

L'administration orale de lactoferrine bovine supprime la progression de la polyarthrite rhumatoïde dans un modèle de souris SKG

[Shunryou Yanagisawa](#)¹, [Karin Nagasaki](#)^{1,2}, [Chanbora Chea](#)^{1,3}, [Toshinori Andō](#)^{1,4}, [Nurina Febriyanti Ayuningtyas](#)⁵, [Toshihiro Inubushi](#)⁶, [Atsushi Ishikado](#)⁷, [Hiromichi Imanaka](#)⁷, [Eiji Sugiyama](#)⁸, [Ichirō Takahashi](#)⁹, [Mutsumi Miyauchi](#)¹, [Takashi Takata](#)^{1 dix}

Affiliations développer

- PMID : 35148358
- PMCID : [PMC8836292](#)
- DOI : [10.1371/journal.pone.0263254](#)

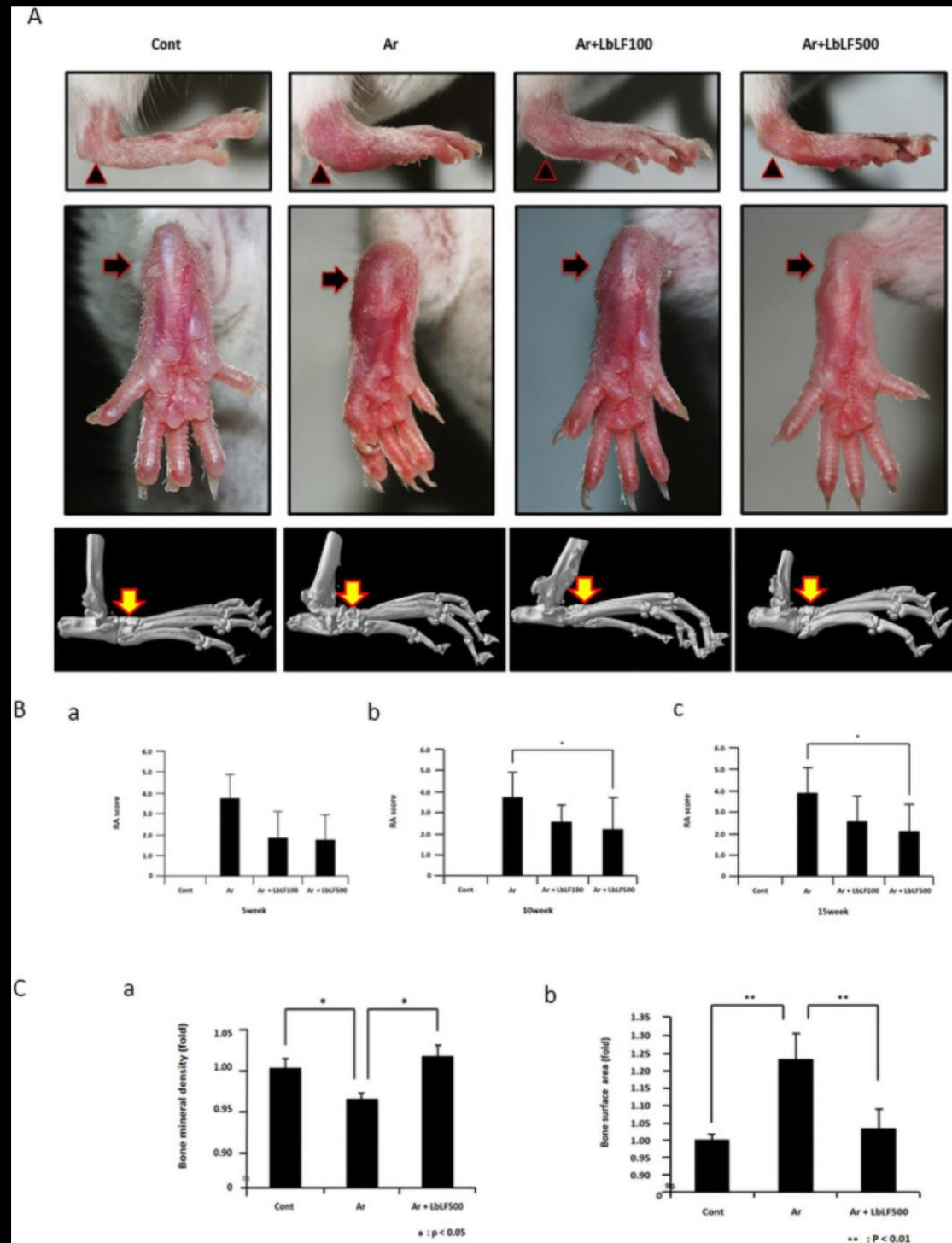
Résumé

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie auto-immune caractérisée par une destruction osseuse inflammatoire dans laquelle le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) joue un rôle clé. La lactoferrine bovine (bLF) est une protéine multifonctionnelle aux propriétés anti-inflammatoires et immunomodulatrices. Cette étude visait à clarifier les effets inhibiteurs de la bLF sur la progression pathologique de la PR. Le modèle d'arthrite induite par le mannane chez la souris SKG (modèle génétique RA) a été utilisé. Le bLF liposomal appliqué par voie orale (LbLF) a nettement réduit le gonflement de l'articulation de la cheville et la destruction osseuse. Sur le plan histologique, la formation de pannus et la destruction osseuse ostéoclastique ont été empêchées chez les animaux traités au LbLF. De plus, la LbLF administrée par voie orale a amélioré l'équilibre entre les cellules Th17 et les cellules T régulatrices isolées de la rate de souris SKG traitées au mannane. Dans une étude in vitro, les effets anti-inflammatoires de la bLF sur la production de TNF- α induite par le TNF- α et les voies de signalisation en aval ont été analysés dans des fibroblastes synoviaux humains de patients atteints de PR (RASf). bLF a supprimé la production de TNF- α à partir des RASf en inhibant les voies du facteur nucléaire kappa B et de la protéine kinase activée par les mitogènes. L'accumulation intracellulaire de bLF dans les RASf a augmenté d'une manière dépendante de la dose de bLF appliquée. Knockdown du gène siRNA lié au récepteur des lipoprotéines-1 (LRP1) a réduit l'expression de bLF dans les RASf, indiquant que la bLF appliquée de manière

exogène était principalement internalisée par LRP-1. Les protéines immunoprécipitées avec le facteur 2 associé au récepteur anti-TNF (TRAF2 ; une protéine adaptatrice/ubiquitine ligase) comprenaient la bLF, indiquant que la bLF se lie directement au complexe TRAF2-TRADD-RIP. Cela indique que LbLF peut efficacement empêcher la progression pathologique de la PR en supprimant la production de TNF- α en se liant au complexe TRAF2-TRADD-RIP des RASF dans le pannus. Par conséquent, l'administration supplémentaire de LbLF peut avoir un effet bénéfique sur les réactifs préventifs/thérapeutiques pour la PR.

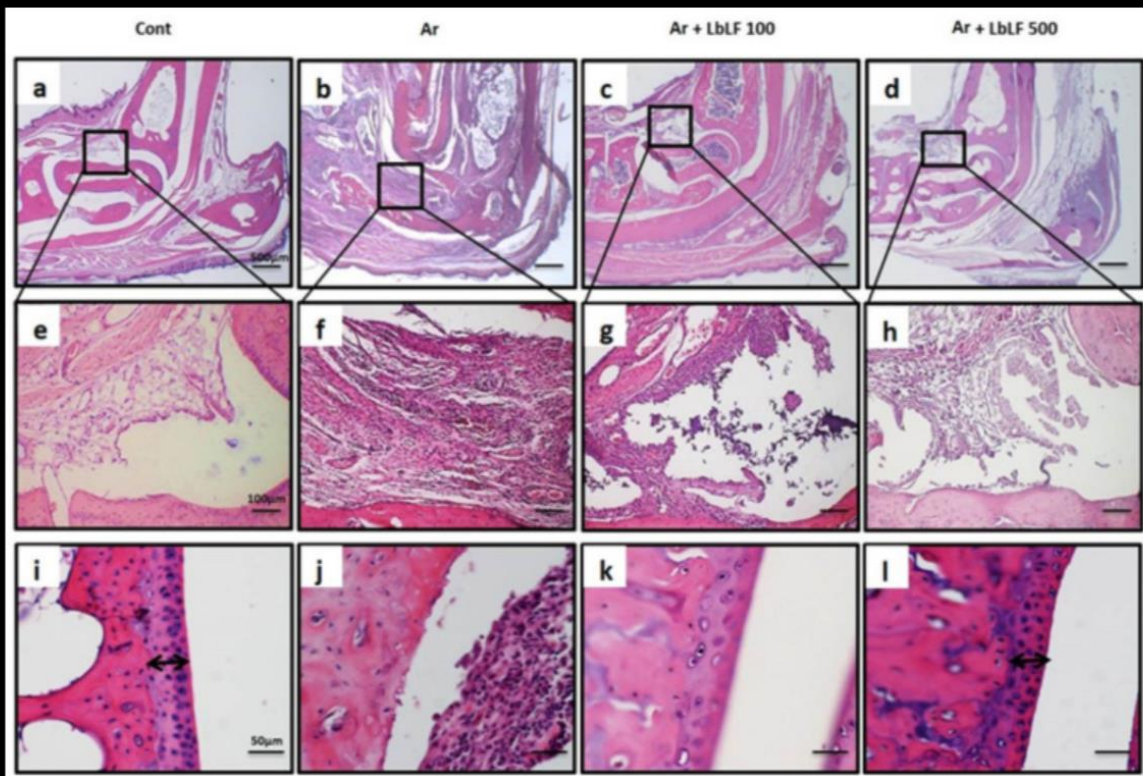
Déclaration de conflit d'intérêts

AI et HI sont des employés de Sunstar Inc. De plus, les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts associé à ce manuscrit. Le bailleur de fonds a fourni un soutien sous forme de salaires aux auteurs [AI et HI] mais n'a joué aucun rôle supplémentaire dans la conception de l'étude, la collecte et l'analyse des données, la décision de publier ou la préparation du manuscrit. Les rôles spécifiques de ces auteurs sont définis dans la section « contributions des auteurs ». Cela ne modifie pas notre adhésion aux politiques de PLOS ONE sur le partage de données et de matériel. Tous les auteurs, y compris AI et HI, ne déclarent aucun conflit d'intérêts associé à ce manuscrit.



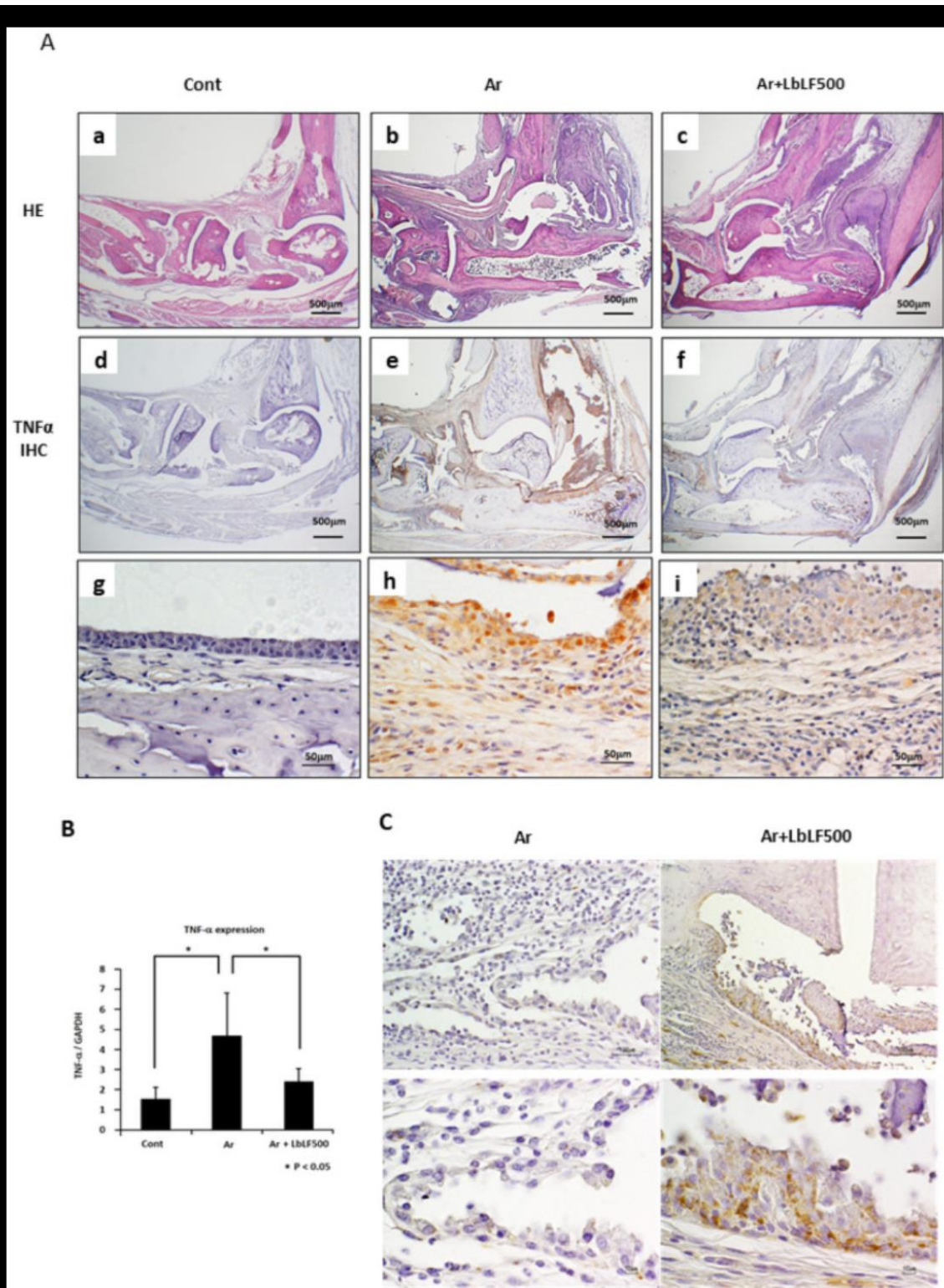
↑ [Voir cette image et les informations de copyright dans PMC](#)

Fig 1. Orally administered liposomal bovine lactoferrin (LbLF) markedly reduced swelling and bone destruction of leg joints. (A) Macroscopic and micro-computed tomography findings at 15 weeks after arthritis (Ar) induction. Redness and swelling of hindpaw ankles (black arrow heads and arrows) in the Ar group were prominent in comparison with those in the control (Cont). LbLF application suppressed redness and swelling in a dose-dependent manner. LbLF application prevented bone destruction (yellow arrow) caused by mannan injection. (B)



[Voir cette image et les informations de copyright dans PMC](#)

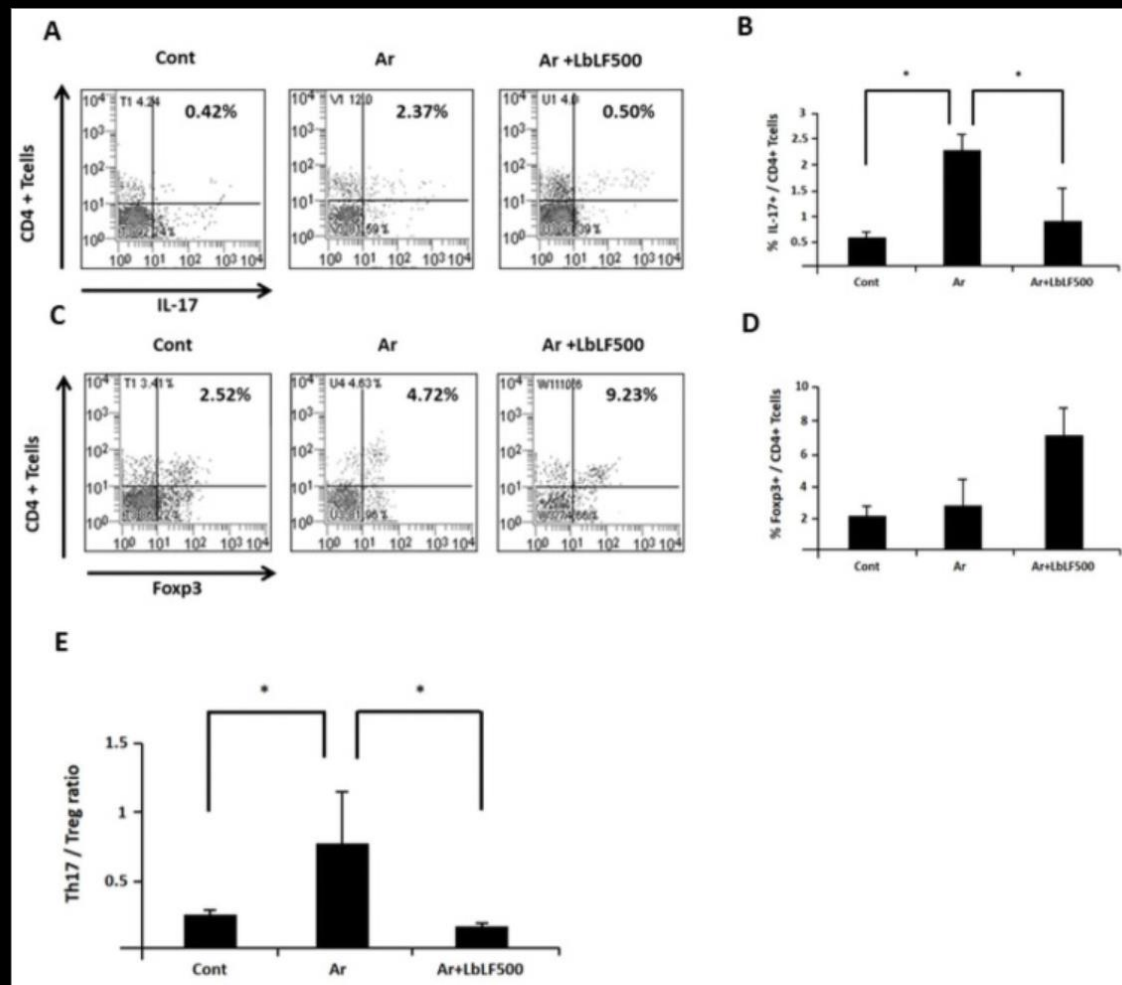
Fig 2. Orally administered liposomal bovine lactoferrin (LbLF) suppressed inflammation in diseased leg joints at 15 weeks after mannan injection. Leg joint histology. In the arthritis (Ar) group, prominent pannus proliferation (b, f) was observed, and the joint cartilage layer was completely destroyed (j) comparing to those in the control (Cont) (a, e, i). LbLF100 (c, g, k) and LbLF500 (d, h, l) application alleviated pannus formation and cartilage destruction.



↑ [Voir cette image et les informations de copyright dans PMC](#)

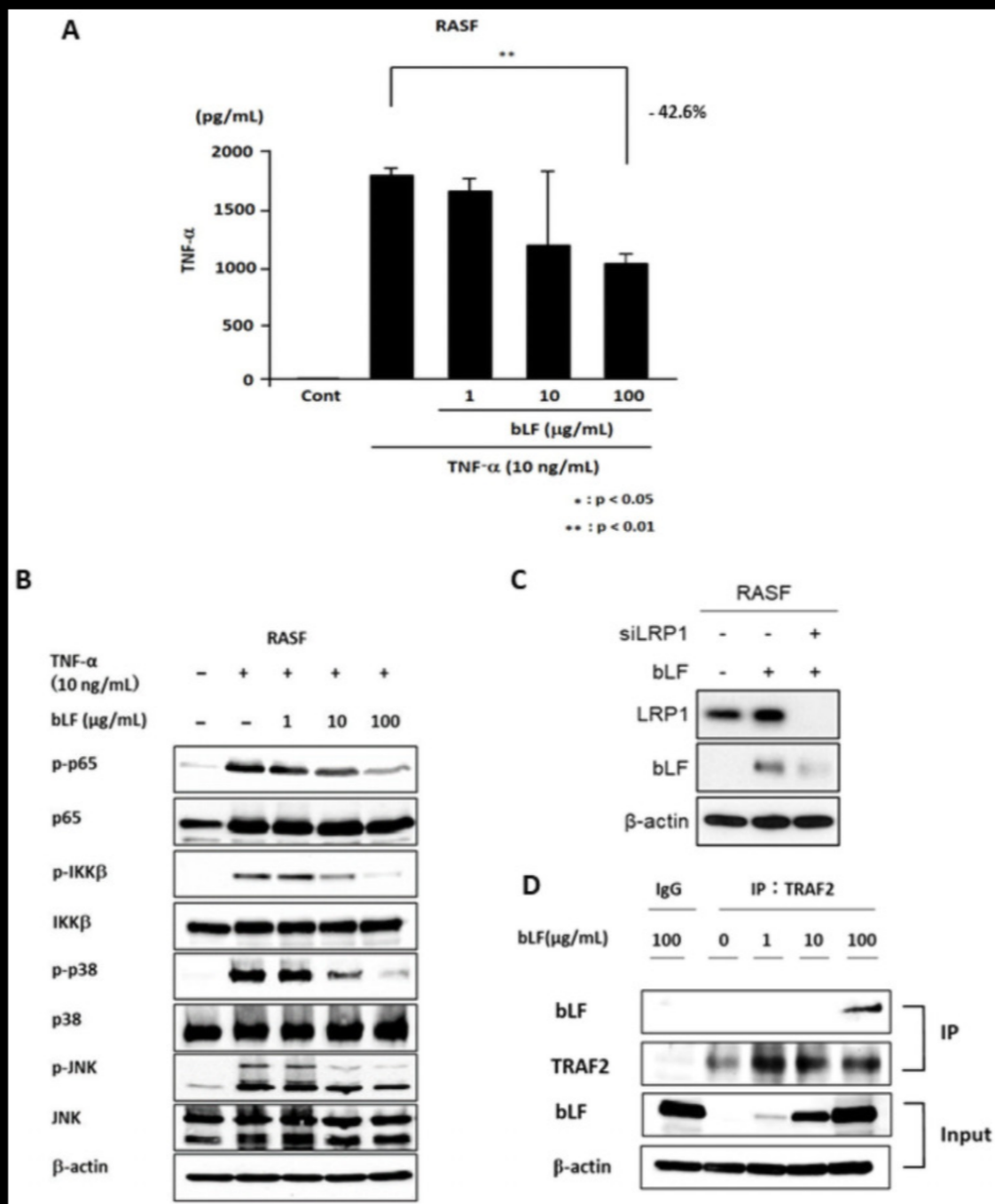
Fig 3. Orally administered liposomal bovine lactoferrin (LbLF) reduced expression of

tumor necrosis factor α (TNF-α) in pannus. (A) Immunohistochemistry of TNF-α. In the arthritis (Ar) group (Ab, e, h), intense immune-expression of TNF-α was widely observed in the pannus compared to that in the control group (Cont) (Aa, d, g). Reduced expression was evident in the LbLF500 administered group (Ac, f, i). (B) TNF-α mRNA measured by real time PCR and normalized to glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA. The TNF-α mRNA



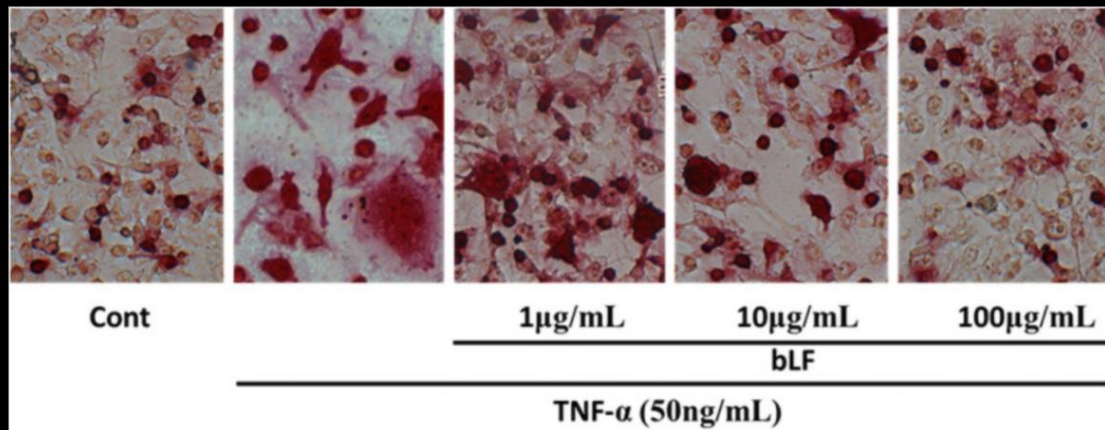
[Voir cette image et les informations de copyright dans PMC](#)

Fig 4. Orally administered liposomal bovine lactoferrin (LbLF) improved the imbalance of Th17 cells and regulatory T-cells in the spleen. (A,B) Percentage of Th17 cells in the spleen. Orally administered LbLF significantly reduced the percentage of Th17 cells increased in Ar group. (C,D) Percentage of Treg cells in the spleen. The number of Treg cells tended to increase in the arthritis (Ar)+LbLF500 group. (E) Th17 / Treg cell ratio. This ratio was significantly upregulated in the Ar group ($P < 0.05$), whereas it significantly improved in the Ar + LbLF 500 group ($P < 0.05$).



↑ [Voir cette image et les informations de copyright dans PMC](#)

Fig 5. Bovine lactoferrin (bLF) inhibited tumor necrosis factor α (TNF- α) production from synovial fibroblasts from rheumatoid arthritis patients (RASFs) with TNF- α stimulation by binding to TNF receptor-associated factor 2 (TRAF2). (A) TNF- α production by RASFs was analyzed by ELISA. The results showed that 100 μ g/mL bLF induced a 42.6% reduction in TNF- α secretion. (B) Activation of nuclear factor κ B and mitogen-activated protein kinase signaling in TNF- α -stimulated RASFs was observed. bLF downregulated p-p65, p-c-Jun N-terminal kinase,



[Voir cette image et les informations de copyright dans PMC](#)

Fig 6. Bovine lactoferrin (bLF) reduced osteoclast formation from primary bone marrow cells (BMCs) caused by tumor necrosis factor α (TNF- α) stimulation. Large multinucleated giant osteoclasts were formed in TNF- α -stimulated primary BMC cultures. Treatment with bLF markedly decreased the number of TRAP-positive osteoclasts, and the size of osteoclasts was smaller than that of TNF- α -stimulated osteoclasts.