

Oral Passive Immunization by Chicken Egg Yolk Antibodies against Urease of *Helicobacter Pylori* and Cell-Associated Glucosyltransferase of *Streptococcus Mutans*鶏卵卵黄抗体(IgY)と
感染症予防

児玉 義勝

Yoshikatsu Kodama

株式会社ゲン・コーポレーション抗体事業カンパニー免疫研究所
岐阜市佐野839-1GHEN Corporation AB Group Immunology Research Institute
839-1, Sano, Gifu 501-1101, Japan

Summary

Chicken egg yolk antibody possesses several merits over other antibodies due to its more specific immuno-reactivity i.e. less cross reactivity with mammalian proteins, being inexpensive, and its continuous and most humane way of producing enormous amounts without sacrificing the chicken. A chicken usually lays about 280 eggs in a year, and egg yolk contains 100-150 mg of IgY per yolk, suggesting that more than 40 g of IgY per year can be obtained from each chicken through eggs. Passive immunization by oral administration of specific antibodies has been an attractive approach against a variety of pathogens in both humans and animals. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is known to be a major pathogenic factor in the development of gastritis, peptic ulcer diseases and gastric cancer in humans. *H. pylori* adheres and colonizes the surface of gastric mucosa using the functions of its urease. Egg yolk antibody developed against urease efficiently blocked the binding site of *H. pylori* to its specific mucin receptor in the gastric mucosa. So, oral administration of urease-specific IgY not only inhibited disease activity but also prevent de novo colonization in gastric mucosa, in those sites not yet infected. These encouraging

results may pave the way for a novel therapeutic and prophylactic approach in the management of *H. pylori*-associated gastroduodenal disease. *Streptococcus mutans* plays an important role in the development of dental caries in humans. Major virulence factor cell-associated Glucosyltransferase (CA-GTase) degrades sucrose to form insoluble glucan, which serves as a bridge for the bacterium to bind tightly to the tooth surface. After binding of *S. mutans*, it release large amount of acids by fermenting a variety of sugars from the diet, which decalcify enamel, thus causing tooth decay or dental caries. Chicken anti-CA-GTase antibody effectively blocks the CA-GTase from binding to the tooth surfaces, thus inhibiting its growth and preventing the development of dental caries. Anti-CA-GTase antibody also inhibits the synthesis of insoluble glucan by the enzyme, thus assisting with the elimination of the bacterium from the oral cavity. Additionally, the use of specific antibodies (IgY) in controlling other oral microflora e.g. *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* are also taken into consideration because recent developments indicate a promising future.

1. トリはIgYを安価に大量生産
できるバイオ工場

生まれた仔ブタや仔ウシが初乳を介して母体を持っている抗体 (IgG) を大量に摂取することにより、口腔か

ら侵入する病原体から身を守るという仕組みがある。しかし母乳を持たないトリでは、卵の卵黄が家畜の初乳に相当し、そこに親鳥からのIgGが卵黄抗体 (IgY) として蓄積される。ヒナは卵黄からIgYを吸収した状態でふ化するため、ふ化後のヒナはその抗体で病原体から身を守るのである。この鳥類に特徴的なIgYの母子間移行シス

テムをバイオ工場として利用することが出来る。

IgYの有用性について、ヒトに感染し胃炎・胃潰瘍を引き起こすといわれているピロリ菌の例を挙げる。親鳥に、ピロリ菌が胃内定着に関与する菌体外膜タンパク(抗原)を数回注射すると、親鳥体内で抗原に対する特異的な抗体が作られ、それがIgYとして卵黄に移行し、蓄積する。このIgYをピロリ菌保有者が摂取すると、ピロリ菌の外膜タンパクにIgYが特異的に結合することによって定着が阻害される。このような仕組みと効果を経口受動免疫という。

IgYの特徴とメリットは、

- ① 1羽の親鳥は1年間に約300個の卵を生むため、その卵黄から効率よくIgYが回収できる。
- ② 哺乳類のIgGと比較して、IgYは抗原抗体結合力(アフィニティー)が約10倍強い。
- ③ 鶏病予防の目的で、連続的なワクチネーションの方法が確立している。
- ④ 大羽数飼育技術が確立している。
- ⑤ 食品としての液卵ならびに粉卵の生産方法はすでに工業化されている。
- ⑥ 抗原の種類を変えるだけで、特異性の異なるIgYを一本の生産ラインで製造できる。

が挙げられる。

消化管粘膜をターゲットとしたユニークな特徴を有するIgYを利用した経口受動免疫療法はIgY含有食品を摂取することによって、う蝕、歯周炎、アレルギー、肥満、ピロリ菌による胃炎、原因不明な炎症性疾患などの問題を改善できると考えられる。本稿では、IgYによるピロリ菌の接着阻害とミュータンス菌のグルカン合成抑制について述べる。

2. ピロリ菌と胃炎

ピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) は40歳以上の日本人の約7割以上が感染しているといわれる。最近では、本菌が胃粘膜に感染することで慢性的な胃炎や胃・十二指腸潰瘍を引き起こすことが明らかにされた。昔は外科的手術が主流だった本疾患の治療は胃酸分泌抑制剤の開発により内科的な治療が可能となったが、再発の問題は解決できなかった。このような状況の中で、1982年にオーストラリアのウォーレンとマーシャル両博士がピロリ菌を発見し、その後の様々な研究の結果、現在では大多数の

症例でピロリ菌を除菌することにより再発を防ぐことが可能となった。

胃・十二指腸潰瘍に限定すると、ピロリ菌の除菌療法がガイドラインでも第一選択に位置づけられている。ピロリ菌の発見から20数年経過した2005年12月に両博士がノーベル医学生理学賞を受賞し、本菌が国際的な評価を受けた。ピロリ菌に関する国内外の研究から本菌の持続感染が胃ガン発症に関与しているとされている。つまり、ピロリ菌に感染していることで胃ガンのリスクは高まるといえる。

現在、健康保険が適応できる除菌療法で除菌できるケースがやや低下している。例えば以前は9割位が最初の除菌療法で成功していたが、現在では7割強まで下がってきている。本耐性菌の増加に加え、ピロリ菌を保有する健常人は胃疾患の発症リスクが高いと考えられる。また最近の報告によれば、ピロリ菌から放出されるヒートショックプロテイン (HSP60) が動脈硬化を促進することがマウスの実験で証明されている。

著者らはピロリ菌の菌体外膜にあるウレアーゼが、酸性条件下において硫酸化胃ムチンに強いアフィニティーを有するという研究結果に基づき、抗ウレアーゼ鶏卵抗体 (IgY) を用いた経口受動免疫療法を開発した。

2-1. ピロリ菌の胃粘膜への接着

ピロリ菌の胃粘膜への接着メカニズムについては多くの研究がある。例えば、ピロリ菌の受容体がシアリル-2量体-ルイスXグリコスフィンゴリピッド (sialyl-dimeric-LewisX-glycosphingolipid) として同定され、さらにシアル酸接着分子 (SabA) が単離され、SabA遺伝子が同定された。その結果、慢性炎症期間中に発現するシアル化された糖鎖複合体に多くのピロリ菌が接着する能力を有し、ピロリ菌の毒性および異常な慢性化に関与している。しかし、株によってはSabA遺伝子が欠損している場合も多くある。

筆者らは、ウレアーゼを短時間に精製するため、種々のアフィニティーカラムを準備して精製を試みた。その結果、硫酸基を有するヘパリノイドアフィニティーゲルが最も高収量のウレアーゼを回収できた。興味深いことに、ウレアーゼは酸性条件で本ゲルに効率良く吸着された。これはウレアーゼが接着機能を有し、その受容体が胃粘膜硫酸化ムチンであることを示唆している。図1は、各pH領域での胃ムチン、胃粘液、ペパリンおよびアガロースに対するウレアーゼの接着性を検討した結果であ

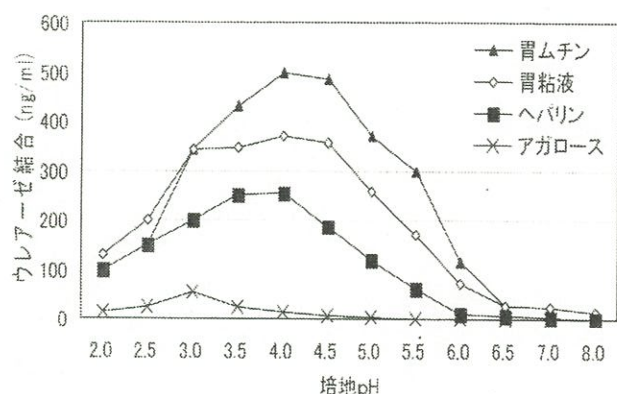


図1. 胃ムチンおよび胃粘液に対するウレアーゼの接着性

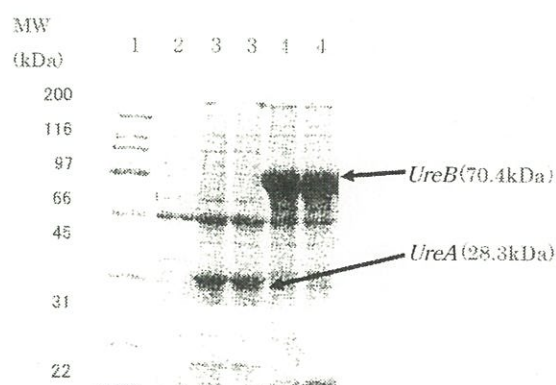


図2. ピロリ菌UreAとUreBのSDS-PAGE

分子1: マーカー、2: 当該遺伝子の入っていないベクターを導入した*E. coli* (大腸菌)、3: *ureA*遺伝子を導入した*E. coli* (大腸菌) HP-*ureA*株、4: *ureB*遺伝子を導入した*E. coli* (大腸菌) HP-*ureB*株

る。ウレアーゼのアフィニティーピークはムチンでpH3.5-4.5、ペパリンでpH3.5-4.5であった。以上のことから菌体外膜に存在するウレアーゼは酸性領域でのみ接着機能を有し、その受容体は硫酸化ムチンと考えられる。ウレアーゼのアフィニティーピークは酸性領域に限定して認められる。この条件はピロリ菌が胃粘膜に接着するのに重要である。また、胃粘液層にはpH勾配が成立しており、ピロリ菌が生存するためには酸性領域ではウレアーゼが接着に関与していると考えられる。

2-2. 抗ピロリ菌UreAおよび抗UreBサブユニットIgYの作製

筆者らは、UreAならびにUreBを精製してIgY作製の抗原とした。図2はCBB染色をしたSDS-PAGEである。UreAとUreBの分子量は各々28.3kDaと70.4kDaであった。

各々の抗原は油性アジュバントと混合した後、1羽当たり約1mgの抗原を初回免疫し、その後2~3週間隔で2回ブースター免疫し、ELISA抗体価がプラトーに達して

表1. 抗UreAならびに抗UreB-IgYおよび抗UreA+UreB-IgYの効果

投与群	マウス胃組織中の菌数 (log ₁₀ CFU/100mg)	陰性匹数/ 供試匹数
無投与	3.68±0.32	0/6
2.5%抗UreA-IgY	3.22±0.51	0/6
2.5%抗UreB-IgY	2.93±0.40*	0/6
2.5%抗UreA+UreB-IgY	2.27±1.02**	3/6

*P<0.05, **P<0.001, Fisher's test

表2. 抗UreA+UreB-IgYの用量依存性効果

投与群	マウス胃組織中の菌数 (log ₁₀ CFU/100mg)	陰性匹数/ 供試匹数
無投与	3.64±0.39	0/10
0.25%混餌投与群	3.08±0.79	0/10
2.5%混餌投与群	1.26±1.47**	5/10 [#]
25%混餌投与群	0.94±1.53**	7/10 [#]

**P<0.01, Fisher's test
#, #, #; P<0.05, 0.01, chi-square

から免疫卵を集めた。割卵後卵黄のみを回収し、低温殺菌(65°C30分)後、スプレードライして卵黄粉末を得た。その後アセトンで処理し脱脂粉末を得た。

2-3. ピロリ菌感染ヘアレスマウス(NS: Hr/ICR)を用いたIgYの評価試験

ピロリ菌のウレアーゼ分子はUreAとUreBのサブユニットが重合して構成されている。本試験はピロリ菌感染マウスを6匹ずつ4群に割付け、無投与群、抗UreA-IgY投与群、抗UreB-IgY投与群および抗UreA+UreB-IgY投与群とした。脱脂卵黄粉末中のELISA抗体価は一定となるよう調整した。投与方法は、IgYを配合した飼料にて8週間混餌投与後、2週間は通常の飼料に戻した。2週飼育後に屠殺し、胃組織を摘出して乳剤化し、ピロリ菌検出用選択培地(栄研化学)に接種後、ガスパック法にて37°C5日間培養した。コロニーをカウントして胃組織100mg中のlog₁₀CFUを求めた。有意差検定はFisherの方法によって行った。

その結果、表1に示したように抗UreA+UreB-IgY投与群において、検出されたピロリ菌数が無投与群と比較して有意に低下(P<0.001)し、しかもその半数のマウスではピロリ菌が検出されなかった。これはIgY投与を2週間中止した後の結果である。以上のことから、ピロリ菌の接着阻害効率を上げるためにはUreA+UreBサブユニットに対するIgYが重要だと考えられた。

前述の試験プロトコールに従って、抗UreA+UreB-

表3. 抗UreA+UreBサブユニットIgYとファモチジン（胃酸分泌抑制剤）との併用効果

投与群	マウス胃組織中の菌数 (log ₁₀ CFU/100mg)	陰性匹数/ 供試匹数
無投与	2.97±0.31	0/6
ファモチジン群	2.91±0.12	0/6
2.5%抗UreA+UreB-IgY群	2.24±0.48*	0/6
2.5%抗UreA+UreB-IgY ファモチジン群	1.45±1.33**	3/6

*P<0.05, **P<0.001, Fisher's test

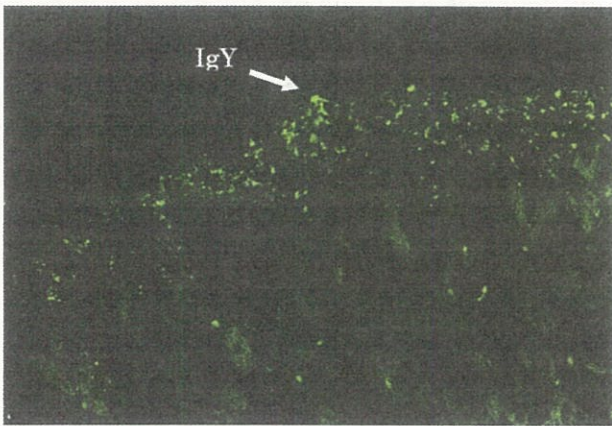


図3. ピロリ菌感染マウスの胃粘膜に局在する抗ウレアーゼIgYの蛍光顕微鏡写真

IgYの用量依存性を検討する試験を行った。表2の結果から、ピロリ菌の接着阻害効果はIgYを2.5%～25%添加した群で有意な差を認めた。特に、2.5%添加群では半数のマウスから、25%添加した群では7匹のマウスからピロリ菌は検出されなかった。

表3に抗UreA+UreB-IgYにファモチジン（胃酸分泌抑制剤）を併用した時のピロリ菌の接着阻害効果を示した。ファモチジンはマウス1匹当たり5mg/kgとなるよう調整して投与した。投与期間は6週間とし、さらに2週間の無投与期間を設定した後、屠殺して胃組織を乳剤化し、ピロリ菌の定量培養を実施した。その結果、IgYとファモチジンの併用は、投与期間が6週間であるにも関わらずピロリ菌の接着阻害効果を有意に高め、その半数のマウスからピロリ菌は検出されなかった。この効果は胃酸分泌が抑制された状態でIgYを投与すると、胃酸によるIgYのダメージが軽減できる可能性を示している。

図3は、ピロリ菌感染マウスに抗UreA+UreB-IgYを胃内ゾンデを用いて注入した後、2時間後に胃組織をホルマリン固定し、そのパラフィン切片を抗IgYウサギ血清（FITC標識）で染色した蛍光顕微鏡写真である。胃粘膜に点状に存在している特異蛍光はピロリ菌の持つウレアーゼにIgYが結合していることを示している。これに反し、ピ

ロリ菌に対して特異性を示さないIgYを胃内に投与した組織切片では特異蛍光は観察されなかった。現在、電子顕微鏡レベルで抗IgY Gold particle標識ウサギ抗体（サイズ10nm）を用いて、粒子の局在を検討している。

2-4. 抗ピロリ菌ウレアーゼIgYの食品への応用

2-4-1. ピロリ菌の除菌効果試験

ピロリ菌の感染及び除菌効果の判定には種々の検査方法があるが、最も簡便で非侵襲性の試験法として広く実施されているのが尿素呼気試験（UBT）である。

¹³Cでラベル化した尿素を経口投与すると、胃内にピロリ菌が存在する場合にはその強力なウレアーゼ活性によりアンモニアと二酸化炭素に分解される。¹³CO₂は消化管により血中に吸収され肺より呼気中に放出される。呼気中の¹³Cの量を測定することでピロリ菌感染の有無を判定する。

また、糞便中のピロリ菌抗原をELISA法で検出する新しい方法（HpSA）も開発され、簡便で侵襲のない検査方法として広く普及しつつある。HpSAについては、UBTと比較してより直接的な検査方法である。

筆者らは、本IgYの食品への応用を検討するために、本IgYを配合したヨーグルトを作製し、ボランティア試験を実施した。スクリーニングは健常者174名（男性：112名、女性62名、平均年齢32.7±10.5歳）で行った。スクリーニングの結果、UBT値3.0%以下の陰性者は134名、UBT値3.0～30%以下の陽性者が24名、UBT値30%以上の強陽性者が16名という結果になった。

試験は、スクリーニングでUBT値30%以上のピロリ菌感染強陽性者をボランティアとして選定した。ヨーグルト1個あたりの本IgY含有卵黄液の添加量は2.0gとし、朝夕食後に1日2回（4.0g/日、IgY摂取量40mg）摂取させた。

ピロリ菌除菌効果の検査は、UBT及びHpSA（糞便抗原）検査とし、4週目、8週目、12週目の計3回行った。

また、2種類の検査と共に胃痛などに関するアンケート調査を実施した。尚、摂取期間中の副作用等は何ら報告されなかった。

2-4-2. ボランティア試験結果

ボランティア試験の結果、本IgY配合ヨーグルトを摂取後8週間で被験者のUBTによる $\Delta^{13}C$ 値が摂取前と比較して有意に減少することが確認できた。UBT値と胃中のピロリ菌数は、ある程度相関があると考えられており、

UBT値の低下は菌数の低下を示唆するものと考え、本IgYを用いた食品がピロリ菌を胃内より排除する効果を有することが確認された (図4)。

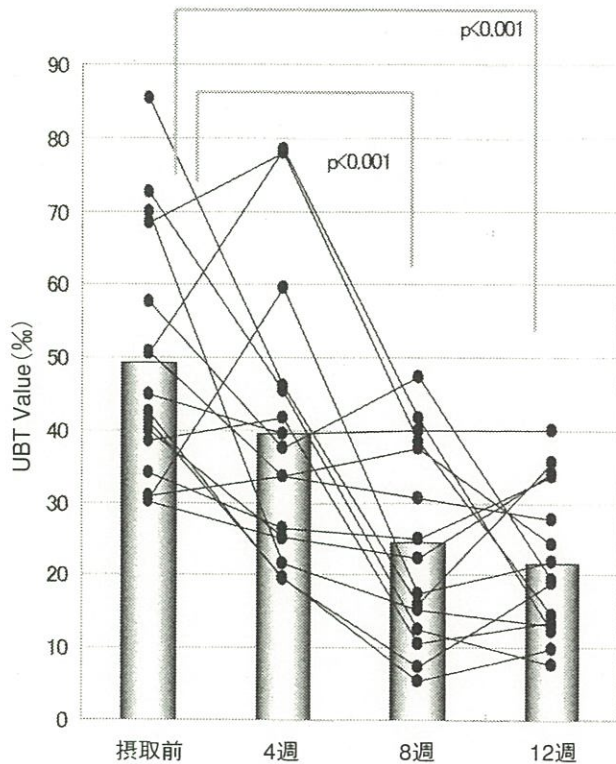


図4. ボランティア試験におけるUBT値

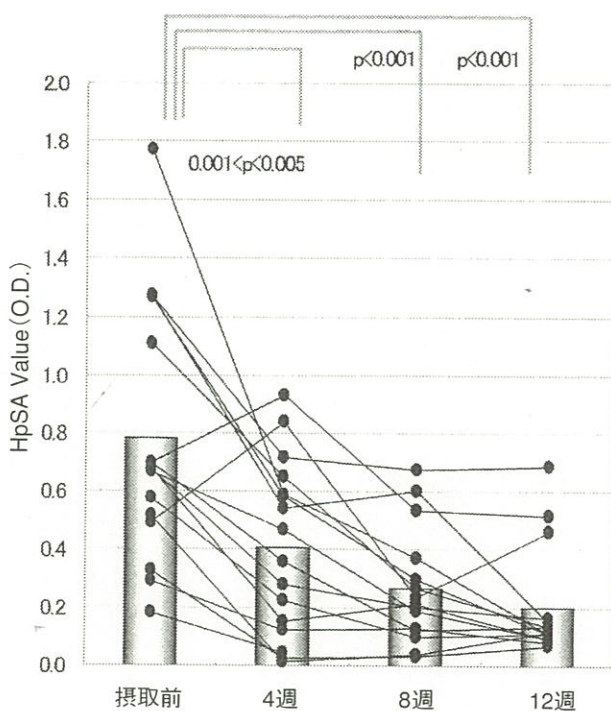


図5. ボランティア試験におけるHpSA値

またHpSAにおいては、4週目で有意な低下が確認され8週目、12週目と時間の経過に伴って徐々に減少する傾向が認められた (図5)。

被験者へのアンケート調査の結果では、胃痛の項目において「胃痛を常時感じる」としていたヒトの割合が減少し、自覚症状の改善傾向が認められた (図6)。

今回、UBTとHpSAを同時に行い、その有効性が得られたことは初めての報告であり、本IgYの食品への利用の有効性を示すものとして大変興味深いと考えられた (図4、5)。効果発現の作用機序としては本IgYが菌体外膜上のウレアーゼと特異的に結合し、ピロリ菌の胃粘膜への接着を阻害することにより、徐々に本菌を胃内より排除すると推察される。

ここで注目すべきことは、まず被験者において、問題となる副作用が全く起きなかったこと、次に「胃痛が減少した」などの体感が得られたことである (図6)。この結果を基に本IgYを配合したヨーグルトが発売され、美味しく、しかも効果が体感できる機能性食品として注目されている。

今後の重要な課題として、ピロリ菌による異常な持続感染が十二指腸潰瘍ならびにガン化に関与している可能性が指摘されている。事実、ピロリ菌外膜にOuter membrane inflammatory protein (Oip A) がIL-8を強く誘導することから、抗Oip A-IgYがそのインヒビターとして機能するか否か、検討したいと考えている。

3. ミュータンス連鎖球菌とう蝕

3-1. う蝕はなぜ起こるのか

代表的なバイオフィーム感染症の一つにミュータンス

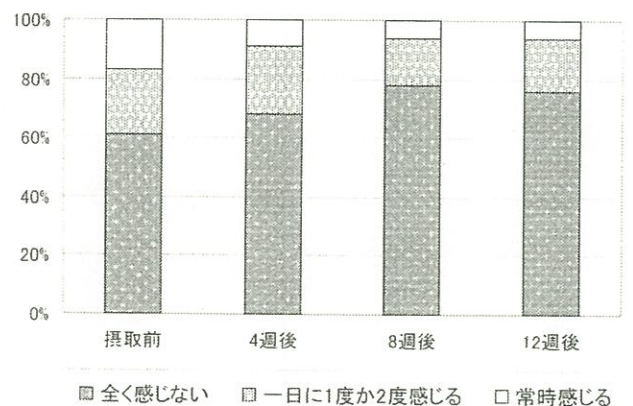


図6. ボランティア試験アンケート調査の結果

連鎖球菌 (Mutans streptococci : MS) による感染症がある。本病は *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) と *Streptococcus sobrinus* が相互に関与すると考えられている。口腔に感染した本菌は菌体外膜のタンパク質成分を介して歯面にある唾液成分と弱く結合する。そこに食品由来のスクロースが供給されると、菌体外膜に局在しているグルコシルトランスフェラーゼ (CA-GTase) によって唾液不溶性グルカンが合成される。このグルカンが歯面に蓄積すると本菌以外に歯周病に関与する細菌群も強く固着し、酸を貯留するグルカン層が形成される。バイオフィーム内に貯留された酸によりエナメル質は脱灰され、う蝕病変ができあがる。

最近、歯周病疾患との関係で40歳を過ぎた成人で根面う蝕が大きな問題としてクローズアップされている。本病は歯肉が退縮して露出したセメント質とエナメル質の境界部からう蝕が進行するのが特徴とされる。

う蝕の予防対策は口腔清掃後、バイオフィームの形成を抑制できるサプリメントの開発が重要な意味を持つ。

3-2. 抗ミュータンス菌CA-GTase-IgYの作製

本菌が培養液中に産生するグルコシルトランスフェラーゼ (GTase) は98%水溶性グルカンを合成することから、う蝕形成に関与しないとされていた。筆者らは、不溶性グルカンを合成するGTaseが菌体外膜に存在していることを明らかにした。精製した両酵素の性状を比較検討したところ、分子量は共に156kDaと同じであるが、至適pHは異なっており、免疫学的交差性も認められなかった。ラットでのう蝕モデルで抗う蝕効果が観察されたのは、CA-GTaseに対するIgYのみであった (表4)。

免疫用抗原は、ミュータンス菌 (血清型c) MT8148株を培養して得られた菌体に8M尿素によって抽出し、純度約95%のGTaseが得られた。本抗原のSDS-PAGEを図7に示した。IgYは、本抗原に油性アジュバントを加えて乳化した後、1羽あたり1mgを筋肉内注射した。ELISA抗体価をモニターしピーク時の卵黄を集め粉末化し、そこ

表4. ミュータンス菌MT8148株 (血清型c) から精製したGTaseの性状

性状	菌体外GTase	菌体結合型GTase
分子量	156kDa	156kDa
至適pH	5.5-6.5	6.7-7.0
グルカン溶解性	98%可溶	98%不溶
免疫学的交差性	なし	なし
IgYによる抗う蝕作用	なし	あり

から脂質成分を除去して試験サンプルを作成した。

3-2-1. *in vitro*実験

本IgYは濃度依存的にCA-GTase酵素活性を阻害することにより不溶性グルカンの合成を抑制した (図8)。一方、本IgYはスクロース存在下で *S. mutans* MT8148R株のガラス面への接着を濃度依存的に抑制した (図9)。表5には各血清型のMSがヒト唾液をコートしたハイドロキシアパタイト (HA) への接着阻害効果を示した。血清型 c,e,

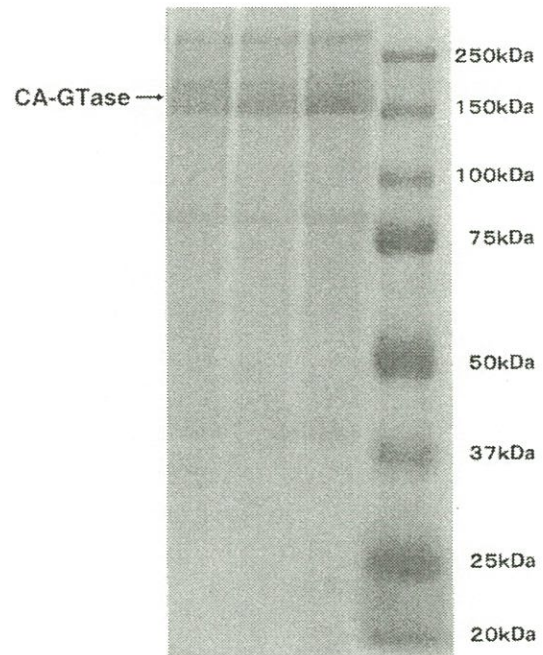


図7. ミュータンス菌CA-GTaseのSDS-PAGE

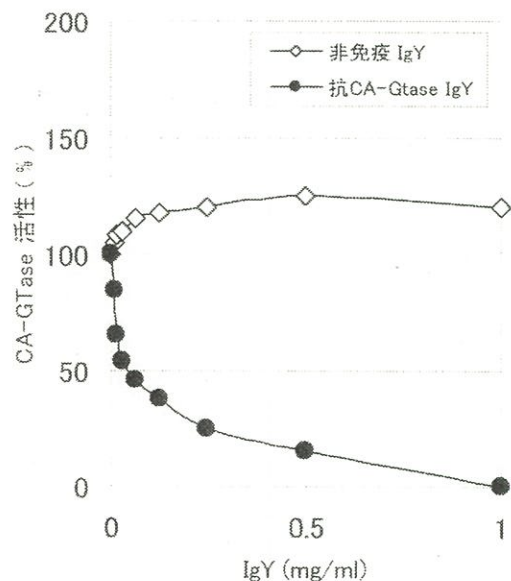


図8. *S. mutans*由来CA-GTaseによるグルカン合成に対するIgYの抑制効果

およびfの各菌株は本IgYによって80%以上の阻害活性が観察されたが、*S. cricetus* ATCC19642 (a) は阻害しなかった。本IgYは不溶性グルカン合成ばかりではなく歯面への接着も抑制できることが明らかになった。

3-2-2. ラットを用いたIgYの抗う蝕実験

表6に示したう蝕モデルに用いたラットは唾液腺が切除されているため、唾液分泌が制限され、う蝕形成は早い。このような厳しい口腔内環境で本IgYの有効性を評価した。

表7の結果から、試験群の平滑面ならびに裂溝部う蝕の病変スコアは対照群のそれと比較して有意に軽減された。図10の対照群では広範囲にう蝕病変が形成されているが、投与群では軽減されている。

3-2-3. 本IgYを含有するトローチを用いたヒト臨床試験

本試験は北海道医療大学歯学部倫理委員会の承認を受

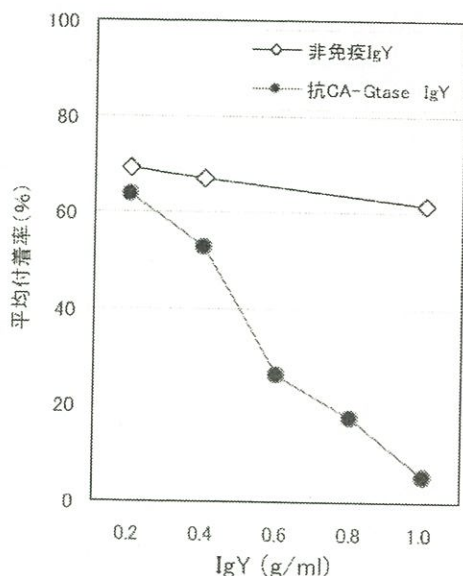


図9. *S. mutans* MT8148Rのスクロース依存性付着能に対するIgYの抑制効果

けて、二重盲検法で実施された。被検者の年齢は23歳で99名が参加した。試験群の割付は試験群49名、プラセボ群19名および陰性対照群31名とした。本試験期間を通して、抗生物質の服用者ならびに歯科治療者は除外した。デンタルペーストならびに歯ブラシはフッ素、キシリトールなどを含有しないものを使用した。口腔内清掃は朝と夕の2回とした。また、試験期間中はチーズ、ヨーグルト、ナットウなどの発酵食品の摂取は禁止した。被験物質(トローチ)の摂取回数ならびに摂取期間は1日5回、5日間とし、摂取開始前と摂取終了時に唾液をサンプリングした。有効性評価は唾液中の接着性*S. mutans*菌数、総*S. mutans*菌数ならびに総菌数をカウントして摂取前後の菌数の差を検定することによって行った。

表8の結果から、試験群は対照群のそれと比較して接着性*S. mutans*菌数 ($p < 0.001$) および総*S. mutans*菌数 ($p < 0.01$) との間に有意差が観察され、有効性が検証で

表6. う蝕評価試験

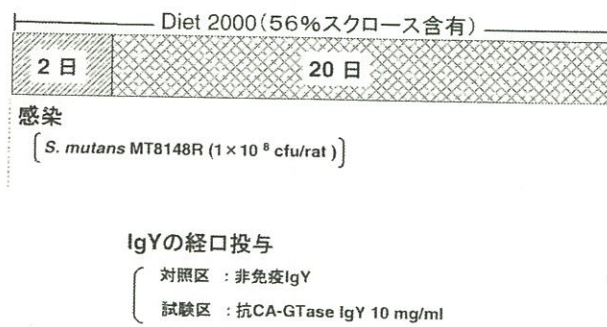


表7. IgYのう蝕抑制効果

試験群	供試ラット (n)	総う蝕スコア	
		平滑部	裂溝部
抗CA-GTase IgY	唾液腺切除 (19)	50.2±6.3*	45.9±2.6*
非免疫 IgY	唾液腺切除 (20)	64.2±6.4	50.6±3.2

抗CA-GTase IgYを飲水投与したラットの臼歯におけるう蝕スコア (平均±標準偏差) * $p < 0.05$

表5. 唾液コーティングHAへのミュータンス連鎖球菌類の付着に対するIgYの抑制効果

試験群	分散液中における付着菌数 (抑制率%)			
	<i>S. mutans</i> MT8148R (c)	<i>S. mutans</i> P-4 (e)	<i>S. mutans</i> SE-11 (f)	<i>S. cricetus</i> ATCC19642 (a)
Buffer	1,429±84 ^b (-)	1,219±82(-)	1,783±400(-)	959±24(-)
非免疫 IgY	1,348±123(5.7)	1,077±117(11.6)	1,760±132(1.3)	941±19(1.9)
抗CA-GTase IgY	175±17(87.8)	157±41(87.1)	293±59(83.6)	933±18(2.7)

a CFU/ml
b 平均±標準偏差

きた。総菌数では差が認められなかったことから、口腔内細菌叢への影響はないと考えられた。試験群で特に接着性*S. mutans*菌数が本IgYの摂取後顕著に減少した理由は、不溶性グルカン合成抑制機能と本菌に対する接着阻害機能が相乗的に作用した結果と考えられた。また、IgY含有トローチの摂取期間に副作用等安全性に及ぼす影響は何ら報告されなかった。

今後の重要な課題は、一般成人を対象とした歯周病対策IgYの開発である。本病は口腔内感染症であるばかりでなく、各種神経機能の破綻、口臭、心循環系疾患、糖尿病、心内膜炎、骨粗しょう症など全身性疾患のハイリスクファクターでもある。一方では、介護食品・嚥下食品に配合できる*Candida albicans*に対するIgYの開発が重要性を増している。本菌は常在菌の一種として消化管に住み着いているが、高齢者ならびに抗ガン剤・ステロイド剤を投与している患者では、自身の免疫力が低下しているため口腔内で異常増殖し、唾液と共に肺に侵入し誤嚥性肺炎を引き起こし、死に至るケースが多い。

4. まとめ

消化管をターゲットとした経口受動免疫療法に使用する抗体は、大量生産が可能なIgYが優れている。本生産ラインは免疫する抗原の種類を変えるだけで、一本のラインで異なる機能を有するIgYを生産できる。

本稿で、ピロリ菌においては酸性条件で胃粘膜ムチンに接着するウレアーゼサブユニットを抗原として作成したIgYは、ピロリ菌の接着を阻害した。またミュータンス連鎖球菌においては、不溶性グルカンを合成するCA-GTaseに対するIgYが同グルカン合成ならびに歯面への接着を阻害した。

これらの機能を有するIgYを配合した食品はヨーグルト、タブレットなどの商品形態で販売されており、市販後の副作用等は何ら報告されていない。

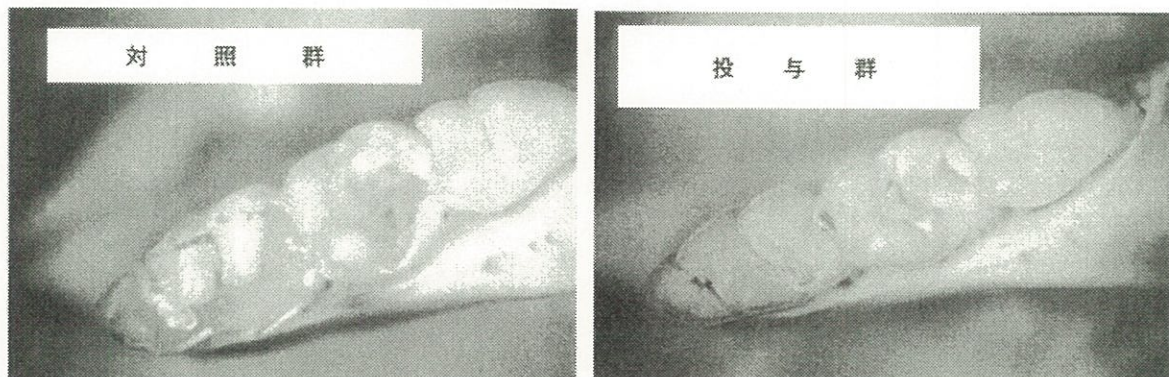


図10. 抗CA-GTase-IgYによるう蝕病変の抑制

表8. 唾液中のミュータンス連鎖球菌数に対するIgYの作用効果

試験群	付着性 <i>S. mutans</i> スコア ^a			総 <i>S. mutans</i> 数 ^b (log ₁₀ CFU)			総嫌気性菌数 ^c (log ₁₀ CFU)		
	試験前	試験後	有意差 ^e	試験前	試験後	有意差 ^e	試験前	試験後	有意差 ^e
抗CA-GTase IgY (n=49)	2.5±1.6 ^d	1.2±1.4	P<0.001	3.6±0.9	3.4±0.8	P<0.01	7.4±0.5	7.6±0.6	NS
Placebo (n=19)	2.6±1.4	2.8±1.4	NS ^f	3.2±1.2	3.5±0.9	NS	7.2±0.6	7.4±0.6	NS
Control (n=31)	2.5±1.6	2.7±1.5	NS	3.7±0.8	3.9±0.9	NS	7.3±0.7	7.5±0.6	NS

付着性*S. mutans*は次のようにスコア化した。コロニーなし；スコア0，1～33コロニー；スコア1，34～66コロニー；スコア2，67～99コロニー；スコア3，100コロニー以上；スコア4。

a, b, c それぞれミューカウント、MSB培地、BHI培地にて検出した

d 平均値±標準偏差

e ウィルコクソンの符号付順位検定による

f NS:有意差なし

参考文献

- ・ S. Hamada and Y. Kodama, Passive immunity for protection against mucosal infections and vaccination for dental caries. In *Mucosal Vaccines*, H. Kiyono P. L. Ogra and J. R. McGhee eds., Academic Press, CA., 1996, pp. 187-197.
- ・ F. C. Icatolo, Jr., M. Kuroki, C. Kobayashi, H. Yokoyama, Y. Ikemori, T. Hashi and Y. Kodama, Affinity purification of *Helicobacter pylori* urease., Relevace to gastric mucin adherence by urease protein, *J. Biol. Chem.*, **273**, 18130-18138(1997).
- ・ F. C. Icatolo, Jr., H. Goshima, N. Kimura and Y. Kodama, Acid-dependent adherence of *Helicobacter pylori* urease to diverse polysaccharides, *Gastroenterology*, **119**, 358-367(2000).
- ・ F. C. Icatolo, Jr., N. Kimura, H. Goshima, and Y. Kodama. Enhanced Reduction of *Helicobacter pylori* Load in Precolonized Mice Treated with Combined Famotidine and Urease-Binding Polysaccharides, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **44**, 2492-2497 (2000).
- ・ F. C. Icatolo, Jr., H. Yokoyama, M. Kuroki, C. Kobayashi, H. Goshima, Y. Ikemori, and Y. Kodama. Adherence Protects the Binding Sites of *Helicobacter pylori* Urease from Acid-Induced Damage, *Microbiol. and Immunol.*, **44**, 773-776(2000).
- ・ N. Kimura, M. Ariga, F. C. Icatolo, Jr., M. Kuroki, M. Ohsugi, Y. Ikemori, K. Umeda and Y. Kodama, Aethymic hairless mouse model of *Helicobacter pylori* colonization and adherence to gastric epithelial cells *in vivo*, *Clin. Diag. Immun.*, **5**, 578-582 (1998).
- ・ 山根哲郎, 斎藤康雄, 瀧澤悟, 堀江典子, 金武祚, 五島英雄, 児玉義勝, *H. pylori*感染者への抗*H. pylori* urease IgYの効果, 第47回日本農芸化学学会大会, 2003.
- ・ 千葉逸郎, 磯田理絵, 磯貝恵美子, 広瀬公治, 中埜拓, 松塚尚人, Nguyen Van Sa, ボランティアを用いた口腔内デンタルプラーク形成への卵黄抗体製品Ovalgen® DCの効果判定, 第44回日本小児歯科学会大会, 2005.
- ・ C. Krüger, S. K. Pearson, Y. Kodama, A. VaccaSmith, W. H. Bowen and L. Hammarström, The effects of egg-derived antibodies to glucosyltransferases on dental caries in rats, *Caries Res.*, **38**, 9-14 (2004).

特許

- 特許公報第3,430,853号：胃炎・胃潰瘍および十二指腸潰瘍の予防剤並びに治療剤
- 特許公報第2,598,802号：菌体結合型グルコシルトランスフェラーゼ
- 特許公報第2,641,228号：抗体およびそれを有効成分とするう蝕予防剤、並びにこれらの製造方法

PROFILE

児玉 義勝

株式会社ゲン・コーポレーション
抗体事業カンパニー免疫研究所
研究開発部門長
農学博士

1978年東京大学大学院農学系研究科獣医学専門課程修了、同年株式会社ゲン・コーポレーション免疫研究所入社、2005年同社抗体事業カンパニー研究開発部門に転属、現在に至る。
日本獣医学会評議員。

