

細菌性精巣上体炎モデルにおける感染局所での炎症性サイトカインの発現

田中 一志¹⁾, 藤澤 正人²⁾, 荒川 創一²⁾, 守殿 貞夫²⁾

¹⁾ 神鋼病院泌尿器科*

²⁾ 神戸大学泌尿器科学教室

(平成 11 年 10 月 4 日受付・平成 11 年 11 月 4 日受理)

敗血症のような重症全身感染,あるいは髄膜炎および尿路感染の感染局所で,炎症性サイトカインは感染防御に深く関係している。精巣上体炎は,精巣上体の腫脹をきたす生殖器局所感染ではあるが,高熱を呈することも多く,何らかの生体防御機構の関与が考えられる。そこでラット精巣上体炎モデルおよび培養上皮細胞を用い,生殖器感染時における局所での interleukin-6 (IL-6) をはじめとする炎症性サイトカインの発現とその動態に関する検討を行った。まずラット精管より *Escherichia coli* を逆行性に注入し精巣上体炎を作成し,感染前および感染後 6, 12, 24, 48, 72 時間後に精巣上体を無菌的に摘出した。その精巣上体から total RNA を抽出した後, Northern blotting 法にて IL-6 mRNA の発現を,ならびに RT-PCR 法にて各種炎症性サイトカインの発現を検討した。さらに,精巣上体の経時的な病理組織学的変化と免疫組織染色法による IL-6 の局在を検討した。また,ラット精巣上体の上皮細胞を分離培養し, lipopolysaccharide (LPS) で刺激し,上皮細胞における炎症性サイトカイン mRNA の発現を検討した。結果,精巣上体炎局所においても IL-6 mRNA が発現しており,またその発現は感染後 6 時間でピークに達し,以後時間の経過とともに減少していることが確認された。さらに他の炎症性サイトカイン (IL-1 β , TNF- α) mRNA も精巣上体炎局所で発現していた。病理組織学的検討では,感染後 6 時間では炎症細胞の浸潤を認めなかったが,72 時間後に炎症細胞の著明な浸潤を認めた。免疫組織染色による検討では,精巣上体の上皮細胞において,感染後 6 時間でもっとも強く IL-6 が発現していることが確認された。培養細胞を用いた検討では, LPS 刺激後 6 時間で炎症性サイトカイン mRNA の発現が確認された。以上より,精巣上体炎においても,感染局所で生体防御機構としてサイトカイン産生系が賦括されていることが明らかになった。また,上皮細胞はサイトカイン産生細胞として従来考えられていた以上に重要な役割を担っていることが示唆された。

Key words: interleukin-6 (IL-6), cytokine, epididymitis

サイトカインは生体防御に深くかかわっており,重症感染時にはネットワークを構成し,感染防御に寄与している¹⁾。そのなかでも IL-6 は,炎症反応時に急性期タンパクの産生²⁾, pyrogen 作用³⁾, 免疫グロブリン産生の刺激⁴⁾, B リンパ球における IgA 産生増加⁵⁾など,生体に有益な働きをしているものとされる。また,生体防御の観点から IL-6 はマクロファージの活性を高め⁶⁾, マウス敗血症モデルにおいて致死率を減少させている⁷⁾。さらに *Listeria* の実験的感染モデルで IL-6 は細菌の増殖を抑制している⁸⁾。つまり,生体防御において IL-6 は重要な働きをしていると考えられる。敗血症,髄膜炎などの重症感染,あるいは尿路感染症における IL-6 および炎症性サイトカインの発現とその動態に関しての報告は散見されるが⁹⁻¹⁴⁾, 細菌性生殖器局所感染とサイトカインに関する報告はほとんどない¹⁵⁾。

急性精巣上体炎は,精巣上体局所の炎症,痛み,腫脹を主徴とする局所感染ではあるが,高熱を呈することも多く,何らかの生体の防御機構の関与が考えられる。

今回,生殖器局所感染時における生体の感染防御およびサイトカインの関与を解明するため,ヒトと類似の組織像を示すラット精巣上体炎モデルを用い¹⁶⁻¹⁹⁾,生殖器感染における局所での IL-6 をはじめとする炎症性サイトカインの発現を検討した。さらに,局所での上皮細胞と感染防御機構の関係を解明するために,ラット精巣上体から上皮細胞を分離培養し,上皮細胞における炎症性サイトカインの発現を検討した。

I. 材料と方法

1. *In vivo* における検討

実験動物: ウイスター系雄ラット (クレア) 8 週齢, 体重 250~300 g を用いた。

細菌感染モデルの作成: 尿路感染症患者から分離された *Escherichia coli* (E-19 株) を用いた。上記菌株の genotype は MS (mannose-sensitive adhesin), pap (p-fimbriae adhesin, mannose-resistance adhesin), sfa (s-fimbriae adhesin), hly (α -hemolysin), CNF

(colony necrotic factor) 陽性であった。上記 *E. coli* を Trypticase soy broth にて 37°C, 24 時間培養後、あらかじめ 10⁹/mL に調節した。ラットをペントバルビタール麻酔下、陰嚢を切開し左精管より 27 ゲージ針で菌液 100 μ L を逆行性に注入し精巣上皮炎を作成した。コントロール群には、*E. coli* を含まない培地を用い sham operation を施した。感染前および感染後 6, 12, 24, 48, 72 時間後に精巣上皮を無菌的に摘出した。1 群 5 匹ずつのラットを用いた。摘出した精巣上皮のうち 3 検体を、RNA 抽出用に snap frozen し -80°C にて保存し、残りの 2 検体は縦切開し、免疫染色用には、Tissue Tek に包埋後 -80°C にて保存した。H-E 染色用には、ホルマリン固定後パラフィンで包埋した。

RNA の分離: total RNA を guanidium thiocyanate 法により各精巣上皮より抽出した²⁰⁾。

Northern blot analysis による IL-6 mRNA の測定: 各 total RNA 30 μ g ずつを 1×MOPS バッファーと 2.2 M ホルムアルデヒドを含む 1.2% アガロースゲル電気泳動で分離したのち、nitrocellulose membrane (Schleicher and Schuell Inc.) へブロットした。そして BamH1-linearized pBluescript KS-vectors containing rat IL-6 cDNA (ATCC 37681) より [*a*-³²P] CTP でラベルされた cRNA probes (1×10⁶cpm/mL) を作成し、ハイブリダイゼーションを行った。フィルターを洗浄後オートラジオグラフィにて放射活性を測定した。またデンシトメーターによる解析も行った。ラットの腹腔内のマクロファージから RNA を抽出し IL-6 のコントロールとした²¹⁾。

RT-PCR によるサイトカイン mRNA の解析: 上述した方法で抽出された total RNA から Perkin-Elmer Gene Amp RNA PCR kit (Roche Molecular System) を用い、逆転写反応によって、cDNA を作成した。作成された cDNA とそれぞれの primer (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ , IL-2, β -actin) を用い、95°C 1 分, 60°C 1 分, 72°C 2 分を 1 サイクルとする PCR 反応を、35 サイクル行った。IL-6 (614 bp), TNF- α (295 bp), IFN- γ (288 bp), IL-2 (342 bp), β -actin (764 bp) の primer はクオンテック社のものを用い、IL-1 β (520 bp) の primer は Minami らの報告による、5'-GAAGC TGTGGCAGCTACCTATGTCT-3', 5'-CTCTGCTTGA GAGGTGCTGATGTAC-3' を用いた²²⁾。以上の反応により増幅された PCR 産物を電気泳動し、ethidium bromide で染色した。ネガティブコントロールとして、reverse transcriptase を入れないものと、cDNA を入れないものも同様に PCR 反応を行った。

病理組織学的検討: パラフィン包埋した組織から 4 μ m の切片を作製し、H-E 染色を行い精巣上皮の細菌感染による組織学的変化を観察した。

免疫組織染色: 摘出した精巣上皮から 5 μ m の凍結切

片を作製し、抗 murine IL-6 抗体を用い精巣上皮炎組織の免疫染色 (Avidin Biotin complex 法) を行った²³⁾。同切片を顕微鏡下で観察し精巣上皮局所での IL-6 の発現を観察した。

2. *In vitro* における検討

精巣上皮細胞の分離: 3 週齢ウイスター系雄ラットより精巣上皮を摘出し、細片化し、0.25% trypsin で処理後、1 mg/mL collagenase で処理した。イーグル液に再浮遊させた後 culture flask に分注し、12 時間後にまだ附着していない精巣上皮細胞を含んだ上清を新しい culture flask に移し、単層になるまで 6 日間培養を行った²⁴⁾。

LPS 刺激によるサイトカイン mRNA の測定: 培養細胞に LPS (10 μ g/mL: Sigma) を加え、0, 2, 6, 24 時間後に細胞を採取し、前述した方法で RNA を抽出した。前述したサイクルにて RT-PCR を行い、電気泳動にてサイトカイン mRNA の測定を行った。

II. 結 果

1. 精巣上皮局所における IL-6 mRNA の発現

Northern blot analysis による定量的解析で、感染後 6 時間で精巣上皮の IL-6 mRNA の発現はピークに達し、以後時間の経過とともに減少した (Fig. 1)。コントロール群および対側の精巣上皮では IL-6 mRNA の発現は認められなかった。

2. RT-PCR 法による炎症性サイトカイン mRNA の発現

RT-PCR 法により、IL-6 以外に IL-1 β も感染後 6 時間以降に発現を認めた。TNF- α は感染前にも発現を認め、感染後著明な増強を認めた。IFN- γ も感染前より発現を認めたが、感染後の増強は認めなかった。IL-2 は感染前後とも発現していなかった (Fig. 2)。

3. 精巣上皮の細菌感染による病理組織学的変化

感染後 6 時間では炎症細胞の浸潤を認めず、24 時間後より炎症細胞の浸潤がはじまり、72 時間後には、精巣上皮管腔内および上皮下に炎症細胞の著明な浸潤を認めた (Fig. 3)。

4. 免疫組織染色による検討

感染後 6 時間で、もっとも強く精巣上皮において IL-6 が発現しており、またその発現は上皮細胞に局在していた。正常精巣上皮では IL-6 の発現は認めなかった (Fig. 4)。

5. 精巣上皮細胞におけるサイトカイン mRNA の発現

LPS の刺激によって、IL-6, IL-1 β , TNF- α mRNA の著明な増強を認め、24 時間まで持続した (Fig. 5)。

III. 考 察

細菌感染時の血液、髄液、胸水および尿中での炎症性サイトカインの動態については、さまざまな検討がなされている。Waage らは、細菌性髄膜炎の髄液中に IL-1

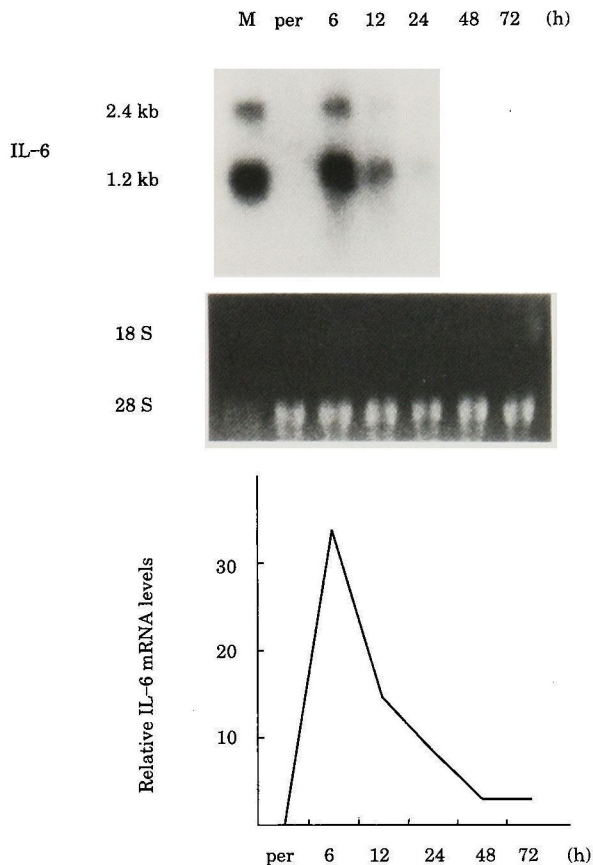


Fig. 1. Local expression of IL-6 mRNA in rat epididymis at various times after *Escherichia coli* infection. A representative autoradiogram of Northern blotting and densitometric analysis. A 30- μ g sample of total epididymal RNA was extracted from rat epididymis at the times indicated after bacterial challenge and fractionated on 1.2% agarose formaldehyde gels. Total RNA from LPS-treated peritoneal macrophages (20 μ g) was used as a positive control. All lanes except the macrophages contained identical amounts of RNA as assessed by ethidium bromide fluorescence of the 28 S and 18 S ribosomal bands. pre=prechallenge, M=macrophage.

IL-6, TNF- α が血中濃度とは関係なく産生されていることを報告している¹⁰⁾。Barnesらは、TNFおよびIFN- γ が、結核性胸膜炎時に胸水中に産生され局所で重要な役割を果たしていることを報告している²⁵⁾。また尿路感染においても、感染時に尿中IL-6の上昇が報告されており、腎の糸球体および膀胱上皮細胞がIL-6を産生しているといわれている^{9,26-28)}。このように生体内にはさまざまなサイトカイン産生系が存在するものと考えられる。

今回の研究で、ラット精巣上体炎局所においてIL-6 mRNAが発現し、その発現は、炎症細胞の浸潤前にピークに達することが確認された。さらに免疫組織染色によって、IL-6は上皮細胞で発現していることが明らかになった。加えて、他の炎症性サイトカイン (IL-1 β ,

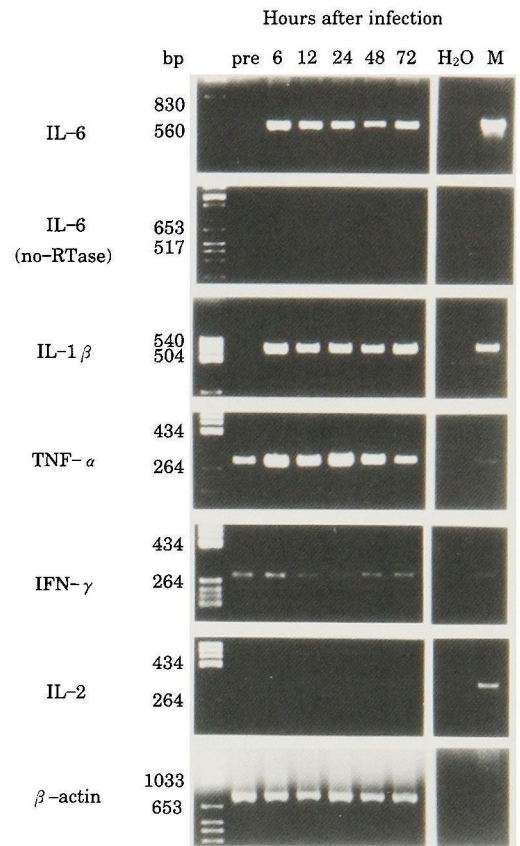


Fig. 2. PCR-assisted amplification of IL-6, IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , IL-2 and β -actin mRNAs from rat epididymis at various times after *Escherichia coli* challenge. Bands for IL-6 were observed on the original gels and photographs at all time points except before infection. "No RTase" were non-reverse transcribed controls for IL-6. Bands for TNF- α were observed at all time points; those for IL-1 β , at all time points except before infection. Bands for IFN- γ were observed at all time points. Total RNA from LPS-treated peritoneal macrophages was used as a positive control. pre=prechallenge, M=macrophage.

TNF- α) mRNAも精巣上体炎局所において発現していることが確認された。上皮培養細胞を用いた検討からも、上皮細胞においてLPSの刺激により、IL-1 β , IL-6, TNF- α mRNAが発現することが確認された。すなわち、精巣上体炎局所においてもサイトカイン産生系が存在していた。

感染局所で産生されたIL-6の役割はまだはっきりとはわかっていないが、局所で産生されたIL-6が血中へ移行することにより、感染に対する生体防御機構が惹起されている可能性が考えられる。尿路感染の場合、急性腎盂腎炎時に尿中IL-6の上昇を認めるが、有熱性の腎盂腎炎でも血液培養で細菌が分離されるのは30%以下である²⁹⁾。このことから発熱などの全身症状は、細菌の血中への侵入の有無ではなく、pyrogenとしてIL-6が

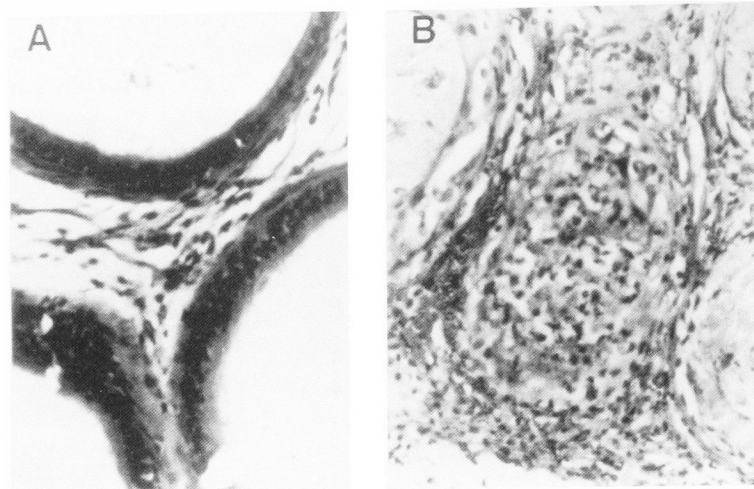


Fig. 3. (A) Photomicrograph of rat epididymis 6 h after inoculation of the vas deferens with *Escherichia coli*. Inflammatory cells have not infiltrated the tubule and peritubular regions. ($\times 130$). (B) Photomicrograph of rat epididymis showing intratubular abscess and interstitial infiltration by polymorphonuclear cells and mononuclear cells 72 h after inoculation of *E. coli* into the vas deferens ($\times 130$).

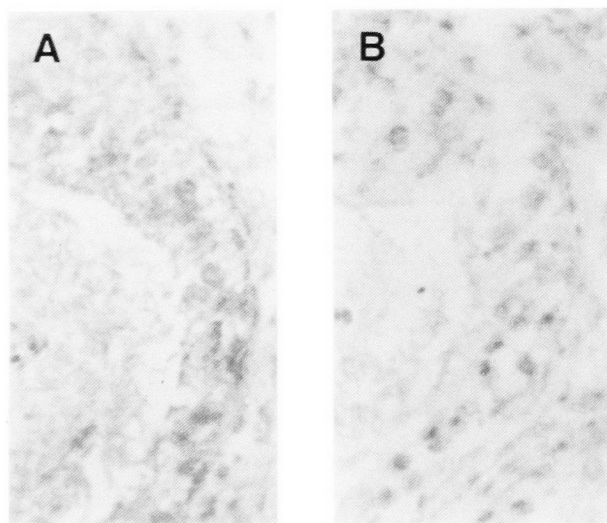


Fig. 4. Immunohistochemical analysis of IL-6 production within the epididymis. The sections were stained with goat polyclonal antibody to murine IL-6, developed with Avidin-Biotin Complex, and counterstained with hematoxylin ($\times 320$). (A) Epididymis section 6 h after inoculation with *Escherichia coli* showing intense staining of the epithelial cells within the epididymal duct. (B) Normal epididymis section ($\times 320$).

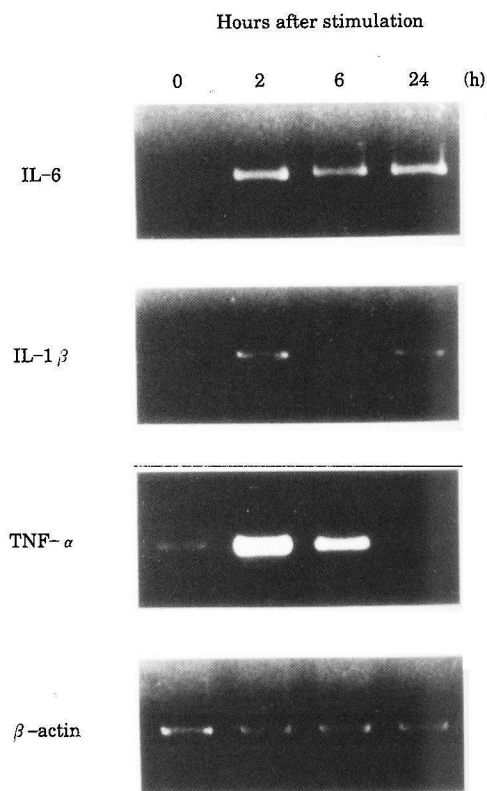


Fig. 5. PCR-assisted amplification of IL-1 β , IL-6, TNF- α , and β -actin mRNAs from rat epididymal epithelial cells at various times after LPS stimulation. Bands for IL-6 and IL-1 β were observed on the original gels and photographs at all time points except before stimulation. Bands for TNF- α were observed at all time points.

血中に遊離されることが関係していると推測される。精巣上体炎の場合も同様で、生殖器局所感染でありながら高熱をきたす場合があるのは、IL-6がpyrogenとして働くことによるものと思われる。今回の研究で示したように、炎症細胞の浸潤前に局所でIL-6が産生されていることは、細菌の血中への侵入ではなくサイトカインの血中への移行が生体防御反応を惹起しているという仮説を支持するものである。細菌感染におけるIL-6の役割について、Bartonらは、マウス敗血症モデルを用い、IL-6による感染防御効果を報告している⁷⁾。またIL-6が、実験的細菌感染で、初期の感染防御反応において重要な役割をはたしているとの報告もある⁸⁾。これらのことから、IL-6は局所細菌感染の広がりを防止する上で重要な役割を果たしていることが推察される。

上皮細胞の感染防御機構について、気道感染においては、気道上皮細胞から、炎症性サイトカインが合成、放出され感染防御に関与していることが報告されている³⁰⁾。腸管上皮においても、炎症性サイトカインの発現が報告されており³¹⁾、腸管上皮が細菌感染症における炎症反応においてサイトカインネットワークのinitiatorとしての役割をもつと考えられる。今回の免疫染色の結果からも、IL-6は精巣上体の上皮細胞から産生されているものと考えられる。精巣上体管の管腔表面に位置する上皮細胞が、細菌の侵入により局所でIL-6を産生し、その後、顆粒球および単球の感染局所への流入が起こっていることが想定される。また培養細胞を用いた検討からも上皮細胞においてIL-6、IL-1 β 、TNF- α mRNAの発現が確認された。これらのことから、上皮細胞は従来考えられていた以上に、サイトカイン産生細胞として上皮免疫系において重要な役割を担っていることが推察される。そして、血中に移行したサイトカインが、生体の防御機構を惹起し、白血球およびサイトカインネットワークを活性化しているものと考えられる。

以上、結論として、精巣上体炎局所において精巣上体管上皮細胞がIL-6を発現し、またIL-6および他の炎症性サイトカイン遺伝子が炎症細胞の浸潤前に精巣上体炎局所で発現していることが明らかになった。生殖器感染局所におけるサイトカインの働きは明らかにされていないが、本研究は感染局所における生体防御機構および上皮細胞の感染防御への関与を解明する上での重要な手がかりとなるものと考えられる。

本論文は上田賞受賞者論文として既報³²⁾に新たなデータを追加し作成したものである。

謝 辞

本研究は、上田泰記念感染症・化学療法研究奨励基金からの援助により達成されたことを付記し、深謝の意を表します。

文 献

1) Bellomo R: The cytokine network in the critically

- ill. *Anaesth. Intensive Care* 20: 288~301, 1992
- 2) Gaudie J, Richards C, Harnish D, et al.: Interferon β_2 /B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 7251~7256, 1987
- 3) Helle M, Brakenhoff J P J, Groot E R D, et al.: Interleukin 6 is involved in interleukin 1-induced activities. *Eur. J. Immunol.* 18: 957~959, 1988
- 4) Muraguchi A, Hirano T, Tang B, et al.: The essential role of B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IL-6) for the terminal differentiation of B cells. *J. Exp. Med.* 167: 332~344, 1988
- 5) Beagley K W, Eldridge J H, Lee F, et al.: Interleukins and IgA synthesis. Human and murine Interleukin 6 induce high rate IgA secretion in IgA-committed B cells. *J. Exp. Med.* 169: 2133~2148, 1989
- 6) Flesch I E A, Kaufmann S H E: Stimulation of anti-bacterial macrophage activities by B-cell stimulatory factor 2 (interleukin-6). *Infect. Immun.* 58: 269~271, 1990
- 7) Barton B E, Jackson J V: Protective role of interleukin 6 in the lipopolysaccharide-galactosamine septic shock model. *Infect. Immun.* 61: 1496~1499, 1993
- 8) Liu Z, Simpson R J, Cheers C: Recombinant interleukin-6 protects mice against experimental bacterial infection. *Infect. Immun.* 60: 4402~4406, 1992
- 9) Rugo H S, O' Hanley P, Bishop A G, et al.: Local cytokine production in a murine model of *Escherichia coli* pyelonephritis. *J. Clin. Invest.* 89: 1032~1039, 1992
- 10) Waage A, Halstensen A, Shalaby R, et al.: Local production of tumor necrosis factor α , interleukin 1, and interleukin 6 in meningococcal meningitis. Relation to the inflammatory response. *J. Exp. Med.* 170: 1859~1867, 1989
- 11) Waage A, Brandtzaeg P, Halstensen A, et al.: The complex pattern of cytokines in serum from patients with meningococcal septic shock. Association between interleukin 6, interleukin 1, and fatal outcome. *J. Exp. Med.* 169: 333~338, 1989
- 12) Girardin E, Grau G E, Dayer J, et al.: Tumor necrosis factor and interleukin-1 in the serum of children with severe infectious purpura. *N. Engl. J. Med.* 319: 397~400, 1988
- 13) Hedges S, Anderson P, Lidin-Janso G, et al.: Interleukin-6 response to deliberate colonization of the human urinary tract with gram-negative bacteria. *Infect. Immun.* 59: 421~427, 1991
- 14) Man P, Kooten C, Aarden L, et al.: Interleukin-6 induced at mucosal surfaces by gram-negative bacterial infection. *Infect. Immun.* 57: 3383~3388, 1989
- 15) Rank R G, Ramsey K H, Pack E A, et al.: Effect of gamma interferon on resolution of murine Chlamydial genital infection. *Infect. Immun.* 60: 4427~4429, 1992
- 16) Hackett R A, Huang T W, Berger R E: Experimen-

- tal *Escherichia coli* epididymitis in rabbits. *Urology* 32: 236~240, 1988
- 17) Jantos C, Baumgartner W, Durchfeld B, et al.: Experimental epididymitis due to *Chlamydia trachomatis* in rats. *Infect. Immun.* 60: 2324~2328, 1992
 - 18) See W A, Taylor T O, Mack L A, et al.: Bacterial epididymitis in the rat: A model for assessing the impact of acute inflammation on epididymal antibiotic penetration. *J. Urol.* 144: 780~784, 1990
 - 19) Lucchetta R, Clavert A, Meyer J M, et al.: Acute experimental *E. coli* epididymitis in the rat and its consequences on spermatogenesis. *Urol. Res.* 11: 117~120, 1983
 - 20) Chomczynski P, Sacchi N: Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162: 156~159, 1987
 - 21) Northemann W, Braciak T A, Hattori M, et al.: Structure of the rat interleukin 6 gene and its expression in macrophage-derived cells. *J. Biol. Chem.* 264: 16072~16082, 1989
 - 22) Minami M, Kuraishi Y, Satoh M: Effects of kinin acid on messenger RNA levels of IL-1 β , IL-6, TNF α and LIF in the rat brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 176: 593~598, 1991
 - 23) Okuda Y, Sun X-R, Morris P L: Interleukin-6 (IL-6) mRNAs expressed in Leydig and Sertoli cells are regulated by cytokines, gonadotropins and neuropeptides. *Endocrine* 2: 617~624, 1994
 - 24) Kierszenbaum A L, Lea O, Petrusz P, et al.: Isolation, culture, and immunocytochemical characterization of epididymal cells from pubertal and adult rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 1675~1679, 1981
 - 25) Barnes P F, Fong S, Brennan P J, et al.: Local production of tumor necrosis factor and IFN- γ in tuberculous pleuritis. *J. Immunol.* 145: 149~154, 1990
 - 26) Hedges S, Svensson M, Svanborg C: Interleukin-6 response of epithelial cell lines to bacterial stimulation *in vitro*. *Infect. Immun.* 60: 1259~1301, 1992
 - 27) Linder H, Engberg I, Hoschutzky H, et al.: Adhesion-dependent activation of mucosal interleukin-6 production. *Infect. Immun.* 59: 4357~4362, 1991
 - 28) Agace W, Hedges S, Andersson U, et al.: Selective cytokine production by epithelial cells following exposure to *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 61: 602~609, 1993
 - 29) Hedges S, Stenqvist K, Lidin-Janson G, et al.: Comparison of urine and serum concentrations of interleukin-6 in women with acute pyelonephritis or asymptomatic bacteriuria. *J. Infect. Dis.* 166: 653~656, 1992
 - 30) 山谷睦雄, 寺嶋正教, 鈴木朋子, 他: ウイルス感染と気道上皮のサイトカインおよび接着因子の発現. *化療の領域* 13: 721~726, 1997
 - 31) 島岡 要, 本田武司: 細菌性腸管感染症と粘膜免疫. *化療の領域* 12: 839~846, 1996
 - 32) Tanaka K, Fujisawa M, Arakawa S, et al.: Local expression of cytokine messenger RNA in rat model of *Escherichia coli* epididymitis. *J. Urol.* 154: 2179~2184, 1995

Local expression of cytokine mRNA in a rat *Escherichia coli* epididymitis model and cultured epididymal cells

Kazushi Tanaka¹⁾, Masato Fujisawa²⁾, Soichi Arakawa²⁾
and Sadao Kamidono²⁾

¹⁾Department of Urology, Shinko Hospital, 1-4-47, Wakahama-cho, Chuo-ku, Kobe, 651-0072, Japan

²⁾Department of Urology, Kobe University School of Medicine

In a rat model of *Escherichia coli* epididymitis, Northern blot analysis and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) demonstrated that expression of IL-6 mRNA in the epididymis increased, reached a maximum as early as 6 h after bacterial challenge, and then decreased. No signals of expression detected on the contralateral side or in the controls. Expression of other cytokines (IL-1 β , IL-2, TNF- α , IFN- γ) was also determined by RT-PCR. After bacterial challenge, IL- β mRNA was detected in the epididymis as well as IL-6 mRNA. The TNF- α mRNA signal, but not of IFN- γ mRNA, increased greatly after bacterial challenge, although both TNF- α and IFN- γ mRNAs were detected in uninfected epididymis. Histopathological examination showed no apparent changes at 6 h after infection, and only mild interstitial cellular infiltration at 24 h. Immunohistochemical examination showed that epithelial cells produced IL-6. Cultured epithelial cells also expressed IL-6, IL-1 β , and TNF- α mRNA after lipopolysaccharide stimulation. The results suggest that mRNAs for specific cytokines are expressed locally as early as 6 h in response to bacterial genital infection before the histopathological changes. This rapid expression may be important in host defense against local genital infection.