

初乳に含まれる免疫因子と その臨床的応用

研究協力者 東京大学小児科 財 満 耕 二

(協同研究者) 東大分院小児科 早 川 浩
山 下 知 子
帝京大学小児科 牛 島 廣 治
吉 野 和 也
伊 東 繁

本年度も昨年に引き続き、母乳ことに新生児、未熟児の感染防禦上極めて重要な初乳について免疫学的に更に検討を加えたのでその結果を報告する。また初乳中の主な免疫グロブリンである IgA を集積したヒト初乳から分離、精製し、その臨床的応用として現在“人工初乳”を作成中であるのでそのことにも触れたい。

昨年度は、“初乳の免疫に関する役割について”と題し、初乳中の液性成分としての免疫グロブリンおよびその他の蛋白、補体成分の経日の変動、そして細胞成分については、とくに初乳中のリンパ球の Subpopulation につき研究結果を報告したが、本年は

- (1) 初乳中の液性成分と細菌との関係
- (2) 初乳中の液性成分のヒト細胞に対する作用
- (3) 初乳中の細胞成分の機能とその生物学的活性
- (4) 初乳および新生児期末梢血におけるリンパ球の Subpopulation
- (5) 所謂“人工初乳”

について若干の検討を加えた。

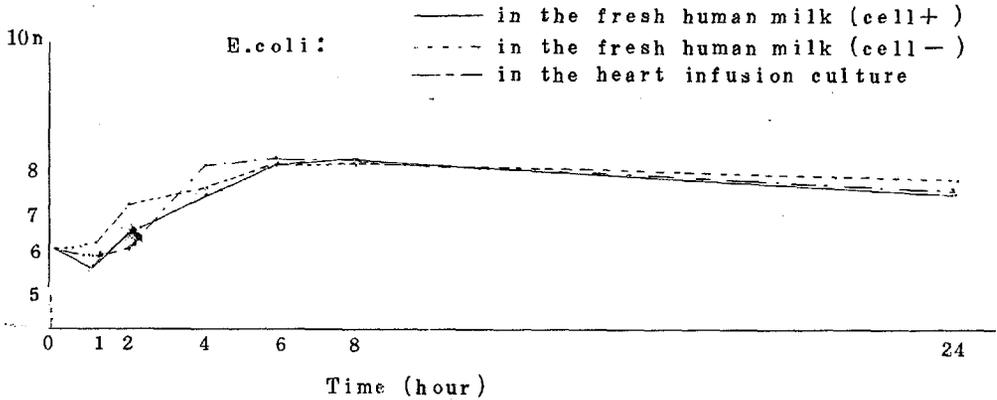
実験方法及び結果：

研究に用いた初乳は、都立築地産院、帝京大学産科、関東通信病院産科の医師および助産婦の協力により、児に与える必要のない場合、または余った場合のものを入手した。

- (1) 初乳中の液性成分と細菌との関係について

初乳には、周知の如く、種々の液性因子が存在するが、細菌とのかかわりを新生児期の感染に多い *Escherichia coli* (NIJ株) をモデルとして使用し、invitro での実験を行った。初乳そのまま、初乳から細胞成分を除去したものと Heart Infusion 培養液 (コントロール) の 3 群に分け、*E. coli* の増殖に差があるかどうかを検討した。即ち $10^6/ml$ の菌を入れて一定時間培養を行った後に、その一部 (0.1 ml) を倍々稀釈し、あらかじめ作成しておいた B T B 培地にひろげて、24 時間後のコロニーの数より菌数を得た。結果 (図 1) は 3 群とも同様の増殖曲線を示し、母乳と Heart Infusion の間に差が認められなかった。予想に反した、こうした事実だけからは、母乳が

図1 Changes of the Number of E. coli in the Culture



はたして生体の防禦作用として意味があるのか疑問が出されるかも知れないが, in Vitro と in vivo での働きの違い, また菌数を 10^2 個/ml 位に下げて行ったら差が出る可能性が強いという意見もあり, 現在, 他の菌類, 菌数について再検討をしている。又形態の変化についても検討中である。

(2) 初乳中の液性成分のヒト細胞に対する作用について

母乳成分が, ヒト白血球に対しどの様な作用を示すか検討してみた。ロゼット形成細胞に対する作用として, ヒト母乳液性成分, プロラクチンを, 15分間前処理として作用させ, コントロールとの差を同様の T-cell の方法で行った。結果(図2)は, 母乳により T-cell の population の軽度の減少, プロラクチンにより T-cell の population の軽度の上昇が見られた。これが, 単なる細胞膜の電荷の変動を起こすだけなのか, もっと膜及び細胞内への影響によるのかは不明である。B-cell系に関しても同様に, 母乳液性因子は, むしろ低下の作用を示し, プロラクチンは, 増加の作用を示した。

図2 SRF-LYMPHOCYTE APPEARANCE TREATED BY HUMAN MILK AND PROLACTIN

	CONTROL	HUMAN MILK		PROLACTIN	
		4×	16×	12.5	3.1 unit/ml
case 1	70	61	65	88	78
case 2	57	51	48	63	61
case 3	72	53	57	72	72
case 4	75	56	69	85	75

母乳中の液性成分中に、免疫グロブリンやその他のものがあり、外界の細菌、ウイルスに直接作用する働きも大切であるが、同時にヒトの免疫防禦機構を高める因子（リンフォカイン）があるかという事も大切である。その一つとしてMIF様物質の存在を検討した。モルモットの腹腔内細胞を利用し、寒天法で行ったところ、軽度のMIF様活性を示す物質の存在を認めた。これがリンパ球から作られたマクロファージ遊走阻止物質とは、意味が違うとも思われるが。

(3) 初乳中の細胞成分の機能とその生物学的活性について

前述の *in vitro* の結果が予想に反している為、位相差顕微鏡下で、経時的に細菌と母乳との関係について調べた。この際、母乳中の免疫グロブリンとの関係よりも、細菌と母乳細胞との関係、即ち phagocytosis がどの様に行われるかに注目してみた。

母乳中の細胞は、意外にも phagocytosis の機能をもつ細胞が少ない。むしろ、菌の動きよりも早く活性が低下しているのが見られた。この事は *E. coli* (NIJ) のみならず、*Candida* (Type A) においても同様の結果を得た。しかし長時間みていると、*E. coli* は増殖を示すかと思うとそうではなく、動きが少なくなり、フィラメント現象を示す様になった。菌自体も増殖が抑制されている。即ち、母乳は菌の増殖を static な状態に抑えていると思われる。このように母乳細胞は、それ程、積極的な phagocytosis は行ってはいないが、同時に腸管内では、ほとんど Viability を失っているという結果がでた。

In vitro では、初乳と胃液とをある比率で混合し、その時の pH と細胞の Viability を調べてみた。母乳そのものは、中性であるが、1/50量の胃液を入れて、pH が 6.4、等量で 5.2、10倍量の胃液で pH は 2.0 となる。pH 6.4 では細胞の Viability はほとんど保たれているが、pH 5.2 では、Viability が、どうにか1時間後でも保たれている。pH 2.0 では細胞がすぐ壊れて終う。新生児及び新生マウスで、母乳を飲んでからの胃中細胞成分を調べた所、母乳は胃中で塊を形成する事が多く、細胞も顕微鏡で見れば、塊形成するのがわかり、極く一部の細胞のみが自由に動き回っている。しかもその Viability をみると塊を作っている細胞群は、青染し活性を失っていた。従って細胞成分が有効な作用を示すかどうか疑問となる。ただ、少数だが十二指腸まで Viability をもち、移動している母乳細胞が認められた。

(4) 初乳及び新生児期末梢血におけるリンパ球の Subpopulation について

1. 初乳中のリンパ球の免疫学的意義を検討するため、その分離を計画し、分娩後5日以内の母から得た初乳20例について、Conray-Ficoll による重力沈降法（比重速沈法）で試みたが、マクロファージのような細胞の混入が著しく、リンパ球を所期の如く十分量集められなかった。得られた少数のリンパ球について、Eロゼット、EACロゼットを試みると、いずれも一部ロゼットを形成する細胞があり、初乳中のリンパ球においてもこれらのマーカーを示すものが明らかに証明されたが、これらをさらに単離して mitogen に対する反応性など、免疫学的性質を検討しようとした計画は、量的に不可能であった。リンパ球単離の別法としてテトロンウールカラムによる方法も試みたがやはり十分量のリンパ球が得られなかった。

この目的のためにはリンパ球分離の方法をさらに検討する必要がある。

2. 新生児期における末梢血リンパ球の特性を研究する手はじめとして、周産期（生後1～6日）における新生児のリンパ球の Subpopulation を、E⁻、EAC⁻ ロゼット形成法及び Wybran の方法を改変した。Active E⁻ ロゼット法を用いて検討した。

健康成人18例を対照として比較すると、生後1～3日の8例では上述の3種のマーカーをもつリンパ球の百分率に差が認められなかったが、生後4～6日の10例では、Active E⁻ ロゼットが有意に低率であり、E⁻、EAC⁻ ロゼットには差がなかった。

今後この現象の意義、日令、月令、栄養法などによる影響などについて、さらに検討を加える予定である。

(5) 所謂“人工初乳”について

初乳栄養は、新生児は勿論、未熟児にとっても感染防禦上かけがえのない乳汁であることが判明してきた。初乳中には、抗細菌抗体、抗ウィルス抗体をはじめ多くの抗体が含まれており、主な免疫グロブリンは、分泌型 Ig A (S-Ig A) で、初乳は S-Ig A 液そのものであるとも云われ、消化管の局所免疫において重要な役割を果たしている。我々は、生後5日目までの初乳をできるだけ多く集め、分離、精製し、従来からの人工栄養に加えて、“人工初乳”とした。これとは別に、同じ様に血清から抽出した経口血清型 Ig A を人工粉乳に加えたもの、コントロールとの免疫学的栄養実験を行い、成長発育、罹患率などを未熟児において比較検討しているが、未だ一定の結果は出していない。なお、初乳を集めるに際し、妊婦について Australia 抗原陽性の母親は除いた。これは HBs 抗原が、初乳中に極めて僅かではあるが移行するからである。

初乳中細胞成分およびラクトフェリンに関する研究

横浜市立大学小児科 植地正文

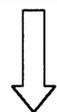
研究協力者 池沢芳江
川島敬嗣
小菅啓司

はじめに：

ヒト初乳中に多数の細胞が存在していることは明確になったが、これら細胞が新生児にとってどのような働きを持っているかはいまだ不明であり、偶然に乳汁中に混じたのかもしれない。しかしながら、一方では、これら細胞成分が新生児期の感染防禦機構において何らかの役割をもっているのではなからうかとする考え方もある。今回はヒト初乳中にある細胞数が分娩後の日数によってどのように変動するかを検討してみた。さらに初乳からラクトフェリンを抽出し、病原大腸菌 O₁₅₇ に対する発育阻止効果について実験を試みたのでその成績を報告する。



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



本年度も昨年に引き続き、母乳ことに新生児、未熟児の感染防禦上極めて重要な初乳について免疫学的に更に検討を加えたのでその結果を報告する。また初乳中の主な免疫グロブリンである Ig A を集積したヒト初乳から分離、精製し、その臨床的応用として現在“人工初乳”を作成中であるのでそのことにも触れたい。