

\*\*\*\*\*

## マメ科牧草含有の植物エストロゲンが泌乳期乳腺の 乳分泌能に及ぼす影響

北海道大学大学院農学研究科酪農食品科学研究室・助教 小林 謙

\*\*\*\*\*

### ■ 目的

植物エストロゲンは大豆やアカクローバーなどマメ科植物に多く含まれる卵胞ホルモン類似物質である。現在、植物エストロゲンの作用機序の一つとして、内因性の卵胞ホルモン経路に植物エストロゲンが相加的に作用することで起きると考えられている。一方、乳汁を分泌する乳腺上皮細胞は、妊娠、分娩および泌乳期において卵胞ホルモンの適切な濃度変化を必要とする細胞である。そこで本研究ではマメ科牧草中に多く含まれる植物エストロゲンであるゲニステインが乳腺上皮細胞の乳汁分泌に及ぼす影響を *in vitro* の細胞培養モデルを用いて調べた。

### ■ 方法

ICR マウスから採取した第4乳腺から乳腺上皮細胞を分画し、増殖培地(EGF, insulin, FBS を含む RPMI1640 培地)に懸濁した。シャーレもしくは Poly-L-Lysine でコーティングしたカバーグラスに播種し、6日間培養した。続いて分化培地(prolactin, hydrocortisone, EGF, insulin を含む RPMI1640 培地)で5日間培養し、乳汁分泌能を有する乳腺上皮細胞に分化誘導した。分化誘導した乳腺上皮細胞を *in vitro* 乳分泌モデルとして、その培地にマメ科牧草含有の植物エストロゲンとしてゲニステインを培地に添加し、以下の実験に供試した。

#### 【乳成分分泌能の評価】

乳分泌能の評価基準として、代表的な乳タンパク質である  $\beta$ -カゼインについて調べた。 $\beta$ -カゼインの発現量は乳腺上皮細胞層および培地をサンプルとして、ウエスタンブロッティングで評価した。 $\beta$ -カゼインの細胞内局在は免疫染色によって調べた。また、植物エストロゲンが  $\beta$ -カゼインの細胞内挙動に及ぼす影響について、蛍光タンパク質(システイン残基フリーのEGFP)を標識した  $\beta$ -カゼインを乳腺上皮細胞にトランスフェクションすることによって調べた。

### ■ 結果および考察

ジェネスチン高濃度処理した場合には、 $\beta$ -カゼインの細胞内発現量、培地中への分泌量ともに有意に減少していた。免疫染色において、ゲニステイン高濃度処理した乳腺上皮細胞では  $\beta$ -カゼインの細胞内局在量が減少し、ゴルジ体に局在する  $\beta$ -カゼインがほとんど観察されなかった。また、蛍光標識した  $\beta$ -カゼインのライブイメージングの結果から、ジェネスチン高濃度処理により  $\beta$ -カゼイン顆粒が正常に形成されないことが観察された。一方、ジェネスチン低濃度処理した場合には、有意差はなかったものの、 $\beta$ -カゼインの細胞内発現量、分泌量ともに増加傾向がみられた。以上のことから、マメ科牧草を摂取すると植物エストロゲンの体内濃度が上昇し、乳腺上皮細胞の乳汁分泌能に影響を及ぼす作用があることがわかった。低濃度では  $\beta$ -カゼインの発現量を増加させ、高濃度では減少させたことから、マメ科牧草の給与量が乳牛の産生する乳量や乳質に影響を及ぼすと考えられる。

### ■ 結語

植物エストロゲンはマメ科植物に多く含まれている成分である。栄養価の高いマメ科植物は乳牛のみならず授乳期の母親にとっても優れた栄養源となる。本研究の結果、植物エストロゲンには乳腺上皮細胞の乳分泌能を調節する作用があることがわかり、今後は栄養学的な面だけでなく、植物エストロゲンの視点からも泌乳期のマメ科植物の摂取について検討する必要がある。