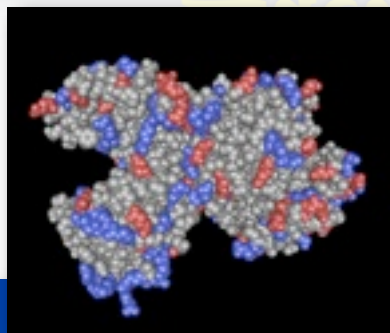


Lactoferrin NEWS

日本ラクトフェリン学会ニュースレター 第12号

2014年10月



巻頭言

“ラクトフェリンと炎症と好中球”

佐藤 れえ子

Reeko SATO

岩手大学 農学部

小動物病態内科学研究室

1 巻頭言

- ラクトフェリンと炎症と好中球
佐藤 れえ子

2 学会報告

- HFE / ifia JAPAN 2014第2回「日本ラクトフェリン学会セミナー」開催報告 村越倫明

3 セミナープロシーディング

- ラクトフェリンー好中球細胞外トラップ(NETs)抑制薬ー:炎症性および血栓性疾患に対する新たな治療薬としての可能性 平橋 淳一
- 早産ハイリスク症例に対する腔内環境改善を目指したラクトフェリン(LF)による早産予防の試み 大槻 克文
- 放射線誘発腫瘍に対するラクトフェリンの有用性 小久保 年章
- ラクトフェリン+ラクトパーオキシダーゼの口腔衛生改善効果 中野 学
- ラクトフェリンの脂肪細胞に対する脂肪分解促進効果について 森下 聡

HIV感染症と同様に、猫にAIDS状態をもたらすFIV(猫免疫不全ウイルス)感染症では、その病態の1つとして口腔内に慢性の肉芽腫様炎症が観察されます。猫は口内炎の痛みのために摂食困難となり、体力の低下が進行します。このような状態の猫に栄養的な支持療法の一環としてラクトフェリンの経口投与を試みたのは、1990年代の初めでした。肉眼的な口腔内の炎症状態はさほど変化がないにもかかわらず、猫の流涎が改善されて摂食が再開されたました。この時、炎症の重症度を左右する好中球機能は大きな影響を受けており、好中球の接着能と補体レセプター発現は強く抑制されました。後に島崎敬一博士がラクトフェリンの多機能性を説明するモデルとして唱えた「十徳ナイフモデル」や「ビリヤードモデル」が示すように、FIV感染猫で観察されたこのような臨床効果は、口腔内での細菌感染の抑制や好中球機能の調整作用、疼痛の抑制、抗酸化作用などの様々なラクトフェリンの生物活性と、それに続く生体内物質との相互作用の結果としてもたらされたものと考えられます。この猫の難治性口内炎に対するラクトフェリンの臨床効果は、1995年にホノルルで開催された第2回ラクトフェリン国際会議で発表されました。

動物での劇的なラクトフェリンの効果を経験した後、人の歯肉炎と歯周病に対するラクトフェリン局所投与が有効であることが佐藤 保らによって発表されたのは、1996年の日本歯科保存学会でのことでした。それから約20年の歳月の中でラクトフェリンの抗炎症作用とそのメカニズムが次々に明らかにされ、この多機能性の鉄結合性糖タンパクは世界中で研究者の関心を絶やすことなく引きつけ続け、今日でも新たな生理活性とメカニズムについての報告が相次いでいます。今年も11月8日には第6回ラクトフェリン学術集会在エポカルつくばで開催される運びとなり、どんな新しい研究成果が発表されるのか大いに期待されるところです。この魅力的なタンパク質ーラクトフェリンは何年経っても目を離すことができないユニークな存在です。

HFE / ifia JAPAN 2014第2回「日本ラクトフェリン学会セミナー」開催報告

村越 倫明

Michiaki MURAKOSHI

ライオン株式会社

生命科学研究所 所長

2014年5月21日から23日まで、東京ビックサイトにおきましてHFE/ifa JAPAN 2014(第19回国際食品素材/添加物展・会議:日本食品化学新聞社主宰)が開催されました。本イベントは年に一度開催され、食品素材の展示会としては国内最大規模を誇ります(出展企業:約400社、参加者:約33,000人)。この中で日本ラクトフェリン学会では、昨年に引き続き、第2回目となる「日本ラクトフェリン学会セミナー」を5月21日に開催しました。本セミナーは、食品研究の専門家のみならず、一般の方にもラクトフェリンに関する知識を深めて頂き、健康づくりに役立てて頂くことを目的としております。本年も幅広い参加者にご参集頂き、機能性食品関連のセミナーが数多く開催される中で、90名以上の聴講者を集め、大変盛会となりました。

今回のセミナーのテーマは、昨年10月にローマで開催されました第12回国際ラクトフェリン会議における日本

発の研究発表内容のご紹介をすることと致しました。日本のラクトフェリン研究を牽引する先生方と、次代を担う若手研究者の方に、ラクトフェリンの様々な機能に関する基本的な知識と最新の研究成果について大変分かりやすく講演して頂きました。詳細については、各先生方のプロシーディングをご参照頂ければと存じます。また、HFE/ifa JAPANの展示ブースにおきましても、日本ラクトフェリン学会として、これまでの学術集会のプロシーディングや学会ニュースレターのバックナンバーの展示を行いました。本セミナーが、日常生活にラクトフェリンを取り入れて頂くきっかけとなり、人々の健康に少しでも貢献できれば幸いです。

末筆となりますが、本セミナーの開催にあたり、講演者の先生方、スタッフの皆様のご尽力に心から感謝申し上げます。



セミナーの様子



セミナーの講演者とスタッフ一同

ラクトフェリン-好中球細胞外トラップ(NETs)抑制薬- : 炎症性および血栓性疾患に対する新たな治療薬としての可能性

平橋 淳一

Junichi HIRAHASHI

慶應義塾大学医学部

総合診療科/血液浄化・透析センター

好中球は外来微生物からの生体防御機構において最大のポピュレーションを持つ白血球である。最近、好中球がクロマチン線維(DNA+ヒストン蛋白)から成る網目状構造物 (Neutrophil Extracellular Traps ; NETs)を細胞外に放出し、細菌、真菌、寄生虫等の外来微生物を捕捉することが新たな生体防御メカニズムの一つとして注目されている。その一方で、NETs機構の制御不全は自己免疫疾患や敗血症を含む炎症性疾患と血栓症に関与することがわかってきた。

1. 自己免疫性疾患

NETsは形質細胞様樹状細胞を活性化させる自己抗原として認識され、その結果自己反応性B細胞の活性化を引き起こし自己抗体の産生に寄与する。全身性エリテマトーデス(SLE)においては、NETs除去能を有するDNaseIの機能不全がループス腎炎の進展を引き起こすことが分かっている。また、自己免疫性細小血管炎においては抗好中球細胞質抗体: anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)が直接好中球を刺激しNETs形成を引き起こす。

2. 血栓症

血栓形成メカニズムは、血液凝固系と血小板の活性化が中心となると考えられてきたが、ごく最近、新たに“Immunothrombosis”という概念が提唱された。Immunothrombosis機構は自然免疫細胞と血栓特異的分子の相互作用により構成され、血管内で病原体を認識し、封じ込め、破壊する足場としての微小血管内血栓形成を行う自然免疫反応としてとらえられる。ところが、Immunothrombosisが適切に制御できなくなると、病的血栓症の発症につながる。いまだ致死率が高い敗血症や悪性腫瘍による播種性微小血管内凝固(DIC)、自己免疫疾患に伴う血栓、深部静脈血栓症(DVT)など

に好中球から放出されるNETsが主要な役割を果たすことが分かってきている。つまり、NETsはImmunothrombosisと極めて深い関係にあるといえる。

3. ラクトフェリンとNETs

我々は、上記のような背景を踏まえ、ラクトフェリンがNETs関連疾患に対する新たな治療薬となる可能性について検証し、ラクトフェリンがヒト好中球からのNETs産生を抑制することを見出した。

これまでに抗ラクトフェリン抗体がSLE患者において上昇しているという報告や、関節リウマチ患者においてラクトフェリンに対する抗体価がその病勢と相関しているという報告があり、内因性ラクトフェリン作用の減弱がこれらの病態に関与する可能性を示す。また、ラクトフェリンの投与により新生児における敗血症による死亡率が低下したという臨床試験からの報告もあり、敗血症におけるラクトフェリンの保護的な機能が示唆される。特に、敗血症は非常に死亡率が高く、原病の治療以外に迅速かつ有効な治療法は未だ確立しておらず社会的問題にもなっている。その致死性病態にはImmunothrombosisの制御不全が大きく関与していると考えられることから、NETs阻害作用、DIC抑制作用を有するラクトフェリンは極めて有力な敗血症治療薬となりうることを示している。

早産ハイリスク症例に対する腔内環境改善を目指したラクトフェリン (LF) による早産予防の試み

大槻 克文

katsufumi OTSUKI

昭和大学江東豊洲病院 准教授

周産期センター長、婦人科診療責任者兼務

1. はじめに

早産の原因として、細菌性腔症や頸管炎からの上行性感染である絨毛膜羊膜炎(Chorioamnionitis: CAM)が重要であることは疑う余地がない。特に早い時期での早産、超早産にはCAMが多く、CAM発症を予防することが超早産予防のキーポイントと考えられる。CAMに至る前段階での対策として細菌性腔症や頸管炎の早期発見及び治療による早産予防の試みはすでになされているが、抗生物質投与による早産予防の有効性に関しては否定的な報告が多く、その理由の一つとして腔内常在菌である*Lactobacillus*自体の発育抑制が問題と考えられている。

上記の観点に立ち、LF(特にrecombinant human LF(rh-LF))が早産予防に効果的な薬剤となる可能性が高いと考え、その可能性を検討する目的で、A.ヒト頸管粘液及び羊水中LF動態、B.ヒト頸管腺細胞及び羊膜細胞培養系でのLFの抗菌・抗サイトカイン作用、C.動物実験系におけるLFの早産抑制効果、D.ヒトにおいて早産ハイリスク症例に対する臨床使用経験、を中心に行い、その結果を報告する。

2. 方法

A.1)頸管粘液中LF(CxLF):妊娠週数に伴う変化と炎症の有無による変化、2)羊水中LF:妊娠週数に伴う変化とCAMの有無による比較とIL-6との相関、B. 1)羊膜細胞培養系:羊膜細胞培養を施行。LPS添加により炎症性

サイトカインの産生を誘導し、rh-LFによる炎症性サイトカイン産生抑制作用、2)頸管腺細胞培養系:ヒト頸管細胞株を用い、rh-LFの*E.coli*に対する抗菌作用、*C. mouse*及びrabbit早産モデルを用い、1)早産に対するrh-LFの抑制効果、2)上記と別の母獣に同様の処置を行い母獣血清および羊水中の炎症性サイトカイン濃度、以上を検討した。D. 難治性腔・頸管炎を有し、流早産を繰り返した症例数例に対してLFを投与して、早産予防効果を検討した。

3. 結果

A.1)LFが頸管で炎症防御機序の一端を担っている可能性が示唆された⁽¹⁾。2)羊水中LF濃度はCAM群で高値を示し、IL-6と正の相関が認められ、その機序として、炎症による胎児でのLF産生増加が考えられ、LFの胎児における抗炎症反応への関与がうかがわれた⁽²⁾。

B.1)LF投与によるIL-6産生抑制の結果より、LFの抗サイトカイン作用が示された⁽³⁾。2)粘液産生細胞(HeLa細胞)存在下でrh-LFは*E.coli*の発育を抑制したが、粘液非産生細胞では抑制作用は認められなかったことより、頸管粘液産生細胞の役割の重要性が示唆された^(4,5)。

C.1)LFの早産予防効果と、その効果が母獣におけるサイトカイン産生抑制を介していることが示された⁽⁶⁻¹¹⁾。2)LFの投与を受けた母獣の妊娠継続日数は延長され仔生存率も高く、母獣体内におけるサイトカイン産生も抑制されたことより、rh-LFが*E.coli*の直接的な、あるいは体内の高サイトカイン血症を介した早産機序を抑制したこと

が推察された。したがって、LFが早産及びその原因となる炎症・高サイトカイン状態の為に生じる児の poor prognosisを改善する可能性を示した。

D. LFを早産ハイリスク症例に対して使用し、有効な結果が得られた⁽¹²⁾。現時点では5例であるが、投与開始後3-4週で*Lactobacillus*が出現し腔内細菌叢の改善が認められ、全例正期産に至った。以上よりLFによる腔内細菌叢の改善という新たな視点による早産予防の可能性が示唆された。難治性の腔炎を有し子宮内感染を主因とした流産を繰り返す患者に対して*Lactobacillus*を繁殖させるLF投与が有効である可能性が示唆された。

4. 結論

以上より、元来ヒトに存在し副作用の懸念の少ないLFの早産予防における臨床での高い有益性が期待された。

参考文献

- (1) Sawada M, Otsuki K, Mitsukawa K, Yakuwa K, Nagatsuka M, Okai T. Cervical inflammatory cytokines and other markers in the cervical mucus of pregnant women with lower genital tract infection. *Int J Gynaecol Obstet*. 2006; 92 (2): 117-21.
- (2) Otsuki K, Yoda A, Saito H, et al. Amniotic fluid lactoferrin in intrauterine infection. *Placenta*. 1999; 20(2-3): 175-9.
- (3) Otsuki K, Yoda A, Toma Y, Shimizu Y, Saito H, Yanaihara T. Lactoferrin and interleukin-6 interaction in amniotic infection. *Adv Exp Med Biol*. 1998; 443: 267-71.
- (4) Otsuki K, Lönnnerdal BL, Sherman MP. Bacterial growth on human cervical epithelia: A new assay for testing killing by lactoferrin. *Biochemistry and Cell Biology*. 2002; 80: 1.
- (5) Sherman MP, Otsuki K, Lönnnerdal BL. Preventing *Escherichia coli* growth on cervical epithelium. *Pediatr Res*. 2001; 49: 232A.
- (6) Sasaki Y, Otsuki K, Hasegawa A, et al. Preventive effect of recombinant human lactoferrin on lipopolysaccharide-induced preterm delivery in mice. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2004; 83(11): 1035-8.
- (7) Hasegawa A, Otsuki K, Sasaki Y, et al. Preventive effect of recombinant human lactoferrin in a rabbit preterm delivery model. *Am J Obstet Gynecol*. 2005; 192(4): 1038-43.
- (8) Otsuki K, Yakuwa K, Sawada M, et al. Recombinant human lactoferrin has preventive effects on lipopolysaccharide-induced preterm delivery and production of inflammatory cytokines in mice. *J Perinat Med*. 2005; 33(4): 320-3.
- (9) Otsuki K, Sasaki Y, Sawada M, Yakuwa K, Chiba H, Nagatsuka M and Okai T. Potential of lactoferrin in the prevention of preterm delivery. *Taiwanese J Obstet Gynecol*. 2005; 44: 5.
- (10) Yakuwa K, Otsuki K, Nakayama K, et al. Recombinant human lactoferrin has a potential to suppresses uterine cervical ripening in preterm delivery in animal model. *Arch Gynecol Obstet*. 2007; 275(5): 331-4.
- (11) Nakayama K, Otsuki K, Yakuwa K, et al. Recombinant human lactoferrin inhibits matrix metalloproteinase (MMP-2, MMP-3, and MMP-9) activity in a rabbit preterm delivery model. *J Obstet Gynaecol Res*. 2008; 34(6): 931-4.
- (12) Otsuki K, Tokunaka M, Oba T, Nakamura M, Shirato N, Okai T. Administration of oral and vaginal prebiotic lactoferrin for a woman with a refractory vaginitis recurring preterm delivery: appearance of *Lactobacillus* in vaginal flora followed by term delivery. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014; 40(2): 583-5.

放射線誘発腫瘍に対する ラクトフェリンの有用性

小久保 年章

Toshiaki KOKUBO

独立行政法人放射線医学総合研究所
研究基盤センター

はじめに

放射線による被ばくに関して放射線障害リスクを低減化する防護剤の開発は社会的に重要な課題である。放射線防護剤に関する報告は多くあり、特に被ばく前の投与で効果が認められている。本稿では、放射線照射により誘発する腫瘍に対し、ラクトフェリンが防護するか否かについてげっ歯類を用いた検証を紹介する。

放射線防護剤とは何か

放射線防護剤とは大量の放射線を受けてもその障害を可能な限り軽減、緩和するような効果を有するものであり、アミノフォスチンやシステアミンなどが知られている。また γ -トコフェロール-N,N-ジメチルグリシンエステルのように放射線を受けてから早い時期に投与して放射線障害を防止する緩和剤の研究もなされている。

ラクトフェリンの放射線防護作用

ラクトフェリン(LF) は、ほ乳類において乳汁、唾液などの分泌液、好中球の特殊顆粒に含まれる分子量約80kDaの鉄結合性の糖タンパク質で、抗菌・抗ウイルス活性、免疫調節活性、抗酸化活性、鉄吸収調節作用、経口投与による生体防御作用など多様な生理活性を持つ

ことが明らかにされている。このように多くの活性を有するLFであるが、放射線防護の観点からの検討はほとんどない。これまでに、C3H/Heマウスを用いて0.1%LF含有した飼料で1ヶ月間飼育し、その後6.8GyのX線を全身照射して30日間の生存率をみたところ、LF処置群で高い生存率が認められ、LFが放射線防護作用を有することを確認されている⁽¹⁾(図1)。

放射線誘発の腎臓腫瘍に対するLFの防護作用

上記に示した実験は、放射線の急性障害に対するLFの効果をもっているが、放射線影響として重要なものに発がんがある。これまでに遺伝性腎がんラットへ放射線照射で増加する腎臓の尿細管の増殖性病変について研究を

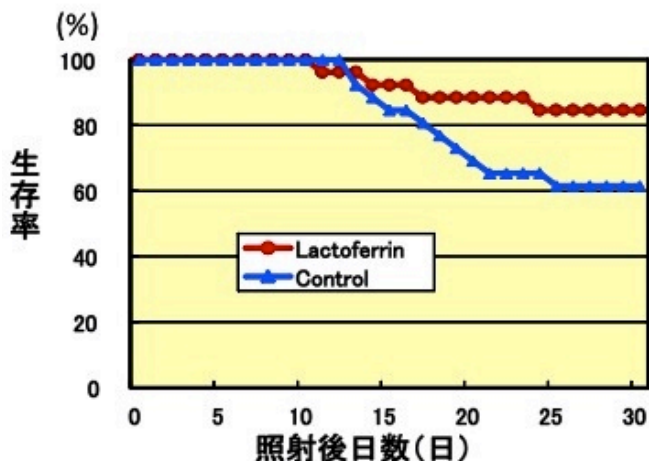


図1 LF含有飼料で飼育したマウスに
放射線照射後の生存曲線

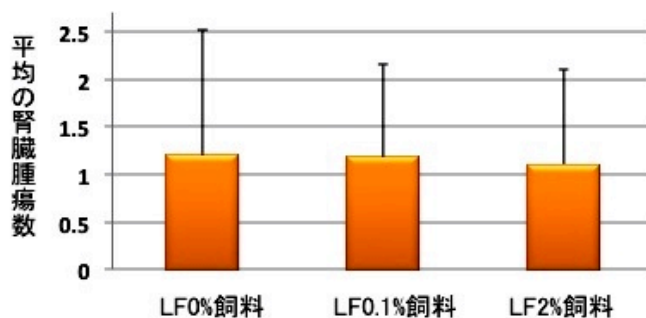


図2 放射線照射後の腎臓腫瘍数

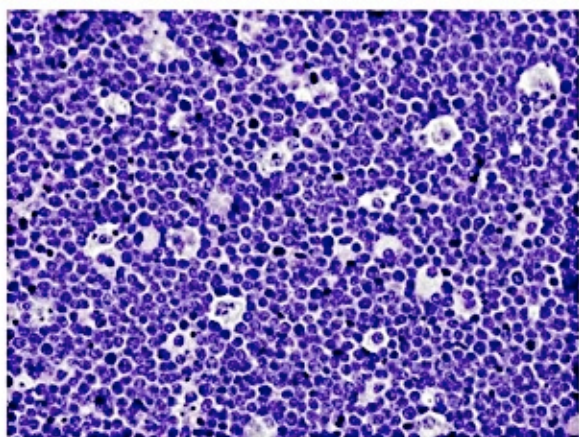


図3 胸腺リンパ腫の組織像 HE染色

進めており、腫瘍発生の原因として $Tsc2$ 遺伝子が関与している。そこで、LFの作用として放射線誘発の腎臓腫瘍に対して抑止効果を有するか否かについて検討した。雄のEkerラット($Tsc2$ 遺伝子ヘテロ型)と雌のF344ラットを交配し、 $Tsc2$ 遺伝子ヘテロ型雄ラットに生後25日目にX線2Gyを全身照射し、27週齢でラットを解剖に供し、腎臓の尿細管の増殖性病変数を評価した。ラットは離乳した生後20日よりLF0.1%ないしLF2%含有飼料にて飼育を行った。その結果、LFを処置するとわずかに前腫瘍性病変(異型的過形成)の抑制が認められたが、腎臓腫瘍を抑制する変化はみられなかった(図2)。

放射線誘発の胸腺リンパ腫に対するLFの防護作用

胸腺リンパ腫は、胸腺が原発となるT細胞性リンパ腫であり、放射線照射により誘発されやすい腫瘍の一つである。この放射線誘発の胸腺リンパ腫に対するLFの抑制効果をみるために以下の実験を行った。4週齢の雌のB6C3F1マウスをLF2%含有飼料にて飼育を開始し、6週齢より週1回、X線1.4Gyの全身照射を4回行った。放射線誘発の胸腺リンパ腫は最終照射後3~10ヶ月の間に高率に腫瘍化することが知られていることより(図3)、最終照射後6ヶ月後に解剖に供し、肉眼的並びに病理組織学的に胸腺リンパ腫と診断した腫瘍について発生頻度を確認したところ、統計学的に有意な変化でなかったが、LF投与により胸腺リンパ腫の発生を抑える傾向が認められた(図4)。また放射線分割照射後のNK細胞への影響

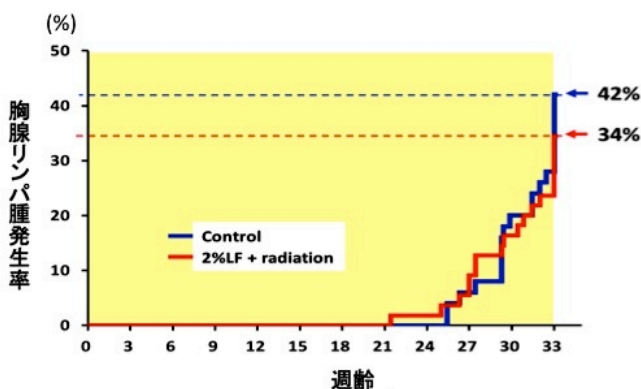


図4 LF投与による胸腺リンパ腫発生曲線

をみるために、4回目のX線照射から24時間後、1週後及び3週間後にコントロール及びLF2%含有飼料飼育マウスを解剖して、脾臓中のNK細胞の比率を求めた。その結果、24時間後のNK細胞の比率において、コントロールマウスに比べてLF処置マウスの値が統計学的に有意に高かった。これはLFに放射線照射後のNK細胞比率の回復促進に関与する可能性があることが分かった。

今後の展望

LFの腎臓腫瘍の発生抑制効果はみられなかったが、胸腺リンパ腫の発生抑制効果はマイルドではあるが放射線誘発腫瘍のLFによる抑制効果が認められた。またLFに放射線照射後の免疫系細胞の活性化させる作用を有することが示唆された。今後はLF単独でなく、放射線防護作用や抗腫瘍効果のある薬剤や食品等の併用効果の検討を行うことで、LFの有する多様な作用を効果的に引き出せる可能性がある。

参考文献

- (1) Nishimura Y. et al., J. Radiat. Res. 55, 277–282 (2014).

ラクトフェリン+ラクトパーオキシダーゼ の口腔衛生改善効果

中野 学

Manabu NAKANO

森永乳業株式会社 食品基盤研究所

ラクトフェリン(LF)とラクトパーオキシダーゼ(LPO)は、乳や唾液などの外分泌液に含まれる生体防御成分であり、口腔内では口腔衛生の維持に働くと考えられている。LFは歯周病菌を含む多くの病原性微生物に対して、抗菌活性を示す¹⁾。一方、LPOは唾液成分であるチオシアン酸と過酸化水素の共存下において次亜チオシアン酸の生成を触媒し、歯周病菌に対して強い殺菌活性を示す²⁾。今回、LFとLPOを配合した錠菓(LF+LPO錠菓)のヒト臨床試験における口臭や歯周病に対する効果について紹介し、その応用(粉末組成物「オーラバリア[®]」)についても述べる。

1. 口臭に対する効果

口臭は、う蝕、歯周病に次いで多い口腔疾患であり、一般人の約半数が持っていると考えられている。口臭の主な原因物質は、硫化水素やメチルメルカプタンなどの揮発性硫黄化合物(VSC)である。舌苔のタンパク質成分が細菌のプロテアーゼによってアミノ酸に分解され、システインやメチオニンが細菌のリナーゼによって分解されVSCが生成する。

LF+LPO錠菓(LF 100 mg/錠、LPO 1.8 mg/錠)の口臭抑制効果と唾液中細菌に対する影響を調べるため、ランダム化二重盲検クロスオーバー試験を実施した³⁾。口臭を有するボランティア(n=15)がLF+LPO錠

菓またはプラセボ錠菓を1時間おきに2錠摂取し、摂取前後の口腔内空気中のVSC濃度を測定した。その結果、LF+LPO群では摂取直後から2時間後にかけてメチルメルカプタンの中央値が嗅覚閾値を下回った。また、唾液中細菌叢をT-RFLP法で解析したところ、LF+LPO群において*Prevotella*、*Porphyromonas*、*Treponema*などVSC産生能の高い歯周病関連菌の抑制が示唆された。以上の結果から、LF+LPO錠菓摂取による口臭抑制効果が確認され、口腔内細菌の抑制の関与が示唆された。

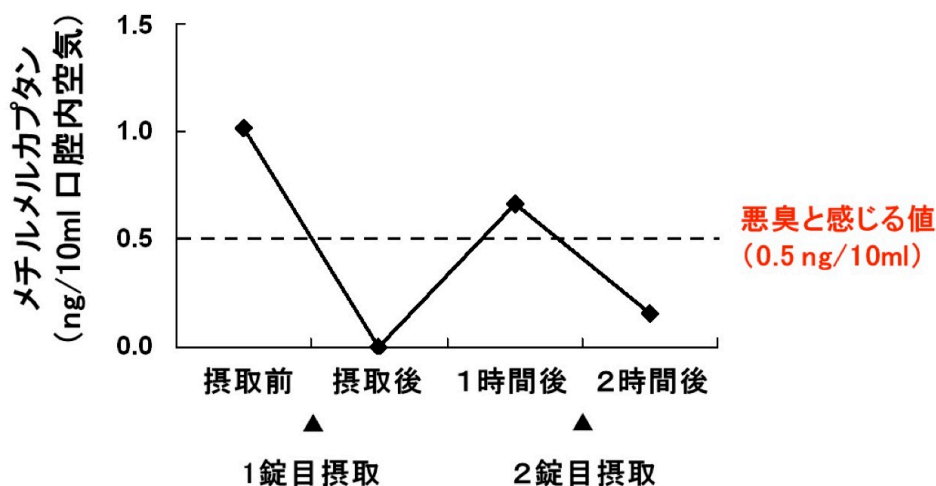


図1 オーラバリア[®]配合錠菓の口臭抑制効果

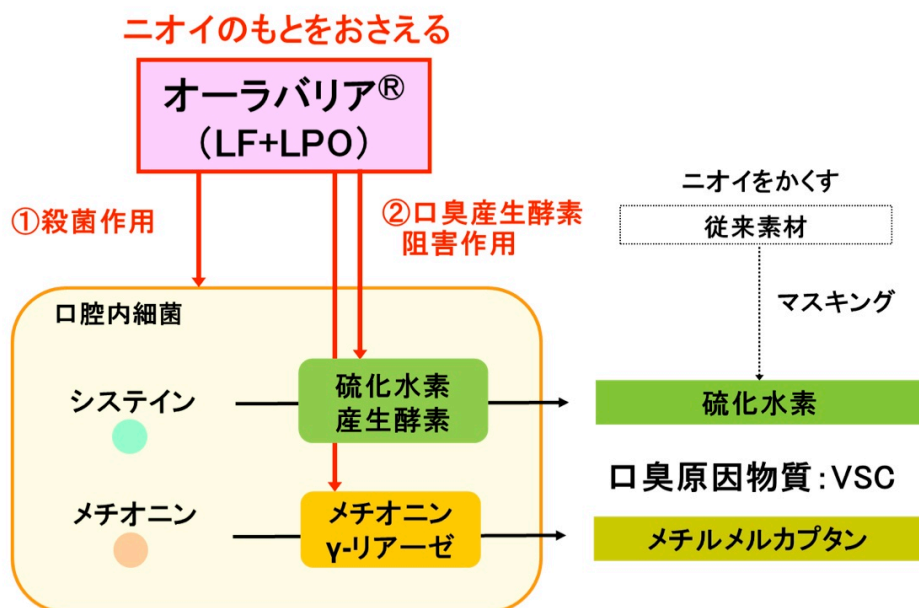


図2 オーラバリア®の口臭抑制作用機構

2. 歯周病に対する効果

歯周病は、歯周組織に細菌が感染して発症する炎症性の疾患である。歯周病の症状は、歯垢（プラーク）の蓄積、歯肉の炎症と進行し、最終的には歯を支える歯槽骨が破壊され、歯が喪失する。平成23年の歯科疾患実態調査（厚生労働省）によると、30～70歳の80%以上に何らかの歯周病の所見がみられている。

慢性歯周炎患者72名に対してLF+LPO錠菓またはプラセボ錠菓を1日3錠、3ヶ月摂取させたランダム化二重盲検並行群間臨床試験では、LF+LPO群(n=37)はプラセボ群(n=35)と比較して歯垢の付着状況を示すプラーク指数が有意に低下した⁴⁾。また、歯周ポケット中の細菌叢変動を検討したところ、総菌数、*Porphyromonas gingivalis*、および*Fusobacterium*属の減少が観察された⁵⁾。*Fusobacterium*はプラーク形成の初期定着菌と後期定着菌の間を繋ぐ役割を担うとともに、VSC産生菌としても知られており、LF+LPOが作用する口腔内細菌として興味もたれる。

3. 口腔衛生素材への適用

LFとLPOを主成分とした食品原料として使用可能である粉末組成物「オーラバリア®」が最近開発された。オー

ラバリア®は、口腔内細菌に対するバイオフィルム形成抑制活性と殺菌活性が*in vitro*試験で、口臭抑制効果がヒト試験で確認されている(図1)。また、口臭産生に関わる細菌のリアーゼ活性の阻害を示唆する*in vitro*実験結果が得られている。

従来の口臭抑制素材はマス킹などニオイをかくすアプローチが主流であったのに対し、オーラバリア®はLFとLPOの機能性（抗菌活性、抗バイオフィルム活性、代謝酵素阻害活性）による細菌コントロールを介して、いわゆるニオイのもとをおさえる新たな素材であると考えられる(図2)。今後、タブレットやチューインガムなど、様々なシーンで利用しやすい食品形態への応用が期待される。

参考文献

- (1)Wakabayashi H. et al., Biometals 23:419-424 (2010)
- (2)Shin K. et al., J Breath Res 2:017014(2008)
- (3)Shin K. et al., Clin Oral Invest. 15:485-493 (2011)
- (4)小林ら、「ラクトフェリン2011」、21-26(2011)
- (5)若林ら、「ラクトフェリン2013」、110-114(2013)

ラクトフェリンの脂肪細胞に対する脂肪分解促進

森下 聡

Satoru MORISHITA

ライオン株式会社 生命科学研究所

1. 腸溶ラクトフェリンの内臓脂肪低減作用について

メタボリックシンドロームとは、内臓脂肪型肥満に加え、高血糖・高血圧・高脂血症のうち2つ以上を合併した状態を指し、動脈硬化性疾患の発症リスクを高めるリスクファクターとして重要視されている。メタボリックシンドロームを予防、改善するためには、その成因基盤である内臓脂肪の蓄積を抑制することが重要であると考えられている。当社では、腸溶ラクトフェリン（以下、LF）の内臓脂肪低減作用に関して研究を進めている。これまでに、肥満傾向の日本人男女（内臓脂肪面積平均100cm²以上）を対象とした二重盲検群間比較試験を行い、腸溶LF（LFとして1日に300mg）を8週間継続摂取することにより、有意に内臓脂肪が低減することを明らかにしている。また、本試験において有害事象は認められなかった。

2. ラクトフェリンの体内動態について

上記結果を得て、我々は腸溶LFの作用機序を明らかにするため、げっ歯類を用いて、経口摂取したLFの体内動態を解析した。その結果、LFは血中や他の臓器では

ほぼ検出されず、内臓脂肪の一種である腸間膜脂肪において主に局在することを明らかにした。本結果から、LFが内臓脂肪に作用し得ることを確認した。

3. ラクトフェリンの脂肪分解促進作用について

脂肪細胞への脂肪の蓄積は脂肪の合成と分解のバランスによって制御されている（図1）。この合成と分解のバランスが合成に偏りすぎないことが内臓脂肪の過剰蓄積を抑制するには有効な手段と考えられる。我々は、これまでにラット腸間膜脂肪由来前駆脂肪細胞を用いた初代培養系においてLFの作用を評価し、(A) LFが脂肪の合成を抑制することを明らかにしていたことから、(B) 次に成熟脂肪細胞を用いて脂肪分解に対するLFの作用を詳細に解析した。その結果、LFの添加により、脂肪細胞を培養している培地中のグリセリン濃度が有意に上昇した。一方、胃の消化酵素であるペプシンで分解したLFでは培地中のグリセリン濃度に変化は認められなかった。このことから、LFは脂肪分解促進作用をも有すること、また、その作用を発揮するには胃での消化を受けないこと

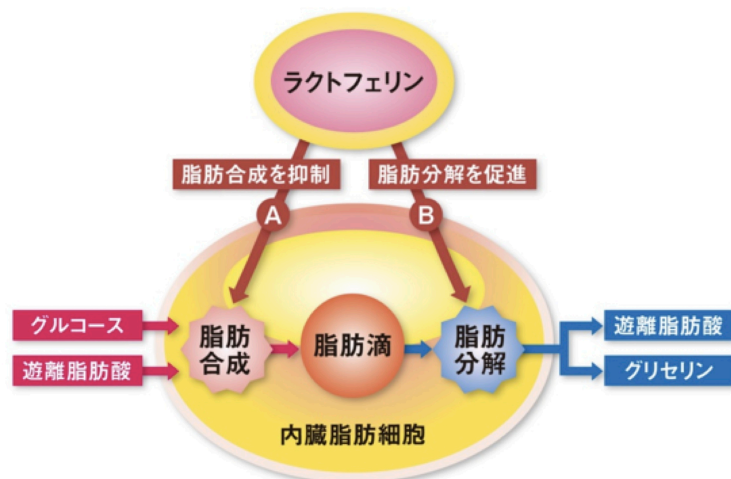


図1 ラクトフェリンの脂肪細胞に対する作用

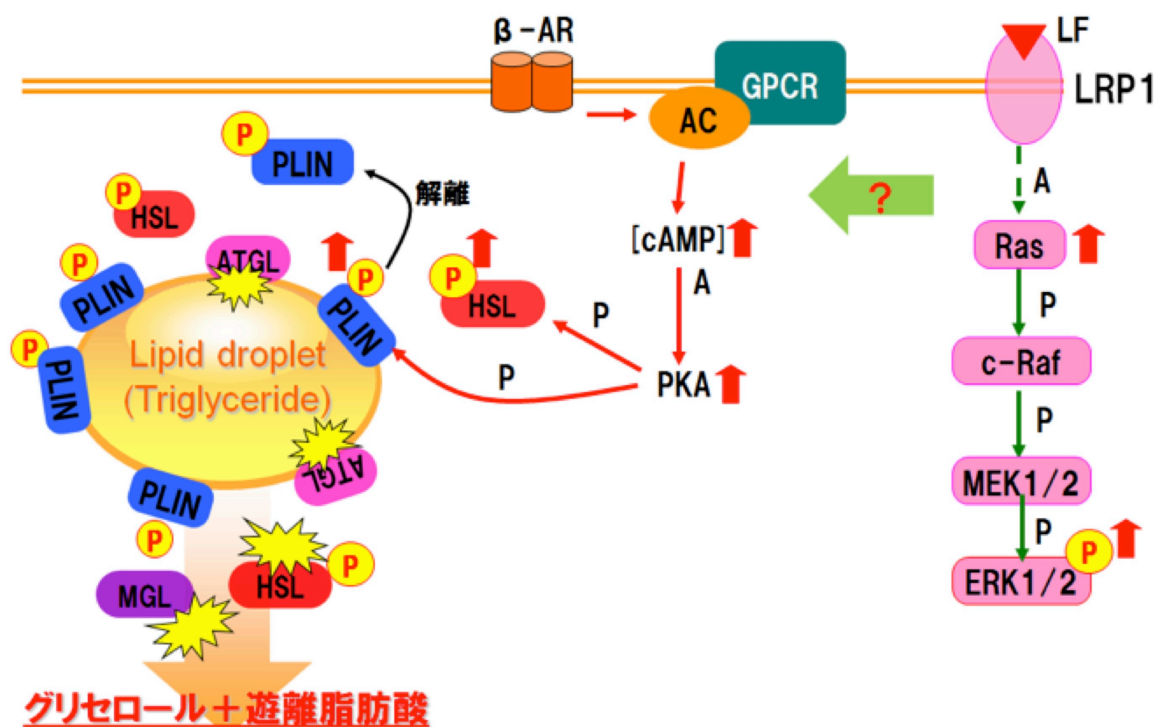


図2 ラクトフェリンによる脂肪分解促進作用機序

P : Phosphorylation (リン酸化増加)
 A: Activation of Kinase (キナーゼ活性増加)
 T: Transcription (転写促進)

が必須であることを見出した。本作用機序を明らかにするため、プロテオーム解析を実施した結果、LFにより脂肪分解に重要な経路であるcAMPシグナリングパスウェイに關与するタンパク質の存在量が大きく変化していた。本結果を受け、LFのcAMPシグナリングパスウェイにおけるシグナル伝達に重要な各タンパク質の活性化を解析した。その結果、脂肪分解の実行因子であるホルモン感受性リパーゼ(HSL)のリン酸化亢進や、脂肪滴表面を覆う事により、HSL等のリパーゼ類による脂肪分解を抑制しているペリリピン(PLIN)のリン酸化亢進が認められた(図2)。さらに、これらタンパク質リン酸化の誘導因子であるPKAのキナーゼ活性の増加およびPKA活性化を促す細胞内cAMP濃度もLFが上昇させることを明らかにした。これらの結果から、LFはcAMPシグナリングパスウェイを活性化させることにより脂肪分解を促進していることが示唆された。一方、LF受容体であり、骨芽細胞等においてLFの結合により古典的MAPK(ERK1/2)の活性化が報告されているLow density lipoprotein related protein 1 (LRP1)受容体の発現を本初代培養脂肪細

胞においても確認した。さらに、LRP1受容体の下流に存在すると報告されているRasキナーゼ活性やERKリン酸化の亢進も確認している。我々はLFのLRP1受容体への結合が脂肪分解促進作用のトリガーとなっているのではないかと考え、本作用機序の更なる深堀を推進中である。

謝辞

本研究は、京都府立医科大学 名誉教授 西野輔翼先生、名古屋市立大学 飯郷正明先生、医療法人島原病院糖尿病内科部長・京都府立医科大学 客員教授 吉田俊秀先生、北海道大学 教授 宮下和夫先生、東京大学 特任教授 加藤久典先生、横浜市立大学 先端医科学研究センター長 平野久先生のご指導を賜りました。ここに深く感謝の意を表します。また本開発に携わった、ライオン(株)、(株)NRLファーマの関係者の皆様に深謝申し上げます。

第6回学術集会のご案内

日本ラクトフェリン学会第6回学術集会のプログラムと詳細が決定いたしました。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します。詳しくは、

大会ホームページをご覧ください。

<http://lactoferrin.jp/2014/index.html>

日時: **2014年11月8日(土)** 10:00-17:30

受付は9:30より開始

会場: **エポカルつくば(つくば国際会議場)**

実行委員長: 高山 喜晴(農研機構 畜産草地研究所)

招待講演 **ヨアヒム・ハーツ教授**

(テキサス大学サウスウェスタンメディカルセンター)

シンポジウム

ラクトフェリンの医薬品としての利用を考える

- 桑田 英文氏(株式会社NRLファーマ)
- 萩谷 裕一郎氏(旭硝子株式会社)
- 佐藤 淳先生(東京工科大学大学院)
- 鈴木 靖志氏(サラヤ株式会社)
- 柳沢 俊良先生(広島大学大学院)
- 平橋 淳一先生(慶應義塾大学)

参加費 5,000円(一般会員)
8,000円(一般・非会員)
3,000円(学生・非会員)
学生会員は参加費無料
懇親会費 2,000円

お問い合わせ

〒305-0901 茨城県つくば市池の台2

農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 担当: 高山

TEL: 029-838-8687, FAX: 029-838-8606

E-mail: lactoferrin.naro.affrc.go.jp

日本ラクトフェリン
学会ニュースレター
第12号 (2014年10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

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

田中 克明

TEL: 045-261-5656

内線1871

FAX: 045-253-9902

E-mail:

lacto@yokohama-cu.ac.jp