

令和元年6月15日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2018

課題番号：26292163

研究課題名(和文) 犬の気質に関する行動遺伝学的研究；攻撃性の細分類と遺伝的背景の解明

研究課題名(英文) Canine behavior genetics: toward understanding of genetic background on aggression

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) 12,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、攻撃性と気質評価に特化したアンケートを作成し、犬の飼い主よりチワワ372頭、トイプードル537頭の血液およびアンケートの回答を収集した。アンケート回答結果を検討した上で、特定の表現型についてゲノムワイド関連解析を実施したところ、攻撃性を気質やその動機づけによって細分類することで、従来得ることのできなかつた関連性が示唆される遺伝子多型が検出され、犬の攻撃性に関わる感受性遺伝子多型の一部がリストアップされることとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって犬の攻撃性に関わる感受性遺伝子多型がリストアップされれば、診断に際して臨床経験に頼りがちな動物の行動疾患に対する客観的な診断方法の確立に資するだけでなく、感受性多型の機能解析により攻撃性に対する新規治療法開発の道が拓かれることになる。また、本研究が進展すれば、犬の問題行動治療という観点に留まらず、攻撃性が不適正とみなされる身体障害者補助犬の育成効率の改善や動物福祉に配慮した飼育方法の見直し、といった予防・制御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 developed an original questionnaire specifically for canine aggression and temperament evaluation. We collected blood samples with questionnaire responses of 372 Chihuahuas and 537 Toy Poodles from dog owners. From the genome-wide association study for the specific phenotypes after examining the results of questionnaire responses, we were able to list a part of the genetic polymorphisms related to certain aggressions by sub-classifying aggression as being either related to temperament or motivation.

研究分野：獣医学・応用動物科学

キーワード：行動学 気質 攻撃性 SNP 犬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国では、犬と猫の総飼育数が19歳以下の若年人口を凌ぎ、ペットが伴侶動物(コンパニオンアニマル)と呼ばれるようになってから久しい。こうして多くの伴侶動物が飼育されながら、一方で、問題行動を理由に飼育放棄や安楽死を余儀なくされる動物も少なくない。問題行動の中でも犬の攻撃性は、臨床獣医師が最も頻りに相談される問題行動であるとともに、人的被害の深刻さから古くより国際的にも重大な関心が寄せられてきた歴史的経緯がある。例えば米国内の犬による咬傷事故は年間450万件と推定され、被害者のうち37万人程度が救急病院での治療を受けている。我が国においては、年間4,149件の咬傷事故が報告されている(平成23年度環境省調査)。

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、欧米のプロジェクト(欧州では12カ国の大学・研究所が参画するLUPAプロジェクト、米国では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問題行動に焦点を当てた行動遺伝学的研究への取り組みも散見されるが、これまでの研究は全てが「候補遺伝子解析」と呼ばれる手法を用いており、近年の総説において紹介されているように、攻撃性について有意な結果が雌雄を通じて得られているのは、2報のみである(柴犬におけるグルタミン酸トランスポーター遺伝子多型とイングリッシュコッカースパニエルにおけるセロトニン受容体、ドーパミン受容体、アミノ酪酸(GABA)トランスポーター遺伝子多型)。

犬の攻撃性は0.77という高い遺伝率が報告されているが、異常な攻撃性は単一遺伝子疾患というよりは多因子疾患であることが想定される。そのため、攻撃性に関わる遺伝的背景の解明、すなわち感受性遺伝子(多因子疾患の場合は、「原因」遺伝子ではなく「感受性」遺伝子と称する)のリストアップにはゲノム全体を網羅的に解析する「ゲノムワイド関連解析(Genome-Wide Association Study: GWAS)」を用いることが最適かつ不可欠な研究戦略である。しかしながら、攻撃性のように表現型の客観的評価が困難な形質については、これまでGWASは適用されてこなかった。

研究代表者は、これまで10年以上に渡って攻撃性の問題に取り組むとともに、東京大学動物医療センターにおいて行動診療科を主宰しながら臨床経験を積んできた。その過程で、犬の攻撃行動発現には気質(行動特性の個体差)が強く関与しているという仮説に辿り着いた。この仮説を確かめるために気質という概念を組み込んだアンケートを作成し、大規模調査を実施して、14犬種5001頭分の有効回答を解析した結果、気質5因子(「音恐怖性」、「刺激反応性(衝動性)」、「トラウマ回避傾向」、「人間への親和性」、「獲物追跡傾向」)が犬種を越えて等しく抽出され(因子構造が安定である)、各因子について質問項目の内的整合性が高いこと、多くの犬種において攻撃性とこれらの気質が関連することなどを見出した。これらの成果をもとに、対象が飼い主でも他人でも関連の強い「刺激反応性」について、LUPAの支援を受けた先行研究でゲノムワイドなジェノタイプピングが終了しているサンプルを利用してGWASを実施したところ、GABA-A受容体サブタイプ2受容体遺伝子上の一塩基多型(SNP)がリストアップされてきた。このことは、攻撃性を気質によって細分類することでその遺伝的背景を解明できる可能性を示唆するものであり、人間に対する攻撃性は、「刺激反応性」という気質を基盤として形作られ、そのプロセスには興奮性アミノ酸やGABAなど脳内アミノ酸神経伝達物質が関与するものと推察される。本研究はこうした研究を進展させる形で企図された。

2. 研究の目的

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、その生得的基盤は一般に気質(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。本研究では、事例の多さと深刻さから社会的関心も高い犬の“攻撃性”を研究対象として選択した。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、「個体の気質情報をもとに攻撃性を細分類することによってその遺伝的背景を解明すること」が本研究の目的である。

3. 研究の方法

本研究では、重篤な攻撃性とそれに関わる気質を対象形質として候補遺伝子解析とゲノムワイド関連解析(GWAS)を併用し、感受性多型をリストアップするとともに、寄与率の高い感受性多型については機能解析を実施して、遺伝的背景の解明を目指す。

具体的には、最初にこれまで使用してきたアンケートを改良したうえで、攻撃性と気質が評価された個体の血液サンプルを収集する。これらのサンプルに対し、既にリストアップされている候補多型について、犬種横断的に候補遺伝子解析を実施する。十分なサンプル数が確保できた時点で慎重にサンプルを選抜し、症例群と対照群に分類してGWASを行う。GWASで重要性が示唆された候補多型についても、順次候補遺伝子解析を実施する。候補遺伝子解析としては、新規に追試群を選抜し、遺伝子型と表現型との関連について再現性を確認することとする。

4. 研究成果

(1) 攻撃性と気質評価に特化したアンケートの作成

既に作成していた「攻撃性とそれに関わる気質を調査するためのアンケート」について、これまで得られていた行動診療科受診個体のデータをもとに因子分析を実施し、因子構造が安定するよう改良を加え、より攻撃性とそれに関わる気質の評価に特化したアンケートを作成した。これによって「接触性の攻撃性」、「日常手入れに対する攻撃性」、「所有性の攻撃性」、「縄張り性の攻撃性」が識別できる見通しが立った。さらに「不安(恐怖)性の攻撃性」を識別するために、このアンケートに、かかりつけ獣医師による客観的評価項目を加えてアンケートを完成させた。

(2) 攻撃性と気質が評価された個体の血液サンプル収集

平成26年10月より平成27年度6月にかけて、日本獣医動物行動研究会を通じて動物病院に所属する獣医師にサンプリングを依頼し、最終的には、チワワ372頭、トイプードル537頭の血液およびアンケートの回答を得た。

(3) ゲノムワイド関連解析(GWAS)

アンケート回答結果により、本研究では、トイプードルにおける「所有性の攻撃性」およびチワワにおける「他人に対する攻撃性」を対象形質とした。また、本研究の当初の目的に鑑み、「他人に対する攻撃性」および「犬に対する攻撃性」について、攻撃に転じた理由(動機づけ)によって細分化し、「恐怖による攻撃性」および「縄張り防衛による攻撃性」に関してGWASを実施した。さらに、先行研究および本研究で得られた全ての遺伝子型データを元に、5気質に対するGWASを行った。また、それぞれの形質について、3犬種(柴犬、トイプードル、チワワ)横断的な解析も実施した。

トイプードルにおける「所有性の攻撃性」

遺伝子型タイピングは業者に委託(Illumina, Canine Whole-Genome Genotyping BeadChip 使用)し、データ取得後に品質解析を実施したところ、本サンプルセットでは、統計力が足りないことが明らかとなった。一応、関連解析まで実施し、最も強い関連は6番染色体上のSNPに認められたが、カイ二乗検定におけるP値は 3.88×10^{-5} であった。

チワワにおける「他人に対する攻撃性」

遺伝子型タイピングは業者に委託し、データ取得後に品質解析を実施したところ、本サンプルセットは問題なく使用できることが明らかとなり、最も強い関連は28番染色体上のSNPに認められ、そのP値は 1.04×10^{-5} であった。

トイプードルとチワワにおける他人もしくは犬に対する攻撃性を、「恐怖による攻撃性」・「縄張り防衛による攻撃性」に分類

トイプードルの「縄張り防衛による他人に対する攻撃性」に関して、有意に関連するSNP(BICF2G630317765, 22番染色体)が認められた。また、トイプードルの「縄張り防衛による犬に対する攻撃性」に関して、有意に関連するSNPs(BICF2P13357, BICF2P1091383, BICF2P355095, 2番染色体)が検出された。

3犬種における「5気質(‘音恐怖性’、‘刺激反応性(衝動性)’、‘トラウマ回避傾向’、‘人間への親和性’、‘獲物追跡傾向’)」

‘人間への親和性’に関しては、トイプードルにおいて、有意に関連するSNP(BICF2G630491956, 10番染色体)が、‘音恐怖性’に関してもトイプードルにおいて有意に関連がみられるSNP(BICF2G630216419, 17番染色体)が検出された。‘刺激反応性(衝動性)’、‘トラウマ回避傾向’、‘獲物追跡傾向’については、有意な関連が認められるSNPは検出されなかった。

3犬種横断的解析

‘トラウマ回避傾向’についてチワワとトイプードル両犬種で $P < 0.001$ を満たすSNP(BICF2G630644906, 21番染色体)が検出された。

(4) 候補遺伝子解析

先行研究で収集した約800頭分の柴犬サンプルにおいてGWASデータを参照したところ、‘刺激反応性’気質と12番染色体上のGABRR2(GABA A受容体サブタイプ2受容体)遺伝子(イントロン)上のSNPsが関連傾向にあることが明らかとなったため、GABRR2遺伝子について、ビーグル12頭のcDNA(扁桃体由来)からエクソン上のSNPsを探索したところ、エクソン1, 4, 6, 9上の計4カ所にSNPsが、イントロン8上に200bp程度の挿入・欠失が存在することが明らかとなった。これらの多型のうち連鎖不平衡を考慮した上で、先行研究において収集した柴犬のサンプルについて6多型と‘刺激反応性(視覚の反応性)’の関係について解析したところ、エクソン6上に存在するrs22179147と‘刺激反応性’に有意な関連が認められた。続いて、本結果の再現性を確認するため、刺激反応性スコアの構成内容を検討した上で、柴犬の新規集団におけるrs22179147と‘刺激反応性’の関係について解析したところ、有意な関連が認められた。加えて、トイプードルとチワワでも同様な解析を試みたところ、シバイヌを含む3犬種におけるrs22179147の遺伝子型分布は有意に異なり、2犬種についてはrs22179147と‘刺激反応性’に関連は認められなかった。これらの結果より、シバイヌにおいてはrs22179147と‘刺激反応性’が有意に関連すること、また本多型は犬種間の‘刺激反応性’の差に寄与している可能性が示唆された。

また、前述した(3)①~⑤において有意差が認められたSNPsについては、候補遺伝子

多型としてリストアップした上で、再現性を確認すべく、新規に追試群を選抜し遺伝子型をタイピングしたところ、トイプードルの「縄張り防衛による犬に対する攻撃性」に関して BICF2P13357 と関連傾向が認められた(二乗検定, $P=0.0672$)。本多型は、グルココルチコイド受容体 (*NR3C1*) 遺伝子下流の非翻訳領域に存在することが判明した。

(5) 多元的な解析

本研究では、同一の犬種・気質因子で関連性が強い複数の異なる染色体上の SNP を対象とする多元的な解析を試みた。Kullback-Leibler Divergence および Genetic Risk Score を用いた解析、名義ロジスティック回帰分析の3手法を適用した結果、気質データでは再現性が得られなかったものの、今後はこれらの3手法を駆使することにより、多元的な解析が可能となることが示唆された。

以上、本研究成果をまとめると、攻撃性を気質やその動機づけによって細分類することで、従来得ることのできなかった、関連性が示唆される遺伝子多型が検出されることとなった。なお、本研究で再現性が得られなかった遺伝子多型についても、収集したサンプル数の限界によってそのような結果が導かれた可能性が高いことから、今後、例数を増加して解析を継続することが望まれる。

本研究の進展によって犬の攻撃性に関わる感受性遺伝子多型がさらにリストアップされれば、診断に際して臨床経験のみに頼りがちな動物の行動疾患に対する客観的な診断方法の確立に資するばかりでなく、感受性多型の機能解析により攻撃性に対する新規治療法開発の道が拓かれることになる。このような研究の発展は、伴侶動物の問題行動治療という観点のみに留まらず、わずかな攻撃性すら不適正とみなされる身体障害者補助犬の育成効率の改善や国際的に関心が高まっている動物福祉に配慮した動物飼育方法の見直し、といった予防・制御的観点からも意義が大きいと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Arata S., Takeuchi Y., Inoue M., Mori Y. (2014) "Reactivity to stimuli" is a temperamental factor contributing to canine aggression. *PLoS One* 9: e100767.

Arata S., Asahi A., Takeuchi Y., Mori Y. (2016) Microsatellite loci analysis for individual identification in Shiba Inu. *J Vet Med Sci.* 78: 439-441.

〔学会発表〕(計3件)

武内ゆかり, イヌの行動遺伝学, 在来家畜研究会・日本動物遺伝育種学会合同シンポジウム (招待講演) 2018年

山田良子, 荒田明香, 清川泰志, 武内ゆかり, 日本の家庭犬における問題行動の発症率および発症要因に関する調査, 第161回日本獣医学会学術集会, 2018年

山田良子, 荒田明香, 清川泰志, 武内ゆかり, 日本の家庭猫における問題行動-ウェブアンケートを用いた発症率及び発症要因の調査-第25回ヒトと動物の関係学会学術集会, 2019年

〔その他〕

ホームページ: <http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/koudou/j-research.html>

6. 研究組織

研究協力者氏名: 森 裕司

ローマ字氏名: Mori Yuji

研究協力者氏名: 桃沢 幸秀

ローマ字氏名: Momozawa Yukihide

研究協力者氏名: 荒田 明香

ローマ字氏名: Arata Sayaka

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。