

環境研究総合推進費 事後評価発表資料

課題番号： 自然共生領域 4-2101

体系的番号： J P M E E R F 2 0 2 1 4 0 0 1

研究課題名：

生殖細胞を活用した絶滅危惧野生動物の生息域外保全

研究代表者： 村山 美穂

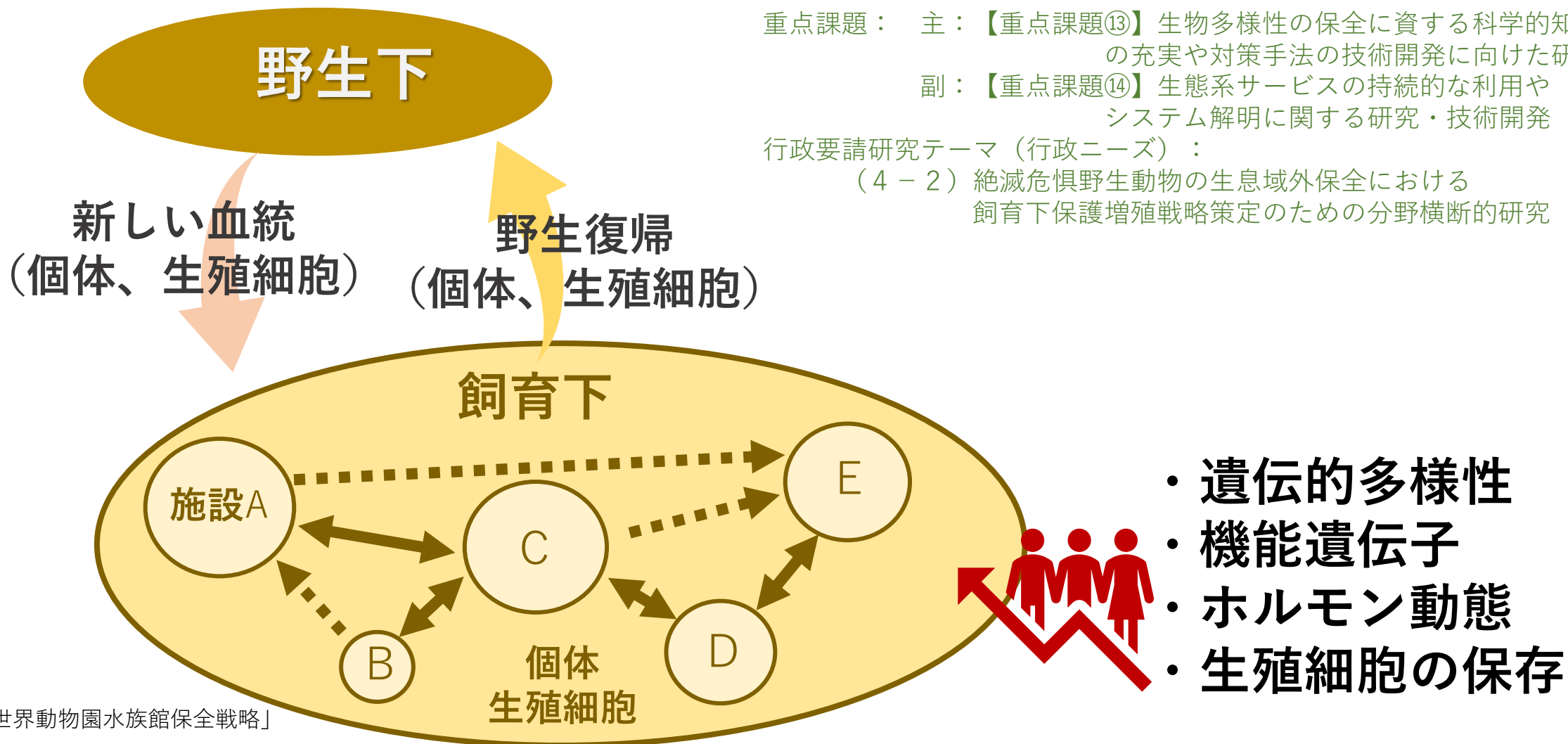
研究代表機関：京都大学

研究実施期間：令和3年4月～令和6年3月

研究体制：サブテーマ1 村山美穂（京都大学）、岐阜大学、京都市動物園
サブテーマ2 金子武人（岩手大学）
京都大学、NPO法人どうぶつたちの病院沖縄

1. はじめに（研究背景等）

2



飼育下繁殖の効率化を図り保護増殖事業に貢献

2. 研究開発目的

環境省保護増殖事業指定種、絶滅危惧ⅠA

- ・ ツシマヤマネコ

野生 90-100個体

飼育 10施設31個体

3年で6個体出生、4個体成育

課題：飼育下繁殖の成績の安定



- ・ ヤンバルクイナ

野生 1500個体

飼育 72個体

3年で39個体出生（孵化調整後）、野生復帰試験により34個体放鳥

課題：飼育個体群の遺伝的多様性の持続的な維持



3. 研究目標（全体）

繁殖基盤情報整備と繁殖補助技術により、

- ・ 遺伝的多様性、繁殖関連遺伝子、年齢
- ・ 発情、排卵、ストレス

- ・ 情報に基づく
ペア形成

- ・ 生殖細胞保存法の開発

保存生殖細胞を用いて



受精卵作出を試行

個体を移動せずに生殖細胞の移動で
飼育下繁殖（個体数増）を可能に



産子作出を試行

生殖細胞を用いた産子作出により
野生個体群と同様の遺伝的多様性を維持

3. 研究計画

4. 研究開発内容

令和3（2021）年度：
基盤構築

令和4（2022）年度：
相互補完

令和5（2023）年度：
繁殖実現

サブ テーマ1 基盤情報

- 1-1 遺伝マーカーの整備
- ・ 遺伝的多様性の評価
 - ・ 血縁度の解析
 - ・ 個体群存続可能性分析
- 1-2 ホルモン解析用試料の蓄積
- 1-3 行動データの取得

- 1-4 繁殖関連機能遺伝子の同定
- 1-5 DNAメチル化による
年齢推定
- 1-6 発情予測・排卵の有無
- 1-7 ストレス指標の確立

- 1-8 個性に合わせた飼育管理や
最適な繁殖ペアを提案

基盤情報と
生殖機能の関連

サブ テーマ2 繁殖補助

- 2-1 生殖組織の採取法の確立
- 2-2 精子、卵子の保存法の開発

- 2-3 精子の受精能力の検討
- 2-4 卵子の発育能力の検討
- 2-5 人工授精法の確立
(ヤンバルクイナ)

- 2-6 保存生殖細胞から
受精卵作出を試行
(ツシマヤマネコ)
- 2-7 保存精子から人工授精で
産子作出を試行
(ヤンバルクイナ)

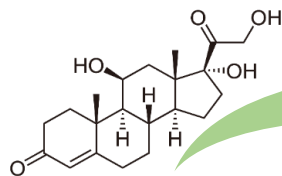
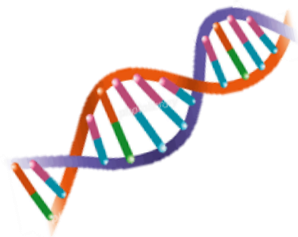
3. 研究計画

4. 研究開発内容

6

サブテーマ1

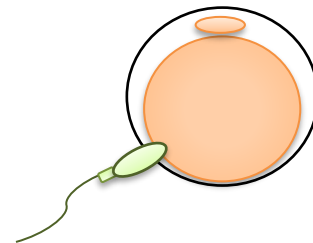
繁殖に関わる基盤情報の整備
(ゲノム・内分泌情報の統合)



連携
情報共有

サブテーマ2

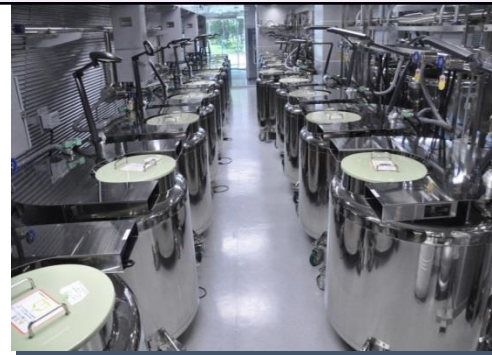
生殖細胞の活用と人工繁殖
(繁殖補助技術)



解析用
試料提供

生殖細胞
長期保存

国立環境研究所 (研究協力機関)

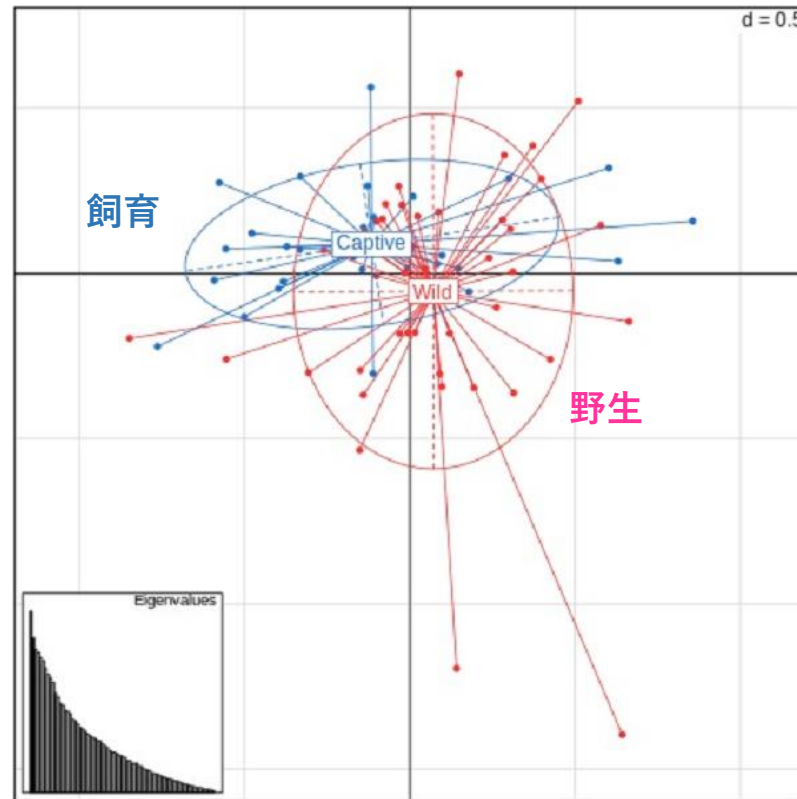


5. 結果及び考察：サブテーマ1

7

1-1 遺伝マーカーの整備・遺伝的多様性の評価・血縁度の解析

GRAS-Di解析 (Ito *et al.* 2022)



遺伝マーカー整備：139SNP

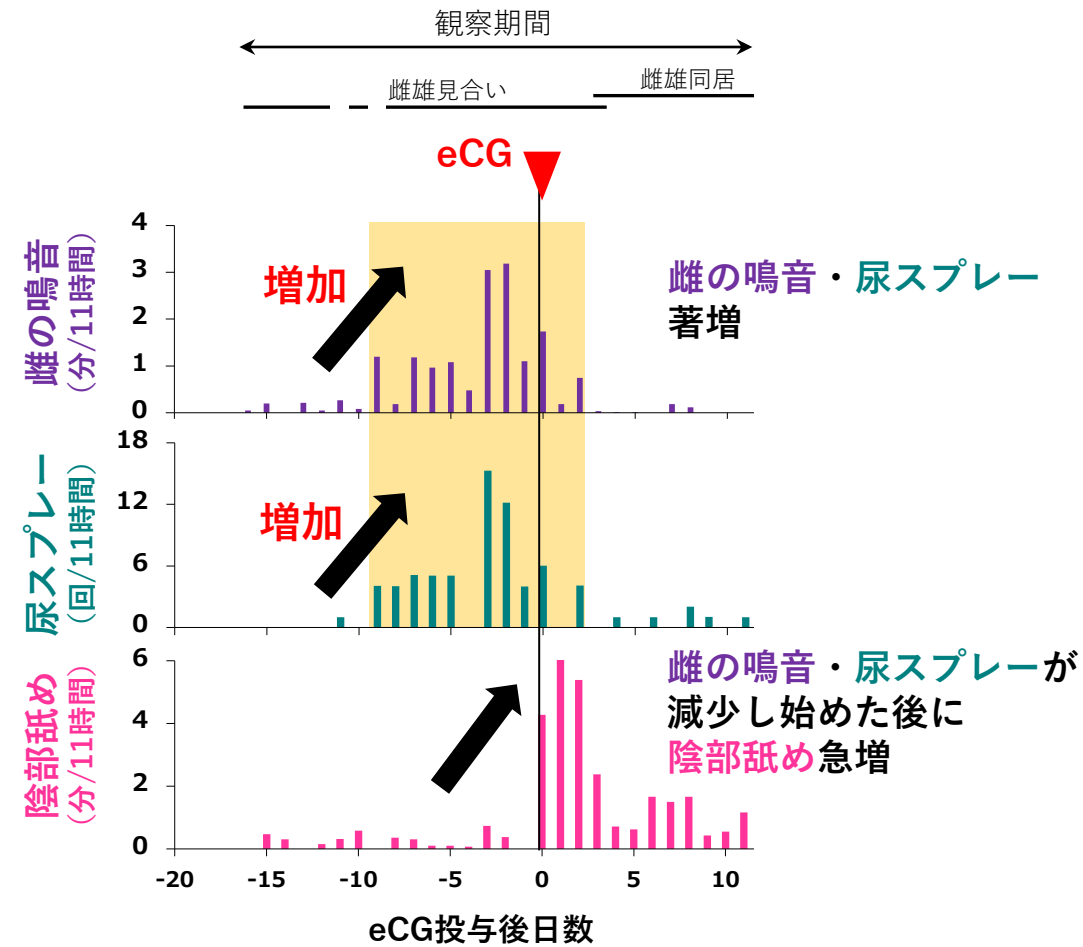
遺伝的多様性指標は飼育集団と
野生集団で変わらない

5. 結果及び考察：サブテーマ1

1-2, 3, 6 発情予測：ツシマヤマネコ

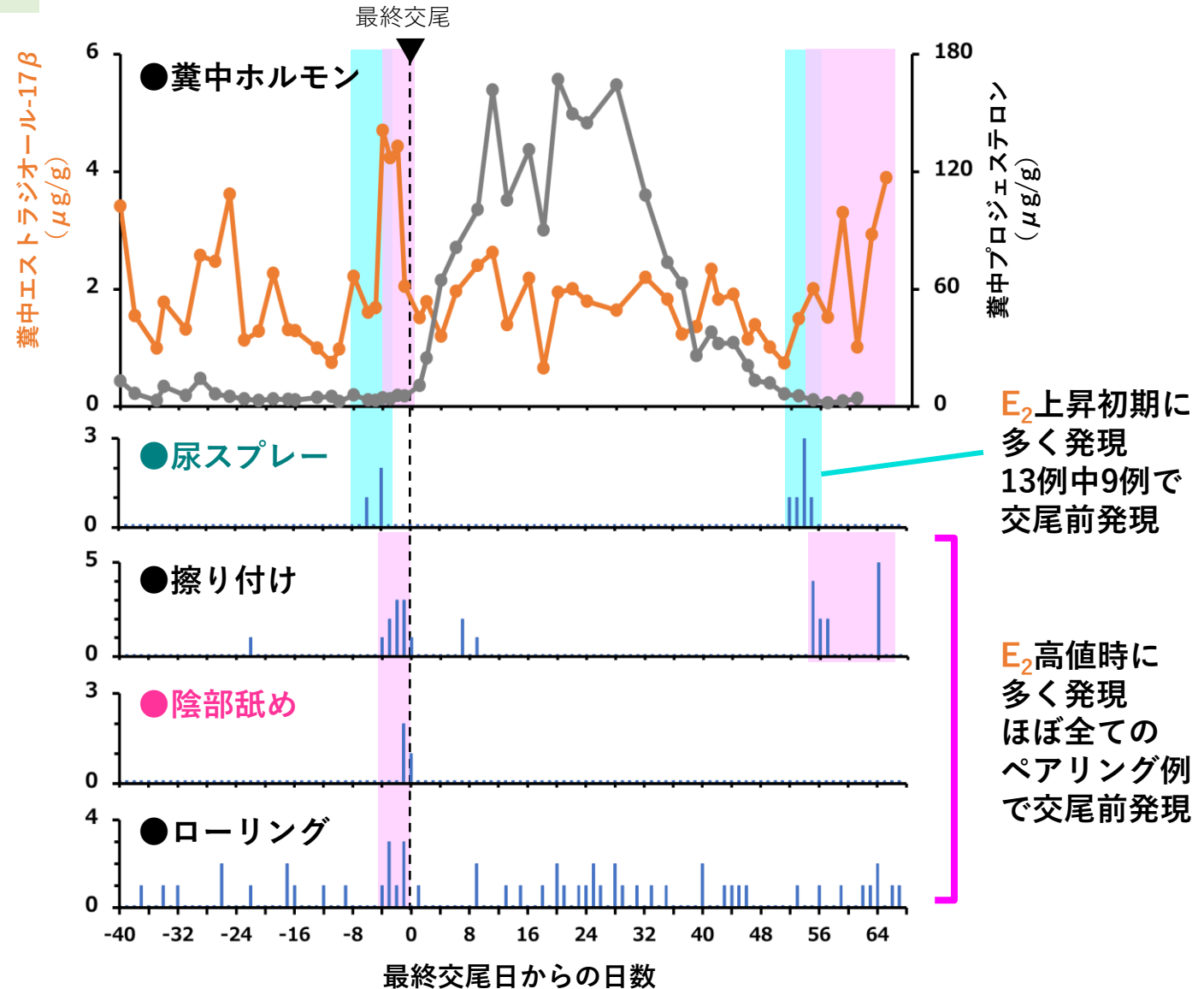
① 同属のスナドリネコ

発情誘起にホルモン剤投与・詳細観察



② 多数のツシマヤマネコ

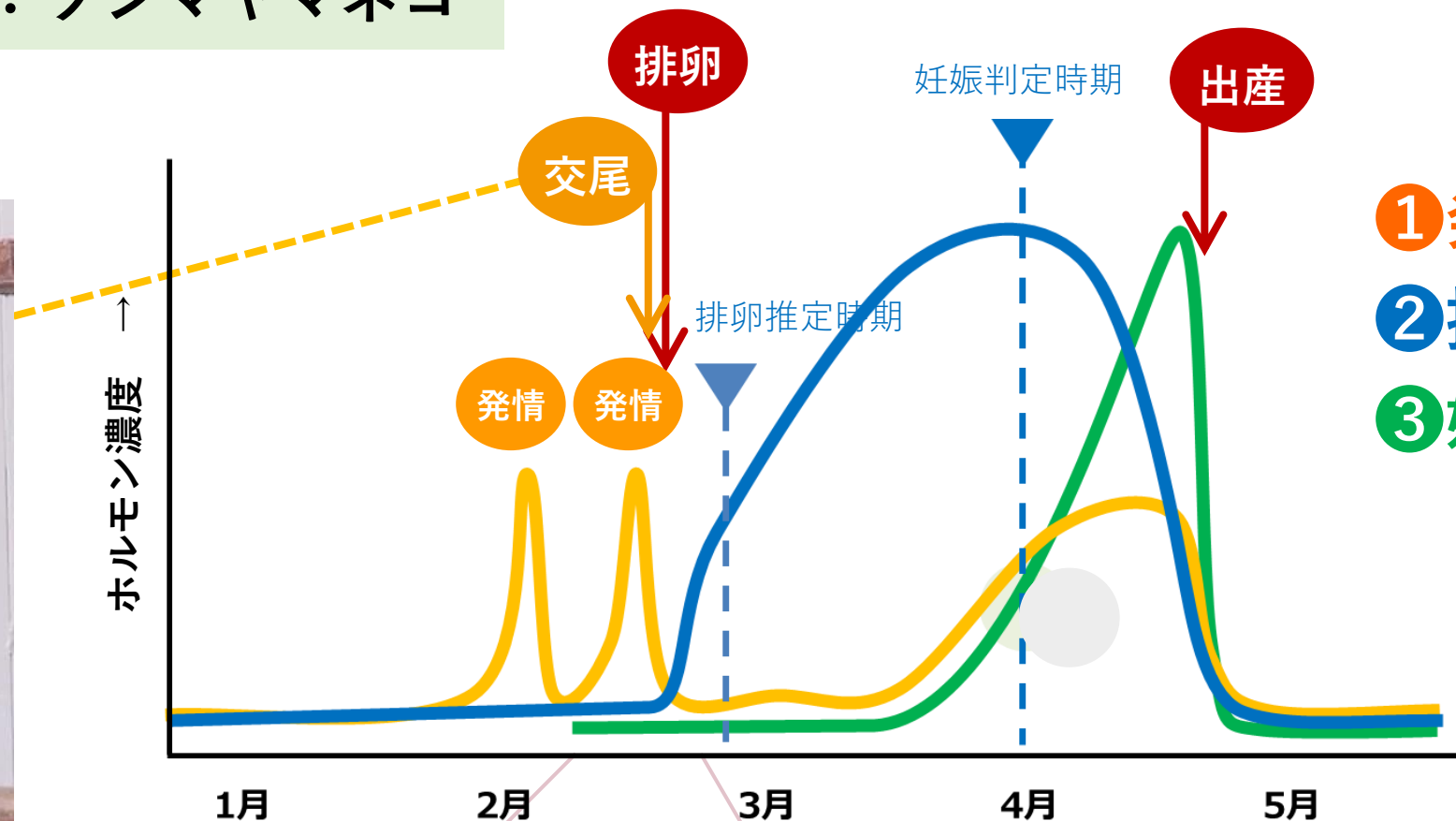
共通の記録シートで発情期周辺を重点観察



5. 結果及び考察：サブテーマ1

9

1-2, 3, 6 発情予測：ツシマヤマネコ



- ①発情把握
- ②排卵確認
- ③妊娠判定

妊娠 63~64日間 (最終交尾後日数)

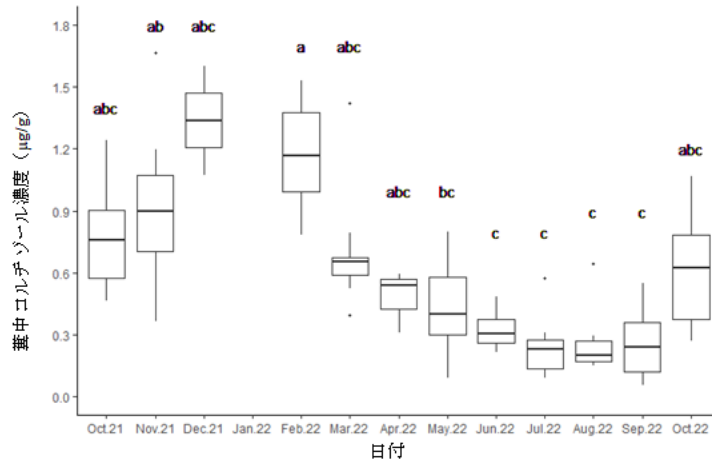


- 糞中エストロゲン代謝物 (発情ホルモン)
- 糞中プロジェステロン代謝物 (黄体ホルモン)
- 糞中プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ 代謝物

5. 結果及び考察：サブテーマ1

1-2, 3, 7 行動データの取得、ストレス指標の確立：ツシマヤマネコ

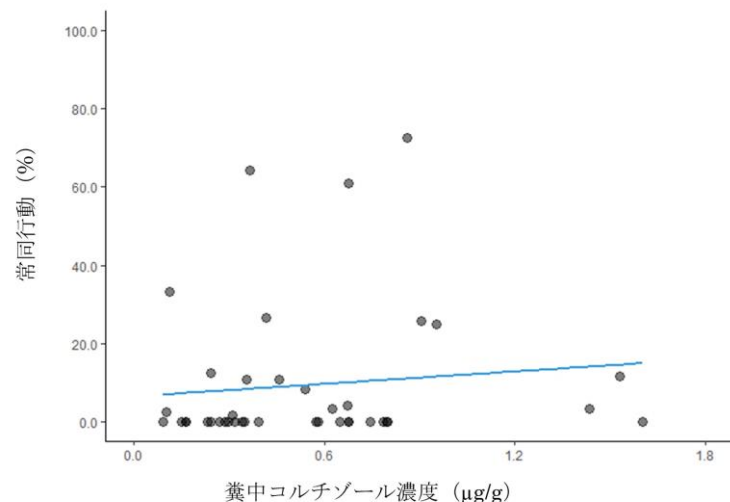
雄個体の糞中コルチゾール濃度の月変化



■糞中コルチゾール濃度変化に季節性が認められる個体もいた

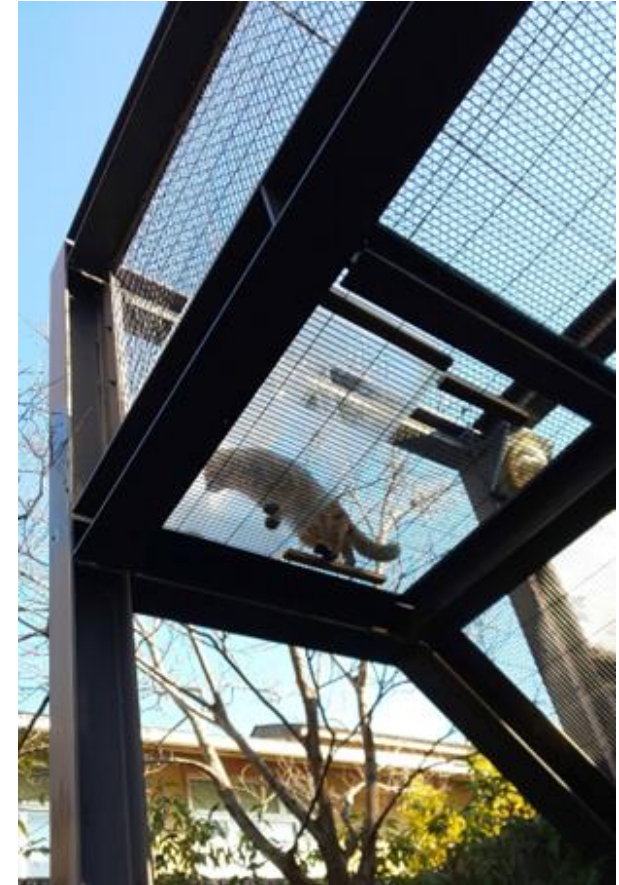
- ➡複数種のヤマネコを対象にした研究においても糞中コルチゾールの平均濃度は夏季が最も低く、春季と秋季に高い傾向あり (Piñeiro et al., 2012)
- ➡個体差があるものの、ツシマヤマネコにおいても糞中コルチゾール濃度に季節性がある可能性が示唆

雄個体における糞中コルチゾール濃度と常同行動との相関性 ($r = 0.214$, $p = 0.185$)



■行動変化とコルチゾール濃度変化に関しては、多くの動物種ではストレス状態では「歩行・探索」や「常同行動」を示すことが知られている (Vyas and Chattaji, 2004)

- ➡観察対象個体 (No.41) においては、これら行動と糞中コルチゾール濃度との間に有意な相関は見られなかった。
 - ➡一方で、寝室などの視界外で動かない様子が観察された。
 - ➡これは、ベンガルヤマネコやマーゲイなどの小型ネコ科動物における報告と類似した結果となった。
- 小型ネコ科動物という捕食者であると同時に被食者でもある種の性質が関連していると考えられた。



5. 結果及び考察：サブテーマ2

2-1, 2 生殖組織の採取・保存法の確立：ツシマヤマネコのオス



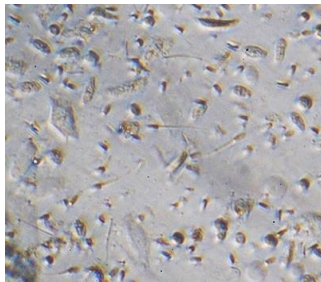
死亡個体の発見・回収



精巣組織の摘出



梱包・発送



岩手大で精子回収



精子解析・保存

- 精巣組織摘出から岩手大到着まで48時間で完了

成果

- 精巣組織の短時間輸送を確立
- 死亡個体から運動精子の回収が可能
- 受精卵作製に利用できる精子を確保
- 運動性のない精子はフリーズドライ保存することで顕微授精に利用

5. 結果及び考察：サブテーマ2

12

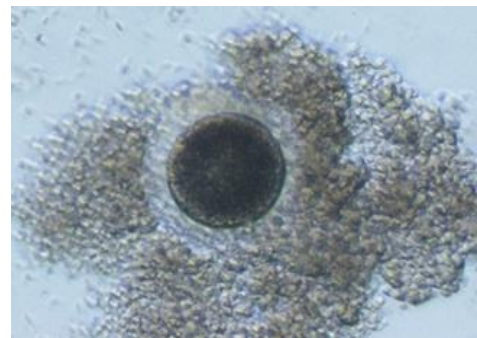
2-3 精子の受精能力の検討：ツシマヤマネコのフリーズドライ精子



精子核の形成を確認（赤円内）



受精能力がある



保存精子を卵子と受精

5. 結果及び考察：サブテーマ2

2-1, 2, 3 生殖組織の採取・保存法の確立：ツシマヤマネコのメス



死亡個体の発見・回収

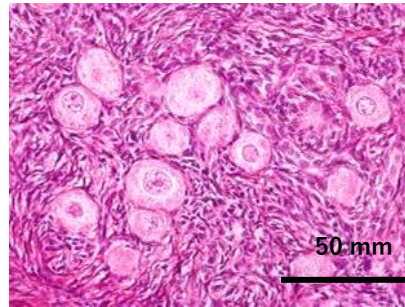
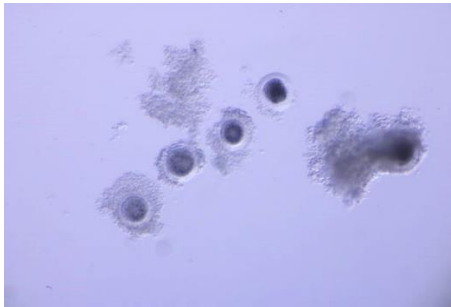


卵巢組織の摘出



梱包・発送

- 卵巢組織摘出から京都大到着まで48時間で完了



京都大で卵子・卵巢皮下組織回収・保存

成果

- 死亡個体から卵子の回収・保存が可能
- 体外成熟・体外受精に利用可能な卵子を確保
- 卵巢組織の短時間輸送を確立
- 卵子が回収できない個体でも、卵巢組織ごと凍結保存することで、未成熟卵子を保存

5. 結果及び考察：サブテーマ2

2-2, 3, 5, 7 生殖組織の採取・保存法の確立：ヤンバルクイナのオス

成果

- 飼育個体を使用できるため計画的な採取が可能
- 飼育施設で採精から保存までの作業環境を構築
- 糞便の混入しない精液採取法を樹立
- 精子の濃度、運動精子率は個体毎の差はあるが、
人工授精に利用可能な凍結精子を確保
- 凍結精子人工授精プロトコールを確立



5. 結果及び考察：サブテーマ2

2-1, 2 生殖組織の採取・保存法の確立：ヤンバルクイナのメス



死亡個体の発見・回収



卵巣組織の摘出

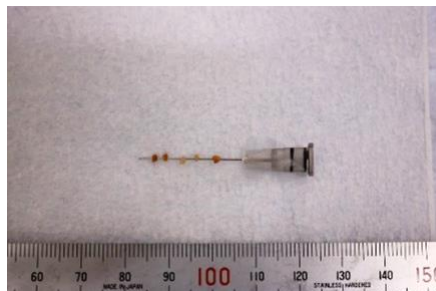


梱包・発送

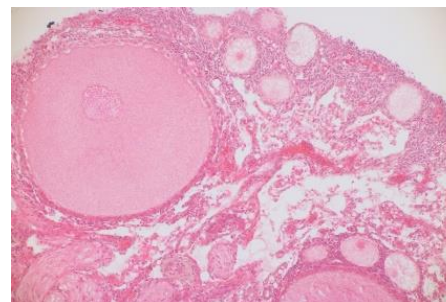
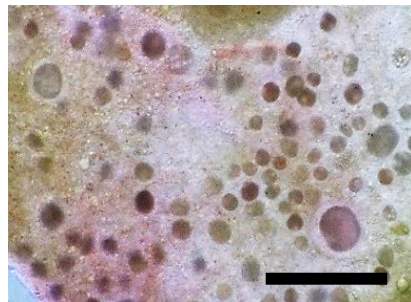
- 卵巣組織摘出から京都大到着まで24時間で完了

成果

- ニワトリをモデルに、卵巣組織の輸送・保存条件を検討 (Fujihara *et al.* 2022)
- 死亡個体から生存した卵子の回収・保存が可能
- 定温輸送容器を用いることで、卵巣組織の短時間、安定した冷蔵輸送を実現



京都大で卵巣組織解析・保存



※ニュートラルレッド染色、組織観察により、卵子の生存性を確認

6 (1) . 達成状況

16

令和3（2021）年度：
基盤構築

令和4（2022）年度：
相互補完

令和5（2023）年度：
繁殖実現

サブ テーマ1 基盤情報

1-1 遺伝マーカーの整備

- ・ 遺伝的多様性の評価
- ・ 血縁度の解析
- ・ 個体群存続可能性分析

1-2 ホルモン解析用試料の蓄積

1-3 行動データの取得

1-4 繁殖関連機能遺伝子の同定

1-5 DNAメチル化による 年齢推定

1-6 発情予測・排卵の有無

1-7 ストレス指標の確立

1-8 個性に合わせた飼育管理や 最適な繁殖ペアを提案

→ ストレス指標の個体差（ヤマ
ネコ）や繁殖周期（ヤマネコ、
クイナ）の情報提供

サブ テーマ2 繁殖補助

2-1 生殖組織の採取法の確立

2-2 精子、卵子の保存法の開発

2-3 精子の受精能力の検討

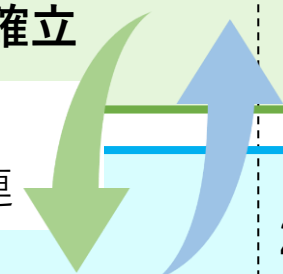
2-4 卵子の発育能力の検討

2-5 人工授精法の確立 （ヤンバルクイナ）

2-6 保存生殖細胞から 受精卵作出を試行 → 作出！ （ツシマヤマネコ）

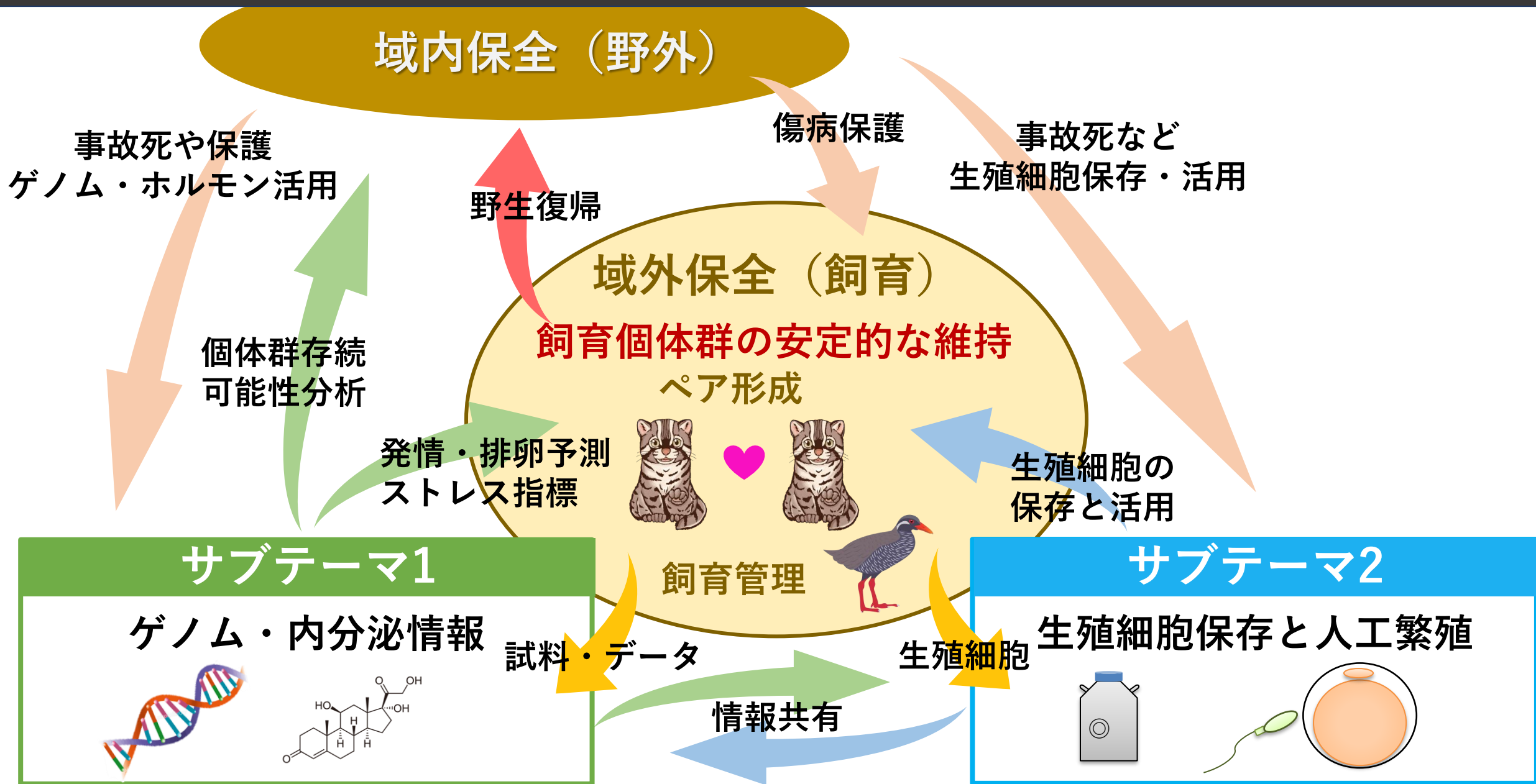
2-7 保存精子から人工授精で 産子作出を試行 → 受精確認 （ヤンバルクイナ）

基盤情報と
生殖機能の関連



6 (1) . 達成状況

17



6 (2) . 環境政策等への貢献

◆政策決定者向けサマリー

サブテーマ1：基盤情報の整備

- ・ 個体群存続可能性予測にもとづく個体数維持の方策
- ・ DNAメチル化率にもとづく年齢推定指標の活用
- ・ 繁殖に関わるホルモン動態による排卵と発情回帰時期の推定法の確立
- ・ 繁殖（発情）に関わる行動指標の確立
- ・ ストレスの指標となるホルモン動態と行動の情報共有体制

サブテーマ2：生殖細胞の活用

- ・ 効果的なツシマヤマネコの生殖細胞の保存・管理体制の整備
- ・ 効果的なヤンバルクイナの生殖細胞の保存・管理体制の整備

◆活用済みの成果

- ・ ツシマヤマネコ計画推進会議（令和3年7月、令和4年7月、令和5年7月）等で情報提供
- ・ 繁殖に関わるホルモン動態と行動による排卵と発情回帰時期の推定
- ・ 生殖細胞保存に向けた死亡個体からの組織採取・輸送の条件
- ・ 沖縄・つくばの施設で、ヤマネコの一部とヤンバルクイナの生殖細胞保存

- 今後に向けて
- ・ ツシマヤマネコの繁殖停滞要因調査のための体制を整備
 - ・ 猛禽類など、他種にも応用可能な体制を整備

7. 研究成果の発表状況

19

査読論文**14**件、その他誌上発表**15**件、学会発表等**76**件（学会賞受賞**3**件）、対話**22**件、報道**33**件



京都市動物園やまねこ博覧会

（令和3年10月17日、令和4年10月15日、令和5年10月15日）

ポスター発表「ツシマヤマネコにおける
生殖細胞を活用した生息域外保全」



公開シンポジウム

（令和4年2月5日、令和4年12月3日、令和5年12月9日）

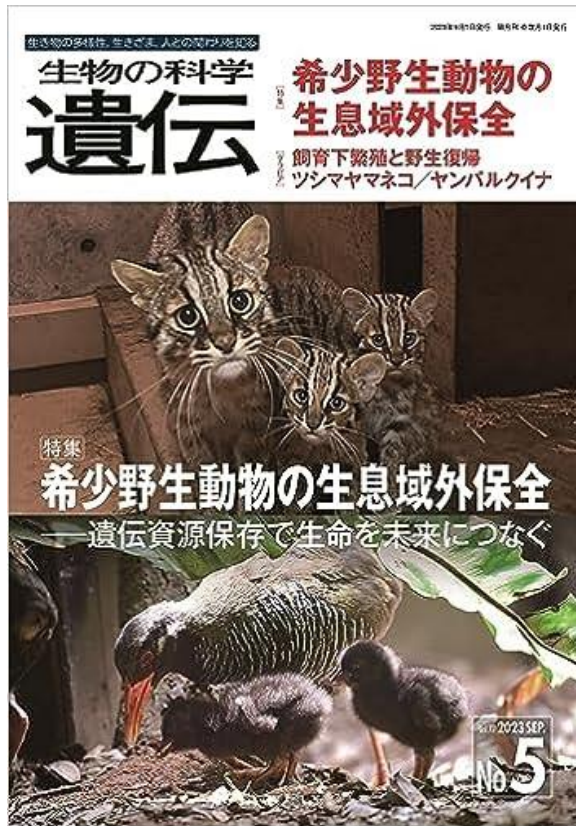
「知りたい！ツシマヤマネコ保全の最前線」

「知りたい！ヤンバルクイナ保全の最前線」

「野生動物ラボの挑戦：ヤンバルクイナと
ツシマヤマネコ保全の最前線」

7. 研究成果の発表状況

20



令和5年9月号

特集

希少野生動物の生息域外保全 —遺伝資源保存で生命を未来につなぐ—



巻頭
グラビア

- I. ツシマヤマネコの飼育下繁殖と野生復帰
- II. ヤンバルクイナの棲む森と生息域外保全

畑 大二郎/木清 貴平 (環境省対馬自然保護官事務所)

長嶺 隆/中谷 裕美子 (NPO法人どうぶつたちの病院沖縄)

総論

ゲノム、ホルモン、細胞から
生息域外保全を促進する
—ツシマヤマネコとヤンバルクイナを守れ—
村山 美穂 (京都大学)

1

ツシマヤマネコの遺伝解析
—保全遺伝学から保全ゲノミクスへ—
伊藤 英之 (京都市動物園)

2

ヤンバルクイナにおける
遺伝資源保存の現状
大沼 学 (国立環境研究所)

3

動物園と進めるツシマヤマネコの繁殖生理研究
—飼育下繁殖の促進のために—
楠田 智士 (岐阜大学) / 足立 樹 (西海国立公園九十九島動物園)

4

「ストレス」を行動とホルモンから推測する
—ツシマヤマネコの研究を例に—
田中 千聖 (京都大学) / 伊藤 英之 (同上) / 伊谷 原一/木下 ことえ (京都大学)

5

希少野生動物の人工繁殖を目的とした
精子保存と受精技術
—希少野生動物配偶子バンクの構築と人工繁殖の実現に向けて—
金子 武人 (岩手大学)



6

希少野生動物の卵子保存の可能性
藤原 摩耶子 (京都大学)

7

DNA メチル化から動物の年齢を知る
齊 恵元 (京都大学)

連載

◆リレー連載:科学捜査と遺伝学

DNA によるイヌやネコの個体識別
旭 愛 (科学警察研究所)

◆植物を集める!!—第11回

ジャガイモの種子
長田 敏行 (京都大学名誉教授、法政大学名誉教授)

◆大学初年次における生命科学実験

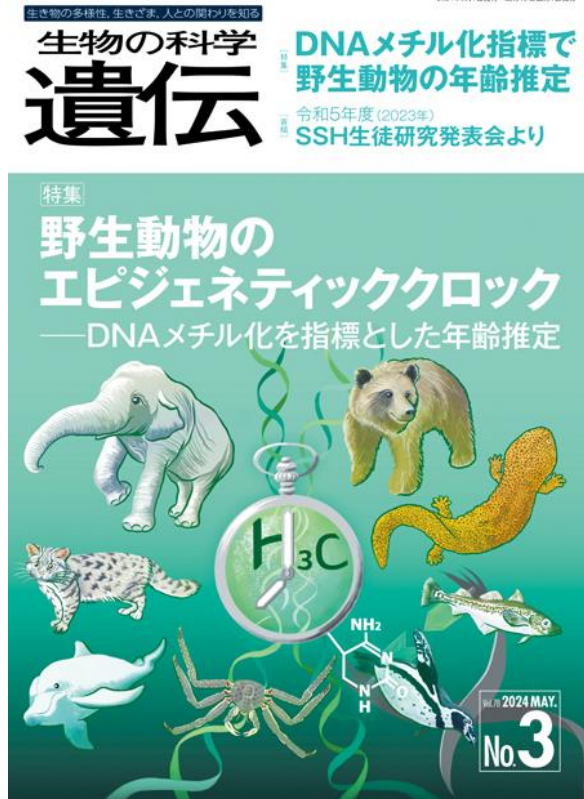
生理学実験における多数データの取り扱いを学ぶ
齋藤 直人 (同志社大学)

◆実験観察の勘どころ

メダカの飼育・採卵と胚発生の観察の留意点
～小学校理科授業での活用から探究的な学習における取り扱いまで～
向 平和/中村 依子 (愛媛大学)

◆高校生物・ワクワク宣言!!

生徒の多彩な興味・関心に応じた主体的な研究活動
身のまわりの生物・現象からテーマを見つけ、深める過程
三上 恭彦 (広島県立広島国泰寺高等学校)



令和6年5月号

特集-総論 エピジェネティッククロックを活用した
野生動物の遺伝資源保全—老化の謎に迫る 村
山 美穂 (京都大学)

特集1 チンパンジーなど飼育動物の年齢推定—飼育
個体群はどのように貢献しうるか 伊藤 英之
(京都市動物園)

特集3 ネコ科の多様な種におけるエピジェネティ
ッククロックの開発—小型種から大型種、飼育
から野生まで 齊 恵元 (京都大学)

7. 研究成果の発表状況

21

ウェブサイト

環境研究総合推進費

-生殖細胞を活用した絶滅危惧野生動物の生息域外保全-

2021年度～2023年度 課題番号4-2101

トップページ

研究内容

研究体制（メンバー）

お知らせ・報告

研究業績

リンク

HPについて



絶滅危惧野生動物の生息域外保全の実現に向けた研究活動を行っています。