

(続紙 1)

| | | | |
|---|--|----|--------------------------------------|
| 京都大学 | 博士 (理 学) | 氏名 | ネルソン ブロシェイ ジュニア Nelson Broche Jr. |
| 論文題目 | Studying stress-associated non-invasive biomarkers in Japanese macaques (ニホンザルにおけるストレス関連非侵襲的バイオマーカーの研究) | | |
| (論文内容の要旨) | | | |
| <p>The aim of this body of research was to explore and develop tools for understanding acute stress in a minimally disruptive way in Japanese macaques (<i>Macaca fuscata</i>). The main goal focused on using saliva to help increase the temporal resolution of studying the stress response of two primary stress pathways: the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and the sympathetic-adrenal-medullary (SAM) axis in this species. Studying sympathetic response in a non-invasive manner is particularly difficult due to a lack of methodological tools. However, saliva is a useful medium because it contains proteins, steroids, and other molecules of interest to measure physiological responses. First, a non-invasive method to collect saliva from unrestrained and awake single-housed Japanese macaques was developed and validated. This method allowed for the measurement of stress-related short-term changes of salivary alpha-amylase, a digestive enzyme that is also associated with autonomic nervous system activity. It was shown that saliva collection is possible through cooperative training with Japanese macaques and that this can be used to study the stress response of an understudied system, the SAM axis. Next a study using the same captive group of monkeys to understand to what extent a housing relocation increased their stress response was undertaken. These monkeys were planned to move due to housing renovations and their stress response was opportunistically investigated. Fecal samples were collected to monitor activity of the steroid cortisol, a stress-associated hormone that indicates HPA axis activity. No statistical significance was found over the consecutive days of fecal cortisol monitoring; however, a minimal response was shown on the relocation day, which suggests that the relocation itself was mildly stressful. The findings were in line with the reported literature, i.e. that the non-application of anesthesia, short movement duration, and consistency in both environments were all likely contributing factors in stress reduction during housing relocation. In the final study, cooperative saliva collection to a wild living group of Japanese macaques was expanded to study short-term changes of stress-associated analytes. By utilizing attractants applied to cotton ropes, monkeys were habituated to sampling and characteristics such as their receptivity and chewing duration were recorded to modify and improve the method. Salivary alpha-amylase and salivary cortisol levels fluctuated in tandem with social behavior, in particular with levels decreasing following social grooming.</p> | | | |

(論文審査の結果の要旨)

霊長類の効果的な飼育管理や絶滅危惧種の保全には、非侵襲的でリアルタイムの健康状態の評価が不可欠である。本研究では、ニホンザルの視床下部-下垂体-副腎皮質 (HPA) 軸と交感神経-副腎髄質 (SAM) 軸という2つの主要なストレス経路のストレス反応を調べる際の時間分解能を高めるために、唾液を用いることに焦点が当てられた。非ヒト霊長類では、HPA軸の反応を非侵襲的に研究する方法論は用いられてきたが、SAM軸の反応を非侵襲的に研究する方法論が欠如していた。本研究では、このギャップを埋めることを目的として、唾液中の α -アミラーゼを用いて、飼育下および野生のニホンザルのストレスの短期的な変化を測定する方法が開発された。研究1では、飼育ニホンザル個体において、唾液を採取する非侵襲的な手段として、正の強化トレーニングによる覚醒・無拘束状態での唾液採取法の開発に成功した。ストレス強度の異なる状況下での唾液採取と測定によって、唾液中 α -アミラーゼがニホンザルのSAM軸の短期ストレスの適切なバイオマーカーであることが示された。研究2では、この集団が別の飼育場所に移動する際に経験したストレスの程度を評価するために、移動前後の同じ個体の糞便中コルチゾール代謝物 (HPA軸ストレスマーカー) が測定された。糞便中コルチゾール代謝産物レベルの変動が一過的で小さいものであったことから、移動の方法が熟考された適切なものであり、この集団の個体にとって負担が少なかったことが示唆された。研究3では、幸島のニホンザルを対象とし、餌付け野生群における唾液収集方法が確立され、2つの主要なストレス反応系に関わる唾液中 α -アミラーゼと唾液中コルチゾールの両方が測定された。威嚇からの逃走前後やグルーミング前後など社会的ストレスが高い状況と低い状況で2つのマーカーを測定したことにより、ストレス反応の定量化を非侵襲的に野生のニホンザルに適用することの有用性が示された。また、野外研究では採取試料の低温管理が困難な場合が多いが、一定時間は常温でも唾液中の2つのマーカーレベルの変動がないことが示された。以上の一連の研究によって、申請者が開発した飼育下および野生下におけるニホンザルの非侵襲的唾液採取方法は、野生動物学および実験動物科学の分野におけるストレス研究とその応用に貢献することが示された。特に、短期的なストレス反応に関連するSAM軸のマーカーとそれよりも長い期間のストレス反応に関連するHPA軸のマーカーの両方を同じ唾液試料で測定できることは、霊長類のストレス反応の多面的な定量化を可能にし、飼育下動物の福祉向上や野生霊長類の各種行動にともなうストレス反応の評価などに応用できる。さらに、非侵襲的に採取された唾液はさまざまなバイオマーカーの宝庫であり、各種隣接分野の研究への展開が期待できる。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認める。また、令和5年1月20日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行い、その結果をもって令和5年1月25日に霊長類学・野生動物系教員会議で合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降