

社会行動、ホルモン、腸内細菌叢の関連解析による

ネコの集団形成能力の解明

(Elucidation of the ability of cats to form groups by
analysis of the correlation between social behavior,
hormones, and gut microbiomes)

2022年3月

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

伴侶動物学

DA1901 子安ひかり

目次	
要旨	1
英文要旨	6
総合緒言	12
第1章 ネコ-ネコ間における社会行動とホルモンの関連	16
第1節 緒言	16
第2節 材料と方法	17
1. 対象動物	17
2. 実験環境	18
3. 実験装置	18
5. 実験方法	19
第3節 統計解析	21
第4節 結果	22
2. 幼少期環境共有群、幼少期環境非共有群の社会行動の比較	22
3. 幼少期環境共有群、幼少期環境非共有群のホルモン濃度の比較	22
4. ネコの社会行動とホルモン濃度の相関	22
第5節 考察	23
第2章 ネコ-ヒト間における社会行動とホルモンの関連	26
第1節 緒言	26
第2節 材料と方法	27
1. 対象動物	27
2. 実験環境	27
3. 実験装置	27
1) 行動記録用ビデオカメラ	27
4. 実験方法	27
第3節 統計解析	28
第4節 結果	29
1. ネコのホルモン濃度とヒトに対する行動の相関	29
2. ネコの月齢、保護月齢とヒトに対する行動の相関	29
第5節 考察	29
第3章 腸内細菌叢とホルモン、社会行動の関連	32
第1節 緒言	32
第2節 材料と方法	33
1. 対象動物	33
2. 実験方法	33
第3節 統計解析	35

第4節 結果.....	36
1. 腸内細菌叢とホルモン濃度の相関	36
2. 腸内細菌叢と社会行動の相関	36
3. ネコ間の接触頻度と UniFrac 距離の相関.....	36
第5節 考察.....	37
総合考察.....	39
謝辞.....	42
引用文献.....	43
図表.....	53
図 1. 実験風景写真.....	53
図 2. 幼少期環境共有有無による社会行動の比較.....	54
図 3. 幼少期環境共有有無によるホルモン濃度の比較.....	55
図 4. オスにおけるホルモン濃度と対ヒト行動の相関	56
図 5. ネコ間の社会行動と UniFrac 距離の相関.....	57
表 1. 実験参加個体の情報.....	58
表 2. ネコに対する行動の解析項目とその定義.....	59
表 3. 個体ごとの尿採尿日	60
表 4. 行動変数のクラスター	61
表 5. ホルモンと対ネコ行動の相関	62
表 6. ヒトに対する行動解析項目とその定義	63
表 7. ホルモンと対ヒト行動の相関	64
表 8. 月齢と対ヒト行動の相関	65
表 9. 個体ごとの糞採取日	66
表 10. 腸内細菌叢の構成要素とホルモンの相関	67
表 11. 腸内細菌叢の構成要素と対ネコ行動の相関.....	68

要旨

ヒトを含む多くの動物は集団で生活する。進化系統樹的には哺乳類の祖先種は単独生活であり、様々な分類群において集団生活への進化がみられる。ネコ科動物のほとんどは成獣が群れを形成しないといった点で単独生活であるが、その例外の一つにイエネコ (*Felis silvestris catus*、以下ネコ) が挙げられる。ネコは共通祖先種が単独生活でありながら、現在では単独生活と集団生活が混在している。また、一部の野良ネコや室内飼育ネコはヒトに餌資源を依存しており、ヒトを介した密な集団を形成する。

集団には様々な構造がみられる。集団になっても個体間の関係性はあまり強くない同一時空間を共有する集合体や、内集団・外集団を区別し、資源共有や協力的行動が観察されるような親和的・協力的な集団も存在する。このように様々な構造の集団が存在するが、これらの集団の共通項は時間的・空間的近接性を保つことである。この集団形成に不可欠な時空間的近接性を保つためには、他の個体がいることを許容する寛容性、近づくことを怖がらない低い恐怖心といった気質が必要となる。これらの気質の根底にあるメカニズムのひとつに、コルチゾールやテストステロンといったホルモンシステムが存在する。また、内集団・外集団の区別、資源共有や協力といった行動の背景にはオキシトシンが関与することが知られている。さらに近年、腸内細菌叢がホルモンシステムに影響を与えることや社会行動を調節することが示されている。これらのことは、気質、つまり他個体に対する行動反応は、これらのホルモンシステムや腸内細菌叢によって調節されることを示唆している。

そこで本研究では、ネコの集団における社会行動が、腸内細菌叢、コルチゾール・テストステロン・オキシトシンによって調節されているかどうかを明らかにすることを目的にし、第1章でホルモンとネコ間における社会行動の関連、第2章でホルモンとヒト

ーネコ間における社会行動の関連、第3章で腸内細菌とホルモン、社会行動の関連を調査した。

第1章：ネコーネコ間におけるホルモンと社会行動の関連

ネコの居住形態は餌資源の分布状況に依存し、餌が豊富に集中して存在する状況では高密度な集団での生活、餌が分散している状況では単独で生活するという。このように餌の分布によってできたネコの集団は、親和的な集団なのか、同一時空間を共有する集合体なのか、ネコがどのような集団を形成しているか議論がなされている。また、ネコ同士の空間的近接性にもホルモンが関与している可能性が示されている。そこで第1章では、ネコが同種他個体とどのような集団を形成しているかどうかを解明するために、個体間の近接に関わるコルチゾールとテストステロン、親和的な集団を支えるオキシトシンの基礎値を測定し、これらのホルモン値とネコ間における社会行動の関連を明らかにすることを目的とした。また、集団形成や維持には相手個体との経験量や経験時期が重要になり、特に幼少期におけるオキシトシンを介した個体識別によって特定の個体と集団を形成していくことが知られている。このことから、幼少期経験によって集団の構造に違いが生じるかどうかを解明するために、幼少期環境を共有した場合とそうでない場合のホルモン値と社会行動の関連の違いを明らかにすることを目的とした。

ネコを5頭で2週間集団で生活させ、ネコの行動とホルモン値を解析し、その関連を調査した。幼少期環境共有の有無の影響を考慮するために、幼少期環境共有群を3集団、幼少期環境非共有群を3集団ずつ設定した。結果として、幼少期共有群においてコルチゾールと他個体との接触行動には正の相関係数が多くみられ、非共有群では負の相関係数がみられた。また、テストステロンについても幼少期共有群では他個体との接触行動と正の相関係数がみられたのに対し、非共有群では負の相関係数が多くみられた。さらに、オキシトシンについては、共有群においてはオキシトシン値が高い個体は他個体との接触行動が多くなり、非共有群においてはオキシトシン値が高い個体は他個体との接

触行動が少なくなった。先行研究においては、一般的に、オキシトシンは親和的な集団内における個体間ではオキシトシン値と接触行動に正の相関があることが報告されている。このことから、ネコは幼少期環境を共有することにより親和的な集団が形成され、オキシトシンと接触行動に正の相関がみられることが示された。今後は雄のみ、雌のみの集団等で実験を実施することで、ネコの集団形成の適応的な意義の解明につながることを期待される。

第2章：ヒトーネコ間におけるホルモンと社会行動の関連

ネコは、ヒトが農耕を開始したことに伴って、穀物に集まるげっ歯類を追ってヒトの傍で生活するようになり、ヒトとの関係が始まったとされている。現代においてもネコの個体密度や生息域にはヒトの存在が決定的な役割を果たすとされている。さらに、ネコはヒトの近くで生活するだけでなく、ヒトとの関わりを促進するような性質を多く持つ。先行研究により、コルチゾール値が高いとヒトから隠れる行動をより見せるようになることなどが報告されており、ネコのヒトとの関わりもホルモンシステムが調節している可能性がある。また、ネコのヒトに対する行動は幼少期のヒトからのハンドリング経験に依存するともされている。そこで第2章では、ヒトに対するネコの行動がホルモン、ヒトと関わり始めた時期によって調節されているかどうかを解明するためにネコからヒトへの行動とコルチゾール、テストステロン、オキシトシン値の関連を明らかにすることを目的とした。

ネコがヒトと1対1で2時間過ごし、その際のヒトに対する行動を解析、ネコのホルモン基礎値、ヒトと関わり始めた時期の指標となる保護時期との関連を調査した。その結果、テストステロン値が高いとヒトを避けない傾向にあること、保護時期が遅いほどヒトを避ける傾向にあることが示された。また、雌雄を分けた関連解析においては、雄において、テストステロン値が低い個体は、ヒトと同じソファに居る時間、ヒトとの接触時間が長く、擦りつけの回数が多くなり、ヒトとの接触が多かった。ヒトに対する社

会行動は、雌雄差はあったものの、テストステロンという生理学的要因と社会環境的要因の両方に影響を受ける可能性が考えられる。ネコの社会性については、先行研究により父系の影響を受ける可能性が報告されており、生理学的要因、社会環境的要因のみならず、遺伝的要因も考慮することが必要となる。

第3章：腸内細菌叢とホルモン、社会行動の関連

脳-腸軸とよばれる脳と腸の相互作用が存在し、腸内細菌叢が宿主の社会的行動に影響を与える。腸内細菌叢が脳機能に作用する経路の一つにホルモンシステムが挙げられ、腸内細菌叢はホルモンを直接的・間接的に産生し、社会行動を変化させることが知られている。また、腸内細菌は社会的相互作用や共有環境を介して、個体間で伝播される。マカクザルの研究で、社交性の高い個体ほど *Faecalibacterium* が豊富に存在する傾向があり、腸内細菌が社会性を進化させる要因になったのではないかと考えられている。ネコもヒトに餌資源を依存し、食を代表とした環境の変化は腸内細菌叢の変化が生じたこと、さらに餌資源が豊富なところでは他個体との距離が縮まり、共有環境や共食を介して、細菌が個体間で伝播されたことが予想される。そこで第3章では、ネコにおける社会行動、ホルモンと腸内細菌叢の関連を明らかにするために、腸内細菌とホルモンの相関、腸内細菌と社会行動の相関、腸内細菌叢の類似度と個体間の相互作用の相関を調査することを目的とした。

ネコの糞便中の 16S rRNA 解析により腸内細菌叢を調べ、ホルモン基礎値、社会行動の関連を調査した。腸内細菌叢の構成要素 (PCoA) とコルチゾール値、オキシトシン値、接触行動に関連がみられた。また Unifrac 距離解析において、接触頻度や共食頻度が高い個体同士ほど腸内細菌叢が類似していることが示唆された。腸内細菌叢 PCoA とホルモン値に相関がみられたことから、腸内細菌叢は直接、もしくは神経系を介して、これらのホルモンシステムの産生や分泌に関与している可能性が考えられる。また腸内細菌叢 PCoA と接触行動、親和的な接触行動、攻撃行動などに正の相関がみられたこと

から、腸内細菌が社会行動を調節している可能性、もしくは接触や共食といった相互作用により腸内細菌が伝播する可能性が示された。今後例数を追加し、より詳細な属、種レベルでの解析を行い、行動やホルモンと関連のある細菌種の同定が求められる。接触頻度が多い個体同士ほど腸内細菌叢が類似していたという結果は、自然集団における接触頻度と腸内細菌叢の類似度の関連を調べた先行研究と一致するものであった。このように細菌叢が類似することが、個体や集団の適応度にどのような影響を与えるか調査することが今後の課題となる。

本研究では、第1-3章を通して、ネコの同種他個体、ヒトに対する社会行動がコルチゾール、テストステロン、オキシトシンという生理学的要因に加え、幼少期の経験やヒトと関わり始めた時期という社会環境的要因に影響を受けていることが示唆された。また、ネコのホルモンや社会行動は腸内細菌の影響を受けていること、相互作用が多い個体同士ほど腸内細菌叢が類似することが示唆された。本研究結果において、幼少期環境の共有の有無によって、集団の構造が異なることでオキシトシンと社会行動の関係性に違いが見られることが示された。ネコの同種他個体に対する社会行動とオキシトシン、幼少期経験の関連を初めて明らかにした研究となった。本研究はホルモンと社会行動、腸内細菌とホルモン、社会行動の相関関係の報告にとどまるため、ホルモンや腸内細菌の投与実験等の実証研究を行うことでより明確な結果を示すことが期待される。

英文要旨

Many animals, including humans, live in groups. In evolutionary phylogenetic terms, the ancestral species of mammals were solitary and have evolved to live in groups in various taxonomic groups. Most feline species are solitary and adults do not form groups, with one of the exceptions being the domestic cat (*Felis silvestris catus*). While the common ancestor species of cats lived alone, now there are both solitary and group living cats. In addition, some feral cats and indoor cats depend on humans for resources, especially food resources, and form dense groups through humans.

Even though animals form groups, several types of groups can be observed. In some groups the relationship between individuals is not strong and there are just aggregations that share the same space and time, and in others, the individuals are more affinitive and cooperative. They share resources and show cooperative behavior and clearly separate in-group and out-group individuals. Although there are various forms of groups with such different structures, a common factor of these groups is that they keep temporal and spatial proximity. In order to maintain the spatial and temporal proximity that is essential for this group formation, it is necessary to have temperaments such as tolerance for the presence of other individuals and low fear to approach them. One of the mechanisms underlying these temperaments is the hormonal system such as cortisol and testosterone. It is also known that oxytocin is involved in the background of in-group/out-group distinction, resource sharing, and cooperation. Recently, it has become clear that the gut microbiome influences the hormonal system and modulates social behaviors. These suggest that temperament, that is behavioral responses to other individuals, is modulated by these hormonal systems and gut microbiome.

In this study, we aimed to clarify whether social behavior in cat groups is modulated by gut microbiome, cortisol, testosterone, and oxytocin. We investigated the relationship between

hormones and social behavior among cats in Chapter 1, the relationship between hormones and social behavior between humans and cats in Chapter 2, and the relationship between gut microbiome, hormones, and social behavior in Chapter 3.

Chapter 1: Hormones and social behavior among cats

Cats live in dense groups when food resources are abundant and concentrated, but live alone when food resources are dispersed. It has been discussed what type of groups cats form, and whether they are affiliative groups or aggregations that just share the same space and time. Hormones have also been shown to play a role in the spatial proximity of each cat. Therefore, in Chapter 1, in order to elucidate what type of groups cats form with other individuals and to clarify the relationship between hormone concentrations and social behavior among cats, we measured basal concentrations of cortisol and testosterone, which are involved in proximity between individuals, and oxytocin, which supports affiliative groups. It is also known that the amount and timing of experience with a partner is important for group formation and maintenance, and in particular, group formation with a specific individual by individual identification through oxytocin in childhood. Therefore, in order to elucidate whether childhood experiences cause differences in group structure, we aimed to clarify the differences in the association between hormone concentrations and social behavior between those who shared a childhood environment and those who did not.

Five cats were kept in one room for two weeks, and their behavior and hormone concentrations were analyzed to investigate the relationship between them. In order to consider the effect of the sharing of the childhood environment, we set up three groups of shared childhood environments and three groups of unshared childhood environments. The results showed that there were many positive correlation coefficients between cortisol and contact behavior with other individuals in the shared groups, and negative correlation coefficients in the unshared groups. As for

testosterone, positive correlation coefficients were found with contact behavior with other individuals in the shared groups, while negative correlation coefficients were found in the unshared groups. Furthermore, as for oxytocin, individuals with high oxytocin concentrations exhibited more contact behavior with other individuals in the shared groups, while individuals with high oxytocin concentrations exhibited less contact behavior with other individuals in the unshared groups. In previous studies, oxytocin was generally reported to be positively correlated with oxytocin concentrations and contact behavior among individuals in affiliative groups. This indicates that cats form affiliative groups by sharing their childhood environment, which is positively correlated between oxytocin and contact behavior. Future experiments with only male and only female groups are needed to elucidate the adaptive significance of group formation in cats.

Chapter 2: Hormones and social behavior between human and cat

It is said that the relationship between cats and humans began when the cats followed rodents that gathered around human grains which ended up living beside humans. Even today, the presence of humans plays a decisive role in the population density and habitat of cats. In addition, cats not only live in close proximity to humans, but they also have many characteristics that promote interaction with humans. Previous studies have shown that high cortisol concentrations are associated with more hiding behavior from humans, suggesting that the hormonal system may modulate cat behavior with humans. It is also believed that a cat's behavior toward humans depends on handling experience from humans in its childhood. Therefore, in Chapter 2, we aimed to clarify the relationship between cat behavior toward humans, hormone concentrations, and the timing of beginning human contact.

One cat and a human spent two hours in one room, and the behavior of the cat toward the human was analyzed. The relationship between the cat's basal hormone concentrations and the time of sheltering, which is an indicator of when the cat started interacting with the human, was investigated. The results showed that individuals with high testosterone concentrations tended not to avoid humans, and that individuals who were sheltered later tended to avoid humans. In addition, in the correlation analysis of males and females separately, in males, individuals with lower testosterone concentrations spent more time on the same sofa with humans, spent more time in contact with humans, and rubbed against each other more often. It is possible that cat's social behavior toward humans is influenced by both physiological and socio-environmental factors although there were some sex differences. Previous studies have reported the possibility of paternal influence on cat sociality, requiring consideration of genetic factors in addition to physiological and socio-environmental factors.

Chapter 3: Correlation between gut microbiome, hormones, and social behavior

There is an interaction between the brain and the gut known as the brain-gut axis, and the gut microbiome influences the social behavior of the host. One of the pathways through which the gut microbiome acts on brain function is the hormone system. The gut microbiome is known to produce hormones directly and indirectly to alter social behavior. In addition, gut microbiome is transmitted between individuals through social interactions and shared environments. In a study of macaques, the more sociable individuals tended to have a larger abundance of *Faecalibacterium*, suggesting that gut microbes may have been a factor in the evolution of sociality. Cats are also expected to have changed their gut microbiome as a result of environmental changes of dependence on humans for food resources, and to have transmitted microbes between individuals through shared environments and co-feeding as they became closer to other individuals where food resources were abundant. Therefore, in Chapter 3, we aimed to investigate the correlation

between gut microbiome and hormones, the correlation between gut microbiome and social behavior, and the correlation between the similarity of gut microbiome and the frequency of interaction between individuals.

We investigated the gut microbiome by 16S rRNA analysis in cat feces and its association with basal hormone levels and social behavior. The results showed an association between the components (PCoA) of the gut microbiome and cortisol and oxytocin concentrations and contact behavior. In addition, UniFrac distance analysis suggested that individuals with a higher frequency of contact and co-feeding were more similar in their gut microbiome. The correlation between the PCoA of the gut microbiota and hormone concentrations suggests that the gut microbiome might be involved in the secretion of these hormone systems, either directly or through the nervous system. The positive correlation between PCoA and contact behavior, affinity behavior, and aggressive behavior indicated that gut microbes may modulate social behavior, or that gut microbes may be transmitted through interactions such as contact. In the future, we will add more cases and conduct more detailed analyses based on genus and species levels to identify bacterial species that are associated with behavior and hormones. The result that individuals with more frequent contact with each other had more similar gut microbiomes was consistent with previous studies in wild populations. Future research is needed to investigate how this similarity in microbiome affects the degree of adaptation of individuals and populations.

In this study, through Chapters 1-3, it was suggested that the social behavior of cats toward other individuals of the same species and humans is influenced by physiological factors such as hormones as well as socio-environmental factors such as childhood experiences and the timing when they began to interact with humans. The results also suggested that cat hormones and social behavior are influenced by gut microbiome, and that individuals that interact more frequently with each other have more similar gut microbiome. In the results of this study, it was shown that

the relationship between oxytocin and social behavior differed due to differences in the structure of the group depending on whether or not the childhood environment was shared. This is the first study to reveal the relationship between oxytocin and social behavior of cats toward other individuals of the same species. Since this study reported only the correlation between hormones and social behavior, and between intestinal bacteria, hormones, and social behavior, it is expected to provide clearer results by conducting administration experiments of hormones and gut microbes.

総合緒言

多くの動物は集団で生活する。進化系統樹的には祖先種が単独生活を営み、集団生活は様々な分類群で進化してきたと考えられている (1)。集団生活への進化は、何かしらの生態学的圧力の下で、集団生活する際の個体の適応度におけるメリットがコストを上回った際に生じる。その生態学的圧力として、採餌の効率化、捕食者からの防御、交配機会の頻度（子殺しを含む）の大きく3つがあげられる。これらの生態学的圧力はいずれも集団で生活する個体に利益をもたらす (2)。

集団は種やグループメンバーの社会的相互作用の種類によって用語が異なり（魚は shoal、チンパンジーは community など）、集団生活の定義は様々である。Wilson (3) は、グループを「同じ種に属する生物で、他の同種の生物と比べて明らかに大きな相互作用をしながら一定期間一緒にいる生物の集合」と定義している。また、Lee (4) は、「2匹以上の動物が一緒に生活して構成する社会的ユニット」と定義している。この集団の定義が様々であることは、集団の構造が多様であることによると考えられる。集団で生活していてもあまり個体間の関係性が強くなく、同一時空間を共有するだけの単なる集合体を形成する場合もあれば、内集団・外集団を区別し集団内での資源の共有や協力行動などがみられる親和的な集団も存在する。単独で過ごしている動物でも、交尾や子育ての際、あるいは大きな食物源に多くの同種が集まった場合など、ある時点では他の個体と社会的相互作用を行い、集団に加わることもある (5)。

ネコ科動物のほとんどは成獣が群れを形成しないといった点で単独生活であるが(6)、その例外として群れで生活するライオンとチーター、イエネコ (*Felis silvestris catus*、以下ネコ) が挙げられる。ライオンは少数のオスと血縁関係にある複数のメスとその子ライオンがプライドという群れを形成する。チーターはオスのきょうだいでコアリションという群れを形成し、最近では血縁関係のない個体も含む5頭のコアリション

が形成されていることも報告されている。ネコも母子、また血縁関係にある姉妹との共同養育を軸とした集団を形成する。

特に、ネコはヒトや血縁関係のない他のネコとも集団で生活する場面が現在では馴染みとなっている。ヒトの定住生活の開始に伴い、げっ歯類などの餌資源が豊富な新たなニッチを手に入れたことがネコの集団生活のきっかけであると考えられている。実際に、現代のネコの分布パターンもヒトの分布に依存することが報告されている (7-9)。しかし、ネコの居住形態は餌の分布によるとされており、餌が集中して豊富に存在する場合には集団を形成し、餌が分散して存在する場合には単独で生活する (10)。つまり、ネコは必ずしも集団で生活するわけではなく、集団生活、単独生活が混在する種だといえる。ネコの共通祖先種は単独性でありながら、ネコは集団生活する個体が多く見受けられるのである。このネコを用いて集団形成、維持に関わる行動やそれを調節する内分泌メカニズムを明らかにすることは、動物の集団の形成、維持メカニズムを解く一助となりうるであろう。

集団形成のために必要不可欠な空間的近接性を保つためには、他の個体がいることを許容する寛容性、近づくことや近づかれることを怖がらない低い恐怖心といった気質が必要となる。これらの気質の根底にあるメカニズムのひとつに、内分泌システムが存在する。特に警戒心や寛容性に関与する **hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA)** 軸、**hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG)** 軸が集団形成や維持には重要な役割を果たす。HPA 軸においてグルココルチコイド (GC) は、動物が何か脅威になるものに直面した際に行動反応を起こすためのエネルギーとして産生される。GC 濃度が高い個体は、攻撃性や恐怖反応が増強されることが示されている (11-14)。また、HPG 軸において産生されるテストステロンはアンドロゲンの一種であり攻撃性と関連する (15-19)。GC やテストステロンの低下は攻撃性や寛容性といった気質を変化させ、空間的な近接を

可能にするホルモンであるといえる。さらに、多種多様な分類群において社会行動を調節するオキシトシンも注目されているペプチドホルモンである。オキシトシンは、交尾や母親の世話などの生殖行動を調整し、絆形成に関与する。このオキシトシンを介して特定の個体と関係性を結ぶことによって、集団外に対しては排他的になる (20–22)。これらの社会行動とホルモンの関連研究は、集団を形成、維持するための行動は GC やテストステロン、オキシトシンといったホルモンによって調節されていることを示唆している。

さらに、脳–腸軸ともいわれる軸が存在し、腸内の細菌は腸内だけでなく脳とも相互作用している。つまり、腸内細菌が脳に作用し、社会行動を調節するのである。腸内細菌が脳機能に影響を与える経路の一つとして、GC、性ステロイド、神経ペプチドなどのホルモン活動が挙げられる。腸内細菌は、これらのホルモンを直接 (23, 24)、または間接的に (25) 産生することができる。また、社会的相互作用や共有環境を介した細菌の伝播によってグループメイトの腸内細菌叢が類似するという注目すべき知見もある (26–28)。これらの観察結果は、細菌の伝播と腸内細菌叢の類似性がホルモンシステムを介して社会行動を変化させ、集団形成のプロセスを強化し、結果として集団内での密接なつながりをもたらすことを示唆している。

そこで、本研究では、動物の集団内における社会行動がホルモンや腸内細菌によって調節されているかどうかを解明するために、ネコの社会行動とホルモン、腸内細菌の関連を明らかにすることを目的とした。第 1 章でネコ–ネコ間における社会行動とホルモンの関連を、第 2 章で異種混合集団としてのヒト–ネコ間における社会行動とホルモンの関連を調査した。そして、第 3 章でネコの腸内細菌と社会行動、ホルモンの関連を調査した。集団で生活するネコにおいて、1. コルチゾールとテストステロンの濃度が高い個体は、社会的寛容性が低く、他のネコやヒトに対して親和的な行動より

も攻撃関連行動、避けるような行動をとるようになる、2. オキシトシンの濃度が高い個体は、他のネコやヒトに対して攻撃的な行動よりも親和的な行動をとるようになる、3. 特定の腸内細菌の量と個体のホルモン濃度、社会行動には関連がある、4. 集団内において他個体と接触頻度の高い個体同士の腸内細菌叢が類似する、と4つの仮説を立てた。

第1章 ネコ-ネコ間における社会行動とホルモンの関連

第1節 緒言

ネコの居住形態は餌の分布状況に依存し、餌が豊富に集中して存在する状況では高密度な集団での生活、餌が分散している状況では単独で生活する (10)。このように餌資源の分布によってできたネコの集団は親和的な集団なのか、同一時空間を共有する個体の集まりなのかという、ネコはどのような集団を形成しているのかという疑問が生じる。

集団で生活するネコ間では多くの相互作用は観察報告がされており、親和的な集団だというほうが有力のようである。たとえば、ネコは血縁関係にあるメス同士で共同養育を行う (29-33)。また、van Aarde (34)は、大人ネコ同士が集団を形成し、その理由のひとつはおそらく暖をとるためだということを報告している。さらに、集団の中では、ネコ同士の絆が次第に深まり、他のネコに対して対立が生まれるといった報告もある (35)。ネコにおいては、餌資源を共有することが群居生活を行うきっかけとなり、その後、共同養育や共同防衛といった協力関係のある親和的な集団が出来上がったのではないかと仮説が立てられている (36, 37)。

また、ネコ同士の空間的近接性にもホルモンが関与している可能性がある。野生種であるヨーロッパヤマネコ (*Felis silvestris silvestris*) と比較してネコの毛中コルチゾール濃度が低いことが示されており、ネコのコルチゾールが低いことはヒトや他個体に対してより寛容になることを可能にしているかもしれないと考えられている (38)。ネコ同士においても、コルチゾールと攻撃行動に正の相関があることが報告されている (39)。これらのことからコルチゾールが集団形成に必要な空間的な近接の維持を可能にすることが示唆されている。テストステロンやオキシトシンとネコ間における社会

行動はほとんど調べられていないものの、*in vitro* でネコのコルチゾールがテストステロン分泌を促すことも知られており (40)、コルチゾールとテストステロンは共同で働いて社会行動を調節していると考えられる。

さらに集団形成や維持には個体識別が重要になるが、ここにもオキシトシンが関与している。母子間において、分娩や吸乳の刺激により母親の脳内で放出されたオキシトシンの一部が嗅球に到達して神経細胞を興奮させ、互いの嗅覚シグナルが嗅球に入力されることによって、選択的に反応する神経回路が形成される。この記憶を基に、母子間で特異的な養育行動、愛着行動を示すようになる (41)。このような幼少期におけるオキシトシンを介した個体識別能力と記憶形成によって、特定の個体と絆を形成し集団を形成していく。さらに、母親との絆形成が阻害されたアカゲザルは成長後もオキシトシンが低く、他個体との親和的な行動が少なくなる (42)。これらの研究は、幼少期に絆形成のなされなかった個体は成長後も他の個体との親和的な行動が少なくなり、絆の形成が難しくなることを示唆している。

そこで第1章においては、ネコがどのような集団を形成しているかどうかを解明するためにコルチゾール、テストステロン、オキシトシン濃度とネコ間における社会行動の関連を明らかにすること、また幼少期環境の共有の有無によって絆形成に違いが生じるかどうかを解明するために幼少期環境の共有の有無による集団の在り方を明らかにすることを目的とした。

第2節 材料と方法

1. 対象動物

猫カフェ、保護施設のネコ 30 頭（猫カフェネコ：10 頭、保護施設ネコ：20 頭）を対象に実験を行った。実験に参加したネコは各施設にて、少なくとも実験開始 1 ヶ月前

から他のネコと同じ空間で生活していた。各施設のネコをランダムに5頭ずつグループ分けした。共同生活開始時期が集団の成り立ちに影響を与えると予測されることから、共同生活開始時期によって、3集団ずつ幼少期環境共有群（共同生活開始月齢： 11.3 ± 5.4 ヶ月齢、3頭不明ではあるが実験時に若齢であったことから共同生活開始時期も若齢であったことが予想される）、非共有群（共同生活開始月齢： 54.2 ± 2.9 ヶ月齢、9頭不明ではあるが実験時に老齢であったことから共同生活開始時期も老齢であったことが予想される）の2群に分けた。各グループの構成の詳細は表1に示す。

2. 実験環境

実験は猫カフェの1室（ 15 m^2 ）、もしくは麻布大学7号館201（ 21 m^2 ）にて実施した。幼少期環境共有群のうち、2集団の実験を猫カフェで実施、幼少期環境共有群1集団と幼少期環境非共有群3集団の実験を麻布大学で実施した。どちらもネコにとって初めての環境であった。部屋にはトイレを2-5つ、飲水を猫カフェ：4ヶ所、麻布大学：2-4ヶ所、ネコが休息場所を選択できるよう5つのベッドを設置した。また、高さを利用できるようにキャットタワーを1台、もしくはウォールステップを設置した。食餌に関しては、共有群では1日2回朝と夜に採餌、非共有群では2か所に設置しいつでも自由に採餌していた。各施設での実験環境を図1に示す。照明については、およそ21:00-翌6:00は部屋の電気を消し、6:00-21:00は部屋の電気をつけた状態であった。

3. 実験装置

1) 行動記録用ビデオカメラ

実験中のネコの行動を記録するために、カメラ（HX-A1H, Panasonic）2~3台を用いて死角がないように設定した。

2) 赤外線ライト

夜間のネコの行動の記録を可能にするために、赤外線ライトを2台を使用した。

5. 実験方法

ネコが5頭で1室にて過ごした際の2週間の行動観察、尿採取を行いホルモン測定を実施した。

1) 行動観察

(1) 観察時間

行動観察については、幼少期環境非共有群：21：00～翌7：00、幼少期環境共有群：22：00～翌6：00の行動を録画した。ネコ同士の関係性のみを記録するために、行動解析は実験部屋へヒトの出入りがない隔日夜間の解析を行った。幼少期環境非共有群：計70時間、幼少期環境共有群：計56時間実施した。

(2) 行動解析

行動解析はグルーミング時間、他個体のいるベッドへの侵入回数、ベッドの共有時間、こすりつけ(回)、匂いかぎ(回)、後追い(回)、遊び(回)、攻撃(回)、逃避(回)、食餌共有(秒)といった行動とその相手をフォーカルサンプリング、連続サンプリングにて記録した。行動解析の各項目とその定義を表2に示す。

2) 食餌共有テスト

幼少期環境共有群では、協力施設の都合上、ネコは決められた時間に1日2回給餌されていたため、食餌共有の評価が困難であった。そこで、食餌共有を評価するために食餌共有テストを2回ずつ実施した。1m離れた場所に餌の入った容器を2ヶ所に設置し、5頭のネコが餌を食べ終わるまでの行動を観察した。実験中は夜間の観察と同様

のカメラを用いて、死角がないように撮影した。その後、録画映像から、誰と、どのくらいの時間（秒）、同じお皿から餌を食べたかを解析した。

3) 尿採取とホルモン濃度測定

(1) 尿採取

ネコの尿サンプルは2層式のシステムトイレを使用し排尿直後に収集した。幼少期環境非共有群は採尿直後に -80°C 冷凍庫で保管、幼少期環境共有群は排尿後氷上にて保管し、4時間以内に -80°C 冷凍庫に移動し保管した。その後、尿サンプルは15分間遠心分離を行った（3000rpm, 4°C ）。尿は計160サンプル（ 5.3 ± 3.4 サンプル / 個体）収集した。尿の採取日や個体ごとの採取数については表3に示した。

(2) コルチゾール濃度測定

コルチゾール濃度は、酵素結合免疫吸着法（enzyme-linked immunosorbent assay : ELISA）を用いて測定した。尿原液をELISAプレートの各ウェルに分注した。一次抗体は20万倍に希釈した抗コルチゾール抗体（ab1949, Abcam）、二次抗体は500倍に希釈したマウスIgG-Fcフラグメント抗体（A90-131A, BETHYL）とした。また、今回使用した西洋ワサビペルオキシダーゼ（horseradish peroxidase : HRP）は、Cortisol-3-CMO-HRP（FKA403, COSMO）であり、100万倍に希釈した。スタンダードサンプルと尿サンプルは $15\mu\text{L}$ 、一次抗体、二次抗体、HRPは $100\mu\text{L}$ ずつ分注した。得られたコルチゾール濃度の値は、クレアチニン補正を行った。

(3) テストステロン濃度測定

テストステロン濃度はELISA法で測定した。原液の尿サンプルをELISAプレートのウェルに分注するか、濃度が濃く測定不能の場合はサンプルを0.1%牛血清アルブミンを含むリン酸緩衝液で2倍に希釈してから分注した。一次抗体は2万5000倍に希釈し

た抗テストステロン 3CMO 抗体 (ab35878, Abcam)、二次抗体は 500 倍に希釈したマウス IgG-Fc フラグメント抗体 (A90-131A, BETHYL) を使用した。HRP は Testosterone-3-CMO-HRP (FKA101, COSMO) を 100 万倍に希釈したものを使用した。スタンダードサンプルと尿サンプルは 25 μ L、一次抗体、二次抗体、HRP は 100 μ L ずつ分注した。得られたテストステロン濃度の値はクレアチニン補正を行った。

(4) オキシトシン濃度測定

オキシトシン濃度は ELISA 法で測定し、市販のオキシトシン ELISA キット (ADI-901-153A-0001, ENZO) を使用した。尿サンプルをキットのアッセイバッファで 50 倍に希釈し、ELISA プレートのウェルに分注した。スタンダードサンプルと尿サンプルは 15 μ L、一次抗体と HRP は 50 μ L ずつ分注した。得られたオキシトシン濃度の値はクレアチニン補正を行った。

(5) クレアチニン濃度測定

クレアチニンスタンダードサンプルおよび尿サンプルを蒸留水で 100 倍に希釈し、96 ウェルマイクロプレート (1-6776-03、アズワン株式会社) にそれぞれ 100 μ L ずつ分注した後、1M NaOH を 50 μ L、1g/dL トリニトロフェノールを 50 μ L 分注した。プレートを室温 (20~22 $^{\circ}$ C) で 20 分間放置した後、マイクロプレートリーダー (MODEL 680XR、Bio-Rad Laboratories, Inc.) を用いて、波長 490nm の吸光度を測定した。サンプルは原液のまま使用した。

第 3 節 統計解析

猫カフェでの実験、麻布大学での実験では食餌共有テストの方法、観察時間が大きく異なるため、各実験場所において、食餌共有の秒数を標準化した値を使用した。次にネコに対する行動変数のクラスタリングを実施した。その後、社会行動の発現、ホル

モン濃度が幼少期環境の共有の有無で差があるかどうかを調べるために、幼少期環境共有群、幼少期環境非共有群のウィルコクソンの符号付順位検定を行った。また、ネコの社会行動とコルチゾール濃度、テストステロン濃度、オキシトシン濃度の相関を調べるために、スピアマンの順位相関係数を使用した。解析には統計解析ソフト（JMP 14.2.0, SAS Institute Inc）を使用し、有意水準は5%とした。

第4節 結果

1. 行動変数のクラスタリング

はじめにネコに対する行動のクラスタリングを実施した結果、匂いかぎ、攻撃に関わる行動や遊び、接触行動、親和的な接触行動、食餌共有とグルーミング（受動）の5つのクラスターに大別された（表4）。

2. 幼少期環境共有群、幼少期環境非共有群の社会行動の比較

各行動クラスターを幼少期環境共有群、幼少期環境非共有群で比較したところ、匂いかぎ（図2A； $Z=3.070, p=0.002$ ）、接触行動（図2C； $Z=3.154, p=0.002$ ）、親和的な接触行動（図2D； $Z=2.396, p=0.017$ ）が非共有群で多かった。また、攻撃に関わる行動や遊び（図2B； $Z=-3.318, p=0.001$ ）は共有群で多かった。

3. 幼少期環境共有群、幼少期環境非共有群のホルモン濃度の比較

各ホルモン濃度を幼少期環境共有群、非共有群で比較したところ、テストステロン濃度（図3B； $Z=1.867, p=0.062$ ）、オキシトシン濃度（図3C； $Z=1.701, p=0.089$ ）が非共有群で高い傾向にあった。

4. ネコの社会行動とホルモン濃度の相関

1) コルチゾール

幼少期環境共有群において、コルチゾール濃度と接触行動に正の相関がみられた（表 5 ; $r_s=0.533, p=0.041$ ）。他に相関のある項目は認められなかったものの、匂いかぎ、接触行動、食餌共有とグルーミングの 3 つの行動クラスターにおいて、共有群では正の相関係数であったのに対し、非共有群では負の相関係数であった。

2) テストステロン

幼少期環境共有群、非共有群どちらにおいても、テストステロン濃度と行動クラスターに相関はみられなかった（表 5）。また、匂いかぎでは負の相関係数、攻撃に関わる行動や遊びでは正の相関係数が両群に共通してみられたものの、接触行動、親和的な接触行動、食餌共有とグルーミング（受動）の 3 つのにおいては共有群では正の相関係数、非共有群では負の相関係数がみられた。

3) オキシトシン

オキシトシン濃度と匂いかぎにおいて、幼少期環境共有群では正の相関（表 5 ; $r_s=0.668, p=0.007$ ）、非共有群では負の相関（表 5 ; $r_s=-0.618, p=0.014$ ）がみられた。また、非共有群においてオキシトシン濃度と接触行動に負の相関がみられた（表 5 ; $r_s=-0.521, p=0.046$ ）。他の項目においても、すべてのオキシトシン濃度と行動クラスターの関係において、共有群では正の相関係数、非共有群では負の相関係数がみられた。

第 5 節 考察

第 1 章の結果から、幼少期環境共有の有無によって社会行動の発現、ホルモン濃度に違いがあることが示唆された。また、幼少期環境共有の有無によって、オキシトシンと匂いかぎや接触行動など全ての行動クラスターにおいて、共有群では正の相関係数、非共有群では負の相関係数が示された。またテストステロンが高いと攻撃に関わ

る行動や遊びが多くなると幼少期環境の共有の有無で共通していたものの、他ほとんどの項目において非共有群ではコルチゾール、テストステロン濃度と行動に負の相関係数、共有群では正の相関係数がみられた。

一般的に、オキシトシンは親和的な集団において、集団内の個体に対しては親和的に機能し、オキシトシンと接触行動の正の相関が報告されている(43, 44)。今回の実験において、幼少期環境共有群ではオキシトシンと社会行動に正の相関がみられ、先行研究と同じように親和的な集団内の個体に対するオキシトシンの機能がみられたことを示唆している。一方、幼少期環境非共有群では、親和的な集団の形成には至っておらず、オキシトシンと社会行動に負の相関がみられたことを示唆している。これらの結果から、幼少期環境を共有の有無によって集団の構造が異なり、オキシトシンの機能が異なることが示された。

また、テストステロンが高いと攻撃に関わる行動や遊びが多くなると幼少期環境の共有の有無で共通していたものの、他の多くの行動クラスターにおいて、共有群ではコルチゾール、テストステロン濃度と正の相関、非共有群では負の相関がみられた。有意な相関はみられなかったものの、幼少期環境共有群、非共有群で共通してテストステロンが低くなることによって攻撃性が下がり、近接した生活が可能であったことが考えられる。コルチゾールとテストステロン濃度が高くなると攻撃性が高まり、親和的な接触行動が減ることが予想されたが、他の多くの行動項目では幼少期環境共有群ではコルチゾール、テストステロン濃度が高いと他個体との接触行動が多かったことに対して、非共有群ではコルチゾール、テストステロン濃度が高いと他個体との接触行動が少なかった。今回のオキシトシンの結果から幼少期環境共有群は親和的な集団であったのに対して非共有群は同一時空間を共有する集合体のような集団であったこと、また幼少期環境非共有群が共有群よりもコルチゾール濃度が高かったことを考慮すると、同一時空間を共有する集合体においてはコルチゾール、テストステロン濃度

が高いと他の個体との親和的な接触が難しいことを示唆している。一方、親和的な集団内においては、コルチゾールやテストステロン濃度は攻撃性や寛容性よりもむしろ社会行動の発現量などその個体の活性の高さに依存するのかもしれない。

今回の実験では、幼少期環境の共有の有無によって集団の構造に違いがあるかどうかを比較したが、年齢や飼育環境といった他の要因の影響を排除しきれていない点が課題である。幼少期環境非共有群では共有群よりも、共同生活開始時期のみならず、実験時の月齢も高かったことから、若い集団では遊びや争いが多いなどといったように年齢が社会行動の発現に影響を与えている可能性が考えられる。また、幼少期環境共有群には猫カフェネコが10頭含まれ、猫カフェ、保護施設と異なる環境で生活するネコのグループを観察したことから、普段の飼育環境におけるネコの密度や他のネコとの関係性が影響を与えたことも考えられる。今後は、統一された飼育環境、年齢で実験を実施する必要がある。

いくつかの方法論的な課題は残るものの、第1章においては、特に幼少期環境の共有をしていない集団でのネコの社会行動がコルチゾール、テストステロンによって調節されている可能性、また幼少期環境共有群、非共有群で集団の構造が異なりオキシトシンの機能が異なる可能性が示された。

第2章 ネコ－ヒト間における社会行動とホルモンの関連

第1節 緒言

ネコがヒトと共存を始めたのは約1万年前だと言われている(45)。ネコとヒトの共存は、ヒトが農耕を開始したことに伴い、ネコが穀物に集まるげっ歯類を追ってヒトの傍で生活するようになり、ヒトとの関係が始まったとされている(46)。実際に、現在においてもネコの個体数や生息域はヒトの存在が決定的な役割を果たすことを示す報告もある(7-9)。

ネコがげっ歯類を追ってヒトの生活圏で生活するだけであればヒトとの関わりはあまり深くないようにも思えるが、現代のネコはヒトとの関わりを促進するような性質を多く持つ。例えば音声コミュニケーションであり、ネコの音声はヒトとのコミュニケーションをより効果的に行うように変化している。ミャー(meow)は一般的にネコ同士では母子間でしか使われないが(47)、ネコは成獣になった後もヒトの気を引くためのシグナルとして使用する(48)。他にも視覚を用いたコミュニケーションも発達しており(49)、コミュニケーションを円滑にする機能を持つとされるまばたきの同調も観察されている(50-52)。

また、このようなヒトとの関わりもホルモンと関連している可能性が示されている。糞中コルチゾールとヒトに対するネコの気質では相関はみられなかったが(53)、尿中コルチゾールとネコがヒトから隠れる行動には負の相関があることが報告されている(54)。尿中ホルモンはヒトに対する行動を評価する上で有効な指標となりうると考えられる。さらにヒトのケアの仕方によって尿中コルチゾールに変化が生じること(54)、またコルチゾールだけでなくオキシトシンも変化すること(55)も知られており、ネコとヒトの関わりもホルモンによって調節されている可能性がある。

また、ネコのヒトに対する社会化は幼少期に受けたヒトからのハンドリング経験に影響を受けることがいくつかの研究で明らかになっている (56, 57)。このことから、ヒトと関わり始めた時期が重要な要因になると予想される。

そこで第2章では、ヒトに対するネコの行動がホルモン、ヒトと関わり始めた時期によって調節されているかどうかを解明するためにネコからヒトへの行動とコルチゾール、テストステロン、オキシトシンの関連を明らかにすることを目的とした。

第2節 材料と方法

1. 対象動物

第1章の実験に参加したネコの一部の15頭（表1のCat16-30；オス4頭、メス11頭、 20.0 ± 12.6 ヶ月齢、猫カフェネコ10頭、保護施設ネコ5頭）を対象にした。

2. 実験環境

猫カフェネコは猫カフェの1室（ 8.6 m^2 ）、保護施設ネコは麻布大学 Companion Dog Laboratory の1室（ 10 m^2 ）にて実施した。部屋には、ネコが休息する場所を選択できるように、ヒトが座るソファ以外に、ネコ用ベッドやキャットタワーを設置した。

3. 実験装置

1) 行動記録用ビデオカメラ

実験中のネコからヒトへの行動を記録するために、カメラ（HDR-AS50R, SONY）1台を天井に設置し、死角が生じた場合はもう1台使用して録画を行った。

4. 実験方法

1) 手順

第1章の実験期間中に各個体1回のヒトに対する行動の実験を実施した。ネコがヒトと2時間過ごしている際の行動を調査した。はじめに、ネコを実験部屋にいれ、馴致期間を設けた(10~20分)。馴致期間は実験者が実験部屋に滞在し、ネコを撫でたり声をかけて過ごした。十分な馴致を終えたら実験者は一度退室し、5分間、ネコのみで過ごした。その後、実験者が再度入室し、2時間、実験者とネコが1対1で過ごした。この2時間では、実験者は読書もしくはパソコンでの作業を行い、撫でる、声をかける、見る等の実験者からネコへの関わりは禁止した。実験者は対象ネコに少なくとも5回以上会ったことがある男性2名、女性2名であった。

2) 行動解析

ヒトと一緒に過ごした際の、ネコの行動を連続サンプリングにて記録した。行動は、ヒトへのこすりつけ(回)、ヒトと同じソファにいる(秒)、接触(秒)、鳴き(回)、匂いかぎ(回)、ドア近くに滞在(秒)、挨拶(点)、後追い(点)を解析した。挨拶、後追いに関しては **Strange Situation Test** のスコアリングを基に(58)、馴致期間後に実験者が一度退室した際の後追いスコア、その後実験者が再度入室した際の挨拶スコアを算出した。各行動項目とその定義を表6に示す。

3) ホルモン濃度

第1章で測定した、クレアチニン補正を行った尿中コルチゾール濃度、テストステロン濃度、オキシトシン濃度の平均値を個体のベースラインとして使用した。

第3節 統計解析

ネコのヒトに対する社会行動とコルチゾール濃度、テストステロン濃度、オキシトシン濃度、月齢、保護月齢の相関を調べるために、スピアマンの順位相関係数を使用し

た。解析には統計解析ソフト (JMP 14.2.0, SAS Institute Inc) を使用し、有意水準は 5%とした。

第4節 結果

1. ネコのホルモン濃度とヒトに対する行動の相関

テストステロン濃度とドア近くへの滞在に負の相関傾向がみられたが (表 7 ; $rs = -0.459, p = 0.085$)、その他ホルモンと行動の有意な相関はみられなかった。

また、オス・メスそれぞれにおいて、ホルモン濃度と相関解析を実施した。その結果、オスにおいてテストステロン濃度とヒトと同じソファへの滞在時間 (図 4A, $rs = -1.000, p < 0.001$)、接触時間 (図 4B, $rs = -1.000, p < 0.001$)、擦りつけ回数 (図 4C, $rs = -1.000, p < 0.001$) と負の相関がみられた。

2. ネコの月齢、保護月齢とヒトに対する行動の相関

保護月齢とドア近くへの滞在に正の相関傾向がみられた (表 8, $rs = 0.562, p = 0.057$)。

また、オス・メスそれぞれにおいて、保護月齢と相関解析を実施したが、どちらにおいても有意な相関はみられなかった。

第5節 考察

ネコのヒトに対する行動はホルモンによって調節され、ホルモンと行動の関連がみられると予想した。オスにおいてのみ、仮説と一致する結果が得られ、テストステロンが低い個体ほどヒトとの接触が多くなった。さらに、ネコのヒトに対する行動がヒトとの関わりの経験に影響を受けるかどうかを明らかにするために、ネコがヒトとの関わりを開始した時期の指標となるネコの保護月齢とヒトに対する行動の相関を調べ

た。その結果、保護月齢が遅い、つまりヒトと関わり始める時期が遅いとドア近くへの滞在が長くなった。

テストステロンと社会行動の関連がオスのみでみられた。これは胎児期の脳の性分化によるものではないかと考えられる。例えば、ラットの脳は、出生1週間頃までは性的に未分化であり、周生期におけるアンドロゲンの働きによって脳の雄性化、脱雌性化が生じる。この時期にオス脳になると、成長後も行動がテストステロンに依存することが知られている(59–63)。

また、ネコのヒトに対する社会化は幼少期に受けたヒトからのハンドリング量に影響を受けることがいくつかの研究で明らかになっている (56, 57)。本研究においても保護月齢、つまりヒトとの関わり開始時期が遅いとヒトから避けるようにドアの滞在時間が長くなったことは先行研究と一致する。しかし、ヒトへの社会性は一部父親の影響によって説明できることも示されている (64, 65)。McCuneの研究では、幼少期のヒトとの触れ合いという経験がその後の行動にどう影響を与えるか、こうした影響が父系によってどう左右されるかということ調べている。その結果として、ヒトに友好的な性格の父ネコを持ちかつ幼少期からヒトとの触れ合いを経験した個体は、触れ合いを経験しなかったネコや非友好的な父ネコを持つ個体に比べて、より早くヒトに近づきヒトと一緒にいる時間も長かった (64)。これらのことは、ヒトに対する社会性は環境的要因と遺伝的要因の両方に影響を受けることを示している。よって今後は実験に参加する個体の遺伝的な背景も調べることで、ヒトへの社会性のより深い洞察が可能になると考えられる。

また、今回の実験者として男性2名、女性2名が参加した。以前の研究では、男性、女性に対するネコの行動を比較したところ顕著な違いが見られたという報告もある (48)。これはヒトからネコへの関わりが許されており、ヒト側の行動の違いに反応する形でネコのヒトに対する行動の違いが観察されたと考えられている (48)。今回の実

験においてはヒトからネコへの関わりは禁止していたため実験者の性別の影響が出ている可能性は低いですが、今後実験者の性別を統一して実施する必要があるであろう。さらに、今回は、保護月齢をヒトと関わり始めた時期と定義したが、保護時期以前にヒトと関わっていた可能性がある。ヒトと関わり始める時期をより正確に把握した個体で実験を実施する必要があるだろう。

第3章 腸内細菌叢とホルモン、社会行動の関連

第1節 緒言

すべての多細胞生物は、進化の歴史を通して微生物を宿し、共に生活してきた。微生物は代謝や免疫を含む宿主の正常な発達、機能に影響を与える。脳-腸軸とよばれる、脳と腸の相互作用が存在する。腸内細菌は、宿主の社会的コミュニケーションに用いられる生化学的シグナルを生成したり(66-69)、宿主の神経系に直接影響を与え(70-72)、その結果、宿主の社会的行動に影響を与える。腸内細菌が脳機能に作用する経路の一つにホルモンが挙げられ、腸内細菌はホルモンを直接的、間接的に産生し社会行動を変化させる。例えば、腸内細菌はHPA軸(73, 74)やHPG軸(75)に大きな影響を与える。さらに最近の実証研究では、腸内細菌叢が視床下部からのオキシトシンの分泌を調節することで宿主の社会性を変化させることが明らかになっている(76)。

また微生物は社会的相互作用や共有環境を介して、個体間で伝播される。実験動物を同居させると、環境が共有され、直接的または間接的な接触の可能性が高まり、微生物の類似性が高まる(77-80)。また自然集団においても、毛づくろいなどの物理的な社会的接触や、親と子の授乳、口移し、共食、排泄物の摂取などの行動によって媒介されることがある。霊長類の腸内細菌叢の構成は社会的パートナーとの物理的接触によって腸内細菌が伝達されることが報告されている(26, 81, 82)。また、チンパンジーでは、宿主間の社会的相互作用が個体の腸内細菌叢の豊かさと社会的ネットワークにおける類似性の両方を促進する(83)。さらに、マカクザルの集団を対象とした研究で、社交性の高い個体ほど*Faecalibacterium*が豊富に存在する傾向があり(84)、腸内細菌が社会性を進化させる要因になったのではないかと考えられている(85, 86)。

ネコは家畜化の過程で、げっ歯類などが豊富に存在するヒトの生活圏という新たなニッチを手に入れた (87)。現代においても、都市部に高密度で生息するネコは食物や住処をヒトに依存している (10)。このような餌資源を代表とした環境の変化は腸内細菌叢の変化をもたらす (88)。また、餌資源が豊富なところでは個体間の距離が縮まり、共有環境、共食などを介して、細菌が個体間で伝播されることが予想される。この細菌叢の共有を介した社会性の上昇が生じた可能性が考えられる。そこで第 3 章では、ネコにおける社会行動が腸内細菌によって調節されているかどうかを明らかにするために、1. 腸内細菌とホルモンの相関、2. 腸内細菌と社会行動の相関、3. 腸内細菌叢の類似度と個体間の相互作用の相関を調査することを目的とした。

第 2 節 材料と方法

1. 対象動物

第 1 章に参加した第 1–3 グループのうち、糞採取ができた 8 頭のデータを使用した (表 1 ; Cat5, 6, 8, 11–15)。糞の採取については表 9 に示す。

2. 実験方法

1) 糞採取

第 1 グループでは、排便後 3 時間以内に糞便を採取し 4°C の冷蔵庫で保管した後、24 時間以内にグリセロールストックに移し、-80°C の冷凍庫で保管した。第 2、3 グループでは、排便後 15 分以内に滅菌綿棒を用いて約 1.0g の糞便を採取し、その後、1.0mL のリン酸緩衝生理食塩水と 2.0mL のグリセロールを混合した試薬の入った 15mL チューブに入れ、竹串を用いて溶解した。その後、-80°C にて保管した。その後、直径 2.5 mm の細胞粉碎ビーズを入れたチューブに糞便を移し、株式会社生物技研において腸

内細菌叢を分析した。どの猫が排泄したかを観察したときのみ糞便を採取し、糞便サンプルは8個体のみから採取された。異なる採取方法を用いたが、糞の中心付近の空気に触れていない部分を採取する限り、採取時間は腸内細菌叢の主成分を変えることはなく、スワブの使用も腸内細菌叢の組成を変えることはなかった(89)。

2) 16S rRNA 菌叢解析

MPure Bacterial DNA Extraction Kit (MP Bio)を用いて、粉碎した試料から DNA を抽出した。その後、抽出した DNA 溶液の濃度を Synergy H1 (BioTek) と QuantiFluor dsDNA System を使用して測定した。ライブラリーは2段階の tailed PCR 法を用いて作製した。16S ribosomal RNA (rRNA)遺伝子の V3-V4 領域を PCR で増幅した。1回目の PCR では、1.0 ul の 10XEx Buffer、0.8 ul の deoxynucleotide Triphosphates (dNTPs, 2.5 mM each)、0.5 ul の Forward primer (10 uM)、0.5 ul の Forward primer (10 uM)、0.5 ul の Reverse primer (10 uM)、2.0 ul の Template DNA (0.5 ng/ul)、0.1 ul の ExTaqHS (TaKaRa) (5 U/ul) および 5.1ul の脱イオン蒸留水 (DDW)を添加して溶液を調製し、1.2 ul の 10XEx Buffer を加えて PCR を行った。16S Amplicon PCR Forward Primer (5'-ACACTCTTTCCCTACGACGCTTCCGATCT-NNNNN- CCTACGGNGGCWGCAG-3') と 16S Amplicon PCR Reverse Primer (5'-GTGACTGAGTTCAGACGTGCTTCCGATCT-NNNNN-GACTACHVGGTATCTAATCC-3') を使用した。PCR 増幅は、94°Cで2分間予備変性し、94°Cで30秒、55°Cで30秒、72°Cで30秒、72°Cで5分間の最終伸長を30サイクル行った。PCR 産物は AMPure XP beads (BECKMAN COULTER)を用いて洗浄した。2回目の PCR 反応では、10XEx Buffer 1.0 ul、dNTPs 0.8 ul (2.5 mM each)、Forward Primer 0.5 ul (10 uM)、Reverse Primer 0.5 ul (10 uM)、2.0 ul of PCR product (max 5 ng/ul)、0.1ul of ExTaqHS (TaKaRa) (5 U/ul)と 5.1 l of DDW を加えた溶液が調製された。16S Amplicon PCR Forward Primer (5'-AATGATACGCGACCGAGATCTAC-Index2-

ACACTCTCCCTACGACGC-3') と 16S Amplicon PCR Reverse Primer (5'-CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGAT-Index1-GTGACTGGAGTTCAGACGTG-3') を使用した。PCR 増幅は、94°Cで 2 分間の予備変性と、94°Cで 30 秒、60°Cで 30 秒、72°Cで 30 秒の 10 サイクルを行い、最終的に 72°Cで 5 分間伸長させた。PCR 産物は AMPure XP beads (BECKMAN COULTER)を用いて洗浄した。

精製された生成物は、Illumina MiSeq System (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) を用いて配列決定された。総リード数 428,762 本 (53,595±4589) を得た。Fastx toolkit の fastq_barcode_spliltter を用いて、配列開始読みが使用したプライマーと完全に一致する配列のみを抽出した。抽出された配列のプライマー配列を削除した。その後、sickle ツールを用いて品質値が 20 未満の配列を削除し、150 塩基以下の配列とそのペア配列を廃棄した。品質フィルタリングを通過した配列のマージには、ペアエンドマージスクリプト FLASH を使用した。マージ条件は、マージ断片長を 420 塩基、リード断片長を 280 塩基、最小オーバーラップ長を 10 塩基とした。すべてのフィルタリングを通過した配列は、usearch の uchime アルゴリズムを用いてキメラの有無を確認した。使用したデータベースは、微生物マイクロバイーム解析用 QIIME に含まれる Greengene 社の 97%OTU で、キメラと判定されなかった配列は全て抽出し、その後の解析に使用した。QIIME 解析に使用したリード数は 224,878 (28,110±1764) であった。腸内細菌の操作的分類単位である Operational Taxonomic Unit(OTU)の作成と系統推定は、QIIME ワークフロースクリプトを用い、リファレンスなし、全てのパラメータをデフォルトの状態に設定して実施した。また、各 OTU の代表的な配列を用いた系統樹を構築して UniFrac 距離を算出し、主座標分析 (Principle Coordinate Analysis: PCoA) を実行した。

第 3 節 統計解析

腸内細菌叢とコルチゾール、テストステロン、オキシトシンの濃度との関係を調べるために、腸内細菌叢の PCoA と各ホルモン濃度の相関解析を Spearman の順位相関係数を用いて実施した。また、腸内細菌と社会行動の関係を調べるために、腸内細菌叢の PCoA とネコに対する行動の相関解析を Spearman の順位相関係数を用いて実施した。さらに、腸内細菌叢の類似性とネコ同士の接触頻度の関係を調べるために、腸内細菌叢の類似度指標である weighted UniFrac 距離とネコに対する行動との相関を Spearman の順位相関係数を用いて調べた。

第4節 結果

1. 腸内細菌叢とホルモン濃度の相関

PCoA4 とオキシトシン ($r_s=0.762, p=0.028$)、PCoA1 とコルチゾール ($r_s=0.738, p=0.037$) に正の相関がみられた (表 8)。

2. 腸内細菌叢と社会行動の相関

PCoA2 と接触行動 ($r_s=0.857, p=0.007$)、PCoA3 と親和的な接触行動 ($r_s=0.810, p=0.015$)、食事共有とグルーミング (受動) ($r_s=0.802, p=0.017$) に正の相関がみられた。

3. ネコ間の接触頻度と UniFrac 距離の相関

ネコ間の接触頻度と腸内細菌叢の類似度の関係を調べるために、その個体間における行動頻度と細菌叢の UniFrac 距離の相関を解析した。その結果、UniFrac 距離とベッドの共有 ($r_s=-0.679, p<0.001$)、他個体のいるベッドへの侵入 ($r_s=-0.395, p=0.037$)、匂いかぎ ($r_s=-0.446, p=0.018$) に負の相関がみられた。

ここに示した結果は第 1-3 グループの 8 頭の結果であり、第 4-6 グループのデータを含んだ解析は後日公開予定である。

第 5 節 考察

現時点での 8 頭の解析結果をまとめると、腸内細菌の構成要素とオキシトシン、コルチゾール、腸内細菌の構成要素と接触行動や食餌共有に関連性が見出された。また、ベッドの共有や他個体のいるベッドへの侵入、匂いかぎと UniFrac 距離に負の相関がみられた。

腸内細菌がホルモンを産生し脳に作用し社会行動を調節、もしくは中枢神経系に作用し社会行動を調節すると予想した。腸内細菌とオキシトシン、コルチゾールに相関がみとめられたことから、ネコにおいても腸内細菌は直接、もしくは視床下部や下垂体に作用しこれらのホルモンを産生している事が考えられる。また腸内細菌と接触行動、親和的な接触行動、食事共有とグルーミング（受動）に正の相関がみられた。これは腸内細菌が社会行動を調節している可能性、もしくは接触や共食などの相互作用により腸内細菌が伝播することにより細菌数が増加する可能性が示唆された。ホルモンと相関のみられた腸内細菌叢の構成要素（PCoA）と社会行動と相関のみられた腸内細菌叢の PCoA が異なるものであったことから、この結果の解釈は慎重に行うべきであり、糞便データの例数を追加後に再度考察をすすめたい。

また、腸内細菌叢の UniFrac 距離と接触行動には負の相関がみられたことは、UniFrac 距離が小さく腸内細菌叢の構成が似ている個体同士ほど接触頻度が多い、もしくは接触頻度が多い個体同士ほど腸内細菌叢の構成が似ていることを意味する。この結果は、自然集団における接触頻度と類似度の関連を調べた先行研究と一致する (26, 81-83)。集団内の大多数の宿主に存在しビタミンの生合成や難消化性の植物性多糖類の分解などの宿主にとって不可欠なコアな微生物とそれ以外の非コアな微生物の社会的伝

達について調査した研究がある(90)。この研究では、非コアな微生物の伝播がより社会的相互作用の影響を受けると予測したが、コア、非コア両方の微生物が社会的相互作用と関連した。個体間で腸内細菌全体を伝播しあうことで、より多様な細菌を保有することができ、個体の適応度の上昇をもたらす可能性が考えられる。異なる食物を食べたショウジョウバエの2つ集団を調査した研究で、同じ食べ物を食べていた相手を交配相手を選択することが示されている (68)。これは腸内細菌が産生するフェロモンが影響しているのではないかと考えられており (68)、腸内細菌の類似がフェロモン、つまり匂いの類似を生み出し、社会的な結束が結ばれることを示唆している。このような腸内細菌の類似が個体間の関係性や集団の結束にどのような変化をもたらすかはまだまだ未開であり、今後の課題である。

総合考察

本研究では、ネコの社会行動がホルモンや腸内細菌によって調節されているかどうかを明らかにするために、ホルモン、腸内細菌とネコの社会行動に関連がみられるかどうかを第1章でホルモンとネコ間の社会行動の関連、第2章でホルモンとヒトに対する行動の関連、第3章で腸内細菌とホルモン、社会行動の関連を調査した。

その結果、1. 幼少期環境が共有されていない個体間では、コルチゾール、テストステロン濃度が高い個体は他のネコとの社会的な相互作用が少ない傾向が示された。またテストステロン濃度が高い個体はヒトを避けるような傾向にあったこと、2. 幼少期環境を共有した集団では親和的な集団が形成され、オキシトシン濃度が高いと接触行動が多くなること、一方、ヒトに対する行動には特にオスにおいてテストステロンが影響を与えること、ヒトと関わり始める時期がネコのヒトに対する行動に影響を与える可能性、3. 腸内細菌の構成要素と個体のコルチゾール、オキシトシン、また接触行動や共食に関連があること、4. 他個体との接触頻度の高い個体同士の腸内細菌叢が類似することが示された。

本研究でコルチゾールやテストステロンが高いと他のネコとの相互作用が減少したり、ヒトとの関わりを避ける傾向が認められたことは、様々な先行研究においてコルチゾールやテストステロンが高いと興奮性や攻撃性が高くなり、他個体に対して寛容ではないことを示す先行研究に一致するものである (11-19)。また、幼少期環境の共有の有無によって集団の構造が異なり、幼少期環境を共有すると親和的な集団が形成されオキシトシンと接触行動に正の相関がみられた。幼少期環境の共有やヒトと関わりを開始する時期などといった、環境的要因が個体の社会行動に影響を与えることも示唆されたことから、ホルモンシステムという生理学的要因、他個体との関わりといった社会環境的要因がネコの社会行動に大きな影響を与えらる。

またホルモンと社会行動の関係は線形に限られず、社会行動の種類によっては非線形的に予測される場合もある。例えばペアレンタルケアは GC 濃度と非線形関係にあり、GC 濃度が高すぎても低すぎてもペアレンタルケアが減少し、中程度の GC 濃度が最も多くのペアレンタルケアが生じる (91)。グルーミングなどの親和的行動においても非線形関係にある可能性が示されている (91)。ホルモンと行動の関係を調査する際には単なる線形関係のみならず、非線形に予測される可能性も考慮すべきである。

次に、腸内細菌がホルモン、社会行動に影響を与える可能性が示唆された。本研究においては、詳細な細菌種の解析は実施していない。そのため、より詳細な細菌種の解析を可能にするのに十分なデータ数を確保することで、細菌種とホルモン、社会行動の関連を明らかにしていく必要がある。また、個体間の接触行動が多い個体同士ほど腸内細菌叢が類似していることが示された。この結果は自然集団における霊長類の腸内細菌叢と行動の研究を支持するものである (26, 81-83)。今後は腸内細菌叢が類似することによって個体間の関係性にどのような影響を与えるか調査することで、腸内細菌叢が類似することの適応的な意義が明らかになるであろう。

さらに、本研究を通して、示された結果は相関関係に留まるものである。ホルモンの投与や分泌制御による行動の変化や腸内細菌叢の投与によるホルモンの変化、社会行動、個体間の関係性の変化を調査する実証研究により、腸内細菌-ホルモン-行動の関連がより明解になるであろう。今回の研究はネコの社会行動のホルモンや腸内細菌による調節について示唆的な報告に留まるが、ネコの腸内細菌-ホルモン-行動、また社会環境的要因の関連を示す貴重な結果である。上述したホルモンや腸内細菌の投与実験などの実証研究の実施により、集団における社会行動がホルモンや腸内細菌叢によって調節されていることを明らかにできることを期待する。

本論文の一部は以下に公表した。

H Koyasu; T Kikusui; S Takagi; M Nagasawa. The Gaze Communications Between Dogs/Cats and Humans: Recent Research Review and Future Directions. *Frontiers in Psychology*, 11, 613512 (2020)

謝辞

本研究を遂行するにあたり非常に多くの皆さま方からご指導、ご協力を賜りました。

主査を引き受けていただいた本学介在動物学研究室の菊水健史教授には、研究の初歩から博士論文作成に至るまで研究全般にわたりご指導いただきました。副査を引き受けていただいた本学栄養学研究室の勝俣昌也先生、本学伴侶動物学研究室の茂木一孝教授には、本研究の内容に関して多大なるご指導を賜りました。また、本学介在動物学研究室の永澤美保先生、高木佐保先生には、本研究の遂行を含め研究全般にわたって日夜温かいご指導、ご助言をいただきました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。

また多大なるご協力いただきました「たんぽぽの里」様、「VELCAT」様、本研究を行う上でご助力いただきました本学介在動物学研究室の皆様に深く感謝いたします。

最後に、長期間にわたる学生生活を終始温かく見守り、支えてくれた家族に心から感謝いたします。

2022年3月

子安ひかり

引用文献

1. B Majolo; P Huang; U Lincoln. Group living. *of animal cognition and behavior* (2018)
2. B Majolo; A de Bortoli Vizioli; G Schino. Costs and benefits of group living in primates: group size effects on behaviour and demography. *Anim Behav* 76, 1235–1247 (2008)
3. EO Wilson. *Sociobiology: The New Synthesis, Twenty-Fifth Anniversary Edition*. Harvard University Press (2000)
4. PC Lee. Social structure and evolution. In: *Behaviour and evolution* , (pp. PJB Slater, ed. , Cambridge University Press, x, New York, NY, US (1994)
5. N Tinbergen. *Social Behaviour in Animals (Psychology Revivals): With Special Reference to Vertebrates*. Psychology Press (2013)
6. CREEL; S. Sociality, group size, and reproductive suppression among carnivores. *Advances in the Study of Behaviour* 24, 203–257 (1995)
7. GD Aguilar; MJ Farnworth. Distribution characteristics of unmanaged cat colonies over a 20 year period in Auckland, New Zealand. *Appl Geogr* 37, 160–167 (2013)
8. JL McDonald; E Skillings. Human influences shape the first spatially explicit national estimate of urban unowned cat abundance. *Sci Rep* 11, 20216 (2021)
9. JP Ferreira; I Leitão; M Santos-Reis; E Revilla. Human-related factors regulate the spatial ecology of domestic cats in sensitive areas for conservation. *PLoS One* 6, e25970 (2011)
10. O Liberg; M Sandell; D Pontier; E Natoli. Density spatial organisation and reproductive tactics in the domestic cat and other felids. *in collection* 119–148 (2000)
11. JA Politch; AI Leshner. Relationship between plasma corticosterone levels and levels of aggressiveness in mice. *Physiol Behav* 19, 775–780 (1977)

12. C Künzl; N Sachser. The Behavioral Endocrinology of Domestication: A Comparison between the Domestic Guinea Pig (*Cavia apereaf.porcellus*) and Its Wild Ancestor, the Cavy (*Cavia aperea*). *Horm Behav* 35, 28–37 (1999)
13. LN Trut. Early Canid Domestication: The Farm-Fox Experiment: Foxes bred for tamability in a 40-year experiment exhibit remarkable transformations that suggest an interplay between behavioral genetics and development. *Am Sci* 87, 160–169 (1999)
14. L Trut; I Oskina; A Kharlamova. Animal evolution during domestication: the domesticated fox as a model. *Bioessays* 31, 349–360 (2009)
15. M Giammanco; G Tabacchi; S Giammanco; D Di Majo; M La Guardia. Testosterone and aggressiveness. *Med Sci Monit* 11, RA136–45 (2005)
16. A Booth; DA Granger; A Mazur; KT Kivlighan. Testosterone and Social Behavior. *Soc Forces* 85, 167–191 (2006)
17. C Eisenegger; J Haushofer; E Fehr. The role of testosterone in social interaction. *Trends Cogn Sci* 15, 263–271 (2011)
18. JA Harris. Review and methodological considerations in research on testosterone and aggression. *Aggress Violent Behav* 4, 273–291 (1999)
19. AR Lumia; KM Thorner; MY McGinnis. Effects of chronically high doses of the anabolic androgenic steroid, testosterone, on intermale aggression and sexual behavior in male rats. *Physiol Behav* 55, 331–335 (1994)
20. HK Caldwell. Oxytocin and Vasopressin: Powerful Regulators of Social Behavior. *Neuroscientist* 23, 517–528 (2017)
21. AMJ Anacker; AK Beery. Life in groups: the roles of oxytocin in mammalian sociality. *Front Behav Neurosci* 7, 185 (2013)

22. AK Beery. Antisocial oxytocin: complex effects on social behavior. *Current Opinion in Behavioral Sciences* 6, 174–182 (2015)
23. J Lenard. Mammalian hormones in microbial cells. *Trends Biochem Sci* 17, 147–150 (1992)
24. VV Roshchina. Evolutionary Considerations of Neurotransmitters in Microbial, Plant, and Animal Cells. In: *Microbial Endocrinology: Interkingdom Signaling in Infectious Disease and Health*. M Lyte, PPE Freestone, eds. , Springer New York, New York, NY (2010)
25. M Sgritta; SW Dooling; SA Buffington; EN Momin; MB Francis; RA Britton; M Costa-Mattioli. Mechanisms Underlying Microbial-Mediated Changes in Social Behavior in Mouse Models of Autism Spectrum Disorder. *Neuron* 101, 246–259.e6 (2019)
26. J Tung; LB Barreiro; MB Burns; J-C Grenier; J Lynch; LE Grieneisen; J Altmann; SC Alberts; R Blekhman; EA Archie. Social networks predict gut microbiome composition in wild baboons. *Elife* 4, e05224 (2015)
27. S Lax; DP Smith; J Hampton-Marcell; SM Owens; KM Handley; NM Scott; SM Gibbons; P Larsen; BD Shogan; S Weiss; JL Metcalf; LK Ursell; Y Vázquez-Baeza; W Van Treuren; NA Hasan; MK Gibson; R Colwell; G Dantas; R Knight; JA Gilbert. Longitudinal analysis of microbial interaction between humans and the indoor environment. *Science* 345, 1048–1052 (2014)
28. SJ Song; C Lauber; EK Costello; CA Lozupone; G Humphrey; D Berg-Lyons; JG Caporaso; D Knights; JC Clemente; S Nakielny. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *Elife* 2, e00458 (2013)
29. DW Macdonald; PJ Apps. The social behaviour of a group of semi-dependent farm cats, *Felis catus*: a progress report. *Carnivore Genetics Newsletter* 3, 256–268 (1978)
30. JL Dards. Home ranges of feral cats in Portsmouth Dockyard. *Carnivore Genetics Newsletter* 3, 242–255 (1978)

31. O Liberg. Spacing Patterns in a Population of Rural Free Roaming Domestic Cats. *Oikos* 35, 336–349 (1980)
32. M Izawa; T Doi; Y Ono. Grouping patterns of feral cats (*Felis catus*) living on a small island in Japan. *Jap J Ecol* 32, 373–382 (1982)
33. C Mertens; DC Turner. Home Range Size, Overlap and Exploitation in Domestic Farm Cats (*Felis Catus*). *Behaviour* 99, 22–45 (1986)
34. RJ Van Aarde. Reproduction and population ecology in the feral house cat, *Felis catus*, on Marion Island. (1987)
35. KERBY; G. Cat society and the consequences of colony size. *The domestic cat: The biology of its behaviour* 67–81 (1988)
36. NPE Langham; RER Porter. Feral Cats (*Felis Catus* L.) On New Zealand Farmland. I. Home Range. *Wildl Res* 18, 741–760 (1991)
37. NPE Langham. Feral Cats (*Felis Catus* L.) On New Zealand Farmland. II. Seasonal Activity. *Wildl Res* 19, 707–720 (1992)
38. M Franchini; A Prandi; S Filacorda; EN Pezzin; Y Fanin; A Comin. Cortisol in hair: a comparison between wild and feral cats in the north-eastern Alps. *Eur J Wildl Res* 65, 90 (2019)
39. H Finkler; J Terkel. Cortisol levels and aggression in neutered and intact free-roaming female cats living in urban social groups. *Physiol Behav* 99, 343–347 (2010)
40. G Genaro; CR Franci. Cortisol influence on testicular testosterone secretion in domestic cat: An in vitro study. *Pesqui Vet Bras* 30, 887–890 (2010)
41. KM Kendrick. The neurobiology of social bonds. *J Neuroendocrinol* 16, 1007–1008 (2004)
42. JT Winslow; PL Noble; CK Lyons; SM Sterk; TR Insel. Rearing effects on cerebrospinal fluid oxytocin concentration and social buffering in rhesus monkeys. *Neuropsychopharmacology* 28, 910–918 (2003)

43. HE Ross; LJ Young. Oxytocin and the neural mechanisms regulating social cognition and affiliative behavior. *Front Neuroendocrinol* 30, 534–547 (2009)
44. TR Insel. The challenge of translation in social neuroscience: a review of oxytocin, vasopressin, and affiliative behavior. *Neuron* 65, 768–779 (2010)
45. JD Vigne; J Guilaine; K Debue; L Haye; P Gerard. Early taming of the cat in Cyprus. *Science* 304, 259 (2004)
46. CA Driscoll; DW Macdonald; SJ O’Brien. From wild animals to domestic pets, an evolutionary view of domestication. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106 Suppl 1, 9971–9978 (2009)
47. J Bradshaw; C Cameron-Beaumont. The signalling repertoire of the domestic cat and its undomesticated relatives. *The domestic cat: The biology of its behaviour* 67–93 (2000)
48. C Mertens; DC Turner. Experimental analysis of human-cat interactions during first encounters. *Anthrozoös* 2, 83–97 (1988)
49. H Koyasu; T Kikusui; S Takagi; M Nagasawa. The Gaze Communications Between Dogs/Cats and Humans: Recent Research Review and Future Directions. *Front Psychol* (2020)
50. T Humphrey; L Proops; J Forman; R Spooner; K McComb. The role of cat eye narrowing movements in cat-human communication. *Sci Rep* 10, 16503 (2020)
51. T Humphrey; F Stringer; L Proops; K McComb. Slow Blink Eye Closure in Shelter Cats is Related to Quicker Adoption. *Animals (Basel)* 10 (2020)
52. H Koyasu; R Goto; S Takagi; M Nagasawa; T Nakano; T Kikusui. Mutual synchronization of eyeblinks between dogs/cats and humans. *Curr Zool* (2021)
53. T Iki; F Ahrens; KH Pasche; A Bartels; MH Erhard. Relationships between scores of the feline temperament profile and behavioural and adrenocortical responses to a mild stressor in cats. *Appl Anim Behav Sci* 132, 71–80 (2011)

54. K Carlstead; JL Brown; W Strawn. Behavioral and physiological correlates of stress in laboratory cats. *Appl Anim Behav Sci* 38, 143–158 (1993)
55. T Nagasawa; M Ohta; H Uchiyama. The Urinary Hormonal State of Cats Associated With Social Interaction With Humans. *Front Vet Sci* 8, 680843 (2021)
56. EB Karsh. The effects of early and late handling on the attachment of cats to people. *The Pet Connection*, ed Anderson, RK, Hart, BL & Hart, LA (1983)
57. EB Karsh; DC Turner. The human-cat relationship. *The domestic cat: the biology of its behaviour* 159–177 (1988)
58. J Topál; M Gácsi; Á Miklósi; Z Virányi; E Kubinyi; V Csányi. Attachment to humans: a comparative study on hand-reared wolves and differently socialized dog puppies. *Anim Behav* 70, 1367–1375 (2005)
59. MJ Meaney; J Stewart; P Poulin; BS McEwen. Sexual differentiation of social play in rat pups is mediated by the neonatal androgen-receptor system. *Neuroendocrinology* 37, 85–90 (1983)
60. C Isgor; DR Sengelaub. Effects of neonatal gonadal steroids on adult CA3 pyramidal neuron dendritic morphology and spatial memory in rats. *J Neurobiol* 55, 179–190 (2003)
61. C Isgor; DR Sengelaub. Prenatal gonadal steroids affect adult spatial behavior, CA1 and CA3 pyramidal cell morphology in rats. *Horm Behav* 34, 183–198 (1998)
62. R Joseph; S Hess; E Birecree. Effects of hormone manipulations and exploration on sex differences in maze learning. *Behav Biol* 24, 364–377 (1978)
63. DG Zuloaga; DA Puts; CL Jordan; SM Breedlove. The role of androgen receptors in the masculinization of brain and behavior: what we've learned from the testicular feminization mutation. *Horm Behav* 53, 613–626 (2008)

64. S McCune. The impact of paternity and early socialisation on the development of cats' behaviour to people and novel objects. *Appl Anim Behav Sci* 45, 109–124 (1995)
65. IR Reisner; KA Houpt; HN Erb; FW Quimby. Friendliness to humans and defensive aggression in cats: the influence of handling and paternity. *Physiol Behav* 55, 1119–1124 (1994)
66. Q Li; WJ Korzan; DM Ferrero; RB Chang; DS Roy; M Buchi; JK Lemon; AW Kaur; L Stowers; M Fendt; SD Liberles. Synchronous evolution of an odor biosynthesis pathway and behavioral response. *Curr Biol* 23, 11–20 (2013)
67. A Lizé; R McKay; Z Lewis. Kin recognition in *Drosophila*: the importance of ecology and gut microbiota. *ISME J* 8, 469–477 (2014)
68. G Sharon; D Segal; JM Ringo; A Hefetz; I Zilber-Rosenberg; E Rosenberg. Commensal bacteria play a role in mating preference of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 20051–20056 (2010)
69. I Venu; Z Durisko; J Xu; R Dukas. Social attraction mediated by fruit flies' microbiome. *J Exp Biol* 217, 1346–1352 (2014)
70. J Alcock; CC Maley; CA Aktipis. Is eating behavior manipulated by the gastrointestinal microbiota? Evolutionary pressures and potential mechanisms. *Bioessays* 36, 940–949 (2014)
71. P Forsythe; WA Kunze. Voices from within: gut microbes and the CNS. *Cell Mol Life Sci* 70, 55–69 (2013)
72. EA Mayer; R Knight; SK Mazmanian; JF Cryan; K Tillisch. Gut microbes and the brain: paradigm shift in neuroscience. *J Neurosci* 34, 15490–15496 (2014)
73. N Sudo; Y Chida; Y Aiba; J Sonoda; N Oyama; X-N Yu; C Kubo; Y Koga. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol* 558, 263–275 (2004)

74. I Kamimura; A Watarai; T Takamura; A Takeo; K Miura; H Morita; K Mogi; T Kikusui. Gonadal steroid hormone secretion during the juvenile period depends on host-specific microbiota and contributes to the development of odor preference. *Dev Psychobiol* 61, 670–678 (2019)
75. JGM Markle; DN Frank; S Mortin-Toth; CE Robertson; LM Feazel; U Rolle-Kampczyk; M von Bergen; KD McCoy; AJ Macpherson; JS Danska. Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity. *Science* 339, 1084–1088 (2013)
76. SA Buffington; GV Di Prisco; TA Auchtung; NJ Ajami; JF Petrosino; M Costa-Mattioli. Microbial Reconstitution Reverses Maternal Diet-Induced Social and Synaptic Deficits in Offspring. *Cell* 165, 1762–1775 (2016)
77. R Caruso; M Ono; ME Bunker; G Núñez; N Inohara. Dynamic and Asymmetric Changes of the Microbial Communities after Cohousing in Laboratory Mice. *Cell Rep* 27, 3401–3412.e3 (2019)
78. T Hilbert; F Steinhagen; S Senzig; N Cramer; I Bekeredjian-Ding; M Parcina; G Baumgarten; A Hoeft; S Frede; O Boehm; S Klaschik. Vendor effects on murine gut microbiota influence experimental abdominal sepsis. *J Surg Res* 211, 126–136 (2017)
79. CM McIntosh; L Chen; A Shaiber; AM Eren; M-L Alegre. Gut microbes contribute to variation in solid organ transplant outcomes in mice. *Microbiome* 6, 96 (2018)
80. TS Rasmussen; L de Vries; W Kot; LH Hansen; JL Castro-Mejía; FK Vogensen; AK Hansen; DS Nielsen. Mouse Vendor Influence on the Bacterial and Viral Gut Composition Exceeds the Effect of Diet. *Viruses* 11 (2019)
81. AC Perofsky; RJ Lewis; LA Abondano; A Di Fiore; LA Meyers. Hierarchical social networks shape gut microbial composition in wild Verreaux’s sifaka. *Proc Biol Sci* 284 (2017)

82. KR Amato; S Van Belle; A Di Fiore; A Estrada; R Stumpf; B White; KE Nelson; R Knight; SR Leigh. Patterns in Gut Microbiota Similarity Associated with Degree of Sociality among Sex Classes of a Neotropical Primate. *Microb Ecol* 74, 250–258 (2017)
83. AH Moeller; S Foerster; ML Wilson; AE Pusey; BH Hahn; H Ochman. Social behavior shapes the chimpanzee pan-microbiome. *Science advances* 2, e1500997 (2016)
84. A Sarkar; S Harty; KV-A Johnson; AH Moeller; EA Archie; LD Schell; RN Carmody; TH Clutton-Brock; RIM Dunbar; PWJ Burnet. Microbial transmission in animal social networks and the social microbiome. *Nat Ecol Evol* 4, 1020–1035 (2020)
85. MP Lombardo. Access to mutualistic endosymbiotic microbes: an underappreciated benefit of group living. *Behav Ecol Sociobiol* 62, 479–497 (2008)
86. K Troyer. Microbes, herbivory and the evolution of social behavior. *J Theor Biol* 106, 157–169 (1984)
87. JA Serpell. Domestication and history of the cat. *The domestic cat: The biology of its behaviour* 2, 180–192 (2000)
88. VR Prabhu; Wasimuddin; R Kamalakkannan; MS Arjun; M Nagarajan. Consequences of Domestication on Gut Microbiome: A Comparative Study Between Wild Gaur and Domestic Mithun. *Front Microbiol* 11, 133 (2020)
89. R Sinha; J Chen; A Amir; E Vogtmann; J Shi; KS Inman; R Flores; J Sampson; R Knight; N Chia. Collecting Fecal Samples for Microbiome Analyses in Epidemiology Studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 25, 407–416 (2016)
90. LE Grieneisen; J Livermore; S Alberts; J Tung; EA Archie. Group Living and Male Dispersal Predict the Core Gut Microbiome in Wild Baboons. *Integr Comp Biol* 57, 770–785 (2017)

91. A Raulo; B Dantzer. Associations between glucocorticoids and sociality across a continuum of vertebrate social behavior. *Ecol Evol* 8, 7697–7716 (2018)

図表

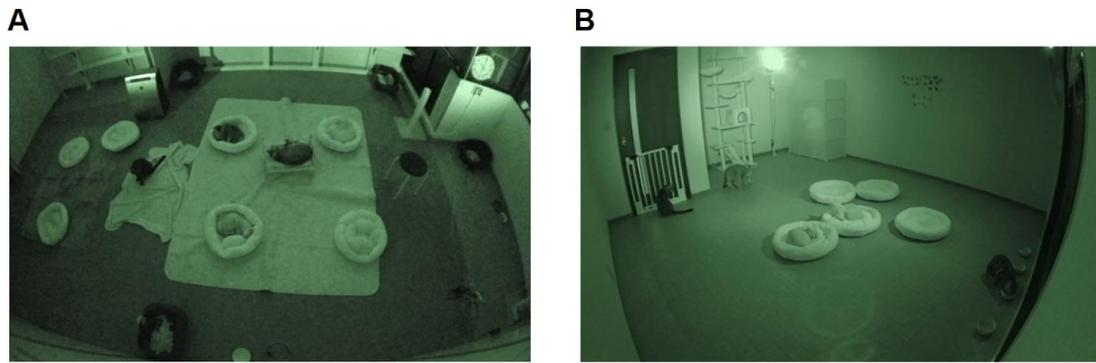


図 1. 実験風景写真

1A は麻布大学での実験の様子を、1B は猫カフェでの実験の様子を示す。

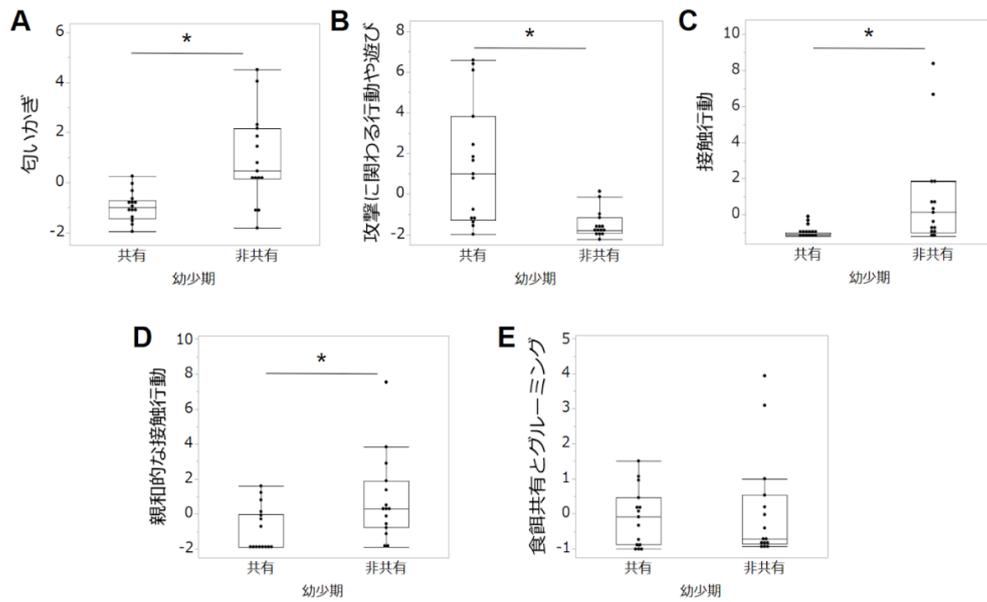


図 2. 幼少期環境共有有無による社会行動の比較

図 2A は匂いかぎ、2B は攻撃に関わる行動や遊び、2C は接触行動、2D は親和的な接触行動、2E は食餌共有とグルーミング（受動）の比較を示す (* $p < 0.05$)。

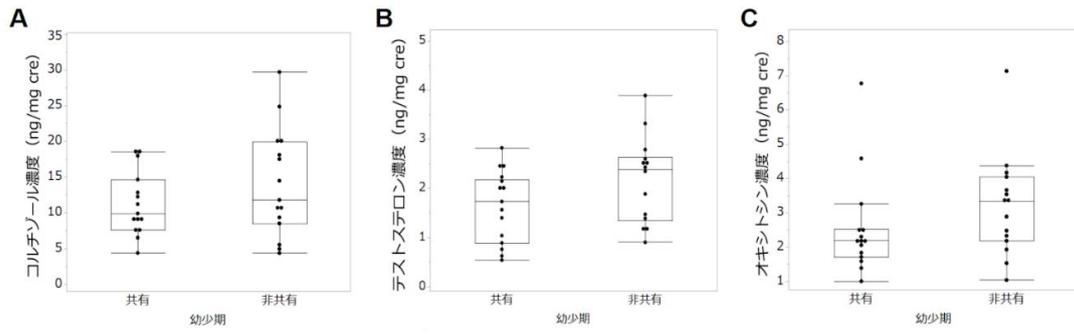


図 3. 幼少期環境共有有無によるホルモン濃度の比較

3A はコルチゾール濃度、3B はテストステロン濃度、3C はオキシトシン濃度の比較を示す。

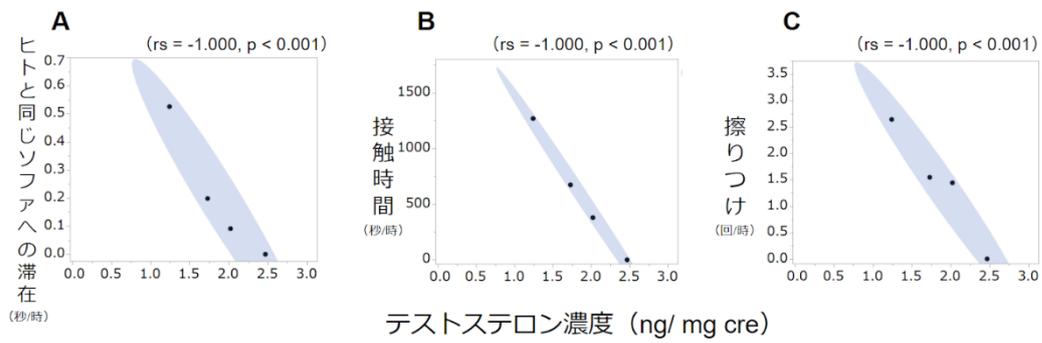


図 4. オスにおけるホルモン濃度と対ヒト行動の相関

有意な相関が出ているもののみを図に示す。

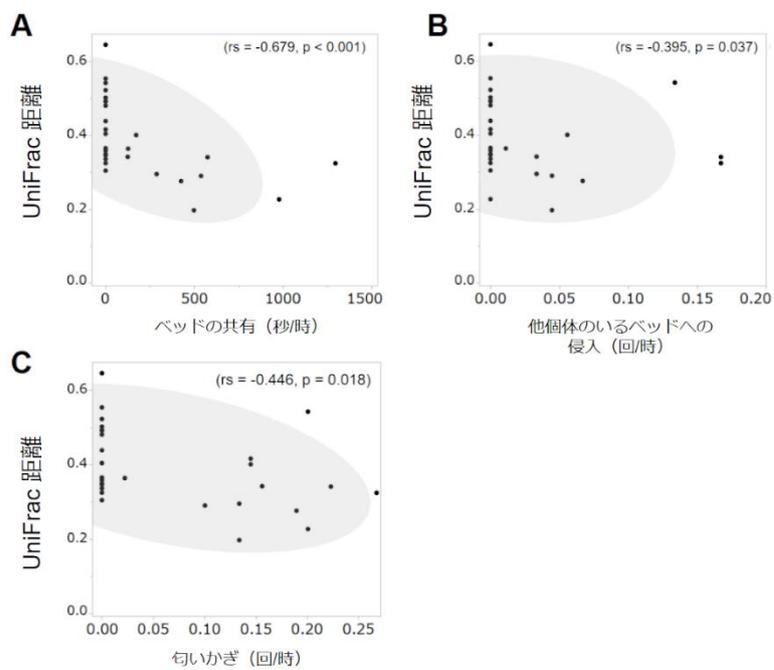


図 5. ネコ間の社会行動と UniFrac 距離の相関

A はベッドの共有、B は他個体のいるベッドへの侵入、C は匂いかぎと UniFrac 距離の相関を示す。

表 1. 実験参加個体の情報

グループ	ID	性別	避妊去勢	実験時 月齢	共同生活 開始月齢	出自	実験場所	群
1	Cat 1	オス	済	72	53			
	Cat 2	オス	済	72	53			
	Cat 3	メス	済	12	不明			
	Cat 4	オス	済	36	不明			
	Cat 5	メス	済	12	不明			
2	Cat 6	オス	済	不明	53	保護施設	麻布大学	幼少期環境 非共有群
	Cat 7	オス	済	72	53			
	Cat 8	オス	済	12	不明			
	Cat 9	メス	済	72	53			
	Cat 10	メス	済	72	不明			
3	Cat 11	オス	済	72	60			
	Cat 12	オス	済	36	不明			
	Cat 13	オス	済	36	不明			
	Cat 14	メス	済	84	不明			
	Cat 15	メス	済	72	不明			
4	Cat 16	メス	済	10	5	猫カフェ	猫カフェ	
	Cat 17	メス	済	12	7			
	Cat 18	メス	済	9	6			
	Cat 19	オス	済	15	10			
	Cat 20	オス	済	14	9			
5	Cat 21	メス	済	24	22			幼少期環境 共有群
	Cat 22	メス	済	24	22			
	Cat 23	メス	済	12	11			
	Cat 24	オス	済	12	11			
	Cat 25	メス	済	12	11			
6	Cat 26	メス	済	24	12	保護施設	麻布大学	
	Cat 27	オス	済	24	不明			
	Cat 28	メス	済	24	10			
	Cat 29	メス	済	60	不明			
	Cat 30	メス	済	24	不明			

表 2. ネコに対する行動の解析項目とその定義

行動	秒 / 回	定義
攻撃	回	前足で殴ったり、他の個体に噛みついたりする。他の個体を追いかけて追い詰めることも含む。2秒以上の間が空いた場合は、攻撃の記録を停止。
逃避	回	攻撃する個体から逃げる。または追いかけて体を小さく丸めて伏せる。
グルーミング	秒	他の個体の毛を舐める。自分の体をグルーミングしたり、2秒以上の間が空いたりすると、グルーミングの記録を停止した。
擦りつけ	回	自分の身体を他個体に歩きながら擦りつける。
後追い	回	他個体の後をついて歩く。
遊び	回	ベリーアップ、スタンドアップ、サイドステップ、バウンス、イレクトといった行動。またはこれらの行動を含む追いかっこ。物で遊ぶことは含まれていない。
他個体のいるベッドへの侵入	回	他の個体がいるベッドへ侵入する。
食餌共有	秒	他の個体が採餌をしているときに、同じ皿から一緒に餌を食べること。2秒以上の間が空いた場合は、食餌共有の記録を止めた。
ベッドの共有	秒	全ての手足が、他の個体のいるベッドに入っている。
匂いかぎ	回	鼻を使って他の個体の顔、身体の臭いをかぐ。

表 3. 個体ごとの尿採尿日

○がついている日は採取できたことを示す。

	Cat 1	Cat 2	Cat 3	Cat 4	Cat 5	Cat 6	Cat 7	Cat 8	Cat 9	Cat 10
Day 1								○		○
Day 2	○									○
Day 3		○						○		○
Day 4					○	○				
Day 5				○	○				○	○
Day 6										○
Day 7	○									
Day 8						○				○
Day 9		○				○		○		○
Day 10	○		○			○				○
Day 11		○				○	○	○	○	
Day 12										
Day 13	○							○	○	
Day 14				○						○

	Cat 11	Cat 12	Cat 13	Cat 14	Cat 15	Cat 16	Cat 17	Cat 18	Cat 19	Cat 20
Day 1				○	○					
Day 2					○					
Day 3			○	○	○			○		
Day 4				○						
Day 5				○	○					○
Day 6	○		○	○	○	○				○
Day 7				○						
Day 8		○			○	○				
Day 9		○		○	○					
Day 10						○	○	○	○	
Day 11		○				○				○
Day 12						○		○		
Day 13										○
Day 14	○		○	○	○				○	○

	Cat 21	Cat 22	Cat 23	Cat 24	Cat 25	Cat 26	Cat 27	Cat 28	Cat 29	Cat 30
Day 1	○			○	○	○		○	○	
Day 2	○		○	○	○				○	
Day 3	○	○		○	○		○		○	
Day 4			○	○			○			
Day 5		○			○	○	○	○	○	○
Day 6	○		○		○		○			
Day 7			○	○	○	○	○	○	○	
Day 8	○			○			○	○	○	
Day 9	○		○	○	○		○			
Day 10	○		○	○			○	○		
Day 11	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Day 12		○	○	○	○	○	○	○		
Day 13	○				○	○	○		○	
Day 14	○		○	○	○	○	○		○	○

表 4. 行動変数のクラスター

クラスター	メンバー	所属クラスターの R2乗
1	匂いかぎ (合計)	0.999
1	匂いかぎ (受動)	0.822
1	匂いかぎ (能動)	0.855
2	攻撃 (合計)	0.935
2	攻撃 (受動)	0.881
2	遊び (合計)	0.88
2	逃避 (合計)	0.795
2	攻撃 (能動)	0.774
2	遊び (能動)	0.746
2	遊び (受動)	0.734
2	逃避 (受動)	0.623
2	逃避 (能動)	0.593
3	擦りつけ (合計)	0.955
3	後追い (合計)	0.939
3	擦りつけ (能動)	0.877
3	擦りつけ (受動)	0.897
3	後追い (能動)	0.791
3	後追い (受動)	0.496
4	他個体のいるベッドへの侵入 (合計)	0.942
4	グルーミング (合計)	0.776
4	他個体のいるベッドへの侵入 (受動)	0.8
4	他個体のいるベッドへの侵入 (能動)	0.776
4	ベッドの共有 (合計)	0.546
4	グルーミング (能動)	0.598
5	食餌共有とグルーミング (合計)	0.726
5	グルーミング (受動)	0.726

表 5. ホルモンと対ネコ行動の相関

相関係数を表示しており、負の相関係数は青、正の相関係数はオレンジといったように相関係数によって色分けされている。p<0.05 のものを太字で示した。

	コルチゾール		テストステロン		オキシトシン	
	共有群	非共有群	共有群	非共有群	共有群	非共有群
匂いかぎ	0.4	-0.457	-0.029	-0.232	0.668	-0.618
攻撃に関わる行動や遊び	0.443	0	0.254	0.229	0.221	-0.111
接触行動	0.533	-0.364	0.172	-0.075	0.023	-0.521
親和的な接触行動	0.395	0.068	0.2	-0.382	0.147	-0.446
食餌共有とグルーミング (受動)	0.355	-0.449	0.287	-0.338	0.466	-0.416

表 6. ヒトに対する行動解析項目とその定義

行動	秒/回/点	定義
ソファの共有	秒	ヒトの座っているソファにネコのすべての足が入る。
接触	秒	ネコの身体がヒトの身体にくっついている。
擦りつけ	回	自信の身体をヒトの身体に擦り付ける。
匂いかぎ	回	鼻を使ってヒトの匂いを取る。
鳴き	回	ニャーと発声した回数。
ドア	秒	ドアのほうを見ながら1m以内にいる。
後追い	点	Strange Situation Testのスコアリングを基に算出。
挨拶	点	Strange Situation Testのスコアリングを基に算出。

表 7. ホルモンと対ヒト行動の相関

ホルモン	対ヒト行動	rs	p
コルチゾール	ソファの共有	0.03	0.917
コルチゾール	接触	-0.142	0.614
コルチゾール	ドア	-0.333	0.225
コルチゾール	鳴き	-0.021	0.94
コルチゾール	擦りつけ	-0.146	0.604
コルチゾール	匂いかぎ	-0.288	0.298
コルチゾール	後追い	-0.029	0.919
コルチゾール	挨拶	-0.194	0.49
テストステロン	ソファの共有	0.225	0.42
テストステロン	接触	-0.182	0.517
テストステロン	ドア	-0.459	0.085
テストステロン	鳴き	-0.004	0.99
テストステロン	擦りつけ	-0.065	0.819
テストステロン	匂いかぎ	0.023	0.935
テストステロン	後追い	-0.153	0.587
テストステロン	挨拶	0.02	0.943
オキシトシン	ソファの共有	-0.367	0.178
オキシトシン	接触	-0.102	0.718
オキシトシン	ドア	-0.147	0.601
オキシトシン	鳴き	-0.45	0.092
オキシトシン	擦りつけ	-0.21	0.452
オキシトシン	匂いかぎ	-0.186	0.507
オキシトシン	後追い	0.177	0.527
オキシトシン	挨拶	0.028	0.922

表 8. 月齢と対ヒト行動の相関

月齢	行動	rs	p
実験時	ソファの共有	0.296	0.284
実験時	接触	0.108	0.701
実験時	ドア近くへの滞在	0.31	0.261
実験時	鳴き	0.304	0.271
実験時	擦りつけ	0.256	0.358
実験時	匂いかぎ	0.304	0.271
実験時	後追い	-0.075	0.79
実験時	挨拶	0.027	0.924
共同生活開始	ソファの共有	0.15	0.641
共同生活開始	接触	0.007	0.982
共同生活開始	ドア近くへの滞在	0.562	0.057
共同生活開始	鳴き	0.474	0.12
共同生活開始	擦りつけ	0.177	0.582
共同生活開始	匂いかぎ	0.119	0.714
共同生活開始	後追い	-0.024	0.941
共同生活開始	挨拶	0.094	0.771

表 9. 個体ごとの糞採取日

○がついている日の糞を解析に用いた。

	Cat 1	Cat 2	Cat 3	Cat 4	Cat 5	Cat 6	Cat 7	Cat 8	Cat 9	Cat 10
Day 1										
Day 2										
Day 3										
Day 4										
Day 5										
Day 6										
Day 7										
Day 8										
Day 9										
Day 10							○			
Day 11					○					
Day 12										
Day 13								○		
Day 14										

	Cat 11	Cat 12	Cat 13	Cat 14	Cat 15	Cat 16	Cat 17	Cat 18	Cat 19	Cat 20
Day 1										
Day 2										
Day 3										
Day 4	○									
Day 5										
Day 6										
Day 7				○						
Day 8			○		○					
Day 9		○								
Day 10										
Day 11										
Day 12										
Day 13										
Day 14										

	Cat 21	Cat 22	Cat 23	Cat 24	Cat 25	Cat 26	Cat 27	Cat 28	Cat 29	Cat 30
Day 1										
Day 2										
Day 3										
Day 4										
Day 5										
Day 6										
Day 7										
Day 8										
Day 9										
Day 10										
Day 11										
Day 12										
Day 13										
Day 14										

表 10. 腸内細菌叢の構成要素とホルモンの相関

腸内細菌叢 PCoA	ホルモン濃度	rs	p
PCoA 1	オキシトシン	0.071	0.867
PCoA 2	オキシトシン	-0.595	0.12
PCoA 3	オキシトシン	-0.214	0.61
PCoA 4	オキシトシン	0.762	0.028
PCoA 5	オキシトシン	-0.071	0.867
PCoA 6	オキシトシン	0.381	0.352
PCoA 7	オキシトシン	-0.167	0.693
PCoA 8	オキシトシン	0.024	0.955
PCoA 1	コルチゾール	0.738	0.037
PCoA 2	コルチゾール	-0.31	0.456
PCoA 3	コルチゾール	0.31	0.456
PCoA 4	コルチゾール	0.238	0.57
PCoA 5	コルチゾール	0.691	0.058
PCoA 6	コルチゾール	0.024	0.955
PCoA 7	コルチゾール	0.286	0.493
PCoA 8	コルチゾール	0.119	0.779
PCoA 1	テストステロン	0.333	0.42
PCoA 2	テストステロン	0.071	0.867
PCoA 3	テストステロン	-0.143	0.736
PCoA 4	テストステロン	0.381	0.352
PCoA 5	テストステロン	0.5	0.207
PCoA 6	テストステロン	0.595	0.12
PCoA 7	テストステロン	0.048	0.911
PCoA 8	テストステロン	0.024	0.955

表 11. 腸内細菌叢の構成要素と対ネコ行動の相関

PCoA	対ネコ行動クラスター	rs	p
PCoA 1	匂いかぎ	-0.048	0.911
PCoA 1	攻撃に関わる行動や遊び	-0.31	0.456
PCoA 1	接触行動	-0.381	0.352
PCoA 1	親和的な接触行動	0.405	0.32
PCoA 1	食餌共有とグルーミング (受動)	0.168	0.692
PCoA 2	匂いかぎ	0.262	0.531
PCoA 2	攻撃に関わる行動や遊び	0.429	0.289
PCoA 2	接触行動	0.857	0.007
PCoA 2	親和的な接触行動	0.048	0.911
PCoA 2	食餌共有とグルーミング (受動)	0.515	0.192
PCoA 3	匂いかぎ	0.5	0.207
PCoA 3	攻撃に関わる行動や遊び	-0.048	0.911
PCoA 3	接触行動	0.071	0.867
PCoA 3	親和的な接触行動	0.81	0.015
PCoA 3	食餌共有とグルーミング (受動)	0.802	0.017
PCoA 4	匂いかぎ	-0.119	0.779
PCoA 4	攻撃に関わる行動や遊び	-0.691	0.058
PCoA 4	接触行動	-0.405	0.32
PCoA 4	親和的な接触行動	-0.476	0.233
PCoA 4	食餌共有とグルーミング (受動)	-0.168	0.692
PCoA 5	匂いかぎ	-0.405	0.32
PCoA 5	攻撃に関わる行動や遊び	0.119	0.779
PCoA 5	接触行動	-0.238	0.57
PCoA 5	親和的な接触行動	-0.048	0.911
PCoA 5	食餌共有とグルーミング (受動)	-0.216	0.608
PCoA 6	匂いかぎ	0.429	0.289
PCoA 6	攻撃に関わる行動や遊び	-0.238	0.57
PCoA 6	接触行動	0.048	0.911
PCoA 6	親和的な接触行動	-0.286	0.493
PCoA 6	食餌共有とグルーミング (受動)	0.12	0.778
PCoA 7	匂いかぎ	-0.524	0.183
PCoA 7	攻撃に関わる行動や遊び	0.167	0.693
PCoA 7	接触行動	0.357	0.385
PCoA 7	親和的な接触行動	-0.31	0.456
PCoA 7	食餌共有とグルーミング (受動)	0.264	0.528
PCoA 8	匂いかぎ	-0.119	0.779
PCoA 8	攻撃に関わる行動や遊び	-0.524	0.183
PCoA 8	接触行動	0.143	0.736
PCoA 8	親和的な接触行動	-0.048	0.911
PCoA 8	食餌共有とグルーミング (受動)	0.228	0.588