

③ 動物園と進めるツシマヤマネコの繁殖生理研究 ——飼育下繁殖の推進のために

楠田 哲士 *Satoshi Kusuda*

岐阜大学 応用生物科学部 教授／動物園生物学研究センター長／
日本動物園水族館協会 生物多様性委員会 外部委員

足立 樹 *Itsuki Adachi*

西海国立公園九十九島動植物園 課長代理／
日本動物園水族館協会 生物多様性委員会 ツシマヤマネコ専門技術員

絶滅危惧種ツシマヤマネコの生息域外保全が動物園で進められている。岐阜大学では、公益社団法人日本動物園水族館協会との共同研究として、繁殖生理の調査研究と検査を担当している。自然な発情・排卵・妊娠の状況や人工的な発情排卵誘起状況などを糞中の性ホルモン濃度動態を分析することで非侵襲的に調べ、動物園での繁殖の推進に役立てている。

1 ツシマヤマネコの保護増殖事業

ツシマヤマネコは、長崎県の対馬にのみ生息する固有の小型ネコ科動物で、ベンガルヤマネコ (*Prionailurus bengalensis*) という種のうちの一亜種とされている。

ベンガルヤマネコは、東アジアや南アジアに広く分布し、北はロシア極東から南はシンガポールまで生息している¹⁾。十数種類の亜種に分けられ、そのうちの一亜種であるアムールヤマネコ (*P. b. euptilurus*) の日本の個体群をツシマヤマネコとよんでいる。日本にはほかにもう1種、沖縄県の西表島にのみ、同じくベンガルヤマネコの亜種であるイリオモテヤマネコ (*P. b. iriomotensis*) が生息している。両亜種とも環境省のレッドリストで絶滅危惧IA類(CR)と評価され、日本産哺乳類の中で最も絶滅のおそれの高い動物である。どちらも「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律(種の保存法)」による国内希少野生

動植物種に指定され、また同法に基づく保護増殖事業計画もそれぞれ策定されている。さらにツシマヤマネコに対しては、保護増殖事業の一環として、生息域外保全も進められ、飼育繁殖個体の今後の野生復帰も想定されている。

ツシマヤマネコの生息数は、1960年代の推定250～300頭から減少し続け、2010年代前半の



ツシマヤマネコ



図1 飼育下で自然繁殖と人工授精(腹腔鏡下卵管内授精)で初めて生まれたツシマヤマネコ

左：2000年4月18日生まれ（雌、生後36日齢）（写真提供：福岡市動物園），
右：2021年3月18日生まれ（雌、生後22日齢）（写真提供：よこはま動物園）

調査結果では約100頭または約70頭と推定されている。2010年代後半の調査結果では約100頭または約90頭となり、下げ止まったと考えられているが、いまだ多くの課題が残っており²⁾、安心できる状況ではない。

2 ツシマヤマネコの生息域外保全

1995年に策定されたツシマヤマネコ保護増殖事業計画の中に、事業内容の一つとして「飼育下での繁殖」が掲げられている。1996年から福岡市動物園での飼育が開始され、1999年から飼育下繁殖事業が開始された。2000年4月18日に飼育下初の繁殖（出産）（図1左）に成功して以来、繁殖例が増えている。

飼育個体のリスク分散と普及啓発の拡大のために、2006年に井の頭自然文化園とよこはま動物園に、2007年に富山市ファミリーパーク、2010年に佐世保市亜熱帯動植物園（現・九十九島動植物園）、2011年に名古屋市東山動植物園、沖縄こどもの

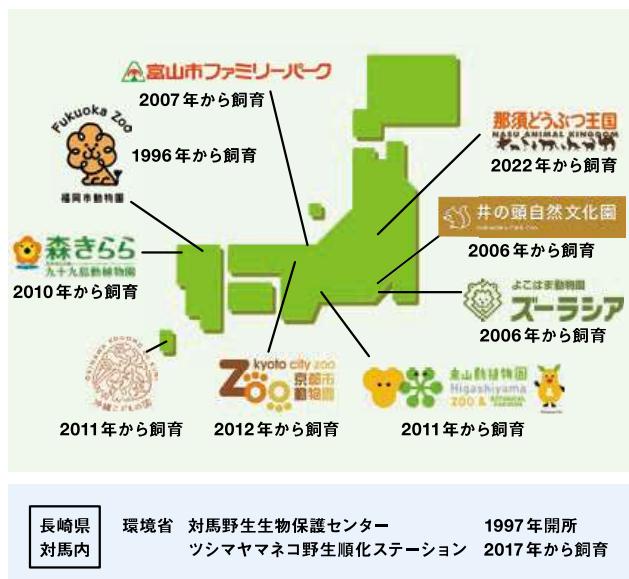


図2 ツシマヤマネコの生息域外保全の参画施設

国、盛岡市動物公園（盛岡は2018年飼育終了）、2012年に京都市動物園へと飼育施設が拡大され、「分散飼育」が進められてきた。2013年からは、公益社団法人日本動物園水族館協会（JAZA）生物多様性委員会の生息域外保全パイロット事業に位置づけられ、この活動がさらに推進されている。

2014年には、JAZAと環境省の間で「生物多様性保全の推進に関する基本協定」が締結され、さらなる連携強化により生息域外保全事業が積極的に展開されている。現在では先述の動物園のほか、那須どうぶつ王国（2022年から）を加えた九つの動物園が参画・協力している（図2）。

当初、福岡市動物園で順調に繁殖数を伸ばし、分散飼育も拡大されてきたが、2010年以降は繁殖成功例がない状況が続き、飼育個体群の高齢化も問題となり始めた。そこで、2013年には、繁殖可能性の高い個体を、生息地対馬の気候環境に比較的近いと思われる福岡市動物園と九十九島動植物園の2施設を主軸に、次いで京都市動物園と名古屋市東山動植物園に集約して拠点的に繁殖に取り組む新たな体制となった。また、井の頭自然文化園とその後よこはま動物園が精液採取や人工授精等の研究に取り組む人工繁殖の推進拠点となり、他の飼育施設もそれぞれに役割分担を明確に定め、生息域外保全事業が次のステージに入っている。それが奏功し、再び妊娠出産例が各地で増えてきた。発情兆候も明らかになりつつあり、適切な時期に雌雄のペアリングを実施可能となってきたことから、妊娠には至らなかったものの新たに交尾したペアも増え、繁殖の状況が大きく改善している。

3 繁殖生理の共同研究

繁殖施設の拠点化とともに強化・推進されてきたのが、繁殖生理の研究である。ツシマヤマネコの繁殖生理は不明な点が多く、それを解明することで繁殖のさらなる向上につなげようとしている。

筆者ら岐阜大学応用生物科学部動物繁殖学研究室では、2007年からツシマヤマネコの繁殖生理研究を進めてきた。2014年にJAZAとの共同研究となり、繁殖推進事業の一環として位置づけられた。特に、①各個体の発情兆候の把握やその指標の確立、②交尾後の排卵確認と妊娠判定、③人工授精のための発情排卵誘起法の効果の検証などを、糞

中の性ホルモン濃度動態から非侵襲的に継続して実施している。2014年以降は、JAZAとの取り決めにより、交尾が確認されたすべての雌個体を対象に、排卵確認と妊娠判定をおこなっている。

発情兆候（卵胞の発育）を正確に見極め、事故なくペアリングをおこなうことが重要である。ツシマヤマネコは季節性の交尾排卵動物であるため、交尾が見られれば、交尾後の排卵有無を判断する。そして、妊娠を早期に正確に判定するとともに、胎子の個体数を確認し、出産・育子に適した管理体制を整える。交尾後に排卵が起こっていなかつたり、排卵していても妊娠していなかつた場合には、すぐに次の発情での雄との同居を考えることができる。

これらの繁殖生理の調査研究は、岐阜大学のほか、東京動物園協会野生生物保全センター、横浜市繁殖センターの3施設で分担し、連携して実施している。

4 繁殖季節と発情期

ツシマヤマネコは、長日性の季節繁殖動物であることが知られており、生息地（野外）では、発情期が3月、出産期が5月と推定されている³⁾。飼育下では、前項の長期研究から、ほとんどの個体で2月（1月末から3月の範囲）にシーズン最初の交尾（図3）が見られ、約2ヶ月間の妊娠期間を経て4～5月に出産する。飼育下において、2月の初回交尾期に妊娠に至らず、糞中プロジェステロン代謝物濃度動態から排卵が起こっていたと考えられた場合、その黄体退行後の4～5月に発情回帰し交尾に至る例が複数個体で確認できている（例：図4）。また、出産直後に産子が死亡した場合にも、子の死亡後に発情兆候が見られ、交尾に至った例がある。野外でも8月上旬生まれと思われる幼獣の発見例があり⁴⁾、この場合5～6月に交尾したことになる。このことから、少なくとも春に2度目の保険的な発情期があることになる。

5 排卵確認と妊娠判定

飼育下の雌の糞中エストロジエン代謝物濃度の動態は、発情兆候の見られる時期や交尾期に上昇変動を示し、卵胞発育状況を反映していると考えられる⁵⁾。糞中プロジェステロン代謝物濃度は、発情兆候が見られても通常は変動せず、交尾または乗駕行動の確認後に顕著な増加を示す⁵⁾。このことから、イエネコ同様、ツシマヤマネコは交尾排卵動物である可能性が高い。しかし、飼育下個体での調査では、交尾や乗駕行動が確認されていないにも関わらず、糞中プロジェステロン代謝物濃度が増加することがある。イエネコでも、個体や系統によって、あるいは雄との近接飼育によって、自然排卵が起こることが知られている。

最終交尾後10日目までの糞を使ってプロジェステロン代謝物を測定することで排卵の有無を調査している⁶⁾(図5)。排卵が起り、糞中プロジェステロン代謝物濃度が高い期間は、発情兆候をほとんど示さなくなる。その後さらに交尾後45日目までの糞を使って、妊娠判定を実施している。雌ツシマヤマネコの糞中プロジェステロン代謝物濃度は、妊娠出産した個体では、妊娠期間の平均64.4日間(主に63~64日間)高値が続くが、出産しなかった個体(偽妊娠と考えられるが、厳密には妊娠損失の場合も含まれるかもしれない)で



図3 ツシマヤマネコ(雄No.40と雌No.65)の交尾の様子

(2016年2月29日撮影、写真提供：名古屋市東山動植物園)

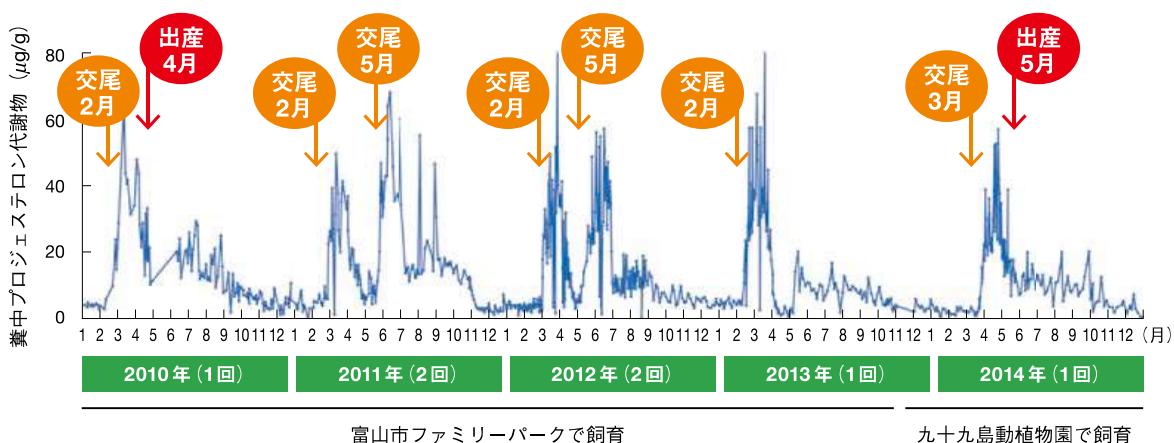


図4 雌ツシマヤマネコ(個体No.42)における5年間の糞中プロジェステロン代謝物濃度の動態とその動態から判断した排卵回数

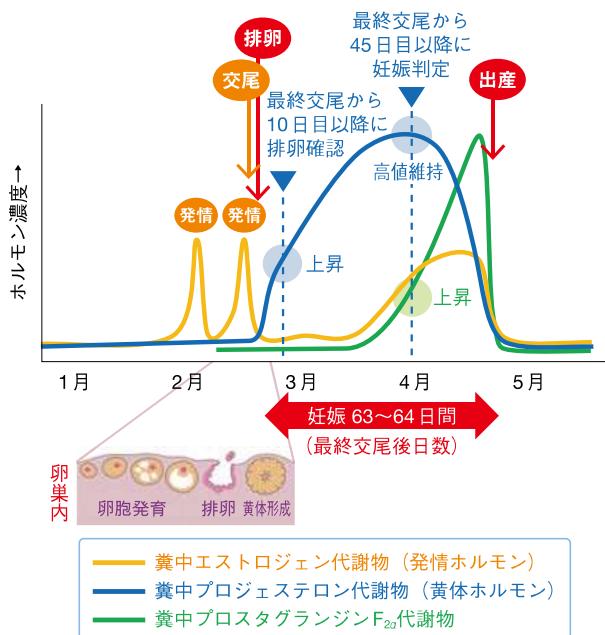


図5 ツシマヤマネコの発情・交尾・排卵・妊娠・出産における性ホルモン濃度動態の模式図

(文献6一部改変)

は2ヶ月弱で基底レベルまで減少する。ネコ科動物の複数種において、より正確な妊娠指標物質として、子宮運動や黄体退行に関わるプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ の代謝物の一種である13,14-dihydro-15-keto-PGF $_{2\alpha}$ (PGFM)が注目されている⁷⁾。糞中に排泄されたPGFM濃度の測定により、ツシマヤマネコでも妊娠判定が可能であることを明らかにした。

プロジェステロン代謝物濃度が高いまま維持されているかどうか、そしてPGFM濃度が妊娠中期以降に上昇してきているかどうかを見る妊娠判定をおこなっている。加えて、腹部超音波検査やX線検査(図6)により、胎子の存在有無や胎子数の把握がおこなわれ、周産期管理の一助とされている。

6 人工授精による繁殖

ツシマヤマネコでは、発情兆候の解明と的確な把握により発情期の雌雄ペアリングが実施されて

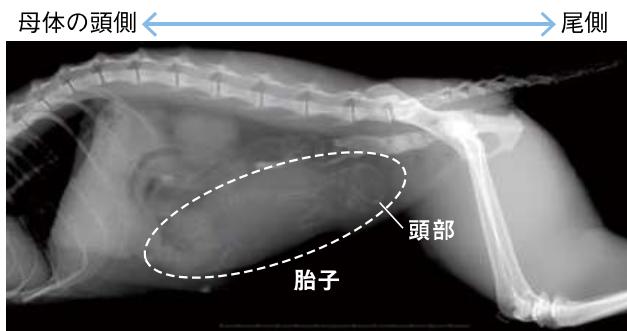


図6 ツシマヤマネコ(個体No.89)の妊娠判定と胎子数確認のための腹部X線検査像

(2023年4月10日撮影、写真提供：名古屋市東山動物園)



図7 カテーテル法により採取されたツシマヤマネコ(個体No.85)の精子

(2023年7月4日撮影、写真提供：九十九島動物園)

いる。しかし、個体や時期によっては、闘争等の事故に至ることもないわけではない。また、遺伝的に重要な雌雄の組み合わせであっても、相性の問題や負傷等による障害あるいは四肢の一部欠損などで、繁殖に懸念のある個体もある。さらに、一年のうちで限られた繁殖季節を最大限繁殖に生かすことや、繁殖のための個体の移動リスクとストレスを軽減する観点も必要である。そのため、雌雄のペアリングによる自然繁殖(自然交配)と並行して、人工授精等の生殖補助技術を開発しておくことも重要である。人工授精と共に、雌に対してはホルモン剤投与による発情排卵誘起、雄に対しては精液の採取と保存の技術確立がそれぞれ必須となる。

精液採取は、麻酔下での電気刺激法およびカ

テーテル法(図7)でおこなわれている。精液性状は個体や採取時期によって異なるため、良好な精液を採取できるようにすることも課題である。人工授精目的以外でも精液採取が実施されている。雄の妊娠性の確認のために精液性状の検査を実施したり、繁殖に寄与していない個体もしくは死亡個体において遺伝資源として精子を凍結保存したりすることもある。今後、JAZAと動物園水族館繁殖研究アライアンス(ZARAS)*の「配偶子バンク事業の提携に関する基本協定」(2021年締結)に基づき、ZARASの推進プロジェクトの一つとしても位置づけて、実施を強化することになっている。

人工授精技術の開発は、これまでに、井の頭自然文化園とよこはま動物園を中心に進められてきた。2014年、井の頭自然文化園と日本獣医生命科学大学が中心となり、ツシマヤマネコに対するモデル動物として、アムールヤマネコにおいて新鮮精液を用いた子宮角内人工授精により、3月17日に2頭の出産(うち1頭は死産、もう1頭は雄)を成功させている⁸⁾。次いで2021年、よこはま動物園と北海道大学が中心となり、ツシマヤマネコにおいて新鮮精液を用いた腹腔鏡下卵管内人工授精により、3月18日に出産(雌1頭誕生、図1右)を成功させている⁹⁾。いずれの例も糞中の性ホルモン濃度動態から発情排卵誘起状況の検証や妊娠判定に岐阜大学が協力している。

ツシマヤマネコもアムールヤマネコも人工授精の成功例としてはおそらく世界で初めてである。一方で、生理学的にさまざまな課題も明らかになってきているため、今後も検証と研究を続けながらの技術確立が望まれる。

用語解説 Glossary

【動物園水族館繁殖研究アライアンス(ZARAS)】

日本動物園水族館協会生物多様性委員会および保全戦略部が実施する配偶子バンク事業に対し、繁殖研究や関連の情報共有等をおこなうための連携組織として設立。動物園水族館の動物を主な対象とした繁殖研究や資源保存を、相互協力して推進することで、飼育繁殖管理のさらなる向上や飼育下繁殖事業もしくは生息域外保全事業に貢献することを目的としている。

[謝辞]

本稿の内容のほとんどはJAZA生物多様性委員会ツシマヤマネコ飼育管理検討会議・飼育下繁殖推進会議の活動の一環として実施中のものである。本稿作成にあたり、JAZA、動物園、大学の各関係者の皆様と、性ホルモン分析を担当した岐阜大学の学生諸氏に感謝の意を表する。

[文献]

- Ghimirey, Y. et al. *Prionailurus bengalensis* (errata version published in 2022). The IUCN Red List of Threatened Species 2022: e.T223138747A223178117. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2022-1.RLTS.T223138747A223178117.en> (2022).
- 環境省九州地方環境事務所. 最新のツシマヤマネコ生息状況等調査(第五次調査)の結果概要について. https://kyushu.env.go.jp/pre_2020/327.html (2020).
- 山口鉄男、浦田明夫. ツシマヤマネコ. 対馬の生物. 167–180 (長崎県生物学会, 1976).
- 浦田明夫. ツシマヤマネコ—日本列島の地史を語る生き証人—(上県町役場, 1996).
- Adachi, I. et al. Fecal steroid metabolites and reproductive monitoring in female Tsushima leopard cat (*Prionailurus bengalensis euptilurus*). *Theriogenology* **74**, 1499–1503 (2010).
- 楠田哲士. ツシマヤマネコの繁殖生理研究—動物園での域外保全のために. どうぶつと動物園. **69(3)**, 32–33 (2017).
- 楠田哲士. 動物園における絶滅危惧種の繁殖学—繁殖生理を調べて飼育に生かす. 生物の科学 遺伝. **75(2)**, 136–145 (2021).
- Tajima, H. et al. Intrauterine insemination with fresh semen in Amur leopard cat (*Pionailurus bengalensis eutilura*) during non-breeding season. *J Vet Med Sci* **79**, 92–99 (2017).
- Azumano, A. et al. First successful laparoscopic oviductal artificial insemination in the endangered Tsushima leopard cat (*Prionailurus bengalensis euptilurus*). *Animals* **12(6)**, 777 (2022).



楠田 哲士 Satoshi Kusuda

岐阜大学 応用生物科学部 教授／
動物園生物学研究センター長／
日本動物園水族館協会 生物多様性委員会 外部委員
日本大学生物資源科学部卒業、岐阜大学大学院修了。
日本学術振興会特別研究員を経て、2008年から岐阜
大学応用生物科学部。専門分野は、動物保全繁殖学、動物園学。日本動物園水族館協会生物多様性委員会外部委員、日本野生動物医学会理事、動物園水族館繁殖研究アライアンス代表。主な著書に、動物園学入門(分担執筆、朝倉書店, 2014), 神の鳥ライチョウの生態と保全(編著、緑書房, 2020), 岐阜県の動物(編著、岐阜新聞社, 2021)。



足立 樹 Itsuki Adachi

西海国立公園九十九島動植物園 課長代理／
日本動物園水族館協会 生物多様性委員会
ツシマヤマネコ専門技術員
酪農学園大学酪農学部酪農学科卒業。岐阜大学大学
院修了、博士(農学)。2013年から、西海国立公園
九十九島動植物園。日本動物園水族館協会生物多様性委員会ツシマヤマ
ネコ専門技術員。