多機能タンパク質ラクトフェリンの抗真菌作用と医療への応用

山口英世

今から 60 年前、牛乳の中から紅いタンパク質として見つかったラクトフェリン(LF)。これまでの多くの研究から、ヒトや哺乳動物の外分泌液中や好中球内に存在し、LF 自身とその分解産物の抗微生物活性、ならびに生体の免疫系に対する作用によって、感染防御に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。残された大きな課題は、牛乳からの大量生産が可能となった高純度ウシ LF の医療面での活用であり、なかでも筆者らが最も関心と期待を寄せているのは真菌症の治療・予防への応用である。

ラクトフェリン (lactoferrin ; LF) は、その名が示す通り、乳汁由来の鉄結合性糖タンパク質である。LF は 1939 年に牛乳から紅い色調のタンパク質 (red protein) として初めて分離された⁽¹⁾。1960 年には人乳からも単離され⁽²⁾、現在までにイヌとラットを除くすべての哺乳動物の乳汁中に LF の存在が確かめられている。

LF は最も含量の高い乳汁 (ヒトでは初乳 5~7 mg/ml, 常乳 2~3 mg/ml) のほか、涙液、鼻汁、唾液、気管分泌物、胆汁、脾液、精液、子宮頸管粘液、羊水、尿といったほとんどすべての外分泌液中にも含まれてい

る。さらに LF は、好中球の主要細胞成分として二次顆粒中に存在し^(3~5)、サイトカイン刺激やグラム陰性細菌などの病原微生物の感染に応答して細胞内から血中へと放出される。

様々な体液や好中球に含まれる LF は、生体内で多彩な生理学的機能を発揮していると推定されるが、特に注目されるのが抗微生物活性および免疫修飾活性(これを介した抗腫瘍活性を含む)である。これらの活性に基づいて、LF は生体を感染から守るのに重要な役割を演じていると考えられる。このことは、LF が生体と外界との接点にあって外来性病原体の侵入門戸となりやすい生体部位の粘膜を潤している外分泌液中に、また組織内に侵入した病原体を迎撃する好中球内に、さらに感染抵抗力の未発達な乳児が摂取する乳汁 (特に初乳) 中に、いずれも比較的高濃度で含まれていることから、容易に肯けよう。

このように LF は、もともと生体内で作られる内因性物質であるが、近年、牛乳から高純度のウシ LF を大量生産する技術が確立された。また、ウシ LF を経口摂取した場合の安全性がきわめて高いことが、動物試験ならびに臨床試験の成績から確かめられている⁽⁶⁾。これらの状況を背景に、現在機能性食品などとしてのみ利用され

A Multifunctional Protein "Lactoferrin"—Its Antifungal Action and Applications to Clinical Medicine

*Hideyo YAMAGUCHI, 帝京大学医真菌研究センター

図 1 ■ ウシラクトフェリンの立体構造

左側がNローブ、右側がCローブの領域であり、Nローブの中の色やや薄い部分(左下)がラクトフェリシンBに相当する。左右の2つの丸は特定の部位(鉄結合部位)に結合した3価鉄(Fe^{3+})を示す。写真はE.N. Baker教授、R. Kidd博士(ニュージーランド・オークランド大学)提供、立体構造はS.A. Moore *et al.*: *J. Mol. Biol.*, 274, 222 (1997)より引用

ているウシLFを、一歩進んで医療へ応用することも検討されつつある。実験的には、発癌・癌転移抑制効果⁽⁶⁾やC型肝炎ウイルス(HCV)感染防御効果^(7,8)などが確認されており、後者に関しては予備的な臨床試験が進行中である。

真菌感染症(真菌症)は、一般に治療・予防対策の困難な感染症として知られている⁽⁹⁾。後で詳述するように、筆者らの研究グループは真菌症問題の解決の一助として、ここ数年、ウシLFおよびその分解産物であるラクトフェリシン(lactoferricin B; LFcin B)の治療・予防薬としての可能性を検討し、その潜在的有用性を期待させる成績を得ている。本稿では、ウシLFおよびLFcin Bの直接的または生体を介した抗真菌作用を中心に、両物質の関連する特性と合わせて概説する。

■ ウシラクトフェリンおよびラクトフェリシンBの一般的特性

ウシLFの化学的ならびに生物学的特性については、ヒトLFのそれとともに国内外の多くの研究者の手によって精力的な研究がなされている。特にLFcin Bの研究は、この物質がわが国で単離されたこともあって、もっぱら国内で行なわれてきた。それぞれの詳細は、ウシ(およびヒト)LFに関する総説^(7,9~15)およびLFcin Bに

関する総説^(10,11,13,14,16,17)を参照されたい。

1. ウシラクトフェリンの化学的・生物学的特性

ウシLFは、689個のアミノ酸残基を含む1本のポリペプチド鎖にガラクトース、マンノースなどからなる糖鎖(糖含量、11.2%)が結合した糖タンパク質(分子量、約83,000)である。ペプチド鎖はSS結合を含み、N末端側とC末端側との2つの部分——それぞれNローブ(lobe)、Cローブと呼ばれる——に折りたたまれ、両者は α ヘリックス構造をとって結合している(図1)。各ローブには1個の鉄結合部位が存在し、1分子当り2個の3価鉄イオン(Fe^{3+})をキレート結合する。ヒトLFの構造も基本的には同じであり、アミノ酸残基が2つ多いこと(691個)、糖含量が低いこと(6.4%)、分子量がやや小さいこと(約80,000)だけが異なる。こうしたLFに共通する構造は、血流中の鉄輸送タンパク質として知られるトランスフェリン(transferrin)とも共通であり、アミノ酸配列で約60%の相同性がみられる。

これまでの*in vitro*、*ex vivo*および*in vivo*実験の成績から、ウシLFは次のような多彩な生物活性を示すことが明らかにされている。すなわち、①鉄代謝調節活性、②抗微生物(細菌、真菌、原虫、ウイルス)活性、③免疫・炎症応答修飾活性、④抗酸化活性、⑤細胞増殖調節活性、

⑥抗癌・癌転移抑制活性, ⑦その他の活性(リポ多糖結合能, DNA 結合能, 腸内細菌叢修飾活性など)である。各々は必ずしも独立した活性ではなく, 共通の作用基盤に立つものも少なくないと考えられる。特に LF の中心的な機能とされる①は, 他のすべての生物活性に多少とも関与するといわれてきた。しかし, 本稿の主題である真菌感染防御作用に対しては, この活性はほとんど影響しないようである。ここでは, より直接的な関係をもつと考えられる②と③についてのみ触れたい。

抗微生物活性: ウシ LF は, 真菌のほか, 種々のグラム陽性・陰性細菌, 原虫(トキソプラズマ, ジアルディアなど), ウイルス(インフルエンザウイルス, サイトメガロウイルス, HCV, HIV, ヘルペスウイルス, ポリオウイルスなど)を *in vitro* および(または)*in vivo* で阻止する。この中で最も早くから検討され, 抗真菌活性とも関連性が高いのは, 抗(細)菌活性であり, その作用機序も明らかにされつつある。以前から最も有力視されてきたのは, LF によって細菌の鉄利用が妨げられる結果, 発育阻止にいたるという説であった。しかし近年, ウシ LF の抗菌活性の本体は, 強力な抗菌ペプチドとして知られる LFc_{in} B であるとする説が有力である。これに加えて, ウシ LF はグラム陰性桿菌に対して, そのリゾチーム感受性増強作用や上皮細胞接着阻止作用を示すことから, 生体内では直接的な抗菌活性から予想される以上の強い抑制的効果を発揮する可能性が考えられる。事実, ウシ LF の経口投与によって, ピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) の胃粘膜上皮への接着が阻止され, 本菌の胃内定着や感染が抑制されたという成績が報告されている。

免疫・炎症応答修飾活性: 様々な感染症における生体防御機構の最前線で働く好中球の機能に内因性 LF が深く関わっていることは, LF 欠損患者に繰り返し感染が起ることからも明らかである⁽¹⁸⁾。単核性食細胞(単球,

マクロファージなど), 好中球, リンパ球(T 細胞, B 細胞, NK 細胞)などの免疫担当細胞の表面には, LF のレセプターが存在する。そのため, LF や体液中に外分泌された LF が, これらの細胞と結合して細胞機能を修飾することは十分ありうる。事実, *in vitro* 実験系での成績からは, ①各種リンパ球の活性化と細胞増殖促進作用, ②好中球による活性酸素産生とそれに伴う貪食殺菌作用の亢進, ③好中球からのインターロイキン-8(IL-8)放出の促進, などが見いだされている。IL-8 が好中球の走化性や活性化を促すサイトカインであり, 好中球のファゴリソゾーム内で活性酸素の生成を促進することを考えると, 感染防御に際しての LF の最も顕著な免疫学的効果は, 感染局所における好中球の貪食殺菌作用の増強にほかならないことが示唆される。

2. ラクトフェリシンの化学的・生物学的特性

富田らの森永乳業の研究グループは, ヒト LF およびウシ LF のペプシン分解物の中から, 強い *in vitro* 抗菌活性をもつ単一ペプチドとしてラクトフェリシン(それぞれ LFc_{in} H, LFc_{in} B と略記)を分離した^(16,19)。LFc_{in} B のアミノ酸配列は, ウシ LF の N ロープの N 末端に近い部分(17 番目の Phe 残基から 41 番目の Phe まで)の 25 個のアミノ酸残基からなる(図 1, 図 2)。これに対して LFc_{in} H は, ヒト LF の N 末端から 47 番目までのアミノ酸残基の配列に一致している(図 2)。いずれも, これまで知られている様々な生物由来の抗菌ペプチドと同様に, Arg, Lys といった塩基性アミノ酸を多く含む一方, 鉄結合部位を欠いている。

両 LFc_{in} は, グラム陽性・陰性細菌のみならず原虫, 真菌も含む幅広い抗菌スペクトルをもち, その抗菌活性は対応する LF の数十~数百倍も強力である。たとえば, 一般細菌に対するウシ LF の最小発育阻止濃度 $\geq 1,000$ $\mu\text{g/ml}$ に比べて, LFc_{in} B のそれは 1~20 $\mu\text{g/ml}$ と低

図 2 ■ ウシおよびヒトラクトフェリシンの一次構造

い。また LF の抗菌作用が静菌的であるのに対して、LFcin は殺菌的に働く。LFcin の抗菌作用メカニズムについては、細菌の細胞壁表層成分——グラム陽性菌ではタイコ酸、陰性菌では外膜のリポ多糖(LPS)——と強く結合して細胞壁構造を脆弱化するとともに、細胞膜に対しても障害を与え、著しい細胞変性をひき起こすことが知られている。

さらに LFcin については、好中球に対する IL-8 放出促進作用などの LF 類似の免疫修飾活性、癌細胞転移抑制活性、白血病細胞のアポトーシス誘導活性、脂質過酸化反応抑制活性など、生体にとって有益と考えられる多様な生物活性をもつことも報告されている。

ウシラクトフェリンおよびラクトフェリン B の *in vitro* 抗真菌活性

ウシ、ヒト LF の *in vitro* 抗真菌活性に関する報告は比較的少なく、それも *Candida albicans* をはじめとして *C. krusei* などの *Candida* spp. (いずれもカンジダ症起因菌) に対する活性を検討したものがほとんどであった^(20~24)。測定条件が必ずしも同一でないため、確定された値とはいえないが、これらの *Candida* spp. に対するウシ、ヒト LF の最小発育阻止濃度 (MIC) または最小殺菌濃度は、およそ 20~200 $\mu\text{g/ml}$ の範囲にあると推定される。

一方、LFcin 特に LFcin B については、*Candida* spp. 以外の酵母様真菌や糸状菌を含む多種多様な病原真菌に対する MIC が測定されている^(25~28)。その代表例として、主要な病原真菌の大半の菌株を対象に、サブロー・デキストロース寒天培地を用いた寒天希釈法⁽⁹⁾によって測定された成績⁽²⁸⁾を表 1 に示す。この結果をみると、LFcin B は多くの酵母状真菌、二形性真菌、黒色真菌、一部の皮膚糸状菌 (白癬菌) に対して比較的強い活性をもつ。特に、*Cryptococcus neoformans* (クリプトコッカス症の起因菌; MIC=0.63 $\mu\text{g/ml}$) や *Trichosporon cutaneum* (トリコスポロン症起因菌; 平均 MIC=1.88 $\mu\text{g/ml}$) に対する活性は抗真菌薬並みの強さである。

しかし、LF のみならず LFcin の *in vitro* 抗真菌活性もまた測定条件、特に測定培地の組成や型状 (固型か液体か) によって大きく影響されることが判明している。表 2 は、代表的な白癬菌として知られる *Trichophyton mentagrophytes* と *T. rubrum* 各 2 株を試験菌として選び、サブロー・デキストロースブロスおよび RPMI 1640 培地を用いてミクロ液体希釈法⁽⁹⁾によって測定したヒト、ウシ LF および LFcin B の MIC である⁽²⁹⁾。対照薬として用いたグリセオフルビン (GRF, 経口抗白癬

表 1 ■ 主要な病原菌種に対するラクトフェリン B の *in vitro* 抗真菌活性^{a)}

真菌群	菌種 ^{b)}	MIC($\mu\text{g/ml}$)
酵母状真菌 (酵母)	<i>Candida albicans</i> (6)	10~40
	<i>C. tropicalis</i> (2)	0.31, 1.25
	<i>C. parapsilosis</i> (2)	20, 80
	<i>C. glabrata</i> (2)	80, 80<
	<i>C. krusei</i> (2)	10, 20
	<i>C. guilliermondii</i> (2)	5.0, 40
	<i>C. kefyr</i> (2)	2.5, 10
	<i>Cryptococcus neoformans</i> (2)	0.63
	<i>Trichosporon cutaneum</i> (2)	1.25, 2.5
アスペルギルス <i>Aspergillus</i>	<i>A. fumigatus</i> (4)	80<
	<i>A. niger</i> (2)	80<
	<i>A. flavus</i> (2)	80<
接合菌	<i>Rhizopus oryzae</i> (2)	80<
	<i>Absidia corymbifera</i> (2)	40, 80<
	<i>Mucor circinelloides</i> (1)	80<
	<i>M. racemosus</i> (1)	80<
二形性真菌	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i> (2)	0.63, 1.25
	<i>Sporothrix schenckii</i> (3)	2.5, 10
黒色真菌	<i>Fonsecaea pedrosoi</i> (2)	5.0
	<i>Exophiala dermatitidis</i> (3)	2.5
	<i>Phialophora verrucosa</i> (2)	5.0, 10
	<i>Cladosporium trichoides</i> (2)	5.0
	<i>Fusarium moniliforme</i> (2)	2.5, 5.0
皮膚糸状菌 (白癬菌)	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (5)	10~80<
	<i>T. rubrum</i> (3)	80<
	<i>T. tonsurans</i> (2)	5.0, 40
	<i>T. violaceum</i> (2)	40, 80<
	<i>Microsporum gypseum</i> (2)	20, 40
	<i>M. canis</i> (1)	40
	<i>Epidermophyton floccosum</i> (3)	0.31~2.5

^{a)}文献 27) より一部改変, ^{b)}() 内は試験菌株数。

薬)⁽⁹⁾ の MIC はいずれの培地でもほとんど変わらないが、ヒト、ウシ LF の MIC は前者の培地に比べて後者の培地のほうが著しく低い (50~>6,400 $\mu\text{g/ml}$ vs. 6.3~12.5 $\mu\text{g/ml}$)。一方、LFcin B ではこれと反対の関係の値が得られている。上述の寒天培地での成績も合わせて考えると、どのような条件で測定した MIC 値が LF および LFcin の *in vitro* 活性を正しく反映するかは、残念ながら現在のところ不明であり、今後の検討を待たなければならない。

近年、*C. albicans*, *Cr. neoformans*, *Aspergillus fumigatus* (アスペルギルス症起因菌), *Fusarium oxysporum* (フサリウム症起因菌) などの病原真菌に対する発育阻止活性をもつアミノ酸残基 40 個以下の抗菌ペプチドが様々な生物種から分離され、抗真菌薬の開発候補として注目されている。代表的なものとしてはセクロピン A, B (カイコ), マガイニン 2 (アフリカツメガエル), デフェンシン HNP-1,2,3 (ヒト好中球) などが挙げられるが、その中でも LFcin B の活性は最強とされて

表 2 ■ ヒト, ウシラクトフェリンおよびラクトフェリシン B の *in vitro* 抗白癬菌活性と培地の影響^{a)}

試験菌	MIC(μ g/ml)							
	サブロー・グルコース培地				RPMI 1640			
	ヒト LF	ウシ LF	LFcin B	GRF ^{b)}	ヒト LF	ウシ LF	LFcin B	GRF ^{b)}
<i>T. mentagrophytes</i> TIMM 1189	400	50	3.1	0.25	12.5	12.5	50	0.25
<i>T. mentagrophytes</i> TIMM 2789	400	100	6.3	1.0	12.5	12.5	200	1.0
<i>T. rubrum</i> IFO 6203	6,400<	6,400<	25	0.5	12.5	12.5	800	0.13
<i>T. rubrum</i> IFO 32409	800	100	12.5	1.0	6.3	12.5	400	0.5

^{a)}文献 29) より一部改変, ^{b)}グリセオフルビン (経口抗白癬薬)。

いる⁽³⁰⁾。

このように強力な抗真菌活性をもち, しかも殺菌的に作用するといわれる LFcine B であるが, その作用メカニズムは完全には解明されていない。電子顕微鏡下で観察すると, LFcine B 100 μ g/ml を 1~数時間作用させた *C. albicans* や *T. mentagrophytes* の細胞には顕著な形態変化が認められる^(25,26)。一方, 生化学的解析からは, LFcine B が濃度依存的に *C. albicans* 細胞からの速やかな K⁺ 放出をひき起こすことが確かめられた⁽²⁷⁾。これらの成績は, LFcine B の一次的な作用標的が細菌の場合と同様に, 真菌においても細胞膜にあり, その構造・機能を障害することを強く示唆する。

ウシ LF および LFcine B は, 特定の抗真菌薬, 特にフルコナゾール (FLCZ) などのアゾール系薬剤との間で *C. albicans* に対して相乗作用を示すことが *in vitro* 試験で認められている^(22,24,31,32)。筆者らの成績によれば, 単独で発育阻止効果を示さない濃度のウシ LF または LFcine B の共存下では, FLCZ, イトラコナゾール, クロトリマゾール, ケトコナゾールといったアゾール系薬剤の MIC が 1/4~1/16 に低下し, FLCZ はその耐性株に対して特に顕著な相乗作用を発揮した^(31,32)。これは, 現行の抗真菌化学療法の有効性を高めるのにウシ LF や LFcine B が役立つ可能性を示すものであろう。

生体の真菌感染防御能, 特に好中球機能に対するウシラクトフェリンの増強効果

真菌症に対する生体防御に関与する主な免疫機構は, ひき起こされる真菌症の起因菌や病型によって, 2つのタイプに大別される。1つは口腔食道カンジダ症, クリプトкокカス症, 白癬などにおける細胞性免疫であり, もう1つは侵襲性(または播種性)カンジダ症, アスペルギルス症, 接合菌症などにおける好中球である⁽⁹⁾。ウシ LF がいずれの免疫機構に対しても増強効果を示すことは前述した通りであるが, 特に後者について詳しい検討がなされており, ここではこれを中心に述べる。

In vitro 実験系において, ヒトやマウスの好中球にヒ

トまたはウシの LF を低濃度(単独で抗 *Candida* 活性を示す濃度の 1/10~1/200)添加すると, 好中球の *Candida* 発育阻止作用を有意に増強する^(32,33)。しかもこの増強効果は, 好中球と *Candida* 細胞が直接に接触しない条件下でもみられることから, おそらく LF の添加によって好中球からの内因性 LF, デフェンシン, カルプロテクチンなどの抗菌細胞成分や活性酸素(フリーラジカル)の放出が促進されたことによると推測される。LF の刺激が好中球の活性酸素産生を増強することは, Gahr ら⁽³⁴⁾ によっても報告されている。また筆者らは, LF とカルプロテクチンが共存する場合には, 各々が単独の場合よりも好中球の *Candida* 発育阻止作用を著しく増強することを認めている⁽³⁵⁾。これらの複数のメカニズムが働いて, 好中球の抗 *Candida* 作用が細胞の内外で発揮されると考えられる。

好中球機能増強効果とは別に, 特定の条件下で白癬菌免疫モルモットにウシ LF を摂取させた場合, その脾細胞がマクロファージの本菌貪食殺菌能を亢進することが見いだされている⁽²⁹⁾。白癬菌感染が起こる皮膚組織内にマクロファージ系のランゲルハンス細胞が存在することから, LF によって亢進される Th 1 型免疫応答, すなわち細胞性免疫を介した白癬菌に対する生体防御能の増強がもたらされた可能性が考えられる。

真菌症動物モデルにおけるウシラクトフェリン経口投与の治療・予防効果

前述の *in vitro* 実験の成績が示したウシ LF および LFcine B の抗真菌活性ならびに免疫増強効果が, ウシ LF を経口投与した生体内でも発揮されるならば, 真菌症に対して治療的および(または)予防的な効果が得られるはずである。この可能性を検討するために, 筆者らは, ウシ LF および LFcine B に感受性をもつ病原真菌のうち, 主たる生体防御をそれぞれ好中球および細胞性免疫に依存する *C. albicans* 全身感染(侵襲性・播種性カンジダ症)および *T. mentagrophytes* 皮膚感染(白癬)の動物モデルを用いて *in vivo* 試験を行なった。

1. マウス侵襲性・播種性カンジダ症モデルでの効果

シクロホスファミド処置によって免疫抑制（好中球減少）状態に導いたマウスに *C. albicans* を静脈内接種して致死性カンジダ症モデルを作製し、感染前の4日間、マウス当たり50 mg/日のウシ LF を経口投与した群（LF 群）と、同量の生理食塩水のみを投与した群（対照群）との感染1週後の生存率を比較した。その結果、LF 群と対照群の値はそれぞれ87 % (20/23) vs. 58 % (15/26) となり、前者が有意に ($p < 0.05$) 高かった⁽³⁶⁾。また、ウシ LF の腹腔内投与の場合には、より少量（0.1 mg/日/マウス、1回投与）でより顕著な生存期間の延長が認められた。予備的な成績ながら、用法、用量を適切に選ぶならば、ウシ LF は *in vivo* でも有効性を示す可能性があることを示すものであろう。

2. モルモット白癬モデルでの効果

モルモットの背部に *T. mentagrophytes* 強毒株の分生子を接種して作製する体部白癬（タムシ）の動物モデルは、激しい炎症症状を伴って急性に経過し、自然治癒する。病態としてはヒトの自然感染のそれとはかなり異なるものの、抗白癬薬の前臨床評価に有用な動物モデルとして繁用されてきた。この感染モルモットに、1日量として体重1 kg 当たり2.5 g（高用量群）および0.25 g（低用量群）のウシ LF の経口投与を、感染前または感染後に開始したところ、高用量群では、発赤、丘疹、出血などの局所症状の進行は抑制されなかったが、自然寛解は有意に促進された^(29,37)。その後、ヒトの自然感染により近いモルモット足白癬（ミズムシ）モデルを用いた試験でも、ウシ LF の経口投与がある程度の感染抑制効果を示し⁽³⁷⁾、白癬治療への臨床応用を期待させる結果となった。

真菌症の治療・予防、特に白癬患者におけるウシラクトフェリンの臨床的有用性

ウシ LF を経口投与した場合の実験動物やヒト（健康成人）での高い安全性⁽⁶⁾と、動物白癬モデルでの有効性^(29,37)がともに確認されたことから、足白癬成人患者を対象とした臨床試験が実施された⁽³⁸⁾。この試験は、プラセボ（偽薬）対照群、ウシ LF 低用量（600 mg/日）、およびウシ LF 高用量（2,000 mg/日）群の3群間の二重盲検試験としてデザインされ、投与開始から2, 4, 8, 12週後に、局所皮膚症状の改善度に基づいて有効性の評価がなされた。試験の結果、症例全体の解析では3群間で皮膚症状の強さに有意な差は認められなかったものの、症状が中程度の小水疱型または趾間型の足白癬患者のみ

図3 ■ 経口(または非経口)摂取されたウシラクトフェリン(ウシ LF)の生体内における真菌感染防御作用に関与すると推定されるいくつかの潜在的メカニズム

①, ②は直接的な抗真菌作用, ③, ④は生体介在性の抗真菌作用。

を対象とした場合には、プラセボ群に比べて両 LF 投与群では、完治例こそみられなかったものの、有意な症状改善が得られた。この成績は、症状の比較的軽い足白癬患者に対してウシ LF 療法が有効であったことを示している。

*

ウシ LF およびその代謝（分解）産物である LFcin B は、これまでの *in vitro* 実験からは、いずれもかなり強い抗真菌活性をもつこと、しかもこの活性が鉄キレート作用とは無関係の直接的な真菌細胞表層構造に対する障害作用に基づくことと推察されることが示された。一方、生体に対しては、ウシ LF は好中球機能および（または）Th1 型免疫応答（細胞性免疫）の亢進を介して真菌感染に対する生体防御能を高めることわかった。さらに、動物モデルの前臨床試験および患者での臨床試験の成績は、*in vitro* 実験から推定された複数の潜在的メカニズム（図3）のいずれか、またはすべてが *in vivo* においても働いている可能性を支持する結果となったのである。今後、ウシ LF 療法の有効性が予測される真菌症を対象として、より信頼性の高い前臨床試験ならびに臨床試験を行なってその臨床的有用性を確認する必要がある。またそれに先立って、経口投与されたウシ LF 自体と生体内でウシ LF から生成される LFcin B の体内動態の解析、さらには生体内でのこれらの物質の抗真菌活性と免疫学的活性の検証も当然なされなければならない。

これとは別に、LFcin B を新しいタイプの抗真菌薬として研究・開発することも重要なテーマと思われる。真

菌症、特に深在性真菌症の問題が深刻化する一方、有望な新規薬剤の開発候補がなかなか見当たらないからである。

真菌症の治療薬という視点から眺めたウシ LF の最も大きな特徴は、抗真菌活性と生体防御能増強活性をともに備えている点である。したがって、ウシ LF を投与することは、いわば抗真菌化学療法と免疫療法を同時に行なうようなものであり、真菌症治療への新しいアプローチとして注目されよう。ただし、ウシ LF 単独療法の治療効果が充分でないことから、FLCZ などのアゾール系抗真菌薬との併用療法が現実的と考えられる。

ウシ LF の大きな利点は、精製標品がすでに食品として市場に大量供給されていることにもある。現在米国を中心に代替医療 (alternative medicine) の必要性が認識されるようになり、疾病の治療・予防における有用性が科学的に立証された食品については、これを医薬品と認めて臨床導入する動きが急速に進んでいる。この動向が遠からずわが国にも波及することは確実であり、その場合にウシ LF が有望な候補の 1 つになることも疑いない。来るべき状況に備え、速やかな医療への応用をはかるために、ウシ LF の臨床的有用性をより厳密に検証することが当面の重要な課題である。

文献

- 1) M. Sørensen & S.P.L. Sørensen : *C. R. Trav. Lab. Carlsberg*, **23**, 55 (1939).
- 2) B.G. Johansen : *Acta Chem. Scand.*, **14**, 510 (1960).
- 3) T. Nagasawa, I. Kiyosawa & K. Kuwahara : *J. Dairy Sci.*, **55**, 1651 (1972).
- 4) P.L. Masson, J.F. Heremans & C.H. Dive : *Clin. Chim. Acta*, **14**, 735 (1966).
- 5) J.C. Barton, R.T. Parmley, T.W. Butler, S. Williamson, S. Mackenzie, D.B. Chandler, W. Blackburn & L.W. Heck, Jr. : *Anat. Record*, **221**, 567 (1988).
- 6) 飯郷正明, 関根 則, 津田洋幸 : *Food Style*, **21**, 42 (1999).
- 7) 山内恒治, 寺口 進, 早澤宏紀 : *Milk Sci.*, **48**, 227 (1999).
- 8) 田中克明, 池田正徳, 加藤宣之 : *Bio Industry*, **17**, 45 (2000).
- 9) 山口英世 : “病原真菌と真菌症”, 南山堂, 1999.
- 10) 山内恒治, 高瀬光徳, 川瀬興三 : *Jpn. J. Dairy Food Sci.*, **41**, A-195 (1992).
- 11) 富田 守 : *Foods Food Ingrad. J.*, No. 156, 66 (1993).
- 12) 川瀬興三, 寺口 進 : *Jpn. J. Dairy Food Sci.*, **45**, A-75 (1996).
- 13) 川瀬興三, 山内恒治 : 食微誌, **12**, 219 (1996).
- 14) 高瀬光徳 : 日小皮会誌, **15**, 81 (1996).
- 15) L.H. Vorland : *APMIS*, **107**, 971 (1999).
- 16) M. Tomita, W. Bellamy, M. Takase, K. Yamauchi, H. Wakabayashi & K. Kawase : *J. Dairy Sci.*, **74**, 4137 (1991).
- 17) 高瀬光徳, 若林裕之 : バイオサイエンスとインダストリー, **53**, 41 (1995).
- 18) J.J. Bullen & A. Armstrong : *Immunology*, **36**, 781 (1979).
- 19) W. Bellamy, M. Takase, K. Yamauchi, H. Wakabayashi, K. Kawase & M. Tomita : *Biochim. Biophys. Acta*, **1121**, 130 (1992).
- 20) T. Suokka, J. Tenovuo & M. Lenander-Lumikari : *FEMS Microbiol. Lett.*, **90**, 223 (1992).
- 21) H. Nikawa, L.P. Samaranayake, J. Tenovuo, K.M. Pang & T. Hamada : *Arch. Oral Biol.*, **38**, 1057 (1993).
- 22) H. Wakabayashi, S. Abe, T. Okutomi, S. Tansho, K. Kawase & H. Yamaguchi : *Microbiol. Immunol.*, **40**, 821 (1996).
- 23) Y.Y. Wu, Y.H. Samaranayake, L.P. Samaranayake & H. Nikawa : *Med. Mycol.*, **37**, 35 (1999).
- 24) M.E. Kuipers, H.G. deVries, S.C. Eikelboom, D.K.F. Meijer & P.J. Swart : *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**, 2635 (1999).
- 25) W. Bellamy, H. Wakabayashi, M. Takase, K. Kawase, S. Shimamura & M. Tomita : *Med. Microbiol. Immunol.*, **182**, 97 (1993).
- 26) W. Bellamy, K. Yamauchi, H. Wakabayashi, M. Takase, N. Takakura, S. Shimamura & M. Tomita : *Lett. Appl. Microbiol.*, **18**, 230 (1994).
- 27) H. Wakabayashi, T. Hiratani, K. Uchida & H. Yamaguchi : *J. Infect. Chemother.*, **1**, 185 (1996).
- 28) L.H. Vorland, H. Ulvatne, J. Andersen, H.H. Haukland, Ø. Rekdal, J.S. Svendsen & T.J. Gutteberg : *Scand. J. Infect. Dis.*, **30**, 513 (1998).
- 29) H. Wakabayashi, K. Uchida, K. Yamauchi, S. Teraguchi, H. Hayasawa & H. Yamaguchi : in “Lactoferrin Structure, Function and Applications”, ed. by K. Shimazaki *et al.*, Elsevier, Amsterdam, 2000, p.203.
- 30) A.J. DeLucca & T.J. Walsh : *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**, 1 (1999).
- 31) H. Wakabayashi, S. Abe, S. Teraguchi, H. Hayasawa & H. Yamaguchi : *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**, 1587 (1998).
- 32) H. Wakabayashi, T. Okutomi, S. Abe, H. Hayasawa, M. Tomita & H. Yamaguchi : *Adv. Exp. Med. Biol.*, **443**, 229 (1998).
- 33) T. Okutomi, S. Abe, S. Tansho, H. Wakabayashi, K. Kawase & H. Yamaguchi : *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **18**, 105 (1997).
- 34) M. Gahr, C.P. Speer, B. Damerau & G. Sawatzki : *J. Leukocyte Biol.*, **49**, 427 (1991).
- 35) T. Okutomi, T. Tanaka, S. Yui, M. Mikami, M. Yamazaki, S. Abe & H. Yamaguchi : *Microbiol. Immunol.*, **42**, 789 (1998).
- 36) S. Abe, T. Okutomi, S. Tansho, H. Ishibashi, H. Wakabayashi, S. Teraguchi, H. Hayasawa & H. Yamaguchi : in “Lactoferrin Structure, Function and Applications”, ed. by K. Shimazaki *et al.*, Elsevier, Amsterdam, 2000, p. 195.
- 37) 若林裕之, 内田勝久, 山口英世 : *Milk Sci.*, **48**, 45 (1999).
- 38) K. Yamauchi, M. Hiruma, N. Yamazaki, H. Wakabayashi, H. Kuwata, S. Teraguchi, H. Hayasawa, N. Suegara & H. Yamaguchi : *Mycoses*, in press.