

## 第 210 回松本歯科大学大学院セミナー

日 時: 2009 年 12 月 21 日(月) 16 時 00 分~17 時 30 分

場 所: 実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者: 宮内 睦美 氏

(広島大学大学院医歯薬学総合研究科口腔顎顔面病理病態学・准教授)

タイトル: リポポリサッカライド誘導歯周組織破壊に及ぼすリポソーム化ラクトフェリン経口投与の抑制効果について

ウシラクトフェリン(bLF)は、鉄トランスポーターファミリーに属する安全性の高い食品由来物質で、抗菌作用、抗炎症作用などを有する多機能蛋白質として注目されている。bLF は、リポポリサッカライド(LPS)刺激抹消血単球からの TNF- $\alpha$ 産生を抑制することが報告されている。一方、TNF- $\alpha$ はサイトカイン誘導能、破骨細胞性骨吸収活性を有し、LPS の誘導する歯周組織破壊におけるサイトカインネットワークの中心的役割を果たしている。我々は bLF の TNF- $\alpha$ 分泌抑制に着目し、bLF が LPS 刺激によって誘導される破骨細胞形成に及ぼす抑制効果について in vivo ならびに in vitro にて検討したので供覧する。

**bLF は in vitro で LPS の誘導する破骨細胞形成を抑制する。**

bLF の添加により *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* LPS(A.a.-LPS)刺激後の ST2(骨芽細胞系細胞株)における TNF- $\alpha$ や RANKL mRNA 発現増加が抑制され、OPG mRNA 発現抑制が解消された。また、骨芽細胞と骨髄細胞の共培養系への bLF 添加は LPS による破骨細胞形成を濃度依存的に抑制した。

**bLF のリポソーム化は bLF の小腸からの吸収を高め、bLF の血液循環を介した全身への移行を促進する。**

経口投与された bLF の大部分は胃で消化分化されるため、臨床応用を考えた場合本来の機能を十分に発揮できないという問題点がある。Wistar 系雄性ラットを用いた in vivo 実験では、胃での破壊を回避し小腸からの吸収を高めるためにドラッグデリバリーシステム製剤であるリポソーム(リン脂質2重構造膜)に bLF を封入したリポソーム化 bLF(L-bLF)を用いた。L-bLF 経口投与は、投与1週間で LPS 刺激による末梢血単球からの TNF- $\alpha$ 産生を有意に抑制した。また、L-bLF 経口投与群では、小腸の粘膜上皮細胞に bLF 陽性反応がみられた。また、脾臓の細胞、大腿骨の骨芽細胞、軟骨細胞、破骨細胞や歯周組織の骨芽細胞、歯根膜線維芽細胞、セメント細胞、象牙芽細胞などが bLF 陽性を呈したことから、リポソーム化することによって小腸への到達量の増加した bLF は、小腸上皮細胞によって吸収され、血流を介して全身へ移行し、歯周組織細胞に作用し、LPS で誘導される歯周組織破壊に影響を及ぼす可能性が示唆された。

**L-bLF 経口投与は LPS 局所投与後の歯槽骨組織における破骨細胞の増加や TNF- $\alpha$ 発現を抑制する。**

L-bLF を1週間経口投与した後、上顎臼歯歯肉溝から *E.Coli*-LPS を局所投与した。LPS 局所投与によってコントロール群では辺縁歯周組織における TNF- $\alpha$ 発現の上昇と接合上皮部への好中球の遊走や歯槽骨骨縁に沿った TRAP 陽性破骨細胞数の増加が観察される。L-bLF 経口投与は LPS 刺激によって誘導されるこれらの変化を有意に抑制したことから、血流を介し歯周組織に到達した bLF が骨芽細胞をはじめとする宿主細胞に作用し、LPS 刺激による TNF- $\alpha$ 産生抑制を介し、歯周組織破壊を抑制した可能性がある。

**bLF の低濃度頻回投与は高濃度単回投与と同程度の抑制効果を示す。**

L-bLF 経口投与群において血中で検出される bLF 量は極めて微量であることから、低濃度 bLF の持続的作用が効果的な骨破壊抑制を誘導したと考え、低濃度 bLF の頻回添加が骨芽細胞に及ぼす影響について in vitro で検討し、単回添加群と比較した。bLF の頻回添加は、LPS 刺激による TNF- $\alpha$ や RANKL-mRNA 発現を、高濃度の bLF 単回添加群と同様に抑制し、OPG の mRNA 発現の抑制も解消した。微量の bLF が、歯周組織局所で持続的に存在することで、より効果的な歯槽骨吸収抑制を発揮すると推察された。

以上、L-bLF 経口投与が歯周炎の発症、進展、増悪を制御する歯周炎の有効な予防ないし治療方法となる可能性が示唆される。