

ラフィノース（オリゴ糖）の口腔内免疫機能に及ぼす影響

沼部 幸博¹⁾ 三浦 雅美²⁾ 鴨井 久一¹⁾

要約：ラフィノースは、砂糖の原料となるビート（甜菜）からできるオリゴ糖の一種である。本研究では、ラフィノース連続投与の全身および口腔内環境に及ぼす影響を検索する目的で、ラフィノース摂取前後の末梢血および唾液中の成分変化を調べた。その結果、ラフィノースには正常値の範囲内ながら、末梢血および唾液のLDH（乳酸脱水素酵素）を上昇させるとともに、唾液中の菌周病原性微生物の増殖抑制効果があることが示された。

キーワード：ラフィノース，オリゴ糖，唾液，LDH（乳酸脱水素酵素）〔健康医学 17(3)：58～67，2002〕

緒 言

口腔内には常在菌が存在しているが、通常健康な状態では口腔内免疫機能との間にバランスが保たれ、その環境が維持されている。しかし、ブラッシングなどの歯面清掃を怠り、口腔内が不潔な状態が続くと、歯の表面や歯肉の周囲に細菌性プラークが形成され、為害作用の強い微生物の増殖を許し、それが齲蝕や歯周病の原因となる。またそれに加えてストレスや疲労、栄養不足により組織抵抗力が低下すると、歯周病の憎悪や他の日和見感染症などの発症を許す原因となる¹⁾。

唾液は、口腔内の自浄作用および免疫を担う中心的存在であり、その本態は水分や様々な生化学物質と抗菌物質である。よって、この唾液中の各種成分の変化は、口腔内環境を左右する因子とも言える²⁾。

砂糖の原料となるビート（甜菜）からできるオリゴ糖の一種であるラフィノース（日本甜菜精糖株式会社）（図1）は、腸内ビフィズス菌増殖による整腸作用、抗腫瘍作用、免疫賦活作用、インターフェロン誘導作用、抗アレルギー作用などを有することが報告されている³⁻⁸⁾。そして、このラフィノースと食事療法とを併用したアトピー性皮膚炎の治療も試みられている^{7, 8)}。この免疫賦活作用が口腔内に及んだ場合には、宿主防御反応の賦活

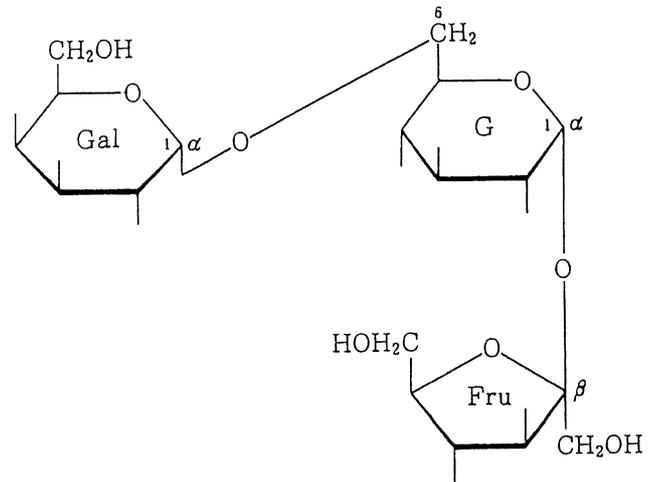


図1 ラフィノースの構造式

による歯周病やその他の感染症の予防効果が期待できる⁶⁾。

本研究では、ラフィノース連続投与の全身および口腔内環境に及ぼす影響を検索する目的で、ラフィノース摂取前後の末梢血および口腔内の宿主防御機能に関する唾液中の成分変化を検索した。

対 象

被験者は全身および口腔内が健康であり、過去3ヶ月以内に抗菌薬の投与を受けた経験がない、日本歯科大学

1) 日本歯科大学歯学部歯周病学講座

2) 日本歯科大学歯学部附属病院総合診療科

連絡先：〒102-8158 東京都千代田区富士見2-3-16

TEL 03-3261-5937

FAX 03-3261-3923

e-mail numabe-y@tky.ndu.ac.jp

日本歯科大学歯学部歯周病学講座

沼部 幸博

歯学部歯周病学講座および日本歯科大学附属病院総合診療科の医員14名(男性6名,女性8名),(平均年齢32.06歳)を対象とした。

なお,本研究の実施にあたっては,ヘルシンキ宣言の精神を尊重し,被験者に対して十分配慮した。

方法

1. 生活に関する項目の聴取

被験者に臨床研究の主旨および内容を説明して本研究への参加の同意を得てインフォームドコンセント確立後に,一般の事項を聴取した。その後生活習慣アンケートにより,被験者の全身状態や既往歴,家族歴,生活習慣,そしてラフィノース投与後の体調の変化などを調査した(表1)。

表1 ラフィノース(オリゴ糖)投与に関するアンケート

1. あなたの性別および年齢は?
A. 男 B. 女 ()歳

2. 普段の体調について(複数解答可)
A. 便秘気味(毎日・時々) B. 軟便気味(毎日・時々)
C. 便秘でも軟便でもない D. 肌荒れ(毎日・時々) E. 吹き出物がよくできる

3. ラフィノース投与期間中に何か薬を服用していましたか?
A. 便秘薬 B. 整腸薬 C. その他
服用していた方は下記に具体的に記入してください。
()

4. ラフィノース投与期間中に体調に何か変化がありましたか?(週ごとに記入して下さい)
一週目()
二週目()
三週目()
四週目()

5. ラフィノースを飲んで効果がありましたか?
A. 効果があった B. 若干の効果があった
C. どちらでもない D. 悪くなった

6. 「5」でA・Bを選んだ方はどの様な効果がみられましたか?(複数解答可)
A. 便秘気味が解消した B. 軟便気味が解消した C. 便が黄色味を帯びてきた
D. 便臭が軽減した E. 肌がきれいになった F. 何となく体調が良くなった
G. 食欲が出てきた H. 体重が減った I. その他()

7. 「5」でDを選んだ方はどの様になりましたか?(複数解答可)
A. 胸やけ感 B. むかつき感 C. 胃痛感 D. 腹痛感 E. お腹がゴロゴロする
F. ガスがたまり苦しい感じがした G. 便秘気味になった H. 軟便気味になった
I. 舌(口腔内)があれた J. その他()

8. 飲んでみて味はどうでしたか?
()

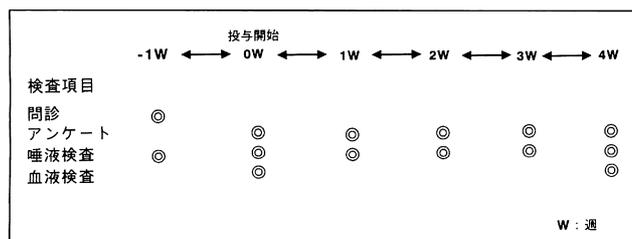


図2 実験プロトコル

2. 実験群および対照群の設定

被験者を無作為に7名ずつに分け,ラフィノース投与

表2 末梢血の検査項目

TP (総タンパク)
GOT (AST) (glutamic oxaloacetic transaminase)
GPT (ALT) (glutamic pyruvic transaminase)
LDH (lactate dehydrogenase : 尿酸脱水素酵素)
ALP (アルカリフォスファターゼ)
BUN (血中尿素窒素)
UA (尿酸)
総コレステロール
T-Li (総脂質)
FFA (遊離脂肪酸)
フルクトサミン

群(実験群),プラセボ投与群(蔗糖投与群)(対照群)の2群を設定した。投与量は,各群1回量3gで,1日3回の投与(1日投与量は9g)とし,投与を4週間継続させた(図2)。

3. 末梢血の採取と検査項目

投与開始日(0W),および投与開始4週後(4W)に肘正中皮静脈より,50mlの末梢血を採取し(図2),表2の項目について検査を行った。

4. 唾液の採取と検査項目

ラフィノース投与開始1週間前(-1W),投与開始日(0W),投与開始1週目(1W),2週目(2W),3週目(3W),4週目(4W)に唾液を採取し,検査を実施した(図2)。

唾液採取にあたり,午後に刺激唾液を採取した。すなわち無味のガムを噛みながら,滅菌スピッツ管に唾液を吐き出す過程を5分間継続させた。唾液の貯溜量を記録後,その5mlを滅菌スピッツ管に分注し,冷蔵保存した。なお採取当日,口腔内清掃は,唾液採取の3時間前までに済ませるように指導した。

唾液の成分検索は,表3の項目について行った。

さらに歯周病の発症との関連細菌である,*Bacteroides forsythus*の存在をRT-PCR(real time polymerase chain reaction)法により検出し,総菌数に対するこの菌数の割合を%で算出した。

5. 解析

ラフィノースまたは蔗糖投与前(0W)と後(4W)における末梢血および唾液の検査値の平均値を求めるとともに,投与前後の変化の有意性について,対応のあるt検定により検索した。

また,投与前の値に対する投与後の値の変化を,投与前の値/投与後の値の公式にて計算し,変化率とした。

成績

1. 被験者の状況

ラフィノース投与群（実験群）の7名（平均年齢32.0歳）と、途中インフルエンザに罹患してドロップアウトした1名を除く、6名の蔗糖投与群（対照群）（平均年齢32.12歳）からのデータを解析した。

2. 末梢血の成分変化

ラフィノース、蔗糖投与前後のそれぞれの末梢血の検査値に関して、著しく基準値を逸脱する数値を検出する被験者は1名も認められなかった（表4 a, b）。

表3

唾液の検査項目

TP（総タンパク）
GOT（AST）（glutamic oxaloacetic transaminase）、
GPT（ALT）（glutamic pyruvic transaminase）
LDH（lactate dehydrogenase：尿酸脱水素酵素）
ALP（アルカリフォスファターゼ）
クレアチニン
UN（尿素窒素）
UA（尿酸）
遊離ヘモグロビン
NAG（N-アセチルグルタミン酸）、
T-Li（総脂質）
FFA（遊離脂肪酸）

ラフィノース投与4週後にLDHの値は投与前と比較して上昇し、危険率5%で有意差が認められた。またALP、FFAを除く項目で、投与4週後の検査値が上昇する傾向にあったが、統計的に有意ではなかった（表4 a）。

蔗糖投与4週後にGPT、ALPの値のわずかな上昇が示され、他の項目は減少を示したが、統計的に有意ではなかった（表4 b）。

3. 唾液中の成分変化

ラフィノース投与4週後にTPは投与前と比較して値が減少し、危険率5%で有意差が認められた。また、LDHは上昇し、危険率5%で有意差が認められた（表5 a）。その他の項目でも値の増減がみられたが、統計的に有意ではなかった。

蔗糖群に関しては、各値は投与前後で、増加または減少を示したが、いずれの項目に関しても統計的に有意ではなかった（表5 b）。

4. 唾液中の菌周病原性微生物の推移

Bacteroides forsythus は、ラフィノース投与4週後に減少傾向を示したのに対し、蔗糖では反対に増加傾向

にあった（表6）。

5. アンケートの結果（表7）

(1) 普段の体調

ラフィノース投与群において、便秘気味と回答した被験者が蔗糖投与群よりも少なく、その傾向は4週後もほぼ同じであった。

(2) 投与期間中に投与した薬剤について

特に併用した薬剤はなかった。

(3) 投与期間中の体調の変化

どちらの群でも4週後も変化なしと回答した人数が多かった。

(4) ラフィノースを投与した結果

1週から3週後で若干の効果があつたとする回答者が多かったが、蔗糖投与群でも同じ傾向がみられた。

(5) ラフィノースの効果

蔗糖投与群で便秘の解消と答えた被験者が多かった。

ラフィノース投与群では、何となく体調がよくなったとの回答者が1週から3週後で1~2名いた。

考察

オリゴ糖は、2から10個の単糖類が結合した糖であり、その一種のラフィノースは、ビフィズス菌、乳酸桿菌に資化される植物界に広く分布する三糖類である¹⁾。またラフィノースは、ビフィズス菌の増殖を誘導し、腸の働きを助けるとともに、大腸菌や感染型食中毒を引き起こすガス壊疽の病原体であるウェルシュ菌などの、いわゆる悪玉菌の増殖を抑制する³⁻⁵⁾。さらにビフィズス菌の宿主免疫機構に対する影響も知られており、主な作用として免疫賦活作用^{6, 9, 10)}、抗腫瘍作用¹⁰⁾、インターフェロン誘導作用¹¹⁾、NK細胞活性化増強^{6, 10, 11)}、抗体産生増強作用などがある¹²⁾。実際に、ラフィノースをアトピー性皮膚炎患者に経口投与することによって、症状の緩解を得た報告がある⁷⁾。この原因を確かめるために、園山⁸⁾は、卵白アルブミンをアレルゲンとしたアレルギー性喘息モデルであるBrown Norway rat (BNラット) にラフィノースを投与し、アレルギー症状の改善効果があつたことを報告した。そしてラフィノースは、経口免疫寛容効果があることが示唆されている。

一方、清信ら⁶⁾は、ボランティアにおけるラフィノース投与後の腸内細菌のビフィズス菌の割合の上昇と、リンパ球の増殖反応および好中球の貪食能が上昇することにより、免疫機能が高まると考察している。これらの相反するとも考えられるラフィノース投与後の免疫機能の

表 4 a ラフィノース投与前後の変化 (末梢血)

* : P<0.05

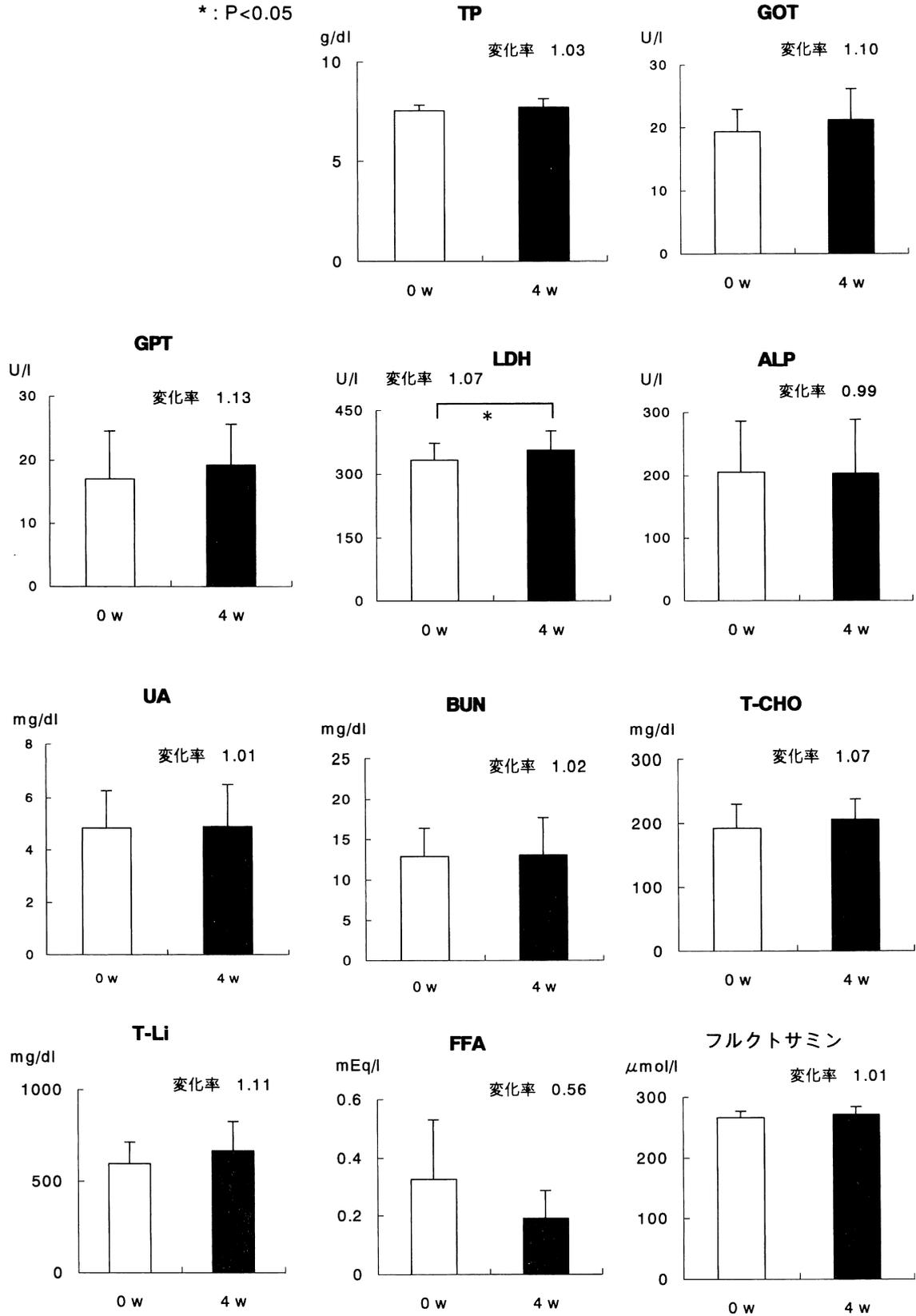


表 4 b 蔗糖投与前後の変化（末梢血）

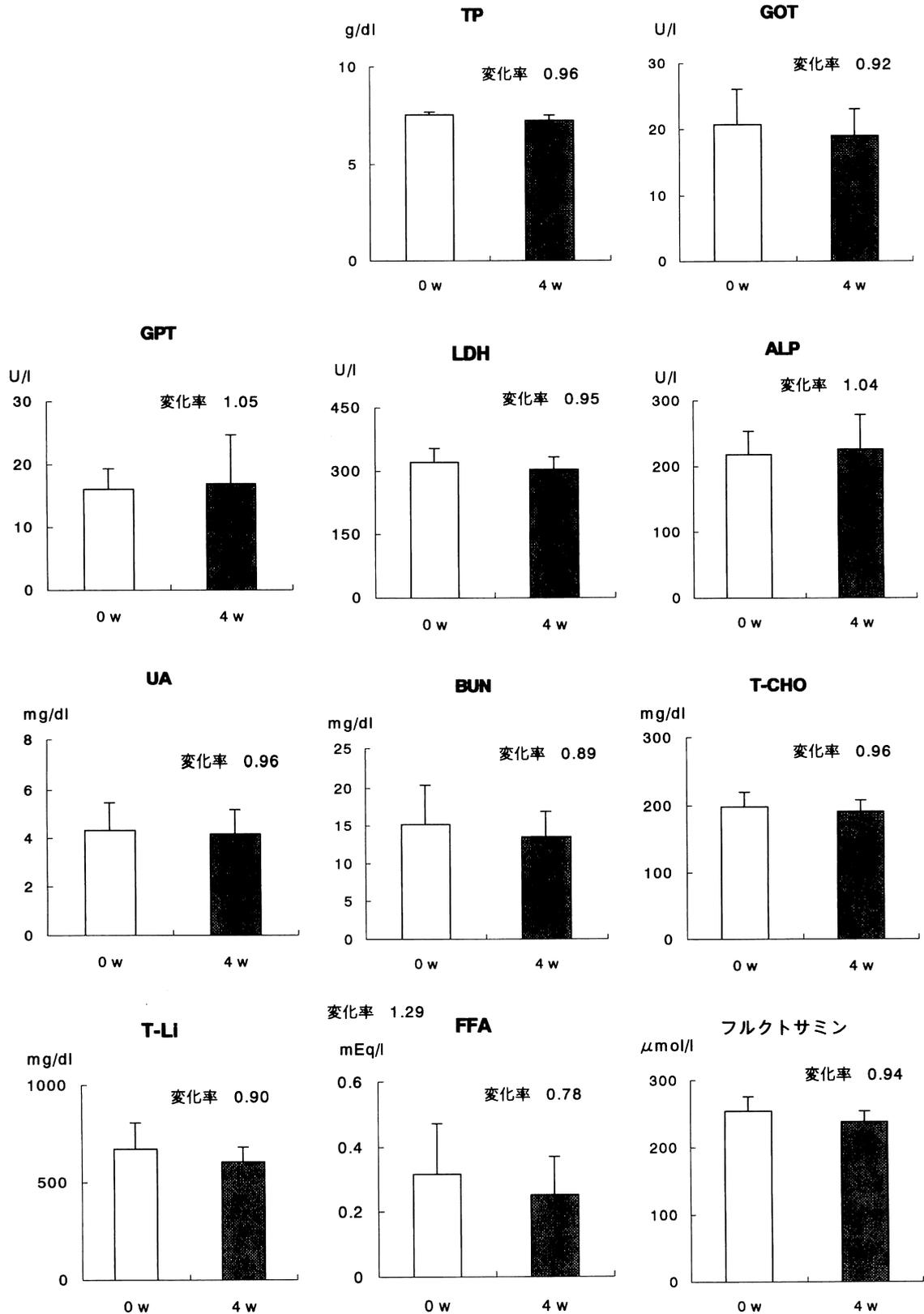


表5 a ラフィノース投与前後の変化 (唾液)

* : P<0.05

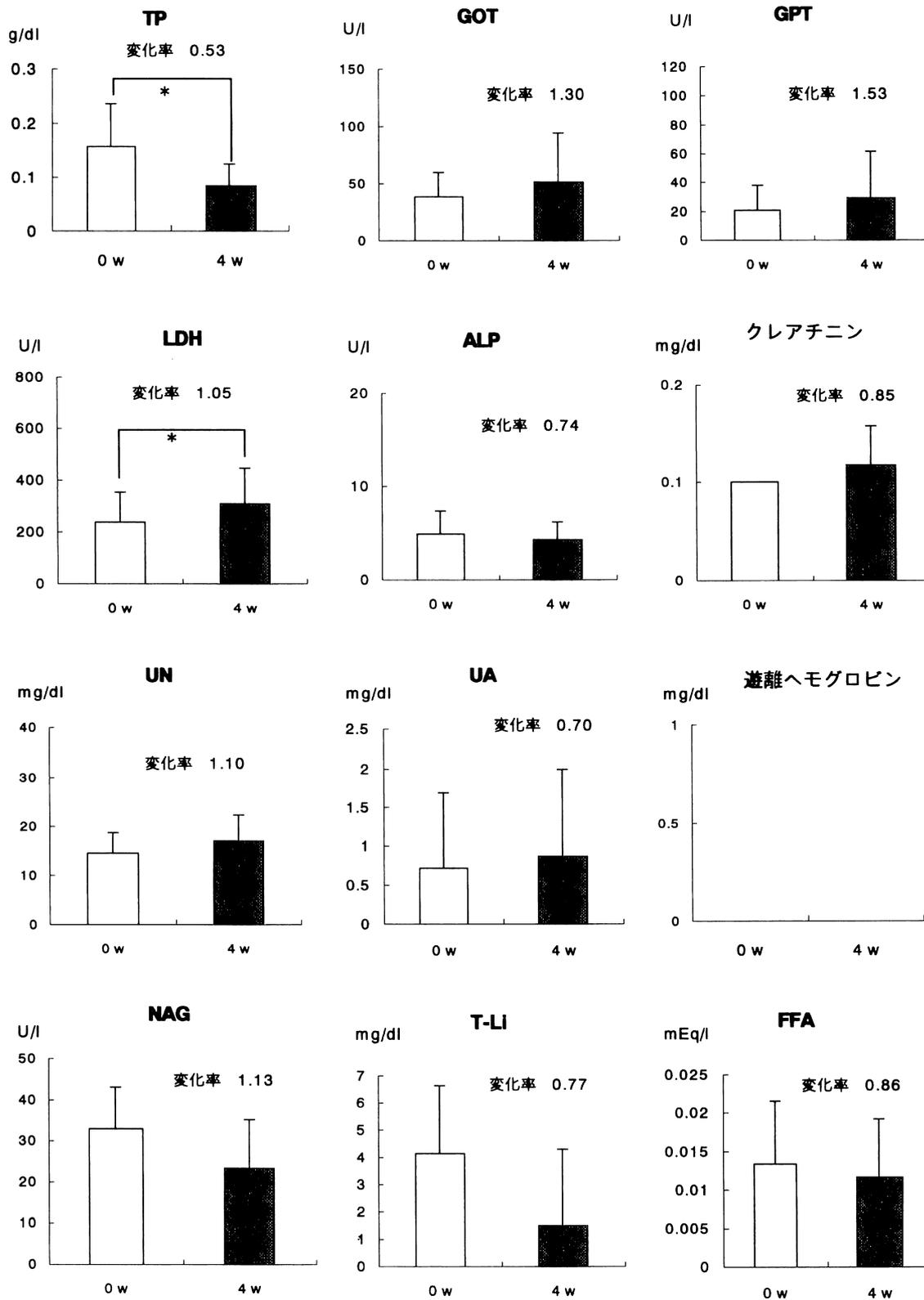


表 5 b 蔗糖投与前後の変化（唾液）

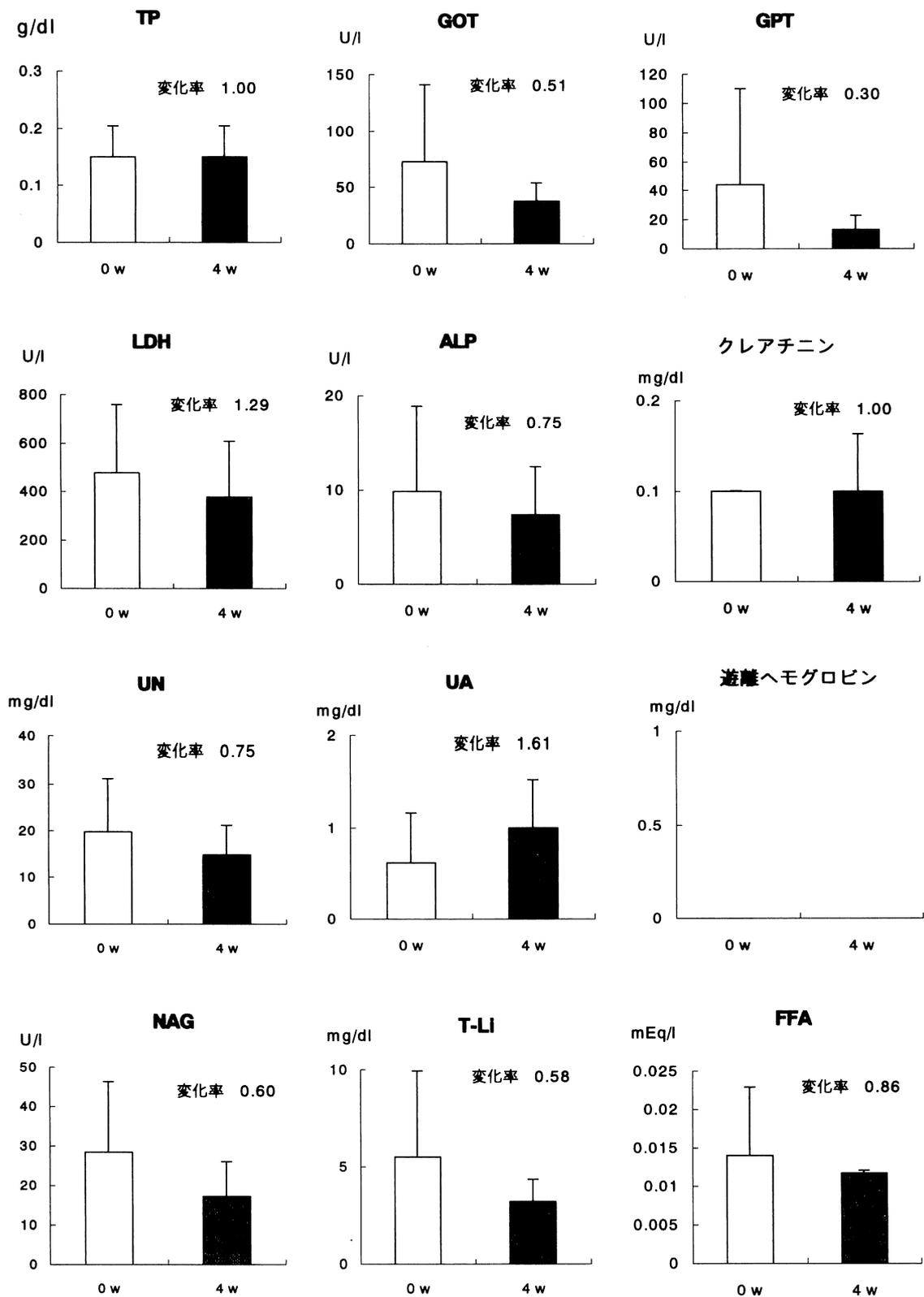
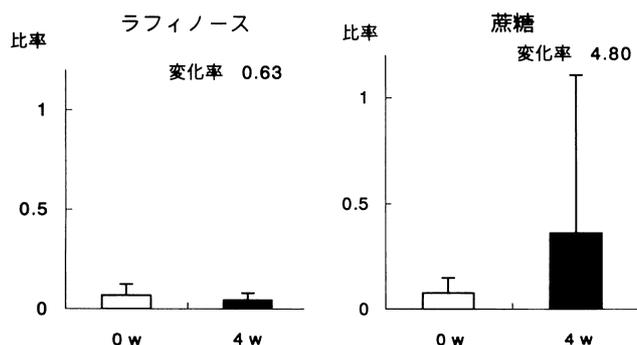


表6 ラフィノースおよび蔗糖投与前後の *B. f* の細菌数の比率の変化



変化は、単に免疫機能が増減したというよりも、その機能のバランスが、より適切な方向に改善されたことを意味していると考えられる。

近年、全身の健康のために、本来備わっている免疫機能を高めたり、生体防御作用を活性化させる考え方の中に、プロバイオティクスという概念が現れてきた。これは、消化管内の細菌叢（例えば腸内細菌叢）を改善し、宿主に有益な作用をもたらす可能性のある、微生物とそれらの増進促進物質の総称のことである¹³⁾。このプロバイオティクスにより常在菌が活性化されると、適切な免疫機能が営まれるようになり、それがアレルギーの緩解やリンパ球の増殖反応の上昇につながっていると考えられる。しかし、この機能がラフィノースにあることを証明するためには、ラフィノースの抗原提示細胞への作用や、ラフィノース投与後のリンパ球サブセット、血清中のサイトカインや IgE レベルの解析などが必要となるだろう。

本研究ではラフィノース投与群の末梢血および唾液中において、投与4週後、LDH（乳酸脱水素酵素）の統計的有意な上昇がみられた。LDHは、体内のすべての細胞に存在するが、通常生化学検査では、血清LDH活性の上昇は、組織障害による細胞の損傷に伴う細胞からの遊出量の増加により起こるとされている。しかし、運動、飲酒、妊娠時などの基礎代謝が亢進することにより、わずかに上昇することも知られている。本研究で示された値は、ラフィノース投与前よりは上昇していたが、すべて正常値の範囲であり、また全身状態の不快感は認められなかったため、病的状態が原因とは考えにくく、基礎代謝の上昇との関連が推測される。また、血清中と同様に唾液中のLDHも上昇したことは、経口投与されたラフィノースが末梢血のみならず、唾液中の成分にも影響を与えたことを示唆している。口腔内において歯周病原性細菌であるグラム陰性嫌気性桿菌の *Bacteroides forsythus*

の数が、蔗糖では増加したが、ラフィノース投与後には減少したことを併せて考えると、経口投与後に生じた唾液の成分変化が、細菌の増殖に対して抑制的に作用したことが考えられる。このことが、以前の報告^{6, 9)}にあるように、免疫賦活作用による生体防御機構亢進の結果なのか、ラフィノースの直接的または代謝産物などによる間接的作用によるものなのかは、本研究の結果からは断定できない。それには、前述したさらなるラフィノースの免疫応答に関する検索が必要となるだろう。

オリゴ糖や乳糖は、腸内細菌のなかでも、特にビフィズス菌に資化され、ビフィズス菌優勢の腸内細菌叢を形成し、整腸作用を示すことが知られている⁴⁾。

今回のアンケート結果では、特に整腸作用の効果をうかがわせる所見を得ることはできなかったが、それにはさらに長期間の服用が必要と考えられた。

結 語

本研究の結果より以下のことが示唆された。

1. ラフィノースには蔗糖と比較して、末梢血中の生化学検査値のLDHを正常範囲内で上昇させる作用がある。
2. ラフィノースには蔗糖と比較して、唾液中の総タンパク量を減少させ、LDHを上昇させる作用がある。
3. ラフィノースには唾液中の歯周病原性微生物である *Bacteroides forsythus* の増殖抑制効果がある。
4. アンケート結果では、体調に著変はみられなかった。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、ラフィノースの提供を頂きました、日本甜菜製糖株式会社に感謝致します。

表7 投与開始0Wから4Wまでのアンケート結果

問1 普段の体調	0W		1W		2W		3W		4W	
	蔗糖	ラフィノース								
A 便秘気味	4	1	3	1	3	1	3	1	4	1
B 軟便気味	1	4	2	3	2	4	2	3	2	4
C 便秘でも軟便でもない	2	2	2	3	2	2	2	3	1	1
D 肌荒れ	1	2	1	0	1	0	1	0	2	1
E 吹き出物がよくできる	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0

問2 投与期間の服用薬剤	0W		1W		2W		3W		4W	
	蔗糖	ラフィノース								
A 便秘薬	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B 整腸薬	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C その他	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0

問3 投与期間中の体調変化	0W		1W		2W		3W		4W	
	蔗糖	ラフィノース								
A 変化あり	0	0	3	1	2	2	1	2	1	1
B 変化なし	0	0	2	5	4	4	5	4	5	4

問4 ラフィノース服用効果	0W		1W		2W		3W		4W	
	蔗糖	ラフィノース								
A 効果があった	0	0	0	1	0	0	1	0	2	0
B 若干の効果があった	0	0	3	2	2	3	2	3	0	1
C どちらでもない	0	0	2	4	4	4	4	4	4	5
D 悪くなった	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1

問5 ラフィノースの効果	0W		1W		2W		3W		4W	
	蔗糖	ラフィノース								
A 便秘気味が解消	0	0	3	1	2	1	2	0	2	0
B 軟便気味が解消	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
C 便が黄色味を帯びてきた	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D 便臭が軽減	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E 肌荒れ解消	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F 何となく体調がよくなった	0	0	0	1	0	1	0	2	0	0
G 食欲が出てきた	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H 体重が減った	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I その他	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

問6 体調が悪くなった理由	0W		1W		2W		3W		4W	
	蔗糖	ラフィノース								
A 胸やけ感	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B むかつき感	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C 胃痛感	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
D 腹痛感	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E お腹がごろごろする	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
F ガスが溜まり苦しい感じ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
G 便秘気味になった	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H 舌(口腔内)があれた	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
I その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

文献

1) 池田克己監修：標準菌周病学，第3版，16-43，医学書院，東京，2000。
 2) Edgar W, o'Mullane 編集：河野正司監訳：唾液，歯と口腔の健康，第1版，1-9，医歯薬出版株式会社，東京，1997。
 3) Benno Y, Endo K, et al : Effect of Raffinose Intake on Human Fecal Microflora, Bifidobacteria Microflora, 6(1) : 59-63, 1987.
 4) 光岡知足：腸内細菌の世界，第1版，103-316，叢文社，東京，1984。

5) 鴨井久一：整腸作用バツグンのラフィノースと歯周病の関係って？，サンデー毎日，11月23日号，1997。
 6) 清信浩一，大崎忠夫ほか：免疫細胞に対するオリゴ糖（ラフィノース）の影響，歯学，85(4) : 551-558, 1998。
 7) 千葉智幸，竹内せち子ほか：ラフィノース投与による成人アトピー性皮膚炎患者の町内細菌叢および臨床症状の変化，アレルギー（抄録号），49(2・3), 278, 2000。
 8) 園山 慶：オリゴ糖「ラフィノース」摂取による食品アレルギー軽快作用の機構解析，平成11年度，食に関する助成研究調査報告書，13 : 85-92, 2000。

- 9) Kohwi Y, Hashimoto Y, et al:Antitumor and Immunological Adjuvant Effect of Bifidobacterium infantis in Mice, Bifidobacteria Microflora, 1(1):61-68, 1982.
- 10) 関根一則, 田村太郎ほか:ビフィズス菌精製細胞壁(WPG)の調整とマウス同型腫瘍に対する抗腫瘍効果, ビフィズス, 3(1), 135-141, 1990.
- 11) 五十嵐稔, 高橋哲ほか:ビフィズス菌由来精製細胞壁(Whole Peptidoglycan, WPG)によるインターフェロン(IFN)の誘導とNK活性の増強, Biotherapy, 4(5):1290-1297, 1990.
- 12) Yasui H, Nagaoka N, et al:Detection of Bifidobacterium Strains that Induce Large Quantities of IgA, Microb Ecol Health Dis, 5(1):155-162, 1992.
- 13) Fuller R:Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol, 63(1):39-45, 1989.
- (論文受付日2002.10.15 論文採択日2002.11.15)

Effect of Oligosaccharide, Raffinose on the Oral Immune System

Yukihiro Numabe¹⁾, Masami Miura²⁾, Kyuichi Kamoi¹⁾

- 1) Department of Periodontology, School of Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University,
2) General Dentistry, The Nippon Dental University Hospital
-

Abstract

Raffinose is an oligosaccharide made from beets which has become a popular form of sugar. In this study, to determine the long term effects of administration of raffinose on the systemic and oral cavity internal environments, peripheral blood and saliva were compared before and after the intake of raffinose. Raffinose not only increased lactic dehydrogenase in peripheral blood and saliva within normal limits, but also showed asuppressive effects on the proliferation of diseases around the teeth and pathogenic microbes in the saliva.

Key words : raffinose, oligosaccharide, saliva, lactic dehydrogenase
