

炎症性サイトカインが乳腺上皮細胞の乳産生能に及ぼす影響

応用生物科学専攻 食資源科学講座 酪農食品科学 松長 康太

1. 目的

乳房炎を発症した泌乳牛では、乳量や乳質が低下するとともに炎症性サイトカイン (IL-1 β , IL-6, TNF- α) が増加する。また、乳成分を産生する乳腺上皮細胞はこれらに対するレセプターを発現している。これまで起病因菌やエンドトキシン投与による乳産生能低下に関して *in vivo* の泌乳牛やマウスを用いて活発に研究されている。しかし、各炎症性サイトカインが乳腺上皮細胞に直接作用して乳成分の産生能を低下させているかはわかっていない。そこで本研究では、炎症性サイトカインが乳腺上皮細胞の乳タンパク質、乳脂肪、乳糖産生および乳産生に関わる転写因子群の活性に及ぼす影響について *in vitro* 培養モデルを用いて調べた。

2. 材料と方法

未経産 ICR マウスの乳腺から単離した乳腺上皮細胞を増殖培地で培養後、プロラクチンやデキサメタゾン、オレイン酸を含む分化培地で培養することで乳産生能を誘導した。続いて、IL-1 β , IL-6, TNF- α を含む分化培地で 12 時間あるいは 24 時間培養した後、乳タンパク質の発現、乳脂肪合成量および乳脂肪合成関連因子の発現、乳糖分泌量と乳糖合成関連因子の発現および乳産生を上方調節する転写因子である STAT5 の活性について、免疫染色、ウェスタンブロットティング、定量 PCR により調べた。また、IL-1 β が乳腺上皮細胞の乳成分産生能を制御する転写因子群の活性に及ぼす直接的な影響を明らかにするため、乳分泌能を誘導した乳腺上皮細胞を IL-1 β を含む培地で 1, 3, 6 時間培養した後、STAT5, STAT3, NF- κ B, glucocorticoid receptor の活性を免疫染色およびウェスタンブロットティングにより調べた。

3. 結果と考察

乳タンパク質であるカゼインと Wap の発現量は、IL-1 β および TNF- α 処理群で減少していた。一方で、抗菌成分である Lactoferrin の発現は IL-1 β と IL-6 処理群で増加していた。IL-1 β および TNF- α は乳脂肪合成関連因子の発現を低下させ、乳脂肪の分泌量を減少させていた。また、IL-1 β と TNF- α は乳糖合成関連因子の発現レベルを低下させており、TNF- α 処理群では乳糖分泌量も有意に減少していた。これらの結果から、各炎症性サイトカインは乳腺上皮細胞の乳産生能に影響を及ぼすことがわかり、その阻害的作用も一様ではなく特に IL-1 β ではその阻害作用が強く確認された。そこで、乳腺上皮細胞を IL-1 β で短時間処理し、乳産生を制御する転写因子群の活性化レベルを調べた。その結果、IL-1 β は添加して間もなく乳産生を上方調節する STAT5 および glucocorticoid receptor の不活性化を誘導し、乳産生を下方調節する STAT3 および NF- κ B の活性化を誘導することがわかった。以上の結果をまとめると、乳房炎時に増加する炎症性サイトカインの中でも特に IL-1 β が乳腺上皮細胞の乳産生能を転写因子レベルで直接的に低下させていると考えられた。今後は、細胞内にある他のシグナル経路の活性などを調べ、乳房炎時における炎症性サイトカインと乳産生低下の因果関係の全容を明らかにしていく必要がある。