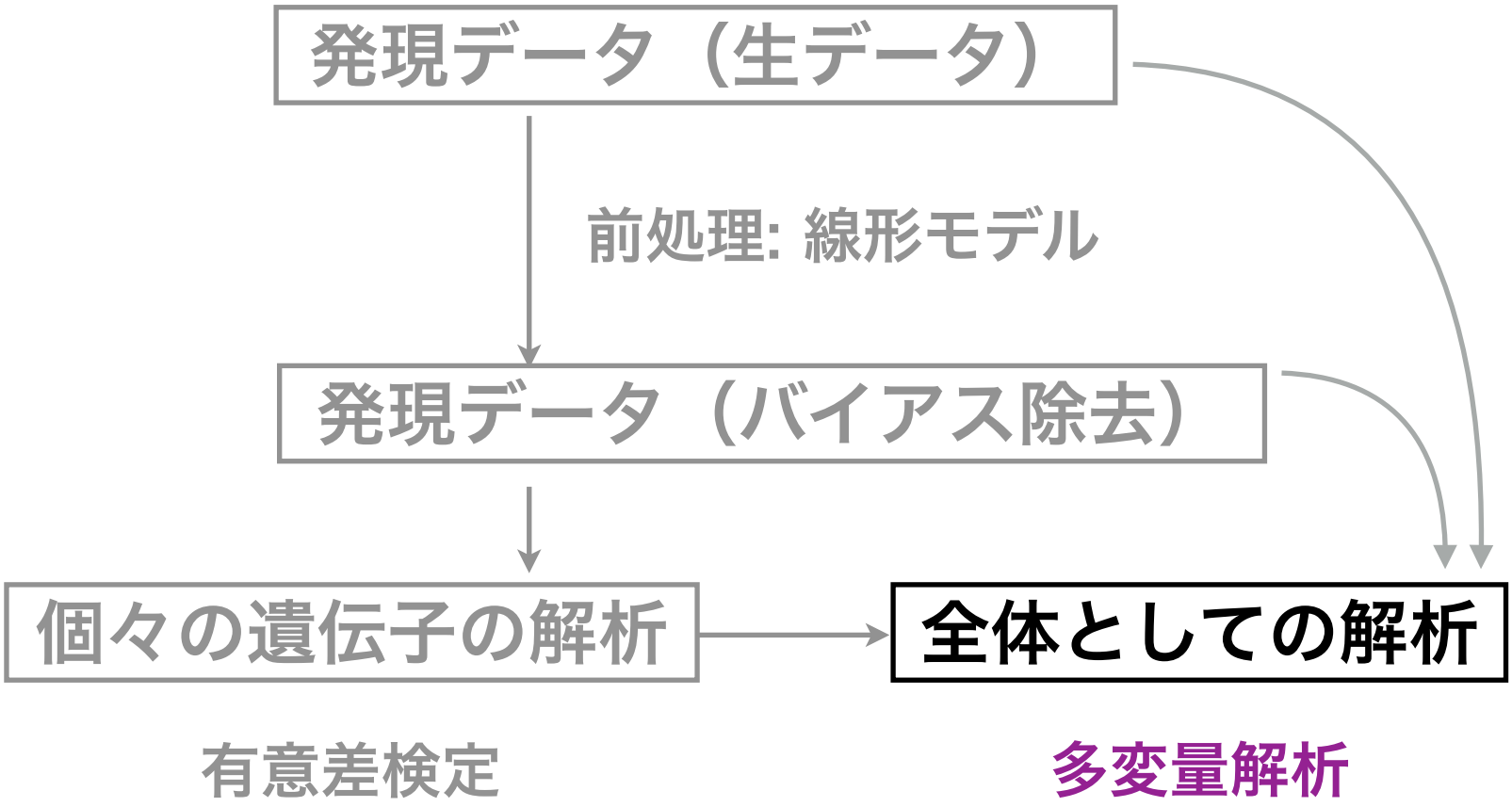
多変量解析

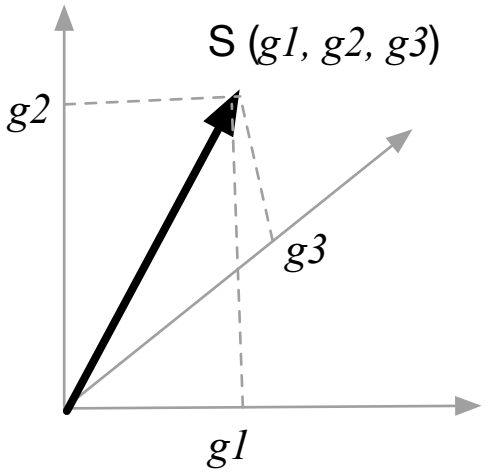
北海道大学大学院農学研究院
（兼）数理・データサイエンス
教育研究センター
佐藤昌直

RNA-seq解析における
多変量解析の位置付け



モチベーション:

多次元データを人間が解釈できるよう補助する



3遺伝子測定データ → RNA-seq: 数千-数万次元

モチベーション:
多次元データを人間が解釈できるよう補助する

→ 高次元データを低次元で表現し

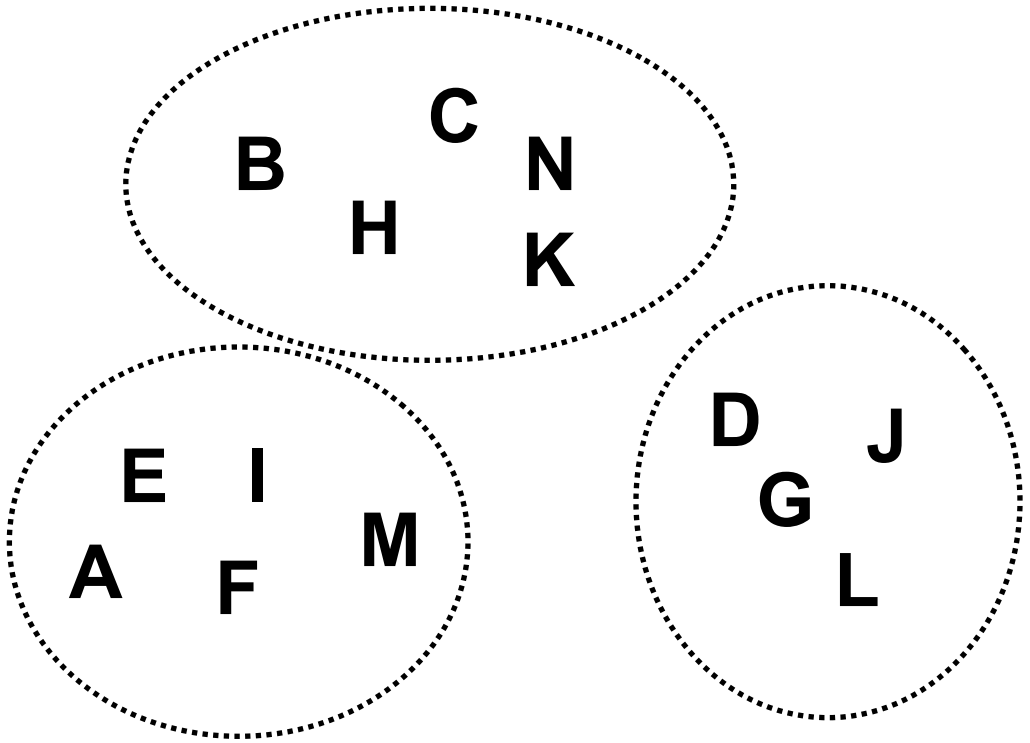
可視化する

→ 高次元データを統計量で表現し

特徴を選択する/
優先順位をつける

高次元（多パラメーター）データの認識における問題をどう扱うか？

クラスタリングによる分類



14 プロファイル

→ 3 クラスター

YOURPATH/Sato_A_thaliana-P_syringae_avrRpt2_6h_expRatio_small.txt

をエディタあるいはエクセルで開いて眺めてみましょう

データの特徴は読み取れますか？

YOURPATHを自身の環境に合わせて

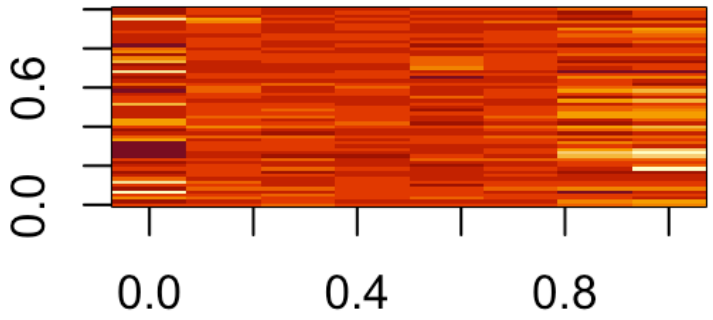
Rで可視化してみましょう：

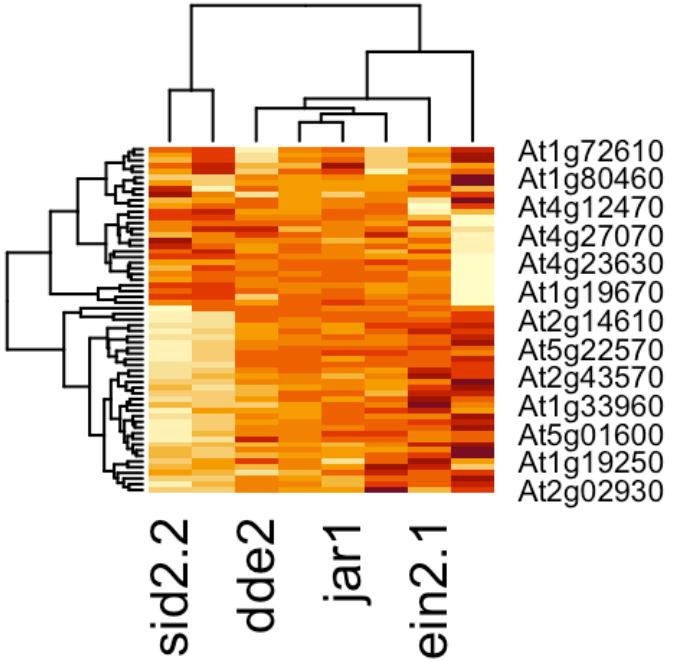
```
inputMatrix <- read.delim(
  “gitc/data/MS/Sato_A_thaliana-P_syringae_avrRpt2_6h_expRatio_small.txt”,
  header=TRUE,
  row.names=1
)
str(inputMatrix)        # データの構造を確認する
image(t(inputMatrix))   # カラーコードで行列データをそのまま可視化

heatmap(as.matrix(inputMatrix)) # 階層クラスタリングとヒートマップ
```

ex601-0

Rは簡単に「何か」を出力してくれる！

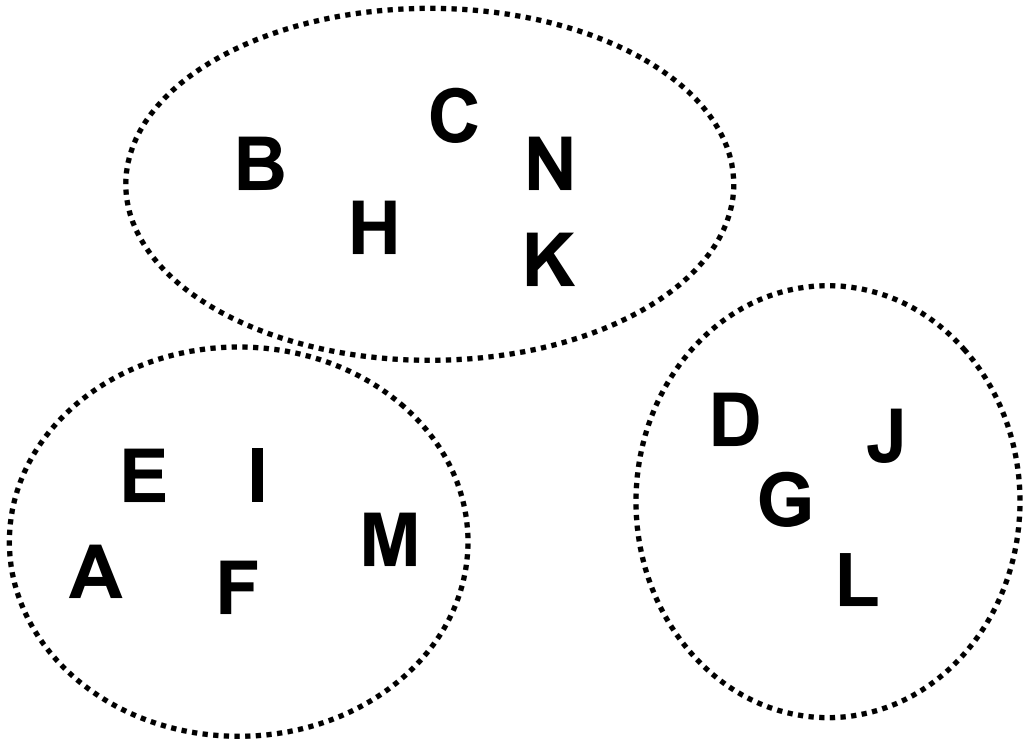




統計の基礎知識と**Rへの正しい命令**が必要

高次元（多パラメーター）データの認識における問題をどう扱うか？

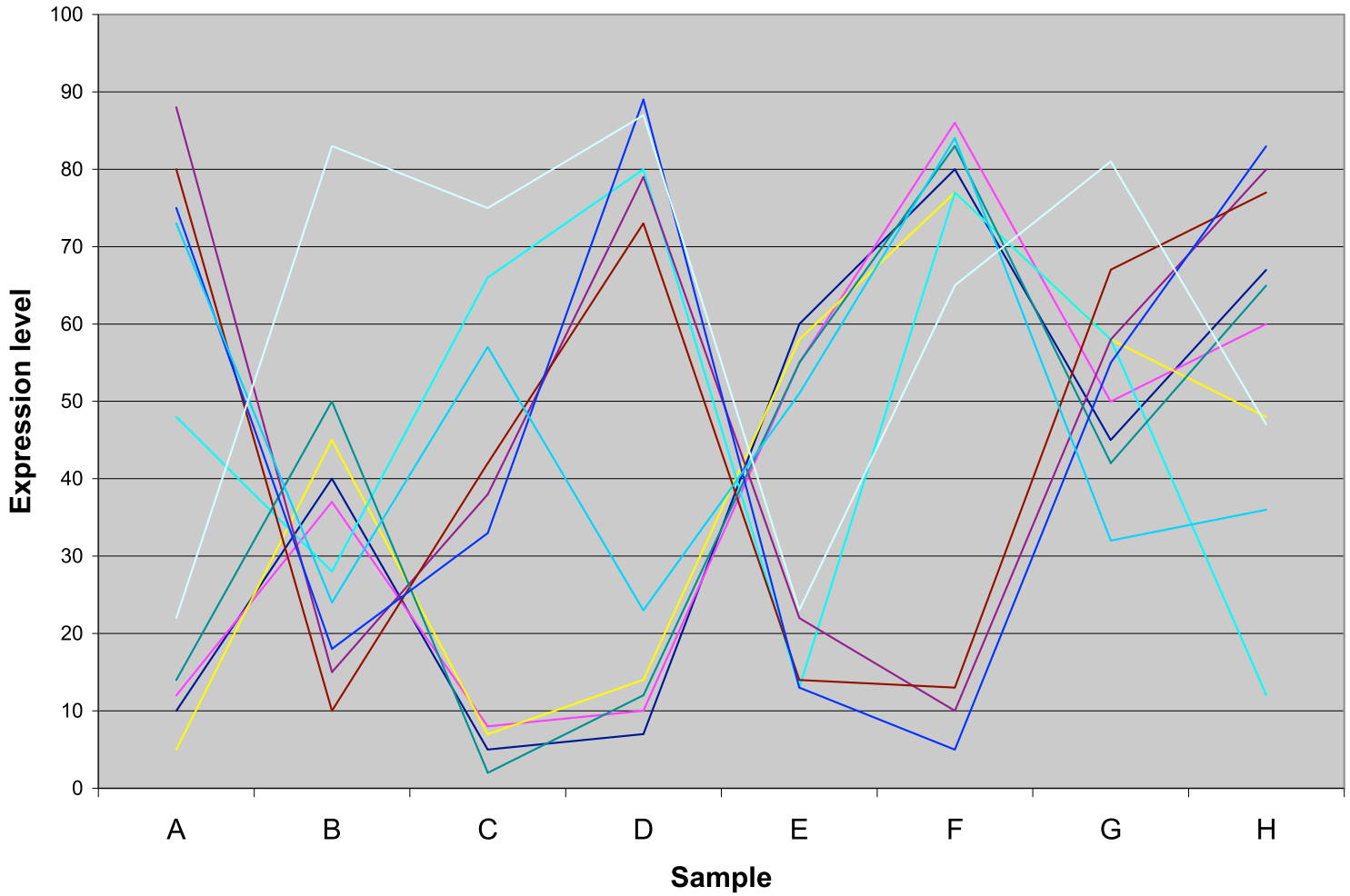
クラスタリングによる分類



14 プロファイル

→ 3 クラスター

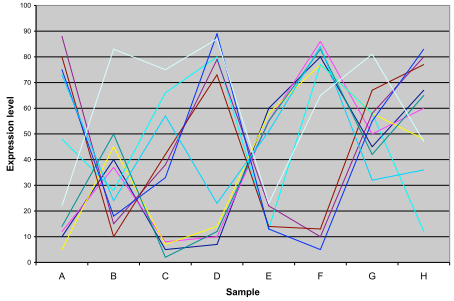
人間は低次元データだと
パターン認識するのは得意



コンピューターにどうデータを渡せば
この問題をどう扱えるか？

人間

遺伝子発現プロファイルの比較

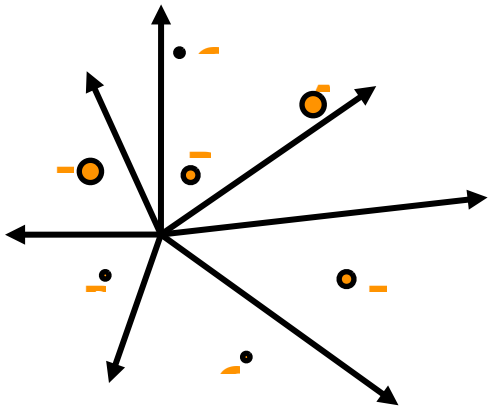


問題定義の変換

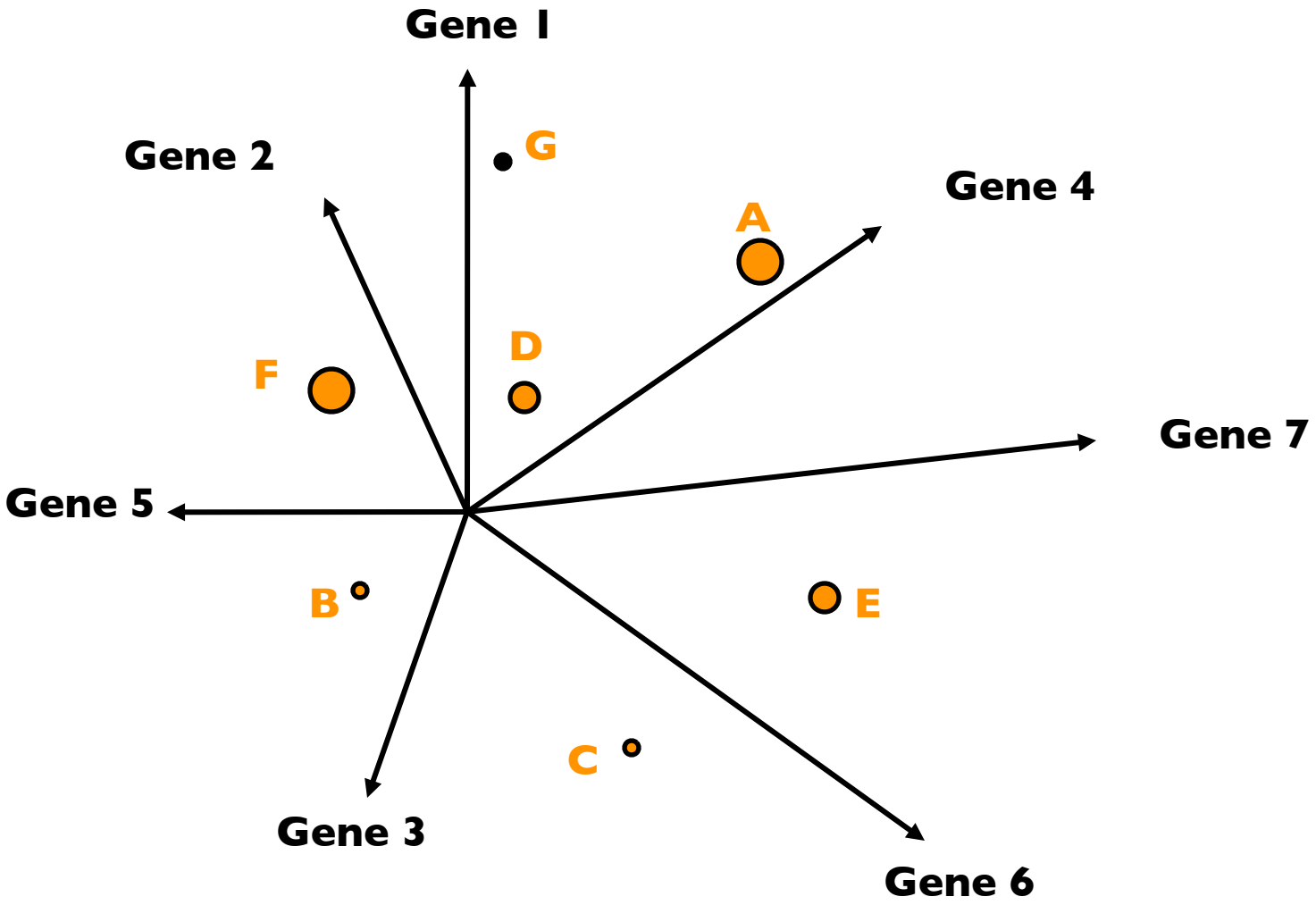
(生物学の問題を数学の問題に置き換える)

計算機

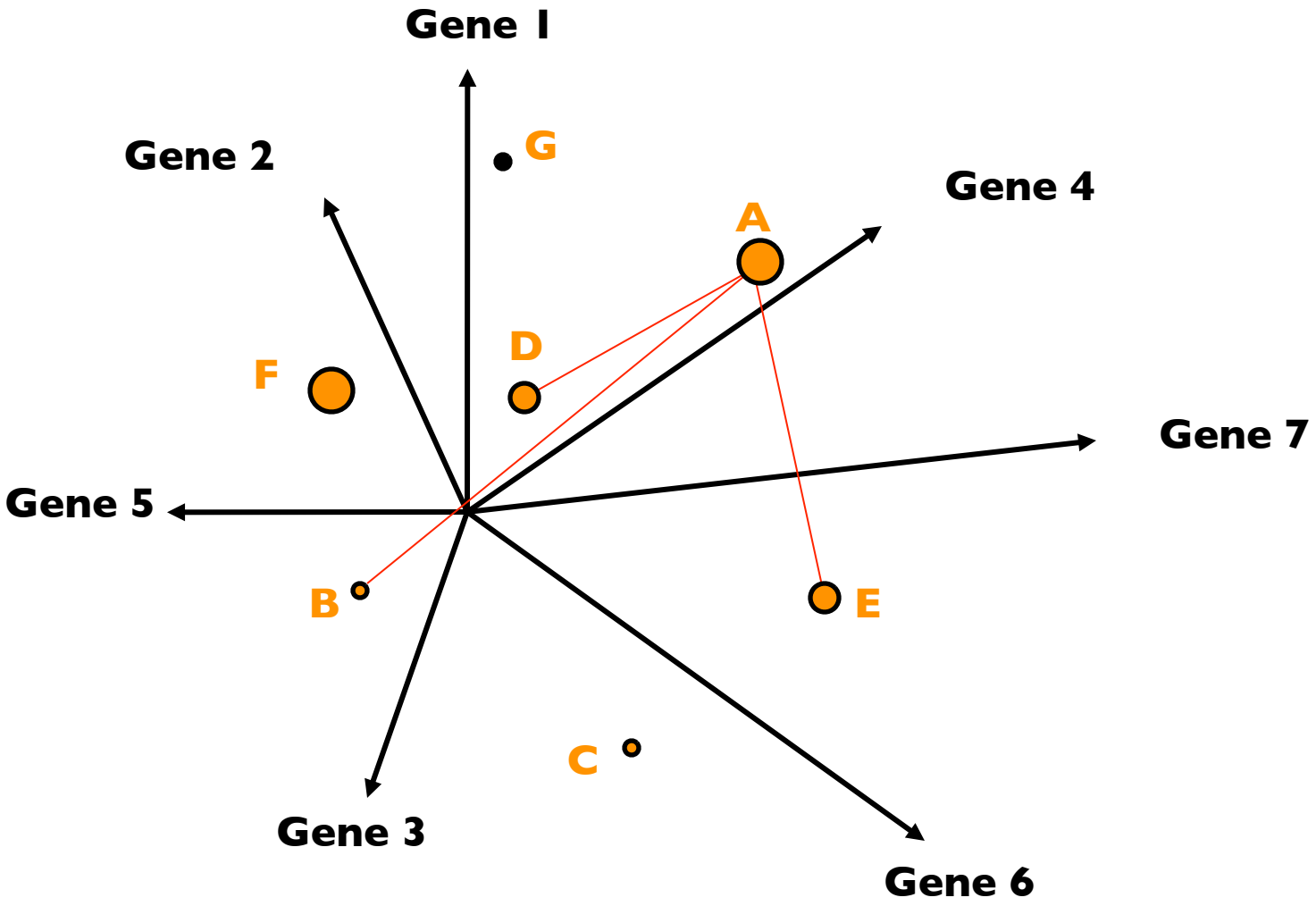
ベクトル等の
数学で扱える
特徴量を
用いた計算



7次元の遺伝子発現データセット



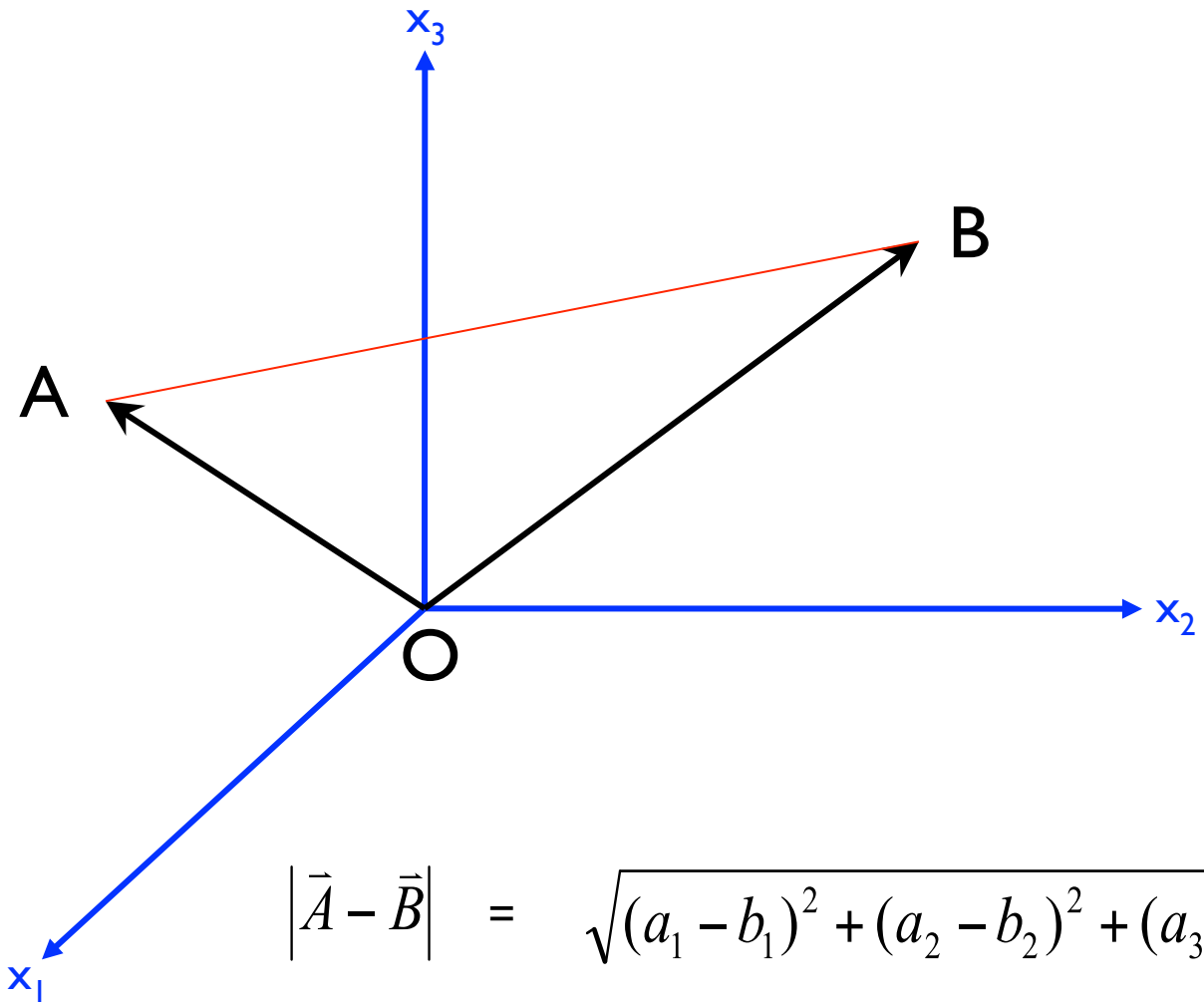
7遺伝子の発現プロファイル間の類似性は7次元空間での距離によって決まる



距離の基準を何にするか

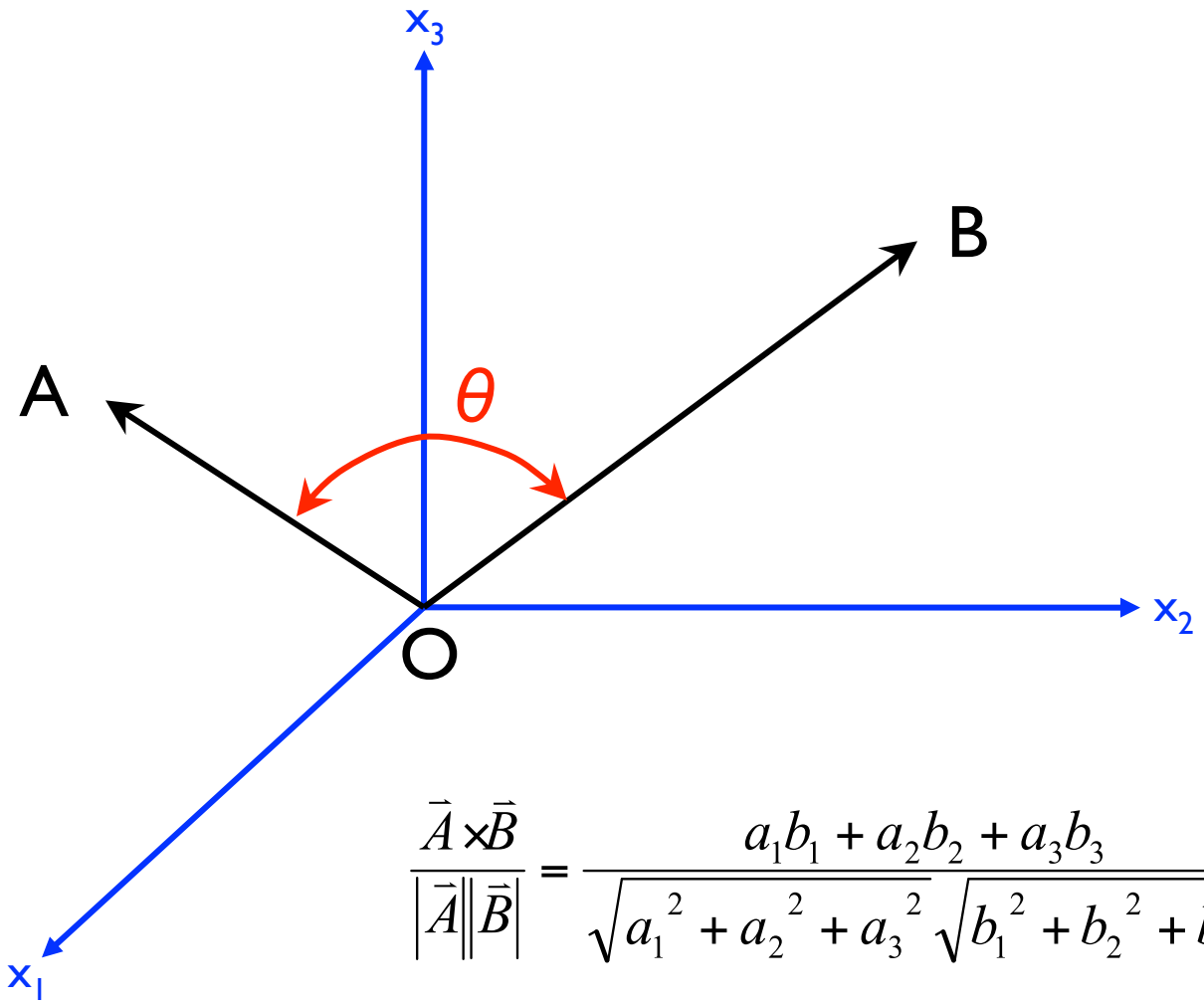
距離尺度

ユークリッド距離



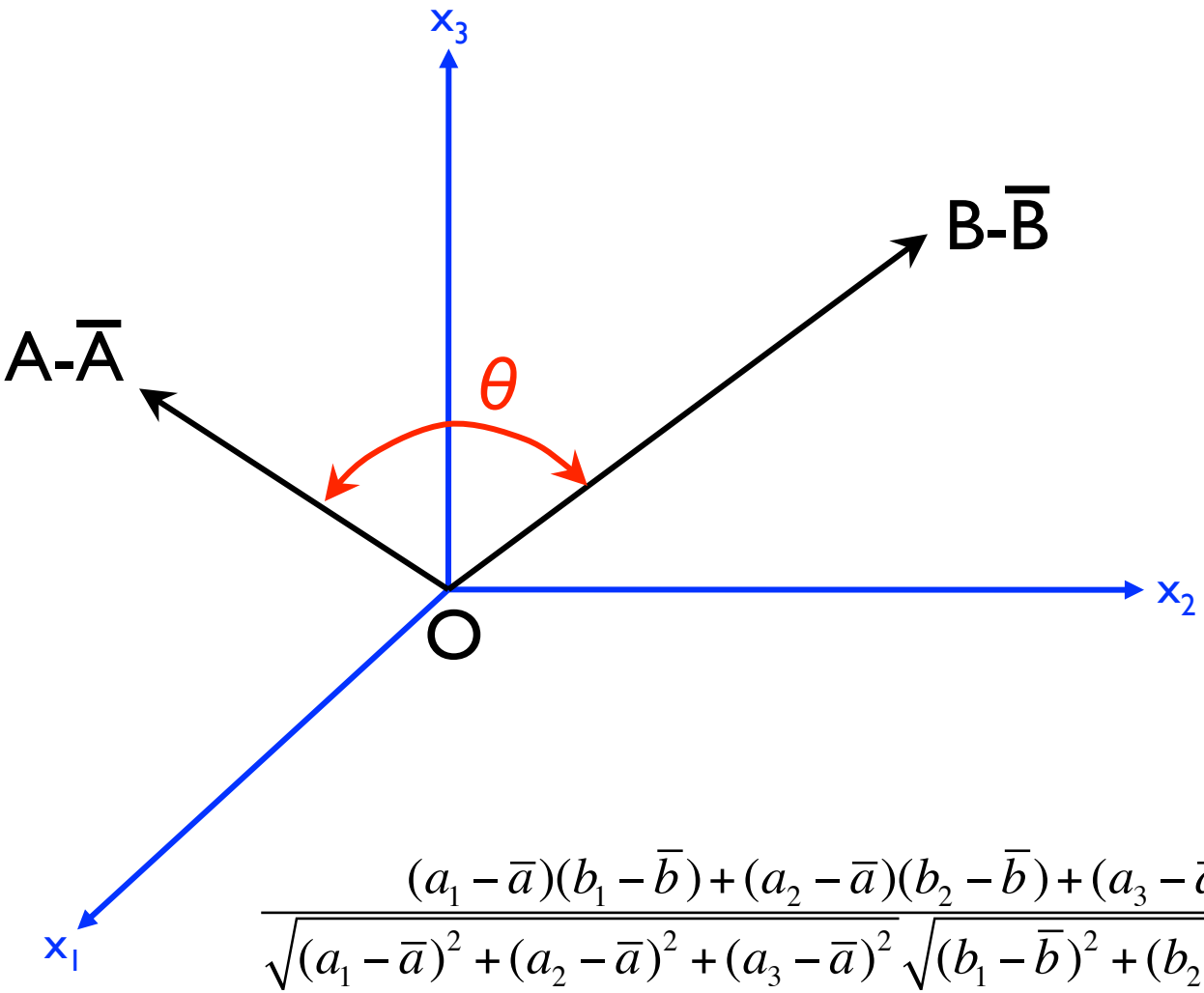
$$\left|\vec{A}-\vec{B}\right| = \sqrt{(a_1-b_1)^2+(a_2-b_2)^2+(a_3-b_3)^2}$$

Uncentered Pearson correlation coefficient = cosθ



$$\frac{\vec{A}\times\vec{B}}{\left|\vec{A}\right|\left|\vec{B}\right|} = \frac{a_1b_1 + a_2b_2 + a_3b_3}{\sqrt{a_1^{\,2} + a_2^{\,2} + a_3^{\,2}}\sqrt{b_1^{\,2} + b_2^{\,2} + b_3^{\,2}}} = \cos\theta$$

相関係数
Pearson correlation coefficient



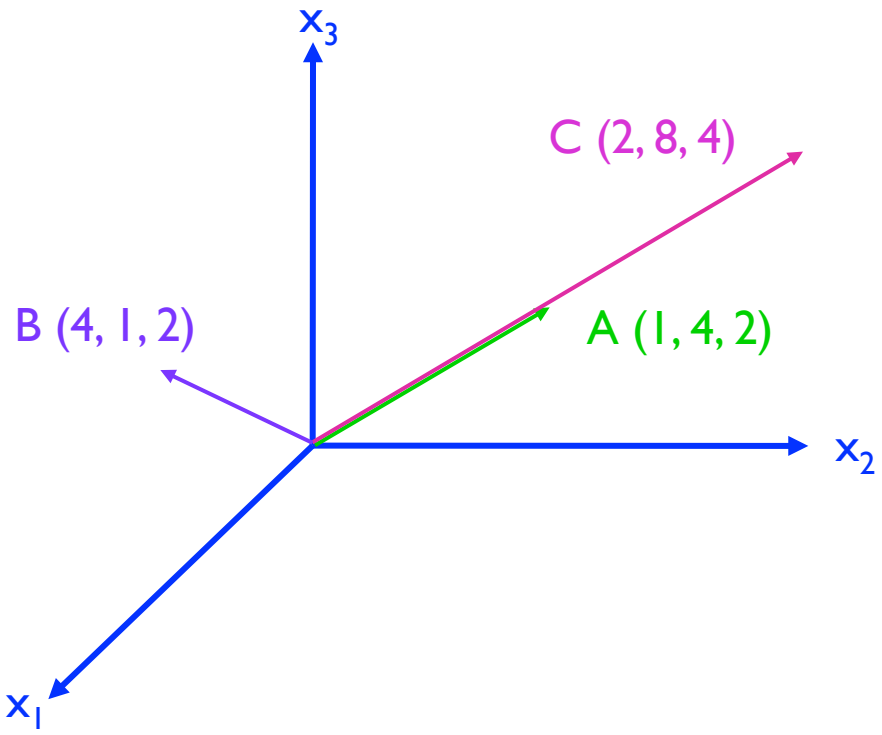
$$\frac{(a_1-\bar{a})(b_1-\bar{b})+(a_2-\bar{a})(b_2-\bar{b})+(a_3-\bar{a})(b_3-\bar{b})}{\sqrt{(a_1-\bar{a})^2+(a_2-\bar{a})^2+(a_3-\bar{a})^2}\sqrt{(b_1-\bar{b})^2+(b_2-\bar{b})^2+(b_3-\bar{b})^2}}$$

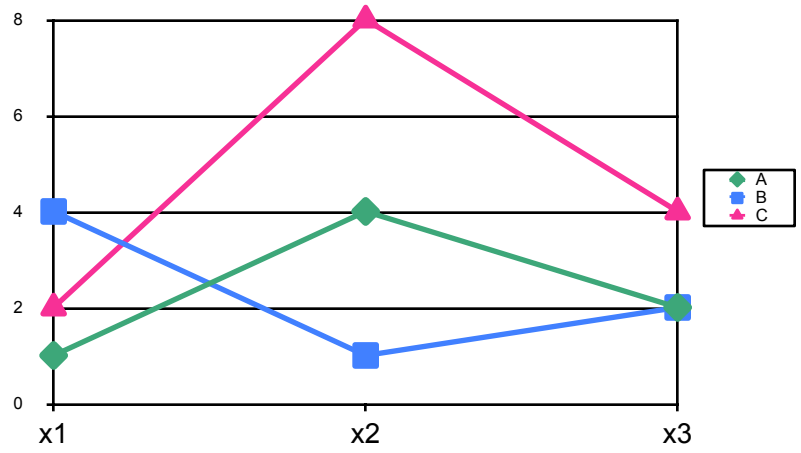
ポイント

距離尺度の違い→解析視点の違い:

遺伝子発現プロファイルの**形**と**大きさ**

- **形**: ベクトルの方向
- **大きさ**: ベクトルのサイズ





解析視点の決め方:

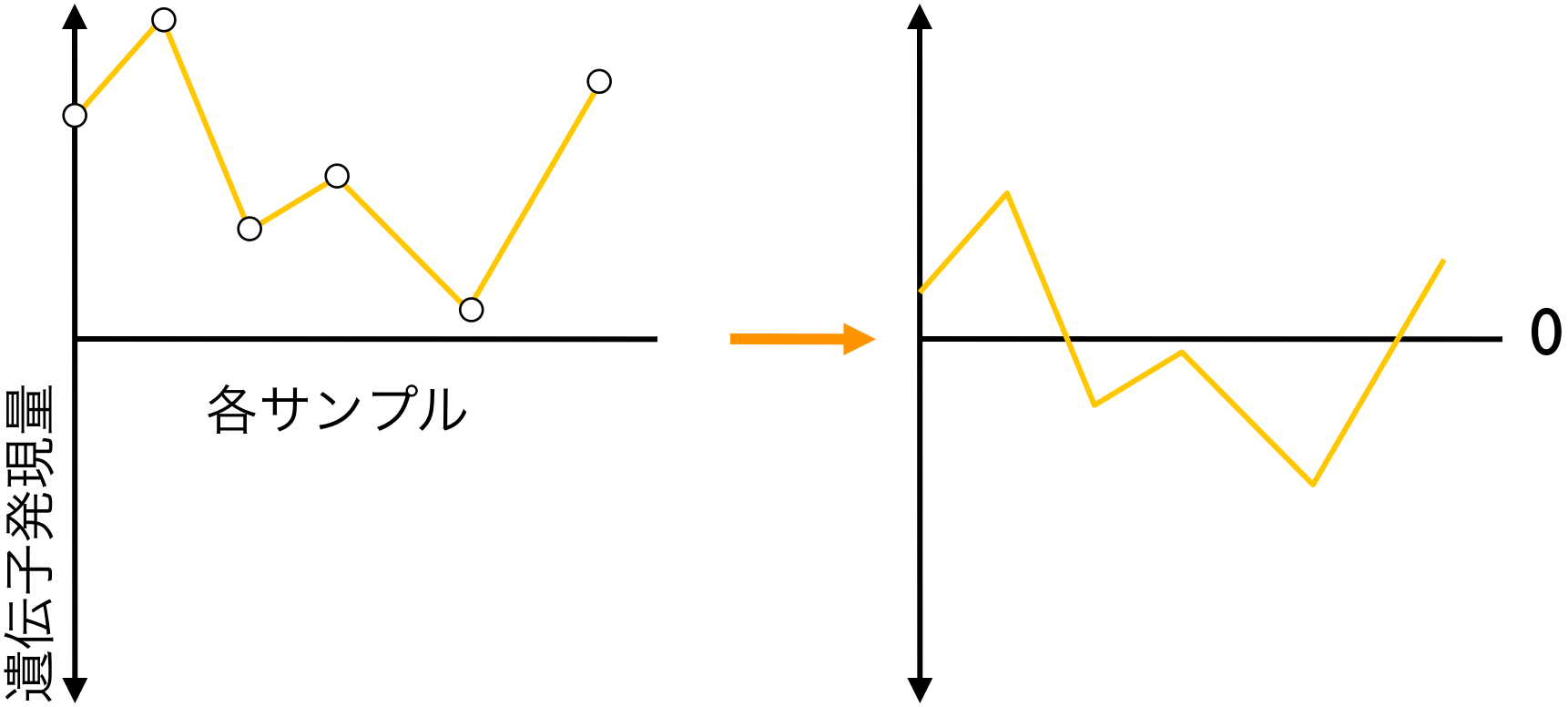
どの距離尺度を使うか？

- どんなプロファイルを
  同じプロファイルと定義するか？
- 距離尺度計算の背後にあるものを
  意識して選択する。

距離尺度計算の基本要素:

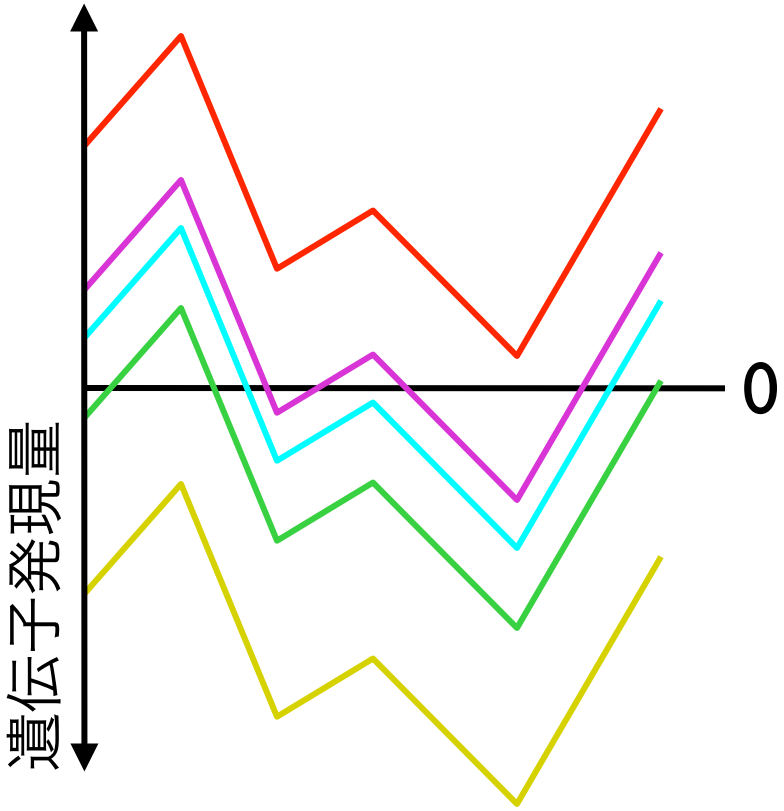
- **Centering**: 平均値をゼロにする
- **Scaling**: ベクトルの大きさを1にする

Centering

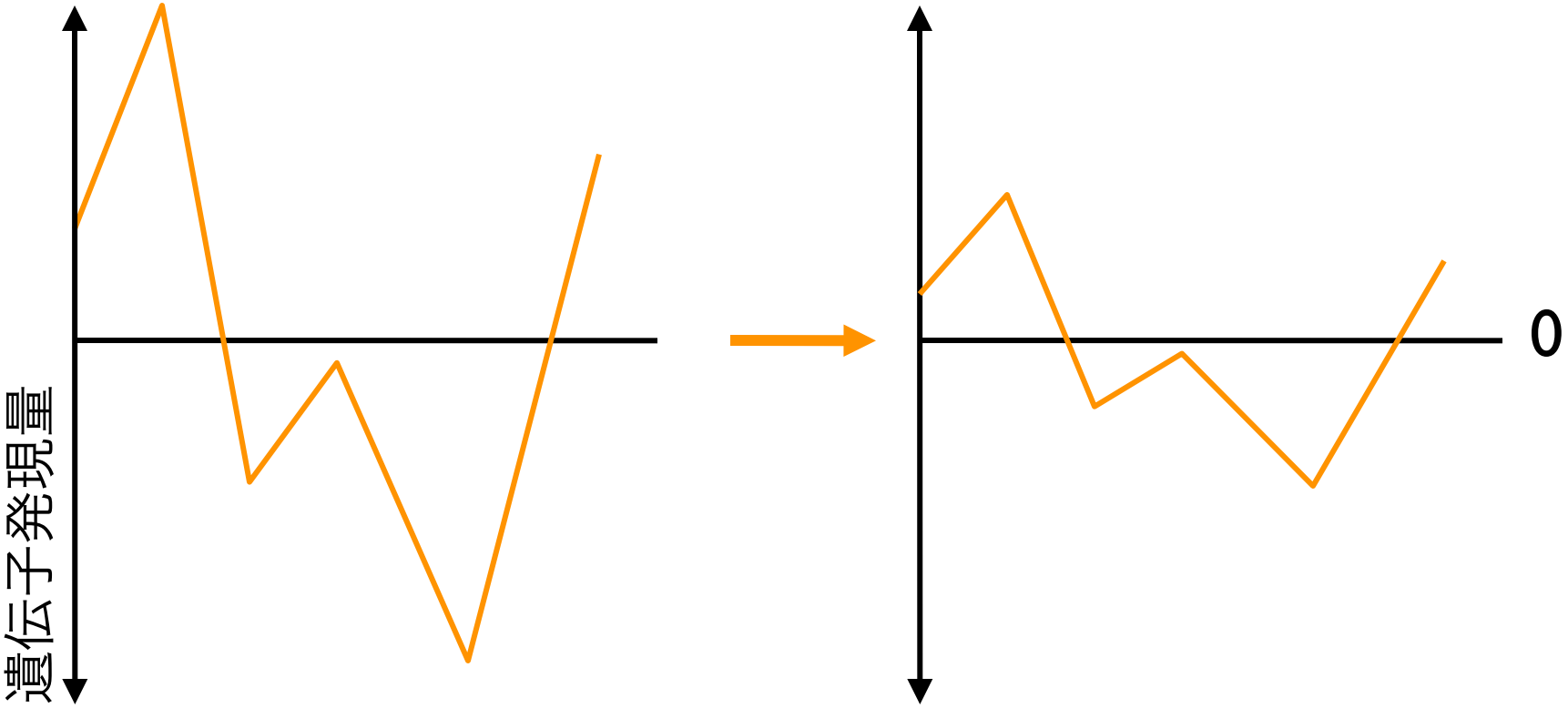


これらはcentering後は

全く同じプロファイルになる

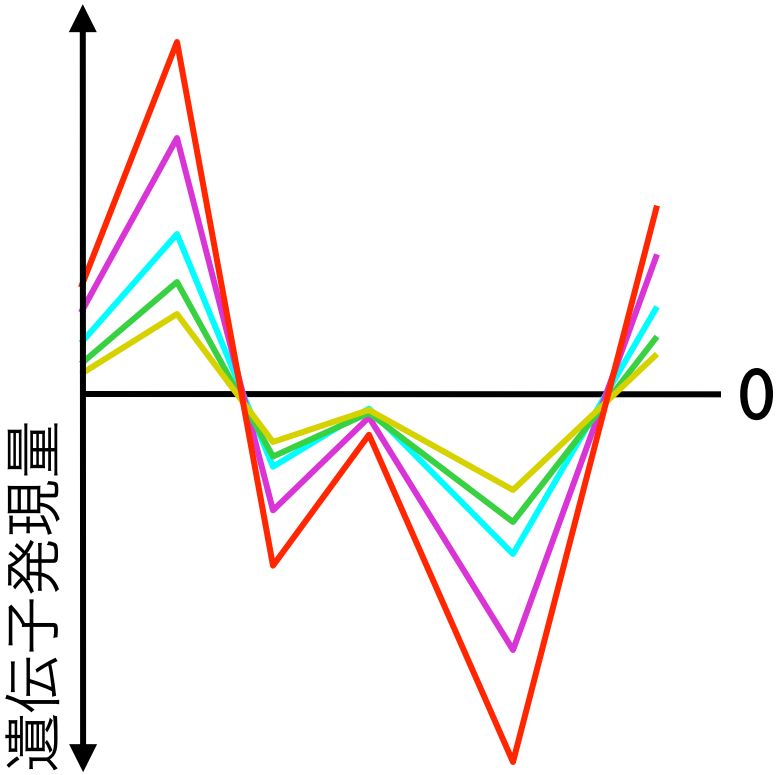


Scaling



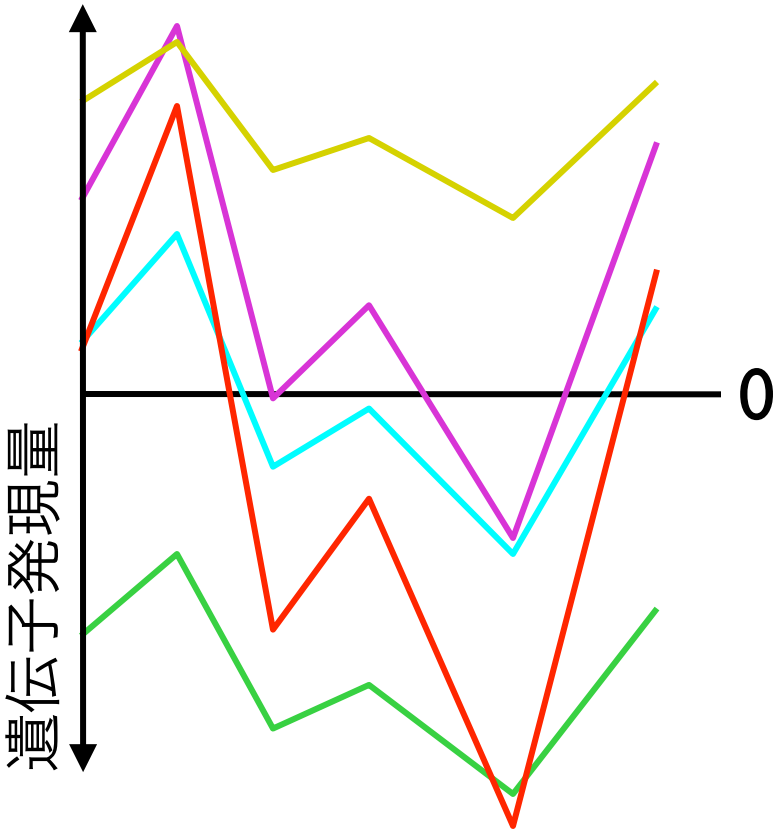
これらはscaling後は

全く同じプロファイルになる

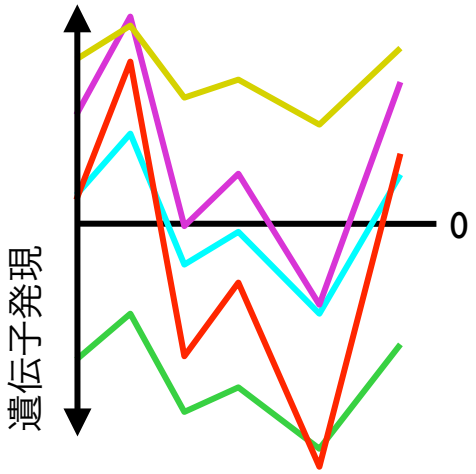


これらはcentering, scaling後は

全く同じプロファイルになる



アルゴリズムに注目: 相関係数の場合



$$\frac{(a_1-\bar{a})(b_1-\bar{b})+(a_2-\bar{a})(b_2-\bar{b})+(a_3-\bar{a})(b_3-\bar{b})}{\sqrt{(a_1-\bar{a})^2+(a_2-\bar{a})^2+(a_3-\bar{a})^2}\sqrt{(b_1-\bar{b})^2+(b_2-\bar{b})^2+(b_3-\bar{b})^2}}$$

センタリング

スケーリング

ポイント

距離尺度選択における注意点

方法依存的に抽出される特徴:
どのような特徴を認識したいのか/
しているのか意識すること

- 処理間の変動の大きさ: ユークリッド距離
- 処理間のパターンの違い: コサイン係数
- パターンを比較
  - 基準サンプルあり: コサイン係数
  - 基準サンプルなし: 相関係数

ポイント

多変量解析の実際

教師有りか無しか

(supervised or unsupervised)？

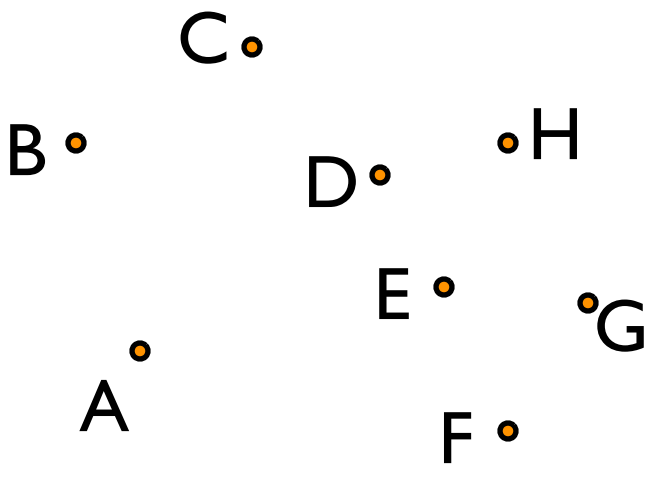
- 事前情報、前提はあるか？
- ある場合はk-means法などの利用を検討

どのような距離行列を使うか？

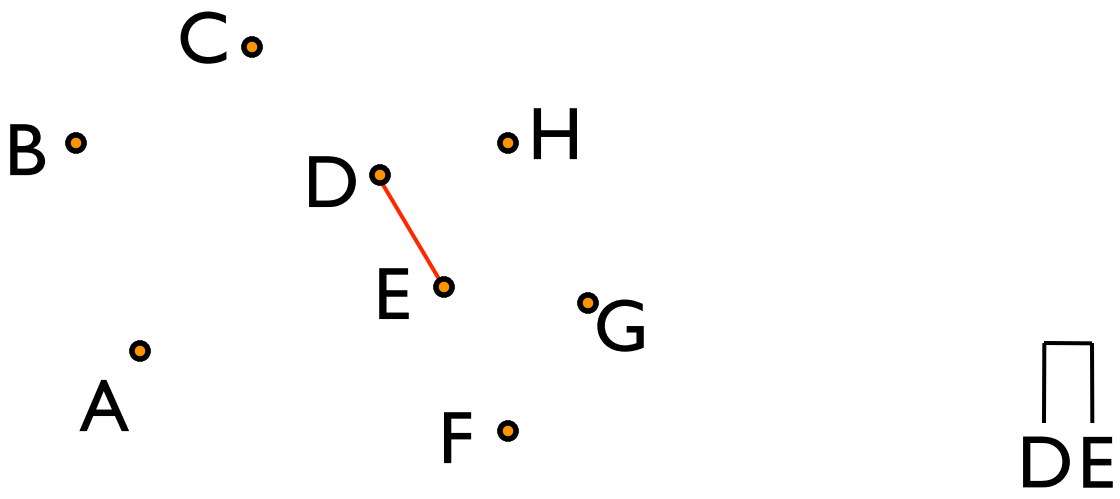
多変量解析の実際

階層クラスタリング

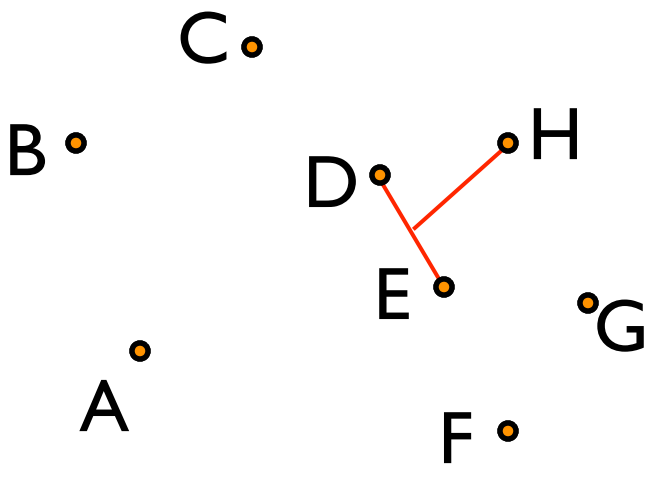
Agglomerative hierarchical clustering



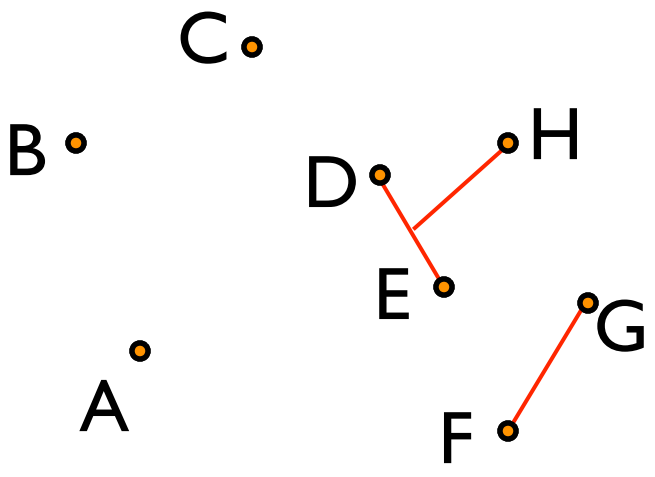
Agglomerative hierarchical clustering

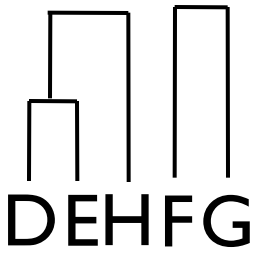


Agglomerative hierarchical clustering

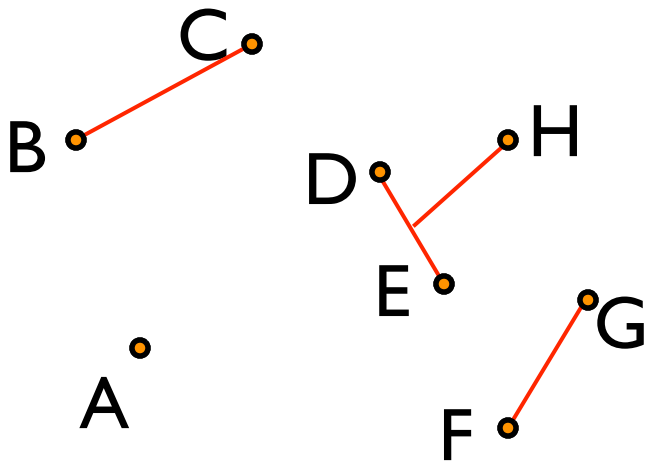


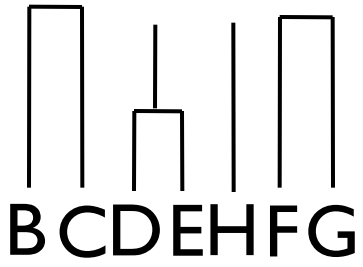
Agglomerative hierarchical clustering



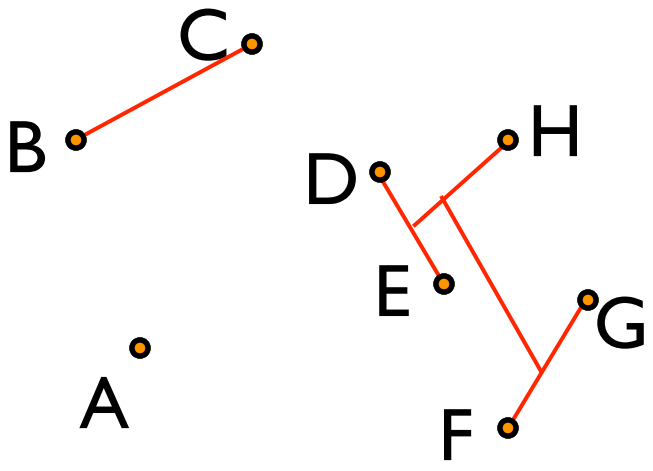


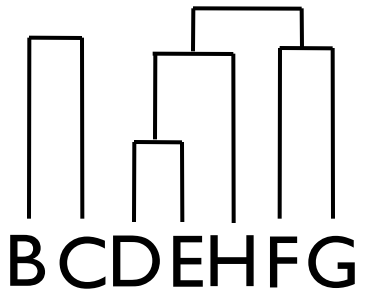
Agglomerative hierarchical clustering



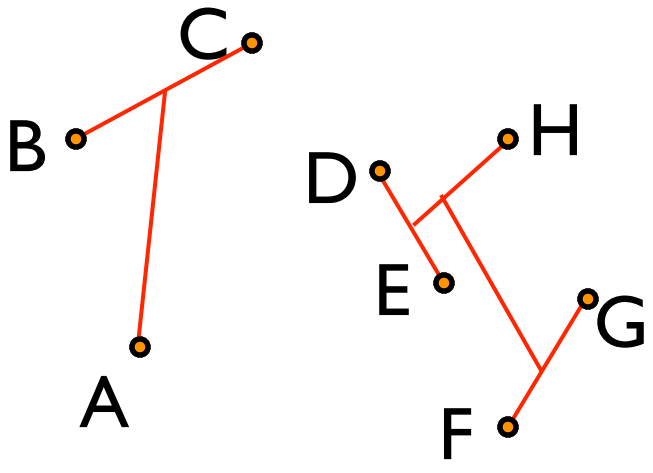


Agglomerative hierarchical clustering

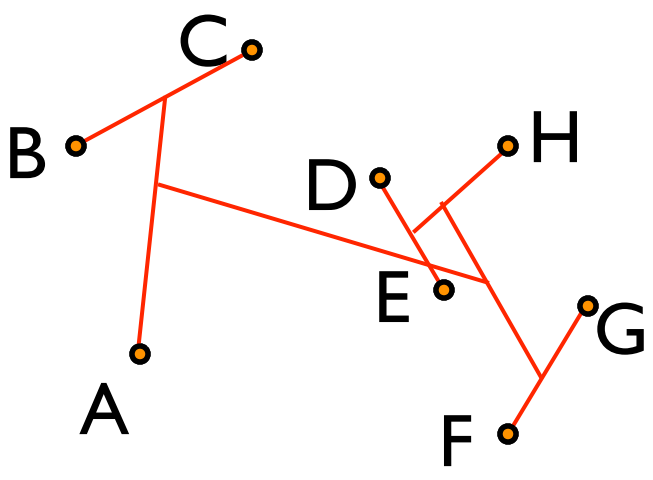


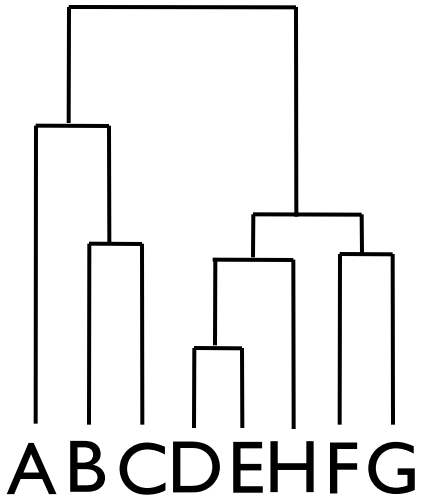


Agglomerative hierarchical clustering

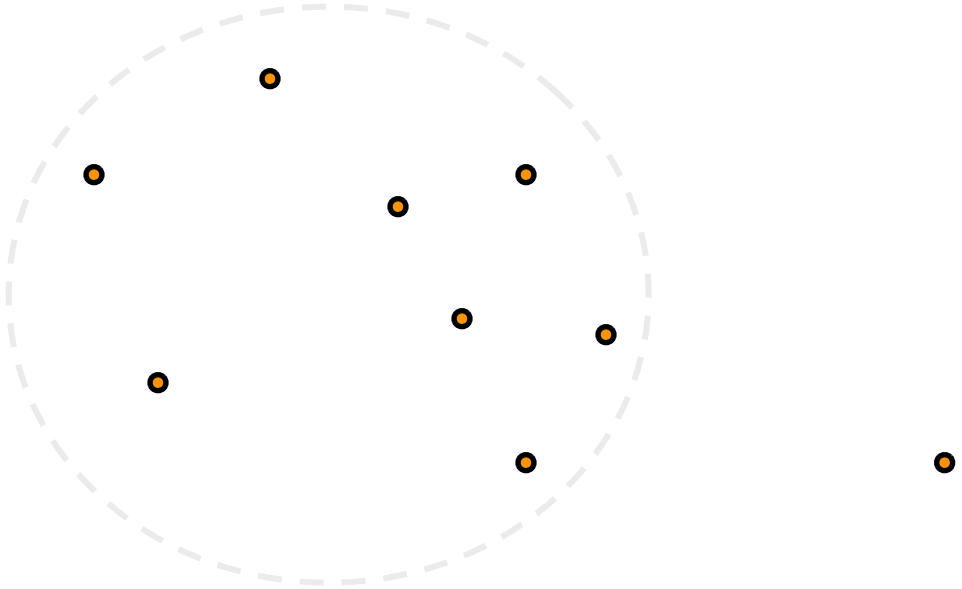


Agglomerative hierarchical clustering

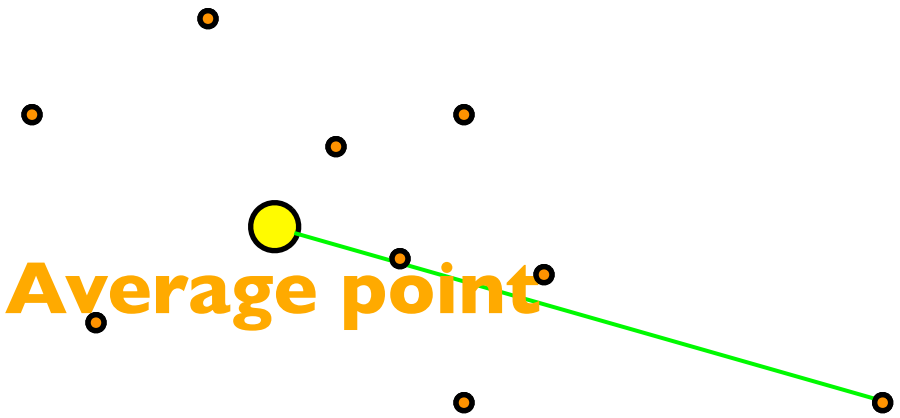




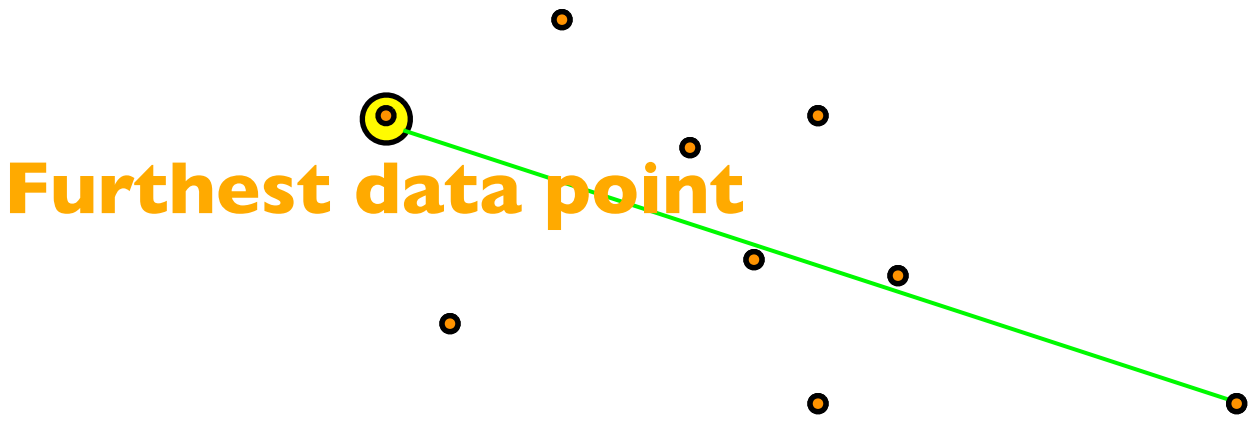
クラスター定義手法



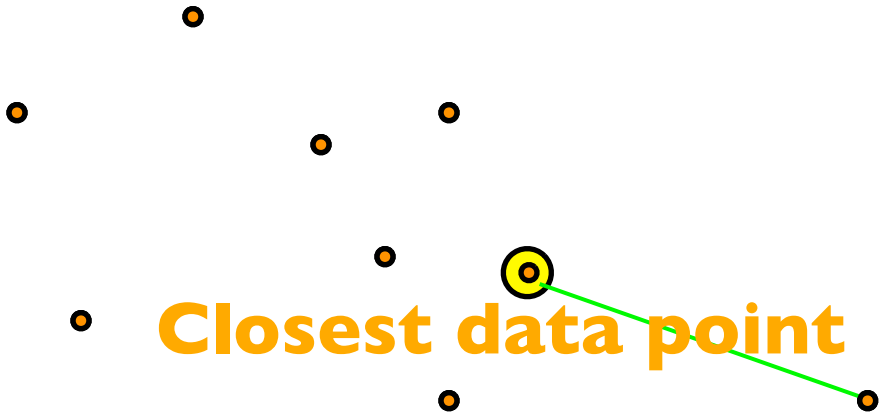
Average linkage



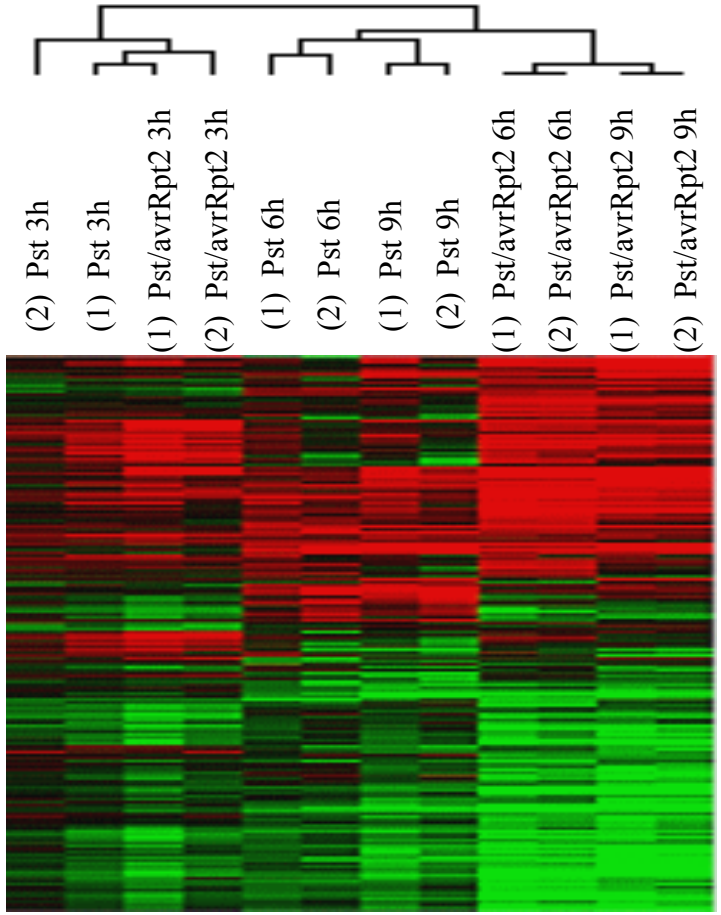
Complete linkage



Single linkage



階層クラスタリングの利点



- クラスター化して
  より少数のカテゴリー
  を示す
- 人間が認識可能な
  パターンを示す

階層クラスタリングの欠点

- Bottom-up: 非常に「手順」依存性

- 一つの距離のみを指標とした
  クラスタリング
  （次のPCAで比較します）

主成分分析

主成分分析とは？

モチベーション:

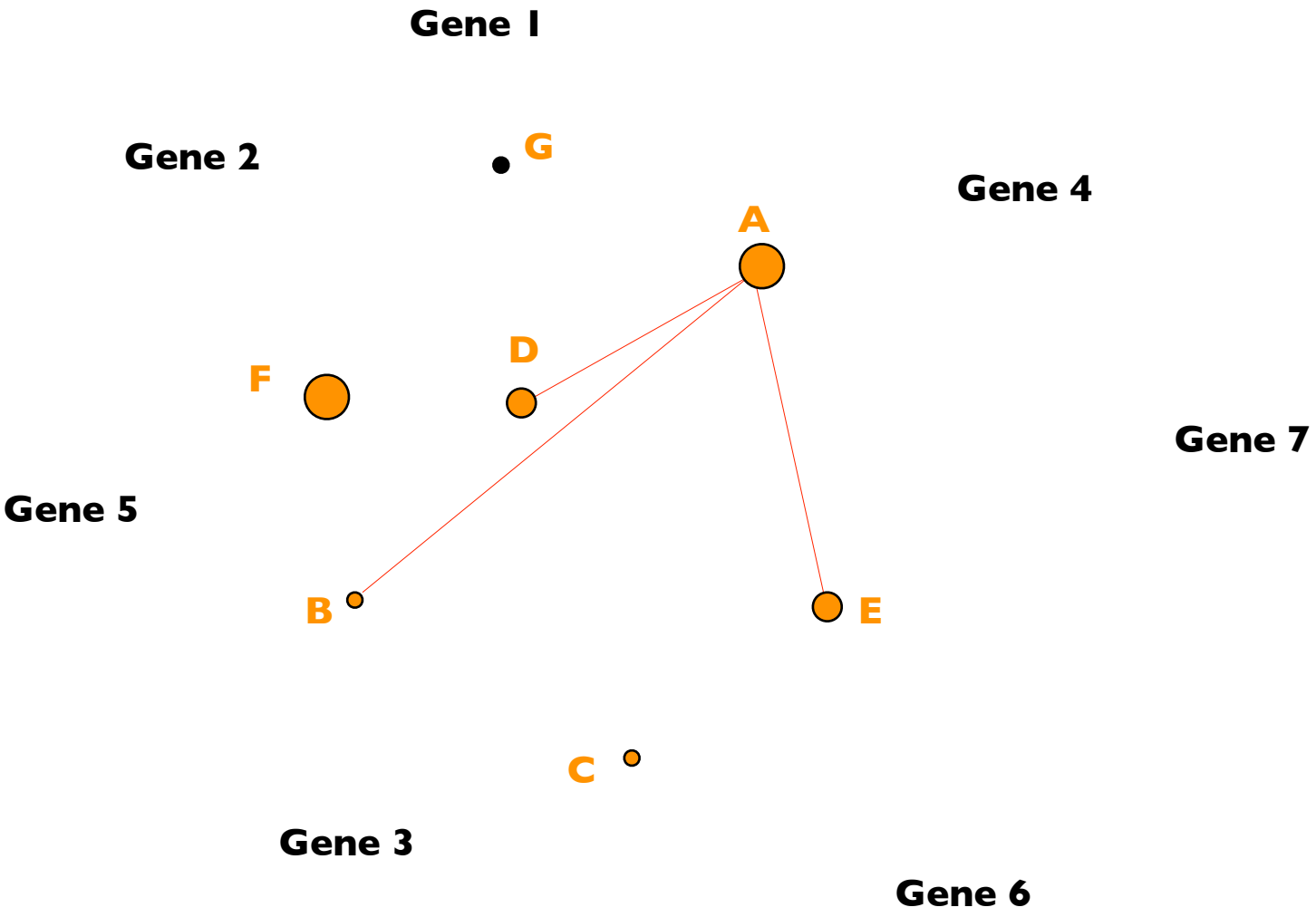
多次元データ（多数の遺伝子もしくは多数のサンプル）に含まれる特徴を

- 大きなものから抽出して**新たな軸**を作り
- **情報量の大きな低次元でデータを可視化する**

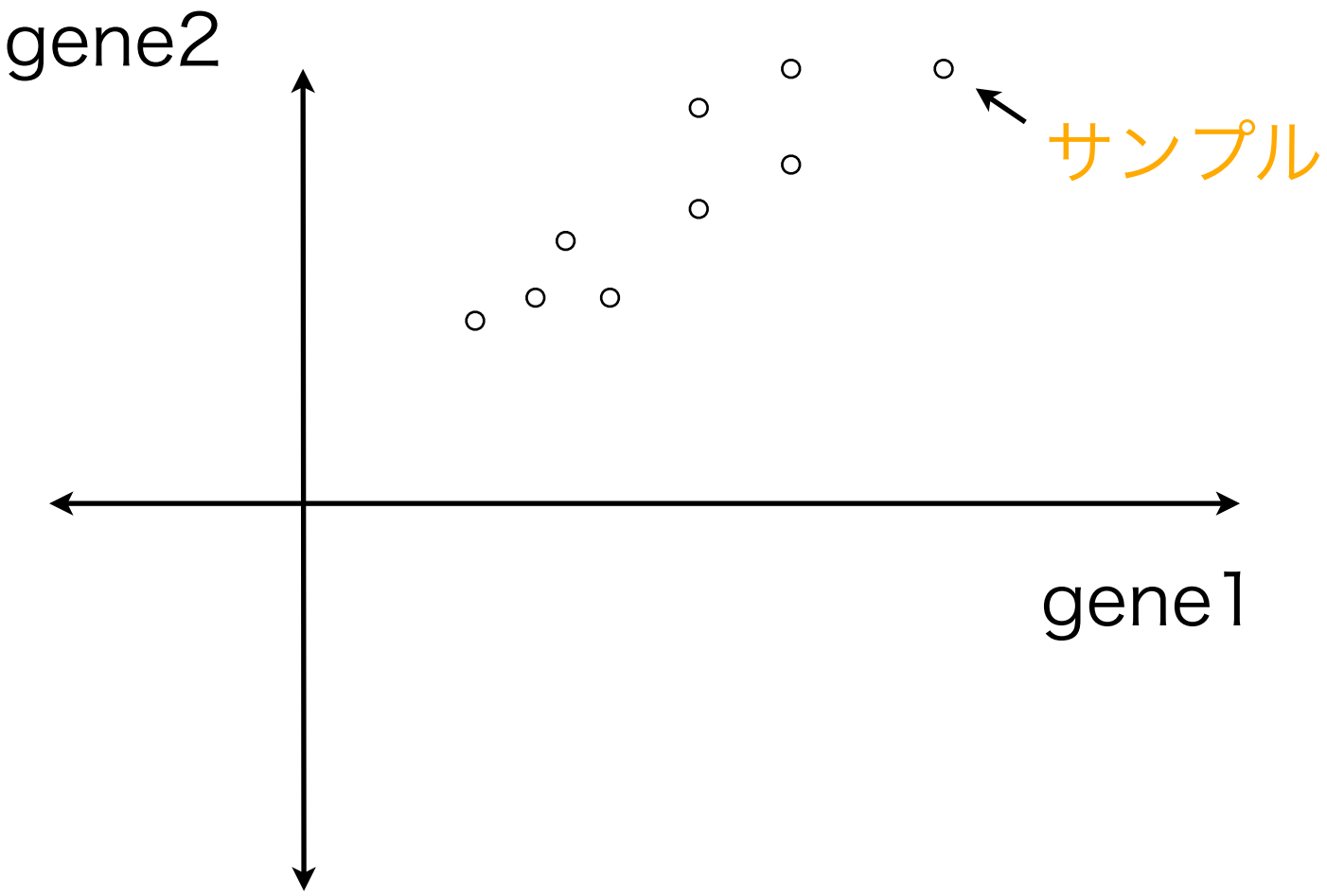
→ **人間が新たな解釈を与える**

階層クラスタリング:

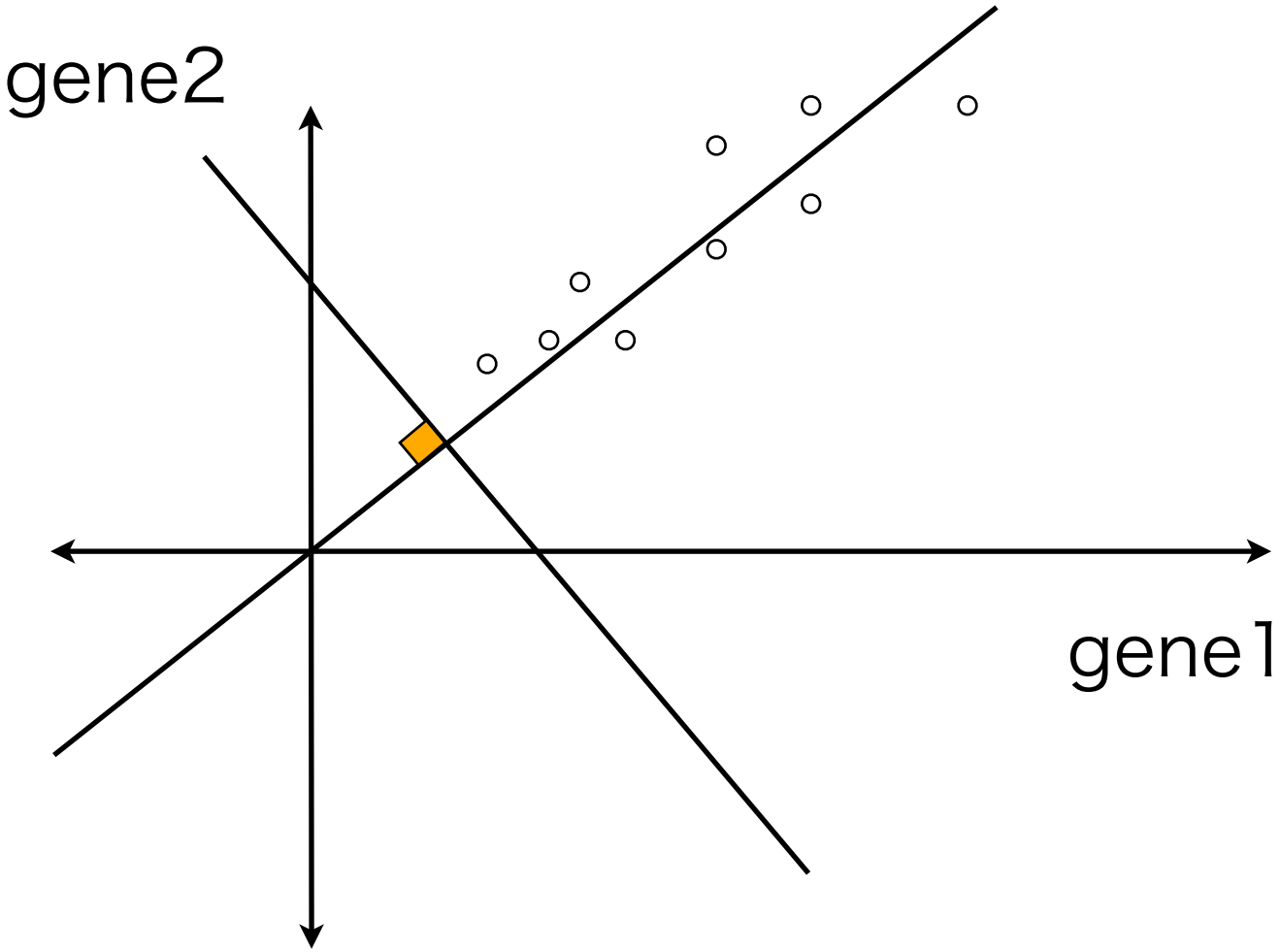
プロファイル間の類似性は空間での**1つの距離**によって決まる



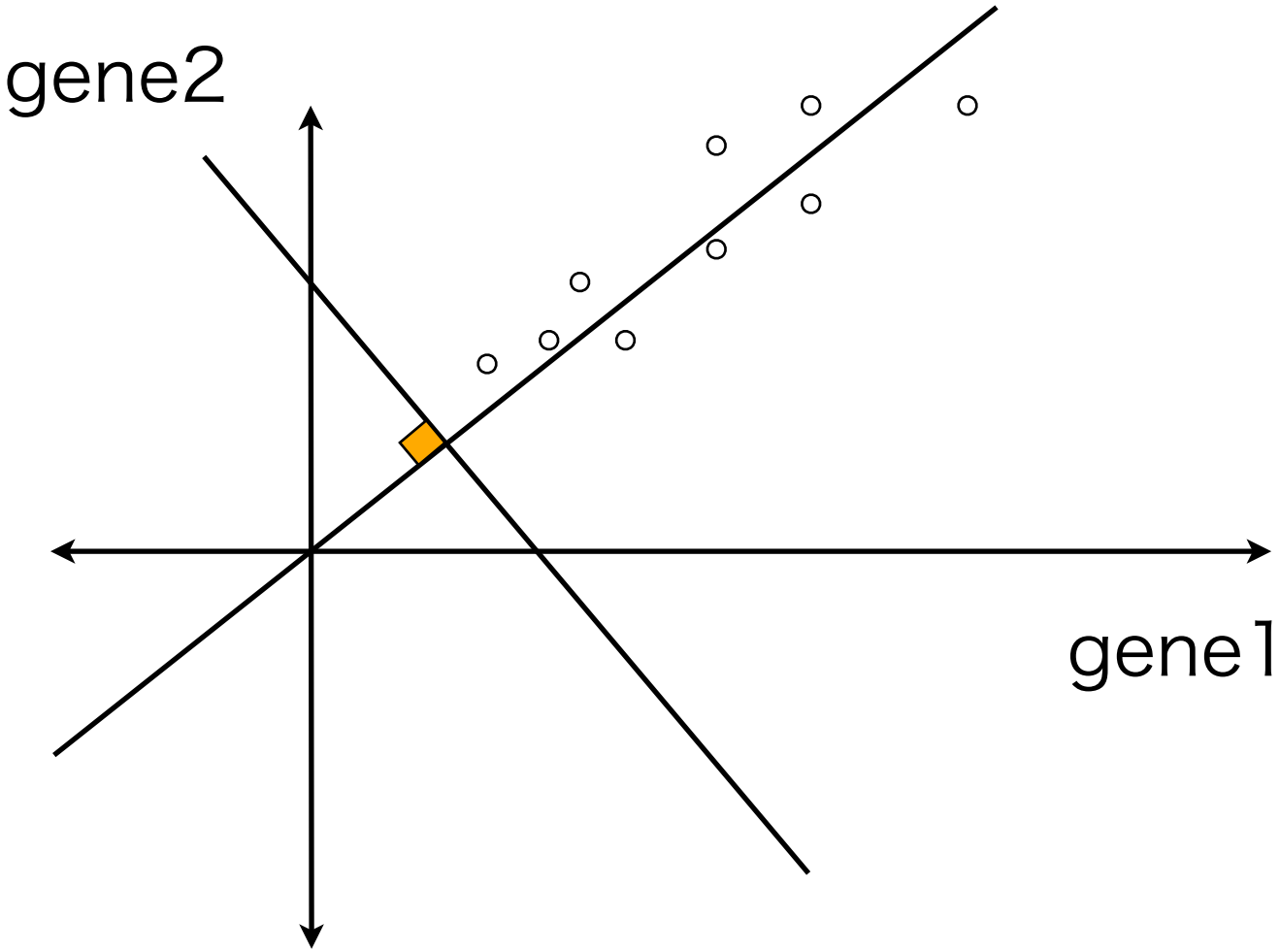
PCAは何をするのか？



PCAは何をするのか？



PCAは何をするのか？



PCAの概略(2次元)

1. 各サンプル（1..n）の観察値(x_n, y_n)を

$$u_n = a_1 x_n + b_1 y_n$$
$$v_n = a_2 x_n + b_2 y_n$$

足し算→線形

とおく

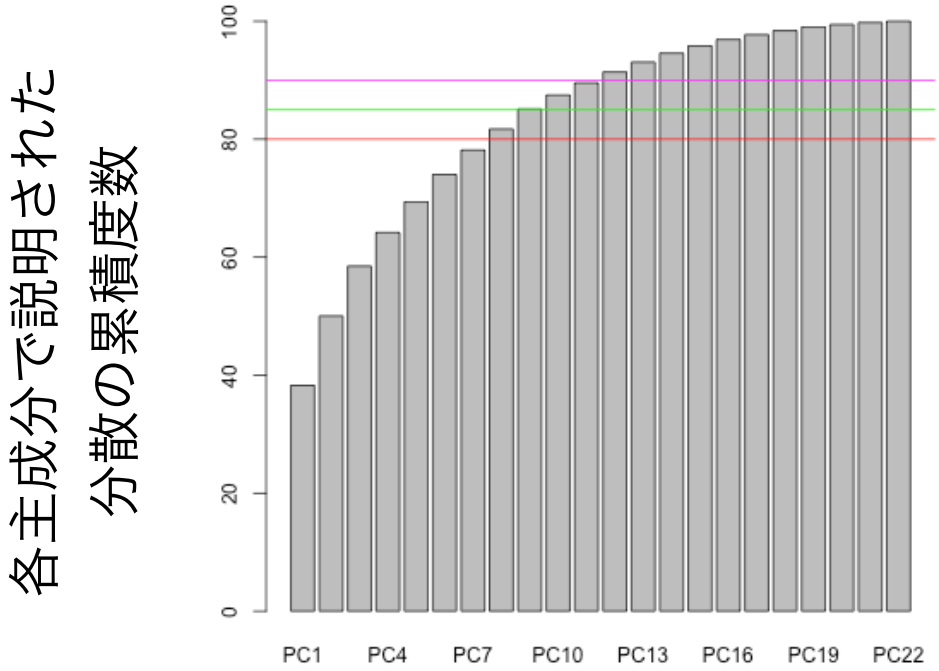
2. $a^2 + b^2 = 1$, uとvの相関係数0という制約の下でこれを解いて a_n, b_n を求める。

PCAで得られる重要な統計量

- 寄与率
- 因子負荷量
- 主成分得点

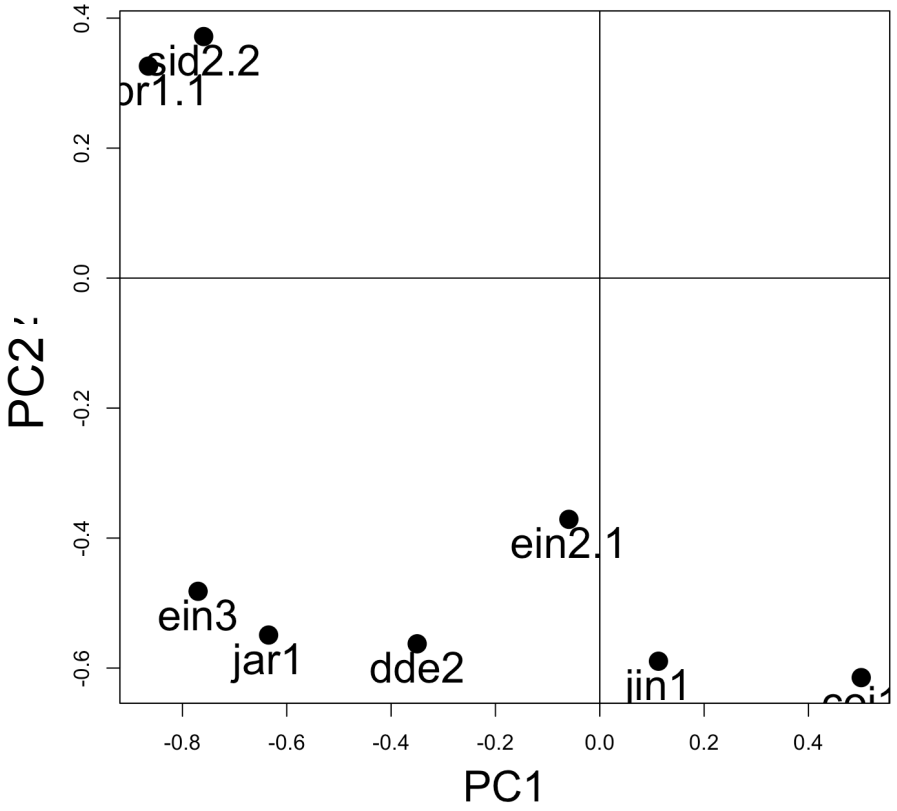
寄与率

- 各主成分が説明する分散の割合



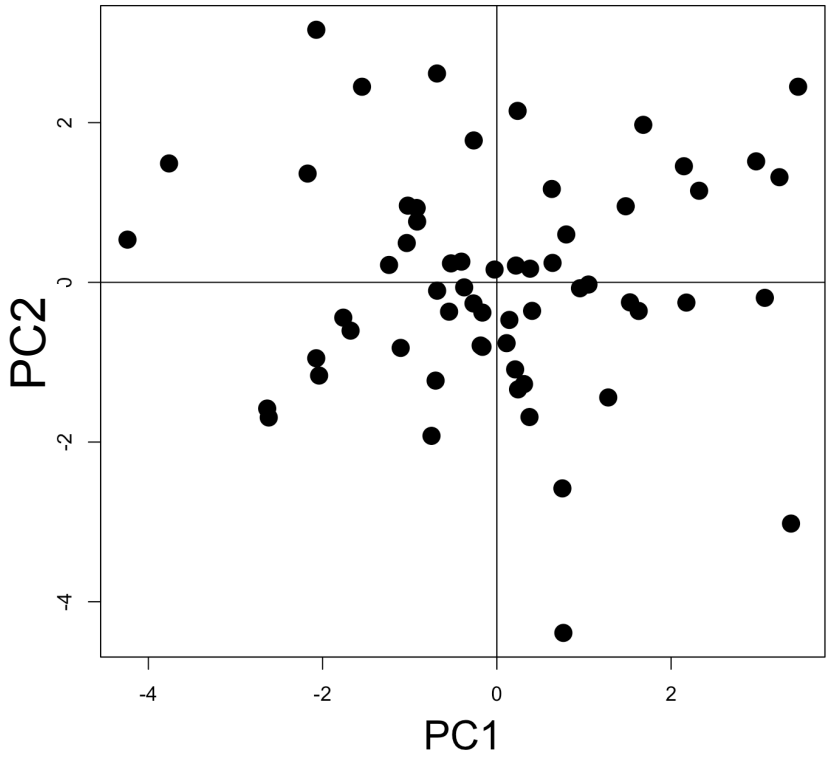
負荷量 loadings

- 得られた主成分と元データのパラメーターの相関
- 各パラメーターがもとのデータの情報をどれだけ有するか



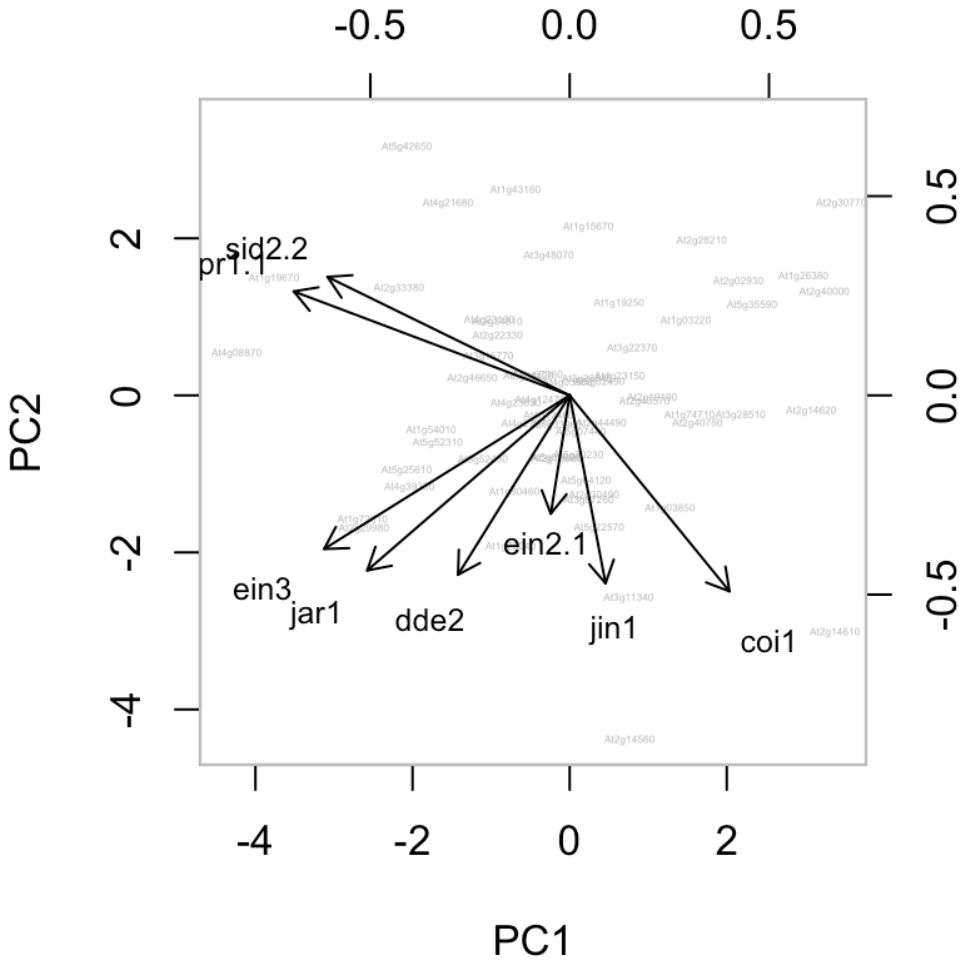
主成分得点 scores

- 各パラメーターの値を各主成分について標準化したもの



標準化: 平均0, SD=1

biplot:
因子負荷量と主成分得点を同時に可視化




```
source("gitc/data/MS/multivariate_analysis_source.R")
PCAresults <- pca(inputMatrix)
biplot(PCAresults$fs[,1:2], PCAresults$factor.loadings[,1:2],
       col=c("grey", "black"), cex=c(0.25,0.75))
```

ex601-3で着目するPCを決めて可視化してください

主成分分析(まとめ)

- 主成分分析は**データの分散を説明する新たな軸を計算する**方法
  - **寄与率**
  - **因子負荷量**
  - **主成分得点**

多次元尺度構成法

Multi-dimensional scaling(MDS), Principle coordinate analysis

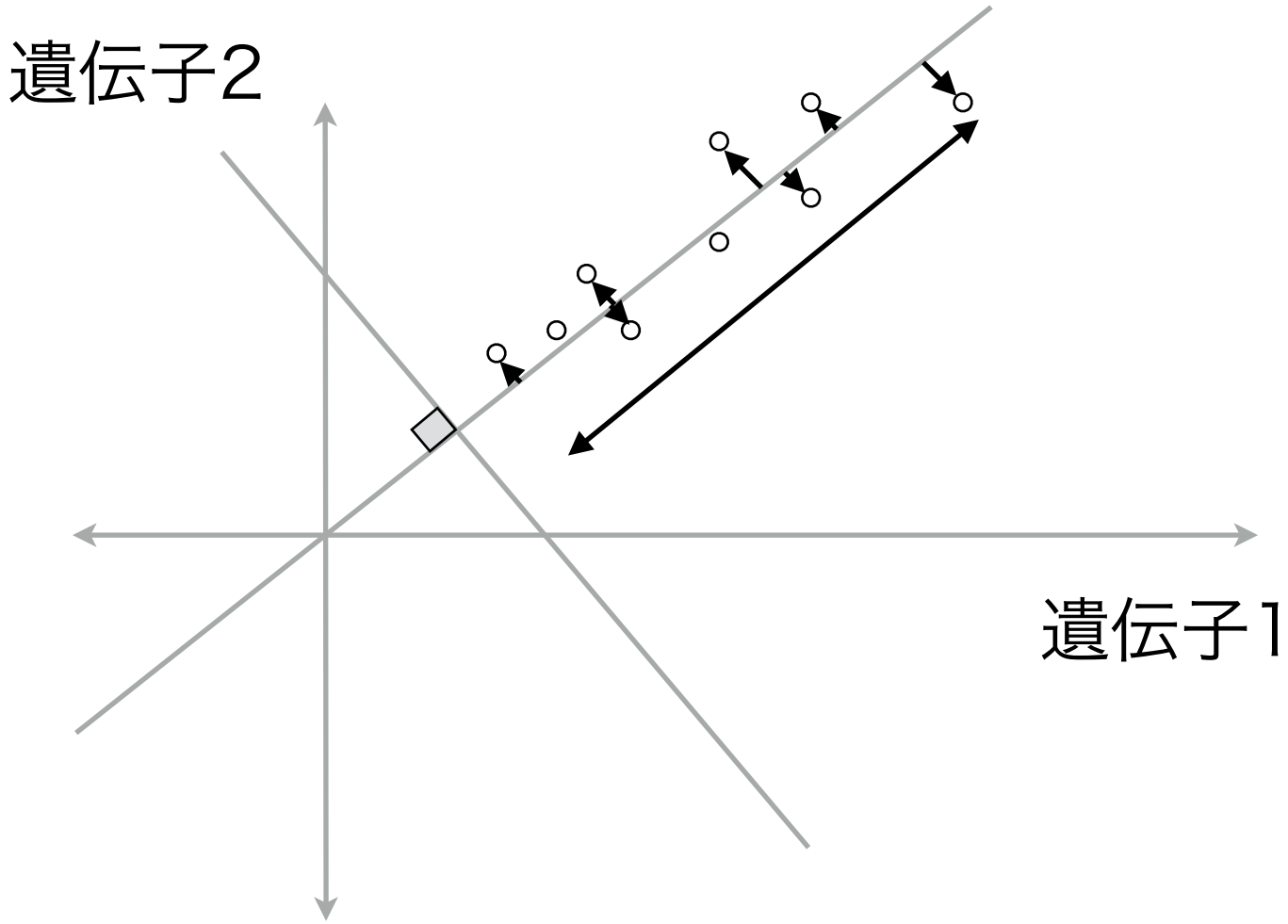
多次元尺度構成法とは？

モチベーション:

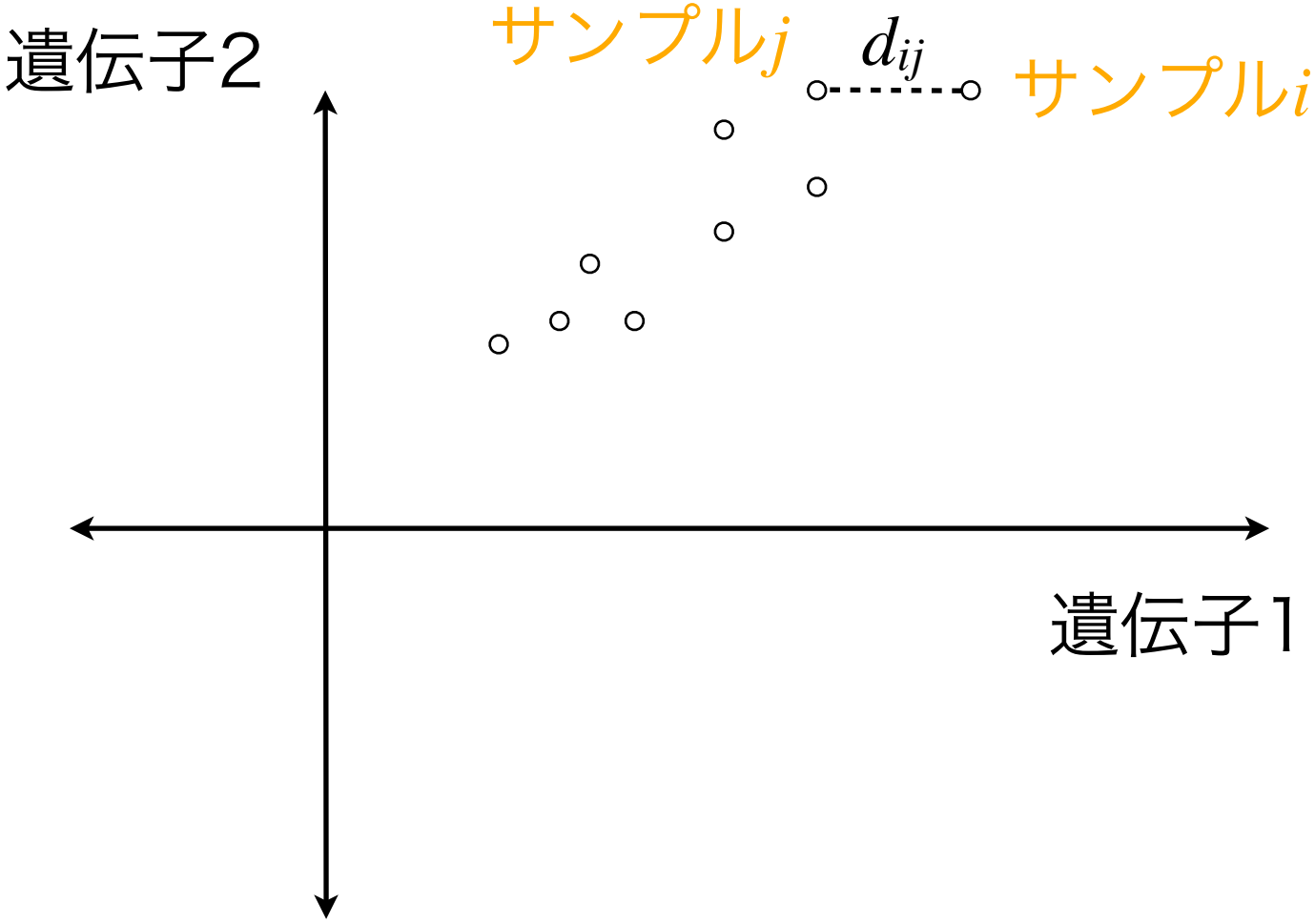
多次元での各サンプル間の距離を保持して
低次元で表現する

⇄ 高次元の距離を低次元に圧縮するため
軸に意味がない

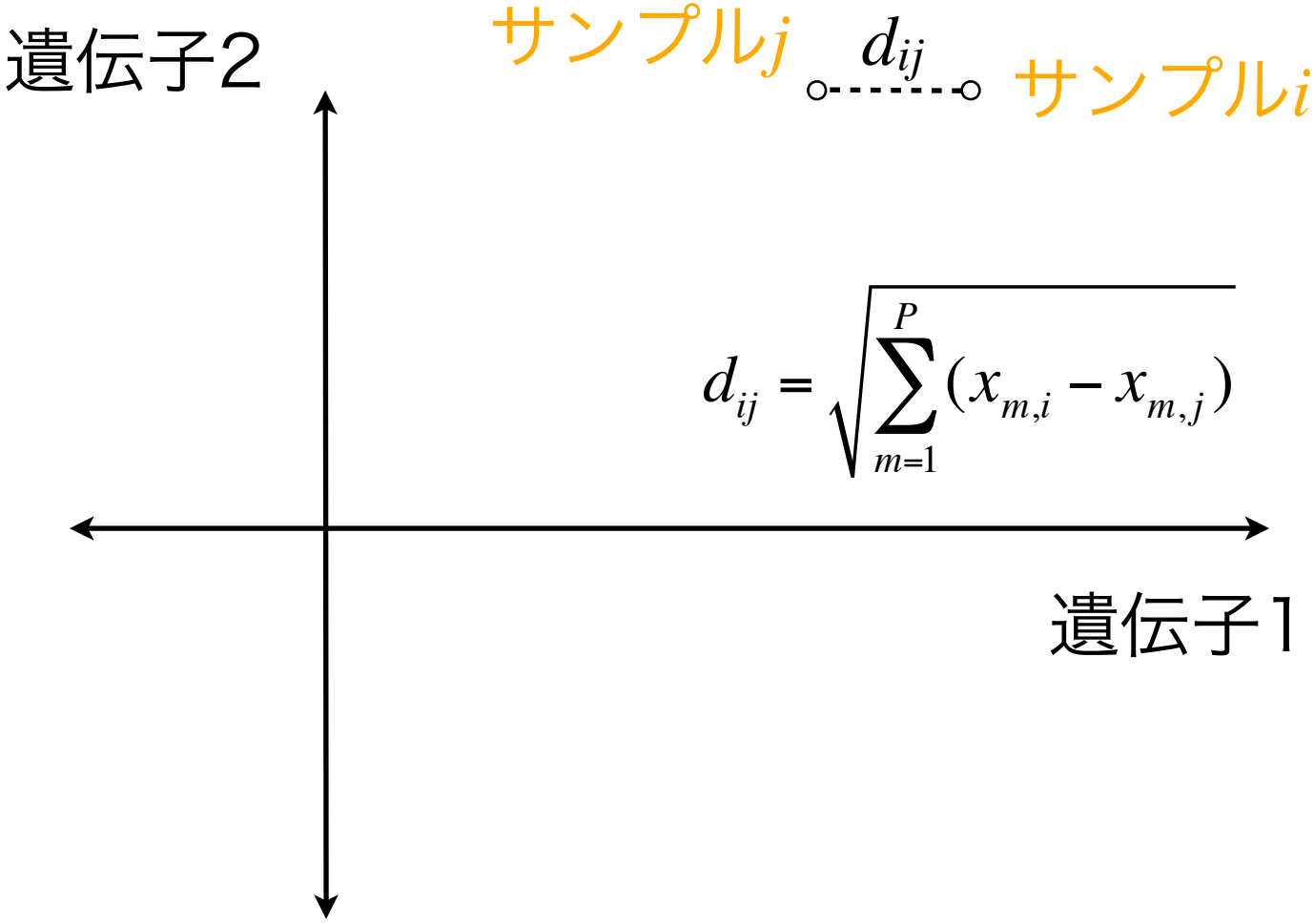
PCAが考慮する距離



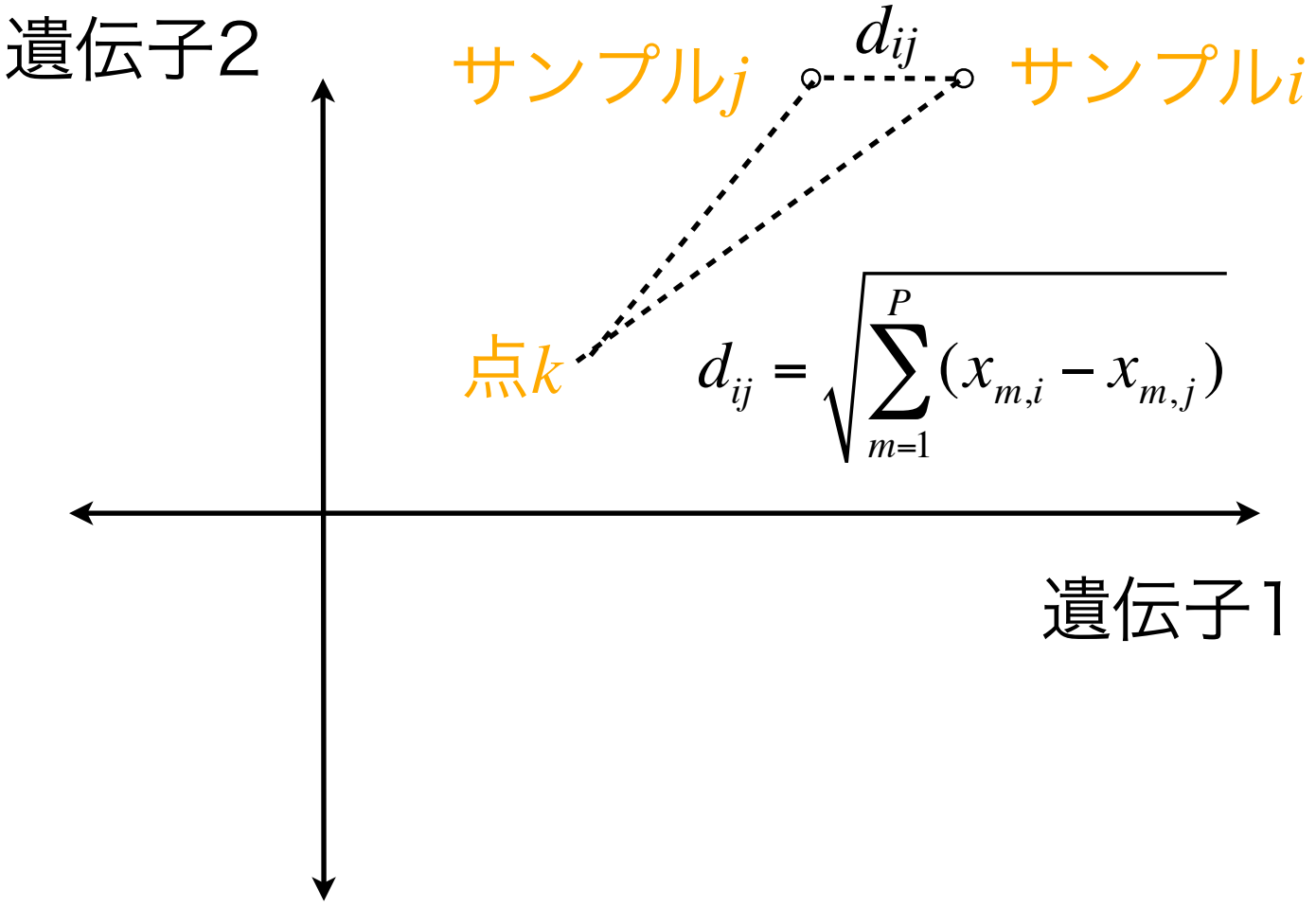
MDSが考慮する距離



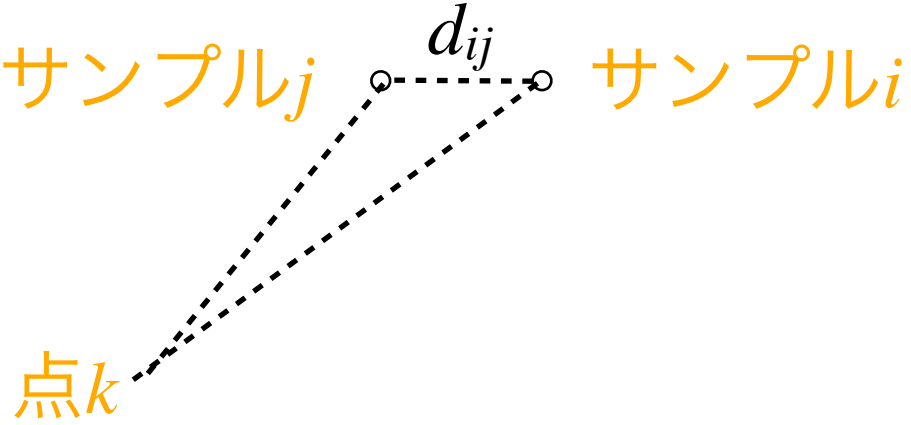
サンプル間の距離をまず計算する



この定理はサンプルi,jに対し、どこを原点（点k）としても成り立つ

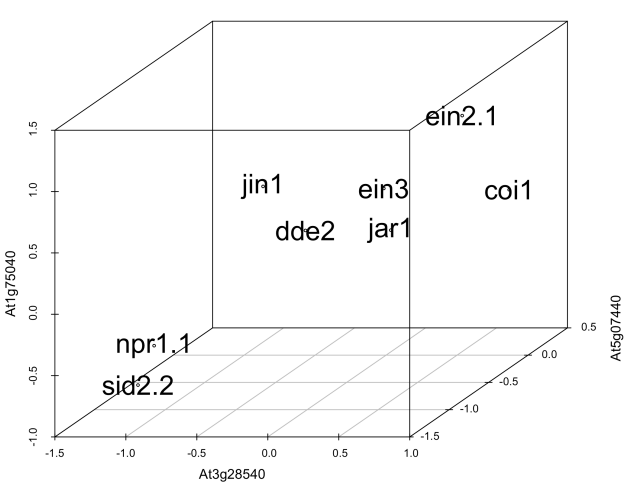


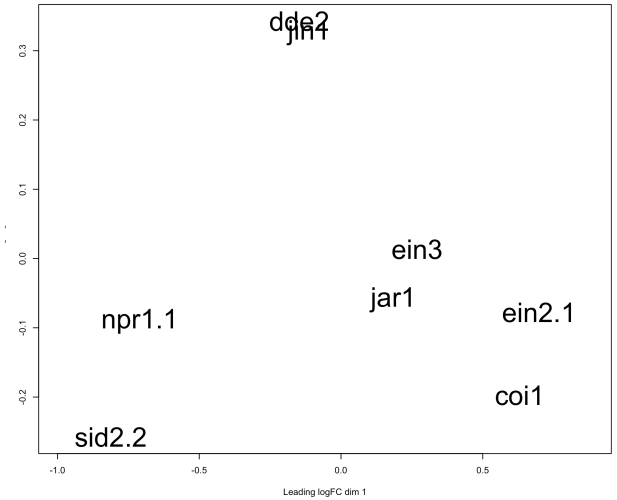
この定理はサンプルi,jに対し、どこを原点（点k）としても成り立つ

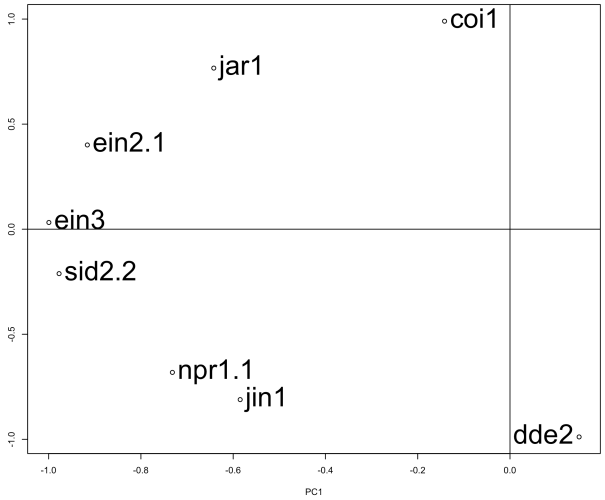


$$d_{ij}^2 = d_{ik}^2 + d_{jk}^2 - 2d_{ik}d_{jk}\cos\theta$$

MDSとPCAの違い







Raw data (3 genes)　　MDS (2D)　　PCA (2 PCs)

多次元尺度構成法とは？

モチベーション:

多次元での各サンプル間の距離を保持して
低次元で表現する

⇄ 高次元の距離を低次元に圧縮するため
軸に意味がない

PCA/MDSのまとめ

データがもつ類似性を低次元で表現し、評価・可視化する

	PCA	MDS
軸に意味がある	Yes	No
データ全体におけるサンプルの総体的な位置関係を保持する	Yes/No	Yes

- **重心の置き方に違い**: 入力データをどのように前処理するか

多様体学習: 非線形データの多変量解析

モチベーション：

非線形のデータ構造を低次元に圧縮して表現する

- Locally linear embedding
- Isomap

} NGS解析にあまり使われないので割愛するが、IsomapはMDSの延長として勉強するのに有用

- t-SNE
- UMAP

注意点: 局所（サンプル間）の距離・関係を重視し、
全体の距離は犠牲にしている

t-SNE, UMAP

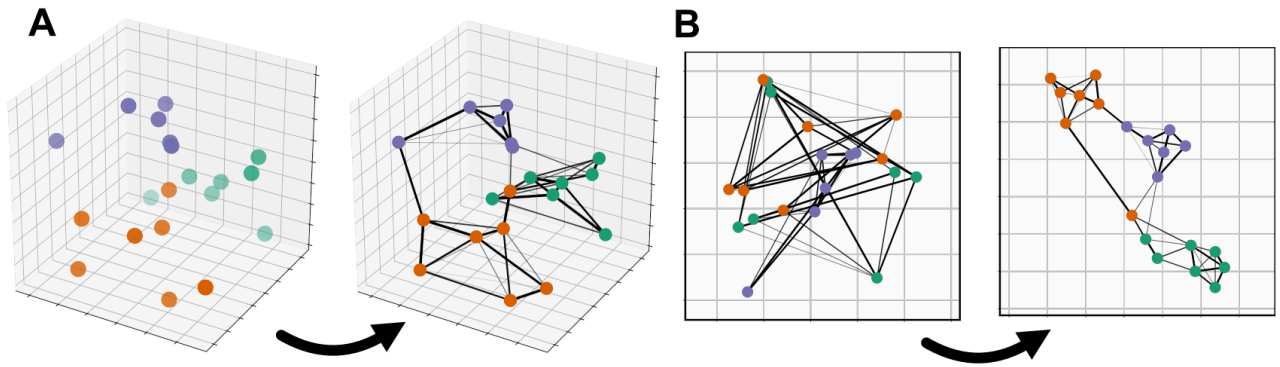
モチベーション：

非線形のデータ構造を低次元に圧縮して表現する

- 多様な状態のサンプル間の関係性、クラスターを特定する
- single cell omicsデータ解析におけるMDSの立ち位置

t-SNE, UMAPアルゴリズム概略

1. サンプル間の距離を計算
2. 高次元でのサンプル間距離が低次元でも同様になるよう調整（embedding, 埋め込み）
    1. t-SNE: t-分布を使って距離を調整
    2. UMAP: グラフ解析を利用

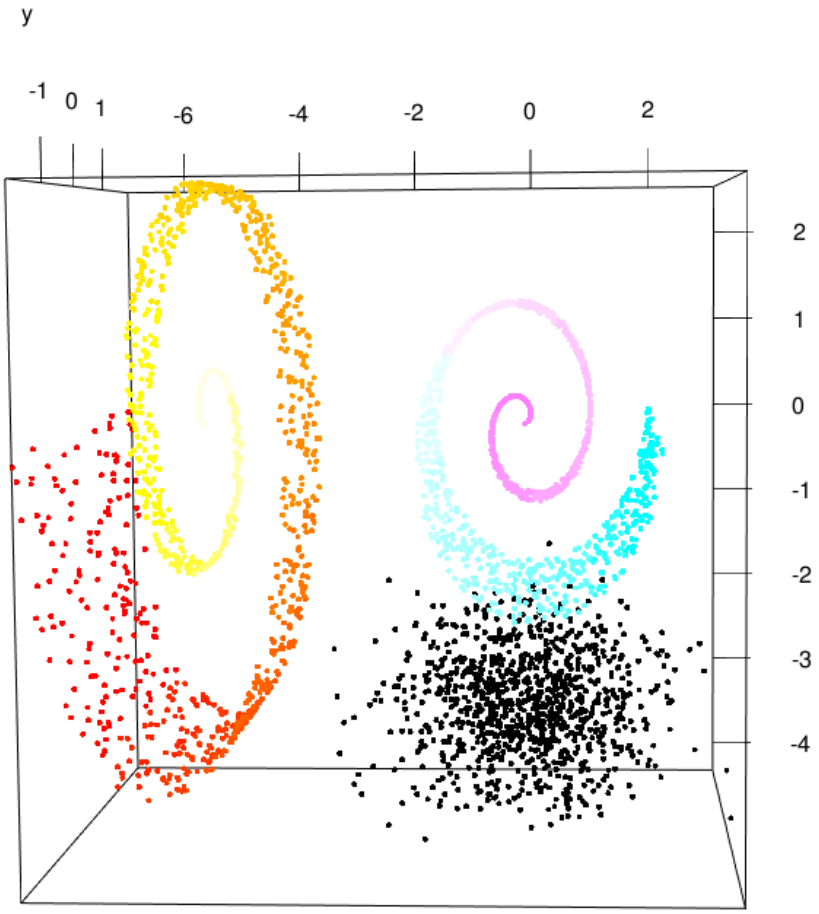


Step 1: Compute a graphical representation of the dataset

Step 2 (non-parametric): Learn an embedding that preserves the structure of the graph

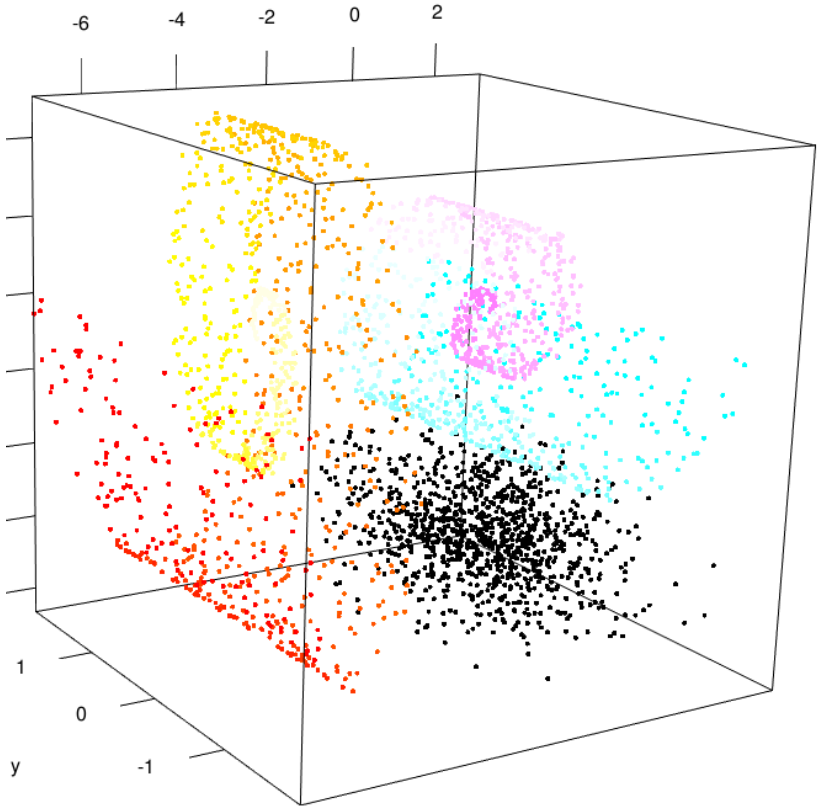
Sainberg et al. (2009)
arXiv:2009.12981

人工非線形データの多変量解析



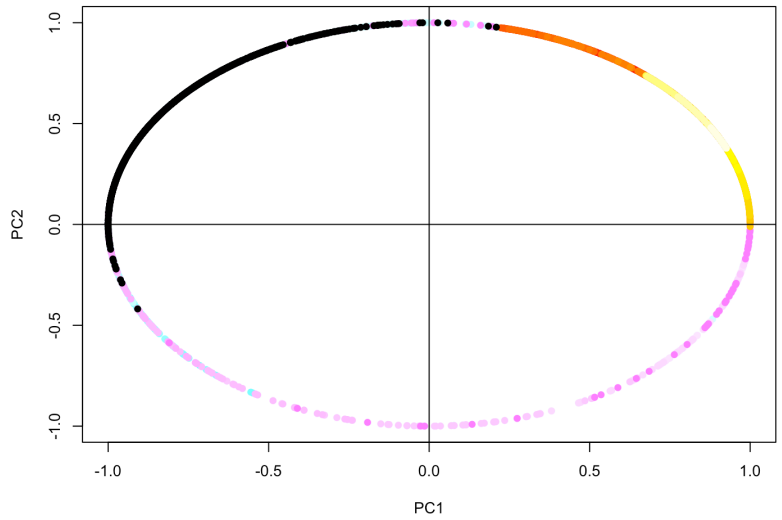
仮定：３遺伝子（次元）データ

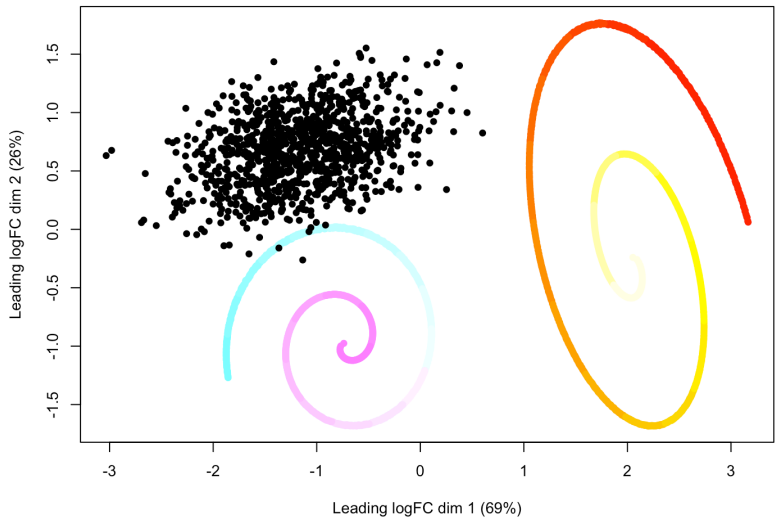
- 時間で変化する細胞集団２つ
- ランダムな状態の細胞集団1つ

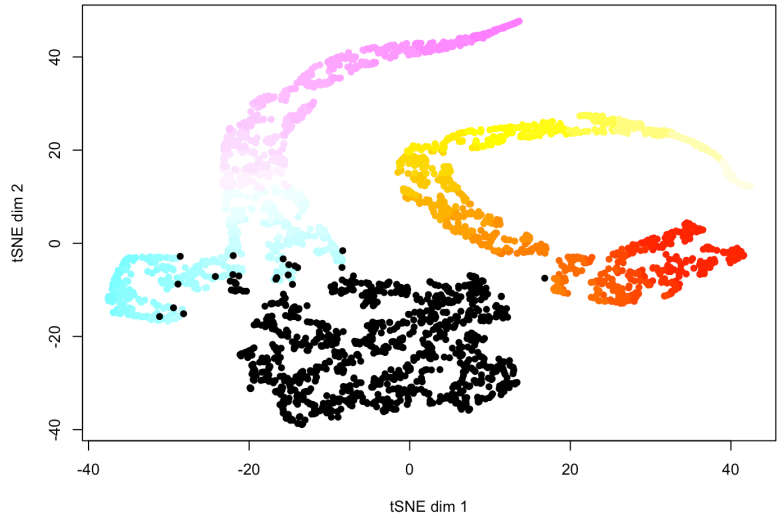


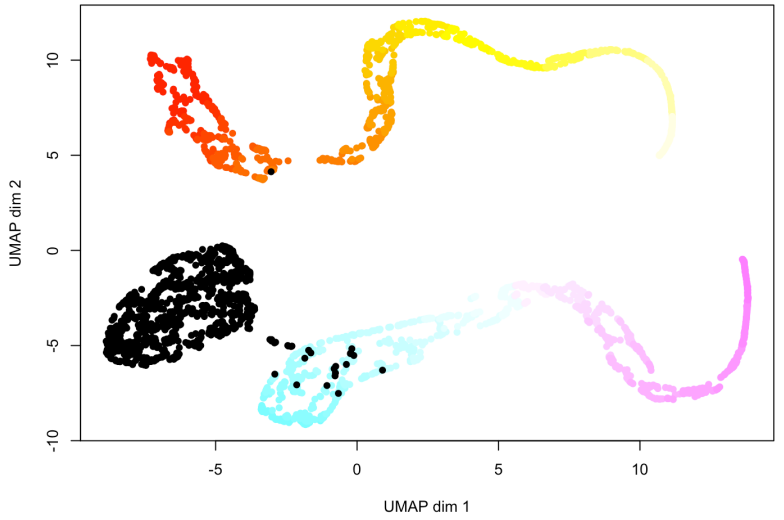
- 分布：２次元ではスイスロール
- 残りの１次元: 初めは多様性が低い

PCA, MDS, t-SNE, UMAP

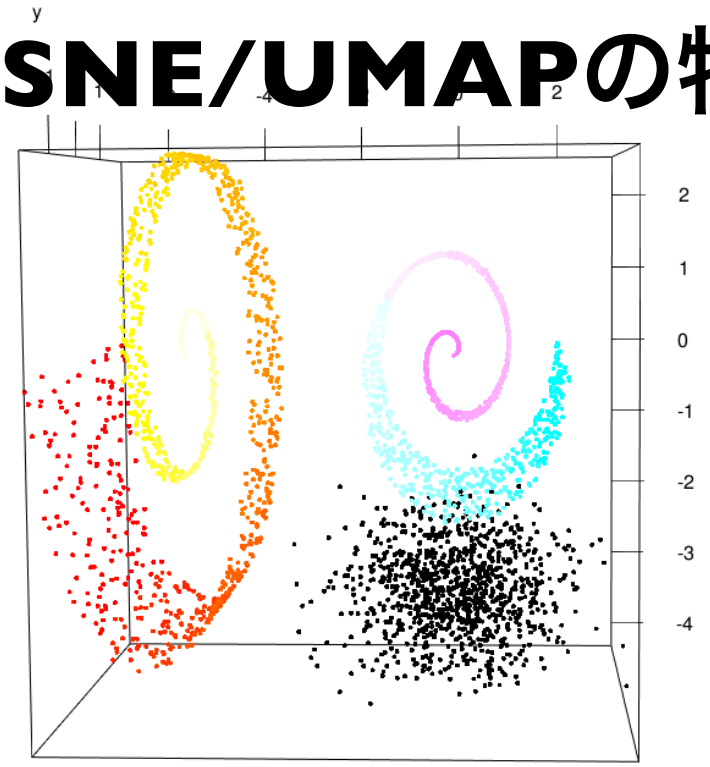


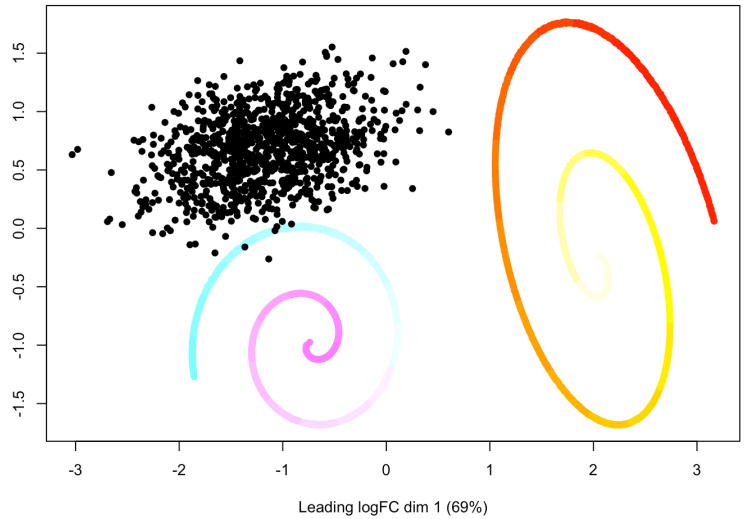


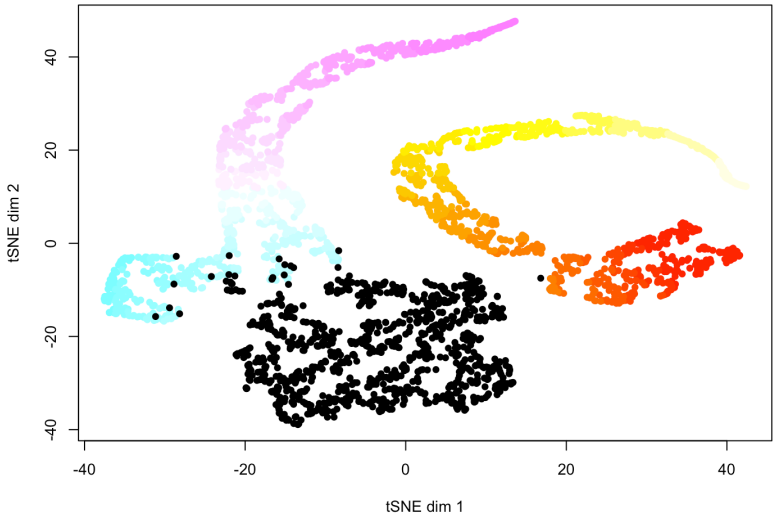


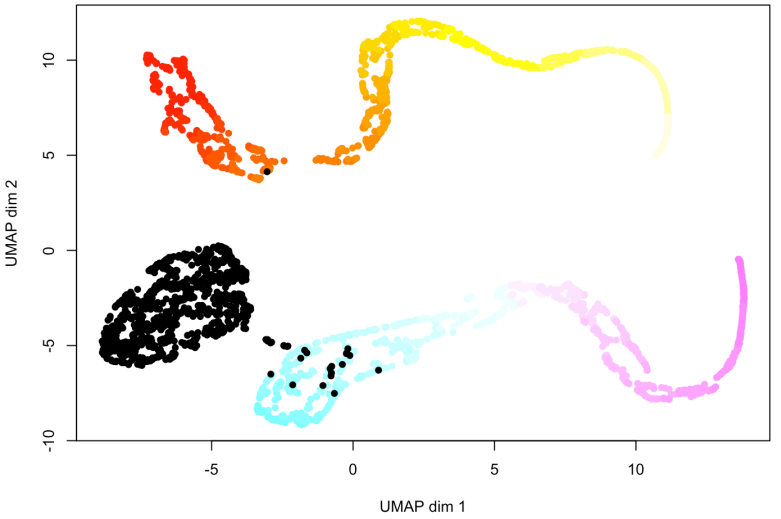


t-SNE/UMAPの特徴



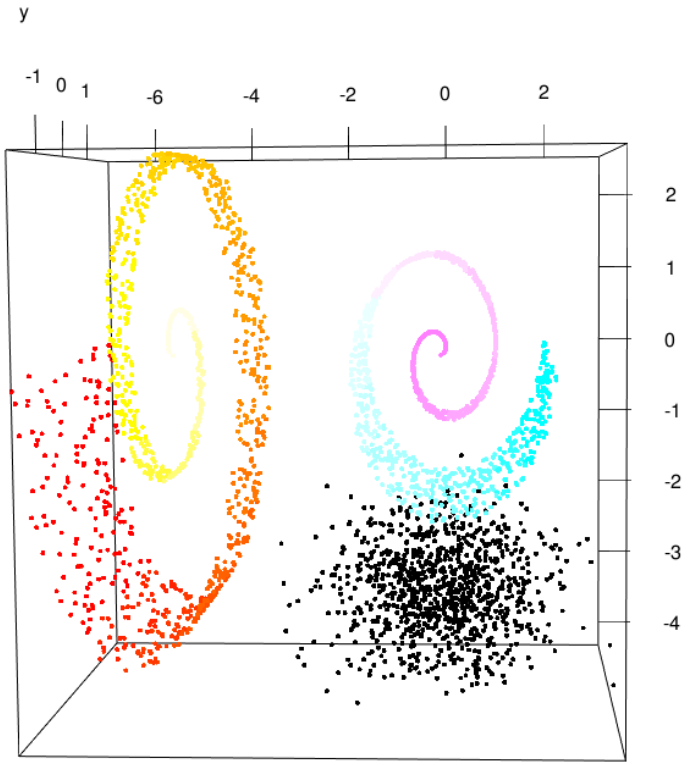


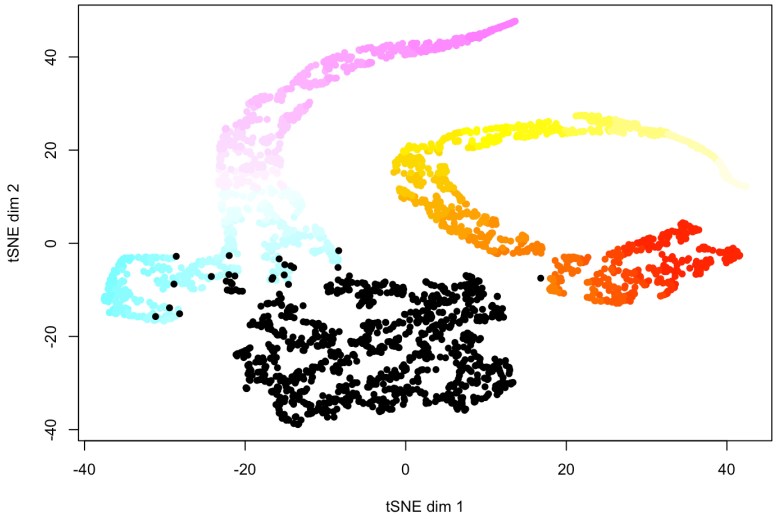


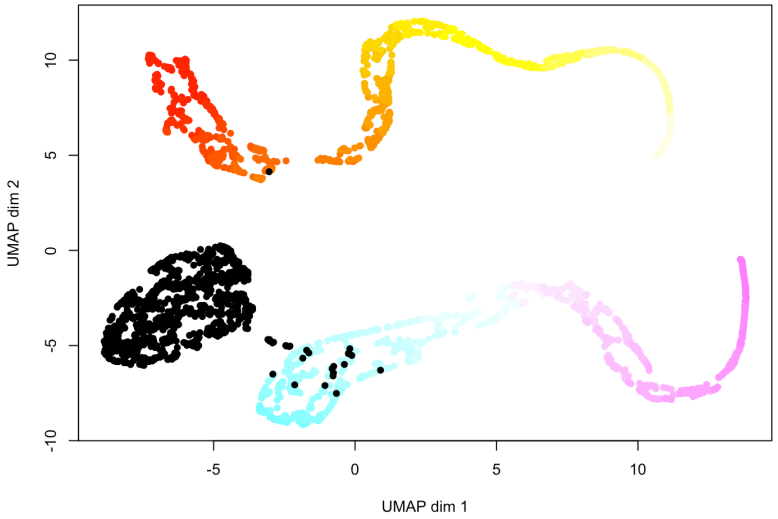


t-SNE/UMAPの特徴

- 近傍のサンプルの
  クラスター化
- 実空間での距離・サンプル分布は反映しない
  - クラスターサイズは関係ない

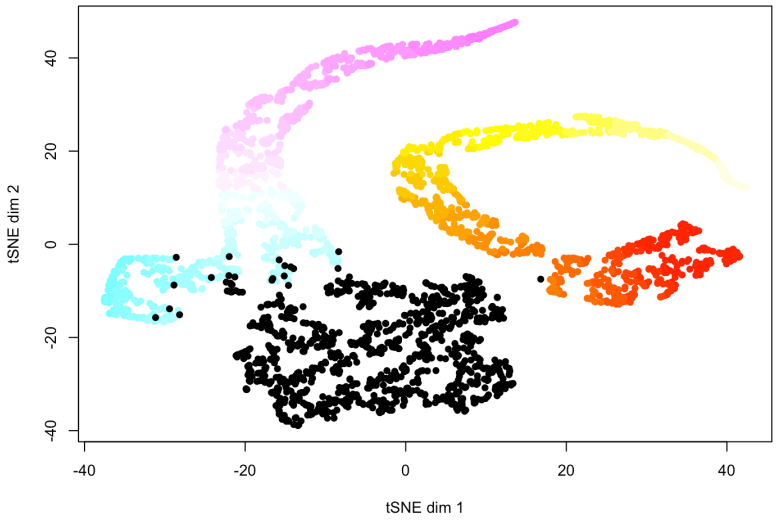


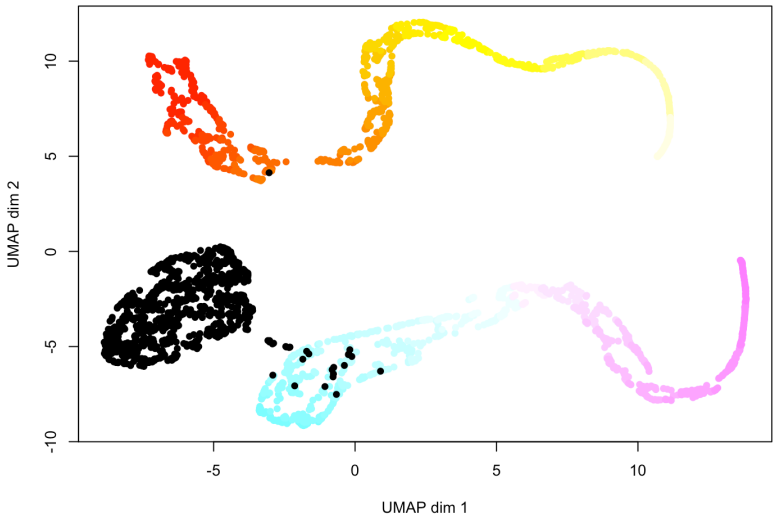




t-SNE/UMAPの違い

- クラスターの分離: UMAP > t-SNE
- 速度: UMAP < t-SNE
- t-SNEは結果が必ず同じ結果になるとは限らない（収束していない可能性がある）





多様体学習: 非線形データの多変量解析

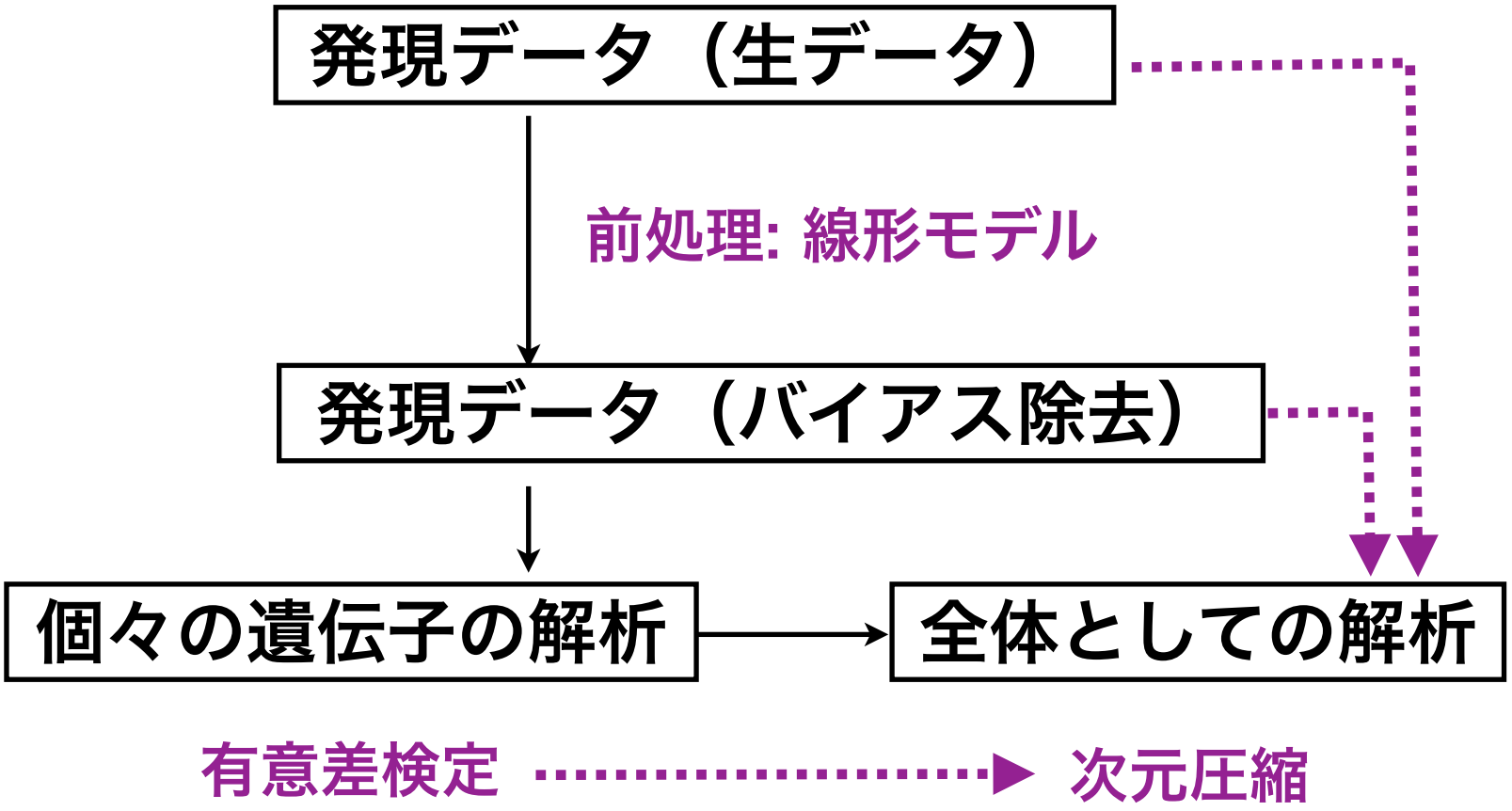
- t-SNE
- UMAP

  : 非線形高次元データのクラスタリングが可能

注意点: 局所（サンプル間）の距離・関係を重視し、
全体の距離は犠牲にしていることを念頭に
入れて結果を解釈する必要性あり

多変量解析をもう一歩進めて:

入力データは何を使うか？



多変量解析をもう一歩進めて:

人間の解釈をアシストするデータ取得を心がける

多変量解析の枠組み

多次元（例: 多パラメーター）を

より少ない指標を使って理解する

↓

N個のサンプルをM個（M < N)の

グループに分類する

→ 人間が新たな解釈を与える

コントロール、
指標サンプルは
含められるか？

今回の内容で扱わなかった重要項目

- **教師あり多変量解析**
  - k-means法
- **非線形多変量解析・次元圧縮の詳細**

連絡：コピーライト

- satox@agr.hokudai.ac.jp