

鶏卵の高度利用

山下 裕輔¹・丸 勇史²

はじめに

鶏卵は、高い栄養価と低価格から消費者にとって大変好ましい食品であり、国民一人当たりの鶏卵の消費量は、メキシコに次いで日本が世界第2位である。このことは大規模な養鶏システムが整っていることを意味しており、産業上の応用展開にも最適の素材である。

鶏卵は、卵黄、卵白、卵殻膜、卵殻からなり、そして21日間温めることによって生命（ヒヨコ）が誕生するバイオカプセルである。では、どのように卵黄や卵白が生命に変わるのか？ 我々は、生命誕生の過程を卵から学びながら新しい商品開発を進めている。

発生中のヒヨコは、卵殻を再構成することで骨を形成する。そこで我々は、鶏卵から骨形成促進成分を探索し、卵黄の加水分解物より骨芽細胞増殖活性を有する物質を見いだした。さらに動物試験、ヒト臨床試験にて効果を確認し、骨伸長素材「ボーンベップ™」として大手メーカーに採用されている。一方、卵白加水分解物に一酸化窒素の産生活性を見だし、血管拡張素材「ランベップ™」として、冷え性予防改善、運動機能向上および男性機能改善素材として国内外で販売を行っている。さらに、鶏卵には、発生する生命を守るシステムを有している。その物質として卵殻膜やリゾチーム以外に鶏卵抗体（IgY）が存在しており、これは親鳥から譲り受ける免疫物質である。

本稿では、微生物活用の一環として、産卵鶏へ微生物等を免疫することによって鶏卵内に特異的抗体を蓄積させ、それを食することによって健康生活が維持できる食品について述べる。食と健康に注目した場合、通常は、みそ、しょうゆ、チーズなど発酵食品での微生物の役割、または、乳酸菌あるいは酪酸菌など、菌体を直接摂取することを考える。これらはいわゆる善玉菌（有用菌）を利用する場合であるが、悪玉菌もしくは有害菌を「食と健康」に利用するという点が本研究の興味ある点である。

鶏卵抗体（IgY）とは

抗体とは、外部から侵入してくる細菌やウイルス（抗原という）に特異的に結合し、無毒化し排除するタンパク質（Immunoglobulin）であり、生体防御システムの

中心的役割を担っている。哺乳動物は胎生期や新生児期には免疫機能が未発達で、抗体産生能力に乏しい。そのため、胎盤や母乳を介して母親から抗体が子に伝えられ、子どもを感染症から守っている。これに対し、胎盤や母乳がない鳥類は、親鳥が獲得した血液中の抗体を、卵黄中に選択的に移行・蓄積させるシステムによりヒヨコに伝える¹⁾。特に卵黄中の抗体はYolkにちなんでIgYと呼ばれ、哺乳類のIgGクラスに相当する。

従来、特異的抗体は、抗原をマウス、ウサギなどの哺乳動物に免疫し、血液中から調製する方法が一般的である。しかし、全採血を実施しても得られる抗体は少量であり、また使用も研究試薬などに限られている。一方、鶏は1年間に約250～300個の卵を産卵し、卵黄液1 mLあたり約10 mgのIgYを含む²⁾。そのため、1年間で得られる抗体量は約40 gとなり、ウサギ30羽分から得られる抗体量に相当する。また、鶏は元来鶏病予防の目的でワクチネーションが行われており、連続的な免疫操作もシステム化されている。さらに、大量飼育も容易である。このように、鶏の免疫システムを利用することにより、動物の命を犠牲にすることなく特異的抗体を大量かつ安価に生産することが可能である（図1）。

IgYの機能性素材への活用

疾病の予防、緩和を目的とした機能性食品市場の成長は著しい。そのような中、IgYは「食べる抗体」として、新しい機能性食品素材として注目されている。IgYは1種のタンパクであるが、他の食品素材には見られない「特

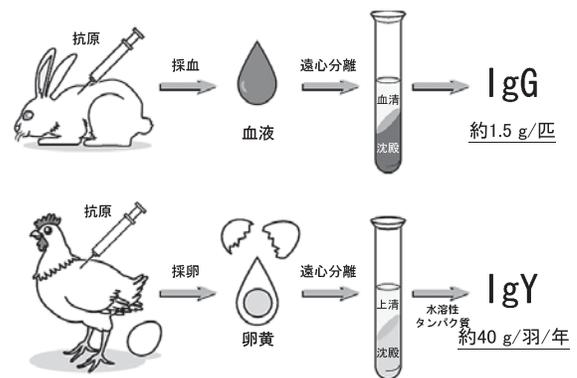


図1. 特異的抗体採取法の違い

著者紹介 ¹株式会社ファーマフーズ（開発部第2グループ長）

²株式会社ファーマフーズ（総合研究所長） E-mail: i-maru@pharmafoods.co.jp

異性」を有する。そのため、目的の病原性細菌（悪玉菌）以外の常在菌等（善玉菌）には何ら影響を与えず、「ピンポイントで効果を発揮」することが可能である。また、抗原抗体反応による「強固な反応性」を有するため、より確実な効果も期待できる。また、卵という日常的に食している素材であるため安全性も高い。さらには液卵・粉卵へ加工することで、ヨーグルトやサプリメントなど、さまざまな食品に配合可能である。

ところで、ヒトの口腔から肛門にわたる消化器官には、病原性細菌が多く感染している。IgYは食品として通過する口腔、消化管内こそ最適な仕事場であり、その局所で悪玉菌のみを特異的に標的とすることができる。

以下にIgYの応用例として、胃、口腔、咽頭を活躍の場とするIgYを3種紹介する。

Helicobacter pylori IgY

Helicobacter pylori (*H. pylori*)は、1982年にオーストラリアのMarchallとWarrenによって胃から発見されたグラム陰性桿菌である³⁾。日本における感染率は、40歳以上で約80%と報告されており、先進国の中では非常に高い⁴⁾。また、*H. pylori*は胃炎または胃潰瘍患者の約90%が感染しており、除菌治療を行うことで症状が改善する。50～60歳の人々が除菌に成功すれば、その後の胃癌発症率は1/20程度にまで下がるとも言われる。*H. pylori*が消化器疾患における重要な危険因子であることは明白である。日本では、消化器疾患の治療にはまず*H. pylori*の除菌が必要であるとの指針が厚生労働省から出されており、抗生物質と胃酸分泌抑制剤を組み合わせた2～3剤併用療法がおこなわれている。しかしながら、抗生剤の使用による耐性菌、副作用の問題が懸念されており、そのため、IgYはもっとも期待されている代替治療の一つである。

*H. pylori*感染もその他の感染症と同様に、*H. pylori*の宿主への付着から疾患が始まる。我々は、*H. pylori*菌体外膜上の接着因子をブロックすることにより、*H. pylori*

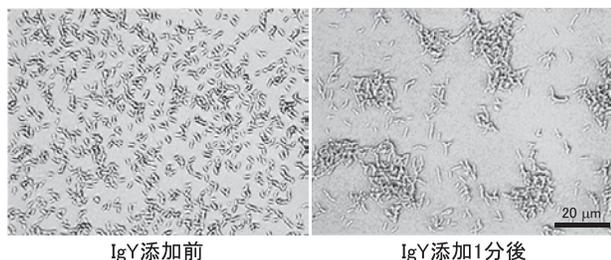


図2. *H. pylori* IgYによる*H. pylori*の凝集効果。
H. pylori IgYは、500 μg/mLで添加。

が胃粘膜に付着できずその結果、除菌可能になると考えた。まず、*H. pylori*を培養し、接着因子を含む菌体抗原を調製した。抗原を適当なアジュバントと混合し、産卵鶏に免疫した。*H. pylori* IgYの抗体価がもっとも高くなった卵黄を用いて、種々の試験を実施した。まず、*H. pylori* IgYと*H. pylori*を試験管内で混合したところ、混合直後に*H. pylori*の遊走が停止し、凝集した(図2)。続いて、*H. pylori*除菌効果試験を実施した。効果の判定は、簡便で非侵襲性の試験法である尿素呼気試験(UBT)にて行った。¹³Cでラベル化した尿素を経口投与すると、胃内に*H. pylori*が存在する場合、ウレアーゼ活性によりアンモニアと二酸化炭素に分解され、¹³CO₂が呼気中に放出される。呼気中の¹³Cの量を測定することで*H. pylori*感染の有無を判定する。我々は、*H. pylori* IgYの食品応用を検討するために、IgY配合ヨーグルトを作製し、ボランティア試験を実施した。健康人174名からのスクリーニングの結果、UBT値が30%以上の強陽性者16名を被験者として選定した。ヨーグルト1個あたりの*H. pylori* IgY含有卵黄液の添加量は2.0 gとし、朝、夕食後に1日2個摂取させた。UBTは、スタート時、4、8、12週目の計4回行った。また、同時に胃痛などに関するアンケートも実施した。その結果、ヨーグルト摂取後8、12週間で被験者のUBT値が摂取前と比較して有意に減少した(図3)。UBT値と胃内*H. pylori*数は相関があり、UBT値の低下は菌数の低下を示唆するものと考えられる。よって、*H. pylori* IgYを用いた食品が*H. pylori*を胃内より排除する効果を有することが確認された。また、アンケートの結果でも、「胃痛を常時感じる」としていたヒトの割合が減少し、自覚症状の改善傾向も認められた⁵⁾。これらの結果をもとに、*H. pylori* IgYを配合したヨーグルトが国内および海外

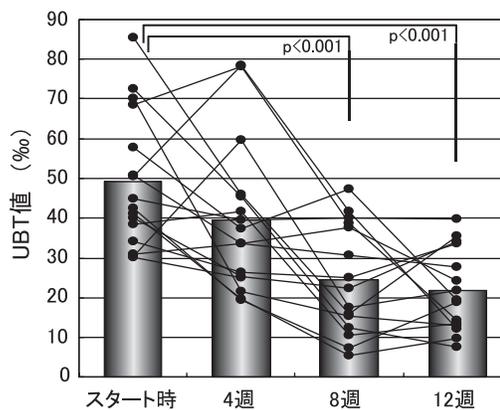


図3. ボランティア試験における尿素呼気試験の結果
(山根哲郎ら(2003)⁵⁾を一部改変)

の大手乳業メーカーより販売されている。美味しく、しかも効果が体感できる抗*H. pylori*食品として注目されている。

歯周病原細菌バイオフィーム IgY

歯周病は、歯肉炎や歯周ポケットの拡大、口臭などの軽度なものから、症状が悪化すると歯槽骨の溶解を経て歯の喪失に至る。現在、日本の成人の約80%が罹患していると言われている⁶⁾。歯周病は複合感染症であり、常在菌と歯周病原細菌が影響し合い、病巣となるバイオフィーム (BF) を形成する。BFの拡大は歯周病の進行と強く関係している。複数報告されている歯周病原細菌の中でも、*Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*) は、歯周病の発症と進行においてもっとも関連があるとされている。また、*Fusobacterium nucleatum* (*F. n.*) は、常在菌である初期定着菌に対し、歯周病原細菌を含む後期定着菌群を媒介し、BF形成において中心的役割を持つ。特にこの2菌間ではさまざまな相互作用があり、共凝集や細胞侵入性の増加、タンパク発現の変化などの現象が起こり、病原性の増強が示唆されている⁷⁾。我々は、歯周病原細菌の生存戦略とも言える、口腔内付着やBF形成を抑制することこそ、歯周病を制御する上で重要なポイントと考え、常在菌には影響せず、歯周病原細菌のみ特異的に機能するようなIgYの開発を行った。

歯周病原細菌BFを抑制するIgY作製のためのアプローチとして、我々は、まず*P. g.*と*F. n.*の相互作用に注目し、2菌の複合培養で得られる人工的なBFを抗原として産卵鶏に免疫してBF IgYを作製し、種々の試験を行なった。まず、歯周病原細菌の付着の抑制能を検証した。*P. g.*を種々濃度のIgY溶液中で5分間インキュベート後、十分に洗浄した菌体をプレートに播種した。1時

間後、付着した菌を染色定量した。その結果、BF IgY濃度依存的に菌の付着を防ぐ効果が確認された⁸⁾。さらに、BF形成抑制能を調べるため、*P. g.*、*F. n.*を含む培地中に、BF IgYを種々濃度で添加し、嫌気的条件下で24時間培養した。培養後、BF形成量を測定した。その結果、BF IgYは2菌が形成するBFを濃度依存的に抑制した(図4)。以上のことから、BF IgYは、歯周病原細菌の付着を抑える作用、BF形成を抑える作用があることが示された。

上記研究結果を基に、IgYのオーラルケア素材としての実用性をより高めるべく、新たに、歯肉炎との関わりが強い*Prevotella intermedia* (*P. i.*)、侵襲性歯肉炎の発症に関わるとされる*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. a.*)を加えた4菌種からなるBFを抗原化し、BF IgYを作製した。次に、BF IgYのヒトでの効果を検討するため、本抗体を配合したタブレットを作製し、ボランティア試験を実施した。試験は歯周病原細菌が検出された20名を対象とした。タブレット1粒あたりのBF IgY含有脱脂卵黄粉の添加量は50 mgとし、朝、昼、夕食後および就寝前に1日4個、2週間、舐めて摂取させた。その結果、摂取2週間で唾液中の総菌数に占める*P. g.*の割合が摂取前と比較して約1/2に減少すること、ならびに、炎症マーカーの遊離ヘモグロビンが約1/7に減少することが確認された(図5)。タブレット摂取において*F. n.*、*P. i.*、*A. a.*も同様に減少した⁹⁾。同時に実施したアンケートの結果では、「口の中のネバネバ感」「口臭」において、改善したヒトの割合が増加し、自覚症状の改善も認められた⁹⁾。

オーラルケアが注目されるのは単にヒトだけではなく、ペットについても同じ悩みを抱える。特にイヌにおいては、2歳以上の80%が歯周病とされ、歯周病症状の

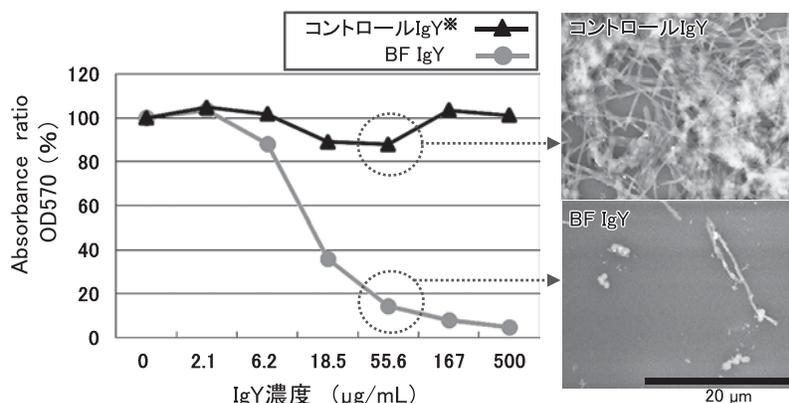


図4. BF IgY添加時の*F. n.*、*P. g.*バイオフィーム形成量。【左】バイオフィーム形成量測定(クリスタルバイオレットによる染色定量)。【右】電子顕微鏡像(IgY濃度55.6 µg/mLでのウェル上を撮影)(※:未免疫の通常卵から抽出したIgY)(佐藤冬彦ら(2011)⁸⁾を一部改変)。

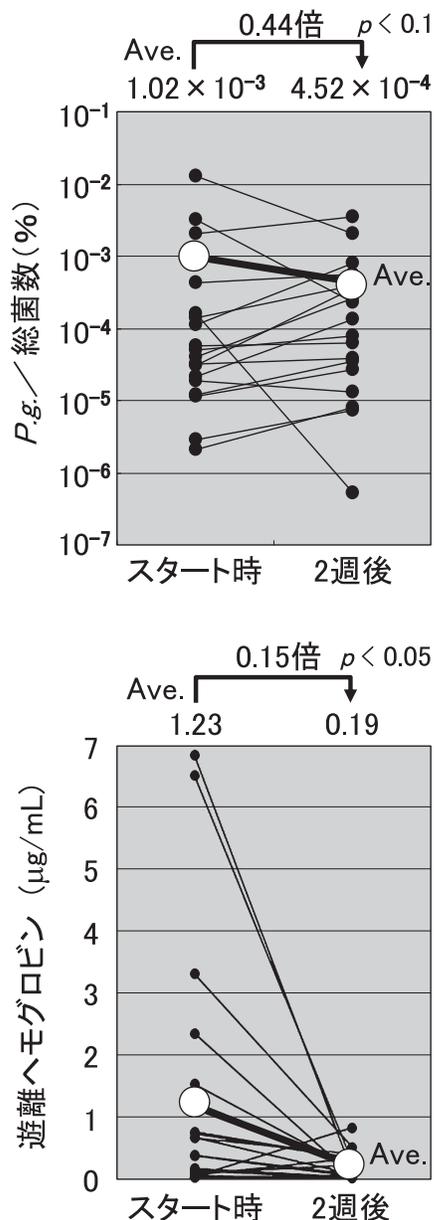


図5. ボランティア試験におけるオーラルケア指標の変化。
 【上】唾液中総菌数に占める *P.g.* の割合，【下】唾液中遊離ヘモグロビンの測定 (山下裕輔ら (2013)⁹⁾ を一部改変)。

1つである口臭に関しては、悩みを抱える飼い主も少なくない。我々は、BF IgYのドッグフードへの実用化を目的とし、動物病院と共同研究を行った。イヌ22匹を用いた摂取試験を実施した結果、歯垢、口臭の減少効果が確認された¹⁰⁾。現在では、イヌ用ガムへIgYの配合がなされており、手軽にオーラルケアできると飼い主からの評価を得ている。

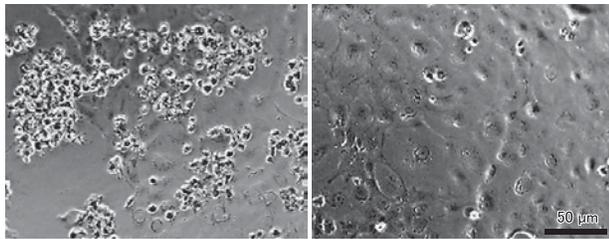
(BF IgYの開発は、(独)農研機構 生研センター 民間実用化研究促進事業の採択課題として実施した。)

インフルエンザウイルスIgY

インフルエンザは、インフルエンザウイルスによって引き起こされる急性感染症であり、発熱、上気道炎症、呼吸器疾患を伴う。主たる感染経路は、咳やくしゃみによる飛沫感染であり、鼻、口から吸入されたウイルスが気道上皮細胞へ感染し増殖する。上皮細胞への感染に重要な働きを担うのがウイルス表面にあるヘマグルチニン(HA)、ノイラミニダーゼ(NA)と呼ばれるタンパク質である。感染の第一歩は、HAが上皮細胞表面のシアラ酸に結合することで始まる。その後、ウイルスが細胞内で増殖し、NAの働きにより細胞内から遊離する。NAを阻害することはインフルエンザ治療に有効と考えられており、タミフル[®]、リレンザ[®]などが治療薬として有名である。インフルエンザ予防は、世界中でワクチンが用いられており、近年、日本では2種の季節型インフルエンザウイルス(A香港型H3N2, B型)およびH1N1新型インフルエンザウイルスの計3種を用いたワクチンが使用されている。ワクチンにより血中の特異的IgGを強化することができるため、ウイルスの体内拡散による重症化を防ぐことは可能である。しかし、ワクチンでは感染自体を防ぐことは難しい。我々は、ウイルスが上皮細胞へ接着する前にIgYによりウイルスを不活化できれば感染を抑制できると考え、インフルエンザウイルスIgYの作製を試みた。

先述のとおり、インフルエンザウイルスは型が複数あり、また変異を繰り返し、季節毎に流行する型が異なる。この点に対応するため、我々は、季節型および新型など複数の型のウイルスを抗原とし、産卵鶏に免疫しインフルエンザウイルスIgYを作製した。IgYのウイルス中和活性は、ウイルス感受性細胞であるイヌ腎臓上皮由来細胞株(MDCK細胞)を用い、細胞が変性し剥離する程度(CPE)で評価した。まず、H1N1ウイルスのみをMDCK細胞に1分間暴露し、その後細胞を良く洗浄し、3日間培養した。その結果、CPEが観察された¹¹⁾。このことは、ウイルスがたった1分間上皮細胞に接触するだけで感染が成立することを示している。たとえば、外出中に飛沫したウイルスを吸引した場合、帰宅後すぐにうがいを行っても既に感染しているというわけである。これに対し、IgYをウイルスと混合しMDCK細胞の培養系へ添加したところ、CPEは確認されなかった(図6)。IgYがウイルスを中和し、感染を抑制したことを示している。

インフルエンザウイルスIgYは、タブレットに配合することで経口感染を、マスクにスプレーすることで経鼻



インフルエンザウイルス 添加 インフルエンザウイルス + IgY 添加

図6. インフルエンザウイルスIgYのウイルス中和効果。
写真中、白く浮遊しているものがCPEを起こしたMDCK細胞。
IgYは1000 μg/mLで添加。

感染をそれぞれ防ぐことができる。IgY技術は食品に限られるばかりではない。最後に一つ面白い取組みを紹介したい。我々は、2011～2012年、2012～2013年の各インフルエンザ流行シーズンに、当社研究員32名にIgY配合タブレットを1日3粒提供し、毎日舐める取組みを行った。その結果、摂取期間を通し、インフルエンザに感染するものは認められなかった。

おわりに

本稿では、食品素材開発に微生物（一部、ウイルスの利用も含めた）を用いる取組みの一つとして、鶏卵抗体開発を紹介した。上述のように、鶏卵抗体は抗原の選定によりさまざまな抗体が作製可能であるため、その開発ターゲットは尽きるところが無い。中でも本稿で紹介した3種の鶏卵抗体（オポロン™）は、現在世界中で採用され商品化されている（図7）。フローラに影響を与えず、ターゲットの病原因子にのみ作用する特異性を有し



図7. 各種IgYが配合された商品の一例

た唯一の食品素材として、鶏卵抗体は今後ますます、活躍の場を広げるであろう。

文 献

- 1) Malkinson, M.: *Immunology*, **9**, 311 (1965).
- 2) Rose, M. E. *et al.*: *Eur. J. Immunol.*, **4**, 521 (1974).
- 3) Goodwin, C. S. *et al.*: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **39**, 397 (1989).
- 4) Asaka, M. *et al.*: *Gastroenterology*, **102**, 760 (1992).
- 5) 山根哲郎ら：日本農芸化学会大会講演要旨集, p. 56 (2003).
- 6) 厚生労働省, 平成23年歯科疾患実態調査 (2011).
- 7) Kinder, S. A. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **175**, 840 (1993).
- 8) 佐藤冬彦ら：日本歯周病学会春季学術大会講演要旨集, p. 115 (2011).
- 9) 山下裕輔ら：日本栄養・食糧学会大会講演要旨集, p. 242 (2013).
- 10) 山下裕輔ら：日本農芸化学会大会講演要旨集, p. 1511 (2013).
- 11) 堀江健二ら：日本ウイルス学会大会講演要旨集, p. 405 (2010).