

研究課題名

鯨類における中枢神経疾患と汚染物質蓄積との関連性の検討

共同研究者

中郡 翔太郎（岐阜大学 大学院連合獣医学研究科 帯広畜産大学配置）

落合 真理（愛媛大学 沿岸環境科学研究センター）

古林 与志安（帯広畜産大学 基礎獣医学研究部門）

岩田 久人（愛媛大学 沿岸環境科学研究センター）

研究目的

鯨類は海洋生態系における高次捕食者であり、しばしば環境変動や海洋汚染の指標として用いられる。近年、鯨類を取り巻く環境は人間活動により大きく変化しており、国外では環境汚染物質の高蓄積による繁殖障害（Jepson *et al.* *Sci Rep.* 2016;6:18573）など、健康被害の報告例が増加している。しかしながら、日本周辺域の鯨類を対象とした同様の調査報告は乏しく、個体群の健康状態は把握できていなかった。

申請者らは 2013 年度より、日本近海に生息する鯨類の疾患を対象として体系的な病理学研究を行っている。成果の一例として、オウギハクジラではアミロイドーシスの罹患率が非常に高いことや、ネズミイルカやミンククジラなど一部の種では奇形個体が存在することを明らかにした（Nakagun *et al.* *J Vet Med Sci.* 2019;81:897–902）。また、2017 年度の LaMer 助成により、ハブスオウギハクジラについて過去に報告のない肝吸虫症を病理学的に解析することが叶った。加えて、本種における肝吸虫症と環境汚染物質濃度との関連性について解析し、論文としてまとめた（Nakagun *et al.* *Dis Aquat Organ.* 2018;127:177–192）。

上記のように、これまでの調査により日本近海に生息する鯨類の疾病が少しずつ解明されてきた。中でも特筆すべき現象として、これまで北海道沿岸では目撃情報の少なかったスジイルカなどの種が、近年、北海道で座礁・漂着する事例が増加している。これらの個体の脳や脊髄では高率に炎

症像が確認され、中枢神経系の傷害による通常の回遊ルートからの逸脱や方向感覚の消失による座礁など、行動異常との関与が疑われる。中枢神経系における炎症性疾患には脳炎や脊髄炎、髄膜炎などが含まれ、鯨類においてはブルセラ菌やモルビリウイルスなどの病原体に対する感染が主な原因として知られる (Van Bresse *et al.* *Dis Aquat Organ.* 2009;86:143–157)。一方、汚染物質が免疫能の低下を引き起こし得ることは鯨類に関してもよく知られており (Beineke *et al.* *Environ Sci Technol.* 2005;39:3933–3938)、これら炎症性疾患の背景要因の一つとして化合物への長期的な曝露による免疫抑制も考えられる。本研究では、鯨類の中枢神経系における疾患と環境汚染物質の体内蓄積濃度との関連性の有無を検討し、座礁・漂着の重大な要因の一つとされる中枢神経系疾患を多角的に評価することを目的とする。

研究内容

本研究において、対象とする鯨種および中枢神経疾患は、十分な個体数を確保できるという観点から、それぞれスジイルカおよびブルセラ脳症とした。また、対象試料としては申請者らが現在までに集積してきた、日本で漂着もしくは座礁（ストランディング）した個体ならびに今年度新たに収集した個体を用いた。

本研究は二段階に分けて実施した。第一段階としては、スジイルカの病理組織検査を通じて、中枢神経系に炎症性変化が認められる個体と中枢神経系には異常が認められない個体とを選別した。これらの個体の組織に対し、ブルセラ菌に特異的な抗体を用いた免疫組織化学染色およびブルセラ菌の遺伝子断片を検出するための PCR・遺伝子配列解析を実施し、ブルセラ脳症の確定診断を行い、スジイルカにおけるブルセラ脳症の詳細な病理組織像を把握した。その後、第二段階として、*es-BANK* にて -25°C で凍結保存されていたブルセラ脳症個体および中枢神経系に異常が認められない個体（非ブルセラ脳症個体）の脂皮を用い、それぞれ残留性有機汚染物質（POPs）の濃度を測定し、評価した。

研究成果

北海道におけるスジイルカのスランディング

スジイルカは世界中の熱帯から亜寒帯の海に広く分布し、日本では沖縄から北海道までがその分布域に含まれるが、近年まで北海道における漂着例は2003年の白骨化個体を除き、記録されていなかった(図1)。しかし、2015年の座礁例を始めに、本研究開始時まで4年間で9頭のスランディングがあり、さらに本研究期間の1年間で8頭のスランディングが認められた(図1)。これら17頭のうち、一度漂着はしたもののその後、海に戻った個体や高度腐敗状態で漂着した個体などを除き、病理解剖および組織検査を実施できた個体は10頭であった。検査した10頭中、中枢神経系に炎症性の変化を認めた個体は9頭であり、免疫組織化学染色ならびに遺伝子配列解析によりブルセラ脳症と確定した個体は8頭であった。以上より、北海道における近年のスジイルカの漂着数上昇にはブルセラ症が関連していると考えられた。

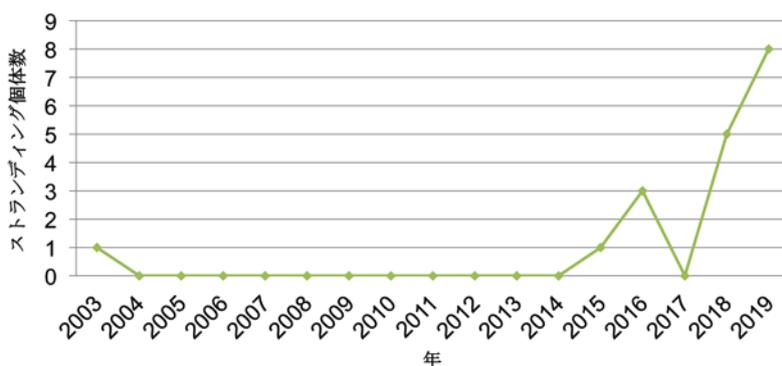


図1. 北海道におけるスジイルカ漂着数の変遷

スジイルカにおけるブルセラ脳症の病理像

ブルセラ脳症と診断したスジイルカでは、病変の程度の差こそみられたが、8頭全てで似た変化が観察された。肉眼的には髄膜炎が認められ、組織学的には脳および脊髄の硬膜から軟膜にかけて単核炎症細胞が浸潤し、軟膜領域の一部の動脈では本疾患に特徴的な血管病変が見出された(図2a-c)。さらに、ブルセラ菌に特異的な抗体を用いた免疫組織化学染色で

は、浸潤する一部の炎症細胞細胞質内に陽性像が散見された（図 2d）。

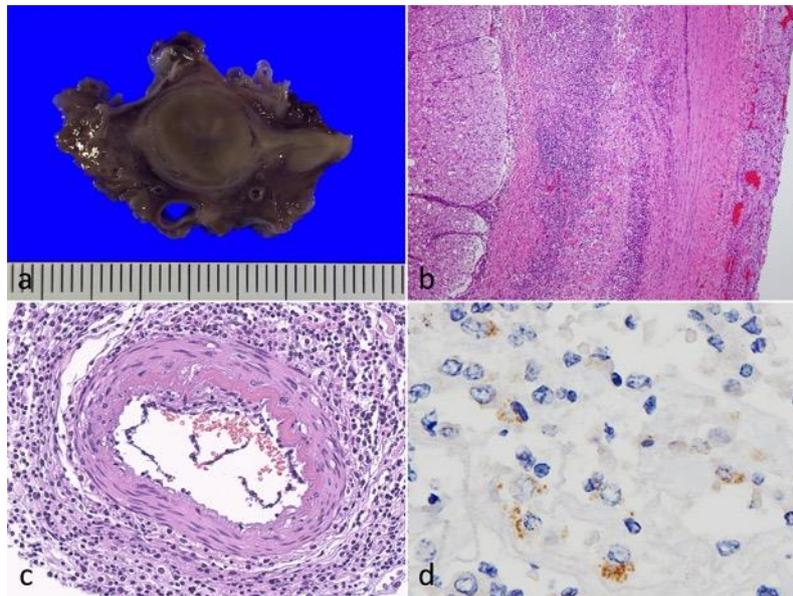


図 2. ブルセラ脳症の病理像。(a) ホルマリン固定後の脊髄では、くも膜領域が顕著に肥厚する。(b) 脊髄の組織像では、硬膜から軟膜にかけて細胞が高度に浸潤する。(c) 浸潤細胞は単核炎症細胞であり、一部の動脈では血管壁のフィブリノイド壊死が認められる。(d) 抗ブルセラ抗体を用いた免疫組織化学染色では、炎症細胞の細胞質内に陽性像が得られる。

ブルセラ脳症と汚染物質蓄積との関連性の検討

2013年から2018年の間に日本沿岸に漂着したスジイルカのうち、ブルセラ脳症の個体4頭および非ブルセラ脳症の個体9頭の脂皮中 POPs 濃度を測定した結果、全ての項目においてブルセラ脳症個体の方が有意に低値を示した（図 3）。しかし、ブルセラ脳症と診断された個体が全て北海道

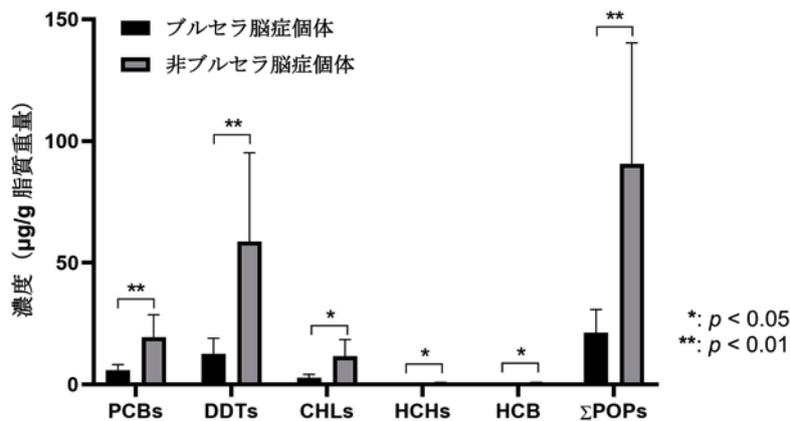


図 3. ブルセラ脳症と非ブルセラ脳症のスジイルカにおける POPs 濃度のスタンディング個体であったことから、漂着した地域ごとに解析を行った結果、中枢神経系の疾患とは無関係に、北海道の個体と比べ、本州の個体の方が高濃度の PCB を蓄積していることが明らかとなった (図 4)。

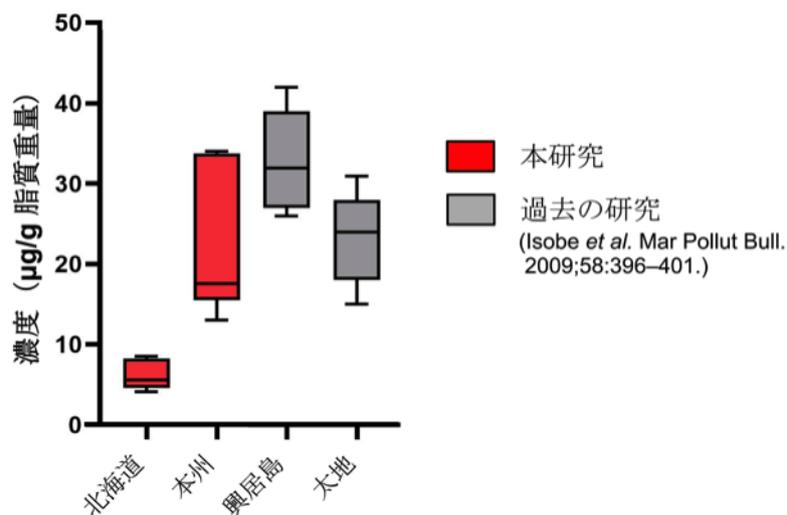


図 4. 日本近海に生息するスジイルカの PCB 濃度

成果発表

本研究の成果は次年度中に論文としての発表を予定している。

今後の問題点

これまでの鯨類における病理学的研究では、疾患の有無や病態の一端は解明されてきたが、環境汚染物質の蓄積とは関連付けられていなかったため、病態の全容を明らかにすることは叶わなかった。一方、環境毒性学的

研究では、同一海域内における個体群の汚染状況を把握し、健康状態への影響を示唆することはできたが（Ochiai *et al.* *Mar Environ Res.* 2017;128:124–132）、汚染物質の体内蓄積と疾患の関係は不明のままであった。したがって、疾病への罹患が把握できている症例に対して、汚染物質濃度を測定し、関連性について解析するという新たなアプローチを導入する学術的意義は大きい。本研究ではブルセラ脳症と汚染物質の高蓄積との直接的な関連は認められなかったが、北海道周辺に生息するスジイルカの方が本州の個体より POPs 蓄積濃度は低い状況が明らかとなり、今後はそれぞれの海域に生息する個体群の差についての検討も必要と考えられた。