

犬の分離不安症発症に対するセロトニン関連遺伝子の多型の影響

The effect of serotonin related genes on separation anxiety of dogs

岐阜大学大学院連合獣医学研究科 倉地 卓将

Takuma Kurachi, Gifu University

キーワード：分離不安症、セロトニン、遺伝子

Keyword : separation anxiety, serotonin, gene

緒言

分離不安症は、不安障害の一つであり、犬だけでなく飼い主にとっても深刻な結果を招きかねない重要な問題行動である。分離不安症の犬は、飼い主の不在時に過剰な不安を感じ、破壊行動・不適切な排泄・過剰な流涎・自傷行動などを起こし、その治療には長期の行動療法を要する。そのため、分離不安症の犬を飼い続けることは飼い主にとっても苦痛となり、犬と飼い主両方の生活の質を悪化させることになる¹⁾。

加えて、犬の問題行動は社会的にも大きな問題である。アメリカにおいては、犬の死因の第一位は安楽死であり、安楽死の理由の第一位は問題行動である²⁾。ゆえに、問題行動は個々の犬と飼い主の問題というだけでなく、動物愛護の観点からも重要である。

以上のことから、分離不安症の原因を特定することは犬と飼い主の良好な関係を築くための助けとなり、犬と飼い主両方の生活の質を向上させることにつながる。

分離不安症の治療には、三環系抗鬱薬やセロトニン再取り込阻害薬が使用され、その作用によりシナプス間隙の遊離セロトニン量が増加することがわかっている¹⁾。これらのことから、分離不安症にはセロトニン系神経伝達に関わっていると考えられ、これに関わる遺伝子（レセプターやトランスポーター）が分離不安症の発症に関わっていると予想され

る。

犬のセロトニン系神経伝達に関わる遺伝子に関する先行研究により、セロトニントランスポーター遺伝子 (*SLC6A4*)、セロトニンレセプター1A および 1B 遺伝子 (*5-HTR1A*、*5-HTR1B*) の 3 つの遺伝子において、エクソン領域に一塩基多型が確認されている^{3) 4) 5)}。これらの多型により発現するタンパク質の構造や機能に違いが生じ、その結果として分離不安症が発症している可能性がある。

これらのことから、*SLC6A4*、*5-HTR1A*、*5-HTR1B* の 3 つの遺伝子における一塩基多型と不安による問題行動の発症に有意な関連があるかを調べることを目的として研究を行った。

材料と方法

分離不安症を示す犬を罹患群、示さない犬をコントロール群とした。罹患群の試験対象患者基準として、①破壊行動、過剰な鳴き声、不適切な場所での排泄（排尿・排便）、自己に外傷を起こすような行動（自分を過剰に舐めたりひっかいたりする、あるいは床を掘ったりして爪などはがす）が、飼い主の外出中に 1 つ以上認められる、②外出の準備中、もしくは外出後 15 分以内に不安行動および上記の症状が認められる、③不安行動および症状の発現が週に 4 日以上、あるいは外出が少ない場合は外出の際には毎回見られる、④1

歳～6歳の临床上健康な個体で、定期的に動物病院で健康診断を受けている、とした。コントロール群の試験対象患者基準は、不安行動および症状が認められない点以外は罹患群と同様とした。いずれの群においても、除外基準として、①妊娠・授乳中のメスである、②内科的・外科的疾患の治療中である、③何らかの慢性疾患に罹患している、とした。

サンプルの収集は日本獣医生命科学大学付属動物医療センター行動治療科で行った。分離不安症と診断された犬から血液を1ml採取した。採血は、飼い主に研究について説明を行い、同意が得られた場合のみ行った。また、犬の犬種、年齢、性別（去勢・避妊の有無を含む）、入手経路（ペットショップ、ブリーダー、知人からの譲渡、保健所、その他）、入手時の年齢、現在治療中の疾患の有無、治療中であれば治療の開始時期、妊娠・育児の経験の有無（メスのみ）、妊娠の時期、分離不安症が発症した時期（罹患群のみ）を確認するために、飼い主にアンケートを行った。

罹患群およびコントロール群の各犬から血液を採取し、DNA抽出を行った。DNA抽出にはDNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Tokyo, Japan)を使用した。これにより、DNA溶液を200 μ l得た。抽出したDNA溶液は4 $^{\circ}$ Cで保存した。抽出後、各犬のDNAの該当部位をPCRで増幅した。PCRにはTaKaRa LA Taq (TaKaRa Biotechnology Co. Ltd, Tokyo, Japan) もしくはTaKaRa Ex Taq (TaKaRa Biotechnology Co. Ltd, Tokyo, Japan)を使用した。PCR終了後、1%アガロースゲルを用いた電気泳動により増幅の成否を確認した。

増幅したDNAをMonoFas DNA精製キット (GL Sciences, Tokyo, Japan)を使用して精製し、BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems Japan Ltd., Tokyo, Japan)を用いて遺伝子型の判定を行った。遺伝子型の判定には東京農工大学遺伝子実験施設のABI

PRISM 3500 DNA sequencer (Applied Biosystems Japan Ltd.)を使用した。解析にはSequence Scanner v.1.0 (Applied Biosystems Japan Ltd.)を用いた。

これまでの結果

先行研究で作成されていたプライマーでは増幅がうまくいかなかった部位に関しては、新しくプライマーを自作した。新しいプライマーによるPCRのための適切な条件を検討し、増幅および遺伝子型の判定を行えるようになった。

遺伝子型頻度の比較については、問題行動の診断・治療を行うことができる獣医師が非常に少なく、一般の動物病院に協力を依頼できないという現状により、分離不安症罹患群が数頭分しか集まらなかった。そのため、分離不安症の発症に影響している遺伝子を判定することはまだできていない。

今後の展望

今回の研究では、分離不安症のみに焦点を当て、他の問題行動に関しては対象としていなかった。しかし、不安が原因となる問題行動は分離不安症のみではなく、他にも全般性不安障害や雷恐怖症などがある。これらの問題行動においても分離不安症と同様に、治療には三環系抗鬱薬やセロトニン再取り込阻害薬が使用されており、問題行動の改善が認められている⁶⁾。そのため、発症した際に問題となる行動は異なるが、これらの問題行動も分離不安症と同様の機序で発症していると考えられる。今後はこれらの問題行動まで対象を拡大し、サンプル収集の効率化を目指す。さらに、サンプルの精度を維持する観点から一般の動物病院に協力を依頼することは難しいが、認定医の資格を持つ獣医師であればこの点は問題ない。日本において行動科の認定医はまだ少ないが、今後は認定医の資格を持

つ獣医師に協力を依頼し、サンプル収集の効率化を図る。

加えて、犬の問題行動で困っている飼い主がどの程度いるのかを調べるための実態調査も行う予定である。現状では、日本においてどの程度の犬が不安による問題行動を示しているのか、またそれによりどの程度の飼い主が困っているのかはわかっていない。また、問題行動の実態がわかっていないために、問題行動に対する獣医師の意識はあまり向上しておらず、問題行動の診断・治療は獣医師の仕事ではないと考えている獣医師も多い。問題行動を示す犬およびそれにより困っている飼い主の実態調査を行うことで、問題行動に対する獣医師の意識向上につながることを期待できる。同時に、飼い主の問題行動に対する意識も調査する。問題行動を治療したいと思うか、治療するとすれば誰に相談するか、治療しないとすればそれはなぜかなどを調査する。こちらも、獣医師の意識向上につながることを期待される。

引用文献

- 1) Landsberg G., Hunthausen W., Ackerman L. (2003) Handbook of Behavior Problems of the Dog and Cat 2nd edition
- 2) 森 裕司、武内 ゆかり、南 佳子 (2013) 臨床行動学
- 3) Van den Berg L., Kwant L., Hestand M. S., van Oost B. A., Leegwater P. A. J. (2005) Structure and variation of three canine gene involved in serotonin binding and transport: The serotonin receptor 1A gene (*htr1A*), serotonin receptor 2A gene (*htr2A*), and serotonin transporter gene (*slc6A4*), *Journal of Heredity*, 96(7), 786-796
- 4) Vage J., Lingaas F. (2008) Single

nucleotide polymorphisms (SNPs) in coding regions of canine dopamine- and serotonin-related genes, *Bmc Genetics*, 9

- 5) Masuda K., Hashizume C., Ogata N., Kikusui T., Takeuchi Y., Mori Y. (2004) Sequencing of canine 5-hydroxytryptamine receptor (5-HTR) 1B, 2A, 2C genes and identification of polymorphisms in the 5-HTR1B gene, *Journal of Veterinary Medical Science*, 66(8), 965-972