

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 牛 根 奈 々

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、病原体への感受性に係る免疫機能は、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ており、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。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ものである。

なお、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 ($\rho = 0.33$) および白血球におけるリンパ球 (L) 比 ($\rho = 0.22$) 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 ($\rho = -0.21$) および H/L 比 ($\rho = -0.22$) 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 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 、越冬期が 2.00 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 、春の渡り時期が 1.97 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 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 ($\rho = 0.22$) およびリンパ球比 ($\rho = -0.22$) と H/L 比 ($\rho = -0.22$) 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 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 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 の影響が相乗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値(正または負)および血中鉛濃度(4.0 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 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値が負かつ血中鉛濃度4.0 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以上の群は、BCI値が正かつ血中鉛濃度4.0 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 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には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抗体陽性率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。

以上のように、本論文は渡り鳥における渡り生態や環境汚染が与える免疫機能への影響を明らかにし、この成果が野生動物感染症の流行するメカニズムの解明につながると期待されることから、学術上、応用上貢献するところが少なくない。

よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。