同志社大学超音波医科学研究センタ

同志社大学今出川キャンパス良心館 20183.4



テーマ2

・ ・ 一 超音波による生体組織の熱的特 性のイメージング

秋山いわき, 辻本祐加子, 森本舞, 稲垣拳, 新井慎平, 小南成史, 森泉裕貴
 (同志社大学超音波医科学研究センター)
 新田尚隆(産業技術総合研究所)
 平井都始子(奈良県立医科大学)

本研究は文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成事業2013-2017の補助を受けたものです。

臨床診断における超音波イメージングの課題

- ・ 超音波診断装置による生体内部のイメージング
 - 長所
 - ・高い安全性,柔軟な操作性,高い分解能
 - ・短所
 - 低い定量性
- ・超音波を用いた生体情報の取得とその定量化
 - ・ 超音波組織性状診断: 定量化のパラメータ
 - ・弾性係数, 超音波減衰係数, 音速, 音響インピーダンス, etc.
 - ・エラストグラフィ(弾性係数分布のイメージング)

表 軟部組織の音速 [m/s]

軟部組織の 平均値	肝臓	脂肪	筋肉	水(20℃)
1530-1540	1535-1580	1450-1470	1545-1630	1483

音速の温度依存性



• 音速は温度に対して負の変化率

非脂肪組織

 ・ 音速は温度に対して正の変化率

Fukukita, H "Measurement of temperature of biological tissue by ultrasound", 1988, BME,Vol.2, No.3,p.167-168

K.Mano, S.Tanigawa, M.Hori,D.Yokota,K.Wada, T.Mtsunaka, H.Morikawa, H.Horinaka,"Basic investigation on acoustic velocity change imaging method for quantitative assessment of fat content in human liver", JJAP, 55, 07KF20, 2016





Ralf Seip and Emad S.Ebbini: Noninvsive estimation of tissue temperature response to heating fields using diagnostic ultrasound, IEEE Trans. Biomedical Engineering, 42, p.828-839, 1995

目的

- 超音波加温による生体組織の温度変化を超音波で測定する
 - 生体組織の音速の温度特性を測定
 - ・測定する温度上昇は1秒以内で最大1.5℃¹⁾を誤差率10%以下
- 超音波加温による温度の時間変化率と音速変化率の関係を導き、
 熱的特性との関係を明らかにする
 - ・脂肪組織と非脂肪組織の音速変化率から両者の熱的特性を推定する
- •加温前の音速分布を推定する
 - MRIと超音波の同時撮像によって音速分布を推定する

1) WFUMBガイドラインによれば,温度上昇が1.5℃を超えなけれ ば臨床上問題ない。温度上昇が4.0℃,5分を超えると胚や胎児へ の影響が懸念される

音速変化と生体組織の熱特性との関係





TMM : tissue mimicking material



測定結果



超音波照射による温度変化の測定



超音波照射による温度変化の測定



加温用振動子による超音波ビーム



Input voltage is $50V_{p-p}$ and exposure time is 100ms. Hydrophone is a needle type PVDF (ONDA, HNP-0200)

加温用時間信号



加温用超音波を照射している時間は音速変動を測定し ない

エコーにおける時間シフトの推定



加温用超音波照射の前後で測定用超音波を送受信する

測定用超音波ビーム



数値計算に用いた超音波音圧分布



熱源分布





豚の筋肉組織と脂肪組織







JAERI-DATA/Code,95-002,人体組織と組織等価材の減弱係数

Goss,Johnston,and Dunn:Ultrasonic properties of mammalian tissues,J.Acoust.Soc.Am.,Vol.64,No.2,August 1978 日本畜産学会報 Vol. 70 (1999) No. 9 P 184-188

超音波照射時間の変化による比較



$$\frac{\Delta \tau}{\Delta t} \approx \frac{\Delta c(x)}{c(x)} = \frac{\partial c}{\partial T} \frac{2\alpha I t_h}{c(x) C_v}$$
$$\frac{\Delta \tau}{\Delta t} \left(\frac{\partial c}{\partial T} t_h\right)^{-1} = \frac{2\alpha I}{c(x) C_v}$$

Measured values Referred values

Test sample	Applied voltage [V]	Exposure time [ms]	$\Delta \tau / \Delta t$	$\partial c/\partial T$ [m/s/°C]	$\frac{(\Delta \tau / \Delta t) \cdot (\partial c / \partial T)^{-1} \cdot \mathbf{t_h}^{-1}}{[^{\circ} \mathbf{C} / \mathbf{m}]}$	$\frac{2\alpha l/c(x)C_{v}}{[^{\circ}C/m]}$
Musala	100	100	0.58×10^{-3}	1.2	4.8×10^{-3}	13×10^{-3}
Muscle	100	200	1.3×10^{-3}	1.2	5.4×10^{-3}	13×10-3

• WFUMB ガイドライン:許容温度上昇1.5 ℃.

 実験における超音波照射時間:100 ms, 音圧:1.0 MPa,温度上昇:最大1.5 ℃以下に抑え られた

		Measured	values		Referred values
Tissue sample	$\frac{\Delta\tau}{\Delta t}$	$\frac{dc}{dT}$ [m/s/K]	$\frac{\Delta \tau}{\Delta t} \left(\frac{dc}{dT} t_h \right)^{-1} \\ [\text{K/m}]$	ΔT [°C]	$\frac{2\alpha I}{c(x)C_{v}}$ [K/m]
Muscle	0.27 x 10 ⁻³	1.2	2.3 x 10 ⁻³	0.33	2.0 x 10 ⁻³

7.7 x 10⁻³

臨床への応用

-2.4 x 10⁻³

Fat

- 臨床診断への応用
 - •温度上昇に関する安全性の確保

-3.1

- •温度上昇値の推定
 - •組織の音速の温度特性を測定
 - 超音波強度の推定
- 体表組織への応用
 - 分解能の向上
 - ・振動子の高周波化,小型化
 - •10MHz以上,広帯域特性, 焦点距離10-20mm, 小口径 (5mm以下)
 - •超音波強度,温度上昇の測定

6.5 x 10⁻³

1.1

振動子	共振周波数	形状	曲率半径	圧電材料
測定用 送受兼用	10 [MHz]	円形: 4mm ϕ	15 mm	1-3コンポジット
加温用 送信専用	5 [MHz]	リング形状: 内径5mm <i>φ</i> 外径12mm <i>φ</i>	15 mm	PZT

振動子の音場 ハイドロフォンによる測定結果

加温用 5.0 MHz 送信

測定用 10.0MHz送信



ニードル型ハイドロフォン(0.5mm ϕ): HY05(東レエンジニアリング)



TMMファントムの測定結果

Sound pressure [MPa]	$\Delta \tau / \Delta t$	Δc [m/s]	dc/dT [m/s/°C]	ΔT [°C]
1.0	5.9×10 ⁻⁴	0.91		0.57
1.5	1.2×10 ⁻³	1.8	1.6	1.2
2.0	2.3×10 ⁻³	3.5		2.2



牛肝臓 測定結果

Sound pressure [MPa]	$\Delta \tau / \Delta t$	Δc [m/s]	dc/dT [m/s/°C]	ΔT [°C]
1.0	4.7×10 ⁻⁴	0.75		0.68
1.5	8.8×10 ⁻⁴	1.4	1.1	1.3
2.0	1.9×10 ⁻³	3.0		2.8

• 超音波加温による生体組織の温度変化を超音波で測定した

実験結果

- •豚の脂肪組織と筋肉組織の音速の温度特性を測定した
- ・パルスエコー法で超音波加温の温度上昇を1秒以内で最大1.5℃¹⁾を 誤差率10%以下で測定した
- 超音波加温による温度の時間変化率と音速変化率の関係を導き、熱的 特性との関係を明らかにした
 - ・豚の脂肪組織と筋肉組織の音速変化率を推定した
 - ・推定した音速変化率は熱物性の参照値と誤差率10%以下で一致した
- ●高周波振動子(10MHz,焦点距離12-15mm)を用いて超音波加 温5MHz, 1-2.0MPa, 100msで温度上昇1-3℃を測定した

稲垣拳,新井慎平,小南成史,森泉裕貴,秋山いわき(同志 社大),新田尚隆(産総研),平井都始子(奈良県立医大)

目的

- MRI高磁場環境下に超音波プローブを配置し、超音波とMRI を同時撮像
 - ・非磁性材料を用いた超音波プローブの開発
 - ・相互に与える雑音を抑制する
- ・同時撮像された2つの画像を融合した画像の形成
 - ・超音波プローブに取り付ける、MRIマーカーを開発し、画像を融合する アルゴリズムの開発
- ・生体内部の音速分布のin vivo推定
 - MRIから空間距離を推定し,超音波画像から超音波伝搬時間を推定
 - ・推定された音速分布から超音波画像の画質劣化補正

開発した同時撮像・システム



開発した非磁性プローブとMRIマーカー (ジャパンプローブ(株))



6

超音波イメージングシステム RSYS0006MRFP(マイクロソニック社)



プローブインターフェ ス入力チャネル数	送受信チャ ネル数	A/D 分解能	サンプリング 周波数	キャプチャメモリ
最大256	128	12 bits	31.25MHz	256MB/ch

8

MRI対応超音波プローブ

圧電素子	1-3コンポジット	圧電素子	1-3コンポジット
中心周波数	5MHz	中心周波数	8MHz
素子ピッチ	0.36mm	素子ピッチ	0.30mm
素子サイズ	0.26 × 10.0 mm	素子サイズ	0.20 × 8.0 mm
素子数	256	素子数	192
音響レンズ	なし	音響レンズ	焦点距離20mm







撮像された下腿部のMRIとUSI



推定された筋肉と脂肪の音速値

Center frequency	8 MHz		5 N	ſHz
Tissue	Fat	Muscle	Fat	Muscle
V [m/s]	1477	1547	1412	1627
SD [m/s]	76.48	98.67	128.3	122.5



実験システムと配置



甲状腺を撮像したMR画像



超音波画像の音速分布補正



実験結果

- ・MR(1.5T)と超音波の同時撮像・イメージング・システムを開発
 - ・非磁性材料を用いた超音波プローブ 1-3コンポジット材・5MHz,8MHz
 - MRIの撮像時間が超音波より長いため、MRIの休止時間に超音波パル スを送受信して、等価同時撮像を行った
- ・同時撮像された2つの画像を融合した画像の形成
 - ・プローブ埋込型MRIマーカーを開発し、MRIの3次元座標系で超音波断 面を推定するアルゴリズムの開発
 - ・ファントム撮像実験により,融合画像を形成,位置精度を検証した
- ・生体内部の音速分布のin vivo推定とその応用
 - ・下腿部筋肉組織と脂肪組織の音速を誤差率7%以下で測定した
 - ・甲状腺の画像について音速分布補正による画質改善を確認した

まとめ

- ・生体組織の音速の温度特性に着目した超音波加温超音波測
 定法の臨床への可能性を検討した
 - 超音波出力に関する安全基準の範囲内での超音波加温によって、生体 組織の音速変化を超音波パルスエコー法によって誤差率10%以下で 測定した
- MRIと超音波の同時撮像システムを構築し、生体内部の音速 をin vivoで測定した
 - ・測定値の誤差率は7%以下
- 今後の展開
 - 体表組織への臨床応用
 - ・超音波5MHz送信による加温
 - ・超音波10MHz送受信による音速変化測定
 - •振動子試作済み

3.4. テーマ3 生物の補償行動アルゴリズムの医療技術への応用

同志社大学大学院生命医科学研究科·飛龍志津子,小林耕太

同志社大学 研究開発推進機構·藤岡慧明

同志社大学大学院生命医科学研究科·博士後期課程·長谷一磨,博士前期課程·佐藤 寛,角屋志美,間井谷洋祐,玉井湧太

(1) 今年度の研究計画の概要

テーマ3では,生物の補償行動アルゴリズムの医療技術への応用をはじめとして,コウモ リの高度な超音波利用の実態を行動学,生理学,工学的見地から明らかにし,新たな医療技 術の設計指針等に役立つ知見を提供することを目的としている.特に,超音波医用診断技術 とも密接にかかわるコウモリのドプラ計測手法に関するアルゴリズムや,信号混信状況で の適応的反応などに着目し,様々な行動実験を実施してきた.また一部のコウモリが行う 「補償行動」アルゴリズムに着目し,超音波ドプラ血流計測技術への応用展開に向けた実験 的検討にも注力し,提案手法の有用性を実験的に明らかにしてきた.

コウモリは用いる超音波の時間周波数構造の違いから、大きく FM 型と CF-FM 型に分け られる.いずれのコウモリも、エコーロケーションには短い時間に周波数が変調する FM 音 を用いることが特徴としてあげられる.そこで本年度はコウモリが用いる FM 音に着目し、 ドプラ計測時の送信信号を周波数変調波とした上で、コウモリの周波数補償行動アルゴリ ズムを取り入れた超音波ドプラ血流計測についての検討を行った.さらに行動実験として は、コウモリのノイズ耐性に関する超音波運用の実態を調べるため、ノイズ音提示環境下に おけるエコーロケーション行動の計測・分析も行った.群飛行や雑音提示環境などの音響的 混信環境におけるコウモリの超音波利用に関する適応行動についても結果を報告する.

(2)研究成果

生体組織減衰のエコーへの影響と補償アルゴリズム

一部のコウモリは,飛行に伴うドプラ効果を補償すべく,送波信号の周波数を逐次変化さ せ,エコーの周波数を一定に維持する「ドプラシフト補償」「「を行う(図1).コウモリの 聴覚系はごく限られた周波数帯域に高い感度を持つ.飛行中,コウモリは自らの進行方向正 面にある静止物体からのエコーに対して,ドプラシフト補償を行う.これによって,獲物で ある昆虫の動きや,さらにはその羽ばたきによって生じるドプラ周波数を感度よく検知で きるのである.また同じ行動は音圧に対しても見られ,エコー音圧補償行動と呼ばれる^[2]. このような補償アルゴリズムは,送信信号の特徴を一定に,受信側の信号変化を扱う従来の 多くのセンシング手法とは,真逆の設計思想をコウモリが有することを意味している.



図1 コウモリのドプラシフト補償行動.飛行中,コウモリは送信する超音波の周波数を 飛行速度に応じて低下させ,受け取るエコーの周波数を一定に保つ.

一方,生体組織内を超音波パルスが伝搬すると,周波数に依存した生体内の伝搬減衰によって,エコーの中心周波数が低域側へシフトする^[3].そのため送波パルスの中心周波数で直交検波をすると,得られたエコー信号の信号対雑音比(SNR)が低下することに繋がる(図2). 携帯型の超音波診断装置等では,直交検波を受波信号のサンプリングと同時に行う方式が採用されることがあるため,このような周波数依存減衰による SNR の低下が懸念される.



図 2 周波数依存減衰による伝搬エコーの周波数特性の例(左). 中心周波数の低域シフト により AD 変換時に SNR が低下する(右)

そこで本研究では、この課題に対して、上述するコウモリの補償アルゴリズムを応用した ドプラ計測手法の提案及び検証を進めてきた^[4]. すなわち、受波信号の中心周波数のシフト 量をもとに、送波信号の中心周波数をあらかじめ補償して送波する、コウモリと同じドプラ シフト補償アルゴリズムを組み入れた手法である. これまでのところ、血管を模擬したチュ ーブの中を流れる散乱体からのエコーからドプラ周波数の計測を行ったところ、ドプラ・ス ペクトラムから算出した期待値は、補償によって上昇し、SNR の改善が期待される結果を 得ている^[5]. すなわち直交検波周波数を変えることなく、ドプラ周波数の測定時における SNR の低下を避けることができる可能性が示された.

FM 信号を用いたドプラ周波数の計測

FM 信号を送信した際の, エコーの中心周波数のシフトを実験的に計測する. 超音波診断 装置(Ula-Op, University of Florence)とセクタ型プローブ(PA230E,日立メディコ社,fc= 2.1 MHz),生体模擬ファントム(減衰定数:0.7 dB/cm/MHz,厚さ:25 mm)を用いて,周 波数 3.0~1.0 MHz の down chirp 信号のエコーを計測した.繰り返し周波数(PRF)2 kHz で 印加し,プローブの正面に設置した反射対(真鍮)からの受波信号のスペクトラムから,中 心周波数のシフト量を計測し,補償後の最適周波数を決定する.具体的には,相互相関処理 によりターゲットとする流速部からのエコーを特定し,周波数スペクトルを算出し,用いた プローブの中心周波数とエコーのピーク周波数との差を補償する.この際,送信信号と同じ 周波数帯域におけるエコーエネルギーの積分値を指標とし,その大きさが最大になるよう に補償量の推定を進めた.その結果,今回用いた生体模擬ファントムにおける最適補償周波 数は 0.5 MHz となった(図 3).

次に脱気水を満たした水槽内に血管を模擬したチューブを水平から 15°傾けて通し,チュ ーブ内にはデキストラン (Sephadex®, GE ヘルスケア)を含んだ脱気水を速度一定で流し た.チューブ内の流速は,直流電源 (PMX18-5A,菊水電子工業株式会社)によりリングポ ンプ (アクアテック)に加える電圧で制御した.設定流速から推定されるドプラ周波数は 4.2×102 Hz である.チューブ内に流れるデキストランからのエコー信号を,超音波イメージ ング装置に接続したセクタ型プローブを用いて計測した.印加した信号は周波数変調波(3.0 ~1.0 MHz/down chirp)である.使用した生体模擬ファントムは減衰定数:0.70 dB/cm/MHz, 厚さ:60 mm である.先ほど確認した最適補償周波数を基に送波信号の周波数を決定し,実 験を行った.



図3 FM 信号使用時における周波数補償量とエコー音圧の関係



図4 模擬血管を用いたドプラ周波数計測の実験系

図 5 は周波数を補償する前のドプラスペクトルである.送信信号としては 3.0~1.0 MHz の FM 信号と、プローブの中心周波数である 2.1 MHz の単一周波数の信号を用いた(2.5 us). これより FM 信号の方が、ドプラスペクトルがより明確に出ていることがわかる.20~420 Hz 内におけるドプラ・スペクトラムを基に算出したエコーエネルギーは、FM 信号を用いる ことで約 24 %上昇した.この要因としては、FM 信号を用いることで、クラッタであるチ ューブを空間的に弁別しやすくなり、0 Hz 付近に現れるスペクトル成分が減少している点 が挙げられる.その結果、ターゲットエコーからのドプラ周波数の期待値が上昇し、SNR が 改善されたと考えられる.また図 5 で示す結果より、周波数補償を行ったことにより、20~ 420 Hz 内におけるドプラ周波数のエネルギーは周波数補償前後で 14 %上昇していること を確認した.



次にそれぞれ 30 回の計測結果を図 6 に示す.平均ドプラ周波数を表 1 にまとめた.これ より周波数補償による平均周波数の上昇はわずかであるが確認できた.周波数補償による

SNR 改善は,信号の広帯域化によってより効果が期待されることがわかっている^[4]. 今後, 広帯域なプローブが一般化していくことで,周波数依存減衰に対応する SNR 改善の手段の 1つとして,本提案手法の効果が期待される.





表1 平均ドプラ周波数

Transmission waveform	Average frequency [Hz]
Sin wave / 2.1 MHz	1.23×10^{2}
Chirp wave / 1 \sim 3 MHz	1.77×10^{2}
Chirp wave / 1.5 ~ 3.5 MHz	1.83×10^{2}
Theory	4.20×10^{2}

ノイズ環境下におけるコウモリの音響制御

妨害音提示実験

コウモリのノイズ耐性に関する超音波運用の実態を調べるため、コウモリを用いた飛行 実験を通じた検討も行った.ノイズ環境下におけるコウモリの音響制御を調べるため、実験 室内で飛行するコウモリに対して、ラウドスピーカより妨害音を提示し、その際のコウモリ の行動を計測・分析した.用いたコウモリはニホンキクガシラコウモリ(Rhinolophus ferrumequinum nippon)で、鼻孔から超音波を放射する.基本周波数は約 30 kHz 付近で、数 +ミリ秒の周波数定常部の前後に、数ミリ秒の短い FM 信号を伴う CF-FM 型パルスを発す る(図7上図).また、基底音は弱く、超音波は第2倍音が強く放射される.CF-FM 型の コウモリの脳内には、基底音は見のみが聴取できることから、エコーに第2倍音を用い、そ の組み合わせ音刺激に対してのみ反応する機序により、他個体との信号混信を時間窓によ り回避していると考えられている.

本実験では、CF-FM型コウモリの超音波パルスの倍音構造に着目し、妨害環境を構築した.具体的には、①2種類の帯域制限ノイズ(30-35 kHz, 65-70 kHz)と、②定常部の周

波数が異なる二種類の CF-FM 型信号(CF = 66.5 kHz, 33.5 kHz)を妨害音として呈示し,実験を行った(図8).妨害音を呈示しない場合(off)と妨害音を呈示した場合(on)でコウモリに2分間の着地飛行を繰り返し行わせ,妨害音が提示された際のコウモリの放射パルスの音響特性の変化を調べた.

実験は観測室(9.0×4.5×2.35 m)をネットで区切った空間(1.0×4.5×2.35 m)内で行い、コウモリには自由飛行をさせた(図7下図).空間の横に高さ1.7 m で設置したスピーカ(PT-R7III, PIONEER CORPORATION)4機から妨害音を呈示することで音響混信環境を構築した.音声はコウモリの背部に搭載した小型ワイヤレスマイクロホンを用いて取得し、妨害音の有無によるコウモリの音声の変化を分析した.またマイクロホンには、観測室の壁からのエコーも観測される.コウモリのドプラシフト補償行動を観察するため、壁に向かって飛行する際にマイクロホンに観測されたエコーの周波数を分析することで、妨害音呈示中のドプラシフト補償の精度についても検討を行った.



図7 ニホンキクガシラコウモリの超音波(上)及び妨害音提示実験環境(下)



図8 妨害音の種類

帯域制限ノイズ呈示・非呈示時におけるパルスの CF2 周波数,及びエコーの CF2 周波数 の時間変化の一例を図 9A に示す.また,CF-FM 音を妨害音として呈示した際の一例を図 10A に示す.いずれの飛行でも,コウモリがパルスの周波数を変化させて,自身に届くエコ ーの周波数を一定に保つドプラシフト補償行動が確認できる.次に,各条件における CF2 周 波数のエコーを図 9,10B にそれぞれ示す.これらの結果から,帯域制限ノイズ・CF-FM 型 妨害音によらず,妨害音呈示時と非呈示時におけるエコーCF2 周波数の分散に 有意な差は 見られなかった.すなわち,コウモリは妨害音呈示環境下でも,精度を低下させることなく ドプラシフト補償行動を行っていることがわかった.

これまでの研究で、2個体を同時に飛行させた際におけるドプラシフト補償行動おいて も同様に、周波数補償の精度が変わらないことが報告されている[7].本報告においてより 定量的な音響的干渉条件を構築した評価においても、コウモリがロバストなドプラ計測を 実現していることが明らかとなった.

次に帯域制限ノイズ,及び,CF-FM型妨害音の呈示・非呈示時におけるCF長の変化を 図 9C,10Cにそれぞれ示す.これらの結果より,妨害音呈示時は,妨害音非呈示時に比べ て CF長が短くなることがわかる.妨害音との時間的な重畳を回避するためと考えられ る.



図 9 帯域制限ノイズ呈示時のコウモリの超音波パルスの周波数とエコーの周波数の時系 列グラフ (A), エコー周波数の平均値 (B), CF長の平均値 (C)



図 10 CF-FM 型妨害音提示におけるコウモリの超音波パルスの周波数とエコーの周波数の時系列グラフ(A), エコー周波数の平均値(B), CF 長の平均値(C)

さらに,倍音構造に着目し,基本音と第2倍音の CF 部の強さについて調べた.全パルス の最大音圧を基準として,妨害音呈示・非呈示時における CF1 と CF2 それぞれの音圧を 図 11 に示す.これより CF1 成分に妨害音(33.5 kHz) を重畳させた際にパルスの CF1 成分 を僅かに強めて,一方 CF2 成分に妨害音(66.5 kHz) を重畳させると,CF1 成分を弱めてい ることがわかった.このことから,妨害音に対するマスキング回避のために,重畳する調波 成分毎に,パルス音圧を独立して調節していることが示唆された.

基底音は弱く発声されることから,発したコウモリ自らが利用する音である.一方で第2 倍音は強く放射され,エコーとして用いる.すなわち調波構造を用いるコウモリにおいて, 基底音と第2倍音それぞれには異なる役割がある.またコウモリの脳内には基底音のパル スと第2倍音のエコーが対となった場合に処理する神経基盤があり,基底音と第2倍音と の音圧比は重要な要素であることが考えられる.今回の実験より,コウモリが調波構造の各 成分の比を調整し,妨害音によるマスキングを回避している可能性が示唆された.今後,調 波構造に関するコウモリの超音波利用についても,詳しい検討を行っていく.



図 11 基底音と第2倍音成分の音圧の変化

群飛行中のコウモリの超音波信号

次に音響混信環境として,実際に複数のコウモリを同時に飛行させ,各コウモリの超音波 の変化を調べた.過去の研究では,飛行中のコウモリに音声を模擬した FM 音を呈示する と,妨害音との周波数重畳に応じて放射パルスの TF (Terminal frequency)変化させること が報告されている[8].このことから,コウモリは同時飛行時,自身の TF と他個体の TF と の重畳を回避することが予想される.そこで,混信下で自身の音声を抽出するために,コウ モリがどのように自身の放射パルスを変化させるかを検討した.そのために,小型 FM ワイ ヤレスマイクロホンを用いてグループで飛行する各コウモリの放射パルスを計測した.ま た,パルスを模擬した FM 信号を作成し,音響特性の変化に対し信号間類似度がどのように 変化するかを評価した.

実験には、ユビナガコウモリ(*Miniopterus fuliginosus*)を用いた.ユビナガコウモリはエ コーロケーションパルスを口から放射する.パルスは 100 から 40 kHz に下降する FM 音で ある.19 個体を使用し、4 個体からなるグループを計 6 グループ作成した.実験は、観測室 (9×4.5×2.35 m)をネットで区切った空間(6×4.5×2.35 m)内で行った.はじめに、グ ループの各コウモリを単独飛行させた.その後、グループの4 個体を同時に飛行させた.最 後に、再び各コウモリを単独飛行させた.小型 FM ワイヤレスマイクロホンを搭載すること で、全個体の音声を分離して記録した.またコウモリの飛行は、観測室に設置した2台のビ デオカメラ(MotionXtra NX8-S1, IDT Japan, Inc.)で撮影し、解析ソフト(DITECT DippMotion PRO version 2.2.2.0)を用いて3次元飛行軌跡を算出した.

同時飛行する 4 個体のコウモリの音声と飛行軌跡を計測することに成功した.また最も TF が近い個体との TF の差を ΔTF と定義したところ, ΔTF は単独飛行時の 0.6 ± 0.6 kHz か ら, 複数個体飛行時には 1.2 ± 0.6 kHz に有意に増加した (図 12, Tukey's HSD test, P < 0.05).



図 12 群飛行中の各個体の TF 差

次に確認された TF の変化が信号間類似度に及ぼす影響を調べるために、パルスを模擬した FM 音(図 13a)と、そこから TF, IF (Initial frequency), Duration をそれぞれ変化させた信号との相互相関を行った.結果、半値半幅は、IF と Duration では約 8%であったが、TF は約 2%、つまりわずか 1 kHz であった(図 13c-d). これより、TF のわずかな差が信号分離に有用であることが示唆された. さらに各コウモリが発する超音波の類似度を相互相関を用いて評価したところ(図 14), 群飛行中の方が類似度が有意に低下していることがわかった(図 15). 同時飛行する複数のコウモリの放射パルスを分離して計測し、それぞれの音響特性について検討した例はこれが初めてである. これにより、コウモリは複数個体飛行時に自身の TF を僅かに変化させ、他個体の TF との差を広げることで、お互いの信号間類似度を効果的に低下させていることが明らかとなった. コウモリのこのような超音波利用の側面から、多くの超音波センシングが課題とする音響混信や信号分離に関する新たな知見に繋がることを期待している.



図 13 信号間の類似度評価. (a)コウモリの FM 信号を模擬した信号. (b-d)相互相関による 信号の類似度評価. TF: terminal frequency, IF: initial frequency, duration:パルス



図 14 グループ飛行中のコウモリの超音波と相互相関波形



図 15 各個体間の超音波の類似度評価. コウモリの超音波の個体間類似度はグループ飛行 中有意に低下.

超音波コミュニケーション音に対する聴覚皮質の応答の計測

哺乳類の知覚情報処理は皮質におけるマップ表現を起点として実行される.音の皮質情報 処についてはコウモリ(特にヒゲコウモリ)を対象とした実験データに依存しており,音響 的特徴の組み合わせに応答する神経である「組み合わせ選択性」を持つニューロンがマップ を形成することでエコーロケーション情報を解読すると考えられている^[6].またコウモリ以 外の哺乳類でも,同様なネットワークが音声コミュニケーションの解読を実行するとされ てきた.しかしこれらの知見は主として 90 年代に細胞レベルの記録(細胞外電気記録)に よって得られたデータを,複数個体にわたり平均したものであり,個体レベルの聴覚皮質に おける音の情報表現については依然として不明な点が多い.よって本研究では脳活動を広 い範囲で計測し音声情報の皮質マップ表現を捉えるためにイメージングシステムを取り入 れた.

長



図 16 フラビン蛋白蛍光イメージング

本実験ではフラビン蛋白蛍光を利用した.フラビン蛋白はミトコンドリアの電子伝達系で 活動する蛋白質の一つである.神経細胞が興奮することで細胞内カルシウム濃度が上昇 し、神経細胞内のミトコンドリアの酸素代謝が亢進するとフラビン蛋白は還元型

(FMNH2)から酸化型(FMN)に変化する.酸化型フラビン蛋白に青色励起光を照射す ると緑色の自家蛍光を発する性質があるため、この緑色の自家蛍光を捉えることで脳活動 を計測することができる(図16).フラビン蛋白蛍光イメージング法では外来性色素を使 用しないため、染色や発現ムラがなく、シグナルも自家蛍光の中では強い(intrinsic signalに比べ約10倍).また結果の再現性も高く安定性も高いことが分かっている^[9]. 本研究では被験体として、聴覚生理学の標準動物であるスナネズミを使用した.特に経頭 蓋的記録により聴覚皮質の特定が可能か検証することを目的とした.被験体の脳活動を記 録するために、開頭手術を行った.頭蓋骨の透明性維持のために流動パラフィンを塗布し た.左半球の大脳皮質野を観測した.蛍光実体顕微鏡(SZX16,OLYMPUS)を介して、 青色励起光(450~470 nm)を照射し、緑色蛍光(500~550 nm)の変化を冷却 CCD カ メラ(BU61M, BITRAN)で撮影・記録した.



図 17 スナネズミ聴覚皮質のフラビン蛍光応答による同定

撮影が開始されてから2秒後に刺激が提示され,撮影時間は合計で8秒,シャッター速度は0.1秒であった.撮影開始から次の撮影までの時間は20秒であった.各刺激において20回計測を行った.刺激には聴覚刺激として音圧レベル85dBSPLのホワイトノイズ

(周波数帯域: 4~60kHz, サンプリング周波数:195kHz)を使用した.得られた画像は MATLAB (MathWorks, Natick)を用いて画像解析を行った.刺激提示前の画像3枚分の 蛍光強度を平均し,基準値(F)とした.基準値との差を Δ Fとし,蛍光応答は Δ F/Fとし た.最も強い蛍光応答が確認された領域を図17に示す.



頭蓋縫合線および,血管走行に基づき決定された Primary auditory cortex (A1 および AAF)の解剖学的配置^[10]と一致する部位でフラビン蛍光応答のピークが得られた.今後本 手法により聴覚皮質における音のマップ表現を解析可能であることを示した.特にスナネ ズミは音声コミュニケーションのレパートリの正確な記述(図 18)が完了しており,音情 報が「組み合わせ選択性」ニューロンによりどのように皮質に表現されているか検討する ことが可能になった.これらの研究は超音波を含む音響解析の脳内機構解明につながると 期待できる.

(3) 自己評価

A 期待通りの成果があった

本年度は、コウモリの超音波を模擬し、FM 信号を用いた補償アルゴリズムの有用性の検 討を、水中実験を通じて実施した.その結果、FM 信号によって計測されるドプラ周波数の 期待値が上昇することが確認できた.一方で、任意波形を用いたドプラ周波数の計測システ ム構築に時間を要したこともり、より詳細な検討や分析に十分着手でいなかったことは反 省点として挙げられる.コウモリの生物ソナー行動をヒントに,目標であった超音波診断装置への応用展開としては,一定の成果があったと考えている.

またノイズ環境下でコウモリがどのような適応行動を示すのか, 群飛行による音響計測 と,音響プレイバックによる実験を実施した.前者は,信号の混信を回避するために個々の コウモリが自分の超音波の周波数をわずかにシフトさせることを見出すことができた.ま たプレイバック実験では,音圧を調査することで,基本周波数と第2高調波成分の音圧比を ノイズ状況に応じて,調整していることもわかった.

(4) 成果発表など

国際会議発表

- [1] Kazuma Hase, Yukimi Kadoya, Yosuke Maitani, Kohta Kobayashi, Shizuko Hiryu
 "Adaptive changes in vocal frequency by echolocating bats during group flight",第40
 回神経科学大会,幕張メッセ, 2017/7/20-23.
- [2] Shizuko Hiryu, "Laboratory and field studies on acoustic navigation of echolocating bats

 Tracking of flight paths and ultrasounds," The 6th International Seminar on Biodiversity
 and Evolution: Wildlife Science by New Biologging studies, 京都大学北部キャンパス
 理学研究科セミナーハウス, 2017/05/30
- [3] Yuta Tamai, Takashi Noguchi, Shizuko Hiryu, and Kohta I. Kobayasi, "A new behavioral paradigm for investigating auditory perception of untrained animals: Application of novel object recognition procedure to hearing research", Society for Neuroscience, Washington, DC, USA, 2017/11/11-2017/11/15

国内発表

- [4] 飛龍志津子, "生物ソナーに学ぶ超音波技術," 第75回関西地区分科会(日立 返仁会と日立製作所研究開発グループとの共催),日立製作所,2017/7/14
- [5] 飛龍志津子, "生物ソナー・コウモリの超音波センシング技術,"パナソニック 講演会, Panasonic Wonder LAB Osaka, 9/23/2017
- [6] 氏野友裕,中井元貴,藤岡慧明,飛龍志津子"採餌行動時における野生 CF-FM コウ モリの超音波センシング戦略に関する検討",文部科学省戦略的研究基盤形成支 援事業 2017 年度研究成果公開シンポジウム,同志社大学,2017/8/23

- [7] 角屋志美,竹内由紀,長谷一磨,小林耕太,飛龍志津子, "複数個体飛行時にお ける CF-FM コウモリの混信回避戦略",文部科学省戦略的研究基盤形成支援事業 2017 年度研究成果公開シンポジウム,同志社大学,2017/8/23
- [8] 間井谷洋祐,長谷一磨,鈴木優子,小林耕太,飛龍志津子,"音声の時間周波数 構造の違いがコウモリの Jamming Avoidance 反応に与える影響",文部科学省戦 略的研究基盤形成支援事業 2017 年度研究成果公開シンポジウム,同志社大学, 2017/8/23
- [9] 佐藤寛、山名詩織、藤岡慧明、渡辺好章、飛龍志津子、秋山いわき、"コウモリの周波数変調波を用いた超音波ドプラ血流計測法の検討",文部科学省戦略的研究基盤形成支援事業 2017 年度研究成果公開シンポジウム、同志社大学、2017/8/23
- [10] 角屋志美,竹内由紀,長谷一磨,小林耕太,飛龍志津子, "群れで飛行するコ ウモリはうるさい状況にどのように立ち向かうか―テレメトリ計測による混信回 避の検討―",行動 2017,東京大学駒場キャンパス,2017/8/31-2017/9/1
- [11] 氏野友裕,中井元貴,藤岡慧明,福井大,依田憲,飛龍志津子, "野生コウモ リを追跡! GPS ロガーとマイクロホンアレイから見た音響採餌行動戦略",行動 2017,東京大学駒場キャンパス,2017/8/31-2017/9/1
- [12] Takara Miyamoto, Kazuma Hase, Yasufumi Yamada, Kentaro Ito, Kohta I. Kobayasi,
 Shizuko Hiryu), "Path control of group flying bats for collision avoidance", 個体群生態
 学会大会,九州大学西新プラザ, 2017/10/13-2017/10/15
- [13] 長谷 一磨,角屋 志美,間井谷 洋祐,小林 耕太,飛龍 志津子, "集団飛行 するコウモリの音響混信状況での信号抽出メカニズムに関する検討",日本音響 学会 2018 年春季研究発表会,日本工業大学宮代キャンパス,2018/3/13-15

展示

なし

特許

なし

その他

- 1. 第14回 日本学術振興会賞(2018, 2, 7), 飛龍志津子
- 2. 行動関連学会・研究会の合同大会,「行動 2017」 最優秀賞 角屋志美
- 3. 行動関連学会・研究会の合同大会,「行動 2017」 優秀賞 氏野友裕

- 4. 日本音響学会関西支部若手研究者交流研究会 グッドポスター賞 玉井湧太
- 5. 第40回 日本神経科大会ジュニア研究者ポスター賞 今村基希
- (6) 参考文献
- [1] S. Hiryu, Y. Shiori, T. Hosokawa, H. Riquimaroux, and Y. Watanabe, "On-board telemetry of emitted sounds from free-flying bats: compensation for velocity and distance stabilizes echo frequency and amplitude," J Comp Physiol A, vol. 194, pp. 841-851, 2008.
- [2] S. Hiryu, T. Hagino, H. Riquimaroux, and Y. Watanabe, "Echo-intensity compensation in echolocating bats (Pipistrellus abramus) during flight measured by a telemetry microphone," J. Acoust. Soc. Am., vol. 121, pp. 1749-1757, 2007.
- [3] 秋山いわき, "超音波イメージングにおける生体組織の周波数依存減衰の影響について一映像化距離に対する送信波形の検討―," 電子情報通信学会技術研究報告, vol.
 111, pp. 43-48, 2012.
- [4] 手嶋優風,柏村祐樹,飛龍志津子, and 秋山いわき, "受波信号によって送波信号を 最適化する超音波ドプラ血流計測法の提案," in 日本音響学会 2015 年春季研究発表 会, 2015, pp. 136-137.
- [5] 佐藤寛、山名詩織、藤岡慧明、渡辺好章、飛龍志津子、and 秋山いわき、"コウモリの 周波数変調波を用いた超音波ドプラ血流計測法の検討、"in 文部科学省戦略的研究 基盤形成支援事業 2017年度研究成果公開シンポジウム、同志社大学 2017/8/23、 2017.
- [6] N. Suga, "The extent to which biosonar information is represented in the bat auditory cortex," in Dynamic aspects of neocortical function, G. M. Edelman, W. E. Gall, and W. M. Cowan, Eds., ed New York John Wiley & Sons, 1984, pp. 315-373.
- [7] Y. Furusawa, S. Hiryu, I. K. Kobayashi, and H. Riquimaroux, "Convergence of reference frequencies by multiple CF-FM bats (*Rhinolophus ferrumequinum* nippon) during paired flights evaluated with onboard microphones.," J Comp Physiol A, vol. 198, pp. 683-693, 2012.
- [8] K. Hase, T. Miyamoto, K. I. Kobayasi, and S. Hiryu, "Rapid frequency control of sonar sounds by the FM bat, *Miniopterus fuliginosus*, in response to spectral overlap," Behavioural processes, vol. 128, pp. 126-133, 2016.
- [9] K. Shibuki, R. Hishida, H. Murakami, M. Kudoh, T. Kawaguchi, M. Watanabe, S. Watanabe, T. Kouuchi, and R. Tanaka "Dynamic imaging of somatosensory cortical activity in the rat visualized by flavoprotein autofluorescence" J. Physiol., vol. 549, pp. 919–927, 2003.

[10] H. Thomas, J. Tillein, P. Heil, and H. Scheich "Functional organization of auditory cortex in the mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). I. Electrophysiological mapping of frequency representation and distinction of fields." Eur J Neurosci, vol. 5, pp. 882-897, 1993.