対して、本結果は独立的領域としての見方を支援するものである。そして、CA2領域での検出波形は、海馬組織の長軸組織間の信号伝達に關与した信号の正射影が測定されたものと考えることが可能である。尚、石塚氏の論文によると^{4,7)}、400 μm のスライス組織片では Schaffer 側枝は上面下面から出ており、必ずしも同一スライス組織内で投射されていないと報告されており、本可視化結果も信号解析的にこの事実を裏付けるものである。

§6 あとがき

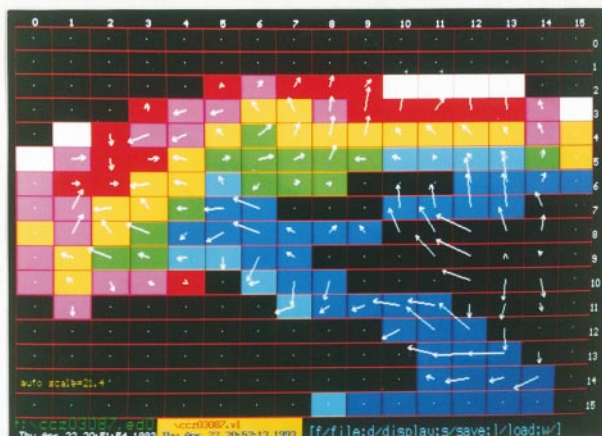
神経領域内での信号処理の局在性の観点に立って、神経局所領域でのニューロン群の選好的活動伝搬の“方向”や、その“強さ”等の動的特性を可視化する為に、“2段階局所合成ベクトル法”を提案した。この方法は同一潜時の隣接領域に対する選好的信号伝搬経路の推定処理に関して特徴を有している。又、局所単位領域毎に処理を施している為に、ベクトル決定に際してロバスト性を備えている。本手法は、今後、記憶過程に重要な役割を持つ海馬の機能解析に於いて、シナプス長期増強の起こり易い部位の同定等にも有効な解析手段となるものと期待される。本信号解析の結果としては、今迄、海馬アンモン角のCA2亜域を機能的に独立した領域とみなすかどうかの論争に対しても、独立的領域としての信号解析の裏付けを与えた。又、通説となっているCA3からCA1領域への Schaffer 側枝による lamellar 内結合説に対しても、その軸索側枝の伝搬経路がその内部で必ずしも支配的ではないとする解析結果を示した。これらに関しては、光学的なマクロ計測に加えて、更に、マルチ微小電極法^{8,9)}による精密計測や、形態学的解析等も併せて実施する必要があると云える。今後の課題としては、重畳波形の分離処理による高精度化の検討等が挙げられる。



(a) スライス組織 1



(b) スライス組織 2



(c) スライス組織 3

図 8 スライス間での信号伝搬様式の相違

謝 辞

本研究に際しては、電総研の松本 元(理研)、飯島敏夫、市川道教(理研)、田村佳彦の各氏を始めとして、生体機能研究室の方々の御協力に感謝すると共に、本研究を纏めるに当たっては、超分子部の山根 茂部長の御支援に対して深謝致します。

参 考 文 献

- 1) 電総研ニュース:500号,9月(1991).
- 2) 市川道教,飯島敏夫,松本元:脳の神経活動を16,000箇所て実時間計測する,日本物理学会誌,Vol.47, No.9, pp.707-712(1992).
- 3) 佐分利眞久,松本元:局所合成ベクトル法による同時多点計測時系列信号の解析,平4年信学春全大,D-154(1992).
- 4) 石塚典生:神経細胞を見る,Brain Medical, Vol.3, No.2, pp.121-126(1991).
- 5) 佐分利眞久:同時多点計測信号の伝達様式の解析(2段階局所合成ベクトル法),第32回日本ME学会,272(1993).
- 6) 佐分利眞久:生体同時多点計測信号の伝達様式の解析(2段階局所合成ベクトル法),電子情報通信学会論文誌,D-II,Vol.J77-D-II No.4, pp.884-886(1994).

- 7) 石塚典生:海馬皮質の構造と問題点,Brain and Nerve, Vol.41, No.8, pp.753-770(1989).
- 8) M.Saburi,K.Niki,S.Kobayashi,and S.Aikawa:"A magnetically coupled multimicroelectrode system," IEEE Trans. Biomed.Eng., vol.BME-30, no.6, pp.341-346, 1983.
- 9) M.Saburi,M.Yamada,and Y.Shigematsu:"A Multimicroelectrode System Composed of Independent Glass Micropipettes with an Eccentric Tip Structure for Simultaneous Intracellular Recording," IEEE Trans. Biomed.Eng., vol.BME-39, no.6, pp.656-658, 1992.

(1999.10.27受付)

著者紹介

佐分利 眞久

Masahisa SABURI

超分子部

E-mail:saburi@etl.go.jp

脳膜神経系におけるダイナミックスの統合化シミュレーション技術,広域分散計算機ネットワーク上での協調的コミュニケーション技術,Web上でのリアルタイム遠隔計測制御技術に関する研究に現在従事。

