ウシ乳房炎の新規診断技術の構築に向けた基礎的研究

■ 目的

本研究では、乳房炎原因菌が分離されない乳房炎の発症メカニズムの解明を試みる。ウシ乳房炎は酪農業において最も経済的損失の大きい疾病である。乳腺腔には常在細菌叢が形成されておりそのバランスによって免疫担当細胞の免疫応答を制御し、乳房炎の発症とも関連することが考えられている。しかしながら、乳腺の常在細菌叢に着目した乳房炎に関する知見は乏しく、その詳細な解明が期待されている。本研究では、臨床現場において原因菌が特定されない乳房炎が乳腺以外の炎症に関係していること、および、その炎症が乳腺の常在細菌叢バランスによる免疫機能修飾とも関連していることに着目し、乳房炎の発症メカニズムの解明を目的とする。

■ 方法

乳房炎原因菌が分離されない乳房炎の発症メカニズムの解明を下記の実験より試みる。

常在細菌叢解析:次世代シーケンサーを利用して、乳汁における常在細菌叢の組成を明らかにし、 さらにバイオインフォマティクス解析により菌叢の免疫修飾機能に関わるアミノ酸などの因子を推定 する。

アミノ酸の定量:常在細菌叢解析で推定された免疫機能修飾に関連するアミノ酸について、乳汁および血液のアミノ酸濃度を質量分析[HPLC-MS/MS]により定量する。乳房炎原因菌が分離されない乳房炎における菌叢とその代謝産物による免疫機能修飾が乳房炎の発症とどのように関係しているのかを明らかにする。

■ 結果および考察

対照乳汁として体細胞数が 20 万 cells/ml 未満の乳汁を使用し、乳房炎原因菌が分離されない高体細胞数の乳汁として体細胞数が 30 万 cells/ml 以上かつ血液寒天培地による培養法では細菌コロニーが確認されていない乳汁を使用した。また、乳汁からマイコプラズマの検出も PCR 法により試みたが全て陰性であった。常在細菌叢解析から、乳房炎原因菌が分離されない乳汁は対照乳汁と比較して異なる菌叢を示すことが明らかとなった。常在細菌叢の機能解析結果から、乳房炎の原因菌が特定されない乳汁では対照と比較してアミノ酸合成に関わる機能が有意に増加していることが明らかとなり、メチオニン、トリプトファンおよびセリンなどのアミノ酸について合成または分解能が活性化していることが示唆された。メチオニンはマクロファージの機能を炎症反応に作用させることが知られており、質量分析の結果からメチオニンが対照と比較して有意に高値を示したことから炎症反応が進行していることが推察された。

■ 結 語

本研究の結果より、乳房炎原因菌が分離されない乳汁では健康な乳汁と比較してその常在細菌叢が異なることが示された。また、常在細菌叢の機能解析結果より、アミノ酸代謝が異なることが示され、炎症反応を活性化させることが推察された。常在細菌叢バランスが乳汁の体細胞に影響を及ぼすことで炎症反応を惹起させることが考えられた。