

渡りと鉛汚染がユリカモメ (*Chroicocephalus ridibundus*) の
免疫機能及び A 型インフルエンザの感染に及ぼす影響に
関する研究

**Study on the effects of migration and lead pollution on host immunity, and
infection of influenza A virus in Black-Headed Gull (*Chroicocephalus ridibundus*)**

学位論文の内容の要約

日本獣医生命科学大学獣医生命科学研究科
獣医学専攻博士課程平成30年入学

牛根 奈々
(指導教授：羽山 伸一)

鳥類が行う渡りは、多大なエネルギーを要するため、生体の生理機能との間でエネルギーのトレードオフが生じ、渡りの時期には免疫機能に十分なエネルギーが充てられず、免疫機能が低下し、病原体への感受性が高まると予想される。これが事実だとすると、渡り鳥は渡りの時期に感染症の影響を受けやすいということになる。

本論文では、まず野鳥において研究が多い A 型インフルエンザに関する既存文献をレビューし、この感染症による死亡事例がカモ目の潜水カモ類とチドリ目カモメ科で多いことを明らかにした。また、潜水カモ類とカモメ科は、渡りに伴う体重、筋肉量、脂肪量といったエネルギー指標の項目(以下、Body condition)の変動に差異が報告されていたものの、この Body condition の変化が、病原体への感受性にどのような影響を与えているのかは解明されておらず、また A 型インフルエンザ感染と Body condition の関係は潜水カモ類に比較してカモメ科で知見が乏しかった。

一方、病原体の感染に係る免疫機能は、Body condition の低下による影響だけでなく、環境汚染物質によっても影響を受ける。とくに、重金属の鉛は、多くの野鳥種で生体影響が報告されている。カリフォルニアコンドル(*Gymnogyps californianus*)では鉛散弾に汚染された獣肉の摂食により、1982年から急激に個体数が減少している。カオジロオタテガモ(*Oxyura leucocephala*)は筋胃内で食物の消化に使用する小石と誤って鉛製の散弾を飲み込んで鉛汚染を起こし、中毒症状の個体が死亡し、絶滅の危機に瀕している。しかし、国内の野鳥の鉛汚染の実態や鉛の免疫機能への影響に関する研究事例は未解明な部分が多い。

本論文は、感染症に対する渡り鳥の生態的なリスクを解明することを目的に、日本の本州で越冬するユリカモメ(*Chroicocephalus ridibundus*)を対象として、渡りによる Body condition の変動と鉛汚染が及ぼす免疫機能への影響を把握するとともに、これらと A 型インフルエンザの感染状況との関係を分析および考察した。本論文は以下の2章で構成されている。

第1章 Body condition と鉛汚染が免疫に及ぼす影響、および渡りの時期との関係を解明する

2018年から2021年に、東京湾で越冬する個体群と三河湾で越冬する2つの個体群のユリカモメ、計326羽を対象とした。越冬期間中における時期との関係を分析する場合は、

飛来羽数の増減を基準として、秋の渡り時期、越冬期、春の渡り時期の3期に分けた。

Body condition の指標として、主成分分析によりユリカモメの体重、筋肉量、脂肪量の第1主成分を Body condition index (以下、BCI)と定義して用いた。BCI と各免疫項目との関係を検定した結果、白血球数($p=0.33$)および白血球におけるリンパ球(L)比($p=0.22$)で有意な正の相関がみられ、また白血球におけるヘテロフィル(H)比($p=-0.21$)および H/L 比($p=-0.22$)で有意な負の相関がみられた。BCI は季節的に変化し、各時期の中央値は秋の渡り時期が0.06、越冬期が0.52、春の渡り時期が-0.16で、すべての時期間で有意な差がみられた。

血中鉛濃度は季節的に変化し、各時期の中央値は秋の渡り時期が $1.00\mu\text{g/dL}$ 、越冬期が $2.00\mu\text{g/dL}$ 、春の渡り時期が $1.97\mu\text{g/dL}$ で、すべての時期間で有意な差がみられた。また、鉛の汚染源として採餌内容に注目し、越冬期間に生えた羽を用いて安定同位体比を分析した結果、ユリカモメは海洋性の甲殻類や貝類といった底生生物を採餌していると推定され、越冬期間中に鉛を摂取している可能性が示唆された。

鉛汚染が免疫機能に及ぼす影響を把握するために、免疫機能の指標となる血液検査項目(以下、免疫項目：白血球数、ヘテロフィル比、リンパ球比、H/L 比、CD4および CD8 α の mRNA のコピー数)と血中鉛濃度の間における相関を検定した。その結果、ヘテロフィル比($p=0.22$)およびリンパ球比($p=-0.22$)で、それぞれ有意な正および負の相関がみられ、血中鉛濃度の上昇は免疫機能に負の影響を及ぼすことが明らかになった。また、ヘテロフィル比およびリンパ球比が変化する血中鉛濃度の閾値は、およそ $4.0\mu\text{g/dL}$ であると考えられた。

最後に、各免疫項目を目的変数、血中鉛濃度および BCI を説明変数として渡り時期ごとに多変量解析を行ったところ、春の渡り時期ではヘテロフィル比とリンパ球比において血中鉛濃度と BCI の影響が拮抗していることが示された。春の渡り時期は血中鉛濃度が相対的に高く、一方で BCI が相対的に低下することが要因と考えられた。

第2章 Body condition と鉛汚染は A 型インフルエンザの感染にどのような影響を与えているのか

まず、越冬期間中におけるユリカモメの A 型インフルエンザウイルス抗体(以下、抗体)保有状況を明らかにした。抗体検査は、第1章で使用した個体から採血した血漿を用

いた。抗体検査は ELISA を使用し、抗体陽性/陰性判定を感染歴、吸光度を抗体量と定義した。第1章と同様に越冬期間中を3期に分け、抗体量の平均値および抗体陽性率の時期による差を検定した。その結果、抗体量と抗体陽性率は共に春の渡り時期にのみ有意に増加した($P < 0.05$)。

感染歴を目的変数(抗体陰性 : 0、陽性 : 1)、BCI および血中鉛濃度を説明変数としてロジスティック回帰分析を行った結果、抗体陽性個体が抗体陰性個体に比較して BCI は低く、血中鉛濃度は高いことが示された。また抗体陽性個体を対象に、抗体量を目的変数、BCI と血中鉛濃度を説明変数として重回帰分析を行ったところ、BCI は抗体量に影響は及ぼさなかったが($P > 0.21$)、血中鉛濃度は抗体量を有意に抑制する影響が示された($P = 0.03$)。

次に、BCI(正または負)および血中鉛濃度($4.0\mu\text{g/dL}$ 以上または未満)を基準に検査対象個体を4群に分け、感染歴に差がみられるか検定を行った。その結果、BCI が負かつ血中鉛濃度 $4.0\mu\text{g/dL}$ 以上の群は、BCI が正かつ血中鉛濃度 $4.0\mu\text{g/dL}$ 未満の群よりも有意に抗体陽性率が高くなった($P = 0.01$)。

最後に、感染歴と抗体量への BCI と血中鉛濃度の影響が、渡り時期によって変化するのか検証した。感染歴または抗体量を目的変数、BCI および血中鉛濃度を説明変数として渡り時期ごとに多変量解析した結果、秋の渡り時期は全ての変数で有意な関係がみられなかったが、越冬期では抗体陽性個体で血中鉛濃度が有意に高く($P = 0.02$)、また春の渡り時期では抗体陽性個体で血中鉛濃度が有意に高く($P = 0.047$)、BCI が有意に低かった($P = 0.03$)。さらに、春の渡り時期では、血中鉛濃度と抗体量の間有意な負の相関が認められた($P < 0.001$)。

これらの結果から、A 型インフルエンザへの感染状況は渡り時期によって鉛汚染や Body condition から受ける影響の程度に差異があり、とくに春の渡り時期には鉛汚染と Body condition から有意な影響を受ける可能性が考えられた。また、既存知見を踏まえると、春の渡り時期に見られた有意な感染歴や抗体量の増加には、この時期にユリカモメがカモ目など他種の鳥類と生息地を共有するという生態的要因も関連していると示唆された。

本研究は、基礎知見の解明から A 型インフルエンザの感染に係る要素まで研究を遂行した。本研究から明らかにされた知見、1. 免疫機能は Body condition の増加によって維

持され、また鉛汚染によって抑制される、2. ユリカモメでは4.0 μ g/dL 以上という低濃度で免疫機能に抑制が生じる可能性がある、3. A 型インフルエンザの感染は渡り時期、**Body condition**、そして鉛汚染が複合的に影響する、という3点は野生動物感染症の管理へ重要な示唆を与えると期待される。