

反芻動物のルーメン絨毛組織内の恒常性維持と 免疫応答反応に関する研究

東北大学大学院農学研究科・准教授 盧 尚建

■ 目 的

ルーメン絨毛組織では、ルーメン内で産生される短鎖脂肪を吸収し、侵入してくる病原菌に対しては積極的な免疫応答を誘導する。ルーメン上皮細胞は単に物理的バリアとして機能するのみでなく、これらの外因性及び内因性のシグナルを受け取り、ルーメン絨毛組織における免疫応答の質の決定に重要な役割を果たしている。しかし、ルーメン絨毛組織内の免疫応答に関する詳細な分子機構については不明である。したがって、本研究では免疫細胞の遊走・活性化に必要なサイトカイン・ケモカインに注目し、短鎖脂肪酸の産生が増え、微生物叢が変化する「哺乳期から離乳期」における炎症反応と免疫応答の分子機構を解明した。

■ 方 法

(実験 1) 哺乳期と離乳期の絨毛上皮組織におけるサイトカインの発現変動

哺乳期(5 頭:5 週齢)と離乳期(5 頭:15 週齢)の黒毛和種牛のルーメン絨毛組織において TLR5 (Toll-like receptor 5) と CCL5 (C-C Motif Chemokine Ligand 5) などのサイトカイン・ケモカインの遺伝子発現量と比較した。また、ルーメン上皮組織内での TLR-5 と CCL5 の発現局在について解析した。

(実験 2) 培養ルーメン上皮細胞における短鎖脂肪酸刺激による絨毛組織内の変化

成牛のルーメン組織から上皮組織を剥離し、上皮細胞を単離した。70-80%まで増殖させた後、その後、SCFA(100mM、酢酸 60mM + プロピオン酸 30mM + 酪酸 10mM) と LPS (lipopolysaccharide) で 3 時間刺激し、細胞から RNA を抽出し、TLR-5 の遺伝子発現量を解析した。

■ 結果および考察

(実験 1) ルーメン絨毛上皮組織における TLR-5 と CCL5 の遺伝子発現量は、哺乳区と比較して離乳区で高値を示した。ルーメン上皮といった重層扁平上皮は、四層(下から基底層、有棘層、顆粒層および角質層)から構成されるが、TLR5 と CCL5 は基底層と有棘層に局在していた。重層扁平上皮の TJ 結合は、顆粒層で最も強力である。よって、TLR5 発現の上方制御は、ルーメン上皮 TJ 結合の崩壊に備えるためではないかと推察された。

(実験 2) SCFA の刺激により TLR-5 の遺伝子発現量は、対照区と SCFA 刺激区では差は認められなかった。また、LPS 刺激でも TLR-5 の遺伝子発現量の変動はなかった。ルーメン上皮の TLR5 発現は SCFA、低 pH、LPS 以外の因子により発現調節を受けることが分かった。ルーメン上皮の TLR5 遺伝子発現は、いくつかのルーメン微生物の発現と正の相関を取るため、これらのルーメン微生物が直接的にルーメン上皮 TLR5 の発現を上方制御している可能性がある。

■ 結 語

以上の結果から、離乳や SARA などのルーメンの恒常性を乱す因子に対して、ルーメン上皮がどのようにして恒常性維持を試みるのかを明らかにした。TLR5 は、その発現調節機構が不明ではあるが、恐らくはルーメン内の微生物叢の変化を察知して発現量を上げ、上皮間細胞結合が崩壊した際には、抗菌ペプチド発現を上方制御し、ルーメン上皮の恒常性維持に貢献していると考えられる。