

昼夜環境に対応した小型実験動物の行動計測

Automatic tracking system for a small laboratory animal adjusted to day and night time

○ 長友敏 (宮崎大) 川末紀功仁 (宮崎大) 越本知大 (宮崎大)

Satoshi NAGATOMO, University of Miyazaki
Kikuhito KAWASUE, University of Miyazaki
Chihiro KOSHIMOTO, University of Miyazaki

Abstract: The movement of a small laboratory animal is analyzed in various fields such as medical and biology fields. In order to execute this analysis, recording device such as a video is used. But it takes a long time for researchers to extract the specific movement of animal from the recorded data. In this study, we propose automatic measurement system that the quantitative movement of a small animal in natural environment using two cameras, one is for day time and the other is an infrared camera for night time. Quantitative tracking data of a small laboratory animal is detected automatically for day and night time.

Key Words: template matching, automatic tracking system, natural environment

1. 緒言

医薬品や食品の開発, 病態モデル動物評価やその原因究明など, 生命科学研究の広範囲に渡って小型実験動物を用いた評価は重要な研究手法である. その方法は生理生化学的評価, 遺伝学的評価等多岐に及んでおり, 表現型解析のクライテリアの一つとして, 動物の行動を直接検証するケースも増えている. 複雑かつ多様な動物の行動を長時間に渡り正確に評価するためには目視観察法では限界があり, ビデオカメラ撮影された映像から確認する客観的な検証法に依存する必要があるが, その映像を目視で追跡するのは, 多大な時間と労力が必要となり, 個人差も大きいため定量化する必要がある. 定量化する方法の1つに, ビデオカメラで撮影した映像に画像処理を行い, 行動計測する手法がある. しかしながら, 市販されている行動計測装置は, 計測環境が限定されている場合が多く, 長時間に渡り昼夜環境下で行動計測を行うのは, 非常に困難である. また, 一般的に動物実験において, 昼間行動と夜間行動両方の行動計測を求められるケースも多い.

本文では, 昼間用のカメラと夜間用の赤外線カメラの2種類のカメラを用いて, 各々小型実験動物を撮影し, 撮影された映像に画像処理を行い小型実験動物の位置情報を算出し, 算出された位置情報を統一することで昼夜環境に対応した計測システムを提案した. そして, 実際に本システムにて, テンプレートマッチング法による画像処理を用いて動物行動計測実験を行った結果を報告する.

2. 計測方法

2-1 画像処理方法

本計測システムによる小型実験動物の位置検出にはテンプレートマッチング法を利用した. テンプレートマッチング法は $I(x_i, y_i)$ のサイズの入力画像に対して, それよりも小さい $T(x_p, y_p)$ のサイズのテンプレート画像を用意し, 入力画像内でテンプレート画像を移動させながら入力画像とテンプレート画像の類似度を調べ, 入力画像内にあるテンプレート画像の位置を算出する. 本研究では, 類似度の算出に式(1)を用いた. 式(1)において, I は入力画像, T はテンプレート画像を表す. R が類似度を表し, 値が大きいほど類似度が高いことを示す.

$$R(a, b) = \frac{\sum_{k=0}^{h-1} \sum_{l=0}^{w-1} |I(a+k, b+l)T(k, l)|}{\sqrt{\sum_{k=0}^{h-1} \sum_{l=0}^{w-1} I(a+k, b+l)^2 \times \sum_{k=0}^{h-1} \sum_{l=0}^{w-1} T(k, l)^2}} \quad (1)$$

2-2 カメラキャリブレーション

本計測システムでは, 撮影された画像の座標系であるカメラ座標から飼育ケージ内の一点を原点とした実座標へ変換する必要がある. この変換式は式(2)より求められる.

$$\begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} k_{31}u - k_{11} & k_{32}u - k_{12} \\ k_{31}v - k_{21} & k_{32}v - k_{22} \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} k_{13} - u \\ k_{23} - v \end{bmatrix} \quad (2)$$

外部パラメータ k の算出方法として, 実座標 (x, y) とカメラ座標 (u, v) の組み合わせを4点以上入れることで外部パラメータ k を算出し, 座標を変換することができる. 本研究では, 飼育ケージ内に小動物の平均高さに合わせた目盛板を設置し, 目盛板と撮影した画像から既知値である実座標 (x, y) とカメラ座標 (u, v) から外部パラメータ k を算出した.

2-3 長時間の計測方法

本計測システムでは, 長時間自然環境下の計測に対応するため, 昼間用, 夜間用2台のカメラで計測を行った. 各データを実座標に変換し合成することで, 長時間の計測データが完成する. また, 実座標に変換することにより, 速度, 運動量等の算出が可能となる. (Fig.1)

2-4 計測精度

実座標変換時における距離の計測精度は, 昼間用カメラが横方向で約0.07%, 縦方向で約0.13%, 夜間用カメラは, ひずみ補正を加えて, 縦方向で約0.14%, 横方向で約0.19%の誤差であった.

2-5 計測実験方法

本研究では, 計測対象である小型実験動物に, マーカーを貼付けることでマーキングを行い, マーカーをテンプレート画像として追跡する手法にて計測を行った. 本計測方法の特徴として, 計測点が, 毎回同じ部分で認識されるため, 動いた距離等が高精度で算出される.

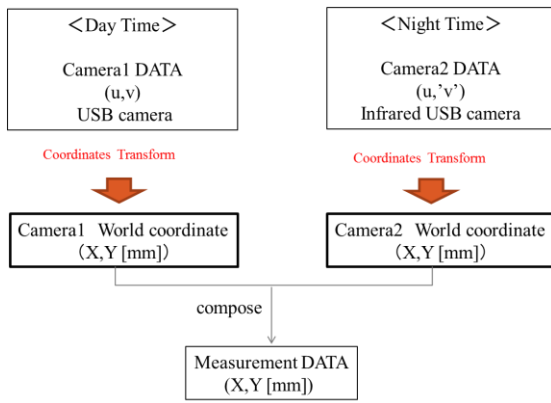


Fig.1 Flow chart (Acquisition of measurement data)

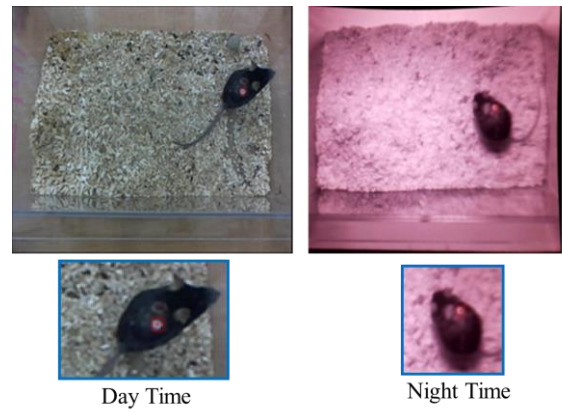


Fig.3 Image of analysis result

3. 計測実験

3-1 計測装置

本計測システムは、計測台、飼育ケージ、昼間用 USB カメラ (ロジクール製 C910 画素数: 500 万画素)、夜間用赤外線 USB カメラ (ハンファジャパン製 DC-NCR30U 画素数: 314 万画素)、赤外線 LED 照明で構成されている。カメラは計測台に設置したケージの上部から撮影し、パソコンに接続し、ソフトウェアにて画像処理を行った。また、赤外線 LED 照明を照射することで、夜間の計測を実現させた。(Fig.2)

3-2 実験

実験は、宮崎大学動物実験規則に従い、動物実験計画書 (承認番号 2011-527) に従って実施した。使用した小動物はマウス (C57BL)、実験場所はフロンティア科学実験総合センター生物資源分野コンベンションエリアにて実施した。

計測間隔は、約 0.3 秒間隔 (1 秒間に 2~3 点) で 24 時間実施した。実験場所の環境については、午後 8 時から午前 8 時までの消灯等、通常の飼育環境下で実施した。また、カメラで撮影するため、透明アクリル製のケージ蓋を使用した。ケージ内の環境は、通常使用される木屑を使用した。

3-3 実験結果

24 時間の計測を行った結果、昼夜、両方の環境下で、テンプレートマッチングによる画像処理により、昼間、夜間何れかの環境下で位置情報を検出することが出来た。その後、各位置情報を実座標に変換することにより、24 時間の実座標による位置情報を取得することが出来た。(Fig.3)

しかしながら、本実験では、全位置情報を自動認識することは出来なかった。主な原因としては、マーキングが隠れたままマウスが休止し、誤認識した画像処理が続いていた。(Table1)

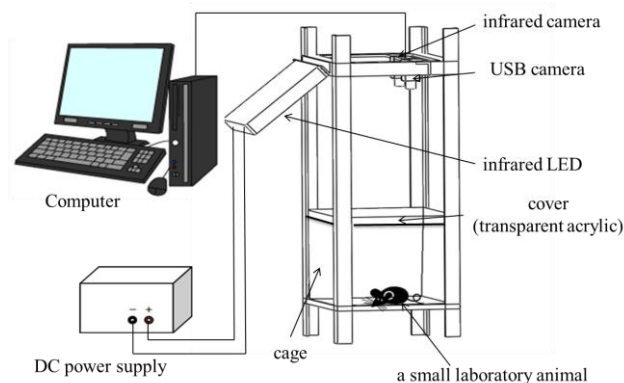


Fig.2 Measurement system

Table 1 Automatic recognition rate

| Time | Recognition rate | Time | Recognition rate |
|-------------|------------------|-------------|------------------|
| 18:20~19:20 | 59.3% | 6:20~7:20 | 65.0% |
| 19:20~20:20 | 57.5% | 7:20~8:20 | 58.3% |
| 20:20~21:20 | 91.7% | 8:20~9:20 | 17.5% |
| 21:20~22:20 | 92.5% | 9:20~10:20 | 52.5% |
| 22:20~23:20 | 92.5% | 10:20~11:20 | 43.3% |
| 23:20~0:20 | 80.2% | 11:20~12:20 | 36.7% |
| 0:20~1:20 | 86.7% | 12:20~13:20 | 73.3% |
| 1:20~2:20 | 87.5% | 13:20~14:20 | 81.7% |
| 2:20~3:20 | 86.7% | 14:20~15:20 | 65.7% |
| 3:20~4:20 | 86.7% | 15:20~16:20 | 67.5% |
| 4:20~5:20 | 83.3% | 16:20~17:20 | 58.3% |
| 5:20~6:20 | 100.0% | 17:20~18:20 | 56.7% |

4. 結言

本研究により、室内環境下での昼夜対応の行動計測システムを開発した。室内環境下で 24 時間の計測実験を実施することで、本計測システムの有効性を確認した。

今後は、実験動物にマーカーを貼り付けない自然な状態での画像処理方法を提案し、自動認識率向上の改善を行う。

参考文献

- (1) Miku HAMADA, Masato ITO, Takaaki FUKUZOE, Mutumi. WATANABE “Automatic measurement and recognition of animal behavior by Image sequence”, International Journal of Science and Technology, Information Processing Society memoir. CVIM, Computer vision and the image media 2006 (51), 75-82, 2006-05-18
- (2) LUCAS P.J.J.NOLDUS, ANDREW J.SPINK, RUUD A.J.TEFELENBOSCH, Etho Vision : A versatile video tracking system for automation of behavioral experiments” Behavior Research Methods, Instruments &Computers, 2001
- (3) 村本健一郎, 画像処理による小動物行動解析装置の開発, 電子情報通信学会春季全国大会講演論文集, 3, 1990

謝辞

本研究は科研費 (奨励研究) 23917024 の助成を受けたものです。