
ウシ乳房における抗菌性ペプチドの活性化メカニズムの解明

広島大学大学院生物圏科学研究科・准教授 磯部 直樹

■ 目的

乳頭から細菌が侵入すると乳房が炎症を起こすことがある。この病気は乳房炎と呼ばれ、乳牛で最も多発する病気であり、国内での乳房炎による治療費、淘汰等による損失は700億円以上と試算されている。この病気を予防・治療するためには乳房における潜在的な免疫機能を最大限に引き出して細菌感染を阻止する必要がある。

ウシ乳房の上皮細胞では種々の抗菌性ペプチドが合成・分泌されており、その内Lingual antimicrobial peptide(LAP)が合成され乳汁中に移行することを我々は世界で初めて報告した。また、細菌成分を乳房に注入すると牛乳中のLAP濃度が劇的に増加することから細菌感染に密接に関与していることが示された。しかし、このLAPの抗菌性の強さ、およびどのような機構で活性化しているのかについては不明である。

一方、ヒトの抗菌性ペプチドは合成・分泌された後、Thioredoxin(TRX)の働きによりS-S結合が切断されることによって活性化し、初めて抗菌性を有することが報告されている。

そこで本研究では、ウシ乳房における、LAPの活性化メカニズムを解明することを目的とする。

■ 方法

実験1:Thioredoxin(TRX)およびLAPのmRNAおよび蛋白質が乳房で発現しているかどうかを検討した。

供試牛として乳牛2頭を用い、乳房組織を採取した。その一部からtotal RNAを抽出してLAPおよびTRXのプライマーを用いてRT-PCRを行い、両物質のmRNA発現を調べた。残りの組織を固定・包埋しパラフィン切片を作成した。LAPおよびTRXの抗体を用いて免疫染色を実施し、両物質の局在を調べた。

実験2:LAPのS-S結合切断によって抗菌性が変化するかどうかを検討した。

合成LAPのS-S結合を切断して、細菌(乳房炎原因菌である、*E.coli* および *Staphylococcus aureus*)と培養した後、寒天培地に播種してさらに培養し、コロニー数をカウントした。

■ 結果および考察

RT-PCRの結果、LAPおよびTRXいずれも乳腺組織でmRNAの発現が認められた。また、免疫染色をした結果、TRXの免疫陽性反応は、ほとんどの乳腺胞において乳腺上皮細胞の細胞質で見られたが、LAPの免疫陽性細胞は、一部の乳腺胞の上皮細胞でのみ認められた。以上の結果から、牛の乳房でLAPおよびTRXが発現していることが確認された。次に、LAPと*E.coli*とを反応させると、*E.coli*のコロニー数は減少したが、LAPのS-S結合を切断した後に*E.coli*と反応させるとそのコロニー数はさらに有意に減少した。しかし、LAPのS-S結合を切断してもしなくても*Staphylococcus aureus*のコロニー数を減少させなかった。これらのことから、*E.coli*に対するLAPの抗菌性は、S-S結合の切断によって増強されると考えられた。

■ 結語

以上の結果から、乳腺において抗菌性ペプチドであるLAPおよびS-S結合切断酵素であるTRXがいずれも合成されていることが確認された。また、*E.coli*に対するLAPの抗菌性は、S-S結合の切断によって増強されると考えられた。