

非ガウス型カルマンフィルタを用いた細胞内 Ca^{2+} 濃度の統計的推定 Statistical estimation for intracellular Ca^{2+} concentration by Non-Gaussian Kalman filter

角田 敬正 (PY)[†], 大森 敏明^{††,†††}, 宮川 義博^{††††}, 岡田 真人^{††,†††}, 青西 亨^{†,††}

Takamasa Tsunoda(PY), Toshiaki Omori, Masato Okada, and Toru Aonishi

[†] 東京工業大学大学院総合理工学研究科 ^{††} 独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター

^{†††} 東京大学大学院新領域創成科学研究所 ^{††††} 東京薬科大学生命理工学研究科

tsunoda@acs.dis.titech.ac.jp

Abstract— We propose a statistical estimation method of intracellular Ca^{2+} concentration from the fluorescence intensity data of Calcium imaging. We set up the models describing dynamics of Calcium indicator dye and Calcium ion, and derived a Non-Gaussian Kalman filter. We demonstrated efficacy of our algorithm by numerical simulation. Finally, we present a hyper-parameters (noise variance etc.) estimation method based on the EM algorithm.

Keywords— Calcium imaging, statistical estimation, Non-Gaussian Kalman filter, intracellular Ca^{2+} concentration

1 導入

近年、バイオイメージング技術の発展を経て、神経活動に伴うイオン動態の研究が活発に行われている。とりわけカルシウムイメージングは、カルシウムイオンが果たす機能的な役割の重要性から、特に盛んである。しかし、繊細な光の変化をとらえるバイオイメージングの問題として、蛍光強度データに看過できない大きさのノイズが乗ることや、観測される物理量はカルシウムイオンの濃度ではなくあくまで蛍光強度であることなどが挙げられる。今回われわれは、この問題を解決する手段として、カルシウムイメージングをカルマンフィルタの枠組みに当てはめ、細胞内カルシウムイオン濃度の精密な推定を行うアルゴリズムを提案する。

2 提案手法

2.1 Ca イメージングシステムのモデル化

カルシウムイメージングを、以下のように 3 つの過程に分ける。

1. 細胞内でのカルシウムイオン Ca^{2+} とカルシウムバッファ (calmodulin, カルシウム受容タンパク質) との結合 / 解離による “ Ca^{2+} ダイナミクス”。
2. 遊離 Ca^{2+} と Ca^{2+} 指示色素との結合 / 解離による “色素ダイナミクス”。
3. 色素が励起光にあたり CCD カメラで蛍光強度データとして観測される “観測過程”。

3 者は状態空間モデルとすると、図 1 に示すように Ca^{2+} ダイナミクスを “システムモデル”，色素ダイナミクスおよび観測過程を “観測モデル” と分けられる。ここで強調したいのは細胞内での Ca^{2+} の確率的挙動と観測過程で付加されるノイズを、システムノイズと観測ノイズとして適切に考慮している点である。

Ca^{2+} ダイナミクスの過程をモデル化すると、

$$\frac{d[\text{Ca}^{2+}]_i(t)}{dt} = -\tilde{\gamma}[\text{Ca}^{2+}]_i(t) + \tilde{J} + \tilde{\sigma}w(t) \quad (1)$$

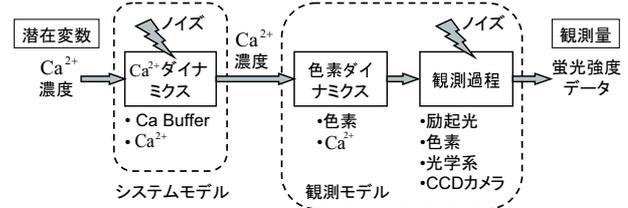


図 1: Ca イメージングシステム。細胞内での Ca^{2+} とバッファの化学結合の確率的挙動が “ Ca^{2+} ダイナミクス” によって記述され、その Ca^{2+} について、色素との化学結合が “色素ダイナミクス” によって記述される。そして Ca^{2+} と結合した色素と遊離した色素それぞれが、励起光によって励起され蛍光として CCD カメラでとらえられる。この過程でもノイズが付加されるとする。このようなシステムを経た結果、潜在変数である Ca^{2+} 濃度が、観測量である蛍光強度データになる。

となる。ここで、 $[\text{Ca}^{2+}]_i(t)$ は時刻 t における細胞内 Ca^{2+} 濃度 (M), $1/\tilde{\gamma}$ は流出の時定数 (sec), \tilde{J} は流入量 (M/sec), $\tilde{\sigma}$ はノイズ強度、そして $w(t) \sim \mathcal{N}(0, 1)$, $\langle w(t)w(s) \rangle = \delta_{t,s}$ である。時刻を離散化して、適宜スケール変換し、確率密度関数として記述すると下式になる。

$$P(C_{n+1}|C_n) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left(-\frac{1}{2\sigma} (C_{n+1} - \gamma C_n - J)^2\right) \quad (2)$$

次に、色素ダイナミクスをモデル化すると、

$$\frac{d[F](t)}{dt} = -\alpha[F](t)[\text{Ca}^{2+}]_i(t) + \beta(F_T - [F](t)) \quad (3)$$

となる。 $[F](t)$ は色素濃度 (M), F_T は全色素濃度 (M) である。

ここで遊離 Ca^{2+} と色素との化学反応は迅速に平衡に達すると仮定する。これは一般によく使われる仮定である。

$$[F](t) = \frac{K_d F_T}{[\text{Ca}^{2+}]_i(t) + K_d}, \quad K_d = \frac{\beta}{\alpha} \quad (4)$$

K_d は Ca^{2+} と F の解離定数 (M) である。

最後に、観測過程をモデル化すると、

$$y(t) = S_b(F_T - [F](t)) + S_f[F](t) + \rho v(t) \quad (5)$$

となる。ここで、 $y(t)$ は蛍光強度データ、 S_b は Ca^{2+} と結合した F が出す蛍光量 (M^{-1}), S_f は遊離した F が出す蛍光量 (M^{-1}), ρ はノイズ強度、そして $v(t) \sim \mathcal{N}(0, 1)$, $\langle v(t)v(s) \rangle = \delta_{t,s}$ である。

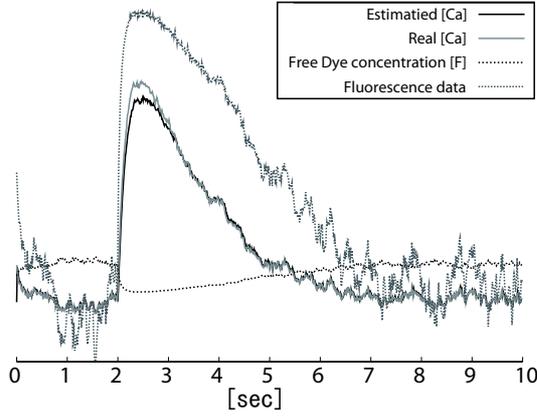


図 2: シミュレーション結果. Real [Ca] は, 式 (1) の \bar{J} を alpha 関数状の流入とした時の $[Ca^{2+}]_i$. Free Dye concentration [F] は, $[Ca^{2+}]_i$ と式 (4) によって得られた遊離色素濃度 [F]. Fluorescence data は, [F] と式 (5) によって得られた蛍光強度データ y_n . Estimated [Ca] は, 提案アルゴリズム (式 (8),(9),(10)) による, y_n から $[Ca^{2+}]_i$ の推定量.

式 (4) を用い, 式 (5) を $y(t)$ と $[Ca^{2+}]_i(t)$ の方程式とし, 時刻を離散化して適宜スケール変換を行い, 確率密度関数として記述すると下式が得られる.

$$P(y_n|C_n) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\rho^2}} \exp\left(-\frac{1}{2\rho^2} \left(y_n - A - \frac{B}{C_n + 1}\right)^2\right) \quad (6)$$

ところで, 尤度 (式 (6)) を最大にする C_n を考えると,

$$C_n = \frac{[Ca^{2+}]_i}{K_d} = \frac{y_n - B - A}{A - y_n} = \frac{y_n - S_f F_T}{S_b F_T - y_n} \quad (7)$$

となり, これは従来手法そのものである. つまり, 提案手法は従来手法を内包した統計的推定になっている.

2.2 非ガウス型カルマンフィルタ

式 (4),(5) によって得られる分布 $P(C_{n+1}, \dots, C_1|C_0)$, および $P(y_{n+1}, \dots, y_0|C_{n+1}, \dots, C_0)$ についてベイズの定理を用いることにより, 事後確率密度関数 $P(C_{n+1}, C_n, \dots, C_0|y_{n+1}, \dots, y_0, \Theta)$ が導出される. (ただし Θ はハイパーパラメータの集合で $\Theta = (A, B, \gamma, J, \rho^2, \sigma^2)$ である.)

ここで, 離散時刻 0 から $n+1$ までの蛍光データ $\{y_0, \dots, y_{n+1}\}$ から, 同じく離散時刻 $n+1$ でのカルシウムイオン濃度 C_{n+1} を推定するために, 事後確率密度関数の C_n, \dots, C_0 を周辺化する. この際に, C_n から C_0 までの周辺化の積分計算を信念伝搬法により行うと, 周辺化事後確率密度関数は以下の繰り返し計算で表現できる.

$$W_{k+1}(C_{k+1}) = P(y_{k+1}|C_{k+1}) \cdot \int dC_k P(C_{k+1}|C_k) W_k(C_k) \quad (8)$$

$$W_0(C_0) = P(y_0|C_0) \quad (9)$$

$$P(C_{n+1}|y_{n+1}, \dots, y_1, \Theta) = \frac{1}{Z_{n+1}} W_{n+1}(C_{n+1}) \quad (10)$$

式 (4) に注目すると, ガウス分布に従う C_n が分母にきて $B/(C_n + 1)$ となり y_n 自体は非ガウス型の分布に従うことが見て取れる. よって式 (10) は非ガウス型の

分布になる. つまり結局式 (8),(9),(10) はカルマンフィルタを非ガウス型分布に拡張した非ガウス型カルマンフィルタである.

2.3 シミュレーション

上述した推定アルゴリズムの有効性を検証するためシミュレーションを行った. まず真の分布として, alpha 関数 ($f(t) = f_{max} t / \tau_s \cdot \exp(1 - t/\tau_s)$) の軌跡を描く Ca^{2+} 濃度を仮定し, 式 (1),(4),(5) としてモデル化した Ca イメージングシステムから蛍光強度データを得る. そして, その蛍光強度データより式 (8),(9),(10) に示した非ガウス型カルマンフィルタで, 各時刻の $[Ca^{2+}]_i$ 事後確率分布を計算する. この際, ハイパーパラメータ $\Theta = (A, B, \gamma, J, \rho^2, \sigma^2)$ は既知とした. そして事後確率最大化法により, 事後確率分布から推定量 $[Ca^{2+}]_i$ を得る. 図 2 に結果を示す. 図中の Real [Ca], Estimated [Ca] から, 十分な精度で $[Ca^{2+}]_i$ 推定が行えることが分かる.

3 EM アルゴリズムによるハイパーパラメータ推定

実際に生理実験の蛍光強度データから $[Ca^{2+}]_i$ を推定する際はノイズ強度などのハイパーパラメータは未知であるため, これも蛍光データから推定する必要がある.

推定には EM アルゴリズムを用い, 推定する全ハイパーパラメータは $\Theta = (A, B, \gamma, J, \rho^2, \sigma^2)$ とする. このとき EM アルゴリズムの Q-関数は,

$$Q(\Theta|\Theta') = \int \prod_{i=0}^{n+1} dC_i P(C_{n+1}, \dots, C_0|y_{n+1}, \dots, y_0, \Theta') \cdot \ln \prod_{k=0}^n G_k(C_{k+1}, C_k, y_{k+1}|\Theta) G_{-1}(C_0, y_0|\Theta) \quad (11)$$

であり, $G_k(C_{k+1}, C_k, y_{k+1}|\Theta)$, $G_{-1}(C_0, y_0|\Theta)$ は,

$$G_k(C_{k+1}, C_k, y_{k+1}|\Theta) = \frac{1}{2\pi\sqrt{\rho^2\sigma^2}} \cdot \exp\left(-\frac{1}{2\rho^2} \left(y_{k+1} - A - \frac{B}{C_{k+1} + 1}\right)^2 - \frac{(C_{k+1} - \gamma C_k - J)^2}{2\sigma^2}\right) \quad (12)$$

$$G_{-1}(C_0, y_0|\Theta) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\rho^2}} \exp\left(-\frac{1}{2\rho^2} \left(y_0 - A - \frac{B}{C_0 + 1}\right)^2\right) \quad (13)$$

である. パラメータ Θ' のもと観測量 y_n から $Q(\Theta|\Theta')$ を最大にする Θ を求める. そして $\Theta' = \Theta$ として $|\Theta' - \Theta|$ が収束するまで試行を繰り返す.

4 結論

今回われわれは, カルシウムイメージングの蛍光強度データから実際の Ca^{2+} 濃度を推定するために, Ca^{2+} 自体の確率的挙動と観測過程でのノイズを適切に考慮したモデルをたて, 非ガウス型カルマンフィルタによる細胞内 Ca^{2+} 濃度推定アルゴリズムを構築した. ハイパーパラメータを既知とした 2.3 のシミュレーションでは, 提案した理論的な枠組みで高精度の Ca^{2+} 推定が行えることを示せた. また, 実際の生理データで推定を行う際重要になるハイパーパラメータの推定は EM アルゴリズムで実現した.

参考文献

- [1] S. Roweis and Z. Ghahramani (1999) Neural Comput, **11**, 305-345.
- [2] C. Koch and I. Segev (ed.) (1998) "Methods in neuronal modeling", MIT Press.