

令和元年6月14日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18782

研究課題名（和文）食肉目の希少動物における偽妊娠の生理生態的意義の解明と妊娠判定法の確立

研究課題名（英文）The physiological/ecological meaning of pseudopregnancy and the pregnancy diagnosis in carnivore endangered species

研究代表者

楠田 哲士（Kusuda, Satoshi）

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：20507628

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：食肉目のイヌ科、ネコ科、クマ科の野生動物の多くに「偽妊娠」という現象が存在すると推測されているが、この現象の生殖内分泌学的な側面や生態的な意義には不明な点が多い。本研究では、リカオンとシンリンオオカミにおいて、同施設内の複数雌の妊娠と偽妊娠が毎年同調し、社会生態に関係している可能性があること、ジャイアントパンダとホッキョクグマでは、糞中13,14-dihydro-15-keto-PGF<sub>2</sub> 代謝物を指標に、妊娠と偽妊娠を区別できる可能性があることなどが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

犬・猫・クマ類の偽妊娠は、生理的にも生態的にも興味深い現象であるが、これらの種を含むイヌ科・ネコ科・クマ科の他の野生種では不明なものがほとんどである。例えば、オオカミなどのイヌ科は、家族集団を営むことから、偽妊娠個体は他の雌の産子をヘルパー的に授乳していると考えられている。しかし、単独性のネコ科とクマ科では、そのような生態的理由は成立しない。各グループ間で比較することにより、その意義に迫ることにつながる。このような生理・生態の解明は、希少種の生息域外保全のための飼育下繁殖の推進に貢献できる基盤情報となる。

研究成果の概要（英文）：There is a physiological phenomenon called pseudopregnancy in many carnivore species of Canidae, Felidae and Ursidae. However the reproductive and/or ecological meaning of pseudopregnancy remains unknown. Our study clarified results including the following. In African wild dog (*Lycaon pictus*) and Eastern timber wolf (*Canis lupus lycaon*) pregnancy and pseudopregnancy (fecal progesterone profile) had been synchronized among several females kept at a facility. There is a possibility that the synchronization has a relation to species social ecology. Measuring fecal 13,14-dihydro-15-keto-PGF<sub>2</sub> metabolites could distinguish between pregnancy and pseudopregnancy in Giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) and Polar bear (*Ursus maritimus*).

研究分野：動物保全繁殖学

キーワード：糞中ホルモン 動物園 希少種保全 イヌ科 ネコ科 クマ科 妊娠 偽妊娠

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

1. 研究開始当初の背景

食肉目のイヌ科，ネコ科，クマ科の野生動物の多くに「偽妊娠」という現象が存在することが，一部の種による情報をもとに推測されている。偽妊娠とは一般的に，交尾後，妊娠していないにも関わらず，発情周期が停止し，卵巣の黄体機能が活性化し，種によっては乳腺の発育が起こり，妊娠と類似した生理状態になることとされている。しかし，この定義は非常にあいまいで，実際には交尾の有無に関わらず，卵巣の黄体活動が見られて出産しなかった場合が偽妊娠として扱われることが多い。偽妊娠の生殖内分泌学的な側面と生態的な意義には不明な点が多い。

偽妊娠は，犬と猫では明らかに異なる。犬の偽妊娠は，妊娠期と同様の黄体活動を示し，乳腺の発達が見られる個体もいる。猫の偽妊娠は，妊娠期よりも黄体の活動期間が短く，乳腺の発達はしない。一方，ツキノワグマやジャイアントパンダでは偽妊娠が見られることが知られている。実際の飼育現場では，妊娠初期の胚死滅や流産（食べられて跡形もない場合）が起これば偽妊娠として扱われてしまう。

犬・猫・クマ類の偽妊娠は，生理的にも生態的にも異なるものであるように思えるが，それら各種を含むイヌ科・ネコ科・クマ科の他の野生種では不明なものがほとんどである。例えば，オオカミなどのイヌ科は，家族集団を営むことから，偽妊娠個体は他の雌の産子をヘルパー的に授乳しているかもしれない。しかし，単独生活種の多いネコ科とクマ科では，そのような生態的理由は成立しない。各グループ間で生理・生態を比較することで，偽妊娠の差異や生物学の意義に迫ることができるかもしれない。

表1 犬・猫・クマ類の妊娠と偽妊娠に関わる生理・生態の比較

	排卵様式	着床遅延	偽妊娠の期間	社会性
犬	自然排卵	なし	妊娠期間と同等	集団生活
猫	交尾排卵	なし	妊娠より短い	単独生活
クマ類	?	あり	妊娠期間と同等	単独生活

2. 研究の目的

食肉目のイヌ科・ネコ科・クマ科の野生動物種を対象として，動物園の飼育下個体を用いて，次の各項を主な目標として，偽妊娠の意義や妊娠生物学を明らかにすることを目的とした。

- (1) 妊娠・偽妊娠を区別できる指標物質を検討し，食肉目希少種に汎用な分析法を確立する。
- (2) 行動パターンを定量的に比較し，妊娠・偽妊娠の行動的・生態的な違いを明らかにする。
- (3) 偽妊娠の生理・生態的な意義を系統的に解明し，確実な妊娠判定基準を確立する。

3. 研究の方法

(1) 各動物群の複数種を対象とし，動物園飼育個体から新鮮な糞あるいは尿を定期的に採取し，一部，以前の研究で収集した妊娠と偽妊娠のサンプルも活用した。

- イヌ科 シンリンオオカミ，フェネック，リカオン
- ネコ科 ツシマヤマネコ，アムールヤマネコ，トラ，チーター
- クマ科 ホッキョクグマ，ジャイアントパンダ

(2) 犬や猫の妊娠時の子宮環境保持に関わるプロスタグランジン F<sub>2</sub> (PGFM)，人で胎児への鉄分供給に関連するとされる銅輸送タンパクのセルロプラスミン(Cp)などの代謝物に着目し，酵素免疫測定法または比色活性測定法により定量を試みた。

(3) 妊娠・偽妊娠の状態を明確化するため，事前に発情や排卵，黄体活動に基礎となる性ホルモン分泌パターンを押さえた。糞尿サンプルからプロジェステロンやエストラジオールの代謝物を抽出し定量した。ステロイドホルモンは種の特異性がないものの，代謝物には種差があることが知られているため，高速液体クロマトグラフィーによる代謝物の同定を行った。

(4) 妊娠期と偽妊娠期の行動，その後の育子行動を，獣舎にカメラを設置して撮影記録し，行動の解析を行った。

(5) 実践的な妊娠判定法を確立することも目標であるため，公益社団法人日本動物園水族館協会と連携して研究期間中に交尾した個体（一部の種）を対象にリアルタイムでも妊娠・偽妊娠の判定を行った。

4. 研究成果

イヌ科，ネコ科，クマ科の各種においてそれぞれの繁殖生理や妊娠・偽妊娠現象に関するいくつかの成果が得られた。これらの成果のうち，主なものをピックアップして紹介したい。

- (1) イヌ科動物の偽妊娠

雌のリカオン 3 頭とシンリンオオカミ 4 頭を対象として内分泌モニタリングを行い、繁殖生理状態を明らかにし、偽妊娠現象に着目した考察を行なった。黄体ホルモン動態の指標として P<sub>4</sub>、プレグナンジオール-グルクロニド (PdG) および 20<sup>-</sup>-ヒドロキシプロジェステロン (20-OHP) を酵素免疫測定法により定量した。各動物種で 3 種類のホルモン動態は同様の変動パターンであった。妊娠期の糞中 P<sub>4</sub>、PdG および 20<sup>-</sup>-OHP 含量は、交尾日前後で上昇を開始し、出産日に高値を示し、その後顕著に低下した。リカオン 3 頭の糞中 P<sub>4</sub> 含量は、その上昇が 20 日の範囲内で同調して起こっていた。同様に、シンリンオオカミ 4 頭中 3 頭では、16.3±2.0 日の範囲内で上昇した。偽妊娠動物では、P<sub>4</sub> 上昇に伴い泌乳や育子行動の発現が促進されると考えられているため、パック内の出産個体に、他個体の生理状態が同調している可能性が考えられた。オオカミでは 3 頭で発情出血 (平均 34.6±4.7 日間) が確認でき、出血状況をスコア化してホルモン動態との関連を分析した。犬の発情出血は発情前期に発現することから繁殖期の開始を示す一つの指標となると考えられており、オオカミでも概ね同様であったが、P<sub>4</sub> 上昇開始期より後に発情出血が確認された例もあった。

## (2) チーターの性行動と育子行動

チーターの繁殖生理や行動に関する研究はそれぞれにいくつか行われてきたが、交尾前後の行動変化と性ホルモン動態の関連性を調査した例や育子行動に関する研究例は非常に限られており、不明な点が多くある。本種の発情兆候は個体により不明瞭なものも多く、ネコ科動物の中では発情の発見が難しい種である。今回、チーターの発情および交尾 (妊娠出産に成功) に伴う内分泌動態と行動変化を詳細に把握することができた。しかし、偽妊娠の場合の行動変化については観察が実施できなかった。行動観察は展示場への放飼後 2 時間とし、活動時間、発声、ローリング、陰部舐め、爪とぎ、グルーミング、体の擦りつけ、匂い嗅ぎおよびマーキングの 9 項目を連続記録法により目視観察した。行動観察記録と糞中エストロジェン動態を比較した結果、体の擦りつけ、匂い嗅ぎおよびマーキングの 3 項目の合計数の変化と糞中エストロジェン含量の増減がほぼ一致した。交尾日にはローリング回数が増加したが、そのほとんどは交尾直後に観察された。各行動は交尾前と交尾後で多く観察され、同様に糞中エストラジオールの上昇も認められたが、交尾後にはマーキング回数が顕著に減少した。すなわち、体の擦りつけ、匂い嗅ぎ、マーキングの少なくともこれら 3 項目は発情の指標となると考えられた。また、糞中プロジェステロンおよびプロスタグランジン F<sub>2</sub> 代謝物の測定から妊娠判定にも成功し、無事出産に至った。出産後の育子行動パターンについても明らかにすることができた。

## (3) 妊娠と偽妊娠を区別する妊娠指標物質の検討

デヒドロエピアンドロステロン (DHEA), セルロプラスミン (Cp) を候補物質として分析した。DHEA: ジャイアントパンダで妊娠期に共通して交尾後や出産前に上昇が見られた。偽妊娠期には妊娠期のような動態は見られなかったが、分析年や個体により動態は様々で、作用機序を明らかにすることはできなかった。ホッキョクグマでは妊娠後期に出産に向けての上昇傾向が見られたが、妊娠期と偽妊娠期ともに変動にばらつきがあり、妊娠期特有の動態は確認できなかった。PGFM: ジャイアントパンダで妊娠期に出産の 25~26 日前から尿中 PGFM 濃度の顕著な上昇が見られた。ホッキョクグマでは出産の直前に上昇が見られたことから、同じクマ科でも分娩までの作用順序が異なる可能性が示唆された。ジャイアントパンダでは偽妊娠期にもわずかな上昇が見られた例があり、妊娠・着床したものの、その後流産に至った可能性が考えられた。Cp: ジャイアントパンダの同一個体で妊娠、偽妊娠とも上昇が見られた。さらに、交尾していないにも関わらず濃度が高い年が存在した。体調や尿の性状が影響していると考えられるが、その詳細を明らかにすることはできなかった。ホッキョクグマでも妊娠期と偽妊娠期ともと同様の時期に Cp の上昇が見られ、違いを確認することはできなかった。

## 5. 主な発表論文等

### [雑誌論文] (計 1 件)

Tajima H, Yoshizawa M, Sasaki S, Yamamoto F, Narushima E, Tsutsui T, Funahashi T, Kusuda S, Doi O, Tateyama Y, Kobayashi M, Hori T, Kawakami E. 2017. Intrauterine insemination with fresh semen in Amur leopard cat (*Pionailurus bengalensis eutilura*) during non-breeding season. J Vet Med Sci 79(1): 92-99. 査読有  
DOI <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0683>

### [学会発表] (計 11 件)

今井千尋, 伊藤咲良, 中村千穂, 牧真三子, 土井 守, 楠田哲士. 2018. ユーラシアカワウソにおける雌雄の行動変化を指標とした発情の推定. 第 24 回日本野生動物医学会大会講演要旨集, p. 141 (2018 年 9 月 1-2 日, 大阪).  
鳥居佳子, 永野昌志, 曾地千尋, 但木成一, 三田さくら, 宗内一平, 牛尾佳名子, 吉住和規, 橋本 渉, 楠田哲士, 片桐成二, 柳川洋二郎. 2018. ホッキョクグマにおける人工授精の試み. 第 2 回野生動物保全繁殖研究会大会講演要旨集, p. 7 (2018 年 7 月 12-13 日, 福岡).

松原香菜, 杉村春佳, 土井 守, 楠田哲士. 2018. チーターにおける糞中ホルモン動態を指標とした妊娠判定実施例(2006~2018年). 第2回野生動物保全繁殖研究会大会講演要旨集, pp.19-20 (2018年7月12-13日, 福岡).

足立 樹, 鮫島弘士, 杉村春佳, 楠田哲士. 2018. ツシマヤマネコの発情行動と自然排卵について. 第2回野生動物保全繁殖研究会大会講演要旨集, p.20 (2018年7月12-13日, 福岡).

星野 智, 楠田哲士, 大樂 央, 齋藤恵理子, 川上茂久, 土井 守. 2018. 飼育下の雌シンリンオオカミにおける糞中プロゲステロン上昇期および発情出血期の個体間の同調. 第2回野生動物保全繁殖研究会大会講演要旨集, pp.21-22 (2018年7月12-13日, 福岡).

Kusuda S, Sugimura H, Adachi I. 2017. Diagnosis of ovulation and pregnancy by measuring fecal hormones in Tsushima leopard cats kept at Japanese zoos (飼育下ツシマヤマネコの糞中ホルモン測定による排卵確認と妊娠判定について). 対馬学フォーラム 2017 & アジア保全医学会第1回アジアのヤマネコ保全ワークショップ (Dec 10, 2017, Tsushima, Nagasaki, Japan). 対馬学へようこそ~対馬学フォーラム~, pp.73-74.

三田さくら, 三浦史順, 今村弥生, 但木成一, 高橋芳郎, 小野直輝, 伊沢 学, 高橋愛里花, 楠田哲士. 2017. ホッキョクグマの繁殖に関わる行動指標と性ホルモン動態の関係. 希少動物人工繁殖研究会第25回会議・第1回野生動物保全繁殖研究会大会講演要旨集, P.9 (2017年9月20日, 神戸).

足立 樹, 村山友美, 杉村春佳, 楠田哲士. 2017. ツシマヤマネコの発情行動と新生子死亡後の発情回帰について. 希少動物人工繁殖研究会第25回会議・第1回野生動物保全繁殖研究会大会講演要旨集, P.21 (2017年9月20-21日, 神戸).

杉村春佳, 楠田哲士, 木村 凜, 土井 守. 2017. 飼育下ツシマヤマネコのホルモン測定による排卵確認と妊娠判定の状況について(2014~2017年). 希少動物人工繁殖研究会第25回会議・第1回野生動物保全繁殖研究会大会講演要旨集, P.21-22 (2017年9月20-21日, 神戸).

星野 智, 楠田哲士, 田島俊一郎, 石田真菜, 宮本知佳, 土井 守. 2017. 飼育下リカオンにおける妊娠および偽妊娠の糞中プロゲステルオン上昇期の同調. 第23回日本野生動物医学会大会講演要旨集, p.127 (2017年9月2-3日, 東京).

高橋愛里花, 楠田哲士, 佐藤伸高, 土井 守. 2016. ホッキョクグマの妊娠判定法の確立にむけた妊娠, 偽妊娠および非妊娠における排泄物中の性ホルモン代謝物動態の比較. 第22回日本野生動物医学会大会講演要旨集, p.128 (2016年9月17-18日, 宮崎).

[その他]

(1) その他の論文

楠田哲士. 2017. ツシマヤマネコの繁殖生理研究 動物園での域外保全のために. どうぶつと動物園 69(3): 32-33.

(2) ホームページ

岐阜大学応用生物科学部 動物繁殖学研究室 <https://www1.gifu-u.ac.jp/~lar/>