

食物摂取と唾液

勝川 秀夫¹⁾ 裕 哲 崇¹⁾ 中 島 清 人²⁾
江口 公 人¹⁾ 中 橋 章 泰¹⁾ 小 林 倫 也¹⁾
杉 村 忠 敬¹⁾

Food Intake and Saliva

KATSUKAWA HIDEO¹⁾, SAKO NORITAKA¹⁾,
NAKASHIMA KIYOHITO²⁾, EGUCHI KIMIHITO¹⁾,
NAKASHI AKIHIRO¹⁾, KOBAYASHI MICHIIYA¹⁾ and
SUGIMURA TADATAKA¹⁾

ヒトをはじめ動物は食物中にしばしば含まれる毒物に対し、それを無害化する手段を進化の過程で獲得してきた。例えば、食物中のタンニンは動物に対しさまざまな有害作用をもたらすが、クマやヘラジカのようにタンニンを含む植物を常食とする動物は唾液の中にその毒性を低下させる高プロリン・タンパク (PRP) を持つようになった。また、ラットやマウスは本来このタンパクを持たないが、タンニンを含む飼料を数日間食べると唾液中にPRPが誘導され生存することができる。一方、このタンパクを誘導できないハムスターはやせ衰え死んでしまう。パパイン(システインプロテアーゼ)やカプサイシン(唐辛子の辛味成分)により誘導されるシスタチンも同じ範疇に属するペプチドと思われるが、PRPに比べ未だ情報量は少ない。本稿では、食物中の毒物・侵害物質の処理に関係すると思われる唾液タンパクについて解説する。

キーワード：食物、毒物、栄養、唾液タンパク、唾液腺

Animals have evolved tools for coping with the toxic substances often contained in food. Proline-rich protein, found in saliva only, is a well-known example of such tools. This protein binds to the tannins that occur widely in plant foodstuff, preventing them from being absorbed from the gut, and attenuating their toxic effects (digestive trouble, carcinogenesis, liver disease and so on). Of the species without this salivary protein, rats and mice can produce it by ingesting tannin diets for a few days, but hamsters can not. When fed such diets, rats and mice live normally whereas hamsters deteriorate and die. Cystatin S (a cysteine protease inhibitor) is another example. Rats hesitate to eat diets containing papain (a cysteine protease) or capsaicin (a pungent principle of red pepper), but they ordinarily consume such diets from a few days after the onset of feeding, at which time cystatin S has been newly induced in their saliva. Induction of cystatin with a β -adrenergic agonist accelerates the beginning of eating a papain or capsaicin diet. Cystatin S is perhaps involved in protecting animals from injury caused by exogenous toxic or irritative substances. This article focuses on a few salivary proteins possibly involved in coping with toxic substances in food. In addition, participation of the salivary glands in the metabolism of lysine, an essential amino acid for rats and humans, will be discussed based on our recent data.

Key words : Food, Toxic substances, Nutrition, Salivary proteins, Salivary glands

¹⁾朝日大学歯学部口腔機能修復学講座口腔生理学分野

²⁾朝日大学歯学部化学教室

501-0296 岐阜県瑞穂市穂積1851

¹⁾Department of Oral Physiology, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation and ²⁾Department of Chemistry

Asahi University School of Dentistry

Hozumi 1851, Mizuho, Gifu 501-0296, Japan

緒 言

唾液や唾液腺には生命維持に直接関与する機能はないが、口腔の諸機能の調節、維持や身体の活動および防御にとって大切な働きがあると歯科の教科書^{1,2)}には説明されている。その生理学的意義は溶解作用、円滑作用、咀嚼補助作用、洗浄作用など液体としての機能に解説の焦点が絞られ、タンパク成分については唾液中に占める割合が1%以下と少ないこともあり、ほとんど触れられていない^{1,2)}。一方、最近の微量分析技術の向上は上記の生理作用から想像されるよりはるかに多種のタンパク(エブネル腺唾液だけで150種以上³⁾)が唾液中に存在することを示しており、研究者の好奇心を大いにそそいでいる。しかしながら、一部のタンパクを除けばその役割は全く不明といってよい。幅広く研究されている上皮成長因子⁴⁾や神経成長因子⁵⁾についても、唾液腺からターゲットまでの経路は依然として不明な点が多く、唾液腺でなぜ作られるかという必然性の説明まで至っていない。他にも、Ca代謝に関係するとされるパロチン²⁾も登場は衝撃的で一世を風靡したが、何故かその後の研究には迫力と説得力を欠き、現在では人々の関心や記憶の中から消え去ろうとしている。

口腔は多くの苦勞と困難の代償として得られた栄養素を同化するための最初の処理機関となっているが、同時に栄養素にまぎれて侵入する数多くの有害物質や微生物にさらされる最初の場でもある。従って、ここでは招かざる侵入者に対する広義の免疫システムがさまざまな様式で登場することになる。例えば、味覚システムが視覚や嗅覚システムと協調的に異物(食物)に関する情報を中枢に送り、食物として取り入れてよいかどうかの決定の糸口を提供している(酸味や苦味を呈する食物は腐敗したもの、有毒なものとして摂取されないであろう)。他方では、顎下腺や舌下腺から放出されるムチンは口腔粘膜上に負荷電のシートを形成し、口腔内に侵入した正荷電の異物や微生物を捕捉することにより、口腔粘膜への侵襲や感染を防いでいる⁶⁾。補足された異物や微生物は口腔内に進出した白血球の食作用や、唾液中に存在するラクトフェリン^{7,8)}、リゾチーム^{9,10)}、ペルオキシダーゼ^{11,12)}などの抗菌作用や殺菌作用を受けることになる。

我々は、唾液タンパクの研究の切り口として動物の食性や食習慣との関連に着目した。すなわち、リスなどが渋いドングリなどの木の実を平気で食べられるのは、唾液中にその渋みを除去する成分を持つからではないか(後述の高プロリンタンパクが関与)。ヒトが多種多様な食物のレパートリーを獲得したのは、食物の調理による無害化の方法の開発ほか、不可避的に取り

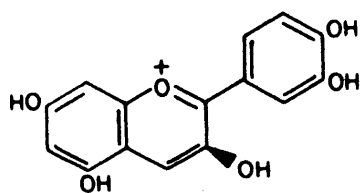
込まれる有害成分を除去し、取り込まれた栄養を効率的に利用しようとするシステム(ここでは唾液腺)を進化の過程で獲得したからではないかと考えたわけである。この考えの下に動物に新規な食物やそれに関連する刺激を持続的に与えたとき、唾液タンパク組成はどのように変化するか調査してきた。その結果、ラットやマウスではその食物に含まれる特定の刺激物質により誘導・分泌される唾液タンパクの存在することが明らかになった。また、消化管における寄生微生物との栄養素の争奪戦に勝利するため、微量必須栄養素に結合しその吸収部位までの運搬に関係すると思われる唾液タンパク群もセットされていることが示唆するデータを得た。

本稿では、それら誘導唾液タンパクのうち、特に食物中の特定成分との相互作用を示し、味覚感受性や嗜好への影響が示唆されたものについて、最近の我々の研究を交えて紹介する。

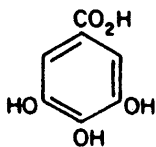
1. タンニンと高プロリン・タンパク

食物には栄養素ばかりでなく、しばしば有害物質が含まれる。例えば、種々の植物の果実、樹皮、葉に含まれるタンニンは500~5,000Daの複数のフェノール骨格からなる化合物(ポリフェノール:図1)で、タンパク、多糖類、アルカロイドと複合体を形成する^{13,14)}。そのため、消化管内では食餌性タンパクおよび消化酵素の変性沈殿による消化障害や鉄の吸収阻害を引き起こす¹⁵⁻¹⁷⁾。また、タンニンには消化管に対する発癌作用があることも報告されている¹⁸⁾。このような有害物質が存在する場合、動物にそれらの作用を阻害するような物質があれば栄養摂取効率が上がることになる。実際、雑食動物や草食動物の多くはこの有害な作用をタンニンに結合する唾液タンパクにより中和させ、無毒化するという方法を進化の過程で獲得している。このタンニン結合性の唾液タンパクは高プロリン・タンパク(PRPP)として知られ¹⁹⁻²²⁾、いったんタンニンとの複合体を形成すると消化管内でタンニンを遊離させることはない²³⁾。

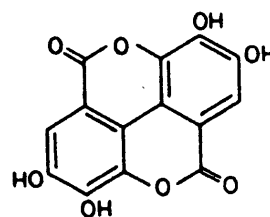
図1に示したように、植物に含まれるタンニンは縮合型(フラバン-3-オールのポリマー)と水解性のもの(フェニル酸のエステル)に大別され、縮合型のは直鎖型化合物と分岐型化合物に、水解性のはエラグ酸や没食子酸などに分かれる²⁴⁾。これらタンニンは植物の捕食者に対する防御物質で、その分布には種特異性や組織特異性が認められる。一方、捕食者である動物も植物の有するタンニンに適した唾液PRPPを持つように発達してきた。たとえば、植物のうち、特にハコヤナギ、ヤナギ、カバの樹皮や樹皮近くの白い木質



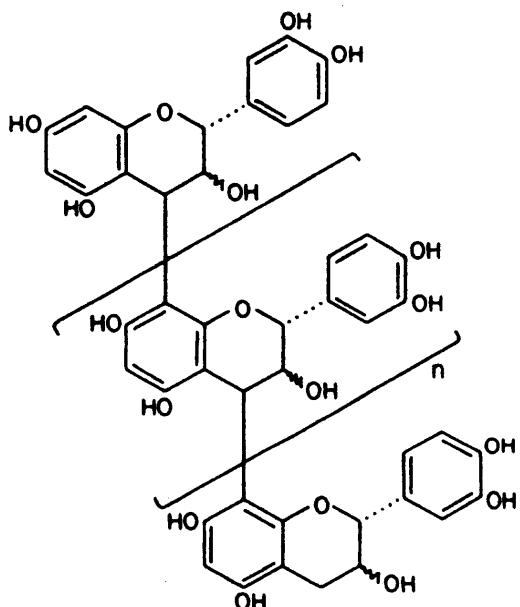
フラバン-3-オール



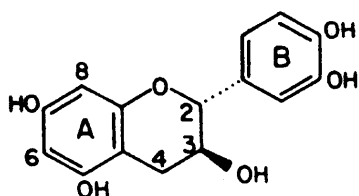
没食子酸



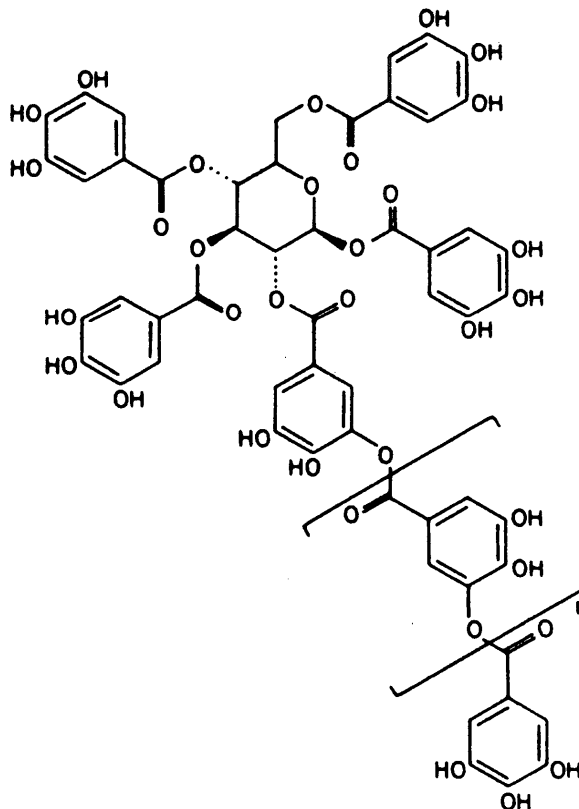
エラゲ酸



抱合型タンニンの基本構造



アントシアニジン



水溶性タンニンの構造

図1 タンニンの構造。

多種のタンニンが植物に含まれるが、その組成は植物種や部位、季節等により異なる。

部を餌として好むビーバーや、その小枝部分をよく食べるヘラジカの唾液PRPは、それら植物に含まれる直鎖型のタンニンとはよく結合するが、それらに含まれない分岐型や水解性のタンニンに対する結合性は低い²⁰⁾。一方、雑食性のクマの唾液PRPはいずれのタイプのタンニンに対しても結合性が高い²⁰⁾。また、タンニン含量は水性植物や牧草で低く、樹木の葉や新芽では多い^{14, 21)}。これに対応し、牧草を食べる動物(ウシ、ヒツジ)に比べ、樹皮や新芽を常食にする動物(シカ)の方が唾

液PRP量の多いことが知られている(表1)¹⁹⁾。

唾液にPRPを含むことが草食動物や雑食動物においていかに重要であるかは実験動物においてもみることができる。すなわち、本来その唾液にPRPを持たないマウスやラットをタンニン含有飼料で飼育すると体重が一時的に低下するが、3日目にはその低下は止まり、その後、正常食摂取時と同様の増加がみられる。給餌開始3日目の時点で、動物の唾液腺は肥大し、唾液にはPRPが多量に(唾液腺可溶性タンパクの50%以上、対

表1 食性と唾液高プロリン・タンパク

動物	食物	タンニ ン	高プロリン・タンパク	文献
肉食動物				
雑食動物				
ヒト	マイロ、 ビールなど	多い	多い (耳下腺唾液タン パクの70%)	Azen and Maeda ¹⁸⁾ Bennick ²⁸⁾
クマ	樹皮、新芽など	多い	多い	Hargeman and Robins ²⁰⁾
ラット マウス	穀物	少ない	少ない (耳下腺タンパ クの10%以下で、イソ プロテレノール投与で 50%以上に増加)	Mehansho et al. ^{22, 25)}
ハムスター	穀物	なし		Mehansho et al. ²⁶⁾
草食動物				
ヘラジカ	ヤナギ、カバの 葉、小枝	多い	多い	Hargeman and Robins ²⁰⁾
ビーバー	ヤナギ、カバの樹 皮、木質部	多い	多い	Hargeman and Robins ²⁰⁾
シカ	樹皮、新芽	多い	多い	Hargeman and Robins ²⁰⁾
ウシ	牧草	少ない	極めて少ない	Austin et al. ¹⁹⁾
ヒツジ	牧草	少ない	極めて少ない	

高プロリン・タンパクの検出は電気泳動による。正確なタンパクの定量はなされていない。
肉食動物の高プロリン・タンパクに関する報告みられない。

照動物では10%以下)放出されている^{22,25)}。一方、PRPを誘導できない動物種であるハムスターでは、タンニン食摂取により体重は減少し続けると報告されている²⁶⁾。タンニンを含む食品や飲み物(トウキビ、コーヒー、緑茶、ココア、ビールなど)を嗜好し、口にする機会の多いヒトでは、唾液中にPRPが多量(唾液タンパクの約70%)に存在する^{27,28)}。しかし、ヒトのPRPはタンニン摂取により誘導されたものでなく、唾液構成成分として常に合成・分泌されている。このことはヒトを含めた動物は唾液PRPを持つことにより身近な植物を食物とすることができるようになり、その結果今日の安定した効率的な生存方法を獲得するに至ったと考えることもできる(表1)。

2. 食物摂取とシスタチン

シスタチンはヒトを含む動物の組織や体液に分布するシステイン・プロテアーゼの特異的インヒビターであり、唾液中のものについてはIsemura^{29,30)}らがパパイン、フィシンおよびカタペシンC等のシステイン・プ

ロテアーゼ活性を抑制する酸性タンパクとして分離・精製した(シスタチンS)。その一次構造はヒト γ -trace(脳脊髄液中のシステイン・プロテアーゼ・インヒビター)と54%、卵白のシスタチンとは41%のhomologyを示すという。その後、シスタチンSのisoformとしてシスタチンSA³¹⁾、SN³²⁾も唾液中に存在することが報告された。ラットやマウスのシスタチン・ファミリー遺伝子群の発現は、離乳期に当たる生後3~4週の一時期と、成熟後は特定の食物や交感神経作動薬などで唾液腺の β -受容体を刺激したときのみに関与する^{33,34)}。一方、ヒトでは常に発現しており固有唾液中にシスタチンが含まれる²⁹⁻³²⁾。

現在、シスタチンは分子構造や機能から3群に分類されている³⁵⁾。Family-1はジスルフィド結合をもたず主に細胞内に分布する分子量12kDaのシスタチンで、ヒト好中球シスタチンAやラット肝臓シスタチンがこれに属している。family-2は分子内に二つのジスルフィド結合を持ち、細胞外に放出される分子量14kDaのシスタチンであり、ヒト脳下垂体シスタチンや唾液シ

スタチンがこれに属している。family-3 のシスタチンは高分子量の血漿中キニーゲンが該当する。

ラットをパパイン(植物性システイン・プロテアーゼの一種)を含む飼料で飼育すると、口腔粘膜の炎症が生じ、飼育開始直後に体重の減少をみるが、3日目以降、顎下腺唾液中にシスタチンSの誘導がおり、それに対応して体重の回復と増加が認められる。一方、イソプロテレノールをラットに前処理し、唾液中にシスタチンSをあらかじめ産出させておくと、パパイン食による体重低下は認められない³⁶⁾。このことはシスタチンSの誘導がパパインの侵害効果を軽減ないしは消失させた可能性を示している。さらに、唾液シスタチンはカプサイシン(唐辛子の辛味成分)含有飼料によっても誘導されるが(図2)^{37,38)}、胃内に直接カプサイシンを導入した場合には唾液シスタチンは誘導されないで、シスタチンの誘導には口腔内感覚が重要な働きをしていると考えられる³⁹⁾。

シスタチンは苦味を呈するテオプロミン⁴⁰⁾(カカオ豆の苦味成分)やキニーネ⁴¹⁾によっても誘導されるが、面白いことに、苦い必須アミノ酸であるフェニルアラ

ニンでは誘導されない⁴¹⁾。また、フェニルアラニンを摂取後、味覚忌避学習で用いられる塩化リチウムを投与しても[この薬物を動物の腹腔内に投与すると、動物は激しい中毒症状を示し、その原因が直前に摂取した呈味物質にあると認識し(恐らく)、以後、その物質を摂取することを拒むようになる]、このアミノ酸ではシスタチンを誘導することはない。塩化リチウムによる味覚忌避行動は脳辺縁系の扁桃体レベルで形成されると考えられているので、キニーネやカプサイシンによる唾液シスタチンの誘導は口腔内の化学情報伝達系のかなり低いレベルで毒物と栄養素が明確に区別され、毒物が特定の神経経路を刺激したときに起きると考えられる⁴¹⁾。この神経経路について、神経切断実験の結果は舌咽神経を介するものの存在が示唆されている。それは舌咽神経を切断することにより、パパインやカプサイシンによるこのペプチドの誘導は30-50%まで抑制されるからである³⁸⁾。著者らのグループは脳組織破壊実験から⁴²⁾、口腔、咽頭ならびに内臓感覚の中継核ある結合腕周囲核の外側部を破壊すると、シスタチンの誘導は著しく低下ないし消失するが、結合腕周囲核か

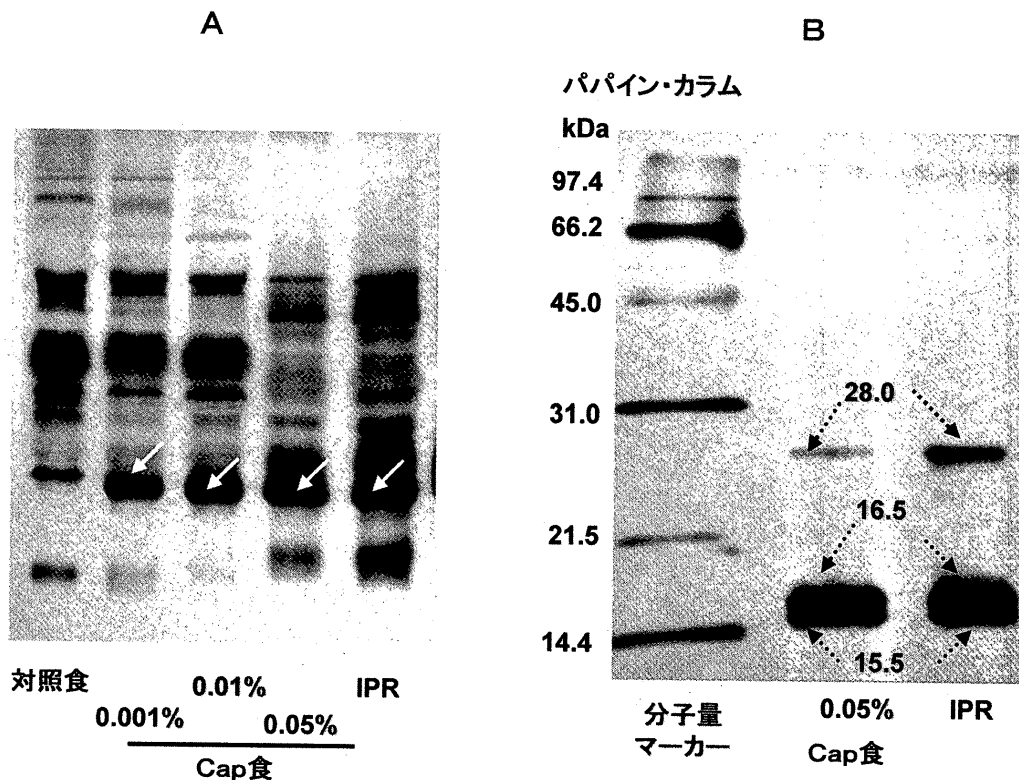


図2 カプサイシン含有飼料によるシスタチンの誘導。(A)カプサイシン(Cap)食摂取により、ラット顎下腺唾液中に新奇のタンパク(矢印)が濃度依存性に誘導された。(B)新奇のタンパク画分をパパイン・アフィニティー・クロマトグラフィーにより精製した。カプサイシン誘導成分とイソプロテレノール誘導成分(シスタチン)は一致していた。

ら上位脳への経路破壊はシスタチン誘導に影響しなかったことを認めた。このことはシスタチンの誘導にはこの中継核と交感神経系唾液中枢を経る神経経路がその反射経路となっていることを示唆している。

上述のように口腔内の種々の侵害性刺激によりシスタチンは誘導されるが、その意義については不明である。おそらく、タンパク異化作用の制御、感染防御などの生体調節に関係しているのであろう。また、シスタチンは口腔内炎症や疾患により増加することも知られている⁴³⁾。炎症組織からはカテプシンが漏出されることが知られているが、シスタチンがこの酵素活性を抑制することにより口腔内炎症を軽減しているのかもしれない。シスタチンとパピインの結合に両者の疎水性構造が不可欠であると報告されているが⁴⁴⁾、最近、著者らはシスタチンの疎水性部位がキニーネに結合し、キニーネの口腔への刺激を減弱させる可能性を示唆した⁴¹⁾。シスタチンはPRPと同様、動物がより多種の植物を摂食することを可能とし、必要とされる栄養素を過不足なく摂取するのをサポートする唾液成分として存在するのかもしれない。

3. 食物摂取とグルマリリン結合タンパク

熱帯ないし亜熱帯に分布するガガイモ科植物であるギムネマ・シルベスタ (*Gymnema sylvestre*) には甘味抑制作用のあるギムネマ酸とグルマリリン(これらの化合物も動物による食害への植物の防御物質と考えられる)が含まれている(図3)。このうちトリテルペン配糖体のギムネマ酸はヒトやチンパンジーなど霊長類の一部の甘味を抑制するが、ラットやマウスには効果がみられない。一方、ペプチドであるグルマリリンはギムネマ酸とは逆にラットやマウスの甘味応答を一部抑制するが、ヒトやチンパンジーの甘味を抑制しない⁴⁵⁻⁴⁷⁾。井元ら⁴⁸⁾はグルマリリンとその抗体による免疫反応をラット唾液が抑制することから、唾液中にはグルマリリン結合性タンパク(300kDa)が存在することを報告した。このタンパクはグルマリリン感受性であるラットの唾液1ml中に数百ng含まれるが、グルマリリン非感受性であるヒトの唾液には存在しない。我々はこのタンパクがラットにギムネマ含有飼料を摂取させることにより増加することをみいだした⁴⁹⁾。そのとき、ラットのショ糖液に対する嗜好%を同時に調べると、その値

A



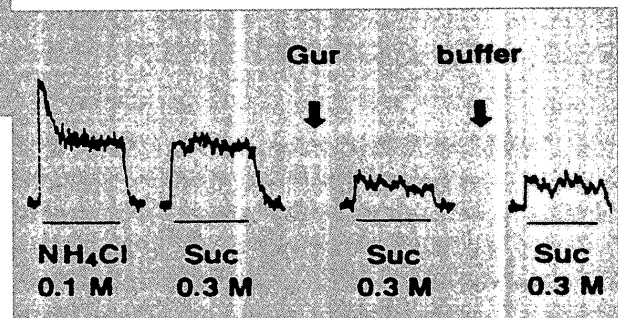
ギムネマ・シルベスター

■ ギムネマ酸 …… ヒト、類人猿で抑制効果

■ グルマリリン …… ラット、マウスで抑制効果

Glu-Gln-Cys-Val-Lys-Lys-Asp-Glu-Leu-
Cys-Ile-Pro-Tyr-Tyr-Leu-Asp-Cys-Cys-
Glu-Pro-Leu-Glu-Cys-Lys-Lys-Val-Asn-
Trp-Trp-Asp-His-Lys-Cys-Ile-Gly

B



グルマリリンによるマウス鼓索神経の甘味応答抑制

図3 ギムネマの甘味抑制。

(A) ギムネマはインドで古来より糖尿病の民間治療薬として用いられてきた。この植物にはヒトや霊長類の甘味感覚を抑制するギムネマ酸と、ラットやマウスの甘味感覚を抑制するグルマリリン(35個のアミノ酸からなるペプチド)が含まれる。

(B) グルマリリンはマウス鼓索神経の0.3Mショ糖に対する応答を抑制した。この抑制は舌を緩衝液で洗浄しても消失しなかった。

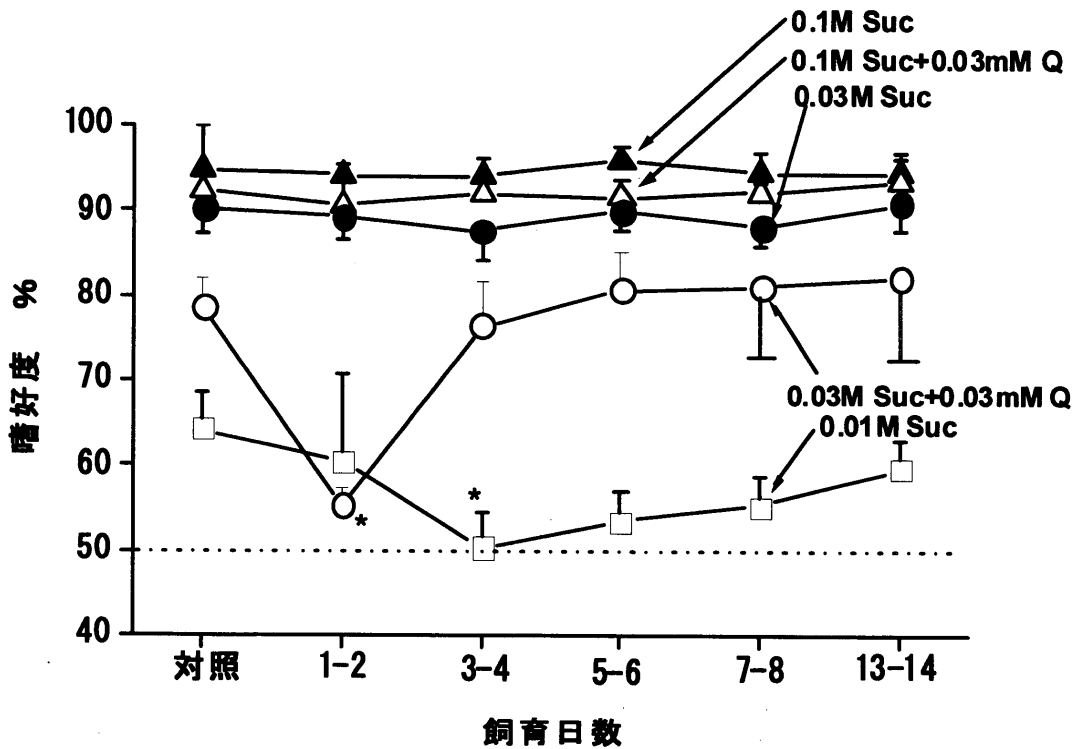


図4 3%ギムネマ含有飼料で飼育したラットの甘味嗜好性の変化。
 0.1MSuc : 0.1Mショ糖; 0.03MSuc : 0.03Mショ糖; 0.01M Suc : 0.01Mショ糖; 0.1M Suc + 0.03mMQ : 0.1Mショ糖と0.03mMキニーネの混液; 0.03MSuc + 0.03mMQ : 0.03Mショ糖と0.03mMキニーネの混液
 嗜好度(%) = (摂取した味液量) / (摂取した味溶液と水の総量) × 100
 対照飼料で飼育したラットはショ糖とキニーネを含む溶液を水よりも好んだ(嗜好度は50%以上)。ギムネマの葉を含む飼料で飼育すると、2日目までの嗜好度は有意に低下していた。この嗜好度の変化はギムネマに含まれるグルマリンが甘味を抑制するために生じたと考えられる。

はギムネマ含有飼料摂取開始後2~3日目まで低下するが、その後唾液中のグルマリン結合タンパク濃度の増加に対応してコントロールレベルまで回復することが分かった(図4)。最初のショ糖に対する嗜好%の低下は、摂取したギムネマ食中のグルマリンによる末梢受容器レベルでの糖応答の抑制によりもたらされ、その後の回復は誘導された唾液タンパクによるグルマリン作用の消去によるものと推測される。

PRPやシスタチンの誘導は唾液腺の交感系β-受容体の刺激により起こることはすでに述べたが、グルマリン結合タンパクの誘導メカニズムの詳細は不明である。しかし、このタンパクは正常食を摂取している動物にも存在するので⁴⁹⁾、グルマリン結合以外の生理活性を有している可能性がある。ギムネマ含有飼料によりこのタンパクが誘導される原因として、タンパクへのグルマリンの結合がその活性を抑制した結果、フィードバック調節機構が働き、その生産を促進した可能性も考えられる。いずれにしても、その誘導のメカニズム

については今後検討する必要がある。

4. リジン欠乏と唾液腺

唾液腺や唾液は食物摂取というグロスな栄養へ関与するだけでなく、個々の栄養成分の(恐らく)吸収利用率を上げ、血中濃度に影響する因子を含んでいる⁵⁰⁾。最近、著者ら⁵¹⁾は正常飼料で飼育した幼若ラットの顎下腺および舌下腺を除去すると、リジン欠乏飼料で飼育された動物⁵²⁻⁵⁴⁾で見られるようにリジン溶液を嗜好するようになることを見出した⁵³⁾(健康な動物はリジン溶液が苦いため摂取を好まない; 図5)。リジン欠乏食群のリジンに対する嗜好の増加は欠乏したリジンを必要量以上に摂取し、欠乏状態から回復しようとする動物の食行動調節機構の現れと考えられている⁵²⁻⁵⁴⁾。しかし、正常食を摂取しているにも拘らず唾液腺切除群はリジン欠乏食群と同様にリジンを嗜好し、アルギニンを忌避した(アミノ酸栄養の正常なものはアルギニンを嗜好する; 図5)。このことは顎下腺・舌下腺の切

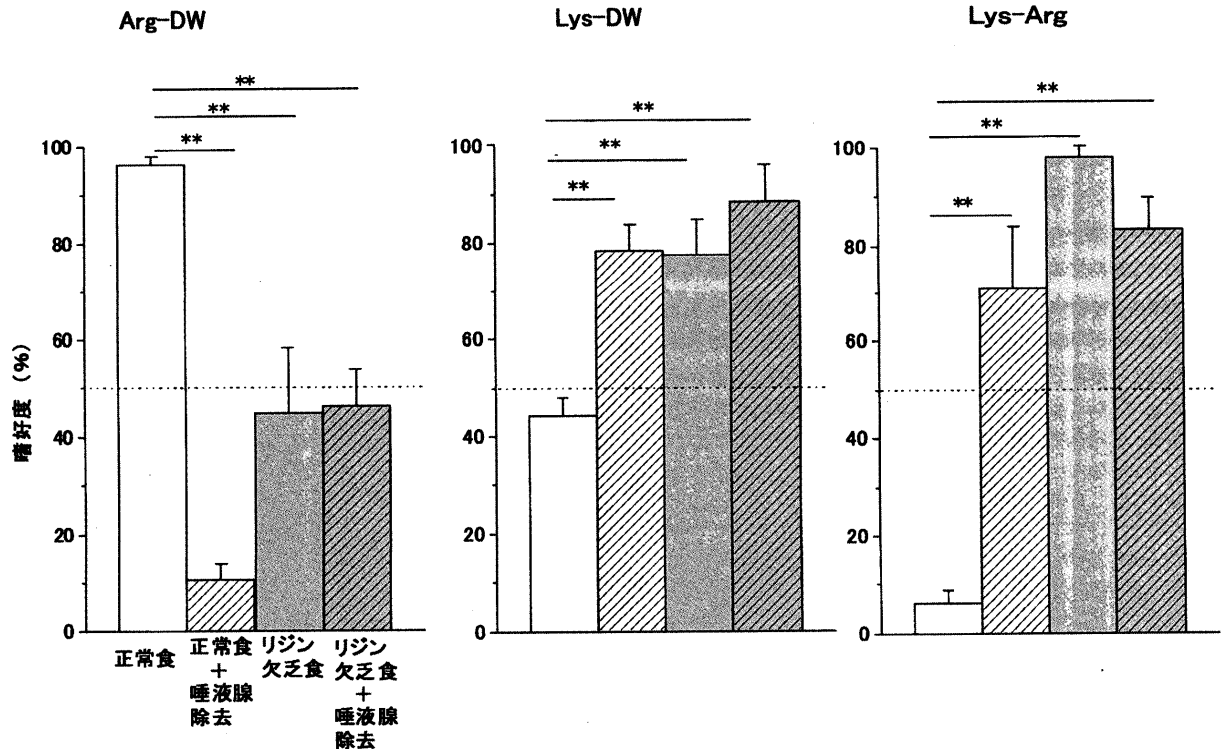


図5 唾液腺切除動物のアミノ酸嗜好性。

Arg-DW：水に対するアルギニンの嗜好度；Lys-DW：水に対するリジンの嗜好度；Lys-Arg：アルギニンに対するリジンの嗜好度

嗜好度(%) = (摂取した味液量) / (摂取した味溶液と水の総量) × 100

正常飼料で飼育した動物はアルギニンや水よりリジンより嗜好した。一方、リジン欠乏動物や正常飼料で飼育した唾液腺切除動物はアルギニンや水よりもリジンを嗜好した。

除がリジン欠乏状態もしくは臨界的なリジン欠乏状態をもたらしている可能性が示される。そこで、これらの動物の血清アミノ酸濃度を測定してみると、驚いたことに、唾液腺切除群の必須アミノ酸総量とリジン濃度は唾液腺無処置群より低く、リジン欠乏群のそれらと等価であった(図6)。このリジン濃度の低下はpair-feedingや食物の胃内投与実験から唾液腺切除群の摂食量の低下や、消化管の吸収機能の低下によるものでないことがわかった。そこで、著者らは唾液にその解答を求めてみた。すると、顎下腺-舌下腺唾液にはリジン結合タンパクの存在がアフィニティー・クロマト法により明らかとなった。これらの結果から、唾液腺切除された動物ではこれらのタンパクの欠損によりリジンの利用性が低下して、リジン欠乏状態もしくは境界型リジン欠乏状態に陥ったのではないかと考えている。つまり、正常動物ではこれらのタンパクがリジンの吸収部位までのキャリアーとして働き、吸収効率を上げているのではないだろうか。現在、これを裏打ちするような研究を進めている。

一方、唾液腺由来の未知の内分泌物質が欠除するため、唾液腺切除すると脂肪の酸化が増加するという報

告がある^{55,56}。この際、細胞内での脂肪酸の効率的な輸送にはカリニチンの産生増加が必要とされ^{57,58}、前駆体としてのリジンが末梢で多量に消費されることにより低血清リジン濃度となる可能性も考えられる。この可能性の検討も今後の課題として残している。

リジン以外の必須栄養成分に対する唾液結合タンパクとしてビタミンB₁₂に対するものが知られている⁵⁹。ビタミンB₁₂結合タンパクは小腸におけるB₁₂の吸収を促進したり、輸送過程における細菌からの防御的な役割を果たしていると考えられている。リジン結合タンパクもリジンに対して類似の働きを担っていると考えられる。

5. 創傷治癒と上皮成長因子(EGF)

多忙を極める現代人に頻発する消化管の病気として潰瘍がある。これは様々なストレスのほか、暴飲暴食のような日々の食習慣にその原因を求めることができる。唾液腺の生理活性物質で、その発見がノーベル賞に結びついたEGFがこの病気の治癒に関与していることはよく知られた事実で、多くの優れた総説がみられる⁵⁹⁻⁶¹。食物摂取には消化器官が健全な機能や形態

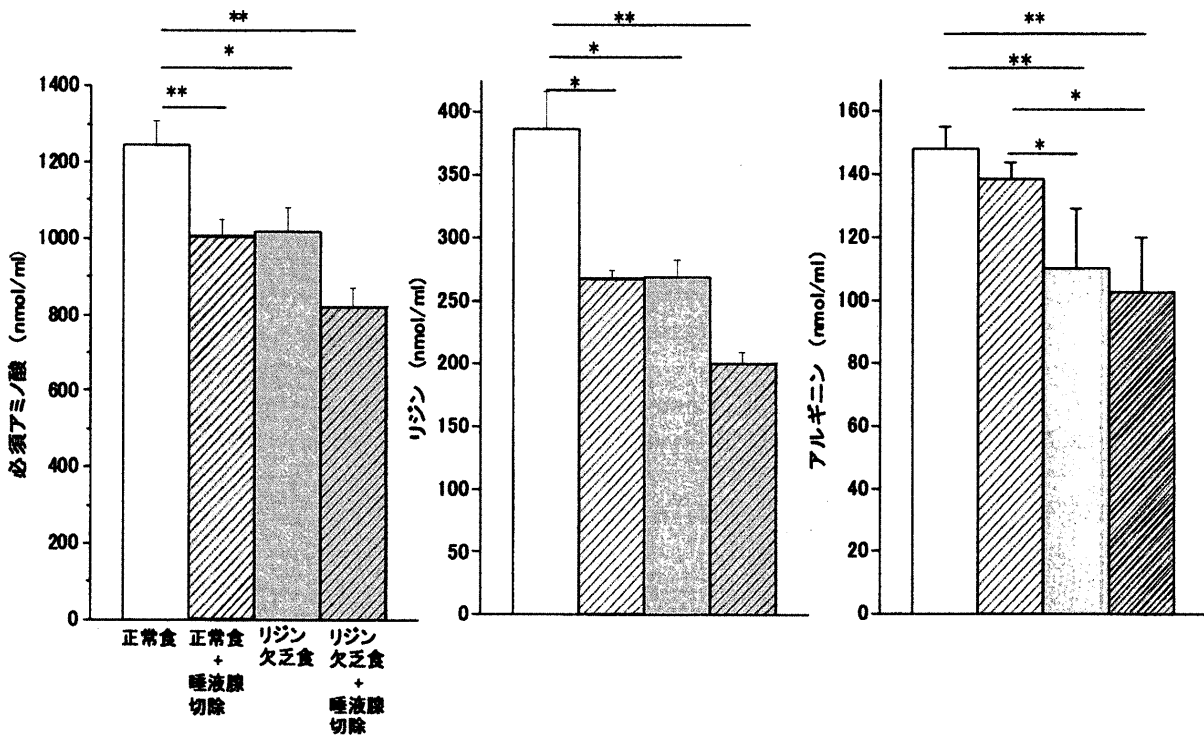


図6 正常飼料およびリジン欠乏飼料で飼育した動物の血清アミノ酸濃度。唾液腺切除により総必須アミノ酸濃度やリジン濃度はリジン欠乏飼料で飼育された動物のそれらに相当した。アルギニンも唾液腺切除でリジン欠乏動物と同様低下する傾向が認められた。

に維持されることが重要であるという観点から、本稿でも損傷治癒におけるEGFの働きについて簡単に述べておく。

マウスの顎下腺で最初に見つかったEGFは上皮細胞、線維芽細胞の分裂促進や血管形成効果を有する6 kDaのタンパクである。その後、ラットやヒトの唾液中でも同様なタンパクが分離されている。Fujisawaら⁶²⁾はウサギの唇側歯肉に形成された潰瘍にこのEGFを塗布すると線維芽細胞やケラチン化細胞が増殖し、潰瘍部位の治癒を促進することを報告している。Noguchiら⁶³⁾は唾液腺切除により唾液中EGFが検出閾値以下に低下することを認めた上で、マウスの舌表面の創傷治癒が唾液腺切除により有意に遅延し、EGFを投与することによって治癒速度が回復することを認めている。また、ラットの顎下腺-舌下腺除去や耳下腺の導管結紮により抜歯創や口蓋にできた創傷の治癒が遅れ、炎症が長く続くようになることが知られている。顎下腺除去したラットの胃内に30%エタノールを点滴すると、潰瘍が形成され二時間後には面積が増加していたが、EGFを皮下投与した動物にエタノールを投与したときには潰瘍の形成を抑制したという⁶⁴⁾。さらに、Itohら⁶⁵⁾によると唾液腺除去動物は唾液腺無処置動物やEGFを投与した唾液腺除去動物よりもムチン層が薄

く、0.6N塩酸に対する傷害を受けやすいと述べている。また、彼らは臨床研究のデータから、胃潰瘍の患者は健康なヒトよりもEGF濃度が有意に高くなるが、これは潰瘍組織の修復治癒のため唾液EGFが誘導されたためであるとも結論づけている。EGFには細胞増殖作用、粘膜修復作用の外に胃粘膜保護作用や胃酸分泌抑制作用も知られており胃潰瘍などの損傷の治癒にポジティブな効果をもたらしている。しかし、EGFのより低い投与量で、塩酸分泌を抑制することなく胃粘膜の保護作用が得られることから、単に、この塩酸分泌抑制が胃粘膜の保護の理由とは考えにくい^{66,67)}。十二指腸潰瘍の患者は他の消化管疾患の患者よりも酸刺激による唾液分泌量が多く、唾液腺も肥大するという報告もみられるが、これも胃潰瘍の場合と同じくEGF供給のためのフィードバック現象の一つと思われる^{66,67)}。唾液腺除去によりアスピリン、胆汁やその他の比較的穏やかな潰瘍誘発物質への胃粘膜の抵抗性も低下する⁶⁸⁾。

粘膜の損傷修復には周囲組織からの肉芽組織細胞の移動、コラーゲンの沈着、線維芽細胞や毛細血管細胞の増殖、分化および再構築のほか、創傷部位近傍にEGF産生細胞やその受容体を有する細胞群が新規に誘導される必要がある。EGFはこれらの修復に必要な条件を整え、結合組織を新生することにより潰瘍治癒

を促進すると考えられている。また、オルニチン脱炭酸酵素阻害剤で粘膜修復が抑制されるので、EGF的作用にはこの酵素の誘導とポリアミンの合成促進が関与しているとみられる^{69,70)}。

食物中の侵害性物質や機械的刺激、また、食物と共に進入する微生物の攻撃により傷ついた消化管粘膜の修復には、唾液腺や創傷部位近傍から放出されるEGFが深く関連している⁷¹⁻⁷³⁾。

6. ま と め

ヒトを含む動物は多くの努力を払いその糧を得る。食べられる側も食べられるためにこの世に誕生したわけではない。そこで、自ずと食べられる側も食べられないようにする防御手段を進化の過程で獲得するにいたった。植物の場合、侵害物質や毒物をその体に持つことがその手段になる。これに対しヒトは調理加工して植物中の毒物や侵害物質を変性させ、それらを弱毒、無毒にするという知恵を獲得した。一方、そのような知恵を持たない動物たちは五感(時には第六感)を駆使すると共に、毒物や侵害物質の影響を無くすか弱くする道具を獲得した。本稿で取り上げた唾液タンパクはその例といえる。ヒトの唾液に生来存在するPRPやシスタチンは十分な調理加工技術を持たない先祖たちが獲得したものであろう。現代人が嗜好品としてコーヒー、ビール、チョコレートなどを楽しめるのも先祖たちがこれらのタンパクを獲得してくれた賜物であろうか。冒頭に述べたように、唾液には数多くのタンパクが存在するが、その生理活性の明らかなものは極僅かである。我々はそのようなタンパクの多くは食性に関連しているのではないかという観点に立ち、侵害成分や新奇物質を含む飼料で飼育された動物の唾液成分における量的、質的変化を調べている。誘導タンパクの研究は今日まで我々が知ることのできなかった唾液腺のダイナミズムを白日に晒すと共に、EGFやNGFのように社会的貢献度の高い生理活性物質の発見につながることも期待される。

本論文中に記された筆者らの研究は、以下の研究助成を受けたものです。日本学術振興会科学研究費補助金(B)(No.15390629, 研究代表者:中島清人), 同(C)(No.15591984, 研究代表者: 裕哲崇およびNo.15591985, 研究代表者: 勝川秀夫), 2002年度うま味研究会助成金(研究代表者: 勝川秀夫), 2003年度宮田研究助成金(A)(研究代表者: 裕哲崇, 勝川秀夫および中島清人), 2004年度宮田研究助成金(A)(研究代表者: 裕哲崇および中島清人), 平成15年度アサヒビール学術振興財団研究助成金(研究代表者: 裕哲崇)。

文 献

- 1) 松尾龍二: 基礎歯科生理学 (中村嘉男, 森本俊文, 山田好秋), 第4版, 医歯薬出版(東京), 381~398, 2003.
- 2) 覚道幸男, 吉田 洋: 図説歯科生理学(覚道幸男, 船越正也, 上羽隆夫, 吉田 洋), 学研書院(東京), 368~391, 1986.
- 3) Schmale, H., Ahlers, C., Blaker, M., Kock, K. and Spielman, A. I.: Receptor events in taste. *Ciba Found. Symp.* 179: 167~180, Discussion. 180: 185, 1993.
- 4) Cohen, S.: Isolation of a mouse submaxillary protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the newborn animal. *J. Biol. Chem.*, 237: 1555~1562, 1962.
- 5) Levi-Montalcini, R. and Hamberger, V. A.: Diffusible agent of mouse sarcoma, producing hyperplasia of sympathetic ganglia and hyperneurotization of viscera in the chick embryo. *J. Exp. Zool.*, 123: 233~239, 1953.
- 6) Koop, H. M., Valentijn-Benz, M., Nieuw Amerongen, A. V., Roukema, P. A., de Graaff, J.: Aggregation of oral bacteria by human salivary mucins in comparison to salivary and gastric mucins of animal origin. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 58: 255~263, 1990.
- 7) Caccavo, D., Pellegrino, N. M., Altamura, M., Rigon, A., Amati, L., Amoroso, A., Jirillo, E.: Antimicrobial and immunoregulatory functions of lactoferrin and its potential therapeutic application. *J. Endotoxin Res.*, 8: 403~417, 2002.
- 8) Tenovuo, J.: Clinical applications of antimicrobial host proteins lactoperoxidase, lysozyme and lactoferrin in xerostomia: efficacy and safety. *Oral Dis.*, 8: 23~29, 2002.
- 9) Goodman, H., Pollock, J. J., Iacono, V. J., Wong, W., Shockman, G. D.: Peptidoglycan loss during hen egg white lysozyme-inorganic salt lysis of *Streptococcus mutans*. *J. Bacteriol.*, 146: 755~763, 1981.
- 10) Pollock, J. J., Lotardo, S., Gavai, R., Grossbard, B. L.: Lysozyme-protease- inorganic monovalent anion lysis of oral bacterial strains in buffers and stimulated whole saliva. *J. Dent. Res.*, 66: 467~474, 1987.
- 11) Ihalin, R., Pienihakkinen, K., Lenander, M., Tenovuo, J., Jousimies-Somer, H.: Susceptibilities of different *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains to lactoperoxidase-iodide-hydrogen peroxide combination and different antibiotics. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 21: 434~440, 2003.
- 12) Takahama, U., Hirota, S., Nishioka, T., Oniki, T.: Human salivary peroxidase-catalyzed oxidation of nitrite and nitration of salivary components 4-hy-

- droxyphenylacetic acid and proteins. *Arch. Oral Biol.*, **48** : 679~690, 2003.
- 13) Bate-Smith, B. T. and Swain, T. : Comparative Biochemistry. (Florkin, M. and Mason, H. S.), Vol. III, Academic Press (New York) , 755~809, 1990.
 - 14) Haslam, E. : Plant Phenols, Cambridge University press, (Cambridge) 1989.
 - 15) Salunkhe, D. K., Chavan, J. K. and Kadam, S. S. : Nutritional consequences of dietary tannin (Salunkhe, D. K. and Kadam, S. S. eds.), CRC Press (Boca Raton), 29~68, 1990.
 - 16) Mangan, J. L. : Nutritional effects of tannins in animal foods. *Rev. Res. Rev.*, **1** : 209~231, 1988.
 - 17) Freedland, W. J., Calcott, P. H. and Geiss, D. P. : Allelochemicals, minerals, and herbivore population size. *Biochem. Syst. Ecol.*, **13** : 195~206, 1985.
 - 18) Azen, E. A. and Maeda, N. : Molecular genetics of human salivary proteins and their polymorphism (Harris, H. and Hirschhorn, K.), Plenum Press (New York), 141~199, 1998.
 - 19) Austin, P. J., Suchar L. A., Robbins, C. T. and Hagerman, A. E. : Tannin-binding proteins in saliva of deer and their absence in saliva of sheep and cattle. *J. Chem. Ecol.*, **15** : 1355~1347, 1989.
 - 20) Hagerman, A. E. and Robbins, C. T. : Specificity of tannin-binding salivary proteins relative to diet selection by mammals. *Can. J. Zool.*, **71** : 628~633, 1993.
 - 21) Kauffman, D., Wong, R., Bennick, A., Keller, P. : Basic proline-rich proteins from human parotid saliva : complete covalent structure of protein IB-9 and partial structure of protein IB-6, members of a polymorphic pair. *Biochemistry*, **21** : 6558~6562, 1982.
 - 22) Mehansho, H., Hagerman, A. and Clements, S. : Modulation of proline-rich protein biosynthesis in rat parotid glands by sorghums with tannin levels. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, **80** : 3948~3952, 1983.
 - 23) Austin, P. J., Suchar, L. A., Robbins, C. T. and Hagerman, A. E. : Tannin-binding proteins in saliva of deer and their absence in saliva of sheep and cattle. *J. Chem. Ecol.*, **15** : 1355~1347, 1989.
 - 24) Harborne, J. B. : Methods in plant biochemistry (Harborne, B. J.) Vol.1, Academic Press (New York), 1~28, 1989.
 - 25) Mehansho, H., Clements, S., Sheares, B. T., Smith, S. and Carlson, D. M. : Induction of proline-rich protein synthesis in mouse salivary glands by isoproterenol and by tannins. *J. Biol. Chem.*, **260** : 4418~4423, 1985.
 - 26) Mehansho, H., Ann, D. K., Butler, L., Rogler, J. C. and Carlson, D. M. : Induction of proline-rich proteins in hamstar salivary glands by isoproterenol treatment and an unusual growth inhibition by tannins. *J. Biol. Chem.*, **262** : 12344~12350, 1987.
 - 27) Kauffman, D. L. and Keller, P. J. : The basic proline-rich proteins in human parotid saliva from a single subject. *Arch. Oral Biol.*, **24** : 249~256, 1979.
 - 28) Bennick, A. : Structural and genetic aspects of proline-rich proteins. *J. Dent. Res.*, **66** : 457~461, 1987.
 - 29) Isemura, S., Saitoh, E., Ito, S., Isemura, M. and Sanada, K. : Cystatin S : A cysteine protease inhibitor of human saliva. *J. Biochem.*, **96** : 1311~1314, 1984.
 - 30) Isemura, S., Saitoh, E. and Sanada, K. : Isolation and amino acids sequence of SAP-1, an acidic protein of human whole saliva, and sequence homology with human γ -trace. *J. Biochem.*, **96** : 489~498, 1984.
 - 31) Isemura, S., Saitoh, E. and Sanada, K. : Characterization and amino acid sequence of a new acidic cysteine protease inhibitor (cystatin SA) structurally closely related to cystatin S, from human whole saliva. *J. Biochem.*, **102** : 639~704, 1987.
 - 32) Isemura, S., Saitoh, E. and Sanada, K. : Characterization of a new cysteine protease inhibitor of human saliva, cystatin SN, which is immunologically related to cystatin S. *FEBS Lett.*, **198** : 145~149, 1986.
 - 33) Schaw, P. A., Barka, L., Woodin, A., Schachter, B. S., & Cox, J. L. : Expression and induction by β -adrenergic agonists of the cystatin S gene in submandibular glands of developing rats. *Biochem. J.*, **265** : 115~120, 1990.
 - 34) Shaw, P. A. & Barka, T. : β -Adrenergic induction of a cysteine-protease-inhibitor mRNA in rat salivary glands. *Biochem. J.*, **257** : 685~689, 1989.
 - 35) Saitoh, E. and Isemura, S. : Molecular biology of human salivary cysteine protease inhibitors. *Crt. Rev. Oral Biol. Med.*, **4** : 487~493, 1993.
 - 36) Ninomiya, Y., Kajiura, H., Naito, Y., Mochizuki, K., Katsukawa, H. and Torii, K. : Glossopharyngeal denervation alters responses to nutrients and toxic substances. *Physiol. Behav.*, **56** : 1179~1184, 1994.
 - 37) 勝川秀夫, ニノ宮裕三 : カプサイシン含有飼料のラット顎下腺唾液への影響. 日本味と匂学会誌, **2** : 411~414, 1995.
 - 38) Katsukawa, H. and Ninomiya, Y. : Capsaicin induces cystatin S like substances in submandibular saliva of the rat. *J. Dent. Res.*, **78** : 1609~1616, 1999.
 - 39) Katsukawa, H., Shang, K., Nakashima, K., Yang, K. H., Ohashi, R., Sugita, D., Mishima, M., Nakata, Y., Ninomiya, Y. and Sugimura, T. : Salivary cystatins influence ingestion of capsaicin-containing diets in the rat. *Life Sciences*, **71** : 457~467, 2002.
 - 40) 山田礼子, 杉田大悟, 勝川秀夫, 杉村忠敬, 中田 稔, ニノ宮裕三 : テオプロミン含有食によるマウス唾液タンパク質の変化. 日本味と匂学会誌, **8** : 667~670, 2001.
 - 41) 勝川秀夫, 中島清人, 但野正朗, 裕哲崇, ニノ宮裕三,

- 杉村忠敬：飼料中苦味物質による唾液シスタチンの誘導. 日本味と匂学会誌 10 : 765~768, 2003.
- 42) 商 勇, 三島和夫, 勝川秀夫, 中田 稔, ニノ宮裕三 : カプサイシン食摂取で誘発される結合碗周囲核における*c-fos*蛋白質の発現とその発現部位の破壊による唾液蛋白質誘導阻害. 日本味と匂学会誌, 9 : 699~702, 2002.
- 43) Bobec L. B and Levine M. J : Cystatins-inhibitors of cysteine proteases. *Crt. Rev. Oral Biol. Med.*, 3 : 307~332, 1992.
- 44) Abrahamson, M., Alvarez-Fernandez, M., Nathanson, C. M. : Cystatins. *Biochem. Soc. Symp.*, 70 : 179~99, 2003.
- 45) 栗原良枝, 蕪渾 悟 : 最新味覚の科学 (佐藤昌康, 小川尚), 朝倉書店 (東京), 1~13 1997.
- 46) Imoto, T., Miyasaka, A., Ishima, R. and Akasaka, K. : A novel peptide isolated from the leaves of *GYMNEMA SYLVESTRE*. 1. Characterization and its suppressive effect on the neural responses to sweet taste stimuli in the rat. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100A : 309~314, 1991.
- 47) Miyasaka, A. and Imoto, T. : Electrophysiological characterization of the inhibitory effect of a novel peptide gurumarin on the sweet taste response in rats. *Brain Res.*, 676 : 63~68, 1995.
- 48) 井元敏明, 宮坂昭子, ニノ宮裕三 : ラット唾液に含まれるグルマリン結合性タンパク. 味と匂のシンポジウム論文集, 26 : 13~16, 1992.
- 49) 勝川秀夫, 井元敏明, ニノ宮裕三 : ギムネマ含有飼料摂取によるグルマリン結合唾液タンパク質の誘導. 日本味と匂学会誌, 4 : 495~498, 1997.
- 50) Bercher, R. W., Meyer, L. M. and Miller, I. F. : Co⁶⁰Vitamin B₁₂ binding capacity in normal human saliva. *Proc. Sci. Exp. Biol.*, 99 : 513, 1958.
- 51) 勝川秀夫, 中島清人, 神田昇平, ニノ宮裕三, 杉村忠敬 : リジン欠乏食とリジン結合唾液タンパク. 日本味と匂学会誌, 9 : 461~464, 2002.
- 52) Markison, S., Gietzen, D. W. and Spector, A. C. : Essential amino acid deficiency enhances long-term intake but not short-term licking of the required nutrient. *J. Nutr.*, 129 : 1604~1612, 1999.
- 53) Tabuchi, E., Ono, T., Nishijo, H. and Torii, K. : Amino acid and NaCl appetite, and LHA neurone responses of lysine-deficient rat. *Physiol. Behav.*, 49 : 951~964, 1991.
- 54) Torii, K. and Nijima, A. : Effect of lysine on afferent activity of the hepatic branch of the vagus nerve in normal and L-lysine-deficient rats. *Physiol. Behav.*, 72 : 685~690, 2001.
- 55) Yamashita, J., Hayashi, S., Hirata, Y., Miyajima, M. : Possible role of the submandibular gland in the development of obesity in mice. *Biomed. Environ. Sci.*, 9 : 191~8, 1997.
- 56) Kurachi, H., Adachi, H., Ohtsuka, S., Morishige, K., Amemiya, K., Keno, Y., Shimomura, I., Tokunaga, K., Miyake, A. and Matsuzawa, Y. : Involvement of epidermal growth factor in inducing obesity in ovariectomized mice. *Am. J. Physiol.*, 265 : E323~331, 1993.
- 57) Barrett, E. J. : Medical Physiology (Boron WF and Boulpaep EL), Saunders (Philadelphia) 1066~1085, 2003.
- 58) Bartlett, K. and Eaton, S. : Mitochondrial beta-oxidation. *Eur. J. Biochem.*, 271 : 462~469, 2004.
- 59) Konturek, S. J., Brzozowski, T., Konturek, J. W. and Slomiany, B. L. : The Stomach, Physiology, Pathology and Treatment (Domschke W and Konturek SJ), Springer-Verlag (Berlin) pp159~176, 1985.
- 60) Milani, S., Calabro, A. : Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. *Microsc Res Tech.*, 53 : 360~71, 2001.
- 61) Vinter-Jensen, L. : Pharmacological effects of epidermal growth factor (EGF) with focus on the urinary and gastrointestinal tracts. *APMIS Suppl.*, 93 : 1~42, 1999.
- 62) Fujisawa, K., Miyamoto, Y. and Nagayama, M. : Basic fibroblast growth factor and epidermal growth factor reverse impaired ulcer healing of the rabbit oral mucosa. *J. Oral Pathol. Med.*, 32 : 358~366, 2003.
- 63) Noguchi, S., Ohba, Y. and Oka, T. : Effect of salivary epidermal growth factor on wound healing of tangle in mice. *Am. J. Physiol.*, 260 : 620~625, 1991.
- 64) Leitch, G. J. : Role of the salivary glands in protecting the stomach against ethanol. *Alcohol Alcohol.*, 20 : 305~311, 1985.
- 65) Itoh, M., Joh, T., Imai, S., Miyamoto, T., Matsusako, K., Iwai, A., Katsumi, K., Endo, K., Goto, K., Takeuchi, T. : Experimental and clinical studies on epidermal growth factor for gastric mucosal protection and healing of gastric ulcers. *J. Clin. Gastroenterol.*, 10 Suppl, 1 : S7~12. 1988.
- 66) Blum, A. L. : Salivary secretion in duodenal ulcer disease. *Gut*, 13 : 713~717, 1972.
- 67) Nagwani, P. L., Naik, S. R., Sachdev, S., Srivastava, P. N. and Chuttani, H. K. : Correlation of salivary and gastric acid secretions in duodenal ulcer patients in tropics. *Gut*, 20 : 585~589, 1979.
- 68) Konturek, S. J., Brzozowski, T., and Stachura, J. : Adaptation of the gastric mucosa to stress. Role of prostaglandins and epidermal growth factor. *Scand. J. Gastroenterol.*, 193 : 39~45, 1992.
- 69) Konturek, P. K., Brzozowski, T., Konturek, S. J. and Dembinski, A. : Role of epidermal growth factor (EGF), prostaglandins and sulfhydryls in stress-induced gastric lesions. *Gastroenterology*, 99 : 1607

- ~1615, 1990.
- 70) Bielanski, W., Brzozowski, T., Majka, J., Szlachcic, A., Ott, W. and Konturek, S. J. : Fibroblast growth factor (bFGF) in gastroprotection and ulcer healing. Interaction with sucralfate. *Gastroenterology*, **102** : A 42, 1992.
- 71) Marti, U., Burwen, S. J. and Jones, A. L. : Biological effects of epidermal growth factor, with emphasis on the gastrointestinal tract and liver : an update. *Hepatology*, **9** : 126~138, 1989.
- 72) Poulsen, S. S., Nexø, E., Olsen, P. S., Hess, J. and Kirkegaard, P. : Immunochemical localization of epidermal growth factor in rat and man. *Histochemistry*, **85** : 389~394, 1986.
- 73) Wright, N. A., Pike, C. and Elia, G. : induction of a novel epidermal growth factor-secreting cell lineage by mucosal ulceration in human gastrointestinal stem cells. *Nature*, **343** : 82~85, 1990.
-