

諸 言

ヒト粘膜は常に外界と接し感染防御の第一線であり外来微生物の粘膜上皮接着抑制作用、ウイルス・酵素・毒素に対する中和作用、細菌・ウイルスの凝集作用など、生体にとって極めて重要な防御機能を担っている。この防御機能に粘膜面の分泌液が重要な役割を果たしていると考えられている。涙・唾液・初乳を含む母乳・鼻腔や腸管内の分泌液などヒト粘膜面の分泌液中には、IgA, IgD, IgE, IgG, IgM の5つのタイプの免疫グロブリンが存在している。このうち最も多量に含まれるのが IgA である¹⁾。一日の免疫グロブリンの総生産量は、体重 70kg のヒトで約 8g であるが、その内訳は IgA が約 5g、IgG が約 2.5g、IgM が約 0.6g、微量の IgD と IgE である。IgA の約 1/3 は主に肝臓で代謝され、残りの 2/3、一日 3g 以上の IgA が、粘膜面に分泌されている¹⁾。ヒトでは血清中の IgA の約 90%が単量体であるが、反対に分泌液中に含まれる IgA の約 90%が多量体（二量体や三量体）であり、通常は二量体である¹⁾。

粘膜面に分泌されている主に多量体を形成する IgA を分泌型 IgA (sIgA) と呼び、体液性免疫での重要性が知られている。sIgA は粘膜面で外来抗原を最初に認識する自然免疫の役割も担っていると考えられている¹⁾。

sIgA の分子構造であるが、多量体 IgA (polymeric immunoglobulin A:pIgA) ・ J 鎖・上皮内輸送に必要となる分泌成分 (secretory component : SC) の3種から構成されている。ヒト IgA は分子量約 17 万で、形質細胞によって産生されている。IgA には IgA1 ($\alpha 1$) と IgA2 ($\alpha 2$) の二つのサブクラスがあり、抗原性、

糖鎖および細菌の産生するタンパク質分解酵素に対する抵抗性に相違が認められる²⁾。IgA1 と IgA2 の違いは、抗体のヒンジ領域において $\alpha 2$ 鎖では $\alpha 1$ 鎖に比較して 13 個のアミノ酸配列が欠損している点である。そのため IgA2 は、一部の病原性細菌の産生する IgA 分解酵素である IgA プロテアーゼの影響を受けることが無い。ヒトでは血清中 IgA の約 85% が IgA1 サブクラス、約 15% が IgA2 サブクラスである。興味深いことに分泌液中では IgA1 サブクラスと IgA2 サブクラスの比率が約 1 対 1 となっている。様々な外来性微生物にさらされる粘膜面において、IgA プロテアーゼの影響を受けない IgA2 サブクラスが高レベルで存在することは、生体防御において重要であると考えられている²⁾。

J 鎖は pIgA や IgM 中にある分子量 15kDa の特徴的なポリペプチド鎖であり、形質細胞によって産生されている。IgA はこの J 鎖を介して結合することにより pIgA を形成している。また pIgA は J 鎖が存在しないと SC と結合することができない。SC は分子量約 80kDa のポリペプチドで、polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) の細胞外部分である。腺上皮細胞で産生され、J 鎖を取り込んだ pIgA と結合し、細胞内を輸送する。sIgA は、形質細胞質内において J 鎖を介して形成された pIgA が、上皮細胞の基底膜側に発現する pIgR に結合し、上皮細胞内輸送過程で pIgR が切断されて pIgA と SC の複合体が形成され、sIgA として管腔側に放出される^{1, 2)} (図 1)。

このように sIgA は全身免疫系とは異なる生体防御機構である粘膜免疫系で重要な役割を担っているが、sIgA を介した粘膜免疫応答の誘導には、粘膜関連

リンパ組織 (mucosa-associated lymphoid tissue: MALT) と総称される誘導組織 (リンパ組織) と実行組織 (非リンパ組織)、そしてこれら組織間を橋渡しする共通粘膜免疫システム (common mucosal immune system: CMIS) が知られている。MALT には消化管を担当する腸管関連リンパ組織 (gut-associated lymphatic tissue: GALT) や、呼吸器を担当する鼻咽頭関連リンパ組織 (nasal-associated lymphoid tissue: NALT: 齧歯類に特有のリンパ組織であり、ヒトでは扁桃やアデノイドに相当するとされている) などがある。免疫反応の実行組織には粘膜固有層 (消化管・呼吸器・生殖器) や、分泌に特化した腺組織 (涙腺・唾液腺・乳腺) などがあり、そこで IgA⁺B 細胞から IgA⁺形質細胞への最終的な分化や、粘膜面への sIgA 分泌が誘導されている。sIgA の産生には、上記の誘導組織と実行組織の両者が必要である¹⁾。

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、唾液中に多量の sIgA が存在している。一日の唾液分泌量は 1,000~1,500ml であるが、その内 50~200mg もの sIgA が分泌されている (図 2)。この唾液中 sIgA が、口腔から連なる呼吸器と消化器といった、その先の粘膜臓器への外来微生物による感染防御に重要な役割をはたしていると考えられている。唾液中の免疫グロブリンの約 95% は唾液腺から分泌されたものであり、血清由来のものは約 5% しか存在しない。90% 以上が sIgA で、単量体 IgA は約 5~10% である。口腔は CMIS の実行組織として存在しているが、口腔粘膜では、腸管におけるパイエル板のような IgA 産生の誘導組織という意味での粘膜免疫誘導リンパ組織は存在しな

い。唾液腺の腺房細胞が実行組織として sIgA の分泌に関わっている。口腔粘膜上皮細胞は pIgR を持たず、J 鎖を持つ二量体 IgA を sIgA として運搬・分泌する機能は無い。sIgA の分泌は全て唾液腺機能に委ねられている。腸管あるいは鼻咽頭粘膜を介して侵入した抗原に対する特異的免疫応答は、GALT や NALT で誘導され、誘導された IgA⁺B 細胞がホーミングによって唾液腺内に到達し、最終分化を遂げた IgA⁺形質細胞から産生された J 鎖二量体 IgA は、唾液腺の腺房細胞に発現する pIgR と結合し、sIgA として唾液中に分泌される (図 1) ¹⁾。

腸管上皮は、ヒトの身体の中で最大の粘膜面であり、「内なる外」として、人体に害を与える外来性の抗原や、病原性のある食べ物、飲料水に含まれた微生物、そして腸内常在菌に常にさらされている ³⁾。そして昔から食べ物は、それを摂取することでヒトの腸管に影響を与え、その人の健康改善に役立ってきた ⁴⁾。食べ物の中でも特に「難消化性糖類」は、ヒトの健康と栄養面に対して、非常に有効な効果を与えてきた ⁵⁾。フラクトオリゴ糖 (fructo-oligosaccharides:FOS) やポリデキストロース (polydextrose:PDX)、ラクチトール (lactitol) といった難消化性糖類は、ヒトの消化酵素ではほとんど代謝されない (図 3)。難消化性糖類は有機酸を産生する結腸の常在菌によって、主に短鎖脂肪酸とガス (二酸化炭素と水素) に分解され、さらにその際に、少量の乳酸とギ酸とコハク酸も産生されている ⁶⁾。これらの産生物の健康への効果としては、免疫の調整、血中コレステロールレベルの低下、血糖値および血中インスリンレベルの正常化、ガンの再発防止といったことがあげられ

る⁷⁾。そして多くの難消化性糖類が、「発酵」を介して腸管の機能に影響を与えている⁸⁾。

難消化性糖類を実験動物に摂取させることによって、盲腸内容物中や糞便中の IgA 濃度が増加したとの報告は数多くある⁹⁻¹³⁾。前述の通り、ヒトの場合、特に何かの感染症に罹患していない場合でも、IgA は全抗体の中で、常時最も多く分泌されている。腸管内で増加する IgA は、主に GALT で誘導されている。実行組織から分泌された sIgA は、粘膜上皮細胞への外来微生物および腸内常在菌の接触を防ぎ、外来微生物由来の毒素を中和することで、粘膜表面の恒常性を維持している¹⁴⁾。腸管粘膜での pIgR の生理学的役割は、J 鎖を含んでいる二量体の IgA あるいは多量体である IgM と結合し、sIgA あるいは sIgM として、腸上皮細胞層を通して管腔側に輸送すること、分泌された IgA や IgM をタンパク質分解酵素から保護することである¹⁵⁾。pIgR に関しては、FOS を幼齢期のマウスに摂取させることで、腸管の pIgR 発現量が増加することが報告されている^{8, 16)}。このように、難消化性糖類を摂取することにより腸管で増加した IgA と pIgR は、腸管免疫において非常に重要な役割をはたしていると考えられている。

前述のように口腔においても、二量体 IgA は pIgR によって唾液中に輸送されている(図 1)¹⁷⁾。唾液中の sIgA は、消化器官の入り口である口腔の粘膜上で、胃や腸管への感染を防御するという重要な役割を担っている¹⁸⁾。激しい運動をすることが唾液中への sIgA の分泌を抑制し、その結果上気道感染症 (upper respiratory tract infection : URTI) といった感染症に罹患する危険性が増加

することは、よく知られている^{19, 20)}。また、血清や唾液中に IgA が存在しない IgA 欠損症の子供達は、他の感染症の罹患頻度は IgA 欠損症でない子供達と変化が無いが、気管支と肺の感染症、気管支喘息、胃腸炎を頻繁に繰り返すという報告がある²¹⁾。このように唾液中 IgA は口腔と上気道の感染防御に重要な役割を担っている。しかしながら我々が知る限り、今まで難消化性糖類摂取が唾液腺における IgA と pIgR 発現に与える影響について報告はない。

今回この研究を行うに際して、我々は腸管で IgA を増加させることが既に多数報告されている難消化性糖類に注目した^{5, 8, 22-26)}。そして難消化性糖類摂取が腸管だけでなく唾液腺においても何らかの理由により IgA を増加させるのではないかと仮定した。この仮定に基づいて、我々は難消化性糖類摂取により唾液腺と唾液中の IgA レベルが増加するかどうか、さらにその際に唾液腺における pIgR の発現レベルが変化するかどうかについて、ラットを用いて検討した。

実験材料および方法

動物

4 週齢の雄性 Wistar ラット（日本クレア株式会社, 東京, 日本）を購入し、 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、12 時間ごとの明暗サイクルの環境下、床敷材を用いないワイヤーゲージで飼育した。実験開始前の 7 日間、ラットには市販の固形飼料（CE-2, 日本クレア株式会社, 東京, 日本）と水を自由摂取させた。この実験の実験計画は、「神奈川歯科大学動物実験倫理委員会」にて審査を受け、承認された。そしてこの実験は「神奈川歯科大学動物実験基準」および「実験動物の飼養および保管並びに苦痛の軽減に関する基準」を遵守して行われた。実験 1 では、15 匹のラットを無作為に 3 群に分け（詳細は「飼料」の項を参照）、1 ゲージで 2~3 匹のラットを飼育した。実験 2 では、18 匹のラットを実験 1 と同様に無作為に 3 群に分け、1 ゲージで 3 匹のラットを飼育した。実験期間中は、3 群全てのラットは、エサの違い以外は全く同じ条件で飼育され、実験期間途中でラットが死亡することは無かった。実験の最後に全てのラットは、7:00~11:00 の間に麻酔下で解剖した。ペントバルビタールを腹腔内に投与後、心臓穿刺により採血を行い、その後断頭により麻酔下で屠殺した。

飼料

対照群のラットに摂取させた無繊維固形飼料の組成と、実験群のラットに摂取させた 2 種類の固形飼料の組成を表 1 に示した。対照群の無繊維飼料は、米

国国立栄養研究所 (AIN) 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 AIN76 の固形飼料を基にし、AIN76 に含まれるコーンスターチとセルロースを全てショ糖に置き換えた。この対照群の飼料を「コントロール飼料」とした。コントロール飼料にフラクトオリゴ糖 (FOS : メイオリゴ P[®] ; 株式会社明治, 東京, 日本) を 5% (w/w) 添加した飼料を「FOS 飼料」とした。ポリデキストロース (PDX : Litesse Ultra ; ダニスコジャパン株式会社, 東京, 日本) とラクチトール (lactitol : lactitol MC ; ダニスコジャパン株式会社, 東京, 日本) をそれぞれ 2.5% (w/w) 添加した飼料を「PDX+lactitol 飼料」とした。3 種の固形特殊飼料は、日本クレア株式会社で作成された。私達が実験で AIN76 からコーンスターチとセルロース、2 種の炭水化物を除去した特殊飼料を使用したのは、コーンスターチやセルロースが大腸で短鎖脂肪酸の産生を誘発するからであり^{27, 28)}、逆にショ糖は小腸で吸収され、大腸における発酵には影響を与えないからである。実際にコーンスターチをベースにした精製飼料である AIN93 を摂取したラットと比較して、コーンスターチの含有量が少ない AIN76 を摂取したラットでは、糞便中に含まれる短鎖脂肪酸のレベルが有意に低かったという報告がある²⁹⁾。今回の実験では、FOS と PDX およびラクチトールといった難消化性糖類が、ラットの盲腸内で引き起こす発酵の効果を正しく検討するため、コーンスターチやセルロースが発酵に及ぼす影響を除去する必要がある、このような特殊飼料を作成し使用した。実験期間中、ラットには毎日 1 匹当たり平均 25g の飼料を与え、各ラットが摂取した飼料の量の違いが、実験のデ

一タに影響を与えないよう配慮した。

試料採取

特殊飼料摂取を開始してから 21 日後に、全てのラットを、ペントバルビタールナトリウム（65mg/kg 体重当り；共立製薬株式会社, 東京, 日本）腹腔内投与による麻酔下で解剖し、試料を採取した。全てのラットの解剖は 7:00～11:00 の間に行われた。全てのラットは麻酔の効果が発現した後解剖し、実験 1 では、盲腸内容物、左右顎下腺、血液を採取した。実験 2 では、唾液と左右顎下腺を採取した。

実験 1 で採取した盲腸内容物は、まず盲腸を内容物ごと摘出し、盲腸組織をメスで開き、内容物をシャーレに取り出し重量を測定した。盲腸内容物は粘稠であるため、重量測定後シャーレを氷上に置き、スパチュラで内容物が均一になるようよく混和し、液体窒素中で速やかに凍結した。この手順により実験間・個体間での実験誤差をできるだけ小さくなるようにした。実験 1・2 で採取した右側顎下腺、実験 2 で採取した唾液も、採取後液体窒素中で速やかに凍結した。実験 1 で心臓穿刺により採取した血液は、血清分離培地が含まれた真空採血管（ベノジェクト[®] II 真空採血管；テルモ株式会社, 東京, 日本）に、採血後速やかに注入した。その後すぐに採血管を 5～6 回転倒混和し、3 時間室温に置いた後、遠心にかけ（1,200×g, 20 分, 20℃）、血清を得た。実験 1 と実験 2 で採取した全ての試料は、解析に用いるまで-20℃で保管した。

唾液採取

実験 2 において、全てのラットにはペントバルビタールナトリウム腹腔内投与 5 分後に、ピロカルピン (8mg/kg 体重当り ; ナカライテスク株式会社, 京都, 日本) を腹腔内投与し、唾液の分泌を誘発した。ピロカルピン投与 5 分後から、口腔内に分泌された唾液をマイクロピペットにて 10 分間採取した。採取した唾液は、採取後液体窒素中で速やかに凍結し、解析に用いるまで -20℃ で保管した。

IgA 濃度測定

盲腸内容物、右側顎下腺、血清、唾液に含まれる IgA 濃度は、Rat IgA ELISA Quantitation Kit (Bethyl Laboratories, Montgomery, Texas, USA) による、サンドイッチ ELISA 法にて測定した。

盲腸内容物は採取した半量を使用した。蒸留水に、ジメチルスルホキシド (dimethyl sulfoxide : DMSO) に溶解した 1mM のフッ化フェニルメチルスルホニル (phenylmethylsulfonyl fluoride : PMSF) を添加した溶液で、20 倍 (w/w) に希釈し、室温に 1 時間置いた。その後試料は遠心にかけ (10,000 × g, 15 分, 4℃)、上清を得、その上清を IgA 濃度の測定に用いた。右側顎下腺は全量を使用した。凍結したまま、凍結プレス破碎装置クライオプレス (株式会社マイクロテック・ニチオン, 千葉, 日本) を使用して粉碎し、1% Triton[®] X-100 (MP Biomedicals, LLC, Santa Ana, USA) と DMSO に溶解した 1mM の PMSF を添加した PBS (0.01M, pH 7.2-7.4, 和光純薬工業株式会社, 大阪, 日本) 内に混和した。

この混和溶液を遠心にかけ (10,000×g. 15 分. 4℃)、上清を得、その上清を IgA 濃度の測定に用いた。唾液は全量を 1%Triton[®] X-100 と DMSO に溶解した 1mM の PMSF を添加した PBS にて 6 倍に希釈し、よくピペッティングを行い唾液の粘性を除去した後、IgA 濃度の測定に用いた。盲腸内容物上清、右側顎下腺上清、唾液希釈液、血清は、IgA 濃度を測定する前に、分光光度計 NanoDrop (NanoDrop Technologies Inc, Rockland, USA) を用いた紫外吸収法により、タンパク濃度を測定した。

サンドイッチ ELISA 法は、96 穴マイクロプレートの各穴に、pH9.6、0.05M の炭酸-重炭酸塩を添加した溶液で 100 倍に希釈した、ヤギ anti-rat IgA 抗体 (一次抗体) を加え、室温で 1 時間置いた。その後残留している一次抗体溶液を除去し、洗浄溶液 (50 mM Tris, 0.14 M NaCl, 0.05% Tween 20, pH 8.0) で 5 回洗浄した。ブロッキング溶液 (50 mM Tris, 0.14 M NaCl, 1%ウシ血清アルブミン pH 8.0) を各穴に加え、ブロッキングを行った。30 分室温に置いた後、前述の洗浄溶液で 5 回洗浄した。希釈した試料溶液と rat IgA スタンダード溶液 (Bethyl Laboratories, Montgomery, Texas. USA) を、各穴に加え、1 時間室温に置いた後、洗浄溶液で 5 回洗浄した。15,000 倍希釈した、西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) が結合されたヤギ anti-rat IgA 検出抗体 (二次抗体) を、各穴に加えた。1 時間室温に置き、洗浄溶液で 5 回洗浄した後、酵素反応のために、TMB を含有した基質・発色剤溶液を各穴に加えた。マイクロプレートを遮光し、室温に 15 分置いた後、反応停止液 (0.18 M H₂SO₄) を加え反応を

停止した。吸光度はマイクロプレートリーダー (BioRad, Herchles, California, USA) を用いて、450nm の波長で測定した。IgA 濃度 (ng/mL) は、検量線 (標準曲線) を作成し、この検量線とサンプルの吸光度の値から計算した。唾液中 IgA 分泌速度 (ng/min) は、唾液中 IgA 濃度と唾液分泌速度 (mL/min) の積から求めた。唾液中 IgA 分泌速度の値は、唾液腺に貯蔵されていた IgA の指標として使用した。唾液分泌速度は、唾液重量と採取時間から求めた。唾液の比重は 1.00 であると仮定した。

RNA 抽出と cDNA 合成

顎下腺からの RNA 抽出は、ISOGEN (RNA 抽出用試薬：株式会社ニッポンジー
ン, 富山, 日本) を使用して、製品の付属説明書の手順に従って行った。右側顎
下腺は全量を使用した。精製した RNA の安定性を評価するために、1.5%アガロ
ースゲルにて電気泳動し、紫外線照明を使用して可視化し、rRNA バンドの強さ
を確認した。RNA 濃度は、分光光度計バイオスペックナノ (株式会社島津製作
所, 神奈川, 日本) を使用して測定した。Total RNA からの Complementary DNA
(cDNA) 合成は、ファーストストランド cDNA 合成キット (Roche Diagnostics Ltd,
Lewes, UK) を使用して行った。

顎下腺 pIgR mRNA の定量的リアルタイム PCR 法による測定

リアルタイム PCR は、LightCycler 480 システム (Roche Applied Science,

Mannheim, Germany) を使用して、製品の付属説明書の手順に従って行った。反応は 20 μ L で行われた (0.5 μ mole の各プライマー、0.1 μ mole TaqMan プローブ)。pIgR 遺伝子配列を増幅するためのプライマー配列は、5'-TGG GAG CTA CAA GTG TGG TC-3' (forward primer) and 5'-GGG TGT CAT TTG GGA ATC CAG -3' (reverse primer) であった。プローブの配列は FAM-5' TTC GAT GTC AGC CTG GAG GTC AGC-3'-TAMRA であり、TaqMan プローブのデザインと合成は、株式会社日本遺伝子研究所で行われた。PCR で産生されたのは 98 塩基対であった。pIgR の PCR による増幅方法は以下の通りである。95°C10 分、続いて 95°C10 秒を 45 サイクル行い、そして 62°C30 秒で行った。ラット β アクチンハウスキーピング遺伝子の発現量測定は、FastStart DNA Master SYBR Green I (Roche Diagnostics Ltd, Lewes, UK) と LightCycler 480 システムを使用して、製品の付属説明書の手順に従って、リアルタイム PCR 法で行われた。FastStart DNA Master SYBR Green I のプライマー配列は forward primer (5'-CTT GTA TGC CTC TGG TCG TA-3')、reverse primer (5'-CCA TCT CTT GCT CGA AGT CT-3') であった。PCR で産生されたのは 98 塩基対であった。変性は、95°C10 分、続いて 95°Cで 10 秒を 40 サイクル行い、60°Cで 10 秒、72°Cで 10 秒行った。遺伝子発現量は、各試料の pIgR mRNA と β -アクチン mRNA の発現量の比で求めた。

免疫組織化学的解析

左側顎下腺組織は、4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液 (pH7.4, 和光純

薬工業株式会社, 大阪, 日本) に 24 時間浸漬して固定後、パラフィンで包埋した。パラフィン包埋した組織は、4 μ m に薄切し、免疫組織化学的解析の前段階として、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色) を行った。免疫組織化学的解析は、シンプルステイン rat MAX-PO (株式会社ニチレイバイオサイエンス, 東京, 日本) のシステムを使用して行われた。脱パラフィン後、抗原回復のため、スライドガラスはクエン酸ナトリウム溶液 (10mM, pH6.0) の中に浸漬し、20 分電子レンジにかけた。その後、0.2% Triton[®]X-100 (MP Biomedicals, LLC, Santa Ana, USA) に 10 分間浸漬し処理をした。次に切片の上に 3% 過酸化水素水を加えたメタノールをのせ、15 分間置き、内因性ペルオキシダーゼのブロッキングを行った。切片の上に、300 倍に希釈したウサギ anti-rat IgA 抗体 (一次抗体: ABBIO TEC, LLC, San Diego, USA) をのせ、室温に 2 時間置いた。その後スライドガラスを PBS で洗い、切片の上にシンプルステイン rat MAX-PO (標識二次抗体: 株式会社ニチレイバイオサイエンス, 東京, 日本) をのせ、室温に 30 分置いた。発色基質には DAB (3,3'-diaminobenzidine-tetrahydrochloride: 和光純薬工業株式会社, 大阪, 日本) を使用し、スライドガラスを、0.02%DAB と 0.0003% 過酸化水素水を加えた TBS に 6 分浸漬し、発色を行った。その後切片はヘマトキシリンで対比染色を行った。ネガティブコントロールの切片には、一次抗体の代わりに、免疫していないウサギ IgG 抗体を使用した。

統計解析

統計解析は SPSS version 17.0 (SPSS Inc) を使用して行った。ラットの体重増加の統計解析は、Bartlett test 後、one-way ANOVA 検定によって行った。他の項目の統計解析は、Kruskal-Wallis test によって行い、そこで有意差がある場合には、多重比較として Steel test を行った。P < 0.05 の場合を、統計学的に有意差ありとした。

結 果

ラットの体重増加と盲腸内容物湿重量

コントロール群、FOS 群、PDX+ lactitol 群の 3 群間において、エサの摂取量に有意な差は認められなかった。実験開始前にラットの体重を測定しているが、ラットの体重はほぼ同じであった。実験期間終了時にラットの体重増加量を測定したところ、実験 1・実験 2 ともに、コントロール群、FOS 群、PDX+ lactitol 群の 3 群間に有意な差は認められなかった（実験 1, $p=0.5$ ；実験 2, $p=0.9$ ：表 2）。実験期間終了時において、FOS 群と PDX+ lactitol 群では、コントロール群に比較して、盲腸内容物の湿重量に有意な増加が認められた ($p<0.05$ ：図 4)

ラット盲腸内容物・顎下腺組織・血清の IgA 濃度

特殊飼料摂取 21 日後において、コントロール群に比較して、FOS 群と PDX+ lactitol 群では、盲腸内容物中 IgA 濃度に有意な増加が認められた ($p<0.05$ ：図 5)。同様に、コントロール群に比較して、FOS 群と PDX+ lactitol 群では、顎下腺組織 IgA 濃度に有意な増加が認められた ($p<0.05$ ：図 6)。しかしながら、血清 IgA 濃度には、3 群間に有意な差は認められなかった ($p=0.5$ ：図 7)。

ラット顎下腺組織の免疫組織化学的解析

実験 1 において、特殊飼料摂取 21 日後に、ラット左側顎下腺は採取され、IgA を確認するために、免疫組織化学的解析を行った。コントロール群の切片では、

明らかな染色像を確認することができなかった (図 8a)。FOS 群 (図 8b) と PDX+ lactitol 群 (図 8c) では腺房細胞に IgA の弱い染色像を確認することができた。しかし、導管には染色像を確認することができなかった。HE 染色の標本でも、免疫染色の標本でも、光学顕微鏡では、腺房細胞周囲の間質に、IgA⁺形質細胞を確認することができなかった。理論的には IgA⁺形質細胞は存在しているはずである。しかし今回は 3 群ともに顎下腺の切片では IgA⁺形質細胞をほとんど確認することができなかった。ネガティブコントロールでは、IgA の染色像は認められなかった。

ラット唾液における分泌速度、IgA 濃度、IgA 分泌速度

10 分間の唾液分泌速度は、コントロール群、FOS 群、PDX+ lactitol 群の 3 群間において、有意な差は認められなかった ($p=0.4$)。唾液中 IgA 濃度は、コントロール群に比較して、FOS 群と PDX+ lactitol 群では、有意な増加が認められた ($p<0.05$: 図 9)。同様に唾液中 IgA 分泌速度は、コントロール群に比較して、FOS 群と PDX+ lactitol 群では、有意な増加が認められた ($p<0.01$: 図 10)。

ラット顎下腺組織における pIgR mRNA 発現量

ラット顎下腺における pIgR 発現量を確認するために、前述した方法で合成した cDNA を使用して、定量的リアルタイム PCR 法を行った。融解曲線分析によっ

て、全ての試料で pIgR PCR 増幅産物の融解曲線は、シングルピークとなっていて、
ことが明らかとなった。ネガティブ試料では、PCR 増幅産物は産生されな
った。アガロースゲルを使用した電気泳動によって、全ての試料の PCR 産物か
らシングルバンドを確認することができた。コントロール群に比較して、FOS
群と PDX+ lactitol 群では、顎下腺組織における pIgR mRNA の発現量
(pIgR/ β -actin) に有意な増加が認められた ($p < 0.05$: 図 11)。

考 察

フラクトオリゴ糖、ポリデキストロース、ラクチトールといった難消化性糖類をラットに摂取させることで、盲腸内容物中 IgA 濃度が増加することは数多くの報告がある^{9, 30-33)}。我々の結果も先行研究の結果と同様に、FOS、そして PDX とラクチトールの組み合わせを添加した特殊飼料で、ラットの盲腸内容物中 IgA 濃度はコントロール飼料を摂取したラットに比較して有意に増加した（図 5）。我々の実験では AIN76 の成分のうち、繊維質といった大腸発酵に影響を与える全ての成分を除去した無繊維飼料をコントロール群に使用した。そして実験群飼料にはコントロール飼料に、FOS、PDX とラクチトールの組み合わせの、難消化性糖類だけを添加した。このモデルは、炭水化物の影響を最小限にし、FOS、PDX、ラクチトールの影響だけを見ることを可能にした。また我々は、唾液腺と唾液中における IgA 濃度を評価し、難消化性糖類摂取が唾液腺と唾液中の IgA に与える影響を明らかにした。これは我々が調べ得た限り、難消化性糖類摂取が唾液腺と唾液中における IgA を増加させることを示した、最初の報告である。さらに我々の実験モデルは、FOS、あるいは PDX+ lactitol の摂取により、血清 IgA 濃度が増加しないことを明らかにした（図 7）。このことは、Delgado らによる、ヤーコン由来の FOS をマウスに摂取させた際に血清 IgA 濃度は増加しなかったという報告と一致している¹⁷⁾。さらに健康な高齢者が難消化性糖類を摂取することで、血清 IgA 濃度に変化はなかったとの報告もある³⁴⁾。今回、コントロール群に比較して、FOS 群と PDX+ lactitol 群では、anti-IgA 抗体に

よる免疫染色像において、顎下腺組織の腺房細胞に弱陽性像を認めたことは興味深い。なぜならこの IgA 弱陽性像は、pIgR に結合した二量体 IgA と考えられ、血清 IgA 濃度とは無関係に、顎下腺組織での二量体 IgA の増加を示唆しているからである。

今回の anti-IgA 抗体による免疫染色像において、FOS 群と PDX+ lactitol 群に弱陽性像しか認められなかったのは、我々の用いた免疫染色での前処置が IgA を検出するのに最適化されていない可能性が高い。そのため、FOS 群と PDX+ lactitol 群で染色像に顕著な違いが見られなかったと考えられる。今後、IgA を検出するために最適な固定方法や抗原回復法を検討することが必要である。

免疫染色像では、顎下腺の腺房細胞に IgA⁺形質細胞を確認することができなかった。このことは、顎下腺組織での二量体 IgA の増加は、形質細胞の増加によるものではなく、すでに形質細胞内に存在している単量体 IgA が二量体 IgA に変換される反応が促進し、さらに二量体 IgA が pIgR に結合する反応も促進し、顎下腺組織に誘導されたことが要因と考えられる。コントロール群に比較して、FOS 群と PDX+ lactitol 群では、顎下腺組織 IgA 濃度、唾液中 IgA 濃度、そして唾液中 IgA 分泌速度が有意に増加した (図 6, 8, 9)。このことは、難消化性糖類を摂取することが顎下腺における IgA を増加させ、唾液中の二量体 IgA を増加させることを示唆している。この結果は外来性細菌やウイルスによる感染症、例えば上気道感染症 (upper respiratory tract infection : URTI) の予防に効果的であると期待している。FOS、PDX、ラクチトールといった難消化性糖類の

摂取は、口腔内の細菌により発酵が引き起こされ、結果的にう蝕が誘発されると誤解されるかもしれない。う蝕は歯の表面に付着したデンタルプラーク内の pH が下がり、歯面のナトリウムやカルシウムといった無機質が失われることにより誘発される³⁵⁾。歯の表面から無機質が喪失すると、通常歯面にう窩が形成される。デンタルプラーク内の低い pH は、*Streptococcus mutans* による単糖類および二糖類の代謝による発酵の結果引き起こされる。しかしながら、口腔内において *Streptococcus mutans* は、FOS、PDX、ラクチトールといった難消化性糖類を代謝するために保持できる時間が非常に短い。実際 *Streptococcus mutans* は口腔内において難消化性糖類をほとんど代謝しない³⁶⁾。したがって、FOS、PDX、ラクチトールといった難消化性糖類はう蝕を誘発するリスクは低いと考えられる。先行研究でも難消化性糖類摂取はう蝕とは関連が無いことが報告されている³⁷⁾。また、少量の難消化性糖類を摂取することは下痢を誘発しないとの報告がある³⁸⁾。しかしながら、ヒトの食事で FOS、PDX、ラクチトールといった難消化性糖類を摂取する場合には、下痢を誘発させずに上気道感染症 (URTI) のリスクを減少させることができる適正量を慎重に考慮する必要がある。FOS、PDX、ラクチトールの摂取により、ラット顎下腺組織における pIgR mRNA の発現量が有意に増加し、唾液中 IgA 濃度が有意に増加した (図 9, 11)。Nakamura らは、難消化性糖類摂取により腸管における pIgR の発現が増加したことを報告している^{8, 16)}。pIgR は前述の通り、二量体 IgA の上皮性細胞層を通過しての管腔側への輸送や、粘膜に分泌された IgA のタンパク分解酵素による分解の阻止

等、非常に重要な役割を担っている。先行研究では、pIgR 発現の抑制は唾液中の sIgA の分泌量を減少させる、と報告されている⁽³⁹⁾。したがって、顎下腺における pIgR 発現量の増加は唾液中 IgA 濃度と唾液中 IgA 分泌速度を増加させると考えられる。

Carpenter らは、唾液中への IgA の分泌量は唾液腺に与える自律神経の影響によって制御されていることを動物実験により明らかにしている。生体内における自律神経刺激は膜表面における pIgR 発現量を増加させる。そしてラット唾液腺細胞をアドレナリンで刺激すると、IgA の取り込みが増加し pIgR の発現量が増加するということが、細胞レベルの実験では明らかにされている⁽⁴⁰⁾。Kimura らは、2 つの独立した G タンパク質共役受容体 (G-protein coupled receptors : GPCR) である GPR41 と GPR43 が、脂肪組織や腸や末梢神経系の交感神経節に多量に発現している、ということを最近の研究成果として報告している。また GPR41 や GPR43 は短鎖脂肪酸によって活性化され⁽⁴¹⁻⁴³⁾、その短鎖脂肪酸は、大腸に到達した難消化性糖類を腸内細菌が代謝し、腸内発酵の結果生産されることが報告されている⁽⁶⁾。大腸炎モデルマウスを使用した実験では、難消化性糖類を摂取させることにより大腸で増加した短鎖脂肪酸の一つである酪酸が、大腸炎モデルマウスの大腸の粘膜固有層における制御性 T 細胞の分化を誘発し、大腸炎の発生を抑制したことが報告されている⁽⁴⁴⁾。短鎖脂肪酸は遠隔臓器に影響を与えることが報告されており⁽⁴⁵⁾、そして唾液腺は自律神経の影響を非常に大きく受けていることが報告されている⁽⁴⁶⁾。したがって、今後の実験では、難

消化性糖類を摂取することにより大腸で産生される短鎖脂肪酸が、自律神経系を介して、唾液腺と唾液中の IgA に与える影響について検討することが必要である^{40, 47-49)}。

結 論

我々は FOS、PDX、ラクチトールといった難消化性糖類摂取により、ラット盲腸内だけでなく唾液腺においても IgA が増加するかどうか、その際に唾液中の IgA レベルが変化するか、唾液腺における pIgR 発現量が変化するかを検討した。そして以下の結果を得た。

- ・ 難消化性糖類配合のエサを摂取したラットでは、盲腸内容物中だけでなく、顎下腺・唾液中 IgA 濃度、唾液中 IgA 分泌速度が有意に増加した。
- ・ 血清 IgA 濃度は、群間差がみられなかった。
- ・ 難消化性糖類配合のエサを摂取したラットでは、顎下腺組織における pIgR mRNA 発現量が有意に増加した。

以上のことから、難消化性糖類を摂取することが顎下腺における IgA 増加に影響する新たな知見を得た。さらに顎下腺局所における IgA 増加と pIgR 発現が、唾液中 IgA 濃度に影響を与えていることを明らかにした。今回の発見により難消化性糖類を摂取することが、盲腸内容物中だけでなく、口腔粘膜における免疫にも影響を与えていることが示唆された。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、多くのご指導をいただきました神奈川歯科大学大学院口腔科学講座環境病理学分野槻木恵一教授に深く感謝申し上げます。また、論文作成に終始ご協力いただきました神奈川歯科大学大学院唾液腺健康医学分野猿田樹理准教授ならびに東雅啓特任助教に深く感謝申し上げます。本研究を遂行するにあたり、多くのご助言をいただきました福岡女子大学国際文理学部食・健康学科高橋徹准教授に深く感謝申し上げます。さらに免疫染色の方法に関しまして、貴重なご助言をいただきました静岡大学農学部森田達也教授に深くお礼申し上げます。最後にいつも快く実験をお手伝いいただきました神奈川歯科大学大学院口腔科学講座環境病理学分野教室員の皆様に厚くお礼申し上げます。

文 献

1. 清野宏編集. 臨床粘膜免疫学. 1 版. シナジー:東京;2010. 246-255.
625-632.
2. 清野宏, 石川博通, 名倉宏編集. 粘膜免疫 腸は免疫の司令塔. 1 版.
中山書店:東京;2003. 2-30. 113-133.
3. Baumann J, Park CG, & Mantis NJ (2010) Recognition of secretory IgA by DC-SIGN: Implications for immune surveillance in the intestine. *Immunol Lett* 131, 59-66.
4. Walton GE, Lu C, Trogh I et al. (2012) A randomised, double-blind, placebo controlled cross-over study to determine the gastrointestinal effects of consumption of arabinoxylanoligosaccharides enriched bread in healthy volunteers. *Nutr J* 11, 36.
5. Velez E, Castillo N, Mesón O et al. (2013) Study of the effect exerted by fructo-oligosaccharides from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) root flour in an intestinal infection model with *Salmonella Typhimurium*. *Br J Nutr* 109, 1971-9.
6. Mitsuoka T (2014) Development of functional foods. *Biosci Microbiota Food Health*. 33, 117-28.
7. Kumar V, Sinha AK, Makkar HP et al. (2012) Dietary roles of non-starch polysaccharides in human nutrition: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*.

52. 899-935.

8. Nakamura Y, Nosaka S, Suzuki M et al. (2004) Dietary fructooligosaccharides up-regulate immunoglobulin A response and polymeric immunoglobulin receptor expression in intestines of infant mice. Clin Exp Immunol 137, 52-58.
9. Peuranen S, Tiihonen K, Apajalahti J et al. (2004) Combination of polydextrose and lactitol affects microbial ecosystem and immune responses in rat gastrointestinal tract. Br J Nutr 91, 905-914.
10. Yasui H, Nagaoka N, Miyake A et al. (1992) Detection of Bifidobacterium strains that induce large quantities of IgA. Microb Ecol Health Dis 5, 155-162.
11. Takahashi T, Nakagawa E, Nara T et al. (1998) Effects of orally ingested Bifidobacterium longum on the mucosal IgA response of mice to dietary antigens. Biosci Biotechnol Biochem 62, 10-15.
12. Frece J, Kos B, Svetec IK et al. (2009) Symbiotic effect of Lactobacillus helveticus M92 and prebiotics on the intestinal microflora and immune system of mice. J Dairy Res 76, 98-104.
13. Goubeyre P, Desbuard N, Grémy G et al. (2012) Exposure to a galactooligosaccharides/inulin prebiotic mix at different developmental time points differentially modulates immune responses in mice. J Agric Food

Chem 60, 11942-11951.

14. Hiroyuki Tezuka, Yukiko Abe, Jumpei Asano, et al. (2011) Prominent role for plasmacytoid dendritic cells in mucosal T cell-independent IgA induction. *Immunity* 34, 247-257.

15. Norderhaug IN, Johansen FE, Schjerven H et al. (1999) Regulation of the formation and external transport of secretory immunoglobulins. *Crit Rev Immunol* 19, 481-508.

16. Nakamura Y, Terahara M, Iwamoto T et al. (2011) Upregulation of polymeric immunoglobulin receptor expression by the heat-inactivated potential probiotic *Bifidobacterium bifidum* OLB6378 in a mouse intestinal explant model. *Scand J Immunol* 75, 176-183.

17. Delgado GT, Thomé R, Gabriel DL et al. (2012) Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)-derived fructooligosaccharides improves the immune parameters in the mouse. *Nutr Res* 32, 884-892.

18. Kotani Y, Shinkai S, Okamatsu H et al. (2010) Oral intake of *Lactobacillus pentosus* strain b240 accelerates salivary immunoglobulin A secretion in the elderly: A randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Immun Ageing* 7, 11.

19. Otsuki T, Shimizu K, Iemitsu M et al. (2012) *Chlorella* intake attenuates reduced salivary SIgA secretion in kendo training camp

participants. *Nutr J* 11, 103.

20. Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ et al. (2011) Position statement.

Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev* 17, 6-63.

21. Ostergaard PA (1980) Clinical and immunological features of transient IgA deficiency in children. *Clin Exp Immunol* 40, 561-565.

22. Scalabrin DM, Mitmesser SH, Welling GW et al. (2012) New prebiotic blend of polydextrose and galacto-oligosaccharides has a bifidogenic effect in young infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 54, 343-52.

23. Lecerf JM, Dépeint F, Clerc E et al. (2012) Xylo-oligosaccharide (XOS) in combination with inulin modulates both the intestinal environment and immune status in healthy subjects, while XOS alone only shows prebiotic properties. *Br J Nutr.* 28, 1847-58.

24. Walton GE, Lu C, Trogh I et al, (2012) A randomised, double-blind, placebo controlled cross-over study to determine the gastrointestinal effects of consumption of arabinoxylan-oligosaccharides enriched bread in healthy volunteers. *Nutr J*, 11, 36.

25. Stuyven E, Van den Broeck W, Nauwynck H et al, (2010) Oral administration of beta-1,3/1,6-glucan Macrogard fails to enhance the mucosal immune response following oral F4 fimbrial immunisation in gnotobiotic pigs. *Vet Immunol Immunopathol*, 137, 291-7.

26. Gouveia EM, Silva IS, Nakazato G et al. (2013) Action of phosphorylated mannanoligosaccharides on immune and hematological responses and fecal consistency of dogs experimentally infected with enteropathogenic *Escherichia coli* strains. *Braz J Microbiol*, 44, 499-504.
27. Frost GS, Walton GE, Swann JR et al. (2014) Impacts of plant-based foods in ancestral hominin diets on the metabolism and function of gut microbiota in vitro. *MBio*. 5.
28. Otles S, Ozgoz S (2014) Health effects of dietary fiber. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 13, 191-202.
29. Cresci A, Orpianesi C, Silvi S et al, (1999) The effect of sucrose or starch-based diet on short-chain fatty acids and faecal microflora in rats. *J Appl Microbiol*, 86, 245-50.
30. Yasuda A, Inoue K, Sanbongi C et al. (2012) Dietary supplementation with fructooligosaccharides attenuates allergic peritonitis in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 422, 546-550.
31. Faval F, Mañkivuokko H, Siljander-Rasi H et al. (2007) Effect of polydextrose on intestinal microbes and immune functions in pigs. *Br J Nutr* 98, 123-133.
32. Watzl B, Gierbach S, & Roller M (2005) Oligofructose and immunomodulation. *Br J Nutr* 93, Suppl. 1, S49-S55.

33. Swanson KS, Grieshop CM, Flickinger EA et al. (2002) Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. *J Nutr* 132:980-989.
34. Bunout D, Hirsch S, Pía de la Maza M et al. (2002) Effects of prebiotics on the immune response to vaccination in the elderly. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 26, 372-376.
35. Struzycka I (2014) The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol* 63, 127-35.
36. Sakallioğlu Ö, Güvenç IA, Cingi C (2014) Xylitol and its usage in ENT practice. *J Laryngol Otol*, 128, 580-5.
37. Zero DT (2008) Are sugar substitutes also anticariogenic? *J Am Dent Assoc* 139.
38. Oku T, Nakamura S, Ichinose M (2005) Maximum permissive dosage of lactose and lactitol for transitory diarrhoea, and utilizable capacity for lactose in Japanese female adults. *J Nutr Sci Vitaminol*, 51, 51-7.
39. Kimura F, Aizawa K, Tanabe K et al. (2008) A rat model of saliva secretory immunoglobulin: a suppression caused by intense exercise. *Scand J Med Sci Sports* 18, 367-372.

40. Carpenter GH, Proctor GB, Ebersole LE (2004) Secretion of IgA by rat parotid and submandibular cells in response to autonomic stimulation in vitro. *Int Immunopharmacol* 4, 1005-14.
41. Kimura I, Inoue D, Maeda T et al. (2011) 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.
42. Inoue D, Tsujimoto G, Kimura I (2014) Regulation of Energy Homeostasis by GPR41. *Front Endocrinol (Lausanne)* 5.
43. Kimura I, Inoue D, Hirano K (2014) The SCFA Receptor GPR43 and Energy Metabolism. *Front Endocrinol (Lausanne)* 5.
44. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S et al. (2013) Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 19, 446-50.
45. Sakata T (1987) Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors. *Br J Nutr* 58, 95-103.
46. Sabbadini E, Berczi I (1995) *Neuroimmunomodulation* 2, 184-202.
47. Proctor GB, Carpenter GH, Garrett JR. Sympathetic decentralization abolishes increased secretion of immunoglobulin A evoked by

parasympathetic stimulation of rat submandibular glands. J Neuroimmunol 109, 147-54.

48. Proctor GB, Garrett JR, Carpenter GH et al. (2003) Salivary secretion of immunoglobulin A by submandibular glands in response to autonomic infusions in anaesthetised rats. J Neuroimmunol 136, 17-24.

49. Proctor GB, Carpenter GH (2007) Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. Auton Neurosci 133, 3-18.

付図説明

表 1

コントロール群飼料および実験群飼料組成

表 2

特殊飼料摂取 21 日後のラット体重増加

図 1

IgA の細胞内輸送メカニズム

図 2

唾液と唾液腺の概要

図 3

難消化性糖類の概要

図 4

盲腸内容物湿重量（各群 n=5）

箱ひげ図は、中央値、第 1 四分位、第 3 四分位、最小値、最大値を示す。

有意差は、Kruskal-Wallis test と多重比較検定の Steel test によって測定された（* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ）。

図 5

盲腸内容物中 IgA 濃度（各群 n=5）

箱ひげ図は、中央値、第 1 四分位、第 3 四分位、最小値、最大値を示す。

有意差は、Kruskal-Wallis test と多重比較検定の Steel test によって測定された（* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ）。

図 6

顎下腺組織中 IgA 濃度（各群 n=5）

箱ひげ図は、中央値、第 1 四分位、第 3 四分位、最小値、最大値を示す。

有意差は、Kruskal-Wallis test と多重比較検定の Steel test によって測定された ($*p < 0.05$)。

図 7

血清 IgA 濃度 (各群 $n=5$)

箱ひげ図は、中央値、第 1 四分位、第 3 四分位、最小値、最大値を示す。

コントロール群、FOS 群、PDX+ lactitol 群の 3 群間において、IgA 濃度の中央値では、Kruskal-Wallis test を用いた統計解析で有意な差は認められなかった ($p=0.5$)。

図 8

顎下腺組織における IgA タンパクの免疫組織化学的解析

コントロール群 (a)、FOS 群 (b)、PDX+ lactitol 群 (c)

コントロール群に比較して、FOS 群と PDX+ lactitol 群では、IgA の免疫学的染色像を確認することができた。

拡大率 (400×)

図 9

唾液中 IgA 濃度 (各群 $n=6$)

箱ひげ図は、中央値、第 1 四分位、第 3 四分位、最小値、最大値を示す。

有意差は、Kruskal-Wallis test と多重比較検定の Steel test によって測定された ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$)。

図 10

唾液中 IgA 分泌速度 (各群 $n=6$)

箱ひげ図は、中央値、第 1 四分位、第 3 四分位、最小値、最大値を示す。

有意差は、Kruskal-Wallis test と多重比較検定の Steel test によって測定された ($**p < 0.01$)。

図 11

顎下腺組織における pIgR mRNA 発現量 (各群 $n=6$)

箱ひげ図は、中央値、第 1 四分位、第 3 四分位、最小値、最大値を示す。

有意差は、Kruskal-Wallis test と多重比較検定の Steel test によって測定された ($*p < 0.05$)。

表 1. コントロール群飼料および実験群飼料組成 (%)

Ingredient	Diet groups		
	Control	FOS	PDX+Lactitol
Casein	20.0	20.0	20.0
Sucrose	70.0	65.0	65.0
Corn oil	5.00	5.00	5.00
AIN76 M-Mix	3.50	3.50	3.50
AIN76 V-Mix	1.00	1.00	1.00
DL-Methionine	0.300	0.300	0.300
Choline bitartrate	0.200	0.200	0.200
Fructooligosaccharide	-	5.00	-
Polydextrose	-	-	2.50
Lactitol	-	-	2.50
Total (%)	100	100	100

FOS: fructooligosaccharide

PDX: polydextrose

表 2. 特殊飼料摂取 21 日後のラット体重増加

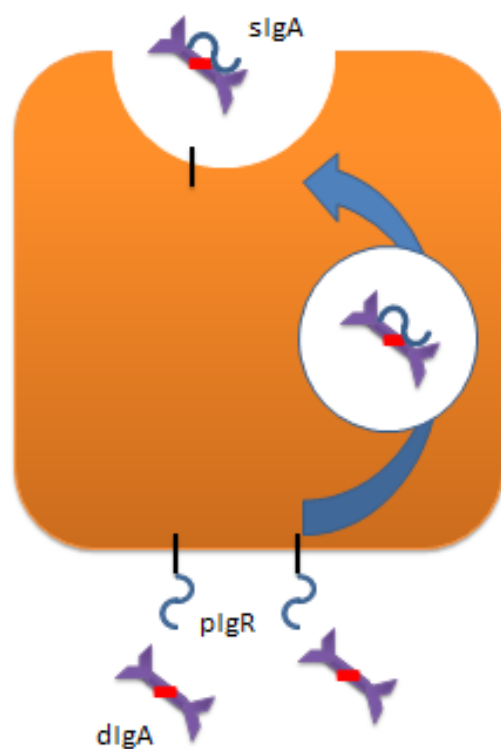
Group	Control		FOS		PDX + Lactitol	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Experiment 1	139.6	1.7	138.0	2.8	136.4	2.2
Experiment 2	137.0	5.0	135.7	4.4	134.2	1.6

実験 1 ・実験 2 とともに、one-way ANOVA 検定による統計解析の結果、コントロール群、FOS 群、PDX+ lactitol 群の 3 群間に有意な差は認められなかった（実験 1, $p=0.5$; 実験 2, $p=0.9$ ）。

FOS: fructooligosaccharide

PDX: polydextrose

図 1



polymeric immunoglobulin
receptor : pIgR

粘膜上皮細胞の基底膜上
に発現

ダイマー型IgA(dIgA)や
IgMが分泌液中に輸送さ
れる場合、それらIgのレセ
プターとして作用

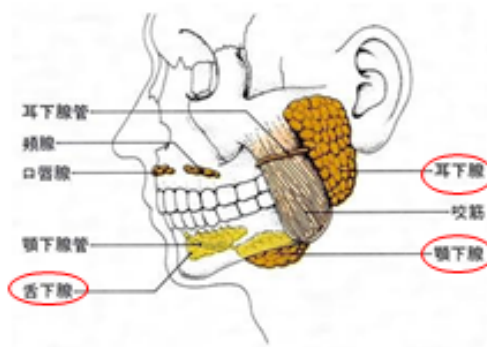
図 2

唾液

ヒトの場合：1日の分泌量 1,000～1,500ml
うちsIgA分泌量 50～200mg

唾液腺

三大唾液腺：耳下腺・顎下腺・舌下腺



- ・ 無菌
- ・ M細胞は存在しない
- ・ 腸管の様なIgA産生誘導機構は存在しない
- ・ 交感神経・副交感神経の二重支配を受ける

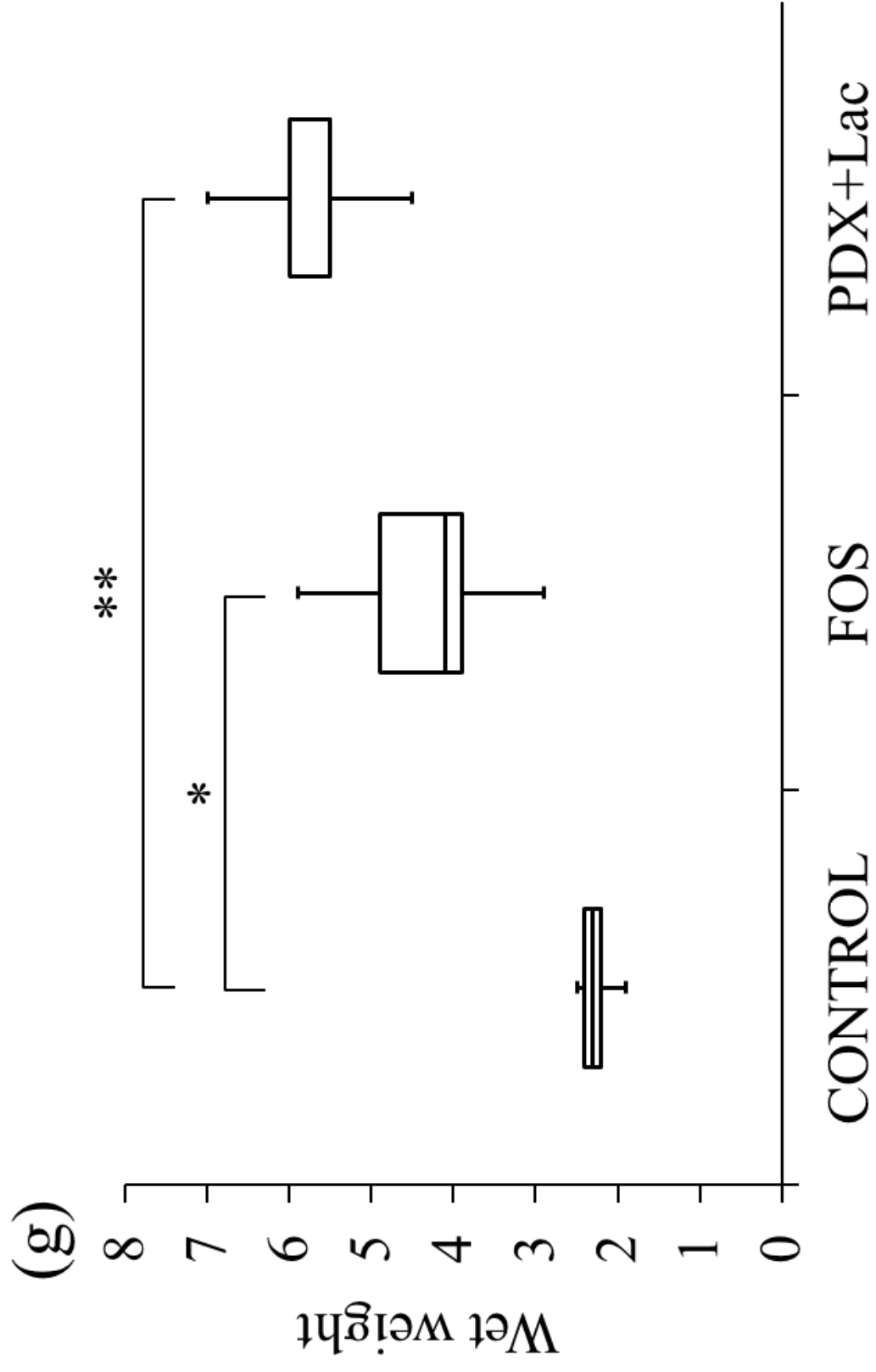
図 3

難消化性糖類 (indigestible carbohydrate)

フラクトオリゴ糖：ショ糖に1～3個の果糖が結合したもの。
(FOS) 難消化性のオリゴ糖。
にんにく、アスパラガス、ごぼう、ハチミツ。

ポリデキストロース：トウモロコシから作られた水溶性食繊維。
(PDX) ブドウ糖・ソルビトールを混ぜ合わせ、
クエン酸を加えて作成。

ラクチトール：還元乳糖。
(Lac) ラクトースのグルコース部分を還元した形の
化合物。
難消化性の糖アルコール。



4

图 5

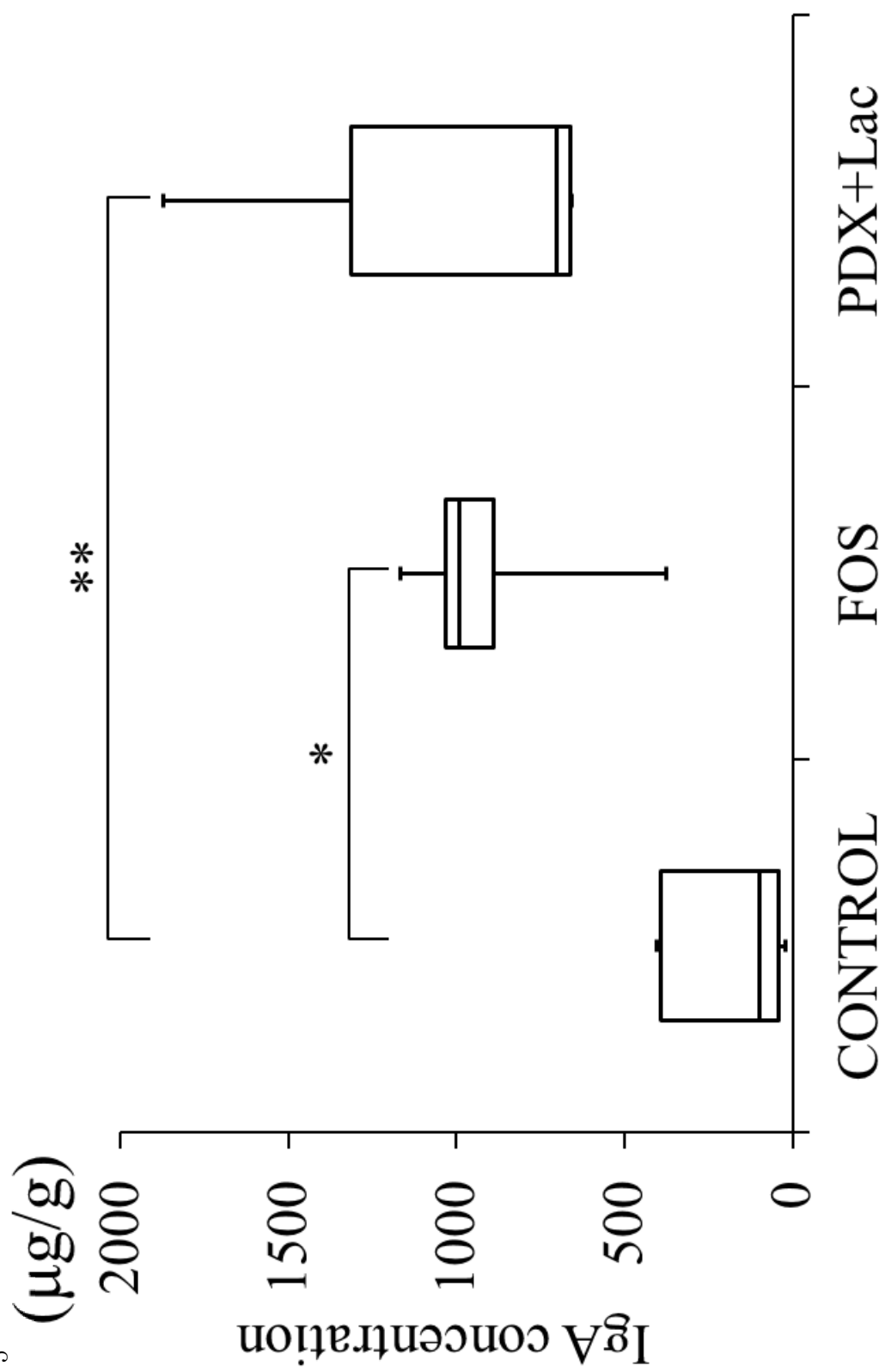


图 6

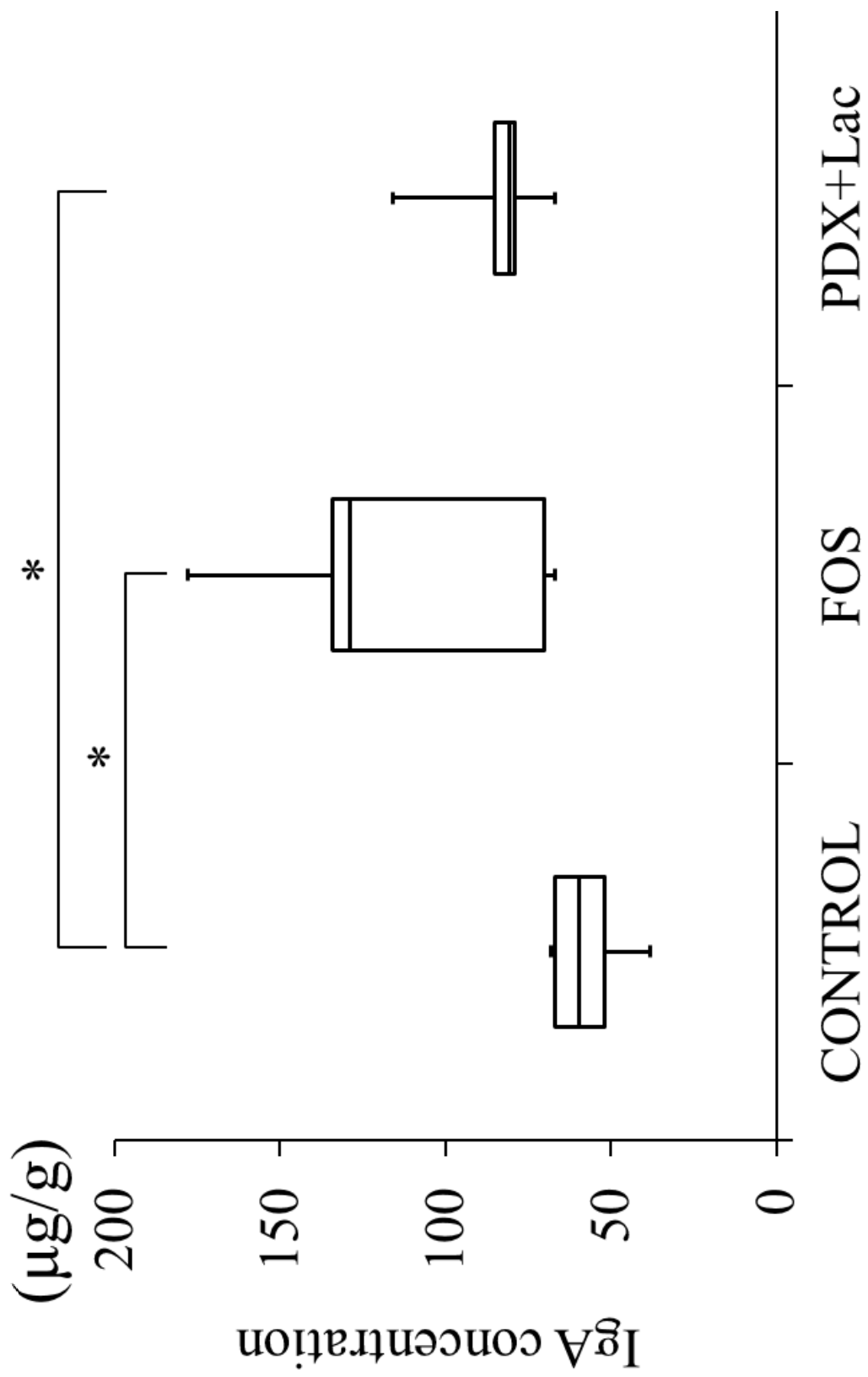
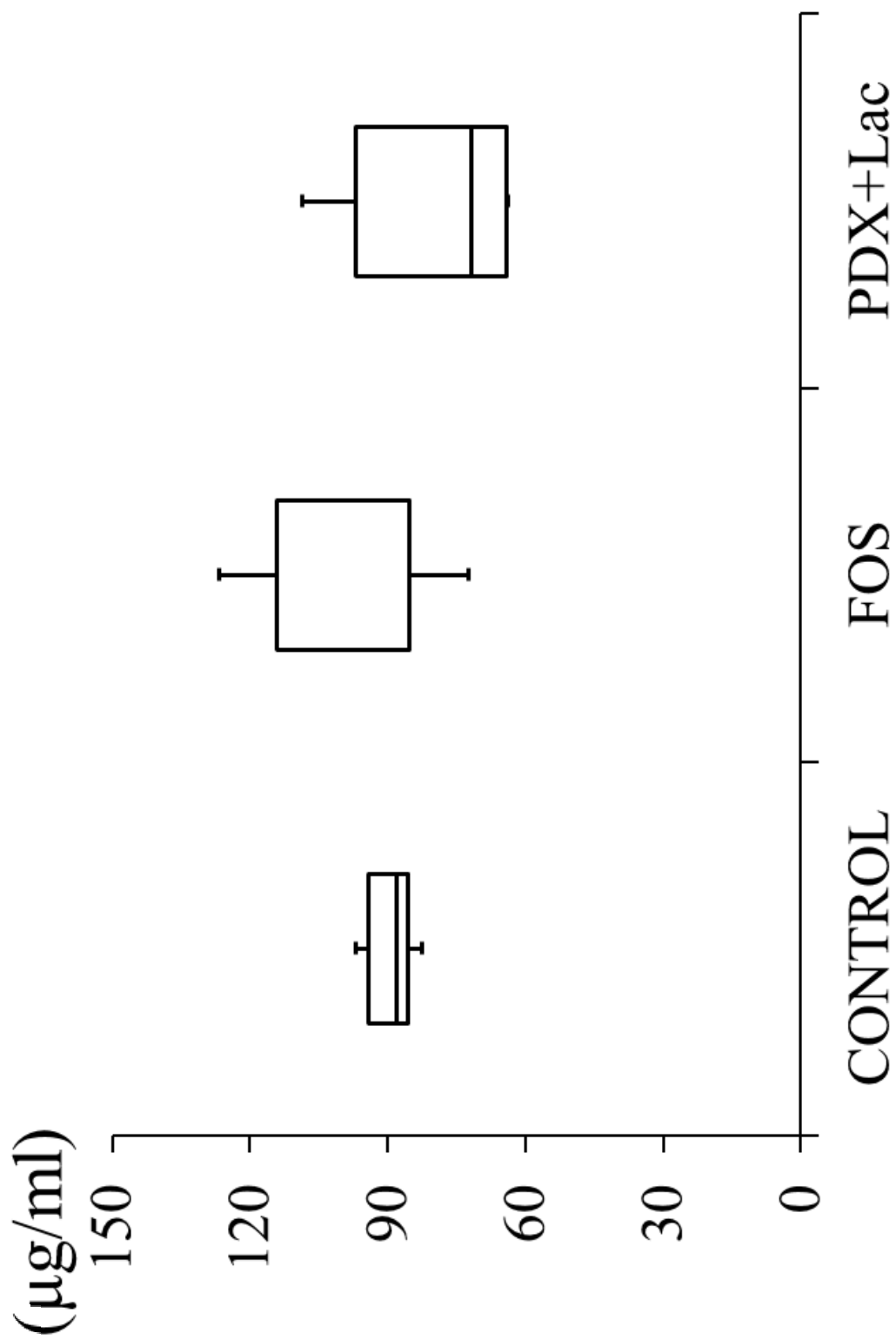


Figure 7



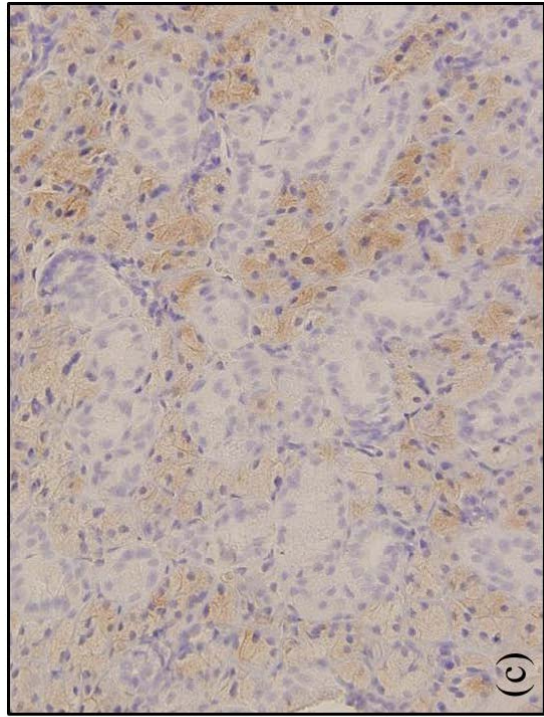
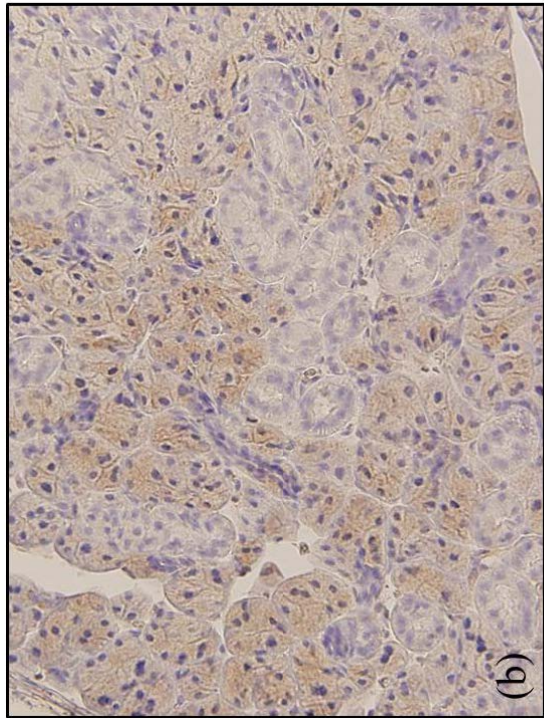
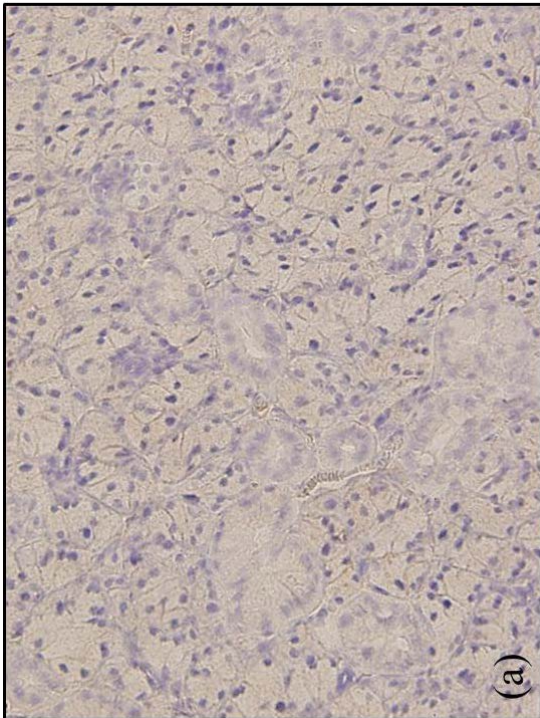


图 9

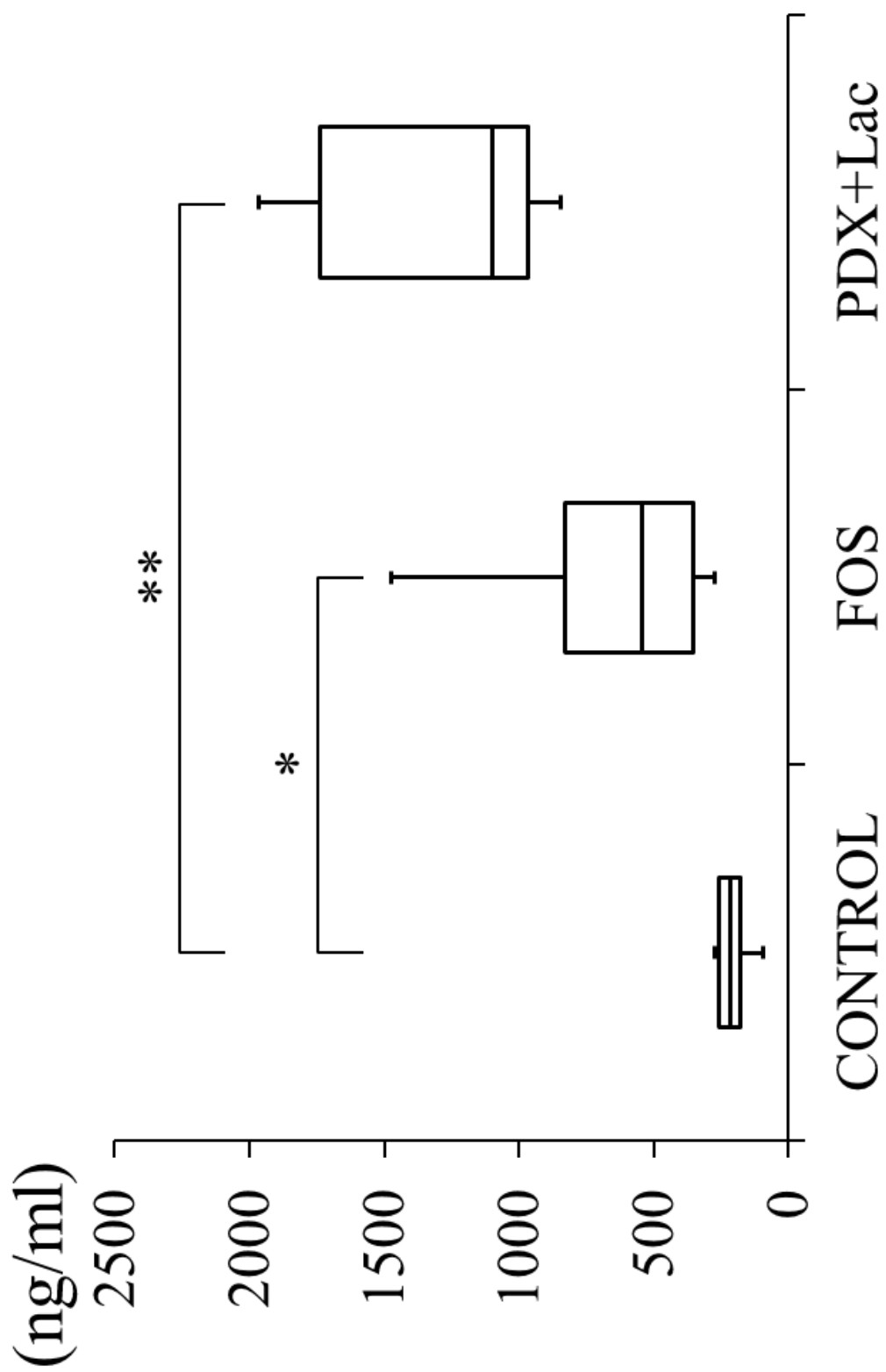
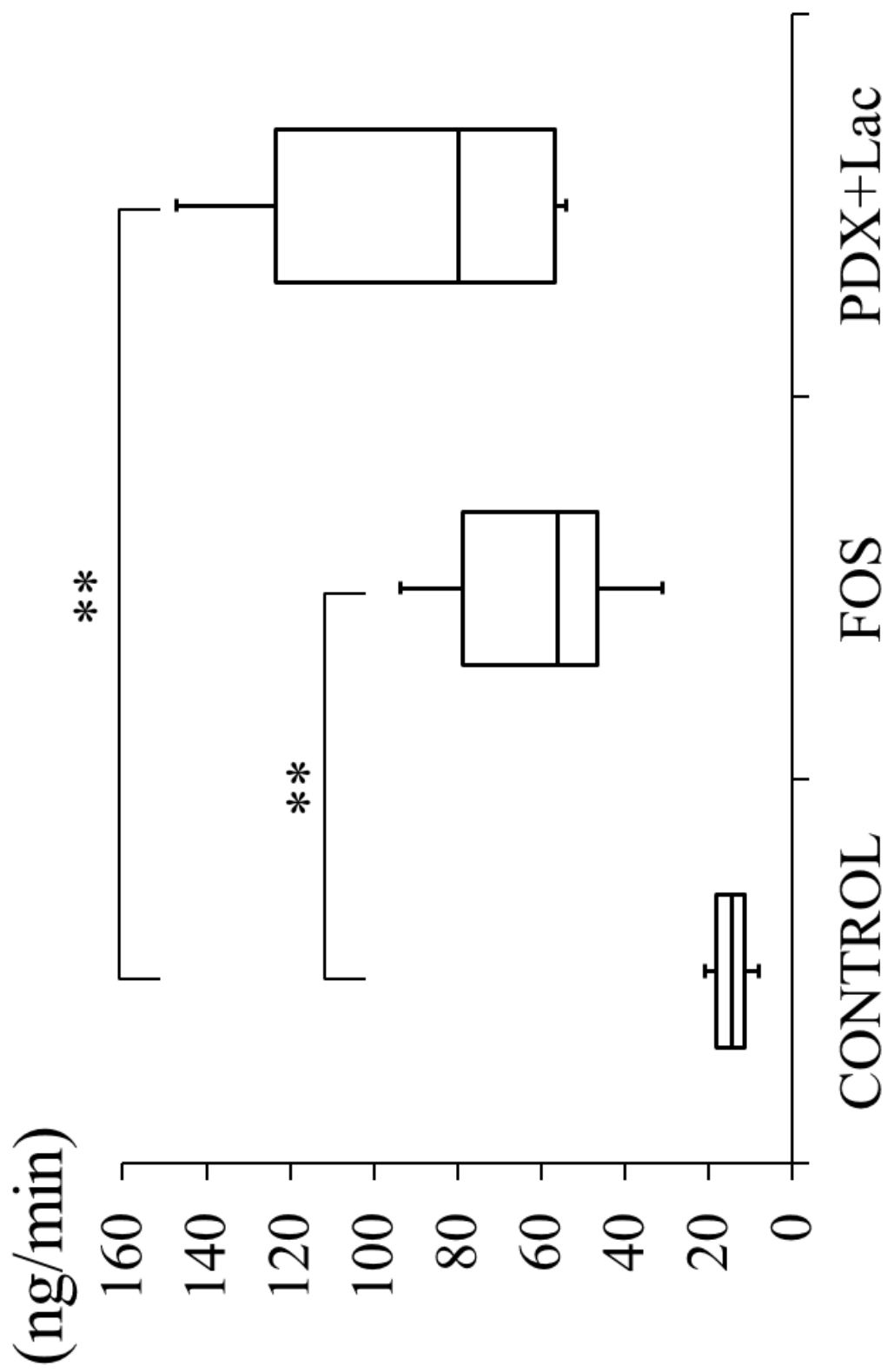


Figure 10



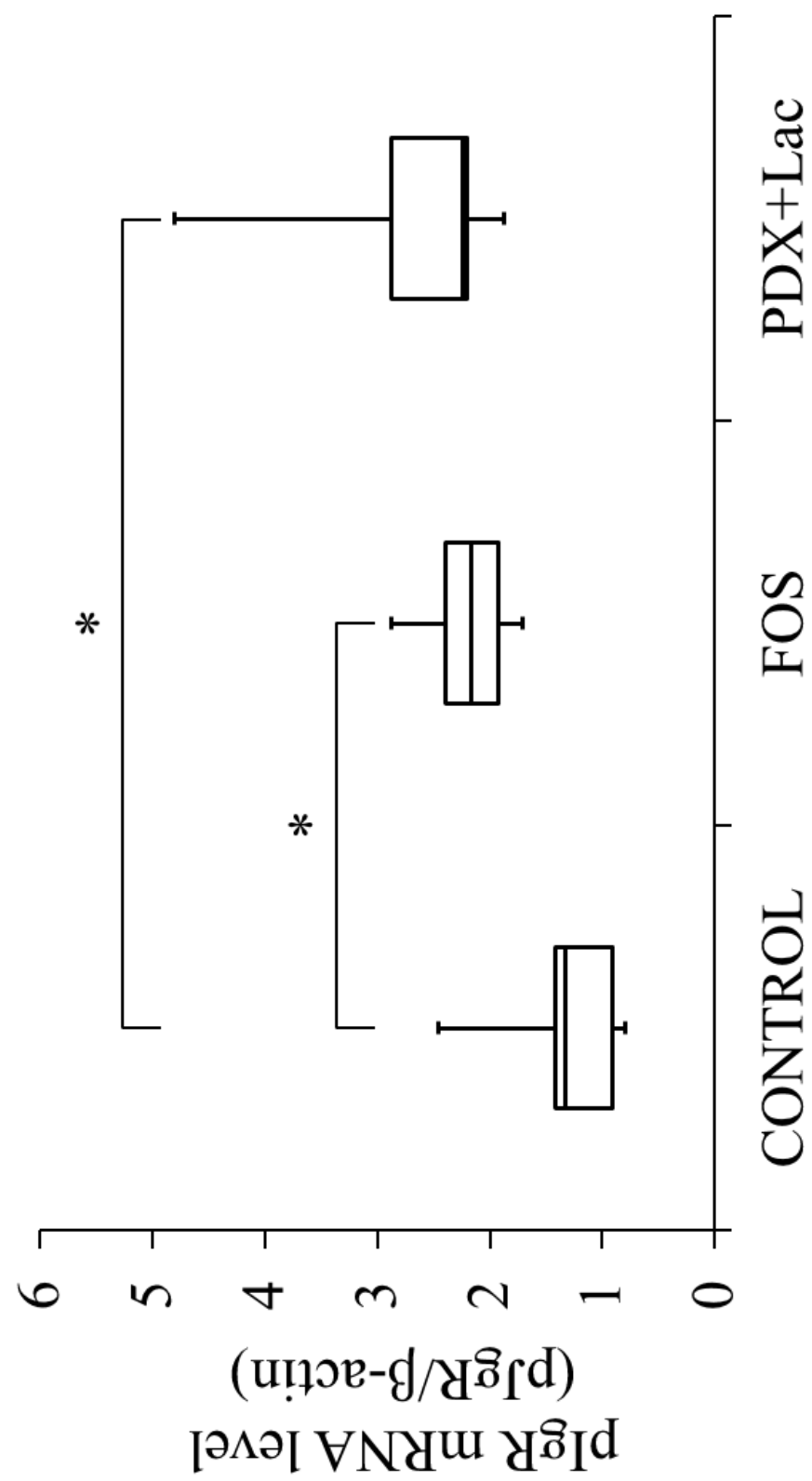


图 11