

鶏卵抗体IgYを利用した口腔ケア

(株)ゲン・コーポレーション

いそだりえ 磯田理絵、ア・ケ・アム・シヨフィクル ラーマン、こだまよしかつ 児玉義勝

はじめに

動物は、外部から侵入してくる細菌やウイルス等の異物に対して「抗体」と呼ばれるたん白質を血液中に産生し、細菌やウイルスに対抗する自己防御システムを有している。

哺乳動物の場合、親が獲得した特異抗体を胎盤や母乳を通して子に移行させることにより、子を病原体から守っている。しかしながら鳥類は胎盤も母乳も持たない。そこで親鳥は、自らが獲得した血液中の特異抗体を卵に移行させることにより、ヒナを病原体から守っているのである。この親鳥から卵に移行された抗体は、特に親鳥の血液中IgGが卵黄(Yolk)に蓄積されることから、Immunogloblin YolkすなわちIgYと呼ばれる。

この鳥類に特有な免疫システムを利用することにより、様々な抗原に対して特異的な抗体を大量生産することが可能となった。本稿では、この技術を利用した鶏卵抗体を応用して口腔内感染症を予防する機能性食品素材Ovalgen[®]について紹介する(図1)。

1. Ovalgen[®]DCによるう蝕予防

1-1. Ovalgen[®]DCとは

う蝕の原因菌である*Streptococcus mutans*(ミュータンス菌)は、菌体結合型グルコシルトランスフェラーゼ(CA-GTase)により、食物として供給されたスクロースから不溶性グルカンを合成し歯面に付着する^{1,2)}。このミュータンス菌の付着メカニズムに着目したCA-GTaseに対する鶏卵抗体がOvalgen[®]DCである。Ovalgen[®]DCに含まれる抗CA-GTase-IgYはミュータンス菌のCA-GTaseの活性を阻害することによりグルカン合成を阻害し、ミュータンス菌がハイドロキシアパタイト(HA)に付着するのを抑制した(表1)。

1-2. 臨床試験

Ovalgen[®]DCをタブレット状に打状加工して被験物質とし、その効果を検証する臨床試験を行った^{3,4)}。本試験は北海道医療大学歯学部倫理委員会の承認を受け、二重盲検法で実施された。被検者としては、試験群49名、プラセボ群19名および陰性対照群31名、合計99名の23歳男女が参加した。本試験期間を通してブラッシング方法

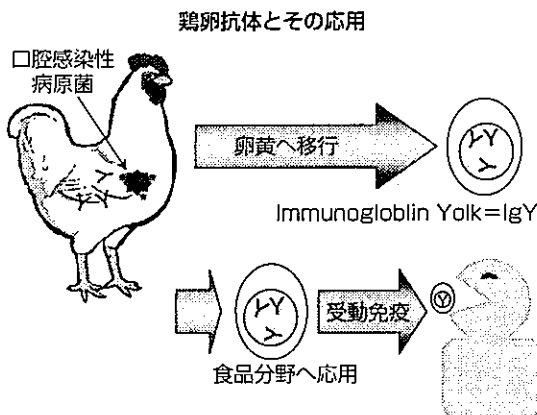


図1 鶏卵抗体の機能性食品への応用

表1 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抗CA-GTase-IgYの抑制効果

	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	1,4291±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

表2 唾液中のミュータンス連鎖球菌数に対するOvalgen®DCの作用効果

群設定	付着性 <i>S. mutans</i> スコア ^a			総 <i>S. mutans</i> 数 ^b (log10)			総嫌気性菌数 ^c (log10)		
	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
試験群 (n=49)	2.5±1.6 ^d	1.2±1.4	<0.001	3.6±0.9	3.4±0.8	<0.01	7.4±0.5	7.6±0.6	NS
プラセボ群 (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
陰性対照群 (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

と回数は統一し、チーズ、ヨーグルト、納豆などの発酵食品の摂取を禁止した。被験物質の摂取回数ならびに摂取期間は1日5回(Ovalgen®DC400mg/日)、5日間とした。摂取開始前と摂取終了時に唾液をサンプリングし、唾液中の付着性ミュータンス菌数、総ミュータンス菌数ならびに総嫌気性菌数を検出した。

その結果を表2に示す。試験の前後で比較して、試験群における付着性ミュータンス菌数(p<0.001)および総ミュータンス菌数(p<0.01)で有意な菌数減少が確認された。一方総嫌気性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。試験群で特に付着性ミュータンス菌数が著しく減少した理由は、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、本試験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。

2. Ovalgen®PGによる歯周病予防

2-1. Ovalgen®PGとは

歯周病とは、歯を支える歯周組織が破壊される疾患であり、40歳以上の人の約8割が罹患しているといわれている。歯周病は細菌感染症であり、その原因菌の1つが *Porphyromonas gingivalis* (ジンジバリス菌) である。ジンジバリス菌はジンジパインというたん白分解酵素(プロテアーゼ)で歯周組織を破壊してエネルギー源を得、さらに深い歯周組織へと侵入して増殖し歯周病を進行させていく。このため歯肉に炎症が起こり、歯肉の腫れ・出血といった症状が発生し、最終的には歯が抜け落ちてしまう。

このようなジンジバリス菌の増殖活動手段の1つであ

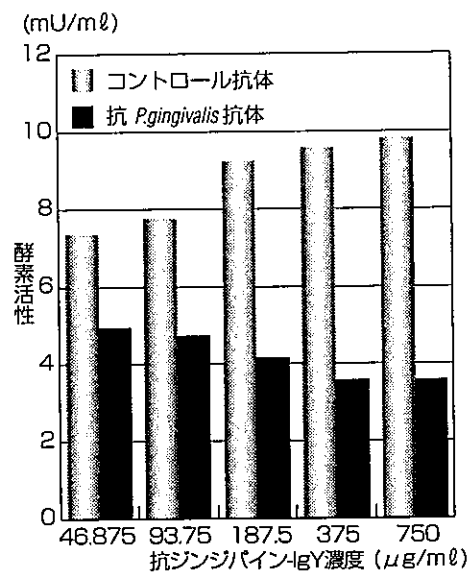


図2 抗ジンジパイン-IgYによるジンジパイン酵素活性阻害

るジンジパインに対する鶏卵抗体がOvalgen®PGである。

Ovalgen®PGに含まれる抗ジンジパイン-IgYはジンジパインに結合することによりその活性を抑制し(図2)、さらにジンジパインによる細胞障害性を抑制した(図3)。

2-2. 臨床試験

Ovalgen®PGを20%配合した軟膏剤を用いて、Ovalgen®PGの歯周病に対する効果を検証した^{5,6)}。本試験は日本大学歯学部倫理委員会の承認を受け、被験者として日本大学歯学部付属歯科病院歯周病科に来院した歯周病患者5名(平均年齢59.0±8.2、男2名、女3名)を対象とした。臨床診査をベースライン時に行い、歯周ポケットの深さ(PD)と歯周ポケットからの出血(BOP)が同程度の症状である歯2本を対象歯として、それぞれ一方をテスト対象歯、他方をコントロール対象歯とした。また手用スケ

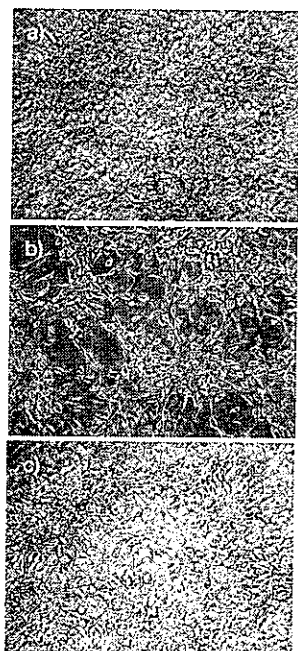


図3 抗ジンジバイン-IgYによるジンジバインの細胞障害抑制

- a) 処理前
- b) ジンジバインのみを添加。ジンジバインにより細胞が破壊された(生細胞率14%)
- c) ジンジバインと抗ジンジバイン-IgYを添加。抗ジンジバイン-IgYにより細胞の破壊が抑制された(生細胞率72%)

ラーにて両対象歯ポケットを清掃し、テスト対象歯にのみOvalgen®PG配合軟膏剤を局所投与した。なお、Ovalgen®PGの投与量は約30~60mgであった。

4週後に再度臨床診査を行い、PDおよびBOPをベースライン時と比較した。また歯周ポケットからリアルタイムPCR法によりジンジバリス菌を検出し、総細菌数に対するジンジバリス菌数を百分率で算出したジンジバリス菌レベルのモニタリングを行った。

結果を図4に示す。被験者の両対象歯でPDおよびBOPが減少傾向を示したが、テスト対象歯においては有意に減少し、歯周ポケットの改善効果が認められた。ま

たジンジバリス菌レベルについては、ベースライン時の歯周ポケットの清掃により両対象歯で一時的に減少したが、その後の経過においてテスト対象歯ではジンジバリス菌レベルがコントロール対象歯と比較して有意に低かった。このことから、Ovalgen®PGによりジンジバリス菌の増殖が抑制されたと推測される。なお、本試験の観察期間中にテスト対象歯への副作用や不快症状は認められなかった。

おわりに

う蝕や歯周病の予防において、“プラークコントロール”という言葉がある。プラーク(歯垢)とは歯に付着・蓄積したバイオフィルムであり、口腔内細菌の塊である。よって、このプラークを除去することにより口腔内の衛生環境を保ち、う蝕や歯周病を予防するというのが“プラークコントロール”である。

1-1で述べたように、ミュータンス菌は不溶性グルカンを合成し、この不溶性グルカンがきっかけとなりプラークが形成・熟成されていく。よってOvalgen®DCによる不溶性グルカンの合成阻害能は、プラークコントロールにも有用であると考えられる。

さらに歯周病については、歯周病が糖尿病、早産・低体重出産、心臓病、脳梗塞といった全身性疾患に関与していることが指摘されている。中でもジンジバリス菌やジンジバリス菌が持つジンジバインの関与が指摘されているが、その機序の詳細はまだ明らかにされていない。このように、ミュータンス菌によるう蝕や、ジンジバリス菌による歯周病は、口腔内に限った問題ではない。

また高齢者や要介護者の口腔ケアが、介護医療の問題の1つとして取り上げられている。歯磨き等の物理的口腔ケアが困難である要介護者や、高齢化や病気に

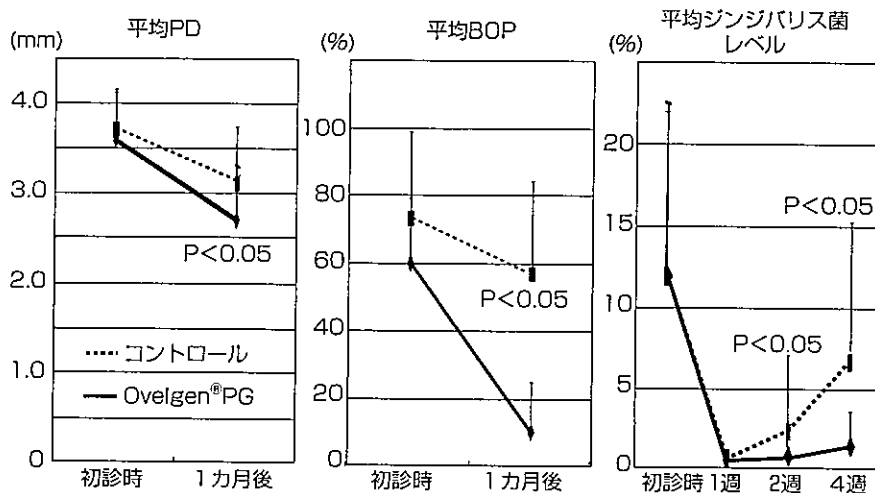


図4 Ovalgen®PG配合軟膏剤のヒト臨床試験結果

ともなう唾液分泌量の減少によって口腔内の洗浄作用が低下した人では、口腔衛生の悪化が深刻化している。このような場合には常在菌やう蝕・歯周病の原因菌だけでなく、カンジダなどの真菌類も異常増殖する。このような状態になると、誤嚥性肺炎やカンジダ症になるリスクが高まる。

今後はこのような介護医療分野への鶏卵抗体Ovalgen®の応用が期待される。

〈 〈 〈 〈 〈 参考文献 〉 〉 〉 〉 〉

- 1) Hamada, S, Kodama, Y.: In *Mucosal Vaccines*. Kiyono, H. et al. eds., Academic Press, CA. 187-197(1996)
- 2) Kruger C, et al.: *Caries Res.* 38, 9-12(2004)
- 3) 千葉逸朗：第43回日本小児歯科学会大会(2005)
- 4) 千葉逸朗：日本歯科保存学会 2005年度春季学会(第122回)
- 5) 横山京介：日本歯科保存学会 2005年春季学会(第122回)
- 6) Yokoyama, K. et al.: *American Academy of Periodontology in collaboration with the Japanese Society of Periodontology Annual Meeting*(2006)

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、抗体事業カンパニー
研究開発部所属、現在に至る

専門・研究テーマ：細胞工学、鶏卵抗体の開発および機能
評価

ア・ケ・アム・シヨフィクル ラーマン

/A. K. M. 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 (株)ゲン・コーポレーション入社、抗体事業
カンパニー研究開発部所属、現在に至る

専門・研究テーマ：微生物学、鶏卵抗体の開発および機能
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 免疫研究所所属、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

専門・研究テーマ：細菌学、ウイルス学および感染免疫学