

氏名(本籍)	子安 ひかり (大阪府)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	甲第 81 号
学位授与年月日	令和 4 年 3 月 15 日
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 2 項該当
学位論文題名	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
論文審査委員	(主査) 菊 水 健 史 (副査) 茂 木 一 孝 勝 俣 昌 也

論 文 内 容 の 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く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とし、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-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-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-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量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ど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。

論文審査の結果の要旨

1. 論文の背景

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。このような離合集散の集団形態をもつネコは、その背景にある家畜化プロセスならびに社会化期などの発達影響を調べる上で、貴重なモデルと言えよう。

本研究ではネコをモデルとし、集団形成に不可欠な時空間的近接性を保つための寛容性、さらには協力的な集団となりうるか、の背景にある内分泌と腸内細菌叢の変化を調べた。家畜化における内分泌変化は様々なところで指摘されているものの、その機能はまだ明らかになっていない。また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ものの、動物の集団形成能力との関連も未解明である。

子安ひかり氏は、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とし、以下の実験を実施した。

2. 論文の内容

第1章 ホルモンとネコ間における社会行動の関連の調査

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 ホルモンとヒト-ネコ間における社会行動の関連の調査

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 腸内細菌とホルモン、社会行動の関連の調査

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。

3. 論文審査

集団には様々な構造がみられるが、それを支えるメカニズムの解明が遅れている。子安ひかる氏は、ネコをモデルに内分泌や腸内細菌叢がどのように関連するかを調べた。その結果、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との関連を見出した。特にオキシトシンに関しては親和行動との関連性は他の動物でも多く報告されているものの、単独生活を主体とする動物種でその役割を明らかにした最初の研究成果といえ、その発見の価値は高く評価できよう。また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を見出した。このことは、ネコが幼少期環境を共有することで、他の群集性の動物と同じような集団を形成できることを示唆し、今後、ネコの集団における協力行動などの存在の発見が期待される。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、特に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見いだされた。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、今後、これらの知見をもとに、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よう。

4. 審査結果

審査会で指摘されたように、個体数が限られていること、相関解析にとどまっていること、などから幾つかの将来に向けた課題は残った。ペットとしても飼育頭数が増加しており、また家畜化のプロセス、発達のメカニズムとしても興味を持たれるネコの集団性に関するメカニズムの解明に一石を投じる成果を上げたことは高く評価できる。以上のことから、本論文は博士（学術）の学位の授与にふさわしい業績であると判定した。