

# 機能性卵黄リベチン(Immunoglobulin Yolk : IgY)の小児ロタウイルス下痢症対策の研究

(株)イーダブルニュートリション・ジャパン <sup>うめだこうじ</sup> 梅田浩二、ラハマン・シヨフイクル

## はじめに

ロタウイルス下痢症(胃腸炎)は、生後6カ月～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。また4～5歳位までにはほぼ全ての小児がロタウイルスに感染する。発展途上国を中心に年間約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。2層の蛋白質の殻に覆われた2本鎖RNAのロタウイルスは、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。

治療はORS(経口補水塩)の経口補水療法および点滴治療による水分補給と、抗生物質およ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。一方、ロタウイルス下痢症の予防として生ワクチンが100カ国以上で認可され、多くの国で接種されているが、課題点も残されているのが現状である。

紹介する機能性卵黄リベチンは、粉ミルクなどの食品および、ORS等に溶解して摂取することで消化管内にてロタウイルスを中和して感染予防および発症時の早期回復に役立つ機能性食品原料である。その作用機序と効果<sup>1)</sup>は、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。

## 1. 機能性卵黄リベチン

リベチンとは、卵黄タンパク質に約30%含まれる卵黄水溶性タンパク質のことであり、 $\alpha$ -、 $\beta$ -および $\gamma$ -リベチンの3種類に分類される。 $\gamma$ -リベチンは血清 $\gamma$ -グロブリン(IgG)と同一である。

機能性卵黄リベチンの作製はトリに備わっている「卵黄内への輸送機構」の仕組みを利用して、産卵鶏に不活化ロタウイルスを接種することで免疫応答により血液中に抗ロタウイルス抗体(IgG)が産生される。親鶏は血液中のIgGを卵黄に多く移行蓄積させてから卵を産む。この卵の卵黄に含まれるIgGはImmunoglobulin Yolk すなわちIgYと呼ばれ、卵黄 $\gamma$ -リベチンのことである。不活化ロタウイルスを接種した鶏から産まれる卵には非常に多くの抗ロタウイルスIgYが含まれることになる。

## 2. A群ロタウイルスの遺伝子と構造

ロタウイルス粒子(図1)は内外殻2層のカプシド蛋白構造からなり、内殻蛋白(VP6)の抗原性によりA～G群に区別されるが、A群ウイルスの感染頻度が圧倒的に高く臨床的および疫学的にも重要である。A群ロタウイルスは、中和抗原(感染防御抗原)を包含する2種類の外殻蛋白VP7およびVP4の遺伝子配列により、それぞれG型、P型に分類される。動物に分布するロタウイルスも含めるとG血清型は27種、P血清型は35種と報告されており、それらの組み合わせで多数の血清型が存在する。世界中で検出されるヒトロタウイルスの血清型は、G型がG1、G2、G3、G4、G9、G12で、P型はP [4]、P [6]、P [8]で占められる。

著者らが開発した抗ロタウイルス卵黄 $\gamma$ -リベチンの有効性を確認するために、表1に示す各種血清型のヒトロ

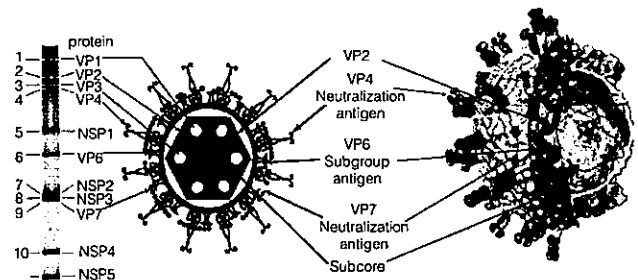


図1 ロタウイルスの遺伝子と構造

表1 ウイルス中和試験に用いたロタウイルス株

ロタウイルス株名	血清型
ヒトロタウイルス:	
Wa	G1P[8]
KU	G1P[8]
M37	G1P[6]
S2	G2P[4]
1076	G2P[6]
YO	G3P[8]
408	G3
248	G4P[4]
HK	G4P[8]
727	G12P[9]
ブタロタウイルス:S-80	G1P[7]
ウマロタウイルス:HO-5	G3P[12]
ウシロタウイルス:シマネ	G6P[5]

表2 各種血清型ロタウイルスに対するウイルス中和抗体価

	Wa	KU	M37	S2	1076	YO	408	248	HK	727	S-80	HO-5	シマネ
	G1P[8]	G1P[8]	G1P[6]	G2P[4]	G2P[6]	G3P[8]	G3	G4P[4]	G4P[8]	G12P[9]	G1P[7]	G3P[12]	G6P[5]
抗ロタウイルス卵黄リベチン	20,480	20,480	20,480	10,240	>40,960	>40,960	10240	>40,960	>40,960	10,240	2,560	5,120	<20
コントロール卵黄リベチン	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20

タウイルス株に対するウイルス中和活性を、MA104株化細胞を用いたFluorescent Focus (FF) reduction assayで評価した<sup>2)</sup>。結果は表2に示した通り、本試験に用いた全てのヒトロタウイルスに対して非常に高い中和抗体価10,240倍以上を示し、これは世界的に注目する結果である。

### 3. ロタウイルス下痢症小児患者

本試験は岡山大学医歯薬学総合研究科、藤田保健衛生大学医学部および、セントラルミャンマー国立医学研究センターとの共同研究にて実施した。被験食品は、不活化ロタウイルスを産卵鶏に接種して得られた卵の卵黄を低温殺菌した後、スプレードライにて卵黄粉末として糖類と共に顆粒粉末化したものをアクティブとした。プラセボは市販卵を用いて同様に顆粒粉末を作製した。1包あたりの量は顆粒粉末として2g、その内の0.5gは卵黄粉末の組成とした。

2011年1月～3月にセントラルミャンマー国立医学研究センターの病院にロタウイルス下痢症で入院した3歳までの小児52名をランダムに2群に分けて二重盲検法にて評価した。入院後8日間を評価期間として、下痢症に対する一般的治療を行ったうえで被験食品1包を6時間間隔で、1日4回経口投与した。評価項目は、ORS摂取量、排便回数、下痢継続日数、便中ロタウイルス検査などを含めた一般的臨床観察項目とした。

ランダムに分けられた小児の年齢、体重、生活地域、

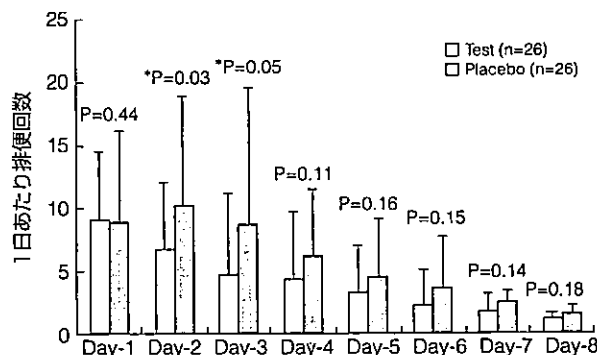


図3 1日あたりの平均排便回数

入院時の下痢症状を含めた臨床症状に有意な差はなかった。

評価結果として、脱水症状を補うためのORS摂取量において、全期間でテスト群(アクティブ)がプラセボ群に対して少量で済み(図2)、排便回数では2日目以降から有意な減少が認められた(図3)。両群の平均下痢継続日数はプラセボ群7.73日に対して、テスト群が5.64日と有意(P=0.01)に短縮された。これらの臨床症状の改善を裏付ける結果として、便中のロタウイルス検出率が2日目以降より減少し、6日目から完全に陰性となった(図4)。以上のことより、抗ロタウイルス卵黄γ-リベチンを含む卵黄粉末を、1日あたり2g(卵として約0.25個分の卵黄)を経口摂取することで、小腸におけるロタウイルスの増殖・感染を抑制して早期回復に貢献することが確認された。また、期間中および退院後においても被験食品を摂取したことによる有害事象は認められなかった。

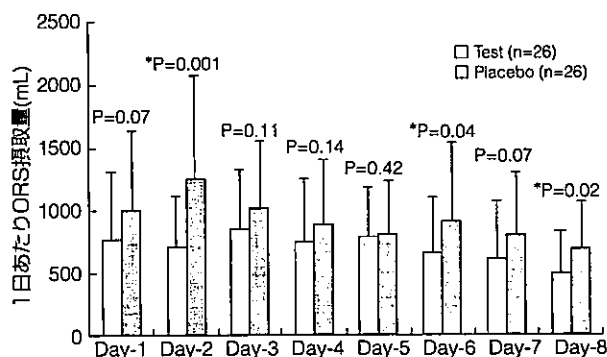


図2 1日あたりの平均ORS摂取量

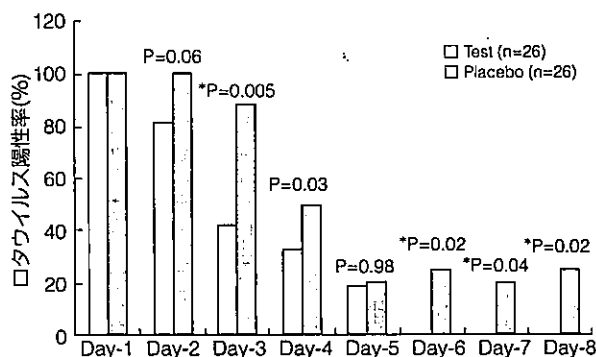


図4 便ロタウイルス陽性率

おわりに

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、今回紹介した抗ロタウイルス卵黄γ-リベチンは、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した。加えて、卵黄粉末の汎用性によって、医療現場での治療目的だけではなく、一般食品として利用することもでき、食生活からの感染予防にも貢献できる。既に韓国の乳業メーカーにて本抗ロタウイルス卵黄γ-リベチン含有卵黄を配合した粉ミルクが2009年から販売されている。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・流通性に優れていることも着目すべき点である。

表3に示すように今回の被験者の下痢便からシゲラ属菌など多種類の病原性細菌が検出されたことから、多くのケースが細菌との混合感染である。機能性卵黄リベチンの最大の特徴は、鶏に接種する病原体を変えることで各病原体に対する卵黄γ-リベチンが作製できることである。著者らはこれまでに、ロタウイルス以外に大腸菌志賀毒素、コレラ菌およびその毒素、サルモネラ菌などについてもその有効性を確認している<sup>3-5)</sup>。

すなわち、各種類の卵黄γ-リベチン粉末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ができることにも注目してもらいたい。将来的に途上地域や水害等の災害地域に栄養補助食品として提供するなど、国際貢献活動の一つにと期待されている。

表3 ロタウイルス下痢症で入院した小児下痢便における微生物検査結果

ロタウイルスと共に 検出された病原体	テスト群 n=26(%)	プラセボ群 n=26(%)	Total n=52(%)
Escherichia coli	10(38.5)	8(31)	18(35)
Shigella dysenteriae	1(4)	6(23)	7(14)
Shigella sonnei	2(8)	2(8)	4(8)
Shigella flexneri	1(4)	1(4)	2(4)
Proteus vulgaris	4(16)	1(4)	5(10)
Staphylococcus aureus	3(12)	0	3(6)
Salmonella paratyphi A	1(4)	1(4)	2(4)
Klebsiella aerogenes	1(4)	1(4)	2(4)
Yersinia enterocolytica	0	2(8)	2(4)
Aeromonas hydrophila	1(4)	0	1(2)
Fungal origin	0	2(8)	2(4)
No concurrent infection	2(8)	2(8)	4(8)

《 《 《 《 参考文献》 》 》 》 》

- 1) Shofiqur R *et al.*: Randomized placebo-controlled clinical trial of immunoglobulin Y as adjunct to standard supportive therapy for rotavirus-associated diarrhea among pediatric patients., *Vaccine*, 30, 4661-4669, (2012)
- 2) Moriguchi K *et al.*: Isolation of human monoclonal antibodies that neutralize human rotavirus., *Journal of Virology.*, 78, 3325-3332 (2004)
- 3) Neri P *et al.*: Specific egg yolk immunoglobulin as a new preventive approach for Shiga-toxin-mediated diseases., *PLoS One.*, 6, e26526 (2011)
- 4) Hirai K *et al.*: Passive Oral Immunization by Egg Yolk Immunoglobulin (IgY) to *Vibrio cholerae* Effectively Prevents Cholera., *Acta Med Okayama.*, 64, 163-170 (2010)
- 5) Yokoyama H *et al.*: Oral passive immunization against experimental salmonellosis in mice using chicken egg yolk antibodies specific for *Salmonella enteritidis* and *S. typhimurium.*, *Vaccine*, 16, 388-393 (1998)

うめだ・こうじ/Kouji Umeda

1991年 ㈱ゲン・コーポレーション入社、1999年 岐阜大学工学部卒業、2011年に㈱ゲン・コーポレーションより分社化、現在に至る

専門・研究テーマ：微生物学、Immunoglobulin Yolkの開発および機能評価

ラハマン・ショフィクル/Shofiqur Rahman

2003年 岐阜大学大学院連合農学研究科生物資源科学博士課程修了、同年 ㈱ゲン・コーポレーション入社、2011年に㈱ゲン・コーポレーションより分社化、現在に至る

専門・研究テーマ：微生物学、Immunoglobulin Yolkの開発および機能評価