

(様式11)

論文審査の要旨 (課程博士)

生物システム応用科学府長 殿

審査委員 主査 田中 あかね 教授 ㊞

副査 松田 浩珍 教授 ㊞

副査 野村 義宏 教授 ㊞

副査 大島 登志夫 教授 ㊞

副査 稲田 全規 准教授 ㊞

学位申請者	平成 24 年度入学 学籍番号 12702101 氏名 安藤 泉
申請学位	博士 (生命科学)
論文題目	イヌにおける様々な外因性ストレスの評価指標に関する研究
論文審査要旨 (2,000 字程度) 本研究は、イヌに運動負荷、拘束負荷、及び訓練負荷を与え、その外部刺激に対する心拍数、血清コルチゾール・セロトニン・神経成長因子 (NGF)・ Na^+ ・ K^+ ・ Cl^- ・ Ca^{2+} ・ Mg^{2+} 濃度の反応から、それらのストレスマーカーとしての可能性を検討し、そのメカニズムの解明を目的とした。 I 章では、ストレスを引き起こす 3 つの外部刺激 ①50 分間の自由運動負荷 ②20 分間のトレッドミルを用いた連続強制運動負荷 ③20 分間のケージ内保定の拘束負荷を、イヌ 4 頭に与え、自律神経系として「心拍数の変化」、内分泌系として「血清コルチゾール及びセロトニン分泌量変化」を求めた。その結果、血清コルチゾール濃度のみ、これら 3 種類のストレス刺激に顕著に増大する反応が示された。一方、心拍数は、安静状態を保ったコントロール群にも有意な増加が観測されたり、連続強制運動負荷・拘束負荷に対して共に特徴的な反応は示さなかった。セロトニンでは、いずれの負荷においても統計学的有意な増減反応は観測されなかった。従って、心拍数とセロトニンは共に、ストレスの評価指標としての可能性は低いことが示された。以上の結果から、ヒトやマウスと同様にイヌは、ストレスを感じると血清コルチゾール濃度は増大することが明らかにされたが、その濃度変化は非特異的で、濃度の増大がどのストレス刺激に起因しているかを明確にすることは難しく、そのため新たなストレスマーカーの検証が求められた。 II 章では、免疫系のストレス応答物質として、マウス、ヒト、ウマで、ストレス刺激によりその濃度の上昇が報告されている血清 NGF の濃度変化に着目した。血管内皮細胞から産出されるサイトカインの 1 つの NGF は、周りの細胞の生き残り、分化、栄養因子としての性格があることが知られており、我々は、NGF がストレス刺激に対する生体の防御体制を整える重要なサイトカインの 1 つであると考え、イヌにおける血清 NGF 濃度の経時変化から、ストレス評価指標の可能性とストレス応答のメカニズムを検討した。その結果、血清 NGF 濃度の変化は本研究で用いた 3 種のストレス刺激に対し、Late peak type (遅延型)、Early peak type (早期型)、Decrease type (減少型) の、3 つの異なる反応型を示した。外部負荷の種類により、血清 NGF 濃度は異なる動態を示すため、血清コルチゾール濃度変化では分別出来ないストレス刺激の種類とその程度に関する情報が得られる可能性を持つ、これまで報告例のない結果が得られた。 III 章では、前述と同様のストレス刺激を用い、生体全体のバランスを保つ電解質 (Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+}) のストレス応答を検討した。その結果、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} と外部刺激との相関はなかったが、必須ミネラルの血清 Mg^{2+} 濃度は、運動負荷及び精神負荷共に有意に減少し、加えて冬期の血清 Mg^{2+} 濃度が夏期のその約 60%と小さい季節性を有し、環境の違いを反映していることが明らかになった。 IV 章では、上記で得られた知見を基に、系統的にも環境的にも均一性の高い盲導犬の候補犬を用い	

て、その初期・中期・後期クラスに所属するイヌへの訓練をストレス刺激とし、一般的なコルチゾール濃度と、本研究で新たに指摘した血清 NGF と Mg^{2+} 濃度の応答を検討した。血清コルチゾール濃度は、全ての訓練レベルで非特異的増大反応を示したが、血清 NGF 濃度変化は、精神的な不安定さを反映して、初期と中期クラスで、訓練前 (pre) を含めて、低い値を示した。また血清 Mg^{2+} 濃度は、初期クラスのみが初期値を含めて低い値を示したが、これは訓練センターの環境にまだ十分に順応していない事が原因と理解された。

最後に、血清 NGF・ Mg^{2+} ・コルチゾール濃度の測定値からイヌの状態を検証した。縦軸に環境状態を表していると想定した血清 Mg^{2+} 濃度、横軸に精神状態を反映していると想定した血清 NGF 濃度を取り、各イヌの測定点は血清コルチゾール濃度の表記でグラフ化した結果、初期クラスは、環境的にも精神的にも負荷状態を示す、低血清 NGF 濃度・低血清 Mg^{2+} 濃度領域に、後期クラスは初期クラスとは逆に、環境的にも精神的にも負荷としては小さい、高血清 NGF 濃度・高血清 Mg^{2+} 濃度領域に分布し、中期クラスは、環境的には順応している状態であることが明らかにされた。

今回の結果から、共通言語を持たないイヌ達の状態を理解する試みとして、従来用いられてきた血清コルチゾール濃度の変化に、新たに血清 NGF と Mg^{2+} 濃度変化を導入する事により、イヌの状態をより精度良く把握出来る手掛かりが得られた。今後は、使役犬のみならず、家庭犬の精神状態や、飼い主では気が付かない環境状態の把握、さらにはコミュニケーションの難しい乳児や心身症の状態理解に繋がるような研究に発展させたい。