

動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会 2016年シンポジウム

牛の新規ワクチン戦略 および生体センシング 研究の最前線

講演要旨

平成28年9月8日(木)

日本大学生物資源科学部

動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会 総会・シンポジウム プログラム

日時: 平成 28 年 9 月 8 日(木)13 時 00 分～17 時 30 分

場所: 日本大学生物資源科学部

(第 159 回日本獣医学会学術集会 第 7 会場)

13:00～13:20 総会

(10 分 間 休 憩)

13:30～17:30 シンポジウム「牛の新規ワクチン戦略および生体センシング研究の最前線」

13:30～15:00 I. 動物ワクチンプロの主要研究成果 ～座長:国保 健浩 (国立研究開発法人農研機構 動物衛生研究部門)～

(13:30～13:40) 1. 「動物ワクチンプロの紹介」

国保 健浩(国立研究開発法人農研機構 動物衛生研究部門)

(13:40～14:15) 2. 「リポソーム型点眼ワクチン/経乳頭ワクチン～家畜(牛)における免疫誘導～」
渡来 仁(大阪府立大学)

(14:15～14:50) 3. 「乳房炎ワクチンへの希望と期待」

林 智人(国立研究開発法人農研機構 動物衛生研究部門)

(14:50～15:25) 4. 「経鼻ワクチン開発の最前線～粘膜組織での効果的な IgA 産生を可能にするナノゲルの威力～」

野地 智法(東北大学)

15:25～15:35

(10 分 間 休 憩)

(15:35～16:10) 5. 「牛ウイルス性下痢・粘膜病に対する DNA ワクチンの開発」

村上 賢二(岩手大学)

16:10～17:30 II. SIP 内閣府戦略的イノベーション創造プロの主要研究成果 ～座長: 新井 鐘蔵 (国立研究開発法人農研機構 動物衛生研究部門)～

(16:10～16:15) 1. 「SIP 生体センシングプロの紹介」

新井 鐘蔵(国立研究開発法人農研機構 動物衛生研究部門)

(16:15～16:40) 2. 「次世代精密牛個体管理システムのためのウェアブルセンサの開発」

張 毅(国立研究開発法人産業技術総合研究所)

(16:40～17:05) 3. 「乳牛における体表温センサによる分娩予知および膣内センサによる排卵予知」
古山 敬祐(北海道立総合研究機構根釧農業試験場)

(17:05～17:30) 4. 「無線式 pH 線センサによる牛の亜急性第一胃アシドーシスの摘発と制御」

佐藤 繁(岩手大学)

※それぞれの講演に 5 分間の質疑応答を含みます。

次世代精密牛個体管理システムのためのウェアブルセンサの開発

張毅、岡田浩尚、伊藤寿浩
国立研究開発法人産業技術総合研究所

「戦略的イノベーション創造プログラム（SIP）」（次世代農林水産業創造技術）“生体センシング技術を活用した次世代精密家畜個体管理システム”の中で開発を行っている3つのウェアブルセンサ、体表温センサ、小型膈内センサ、多機能ルーメンセンサについて紹介する。

3つのウェアブルセンサに共通して求められている仕様は、必要期間連続モニタリングが可能であるということである。必要期間は、多機能ルーメンセンサであれば、肥育期間となるので、一度投入したら2年ないしは3年間連続動作する必要がある。無論、電池で動作する無線センサであるので、電池容量によってセンシング頻度や通信頻度が決定されるが、さらに、特に体内留置型センサの場合には、無線通信電波が牛の体によって大きく減衰されるため、通信速度を低下させたり、中継機を用意したりする必要がある。

体表温センサとしては、尾根部に巻きつけ、尾の裏側の皮膚に直接サーミスタを接触させる方式のものを開発してきた。プロトタイプによる実験結果から、このようにして測定した体表温が、直腸温と強い相関があり、実用レベルの精度で体表温変化から直腸温変化が推定できることがわかっている。課題は主に装着安定性や装着負担といった装着に関わることであり、センサ端末本体としては、ボタン電池込みで昔の10円チョコレートサイズ程度に抑えることで、装着負担やコストを抑えようとしている。

小型膈内センサは、適切なタイミングで膈内に挿入・留置して、膈液のインピーダンス測定することで、発情検知をしようとする無線センサである。測定回路・無線モジュールの小型化と低消費電力化により、図1に示すように、サイズ直径20mm、長さ160mmのプロトタイプが出きている。測定中の膈内でのセンサの姿勢・位置の変動を受けるため、測定信号は相当のノイズ成分を含んでいるが、独自開発した学習型の検知アルゴリズムにより、実用レベルの検知精度が得られることが、研究機関での少数頭実験では実証されている。課題は、センサとしては、安定した留置性能、ノイズ低減、検知アルゴリズムの最適化、無線通信性能向上、実用を考慮した機能追加などである。

多機能ルーメンセンサは、様々な点で上記2つよりも難易度の高いセンサである。まずルーメンに留置されたセンサからの電波は膈内以上に大きく減衰を受けること、一度投入したら出し入れは容易ではないので、投入後2～3年間連続動作を保証しなければならないこと、その期間連続動作するpHセンサが無いことなどが実現のハードルとなっている。無線通信については、首輪中継機と呼んでいるウェアブル中継端末を導入することで、実用上問題の無い通信が可能であることがわかっており、ルーメン運動の常時モニタリングが可能な加速度センサを搭載したプロトタイプを試作して実証実験を開始している。pHセンサについては、完全固体型タイプの開発を目

指してきたが、さらに検証は必要であるものの、KCl を使わない Ag 参照電極でもルーメン pH の変化を捉えることができそうだとの初期結果を得ている。

3つのウェアラブルセンサのうち、体表温センサと小型腔内センサは、プロトタイプが完成しており、実証実験によって実用化に向けた改良を行うステージにある。多機能ルーメンセンサは、無線通信技術や pH センサ素子などの要素技術が出揃いつつあり、それらを集積したプロトタイプの試作を行うステージになる。



図1 腔内センサーの本体（直径20mm、長さ160mm）と無線端末。

乳牛における体表温センサによる分娩予知および腔内センサによる排卵予知

古山敬祐¹、小山毅¹、松井義貴¹、杉本昌仁¹、草刈直仁¹、三浦亮太郎²、平子誠³、吉岡耕治⁴

¹道総研 根釧農試、²日獣大、³農研機構畜産研究部門、⁴農研機構動物衛生部門

【はじめに】

演者らは、尾根部腹側体表温を連続測定可能なセンサ（体表温センサ）および腔温、腔内電気抵抗値を連続測定可能なセンサ（腔内センサ）を用いて、牛の分娩予知および排卵予知の可能性を検討している。本講演では、乳牛において体表温センサを用いた分娩予知、および腔内センサを用いた排卵予知を検討した試験結果を紹介する。

【体表温センサによる分娩予知】

分娩予定9日前のホルスタイン種乾乳牛28頭に体表温センサを装着し、尾根部腹側体表温（1時間毎の最高温度）の変化と分娩時刻との関連性を検討した。その結果、体表温は分娩前30から21および6から2時間に、それぞれ0.5および0.4℃低下することが示された。また、「過去3日間の同時間帯平均温度に比べて0.4℃以上の低下が初めて3時間以上継続した時（温度低下確認時刻）」から、24および30時間以内に分娩する確率は、それぞれ68および93%であった（温度低下確認時刻から分娩までの平均時間＝約20時間）。分娩前の体表温低下は顕著であるため、体表温センサを用いた高精度の分娩予知が可能であると考えられた。

【腔内センサによる排卵予知】

タイストール牛舎で飼養された発情予定10日前のホルスタイン種泌乳牛8頭を供試した。腔内にセンサを留置して、腔温および腔内電気抵抗値を測定し、それぞれ1時間毎の平均温度および最低値を算出した。排卵確認は、経直腸超音波診断法により3時間毎に行った。腔温および腔内電気抵抗値の排卵予知指標としての有用性を、発情検出指標として既に酪農現場で活用されている歩数（1時間毎の総数）と比較した。その結果、腔温および歩数は、それぞれ排卵前21および26時間で最高値を示し、腔内電気抵抗値は排卵前25時間で最低値を示した。各指標の変化を個体ごとに調べたところ、平均値の変動で見られたような排卵前の明瞭な変化を示した個体の割合は、腔温では88%、腔内電気抵抗値では63%、歩数では63%であった。腔温においては、供試牛8頭のうち7頭で排卵前の明瞭な上昇を捉えることができ、タイストール牛舎で飼養された泌乳牛においては、腔温が排卵前の明瞭な変化を捉えやすい指標であると考えられた。また、排卵前の明瞭な腔温上昇を捉えることができなかった1頭では、腔内電気抵抗値が排卵前に明瞭に低下しており、腔温および腔内電気抵抗値を測定可能な腔内センサを用いることで、高精度かつ飼養場所を問わない排卵予知が可能であると考えられた。

【今後の展開】

センサの改良が進み、センシングされた生体情報を、携帯端末等により牛舎外で閲覧できるクラウド型のシステムが既に構築されている。また、共同研究として波形解析の専門家によるアルゴリズム解析も進められている。今後は、分娩および排卵予知システムのプロトタイプを完成させるとともに、実証研究を経て、センサシステムの製品化へと発展させていきたい。

本研究は、内閣府戦略的イノベーション創造プログラム（SIP）「次世代農林水産業創造技術」によって実施された。

近年、高泌乳を維持するための濃厚飼料多給や飼養管理失宜による亜急性（潜在性）第一胃アシドーシス（subacute rumen acidosis; SARA）の発生が問題となっている。SARA 牛では第一胃液 pH が反復して低下し、蹄葉炎、食欲の減退や不定、ボディコンディション・スコア（BCS）の低下、低乳脂肪症候群、第四胃の変位や潰瘍、第一胃炎などの発生が増加する。最近では SARA と免疫抑制や炎症との関係も指摘されている。従って、第一胃液 pH をモニターし、SARA を制御することは生産病の予防ばかりでなく、酪農振興において極めて重要な課題となっている。

第一胃液 pH の測定は、牛の第一胃液採取が極めて困難であるため、広く行われてきたとは言えない。従来、第一胃液を採取するためにカテーテルを用いた経口的採取が行われ、海外では穿刺針を用いた第一胃穿刺が行われてきた。近年、海外において第一胃フィステルを装着した牛で第一胃液 pH を測定するための第一胃留置型 pH 測定システムが開発された。このシステムを用いて乳牛の SARA に関する基礎的研究が行われているが、これは実験用の機器であり、野外における臨床応用は不可能である。このような背景のもと、演者らは、野外における第一胃液 pH のモニターと SARA の摘発および制御を目的として、新たに無線伝送式 pH センサを開発した。本センサは乳牛に経口的に投与して前胃内に留置し、pH を連続的に測定、体外の受信器でデータを受信するものである。SIP 内閣府戦略的イノベーション創造プロでは、本 pH センサを用いた SARA の病態解析と予防技術の開発に取り組んだ。

1. SARA の病態解析

SARA 牛は第一胃液 pH が低下するが、明らかな臨床症状を伴わない状態であり、第一胃液 pH が 1 日 3 時間以上にわたって 5.5 以下に低下する状態と定義されている。第一胃液 pH の低下は第一胃炎の原因となり、細菌やエンドトキシンが第一胃粘膜内に侵入し易くなり、肝膿瘍など第一胃アシドーシス関連疾病の原因にもなる。また、SARA 牛では第一胃液 pH は低下と回復を繰り返す日内変動を示すが、低下した第一胃液 pH の回復には、第一胃内への HCO_3^- の取り込みと血中への解離型短鎖脂肪酸（SCFA）の放出、血中への SCFA の拡散、第一胃粘膜上皮から唾液と同レベルの HCO_3^- の分泌、モノカルボン酸供輸送体を介した乳酸と水素イオンの排泄などの pH 緩衝作用が関与している。一方、最近、分子生物学手法の発達により SARA 牛における第一胃内の細菌叢構成が解明されてきている。今後、SARA の病態や第一胃発酵の個体間差異の解明に関して、分子生物学的手法を用いた研究の進展が期待される。

2. 無線伝送式 pH センサによる SARA の評価

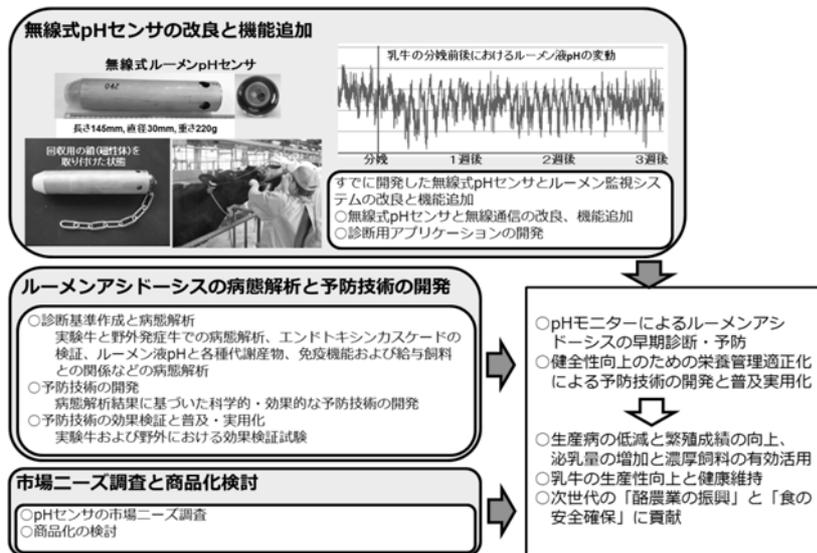
第一胃内では部位別・飼料内容によって pH が異なると報告されている。演者も、第一胃固相部の pH は他の部位に比べて低値を示すことを明らかにし、これは第一胃

固相部の活発な発酵によって VFA 濃度が高値を示すためと考えた。また、第二胃液 pH の変動について報告は少ない。第一胃に比べてわずかな高値を示すが、第二胃と第一胃腹底部は同様の内容物が存在し、pH 変動も類似していると報告されている。演者も、既報と同様、第二胃液 pH と第一胃液 pH との間に有意な正の相関を認め、第二胃液 pH が第一胃液 pH に比べて高値を示す要因は、唾液の混入と飲水による第二胃液の希釈が関与していると推察した。通常、SARA の診断は第一胃液 pH の変動に基づいて行われるが、演者らの研究から、第一胃ばかりでなく第二胃液 pH によっても SARA の診断が可能であることが明らかとなった。

3. 今後の無線伝送式 pH センサの普及・応用

SARA は乳牛の生産阻害要因として極めて重要であることから、SARA の診断と制御は喫緊の課題となっている。無線伝送式 pH センサは、野外の乳牛における SARA の診断と制御において有効なツールであり、高泌乳牛を対象とした栄養管理や牛群管理に広く応用可能である。また、本 pH センサは家畜福祉の増進に寄与し、飼養管理の改善と濃厚飼料の効率的利用によって生産阻害要因を軽減して、我が国の酪農振興に貢献することが期待される。

研究内容 (技術提案型)



無線伝送式pHセンサの普及・応用

- 牛群管理・高泌乳牛栄養管理のモニター、栄養管理状態・飼料設計の評価、飼料変更の評価・TMRの品質管理
- 栄養管理指導者のためのツール
- 第一胃液pHモニターの意義

