

# ドライアイとラクトフェリン

腸溶性ラクトフェリン研究会

常任理事 安藤 邦雄

## はじめに

現代のストレス社会では唾液腺や涙腺などの分泌機能低下が原因で、いわゆるドライアイやドライマウスに悩む人々が増加していると言われる。2003年頃から腸溶性ラクトフェリン製剤のユーザーのあいだに視力を改善する効果があるという声が数多く上がってきた。当時、カロチノイドの一つルテインがエイジングによる視力の衰えを回復させると言う噂が流布しており、ユーザーが腸溶性ラクトフェリン製剤も同様ではないかと暗示を受けた可能性があるためと受け取っていた。ちなみにユーザーの意見を下記に箇条書きしてみた。

- ① 視力の向上
- ② 角膜炎の改善
- ③ ドライアイ・ドライマウスの緩和

一方、昭和大歯学部歯科理工学教室を中心に“歯科ラクトフェリン研究会”が2004年に結成され、歯科医院に通院しているボランティアをお願いして牛乳ラクトフェリン（bLF）の口腔疾患に対する有用性をトランスレーショナル臨床試験で確かめることになった。この臨床研究ではbLFがドライマウスに対し改善効果を示すことを示唆する成績が得られた。はじめてから数年、この研究会は少人数の歯科臨床家が参集する細々としたあゆみだったが、2008年の第21回日本歯周病学会春季大会が終了する翌日の4月27日に歯周学会有志により“歯周病ラクトフェリン研究会”が発足することになり、歯科領域においてbLFは次第に存在感を増している。歯周病はインフルエンザについてGDPに大きな損失を与える疾病だからである。

## ラクトフェリンは加齢ラットの涙腺を若返らせる

トランスレーショナルな臨床試験はbLFが眼の老化を抑制する可能性を示唆していた。そこで、東京医科歯科大の伊藤は2年を越える雌の加齢ラットを使いbLFの経口摂取が涙腺に及ぼす影響を検討した。加齢ラットは無作為に2群にわけ、一方を対照群、他方をラクトフェリン群とし、生後14週令の若令ラット涙腺と比較した。ラットの寿命はほぼ2年半なので、2年を越える個体は人間では70～80才の高齢者に相当する。ラットは標準粉末飼料（日本クレア、CE-2）を与えて4週間飼育した。ラクトフェリン群には粉末飼料に0.2～0.4%のラクトフェリンを添加して飼育し、他に10頭の生後10週令雌ラットも同時に飼育して、若令対照群とした。ラットは実験開始4週後に屠殺し、それぞれの標本について涙腺摘出直前の体重と摘出直後の涙腺重量を測定した。光学及び電子顕微鏡による観察には、対照若令ラット群から6頭、対照老令ラット群から6頭、bLF摂取老令ラット群か

ら 5 頭をそれぞれ無作為に抽出した標本を用いた。顕微鏡観察に先立ち、定法どおりに標本を作製し光学及び透過型電子顕微鏡で観察した。

涙腺重量の変化：対照老齢ラット（9 頭）の平均涙腺重量は 0.15 g、体重比で 0.045%、bLF 摂取老齢群（9 頭）のそれは 0.18 g、体重比で 0.049%、bLF 摂取により約 20%の増加が認められたが、統計的な有意差はなかった。対照若齢ラットの平均涙腺重量は、0.12g、体重費で 0.053%であり、老化により涙腺が縮小傾向にあるが、若齢ラットと比べ、いずれの老齢群も統計的な有意差はなかった。

顕微鏡観察：この実験において bLF 摂取により涙腺の腺房細胞内における顆粒の存在状態に大きな変化を生じた。図 1b に示すように若齢対照ラットの腺房細胞内には多数の顆粒状構造物が認められる。それらの顆粒は主としてトルイジン青でよく染まるほぼ均一な小型の顆粒（A 顆粒）とトルイジン青で薄く染まる大型で不均一な顆粒（B 顆粒）とに区別される。B 顆粒の内部は、トルイジン青で薄く染まる構造物によって満たされている。図 1e に示すように、対照老齢ラットも腺房細胞内には多数の構造物が認められるが、B 顆粒は僅かで顆粒の大部分は A 顆粒である。一方、図 1h に示す bLF 摂取老齢ラットの腺房細胞には多数の A 及び B 顆粒が認められる。それらの顆粒の分布並びに形態は対照老齢ラットのそれとは大きく異なり、むしろ対照若齢ラットときわめて類似している。

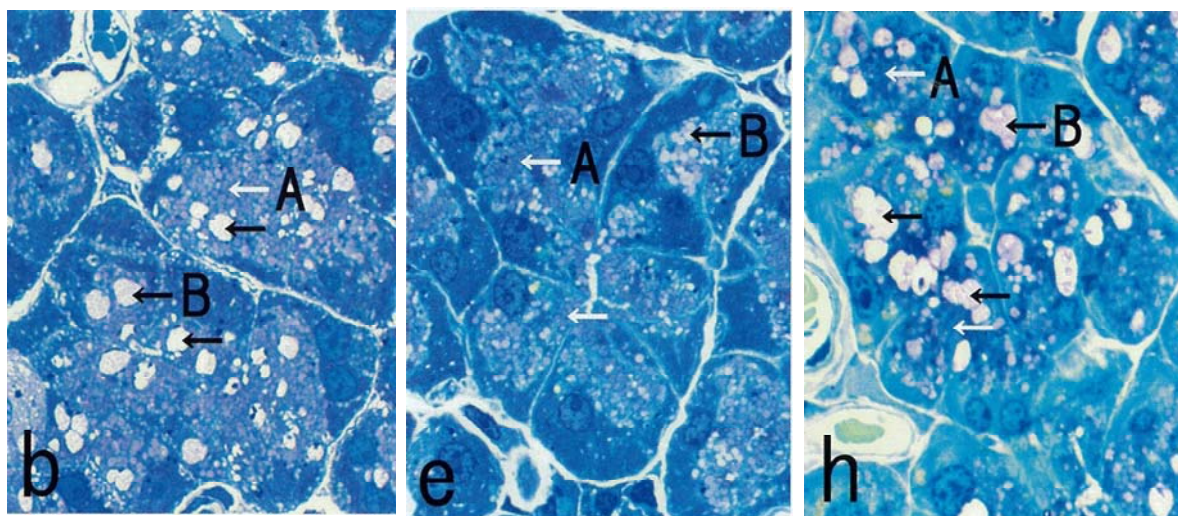


図 1. ラットの涙腺

左(b)は若齢対照ラット、中(e)は老齢対照ラット、右(h)は老齢 bLF 摂取ラット。定法どおりに処置した準超薄切片をトルイジン青で染色した。矢印の A は A 顆粒、B は B 顆粒を示す。光学権顕微鏡の倍率 x250

涙腺の腺細胞に認められる直径が  $5\mu\text{m}$  以上の B 顆粒が出現する頻度を測定したのが図 2 である。算出にあたり資料の各々について  $0.15\text{mm}^2$  の 5 箇所を無作為に抽出し、単位面積あたりの B 顆粒数を計測し平均した。図から明らかなように老齢対照ラット群における大型 B 顆粒の出現頻度は、若齢対照ラット群と比べ 1%の危険率で有意に減少している。一方、老齢 bLF 摂取群における大型 B 顆粒の出現頻度は、老齢対照群と比べ 1%の危険率で有意に高く、さらに、若齢対照群と比べても 5%の危険率で有意に高かった。

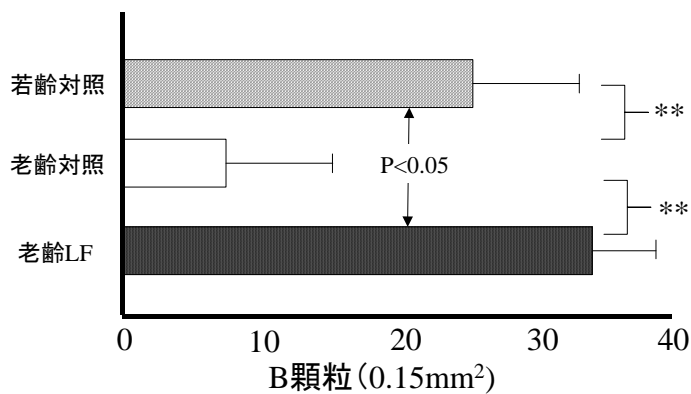


図 2. 単位面積あたりの B 顆粒出現頻度

無作為に抽出した若齢対照 (n=6)、老齢対照(n=6)、老齢 bLF (n=5)の切片について直径が 5 $\mu$ m 以上の B 顆粒の出現頻度を計測し、平均 $\pm$ 標準偏差で図示した。\*\*P<0.01 in t-test

的に老齢ラット涙腺細胞の rER は、若齢ラットにみられるような規則正しいラメラ構造が認められない (図 3 中)。老齢 bLF 摂取ラット rER は、図 3 右に示すように発達した規則正しいラメラ構造が観察される。また、若齢対照ラットと同様に A 顆粒と A 顆粒、B 顆粒

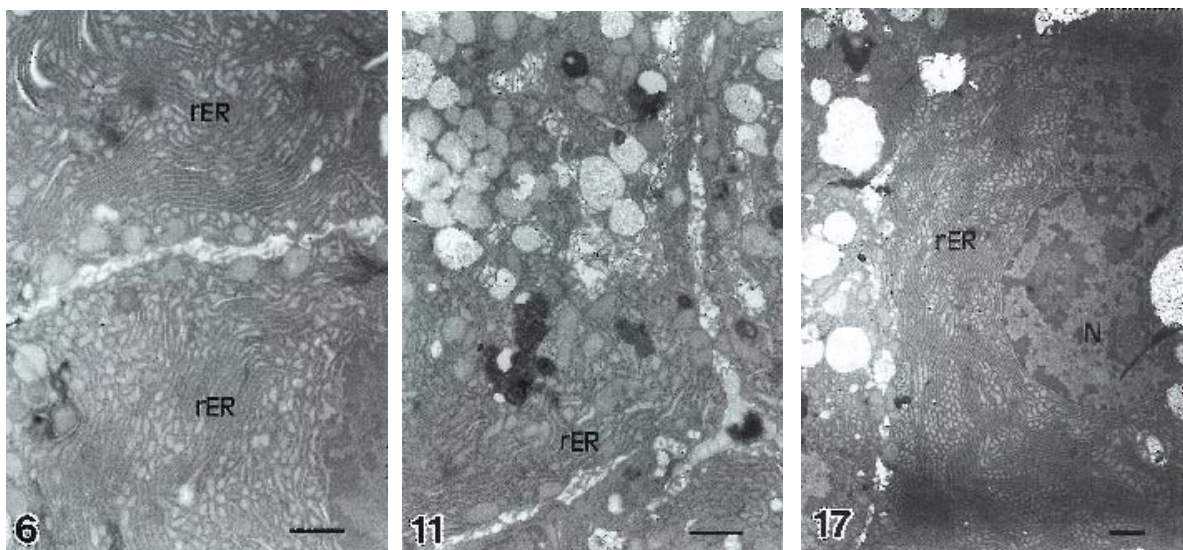


図 3. 粗面小胞体(rER)の変化

透過型電子顕微鏡により観察した涙腺腺房細胞を観察した。左 (6) ; 若齢対照群、中 (11) ; 老齢対照群、右 (17) ; 老齢 bLF 摂取群。倍率は 7300 倍。

と B 顆粒、並びに A 顆粒と B 顆粒相互の接着・融合の増が観察される。つまり、涙腺が不活発な老齢ラットであっても bLF を摂取すると、短時間で涙の成分であるリゾチーム、ラクトフェリンなどを活発に合成するようになることが示唆されるのである。このような bLF の生理活性は、シェーグレン症候群のような自己免疫性の眼疾患の治療に有用である

粗面小胞体は、腺外分泌細胞、胃底腺主細胞、形質細胞、肥満細胞、神経細胞などのタンパク質合成が盛んな細胞でよく発達することが知られている。涙腺も粗面小胞体が発達した組織で涙に含まれるリゾチーム、ラクトフェリンなどを活発に合成する。若齢対照ラットの涙腺細胞核は基底部に位置し、周囲には粗面小胞体 (rER) が多数認められる。それら rER は規則的な層状構造をとっている (図 3 左)。それとは対照

うと考えられた。そこで慶応義塾大（医）眼科の坪田一男教授に難治性ドライアイに対するトランスレーショナルの臨床研究を依頼し、このほど結果が国際眼科学雑誌 *Ophthalmology* に発表されたので紹介する。

### 腸溶性ラクトフェリン製剤によるシェーグレン症候群の治療

ボランティアはシェーグレン症候群（SS）と診断された重症ドライアイ患者である。腸溶性ラクトフェリン製剤を 1 ヶ月摂取し、その前後における自覚及び他覚症状の変動を検討した。ボランティアの総数は 17 症例（34 眼）で、ラクトフェリン群は男性 4 名、女性 6 名、平均年齢 60.5 歳、対照群は男性 3 名、女性 4 名、平均年齢 62 歳から構成されていた。

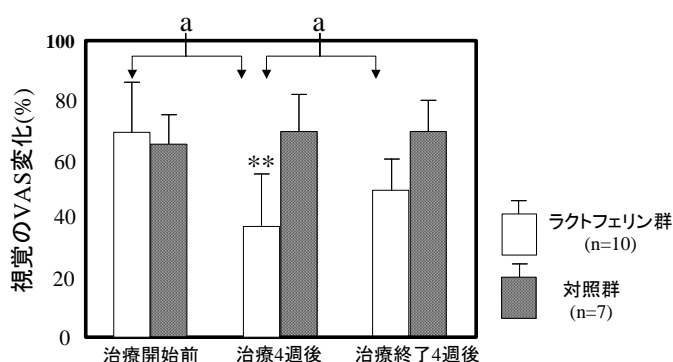


図 4. 腸溶性 bLF の経口投与による QOL の改善  
視覚の QOL は visual analog scale (VAS) 法で行い、平均値 ± SE で図示した。a),  $P < 0.01$  in Fisher Exact test, \*\* $P < 0.01$  in Mann-Whitney test..

対照群及び治療開始前値と比べ有意に改善されたが、摂取を中止して 4 週間にはもとの QOL 地に復帰する傾向を示した。

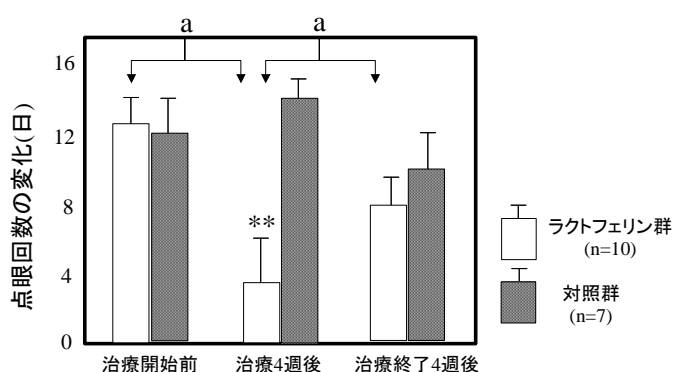


図 5. 腸溶性 bLF の経口投与による点眼回数の減少  
点眼回数は、平均値 ± SE で図示した。a),  $P < 0.01$  in Fisher Exact test, \*\* $P < 0.01$  in Mann-Whitney test..

は、涙液の分泌増加に起因するものではないらしい。データは省略するが、単位時間に分

患者は 270mg/day の腸溶性 bLF カプセルを 1 ヶ月間摂取した。臨床検査は試験開始前、bLF 摂取終了時及び bLF 摂取が終了して 4 週後に実施した。

図 4 に bLF 摂取前後における患者の QOL 変動を示す。シェーグレン症候群患者の QOL は非常に低く、眼症状に関しては有効な改善手段がないと言われる。斜線バーで示す bLF 非摂取の対照群は VAS 値に有意な変動はなかった。一方、bLF 摂取群の QOL は 1 ヶ月後に

人工涙液を頻繁に点眼すると、シェーグレン症候群の眼症状が改善される。図 5 に示すように、実験期間中に対照群の点眼回数は有意な変動を示さなかった。bLF 摂取は点眼回数を有意に減少させる効果を示した。すなわち、人工涙液の点眼回数は、bLF 摂取により 1/3 まで減少したが、摂取を中止すると点眼回数は再び有意に上昇した。しかし、bLF による症状改善



泌される類液量は、bLF を摂取しても増加しないからである。

角膜の表面は7ミクロン（7/1000 mm）の薄い涙液層で覆われていて、涙液層は内側からムチン層、涙液層、油層の3層から構成されている。ドライアイはシェーグレン症候群のように涙液の分泌が減少して発症するタイプばかりでなく、角膜表面からの涙液蒸発

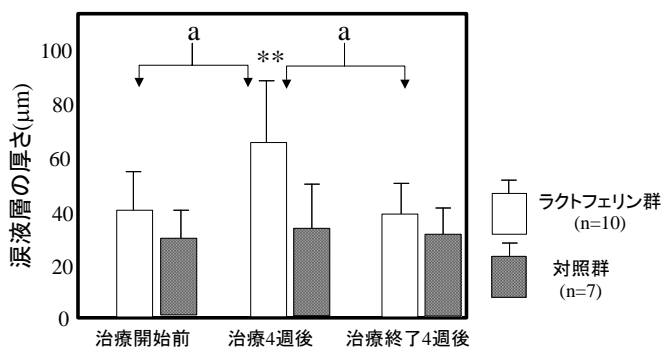


図 6. 腸溶性 bLF 摂取による涙液層の厚さの変動  
涙液層の厚さは、平均値±SE で図示した。a),  $P<0.01$  in Fisher Exact test,  $**P<0.01$  in Mann-Whitney test..

が過多の場合にも起こるとされている。病因がいずれであっても、涙液層が決定的に重要な役割を果たしていることに変わりない。図 6 に bLF 摂取が涙液層の厚みに及ぼす影響を図示した。対照群の涙液層厚は試験期間内に変動しなかった。しかし、bLF 摂取群のそれは 1 ヶ月の摂取で有意に約 60%の厚さが増加し、bLF 投与を中止して 4 週間後には QOL 及び人工涙液点眼回数と同様に再び治療前値に復帰す

る傾向を示した。つまり、bLF 摂取によるシェーグレン症候群の改善は、涙液層の厚さが増加することに起因する。涙液分泌は bLF 摂取でも増加しないので、改善効果は油層及び粘液層の厚さ増加によるものと考えられ、既に光の散乱を利用する物理的な測定法により bLF 摂取が油層の厚さを増加させることがわかっている ( )。今回の論文では bLF 摂取が眼粘膜の杯細胞密度を増加させ、粘液産生を増加させることが明らかにされた (表 1)。これは bLF の作用機作に肉薄する画期的な発見である。杯細胞の密度も治療終了 1 ヶ月を経過すると bLF 摂取前の密度に戻る点では QOL、点眼回数及び涙液層厚と同様な傾向が認められた。

表 1. ラクトフェリン摂取による杯細胞密度の増大

	摂取前	治療 1 ヶ月目	治療終了 1 ヶ月目
杯細胞の密度 (cells/mm <sup>2</sup> )	385±100	912±50*	426±180

\* $P<0.01$  in Fisher's exact test. 治療 1 ヶ月目 vs.治療終了 1 ヶ月目 ;  $P<0.01$  in Fisher's exact test.

この研究で明らかになったように bLF の 1 ヶ月摂取は、対症療法的にドライアイを改善する。

## まとめ

牛乳ラクトフェリンを 270 mg/day で1ヶ月摂取すると、次のような改善効果が認められた。

1. 全症例において自覚症状の改善が認められた (QOL)
2. 全症例において人工涙液点眼回数が減少した
3. シルマーテスト (涙液分泌量) は摂取前後で変化はなかった
4. 全症例において涙液層破壊時間の延長が認められた
5. フルオレセイン染色スコアの改善が認められた
6. ローズベンガル染色スコアの改善が認められた
7. 涙液層厚の増加が認められた