

氏名：田村洋樹

題目：レーザースペックル法による孵卵初期鶏卵の血管イメージング技術の開発と応用

要約

卵は人類の食を支える基礎的な畜産物の一つであり、増え行く人口に伴って今後も需要増が見込まれる。一方、採卵鶏の生産現場では、雄ヒナが産業的に利用価値を持たないために孵化後間もなく殺処分されており、動物福祉の観点から解決が求められる世界的課題となっている。本課題に取り組むべく、孵卵中の卵の「中の状態」を取得し、雌雄に関わる差異を早期に捉える技術開発が進められてきた。その中で、孵卵 3 日目(Day 3)では雄が雌より一時的に血管成長が進んでいることが先行研究で示唆されており、血管は雌雄判別に利用可能な特徴量となり得る。さらにその非破壊計測手法として、ヘモグロビンの強い吸収特性を利用した緑色透過画像による血管可視化が提案されてきた。しかし、卵殻にある点斑が血管像に重畳してしまう課題があった。本研究では、緑色光よりも波長が長く卵殻による散乱を軽減できる 785 nm 近赤外レーザーを用い、コヒーレンスの高いレーザー光の干渉により生じるレーザースペックルを解析することで、血管形状をコントラスト画像として可視化する手法に着目した。本研究は、レーザースペックル法を用いて孵卵中の鶏卵内部の血管を非破壊的に可視化する技術を開発し、雌雄差評価、さらには血管可視化技術の汎用性の高さを示すことを試みたものである。

本論文は全 7 章から構成される。第 1 章ではヒナ生産業における社会的課題を整理し、雌雄判別を行うためにも孵卵中に内部の情報を取得する必要性を示すとともに、先行研究でどのような手法が検討されてきたかを論じた。その上で、本研究で「血管を可視化する」ことを着想するに至った論理を示した。第 2 章と第 3 章では、本研究に必要な光学そして深層学習の原理について解説した。

第 4 章では Day 3 の白色鶏卵を対象に、卵殻点斑の除去を目的としてレーザースペックル法により得られた画像の解析手法を検討した。空間的なスペックル統計量を解析する手法(LSSCA)と経時的なスペックルの輝度変動を解析する手法(LSTCA)を比較した結果、LSSCA では点斑由来の空間情報が残存した一方、LSTCA では血管や卵黄部分では散乱体が動いているのに対し、点斑(卵殻)は静止しているため、点斑に左右されにくい血管のコントラスト画像が得られることを明らかにした。また、コントラスト画像内では卵黄部分よりも血管部分でコントラスト値が低く、これは血管内の血球成分がブラウン運動だけでなく心臓の拍動により高速に動いていることを反映していると考えられた。この傾向は、流速が早いものほどコントラスト値が下がるという既報の知見と整合しているため、レーザースペックル法により得られたコントラスト画像には、鶏卵内部の散乱体の動態的特性の違いが可視化されていることが分かった。

第 5 章では、まずレーザースペックル法によるコントラスト画像と緑色透過画像より得られる血管像特徴を定量的に比較した。血管太さを半値全幅により評価した結果、両手法で得られる血管像の太さはほぼ同等であり、同程度の空間解像度が得られることを確認した。また、緑色透過画像では点斑が血管像に重畳し、血管が途切れて検出される場合があったのに対し、コントラスト画像では点斑が存在しないため血管を検出できた。さらに、コントラスト画像から算出した血管面積で雌雄比較したところ、雄で有意に高い値が得られた($p = 0.048$)。この結果は、侵襲的手法で示されてきた先行研究の知見を非侵襲的に検証したものである。一方、コントラスト画像を入力とした深層学習による雌雄判別では、6 分割交差検証における平均確度は 56 %ほどにとどまった。画像内で雌雄での血管面積差が認められ、血管を手掛かりとして判別モデルを作成しようとする兆候を示すものの、水準内変動が大きいため判別モデルは不安定であったと考えられる。今後は例えば Day 3 付近で経時的にデータをとるなど水準内変動を小さくできるような工夫が必要である。

第 6 章では、レーザースペックル法による孵卵中の鶏卵内部の血管可視化技術の汎用性を検証するため、褐色鶏卵での血管可視化を試みた。褐色鶏卵では緑色帯域の光をほとんど透過せず、露光時間を 10 倍に延長しても血管可視化は困難であった。一方の波長 785 nm のレーザースペックル法では、白色および褐色鶏卵の双方において、同一撮像条件で血管可視化に成功した。この結果から、レーザースペックル法は卵殻色に影響を受けにくく、汎用性の高い血管可視化技術であることが示された。

第 7 章では本研究内容を総括し、どのような社会的価値を生み出せるかを展望した。本研究で開発した血管イメージング技術は、卵殻色や点斑に左右されずに血管を可視化できる汎用性の高い技術であることを示し、非破壊的に雌雄差に関わる血管成長の違いを検出した。本研究で得られた知見は、将来的にヒナの孵化前雌雄判別技術の基盤となり得るという農学分野における貢献が期待されるだけでなく、鶏胚や血管成長を対象とする生物学や再生医療分野においても、血管のイメージング並びに解析技術として分野横断的に貢献し得る。