

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：32613

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K12104

研究課題名（和文）スパースモデリングと画像処理による高速な汎用セルソーティング手法の開発

研究課題名（英文）Development of high-speed general-purpose cell sorting method by sparse modeling and image processing

研究代表者

竹川 高志（Takekawa, Takashi）

工学院大学・情報学部（情報工学部）・准教授

研究者番号：50415220

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：近年、多数の神経細胞の活動を観測することが可能な蛍光イメージング技術が大きく向上し、脳の理解が大きく向上することが期待されている。データの活用には記録データから自動的に細胞の位置と活動状態を求める技術が重要となるが、既存のシステムは精度・速度・安定性などさまざまな観点から十分とは言えなかった。本研究において、画像処理と確率モデル、最適化アルゴリズムと並列計算技術を駆使して既存のシステムに対して精度と速度が大幅に上回るシステムを開発し、ソフトウェアを公開した。開発したシステム HOTARU は、既存の手法では検出が難しかった細胞についても検出し、高精度なスパイク検出が可能である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発したシステム HOTARU は、恣意的なパラメータを持たずデータの性質に依存せず安定して動作し、発火率が低い、あるいは SN が小さい細胞についても検出することが可能である。この手法により、従来法では細胞強度のみで細胞の妥当性を判断していたのに対して、細胞の形状が安定していること、検出されるスパイクの数が妥当であることを元に改善が可能となった。また、システムの動作に必要なパラメータは必要最小限で恣意的な要素を排除している。そのため、神経回路の動作を実験データから検証する際に誤った結論を導く可能性を大幅に低減することができた。

研究成果の概要（英文）：In recent years, fluorescence imaging technology that can observe the activity of a large number of neurons has been greatly improved, and it is expected to greatly enhance our understanding of the brain. In order to utilize the data, it is important to have a technology to automatically determine the position and activity state of cells from the recorded data, but existing systems have not been sufficient in terms of accuracy, speed, and stability. In this study, we developed a system that significantly outperforms existing systems in terms of accuracy and speed by making full use of image processing, stochastic models, optimization algorithms, and parallel computing technology, and released the software. The developed system, HOTARU, is capable of detecting spikes with high accuracy, even for cells that are difficult to detect using existing methods.

研究分野：計算論的神経科学

キーワード：蛍光イメージング 信号検出 細胞検出 スパース最適化 非負行列因子分解

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳を直接撮影することで多数の神経細胞の活動を観測することのできる蛍光イメージング技術が大きき向上しつつあった。そのため、脳の理解が大きき向上することが期待される一方、蛍光イメージング記録を有効に活用するためには、記録データから自動的に細胞の位置と活動状態を求める技術について、既存のシステムは精度・速度・安定性などさまざまな観点から十分とは言えない状況であった。

2. 研究の目的

本研究では、上記の背景を踏まえて大規模な蛍光イメージング記録データから安定して高速に精度よく細胞の活動を抽出するシステムの開発を目指した。特に従来の手法ではデータごとに処理の方法を変更したり、パラメータのチューニングが必要でその選択により解析結果が変わってしまうこと、パラメータ選択の基準が明確では無く恣意性が多く含まれてしまうことが問題であった。そのため、システムからできる限り恣意的な要素を排除すること、パラメータがどうしても必要な場合には明確な基準を設定すること、を目標とした。

3. 研究の方法

研究開始当初から現在まで蛍光イメージング記録データの解析では、非負行列因子分解を応用したものが主流であり、細胞の形状と活動を交互に反復して推定することで最終的な結果を得る。このため、最初の細胞形状抽出と反復操作の2点が重要となる。従来法では、細胞の検出には蛍光強度などに関する閾値をデータから設定する必要があった。また、細胞の形状と活動の反復による推定について、不安定な構造を持ち、回数を重ねると逆に劣化するため、適当な回数で反復を打ち切る必要があった。そのため、次の方法により改善を行った。

- (1) 細胞形状抽出手法として画像処理分野で物体抽出に使われる Laplacian of Gaussian (LoG) フィルタを活用した。データに含まれると想定される細胞の大きさの範囲を決定し、その範囲内で複数のサイズの LoG フィルタを用い、動画の各フレームに適用することで細胞をもれなく検出するし、同一細胞を示す細胞候補を効率良く縮約する方針を採用した。
- (2) 推定の不安定性を解消するために、新しく細胞ごとに正規化されたスパースモデリング手法を開発し、従来手法では細胞強度を細胞を採用する妥当性の基準としてた点を、細胞の形状が安定していることと発火頻度が実際の細胞の活動と矛盾しないことを基準とするように変更した。また、反復中にも LoG フィルタの適用を行うことで細胞形状を複数の基準で評価し、妥当性を高める工夫を導入した。

4. 研究成果

画像処理と確率モデル、最適化アルゴリズムと並列計算技術を駆使して既存のシステムに対して精度と速度が大幅に上回るシステムを開発し、ソフトウェア HOTARU を開発して公開した [1,2]。

- (1) HOTARU は、複数サイズの LoG フィルタを用いた処理により細胞候補をもれなく効率的に検出しつつ(図 1AB)、細胞の大きさを基準とした重複除去により細胞候補を適切に絞り込むことが可能(図 1CD)とした。図 1BC から LoG により得られる Intensity という値が細胞候補の擬陽性判定に有効であることも示されている。
- (2) HOTARU は、細胞ごとに正規化されたスパースモデリング手法を用いることで、パラメータによらず反復を繰り返して安定して収束させることが可能である(図 2)。このことにより、反復の打ち切りによる恣意性を排除することが可能となった。
- (3) HOTARU は、既存の手法では検出が難しかった発火率が低い、あるいは SN 比が小さい細胞についても検出し、高精度なスパイク検出が可能であることを示した(図 3)。

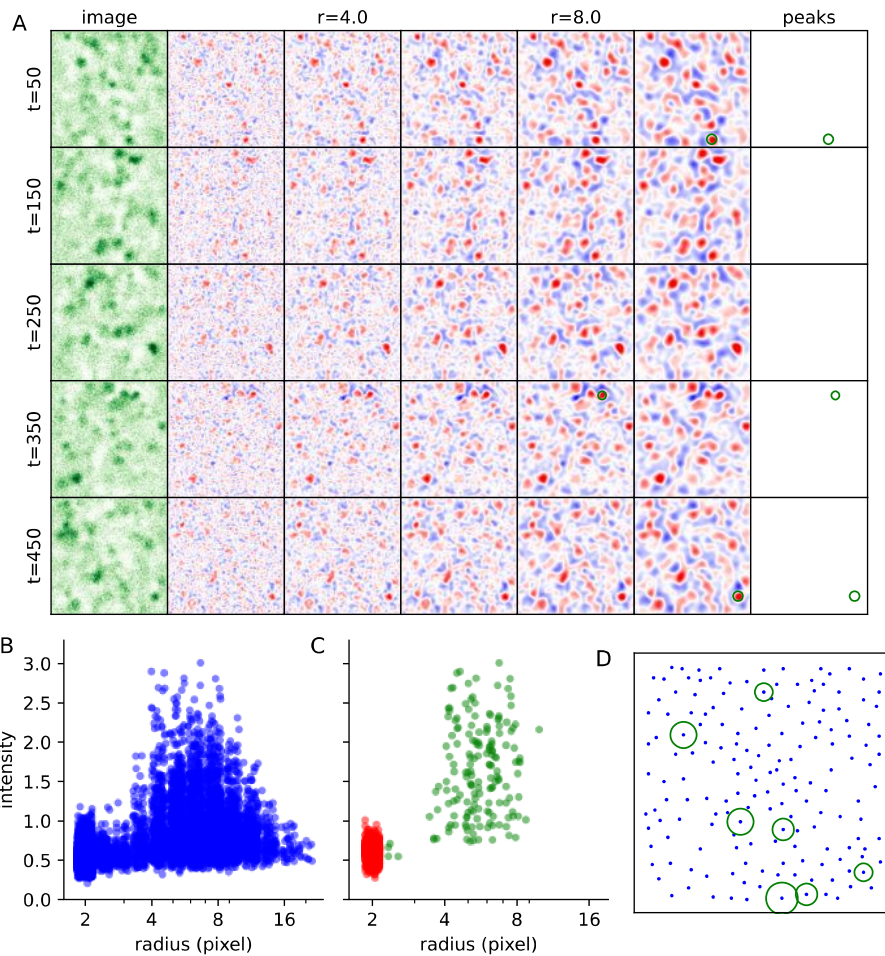


図 1：参考文献[1]より . A) フレームごとに大きさの異なる LoG フィルタを適用しピークを検出する . B) 検出されたピークをサイズと強度で分類 . C) 細胞の大きさに基づいて重なりを考慮し細胞を絞り込んだ結果 . D: 得られた初期細胞候補 .

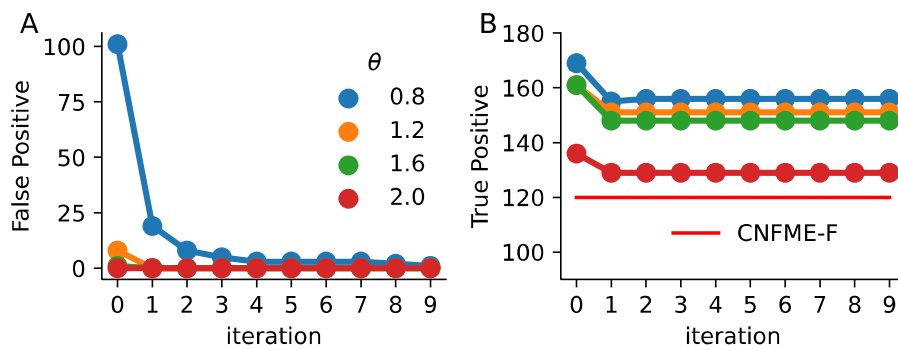


図 2：参考文献[1]より . 人工データに対して細胞ごとに正規化されたスパースモデリング手法の反復を適用した結果 . A) 初期細胞数によらず，最終的に擬陽性をすべて 0 となっている . B) 初期細胞数が多いとより多くの細胞を検出できている . 初期細胞数が多いと計算に時間がかかるトレードオフが生じるが，すべての場合において検出数は従来手法である CNFME-F を上回っている .

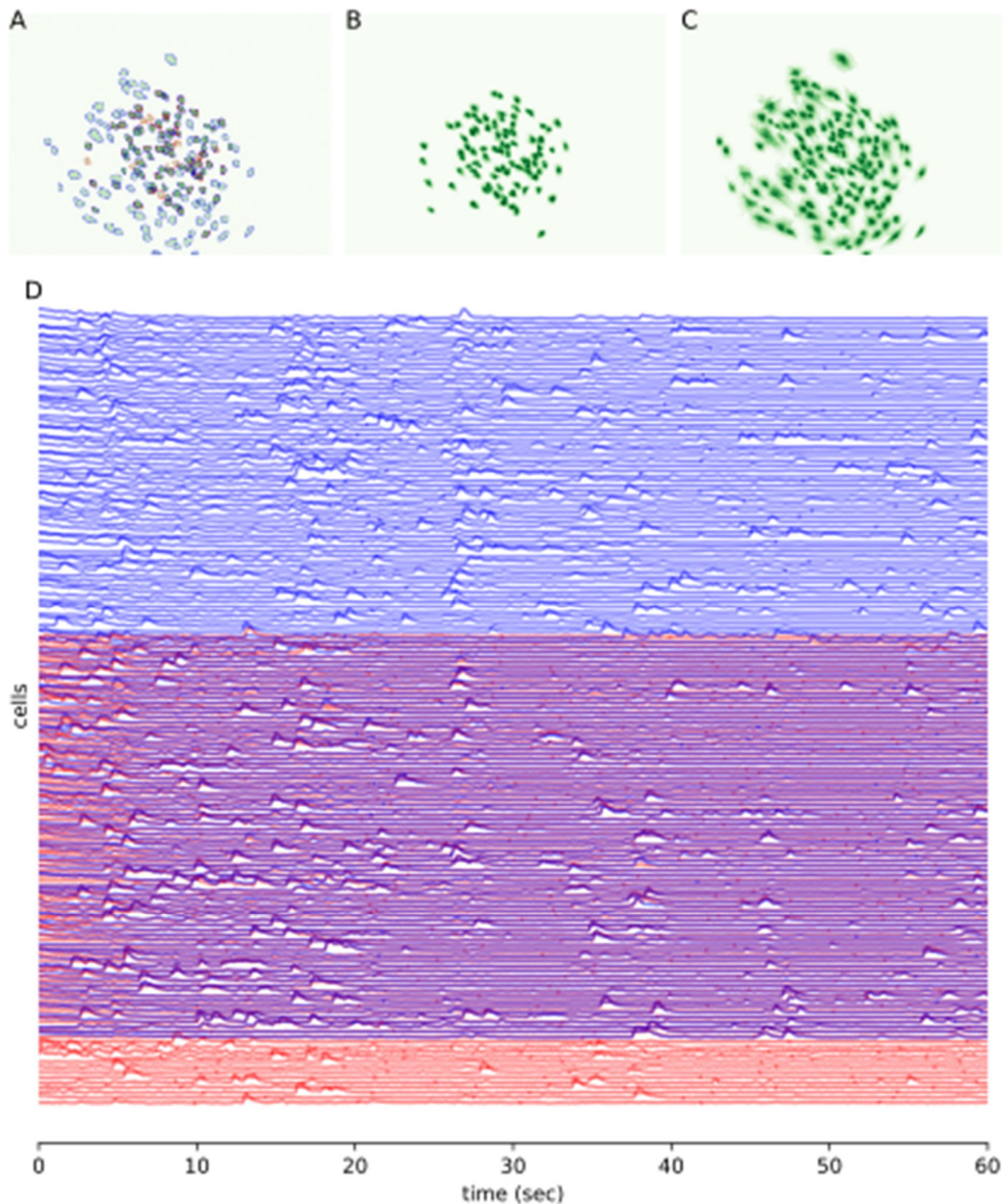


図 3：参考文献[1]より．実際のデータによる従来法との比較．B が従来法，C が HOTARU によって検出された細胞．D) 赤が従来手法，C が HOTARU により検出された活動．

引用文献

[1] Takekawa., T, et. al., HOTARU: Automatic sorting system for large scale calcium imaging data, bioRxiv, <https://biorxiv.org/content/10.1101/2022.04.05.487077> (2022).

[2] Takahsi Takekawa, HOTARU ---High performance Optimizer to extract spike Timing And cell location from calcium imaging data via lineaR impulse--- , <https://github.com/tk2lab/HOTARU>, オープンソースプロジェクト公開．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takashi Takekawa	4. 巻 17
2. 論文標題 Fast parallel calculation of modified Bessel function of the second kind and its derivatives	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 SoftwareX	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.softx.2021.100923	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kazuki Takahashi, Takashi Takekawa	4. 巻 13
2. 論文標題 Discriminant Laplacian Eigenmaps by the Approximation of Discriminant Analysis using Similarity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nonlinear Theory and Its Applications, IEICE	6. 最初と最後の頁 300-305
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1587/nolta.13.300	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Masaaki Sato, Kotaro Mizuta, Tanvir Islam, Masako Kawano, Yukiko Sekine, Takashi Takekawa, Daniel Gomez-Dominguez, Alexander Schmidt, Fred Wolf, Karam Kim, Hiroshi Yamakawa, Masamichi Ohkura, Min Goo Lee, Tomoki Fukai, Junichi Nakai, Yasunori Hayashi	4. 巻 32
2. 論文標題 Distinct Mechanisms of Over-Representation of Landmarks and Rewards in the Hippocampus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 107864
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2020.107864	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 大川宣昭, 竹川高志, 野本真順, 井ノ口馨	4. 巻 77
2. 論文標題 脳深部 Ca ²⁺ イメージングへの誘い	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本神経回路学会誌	6. 最初と最後の頁 74-86
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3902/jnns.27.74	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Khaled Ghandour, Noriaki Ohkawa, Chi Chung Alan Fung, Hiroataka Asai, Yoshito Saitoh, Takashi Takekawa, Reiko Okubo-Suzuki, Shingo Soya, Hirofumi Nishizono, Mina Matsuo, Makoto Osanai, Masaaki Sato, Masamichi Ohkura, Junichi Nakai, Yasunori Hayashi, Takeshi Sakurai, Takashi Kitamura, Tomoki Fukai & Kaoru Inokuchi	4. 巻 10
2. 論文標題 Orchestrated ensemble activities constitute a hippocampal memory engram	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-10683-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 最適化装置、最適化方法、及び最適化プログラム	発明者 竹川高志, 高橋春輝, 酒井裕, 深井朋樹	権利者 工学院大学・沖 縄科学技術大学 院大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-021962	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

[1] Takekawa, T, et. al., HOTARU: Automatic sorting system for large scale calcium imaging data, bioRxiv, https://biorxiv.org/content/10.1101/2022.04.05.487077 (2022).
[2] Takahsi Takekawa, HOTARU ---High performance Optimizer to extract spike Timing And cell location from calcium imaging data via linear impulse---, https://github.com/tk2lab/HOTARU , オープンソースプロジェクト公開.

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------