

総説

乳牛の代謝疾患における小胞体ストレスの役割と予防戦略

米倉真一^{1†}

¹ 国立大学法人信州大学学術研究院（農学系）
長野県上伊那郡南箕輪村 8304 信州大学農学部

† 連絡担当者：米倉真一

国立大学法人信州大学学術研究院（農学系）
住所：長野県上伊那郡南箕輪村 8304 信州大学農学部
電話：0265-77-1443
E-mail：yonekura@shinshu-u.ac.jp

【要約】

高泌乳牛は、摂取した栄養素を乳生産に優先的に利用することによって高泌乳能力を得ているため、特に分娩前の乾物摂取量の減少と、泌乳開始に伴う栄養要求量の増加は、生理的ストレスの一因となる。移行期の乳牛の肝臓で生じる代謝ストレスは、肝機能の障害につながるだけでなく、繁殖成績や乳量の低下にもつながる。泌乳初期の乳牛の肝臓における小胞体ストレス発生が肝疾患発症の原因となることや、連動して乳腺上皮細胞においても小胞体ストレスが発生し、乳量減少をもたらす可能性が示唆されている。さらに、小胞体ストレスを低減する天然素材も見つかってきており、疾患や乳量低下を予防可能な新たな飼料添加剤開発の可能性が期待される。本稿では、乳牛の疾患と小胞体ストレスに関して解説するとともに、小胞体ストレス反応を飼養管理技術によって制御するという、疾患予防技術の展望について述べる。

キーワード：小胞体ストレス、代謝疾患、移行期、肝臓、乳腺上皮細胞

はじめに

わが国では乳牛の育種改良と飼養管理技術の向上により、乳量が著しく増加し、現在では1頭当たり年間1万kg以上の乳を産出する高泌乳牛も珍しくない。高泌乳牛は、エネルギーを乳生産に優先的に利用することによって高泌乳能力を得ているため、その生理的負荷は大きく、特に分娩前の乾物摂取量の減少と、泌乳開始に伴う栄養要求量の増加は、生理的ストレスの一因となる [12, 22]。負のエネルギーバランス状態 (NEB: negative energy balance) に陥り

やすく、脂肪肝やケトosisなどの肝疾患を誘発する [11, 27]。さらに、肝機能の深刻な障害は繁殖成績にも影響し、乳量も減少させる [2-4]。よって代謝の中心である肝臓において、肝機能を改善することが健康で持続的な乳生産を行う上で不可欠となっている。

細胞で合成・分泌されるタンパク質は、DNAから転写・翻訳され、一次構造をとったあと、細胞小器官の一つである小胞体で高次構造に折りたたまれ成熟する必要がある。しかし、低酸素、低グルコースなどの細胞外環境変化、あるいは大量のタンパク質合成に応えるために小胞体が過労状態のときは、小胞体内腔には正しい構造を持たない変性タンパク質 (Unfolded Protein) が蓄積する [34]。この状態を小胞体

受付：2024年1月6日

受理：2024年2月3日

ストレス状態という。これまで神経変性疾患や糖尿病をはじめとする様々なヒト疾患の発症に小胞体ストレスが関与していることが明らかとなっている [23]。また小胞体ストレスをターゲットとして、さまざまな治療薬開発が試みられている。さらに近年、泌乳初期の乳牛の肝臓における小胞体ストレスが肝疾患発生の一因となることが明らかになりつつある。本稿では、小胞体ストレスについて概説し、乳牛の代謝疾患と小胞体ストレスの関わりについて最近の知見を紹介するとともに、代謝疾患の予防戦略の展望を述べる。

小胞体ストレス応答 (Unfolded Protein Response; UPR)

細胞は、小胞体ストレス状態を是正するためにシグナル伝達経路を活性化し、これらは総称して Unfolded Protein Response (UPR) 経路と呼ばれる [35]。UPR の機能には以下のようなものがある：(1) 翻訳を抑制することによ

て小胞体内の Unfolded Protein の負荷を軽減する、(2) 小胞体シャペロンの転写を誘導することによってフォールディング能力を増強する、(3) 小胞体関連タンパク質分解因子の転写を誘導することによって Unfolded Protein の分解を促進する。過剰なストレスや持続的なストレスの下では、細胞はアポトーシスを起こす (図 1)。

正常な哺乳類の UPR 経路には、Inositol-requiring enzyme 1 alpha (IRE1 α)、PKR-like endoplasmic reticulum kinase (PERK)、Activated transcription factor 6 (ATF6) とそれぞれの分子を介する 3 つの分枝がある [33]。これらタンパク質は、小胞体膜上に局在し、小胞体ストレスの近位センサーとして機能する。小胞体シャペロンである BiP は、これらのセンサータンパク質に結合し、非ストレス条件下では不活性化する。しかし、小胞体内腔に過剰量の Unfolded Protein が蓄積すると、BiP (Binding immunoglobulin protein) はこれら

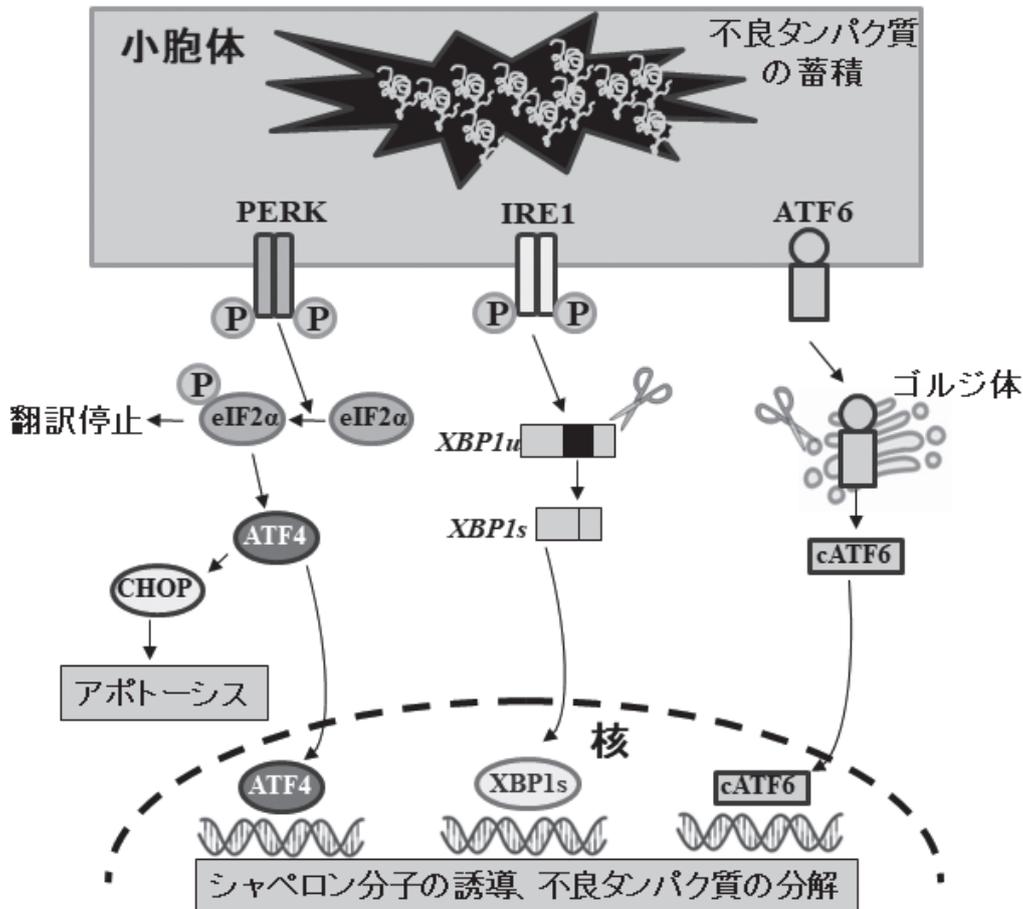


図1 小胞体ストレス応答

のセンサータンパク質から解離し、シャペロンとしての機能を発揮する [32]。活性化された IRE1 は、そのエンドヌクレアーゼ活性により、X-box 結合タンパク質 1 (XBP1) mRNA から 26bp のヌクレオチドを切断する [5]。このフレームスイッチ型スプライシングにより、XBP1 スプライシングフォーム (XBP1s) が生成され、核に移行して転写因子として機能する [43]。PERK タンパク質は、Eukaryotic initiation factor 2 α (eIF-2 α) をリン酸化してその機能を低下させ、Activating transcription factor 4 (ATF4) の翻訳を促進する [21]。ATF6 α はゴルジ体に輸送され、小胞体ストレスに応じて部位 1 および部位 2 のプロテアーゼによって膜内で切断される。この切断操作により、N 末端断片は核に移行し、転写因子として機能する [41]。極度の小胞体ストレスや持続的な小胞体ストレスがかかると、細胞はアポトーシスを起こす。この条件下で、ATF4 はアポトーシスを促進する転写因子である C/EBP homologous protein (CHOP) の転写を誘導する [46]。よって、小胞体ストレスの強さと持続時間は、細胞の生存または死という点で、UPR の結果を左右する。

代謝疾患と小胞体ストレスとの関わり

最初に小胞体ストレスと乳牛の代謝疾患との関連性について言及したのは、2014 年の Gessner 等による報告であった [19]。13 頭の乳牛の分娩前 3 週と分娩後 1、5、14 週の肝臓生検サンプルで、UPR の 14 遺伝子の相対 mRNA 発現量を測定した結果、13 遺伝子の mRNA 発現量が、分娩前 3 週と比較して分娩後 1 週で有意に上昇した。さらに、小胞体ストレスの特徴である XBP1s 発現が泌乳開始後に誘導されたことから、小胞体ストレスによる UPR が、脂肪肝、ケトーシス、炎症の発症など、移行期の乳牛の肝臓で観察される病態生理学的状態に関与している可能性が示唆された。その後、重度脂肪肝の乳牛における小胞体ストレスの発生を確認する報告があった [45]。健常牛または重度の脂肪肝と診断された乳牛の肝臓を採取し検討した結果、PERK と IRE1 α のリン酸化レベル、切断型 ATF6 タンパク質の発現量は、重度の脂肪肝の牛の肝臓でより多いこと

が明らかとなった。

小胞体ストレスが臨床性ケトーシス牛の肝障害を悪化させる可能性がある [38]。30 頭の経産牛 (分娩後 3 週以内) を血中 β -ヒドロキシ酪酸 (BHB) 濃度に基づいて健常牛または臨床性ケトーシス牛に分類し検討した結果、臨床性ケトーシス牛の肝臓において、PERK、IRE1 α 、ATF6 のタンパク質量が多く、XBP1s mRNA レベルも高かった。これらのデータから、臨床性ケトーシス牛では小胞体ストレス状態が亢進していることが確認された。また臨床性ケトーシス牛の乳腺細胞では、健常牛に比べて小胞体シャペロンである 78-kDa glucose-regulated protein (GRP78)、PERK、IRE1、ATF6 タンパク質や、リン酸化 PERK およびリン酸化 IRE1 の発現量が多い [44]。よって、乳牛の代謝疾患によって乳腺組織でも小胞体ストレスが発生していることが明らかとなっている。

乳牛における小胞体ストレスの発生要因

移行期の深刻な NEB 状態に起因するものだけでなく、他の要因も明らかになってきており、小胞体ストレスの発生要因や誘発因子について解説する。

(1) 深刻な NEB 状態

我々は、乾乳牛を 48 時間絶食によるマイルドな負のエネルギーバランス状態にすると、肝臓の XBP1s mRNA 発現レベルと IRE1 α タンパク質のリン酸化レベルが有意に上昇することを明らかにしている [25]。すなわち、エネルギー不足が乳牛の肝臓において小胞体ストレスを惹起する。深刻な NEB に陥ると、脂肪組織から Non-esterified fatty acids (NEFA) が動員される。非反芻動物では、NEFA に曝された肝細胞で小胞体ストレスが惹起され、細胞内に脂肪滴を構築することがよく知られている。また、小胞体ストレスは肝インスリン抵抗性に関与している [10]。乳牛の肝細胞への多量の NEFA の流入もまた小胞体ストレスを誘導し、インスリン抵抗性を引き起こすことが明らかとなっている [13]。

また我々は、飽和脂肪酸が乳腺上皮細胞の小胞体ストレスを惹起し、アポトーシスを引き起

こすことを見出している [37]。加えて、BHB が乳腺上皮細胞の小胞体ストレスを惹起することが報告されている [44]。泌乳量がピークに達した後、泌乳期間が進むにつれて乳量が減少するのは、主に乳腺上皮細胞数の減少の結果であり、細胞数の純減は、アポトーシスによる継続的な細胞死によるものである [6-7]。我々は、妊娠後期と泌乳期に乳牛の乳腺組織を生検で採取し、UPR 関連遺伝子の発現を調べた結果、CHOP の発現と泌乳初期乳量との間には強い負の相関が認められることを見出している [42]。

これらの結果から、NEB によって脂肪組織から動員される NEFA が、肝臓での小胞体ストレスを惹起し肝障害を亢進していることが考えられる。同時に NEFA やエネルギー不足によって肝臓で産生される BHB が血中を介して乳腺組織の小胞体ストレスを惹起し、乳量減少を引き起こしている可能性も考えられる (図 2)。

(2) ルーメンアシドーシス

ルーメンアシドーシスが発症すると、脆弱角質化したルーメン上皮からグラム陰性菌の主要な内毒素である Lipopolysaccharides (LPS) が侵入し、肝障害と炎症反応を引き起こす [8]。

LPS はウシ肝細胞の小胞体ストレスを惹起し [40]、我々の濃厚飼料多給試験においても肝臓で小胞体ストレスが発生していることを確認していることから (成果未発表)、ルーメンアシドーシスの際も、肝臓で小胞体ストレスが発生し肝障害の発症要因となっていることが予想される。

(3) 生体外因子

さらに生体内因子だけでなく、外的因子によっても乳牛での小胞体ストレスが惹起されることが報告されている。トウモロコシやその他の穀物などの農産物から頻繁に検出される汚染物質である Zearalenone を乳腺上皮細胞の培養培地に添加することで、小胞体ストレスが発生し、アポトーシスが生じる [15]。また、オーキシン類似型除草剤である Fluroxypyr-meptyl や、ジニトロアニリン系に分類される除草剤である Pendimethalin、トリアゾール系殺菌剤である Tebuconazole もまた、乳腺上皮細胞の小胞体ストレスを惹起し細胞死を引き起こす作用を有する [1, 28-29]。ただし、これらの結果は、in vitro 実験によるものであり、ウシと乳生産における除草剤の毒性影響を正確に判断するには、in vivo 試験の結果を待つ必要がある。

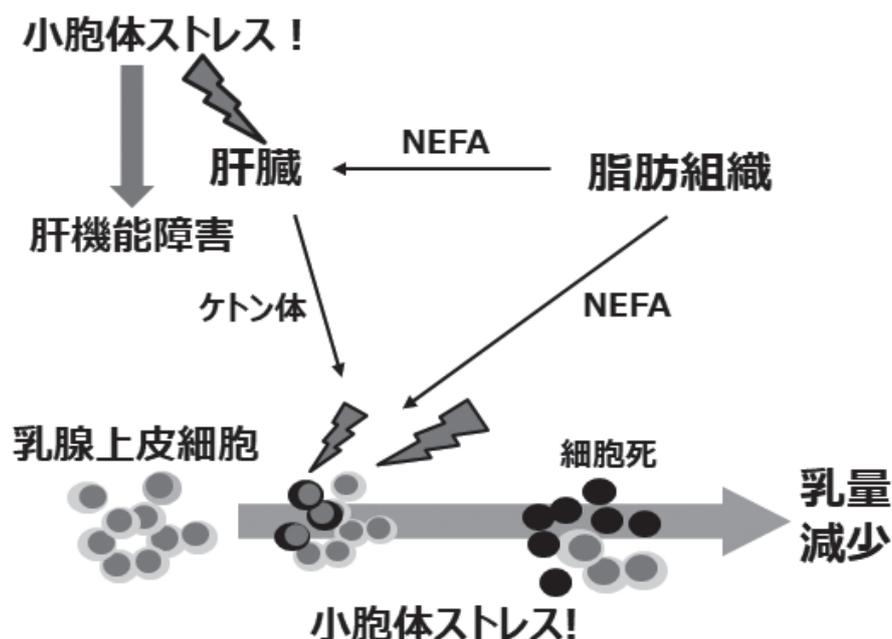


図2 移行期における小胞体ストレスの発生要因

小胞体ストレスを低減する天然素材

産後1週間に polyphenol-rich grape seed and grape marc meal extract (GSGME) を給与した牛の肝臓のトランスクリプトーム解析から、ポリフェノールが豊富な飼料成分は小胞体ストレス誘発 UPR および炎症プロセスを抑制できることが示された [20]。一方、産後1週目と3週目の肝臓検体における、炎症に関与する3遺伝子と小胞体ストレス応答に関与する14遺伝子の mRNA 量は、2群間で差がなかったという報告もあり [18]、GSGME 給与による小胞体ストレス低減効果については、議論の余地がある。また分娩7日前から1日量10gもしくは20gの green tea extract を投与することで、肝臓の UPR 関連遺伝子発現量が減少したことが報告されている [17]。

肝細胞を用いた実験において、プロピオン酸が、パルミチン酸による小胞体ストレス発生を軽減することが明らかとなっている [16]。また、ごく最近、タンポポから単離された Taraxasterol は、遊離脂肪酸による小胞体ストレス発生を軽減することが報告された [30]。

その他、多くは乳腺上皮細胞を用いた実験において小胞体ストレスを低減する天然素材が報告されている。5-アミノレブリン酸(5-ALA)は、動物および植物の内因性アミノ酸であり、ALA 合成酵素の助けを借りて、ミトコンドリア内で縮合反応を介してグリシンとコハク酸コエンザイム A から合成される [24]。我々はパルミチン酸や熱刺激によるウシ乳腺上皮細胞の小胞体ストレス発生やアポトーシスに対して、5-ALA を前処理することで低減できることを明らかにした [26, 36]。よって、移行期や暑熱期における乳牛の小胞体ストレス抑制の効果が期待される。

天然のカロテノイドで、ビタミン A に変換される β -carotene は、LPS 誘発の小胞体ストレスを低減する [31]。さらに食品や薬用植物に含まれるアピゲニンフラボノイド配糖体である Vitexin には、黄色ブドウ球菌に侵された乳腺組織の IRE1 α 、PERK、p-eIF2 α 、CHOP タンパク質の発現を減少させる効果が認められたことから、乳房炎の予防・治療薬として大きな可能性を秘めている [9]。

レスベラトロールの天然前駆体である Polydatin に、マイコトキシンの一種であり飼料の汚染物質である Zearalenone 処理による乳腺上皮細胞の小胞体ストレスを低減する効果がある [14]。また Taraxasterol は、Fusarium graminearum が産生するカビ毒であるデオキシニバレノール処理による乳腺上皮細胞の小胞体ストレスを低減する [39]。よって、これらは家畜飼料由来の汚染物質による乳腺上皮細胞の小胞体ストレスを低減する効果が期待される。

これら乳腺上皮細胞の小胞体ストレス低減効果について、全て細胞実験で明らかにされたものである。したがって、飼料添加物として使用できる効果的な役割を決定するためには、in vivo での研究が必要である。

おわりに

ここで紹介したように、乳牛の代謝疾患の発症や乳量の減少に、肝臓や乳腺組織での小胞体ストレス発生が寄与していることが明らかとなってきた。これら要因が小胞体ストレスのみに限定されるものではないにせよ、小胞体ストレス、すなわち異常タンパク質の蓄積が直接的あるいは間接的に代謝疾患の発症や乳量の減少につながることは疑いのない事実である。ヒトの臨床研究において、UPR を調節することで小胞体ストレスに起因する各種疾患の治療に応用しようと、治療法の開発が進められている。今後も小胞体ストレス反応の制御という基礎研究を、乳牛の健全性と生産性を両立させる応用技術に発展させ、我が国および世界の畜産業・畜産学の発展に役立つような研究を進めたいと考えている。

引用文献

- [1] An, G., Park, W., Lim, W., Song, G. 2022. Fluroxypyr-1-methylheptyl ester causes apoptosis of bovine mammary gland epithelial cells by regulating PI3K and MAPK signaling pathways and endoplasmic reticulum stress. *Pestic. Biochem. Physiol.* 180: 105003.
- [2] Angeli, E., Rodriguez, F. M., Rey, F., Santiago, G., Matiller, V., Ortega, H. H., Hein, G. J. 2019. Liver fatty acid metabolism associations with reproductive performance of dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 208: 106104.

- [3] Bertoni, G., Trevisi, E., Han, X., Bionaz, M. 2008. Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91: 3300-3310.
- [4] Bionaz, M., Trevisi, E., Calamari, L., Librandi, F., Ferrari, A., Bertoni, G. 2007. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 1740-1750.
- [5] Calfon, M., Zeng, H., Urano, F., Till, J. H., Hubbard, S. R., Harding, H. P., Clark, S. G., Ron, D. 2002. IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA. *Nature.* 415: 92-96.
- [6] Capuco, A. V., Ellis, S. E., Hale, S. A., Long, E., Erdman, R. A., Zhao, X., Paape, M. J. 2003. Lactation persistency: insights from mammary cell proliferation studies. *J. Anim. Sci.* 81 Suppl 3: 18-31.
- [7] Capuco, A. V., Wood, D. L., Baldwin, R., McLeod, K., Paape, M. J. 2001. Mammary cell number, proliferation, and apoptosis during a bovine lactation: relation to milk production and effect of bST. *J. Dairy Sci.* 84: 2177-2187.
- [8] Chang, G., Zhuang, S., Seyfert, H. M., Zhang, K., Xu, T., Jin, D., Guo, J., Shen, X. 2015. Hepatic TLR4 signaling is activated by LPS from digestive tract during SARA, and epigenetic mechanisms contribute to enforced TLR4 expression. *Oncotarget.* 6: 38578-38590.
- [9] Chen, Y., Yang, J., Huang, Z., Yin, B., Umar, T., Yang, C., Zhang, X., Jing, H., Guo, S., Guo, M., Deng, G., Qiu, C. 2022. Vitexin Mitigates *Staphylococcus aureus*-Induced Mastitis via Regulation of ROS/ER Stress/NF-kappaB/MAPK Pathway. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2022: 7977433.
- [10] Cnop, M., Foufelle, F., Velloso, L. A. 2012. Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes. *Trends Mol. Med.* 18: 59-68.
- [11] Collard, B. L., Boettcher, P. J., Dekkers, J. C., Petitclerc, D., Schaeffer, L. R. 2000. Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. *J. Dairy Sci.* 83: 2683-2690.
- [12] Doepel, L., Lapierre, H., Kennelly, J. J. 2002. Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. *J. Dairy Sci.* 85: 2315-2334.
- [13] Fang, Z., Gao, W., Jiang, Q., Loor, J. J., Zhao, C., Du, X., Zhang, M., Song, Y., Wang, Z., Liu, G., Li, X., Lei, L. 2022. Targeting IRE1alpha and PERK in the endoplasmic reticulum stress pathway attenuates fatty acid-induced insulin resistance in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 105: 6895-6908.
- [14] Fu, Y., Jin, Y., Shan, A., Zhang, J., Tang, H., Shen, J., Zhou, C., Yu, H., Fang, H., Zhao, Y., Wang, J., Tian, Y. 2021. Polydatin Protects Bovine Mammary Epithelial Cells Against Zearalenone-Induced Apoptosis By Inhibiting Oxidative Responses and Endoplasmic Reticulum Stress. *Toxins (Basel)*, 13(2).
- [15] Fu, Y., Jin, Y., Tian, Y., Yu, H., Wang, R., Qi, H., Feng, B., Zhang, J. 2022. Zearalenone Promotes LPS-Induced Oxidative Stress, Endoplasmic Reticulum Stress, and Accelerates Bovine Mammary Epithelial Cell Apoptosis. *Int. J. Mol. Sci.* 23(18).
- [16] Gao, W., Fang, Z., Lei, L., Ju, L., Jin, B., Loor, J. J., Liang, Y., Shi, Z., Shen, T., Yu, H., Chen, M., Ouyang, H., Song, Y., Wang, Z., Liu, G., Li, X., Du, X. 2021. Propionate alleviates palmitic acid-induced endoplasmic reticulum stress by enhancing autophagy in calf hepatic cells. *J. Dairy Sci.* 104: 9316-9326.
- [17] Gessner, D. K., Brock, C., Hof, L. M., Most, E., Koch, C., Eder, K. 2020. Effects of supplementation of green tea extract on the milk performance of periparturient dairy cows and the expression of stress response genes in the liver. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 11: 57.
- [18] Gessner, D. K., Koch, C., Romberg, F. J., Winkler, A., Dusel, G., Herzog, E., Most, E., Eder, K. 2015. The effect of grape seed and grape marc meal extract on milk performance and the expression of genes of endoplasmic reticulum stress and inflammation in the liver of dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 98: 8856-8868.
- [19] Gessner, D. K., Schlegel, G., Ringseis, R., Schwarz, F. J., Eder, K. 2014. Up-regulation of endoplasmic reticulum stress induced genes of the unfolded protein response in the liver of periparturient dairy cows. *BMC Vet. Res.* 10: 46.
- [20] Gessner, D. K., Winkler, A., Koch, C., Dusel, G., Liebisch, G., Ringseis, R., Eder, K. 2017. Analysis of hepatic transcript profile and plasma lipid profile in early lactating dairy cows fed grape seed and grape marc meal extract. *BMC Genomics.* 18: 253.
- [21] Harding, H. P., Zhang, Y., Bertolotti, A., Zeng, H., Ron, D. 2000. Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response. *Mol. Cell.* 5: 897-904.
- [22] Hayirli, A., Grummer, R. R., Nordheim, E. V., Crump, P. M. 2002. Animal and dietary factors

- affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 85: 3430-3443.
- [23] Hetz, C., Zhang, K., Kaufman, R. J. 2020. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 21: 421-438.
- [24] Ishizuka, M., Abe, F., Sano, Y., Takahashi, K., Inoue, K., Nakajima, M., Kohda, T., Komatsu, N., Ogura, S., Tanaka, T. 2011. Novel development of 5-aminolevulinic acid (ALA) in cancer diagnoses and therapy. *Int. Immunopharmacol.* 11: 358-365.
- [25] Islam, M. A., Adachi, S., Shiiba, Y., Takeda, K. I., Haga, S., Yonekura, S. 2022. Effects of starvation-induced negative energy balance on endoplasmic reticulum stress in the liver of cows. *Anim. Biosci.* 35: 22-28.
- [26] Islam, M. A., Noguchi, Y., Taniguchi, S., Yonekura, S. 2021. Protective effects of 5-aminolevulinic acid on heat stress in bovine mammary epithelial cells. *Anim. Biosci.* 34: 1006-1013.
- [27] LeBlanc, S. 2010. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J. Reprod. Dev.* 56 Suppl: S29-35.
- [28] Lee, H., An, G., Lim, W., Song, G. 2022. Pendimethalin exposure induces bovine mammary epithelial cell death through excessive ROS production and alterations in the PI3K and MAPK signaling pathways. *Pestic. Biochem. Physiol.* 188: 105254.
- [29] Lee, W. Y., Lee, R., Park, H. J. 2023. Tebuconazole Induces ER-Stress-Mediated Cell Death in Bovine Mammary Epithelial Cell Lines. *Toxics.* 11(4).
- [30] Li, M., He, Y., Zhang, W., Yin, Y., Jiang, Q., Loor, J. J., Wang, J., Wen, J., Yang, W., Xu, C., Zhang, B. 2023. Taraxasterol alleviates fatty acid-induced lipid deposition in calf hepatocytes by decreasing ROS production and endoplasmic reticulum stress. *J. Anim. Sci.* 101.
- [31] Meng, M., Jiang, Y., Wang, Y., Huo, R., Ma, N., Shen, X., Chang, G. 2023. beta-carotene targets IP3R/GRP75/VDAC1-MCU axis to renovate LPS-induced mitochondrial oxidative damage by regulating STIM1. *Free Radic. Biol. Med.* 205: 25-46.
- [32] Munro, S., Pelham, H. R. 1986. An Hsp70-like protein in the ER: identity with the 78 kd glucose-regulated protein and immunoglobulin heavy chain binding protein. *Cell.* 46: 291-300.
- [33] Patil, C., Walter, P. 2001. Intracellular signaling from the endoplasmic reticulum to the nucleus: the unfolded protein response in yeast and mammals. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13: 349-355.
- [34] Ron, D., Walter, P. 2007. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8: 519-529.
- [35] Rutkowski, D. T., Hegde, R. S. 2010. Regulation of basal cellular physiology by the homeostatic unfolded protein response. *J. Cell Biol.* 189: 783-794.
- [36] Sharmin, M. M., Islam, M. A., Yamamoto, I., Taniguchi, S., Yonekura, S. 2021. 5-ALA Attenuates the Palmitic Acid-Induced ER Stress and Apoptosis in Bovine Mammary Epithelial Cells. *Molecules.* 26(4).
- [37] Sharmin, M. M., Mizusawa, M., Hayashi, S., Arai, W., Sakata, S., Yonekura, S. 2020. Effects of fatty acids on inducing endoplasmic reticulum stress in bovine mammary epithelial cells. *J. Dairy Sci.* 103: 8643-8654.
- [38] Shi, Z., Song, Y., Gao, X., Loor, J. J., Aboragah, A., Yu, H., Fang, Z., Zhu, Y., Du, X., Li, X., Gao, W., Liu, G. 2021. Disruption of endoplasmic reticulum homeostasis exacerbates liver injury in clinically ketotic cows. *J. Dairy Sci.* 104: 9130-9141.
- [39] Wang, J., Zheng, K., Jin, Y., Fu, Y., Wang, R., Zhang, J. 2022. Protective Effects of Taraxasterol against Deoxynivalenol-Induced Damage to Bovine Mammary Epithelial Cells. *Toxins (Basel).* 14(3).
- [40] Xie, W., Chen, M., Loor, J. J., Song, X., Ma, N., Zhou, S., Zhang, H., Chang, G., Shen, X. 2023. AMPK-endoplasmic reticulum stress axis contributes to lipopolysaccharide-caused mitochondrial dysfunction by regulating mitochondria-associated membrane function in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 106: 5146-5164.
- [41] Ye, J., Rawson, R. B., Komuro, R., Chen, X., Dave, U. P., Prywes, R., Brown, M. S., Goldstein, J. L. 2000. ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs. *Mol. Cell.* 6: 1355-1364.
- [42] Yonekura, S., Tsuchiya, M., Tokutake, Y., Mizusawa, M., Nakano, M., Miyaji, M., Ishizaki, H., Haga, S. 2018. The unfolded protein response is involved in both differentiation and apoptosis of bovine mammary epithelial cells. *J. Dairy Sci.* 101: 3568-3578.
- [43] Yoshida, H., Matsui, T., Hosokawa, N., Kaufman, R. J., Nagata, K., Mori, K. 2003. A time-dependent phase shift in the mammalian unfolded protein response. *Dev. Cell.* 4: 265-271.
- [44] Zhang, B., Li, M., Yang, W., Loor, J. J., Wang, S., Zhao, Y., Guo, H., Ma, X., Xia, C., Xu, C. 2020. Orai calcium release-activated calcium modulator 1 (ORAI1) plays a role in endoplasmic reticulum

- stress in bovine mammary epithelial cells challenged with physiological levels of ketone bodies. *J. Dairy Sci.* 103: 4691-4701.
- [45] Zhu, Y., Guan, Y., Loo, J. J., Sha, X., Coleman, D. N., Zhang, C., Du, X., Shi, Z., Li, X., Wang, Z., Liu, G., Li, X. 2019. Fatty acid-induced endoplasmic reticulum stress promoted lipid accumulation in calf hepatocytes, and endoplasmic reticulum stress existed in the liver of severe fatty liver cows. *J. Dairy Sci.* 102: 7359-7370.
- [46] Zinszner, H., Kuroda, M., Wang, X., Batchvarova, N., Lightfoot, R. T., Remotti, H., Stevens, J. L., Ron, D. 1998. CHOP is implicated in programmed cell death in response to impaired function of the endoplasmic reticulum. *Genes Dev.* 12: 982-995.

Role of endoplasmic reticulum stress in metabolic diseases of dairy cattle and strategies for its prevention

Shinichi Yonekura^{1†}

¹ Institute of Agriculture, Academic Assembly, Shinshu University
8304 Minamiminowa, Kamiina, Nagano 399-4598, Japan.

[†] Correspondence: Shinichi Yonekura,
Institute of Agriculture, Academic Assembly, Shinshu University,
8304 Minamiminowa, Kamiina, Nagano 399-4598, Japan
Tel: +81 265 77 1443
Email: yonekura@shinshu-u.ac.jp

[Abstract]

High-yielding dairy cows undergo various physiological stresses during transitional changes in the calving cycle. Reduced dry matter intake before calving and increased nutrient requirements associated with lactation initiation contribute to physiological stress. This metabolic stress not only impairs liver function but also diminishes reproductive performance and milk production. It was reported that endoplasmic reticulum (ER) stress in the liver of early lactation dairy cows is the underlying basis for the development of liver-related diseases. The connection between metabolic diseases in dairy cows and ER stress in mammary tissue has also been documented. Moreover, natural products mitigating ER stress have been identified, offering potential as feed additives to prevent disease and reduce milk yield. This review describes metabolic diseases and ER stress in dairy cattle and discusses the potential for disease prevention with feed additives that reduce ER stress.

Keywords: ER stress, metabolic diseases, transition period, liver, mammary epithelial cells