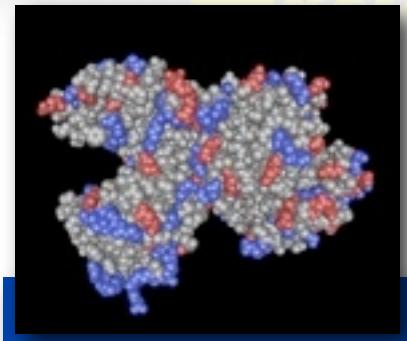
JAPANESE ASSOCIATION FOR LACTOFERRIN

Lactoferrin NEWS

日本ラクトフェリン学会ニュースレター 第3号 2011年9月



1 巻頭言
ラクトフェリン：基礎と臨床のinterplay　田中 克明

2 研究トピックス紹介
歯周病患者におけるラクトフェリン摂取の効果　小林 哲夫

3 海外学会紹介
第10回国際ラクトフェリン会議に参加して 桑田 英文

4 学会賞受賞研究紹介
成熟脂肪細胞におけるラクトフェリンの脂肪分解促進作用の解析　藤崎 央子

巻頭言

ラクトフェリン：基礎と臨床のinterplay

田中 克明
Katsuaki TANAKA
横浜市立大学附属市民総合医療センター
消化器病センター/臨床研究推進センター

東日本大震災発生より6か月が経過し、改めて被災された皆様方に心よりお見舞い申し上げるとともに、一刻も早い復興を祈念いたします。さて、日本ラクトフェリン学会ニュースレターとして3回目の発信に際し、ラクトフェリン研究の厳しさ及び楽しさについて一言述べさせていただきます。

一般的に*in vivo*および*in vitro*の研究で臨床的有用性を示唆する成績が得られても、人を対象とした臨床試験を行うと予想に反して有用性が認められないこと、小規模な臨床試験で有用性が示せても、大規模臨床試験を行うと有用性が認められなくなるという話はよく聞く話であり、臨床の現場ではその方が圧倒的に多いのが実情です。ラクトフェリンがC型肝炎ウイルスに一定の抑制作用を有するとする*in vitro* study、少数例で実施した臨床試験において一定の効果を認めたことから、一時は多くの方から期待を寄せられたにもかかわらず、大規模臨床試験で否定されたケースもそれに該当します。しかしながら、その多機能性から様々な領域における有用性が期待されることから、現在でも多くの研究者の興味の対象となっています。ひとつの仮説が否定されても、別の仮説に研究の主眼を移すことが可能な物質は、世の中広しといえどもラクトフェリンの右に出るものは無く、研究対象として楽しい存在と認識しています。

ラクトフェリンは安全性が高く副作用もほとんどない反面、効果の発現が緩徐であり、臨床的有用性を示すのが難しいと言えましょう。その意味でも、長い目で研究を継続することが肝要であり、基礎研究と臨床研究を橋渡しする「日本ラクトフェリン学会」が果たす役割は大きいと感じています。会員各位の多様な活動の中でラクトフェリン研究がより一層推進されることを願っています。

歯周病患者におけるラクトフェリン摂取の効果

小林 哲夫
Tetsuo KOBAYASHI
新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部

はじめに

歯周病治療の原則は「原因の除去」であり、「歯周病原細菌を排除する」ことです。これは、細菌性プラーク（歯垢）や歯石を機械的に除去する治療（プラークコントロールやスケーリング）によって殆どが達成されます。しかしながら、このような機械的な除去がうまくいかない場所もあり、抗菌剤配合の洗口液を補助的に用いることも多く見られます。現在、洗口液の普及はめざましいものがありますが、抗菌剤の安全性に対する危惧も根強く、小児から高齢者まで幅広い年齢層で使える安全で安心な予防法が待ち望まれています。

ラクトフェリン（LF）はミルク中に多く含まれる安全性の高いタンパク質で、歯周病原細菌に対する抑制効果が*in vitro*で見られます。これまで私どもは、ウシLF配合錠菓や、ミルク中の酵素であるウシラクトパーオキシダーゼ（LPO）とウシLFを一緒に配合した錠菓について、それぞれ、歯周病・歯周病原細菌に対する効果を検討してきました（1、2）。そこで今回は、その結果を概説し、今後の臨床応用について考察したいと思います。

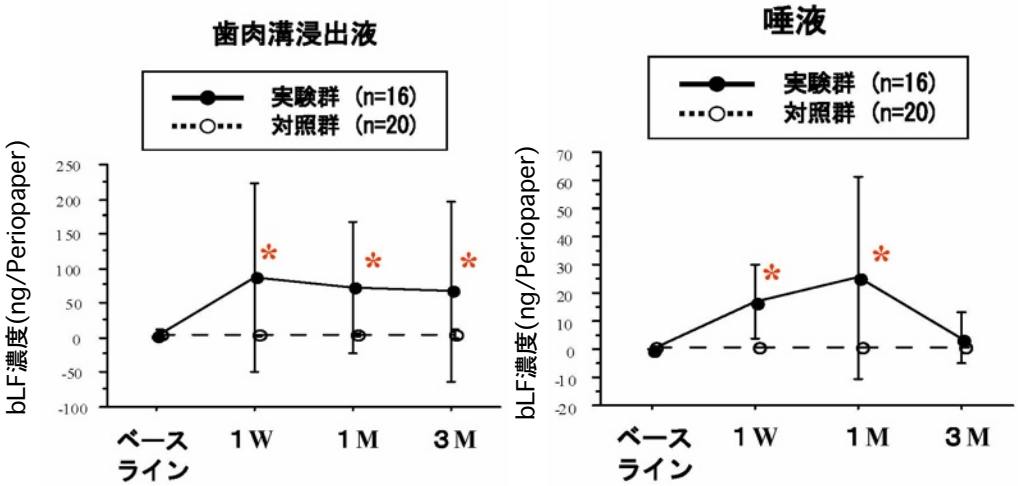


図1 ウシラクトフェリン(bLF)錠菓摂取後のbLF濃度の変化

*:2群間で有意差あり
(P <0.05)
○/●は平均値
バーはSEを示す

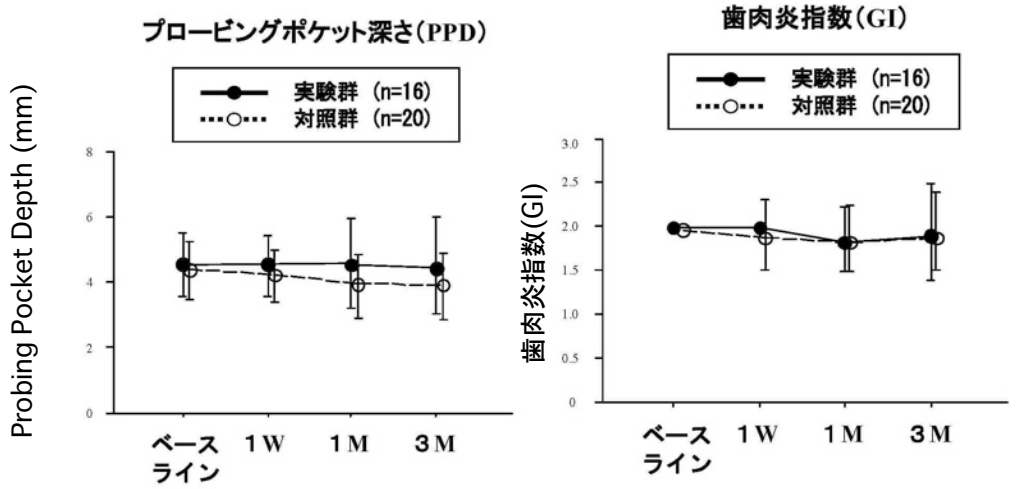


図2 bLF錠菓摂取後の臨床的変化

○/●は平均値
バーはSEを示す

LFによる臨床、細菌、生化学的変化

インフォームドコンセント後に、慢性歯周炎患者18名を、ウシLF(bLF)0.3g配合錠菓（森永乳業）摂取群（実験群8名）とコントロール錠菓摂取群（対照群10名）に無作為に分け、1日3回、1回2錠ずつ3カ月間摂取してもらいました。摂取後のbLF濃度は、対照群と比べて実験群の歯肉溝滲出液（＝歯周ポケット内の浸出液）で有意に高いものの（1）（図1）、副作用はなく、安全性が確認されました。2群間の年齢、性別、喫煙状態、歯種、プラークコントロールレベル（口腔衛生状態）などの歯周病リスク交絡因子はマッチされた状態で、摂取後のプロービングポケット深さ(Probing Pocket Depth: PPD)、歯肉炎指数(Gingival Index: GI)に有意な群間差は認められませんでした（1）（図2）。一方、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis*数の変化量は、摂取1カ月後と3カ月後に歯肉縁下プラークのみに実験群で有意に減少しました（1）（図3）。このように歯周ポケット内でLFのある程度の抗菌効果が実証された一方、それに伴う明らかな臨床的変化は見られませんでした。これは、歯肉縁下プラーク（＝歯周ポケット内の歯垢）細菌叢の変動が臨床的変化に先行するという報告（3）と一致しています。歯肉縁下プラーク細菌に対する生体応答（歯周炎症マーカー）として、ヒトLF(hLF)の有用性が示唆されていますが（4、5）、歯肉溝滲出液・唾液のhLF濃度が実験群で低下傾向にあったことから（1）（図4）、口腔内・歯周組織の炎症がある程度軽減傾向にあると推察されます。

LF+LPOによる臨床、細菌、生化学的変化

インフォームドコンセント後に、慢性歯周炎患者72名を、bLF 0.1g +ウシLPO 1.8 mg配合錠菓（森永乳業）摂取群（実験群37名）とコントロール錠菓摂取群（対照

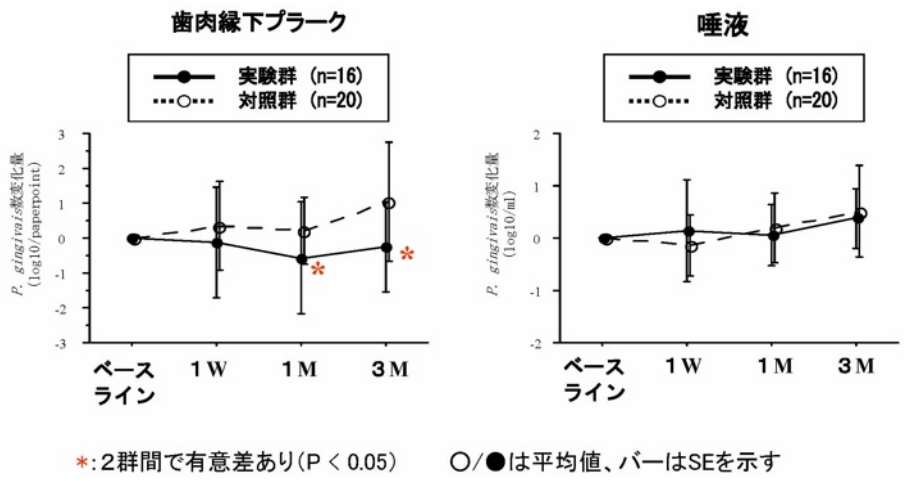


図3 bLF錠菓摂取後の *Porphyromonas gingivalis* 数の変化

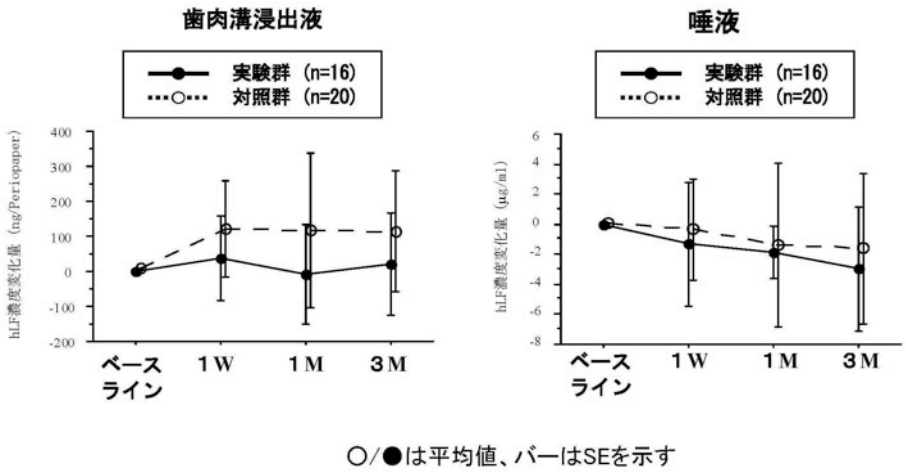


図4 bLF錠菓摂取後のヒトLF(hLF)濃度の変化

群35名)に無作為に分けて、1日3回、1回1錠ずつ3カ月間錠菓を摂取してもらい、副作用がないことが確認されました。摂取後のbLF濃度は、実験群の歯肉溝滲出液・唾液で有意に高かかったものの、前回使用したbLF配合錠菓と比べて1/2～1/10のレベルでした(2)(図5)。歯周病リスク交絡因子が2群間でマッチされた状態で、摂取後の PPDおよびGIに有意な群間差は認められませんでした(2)(図6)。一方、プラーク指数(Plaque Index: PI)をベースラインからの変化量で見ると、1週後で実験群が低下しており群間差が認められました。また、*P. gingivalis*数、hLF濃度も有意な群間差は認められませんでした(2)(図7,8)。これは、歯肉縁下プラーク*P. gingivalis*を抑制するレベルのbLF濃度やLPO濃度を維持できていなかったことが原因と考えられ、同じbLF+LPO配合錠菓を用いた臨床研究の結果(6)と一致していました。

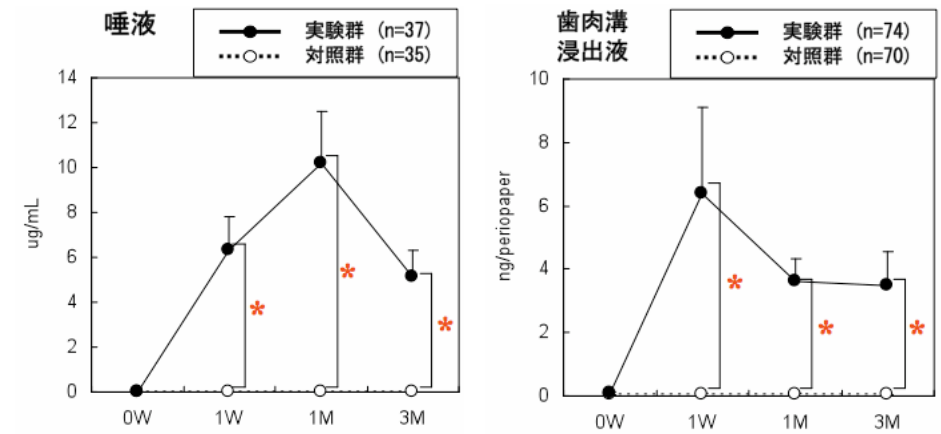


図5 bLF+ラクトパーオキシターゼ(LPO)錠菓摂取後のbLF濃度の変化

*:$P < 0.05$;

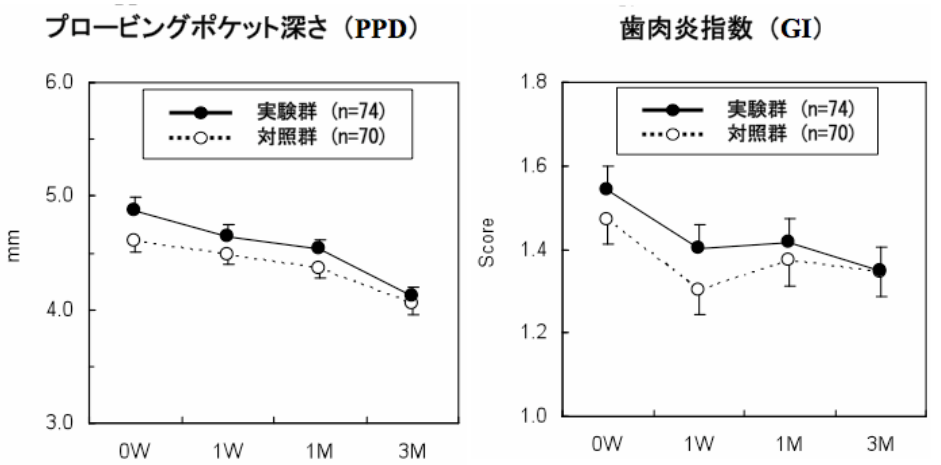


図6 bLF+LPO錠菓摂取後の臨床的変化

○/●は平均値
バーはSEを示す

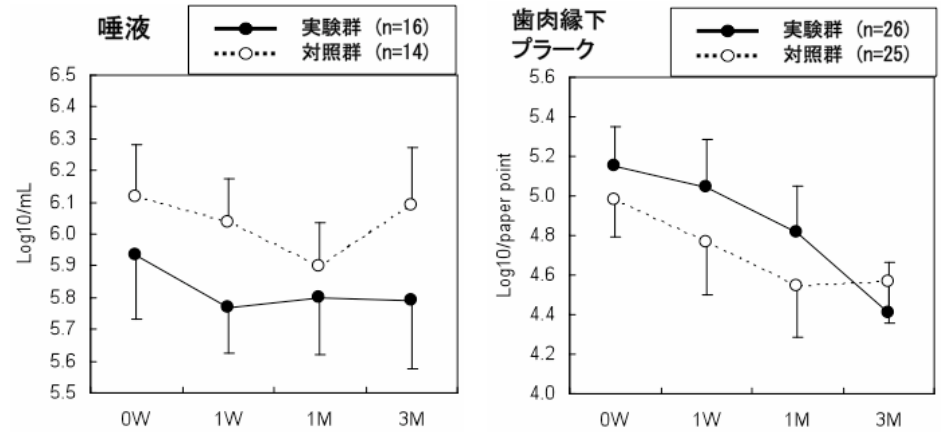


図7 bLF+LPO錠菓摂取後の*P. gingivalis*数の変化

○/●は平均値
バーはSEを示す

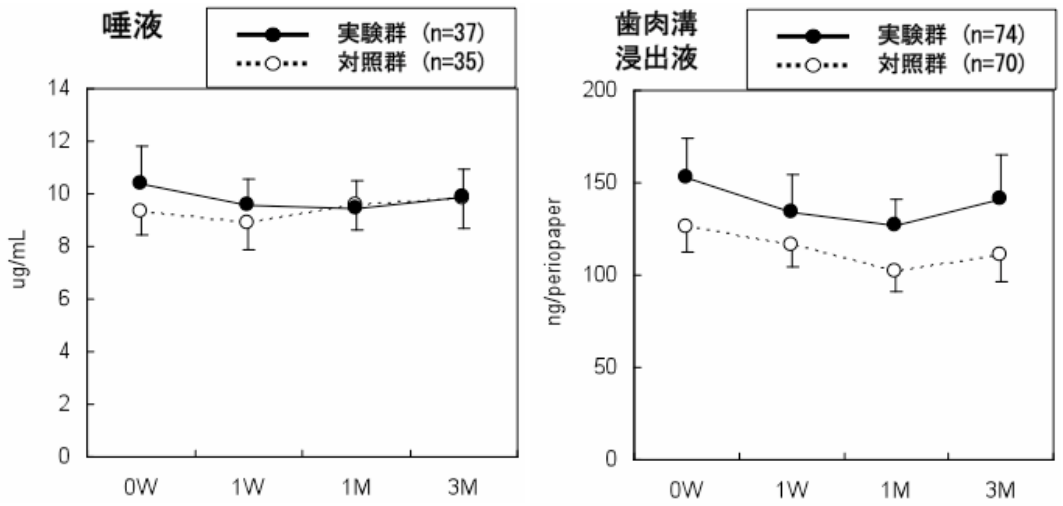


図8 bLF+LPO錠菓摂取後のhLF濃度の変化

○/●は平均値　バーはSEを示す

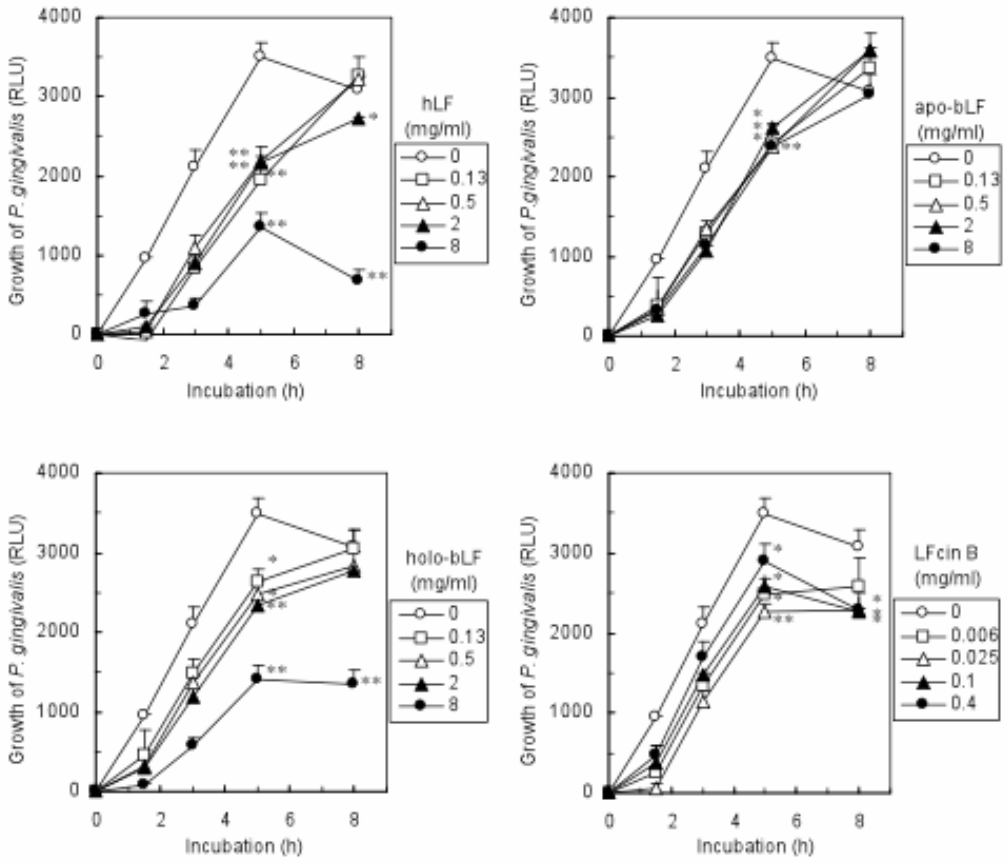


図9 hLF, apo-bLF, holo-bLF, LFcin Bによる*P. gingivalis*増殖の抑制

TSB中で10^4/mL菌を培養し、菌体ATPの化学発光法で発育量を測定(n=3)。

平均値とSDを示す。*:$P < 0.05$; **: $P < 0.01$

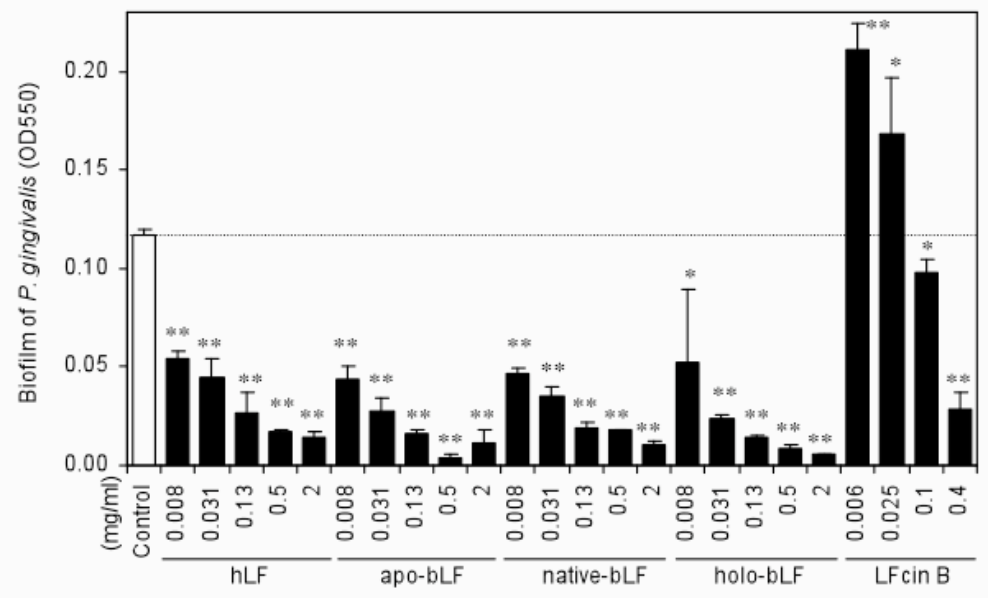


図10 LFによる *P. gingivalis*のバイオフィルム形成の抑制

*:$P < 0.05$

**: $P < 0.01$

歯周病原細菌に対するLFの効果

LFの歯周病原細菌に対する*in vitro*抗菌効果を検証するため、トリプチケイスソイブロス（TSB）嫌気培養法とATP化学発光法を用いて、hLF、bLF（アポ型、ホロ型）、およびラクトフェリシンB（LFcin B）の*P. gingivalis*発育抑制試験を行ないました。その結果、hLFとbLFでは130μg/ml以上で、LFcin Bでは6μg/ml以上で、それぞれ部分的な発育抑制効果が認められました（7）（図9）。一方、*P. gingivalis*バイオフィルム形成の抑制は、hLFとbLF（アポ型、ホロ型）は8μg/ml以上で、LFcin Bでは100 μg/ml以上で、それぞれ認められました（7）（図10）。いずれの試験でも、bLFはアポ型とホロ型で同等の抗菌活性を示し、また、バイオフィルム形成抑制効果はLFcin Bでは弱かったため、鉄キレートやLFcin B部分以外のメカニズムが関与していることが示唆されました。

おわりに

LFを毎日継続的に摂取することで、歯周ポケット内に定着している歯周病原細菌をある程度抑制することが期待できます。また、LFは安全性が保証されており、摂取が簡便であることから小児から老人まで幅広く受け入れられます。更に、手が不自由なため歯ブラシが不十分な有病者や障害者にとっても将来有望な歯周病の予防法になることが期待されます。今後は、より効果的なLFの摂取方法を検討していきたいと考えています。

参 考 文 献

1）近藤一郎 他. 歯周炎患者におけるラクトフェリン経口投与の影響.日歯保存誌2008; 51: 281.

2）Shimizu E, et al. Effects of orally administered lactoferrin and lactoperoxidase-containing tablets on clinical and bacteriological profiles in chronic periodontitis patients. *Int J Dent* 2011;2011: 405139.

3）Lindhe J, et al. Some microbiological and histopathological features of periodontal disease in man. *J Periodontol* 1980;51:264.

4）Adonogianaki E, et al. Lactoferrin in the gingival crevice as a marker of polymorphonuclear leucocytes in periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1993;20:26.

5）Murray MC, et al. The relationship between elastase and lactoferrin in healthy, gingivitis and periodontitis sites. *Oral Dis* 1995;1:106.

6）Shin K, et al. Effect of a composition containing lactoferrin and lactoperoxidase on oral malodor and salivary bacteria: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled clinical trial. *Clin Oral Invest* 2010;DOI 10.1007 /s00784-010-0422-x.

7）Wakabayashi H, et al. Inhibitory effect of lactoferrin on growth and biofilm of *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:3308.

海外学会報告

第10回国際ラクトフェリン学会に参加して

桑田　英文
Hidehumi KUWATA
株式会社 NRLファーマ

1. 学会概要とマサトラン

専門分野を絞った様々な学会があるが、一つのタンパク質を対象に何年にも渡って学会が開催できるのは、数万種類と言われるタンパク質の中でおそらくラクトフェリン（LF）だけではないだろうか。この国際学会が、20年間に渡って開催されていることを、主催委員や発表者の方々に感謝したい。国内から多くの参加者により次回更に盛り上がることを願って本学会参加報告を書くことにした。

表１　国際ラクトフェリン学会の開催年度と開催地

回	開催年度	開催地
1	1992	Honolulu, Hawaii
2	1995	Honolulu, Hawaii
3	1997	Le Touquet, France
4	1999	札幌, 日本
5	2001	Banff, Canada
6	2003	Capri, Italy
7	2005	Honolulu, Hawaii
8	2007	Nice, France
9	2009	北京, 中国
10	2011	Mazatlan, Mexico

今回第10回目の学会はメキシコのマサトラン（図1）で5月8-12日に開催された。表1に過去の学会を示した。 国内からの参加者数は20名強で、前回に比べ3割程減ったようであった。Baker, Brock, Legland, Lönnerdal, 島崎, 津田, Vogelらの著名な研究者によるレビューやオリジナルデータに加え、メキシコ、ペルー、ロシア、ルーマニアといった、いままであまり馴染みのなかった国々から、多くの新しい発表があった。南北アメリカと新しい地域からの参加者が増え、参加者総数は140名程と、例年と変わらなかった模様だ。国内からの発表者を表2に示した。

表２　国内からの発表

口頭	島崎（北大）、津田（名市大）、飯郷（名市大）、アレキサンダー（名市大）、高山（農水）、森下（ライオン）、石井（サラヤ）、筆者
ポスター	川上（共立女大）、川北（慶応大）、織田（森永）

マサトランは、日本からは最短の便でも片道20時間を要する場所にあり、カンクンやティファナと比べて日本であまり知られていない都市だが、メキシコで最大の商業港でもある。趣のある旧市街と海岸沿いに豪華なホテルが立ち並ぶリゾート地で、学会開催には最適な地であった。筆者らは中継地で飛行機の乗継に遅れ、30時間近くを要して真夜中にホテルに入り、雑な乗継手配の航空会社を半ば恨んだが、翌朝、潮騒に目を覚ましベランダに出てそれは感謝に変わった（図2）。海辺のリゾートホテルは深夜にチェックインするに限るようだ。

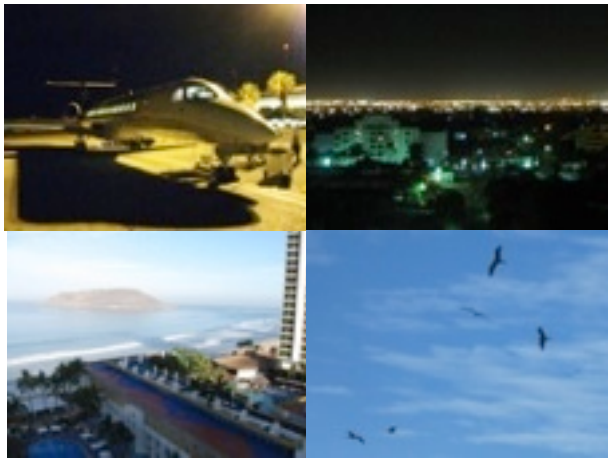


図2 マサトランへの到着と翌朝ベランダから

左上：マサトラン空港に到着したERJ145型機
右上：真夜中のマサトラン市街
左下：翌朝ベランダから
右下：ベランダすぐ前を飛ぶカモメ

図3 オープンカーのタクシーで騙し騙され

図4 四つ玉の信号機

写真は赤信号が点った状態。赤色というより柿色に近いように見える。

マサトランの街には、プルモニア（[西]Pulmonia、[英]Pneumonia、[日]肺炎）と呼ぶオープンカータクシーが走っており、町を歩くとドライバーに乗らないかとしつこく誘われる。学会開催期間中は、5月初めというのに既に日本の真夏並みの暑さだったが、冬場はこの地も寒く、タクシーに乗ると風邪をひきやすいということで、この名前になったらしい。騙し騙されながらの値段交渉も楽しく、観光に活用させてもらった（図3）。オープンカーを病気の名前で呼ぶ人々の更に奥深いところを見た気がしたのが、通りにある四つ玉の信号機である（図4）。赤色の電球さえ切れなければ信号機として最低限の機能が保てるという合理主義で、2つある赤色電球の片方が切れてから電球交換を検討するとのことだ。トランスフェリンファミリーのタンパク質は鉄を赤色の信号と考えれば、二重化され安全を保っているということなのだろうか。

2. 応用分野の傾向とトピック

発表の傾向や研究開発のトレンドをつかむため、発表内容を筆者の独断で再分類し表3に示した。LFの組換え生産は今回の学会でも最も多く発表があった分野である。72演題中15演題が、LFの組み換え生産に関するものであった。

組換え生産は、前回北京での学会で多くの発表があり、単なる一過性のものと考えていたが、それは誤りで、継続的に研究開発がなされているようである。今回は、中国、ロシア、ベラルーシ等の国々から発表があった。その中でも特に中国農業大学及びGen FuCare BiotechのWangらのrhLFの乳牛での生産は、開発の最終段階に至っているとの印象を受けた。300頭の乳牛での大規模生産試験を行い、注意深くデザインされた安全性のデータを発表していた。今後GMPプラントで精製されたrhLFについて、貧血や骨粗しょう症をターゲットに、臨床試験を実施するという。以前、ファーミング社（オランダ）が乳牛を使ったrhLFの生産で先端を走っていたが、中国の官

民一体となった開発により、4年程度で開発を完了させた模様だ。この分野でも中国の躍進がすさまじい。

表3　発表演題の分野とその傾向

分野	口頭［演題数］	ポスター［演題数］	計［演題数］
組換え生産	5	10	15
抗菌・抗ウイルス・抗原虫	7	4	11
細胞・分子生物学	7	3	10
免疫・骨分化・抗炎症・金属代謝・吸収等	5	6	11
レセプター・結合タンパク質	5	4	9
構造・分布・生化学	2	3	5
レビュー	4	0	4
がん予防・がん化	3	1	4
動脈硬化予防	1	1	2
皮膚	1	0	1
合計［演題数］	40	32	72

*演題の多い順で分野を並べ、更に応用、基礎、レビューの大分類で色分けした

次に発表件数が多い分野として、抗菌・抗ウイルス・抗原虫の分野が挙げられる。感染症対策としてLFの応用を考えている中南米の発表者が特に目立った。ラクトフェリシンとラクトフェランピンのキメラペプチドであるLFchimeraについて、前回までは*in vitro*のデータが主だったが、今回は詳細な感染実験の結果を報告していた。Nidiaらのグループでは、腸管病原性大腸菌の毒素の宿主への注入と付着成立に関わるEspAタンパク質の発現を*in vitro*試験で調べ、LFやラクトフェリシンよりも等モルのLFchimeraの方が、数十～数百倍強く抑制することを示した。更にマウスの感染試験で、致死率と便中の腸管病原性大腸菌のコロニー形成率においても、LFよりも強い効果を示唆するデータを示していた。LFchimeraについては、このほかオランダのVeermanがレビューを発表していた。

LFの医薬品開発は、アジェニック社のrhLFの他に、このLFchimeraや、あるいはAM Pharma社のhLF1-11のように、ペプチドとしての開発も盛んである。残念ながらアジェニックス社とAM-pharma社はどちらも本学会での発表はなかったが、関係参加者によると前者は来年キーオープンでファーストトラックにより迅速に上市され、後者のペプチド医薬の開発も適応症を変更してPhase Ⅱに入るとのことである。数年後には、LFを利用した医薬品がいよいよ複数上市される可能性が高い。

がん予防分野では、LFの投与による大腸ポリープサイズの試験結果とそのメカニズムが、名古屋市立大学の飯郷とアレキサンダーにより発表された。ウシLFの経口投与によりポリープサイズは小さくなるが、そのメカニズムとして、血中とポリープ付近での多形核白血球(PMN)の数、及びPMNから放出されるLFとcalprotectinの関係、さらに局所でのIFNα遺伝子の発現について考察しており興味深かった。LFの作用メカニズムとその活性本体について多くの議論があるが、このように全身に加え局所での反応を詳細に調べることで、新たな作用メカニズムが明らかになるのかもしれない。

化粧品分野では、サラヤの石井らが経皮吸収の改良に関する発表を行った。パーム油と糖分を発酵させて作成したソホロリピッドにより、分子量の大きいLFの経皮吸収性が改善されるという。LFは食品・医薬・化粧品素材として古くから注目されているので、耐分解性の付与や吸収性の改良、あるいはペプチド化やタンパク質の修飾、クロムとの結合（前回、台湾のMaoらのグループが発表）、エンドトキシン除去（前回、TaradonのPerraudinと森永乳業の村田がそれぞれ発表）が、ここ数回の学会において、ひとつのトレンドとなっているようだ。これらの研究のうち、いくつかはすでに応用製品が入手可能で、コストアップ以上にメリットがあるものは、市場に広く受け入れられている。今後もこのような差別化は続いていくだろう。

3.基礎分野のトピック

表2に示すとおり、基礎的な分野としては、細胞、免疫、生化学等の研究者から35演題の発表があった（表中　薄緑色）。この分野からは、筆者の独断と偏見で、次の発表を紹介したい。

LFのレセプターとして、インテレクチン、LRP1、フィブロネクチンおよびヌクレオリン等が現在までに報告されている。Rawatらは、2007年にトランスフェリン(TF)の新規なレセプターとして、マクロファージの細胞表面のグルタルアルデヒド三リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH)を同定したが、この学会において、GAPDHをLFのレセプターとしても報告した。Kdは20 μMであり、単球系の細胞で鉄を欠乏させると細胞表面のGAPDHが増え、LFの細胞内への取り込みも増すという。炎症のない通常の血液中ではLFよりもTFの濃度が大きいが、マクロファージの細胞膜上のGAPDHに対してTFとLFは拮抗するのか等、レセプ

図5 プール内に腰掛けカウンターでお酒も
プールサイドがそのままカウンターになっており、水中に椅子がある。

図6 10Lのオレンジジュース(右)が並ぶ棚

ターの機能について今後の研究が期待される。島崎らは、ビフィズス菌膜上のGAPDHをLFのレセプターとして同定しており、こちらはむしろ微生物のGAPDHが外界のストレスをセンシングしている役割に注目している。微生物と動物細胞で、同じ基本的な酵素がレセプターとして独立した研究で同定されるのは何か重要な意味があるのかもしれない。GAPDHをコードする複数の遺伝子は分子系統解析で良く調べられており、いくつかのグループに分けられるが、動物細胞が近傍の炎症をセンシングすることと細菌が外界のストレスをセンシングするのは、同系統の遺伝子産物である膜型のGAPDHに備えられた固有の機能なのだろうか。2つの独自の研究結果の関連が興味深い。

Sokolovらは、LFが鉄排泄剤として使われるデスフェラル(DFO)と同様に、マウスやラットでHIF-1α(低酸素で誘導される転写因子)の分解を阻害し、血清中エリスロポエチン(EPO)を増加させることを報告した。HIF-1αはリン酸化や酸素依存性分解ドメインの修飾によりその極めて短いターンオーバーの調節を受けているが、この修飾をLFが阻害するという。これらの結果は、DFOより安全性の高いLFの応用の可能性(例:脳梗塞、心筋梗塞、神経変性疾患)を示すものであると同事に、がんの転移や血管新生抑制等のメカニズムの説明にもつながる重要な研究であるように感じた。今後、HIF-1αの修飾のどのステージをLFが阻害しているのか、また外来からではない内在性のLFがHIF-1αの分解調節に、通常どのように寄与しているのか等、研究の発展に注目したい。

4.脂質代謝改善効果

今回の学会会場で、人々の生活スタイルで気になることがいくつかあった。図5は会場となったHotel El Cid Castilla Beachのプールの一角だが、プールの中に椅子があって、お客はプールに入ったままでカウンターから直接お酒、ジュース、おつまみをサーブしてもらっていた。オールインクルーシブ宿泊プランで享受できるリゾートホテルの素敵なサービスだが、カロリーの過剰摂取や酔っぱらっての事故はないものか心配になってくる。カウンターに座っている方々のスタイルも太り気味に見えるのは気のせいではないだろう(図5)。学会の合間にスーパーで見かけたジュースもガロンサイズを超え、10Lサイズのものが売られていた(図6)。

LFの作用として脂質代謝改善作用が日本国内市場で広く受け入れられている。前回の第9回学会ではライオンの森下らが腹部脂肪組織のCTスキャン像を指標に試験の結果を発表していたが、今回の学会ではマイクロブタを用いた動脈硬化モデルによるLFの作用を報告した。LFの脂質代謝改善効果は、鳥取大学の原田らが詳細な報

告を初めて行い、その後多くの研究がこれに続いている。LFに見つかった比較的新しい作用であるにも関わらず、既に応用製品が入手可能で、発展が見込まれる成功分野の一つである。LFは長期服用しても、目立った副作用がないから、抗肥満薬が広く受け入れられている北米や中南米で、さらに大きな市場があるのかもしれない。食生活等の背景因子や人種等が異なるフィールドでの臨床試験等も、今後期待されるのではないだろうか。

5.発表内容を絶賛されたと勘違い

筆者は英語が不得意なのと発表原稿作成に前日まで手こずっていたことから、演台で発表原稿をそのまま読むことにした。ワインレセプションで、お前の発表が「Amazing」だとやたら褒められるものだから、いい気になっていたら、原稿を読んでいるのになぜ正確にポインターが指せているのか「Amaging」で、発表内容に言及してくれているのではなかった。穴があったら入りたいとは、このようなことを指すのだろう。ポインターさえも同僚に渡して、必死に原稿を読まざるを得なかった自分の所業であり、反省したい。

6.国内から更に積極的な参加を！

この学会に限らないが、ターゲットを絞った比較的小規模な学会は、地方のリゾート地で行われることが多い。過去のLF国際学会も、アクセスの良い首都で行われたのは北京の1回だけで、Le Toquet（フランス)や或いは今回のマサトランといった、馴染みのない地方で開催されることもある。日本から遠い場所での開催となると、旅費や宿泊費を含めて個人や研究室の旅費範囲等を超えることもあるだろう。今回の学会では、参加費が免除される学生賞に8名が選ばれたが、日本からは該当者が一人もいなかった。これは、国内の若い参加者も数多く参加したが学生賞に申し込まなかったからなのか、或いは単に参加が少なかったからのかどちらかであるが、どうも後者のような気もする。論文は低コストで瞬時に取り寄せ、タブレット端末等でも読め、facebook等で気軽にコミュニケーションできる時代に、何をわざわざ学会に参加するのかという向きもあるだろう。しかしながら、一般に公表されてない

図7 連日のイベントとディナーの様子

ようなデータや手法のヒントをもらえたり、新しい方向性を思いついたり、将来その研究室に誘われたりと、論文だけでは得られない重要な機会となることもあると思う。人間リラックスしないとホントのことは言わないもので、リゾート地で同じ分野の研究者と一緒に飲んだり食べたりのおしゃべりが、それには一番のような気がする。今回、マサトランという素敵なリゾートでの開催に加え、ラテン系のノリのよいイベントに連日予定されたディナーは、それには大きなプラスだったと思う（図7）。

次回は幸いにも、ラテン人の故郷ローマでの開催である。日本から便利な直行便や安価な乗換便の選択もどちらも可能なので、国内の特に若い研究者の方々には参加を促したいところだ。著者は今回乗継便の失敗に続き、勘違いでいい気になった恥ずかしさを味わったから、新しい研究と発表スキルをまた一から勉強し直して挽回したいと思う。ローマは一日にして成らず。

学会賞受賞研究紹介　第3回

成熟脂肪細胞におけるラクトフェリンの脂肪分解促進作用の解析

藤崎央子
Chikako FUJISAKI
ライオン株式会社 生命科学研究所

我々はメタボリックシンドローム発症の主原因の一つである内臓脂肪の蓄積が、ラクトフェリン腸溶錠の摂取により低減されることを明らかにしてきた。本研究ではその作用機序の一端を解明するため、成熟脂肪細胞に対する作用について検討を行い、ラクトフェリンの脂肪分解促進作用を明らかにした。その作用機序として、細胞内cAMP濃度の上昇と、ペリリピンの発現抑制を介していることが示唆された。

筆者らは、ラクトフェリン（以下LF）の脂質代謝改善作用に着目して研究を行っている。これまでにヒト臨床試験を実施し、LF腸溶錠の内臓脂肪低減効果を証明した。その作用機序に関する検討において、まずラットを用いたLFの体内動態解析から、摂取したLFが内臓脂肪に到達することを見出した。そこでラット腸間膜脂肪由来の前駆脂肪細胞を調製して評価した結果、LFの脂肪生成抑制効果を明らかにした。一方、脂肪の重量の増減は脂肪の合成と分解のバランスにより決定される。前述の検討結果よりLFが脂肪の合成を抑制することを明らかにしたが、脂肪の分解に対する作用は未検討であったので、LFの脂肪分解促進作用について検討を行った。

まず、細胞内に蓄積された中性脂肪が分解された際に排出されるグリセロール量を定量することにより、脂肪分解能を評価した。その結果、LFを添加した細胞の培養上清では濃度依存的なグリセロール濃度の上昇が観察され、脂肪分解促進作用が認められた。一方、LFペプシン分解物ではその作用が消失することも明らかとなった（図1）。

次に、LFの脂肪分解作用メカニズム解明を目的として、DNA　マイクロアレイ解析をおこなった。その結果、脂肪分解の主要なメカニズムとして知られるcAMP signaling　pathwayに変動が認められた。また、脂肪滴の周りに局在し、リパーゼ類から脂肪滴の分解を阻止しているペリリピンの遺伝子発現がLF添加群で減少していることが見いだされた。ペリリピンの発現はPPARγによって制御されることが知られている。LF添加群ではPPARγの発現減少も認められた。一方で、脂肪滴を直接分解するリパーゼ類のLFによる遺伝子発現の亢進は認められなかった。以上の解析から、LFによる脂肪分解促進作用仮

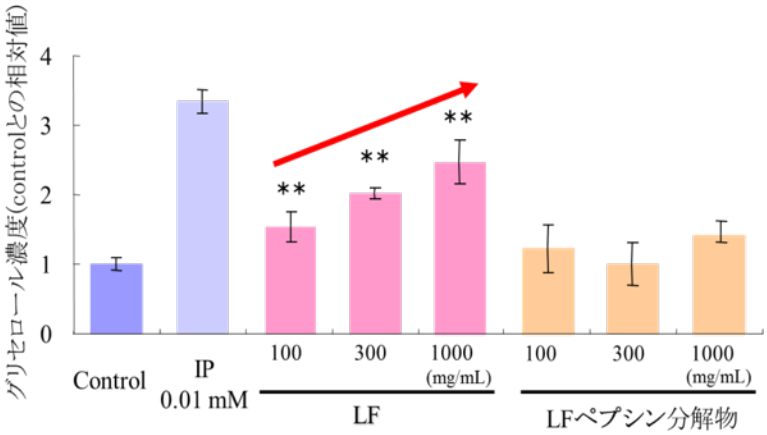


図1. LFとLF-ペプシン分解物による脂肪分解促進作用
Control: 無添加群
IP：イソプロテレノール
Dunnet検定　** P<0.01 vs Control。

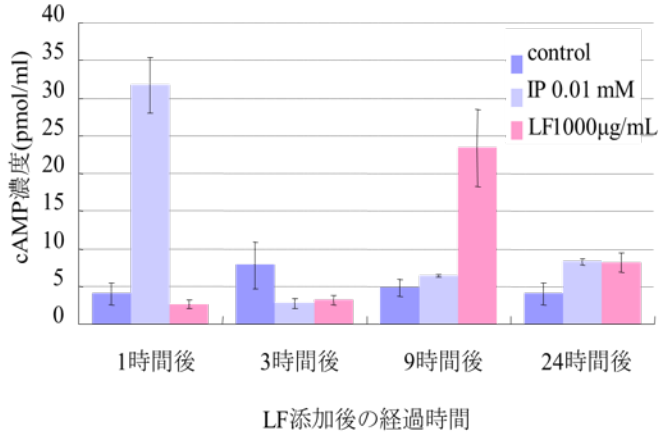


図2. LFによるcAMP濃度の経時的な変化

Control: 無添加群

IP: イソプロテレノール

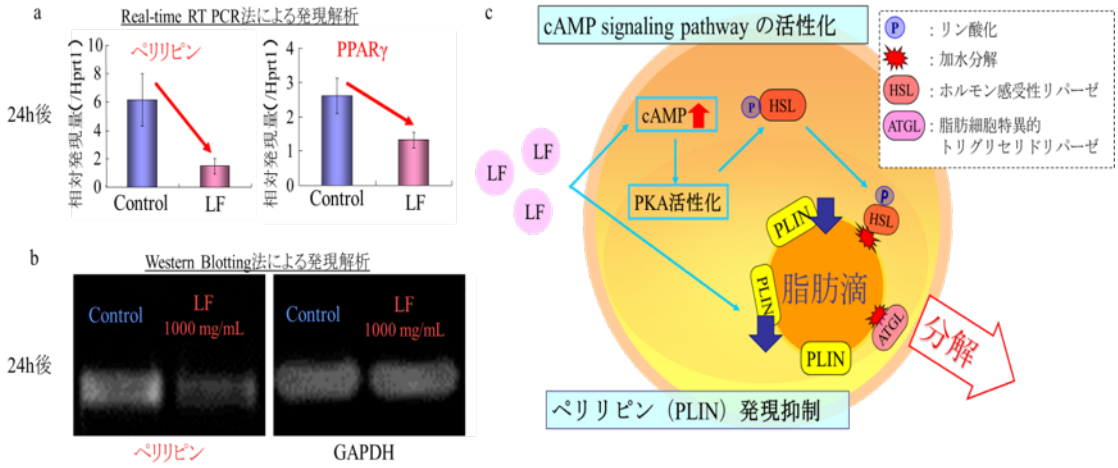


図3. LF添加によるペリリピンとPPARγの発現変動

a.ペリリピン、PPARγのmRNA発現解析 Control: 無添加群 LF: LF 1000μg/ml添加群

HPRT: 内部標準. b. ペリリピンのタンパク質発現解析 GAPDH: 内部標準

c. LFによる脂肪分解促進作用メカニズム

説として、①細胞内のcAMP濃度の上昇、②ペリリピンの遺伝子発現減少、の2つの仮説を設定した。

そこで、LF添加後の細胞内cAMP濃度の経時変化について検討を行った。その結果、イソプロテレノールは比較的速やかに細胞内cAMP濃度を上昇させたのに対し、LFは添加9時間後に最大のcAMP濃度の上昇が認められた(図2)。イソプロテレノールなどβ受容体アゴニストは添加後数十分～1時間程度の短時間で細胞内cAMP濃度を上昇させることが知られているが、LFはイソプロテレノールとは異なる機構を介してcAMP濃度を上昇させ、脂肪分解を促進している可能性が考えられた。さらに、ペリリピンとPPARγについてmRNAレベルとタンパク質レベルでの発現解析を行った結果、遺伝子発現と同様にタンパク質レベルでも発現の減少が認められた(図3)。

以上の結果から、LFが脂肪分解促進作用を有することを見出すとともに、その作用機序として、細胞内cAMP濃度の上昇と、ペリリピンの発現抑制を介していることが示唆された。これまでの結果と併せて考えると、摂取したLFは小腸から吸収されて内臓脂肪に到達し、脂肪生成抑制作用、脂肪分解促進作用の両作用により、内臓脂肪の低減効果を発揮したものと考える。また、LFペプシン分解物では両作用において活性が消失することから、内臓脂肪効果を発揮するためには腸溶製剤として摂取することが有用であると考えられた。今後は、脂肪細胞におけるLFのレセプターやその下流のシグナルについて検討を進める予定である。

【謝辞】 本研究遂行に当たり、ご支援・ご助言をいただきました東京大学加藤久典教授、北海道大学宮下和夫教授、細川雅史准教授、名古屋市立大学飯郷正明研究員、京都市立病院吉田俊秀教授、立命館大学西野輔翼教授に御礼申し上げます。

編集後記

東日本に未曾有の大被害をもたらした震災から、早くも半年が経過しました。被災地での復旧作業は、徐々に進行しつつありますが、放射能の除染も含め、なお復興には10年単位の時間が必要に思われます。一部マスコミで報道されていますとおり、福島第一原発の事故を受けて、ラクトフェリンの放射線防御効果に関心が高まっています。2006年に本学会の前身であるラクトフェリンフォーラムで、（独）放射能医学総合研究所の西村義一先生のグループが「マウスに対するラクトフェリンの放射線防御効果」、石巻専修大学の角田出先生のグループが「ラクトフェリンの事前および事後投与による放射能影響の軽減」と題し、致死量のエックス線をマウス・メダカに照射した場合、ラクトフェリンの事前または事後投与により、生存率が上昇することを報告しておられます。これらは、実験動物を用いた研究であり、実際にラクトフェリンがヒトの放射線障害を軽減する効果を持つか否かについては、今後さらに研究を続ける必要がありますが、その作用メカニズムと共に、進展が望まれるところです。

去る7月12日に、（株）NRLファーマ元代表取締役社長の安藤邦雄博士が、逝去されました。ラクトフェリンのみならず様々なフィールドに造詣が深く、長年にわたり、ラクトフェリンの普及と利用のためにご尽力されました。ここに、謹んで、ご冥福をお祈りします。

ニュースレターの発行も3号を迎えることができました。最後になりましたが、ご多用のところ、本号の原稿の執筆をご快諾いただいた、田中克明先生・小林哲夫先生・桑田英文氏・藤崎央子氏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３号（2011年９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
消化器病センター内
事務局担当：東川　美貴
TEL：045-261-5656
FAX：045-261-9492
E-mail:
lacto@yokohama-cu.ac.jp