

抗生物質に頼らない新しい牛子宮内膜炎の制御に向けた基礎研究

岐阜大学応用生物科学部共同獣医学科・教授 猪島 康雄

■ 目 的

牛の子宮疾患の中で最も発生が多い子宮内膜炎は主に細菌感染により引き起こされ、受胎率の低下や不妊、流産、死産など、繁殖障害の主な原因の一つである。ほかにも雌牛の卵巢周期や子宮修復期間の遅延、食欲の低下、泌乳量や乳脂肪率が低下するなど、大きな経済的損失をもたらす。細菌感染による子宮内膜炎には、抗生物質による治療が主に行われるが、近年、畜産分野における抗生物質治療による薬剤耐性菌の生残や新たな出現が獣医療上の問題となっている。さらに、畜産物を介してヒトに伝達され、ヒトへの抗生物質治療の効果を大きく減弱するリスクが公衆衛生上、深刻な国際問題となっている。本研究は、牛の血清アミロイド A3(SAA3)が細菌感染防御能を有する可能性について検討し、抗生物質に頼らない子宮内膜炎の新たな制御方法の確立に向けて基盤的知見を得ることを目的とする。

■ 方 法

牛子宮内膜上皮細胞(Bovine endometrial epithelial cells, BEnEpC, Cell Applications 社)に、子宮内膜炎の原因となるグラム陰性菌、大腸菌 *Escherichia coli* や、グラム陽性菌、*Trueperella pyogenes*、*Staphylococcus aureus*、などの感染を想定し、グラム陰性菌および陽性菌の菌体膜抗原である Lipopolysaccharide(LPS)と Lipoteichoic acid(LTA)の濃度を 0.01、0.1、1、10、100 $\mu\text{g/mL}$ に変えて添加刺激した。刺激後、トータル RNA を抽出、cDNA を合成後、real-time PCR により SAA1 と SAA3 の mRNA 発現量を定量し、比較した。また、チャンバースライドで培養した BEnEpC に、LPS と LTA の濃度を 0.01、1、100 $\mu\text{g/mL}$ に変えて添加刺激し、パラホルムアルデヒドで固定、メタノールで透過処理後、抗ウシ SAA1、あるいは抗ウシ SAA3 モノクローナル抗体を用いて免疫染色を行い、SAA1 と SAA3 のタンパク質の発現についても解析し、比較した。

■ 結果および考察

牛子宮内膜上皮細胞 BEnEpC において、LPS および LTA の添加刺激に反応して SAA1 mRNA および SAA3 mRNA とともに発現量が増加したが、発現量の変化は SAA1 よりも SAA3 で大きかった。SAA1 mRNA は、LPS および LTA の添加刺激により発現量が増加したが、いずれの添加濃度でもわずかな発現量の増加であった。SAA3 mRNA は、LPS のほうが LTA よりも低濃度で有意に発現が増加したことから、SAA3 mRNA はグラム陽性菌よりも陰性菌の感染に鋭敏に反応することが示唆された。免疫染色では、LPS および LTA の添加刺激の有無に関わらず、SAA1 タンパク質はすべての条件で発現が認められなかった。SAA3 タンパク質は、LPS 添加濃度が 1 または 100 $\mu\text{g/mL}$ の細胞と、LTA 添加濃度が 1 $\mu\text{g/mL}$ の細胞において、発現の亢進が認められた。これらのタンパク質発現の変化は、mRNA 発現の結果と相関していた。

■ 結 語

本研究により、SAA3 は子宮内膜上皮細胞における細菌感染防御に関与していることが示唆され、抗生物質に頼らない子宮内膜炎の対策として、予防と治療に活用されることが強く期待され、薬剤耐性菌対策にも貢献すると考えられた。