

ブートストラップ手法によるスパイク相関の有意性検定 —統計科学的話題を中心に—

京都産業大学コンピュータ理工学部

伊藤 浩之

1. はじめに

脳内の神経細胞は単独では機能することは出来ないため、情報処理の基本単位は神経ネットワークに埋め込まれた細胞集団 (cell assembly) であるべきである。しかしながら、従来の神経科学研究においては、単一細胞の発火頻度の変化を感覚入力や行動と関連づけるという方法論が支配的であった。最近の 20 年程の間、我々は「関係性コード」(relational coding) という新たなパラダイム・シフトに直面していると考えられる。関係性コードでは、情報は個々の細胞に局在するのではなく、多数の細胞の活動の間の関係性のみにより符号化されている情報の存在を仮定する。この関係性は、複数細胞間での平均発火率変動のコヒーレンスの場合もあり、また複数細胞間でのスパイク発火タイミングの正確な同期現象である場合も考えられる。関係性コードの実験的検証のためには、情報処理に関与している複数の細胞の活動を同時に記録し、細胞活動の時空間パターンと感覚入力や行動との因果関係を検証していく必要がある。このような実験法は、多細胞同時記録実験 (Multi-neuron Recording) として現在の神経科学研究の主流となりつつある。この研究方法における成功の最大の鍵は、得られた多細胞活動データから神経ネットワーク活動の時空間構造を特徴づけるための統計解析法である。特に、細胞間のスパイク相関の試行時間内での非定常変動の統計解析は、その重要度の認識とは別に、困難な作業であることが知られている。我々は Gruen らにより提案された Unitary Event Analysis という解析法に注目し、その解析能力を実際の多細胞活動データへの適用を通じて検討してきた。本報告では、この研究の最近の成果の概要を説明する。

2. Poisson 分布に基づく Unitary Event Analysis

同期振動発火を生じる細胞ペアの解析に対しての Unitary Event Analysis の有効性を検証する目的から、以前の相互相関ヒストグラムでの解析において有意に同期振動発火を生じていると判定された細胞ペアのサンプルに対してこの解析法を適用した。具体的には、各細胞ペアに対して計算した相互相関ヒストグラムのピーク値を与える時間ズレを 1 ms の精度で検出し、二つの細胞のスパイク列で各試行ごとに、その時間ズレを持つスパイクのペア (coincident event, CE) を検出し、100 ms 幅の時間窓内でカウントする。すべての試行に対して、このカウントを計算

し、総和を取ることで、この時間窓位置での coincident event の発生数を評価する。試行時間に渡って、時間窓を 1 ms 刻みでスライドさせることにより、coincident event の発生数の時間変動をプロットすることができる。求められた coincident event の発生数 (raw-CE number) には、細胞間の真の相関の他に偶然に相関する成分が含まれている。この偶然の成分 (predicted-CE number) は、coincident event 数の計算で用いた時間窓を用いて各細胞のスパイク発火頻度 (発火確率) を計算し、その積を求めることで評価することが出来る。

実際の外側膝状体からのデータの解析例を図 1 に示す (カラー図版の掲載不可のため、以下の WEB ページの画像データを参考にせよ: <http://www.cc.kyoto-su.ac.jp/~hiro>)。図の上部では、500 μ m 離れた 2 本の電極により同時記録された二つの細胞 (unit0 と unit2) のラスタ表示 (試行時間 2 sec、20 試行) が示されている。時間軸の下の大い実線の区間に渡り、それぞれの細胞の受容野に静的な光スポットが同時に提示された。図の下半分には、Unitary Event Analysis の結果が表示されている。赤線のグラフが raw-CE number であり、緑線が predicted-CE number である。青線は二つの細胞の発火が独立であるとした帰無仮説の場合の CE number の分布の 99% リミットである。Unitary Event Analysis のオリジナルの定式化では、時間窓内での coincident event の発生はお互いに独立であると仮定するため、帰無仮説での coincident event の発生数は Poisson 分布に従うと考えられる。グラフにおいて、raw-CE number がこの 99% リミットを越えている時間窓は、帰無仮説に比べて十分に有意に多くの coincident event が生じていると判断される。この時間窓内での coincident event は、図中のラスタ表示において、赤丸で示している。これらの有意な coincident event は特別に unitary event と呼ばれている。

図 1 の解析で注目すべき点は、raw-CE number が試行時間内で示す顕著な非定常変動であり、この変動は発火率の時間変動を反映する predicted-CE number からは予測出来ない。刺激提示期間中の後半においては、発火率は依然として高いのであるが、coincidence event の発生数は突然に偶然のレベルまで減少してしまう。また、刺激に対する ON 反応においては有意な coincidence event を示した細胞ペアは、OFF 反応においては全く独立な発火を生じている事が示される。

従来から predicted-CE number は、2 つの細胞の発火数の変動のみに由来する偶然の相関 (刺激性相関) の適切な推定値であると考えられてきた。本研究では、predicted-CE number とは異なる推定値を評価し、比較を行った。データは 20 試行のスパイク列のペアから構成されているが、異なる試行でのスパイク列を組み合わせる raw-CE number を計算する。可能な異なるペアの数は、 $20 \times (20 - 1) = 380$ サンプルとなり、個々のサンプルでの raw-CE number の平均から、二つの細胞の発火が独立な場合 (帰無仮説) での推定値を評価する。この推定値は図 1 のマゼンダ線に表示されている。2 種類の推定値は、全域で良く一致しているが、刺激提示の開始と終了の直後でズレが生じている。この時間帯では、coincidence event の発火数を計算する時間窓内にスパ

イク発生密度の大きな変化を含むために、平均スパイク頻度の評価が適切に行われず、実際に生じる coincidence event の発火数を正しく評価できない。このため、99%リミットが低く評価され、raw-CE number が有意と誤って判定されてしまうのである(false positives)。異なる試行のスパイク列を組み合わせて評価した推定値は、平均スパイク頻度ではなく直接に coincidence event の発火数を用いて計算されているため、この問題は生じない。実際、問題となる時間帯において、この推定値（マゼンダ線）は raw-CE number（赤線）と一致しており、raw-CE number の有意性は誤りであることが確認される。

3. Bootstrap 法に基づく Unitary Event Analysis

Poisson 分布を仮定した有意性検定の妥当性を評価するために、ノンパラメトリックな有意性検定（Bootstrap 法）を合わせて行い、結果を比較検討した。Bootstrap 法では、2つの細胞それぞれの20試行分のスパイク列の組み合わせをランダムにシャッフルして Bootstrap サンプルを発生し、raw-CE number を計算する。どの Bootstrap サンプルにおいても、同一の20試行分のスパイク列を用いているために、平均スパイク頻度および predicted-CE number は不変である。単に、同一試行の組のみに存在する二つの細胞でのスパイク発火間の微細な時間相関が消失するのである。本研究では、1000個の Bootstrap サンプルを Monte-Carlo サンプルングにより発生した。各時間窓ごとに、1000個の raw-CE number のサンプルが存在し、これらのサンプル平均を帰無仮説の推定値とし、またサンプルで10番目に大きな raw-CE number の値を99%リミットとして採用した。Bootstrap 法による Unitary Event Analysis の結果は図2に表示されている。図1と同様に、raw-CE number（赤線）、predicted-CE number（緑線）、Poisson 分布による99%リミット（青線）を表示し、さらに Bootstrap サンプルの平均値（マゼンダ線）と Bootstrap サンプルによる99%リミット（黒線）を加えてある。ラスタ表示では、raw-CE number に対して、Bootstrap サンプルによる99%リミットを越えた場合を有意として、Unitary Event を表示している。2種類の99%リミットを比較することで、Bootstrap 法は Poisson 分布に基づく方法より以下の2点において優っていることが結論される。1) 刺激提示の開始と終了の直後でのスパイク密度の急激な変化による false positives が生じない。2) 異なる時間窓でのスパイク列の統計性の変化に適応した有意性検定が可能である。図2において、Bootstrap サンプルによる99%リミットは Poisson 分布による99%リミットと大きく異なっている領域が存在する。Bootstrap サンプルによる99%リミットが Poisson 分布による99%リミットより大きくなっている時間窓では、スパイク列は、Poisson 過程よりもより変動性が大きく、Bootstrap サンプルの分布が Poisson 分布よりも大きな分散を持っている。個々の Bootstrap サンプルのスパイク列を詳しく調べる事により、この分散の増加は、振動的（周期的）なスパイク列が強く影響している

事が理解された。

4. まとめ

同時記録された神経細胞のスパイク発火間の時間相関の有意性の検定は脳の新たな情報符号化である関係性コードの実験的検証において重要である。本研究では、この目的の解析において現在最も有効であると考えられる Unitary Event Analysis を実際のスパイクデータに適用し、その有効性を検討した。従来の定式化による Poisson 分布を仮定した有意性検定は、スパイク密度の急激な変化および振動的なスパイク発火に対して、不適切な結果を生じることを示した。一方、ノンパラメトリックな有意性検定である Bootstrap 法は、これらの問題点を解決する有効な方法であることが示された。近年、脳の視覚情報関連領域では、同期振動発火現象が大きな関心を集めていることから、有意性検定は十分な注意をもって行われる必要があると考える。

参考文献

- [1] Gruen, S., Diesmann M. and Aertsen A. Unitary events in multiple single-neuron spiking activity: I. Detection and significance. *Neural Computation*, 14, 43-80 (2001).
- [2] Gruen, S., Diesmann M. and Aertsen A. Unitary events in multiple single-neuron spiking activity: II. Nonstationary data. *Neural Computation*, 14, 81-119 (2001).
- [3] Ito, H., Gray, C. M., and Viana Di Prisco, G. Can oscillatory activity in the LGN account for the occurrence of synchronous oscillations in the visual cortex? *Soc. Neurosci. Abstr.* 20, 134 (1994).
- [4] Hirata, A., Maldonado, P., Gray, C. and Ito, H., Unitary Event Analysis of Synchronous Activities in Cat LGN. in *The neural basis of early vision*, A. Kaneko ed. (Springer-Verlag, Tokyo, 2003), 190-193.
- [5] Ito, H., Maldonado, P.E., and Gray, C.M. How stable are synchronous oscillations in the lateral geniculate nucleus? *Soc. Neurosci. Abstr.* #856.2 (2005).
- [6] Ito, H. Bootstrap significance test of synchronous spike events – A case study of oscillatory spike trains -. *Statistics in Medicine*, vol.26, 3976-3996 (2007).