
ニワトリ卵管の宿主防衛機能強化を目指した 抗菌ペプチドによる自然免疫機能の解明

広島大学大学院生物圏科学研究科生物資源科学専攻・教授 吉村 幸則

■ 目的

卵管の微生物に対する感染防御機能は、卵とヒナのサルモネラ菌等による細菌感染防止、食品の安全性確保のために重要である。自然免疫系では、Toll 様受容体 (TLR) が微生物成分のパターンを認識し、この刺激で炎症性サイトカインや抗菌ペプチドが産生されて、微生物の排除に働く。本研究は、抗菌ペプチドによる卵管の自然免疫機能の強化に寄与することを目指して、卵管粘膜の TLR が微生物成分を認識して炎症性サイトカインと AvBD を産生させるまでの細胞内情報伝達機構を明らかにすることを目的とした。

■ 方法

白色レグホン産卵鶏の卵管子宮部における、TLR 群とアダプター分子、転写因子 (NF κ B と AP-1)、および AvBD 群の遺伝子発現を RT-PCR 法で同定した。一部の組織は、培養して炎症性サイトカイン (IL1 β と IL6) および AvBD10 発現に及ぼす LPS (サルモネラ菌由来) の影響を解析した。この LPS の炎症性サイトカインおよび AvBD10 発現誘導作用に関わる核内転写因子を同定するために、LPS とともに、BAY11-7085 (NF κ B 阻害剤) または Transhinone II A (AP-1 阻害剤) を添加して 3 時間培養し、IL1 β の遺伝子発現をリアルタイム PCR 解析した。

■ 結果および考察

子宮部粘膜には TLR2-1、2-2、4、5、21 が検出された。TLR のアダプター分子である MyD88、転写因子の NF κ B と AP-1 関連分子の c-fos と c-jun の発現も確認された。また、AvBD1-4、10-12 の発現が検出され、AvBD1-4 に比べて AvBD10-12 は濃いバンドが検出された。AvBD10 蛋白を免疫組織化学染色で検出すると、免疫反応産物は粘膜上皮に検出された。次に、粘膜組織を LPS で刺激すると IL6 と AvBD10 の遺伝子発現は増加しなかったが、IL1 β の遺伝子発現が LPS 濃度および刺激時間依存的に増加した (P<0.05)。LPS 刺激によって発現の有意な変化を示した IL1 β について、転写因子阻害剤の影響を解析すると、LPS と同時に BAY11-7085 (NF κ B 阻害剤) または Transhinone II A (AP-1 阻害剤) を 1 ~ 100 μ M の濃度で添加することにより、LPS のみを添加した区と比べて IL1 β の発現が有意に低下した (P<0.01)。

本実験の結果から、子宮部でサルモネラ菌などのグラム陰性菌の LPS が TLR4 により認識されると、MyD88 経路を通じて転写因子の NF κ B と AP-1 を作動させ、IL1 β の遺伝子発現を誘導すると考えられた。これまでの報告から、産生された IL1 β は AvBD 産生を高めることが推定される。子宮部で炎症性サイトカインや抗菌ペプチドの免疫関連因子は局所免疫に働くので、これらの発現の上昇は子宮部の感染を防御し、卵の細菌汚染を防ぐために重要であると考えられる。

■ 結語

サルモネラ菌等のグラム陰性菌の LPS を TLR4 が認識すると、MyD88 経路を通じて転写因子の NF κ B と AP-1 を作動させ、IL1 β の遺伝子発現を誘導すると考えられた。産生された IL1 β は AvBD 産生を高めることが推定される。子宮部の感染を防御し、卵の細菌汚染を防ぐために、微生物認識からサイトカインと抗菌ペプチドを産生するまでの細胞機能を強化することは重要であると考えられる。