



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	乳腺上皮細胞の乳産生に対する植物エストロゲンの生理作用と作用機序の解明 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	津上, 優作
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14384号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81101
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Tsugami_Yusaku_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博 士（農学）

氏名 津 上 優 作

審査担当者	主 査	准教授	小 林 謙
	副 査	名誉教授	中 村 富 美 男
	副 査	教 授	西 邑 隆 徳
	副 査	教 授	高 橋 昌 志

学 位 論 文 題 名

乳腺上皮細胞の乳産生に対する植物エストロゲンの生理作用と作用機序の解明

本論文は、和文 149 頁、図 44、表 4、9 章からなり、参考論文 6 編が添えられている。

乳牛が摂取する大豆や赤クローバーなどのマメ科植物には、生理活性物質である植物エストロゲンが豊富に含まれている。これまで植物エストロゲンが内因性のエストロゲン経路を調節して性成熟期や妊娠期の乳腺発達に影響を及ぼすことが明らかになってきた。内因性のエストロゲン経路は泌乳期の乳産生に対して阻害的に作用することが報告されている。しかし、植物エストロゲンには種類依存的な生理作用も存在し、泌乳期の乳腺に対して個々の植物エストロゲンがどのような影響を及ぼすかは不明である。また、植物エストロゲンの一部はルーメン、下部消化管や肝臓で代謝され、別の植物エストロゲンへと変換される。そのため、*in vivo* 給与試験では各植物エストロゲンの作用を同定するのは困難である。

泌乳期の乳腺上皮細胞は乳成分の材料を側底部細胞膜に存在するトランスポーターやチャネルを介して細胞内に取り込み、小胞体やゴルジ体で各乳成分を合成し、頂端部細胞膜から乳腺胞内腔へ分泌している。また、タイトジャンクションが乳腺上皮細胞の細胞間隙を埋めるように存在し、細胞間隙を介した乳成分と血液成分の混合を防ぐ障壁を形成するとともに、乳腺上皮細胞の頂端部細胞膜領域と側底部細胞膜領域に局在する膜タンパク質を区分けすることで細胞膜に極性を付与している。これまで、乳成分産生とタイトジャンクションを兼ね備えるウシ乳腺上皮細胞を用いた *in vitro* 乳分泌モデルは報告されていない。そこで本研究では、生体内での植物エストロゲンの代謝変換を考慮し、*in vitro* で乳腺上皮細胞の乳産生を再現した乳分泌モデルを作製し、植物エストロゲンの生理作用と作用機序の解明を試みた。

まず、*in vitro* 乳分泌モデルとして 3 種類の培養方法を検証した。その結果、細胞の足場としてコラーゲンを被膜したセルカルチャーインサートが適していること、培地添加成分としてデキサメタゾンとウシ脳下垂体抽出物が有効であることが明らかになった。作

製した乳分泌モデルにおいて、乳腺上皮細胞は乳成分を分泌し、強固なタイトジャンクションを形成するとともに、膜タンパク質の局在が頂端部細胞膜領域と側底部細胞膜領域に区分けされ、生体の泌乳期乳腺上皮細胞の特徴を再現していることが確認された。さらに、作製した乳分泌モデルの外部刺激に対する応答性について乳房炎起炎菌毒素を用いて検証したところ、生体同様に炎症反応を引き起こし、乳産生を低下させることが確認された。

確立した乳分泌モデルを用いて赤クローバーに含まれるビオカニン A・ホルモノネチン、大豆に含まれるゲニステイン・ダイズイン、および代謝産物であるパラエチルフェノール・エクオールがウシ乳腺上皮細胞の乳成分産生、タイトジャンクションおよびその転写調節因子に及ぼす影響を調べた。その結果、植物エストロゲン代謝経路の上流であるビオカニン A やホルモノネチン、ゲニステインは乳産生に対して阻害的な影響を示すことがわかった。一方、代謝経路の下流であるエクオールやダイズイン、パラエチルフェノールは乳産生に促進的な作用を示した。また、植物エストロゲンが乳腺上皮細胞の増殖性に及ぼす影響を調べたところ、パラエチルフェノールを除くすべての植物エストロゲンにおいて増殖活性ならびに増殖性に関わる調節因子の活性化レベルが低下していた。さらに、乳牛がマメ科植物を摂取した際の血中濃度を参考に複数の植物エストロゲン存在下での影響を調べたところ、単独の植物エストロゲンの影響が複数存在下でも反映される場合や相殺される場合があることが明らかになった。

以上より、植物エストロゲンはウシ乳腺上皮細胞の乳産生や増殖性に対して種類依存的に影響を及ぼすことが明らかになった。従来のマメ科植物飼料の給与では、含まれる植物エストロゲンの種類は重視されていなかった。本研究により、泌乳期の乳牛に対するマメ科植物の給与の際には、含まれる植物エストロゲンの種類や量、および乳牛の植物エストロゲン代謝能力を考慮する必要があることが示唆された。また、本研究で作製した乳分泌モデルは泌乳期乳腺上皮細胞の特徴を再現しており、外部刺激に対する応答性も生体同様の反応を示していたため、乳産生メカニズムを分子・細胞レベルで解明する研究に適していると考えられる。今後はウシの乳生産性を調節する生理活性物質のスクリーニング実験や個体レベルでは検証が困難な乳腺上皮細胞における乳産生メカニズムの解明により、乳牛の乳生産性の向上に寄与することが期待される。

よって、審査員一同は、津上優作が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。