

いる (Regala Rp et al : Arch Environ Contam Toxicol, 2001 40, 386、 Ghoneum M et al : Environ Res 1990 52, 178、 Whalen MM et al : Environ Res, 2002 88, 19)。

昨年度は、国立感染症研究所筑波霊長類センターで飼育されているサルの常在ウイルス感染の状況を抗体検査により調査し、抗体陽性サルからのウイルスの検出法を確立した。

日本は島国であるため、海産物を多く食する習慣があり、また、海産魚類を家畜等の飼料に添加することから、生活環境中脂溶性化学物質の代表として、TBTを選び、今年度は、ヒトと同じ霊長類に属するサル類を用いて、TBTのサルへの経口投与法を確立し、TBT投与前後の免疫状態の検討や血液学的検査を行うことを目的とした。

B. 研究方法

1. 被験用カニクイザルの選別

ヒトに対する危険度分類表で、P4にランクされるBウイルス抗体が陰性で、サルレトロウイルス(SRV/D)やγ-ヘルペスウイルス抗体陽性のカニクイザルを4頭選別した。

選別したカニクイザルは K1; 20 歳 3.10kg ♀, K2; 13 歳 5.10kg ♂, K4; 6 歳 3.88kg ♂, K5; 6 歳 3.98kg ♂ の4頭である。

2. TBTのサルへの投与

TBTによるヒトの汚染に関し、Whalenら (Environ Res, 1999 81, 108) の報告によると有機スズ(TBT等)による米国人血液の汚染は 64~155ng/ml であったので、その約 400 倍に相当する TBT の経口投与を試みた。即ち、K1 カニクイザルには 117.8 mg, K2 カニクイザルには 194.6mg の TBT を経口投与したところ、その急性毒性のため、嘔吐や鼻汁がみられたため、2 週目にはその 1/2 量を投与したが、やはり鼻汁がみられたため、3 週目の投与時にはその 1/4 量を投与し、以降 K1 カニクイザルには 29.5mg、K2 カニクイザルには 48.7mg を週 1 回のペースで投与を続けた。また、1 回に経口投与する TBT は少量であるので 2.5ml の乳酸菌飲料(ヤクルト)で希釈して与えた。図 1 にはその投与・採血スケジュールを示した。

3. TBTの測定

当霊長類センターのサルの TBT による汚染状況を把握するため、血液と糞を非投薬サルから採取し、TBT の濃度を測定した。TBT の定量は (財) 日本冷凍食品検査協会にて行い、Flame Photometric detector (炎光光度検出) - Gas Chromatography を用いた。また、サル K1 と K2 においては、体重 1kg あたり 38mg TBT を経口投与した後、24 時間および 48 時間後には糞を採取し、TBT の濃度

を定量した。カニクイザル K1 においては糞とともに尿の採取も行い、TBT の定量を行った。

4. 末梢血球検査

Sysmex MICROCELLCOUNTER F-800 により赤血球数 (RBC)、白血球数 (WBC)、血小板数 (PLT)、小型白血球数 (W-SCC)、大型白血球数 (W-LCC) を TBT 投与前後、定期的に測定した。

5. NK 活性の測定

標的細胞としては、ヒト白血病細胞株 K562 を用い、放射性クロム酸ナトリウムで $500\mu\text{Ci} / 1 \times 10^7 \text{ cells} / \text{ml}$ の濃度に調整し、1 時間標識し、5,000 個の細胞を 96 穴丸底プレートに加えて用いた。また、Effector 細胞は、上述の末梢血リンパ球をターゲット (K562) 細胞に対し 40:1, 20:1, 10:1, 5:1, 2.5:1, 1.25 の比になるように加えた。反応は 3 穴ずつ行い、4 時間混合培養することによる Cr51 の培養上清中への遊離を測定した。

Spec. Lysis (NK 活性) %

$= \text{Exp.Lysis} - \text{Spontaneous Lysis} \times 100 \div$

$\text{Max.Lysis} - \text{Spontaneous Lysis}$ の計算式を用いて NK 細胞による Cr51 の遊離率を求めた。

6. リンパ球サブセットの解析

ファイコールにより、末梢血リンパ球を分離した後、低張処理を行って赤血球細胞を取り除いて用いた。B

細胞、T 細胞、CD4+, CD8+, CD16+ の検出にはそれぞれ蛍光色素標識モノクローナル抗体 (Leu-16, $\alpha / \text{CD3}$ FN-18, Leu3a, Leu2a, Leu11a) を用いて染色し、末梢血中の量比をフローサイトメトリーにより測定した。

7. リンパ球幼若化反応

末梢血リンパ球を $1 \times 10^5 / 0.1 \text{ ml}$ ずつ 96 穴平底プレートに加え、 $12.5 \mu\text{g} / \text{ml}$ Concanavalin A (ConA) $10 \mu\text{g} / \text{ml}$ Phytohemagglutinin P (PHA), $1 / 100$ Pokeweed Mitogen (PWM) の 3 種のマイトジェンを加え、48 時間刺激後、24 時間の H3 チミジンのリンパ球への取り込みを測定した。

(倫理面への配慮)

本研究のうち、ウイルス感染実験に関しては、国立感染症研究所動物実験委員会による審査の結果承認を受けた。また、サル の 抗体検査の一部の血清は、筑波霊長類センターサルコロニーにおいて定期健康診断のために麻酔下で採血されたものを被験検体として用いた。また、動物の取り扱いにあたっては、筑波医学実験用霊長類センター諸内規、作業方式に従って繁殖育成サルを用い、動物に与える苦痛の軽減と排除に勤めた。

C. 研究成果

当霊長類センター産サルの TBT による汚染状況

TBT の経口投与に先立ち、1 頭のカニクイザル K2 の糞便と別の 1 頭のカニクイザル K3 の血液を採取し、薬物による汚染度を測定した。Whalen ら (Environ Res, 1999 81, 108) の報告によると有機スズ(TBT 等)による米国人血液の汚染は 64~155ng/ml であったのに対し、カニクイザルの血液では 120ng/ml であり、糞便ではその 2 倍の 240ng/g であり、サルは本化学物質によりヒトと同程度汚染されていることが明らかになった (表 1)。

TBT 投与後のサルからの薬物排出

TBT を 117.8mg 経口投与したカニクイザル K1 の 48 時間までの糞中への総排出量は 5.53mg であり、尿中への排出量は 64.5 μ g であった。投与 TBT 量のそれぞれ 4.69%および 0.05%に相当し、投与 TBT のうち 95%以上が体内に停滞もしくは吸収・蓄積されたものと考えられる。一方、TBT を 194.6mg 経口投与したカニクイザル K2 の 48 時間までの糞中への総排出量は 4.85mg であり、投与 TBT 量の 2.49%が糞便中に排出されたことになる。この K2 サルでは、TBT 投与後、大量の嘔吐がみられ、尿と嘔吐物を含む液体の総量が投与 24 時

間目までに 163ml 貯留していた。この液体中の TBT の総量は 4.48mg であった。従って、K2 サルにおいても、経口投与 TBT のうち 95%以上が体内に残留しているか、または吸収・蓄積されたものと考えられる (表 1)。

TBT が速やかに対外に排出される齧歯類 (小西私信) とは異なり、霊長類では経口摂取された TBT の体外排出は遅延するのかもしれないが、排出速度に関しては、今後、放射性 TBT 等を用いて定量的に検討する必要があると思われる。

TBT 投与前後の血球検査

TBT 投与前後に 2 週目毎の採血時の血球数に関し、4 頭のサルにおける赤血球数の変動はほとんどみられなかったことから、採血による貧血がなかったことが明らかである。血小板についても、個体差がみとめられるが、大きな変動はほとんどみられなかった。白血球数に関し、カニクイザル K1, K2, K5 はほぼ安定した値を示したが、K4 サルに関し、薬物投与前には約 2 倍 ($2 \times 10^4 / \mu\text{l}$) の値を示したが、2 週毎の採血によりほぼ正常範囲に回復した (図 2)。

NK 活性

図 3 には、リンパ球とターゲット細胞比 40:1 の特異的細胞溶解率 (%)

Specific Lysis)をグラフ化して、TBT 投与前後3週目までのNK活性の推移を示した。K1 カニクイザルにおいては、TBT 投与3週目でNK活性の低下がみられ、K2 カニクイザルでは投薬1週目からNK活性の有意の低下を認めた。図3上にはTBT 投与3週目の時点のNK活性実測値を示す。

リンパ球のフローサイトメトリー

末梢血リンパ球サブセットについて、B細胞およびT細胞としてCD20+リンパ球およびCD4+、CD8+リンパ球の量比を測定した。また、NK活性を持つリンパ球はCD8陽性及び陰性細胞に分布するが、いずれもCD16+ (Leu11a)表面抗原を持つと言われているので、CD16陽性リンパ球の量比も測定した(図4)。CD8+リンパ球はK1サル以外では個体差がなく安定した値を示した。CD4+、CD20+リンパ球に関し、個体差が認められたがほぼ安定した値を示した。一方、NK活性を持つCD16+リンパ球は、年齢に関係なく個体間の差がみられた。TBTを投与し、NK活性の低下がみられたK1、K2カニクイザルにおいては、CD16+リンパ球の量比においても低下傾向がみられた(図4)。

リンパ球幼若化反応

レクチン3種類を用いたリンパ球幼若化反応をH3チミジンの取り込みにより測定したが、同一個体内の経時的変化の変動が大きく、TBT投与の前後で有意の差は認められなかった。

D. 考察

生活環境中の脂溶性有害物質が食品や水などを介して生体に暴露した時の宿主の感染症に対する抵抗性に及ぼす影響を調べるにあたり、サル類を用いることは、サル類がヒトと同じ霊長類に属するため、ヒトにおける脂溶性有害物質の及ぼす影響をより直接的に推測することができる。

本年度は、トリブチルスズ(TBT)のサルへの経口投与法を確立し、TBT投与前後の免疫状態の検討や血液学的検査をおこなった。

当霊長類センター産サルのTBTによる汚染状況に関しては、血液では120ng/mlであり、糞便ではその2倍の240ng/gであり、サルは本化学物質によりヒトと同程度汚染されていることが明らかになった。当霊長類センターで産まれたサルには、過去20年間果物と共に固形飼料を与えており、この固形飼料野中に魚粉がタンパク源として20%程度加えられていることが明らかになっている。表1の投薬前の血中TBT濃度よりも

糞便中濃度の方が高いのは、サルに与えている飼料が本化合物を含んでいる可能性を示唆する。近々、飼料中の TBT も定量する予定である。

TBT のサルへの投与に関し、ヒト血中濃度の約 400 倍に相当する TBT 量をサルの体重と体液量から計算し、経口投与を試みたが、TBT 自体の催嘔吐性のため、その 1/4 量を 3 週目以降経口投与した。また、希釈には 2.5ml の乳酸菌飲料(ヤクルト)を用い、毎週 1 回のペースで投与を続けているが、この容量では、サルにほとんど影響がないので、もう少し頻繁に TBT を投与することが、可能と思われる。TBT 投与により、今回は、NK (Natural Killer)活性に低下傾向がみられたが、今後、その他の免疫学的パラメーターを検討すると共に、保存検体を用いて投薬前後の血中ウイルス量や血清抗体価の変動を検討することにより TBT 等の生活環境中脂溶性化学物質の感染症抵抗性に及ぼす影響や潜伏感染ウイルスの再活性化の検討を行う予定である。

E. 結論

1. 筑波霊長類センターで飼育されているサルは本化学物質によりヒトと同程度汚染されていた。
2. TBT の経口投与 (38~9.5 mg/kg) により NK 活性に低下傾向が

みられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takano J., Narita, T., Fujimoto, K., Mukai, R., Yamada, A.: Detection of B-virus infection in cynomolgus monkeys by ELISA using sinian agent 8 as alternative antigen *Exp. Anim.* **50** : 345-347, 2001
- 2) Uda, A., Tanabayashi, K., Mukai, R., Yachi, M., and Yamada, A. : CD3 polymorphism in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Med. Primatol.* **30** : 141-147, 2001
- 3) Tanabayashi, K., Mukai, R., and Yamada, A. : Detection of B virus antibody in monkey sera using glycoprotein D expressed in mammalian cells. *J. Clin. Microbiol.*, **39** : 3025-3030, 2001.
- 4) Misumi, S., Takamune, N., Ido, Y., Hayashi, S., Endo, M., Mukai, R., Tachibana, K., Umeda, M., Shoji, S. : Evidence as a HIV-1 self-defense vaccine of cyclic chimeric dodecapeptide wrapped from undecapeptidyl arch of extracellular loop 2 in both CCR5 and CXCR4. *B.Biochem. Biophys. Res. Commun.* **285**, 13095-13163, 2001.

2. 学会発表

- 1) 小松原博文、菊池俊彦、佐多徹太郎、松田基夫、宇田晶彦、向井鐸三郎：中枢神経指向性 SIV のマクロファージ感染性と遺伝子解析 第 15 回日本エイズ学会（東京）2001 年
- 2) 中山大介、林辰一郎、向井鐸三郎、橘 園

臣、梅田 衛、高宗暢暁、三隅将吾、庄司省三：Chemokine receptor を基礎にした HIV-1 dual tropic ウイルスの感染を防止する単クローン抗体の調整及び性質
第 15 回日本エイズ学会（東京）2001 年

3) 菊池俊彦、小松原博文、佐多徹太郎、松田基夫、宇田晶彦、向井鏖三郎：Cloning and Analysis of Neurotropic SIV (Simian Immunodeficiency Vvirus)
第 24 回日本分子生物学会（横浜）2001 年

4) 本藤 良、植田富貴子、向井鏖三郎、棚林

清、山田章雄、吉川泰弘：B ウイルス感染の DNA 診断と分子疫学に関する基礎的研究

第 49 回ウイルス学会（大阪）2001 年

5) 棚林清、宇田晶彦、谷内真由美、向井鏖三郎、山田章雄：B ウイルス特異的 mAb の認識する gB 蛋白抗原部位の解析

第 49 回ウイルス学会（大阪）2001 年

G. 知的所有権の所有状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

図 1

TBT のサルへの投与と採材計画

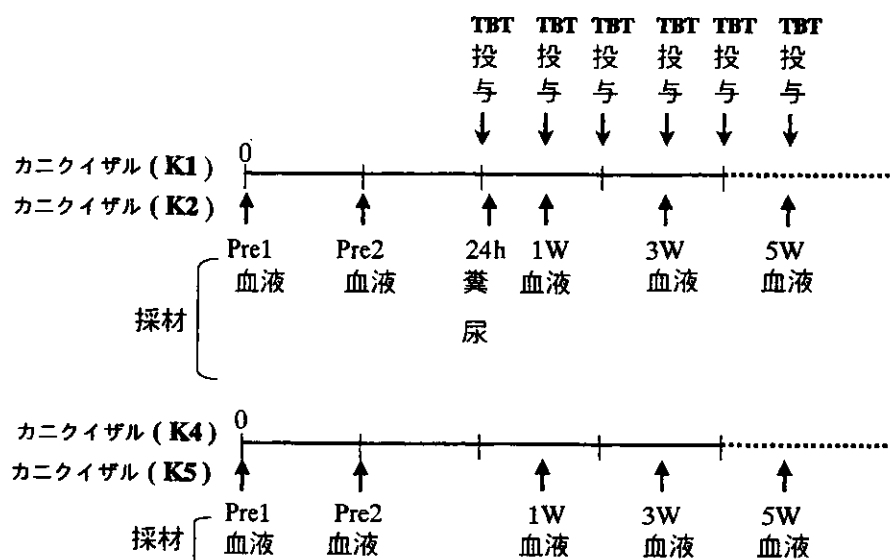


表 1

TBT Concentration (ug/g)

カニクイザル	投与前	投与後 0～24 h	投与後 24～48 h
K 1 (3.10 kg)	NT*	糞 120.00 ug/g 尿 4.30 ug/g	糞 210.00 ug/g
K 2 (5.12 kg)	糞 0.24 ug/g	糞 62.00 ug/g 尿 28.00 ug/g 及び嘔吐物	糞 77.00 ug/g
K 3 (4.66 kg)	血液 0.12 ug/g		

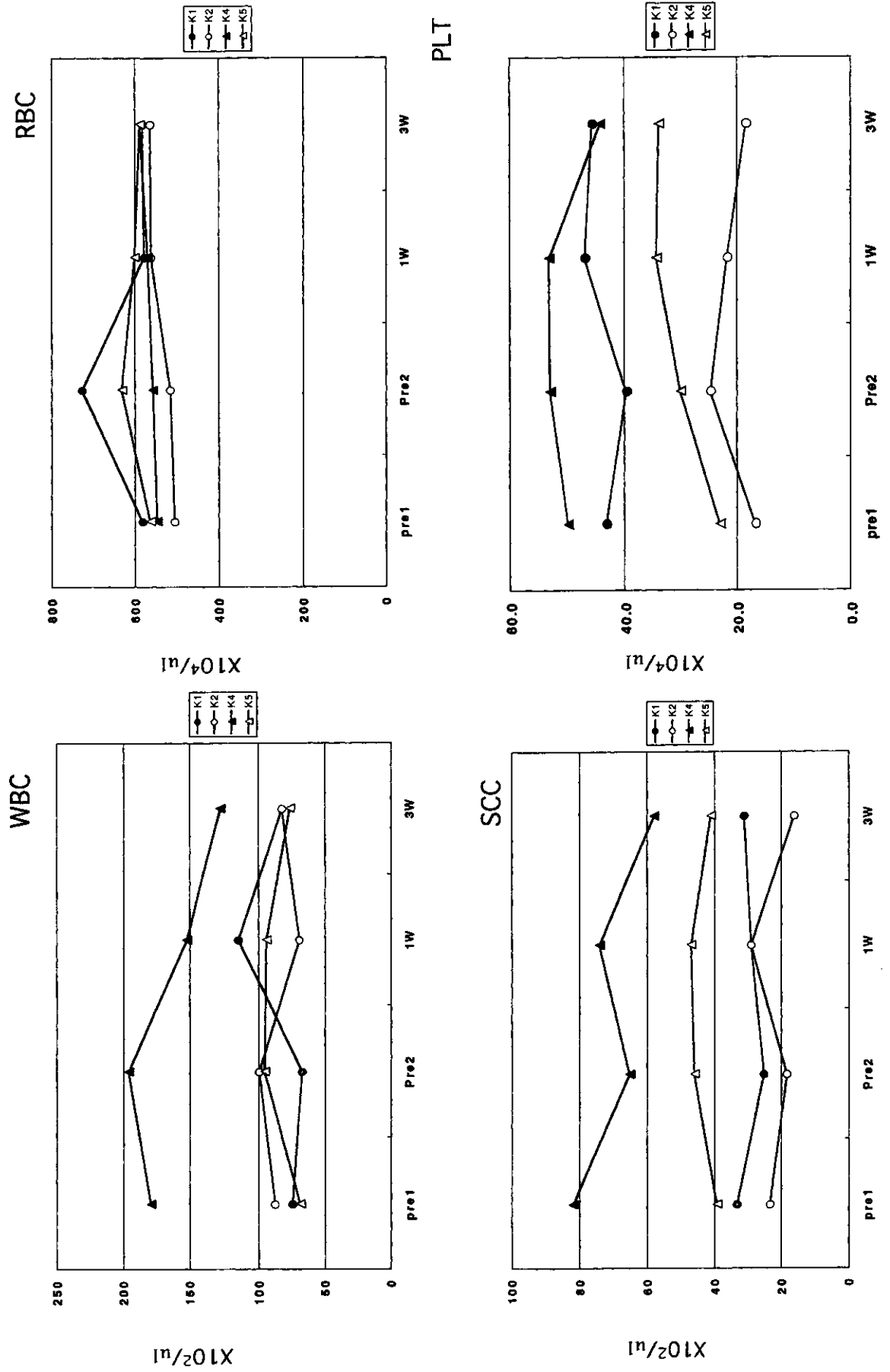
NT* : 採取していない

Sample Net weight recovered

カニクイザル	投与前	投与後 0～24 h	投与後 24～48 h
K 1 (3.10 kg)	NT*	糞 19.8g 尿 15.0ml	糞 15.0g
K 2 (5.12 kg)	糞 38.8g	糞 34.6g 尿 160.0ml 及び嘔吐物	糞 35.0g
K 3 (4.66 kg)	血液 NA*		

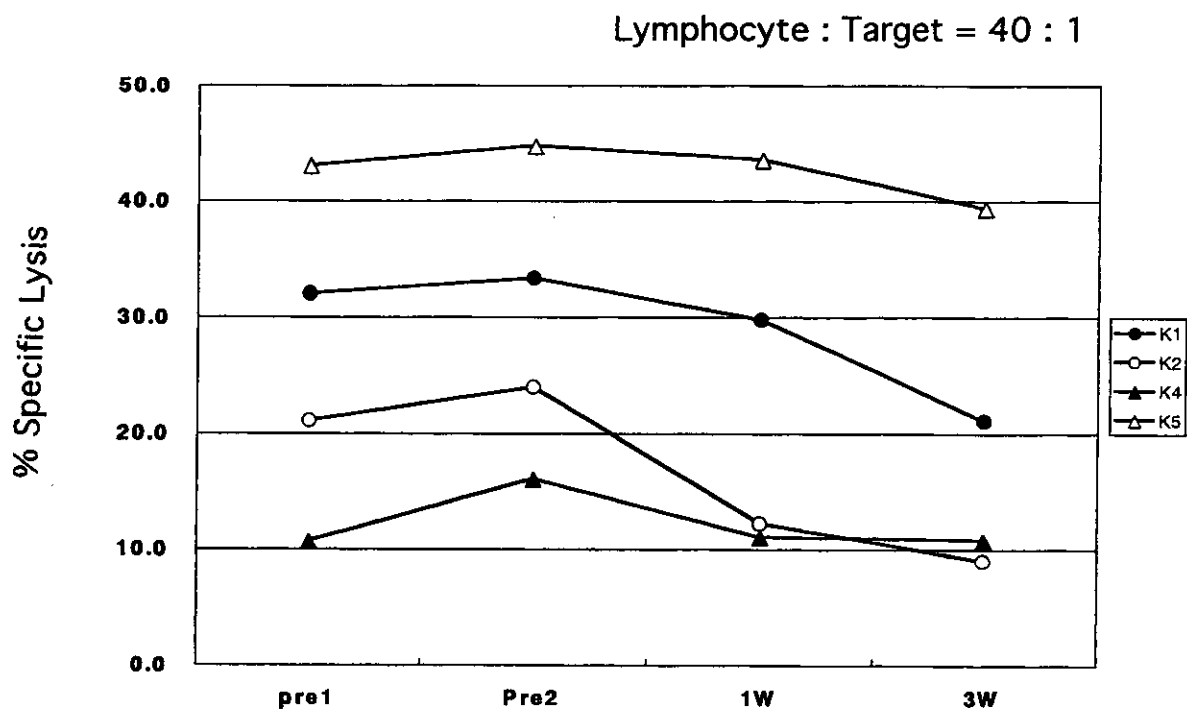
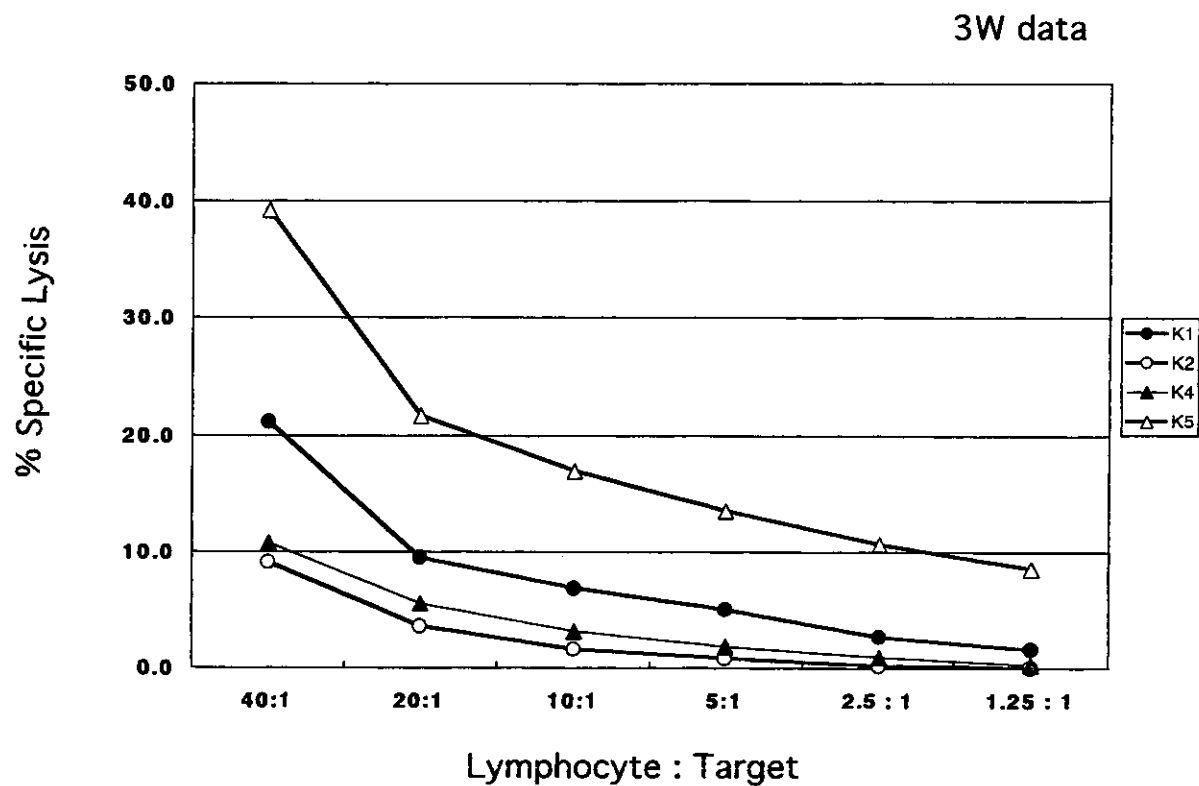
NA* : 10ml採取

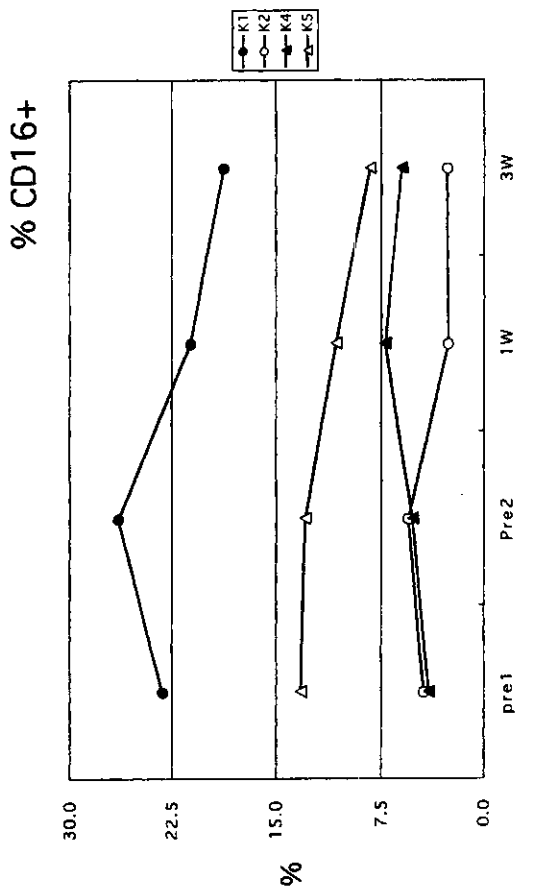
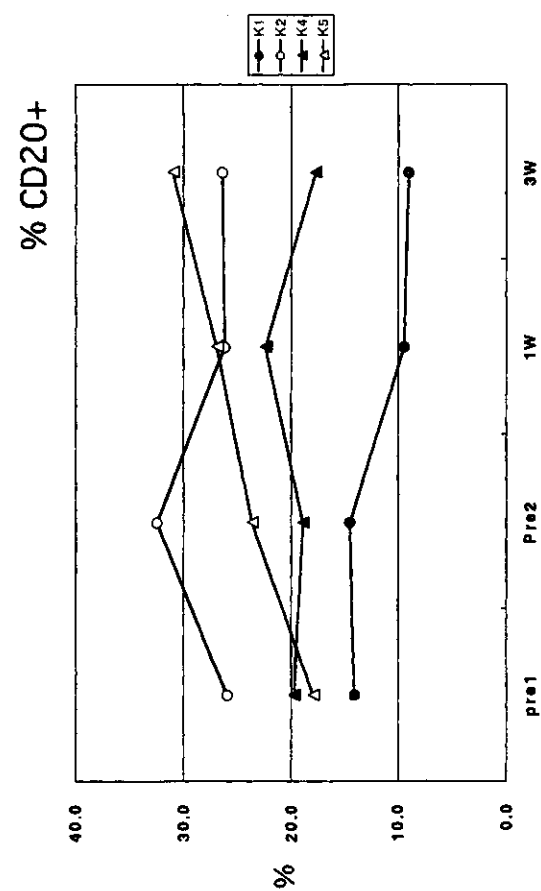
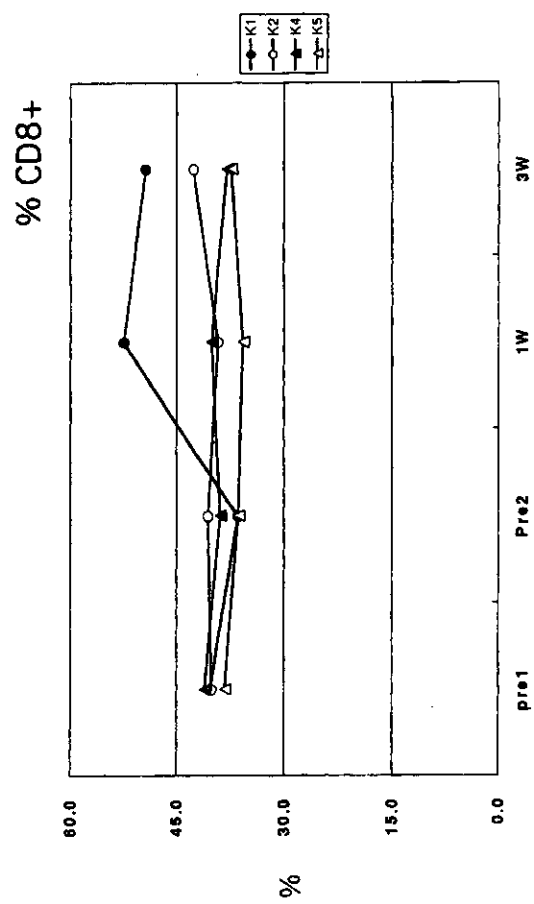
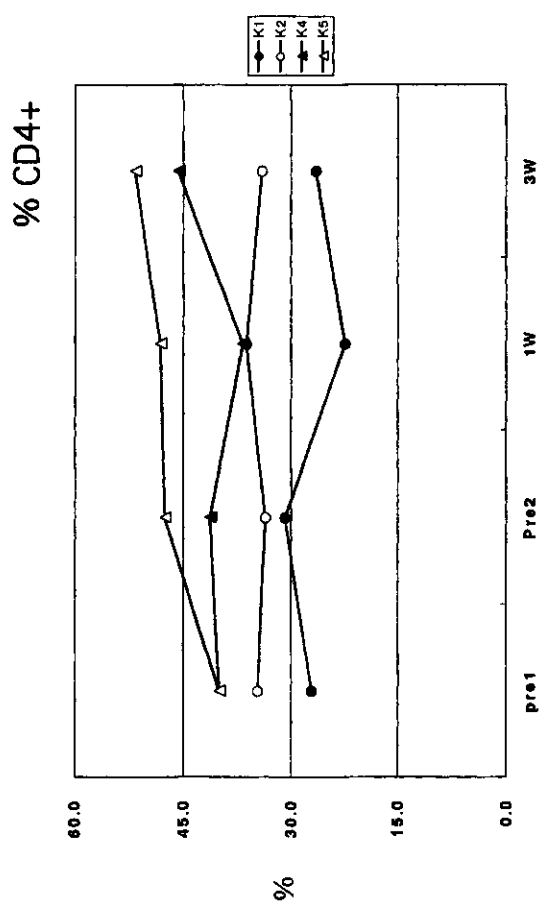
Hematological Analysis



3

NK assay of Monkey PBMC





ダイキソンの次世代への細菌感染抵抗性に及ぼす影響

国立感染症研究所

小西 良子

独立法人 動物衛生研究所

三浦克洋

ダイキソンを飲料水に入れて母親マウスに投与することにより仔への母乳経由での暴露による感染症抵抗性の影響を検討した。その結果飲料水に溶けうる最大溶解濃度においても感染抵抗性には有意な影響は認められないことがわかった。

A. 研究目的

ダイキソンは生活環境中の脂溶性化学物質として、また免疫毒性が強いことでヒトへの健康被害がもっとも懸念されている。また、その体内蓄積性から母乳を介しての次世代への健康被害に関しても社会的関心は高い。免疫毒性が強いことから生体防御へ及ぼす影響は多くの研究者から警告されているが、いまだ明確な影響はえられていない。そこで本研究は、母乳を介しての暴露に焦点を当て、仔の細菌感染症に対する影響を検討した。

B. 研究方法

1) 実験動物：初回妊娠19日目のC57BL/6NCrjマウスをチャールズリバー社から購入した。対照群、低濃度暴露群、高濃度暴露群の3群に分け、一群8匹ずつとした。

2) 投与方法：出産までは対照群と同様に水道水を与えたが、出産から20日間は低濃度暴露群では2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD,和光純薬株)をDMSOに溶解後最終濃度が1.8ng/mlになるように溶かした飲料水を、高濃度暴露群では18ng/mlの濃度に溶かした飲料水を自由摂取で与えた。対照群ではダイキソン投与群と同等のDMSO溶液を加えた飲料水を与えた。

3) 細菌感染実験：母乳中にダイキソンを投与した仔は、生後21日にメスにわけ、水道水を飲料水として与えた。同時に 5×10^4 のリスティア菌(*Listeria monocytogenes*)を腹腔投与した。感染後2,4,6,9日目に4匹ずつ脾臓および血液を採取した。脾臓はホモゲナイズしたあと段階希釈をし生菌数を測定した。

C. 研究結果

母親の飲水量から母親が暴露したダイキソンの積算量をFig.2に示した。

1.8ng/lのダイキソンを含む飲水を摂取させた群では、20日間で500pg/1匹、18ng/lのダイキソンを摂取させた群では6000pg/1匹が暴露された。これらの母親から生まれた仔の産仔数、性別の比および体重は低濃度暴露群、高濃度暴露群とも対照群と変わりがなかった。次に母親に母乳を介してダイキソンを暴露された仔におけるリスティア感染後の脾臓中の生菌数の変化をFig.3およびFig.4に示した。メスにおいては対照群では2日目に 10^3 から 10^4 個のリスティアが検出され、その後4日まで同等な菌が検出されたが、6日目には検出限界(20個以

下)に減少した。1.8ng/mlのダイオキシンを与えた母親から母乳を受けたマウスの仔は対照群とおなじ菌数の推移であった。18ng/lのダイオキシンを与えた母親から母乳を受けたマウスの仔は2日目の脾臓中の菌数が 10^4 から 10^6 個認められ、対照群よりやや高い菌数であったが4日目には対照群と同等の菌数となり、6日目には菌数は検出限界以下となった。叔の仔でもマウスで認められた同様の現象が認められた。ともに18ng/l暴露群では2日目の脾臓のクリアランスに何らかの影響を与えていることが示唆された。

D. 考察

ダイオキシンは、汚染された食物を摂取することによる暴露の比率がもっとも高いが、飲料水や大気からの暴露も重要な問題である。本研究では水に溶けうる最大の量のダイオキシンを飲料水として摂取していた場合の次世代への影響を、感染抵抗性を指標にして検討した。ダイオキシンが胎児に移行し、胎児の免疫系の器官に重篤な損傷を与えることは多くの研究により明らかになっているが、哺乳中だけの暴露がどの程度の免疫毒性を起こすかについては不明な点がおおい。ダイオキシンは母乳中の母親が摂取した場合には母乳に摂取量の2-5%が移行することが知られている。新生児は母親の暴露したダイオキシンを母乳を介して摂取することになるが体重の割合からその毒性は母親が被るより重篤である可能性が示唆されている。

本実験ではダイオキシンの水に対

する最大溶解度が18ng/lであることから、この濃度を高濃度暴露群と設定し、その1/10を低濃度群とした。

新生児の産仔数、性別の比および体重への影響は認められなかった。これは本実験に用いた暴露量は今まで影響が報告されているダイオキシンの量と比較すると 10^{-6} 倍ほど低い量であるためと考えられた。リステリア感染に対する感染抵抗性では2日目の脾臓中の生菌数が高濃度暴露群で高い傾向が認められたが、これは腹腔内のクリアランスおよび脾臓中のクリアランス機能がやや低下していることが示唆される。腹腔中の初期のクリアランスには好中球が、脾臓の初期のクリアランスにはマクロファージが関わっているが、この機能に何らかの影響を受けたことが考えられる。昨年度の結果から、エストロゲン様作用を持つDESはリステリア感染抵抗性を顕著に低下させることを見いだしているが、ダイオキシンのもつホルモン様作用が初期感染防御機構に影響を及ぼしていることは考えられる。感染成立に至るどのステップにおいてダイオキシンの影響が強くなるかは今後の詳細な研究が必要である。

本研究の結果から、少なくとも飲料水に溶けうるダイオキシンからの暴露では母乳を介して仔が暴露されたとしても細菌感染に対する抵抗性は顕著な低下は認められなかった。このことからもし飲料水に最大溶解度に相当する対するダイオキシンが汚染したとしても、感染抵抗性に関しては NOEL

（無作用量）の範囲にとどまっていることを示唆している。しかし、他の有害化学物質との複合汚染等の場合には、この濃度でも感染抵抗性に対して影響が出ることも十分に考えられることから、複合汚染に対するリスク評価が必須であると言える。

F. 研究発表：

特になし

G. 知的所有権の取得状況：

特になし

Mice: C57BL /6NCrj pregnant 19 day

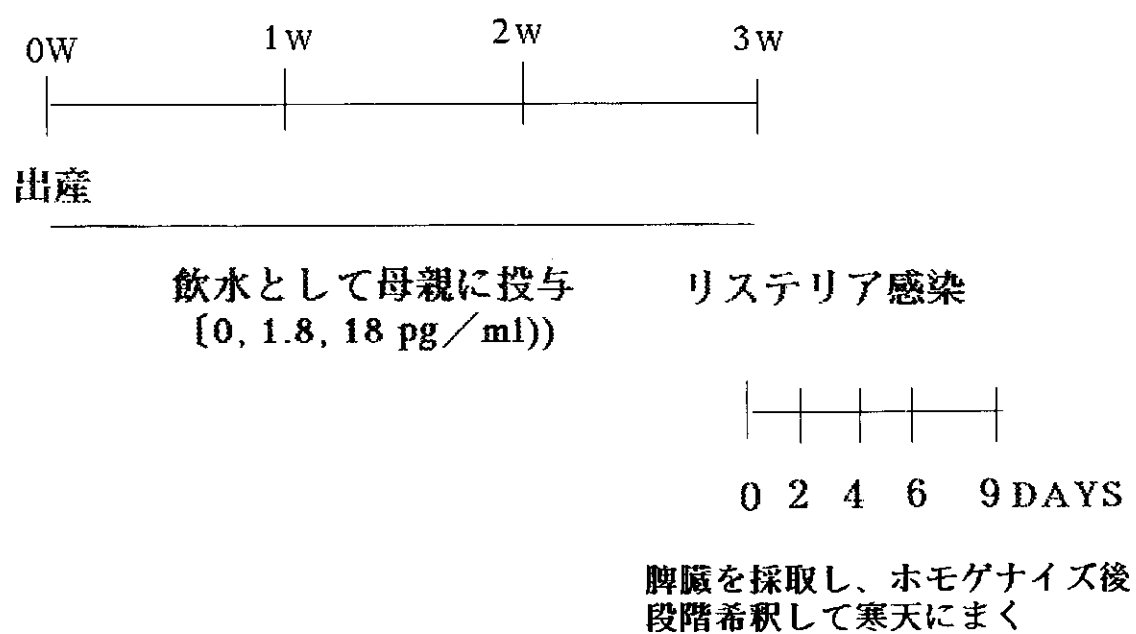


Fig.1 Dioxin infection experiment

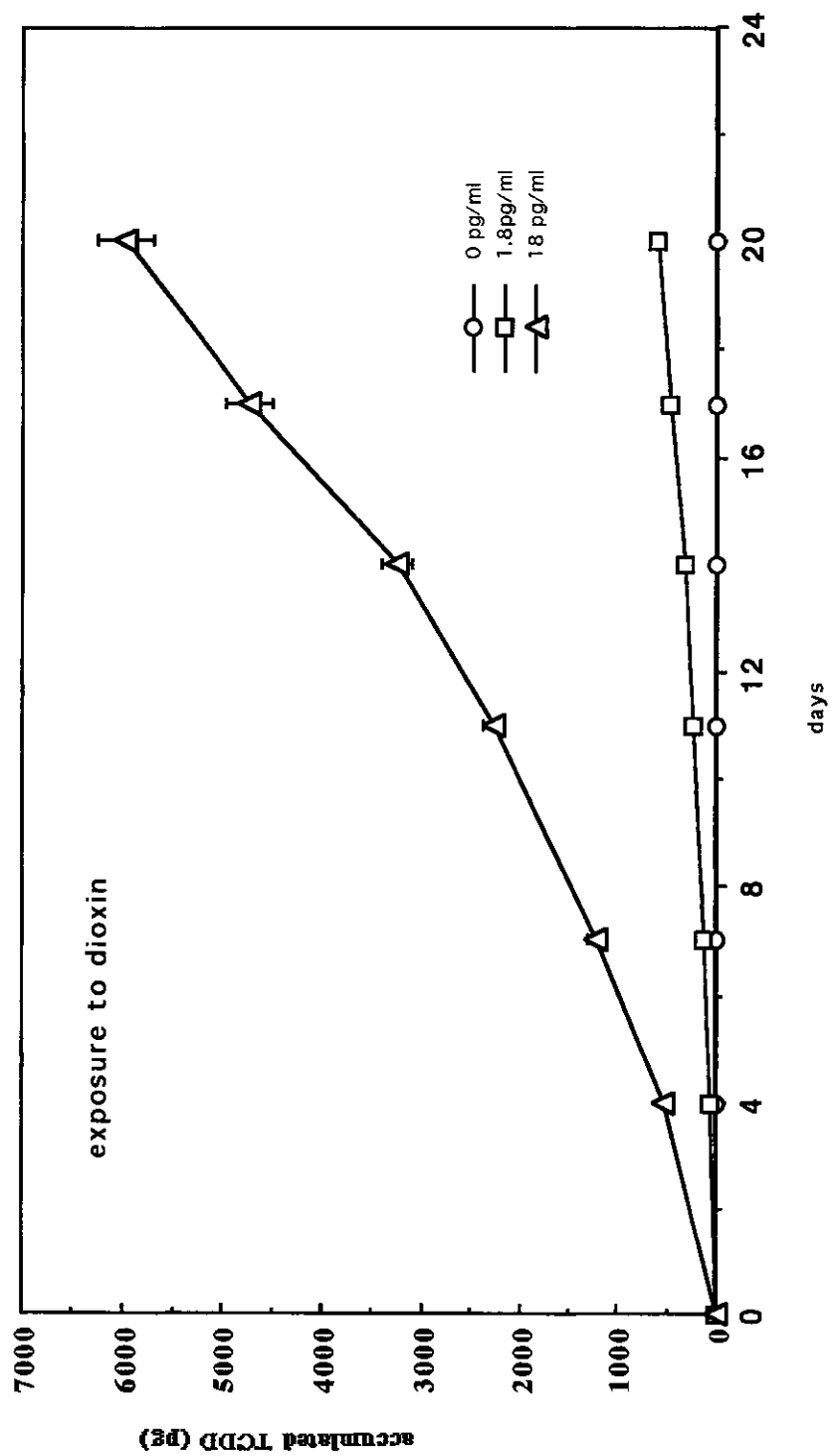


Fig. 2 Cumulation of TCDD on Dams given drinking water containing various concentration of TCDD

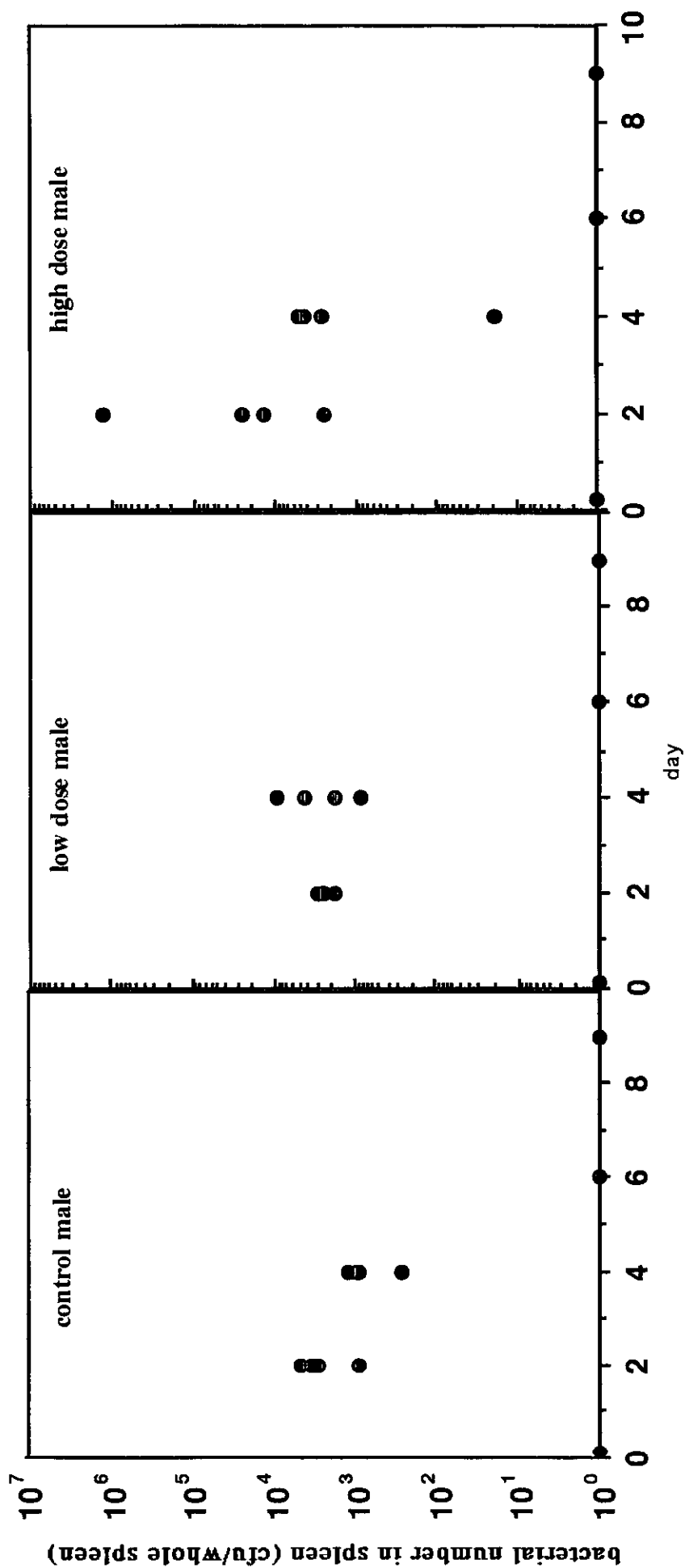


Fig. 3 Effect of TCDD on *Listeria* infection on male sucking pups born from Dams given drinking water containing various concentration of TCDD

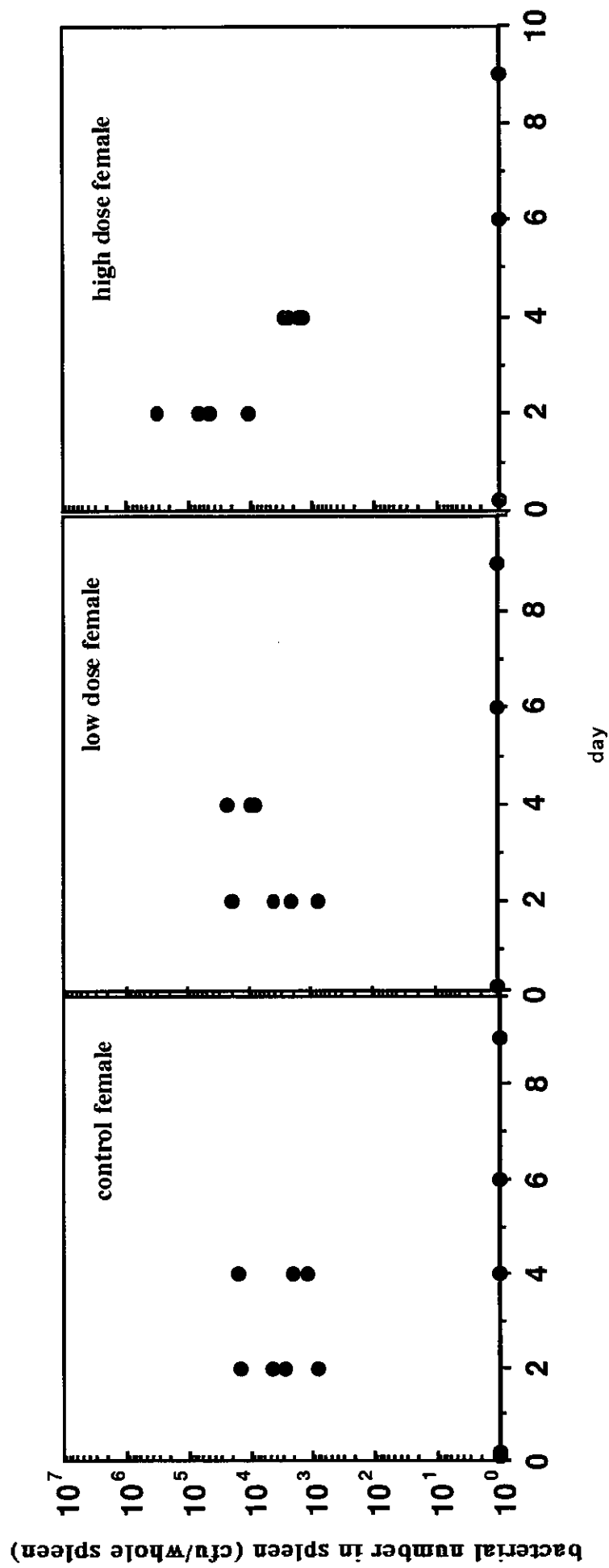


Fig. 4 Effect of TCDD on Listeria infection on female sucking pups born from Dams given drinking water containing various concentration of TCDD

ビスフェノールAによる日和見感染抵抗性低下の機序に関する研究

国立感染症研究所 小西 良子
麻布大学獣医学部 鈴木嘉彦
麻布大学獣医学部 志村純子

ビスフェノールの日和見感染に対する感染抵抗性を低下させる機序を解明する目的で、Balb/cマウスにビスフェノールを5日間連続投与し、腹腔内好中球の食食能および殺菌能および脾臓マクロファージの食食能および殺菌能を検討した。その結果、対照群と比較して好中球の食食能および殺菌能が低下していることが認められた。

A. 研究目的

昨年度の研究においてビスフェノールAの連続投与が、感染抵抗性の低下を示すことが日和見感染モデル実験において明らかになった。このことから感染抵抗性の低下の機序を明らかにするため本研究を行った。

B. 研究方法

- 1) 実験動物：4週令Balb/cマウスを一群5匹として用いた。
- 2) 投与方法：ビスフェノールA（和光純薬（株））を5mg/Kgの濃度でコーン油に融解し、0.2mlをマウスの皮下に5日間連続投与した。対照群にはコーン油のみを投与した。
- 3) 好中球の採取：最終投与の2日後に0.1%カゼイン溶液をマウスの腹腔に投与し、18時間後腹腔を生理食塩水（大塚製薬）で洗浄し洗浄液から好中球を回収した。
- 4) マクロファージの採取：最終投与から4日後にビスフェノールA投与群および対照群から脾臓を採取し、単細胞とし、プラスチックシャーレに付着した細胞を回収し、マクロファージ画分として使用した。
- 5) 食食能の測定： 5×10^5 /ml に調整した好中球およびマクロファージは、 5×10^7 /ml の大腸菌k-12株と4℃

で1時間反応させ、余剰な菌を生理食塩水で洗浄した後、37℃で1時間反応させた。その後、食食されていない菌を生理食塩水で洗浄した後0.1%トライトンX-100を含むリン酸食塩水緩衝液(PBS)で溶解し、寒天培地に塗抹し一昼夜培養しそのcfuから細胞内に食食された菌の数を測定した。また、4℃で反応させたあとの細胞に結合した菌数を測定し、その割合から食食率（食食された菌数/細胞に結合した菌数 $\times 100$ ）を計測した。

6) 殺菌能の測定：5) で食食能を測定する課程で得られた食食した細胞をさらに適当な時間反応させ、細胞内の菌数を測定することによって殺菌能を測定した。好中球の場合は食食した細胞を用意した時間を0時間とし、その後20分、40分60分後の細胞内細菌数を測定した。マクロファージは60分、120分後の細胞内細菌数を測定した（Fig.1）。

7) 免疫細胞ポピュレーションの測定：ビスフェノールA 投与による免疫細胞ポピュレーションの変化を測定するために、最終投与後および休薬2日後の胸腺および脾臓を採取し、定法により細胞を抗CD3, CD4, CD8, B220, Mac-1抗体（pharmingen）で染色し、FACS SCAN

で測定した。

C. 研究結果

ビスフェノールAを5日間投与した直後と2日間休業したのちの体重、脾臓重量、胸腺重量の変化をTable I. に記した。体重、脾臓重量ではビスフェノール投与群の方が投与直後では増加していたが、2日後では体重以外は対照群と同様の値まで戻っていた。

同様の条件での免疫細胞のポピュレーションの変化をTable IIに示した。投与直後ではT細胞、マクロファージの占める割合が対照群と比較して減少していた。この減少は休業後回復する傾向があったが、対照群にくらべて有為に減少していた。また、T細胞のサブポピュレーションを見るとCD4およびCD8とも減少していた。

Fig.2には、好中球での貪食能および殺菌能を示したものである。対照群のマウスの好中球は表面に結合した菌体の約30%を貪食するが、ビスフェノールAで処理されたマウスの好中球は5%しか貪食しなかった。また、その貪食した菌体の殺菌能に関しては、20分後には対照群では70%まで殺菌されていたが、ビスフェノールA処理群では40%であった。60分後の殺菌能では対照群とビスフェノールA処理群では同様の殺菌能を示していた。Fig.3はマクロファージの貪食能および殺菌能を測定した結果であるが、好中球とは対称的に、ビスフェノールA処理群で貪食能は促進された。殺菌能には差は見られなかった。このことから、ビスフェノールAは、好中球の貪食能および殺菌能を減衰させるがマクロファージの貪食能は促進させる事が明らかになった。

D. 考察

ビスフェノールAは、内分泌攪乱物質として生殖器への影響が多く報告されているが、昨年度我々は初めてビスフェノールAに感染抵抗性を低下させる作用があることを報告した。生殖器に影響を及ぼす濃度に比べ

と高い濃度であるが、その作用機序に関しては分かっていなかった。今年度の研究はその機序を解明する目的で、非特異的防御機能である好中球及びマクロファージの作用にどのような影響を及ぼすかを調べた。一般に特異な病原性のない細菌が感染すると感染部位に感染後6時間以内に好中球が集まり盛んに貪食、殺菌を行う。好中球の貪食を免れた菌は肝臓、脾臓に血液を介して運ばれ、そこで局在しているマクロファージによって貪食殺菌が行われ、体内からの菌は排除されるのである。これらの機能が正常に働かない場合は腹腔及び脾臓に菌が残存し増加し敗血症を起こす可能性がある。特異抗体やT細胞が活性化するまでの間、これらの細胞による非特異的な防御機能が感染抵抗性に重要な役割をになっているのである。本研究では好中球がもつ貪食能、殺菌能および脾臓マクロファージが持つ貪食能、殺菌能にビスフェノールAがどのような影響を及ぼすかを検討した。好中球への影響は対照群に比べ貪食能、殺菌能とも低下している結果であった。しかしマクロファージのこれらの機能に対しては貪食能でむしろ亢進しており殺菌能では対照群と有意さはなかった。

この結果は昨年度の腹腔内の菌排除に対しては対照群と有意な差が認められたが、脾臓での菌排除では差が認められなかった結果と一致を見るものである。

以上のことから、ビスフェノールは5mg/kgの濃度で連続的に投与することにより日和見感染への感染抵抗性は低下するが、この機序は、初期防御免疫である好中球の貪食能が低下したためであることが明らかに

なった。

E.研究発表

1. 誌上発表

なし

2. 学会発表

1) 志村純子、鈴木嘉彦、西川朝、
天野富美夫、小西良子、「非特異的
生体防御システムに及ぼすビスフェ
ノールの影響」免疫毒性学会 平成
13年9月 仙台