

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32701

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03111

研究課題名（和文）多機能膣内センサの開発と人工知能技術を活用した牛のリアルタイム生殖機能評価

研究課題名（英文）Development of multi-functional vaginal sensor and machine learning algorithms for real-time evaluation of reproductive function in cattle

研究代表者

吉岡 耕治 (Yoshioka, Koji)

麻布大学・獣医学部・教授

研究者番号：20355192

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,100,000円

研究成果の概要（和文）：膣温と膣内pHを計測する多機能膣内センサを開発し、正常な発情周期を営む牛において、発情期には膣温差は有意に上昇し、膣内pH比は有意に低値となることを明らかにした。また、センサデータに基づく機械学習による発情検知および授精適期判定モデルを開発した。酪農場でタイストール飼育されている搾乳牛50頭にこれらのモデルを適用したところ、発情あるいは授精適期アラートに合わせたタイミングで人工授精または胚移植を実施した牛（15頭）では47%が受胎した。これらの結果から、繋ぎ飼育下の泌乳牛において多機能膣内センサを活用した発情検知あるいは授精適期判定は受胎率改善に有用である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

繁殖雌牛の効率的利用および子畜増産のためには、受胎率の向上と分娩後の適切な時期に受胎させることによる分娩間隔の短縮が強く望まれている。発情を検知するウェアラブルセンサとして、発情発現時に増加する活動量を検出するシステムが開発されているが、発情行動が微弱化・不顕在化した牛や行動が制限される繋ぎ飼育下の牛では、活動量の増加による発情検知精度は低くなる。本研究では、ウェアラブルセンサと人工知能技術を活用した繁殖障害予防システムの構築のため、牛の膣温と膣内pHを連続計測できる新規無線小型多機能膣内センサと人工知能技術を活用したセンサデータに基づく新しいリアルタイム生殖機能評価手法を開発した。

研究成果の概要（英文）：We developed a multi-functional vaginal sensor that could measure vaginal temperature and vaginal pH, and found that the residual vaginal temperature significantly increased and the vaginal pH ratio significantly decreased during the estrus phase in cows with normal estrous cycle. We also developed models for estrus detection and prediction of optical timing for artificial insemination based on machine learning using sensor data. When these models were applied to 50 lactating cows kept in tie-stalls on a commercial dairy farm, 47% of 15 cows became pregnant when artificial insemination or embryo transfer was performed at the timing according to estrus or the optimal time for artificial insemination alert. These results suggest that estrus detection or prediction of optical timing for artificial insemination using a multi-functional vaginal sensor may be useful for improving conception rates in tethered lactating cows.

研究分野：獣医臨床繁殖学

キーワード：発情検知 授精適期 膣内pH ウェアラブルセンサ 機械学習

1. 研究開始当初の背景

(1) 牛の初回授精受胎率はこの 25 年間で、乳用牛では 20%、肉用牛でも 10%程度低下している。これに伴い分娩間隔も延長し、乳用牛では 430 日を超えている。受胎率低下の主な原因は、牛の発情行動が微弱化・不顕在化することで、高受胎率が期待できる適切な人工授精のタイミング（授精適期）を見逃してしまうためと考えられており、繁殖雌牛の効率的利用および子畜増産のためには、受胎率の向上と分娩後の適切な時期に受胎させることによる分娩間隔の短縮が強く望まれている。近年、効率的かつ精密な個体繁殖管理を目的として、世界的に牛用ウェアラブルセンサの開発が進んでいる。国内でも、無線式歩数計や首輪に装着した 3 軸加速度センサおよび腔内留置型温度センサが市販され、センサによって発情を検知したり、分娩を予測して通報するシステムが農場に導入されている。

(2) 発情を検知するウェアラブルセンサとして、発情発現時に増加する活動量を検出するシステムが開発されている¹⁾。しかし発情行動が微弱化・不顕在化した牛や行動が制限される繋ぎ飼育下の牛では、活動量の増加による発情検知精度は低くなる。体温のモニタリングによっても発情検知は可能であるが、体温は発熱、急な運動、採食など様々な生理現象や気温などの環境要因によっても変動するため、発情の誤検知を完全には排除することはできない。

(3) 牛の腔内 pH は、概ね 5.6~7.5 の範囲で推移し²⁾、発情の数日前から低下して発情期に最低値を示す^{3),4)}。発情周期における腔内 pH は、エストロゲンに依存して変化し、排卵前のエストロゲン濃度がピークとなるときに最低値となる⁵⁾。血中エストロゲン濃度は排卵を誘導する黄体形成ホルモン (LH) サージの開始時にピークになる^{6),7)}ことから、経時的に腔内 pH を測定することができれば、その変動から発情を検知できるばかりでなく、LH サージの開始を間接的に推察することができると考えられる。また、LH サージの開始から排卵までの時間は、牛では平均 30 時間程度であり、発情開始から排卵までの時間のばらつきに比べ個体差が小さい^{6),7)}ことから、LH サージの開始から排卵時期を予測することで、排卵時期に基づいた授精適期の推定もできる可能性がある。さらに、発情時における特異的な変動が明らかである腔温と同時に計測することにより、発情検知や授精適期判定のさらなる精度向上が期待できる。しかし、腔内 pH を連続的に測定できるセンサは開発されていない。

(4) ウェアラブルセンサのデータを活用した従来の研究の多くは、センサデータを統計的手法で解析し、単純な閾値によって判別する方法が利用されることが多く、高い感度・精度を得ることが困難であった。さらに、統計的手法ではセンサデータから発情検知や授精適期判定などの異なる項目を予測することは困難である。機械学習法は、従来の統計的手法と比べて多数の指標の統合的解析に適していると考えられており、多項目のセンサデータを用いることで今までにない精密かつ異なる項目の予測が可能になると期待できる。

2. 研究の目的

ウェアラブルセンサと人工知能技術を活用した新しいリアルタイム生殖機能評価手法の開発のため、

(1) 腔温および腔内 pH を連続計測可能な無線小型多機能腔内センサを開発し、牛の発情周期における腔温および腔内 pH の変動を調べ、ホルモン動態や発情発現、排卵と関連付けて解明する。

(2) 発情前後の特徴量の変動を解析し、センサデータに基づく機械学習法による発情検知および授精適期判定モデルを開発する。

(3) 作成した機械学習モデルを生産農場の搾乳牛に適用し、モデルにより発出されたアラートと人工授精あるいは胚移植後の受胎性を解析し、モデルの有用性を検証する。

3. 研究の方法

(1) これまでに開発した腔温および電気伝導度を測定可能な無線小型腔内センサ⁷⁾の技術をベースに、ルーメンセンサの pH 電極を搭載した腔温と腔内 pH を計測する新規多機能腔内センサを試作した。正常な発情周期を営む非泌乳牛 15 頭に排卵後 10 日目から次回排卵後 11 日目まで新規多機能腔内センサを腔内に留置し、繋ぎ飼育下で腔温および腔内 pH データをを 2 分間隔で測定した。センサデータは無線通信によりクラウド上に収集した。腔温および腔内 pH は、それぞれ 1 時間毎の最高値および最低値を抽出し、腔温は前 3 日間の同時刻平均に対する差 (rVT)、腔内 pH は前 3 日間の同時刻平均に対する比 (VpHr) を算出して解析した。この間、連日経直腸超音波画像検査により卵胞および黄体のサイズを計測するとともに血液サンプルを得た。また、試情による発情発現と超音波画像検査による排卵時間の特定を行った。得られた血液サンプルは、血漿中エストロジオール-17 β (E₂)、プロゲステロン (P) および LH 濃度を測定した。

(2) 多機能腔内センサデータを用い、機械学習による発情検知および授精適期判定モデルの構築を試みた。指数移動平均法により平滑化した rVT と VpHr から算出した腔温のみ、腔内 pH の

み、あるいは腔温と腔内 pH の両者から得られる種々の特徴量を算出するとともに、発情検知モデルにおいてはスタンディング発情を示した期間、授精適期判定モデルにおいては排卵 6~24 時間前を正例としてラベルした教師データを作成し、3 種類の機械学習法 (ランダムフォレスト RF、ニューラルネットワーク ANN、サポートベクターマシン SVM) を用いて計 9 個の発情検知あるいは授精適期判定モデルを作成した。これらについて Leave-Out-One-Animal 法により交差検証を行い、適当な特徴量の選択やハイパーパラメータの調整により、実際の発情や授精適期と比較して各モデルの感度と精度を算出することで至適なモデルを検討した。

(3) 神奈川県内の酪農場でタイストール飼育されている搾乳牛において、作成した発情検知および授精適期判定モデルの有用性を検証した。50 頭の泌乳牛の腔内にセンサを留置してセンサデータを収集した。1 日 2 回センサデータに基づく発情検知および授精適期判定モデルによる発情および授精適期判定を試みた。一部の供試牛では発情あるいは授精適期アラートが発出されたタイミングに則って人工授精または胚移植を実施し、受胎成績を調べた。

4. 研究成果

(1) 試作したセンサ (図 1) は、腔内に 3 週間以上留置し、pH 校正なしで発情期における腔温および腔内 pH の特徴的な変化が検出可能であった。rVT は黄体退行と血中 P 濃度の低下に伴い低下し、排卵 192~121 時間前の黄体期の値と比較して排卵 94~50 時間前には有意に低値となったのち上昇し、排卵 29~15 時間前には有意に高値を示した。VpHr は主席卵胞の発育と血中 E₂ 濃度の上昇に伴い低下し、黄体期の値と比較して排卵 58 時間前~18 時間後には有意に低値を示したのち上昇した (図 2)。発情は排卵 32.1 ± 5.3 (平均 ± 標準偏差) ~12.3 ± 2.8 時間前まで観察され、各個体の LH サージのピーク、rVT の最大値および VpHr の最小値は、それぞれ排卵 24.1 ± 1.6 時間前、排卵 22.3 ± 6.1 時間前および排卵 25.9 ± 26.1 時間前に観察された。また、rVT および VpHr と性ホルモン濃度の関連性を検討したところ、VpHr は E₂/P 対数比と負の相関が認められた (r=-0.51)。これらのことから、多機能腔内センサを用いて腔温および腔内 pH を連続的にモニタリングすることが可能であり、rVT および VpHr は発情~排卵に至る過程で特徴的な変動を示すことが判明した。



図 1 多機能腔内センサ

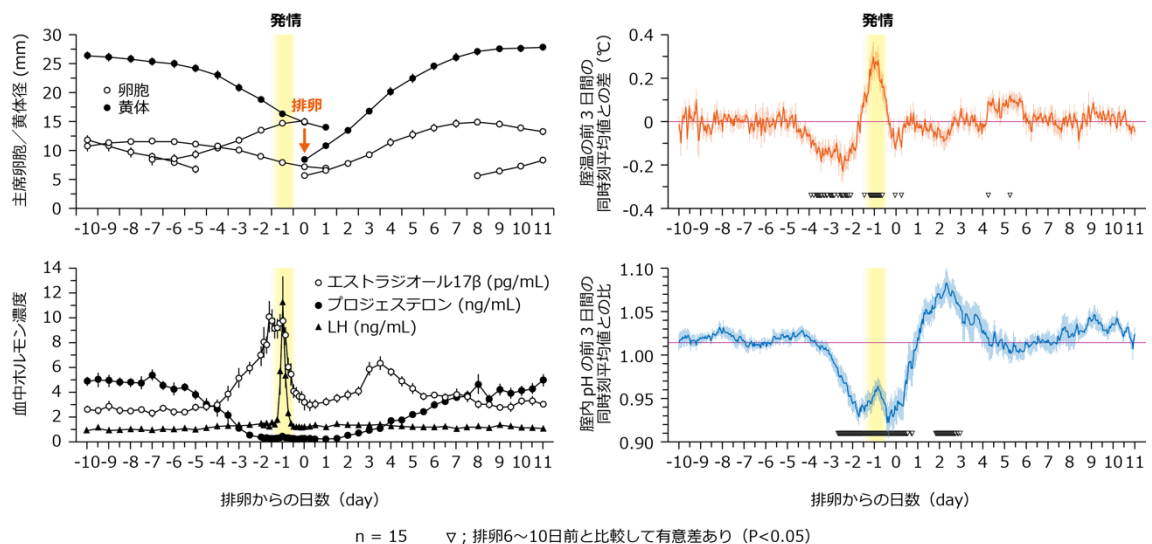


図 2 牛の発情周期における腔温および腔内 pH の変動

(2) 腔温および腔内 pH を測定可能な多機能腔内センサデータに基づく発情検知モデルの性能は、腔温のみ、腔内 pH のみに比べ、腔温と腔内 pH の両者から得られる特徴量を用いた場合に高く、サポートベクターマシンを用いた場合に最大で、感度・精度ともに 93%で発情検知することに成功した (表 1)。また、授精適期判定モデルの性能も、腔温のみ、腔内 pH のみに比べ、腔温と腔内 pH の両者から得られる特徴量を用いた場合に高く、サポートベクターマシンを用いた場合に最大で、感度 80%・精度 86%で授精適期を判定することに成功した (表 2)。すなわち、腔温および腔内 pH を測定可能な多機能腔内センサは、腔温および電気伝導度を測定可能な多機能腔内センサを用いた発情検知⁷⁾と同等の感度、精度で発情検知が可能であり、さらに、腔

温および腔内電気伝導度では判定できなかった授精適期についても判定可能であることが示された。これらのことからセンサデータを機械学習により解析することで、繋ぎ飼育下の牛においても発情検知や授精適期判定が可能であると考えられた。

表1 発情検知モデルの性能比較

特徴量	手法	真陽性 ¹	偽陽性 ²	偽陰性 ³	感度 ⁴	精度 ⁵	F ₁ スコア ⁶
rVT	RF	12	5	3	0.80 ^{ab}	0.71 ^b	0.75
	ANN	11	9	4	0.73 ^{ab}	0.55 ^c	0.63
	SVM	11	3	4	0.73 ^{ab}	0.79 ^{ab}	0.76
VpHr	RF	6	9	9	0.40 ^b	0.40 ^d	0.40
	ANN	12	15	3	0.80 ^{ab}	0.44 ^{cd}	0.57
	SVM	0	1	15	0.00 ^c	0.00 ^e	—
rVT×VpHr	RF	13	2	2	0.87 ^a	0.87 ^a	0.87
	ANN	14	1	1	0.93 ^a	0.93 ^a	0.93
	SVM	12	2	3	0.80 ^{ab}	0.86 ^{ab}	0.83

¹発情期間内に発情であると予測した場合

²発情期間以外に発情であると予測した場合

³発情期間内に発情であると予測されなかった場合

⁴真陽性/(真陽性+偽陰性): フィッシャーの正確確率検定により比較

⁵真陽性/(真陽性+偽陽性): 一般化スコア統計量を用いた解析により比較

⁶2×感度×精度/(感度+精度): 感度と精度の調和平均

a,b,c,d,e 異なる文字間で有意差あり (P<0.05)

表2 授精適期判定モデルの性能比較

特徴量	手法	真陽性 ¹	偽陽性 ²	偽陰性 ³	感度 ⁴	精度 ⁵	F ₁ スコア ⁶
rVT	RF	9	8	6	0.60	0.53 ^b	0.56
	ANN	10	10	5	0.67	0.50 ^b	0.57
	SVM	10	9	5	0.67	0.53 ^{bc}	0.59
VpHr	RF	7	9	8	0.47	0.44 ^{bc}	0.45
	ANN	12	24	3	0.80	0.33 ^c	0.47
	SVM	8	10	7	0.53	0.44 ^b	0.48
rVT×VpHr	RF	10	4	5	0.67	0.71 ^a	0.69
	ANN	12	2	3	0.80	0.86 ^a	0.83
	SVM	12	5	3	0.80	0.71 ^a	0.75

¹授精適期期間内に授精適期であると予測した場合

²授精適期期間以外に授精適期であると予測した場合

³授精適期期間内に授精適期であると予測されなかった場合

⁴真陽性/(真陽性+偽陰性): フィッシャーの正確確率検定により比較

⁵真陽性/(真陽性+偽陽性): 一般化スコア統計量を用いた解析により比較

⁶2×感度×精度/(感度+精度): 感度と精度の調和平均

a,b,c 異なる文字間で有意差あり (P<0.05)

(3) タイストール飼育されている50頭の泌乳牛の腔内にセンサを27.9±12.8日間留置した。1日2回センサデータに基づく機械学習モデルによる発情および授精適期判定を試みたところ、29頭(58%)で、のべ59回の発情(24頭:48%、29回)あるいは授精適期アラート(23頭:46%、30回)が出た。アラートに則ったタイミングで人工授精または胚移植を実施した15頭では47%(7頭)が受胎した一方、アラートに合致しないタイミングで人工授精または胚移植を実施した14頭の実胎率は29%(4頭)であった。これらの結果から、繋ぎ飼育下の泌乳牛において多機能腔内センサを活用した発情検知あるいは授精適期判定は受胎率改善に有用である可能性が示唆された。

<引用文献>

- ① Roelofs J, Van Erp-van der Kooij E (2015) Estrus detection tools and their applicability in cattle: recent and perspectival situation. Anim Reprod 12:498–504.
- ② Dougherty RW (1941) In vivo determination of the hydrogen ion concentration of the vaginas of dairy cows. North Am Vet 22:16–219.
- ③ Schilling E, Zust J (1968) Diagnosis of oestrus and ovulation in cows by pH measurements

intra vaginam and by apparent viscosity of vaginal mucous. *J Reprod Fertil* 15:307–311.

- ④ Lewis GS, Newman SK (1984) Changes throughout estrous cycles of variables that might indicate estrus in dairy cows. *J Dairy Sci* 67:146–152.
- ⑤ Miller EA, Beasley DAE, Dunn RR, Archie EA (2016) Lactobacilli dominance and vaginal pH: why is the human vaginal microbiome unique? *Front Microbiol* 7:1936.
- ⑥ Miura R, Yoshioka K, Miyamoto T, Nogami H, Okada H, Itoh T (2017) Estrous detection by monitoring ventral tail base surface temperature using a wearable wireless sensor in cattle. *Anim Reprod Sci* 180:50–57.
- ⑦ Higaki S, Miura R, Suda T, Andersson LM, Okada H, Zhang Y, Itoh T, Miwakeichi F, Yoshioka K (2019) Estrous detection by continuous measurements of vaginal temperature and conductivity with supervised machine learning in cattle. *Theriogenology* 123:90–99.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 西浦玲奈、岡田浩尚、檜垣彰吾、鈴木千恵、須田智子、吉岡耕治
2. 発表標題 多機能腔内センサを用いた機械学習法による繋ぎ飼育牛の発情検知および授精適期判定
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉岡耕治
2. 発表標題 IoTとAIを活用した次世代の疾病発見および繁殖管理技術
3. 学会等名 大動物臨床研究会第 10 回東京シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koji Yoshioka
2. 発表標題 Reproductive management system using ICT in cattle
3. 学会等名 22nd Federation of Asian Veterinary Associations (FAVA) Congress（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岡田 浩尚 (Okada Hi ronao) (20574940)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・エレクトロニクス・製造領域・主任研究員 (82626)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	西浦 玲奈 (Nishiura Reina) (50849742)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究部門・研究員 (82111)	
研究分担者	檜垣 彰吾 (Higaki Shogo) (70595256)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究部門・上級研究員 (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関