

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19317

研究課題名（和文）盲導犬の適性気質に関わるゲノムマーカーの探索

研究課題名（英文）Search for genomic markers related to high aptitude temperament of guide dogs for the blind

研究代表者

武内 ゆかり（Takeuchi, Yukari）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・教授

研究者番号：10240730

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、日本盲導犬協会に所属する763頭の盲導犬候補個体に対する訓練士による行動傾向評価データを用いて盲導犬適性気質を抽出した。

続いて、適性と有意に関わる「注意散漫」気質について、215個体の遺伝子型データをもとにゲノムワイド関連解析を実施した。その結果、「注意散漫」気質と有意に関連する一塩基多型が36番染色体のplakophilin4遺伝子上に存在することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究が進展し、盲導犬の適性気質に関わる感受性遺伝子多型がリストアップされれば、これまでに最重要視されている適性気質が判明している海外の使役犬に対して即座に本手法の適用が可能となる。こうした研究の発展は、様々な使役犬の育種繁殖方法に科学的な根拠を与え、育成効率の向上に寄与するだけでなく、適否に関わる最重要気質の異なる施設間での子犬の授受にも貢献するなど、有限数の動物の能力を最大限に活かすという動物福祉学的観点からも意義が大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we used behavioral evaluation data obtained from the trainers of the Japan Guide Dog Association for 763 candidate guide dogs to extract the temperaments that are related to guide dogs' aptitude, and performed a genome-wide association study based on the genotype data of 215 individuals for the "distraction" temperament, which is significantly related to aptitude. As a result, we found that some single nucleotide polymorphisms on the plakophilin4 gene of chromosome 36 are significantly related to the "distraction" temperament.

研究分野：獣医動物行動学

キーワード：行動学 気質 注意散漫 SNP GWAS 犬 使役犬

## 1. 研究開始当初の背景

人間を含む哺乳類の多くの動物種には明瞭な個性が認められる。行動特性の個体差を論ずる場合に、その生得的背景は一般に気質 (Temperament) と定義される。気質についてはまだ不明な点が多いが、その遺伝学的背景が明らかになれば行動の進化や発達に関する基礎研究にとって重要な発見となるだけでなく、人間の精神疾患やペットの問題行動に対する診断治療への応用、あるいは動物の個性に合わせた取り扱いや特殊な使役目的への適性の早期判定といった実践的局面においても研究成果の活用が期待される。

犬の全ゲノム配列が 2004 年に NIH から公開されたことを契機に現在 欧米のプロジェクト( 欧州の LUPA プロジェクト、米国の CanMap プロジェクトや DogGenome プロジェクト) が、犬の疾患遺伝子同定を目指した研究を進めてきた。こうした流れの中で犬の行動遺伝学的研究への取り組みも散見されるが、これまでの研究は研究代表者らのものも含めてほぼすべてが「候補遺伝子解析」と呼ばれる手法を用いており、気質をターゲットとした「ゲノムワイド関連解析」は実施されていない。気質関連遺伝子研究の律速段階は何かと問えば、各モデルにいかにか客観的な気質評価系を導入しうるか、という課題に帰することができる。

これらの背景を踏まえて、研究代表者らは客観的な気質評価系を確立するとともに、使役犬 (盲導犬や探知犬) の適否に関わる気質を特定することを目標にして、米国・カリフォルニア州盲導犬協会やオーストラリア税関探知犬繁殖育成部門、日本盲導犬協会と共同研究を行ってきた。その結果、カリフォルニア州盲導犬協会 “攻撃的” 気質が (2009 Anim Genet 40: 217-224)、オーストラリア税関探知犬繁殖育成部門では “執着的” 気質が (未公表)、日本盲導犬協会では “注意散漫” 気質が (2010 J Vet Med Sci 72: 539-545)、それぞれ最重要視される適性気質であることを明らかにした。また、“注意散漫” 気質については、5 ヶ月齢という早期でも、ある程度予測しうることや (2013 J Vet Med Sci 75: 63-67)、心拍数を計測しながら行動実験を実施してアンケート調査による気質評価が妥当であること (未公表) などを確認した。

研究代表者はこれまでに犬において行動疾患 (常同障害や攻撃行動) をターゲットとして 3 回のゲノムワイド関連解析 (Genome-Wide Association Study: GWAS) を実施してきたが、サンプルはペット犬から採取したものである。これらの経験と、高額であったアレイ解析費用が手の届くレベルに下がったこと、アレイ解析および追試験に耐えうるサンプル数が集積されたことなどを受けて、本研究が立案された。

## 2. 研究の目的

盲導犬は身体的な障害を物理的に補うだけではなく、身体障害者の精神的な支えとしての役割も果たすことから、工学的な機能代行手段では単純に置き換えられない重要な存在となるが、育成効率の低さ (盲導犬育成の成功率は 3 割程度) から、その数は慢性的に不足しており、現在では障害者が盲導犬を希望しても、1 年以上の待機期間が生じてしまっている。盲導犬候補個体は、訓練中に不適格と判断されることが多いが、その主な理由は身体的疾患ではなく、気質に由来することが国内外で報告されている。

本研究は、これまでの研究代表者らによる行動遺伝学的研究の実績と、進展著しいゲノムワイド関連解析手法の特徴を効率よく組み合わせ、科学的根拠に基づく早期適性予測 (ゲノム診断による早期キャリアチェンジの実現) を目指すものである (図 1)。

具体的には、日本盲導犬協会の候補犬コロニーに対して、これまでに研究代表者らが実施した行動実験より、客観性および妥当性が保証されている気質評価系 (経験豊かな訓練士に対するアンケートによる評価法) を適用し、盲導犬適性として重要な “注意散漫” 気質と関わる感受性多型群 (ゲノムマーカー) を、ゲノムワイド関連解析手法を用いてリストアップすることを第一義的な目的とする。

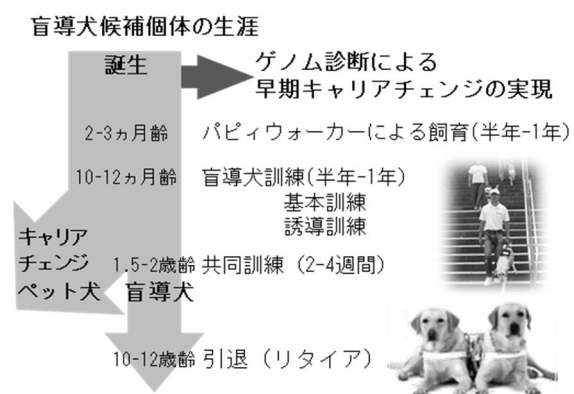


図1 本研究課題の最終目標

多くの盲導犬候補個体が訓練中にキャリアチェンジを余儀なくされるが、適性に関わる気質関連ゲノムマーカーがリストアップされれば、誕生直後のゲノム診断による早期キャリアチェンジが実現される。

### 3. 研究の方法

- (1) 気質因子の再抽出：これまでに、研究代表者らにより気質因子が抽出されてきた(2010 J Vet Med Sci 72: 539-545)が、本研究ではさらによく適合するモデルを作成するべく盲導犬候補個体 763 頭分(すでに盲導犬やキャリアチェンジ犬となっている個体が多い)の行動傾向データ(22 項目(5 段階評価))を用いて、気質因子を再抽出するとともに、作成されたモデルを確証的因子分析により評価することにした。
- (2) 気質因子と盲導犬適性の関係性検討:(1)により再抽出された気質因子について、盲導犬適性との関連を多変量解析により評価した。
- (3) “注意散漫”気質に対する GWAS: 上記盲導犬候補個体のうち、同腹子が存在せず、可能な限り 1 胎より 1 個体ずつ“注意散漫”スコアが高い個体もしくは低い 216 個体を選抜し、血液より DNA を抽出した上で、外部委託によるジェノタイピング(Illumina 社の Canine Whole-Genome Genotyping BeadChip を採択)を行った。得られたタイピングデータのクオリティコントロールを行った結果、最終的に 107,664 個の一塩基多型(Single Nucleotide Polymorphism: SNP)および 215 個体を使用して解析を実施した。

### 4. 研究成果

#### (1) 気質因子の再抽出：

研究に供試する 763 頭をランダムに 3 分割し、そのうちの 2 集団を用いて探索的因子分析および探索的グラフィック解析を用いた気質の再抽出を行った。探索的因子分析においては“注意散漫”、“従順さ”の 2 気質で構成されるモデル、探索的グラフィック解析においては“注意散漫”、“感受性”、“順従さ”の 3 気質で構成されるモデルが抽出され、いずれの気質因子も先行研究と同一もしくは類似した行動傾向項目より構成されていた。

今回再抽出された気質の適合度を評価するため、分割した 3 集団のうち、抽出に使用していない集団を用いて確証的因子分析を行ったところ、Standardized Root Mean Square Residual などを含む 7 指標について、再抽出された気質モデルが先行研究よりは適合していると判断されたものの、いずれの指標も基準を満たすことはなかった。よって、モデルで仮定する因子数を減らすという手法を用いて、探索的グラフィック解析で得られた気質のうち“感受性”を除いた“注意散漫”と“順従さ”で構成される気質因子モデルで再解析したところ、7 指標の基準のうち 5 つを満たしたことから、本解析の“注意散漫(興味全般+犬への興味+匂いへの興味+優位性)”と“順従さ(成熟度+安定性+学習能力)”で構成されるモデルが最も適合していると判断された。

#### (2) 気質因子と盲導犬適性の関係性検討：

盲導犬の適否を目的変数、各気質スコア、被毛色および出生年を説明変数として、多変量ロジスティック回帰分析を行った。その結果、いずれの説明変数も盲導犬適性に有意に寄与していることが判明し、疑似決定係数は 0.23 であった。

#### (3) “注意散漫”気質に対する GWAS：

最初に線形回帰分析を実施したものの、集団内に遺伝的構造化(層化)が存在することが示唆されたため、線形混合モデルにて個体間の遺伝的近縁係数をランダム効果として用いることにより層化を補正したところ(フリーソフトウェア GEMMA (<https://www.xzlab.org/software.html>))を使用)、“注意散漫”スコアと有意( $p$  値  $=7.09 \times 10^{-8}$ )に関連する SNP が複数存在することが明らかとなった(図 2)。これらの SNP は、36 番染色体の *plakophilin4* 遺伝子上に位置することが判明した。現在、本結果の再現性を確認すべく、ジェノタイピングをしていなかった個体を利用して、追試験を継続している。

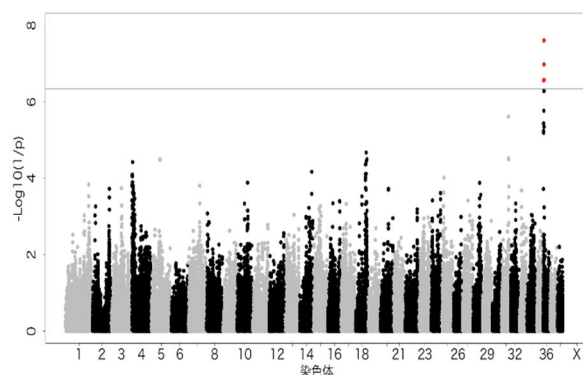


図 2 “注意散漫”スコアを連続値とした線形回帰分析のマンハッタンプロット  
横軸は染色体番号、縦軸は $-\text{Log}_{10}(1/P \text{ 値})$ を示す。それぞれの点が SNP (有意水準を超えた SNP は赤)を表す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

獣医動物行動学研究室研究概要 <a href="http://www.v.m.a.u-tokyo.ac.jp/koudou/j-research.html">http://www.v.m.a.u-tokyo.ac.jp/koudou/j-research.html</a>
---

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
--	---------------------------	-----------------------	----