

動物介在活動に従事する動物の内分泌的 指標を用いたストレスに関する研究

酪農学園大学大学院
獣医学研究科
獣医保健看護学専攻修士課程

黒野 裕史

動物行動学
指導教員 准教授 佐野 忠士
2017 年度

目次

緒論	1
第Ⅰ章 AAA に従事するセラピー犬の唾液中 Cortisol 及び SIgA を指標としたストレス調査	
1. 序文	6
2. 材料と方法	8
3. 結果	13
4. 考察	22
5. 要約	28
第Ⅱ章 人との触れ合いプログラムに参加するハンドウイルカ (<i>Tursiops truncatus</i>) の血中 Cortisol を指標としたストレス調査	
1. 序文	30
2. 材料と方法	31
3. 結果	35
4. 考察	38
5. 要約	41
第Ⅳ章 総括	42
謝辞	43
引用文献	44

緒論

人と動物の関わりは遥か昔から存在していたが、学問として注目され始めたのは近年であり、動物と関わることで人の健康面に効果があると科学的に証明されたことで、動物介在介入（Animal Assisted Interventions, AAI）といった動物を用いた治療や活動が行われるようになった[1,18,37]。AAIとは、すなわち犬や猫などを伴って医療施設や老人保護施設などを訪問して癒しを与えたり、馬などの動物に乗ることで運動器官を刺激して脳を活性化したりする活動であり、近年ではイルカと水中で触れ合うプログラムなどが挙げられる。AAIに用いる動物には犬、猫、馬、イルカなどが知られてが、ウサギやカメ、鳥や金魚といった動物を用いられている。選択される動物の必要条件としては健康であり対象者に危害を加える可能性が低い事、その動物における人獣共通感染症を媒介する危険がないこと、さらに訓練が可能である事などが挙げられる。現在ではこれらの条件を満たす動物として、犬が広く用いられており、また、沖縄県や高知県にあるような一部の施設ではイルカとの触れ合いが行われている[24,30]。AAIは主に3つのカテゴリーに分けられる。1つ目は医療従事者の管理下で、対象とする人の機能や福祉を促進するための治療目的を設定して行う動物介在療法（Animal Assisted Therapy, AAT）、2つ目は参加動物の知識を持つ教員により教育の目的で行われる動物介在教育（Animal Assisted Education, AAE）、3つ目は動機づけや教育、レクリエーションの一環あるいは施設訪問などといった、治療目標のない人と動物が関わり合う事を主な目的とする動物介在活動（Animal Assisted Activities, AAA）がある。AATが医療に携わる有資格者、対象個人の治療目的に沿ったプログラムの作成や効果判定が必須なのに対して、AAAでは明確なプログラムや医療関係者の関わりを必要としないことなどから世界中で圧倒的に多く活動されている。米国最大級の組織であるデルタ協会（Delta Society）ではAAAを「生活の質を向上させるための意欲喚起的、教育的レクリエーション的や治療的な利益をもたらす機会を提供し、一定の基準を満たす動物と専門家やボランティアのペアにより行われる活動」と定義している[44]。近年よくみら

れる、高齢者施設やホスピスなどの病院施設への訪問や前述のイルカと人の触れ合いプログラムなどは AAA の性質によくあてはまっている。

犬やイルカによる動物介在介入が青年期の人の短期精神障害の患者のストレスを減らす効果や[51]、アルツハイマー患者の不安を減少させる事[40]、その他にも子供では大人よりも友好的な犬の方が不安を改善する事[6]、高齢者の幸福度に良い影響を与える事[11]などの報告があり、AAA についても同様の良い影響を与える事が明らかになっている。このように人に対して苦痛の緩和や心の安定を動物が与えるという研究は多くされ、また現在も改善が続けられている。しかし一方で、動物介在介入に参加している動物が受ける影響について調べる事は動物福祉の観点上重要なことである[29]。AAA に従事している犬が、相当の訓練を積み重ねたにも関わらず、精神的なトラウマを負ってしまい、飼い主以外の全員を無視するようになった事例も報告されている[44]。さらに、人と犬は共感でき、触れ合いによって同様の生理学的反応を示すことがわかっており、イルカに関しても自己と他者を見分け、個体間でコミュニケーションを取ることが出来るなど知能の高さが知られている[43]。これらを含め、参加者への事故防止、福祉的、効果的なセラピー活動を目指すためには、犬やイルカの活動時の状態を知ることは重要である。活動時の状態を知るための指標の 1 つとしてストレスを調べる事が挙げられる。Selye (1956) によれば、ストレスは環境ストレスに対する身体の自然な生理反応と定義されている。不快あるいは苦痛を伴う刺激（ストレッサー）により視床下部、脳下垂体、副腎（hypothalamus-pituitary-adrenal: HPA）系が起動して体内に拡散するホルモンが分泌され、ストレッサーが除去されると、このホルモン分泌量は正常に戻る事が明らかになっている[28]。しかし、ストレッサーを除去または回避出来ない状況では HPA 系のストレスが慢性化し、心拍数の増加や血圧の増加など個体の健康を損ねる事に繋がる。近年、副腎から放出されるホルモンである糖質ステロイドの Cortisol がストレスの内分泌的指標として用いられることが多くなってきた[15]。Cortisol は視床下部から放出される副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン（CRH）が下

垂体から分泌される副腎皮質刺激ホルモン ACTH の分泌を制御するという視床下部-下垂体-副腎皮質系の negative feedback 機構により調節されている。ACTH や CRH の分泌にはストレスの影響とは別に周期的に分泌され、これが Cortisol の分泌にも影響を与える。これは、日間変動として起こり、犬では通常早朝に Cortisol 濃度が最高となるとされているが、はっきりとした証明はなされていない[28]。ACTH や CRH の突発的な放出は Cortisol のネガティブフィードバックによって制御されるが、ストレス時には正常な機能の維持がされず、その結果、Cortisol 濃度はストレスの影響を受けて増減する[28]。視床下部のストレスに対する糖質コルチコイドの反応は速やかに行われ、数分以内に Cortisol 濃度は正常の数倍高い値にまで達する。この反応はストレスの強さに相関し、弱いストレスでは強いストレスに比べ少ない量の Cortisol 産生しか起こらない。また、Cortisol に関して日間変動や、基準値と呼べる値がある事が知られているが、影響を与える因子が多く、個体ごとの基準値を厳密に把握する事は難しい[48,55]。しかし、一方でストレスの指標としての有用性は多くの研究で認められている[5,41]。

Cortisol によるストレス測定は広く普及しているが、近年ではストレスマーカーとして唾液中に分泌されるイムノグロブリン A (secretory immunoglobulin A: SIgA) が注目されている[33]。SIgA は形質細胞から分泌される二量体の分泌型 IgA で、コルチゾールよりもその分泌量は多く、測定が容易である。単量体 IgA はリンパ節、脾臓、骨髄の形質細胞が産生し血液中に分泌され、唾液に含まれる SIgA は二量体であり、粘膜下のリンパ組織で産生される。この SIgA の放出量はストレスと逆相関すると考えられており、ストレスによる刺激によって増加した Cortisol の抗炎症作用の間接的な影響と考えられている[45]。つまり、免疫応答における細胞の活性化やサイトカインの産生に重要な転写因子である Nuclear Factor-kappa B (NFkB) の機能抑制によって SIgA の産生が抑制される[45]。このような仕組みによって、SIgA の分泌量の減少がストレスの指標となると考えられている。ただし、人において SIgA は慢性ストレスにより減少し、急性ストレスでは増加と減少の両

方が起こり得ることが知られており、その変動にはまだ不明な点がある [19]。

本研究では主に **Cortisol** を指標とし、**AAA** に従事している動物（犬、イルカ）のストレス状態を調査した。第 I 章では主に老人福祉施設を訪問しているセラピー犬を対象とし、前述の **Cortisol** に加え、イムノグロブリン A（**secretary immunoglobulin A: SIgA**）濃度も測定した。第 II 章では人との触れ合いプログラムに参加しているハンドウイルカを対象とし血中 **Cortisol** 濃度を調べる事で慢性的なストレスの影響を検討した。

以上、動物が人との触れ合いに対してどの程度のストレスを感じるか、また、実際の活動が動物福祉的観点から考えた場合大きな問題を抱えているかを本研究では検討した。

第 I 章

AAA に従事するセラピー犬の唾液中 Cortisol 及び SIgA を指標としたストレス調査

序文

人は何故動物によって癒されるのか、その一つの要因として可愛らしさが挙げられる。この可愛らしさという要因により、人は動物を自然に撫でる行為や養育したいという欲求が生まれてくる[53]。また、本能的な反応として、親が子に対して愛着や育児衝動がわくことが証明されており、いわゆるローレンツのベビースキーマと呼ばれている。ローレンツ（1943）はベビースキーマの特徴として、体に対して大きく丸い頭や大きな目、短い脚、丸みをおびた体を挙げており、これらの特徴は家畜化された動物によく当てはまる。ペットとしてよく飼育される犬はこれらの条件によく当てはまっており、特徴を備えているだけでなく、ペットは人の心理面の健康に不可欠の存在となった。ペット所有者はそうでない人よりも長生きするという報告さえ存在する[18,37]。他にもペットを飼っている人は飼育しない人よりも低い基準の心拍数や基準血圧となり、ストレス負荷時には血圧や心拍数、発汗の低下が起こる事が明らかになっている[2,3]。犬との触れ合いに関して、日本においては全国的に AAA の活動を中心とした AAI が行われている。北海道では、「犬を介して社会福祉事業をする」ことを目的に 1996 年に発足された北海道ボランティアドッグの会が主にこれらの活動を担っている[24]。同団体で主に行われている活動は動物とボランティアが高齢者施設を訪問する、訪問型の活動である。こういった活動によって、施設に滞在する高齢者の疲労や緊張感を和らげる効果や不安や抑うつ状態の改善の効果が期待される[14,54]。

このように、アニマルセラピーによって人は様々な効果の恩恵を受けていることが明らかになっているが、これらの活動に従事している犬の状態、つまり受けているストレス量の把握は十分ではない。ストレスを定量するには、分泌されるストレス関連物質、特に Cortisol を測定する方法が一般的である。近年は分泌型イムのグロブリン A (SIgA) やクロモグラニン A など新たな物質も検討されている。Cortisol を測定するための材料には、血液、尿、糞、毛、唾液などが用いられる。血液サンプルはリアルタイムにストレスを評価できるが、採血に対して訓練を受けていない動物に対しては保定時にストレ

スを与える可能性がある。また、糞と尿は半日から1日分のCortisolが蓄積されるが、採取が難しい[1,7,15,47]。一方、唾液は、20分程度の遅延が起こるが、採取もしやすい[57]。そこで本章ではストレスの内分泌的指標であるCortisolやSIgAを用いて犬のストレス状態及び活動内容が犬に過度な負荷を与えていないか検討した。

材料と方法

1) AAA (Animal Assisted Activity)

本研究では、北海道ボランティアドッグの会に所属し、AAA (Animal Assisted Activity) で活動する犬 (以下、セラピー犬) を対象として、その活動時のストレスを評価した。NPO 法人北海道ボランティアドッグの会に所属しているセラピー犬を被験犬とした。セラピー犬は年に 2 回開かれる適性試験に合格した犬のみが活動に参加できる。適性試験は大きく分けて、服従試験 (一定の訓練のレベルに達しているか)、マナー検査 (触られることや目を合わせることにに対して大人しく出来るか)、対人検査 (人やその行動に対しての不安が強すぎないか)、で構成されている。この他に、試験中、人に対しての攻撃的反応、飼い主とのコミュニケーション、さらに健康及び公衆衛生上の問題がないかなどが審査される [24]。これらの犬たちは高齢者施設において AAA に従事する場合は基本的に一回あたり 30 分間行われた。その時間帯は 10:30-11:00 もしくは 14:00-14:30 に設定されていた。AAA が行われる各施設の会場の広さは施設により異なっていた。ある施設では、まず参加者は円形になって座り、その円の内側をセラピードッグとハンドラーが回る形で実施された。行われる内容はセラピードッグに対して愛撫したり (触れる、抱く、舐められる)、犬が披露する芸を観たりしながら、適宜ハンドラーとの会話をしたりする事が行われた。セラピー犬は参加者 3~4 人に対してセラピー犬は 1 頭程度の割合であり、ハンドラーとセラピードッグのペア 1 組が参加者 1 人と触れ合う時間は 2 分程度であった。活動場所の特徴として、高齢者施設を利用している多くの人は独居生活が困難であり、その理由の一つに認知症があることが挙げられる。そのため、犬やハンドラーが繰り返し同じ場所での活動を行う場合であっても、利用者にとっては毎回初めての経験と感じる事が多い。そのため、力の加減が上手くいかず、犬に対して触れる動作が強くなってしまう場合や急につかむ動作を行ってしまう場合もある。中には犬に対して拒否の動作を行ってしまう人もいた。この他に、高齢者施設での AAA を行う犬にとって、高齢者との触れ合い以外に活動毎に変化する AAA

への参加者や施設のスタッフ、他のセラピー犬と関わり等の要素がストレスとなる可能性があった。

2) セラピー犬

北海道ボランティアドッグの会に所属し、AAAにて活動している犬 23 頭から唾液のサンプリングを行った。犬種はゴールデン・レトリバー、ラブラドル・レトリバー、ヨークシャー・テリア、チワワ、ゴールデン・ドゥードゥル、ペキニーズ、シーズー、柴犬、サモエド、ミニチュア・ダックスフント、キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル、オーストラリアン・ラブラドゥードゥルで、年齢は 2 才から 13 才、性別や避妊去勢の有無、活動歴、参加犬の年齢や性別、活動歴、避妊去勢の有無やハンドラーの経験は表 1-1 の通りである。

3) 唾液の採取

唾液は AAA 開始約 15 分前 (pre)、終了約 15 分後 (post) に飼い主の同意を得て、非侵襲的に唾液採取スワブ (Salimetrics Children's Swab, Salimetrics 社) を口腔内に 10~30 秒間入れ唾液を採取した。活動前後のサンプリング回数は犬によって異なり 1~5 回の範囲で行われた。また、普段の生活環境における唾液を、5 頭からセラピー活動の時間と同じ時間帯で採取した。これらの唾液は採取した後すぐに氷で冷やした状態でラボに持ち帰った。サンプルは 3000×g で 5 分間遠心分離を行い、固形物を取除いた後その上澄みを -30℃ で保存した。唾液の採取から保存までは 3 時間以内に行った。

4) 唾液中 Cortisol の測定

唾液中の Cortisol は Cortisol EIA kit (Arbor Assays, USA) により Duplicate で測定し、pre と post の値を比較した。ELISA 法の手順はキットのプロトコルに従い行った。簡単に述べると、まずスタンダード (3200pg/ml~100pg/ml) を準備し、唾液サンプルを希釈倍率 4 倍に調整した。スタンダード及びサン

プルを入れた後、手順に従い Cortisol Conjugate および Cortisol Antibody を ELISA プレートへ加え、MTS 2/4 digital microtiter shaker (IKA, Germany) で 300rpm ×1 時間反応させた。洗浄後、TMB を加えて発光させマイクロプレートリーダー (Bio-Rad, USA) を使用し 450 nm で吸光度を測定した。Cortisol 濃度は Arbor Assays[41]の計算式に当てはめて算出した。

5) 唾液中 SIgA の測定

唾液中の SIgA は Dog IgA ELISA Quantitation Set (Bethyl Laboratories, Inc. TX USA) により Duplicate で測定し、pre と post の値を比較した。測定手順はプロトコルに従って行った。簡単に述べると、まずスタンダード(1000ng/ml ~ 0ng/ml)を準備し、また、唾液サンプルを希釈倍率 2000 倍に調整した。その後手順に従い Coating Buffer で希釈した抗イヌ IgA 抗体をプレートにコートし、1 時間インキュベートした後洗浄を行い、ブロッキング液を加えて 1 時間インキュベートした。洗浄を行った後にスタンダード及び 2000 倍に希釈したサンプルを入れ、1 時間室温で反応させた。洗浄後、HRP コンジュゲートを入れ 1 時間反応させた。洗浄した後に TMB を加えて発光させ最後に STOP 液で反応を停止させ、マイクロプレートリーダー (Bio-Rad, USA) を用いて 450nm で吸光度を測定した。MPM ソフトウェア (Bio-Rad) を用いて検量線を基に SIgA 濃度を算出した。

6) 解析

・ Cortisol 濃度及び SIgA 濃度の測定・比較

唾液中の Cortisol 濃度をストレスの指標として用い、AAA 活動の前 (Pre) と後 (Post) の濃度を比較した。さらに、唾液中濃度が Cortisol よりもはるかに多く、近年注目されている SIgA 濃度も同様に活動の前後で比較した。本研究では、近年報告のある SIgA も測定した[32]。それぞれの犬の Cortisol 濃度 (C) および SIgA 濃度 (A) の変化を増加 (↑) と減少 (↓) に振り分け

て分類した（C↑A↓、C↑A↑、C↓A↑、C↓A↓）。犬の基準値を厳密に決める事は難しいため[48]、AAA 前後の Cortisol および SIgA の差は微量な変化であっても増加か減少のグループに振り分けることとした。また、Cortisol 濃度、SIgA 濃度に関して、複数回の測定を行った個体については、それぞれの結果を分類すると共に pre-post 間の増減を統計分析した。

- ・ 年齢、活動歴との関連性

セラピー犬は様々な犬種、年齢、経験値、雌雄、避妊去勢などが異なるが、これらのストレスに影響を与える要因とストレス値との関連性を調べた。

7) 統計

全 23 頭の Cortisol 及び SIgA 濃度の値は正規性の検定を行った結果、それぞれについて正規性がなかったため、スピアマン順位相関係数検定により統計解析を行い相関係数により関係性を比較した。

活動前後でストレスの指標 Cortisol 濃度の変化と SIgA 濃度の変化の関係や、それぞれと他のファクターについて以下のような視点からそれらの関連性を検証した。pre-post 間の Cortisol 及び SIgA 濃度の増減は対応する t 検定またはウィルコクソン符号順位和検定を行った。その他に a) Cortisol 濃度の変化と年齢や活動回数、避妊去勢との関連性、b) SIgA 濃度の変化と年齢や活動回数、避妊去勢との相関、c) Cortisol 濃度の変化と SIgA 濃度の変化との相関について、ピアソン相関係数検定、スピアマン順位相関係数検定により統計解析を行った。全ての統計は $p<0.05$ を有意差ありとした。

表 1-1：参加犬の詳細（ID、犬種、年齢、性別（避妊去勢）、活動回数）

ID	犬 種	年 齢	性 別	活 動 回 数
#1	ラブラドル・レトリバー	11	SF	116
#2	ラブラドル・レトリバー	9	SF	30
#3	ラブラドル・レトリバー	6	SF	87
#4	ラブラドル・レトリバー	4	M	17
#5	ラブラドル・レトリバー	7	F	20
#6	ラブラドル・レトリバー	4	CM	12
#7	ゴールデン・レトリバー	11	CM	128
#8	ゴールデン・レトリバー	6	M	19
#9	ゴールデン・レトリバー	12	SF	121
#10	ゴールデン・レトリバー	8	SF	20
#11	ゴールデン・ドゥードゥル	5	CM	26
#12	サモエド	3	M	1
#13	オーストラリアン・ラブラドゥードゥル	5	SF	22
#14	キャバリア・K・C・スパニエル	8	SF	18
#15	キャバリア・K・C・スパニエル	8	SF	101
#16	シバイヌ	9	SF	84
#17	ヨークシャー・テリア	4	SF	176
#18	ヨークシャー・テリア	2	SF	67
#19	チワワ	5	CM	134
#20	チワワ	4	CM	8
#21	シーズー	6	CM	205
#22	ペキニーズ	3	SF	9
#23	ミニチュア・ダックスフント	13	SF	37

M: 雄; CM: 去勢雄; F: 雌; SF: 避妊雌

結果

本研究では AAA を行ったセラピー犬の唾液中 Cortisol 濃度および SIgA 濃度を測定し、その犬の年齢や、活動回数、避妊去勢との相関を調べた。

1) AAA 前後における Cortisol 濃度変化

23 頭のセラピー犬が活動したのべ 44 回の AAA において、Cortisol 濃度は表 1-2 に示す値となり (Pre:0.30±0.42ng/ml, Post:0.16±0.17ng/ml)、Cortisol 濃度 (C) の差 (Post-Pre) は表 1-2 のようになった。その内でストレス反応である Cortisol の増加を示したのは全体の 20%であった (図 1-1)。

2) AAA 前後における SIgA 濃度変化

23 頭のセラピー犬が活動したのべ 44 回の AAA において、ストレス反応である SIgA の減少を示したのは全体の 23%であった (表 1-2, 図 1-3)。

3) AAA 前後における Cortisol と SIgA の濃度変化

23 頭のセラピー犬が活動したのべ 44 回の AAA において、Cortisol 濃度 (C) 及び SIgA 濃度 (A) の増減を 4 つのグループに分類した (表 1-4、図 1-3)。その結果、ストレスの指標である Cortisol が増加していたものが 9 回 (20%)、減少していたものが 35 回 (80%) であった。この中で、Cortisol が増加し、かつ SIgA も減少した両方の指標がストレス増加を示したのは 1 個体 (2%) のみであった。また、図にはないが、Cortisol と SIgA の増減に関連性があるか調べたが、明らかな相関はみられなかった ($p=0.76$)。

4) Cortisol 濃度および SIgA 濃度と年齢および累計活動回数の相関関係

AAA 前後の Cortisol 濃度及び SIgA 濃度の変化の割合と年齢及び累計活動の相関関係を分析した。年齢と AAA 前後の Cortisol 濃度変化において相関係数 (r) は 0.13 と関連性はみられなかった (図 1-4)。累計活動回数と AAA 前後の Cortisol 濃度値変化において相関係数 (r) は 0.23 と関連性はみられなかった (図 1-5)。また、SIgA 濃度変動率と年齢は相関係数 (r) が 0.04 であり (図 1-6)、累計活動回数と SIgA 濃度変動率は相関係数 (r) が -0.04 であり関連性はみられなかった (図 1-7)。

表 1-2 : AAA 前後の唾液中 Cortisol 濃度

ID	Pre	Post	Post-Pre
#1 ①	0.07	0.08	0.01
#1 ②	0.15	0.27	0.12
#2 ①	0.45	0.42	-0.03
#2 ②	0.58	0.12	-0.46
#2 ③	0.37	0.08	-0.29
#2 ④	0.58	0.41	-0.17
#3 ①	0.07	0.03	-0.04
#3 ②	0.05	0.03	-0.02
#3 ③	0.04	0.03	-0.01
#3 ④	0.12	0.14	0.02
#3 ⑤	0.23	0.19	-0.04
#4 ①	0.09	0.04	-0.05
#4 ①	0.07	0.06	-0.01
#4 ②	0.12	0.16	0.04
#4 ③	0.14	0.10	-0.04
#4 ④	0.18	0.12	-0.06
#5	0.31	0.25	-0.06
#6	0.03	0.02	-0.01
#7 ①	0.10	0.13	0.03
#7 ②	0.05	0.08	0.03
#8	0.15	0.14	-0.01
#9	0.12	0.10	-0.02

ID	Pre	Post	Post-Pre
#10	0.02	0.05	0.03
#11 ①	0.47	0.25	-0.22
#11 ②	0.44	0.21	-0.23
#12	0.48	0.28	-0.20
#13	0.07	0.04	-0.03
#14	0.11	0.03	-0.08
#15	0.07	0.02	-0.05
#16 ①	0.43	0.18	-0.25
#16 ②	1.17	0.38	-0.79
#16 ③	2.49	0.95	-1.54
#17	0.08	0.07	-0.01
#18	0.05	0.03	-0.02
#19	0.17	0.06	-0.11
#20	0.78	0.31	-0.47
#21 ①	0.06	0.05	-0.01
#21 ②	0.02	0.01	-0.01
#21 ③	0.15	0.04	-0.11
#21 ④	0.13	0.07	-0.06
#22 ①	0.69	0.03	-0.66
#22 ②	0.13	0.32	0.19
#22 ③	0.70	0.34	-0.36
#23	0.25	0.48	0.23

*赤字はストレス反応である Cortisol 濃度が増加

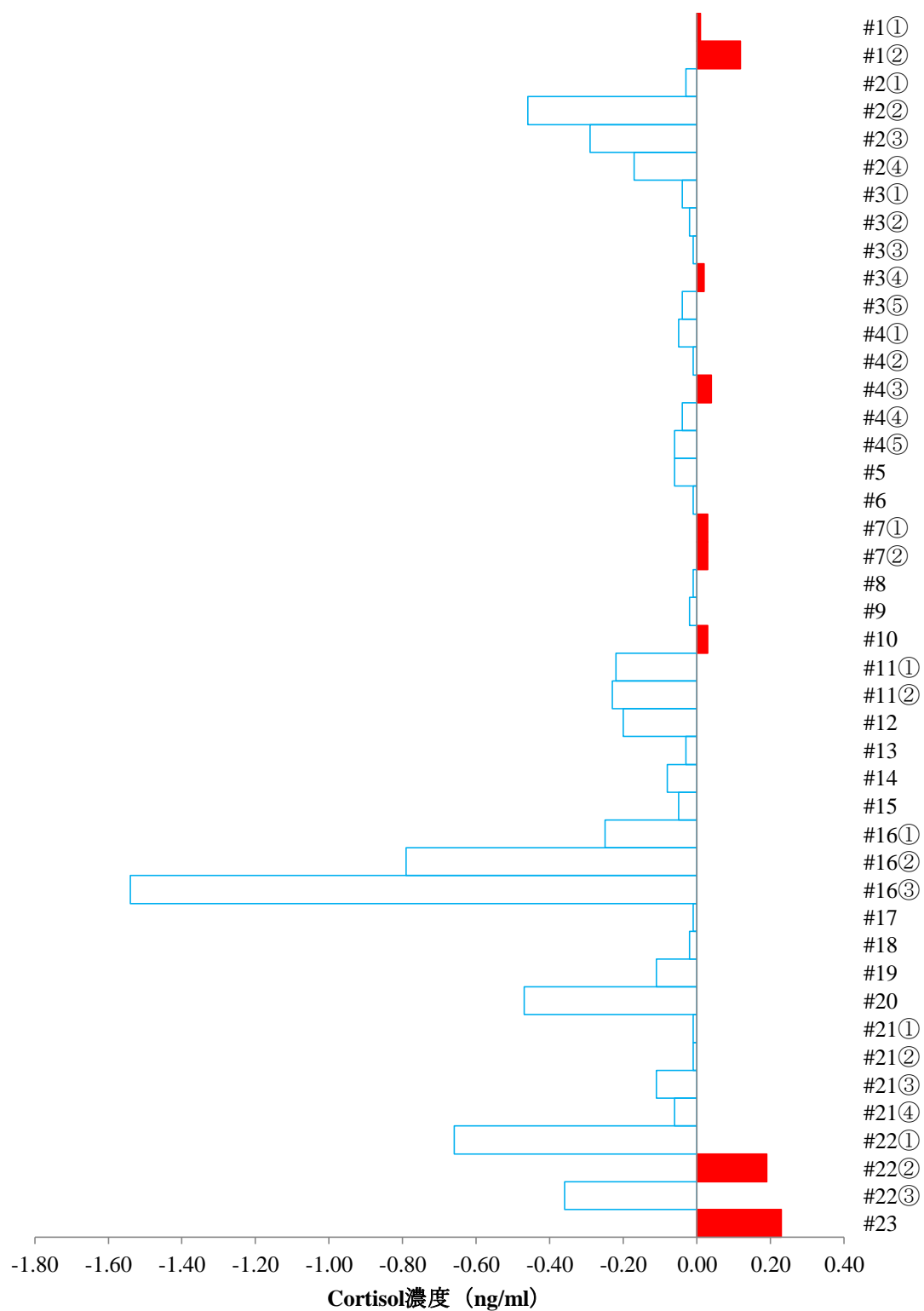


図 1-1:AAA 前後の Cortisol 濃度変化 (Y 軸 Post-Pre)

AAA に参加した犬のうち、Cortisol の増加がみられた犬は全体の 20% であった。

表 1-3 : AAA 前後の唾液中 SIgA 濃度

ID	Pre	Post	Post-Pre
#1①	0.50	2.20	1.70
#1②	1.20	2.10	0.90
#2①	0.58	0.88	0.30
#2②	0.22	0.30	0.08
#2③	0.37	0.20	-0.17
#2④	2.68	0.10	-2.58
#3①	0.57	1.12	0.55
#3②	0.95	0.30	-0.65
#3③	0.44	1.99	1.55
#3④	0.69	0.87	0.18
#3⑤	1.93	0.37	-1.56
#4①	0.35	0.61	0.26
#4①	0.30	0.32	0.02
#4②	0.37	2.20	1.83
#4③	0.53	0.56	0.03
#4④	0.96	0.49	-0.47
#5	0.33	1.76	1.43
#6	0.24	0.49	0.25
#7①	0.57	0.74	0.17
#7②	0.87	0.96	0.09
#8	0.25	0.26	0.01
#9	0.33	0.54	0.21

ID	Pre	Post	Post-Pre
#10	0.17	1.20	1.03
#11①	0.27	1.32	1.05
#11②	0.23	1.01	0.78
#12	0.37	0.71	0.34
#13	0.16	0.17	0.01
#14	0.14	0.22	0.08
#15	0.15	0.35	0.20
#16①	0.06	0.47	0.41
#16②	0.20	0.84	0.64
#16③	0.10	0.47	0.37
#17	0.09	0.08	-0.01
#18	0.07	0.40	0.33
#19	0.15	0.11	-0.04
#20	0.36	0.35	-0.01
#21①	0.40	0.21	-0.19
#21②	0.06	0.20	0.14
#21③	0.19	0.42	0.23
#21④	0.19	0.23	0.04
#22①	0.07	0.21	0.14
#22②	0.14	0.31	0.17
#22③	0.13	0.26	0.13
#23	0.99	0.79	-0.20

* 赤字はストレス反応である SIgA 濃度が減少

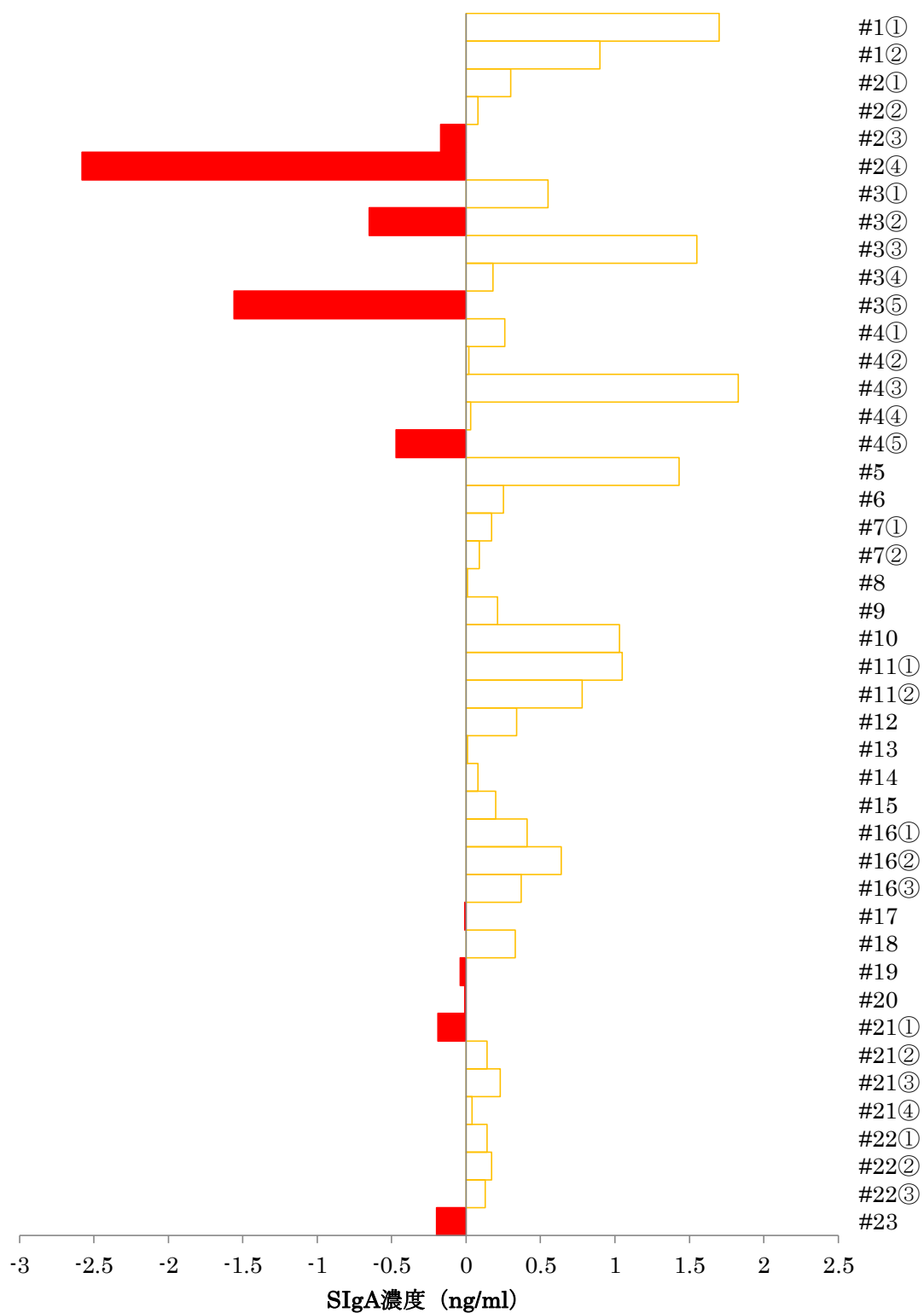


図 1-2AAA 前後の SIgA 濃度変化 (Y 軸 Post-Pre)

AAA に参加した犬の中で、SIgA の減少がみられた個体は全体の 22% であった。

表 1-4 : Cortisol (C) および SIgA (A) の増減の関係

	C ↑ A ↓	C ↑ A ↑	C ↓ A ↑	C ↓ A ↓
n=44	1/44 (2%)	8/44 (18%)	26/44 (59%)	9/44 (20%)

*Cortisol (C)、SIgA (A)、増加 (↑)、減少 (↓) で表記

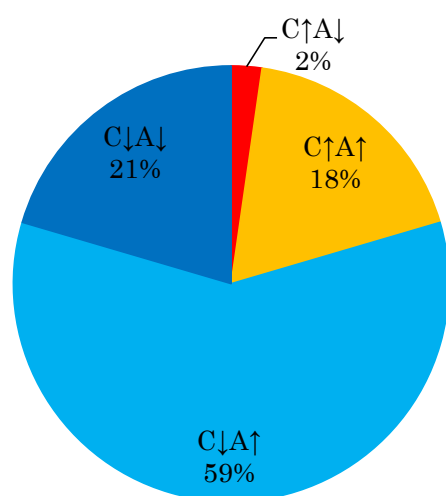


図 1-3 : Cortisol (C) および SIgA (A) の増減の関係

*Cortisol (C)、SIgA (A)、増加 (↑)、減少 (↓) で表記

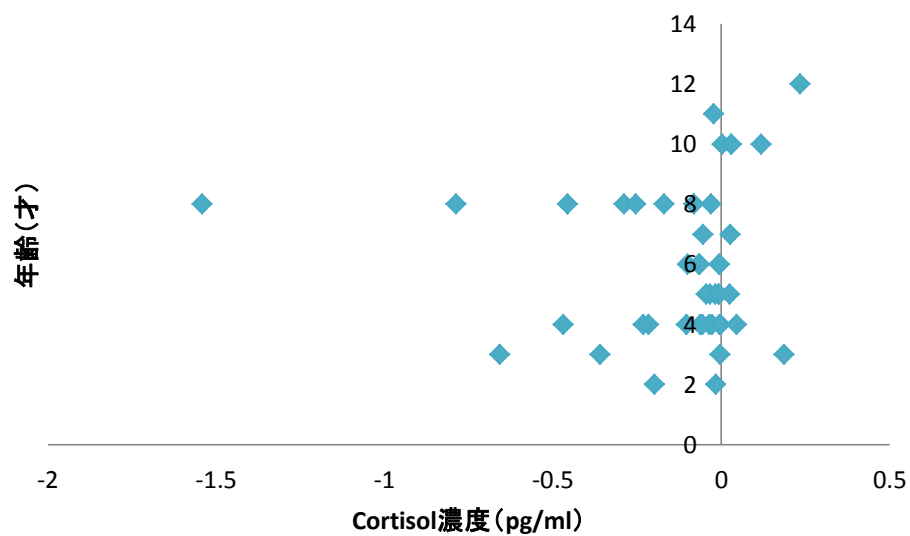


図 1-4:AAA 前後の Cortisol 変動率と年齢の関係性

AAA 前後の Cortisol の増減と年齢の関係を調べると相関係数 $r=0.13$ で明らかな相関はなかった。

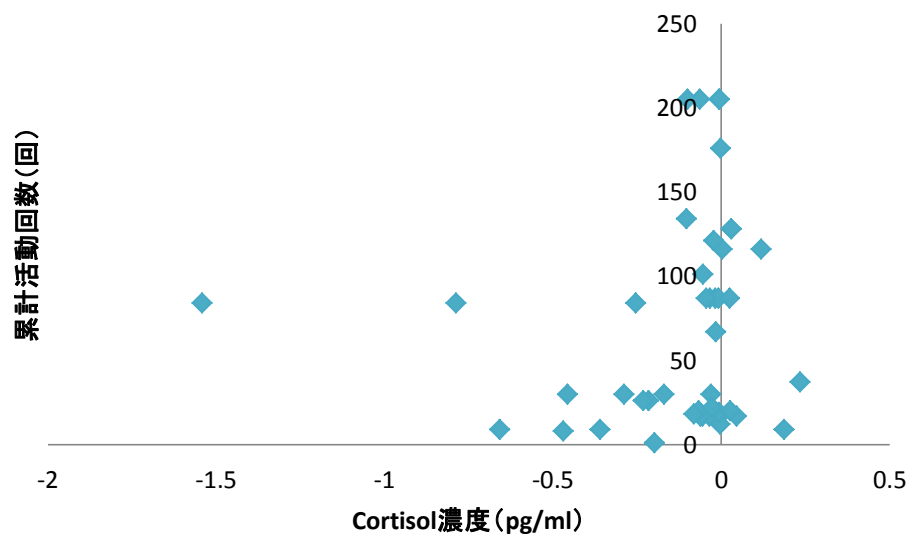


図 1-5:AAA 前後の Cortisol 変動率と活動回数の関係性

AAA 前後の Cortisol の増減と活動回数の関係を調べると相関係数 $r=0.23$ で明らかな相関はなかった。

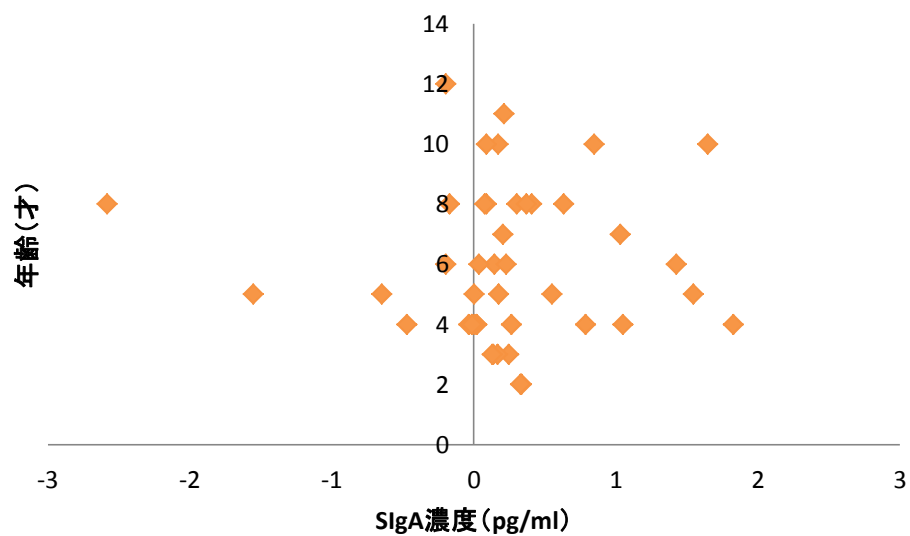


図 1-6:AAA 前後の SIgA 変動率と年齢の関係性

AAA 前後の SIgA の増減と年齢の関係を調べると相関係数 $r=0.04$ で明らかな相関はなかった。

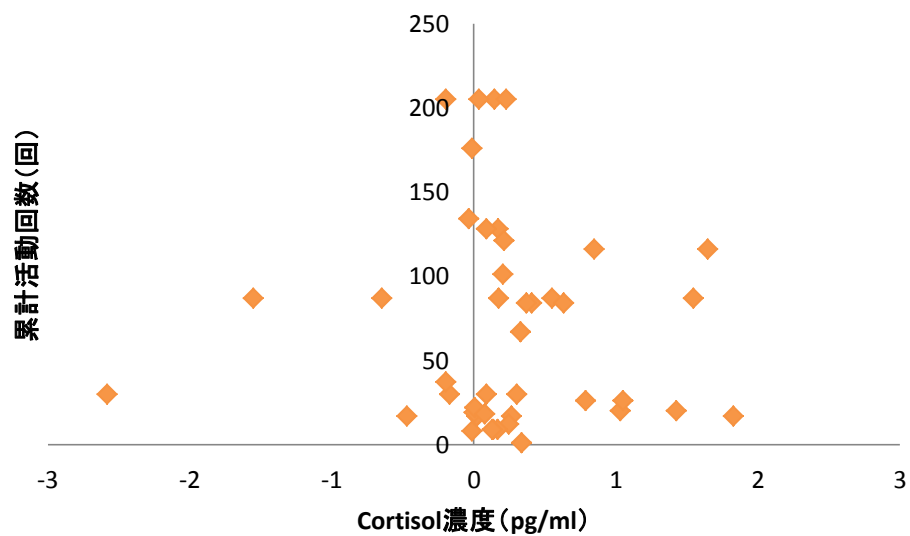


図 1-7:AAA 前後の SIgA 変動率と活動回数の関係性

AAA 前後の SIgA の増減と活動回数の関係を調べると相関係数 $r=-0.04$ で明らかな相関はなかった。

5) Cortisol 濃度および SIgA 濃度と避妊去勢との関係性

雄において去勢及び未去勢により Cortisol 濃度に差が出るのか検討するために pre と post の Cortisol 濃度それぞれに差があるのかを比較したが有意な差は認められず (pre: $p=0.3$, post: $p=0.6$)、同様に SIgA 濃度の比較も行ったが有意な差はみられなかった (pre: $p=0.7$, post: $p=0.9$)。未避妊の雌は 1 頭のみであったため、避妊済みと未避妊の濃度差を確かめる事は出来なかった。

6) Cortisol の日間変動

活動に参加しているセラピー犬の内 5 頭 (#1,#2,#7,#16,#21) を対象として AAA 活動時と同時刻の 3 日間で日間変動の影響を調べた (表 1-5)。明らかな変化があったのは #2 のみで有意に減少していた ($p=0.02$)。他の 4 頭では有意な変化はみられなかったがいずれも中央値は増加していた (#1: $p=0.62$ 、#7: $p=0.56$ 、#16: $p=0.15$ 、#21: $p=0.41$)。

表 1-5:家庭における Cortisol 濃度変化 (3 日間)

ID	Pre	Post
#1	0.109	0.113
#2	0.154	0.107
#7	0.156	0.245
#16	0.133	0.145
#21	0.079	0.125

考察

本研究では唾液中の Cortisol 濃度及び SIgA 濃度を指標とし、AAA におけるセラピー犬が受けるストレスについて評価した。

1) Cortisol によるセラピー犬のストレス評価

Cortisol の分泌は HPA 系、ネガティブフィードバック機構によって制御されており、多少の負荷や Cortisol の分泌変動といったものは直ちに正常値内にもどる。その許容を超えた場合にストレスによる Cortisol の過剰分泌が起こる [28]。AAA の活動中に犬が受けるストレスとしては見知らぬ人々との触れ合いや環境の極端な変化、騒音などが考えられる [12,13]。本研究におけるセラピー犬は高齢者施設の利用者に対して AAA を行っていたが、そこでは初めて会う人や慣れない施設によるストレスだけでなく、高齢者特有の参加者の突発的な動きや声、犬と触れ合う際の力加減の調整が上手くいかない等の要因が考えられた。ストレスによって犬は副腎皮質からの Cortisol 分泌量を増やすが、それ以外にもパンティングやあくび、流涎あるいは攻撃行動を引き起こすといった行動に変化が現れる [5,9]。セラピー犬たちは AAA に従事する間、そういった行動をみせることはなかった。本研究の結果からも Cortisol が上昇した個体は 20%に止まり、さらにその中でも値が高値を示した個体はいなかった。これは、北海道ボランティアドッグの会が行うセラピー犬適性試験によりストレス負荷に対する反応が一般的な犬と比較して少ない個体が選ばれ、その上で活動が行われており、活動の際の犬と人の双方のリスクの軽減がなされている結果であると考えられた。Glenk ら [20]の報告によれば、薬物患者に対する AAA においても、セラピー犬の Cortisol 濃度は低く抑えられていた。ボランティアドッグの会のセラピー犬も AAA に対するストレス抵抗を持っている事が考えられた。

Cortisol 濃度に影響を与える要因としてストレス以外にも日間変動や疾病がある [20]。犬における Cortisol の日間変動は未だ正確にはわかっていない。本研究においても参加犬数頭に対し調査を行ったが Kemppainen ら [31]の報

告と同様に一定した日間変動はみられなかった。家庭での唾液採取時に **Cortisol** の増加がみられた場合もあったが、日常生活の中での増減が軽微な理由から起こる為、それらの範囲内であれば過度のストレスではないとも考えられた。また、疾病によって体内 **Cortisol** が高値を示したり低い値を示したりする場合が考えられるが、北海道ボランティアドッグの会ではセラピー犬に対して健康診断及び血液検査を行っており、重大な疾病がある個体はいない。

この様に、北海道ボランティアドッグの会に所属するセラピー犬は AAA によって過度なストレスを感じていないことがわかった。それは唯一行われる適性試験が適切な内容であること、またセラピープログラムも適切な内容で行われている証拠であろう。

2) **Cortisol** 濃度値変化と **SIgA** 濃度値変化の関連性

通常、人を含めた動物のストレスを評価する際に血液中や唾液中、尿中、糞中 **Cortisol** が指標となる。**Cortisol** は視床下部—下垂体—副腎皮質のようにその分泌が制御されており、ストレス下では速やかに血液中に放出されるが、唾液中には 20 分程度の時差の後、分泌されることが明らかになっている [5]。近年、唾液中 **SIgA** でもストレスの評価が出来るという報告がある [32]。**SIgA** は免疫グロブリンの一つであり、形質細胞からの唾液中、血液中への分泌は **Cortisol** の免疫機能抑制の影響を受けることが明らかになっている [57]。つまり、本来であれば **Cortisol** の増加に合わせて **SIgA** の分泌が低下することから、ストレス負荷の指標として **SIgA** の分泌減少が起こると考えられている。しかし本研究において **Cortisol** の増加によるストレス反応を示したデータが全体の 20% あったのに対し、**Cortisol** の増加と **SIgA** 減少というストレス反応を示したデータは 2% のみと、ストレス反応の相関はなかった。**SIgA** 濃度が減少した 22% のうち、**Cortisol** の増加と相関した個体は 2% にとどまった。さらに、統計解析を行った全 6 頭についても有意な減少を示す個体はなかった。免疫機能の低下に影響する要因として加齢が挙げられるが、年齢との関連性

はなかった。また、活動経験の差によってストレスに対する回復時間に差があると推測されたが、本研究において **SIgA** と年齢の関係性を調べると $r=0.04$ と関係性はなく、活動回数との関連もなかった ($r=-0.18$) [59]。人において **SIgA** はストレスがかかれば基本的に減少することは証明されているが、急性ストレスの場合、**SIgA** の変化が異なる事が報告されている[21]。つまり、Fan ら (2009) の報告によれば人では長時間の運動によって **SIgA** が減少し、逆に短時間だと変化がないか、あるいは増加を示すことが明らかになっている[17]。犬においてもそういった **SIgA** と多様なストレスとの関連性をまずは明らかにする必要がある。

目、鼻、喉、気管、消化管といった上皮表面を防御する **SIgA** は、そういった粘膜付近に存在する形質細胞から分泌される。本研究で検証したイヌにおいては、食餌の影響はなく、さらに獣医師が判断できる口腔内の炎症はなかった。しかし、先行研究の様に一定の飼育環境下に置かれたイヌを調べたわけではないため、口腔環境が **SIgA** 量に与えた影響を今回は判断できなかった[32]。

このように **SIgA** 濃度に影響を与える要因は様々であることが知られており、と **Cortisol** とは必ずしも相関がないことが明らかになった。この結果は Svobodova ら[57]の報告と同様であり、**SIgA** をストレスマーカーとして用いるためには厳密な条件設定を行った上での運用が必要であるとともに、更なる研究が必要であると考えられた。

3) 年齢、活動歴、去勢とストレスとの関連性

年齢や活動歴とストレスの関係性はなかった。高齢になることによる活動への影響は少なく、また、経験によるストレスの緩和効果も大きくないと考えられた。通常、年齢が上がる事により柔軟性が失われ、新規刺激に拒否反応を示す場合がある。しかし、AAAに参加する回数が増え、経験数が上がっていけば、馴化によりストレスの緩和につながると考えられていた[59,60]。他の研究報告でも経験が増える事で、活動開始後の緊張度やストレスの低下

が早期に起こるという報告がある[59,60]。つまり、10 回目の活動と 11 回目の活動における馴化の程度はほとんど変化がないが、初回の活動と 2 回目の活動差はより大きいと考えられる。このように経験の影響は個体によって変動するため、関係性を比較した場合に相関が現れにくかったと考えられた。しかし、初回の活動にも関わらず Cortisol の増加、SIgA の減少といったストレス反応を示さなかった個体があったことから、必ずしも経験がストレスの大きさを決めるわけではない可能性も考えられた。今回関連性を調べた要因以外にも、AAA における参加犬の組み合わせの違いや、参加頭数によるストレス、あるいは人が理解していないその他の影響があるのかもしれない。しかし、何にしましてもセラピー犬たちは過度のストレスを受けることなく活動していたことが明らかになった。

このようにセラピー犬は人との関わり合いにおいてストレス耐性が高いことが証明されたが、それ以外にも活動内容の工夫によってストレスへの感作が起きないように調整されていたのであろう。例えば、活動時間は 30 分と時間を短く設定していると共に、一人の参加者に対して数分程度の触れ合いに止めるというセラピー犬の不安を高めない工夫もされていた。医療従事者を対象とした実験ではあるが、セラピー犬とのわずか 5 分の触れ合いによりストレスの低下が起こりうることが示されている[4]。よって活動時間を長く設定する必要はないことが考える。人がそうであるように、犬においても生得的因子や飼育環境による習得因子が人に対する反応性に影響していると考えられる。よって、事前の適性試験が重要であることを改めて確認できた。

一般的にコルチゾールとテストステロンは競合的に分泌が変化することがわかっており、ストレスの影響を受けるとテストステロン分泌が減少し、コルチゾール分泌が増加する。また、去勢を行っていない雄犬はそうでない犬に比べてストレスホルモンが高いことがわかっている[35]。テストステロンは攻撃性に影響することがわかっているが、去勢によるテストステロンの減少が、セラピー犬によい影響を与えるかどうかはわかっていない。本研究では 3 頭の雄犬が未去勢であったが、それらの犬の Cortisol は活動の前後で減

少していたことから、本研究で対象としたセラピー犬達に去勢の影響はないと考えられた[35]。

Haubenhofersら[23]の報告ではセラピーに参加するための5日間のトレーニングを行った犬達において、3日目までCortisolの明らかな増減はなく、最終日には参加犬のCortisol濃度の中央値が最も低くなるという結果が示されている[23]。また、最近の研究で社交性の高い犬の方が、人や新しい環境への適応性が高くストレスを感じにくいといった報告もある[50]。これらも踏まえると、セラピー犬がストレスをどの程度受けるのかはセラピー犬として働き始めた後の経験などの習得的因子よりもその犬がセラピー犬として働くまでの習得的因子や元々犬が持っている生得的因子の重要性が高いと考えられた。

4) セラピー犬が感じるストレス

犬が従事する人と関わる仕事にとして従事する代表的なものとして盲導犬が挙げられるが、こちらは1年近くにも及ぶ訓練、そして訓練士による評価により適正を測る。しかし、その合格率は低く3割ほどであり、その効率を上げるために系統の維持や性格遺伝子の評価などが行われている[36]。セラピー犬は30分程度の試験に合格しただけでAAAに従事しているのにも関わらず実際の活動では8割近くの犬が大きなストレスを受けていないことが示唆された。「人と関わる」という点で考えると1回の適性検査での見極めのみでも十分評価が可能である事が明らかになった。盲導犬においても盲導犬になるための訓練に入る検定、いわゆる稟性試験があり、遺伝的に優れた犬においてもこの試験で適性がないと早々に判断される犬が一定数いる。ストレスの影響を強く受けない犬の判別は、セラピー犬適性試験の中で犬のストレスサインを検出することで行われてきたが、実際の活動中もモニタリングすることで十分に動物福祉に配慮された運営が可能であろう。実際、今回コルチゾールが増加しなかった個体は活動中ストレスサインをほとんど見せることはなかった。また、セラピー犬は飼い主により躰が行われており、そう

いった日々の努力も今回の結果に結びついたと考えられる。

要約

動物介在介入に参加している動物が受ける影響について多くは研究されていないため、本研究では唾液中の Cortisol 濃度及び SIgA 濃度を指標としてセラピードッグの状態を把握することを目的とした。

北海道ボランティアドッグの会に所属し、動物介在活動（AAA）に参加しているセラピードッグ 23 頭を対象とし、AAA の 15 分前を pre、15 分後を post とし、唾液のサンプリングを行った。サンプリングした唾液の唾液中 Cortisol 濃度と SIgA 濃度は ELISA を用いて測定し、AAA 前後の濃度を比較した。また、AAA 前後の唾液中 Cortisol 濃度変化と SIgA 濃度変化の関連や、それぞれ他のファクターについても関連性、Cortisol 濃度の日間変動を検証した。

唾液中 Cortisol 濃度、SIgA 濃度測定は全 23 頭 44 サンプル行われ、増減を比較したところ、唾液中 Cortisol 濃度、SIgA 濃度共にストレス反応を示したのは約 20% の個体のみであった。また同一個体で複数のデータがあるものについては統計解析を行ったが、明らかなストレス反応を示す個体はいなかった。唾液中 Cortisol 濃度と SIgA 濃度の相関を調べたが有意な関係性はみられなかった。唾液中 Cortisol 濃度と SIgA 濃度それぞれと年齢、累計活動回数の相関についても明らかな関連性はみられなかった。唾液中 Cortisol 濃度の日間変動を調べたが、明らかな変化はみられなかった。

唾液中 Cortisol 濃度と SIgA 濃度の結果から、ほとんどのセラピー犬は AAA に参加する事による大きなストレスは受けていない可能性が示唆された。セラピー犬は適性検査を通過した個体のみが活動を行っており、検査の有用性が証明された。しかし、明らかなストレス反応を示す個体もいるため、活動開始後もモニタリングは必要であると考えられた。

第Ⅱ章

人との触れ合いプログラムに参加する
ハンドウイルカ (*Tursiops truncatus*) の
血中 Cortisol 濃度を指標としたストレス調査

序文

ハンドウイルカ (*Tursiops truncatus*) は熱帯、亜熱帯、温帯地域の沿岸海域に生息しており日本近海にも多く生息しており、また、水族館での飼育例も多く、日本において最もポピュラーなイルカの一種である [16]。近年では水族館におけるショー以外にも、新たな触れ合いとしてイルカと実際に触れ合うプログラムが人気を博している [30]。犬の場合と同様に AAA に参加しているイルカにおいて、ストレスの評価は動物福祉上、重要である。これまでの、報告の中には触れ合いプログラムに参加しているイルカの状態を行動評価で行った報告があり、また、ブルーガといった他の種でのふれあいプログラム (DIP) における内分泌的評価が報告されている [41,62]。そこで、本章第 1 章において、ストレスの内分泌的指標として広く用いられている Cortisol により AAA への参加犬の評価を行った。これを応用して、ふれあいプログラムに参加するハンドウイルカのストレスについて評価を行うことにした。沖縄県もとぶ元気村にて飼育されているハンドウイルカの血液サンプルを基に DIP の内容と影響を調べた。

材料と方法

1) イルカふれあい施設「もとぶ元気村」

もとぶ元気村は、沖縄やんばるの豊かな自然と文化に触れ、“健やかな心と身体”を育んでほしい、という考えの下、豊かな大自然を舞台に海の動物、自然、伝統文化といった様々なプログラムを提供している施設である[30]。

2) ハンドウイルカ

本研究ではもとぶ元気村（沖縄県）で飼育され、人との触れ合いプログラムに参加しているハンドウイルカ 5 頭を対象とした。各個体について年齢、性別、活動歴を調査した（表 2-1）。

3) 人との触れ合いプログラム

人との触れ合いプログラムには主に栈橋からイルカと遊ぶ、ドルフィンスクールプラス（DS+）や水に入ってイルカを触る、スイムウィズドルフィン（SWD）、水に入ってイルカと一緒に泳ぐロイヤルスイム（RS）があり、プログラムの概要は表 2-2、プログラム概要に用いられている用語の詳細は表 2-3 の通りである。

4) 血液の採取

血液はプログラムが始まる前（am 9:00）に担当する獣医師によって行われた。採血はトレーニングの一環として、尾ビレから採取され、保定などによる過度なストレスがかからないように行われていた。これらの血液は EDTA 管に採取後、3000×g で 15 分間遠心分離を行い、血漿を冷凍保存した。その後送付され、測定まで -30℃ で保存した。

6) EIA 法による血漿中 Cortisol 濃度の測定

血漿中の Cortisol は Cortisol EIA kit（Arbor Assays, USA）により Duplicate で測定した。ELISA 法の手順はキットのプロトコルに従い行った。簡単に述べると、まずスタンダード（3200pg/ml～100pg/ml）を準備し、血液サンプルを希釈倍率 16 倍に調整した。スタンダード及びサンプルを入れた後、手順に従い Cortisol Conjugate および Cortisol Antibody を ELISA プレートへ加え、

プレートシェイカー (MTS 2/4 digital microtiter shaker, IKA, Germany) で 300rpm ×1 時間反応させた。洗浄後、TMB を加えて発光させマイクロプレートリーダー (Bio-Rad, USA) を使用し 450 nm で吸光度を測定した。Cortisol 濃度は Arbor Assays の計算方法に従い、ホームページ上で算出した [41]。

7) 解析

人との触れ合いプログラムに参加しているハンドウイルカ 5 頭の結果について、①ハンドウイルカ 5 頭の Cortisol 濃度の分布、②繁忙期 (6-9 月) や閑散期 (10-12 月) における Cortisol 濃度の変化、③年齢が Cortisol 濃度を与える影響について分析した。

8) 統計

①各個体の Cortisol 濃度に差があるか調べるために、バートレット検定で分析した後に一元配置分散分析法を行った。②繁忙期と閑散期における Cortisol 濃度に差はあるかについて対応のない t 検定を行った。③年齢と Cortisol 濃度との関連性についてスピアマン順位相関検定を行った。全ての統計は $p < 0.05$ を有意差ありとした。

表 2-1：ハンドウイルカの個体情報

ID	プログラム参加状況	性別	年齢（推定）	サンプル数
#1	全プログラム	雌	15	13
#2	DS+、RS（プラット）	雌	14	12
#3	全プログラム	雌	12	12
#4	全プログラム	雌	11	6
#5	全プログラム	雌	9	8

表 2-2：ドルフィンプログラム

プログラム名	説明
ドルフィンスクールプラス DS+（2セッション構成）	プラットとドックで 1 セクションずつ触れ合うプログラム。水中にゲストが入って泳ぐことはない。対応時間：約 30 分
スイムウィズドルフィン SWD（3セッション構成）	フリーとプラットを組み合わせた物を 2 セッション、ドーサルを 1 セッション行うプログラム。対応時間：約 30 分
ロイヤルスイム RS（3セッション構成）	プラットで 1 セッション、フリーで 1 セッション、ヒューマン・ベリー・2 頭ドーサル 30 分。※このプログラムに関しては 1 頭で 3 セッション全て行う事がない為、各セッションに対応するイルカが異なる

*1 回につき 2 セッションもしくは 3 セッションで構成されており、1 セッション行うごとに 1 度対応を終わりノーコントロール下に置く時間が 1, 2 分程ある

表 2-3：ドルフィンプログラム内容の詳細

用 語	説 明
ド ッ ク	水面で固定されたステージ。ゲストは水に入らず、イルカもドックに上がることなく触れ合い、おもちゃを使って遊ぶ。触れ合う時間は 1 セクション中約半分ほど。
プ ラ ッ ト	大人の膝下くらいまで水に入れるよう固定された水中のステージ。ゲストがプラットに立ったままイルカと触れ合う。ドックより触れ合える回数は少ないが、ゲストとの距離が近い。
フ リ ー	ゲストが海に入って、浮いた状態でイルカに触る。ゲストが浮いている所にイルカが体を触らせに行く。ドック・プラットより触る回数は多い。
ド ー サ ル	ゲストが背鰭に掴まった状態で泳ぐ。距離は 20～30m。背鰭に掴まって泳ぐ以外の事はしない。
ベ リ ー	イルカは仰向けの状態でそのお腹の上にゲストが腹ばいで乗る。両胸鰭に掴まった状態で泳ぐ。それ以外の事はしない。距離は約 10m。
W ド ー サ ル	イルカ 2 頭の間にゲスト 1 人がそれぞれの背鰭に掴まって泳ぐ。距離は 10～15m。それ以外の事はしない。
ヒ ュ ー マ ン	人の上を 1 頭で跳び越える。人数は 1 回のジャンプにつき 1～4 名が行う。1 列横並びになった状態で浮かんでいるゲストの上をイルカが跳び越える。それ以外の事はしない。

結果

1) ハンドウイルカの個体間の Cortisol 濃度比較

各個体の 2015 年 7 月～2016 年 12 月の Cortisol 濃度についてその増減と中央値について比較した（図 2-1）。各個体において、Cortisol 濃度は 0.1ng～1.75ng/ml の範囲で増減しており、その中央値は 1.04～1.39ng/ml の範囲であった。しかし、それらの Cortisol 濃度に有意な差はなかった（ $p=0.59$ ）。

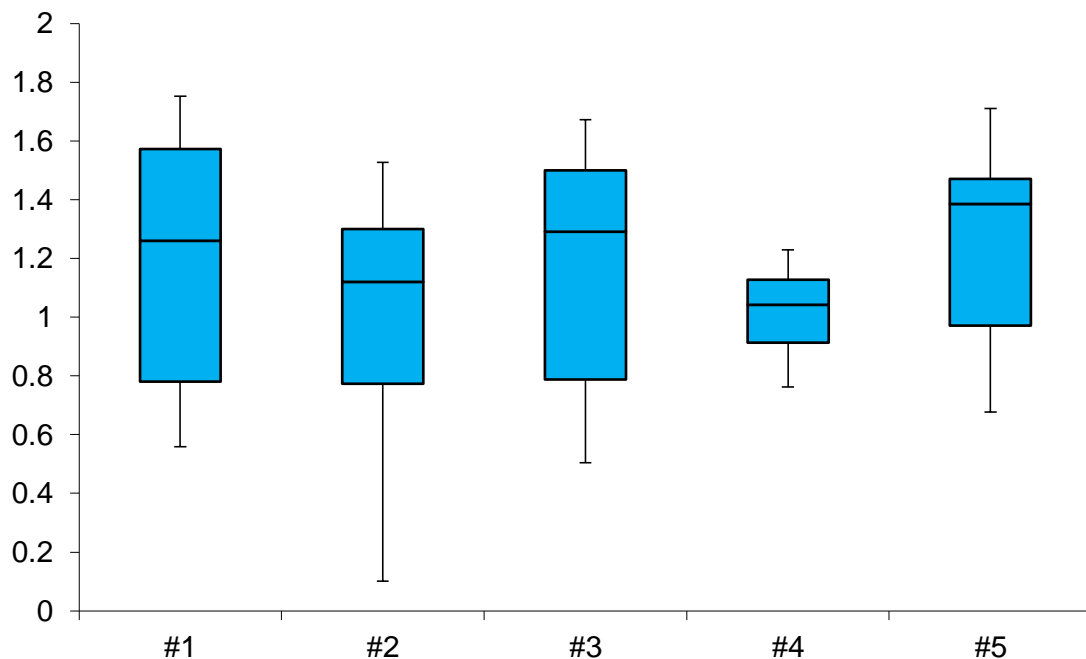


図 2-1：各ハンドウイルカ個体の血漿中 Cortisol 濃度（ng/ml）

各個体の Cortisol 濃度を比較したが、中央値に明らかな差は見られなかった（ $p=0.59$ ）。

2) 繁忙期（6-9 月）、閑散期（10-12 月）における Cortisol 濃度の変化

一般に繁忙期では人との触れ合いプログラムの試行回数が増える。そのため Cortisol 濃度が高くなる傾向があると考え、繁忙期（ $n=41$ ）と閑散期（ $n=10$ ）にデータを振り分け比較した（図 2-2）。 $p=0.37$ と統計的有意差はなかった。

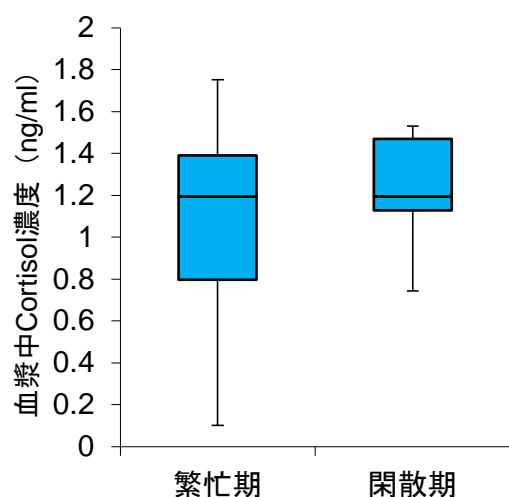


図 2-2：繁忙期と閑散期における Cortisol 濃度の比較

繁忙期と閑散期における全てのイルカの血漿中 Cortisol 濃度の変化を検証した。閑散期で 0.01ng/ml 高い値を示したが有意な差はなかった ($p=0.37$)。

3) 年齢と Cortisol 濃度

年齢と Cortisol 濃度の関係を調べた。各個体の年齢、平均 Cortisol 濃度、標準偏差 (SD) は表 2-4 に示した。相関係数 $r=-0.38$ と弱い相関があり、年齢が上がることで平均 Cortisol 濃度が下がる傾向が認められた (図 2-3)。

表 2-4：年齢と平均 Cortisol 濃度および標準偏差 (SD)

ID	年齢	平均 Cortisol 濃度 (ng/ml)	SD (ng/ml)
#1	15	0.16	0.38
#2	14	0.99	0.43
#3	12	1.16	0.40
#4	11	1.02	0.26
#5	9	1.24	0.34

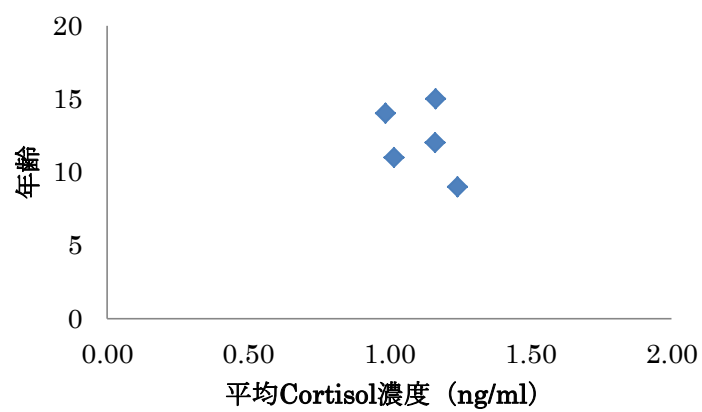


図 2-3 : 年齢と平均 Cortisol 濃度の比較

年齢と各個体の平均 Cortisol 濃度の関係性を調べると相関係数 $r=-0.38$ で弱い相関があった。

考察

本研究では人とのふれあいプログラムがハンドウイルカに及ぼす影響について血漿中 Cortisol を指標としてストレス度を評価するとともに、Cortisol 濃度に影響を与える要因を調査した。

Cortisol 濃度の増加は一般的にストレスに対する生理的反応であり、鯨類についても同様であるとされている。実際に保定や移送によるストレスにより血中 Cortisol 濃度が増加する事が報告されている[10]。また、Noda らの研究においても、移送により Cortisol 濃度が安静時の 5 倍近く (50ng/ml) 上昇することが報告されており、陸上でのストレス負荷に対する Cortisol 濃度への影響の強さが示されている[41]。

1) ハンドウイルカの血漿中 Cortisol 濃度比較

鈴木の報告[55]によれば、鯨類 15 種の平均血清中 Cortisol 濃度を測定した中において、平常時のハンドウイルカの Cortisol 濃度は $11.0 \pm 9.2 \text{ ng/ml}$ とされている。これと比較すると、本研究のハンドウイルカの cortisol 値は非常に低い値と同程度であることがわかる。各個体の Cortisol 濃度の値は 1 ng/ml 前後の値を示しており、これは他の研究で報告されている 10 ng/ml 前後の値と比較すると明らかに低い値を示した[41]。これらの研究は急性ストレスに対する Cortisol 濃度増加の報告ではあるが、人において慢性的なストレスに対しても Cortisol 濃度の増加が起こる可能性が示唆されている[58]。そのため、前述の移送や保定時の Cortisol 濃度も合わせて比較すると、本研究で対象としたハンドウイルカ 5 頭は慢性的なストレスを明らかに感じていないと考えられる。濃度分布についても $0.1 \sim 1.75 \text{ ng/ml}$ と先行研究と比較して狭い範囲を示しており、これは対象としたハンドウイルカ 5 頭がいずれも、もとぶ元気村の同一場所で飼育していることや、海という自然環境で飼育されている事に加え、水温が $20 \sim 30^\circ\text{C}$ 程度で安定している事、雌個体のみで基本的に飼育されている事など安定した飼育環境によるものであると考えられる。

2) 繁忙期（6-9月）、閑散期（10-12月）と Cortisol 濃度との関係

もとぶ元気村では一年を通して DIP を実施しており、夏季シーズンに繁忙期を迎える。そのため本研究において、閑散期と比較した場合、繁忙期で Cortisol 濃度が高い値を示すと予想したものの、繁忙期で濃度のバラつきがあるが、明らかな差はないという結果となった。Trone ら（2005）は、DIP に参加しているハンドウイルカについて、プログラム前後で大きな行動変化がなく、遊びの行動のみが増えたという報告をしており、行動からの検証においてもストレスはほとんどないと考えられている[62]。DIP において、ハンドウイルカはプログラム毎に入れ替わる参加者、ジャンプや他者との触れ合いといった様々なことを考慮しなければならない。ハンドウイルカは群で過ごす動物であるが、群間での移動があることやコミュニケーションについても音や接触行動により頻繁に行う事が知られている。そのため、イルカにとって、プログラム毎に変わる参加者とイルカの関係は自然な環境で起こる事象と近いのかもしれない。

3) 年齢と Cortisol 濃度

加齢と Cortisol 濃度の関連性に関して、人間の女性において加齢に伴って Cortisol 濃度の低下が起こることが報告されている一方で、Cortisol 代謝に対して加齢の影響はないという報告もあるため統一された見解は得られていない[8]。本研究ではそれぞれの関係について弱い負の相関があった。

今回対象としたイルカの年齢は 9～15 歳と狭い範囲であり、さらに飼育下のハンドウイルカの寿命が 40 年前後であることを踏まえると、年齢による影響を断定することはできなかった[46]。イルカのストレスを Cortisol 濃度から予測するためには、年齢が上がると Cortisol 濃度に変化がみられるのか今後検証する必要があると考える。

4) 人との触れ合いプログラムによるハンドウイルカへの影響

動物との触れ合いが人に対して良い影響を与えることは広く知られており、

イルカに関しても同様なことが明らかになっている[27]。本研究では DIP に参加するハンドウイルカを対象に Cortisol 濃度の測定を行い慢性的なストレスの影響を調査したが、明らかな高値を示す個体は存在せず、DIP がハンドウイルカに与える影響は弱い可能性が示唆された。

そして、動物福祉的観点からみても十分に配慮されたプログラムであるともいえる[26]。さらに、ジャンプ等の行動は訓練で強化されてはいるものの野生でも観られる他、自身で作ったバブルリングで遊ぶといった複雑な遊び行動も野生で確認されている[39]。ハンドウイルカの習性や、元々野生下で行っている行動を活かすように DIP を行う事で人にとって安全で、そしてプログラムに参加するイルカ達にとっても大きなストレスとならないと考えられた。

要約

動物介在介入に参加している動物が受ける影響について多くは研究されていないため、本研究では血液中の Cortisol 濃度を指標として人との触れ合いプログラム（DIP）に参加するハンドウイルカの状態を把握することを目的とした。

もとぶ元気村で飼育され DIP 日常的に参加している雌のハンドウイルカ 5 頭を対象とし、プログラム開始前に血液のサンプリングを行った。サンプリングした血液の血漿中の Cortisol 濃度を ELISA 法により測定し、各個体の Cortisol 濃度に差はあるか、また活動頻度（繁忙期、閑散期）による違いや、年齢との関連性を比較した。

Cortisol 濃度の測定を全 5 頭行なったが、各個体の Cortisol 濃度に有意な差はみられなかった。また活動頻度による影響を比較したが $p=0.37$ と関連性はなかった。年齢との関連性では相関係数 $r=-0.38$ と弱い負の相関があった。

各個体の Cortisol 濃度は 1ng/ml 前後と、他の研究で報告されているハンドウイルカの安静時 (11 ± 9.2) の低値の近似値で安定していた。さらに、繁忙期と閑散期でプログラムの頻度が異なるにも関わらず、有意な差がなかったことから、DIP に参加しているイルカの負担は少ない事が示唆された。

総括

本研究では主に Cortisol を指標とし、AAA に従事している動物（犬、イルカ）のストレス状態を調査した。第Ⅰ章では主に老人福祉施設を訪問しているセラピー犬を対象とし、前述の Cortisol に加え、イムノグロブリン A（secretory immunoglobulin A: SIgA）濃度も測定した。第Ⅱ章では人との触れ合いプログラム（DIP）に参加しているハンドウイルカの血中 Cortisol 濃度を調べ、ストレスレベルの変化を分析した。

第Ⅰ章）動物介在活動前後の唾液中 Cortisol 及び SIgA を比較する事によりセラピー犬のストレスを検討した

Cortisol の増加や SIgA の減少といったストレス反応を示す個体は全体の 20%のみであり、また、同一個体で複数回のデータがある個体に関して統計解析を行ったが有意な増減を示す個体はおらず、セラピー犬の感じているストレスは少ない事が示唆された。

第Ⅱ章）血中 Cortisol によりハンドウイルカのストレスを検討した

Cortisol の値は年間を通じ他の研究で報告されている基準値と比較すると低値で安定しており、DIP による慢性的なストレス負荷はほとんどない事が示唆された。

本研究を含め、人との触れ合いに関して動物が大きなストレスを感じるという報告は少ない。その要因としては動物の持つ性質や長年培われた AAA のプログラムが各動物に合ったものになっている事が挙げられる。本研究では動物福祉的観点から AAA に従事している動物の状態は問題ない事が示唆されたが、動物側がストレスを感じている可能性を否定してしまう事は危険である。そのため、AAA を行う際はプログラム内容を検討し、また参加動物の性質にそった活動を行うべきであると。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、北海道ボランティアドッグの会の皆様には唾液サンプルの提供だけでなく、動物介在療法に関するいろいろな情報を提供していただきました。特別養護老人ホームひだまり大麻、グループホーム&デイサービストロの森、勤医協老人保護施設柏ヶ丘および特別養護老人ホーム西円山敬樹園のスタッフと入居者の皆様には、セラピー活動への参加を許可していただき、心より感謝の意を表します。パデュー大学獣医学部行動学、尾形庭子准教授には論文に対して多方面からのアドバイスを頂きました。もとぶ元気村、山本佳子獣医師、來山マネージャー、他トレーナーの皆様には貴重なイルカ血液サンプルをいただき、また小林利充所長には叱咤激励をいただきましたことに感謝申し上げます。最後に本学獣医保健看護類佐野忠士准教授には研究について総合的なアドバイスをいただき、特に郡山尚紀准教授には、研究計画、学会での報告、調査の統括や論文作成時に多大なるご助言をいただきましたことに謝辞を申し上げます。

引用文献

1. Accorsi, P. A., Carloni, E., Valsecchi, P., Viggiani, R., Gamberoni, M., Tamanini, C., & Seren, E. 2008. Cortisol determination in hair and faeces from domestic cats and dogs. *Gen Comp Endocr.* 155 (2) , 398-402
2. Allen, K. M., Blascovich, J., Tomaka, J., & Kelsey, R. M. 1991. Presence of human friends and pet dogs as moderators of autonomic responses to stress in women. *J Pers Soc Psychol.* 61 (4) , 582
3. Allen, K., Blascovich, J., & Mendes, W. B. 2002. Cardiovascular reactivity and the presence of pets, friends, and spouses: The truth about cats and dogs. *Psychosom Med*, 64 (5) , 727-739
4. Barker, S. B., Knisely, J. S., McCain, N. L., & Best, A. M. 2005. Measuring stress and immune response in healthcare professionals following interaction with a therapy dog: A pilot study. *Psychol Rep*, 96 (3) , 713-729
5. Beerda, B., Schilder, M. B., van Hooff, J. A., de Vries, H. W., & Mol, J. A. 1998. Behavioural, saliva cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs. *Appl Anim Behav Sci*, 58 (3) , 365-381
6. Beetz, A., Julius, H., Turner, D., & Kotrschal, K. 2012. Effects of social support by a dog on stress modulation in male children with insecure attachment. *Front Psychol*, 3, 352
7. Bennett, A., & Hayssen, V. 2010. Measuring cortisol in hair and saliva from dogs: coat color and pigment differences. *Domest Anim Endocrinol* 39:171-180
8. Brandenberger, G., Follenius, M., Muzet, A., Simeoni, M., & Reinhardt, B. 1984. Interactions between spontaneous and provoked cortisol secretory episodes in man. *J Clin Endocr Metab*, 59 (3) , 406-411
9. Butler, K. 2013. *Therapy dogs today: Their gifts, our obligation*. Dogwise Publishing

10. Colgrove, G. S. 1978. Suspected transportation-associated myopathy in a dolphin. *J Am Vet Med Assoc*, 173 (9) , 1121-1123
11. Connell, C.M, & Lago, D., 1984. Favorable attitudes toward pets and happiness among the elderly. In; R. K, Anderson, B, L. Hart & L. A. Hart (Editors) , The Pet Connection: Its Influence on our health and Quality of Life, *Censhare*, University of Minnesota, Minneapolis, pp, 241-250
12. Coppola, Crista L., R. Mark Enns, & Temple Grandin. 2006 Noise in the animal shelter environment: building design and the effects of daily noise exposure. *J Appl Anim Welf Sci*. 9 (1) , 1-7
13. Coppinger, Raymond, & Jule Zuccotti. 1999. Kennel enrichment: exercise and socialization of dogs. *J Appl Anim Welf Sci*. 2 (4) . 281-296
14. Crowley-Robinson, P., Fenwick, D. C., & Blackshaw, J. K. 1996. A long-term study of elderly people in nursing homes with visiting and resident dogs. *Appl Anim Behav Sci*, 47 (1) , 137-148
15. Dreschel, N. A., & Granger, D. A. 2009. Methods of collection for salivary cortisol measurement in dogs. *Horm Behav*. 55 (1) , 163-168
16. D.W.マクドナルド. 1986, 動物大百科 第2巻, 海棲哺乳類
株式会社 平凡社, 東京
17. Fan, Y., Tang, Y., Lu, Q., Feng, S., Yu, Q., Sui, D. & Li, S. 2009. Dynamic changes in salivary cortisol and secretory immunoglobulin A response to acute stress. *Stress Health*. 25 (2) , 189-194
18. Friedmann, E., Katcher, A. H., Lynch, J. J., & Thomas, S. A. 1980. Animal companions and one-year survival of patients after discharge from a coronary care unit. *Public Health Rep*. 95 (4) , 307
19. Fujihara, S., & Yogo, M. 2003. Measuring Salivary Immunoglobulin A for Psychological Studies of Stress and Emotion. *Doshisha Psychol Rev*. 50, 57-81

20. Glenk, L. M., Kothgassner, O. D., Stetina, B. U., Palme, R., Kepplinger, B., & Baran, H. 2013. Therapy dogs' salivary cortisol levels vary during animal-assisted interventions. *Anim Welfare*. 22 (3) , 369-378
21. Gozansky, W. S., Lynn, J. S., Laudenslager, M. L., & Kohrt, W. M. 2005. Salivary cortisol determined by enzyme immunoassay is preferable to serum total cortisol for assessment of dynamic hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Clin Endocr*. 63 (3) , 336-341
22. 長谷川篤彦, 増田健一. 2016. 獣医臨床のための免疫学 第一刷, 株式会社学窓社, 東京
23. Haubenhofer, D., Mostl, E., & Kirchengast, S. 2005. Cortisol concentrations in saliva of humans and their dogs during intensive training courses in animal-assisted therapy. *Wien Tierarztl Monat*. 92 (3) , 66-73
24. 北海道ボランティアドッグの会 HP (<http://www.volunteer-dog.com/>)
25. Hucklebridge, F., Clow, A., & Evans, P. 1998. The relationship between salivary secretory immunoglobulin A and cortisol: neuroendocrine response to awakening and the diurnal cycle. *Int J Psychophysiol*. 31 (1) , 69-76
26. Hughes, B. O., & Duncan, I. J. H. 1988. The notion of ethological 'need', models of motivation and animal welfare. *Anim Behav*. 36 (6) , 1696-1707
27. Humphries, T. L. 2003. Effectiveness of dolphin-assisted therapy as a behavioral intervention for young children with disabilities. *Bridges*, 1 (6) , 1-9
28. Hutchison, M.編 阿久沢正夫, 上村俊一訳. 1995. 小動物の内分泌マニュアル, 学窓社, 東京, 55-57
29. Iannuzzi, D., & Rowan, A. N. 1991. Ethical issues in animal-assisted therapy programs. *Anthrozoos*, 4 (3) , 154-163
30. 一般財団法人 健康科学財団 もとぶ元気村 HP (<http://owf.jp/>)
31. Kemppainen, R. J., & Sartin, J. L. 1984. Evidence for episodic but not circadian activity in plasma concentrations of adrenocorticotrophin, cortisol and thyroxine in dogs. *J Endocr*, 103 (2) , 219-226

32. Kikkawa, A., Uchida, Y., Nakade, T., & Taguchi, K. 2003. Salivary secretory IgA concentrations in beagle dogs. *J Vet Med Sci.* 65 (6) , 689-693
33. Kikkawa, Aya, Yoshiko Uchida, & Kiyoshi Taguchi. 2005. A novel method for estimating the adaptive ability of guide dogs using salivary SIgA. *J Vet Med Sci.* 67. (7) , 707-712
34. Kikusui, Takefumi. 2017. Oxytocin bonds between human and dog. *Jpn J Anim Psychol.* 67 (1) , 19-27
35. Knol, B. W., Dieleman, S. J., Bevers, M. M., Van den Brom, W. E., & Molt, J. A. 1992. Effects of methods used for blood collection on plasma concentrations of luteinising hormone, testosterone, and cortisol in male dogs. *Vet Quart.* 14 (4) , 126-129
36. 公益財団法人 日本盲導犬協会 HP (<https://www.moudouken.net/>)
37. Levinson, Boris Mayer. 1972. *Pets and human development.*
38. Marcus, D. A., Bernstein, C. D., Constantin, J. M., Kunkel, F. A., Breuer, P., & Hanlon, R. B. 2013. Impact of animal-assisted therapy for outpatients with fibromyalgia. *Pain Med.* 14 (1) , 43-51
39. Marten, K., Shariff, K., Psarakos, S., & White, D. J. 1996. Ring bubbles of dolphins. *Sci Am*, 275 (2) , 82-87
40. Mossello, E., Ridolfi, A., Mello, A. M., Lorenzini, G., Mugnai, F., Piccini, C., ... & Marchionni, N. 2011. Animal-assisted activity and emotional status of patients with Alzheimer's disease in day care. *Int Psychogeriatr.* 23 (6) , 899-905
41. MyAssays Analysis Software Solutions (<https://www.myassays.com/home.aspx>)
42. Noda, K., Akiyoshi, H., Aoki, M., Shimada, T., & Ohashi, F. 2007. Relationship between transportation stress and polymorphonuclear cell functions of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. *J Vet Med Sci.* 69 (4) , 379-383
43. Odendaal, J. S., & Meintjes, R. A. 2003. Neurophysiological correlates of affiliative behaviour between humans and dogs. *Vet J.* 165 (3) , 296-301

44. 太田光明・大谷仲代監修.久保恵美子・永井健三訳. 2007. アニマルアシス
テッドセラピー. インターズー,東京 pp360. (原本: Aubrey, H,Fine. 2006.
Animal Assisted Therapy.上
45. ピーター パーラム, 笹月健彦. (2007) . エッセンシャル免疫学.
第一版第一刷,メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京.
46. Rendell, L., & Whitehead, H. 2001. Culture in whales and dolphins. *Behav Brain
Sci*, 24 (2) , 309-324.
47. Rooney, N. J., Gaines, S. A., & Bradshaw, J. W. 2007. Behavioural and
glucocorticoid responses of dogs (Canis familiaris) to kennelling: investigating
mitigation of stress by prior habituation. *Psysiol Behav*. 92 (5) , 847-854
48. Sandri, M., Colussi, A., Perrotta, M. G., & Stefanon, B. 2015. Salivary cortisol
concentration in healthy dogs is affected by size, sex, and housing context. *J Vet
Behav*. 10 (4) , 302-306
49. Schiffman, S. S., & Miletic, I. D. 1999. Effect of taste and smell on secretion
rate of salivary IgA in elderly and young persons. *J Nutr Health Aging*. 3 (3) ,
158-164
50. SHIN, Y. J., & SHIN, N. S. 2017. Relationship between sociability toward
humans and physiological stress in dogs. *J Vet Med Sci*. 16-0403
51. Stefanini, M. C., Martino, A., Allori, P., Galeotti, F., & Tani, F. 2015. The use of
Animal-Assisted Therapy in adolescents with acute mental disorders: A
randomized controlled study. *Complement Ther Clin*. 21 (1) , 42-46
52. Steiss, J. E., Schaffer, C., Ahmad, H. A., & Voith, V. L. 2007. Evaluation of
plasma cortisol levels and behavior in dogs wearing bark control collars. *Appl
Anim Behav Sci*. 106 (1) , 96-106
53. Spindler, P. 1961. Studien zur Vererbung von Verhaltensweisen. Verhalten
gegenuber jungen Katzen [Studies on the hereditary transmission of behaviors.
Behaviour toward young cats].*Anthropol Anz*. 25, 60-80

54. Struckus, J. E. 1989. The use of pet-facilitated therapy in the treatment of depression in the elderly: a behavioral conceptualization of treatment effect.
55. 鈴木美和. 2001. 鯨類の副腎皮質ホルモンに関する生理学的研究. 博士論文, 東京大学
56. Suzuki, M., Uchida, S., Ueda, K., Tobayama, T., Katsumata, E., Yoshioka, M., & Aida, K. 2003. Diurnal and annual changes in serum cortisol concentrations in Indo-Pacific bottlenose dolphins *Tursiops aduncus* and killer whales *Orcinus orca*. *Gen Comp Endocr.* 132 (3) , 427-433
57. Svobodová, I., Chaloupková, H., Končel, R., Bartoš, L., Hradecká, L., & Jebavý, L. 2014. Cortisol and secretory immunoglobulin a response to stress in German shepherd dogs. *Plos One.* 9 (3) , e90820
58. 田中喜秀, & 脇田慎一. 2011. ストレスと疲労のバイオマーカー. *日本薬理学雑誌*, 137 (4) , 185-188
59. 田中智夫, 太田光明, and 植竹勝治. 2004. 動物介在活動における活動形態の違いと慣れがイヌのストレス強度に及ぼす影響 (研究科分, 平成 15 年度麻布大学公的研究助成金事業研究成果報告) . *麻布大学雑誌* . 9, 113-117
60. 田中智夫, 太田光明, 植竹勝治, & 江口祐輔. 2006. 動物介在活動における活動形態の違いと慣れがイヌのストレス強度に及ぼす影響 第 2 報. *麻布大学雑誌*, 11, 126-129
61. テノブウオ J. 石川達也・高江洲義矩 (監訳) . 1989. “Human Saliva Clinical Chemistry and Microbiology. Florida: CRC Press.” 唾液の科学 一世出版
62. Trone, M., Kuczaj, S., & Solangi, M. (2005) . Does participation in Dolphin-Human Interaction Programs affect bottlenose dolphin behaviour? *Appl Anim Behav Sci.* 93 (3) , 363-374