

ネコ免疫不全症ウイルス(FIV)感染におけるウシラクトフェリンの抗炎症作用

誌名	ミルクサイエンス = Milk science
ISSN	13430289
著者名	佐藤,れえ子 小林,沙織 稲波,修 佐藤,淳 山田,裕一 内藤,善久 佐々木,重荘
発行元	日本酪農科学会
巻/号	53巻4号
掲載ページ	p. 296-298
発行年月	2004年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ネコ免疫不全症ウイルス (FIV) 感染におけるウシラクトフェリンの 抗炎症作用

佐藤れえ子¹・小林沙織¹・稲波 修²・佐藤 淳¹・山田裕一¹・内藤善久¹・佐々木重荘³
(¹岩手大学獣医学科, ²北海道大学大学院獣医学研究科, ³岩手大学動物病院)

Anti-Inflammatory Effect of Bovine Lactoferrin in Feline Immunodeficiency Virus (FIV)-Infected Cats

Reeko Sato¹, Saori Kobayashi¹, Osamu Inanami², Jun Sato¹, Yuichi Yamada¹, Yoshihisa Naito¹ and Juso Sasaki³

(¹Department of Veterinary Internal Medicine, Iwate University, 3-18-8 Ueda Morioka 020-8550

²Department of Environmental Veterinary Science, Graduate School of Veterinary Medicine,
Hokkaido University, Sapporo, 060-0818

³Veterinary Teaching Hospital, Faculty of Agriculture, Iwate University, 3-18-8 Ueda Morioka 020-8550)

はじめに

HIV 感染症のモデル疾患であるネコ免疫不全症ウイルス (FIV) 感染は、ウイルス感染による一過性の発熱とリンパ節の腫大を呈する急性期 (AP 期) と、それに続く長い無症状の無症状キャリア期 (AC 期)、一過性のリンパ節腫大を呈する持続性全身性リンパ節腫大 (PGL 期)、発症期である AIDS 関連症候群 (ARC 期) と進行を続け、そして最終的には AIDS 期に至って死を迎える。発症期である ARC 期では、慢性の炎症がよく観察されるが、なかでも難治性口内炎は発症率が高く、口腔内の肉芽腫様病変のために症例は摂食困難となり、体力の著しい消耗を招く。

これまでの我々の研究によって、このような状態のネコにウシラクトフェリン (bLF) の経口投与を実施すると、臨床症状の改善とともに好中球の非特異的貪食能が活性化されることが明らかとなった (Sato, R., et. al., *Am. J. Vet. Res.* 57, 1996)。この bLF による治療効果は投与後すみやかに発現し、流涎の消失、疼痛反射の改善などがみられ、結果としてネコは摂食が可能となる。このような口腔内の炎症に対する治療効果は、その後の研究でヒトの口内炎、歯周病にも有効であったことから、bLF には種を問わず、抗炎症作用、鎮痛作用があることが示唆された。

bLF の抗炎症作用のメカニズムについては、難治性口内炎ネコに投与した場合、治療効果とともに好中球の非特異的貪食能の活性化が観察されたことから、好中球に対する bLF の調節作用が関与しているものと考えられた。好中球の働きは生体における非特異的免疫の主体をなすものであり、その反応が過度になった場合に「炎症」という病態が進行する。炎症を抑制するためには、

この好中球機能の調節が不可欠であり、現在臨床面で使用されている代表的抗炎症剤であるステロイド剤も、好中球の種々の機能を調節することが知られている。本研究では、bLF の抗炎症作用のメカニズムを解明するために、炎症の主体である好中球の吸着能と補体レセプター発現、ならびに ConA 刺激による末梢血単核球の幼若化能と各種サイトカインの発現について bLF が及ぼす影響を検討した。

実験動物

- ◎健康なネコ12頭 (雄7頭, 雌5頭)
- ◎FIV 感染ネコ14頭 (雄8頭, 雌6頭)

実験方法

- ◎bLF の経口投与：牛乳より分離精製した bLF を 40 mg/kg/day の割合で 7 日間あるいは 14 日間連続経口投与
- ◎好中球吸着能：ナイロンファイバーによるミニカラム法
- ◎好中球表面補体レセプター発現：CD18, CD35 に対するモノクローナル抗体を用いたフローサイトメトリー
- ◎末梢血分離単核球に対する bLF 添加培養の影響：ConA 刺激による MTT 法
各種サイトカインに対する RT-PCR 法

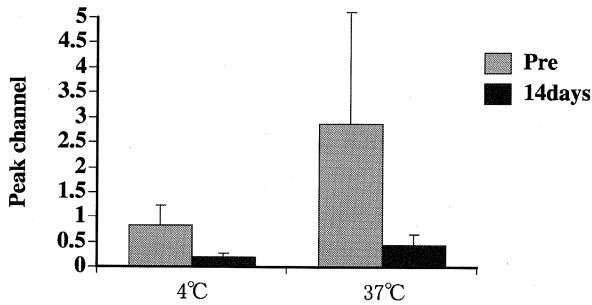
結果

1. LF 経口投与のネコ好中球吸着能に及ぼす影響

- 健康ネコ (n=7)
- bLF 投与前 43.89±4.47%
- bLF 投与後 28.35±8.48%*

(*投与前に対して有意差あり：p<0.01)

- FIV 感染ネコ (AIDS 期, n=1)
 - bLF 投与前 43.57%
 - bLF 投与後 18.53%
- 2. bLF 経口投与のネコ好中球表面補体レセプター発現に対する影響



bLF 経口投与による FIV 感染ネコ好中球表面補体レセプター発現に及ぼす影響

CD35 (補体レセプター: CR1) 発現は健康ネコ, FIV 感染ネコの両者で有意に ($p < 0.01$) に低下した。CD18 発現には, 著変が見られなかった。

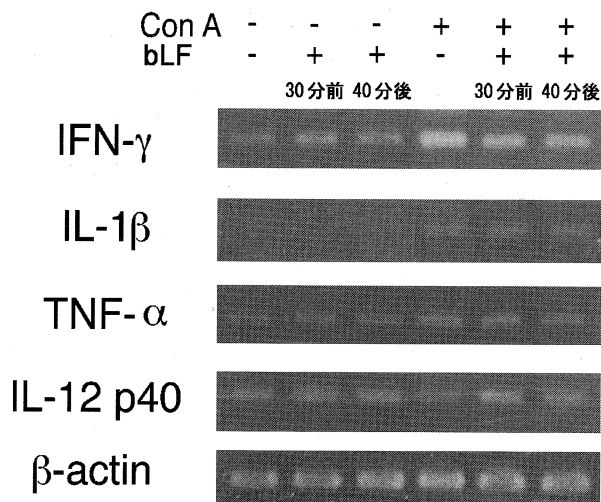
- 3. ネコ末梢血分離単核球に対する bLF 添加培養の影響

(1) ConA 刺激による幼若化反応に対する影響 (MTT 法)
 <bLF 添加培養のリンパ球幼若化能に及ぼす影響>

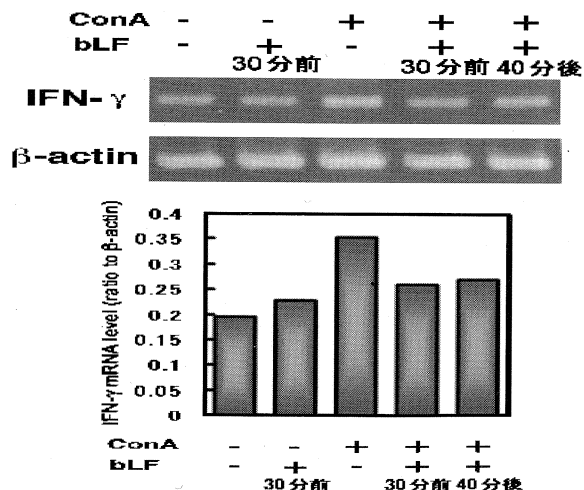
刺激指数 (SI 値)	無添加	bLF 50 $\mu\text{g/ml}$
健康ネコ	28 \pm 2.2	11.8 \pm 2.6
FIV 感染ネコ (AC 期)	55.9 \pm 12.0	40.9 \pm 3.7*
FIV 感染ネコ (ARC 期)	43.8 \pm 16.3	21.1 \pm 11.0

(2) サイトカイン mRNA 発現に対する bLF の影響 (bLF 500 $\mu\text{g/ml}$)

<ARC 期ネコ>



<AIDS 期ネコ>



このように bLF は ConA 誘導性の IFN- γ 発現を抑制した。ConA 誘導性の IFN- γ 発現には, 細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK) 経路の活性化が必要であり, bLF はこの経路におけるシグナル伝達終了後でも抑制効果を示したことから, その作用部位は ERK 下流か PTK/ERK 以外の伝達系路と考えられた。

考察

好中球の血管内皮への吸着は, 炎症部位への好中球の遊走の第一段階であり, 臨床的に使用されている抗炎症剤はこの好中球の機能を抑制するものが大部分である。実際にアスピリンやサリチル酸塩, グルココルチコイドなどの抗炎症剤の投与は, 好中球吸着能の低下をもたらすことが報告されている (MacGregor, et. al. New Engl. J. Med. 1974)。また, 今回使用したナイロンファイバーによるミニカラムへの好中球の吸着反応は, 炎症の際の好中球運動を示唆するものとされている (Harlan, Blood 1985)。bLF の経口投与により健康ネコと FIV 感染ネコの両者において吸着能は低下しており, このことは抗炎症剤であるグルココルチコイドなどの反応と同様であった。したがって, bLF の経口投与は好中球吸着能の抑制を引き起こし, それによって口内炎ネコの炎症を強く抑制することが示唆された。

炎症におけるもう一つの重要な要素として, 補体系の活性化があげられる。bLF は C3 転換酵素抑制により補体活性化を抑制していることが知られているが, 本研究では好中球側の補体レセプター発現についても評価した。その結果, CR1 である好中球表面の CD35 発現が, bLF の経口投与により有意に低下することが示された。

CD35は活性化した好中球から遊離して可溶性CD35となり、補体と結合することによってそれを不活化し、補体の活性化の結果として生じるMACの細胞障害を抑制すると考えられている。好中球のCD35発現の有意な低下は可溶性CD35の血中への遊離を示していると思われ、このことはbLFの示した抗炎症作用と密接に関連していると考えられた。

一方、bLFがリンパ球機能に与える影響について観察したところ、bLFをネコの末梢血から分離した単核球に添加培養すると、その幼若化能を抑制することが示された。bLFは、IL-2産生細胞の活性化を抑制することによってIL-2レベルを低下させ、その結果としてリンパ球幼若化能を抑制することが知られている(Zimecki, et. al. Arch. Immunol. Immunopathol. 1996)。また、ヒトリンパ球に対する低濃度のbLF添加では幼若化能を刺激し、高濃度では抑制することが報

告されている(Zimecki, et. al. Arch. Immunol. Immunopathol. 2001)。今回のネコの末梢血単核球に添加したbLF濃度は高濃度であり、この結果はヒトのリンパ球の場合と同様であった。

さらにリンパ球機能に対するbLFの影響を調べるために、末梢血単核球におけるサイトカインmRNA発現を調べたところ、ConA刺激によるIFN- γ 発現をbLFは抑制した。この抑制効果は、健康ネコとFIV感染ネコの両者で同様に観察された。その作用発現部位は、ERK下流かPTK/ERK以外の細胞内シグナル伝達経路と考えられた。

以上のように、bLF投与による難治性口内炎に対する治療効果には、好中球機能とリンパ球機能に対する調節作用が深く関与していると考えられた。今後は、その他のサイトカインネットワークに対する影響についても検索していく必要があると思われた。