第3部(2):コマンドラインを用いた グループ解析

筑波大学医学医療系 精神医学

根本 清貴

本セクションの目的

- コマンドラインを用いたFreeSurferでの統計解析の 基本を理解します
- 解析に必要な前処理や事前に準備するファイルに ついても理解します
- このセクションは、FS本家チュートリアルの次のセクションを参考にしています

http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/FsTutorial/GroupAnalysisV6.0



SUBJECTS_DIR の変更

- 繰り返しになりますが、変数 FSWS を設定し、 そのうえで変数 SUBJECTS_DIR を変更しま す
- **fs_tutorial.md** の **3.2.1** をターミナルにコピー&ペーストしてください

```
FSWS=~/git/fsws
export SUBJECTS_DIR=$FSWS/subjects
```

QDECではできないこと

- QDECはとても便利なツールですが、複雑な解析はできません
- 以下の制限があります
 - カテゴリ変数は2種類まで&各変数の水準は2まで
 - 3群の解析ができません
 - 連続変数は2種類まで
- コマンドラインならば、それらにも対応できます

本セクションでの統計デザイン

- このセクションの統計デザインは、先程のQDECの セクションと同じデザインを用います
- QDECとコマンドラインの対比ができるのでよいかなと考えました
- 本家のウェブサイトにはDODSの場合しか紹介されていませんが、相関解析、群間比較も扱います

【重要】解析の流れ

- recon-all -s <subjid> -qcache
 - fsaverageへのあわせこみ
- FSGDファイルとコントラストファイルの作成
 - 手作業で作成する必要あり
- mris_preproc
 - データをひとつのファイルにまとめる
- mri_glmfit
 - 一般線形モデル (GLM) による解析を行う
- mri_glmfit-sim
 - 多重比較補正を行う (今回はとりあげません)

recon-all -qcache

- recon-all はそのままでは、標準化されていません
- グループ解析のためには、「解剖学的標準化」「平滑化」が必要となります
 - SPMで言うところのnormalizatoin, smoothing にあたります
- FreeSurferでは、デフォルトでは、**fsaverage** に各subjectの画像をあわせこみます
- あわせこみのためのコマンドは以下になります
 - \$ recon-all -s <subjectid> -qcache
- ・ 所要時間は1例あたり10分程度です
- 平滑化は、0mm~25mmまで5mm刻みで6つのファイルが作成されます
- チュートリアルのデータはすでにこの処理が済んでいます

FSGDファイル

- FSGDとは、FreeSurfer Group Descriptor の略で、グループ解析にあたり、グループの情報を記載しておくファイルです
- 書式が決まっています
- https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/FsgdFormat
- https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/ FsgdExample
- チュートリアル用に既に作成してあります
 - 1グループ1連続変数 g1v1(相関解析)
 - 2グループ0連続変数 g2v0(群間比較)
 - 2グループ1連続変数 g2v1

FSGDファイルの書式

- GroupDescriptorFile 1
- Title
- MeasurementName
- Class
- Variables
- Input

- FSGDという宣言
- 解析タイトル
- 解析対象(皮質厚、容積など)
- カテゴリカル変数
- 連続変数
- 個々のデータ

【必見】FSGDの例



These are examples of FreeSurfer Group Descriptor (FSGD) files and contrasts for testing various hypotheses. FreeSurfer can **automatically** construct design matrices from an FSGD file. The FSGD file is usually easier to construct than the design matrix. The FSGD file is used as input to several FreeSurfer programs (mainly mri_glmfit and mris_preproc). Note that you can always specify you own matrix using the --X option to mri_glmfit.

These examples are not meant to be exhaustive, nor are they meant to teach you statistics. See these • slides for more of the statistics background on group analysis and how it applies to FreeSurfer.

An alternative to constructing your own FSGD files is to use QDEC, though QDEC cannot be used with more than two groups and/or more than two continuous variables. In the examples below, the term "QDEC-able" appears after those examples that can be analyzed in QDEC.

Below, DODS refers to "Different Offset, Different Slope" and DOSS refers to "Different Offset, Same Slope". Refer to the DODS vs DOSS page for more information.

- One Group, Zero Covariates (OSGM = One-Sample Group Mean). DODS = DOSS. QDEC-able.
- One Group, One Covariate. DODS = DOSS. QDEC-able.
- One Group, Two Covariates. DODS = DOSS. QDEC-able.
- Two Groups (1 Factor, Two Levels), Zero Covariates. DODS or DOSS. QDEC-able.
- Two Groups (1 Factor, Two Levels), One Covariate. DODS only. QDEC-able.
- Two Groups (1 Factor, Two Levels), Two Covariates. DODS only. QDEC-able.
- Three Groups (1 Factor, Three Levels), Zero Covariates. DODS or DOSS.
- Four Groups (2 Factors, Two Levels), Zero Covariates. DODS or DOSS. QDEC-able.
- Four Groups (2 Factors, Two Levels), One Covariate. DODS only. QDEC-able.
- Six Groups (2 Factors, Three Levels), Zero Covariates. DODS or DOSS.

コントラストファイル

- コントラストは、自分が検定したい内容を示したべクトルです
- 自身で作成する必要があります
- FSGDと密接に関連します
- SPMやFSLのコントラストと似ています
 - 相関に関しては、結果を二方向性に示すので、-1 や 1な ど考えなくて大丈夫です
- 具体例は後ほど見ていきます
- 注意:コントラストファイルは1行で作成します
- 空白行があるとエラーになります

mris_preproc

- mris_preproc は、FSGDファイルを元に、解析するファイルをひとつにまとめるものです
- 書式は以下になります

```
mris_preproc \
```

- --fsgd FSGDファイル \
- --cache-in qcacheで準備したファイル \
- --target fsaverage \
- --hemi 半球 \
- --out ひとまとめにするファイル名

mri_glmfit

- mri_glmfitは一般線形モデルにもとづいて検定を行うプログラムです
- 書式は以下になります

```
mri_glmfit \
```

- --y ひとまとめにしたファイル \
- --fsgd FSGDファイル \
- --c コントラストファイル \
- --surf fsaverage 半球 \
- --cortex \
- --glmdir 出力ディレクトリ

"--cortex" を指定することで、解析が皮質だけに限定され、内側は無視されます



recon-all -qcache の結果確認

- recon-all -qcache の結果は、各個人の surf ディレクトリの下に保存されます
- ひとつひとつに対してログが作成されるので、まずはこのログをリストアップしてみましょう
- 左半球だけ見てみます
- fs_tutorial.md の 3.2.2 をコピー&ペーストしてく ださい
 - \$ cd \$SUBJECTS_DIR
 - \$ cd OAS2_0013/surf
 - \$ ls lh*.log

recon-all -qcache で生成されるログ

```
Terminal - brain@L4N: ~/git/fsws/subjects/OAS2_0013/surf
 ファイル(F) 編集(E) 表示(V) ターミナル(T) タブ(A) ヘルプ(H)
brain@L4N:~$ cd $SUBJECTS_DIR
brain@L4N:~/git/fsws/subjects$ cd OAS2_0013/surf/
brain@L4N:~/git/fsws/subjects/OAS2_0013/surf$ ls lh*.log
lh.area.fsaverage.mris_preproc.log
lh.area.pial.fsaverage.mris_preproc.log
lh.curv.fsaverage.mris_preproc.log
lh.jacobian_white.fsaverage.mris_preproc.log
lh.sulc.fsaverage.mris_preproc.log
lh.thickness.fsaverage.mris_preproc.log
lh.volume.fsaverage.mris_preproc.log
lh.w-g.pct.mgh.fsaverage.mris_preproc.log
lh.white.H.fsaverage.mris_preproc.log
lh.white.K.fsaverage.mris_preproc.log
brain@L4N:~/git/fsws/subjects/OAS2_0013/surf$
```

- これを見ると、area (surface面積), area.pial (軟膜の面積), curvature, jacobian, sulc (脳溝), thickness (皮質厚), volume (灰白質容積), wg.pct.mgh, white.H, white.K の10種類のファイルが作成されているのがわかります
- あとで .log の中身も見てみると何のコマンドが実行されたかわかります



recon-all -qcache の結果確認

- 次に、平滑化されるファイルを確認してみましょう
- 左半球の皮質厚のファイルを確認します
- ターミナルから以下をタイプしてください
 - \$ ls lh.thickness.fwhm*
 - Tab補完を上手に使います
 - 1s 1h.th までタイプしてTabを押せば thickness まで補完されますので、続けて .fwhm* とタイプすれば OKです
 - 補完はヒューマンエラーを減らすことにもつながります

recon-all -qcache で生成されるファイル

```
Terminal - brain@L4N: ~/git/fsws/subjects/OAS2_0013/surf - + × ファイル(F) 編集(E) 表示(V) ターミナル(T) タブ(A) ヘルプ(H)

brain@L4N: ~/git/fsws/subjects/OAS2_0013/surf$ ls lh.thickness.fwhm* lh.thickness.fwhm0.fsaverage.mgh lh.thickness.fwhm20.fsaverage.mgh lh.thickness.fwhm25.fsaverage.mgh lh.thickness.fwhm15.fsaverage.mgh lh.thickness.fwhm5.fsaverage.mgh brain@L4N: ~/git/fsws/subjects/OAS2_0013/surf$
```

- これを見ると、平滑化の半値幅が0mm~25mmまで 5mm刻みのファイルが6つ作成されているのがわかり ます
- このファイルを後の mris preproc で指定します

解析ごとの流れ

- ここからは、解析ごとに、
 - FSGD・コントラストファイルの作成
 - mris_preproc
 - mri_glmfit を行っていきます
- グループ数と連続変数(以降は変数とします)の組み合わせで考えます
 - 1グループ1変数 (シンプルな相関解析)
 - 2グループ0変数 (シンプルな群間比較)
 - 2グループ1変数 (共変量、交互作用)



1グループ1変数

- 1グループ1変数は、以下の2つの帰無仮説が考えられます
 - 1つの共変量を考えた時に、グループの平均が0である
 - 従属変数と変数でプロットされる直線の傾きが0である
- コントラストはそれぞれ以下になります
 - グループ平均をみたい: [**10**] g1v1_g.mtx
 - 直線の傾きをみたい: [**0 1**] g1v1_v.mtx
 - 今回は g1v1_v.mtx を使います
- FSGDファイルを見てみましょう
- fs_tutorial.md の 3.2.4 をコピー&ペーストしてください
 - \$ cd \$SUBJECTS_DIR/glm
 - \$ cat g1v1.fsgd

g1v1.fsgd

GroupDescriptorFile 1

Title Thickness_Age

MeasurementName thickness

Class Main

Variables age

Input OAS2_0013 Main 81

Input OAS2_0022 Main 61

Input OAS2_0048 Main 66

Input OAS2_0050 Main 71

- Title: 任意
- MeasurementName: 皮質厚を検定したいので thickness
 - 容積ならvolume, 面積なら area
- Class: グループは1つのみ なのでMainに
- Variables: 年齢なので age と設定
- Inputには、fsid, Class, Variablesの順に記載

g1v10 mris_preproc

- FSGDファイルをもとに mris_preproc を走らせます
- 左半球、皮質厚、平滑化10mmのデータを使います
- 出力データは、Ih.age.thickness.10.mgh とします
- fs_tutorial.md の 3.2.5 をコピー&ペーストしてください

```
mris_preproc \
  --fsgd g1v1.fsgd \
  --cache-in thickness.fwhm10.fsaverage \
  --target fsaverage \
  --hemi lh \
  --out lh.age.thickness.10.mgh
```

• 解析に用いるデータをひとつのファイルにまとめ、 Ih.age.thickness.10.mgh として保存しています

g1v10 mri_glmfit

- 次に mri_glmfit を走らせます
- 先程作成した Ih.age.thickness.10.mgh を入力として使います
- コントラストは、g1v1_v.mtx を使います
- 出力ディレクトリは、Ih.age.glmdir としましょう
- fs_tutorial.md の 3.2.6 をコピー&ペーストしてください

```
mri_glmfit --y lh.age.thickness.10.mgh \
    --fsgd g1v1.fsgd dods \
    --C g1v1_v.mtx \
    --surf fsaverage lh \
    --cortex \
    --qlmdir lh.age.glmdir
```

解析結果を、Ih.age.glmdir に保存しています



解析で生成されるファイル

- mri_glmfit で生成されたファイルを確認しましょう
- ターミナルから以下をタイプしてください
 - \$ ls lh.age.glmdir

```
X.mat beta.mgh fwhm.dat mask.mgh rstd.mgh sar1.mgh y.fsgd
Xg.dat dof.dat g1v1_v mri_glmfit.log rvar.mgh surface
```

\$ ls lh.age.glmdir/g1v1_v

```
C.dat cnr.mgh gamma.mgh maxvox.dat sig.mgh
F.mgh efficiency.dat gammavar.mgh pcc.mgh z.mgh
```

解析で生成されるファイル

- beta.mgh 推定されたパラメータ (surface overlay)
- dof.dat 自由度 (テキスト)
- fwhm.dat 残差の平均FWHM (テキスト)
- g1v1_v コントラストのサブディレクトリ
- mask.mgh バイナリマスク (surface overlay)
- mri_glmfit.log ログ (テキスト)
- rstd.mgh 残差の標準偏差 (surface overlay)
- rvar.mgh 残差の分散 (surface overlay)
- sar1.mgh 残差の spatial AR1 (surface overlay)
- Surface この解析に用いられた surfaceのsubject と半球 (テキスト)
- Xg.dat デザインマトリクス (テキスト)
- X.mat デザインマトリクス (MATLAB形式)
- y.fsgd FSGDファイルのコピー (テキスト)

コントラストディレクトリ内に 生成されるファイル

- C.dat もともとのコントラストマトリックス (テキスト)
- cnr.mgh コントラスト/ノイズ比 (surface overlay)
- efficiency.dat コントラストの有効性 (テキスト)
- F.mgh F ratio of contrast (surface overlay)
- gamma.mgh コントラストの効果量 (surface overlay)
- gammavar.mgh コントラストの分散 (surface overlay)
- maxvox.dat 最大統計量のボクセル (text)
- pcc.mgh Pearson の偏相関係数 (surface overlay)
- sig.mgh -- significance, -log10(pvalue), uncorrected (surface overlay)
- z.mgh -- z-stat that corresponds to the significance (surface overlay)



Freeviewでの結果表示

- 今の統計の結果をFreeviewで表示します
- 多重比較補正なしのデータは、glm/lh.age.glmdir/glv1_v/sig.mghです
- P<0.001 のデータを表示したいとすると、Freeviewでは、
- -log(10-3)=3となります
- fs_tutorial.md の 3.2.7 をコピー&ペーストしてください cd \$SUBJECTS DIR

```
freeview -f \
$SUBJECTS_DIR/fsaverage/surf/lh.inflated:o
verlay=$SUBJECTS_DIR/glm/lh.age.glmdir/
glv1_v/sig.mgh:overlay_threshold=2,5 -
viewport 3d
```

Freeviewのコマンド解剖

```
freeview -f \
fsaverage/surf/lh.inflated:
```

- freeviewで fsaverage/surf にある **lh.inflated** をまず表示

```
overlay=glm/lh.age.glmdir/g1v1_v/
sig.mgh:
```

- その上に、glm/lh.age.glmdir/glv1_v にある**sig.mgh**を表 示

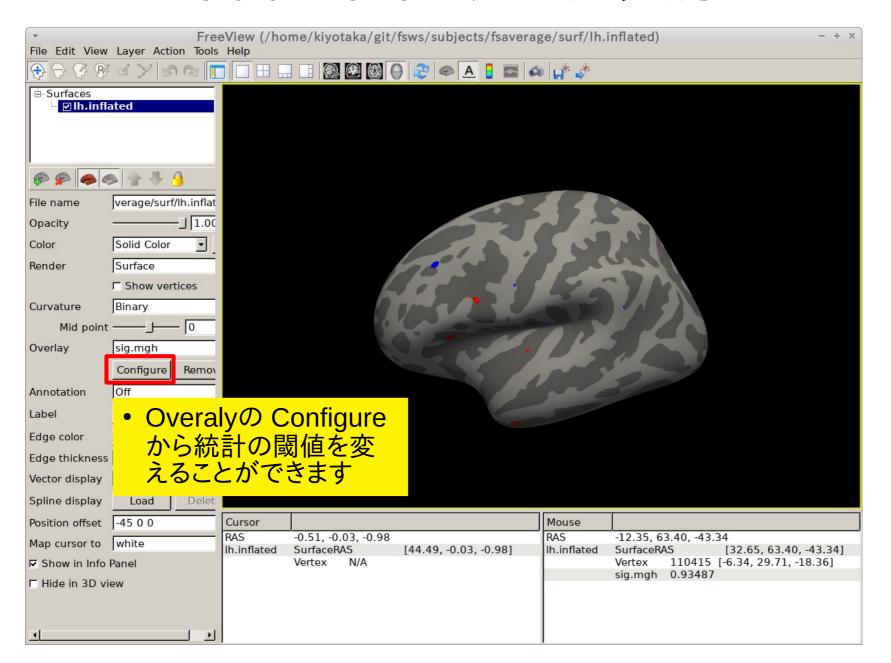
overlay_threshold=2,5

- overlayの閾値は、0.1~0.00001まで

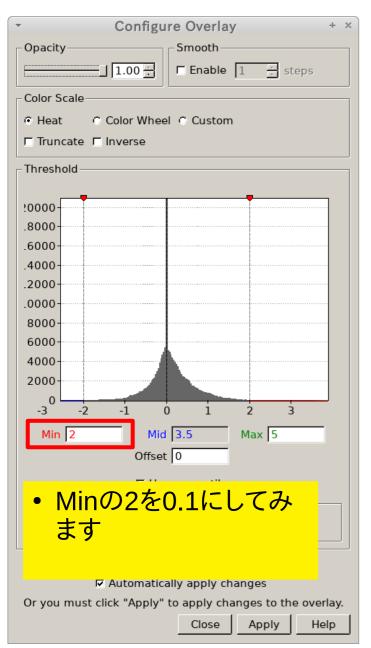
-viewport 3d

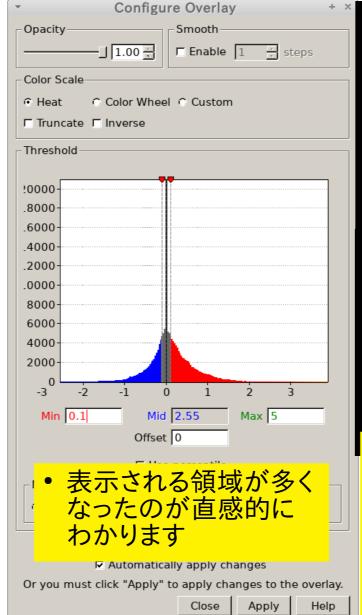
- これらを3次元モードで表示

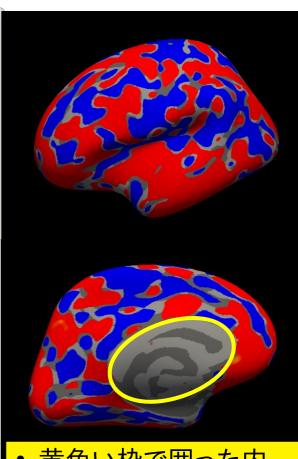
年齢と相関する皮質厚



統計閾値の変更







黄色い枠で囲った内側の領域は、mri_glmfitで-cortexオプションを指定したために解析から外れています。従って、ここは色がつきません



2グループ0変数

- 2グループ0変数は、以下の帰無仮説が考えられます
 - あるグループと別のグループの平均値に差がない
- コントラストは以下になります
 - [**1 -1**] g2v0.mtx
- FSGDファイルを見てみましょう
- fs_tutorial.md の 3.2.8 をコピー&ペーストしてく ださい
 - \$ cd \$SUBJECTS_DIR/glm
 - \$ cat g2v0.fsgd

g2v0.fsgd

GroupDescriptorFile 1

Title Group_analysis

MeasurementName thickness

Class Nondemented

Class Demented

Input OAS2_0013 Nondemented

Input OAS2_0022 Nondemented

Input OAS2_0048 Demented

Input OAS2_0050 Demented

- Title: 任意
 MeasurementName: 皮質厚を検定したいので
 thickness
- Class: グループは2つ
 - Nondemented
 - Demented
- Variablesはないので省略
- Inputには、fsidとClassを 記載

g2v00 mris_preproc

- FSGDファイルをもとに mris_preproc を走らせます
- 左半球、皮質厚、平滑化10mmのデータを使います
- 出力データは、Ih.dx.thickness.10.mgh とします
- fs_tutorial.md の 3.2.9 をコピー&ペーストしてください

```
mris_preproc \
  --fsgd g2v0.fsgd \
  --cache-in thickness.fwhm10.fsaverage \
  --target fsaverage \
  --hemi lh \
  --out lh.dx.thickness.10.mgh
```

• 解析に用いるデータをひとつのファイルにまとめ、 lh.dx.thickness.10.mgh として保存しています

コントラストファイル g2v0.mtx の修正

- 皆様にお配りした g2v0.mtx ファイルには間違って空行が 入ってしまっています
- コントラストファイルに空行が入ると、次の mri_glmfit が エラーになります
- 修正するためのコマンドを準備しました
 fs_tutorial.md の 3.2.10.0 をコピー&ペーストしてください
 sed -i '/^\$/d' g2v0.mtx

【参考】

- sed はテキスト操作の際に強力なコマンドです
- -i は、ファイルを上書きという意味です
- '/パターン/d' で、パターンに合致するものを削除という意味になります
- ^\$は、行頭と行末が続いている、すなわち何もない行という意味になります
- 要するに空行を削除しなさいというコマンドになります

g2v00 mri_glmfit

- 次に mri_glmfit を走らせます
- 先程作成した Ih.dx.thickness.10.mgh を入力として使います
- コントラストは、g2v0.mtx を使います
- 出力ディレクトリは、Ih.dx.glmdir としましょう
- fs_tutorial.md の 3.2.10 をコピー&ペーストしてください

```
mri_glmfit --y lh.dx.thickness.10.mgh \
    --fsgd g2v0.fsgd dods \
    --C g2v0.mtx \
    --surf fsaverage lh \
    --cortex \
    --glmdir lh.dx.glmdir
```

解析結果を、Ih.dx.glmdir に保存しています

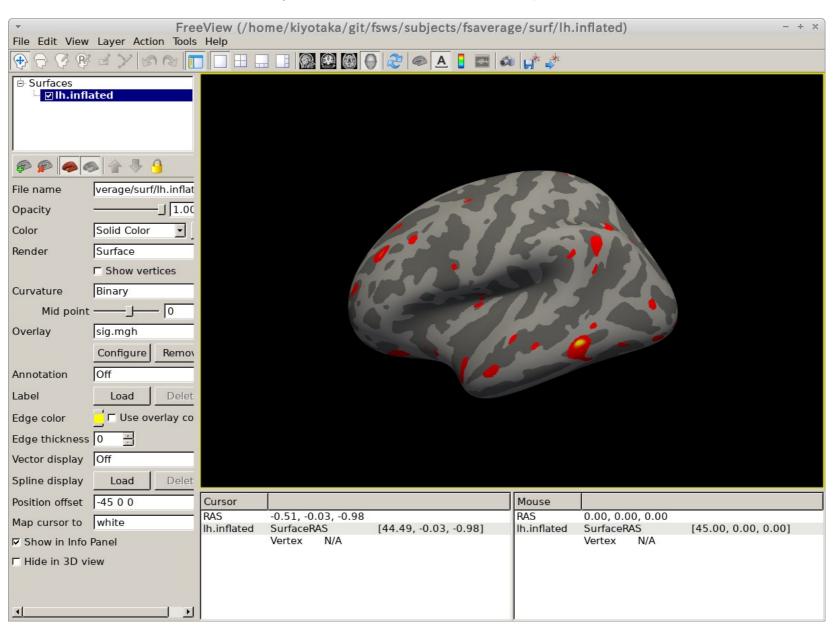


Freeviewでの結果表示

- 今の統計の結果をFreeviewで表示します
- 多重比較補正なしのデータは、glm/lh.dx.glmdir/g2v0/sig.mghです
- 先程と同様、P<0.001 (=3) のデータを表示します
- fs_tutorial.md の 3.2.11 をコピー&ペーストしてください

```
cd $SUBJECTS_DIR
freeview -f \
$SUBJECTS_DIR/fsaverage/surf/lh.inflated:
overlay=$SUBJECTS_DIR/glm/lh.dx.glmdir/
g2v0/sig.mgh:overlay_threshold=2,5 -
viewport 3d
```

認知症に比べて非認知症で 皮質が厚い領域



2グループ1変数

- ・ 2グループ1変数は、以下の帰無仮説が考えられます
 - 2つのグループは、共変量を考慮しても平均値に差がない
 - 従属変数と変数の傾きはグループによって差がない
 - 共変量を考慮した時に、グループの主効果がない
 - グループによる効果を考慮した時に変数の効果がない
- コントラストは以下になります
 - グループ差(共変量考慮) [1-100] g2v1 g.mtx
 - 傾きのグループによる差 **[001-1**] g2v1 gxv.mtx
 - グループの主効果 [**0.5 0.5 0 0**] g2v1_main_g.mtx
 - 変数の主効果 [**0 0 0.5 0.5**] g2v1_main_v.mtx



2グループ1変数のFSGDファイル

- 2グループ1変数のFSGDファイルを見てみましょう
- fs_tutorial.md の 3.2.12 をコピー&ペーストして ください

```
cd $SUBJECTS_DIR/glm
cat g2v1.fsgd
```

g2v1.fsgd

- GroupDescriptorFile 1
- Title Group x age
- MeasurementName thickness
- Class Nondemented
- Class Demented
- Variables age
- Input OAS2_0013 Nondemented
- Input OAS2_0022 Nondemented
- Input OAS2_0048 Demented 66
- Input OAS2_0050 Demented 71

- Title: 任意
 MeasurementName: 皮質厚を検定したいので
 thickness
- Class: グループは2つ
 - Nondemented
 - Demented
- Variablesにageを設定
- Inputには、fsid, Class, Variables を記載

g2v10 mris_preproc

- FSGDファイルをもとに mris_preproc を走らせます
- 左半球、皮質厚、平滑化10mmのデータを使います
- 出力データは、Ih.age_dx.thickness.10.mgh とします
- fs_tutorial.md の 3.2.13 をコピー&ペーストしてください

```
mris_preproc \
  --fsgd g2v1.fsgd \
  --cache-in thickness.fwhm10.fsaverage \
  --target fsaverage \
  --hemi lh \
  --out lh.age_dx.thickness.10.mgh
```

• 解析に用いるデータをひとつのファイルにまとめ、 lh.age_dx.thickness.10.mgh として保存しています



g2v10 mri_glmfit

- 次に mri_glmfit を走らせます
- 作成した lh.age_dx.thickness.10.mgh を入力と して使います
- コントラストは、4つのコントラストを全部指定して みましょう
- 出力ディレクトリは、Ih.age_dx.glmdir とします

g2v1の mri_glmfit (cont'd)

• fs_tutorial.md の 3.2.14 をコピー&ペーストしてください

```
mri glmfit \
 --y lh.age_dx.thickness.10.mgh \
 --fsgd g2v1.fsgd dods \
 --C q2v1 q.mtx \
 --C g2v1_gxv.mtx \
 --C g2v1_main_g.mtx \
 --C g2v1_main_v.mtx \
 --surf fsaverage lh \
 --cortex \
 --glmdir lh.age_dx.glmdir
```

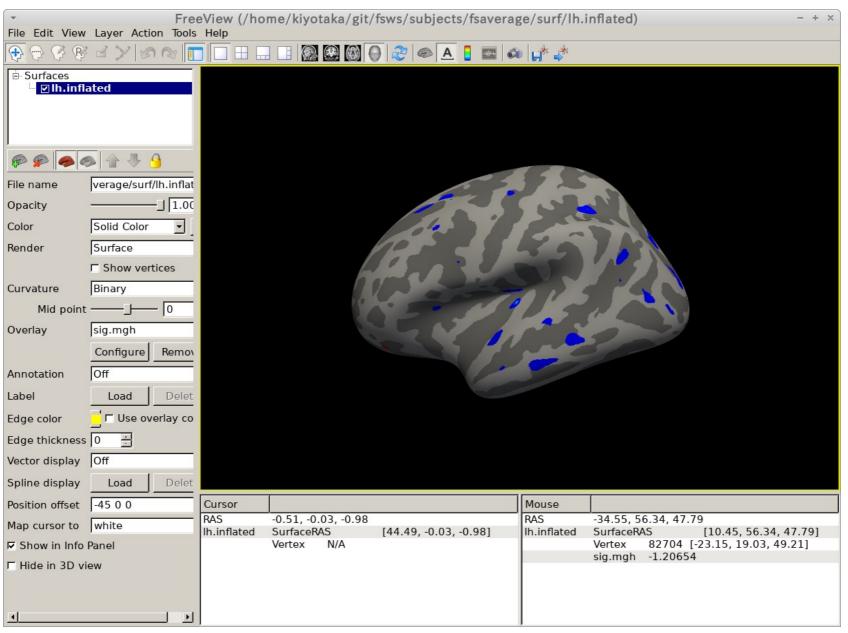
解析結果を、Ih.dx.glmdir に保存しています

Freeviewでの結果表示

- 今の統計の結果をFreeviewで表示します
- 年齢と群の交互作用のコントラストを見てみます
- 多重比較補正なしのデータは、glm/lh.age_dx.glmdir/g2v1_gxv/sig.mghです
- 先程と同様、P<0.001 (=3) のデータを表示します
- fs_tutorial.md の 3.2.15 をコピー&ペーストしてください

```
cd $SUBJECTS_DIR
freeview -f \
$SUBJECTS_DIR/fsaverage/surf/
lh.inflated:overlay=$SUBJECTS_DIR/glm/
lh.age_dx.glmdir/g2v1_gxv/
sig.mgh:overlay_threshold=2,5 -viewport 3d43
```

非認知症群と認知症群で年齢と皮質厚の相関に違いがある領域



質疑応答