

伊藤寿浩

独立行政法人産業技術総合研究所集積マイクロシステム研究センター・副研究センター長

安全・安心のためのアニマルウォッチセンサの開発

§ 1. 研究実施の概要

本研究では、動物の病態変化解析をもとに、健康状態をモニタする無線センサ端末と、動物集団の健康管理を行うアニマルウォッチセンサネットを開発する。平成 22 年度は、感染動物実験・病態解明や鶏舎実験をさらに進め、鶏舎ウォッチセンシングシステム用データベースを完成させるとともに、これまで開発してきた要素デバイスを搭載したフレキシブル無線センサ端末を完成させ、これに対応したネットワークシステムを構築することを目的とした。

感染実験・病態解明においては、鶏病原性に関係する核タンパク質(NP)の主要なアミノ酸の同定では、105 番目のバリンが鶏病原性に関係し、遺伝子合成能を高める働きがあることがわかった。また、鶏継代株の作出と解析では、NP の 109 番目にスレオニン変異が導入されることで、遺伝子合成能、鶏病原性が増強されることが示された。これらの変異は共に、鳥インフルエンザウイルスがカモからニワトリに馴化する際に重要な変異であることが裏付けられた。

鶏舎実験では、鶏の血流量と活動量の関係の検証を行うとともに、体温と気温などの飼育環境と生産性の関係を調査し、ミスト散布と大型送風機を稼動させた鶏舎では、生産性の低下が防止できるなど、システムのデータベースに有用な知見を得ることができた。

無線センサ端末の開発に関しては、簡便に鶏に装着できる端末構造やセンサの実装方法などを検討し、8mm×46mm×1.6mm のリジッド・フレキシブル基板上にスタンバイ電力 0.5 μ W 以下で動作可能なカスタム LSI や 300MHz 帯高効率ループアンテナ、超低消費電力 MEMS センサ、ボタン電池などを搭載した端末を開発した。

ネットワークシステムの開発では、前年度にコンセプト開発した、端末の低消費電力化を可能とする無線通信プロトコルを実現する受信機の試作を行い、その動作を確認した。

平成 23 年度は、三万羽鶏舎に対応可能なネットワークシステムを完成させる。実証実験として、実験鶏舎内において、数百羽に試作した無線センサ端末を装着し、装着したすべての鶏の健康状態を外部機関でモニタできるネットワークシステムを構築し、有効性の検証を行う。また、実験用アニマルウォッチシステムを用いた感染動物実験・病態解明や鶏舎実験を継続して進め、鶏のデジタル・アニマル・ビヘイビアのデータベースのさらなる充実を図る。

§ 2. 研究実施体制

(1)「ネットワーク MEMS」グループ

① 研究分担グループ長:伊藤 寿浩 (産業技術総合研究所、副研究センター長)

② 研究項目

- ・新たな超低消費電力温度センサの考案・設計、3D-MEMS プロセス開発
- ・超低消費電力加速度センサの構造・製造プロセスの最適化
- ・MEMS センサ共通実装プロセスの開発
- ・養鶏現場におけるアニマルウォッチセンシングシステムの構築

(2)「システムインテグレーション」グループ

① 研究分担グループ長:須賀 唯知 (東京大学大学院工学系研究科、教授)

② 研究項目

- ・フレキシブルマイクロ実装 (MEMS センサ実装技術)
- ・高効率小型アンテナの開発
- ・無線センサ端末設計、センサネットワーク設計・構築(鶏ウォッチセンサネット)
- ・生体インターフェース型センサの検討
- ・鶏のデジタルアニマルビヘイビア

(3)「感染実験」グループ

① 研究分担グループ長:塚本 健司 (農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所、上席研究員)

② 研究項目

- ・鶏病原性に関する NP のアミノ酸変異の同定
- ・鶏継代株の作出と解析

(4)「光 MEMS バイタルセンサ」グループ

① 研究分担グループ長:澤田 廉士 (九州大学工学研究院、教授)

② 研究項目

- ・鶏に装着可能な血流量センサの実現
- ・超低消費電力化
- ・超小型化
- ・無線信号伝送
- ・低コスト化

(5)「実証実験」グループ

①研究分担グループ長:須藤正巳(茨城県畜産センター 養鶏研究室長)

②研究項目

・養鶏現場におけるアニマルウォッチセンシングシステムの構築

§3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

A) アニマルウォッチセンシングシステムの開発

- ・生体インターフェース型センサ:本研究では、動物(鶏)の健康状態をモニタする無線センサ端末の開発のため、引き続き、殊にセンサとして小型心拍計を活用した皮膚体表温度、3軸加速度(体勢)、心拍(自律神経系活動値、CVRR)の解析および他指標との同時比較を組み込みなど可視化方法の検討を行い、煩雑な操作なしで扱えるユーザビリティの高い評価ソフトを作成した。
- ・通信電文の衝突回避技術:前年度までに検討した、「bit レートの向上と電文長の短縮化による通信時間の短時間化」による衝突確率の減少化技法と「FDMA(周波数分割多元接続)」による衝突回避技法を実現する LSI の開発を行った。
- ・ネットワークシステム(中継機)の開発:通信電文の衝突回避技術とID 管理を必要としない鶏の位置検出技術をリアルタイムで実現する多チャンネル同時受信機を試作した。
- ・322MHz 以下の微弱無線規格に対する高効率小型アンテナの開発: $8 \times 18 \times 1.65\text{mm}^3$ のプリント基板上に形成した小型ループアンテナの開発を行い、放射効率が約 33%であることを実証した。
- ・映像を利用したアニマルウォッチシステムの開発:映像を利用したアニマルウォッチシステムの判別性能の向上のため、鶏を追跡するトラッカーに数理統計的手法に基づくクラスタリングを組み込み、追従遅れが少なく、かつ鶏同士の接触や重なりに頑健な追跡アルゴリズムを実現した。
- ・発電デバイスの開発:発電出力電圧と応力速度の間に存在する比例関係の定量化と一般化の実証に取り込んだ。また、受動素子内蔵基板を製造するための剥離特性についてその付着性を明らかにした。

B) 鳥インフルエンザ感染動物における病態変化の解析

- ・鶏舎内におけるウイルス伝播機構の解析:前年度までの分析を論文にまとめた¹⁾。
- ・鶏病原性に関する核タンパク質(NP)の主要なアミノ酸の同定:H22 年度は鶏病原性に関する NP について、主要なアミノ酸の同定を行った²⁾。山口株と横浜株の NP には 8 個のアミノ酸相違がある。そこで、この 8 個のアミノ酸相違の中で、どのアミノ酸が鶏病原性の増強に主要な役割を果たすかを明らかにする目的で、1アミノ酸だけを山口株のものと置換した横浜株をリバーシジェネティックス法を用いて作出し、それらの鶏病原性を比較したところ、105 番目のバリンが重要であることが明らかになった。このアミノ酸変異は、細胞増殖性や遺伝子合成能を高める働きを有していた。また、このアミノ酸は鶏細胞でのウイルス増殖を増強するが、カモ細胞では増強しないことから、鳥インフルエンザウイルスがカモから鶏への馴化に重要な働きをしていると考えられる。この変異は、自然界でも起こっていることが遺伝子バンク情報の解析からも強く示唆されている。
- ・鶏継代株の作出と解析:横浜株を鶏で 5 代継代したウイルスは、鶏体内で早く且つ高力価で増殖し、強いアポトーシスを誘導した。また、培養細胞においても増殖が早く、ウイルス遺伝子の合成を増強する作用を有していた。鶏 5 代継代株には NP の 109 番目がイソロイシンからスレオニンに変異しており、リバーシジェネティックス法を用いて変異ウイルスを作出し、鶏病原性を調べたとこ

ろ、この変異が鶏病原性を増強していると結論付けられた。また、ゲノム疫学解析の結果、この変異は自然界において低率ながら鶏への馴化に関係していると考えられる。

C) 超低消費電力・光 MEMS バイタルセンサの開発

センサ端末に関しては、連続駆動レーザダイオードのパルス駆動により消費電力を一桁低減化（これまでの10倍の測定時間、2400時間（100日））させる検討を行った。また、MEMS技術で作製した光学系（従来装置の100分の1サイズ）の低コスト化を図るため、プラスチック成型により、その光学系を作製する検討を行った。これらの検討については来年度も引き続き行う。

これまで、この改良した MEMS 血流量センサを温度センサ、加速度センサと同時に鶏に装着し、健全な鶏では周期的な血流量の日内変動が得られることを確認しているが、その日内変動に乱れが起こる詳細な原因の究明に着手した。インフルエンザ感染だけでなく、鶏の収納環境（環境温度、明暗、収納容積）により、この規則的な日内変動に大幅な乱れが発生すること、また、これまでの通常の鶏舎における実験結果と異なり、活動量と血流量が必ずしも同じ増減傾向を示さないことがあることが明らかになった。この日内変動を乱す詳細な原因については来年度も引き続き追究していく計画である。

応用動物、応用展開として、牛の発情センシング、ペンギンの遊泳時における血流量測定を行った。運動時における人間も含めた動物における活動量のパラメータとして、心拍あたりの血流量が重要な心臓負荷を意味し、血流量センサ以外の方法で検出することが容易でないことが明らかになった。

D) ネットワーク MEMS デバイスの開発

- ・超低消費電力温度センサの開発：本年度は 3D-MEMS ベースのバイモルフ構造の作製に必要な無電解 Ni メッキ膜の微細加工プロセスの開発を行った。このプロセスにより $1.5\mu\text{m}$ 厚の無電解 Ni メッキ膜において、アンダーカット比が1程度で $10\mu\text{m}$ 幅ラインの形成が可能であることを実証した。このプロセスは従来のフォトリソグラフィプロセスとの併用が可能であり、4inch ウエハでのプロセスも適用可能であることを示した。

- ・超低消費電力加速度センサの開発：前年度までに開発した加速度センサ^{3,4)}に対し、本年度は PZT 薄膜を用いた圧電 MEMS と CMOS インバータ、キャパシタからなる回路により、加速度を ON 状態の CMOS インバータの数でデジタル化することに成功した。

- ・鶏舎ウォッチセンサネットの開発：前年度までに感染実験結果を基にしたシミュレーションから病変判別手法を検討した⁶⁾結果と、それを実現するシステム⁵⁾について論文にまとめた。

- ・無線センサ端末の開発： 1.55V の小型ボタン電池で動作し、スタンバイ時の消費電力が $0.5\mu\text{W}$ 以下となる 300MHz 帯での無線送信機能を備えたカスタム LSI の開発を行った。 $8\text{mm}\times 46\text{mm}\times 1.65\text{mm}$ のリジッド・フレキシブル基板（フレキシブル部： 20mm ）上に高効率小型ループアンテナを作りこみ、この基板上に開発したカスタム LSI や上記の MEMS センサを搭載した無線センサ端末の試作を行った。

E) 養鶏現場におけるアニマルウォッチセンシングシステムの確立

・暑熱ストレスを低減させる飼養管理方法の開発: 夏季の暑熱ストレスによる生産性低下を防止する飼養管理方法を確立するため、鶏の体温や運動量などの生理項目と気温などの飼育環境項目との関係、さらに産卵率や増体重などの生産性に関する項目について調査を行った。具体的には鶏舎内に設置したミスト散布および送風機を稼働させるとともに給与飼料にビタミンC (0.03%)と重曹(0.5%)を添加し試験を行った。その結果ビタミンCと重曹の効果は明確ではなかったもののミストと送風機を稼働させた鶏舎では、通常鶏舎(対照区)に対して飼料摂取量、産卵率、飼料要求率とも良好な結果であり、暑熱ストレスによる生産性の低下が抑制された。

<論文発表まで公開を考えていない成果>

・高調波共振を利用した低周波数用圧電加速度センサによるカスタム LSI の駆動: 昨年度に開発した高長波共振を利用した低周波用圧電加速度センサをカスタム LSI と接続し、プログラマブル加振器によって鶏の動作に近い状況で振動させたところ、一定の加速度以上の振動により発生する圧電出力をカスタム LSI でカウントすることに成功した。この結果とフレキシブルパッケージのサイズよりセンサのチップサイズを5mm×4mmと確定し、低周波用圧電加速度センサの4インチウエハを用いた量産試作に着手した。

§4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Koutaro Suzuki , Hironao Okada , Toshihiro Itoh, Tatsuya Tada, and Kenji Tsukamoto, “Phenotypes influencing the transmissibility of highly pathogenic avian influenza viruses in chickens”, J Gen. Virol., vol. 91, pp.2302-2306, 2010. (DOI: 10.1099/vir.0.023267-0)
2. Tatsuya Tada, Koutaro Suzuki, Yu Sakurai, Masanori Kubo, Hironao Okada, Toshihiro Itoh, Kenji Tsukamoto, “NP Body Domain and PB2 Contribute to Increased Virulence of H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses in Chickens.” J Virol., Vol. 85, No. 4, pp. 1834-1846, 2011.(DOI:10.1128/JVI.01648-10)
3. Takeshi Kobayashi, Hironao Okada, Takashi Masuda, Ryutaro Maeda, and Toshihiro Itoh, “A digital output piezoelectric accelerometer using a Pb(Zr, Ti)O₃ thin film array electrically connected in series”, Smart Mater. Struct. Vol. 19, 105030, 2010. (DOI: 10.1088/0964-1726/18/6/065008)
4. T. Kobayashi, H. Okada, T. Masuda, R. Maeda, and T. Itoh, “A Digital Output Accelerometer Using MEMS-based Piezoelectric Accelerometer Connected to

Parallel CMOS Circuit”, Proceeding of Eurosensors XXIV, Eurosensors XXIV (Linz, Austria, Sept. 5-8, 2010).

5. H. Okada, K. Suzuki, K. Tsukamoto, and T. Itoh, “Avian influenza surveillance system in poultry farms using wireless sensor network”, DTIP2010, pp. 253-258, (Seville, Spain, May 5-7, 2010)
6. H. Okada, K. Suzuki, T. Tada, K. Tsukamoto, and T. Itoh, “Simulation Study on the Wireless Sensor-Based Monitoring System for Rapid Identification of Avian Influenza Outbreaks at Chicken Farms”, IEEE Sensors2010, pp. 660-663, (Hawaii, USA, Nov. 1-4, 2010)

(4-2) 知財出願

- ① 平成22年度特許出願件数(国内 5 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 11 件)