
分枝鎖アミノ酸の経口摂取による 乳腺での抗菌因子産生の調節に関する研究

広島大学大学院統合生命科学研究科家畜生体機構学研究室・助教 津上 優作

■ 目的

酪農生産において乳房炎は経済損失の大きな疾病である。乳房炎は大腸菌や黄色ブドウ球菌などの病原体が乳頭口から乳腺内へ侵入し、炎症を誘起することで発症する。泌乳期の乳腺では侵入した病原体に対抗するため、 β -defensin-1 や lactoferrin など抗菌因子を産生し、claudin-3 を主体とした透過性の低いタイトジャンクション(TJ)を形成している。本研究ではこれら乳腺防御機構を調節する因子として分枝鎖アミノ酸の1つであるバリンに着目した。分枝鎖アミノ酸は乳腺での取込みが活発であり、バリンは乳腺上皮細胞におけるカゼイン、乳糖、乳脂肪などの乳成分産生を促進することが報告されている。そこで、バリンが乳腺の抗菌因子産生や TJ バリア機能へ及ぼす影響について泌乳期トカラヤギを用いて検証した。

■ 方法

バリンの影響を検証するためヤギ乳腺上皮細胞を用いた *in vitro* 試験および泌乳期トカラヤギ静脈内注射による *in vivo* 試験を行った。乳腺上皮細胞は 24 ウェルプレートもしくはコラーゲンを被覆したセルカルチャーインサート上に播種し、培養した。注入処理は 0-2 日目の搾乳後に行い、静脈内に 1 頭あたり 1 回 6 mL の 80 mg/mL バリン溶液を注入した。乳汁は、処理 2 日前から 5 日後まで採取した。抗菌因子(β -defensin-1、lactoferrin、cathelicidin-7、S100A7)は ELISA により測定した。TJ バリア機能は *in vitro* 試験では経上皮電気抵抗値、FITC 透過性および claudin の量的変化により評価し、*in vivo* 試験では乳中の体細胞数および血液由来成分(Na^+ および IgG)の変化により評価した。

■ 結果および考察

培養した乳腺上皮細胞へバリンを添加したところ、4 mM 処理群で β -defensin-1 と cathelicidin-7 の細胞内タンパク質濃度の増加および lactoferrin と S100A7 の培地中濃度の増加が確認された。また、泌乳期ヤギ静脈内へバリンを注入したところ、乳中 S100A7 濃度が有意に増加した。S100A7 はカルシウム結合タンパク質であるとともに、大腸菌に対する抗菌作用が報告されている。そのため、バリン給与による乳中 S100A7 濃度の上昇は大腸菌由来の乳房炎の予防に貢献するかもしれない。また、黄色ブドウ球菌などの病原体は乳腺上皮細胞内に寄生し、乳産生能力を低下させることが示唆されている。そのため、乳腺上皮細胞内における抗菌因子濃度の上昇は病原体の細胞内寄生を防除するかもしれない。

一方で、経上皮電気抵抗値・claudin 量や乳中に含まれる体細胞数・血液由来成分など TJ バリア機能への影響は *in vitro* 実験と *in vivo* 実験の両方で観察されなかった。これまでの研究より TJ バリア機能の低下により抗原暴露の頻度が増加し、乳腺での抗菌因子産生が促進されることが示唆されている。本研究の結果は TJ バリア機能に非依存的な抗菌因子産生の増加であったため、今後、新しい乳房炎予防法の確立へ寄与するかもしれない。

■ 結語

バリンは乳腺上皮細胞の TJ バリア機能に負の影響を及ぼすことなく、抗菌因子産生を向上させることが明らかになった。本研究の成果は、新しい乳房炎対策の提案につながることを期待される。