

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500375

研究課題名(和文)高解像度蛍光カルシウム画像の定量的評価法の確立

研究課題名(英文)Development of quantitative evaluation methods for high-resolution Ca²⁺ imaging data

研究代表者

青西 亨(Aonishi, Toru)

東京工業大学・総合理工学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：00333352

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年、2光子顕微鏡などのイメージング装置の急激な発展により、細胞内のカルシウム動態を時空間的に高解像度で計測可能となった。我々は、高解像度カルシウムイメージングデータの解析手法を開発した。研究I：カルシウムイオン濃度と観測可能な蛍光シグナルの間にある物理過程を状態空間モデルで記述し、細胞内カルシウム濃度を推定するベイズ統計手法を開発した。研究II：樹状突起内のカルシウム波を定量的に解析する手法を開発した。研究III：高解像度多細胞イメージングデータに非負値行列因子分解を適用し、細胞体や樹状突起などの機能単位の蛍光信号を自動的に分離するアルゴリズムを開発した。

研究成果の概要(英文)：Recently, Ca²⁺ imaging techniques, which have progressed rapidly in recent years, enable us to observe the behavior of intracellular Ca²⁺ under high resolution. We aim to develop analytical methods for high-resolution Ca²⁺ imaging data. Research project I: We developed a Bayesian statistical method to estimate intracellular Ca²⁺ concentration from Ca²⁺ fluorescence intensities. We used state space modeling method to formulate the observation process of Ca²⁺ fluorescence intensities. Research project II: We proposed a statistical scheme for the quantitative estimate of Ca²⁺ wave from spatiotemporal Ca²⁺ imaging data based on a state space modeling of dendritic Ca²⁺ diffusion process. Research project III: We developed a cell detection algorithm using non-negative matrix factorization on Ca²⁺ imaging data. We demonstrated that our method could decompose rapid transient components corresponding to somas and dendrites of many neurons.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：カルシウムイメージング 状態空間モデル ベイズ統計 樹状突起 カルシウムウェーブ 粒子フィルタ 非負値行列因子分解

1. 研究開始当初の背景

近年、2光子顕微鏡などのイメージング装置の急激な発展により、細胞内の分子動態を時空間的に高解像度で計測可能となった。この手法により、様々な分子の計測が可能であるが、最も盛んに行われているのがカルシウムイメージングである。優れたカルシウム感受性蛍光色素が開発されており、高速で信号雑音比が高い計測が可能である。カルシウムイオンは細胞内シグナル伝達におけるセカンドメッセンジャーとして様々なレベルでの細胞機構を調節する重要な役割を果たしている。したがって、カルシウムイメージングは細胞内シグナル伝達機構を理解するために不可欠な技術である。また、心筋や神経細胞などにおいて、活動電位の発生に伴いカルシウムイオン濃度が上昇するため、細胞の電気的興奮を計測するためのシグナルとして利用することができる。

このようにカルシウムイメージングは、生命科学、特に神経科学において重要なツールであり、優れた性質を持ち合わせている。しかし、この計測手法は以下の深刻な問題を内包している。

(1) イメージング装置の時空間解像度の向上にともない単一受光素子で検知する光子の数が減少するため、蛍光シグナルがポアソン過程で揺らぐ。このノイズを如何に除去するか。

(2) 測定される蛍光シグナルは蛍光色素とカルシウムイオンの化学反応を経た2次的な情報である。この間接情報の蛍光シグナルから如何にカルシウムイオン濃度を定量的に決定するか。

(3) イメージングにより高解像度の時空間データを取得できるが、この大量のデータを如何に操作して重要な情報を引き出すか。

これらの問題を解決する手段として、統計的手法が有効である。近年、カルシウムイメージングデータを取り扱う統計的手法がいくつか提案されている。しかし、この分野の研究は緒についたばかりであり、改善すべき点や重要かつ基本的な未解決問題が残されている。

2. 研究の目的

上記のイメージング計測の問題を解決するため、我々は以下の研究を行う。

研究 I : 直接観測できないカルシウムイオン濃度と観測可能な蛍光シグナルの間にある物理過程を数理モデル化して、逆問題を解くことで蛍光シグナルからカルシウムイオン濃度を推定する統計的較正法を確立

研究 II : で構築した統計的較正法を空間的に拡張して、時空間カルシウム動態の定量的推定法を確立し、樹状突起内のカルシウム波の伝播様式の明確化

研究 III : 多細胞カルシウムイメージングデータのための統計的解析手法の開発

3. 研究の方法

研究 I : カルシウムイオン濃度と観測可能な蛍光シグナルの間にある物理過程を数理モデル化し、状態空間モデルで記述する。この状態空間モデルの一部のパラメータが不定である。そこで、この不定性を解消するための摂動応答実験のプロトコルを確立する。

研究 II : 研究 I を空間的に拡張し、樹状突起内のカルシウム波を定量的に解析する。

研究 III : 高解像度の多細胞イメージングデータから、細胞体や樹状突起などの機能単位の蛍光信号を自動的に分離するアルゴリズムを開発する。我々は、目標とするアルゴリズムを非負値行列因子分解で実現する。そして、このアルゴリズムで検出した機能単位毎の蛍光信号より、機能単位毎の相互作用を推定する手法を開発する。

4. 研究成果

研究 I : 神経細胞に脱分極パルスを与え、1発と2発の活動電位を発生させ、イメージングにより静止状態の蛍光強度、活動電位1発と2発それぞれの場合の蛍光強度の最大値を測定する実験を考える。我々は活動電位1発当たりに細胞内に流入するカルシウムイオン量が一定だと仮定することにより、上記の不定となるパラメータの大体の値を見積もることができる。この大体の見積値をパラメータの事前確率として与えて、ベイズ統計の枠組みでカルシウム濃度を計算する粒子フィルタのアルゴリズムを構成した。本提案手法の有効性を数値実験と生理実験で検証した。研究成果は国際会議などで発表し、現在論文の執筆中である。

研究 II : 研究 I を空間的に拡張し、樹状突起内のカルシウム波を定量的に解析するための統計的手法(拡張カルマンフィルタ)を構築し、数値実験でその有効性を検討した。研究成果は国際会議で発表した。

研究 III : 改良した非負値行列因子分解を高時空間分解能データに適用し、細胞体や樹状突起に対応する関心領域の自動設定に成功した。我々の手法は、State-of-Artの手法として知られているSchnitzerグループの独立成分分析アルゴリズムにほぼ匹敵する性能を有することを確認した。この研究をまとめた論文が、国際英文論文誌 Neural Networks に採録された。この論文の反響は大きく、Schnitzerグループからの問い合わせが来ている。

次に、脳波を模擬した細胞外交流電場を海馬スライスに与えた場合の多細胞イメージングデータを解析した。上記の非負値行列因子分解で自動検出した各細胞のスパイク状のカルシウム信号と、負荷した細胞外交流電場との位相関係を調べる位相統計解析の手法を開発した。細胞外交流電場に対してカルシウム信号が位相引き込みを起こすことを、この統計解析法で確認した。研究成果は国内研究会で発表した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 30 件)

1. Ryuichi Maruyama, Kazuma Maeda, Hajime Moroda, Ichiro Kato, Masashi Inoue, Hiroyoshi Miyakawa and Toru Aonishi, “Detecting cells using non-negative matrix factorization on calcium imaging data”, *Neural Networks*, Mar 24; 55C, 11-19 (2014). 査読有, DOI: 10.1016/j.neunet.2014.03.007
2. Yoshinori Suzuki, Takako Morimoto, Hiroyoshi Miyakawa and Toru Aonishi, “Cooperative integration and representation underlying bilateral network of fly motion-sensitive neurons”, *PLOS ONE*, 9(1), e85790 (2013). 査読有, DOI: 10.1371/journal.pone.0085790
3. Akiko Kikuchi, Shumpei Ohashi, Naoyuki Fuse, Toshiaki Ohta, Marina Suzuki, Yoshinori Suzuki, Tomoyo Fujita, Takuya Miyamoto, Toru Aonishi, Hiroyoshi Miyakawa and Takako Morimoto, “Experience-dependent Plasticity of the Optomotor Response in *Drosophila melanogaster*”, *Developmental Neuroscience*, 34(6), 533-42 (2013). 査読有, DOI: 10.1159/000346266
4. Ryota Miyata, Toru Aonishi, Koji Kurata, “Properties of associative memory model with the n -th-order synaptic decay”, *IPSJ Transactions on Mathematical Modeling and Its Applications*, 6, 134-139 (2013). 査読有, DOI: 10.2197/ipsjtrans.7.27
5. Ryota Miyata, Keisuke Ota and Toru Aonishi, “Optimal Design for Hetero-Associative Memory: Hippocampal CA1 Phase Response Curve and Spike-Timing-Dependent Plasticity”, *PLOS ONE*, 8(10), e77395 (2013). 査読有, DOI: 10.1371/journal.pone.0077395
6. Hiromu Monai, Masashi Inoue, Hiroyoshi Miyakawa and Toru Aonishi, “Low-frequency dielectric dispersion of brain tissue due to electrically long neurites”, *Physical Review E*, 86(6), 061911(2012). 査読有, DOI:10.1103/PhysRevE.86.061911
7. Keisuke Ota, Toshiaki Omori, Hiroyoshi Miyakawa, Masato, Okada and Toru Aonishi, “Higher-order Spike Triggered Analysis of Neural Oscillators”, *PLOS ONE*, 7(11), e50232 (2012). 査読有, DOI: 10.1371/journal.pone.0050232
8. Jun Kitazono, Toshiaki Omori, Toru Aonishi and Masato Okada, “Estimating Membrane Resistance over Dendrite Using Markov Random Field”, *情報処理学会論文誌. 数理モデル化と応用*, 5(3), 89-94 (2012). 査読有, DOI: 10.2197/ipsjtrans.5.186
9. Ryota MIYATA, Koji KURATA and Toru AONISHI, “Sparsely Encoded Hopfield Model with Unit Replacement”, *IEICE TRANSACTIONS on Information and Systems*. Vol. E95-D, No.8, pp.2124-2132 (2012). 査読有, DOI: 10.1587/transinf.E95.D.2124
10. Ryota Miyata, Toru Aonishi, Jun Tsuzurugi and Koji Kurata, “Properties of Hopfield model with the zero-order synaptic decay”, *ARTIFICIAL LIFE AND ROBOTICS*, 17(1), pp.163-167 (2012). 査読有, DOI: 10.1007/s10015-012-0033-5
11. 角田敬正, 織田善晃, 大森敏明, 井上雅司, 宮川博義, 岡田真人, 青西亨, “ベイズ推定法による定量的カルシウム動態推定”, *電子情報通信学会技術研究報告*, NC2011-175, 317—322 (2012). 査読無, DOI: なし
12. Keisuke Ota, Toshiaki Omori, Shigeo Watanabe, Hiroyoshi Miyakawa, Masato, Okada and Toru Aonishi, “Measurement of infinitesimal phase response curves from noisy real neurons”, *Physical Review E*, 84, 041902 (2011). 査読有, DOI: 10.1103/PhysRevE.84.041902

[学会発表](計 50 件)

1. Ryota Miyata, Keita Sato, Toru Aonishi, “Optimal pair of coupling function and STDP window function for auto-associative memory”, The 20th International Conference on Neural Information Processing (ICONIP 2013), 2013年11月5日, EXCO, Daegu, Korea.
2. Ryota Miyata, Keisuke Ota, Toru Aonishi, “Optimal pair of hippocampal CA1 phase response curve and spike-timing-dependent plasticity for hetero-associative memory”, The 22nd Annual Computational Neuroscience Meeting (CNS 2013), 2013年7月14日, The Universite Paris Descartes,

- Paris, France.
3. Ryota Miyata, Keisuke Ota and Toru Aonishi, "Characteristics prediction of STDP in hippocampal CA1 network by mutual information maximization", Computational and Systems Neuroscience (COSYNE) 2013, 2013年03月01日, Salt Lake City(USA).
 4. Yoshinori Suzuki, Takako Morimoto, Hiroyoshi Miyakawa, Toru Aonishi, "Model study on recurrent network integrating binocular information in fly visual system", Society for Neuroscience, 2012年10月16日, New Orleans(USA).
 5. H. Monai, H. Miyakawa, and T. Aonishi, "Possible contribution of passive membrane properties of dendrites on dielectric properties of neural tissues -An analytic solution of the extended cable equation including the extracellular media-", Society for Neuroscience, 2012年10月16日, New Orleans (USA).
 6. Ryota Miyata, Keita Sato, Toru Aonishi, "Characteristics prediction of spike-timing-dependent plasticity in hippocampal CA1 network by mutual information maximization", Society for Neuroscience, 2012年10月15日, New Orleans(USA).
 7. 森本 高子, 宮本 拓也, 鈴木 力憲, 青西 亨, 宮川博義, 藤田 知世, "ショウジョウバエ視覚系ラミナ細胞における in vivo カルシウムイメージング", 第35回神経科学大会, 2012年09月19日, 名古屋国際会議場(愛知県)
 8. 角田敬正, 織田善晃, 大森敏明, 井上雅司, 宮川博義, 岡田真人, 青西 亨, "ベイズ推定法による定量的カルシウム動態推定", 電子情報通信学会ニューロコンピューティング研究会, 2012年3月16日, 玉川大学.
 9. 角田敬正, 織田善晃, 大森敏明, 井上雅司, 宮川博義, 岡田真人, 青西 亨, "拡張カルマンフィルタによる樹状突起時空間的カルシウム動態の推定", 日本神経回路学会 第21回全国大会, 2011年12月17日, 沖縄科学技術大学院大学.
 10. R. Maruyama, K. Maeda, H. Miyakawa, T. Aonishi, "Detection of cells from calcium imaging data by non-negative matrix factorization", 日本神経回路学会 第21回全国大会, 2011年12月16日, 沖縄科学技術大学院大学.
 11. R. Maruyama, K. Maeda, H. Miyakawa, T. Aonishi, "Automatic cell detection from calcium imaging data using nonnegative matrix

factorization", Society for Neuroscience, 2011年11月13日, Washington DC (USA).

12. Takamasa Tsunoda, Yoshiaki Oda, Toshiaki Omori, Masato Okada, Masashi Inoue, Hiroyoshi Miyakawa and Toru Aonishi, "Estimation of Dendritic Spatiotemporal Calcium Dynamics by Nonlinear State Space Modeling", JSST Annual Conference (JSST2011) International Conference on Modeling and Simulation Technology, 2011年10月23日, 東海大学高輪キャンパス.
13. Yoshinori Suzuki, Toru Aonishi, Hiroyoshi Miyakawa, Takako Morimoto, "The Effects of Noise in Visual Stimulus on Motion Detection in Drosophila Optomotor Response", Neurobiology of Drosophila, 2011年10月4日, Cold Spring Harbor Laboratory (New York).

〔図書〕(計1件)

1. Keisuke Ota and Toru Aonishi, "Phase Response Curves in Neuroscience: Theory, Experiment, and Analysis", Springer Series in Computational Neuroscience (Editors: Nathan Schultheiss, Robert Butera and Astrid Prinz), Chapter 8, pp. 179-203 (2012)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.acs.dis.titech.ac.jp>

http://www.researchgate.net/profile/Toru_Aonishi?ev=hdr_xprf

6. 研究組織

(1)研究代表者

青西 亨(AONISHI TORU)

東京工業大学・大学院総合理工学研究科・准教授

研究者番号: 0333352

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

宮川 博義(MIYAKAWA HIROYOSHI)

東京薬科大学・生命科学部・教授

研究者番号: 90166124