

泌乳持続性向上に関するウシ乳腺の細胞生物学的解析

ラクトフェリンが乳腺を構成する細胞の増殖に及ぼす影響

誌名	栄養生理研究会報
ISSN	02864754
著者名	中島,恵一 中村,正斗 伊藤,文彰
発行元	家畜栄養生理研究会
巻/号	55巻2号
巻号補足	
掲載ページ	p. 121-122
発行年月	2011年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



泌乳持続性向上に関するウシ乳腺の細胞生物学的解析 — ラクトフェリンが乳腺を構成する細胞の増殖に及ぼす影響 —

○中島恵一、中村正斗、伊藤文彰

((独) 農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター 酪農研究領域)

【目的】

近年の育種改良によりホルスタイン種の高泌乳化が進んでいるが、その反面、高泌乳牛の飼養管理にかかるコストが増加している。高泌乳牛の多くは泌乳前期に急激に乳量を増加させることから、エネルギーバランスがマイナスとなり、いわば“身を削って牛乳を出す”といった状態になる。そのため、繁殖障害や代謝病等の発症による損失が酪農経営の大きな問題となっている。そこで次の改良目標として、より健全な状態でより効率的に乳量を維持させるため、初期のピーク乳量を下げ、中後期の乳量減少を緩やかにする泌乳持続性の向上（泌乳曲線平準化）が求められている。泌乳牛は分娩後約300日間に渡り乳生産を続けるが、分娩後約60日をピークに乳量は減少する。泌乳曲線の変動は乳腺組織の機能的・形態的变化と関連していると考えられる。乳腺は乳腺上皮細胞とそれを取り巻く線維芽細胞、脂肪細胞等で構成されており、乳腺上皮細胞の増殖は、内分泌ホルモンの制御に加えてこれらの細胞間で作用する細胞増殖因子等の局所因子が重要な役割を果たす。我々は乳腺の細胞間で作用する局所因子としてラクトフェリンに注目しており、これまでに乳中ラクトフェリン濃度が泌乳期の進行に伴い上昇することを確認した。また、乾乳後のウシ乳腺においてラクトフェリンの発現が亢進することが報告されていることから¹⁾、ラクトフェリンが泌乳持続性を負に制御する因子の1つではないかと考えている。しかし、ラクトフェリンが乳腺を構成する細胞に及ぼす直接作用については不明な部分が多い。そこで、乳腺上皮細胞および乳腺線維芽細胞を採取・培養し、細胞増殖に及ぼす影響について解析した。

【方法】

泌乳中期のホルスタイン種の乳腺組織より初代培養乳腺線維芽細胞を採取した。さらに初代培養細胞から限界希釈法により乳腺線維芽細胞株を樹立した。乳腺線維芽細胞は15%FCS、抗生物質、FGF、ヘパリンを含むDMEM培地で培養した。乳腺上皮細胞は10%FCS、抗生物質、インシュリンを含むDMEM培地で培養した²⁾。ラクトフェリンが乳腺上皮細胞および乳腺線維芽細胞の増殖に及ぼす影響についてWST-8法により解析した。ラクトフェリンが誘起する細胞内シグナル伝達およびproliferating cell nuclear antigen (PCNA)の発現誘導は、Western blot法により解析した。乳腺上皮細胞および乳腺線維芽細胞におけるTGF β のmRNAの発現はリアルタイムRT-PCR法により解析した。

【結果・考察】

初代培養乳腺線維芽細胞と乳腺上皮細胞の増殖におけるラクトフェリンの作用を解析した結果、ラクトフェリンは初代培養乳腺線維芽細胞の増殖を顕著に促進したのに対し、乳腺上皮細胞の増殖を有意に抑制した（図1）。クローン化した乳腺線維芽細胞においても初代培養細胞と同様に、ラ

クトフェリン処理により細胞増殖が亢進した。細胞増殖の指標である PCNA タンパク質の発現についても同様に、乳腺線維芽細胞においてはラクトフェリン処理により PCNA が誘導されたのに対し、乳腺上皮細胞においては発現誘導がみられなかった。さらに、乳腺線維芽細胞ではラクトフェリン処理により細胞増殖に関与する ERK1/2 のリン酸化が顕著に促進したのに対し、乳腺上皮細胞においては、僅かなリン酸化の増加しか観察されなかった。乳腺の発達および退行に重要な役割を果たすことが知られている TGF β の発現動態を解析した結果、乳腺線維芽細胞において TGF β 1, 2, 3 の mRNA 発現が抑制されたのに対し、乳腺上皮細胞では発現の上昇が観察された。TGF β は乳腺上皮細胞の増殖を抑制することから、ラクトフェリンは TGF β を介した細胞増殖にも関与する可能性が示唆された。

以上の結果からラクトフェリンは乳腺線維芽細胞の増殖を促進し、乳腺上皮細胞の増殖を抑制するといった異なる作用を有することが明らかとなった。このラクトフェリンの作用は泌乳後期・乾乳期の乳腺の退行に関与する新たなメカニズムの1つであると考えられ、泌乳持続性を向上させるためには乳腺上皮細胞におけるラクトフェリン合成の亢進を抑制することが重要であると考えられた。

【参考文献】

- 1) Welty FK, Smith KL, Schanbacher FL. 1976. Lactoferrin concentration during involution of the bovine mammary gland. J. Dairy Sci. 1976 59:224-231.
- 2) Nakajima K, Nakamura M, Gao XD, Kozakai T. 2008. Possible involvement of prolactin in the synthesis of lactoferrin in bovine mammary epithelial cells. Biosci. Biotechnol. Biochem. 72:1103-1106.

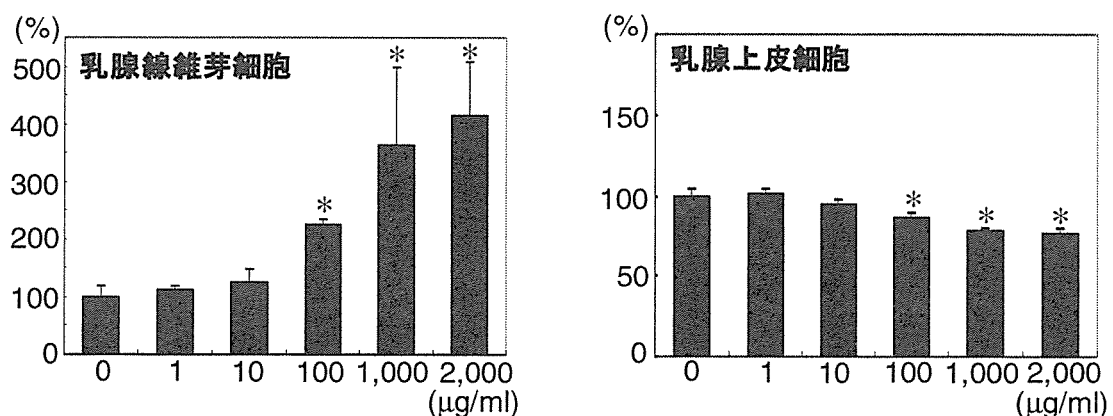


図1 ラクトフェリンが乳腺線維芽細胞と乳腺上皮細胞の増殖に及ぼす影響

* $p < 0.05$, ラクトフェリン (0 $\mu\text{g/ml}$) に対して有意差があることを示す。