

令和元年5月14日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07705

研究課題名(和文)心電ロガーを用いた自由行動下の家畜に対する新たな自律神経活動評価法の確立

研究課題名(英文) Development of a novel method to assess autonomic nervous system of free-moving animals using electrocardiogram logger

研究代表者

大石 風人(OISHI, Kazato)

京都大学・農学研究科・助教

研究者番号：50452280

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：心拍間隔計測による心拍変動解析(HRV)は動物の様々な内的・外的ストレス応答としての自律神経活動を評価する方法として広く利用されている。しかし、自由行動下でのHRV計測はストレスの有無に関わらず対象動物の行動に影響を受けてしまうため、その解決策が求められている。そのため本研究は、自由行動下の家畜の継続的な心電データの簡易な取得法および動的体加速度(DBA)の同時計測を活用した自律神経活動評価法を確立し、様々な家畜生産現場において本手法が利用可能であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自由行動下の家畜動物に対する心拍変動解析を用いた自律神経活動評価法を確立した本研究は、自由行動下の様々な動物を対象とした多くの生理・生態学分野の研究者にとって学術的に意義のあるものと考えられる。さらに、この方法は様々な飼養条件下の家畜に対するストレス・健康評価に適用できると考えられるため、現場の畜産生産者、獣医師に対して有益な方法論を提供することが可能となり、社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Heart rate variability (HRV) analysis, which is based on the measurement of heart inter-beat intervals, is a widely used technique to assess autonomic nervous regulation in response to various internal or external stressors of animals. However, HRV measurements under free-moving conditions are highly susceptible to subjects' physical activity levels regardless of stressors. Thus, development of the method to correct for the effect of physical activity on HRV analysis have been required. Therefore, in the present study, the method to measure inter-beat intervals of animals continuously under free-moving conditions was firstly developed, and the method to assess autonomic nervous system balance in freely moving animals by the simultaneous measurements of dynamic body acceleration (DBA) and HRV was then established. Finally, the applicability of the method to various ruminants under several animal production systems was confirmed.

研究分野：家畜生産システム

キーワード：動物管理・福祉 自律神経活動 心拍変動 加速度 自由行動下 家畜

## 1. 研究開始当初の背景

近年、家畜福祉の観点から家畜のストレスを評価することが注目されている。その方法の1つとして、家畜のストレスを継続的に非侵襲で評価するため心拍数を利用することが古くから検討されている。しかしながら、心拍数は様々な生理・生体反応の結果であり、また行動量に強く影響を受けるため、実際にはそれだけで定量的にストレスを評価することは困難である。そのため、心臓生理学的な観点からストレスを定量評価するには、自律神経活動、特に交感神経と副交感神経の活動バランスを評価する必要がある。

動物の自律神経活動バランスを評価する方法として最も注目されているものの1つに、心拍変動解析がある。一般的に、心臓の拍動の間隔(心拍間隔)は一定ではなく揺らぎがあるものであり、その揺らぎは自律神経系にコントロールされている。そのため、揺らぎ(心拍変動)の仕方に着目することで、自律神経活動バランスを評価することができると言われている。この方法は主に医学やスポーツ科学分野などでヒトへの利用に対し注目されているものであり、ミリ秒単位での心拍間隔データから時間領域指標や周波数領域指標など様々な指標を算出し、それらから心拍変動を評価する手法である。さらに近年では、従来の評価指標に加え、揺らぎを非線形的なばらつきと見なし、各種非線形指数を評価値に用いることも検討されている。しかしながら、家畜動物に対するこれら評価法を用いた知見は少なく、そのほとんどが行動制限下での特殊なストレス負荷や疾病条件下での短期的な評価に利用しているに過ぎない。その主な理由として、自由行動下の家畜動物に対する長時間での心電データ取得が困難であること、また解析法が確立されておらず、特に行動量の把握を行わずに解析をすることが困難であることが挙げられる。

申請者はこれまで、自由行動下の家畜動物、特に放牧牛に対し、長時間での心拍数および心拍間隔などの心電データの取得法を樹立してきた。また同時に、GPSや3次元加速度センサーを用いて行動量を把握する手法の検討を行ってきた。さらには、システムアプローチや様々なデータ解析法を駆使して家畜生産のモデル評価を多く実施してきたため、フィールド試験や実験、文献等で得られた各種データを統合し、新たな評価指標や解析法を開発することを専門としている。そのため本研究では、自由行動下の家畜動物を対象として、生体電位測定をもとにした心拍変動解析による自律神経活動評価を行い、さらに行動量を同時に計測して心拍変動解析に組み込む手法を検討した。この手法が確立できれば、様々な飼養条件下での家畜動物に対する継続的な自律神経活動バランスの評価が可能となることが期待できる。

## 2. 研究の目的

本研究では、医療やスポーツ科学分野などでヒトに対して発展してきた、生体電位測定をもとにした心拍変動解析による自律神経活動の評価法を、ウシなどの家畜動物のストレスや疾病に対する評価法として適用できるかを検討することを目的とした。その際、自由行動下の家畜の継続的な心電データの簡易な取得法および行動量の同時計測による新たな自律神経活動評価法の確立を目指し、さらに家畜生産現場における本手法の利用可能性を検討した。

## 3. 研究の方法

本研究は以下の4つの軸で実施した。

### (1) 自由行動下の家畜の行動量評価法の検討

放牧条件下と舎飼い条件下での家畜の行動量の違いを、3次元加速度センサーの計測値から算出する動的体加速度(DBA)により評価し、従来の飼養標準システムにその評価値を組み込むことで、自由行動下の家畜のエネルギー消費量を評価する方法を検討した。この際、従来の心拍数によるエネルギー消費量推定法と本手法とを比較評価することで、行動量評価としての妥当性を検討した。さらに、DBAにより微細な行動量の変化も評価できるか、また9軸センサーを用いて行動評価をより詳細にできるかも追加検討した。

### (2) より簡易な心電データ計測法の検討

従来の心電データ計測(A-B誘導法)を自由行動下の家畜に対して実施するには電極の装着・固定の難易度が高いため、より簡易な方法として背部電極配置による手法を新たに検討した。舎飼いでの自由行動下のウシに対し、従来法と本手法とで心電計測を同時に行い、その結果を比較した。この際、表面電位を詳細に取得するため、従来の心電計よりもセンサー感度の高い機器を用いてデータ収集を行った。

### (3) DBA を用いた行動量の同時計測による、自由行動下の家畜の心拍変動評価法の開発

従来の心拍変動解析では行動量の変化に起因する呼吸量の変化に伴い、心拍変動評価値が大きく影響される可能性がある。そのため DBA を同時取得し、心拍変動解析の補正係数として用いることで、自由行動下の家畜の自律神経活動評価を可能にすることができないかを検討した。ここでは、心拍変動評価値を従属変数、DBA を心拍変動評価値に影響を及ぼす共変量として統計解析に組み入れることを検討した。心拍間隔と DBA との同時計測は (1) と同様に実施し、放牧条件下と舎飼い条件下での結果を比較した。

### (4) 家畜生産現場での心拍変動評価

(3) で開発した手法の現場利用での例として、小型反芻家畜のほか、乳牛や肥育牛における心拍変動評価を実施し、幾つかの飼養条件が家畜の自律神経活動にどのように影響を及ぼすかを検討することで本手法の利用可能性を評価した。

## 4. 研究成果

### (1) DBA による自由行動下の家畜の行動量評価法の妥当性の検討

従来の心拍数によるエネルギー消費量推定法と比較評価した結果、その妥当性が認められ、また行動量と心拍間隔データを同時取得する方法が確立された (図 1)。ここで、エネルギー消費量との関係に着目したことで、心拍変動に最も影響を及ぼす要因の一つである呼吸変化に対し、行動量とエネルギー消費量との関係性から呼吸の要因を DBA により補正できることが示唆された。さらに、DBA の行動量指標としての利用可能性について、栄養条件の違いに起因する微細な行動量の変化を DBA により把握できることが示され、また 3 次元加速度のみならず地磁気など他の行動センサーも DBA に追加して利用することで行動把握がより詳細にできる可能性が示唆された。

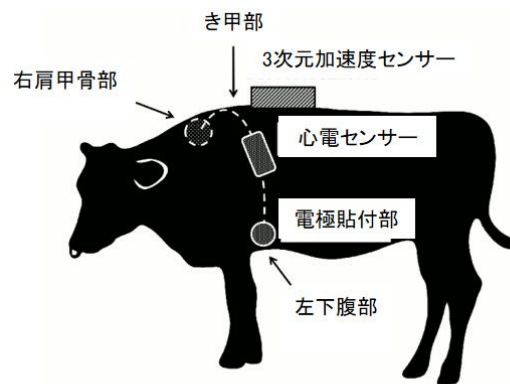


図1 心電センサーと3次元加速度センサーの装着位置

### (2) より簡易な心電データ計測法の検討

従来法と背部電極配置による表面電位を同時計測した結果、従来法よりも表面電位が小さいものの、背部電極配置においても心電波形とみられる類似した波形を示した (図 2)。しかしながら、その微小な表面電位を安定して取得するには感度の高いセンサーが不可欠であり、そのためさらなる機器開発が必要であることが示唆された。

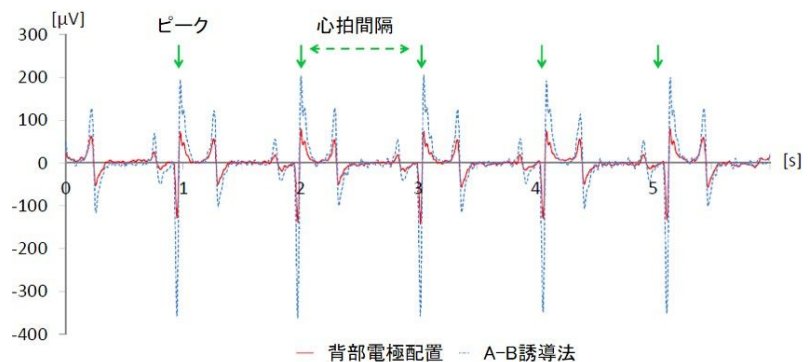
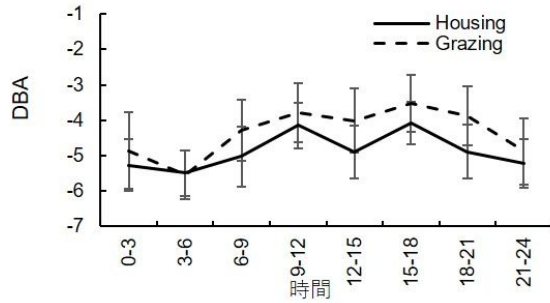


図2 従来法(A-B誘導法)と背部電極配置での表面電位の比較

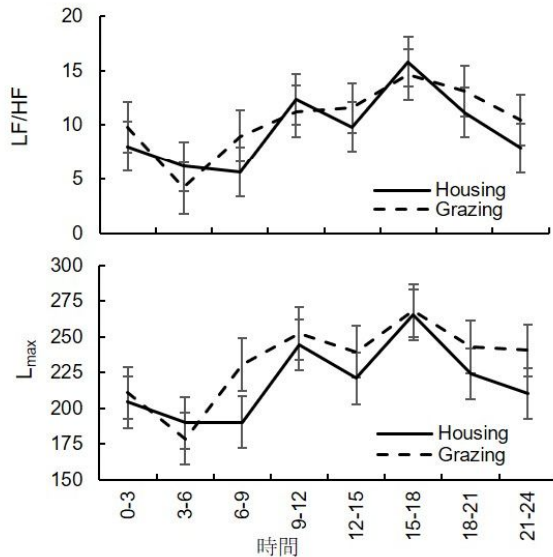
### (3) DBA を用いた行動量の同時計測による、自由行動下の家畜の心拍変動評価法の開発

放牧条件下と舎飼い条件下で、それぞれ同一個体複数頭数での心拍変動の違いを評価し、その際に DBA を心拍変動に影響を及ぼす効果として評価に組み込む場合と組み込まない場合とで比較を行った。その結果、DBA を評価に組み込まない場合では、ほぼ全ての心拍変動評価値が行動量の変化に依存してしまうが、DBA を補正係数として組み込むことで、行動量の変化に依存しない心拍変動評価が可能となることが示された (図 3)。普段放牧管理されている繁殖雌牛およびめん羊において本評価を行ったところ、DBA による補正を行う事で、放牧条件下の方が舎飼い条件下と比較して心拍変動が大きく自律神経系から見たストレスが低いことが示された。なお、この DBA を心拍変動の補正係数として用いる手法は、動物種を超えて初めて検討・開発されたものであり、家畜動物によらず、ヒトも含めて応用可能であることが示唆された。

DBA(対数値)の変化(means±s.d.)



A) DBAを組み込まない場合



B) DBAで補正した場合

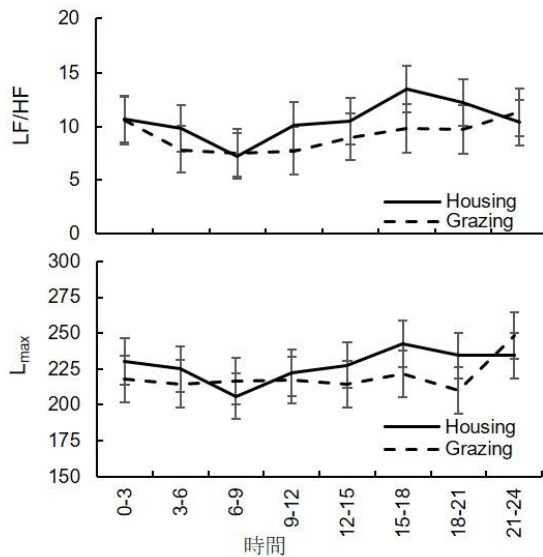


図3 DBAによる補正の有無が心拍変動評価値に及ぼす影響(A:補正無し、B:補正あり)。なおHousing、Grazingはそれぞれ舎飼い条件下、放牧条件下のウシの評価値の変化を示している。DBAはVectorialDBAを用い、心拍変動評価値は上から順に、周波数領域指標(LF/HF比)、非線形指標(Lmax)を示す。試験対象牛群は普段放牧管理されているものだが、結果として、補正を行う事で、放牧条件下の方が舎飼い条件下と比べ、ウシの心拍変動が大きく自律神経系から見るとストレスが低い条件であったことが示された。

#### (4) 家畜生産現場での心拍変動評価

反芻家畜(乳牛・やぎ・めん羊)の暑熱条件下における心拍変動をDBAによる行動量補正を行う場合と行わない場合で比較評価したところ、行動量補正を行わない場合では暑熱応答よりも行動量が心拍変動に強く影響を及ぼしたが、行動量補正を行った場合では暑熱応答により交感神経優位に働くことが示された。また肥育牛の心拍変動をビタミンA制限に着目して行動量補正を行った上で評価した結果では、肥育中期の強度の制限下では心拍変動が小さくなり何らかの生理的ストレスが生じている可能性があることが示された。これらの結果より、本研究により開発された自由行動下の家畜に対する心拍変動解析による自律神経活動評価法は、多様な家畜生産条件下における家畜のストレス・疾病評価に対して利用可能性の高い手法であることが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

Oishi, K., Himeno, Y., Miwa, M., Anzai, H., Kitajima, K., Yasunaka, Y., Kumagai, H., Ieiri, S., and Hirooka, H. Correcting the activity-specific component of heart rate variability using dynamic body acceleration under free-moving conditions. *Frontiers in Physiology* 9: 1063. 2018. (査読有)  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01063>

Miwa, M., Oishi, K., Anzai, H., Kumagai, H., Ieiri, S., and Hirooka, H. Estimation of the energy expenditure of grazing ruminants by incorporating dynamic body acceleration into a conventional energy requirement system. *Journal of Animal Science* 95: 901-909. 2017. (査読有)  
<https://doi.org/10.2527/jas.2016.0749>

〔学会発表〕(計7件)

Kitajima, K., Oishi, K., Kojima, T., Masuda, T., Yasunaka, Y., Sakai, K., Uenishi, S., Kumagai, H., and Hirooka, H. Heart rate variability of Japanese Black fattening steers. Proceedings of the 18th Asian-Australasian Animal Production Congress, The Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, Sarawak, Malaysia. August, 2018.

Sakai, K., Oishi, K., Miwa, M., Kumagai, H., and Hirooka, H. Behavior Classification of grazing goats with 9D-multi sensors and machine learning. Proceedings of the 18th Asian-Australasian Animal Production Congress, The Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, Sarawak, Malaysia. August, 2018.

Uenishi, S., Oishi, K., Kojima, T., Masuda, T., Sonoda, Y., Kitajima, K., Yasunaka, Y., Sakai, K., Kumagai, H., and Hirooka, H. A novel procedure combining classified behaviors by direct observations and physical activity quantified by accelerations to assess the behavioral status of fattening steers. Proceedings of the 18th Asian-Australasian Animal Production Congress, The Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, Sarawak, Malaysia. August, 2018.

北島 花歩・大石 風人・岩崎 方子・山岡 俊幸・熊谷 元・広岡 博之 . 暑熱が搾乳牛の心拍変動に及ぼす影響 . 日本畜産学会第124回大会.東京都.2018年3月

Kitajima, K., Oishi, K., Miwa, M., Anzai, H., Setoguchi, A., Kumagai, H., and Hirooka, H. Relationship between heat stress and heart rate variability in sheep and goats. Proceedings of the 17th Animal Science Congress, The Asian Australasian Association of Animal Production Societies, Fukuoka, Japan. August, 2016.

三輪 雅史・大石 風人・井上 剛・小澤 順・北島 花歩・広岡 博之. 背部電極配置による自由行動下のウシの心電計測方法の検討. 日本畜産学会第121回大会. 武蔵野市. 2016年3月.

Oishi, K., Miwa, M., Yasunaka, Y., Yamada, S., Kitaura, H., Sakai, H., Yamaguchi, K., Himeno, Y., Kumagai, H., Ieiri, S., and Hirooka, H. 2015. Evaluation of heart rate variability of grazing cows by simultaneous measurements of RR intervals and body acceleration. Proceedings of the 49th Congress of the International Society for Applied Ethology, pp.200, Sapporo, Japan.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.animprod.kais.kyoto-u.ac.jp>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：姫野 友紀子

ローマ字氏名：Himeno, Yukiko

所属研究機関名：立命館大学

部局名：生命科学部

職名：助教

研究者番号(8桁)：10534365

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。