

## 学位論文要旨

### 環境エンリッチメントが実験動物に与える影響 Effects of environmental enrichments on laboratory animals

東京農工大学大学院 連合農学研究科 生物生産科学専攻

小山 公成

Hironari Koyama

動物実験の遂行にあたっては、実験動物のウェルビーイングの向上が必要とされ 3Rs (Reduction、Replacement、Refinement) の遵守が求められている。3Rs 中の Refinement の向上として、動物の飼育環境を富化する環境エンリッチメントの利用は有効な手段の一つになっている。実験動物の中でもとくにサル類は社会性の高い動物で環境エンリッチメントの適用が重要とされるが、その提供が動物の心理、行動、生理および実験系に与える影響はほとんど明らかにされていない。

本研究は、実験用サルにおける環境エンリッチメントの行動学および生理学的影響を調べることを目的として、試験 I において環境エンリッチメントを評価する指標を調査した。カンボジア産の未性成熟のカニクイザル 20 匹 (雌雄各 10 匹) を施設に導入した後、検疫・馴化飼育 (単飼育)、ペア飼育 (1 日 7 時間) および単飼育の順にそれぞれ 8 週間飼育した。それぞれの飼育形態における行動評価 (常同行動、親和性行動、糞塗行動)、体重増加率、血液生化学的パラメータ、血漿・尿中のコルチゾール、カテコラミン、腸内細菌代謝産物の 4-エチルフェニル硫酸 (4EPS) 濃度測定および糞便細菌叢解析を行った。その結果、ペア飼育は常同行動を減少させ、親和性行動を増加させた。また、体重増加率を改善、血清カルシウム、血漿・尿コルチゾール、血漿 4EPS および血漿ドーパミン濃度を減少、尿 4EPS 濃度を増加させた。糞便細菌叢は検疫・馴化飼育からペア飼育への移行で属レベルの細菌で相対占有率に変化が認められ、*Prevotella*、*Lachnospira* および *Dialister* の増加、*Oscillospira* および *Phascolarctobacterium* の減少が確認された。生化学的パラメータおよび糞便中細菌の相対占有率は行動評価結果と正または負の相関を示しており、環境エンリッチメントの評価指標として有用なことが示された。

試験Ⅱでは、試験Ⅰで得られた評価指標を用いて、実験用サルへの環境エンリッチメントの影響を調べた。試験Ⅰで供した同個体のカニクイザルを用いて、単飼育、ペア飼育（1日7時間）および単飼育+親和性トレーニング（1日3回レーズンを直接手渡しすることでヒトとの親和性を向上させるトレーニング）の順にそれぞれ8週間飼育した。試験Ⅱでは1日7時間の社会的飼育のエンリッチメントとしての効果を確認するとともに、単飼育下での親和性トレーニング付与の効果を検討した。

その結果、ペア飼育はカニクイザルの常同行動を改善しウエルビーイング向上に有効であることが示された。さらにペア飼育は単飼育で減少した体重増加率を改善した。ペア飼育において血清カルシウム、血漿コルチゾール、血漿・尿中4EPSおよび血漿ドーパミン濃度が減少あるいは減少の傾向を示し、常同行動と正の相関を示した。飼育形態、行動様式、糞便細菌叢、生化学パラメータ間には相互に関連性があることが示され、飼育形態の変化に伴い変動することが確かめられた。糞便細菌叢解析において単飼育からペア飼育への移行で一部の属レベルの細菌で糞便細菌叢中の相対占有率に変化が見られたが（*Ruminococcus*、*Collinsella* および *Bulleidia* の減少）、試験Ⅰで認められたような大きな変動は示さなかった。

以上のことから、未性成熟のカニクイザルにおける社会的飼育は常同行動を減少させ、環境エンリッチメントとして有効なことが確認された。また単飼育によるストレスに起因すると考えられる体重増加率の減少、血清カルシウム、血漿コルチゾール、血漿4EPSおよび血漿ドーパミン濃度の増加を改善することが示された。

1日7時間のペア飼育は動物のストレスを減少させ、社会的飼育の適用方法として有用であることが分かった。社会的飼育ができない場合の代替手段として、親和性トレーニングを付与した飼育は明確な効果を見出すことはできなかった。

カンボジア産の未性成熟カニクイザルの糞便細菌叢は、門レベルでは *Firmicutes* が最優勢で *Bacteroidetes* が次を占めた。属レベルでは *Prevotella* が最優勢、次いで *Streptococcus*、*Oscillospira* および *Faecalibacterium* が優勢であった。これらの細菌の糞便細菌叢中の相対占有率は飼育環境の変化により変動するものの、細菌叢の上位の構成順位については飼育形態の変化により変動しなかった。

環境エンリッチメントの動物への影響を評価する上で行動評価、体重増加率、血清カルシウム、血漿コルチゾール、血漿4EPSおよび血漿ドーパミン濃度が安定した評価指標になること、とくに行動評価、体重増加率、血清カルシウムおよび血漿4EPS濃度の有用性が高いと考えられた。試験ⅠおよびⅡの両試験において親和性行動、糞塗行動、血漿コルチゾール濃度には性差が認められた。これらの性差は雌雄のストレスへの反応性の違いに起因する可能性が考えられ、環境エンリッチメントの評価指標としての利用においては注意する必要があると思われた。