

<令和4年度助成>

食品成分による口腔内免疫の制御を介したフレイル予防への貢献

鈴木 夏子

(北海道科学大学 薬学部)

1. 背景および目的

近年、要介護状態に陥る前段階として位置づけられるフレイルが高齢者において問題視されており、健康寿命に直結する重要課題の一つとして国を挙げて取り組まれている。フレイルのうち口腔機能低下症を中心としたオーラルフレイルは、専門的治療への移行予防を目的とした事前介入の対象であり、診断項目には口腔衛生状態不良、口腔乾燥、舌口唇運動機能低下、咬合力低下、低舌圧、咀嚼機能低下、嚥下機能低下が挙げられる。中でも、口腔内衛生状態不良や口腔乾燥は、口腔内を含む全身免疫の低下に繋がるため注意が必要である。

一方、口腔内免疫は、従来から指標として使用される IgA や、近年注目されている口腔内ペプチド (β -defensin) により評価が可能である。また、これらの口腔内免疫に関与する物質は、歯肉や唾液腺で発現し、IgA については B 細胞の濾胞上皮粘膜循環帰巢経路により誘導され、 β -defensin (DEFB) については構成的に発現する DEFB 1 と誘導的に発現する DEFB 2 が確認されており、加齢においてはこれら免疫物質の低下が感染症の発症に寄与することも示唆されている。また、これらの免疫関連物質は、薬剤や日常的に摂取される食品成分により影響を受けることが報告されているが、加齢を考慮し、食品成分の影響・効果の評価した例は少ない。

そこで本研究では、老齢マウスにおける口腔内免疫の変動に対するポリフェノール類の効果を明らかにすることで、高齢者フレイルの予防に貢献すること目的とした。使用する食品成分については、免疫調節作用が期待される Epigallocatechin Gallate (EGCG)

および Curcumin (CUR) の 2 種のポリフェノールを用いて検討を行った。

2. 方法

2.1 唾液の回収および測定

7 または 70 週齢 C57BL/6J 系統雄マウスは、ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社より購入した。

2.2 唾液の回収および測定

麻酔後、ピロカルピン塩酸塩を 1 mg/kg 投与し、10 分間唾液サンプルを採取した。採取した唾液サンプルを遠心分離し、DEFB1/2 および IgA 濃度を ELISA kit を用いて測定した。

2.3 唾液腺の DEFB1/2 および IgA 発現量の測定

EGCG および CUR 投与後、各マウスの唾液腺から total RNA を回収し、リアルタイム PCR により、DEFB 1/2 の mRNA 発現量を測定した。また、DEFB1/2 および IgA のタンパク質発現量は、ウェスタンブロット法により測定した。

2.4 統計解析

2 群以上の平均値間の有意差検定は、Dunnett の検定または Student の t 検定を用いて解析を行った。統計的有意差は $p < 0.05$ または 0.01 と定義した。

3. 結果

唾液量および唾液中タンパク質量について老齢群と若齢群で比較を行った結果、老齢群における有意な減少が確認された。また、老齢群に対して EGCG および CUR を投与したところ、唾液量および唾液中タンパク質量の有意な増加がみられ、EGCG および CUR による唾液分泌能の回復が示された (図 1)。

次に、老齢マウスにおけるポリフェノール類の各指標への影響を評価した。いずれの成分においても、

唾液中 DEFB1 分泌量を有意に増加させることが確認された。また、EGCG については唾液腺中発現量の増加も確認されたが、CUR では有意に減少したことから、EGCG は分泌および生成を促進する一方で、CUR は生成に比較して分泌を優位に促進する作用があることが示唆された (図 2)。

DEFB2 分泌量については、EGCG により有意に増加し、CUR では増加傾向がみられた。また、唾液腺組織中における DEFB2 発現量はいずれの成分でも有意に増加した。DEFB2 は誘導的に発現すること、

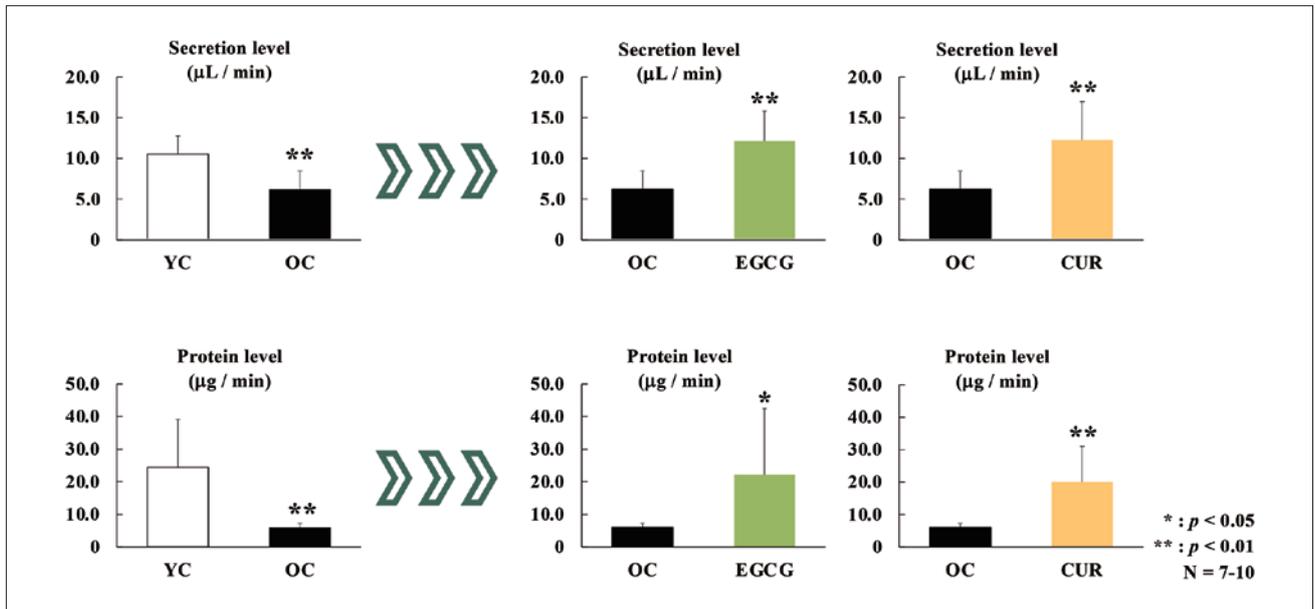


図 1 加齢による唾液量 / タンパク質量の変動と EGCG および CUR の影響

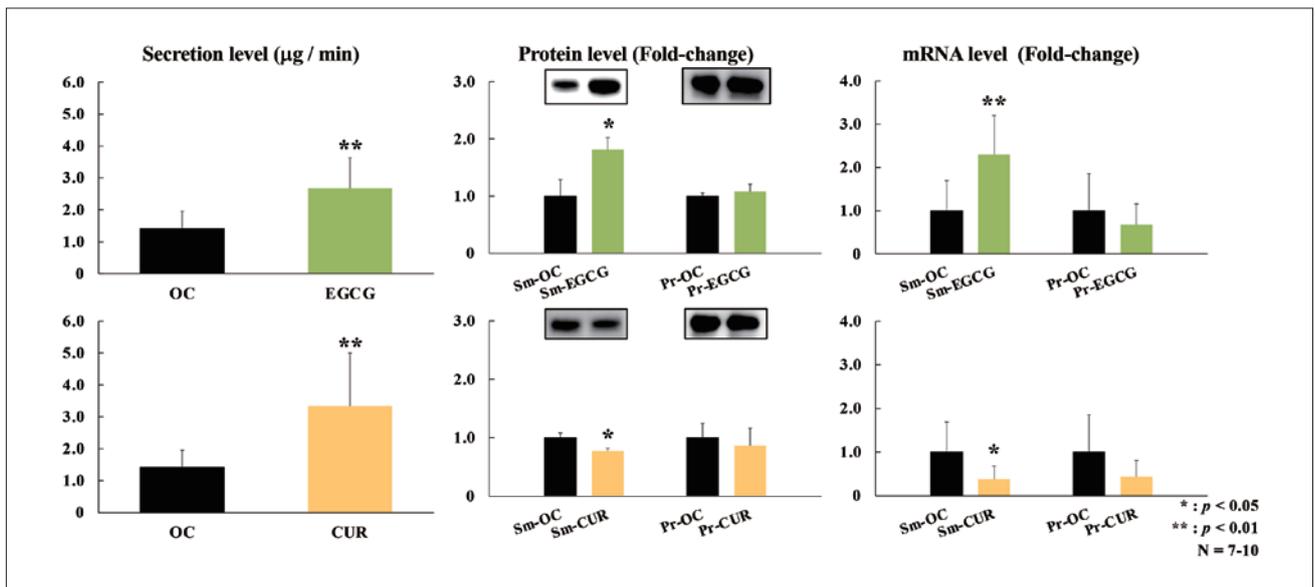


図 2 老齢マウスにおける DEFB1 分泌 / 発現への EGCG および CUR の影響

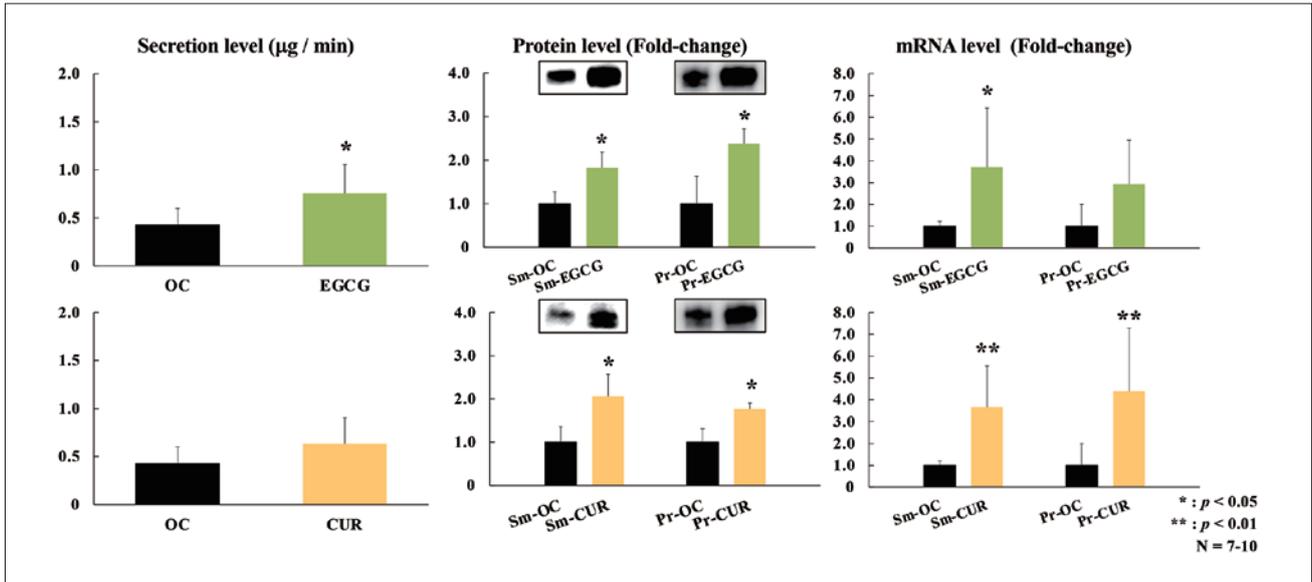


図3 老齢マウスにおける DEF2 分泌 / 発現への EGCG および CUR の影響

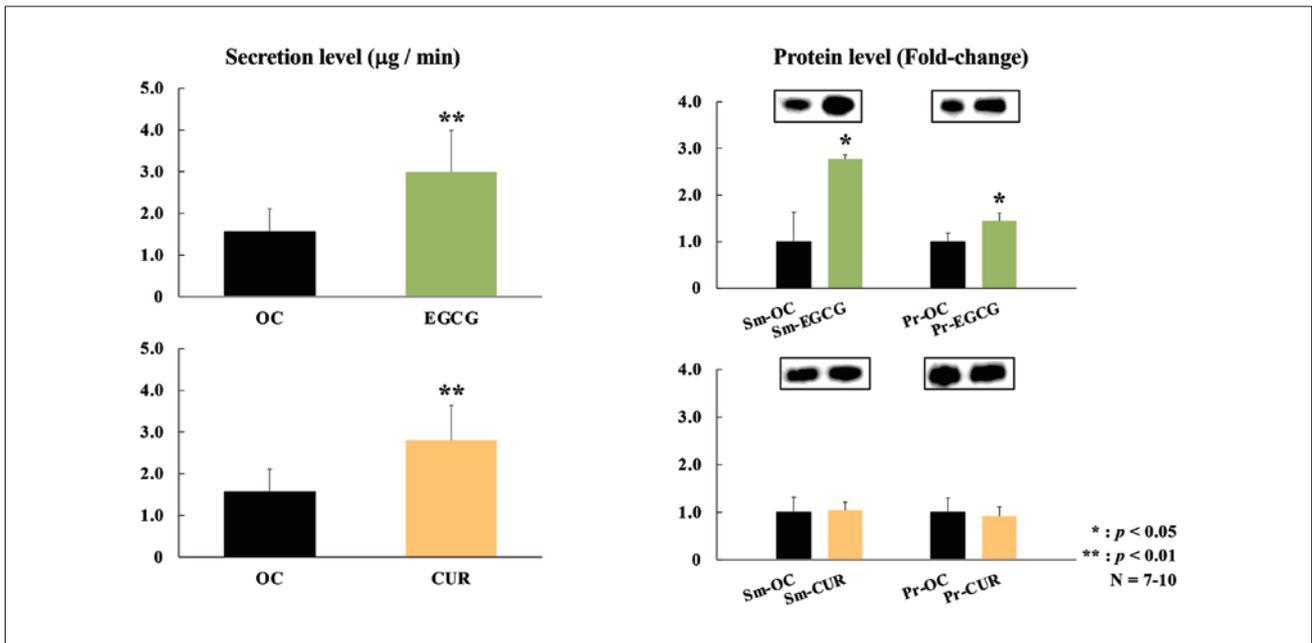


図4 老齢マウスにおける IgA 分泌 / 発現への EGCG および CUR の影響

さらに耳下腺においては免疫刺激の応答性が高いことが知られているため、ポリフェノール自体がリガンドとして作用し、免疫を賦活化した可能性が考えられた (図3)。

最後に、IgA への影響については、いずれの成分の投与においても IgA 分泌量の有意な増加がみられた。EGCG については組織中 IgA 発現量についても有意に増加することが確認された (図4)。

4. 考察と今後の展望

本研究では、加齢による口腔内免疫の変動に対する2種のポリフェノール類の効果を自然および獲得免疫の両面から検証した。

まず初めに、加齢による唾液およびタンパク質量の減少に対するポリフェノールの効果を評価した。加齢による唾液量の減少については、腺房細胞の減少、線維化等の機能形態的な変化が関与することが

示唆されているが、EGCGはこの減少を補う効果を有する可能性が示された。次に、自然免疫系の指標である DEFB1/2 の変動に対するポリフェノールの影響を評価した。DEFB1 については、EGCG および CUR の投与により老齢マウスの DEFB1 分泌量レベルが回復したが、唾液腺組織中については両成分で異なる傾向を示した。EGCG および CUR 投与による DEFB2 の分泌および発現量の増加については、DEFB2 が誘導的に発現することや、耳下腺が免疫刺激の応答性が高いことが知られているため、ポリフェノール類がリガンドとして作用し、免疫を賦活化した可能性が考えられた^{1,2)}。ポリフェノール類はアグリコンとして存在している場合、細胞内への移行率が極めて悪い³⁾。今回使用した CUR はアグリコン単体として懸濁し、マウスに投与したため、本実験でみられた影響は細胞外からの免疫刺激が中心となることが予想される。

最後に、獲得免疫への影響について IgA を指標として評価した。いずれの成分の投与においても IgA 分泌量の有意な増加がみられ、特に EGCG については組織中 IgA 発現量についても有意に増加することが確認された。この違いについては、IgA の抗原への結合能をはじめとした質的影響に関与する免疫チェックポイントの変動の違いが影響したことが示唆されるため、今後は両成分の投与における免疫チェックポイントの変動を確認する必要がある。

結論として、EGCG および CUR は加齢に伴う口腔内自然 / 獲得免疫の回復により口腔内環境改善を介し、高齢者フレイル予防に貢献できる可能性を示した。ポリフェノール類は各臓器および組織において宿主防御ペプチドを介した免疫調節作用が報告され、その経路として MAPK 経路の活性化、sphingosine-1-phosphate の誘導、kelch-like ECH-associated protein 1 の阻害と nuclear factor erythroid-2-related factors 1 の誘導、エピジェネティック的遺伝子制御および

腸内細菌叢の代謝調節の関与が報告されている。今後は、唾液腺中での発現過程への影響について検討を行うことで、加齢による口腔内免疫の低下に対する適切な食品選択に繋がると考えられる。また、申請者はこれまで、抗菌ペプチドによる宿主防御機構への直接作用や、がん治療におけるポリフェノールの有用性について明らかにしてきた^{4,5)}。また一方で、治療耐性の低い高齢者への医学的介入は、壮年期における治療方針と比較してハイリスクとなる問題を抱えている。食品成分による自然 / 獲得免疫の制御がみられた本検討は、病態悪化の抑制や治療期間中の食習慣への情報提供に繋がることが大いに期待される。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究助成を賜りました公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団に厚く御礼を申し上げます。

参考文献

- 1) Tobin I, Zhang G. Regulation of Host Defense Peptide Synthesis by Polyphenols. *Antibiotics (Basel)*. 28;12(4):660. 2023.
- 2) Ogle OE. Salivary Gland Diseases. *Dent Clin North Am*. 64(1):87. 2020.
- 3) Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*. 29;5:e47. 2016.
- 4) Takahashi N, Kobayashi M, Ogura J, Yamaguchi H, Satoh T, Watanabe K, Iseki K. Immunoprotective effect of epigallocatechin-3-gallate on oral anticancer drug-induced α -defensin reduction in Caco-2 cells. *Biol Pharm Bull*.37(3):490. 2014.
- 5) Yasuda G, Kubota A, Okamoto K, Narumi K, Furugen A, Kato I, Mori A, Saito Y, Satoh T, Takahashi-Suzuki N, Iseki K, Kobayashi M. Association between α -defensin 5 and the expression and function of P-glycoprotein in differentiated intestinal Caco-2 cells. *Biopharm Drug Dispos*. 44(5):358. 2023.

Contribution to the prevention of frailty through the regulation of oral immunity using food components

Natsuko SUZUKI

*Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Hokkaido University of Science*

Frailty in the elderly is regarded as one of the key factors limiting healthy life expectancy in geriatric populations. Oral frailty is of particular concern due to its impact on nutritional status, and requires proactive intervention before starting a specialized treatment. Although poor oral hygiene and xerostomia have been associated with reduced oral immunity, many aspects of age-related changes in oral immunity remain unknown. Therefore, in this study, we investigated the effects of polyphenols on age-related changes in oral immunity using β -defensin (DEFB) 1/2 and IgA as indicators, and elucidated their usefulness in preventing frailty in the elderly.

We studied the effects of polyphenol administration on various parameters in aged mice. The results showed that epigallocatechin gallate administration significantly increased both salivary gland expression and salivary secretion of DEFB 1 and 2. Curcumin (CUR) administration significantly increased salivary DEFB 1 and 2 secretion and salivary gland DEFB 2 expression, but significantly decreased salivary gland DEFB 1 expression. These results indicate that polyphenols can restore age-related decline in oral immunity.