

機能性卵黄リベチン(Immunoglobulin Yolk : IgY)の高齢者口腔カンジダ症対策の研究

(株)イーダブルニュートリション・ジャパン 梅田浩二、磯田理絵、児玉義勝

はじめに

超高齢化社会を迎え長寿であることはとても素晴らしいことである。しかしながら、加齢に伴う体力や免疫力の低下、義歯の装着など何らかの体の衰えと上手に付き合いながら健康的な食生活を心がけなければならない。一方で、要介護者、各種病気の治療患者人口の増加による社会的問題があげられ、それとともに口腔ケアの重要性が認知されて各界で取り組みが行われている。今回取り上げる口腔の日和見感染症である口腔カンジダ症は、要介護者、抗菌剤、抗がん剤及びステロイド剤などの服用者、糖尿病患者、ドライマウス患者、義歯装着者によくみられ、舌をはじめとする口腔粘膜に乳白色の苔状の偽膜、紅斑、潰瘍などが形成され、灼熱感、ヒリヒリ感、苦みや金属味を生じる。これらの症状は浅在性真菌症であるが、免疫能低下者にとって治療の機会を失うと短期に深部真菌症へと進展する。主な病原体は*Candida albicans*であり、義歯装着者では*Candida glabrata*が関与することが多い。カンジダ菌は、口腔粘膜上皮細胞に付着、侵入し分泌型プロテアーゼ酵素類によってさまざまな炎症を引き起こす。

口腔カンジダ菌に関連する口腔粘膜疾患は、免疫能低下者に対して予防的に抗真菌薬が使用されているが、おおくは発症後に抗真菌薬を治療として使用する。紹介する機能性卵黄リベチンは、食品として摂取することで口腔内のカンジダ菌を排除して口腔粘膜疾患を予防する機能性食品原料であり、その作用機序と効果について述べる¹⁾。

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、 α -、 β -および γ -リベチンの3種類に分類される。 α -リベチンは親鶏の血清アルブミン、 β -リベチンは血清 α 2-グロブリンおよび、 γ -リベチンは血清 γ -グロブリン(IgG)と同一であることが免疫学的に証明されている²⁾。

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トリに接種する抗原を変えるだけで、接種抗原に対して特異的に結合する γ -リベチンが開発できる³⁾。*C.albicans*を親鶏に接種す

ると血液中に抗*C.albicans*抗体(IgG)が多く産生されて、親鶏の血液中のIgGが卵黄に移行蓄積される。この卵黄に含まれるIgGをImmunoglobulin Yolk すなわちIgYと呼び、卵黄 γ -リベチンのことである。抗*C.albicans*卵黄 γ -リベチンは、カンジダ菌の菌体表面に特異的に結合して菌を凝集させることで、粘膜上皮細胞への付着を阻止して口腔内より排除するメカニズムを持つ。

2. *C.albicans* の口腔上皮細胞への付着抑制効果

口腔カンジダ症患者から表1に示すカンジダ属が分離され、中でも*C.albicans*及び*C.glabrata*が重要である。我々が作製した抗*C.albicans*卵黄 γ -リベチンは、*C.albicans*のみならず多くのカンジダ菌の菌体表面に結合することを菌体凝集反応で確認した(表1)。

抗*C.albicans*卵黄 γ -リベチンが口腔上皮細胞へのカンジダ菌付着を抑制するかについて*in vitro*試験にて検証した。1.0×10⁶CFU/mLに調製した*C.albicans*を抗*C.albi-*

表1 抗*C.albicans*卵黄 γ -リベチンの各種カンジダ菌に対する菌体凝集力価

<i>Candida species</i>	菌体凝集力価
<i>C.albicans</i>	64
<i>C.glabrata</i>	32
<i>C.parapsilosis</i>	32
<i>C.krusei</i>	16
<i>C.tropicalis</i>	16
<i>C.guilliermondii</i>	32
<i>C.dubliniensis</i>	16

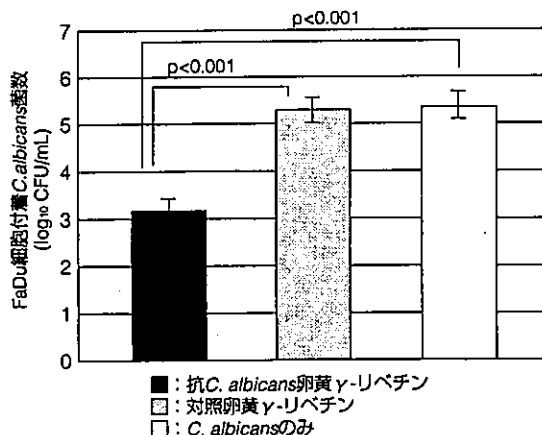


図1 口腔上皮細胞への*C.albicans*付着阻害効果

*C. albicans*卵黄γ-リベチン10mg/mLと反応後、扁平上皮癌細胞(FaDu細胞)を培養したプレートに加えて培養して細胞に付着した*C. albicans*菌数を測定した。抗*C. albicans*卵黄γ-リベチンは、対照卵黄γ-リベチン(非免疫鶏から回収した卵黄γ-リベチン)と比較して口腔上皮細胞への付着を有意に阻害した($p<0.001$) (図1)。また、菌体凝集試験結果より各種カンジダ菌に対しても同様の付着阻害効果が示唆される。

3. マウスにおける感染評価試験

カンジダ菌は、口腔粘膜上皮細胞に付着して菌糸が上皮細胞に侵入する。そしてプロテアーゼ酵素類の分泌等により炎症を引き起こす。抗*C. albicans*卵黄γ-リベチンによる口腔上皮細胞への付着を阻害することで、口腔内の炎症軽減作用についてマウス感染モデル⁴⁾で検証した。カンジダ症を成立させるためマウスに薬剤を投与して免疫能低下と菌交代を誘導させて、*C. albicans* (3.6×10^6 CFU/mL) 菌液を舌に塗り感染させた。卵黄γ-リベチンを市販とろみ剤に50mg/mL濃度で調製して、感染後より1日2回100μL/マウスにて強制経口投与を7日間実施した。感染後1、3、5、7日目に各試験群のマウスを5匹ずつ剖検して、舌組織の炎症スコア、舌、肺、腎臓、小腸の*C. albicans*菌数を測定した。感染3日目より、対照卵黄γ-リベチン投与群では全てのマウスに苔状の偽膜や潰瘍などの炎症が認められ、抗*C. albicans*卵黄γ-リベチン群では軽度の炎症は認められたものの有意に炎症を軽減した($p<0.05$) (図2)。舌組織の菌数は、全てのポイントで低値を示し有意な増殖抑制効果を認めた($p<0.05 \sim p<0.005$) (図3)。

注目する点として、肺における菌数でも有意な減少を認め($p<0.05 \sim p<0.005$) (図4)、肺、腎臓よりカンジダ菌が検出されないマウスが多く確認され、体重減少も有意に改善された。加えて、小腸における菌数も全てのポ

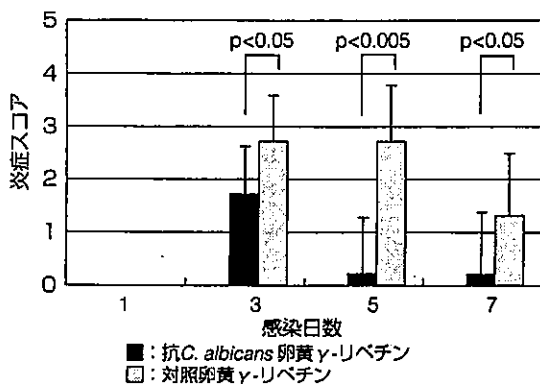


図2 マウス口腔内における炎症抑制効果

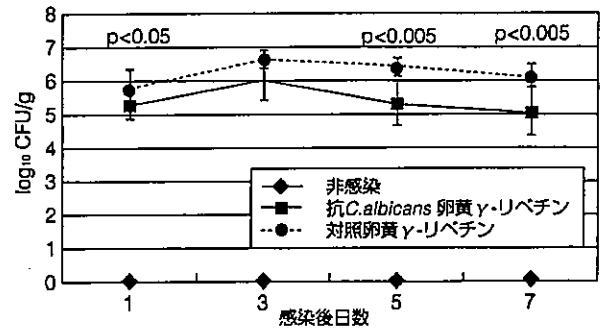


図3 マウス口腔内における*C. albicans*増殖抑制効果

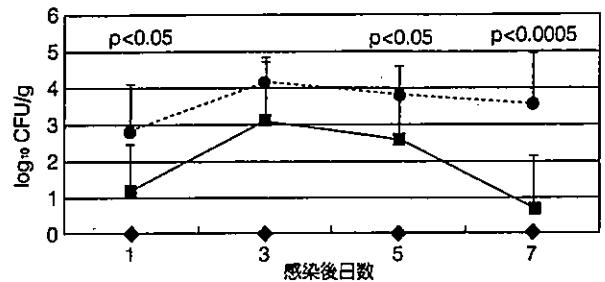


図4 マウス肺における*C. albicans*増殖抑制効果

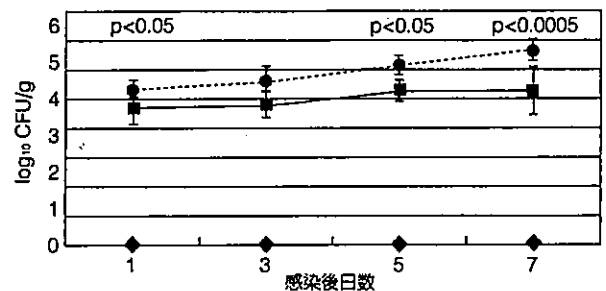


図5 マウス小腸における*C. albicans*増殖抑制効果

ントで有意に減少した($p<0.05 \sim p<0.005$) (図5)。これらの結果より、抗*C. albicans*卵黄γ-リベチンを投与することで、口腔粘膜上皮細胞への付着増殖を抑制し炎症を軽減させ、全身への感染予防効果も確認された。

4. ヒトにおける評価試験

*C. albicans*を産卵鶏に接種して得られた卵の卵黄をスプレードライにて卵黄粉末として、さらに脂質を取り除いた脱脂卵黄粉末を作製して食品原料とした。この脱脂卵黄粉末には、抗*C. albicans*卵黄γ-リベチンが含まれており、機能性卵黄リベチン含有脱脂卵黄粉末となる。これをタブレットに配合した被験食品を用いてヒトでの有効性を検証した。口腔にカンジダ菌が常在する健常者2名を被験者とした。機能性卵黄リベチン含有脱脂卵黄粉末として1日500mg摂取で4週間摂取して、その後5週間は被

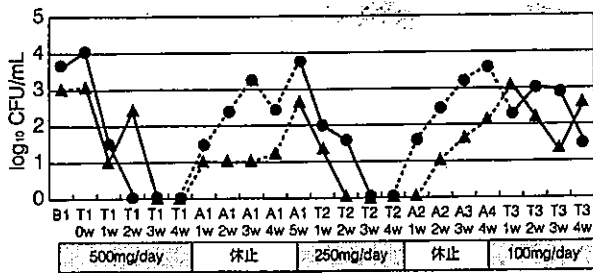


図6 ヒト口腔内におけるカンジダ菌抑制効果

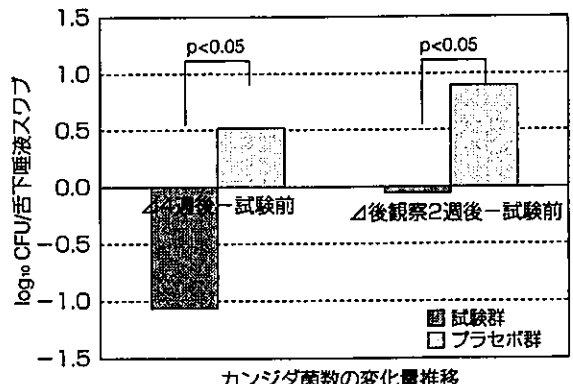


図7 高齢者口腔内におけるカンジダ菌抑制効果

験食品摂取なしの休止期間、その後1日250mg摂取を4週間、摂取休止を4週間、さらに1日100mg摂取を4週間までを続けて実施した。試験開始1週間より週1回安静唾液を採取しカンジダ菌数を測定して有効性を評価した。開始時は $10^3 \sim 10^4$ CFU/mLが分離されたが、1日500mgを毎日摂取したことで2～3週後には検出限界以下(<10CFU/mL)となった。被験食品の摂取を中止すると徐々に菌数が上昇したが、再度1日250mgの摂取を開始すると2～3週後には検出限界以下となった(図6)。

目下、東京都内の歯科クリニック外来でカンジダ菌数が100CFU以上検出された65歳以上の健常高齢者ボランティアを対象とした試験を実施中で、これまで得られた9名(試験群6名、プラセボ群3名)の試験結果を記述する。プラセボ食品として対照脱脂卵黄粉末を含有させたタブレットを用いた。脱脂卵黄粉末として1日300mgを4週間摂取して、その後2週間摂取なしの後観察を行い評価した。試験群は、試験開始前の菌数より減少し、プラセボ群に対して有意差を示した($p < 0.05$)(図7)。

以上の結果より、機能性卵黄リベチンを摂取することでヒト口腔内のカンジダ菌の定着増殖を抑制することが確認された。

おわりに

抗真菌薬の使用には、肝腎機能障害などの副作用や薬

剤耐性菌増加の懸念が伴う。この機能性卵黄リベチンの最大の利点は、古くから食されている卵の一分で安全な食品であること。ターゲットとなる抗原(今回の場合はカンジダ菌)のみに特異的に結合反応して、ヒトの上皮細胞などの生体には作用しない。さらに口腔内や消化管内の善玉菌に対しても影響がなく、抗菌性物質と異なり菌叢のバランスを崩さず、薬剤耐性菌に対しても同様の効果を示し、薬剤耐性菌を誘導しないことから安心・安全な機能性食品素材といえる。卵黄は食品原料として汎用性が高くヨーグルト、ゼリー、ソフトグミやとろみ剤等の口腔ケア食品にも添加が可能で、これらを日常的に摂ることで口腔カンジダ症の予防、健康な口腔環境・味覚の維持が期待でき、QOLの改善に繋がる。また、卵黄なので植物抽出物のような苦み、酸味等がないことも食品原料として適合している。現在、食品分野だけでなく保湿ジェルなどの口腔化粧品への応用も検討中である。

《 参 考 文 献 》

- 1) Ibrahim el-SM. *et al.*: In vitro and in vivo effectiveness of egg yolk antibody against *Candida albicans*(anti-CA IgY). *Vaccine*. 26, 2073-2080, (2008)
- 2) W. G. Martin. *et al.*: Preparation and molecular weight of γ -livet in from egg yolk. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 36, 153, (1958)
- 3) 磯田理絵: 鶏卵抗体IgYを利用した口腔ケア, *FOOD Style* 21. 11, (2), (2007)
- 4) Takakura N *et al.*: A novel murine model of oral candidiasis with local symptoms characteristic of oral thrush. *Microbiol Immunol*. 47, 321-326, (2003)

うめだ・こうじ/Kouji Umeda

1991年 (株)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 (株)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の開発及び機能評価

いそだ・りえ/Rie Isoda

2002年 宮崎大学大学院農学研究科水族生産学専攻修了、同年 (株)ゲン・コーポレーション入社、2011年 (株)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: 細胞工学、Immunoglobulin Yolkの開発及び機能評価

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、2011年 (株)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: 細菌学、ウイルス学及び感染免疫学