
卵胞へ移行し卵黄を構成する VLDL が サルモネラ鶏卵汚染に寄与するメカニズム

北里大学獣医学部・准教授 岡村 雅史

■ 目的

本研究では、鶏の性成熟にともなって卵胞へ移行し卵黄を構成する VLDL およびその関連物質がサルモネラ感染にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることを目的とした。

■ 方法

本研究では *Salmonella enterica* 血清型 Pullorum (以下 SP)、鶏マクロファージ細胞株 HD11 および鶏肝細胞株 LMH/2A を使用した。

コレステロールあるいはエストロジェンを適切な濃度で各細胞株に感染させ、その後の細胞内菌数の測定により、菌の細胞貪食、細胞侵入および細胞内生存を調べた。また、その際に細胞および侵入菌由来 RNA を採取し、リアルタイム PCR を行った。細胞については VLDL や LDL のレセプターであるスカベンジャーレセプター B1 (SCARB1)、B2 (SCARB2)、CD36、VLDL レセプター (VLDLR) および LDL レセプター (LDLR)、エストロジェンのレセプターである $ER\alpha$ 、VLDL や LDL のアポリポ蛋白である ApoB および ApoVLDL-II を、内在性コントロールには β アクチンを比較定量的に測定した。SP の遺伝子発現については、感染 0 時間後のサンプルでは細胞侵入に関与する SPI-1 に含まれる *hilA*、感染 6 および 24 時間後のサンプルではマクロファージ内での殺菌回避機構に関与している SPI-2 に含まれる *ssrA* を調べた。内在性コントロールとして 16SrDNA を用いた。なお、それに先立ち、コレステロールおよびエストロジェンが細胞あるいは菌に影響を及ぼさないことを確かめた。

■ 結果および考察

コレステロール存在下での HD11 における細胞内の SP 菌数は、コレステロール非存在下よりも高かった。このとき HD11 における CD36 の遺伝子発現の増加傾向と LDL レセプターの遺伝子発現の減少傾向が確認できた。また、エストロジェンが SP とエストロジェン反応性を示す鶏肝細胞由来細胞株 LMH/2A に影響を及ぼさないことを確認し、エストロジェン存在下で LMH/2A での SP の感染実験を行った。その結果、LMH/2A における菌曝露後の細胞内の SP 菌数はエストロジェン非存在下よりも高かった。このとき、CD36 の遺伝子発現の減少傾向と VLDL レセプターとそのリガンドである VLDL に含まれる ApoVLDL-II の遺伝子発現の増加傾向が確認できた。これらのことは、コレステロールおよびエストロジェンが、それぞれ SP のマクロファージによる貪食および SP の細胞侵入を増加させる可能性を示唆している。またこのときの遺伝子発現の変化から、それぞれにおいて CD36 および VLDL の関与が示唆された。

■ 結語

コレステロールは鶏マクロファージにおける SP の貪食・細胞内生残菌数を増加させる可能性がある。また、エストロジェンは、鶏肝細胞における SP の細胞侵入を増加させる可能性が示唆された。