

短鎖脂肪酸を介した唾液中 IgA 増加のメカニズム解明 ～短鎖脂肪酸レセプターをターゲットとした解析～

山本 裕子

神奈川歯科大学短期大学部歯科衛生学科・講師

Yuko YAMAMOTO

Department of Dental Hygiene, Kanagawa Dental University, Junior College

Abstract

Decreased salivary immunoglobulin A (IgA) is associated with a higher risk of upper respiratory tract infections (URTI). Here, we examined the effect of indigestible carbohydrates on salivary IgA levels. Rats were fed with a control fiber-free diet or a diet with 50 g/kg fructooligosaccharides (FOS) for 21 days. Salivary IgA flow rate, IgA concentrations in the cecal digesta and submandibular gland tissue, and PIGR (polymeric immunoglobulin receptor) mRNA expression in the submandibular gland were significantly higher in the FOS fed group as compared to those in the control group. Further, we investigated the effects of FOS intake and time after feeding on salivary IgA flow rate. Rats were fed with a control fiber-free diet or a diet with 50 g/kg FOS for 0, 1, 4, and 8 weeks. Salivary IgA secretion rate increased following 1 week of FOS intake. Bayesian network analysis revealed that ingestion of FOS increased salivary IgA secretion through increased levels of short-chain fatty acids (SCFA) in the cecal digesta. Furthermore, SCFA receptor knockout mice showed reduced salivary IgA flow rates. Based on these results, we propose an “Intestinal-Salivary gland correlation” and suggest dietary guidelines to increase salivary IgA levels for the prevention of URTI.

緒 言

厚生労働省の「2018年人口動態統計月報年報」によると死亡原因の第5位は「肺炎」である¹⁾。肺炎による死者の98%は65歳以上であり¹⁾、高齢者における肺炎の増加と入院に伴う生活の質の低下および医療費の増大は、大きな社会問題となっている。われわれは高齢者の肺炎を引き起こす上気道感染症の予防に着目し、この過程に重要な役割を果たしている唾液中の抗菌物質 Immunoglobulin A (IgA: 抗体) を対象とした研究を行ってきた。呼吸器と消化管の入り口として重要な役割を果たしている口腔には、唾液中に唾液腺形質細胞により産生された多量の IgA が存在し、その先の粘膜臓器への外来微生物による感染をいち早く第一線で防止している^{2,3)}。唾液腺は交感神経と副交

感神経の2重支配を受けており、唾液中への IgA の分泌は粘膜免疫系の影響だけでなく、自律神経の影響を大きく受けている⁴⁾。特に交感神経刺激により唾液中に IgA が分泌されることが報告されている⁵⁾。筆者らは今までに、難消化性糖類(食物繊維)を摂取した際に大腸内で発生する酢酸・プロピオン酸・酪酸といった短鎖脂肪酸(腸内細菌の主要代謝産物)が唾液中 IgA 増加の要因であることを因果関係の解析から明らかにしてきた⁶⁾。この短鎖脂肪酸のレセプターである G-protein coupled receptor 41 (GPR41)・G-protein coupled receptor 43 (GPR43) は交感神経節に発現していることが報告されている⁷⁾。以上のことから、「難消化性糖類は大腸で腸内細菌により短鎖脂肪酸に代謝され、GPR41・GPR43 を介して自律神経を刺激し、唾液中 IgA が増加するのではないか」

という仮説にいたった。近年、GPR41・GPR43は脂質代謝やエネルギー調整に関与していることが明らかになり⁸⁾、代謝異常による生活習慣病等の新たな創薬分子標的として世界中で注目されているが、歯科分野でGPR41・GPR43を対象とした研究はいまだ行われていない。本研究ではGPR41・GPR43ノックアウト(KO)マウスを使用し、唾液中IgAレベルの変化を検討した。

実験材料および方法

1. 飼料

AIN76(米国国立栄養研究所から発表されたマウス・ラットを用いた栄養研究のための標準精製飼料)の成分のうち、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と、この無繊維飼料に5.0%フラクトオリゴ糖(FOS)を添加した飼料を調整した。FOS添加分はグラニュー糖を減じた。このFOS添加飼料をラットに4週間摂取させることで、無繊維固形飼料摂取と比較して唾液中IgA分泌速度が増加することは、われわれの先行研究で明らかになっている。

2. 実験動物

GPR41KOマウス、GPR43KOマウス、C57BL/6各10匹を実験に供した。繁殖場所の違いが腸内細菌叢に与える影響を考慮し、すべて本学動物舎で繁殖したマウスを用いた。6週令のGPR41KOマウス、GPR43KOマウス、C57BL/6を1週間無繊維固形飼料で予備飼育後に、FOS添加飼料を自由摂取させた。4週後に、盲腸組織、盲腸内容物、血清、顎下腺、唾液を採取した。唾液、盲腸、血清のIgA濃度はEnzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)法にて測定した。

3. ELISA法

Mouse IgA ELISA Kit (Bethyl Laboratories, Inc.)を用い、添付文書の指示通りに行った。

4. 統計解析

JMP version 12 (SAS Institute Japan)を用いて解析を行った。一元配置分散分析後にDunnettの検定を行った。有意水準は0.05とした。

結 果

1. 顎下腺左右平均重量

顎下腺左右平均重量には、マウスの違いの影響が認

められ($p<0.0001$)、C57BL/6と比較してGPR43KOマウスで低値が認められた($p<0.0001$)。

2. 5分間唾液分泌速度

5分間唾液分泌速度には、マウスの違いの影響は認められなかった($p=0.16$)。

3. 盲腸内容物中IgA濃度

盲腸内容物中IgA濃度には、マウスの違いの影響は認められなかった($p=0.25$)。

4. 血清中IgA濃度

血清中IgA濃度には、マウスの違いの影響は認められなかった($p=0.10$)。

5. 唾液中IgA濃度

唾液中IgA濃度には、マウスの違いの影響が認められ($p=0.004$)、C57BL/6と比較してGPR41KOマウス・GPR43KOマウスで低値が認められた($p=0.008\cdot 0.005$)。

6. 唾液中IgA分泌速度

唾液中IgA分泌速度には、マウスの違いの影響が認められ($p=0.0003$)、C57BL/6と比較してGPR41KOマウス・GPR43KOマウスで低値が認められた($p=0.0005\cdot 0.0008$)。

まとめと展望

今回の実験の結果において、短鎖脂肪酸レセプターKOマウスでは、C57BL/6と比較して、盲腸内容物中IgA濃度には違いが認められないながら、唾液中IgA濃度および唾液中IgA分泌速度には低値が認められた。

ラットに5.0%FOS添加飼料を摂取させたわれわれの先行研究では、盲腸内容物中IgA濃度の増加と盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度増加が認められ、唾液中IgA分泌速度の増加が認められた⁶⁾。今回の実験ではマウス盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度を測定していないが、短鎖脂肪酸レセプターKOマウスとC57BL/6の盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度は同程度であったと想定される。しかし短鎖脂肪酸レセプターKOマウスにおいて、C57BL/6と比較して唾液中IgA分泌速度は低値であった。以上のことから、難消化性糖類摂取による唾液中IgAレベル増加には、盲腸内容物で増加した短鎖脂肪酸と短鎖脂肪酸レセプターが関与している可能性が示された。

ラットに 5.0%FOS 添加飼料を摂取させたわれわれの先行研究では、唾液中 IgA 分泌速度の増加だけでなく、唾液腺の polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) の発現が増加した⁹⁾。今回の実験ではマウス顎下腺の pIgR 発現量は確認していないが、増加している可能性がある。今後の実験では GPR41KO・GPR43KO マウスに難消化性糖類を摂取させた際の顎下腺 pIgR の発現量、自律神経活性化の状態等を調べていく予定である。

われわれはこれまでの唾液中 IgA 分泌速度と腸管に関する研究の結果から、「腸-唾液腺相関」という新しい知見を見出した。今後も腸管からのシグナルによる唾液中 IgA レベルの変化が上気道感染症予防につながる可能性を追及し、歯科から発信する、唾液中 IgA レベルを増加させ上気道感染症を予防するための食栄養指導を提案していく所存である。

文 献

- 厚生労働省ホームページ.
<https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/geppo/nengai18/dl/gaikyou30.pdf>
- Kiyono H, Azegami T: The mucosal immune system: From dentistry to vaccine development. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* **91**(8): 423-439, 2015.
- Diamond G, Beckloff N, Ryan L.K: Host defense peptides in the oral cavity and the lung: Similarities and differences. *J. Dent. Res.* **87**(10): 915-927, 2008.
- Proctor GB: The physiology of salivary secretion. *Periodontol 2000.* **70**(1): 11-25, 2016.
- Carpenter GH, Proctor GB, Anderson LC *et al.*: Immunoglobulin A secretion into saliva during dual sympathetic and parasympathetic nerve stimulation of rat submandibular glands. *Exp Physiol.* **85**(3): 281-286, 2000.
- Yamamoto Y, Takahashi T, To M *et al.*: The salivary IgA flow rate is increased by high concentrations of short-chain fatty acids in the cecum of rats ingesting fructooligosaccharides. *Nutrients.* **8**(8): pii: E500, 2016.
- Kimura I, Inoue D, Maeda T *et al.*: Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). *Proc Natl Acad Sci U S A.* **108**(19): 8030-8035, 2011.
- Tang C, Offermanns S: FFA2 and FFA3 in Metabolic Regulation. *Handb Exp Pharmacol.* **236**: 205-220, 2017.
- Yamamoto Y, To M, Hayashi T *et al.*: Intake of indigestible carbohydrates influences IgA response and polymeric Ig receptor expression in the rat submandibular gland. *Br J Nutr.* **113**(12): 1895-1902, 2015.