

令和 4 年 10 月 14 日現在

機関番号：82678

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K14794

研究課題名(和文) 脳波に基づく魚類の睡眠測定技術の開発

研究課題名(英文) Development of measurement methods of sleep for fish using electroencephalogram

研究代表者

林 正裕 (Hayashi, Masahiro)

公益財団法人海洋生物環境研究所・海生研実証試験場・主査研究員

研究者番号：20444870

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、これまで測定が困難であった魚類の睡眠脳波を測定し、脳波に基づく魚類の睡眠測定法を確立することを目的とし、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した。その結果、魚類用脳波測定データロガーが完成し、自由遊泳する魚類において数日間の脳波データを収集できるようになった。収集した脳波データは、現在、周波数解析や日周リズム解析を実施中である。今後、開発したデータロガーを用いて、マダイやナンヨウブダイで脳波データを収集してデータを蓄積することで、魚類の睡眠機構の解明を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した脳波睡眠測定システムを用いることで魚類の睡眠を正確に測定することが可能になれば、魚類の生態学及び生理学の発展に資するところ大きい。また、自然下での魚類の睡眠を把握することも可能となり、水産養殖業界や水族動物取扱業界において飼育される魚類の睡眠管理や睡眠誘発技術に繋がる。「行動的睡眠」により魚類は睡眠に関して多様性に富んだ動物群であるが、魚類の睡眠を研究することにより、睡眠様式と生態の相違の因果関係を解明する糸口となり、哺乳類の睡眠研究に対して極めて重要な情報を提供できる。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to measure the electroencephalogram (EEG) of fish and establish measurement methods for fish sleep using EEG. As a result, we succeeded in developing EEG recording data logger for fish and collected EEG data for several days in free-swimming fish. In the future, we hope to collect and accumulate EEG data of red seabream (*Pagrus major*) and steephead parrotfish (*Chlorurus microrhinos*) using the developed data logger and elucidate the sleep mechanism of fish.

研究分野：魚類生理学

キーワード：魚類 睡眠 脳波 睡眠測定 ナンヨウブダイ マダイ

1. 研究開始当初の背景

魚類の睡眠については、行動的指標に基づく「行動的睡眠」が定義されているにすぎず、魚類が眠るという科学的根拠は未だ得られていない。魚類の睡眠の有無を立証するためには、脳波を主体とする電気生理学的指標に基づく「脳波睡眠」の存否を確認する必要がある。

我々は、先行研究において、哺乳類で知られる睡眠誘発物質（ジアゼパム）をマダイ（*Pagrus major*）へ投与すると行動の鎮静化傾向が見られ、反対に覚醒促進物質（カフェイン）を投与すると行動が活性化する傾向が見られた。また、水生動物の脳波を適切に測定できる水生動物用無線生体信号測定装置及び測定システム（以下、「無線式測定システム」と省略。実用新案登録第3183625号）を開発し（図1）、日中と夜間の行動が明瞭に異なるナンヨウブダイ（*Chlorurus microrhinos*）の脳波を連続的に記録できた（図2）。得られた脳波記録から、脳の振幅に暗期と明期で明瞭な違いが認められ、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。以上の結果から魚類の「脳波睡眠」の存在が推測された。

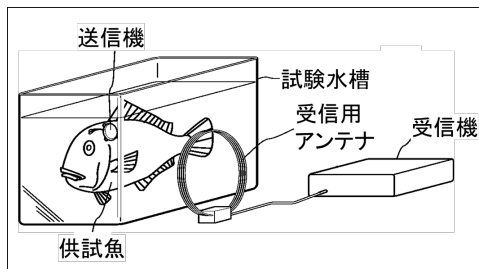


図1 無線式測定システムの概略図

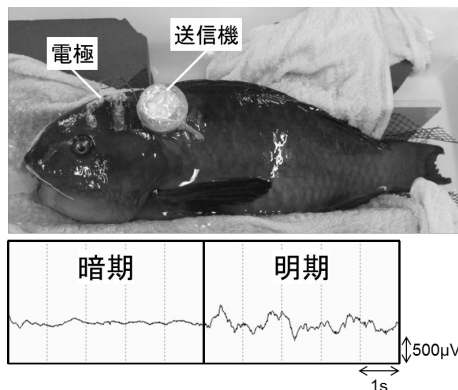


図2 脳波測定装置を装着しナンヨウブダイ（上）と脳波記録（下）

2. 研究の目的

本研究では、これまで測定が困難であった魚類の睡眠脳波を測定し、脳波に基づく魚類の睡眠測定法を確立する。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し、魚類の睡眠機構の解明を目指す。

これまで測定が困難だった魚類の睡眠を正確に測定することが可能になれば、魚類の生態学及び生理学の発展に資するところが大きい。また、自然下での魚類の睡眠を把握することも可能となり、水産養殖業界や水族動物取扱業界において飼育される魚類の睡眠管理や睡眠誘発技術に繋がる。「行動的睡眠」により魚類は睡眠に関して多様性に富んだ動物群であるが、魚類の睡眠を研究することにより、睡眠様式と生態の相違の因果関係が明らかになり、哺乳類の睡眠研究に対して極めて重要な情報を提供できる。

3. 研究の方法

(1) 供試魚の入手及び飼育

供試魚は、脳波測定の実績があるマダイ及びブダイ類とした。マダイは、（公財）海洋生物環境研究所実証試験場において種苗生産し継代飼育している個体を実験に使用した。

ブダイ類は、採取実績のある沖縄にて、熱帯魚販売業者を通じてナンヨウブダイを入手し、実証試験場に輸送して飼育を試みた。ナンヨウブダイは、飼育方法が確立されていない魚種であり、健全な状態で実験に使用するために長期飼育できる方法を検討した。

(2) 魚類用脳波測定データロガーの製作

従来、水中で魚類の脳波等の生体信号を測定するためには、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、生体内に取付けておく必要があった。このため、供試魚の自由な動きをある程度抑制する必要があり、拘束等の処置によって供試魚に大きなストレスがかかるため、脳波を正常に測定できない恐れがあった。

また、センサーと測定装置を接続する信号線が供試魚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（特に海水中で顕著）が発生するという問題があった。

我々が開発した無線式測定システム（図1）は、これらの問題を解消し、魚類の生体信号を適切に測定できる。しかし、このシステムでは、受信距離が10~20cmと短いため、測定する供試魚のサイズや種類及び試験水槽のサイズに制約があった。

そこで、大型水槽で供試魚を自由遊泳させながら脳波を測定できるようにするため、（有）バイオテックス社と共に無線式測定システムを改良し、魚類用脳波測定データロガーを製作した。

4. 研究成果

(1) ナンヨウブダイの飼育方法の確立

入手したナンヨウブダイを集団飼育した場合、大型の雄個体が他の個体を威嚇攻撃し、最悪の場合は個体が死亡した。そこで、飼育水槽内に仕切りを設けて個別飼育することによって、他の個体からの威嚇攻撃を防いだ。その結果、個体へのストレスが軽減し、個体

の行動（遊泳行動、摂餌行動など）が明らかに改善した。

また、植食性魚であるナンヨウブダイの食性を考慮した餌料を新たに開発した。試行錯誤を繰り返し作製した餌料の配合比率は、冷凍アミ 50%、冷凍アサリ 13%、冷凍ホウレン草 8%、冷凍ブロッコリー13%、塩蔵ワカメ 13%及びビタミン添加剤 3%であった。開発した餌料に加え、市販のコイ用配合餌料を与えることでナンヨウブダイの餌料環境が改善した。

さらに、寄生虫を除去するためホンソメワケベラを共飼育した結果、ナンヨウブダイに付着した寄生虫が減少した。

以上の飼育方法の改善により、飼育が困難であったナンヨウブダイを健全な状態で1年以上の飼育すること成功した（現在も飼育継続中）。

（2）魚類用脳波測定データロガーの作製

自由遊泳する魚類においても容易に脳波データを収集できる魚類用脳波測定データロガーを試作した。

試作機は、本体（外形寸法：W41mm×D24mm×H15mm、消費電流：約 35mA）と電源ボックス（外形寸法：W62mm×D25mm×H15mm）からなり、収集した脳波データは本体に装着した micro SD カードに保存される（図 3）。また、本データロガーは供試魚の魚体に装着して海中で使用するため、本体と電源ボックスを入れる防水ケース（外径:34mm、全長:80mm）を作製した（図 4）。そして、防水ケースを加工し、試作機を内蔵した（図 4）。

この試作機をマダイとナンヨウブダイに装着し、性能試験を行って脳波データを収集した（図 6）。その結果、以下のような問題点が見つかり、各問題点に対処し試作機を改良した。

データファイルサイズが記録媒体（マイクロ SD カード）の記録容量を超えたことによるデータの書き込みエラー

（対処方法）データを記録するファイル形式をテキストファイルからバイナリファイルに変更した。

防水ケースのケーブル孔からの漏水

（対処方法）ケーブル孔の位置を防水ケースの蓋側から本体側に変更した。

改良後の試作機をマダイに装着し、再び脳波データを収集した。その結果、脳波データを約 1 週間収集することに成功した（図 7）。

以上より、魚類全般に使用可能な汎用性のある魚類用脳波測定データロガーが完成し（特許出願準備中）自由遊泳する魚類において数日間の脳波データを収集できるようになった。収集した脳波データは、現在、周波数解析や日リズム解析を実施中である。

今後は、開発した魚類用脳波測定データロガーを用いて、マダイやナンヨウブダイで脳

波データの収集しデータを蓄積する予定である。また、脳波測定に併せて、筋電位、心電位及び行動量を測定し、魚類の睡眠ポリグラフ（睡眠を電気生理学的指標で測定する装置）を作製する予定である。そして、最終的に、得られたデータを解析し、魚類の睡眠時の脳波と覚醒時の脳波を正確に判定できるシステムを構築し、魚類の睡眠機構を解明する。



図 3 試作機の全体像（上が電源ボックスで下が本体及び micro SD カード）



図 4 防水ケースの全体像



図 5 試作機を内蔵した防水ケース（上に本体が、下に電源ボックスが内蔵されている）

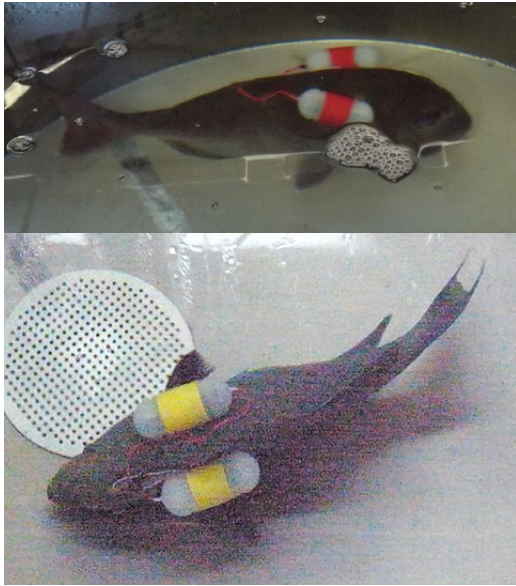


図6 試作機を装着したマダイ(上)とナンヨウブリダイ(下)の様子

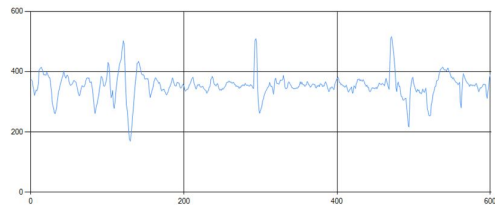


図7 収集したマダイの脳波データの例
グラフは加工前のバイナリファイルの生データを可視化した。縦軸は出力値、横軸はタイムスケールを示す。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

林 正裕、高田 陽子、三上 隆、魚類における脳波を用いた睡眠測定を試み、第24回魚類生理学会、2017

林 正裕、渡邊 裕介、塩野谷 勝、高田 陽子、三上 隆、脳波に基づく海産魚類の睡眠測定技術の開発、平成30年度日本水産学会春季大会、2018

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：

番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

林 正裕 (HAYASHI, Masahiro)
公益財団法人海洋生物環境研究所・実証試験場・主査研究員
研究者番号：20444870

(2)研究分担者

高田 陽子 (TAKATA, Yoko)
筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・研究員
研究者番号：60435740

(3)連携研究者

裏出 良博 (URADE, Yoshihiro)
筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・教授
研究者番号：10201360

(4)研究協力者

渡邊 裕介 (WATANABE, Utsuke)

三上 隆 (MIKAMI, Takashi)