

攻撃行動などの問題行動を呈する犬の神経機構
～食餌療法と新たな行動修正療法の有効性～

麻布大学大学院獣医学研究科

動物応用科学専攻 博士後期課程 動物共生科学分野 介在動物学

DA0902 加藤 真紀

攻撃行動などの問題行動を呈する犬の神経機構

～食餌療法と新たな行動修正療法の有効性～

麻布大学大学院獣医学研究科

動物応用科学専攻 博士後期課程 動物共生科学分野 介在動物学

DA0902 加藤 真紀

目次

要約 1

緒論 4

第1章 攻撃行動を呈する犬と呈さない犬の血漿中5-HT濃度および日内変動の比較

第1節 緒論 12

第2節 方法 15

第3節 結果 19

第4節 考察 21

第2章 食餌療法による攻撃行動および不安関連問題行動への効果の検証

第1節 緒論 23

第2節 方法 26

第3節 結果 31

第4節 考察 33

第3章 ハンドリングとホールディングを用いた行動修正療法の有効性の検討

第1節 緒論 36

第2節 方法	・・・40
第3節 結果	・・・48
第4節 考察	・・・55
第4章 総合考察	・・・59
謝辞	・・・65
文献	・・・66

要約

近年、犬は単なるペットからコンパニオンアニマル（伴侶動物）に変化し、家族の一員として室内で飼育されることが主流となった。その結果、人と動物は必然的により密度の高い時間をともに過ごすことになり、無駄吠え、分離不安、攻撃行動、破壊行動、不安症などといった問題行動が飼い主にとってより深刻な問題として表面化してきた。日本における犬の年間咬傷事故件数は 4000 件以上にも上り、攻撃行動により放棄される犬の数は多く、安楽死に至る犬の数も少なくない。ゆえに、攻撃行動は、人と犬双方の生命をおびやかす深刻な社会問題であり、攻撃行動の生理学的メカニズム解明および解決策は、人と動物の関係において非常に重要である。

行動は神経および液性調節機構の相互作用によって制御されており、問題行動の背景には神経伝達物質の変化が報告されている。末梢および中枢において、神経伝達物質の一つであるセロトニン（以下 5-HT）濃度と攻撃性には相関があることが犬を含む多くの動物種において知られている。また、視床下部のセロトニン受容体が活性化することによって HPA 軸が刺激されると報告されている。攻撃的な犬は、社会刺激に対して高い HPA 軸活性を有することから、高い血漿中コルチゾール濃度を有することが報告されている。以上のように、攻撃行動とストレスとの密接な関係が報告されている。ゆえに、本研究では、末梢からのアプローチによって、ストレスがおよぼす犬の攻撃行動への影響を検証し、攻撃行動緩和の方法を構築することを目的とした。

5-HT には日内変動があることがラットや人などで知られているが、犬における 5-HT の

日内変動の研究はない。また、ストレス負荷によって、血中セロトニン濃度が上昇することが知られている。そこで第1章において、5-HTの日内変動を調べ、攻撃行動を呈する犬とない呈さない犬との日内変動を検証した。その結果、犬の血漿中5-HT濃度には日内変動があり、さらに、攻撃行動を呈する犬は血漿中5-HT濃度が有意に高いことが明らかとなった。鬱病患者、統合失調症患者、自閉症患者において、日内変動の異常があることが多くの研究で報告されているが、攻撃行動を呈する犬の血漿中5-HT濃度には日内変動の異常は見られなかった。不安関連の問題行動を呈する犬も血漿中5-HT濃度が高いことが知られている。さらに、ストレス負荷によって、セロトニン濃度が高くなることが知られていることから、攻撃行動を呈する犬はストレス状態にある可能性が示唆される結果となった。そこで、第2章では、ストレスに対する脆弱性を弱めるための療法食を実験食として用いて、攻撃行動緩和の効果を給与試験によって検証した。飼料栄養組成は犬の行動に影響を与えることが知られており、一定の栄養素の摂取によってストレスに対する脆弱性に影響を与えることが知られている。実験食は、L-トリプトファンと α カソゼピンが配合されており、どちらもストレス緩和の効果が報告されている。動物病院での爪切りをストレスサーとして用い、ストレスに対する脆弱性への実験食の効果を尿中コルチゾール/クレアチニン比(UCCR)によって検証した。ストレス後UCCRは、基礎UCCRに比べて有意に高い値を示し、動物病院での爪切りがストレスをもたらすことが分かった。ストレスによるUCCRの増加は、コントロール食給与中に比べて、実験食給与中に有意に低い値を示したことから

ら、実験食によるストレス緩和の効果が明らかとなった。また、Canine Behavioral Assessment and Research Questionnaire (C-BARQ) を行動学的指標として用いた結果、「見知らぬ人への攻撃」および「不安関連の問題行動」には有意な改善を示したが、「飼い主への攻撃」には有意な改善を示さなかった。第2章の結果より、「飼い主への攻撃」に対して改善効果のある新たな行動修正療法の構築が必要であると考えられた。そこで第3章では、「ハンドリング」と「ホールディング」からなる新たな行動修正療法による攻撃行動緩和の効果を検証した。C-BARQ および Aggression test を行動指標として用いた結果、「飼い主への攻撃」および「見知らぬ人への攻撃」に有意な改善が示された。行動修正療法後の血漿中 5-HT 濃度は行動修正療法前に比べて有意な減少を示したことから、ハンドリングとホールディングは 5-HT 濃度に影響を及ぼすことが示唆された。5-HT 濃度が減少し、ストレスが緩和され、正常レベルに戻ったことで、攻撃が緩和されたと考えられる。行動修正療法前後の血漿中ノルアドレナリン(NA)に有意差は見られなかった。血漿中アドレナリン(AD)は優位差はなかったものの、減少が見られた。AD のみの有意な上昇は心理的ストレスの負荷による効果と考えられている。しかし、本実験では、AD の減少が見られたため、犬は心理的ストレスを受けておらず、リラックスしていたと考えられる。以上のことから、ホールディングは、嫌悪刺激ではなく、快刺激である可能性が高いことが明らかになった。

第4章では第1章～第3章の結果を基に、攻撃行動などの問題行動を呈する犬への食餌療法および行動修正療法の有効性と神経機構への影響を考察した。攻撃行動を緩和するに

は、ストレス状態を解消することが重要であることが明らかとなった。「ハンドリング」と「ホールディング」からなる行動修正療法は、効果が高く、有用であることが明らかとなった。しかしながら、飼い主が高齢である場合などのようにホールディングを行うこと自体が困難であるケースも多いと考えられる。そのような場合には、第二の選択肢として、食餌療法を用いることが可能といえるだろう。本実験で得られた結果は、犬の攻撃行動緩和において有用性の高いもので、飼い主と犬双方にとっての福祉につながり、ひいては、咬傷事故を減少させることによって、社会にとっての利益につながると考えられる。

緒論

現代社会は高齢化と核家族化が進んでおり、犬や猫を中心とする小動物は家族の一員（伴侶動物）として生活に癒しやうるおいを与え、人々の健康と精神衛生に大きな役割を果たしてきた（Jagoe & Serpell, 1996; Wells, 2009; Walsh, 2009）。

犬は歴史的に最も古くから家畜化された動物として知られる。犬の家畜化の時期、目的および経緯はいまだ議論をされているが、人間の住居等を見張り、野獣などの接近・侵入を防ぐための番犬として利用されたり、狩猟のために利用されたのが家畜化の始まりと考えられている（Clutton-Brock, 1995）。ドイツの Oberkassel 遺跡から犬のものと思われる下顎骨が発見されたことから、その家畜化の歴史は少なくとも約 1 万 4 千年以上前にさかのぼる（Davis & Valla, 1978; Nobis, 1979）。さらに、北イスラエルの Ein Mallaha 遺跡で老人と仔犬の骨格が一緒に埋葬され、屈曲姿勢で横たわった人の手は仔犬の胸の上に置かれていたことから、1 万 2 千年前からすでに犬が人にとっての伴侶動物であり、重要な存在であったことが推測される（Davis & Valla, 1978）。日本における平成 21 年度の犬の登録頭数は 1232 万頭に達し（ペットフード協会、2010）、平成 21 年度の日本の未成年者人口の 2308 万人の半数（総務省、2010）を超えている。しかしながら、全国の自治体に放棄される犬の頭数は年間 11 万頭にもおよび、8 万頭もの犬が毎年殺処分されている（環境省、2010）。

近年、愛玩動物からコンパニオンアニマル（伴侶動物）への変化とともに室内飼育が主

流となってきた（ペットフード協会、2010）。その結果、人と動物は必然的により密度の濃い時間をともに過ごすことになり、無駄吠え、分離不安、攻撃行動、破壊行動、不安症などといった問題行動が飼い主にとってより深刻な問題として表面化してきた（Beaver, 1994）。Voith & Marder（1988）は、「問題行動とは、飼い主が容認できない行動、あるいは、動物自身または飼い主の財産を傷付ける行動のいずれかに該当するものである」と定義した。しかし、飼い主のみならず、他人に迷惑となるような行動も問題行動とされている。すなわち、問題行動は以下の3種のカテゴリーに大別される。

1. 本来持つ行動様式を逸脱するような異常行動、常同障害や強迫障害など。
2. 動物が本来持つ行動様式の範疇にありながらもその多寡が正常を逸脱する行動、性行動や摂食など。
3. その多寡が正常を逸脱しないまでも人間社会と協調されない行動、警戒咆哮等等など。

このうち3番目のカテゴリーに分類される問題行動が非常に多いことが知られている（森と武内, 2004）。侵入者の気配に対する警戒咆哮は犬にとってきわめて正常な行動であるが、近隣に住む人々にとっては問題行動として受け止められる。また、住宅街から離れた田舎の一軒家のような環境では警戒咆哮は深刻な問題とならないかもしれないが、日本の都市部のように密集した住宅街では、近所から苦情が寄せられ、深刻な問題行動となりやすい。このように、正常な行動であっても人間社会の中ではその行動が問題となり、生活環境や飼い主の性格によって、問題行動の認識は大きく変わってくるのである。つまり、

こういった行動が問題となるかは飼い主の主観によって異なるということである。それゆえに、犬と人がより良い関係を築いていくためには、問題行動を正しく認識し、対処していく必要がある。

Salman et al. (2000) によると、問題行動は、飼育放棄の理由として最も多くあげられている。さらに、動物保護施設に収容される犬に最も多い問題行動は攻撃行動だと報告されている (Haupt et al., 2007; Salman et al., 2000)。日本においても、成犬の放棄理由として、人に対する攻撃行動が 15%を占めている (愛媛県動物愛護センター、2011)。国々によって安楽死される犬の数に違いはあるものの、問題行動によって安楽死される犬の数は多く、問題行動による安楽死の半分以上は攻撃行動によることが多くの研究によって報告されている (Stead, 1982; Spencer, 1993; Patronek et al., 1996; Hart, 1981)。このように、攻撃行動は飼い主にとって深刻な問題であり、場合によっては飼育が困難になり、結果的に放棄し、安楽死をするケースも少なくない。

日本における犬による年間咬傷事故数は 20 年前に比べ約半数まで減少してきているが、依然として年間 4000 件以上の咬傷事故が発生している (環境省、2010)。この数字は行政機関への届出から把握されたものである。犬の咬傷事故において、犠牲者の多くは犬の飼い主であるとの報告があり (Kizer, 1979; Wright, 1990)、飼い主が行政機関に咬傷事故の届け出を出すことは稀である (Guy et al., 2001)。よって、行政機関への届出がされていないものも含めると相当数に上ると考えられる。また、犬による咬傷での年間死亡者数

は、1 から 4 人に上り（環境省、2010）、依然として深刻な問題であるといえる。このように、犬の攻撃行動は、飼い主とその家庭だけの問題として軽視することはできない深刻な社会問題としての側面も持っている。

犬の攻撃行動の要因は複雑で、遺伝的素因や動機付け、適応的な学習行動、時にはある種の疾病まで加わり（Reisner, 1997）、攻撃の種類として、縄張り性攻撃、捕食性攻撃、優位性攻撃、恐怖性攻撃、同種間攻撃、母性的攻撃、占有性攻撃などがある（Houpt, 1979; Hart, 1980; Beaver, 1983; Borchelt, 1983; Blackshaw, 1985; Blackshaw, 1991; Reisner, 2003）。攻撃性を引き起こす疾病は、関節炎（Houpt & Beaver, 1981）、甲状腺機能低下症（Aronson & Dodman., 1997; Beaver, 2003）、水頭症（Jones et al., 1996）、皮膚炎（Wynchank & Berk, 1998）などがあげられ、遺伝的要素の高い攻撃性に、スプリングースパニエルなどにみられる激怒症候群のような特発性攻撃がある（Podberscek and Serpell, 1996; Reisner, 2003）。

問題行動の改善には、行動修正療法、医学的療法、薬物療法がある。攻撃行動の改善には行動修正法が幅広く行われてきた。行動修正療法とは、学習理論によって、不適切な動物の行動を望ましい行動に変化させるための手法である。動物の問題行動治療において主力となっている行動修正法には、古典的条件付け、オペラント条件づけ、馴化や系統的脱感作などがある。古典的条件付けとは、中性的な刺激が生理的反射を引き起こす刺激「無条件刺激」（Unconditioned stimulus）とともに繰り返し呈示されることによって、単独で

もその生理的反射を引き起こすようになる現象をいう。パブロフ型条件付け、あるいはレスポナント条件付けとも言われる。例えば、犬に「無条件刺激」として「餌」を提示すると、「無条件反応」として唾液の分泌が起こる。餌を与える際に中性刺激であるベルの音を聞かせることで、中性刺激は「条件刺激」(Conditioned stimulus) となり、最終的にベルの音を犬に聞かせるだけで「条件反応」(Conditioned response) として唾液の分泌が促される (Mazur, 1999)。オペラント条件づけとは、ある自発的に生じた行動に対して強化子あるいは罰子を付随提示することによって、その行動の発現が増減(増える場合を強化、減る場合を罰) することである (内田 と 菊水., 2008)。道具的條件づけ、スキナー型条件づけまたはオペラント学習とも呼ばれる。オペラント条件付けにおいて、動物にとって快刺激になるもの、報酬性のあるものは強化子となり得る。例えば、遊び、餌、おやつ、おもちゃなどがあげられる。反対に、嫌悪刺激となるもの、回避行動などを生じさせるものは罰子となり、チョークカラー、電気ショックカラーなどがある。

攻撃行動治療に医学的療法を用いる場合もあり、その中心は雄の去勢である。犬歯切断術が用いられる場合もあるが、対症療法に過ぎず、通常は行動修正療法の補助として用いられる。

近年、向精神薬などによる薬物療法は攻撃行動の治療において幅広く用いられるようになった。攻撃行動はすべてが学習の結果というわけではなく、それゆえ学習法を用いる行動修正療法のみで攻撃性を抑制するのは不十分であると考えられているためである。フル

オキセチン、パロキセチン、セルトラリン、フルボキサミンといった選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) は優位性攻撃行動の抑制に用いられ (Dodman et al., 1996)、クロミプラミンといった三環系抗鬱薬は分離不安や強迫性障害に用いられてきた (King et al., 2000; Hewson et al., 1998)。優位性攻撃行動や特発性攻撃が痙攣性疾患と関連するという確証はないものの (Patterson et al., 2005; Berendt et al., 2008)、フェノバルビタールといったバルビツール系の抗てんかん薬は突発性攻撃行動の治療に有効であるとの報告がある (Dodman et al., 1992)。しかしながら、これら薬物療法は、未だ模索段階にあり、攻撃行動の根本的解決策として確立されているわけではない。生理学的な問題があつて攻撃行動が生じている可能性がある場合には、薬物療法が唯一の治療法になることもある。

犬が過剰なストレスにさらされると、中枢神経系の活動およびホルモン分泌が増加する。ストレスが持続することによって、攻撃行動、肢端性舐炎、恐怖症、破壊行動、無駄吠えなどといった不安関連の問題行動が生じると言われている (McEwen, 2005; Koolhaas, 1997)。攻撃的な犬は、ストレスや不安サインを示すことが多い、と多くの研究で報告されており (Bamberger and Houpt, 2006; Reisner et al., 2007; Rosado et al., 2010)、高濃度の血漿中コルチゾール濃度を呈することが知られている。このように、ストレスと攻撃性との密接な関連が示唆されている。

犬の攻撃行動を緩和するためには、攻撃行動の生理学的メカニズム解明に焦点をあて、解決策を探ることが必要である。末梢からのアプローチによって、ストレスがおよぼす犬

の攻撃行動への影響を検証し、攻撃行動緩和の方法を構築することを目的とした。そこで、本研究では、第1章において、攻撃性との関連が報告されている神経伝達物質であるセロトニン（5-HT）濃度の日内変動の有無について調べ、さらに攻撃行動を呈する犬に日内変動の異常があるのかを検証した。その結果をもとに、第2章においては、ストレスマネジメントのための療法食による攻撃行動緩和の効果を検証した。第3章においては、ハンドリングとホールディングからなる新たな攻撃行動修正療法の有効性を検討した。第4章では第1章～第3章の結果を基に、総合考察を行った。

第1章

攻撃行動を呈する犬と呈さない犬の血漿中 5-HT 濃度および日内変動の比較

第一節 緒論

動物は生命の維持あるいは種族維持のため多様な行動を発現する。動物行動は脳のニューロン活動に基づく神経調節機構と物質的な背景を持つ液性調節機構の相互作用により制御されている。動物の生命活動や行動を作り出す神経情報は、多数のニューロンがシナプスと呼ばれる接続を介して繋がり、神経回路網を形成することから産み出されている。これら神経回路のシナプスでは、「神経伝達物質」によって情報が伝えられる。神経伝達物質はニューロン間の接点すなわちシナプスで放出される化学物質であり、アミノ酸、モノアミン、可燃性ガス、アセチルコリン、神経ペプチドに分類される。モノアミン神経伝達物質には、ドーパミン（以下 DA）、ノルアドレナリン（以下 NA）、アドレナリン（以下 AD）、セロトニン（以下 5-HT）の 4 種類がある。モノアミンは、その構造に基づいて、カテコールアミンとインドールアミンの 2 つのグループに分類される。DA、NA、AD は、カテコールアミンであり、5-HT はトリプトファンから産生され、インドールアミンに分類される。

問題行動の背景には、5-HT、DA、NA、AD などの神経伝達物質の分泌異常や代謝異常などが報告されている（Rogeness et al., 1992; Gregg & Siegel, 2001）。5-HT 神経系は血管収縮、平滑筋への刺激、末梢神経系および中枢神経系の神経伝達に作用する（Kema et al.,

2000)。ヒト (Brown et al., 1979; Placidi et al., 2001) や多くの動物種において (Higley et al., 1992, 1996; Mehlman et al., 1994; Cases et al., 1995; Reisner et al., 1996)、5-HT と攻撃性との関連が指摘されている。ラットの脳脊髄液中 5-HT 濃度と高い頻度の攻撃性表出の間には負の相関が存在したことが知られている (Van Der Vegt, et al., 2003)。また、攻撃的な犬の血清中 5-HT 濃度は攻撃性のない犬に比べ有意に低い濃度を有することが知られている (Çakiroğlu et al., 2007, Rosado et al., 2010)。さらに、血中と脳脊髄液中 5-HT は供給源および機能が異なるにもかかわらず、人および人以外の動物において血中 5-HT と脳脊髄液中 5-HT の正の相関が報告されている (Sarrias et al., 1990; Yan et al., 1993; Sa'nchez et al., 2008)。

近年、時間薬理学 (薬物動態や薬物への感受性に及ぼす生体リズムの影響に関する研究) や、時間治療学 (疾患の病態にみられる日内変動を考慮し、治療に応用する研究) に関する研究が急速に進歩している。日内変動は光パルスや暗パルスによって約 24 時間の周期で変動する。体温、心拍数、血圧、ホルモン分泌、覚醒や睡眠には生理的リズムが存在し (Czeisler et al., 1999)、心的状態も 24 時間周期で変動することが知られている (McClung., 2007)。5-HT には日内変動があることがラット (Sanchez et al., 2008) や人 (Czeisler et al., 1999; Tan et al., 2007) などで知られている。また、鬱病患者、統合失調症患者、自閉症患者において、日内変動の異常があることが多くの研究で報告されている (Pietraszek, et al., 1992; Tsujino et al., 2007; Tan et al., 2007)。しかしながら、犬においては 5-HT の日

内変動を明らかにした研究はなく、本稿が最初である。犬においては、夜間の脳脊髄液中 5-HT 濃度が低くなるため攻撃的になりやすいとされるジキル & ハイド症候群が逸話的に語られているが、科学的検証はない。犬の 5-HT の日内変動の有無および攻撃行動を呈する犬における日内変動異常の有無を明らかにすることによって、攻撃行動の新たな診断法や治療法につながると考えられる。

以上のことから、第 1 章では、犬の血漿中 5-HT 濃度の日内変動の有無について検証し、攻撃行動を呈する犬における日内変動異常の有無を検証した。

第2節 方法

2-1 供試動物

一般家庭および麻布大学獣医学部介在動物学研究室で飼育されている攻撃行動を呈する犬5頭（雌1頭、雄4頭、平均年齢 4.8 ± 0.9 、攻撃行動を呈さない犬5頭（雌3頭、雄2頭、平均年齢 6 ± 2.0 ）を供試動物とした（Table 1）。1歳未満の犬、神経疾患の既往歴のある犬、行動修正療法を受けた犬、向精神薬の投与歴のある犬、妊娠犬は除外した。攻撃性の評価には Canine Behavioral Assessment and Research Questionnaire (C-BARQ) (Hsu and Serpell, 2003) を用いた。C-BARQ は犬の問題行動の度合や有病率を評価する『犬の行動解析システム』である。特定の質問を用いることによって、見知らぬ人への攻撃（全10問）、飼い主への攻撃（全8問）、見知らぬ人への恐怖（全4問）、非社会的恐怖（全6問）、接触過敏性（全4問）といった項目を評価することができる。全質問は0から4の5段階のスケールで回答され（0=なし、1=ときどき、2=しばしば、3=たいてい、4=いつも）、項目ごとの平均値で評価を行った。見知らぬ人への攻撃または飼い主への攻撃のスコアが1以上の犬を実験群とし、全ての項目のスコアが1未満の問題行動を呈さない犬をコントロール群とした。

Table 1

Breed, sex, age of the dogs enrolled in the study.

M=male, NM=neutered male, F=female, NF=neutered female. ID # 1~5 = Non-aggressive dogs.

ID# 6~10 = Aggressive dogs.

ID	Breed	Sex	Age	Aggression
1	Standard Poodle	F	3	No
2	Shiba	NF	4	No
3	Flat Coated Retriever	NF	7	No
4	Labrador Retriever	M	7	No
5	Miniature Bull Terrier	NM	3	No
6	Standard Poodle	NM	2	Yes
7	Shiba	M	13	Yes
8	Labrador Retriever	F	4	Yes
9	Miniature Bull Terrier	NM	3	Yes
10	Miniature Bull Terrier	NM	8	Yes

2-2 実験手順

2-2-1 血液採取

血液採取は昼夜の長さがほぼ等しい春分前後に行った。採血馴致を含め採血に対するストレスを最小限にとどめるように配慮した。採血時間は、8:00、10:00、12:00、14:00、16:00、18:00、20:00 の 2 時間毎に設定した。左右前肢を交互に、撓側皮静脈から 1.5mL 採取した。採取した血液は EDTA 入りチューブに入れ、静かに攪拌し、即ちに氷中で保存した後、遠心分離器で 4℃、1000g で 15 分間遠心分離した。血漿は分注し、-80℃

で保存した。

2-2-2 血漿中 5-HT 濃度の測定

血漿中 5-HT の抽出は、Fukui et al.(1993)の方法を一部改変して行った。さらに、Ohtani et al.(1999)の方法を一部改変して高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて 5-HT 濃度を測定した。100 μ L の血漿、除蛋白のための 100 μ L の 0.5mol/L 過塩素酸、内部標準物質として 10 μ L の isoproterenol hydrochloride (100pg/ μ L) を限外ろ過装置 (Amicon Centrifree; Millipore) に注入し、15 秒間ボルテックスした後、4 $^{\circ}$ C、2000 g、15 分間で遠心分離した。上清をオートサンプラー用のバイアルに注入して HPLC 分析を行った。Waters Alliance システム (e2695 セパレーションモジュール、2465 電気化学検出器) (Waters Corp, Milford, USA)を用い、グラッシィカーボン作用電極に+0.4 V の電位をかけて HPLC 分析を行った。データ処理には Empower Pro ソフトウェア (Waters Technologies, Milford, USA) を、逆相カラムは EICOMPAK, CA-5 ODS、2.1 \times 150 mm (EICOM, Kyoto, Japan)を用いた。移動相 (80%0.1Mリン酸緩衝液、50mg/L EDTA \cdot 2Na, 400 mg/L オクタンスルホン酸ナトリウム、20 % メタノール) は pH 6.0 に調節し、0.15mL/min の流速で分析した。

2-2-3 統計解析

郡内および群間の2時間ごとの経時変化および群間比較を、Repeated measure ANOVAを用いて重複測定分散分析を行った。結果は全て平均値±標準誤差で表し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。統計ソフトはOMS Statcel 2（オーエムエス出版，埼玉）を使用した。

第3節 結果

3-1 血漿中 5-HT 濃度の日内変動の群内比較

12時間の血漿中 5-HT 濃度変動を Fig.1 に示した。コントロール群の血漿中 5-HT 濃度は、1.01ng/mL から 41.02ng/mL の範囲で、実験群の血漿中 5-HT 濃度は、3.18ng/mL から 93.99ng/mL の範囲にあった。両群において、有意な日内変動が見られた (Repeated measure ANOVA, $F = 6.5$, $df = 1$, $p < 0.05$)。実験群ではコントロール群と異なる日内変動が見られた (repeated measure ANOVA, $F = 17.44$, $df = 6$, $p < 0.01$,)。また、実験群の血漿中 5-HT 濃度はコントロール群に比べて有意に高い濃度を示した (repeated measure ANOVA, $F = 3.61$, $df = 6$ test, $F = p < 0.05$)。

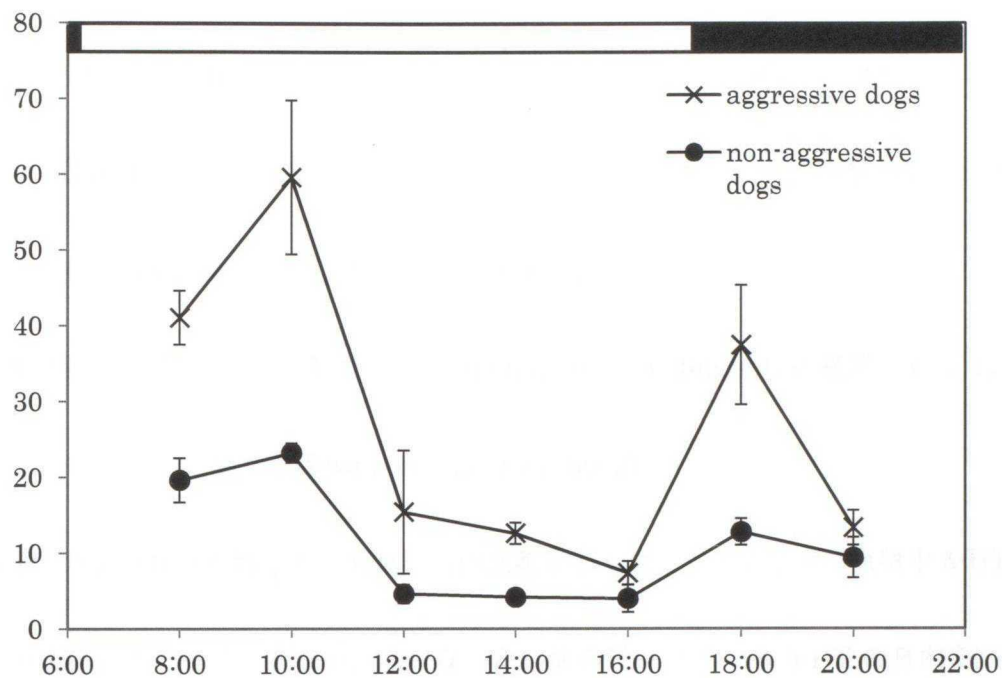


Fig. 1

Levels of serotonin in plasma of the aggressive and non-aggressive dogs over a 12-hr period. Each value represents the mean \pm SEM of 4 determinations performed in duplicate. Black and white stripes of top of the graphic represents the dark and light duration of the natural photoperiod.

第4節 考察

本実験では、犬の血漿中 5-HT 濃度の日内変動の有無について調査し、攻撃行動を呈する実験群と問題行動を呈さないコントロール群を比較することにより、攻撃行動を呈する犬に 5-HT の日内変動に異常があるのかどうかを明らかにした。

本実験で得た血漿中 5-HT 濃度は、1.01ng/mL から 93.99ng/mL の範囲であった。この結果は、先行研究と一致する(Riva et al., 2008)(Table 2)。

実験群、コントロール群ともに有意な日内変動を示したことから、犬の血漿中 5-HT 濃度にも日内変動が存在することが明らかとなった。他の動物における 5-HT の日内変動では、2 点の最大ピークが早朝および日没直後に見られたことから、5-HT の日内変動が明暗条件によってコントロールされている可能性が報告された (Sánchez et al., 2008; Paredes et al., 2006)。しかしながら、本実験においては、2 点のピークが 10 時 (日の出から約 4 時間後) および 18 時 (日没から約 1 時間後) に見られたことから、血漿中 5-HT 濃度の日内変動は明暗条件によってコントロールされているとは言えなかった。

攻撃行動を呈する犬はコントロール群に比べて高濃度の血漿中 5-HT 濃度を示したことから、5-HT 神経系が攻撃行動に深く関わっていると言えるだろう。本章の結果は、血漿中 5-HT 濃度と攻撃性との相関があるとした先行研究 (Zhou et al., 2006) の結果とも一致する。以上のことから、血漿中 5-HT 濃度は、攻撃行動の研究におけるパラメーターとして、また、診断基準として役立つと考えられる。Riva (2008) は、不安症の犬は(36.64ng/mL)

コントロール犬 (5.94ng/mL) に比べて有意に高い血漿中 5-HT 濃度を有すると報告している。攻撃行動を呈する犬は不安症を呈する犬と似た神経機構を有する可能性があると考えられる。先行研究においても、攻撃行動を呈する犬は、高濃度のコルチゾールを有することが知られており (Rosado et al., 2010)、視床下部のセロトニン受容体が活性化することによって HPA 軸が刺激される (Bagdy, 1996) との報告もある。以上のように、攻撃とストレスとの強い関連がさらに示唆される結果となった。

Table 2

Plasma concentrations (means \pm SD) in different species of serotonin (5-HT) according to the literatures.

	Plasma (ng/ml)	References
Dog	171.0 \pm 14.6	Da Prada and Picotti. (1979)
	5.94 \pm 3.20	Riva. (2008)
Human	4.7 \pm 0.6	Benedict et al. (1986)
Rabbit	6.69 \pm 1.70	Da Prada and Picotti (1979)
Mice	8.75 \pm 0.15	Yamamoto et al. (1986)

第2章

食餌療法による攻撃行動および不安関連問題行動への効果の検証

第1節 緒論

不安症は犬の主な問題行動の一つであることはよく知られており (Beata et al., 2007)、第1章でも述べたように、これらの問題行動は飼い主やその家族にとって深刻な問題となっている。不安は、ストレス状況に対処できない時に発生する心的状態である。したがって、ストレスに対する脆弱性を弱めることによって、攻撃行動や不安関連の問題行動を緩和する可能性が高いと考えられる。

飼料栄養組成は犬の行動に影響を与えることが知られている。引っ越し、車での移動、赤ちゃんの誕生、動物病院での診察といった特定の状況や急性ストレスが想定される状況下では、一定の栄養素の摂取によってストレスに対する脆弱性に影響を与えることが知られている (Lehnert et al., 1984; Grimmitt & Sillence, 2004)。神経伝達物質は行動を制御し、栄養組成の変化はこれらの前駆物質の供給量に影響を与える。神経伝達物質の分泌や受容をコントロールし、伝達障害を調節する向精神薬は行動障害の治療に広く用いられてきた。しかしながら、中毒性や副作用への心配により多くの犬の飼い主は向精神薬の使用に積極的ではない。栄養素は薬に比べて毒性や副作用が少ない。よって、栄養素による行動障害の管理は犬とその飼い主双方にとって有益なものである。

α -カソゼピンの生理的作用は、ベンゾジアゼピン系抗不安薬と多くの相似点を有する。ガ

ンマアミノ酪酸 (GABA) と親和性を有し (Miclo, et al., 2001)、脳内のベンゾジアゼピン受容体と親和性を有することから GABA の活性を強化する (Beata et al., 2007)。GABA は不安やストレス要因の障害に抑制作用をもたらす神経伝達物質として広く知られている (Sanacora et al., 2007)。Beata (2007) は、 α -カソゼピンとコントロール抗不安作用分子である塩酸セレギリンとの比較研究において、犬の EDED (Emotional Disorders Evaluation on Dogs) 行動スコアは両群において同等であったと報告している。

アミノ酸は神経伝達物質生成の前駆体であり、L-トリプトファンは 5-HT の前駆物質である (Fernstorm, 1983)。トリプトファン投与によって脳内 5-HT 合成が増加することがラット (Aschcroft et al., 1965) および人 (Eccleston et al., 1970) で古くから知られている。トリプトファンによって誘発された脳内 5-HT 作動活性は、気分、攻撃性、ストレス耐性といった多くの行動に影響を与える (Leathwood, 1987; van Hierden, 2004; Koopmans et al., 2005)。De Napoli (2000) は、L-トリプトファン/LNAA 比の高い食餌が犬の行動に影響を与えると報告している。

第 1 章の結果から、攻撃行動を呈する犬は不安症を呈する犬と似た神経機構を有する可能性が考えられ、攻撃とストレスとの関連が示唆された。ゆえに、第 2 章では、ストレスマネジメントのための療法食を用いて、一般家庭犬の不安関連の問題行動および攻撃行動への効果を検証した。実験食の主要成分は、動物の情緒の制御に影響を与える栄養素を配する組成となっている。落ち着き効果を期待した成分 α -カソゼピン (for dogs under 15

kg: 20 mg·kg⁻¹·day⁻¹)、および高 L-トリプトファン/LNAA 比 (Trp/LNAA 比=0.048) が配合されている。

コルチゾールはストレス状況下においてその濃度が上昇することが報告されている。(Beerda et al., 1998, 1999; Vincent & Michell, 1992)。身体的および心理的ストレスは、犬の唾液中および尿中コルチゾール排出を上昇させる (Dreschel & Granger, 2005; Belgamasco et al., 2010; Horváth et al., 2007)。尿中コルチゾール濃度のモニタリングは、非侵襲的な犬のストレス指標として有益である (Beerda et al., 1996)。尿中コルチゾール濃度の定量的測定は尿中コルチゾール/クレアチニン比 (以下 UCCR) によって求めることができる。多くの先行研究によって、犬において、引っ越しや動物病院での診察といったストレス状況下においては、UCCR が増加することが知られている (van Vonderen et al., 1998; Beerda et al., 1998)。

実験食はストレスが想定される環境における犬の心理的マネジメントへの適応に役立つような組成となっている。動物病院での診察は多くの犬にとってストレスの多い状況として報告されている (van Vonderen et al., 1998)。そこで、本章では、動物病院での爪切りをストレッサーとして、ストレスに対する脆弱性への実験食の効果を C-BARQ および UCCR を用いて検証し、ストレス緩和による攻撃行動への効果を明らかにした。

第2節 方法

2-1 供試動物

一般家庭で個別飼育されている不安レベルの高い犬 44 頭（雌 21 頭、雄 23 頭、平均年齢 4.02 ± 0.34 、平均体重 = $5.96 \pm 0.56\text{kg}$ ）が参加した。1 歳未満の犬、神経疾患の既往歴のある犬、行動修正療法を受けた犬、向精神薬の投与歴のある犬、13kg 以上の犬、妊娠犬は除外した。不安レベルの高い犬のみを用いるため、初期スクリーニングにおいて、C-BARQ (Hsu & Serpell, 2003) の答えが 0 または 1 のみの個体は除外した。参加した 44 頭のうち、28 頭（雌 14 頭、雄 14 頭、平均年齢 4.32 ± 2.02 、平均体重 = $5.29 \pm 3.23\text{kg}$ ）が給与試験を完了した (Table 3)。16 頭が試験を中止または脱落した（全体の 36.36%）。試験中止・脱落の理由は以下のとおりである：治験フードとは関係ない理由(引っ越し、飼い主の入院など)=4 頭、投薬を始めたため=2 頭、治験フードを食べない=3 頭、健康状態の悪化（治験フードが原因ではない）=3、治験計画の不遵守=4。

犬種	性別	年齢 (歳)	体重 (kg)
Miniature Bull Terrier	♂	10.7	
Miniature Dachshund	♀	4.1	
Miniature Doberman Pinscher	♀	5	
Miniature Dachshund	♀	8	
Maltese	♀	7	8
Welsh Corgi Pembroke	♀	4	
Welsh Corgi Pembroke	♂	4	
Mix	♀	6	
Mix	♂	8	12.7
Mix	♀	6	

Table 3

Breed, gender, age, and weight of the dogs enrolled in the study.

ID	Breed	gender	Age	Weight
1	Chihuahua	♀	1	1.9
2	Chihuahua	♂	2	1.8
3	Chihuahua	♂	8	3.2
4	Chihuahua	♀	7	3.1
5	Chihuahua	♀	3	1.5
6	Chihuahua	♀	1	1.4
7	Chihuahua	♂	3	2.2
8	Chihuahua	♂	5	4
9	Chihuahua	♀	5	4.2
10	Chihuahua	♂	5	2.2
11	Chihuahua	♂	2	4.3
12	Chihuahua	♂	6	4
13	Toy Poodle	♂	3	4
14	Toy Poodle	♀	5	3
15	Shiba	♂	4	8.9
16	Shiba	♀	4	7.3
17	Jack Russel Terrier	♂	3	7
18	Miniature Bull Terrier	♂	5	11
19	Miniature Bull Terrier	♂	5	10.7
20	Miniature Dachshund	♀	2	4.8
21	Miniature Dachshund	♀	5	5
22	Miniature Dachshund	♀	7	5
23	Maltese	♂	8	2.8
24	Welsh Corgi Pembroke	♀	4	9
25	Welsh Corgi Pembroke	♀	1	12.6
26	Mix	♂	6	4.8
27	Mix	♀	5	8.6
28	Mix	♀	6	9.8

2-2 実験手順

2-2-1 給与試験

一重盲検クロスオーバー給与試験をコントロール食を用いて行った。実験食とコントロール食はフードA、フードBと記載した白いパッケージに封入することによって、実験期間を通して、中身がどちらのフードか飼い主に分からないようにした。ロイヤルカナン社製のメンテナンスフード (Vets plan セレクトスキンケア) をコントロール食として使用した。実験食およびコントロール食の栄養分析値はTable 4 のとおりである。それぞれのフードは8週間給与し、前のフードから新しいフードへ切り替える際には、1週間の移行期間を各フードの給与間に設けた。飼い主には実験食またはコントロール食のみを1日2回（朝、夕）給与するように指導した (Fig. 2-1)。給与期間中は全ての副食の給与を行わないよう飼い主に指示した。

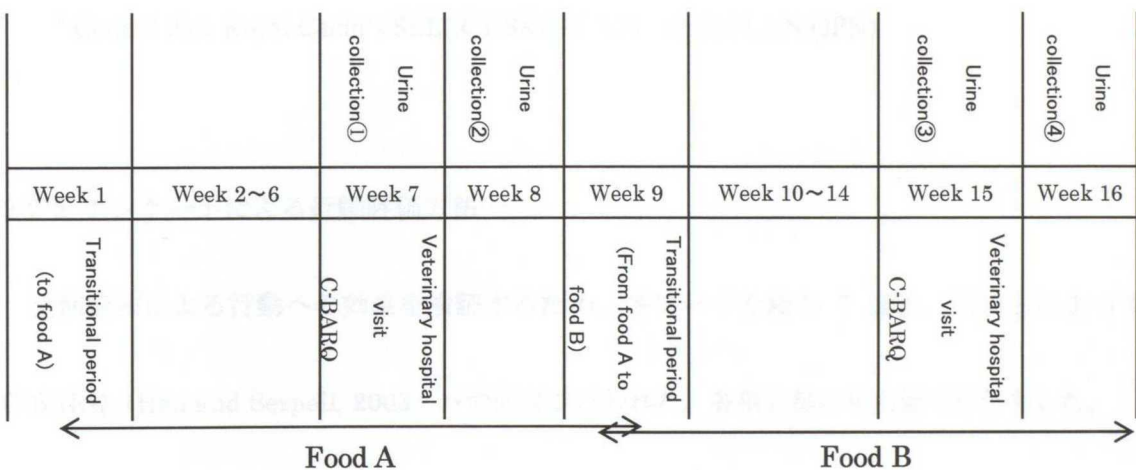


Fig. 2-1. Experimental procedure

Table 4. Analyzed nutrient composition of the diets.

Nutrients	Diet	
	Study ^b (g/kg dry matter)	Control ^c (g/kg dry matter)
Dry matter (g/kg)	920.0	920.0
Ash	78.26	56.52
NFE ^a	459.78	541.30
Protein	271.74	239.13
Fat	173.91	152.17
Crude fiber	16.3	10.87
Linoleic acid	35.65	41.30
Arachidonic acid	0.76	0.54
Isoleucine	9.78	10.11
Leucine	18.7	17.5
Phenylalanine	10.43	8.26
Tyrosine	8.37	9.02
Valine	12.07	12.5
Tryptophan	3.04	2.83
alpha-casozepin	1.35	0

^a Calculated N-free extract.

^b Study diet, Royal Canin's CALM CANINE

^c Control diet, Royal Canin's SELECT SKIN CARE VETSPLAN (JPN)

2-2-2 アンケートによる行動評価方法

食餌療法による行動への効果を検証するため、各フードを給与 7 週後、飼い主によって

C-BARQ (Hsu and Serpell, 2003) への回答が行われた。各項目毎の平均値で評価をした。

2-2-3 採尿

それぞれのフードの給与7週後、UCCR測定のために2回の採尿を行った。1回目の採尿は動物病院来院から2時間後に家庭内にて飼い主によって行われ、PostストレスUCCRとした。2回目の採尿は家庭での安静時（特別なイベントやストレス状況がない日）に飼い主によって行われ、基礎UCCRとした。2回目の採尿は日内変動を避けるため、1回目と同じ時間帯に実施するよう依頼した。採取した尿は家庭用冷凍庫で凍結した上で、後日、冷凍タイプの宅急便にて送ってもらい、 -20°C にて分析まで保存した。

2-2-4 UCCR分析

尿中コルチゾール濃度分析は酵素免疫測定法 (Assay designs, Inc., MI, USA)を用いて、抽出はせず、直接法にて測定した。尿中クレアチニン濃度の測定には Jaffe 反応を用いた。

2-2-5 統計解析

コントロール食投与中と実験食投与中の C-BARQ による点数はそれぞれの項目で平均し、paired t-test を用いて比較した。また、paired t-test を用いてコントロール食および実験食内の基礎 UCCR および Post ストレスUCCR を解析した。フード間の比較には、Bonferroni/Dunn test を用いて多重比較検定を行って神経活性の変化を比較した。結果は全て平均値±標準誤差で表した。

第3節 結果

3-1 各フード間における行動の比較

アンケート調査によって得られたC-BARQによる行動指標のスコアはTable 5に示した。

「飼い主への攻撃」(paired t-test: $n = 28$, $t = 0.61$, $P = 0.275$)を除くすべてのパラメータにおいて、実験食給与中の平均値はコントロール食給与中に比べて有意な減少を示した (paired t-test: $n = 28$, $P < 0.05$)。

Table 5. Owner-reported scores on 5 comparable questionnaire factors for dogs that were fed the control diet or the study diet ($n = 28$).

Scores were measured on a 5-point scale: 0 (not performed) to 4 (excessive). Paired t-tests were used to examine differences between the control and the study diet groups.

Parameter	Control		Study		Result	Paired t-test value
	Mean	SEM	Mean	SEM		
Stranger-directed aggression	1.25	0.22	0.85	0.20	significance	$P = 0.014$, $t = 2.44$ $df = 15$
Owner-directed aggression	0.47	0.07	0.43	0.07	Non-significance	$P = 0.275$, $t = 0.61$ $df = 17$
Stranger-directed fear	1.51	0.22	1.15	0.14	significance	$P = 0.014$, $t = 3.08$ $df = 22$
Non-social fear	1.44	0.22	1.20	0.23	significance	$P = 0.031$, $t = 2.00$ $df = 17$
Touch sensitivity	1.34	0.14	1.01	0.12	significance	$P < 0.001$, $t = 3.56$ $df = 25$

3-2 各フード間における UCCR の比較

基礎 UCCR は、 12.84×10^{-6} から 75.04×10^{-6} の範囲を示した。各フードにおける基礎 UCCR に有意差は見られなかった (paired t-test: $n = 28$, $P=0.26$) (Fig. 2-2)。実験食給与中の Post ストレッサー-UCCR ($32.17 \pm 0.21 \times 10^{-6}$) は、コントロール食給与中の Post ストレッサー-UCCR ($39.61 \pm 0.3 \times 10^{-6}$) に比べて有意に低い値を示した (paired t-test: $n = 28$, $P < 0.01$)。

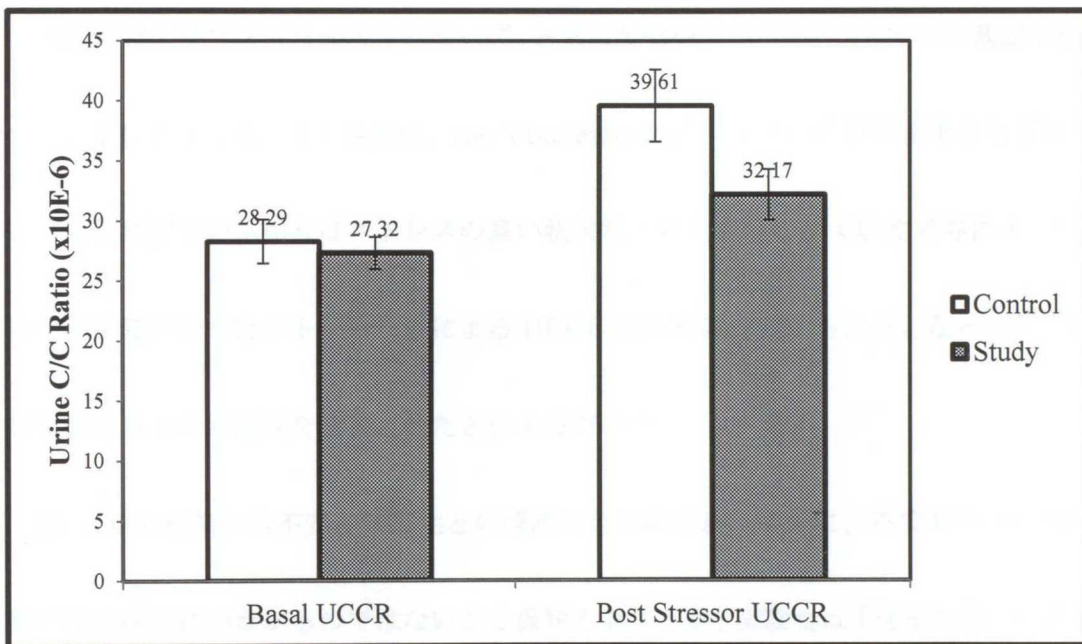


Fig. 2-2 Means and standard errors (SEM) of urine cortisol to creatinine ratio (UCCR) for dogs that were fed the control diet and the study diet ($n = 28$). Paired t-tests were used to examine differences between the control and study diet groups.

第4節 考察

本研究のクロスオーバー給与試験では、実験食の給与によって、「見知らぬ人への恐怖」、「非社会的恐怖」、「接触過敏性」、といった特定の不安関連の問題行動が緩和された。過去の研究では、トリプトファン添加した食餌の給与は不安関連の問題行動に有意な改善を示さなかった (Bosch et al., 2009)。不安レベルの高い犬のみを対象犬とした点が Bosch et al. の研究と本研究が異なる点である。この条件の違いにより、トリプトファン添加による不安緩和の効果がより大きく作用した可能性が考えられる。

実験食およびコントロール食において、ともに動物病院来院後の UCCR は基礎 UCCR より高い濃度を示した。この結果は、van Vonderen et al. (1998) の研究結果とも合致している。動物病院での爪切りはストレスの高い状況だと考えられる。実験食給与によって、動物病院来院といったストレスによる UCCR 増加を減少させることとなった。実験食は効果的にストレス耐性を改善させたといえるだろう。

第1章の結果から不安と攻撃性との関連性が示唆されたゆえに、不安レベルの緩和は攻撃行動の緩和につながるのではないかと仮説を立てたが、実験食は「見知らぬ人への攻撃」は改善させたものの、「飼い主への攻撃」には改善を示さなかった。Blackshaw (1991) の研究によると、支配性攻撃行動は、家族のメンバーを対象とし、恐怖性攻撃行動は、見知らぬ人や子供を対象としていた。それゆえに、本研究における「飼い主への攻撃」は、恐怖性攻撃ではなく、支配性攻撃だった可能性が高かったかもしれない。また、C-BARQ の

「飼い主への攻撃」に関する 8 問の質問のうち、4 問が玩具やフードに関連する攻撃であるため、占有性攻撃が高かったと言える。「見知らぬ人への攻撃」は、身を脅かす状況において発現することが多いことから (Perez-Guisado et al., 2009)、本研究における「見知らぬ人への攻撃」は、見知らぬ人を近づけないようにする防御的行動であり、不安や恐怖に関連していた可能性が高いと考えられる。これらの違いが、実験食の給与が「飼い主への攻撃」に効果を示さなかった理由の一つかもしれない。実験食は、不安や恐怖に関連する攻撃性に対する緩和効果が高いと考えられる。第 1 章で述べたように、犬の攻撃には、縄張り性攻撃、捕食性攻撃、優位性攻撃、恐怖性攻撃、同種間攻撃、母性的攻撃、占有性攻撃など様々な種類の攻撃行動がある (Blackshaw, 1991)。実験食の攻撃行動への効果を明らかにするには、攻撃の種類の特定に配慮した研究が必要である。

近年、薬物療法は問題行動の治療法として用いられてきた。しかしながら、多くの飼い主は薬による副作用、中毒性、退薬症候を心配している。薬物依存は、行動治療薬の長期投与によって生じることがある。これらのことから、犬の飼い主は天然由来のものを好む傾向がある。本研究においても、実験期間中、全ての犬において嘔吐、嗜眠、下痢といった副作用は見られなかった。向精神薬と異なり、実験食は安全であり、必要な場合は一生使い続けることができる。また、薬の投与が苦手な犬は多く、抵抗する犬に薬を投与することは飼い主にとっては大きな負担となる。食餌療法は毎日の食事として気軽に行うことができる点が大きな利点である。このように、食餌療法による攻撃行動や不安関連の問題行動の緩和は飼い主にとって有益な方法

であるといえよう。加えて、不安症や恐怖症(特に「見知らぬ人への恐怖」)は、健康や犬の寿命に負の影響を与えることが知られており (Dreschel, 2010) 、食餌によるストレスマネジメントおよび不安関連の問題行動の緩和は、犬の健康や寿命にも貢献することが期待される。

第3章

ハンドリングとホールディングを用いた行動修正療法の有効性の検討

第1節 緒論

第2章において、 α -カンゼピンおよび高トリプトファン/LNAA 比を配合した実験食による食餌療法は、「見知らぬ人への攻撃」は改善させたが、「飼い主への攻撃」には改善を示さなかった。そこで、第3章では、ハンドリングとホールディングを用いた行動修正療法の効果について検討した。

犬の訓練は、軍用犬の訓練に用いられた系統だった方法から始まり、陰性強化を主とする方法が1980年代後半まで広く用いられてきたが、パブロフやスキナーの学習理論に基づいた陽性強化トレーニングが1990年代前半に欧米から伝わると、日本でも正の強化のみを用いる陽性強化法が主流となってきた。陽性強化法とは、犬の自発的な良い行動に対してフードや玩具などの強化子（快刺激）を与え、さらに良い結果を誘導する反応強化法である。近年、正の罰子（弁別刺激によって誘発されたオペラント反応の出現確率を嫌悪刺激によって低めること）を用いる陰性強化は適切ではないとされる傾向がある。

マウズィング（甘噛み）、咬みつき行動、そしてニッピング（前歯で軽く噛むこと）は、幼い子犬にとって正常な行動であり自然な行動である。飼い主にめったに咬み付いてこない子犬は、咬みつきが良くない行動だということを学習する機会を失ってしまう。咬む力をコントロールするといった学習経験もないまま、成犬になってしまうことになる。こう

した犬の咬みつき傾向は、青年期や成犬になって突然、恐怖性攻撃行動や防御的攻撃行動として発現する可能性がある。子犬の咬みつきにおいて問題となるのは、咬みつきを制止した後でもなお、そうした行動を続けることにある。したがって、飼い主は、この咬みつき行動を抑制するよう子犬に教える必要がある。Dunbar (2003) は、子犬の咬みつきにはハンドリングレッスンが極めて有効であり、青年期に達してからの攻撃行動の予防となると述べている。ハンドリングとは人に触られることに馴化させるための行動修正法である (Pedersen & Jeppesen, 1990; Sighieri et al., 2006)。新生子期のハンドリングや適度な刺激は、情緒的安定に影響を与え、ストレスの脆弱性を弱めることがラットや犬で知られている (Nunez et al., 1997; Gazzano et al., 2007)。また、Sighieri et al. (2006) は、臨界期にハンドリングを受けた犬は、動物の福祉の行動指標とされている探索行動をより多く行ったとの報告をしている。しかしながら、多くの飼い主はハンドリングを十分に、または適切に行っておらず、そのため、子犬の咬みつき行動をコントロールできないまま、青年期を迎え、攻撃行動という深刻な問題へと発展してしまうことが多い。

ホールディングは犬を仰向けにして保定することによって犬の抵抗や咬みつきを抑制する行動修正法であり、拘束静止法とも呼ばれる。攻撃性のある子供にホールディングセラピーを行うと攻撃性が緩和されたことが明らかとなっている (Myeroff et al., 1999)。しかしながら、犬との主従関係を築くためにホールディングを用いることは、威圧的な嫌悪刺激であると考えられるトレーナーが多い。一方で、正しい主従関係を築くためにホールディン

グは有効であるとするトレーナーも多い。そもそも、ホールディングが嫌悪刺激であるかどうか、ということ自体が明らかになっていない。Grandin (1992) によると、自閉症、不安症、そして接触過敏性において、ホールディングセラピー(抱っこ療法; 身体拘束療法)は、不安緩和において有効であると報告している。体を締め付けることによって受けるディープタッチプレッシャーが、極度の不安状態を緩和し、心的状態を落ち着かせる作用がある。ホールディングによる自閉症患者への落ち着き効果は他の多くの研究でも明らかになっている (Imamura et al., 1990; Edelson et al., 1999; McClure & Holtz-Yotz, 1991; Blairs et al., 2007)。Tagaki & Kobagasi (1956) によると、抱きしめながら触るディープタッチプレッシャーは心拍数や呼吸数を減少させ、表面を軽く触るライトタッチプレッシャーは、心拍数や呼吸数の増加を生じさせると報告している。これらのことから、ホールディングは嫌悪刺激ではなく、不安を緩和する快刺激である可能性が考えられる。

生体が危害や脅威にさらされると、ストレス反応として生理学的変化が生じ、中枢神経系は次の 2 つの内分泌反応を引き起こす。ストレッサーは神経回路に作用し、下垂体前葉からの副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) の放出を刺激し、副腎皮質からのグルココルチコイドを放出する。また、視床下部への不快刺激により交感神経系を活性化して交感神経末端から神経伝達物質である NA および AD を放出させる。

本章では、ハンドリングとホールディングからなる新たな攻撃行動修正療法の有効性を行動学的指標および生理学的指標を用いて検討した。行動学的指標としては、第 1 章でも

用いた C-BARQ に加えて Aggression test を採用した。生理学的指標として、第 1 章で明らかになった攻撃行動を呈する犬の血漿中 5-HT 濃度の傾向を基に、実験開始前後の血漿中 5-HT 濃度を比較した。また、ホールディングによるストレスを調べるために、血漿中 CA (NA, AD) の測定を行った。先述したとおり、人に対する攻撃行動によって放棄される犬の数は多く、安楽死される犬の数も少なくない。そこで、実験前後に飼い主の犬への愛着度を調べる Lexington Attachment to Pets Scale (LAPS) を行った。LAPS は、Johnson et al. (1992) によって開発された、ペットに対する愛着を測定する自記式の尺度である (桜井, 2003)。これらの客観的評価を用いて新たな行動修正療法構築のための要因を検証した。

第2節 方法

2-1 供試動物

一般家庭および麻布大学獣医学部介在動物学研究室で飼育されている攻撃行動を呈する犬10頭（雌2頭、雄8頭、平均年齢 2.0 ± 2.4 ）を供試動物とした（Table 6）。1歳未満の犬、神経疾患の既往歴のある犬、行動修正療法を受けた犬、向精神薬の投与歴のある犬、妊娠犬は除外した。ID#10の飼い主が4週目に脱落し、9頭（雌2頭、雄7頭、平均年齢 2.2 ± 2.5 ）が実験を完了した。脱落した飼い主による脱落理由は、「犬の世話が困難なため犬を放棄したい」であった。

Table 6. Breed, Age, gender, neutering status of the dogs enrolled in the study.

M=male, NM=neutered male, F=female, NF=neutered female.

ID	Breed	Age	Gender	ID	Breed	Age	Gender
1	Maltese	1	M	6	Miniature Bull Terrier	0.5	M
2	Chihuahua	0.6	M	7	Pomeranian	3	NF
3	Miniature Bull Terrier	1	NM	8	Shiba	0.8	NM
4	Miniature Bull Terrier	8	NM	9	Labrador Retriever	4	NF
5	Miniature Bull terrier	0.5	NM	10	Shiba	1	M

2-2 実験手順

2-2-1 行動修正方法

ハンドリングとホールディングからなる新たな行動修正療法の行動学および生理学的効果を検証するため、5週間の行動修正プログラムを行った。プログラムでは Gazzano et al. (2008) の方法を参考にして、飼い主に犬のハンドリングを指導した。ハンドリングでは、膝の上で犬を仰向けにした状態で、耳から始まり、頭部、鼻、口、首、胴、背中、足、尾まで体全体にディープタッチプレッシャーを加えながら触った。ハンドリング中に犬がリラックスできるよう、犬に静かに話しかけるよう飼い主に指導した。犬がハンドリングに抵抗する場合、飼い主がホールディングを行い、強制的に遂行させた。プログラムを飼い主が確実に遂行するため、開始日から1週毎に個人指導を麻布大学（神奈川県相模原市淵野辺 1-17-71、7号館 306 教室）にて行った。各家庭においても、各個体 15分からなる1セッションを飼い主が1日2回行った。プログラムの実施は同一の飼い主によって終始行われた。

2-2-2 アンケートによる行動評価方法

行動修正プログラムによる行動への効果を検証するため、実験開始日 (pre) および実験終了日 (post) に C-BARQ (Hsu & Serpell, 2003) の「飼い主への攻撃」および「見知らぬ人への攻撃」の2項目を用いて、飼い主にアンケート調査を行った。項目ごとの平均値で評価

を行った。

2-2-3 行動テストによる行動評価方法

C-BARQ のように、飼い主によって評価を行う間接方法と、動物の行動を直接観察して評価を行う直接法では、スコアに差異が生じる、との報告があることから、直接法である Netto & Planta (1997) の Aggression Test に改変を加えた 11 項目 (Table 7) を実験開始日 (pre) および実験終了日 (post) に麻布大学 (神奈川県相模原市淵野辺 1-17-71、7 号館 306 教室) にて実施した。テスト中の行動は、デジタルビデオカメラ (JVC GZ-HD500-S) を用いて録画した。全項目は A-5point Gutmann-scale (DeVellis,1991)を用いて、1 から 5 の 5 段階のスケールで採点された (1 = 攻撃行動なし、2 = 唸る、および/または吠える、3 = 歯をむく、4 = 空咬み (離れた距離から噛む動きをみせる)、5 = 噛む、または噛む意志を持って攻撃する)。これらの採点法によって、項目ごとの平均値で評価を行った。1~5 の項目は、「飼い主への攻撃性」を評価する項目、6 ~ 11 は「見知らぬ人への攻撃性」を評価する項目となっている。実験室の様子は Fig. 3-1 に示した。犬に飼い主の手が届かない程度の距離に飼い主用の椅子を設置した。そうすることによって、飼い主に犬が飛びついたり、飼い主が犬を撫でたりするのを防いだ。Aggression Test で用いた偽物の手 (artificial hand) には、棒が付いており、シャツの袖で自分の手を隠すことによって、偽物だと分かりにくいようになっており、多くの行動テストで用いられている (O'Farrell, 1986; Mugford & Gupta, 1984)。

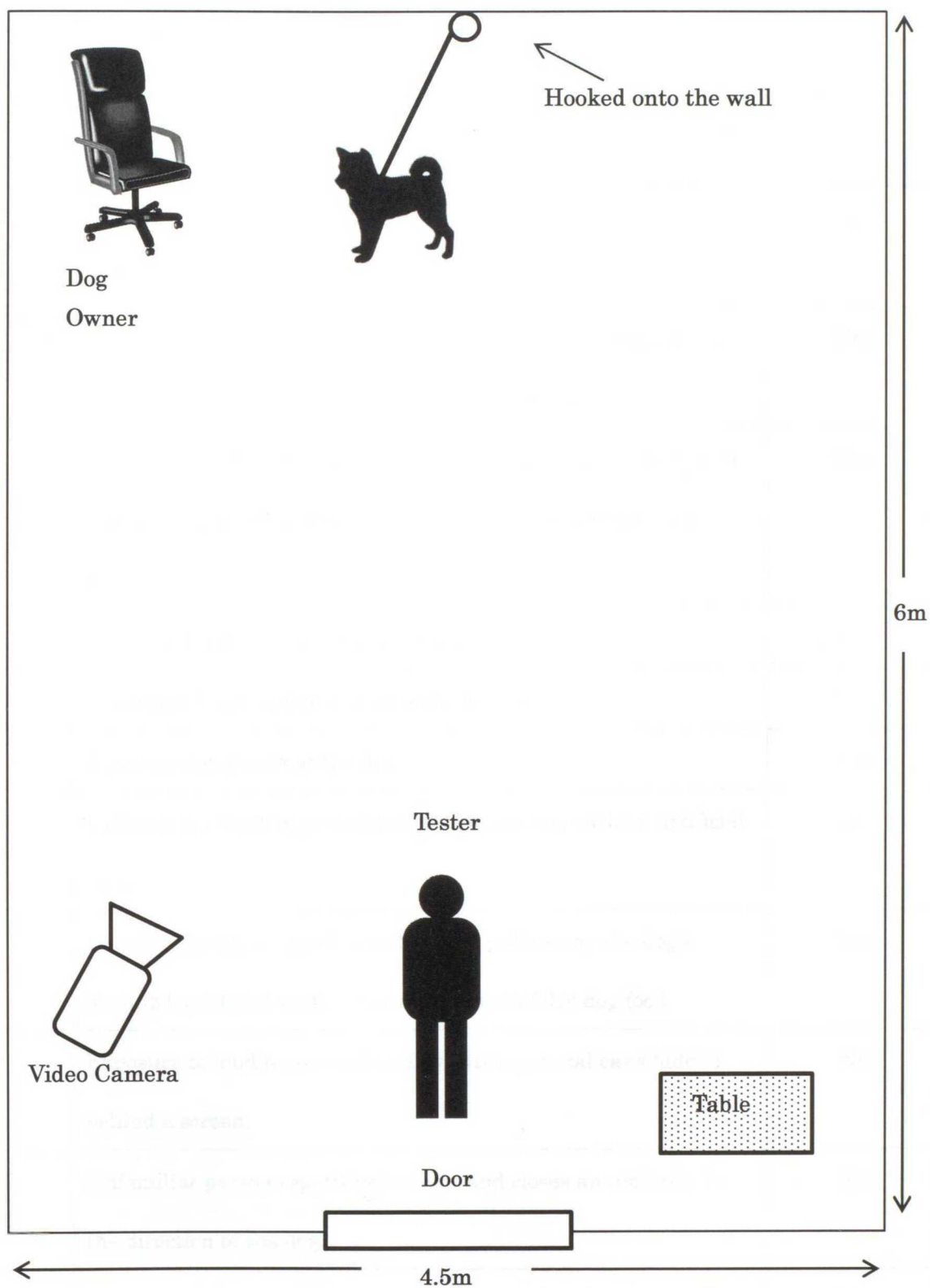


Fig. 3-1. Schematic view of the test room.

Table 7. The Aggression Test (Netto and Planta, 1997)

Subtest	Description	Presence of the owner
1	The owner plays tug-of-war with his/her dog for 1 min using an unfamiliar toy.	Yes
2	Using the artificial hand, the owner pulls away the dog's feeding bowl filled with commercial brand of dry dog food.	Yes
3	The owner pushes the dog over on its back and tries to hold it in this position with one hand or two hands placed on the dog's breast.	Yes
4	The owner holds the dog's muzzle with two hands.	Yes
5	The owner brushes dog and trim the dog's toenail.	Yes
6	A test-person stares at the dog.	Yes
7	Unfamiliar person approaches and pets the dog with an artificial hand.	Yes
8	Using the artificial hand, a test-person pulls away the dog's feeding bowl filled with commercial brand of dry dog food	Yes
9	Exposure to loud noise produced by rattling metal cans hidden behind a screen.	No
10	Unfamiliar person repetitively opens and closes an umbrella in the direction of the dog.	No
11	A test person approaches the dog very rapidly and stares at the dog.	No

2-2-4 Lexington Attachment to Pets Scale (以下、LAPS)

実験開始日および実験終了日に、飼い主に、犬への愛着を測定するための LAPS の 23 項目からなる質問に対し、「まったくそう思わない」から「とてもそう思う」の 4 段階で回答する。LAPS の得点範囲は 0~69 点であり、得点が高いほどペットに対する愛着が強いことを表す。

2-2-4 血液採取

血液採取は実験開始日および実験終了日に行った。撓側皮静脈から 1.5mL 採取した。採血馴致を含め採血に対するストレスを最小にとどめるように配慮した。第 1 章において、攻撃行動を呈する犬の 10:00 の 5-HT 濃度はコントロール群に比べ有意に高い濃度を示したことより、10:00 前後を採血時間に設定した。採取した血液は EDTA 入りチューブに入れ、静かに攪拌し、即ちに氷中で保存した後、遠心分離器で 4°C、1200g で 3 分間遠心分離した。血漿は分注し、-80°C で保存した。

2-2-5 血漿中 5-HT 濃度の測定

血漿中 5-HT 濃度の測定は第 1 章の手順と同様に行った。

2-2-6 血漿中 CA (NA, AD) 濃度の測定

血漿中 CA の測定は、既法 (Ohtani et al., 1997) に基づき、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いてノルアドレナリン (NA) およびアドレナリン (AD) 濃度を測定した。-80℃で保存していた血漿を常温解凍した。セパコールカラム (SUPELCO Filtration Tubes) 内にフィルター (Polyethylene Frits) を入れ、アルミナ 15mg、1.5M トリスバッファ (EDTA 2NA 含) 1000 μ L、DHBA (2pg/ μ L、内部標準物質) 5 μ L、血液 100 μ L を加え、さらに超純水を 900 μ L 入れ、これを温めないようにしながら攪拌 (45 秒攪拌し 15 秒冷却 \times 5) した。アスピレーターを取り付けて洗浄を行い、セパコールカラム内のアルミナに吸着している成分以外を洗い流した。洗浄を 10~15 回行った後、4℃、1000g にて 3 分間遠心分離し脱水した。マイクロチューブにフィルターを取り付け、パラフィルムで固定し、これを脱水したセパコールカラム下部に付け替えた。0.1N 過塩素酸 200 μ L を加えてアルミナを上部に飛ばさないようにボルテックスで 30 秒間攪拌したのち、氷中で 30 分間静置した。これを 4℃、1000g にて 3 分間 遠心分離した。濾液をオートサンプラー用のバイアルに注入して HPLC 分析を行った。Waters Alliance システム (e2695 セパレーションモジュール、2465 電気化学検出器) (Waters Corp, Milford, USA) を用い、グラッシィカーボン作用電極に+0.4 5V の電位をかけて HPLC 分析を行った。移動相 (90% 0.1Mリン酸緩衝液、50mg/L EDTA \cdot 2Na, 500 mg/L オクタンシルホン酸ナトリウム、10% メタノール) は pH 6.0 に調節し、0.10mL/min の流速で分析した。

データ処理には Empower Pro ソフトウェア (Waters Technologies, Milford, USA) を、逆相カラムは EICOMPAK, CA-5 ODS、2.1×150 mm (EICOM, Kyoto, Japan) を用いた。

2-2-9 統計解析

C-BARQ、Aggression Test、LAPS の比較には、paired t-test を用いて実験群の実験前 (pre) と実験後 (post) の結果を比較した。また、Aggression Test の結果に基づき、分類した 2 群の群間比較を Mann-Whitney's U test を用いて行った。生理学的指標である血漿中 5-HT 濃度および血漿中 CA 濃度の比較にも、paired t-test を用いて実験群の実験前 (pre) と実験後 (post) の結果を比較した。LAPS の群内比較を行うため、Scheffe's F test を用いた。

第3節 結果

3-1 C-BARQの結果

「飼い主への攻撃」、「見知らぬ人への攻撃」のどちらにおいても、有意な改善が見られた (paired t-test, 飼い主への攻撃: $t = 2.31, df = 8, p < 0.01$, (Fig. 3-2); 見知らぬ人への攻撃: $t = 3.95, df = 8, p < 0.01$, (Fig.3-3))。

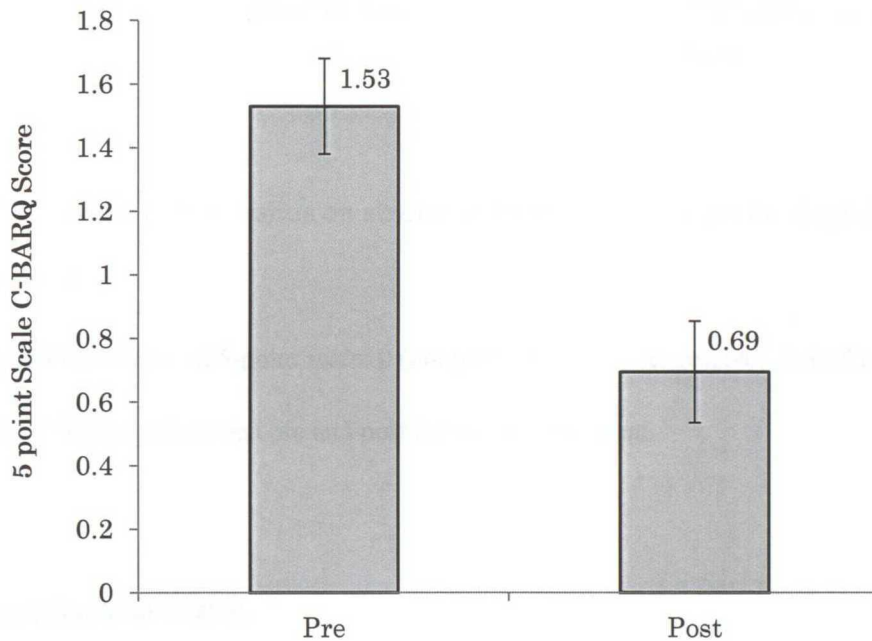


Fig. 3-2. Owner-reported scores on owner-directed aggression for dogs enrolled in the study (n = 9).

Scores were measured on a 5-point scale: 0 (not performed) to 4 (excessive). Paired t-tests were used to examine differences between pre and post behavioral treatment.

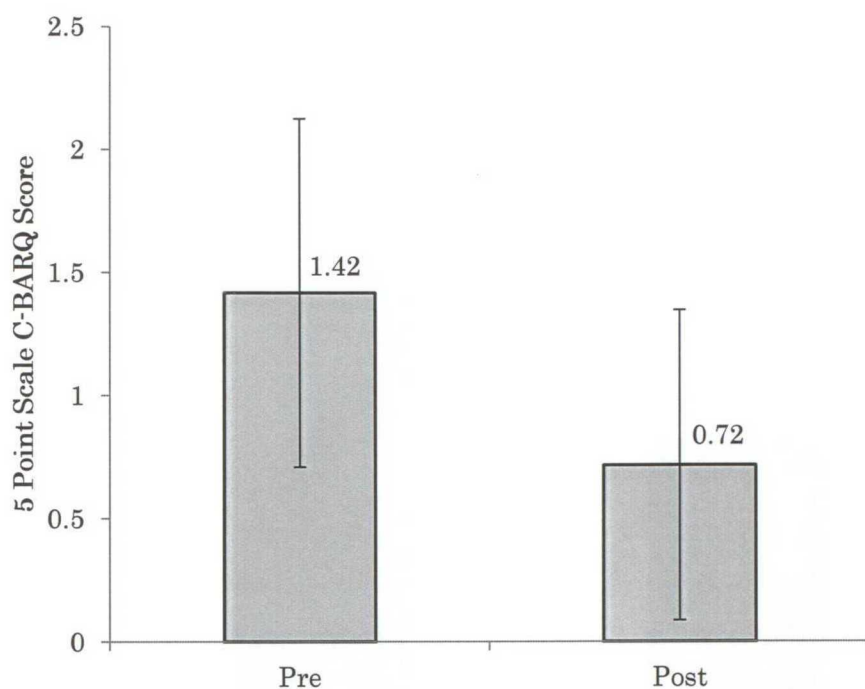


Fig. 3-3. Owner-reported scores on stranger-directed aggression for dogs enrolled in the study (n =9) .

Scores were measured on a 5-point scale: 0 (not performed) to 4 (excessive). Paired t-tests were used to examine differences between pre and post behavioral treatment.

3-2 Aggression Test の結果

実験後の Aggression Test の「飼い主への攻撃性」のスコアは、実験前と比べて有意に低い値を示した (paired t-test, $t = 5.66$, $df = 8$, $p < 0.01$) (Fig. 3-4)。実験後の「見知らぬ人への攻撃性」のスコアも、実験前と比べて有意に低い値を示した (paired t-test, $t = 2.68$, $df = 8$, $p < 0.05$) (Fig. 3-5)。

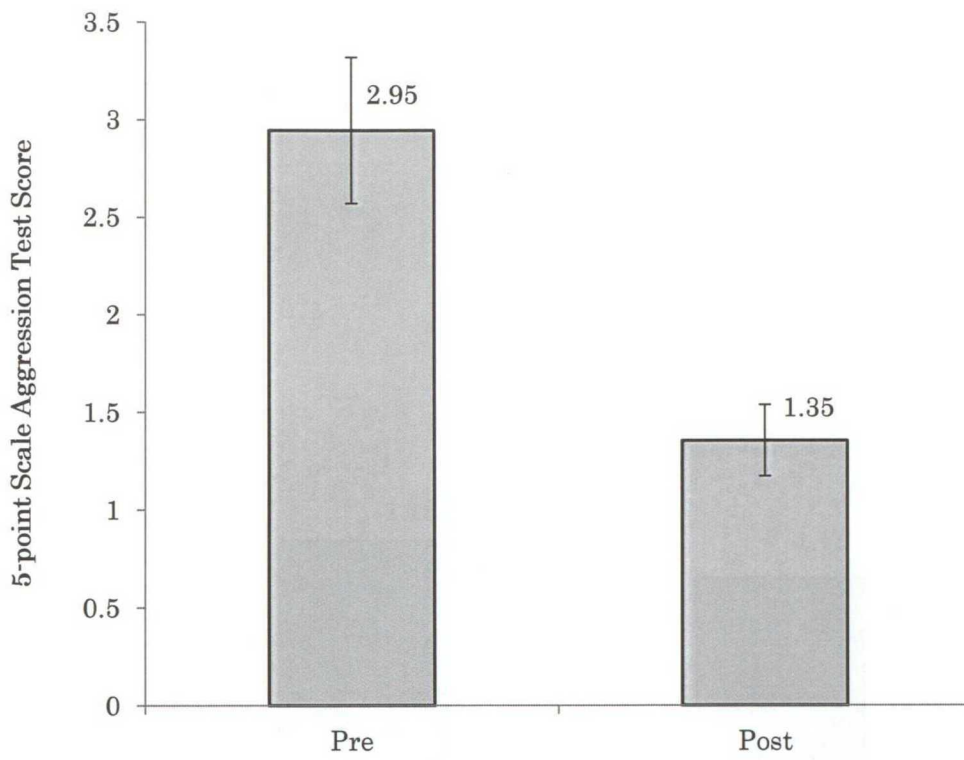


Fig. 3-4. Scores on Owner-directed Aggression Test ($n = 9$). Scores were measured on a 5-point scale: 1 (no aggression) to 5 (biting and or attacking). Paired t-tests were used to examine differences between pre and post behavioral treatment.

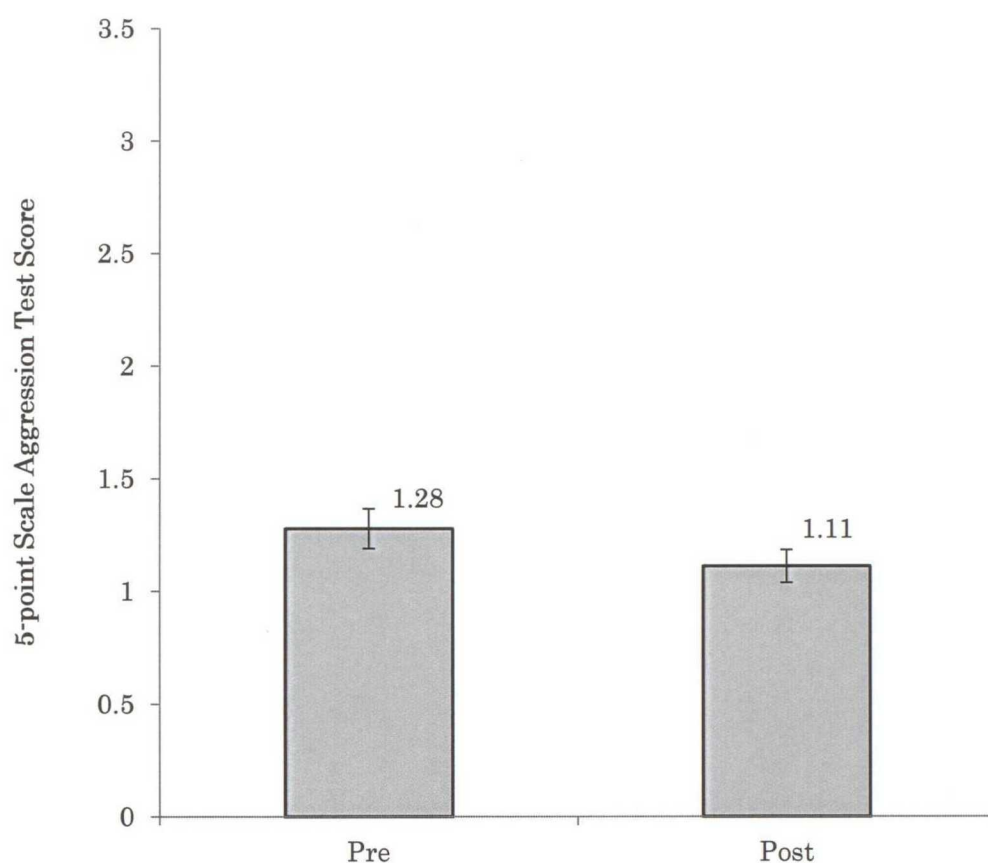


Fig. 3-5. Stranger-directed Aggression Test (n = 9). Scores were measured on a 5-point scale: 1 (no aggression) to 5 (biting and or attacking). Paired t-tests were used to examine differences between pre and post behavioral treatment.

3-3 実験前と実験後の LAPS の比較

実験前と実験後の LAPS 値に有意差は見られなかった (paired t-test, $t = 0$, $df = 8$, $p = 0.05$)。途中で実験から脱落した ID#10 の犬の飼い主の LAPS 値は、実験前が 20.7、脱落時が 18.4 と他の飼い主に比べて低い値を示した (Mann-Whitney's U test, $P < 0.01$) (Fig. 3-6)。

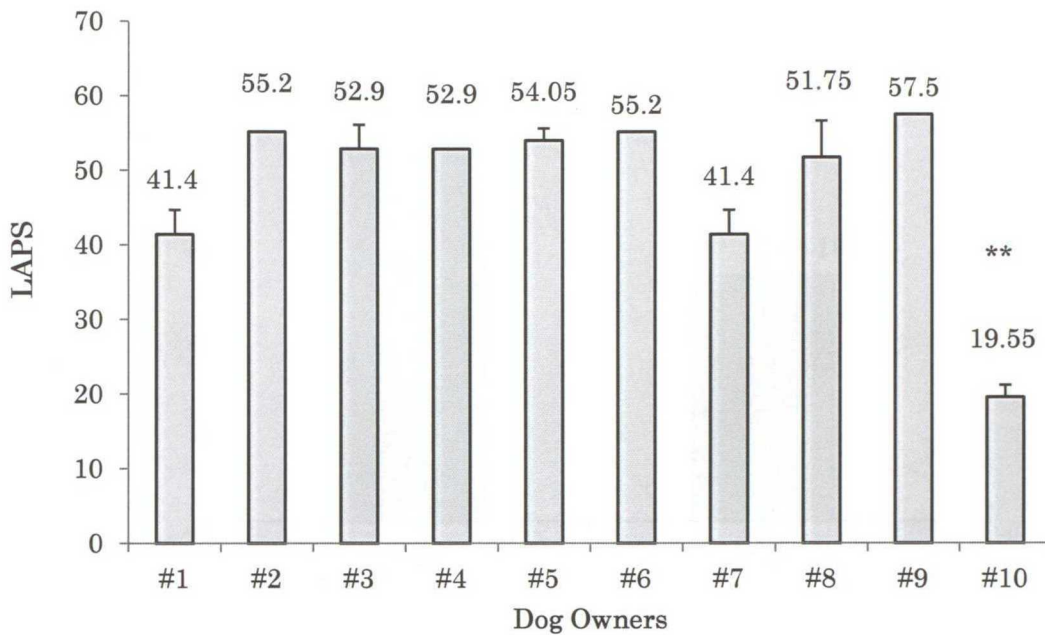


Fig. 3-6. Comparison of LAPS Score between dog owners. **vs #1~#9 $p < 0.01$

3-4 実験前 (Pre) と実験後 (Post) の血漿中 5-HT 濃度の比較

実験後の血漿中 5-HT は、実験前と比べて有意に低い濃度を示した (paired t-test, $t = 2.67$, $df = 7$, $p < 0.05$) (Fig. 3-7)。

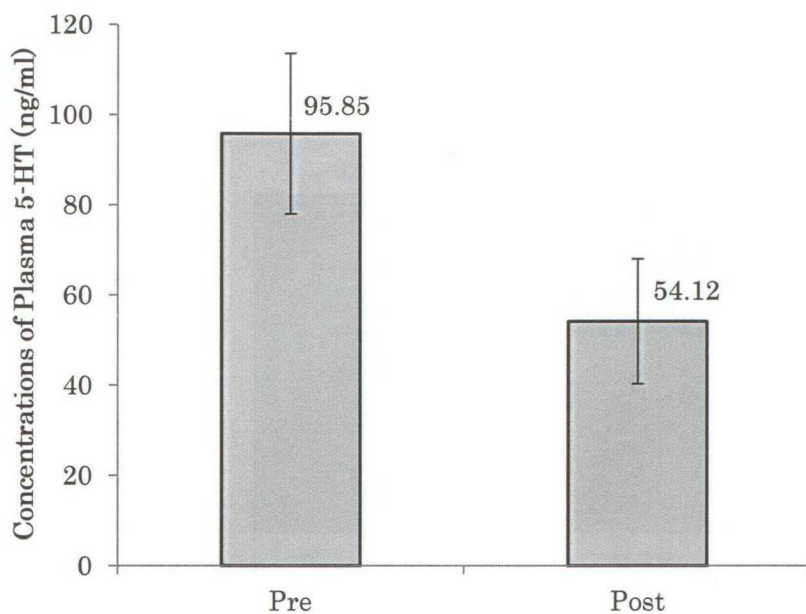


Fig. 3-7. Means and standard errors (SEM) of plasma 5-HT in the pre and post behavioral treatment.

3-4 実験前 (Pre) と実験後 (Post) の血漿中 CA 濃度の比較

実験後の血漿中 NA は有意差が見られなかった (paired t-test, NA: $t = 1.2$, $df = 8$, $p > 0.87$)。血漿中 AD は、有意差は見られなかったが、実験前と比べて減少が見られた (AD: $t = 0.29$, $df = 8$, $p > 0.61$) (Fig. 3-8 & Fig. 3-9)。

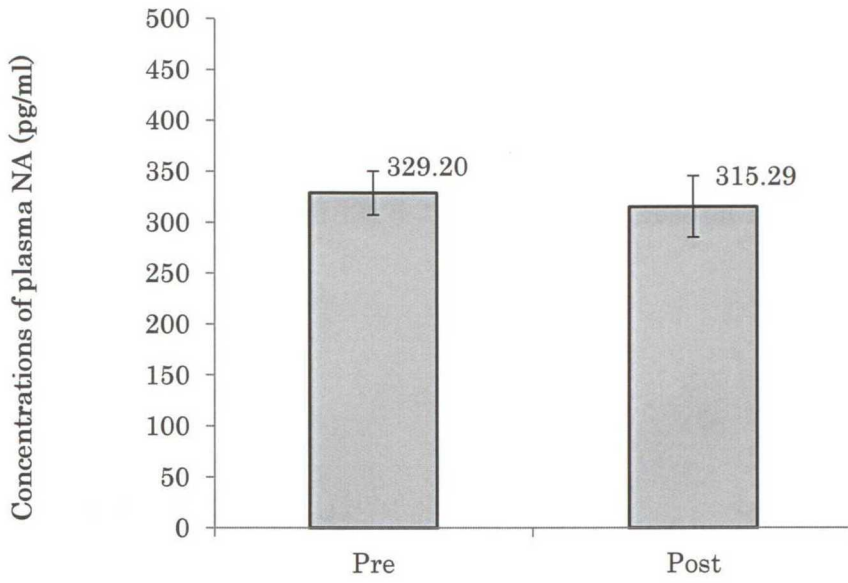


Fig. 3-8. Means and standard errors (SEM) of plasma NA in the pre and post behavioral treatment.

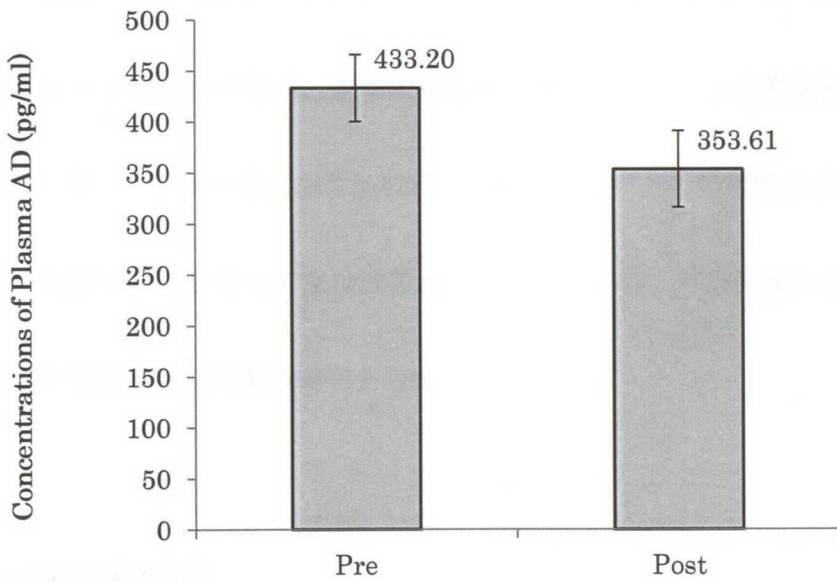


Fig 3-9. Means and standard errors (SEM) of plasma AD in the pre and post behavioral treatment.

第4節 考察

本章では、ハンドリングとホールディングからなる新たな攻撃行動修正療法の有効性を明らかにするために、行動修正療法前後の C-BARQ、Aggression Test、5-HT 濃度、NA 濃度、AD 濃度の変化を調べた。

行動修正療法前後の変化

<行動学的指標の変化>

行動学的指標として用いた C-BARQ および Aggression Test の結果から、ハンドリングとホールディングからなる行動修正療法は、「飼い主への攻撃」および「への攻撃」の緩和に有効な行動修正療法であることが示された。第2章の食餌療法では「飼い主への攻撃」に有意な改善を示さなかったが、本章の行動修正療法では有意な改善を示したことから、優位性攻撃行動など、飼い主に対する攻撃にも緩和効果がある可能性が示唆された。「見知らぬ人への攻撃」に対しても有意な改善を示したことから、不安関連の攻撃性や恐怖性攻撃性にも緩和効果がある可能性が考えられた。

行動修正療法前後の変化

<生理学的指標の変化>

実験群の血漿中 5-HT 濃度は、21.25ng/mL から 177.78ng/mL であった。この数値は、

先行研究と同程度の濃度であった(Riva et al., 2008)。実験後の血漿中 5-HT 濃度が実験前に比べて減少したことから、ハンドリングとホールディングによって、血漿中 5-HT 濃度は低下し、攻撃行動も緩和されたものと考えられる。先述したように、ハンドリングおよびホールディングは、ストレスを緩和させたり、落ち着かせたりする効果があると多くの研究で報告されていることから、5-HT 神経系に影響を与えた可能性が考えられる。

日常生活や種々の肉体的および精神的ストレス時における循環反応は、視床下部交感神経副腎髄質系により調節されている。この視床下部交感神経副腎髄質系の活動度を推測する目的で、血中カテコラミン (CA) 濃度の測定が多くの臨床および研究の場で用いられている (Yeghiayan, 2001)。運動によるストレス負荷によって、NA のみ上昇することが知られている。また、心理的なストレス負荷後に CA のうち AD のみ有意に上昇することが先行研究により報告されており (Dimsdale & Moss, 1980; Lehmann et al., 1982; Goldstein, 2003; Weber et al., 2007)、AD のみの有意な上昇は心理的ストレスの負荷による効果と考えられている。しかし、本実験では、行動修正療法前後で測定した血漿中 AD は優位差はなかったものの減少が見られたため、犬は心理的ストレスを受けておらず、リラックスしていたと考えられる。嫌悪刺激と考えられているホールディングを毎日行っていたが、ネガティブな影響を受けていることを示す値はみられなかった。以上のことから、ホールディングは、嫌悪刺激ではなく、快刺激である可能性が高いことが明らかになった。

Line & Voith (1986) は、飼い犬に攻撃性があるにもかかわらず、飼育放棄をしないで

飼い続けた飼い主は、犬への強い愛着度があった、と報告している。本研究においても、実験に参加した飼い主は、もともと犬に対する愛着度が強かったからこそ(LAPS 値 = 51.36 ± 2.0)、攻撃行動を緩和するためのプログラムに参加し、毎日の課題を 5 週間継続できた、と推察できる。一方、実験を完了した 9 頭の飼い主における実験前後の LAPS 値には有意差がなかったことから、攻撃行動が緩和されても、飼い主の愛着度が増すわけではないと考えられる。対照的に、3 週間目にプログラムから離脱した飼い主の LAPS 値は他の飼い主に比べて有意に低い値を示した(実験を完了した飼い主の平均 LAPS 値 = 51.36 ± 2.0 、離脱した飼い主の LAPS 値 = 18.4)。飼い犬に対する愛着が低く、その結果、行動修正療法を根気よく継続することが困難であった可能性が考えられる。

実験開始から 1 週間後、ほぼ全ての飼い主から、「犬の攻撃行動が若干悪化した」、との報告があった。これは、消去バーストによる影響であったと考えられる。消去バーストとは、オペラント条件付けが成立した後、強化から消去に手続を変更した直後に、行動の反応が増加することをいう(内田 と 菊水, 2008)。その後、1 週間経った時点では、飼い主から、この主訴はなくなったことから、消去バーストだった可能性が高いと言える。このことから、ハンドリングとホールディングの行動修正療法を行う際には以下の点に留意することが必要である。消去バーストが起こる可能性があること、攻撃行動がさらに激しくなったとしても、行動修正療法を継続すれば、自然回復の過程を経ながら着実に攻撃行動は消去の方向に向かう、という点を行動修正療法開始前に飼い主に詳しく説明することが

重要である。また、強化子をたまに提示すると消去抵抗が強く働くため、消去の手続きは徹底しなくてはならない（内田 と 菊水, 2008）という点についても強調する必要があるだろう。

第4章 総合考察

本研究では、攻撃行動の生理学的メカニズム解明に焦点をあて、攻撃行動と強い関連がある5-HTの末梢での日内変動や攻撃行動を呈する犬の血漿中5-HT濃度の傾向について解明することを明らかにした。さらに、攻撃と不安との関連について検証し、ストレスに対する脆弱性低下による攻撃行動への効果を検証した。また、新たな攻撃行動修正療法を用いて、ハンドリングとホールディングの有効性を検討した。

近年、犬と人との関わり方は様々に変化し、少子高齢化社会における犬は単なるペットではなく、大切な家族の一員として、人生の伴侶として存在そのものが重要視されるように変化してきた。一昔前の日本では、犬は家の外に係留しての飼育が一般的であった。しかしながら、住宅事情などの背景の影響もあって、犬を家族の一員として屋内で飼育するケースが増えてきた。このような飼育環境では、人と犬との距離が極めて密接になることは避けられず、さまざまな問題行動が懸念されるようになった。問題行動の中でも、攻撃行動は、死傷者の発生を伴うこともあり、飼い主のみならず、社会にとって深刻な問題のひとつである。また、咬傷事故に至った場合には安楽死という結末を迎えてしまうことも少なくないため、犬にとっても生命を脅かす深刻な問題である。このような問題を招かないためにも、攻撃行動の予防および修正は非常に重要である。行動修正療法、薬物療法、医学的療法が行われてきたが、効果的な改善法の確立が必要である。

攻撃行動と5-HTとの関連がさまざまな形で報告されているが、犬における攻撃行動と

5-HT との関係は未だ解明されていない部分が多くある。5-HT 神経系を理解し、攻撃発現のメカニズムを解明することによって、適切な薬物療法や行動修正療法を確立できる可能性が高いと考えられる。また、中枢での 5-HT 神経系をモニターすることは、犬の福祉を考慮した際に難しい点があるため、末梢における 5-HT 神経系と攻撃との関連を理解することは、診断や研究方法においてより現実的だといえよう。

第 1 章では、攻撃行動を呈する犬の血漿中 5-HT の日内変動について検証した。本研究において、犬の血漿中 5-HT に日内変動が存在することが明らかとなった。日内変動は 10 時（日の出から約 4 時間後）と 18 時（日没から約 1 時間）の 2 点のピークを伴い、この傾向は、攻撃行動を呈する犬と問題行動を呈さない犬の両者に見られた。近年、投薬時刻の違いによる薬物動態や薬効の差、その機序を明らかにする「時間薬理学」や「時間治療学」の発展がある。攻撃行動の薬物治療の際に、選択的 5-HT 再吸収阻害薬（SSRI）などが選択される場合があるが、本研究で得られた日内変動の結果を参考にすることは、有用であると考えられる。

また、攻撃行動を呈する犬は、コントロール群に比べて、高濃度の血漿中 5-HT 濃度を示した。ゆえに、攻撃行動のある状態では何らかの 5-HT の代謝異常が生じていることが示唆される。攻撃行動を呈する犬は、血小板中 5-HT トランスポーター異常により、血小板へのセロトニン吸収増加が生じると報告されている（Rosado et al., 2010）。逆に、攻撃行動を呈するヒトにおいては、血小板取り込みの低下が報告されている（Modai et al., 1989）。本

研究の結果は、血小板 5-HT トランスポーター異常による可能性があったかもしれない。また、不安関連の問題行動を呈する犬は、高い血漿中 5-HT 濃度を有することが知られており、攻撃行動を呈する犬は高濃度のコルチゾールを有することが知られている (Rosado, 2010)。これらのことから、攻撃と不安 (ストレス) には関連があることが考えられる。

そこで第 2 章では、ストレスに対する脆弱性を弱める組成の実験食を用いて、ストレス緩和による攻撃行動への効果を検証した。「ストレス緩和の効果が報告されている L-トリプトファンおよび α -カンゼピンによって、ストレスに対する脆弱性が弱められ、不安関連の問題行動や攻撃行動を緩和できる」と仮説をたて、給与試験を行って、その効果を検証した。その結果、実験食は、「不安関連の問題行動」、「見知らぬ人への攻撃」を有意に改善し、動物病院来院といったストレス状況下における不安を緩和する効果があることがわかった。しかしながら、「飼い主への攻撃」には有意な改善が見られなかった。「見知らぬ人への攻撃」は、恐怖性攻撃が多く、「飼い主への攻撃」は、優位性攻撃が多い (Reisner, 2003)、とされていることから、攻撃性の種類によって、実験食による効果の違いがあることが推定された。飼い主に対して、食べ物や寝床、家の中での社会的序列などへの優先権をめぐって攻撃性を示すことを優位性攻撃 (権勢症候群; アルファ症候群; dominant aggression) と以前は定義していた (Borchelt & Voith, 1996)。しかしながら、これらの攻撃は自信を伴ってではなく、不安を伴って生じる様子が多く観察されることから、優位性攻撃と呼ぶことが疑問視されている (Bradshaw et al., 2009)。また、飼い主への攻撃には葛藤関連攻撃が多く

見られる。葛藤関連攻撃は、二つの感情が同時に起こり、不安を募らせた時に見られる攻撃である。それゆえに、実験食による効果の違いは、攻撃性の種類の違いによるものというより、不安の種類の違いに起因することが推定されたが、本実験では十分明らかにできなかった。

第2章の結果より、「飼い主への攻撃」に対して改善効果のある方法の構築が必要であると考えられた。そこで、「ハンドリング」と「ホールディング」からなる新たな行動修正療法による攻撃行動への緩和効果を検証した。新生子期におけるハンドリングによる効果については多くの研究で報告されている（Gazzano et al., 2007; Sighieri et al., 2006）が、攻撃行動を呈する成犬を用いたハンドリングの効果の研究はない。本研究で用いた「ハンドリング」と「ホールディング」による行動修正療法は、C-BARQ および Aggression Test の結果、「飼い主への攻撃」および「見知らぬ人への攻撃」の双方に有意な改善効果を示した。このことから、ハンドリングとホールディングは、有効な行動修正療法であることが明らかとなった。「ホールディング」は、嫌悪刺激であると考えられるトレーナーも多い。しかしながら、5週間ホールディングを継続しても、犬は心理的ストレスを受けていなかったことが明らかになったことから、「ホールディング」は嫌悪刺激ではないことが示唆された。近年、快刺激を用いた陽性強化法が好まれる傾向にあり、「ホールディング」は、陰性強化ゆえにトレーニングに取り入れるべきではない、とする傾向もある。しかしながら、本研究の結果から、「ホールディング」は、犬にとってストレスとはなっておらず、快刺激

であることが明らかになったことから、有効な修正療法だと考えられる。

攻撃行動改善に伴って、血漿中 5-HT 濃度は有意な減少を示した。このことより、血漿中 5-HT 濃度はハンドリングおよびホールディングによって影響を受ける可能性が考えられた。先述したように、攻撃行動、鬱病、自閉症、不安症においては 5-HT の代謝異常が考えられている。この代謝異常は先天的なものに由来するのか、行動によって影響されるのか、ということは明らかとなっていない。自閉症発症には遺伝的因子の関与が示唆されてはいるが、遺伝形式は不明である。5-HT トランスポーター遺伝子のプロモーター領域の多型が自閉症に多いと報告されたが (Cook et al., 1997)、その後その相関を否定する論文が多く出されている (Maestrini et al., 1999; Klauck et al., 1997; Persico et al., 2000)。自閉症は遺伝的な要因に加えて、妊娠成立期・胎生期・乳幼児期の神経発達に関連すると思われる環境的要因が誘発に関わっていると言われている。成長過程における 5-HT 系メカニズムの崩壊が自閉症でみられ、血小板の 5-HT 吸収増加による高 5-HT 血漿が報告されている。「ホールディング」は、ヒトにおいては、「ホールディングセラピー」または「抱っこ療法」とも呼ばれ、自閉症児の不安緩和に用いられることがある。「ハンドリング」と「ホールディング」は、5-HT 取り込みに関する代謝異常に影響を与える可能性も考えられるだろう。

攻撃は、主にオペラント条件付けの学習要素が高く、攻撃行動の修正には、学習で得られた攻撃行動の消去過程を経て発現しないようにすることが必要である。「ハンドリング」に抵抗する犬に「ホールディング」を行うことは、消去である。消去とは別の反応を新た

に学習することで、忘却ではないということに留意する必要がある。よって、攻撃行動を呈していた犬の攻撃行動を消去させることは可能であるが、攻撃の記憶を忘却することはなく、再発する可能性があることを十分に留意するように飼い主に説明することが重要である。

攻撃行動を緩和するには、ストレス状態の解消が重要であることが明らかとなった。「ハンドリング」と「ホールディング」による行動修正療法は、攻撃行動に効果が高く、有用であることが明らかとなった。しかしながら、飼い主が高齢である場合などのようにホールディングを行うこと自体が困難であるケースも多いに考えられる。そのような場合には、第二の選択肢として、食餌療法を用いることが可能なことより、飼い主にとって選択肢が広がる結果となった。本実験で得られた結果は、犬の攻撃行動緩和において有用性の高いもので、飼い主と犬双方にとっての福祉につながり、ひいては、咬傷事故を減少させることによって、社会にとっての利益につながると考えられる。

謝辞

本研究の実施にあたり、終始懇切なご指導とご鞭撻を賜りました麻布大学獣医学部太田光明教授、ならびに大谷伸代講師に深くお礼申し上げます。

また、学位審査の副査をお引き受けいただきました麻布大学獣医学部有嶋和義教授、田中智夫教授に深く感謝いたします。

本研究を作成するに当たり、ご指導、ご協力くださいました麻布大学生命環境科学部守口徹教授、麻布大学獣医学部植竹勝治教授、ならびに実験にご協力くださいました、ロイヤルカナランジャポン合同会社様、ゼファー動物病院の上條桂司先生、村瀬ドッグトレーニングセンターの村瀬英博様、ならびに飼い主の皆様にご心より感謝申し上げます。また、本研究の実施、ならびに学生生活を送るにあたり、多くのご支援をいただきました麻布大学獣医学部介在動物学研究室の皆様にご深く感謝いたします。

最後に、本研究の遂行にあたり、常に応援しつづけてくれた息子、大雅、立雅、功雅に心より感謝します。

1. Aronson, L.P., Dodman, N.H. 1997. Thyroid dysfunction as a cause of aggression in dogs and cats. 43. Jahrestagung DVG-Fachgruppe Kleintierkrankheiten in Hannover.

<http://www.beaconforhealth.org/Thyroid-Aggression.htm>
2. Ashcroft, G.W., Eccleston, D., Crawford, T.B.B. 1965. 5-Hydroxyindole metabolism in rat brain : A study of intermediate metabolism using the technique of tryptophan loading-1 methods. *J. Neurochem.* 12, 483-492.
3. Beata, C., Beaumont-Graff, E., Diaz, C., Marion, M., Massal, N., Marlois, N., Muller, G., Lefranc, C. 2007. Effects of alpha-casozepine (Zylkene) versus selegiline hydrochloride (Selgian, Anipryl) on anxiety disorders in dogs. *J. Vet. Behav.* 2 (5), 175-183.
4. Beaver, B.V. 1983. Clinical classification of canine aggression. *Appl. Anim. Ethol.* 10 (1-2), 35-43.
5. Beaver, B.V. 1994. Owner complaints about canine behavior. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204(12), 1953-1955.
6. Beaver, B.V., Haug, L.I. 2003. Canine behaviors associated with hypothyroidism. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 39 (5), 431-434.
7. Beerda, B., Schilder, M.B., Janssen, N.S., Mol, J.A. 1996. The use of saliva cortisol,

- urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs. *Horm. Behav.* 30, 272-279.
8. Beerda, B., Schilder, M.B.H., van Hooff, J.A.R.A.M., de Vries, H.W., Mol, J.A. 1998. Behavioral, saliva cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 58, 365–381.
 9. Beerda, B., Schilder, M.B.H., Bernardina, W., van Hoof, J.A.R.A.M., De Vries, H.W., Mol, J.A. 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. II. Hormonal and immunological responses. *Physiol. Behav.* 66, 243-254.
 10. Bergamasco, L., Osellab, M.C, Savarinoc, P., Larosad, G., Ozellae, L., Manasserof, M., Badinoc, P., Odorec, R., Barberoc, R., Rec, G. 2010. Heart rate variability and saliva cortisol assessment in shelter dog: Human–animal interaction effects. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 125, 56-68.
 11. Berendt, M., Gulløv, C.H., Christensen, S.L.K., Gudmundsdottir, H., Gredal, H., Fredholm, M., Alban, L. 2008. Prevalence and characteristics of epilepsy in the Belgian shepherd variants Groenendael and Tervueren born in Denmark 1995–2004. *Acta Veterinaria Scandinavica* , 50:51.
 12. Blackshaw, J.K. 1985. Human and animal inter-relationships. Review series: 4. Behavioural problems of dogs: Part II. *Aust. Vet. Pract.* 15:114-118.

13. Blackshaw, J.K. 1991. An overview of types of aggressive behaviour in dogs and methods of treatment. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 30, 351-361.
14. Blairs, S., Slater, S., Hare, D.J. 2007. The clinical application of deep touch pressure with a man with autism presenting with severe anxiety and challenging behaviour. *Brit. J. Learn. Disabil.* 35 (4), 214-220.
15. Borchelt, P.L. 1983. Aggressive behavior of dogs kept as companion animals: Classification and influence of sex, reproductive. *Appl. Anim. Ethol.* 10, (1-2), 45-61.
16. Borchelt, P. L., Voith, V. L. 1996. Dominance aggression in dogs. *Readings in companion animal behavior.* Trenton: Veterinary Learning Systems. 230-9.
17. Bosch, G., Beerda, B., Hendriks, W.H., van der Poel, A.F.B., Verstegen, M.W.A. 2007. Impact of nutrition on canine behaviour: current status and possible mechanisms. *Nutr. Res. Rev.* 20, 180-194.
18. Bradshaw, J. W. S., Blackwell, E. J., Casey, R. A. 2009. Dominance in domestic dogs-useful construct or bad habit? *J. Vet. Behav.* 4 (3),135-144.
19. Brown, G.L., Goodwin, F.K., Ballenger, J.C. 1979. Aggression in humans correlates with cerebrospinal fluid amine metabolites. *Psychiat. Res.* 1 (2), 131-139.
20. Bagdy, G. 1996. Studies on the sites and mechanisms of 5-HT_{1A} receptor mediated in vivo actions. *Acta Physiol. Hung.* 84 (4), 399-401.

21. Çakiroğlu, D., Meral, Y., Sancak, A.A., Çifti, G. 2007. Relationship between the serum concentrations of serotonin and lipids and aggression in dogs. *Vet. Rec.* 161 (2), 59-61.
22. Cases, O., Self, I., Grimsby, J., Gaspar, P., Chen, K., Pournin, S., Muller, U., Aguet, M., Babinet, C., Shih, J.C., De Maeyer, E. 1995. Aggressive behavior and altered amounts of brain serotonin and norepinephrine in mice lacking MAOA. *Science.* 268:1763-1766.
23. Clutton-Brock, J. 1995. In J. Serpell (Ed.), *The domestic dog: Its evolution, behaviour, and interactions with people.* Cambridge: Cambridge University Press.
24. Cook, Jr. E.H., Courchesne, R., Lord, C., Cox, N.J., Van, S., Lincoln, A., Haas, R., Courchesne, E., Leventhal, B.L. 1997. Evidence of linkage between the serotonin transporter and autistic disorder. *Mol. Psychiatr.* 2 (3), 247-250.
25. Czeisler, C.A., Duffy, J.F., Shanahan, T.L., Brown, E.N., Mitchell, J.F., Rimmer, D.W., Ronda, J.M., Silva, E.J., Allan, J.S., Emens, J.S., Dijk, D. J., Kronauer, R.E. 1999. Stability, precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science.* 284 (5423). 2177-2181.
26. Davis, J.M., Valla, F.R. 1978. Evidence for domestication of the dog 12,000 years ago in the Natufian of Israel. *Nature.* 276 (5688), 608 – 610.

27. De Napoli, J.S., Dodman, N.H., Shuster, L., Rand, W.M., Gross, K.L. 2000. Effect of dietary protein content and tryptophan supplementation on dominance aggression, territorial aggression, and hyperactivity in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 217(4), 504-508.
28. De Vellis, R.F. 1991. *Scale Development. Theory and Applications.* Applied Social Research Methods Series 26. Sage Publications. Newbury Park. 121.
29. Dimsdale, J.E., Moss, J. 1980. Plasma catecholamines in stress and exercise. *J. Am. Med. Assoc.* 243 (4), 340-342.
30. Dodman, N.H., Miczek, K.A., Knowles, K., Thalhammer, J.G., Shuster, L. 1992. Phenobarbital-responsive episodic dyscontrol (rage) in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201:1580-3.
31. Dodman, N.H., Donnelly, R., Shuster, L., Mertens, P., Rand, W., Miczek, K. 1996. Use of fluoxetine to treat dominance aggression in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 209:1585-7.
32. Dreschel, N.A., Granger, D.A. 2005. Physiological and behavioral reactivity to stress in thunderstorm-phobic dogs and their caregivers. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 95, 153-168.
33. Dreschel, N.A. 2010. The effects of fear and anxiety on health and lifespan in pet

dogs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 125, 157-162.

34. Dunbar, I. 2003. 「ダンバー博士のイヌの行動問題としつけ～エソロジーと行動科学の視点から～」、尾崎敬承、時田光明、橋根理恵訳、レッドハート刊。
35. Eccleston, D., Ashcroft, G.W., Crawford, T.B.B., Stanton, J.B., Wood, D., McTurk, P.H. 1970. Effect of tryptophan administration on 5-HIAA in cerebrospinal fluid in man. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 33, 269-272.
36. Edelson, S.M., Edelson, M. G., Kerr, D.C.R., Grandin, T. 1999. Behavioral and physiological effects of deep pressure on children with autism: A pilot study evaluating the efficacy of Grandin's hug machine. *Am. J. Occup. Ther.* 53: 145-51.
37. Fernstrom, J.D. 1983. Role of precursor availability in the control of monoamine biosynthesis in brain. *Physiol Rev.* 63, 484-546.
38. Fukui, H., Yamamoto, M., Ando, T., Sasaki, S., Sato, S. 1993. Increase in serotonin levels in the dog ileum and blood by cisplatin as measured by microdialysis. *Neuropharmacology.* 32 (10). 959-968.
39. Goldstein, D.S. 2003. Catecholamines and stress. *Endocr. Regul.* 37 (2), 69-80.
40. Gazzano, A., Mariti, C., Notari, L., Sighieri, C., McBride, E.A. 2008. Effects of early gentling and early environment on emotional development of puppies. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 110 (3-4), 294-304.

41. Grandin, T. 1992. Calming effects of deep touch pressure in patients with autistic disorder, college students and animals. *J. Child. Adolesc. Psychopharmacol.* 2: 63-72.
42. Gregg, T.R., Siegel, A. 2001. Brain structures and neurotransmitters regulating aggression in cats: Implications for human aggression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 25 (1), 91-140.
43. Grimmett, A., Sillence, M.N. 2004. Calmatives for the excitable horse: A review of L-tryptophan. *Vet. J.* 170, 24-32.
44. Guy, N.C., Luescher, U.A., Dohoo, S.E., Spangler, E., Miller, J.B., Dohoo, I.R., Bate, L.A. 2001. A case series of biting dogs: Characteristics of the dogs, their behaviour, and their victims. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 74 (1), 43-57.
45. Hart, B.L. 1980. *Canine Behavior*. Veterinary Practice, Publ. Co., Santa Barbara, CA, 51.
46. Hart, B.L. 1981. Progestin therapy for aggressive behavior in male dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 178 (10), 1070-1071.
47. Hewson, C.J., Luescher, U.A., Parent, J.M., Conlon, P.D., Ball, R.O. 1998. Efficacy of clomipramine in the treatment of canine compulsive disorder. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 213 (12), 1760-1766.

48. Van Hierden, Y.M., Koolhaas, J.M., Korte, S.M. 2004. Chronic increase of dietary L-tryptophan decreases gentle feather pecking behavior. *All. Anim. Behav. Sci.* 89, 71-84.
49. Higley, J.D., Mehlman, P.T., Taub, D.M., Higley, S.B., Suomi, S.J., Linnoila, M., Vickers, J.H. 1992. Cerebrospinal fluid monoamine and adrenal correlates of aggression in free-ranging rhesus monkeys. *Arch. Gen. Psychiat.* 49 (6), 436-441.
50. Higley, J.D., Mehlman, P.T., Poland, R.E., Taub, D.M., Vickers, J., Suomi, S.J., Linnoila, M. 1996. CSF testosterone and 5-HIAA correlate with different types of aggressive behaviors. *Biol. Psychiat.* 40 (11), 1067-1082.
51. Horváth, Z., Igyártó, BZ., Magyar, A., Miklósi, A. 2007. Three different coping styles in police dogs exposed to a short-term challenge. *Horm. Behav.* 52, 621-630.
52. Houpt, K.A. 1979. Aggression in dogs. *The Compendium on Continuing Education for the Small Animal Practitioner.* 1: 123-128.
53. Houpt, K.A., Beaver, B., 1981. Behavioral problems of geriatric dogs and cats. *Vet. Clin. N Am-Small.* 11 (4), 643-652.
54. Houpt, K.A. 2007. Genetics of canine behavior. *Acta. Veterinaria. Brno.* 76 (3), 431-444.
55. Hsu, Y., Serpell, J.A. 2003. Development and validation of a questionnaire for

- measuring behavior and temperament traits in pet dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223, 1293-1300.
56. Imamura, K.N., Wiess, T., Parham, D. 1990. The effects of hug machine usage on behavioural organisation of children with autism and autistic-like characteristics. *Sens. Int. Q.* 27: 1-5.
57. Jagoe, A., Serpell, J. 1996. Owner characteristics and interactions, and the prevalence of canine behaviour problems. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 47,31-42.
58. Jones, B.R., Alley, M.R., Batchelor, B. 1996. Hydrocephalus and hypertrichosis in Golden Retriever dogs. *N.Z. Vet. J.* 44(2), 38-39.
59. Kema, I.P., De Vries, E.G.E., Muskiet, F.A.J. 2000. Clinical chemistry of serotonin and metabolites. *J. Chromatogr. B.* 747 (1-2), 33-48.
60. King, J.N., Simpson, B.S., Overall, K.L., Appleby, D., Pageat, P., Ross, C., Chaurand, J.P., Heath, S., Beata, C., Weiss, A.B., Muller, G., Paris, T., Bataille, B.G., Parker, J., Petit, S., Wren, J. 2000. Treatment of separation anxiety in dogs with clomipramine: Results from a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, multicenter clinical trial. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 67 (4), 255-275.
61. Kizer, K.W. 1979. Epidemiologic and clinical aspects of animal bite injuries. *J. Am.*

Coll. Emerg. Phys. 8(4),134-141.

62. Klauck, S.M., Poustka, F., Benner, A., Lesch, K.-P., Poustka, A. 1997. Serotonin transporter (5-HTT) gene variants associated with autism? *Hum Mol Genet* 6: 2233-2238.
63. Koolhaas, J.M., Meerlo, P., De Boer, S.F., Strubbe, J.H., Bohus, B. 1997. The temporal dynamics of the stress response. *Neurosci. Biobehav. R.* 21 (6), 775-782.
64. Koopmans, S.J., Ruis, M., Dekker, R., Diepen, H., Korte, M., Mroz, Z. 2005. Surplus dietary tryptophan reduces plasma cortisol and noradrenaline concentrations and enhances recovery after social stress in pigs. *Phys. Behav.* 85, 469-478.
65. Leathwood, P.E. 1987. Tryptophan availability and serotonin synthesis. *Proc. Nutr. Soc.* 46, 143-156.
66. Lehmann, M., Huber, G., Spóri, M., Keul, J. 1982. Catecholamine excretion during physical exercise and mental performance. *International Archives of Occupational and Environmental Health.* 50, 175-186.
67. Lehnert, H., Reinstein, D.K., Strowbridge, B.W., Wurtman, R.J. 1984. Neurochemical and behavioral consequences of acute, uncontrollable stress: effects of dietary tyrosine. *Brain. Res.* 303, 215-223.
68. Line, S., Voith, V.L. 1986. Dominance aggression of dogs towards people: *Behavior*

- profile and response to treatment. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 16 (1), 77-83.
69. Maestrini, E., Lai, C., Marlow, A., Matthews, N., Wallace, S., Bailey, A., Cook, E.H., Weeks, D.E., Monaco, A.P. 1999. Serotonin transporter (5-HTT) and γ -aminobutyric acid receptor subunit $\beta 3$ (GABRB3) gene polymorphisms are not associated with autism in the IMGSA families. *Am. J. Med. Genet. Neuropsychiat. Genet.* 88 (5), 492-496.
70. Mazur, E. J. 1999. 「メイザーの学習と行動」 磯博行, 坂上貴之, 川合伸幸訳. 二瓶社.
71. McClung, C.A., 2007. Circadian genes, rhythms and the biology of mood disorders *Pharmacol. Therapeut.* 114 (2), 222-232.
72. McClure, M.K., & Holtz Yotz, M. 1991. The effects of sensory stimulatory treatment on an autistic child. *Am. J. Occup. Ther.* 45:1138-42.
73. McEwen, B.S. 2005. Glucocorticoids, depression, and mood disorders: Structural remodeling in the brain. *Metabolism.* 54 (5), 20-23.
74. Mehlman, P.T., Higley, J.D., Faucher, I., Lilly, A.A., Taub, D.M., Vickers, J., Suomi, S.J., Linnoila, M. 1994. Low CSF 5-HIAA concentrations and severe aggression and impaired impulse control in nonhuman primates. *Am. J. Psychiat.* 151 (10), 1485-1491.
75. Miclo, L., Perrine, E., Driou, A., Papadopoulos, V., Boujrad, N., Vandersesse, R.,

- Boudier, J.F., Desor, D., Linden, G., Gaillard, J.,L. 2001. Characterization of alpha-casozepine, a tryptic peptide from alpha-s1 casein with benzodiazepine-like activity. *FASEB J.*15, 1780-1782.
76. Modai, I., Apter, A., Meltzer, M., Tyano, S., Walevski, A., Jerushalmy, Z. 1989. Serotonin uptake by platelets of suicidal and aggressive adolescent psychiatric inpatients. *Neuropsychobiology.* 21 (1), 9-13.
77. Mugford, R.A., Gupta, A.S. 1983. Genetics and behavioural problems in dogs. *Appl. Anim. Ethol.* 11 (1), 87.
78. Myeroff, R., Mertlich, G., Gross, J. 1999. Comparative effectiveness of holding therapy with aggressive children. *Child Psychiatry and Human Development,* 29 (4), 303-313.
79. Netto, W.J., Planta, D.J. U. 1997. Behavioural testing for aggression in the domestic dog. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 52 (1 997) 243-263.
80. Nunez, J.F., Ferre, P., Escorihuela, R.M., Tobena, A., FernándeZ-Teruel, A. 1997. Effects of postnatal handling of rats on emotional, HPA-axis and prolactin reactivity to novelty and conflict. *Physiol. Behav.* 60, 1355-1359.
81. Nobis, G. 1979. Der älteste haushund lebte vor 14,000 jahren. *Umschau,* 19, 610.
82. O'Farrell, V. 1986. *Manual of canine behaviour.* Cheltenham: Bri. Small Anim. Vet.

Assoc. 122.

83. Ohtani, N., Sugano, T., Ohta, M. 1999. Alterations in monoamines and GABA in the ventromedial and paraventricular nuclei of the hypothalamus following cold exposure: A reduction in noradrenaline induces hyperphagia. *Brain Res.* 842 (1), 6-14.
84. Paredes, S., Pilar Terron Ma., Cubero, J., Valero, V., Barriga, C., Reiter, R., Rodriguez, A. 2006. Comparative study of the activity/rest rhythms in young and old ringdove (*Streptopelia risoria*): Correlation with serum levels of melatonin and serotonin. *Chronobiol. Int.* 23 (4), 779-793.
85. Patronek, G. J., Lawrence, T., Glickman, L. T., Beck, A., McCabe, G., Ecker, C. 1996. Risk factors for relinquishment of dogs to an animal shelter. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 209(3): 572-581.
86. Patterson, E.E., Armstrong, P.J., O'Brien, D.P., Roberts, M.C., Johnson, G.S., Mickelson, J.R. 2005. Clinical description and mode of inheritance of idiopathic epilepsy in English Springer Spaniels. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 226 (1), 54-58.
87. Pedersen, V., Jeppesen, L.L. 1990. Effects of early handling on later behaviour and stress responses in the silver fox (*Vulpes vulpes*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 26 (4), 383-393.

88. Perez-Guisado, J., Munoz-Serrano, A. 2009. Factors linked to territorial aggression in dogs. *J. Anim. Vet. Adv.* 8, 1412-1418.
89. Persico, A.M., Militerni, R., Bravaccio, C., Schneider, C., Melmed, R., Conciatori, M., Damiani, V., Baldi, A., Keller, F. 2000. Lack of association between serotonin transporter gene promoter variants and autistic disorder in two ethnically distinct samples. *Am. J. Med. Genet.* 96: 123-127.
90. Pietraszek, M.H., Urano, T., Sumiyoshi, K., Takada, Y., Takada, A., Ohara, K., Kondo, N., Ohara, K. 1992. Diurnal variations of whole blood serotonin content in patients with depression and neurosis. *J. Neurol. Neurosur. Ps.* 55 (4), 336.
91. Placidi, G. P. A., Oquendo, M. A., Malone, K. M., Huang, Y. Y., Ellis, S. P., Mann, J. John. 2001. Aggressivity, suicide attempts, and depression: Relationship to cerebrospinal fluid monoamine metabolite levels. *Biological. Psychiat*, 50 (10), 783-791.
92. Podberscek, A. L., Serpell, J. A. 1996. The English Cocker Spaniel: preliminary findings on aggressive behaviour. *Appl. anim. Behav. Sci.* 47, 75-89.
93. Reisner, I.R., Mann, J.J., Stanley, M., Huang, Y.-Y., Houpt, K.A. 1996. Comparison of cerebrospinal fluid monoamine metabolite levels in dominant-aggressive and non-aggressive dogs. *Brain. Res.* 714 (1-2), 57-64.

94. Reisner, I.R. 1997. Assessment, management, and prognosis of canine dominance-related aggression. *Vet. Clin. N. Am-Small.* 27 (3), 479-495.
95. Reisner, I.R. 2003. Differential diagnosis and management of human-directed aggression in dogs. *Vet. Clin. N. Am-Small.* 33,(2), 303-320.
96. Riva, J., Bondiolotti, G., Michelazzi, M., Verga a, M., Carenzi, C. 2008. Anxiety related behavioural disorders and neurotransmitters in dogs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 114, 168–181.
97. Rogeness, G. A., Javors, M. A., & Pliszka, S. R. 1992. Neurochemistry and child and adolescent psychiatry. *J. Am. Acad. Child. Adoles. Psychiatry.* 31, 765-781.
98. Rosado, B., García-Belenguer, S., León, M., Chacón, G., Villegas, A., Palacio, J. 2010. Blood concentrations of serotonin, cortisol and dehydroepiandrosterone in aggressive dogs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 123, 124-130.
99. Salman, M.D., Hutchison, J., Ruch-Gallie, R., Kogan, L., New, Jr .J.C., Kass, P.H., Scarlett, J.M. 2000. Behavioral Reasons for Relinquishment of Dogs and Cats to 12 Shelters. *J. Appl. Anim. Welf. Sci.* 3(2), 93–106.
100. Sanacora, G., Saricicek, A. 2007. GABAergic contributions to the pathophysiology of depression and the mechanism of antidepressant action. *CNS and Neurological Disorders - Drug Targets*, 6 (2), 127-140.

101. Sánchez, S., Sánchez, C., Paredes, S.D., Cubero, J., Rodríguez, A.B., Barriga, C. 2008. Circadian variations of serotonin in plasma and different brain regions of rats. *Mol. Cell. Biochem.* 317 (1-2), 105-111.
102. Sarrias, M.J., Cabre', P., Marti'nez, E., Artigas, F. 1990. Relationship between serotonergic measures in blood and cerebrospinal fluid simultaneously obtained in humans. *J. Neurochem.* 54, 783-786.
103. Sighieri, C., Mariti, C., Martelli, F., Baragli, P., Ducci, M., Gazzano, A. 2006. Effects of postnatal handling on the ontogenesis of canine behaviour. *Vet. Res. Commun.* 30 (1), 211-213.
104. Spencer, L. 1993. Behavioral services in a practice lead to quality relationships. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203 (7), 940-941.
105. Stead, A.C. 1982 Euthanasia in the dog and cat. *J. Small. Anim. Pract.* 23 (1), 37-43.
106. Tagaki, K., Kobagasi, S. 1956. Skin pressure reflex. *Acta Med Biol*, 4, 31-37.
107. Tan, Z. L., Bao, A. M., Tao, M., Liu, Y.J., Zhou, J.N. 2007. Circadian rhythm of salivary serotonin in patients with major depressive disorder. *Neuroendocrinology Letters.* 28 (4), 395-400.
108. Tsujino, N., Nakatani, Y., Seki, Y., Nakasato, A., Nakamura, M., Sugawara, M.,

- Arita, H. 2007. Abnormality of circadian rhythm accompanied by an increase in frontal cortex serotonin in animal model of autism. *Neurosci. Res.* 57 (2), 289-295.
109. Van Der Vegt, B. J., Lieuwes, N., Cremers, T. I. F. H., De Boer, S. F., Koolhaas, J. M. 2003. Cerebrospinal fluid monoamine and metabolite concentrations and aggression in rats. *Horm. Behav.* 44 (3), 199-208.
110. Van Vonderen, I.K., Kooistra, H.S., Rijnberk, A. 1998. Influence of veterinary care on the urinary corticoid: creatinine ratio in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 12, 431-435.
111. Vincent, I.C., Michell, A.R. 1992. Comparison of cortisol concentrations in saliva and plasma of dogs. *Res. Vet. Sci.* 53, 342-345.
112. Voith, V. L., Marder, A. 1989. Canine Behavioral Disorders. In: Morgan, R.V. (ed). *Handbook of Small Animal Practice.* Churchill Livingstone. 1033-1043.
113. Walsh, F. 2009. Human-animal bonds I: The relational significance of companion animals. *Fam. Process.* 48 (4), 462-480.
114. Weber, C.S., Thayer, J.F., Rudat, M., Perschel, F.H., Buchholz, K., Deter, H.C. 2007. Emotional irritation before mental stress is associated with enhanced peripheral norepinephrine. *Scand. J. Psychol.* 48 (6), 459-466.
115. Wells, D.L. 2009. The effects of animals on human health and well-being. *J. Soc. Issues.* 65 (3), 523-543.

116. Wright, J.C. 1990. Reported dog bites: are owned and stray dogs different. *Anthrozoos*. 4(2), 111-119.
117. Wynchank, D., Berk, M. 1998. Behavioural changes in dogs with acral lick dermatitis during a 2 month extension phase of fluoxetine treatment. *Hum. Psychopharm.* 13 (6), 435-437.
118. Yan, D., Urano, T., Pietraszek, M.H., Shimoyama, I., Uemura, K., Kojima, Y., Sakakibara, K., Serizawa, K., Takada, Y., Takada, A. 1993. Correlation between serotonergic measures in cerebrospinal fluid and blood of subhuman primate. *Life. Sci.* 52 (8), 745-749.
119. Yeghiayan, S.K., Luo, S., Shukitt-Hale, B., Lieberman, H.R. 2001. Tyrosine improves behavioral and neurochemical deficits caused by cold exposure. *Physiol. Behav.* 72, 311-316.
120. Zhou, J., Wang, X., Li, L., Cao, X., Xu, L., Sun, Y. 2006. Plasma serotonin levels in young violent offenders: Aggressive responding and personality correlates. *Prog. Neuro-Psychoph.* 30 (8), 1435-1441.
121. 一般社団法人ペットフード協会. 2011. 第 16 回 (平成 21 年度) 全国犬猫飼育率調査結果. <http://www.petfood.or.jp/topics/1003.shtml>
122. 内田佳子 & 菊水健史. 2008. 犬と猫の行動学、基礎から臨床へ. 学窓社刊. 44.

123.愛媛県動物愛護センター. 2011. 引き取りを希望された犬猫の飼い主の放棄理由の調査結果.

<http://www.pref.ehime.jp/040hokenhukushi/250doubutsuaigo/00004415040126/hikitoriryuu.htm>

124.環境省中央環境審議会動物愛護管理行政事務. 2010. 犬による咬傷事故件数（全国計：昭和 49 年～平成 21 年度）.

125.環境省中央環境審議会動物愛護管理行政事務. 2010. 犬・猫の引取り及び負傷動物の収容状況（全国統計）.

126.桜井富士朗. 2003. 「人と動物の関係」の学び方ーヒューマン・アニマル・ボンド研究って何だろう. メディカルサイエンス社刊. 176-179.

127.総務省. 2010. 人口推計 - 全国：年齢（各歳），男女別人口.

128.森裕司 & 武内ゆかり. 2004. 「動物看護のための動物行動学」 ファームプレス刊.