

## Close Up!

# 歯周病罹患犬に対する 卵黄リベチン(Immunoglobulin Yolk: IgY)を 利用した経口受動免疫

児玉義勝, ラハマン・ソフィクル, 梅田浩二, スグエン・バン・サー  
(株)イーダブルニュートリション・ジャパン

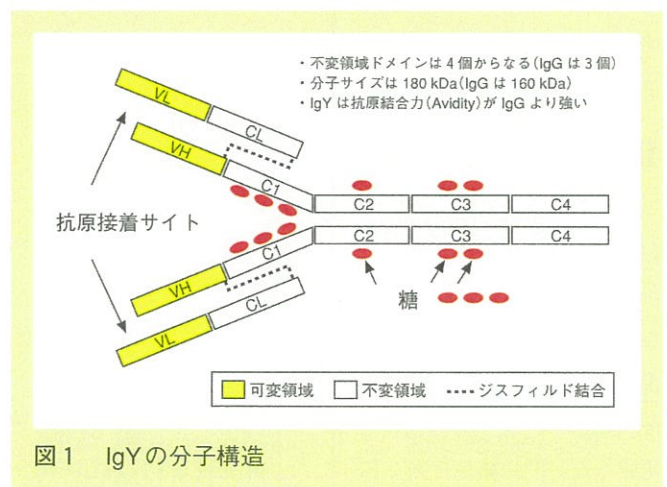
## はじめに

特異的IgYの作成は鳥類に備わっている「卵黄内への輸送機能」の生物学的な仕組みを利用する。目的とするターゲット抗原を親鶏に接種することで、血清中に接種抗原に対する免疫グロブリンが産生され、それを卵黄に蓄積して産卵する。親鶏に接種する抗原の種類を変えるだけで、特異性の異なるいろいろなIgYが生産できる。

リベチンとは、卵黄たんぱく質に約30%含まれる水溶性たんぱく質のことであり「 $\alpha$ -リベチン」「 $\beta$ -リベチン」および「 $\gamma$ -リベチン」の3種類が区分されている。それぞれの構成比は2対3対5であることが報告されている。 $\alpha$ -リベチンは親鳥の血清アルブミン、 $\beta$ -リベチンは血清 $\alpha$ 2-グロブリンである。 $\gamma$ -リベチンは血清 $\gamma$ -グロブリンが卵黄内輸送機能によって卵黄に移行したものである<sup>1</sup>。このIgYは、哺乳類のIgGに相当するものであるが、分子サイズは大きく180kDである。図1に示したようにH鎖不変領域が4個のドメインからなり、H鎖に関しては哺乳類IgGと異なる。

近年、優れたペットフードが開発されたことにより犬・猫の寿命が伸び、それに伴って歯周病罹患率が増大している。歯周病は口腔バイオフィルム感染症で、その主要起因为として *Porphyromonas gingivalis* と *Porphyromonas gulae* が注目されている。本菌最大の病原因子は菌体外膜に局在しているシステインプロテアーゼから成るジンジパイン(gingipain)であることが明らかにされている。

現状の歯周病治療は人と同様で、スケーリング・ルートプレーニングによって機械的にプラークと歯石を除去した後、抗生物質の投与を行うことが一般的である。これは麻酔下での治療となるため、加齢に伴って動物に大きな負担となる。このよ



うな状況を解決するため、プラークコントロールを目的としたペレットフードなどの開発が国内外で行われてきたが、満足できる結果は得られなかった。

著者らは、これまでに本ジンジパインを標的にした経口受動免疫の確立を目指して精力的な研究を実施してきた。本稿では、*P.gingivalis* ならびに *P.gulae* の最大の病原因子であるジンジパインの多様な病原性機能、ジンジパインに対するIgYのin vitro ならびに歯周病罹患犬を対象にしたin vivo 試験の結果を紹介したい。

## I. *P.gingivalis* の ジンジパイン病原因子

本ジンジパインはシステインプロテアーゼから成り、それはアルギニン残基(Arg)のC末端側を切断するRgp(Argジンジ

パイン)とリジン(Lys)残基のC末端側を切断するKgp(Lysジンジパイン)の2つの酵素群から構成されている。*P. gingivalis*の染色体上にはRgpをコードするRgpAとRgpB遺伝子ならびにKgpをコードするKgp遺伝子がある。RgpB遺伝子はRgpA遺伝子のC末端領域にある付着因子ドメインを欠くが、プロテアーゼドメインを有する。RgpAとKgp遺伝子は、プロテアーゼドメインのほかC末端に付着因子ドメインがある。Kadowakiらは、RgpAならびにKgp遺伝子のプロテアーゼドメインが協調しながら歯周病原性機能を発揮することを明らかにした<sup>2</sup>。

本ジンジパインの病原因子としての機能を列記する。①両酵素はコラーゲン、フィブロネクチンなどの細胞間質たんぱく質を分解する、②両酵素はサイトカインを分解する、③両酵素は好中球に対し機能傷害を与える、④両酵素はフィブリノーゲンならびにフィブリンを分解する、⑤両酵素は線毛生成機能を有する。

## II. 抗ジンジパインIgYを用いた in vitro 試験

### (1) ジンジパインプロテアーゼに対する活性阻害

犬由来*P.gulae* (ATCC51700) 菌体から精製したジンジパインを50mg/mL～400mg/mLに調整し、それぞれの希釈系列に抗ジンジパインIgYまたは非免疫IgY(コントロール)を50mg/mL加え、4℃で60分反応させた。酵素活性は波長450nmで測定した。その結果を図2に示した。非免疫IgYに対し、抗ジンジパインIgYは、*P.gulae*由来ジンジパインのプロテアーゼ活性を有意に抑制した( $p<0.01$ )<sup>3</sup>。

### (2) ジンジパインの口腔上皮細胞(FaDu)に対する

#### 細胞傷害抑制

上記と同様に、精製ジンジパインを50μg/mL～200μg/mLに調整し、それぞれの希釈系列に抗ジンジパインIgYまたは非免疫IgYを50mg/mL加えた混合液をFaDu単層細胞6ウェルのマイクロプレートに接種し、37℃で60分培養した。その後、未付着の細胞を除去するため、各ウェルをPBSで3回洗浄後、4グループの細胞傷害の形態学的変化を光学顕微鏡で観察するとともにトリパンブルー染色を行って生細胞数を算定した。細胞傷害抑制率(%)は、ジンジパイン無添加のPBSの生細胞数を100%としたときの、3グループの相対細胞傷害抑制率を求めた。

その結果、図3(A)の写真に示したようにジンジパイン添加のみ、ならびにコントロールIgY添加グループの細胞は単層細胞としての構造が失われた。この変化はジンジパインの特徴で

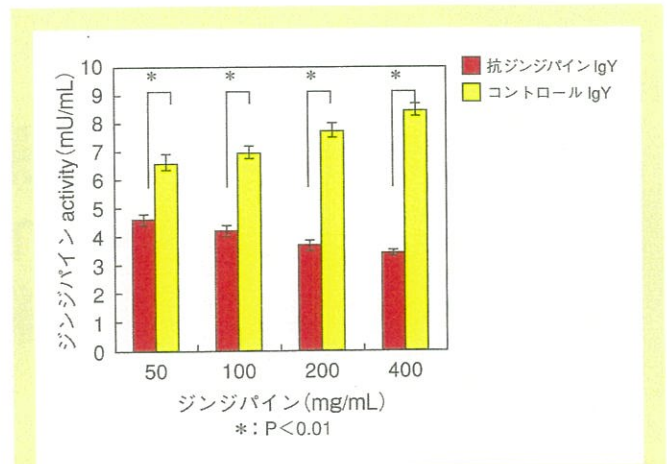


図2 抗ジンジパインIgYによるイヌ由来*P.gulae*から精製したジンジパインプロテアーゼ活性の抑制

もある細胞間質たんぱくの分解力によると思われる。これに対し、抗ジンジパインIgY添加ならびにPBSコントロールでは単層細胞としての形態学的変状は観察されなかった。図3(B)に細胞傷害抑制率の結果を示した。ジンジパイン添加のみ、ならびにコントロールIgY添加の細胞傷害抑制率に対して、抗ジンジパインIgY添加の抑制率は濃度依存的に有意な向上を示した( $p<0.01$ )<sup>3</sup>。

### (3) ヒト歯肉上皮細胞に対する*P.gingivalis*の付着抑制

抗ジンジパインIgYとして抗Rgp IgY、抗Kgp IgY、抗Rgp IgY + 抗Kgp IgYならびに非免疫IgYを用いた。それぞれのIgYと*P.gingivalis* (ATCC33277) 菌浮遊液を等量加えて混合し、その混合液を24ウェルマイクロプレートの単層上皮細胞に添加して、37℃で120分培養した。その後、各ウェルをPBSで洗浄し未付着の菌を除去した。それぞれのウェルに付着している菌数はプルセラHK血液加寒天培地を用いて、コロニー数をカウントした。

表1に試験結果をまとめた。非免疫IgYの付着抑制率はわずか5%程度であったのに対し、抗Rgp IgYおよび抗Kgp IgYの抑制率はそれぞれ69.3%および65.3%となり、付着抑制率としては不十分であった。予想外にも、2種類のジンジパインに対するIgYの付着抑制率は94%と顕著に向上した( $p<0.01$ )<sup>4</sup>。

この実験結果から、ArgジンジパインとLysジンジパインの両プロテアーゼ活性を本IgYによって抑制すると、*P.gingivalis*の細胞付着力が顕著に低下することが観察できた。本結果を裏付けるデータとして、野生株は菌体表層に線毛が放射状に発育しているが、RgpAならびにKgp両遺伝子の欠損株を培養すると線毛構造が脱落することが報告されている<sup>2</sup>。

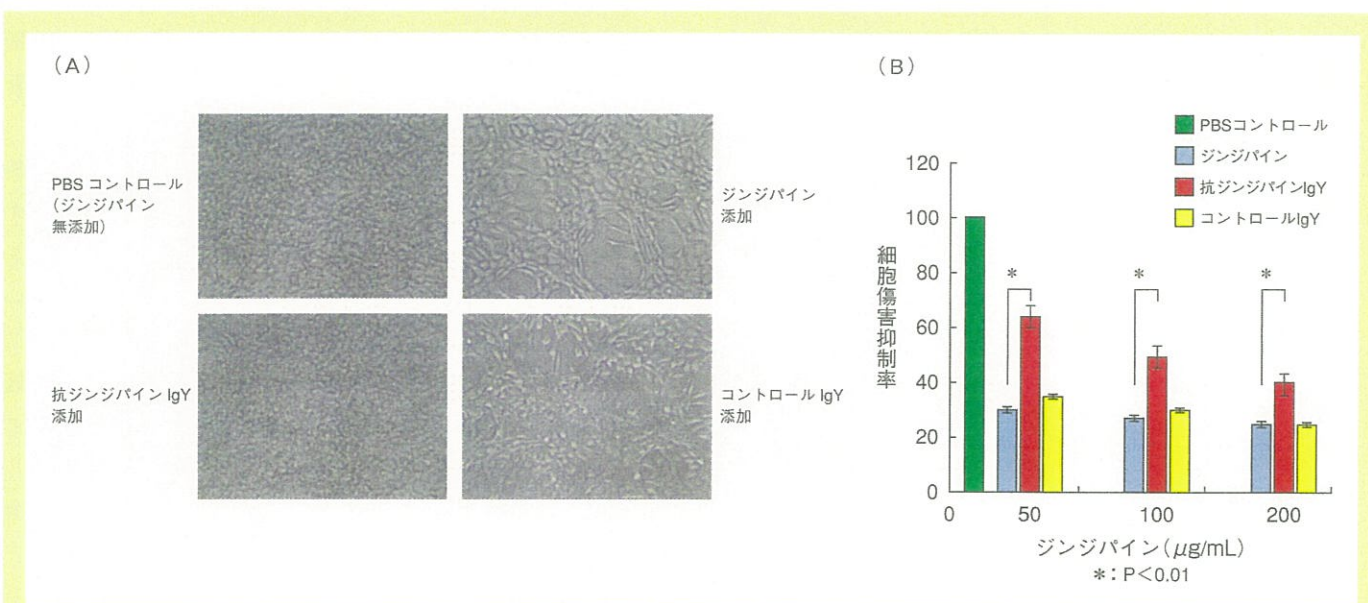


図3 抗ジンジパインIgYによる *P. gulae* から精製したジンジパインの細胞傷害抑制率  
 (A)上皮細胞の形態学的変化  
 (B)抗ジンジパインIgYによる細胞傷害抑制率

表1 抗*P.gingivalis* ジンジパインIgYによるヒト歯肉上皮細胞への付着抑制率

抗ジンジパイン IgY	<i>P.gingivalis</i> 菌数		細胞付着抑制率 (%)
	添加前	添加後	
PBS(コントロール)	$1.6 \times 10^5$	$4.3 \times 10^3$	2.7
非免疫 IgY	$1.5 \times 10^5$	$8.1 \times 10^3$	5.4
抗 RgP IgY	$1.4 \times 10^5$	$9.7 \times 10^4$ **	69.3
抗 KgP IgY	$1.5 \times 10^5$	$9.8 \times 10^4$ **	65.3
抗 KgP+RgP IgY	$1.6 \times 10^5$	$1.5 \times 10^4$ **	93.8

PBS コントロールに対し, \*: P<0.05, \*\*: P<0.01

表2 *P.gingivalis* 菌株と *Actinomyces naeslundii* との共凝集抑制

供試 <i>P.gingivalis</i> 菌株	抗 <i>P.gingivalis</i> ジンジパイン IgY	非免疫 IgY
FDC381	1	2
GAI7802	1	2
ATCC33277	0	3
ATCC49417	1	2
ATCC53977	1	2

共凝集の判定は, Kolenbrander, PE と Cisar, JO の判定方法によって実施した

- 0: 菌体浮遊液に凝集を認めない
- 1: 菌体浮遊液は全体が濁っているが, わずかに凝集している
- 2: 菌体浮遊液はなお濁っているが, 部分的に凝集している
- 3: 菌体浮遊液はわずかな濁りを残すが, 全体が凝集している
- 4: 菌体は大きな凝集塊を形成し, 浮遊液の上清は透明

(4) *P.gingivalis* と *Actinomyces naeslundii* の共凝集抑制

共凝集形成はバイオフィーム形成の第一歩であるため, 抗ジンジパインIgYの共凝集抑制について検討した。供試 *P.gingivalis* 菌株として, FDC381, GAI7802, ATCC33277, ATCC49417 および ATCC53977 を用いた。それぞれの菌株培養液に, 偏性嫌気性グラム陽性線毛保有桿菌である *Actinomyces naeslundii* 浮遊菌液を加え, 室温で60分静置した。その後, 60rpmで30分遠心分離し, 共凝集の程度を, Kolenbranderらの判定方法によって記録した<sup>5</sup>。表2に試験結果を示した。抗ジンジパインIgYは全ての株で共凝集を抑制したが, コントロールIgYはこのような抑制効果は観察されなかった。

*Fusobacterium nucleatum* を用いた実験でも, 抗ジンジパインIgYはこの共凝集を抑制した。歯石形成は, 歯肉溝内で *P.gingivalis* が増殖して歯肉上皮細胞に付着→共凝集→プラーク形成→バイオフィームに成熟→カルシウム・リン酸塩の浸入→バイオフィームの石灰化→歯石形成の過程をたどる。したがって, 抗ジンジパインIgYは歯石形成過程の第一歩を抑制する可能性がある。

(5) *P.gingivalis* 感染ラット歯周炎モデルにおける

抗ジンジパインIgYの歯槽骨吸収抑制

Hamada および Watanabe は, 感染ラットを用いて抗ジンジパインIgYの歯槽骨吸収抑制について研究を行った。本IgYは

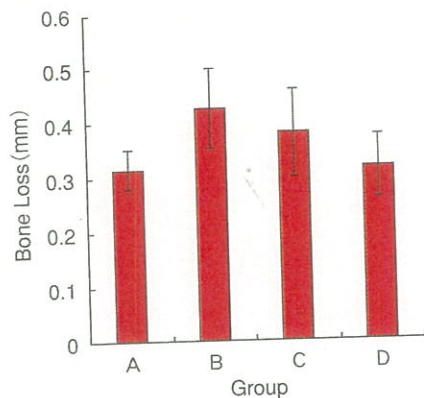


図4 マウスにおける抗ジンジパインIgYの歯槽骨吸収抑制  
 A群は非投与・非感染, B群は非投与・*P. gingivalis*経口感染, C群は非免疫IgY投与・*P. gingivalis*経口感染, D群は抗ジンジパインIgY投与・*P. gingivalis*経口感染。  
 B群の骨吸収量はA群より有意に増加。D群の骨吸収量はB群より有意に低い(p<0.05)。C群の骨吸収量はB群に対し有意差を認めない

5%カルボキシメチルセルロースに添加したものを使用した。投与は感染開始1日前を含む計4回行った。歯槽骨吸収量の評価は、上顎臼歯部のセメント-エナメル境から歯槽骨頂までの距離を測定して行った。最終的には、画像解析ソフトを用いてセメント-エナメル境から歯槽骨頂までの距離の両側14部位を測定した。14部位の測定値を平均して個体当たりの骨吸収量とし、それぞれ6匹分の平均値を実験群の骨吸収量としてmmで表示した。

図4にその結果を示した。感染群の骨吸収量は非感染群に対し有意な増加が観察された。抗ジンジパインIgY投与群の骨吸収量は、感染群に対し有意に減少した。コントロールIgY投与群の骨吸収量は感染群のそれと比較しても有意差は観察されなかった。本菌の感染による歯槽骨吸収量が抗ジンジパインIgYの投与によって有意に減少することを示したのは、本報告が初めてである<sup>6</sup>。

### Ⅲ. 歯周病罹患犬を用いたin vivo試験

歯周病は加齢とともに罹患率が增大し、根本的な対策が求められている。その解決の糸口として、罹患犬の歯周ポケットに生息している*P. gingivalis*ならびに*P. gulae*が保有する線毛によって*A. naeslundii*または*F. nucleatum*などの細菌群と共凝集が起きていることが注目されている。この共凝集塊は成熟して厚いバイオフィルムを形成する。唾液中のカルシウム・リン酸

塩がこのバイオフィルム層に浸入すると石灰沈着が起これ、褐色の歯石ができあがる。このプロセスが抑制できれば予防に繋がると考えられる。

著者らは、*P. gingivalis*ならびに*P. gulae*が保有する最大の病原因子であるジンジパインに対するIgYが、①共凝集を抑制すること、②ジンジパインプロテアーゼ活性を抑制すること、③FaDu細胞傷害を抑制すること、④KB細胞への*P. gingivalis*の付着を抑制すること、をin vitro試験で検証した。

これらの結果を踏まえ、中等度の歯周病罹患犬を対象に、経口受動免疫を利用した抗ジンジパインIgYを含有する卵黄粉末の有効性を検討した。この卵黄粉末は、ジンジパインを接種した産卵鶏が産卵した卵より卵黄を回収して卵黄液にて低温殺菌後、スプレードライによって乾燥粉末としたものである。

#### (1) 試験方法

本試験は、京都動物検査センターの「動物取扱安全対策委員会」の承認を受けて実施された。供試犬は中等度の歯周炎症状を呈するビーグル、ミニチュア・ダックスフンド、キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル種である。動物はステンレスケージで個体飼育とし、飼育温度は25℃で、昼夜の点灯サイクルは12時間とした。試験開始前1週間は予備飼育を行った。ドッグフードは市販のドライペレットフード(愛情物語シリーズ/イースター(株))を用いた。なお、本フードは抗菌剤ならびに生菌剤を含まない。

本試験は試験Iと試験IIで構成されている。試験Iでは、15頭を無作為に5頭ずつ3群に割り付けた。試験群1(平均体重=7.88±1.34kg, 平均年齢=74±13カ月)は、抗ジンジパインIgY含有卵黄粉末35mg/kg体重を1日1回とし、試験群2(平均体重=8.04±1.49kg, 平均年齢=67±2カ月)は、抗ジンジパインIgY含有卵黄粉末の17.5mg/kg体重を1日2回とした。対照群(平均体重=8.38±1.91, 平均年齢=68±2.3カ月)は、非免疫卵黄粉末35mg/kg体重を1日1回とした。これらのIgY含有卵黄粉末はドライペレットフードに配合して8週間給餌した。

口腔内診査の対象となる臼歯は、上顎右側3本と左側3本および下顎右側3本と左側3本とした。なお、プラークならびに歯石脱落状況の観察をするため、スクレーピング・ルートプレーニングの施行は実施しなかった。口腔内診査は、試験開始時、4週目および8週目(試験終了時)に実施した。臨床パラメーターとして、オーラルヘルスインデックス(歯肉炎スコアと歯周炎スコアを合計した値)<sup>7</sup>、プロービング時の歯肉出血(BOP)<sup>8</sup>、歯周ポケットの深さ(PD)および歯石脱落率を評価軸として用いた。

表3 歯周病罹患犬のオーラルヘルスパラメーターに及ぼす抗ジンジバインIgY添加ドライフードの効果(試験I)

パラメーター	試験群1 (n=5)			試験群2 (n=5)			コントロール群 (n=5)		
	ベースライン	4W	8W	ベースライン	4W	8W	ベースライン	4W	8W
歯肉炎スコア	1.2±0.8	0.7±0.48	0.2±0.42*	1.2±0.42	0.7±0.48**	0.8±0.42**	1.7±0.95	1.6±0.84	1.5±0.97
歯周炎スコア	1.1±1.1	0.1±0.32*	0.0±0.0*	1.2±1.0	0.2±0.42*	0.2±0.42*	1.4±1.1	0.9±1.2	0.8±1.0
オーラルヘルスインデックス	2.3±0.07	0.8±0.4	0.2±0.1	2.4±0	0.9±0.35	1.0±0.42	3.1±0.2	2.5±0.5	2.3±0.5
BOP	4/5	1/5	1/5	5/5	0/5	0/5*	5/5	5/5	5/5

試験群1は抗ジンジバインIgY含有卵黄粉末35mg/体重kgを1日1回給餌し、試験群2は同IgY17.5mg/体重kgを1日2回給餌した。コントロール群には非免疫IgY35mg/体重kgを1日1回給餌した。本IgYは、いずれの群とも8週間の給餌とした。歯肉炎スコアならびに歯周炎スコアは、GaworJPら(2006)の方法によって算定し、オーラルヘルスインデックスは両スコアを合計した数値である。ブローピング時の歯肉の出血の有無(BOP)は、Yokoyama Kら(2007)の方法によって実施したベースラインに対して、\*: P<0.01および \*\*: P<0.05

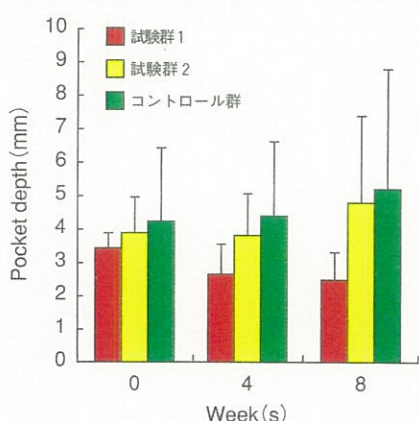


図5 抗ジンジバインIgYの経口投与が歯周ポケットの深さ(PD)に及ぼす効果(試験I)

表4 歯周病罹患犬の歯面の歯石脱落に及ぼす効果(試験I)

試験区分	4W	8W
試験群1 (n=5)	3(26%)	4(42%)*
試験群2 (n=5)	1(4%)	2(22%)
コントロール群 (n=5)	0(0%)	0(0%)

\* コントロール群に対し、P<0.05

は、ベースラインに対し、8週目において変動は観察されなかった。一方、BOP値においても試験群1ならびに試験群2は、ベースラインに対し顕著な改善効果が観察されたが、コントロール群のBOP値はベースラインと8週目で全く変動しなかった。

図5に試験IのPD値を示した。試験群1の8週目でPD値はコントロール群に対し改善傾向が観察されたものの有意差は確認できなかった。表4は試験Iの歯石脱落状況を示している。給餌4週目での歯石脱落状況は、試験群1および試験群2でそれぞれ3頭および1頭の歯面の歯石面積がそれぞれ26%および4%に減少した。給餌8週目に至ると、歯石脱落状況は更に改善され、試験群1および試験群2でそれぞれ4頭および2頭の犬で歯石面積は減少し、それぞれ42%および22%と改善された。これに対し、コントロール群では変動は全く確認できなかった。

図6に両試験群の歯石脱落状況を写真で示した。試験群1のNo. 1およびNo. 5ならびに試験群2のNo. 7の犬では観察経過に伴って歯石面積が顕著に減少した<sup>3</sup>。

表5に試験IIの歯肉炎スコア・歯周炎スコアならびにBOP値を示した。抗ジンジバインIgY含有卵黄粉末軟膏剤注入サイトの炎症スコアは、ベースラインに対し2~4週目にかけて有意に改善された(p<0.01)。コントロール群の炎症スコアはベースラインと4週目でほぼ同等で変動は全く観察されなかった。試験群のBOP値はベースラインに対し、2~4週目にかけて有意に改善された(p<0.01)。コントロール群のBOP値は4週目まで全く変動しなかった。

試験IIには、中等度の歯周炎症状を呈する罹患犬5頭(平均体重=6.6±1.98kg, 平均年齢=70±2.0カ月)を用いた。20%抗ジンジバインIgY含有卵黄粉末を配合した軟膏剤ならびに軟膏剤のみを充填したルートキャナルシリンジ(ネオ製薬工業(株))を準備した。本剤の注入は設定した上顎左右ならびに下顎左右のペア白歯(試験群および対照群それぞれ10サイト)の歯肉溝内に1週間隔で4回注入した。臨床パラメーターは、歯石脱落率を除いて試験Iと同じである。

## (2) 試験結果

試験Iならびに試験IIのすべての犬は、試験終了時まで、抗ジンジバインIgY含有卵黄粉末の配合ドライペレットフードの給餌、またはルートキャナルシリンジを用いた歯肉溝への直接注入に起因する副作用等の異常は報告されなかった。

表3に試験Iの臨床スコアを示した。試験群1ならびに試験群2の歯肉炎スコアならびに歯周炎スコアは、ベースラインのスコアに対し8週目に有意に改善された(p<0.05~0.01)。これに反しコントロール群の歯肉炎スコアならびに歯周炎スコア

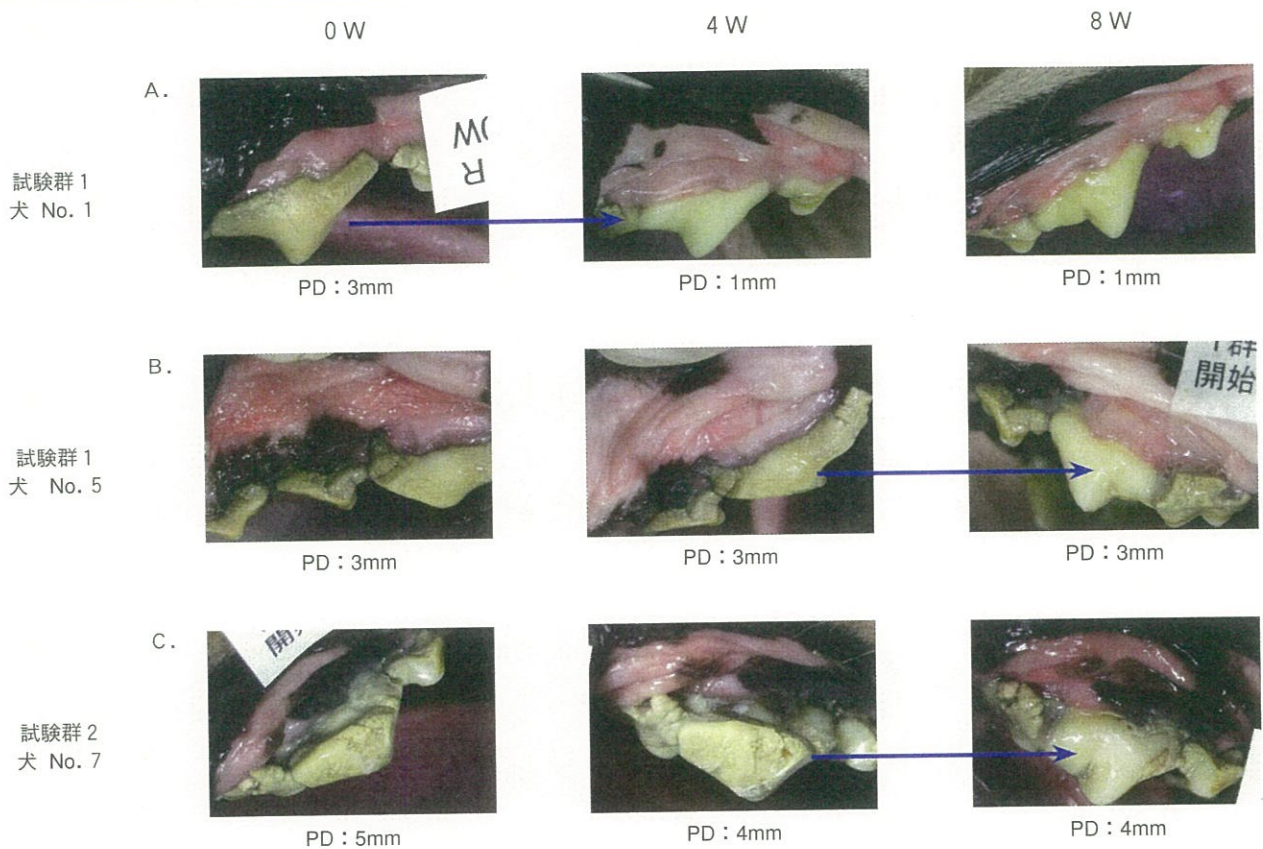


図6 観察経過に伴う歯石脱落状況

表5 歯周病罹患犬のオーラルヘルスパラメーターに及ぼす抗ジンジバインIgY含有軟膏剤の歯肉溝への投与効果(試験II)

パラメーター	試験群(n=10 サイト)					コントロール群(n=10 サイト)				
	ベースライン	1W	2W	3W	4W	ベースライン	1W	2W	3W	4W
歯肉炎スコア	2.3±0.67	1.6±0.7	0.9±0.57*	1.1±0.74*	1.0±0.82*	2.2±0.62	1.8±0.63	1.4±0.52	1.2±0.42	1.9±0.74
歯周炎スコア	1.9±0.57	1.7±0.82	0.9±0.74**	1.1±0.88	0.7±0.82*	2.2±0.63	2.1±0.74	1.5±0.70	1.3±0.82	2.1±0.74
オーラルヘルスインデックス	4.2±0.28	3.3±0.07	1.8±0.00	2.2±0.00	1.7±0.20	4.4±0.00	3.9±0.20	2.9±0.07	2.5±0.07	4.0±0.14
BOP	10/10	10/10	1/10*	1/10*	0/10*	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

ベースラインに対し、\*: P<0.01, \*\*: P<0.05

図7にPD値の結果を示した。抗ジンジバインIgY含有卵黄粉末軟膏剤注入群の4週目のPD値は、軟膏剤のみの注入群(プラセボ)に対し有意な改善効果が観察された( $p<0.05$ )<sup>3</sup>。

### (3) 考察

試験Iならびに試験IIの結果から、抗ジンジバインIgY含有卵黄粉末は、歯周病罹患犬の歯肉炎スコアならびに歯周炎スコアおよびBOP値を有意に改善した。PD値に関しては、試験Iの試験群1(本IgY35mg/kg体重を1日1回給餌)は8週目でコントロール群に対して有意差はなかったものの、改善傾向が

確認された。これに対し、試験IIの抗ジンジバインIgY含有卵黄粉末配合軟膏剤を1週間間隔で4回歯肉溝に直接注入すると、4週目のPD値は、コントロール群に対し有意に改善された。試験Iとの改善効果の差は、歯肉溝への直接注入の結果を反映していると思われる。

試験Iで実施した歯石脱落状況に示した結果は、予想外の結果となった。とくに、試験群1では5頭の歯石脱落状況が、給餌4週目および8週目でそれぞれ3/5(26%)および4/5(42%)であった。この群では、35mg/kg体重のIgYが1日1回投与されている。試験群2では、4週目および8週目で歯石脱落状

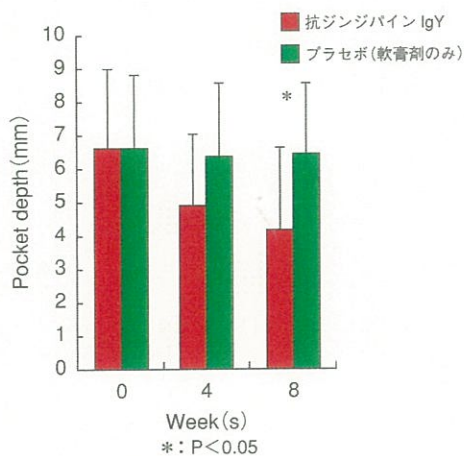


図7 抗ジンジパインIgY含有軟膏剤の歯肉溝投与が歯周ポケットの深さ(PD)に及ぼす効果(試験II)

況が、それぞれ1/5(4%)および2/5(22%)であった。この群は17.5mg/kg体重のIgYが投与された。この両群の歯石脱落状況の違いは、PDの場合と同様で高濃度のIgYが歯肉溝に浸入した可能性が考えられる。本歯石脱落の想定されるメカニズムは、抗ジンジパインIgYのin vitro試験の結果を考慮すると、歯肉溝で*P.gingivalis*の細胞付着が抑制→共凝集形成が停滞→バイオフィルム層の菲薄化→歯石構造の部分崩壊→歯面の歯石面積の減少→歯石の脱落である。

本試験を通して、抗ジンジパインIgY含有卵黄粉末は、歯周病罹患犬のオーラルヘルスインデックス(歯肉炎スコア・歯周炎スコア)、BOP、PDならびに歯石脱落状況を有意に改善できることを初めて示した。

## まとめ

経口受動免疫に用いる抗ジンジパインIgYは、*P.gingivalis*の細胞付着、*P.gingivalis*と*A.naeslundii*または*F.nucleatum*との共凝集、ジンジパインプロテアーゼ活性、ジンジパインによる細胞傷害、歯槽骨吸収などを抑制できる多様な機能がある。中等度の歯周病罹患犬を対象に抗ジンジパインIgY含有卵黄粉末の保健効果を検討した。その結果、歯肉炎スコアならびに歯周炎スコアは有意に改善され、歯肉の炎症症状は回復した。BOP値も低下し、歯肉の出血も回復した。さらに、試験Iの試験群1のPD値は改善傾向を示し、試験IIのPD値は有意に改善した。また、写真に示したように歯石面積が、観察経過に

伴い減少したことは予想外の結果であった。

現状の歯周病治療は、スケーリング・ルートプレーニングによってプラークおよび歯石を除去することであるが、そのたびに全身麻酔処置を施行するため、体力の消耗が問題である。また抗生物質の投与は、口腔正常細菌叢に影響するばかりではなく、耐性菌の出現を招来する危険性がある。

一方、卵黄粉末は動物に対し安全であるばかりではなく、ペットフードの機能性原料として製品の加工特性にも優れている。抗ジンジパインIgY含有卵黄粉末を配合したペットフード、ガム、デンタルペースト、ジャーキー、ふりかけなどの多様な製品が販売されており、飼い主の注目を集めている。本製品のコンセプトは、動物の日常生活習慣を通して生物学的プラーク・歯石コントロールを実践することによって、健康な歯茎を維持することである。

## 引用文献

- 1) Martin, WG, Cook WH: Preparatin and molecular weight of  $\gamma$ -leveltin from egg yolk. *Can.J.Biochem.Physiol.*36, 153-160(1958)
- 2) Kadowaki T, Nakayama K, Yoshimura F, et al: Arg-gingipain acts as a major processing enzyme for various cell surface prpteins in *Porphyromonas gingivalis*. *J.Biol.Chem.*273, 29072-29076(1998)
- 3) Rahman AKM Shofiqur, M Ebrahim El-Sayed, Isoda R, et al: Effect of passive immunization by anti-gingipain IgY on periodontal health of dogs. *Vet.Sci.Develop.*1:e8, 35-39(2011)
- 4) 児玉義勝, ヌグエン・サー・バン, ア・ケ・アム・ラハマン・ソフィクルら: 歯周炎を治療または予防するための組成物. 特開2011-16843
- 5) Kolenbrander PE, Cisar JO, McIntire PC: Specificity of coaggregation reaction between human oral *Streptococci* and strains of *Actinomyces viscosus* or *Actinomyces naeslundii*. *Infect.immun.*24, 742-752(1979)
- 6) Hamada N, Watanabe K: The egg yolk Antibody against gingipains protects *Porphyromonas gingivalis*?induced boneless in rats. *Proc.96th. Ann.Meet.Am.Acad.Priodontol.*Poster.No.865759
- 7) Gawor JP, Reiter AM, Jodkowska K, et al: Influence of diet on oral health in cats and dogs. *J.Nutr.*136, 2021S-2023S(2006)
- 8) Yokoyama K, Sugano N, Shimada T, et al?: Effect of egg yolk antibody agaist *Porphyromonas gingivalis* gingipains in periodontitis patients. *J.Oral Sci.*49, 201-206(2007)

## 参考文献

- 1) Hamada S, Kodama Y: Passive immunity against mucosal infections and vaccination for dental caries.187-197(1996), In *Mucosal Vaccines*, Kiyono, H. et al. eds. Academic Press, CA.
- 2) Yokoyama K, Sugano N, Rahman A K M.S, et al: Activity of anti-*Porphyromonas gingivalis* egg yolk antibody against gingipains in vitro. *Oral Microbiol.Immunol.*22, 352-355(2007)
- 3) Sugano N, Takane M, Yoshinuma N, et al: Adjunctive effects of anti-*Porphyromonas gingivalis* egg yolk antibody with scaling and root planning: A randomized, placebo controlled clinical trial. *Am.J.Periodontol.*80, 1901-1903(2009)
- 4) 児玉義勝, 並木秀男, 小澤 智: 新機能抗体開発ハンドブック, 591-603(2012)