

表6 (副) 生殖器重量、精巣上体尾部精子数、精子運動能

	Control	1,2,3,4,6,7-HxCN
Body weight (g)		
PND31	99.4±13.6	99.8±13.2
PND48	229.9±23.4	242.7±18.1
PND62	332.9±29.4	332.9±19.3
PND89	453.1±29.7	458.5±14.3
Testes weight (g)		
PND 31	0.613±0.175	0.758±0.197
PND 48	2.234±0.274	2.427±0.242
PND 62	3.129±0.209	3.207±0.303
PND 89	3.599±0.343	3.522±0.237
Epididymes weight (g)		
PND 31	0.080±0.013	0.086±0.014
PND 48	0.263±0.045	0.279±0.037
PND 62	0.609±0.067	0.653±0.075
PND 89	1.148±0.167	1.077±0.051
Seminal vesicle weight (g/100 g body weight)		
PND 31	0.019±0.003	0.023±0.003
PND 48	0.067±0.015	0.089±0.021*
PND 62	0.172±0.033	0.205±0.033
PND 89	0.241±0.066	0.261±0.035
Ventral prostate weight (g/100 g body weight)		
PND 31	0.036±0.007	0.043±0.014
PND 48	0.052±0.014	0.052±0.011
PND 62	0.065±0.013	0.079±0.012*
PND 89	0.088±0.021	0.086±0.017
Caudal sperm count (×10 ⁶)		
PND 62	24.7± 8.2	45.6±10.3**
PND 89	170.0±20.9	178.7±11.3
Sperm motility		
%motile sperm		
PND62	82.5±10.8	87.0± 2.6
PND89	86.6± 5.5	88.4± 3.3
%progressively motile sperm		
PND62	49.8±27.5	46.1±23.7
PND89	63.6±26.8	48.2±31.1

Abbreviations: 1,2,3,4,6,7-HxCN, 1,2,3,4,6,7-hexachlorinated naphthalene; PND, postnatal day.

Results are expressed as mean ± SD (n=7). Statistical significance is analyzed with Student's t-test; * p<0.05, **p<0.01.

表7 対照群の破碎抵抗性精細胞数、post-meiotic 精細管の割合

	PND31	PND48	PND62	PND89
% post-meiotic tubules	24.9±18.6	99.9±0.1	(n.e.)	(n.e.)
Homogenization-resistant testicular spermatid count (×10 ⁶ /testis)	(n.e.)	36.3±19.3	98.8±15.0	150.2±18.0

Abbreviation: PND, postnatal day; n.e., not examined.

Results are expressed as mean±SD (n=7 except at PND 62 (n=6)).

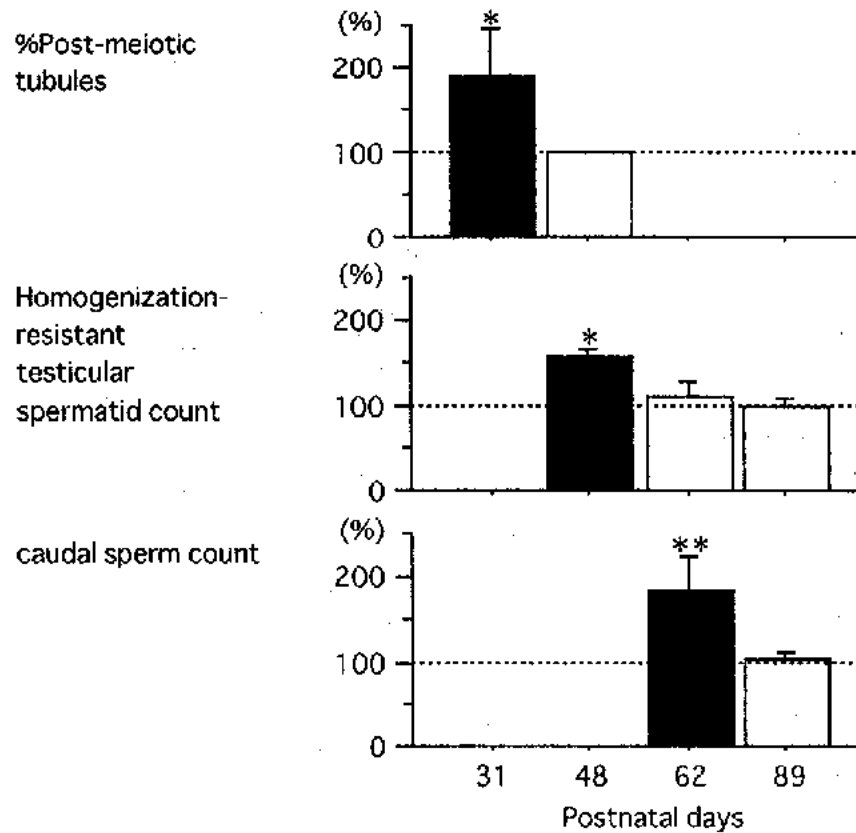


図 6 1,2,3,4,6,7-HxCN 群の精巣上体尾部精子数、破碎抵抗性精細胞数、post-meiotic 精細管の割合 (%対照群値で表示、平均値±標準偏差)

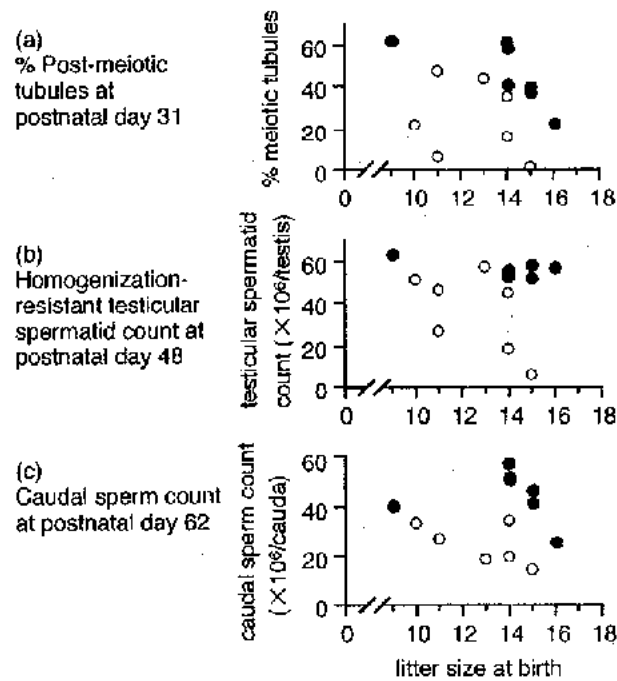


図 7 出産仔数と (a) post-meiotic 精細管の割合(生後 31 日目)、(b) 破碎抵抗性精細胞数 (生後 48 日目)、(c) 精巣上体尾部精子数 (生後 62 日目) との関係。○ ; 対照群、● ; 1,2,3,4,6,7-HxCN 群

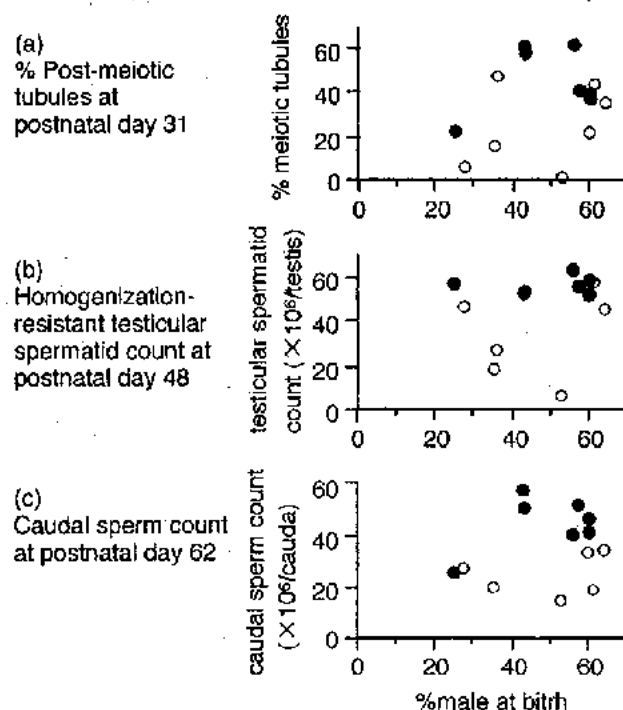


図 8 性比 (%オス) と (a) post-meiotic 精細管の割合(生後 31 日目)、(b) 破砕抵抗性精細胞数 (生後 48 日目)、(c) 精巣上体尾部精子数 (生後 62 日目) との関係。○ ; 対照群、● ; 1,2,3,4,6,7-HxCN 群

表 8 血清中 LH, FSH, テストステロン濃度および精巣の Leydig 細胞密度

		PND 31	PND 48	PND 62	PND 89
Testosterone					
>0.05 ng/ml	Control	0/7	6/7	6/6	7/7
	1,2,3,4,6,7-HxCN	4/7	6/7	7/7	7/7
mean $\pm$ SD ^a	Control	---	15.1 $\pm$ 2.7	119.5 $\pm$ 81.3	83.6 $\pm$ 61.6
	1,2,3,4,6,7-HxCN	16.9 $\pm$ 6.7	37.0 $\pm$ 32.8	219.0 $\pm$ 163.2	237.3 $\pm$ 149.8*
LH (ng/ml) ^a					
	Control	1.9 $\pm$ 0.4	3.7 $\pm$ 1.3	3.6 $\pm$ 1.1	4.2 $\pm$ 1.2
	1,2,3,4,6,7-HxCN	3.3 $\pm$ 1.1*	3.4 $\pm$ 1.4	3.7 $\pm$ 1.2	3.6 $\pm$ 0.8
FSH (ng/ml) ^a					
	Control	13.7 $\pm$ 5.3	17.3 $\pm$ 5.9	13.9 $\pm$ 4.7	13.0 $\pm$ 3.7
	1,2,3,4,6,7-HxCN	19.1 $\pm$ 1.7*	18.8 $\pm$ 8.2	14.9 $\pm$ 7.8	11.3 $\pm$ 2.1
Density of Leydig cells (numbers /10,000 μ m ²) ^a					
	Control	2.2 $\pm$ 0.5	3.1 $\pm$ 0.7	3.0 $\pm$ 0.3	3.3 $\pm$ 0.5
	1,2,3,4,6,7-HxCN	3.0 $\pm$ 1.0	3.4 $\pm$ 0.5	3.1 $\pm$ 0.3	3.6 $\pm$ 0.4

Abbreviations: 1,2,3,4,6,7-HxCN, 1,2,3,4,6,7-hexachlorinated naphthalene; PND, postnatal day. Statistical significance is analyzed with Student's t-test; * p<0.05, **p<0.01.

^aResults are expressed as mean $\pm$ SD.

表9 脂肪中の1,2,3,4,6,7-HxCN, DDE, PCBs濃度

		1,2,3,4,6,7-HxCN	DDE	PCBs
Female offsprings				
PND 0	Control	n.d.	10.52±4.89	6.36±1.00
	1,2,3,4,6,7-HxCN	22.18±6.59	13.49±6.37	6.73±3.17
PND 21	Control	n.d.	35.56±12.86	13.59±4.81
	1,2,3,4,6,7-HxCN	9.78±2.86	27.98±9.39	9.28±3.89
PND 89	Control	n.d.	16.44±2.88	9.01±1.07
	1,2,3,4,6,7-HxCN	0.45±0.08	15.86±3.40	9.70±1.01
Dam	Control	n.d.	15.78±2.98	14.06±5.17
	1,2,3,4,6,7-HxCN	5.75±2.81	15.43±3.11	14.57±3.95

Abbreviations: 1,2,3,4,6,7-HxCN, 1,2,3,4,6,7-hexachlorinated naphthalene; PND, postnatal day; n.d., not detected.

Results are expressed as mean ± SD (n=7).

The detection limits of 1,2,3,4,6,7-HxCN were 5 ppb for PND 0 offspring, 2 ppb for PND 21 offspring, 0.05 ppb for PND offspring, and 0.1 ppb for dam.

表10 1,2,3,4,6,7-HxCN 群の母仔ラットの全脂肪中の1,2,3,4,6,7-HxCN量

(1) 出生直後仔ラット (／匹)	1.48±1.64 ng
(2) 離乳直後仔ラット (／匹)	13.1-26.2 ng (推定) ¹⁾
(3) 離乳直後母ラット (／匹)	178-214 ng (推定) ²⁾
(4) 出生時までの全仔ラットへの 移行量	19.0±21.3 ng ³⁾
(5) 離乳時までの全仔ラットへの 移行量	133-264 ng (推定) ⁴⁾

※母ラットへの1,2,3,4,6,7-HxCNの総投与量 927±42 ng

¹⁾ 離乳直後での脂肪の割合を体重の3-6%と仮定,

平均体重 オス; 47.1±6.7 g, メス; 46.2±6.5 g

²⁾ 離乳直後の母ラットの脂肪の割合を体重の10-12%, 体重を310 gと仮定

³⁾ (1)×出生仔数

⁴⁾ [(2)×(授乳したラットの数)] + [(1)×(出生直後に間引きしたラットの数)]

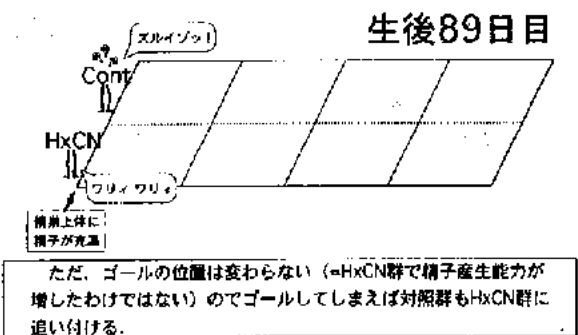
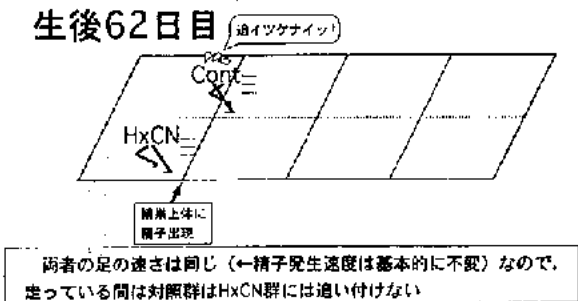
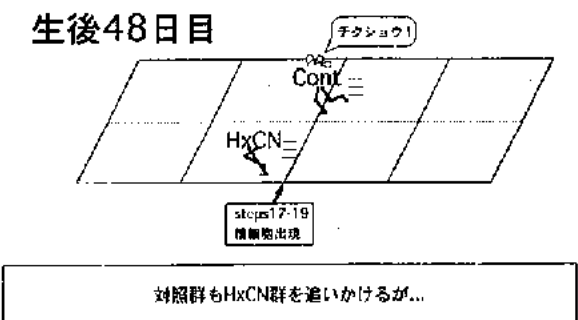
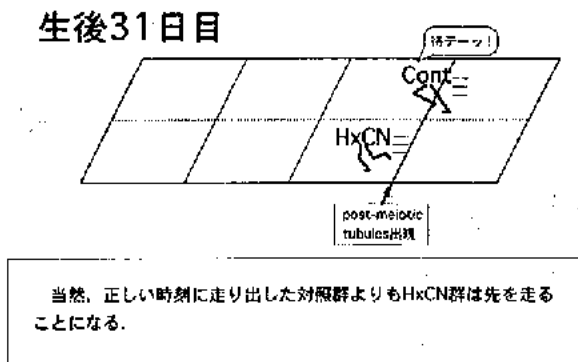
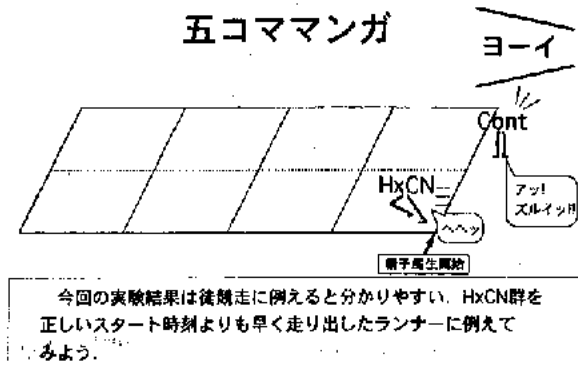
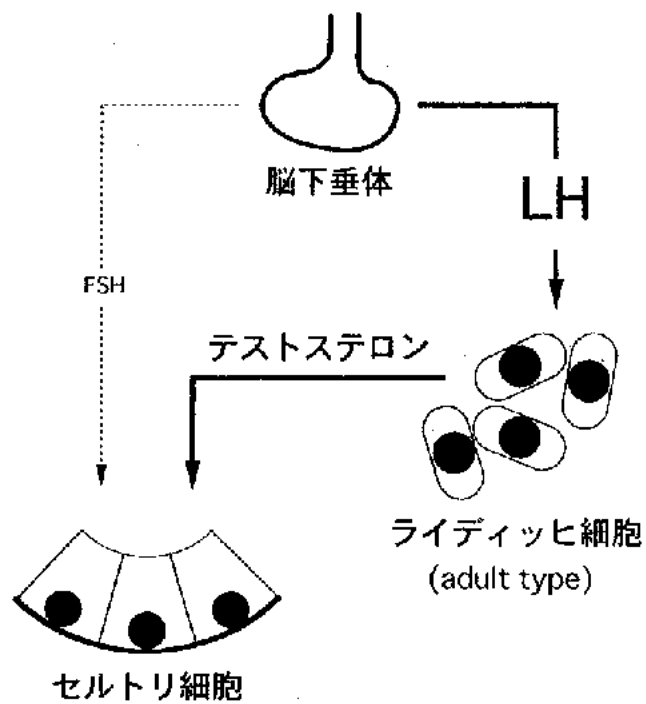
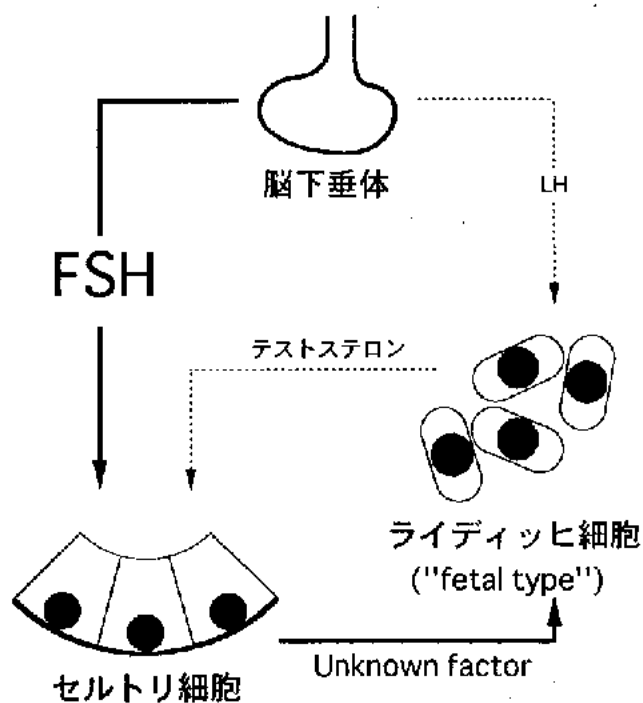


図9 なぜ精子発生開始時期が早まると今回のような実験結果になるのか？



精子発生はセルトリ細胞を介して内分泌学的には制御されており、また、セルトリ細胞の機能は主にLH-テストステロン系の支配下にある。

図 10a セルトリ細胞機能の制御（性成熟後）



ただし、胎児期から生後2週間くらいまではセルトリ細胞の機能は主にFSHの支配下であり、最初の精子発生の開始もFSHの濃度上昇が引き金となる（ラットの場合）。

図 10b セルトリ細胞機能の制御（生後約2週間まで）

7. 環境生物の免疫影響に関する研究

研究者 小林 隆弘 (国立環境研究所)
菊池 慎一 (千葉大学海洋バイオシステムセンター)
小宮山一雄 (日本大学歯学部)
高橋 慎司 (国立環境研究所)
平野靖史郎 (国立環境研究所)
古田恵美子 (獨協医科大学)
吉田 貴彦 (旭川医科大学)
和合 治久 (埼玉医科大学短期大学)

研究要旨

生物は免疫機能を発達させ、微生物の侵入を排除し生活している。この免疫機能が低下することは潜在的に病原性のある微生物の侵入を許し、生物にとって致命的な影響を与える可能性がある。バルト海など汚染が進んでいる海域での海棲哺乳動物の大量死は有害化学物質の汚染により免疫機能が低下したことによる感染が原因と推定された。これまで、化学物質が免疫機能におよぼす影響に関する研究のほとんどがマウスなどの実験動物を使ったもので、多様な生物の免疫機能にどのような影響があるかについての検討はほとんどなされていないといっても過言ではない。生物の免疫機能は共通するものと各生物に特異的なものがあるため化学物質の影響の受けかたが異なってくることが予想される。そこで、本研究では、環境汚染有害化学物質が各種生物の免疫機能にどのような影響を及ぼすかを解明することを目的とし、1) いくつかの指標生物を中心とした生物の免疫機能についての文献調査、2) 有害化学物質が各種生物の免疫機能におよぼす影響についての文献調査、および、3) 今後の研究について考察した。1) については脊椎動物として哺乳類、鳥類、両生類、魚類、また、無脊椎動物として軟体動物、節足動物、環形動物の免疫機能について検討した。2) についても環境汚染有害化学物質の上記の生物への影響を検討するとともに大量死が見られた海棲哺乳類の知見についてもまとめた。これらの調査結果をもとに 3) 今後の研究の方向性について考察し、有害化学物質による環境生物の免疫機能におよぼす影響の研究を強力に推進する必要があることを明らかにした。

研究者協力者

遠藤 直紀 (筑波大学)
瀬尾 直美 (東京医科大学)
高木 尚 (東北大学)
中村 弘明 (東京歯科大学)
山口恵一郎 (獨協医科大学)

環境中に排出、拡散、蓄積しわれわれの健康だけでなく、自然環境のなかにいる多くの生物の“健康”にも影響を与えている。絶滅の危機に瀕している野生生物が非常に多いことは危機がわれわれ自身にもおよぶ可能性を予感させるものである。

A. 研究目的

工業生産される化学物質は世界で 10 万種、日本でも 5 万種といわれている。化学物質は製造、使用、廃棄の過程で多くの汚染物質を

世界の各地で起きた海棲哺乳動物の大量死は有害化学物質の汚染により免疫機能が低下し病原菌の感染によるものと推定されている。免疫機能の低下は潜在的に病原性のある微生物

物に囲まれて生活している野生生物にとって致命的なものになる可能性がある。ヒトは多くの生物に支えられて生存している。有害化学物質の環境汚染により野生生物が絶滅の危機に瀕することはその支えを失うことにもなりことは重大である。これまで、化学物質が免疫機能におよぼす影響に関する研究のほとんどがマウスなどの実験動物を使ったもので、多様な生物の免疫機能にどのような影響があるかについての検討はほとんどなされていないといっても過言ではない。そこで、本研究では、環境汚染有害化学物質が各種生物の免疫機能にどのような影響を及ぼすかを解明するプロジェクトを立ち上げることを目的とし、いくつかの指標生物を中心とした生物の免疫機能についての調査と有害化学物質が各種生物の免疫機能におよぼす影響についての文献調査を行い、今後の研究をどのようにしていく必要があるかを提言するものである。

B. 研究方法

指標生物を中心とした生物の免疫機能と有害化学物質が各種生物の免疫機能におよぼす影響についての調査はメドラインを中心としたデータベースおよび各研究協力者の専門の書籍などから検討した。

C. 研究結果

1. 環境生物の免疫機能

1.1. 脊椎動物

1.1.1. 哺乳類 (平野靖史郎)

ほ乳類の免疫は、自然免疫と獲得免疫に大きく分けられる。自然免疫とは、生体がもっている原始的異物排除機構であり無脊椎動物にも存在している。一方、獲得免疫は、主要組織適合遺伝子複合体とリンパ球で構成される高次の免疫系であり、脊椎動物でもヤツメウナギのような無顎類や多くの無脊椎動物には存在しない。ほ乳類における自然免疫系と獲得免疫系の概略を表 1-1-1-1 に示す。

ほ乳類の免疫細胞は、多能性幹細胞から各種サイトカインの刺激により産生される (図 1-1-1-1)。図 1-1-1-1 において顆粒球 (好塩基

球、好酸球、好中球)、単球やマクロファージ、ナチュラルキラー(NK)細胞が自然免疫系において、T リンパ球、B リンパ球、形質細胞が獲得免疫系においてそれぞれその機能を果たしている。

獲得免疫系における主たる液性免疫は、抗体すなわち免疫グロブリンである。抗体は遺伝子の組み換えにより様々な抗原に対応できるように調整されている。ヒトにおける免疫グロブリンの諸性質を表 1-1-1-2 に示した。一方、自然免疫系における液性免疫の主たるものは補体である。ただし、補体系には抗体分子を認識して獲得免疫系と連動して機能する古典的経路と、分子認識を必要としない第 2 経路がある。また最近ではレクチンを認識して補体を活性化する第 3 経路が発見されたが、第 2、第 3 経路は自然免疫の中でも重要な役割を果たしている。これら補体活性化における 3 つの経路の概略を図 1-1-1-2 に示した。補体は棘皮動物やホヤなどの原索動物においても重要な生体防御機構を荷っていることが知られている。

感染抵抗に関して最も重要なものは、環境汚染物質がほ乳類の免疫系に影響を及ぼす多くの場合において、液性あるいは細胞性免疫機能の低下が起こり、その結果として感染抵抗性が低下することが知られている。貧食細胞による殺菌機構であるが、細胞内に取り込まれた細菌等はリソゾーム中に入り、ファゴソームを形成する。この中では NADPH オキシダーゼより産生されたスーパーオキシド、あるいはそこから派生してくるヒドロキシラジカル、好中球ミエロパーオキシターゼ (MPO) の作用により産生される次亜塩素酸 (HOCl)、一酸化窒素、あるいは中性プロテアーゼなどが作用し殺菌作用を示すものと考えられている (図 1-1-1-3)。また、細菌は補体の作用により殺菌されるほか、オプソナイズされマクロファージ等に貪食されることにより排除される。(図 1-1-1-4)

一方、ウイルスの主たる排除機構は抗体を介するものと考えられている。マクロファージなどの貧食細胞は、抗体の Fc 部分に対す

るレセプターをもっており、抗体と反応したウイルスを貪食する。あるいはこのウイルス抗体複合体に補体が結合した場合さらに効率よくウイルスを貪食するものと考えられる。ウイルスに侵入された細胞は、細胞障害性Tリンパ球やNK細胞によりアポトーシスを起こすことが報告されている。これらの生体からのウイルス排除機構について図 1-1-1-5 に示した。一方、ウイルスの主たる排除機構は抗体を介するものと考えられている。マクロファージなどの貪食細胞は、抗体のFc部分に対するレセプターをもっており、抗体と反応したウイルスを貪食する。あるいはこのウイルス抗体複合体に補体が結合した場合さらに効率よくウイルスを貪食するものと考えられる。ウイルスに侵入された細胞は、細胞障害性Tリンパ球やNK細胞によりアポトーシスを起こすことが報告されている。これらの生体からのウイルス排除機構について図 1-1-1-5 に示した。

寄生虫感染に関しては好酸球(Eo)が主たる役割を演じている。寄生虫に対する抗体であるIgGやIgEは寄生虫表面に結合するが、これら抗体のFc部分に対するレセプターをもつ好酸球は、抗体を介して寄生虫に接着しヒスタミンや主要塩基性タンパク質を(MBP)を産生し、寄生虫に障害を与える(図 1-1-1-6)。

MBPは寄生虫のみならず正常細胞をも傷害することが報告されている。

一般に、環境汚染物質に曝露した生体においては感染時と極めて近い炎症反応がみられる。図 1-1-1-7 は肺におけるマクロファージや好中球の炎症応答を示している。マクロファージからは、好中球遊走因子や好中球の血管内皮細胞への接着を促進する因子が産生される。好中球はこれらの因子の作用により血管腔から肺胞腔内に浸潤する。刺激を受けたマクロファージは肺胞腔内において一過性に肺胞上皮細胞への接着が高まり気管支肺胞洗浄液中の数が低下する。その後、また浸潤した好中球を貪食するとともに、それ自身も単球の遊走や細胞分裂をすることによりその数を増やすことが知られている。ヒトや実験動物の免疫に関する知見は分子生物学の発展に伴い激増しているが、ここでは環境生物の免疫機能を考えるうえでのほ乳類の免疫に関して主要な知見をまとめた。

参考文献

- 1) 日本生化学会編 細胞機能と代謝マップ 東京化学同人(1998)、東京
- 2) I. Roit, J. Brostoff, and D. Male 著(多田 富雄 訳) 免疫学イラストレイテッド 南江堂(1987)、東京

表 1-1-1-1 ほ乳類における自然免疫と獲得免疫

	自然免疫系	獲得免疫系
液性免疫	リゾチーム、補体第2経路、レクチン、急性反応期蛋白(CRP、インターフェロンなど)	抗体、補体古典的経路
細胞性免疫	食細胞 ナチュラルキラー(NK)細胞	T細胞、B細胞
2次刺激に対する応答	小	大
特異的記憶	なし	あり

表 1-1-1-2 ほ乳類における免疫グロブリンの諸性質

免疫グロブリン	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA1	IgA2	sIgA	IgD	IgE
H鎖	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 3$	$\gamma 4$	μ	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 1$ or $\alpha 2$	δ	ϵ
血液中の平均的濃度 (mg/ml)	9	3	1	0.6	1.5	3.0	0.5	0.05	0.03	0.00005
分子量	146,000	146,000	170,000	146,000	970,000	160,000	160,000	385,000	184,000	188,000
糖含量 (%)	2-3	2-3	2-3	2-3	12	7-11	7-11	7-11	9-14	12

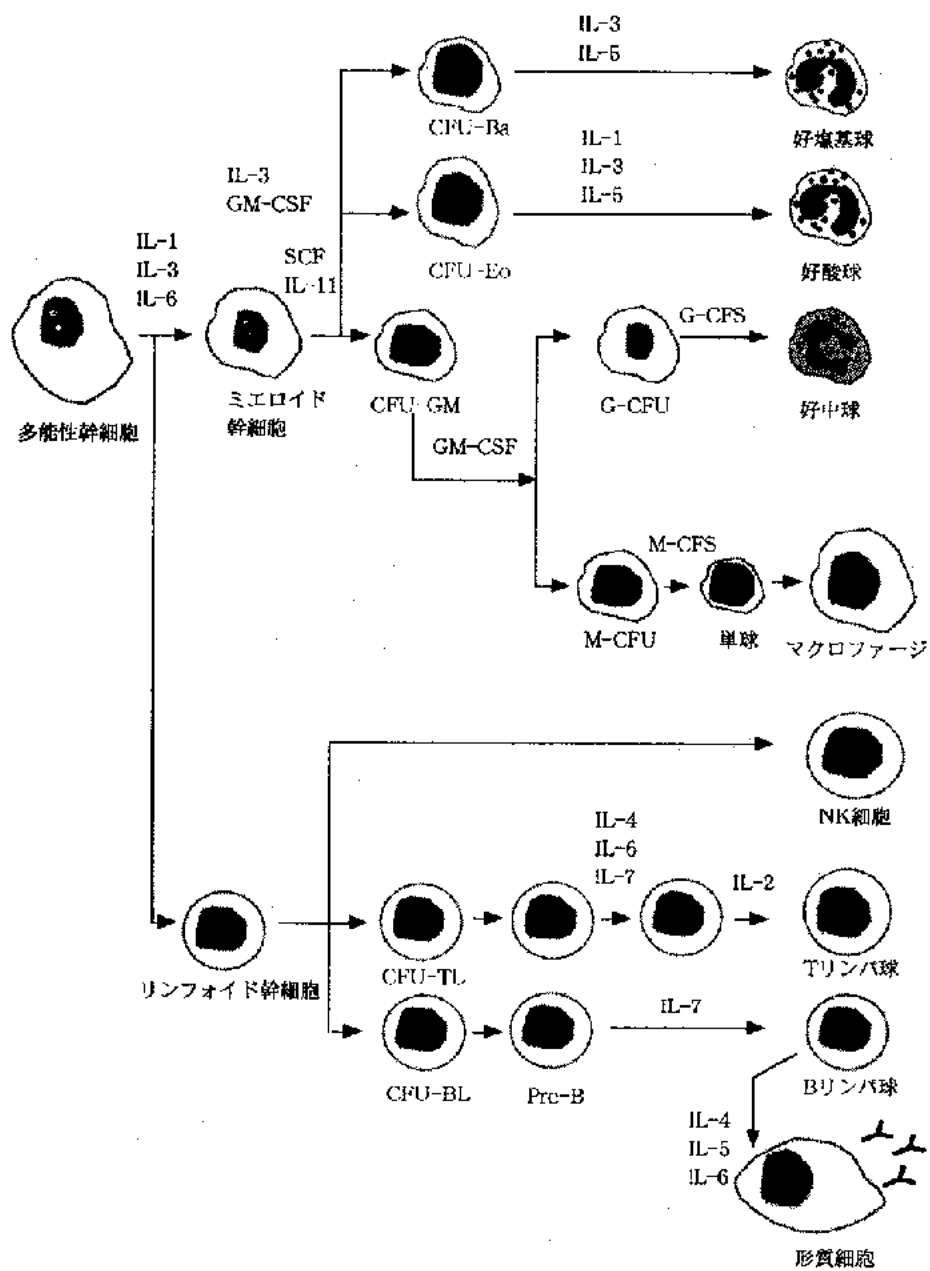


図 1-1-1-1 多能性細胞から免疫担当細胞への分化

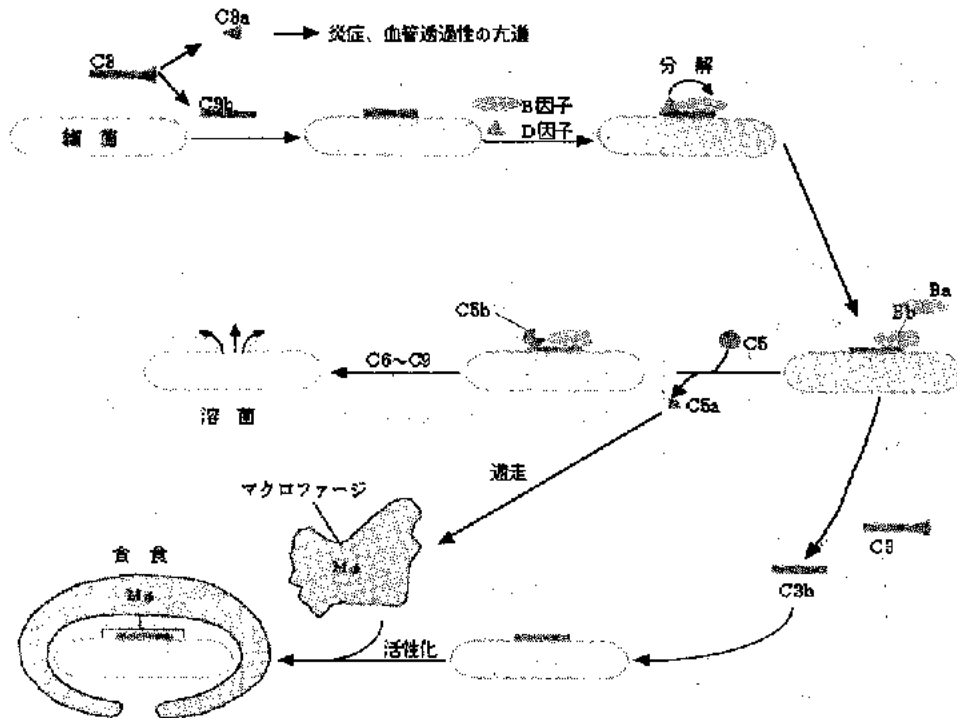
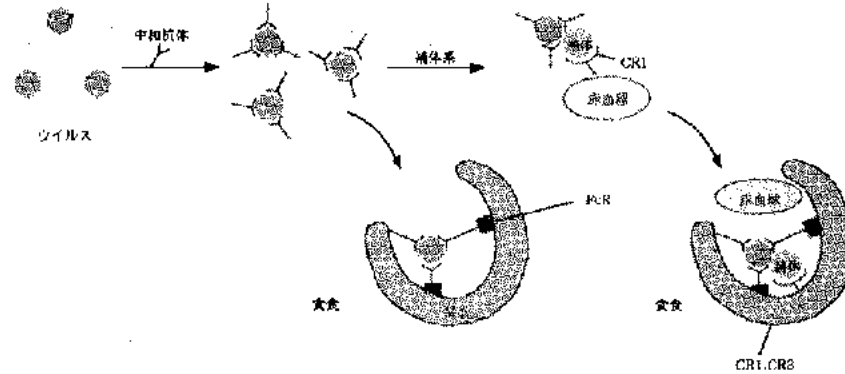


図 1-1-1-4 補体第二経路とマクロファージによる細菌の除去機構

(a) マクロファージにおけるウイルス除去機構



(b) 細胞障害性Tリンパ球 (CTL) やNK細胞によるウイルス除去機構

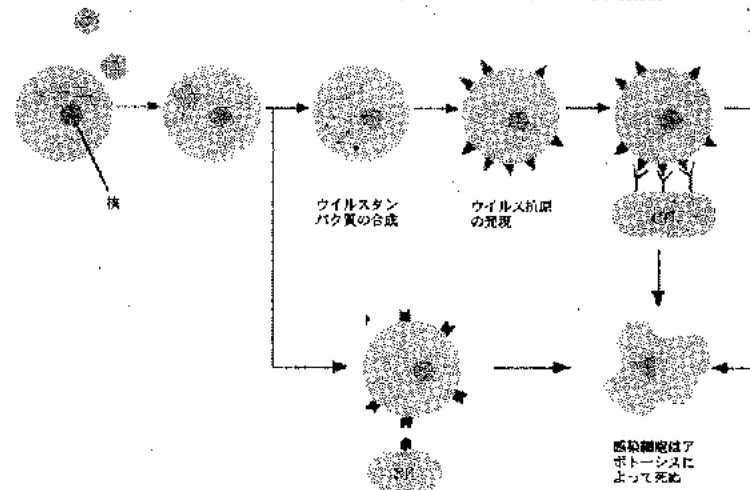


図 1-1-1-5 ほ乳類におけるウイルス除去機構