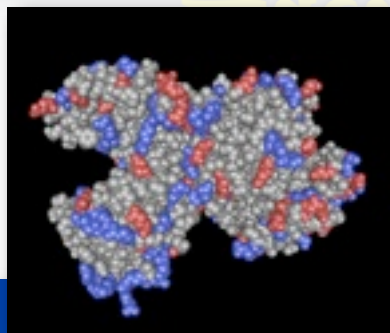


Lactoferrin NEWS

日本ラクトフェリン学会ニュースレター 第4号

2012年1月



巻頭言

「気づき」が「良医」を育む

伊藤 公一

Koichi ITO

日本大学 歯学部 歯周病学講座

1 巻頭言

「気づき」が「良医」を育む

伊藤 公一

2 研究トピックス紹介

ラクトフェリン受容体のはなし

高山 喜晴

3 学会賞受賞研究紹介

大豆レシチンリポソーム化ラクトフェリンは矯正的な歯の移動を阻害することなく歯周組織の炎症ならびに組織破壊を抑制する 川添 亜希

4 海外学会紹介

ラクトフェリン国際会議・Spik賞の紹介 島崎 敬一

医療現場では、患者さんが主治医から自分の病気やその治療法について十分な説明が受けられなかったり、説明を受けても良く理解できないというコミュニケーションの問題がしばしば起ります。よって医療従事者には、患者さんの不満や不安を解消する方法として「気づき」の能力が必要とされています。コミュニケーションにおける「気づき」とは、患者さんと対面することで、言語では明確に伝えられない患者さんの気持ちを会話の一端や微妙な表情の変化から推察することとされています。「気づき」とは「それまで見落としていたことや問題点に気づくこと」、事例として「小さな気づきが大発見につながる」とあります(大辞泉)。某社の研究員が、長年、歯周病原菌に対するラクトフェリンの影響について調べ、歯周病の進行に関わる細菌性内毒素がラクトフェリンによって不活性化されることを証明しました。その時、ラクトフェリンを投与されたラットが他のラットと比較すると随分スリムであることに「気づき」ました。そこでラクトフェリンが脂質代謝と関連があるのではと考え、脂質異常に対するラクトフェリンの予防効果の有効性を確認しました。この研究成果は、ダイエット商品として大ヒットしています。このことは「瓢箪から駒が出る」という冗談や誤解で言ったことが意図せずに実現してしまうこととは異なります。この研究員の偶然ではない、視野に入ってきたものから得られた情報、すなわち「気づき」が大発見につながったと言っても良いでしょう。

私たち医療従事者が、適切な診断を下し、治療を行う上でも、また患者さんとの良好なコミュニケーションを確立するうえでも、この「気づき」が不可欠であると考えます。そのためには常日頃から、診療の場で「気づき」を意識することが、患者さんの問題点に「気づく」ことに繋がり、患者さんから選ばれる「良医」となれると確信しております。

ラクトフェリン受容体のはなし

高山 喜晴

Yoshiharu TAKAYAMA

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

畜産草地研究所

はじめに

ラクトフェリンは、乳中に含まれる鉄結合性の蛋白質として単離・同定され、抗菌・抗ウィルス活性や免疫調節作用がよく知られています。その一方で、近年の研究により、骨芽細胞・破骨細胞・線維芽細胞・脂肪細胞など多様な細胞に対して生理作用を持つ多機能蛋白質であることが明らかになっています。ラクトフェリンに対する細胞応答の多くは、その表面に発現している受容体に依存していると考えられます。ラクトフェリンの受容体を同定し、その下流のシグナル伝達経路を明らかにすることは、ラクトフェリンの生理機能の分子メカニズムを解明するために必須のプロセスです。現在までに様々な組織で、ラクトフェリン受容体として機能している蛋白質が複数報告されています。ここでは、真核細胞のラクトフェリン受容体について、現時点での報告をまとめることで、改めてラクトフェリンの多機能性のメカニズムについて考えたいと思います。

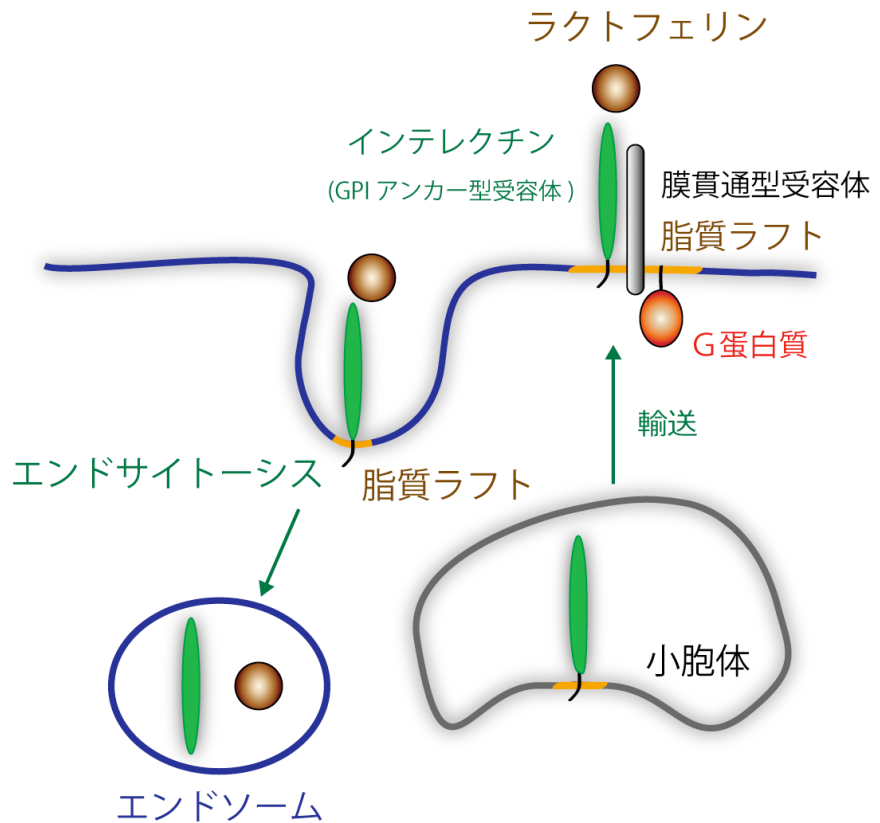
インテレクチン(Intelectin)

インテレクチンは小腸上皮に発現しているラクトフェリン受容体です。ラクトフェリンは乳中に含まれる鉄結合蛋白質として同定されたという歴史的な経緯があり、ラクトフェリン受容体の同定が最初に試みられた組織が小腸であるのは、ごく自然と思われます。1979年にCoxらによってヒトラクトフェリンが小腸粘膜の上皮細胞に取り込まれることが報告され、その後、様々な動物でラクトフェリンが小腸の刷子縁膜と特異的に結合する報告が相次ぎました[1]。1990年にHuらによりマウスから、1991年に川上らにより、ヒトから小腸上皮に発現するラクトフェリン受容体が精製されました [2,3]。精製された蛋白質は116kDaでしたが、糖鎖を除去し還元条件下におくと34kDaとなることから、3量体を形成していると推定されました。2001年になって、鈴木らによりこの蛋白質をコードしている遺伝子がインテレクチン(別名:イン

テレクチン1・HL-1)であることが明らかとなりました [4, 5](インテレクチン2が2002年に同定されたので、従来のインテレクチンはインテレクチン1と呼ばれています。)インテレクチンは小腸上皮細胞に存在し、細菌・寄生虫の表面に発現しているガラクトフコースを認識するレクチンです。分泌蛋白質として血清中に存在すると同時に、C末端にGPI(グルコシル・フォスファチジルイノシトール)が付加し、細胞膜に結合した(ぶら下がった)状態でも存在します。特に、脂質ラフト(lipid raft)と呼ばれるコレステロールとスフィンゴ脂質を多く含む細胞膜の特定の領域に集積しています(図1)。小腸上皮細胞では、小胞体で合成されたインテレクチンが、小胞体内に点在する脂質ラフトに取り込まれることで、刷子縁膜側(管腔側)に選択的に輸送されと考えられています(図1)。

Caco-2細胞(ヒト由来の株化小腸上皮細胞)では、未分化細胞から小腸上皮様細胞への分化に伴いインテ

図1 インテレクチンの脂質ラフト
への局在と機能との関係



レクチンの発現が急上昇します。その発現をsiRNAにより抑制すると、ラクトフェリンの細胞内への取り込みが阻害されます[6]。Caco-2細胞のラクトフェリンの取り込みは、高張ショ糖液により阻害されるので、ラクトフェリンは、クラスリンを介したエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれると考えられます。ヒトの胎児の小腸では、インテレクチンの発現は著しく上昇し、腸管上皮細胞へのラクトフェリンの取り込みを担っていると考えられます。

生体内の鉄結合蛋白質としてラクトフェリンの他にトランスフェリンがよく知られていますが、トランスフェリンはインテレクチンとは結合しません。バキュロウィルス発現系を用いた、ラクトフェリンとトランスフェリンのキメラ蛋白質を用いた実験から、ラクトフェリンのインテレクチン結合部位は、NローブのサブドメインであるN1であると推定されます[7]。

一方、脂質ラフトは、G蛋白やチロシンキナーゼなどが高密度に集積する部位でもあり、シグナル伝達系の効率化に寄与していると考えられます。腸管上皮細胞においてアポラクトフェリン刺激により、インテレクチン依存的にERK1/2(p42/44MAPキナーゼ)が活性化されることか

ら、GPIアンカー型の蛋白質であるインテレクチンが、何らかの膜貫通型受容体を介してERK1/2を活性化していると考えられます。興味深いことに、インテレクチンを介したラクトフェリンの細胞内への取り込みは、アポラクトフェリン・ホラクトフェリンの両方で認められるにも関わらず、ERK1/2の活性化は、アポラクトフェリンのみで観察されます[6,8]。アポラクトフェリンおよびホラクトフェリンの刺激により、PI-3K(ホスファチジルイノシトール3リン酸キナーゼ)が活性化されますが、これはインテレクチンの発現に非依存的であり、小腸上皮細胞においてインテレクチンが唯一のラクトフェリン受容体として機能している訳ではなく、インテレクチン以外の受容体の存在が示唆されます。

インテレクチンのmRNAレベルでの発現は小腸上皮以外にも、血管内皮細胞や内蔵脂肪細胞などで報告されていますが、これらの組織でインテレクチンがラクトフェリン受容体として機能しているかは明らかになっていません。

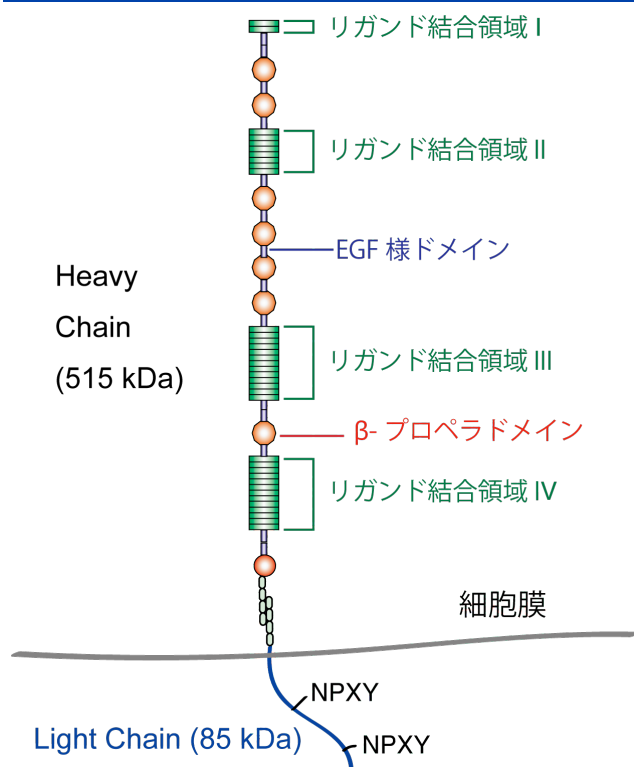


図2 LRPの構造

LDL受容体関連蛋白質(LRP)

脂質が血液中を循環するためには、蛋白質・リン脂質と複合体を形成したリポ蛋白質になる必要があります。リポ蛋白質は、その比重によりカイロミクロンからHDL(高密度リポ蛋白質)までのサブタイプに分けられ、LDL(低密度リポ蛋白質)は主にコレステロール・中性脂肪の輸送を担っています。LDLの細胞内への取り込みは、膜一回貫通型の受容体であるLDL受容体を介したエンドサイトーシスにより行われます。

LDL受容体関連蛋白質(LRP・別名CD91・ $\alpha 2$ マクログロブリン受容体)は、LDL受容体ファミリーに属する巨大蛋白質(600kDa)です [9]。細胞外の4つのリガンド結合領域を含むHeavy chain(515kDa)と、膜貫通部位を含むLight chain(85kDa)が非共有結合で結ばれた構造をとっています (図2)。Light chainの細胞内ドメインにはNPXYモチーフと呼ばれる領域があります。このモチーフはLDL受容体のメンバーに共通であり、受容体がエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる時に、細胞内のアダプター蛋白質と結合する領域で

表1 LRPのリガンド

脂質代謝に関係する因子	カイロミクロン 超低密度リポ蛋白質(VLDL) アポリポ蛋白質E(ApoE) リポプロテインリパーゼ(LpL)
細胞外マトリックスの構成成分	トロンボスポンジン1/2 ファイブロネクチン デコリン
プロテアーゼ	組織型/ウロキナーゼ型 プラズミノゲンアクチベーター(t-PA/u-PA) マトリックス・メタロプロテアーゼ(MMP)-9・13
プロテアーゼ阻害因子	プラズミノゲン アクチベーター インヒビター(PAI) $\alpha 2$ マクログロブリン アプロチニン
細胞増殖因子	血小板由来細胞増殖因子(PDGF) TGF- β 結合組織成長因子(CTGF/CCN2)
その他	受容体結合蛋白質(LRPAP/RAP) アミロイド β ペプチド ミッドカイン ラクトフェリン ポリミクシンB

す。LDL受容体と同様、LRPもエンドサイトーシスを介したリポ蛋白質の細胞内への取り込みを担っています。その一方で、脂質代謝関連因子以外にも30種類以上の蛋白質がLRPリガンドとなることが知られています (表1)。この中には細胞増殖因子や細胞外マトリックスの構成因子が多く含まれ、細胞増殖や細胞運動を調節する機能との関連性が示唆されます。また、プロテアーゼやその阻害因子が多く含まれているのも特徴です。

ラクトフェリンがLRPに結合する可能性は、以前より指摘されていました。例えば、ラクトフェリンはVLDLの肝細胞への取り込みを阻害します [10]。また、ラクトフェリン

はカイロミクロンレムナントの肝細胞への取り込みも阻害します[11]。その後、LRPのラクトフェリン結合部位は、細胞外のリガンド結合領域II・III・IVであることが明らかになりました[12, 13]。その一方で、LRPとの結合を担うラクトフェリンの部位は同定されていません。ラクトフェリンのN末端領域をプロテアーゼで除去した場合、ラクトフェリンの肝細胞に対する親和性が上昇します[10]。このため、この領域はLRP1との結合に関与していないのではないかと考えられます。

LRPはさらにLRP-1・LRP-1b・LRP-2(メガリン/gp330)のサブタイプに分けられます。ラクトフェリンはいずれにも結合しますが、LRP-1の発現は広範な組織に認められるのに対して、LRP-2は腎臓に高発現し、糸球体を通じた低分子量蛋白質のエンドサイトーシスによる再吸収を担っていることがよく知られていますが、そのほかの組織ではLRP-2の発現は限定されており、LRP-2がラクトフェリン受容体としての生理機能を発揮する場合も限定されることが考えられます。

LDL受容体と比較して、LRPの大きな特徴の一つは、シグナル伝達を担う受容体としても機能していることで、LRPへのリガンド結合によりERK1/2・PKA(Protein Kinase A)などが活性化されます。さらにLRPは、プラズミノーゲンアクチベーター(PA)受容体など、膜貫通領域や細胞内ドメインを持たないGPIアンカー型受容体のco-receptorとして機能し、リガンド結合シグナルを、細胞内に伝達する役割を果たし、細胞運動や分化制御に重要な役割を果たしています。

ラクトフェリンは線維芽細胞・骨芽細胞・角化細胞においてERK1/2(p42/44MAPK)を活性化(リン酸化)し、これら細胞の増殖・遊走・分化やコラーゲン収縮活性を促進することが知られています[14-16]。これらは、LRP-1の発現抑制や、RAP(LRPAP、LRPのリガンド結合を競合阻害するアンタゴニスト蛋白質)により阻害されることから、これらの細胞で、LRP-1はラクトフェリンによるERK1/2の活性化を担う受容体であると考えられ

ます。骨芽細胞において、ラクトフェリンは高張シヨ糖液によりクラスリン依存性のエンドサイトーシスが阻害された状態でも、LRP-1を介してERK1/2を活性化します。つまり、LRP-1がリガンド結合により細胞内にシグナルを伝達する機能は、エンドサイトーシス機能とは別個であると考えられます[15]。また、骨芽細胞においてラクトフェリンによるPI-3Kの活性化はRAPにより阻害されないことから、骨芽細胞においては、LRP-1以外の受容体によりPI-3Kが活性化されることが考えられます[17]。

ヌクレオリン(Nucleolin)

ヌクレオリンは105kDaのRNA結合蛋白質として核小体から単離され、クロマチン構造の維持や、リボソームの合成と成熟化に関与しているとされてきました[18, 19]。その一方で、ヌクレオリンは細胞表面や細胞質にも存在し、核内と細胞表面を往復するシャトル蛋白質として、リボソームRNAの核外輸送に寄与していることも明らかになっています。細胞表面においてヌクレオリンは、アポリポ蛋白質B・Eやラミニン・ミッドカインなどと結合し、これらの蛋白質を細胞内に輸送する機能を持つことが知られています。また、マクロファージでは、ヌクレオリンが、酸化LDLを細胞内に取り込むスカベンジャー受容体として機能していることも知られています。CHO細胞(チャイニーズハムスター卵巣腫瘍細胞)において、細胞表面のラクトフェリン結合部位の一つがヌクレオリンであることが報告されています[20]。また、ヒト乳がん細胞(MDA-MB-231細胞)で、ラクトフェリンがヌクレオリンと、細胞表面およびエンドゾームで共在していることから、ヌクレオリンはラクトフェリンのエンドサイトーシスに関与しているのではないかと考えられていますが、詳細は不明です。なお、T細胞と血小板で105kDaのラクトフェリン受容体が精製されていますが、ラクトフェリンはNローブ・Cローブともヌクレオリンに結合するのに対し、この105kDaラクトフェリン受容体は、ラクトフェリンのN末

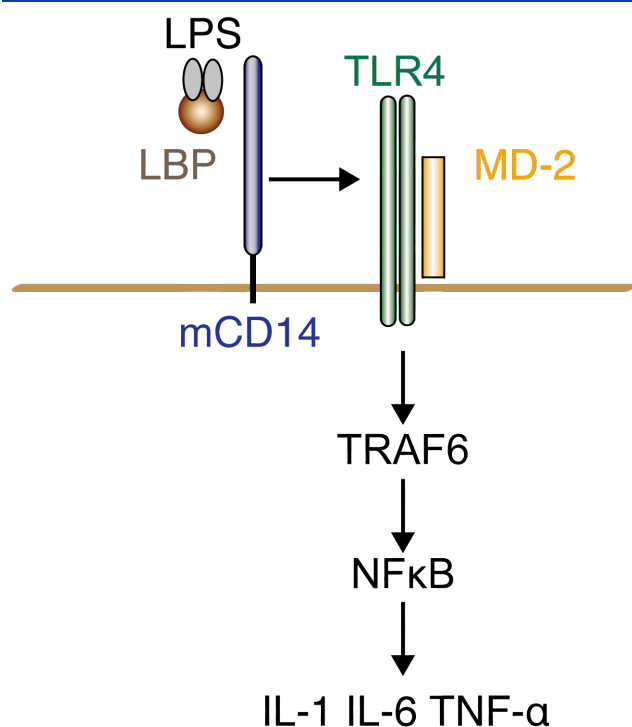


図3 mCD14(膜結合型CD14)とTLR4(Toll様レセプター4)を介した炎症性サイトカインの産生

領域が結合に必須なことから、両者は別個のものと考えられます。

TLR4・CD14

ラクトフェリンが炎症を抑制する機能を持つことはよく知られています。その一部は、グラム陰性菌の表面から放出される炎症誘導物質であるリポポリサッカライド(LPS)の活性を中和する機能によります。単球やマクロファージにおいて、LPSはLBP(LPS結合蛋白質)と複合体を作り、細胞表面に発現しているmCD14(膜結合型CD14)に認識されます。LPS-LBP-mCD14の複合体が、細胞表面のToll-様受容体(TLR:Toll-like receptor)4と結合することで、TRAF6を介した転写因子NF- κ Bの核内移行が起こり、炎症性サイトカイン(IL-1・IL-6・IL-8・TNF- α)の産生が誘導されます(図3)。TLR4を欠損したマクロファージでは、LPSによる炎症性サイトカインの産生が阻害されます。

ラクトフェリンはLPSと強力に結合し、mCD14との結合を阻害することで炎症性サイトカインの産生を抑制します[21-23]。その一方で、ラクトフェリンは、単球やマクロファージにおいて、TLR4依存的に細胞内情報伝達経路を活性化することが報告されています。単球の株化細胞であるTHP-1細胞において、ラクトフェリンはNF- κ B経路を活性化します。この活性化はTLR4欠損細胞では観察されません[23]。また、TLR4やTRAF6を欠損した線維芽細胞ではラクトフェリンによるNF- κ Bの活性化が観察されません[23]。しかし、TLR4を欠損したマクロファージでは、ラクトフェリンはNF- κ Bを活性化します[24]。一方、マクロファージにおいて、ラクトフェリンによるCD40の発現誘導はTLR4の発現に依存していますが、IL-6の産生誘導はTLR4に非依存的と報告されています[24]。このTLR4に対する依存性の差異が、単に細胞の種類によるものか否か、今後の検討が必要です。

その他

肝細胞にはLRP-1とは別に、カルシウム依存性の高親和性ラクトフェリン結合部位が存在します。これは、レクチン的一种であるアシアロ糖蛋白質(ASGP)受容体であることが明らかになっています[25]。

前に述べたように、T細胞・血小板には105kDaのラクトフェリン受容体が発現していますが、これらの分子の詳細については、未だ明らかになっていません。ラクトフェリン受容体の発現はCD4⁺、CD8⁺、 $\gamma\delta$ T細胞で報告されています[26]。ヒト由来の株化T細胞であるJurkat細胞において、ラクトフェリンはエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれるほか、MAPK経路を介してCD4の発現を上昇させる機能が報告されています[27,28]。

グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH)は、従来は細胞質に局在する解糖系の酵素として考えられていたのですが、1990年代以降に酵母・乳酸菌の細胞表面に普遍的にGAPDHが発現している例が報告され、現在では細胞表層の付着因子としても機能していると考えられています。さらに、GAPDHは顆粒画分そし

て核にも存在し、エンドサイトーシス・小胞輸送・微小管重合・RNA輸送・DNA修復や複製・アポトーシス・神経変性疾患に関与する多機能タンパク質であることが判っています。トリパノゾーマのGAPDHがラクトフェリンと結合することはすでに報告されています[29]。2011年に開催された第10回国際ラクトフェリン会議で、ラクトフェリンがマクロファージの表面でGAPDHと結合し、細胞内で共在しているとの発表がありました。このグループは既にマクロファージの表面で、GAPDHとトランスフェリンの結合を報告しています。このラクトフェリンとGAPDHの結合が、その機能とどのような関係にあるのかは、今後の課題です。

おわりに

ラクトフェリンはその多機能性の故に多くの研究者の興味を引きつけ、これを説明するためのモデルが提唱されてきましたが、何れも仮説の域を出ておらず、今後の実験データによる実証・検証が待ち望まれています。

ラクトフェリンは哺乳類のみに発現が認められる蛋白質です。(鳥類に発現している類似蛋白質として、卵白の主要蛋白質であるオボトランスフェリンがあります。)興味深いことに、ラクトフェリン受容体とされる蛋白質の大半は、進化の過程でラクトフェリンより前から存在し、その機能の重要性故に種間で構造がよく保存されています。LRP-1やヌクレオリンは、ラクトフェリン以外にも多種多様なリガンドと結合し、様々な機能を担っているのは、これまで本文でご紹介したとおりです。つまり、ラクトフェリンは、様々な受容体のリガンドと共存し、それらの機能を阻害し、あるいは増強しながら細胞機能を調節している可能性があり、このような観点からも今後の研究の進展が待ち望まれます。

参考文献

- 1 Cox TM, et al. (1979) *Biochim Biophys Acta* 588, 120-128
- 2 Hu WL, et al. (1990) *Biochemistry* 29, 535-541
- 3 Kawakami H and Lonnerdal B (1991) *Am J Physiol* 261, G841-846
- 4 Suzuki YA, et al. (2001) *Biochemistry* 40, 15771-15779
- 5 Tsuji S, et al. (2001) *J Biol Chem* 276, 23456-23463
- 6 Jiang R, et al. (2011) *J Cell Physiol* 226, 3022-3031
- 7 Suzuki YA, et al. (2008) *Biochemistry* 47, 10915-10920
- 8 Jiang R and Lonnerdal B (2012) *Int J Biochem Cell Biol* 44, 91-100
- 9 Herz J and Strickland DK (2001) *J Clin Invest* 108, 779-784
- 10 Ziere GJ, et al. (1993) *J Biol Chem* 268, 27069-27075
- 11 Huettinger M, et al. (1992) *J Biol Chem* 267, 18551-18557
- 12 Neels JG, et al. (1999) *J Biol Chem* 274, 31305-31311
- 13 Vash B, et al. (1998) *Blood* 92, 3277-3285
- 14 Takayama Y, et al. (2003) *J Biol Chem* 278, 22112-22118
- 15 Grey A, et al. (2004) *Mol Endocrinol* 18, 2268-2278
- 16 Tang L, et al. (2010) *Brit J Dermatol* 163, 38-47
- 17 Grey A, et al. (2006) *Mol Cell Endocrinol* 251, 96-102
- 18 Srivastava M and Pollard HB (1999) *Faseb J* 13, 1911-1922
- 19 Ginisty H, et al. (1999) *J Cell Sci* 112, 761-772
- 20 Legrand D, et al. (2004) *Eur J Biochem* 271, 303-317
- 21 Haversen L, et al. (2002) *Cell Immunol* 220, 83-95
- 22 Mattsby-Baltzer I, et al. (1996) *Pediatr Res* 40, 257-262
- 23 Ando K, et al. (2010) *FEBS J* 277, 2051-2066
- 24 Curran CS, et al. (2006) *Cell Immunol* 242, 23-30
- 25 Bennatt DJ and McAbee DD (1997) *Biochemistry* 36, 8359-8366
- 26 Mincheva-Nilsson L, et al. (1997) *Scand J Immunol* 46, 609-618
- 27 Bi BY, et al. (1996) *Eur J Cell Biol* 69, 288-296
- 28 Dhennin-Duthille I, et al. (2000) *J Cell Biochem* 79, 583-593
- 29 Tanaka T, et al. (2004) *J Vet Med Sci* 66, 619-625

学会賞受賞研究紹介 第4回

大豆レシチンリポソーム化ラクトフェリンは矯正的な歯の移動を阻害することなく歯周組織の炎症ならびに組織破壊を抑制する

川添 亜希

Aki KAWAZOE

広島大学大学院医歯薬学総合研究科

顎口腔頸部医科学講座 歯科矯正学分野

矯正歯科治療時には口腔衛生状態を適切に管理し、歯周組織の炎症を取り除くことが重要である。大豆レシチンリポソーム化ラクトフェリン (SLbLF) は、歯周組織におけるLPS 誘導性破骨細胞誘導を抑制するが、矯正的な歯の移動による破骨細胞誘導には影響しなかった。したがって、SLbLF は矯正歯科治療時の歯の移動に影響することなく、歯周組織の炎症を制御する予防薬、あるいは治療薬として応用可能である。

ラクトフェリン (LF) は、安全性の高い食品由来物質として注目されている。我々は LF の抗炎症作用に着目し、大豆レシチンリポソーム化ラクトフェリン (SLbLF) 経口投与がリポポリサッカライド (LPS) 誘導歯周組織破壊に及ぼす影響について検討し、SLbLF 経口投与が、歯周組織にお

ける LPS 誘導性 TNF- α 産生を抑制することにより、歯周炎の発症・進展を制御することを明らかにしている (図1)。

矯正歯科治療を必要とする患者の口腔内は、不正咬合による形態的、機能的障害のために自浄性が低いこと

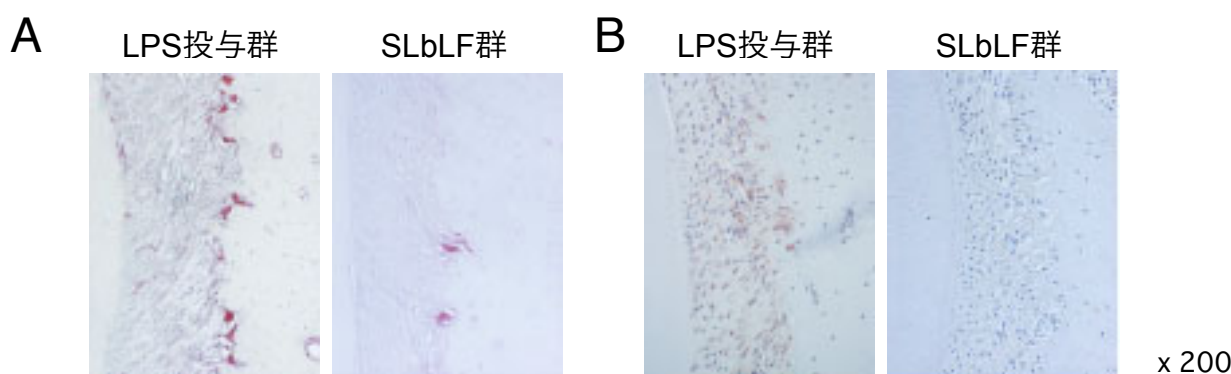


図1 SLbLF経口投与がLPS誘導性破骨細胞誘導に及ぼす影響

(A) 酒石酸耐性酸性フォスファターゼ(TRAP)染色像。LPS 投与群では歯根膜側歯槽骨縁に沿って TRAP 陽性の破骨細胞が多数誘導される。一方、SLbLF 群では LPS による破骨細胞誘導はほとんどみられない。

(B) TNF- α 免疫組織化学的染色像。LPS 投与群では 歯根膜部に TNF- α 陽性細胞が観察される。一方、SLbLF 群では TNF- α 陽性細胞はほとんど観察されない。

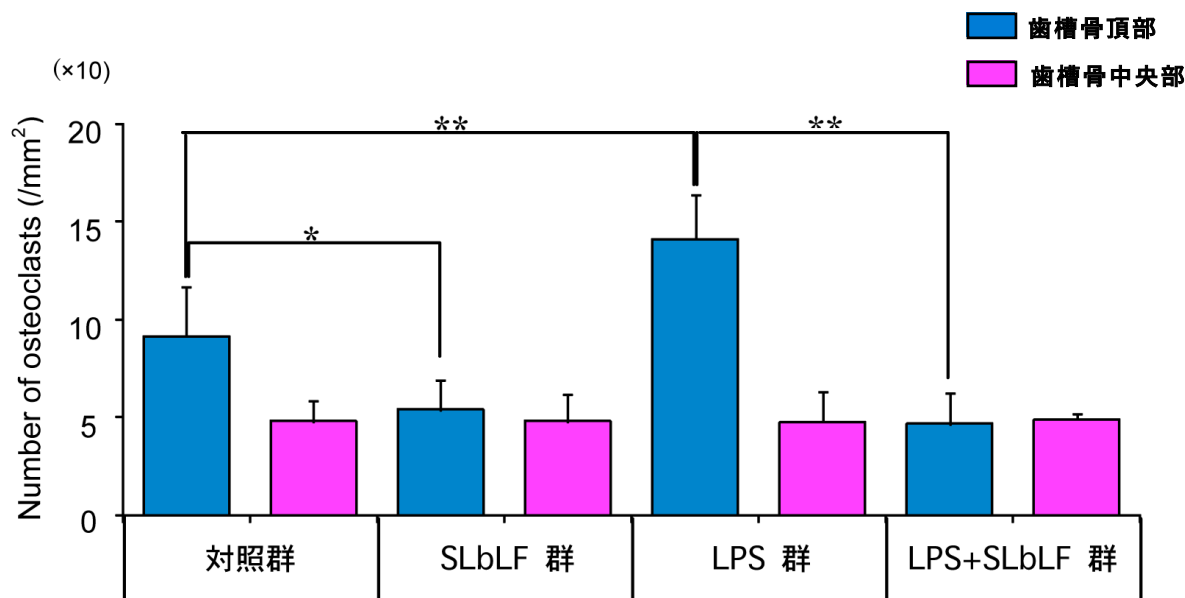


図2 ラット実験的歯の移動モデルにおけるLPS誘導性破骨細胞誘導に対するSLbLF経口投与の影響

歯槽骨頂部および歯槽骨中央部の単位面積当たりの破骨細胞数を示す。SLbLF 経口投与は、歯槽骨頂部において、LPS 刺激による破骨細胞誘導を有意に抑制するが、矯正力により誘導される歯槽骨中央部での破骨細胞誘導には影響しない。 **:P<0.01 *:P<0.05 (n=8)

や、歯周組織の炎症状態で矯正力を加えると歯周組織破壊が急速に進行することから、矯正歯科治療時には口腔衛生状態を適切に管理し、歯周組織の炎症を取り除くことが非常に重要である。現在、マルチブラケット装置をはじめとする固定式の矯正装置を装着している患者には、ブラッシングなどの口腔衛生指導の徹底、フッ素塗布、高濃度リン酸酸性フッ化ナトリウム溶液による洗口法などが実施されている。しかしながら、矯正歯科治療患者の口腔衛生管理は不十分になりがちで、炎症制御のために何らかの補助的介入が必要となる。前述のようにSLbLF 経口摂取は、LPS 刺激による過剰な TNF- α の産生を抑制するため、矯正歯科治療患者がブラッシングと併用して摂取することで、口腔衛生不良に伴う異常な歯周組織破壊を、患者レベルで制御できる可能性がある。しかしながら、SLbLF は LPS により誘導される破骨細胞性骨吸収を強く抑制するため、矯正歯科治療時の破骨細胞性骨吸収も抑制するのではないかという疑問が生じる。そこで、我々はラットを用い、実験的歯の移動モデルに LPS 投与を行い、SLbLF 経口投与が LPS の誘導する歯槽骨破壊と矯正力が誘導する骨吸収に及ぼす影響を検討した。その結果、SLbLF 経口投与は、LPS が惹起す

る歯槽骨頂部付近での骨吸収および破骨細胞誘導を有意に抑制するのに対し、矯正力により誘導される歯槽骨中央部付近の破骨細胞誘導には影響しなかった (図2)。さらに、SLbLF を経口投与したラットと経口投与していないラットの歯の移動距離に変化がみられなかったことから、SLbLF は矯正力による歯の移動を抑制しないことが明らかとなった。

SLbLF が矯正力による破骨細胞性骨吸収を抑制しない理由として、炎症と機械的圧縮刺激に伴う骨吸収の発現機序や関与するメディエーターが異なる可能性が考えられる。そこで、LPS 刺激および機械的圧縮刺激に伴う骨芽細胞による破骨細胞誘導に及ぼす bLF の影響について *in vitro* 実験系で検討を行った。その結果、bLF は LPS 刺激時の骨芽細胞で発現上昇が認められる TNF- α と RANKL の mRNA 発現を有意に抑制した (図 3A・3B)。一方、機械的圧縮刺激時に発現上昇が認められる COX-2 と RANKL の mRNA 発現に、bLF は影響しなかった (図 3C・3D)。したがって、炎症の主なメディエーターは TNF- α であり、bLF は LPS の誘導する TNF- α 産生抑制を介して炎症に伴う破骨細胞誘導を抑制したといえる。一方、機械的圧縮刺激に伴う破骨細胞誘導は、機械

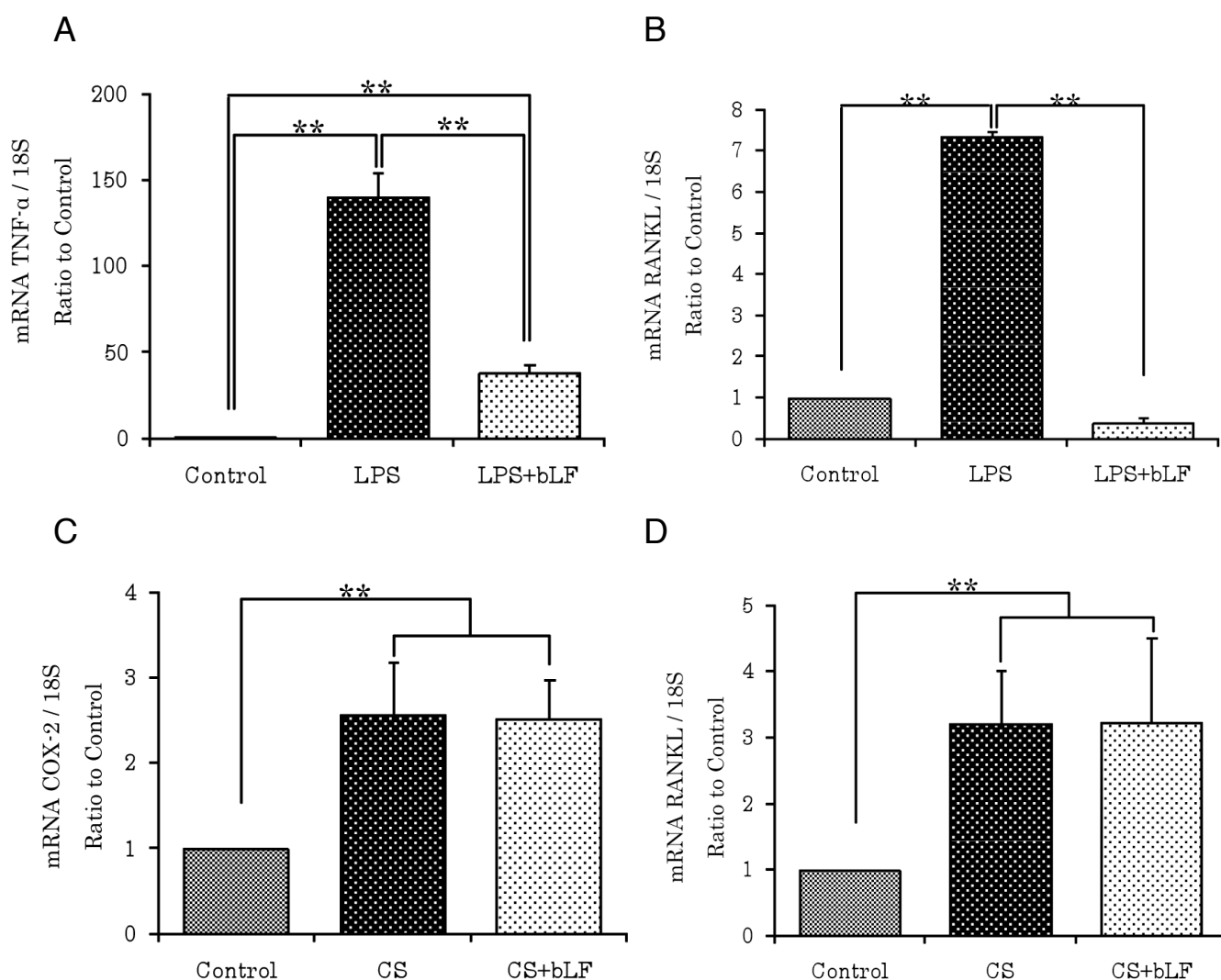


図3 LPS 刺激(A・B)および機械的圧縮刺激(CS: C・D)に伴う骨芽細胞による破骨細胞誘導に及ぼす bLF の効果 TNF- α (A)、 RANKL(B/D)、 COX-2(D) のmRNAの相対発現量を示す。**: $P<0.01$

*: $P<0.05$ (n=3)

的圧縮刺激時の主なメディエーターである COX-2/プロスタグランジンE2 (PGE2) に依存している。bLF は 機械的圧縮刺激による COX-2 発現を抑制しないため破骨細胞誘導にも影響しなかったと考えられる。

以上のことから、SLbLF 経口摂取は矯正歯科治療時の歯の移動に影響することなく、歯周組織の炎症を制御する予防薬、あるいは治療薬として応用可能であることが示された。

〔謝辞〕 本研究遂行にあたり御支援、御助言を賜りました広島大学大学院医歯薬学総合研究科先進医療開発科学講座口腔顎顔面病理病態学研究室・高田隆教授、同研究科口腔顎顔面医学講座歯科矯正学分野・丹根一夫教授並びに、同研究科先進医療開発科学講座口腔顎顔面病理病態学研究室宮内睦美准教授、犬伏俊博助教に御礼申し上げます。

ラクトフェリン国際会議・Spik賞の紹介

島崎 敬一

Kei-ichi SHIMAZAKI

北海道大学 名誉教授

1. ラクトフェリン国際会議について

ラクトフェリン国際会議は昨年(2011年)のマサトゥラン(メキシコ)での集会で10回目を迎えたが、その間の経緯をまず簡単に紹介する。今から20年前の1992年9月にホノルルで開催されたラクトフェリンシンポジウムはその回限りとはならず、2回目が1995年にやはりホノルルで開催された。最初の実行委員はT.W. Hutchens(ベイラー医科大学)、S.V. Rumball(マッセイ大学)、Bo Lönnerdal(カリフォルニア大学)であったが、2度目以降はE.N. Baker(マッセイ大学)、J.H. Brock(グラスゴー大学)、G. Spik(リール大学)などが加わった。最初の仕掛け人の一人であるT.W. Hutchensはカリフォルニア大学へ移り、さらにSELDIアフィニティMSの会社を立ち上げてスピンアウトし、ラクトフェリン研究からは離れてしまった。1990年、ヒューストンにあるベイラー医科大学に彼を訪ねたことがあるが、彼の研究室には日本人の研究員が3~4人いたと記憶している。

その後、ラクトフェリンシンポジウムは2年毎にヨーロッパ、アジア、北米と順送りに開催が継続されるようになり、ラクトフェリン国際会議として現在に至っている。3回目のラクトフェリン国際会議が1997年5月にG.Spik教授が主催して開催されたのは、まだ肌寒いドーバー海峡に面したリゾート地Le Touquetであった。その場で第4回の開催地に札幌が選ばれることとなったのは、私にとって晴天の霹靂であった。1999年5月の札幌大会は関係者の努力のおかげで国内外から200人近くの参加者を集めて成功裡に終わったが、G. Spik教授は多忙のため札幌を訪れることはできなかった。



第1回ラクトフェリンシンポジウム会場にて
中央がG. Spik教授(1992年9月)

2. Spik教授の業績

Geneviève Spik教授の研究グループはヒトラクトフェリンの全アミノ酸配列をはじめて決定し、1984年に発表している。各種のプロテアーゼで断片化して得た多数のペプチドのアミノ酸配列を緻密に組み合わせる方法であり、703残基ものアミノ酸から構成されるラクトフェリンでは幾多の困難を乗り越えなければならなかったと推察される。なお、E.N. Baker教授らのグループによって、X線結晶解析によるラクトフェリンの立体構造が報告されたのは1987年である。アミノ酸配列と高次構造の解明がラクトフェリンの基礎研究・応用研究を加速させた意義は大きい。その後、G.Spik教授の研究グループは遺伝子レベルの研究手法も取り入れてさらに発展させ、近年のデルタラクトフェリンの研究につながっている。その他にも、ラク

トフェリンの糖鎖構造、鉄結合性部位と近傍の微細構造、体細胞系との相互作用、免疫系との関連など、ラクトフェリン機能の本質に迫る多くの研究成果を発表した。

ところで、デンマークの生化学者Sørensen夫妻によるラクトフェリン最初の報告は1939年であり、それからしばらくはレッドプロテイン(red protein)と呼ばれていた。その後、血清トランスフェリンと非常に似ていることが判明してからはラクトトランスフェリン(lactotransferrin)と呼ばれるようになった。現在のラクトフェリンという呼び方が大勢を占めた頃になっても、G.Spik教授はラクトトランスフェリンという名称に最後までこだわった研究者である。ちなみに、現在もアミノ酸配列データベース上ではラクトフェリンはLTFと略記されている。

札幌大会が終わって数カ月後に彼女をリール大学の研究室に訪ねたが、大学院生の研究指導その他に忙しく明け暮れている毎日のようであった。それから十年後、A.Pierce教授からラクトフェリン国際会議の関係者宛にG.Spik教授が2009年2月に亡くなったとの連絡が届いた。研究の第一線を退いてしばらくしてからは病気がちな状態が続いていたとのことであった。彼女の功績を讃えてSpik賞を創設しようと、E.N.Baker教授から国際組織委員に対して提案され、委員全員が賛同して準備中であった第9回ベキン大会から実施されることとなった。

3. Spik賞について

2005年のホノルル大会から大学院生とポストドクを対象としたStudent Awardsが実施されている。この賞では、予め提出された要旨と推薦状から8~10名の受賞者を絞り込んできた。そこでSpik賞受賞者をStudent Awards受賞者の中から選考する方法をとることとなった。すなわち、10名の国際組織委員が各受賞者の口頭発表を聴いたうえで、最も優れていると評価された発表者にSpik賞を授与するという方法である。受賞者には、滞在費、参加費などに相当する額の賞金が支給される。ちなみに、ベキン大会での最初の受賞者はS. Hardivilleで、デルタラクトフェリンに関する発表であった。当時、彼はG.Spik教授のいた研究室の大学院生であった。第10回のメキシコ・マサラン大会(2011年5月)ではルーマ

ニア・アカデミー生化学研究所のP.E.Florianがラクトフェリンのマクロファージへの移行に関する発表で受賞した。

これまでに日本の大学に籍を置く大学院生やポストドクは残念ながら誰もラクトフェリン国際会議のStudent Awardsの受賞者となったことはない。口頭発表しなければならないという条件があるが取り立てて難しい障壁ではないと思うので、これから大いに挑戦して貰いたい。今後のラクトフェリン国際会議の予定としては、2013年10月にローマで、2015年には開催月と場所については未定であるが、日本あるいはシンガポールで開催されることとなっている。

最後にメキシコ大会以降の国際組織委員の名前を挙げておく。委員長はBo Lönnerdal(USA)で、その他の委員は、E.N.Baker(NZ)、N. Léon-Sicaire(メキシコ)、A.Pierce(フランス)、A.Schryvers(カナダ)、K.Shimazaki(日本)、H.Tsuda(日本)、P.Valenti(イタリア)、H.Vogel(カナダ)、J.Wang(中国)である。

第5回学術集会のご案内

日本ラクトフェリン学会第5回学術集会の概要が、以下の様に決定いたしました。会員の皆様方におかれましては、奮ってご参加頂きますようご案内申し上げます。なお、プログラムの詳細や演題登録については決定次第、学会ホームページと次号のニュースレターでお知らせします。

日時:2012年10月27日(土)9:30-18:00

会場:昭和大学 上條講堂(東京都品川区)

実行委員長:大槻克文(昭和大学医学部産婦人科学教室)

プログラム

総会

招請講演:Bo Lönnerdal教授

(University of California, Davis)

シンポジウム、一般口演発表、ポスターセッション

企業展示、懇親会、学会賞ならびに富田賞表彰

編集後記

本ニュースレターの創刊以来、学術集会の学会賞・富田賞の受賞者の方に、受賞対象となった研究のエッセンスについて、連載でご紹介いただいています。今回の川添先生の受賞者の紹介で、第4回学術集会の受賞者の方の紹介が終わりましたが、改めて、ラクトフェリン研究の幅の広さ、奥行きを再認識した次第です。折しも、第5回学術集会の開催日時が決定しました。また、島崎先生からはラクトフェリン国際会議のSpik賞の紹介記事を寄稿いただきました。学術集会・国際会議共に、会員の皆様の積極的な参加・応募をお願いします。

ご多用のところ本号の原稿の執筆をご快諾いただいた、伊藤先生・川添先生に感謝申し上げます。

日本ラクトフェリン 学会ニュースレター 第4号 (2012年1月発行)

ニュースレター編集 日本ラクトフェリン学会 広報委員会

高山 喜晴

農業・食品産業技術総合研究
機構 畜産草地研究所

吉江 弘正

新潟大学大学院 医歯学総合
研究科 教授

島崎 敬一

北海道大学名誉教授

日本ラクトフェリン学会 事務局

〒232-0024

横浜市南区浦舟町4-57

横浜市立大学附属

市民総合医療センター

臨床研究推進センター

東川 美貴

TEL: 045-261-5656

内線1871

FAX: 045-253-9902

E-mail:

lacto@yokohama-cu.ac.jp