

## 博士論文要旨

氏名	中山 彩子
学位の種類	博士（人間科学）
学位記番号	甲第 10 号
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 19 日
学位授与の条件	神戸女学院大学学位規程第 5 条 1 項の規程による
学位論文題目	魚類の免疫系におよぼす化学物質の影響

## 論文の要旨

我々を取り巻く環境中には、様々な用途で使用されている化学物質が遍在している。それらの化学物質は最終的に水系へと流れ出るため、水系は今日、あらゆる化学物質のたまり場として位置づけられている。しかしながら、化学物質が自然界の水生生物におよぼす生態毒学的影響を調べることは非常に困難であり、また化学物質とそれらが体内に摂取された後の挙動との関係が明確に調べられている例も非常に少ない。本研究では、生命を維持する機能の中で最も重要なひとつのシステムである免疫系に焦点をあて、魚類の免疫系におよぼす化学物質の毒性学的評価をおこなった。対象とした化学物質は、船底塗料や防汚剤として広範囲に用いられてきた有機スズ化合物の一種であるトリブチルスズ

(TBT)、および代表的な多環芳香族炭化水素で発ガン性のリスクが最も高いベンゾピレン (BaP) の 2 種をとりあげ、前者についてはニジマス (*Oncorhynchus mykiss*) およびヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) の免疫系におよぼす影響、また後者についてはニジマスにおける免疫毒性発現メカニズムを白血球を中心に調べた。

TBT の免疫毒性評価に用いた方法は、魚類の造血組織かつ免疫担当器官である腎臓の上部、すなわち頭腎および血液より白血球を調製し、全白血球中に占める貪食細胞やリンパ球の割合の変化と貪食細胞の活性酸素産生能をフローサイトメトリーにより解析し、さらに、リゾチーム活性と血中の TBT 濃度との関係や、リンパ球の幼若化反応を用いて、TBT に曝露された魚 (曝露区) とされていない魚 (コントロール区) 間で比較検討を行った。おわりにサケ科魚類特有のせつそう病の原因菌である *Aeromonas salmonicida* を、TBT 曝露区およびコントロール区のニジマスに腹腔内投与し、病原菌に対する抵抗性の変化から TBT の免疫毒性評価も試みた。

BaP の免疫毒性発現メカニズムの解析には、BaP の代謝活性化過程 (いわゆる発ガン化) において、第一に誘導される薬物代謝酵素の一種のシトクロム P450-1A (CYP1A)

タンパク質が、ニジマスの頭腎白血球中で合成されるかどうかから、CYP1AによるBaPの代謝活性化メカニズムを評価した。

I. TBT曝露の実験において得られた結果を要約すると以下のとおりである。

1. 高濃度のTBT (20 $\mu$ g/L) に短期間曝露されたニジマスおよびヒラメでは、頭腎の全白血球中に占める貪食細胞（主に好中球）の割合が増加したが、リンパ球の割合は逆に減少する傾向が見られた。
2. 高濃度のTBT曝露で割合が増加した貪食細胞の活性酸素産生能は、コントロール区のそれらより低下していたことから、TBT曝露区において、活性酸素産生能の弱い未熟な貪食細胞が増加したと考えられる。
3. 比較的低濃度(5 $\mu$ g/L) で長期間曝露したとき、ニジマスでは2週間目に、ヒラメでは4週間目に、それぞれの血中および頭腎において全白血球に占める貪食細胞の割合が増加した。
4. 低濃度のTBT (5および10 $\mu$ g/L) に曝露されたニジマスの血中リゾチーム活性は、血中TBT濃度の蓄積にしたがって低下した。そのときの血中TBT濃度レベルは、養殖ヒラメの血中で検出されたそれより約2倍高い程度であったため、自然界におけるTBTの免疫毒性影響が懸念される。
5. TBTに曝露されると、コンカナバリンAによるTリンパ球の幼若化反応が抑制されることから、リンパ球への影響が危惧される。
6. 魚病細菌に対する抵抗性は、TBT曝露区で非常に弱く、コントロール区より高い死亡率が確認されたことから、TBTの免疫毒性が明らかに示唆された。

II. BaP曝露における実験で得られた結果は以下のとおりである。

1. BaPに曝露されたニジマスにおいて、CYP1Aタンパク合成とCYP1A活性は、肝臓だけでなく免疫担当器官の頭腎でも認められた。
2. 頭腎中のCYP1Aの局在を観察するために免疫組織化学染色を施した結果、頭腎中の特に造血組織でCYP1Aの局在が見られた。
3. 様々な発達段階の白血球が存在している造血組織で、どのタイプの白血球（好中球、B/Tリンパ球および単球）によってCYP1Aタンパク質が誘導合成されているかを調べた結果、好中球およびBリンパ球中でCYP1Aの局在が確認された。このことはCYP1AによるBaPの代謝活性化が白血球における免疫毒性発現にどのように関わっているかを明らかにする際に、有効な情報を提供することになる。

以上で得られた結果は、今後、化学物質の生態毒性影響を免疫毒性学的に考察する際に有用な知見となると考えられる。