

特集 海生動物行動実験装置

無線生体信号測定装置

— ナンヨウブダイの脳波測定の試み —

林 正裕^{*1§}・高田陽子^{*2,3}・三上 隆^{*4}・裏出良博^{*2,3}

Wireless Biosignal Measurement System
— A Challenge to Electroencephalogram Recording of
Steephead Parrotfish *Chlorurus microrhinos* —

Masahiro Hayashi^{*1§}, Yohko Takata^{*2,3}, Takashi Mikami^{*4} and
Yoshihiro Urade^{*2,3}

要約：魚類の睡眠を解明するためには、脳波に基づく魚類の睡眠測定法が必要不可欠である。そこで、水生動物の脳波を適切に測定できる装置及びシステムを開発した。そして、開発した装置及び測定システムを用いて、日中と夜間の行動が明瞭に異なるナンヨウブダイの脳波測定を試み、脳波の連続的な記録に成功した。

キーワード：魚類, 睡眠, 脳波, 生体信号測定, ナンヨウブダイ

まえがき

従来の魚類の睡眠は、哺乳類のような脳波を基に判断する脳波睡眠ではなく、ビデオカメラ等を用いた行動モニタリングにより基準化した行動から定義された行動的睡眠によって判断されてきた(吉田, 2002)。しかし、行動睡眠では睡眠と覚醒の正確な区別はできない。従って、魚類の睡眠を厳密に判定するためには、脳波に基づく魚類の睡眠測定法が必要不可欠である。

しかしながら、従来の技術では、水中において魚類の脳波等の生体信号を適切に測定することは困難であった。例えば、従来は、測定装置本体に有線接続したセンサーやカテーテル等を、魚類の生体内に取付けておく必要があった。このため、測定対象となる水生動物の自由な動きをある程度

抑制する必要がある、拘束等の処置によって水生動物に大きなストレスがかかることとなるため、脳波を正常に測定することができない恐れがあった。また、センサーと測定装置とを接続する信号線が水生動物に接触すること等によって、測定される生体信号にノイズが発生するという問題があった。

そこで、このような問題を解消するため、水生動物の脳波を適切に測定できる装置及びシステムを開発した。

装置

概要 開発した装置の名称は、水生動物用無線生体信号測定装置(以下、生体信号測定装置)である。この装置は、水生動物の生体信号(動物が発

(2013年11月26日受付, 2014年2月7日受理)

*1 公益財団法人海洋生物環境研究所 実証試験場 (〒945-0017 新潟県柏崎市荒浜4-7-17)

§ E-mail: hayashi@kaiseiken.or.jp

*2 公益財団法人大阪バイオサイエンス研究所 分子行動生物学部門 (〒565-0874 大阪府吹田市古江台6-2-4)

*3 国立大学法人筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1)

*4 有限会社バイオテックス (〒603-8374 京都府京都市北区衣笠高橋町6)

する電気的な信号。脳波、筋電位、心電位、角膜網膜電位、視覚誘発電位等)の測定を行い、水生動物に取付けられる電極と、電極を介して取得した生体信号を無線により送信する送信機とを備えている(第1図a, b)。この構成により、信号線等が不要となるため、信号線によるストレスや、信号線と水生動物との接触等により発生するノイズ等の影響を減らすことができ、水中において水生動物の生体信号を適切に測定することができる。

また、生体信号測定装置において、生体信号測定装置と生体信号受信装置とを備えた測定システムを開発した。生体信号受信装置は、生体信号測定装置が無線で送信する生体信号を受信する受信部と、受信部が受信した生体信号を出力する出力部とを備えた測定システムである(第1図c)。

仕様

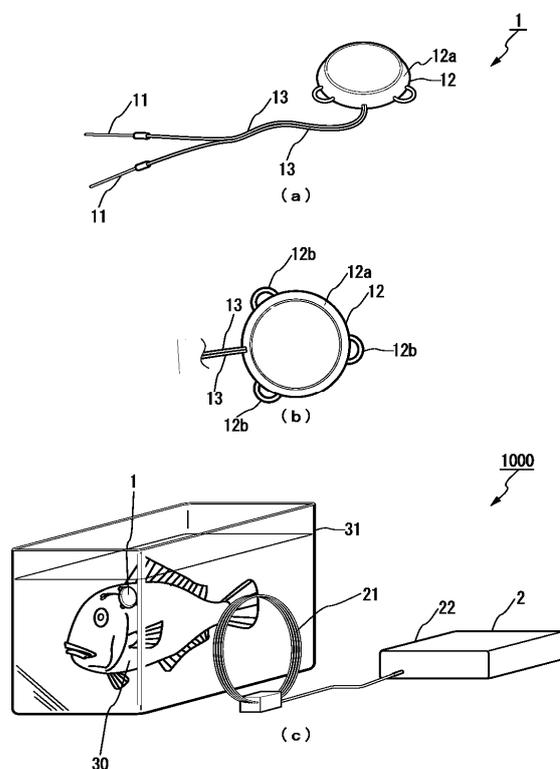
水生動物用無線生体信号測定装置 電極及び送信機を備える。電極と送信機は、信号線を介して接続されている。信号線は、防水性を有する材質で被覆されている。

電極は、測定対象となる水生動物の生体から出力される生体信号を取得する。一つの生体信号測定装置は、通常は、2以上の電極で構成される電極対を1以上有している。また、一つの電極対は、通常は、一つの生体信号(生体の一箇所)の取得に用いられる複数の電極で構成される。電極の形状は問わないが、電極を水生動物の生体内に挿入して生体信号を測定する場合、電極の先端は、第1図に示すように針状である。電極は、導電性を有して耐腐食性に優れた材質であれば、どのような材質であっても良い。

送信機は、電極を介して取得した水生動物の生体信号を無線により生体信号受信装置に送信する。送信機は、水生動物に取付けられるため、厚さが薄い形状で小型軽量である。送信機内の回路は、集積回路で構成されている。送信機は、外部の環境に対して密封された容器で覆われている。また、容器の内部から外部に延びる信号線と容器の間は、隙間が生じないように密着されている。容器の材質は、耐水性や耐蝕性に優れた材質で生体信号等の信号の送受信を妨げない材料である。

送信機は、受付部、送信部、及び送信用アンテナから構成されている。受付部は、電極と接続されており、電極を介して生体信号を取得する。受付部が取得する生体信号は、アナログの生体信号

である。送信部は、送信用アンテナと接続されており、受付部が取得した生体信号を、送信用アンテナを介して無線により送信する。送信部は、増幅、変調、フィルタリング、デジタル化等の予め指定された処理を行った生体信号を送信しても良い。送信部が、生体信号を送信の際に利用する搬送波の周波数や、通信規格等は問わない。なお、水中から生体信号を送信するため、搬送波の周波数は、531~1,620KHzの中波(medium wave)を用いることが好適である。送信用アンテナは、生体信号の送信に用いられるアンテナであり、アンテナの構造や形状、材質等は問わない。



第1図 開発した生体信号測定装置(1)の斜視図(a)、平面図(b)、及び同測定システム(1000)の概略図(c)。

生体信号測定装置(1)は、電極(11)及び送信機(12)を備える。送信機は、外部の環境に対して密封された容器(12a)で覆われている。電極及び送信機は、信号線(13)を介して接続されている。また、送信機は取付部(12b)に糸やテグス等を通して、水生動物に取付けられる。

生体信号受信装置(2)は、受信用アンテナ(21)と受信機(22)とを備えている。生体信号測定装置が取付けられた供試魚(30)は、脳波記録用の小型水槽(31)に入れられ、生体信号受信装置の受信用アンテナは、脳波を受信するために供試魚の側面に沿って水槽の横に配置されている。

なお、送信機は、通常、受付部や送信部等に電力を供給するためのバッテリーを備えている。バッテリーは、ボタン型電池やコイン型電池等の小型の電池で、容器内に配置される。

生体信号受信装置 受信用アンテナ及び受信機を備える。受信用アンテナは、生体信号の受信に用いられるアンテナであり、構造や形状、材質等は問わない。受信機は、受信用アンテナと接続されており、内部は受付部、フィルタ部、及び出力部から構成されている。受信部は、生体信号測定装置が無線により送信する生体信号を、受信用アンテナを介して受信する。受信部は、受信した生体信号に対して、復調、デジタル・アナログ変換、アナログ・デジタル変換等の予め指定された処理を行っても良い。フィルタ部は、受信部が受信した生体信号に対して、予め指定されたフィルタ処理（予め指定された周波数帯の生体信号だけを取り出す処理や、この取り出した生体信号を増幅する処理）を行う。魚の脳波を測定する場合、受信部が受信した生体信号から0.5Hz～100Hzまでの周波数帯域を取り出して約10,000倍に増幅する処理を、フィルタ部が行うことで、受信部が受信した生体信号から、脳波を示す品質の良い生体信号を取得できる。フィルタ部は、フィルタ回路や、フィルタ回路とアンプ回路との組合せ等で構成される。出力部は、受信部が受信した生体信号を出力し、送信手段や、出力デバイスのドライバーソフト、または出力デバイスのドライバーソフトと出力デバイス等で構成される。

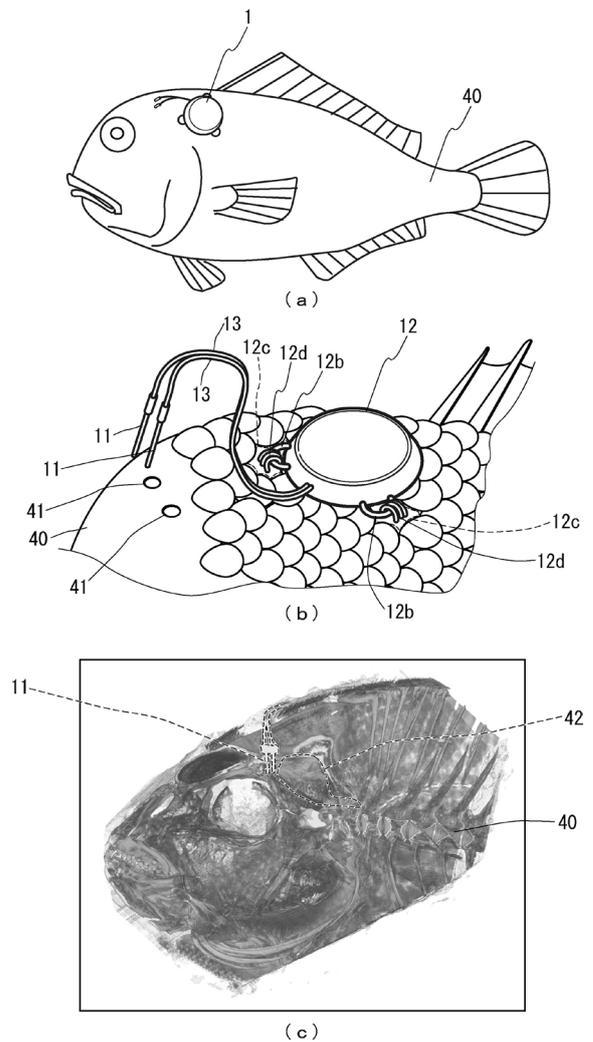
魚類に対する装置の取付方法 装置の取付けは、基本的に麻酔下で実施する。電極は、通常、魚類の脳波の測定箇所直接接触するよう取付けられる。また、送信機は、電極を取付けた状態で送信機が配置可能な範囲内の位置であって、魚の動作に対する影響の少ない位置（鰭や鰓蓋等に当たらない位置）で体表に取付けられる。第2図aに、魚類に生体信号測定装置を取付けた状態を示す。また、第2図bは、取付部分の拡大図であり、第2図cは、電極の位置を示す魚の断層撮影画像の一例を示す図である。

以下に、電極及び送信機の具体的な取付方法を示す。

電極の取付方法 まず、脳の直上にある表皮及

び筋肉を切開し頭蓋骨を露出させる。次に、頭頂部側から、脳に近い部分に達するまでドリル等で頭蓋骨に貫通孔を開ける。そして、電極を貫通孔に挿入し、挿入した電極と孔との隙間を、充填剤や接着剤等で充填する。必要に応じて切開した表皮及び筋肉を縫合糸等でしっかりと縫合する。

送信機の取付方法 まず、送信機の取付け位置を決定する。次に、送信機の取付部である三つの



第2図 開発した生体信号測定装置を取付けた状態を示す図 (a)、同生体信号測定装置の送信機の取付部分の拡大図 (b)、及び取付けた状態の断層撮影図 (c)。

供試魚 (40) の脳の近傍に、頭頂部側から脳に近い部分に達するまでドリル等で貫通孔 (41) を開け、信号線 (13) 先端の電極 (11) を取付ける。送信機 (12) は、取付部 (12b) に通した線状部材 (12d) を用いて、鱗を剥がし表皮を露出した取付位置 (12c) にしっかりと縫い付けて固定する。断層撮影図によって、電極が脳 (42) の近傍に正しく配置されていることが確認できる。

環状部材のそれぞれの下部に位置する鱗を剥がす。そして、各環状部材と露出した魚の表皮とを、各環状部材の環内を通る線状部材（縫合糸やテグス等）を用いてしっかりと縫い付ける。

魚へ生体信号測定装置の取付けが完了し、第2図cに示すように、電極が魚の脳の近傍に正しく配置される。なお、信号線も、充填剤や接着剤等で、魚の表面に這わせた状態で固定することが好ましい。

結果

開発した装置及び測定システムを用いて日中と夜間の行動が明瞭に異なるナンヨウブダイ (*Chlorurus microrhinos* ; 本種は、夜間、サンゴや岩陰に隠れ鰓から出す透明な粘液で体の周りを寝袋状に覆い、その場からほとんど動かなくなる) の脳波を連続的に記録できた (第3図)。得られた脳波記録から、暗期には脳の振幅に明らかな違いが認められ、魚類でも脳波から睡眠判定ができる可能性が示唆された。

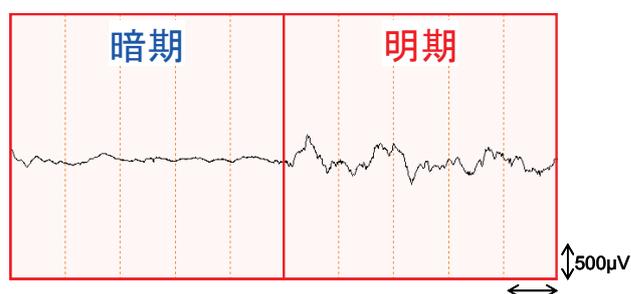
また、開発した装置及び測定システムは、「水生動物用無線生体信号測定装置及び測定システム」の名称で実用新案登録 (登録第3183625号) を行った。

考察

開発した装置及び測定システムによって、これまで測定が困難であった魚類の睡眠脳波を測定することが可能となった。コイ *Cyprinus carpio* を用いた研究では、活動時と休止時の脳波に変化が認められたものの、睡眠脳波は特定できず、睡眠脳波の出現がない可能性が示唆された (小栗ら, 1991)。しかし、このコイの研究において、脳波の測定はコイに電極を有線接続した状態で実施されており、コイの動きが抑制された可能性がある。また、小栗ら (1991) は、魚類の場合、高等脊椎動物とは独立した睡眠判定基準の必要性を示唆している。

今後は、我々が開発した装置を用いて実験例を

増やし、魚類の脳波等の生体信号を取得し、魚類の睡眠ポリグラフ (脳波・筋電図・心電図・行動量・ビデオ観察) と従来の判定方法 (行動睡眠) とを比較することで、魚類における脳波に基づく新たな睡眠判定法を確立できる可能性がある。そして、最終的に、魚類全般に使用可能な汎用性のある脳波睡眠測定システムを開発できれば、魚類の睡眠機構を解明するとともに、魚類の睡眠制御により養殖や活魚輸送の高度化を目指すことが可能であると考えられる。



第3図 連続記録されたナンヨウブダイの脳波の一例を示す波形図。ナンヨウブダイを、水槽内で自由遊泳させた状態で脳波の測定を行った。左側が暗期 (19時～7時)、右側が明期 (7時～19時) を示す。縦の点線の間隔は1秒間を示す。

謝辞

本稿を御校閲頂いた、公益財団法人海洋生物環境研究所 清野通康博士に深謝いたします。本開発を実施するにあたり供試魚を飼育して頂いた公益財団法人海洋生物環境研究所実証試験場 渡邊裕介技術員及び箕輪康主任技術員に感謝の意を表します。

引用文献

- 小栗 頁・白川修一郎・内山 真・大川匡子 (1991). 魚類の睡眠行動の探索—休止時におけるコイ (*Cyprinus carpio*) 視葉脳波の解析—. 東邦大学教養紀要, **23**, 3-42.
- 吉田将之 (2002). 魚の睡眠と情動性. アクアネット, **5**, 20-25.