

## 具体的な技術の応用先の可能性－鶏卵 IgY の応用事例－

岐阜免疫研究所

梅田浩二

### はじめに

日本の食文化において鶏卵は欠かすことのできない食品であり、各家庭の冷蔵庫にも必ず入っている栄養が豊富で美味しく汎用性が高い食品として、家庭料理でも多く利用されている。また、受精卵であれば孵化条件を整えることで21日間にて雛が孵化するとともに神秘的な生命の誕生に出会える。親鳥は、卵から雛を発生させてさらに健康に生育するために、卵に必要な栄養成分、生理機能成分、健康機能成分等を行移行・蓄積させる。生命の源である卵の各種成分の生理活性等に関する多くの研究が行われている。それらの研究により、ヒトの健康や病気を予防する食品や機能性素材としての応用に可能性が見出されており、今回紹介する鶏卵 IgY もその一つで、生物系特定産業技術研究支援センターの出資事業（昭和63年度～平成6年度）により研究開発された。この応用事例は、任意的に健康機能成分である鶏卵 IgY を卵黄中に多く蓄積させた特別卵を利用したヒトまたは幼獣（牛、豚、犬など）の腸管感染症を予防する取り組みである。本講演は、発生工学や遺伝子組み換えを直接応用したものではないが、本シンポジウムで解説される技術の応用先の一つとしてとらえて頂き、IgY を用いた技術の現状と今後の可能性について述べる。

### 鶏卵黄抗体について

#### ① 産卵鶏のメリットを最大限活用

鳥類は、孵化したばかりの雛が環境中の病原体から身を守るために、親鳥が獲得した血液中の抗体を卵に移行・蓄積した後に産卵することで、卵を介して抗体を雛に受け渡す受動免疫システムを備えている。卵に蓄積される抗体は、卵白に IgM 及び IgA、卵黄には IgG のみである。卵黄中に含まれる抗体を Immunoglobulin Yolk 略して IgY と呼ばれており、その含有量は卵一個あたり 100～200mg と非常に多い。

鳥類の受動免疫システムを利用することで、任意的に目的とする IgY を卵黄中に多く含有させた卵を生産することができる。すなわち、ヒトもしくは幼獣の腸管感染症の原因であるウイルス、細菌、原虫及び細菌が産生する毒素を産卵鶏に接種すると、接種した病原体に対する高力価な特異抗体を含有した卵が得られる。加えて、親鶏に一定間隔期間毎に追加接種することで非常に高い抗体価を持続する。また、養鶏産業の技術向上により、鶏の大量飼育、集卵システム、衛生的な食卵加工がシステム化されているため、特異抗体（ポリクローナル）の大量製造と飛躍的なコスト低下が実現した。鶏は特異抗体を製造するバイオ工場ともいえる。

#### ② 腸管感染症予防における IgY の作用機序

抗体（Immunoglobulin : Ig）は生体防御機能の役割を持つ糖タンパク質である。動物の体内に侵入してきた細菌やウイルスなどの病原体または、毒素などの異種タンパク等の非自己物質（抗原）に免疫応答して、それらと特異的に結合する抗体が産生される。抗体は、

細菌やウイルス等の病原体に結合することで病原体の感染を阻害し、毒素に対しては毒素活性を不活化（中和）する。一般的に知られている感染症の予防ワクチン接種や、毒ヘビに咬まれた際の抗血清の投与治療がこれにあてはまる。

ヒトの幼児期や、牛、豚、犬など幼獣期は、自ら抗体を産生する能力（能動免疫）が十分発達しておらず、母親から受動免疫で受け取った抗体も日数が経過するにつれて消失するため感染防御能力が低くなる。その状態で環境変化や生理的ストレスが加わるとデリケートな腸内菌叢は容易に変動するため、病原体が増殖しやすく感染症の発症となる。動物種によって幼期に問題となる腸管感染症の病原体が特定されている。特定病原体に対する特異 IgY を含有する鶏卵を粉末化（全卵粉末、卵黄粉末、脱脂卵黄粉末）して、それを食品や飼料として経時的に経口給与することで、絶えず腸管腔内に特異 IgY が滞留させることができる。経口給与された特異 IgY がターゲット病原体に結合して、病原体の腸管上皮細胞への付着を阻止する。病原体の付着阻止は、腸管上皮組織への侵入や増殖の抑制につながり感染を予防または軽減する。このように、胃腸の消化力が強力でない幼期では特異 IgY を利用して腸管感染症を予防することが可能である。

### 特異 IgY による腸管感染症予防の取り組み

#### ① ヒトロタウイルス症

ヒトロタウイルス下痢症は、生後 6 か月～2 歳の乳幼児で多発し、重症例の 25%は 2 歳未満の小児である。発展途上国では年間約 50 万人の小児が下痢症で死亡しており、その内約 40%はロタウイルス感染症による。ロタウイルスは、感染力が非常に強く小腸吸収上皮細胞内で増殖して、電解質・糖（延いては水）の吸収障害等による高浸透圧性下痢を引き起こす。本症の治療は ORS（経口補水塩）の経口補水療法及び点滴治療による水分補給と、抗生物質及びプロバイオティクス投与の 2 次感染予防と整腸作用による早期回復目的の療法が行われる。

ヒトロタウイルスは、時代や地域によって血清型が変動するため、それに対応させるワクチン開発は重要な課題として世界的に取り組まれている。その背景の中、各種血清型のヒトロタウイルスに対して非常に高い中和活性を示す抗ロタウイルス IgY を含有する卵黄粉末は、粉ミルクなどの食品及び、ORS 等に溶解して摂取することで感染予防及び発症時の早期回復に役立つ機能性食品原料として取り上げられ、2011 年と 2015 年にミャンマー国立医学研究センターとの共同研究でロタウイルス下痢症小児患者における評価試験を行い安全性及び有効性が確認された。その作用機序と効果は<sup>1)</sup>、第 46 回日米医学協力委員会ウイルス性疾患専門部会にて発表と今後の展望を提案し称賛していただいた。

卵は世界各国で昔から食されている畜産物であることに加え、卵黄粉末への加工や、保存性・流通性も優れていることも着目すべき点で、既に海外乳業メーカーにて粉ミルクに配合した製品が販売されている。これまでに、ロタウイルス以外に大腸菌志賀毒素、コレラ菌及びその毒素、サルモネラ菌などについてもマウスを用いた感染試験にて有効性を確認済みで<sup>2), 3), 4)</sup>、各種類の IgY を組み合わせることで、地域や対象年齢に合わせた腸管感染症予防食品の設計が可能である。卵は高栄養価食品であることから、途上地域への国際貢献活動にて栄養補助食品としての提供も考えられる。

## ② 遺伝子組換え技術で作製した病原因子抗原の利用

新生子牛において、ロタウイルスとともに腸管感染症としてクリプトスポリジウム症(原虫)が問題とされている。その背景には、牛舎などの環境中のオーシストを死滅させる消毒剤はあるものの、牛生体内で本原虫に効果を示す薬剤がないこと。妊娠牛にワクチン接種して初乳を介した受動免疫を試みるためのワクチンが実用化していないこと。本症の感染時期が1ヵ月齢以前でそれ以降での感染機会が少なく母牛の免疫抗体が少ないため、初乳中の抗クリプトスポリジウム抗体が見込めないことがあげられる。また、本原虫を人工培地や培養細胞を用いた増殖培養方法が確立されていないことも大きな要因となっている。

よって、人畜共通感染症で公衆衛生上問題にもなっている本症について、IgYを用いた子牛における予防対策を実現させるために、遺伝子組換え技術で本原虫の付着因子であるP23糖タンパク質を大腸菌で発現させて、大腸菌より回収した組換えP23糖タンパク質を産卵鶏への接種抗原とした。抗クリプトスポリジウムP23糖タンパク質IgYによるスポロゾイド細胞侵入阻止評価試験及び、scidマウスを用いた感染評価試験を大阪市立大学医学研究科 寺本先生及び金沢大学医薬保健研究域医学 所先生に、本IgYと抗ロタウイルスIgY等をブレンドした粉末品による黒毛和種子牛を用いた野外評価試験をNOSAI岡山 水戸先生に評価していただいて全ての試験系において有効性が認められ、平成27年度獣医学術中国地区学会にて学会長賞を水戸先生が受賞された<sup>5), 6), 7)</sup>。

## IgY応用の今後の可能性・展開

### ① 医薬部外品への配合について

抗体の作用は特異的な抗原抗体結合反応であり、これは鍵と鍵穴に例えられる。病原性細菌に対して一般的に抗生物質が投与されるが、病原性細菌のみではなく善玉菌にも影響する場合があります。菌叢バランスを崩しやすい。また、必要以上の抗生物質の使用は、耐性菌を誘導し多剤耐性菌問題への懸念がある。それに対して抗体は、病原体のターゲット抗原のみに特異結合するため善玉菌や宿主生体への影響も少なく、また、薬剤耐性菌に対しても同様に結合反応を示す。抗生物質は必要な薬剤と位置づけたうえで、使用頻度を低減するために、IgYによる予防や治療後のケア目的の機能性素材としても期待されている。

生活習慣病にも関連する歯周病は、ヒト及びコンパニオンアニマル(犬・猫)とも有病率は6~7割以上である。歯周病は単なる口腔のみの感染症ではなく、動脈硬化による心臓疾患や脳血管疾患、糖尿病の悪化など全身疾患に影響していることが明らかにされている。歯周病及びこれら全身疾患の最も重要な病原因子は、ポルフィロモナス(グラム陰性偏性嫌気性細菌)が菌体表面及び菌体外に産生する強力なプロテアーゼから成るジンジパインである。この病原因子に対する抗ジンジパインIgYを用いた研究を日本大学歯学部 菅野先生に行っていただき2009年米国歯周病学会でクリニカルリサーチ賞を受賞された<sup>3), 9)</sup>。既に、抗ジンジパインIgYを含有する脱脂卵黄粉末を配合したタブレットが一般食品にて、ペット用のドライフードには卵黄粉末を添加した製品が販売されている。

脱脂卵黄粉末及び卵黄粉末にはIgY以外の多くの卵成分やオボアルブミン等のアレルギー成分も含まれているため、食品や飼料以外への配合が難しい。しかし、卵黄から水溶性タンパク質分画を独自技術の精製により、その精製溶液はほぼIgYであるうえに、アレルギー反応を示さない(モルモットを用いた皮膚感作性試験(Maximization Test法))。また、

ペーストや水溶液中における IgY 活性の安定化も確立しており、今後、医薬部外品に配合する応用展開が期待されている。

## ② 遺伝子組換えノロウイルス様空中粒子抗原の応用

ノロウイルスは幅広い年齢層のヒトに経口感染し急性胃腸炎を引き起こし、抵抗力の弱い幼児や高齢者では重症化することもある。本感染症の対策が難しい背景には、非常に感染力が強く 10~100 個程度の少ないウイルス粒子で感染・発症し、患者より大量のウイルス (>10<sup>8</sup> 個/糞便 1g) が排泄されて、症状が消えた後も長期間 (10 日~1 ヶ月) ウイルス排泄が続く。また、ノロウイルスは物理・化学的抵抗性が強く乾燥及び液中で長期間安定であるうえ、短時間不活化には 200ppm 以上の塩素濃度を必要とし、消毒エタノールにも強く 5 分間以上作用時間が必要である。よって、僅かなウイルスでも手等を介した伝播や、飛沫を介した伝播など感染経路が多様である。さらに、ノロウイルスは遺伝学的かつ抗原的に多様であるため、現時点ではワクチンが実用化されていない。加えて、培養細胞や実験動物を用いた増殖が困難なウイルスである (細胞培養に成功したとの情報あり)。

大阪府立大学生命環境科学研究科 勢戸先生との共同研究にて、2 種類の Strain より遺伝子組換えノロウイルス様空中粒子 (VLP) をバキュロウイルスに発現させて、その特異 IgY を作製した。抗 VLP IgY は、各種遺伝子型 VLP に対して交差反応を示し、主要組織血液型抗原と VLP の結合阻害効果が確認された<sup>10)</sup>。

抗体の特徴である瞬時の抗原抗体反応によるウイルス中和作用、食品である卵の成分 IgY の安全性、鶏卵生産・加工システムの利用と精製技術の確立から、今後、医療・介護施設、給食センター等の従事者を対象に従来の手指等の消毒後に、抗 VLP IgY 精製溶液を希釈した水溶液をスプレー噴霧するノロウイルス対策も期待されている。

## おわりに

鶏卵 IgY の応用技術は古典的な方法であり、現時点では機能性食品素材及び飼料の範囲から脱していない。また、現産業レベルの卵から得られるポリクローナル IgY は、近年研究が盛んな抗体医療分野から大きくかけ離れる。古典的な技術ではあるが、他分野の技術発展によって、鶏卵 IgY の長所を生かした応用が見出されてきている。今後、各種制度 (機能性表示食品、医薬部外品添加物、食品添加物、飼料添加物等) に則った展開と、更なる技術革新による応用を産学官の連携で普及していくことが望ましいと考える。

## 参考文献

- 1) Vaccine.30, 4661-4669, (2012)
- 2) PLoS One. 6, e26526, (2011)
- 3) Acta Med Okayama.64, 163-170, (2010)
- 4) Vaccine.16, 388-393, (1998)
- 5) Vaccine.23, 232~235, (2004)
- 6) 臨床獣医, 32, 41-45, (2014)
- 7) 臨床獣医, 34, 28-32, (2016)
- 8) Oral Microbiol.Immunol.22, 352-5, (2007)
- 9) J Oral Sci.49, 201-206, (2007)
- 10) 第 158 回日本獣医学会学術集会, DVO-50, (2015)