

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：42713

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06809

研究課題名(和文)食物要因による唾液中IgA増加メカニズムの解明：歯科からの健康寿命延伸を目指して

研究課題名(英文)Elucidation of the IgA increase mechanism in the saliva by the food factor: For healthy life expectancy extension from dentistry

研究代表者

山本 裕子 (Yuko, Yamamoto)

神奈川歯科大学短期大学部・その他部局等・講師

研究者番号：60756568

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：ラットにフラクトオリゴ糖添加飼料を摂取させた結果、唾液中IgAレベルの増加には体重と顎下腺重量の増加が関与していること、フラクトオリゴ糖摂取により盲腸で発酵が促進し、それによる短鎖脂肪酸(代謝産物)の増加が関与していることが判明した。さらにその後のポリデキストロース+ラクチール、ポリデキストロース4%を添加した飼料をラットに摂取させた実験で、唾液中IgAレベルの増加には盲腸における短鎖脂肪酸の吸収速度の増加が関与していること、短鎖脂肪酸の吸収速度には盲腸組織重量と盲腸内容物水分量、盲腸内容物の粘度が関与していることが判明した。

研究成果の概要(英文)：In the experiment which intake of the fructo-oligosaccharide addition diets of rats, this study results suggested that the weight and submandibular gland weight, furthermore the short chain fatty acid (metabolism product) which fermentation promoted in the cecum by the fructo-oligosaccharide intake affect for the salivary IgA level increase. In the later experiments which intake of the polydextrose + lactitol and polydextrose 4% addition diets of rats, these study's results suggested that the absorption rate of the short chain fatty acids in the cecum affected for the salivary IgA level increase, furthermore, cecum tissue weight and water content of cecum digesta, the viscosity of cecum digesta affected for the absorption rate of the short chain fatty acids in the cecum.

研究分野：唾液中IgAと腸管免疫の関係

キーワード：唾液 IgA 難消化性糖類 短鎖脂肪酸 盲腸内容物 フラクトオリゴ糖 ポリデキストロース

1. 研究開始当初の背景

(1) 現代日本は超高齢社会を迎え、高齢者にかかる健康保険・介護保険費用の増大が大きな社会問題となっており、自立できる高齢者を増やすべく「高齢者の健康寿命延伸」が社会的命題となっている。2011年の厚生労働省の人口動態統計によると、80才以上の高齢者年代別死因の3位は「肺炎」であり、近年確実に増加している。上気道感染症悪化に伴う肺炎による入院は、高齢者のADLを著しく低下させ、その後サルコペニア（筋力低下・身体機能低下）やフレイル（筋力低下による生活機能低下）に陥りやすくなることが報告されている（小川純人ら、Geriatric Medicine 52巻11号:1307-1310）。上気道感染症の予防には口腔清掃が推奨されているが（海老原孝枝ら、EBMジャーナル4巻1号:80-84）実際には高齢者に口腔清掃を徹底させることは非常に難しい。

(2) 上気道感染症に関しては、唾液中IgAが第一線の生体防御機構として働いていることは数多く報告されており、IgA欠損症の子供では上気道感染症罹患率が增大することから、唾液中IgAが上気道感染症防御に関わっていると古くから考えられていた（Ostergaard PA, 1980, Clin Exp Immunol. 40:561-565）。そのため唾液中IgAを増加させることが上気道感染症の抑制につながる可能性は非常に高い。世界中の多くの研究者により、難消化性糖類や乳酸菌を摂取することでヒトでは唾液中IgAが増加することは報告されているが（McFarlin BK et al. 2013, J Diet Suppl. 10(3):171-83）、そのメカニズムは未だ解明されていない。

2. 研究の目的

難消化性糖類摂取が唾液中IgAを増加させて上気道感染症を防止する可能性を、動物実験で明らかにすることを目的とする。

(1) 難消化性糖類は大腸内で短鎖脂肪酸に代謝されるので、短鎖脂肪酸と唾液中IgA増加の因果関係を明らかにする。

(2) 難消化性糖類を摂取し唾液中IgAが増加した際に、唾液腺で起きている現象を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) AIN76のコーンスターチ15%とセルロース5.0%をグラニュー糖に置き換えた無繊維固形飼料を対照飼料とし、5.0%フラクトオリゴ糖（FOS）添加飼料を調整した。5週齢Wistar系雄ラットを2群（各群n=6）に分け、予備飼育後に各飼料を自由摂取させた。0、1、4、8週後に盲腸組織、盲腸内容物、顎下腺、唾液を採取した。盲腸内容物および唾液中IgA濃度はELISA法にて測定した。盲腸内容物は各週のpHと8週後の有機酸濃度を測定した。

(2) AIN76のコーンスターチ15%とセルロース5.0%をグラニュー糖に置き換えた無繊維

固形飼料を対照飼料とし、2.5%ポリデキストロース（PDX）・2.5%ラクチール（Lac）添加飼料を調整した。4週齢Wistar系雄ラットを2群（各群n=6）に分け、予備飼育後に各飼料を自由摂取させた。0、1、4、8週後に盲腸組織、盲腸内容物、顎下腺、唾液を採取した。盲腸内容物および唾液中IgA濃度はELISA法にて測定した。盲腸内容物は各週のpHと水分量、8週後の短鎖脂肪酸濃度を測定した。

(3) AIN76のコーンスターチ15%とセルロース5.0%をグラニュー糖に置き換えた無繊維固形飼料を対照飼料とし、4.0%ポリデキストロース（PDX）を添加した飼料を調整した。4週齢ラットを1週間予備飼育後に、各飼料を自由摂取させた。4週後に、盲腸組織、盲腸内容物、門脈血、顎下腺、唾液を採取した。唾液中のIgA濃度と顎下腺のIFN-濃度及びIL-17A濃度はELISA法にて測定した。盲腸内容物と門脈血は短鎖脂肪酸濃度を測定した。また、盲腸組織重量および盲腸内容物の水分含量を測定した。顎下腺のpIgR mRNA発現量はリアルタイムPCR法にて測定した。

4. 研究成果

(1) 二元配置分散分析の結果、顎下腺重量あたりの唾液中IgA分泌速度はFOS添加と摂取期間の間に交互作用が認められ（ $p < 0.05$ ）、1および8週後に対照区よりもFOS区の方が高い値が認められた（ $p < 0.05$, Tukey多重比較）。ベイジアンネットワークによる因果関係の解析によって、唾液中IgA分泌速度上昇の原因が、盲腸組織重量とFOS摂取期間であることが示された。さらに、盲腸組織重量と盲腸内容物短鎖脂肪酸濃度との間に正の相関があることが認められた（ $r = 0.76$, $p = 0.004$, $n = 12$ ）。また、顎下腺重量あたりの唾液中IgA分泌速度も、盲腸内容物短鎖脂肪酸濃度との間に正の相関があることも認められた（ $r = 0.79$, $p = 0.002$, $n = 12$ ）。唾液中IgA分泌速度上昇の原因は、盲腸組織重量の上昇であることが示された。盲腸組織重量は、盲腸内短鎖脂肪酸との関連が高いことから、盲腸内短鎖脂肪酸が原因で、盲腸組織重量増加を介して、唾液中IgA分泌速度を上昇していた可能性がある。

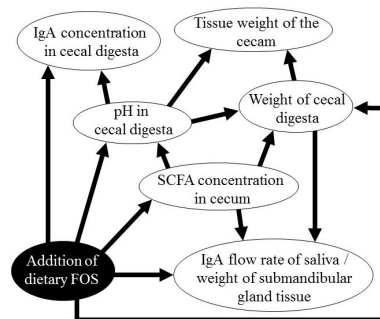


図1: ベイジアンネットワークによる因果関係

2) 二元配置分散分析の結果、顎下腺重量あたりの唾液中 IgA 分泌速度は PDX+Lac 添加と摂取期間の間に交互作用が認められ ($p < 0.0001$)、4 および 8 週後で対照群よりも PDX+Lac 群の方が高い値が認められた ($p < 0.05$, Tukey 多重比較)。盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度は、無繊維群と比較して PDX+Lac 群で低値が認められた ($p=0.0003$)。盲腸内容物水分量は無繊維群と比較して PDX+Lac 群で高値が認められた ($p < 0.0001$)。唾液中 IgA 分泌速度は、PDX と Lac 添加 4 週後に上昇し、その増加は 8 週後まで持続することが示された。盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度の減少は、発酵による盲腸内容物水分量の増加により、短鎖脂肪酸の盲腸からの吸収速度が増加したことで起こった可能性がある。唾液中 IgA 分泌速度上昇には、盲腸からの短鎖脂肪酸吸収速度が関与している可能性が考えられる。

(3) 唾液中 IgA 分泌速度は、無繊維群と比較して PDX 群で高値が認められた ($p=0.001$)。盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度は、無繊維群と比較して PDX 群で低値が認められたが ($p=0.008$)、門脈血中短鎖脂肪酸濃度は PDX 群で高値が認められた ($p=0.004$)。また、門脈血中短鎖脂肪酸濃度と唾液中 IgA 分泌速度には強い正の相関が認められた ($r_s=0.9$, $p=0.0002$)。門脈血中短鎖脂肪酸濃度と盲腸組織重量・盲腸内容物水分量との間にも正の相関が認められた ($r_s=0.7$, $p=0.006$ ・ $r_s=0.6$, $p=0.03$)。顎下腺における pIgR mRNA 発現量は無繊維群と比較して PDX 群で高値が認められた ($p=0.02$)。顎下腺の IFN- γ と IL-17A 濃度は 2 群間に差は認められなかった ($p=0.8$, 0.3)。唾液中 IgA 分泌速度の増加には、門脈血短鎖脂肪酸濃度が関わっていることが示唆された。すなわち、盲腸からの短鎖脂肪酸の吸収が唾液中 IgA 分泌速度を高めている可能性がある。一方で、PDX 添加による盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度の減少と門脈血中短鎖脂肪酸濃度の増加は、盲腸での短鎖脂肪酸の吸収速度が速いことを示している。短鎖脂肪酸の吸収速度には、盲腸組織重量と盲腸内容物水分量が関与している可能性がある。また pIgR 発現増加には IFN- γ と IL-17A は関わっていない可能性が示された。

	唾液中 IgA 分泌速度/顎下腺重量 ($\mu\text{g}/10\text{min}/\text{g}$)		
	r_s	p	n
門脈血中短鎖脂肪酸濃度 (nmol/ml)	0.88	0.0002	12
盲腸組織重量 (g)	0.76	0.004	12
盲腸内容物中水分量 (g/g)	0.76	0.005	12
盲腸内容物重量 (g)	0.60	0.04	12
盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度 ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	-0.53	0.08	12

表 1: 唾液中 IgA 分泌速度との相関

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

Yamamoto Y, Kubota N, Takahashi T,

Masahiro T, Hayashi T, Tomoko S, Kamata Y, Saruta J, Tsukinoki K. Continuous intake of polydextrose and lactitol combination stimulates fermentation in the cecum and salivary IgA secretion in rats. J Oral Sci. in press.

Hayashi T, To M, Saruta J, Sato C, Yamamoto Y, Kondo Y, Shimizu T, Kamata Y, Tsukinoki K. Salivary lactoferrin is transferred into the brain via the sublingual route. Biosci Biotechnol Biochem. 2017 Mar 29:1-5.

Ide M, Saruta J, To M, Yamamoto Y, Sugimoto M, Fuchida S, Yokoyama M, Kimoto S, Tsukinoki K. Relationship between salivary immunoglobulin a, lactoferrin and lysozyme flow rates and lifestyle factors in Japanese children: a cross-sectional study. Acta Odontol Scand. 2016 Oct;74(7):576-583.

Yamamoto Y, Takahashi T, To M, Nakagawa Y, Hayashi T, Shimizu T, Kamata Y, Saruta J, Tsukinoki K. The Salivary IgA Flow Rate Is Increased by High Concentrations of Short-Chain Fatty Acids in the Cecum of Rats Ingesting Fructooligosaccharides. Nutrients. 2016 Aug 17;8(8). pii: E500.

Kurimoto Y, Saruta J, To M, Yamamoto Y, Kimura K, Tsukinoki K. Voluntary exercise increases IgA concentration and polymeric Ig receptor expression in the rat submandibular gland. Biosci Biotechnol Biochem. 2016 Dec;80(12):2490-2496.

[学会発表](計 7 件)

山本裕子, 東雅啓, 清水智子, 猿田樹理, 槻木恵一: 難消化性糖類の経時的摂取がラット唾液中 IgA 濃度に与える影響. 第 57 回歯科基礎医学学会学術大会, 新潟, 2015.9.11-13

山本裕子, 槻木恵一: 難消化性糖類の経時的摂取がラット唾液中 IgA 濃度に与える影響. 日本食品免疫学会第 11 回学術集会, 東京, 2015.10.15-16.

山本裕子, 東雅啓, 中川裕介, 林隆司, 猿田樹理, 高橋徹, 槻木恵一: フラクトオリゴ糖がラット唾液中 IgA 濃度の経時的変化に与える影響. HINDGUT CLUB JAPAN 2015, 東京, 2015.12.5.

山本裕子, 東雅啓, 中川裕介, 林隆司, 猿田樹理, 高橋徹, 槻木恵一: フラクトオリゴ糖摂取時のラット唾液中 IgA 分泌速度を制御する因子に関する解析. 第 70 回日本栄養・食糧学会大会, 神戸, 2016.5.13-15.

山本裕子, 東雅啓, 猿田樹理, 槻木恵一: フラクトオリゴ糖がラット唾液 IgA 分泌速度

の継時的変化に与える影響. 第58回 歯科基礎医学会学術大会, 札幌, 2016.8.24-26.

山本裕子: フラクトオリゴ糖摂取が唾液中IgAに与える影響. 日本食物繊維学会第21回学術集会, 静岡, 2016.11.26-27.

山本裕子, 猿田樹理, 東雅啓, 高橋徹, 槻木恵一: 短鎖脂肪酸の吸収がラット唾液中IgA分泌速度に与える影響. HINDGUT CLUB JAPAN 2016, 東京, 2016.12.3.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等
日本歯科新聞: 2016年10月4日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 裕子 (YAMAMOTO Yuko)
神奈川歯科大学・その他部局等・講師

研究者番号: 60756568

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

()