

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450396

研究課題名(和文) 睡眠状態のセンシングによる家畜状態評価手法の開発

研究課題名(英文) Development of the method for status assesment of cattle by monitoring sleep stage.

研究代表者

矢用 健一 (Yayou, Ken-ichi)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門畜産環境研究領域・ユニット長

研究者番号：40343967

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：小型の眼瞼(まぶた)動作センサを用いたウシの睡眠状態のセンシング技術を確立し、状態評価手法としての妥当性を検証することを目的とした。小型のひずみセンサを眼瞼に貼り付けることで、レム睡眠特有の眼瞼のけいれん様動作を鋭敏に捉えることができた。一方、極初期の炎症を再現した極低用量エンドトキシン(LPS)投与によって、ノンレム睡眠様休息行動の総持続時間が増加した。1回あたりの行動持続時間ではなく、生起回数の増加が、総持続時間の増加につながっていることも示された。したがって、ノンレム睡眠様休息を指標として、初期の感染徴候を捉えることができるのではないかと考えられた。

研究成果の概要(英文)：We aimed to establish a sensing technique of bovine sleeping state using a small eyelid motion sensor and to verify the validity as a state evaluation method. By attaching a small strain sensor to the eyelid, we were able to acutely capture the spasm-like behavior of the eyelids characteristic of REM sleep. Meanwhile, by administration of extremely low dose endotoxin (LPS) to reproduce extremely early inflammation, total duration of non-REM-sleep-like resting behavior increased. It has also been shown that increasing the number of occurrences, rather than the duration of each bout, has led to an increase in total duration. Therefore, it seems that it may be able to capture the early signs of infection with non-REM-sleep-like resting behavior as an indicator.

研究分野：家畜行動生理学

キーワード：睡眠状態 脳波 眼瞼 ひずみセンサ レム睡眠 ノンレム睡眠 エンドトキシン

1. 研究開始当初の背景

平成 25 年 6 月 14 日に策定された「日本再興戦略-JAPAN is BACK-」では、農場から食卓までをデータでつなぐトレーサビリティ・システムの普及によるバリューチェーンの構築を平成 28 年までに達成することが目標として掲げられている。畜産物の高付加価値化を目指すバリューチェーンにおいて、健全に飼育された家畜からの安全・安心な畜産物の保証に資するアニマルウェルフェアの評価とその畜産物の価値への反映は、必須の因子である。アニマルウェルフェアを客観的に数値化して評価するにあたって、施設、飼養管理は比較的数値化が容易であるが、その効果として現れる「家畜の状態」を評価するためには、現状では多くの専門知識と多大な労力を要する。例えば、外見上の削瘦度をスコア化したボディコンディションスコア、動きの安楽さの指標となる起立・伏臥に要する時間、跛行の程度、外傷、下痢の有無、正常行動の抑圧によって生じる葛藤行動や異常行動の有無、管理者との関係の指標となる人の接近に対して回避を始める距離など多数の項目を目視により確認しなければならない。このことは、アニマルウェルフェアの評価値を畜産物の価値へ反映する上で解決すべき喫緊の課題である。

2. 研究の目的

本研究では、小型の眼瞼（まぶた）動作センサを開発する。開発したセンサを用いたウシの睡眠状態のセンシング技術を確立し、状態評価手法としての妥当性を検証する。アニマルウェルフェアを客観的に数値化して評価する際に、動物の状態を評価する必要があるが、現状では多くの専門知識と多大な労力を要している。申請者らはこれまで、暑熱ストレスがウシの睡眠に及ぼす影響や、覚醒・睡眠レベルの変動に応じて自律神経緊張状態が明確に変化することを明らかにしてきており、睡眠状態のセンシングが状態評価手法として有効であると考えている。本研究を通して、睡眠状態のセンシングによる、新たな省力的家畜状態評価手法が開発されると期待している。

3. 研究の方法

(1) 8 ヶ月齢のホルスタイン種去勢雄 6 頭を用い、夕方の給餌開始(16:30)後 2 時間後から 5 時間の覚醒・睡眠状態を連続で記録した。脳波およびがん田図による従来の覚醒・睡眠状態判別手法を用い、覚醒・まどろみ・ノンレム睡眠・レム睡眠を判別した。同時に眼瞼に貼り付けた加速度センサまたはひずみセンサによって眼瞼動作を記録し、眼瞼動作のみでの覚醒・睡眠状態判別の制度を検討した。(2) 極初期の病態を再現するため、LPS を極低用量投与した際の覚醒・睡眠状態の変化を検討した。飼育環境の変化が睡眠状態に及ぼす影響を評価した。6~8 ヶ月齢のホルスタイン

種去勢雄 6 頭を供試した。生理食塩水 5ml (control 群) または LPS 5ng/kg/5ml(LPS 群)の静脈内投与を一週間の間隔をあけてランダムな順序で行い、投与後 12 時間行動を連続記録した。休息行動は Hänninen ら (2008)の報告を基に姿勢および首の状態から、伏臥位休息について「覚醒休息（反芻することなく、頭部を動かしている状態）」、「ノンレム(NREM)睡眠様休息(反芻することなく、16 秒間以上頭部を動かさず首に支えられている状態)」、「レム(REM)睡眠様休息(16 秒間以上、頭部を力感なく地面や飼槽、体に接し首に支えられていない状態)」に分類し、連続サンプリング法によって解析した。

4. 研究成果

(1) 加速度センサでは眼瞼動作の判別は困難であったが、ひずみセンサではレム睡眠特有の眼瞼のけいれん様動作を鋭敏に捉えることができた(図 1)。

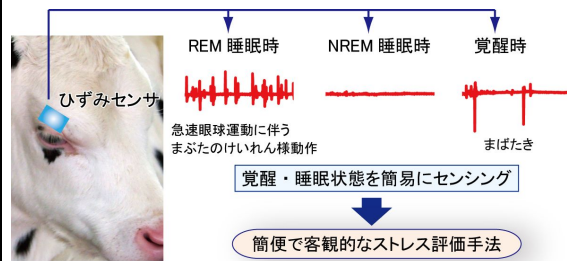


図 1 ひずみセンサによる睡眠状態判別の例

(2) 投与後 1~5 時間において呼吸数、2~5 時間において体温が control 群に比べ LPS 群で有意に増加した($p < 0.05$)が、既報と比べ、体温の上昇は小さかった(ことから、極低用量の LPS 投与により、生理反応が比較的小さい初期の感染状態を再現できたと考えられた。伏臥位休息の総持続時間、覚醒休息及び REM 睡眠様休息の総持続時間に統計的な差は認められなかった($p > 0.1$)が、NREM 睡眠様休息の総持続時間は control 群に比べ LPS 群で有意に増加した($p < 0.05$) (図 2)。

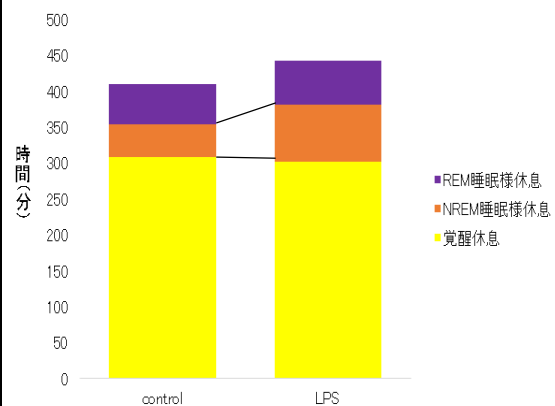


図 2 休息行動の総持続時間(平均 ± S.D.)
* : $p < 0.05$ ウィルコクソン符号順位和検定

NREM 睡眠様休息は、平均持続時間に統計的な差は認められず ($p>0.1$)、総生起回数が control 群に比べ LPS 群で有意に多かった ($p<0.05$) ことから (図 3)、LPS 投与後の NREM 睡眠様行動の生起回数の増加が、総持続時間の増加につながっていることが示唆された。以上のことから、休息行動の一つとして記録した NREM 睡眠様休息を指標として、初期の感染徴候を捉えることができるのではないかと考えられた。

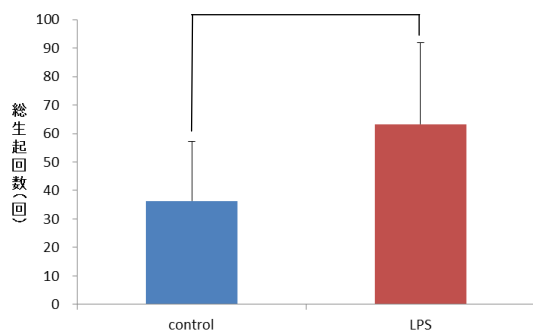


図 3 NREM 睡眠様休息の総生起回数 (平均 ± S.D.)

*: $p<0.05$ ウィルコクソン符号順位検定

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 6 件)

Shuichi ITO, Shuho HORI, Makiko HIROSE, Mari IWAHARA, Azusa YATSUSHIRO, Atsushi MATSUMOTO, Masayuki TANAKA, Chinobu OKAMOTO, Ken-ichi YAYOU, Tsuyoshi SHIMMUR. (2017) Involvement of circadian clock in crowing of red jungle fowls (*Gallus gallus*). *Animal Science Journal* 88(4):691-695 (査読有)

Sutoh M, Kasuya E, Yayou K, Ohtani F, Kobayashi Y (2016) Intravenous tryptophan administration attenuates cortisol secretion induced by intracerebroventricular injection of noradrenaline. *Animal Science Journal* 87(2):266-270 (査読有)

山本直幸, 矢用健一, 伊藤秀一, 武井直樹 (2015) 褐毛和種雌牛のストレス反応とオキシトシン受容体遺伝子との関連 *日本暖地畜産学会報* 58(2):239-245 (査読有)

Yayou K, Ito S, Yamamoto N (2015) Relationships between neonatal plasma oxytocin concentrations and social behaviors in cattle. *Animal Science Journal* 86(8):806-13 (査読有)

伊藤秀一, 岩下祐輔, 萩原慎太郎, 山本直幸, 作本亮介, 岡本智伸, 谷峰人, 矢用

健一 (2014) 夏期放牧における褐毛和種熊本系と黒毛和種繁殖牛の個体維持行動の比較 *Animal Behaviour and Management* 50(4):162-168 (査読有)

渡辺香穂里, 石田三佳, 伊藤秀一, 粕谷悦子, 須藤まどか, 矢用健一 (2014) ウシにおける覚醒・睡眠レベルと自律神経緊張度との関連 *Animal Behaviour and Management* 50(3):119-126 (査読有)

[学会発表](計 25 件)

小林洋介・兼松伸枝・大谷文博・粕谷悦子・矢用健一・須藤まどか・三森真琴 (2017) ウシルーメン上皮細胞の基本的性質とその機能 *日本畜産学会第 122 回大会* 2017.3.29 神戸大学農学部 (兵庫県・神戸市)

竹田謙一・田邊麻衣・矢用健一 (2017) 搾乳牛の乳房炎罹患による維持行動の変化 *日本畜産学会第 122 回大会* 2017.3.29 神戸大学農学部 (兵庫県・神戸市)

荻野紀美・戸村惣哉・大場毅・太田裕吏枝・宗田吉広・石崎宏・安西真奈美・伊藤秀一・矢用健一 (2017) 子ウシの新規群編入時における行動と自律神経の経日変化について *応用動物行動学会 2017 年度春季研究発表会* 2017.3.27 神戸大学農学部 (兵庫県・神戸市)

清信吏穂・鈴木沙希・芝田芽以・矢用健一・佐藤衆介 カウトレーナー付き繋留飼育乳牛における排泄行動並びに身繕い行動の実態 (2017) *応用動物行動学会 2017 年度春季研究発表会* 2017.3.27 神戸大学農学部 (兵庫県・神戸市)

木村有希・矢用健一・安江健・佐藤幹・小針大助 (2017) 肉用哺乳子牛における電動式カウブラシの利用制限による身繕い行動の欲求の変化 *応用動物行動学会 2017 年度春季研究発表会* 2017.3.27 神戸大学農学部 (兵庫県・神戸市)

安西真奈美・米山州二・手塚典子・高橋雄治・尾澤知美・宮本亨・矢用健一・大場毅・戸村惣哉・荻野紀美・太田裕吏枝・石崎宏・矢ヶ部陽子・宗田吉広 (2017) 群導入ストレスによる自律神経の変動と免疫機能との関連性 *平成 28 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会* 2017.2.25 ホテル金沢 (石川県・金沢市)

吉田茉純・粕田康介・宗田 吉広・石崎

宏・桑原 正貴・矢用健一 (2016)自律神経系機能の変化から牛の病態発症を検出する試み 第 93 回日本獣医麻酔外科学会・第 105 回日本獣医循環器学会 2016 年秋季合同学会 2016.12.2 福岡国際会議場 (福岡県・福岡市)

竹田謙一・田邊麻衣・矢用健一 (2016) 乳牛の不調と快適性に関する酪農家の対応と意識 北信越畜産学会第 66 回大会 2016.11.10 ANA クラウンプラザホテル新潟 (新潟県・新潟市)

Momita K, Yoshida M, Kuwahara M, Kohari D, Ishizaki H, Muneta M, Yayou K (2016) Resting behaviour of steers after a low dose of lipopolysaccharide. The 50th Congress of the International Society for Applied Ethology 2016.7.13 Edinburgh (UK)

吉田茉純, 石崎宏, 宗田吉広, 矢ヶ部陽子, 桑原正貴, 矢用健一 (2016) 群飼育への移行に伴う子牛の生体機能変化に関する研究 応用動物行動学会 2016 年度春季研究発表会 日本獣医生命科学大学 2016.3.30 (東京都・武蔵野市)

初田康介, 吉田茉純, 宗田吉広, 石崎宏, 桑原正貴, 小針大助, 矢用健一 (2016) 極低用量 LPS 投与後の子ウシの休息行動の評価 応用動物行動学会 2016 年度春季研究発表会 日本獣医生命科学大学 2016.3.30 (東京都・武蔵野市)

Nozaki Y, Suenaga Y, Hori S, Okamoto C, Yayou K, Ito S (2015) Short-term memory testing using colour vision in laying hens The 49th Congress of the International Society for Applied Ethology 2015.9.15 Sapporo(Japan)

Suenaga Y, Nozaki Y, Hori S, Okamoto C, Yayou K, Ito S (2015) Effect of illuminance on hens' colour discrimination abilities The 49th Congress of the International Society for Applied Ethology 2015.9.15 Sapporo(Japan)

Yayou K, Ishida M (2015) Mechanical brush usage by female Holstein calves separated from their dams immediately after birth The 49th Congress of the International Society for Applied Ethology 2015.9.15 Sapporo(Japan)

Yoshida M, Momita K, Kuwahara M, Kasuya E, Sutoh M, Yayou K (2015) Effects of intranasal administration of arginine vasopressin in Holstein steers The 49th Congress of the International Society for Applied Ethology 2015.9.15 Sapporo (Japan)

樋口浩二, 大谷文博, 小林洋介, 野中最子, 永西修, 須藤まどか, 矢用健一 (2015) 粗飼料多給条件における泌乳牛の全身および乳腺におけるエネルギー代謝 日本畜産学会第 120 回大会 2015.9.12 酪農学園大学 (北海道・江別市)

粕谷悦子, 須藤まどか, 矢用健一, 大谷文博 (2015) L-DOPA の投与が夜間光曝露によるウシ成長ホルモン分泌抑制に及ぼす影響 日本畜産学会第 120 回大会 2015.9.12 酪農学園大学 (北海道・江別市)

吉田茉純, 宗田吉広, 石崎宏, 初田康介, 桑原正貴, 矢用健一 (2015) 実験的初期感染状態における生体機能評価 日本畜産学会第 120 回大会 2015.9.12 酪農学園大学 (北海道・江別市)

宗田吉広, 矢ヶ部陽子, 吉田茉純, 石崎宏, 矢用健一 (2015) 子牛への実験的 LPS 投与とストレスおよび群管理移行ストレス時における血清中エイコサノイド 48 成分の一斉分析 第 158 回日本獣医学会学術集会 北里大学 獣医学部 2015.9.8 (青森県・十和田市)

末永裕子, 野崎由美, 堀秀帆, 岡本智伸, 矢用健一, 伊藤秀一 (2015) ニワトリは鳥目か? 応用動物行動学会 2015 年度春季研究発表会 宇都宮大学 2015.3.30 (栃木県・宇都宮市)

②1 小林洋介, 兼松伸枝, 大谷文博, 粕谷悦子, 矢用健一, 須藤まどか (2015) ウシ下垂体前葉細胞における各種遺伝子発現に及ぼすデキサメタゾンの影響 日本畜産学会第 119 回大会 宇都宮大学 2015.3.29 (栃木県・宇都宮市)

②2 Yayou K, Watanabe K, Ishida M, Kasuya E, Sutoh M, Ito S (2014) The relationship between awake-sleep states and autonomic nervous balance in cattle. 6th International Conference on the Assessment of Animal Welfare at Farm and Group Level. 2014.9.4 Clermont-Ferrand (France)

②③ Yayou K, Kohari D, Ishida M (2014) Usage of mechanical brush by Japanese Black calves after early separation from their dams. Proceedings of the 48th Congress of the International Society for Applied Ethology 2014.7.30 Vitoria-Gasteiz (Spain)

②④ Ito S, Hirose M, Yatsushiro A, Matsumoto A, Yayou K, Tanaka M, Shimmura T (2014) Circadian rhythms control red jungle fowl crowing. Proceedings of the 48th Congress of the International Society for Applied Ethology 2014.7.30 Vitoria-Gasteiz (Spain)

②⑤ Kohari D, Takakura A, Yayou K (2014) Neglect behaviour of Japanese Black cattle (*Bos taurus*): features and status. Proceedings of the 48th Congress of the International Society for Applied Ethology 2014.7.30 Vitoria-Gasteiz (Spain)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢用 健一 (Ken-ichi Yayou)
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合
研究機構・畜産研究部門 畜産環境研究領
域・ユニット長
研究者番号：40343967

(2) 研究分担者

石田 三佳 (Mitsuyoshi Ishida)
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合
研究機構・畜産研究部門 畜産環境研究領
域・ 上級研究員
研究者番号：10391369

桑原 正貴 (Masayoshi Kuwahara)
東京大学・大学院農業生命科学研究科(農
学部) 教授
研究者番号：30205273