

令和 4 年 6 月 4 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05795

研究課題名（和文）生体組織電極を利用した人間が手を触れない魚類心電図技法の開発

研究課題名（英文）A method to detect fish electrocardiogram without human handling

研究代表者

小島 隆人 (KOJIMA, Takahito)

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：60205383

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：魚類心電図は、魚体表や体内から導出されるのが従来の定法であったが、生物の組織には導電性があることに着目し、生体組織を用いることにより、人間が手を触れない自然な状態の魚の心電図記録に成功した。本研究により心電図記録が行えた魚種は、マツカワ、カサゴ、ウツボおよびアカハタであり、何れも人の手を触れないで世界で初めて記録された心電図となり、その心拍数は10数拍/分～約60拍/分と、従来記録されてきた魚の心拍数に比べてかなり少ないことが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人が手を触れないで世界で初めて記録された心電図記録は、従来の手法に比べてその記録時間が短いことが問題となっていたが、心電図の生データを直接周波数分析した上で、CGSA法（粗視化スペクトル）を適用することで、卓越周波数成分およびフラクタル（ゆらぎ）成分が明らかになることが確かめられ、安静時に表れるとされるフラクタル成分の比率も算出することに成功した。本手法は、海洋に設置される各種人工構造物が魚に与える影響を評価する際に、魚がどのように感じているかを明らかに出来る手法となることが予想される。

研究成果の概要（英文）：A squid cut meat was connected to the recording device by thin metal wire was introduced as a bio-electrode to detect fish ECG without human handling and anesthesia when the subject take into the mouth and swallow spontaneously. Since the method can record the heart electric signal when the bio-electrode remained only in the mouth or near portion, there is a limitation in the calculation of FFT using relatively short period data point for several scores of seconds. Therefore, the course graining spectral analysis was used to identify fractal components which express parasympathetic nervous activities, and the results recorded by bioelectrode might be apply to assess fish condition exposed to anthropogenic affects in ocean.

研究分野：魚群行動学

キーワード：心電図 生体電極 粗視化スペクトル CGSA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

魚類心電図は従来、金属電極を魚体表もしくは体内に装着・挿入した上で、マイクロデータロガー等の小型記録器も魚体に背負わせるといった、魚に相応の負担を強いる手法で記録するのが定法であった。そのため、このような手法は魚が人間の手によるハンドリングや、機器類の装着などのストレス環境下で心電図を記録するものであり、その結果から得られる情報は、安静環境下のものとは言えず、常に何らかのストレスが作用した状態のものであった。心電図から得られる心拍数は、代謝量に比例するばかりでなく、自律神経系の緊張状態を表す指標でもあるとされるが、心電図を利用して魚の(自律神経の)緊張状態を推定するには、魚が完全にリラックスした状態で記録する必要があった。一方従来の金属電極を介して魚体表や体内から導出される心電位は、心臓で発生した微小な電位が筋肉などを通過したものを記録していることから、生物の組織には導電性があることに着目したことが本研究の端緒となっている。さらに心電図は、体表面のみならず、食道内からも導出可能であることを予備実験において確認し、本研究を開始するに至った。食道内側から心電図を記録するため、導電性のある生体組織を電極として用いることにより、人間が手を触れない自然な状態の魚のコンディション推定も可能になると予測した。

2. 研究の目的

人間が魚に手を触れること(ハンドリング)や金属電極の魚体への装着もしくは挿入、さらには小型記録器の体表への装着による影響を全く受けない魚類心電図導出を行うには、背景でも述べたように、生体材料で作成した電極の消化管への自発的取り込みを利用することが必須である。本研究では、魚が捕食する餌そのものが生体電極となり得るものと推測し、心電図測定を行う魚類の心臓周辺を含めた組織各部と、餌生物となりうる生物のインピーダンス測定による、電位導出に適した電気抵抗の小さい生体組織の探索を行うことによる生体電極の決定を当初の目的とした。次に心電図導出に最適な生体材料を魚類が捕食することを利用して、魚類の心電図を人間の手を触れずに導出し、電極および機器類装着による影響を受けない魚類心電図の導出が可能であるかについて検証することを次の段階の目的とした。これらの目的を達成することにより、自然環境下における魚本来の心拍数が、人間の手を介したものとどの程度異なるのかについて明らかにするとともに、魚のストレスを記録した心電図から明らかにすることへと発展させ、漁業、養殖業あるいは洋上風力発電をはじめとした人間の各種の活動が魚に及ぼすダメージを明らかにする一手法を確立することを最終的な目的とした。

3. 研究の方法

一般に生体組織は、直流に対しては電気抵抗が大きいですが、交流では周波数が高くなるとインピーダンスが低下するコンデンサに似た性状を示すことが知られているため、高周波数信号であれば電流が生体を通しやすくなり、心室が収縮する際に生じるQRS波が検出される心電図においても同様の現象が見られると推測した。そこで、心電図測定を行う魚類の心臓周辺の組織各部および、餌生物となりうる生物組織のインピーダンス測定により、電位導出に適した電気抵抗の小さい生体組織の選定を行った。なお、インピーダンス測定に際しては、組織の断面積および長さがインピーダンスに影響するため、単位断面積および長さ当たりの抵抗($\cdot\text{cm}$)として求め、各種材料の交流電気抵抗を周波数別に比較した。

対象とする魚種的心電図測定に最適と思われる生体材料の選定後、生体材料に極めて細いリード線を埋め込み、水槽外の生体電気アンプもしくは水槽中に沈めた心電図記録用マイクロデータロガーと接続して、魚が口に運んだ餌を介して導出される心電図の記録を試みた。本研究では、カサゴ、マツカワ、ウツボおよびアカハタ等、天然海域で採取可能な底生魚を対象魚種とし、これらの魚を上記の生体電極とともに水槽に収容し、捕食を待った。

本手法の最大の弱点は、心電図記録が可能となるのは、魚が餌(生体電極)を口内に運び、これを口中に留めている間に限られる点である。餌を嚥下し、生体電極からリード線が抜けるとともに記録は停止する。一般に、従来の金属電極を魚体に装着する手法では、マイクロデータロガーを利用するなどして、魚が自由に遊泳可能な状態であれば数10日間、もしくはそれを超える期間について心電図記録が可能であるとされていたが、本研究で試みた手法は魚種にもよるが、数10秒~数分間が記録可能な時間と予想された。数10秒間の心電図であっても、平均心拍数の測定は可能であるが、心拍間隔の時系列を用いた心拍動のゆらぎ、すなわち自律神経系の緊張状態の判定を行うには、数10秒間の心電図記録では含まれる心拍間隔が10拍程度となるため、FFTを始めとした周波数分析は困難である。そこで本研究では、周波数分析に用いるデータは心拍間隔時系列ではなく、心電図記録の時系列をそのまま用いることとした。そこで、従来から周波数分析に広く用いられている、FFT解析に加え、粗視化スペクトル法(Coarse Graining Spectral Analysis: CGSA)を用いて、心電図波形に含まれるフラクタルな成分、すなわち副交感神経の作用を示す成分の抽出および心拍間隔を示す周波数成分の抽出などを試み、短時間の心電図記録から自律神経系の緊張状態の推定が可能かを試みた。

4. 研究成果

導電性の高い餌生物候補としては、釣りにも用いられることの多い、イカ類が適していることが、インピーダンス測定の結果判明した。図1には、イカの切身およびこれを海水に9時間浸漬したものを、カサゴの腹部および背部筋肉のインピーダンス計測結果を示す。

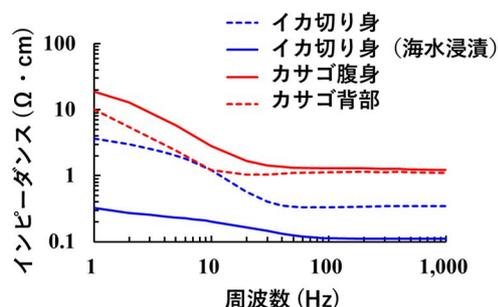


図1 海水浸漬前後のイカおよびカサゴの腹部および背部筋肉のインピーダンス計測結果

したものと、カサゴの腹部および背部筋肉について、周波数1~1,000 Hzにおけるインピーダンスを比較して示した。各組織とも、周波数が高くなるにつれ、インピーダンスが低下する傾向にあることが示された。したがって、生体組織は直流よりも交流を通し易い性質を有することが再確認出来る。また、一般的な心電図に現れるQRS波すなわち、心室の収縮を表す顕著な波形は、立ち上がり(Q)から最高電位に達し(R)、さらにこれが元の電位に戻る(S)まで、約0.1秒以内であることから、10 Hzにおけるインピーダンスを比較することが、明瞭な心電図を記録可能な生体組織を検索する上で重要であると言える。図1より明らかなように、イカ切身はカサゴより、各周波数におけるインピーダンスが低く、QRS波の周波数帯である10 Hz付近では、海水に9時間浸漬したイカ切身のインピーダンスはカサゴ腹部の1/10以下となり、イカ切身の方がカサゴの魚体よりも明らかに心電位を通し易いことが明らかとなった。これらの結果より、餌として魚の口に自発的に取り込ませる生体電極には、硬骨魚を対象魚とする場合、よりインピーダンスの低い軟体動物組織が適していることが判明した。

イカ切身を材料とした生体電極を用いることで人間が魚体に手を触れることなく心電図記録が行えた魚種は、マツカワ、カサゴ、およびウツボであった。このうち、ウツボについては自然海域での記録であったが、波形がやや不明瞭でかつ、記録時間も10秒前後と極めて短かった。また、アカハタについてはイカ切身よりもすり身の方が適していることが判明したが、すり身を用いた電極は本研究課題の趣旨とは外れるため、ここではマツカワおよびカサゴから、生体電極を介して得られた心電図について紹介したい。なおこれらは何れも、人の手を触れないで世界で初めて記録された心電図となり、その心拍数は10数拍/分~約60拍/分と、金属電極の装着等により従来記録されてきた魚の心拍数に比べて、顕著に少ないことが明らかとなっている。図2にこれら2魚種について、生体電極による人の手を介さない本研究課題による手法、および従来手法である金属電極装着による心電図記録をそれぞれ比較して示した。

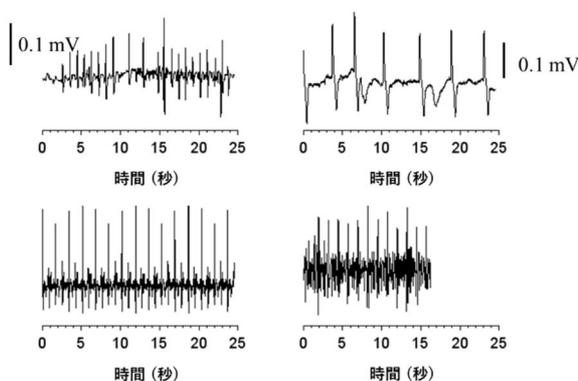


図2 イカ切身を自発的に摂餌した際に記録されたマツカワ(左上)およびカサゴ(右上)の心電図記録左右下図は金属電極をハンドリングにより装着した際のマツカワ(左下)およびカサゴ(右下)の心電図を示す

図より明らかなように、人の手を介さずに記録されたマツカワの心電図は心拍間隔の平均が1.2 s、心拍数50.4拍であり、心拍間隔1.4 s、心拍数43拍の人の手を介した手法よりも心拍数は多くなった。しかし各間隔を見ると不均一であり、一定のリズムでは打っていないことがわかる。同様に、カサゴの心電図を人の手を介さないで記録した場合、心拍間隔は不均一であり、その心拍数は10拍、同じく人の手を介した場合はほぼ間隔が均一で心拍数は38拍と、人の手を

介さない場合の心拍間隔は，介した場合と顕著に異なることが明らかとなった。

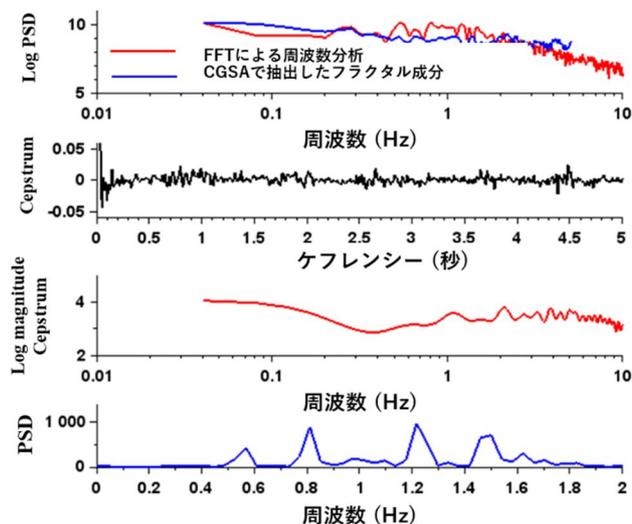


図3 マツカワ銀電極による心電図周波数分析結果
 上1：FFTによる周波数分析（赤），CGSA法によるフラクタル成分（青）
 上2：ケフレンシー
 上3：Cepstrum
 上4：CGSA法でフラクタル成分を除いたハーモニク成分

図3は図2のうち，生体電極を用いて人の手を介さずに得られたマツカワの心電図波形を直接，周波数分析を行った結果である。図3上段より，従来のFFT解析およびCGSA法により抽出されたフラクタル成分，ケプストラム解析の途中で得られるケフレンシーが示す，平均心拍数に現れるピーク，FFTよりもピーク検出が容易であるとされるケプストラムによる周波数分析結果，およびFFT解析結果からフラクタル成分を差し引いた周期的な成分を順に示している。その結果，約25s間の心電図記録には不明瞭な波形もあるが約19拍の心拍間隔が認められたのみであった。しかし心電図記録を周波数分析すると，FFTが示す周波数特性のうち，約0.5Hz以下の周波数帯はフラクタル成分と重複しており，不均一であった心拍間隔がフラクタル成分として現れたものと推察された。一方，ケフレンシーには明瞭なピークが認められなかったのは，ほぼ全ての心拍間隔が異なっていたことが反映したものと考えられる。さらに，FFTによる周波数分析からハーモニク成分を差し引いた結果，複数のピークが認められることから心電図記録には特定の周期成分が含まれていないことも示された。図4は同じマツカワについて，金属電極を人がハンドリングにより魚体に装着した場合の心電図記録の周波数分析結果である。

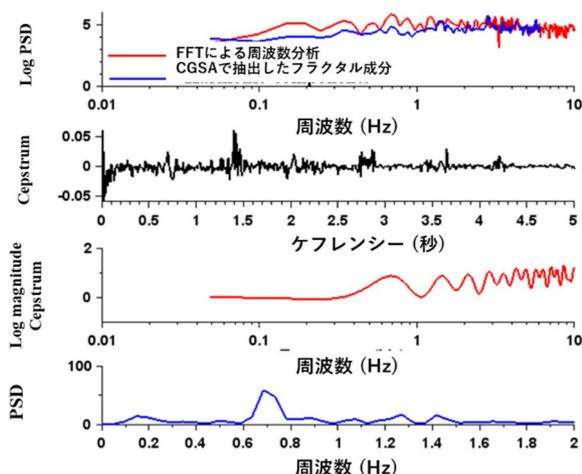


図4 金属電極によるマツカワの心電図周波数分析結果
 上1：FFTによる周波数分析（赤），CGSA法によるフラクタル成分（青）
 上2：ケフレンシー
 上3：Cepstrum
 上4：CGSA法でフラクタル成分を除いたハーモニク成分

図4は図3とは対照的であり，FFTによる周波数分析結果からも0.5Hz以下の成分が少ないこ

と、ケフレンシーでも元来の平均心拍間隔 1.5 s に近い数値でピークが検出され、ほぼ均一な心拍間隔であること、さらにフラクタル成分を除いた周期成分はピークが1つのみであり、ほぼ同一周期で心拍動が行われていたことが明瞭に比較された。図3および図4におけるFFTによる周波数分析結果にフラクタル成分が占める割合はそれぞれ、0.87および0.80となり、人の手を介さないで記録された心電図に含まれるフラクタル成分は、人が手を介した場合よりも高くなる、すなわち副交感神経による影響が強く出ること確かめられた。一般的に、フラクタル成分は安静状態にある時に見られるとされており、本研究で試みた新たな心電図導出技法は、魚にストレスを与えず、生物本来が有する心拍リズムを反映した心電図記録であるものと推測された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 小島隆人	4. 巻 58
2. 論文標題 魚の水中音感覚と釣りへの応用	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 計測と制御	6. 最初と最後の頁 25-30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 池上喜將・福島英登・牧口祐也・小島隆人
2. 発表標題 餌を介した心電図導出による魚のコンディション推定
3. 学会等名 令和3年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池上喜將・小島隆人・宗得陸也・牧口裕也・内山正樹・東 隆文・福田隆二・三橋廷央
2. 発表標題 オキゴンドウはなぜ魚の頭部を残して食害するのか
3. 学会等名 令和2年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小島隆人・池上喜將・宗得陸也・牧口祐也・内山正樹・東 隆文・福田隆二・三橋廷央
2. 発表標題 ビデオカメラが捉えた延縄漁具から餌を巧みに奪うオキゴンドウ
3. 学会等名 令和2年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 K. Ikegami, T. Kojima, Y. Makiguchi
2. 発表標題 Squid meat as biomaterial electrodes to detect fish electrocardiographic signals without human handling
3. 学会等名 International Conference on Fisheries Engineering 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小島隆人, 沖山祐大, 金井幾吹, 牧口祐也, 森有平
2. 発表標題 水中ビデオカメラを用いた底延縄漁具周辺に出現した魚の行動観察
3. 学会等名 平成30年度日本水産工学会学術講演会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関