

# 生物行動のシステム論的解釈と工学応用

## —線虫、ラット、メダカを手掛かりとして—

辻 敏夫<sup>1</sup>・鈴木 芳代<sup>2</sup>・曾 智<sup>1</sup>・寺脇 充<sup>1</sup>・滝口 昇<sup>3</sup>・大竹 久夫<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 広島大学大学院工学研究科複雑システム工学専攻

〒739-8527 東広島市鏡山 1-4-1 電話: 082-424-7677

Fax: 082-424-2387 E-mail: tsuji@bsys.hiroshima-u.ac.jp

<sup>2</sup> 日本原子力研究開発機構量子ビーム応用研究部門

〒370-1292 高崎市綿貫町 1233 電話: 027-346-9542

<sup>3</sup> 金沢大学理工研究域自然システム学系

〒920-1192 金沢市角間町 電話: 076-234-4819

<sup>4</sup> 大阪大大学院工学研究科生命先端工学専攻

〒565-0871 吹田市山田丘 2-1 電話: 06-6879-7435

生物は現在の工学技術では実現することができないような複雑で優れた環境適応・運動制御メカニズムを有しており、そのメカニズムを知能機械の設計や制御に採り入れることができれば、現存する知能機械の性能を飛躍的に向上できる可能性がある。著者らの研究チームでは、工学的な視点から生物の優れた情報処理能力に着目し、線虫、げっ歯類（ラットおよびマウス）、小型魚類（メダカおよびゼブラフィッシュ）を対象として、生物の情報処理メカニズムの工学的理解とその利用に関する研究課題に取り組んでいる。本稿では、特に、(1) 線虫の神経-筋モデルの構築とシミュレーション、(2) ラットの嗅覚系モデルの構築と糸球体活動パターン予測シミュレーション、(3) メダカを「生きたセンサ」として利用したバイオアッセイシステムの開発という3つの研究課題の概要と現在までの取り組みを紹介する。

### 1. はじめに

近年、環境中に存在する化学物質が生物に与える影響を定量評価するためのセンサシステムの必要性が指摘されており、その研究開発が盛んに行われている。しかし、極めて広範囲にわたる化学物質をカバーすることと化学物質の微妙な違いを識別することを両立するのは容易ではなく、生物の嗅覚系に匹敵するような人工システムは実現されていない。また、工学的な分析法のみに基づくアプローチでは、化学物質が生物に及ぼす生理的・心理的影響を予測することまでは難しく、従来の工学的アプローチに代わる新しい方法論が必要である。

著者らの研究チームでは、「生体システムに学ぶ」、「生体システムを利用する」という立場で、機械システムの設計や制御に有用な技術の研究開発を進めてき

た。「生体システムに学ぶ」技術としては、単細胞生物の環境適応アルゴリズムに基づく移動ロボットの知能化制御[1]-[4]、「生体システムを利用する」技術としては、人間の生体信号（筋電位、血圧脈波等）を計測・解析し、その結果を利用して電動義手や食事支援ロボットなどの機器を操作する技術[5]-[10]がある。革新的なセンサシステムの研究開発においても、生体システムに学び、利用するアプローチが重要であると考えられる。

生物の環境応答（例えば、化学走性行動）を考えると、分子と行動の間に横たわるブラックボックスの動作メカニズムを明らかにすることは、1. 外的・内的刺激の受容、2. 刺激情報の統合処理、3. 行動の決定と運動制御という3つの機能を担う生体情報処理メカニズムをシステム工学的に解釈することと等価であり、その3つの機能を工学的に再構築することにより

人工センサシステムを実現することが可能となる。

そこで、著者らは、感覚入力に対する応答を行動出力によって評価することが比較的容易な線虫およびげっ歯類（ラットおよびマウス）を対象とし、生物の情報処理メカニズムの工学的理解とその利用を目的に、

(1) 線虫の神経 - 筋モデルの構築とシミュレーション、(2) ラットの嗅覚系モデルの構築と糸球体活動パターン予測シミュレーションの2つの研究課題を進めている。また、生体システムを利用するという視点から、(3) 小型魚類（メダカおよびゼブラフィッシュ）を「生きたセンサ」として利用したバイオアッセイシステムの開発も行っている。本稿では、平成20年度より文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究「神経系の動作原理を明らかにするためのシステム分子行動学」の助成を受けて進めている、これら3つの研究課題の概要と現在までの取り組みを紹介する。

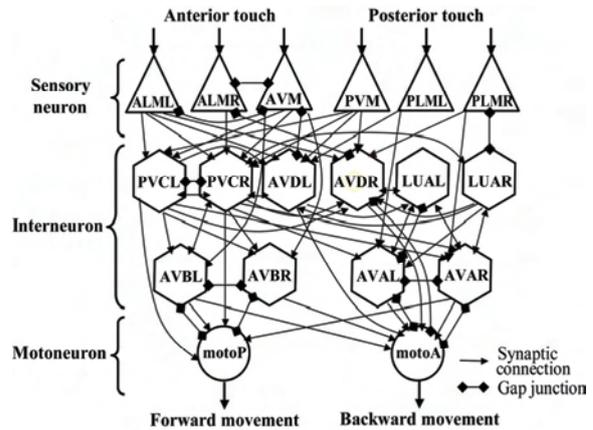
## 2. 線虫の神経 - 筋モデルの構築とシミュレーション[11]

著者らはこれまでに、生物の環境適応・運動制御メカニズムを理解することを目的として、神経系と筋を有する生物の中で特に細胞数が少なく、生物学における実験データが蓄積されている線虫 (*C. elegans*) に着目し、工学的解釈に基づく神経回路と筋のモデルを複数提案してきた[12]-[14]。線虫は、302個の神経細胞（ニューロン）で、化学走性、温度走性、機械刺激応答といった種々の刺激応答に関わる情報処理と運動制御を行う。また、複数の刺激の条件付け後の応答の可塑性（連合学習能）がある[15]-[16]ことから、近年、高次神経機能研究のモデル生物として注目されている。

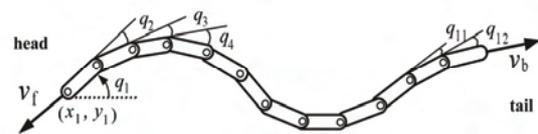
本節では、機械刺激応答の神経回路モデル、運動神経と筋の動力学モデルの2つを例に、線虫の挙動をコンピュータ上に再現することを目的としたモデル研究について概説する[12]-[13]。さらに、神経回路モデルを学習の神経機構の解明に応用する新たな試みについても述べる[14]。

### 2.1 線虫の神経 - 筋モデルを用いた刺激応答シミュレーション

線虫の種々の刺激応答のうち、応答に関与するニューロンがすでに同定されている機械刺激応答に着目し、神経回路のモデルと筋の運動学モデルを作成した。線虫は、軽い機械刺激を体幹前部に受けると後退し、後部に受けると前進する。302個のニューロンは、刺激を



(a) 機械刺激応答の神経回路モデル



(b) 筋モデル

図1. 線虫 *C. elegans* の神経 - 筋モデルの一例

受容する感覚ニューロン、刺激情報を統合する介在ニューロン、刺激に応じて運動を制御する運動ニューロンに分けられる。本モデルでは、機械刺激に関与する感覚ニューロンと介在ニューロン、およびその結合を実構造に基づいて再現し、複数ある運動ニューロンは、前進制御に関与する運動ニューロンと後退制御に関与するニューロンの2つのニューロンとして簡略化した。提案モデルを図1(a)に示す。ALML、ALMR およびAVM は体幹前部への機械刺激を、PLML、PLMR およびPVM は体幹後部への機械刺激を感知する感覚ニューロンある。ただし、ニューロン間の複数の結合は全て1本の結合として表現し、結合の荷重によってシナプス伝達効率（情報量）を表現するものとした。本モデルに含まれる個々のニューロンの特性やシナプス伝達は、電気生理学的手法によっても計測することができない。そこで、これらのパラメータについては、感覚ニューロンへの機械刺激（入力）に対して、運動ニューロンからの適切な運動制御信号（出力）が得られるような値を実数値遺伝的アルゴリズム (GA) [17]を用いて探索し、決定した。一方、筋については、運動ニューロンの筋支配[18]を参考に12の部分に分割し、12リンク剛体モデルとして表現した(図1(b))。最終的に、刺激応答神経回路モデルの出力信号を用いてこの筋モデルの運動（前進速度  $v_f$  および後退速度  $v_b$ ）を制御し、機械刺激に対する前進および後退を再現した[12]。本モデルは神経回路と筋のモデルとしては簡略である

が、線虫の刺激受容から刺激に基づく運動までの一連の刺激応答を初めて再現したモデルである。

## 2.2 神経 - 筋モデルと運動シミュレーション

2.1 の神経回路と筋のプロトタイプモデルの次のステップとして、モデルの詳細化について検討した。特に運動制御に着目し、実構造に基づく運動ニューロンの神経回路と体壁筋の動力学モデルを考案した。本モデルでは、2.1 の簡略な筋モデルでは考慮できていなかった運動神経と体壁筋の接続関係を再現するとともに、筋の粘弾性や重さ、床摩擦といったダイナミクスを考慮した。線虫の頭部から尾部にかけて走る腹部神経索には、体壁筋のくねり運動を制御する DB(1-7)、DA(1-9)、VB(1-11)、VA(1-12)、DD(1-6)、VD(1-13) の 6 種類 58 個の運動ニューロンがある[19]。このうち、DB、VB は前進運動、DA、VA は後退運動のためのニューロンである。また、DB、DA、VB、VA は興奮性ニューロン、DD と VD は抑制性ニューロンで、DB、DA、DD は背側の筋を、VB、VA、VD は腹側の筋をそれぞれ制御する。線虫のくねり運動は、腹部の運動ニューロン DB、DA、VB、VA、DD、VD から筋への周期的な信号によって実現されるものと考えられるが、このような信号を生成する神経回路は、これまでのところ特定されていない。そこで、本モデルでは、頭部神経節に周期信号の生成部があり、そこで生成された信号が介在ニューロンを介して腹部の運動ニューロンに伝播されるものと仮定して、頭部のニューロンの入出力特性を神経振動子モデル[20]で表現した。この周期信号を受けて体壁筋を制御する腹部の運動ニューロン  $k$  ( $k \in \{DB(1-7), DA(1-9), VB(1-11), VA(1-12), DD(1-6), VD(1-13)\}$ ) の内部状態  $V_k$  は、次式で表現した。

$$T_k \frac{dV_k}{dt} = -V_k + \sum_l v_{k,l} V_l \quad (1)$$

ただし、 $l$  は運動ニューロン  $k$  に結合するニューロンであり、 $v_{k,l}$  はニューロン  $l$  から運動ニューロン  $k$  への情報伝達量に相当する結合荷重、 $T_k$  は時定数である。また、運動ニューロンから背側、腹側の第  $i$  番目 ( $i \in \{1, 2, \dots, 12\}$ ) の体壁筋への信号  $O_i^d$  と  $O_i^v$  は、個々の運動ニューロンの内部状態  $V_k$  に神経 - 筋結合の荷重  $w_{i,k}^m$  ( $m \in \{d, v\}$ ) をかけた信号の総和として与えた。一方、線虫のくねり運動を担う筋は、2.1 のモデル (図1(b)) と同様に 12 リンクの剛体モデルとしたが、12 の回転関節に加え、頭部と尾部に 2 つの並進関節を定義した。このモデルの挙動は、次の運動方程式[21]に従うものと仮定した。

$$M(q)\ddot{q} + h(q, \dot{q}) + g(q) = \tau + F_{\text{fric}} \quad (2)$$

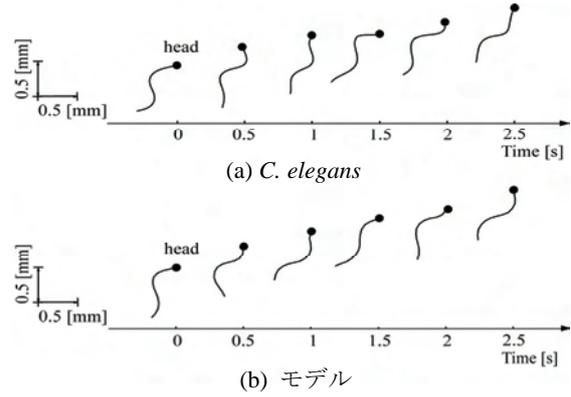


図2. 線虫 *C. elegans* の前進運動

ここで、 $M(q)$  は慣性行列、 $h(q, \dot{q})$  は遠心力・コリオリ力の項、 $g(q)$  は重力項、 $F_{\text{fric}}$  は関節に作用する摩擦力の項である。また、 $q = [q_{\text{head}}, q_1, q_2, \dots, q_{12}, q_{\text{tail}}]^T$  は関節の変位を示す一般化座標で構成したベクトル、 $q_1, q_2, \dots, q_{12}$  は回転角度、 $q_{\text{head}}, q_{\text{tail}}$  は並進距離である。さらに、 $\tau = [F_{\text{head}}, \tau_1, \tau_2, \dots, \tau_{12}, F_{\text{tail}}]^T$  は関節駆動力である。本モデルにおいて、回転駆動力  $\tau_i$  ( $i \in \{1, 2, \dots, 12\}$ ) は、魚の遊泳モデル[22]を参考に次式で与えた。

$$\tau_i = \alpha_i (O_i^d - O_i^v) - K_i (O_i^d + O_i^v + \gamma) (q - \theta_{ei}) - B_i \dot{q}_i \quad (3)$$

$O_i^d$  と  $O_i^v$  は運動ニューロンから背側、腹側の体壁筋への信号、 $K_i$ 、 $B_i$  は各関節の剛性および粘性で  $\alpha_i$  は力発生ゲイン、 $\gamma_i$  は最小張力係数、 $\theta_{ei}$  は  $O_i^d$ 、 $O_i^v$  によって決定する平衡点で進行方向に相当する。なお、前進、後退のための推進力の詳細については解明されていないため、線虫と類似した運動を行う動物の中で、力学的な運動解析が行われているヘビの運動ダイナミクス[23]を導入した。

以上のように、線虫の全身を剛体リンク構造モデルに近似し、動的挙動に対する運動方程式により記述した。この運動方程式の導出には、アッペル法のアルゴリズム[24]を用いた。本モデルを用いた前進運動のシミュレーションの結果を図2に示す。(a) は寒天培地上を前進する線虫の運動フォームを 0.5 [s] 毎に 2.5 [s] プロットした結果であり、(b) は本モデルの運動フォームである。本結果から、神経 - 筋モデルが実生物とほぼ同じフォームでくねり、正弦波を描きながら移動する線虫特有の運動を再現できていることがわかる。また、神経回路モデルに含まれる一部のニューロンを除去した別のシミュレーションでは、本モデルにより運動機能に欠陥のある突然変異体の挙動も再現できることを確認した[13]。このように、本研究では、線虫の体壁筋を制御する神経回路を実構造に基づいてモデル化することで、

実生物の複雑な運動を再現できることを示した。

### 2.3 モデルを用いた神経メカニズムの予測

これまでに考案した複数の線虫モデルの応用のステップとして、生命現象の動作原理の一端をモデルを用いて解明する新しいアプローチについて検討した。線虫は、通常、水溶性の誘引物質である NaCl には接近する化学走性を示すが、エサのない条件（飢餓状態）で NaCl に一定時間さらすと、NaCl を避けるように化学走性が変化する（化学走性学習）。ここでは、学習前後の化学走性の変化を神経回路レベルで理解することを目的に、化学走性の神経回路モデルを用いて、学習前後のシナプス伝達の程度の変化を推定した例[14]について述べる。まず、2.1 のモデルを応用して化学走性の神経回路モデルを構築した。次に、モデルに含まれる結合の荷重について、学習前と学習後の化学走性を実現するような値をそれぞれ GA[17]により探索した。学習前後の結合荷重の変化量（学習前と学習後の結合荷重の差の絶対値の総和）から、化学走性の変化（学習の成立）に関与するシナプスの予測を試みた。この結果、学習前後での荷重の値の変化が特に大きかった結合は、NaCl を受容する感覚ニューロン ASE の周辺に集中していた。これは、これまでの実生物実験の報告[5]と符号していた。一方で、これまでに化学走性学習への関与が報告されていないいくつかのシナプスについても、新たに学習への関与が推定された。

このように、生物モデルを用いて未知の神経メカニズムを探る新たなアプローチの可能性が示された。今後は、モデルによる予測結果を実験により検証する必要がある。現在、われわれは、実生物の挙動をよりよく再現するために、モデルのパラメータを実生物の行動データをもとに決定する方法について検討を重ねている。さらに、線虫の放射線応答[25]-[26]の未知のメカニズムの解明にモデルを適用するなど、生物学分野の知見と工学分野の技術を融合した新しい手法で生命現象の未知の動作原理に迫る革新的な研究パラダイムの創成を目指した試みを進めている。

## 3 ラットの嗅覚系モデルの構築と糸球体活動パターン予測シミュレーション

われわれの身の回りに漂うにおいては、多種多様なにおい分子の複雑な混合で構成されており、その分子の種類は約 40 万にも上るといわれている[27]。においは人の情動や記憶に働きかけることが明らかにされ[28]、

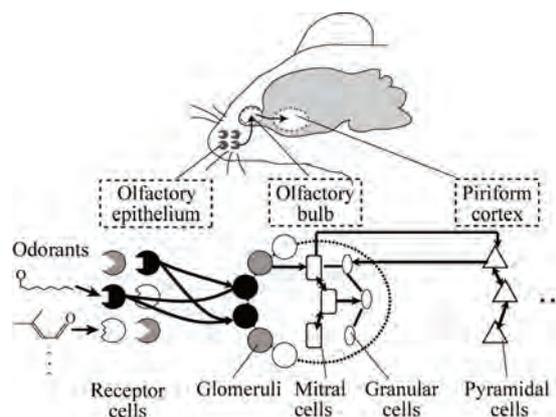


図 3. 嗅覚系の概略図

においが持つ情報や効果が注目されるようになったことで、においを的確に評価し得る方法の検討が重要な課題となってきた。

香料業界や食品・飲料業界では、一般的に官能検査と呼ばれる手法でにおいを評価している[29]が、ヒトの主観に頼る官能検査法では、個人差や再現性の問題を避けられない。この問題を克服するためには、機械的なにおいセンサを用いることなどが考えられるが、センサの出力で主観的な感覚を表現することは非常に困難である[29]。一方、生物学分野における計測技術の進歩により、嗅覚系の神経細胞の活動を計測することが可能となり、におい情報が脳でどのようにコーディングされているのかが明らかにされつつある[30]-[32]。さらに、嗅覚系の活動パターンは、においの感覚と深く関連していることが見出されている[31]。そこで、著者らは、多くのデータが蓄積されている嗅覚系の構造とその神経活動に着目し、システム論的な解釈に基づいて嗅覚系モデルを作成し、種々のにおい分子に対する嗅覚神経の反応（活動パターン）をシミュレーションによって予測する試みを進めてきた[33]。

本節では、系統立った神経活動のデータベースが公開されているラットを対象とした嗅覚系モデルの構築とモデルを用いた糸球体活動パターンの予測について概説する[33]。

### 3.1 嗅覚系の構造と糸球体の活動パターン

嗅覚系は、主に嗅上皮（Olfactory epithelium）、嗅球（Olfactory bulb）、梨状葉（Piriform cortex）の3つの部位から構成されている。これら3つの部位は、それぞれ、においの受容、統合処理、認識・識別を行う。図3に嗅覚系の概略図を示す。

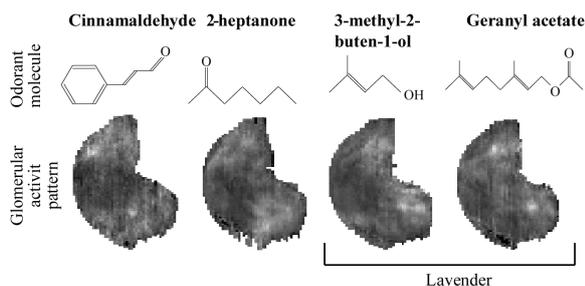


図4. ラットの糸球体の活動パターン

嗅上皮の内部には受容細胞 (Receptor cells) が無数に分布しており、嗅上皮の表面には各受容細胞から伸びた嗅繊毛が突き出ている。嗅繊毛には、受容体と呼ばれるタンパク質がついている。このタンパク質には、特定の構造を持ったにおい分子とだけ強く結合するが、似た構造を持つ分子とも弱く結合するという性質がある[31]。受容体において分子が結合すると、受容細胞が興奮し電気パルスを発する。また、1つの受容細胞に発現する受容体は1種類だけであり、ラットにはこのような受容体が約1,000種類存在する[31]。

受容細胞が発した電気信号は、糸球体 (Glomeruli) に伝えられる (図3上段中央参照)。この伝わり方は非常に規則的であり、同じ種類の受容体を発現している受容細胞の出力は1対の糸球体に集まる[27]。したがって、嗅覚の受容レベルにおいて、においは約2,000個存在する糸球体の神経活動パターンで表現される。次に、糸球体の出力は嗅球内部を構成している僧房細胞 (Mitral cells) や顆粒細胞 (Granular cells) に伝えられる。これらの細胞は、糸球体の活動パターンからのおいの特徴を抽出する役割を担っている。そして、嗅球の出力は、僧房細胞から梨状葉に伝えられる。梨状葉は、主に錐体細胞 (Pyramidal cells) で構成されており、その相互作用によってにおいが認識・識別される[34]。

近年のイメージング技術のめざましい進歩により、糸球体の神経活動パターンの計測が可能となった。ラットの糸球体の活動パターンのデータはデータベース化され、Web上に公開されている[31]。図4は、1種類のにおい分子をラットに嗅がせたときに誘起された糸球体の活動パターンを示している。図中、左から3番目と4番目の分子が誘起した活動パターンを比べると、よく似ていることがわかる。この2つの分子は、まったく異なる分子構造を持つにも拘らず、ともにラベンダーのにおいがする。このように、糸球体の活動パターンと感覚は深く関連していることから、におい分子を分子構造ではなく、糸球体の活動パターンのデータに変換して扱うことができれば、膨大な種類の分子そ

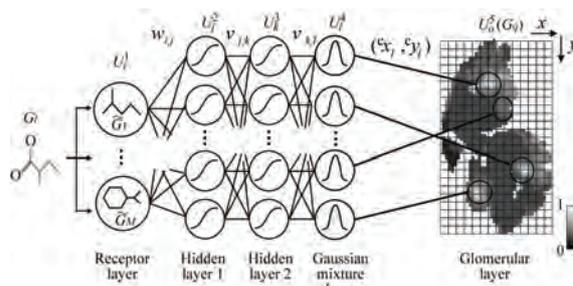


図5. ラットの嗅覚系モデルの構造

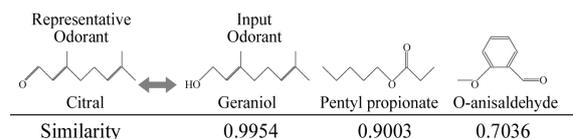


図6. におい分子の類似度計算の結果

れぞれに対するにおいの感覚を予測できる可能性がある。

### 3.2 糸球体活動パターン予測モデル

未知のにおい分子に対する糸球体の活動パターンを予測するために、糸球体を含む嗅覚系のモデルを作成した。図5に、受容細胞層、中間層1・2、ガウス関数混合層、糸球体層の5層で構成される提案モデルの構造を示す。本モデルでは、糸球体の活動の強弱を山と谷の分布として捉え、ガウス関数の混合として活動パターンを表現している。入力された分子の構造に基づいて、各ガウス関数のパラメータを自動的に変更することで、分子に対応した活動パターンを予測する。以下に、提案モデルの各層の機能について概説する。

#### 受容細胞層

受容細胞をそのままモデル化するためには、におい分子と受容体の構造をモデル化し、結合の強度 (親和性) を計算する必要がある。しかしながら、その構造が解明されているのは、ラットが持つ1,000種類の受容体のほんの一部に過ぎない。そこで、本研究では、受容細胞の機能に着目してモデル化した。

受容細胞は、特定の構造を持つ分子に強く反応し、その構造に似た分子に対して弱く反応する。この機能をモデル化するために、特定の分子を受容細胞モデルの代表分子として定義し、代表分子と入力された分子の類似度を計算することで受容細胞モデルの反応を表現するものとした。なお、複雑な3次元構造を持つ分子間の類似度を計算することは極めて困難であるため、分子を2次元のラベル付グラフとして定義し、2つのグラフの部分構造が一致する確率を足し合わせるこ

で分子の類似度を定義した。この計算には、グラフカーネル法[35]を用いた。このアルゴリズムを用いて計算した分子間の類似度の結果の一例を図 6 に示す。左から 1 番目が代表分子であり、その他は入力された分子である。図 6 より、代表分子に構造が似ていない入力分子ほど、類似度が下がっていることがわかる。このようにして計算したにおい分子間の類似度は、受容細胞モデルの出力として、次の中間層に入力される。

### 中間層 1・2

中間層 1 および 2 は、複数のニューロンユニットがフィードフォワード型に接続した構造をとっている。中間層の各ニューロンユニットの出力  $U_j^2, U_k^3$  は、それぞれ以下のシグモイド関数で表される。

$$U_j^2 = \frac{1}{1 + \exp\left\{-a\left(\sum_m v_{mj} U_m^1 - \zeta_m\right)\right\}} \quad (4)$$

$$U_k^3 = \frac{1}{1 + \exp\left\{-a\left(\sum_j v_{jk} U_j^2 - \zeta_j\right)\right\}} \quad (5)$$

ここで、 $v_{mj}, v_{jk}$  はニューロンユニット間の結合荷重、 $a, \zeta_m, \zeta_j$  は出力特性に関する定数である。中間層 2 の出力は、ガウス関数混合層に入力される。

### ガウス関数混合層

ガウス関数混合層は次式で表されるガウス関数ユニットで構成される。

$$U_l^4(x, y) = \sum_k v_{kl} U_k^3 \exp\left\{-\sigma(x_{c,l} - x)^2 - \rho(y_{c,l} - y)^2\right\} \quad (6)$$

ここで、 $x_{c,l}, y_{c,l}$  はガウス関数の中心座標、 $\sigma, \rho$  はガウス分布の分散を表す定数である。(6)式において、中間層 2 の出力は各ガウス関数のピーク値を調整するために用いられる。

### 糸球体層

ガウス関数混合層の出力は、糸球体層で足し合わされる。糸球体層はラットの実構造を考慮した 1,805 個のユニットで構成されており、それぞれのユニットの出力は、実際の糸球体の活動パターンのグリッド  $(x, y)$  における活動の強さに対応している。糸球体層を構成する各ユニットは以下の式で表される。

$$U_o^5(x, y) = \sum_l U_l^4(x, y) \quad (7)$$

以上により、受容体層に入力されたにおい分子に対する応答を糸球体の活動パターンとして表現することが可能となった。

提案モデルのパラメータは、最急降下法を用いて学習的に設定する。まず、データベース[31]からパラメータ設定のための学習用データとして  $S$  組のにおい分子とその活動パターンのデータを抽出する。次に、学習用データの分子を代表分子に設定し、各分子をモデル

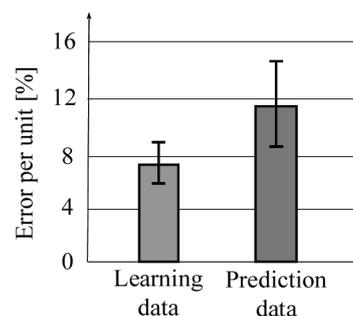


図 7. モデル出力と実測の誤差

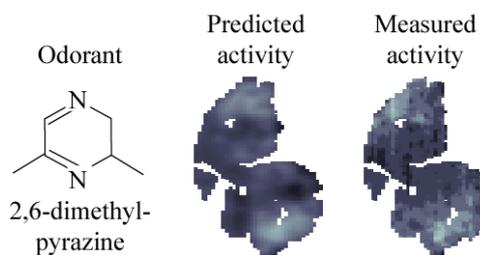


図 8. 活動パターンの予測結果

に入力した際にモデルから得られた糸球体層の活動パターンと実測の活動パターンとの差が小さくなるようにモデルのパラメータを繰り返し修正する。これにより、個々の分子と糸球体の活動パターンの対応付けが可能となる。

### 3.3 糸球体の活動パターンの予測シミュレーション

ラットの糸球体の活動パターンのデータベース[31]から、メチル構造を持つ 68 種類の分子と対応する糸球体の活動パターンを抽出し、そのうちの 34 種類を学習用データ ( $S=34$ )、残りの 34 種類を予測データとした。この学習用データのみを用いてモデルのパラメータを学習した後、予測データを用いて実測の活動パターンとの誤差を計算した。図 7 に学習用データと予測データの誤差の平均と標準分散を示す。誤差は、糸球体層の出力 1 ユニット当たりのパーセント誤差で表す。また、予測データに対するモデルの出力を図 8 に示す。中央は分子 2,6-dimethylpyrazine に対するモデルの出力 (予測結果)、右は実測の活動パターンで、その誤差は約 11.4% である。これは、34 種類の検証データのうち平均的な誤差である。図 8 から、本モデルを用いて予測した活動パターンと実測の活動パターンが類似していることがわかる。本モデルが、ある程度、糸球体の活動パターン予測能力を有することが示された。

本稿では、主観的な感覚と関連が深い系球体の活動パターンを予測する嗅覚系のモデルを紹介した。におい分子の数は非常に多いため、すべてについて活動パターンを計測することは現実的には不可能だが、本研究のような方法で、未知の分子の活動パターンを予測することができれば、計測の指針となるデータを得ることができる可能性がある。また、脊椎動物の嗅覚系の構造は共通していることから、モデルをヒト用に変換することも可能かもしれない。今後は、予測精度の向上のために、学習データを増やすとともに、グラフカーネル法をより目的に適したアルゴリズムに改良していく予定である。

#### 4. メダカを「生きたセンサ」として利用したバイオアッセイシステムの開発

工場排水による水道水源の汚染事故は、毎年報告されており問題となっている。そのため、浄水場では化学分析による水質検査が実施されている。しかしながら、検査項目に応じて分析方法が異なるため、全ての有害物質を毎日検査するのは、時間や費用の問題から現実的ではない。そのため現状では、水の色、濁度、残留塩素以外の検査項目は月に1回程度しか検査されておらず、リアルタイムでの監視は難しいことが指摘されている。従来より、化学物質の毒性試験には生物が用いられていることから、生物を「生きたセンサ」として利用することができれば、連続的な監視が可能になるものと考えられる[36]。

生物の反応をもとに環境の変化を推定する手法はバイオアッセイと呼ばれており、水質検査では一般に魚類が用いられている。魚類を用いたバイオアッセイには、主に魚の行動を監視する方法と魚が発する生体電気信号を観測する方法の2種類がある。このうち、魚類の生体電気信号は、毒性物質の存在下で敏感な変化を示すことが報告されている[37]が、これまでに提案されているシステムでは、計測信号のノイズを低減するために魚の遊泳を制限しており[38]、そのストレスが環境の推定に悪影響を与えてしまう恐れがあった。そこで、著者らは、無拘束・非接触生体電気信号計測に基づく小型魚類の状態判別法により、自由遊泳中の小型魚類の状態の自動判別を可能とする革新的なバイオアッセイシステムの開発を進めてきた[39]。

本節では、複数の電極を用いることにより無拘束・非接触状態での信号計測を実現し、確率ニューラルネットワークを用いることにより魚の状態の自動判別を実現するシステムについて概説する。

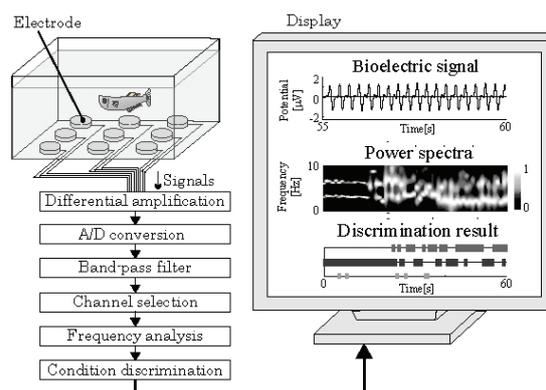


図9. 呼吸波状態判別システムの構成

##### 4.1 呼吸波と試験魚

水中を自由遊泳する魚の体の周囲には電場が形成されており、周期的な電位変動が生じている。この電位変動は、魚の呼吸に同期しているため、呼吸波[39]と呼ばれている。これまでに著者らは、メダカの呼吸波が2～10 [Hz]の周波数帯域に現れることを確認している[39]。呼吸は自律神経系の影響を受けており、周囲の環境に応じて調整されるため、呼吸波から環境の変化を間接的に観測することが可能だと考えられる。そこで、本研究ではこの呼吸波を計測対象とした。なお、提案システムでは、試験魚として経済協力開発機構(OECD)テストガイドラインにおいて推奨されているメダカを用いることとした。メダカは、成魚でも体長25～35 [mm]程度と小型なため、小さな水槽でも自由に遊泳できるという利点があり、本研究の目的に適した試験魚である。

##### 4.2 呼吸波状態判別システム

提案する呼吸波状態判別システムを図9に示す。本システムは信号計測部、信号処理部、状態判別部の3つの部分から構成され、遊泳中のメダカの呼吸波から水質汚染の判別を行う。各部の概要を以下に述べる。

###### 信号計測部

信号計測部では、最大25chでの計測が可能な脳波計(EEG-1200: 日本光電)を用いて呼吸波を計測する。まず、水槽の底面に配置したL個の電極から呼吸波の計測を行い、次に、計測した信号をサンプリング周波数 $f_s$  [Hz]でAD変換(PCI-3521: Interface)し、解析用PCに取り込む。計測電極には、生体信号の計測に一般的に用いられているAg-AgCl電極を採用した。また、

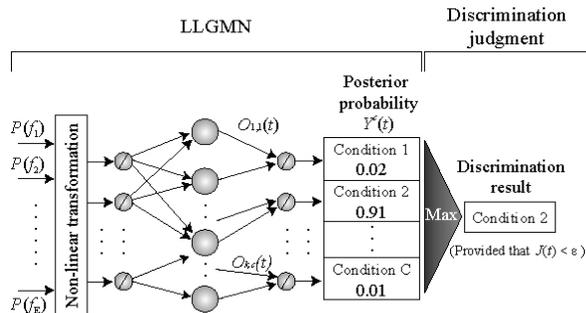


図 10. 状態判別部の構成

ノイズの低減を目的として、信号の増幅には差動増幅を採り入れた。

### 信号処理部

信号処理部では、PC に入力された信号に対してフィルタ処理、解析信号選択、周波数解析を行い、周波数スペクトルを算出する。まず、入力信号をバンドパスフィルタ（低域カットオフ周波数  $f_{low}$  [Hz]、高域カットオフ周波数  $f_{high}$  [Hz]）で濾波する。呼吸波は  $\mu V$  オーダーの微弱な信号であるため、水の抵抗によって信号が減衰しやすいという問題がある[39]。そこで、 $L$  個の電極から計測された信号のうち、実効値が最大の信号を解析用信号として選択する。次に、突発的なノイズの影響を受けにくい特長がある AR モデルを用いて、選択された信号の周波数スペクトルを求める。パワースペクトル密度 (PSD)  $P(f)$  は、 $D$  次の AR モデルを用いて、時間窓  $I_w$ 、オーバーラップ  $I_o$  で算出する。また、各時間における周波数スペクトルのパターンの変動に注目するため、PSD は 0~10 [Hz] の範囲で正規化し、グレースケールにより時系列で表示する。

### 状態判別部

図 10 に状態判別部の構成を示す。状態判別部では、信号処理部において呼吸波から算出した周波数スペクトルを用いて、汚染状態の判別を行う。状態判別には、著者らが提案した Log-Linearized Gaussian Mixture Network (LLGMN) [40] と呼ばれる確率ニューラルネットワークを用いた。LLGMN は統計構造の一種である混合正規分布を内包した確率ニューラルネットワークであり、予め設定したいくつかの状態のうち、入力したデータが各状態に属する事後確率  $Y^c(t)$  ( $c=1, \dots, C$ ;  $C$  は状態数) を算出することができる。このニューラルネットワークは人の筋電位信号等の動作識別に用いられており、高い識別能力を示すことが確認されている [8]-[9]。

本システムでは、予め識別対象である全状態の呼吸波を計測し、これらを学習データとして LLGMN に学

表 1 呼吸波状態判別実験の条件

信号計測部	
水槽	150 (W) × 100 (D) × 50 (H) [mm]
入力ch数	L = 15, 格子状 (5 × 3) に配置
サンプリング周波数	$f_s = 1000$ [Hz]
信号処理部	
フィルタ	$f_{low} = 2$ [Hz], $f_{high} = 10$ [Hz]
ARモデル	次数: $D = 200$ , 窓幅: $I_w = 30$ [s], オーバーラップ: $I_o = 10$ [s], 分解能: 244 [Hz]
状態判別部	
識別状態	正常                      異常
学習データ数	30 (1 [s]毎)                      30 (2 [s]毎)
周波数範囲	0~10 [Hz]
状態識別閾値	$\epsilon = 0.1$

習させる。学習後の LLGMN に任意の周波数スペクトルを入力すると、その各状態の事後確率を出力する。識別結果は、一般的に事後確率の最も高い状態とするが、どの状態にも属さない場合を考慮する必要がある。そこで、識別の曖昧さを表すエントロピー  $J(t)$  を事後確率から算出し、その値を基準に識別判定処理を行う。状態識別閾値を  $\epsilon$  とおき、 $J(t) \leq \epsilon$  の場合は  $Y^c(t)$  が最大の状態を識別結果とし、 $J(t) > \epsilon$  の場合は曖昧な状態として、識別は保留とする。

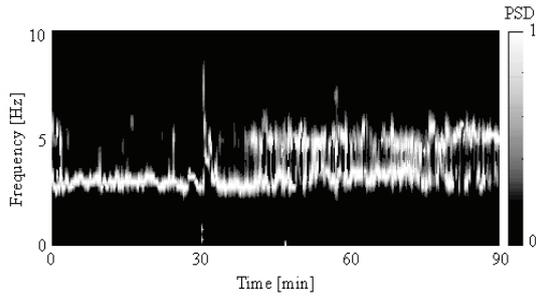
### 4.3 漂白剤暴露識別実験

提案システムを用いて、有害物質による水質汚染の識別実験を行った。

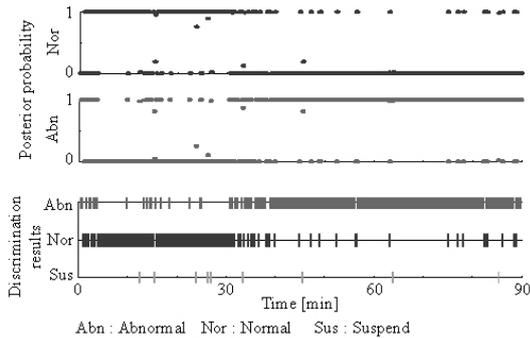
水質汚染は、家庭用の漂白剤を暴露することで、人為的に引き起こした。実験には、1 日以上、計測用水槽に馴化させたメダカを 15 匹用い、1 匹ずつ計測を行った。計測時間は 90 [min] とし、計測開始から 30 [min] 後に NaClO を主成分とする漂白剤 5 [ml] (希釈倍率 100) を暴露し、水質が正常な状態と異常な状態 ( $C = 2$ )、それぞれの呼吸波の応答について観測した。実験条件を表 1 に示す。

図 11 に実験結果の一例を示す。(a) に全計測時間での周波数スペクトルの時間推移を示す。図より、暴露直後の 30 [min] から少しタイムラグがあるものの、暴露後傾向が大きく変化していることが確認できる。(b) に状態判別結果を示す。図は上から事後確率、識別結果である。図より、漂白剤を暴露した 30 [min] を境に、識別結果が正常から異常に変わっていることが確認できた。このとき、全時間での平均識別率は 86.6 % であった。

本実験では、提案手法により、正常と異常の 2 つの水質状態をある程度識別可能であることが確認できた。



(a) 周波数スペクトルの時間推移



(b) LLGMN による状態判別結果

図 11. 呼吸波状態判別実験の結果の一例

しかしながら、離散的ではあるが、誤識別を生じていることも確認された。これは、メダカの瞬発的な速い動きに起因するノイズの影響によるものだと考えられた。そこで、LLGMN により算出した事後確率にフィルタ処理を施し、平滑化による識別率の向上を試みた。サンプリング周波数  $f_s = 0.1$  [Hz]、カットオフ周波数  $f_{cut} = 0.015$  [Hz] に設定したローパスフィルタを用いた。図 12 に上記のフィルタ処理を追加した状態判別結果を示す。図 11(b) と比較すると、フィルタの効果により事後確率が (0, 1) の連続的な値を示すようになり、識別保留が増加して誤識別の発生が大幅に抑えられていることがわかる。図 13 に全試験魚の 10 [min] 毎および全時間での 2 手法における各平均識別率と標準偏差を示す。図 13 において、両識別手法ともに暴露直後 30~40 [min] では識別率の低下が見られた。これは、化学物質の影響がメダカに現れるまでに時間を要したためであると考えられる。識別率は、フィルタ処理を施した方が平均 8.4% 向上し、全時間での平均識別率は 97.9% となった。識別結果の時間推移を考慮することにより、さらに高い識別精度の実現が期待できる。

本稿では、メダカを対象とした呼吸波状態判別システムを紹介した。今後は、水質汚染のない正常環境での呼吸波データについて学習するだけで、異常状態の検出を可能とするような手法について検討していく。

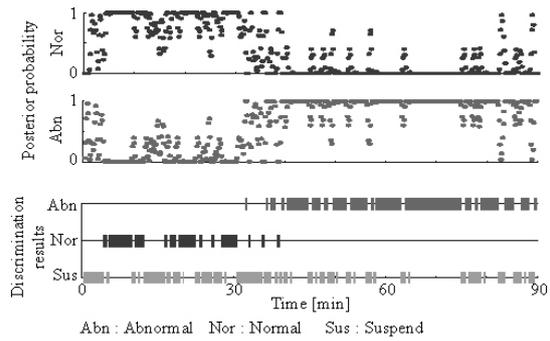


図 12. LLGMN + LPF による状態判別結果

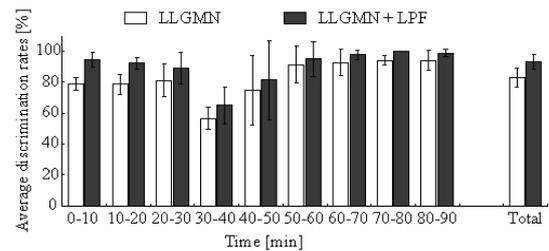


図 13. 各時間帯における平均識別率

## 5. おわりに

著者らの研究チームでは、線虫、げっ歯類（ラットおよびマウス）、小型魚類（メダカおよびゼブラフィッシュ）など、様々な生物の優れた環境応答に着目した研究を進めてきた。本稿では、この中から、生物の情報処理メカニズムの工学的理解とその利用を目指した 3 つの研究課題の概要と現在までの取り組みを紹介した。

近年、生物学分野、特に神経科学の分野においては、細胞イメージング技術の急速な進歩により、これまで不可能だった神経活動のリアルタイム計測が可能となってきており、種々の生命現象の動作原理が徐々に解明されつつある。著者らは、このような最新のデータを可能な限り取り入れながら、「生体システムに学ぶ」、「生体システムを利用する」という立場から生物行動をシステム工学的に解釈することにより、人工システムの設計や制御に有用な生物ベースの革新技術を創出していくことを目指している。将来的に、本稿で紹介した線虫モデルやラットの嗅覚系モデルを生体応答の予測ツールとして補助的に用いることで、重要度が高い実験を優先的に実施することを可能とするなど、生物学と工学の相補的な研究を実現していければと考えている。

## 参考文献

- [1] Tsuji T, *et al.*: Artificial Life, 16 (2010)
- [2] 辻敏夫, *et al.*: 日本設計工学会誌, 40, 444 (2005)
- [3] 平野旭, *et al.*: 計測自動制御学会論文集, 41, 351 (2005)
- [4] 平野旭, *et al.*: 計測自動制御学会論文集, 42, 1252 (2006)
- [5] Bu N, *et al.*: J. Intelligent Information Systems, 21, 113 (2003)
- [6] Tsuji T, *et al.*: Neural Networks in Healthcare: Potential and Challenges, 154 (2006)
- [7] Tsuji T, *et al.*: Neural Networks in Healthcare: Potential and Challenges, 130 (2006)
- [8] 辻敏夫, *et al.*: 精密工学会誌, 73, 313 (2007)
- [9] 辻敏夫, *et al.*: 電子情報通信学会論文誌, 90, 854 (2007)
- [10] 大賀誠, *et al.*: 計測自動制御学会論文集, 43, 514 (2007)
- [11] 鈴木芳代, *et al.*: 第9回計測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会論文集, 1135 (2008)
- [12] Suzuki M, *et al.*: Artif.Intell.Med., 35, 75 (2005)
- [13] Suzuki M, *et al.*: J. Robotics Mechatronics, 17, 318 (2005)
- [14] 鈴木芳代, *et al.*: 第8回計測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会論文集, 373 (2007)
- [15] Saeki S, *et al.*: J. Exp. Biol., 204, 1757 (2001)
- [16] Tomioka M, *et al.*: Neuron, 51, 613 (2006)
- [17] Goldberg DE: Genetic Algorithms in Search, Optimization and Machine Learning, Addison-Wesley Publishing (1989)
- [18] White JG, *et al.*: Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci., 314, 1 (1986)
- [19] Riddle DL, Ed: C. *ELEGANS II*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1998)
- [20] Matsuoka K: Biol. Cybern., 56, 345 (1987)
- [21] 伊藤宏司: 身体知システム論, 共立出版 (2005)
- [22] Ekeberg, Ö: Biol. Cybern., 69, 363 (1993)
- [23] Umetani, Y, *et al.*: Proc. 1st RoMan Sy. Symp. Springer-Verlag, 171 (1974)
- [24] Potkonjak V, *et al.*: Mech. Mach. Theory, 14, 189 (1979)
- [25] Sakashita T, *et al.*: FASEB J., 22, 713 (2008)
- [26] Suzuki M, *et al.*: J. Radiat. Res., 50, 119 (2009)
- [27] Mori K, *et al.*: Biochem. Soc. Trans., 31, 134 (2003)
- [28] Herz RS, *et al.*: Psychonom. Bull. Rev., 3, 300 (1996)
- [29] Grosch W, *et al.*: Chem Sens., 26, 533 (2001)
- [30] Leon M, *et al.*: Glomerular activity response archive," <http://gara.bio.uci.edu/> (2009)
- [31] Buck L, *et al.*: Cell, 65, 175 (1991)
- [32] Youngentob, SL, *et al.*: Behav. Neurosci., 120 (2006)
- [33] Soh, Z, *et al.*: Proc. of Int. Joint Conf. Computational Intelligence, 379 (2009)
- [34] Haberly LB, *et al.*: Trends. Neurosci., 12, 258 (1989)
- [35] Kashima H: Kernel Methods in Computational Biology., MIT press (2004)
- [36] 厚生労働省: 「米国の同時多発テロ」を契機とする国内におけるテロ事件発生に関する対応について (2001)
- [37] ASTM: E 1768-95, <http://www.astm.org/Standards/E1768.htm> (2008)
- [38] Shedd TR, *et al.*: Bull. Environ. Contaim. Toxicol., 66, 392 (2001)
- [39] Terawaki M, *et al.*: Artif. Life Robot., 14, 342 (2009)
- [40] Tsuji T, *et al.*: IEEE Trans. Syst., Man, Cybern. C: App. Rev., 29, 60 (1999)