

基于图论算法的脊髓损伤后大脑皮层运动区神经元网络分析

霍炎^{1,2}, 栗苹¹, Chaolin MA², Hang ZHANG², Jiping HE²

1. 北京理工大学机电学院, 北京 100081
2. 亚利桑那州立大学神经接口设计中心, 美国坦普 85281

摘要 脊髓损伤(SCI)后大脑皮层运动区神经元的功能重组对机体功能康复的影响仍然不为人知。脊髓损伤前后,对一只在跑步机上直立行走的恒河猴的大脑皮层运动区神经元信号进行记录,利用不同神经元动作电位序列间的相关系数建立神经元网络图。为了研究神经元活动模式的变化与功能康复之间的联系,利用图论算法计算了神经元网络图的全局效能指标和神经元脆弱性指标。结果显示,不同时期神经元活动模式的显著变化意味着运动区神经元的功能重组(神经可塑性)与脊髓损伤后猴子的功能康复状态紧密相关,且这种神经功能重组对于猴子步行功能的康复起了非常重要的积极作用。

关键词 脊髓损伤; 大脑皮层运动区; 神经元网络图; 功能重组

中图分类号 Q819

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2012.12.002

Graph Analysis for the Motor Cortical Neuron Network Post Spinal Cord Injury

HUO Yan^{1,2}, LI Ping¹, MA Chaolin², ZHANG Hang², HE Jiping²

1. School of Mechanical Engineering, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China
2. Center for Neural Interface Design, Arizona State University, Tempe 85281, AZ, USA

Abstract The impact of the potential functional reorganization in neuronal populations in motor cortical areas during the functional recovery post a Spinal Cord Injury (SCI) remains unclear. In this study, the cortical neuronal data were recorded from a monkey while it was trained to walk bipedally on a treadmill both before and after the spinal cord injury. A neuronal network graph for multiple steps in different sessions was constructed by using the correlation coefficients between different neurons. The global efficiency and the vulnerability of the graph were then evaluated to reveal the intrinsic relation between the changes of the neuronal activity patterns and the functional recovery. The preliminary results indicate that the observed significant changes in the neuronal activity patterns in the motor cortex suggest that the patterns of the functional reorganization (neural plasticity) in the motor areas of the cortex are correlated and they make contributions to the functional recovery.

Keywords spinal cord injury; motor cortex; neuronal network graph; functional reorganization

0 引言

脊髓是中枢神经系统的重要组成部分,也是大脑和外周神经之间的通路。脊髓损伤(Spinal Cord Injury, SCI)会导致人体机能的严重缺失甚至死亡,对人类的生活质量有严重影响^[1]。用于脊髓损伤研究的动物模型有很多种,本研究使用灵长类动物模型(Non-Human Primates, NHP),相比啮齿类等其他经常

被使用的动物模型来讲,灵长类动物模型因其具有与人类极其相似的中枢神经系统结构和行为而具备其他动物模型不可比拟的独特优势^[2]。

近年来,基于图论理论对复杂网络进行定量分析已经被应用到大脑网络结构的研究中^[3-5],然而,很少有研究利用图论理论进行神经网络的研究^[6-7]。截止到目前,未发现利用

收稿日期: 2011-11-04; 修回日期: 2012-03-30

作者简介: 霍炎, 博士研究生, 研究方向为多维神经元信号分析, 电子邮箱: huoyan1107@163.com; 栗苹(通信作者), 教授, 研究方向为数字信号处理, 电子邮箱: liping85@bit.edu.cn; Jiping HE(通信作者), 教授, 研究方向为神经控制理论、神经接口技术以及机器人与虚拟现实, 电子邮箱: jiping.he@asu.edu

图论理论进行大脑皮层运动区神经元数据分析的先例。

本研究利用图论理论对恒河猴脊髓损伤前后不同时期在跑步机上双足直立行走时记录的大脑皮层运动区神经元活动数据进行分析。结果表明,在代表了右下肢的脑皮层区域,神经元的活动模式在脊髓损伤后的确发生了改变,更重要的是,通过对比脊髓损伤前后的数据,定量地展示了即使在步态的不同阶段,神经元同样能够通过重组使神经元网络的拓扑属性发生变化。

1 实验被试与方法

1.1 实验被试

本实验对象是一只雄性恒河猴(Macaca Mulatta Monkey) Hippie,重约 8kg。它被安置在一个实验室动物护理评估与鉴定委员会认可的玻璃猴舍中,并与其他同类共用一块玩耍区域。整个实验过程完全符合美国公共健康组织关于实验性动物的使用和人道主义关怀方面的政策,而且得到了动物保护和使用的批准。

1.2 实验设计

在脊髓损伤手术前后实验被试都接受了直立行走的训练,训练以及实验过程在一台经过特殊设计和改造过的跑步机上进行,行走过程中实验被试可以通过手臂处的支撑装置支撑部分的身体重量。在整个实验过程中,通过长期植入实验被试大脑皮层运动区代表右下肢区域的微电极阵列、皮下的肌肉电极束和同步的视频采集设备,分别实时记录到了大脑皮层神经元的动作电位信号(Spike)、腿部肌肉的肌电信号(EMG)和行走过程中下肢的运动学信号(Kinematics)。

1.3 手术过程

实验被试分别经历了 3 个主要的手术过程,每次手术和实验评估过程中都保证有 3—4 周的时间间隔。

首先,对实验被试进行皮下肌肉线电极的植入手术,该电极可以在其做双足直立行走运动时采集腿部 8 块肌肉的肌电信号。

随后,为了在实验被试行走过程中采集到大脑皮质运动区的神经元活动信号,在其脑皮层运动区代表下肢的区域长期植入一块微电极阵列。

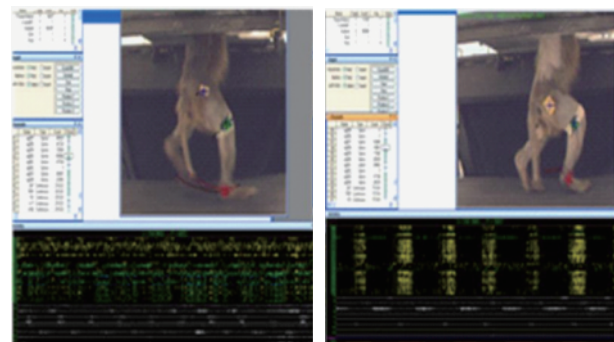
最后,从前述的手术过程中恢复后,实验被试接受了脊椎 T8 节水平的脊髓半横断手术,手术在其脊髓的右半侧制造了一个约 4mm 的缝隙。为了提供结构上的支撑并且降低手术带来的二次损伤的可能性,从猴子的左腿取得了一些 5—6mm 长的腓肠神经段填充到了手术造成的两个残段中间的缝隙中。随后使用一种含有酸性成纤维细胞生长因子(Acid Fibroblast Growth Factor, aFGF)的纤维蛋白混合物来减少二次损伤和继发的神经变性(Nerve Degeneration)。

1.4 数据采集与分析

1.4.1 数据采集

图 1(a)为实验被试手术前进行实验以及数据记录的界

面图,图 1(b)为其手术后 12 周的实验界面。实验被试实验时的视频截图下方是记录到的神经元的运动电位信号,每一排数据流(黄点)即是一个神经元的动作电位信号,每一个点代表该神经元在该时刻拥有一个动作电位,共记录到不少于 30 个神经元信号。神经元信号的下方是采集于 8 块腿部肌肉的肌电信号。图中视频截图的时刻对应的是下方数据流的中点时刻。



(a) (b)

图 1 脊髓损伤前(a)和脊髓损伤后 12 周(b)的数据记录界面

Fig. 1 Data collection before (a) and 12 weeks after spinal cord surgery (b)

共分析了 3 个时期的神经元信号,分别是手术前、术后 4 周和术后 8 周。所有数据均在实验被试步行速度为 1.0m/h 的情况下取得的,在这一步行速度下取得了足够的用以数据分析的相关数据。

在每组数据中根据同步记录的视频信息挑出了右脚的 30 个合格的典型步态数据。数据分析时,将不同试验时间微电极阵列探测到的具有相同索引的神经元认为是同一神经元。对比 3 个实验阶段,发现了 4 个相同的神经元,但 4 个神经元从数量上并不足以建立神经网络来进行分析,故将 3 个试验阶段两两进行比对获取公共神经元从而建立神经网络,并利用图论理论进行分析。在术前和术后 4 周两个试验阶段总共发现了 6 个公共神经元,在术后 4 周和术后 8 周两个阶段发现了 17 个公共神经元。

对于实验被试的每一步来说,选取的时间阶段分别是站立阶段开始前的 0.2s 至站立阶段的起始时刻,站立阶段起始至之后的 0.4s; 手术后的实验数据取站立阶段之后的 0.6—1.0s(手术前的实验数据取站立阶段之后的 0.65—1.05s),这 3 段时间间隔分别对应一个步态中的下踏阶段、站立阶段和上摆阶段。

1.4.2 神经元之间的相关性分析

本文使用皮尔森相关系数(Pearson Correlation Coefficient)衡量一对给定的神经元之间的相关性。为了得到神经元动作电位序列之间的相关系数矩阵,首先使用一组连续的 20ms 的时间统计堆栈窗口将每一个神经元的动作电位信号转化

为一个时间序列,每个数字代表了在该窗口中的动作电位的数目,利用这些时间序列计算神经元之间的皮尔森相关系数 $\rho_{X,Y}$,这里的 X,Y 分别是两个神经元的平均动作电位序列。

方程(1)给出的是两个神经元之间的皮尔森相关系数 $\rho_{X,Y}$ 的定义,其中 $\sigma_X\sigma_Y$ 为这两组序列的标准差的乘积, $\text{cov}(X,Y)$ 为两组序列的协方差。

$$\rho_{X,Y} = \frac{\text{cov}(X,Y)}{\sigma_X\sigma_Y} \quad (1)$$

对得到的相关系数矩阵应用 Fisher's r -to- z 变换以改善其正态性,这样,转化后的整体数据分布更接近正态分布。

1.4.3 图论分析

为了调查神经元的网络效能,首先对上一节得到的经过 Fisher's r -to- z 变换的相关系数矩阵施加一个相关系数阈值 T ,由此可以得到一个 $N \times N$ 的无指向性的权重图 G ,该权重图由多个节点(公共神经元)和它们之间无指向性的边界(功能性连接)组成。定义权重图 G 中各个节点间的连接强度为

$$a_{ij} = \begin{cases} |z(i,j)| & |z(i,j)| \geq T \\ 0 & \text{其他} \end{cases} \quad (2)$$

即如果 i,j 之间的功能连接强度的绝对值大于给定的阈值 T ,则 i,j 之间存在功能连接, i,j 之间的边存在,功能连接的强度即为 $z(i,j)$ 的绝对值;若否,则不存在功能连接,连接强度为 0,即 i,j 之间不存在边。

神经元网络的全局效能(Global Efficiency) E_{global} 定义为网络中任意两个节点间最短路径长度的调和平均值的倒数(调和逆),该参数是一个用来衡量信息在网络中传递快慢的一个全局指标^[8-10],即

$$E_{\text{global}} = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{i \neq j \in A} \frac{1}{L_{i,j}} \quad (3)$$

$L_{i,j}$ 是从第 i 个节点到第 j 个节点的最短路径(即从第 i 个节点到第 j 个节点所经过的最少的边数)。

网络脆弱性分析(Vulnerability)能够定量地识别在保证整个神经元网络能够正常运行的情况下,哪一个或者哪些神经元是最关键或者说是必不可少的,为研究系统中不同节点的重要程度提供可靠的量化信息^[11-12]。

通过网络的全局效能指标,可以将第 i 个节点的网络脆弱性 V_i 定义成当把第 i 个节点以及与它直接相连的所有节点之间的边移除掉之后,得到的新网络和原网络相比在全局效率指标上下降的比例^[8,13],即

$$V_i = \frac{E_{\text{global}} - E_{\text{global}}^i}{E_{\text{global}}} \quad (4)$$

这里, E_{global} 和 E_{global}^i 分别代表原网络和移除第 i 个节点以及与其相连的所有边之后的新网络的全局效能。 V_i 值越大,说明该节点在网络中的作用越大^[14]。

1.4.4 统计分析

针对不同组选择了一定范围的相关系数阈值 T ,对计算得到的 E_{global} 和 V_i 等参数进行了双尾双样本的 t 检验。测试所选取的显著水平阈值为 0.05, $P < 0.05$ 被认为是区别显著的。

2 结果

2.1 脊髓损伤前后实验被试大脑皮层运动区的 4 个公共神经元的光栅图和直方图分析

图 2 为实验被试不同时期公共神经元的光栅图(左列子图)和对应的直方图(右列子图),其中公共神经元的光栅图包括了 30 步的公共神经元动作电位数据。数据取实验被试在步行过程中右脚站立阶段的起始时刻作为零点,这一时刻(红色竖虚线)即为右脚开始接触跑步机表面的瞬间,图中的紫色竖线代表的是右脚离开跑步机的平均时刻(即为平均站立阶段的结束时刻),而紫色实线旁边的两条蓝色的竖虚线代表了 ± 1 的标准差。从图 2 可以清楚地观察到,4 个公共神经元在实验被试脊髓受伤之前的步行过程中表现出了多变的放电模式,并没有明显的规律,但是在脊髓损伤之后,这 4 个神经元表现出了越来越高的同步放电模式,且这种同步模式集中体现在站立阶段。

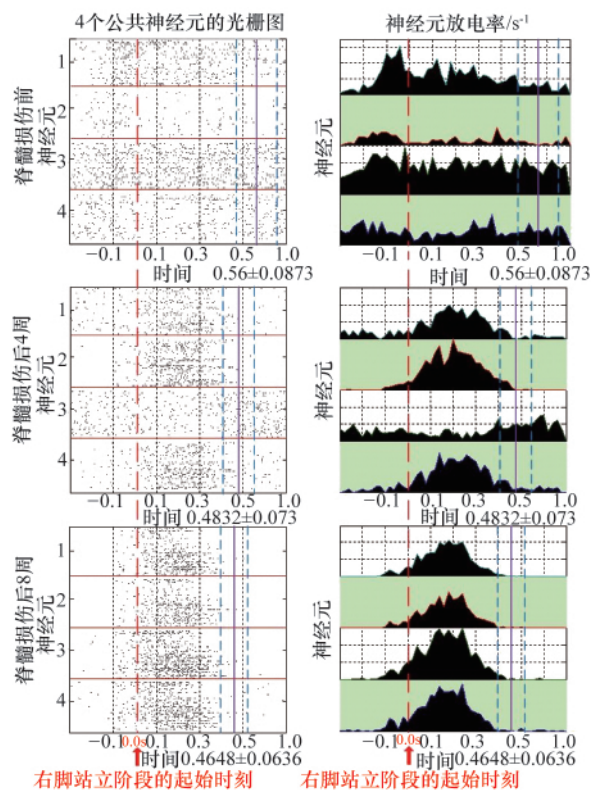


图 2 脊髓损伤前后脑皮质运动区神经元活动的变化: 逐渐增强的神经元集群动作的同步性

Fig. 2 Changes in motor cortical neuron activities: Increased synchronization of population activity patterns

2.2 不同时期公共神经元间的相关性对比

图 3(a)、3(b)展示了手术前和手术后 4 周 6 个公共神经元的皮尔森相关系数矩阵;图 3(c)、3(d)分别为术后 4 周和术后 8 周共 17 个公共神经元之间的平均相关系数矩阵。每个子图分别代表一个 $N \times N$ (N 为公共神经元个数) 方阵,矩阵的每一个元素代表了两个神经元放电活动间的相关性强度,

不同的数值用不同颜色的方块表示,不同颜色所代表的强度值由每个子图旁边的颜色棒表示。

从图 3 可以清楚地看出,脊髓损伤前神经元放电之间的相关性比较弱,这可能是由于脊髓损伤前这种简单重复性的步行主要由位于脊髓的中央模式发生器 (Central Pattern Generators, CPGs) 产生。在实验被试接受脊髓损伤手术之后,神经元之间的相关性变得越来越大。在术后 4 周已经出现了一些相关程度较高的神经元,脊髓损伤后 8 周,几乎所有的神经元都表现出了非常强的相关性。

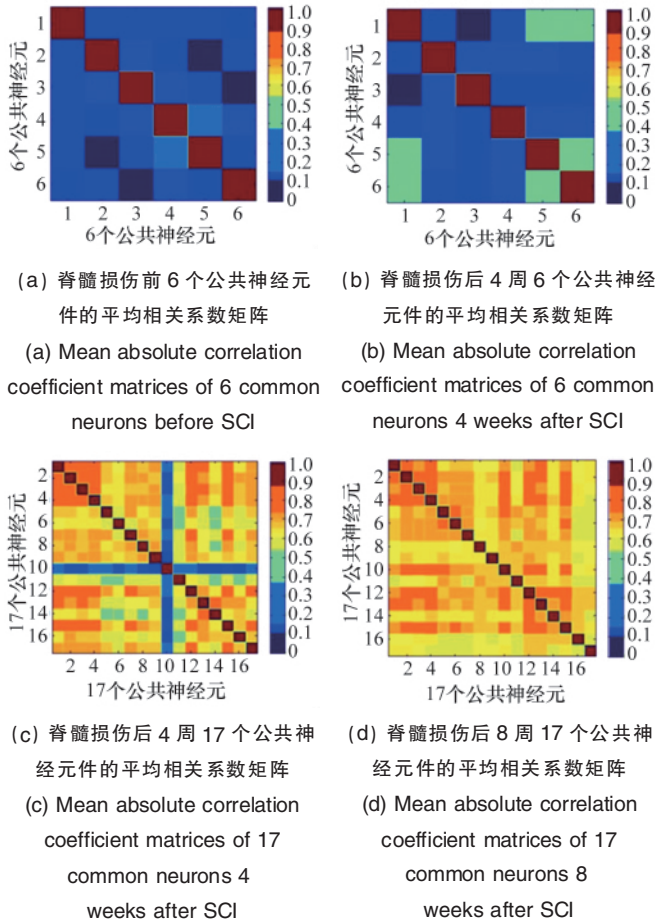


图 3 不同时期的脑皮质运动区神经元间平均相关系数矩阵
Fig. 3 Mean absolute correlation coefficient matrices of motor cortical neurons for different sessions

2.3 不同时期公共神经元的平均全局效能对比

图 4 为公共神经网络不同步态阶段的全局效能指标示意图。其中,图 4(a)、4(b)分别为脊髓损伤前和损伤后 4 周基于 6 个公共神经元计算出的平均全局效能指标,图 4(c)、4(d)分别为损伤后 4 周和 8 周的 17 个公共神经元的全局效能变量。

手术前,猴子下踏阶段的平均全局效能指标值要明显高于站立阶段,然而,站立阶段和上摆阶段的平均全局效能指标值没有明显区别。损伤后 4 周,在阈值区间 $0 \leq T \leq 0.3$ 内,站立阶段的全局效能指标变得明显高于下踏过程,而在

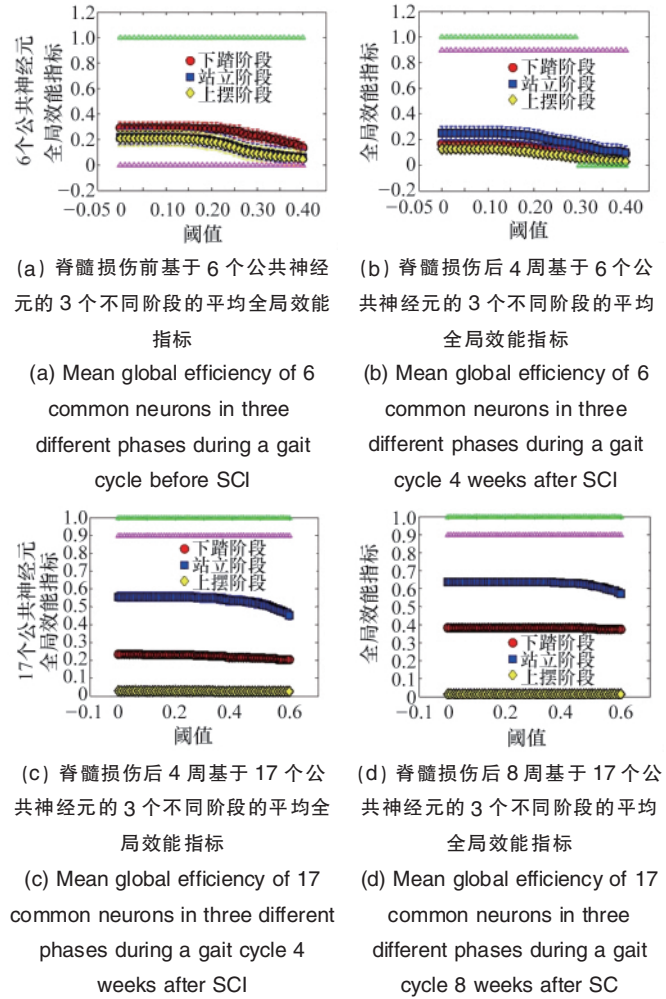


图 4 不同时期实验步态中 3 个不同阶段的平均全局效能
Fig. 4 Mean global efficiency of three different phases during a gait cycle in different sessions

注:红色圆圈、蓝色方块、黑色的星形分别代表了下踏阶段、站立阶段和上摆阶段,它们是不同的相关系数阈值 T 下的平均全局效率。误差棒(差距条状图)代表了该组数据的标准差。绿色的三角形表明在该相关系数阈值下下踏阶段和站立阶段的平均全局效率之间的差异是显著的 (t -test, $P < 0.05$),同理,洋红色的三角形代表该相关系数阈值下站立阶段和上摆阶段的平均全局效率之间的差异是显著的 (t -test, $P < 0.05$)。

Notes: The red circles, the blue squares and the black stars, correspond to the stepping down phase, the stance phase and the stepping up phase respectively, and they are the mean values of the mean global efficiency as a function of threshold T . Error bars correspond to standard error of the mean. The green triangles indicate where the difference between the stepping down phase and the stance phase is significant (t -test, $P < 0.05$). Similarly, the magenta triangles indicate where the difference between the stance phase and the stepping up phase is significant (t -test, $P < 0.05$).

整个的研究阈值区间内,站立阶段的全局效能指标值也明显高于上摆过程。对于损伤后 4 周和 8 周,17 个公共神经元表

现出了相同的活动模式, 站立阶段总是在考察区间内拥有最高的全局效能指标, 随后是下踏阶段, 上摆阶段的全局效能指标值最小, 且所有的区别经过统计检验是显著的。唯一的不同在于, 站立阶段和下踏阶段的全局效能指标随着康复的进行逐渐增加, 而上摆过程的全局效能指标值却逐渐下降。

2.4 不同时期公共神经网络的拓扑脆弱性研究

图 5 显示了每个时期公共神经元的脆弱性研究结果。红色圆圈、蓝色方块和黄色菱形分别代表了下踏阶段、站立阶段和上摆阶段每个神经元的脆弱性指标, 误差棒 (差距条状图) 代表标准差。绿色的三角形表明该神经元在下踏阶段和站立阶段的脆弱性差异是显著的 (t 检验, $P < 0.05$); 洋红色三角代表了站立阶段和上摆阶段的神经元脆弱性差异的显著性 (t 检验, $P < 0.05$)。

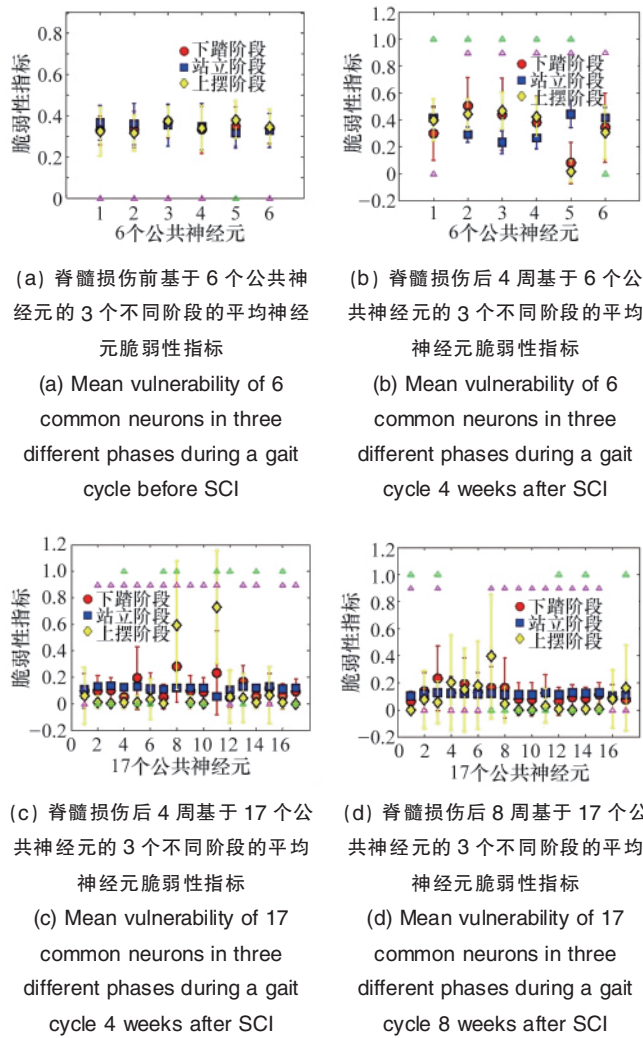


图 5 不同时期、不同步态阶段的平均神经元脆弱性
Fig. 5 Mean vulnerability of three different phases during a gait cycle in different sessions

文中平均神经元脆弱性是 30 组神经元脆弱性的均值。较高的神经元脆弱性表明该神经元在整个神经网络中起着

较重要的作用 (即如果该神经元受到攻击和影响, 则对整个神经网络产生较大的影响)。脊髓损伤前, 6 个公共神经元不管在神经元之间还是在步态的不同阶段都表现出了几乎相同的脆弱性, 然而神经元的脆弱性在脊髓损伤后 4 周产生了明显的波动, 6 个公共神经元中的 5 个在下踏阶段和站立阶段表现出神经元脆弱性差异的显著性; 同样 5 个神经元在站立阶段和上摆阶段的脆弱性差异是显著的。对损伤后 4 周和 8 周进行考察发现, 损伤后 4 周, 17 个公共神经元中分别有 7 个在下踏阶段和站立阶段、14 个在站立阶段和上摆阶段表现出神经元脆弱性的显著差异, 而这一数字在脊髓损伤后 8 周分别变成了 5 和 11。

3 讨论与结论

对于灵长类动物的脊髓损伤模型来说, 本文结论说明神经网络的拓扑属性不仅仅随着康复的进行而变化, 而且在同一时期步态的不同阶段也发生着改变。该结果显示一只健康猴子脑皮层运动区神经网络在步态的下踏阶段 (就在脚接触跑步机皮带表面前) 取得了最高的全局效能指标, 这可能是由于在脊髓损伤前, 尽管位于脊髓的中央模式发生器能够产生基本的步行运动, 但由于双足直立行走毕竟不是作为四足行走动物偏爱的活动方式, 而且跑步机的行走环境和外界环境相差较大, 这时实验被试需要合理而精确地在脚着地前控制自己脚部从而不至于摔倒, 这一实验结果与 Friel^[15] 和 Hultborn^[16] 等得到的实验结论是一致的。在脊髓损伤后, 神经网络的拓扑属性发生了改变, 站立阶段神经网络的全局效能指标变为最高, 而且下踏阶段和站立阶段的全局效能指标随着术后康复的进行变得越来越高。上摆阶段的全局效能指标不仅在 3 个阶段中最低, 而且随着时间的推移变得越来越低。因此推测, 脊髓此时仍然有能力产生基本的步态节奏, 但是在伤侧腿的承重和推动身体向前行进这一阶段的步态单纯地依靠脊髓来独立完成几乎不可能, 这时候就需要运动区神经元控制的介入, 这些阶段越来越强的神经网络全局效能指标恰恰证明了这一假设。

此外, 神经元脆弱性分析结果表明: 手术前, 不同神经元的脆弱性相当, 同一神经元在步态的不同阶段脆弱性的差异也不显著, 尽管经历了术后 4 周结果显示的短期波动, 但是到了术后 8 周, 神经元之间又呈现出一种恢复平均脆弱性的趋势。因此推测: 首先, 本文所考察的神经元都参与到了脊髓损伤后对步态的控制和调整中来; 其次, 所采集的来自于同一脑区的神经元在功能和重要性上是极其类似的。

本研究率先将图论理论应用到了大脑皮层运动区神经元信号的分析中。结果表明, 运动区神经网络的拓扑属性在脊髓损伤后发生了变化, 几乎所有的神经元都重新调整了自身的活动模式并参与到术后的步态控制中来, 使得神经网络的功能发生了重塑, 信息在网络中的传递速度和效率也变得更高了。因此有理由相信, 图论理论完全可以应用到类

似的神经网络分析中来,而且对于大量神经元的放电这种极其复杂的现象,图论提供了一种有效、简单而系统的建模方式,其中大量的参数也能够为我们多方面、多角度地了解神经网络的拓扑属性提供参考。

参考文献 (References)

- [1] Thuret S, Moon L D F, Gage F H. Therapeutic interventions after spinal cord injury[J]. *Nature Rev Neurosci*, 2006, 7: 628-643.
- [2] Courtine G, Bunge M B, Fawcett J W, et al. Can experiments in nonhuman primates expedite the translation of treatments for spinal cord injury in humans?[J]. *Nat Med*, 2007, 13: 561-566.
- [3] Bullmore E, Sporns O. Complex brain networks: Graph theoretical analysis of structural and functional systems [J]. *Nature Rev Neurosci*, 2009, 10: 186-198.
- [4] Boccaletti S, Latora V, Moreno Y, et al. Complex networks: Structure and dynamics[J]. *Phys Rep*, 2006, 424: 175-308.
- [5] Micheloyannis S, Pachou E, Stam C J, et al. Small-world networks and disturbed functional connectivity in schizophrenia [J]. *Schizophr Res*, 2006, 87(1-3): 60-66.
- [6] Bettencourt L M A, Stephens G J, Ham M I, et al. Functional structure of cortical neuronal networks grown *in vitro* [J]. *Phys Rev E*, 2007, 75(2): 021915.
- [7] Yu S, Huang D, Singer W, et al. A small world of neuronal synchrony[J]. *Cereb Cortex*, 2008, 18 (12): 2891-2901.
- [8] Costa L da F, Rodrigues F A, Traverso G, et al. Characterization of complex networks: A survey of measurements [J]. *Adv Phys*, 2007, 56(1): 167-242.
- [9] Iturria-Medina Y, Sotero R C, Canales-Rodriguez E J, et al. Studying the human brain anatomical network via diffusion-weighted MRI and graph theory[J]. *NeuroImage*, 2008, 40(3): 1064-1076.
- [10] Achard S, Bullmore E. Efficiency and cost of economical brain functional networks[J]. *PLoS Comput Biol*, 2007, 3: 0174-0183.
- [11] Latora V, Marchiori M. Efficient behavior of small-world networks[J]. *Phys Rev Lett*, 2001, 87(19): 198701.
- [12] Latora V, Marchiori M. Economic small-world behavior in weighted networks[J]. *Eur Phys J B*, 2003, 32: 249-263.
- [13] Newman M E, Park J. Why social networks are different from other types of networks[J]. *Phys Rev E*, 2003, 68: 036122.
- [14] Iturria-Medina Y, Sotero R C, Canales-Rodriguez E J, et al. Studying the human brain anatomical network via diffusion-weighted MRI and graph theory[J]. *NeuroImage*, 2008, 40(3): 1064-1076.
- [15] Friel K M, Drew T, Martin J H. Differential activity-dependent development of cortico spinal control of movement and final limb position during visually-guided locomotion[J]. *J Neurophysiol*, 2007, 97 (5): 3396-3406.
- [16] Hultborn H, Nielsen J B. Spinal control of locomotion—from cat to man [J]. *Acta Physiol: Oxf*, 2007, 189(2): 111-121.

(责任编辑 马宇红,代丽)

·学术动态·



“第十三次中医推拿学术年会”征文

由中华中医药学会主办的“第十三次中医推拿学术年会”拟于2012年9月1日在安徽省黄山市召开。

征文范围:老中医临床经验整理与总结;推拿治疗常见病的临床经验总结;推拿学术领域中新技术、新疗法、新理论;推拿文献研究;推拿基础理论和临床研究;推拿科研工作的经验与体会;推拿手法和功法研究;推拿手法生物力学原理研究;推拿历史资料整理。

全文截稿日期:2012年7月31日。

联系电话:0551-5139606。

通信地址:安徽省合肥市青阳南路1号安徽中医学院中西医结合医院医教科(230031)。

电子信箱:azyzjb@163.com。

大会网站:http://www.cacm.org.cn/cobportal/portal/channel_tzgg.ptview?funcid=showContent&infoLinkId=29261&infoSortId=52281。