

氏名(本籍)	小山津 弥(東京都)
学位の種類	博士(獣医)
学位記番号	獣医博甲第141号
学位授与年月日	平成15年9月17日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	帯広畜産大学
学位論文題目	A Study on Evaluation of Stress in Dogs by Using Non-invasive Methods (非侵襲的手段による犬のストレス評価法に関する研究)
審査委員	主査 帯広畜産大学 教授 齋藤 篤志 副査 帯広畜産大学 教授 宮原 和郎 副査 岩手大学 教授 安田 準 副査 東京農工大学 教授 田谷 一善 副査 岐阜大学 教授 武脇 義

論文の内容の要旨

近年、家畜や伴侶動物の福祉について世の中の関心が高まっていることから、伴侶動物としてだけでなく、実験用や介助・使役用として飼育されている犬のストレス状態を評価することはイヌの福祉とquality of life (QOL)の改善をはかる上で重要である。

イヌの行動観察は、イヌの情緒的ストレスを知る簡便な方法であるが、行動は状況やイヌの性格に左右される。従って、ストレス指標を数値的に示すことのできる生理学的な指標の導入が必要である。しかし、その手法が侵襲的なものであれば、新たなストレス負荷となることが予想されるので、非侵襲的手法が必要となる。副腎皮質ホルモンであるコルチゾルの血中レベルの測定は、ストレス評価の極めて有用な指標となるが、採血は新たなストレス負荷となる。唾液採取は比較的簡単に出来、ストレス要因としての影響も最小限に止められる。

本学位論文は、イヌの日常的ストレス応答を評価するために非侵襲的手段による唾液中のコルチゾル濃度を視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 系、及び唾液中のノルエピネフリン濃度とカリクレイン活性及び脈拍を交感神経系の指標として用いると共に、イヌの行動を観察し、イヌのストレス評価には生理学的指標と行動学的指標を併用することの重要性を示したものである。

本学位論文は、2章から構成されている。

第1章は、「イヌにおける唾液コルチゾルの24時間中の変動」に関するものである。ヒト

を含め多くの動物で副腎皮質ホルモン分泌の日内変動が知られているが、イヌについては血漿中および唾液中コルチゾルの日内変動は明確にされていない。本章は、イヌの唾液コルチゾル値の日内変動とストレス負荷によるコルチゾル値の変化を識別することを主たる目的として論じられている。

実験犬として、去勢、あるいは避妊手術のされていない健康なビーグル犬（雄5、雌4頭）を用い、1時間間隔で採取された唾液サンプル中のコルチゾル量を独自に改良を加えたELISA法で測定した。唾液コルチゾル値の最高値は22時、最低値は3時であったが、各時間毎のコルチゾル値には有意な差は見られなく、唾液中コルチゾル値は、ヒト等で見られている明確な日内変動を示さないことを明らかにすると共に、イヌ唾液コルチゾル値の日内変動の機構は、他の動物種と異なっている可能性を示唆した。また、イヌ唾液コルチゾル値とその変動には、性差がないことも明らかにした。

第2章は、同時進行で行なわれた実験を二部に分けて論述されている。第一部はイヌの日常的ストレスに対する生理学的評価に関するもので、唾液コルチゾル値、唾液カリクレイン活性値、唾液ノルエピネフリン値、脈拍を指標にしたものである。第二部は、行動観察による行動学的評価に関するものである。日常的ストレスとしては、1) 騒音暴露：家庭用掃除機（3分間）、2) 軽いランニング（3分間）：3) 拘束・孤独：ケージ内隔離（60分間）、および4) 食指規制：餌の見せびらかし（3分間）を採用している。

実験犬としては、日々行動観察が行われている去勢、あるいは避妊手術のなされていない健康なビーグル犬（雄5、雌1）が用いられている。刺激前値のための唾液採取から15分後に刺激を与え、その刺激終了直後を0分時とし、15分間隔で60分時まで唾液が採取された。唾液採取と同時に大腿動脈拍を用手的に測定している。唾液中コルチゾルはELISA法、カリクレイン活性は酵素活性測定法、ノルエピネフリンは高速液体クロマトグラフィーによってそれぞれ測定されている。

唾液中コルチゾル値は、1) 掃除機音刺激後全てのイヌで比較的速やかに上昇したが、2) 他の刺激では必ずしも上昇しなく、また、3) 上昇が見られても個体によって時間的ずれのあったこと、4) 個体によって応答の大きさに差のあったことが示され、唾液中コルチゾル値の応答は、ストレス因子やイヌの性格に影響されることを示唆する結果を得た。

唾液ノルエピネフリン値の変動は、1) ストレス要因が同一であっても個体間で差があったこと、2) 応答時間に差が見られたことから、唾液中ノルエピネフリン値の変動は、行動観察から推察しイヌの精神的高揚を示す指標となりうることを示唆する結果を得た。

唾液中カリクレイン活性値は、用いたストレス因子に対する評価項目として適当でないことが示された。

脈拍は、一例だけで増加の遅れが見られたが、全頭で全ての刺激後短時間で増加し、イヌの体動がない場合、交感神経系活動の指標として有用であることが示された。

行動観察では、1) 同一個体でもストレスの種類が異なると様々な行動を示したこと、2) 全ての刺激に共通する行動は見られなかったことから、行動観察だけのストレス評価には限界があることを明らかにした。

よって、非侵襲的方法でイヌの日常的ストレス評価を試みた本学位論文は、行動観察によるイヌのストレス評価には限界があり、非侵襲的評価として唾液中コルチゾル値とノルエピネフリン値、並びに脈拍を併用することが、イヌのストレス評価に重要な情報を与えることを示したものである。

審 査 結 果 の 要 旨

家畜及び伴侶動物の福祉とquality of life (QOF)の議論には客観的な指標が必要である。イヌは、伴侶動物としてだけでなく、実験用や介助・使役用として飼育されており、イヌのストレス状態を評価することはイヌの福祉とQOFの改善を計る上で重要である。

イヌの情緒的ストレスの評価には、イヌの行動観察が簡便な方法とされているが、行動は状況やイヌの性格に左右される。従って、数量化されたストレス指標として血中副腎皮質ホルモンの測定が生理学的パラメーターとして導入されている。しかし、その手法が侵襲的なものであれば、正確なストレス評価を行なうことが出来ない。最近、ヒトや家畜の非侵襲的ストレス評価の手法として唾液中のコルチゾル測定が試みられている。

学位申請者小山津弥氏から提出のあった学位論文は、実験的に日常的なストレスに曝されたビーグル犬を対象として、非侵襲的手段による視床下部-下垂体-副腎系の指標（唾液中のコルチゾル）と交感神経系の指標（唾液中のノルエピネフリンとカリクレイン活性及び脈拍）、並びに行動観察の有用性を論じたものである。

同学位申請論文の第1章では、1) イヌの唾液コルチゾル値の日内変動とストレス負荷によるコルチゾル値の変化を識別する必要性からイヌの唾液中コルチゾル値の日内変動を調べた結果、明瞭な日内変動が認められないこと、2) イヌ唾液コルチゾルの日内変動の機構は、他の動物種と異なっている可能性があること、3) イヌ唾液コルチゾル値とその変動には、性差がないことを明らかにした。

第2章では、1) 騒音暴露、2) ランニング、3) 拘束・孤独、および4) 食指規制の日常的ストレス負荷による唾液コルチゾル値、唾液カリクレイン活性値、唾液ノルエピネフリン値、脈拍、及び行動の変化を調べ、次の結果を得ている。

- 1) 唾液中コルチゾル値は、掃除機音刺激後全てのイヌで比較的速やかに上昇するが、他の刺激では必ずしも上昇しなく、また上昇が見られても個体によって時間的ずれがあり、個体によって応答の大きさに差のあることを示した。これらのことより、唾液中コルチゾル値の応答は、行動観察を勘案しストレス因子によってはイヌの性格に影響されることが示唆された。
- 2) 唾液ノルエピネフリン値の変動は、ストレス要因が同一であっても個体間で差があるばかりでなく、応答時間に差が見られたことから、唾液中ノルエピネフリン値の変動は、行動観察を勘案しイヌの精神的な高揚状態を示す指標となりうることを示唆された。
- 3) 唾液中カリクレイン活性値は、用いたストレス因子に対しては評価項目として適当でない事を明らかにした。

- 4) 脈拍は、一例だけで増加の遅れが見られたが、全頭で全ての刺激後短時間で増加し、イヌの体動がない場合には有用な交感神経系活動の指標となることが示唆された。
- 5) 行動観察では、同一個体でもストレスの種類が異なると様々な行動を示し、全ての刺激に共通する行動は見られなかったことから、行動観察だけのストレス評価には限界があることを明らかにした。

以上のことから、非侵襲的方法でイヌの日常的ストレス評価を試みた本学位論文は、イヌのストレス評価には生理学的指標と行動学的指標を併用することの重要性を示し、特に行動によるイヌのストレス評価には限界があり、非侵襲的評価として唾液中コルチゾル値とノルエピネフリン値、並びに脈拍を併用してイヌのストレス評価を行なうことがイヌの福祉とQOFの改善を計る上に重要な情報を与えることを示したものである。

以上について、審査員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

1) 題 目 : The changes of salivary cortisol concentrations during a 24-hour period in dogs

著 者 名 : Koyama Tuya, Omata Yoshitaka and Saito Atsushi

学術雑誌名 : Hormone and Metabolic Research

巻・号・頁・発行年 : 印刷中, 2003

既発表学術論文

な し