

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：62603

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K12212

研究課題名（和文）脳領域間・ニューロン間の因果的結合性とネットワーク構造の推定および実験的検証

研究課題名（英文）Estimation and experimental verification of causal connectivity and network structure among brain regions and neurons

研究代表者

三分一 史和（Miwakeichi, Fumikazu）

統計数理研究所・学際統計数理研究系・准教授

研究者番号：30360647

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究での成果は、因果関係解析と神経活動解析の両分野で大きな進展をもたらしており、これらの手法と知見が今後の科学研究において重要な役割を果たすことを示している。特に、ブートストラップ手法の適用における新たなガイドラインや、神経活動の時空間解析における新しい手法の提案は、これからの研究において非常に重要な基盤となる。また、これらの成果は、神経ネットワークの理解を深めるだけでなく、実際のデータ解析における信頼性を向上させるための具体的な指針を提供している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、因果関係解析と神経活動解析の分野で重要な進展をもたらし、新たなガイドラインを提供した。これにより、神経ネットワークの構造と機能の理解が深まり、データ解析の精度と信頼性が向上する。また、神経疾患の診断や治療法の開発に貢献し、医療分野における革新を促進する点が期待される。さらに、本成果は神経科学以外にも広く適用可能であり、経済学や社会科学、気候科学など多様な分野での因果関係の解明と予測への貢献が期待される。

研究成果の概要（英文）：The outcomes of this study have brought about significant advancements in both causal relationship analysis and neural activity analysis. These methods and insights are expected to play an important role in future scientific research. In particular, the new guidelines for the application of bootstrap methods and the proposal of new techniques for spatiotemporal analysis of neural activity will be a crucial foundation for future research. Moreover, these findings not only deepen the understanding of neural networks but also provide specific guidelines to improve the reliability of data analysis.

研究分野：時系列解析

キーワード：ニューロインフォマティクス 多変量時系列解析 因果解析 生体イメージングデータ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年のバイオイメージング技術の進歩により、神経生理学の分野ではニューロン集団の領域レベルから単一ニューロンレベルまで、さまざまなレベルにおける脳活動の様子を詳細に調べることが可能となっている。イメージングデータは、平面格子状に配置された計測点で多点同時連続記録されるため、従来の電気生理学的方法と比較して数万倍以上の高精度な空間的情報を得ることができる。これにより、ニューロン活動の時空間的な遷移を観察することが可能となっている。

応募者はこれまで、特定の条件や事象に関連して有意に活性化する脳領域やニューロンを検出するためのイメージングデータの解析方法の開発に取り組んできた。この研究の一環として、呼吸性ニューロン間の活性化順序が呼吸サイクルごとに変化するが、同じニューロンタイプでは活性化順序に一定の規則性が存在するという重要な発見をしている。しかし、呼吸性ニューロンがどのようなネットワーク構造を形成し、どのようなメカニズムで同調して呼吸リズムを生成しているのかについては、未だ解明されていない。そこで、これらの未解明の課題に取り組むため、本研究を開始するに至った。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、時空間解析のアプローチを用いて、脳領域間およびニューロン間の因果的結合性とネットワーク構造を推定し、その実在性を実験的に定量評価する方法を開発することである。具体的には、呼吸リズムを生成する脳領域間やニューロン間のネットワーク構造を明らかにし、脳神経疾患や損傷に起因する症状の予測や、機能補完を目指した再生医療などの臨床応用への貢献を目指す。

研究対象は、脳幹の呼吸関連領域や延髄呼吸中枢に存在する呼吸性ニューロンである。薬理的または物理的に領域間やニューロン間の結合を離断させる阻害実験を行い、その前後に計測したイメージングデータに対して多変量自己回帰 (VAR) モデルを適用し、パラメータを推定する。そして、実験前後のパラメータの値を定量比較することにより、ネットワークの実在性の検証を行う。このようにして得られる結果は、呼吸リズム生成のメカニズムの解明に貢献するとともに、脳神経疾患の治療法や再生医療への応用が期待される。

### 3. 研究の方法

まず、時空間解析と多変量自己回帰 (VAR) モデルを用いて、薬理的または物理的に領域間やニューロン間の結合を離断させる阻害実験前後に計測されたイメージングデータを解析する。VAR モデルを適用することで、パラメータ行列を推定し、結合の方向性、すなわち因果的結合性を明らかにする。次に、阻害実験で離断される結合に対応するパラメータの値を 0 (ゼロ) や適切な値に置換し、脳幹の領域間やニューロン間の結合を離断した後の状態をシミュレーションする。このシミュレーション結果と実験後のデータを比較し、VAR モデルにより推定された因果的結合性の妥当性を検証する。

次に、呼吸リズムのタイミングはカルシウムイメージングデータと同時計測される局所場電位 (LFP) データにおいて吸息性バーストとして記録される。バーストタイミングと各ニューロンの活性化タイミングの同期性を評価し、呼吸性ニューロンを検出する。検出したニューロンからの信号を用いて VAR モデルを用いたシミュレーションを行い、興奮性ニューロンや抑制性ニューロンにインパクトを与えたときの他のニューロンの応答特性を調べる。また、グレンジャーの因果性検定を組み合わせ、時間ドメインでのニューロン間の因果的結合性を評価し、周波数ドメインではパワー寄与率や Partial Directed Coherence (PDC) を用いて因果的結合性を定量化する。

最後に、ラットの脳幹摘出標本において、膜電位イメージングデータの計測を行う。脳幹を間脳と中脳の境界、脳橋と延髄の境界で物理的に離断した後に膜電位イメージング計測を行い、因果的結合性に基づいて推定された領域間のネットワークが実験的に調べたネットワーク構造と対応しているかを検証する。このようにして、脳領域間やニューロン間のネットワーク構造の実在性を多角的に検証し、呼吸リズム生成のメカニズムの解明を目指す。

### 4. 研究成果

ニューロインフォマティクスの分野では、多点同時計測された多変量時系列データに因果解析を適用し、ニューロンネットワークの構造を推定する。その中でも一般的に用いられているのは Granger Causality (GC) である。しかし、漸近法による GC の有意性の評価では、分布関数を事前に設定する必要があり、生体データでは期待された評価性能が発揮できない可能性がある。そこで我々はブートストラップ法で評価を試みたが、ブートストラップ法にも多くの種類があるため、各々の方法の検出性能を評価した。

本研究では、因果関係解析と神経活動解析の分野で重要な進展をもたらしている。ブートストラップ手法を用いた因果関係の推定に関する研究【論文1】では、異なるブートストラップ手法の性能が詳細に評価された。この研究では、無相関位相ランダム化ブートストラップ (uPRB)

時間シフトブートストラップ (TSB)、定常ブートストラップ (SB)、および自己回帰モデルに基づく ARSieve ブートストラップ (ARSB) の 4 つの手法が検討され、結果として、ARSB 法が自己フィードバックと因果関係を正確に検出する最も優れた方法であることが示された。この研究は、ブートストラップ手法の適用における重要なガイドラインを提供し、実際のデータ解析における因果関係の精度向上に寄与している。

神経活動解析の分野では、マウス延髄スライスの吸息ニューロンの細胞タイプと同期活動パターンに関する詳細な調査が行われた【論文 2】【国際学会 1,2,3】。これらの研究は、生後初期の発達段階におけるニューロンの相互作用と同期活動の変化を詳細に調査したものである。これにより、異なる細胞タイプ間の相互作用が発達過程でどのように変化するか明らかになった。特に、吸息ニューロンの発達に伴う同期活動パターンの変化が詳細に解析されており、これにより異なる細胞タイプ間の相互作用の理解が進んだ。この知見は、呼吸リズム形成機構の理解や、神経ネットワークの構築と機能に関する新たな洞察を提供している。

また、ニューロイメージングデータの時空間解析に関する研究【論文 3】では、神経活動の時空間パターンの解析手法が紹介されている。この研究は、神経イメージングデータの解析における課題に対する具体的な解決策を提供しており、神経活動のダイナミクスを理解するための新しい手法の提案や、既存手法の改善点について議論されている。これにより、神経イメージングデータの解析の精度が向上し、神経科学研究の発展に寄与している。

国内外の学会発表【国内学会 1,2,3】【国際学会 1,2,3】では、これまでのニューロインフォマティクスに関する研究とその周辺についての成果が共有された。これらの発表は、神経活動の理解を深めるための重要な知見を提供し、今後の研究の方向性を示している。特に、神経ネットワークの構造と機能の解明に向けた新たなアプローチや手法が紹介され、これにより神経科学の基礎研究から応用研究に至るまで幅広い分野での進展が期待される。

本研究で解析をしたカルシウムイメージングデータは、多ニューロン計測時にはサンプリング周波数を十分に高くできないので、複数のニューロンは同時に活性化するように見えてしまう。活性化順序が既知であれば構造 VAR モデルでニューロン間の因果推定を行えるが、そのような事前情報がなければ劣決定問題となり解が一意に定まらない。この点は引き続き検討課題であるが、本研究で得られた成果はニューロンの同期予測に適用可能で、さらなる研究の発展が期待される。

総括すると、これらの研究は、因果関係解析と神経活動解析の両分野で大きな進展をもたらしており、これらの手法と知見が今後の科学研究において重要な役割を果たすことを示している。特に、ブートストラップ手法の適用における新たなガイドラインや、神経活動の時空間解析における新しい手法の提案は、これからの研究において非常に重要な基盤となる。また、これらの成果は、神経ネットワークの理解を深めるだけでなく、実際のデータ解析における信頼性を向上させるための具体的な指針を提供している。

## [業績リスト]

### [論文(査読付)]

1. Comparison of Bootstrap Methods for Estimating Causality in Linear Dynamic Systems: A Review, F. Miwakeichi, A. Galka, *Entropy*, 25(7), 1070-1070, 2023年7月17日
2. Cell types and synchronous-activity patterns of inspiratory neurons in the preBötzing complex of mouse medullary slices during early postnatal development, Y. Oke, F. Miwakeichi, Y. Oku, J. Hirrlinger, S. Hülsmann, *Scientific Reports*, 13(1), 586-586, 2023年1月11日
3. ニューロイメージングデータの時空間解析, 三分一 史和, 尾家 慶彦, *バイオメカニズム学会誌*, 43(3), 155-160, 2019年8月

### [国際学会]

1. Early postnatal development of the preBotzinger complex: cell types and synchronous-activity patterns of inspiratory neurons in mice, Oke, Y., Miwakeichi, F., Oku, Y., Hirrlinger, J., Hülsmann, S., The 100th Anniversary Annual Meeting of The Physiological Society of Japan, 2023年3月14日
2. Early postnatal development in the properties of inspiratory neurons in the pre-Bötzing complex of mice, Oke, Y., Miwakeichi, F., Oku, Y., Hirrlinger, J., Hülsmann, S., The 15th Oxford Conference on Modelling and Control of Breathing, 2022年10月19日

3. Estimation of causal connectivity among inspiratory neurons and its experimental verification, Miwakeichi, F., Oke, Y., Oku, Y., Hulsman, S., Neuro 2019, 2019年7月26日

[国内学会]

1. これまでのニューロインフォマティクスに関する研究とその周辺, 三分一 史和, 情報・システム機構 戦略的研究プロジェクトのキックオフ集会, 2022年8月25日 (招待有り)
3. 変数間のネットワーク構造を推定するための動的因果解析法の比較検討 II, 三分一 史和, 第8回 生命科学研究会, 2022年1月22日
4. 延髄 pre-Botzinger Complex における呼吸リズム形成機構, 尾家 慶彦, 三分一 史和, 越久 仁敬, Hirrlinger, J., Hulsman, S., 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会/ 第98回日本生理学会大会, 2021年3月28日
5. 自発リズム活動を生成するミニマムニューロンネットワークの推定, 三分一 史和, 統計数理研究所 共同研究集会, 2020年12月4日
6. マウス Pre-Botzinger complex 領域における吸息性ニューロンの生後早期での発達, 尾家 慶彦, 三分一 史和, 第98回日本生理学会大会, 2020年3月19日
7. 自励的同期活動をする呼吸ニューロン間の活性化順序の検討, 尾家 慶彦, 三分一 史和, 統計数理研究所 共同研究集会, 2019年11月28日
8. ニューロン間の因果的結合性とネットワーク構造の推定および実験的検証, 三分一 史和, 尾家 慶彦, 共統計数理研究所 共同研究集会, 2019年11月28日
9. マウス延髄スライスの吸息性中枢内で吸息性細胞が自励的同期活動を行う際の細胞種依存的な活性化順序パターン, 尾家 慶彦, 三分一 史和, 越久 仁敬, Besser, S., Hirrlinger, J., Hulsman, S., 第110回近畿生理学談話会, 2019年11月18日

[書籍]

1. 時系列データ解析における課題対応と解析例  
三分一 史和 (担当:共著, 範囲:第4章 実データを用いた時系列データ解析例, 第2節 神経イメージングデータ解析の事前処理法) 情報機構 2024年1月22日
2. ISM シリーズ: 進化する統計数理 第8巻「統計モデリング」,  
石黒 真木夫, 三分一 史和, 種村 正美, 清水 悟,  
近代科学社, 2020年3月25日

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miwakeichi Fumikazu, Galka Andreas	4. 巻 25
2. 論文標題 Comparison of Bootstrap Methods for Estimating Causality in Linear Dynamic Systems: A Review	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Entropy	6. 最初と最後の頁 1070 ~ 1070
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/e25071070	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 Oke Yoshihiko, Miwakeichi Fumikazu, Oku Yoshitaka, Hirrlinger Johannes, Hulsman Swen	4. 巻 13
2. 論文標題 Cell types and synchronous-activity patterns of inspiratory neurons in the preBotzinger complex of mouse medullary slices during early postnatal development	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-27893-w	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

1. 著者名 三分一 史和, 尾家 慶彦	4. 巻 43
2. 論文標題 ニューロイメージングデータの時空間解析	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 バイオメカニズム学会	6. 最初と最後の頁 155-160
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 3件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 三分一 史和
2. 発表標題 変数間のネットワーク構造を推定するための動的因果解析法の比較検討 II
3. 学会等名 第8回 生命科学研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾家 慶彦, 三分一 史和, 越久 仁敬, Hirrlinger, J., Hulsman, S.
2. 発表標題 延髄pre-Botzinger Complexにおける呼吸リズム形成機構
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会/ 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三分一 史和
2. 発表標題 自発リズム活動を生成するミニマムニューロンネットワークの推定
3. 学会等名 統計数理研究所 共同研究集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 尾家 慶彦, 三分一 史和
2. 発表標題 自励的同期活動をする呼吸ニューロン間の活性化順序の検討
3. 学会等名 統計数理研究所 共同研究集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三分一 史和, 尾家 慶彦
2. 発表標題 ニューロン間の因果的結合性とネットワーク構造の推定および実験的検証
3. 学会等名 統計数理研究所 共同研究集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 尾家 慶彦, 三分一 史和, 越久 仁敬, Besser, S., Hirrlinger, J., Hulsman, S.
2. 発表標題 マウス延髄スライスの吸息性中枢内で吸息性細胞が自励的同期活動を行う際の細胞種依存的な活性化順序パターン
3. 学会等名 第110回近畿生理学談話会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三分一 史和, Andreas Galka
2. 発表標題 ブートストラップ法による動的フィードバックシステムにおける因果性の評価と検討
3. 学会等名 第67回 生体信号計測・解釈研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshihiko Oke, Fumikazu Miwakeichi, Yoshitaka Oku, Johannes Hirrlinger, Swen Hulsman
2. 発表標題 Early postnatal development of the preBotzinger complex: cell types and synchronous-activity patterns of inspiratory neurons in mice
3. 学会等名 The 100th Anniversary Annual Meeting of The Physiological Society of Japan (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshihiko Oke, Fumikazu Miwakeichi, Yoshitaka Oku, Johannes Hirrlinger, Swen Hulsman
2. 発表標題 Early postnatal development in the properties of inspiratory neurons in the pre-Botzinger complex of mice
3. 学会等名 The 15th Oxford Conference on Modelling and Control of Breathing (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshihiko Oke , Fumikazu Miwakeichi , Yoshitaka Oku , Johannes Hirrlinger , Swen Hulsman
2. 発表標題 延髄pre-Botzinger Complexにおける呼吸リズム形成機構
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会/ 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 F. Miwakeichi, Y. Oke, Y. Oku, H. Swen, H. Johannes, J. Hirrlinger
2. 発表標題 Estimation of causal connectivity among inspiratory neurons and its experimental verification
3. 学会等名 Neuro 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 尾家 慶彦, 三分一 史和, 越久 仁敬, J. Hirrlinger, S. Hulsman
2. 発表標題 マウスPre-Botzinger complex 領域における吸息性ニューロンの生後早期での発達
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三分一 史和
2. 発表標題 これまでのニューロインフォマティクスに関する研究とその周辺
3. 学会等名 情報・システム機構 戦略的研究プロジェクトのキックオフ集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 三分一 史和(共著)	4. 発行年 2024年
2. 出版社 情報機構	5. 総ページ数 318
3. 書名 時系列データ解析における課題対応と解析例	

1. 著者名 石黒真木夫, 三分一史和, 種村正美, 清水悟	4. 発行年 2020年
2. 出版社 近代科学社	5. 総ページ数 232
3. 書名 ISMシリーズ：進化する統計数理 8 「統計モデリング」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分 担 者	尾家 慶彦  (Oke Yoshihiko)  (50396470)	兵庫医科大学・医学部・助教    (34519)	

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
---------	---------