

抗*Streptococcus mutans*グルコシルトランスフェラーゼ鶏卵抗体を配合したオーラルケア用サプリメントの開発

(株)ファーマフーズ 佐藤冬彦 (株)ゲン・コーポレーション 児玉義勝

はじめに

歯は体の他の器官と違い、虫歯にかかると自然に治癒することはない。欧米では虫歯は「治療」より「予防」という考え方が基本である。しかし日本では虫歯予防の臨床への導入が遅れており、効果的な虫歯予防の手段が求められている。現在、小学生の時点での日本人の虫歯罹患率は6~7割であり、この数字は年々減少傾向にあるがいまだ多くの子供が虫歯に罹患している¹⁾。大人の歯に比べ、子供の歯は歯質が弱く虫歯にかかりやすい。その上、乳歯時の虫歯はその後の歯並びやかみ合わせにも悪影響を及ぼすことが明らかにされている。

虫歯とはストレプトコッカス・ミュータンス菌(*Streptococcus mutans*)に代表される虫歯原因菌による口腔内感染症であるが、これら虫歯原因菌は出産直後の乳児の口腔内には見られない。ミュータンス菌等の虫歯原因菌は、乳歯崩出の時期(19カ月から31カ月)に母親の唾液等を介した母子感染経路を主として後天的に感染することが知られている。したがって子供の虫歯予防は早くから始められるべきであり、さらにその感染源である母親の歯のケアを同時に行うことも重要である。

そこで我々は母と子の虫歯予防のために「鶏卵抗体」(以下、IgY)に注目した。これは「たまご」(鶏卵)を用いて作り出す抗体であり、安全性の高い機能性食品素材として幼児から大人まで幅広い使用が可能である。本稿では、鶏卵抗体技術の概要と本技術を応用して作られた抗虫歯機能を持った抗体高含有食品素材「Ovalgen®DC」、さらに本素材を用いた抗虫歯サプリメントの開発について紹介する。

鶏卵抗体

1-1. 鶏卵抗体技術の特徴とその利点

脊椎動物には外部から体内に侵入してくる抗原(主に細菌等)に対して「抗体」と呼ばれるたん白質を血液中に産生し、これら抗原を特異的に認識し排除するという自己防御システムを有している。抗体は通常ウサギなど動物の血液から精製するのが一般的であり研究や診断薬等の分野で利用されているが、食への応用がなされていなかった現状がある。

一方で「鶏卵抗体技術」は鶏により抗体を産生する技術である。鶏に抗原を免疫すると、鶏が子(卵)を感染症から守るための母子免疫機能として、その抗体は卵黄の中に移行される²⁾。この抗体産生技術を用いることにより、動物の血液を採血するために動物の命を犠牲にすることも無く、鶏卵に蓄積された形で抗体を安定して大量に生産することができる^{3, 4)}(図1)。

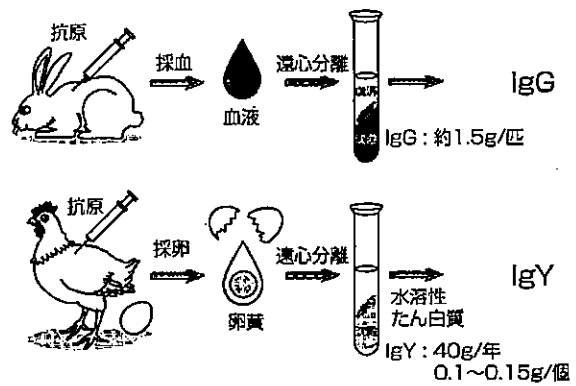


図1 哺乳動物と産卵鶏における抗体採取法

1-2. 鶏卵抗体技術の食品素材への応用

抗原を鶏に免疫することにより得られた特異的抗体高含有卵を通常の卵と比較すると、抗体の特異性以外の違いは見られない。また、食経験が豊かな卵を利用する鶏卵抗体は従来の抗体産生技術と異なり食品への応用が可能であり、液卵・粉末卵など食品素材としてさまざまな形態が考えられる。これらをヨーグルトやサプリメント等に添加することで幅広くさまざまな食品に応用が可能である⁵⁻⁷⁾。この抗体高含有卵を食品として摂取する際、1日の摂取量は卵黄液にして数グラム程度と微量のため、食品への味の影響は小さい。また、鶏卵抗体の安全性はさまざまな研究がそれを証明している⁸⁻¹⁰⁾。

これらの特徴より、鶏卵抗体は安全性の高い機能性食品素材として使用でき、子供用食品に応用することで食べやすく安全性の高い機能性食品の開発が可能である。今回は鶏卵抗体を母と子のための虫歯予防サプリメントに応用する目的で検討を行った。

2. 鶏卵抗体Ovalgen®DCによる虫歯予防

2-1. 鶏卵抗体Ovalgen®DCの開発

我々は、現在虫歯との強い因果関係があきらかである虫歯原因菌のミュータンス菌¹¹⁾由来の酵素である、菌体外膜表面に存在する結合型のグルコシルトランスフェラーゼ(CA-GTase)に着目した。CA-GTaseは食物から供給されたスクロースを代謝することにより、粘着力の非常に強い不溶性グルカンを作りだしミュータンス菌が歯面に付着する。この付着能のあるミュータンス菌(以下、付着性ミュータンス菌)によりプラークが形成され、虫歯の直接的な原因となる。このようにCA-GTaseは、ミュータンス菌の「歯面への付着能力」を生み出す酵素である¹¹⁾。

Ovalgen®DCは前記述のようにミュータンス菌が持つCA-GTaseを抗原として鶏に免疫し、産卵された卵より得られた抗CA-GTase IgYを含有する食品素材である。

2-2. *in vitro*試験による確認

まずOvalgen®DCから精製した抗CA-GTase IgYとミュータンス菌株を用い、本IgYが実際にミュータンス菌を標的としCA-GTaseの活性を失活させ、菌の付着を抑制する能力を持つかどうかについて*in vitro*試験にて調べた。スクロース3%含有GAM液体培地中でミュータンス菌を培養し、不溶性グルカン産生によるバイオフィルム形成を電子顕微鏡にて撮影して確認した。その結果、

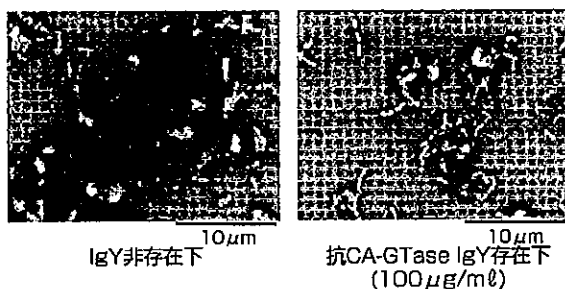


図2 不溶性グルカンを産生し付着するミュータンス菌の電子顕微鏡像

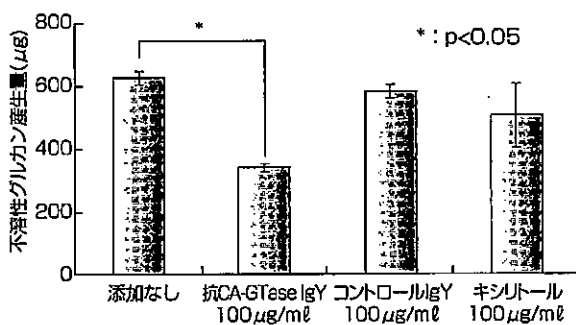


図3 ミュータンス菌の不溶性グルカン産生量測定

抗CA-GTase IgY存在下にてバイオフィルム形成が阻害された(図2)。さらに同条件にて不溶性グルカン量を測定した結果、抗CA-GTase IgY存在下にて不溶性グルカン産生量が有意に抑制された(図3)¹²⁾。

2-3. Ovalgen®DC含有サプリメント摂食によるヒトボランティア試験

Ovalgen®DCの虫歯予防効果を評価するために、Ovalgen®DC含有食品摂食によるヒトボランティア試験を行った⁹⁾。脱脂卵黄粉末化したOvalgen®DCをタブレット(口腔内崩壊錠)に打錠加工して、健康な成人男性の被験者5名に対し1日4錠(Ovalgen®DC 400mg/日)を10日間継続して摂取させた。試験期間を通じて歯磨き粉・歯ブラシ・歯磨き回数は統一し、歯磨き以外の口腔内衛生製品の使用を禁じた。摂取開始前と試験期間終了後の同時刻(起床後)にプラークの染色を行い、プラーク形成像を撮影して比較した。同時に唾液のサンプリングを行い、唾液中に含まれる付着性のミュータンス菌量を臨床検査キットとして用いられているMUCOUNT(昭和薬品化工)により測定した。

試験期間前後のプラーク形成像を歯垢染色により比較した結果、被験者全員においてプラーク形成を抑制する傾向が観察された(図4)。さらに、プラーク形成の直接的原因となる付着性ミュータンス菌量が減少することも確認された(図5)¹²⁾。

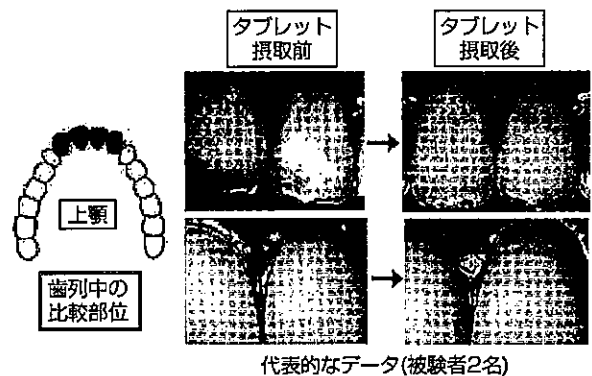


図2 ヒトボランティア試験・歯垢形成像

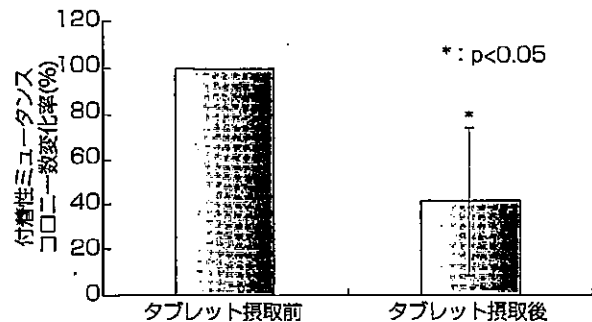


図5 ヒトボランティア試験・唾液中の付着性ミュータンス菌量

おわりに

本試験結果にいたった作用機序として、Ovalgen®DC中の抗CA-GTase IgYが被験者の口腔内のミュータンス菌に特異的に結合し、*in vitro*試験同様に口腔内でも不溶性グルカン産生が阻害されたため、ミュータンス菌の歯面への付着が減少し、プラークの形成が抑制されたと考えられる。よってOvalgen®DC含有サプリメントの摂取により、虫歯を予防する効果が十分期待できる。

オーラルケア市場は現在拡大の一途である。本稿では食品によるオーラルケアの一例を示した。自分で歯磨きのできない幼児や歯磨きの苦手な子供を持つ親にとって、親子でおいしく食べられる手軽なサプリメント形態の食品は、虫歯を防ぐ上で有効な武器となると考えられる。

Ovalgen®DCは有効成分が抗体であることから抗生剤とは異なり、他の口腔内の共生細菌に悪い影響を与えることなく安全にターゲットのミュータンス菌のみを失活できる機能性素材であり、今後広く食品への応用が期待される。

((((参考文献))))

- 1) 文部科学省平成18年学校保健統計調査
- 2) H.Hatta *et al.* : *Hen Eggs*, 151-178, 1997, CRC Press, USA.
- 3) M. Malkinson : *Immunology*, 9, 311 (1965)
- 4) M. E. Rose *et al.* : *Euro. J. Immunol.*, 4, 521-523 (1974)
- 5) K.Horie *et al.* : *J.Dairy Sci.*, 87, 4073-4079 (2004)
- 6) 磯田理絵ら : *Foodstyle21*, 11, 58-61 (2007)
- 7) 谷 典子ら : *Helicobacter Research*, 6(2), 122-126 (2002)
- 8) P. S. Gardner *et al.* : *J. virol. Metods*, 108, 205 (1982)

- 9) G. Kronvall *et al.* : *Acta Path. Microbiol. Scand. Section*, B82, 12 (1974)
- 10) A. Larsson *et al.* : *J. Immunol. Methods*, 108, 205 (1988)
- 11) S.Hamada *et al.* : *Microbiol. Reviews*, 44, 331-384 (1980)
- 12) 佐藤冬彦ら : 第61回日本栄養・食糧学会大会(2007年)



さとう・ふゆひこ / Fuyuhiko Sato

2006年 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻修士課程修了、同年(株)ファーマフーズ入社、研究開発部研究員、現在に至る

研究テーマ：免疫学、食品工学

最近の主な研究：鶏卵抗体を用いた食品・化成品の開発



こだま・よしかつ / Yoshikatsu Kodama

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)ゲン・コーポレーション入社、研究開発部門に配属、2004年 同社抗体事業カンパニー研究開発部門

に所属、現在に至る

専門・研究テーマ：感染免疫学、IgYによる歯周病、口腔カンジダ症などに対する予防に関する研究

最近の主な研究活動：第23回和漢医薬学会主催の市民公開講座(卵黄とロイヤルゼリーでオーガナイザー)

著書・論文：In *Mucosal vaccines*, H.Kiyono P.L., J. R. McGhee eds., Academic Press, CA., 1996

S. Hamada, Y. Kodama. : Passive immunity for protection against mucosal infections and vaccination for dental caries.

FC新知識シリーズ・わかりやすい食品技術解説書

糖アルコールの新知識

～ 1996年発刊の「糖アルコールの新知識」の改訂増補版 ～

早川幸男 編著

食品関連技術者
必見です!!

是非、この機会にお求め下さい。
お問い合わせ・お申込みは.....

この1冊で糖アルコールのすべてが
分かります!
各糖アルコールの沿革をはじめ現状
や製法、種類、規格、生理的特性、
理化学的な利用上の特性、注意事項、
利用例を解説!

定価 ¥2,625 (税込み)

(株)食品化学新聞社 書籍販売部
TEL. 03-3238-9711 FAX. 03-3238-7898