

花粉症とラクトフェリン（その4）

腸溶性ラクトフェリン研究会

常任理事 安藤邦雄

今年も花粉症の季節がやってきた。ラクトフェリンは血液単核細胞のインターフェロン- α 産生能を増強させ¹⁾、グラム陰性菌のリポ多糖と *in vivo* および *in vitro* で拮抗すること²⁾、ヒト遺伝子組換えラクトフェリンが樹状細胞の活性化により抗がん作用を示す³⁾等から、樹状細胞を刺激する自然免疫の修飾因子であり、抗原提示細胞を通じ獲得免疫にも影響している。

日本人の6人に1人が花粉症と言われ、ダニや花粉などでアレルギーを起こしやすい体質の人が急増している。花粉症は生命にかかわる病気ではないが、国民の16%が花粉症と聴けば、まさに「生活の質」の低下をもたらす国民病と云う名に相応しい。しかも、花粉症に悩まされているのは日本だけではない。欧米先進国のなかにも国民の20%が花粉症に悩まされている国もあり、花粉に対するアレルギーは先進国共通の悩み⁴⁾である。いろいろと対策が講じられているが、いっこうに事態が改善されたようには見えない。抗ヒスタミン剤にせよ、副腎皮質ホルモンにせよ、しよせんは対症療法剤であるためだろうか。

1. 花粉症の疫学

我が国における花粉症の大半は、スギ花粉に対する過剰な免疫反応(I型アレルギー)が引き

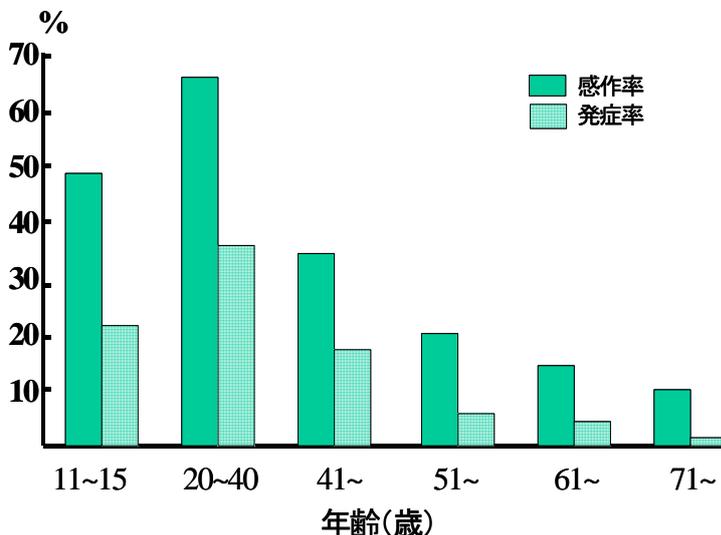


図1. 千葉県下におけるスギ花粉感作率と発症率(1993年)

き金である。花粉症患者の実数は、2000年の奥田・馬場等の調査によると、国民のおよそ16%が花粉症患者と推定されている⁵⁾。花粉に対して感作された人の割合を感作率、発症した人の割合を発症率と言う。検診時、11歳~15歳までの小中学生並びに20歳以上の住民ボランティアの協力を得て、スギ花粉に対する感作率と発症率を調査した1993年における千葉県の結果を示す(図1)。それによると11歳~15歳でも感作率は40%

を超え、発症率も20%に達しており、20歳~40歳までのグループは感作率が70%、発症率が60%を超えてピークになった。しかし、年齢があがると感作率・発症率とも減少してゆく。つまり、小学生時に花粉成分に感作され、それに対するIgE抗体が作られ発症する

ようになる。20歳～40歳代にかけて最も多くの方が花粉症になるが、加齢につれて患者数は減少する傾向がわかる。一方、くり返しの調査から、40～50歳代は、5年・10年経過しても①抗体価は簡単には減少しないが、②自然に改善したり治ったりする割合も決して少なくないことがわかってきた。高齢になると患者数は減少しているように見えるが、これはその当時の環境の影響なども加わっているため、単に年を重ねると改善するものではないようだ。

2. 腸溶性ラクトフェリン製剤による花粉症改善例

腸溶性ラクトフェリン製剤は、まだ花粉症に対して二重盲検試験が行われていないが、幅広く体験例のなかから劇的な改善があった2例を紹介する。時速千キロに近い旅客機の操縦士は、一瞬の油断も許されない職業である。したがって、花粉症が重篤であっても、乗務に際し眠気をもよおす抗アレルギー薬の服薬を禁ずるルールがある。

筆者は2004年3月に千葉県四街道の友人を訪問したことがある。その席に花粉症に悩む国際線の機長が同席しておられた。眼は充血し、鼻はマスクで覆われ、QOLの低下は一目瞭然だった。機長曰く「世界中を股に掛けて飛び回る職業だから、行く先々で花粉症に有効と称する健康食品を買い漁ったが、有効なものは何一つなかった」とのこと。腸溶性ラクトフェリン製剤の摂取を勧めたところ半信半疑だったが、ほどなくパリから「眼も鼻も改善し、苦しみはなくなった」と国際電話してこられた。

茨城県在住のHSさんは、学齢前からひどい花粉症だった。春先になると抗ヒスタミン剤を服用し、外出時にはマスクとゴーグルが手放せず、ひどい鼻閉、鼻水、眼の充血のため抗ヒスタミン剤なしには過ごせなかった。抗ヒスタミン剤でも全身の掻痒感を治してくれなかったが、腸溶性ラクトフェリン(LF)製剤を服用するようになって掻痒感もなくなり、物心ついて始めてマスクもゴーグルもつけず、外出できるようになった。花粉症と付き合いあって30年以上、花粉の飛散がピークを迎える「お花見」シーズンが大嫌いだった。抗ヒスタミン剤ものまず、マスクもゴーグルもなしに外出できることが、どれほど嬉しかったか察するにあまりある。幼少時に発症した花粉症は、治癒しないと言われているが、筆者が知る限りでも腸溶性LF製剤の愛用者で花粉症が治癒した方が数人ある。なぜ、このような奇跡が起こったのだろうか？

3. ラクトフェリンはヒツジ喘息モデルの気管支収縮を抑制する

マスト細胞は、殆んど全ての臓器に分布しアレルギー反応で中心的な役割を演ずる細胞で、特に外界に接触する皮膚や粘膜に密に分布し、自然免疫のトル様受容体(TLR)を介して活性化され、本来は自然免疫による感染防御を担う役割をもっている。マスト細胞の表層は親和性が高いIgEレセプター(FcεRI)を高密度に発現している。IgE・抗原複合体の形成によりレセプターが相互に架橋されると、マスト細胞は活性化され、顆粒に貯蔵しているヒスタミン、トリプターゼ等を放出しアレルギー反応を惹起する。ブタの回虫

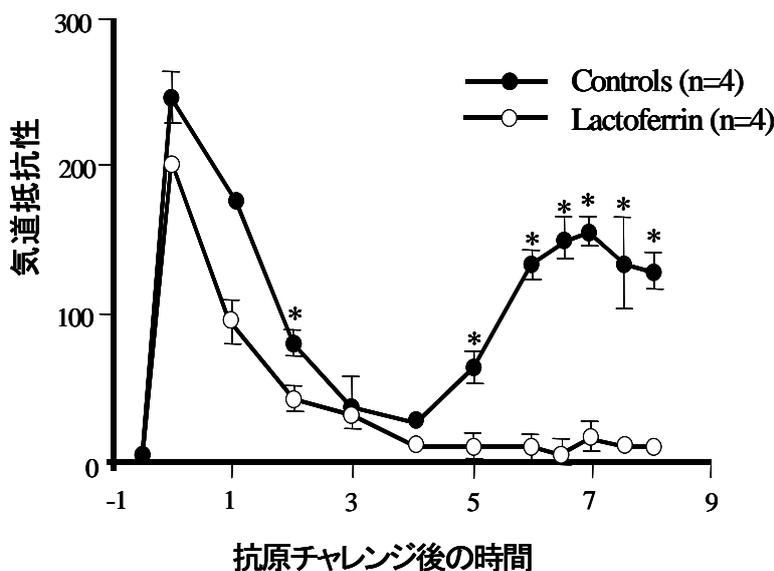


図2. ヒツジの実験的喘息に対するラクトフェリン吸入の効果

*Ascaris suum*の抗原で感作し実験的喘息を誘発するヒツジ8頭を無作為に2群に分け実験に用いた。ヒト・ラクトフェリン (10 mg) は3mlのPBSに溶かし、抗原投与30分前、4時間ならびに24時間後に吸入させた。特異的肺抵抗性は、Abraham等の方法により食道に留置したバルーンカテーテルでモニターして図示した。(Abraham et al.: Am. Rev. Respir. Dis. 128:839-844, 1983)。*P<0.05

6~8 時間以降に起こる遅発相 (late phase) に分かれる。即時反応は、予め細胞内顆粒に貯えられていたヒスタミン等のケミカルメディエーターが脱顆粒により放出され、さらに細胞膜リン脂質のアラキドン酸からロイコトリエンやプロスタグランジンが産生・放出される。マスト細胞上の IgE 受容体からの刺激により Th2 型サイトカインやケモカイン遺伝子の転写が起こり、Th2 型サイトカインが産生される結果、炎症局所に動員された好塩基球やリンパ球が活性化されて遅発反応を起こす。マスト細胞はこのアレルギー炎症局所において単に炎症のエフェクター細胞として働いているだけではなく、炎症の指揮者としてアレルギーの増悪回路の中心に位置する。図 2 の結果から、抗原をチャレンジした感作動物において、ラクトフェリンはマスト細胞からのケミカルメディエーターの放出は阻害しないが、抗原刺激後に起こる Th2 型サイトカインやケモカイン遺伝子の転写の upregulation、ケミカルメディエーター合成・放出にいたる過程を阻害することがわかる。

4. モルモットの花粉症モデルにおける発作の制御

次にラクトフェリン (b-LF) による花粉症発作の抑制をモルモットで実験した結果を紹介する⁷⁾。ハートレイ系モルモット(体重約 300g)を 1 週間のうちで月曜から水曜まで 3 日間連続してスギ花粉を吸入させ、吸入を 4 週間繰り返して花粉成分に対し感作させた。感作の期間中、すべての個体に生理食塩水 (対照群) ないし b-LF (腹腔内 100mg/kg) を 3 日に 1 回投与した。

(*Ascaris suum*)の抗原で感作したヒツジに抗原を吸入させると、気管支の収縮と気道の過敏反応を誘発する。Elrod 等⁶⁾は同時にラクトフェリンを吸入させると、図 2 に示すように喘息の遅発相における肺抵抗性増大が阻止されることを明らかにした。僅か 10 mg のラクトフェリンを 3 回吸入させただけで、遅発相は強く抑制される。呼吸困難は二相性で、抗原暴露 30 分以内に起こる即時相 (immediate phase) と、

5週目に感作モルモットを密閉した箱に閉じこめ、0.5M酢酸、ないし、0.5M酢酸中にスギ花粉を懸濁した液を10分間スプレーして吸入させた後、鼻腔に10分間0.5M酢酸をスプレーして発作を起こさせた。図3から明らかなように、b-LF投与は抗原刺激による“くしゃみ発作”を起こさせるまでの時間（くしゃみ潜時）を有意に延長しなかったが、感作期間中におけるb-LF投与は、“酢酸刺激のみ”の場合、くしゃみ回数を1/2、“スギ花粉+酢酸刺激”の場合、くしゃみの回数を1/3にそれぞれ有意に減少させた。つまり、b-LFを抗原感作中に投与すると、明らかに感作の程

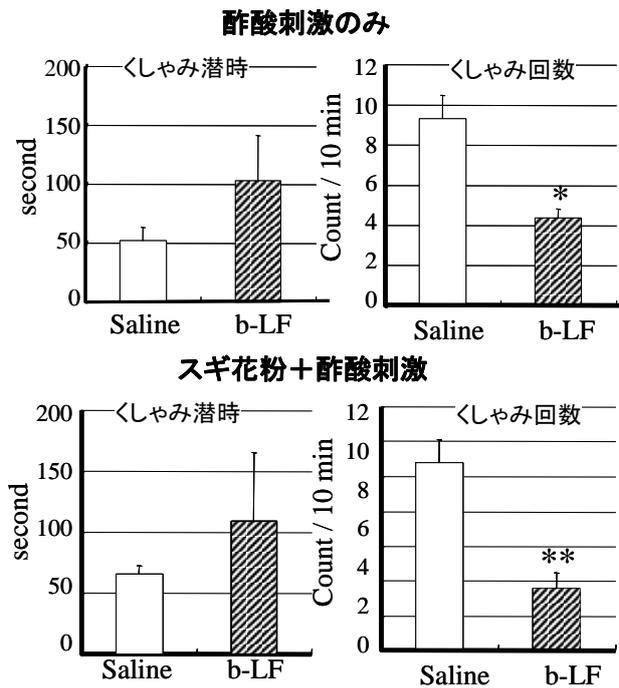


図3. 花粉感作モルモットの酢酸誘発性くしゃみに対するLFの抑制効果

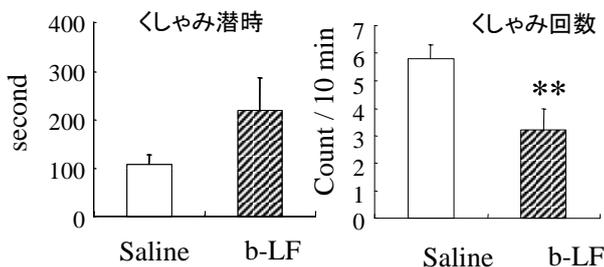
モルモットの行動試験は0.5M酢酸ミストによる刺激を10分間、またはスギ花粉を10分間吸入させた後、酢酸刺激を10分間行った。試験当日は生理食塩水ないしLFは投与していない。くしゃみ潜時は酢酸刺激開始から最初のくしゃみを発するまでの時間とし、くしゃみ回数は刺激を行った10分間の回数。*P<0.05, **P<0.01, グラフはMean±SE (n=10)

度を軽減する予防効果がある。

一方、b-LFは感作モルモットを抗原刺激して起こる発作を抑制する。図4はハートレイ系モルモット(体重約300g)を1週間のうちで月曜から水曜まで3日間連続してスギ花粉を吸入させ、吸入を4週間繰り返して花粉成分に対し感作させた実験の結果を示す。

酢酸誘発性くしゃみに対してもb-LFは有意な抑制効果を示した(図4)。上の図は感作モルモットを収容した密閉した箱にb-LF水溶液を噴霧して吸入させ、その10分後に酢酸ミストで刺激した場合の結果を示す。図3が予防効果を示すのに対し、図4は治療効果を検証した実験結果である。感作モルモットを収容した箱

噴霧による効果



腹腔内投与による効果

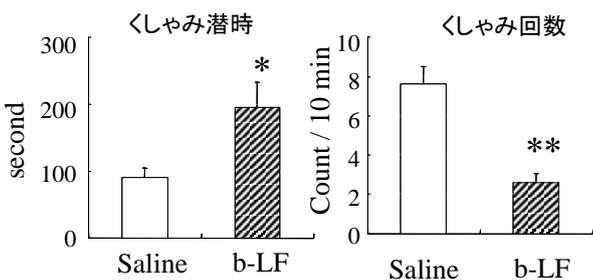


図4. 酢酸誘発性くしゃみに対する抑制効果

噴霧試験では、Salineまたは10% bLFをモルモットの鼻腔内に5回噴霧し、その10分後に0.5M酢酸ミストによる刺激を10分間行った。腹腔内投与試験では、SalineまたはbLF(100 mg/kg)をモルモットに投与し、その30分後に同様の酢酸刺激を行った。くしゃみ潜時は酢酸刺激開始から最初のくしゃみを発するまでの時間とし、くしゃみ回数は刺激を行った10分間の総くしゃみ回数とした。*P<0.05, **P<0.01 vs. saline, グラフはMean±SE (n=10)

内に b-LF を噴霧すると、くしゃみの回数を有意に抑制した。一方、LF の腹腔内投与 30 分後に酢酸ミストで刺激すると、くしゃみ潜時を倍以上延長し、さらにくしゃみの回数を約 1/3 に減少させた。

5. 作用機作

セリン・プロテアーゼの一種であるトリプターゼ- α/β は、マスト細胞に含まれるタンパク質の 25%を占めている。この酵素は日焼けによって活性化され、顔のシワの原因になるとされ、その阻害剤は化粧品原料として使われている。トリプターゼは二つの理由から興味ある存在だ。一つは四つの活性ユニットから構成される四量体であること、第二に内因性のトリプターゼ阻害物質が見あたらないことだった。一方、アナフィラキシーおよびアレルギー反応では、トリプターゼはマスト細胞が抗原刺激を受けて脱顆粒したことを示す指標になる。

Elrod 等⁶⁾はヒト・ラクトフェリン (h-LF) が強力で特異的なトリプターゼ阻害剤 ($K_i=24\text{nM}$) であることを発見した。h-LF はトリプターゼ四量体を解離させて失活させるが、過剰のヘパリンが存在すると h-LF の阻害効果は減弱する (図 5)。h-LF はヘパリンとの特異的な結合部位を持ち、トリプターゼ四量体を束ねるヘパリンと結合すると、四量体をモノマーに解離させ、酵素を失活させる。つまり、ラクトフェリンは体内におけるトリプターゼの活性調節因子であり、マスト細胞が誘発するアレルギーの対する天然の抑制因子である。

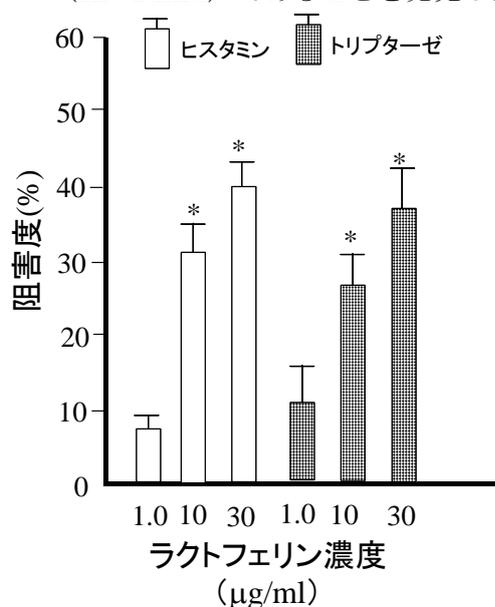


図 6. 大腸マスト細胞からのヒスタミンおよびトリプターゼ放出に対するラクトフェリンの阻害効果

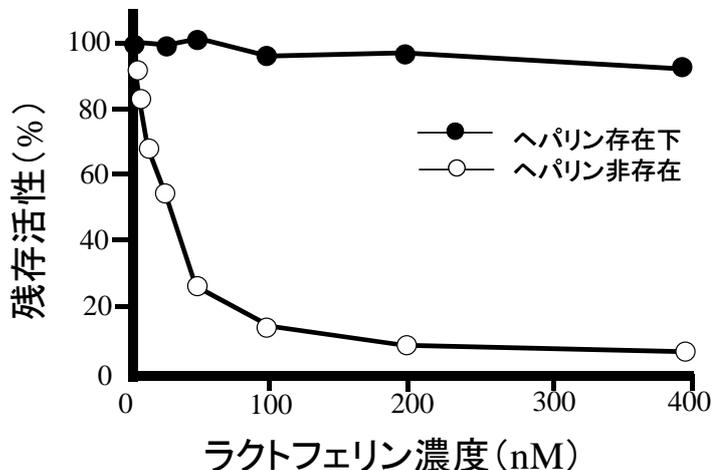


図 5. ラクトフェリンによるトリプターゼの阻害
ヒト・ラクトフェリンをヒト・マスト細胞のトリプターゼ (0.5nM) とインキュベートした際における酵素活性の変化。黒丸は 25 ng/ml~500 ng/ml のヘパリン存在下で測定。

また、b-LF はヒト大腸のマスト細胞を刺激して起こる顆粒からのヒスタミン放出を阻害する。He 等^{8,9)}は手術で摘出した大腸癌組織から正常組織を切り出し、コラーゲナーゼで処理して得た浮遊マスト細胞に抗 IgE 抗体を作用させ、放出されるヒスタミンおよびトリプターゼを測定した。その結果、図 6 のように 10 µg/ml~30 µg/ml の b-LF を加えると、

放出を 30~50%阻害することがわかった。

酸化ストレスは、アレルギー反応に強くかかわっている¹⁰⁾。低比重リポ蛋白 (LDL) がヒドロキシラジカルと反応して生成される酸化 LDL は、それを貪食した単球あるいはマクロファージが泡沫化して血管内皮に集まりアテロームを形成させる。Sedgwick 等⁽¹⁰⁾は LDL に *in vitro* で硫酸銅を加えて酸化した LDL が、好中球ならびに好塩基球の遊走と脱顆粒にどのような影響を及ぼすかを検討した。正常 LDL と顆粒球をインキュベートしても、遊走の促進は起こらないが、酸化 LDL を加えると用量依存性に遊走細胞の割合が増加する。つまり、酸化 LDL は炎症局所の増悪因子である。さらに、好塩基球に酸化 LDL を作用させると、遊離する好塩基球性 neurotoxin 量は、対照の 4 倍に増加した。つまり、炎症局所の酸化ストレスにより生成した酸化 LDL は、顆粒球の遊走亢進と好塩基球から遊離される neurotoxin を増大させ、喘息における後期反応を悪化させている可能性がある。ラクトフェリンは銅イオンの強力なキレーターであり、酸化 LDL の生成抑制を通じ I 型アレルギーの予防・治療に有用である可能性がある。

一方、b-LF をマウスに経口投与すると、卵白アルブミンあるいは高カゼイン飼料により誘発される高 IgE 血症を抑制する¹¹⁾。なぜ b-LF の経口投与が、IgE 産生を抑制するのか、そのメカニズムを考えてみた。

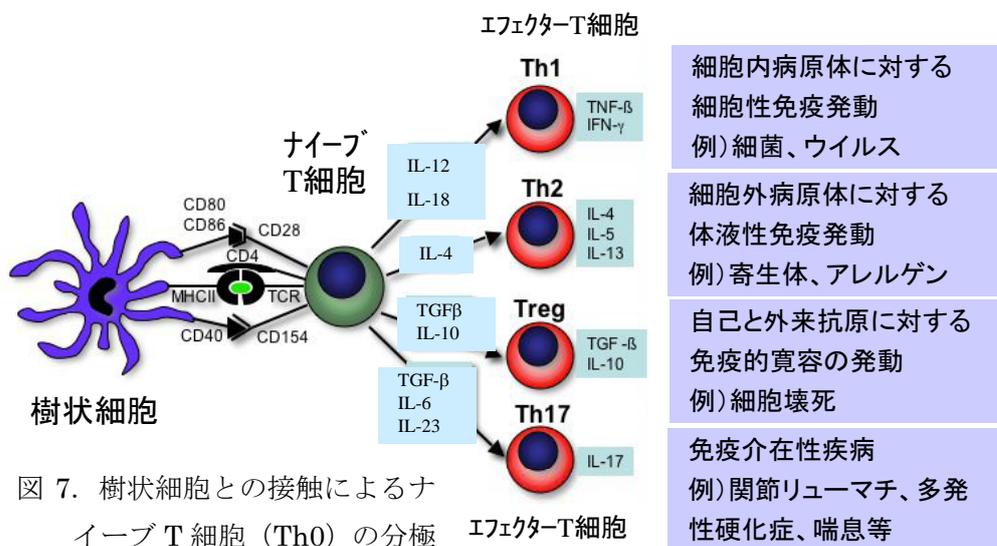


図 7. 樹状細胞との接触によるナイーブ T 細胞 (Th0) の分極

国立がんセンターの津田等¹²⁾ (当時)は、b-LF が移植癌の転移を阻害する作用メカニズムとして、b-LF が単核球にはたらきかけて IL-12 と IL-18 の産生を upregulate することをあげている。これらのサイトカインは、図 7 のようにナイーブ Th0 細胞を Th1 ヘルパー T 細胞に分化させるのである。Th1 ヘルパー T 細胞は、IFN- γ を産生するので、がんの血管新生を阻害することによりがんの転移を予防するメカニズムを提唱している。つまり、b-LF は、Th0 を Th1 に分化させ細胞性免疫が優位な状態をつくりだすのである。ラクトフェリンが Th17 と Treg にどのような影響を与えるかは不明である。

花粉症は不思議な病気である。日本におけるスギ花粉症発症が最初に学会で報告された

のが 1963 年、1970 年代に瞬く間に全国に広がった。その頃の日本は、生活習慣の大きな変革が始まっていた。鉄筋コンクリートの密閉型住宅が全国に建てられ、水洗トイレが普及した。花粉症の発生は、その時期に一致している。したがって、この病気は生活習慣がもたらしたことは確かである。生活習慣のなかの何が花粉症の原因なのだろうか？抗ヒスタミン剤、ステロイド剤等を開発し、対症療法でうわべをごまかす医療は限界に来ているのではなかろうか。免疫系はオーケストラのようなもの、Th17、Treg 等の役者が揃いつつあり、やがて花粉症発生をストップさせる対策が講じられるのではあるまいか。

引用文献

- 1) Ishikado A et al. *Biofactors*. 2004;21(1-4):69-72.
- 2) 本誌、2008 年 8 号、84-87
- 3) 本誌、2008 年、4 号、84-87
- 4) Evans R. I. ; *Allergy: Principles and Practice* (4th ed.), edited by Middleton et al., Mosby-Year Book, p.1109-1136, 1993.
- 5) 環境省ホームページ（環境省花粉情報サイト）；花粉症保健指導マニュアルー平成17年3月改訂版より
- 6) Elrod K.C. et al. ; *Am. J. Respir. Care Med.* ; 156: 375-381, 1997
- 7) 竹内崇、原田悦守、未発表
- 8) He, S-H. and H. Xie; *World J Gastroenterol*. 10: 332-336, 2004
- 9) He, S-H. and H. Xie; *World J Gastroenterol*. 10: 337-341, 2004
- 10) Sedgwick JB et al. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2003 Dec;29(6):702-9.
- 11) 久原徹哉、*臨床免疫*、34:376-381, 2000
- 12) Iigo M et al. *Cytokine*. 2004 Jan 7;25(1):36-44.