
エンドトキシンショック予防に向けた 機能的糖質トレハロースの抗炎症作用の基礎的検討

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所草地管理研究領域・研究員 芳賀 聡

■ 目的

乳牛において頻発する大腸菌性乳房炎は、感染菌由来のエンドトキシン(ET)刺激を受けた乳腺上皮細胞やマクロファージ等から過剰産生される炎症性サイトカインが感染乳房から全身に至る炎症を招来する(ETショック)。つまり、大腸菌性乳房炎の対策としてET刺激による炎症応答を防ぐ対処療法を講じることが不可欠である。一方、トレハロース(TRE)はマウスにおいてLipopolysaccharide (LPS)刺激によって誘導される炎症性サイトカインの産生亢進を抑制する作用があることが報告されてきた。この作用を応用できれば、TREがより安全な新しい乳房炎用の抗炎症剤の素材となり得ると期待されるが、ウシ細胞に対するTREの抗炎症作用を検討した研究報告はこれまでにない。そこで本課題は、機能的糖質TREが感染後最初に炎症を起こすウシ乳腺上皮に対して抗炎症作用を発揮するかどうかを明らかにすることを目的とした。

■ 方法

ウシ乳腺上皮培養細胞(Bovine Mammary Epithelial Cells: BMEC)を用いた*in vitro*実験系でLPS刺激実験を行った。TREを培地に添加し(終濃度0, 1, 10および100mM)3時間反応させた後、LPS(終濃度5 μ g/ml)刺激を一定時間(10分または6時間)行い、細胞を回収した。炎症性サイトカインおよびTLR4シグナル伝達経路分子のmRNA発現量を定量RT-PCRにより測定した。細胞内シグナル伝達経路の活性化をウェスタンブロッティング法により調べた。ウシ乳腺組織およびBMECにおけるトレハロース受容体(TIR3) mRNA発現についてRT-PCRにより調べた。統計解析はSASを使用した。いずれにおいても $p < 0.05$ を有意差ありとした。

■ 結果および考察

LPS刺激によって誘導されるIL-1 β およびTNF α mRNAの発現亢進に対するTREの有意な抑制効果は認められなかったが、TRE 100mM添加においてIL-6 mRNA発現亢進が有意に抑制された($p < 0.05$)。また、LPS無刺激時においても、TRE 100mM添加によりIL-6 mRNAの基礎発現レベルが有意に抑制された($p < 0.05$)。TRE 100mM添加はLPSの受容体群であるTLR4およびMD2 mRNA発現を有意に増加させた($p < 0.05$)。しかし、タンパクレベルにおいてNF κ BおよびMAPK ERK1/2シグナル伝達経路に影響は与えなかった。ウシ乳腺組織およびBMECにおけるTIR3 mRNA発現がRT-PCRにより確認された。以上の結果より、BMECにおいてTREのIL-6発現抑制作用が新規に見出された。またその作用点はLPSの細胞内シグナル伝達経路以外にあり、TIR3を介する可能性が示唆された。

■ 結語

IL-6は大腸菌性の急性乳房炎および甚急性乳房炎発症牛群において著しく増加する炎症性サイトカインであり、今回見出されたTREの発現抑制作用はウシ乳腺上皮の抗炎症に有効に働く可能性がある。しかし、その機序を今回明確に示すことができなかったため、今後更なる詳細な検討が必要である。