

様式 8

論文内容要旨

報告番号	甲先第 410 号	氏名	田坂 徹
学位論文題目	プロテアーゼ加水分解ホエイプロテインを用いたウシ乳房炎に対する治療剤の開発		
<p>ホエイプロテイン (WP: Whey Protein) は、チーズ製造の副産物である乳清 (ホエイ) から単離された球状タンパク質で、主に β-ラクトグロブリン、α-ラクトアルブミン、ラクトフェリンの混合物で構成されており豊富な免疫調節タンパク質を含んでいる。種々のプロテアーゼを用いて WP を加水分解することで、低分子化ホエイプロテイン (LMW-WP: Low-Molecular-Weight Whey Protein) を調製し、マクロファージの食食能活性化とサイトカイン産生を評価した。種々のプロテアーゼで処理された WP の SDS-PAGE から、ほとんどのバンドが消失または減少した。加えて、ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) によって、種々のプロテアーゼで処理した WP の保持時間は、未処理の WP と比較してより長い時間にシフトした。これらの結果から、WP を種々のプロテアーゼで加水分解することで、LMW-WP の調製に成功した。LMW-WP は 1~1000ng の範囲の濃度依存性マクロファージ食食能活性の増強を示した。さらに、LMW-WP は TNF-α 産生量を有意に増加させた。</p> <p>ウシ乳房炎はウシの乳房内や乳腺組織内に細菌などの病原微生物が侵入し増殖することによって起る乳房の炎症の総称である。乳房炎に罹患したウシは、生産乳量の減少、乳質の低下、治療費支出、出荷制限期間における生乳廃棄、淘汰更新、体細胞数增加による乳価へのペナルティ、作業上の損失などを原因とした酪農経営へ及ぼす影響は大きく、経済的損失は日本国内で約 800 億円に上る。現在、乳房炎の治療法として最も用いられるのが抗生剤である。しかし抗生剤使用の問題として出荷制限による廃乳や薬剤選択の煩雑さ、さらに慢性的な抗生剤の使用による薬剤耐性菌の出現が危惧されている。また、オゾン療法やステビアの経口投与、rbGM-CSF 乳房内注入といった抗生剤に替わる治療法が様々検討されているが、いまだに有効な治療法は確立されていない。LMW-WP のマクロファージ食食能活性化能と炎症性サイトカイン TNF-α 産生能の増強は、感染症であるウシ乳房炎に効果的であると推察し、LMW-WP のウシ乳房炎に対する治療効果を評価した。乳房炎罹患牛に対して LMW-WP を経口、腹腔内、経膣の 3 つの経路で投与した。その結果、1000 mg の腹腔内投与群では 4 分房のうち 3 分房で体細胞数が出荷基準値の 40 万個/mL 未満に低下し、75% の有効性を示した。また、膣内投与群は 9 分房のうち 6 分房で体細胞数が 40 万個/mL 未満に低下し、67% の有効性を示した。さらに、1000mg の腹腔内投与したウシの乳汁中 IgA 濃度測定を測定したところ、治療効果がみられた分房で有意に IgA 濃度が低下したことが確認された。一方、LMW-WP は、マウスマクロファージ細胞に対して IL-5,6,9,12、MCP-1、VEGF のサイトカイン産生を増加させることが確認されたが、抗菌作用は示さなかった。LMW-WP 投与後における体細胞数の減少は、LMW-WP がウシ体内のマクロファージに作用して食食能活性および各種サイトカイン産生を増強することで病原微生物の増殖を抑制したと考えられる。本研究結果より、LMW-WP はウシ乳房炎に対して有効な治療剤となり得る可能性が示された。</p>			