

臭素化難燃剤hexabromocyclododecane (HBCD) の ラット周産期暴露における発達期免疫機能影響について

蜂須賀暁子[#], 中村亮介, 佐藤雄嗣, 中村里香, 渋谷 淳, 手島玲子

Effects of perinatal exposure to the brominated flame-retardant hexabromocyclododecane (HBCD) on the developing immune system in rats

Akiko Hachisuka[#], Ryosuke Nakamura, Yuji Sato, Rika Nakamura, Makoto Shibutani, Reiko Teshima

To evaluate the developmental immunotoxicity of brominated flame retardant, hexabromocyclododecane (HBCD), maternal Sprague-Dawley rats were given HBCD at dietary concentrations of 0, 100, 1000, 10000 ppm from gestational day 10 to postnatal day 21 (postnatal week 3, PNW3). At PNW3 and PNW11, lymphocytes in the spleen, thymus, and peripheral blood of male pups were subjected to flow cytometric analyses for expression of surface markers (CD3, CD4, CD8a, CD25, CD45RA, CD71, and CD161 (NKRP1A)). The spleen and thymus weights, and number of white blood cells of two organs did not change between HBCD-exposed and control groups at PNW3 and PNW11. A significant decrease in thyroid hormone T3 and increase in serum albumin concentration were observed at PNW3 and lasted until PNW11. By flow cytometric analysis, the dramatic change was not observed in the population of the splenic and thymic T/B lymphocyte between the HBCD treated groups and control group. In the peripheral blood of PNW3 rats, the population of activated T cells was decreased and that of inactivated B cells was increased. And the population of NK cells in the spleen was decreased. All of these changes were mild in degree, and returned to the normal levels by PNW11. Production of anti-KLH IgG antibody after KLH immunization was reduced by the 10000 ppm HBCD treatment. These results suggest that developmental exposure to the highest dose of HBCD had a weak immunomodulatory effect at PNW3, and most of the immunomodulatory effect had recovered to normal levels by PNW11.

Keywords: hexabromocyclododecane, brominated flame retardant, rat, immunotoxicity, developmental toxicity

1. はじめに

難燃剤とは、プラスチック・ゴム・繊維・紙・木材などの可燃性の素材に添加してそれらを燃えにくくし、あるいは炎が広がらないようにする化合物であり、ハロゲン化合物などの有機系、金属水酸化物などの無機系に分類される。Hexabromocyclododecane (HBCD) は、ハロゲン系難燃剤の中でも臭素含有率が高いことから、少量で優れた難燃機能を有するとされ、日本において年間

約3,000トンの需要量があり、その約8割が建設用の発泡系断熱材に、約2割がカーテンなどの繊維製品に利用されている。難分解性、高蓄積性であることから2004年9月化審法の第一種監視化学物質に指定された。長期毒性については不明な点が多いが、2008年Ema¹⁾らの2世代生殖毒性試験によりヒトに対する毒性は高くないと判断され、2009年5月の改正においても第一種監視化学物質のまま据え置かれている。

他方、免疫系は環境化学物質や薬物の有害影響に鋭敏に反応し、かつその健康影響はアレルギー、感染症、発がんなど多様な形で発現することが知られ、環境因子の影響を評価する際の重要な指標であることが指摘されてきた。また、胎児期から小児期にかけては生体組織・機

[#]To whom correspondence should be addressed:

Akiko Hachisuka; 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext. 243; Fax: +81-3-3707-6950; E-mail: hachisuka@nihs.go.jp

能が発育段階にあり未熟であるために環境有害因子に対して感受性が高い時期 (critical window) と考えられており、胎児期から小児期に受けた影響は生涯にわたって続く障害となる場合が少なくない。以上の点から、化学物質の発達期暴露による免疫影響についての検討は極めて重要なものであるが、一般毒性試験の中では実施されていないことから、免疫毒性試験評価手法の高度化、標準化が、国際的にも望まれている。

本報告では、対象化合物として本邦で使用頻度の高い臭素系難燃剤を取り上げ、胎児期から幼児期にかけてのラットに暴露した際の、胸腺、脾臓を中心とした免疫機能影響の評価研究を行った。HBCDを含むtetrabromobisphenol A (TBBPA), decabromodiphenyl ether (DBDE) 等の臭素系難燃剤は、甲状腺機能障害を有することが示唆されている化学物質でもある²⁾。そこで、免疫影響について考察するにあたっては、甲状腺機能障害性についても考慮した。最後に、HBCDの免疫影響について、すでに報告したDBDEの免疫影響³⁾との比較を加えた。

2. 方法

動物は、各群10匹ずつの妊娠SD:IGSラットを用い、妊娠10日目から出産3週目まで、被験物質であるHBCDを、100ppm, 1000ppm, 10000 ppmの濃度で餌 (大豆除去飼料 (西川食)) に混ぜ、親に自由摂取させた。大豆イソフラボン⁴⁾は代表的な植物エストロゲンであり、甲状腺ペルオキシダーゼの活性阻害作用によりヨウ素欠乏状態で甲状腺機能低下を来すと⁴⁾の報告があるため⁴⁾、本実験では大豆成分の影響を避けるために被験物質投与期間は大豆除去食とした。出産3週目 (PNW3) に離乳を行い、各群雌雄10匹ずつの児ラットの解剖を行なった。残りの児ラットについては、3週目からは、通常のCRF-1飼料を与えて11週まで飼育し、回復の程度を見る実験に供した。3週目、11週目の解剖時の免疫影響評価のための項目は、表1に示した通りである。病理組織学的検査のみ雌雄児ラットについて行い、他は雄児ラットについて行った。

(1) 血液学的検査: 末梢血白血球数は、ラット後大動脈より採血した血液20 μ lをあらかじめ80 μ lの0.5% EDTA-2K溶液が入った1.5mlチューブに入れて混和し、多項目自動血球計数装置 (M-2000, Sysmex corp) に供した。赤血球数 (RBC), 白血球数 (WBC), 血小板数 (PLT), ヘモグロビン濃度 (HGB), ヘマトクリット値 (HCT), 平均赤血球容積 (MCV) 平均赤血球色素量 (MCH) 及び平均赤血球色素濃度 (MCHC) の測定を行なった。白血球百分比は、Wright染色した塗抹標本を作製し、杆状核好中球 (Band), 分葉核好中球 (Seg), 好酸球 (Eosino), 好塩基球 (Baso), リン

表1 本実験で用いた免疫毒性のマーカー

(1)	末梢血白血球数, 白血球百分比
(2)	胸腺, 脾臓の重量
(3)	胸腺, 脾臓の病理組織学的検査
(4)	体液性免疫: KLHに対する血中IgM, IgG抗体産生 (ELISA) 脾臓, 末梢血, リンパ節のフローサイトメトリー: B細胞数 (CD45RA)
(5)	細胞性免疫 脾臓, 末梢血, リンパ節のフローサイトメトリー: T細胞数 (CD3) 及び T細胞サブセット (CD4及びCD8a), 調節性T細胞 (CD4+CD25+), 活性化T細胞 (CD3+CD71+)
(6)	非特異的免疫 脾臓, 末梢血のNK細胞数

パ球 (Lympho), 単球 (Mono) 及び有核赤血球 (Ebl) について血液細胞自動分析装置 (Microx MEG50S, Sysmex) を用いて計測した。

(2) 胸腺, 脾臓の重量: 採血終了後、動物を放血死させ、免疫系器官である胸腺, 脾臓の重量を測定した。重量測定後、臓器を2つにわけ、一方を病理組織学的検査用とし、残りをフローサイトメトリー用に供した。

(3) 病理組織学的検査: 上記(2)で記した胸腺, 脾臓の1部を、常法に従って中性緩衝ホルマリン液で固定を行い、薄切切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。

(4) 体液性免疫: 抗体産生への影響を調べるために、解剖に供した児ラットとは別個体雄児ラットに、生後 (PND) 23日, 33日及び43日にKLH (keyhole limpet hemocyanin) 50 μ gをalum 1mgとともに腹腔内投与し、40及び50日目に採血し、500~500,000倍希釈し、KLHを固相抗原としたELISAにて、KLH特異的IgG及びIgM抗体価を測定した⁵⁾。また、脾臓, 末梢血, 血液中Bリンパ球の割合を、PECy5標識抗CD45RA抗体処理によるフローサイトメトリーを用いて解析した。

(5) 細胞性免疫: 細胞性免疫に関与する胸腺, 脾臓, 末梢血中Tリンパ球の割合の解析のため、フローサイトメトリーによる解析を行なった。全T細胞数は、FITC標識抗CD3抗体を用い、CD4, CD8 T細胞サブセットは、PECy5標識抗CD4抗体及びPE標識抗CD8a抗体を用い、調節性T細胞 (CD4+CD25+)⁶⁾ については、PE標識抗CD25抗体を併用し、活性化T細胞 (CD3+CD71+) については、PE標識抗CD71 (トランスフェリン受容体) 抗体を併用して解析を行なった⁷⁾。

(6) 非特異的免疫: 脾臓, 末梢血中のNK細胞数の割合をFITC標識抗NKRP1A (CD161) 抗体を用いてフローサイトメトリーで解析した。

(7) フローサイトメトリー: 上記(4)-(6)で示したリン

パルスサブpopulation解析は、脾臓、胸腺、末梢血細胞を3種の蛍光で標識した抗体を用い三重染色後、Facs Caliber (Becton Dickinson) を用いて行なった。動物実験は研究所の規定に準拠し、実験動物委員会の承認に基づき実施した。

3. 研究結果

(1) HBCDの免疫担当細胞への影響

図1に、臭素化難燃剤HBCD親ラット投与による児雄ラットの体重、臓器重量変化の結果を示す。3週令時、11週令時共に、HBCD 100, 1000, 10000ppm投与群で対照群と比較して、体重、脾臓、胸腺重量に有意な差はみられなかった。なお、母動物の体重にも投与による影

響は認められなかった。また、HBCD投与ラットの脾臓、胸腺細胞の白血球数についても、有意差はみられなかった。なお、肝臓重量は、1000, 10000ppm投与群の3週令において、有意な増加が認められたが、11週令においては、有意差は認められなかった。

次に表2、表3に、3週令ラットと11週令ラットの血液学的検査を行なった結果を示すが、末梢血白血球数(表2)、白血球百分比(表3)ともに、3週令、11週令ラットにおいて、対照と比べて有意な変化はみられなかった。なお、3週令で、赤血球容積、11週令で血色素濃度の用量依存的な上昇が観察され(表2)、また、3週令で、有核赤血球(Ebl)のわずかな上昇傾向がみられた(表3)。

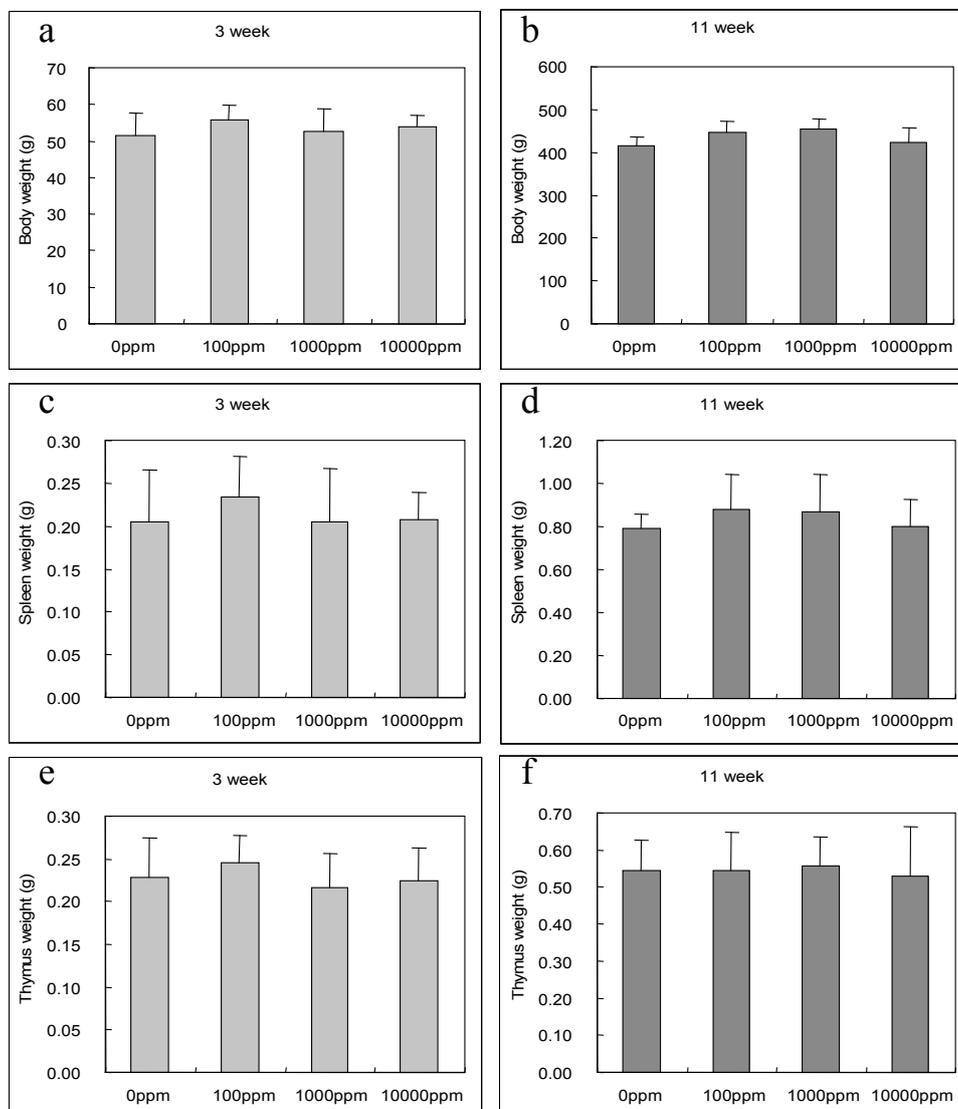


Fig. 1 Effect of perinatal exposure to HBCD on the body weight and the immune-related organs weight of offspring. Dams were fed *ad lib* HBCD-containing diet from gestational day 10 to PNW3. The body weight (a, b), spleen weight (c, d), and thymus weight (e, f) of the male offspring at PNW3 and PNW11, respectively. Means (n=10) \pm SD are shown. There was no significant difference (Dunnett, $p < 0.05$).

次いで、フローサイトメトリーによるリンパ球ポピュレーションの解析では、HBCD投与群と対照群との間に幾つかの項目で、リンパ球サブポピュレーションにおける変化が観察された。表4に、5%以上の有意差を持つ変化のみられた項目につき、解析したリンパ球サブポ

ピュレーションの割合を数値で表したものを示した。T細胞のサブポピュレーション解析では、脾臓リンパ球において、HBCD 100ppm, 10000ppm投与11週令時で、CD8+ T細胞の上昇が認められた。また、末梢血における活性化T細胞の割合の低下、並びに非活性化B細胞の

Table 2 Hematological changes in male rats perinatally exposed to HBCD

group	WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	PLT	n
PNW 3	x 10 ⁹ /ul	x 10 ⁶ /ul	g/dl	%	fL	pg	g/dL	x 10 ⁹ /ul	
M-1 (control)	35.3 ± 11.3	327.7 ± 22.7	5.19 ± 0.69	20.00 ± 1.81	61.05 ± 4.23	15.85 ± 1.90	25.92 ± 1.93	118.92 ± 19.50	10
M-2 (HBCD 100 ppm)	30.9 ± 10.0	336.8 ± 30.2	5.83 ± 0.87	21.59 ± 1.85	64.25 ± 4.31	17.32 ± 2.32	26.85 ± 2.33	121.77 ± 11.28	10
M-3 (HBCD 1000 ppm)	47.5 ± 11.8 *	328.1 ± 24.0	5.76 ± 0.73	21.16 ± 2.07	64.50 ± 4.27	17.55 ± 1.77	27.17 ± 1.19	128.38 ± 11.06	10
M-4 (HBCD 1000 ppm)	39.6 ± 7.9	322.3 ± 23.7	5.98 ± 1.18	21.57 ± 3.24	66.71 ± 6.26 *	18.46 ± 2.67 *	27.55 ± 1.94	123.99 ± 22.54	10
PNW11									
M-1 (control)	82.1 ± 17.8	758.6 ± 63.6	14.27 ± 1.93	46.74 ± 3.79	61.64 ± 1.63	18.78 ± 2.01	30.49 ± 3.29	108.85 ± 9.88	10
M-2 (HBCD 100 ppm)	109.8 ± 30.8 *	786.5 ± 30.4	15.60 ± 0.59	48.03 ± 1.79	61.07 ± 1.23	19.85 ± 0.32	32.47 ± 0.50	111.32 ± 12.15	10
M-3 (HBCD 1000 ppm)	110.0 ± 29.3 *	815.1 ± 55.3 *	15.96 ± 0.82 *	49.29 ± 3.32	60.48 ± 1.16	19.59 ± 0.50	32.42 ± 0.82	117.26 ± 13.72	10
M-4 (HBCD 1000 ppm)	103.4 ± 34.1	766.4 ± 39.6	15.27 ± 0.56	46.42 ± 2.16	60.61 ± 1.30	19.94 ± 0.60	32.90 ± 0.46 *	123.97 ± 19.15 *	10

Values are mean ± SD of 10 rats. * <0.05 (Dunnett's-test)

Table 3 White blood cell classification in male rats perinatally exposed to HBCD

group	n	Lymp	Seg	Eosi	Mono	Band	Ebl
PNW3		%	%	%	%	%	n
M-1 (control)	9	78.88 ± 4.74	19.73 ± 4.77	0.61 ± 0.74	0.61 ± 0.49	0.0 ± 0.0	0.06 ± 0.17
M-2 (HBCD 100 ppm)	10	79.02 ± 3.18	19.63 ± 3.26	0.60 ± 0.46	0.75 ± 0.63	0.0 ± 0.0	0.48 ± 0.66
M-3 (HBCD 1000 ppm)	10	81.69 ± 3.81	17.21 ± 4.19	0.45 ± 0.37	0.65 ± 0.75	0.0 ± 0.0	0.26 ± 0.37
M-4 (HBCD 1000 ppm)	10	81.41 ± 4.06	17.42 ± 4.50	0.36 ± 0.50	0.81 ± 0.90	0.0 ± 0.0	1.00 ± 1.45
PNW11							
M-1 (control)	10	84.64 ± 5.46	13.51 ± 5.15	0.90 ± 0.94	0.95 ± 0.69	0.0 ± 0.0	0.05 ± 0.16
M-2 (HBCD 100 ppm)	10	84.27 ± 4.88	13.33 ± 4.67	1.50 ± 1.15	0.90 ± 0.70	0.0 ± 0.0	0.00 ± 0.00
M-3 (HBCD 1000 ppm)	10	87.56 ± 4.33	10.44 ± 3.79	1.05 ± 0.93	0.95 ± 0.64	0.0 ± 0.0	0.05 ± 0.16
M-4 (HBCD 1000 ppm)	10	86.44 ± 3.36	11.86 ± 3.34	0.75 ± 0.68	0.95 ± 0.50	0.0 ± 0.0	0.00 ± 0.00

Values are mean ± SD. There was no significant difference (Dunnett, p<0.05).

Table 4 Effects of HBCD on subpopulations of immune cells

T cell subpopulations

HBCD:	Spleen 3w				Spleen 11w				Note
	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	
CD3(+) CD8a(+)	6.84 ± 1.3	8.15 ± 1.88	7.22 ± 1.52	6.6 ± 1.44	13.42 ± 2.71	18 ± 4.21*	15.2 ± 3.54	18.4 ± 4.58*	CD8 T cell
CD8a(+) CD4(-)	6.86 ± 0.95	8.12 ± 2.16	6.99 ± 1.42	6.43 ± 1.44	14.42 ± 2.23	18.54 ± 4.34*	16.85 ± 4.31	18.87 ± 4.82*	CD8

Activation of T/B cells

HBCD:	Thymus 3w				Thymus 11w				Note
	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	
CD3(+) CD71(+)	2.67 ± 0.87	2.46 ± 0.8	1.82 ± 0.55*	1.87 ± 1.15	0.92 ± 0.97	0.74 ± 0.51	1.02 ± 0.84	1.04 ± 0.7	active T cell
HBCD:	Peripheral Blood 3w				Peripheral Blood 11w				Note
	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	
CD3(+) CD71(+)	13.51 ± 3.47	14.01 ± 2.16	11.81 ± 1.96	10.4 ± 2.02*	1.45 ± 0.54	1.35 ± 0.6	1.27 ± 0.47	1.32 ± 0.24	active T cell
CD71(+) CD45RA(+)	20.79 ± 4.03	20.24 ± 2.97	23.08 ± 1.77	25.81 ± 2.84**	20.91 ± 5.79	19.65 ± 7.81	22.94 ± 6.7	21.22 ± 5.22	Inactive B cell

Treg, NK, NKT cells

HBCD:	Spleen 3w				Spleen 11w				Note
	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	
NKR1A(+) CD25(-)	11.36 ± 0.79	11.55 ± 1.19	11.25 ± 1.67	9.99 ± 1.11**	21.47 ± 2.47	21.47 ± 3.9	23.28 ± 4.29	20.77 ± 2.33	NK cell
NKR1A(+) CD4(+)	6.47 ± 0.61	6.28 ± 0.81	6.4 ± 1.31	5.63 ± 0.81**	12.53 ± 1.88	12.89 ± 1.85	13.78 ± 2.66	13.09 ± 1.72	CD4NKT
NKR1A(+) CD4(-)	5.75 ± 0.35	6.06 ± 1.09	5.65 ± 0.87	5.09 ± 0.76*	10.63 ± 1.63	9.97 ± 3.44	11.38 ± 2.47	9.44 ± 2.39	NK cell
HBCD:	Thymus 3w				Thymus 11w				Note
	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	
CD25(+) CD4(+)	7.7 ± 2.57	5.15 ± 0.94*	7.69 ± 1.27	7.85 ± 2.85	4.16 ± 1.09	3.98 ± 0.87	4.41 ± 0.76	4.32 ± 1.22	Treg
NKR1A(+) CD4(-)	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.03	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.05	0.2 ± 0.04	0.2 ± 0.05	0.25 ± 0.09	0.27 ± 0.08*	NK cell
HBCD:	Peripheral Blood 3w				Peripheral Blood 11w				Note
	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm	
NKR1A(+) CD25(+)	0.12 ± 0.03	0.1 ± 0.03	0.09 ± 0.02	0.08 ± 0.04*	0.27 ± 0.07	0.23 ± 0.08	0.27 ± 0.07	0.25 ± 0.09	CD25NK

*p<0.05, **p<0.01

割合の上昇が、3週令時ラットHBCD 10000ppm投与群でみられた。さらに、NK細胞については、脾臓におけるNKRP1A (NK受容体) 陽性細胞の割合の減少が、HBCD 10000ppm投与3週令ラットにおいて観察された。

HBCD投与による血液生化学的検査結果については、表5に示すが、3週令時10000ppmHBCD投与群において、甲状腺ホルモンT3の有意な減少及びTSHの有意な上昇が観察された。11週令時においてもT3の有意な低下が、1000, 10000ppm HBCD投与群でみられた。また、血清のアルブミン値の上昇が、11週令時の10000ppmHBCD投与群において観察された。

病理組織学的所見を表6に示す。3週令雄の1000ppm

HBCD投与群において、貪食したマクロファージであるstarry-sky像が増加していたが用量依存性は認められなかった。その他は、顕著な変化は認められなかった。

投与ラットのKLHに対する抗体産生への影響を図2に示す。図には、KLHで2回免疫したラットから得た血清 (PND40) のELISAで測定したKLH特異的IgG抗体価とHBCDの用量依存性を調べた結果を示しているが、HBCDの濃度が上昇するにつれ、抗体価の減少する傾向が得られ、HBCD 10000ppm投与群で、対照群と比較して有意な抗体価の減少が観察された。

4. 考察

臭素化難燃剤HBCDの胎児期及び幼児期投与による児

Table 5 Serum levels of thyroid-related hormones of the offspring perinatally exposed to HBCD

	HBCD in diet (ppm)							
	0		100		1000		10000	
PNW3								
No. of offspring examined	10		10		10		10	
T3 (ng/ml)	1.09	± 0.11 ^a	1.13	± 0.12	1.06	± 0.08	0.93	± 0.10 ^{**}
T4 (ug/dl)	4.39	± 0.93	4.20	± 0.77	4.78	± 0.49	4.20	± 0.52
TSH (ng/ml)	5.40	± 0.62	6.66	± 1.24	6.07	± 1.41	7.00	± 1.31 [*]
A/G ratio	2.17	± 0.43	2.34	± 0.59	2.08	± 0.34	1.93	± 0.70 ^b
albumin (g/dl)	3.55	± 0.18	3.62	± 0.25	3.62	± 0.16	3.84	± 0.15 ^{b, **}
PNW11								
No. of offspring examined	10		10		10		10	
T3 (ng/ml)	0.96	± 0.06	0.93	± 0.07	0.88	± 0.05 ^{**}	0.89	± 0.06 ^{**}
T4 (ug/dl)	4.77	± 0.70	4.84	± 0.59	5.21	± 0.65	5.20	± 0.98
TSH (ng/ml)	4.74	± 0.62	5.81	± 1.72	5.36	± 1.11	4.96	± 0.80
A/G ratio	1.86	± 0.24	1.89	± 0.29	1.74	± 0.16	1.70	± 0.14
albumin (g/dl)	3.53	± 0.32	3.63	± 0.29	3.82	± 0.34	4.00	± 0.39 ^{**}

^a Mean ± SD.

^b n=9

Abbreviations: HBCD, hexabromocyclododecane; PNW, postnatal week.

^{*}, ^{**} Significantly different from the controls by Dunnett's test or Dunnett-type rank-sum test (^{*}p<0.05, ^{**}p<0.01).

Table 6 Histopathology of the thymus and spleen of male and female rats perinatally exposed to hexabromocyclododecane (HBCD)

	HBCD in diet (ppm)			
	0	100	1000	10000
HBCD 3				
No. of animals examined (male/female)	10/10	10/10	10/10	10/10
Thymus				
Increased starry sky appearance (±) ^a	0/0 ^b	0/0	4*/0	1/0
Spleen				
Atrophy of white pulp (±)	0/0	0/0	0/0	1/0
Reduction in the number of white pulp (±)	0/0	0/0	0/0	1/0
HBCD 11				
No. of animals examined (male/female)	10/10	10/10	10/10	10/10
Thymus				
Increased starry sky appearance (±)	0/0	0/0	0/3	0/0
Reduction of cortical area (±)	1/2	0/0	1/1	4/3
Spleen				
No abnormalities detected	10/10	10/10	10/10	10/10

^a Grade of change; ±, minimal.

^b Total No. of animals with each finding.

^{*} Significantly different from the controls by Fisher's exact probability test (^{*}p < 0.05).

ラットの免疫系への影響を、リンパ球のポピュレーション、サブポピュレーション、NK細胞の割合の解析により検討した。その結果、胸腺、脾臓重量に対照群との間に差は認められなかったが、3週令の脾臓においてNK細胞の減少が観察され、末梢血の活性化T細胞の減少、非活性化B細胞の上昇も観察された。甲状腺機能障害性

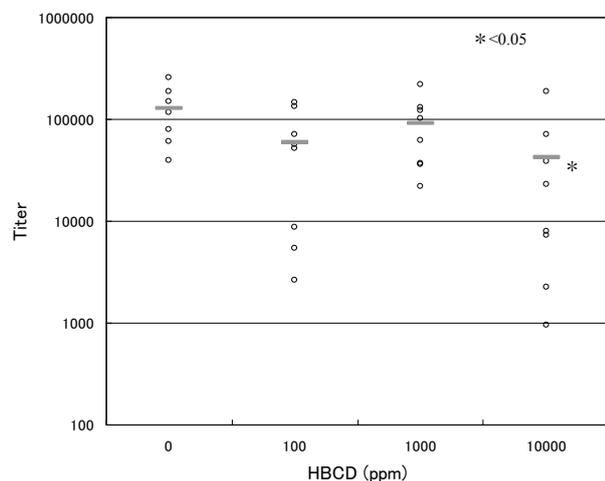


Fig. 2 Effect of HBCD on the antibody production of the offspring

The HBCD-exposed female offspring were challenged with 50 μ g of KLH with 1 mg of alam twice after ceasing exposure on postnatal day 23 and 33. Serum was obtained 1 week after final immunization, and the IgG titer to KLH was measured by ELISA. Open circles represent individual values, and gray lines indicate mean values. In the highest dose (10000 ppm), the antibody titer against KLH decreased in comparison with the control group significantly (Dunnett, $p < 0.05$).

Table 7 Immunity-related influences exposed to HBCD (a) and DBDE (b)

a) HBCD	1000ppm	10000ppm
PNW3		
liver weight	↑	↑
spleen CD161+NK cell		↓
peripheral active T cell		↓
peripheral inactive B cell		↑
serum T3 level		↓
serum TSH level, albumin		↑
serum T3 level	↓	↓
serum albumin		↑
PNW3-7		
KLH-antibody production		↓
b) DBDE	100ppm	1000ppm
PNW3		
liver weight	↑	↑
spleen active T, B cell		↓
spleen CD4+ cell		↓
serum T3 level		↓
PNW11		
peripheral CD161+NK cell		↓
serum T4 level		↓

を有する薬物Propylthiouracil (PTU) 及びMethimazole (MMI)^{8,9)}を用いた同様の実験では、B細胞の比率の低下等の大きなポピュレーション変化を伴う現象が観察されたが、それら抗甲状腺作用薬に比較してHBCDの影響は軽度であった。回復期の11週令においては、リンパ球ポピュレーションに有意な変化は観察されなかった。以上、HBCDは、軽度ではあるが、免疫担当細胞への影響が示唆されるデータが得られ、甲状腺ホルモンT3の低下と連動することから、これら影響は、甲状腺機能抑制と連関する可能性が考えられた。なお、血清アルブミンの上昇、肝臓の臓器重量の増加も観察されたことから、HBCDの甲状腺機能への影響は、HBCDが直接甲状腺機能を抑制している可能性と、肝重量が増加していたことから、肝臓の薬物代謝酵素誘導により甲状腺ホルモンが代謝されて血中濃度が減少する二次的影響の可能性の2つが考えられた。

HBCDの用量依存性が得られた免疫影響関連の結果をまとめたものを表7a)に示した。また、表7b)には、比較のために同じく用量依存性の免疫影響の得られたDBDEの結果⁵⁾を示した。HBCD、DBDEともに、3週令で甲状腺機能抑制活性と連関すると思われる活性化T細胞群の低下がみられ、HBCDでは抗体産生の低下がみられた。NK細胞の割合の低下も両化合物でみられたが、HBCDの場合は3週令での抑制が11週令で回復しているのに比べ、DBDEの場合は11週令でも抑制が有意であるという違いがみられた。

以上、HBCDは、高濃度暴露において、幼児期ラットに対し免疫抑制影響を示すことが示唆された。また、DBDEも同様の免疫影響を示すが、HBCDの方がDBDEに比べ回復が早い傾向にあることが示された。

謝辞

本研究は厚生労働科学研究費化学物質リスク研究事業の助成を受けて行った。

文献

- 1) Ema M, Fujii S, Hirata-Koizumi M, Matsumoto M.: Two-generation reproductive toxicity study of the flame retardant hexabromocyclododecane in rats. *Reprod Toxicol.*, 25, 335-351, 2008
- 2) Birnbaum L.S. et al.: Brominated flame retardants: Cause for concern? *Environ. Health Perspect.*, 112, 9-17, 2004
- 3) Teshima R., Nakamura R., Nakamura R., Hachisuka A., Sawada J., Shibutani M.: Effects of exposure to decabromodiphenyl ether on the developmental of the immune system in rats. *J. Health Sci.*, 54,

382-389, 2008

- 4) Ikeda T., Nishikawa A., Imazawa T., Kimura S. and Hirose M.: Dramatic synergism between excess soybean intake and iodine deficiency on the development of rat thyroid hyperplasia. *Carcinogenesis*, 21, 707-713, 2000
- 5) Ulrich P. et al.: Validation of immune function testing during a 4-week oral toxicity study with FK506. *Toxicol. Lett.*, 149, 123-131, 2004
- 6) Dieckmann D. et al.: Activated CD4 CD25 T cells suppress antigen-specific CD4 and CD8 T cells but induce a suppressive phenotype only CD4 T cells. *Immunology*, 15, 305-314, 2005
- 7) Ohashi H., Itoh M.: Effects of thyroid hormones on the lymphocyte phenotypes in rats: changes in lymphocyte subsets related to thyroid hormone. *Endocrine regulat.*, 28, 117-123, 1994
- 8) Rooney A.A. et al.: Neonatal exposure to propylthiouracil induces a shift in lymphoid cell subpopulations in the developing postnatal male rat spleen and thymus. *Cell. Immunology*, 223, 91-102, 2003
- 9) Volpe R.: The immunomodulatory effects of anti-thyroid drugs are mediated via actions on thyroid cells, affecting thyrocyte-immunocyte signaling: review. *Curr. Pharm.Des.*, 7, 451-460, 2001