

\*\*\*\*\*

## ウシ乳腺で発現する成長ホルモン遺伝子の機能解析

信州大学農学部・助教 米倉 真一

\*\*\*\*\*

### ■ 目的

飼料自給率向上と酪農家の経営を安定させるためにも、現在の乳量を維持しつつ、配合飼料に依存しない飼養技術の開発が必要である。新たな飼養技術の開発において成長ホルモン(以下、GH)に着目している。GHは脳下垂体前葉から分泌されるホルモンであり、泌乳期の乳牛にGHを投与すると乳量が上昇することが明らかとなっている。我々は下垂体のみならずホルスタイン種の乳腺組織においてもGHを発現していることを明らかにしている。このことは乳腺組織由来のGHがオートクラインまたはパラクラインにより、直接、乳腺上皮細胞に作用し、増乳効果を促していることを予想させるものである。よって、本研究はホルスタイン種の乳腺で発現するGHの機能を明らかにすることを目的として検討するものである。

### ■ 方法

1) ウシ乳腺組織よりRNAを単離し、RACE法を用いcDNA全長の同定を試みた。2) 未経産、泌乳初期、泌乳中期、泌乳後期、乾乳期のホルスタイン種の乳腺組織よりRNAを単離し、RT-PCR法により乳腺由来GH遺伝子の発現量を検討した。3) 分化誘導前後のウシ乳腺上皮細胞よりRNAを単離し、qRT-PCR法により乳腺由来GH遺伝子の発現量を検討した。

### ■ 結果および考察

残念ながら5'側の配列を判明出来ていないためcDNA全長の同定には至らなかったが、部分配列を同定することに成功した。ウシ乳腺由来のGHは下垂体GHのゲノム領域からコードされるものの、下垂体GHのExon4-Exon5間のintron部分約300bpを含んでいることが明らかとなった。この領域はヒト、マウスのゲノムにおけるGH2(GHのファミリー分子)の種に保存された領域と高い相同性がある。ヒト、マウスではGHと少し離れたところにGH2遺伝子のクラスターが存在している。ウシではほぼ同位置にクラスターが存在しているか、スプライシングアイソフォームとして存在することが考えられた。GH2はGHのファミリー分子であるので、遺伝子配列はGHと非常に類似している(相同性91~99%)。しかし、反芻動物におけるGH2の発現はまだ確認されておらず、本研究の結果よりその可能性が示唆された。

乳腺由来GHの発現は未経産、泌乳初期、泌乳中期、泌乳後期、乾乳期の全てのステージにおいて確認され、泌乳後期において最も高い発現であった。また分化前に比べて分化後の乳腺上皮細胞において有意に高い発現が認められた。このことより乳腺由来GHも泌乳に関与していることが予想される。ただ下垂体GHと配列が異なることから、GH受容体に作用するのか今後、確認する必要がある。また現在、RNAiによってウシ乳腺由来GH遺伝子を欠失させたウシ乳腺上皮細胞株におけるβカゼインの遺伝子発現量を検討しているところである。

### ■ 結語

ウシ乳腺由来GHはヒト、マウスのGH2ホモログであることが示唆された。泌乳期の乳腺組織や、分化後のウシ乳腺上皮細胞でその発現が上昇することから、乳腺由来GHも泌乳に関与していることが予想される。