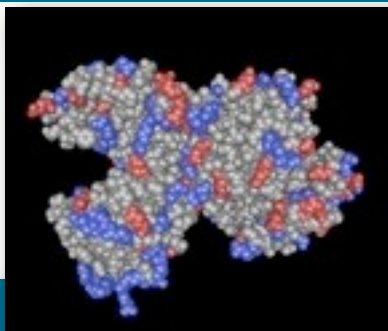


# Lactoferrin NEWS

日本ラクトフェリン学会ニュースレター 第1号

2011年1月



## 1 理事長あいさつ

日本のラクトフェリン研究  
の基地 津田洋幸

## 2 第4回学術集会開催報告

第4回学術集会をふりか  
えって

大会実行委員長 三輪正直

## 3 研究トピックス紹介

ラクトフェリンの抗がん作  
用について 飯郷正明

## 4 学会賞受賞研究紹介

ウシラクトフェリンによる  
HTLV-1抗腫瘍効果につい  
て 田中正和

5 第10回 国際ラクトフェリン  
会議（メキシコ・マサトラン）の  
ご案内

## 理事長あいさつ

### 日本のラクトフェリン研究の基地



津田 洋幸

Hiroyuki TSUDA

名古屋市立大学特任研究室

ラクトフェリンは大きな蛋白質で乳汁、涙液、唾液や血液に含まれ、感染因子に対する防御の第一線を担っていると考えられ、各国で多くの研究がなされて来ました。最近、我が国では癌予防や肥満予防あるいは疼痛制御等の全く新しい機能への関与が見いだされ、注目されるようになってきました。それらの多岐な機能は、ラクトフェリン分子自体あるいはその消化フラグメントによる多様な作用によることが解明されつつあります。

このように一見相互に関係のないような複雑多様な生理活性を示す分泌蛋白質の研究には、様々な分野からの学際的アプローチと得られた情報の密な交換が不可欠です。その目的で、2004年に「ラクトフェリンフォーラム」が設立されて学術集会を隔年に開催してきました。この度、研究成果の一層の交流促進と知見の共有を図るために「ラクトフェリン学会」に改組し、新たに出発することになりました。ラクトフェリンの疾病の予防・治療への応用研究の展開と成果を世界へ発信する場になると信じております。第1回の学術集会は、長浜バイオ大学の三輪正直教授によって2010年11月に滋賀県長浜市にて開催され、新しい知見が次々と発表され、まさに日本のラクトフェリン研究の礎となったと考えております。第2回は2012年に昭和大学医学部の大槻克文先生のお世話で東京にて開催されます。さらに多くの発表者が集い、新しい成果が発表されて日本のラクトフェリン研究をさらに押し上げる集会になることを期待しています。

「ラクトフェリン学会」の設立に携わってこられた「ラクトフェリンフォーラム」の運営委員の皆様のご努力に深謝申し上げるとともに、会員各位の研究の発展を得て、それを世界に発信する基地となることを願っています。

## 第4回学術集會をふりかえって

**三輪 正直**

Masanao MIWA

第4回学術集會 実行委員長

本学術集會は、公的研究機関に属する研究者と企業の研究者とが交流し、ラクトフェリン研究成果の情報を共有し、ラクトフェリンに関する研究情報の発信と、正しい知識の普及に努め、医学系の基礎から臨床、食品などの応用関連まで、幅広く学際的な視野を有する研究者の育成を図るものであります。

ラクトフェリンフォーラムとしての第1回学術集會は、2004年に北海道大学の島崎敬一先生、第2回は2006年に名古屋市立大学の津田 洋幸先生、また第3回は2008年横浜市立大学の田中 克明先生が実行委員長を務められ、いずれも盛会裏に行われてきました。



シンポジウムでの質疑応答の様子



西野輔翼先生による特別講演

2010年11月13日、日本ラクトフェリン学会に改組しての最初の学術集會として「ラクトフェリン研究の新たな発展を期して」とテーマを掲げ、長浜バイオ大学にて、第4回学術集會を開催させていただきました。津田 洋幸理事長からの学会設立の挨拶と設立主旨の説明に引き続き、(株) デイリーテクノの富田 守社長から、学会発足の祝辞をいただき、我が国におけるラクトフェリン研究の歴史から、ラクトフェリンの工業的生産手法が確立されるまでの経緯についてご紹介いただきました。特別講演では、京都府立医大名誉教授兼特任教授・立命館大学特別招聘教授の西野 輔翼先生をお招きし「ラクトフェリンの予防医学分野への活用」と題して、基礎研究が予防医学への応用につながってきた経緯と今後の明るい展望を語っていただきました。



### ポスター会場での討論

一般演題として、「ラクトフェリンの抗微生物作用」をテーマにしたシンポジウムを含めて全部で16題の口演と20題のポスター演題があり、熱のこもった発表と質疑応答が続きました。また前回大会に引き続き、「ポスターレビュー」を行い、全ポスター演題のエッセンスについて、岩手大学農学部の佐藤 れえ子先生と畜産草地研究所の高山 喜晴先生に紹介いただきました。

全演題を対象に、座長と監事による投票を行った結果、基礎部門では「日本ラクトフェリン学会賞」として、田中 正和氏(関西医科大学 微生物学講座)の「ウシラクトフェリンによるHTLV-1抗腫瘍効果について」、安藤 堅氏(東京薬科大学 薬学部)の「ヒトラクトフェリンによるTLR4シグナル



### 懇親会での学会賞・富田賞の表彰

の調節：自然免疫の緩和な亢進とLPSによる炎症の抑制」の2題が、また応用部門では、「日本ラクトフェリン学会富田賞」として、藤崎 央子氏(ライオン株式会社 研究開発本部)の「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」、川添 亜希氏(広島大学大学院 医歯薬学総合研究科)の「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」の2題が選ばれ、懇親会の席上で表彰が行われました。

初めての地方の小都市での学術集会にもかかわらず多くの方のご出席を得て感謝いたします。また、これまで多くの方々からいただきましたご協力に対して厚くお礼申し上げます。

## 研究トピックス紹介 第1回

## ラクトフェリンの抗がん作用について

飯郷 正明

Masaaki IIGO

名古屋市立大学 大学院医学研究科

## はじめに

乳児の健全な成長と外界の病原菌に対する防御のため、乳汁中には多量の抗菌性タンパク質が分泌されます。特にその中でラクトフェリンは、通常の母乳では1~2 mg/ml程ですが、初乳では7~10 mg/mlと非常に多くなります(図1)。従って新生児も乳児同様に母親から1日1-2gのラクトフェリンを摂取している計算になります。このラクトフェリンは抗菌作用を発揮すると共に、骨細胞や線維芽細胞

等の増殖や分化に関わることが細胞を用いた実験で明らかになっています。一方、我々は動物実験で、抗炎症作用や発がん抑制作用、そしてできてしまった腫瘍に対してもその生長や肺転移に対しても抑制作用があることを明らかにしました(1)(図2)。そこで、ラクトフェリンのがん抑制効果に関しての動物実験と臨床試験結果について概説し、今後の臨床応用について考察したいと思います。

初乳 常乳  
(3日目)(3ヶ月目)

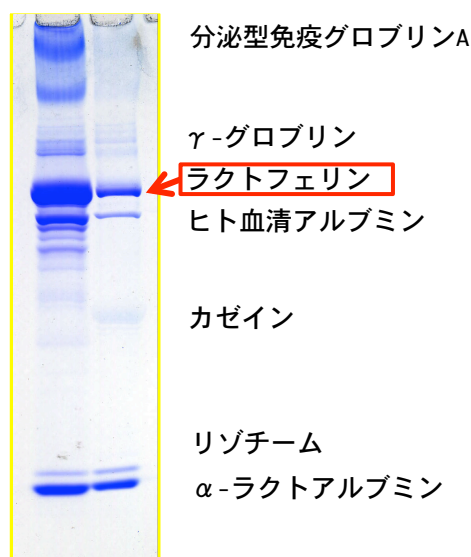


図1 初乳と常乳中ラクトフェリンの違い

(森永乳業株式会社 栄養科学研究所提供)

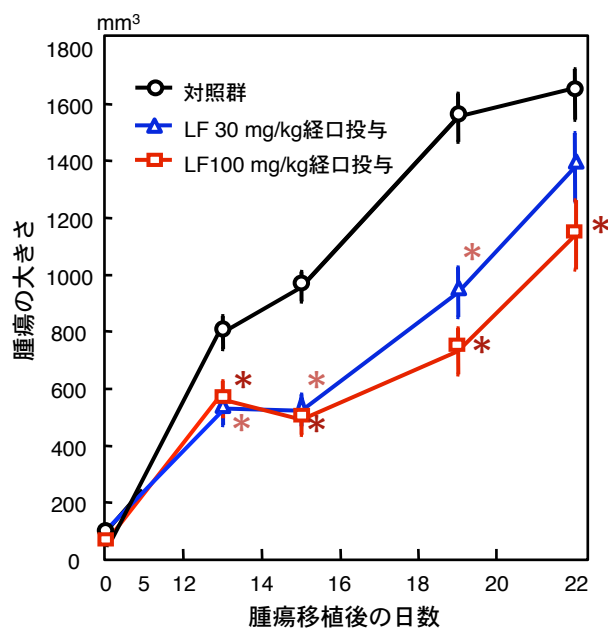


図2 マウス大腸がんCo26の成長に対するラクトフェリンの抑制効果

(\*対照群と比べ有意に異なる)

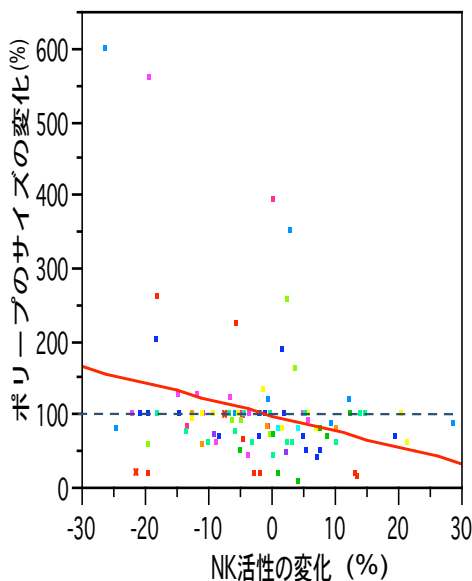


図3 NK活性の増強はポリープ成長を抑制する。(100%が元の大きさ)

### がん患者に対するラクトフェリンの効果

近年、アメリカでは、リコンビナントヒトラクトフェリンを *Aspergillus niger var. awamori* から精製し、がん治療に対する臨床試験が行われ、非小細胞肺癌や腎細胞がんに対するフェーズI, IIの報告がなされました(2, 3)。これらの報告では1日3~9 gの長期経口摂取でも重篤な毒性はありませんでした。しかも、化学療法抵抗性の44名の進行・転移性腎細胞がん患者に対してヒトラクトフェリン1.5g 1日2回連日12週間摂取後休薬2週間の繰り返しのスケジュールにより、奏効率4.5%、無進行生存期間の中央値が6.4ヶ月、延命の中央値が21.1ヶ月と言う結果が得られました。非小細胞肺癌は現在フェーズIIIが進行中であり、近々に最終結果が報告されると思われます。さらに抗がん剤とラクトフェリンの併用臨床試験も行われており、副作用の軽減にも期待されます。

### 大腸ポリープに対するラクトフェリンの効果

このように、ヒトラクトフェリンのがん治療に関する臨床試験はアメリカで活発に行われていますが、

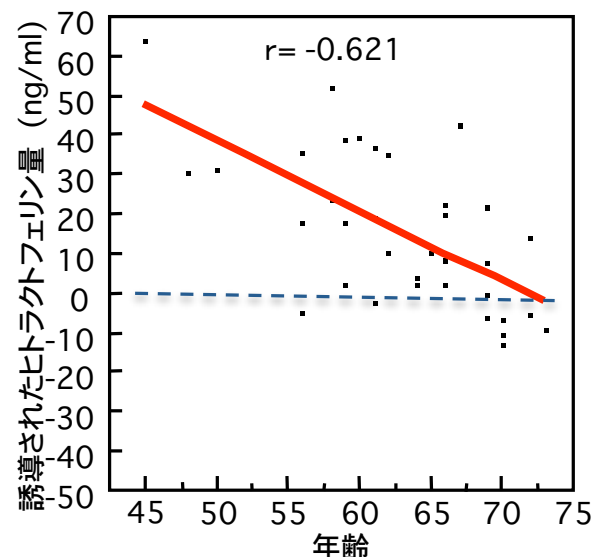
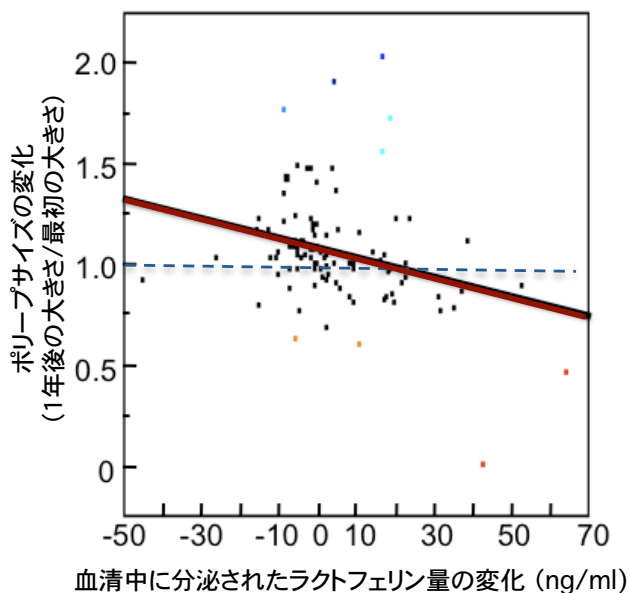


図4 ウシラクトフェリン摂取により誘導された血清中ラクトフェリン濃度と年齢の関係

日本ではウシラクトフェリン投与の大腸ポリープに対する影響が国立がんセンター(現国立がん研究センター)で検討され、1日3g摂取の63才以下の群で有意なポリープ生長の抑制が認められました(4)。効果を示したヒトの血清中には、ヒトラクトフェリン量の増加や大腸組織に於ける好中球数の減少、血液中ナチュラルキラー(NK)活性の増強等が観察されました。

NK活性の測定には、NK活性に感受性の高い慢性骨髄性白血病細胞由来のK562細胞を $^{51}\text{Cr}$ で標識し、NK細胞による殺細胞作用により放出された放射能を測定する方法で活性を測定しました。その結果、ラクトフェリン摂取により有意な活性の増強が観察され、このことがポリープ抑制作用に関わったと考えられます(図3)。さらに、ウシラクトフェリン摂取により、自分自身のラクトフェリン(つまりヒトラクトフェリン)が誘導されることが分かり、その誘導の強さは年齢に左右されることが分かりました(図4)。

ラクトフェリンは好中球の2次顆粒からも分泌されます。ポリープ近くの組織中の好中球数は、ラクトフェリン摂取による抗炎症作用により減少します。特にポリープの抑制効果が見られた周りの組織の好



**図5 血清中に分泌されたラクトフェリン量の変化とポリプサイズの変化の関係**

中球数は著しく減少し、逆にラクトフェリンを摂取した血液中好中球数は増加しました。そのために血液中ヒトラクトフェリン量が増加したと思われます。その誘導されたヒトラクトフェリン量とポリープ生長抑制効果が逆相関することも明らかになりました(図5)。

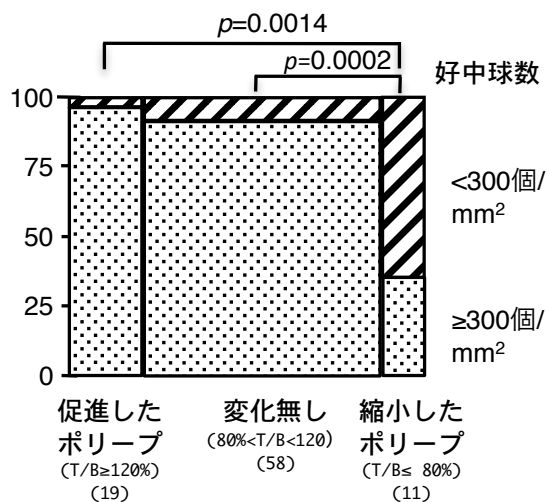
### がんと免疫

私たちの身体は、常に様々な病原体や異常を生じた細胞と戦っています。それを監視する免疫機構の主体は白血球であり、リンパ球、単球、顆粒球などから構成されています。

どんな健康な人でも、遺伝子レベルでの細胞障害がきっかけでがん細胞が発生する可能性があります。発生したがん細胞は、免疫機構が正常に働いていれはすぐに摘み取られ、がんとして発病することは稀なことです。ところが、長年の食生活で発がん物質や免疫能を低下させる物質が体内に取り込まれ、さらに運動不足等の生活習慣などにより、加齢と共に免疫力は低下し、がん発症の危険度は高まっています。

### ラクトフェリンによる免疫細胞への影響

リンパ球は、T細胞 (CD4,CD8など)、B細胞、NK細胞からなり、免疫機能の中心的役割を果たしております。単球にはマクロファージや樹状細胞などが分類されます。好中球やマクロファージなどは細菌感染の防御をします。細胞に異常が発生した場合、例えば細胞に傷がついたり、がん化した場合、生体が異常事態発生と認識し、これらの免疫細胞による排除が試みられます。このような炎症が起きると、白血球中の約60%を占める好中球が炎症部位に遊走して集まり、細菌を貪食そして分解により殺菌し、生体を防御します。しかし、その好中球から出される抗菌物質の一種S100A8/9は樹状細胞やマクロファージの分化を阻害するため免疫機能を抑制してしまいます(5)。大腸がん組織においても好中球が集まり、S100A8/9が高濃度になります(6)。ポリープでもその周りの組織には多くの好中球が集まります。しかし、ラクトフェリンを摂取し、ポリープの生長が抑えられた組織では好中球数は激減します(7)(図6)。



**図6 ラクトフェリンによる腺腫進展促進および縮小時の腺腫周囲の組織中好中球数**

ラクトフェリンを経口摂取しますと、腸上皮にあるレセプターを介し、反応が始まります。今回の本学会でも、ラクトフェリンのTLR4(Toll-like receptor)での作用やサイトカインIL-11の産生誘導による抗炎症作用、さらにヒト大腸ポリープ周辺の組織中からは、ウシラクトフェリンによりインターフェロンアルファ(interferon- $\alpha$ )の誘導が報告されました。インターフェロンは免疫細胞を活性化します。我々が行った動物実験でもウシラクトフェリンにより小腸粘膜内にインターフェロンアルファが有意に増加することが確認され(図7)、免疫細胞のCD4<sup>+</sup>T細胞やIgA<sup>+</sup>細胞の増加さらにNK活性も著しく増強されました(8-10)。これらのことから、ヒトに於いても、摂取したラクトフェリンは腸粘膜でインターフェロンを誘導すると共に、抗炎症作用により好中球数を減少させ、免疫細胞を活性化し、腫瘍の生長を抑制したと考えています。

## おわりに

このようにラクトフェリンは、経口摂取でも免疫活性を上げることの出来るタンパク質です。がん細胞に対して強い殺細胞作用は有りませんが、免疫細胞等の活性化により、ある程度のがんに対しての抑制効果は期待できます。今後安価で安全でより効果的なラクトフェリンの形状と臨床応用法の開発によ

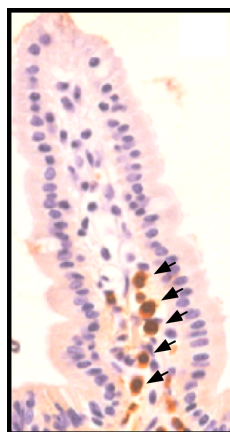


図7 ラクトフェリン経口摂取によるマウス小腸におけるインターフェロン分泌細胞(矢印)

り、がんに対する予防や治療でさらに効果が出るような方法を見いだしたいと考えています。

## 文献

1. Iigo M, et al. Cancer prevention and anti-metastatic effect by oral administration of bovine lactoferrin. in: T. Tanaka & H. Tsuda (Eds). Carcinogenesis and Modification of Carcinogenesis. Research Signpost. Kerala. India. 2005. pp229-242
2. Hayes TG, et al. Phase IB trial of oral talactoferrin in the treatment of patients with metastatic solid tumors. Invest New Drugs 2010; 28:156
3. Jonash E, et al. Phase 2 trial of talactoferrin in previously treated patients with metastatic renal cell carcinoma. Cancer 2008; 113:72
4. Kozu T, et al. Effect of orally administered bovine lactoferrin on the growth of adenomatous colorectal polyps in a randomized, placebo-controlled clinical trial. Cancer Prev Res 2009; 2:975
5. Cheng P, et al. Inhibition of dendritic cell differentiation and accumulation of myeloid-derived suppressor cells in cancer is regulated by S100A9 protein. J Exp Med 2008; 205: 2235
6. Kim H-J, et al. Identification of S100A8 and S100A9 as serological markers for colorectal cancer. J Proteome Res 2009; 8:1368
7. 飯郷正明 他. ウシラクトフェリンによるがん予防の基礎と大腸腺腫進展抑制効果. ラクトフェリン 2009 第3回ラクトフェリンフォーラム実行委員会(編)日本医学館; pp32
8. Iigo M, et al. Anticarcinogenesis pathways activated by bovine lactoferrin in the murine small intestine. Biochimie 2009; 91: 86
9. Wen-Ping W, et al. Activation of intestinal mucosal immunity in tumor-bearing mice by lactoferrin. Jpn J Cancer Res 2000; 91: 1022
10. Tsuda H, et al. Prevention of colon carcinogenesis and carcinoma metastasis by orally administered bovine lactoferrin in animals. BioFactors 2000; 12: 83

## 学会賞受賞研究紹介 第1回

## ウシラクトフェリンによるHTLV-1抗腫瘍効果について

田中 正和

Masakazu TANAKA

関西医科大学 微生物学

ヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)は感染者の約5%が長い潜伏期間を経て、成人T細胞白血病(ATL)という致死性の白血病を発症する。現在有効な治療法がないATLは、発症予防法が重要な研究課題である。我々はHTLV-1発がん遺伝子産物であるTaxタンパク質を発現させたマウスリンパ腫細胞(EL4/Gax)をマウスへ皮下移植した。移植後3日目よりウシラクトフェリンを経口投与したところ、腫瘍細胞の増殖抑制効果が示唆された。

ヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)はヒトで初めて発見されたレトロウイルスであり、主に母乳を介した垂直感染で感染が拡大すると言われている。HTLV-1感染が成立後、数十年の長い潜伏期を経て、予後不良の悪性度が高い成人T細胞白血病(ATL)を生発発症約5%の割合で発症するが、HTLV-1関連脊髄症(HAM)と呼ばれる神経疾患の発症に至る場合もある。HTLV-1の国内感染者は約110万人と言われており毎年約1000人がATLを発症するが、有効な治療法は未だ確立されていないのが現状である。

HTLV-1による細胞のがん化機構は、宿主細胞染色体に組み込まれたHTLV-1ウイルスがコードする転写活性化因子であるTaxタンパク質が重要な役割を果たしていると考えられている。Taxタンパク質は組み込まれたウイルスの転写調節領域LTRに働きかけてウイルス複製を活性化すると同時に宿主のがん関連遺伝子に作用しATL発症へ進展すると考えられている。

そこで我々は、個体内でのHTLV-1遺伝子の転写を解析するために、LTRの一部にTax遺伝子を結合させたレトロウイルスベクターを構築した。さらにTaxタ

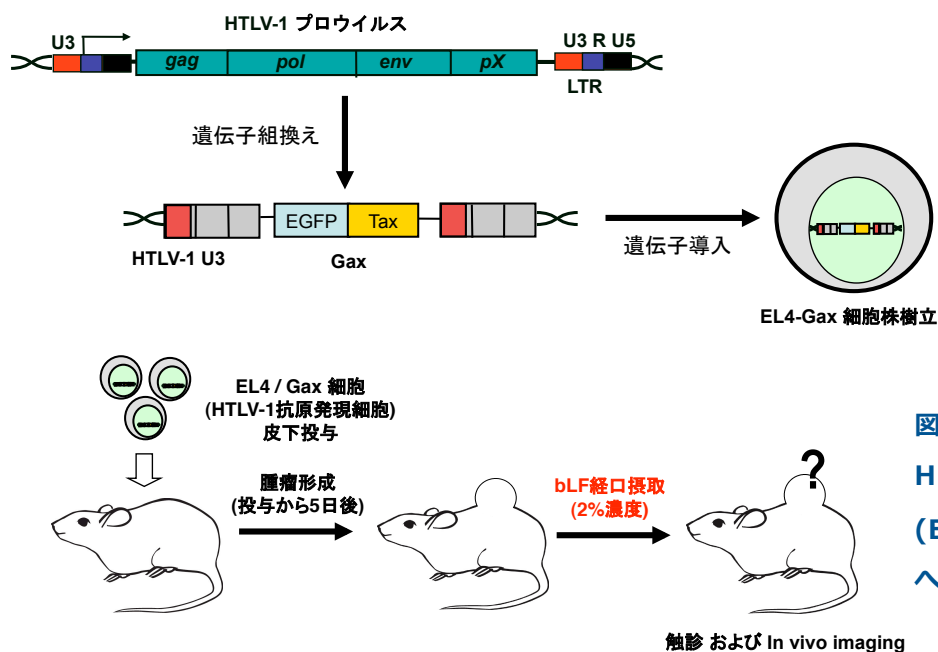


図1  
HTLV-1抗原を発現する細胞(EL4-Gax細胞)の作成とマウスへの移植実験の概略



ンパク質の発現をリアルタイムにモニター出来るようにTax遺伝子に蛍光蛋白(EGFP)遺伝子を融合させ、融合蛋白質(Gax)として発現できるようにした。これをマウスリンパ腫細胞株であるEL4細胞株へ感染させてEL4/Gax細胞を樹立した(図1上)。その後EL4/Gax細胞を6週齢のC57BL/6J-Tyrc-2J/J(B6 albino:H-2b)マウスに皮下投与し、3日後から2%ウシラクトフェリン(bLF)水溶液を自由摂取させた(図1下)。EL4/Gax細胞移植30日後の対照群に対してbLF投与群(摂取期間27日間)では、触診での腫瘍サイズの計測にて約50%の腫瘍増殖抑制効果が認められた(図2A)。さらに我々は、腫瘍形成初期過程での腫瘍抑制効果について、*in vivo*イメージングにより発光を指標に経時的に腫瘍増殖を計測して抗腫瘍効果を検討した結果、bLF投与5日後から腫瘍増殖抑制

効果が確認され(図2B)、投与7日後では対照群に比べ66%の腫瘍増殖抑制効果が認められた(図2C)。

今回紙面の都合上割愛するが、我々はbLF投与によるHTLV-1初期感染抑制効果を認めており、これが細胞接着の解離によることを過去に報告した。本研究の成果とともに考えると、現在有効な治療法がないATLの発症予防法の開発に向けた応用が期待されるだけでなく、ATL発症に至る長い潜伏期におけるHTLV-1の個体内感染動態を明らかにする上でも重要な知見を提供するものであると我々は考えている。

[謝辞] ウシラクトフェリンを提供して頂きました森永乳業株式会社に深謝いたします。また有意義なご助言を頂きました関西医科大学・藤澤順一教授ならびに本研究の遂行に御支援をして頂きました長浜バイオ大学・三輪正直教授に御礼申し上げます。

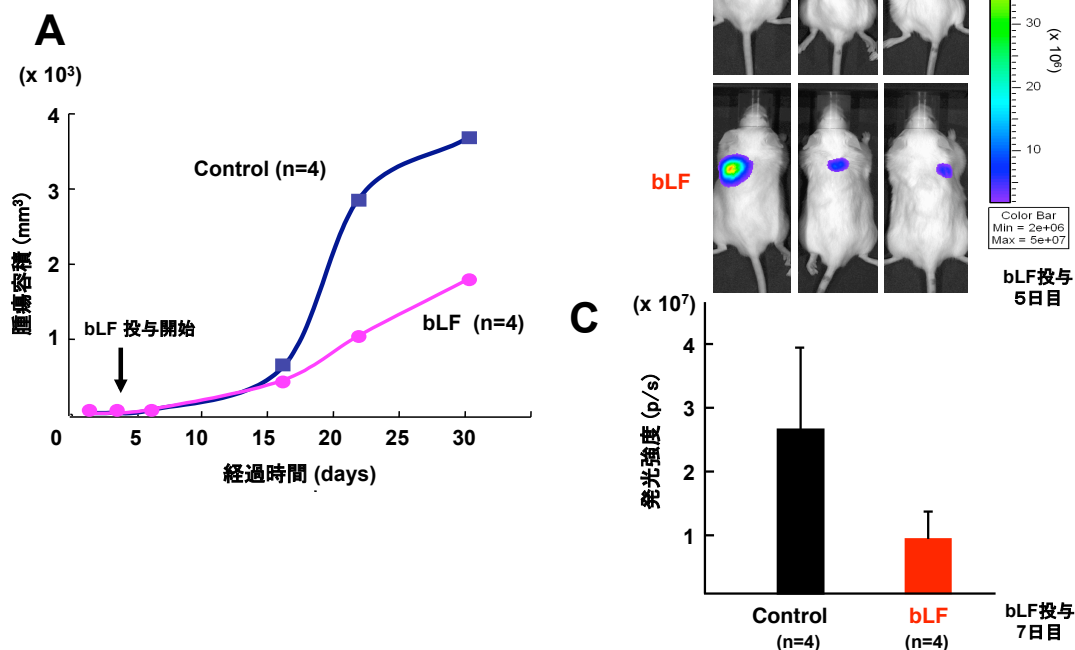


図2 触診法ならびにIn vivo イメージング法を用いた腫瘍増殖抑制効果

(A)触診法は腫瘍に対し、ノギスを用いて測定した。縦径×横径×高さとして腫瘍の容積(mm<sup>3</sup>)とした。(B・C)Living Image ver. 2.6&3D(XENOGEN社製)のイメージング機器を用いた。イソフルランにて麻酔を行い、ルシフェリンを3.9 μg/mlに調製後、200 μlを腹腔内投与し計測した。



## 第10回 国際ラクトフェリン会議のご案内

第10回国際ラクトフェリン会議は、2011年5月8日から12日まで、メキシコ合衆国シナロア州マサトランのエル・シド・カステリア・ビーチホテルで開催されます。国際ラクトフェリン会議は、1993年にホノルルで第1回の会議が開催されて以来、隔年に開催され、医学・歯学・薬学・農学など幅広い分野のラクトフェリン研究者が集まり、基礎から食品・医療分野への応用まで幅広い範囲をカバーしている国際学会です。今回の会議においても、ラクトフェリンの構造、ラクトフェリンと鉄代謝、ラクトフェリンの遺伝子発現制御、ラクトフェリンとリガンドの相互作用、ラクトフェリンの受容体、ラクトフェリンのシグナル伝達機構、ラクトフェリンによる細胞増殖・分化の制御、ラクトフェリンと微生物、ラクトフェリンの免疫賦活作用、病理学におけるラクトフェリン、ラクトフェリンとその部分ペプチドの抗菌活性、ラクトフェリン由来ペプチドの分子設計と発現、組換えラクトフェリンとトランスジェニック動物、ラクトフェリンの応用の各セッションについて、口頭発表とポスター発表が予定されています。演題申し込み・参加登録締切は3月15日です。大学院生と35歳以下のポスドクを対象に「Young Investigator Award」の選考が行われ、受賞者は参加登録費と滞在費800ドルがカバーされます。この会議のプロシーディングは、Biochemistry and Cell Biology誌に掲載される予定です。

なお、会議に関する詳細な情報は、<http://www.lactoferrin-conference.com/>で提供されていますので、どうぞご覧ください。本学会会員の皆様の積極的なご参加をお願いします。

## 日本ラクトフェリン 学会ニュースレター 第1号 (2011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

消化器病センター内

事務局担当：佐藤 麻里

TEL：045-261-5656

FAX：045-261-9492

E-mail:

[lacto@yokohama-cu.ac.jp](mailto:lacto@yokohama-cu.ac.jp)