

最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 環境病理 学講座 林 隆司 に
対する最終試験は、主査 木本 茂成 教授、副査 高橋 俊介 准教授、
副査 美島 健二 教授により、主論文ならびに関連事項につき口頭試問を
もって行われた。

その結果、合格と認めた。

主 査 教 授 木本 茂成

副 査 准 教 授 高橋 俊介

副 査 教 授 美島 健二

論文審査要旨

ラクトフェリンの舌下からの吸収による脳への移行と抗酸化能との関連についての検討

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

環境病理学講座 林 隆司

(指導： 槻木 恵一 教授)

主査教授 木本 茂成

副査准教授 高橋 俊介

副査教授 美島 健二

論文審査要旨

ラクトフェリン lactoferrin (LF) は、キレート作用により静菌作用を示す物質として知られ、全身の粘膜表面を覆う粘液や母乳中に含まれ、局所の感染防止に貢献している。しかし、感染防止だけでなく、抗炎症作用、抗酸化作用、内臓脂肪低減作用、抗癌作用、放射線防護作用などを有することが報告されており、局所的な作用だけでなく多様な機能が注目されている。特に LF は唾液中に含まれ、IgA やリゾチームとともに口腔の感染防御に貢献しているが、唾液 LF (sLF) が口腔以外の臓器でどのような貢献をしているかは、これまで充分検討はされてこなかった。本研究は、sLF の全身への影響を検討した新規性の高い研究テーマと考えられる。

本研究では、ラットの両側三大唾液腺摘出モデルにより、血中および脳内ラット LF (rLF) 濃度に及ぼす影響を ELISA により解析した。また、実験的に麻酔下で、舌下部にウシ LF (bLF) を投与し、投与後 5 分、15 分、30 分における脳内 bLF 濃度の経時的変化を ELISA により測定した。さらに、bLF のスーパーオキシド ($O_2^{\cdot-}$) およびヒドロキシルラジカル (HO^{\cdot}) の消去率を電子スピン共鳴 (ESR) により測定した。これらの測定法は確立されたもので、マニュアルに従い行われており、さらに統計解析も問題ないことが確かめられた。

その結果、唾液腺摘出 1 週間後の血中および脳内 rLF 濃度は、非摘出群と比較し有意に減少するという興味ある結果が得られている。舌下部からの bLF 投与に関しては、投与後 5 分および 15 分において、control と比較し、有意に脳内 bLF 濃度の増加を認め、その濃度は経時的に減少したことから、舌下部からの LF は脳内 LF 濃度に影響することが示された。また、ESR による bLF の抗酸化能の測定については、control と比較し、bLF の HO^{\cdot} に対する有意な消去能を認めている。

LF の血中濃度は、主に胆汁や膵液中の LF が腸管からの再吸収や好中球からの放出によるものと考えられてきたが、本検討により唾液腺も有力な臓器であることが初めて明らかにされた。また、唾液腺からの LF は、胃で分解されることから下部消化管からの吸収は否定的であったが、舌下部からの経路が有力であることを示した点は、その実験デザインにも斬新性があり評価できる。また、sLF が脳内 LF 濃度に影響する知見は、その効果を直接的に明らかにしてはいないが、sLF が口腔の感染防止としての役割だけでなく、遠隔臓器へ何らかの効果を示す可能性が示唆されており、sLF の新たな研究的価値を高めた。さらに、本研究は ESR による HO^{\cdot} の消去が Fe イオンに対するキレート作用によるフェントン反応ではなく、直接的なラジカルの消去機能が示唆された点は、LF の生体における生物学的作用の新たな展開を期待できるものとして高く評価できる。

本審査委員会は、論文内容および関連事項に関して、以下の項目について口頭試問を行ったところ十分な回答が得られることを確認した。

1. ラットへの bLF の投与方法が粉末を舌下に行っているため、一部消化管経由での

血中への移行も否定できない点について

消化管からの吸収も一部考えられるがそのレベルは分解より極めて低いレベルであること、また、唾液腺摘出による血中および脳への移行の減少量と舌下投与 15 分後の bLF 濃度の増加量から、舌下部血管網からの吸収が主であると考えられるとの回答であった。

2. 唾液腺摘出 2 週間後での血中および脳内 LF 濃度の回復について

生体では唾液腺以外に膵臓や肝臓における代償的産生によるものと考えられるとのことであった。

3. 舌下投与後 30 分間で脳内 LF 濃度の低下が認められたことについて

申請者は LF 分子の分解によるものとしては、短時間に濃度低下がみられていることから、拡散により組織滞在時間が短くなったことによると考察していた。

4. ラット由来 rLF と、投与したウシ由来 bLF との識別について

ラットとウシの LF 分子のアミノ酸レベルの相同性については一部不明な点もあるが、本研究の ELISA で使用した抗体の特異性は高く、外来性の LF としてウシ由来の bLF を投与しているが、内在性のラット由来の rLF との識別が可能であるとのことであった。

以上より、LF の生物学的効果における新しい知見は、今後の歯科医療拡大への貢献が期待でき、LF の生体反応に関する研究の発展につながるとの結論に至った。そこで、本審査委員会は申請者が博士（歯学）の学位に十分に値するものと認めた。