

## 乳腺上皮細胞の乳糖合成経路に対する炎症性サイトカインの阻害作用

応用生物科学専攻 食資源科学講座 酪農食品科学 九鬼 千夏

### 1. はじめに

乳牛の代表的な疾病である乳房炎は牛乳の生産量と品質を低下させ、酪農家に多大な経済的損失をもたらしている。乳房炎は乳腺に起炎菌が侵入・増殖することで引き起こされるが、その際に起きる乳量の低下や成分組成の変化に関する機序については未解明な点が多い。本研究では、乳房炎時に上昇する代表的な炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 と、感染時に減少する乳成分のひとつである乳糖に着目した。乳糖は乳腺上皮細胞で特異的に産生されているため、本研究ではマウス由来乳腺上皮細胞による *in vitro* モデルを用い、炎症性サイトカインが乳腺上皮細胞の乳糖合成経路に及ぼす影響を検討した。

### 2. 材料と方法

非妊娠 ICR マウスより採取した乳腺から乳腺上皮細胞を単離し、培養した。乳汁分泌能を誘導する培地中に TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 をそれぞれ添加し、24 時間ないしは 72 時間の処理を行い、位相差顕微鏡による観察および培地中乳糖濃度の測定を行った。乳糖産生関連因子に及ぼす影響については乳腺上皮細胞層を回収し、quantitative-RT-PCR (qPCR ; *Glut1*, *Glut12*, *Ugp2*,  *$\alpha$ -lactalbumin*)、ウェスタンブロッティング (GLUT1)、および免疫染色 (GLUT1) により検討した。さらに、妊娠 16, 18 日, 分娩直後, 泌乳 2~3, 10 日の ICR マウスから乳腺を採取し、妊娠後期から泌乳最盛期までの乳糖合成関連因子の mRNA 発現量の変化を調べた。

### 3. 結果と考察

TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 の影響は一様ではなく、各々で異なった作用を乳腺上皮細胞に誘発していた。TNF- $\alpha$  処理群や IL-6 処理群において、 *$\alpha$ -lactalbumin* や *Ugp2* の mRNA 発現量が有意に減少していた。mRNA レベルに有意な差はなかったもの GLUT1 の場合、TNF- $\alpha$  と IL-1 $\beta$  処理群ではウェスタンブロッティングのバンドパターンや免疫染色での細胞内局在が変化していた。また、TNF- $\alpha$  処理群では培地中の乳糖濃度も減少傾向を示した。

一方、体内の炎症性サイトカインの上昇と乳中乳糖の含量低下は乳房炎だけではなく分娩時においても認められる。そこで、分娩前後の *in vivo* 乳腺において qPCR を行ったところ、乳糖合成関連因子が減少していることが確認された。このことから、炎症性サイトカインは乳糖の合成阻害に重要な役割を果たしていると考えられる。

### 4. 今後の課題

本研究では各サイトカインの処理時間によっても乳糖合成関連因子に異なる影響を及ぼすことが示唆された。各サイトカイン間には複雑な相互作用が存在し、例えば TNF- $\alpha$  の上昇は IL-1 $\beta$  や IL-6 の産生を誘導することが知られている。そのため、72 時間後では TNF- $\alpha$  によって誘導された IL-1 $\beta$  や IL-6 が培地中に存在し、TNF- $\alpha$  処理群で最も顕著な影響を観察したのかもしれない。また、本研究では個々の乳糖合成関連因子の発現量がどのようにして調節されているのかは検討していない。今後は、各サイトカイン間の相互作用を含め、より詳細な機序を解明する必要がある。