

盲導犬の育成における飼育状況と  
分子遺伝学的解析に関する研究

(Study on Current Situation of Guide Dog Training  
and Molecular Genetic Analysis)

浅野 潤三  
(Junzo Asano)

## 目次

第1章 諸言	1
1-1 盲導犬の歴史	1
1-2 盲導犬育成認可協会	2
1-3 盲導犬に関する法律	2
1-4 盲導犬の訓練頭数と合格頭数について	3
1-5 盲導犬の育成	3
1-6 盲導犬の訓練評価	4
1-7 訓練士の教育	5
1-8 諸外国の盲導犬事情	7
参考文献	10
第2章 盲導犬育成に関するパピーウォーカーの飼育調査研究	11
2-1 まえおき	11
2-2 調査の材料および方法	11
2-2-1 調査方法	11
2-2-2 調査対象	11
2-2-3 調査内容	12
2-3 結果	12
2-3-1 訓練犬の分析結果	12
2-3-1-1 訓練犬の合否結果	12
2-3-1-2 合格犬の犬種	12
2-3-1-3 合格犬の性別	12
2-3-1-4 合格犬の毛色	12
2-3-1-5 不合格理由	12

2-3-1-6	不合格犬の病名	13
2-3-2	アンケート調査の集計結果	13
2-3-2-1	物理的環境要因	13
2-3-2-2	飼育状況	15
2-4	考察	18
	表	22
	参考文献	70
第3章 盲導犬の育成に関する分子遺伝学的解析		72
3-1	まえおき	72
3-2	材料および方法	74
3-2-1	DNA抽出	74
3-2-2	Polymerase Chain Reaction(PCR)法	75
3-2-3	PCR産物の確認および精製	76
3-2-4	塩基配列の決定	76
3-2-5	遺伝的多様度の算出	77
3-2-6	ゲノムワイドアソシエーション解析	77
3-3	結果	78
3-3-1	九州盲導犬協会サンプルのゲノムバンク構築	78
3-3-2	Catecholamine-O-methyltransferase (COMT) 遺伝子多型解析	78
3-3-3	ゲノムワイドアソシエーション解析による盲導犬育成する新規ゲノム領域の探索	79
3-3-4	ミトコンドリアDNA解析による九州盲導犬協会関連犬の遺伝子多様性	80
3-4	考察	81

図表	84
参考文献	97
第4章 総括	102
謝辞	108
付録 パピーウォーカーへの質問調査紙	109

## 第1章 緒言

我が国における盲導犬は、日本盲導犬協会（現アイメイト）で育成されたチャンピオン号が第1号とされている（1957年）。その後、約50年を経過し2012年3月現在での盲導犬実働数は1,043頭で、使用者数は1,064名（タンドム、21頭）である[1]。現在、全国で繁殖犬として飼育している頭数は約150頭である。毎年訓練されている犬は、約500頭で盲導犬の適性試験に合格し、盲導犬となるのは毎年150頭前後である。NPO法人全国盲導犬施設連合会の盲導犬情報によると、盲導犬使用希望者は6,534名と報告されている。これに対して現在の盲導犬の実働数が1,043頭では希望者に対して極端に少ないと云える。このような毎年の実績（150頭）では、視覚障害者の希望に十分対応できていないのが、我が国における盲導犬育成の実情である。

そこで、盲導犬育成の状況等を把握して合格率を高める要因を探り、1頭でも多くの盲導犬が育成されて視覚障害者の希望を満たすことが急務であると思われる。今回、パピーウォーカーの飼育状況と気質に関する遺伝学的解析を行い[2,3]、遺伝子情報から個体の適性を知ることで、訓練犬の早期適性評価を行うことを目的とした。すなわち、客観的に早期評価することにより育成率の向上や、訓練に要する経済面の軽減が図られることと思われる。

この研究を進めるに当たり、盲導犬の育成、盲導犬の訓練評価などの背景を把握することは重要であると考えられる。次にそれらの概要について記載する。

### 1-1 盲導犬の歴史

古代都市のポンペイで、盲人と思われる男性が犬に導かれて市場を歩く姿を描がいた壁画が発見されている。その後、6世紀のフランス北部におい

て盲目の宣教師が、白い小型犬に導かれて歩いていたことが伝えられている。近年に至って、ウィーンのヨハン＝ウィルヘルム＝クライン神父が犬の首に細長い杖をつけて盲人のために犬を訓練したという記録が残っている(1819年)。現在のように盲導犬の育成が社会福祉事業として取り組まれるようになったのは、第一次世界大戦後のドイツである。1927年にはドイツ国内で4,000頭の盲導犬が失明した兵士のために存在していたと云われている。その後イタリアを始め、アメリカ、カナダ、イギリスなどの多くの国々に徐々に広まり、現在では30カ国84団体が国際盲導犬連盟に加入している。世界の盲導犬使用者数は約25,000人以上と推測されている[4]。

#### 1-2 盲導犬育成事業団体

盲導犬は次の10団体で育成されている。

北海道盲導犬協会、東日本盲導犬協、アイメイト協会、日本盲導犬協会、日本補助犬協会、中部盲導犬協会、関西盲導犬協会、日本ライトハウス、兵庫盲導犬協会および九州盲導犬協会の10団体が国家公安委員会から盲導犬育成事業団体指定として認定されている。

#### 1-3 盲導犬に関する法律

盲導犬は、これまで1978年(昭和53年)改正の「道路交通法」の盲導犬に関する保護条例の規定に位置づけられていた。その後、2002年(平成14年)に「身体障害者補助犬法」が成立した。この法律においては、盲導犬・聴導犬・介助犬を「身体障害者補助犬」と称し、その内容は公的施設や公共交通機関、不特定多数の人が利用する施設において、補助犬同伴の拒否を禁じている。この法律の成立により、社会的に盲導犬に対する意識が高まり、盲導犬使用者の社会参加が認められるようになった。さらに、平成20

年には内容の一部が改訂され、都道府県・政令指定都市などでの補助犬のトラブルに関する相談窓口の設置、職場での受け入れが義務化された[3]。

#### 1-4 盲導犬の訓練頭数と合格頭数について

盲導犬の育成犬は毎年 10 協会の訓練センターで訓練されている。毎年の訓練頭数と合格頭数は、過去 4 年間で、平成 21 年度 545 頭中 161 頭（合格率 29.5%）、平成 22 年度 602 頭中 138 頭（合格率 22.9%）、平成 23 年度 600 頭中 136 頭（合格率 22.7%）、平成 24 年度 613 頭中 125 頭（合格率 20.4%）となっている[5-8]。

NPO 法人全国盲導犬施設連合会の盲導犬情報によると盲導犬希望者は約 6,534 人と報告されているが、実際には全国で約 200 人程度の視覚障害者が待機していると云われている。現在の日本における盲導犬育成状況では、十分に盲導犬を新規希望者と代替の希望者に供給することは不可能であり、慢性的に不足しているのが現状である。

#### 1-5 盲導犬の育成

盲導犬を育成するには、子犬の誕生に始まり、子犬は生後約 2 か月～1 才になるまでパピーウォーカー（飼育ボランティア）で育てられる。その後、訓練センターに引き上げられて約 1～2 年間盲導犬として訓練を受ける。適性検査に合格した犬は、視覚障害者である盲導犬希望者と共に訓練センターに宿泊し、約 4 週間の「共同訓練」を実施後、最終審査に合格した犬が、盲導犬となることができる。

以下に育成に携わる各ボランティアについて記述する。

##### (1) 繁殖ボランティア

繁殖ボランティアとは、盲導犬となるべき子犬を繁殖するための犬を預かり、協会の要請に応じて交配を実施し、出産後パピーウォーカーに委託するまでの約 50 日間程度、子犬を育てるボランティアをいう。

(2) パピーウォーカー（飼育ボランティア）

パピーウォーカーとは、将来盲導犬として訓練を受ける子犬を、生後 2 か月～約 1 歳になるまで預かるボランティアをいう。パピーウォーカーの条件は、①日中、子犬の世話ができる ②子犬の飼育費用（餌代・医療費など）を負担できる ③委託時・引上げ時・飼育講習会（月 1 回程度）に訓練センターまで来所し、指導を受けることや訪問訓練を受け入れることができる ④子犬を室内で飼うことができる ⑤協会の飼育方針に従うことができるなどである。

(3) リタイヤ犬ボランティア

高齢や病気のため、引退した盲導犬を生涯飼育可能なボランティアをいう。

(4) 他のボランティア

点字転写、事務雑用、および犬舎の掃除、シャンプー、グルーミング、散歩などを行うボランティアをいう。

## 1-6 盲導犬の訓練評価

盲導犬訓練センターにおける訓練犬の評価は、次のように実施している。

(1) 初期評価

初期評価は、パピーウォーカーから引き上げて 1 週間以内で行う。実際に、街内を歩かせ、その犬がどのような行動を示すかを観察する。その評価を基に訓練を開始する。

(2) TP 1 ・ TP 2

TP とはタスクパフォーマンス（作業評価）という意味で、学校で行われ

ている中間テストと期末テストに当たる。

TP1は、訓練開始から3か月後に行い、担当訓練士がアイマスクをつけて、基本訓練と誘導訓練を行う。誘導訓練では街内を歩行させる。

TP2は、訓練開始から6か月後に行い、担当訓練士以外の訓練士が、アイマスクをつけて、基本訓練と誘導訓練を行う。誘導訓練では、電車の乗降や人通りの多い街を歩行させる。

評価に当たっては、協会の訓練士全員で、訓練犬が盲導犬に適するかを判断している。

### (3) 訓練犬の進路

TP2終了後は、盲導犬、繁殖犬、PR犬（啓蒙犬）、キャリアチェンジ犬（一般犬）の4通りに進路が分けられる。

## 1-7 訓練士の教育

全国盲導犬施設連合会は、視覚障害者に一定水準の盲導犬の提供とその後のアフターケアの一定化を図るために、盲導犬を育成する盲導犬訓練士・盲導犬指導員に対して資格認定事業を2007年度より行っている。筆記・実技試験に合格したものに資格認定を行っている。

社会福祉法人日本盲導犬社会福祉施設協議会の盲導犬訓練基準表によると盲導犬訓練士は以下の3段階を経る。

### (1) 研修生

盲導犬歩行指導員および盲導犬訓練士になるための研修中の者をいう。

### (2) 盲導犬訓練士

盲導犬訓練士とは、最低3年間の養成期間が必要で、指導監督のもとに12頭以上の頭数を訓練した者で、犬の訓練技術および知識（犬解剖学、繁殖遺伝学、盲導犬の歴史、犬の感覚、犬と人間の相互作用、動物心理学、犬

舎管理を含む飼育技術、訓練理論、公衆衛生学)や視覚障害および法律に関する知識(身体障害者福祉論、視覚障害概論、関係法規)を習得し、かつ全国盲導犬施設連合会が行う試験に合格し、歩行指導に供することができる犬を訓練する技能を有すると法人が認定した者をいう。

### (3) 盲導犬歩行指導員

盲導犬歩行指導員とは、盲導犬訓練士となり2年以上(ただし、日本ライトハウスの厚生労働省委託歩行指導者養成課程、または国立身体障害者リハビリテーションセンター学院の視覚障害者生活訓練専門職員養成課程及びそれに準ずる過程を修了した者は視覚障害者の歩行に関する技術及び知識の習得を免除し、また以下に掲げる研修プログラムを優秀な成績で修了したものは1年まで期間を短縮することができる)が必要で、盲導犬訓練士として20頭以上の犬の訓練と歩行指導の実例:指導監督のもとに6例以上の実績があり、技術および専門知識(人間の感覚、運動のメカニズム、学習心理学および教育方法論、老年学、ローヴィジョン、発達心理学、面接と評価方法、カウンセリング、電子機器など、盲導犬の使用に関する適正評価、フォローアップ、指導計画の立案など)を習得し、かつ全国盲導犬施設連合会が行う試験に合格し、歩行指導に供することができる犬を訓練する技能を有すると法人が認定した者をいう。

以上のように訓練士については資格認定基準が定められている。盲導犬訓練士になるための研修期間が最低3年間、盲導犬歩行指導員になるために約2年間、合計で最短でも約5年間の研修が必要とされている。

視覚障害者の方は、目が不自由になったことで何を失い、どのような思いをしているのか、盲導犬との生活でどのような希望を持っているのかを理解し、適切な指導をすることが盲導犬歩行指導員の役割であり、視覚障害者と関わるための深い専門知識や高度な技術が求められる。

## 1 - 8 諸外国の盲導犬事情

世界では約 25,000 頭の盲導犬が活躍している。国際盲導犬連盟に約 30 カ国、84 盲導犬育成団体が加盟している。

以下に各国の盲導犬使用者数および盲導犬普及率を記述する[9]。

### (1) アメリカ

盲導犬使用者数約 8,000 名、盲導犬普及率 28.4 (100 万人当たりの盲導犬使用者数)

(1929 年に世界最古の盲導犬育成施設であるシーイング・アイ〈アメリカ盲導犬協会〉が設立された。)

### (2) イギリス

盲導犬使用者数約 5,000 名、盲導犬普及率 79.2

(1930 年代から盲導犬事業が始まった。年間約 700 頭が育成されている。)

### (3) ロシア

盲導犬使用者数約 800 名、盲導犬普及率 6.5

### (4) ドイツ

盲導犬使用者数約 1,500~2,000 名、盲導犬普及率 21.8

(1916 年にオルテブルグに盲導犬訓練学校が設立された。)

### (5) スペイン

盲導犬使用者数約 562 名、盲導犬普及率 14.0

### (6) イタリア

盲導犬使用者数約 800 名、盲導犬普及率 6.1

### (7) フランス

盲導犬使用者数約 1500 名、盲導犬普及率 25.6

### (8) スイス

盲導犬使用者数約 350 名

(9) オランダ

盲導犬使用者数約 500 名、盲導犬普及率 50.0

(10) ベルギー

盲導犬使用者数約 350～400 名

(11) フィンランド

盲導犬使用者数約 205 名。

(1940 年秋、ソ連軍との戦いで失明した軍人のために、軍用犬訓練学校で盲導犬の訓練がなされたのが始まりで、1947 年近代的盲導犬訓練学校が完成した。)

(12) アイルランド

盲導犬使用者数約 120 名、盲導犬普及率 28.8

(13) オーストラリア

盲導犬使用者数約 500 名、盲導犬普及率 26.0

(14) ニュージーランド

盲導犬使用者数約 300 名、盲導犬普及率 79.3

(15) 韓国

盲導犬使用者数約 100 頭、

(16) 台湾

盲導犬使用者数約 30 頭

本論文は、冒頭で述べたように盲導犬の早期適性評価を可能とするために以下の検討を行った。

第 2 章では、盲導犬育成の第 1 段階であるパピーウォーカーの飼育状況

が、訓練犬の合否に影響するか、否かをアンケート調査により検討した。

第3章では、盲導犬の育成過程において、個体レベルでの遺伝子解析情報[10-11]が訓練犬の合否に影響するか、否かを検討した。

なお、この研究を行うに当たっては、訓練状況の実態や盲導犬・訓練犬・繁殖犬の血液提供、パピーウォーカーに対するアンケート調査などを公益財団法人九州盲導犬協会総合訓練センターの協力を得て行った。

## 参考文献

- [1] NPO 法人全国盲導犬施設連合会 (2012) 盲導犬情報 第9号 11
- [2] 有馬もと(2003)身体障害者補助犬法を知っていますか 大月書店 21
- [3] Murayama M(2012). Genetic Polymorphism as background of dog behavior. The Japanese Journal of Animal Psychology. 1-9
- [4] 福祉関係者向け介助犬希望相談マニュアル作成委員会 (2006) 福祉関係者向け介助犬希望相談マニュアル 19-25
- [5] 社会福祉法人日本盲人社会福祉施設協議会リハビリテーション部会盲導犬委員会 盲導犬訓練施設年次報告書 (2010)
- [6] 社会福祉法人日本盲人社会福祉施設協議会リハビリテーション部会盲導犬委員会 盲導犬訓練施設年次報告書 (2011)
- [7] 社会福祉法人日本盲人社会福祉施設協議会リハビリテーション部会盲導犬委員会 盲導犬訓練施設年次報告書 (2012)
- [8] 社会福祉法人日本盲人社会福祉施設協議会リハビリテーション部会盲導犬委員会 盲導犬訓練施設年次報告書 (2013)
- [9] 福井良太 (2008) 世界から見た日本の盲導犬育成事業 日本身体障害者補助犬学会日本補助犬科学研究 Vol12、1、22
- [10] 水谷 仁 (編集) 知りたい! 遺伝のしくみ. 竹内ゆかり (2010) 動物の気質と遺伝子. ニュートン別冊, ニュートンプレス pp84-pp89
- [11] Takeuchi Y, Hashizume C, Arata S, Inoue-Murayama M, Maki T, Hart BL, Mori Y. (2009). An approach to canine behavioural genetics employing guide dogs for the blind. Anim Genet. 40(2), 217-24.

## 第2章 盲導犬育成に関するパピーウォーカーの飼育調査研究

### 2-1 まえおき

全国の盲導犬の育成数は、毎年平均 150 頭前後（合格率は約 30%）で、希望者への希望通りの供給は全く不十分な状況である。そのため関係者らは、各育成段階での評価方法の妥当性について模索している段階である[1, 2]。

最近、飼育段階の中でパピーウォーカーの飼育状況が、合否に関連するという報告が散見されるようになってきた[3-6]。

そこで本章では、さらに詳しくパピーウォーカーの飼育状況について調査し、今後の訓練に役立つ項目を探り、さらに早期適性判断に役立てることを目的とした。

### 2-2 材料および方法

#### 2-2-1 調査方法

パピーを訓練センターに引き上げるときに、あらかじめ依頼していた調査用紙を回収した。

#### 2-2-2 調査対象

2011 年（平成 23 年）～2013 年（平成 25 年）間の 9 回（2011 年 2 月、5 月、9 月、11 月、2012 年 4 月、7 月、12 月、2013 年 7 月、9 月）パピーウォーカー 91 名の 119 頭が調査対象であった。ただし合否が確定した 2013 年 10 月 31 日までのデータとした。

訓練した犬種はラブラドルレトリバー 86 頭（72.3%）、ゴールデンレトリバー 0 頭、MIX 32 頭（26.9%）、スタンダードプードル 1 頭（0.8%）であった（表 1）。

訓練犬の性別は、オス 62 頭（52%）、メス 57 頭（47.9%）であった（表 2）。創立以来、九州盲導犬協会では訓練した犬の性別は、822 頭中オス 385 頭（46.8%）、メス 437 頭（53.2%）であった。

### 2-2-3 調査の内容

調査内容は、パピーウォーカーの住宅環境、住宅様式、家族構成、家族人数、受診病院での反応、散歩や留守番の回数、他の犬への反応、唸りや吠えの状況、パピー時代の経験および散歩中の引っ張り行動などである。

## 2-3 結果

### 2-3-1 訓練犬の分析結果

これらの合否結果を以下に示す。

#### 2-3-1-1 訓練犬の合否結果

訓練犬の合否の内訳は、合格犬は14頭(11.8%)、不合格犬は71頭(59.7%)で、繁殖犬は11頭(9.2%)、現在訓練中の犬は23頭(19.3%)であった(表3)。

#### 2-3-1-2 合格犬の犬種

合格した犬14頭の犬種は、ラブラドルレトリバー10頭(71.4%)、MIX4頭(28.6%)であった(表4)。

#### 2-3-1-3 合格犬の性別

合格犬の性別は、オス8頭(57.1%)、メス6頭(42.9%)であった(表5)。

#### 2-3-1-4 合格犬の毛色

訓練した毛色別の頭数や割合は、合格犬の毛色ブラック3頭(6.5%)、イエロー11頭(15.1%)、不合格犬の毛色は、ブラック19頭(41.3%)、イエロー36頭(49.3%)であった(表6)。

#### 2-3-1-5 不合格理由

71頭の不合格の理由は、病気16頭(22.5%)、気質55頭(77.5%)が原因であり、病気より気質的な問題が関与していた。この成績は、他の報告と同様であった[7]。その気質の内訳としては、不安度が高い15頭(27.3%)、

興奮度が高い 13 頭 (23.6%)、優位性が強い 5 頭 (9.1%)、わがままである 5 頭 (9.1%)、注意散漫 4 頭 (7.3%)、無駄吠えが多い 3 頭 (5.5%)、臭いへの反応が強い・喜求性が低い・動物への反応が強い各 2 頭ずつ (3.6%)、攻撃性がある・適応力が低い・電車の音に震える・分離不安が各 1 頭 (1.8%) であった (表 7)。青柳らは不合格犬の 75% が稟性を理由としている [8]、その項目は順応性、興奮、不安の 3 項目を挙げている。

#### 2-3-1-6 不合格犬の病名

不合格犬の病名は、16 頭中 4 頭は股関節形成不全 (4/16)、アレルギーなどの皮膚病 3 頭 (3/16)、眼の病気としては白内障 2 頭 (2/16)、網膜萎縮 1 頭 (1/16)、視神経異形成 1 頭 (1/16)、泌尿器疾患の尿石症 1 頭 (1/16)、異所性尿管 1 頭 (1/16)、胃腸障害 1 頭 (1/16)、巨大食道症 1 頭 (1/16)、および車酔い 1 頭 (1/16) であった (表 8) [9]。

#### 2-3-2 アンケート調査の集計結果

パピーウォーカーに質問した回答結果について記述する。

##### 2-3-2-1 物理的環境要因

物理的環境としては、パピーウォーカーの住宅環境と家族構成、家の階段の有無などの項目について質問した。

(1) 居住地域の違いが合否と関連しているか、否かを検定するために、居住地域 (①農村地帯, ②市街地, ③繁華街) 3 項目×合否の  $\chi^2$  検定を行った。その結果、合否とは関連していなかった ( $\chi = 0.302$ , *n. s.*)。居住地域ごとの合格率は、農村地帯, 市街地および繁華街の順に 21.4%, 78.6% および 0% であった (表 9)。

(2) 住宅様式の違いが合否と関連しているか、否かを検定するために、住宅様式 (集合住宅, 戸建) 2 項目×合否の  $\chi^2$  検定を行った。その結果、合否とは関連していなかった ( $\chi = 2.317$  *n. s.*)。住宅様式ごとの合格率は

集合住宅 14.3%および戸建 85.7%であった（表 10）。

(3) 交通環境の違いが合否と関連しているか、否かを検定するために、交通環境（①交通量が多い、②中程度、③少ない）3項目×合否2項目の $\chi^2$ 検定を行った。その結果、交通環境は合否と関連していなかった（ $\chi = 5.361$  *n. s.*）。交通環境の合格率は、交通量が多い、中程度および少ないの順に0%、78.6%および21.4%であった（表 11）。

(4) 家に階段があるかないか、階段の使用頻度が合否と関連しているか、否かを検定するために、家に階段の有無×合否2項目の $\chi^2$ 検定を行った。その結果、階段の有無には統計的に有意差が認められた（ $\chi = 7.925$   $p < 0.05$ ）。

不合格犬の89.1%および合格犬の57.1%のパピーウォーカーには階段が設置されていた（表 12）。

(5) 家族構成が合否と関連しているか、否かを検定するために家族数6項目（2人、3人、4人、5人、6人および7人）×合否結果の $\chi^2$ 検定を行った。その結果、家族数は合否と関連していた（ $\chi = 16.325$   $p < 0.05$ ）。合格犬の家族数は2人、3人、4人、5人、6人および7人の順に0%、7.1%、57.1%、21.4%、0%および14.3%であり、不合格犬の家族数は34.5%、18.2%、30.9%、12.7%、1.8%および0%であった。

家族数の平均値は、合格犬4.57人、不合格犬3.21人であった。

家族の世代数が合否と関連しているか、否かを世代数3項目（1世代、2世代および3世代）×合否の $\chi^2$ 検定を行った。その結果、世代数は合否に関連していなかった（ $\chi = 3.785$  *n. s.*）。しかし、世代数による合格率は1世代（0%）、2世代（25%）、3世代（30%）と増加する傾向が認められた（表 13、14）。

2-3-2-2 飼育状況

(1) 委託から引き上げまでに病院にかかった病名は次の通りであった。  
外耳炎 14 頭、皮膚病 12 頭、下痢 10 頭、ストルバイト結石による膀胱炎 4 頭、誤食 2 頭、嘔吐 1 頭、耳ダニ 1 頭、頻尿 1 頭であった。病名×合否の  $\chi^2$  検定を行った。その結果、合否とは関連していなかった ( $\chi = 3.601$  *n. s.* 表 15)。

(2) 動物病院での反応が合否と関連しているか、否かを検定するために、動物病院に行った時の反応 8 項目 (①合格犬で興奮する ②リラックスしている ③落ち着いている ④少し興奮する ⑤少し怖がる ⑥とても怖がる ⑦怯える ⑧攻撃的) ×合否の  $\chi^2$  検定を行った。その結果、動物病院での反応は合否とは関連していなかった ( $\chi = 2.297$  *n. s.*)。

その内訳は、合格犬で興奮する 8 頭、リラックスして落ち着いている 4 頭、少し興奮して怖がる 2 頭、非常に怖がり怯える 0 頭、攻撃的 0 頭であった。不合格犬で興奮する 28 頭、リラックスして落ち着いている 18 頭、少し興奮して怖がる 18 頭、非常に怖がり怯える 5 頭、攻撃的 0 頭であった (表 16)。

(3) 排泄場所が合否と関連しているか、否かを検定するために、排泄の場所 5 項目 (①庭、②ベランダ、③家の敷地、④駐車場および⑤散歩中の道路) ×合否結果を  $\chi^2$  検定した結果、有意差は認められなかった ( $\chi = 2.840$  *n. s.*)。

排泄場所ごとの合格率は、庭、ベランダ、家の敷地、駐車場、散歩中の道路の順に、64.3%、14.3%、14.3%、0%であった (表 17)。

(4) 1 日の散歩の回数×合否結果について  $\chi^2$  検定したが、有意差は認められなかった ( $\chi = 4.608$  *n. s.*) (表 18)。

(5) 1 回の散歩時間×合否結果について  $\chi^2$  検定 を用いて検定したが有意差は認められなかった ( $\chi = 5.081$  *n. s.*) (表 19)。

(6) 留守番の日数 (/週) × 合否結果について  $\chi^2$  検定を行った。その結果、有意差は認められなかった ( $\chi = 7.646$  *n. s.*)。

留守番の時間 (/日) × 合否について  $\chi^2$  検定を行った。その結果、有意差は認められなかった ( $\chi = 8.4054$  *n. s.*、表 20、21)。

(7) 見知らぬ犬を見かけたときの反応

① やさしい (いつもフレンドリー)、② 競争心 (いつも友好的でも、競争するような状況になったら唸ったり吠えたりすることがある)、③ 無関心 (ほとんどの場合、興味を示さない)、④ 苦手 (犬を避けようとする)、⑤ 敵意を持つ傾向がある (威嚇したり、攻撃しようとする) × 合否結果について  $\chi^2$  検定を行った結果、① ( $\chi = 4.200$   $p < 0.05$ ) ② ( $\chi = 6.198$   $p < 0.05$ ) ③ ( $\chi = 4.070$   $p < 0.05$ ) の項目について合否と関連があった (表 22)。

見知らぬ犬に対して競争心 (いつも友好的でも、競争するような状況になったら、唸ったり吠えたりすることがある) をもった犬はすべて不合格であった。

(8) 見知らぬ犬に吠えたり、唸ったりした時期

時期 × 合否結果について  $\chi^2$  検定を行った結果、有意差は認められなかった ( $\chi = 6.461$  *n. s.* 表 23)。

(9) 家族や見知らぬ人を怖がったり、怯えたことがあったか

怖がったり、怯えたことの有無 × 合否結果について  $\chi^2$  検定を行ったが、有意差は認められなかった ( $\chi = 0.053$  *n. s.*、表 24)。

その時期 (怖がり怯える) について  $\chi^2$  検定結果、有意差は認められなかった ( $\chi = 6.000$  *n. s.*、表 25)。

(10) 吠えと唸り

吠えと唸りについて① 来客者、② 見知らぬ来客者、③ 他の犬、④ 他の動物に対して、⑤ 車の中で、⑥ 庭にいる時、⑦ 子供を見たとき、⑧ 留守の時、⑨

インターホンの音⑩その他（主人が帰ってきた時、遊んでいる時）、についての 10 項目×合否結果について  $\chi^2$  検定の結果、有意差は認められなかった（表 26、27）。

#### （11）引き上げまでの経験

①見知らぬ人、②見知らぬ子供、③犬、④猫、⑤鳥、⑥馬・羊・牛など、⑦雷、⑧不快でうるさい音、⑨車の走る音、⑩大きなトラック、⑪車のクラクション、⑫電車、⑬人ごみ、⑭つるつるした床⑮階段、⑯鉄格子（フェンスも）、⑰車に乗ること、⑱エレベーター、⑲エスカレーターの 19 項目について経験した回数を質問した。各項目×合否結果について  $\chi^2$  検定を行った（表 28-41、43-46）。その結果、合否に関連した項目は階段経験の項目であった。

⑮階段の経験使用回数×合否結果において、有意差が認められた

（ $\chi = 9.905$   $p < 0.05$  表 42）。

その他の項目については合否に関連しなかった。

#### （12）散歩中の引っ張り行動

散歩中に引っ張るという行動があったかどうかを①毎日あった、②時々あった、③たまにあった、④あまりなかった、および⑤なかったの 5 項目×合否結果について  $\chi^2$  検定を行った。その結果、散歩中の行動は合否に関与していることが認められた（ $\chi = 13.493$   $p < 0.05$ 、表 47）。

引っ張り行動の理由、①恐怖や不安で引っ張る、②興奮して引っ張る、③犬や猫などに対して興味があり引っ張る、④排泄のために引っ張る、⑤日頃から親しい人に対して好意を持って向かって行くように引っ張る、⑥人や犬猫などに敵対心をもって向かって行くように引っ張る、⑦自分自身（パピー）の方が優位であると思って引っ張るの 7 項目×合否結果について  $\chi^2$  検定を行った。その結果、①恐怖や不安で引っ張る（ $\chi = 5.581$   $p < 0.05$ ）、②興奮して引っ張る（ $\chi = 6.739$   $p < 0.05$ ）、③犬や猫などに対して興味があり

引っ張る ( $\chi = 11.887$   $p < 0.05$ ) の 3 項目について、合否に関連していることが認められた。他の項目は合否に関連していなかった (表 48)。

#### 2-4 考察

盲導犬の育成において、合否に影響を与える要因としては多くのことが考えられる。その飼育段階の 1 つであるパピーウォーカーによる飼育状況が、訓練犬の合否に影響するか、否かをアンケート調査で検討した。

今回の訓練犬の犬種は、ラブラドルレトリバー 86 頭 (72.3%)、MIX 32 頭 (26.9%) およびスタンダードプードル 1 頭 (0.8%) であった。犬の種類はラブラドルレトリバーとゴールデンレトリバーが主流であったが、2006 年頃から MIX (ラブラドルレトリバー×ゴールデンレトリバー) を繁殖して、訓練犬に使用するようになった。現在までの MIX の実績は 93 頭で合格犬は 27 頭 (合格率 29.0%) となっている (九州盲導犬協会)。

協会が現在までに訓練した犬の性別は、オス 46.8% (385/822 頭)、メス 53.2% (437/822 頭) であった。本研究ではオス 52.0% (62/119 頭)、メス 47.9% (57/119 頭) であり、性比については協会のそれとほぼ同じであった。今回の訓練結果では、現在 (10 月 31 日) までの盲導犬合格率は 11.8% (14/119) であった。過去の協会の合格率 25.3% (208/822) に比べると低い比率であった。その理由としては、病気による理由の不合格率 13.4% (16/119 頭) および繁殖犬に供した個体 9.2% (11/119 頭) が多かったことによるものであった。

合格犬の性別は、オス 57.1% (8/14 頭)、メス 42.9% (6/14) で、この結果は、甲田らの報告と同様であった [10]。

不合格犬 71 頭のうち、気質理由による不合格率 77.5% (55/71) および

病気理由による 22.5% (16/71) であった。不合格犬における気質の内訳は、不安度が高い、興奮度が高い、優位性が強い、わがまま、注意散漫、無駄吠えが多い、喜求性が低いなどであり、青柳らの調査報告（稟性理由による不合格 75%）と同様の結果であった[8]。

病気理由の内訳は、股関節形成不全、白内障、網膜萎縮、視神経萎縮などであり、これらの病気は、遺伝的要因が大きいので今後、繁殖犬の選定には十分な注意が必要であると考えられる。

物理的な環境要因に関する項目としては、家の階段有無については合否に関連していた。階段がある犬の不合格率が高かった。

居住地域、交通状況および住宅様式の集合住宅と戸建については、合否に関連していなかった。

家族構成については、合格犬の方が不合格犬より家族数は多かった（合格家族数平均値 4.57 人、不合格 3.21 人）。また 1 世代数の家族より 2 世代、3 世代と世代数が増える程、合格率は高くなる傾向が見られた。このことは犬が本来持っている群れで生活するという習性に関連しており、人との関わりが、社会化形成の要因となったと思われる[12]。

次に飼育状況時について、委託から引き上げまでに罹った病気や、動物病院での反応については合否に関連するものではなかった。

パピーの排泄は庭、ベランダ、家の敷地、駐車場で家の周囲など行っていたが、このことは合否に関与するものでなかった。

1 日当たりの散歩の回数、時間も合否に関連していなかった。

1 週間当たりの留守番の回数と留守番の時間も合否に関与していなかった。ただし、落ち着いている犬は合格率が高いと云われているので、落ち着いた犬に育てるために、安保らは留守番を週に 8 時間以上、数回経験させることを提言している[5]。

見知らぬ犬を見たときのパピーの反応は、「いつもやさしい（いつもフレンドリー）の有（78.6%  $\chi=4.200$   $p<0.05$ ）無」「競争心の有無（26.1%  $\chi=6.198$   $p<0.05$ ）」「無関心（ほとんどの場合興味を示さない）有（92.9%  $\chi=4.070$   $p<0.05$ ）無」 についての3項目については合否と関連があった。また、このことはラブラドルレトリバー種の元来持っている極めて温和であるという性格を表していることと思われる[13]。

吠えたり唸ったりした時期、怖がったり怯えたことの有無、その時期については合否に関連していなかった。

次に引き上げまでの経験の19項目中、階段使用頻度について合否に関連することが認められた。他の項目は全て合否に影響がなかった。今回の調査では、階段を余り使用しない犬の合格率が高い結果であった。前述した階段がない家のパピーの合格率が高いという調査結果と類似していることが示された。これらの結果は今まで家での階段利用が合格率を高めるという考えと、相反するものである。

最後に、散歩中の引っ張るという行動は、不合格の顕著な要因の項目であった。すなわち、パピー時代のその引っ張るという行動は不合格の要因で、引っ張る理由の中で、「恐怖や不安で引っ張る（32.7%  $\chi=5.581$   $p<0.05$ ）」「興奮して引っ張る（72.7%  $\chi=6.739$   $p<0.05$ ）」「犬や猫に対して興味がある（81.8%  $\chi=11.887$   $p<0.05$ ）」の3項目は、犬の本来持っている稟性であり、今回の訓練では修正が不可能であったものと考えられる。引っ張る行動が見られる犬の訓練には今後、十分な注意が必要であると思われる。水越らも散歩中の引っ張り行動は盲導犬としての不適格要因の1つに挙げている[10]。

以上の結果から、家族数や世代数が多いことは、犬が本来持っている社会性を身につけさせる要因であると考えられる。パピーウォーカーの家族が多

いと合格率が高いという結果から、夫婦2人家族や家族数が少ないパピーウォーカーについては、パピーを多くの人と触れ合わせるために、いろいろな場所へ連れて行くことや、パピー講習会の回数を多くしたり、協会職員との触れ合いを密にしたり、訓練センターで預かることも社会化を形成するための1つの方法ではないかと考える。階段使用が合否に影響があったことは意外なことで、これまでは階段を経験させることが合格するのではないかと考えられていたが、相反する結果であった。また、引っ張るという行動の修正は、個々の犬の引っ張り理由により、それぞれの原因に対処した指導が必要であろう。

以上のように、パピーウォーカーのアンケート調査結果と、分子遺伝学的解析から、犬の気質は訓練犬の合否結果に関連する重要な要因の1つであると思われた。

表 1 訓練犬の犬種

犬種	頭数	割合%
ラブラドルレトリバー	86	72.3
ゴールデンレトリバー	0	0
MIX (F1,F2)	32	26.9
スタンダードプードル	1	0.8
合計	119	100

表2 訓練犬の性別

性別	頭数	割合%
オス	62	52.1
メス	57	47.9
合計	119	100

表 3 訓練犬の合否結果

		割合%
合格犬	14	11.8
不合格犬	71	59.7
繁殖犬	11	9.2
PR 犬	0	0
訓練中	23	19.3
合計	119	100

繁殖犬オス5 メス6

表4 合格犬の犬種

	頭数	割合%	訓練犬に対する割合%
ラブラドルレトリバー	10	71.4	11.6
MIX	4	28.6	12.5
合計	14	100	

表 5 合格犬の性別

	頭数	割合%	訓練頭数に対する割合%
オス	8	57.1	12.9
メス	6	42.9	10.5
合計	14	100	

表6 訓練犬の毛色

	頭数	合格	不合格	病気	繁殖犬	訓練中
ブラック	46	3 (6.5%)	19 (41.3%)	6 (13.0%)	6 (13.0%)	12 (26.1%)
イエロー	73	11 (15.1%)	36 (49.3%)	10 (13.7%)	5 (6.8%)	11 (15.1%)
合計	119	14	55	16	11	23

( )は割合

表 7 不合格理由

理由	頭数	割合%
病気	16	22.5
気質	55	77.5
不安度が高い	15	27.3
興奮	13	23.6
優位性	5	9.1
わがまま	5	9.1
注意散漫	4	7.3
無駄吠え	3	5.5
臭いへの反応	2	3.6
喜求性が低い	2	3.6
動物への反応	2	3.6
攻撃性	1	1.8
適応力が低い	1	1.8
電車の音に震える	1	1.8
分離不安	1	1.8
合計	71	100

表 8 不合格病気の内訳

病名	頭数
股関節形成不全	4
アレルギーなどの皮膚病	3
眼疾患 白内障	2
網膜萎縮	1
視神経異形成	1
泌尿器疾患 尿石症	1
異所性尿管	1
胃腸障害	1
巨大食道症	1
その他(車酔い)	1
合計	16

表 9 居住地域

	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
農村地帯	3 21.4%	13 23.6%	<i>n.s.</i>
市街地	11 78.6%	41 74.5%	<i>n.s.</i>
繁華街	0 0%	1 1.8%	<i>n.s.</i>
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 10 住宅様式

	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
集合住宅	2 14.3%	2 3.6%	<i>n.s.</i>
戸建	12 85.7%	53 96.4%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*:有意なし

表11 交通環境

	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
交通量が多い	0 0%	7 12.7%	<i>n.s.</i>
中程度	11 78.6%	29 52.7	<i>n.s.</i>
少ない	3 21.4%	19 34.5	<i>n.s.</i>
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 12 家の階段

	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
ある	8 57.1%	49 89.1%	7.928 p<0.05
ない	6 42.9%	6 10.9%	
合計	14 100%	55 100%	

表 13 家族人数

人数	合格犬	不合格犬
2	0 0.0%	19 34.5%
3	1 7.1%	10 18.2%
4	8 57.1%	17 30.9%
5	3 21.4%	7 12.7%
6	0	1 1.8%
7	2 14.3%	0 0.0%
合計	14 100%	55 100%
平均值(人)	4.57	3.21

表 14 世代数

世代数	合格犬	不合格犬	合計
1世代家族	0	15	15
	0%	100%	100%
2世代家族	11	33	44
	25%	75%	100%
3世代家族	3	7	10
	30%	70%	100%

表 15 委託期間の罹患病名

病名	合格犬	不合格犬	合計	$\chi^2$ 検定
外耳炎	4 28.6%	10 18.2%	14 20.3%	<i>n.s.</i>
皮膚炎	2 14.3%	10 18.2%	12 17.4%	
下痢	3 21.4%	7 12.3%	10 14.5%	
ストルバイト結石による膀胱炎	0 0%	4 7.3%	4 5.8%	
誤食	0 0%	2 3.6%	2 2.9%	
嘔吐	0 0%	1 1.8%	1 1.5%	
耳ダニ	0 0%	1 1.8%	1 1.5%	
頻尿	0 0%	1 1.8%	1 1.5%	

*n.s.* :有意なし

表 16 動物病院に行った時の反応

	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
興奮する	9 60.0%	28 41.2%	<i>n.s.</i>
リラックスしている			
落ち着いている	4 26.7%	18 26.5%	
少し興奮する			
少し怖がる	2 13.3%	17 25.0%	
とても怖がる			
怯える	0 0%	5 7.4%	
攻撃的	0 0%	0 0%	
合計	15	68	

複数回答あり

*n.s.*:有意なし

表 17 排泄の場所

	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
庭	9 64.3%	36 65.5%	<i>n.s.</i>
ベランダ	2 14.3%	4 7.3%	
家の敷地	2 14.3%	6 10.9%	
駐車場	1 7.1%	2 3.6%	
散歩中の道路	0 0%	7 12.3%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 18 散歩の回数

	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1日に1回	5 35.7%	15 27.3%	<i>n.s.</i>
2回	5 35.7%	26 47.3%	
3回	3 21.4%	14 25.5%	
4回	1 7.1%	0 0%	
合計	14 100%	55 100%	

*n. s.* : 有意なし

表 19 散歩の時間

	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
30分以内	1 7.1%	10 18.2%	<i>n.s.</i>
30～60分	12 85.7%	44 80.0%	
60～120分	1 7.1%	0 0%	
120～180分	0 0%	1 1.8%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*:有意なし

表 20 留守番の回数

日数	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
0日	1	4	<i>n.s.</i>
1日	3	13	
2日	5	8	
3日	2	13	
4日	3	5	
5日	0	6	
6日	0	2	
7日	0	4	
合計	14	55	
	100%	100%	

*n.s.*: 有意なし

表 21 留守番の時間

時間	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
0	1 7.1%	4 7.3%	<i>n.s.</i>
1	1 7.1%	14 25.5%	
2	4 28.6%	12 21.8%	
3	2 14.3%	13 23.6%	
4	4 28.6%	8 14.5%	
5	2 14.3%	1 1.8%	
6	0 0%	1 1.8%	
7	0 0%	1 1.8%	
8	0 0%	1 1.8%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*:有意なし

表 22 見知らぬ犬を見かけたときの反応

		合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
やさしい(いつもフレンドリー)	ある	11	28	$\chi = 4.200$ $p < 0.05$
	ない	3	27	
競争心	ある	0	18	$\chi = 6.198$ $p < 0.05$
	ない	14	37	
無関心	ある	13	37	$\chi = 4.070$ $p < 0.05$
	ない	1	18	
苦手(犬を避けようとする)	ある	0	5	<i>n.s.</i>
	ない	0	50	
敵意を持つ(威嚇、攻撃)	ある	0	0	<i>n.s.</i>
	ない	0	0	

*n. s.* : 有意なし

表 23 吠えたり、唸ったりした時期

	合格	不合格	$\chi^2$ 検定
3か月以内		2 3.6%	<i>n.s.</i>
3～6か月		2 3.6%	
6～9か月	1 7.1%	1 1.8%	
9～12か月		5 9.2%	
12か月以上		3 5.5%	
合計	1 7.1%	13 23.6%	

*n.s.*:有意なし

表 24 家族や見知らぬ人を怖がったり、怯えたことがあったか

	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
ある	1 7.1%	5 9.1%	<i>n.s.</i>
なし	13 92.9%	50 90.9%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 25 怖がったり、怯えたりした時期

時期	合格	不合格	$\chi^2$ 検定
3か月以内	0	1 1.8%	<i>n.s.</i>
3～6か月	0	1 1.8%	
6～9か月	0	1 1.8%	
9～12か月	0	2 3.6%	
12か月以上	1 7.1%	0 0%	
合計	1	5	

*n.s.*:有意なし

表 26 吠える

対象		合格	不合格	$\chi^2$ 検定
来客者	吠える	0	8	<i>n.s.</i>
	なし	14	47	
見知らぬ来客者	吠える	0	11	<i>n.s.</i>
	なし	14	44	
他の犬	吠える	3	10	<i>n.s.</i>
	なし	11	45	
他の動物に対して	吠える	0	3	<i>n.s.</i>
	なし	14	52	
車の中で	吠える	2	3	<i>n.s.</i>
	なし	12	52	
庭にいる時	吠える	0	5	<i>n.s.</i>
	なし	14	50	
子供を見たとき	吠える	1	5	<i>n.s.</i>
	なし	13	50	
お留守の時	吠える	0	8	<i>n.s.</i>
	なし	14	47	
インターホンの音	吠える	0	9	<i>n.s.</i>
	なし	14	46	
その他(主人が帰ってきた時小さい時、遊んでいる時)	吠える	0	3	<i>n.s.</i>
	なし	14	52	
合計		6	65	

*n.s.*: 有意なし

表 27 唸る

対象		合格	不合格	$\chi^2$ 検定
来客者	唸りあり	0	1	<i>n.s.</i>
	なし	14	54	
見知らぬ来客者	唸りあり	0	1	<i>n.s.</i>
	なし	14	54	
他の犬	唸りあり	0	0	<i>n.s.</i>
	なし	11	55	
他の動物に対して	唸りあり	0	0	<i>n.s.</i>
	なし	14	55	
車の中で	唸りあり	0	0	<i>n.s.</i>
	なし	14	55	
庭にいる時	唸りあり	0	0	<i>n.s.</i>
	なし	14	55	
子供を見たとき	唸りあり	0	0	<i>n.s.</i>
	なし	14	55	
お留守の時	唸りあり	0	0	<i>n.s.</i>
	なし	14	55	
インターホンの音	唸りあり	0	1	<i>n.s.</i>
	なし	14	54	
合計		0	3	

*n.s.*: 有意なし

表 28 見知らぬ人を見た回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	0 0%	1 1.8%	<i>n.s.</i>
2 数回	0 0%	0 0%	
3時々	2 14%	10 18.2%	
4しばしば	8 57.1%	26 47.3%	
5毎日のように	4 28.6%	18 32.7%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 29 見知らぬ子供見た回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	0 0%	0 0%	<i>n.s.</i>
2 数回	0 0%	0 0%	
3時々	5 35.7%	20 36.4%	
4しばしば	5 35.7%	23 41.8%	
5毎日のように	4 28.6%	12 21.8%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 30 犬を見た回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	0 0%	4 7.3%	<i>n.s.</i>
2 数回	1 7.1%	15 27.3%	
3時々	2 14.3%	20 36.4%	
4しばしば	7 50.0%	7 12.7%	
5毎日のように	5 35.7%	9 16.4%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 31 猫を見た回数

	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	0 0%	1 1.8%	<i>n.s.</i>
2 数回	2 14.3%	6 10.9%	
3時々	4 28.6%	23 41.8%	
4しばしば	7 50.0%	16 29.1%	
5毎日のように	1 7.10%	9 16.5%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 32 鳥を見た回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	0 0%	2 3.6%	<i>n.s.</i>
2 数回	0 0%	3 5.5%	
3時々	4 28.6%	12 21.8%	
4しばしば	6 42.9%	19 34.5%	
5毎日のように	1 7.1%	19 34.5%	
未記入	3 21.4%	0 0%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 33 馬・羊・牛などを見た回数

	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	7 50.0%	34 61.8%	<i>n.s.</i>
2 数回	4 28.6%	15 27.3%	
3時々	1 7.1%	4 7.3%	
4しばしば	1 7.1%	1 1.8%	
5毎日のように	1 7.1%	1 1.8%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*:有意なし

表 34 雷の経験回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	1 7.1%	2 3.6%	<i>n.s.</i>
2 数回	10 71.4%	30 54.5%	
3時々	3 21.4%	18 32.7%	
4しばしば	0 0%	2 3.6%	
5毎日のように	0 0%	1 1.8%	
未記入	0 0%	2 3.6%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 35 不快でうるさい音の経験回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	5 35.7%	10 18.2%	<i>n.s.</i>
2 数回	1 7.1%	5 9.1%	
3時々	6 42.9%	23 41.8%	
4しばしば	2 14.3%	8 14.5%	
5毎日のように	0 0%	7 12.7%	
未記入	0 0%	2 3.6%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 36 車の走る音の経験回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	0 0%	1 1.8%	<i>n.s.</i>
2 数回	0 0%	0 0%	
3時々	4 28.6%	2 3.6%	
4しばしば	8 57.1%	19 34.5%	
5毎日のように	2 14.3%	33 60.0%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*:有意なし

表 37 大きなトラックを見た回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	0 0%	2 3.6%	<i>n.s.</i>
2 数回	0 0%	2 3.6%	
3時々	6 42.9%	23 41.8%	
4しばしば	3 21.4%	13 23.6%	
5毎日のように	5 35.7%	15 27.3%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 38 車のクラクションの経験回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	2 14.3%	9 16.4%	<i>n.s.</i>
2 数回	2 14.3%	9 16.4%	
3時々	8 57.1%	22 40.0%	
4しばしば	2 14.3%	6 10.9%	
5毎日のように	0 0%	8 14.5%	
未記入	0 0%	1 1.8%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 39 電車を見た回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	6 42.9%	22 40.0%	<i>n.s.</i>
2 数回	4 28.6%	12 21.8%	
3時々	2 14.3%	13 23.6%	
4しばしば	1 7.1%	4 7.3%	
5毎日のように	1 7.1%	4 7.3%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*:有意なし

表 40 人ごみの経験回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	0 0%	10 18.2%	<i>n.s.</i>
2 数回	5 35.7%	16 29.1%	
3時々	8 57.1%	18 32.70%	
4しばしば	1 7.1%	7 12.7%	
5毎日のように	0 0%	2 3.6%	
未記入	0 0%	2 3.6%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*:有意なし

表 41 つるつるした床の経験回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	1 7.1%	5 9.1%	<i>n.s.</i>
2 数回	0 0%	10 18.2%	
3時々	3 21.4%	15 27.3%	
4しばしば	2 14.3%	9 16.4%	
5毎日のように	6 42.9%	16 29.1%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*:有意なし

表 42 階段を使用した回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	1 7.1%	0 0%	$\chi = 9.905$ $p < 0.05$
2 数回	1 7.1%	3 5.5%	
3時々	8 57.1%	15 27.3%	
4しばしば	2 14.3%	14 25.5%	
5毎日のように	2 14.3%	23 41.8%	
合計	14 100%	55 100%	

表 43 鉄格子(フェンスも)の経験回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	6 42.9%	16 29.1%	<i>n.s.</i>
2 数回	2 14.3%	2 3.6%	
3時々	2 14.3%	10 18.2%	
4しばしば	2 14.3%	9 16.4%	
5毎日のように	2 14.3%	13 23.6%	
未記入	0 0%	5 9.1%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*:有意なし

表 44 車に乗った回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	0 0%	0 0%	<i>n.s.</i>
2 数回	0 0%	1 1.80%	
3時々	2 14.3%	17 30.9%	
4しばしば	11 78.6%	23 41.8%	
5毎日のように	1 7.1%	14 25.5%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 45 エレベーターに乗った回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	3 21.4%	22 40.0%	<i>n.s.</i>
2 数回	5 35.7%	18 32.7%	
3時々	2 14.3%	13 23.6%	
4しばしば	1 7.1%	1 1.8%	
5毎日のように	1 7.1%	1 1.8%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 46 エスカレーターを使った回数

頻度	合格犬	不合格犬	$\chi^2$ 検定
1ない	9 64.3%	40 72.7%	<i>n.s.</i>
2 数回	2 14.3%	9 16.4%	
3時々	1 7.1%	4 7.3%	
4しばしば	0 0%	2 3.6%	
5毎日のように	2 14.3%	0 0%	
合計	14 100%	55 100%	

*n.s.*: 有意なし

表 47 散歩中の引っ張り行動

頻度	合格	不合格	$\chi^2$ 検定
毎日あった	0 0%	25 45.5%	$\chi = 13.493$ $p < 0.05$
時々あった	5 35.7%	18 32.7%	
たまにあった	6 42.9%	7 12.7%	
あまりなかった	2 14.3%	4 7.3%	
なかった	1 7.1%	1 1.8%	
合計	14 100%	55 100%	

表 48 引っ張る理由

内訳		合格	不合格	$\chi^2$ 検定
①恐怖や不安で引っ張る	ある	1	18	$\chi = 5.581$ $p < 0.05$
	ない	13	37	
②興奮して引っ張る	ある	5	40	$\chi = 6.739$ $p < 0.05$
	ない	9	15	
③犬や猫に対して興味があり 引っ張る	ある	5	45	$\chi = 11.887$ $p < 0.05$
	ない	9	10	
④排泄のために引っ張る	ある	1	14	<i>n.s.</i>
	ない	13	41	
⑤日頃から親しい人に対して 好意をもって嬉しくて引っ張る	ある	9	36	<i>n.s.</i>
	ない	5	19	
⑥人や猫などに敵対心をもつ て向かっていくように引っ張る	ある	0	4	<i>n.s.</i>
	ない	14	51	
⑦自分自身(パピー)の方が 有意であると思って引っ張る	ある	1	14	<i>n.s.</i>
	ない	13	41	

*n.s.*: 有意なし

## 参考文献

- [1] Sepell JA, Hsu Y. (2000). Development and validation of novel method for evaluating behavior and temperament in guide dogs. *Appl Anim Behav Sci*, 72, 347-364
- [2] Goddard ME, Beilharz RG. (1982). Genetic and environmental factors affecting the suitability of the dogs as guide dogs for blind. *Theor Appl Genet*, 62, 97-102
- [3] 水越美奈ほか(2008) パピーウォーカーの意識調査 日本身体障害者補助犬学会 2008年シンポジウム プログラム・抄録集 31
- [4] 嶋本聖ほか(2008) 8ヶ月齢パピーを対象とした訓練に対する考察 日本身体障害者補助犬学会 2008年シンポジウム プログラム・抄録集 38
- [5] 安保ほか(2008) パピー時代の留守番の経験と待機時の落ち着きの関連 日本身体障害者補助犬学会 2008年シンポジウム プログラム・抄録集 40
- [6] 一色雅ほか(2008) パピーウォーカーの意識調査 日本身体障害者補助犬学会 2008年シンポジウム プログラム・抄録集 51
- [7] Olson PN. (2001). guide dog schools: A model for interdisciplinary studies on canine behavior. In Overall KL. et. al. (Eds), *Proceedings of the third international congress on veterinary behavioural medicine* (pp69-75). UK: Universities federation for animal welfare
- [8] 青柳真理子ほか(2008) 稟性評価の使用の提案 日本身体障害者補助犬学会 2008年シンポジウム プログラム・抄録集 36
- [9] Wills MB. (1995). Genetics aspects of dog behavior with particular reference to working ability. In Serpell JA. (Ed.), *The domestic*

dog: Its evolution, behavior, and interaction with people  
(pp, 51-64). New York, NY: Cambridge University press

- [10] 水越美奈ほか (2009) パピーウォーカー指導に関する一検討：子犬飼育経験による行動上の違いについて日本補助犬科学研究 Vol13、1、21
- [11] 甲田菜穂子ほか (2004) 盲導犬候補犬の行動評価に及ぼす性、犬種、発達の影響 ヒトと動物の関係学会誌、Vol.13 94-99
- [12] Wehrend A. (2008) 浜名克己監訳 (2009) 犬の新生子学 行動の発達とその障害 Clinic note No.049 64-69
- [13] 水谷 仁 (編集) 知りたい！遺伝のしくみ. 竹内ゆかり (2010) 動物の気質と遺伝子. ニュートン別冊, ニュートンプレス pp84-pp89

## 第3章 盲導犬の育成に関する分子遺伝学的解析

### 3-1 まえおき

現在、犬の品種（犬種）の数は、350 品種以上と云われ、それらは狩猟犬、護衛犬、牧羊犬、愛玩犬など、それぞれの目的に応じて人為的に交配作出され、外見は犬種間で非常に多様性に富んでいる。同様に、気質についても、攻撃的な犬種もあれば友好的な犬種もある[1]。

Hart らは、犬種と気質との関係を動物の行動を項目ごとに調査することによって、犬種の行動特性の違いを科学的に数量化した[2]。その結果、たとえば、番犬として使われているドーベルマンやシェパードは、領土防衛や警戒咆哮などの行動が強く、ラブラドルやゴールデンレトリバーなどの家庭犬では攻撃性が低く、服従訓練に対する反応の高いことが客観的データに基づき明らかにされた[3]。竹内らも、柴犬とラブラドルレトリバーの気質評価を行い、この2犬種はほぼ正反対の性格と評価した[4]。犬の気質を司る要因は、環境や遺伝など様々あると推測されるが、気質の中でも特に攻撃性や活動性は遺伝的な要素による影響が強いとされている。近年では、いわゆる犬の気質に関連する候補遺伝子の解析も進められており、実際に *DRB4*(dopamine receptor 4)[5-12]、 *COMT* (catecholamine-O-methyltransferase) [13, 14]、 *SLC1A2* (Solute carrier family 1/ glial high affinity glutamate transporter, member 2) [4, 14]、 *GL-1* (Glutamate transporter-1) [15]、 *TH*(tyrosine hydroxylase) [16]などの遺伝子において気質に関連する DNA 多型が報告されている。また、鈴木らは盲導犬に適した犬を選抜する方法として、これらの遺伝子多型の一部や他の遺伝子多型を解析し、特許出願公開している（特開 2008-125393、特開 2008-125393、特開 2007-330207、特開 2008-194016）。

本章では、九州盲導犬協会における盲導犬の育成の過程において、個体レベルでの遺伝子解析情報が有用なものであるかどうかを評価するため、1) 気質に関係する各種遺伝子多型のうち一般に紹介されている *COMT* 遺伝子の G216A 遺伝子型 [3] について、既報の集団とは異なる九州盲導犬協会の犬群を対象に、当該 SNP の遺伝子型がどの程度分布しているかを調査した (本調査は研究目的であり盲導犬の選抜には利用していない)。2) さらに、盲導犬の育成に有用な候補遺伝子領域が存在するかどうか、少数例の解析ではあるが、ゲノムワイドアソシエーション解析 [17, 18] による盲導犬育成に関連する新規ゲノム領域の探索を行った。

犬のミトコンドリア DNA (mtDNA) は、母系遺伝を示しその全塩基数は、16,728bp であり、22 個の tRNA 遺伝子、2 個の rRNA 遺伝子、13 個のタンパク質のコード遺伝子が約 9 割を占め、環状構造をしている [19]。このほか、非コード領域である転写調節領域 (Control Region, CR) が存在する。特にこの CR 領域は、変異率が高いため超可変 (Hyper Variable, HV) 領域として知られ、当該領域は、様々の種で品種分化・起源、遺伝的多様性、個体識別などの分野で利用されている [20]。犬の CR は HV1 と HV2 が存在し、これらに挟まれた VNTR によって構成されている [21, 22]。HV1 よりも HV2 において塩基置換が多い [23, 24] ことから、犬の個体識別や遺伝的多様性の研究では、HV1 領域のみあるいは HV1 および HV2 領域の両方を標的にしている [25-27]。これまで本邦で飼養されている犬においても様々なハプロタイプが報告されており、品種差も報告されている [22]。特に近年杉山らが報告した、純粋種 447 例の mtDNA HV1 のハプロタイプ解析では、ゴールデンレトリバーを含む 5 品種の遺伝的多様性が示されている [28]。一般に遺伝的多様性が減少すると、繁殖効率への影響が懸念されるため、本章では、九州盲導犬協会での管理・飼養し

ているラブラドルレトリバーの mtDNA HV1 について解析し、既報の同品種結果と比較することにより当該集団の遺伝的多様性を評価した。

### 3-2 材料および方法

#### 3-2-1 DNA 抽出

採血後、EDTA 2K 入り採血管に保存した犬血液からの DNA 抽出は Puregene Kit (QIAGEN, 日本) を用いてプロトコールに従い以下の手順で実施した。

滅菌済みの 15ml チューブに犬血液約 2ml と RBC Lysis Solution 4 ml を入れ、穏やかに 10 回転倒混和後、室温で 3 分間静置し、赤血球のみ溶解した。

次に、3,000 回転で 3 分間遠心分離を行い白血球を沈殿させ、上清を除去した。その後白血球を 1.5ml チューブに移し、Cell Lysis Solution 1ml を添加して細胞壁を溶解した。更に、RNase A Solution (4 mg/ml) を 1.5  $\mu$ l 加え、25 回程度転倒混和し、Dry Bath Incubator (major science, アメリカ) にて 37°C で 60 分間加温した。加温後、Protein Precipitation Solution 333  $\mu$ l を加え、ボルテックス Full speed・20 秒にてよく混和した後、13,000  $\times$ g で 1 分間遠心分離した。沈殿したタンパク質を吸わないよう上清のみを新たに用意した 1.5 ml エッペンドルフチューブに移し、100% イソプロパノール 1ml を加え、50 回程度穏やかに転倒混和した。その後、13,000  $\times$ g で 1 分間遠心分離を行い、上清を捨て、清潔なろ紙上にチューブを逆さに置いて風乾後、70% エタノール 300  $\mu$ l を添加し、数回転倒混和により DNA を洗浄した。転倒混和後、13,000  $\times$ g で 1 分間遠心分離を行い、エタノールを捨て、清潔なろ紙上にチューブを逆さに 5 秒置き風乾した。その後、DNA Hydration Solution 300  $\mu$ l を加え、Dry Bath Incubator にて 65°C で 5 分間加温し、DNA を十分に溶解した。得られた DNA は、NANO DROP™ 2000 (Thermo Fisher Scientific, アメリカ) にて DNA 純度および DNA 濃度を測定した。

なお、Catecholamine-O-methyltransferase (COMT) 遺伝子の解析は、九州盲

導犬協会が管理・飼養している、現役・リタイヤ盲導犬、繁殖犬、訓練犬（後に合格犬、不合格犬、訓練中に分類）の計 146 例のゲノム DNA を、ゲノムワイドアソシエーション解析は、盲導犬群 13 例、非盲導犬群 13 例の計 26 例のゲノム DNA を、また、イヌ mtDNA HV1 は、ラブラドルレトリバー 68 検体（雄 34 例、雌 34 例）をそれぞれ用いた。

### 3-2-2 Polymerase Chain Reaction (PCR) 法

#### ・Catecholamine-O-methyltransferase (*COMT*) 遺伝子

ゲノム DNA から Catecholamine-O-methyltransferase (*COMT*) 遺伝子エクソン 4 内の G216A 遺伝子型 (図 1) を決定するため、イントロン 3 とイントロン 4 にそれぞれプライマーをデザインし (forward: GGTGTGTTTAGTGTGATGT, Reverse: ATAAAGGCAGCCTTGAACCG)、PCR 法にて当該領域を増幅した。PCR は FastStart Taq PCR kit (ロシュ・ダイアグノスティックス, 東京) を用い、10×PCR buffer 2.5  $\mu$ l、dNTP 0.5  $\mu$ l、プライマー各 1  $\mu$ l、Fast start Taq DNA polymerase 0.2  $\mu$ l、DNA 0.2  $\mu$ l、H<sub>2</sub>O 19.6  $\mu$ l で全量を 25  $\mu$ l とした。PCR 反応は、95°C 4 分間加熱後、初期変性 94°C 45 秒、アニーリング 60°C 45 秒、伸長反応 72°C 45 秒を 1 サイクルとして 35 サイクル行い、最終伸長反応を 72°C 7 分間行った後、4°C で保存した。PCR 装置は TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice TP600 (TaKaRa, 東京) を使用した。

#### ・ミトコンドリア (mt) DNA 超可変領域 (Hypervariable region) I (HVR1)

ゲノム DNA 抽出試料に含まれる mtDNA ゲノムから、イヌミトコンドリア (mt) DNA 超可変領域 I を増幅するため、Himmelberger らの報告 [27] に準じて作成した Forward primer; ATTACCTTGGTCTTGTAACCG および Reverse primer; AAACCTATATGTCCTGAAACCG を用い PCR 法 (TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice

TP600)にて実施した(図 2)。PCR は AmpliTaq Gold kit (パーキンエルマー ジャパン, 東京)を用い、2x Gold mix 12.5  $\mu$ l, Primer 各 1  $\mu$ l, H<sub>2</sub>O 9.5  $\mu$ l, DNA 1  $\mu$ l で全量を 25  $\mu$ l とした。PCR 反応は、95°C 5 分間加熱後、初期変性 95°C 20 秒、アニーリング 51°C 30 秒、伸長反応 72°C 40 秒を 1 サイクルとして 35 サイクル行い、最終伸長反応を 72°C 5 分間行った後、4°C で保存した。

### 3-2-3 PCR 産物の確認および精製

各種 PCR 産物は、2%アガロースゲルにて定電圧 100V 30 分間泳動後、1  $\mu$ g/ml エチジウムブロマイド溶液にて 10 分間染色し、紫外線下でバンドの増幅を確認した。バンドが増幅された PCR 産物は、下述したダイレクトシーケンスによる塩基配列決定のためのテンプレートにするため、High Pure PCR Product Purification Kit (Roche 社)を用い精製を行った。すなわち、PCR 産物 20  $\mu$ l に対し Binding Buffer 100  $\mu$ l を加え、High Pure Filter チューブに移し、遠心(13000rpm 1 分間)後、流出液を廃棄し、Wash Buffer 100  $\mu$ l を加え遠心(13000rpm 1 分間)した。次に、再び流出液を廃棄し、Wash Buffer 40  $\mu$ l を加えて遠心(13000rpm 1 分間)後、再度流出液を廃棄し DNA の洗浄を行った。最後に、High Pure Filter チューブを新しい 1.5ml 用マイクロチューブに差替え Elution Buffer 20  $\mu$ l を加えて遠心(13000rpm 1min)し、1.5ml 用マイクロチューブに DNA を回収し、解析に用いるまで冷蔵保存した。

### 3-2-4 塩基配列の決定

塩基配列を決定するためのシーケンス反応には、Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA) を使用した。cycle sequence 反応液は、0.2 ml PCR チューブに、Ready Reaction Premix 1  $\mu$ l、

5×Big Dye Sequence Buffer 1.5  $\mu$ l、Primer (1.6 pmol/ $\mu$ l) 1  $\mu$ l、テンプレート 1  $\mu$ l、および滅菌水を 5.5  $\mu$ l 加え、全量 10  $\mu$ l とした。反応条件は、96°C 1 分加熱後、96°C 10 秒、50°C 5 秒、60°C 4 分を 1 サイクルとして 25 サイクル行い、4°C で保存した。反応には、TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice TP600 (TaKaRa, 日本) を使用した。

Cycle sequence 産物の精製には、Big Dye<sup>®</sup> XTerminator<sup>™</sup> Purification Kit (Applied Biosystems, USA) を使用した。反応液は、SAM<sup>™</sup> Solution 45  $\mu$ l、Big Dye<sup>®</sup> XTerminator<sup>™</sup> Solution 10  $\mu$ l、cycle sequence 産物 10  $\mu$ l を 1.5 ml チューブに分注し、シェイカー (Taitec, 日本) で 30 分間攪拌した。攪拌後、1,000×g 2 分間の遠心を行い、上清を 40  $\mu$ l、ABI チューブに移した。HiDi-formamide 20  $\mu$ l を添加し、分注してある上清と混合したものをサンプルとした。

解析は、ABI PRISM 310 genetic analyzer (Applied Biosystems, USA) を使用して行った。塩基配列の相同性、アミノ酸配列の比較解析には BLAST、GENETYX Ver. 10 (ゼネティックス、東京) を使用した。

### 3-2-5 遺伝的多様度の算出

Dog mtDNA HV1 解析に用いた、遺伝的多様度は、下記の式を用いた。

$$h = n(1 - \sum X_i^2) / (n-1)$$

i: Haplotype ナンバー,  $X_i$ : i 番目のハプロタイプ頻度, n: 個体数

### 3-2-6 ゲノムワイドアソシエーション解析

ゲノムワイドアソシエーション解析には、ドッグゲノムドラフトシーケンズデータ (CanFam2.0) を基に、全染色体をカバーする約 170000SNP のタイピングが可能な CanineHD BeadChip (イルミナ社、サンディエゴ、

米国、図 3) を用いたマイクロアレイ解析を実施した。SNP タイピングは、株式会社 GP バイオサイエンス(横浜市、神奈川)に依頼した。DNA は、150ng/u1 の濃度に調整した全量 25u1 を、非盲導犬 13 例と盲導犬 13 例の計 26 例を準備し、最大解析数 48 例のうち 26 ウエルを使用した。なお、残りの 22 ウエルは、当該研究とは異なる、他の研究解析に用いた。

全ジェノタイプング結果は、Golden Helix 社製 SVS ソフトウェア (モントナ、米国) を用いて、2 群間の各遺伝子頻度を  $\chi^2$  検定した。

### 3-3 結果

#### 3-3-1 九州盲導犬協会サンプルのゲノムバンク構築

2011 年 6 月から 2013 年 10 月までに、九州盲導犬協会が管理・飼養している、現役・リタイヤ盲導犬、繁殖犬、訓練犬(後に合格犬、不合格犬、訓練中に分類)の計 146 例の犬の血液から DNA を抽出し、遺伝子解析用のゲノムバンクを構築した(表 1)。

#### 3-3-2 Catecholamine-O-methyltransferase (COMT) 遺伝子多型解析

性格との関連が報告されている遺伝子の中で、Masuda らが報告した報告したカテコール-O-メチル基転移酵素(COMT) 遺伝子内の 3 種類の SNPs (J. Vet. Med. Sci. 2004) ならびに盲導犬に適した犬を選抜する方法(鈴木: 特開 2008-125393、特開 2007-330207、特開 2008-194016) で報告されている 3 遺伝子、4 つの DNA 多型の中から、より一般的に紹介されている COMT 遺伝子の G216A 遺伝子型(ニュートン、2010) について、既報の集団とは異なる九州盲導犬協会の犬を対象に、'選抜ではなく研究目的' で COMT 遺伝子の一部を PCR 増幅し(図 5)、当該 SNP の遺伝子型を判定した。その結果、GG 型、GA 型、AA 型の 3 つの遺伝子型が検出され(図 6)、犬 146 例の遺伝子

型は、合計で GG 型が 138 例、GA 型が 4 例、AA 型が 4 例であった。GA 型は訓練後不合格犬に 3 例、繁殖犬に 1 例検出された。また AA 型 4 例は全て訓練後不合格犬であった。G216A 座位の A 型対立遺伝子を保有していた 8 例の品種、性別、不合格理由を表 3 に示した。

Masuda らは、GG 型は GA 型に比べ活動性が低く（より温厚）[13]、また鈴木らのグループは北海道盲導犬協会検体で盲導犬群と非盲導犬群を比較し GG 型は GA 型や AA 型に比べ、盲導犬により適していることを明らかにしている（特開 2007-330207、大島ら 学会発表）。そこで、既報とは異なる本解析群において盲導犬群（訓練後合格犬、現役・リタイヤ犬）39 例と訓練後不合格犬（股関節形成不全, 皮膚疾患, 白内障など疾患により不合格となった 15 個体を除外）58 例について G216A 多型の遺伝子型を比較した(表 4)。その結果、盲導犬群 39 例は全て GG 型であった。一方、不合格群 58 例の各遺伝子型は GG 型 51 例 GA 型 3 例、AA 型 4 例であった。次に、2 群間の遺伝子型頻度 (GG 型 versus GA 型+AA 型) を  $\chi^2$  検定した結果、 $\chi^2$  値 5.027、P 値 0.024 と有意差が認められた。なお盲導犬群および不合格群における G および A の対立遺伝子頻度は、それぞれ 1.000 と 0.905 および 0.000 と 0.095 であった。

以上の結果、G216A 多型は九州盲導犬協会の訓練犬において盲導犬の合否に遺伝的な影響を及ぼしていると考えられた(当該遺伝子型は特許がかけられているため、九州盲導犬協会ですべて実際に盲導犬に適した犬の選抜に用いる場合は、特許保有者に相談する必要がある)。

### 3-3-3 ゲノムワイドアソシエーション解析による盲導犬育成に関連する新規ゲノム領域の探索

盲導犬の育成に有用なゲノム領域を探索するため、illumina CanineHD

BeadChip(illumina 社、San Diego、USA)を用いて盲導犬群 13 例、非盲導犬群 13 例の計 26 例のゲノム DNA を用い、犬の全染色体を網羅する 173,649 SNPs について遺伝子型を決定した。次に、盲導犬群と非盲導犬群の 2 群間における各遺伝子座の遺伝子型頻度の差を、Goden Helix SNP Analysis ソフト (Goden Helix 社、MT, USA) を用いて統計学的に解析した。その結果、P 値が最も低かったのは SNP-X (18 番染色体) の  $5.6 \times 10^{-5}$ 、次に SNP-Y と SNP-Z で (共に第 14 番染色体) の  $8.3 \times 10^{-5}$  であった。これらの SNP は蛋白をコードする exon 内には位置していなかったが、SNP-X は機能が未知の遺伝子の近傍に位置していた。図 7 には、全ゲノム解析の結果を示した。先の 3SNPs 以外にも、有意差 ( $P < 0.05$ ) が認められた座位が多数認められたが、GWAS 解析における有意差水準は解析座位数や解析サンプル数で異なるとされているため、盲導犬の育成に関連する新規候補遺伝子の同定には、さらに解析例数を増やす、あるいは別のパネルを解析するなどして、候補 SNP の絞り込む必要がある。

### 3-3-4 ミトコンドリア DNA 解析による九州盲導犬協会関連犬の遺伝子多様性

母系遺伝する mtDNA 内には、Hyper variable (HV) region (control region, D-loop) とよばれる超可変領域が存在し、親子・個体鑑別や遺伝的多様性の研究に用いられている。そこで、九州盲導犬協会関連犬の遺伝的多様性を調査するため、ラブラドルレトリバー 68 検体 (雄 34 例、雌 34 例) の mtDNA HV1 領域 (660bp) の塩基配列を決定した。なお、遺伝的多様性は、杉山らが報告した同品種解析データ [28] と比較した。

68 例すべての mtDNA HV1 領域の増幅を試み (図 8)、そのうち 660bp の塩基配列を決定し分析した。その結果、18 箇所の塩基置換が見つかり、検出

ハプロタイプ数は1種類の新規ハプロタイプ(NVLU059)を含む5種類が検出された。各ハプロタイプはNVLU023、NVLU031、NVLU033、NVLU056、NVLU059で、それぞれの頻度は3%、16%、69%、3%、および3%であった。また、189番目の塩基がヘテロプラスミーを示す個体が4例(6%)見つかり、NVLU-HE-189とした(表6)。これらの結果と杉山らが報告したラブラドルレトリバー67検体と比較すると、杉山らの集団ではメジャーハプロタイプはNVLU023(39%)であり、両集団はハプロタイプ構成が異なることが明らかになった。さらに、両集団の遺伝的多様度を算出したところ、杉山らの報告の0.775に対し、当該集団は0.499(兄弟姉妹を除くと0.665)と遺伝的多様度が低かった。

#### 3-4 考察

盲導犬の育成過程においては、様々な因子が関与しており、その中に遺伝的な影響も含まれるが、遺伝的に影響を及ぼす因子もまた多因子である。今回の解析では、*COMT* 遺伝子内のG216A座位の遺伝子型を盲導犬群と非盲導犬群間の比較において、有意差が認められた。この結果は、鈴木らの公開特許情報[特開2007-330207]やMasudaら[13]の気質との関連性の報告と合致した知見と云える。すなわちドーパミン、アドレナリンおよびノルアドレナリンなどのカテコールアミン類を分解する酵素である*COMT*(カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ)の個体レベルでの作用の違いが、気質を基盤とした盲導犬の合否に影響を及ぼしていると考えられた。

*COMT* 遺伝子内のG216A座位の3つの遺伝子型であるGG型、GA型、AA型のうち訓練後の不合格犬においてのみGA型およびAA型が検出された。このことは、訓練犬においてA型対立遺伝子を保有する個体は、保有しない個体

に比べ盲導犬合格率が低下していることを示しており、盲導犬育成のための訓練犬の選定において当該遺伝子型をある程度考慮する必要があるかもしれない。ただし、盲導犬不合格の 87.9%は GG 型を有しているため、たとえ訓練犬が GG 型だとしても必ずしも盲導犬となるわけではない。すなわち、当然当該 SNP のみで盲導犬の適正が規定されている訳ではなく、気質や盲導犬の適正に関する遺伝子や遺伝子内多型が存在する事を意味している [4、6]

最後に、今回の調査した *COMT* 遺伝子の G216A 座位の盲導犬育成への応用を考えると、少なくとも九州盲導犬協会が飼養・管理・導入している繁殖犬および訓練犬において GA 型や AA 型の個体を同定することは、盲導犬の育成に有用な情報となりうるだろう。なお、当該遺伝子型を含め、盲導犬に適した犬の選抜に用いる遺伝子型は、特許がかけられているため、九州盲導犬協会ですら実際に選抜目的で導入する場合は、特許保有者に相談する必要がある。

盲導犬の育成に有用な候補遺伝子領域が存在するかどうか、ゲノムワイドアソシエーション解析により、盲導犬群 13 例と非盲導犬群 13 例についてイヌの全ゲノムをカバーする約 170,000SNP の遺伝子型を決定し、両群間において有意差検定を実施した (図 7)。本論文では、特に 18 番染色体と第 14 番染色体に有意差水準の高い上位 3SNPs を提示したが、遺伝子領域を特定するには至っていない。今後、当該領域のいわゆる絞り込み検索 (Fine mapping) やこれまで報告されている気質関連遺伝子領域の精査が必要であると思われる。また、今回の GWAS 解析では *COMT* G216A が位置する第 26 番染色体には、特に盲導犬群と非盲導犬群間に顕著な有意差は認められなかった。これは、26 例の *COMT* G216A が全て GG 型であったことに起因した。このことは、現在報告されている犬の気質あるいは盲導犬の育成に関連する遺伝子以外にも、より有用で未知の遺伝子が存在することを示唆している。

一般に、生物集団において遺伝的な多様性が減少すると繁殖能力の低下な

ど負の影響が生じることが知られている。そのため、各種の遺伝的マーカーを調査し、遺伝的モニタリングを行うことは、集団の遺伝的多様性を把握するうえにおいて重要である。そこで、本研究ではラブドールレトリバー(調査集団の主要純粋種) 68 例について、母系遺伝マーカーとして利用されている mtDNA HV1 領域を解析し、当該集団の遺伝的多様性を評価した。その結果、調査群では NVLU033 が約 70% を占め、遺伝的多様度は杉山らの同一品種で報告されていた結果[28]より低い値であった。この結果の背景にはサンプル中に母親が同じ兄弟姉妹が含まれていることが 1 つの要因として考えられる。その一方で、当該集団の遺伝的多様性を維持するとしたならば、NVLU033 ハプロタイプを保有しない繁殖犬(雌)を繁殖に利用する必要性も考えられる。なお、今回の遺伝的多様度の結果は、集団の遺伝学的背景の特徴を示しているにすぎず、繁殖効率の低下を示唆している訳ではない。

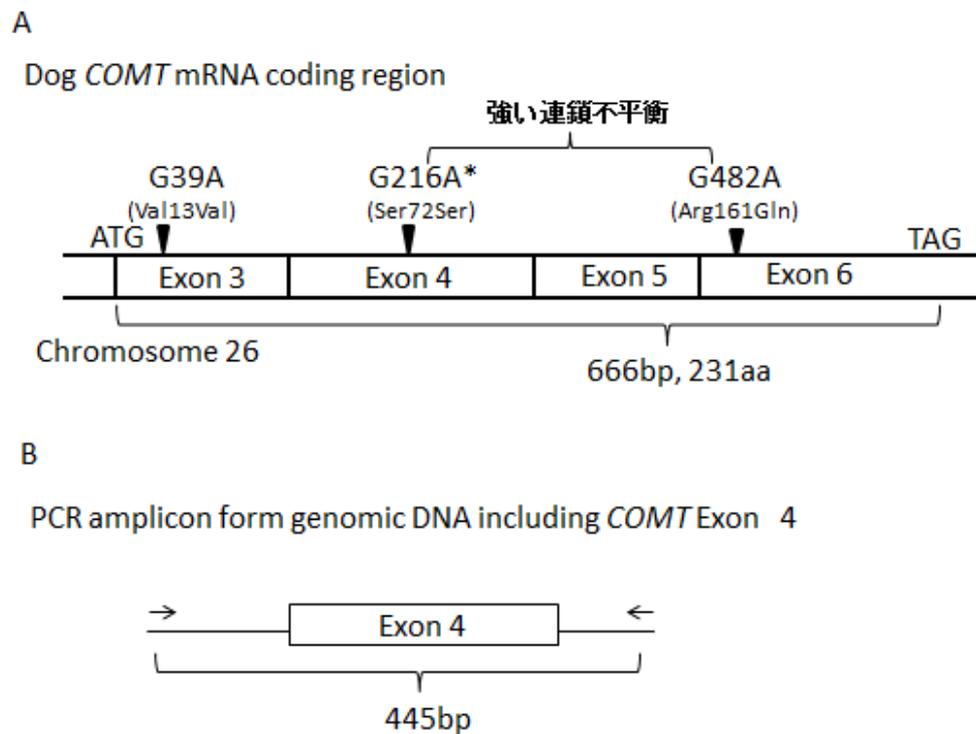


図1. *COMT* (catechol O-methyltransferase : カテコール-O-メチル基転移酵素遺伝子). A: mRNA の構造と既存 SNP\*は今回解析した SNP. B: G216A の遺伝子型判定のための PCR 増幅領域

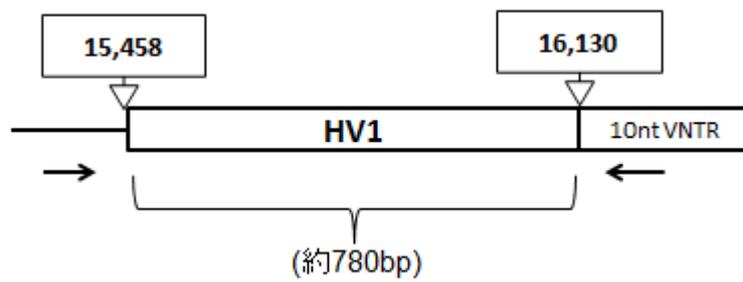


図2 イヌ mtDNA HV1 の PCR 増幅領域

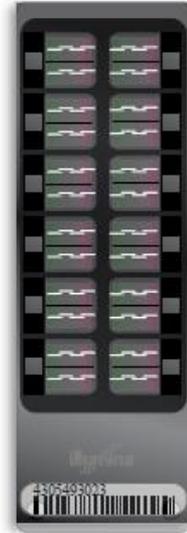


図 3. CanineHD BeadChip  
(イルミナ社、サンディエゴ、米国)

表 1. ゲノム材料の一覧

区分	数(雄、雌)	品種		
		L.R.	S.P.	Mix.
訓練合格犬	17(10,7)	13	0	4
訓練不合格犬	73(42,31)	48	1	24
現役盲導犬	15(5,10)	6	0	9
リタイヤ盲導犬	7 (1,6)	6	0	1
繁殖犬	22(8,14)	20	0	2
訓練中(2013年10月現在)	12 (5,7)	9	0	3
合計	146(71,75)	102	1	43

L.R.ラブラドルレトリバー, S.P. スタンダードプードル  
 Mix L.R. x G.R(ゴールデンレトリバー)の F1など

Intron 3

ggtgtgttagtgtgatgtgggggaggggggatgggaatgagggaggcaggcgtgggta  
ggggctgatggtcgggaaggggcaggtccaggaccaggagggggtctcctccctccgcc  
tgtggcccgtgcccaccggctcctccgccccgcag

Exon 4

GCCAGATCTTGGATGCAGTGGTGC GGGAGCAGCGGCCGTCGGTGCT  
GCTGGAGCTGGGAGCCTACTGCGGCTACTC [ G/A ] \*GGCCGTGCG  
CATGGCCCGCCTGCTGGAGCCCGGGGCCCGCCTGATCACCATCGAGC  
TCAACCCTGACTTCGCCGCCATCACCCAGCAGATGCTGGACTTCGCA  
GGCCTGCAGGACAGG

Intron 4

gtgaaagatgtggacactgaggtgccgggacgaggggaagggcctgggttccccggtg  
cggttcaaggctgccttat

図 4. *COMT* exon4 を含む PCR 産物の塩基配列

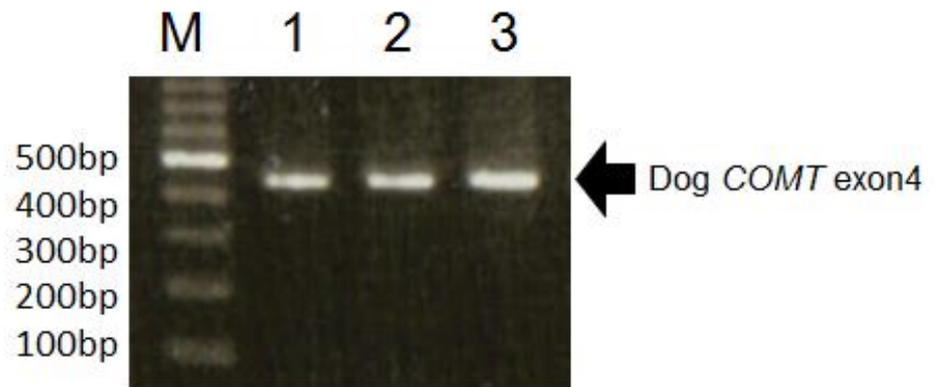


図 5. *COMT* 遺伝子の PCR 像

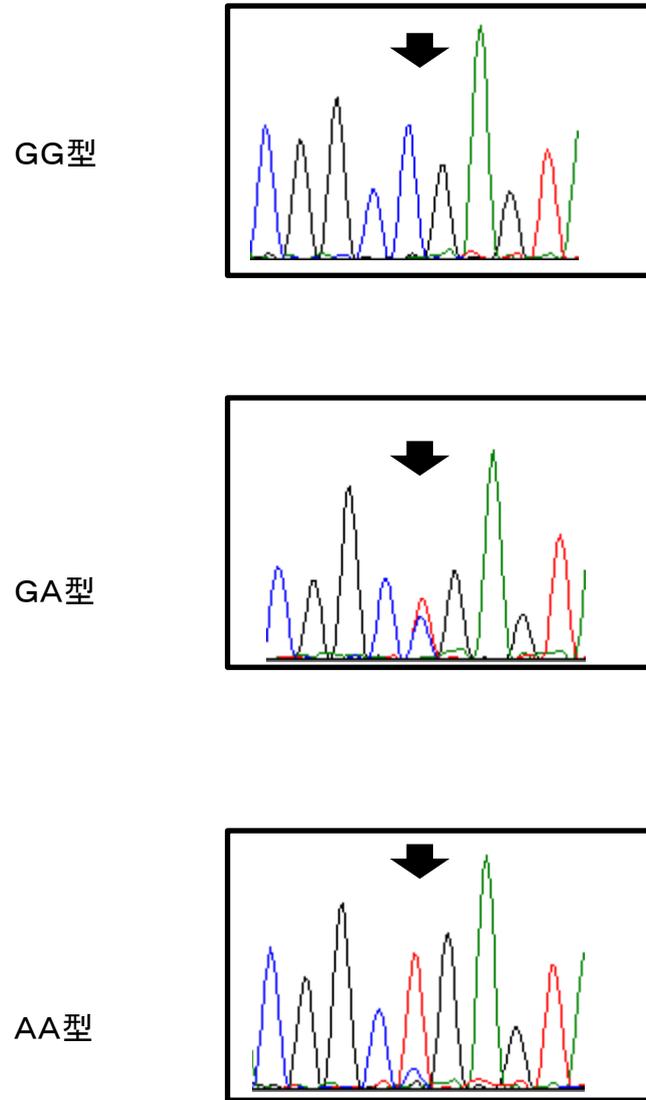


図 6. *COMT* 遺伝子 G216A 多型の遺伝子型  
(リバーズ側から解析した塩基配列)

表 2. 各区分における COMT G216A 座位の遺伝子型出現数

区分	数	G216A		
		GG 型	GA 型	AA 型
訓練合格犬	17	17	0	0
訓練不合格犬	73	66	3	4
現役盲導犬	15	15	0	0
リタイヤ盲導犬	7	7	0	0
繁殖犬	22	21	1	0
訓練中(2013 年 10 月現在)	12	12	0	0
合計	146	138	4	4

表 3. G216A 座位 A 対立遺伝子が検出された個体の特徴

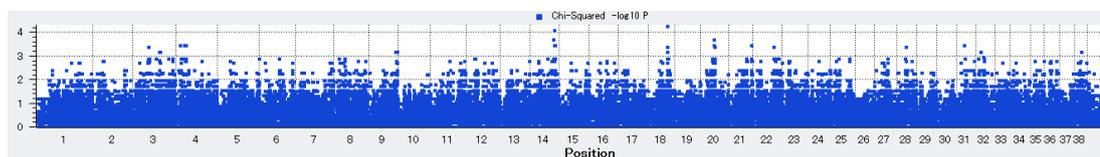
個体番号	品種	性別	遺伝子型	不合格とした理由
ID003	LR	オス	GA 型	興奮
ID005	LR	メス	GA 型	興奮度高い、
ID010	Mix	オス	AA 型	優位性
ID055	LR	メス	AA 型	犬への反応
ID091	LR	メス	AA 型	不安度の高さ
ID094	LR	メス	AA 型	興奮
ID125	LR	メス	GA 型	興奮度高い、声が出やすい

表 4. COMT G216A 座位の遺伝子型と盲導犬群と非盲動犬群の相関解析

	盲導犬群 (合格犬,現役犬・リタイヤ犬)	不合格犬群
GG 型	39	51*
GA 型	0	3
AA 型	0	4
G 対立遺伝子頻度	1.000	0.905
A 対立遺伝子頻度	0.000	0.095
GG vs. GA+AA		
$\chi^2$ 値	5.027	
P 値	0.024	

\*股関節形成不全,皮膚疾患,白内障など疾患により不合格となった個体を除外  
サンプルには兄弟姉妹が含まれている。

対数で表した相関値 (P)



染色体上の SNP の位置

図 7. イヌ全ゲノム相関解析(GWAS)の結果  
盲導犬群と不合格群各 13 例計 26 例

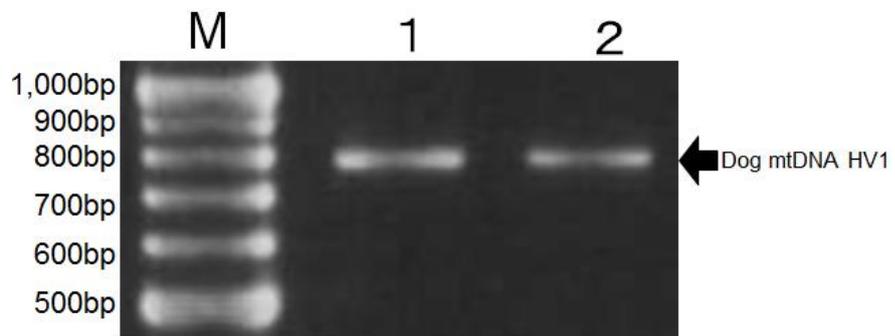


図 8. *COMT* 遺伝子の PCR 像

表 5. ハプロタイプ頻度の比較

ハプロタイプ	今回	杉山ら[28]
	個体数(%)	個体数(%)
NVLU023	2(3)	26(39)
NVLU028		1(1)
NVLU031	11(16)	13(19)
NVLU032		1(1)
NVLU033	47(69)	21(31)
NVLU043		2(3)
NVLU052		2(3)
NVLU056	2(3)	1(1)
NVLU059*	2(3)	
NVLU-HE-189	4(3)	
合計	68(100)	67
遺伝的多様度	0.499(0.665)	0.775

\*今回の解析で見出された新規ハプロタイプ

## 参考文献

- [1] Ostrander EA, Giger, U and Lindblad-Toh K. (2005). The Dogs and its Genome. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- [2] Hart BL and Hart L. (1998). The Perfect Puppy, W.H. Freeman and Company, New York.
- [3] 水谷 仁 (編集) 知りたい! 遺伝のしくみ. 竹内ゆかり. (2010). 動物の気質と遺伝子. ニュートン別冊, ニュートンプレス, pp84-pp89.
- [4] Takeuchi Y, Kaneko F, Hashizume C, Masuda K, Ogata N, Maki T, Inoue-Murayama M, Hart BL, Mori Y. (2009). Association analysis between canine behavioural traits and genetic polymorphisms in the Shiba Inu breed. *Anim Genet*, 40(5), 616-22.
- [5] Niimi Y, Inoue-Murayama M, Kato K, Matsuura N, Murayama Y, Ito S, Momoi Y, Konno K, Iwasaki T. (2001). Breed differences in allele frequency of the dopamine receptor D4 gene in dogs. *J Hered.* 92(5), 433-6.
- [6] Inoue-Murayama M, Matsuura N, Murayama Y, Tsubota T, Iwasaki T, Kitagawa H, Ito S. (2002). Sequence comparison of the dopamine receptor D4 exon III repetitive region in several species of the order Carnivora. *J Vet Med Sci*, 64(8), 747-9.
- [7] Ito H, Nara H, Inoue-Murayama M, Shimada MK, Koshimura A, Ueda Y, Kitagawa H, Takeuchi Y, Mori Y, Murayama Y, Morita M, Iwasaki T, Ota K, Tanabe Y, Ito S. (2004). Allele frequency distribution of the canine dopamine receptor D4 gene exon III and I in 23 breeds. *J Vet Med Sci*, 66(7), 815-20.
- [8] Vage J, Lingaas F. (2008). Single nucleotide polymorphisms (SNPs)

- in coding regions of canine dopamine- and serotonin-related genes. BMC Genet. 28(9), 10.
- [9] Hejjas K, Kubinyi E, Ronai Z, Szekely A, Vas J, Miklósi A, Sasvari-Szekely M, Kereszturi E. (2009). Molecular and behavioral analysis of the intron 2 repeat polymorphism in the canine dopamine D4 receptor gene. Genes Brain Behav. 8(3), 330-6.
- [10] Inoue-Murayama. (2009). Genetic polymorphism as a background of animal behavior. Anim Sci J. 80(2), 113-20.
- [11] Våge J, Wade C, Biagi T, Fatjó J, Amat M, Lindblad-Toh K, Lingaas F. (2010). Association of dopamine- and serotonin-related genes with canine aggression. Genes Brain Behav, 9(4), 372-8.
- [12] Wan M, Hejjas K, Ronai Z, Elek Z, Sasvari-Szekely M, Champagne FA, Miklósi A, Kubinyi E. (2013). DRD4 and TH gene polymorphisms are associated with activity, impulsivity and inattention in Siberian Husky dogs. Anim Genet, 44(6), 717-27.
- [13] Masuda K, Hashizume C, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. (2004) Breed differences in genotype and allele frequency of catechol O-methyltransferase gene polymorphic regions in dogs. J Vet Med Sci, 66(2), 183-7.
- [14] Takeuchi Y, Hashizume C, Arata S, Inoue-Murayama M, Maki T, Hart BL, Mori Y. (2009). An approach to canine behavioural genetics employing guide dogs for the blind. Anim Genet, 40(2), 217-24.
- [15] Ogata N, Hashizume C, Momozawa Y, Masuda K, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. (2006). Polymorphisms in the canine glutamate transporter-1 gene: identification and variation among five dog

- breeds. *J Vet Med Sci*, 68(2), 157-9.
- [16] Kubinyi E, Vas J, Hejjas K, Ronai Z, Brúder I, Turcsán B, Sasvari-Szekely M, Miklósi A. (2012). Polymorphism in the tyrosine hydroxylase (TH) gene is associated with activity-impulsivity in German Shepherd Dogs. *PLoS One*, 7(1), e30271.
- [17] Pearson TA, Manolio TA. (2008). How to interpret a genome-wide association study. *JAMA*, 299 (11), 1335-44.
- [18] Manolio TA; Guttmacher, Alan E.; Manolio, Teri A. "Genomewide association studies and assessment of the risk of disease". *N. Engl. J. Med.* 2010. 363 (2): 166-76.
- [19] Kim KS, Lee SE, Jeong HW, Ha JH. (1998). The complete nucleotide sequence of the domestic dog (*Canis familiaris*) mitochondrial genome. *Mol Phylogenet Evol*, 10, 210-20.
- [20] Aquadro CF, Greenberg BD. (1983). "Human Mitochondrial DNA Variation and Evolution: Analysis of Nucleotide Sequences from Seven Individuals". *Genetics*, 103 (2), 287-312.
- [21] Hoelzel AR, Lopez JV, Dover GA, O'Brien SJ. (1994). Rapid evolution of a heteroplasmic repetitive sequence in the mitochondrial DNA control region of carnivores. *J Mol Evol*, 39(2), 191-199.
- [22] Okumura N, Ishiguro N, Nakano M, Matsui A, Sahara M. (1996). Intra- and interbreed genetic variations of mitochondrial DNA major non-coding regions in Japanese native dog breeds (*Canis*

- familiaris). *Anim Genet*, 27(6), 397-405.
- [23] Allen M, Engström AS, Meyers S, Handt O, Saldeen T, von Haeseler A, Pääbo S, Gyllensten U. (2003). Mitochondrial DNA sequencing of shed hairs and saliva on robbery caps: sensitivity and matching probabilities. *J Forensic Sci*, 43, 453-64.
- [24] Budowle B, Allard MW, Wilson MR, Chakraborty R. (2003) Forensics and mitochondrial DNA: applications, debates, and foundations. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 4,119-141.
- [25] Baute DT, Satkoski JA, Spear TF, Smith DG, Dayton MR, Malladi VS, et al. (2008) Analysis of forensic SNPs in the canine mtDNA HV1 mutational hotspot region. *J Forensic Sci*, 53,1325-33.
- [26] Webb KM, Allard MW. (2009). Mitochondrial genome DNA analysis of the domestic dog: identifying informative SNPs outside of the control region. *J Forensic Sci*, 54,275-88.
- [27] Imes DL, Wictum EJ, Allard MW, Sacks BN. (2012). Identification of single nucleotide polymorphisms within the mtDNA genome of the domestic dog to discriminate individuals with common HVI haplotypes. *Forensic Sci Int Genet*, 6,630-9.
- [28] Sugiyama S, Chong YH, Shito M, Kasuga M, Kawakami T, Udagawa C, Aoki H, Bonkobara M, Tsuchida S, Sakamoto A, Okuda H, Nagai A, Omi T. (2013). Analysis of mitochondrial DNA HVR1 haplotype of pure-bred domestic dogs in Japan. *Leg Med (Tokyo)*, 15,303-9.
- [29] Himmelberger AL, Spear TF, Satkoski JA, George DA, Garnica WT,

Malladi VS, et al. (2008). Forensic utility of the mitochondrial hypervariable region 1 of domestic dogs, in conjunction with breed and geographic information. J Forensic Sci, 53, 81-89.

## 第4章 総括

盲導犬は視覚障害者の社会参加にとって有用であるが、盲導犬希望者に対する育成頭数が毎年 150 頭と余りにも少ないのが、我が国の現状である。盲導犬事業が開始されて 50 年を過ぎても慢性的な盲導犬不足が続いている。

これまで盲導犬は「道路交通法」に位置づけられていたが、2002 年に「身体障害者補助犬法」が成立したことにより、社会的に盲導犬に対する意識が高まり、盲導犬の社会参加がさらに認められるようになってきた。2007 年の身体障害者補助法の改正では、都道府県・政令市・中核市に補助犬使用者や受入れ側などからの苦情相談を処理するための窓口が設置された。一方、この法律により民間事業所などでは、補助犬使用者の雇用、並びにすでに雇用されている障害者の補助犬の使用が義務づけられた。さらに、この法律の制定で身体障害者の自立および社会参加の円滑化が、今までより向上されることが期待されている。

盲導犬は育成する段階、すなわち繁殖、パピーウォーカーへの委託、訓練所での訓練成績などの総合評価により合否が決定されている。その合格数は年間合格数約 150 頭、合格率約 30% であり、イギリスの成績（合格数は年間約 800 頭、その合格率は 70%）に比べて著しく低い現状である。この原因は盲導犬育成のこれまでの歴史や犬の血統の問題、生活様式の違い、家庭におけるしつけ（パピーウォーカー）、財源不足また我が国における盲導犬に対する認識不足などと云われている。

そこで今回、パピーウォーカーの飼育状況と気質に関する遺伝学的解析を行い、訓練犬の早期適性評価を行うことを目的とした。すなわち、客観的に早期評価することで育成率の向上や、訓練に要する経済面の軽減が図られ、多くの盲導犬の育成の増加が期待できるものと思われる。

各章を要約すると以下の通りである。

## 1. 盲導犬育成に関するパピーウォーカーの飼育調査研究（第2章）

盲導犬育成の一段階であるパピーウォーカーによる飼育状況が、訓練犬の合否に関連するといわれているので、今回パピーウォーカーにアンケート調査を行った。

今回の訓練結果では、現在（10月31日）までの盲導犬合格率は11.8%であった（14/119頭）。合否結果がでていない訓練中の23頭については、今後も引き続き調査する必要がある。気質が原因による不合格は77.5%

（55/71頭）であり、この値は他の報告と同様の結果であった、次いで病気の原因による不合格率が22.5%（16/71頭）であった。その病気の内訳は股関節形成不全、白内障、網膜萎縮、視神経萎縮などであった。これらの病気は、遺伝的要素が大きいので今後の繁殖犬選定には十分な注意を要するものと考えられる。

つぎにアンケート調査により盲導犬合否に関係する項目について検討した。

### （1）物理的環境要因

家族構成については、合格犬の方が不合格犬より家族数が多かった（合格家族数平均値4.57人、不合格3.21人）。また1世代数の家族より2世代、3世代と世代数が増える程、合格率は高くなる傾向が見られた。このことは犬が本来持っている群れで生活するという習慣と関連しており、人との関わりが、社会化形成の要因になったと思われる。

居住地域、交通状況においては、合否を左右するものではなかった。

## (2) 飼育状況

見知らぬ犬を見たときのパピーの反応は、「いつもやさしい（いつもフレンドリー）の有（78.6%  $\chi=4.200$   $p<0.05$ ）無」「競争心の有（32.7%  $\chi=6.198$   $p<0.05$ ）無」「無関心（ほとんどの場合興味を示さない）有（92.9%  $\chi=4.070$   $p<0.05$ ）無」についての3項目は合否と関係があった。また、このことはラブラドルレトリバー種の元来持っている極めて温和であるという性格を表していることと思われる。

散歩中の引っ張る行動は、不合格の顕著な要因の項目であった。すなわちパピー時代の引っ張るという行動は不合格の要因で、引っ張る理由の中で、「恐怖や不安で引っ張る（32.7%  $\chi=5.581$   $p<0.05$ ）」「興奮して引っ張る（72.7%  $\chi=6.739$   $p<0.05$ ）」「犬や猫に対して興味がある（81.8%

$\chi=11.887$   $p<0.05$ ）」の三つの項目は、犬の本来持っている稟性であり、今回の訓練では修正ができなかったものと考えられた。

また階段使用の有無については、階段を毎日のように使用する犬の不合格率が高かった。（41.8%）

合否に関係がなかった項目は、つぎのとおりである。

①訓練犬の性別、②訓練犬の毛色、③委託期間中の病気、④排泄場所、⑤散歩の回数、⑥散歩の時間、⑦留守番の回数、⑧留守番の時間、⑨見知らぬ犬を見かけたときの反応のうち苦手（犬を避けようとする）・犬に対して敵意を持つ（威嚇、攻撃）、⑩吠えたり唸ったりした時期、⑪委託期間中の体験については、見知らぬ人、見知らぬ子供、犬、猫、鳥、馬・羊・牛など、雷、不快でうるさい音、車の走る音、大きなトラック、車のクラクション、電車、人ごみ、つるつるした床、鉄格子、車に乗ること、エレベーター、エスカレーター

本章では家族数、家族の世代数、犬に対するパピーの反応「いつもやさしい（いつもフレンドリー）の有無」「競争心の有無」「無関心（ほとんどの場合興味を示さない）の有無」、散歩中の引っ張る行動「恐怖や不安で引っ張る」「興奮して引っ張る」「犬や猫に対して興味がある」、階段の使用の有無が、盲導犬の合否に関与していることが示唆された。

## 2. 盲導犬の育成に関する分子遺伝学的解析（第3章）

犬の気質を司る要因には、環境や遺伝などが推測されるが、気質の中でも特に攻撃性や活動性は遺伝的な要素による影響が強いとされている。盲導犬の育成においては、訓練犬の気質は訓練結果を作用する重要な要因の1つであり盲導犬の適正に大きく関係している。

本章では、盲導犬の育成に役立つ知見を集積するため遺伝学的な側面から、九州盲導犬協会が飼育・管理している犬ゲノム検体を用いて

(1) Catecholamine-O-methyltransferase (*COMT*) 遺伝子多型解析、(2) ゲノムワイドアソシエーション解析による盲導犬育成に関連する新規ゲノム領域の探索、(3) ミトコンドリア DNA 解析による遺伝子多様性の解析を行った。

(1) *COMT* 遺伝子の G216A 遺伝子型解析では、犬 146 例の遺伝子型は、GG 型が 138 例、GA 型が 4 例、AA 型が 4 例であった。GA 型は訓練後不合格犬に 3 例、繁殖犬に 1 例検出された。また AA 型 4 例は全て訓練後不合格犬であった。さらに盲導犬群（訓練後合格犬、現役・リタイヤ犬）39 例と訓練後不合格犬 58 例について G216A 多型の遺伝子型頻度を比較した結果、両群に有意差が認められた。

その結果、盲導犬群 39 例は全て GG 型であった。これらの結果、*COMT* (カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ) の個体レベルでの作用の違いが、気

質を基盤とした盲導犬の合否に影響を及ぼしていると考えられた。なお、当該遺伝子型は、盲導犬に適した犬の選抜に用いる遺伝子型は、特許の対象であるため、九州盲導犬協会ですら実際に選抜目的で導入する場合、特許保有者に相談する必要がある。今後は、他の遺伝子多型も解析することにより、さらに盲導犬の育成に有用な情報が得られると考えられる。

(2) 盲導犬の育成に有用なゲノム領域を探索するため、illumina CanineHD BeadChip(illumina 社、San Diego、USA)を用いて盲導犬群 13 例、非盲導犬群 13 例の計 26 例のゲノム DNA を用い、犬の全染色体を網羅する 173,649 SNPs について遺伝子型を決定した。

その結果、特に 18 番染色体と第 14 番染色体に有意差水準の高い上位 3SNPs が認められた。今後当該領域の絞り込み検索 (Fine mapping) により、新規の気質関連遺伝子領域の精査が必要であると思われた。

調査集団の遺伝的多様性を調査するため、ラブラドルレトリバー68 検体 (雄 34 例、雌 34 例) の mtDNA HV1 領域 (660bp) の塩基配列を決定した。なお、遺伝的多様性は、杉山らが報告した同品種解析データと比較した。

その結果、調査群では NVLU033 が約 70%を占め、遺伝的多様度は 0.499 で杉山らの同一品種で報告されていた結果より低い値であった。

以上のように、パピーウォーカーのアンケート調査結果と、分子遺伝学的解析から、犬の気質は訓練犬の合否結果に関与する重要な要因の 1 つであると思われた。今後の繁殖犬の選抜や訓練は、遺伝的背景に基づいて実施することが必要であると考えられる。

この研究は、盲導犬育成において時間的、経済的な無駄な訓練を避け、早期における適性評価に貢献でき、訓練犬の合格数が増加できることを期

待できると思われる。

## 謝辞

本研究にあたってご指導ならびにご鞭撻を頂きました日本獣医生命科学大学 獣医学部 比較動物医学教室 斎藤徹教授に深謝いたします。

また遺伝子解析実験のご指導、補助にご協力頂きました、日本獣医生命科学大学 獣医保健看護学科 獣医保健看護基礎部門（比較遺伝学研究分野）近江俊徳教授、同大学院博士課程後期2年宇田川智野氏、元同大学院大学院博士前期課程卒業 多田尚美氏（現株式会社モノリス）、元同研究室4年古田詩織氏（現株式会社エンテックス）に深謝いたします。

さらに本研究の遂行に多大なるご協力をいただきました公益福祉法人九州盲導犬協会総合訓練センターの職員、日本獣医生命科学大学 獣医学部 比較動物医学教室 室員一同に厚くお礼申し上げます。

付表

日付 年 月 日

### パピーウォーカー質問調査表

パピー名： \_\_\_\_\_, PW氏名： \_\_\_\_\_

- 1, 居住地域  農村地帯  市街地  繁華街
- 2, 住宅様式  集合住宅  戸建
- 3, 交通環境  交通量が多い  中程度  少ない

4, 家族構成 人数 ( ) 人

ア、 妻

イ、 夫

ウ、 子 ( ) 人

エ、 父

オ、 母

カ、 その他 ( )

年代

10代未満 ( ) 人

10代 ( ) 人

20代 ( ) 人

30代 ( ) 人

40代 ( ) 人

50代 ( ) 人

60代 ( ) 人

70代 ( ) 人

80代 ( ) 人

5, 家に階段はありますか? はい・いいえ

6, 健康状態 委託から引き上げまで体調を崩して病院にかかったことはあります

か？

どんな病気にかかったか教えてください。(どんな症状：いつ)

皮膚

耳

下痢

寄生虫

怪我

尿

7、動物病院に行った時の反応はどうでしたか？

- 興奮する。
- リラックスしている。落ち着いている。
- 少し緊張する。少し怖がる。
- とても怖がる。怯える。
- 攻撃的。

8、排泄状況 現在はどんな場所で排泄していますか？ 場所

9、お散歩 1日 回、1回 分

10、お留守番 1日にどのくらいお留守番する時間がありますか？週に 日

1日 時間

11、あなたのパピーは、見知らぬ犬を見た時にどういう反応を示しますか？

- やさしい (いつもフレンドリー)
- 競争的 (いつも友好的でも、競争するような状況になったら唸ったり吠えたりすることがある)
- 無関心 (ほとんどの場合興味を示さない)
- 苦手 (犬を避けようとする)
- 敵意を持つ傾向がある (威嚇したり、攻撃しようとする)

\*見知らぬ犬に吠えたり、唸ったりする行動がある場合はその行動があった時期はいつ頃ですか？

3ヶ月以内・3～6ヶ月ごろ・6～9ヶ月ごろ・9～12ヶ月ごろ・12ヶ月以上～

12, 家族や見知らぬ人を怖がったり、怯えたりすることはありましたか？はい・いいえ

はいの場合それは、いつ頃ですか？

3ヶ月以内・3～6ヶ月ごろ・6～9ヶ月ごろ・9～12ヶ月ごろ・12ヶ月以上～

また、どういう状況か教えてください。

13, 吠えと唸りについて教えてください。(下記の当てはまる項目に部分にチェックして下さい。)

	吠え る	唸る	その他 具体的に
来客者			
見知らぬ来客者			
他の犬			
他の動物に対して			
車の中で			
庭にいる時			
子供を見たとき			
お留守の時			
インターホンの音			

その他

14, 引き上げまでの間に下記に上げる事柄をどれくらい経験したことがあるか教えて

ください。

(1 : ない 2 : 数回 (回数もご記入ください) 3 : 時々 4 : しばしば 5 : 毎日のように)

	1	2	3	4	5	反応
見知らぬ人						
見知らぬ子供						
犬						
猫						
鳥						
馬・羊・牛など						
雷						
不快でうるさい音						
車の走る音						
大きなトラック						
車のクラクション						
電車						
人ごみ						
つつるした床						
階段						
鉄格子 (フェンスも)						
車に乗ること						
エレベーター						
エスカレーター						

その他

15, 散歩中の引っ張り行動についてお尋ねいたします。

1) 散歩中に引っ張るという行動があったかどうか（番号にひとつ○をお付け下さい）

①毎日あった ②時々あった ③たまにあった ④あまりなかった ⑤なかった

2) その理由で考えられることは以下のどれですか（あてはまる項目に☑をご記入ください。）

①恐怖や不安で引っ張る

②興奮して引っ張る

③犬や猫などに対して興味があり引っ張る

④排泄のために引っ張る

⑤日頃から親しい人に対して好意を持って嬉しくて引っ張る

⑥人や犬猫などに敵対心をもって向かっていくように引っ張る

⑦自分自身（パピー）の方が優位であると思って引っ張る

⑧その他

ご自由にご記入ください

---

16, 最後になりましたが、パピーの性格、特徴的な行動などがあれば教えてください。

以上でアンケートは終了です。ご協力ありがとうございました。