

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 桃沢 幸秀

外的な環境変化に動物が適応的な対処をしようとする場合、取られる対応方法には同一種であっても個体間で大きな差異が認められる。一方、それぞれの個体においては、異なる状況下で受ける刺激の種類が違っていても一定の一貫性がみられることが多い。こうした個体毎に特異的な反応様式の基盤となる心理的・生理的傾向は“気質”と称され、気質の個体差は遺伝的要因と環境的要因の複雑な相互作用により形成される。本研究は、ウマを研究モデルとして、気質に及ぼす遺伝的要因について解析を行ったものである。まず第 1 章において本研究の背景と目的が論じられた後、第 2 章から第 5 章では本研究で実施された各実験について記述され、最後の第 6 章において本研究で得られた結果をもとに総合考察が行われている。

第 2 章では、ウマにおける客観的な気質評価法の開発を目的として二つの実験が行われた。まず都内の馬事公苑（日本中央競馬会）で飼養されている 86 頭を対象として、8 項目から構成される気質評価アンケート調査を厩務員に対して行い、同時に被験馬にとって新奇環境となる覆い馬場において風船を新奇刺激とした行動実験を実施し、これら二つの方法による気質評価の結果を比較した。気質評価アンケート結果について因子分析を行ったところ 3 因子が抽出され、そのうち「不安傾向」をあらわす因子 1 と、新奇環境下における心拍数変化と排糞回数に正の相関が認められた。「不安傾向」の高い動物が示すこのような行動的・生理的反応は、他の動物種においても報告されており、ウマにおける気質評価の指標としての有効性が示された。次に項目数を 20 に増やした気質評価アンケートを作成し、信頼性および妥当性を検討した。北海道の日高育成牧場（日本中央競馬会）に所属する 2 歳齢のサラブレッド計 139 頭を用いこの気質評価アンケートを実施した結果、評価者間での一貫性が認められ、また気質評価の実施時期に応じて 2 群に分け因子分析を行ったところ、抽出された 5 因子のうち 4 因子については両群に共通で保存されており、3 因子については高い内的一貫性が認められた。「不安傾向」を表す因子のスコアが高い個体ほど、新奇環境において隔離された際に心拍数の上昇が著しいという関係が認められたが、この結果は馬事公苑での結果とよく一致した。以上のことから、気質評価のために開発したアンケート調査方法の信頼性と妥当性が確認されるとともに、次章以降の遺伝学的解析に用いるための対象集団として、品種・年齢・飼育環境・調教状態などが均一であり気質の評価も済んだ 100 頭以上の個体から構成される理想的な実験群を得ることができた。

第3章では、気質関連候補遺伝子として、主にモノアミン系に関連する11遺伝子を選択し、それぞれの遺伝子に存在する遺伝子多型を明らかにした。そして、第2章から得られた実験群を用いて、遺伝子多型と気質との関連を解析した結果、dopamine receptor D4 遺伝子上に存在しアミノ酸置換を伴うと考えられる一塩基多型 SNP (A>G) に関して、AA・AG を持つ個体に比べ GG を持つ個体では「好奇心」スコアが高いという関連性を見出した。この SNP が「好奇心」スコアの分散全体に占める割合（寄与率）は6.77%であった。

第4章では、とくに「不安傾向」との関連が予想される染色体領域の解析を行った。ゲノムワイド解析によりヒト染色体1番に存在する regulator of G-protein signalling 2 遺伝子はヒトやマウスにおいて不安傾向との関連が示されていることから、ウマにおいても不安関連遺伝子の候補として解析したところ、アミノ酸置換を伴わない SNP がひとつ同定された。この SNP について各個体の遺伝子型を決定して気質との関連を解析したところ、雌雄いずれにおいても遺伝子型間に類似した関係が認められたものの、その寄与率は1.32%と低かった。同様にヒト染色体8番上で不安傾向との関連が示唆されている neuregulin 1 遺伝子周辺の9配列を抽出し、9配列内の多型を探索するとともに、「不安傾向」スコアとの関連を調べた結果、steroidogenic acute regulator 遺伝子のイントロンに存在する SNP (C>T) において、雌雄いずれにおいても CC・TT を持つ個体に比べ、CT を持つ個体の「不安傾向」スコアは低いことが判明した。この多型の「不安傾向」への寄与率は7.72%であった。

第5章では、「不安傾向」に関わる遺伝的要因について、Amplified Fragment Length Polymorphism 法を用いて解析を行った。両極端の「不安傾向」スコアをもつ16個体のゲノムサンプルについて、3299個のバンドを解析したところ、209個の多型バンドが同定された。そのうち、「不安傾向」スコアの差が両極端のグループ間において明瞭な9多型バンドに着目し解析を進めたところ、そのうちひとつはTGを繰り返し単位とするマイクロサテライトにより生ずることが示された。その多型バンドに一致する18回繰り返しを持つ個体はそれ以外の個体に比べて「不安傾向」スコアが高い傾向が認められ、寄与率は1.79%となった。

以上、本研究では、まず、ウマの気質評価法として被験馬をよく知る厩務員が評価するアンケート調査方法の信頼性が示され、ウマの気質のうち「好奇心」や「不安傾向」と関連性を示す4つの遺伝子多型が明らかにされた。本研究の成果は、哺乳類における気質に及ぼす遺伝的要因を理解する上で重要な知見であり、学術上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は申請者に対し博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。