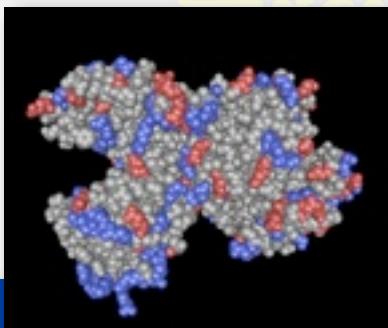


Lactoferrin NEWS

日本ラクトフェリン学会ニュースレター 第6号

2012年10月



1 卷頭言

第5回学術集会開催にあたって 大槻 克文

2. 研究トピックス紹介

ラクトフェリンの骨形成促進作用 高山 喜晴

3. 研究室紹介

鳥取大学農学部獣医学科獣医臨床検査学教室の紹介
竹内 崇

第5回学術集会の特別講演とシンポジウムのご案内

学術集会参加者へのご案内

卷頭言

第5回学術集会開催にあたって

大槻 克文

Katsufumi Otsuki

昭和大学 医学部 産婦人科学教室

(第5回 学術集会 実行委員長)

この度、第5回学術集会を開催させていただくこととなりました。

これまでの会を振り返りますと、第1回は「ラクトフェリンフォーラム」として、北海道大学の島崎敬一先生が実行委員長を務められ、平成16年(2004年)に開催されました。その後、第2回は平成18年(2006年)に名古屋市立大学の津田洋幸先生、第3回は平成20年(2008年)に横浜市立大学の田中克明先生、そして第4回の前回より会の名称を「日本ラクトフェリン学会学術集会」と改め、長浜バイオ大学の三輪正直先生が実行委員長を務められ、各会共に成功裏に開催されました。

ご存じの通り、ラクトフェリンは分子量の大きな蛋白で乳汁、涙液、唾液や血液に含まれ、感染に対する防御あるいは免疫機能の増強等の生体防御反応の第一線を担っていると考えられております。最近では癌予防や肥満予防あるいは疼痛制御など、様々な応用の可能性が明らかになりつつあります。本学術集会は、大学などの教育・研究施設と企業の研究施設などの様々な分野にわたる研究者が集い、最新の知見を交換・共有し、科学的な根拠に基づいた質の高い成果を得ることを目標としております。また、それらの成果を世界に発信することにより、学術的に広く社会福祉に貢献することも目的の一つです。

以上の背景から、今回の学会では「ラクトフェリン研究の更なる躍進を目指して」をメインテーマといたしましたところ、32演題の応募をいただきました。その中から、「ラクトフェリンと女性の健康」をサブテーマとしてシンポジウムを構成いたしました。また、特別講演としてはInternational Scientific Committee of LactoferrinのChiefであるUniversity of CaliforniaのBo Lönnerdal教授に”Lactoferrin and Lactoferrin receptors during infancy”と題してご講演をいただく予定しております。

本学会が、ラクトフェリン研究の「更なる躍進」を経て、参加された皆様にとって“実りある”学会となりますことを期待いたします。

最後ではございますが、本学会開催にあたり、多大なるご協力・協賛をいただきました関係者の皆様に深く感謝申し上げます。

研究トピックス紹介

ラクトフェリンの骨形成促進作用

高山 喜晴

Yoshiharu TAKAYAMA

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

ここ10年のラクトフェリン研究の大きな進展の一つが、骨形成を担う骨芽細胞と、骨吸収を担う破骨細胞に対するラクトフェリンの機能の解明です。また、ラクトフェリンは免疫調節機能を持つ蛋白質としてよく知られていますが、破骨細胞の分化には、免疫系のシグナル伝達経路とのクロストークが重要であることが明らかになっています。現在明らかになっているラクトフェリンの骨組織に対する機能について、直接的な効果と間接的な効果の両面から、紹介したいと思います。

骨芽細胞と破骨細胞による骨組織の代

謝

骨組織は堅固な組織であることから、その構成成分は生体内で長期間保持されるとみなされやすいですが、実際には絶えず合成と分解を受けて新陳代謝されます。(ヒトの場合、8–10年で全ての構成成分が入れ替わると言われています。)この骨組織の新陳代謝は、リモデリングと呼ばれ、組織の柔軟性を確保するのに役立っています。骨組織は、骨構成細胞(骨芽細胞・骨細胞・破骨細胞)と、その間を埋める骨基質によって構成されて

いますが、他の組織と比較して細胞外基質の割合が非常に高いのが特徴です。骨組織の細胞外基質物質の大部分はI型コラーゲンです。これにリン酸カルシウム(ハイドロキシアパタイト)の結晶が沈着することで、物理的に強度の高い硬組織が形成されます(これを石灰化と呼びます)。骨芽細胞は、間葉系幹細胞から分化し、I型コラーゲンおよび非コラーゲン性の骨基質蛋白質(オステオカルシン・オステオポンチン)を产生します。骨芽細胞により產生されたばかりで、まだ石灰化されていない骨基質は、オステオイド(類骨)と呼ばれます。骨芽細胞はアルカリフォスファターゼを多く含む基質小胞を分泌し、

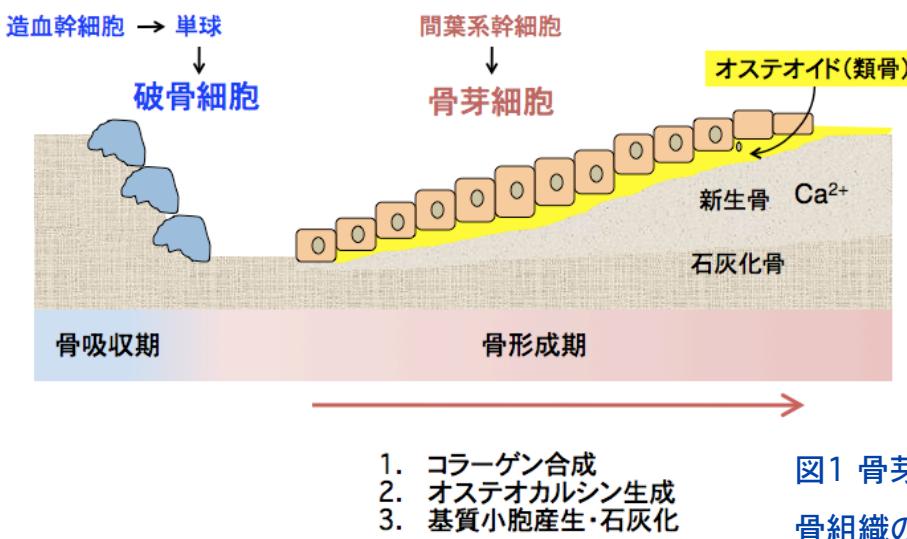


図1 骨芽細胞と破骨細胞による
骨組織の代謝回転

石灰化の阻害因子であるピロリン酸を分解することで、オステオイドが石灰化され新生骨が形成されます(図1)。

一方、破骨細胞は複数の単球・マクロファージが融合を繰り返すことで形成される多角の巨大細胞です。酸を放出することでヒドロキシアパタイトを溶解(脱灰)すると共に、プロテアーゼ(カテプシンやマトリックス・メタロ・プロテアーゼ)を分泌して、I型コラーゲンなどの骨基質蛋白質を分解します。破骨細胞が骨基質を溶解した後の空間に骨芽細胞が進入し、骨基質を合成することで、骨組織の代謝回転が行われます。

骨吸収が骨新生を上回る状態が継続すると、骨密度が減少し、骨粗鬆症の発症に至ります。一方、骨形成の過剰は、大理石病を引き起こすことが知られており、骨を健康な状態で維持するためには、骨形成と骨吸収のバランスが重要とされています。

骨芽細胞に対するラクトフェリンの機能

牛乳は良質のカルシウム源・栄養源として知られており、乳清に含まれる塩基性蛋白質(Milk Basic Protein : MBP)が、骨芽細胞の増殖を促進すると共に、I型コラーゲンの産生を促進することは、以前から報告されていました[1]。2004年にオークランド大学のCornishのグループが、ラクトフェリンが、ヒト初代培養骨芽細胞およびヒト由来株化骨芽細胞(Saos-2)の増殖を促進することを報告しました[2]。これが、ラクトフェリンの骨芽細胞に対する機能を示した最初の報告です。トランスフェリンに骨芽細胞の増殖を促進する機能はみとめられず、アポラクトフェリン(鉄解離型ラクトフェリン)の骨芽細胞増殖促進効果はホロラクトフェリン(鉄結合型ラクトフェリン)と変わらないことから、ラクトフェリンの骨芽細胞に対する活性は結合鉄によるものではないとされています。ラット初代培養骨芽細胞を用いた実験により、ラクトフェリンが骨様結節(bone nodule)の形成を促進することが示され、ラクトフェリンが骨芽細胞の分化も促進することが示唆されました。

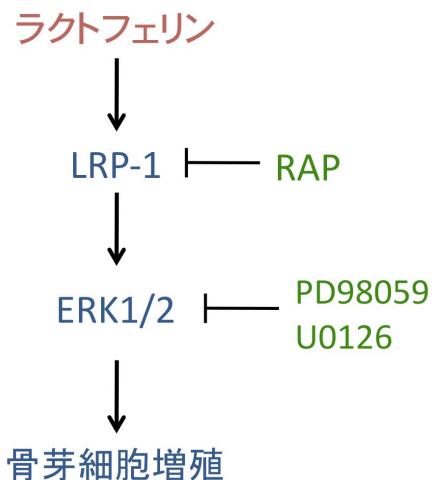


図2 ラクトフェリンによる骨芽細胞の増殖促進メカニズム

た[2]。その後、株化骨芽細胞であるMG63やMC3T3を用いた研究により、ラクトフェリンがI型コラーゲンやオステオカルシンなどの骨基質蛋白質の産生や、アルカリ fosfatas エターゼ活性化を促すなど、骨芽細胞の分化形質の発現を促進することが明らかになっています[3,4]。ラクトフェリンが、骨芽細胞の分化や増殖を促進するメカニズムについては、よく分かっていません。ラクトフェリンは、骨芽細胞のERK1/2(p42/44 MAPK)経路を活性化します[5]。ERK1/2経路の阻害剤(PD98059およびU0126)は、ラクトフェリンの骨芽細胞増殖促進活性を阻害するので、ラクトフェリンはERK1/2経路依存的に、骨芽細胞の増殖を促進していると考えられます[5]。骨芽細胞をLRP(LDL Receptor-related protein: 低密度リポ蛋白質受容体関連蛋白質)の阻害因子である、RAP(Receptor Associated Protein: 受容体結合蛋白質)や、抗LRP-1抗体で処理すると、ラクトフェリンによるERK1/2の活性化と骨芽細胞に対する増殖促進作用が阻害されます[5]。つまり、ラクトフェリンはLRP依存的にERK1/2経路を活性化し、骨芽細胞の増殖を促進していると考えられます(図2)。

一方、ラクトフェリンは培養骨芽細胞の血清飢餓によるアポトーシス(細胞死)を防ぐ機能を持っています[2]。このラクトフェリンの機能はRAPやERK1/2の阻害剤では阻

害されないことから、ラクトフェリンの骨芽細胞に対する機能の全てがLRP1/2やERK1/2に依存している訳ではないことがわかります[6]。

破骨細胞に対するラクトフェリンの機能

前述のように、骨形成と骨吸収はカップリングしており、古くなった骨組織を破骨細胞が破壊・吸収した場所に、吸収された骨と同じ量の骨が骨芽細胞により形成されます。骨芽細胞は、破骨細胞の分化を誘導する能力があり、破骨細胞の分化には、骨芽細胞の産生する破骨細胞分化促進因子であるRANKL(Receptor Activator of NF- κ B Ligand)の刺激が必要です。したがって、骨形成を制御する因子は、骨形成と骨吸収を同時に促進する因子と、骨形成を促進しながら骨吸収を抑制する因子があり、ラクトフェリンは後者に属します。

2002年にLogetらは、破骨細胞の前駆細胞である末梢血単核球を含む混合培養の系を用い、ラクトフェリンがこれらの骨吸収活性を阻害することを報告しました[7]。一方で、単離したラット破骨細胞に対するラクトフェリンの効果を検討した研究によると、ラクトフェリンは破骨細胞の分化を阻害しますが、成熟した破骨細胞の骨吸収活性自体には影響を与えないようです[2]。マウス由来のマクロファージであるRAW264.7細胞をRANKLで刺激すると、破骨細胞のマーカーである酒石酸耐性フォスファターゼ(TRAP: Tarrate- Resistant Acid Phosphatase)陽性細胞の数が増加しますが、ラクトフェリンはこれを阻害します[8]。これらの結果から、ラクトフェリンは、破骨細胞の分化を阻害し、その数を減らすことで骨吸収を阻害すると考えられます。ラクトフェリンが破骨細胞の分化を阻害するメカニズムはよく分かっていないが、ラクトフェリンのRAW264.7細胞に対するTRAP発現抑制効果はRAPにより阻害されないので、LRP以外の受容体が関与しているものと思われます[8]。

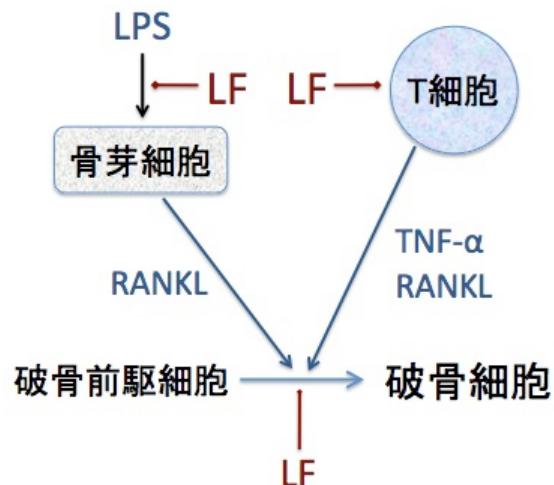


図3 ラクトフェリン(LF)による直接的あるいは骨芽細胞や骨髄T細胞を介した破骨細胞の分化制御

免疫系を介した破骨細胞の機能制御

LPS(リポポリサッカライド)は、グラム陰性菌の細胞壁に由来する内毒素(エンドトキシン)であり、炎症誘導物質です。ラクトフェリンはLPSと強固に結合することが知られており、ラクトフェリンの抗炎症メカニズムの一つに、LPSの活性阻害作用が挙げられます。マウス骨髄由来の間葉系幹細胞であるST2細胞およびマウス初代培養骨芽細胞をラクトフェリンで前処理すると、LPSにより誘導されるNF κ B依存的なRANKL産生やTNF α 産生が抑制されます[9]。LPS存在下で骨芽細胞と、破骨前駆細胞を混合培養すると、TRAP陽性細胞が誘導されますが、これはラクトフェリン処理により阻害されます[9]。個体レベルにおいても、LPS投与による歯周組織の破骨細胞の誘導はラクトフェリンにより阻害されることが報告されています[10]。

卵巣を摘出した閉経モデルマウスでは、骨吸収抑制作用を持つエストロゲンの欠乏により、骨吸収が骨形成を上回るようになり、骨ミネラル密度(BMD)が低下します。卵巣摘出マウスへのラクトフェリンの経口投与により、骨ミネラル密度(BMD)の減少が抑制されます[4]。さらに、卵巣を摘出したラットでも、ラクトフェリ

ン投与が、骨密度低下を防ぐ報告があります[11]。卵巣摘出マウスでは、骨髓でCD69陽性の活性化T細胞が増加すると共に、T細胞における炎症性サイトカイン(TNF- α)の発現が上昇し、血清中のTNF- α 濃度およびRANKL濃度が上昇します。ラクトフェリンの投与により、骨髓T細胞のCD69の発現、TNF- α 産生、血清中のRANKL濃度の上昇は全て抑制されます[12]。炎症性サイトカインは、破骨細胞の分化誘導因子および活性化因子として知られています。また、T細胞は、炎症性サイトカインを産生すると同時に、骨芽細胞と同様にRANKLを発現することにより、破骨細胞の分化誘導を促す機能を持ちます。上記の結果から、ラクトフェリンは骨髓T細胞の活性化を抑制することにより、間接的に破骨細胞による骨吸収を抑制している可能性が示唆されます。

軟骨細胞に対する機能

ラクトフェリンは初代培養軟骨細胞の増殖を促進します[4, 13]。また、主要な軟骨基質であるII型コラーゲンの産生を促します。マウス由来の株化胚性癌細胞であるATDC5細胞の軟骨分化の系では、ラクトフェリンはATDC5の増殖を促進し、初期軟骨分化を促進しますが、軟骨分化の後期に認められる肥大化軟骨細胞の形成を阻害します[14]。

おわりに

高齢化社会の進展に伴って、骨粗鬆症・リウマチなど骨格系を侵襲して運動機能を阻害する疾患の予防・治療の重要性は、今後ますます増していくと思われます。これまでに、破骨細胞による骨吸収を阻害する化合物は多く発見されていますが、骨芽細胞による骨形成を促進する物質の例は少なく、今後の研究の進展が期待されます。

参考文献

- 鳥羽保宏ら 日本農芸化学会誌 77, 36-37 (2001)
- Cornish J., et al., Endocrinology 145, 4366-4374 (2004)
- Takayama Y., and Mizumachi K. Biosci. Biotechnol. Biochem. 72, 226-230 (2008)
- Blais A., et al., Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 296, E1281-E1288. (2009)
- Grey A., et al. Mol. Endocrinol. 18, 2268-2278 (2004)
- Gray A., et al., Mol. Cell Endocrinol. 251, 96-102. (2006)
- Lorget F., et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 296, 261-266. (2002)
- Cornish J., and Naot D., Biomaterials 23, 425-430. (2010)
- Inubushi T., et al., J. Biol. Chem. 287, 23527-23536. (2012)
- Yamano E., et al., Lab. Invest. 90, 1236-1246. (2010)
- Guo H.Y., J. Nutr. 139, 958-964. (2009)
- Malet A., et al., Bone 48, 1028-1935. (2011)
- Brandl Z., et al., Osteoarthritis Cartilage. 18, 117-125. (2010)
- Takayama Y. and Mizumachi K. Biomaterials 23, 477-484. (2011)

研究室紹介 第2回

鳥取大学農学部獣医学科 獣医臨床検査学教室の紹介

竹内 崇

Takashi TAKEUCHI

鳥取大学農学部獣医学科

獣医臨床検査学 教授

鳥取大学農学部のロケーション

鳥取県は自然豊かな日本海に面しており、鳥取大学は医学部のある米子キャンパス(米子市)と、地域学部、工学部および農学部のある湖山キャンパス(鳥取市)に分かれています。夏は日本海の美しい砂浜で海水浴、冬は大山や氷ノ山などのスキー場も近距離にあり、一年中を通して自然を満喫できる恵まれた環境にあります。湖山キャンパスから車で約15分の鳥取砂丘には全国共同利用施設である鳥取大学乾燥地研究センターが設置され、世界中の乾燥地の気候をリアルタイムで再現できるアリドームや、黄砂を監視するインターナショナル・アリド・ラボ実験棟が設置され、乾燥地農業の研究が盛んに行われています(図1)。



図1 鳥取砂丘

農学部は大正9年に鳥取高等農業学校として設立され、今年で91年目を迎えます。私が所属する獣医学科は昭和14年に設置されました。「因幡の白兎」の伝説で知られる白兎(はくと)海岸は大学から車で5分の距離にあり、この海岸を通りかかった大国主命が、サメを騙して傷ついたウサギを蒲の穂で包んで治したことから、白兎海岸は動物医療発祥の地?という昔話もあります(図2)。現在の農学部は、生物資源環境学科と獣医学科の2学科体制となっています。農学部では二十世紀梨の研究がよく知られていますが、最近では、平成17年に設立された菌類きのこ遺伝資源研究センターには世界最大規模のきのこ遺伝子が保有されています。また、同時に設立された鳥由来人獣共通感染症疫学研究センターでは、高病原性鳥インフルエンザ研究を行っており、国内



図2 白兎海岸

各地から持ち込まれた検体の病原性鑑定をはじめ、東アジア諸国と連携して鳥インフルエンザの疫学研究を進めており、この分野での国内研究拠点の一つとなっています。動物臨床の分野では、カニから抽出されるキチン・キトサンを用いた創傷治癒や免疫増強などの研究が知られていますが、未利用資源の有効活用は全学的なプロジェクトテーマとして推進されています。

獣医臨床検査学教室

私の所属する獣医臨床検査学教室は、平成17年4月に設置された新しい教育研究分野です。2年前に第1期生の4名が卒業しました。現在の教員は私と杉山晶彦准教授の2名で、院生（連合獣医学研究科博士課程1名、農学研究科修士課程1名）と学部生（6年3名、5年3名、4年2名）の総勢12名からなる小規模の研究室です（図3）。臨床と名がつくからには、附属動物医療センターで動物の診療も行っています。主に担当している診療科は一般内科、検査科、神経科を中心ですが、疾患によっては画像診断や外科の先生と連携して治療にあたります。学生も診療に参加し、日々研鑽を積んでいます。



図3 研究室対抗バレー大会にて

研究テーマは、疼痛やストレスの緩和、ALPアイソザイム分析、抗癌剤の副作用軽減など、動物臨床に関連した研究を行っており、研究成果を病気の診断や動物のQ

OL向上に役立てることを目指しています。昔に比べて動物の寿命が長くなり、それにともなって腫瘍性疾患の割合が格段に増えています。癌性疼痛に苦しむ動物も珍しくありません。また、椎間板ヘルニアに代表されるような脊髄疾患の発生も非常に多くみられ、長期にわたるケアが必要となっています。学生には、獣医師とは動物と飼い主の間に立ち、双方の心のケアもしなければならない、と指導しています。

ラクトフェリンは母親から子への贈り物？

私がラクトフェリンの研究に携わるようになったきっかけは、平成6年に鳥取大学獣医学生理学教室に教授として赴任された原田悦守先生との出会いです。当時、獣医学生理学教室の助手であった私の研究テーマは、様々な動物における中枢神経系機能の生後発達に関するものでした。原田先生は消化管や臍臓機能の調節がご専門でしたので、母乳成分の消化吸収を研究されるうちに、ラクトフェリンに着目されたのでした。赤ちゃんの安らいだ表情は、母親の愛情と母乳中のラクトフェリンのおかげ?との思いから、それまでは誰も注目していなかったラクトフェリンの中枢作用に関する研究がスタートしました。その結果、経口摂取したラクトフェリンが腸管から吸収され、その一部が脳脊髄液に到達することが明らかとなり、その時点で、ラクトフェリンは中枢神経に対して何らかの作用を有することを確信しました。

ラクトフェリンの中枢作用といつても何から調べるか悩んでいたところ、「赤ちゃんと母乳」というキーワードが頭に浮かび、ラットの新生子を母ラットから離したときの不安関連行動に着目しました。子ラットを1匹だけ隔離すると、母ラットや同腹ラットを探して動き回ろうとしますが、新生子は運動機能が未発達であるため、移動距離では解析できません。そこで、水を入れたゴム球の上にプラスチックトレイを置き、その上に子ラットを乗せることを思いつきました。子ラットの体動がゴム球の水に振動として伝わり、その振動を圧トランスデューサーで電気信号に

変換して数量化する装置を作成しました。手作りでしたが、予想以上の働きをしてくれました。また、東京大学比較病態生理学研究室の局 博一教授のご指導により、子ラットが不安状態の際に発する超音波を計測することで、ラクトフェリンの抗不安作用を確実に証明することができました。その後、ラクトフェリンの鎮痛作用、モルヒネ耐性遅延効果などが明らかになり、今日も、その延長線上の研究を進めています。

原田先生はマウスから牛にいたるまで様々な動物について初乳成分の吸収動態を精力的に研究され、獣医学科ならではの研究スタイルを貫かれたという印象があります。また、積極的に共同研究を進められ、2004年にラクトフェリンの脂質代謝改善効果、2006年には腸溶性ラクトフェリンによる腸管吸収効率の向上を明らかにされています。さらに、研究成果を広く応用するため、人の健康維持に役立てるための研究まで踏み込んでおられました。

平成17年に原田先生が定年退職された後も、私はラクトフェリンを研究テーマの中心に置いてきました。現在は、物言わぬ動物の苦しみを少しでも和らげ、飼い主の精神的負担を少しでも軽くできれば、との思いで研究に取り組んでおります。



【自己紹介】

たけうち たかし 1963年生 岡山県出身。

鳥取大学農学部卒、鳥取大学大学院農学研究科修士課程修了。

東京大学で学位取得後、在外研究員としてニューヨーク州立大学バッファロー校に10ヶ月間留学。平成23年4月から附属動物医療センター長。

最近、実験で細かい手術を行った後、重度の肩こりに悩まされています。

帰宅すると、愛犬のチワワが玄関で出迎えてくれます。でも、家族はだれも応答なし…。

鳥取市湖山町南4-101

Tel/Fax 0857-31-5645

Mail: takeuchi@muses.tottori-u.ac.jp

第5回学術集会の特別講演とシンポジウムのご案内

特別講演(10:10-11:10)

Lactoferrin and lactoferrin receptors during infancy

Prof. Bo L Lönnerdal

(Nutrition and Internal Medicine, University of California, Davis)

【シンポジウム1】 ラクトフェリンと女性の健康(全年齢)

(S-1) 健常女性におけるラクトフェリン含有食品継続摂取による体感アンケート調査

中野 学 (森永乳業株式会社食品基盤研究所)

(S-2) 皮膚へのラクトフェリンの作用に及ぼすソホロリピッドの影響

鈴木 靖志 (サラヤ(株)バイオケミカル研究所)

(S-3) ラクトフェリンの抗ストレス、抗鬱効果

竹内 崇 (鳥取大学農学部獣医臨床検査学教室)

(S-4) ラクトフェリンによる早産抑制効果について【関連演題】

大槻 克文 (昭和大学医学部産婦人科学教室)

【シンポジウム2】 ラクトフェリンと女性の健康(更年期)

(S-5) ラクトフェリンによる骨吸収抑制作用とその分子生物学的メカニズムの検討

犬伏 俊博(広島大学大学院医歯薬保健学研究院口腔顎顔面病理病態学講座)

(S-6) 骨芽細胞様細胞を用いた石灰化促進作用に対するラクトフェリンの効果

出雲 信夫 (横浜薬科大学)

(S-7) ラット内側性骨欠損に対するラクトフェリンの影響

吉巻 友裕(日本大学大学院歯学研究科)

(S-8) ラクトフェリンによる更年期症状改善効果の探索的検討【関連演題】

大久保 和俊 (玉川レディースクリニック)

第5回学術集会参加者の皆様へ

日本ラクトフェリン学会第5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/2012/index.html>

日時:2012年10月27日(土)10:00-19:00

受付は9:00より開始

会場:昭和大学 旗の台キャンパス

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)

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

〒142-8666 東京都品川区旗の台1-5-8

昭和大学医学部産婦人科学教室 担当:徳中、大場

TEL:03-3784-8551, FAX:03-3784-8355

E-mail:lacto2012@med.showa-u.ac.jp

日本ラクトフェリン
学会ニュースレター
第6号 (2012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

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