

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ろ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。

I ヒト初乳中細胞成分に関する検討

実験材料および実験方法：

横浜市立愛児センターで1973年12月から1975年6月までに正常分娩をした産褥婦から初乳（分娩後1～5日目）155検体を経時的に採取し、分娩後日数ごとの平均総細胞数および分娩後の日数と総細胞数との関係を検討した。総細胞数算定は図1の方法に従って行った。総細胞数算定にさきだて細胞数算定に変動をきたす諸条件（遠沈時間、遠沈速度、温度、pH…）についても検討を加えた。温度は -20°C 、 $+4^{\circ}\text{C}$ 、 $+20^{\circ}\text{C}$ 、 $+33^{\circ}\text{C}$ 、 $+56^{\circ}\text{C}$ の5段階で経時的な変動をみた。遠沈速度は800、1,000、1,200、1,500、2,000、2,500、3,000 r.p.m. の7段階の回転数で、遠沈時間は5分および10分についてその変動をしらべた。

実験成績：

①細胞数算定に及ぼす諸条件

細胞数算定に及ぼす影響を温度、遠沈速度、遠沈時間などについて検討してみると、温度 $20\sim 33^{\circ}\text{C}$ 、遠沈速度1,500 r.p.m.、遠沈時間10分が最適であった。遠沈速度を小さくすると、小型の細胞の収率はよくなるが、逆に大型の細胞の破壊をまねき、芳しくない。また細胞数のカウントは細胞形態がみられる利点を取り、マニュアルで行った。

②ヒト初乳中総細胞数について

初乳（155検体）の総細胞数は平均 $1,865/\text{mm}^3$ であった。総細胞数の分布をみると図2のとおりになる。

$3,000/\text{mm}^3$ 以下は初乳全体の83.9%を占めていた。また、分娩後日数別の平均総細胞数は分娩後2日目 $3,841/\text{mm}^3$ 、

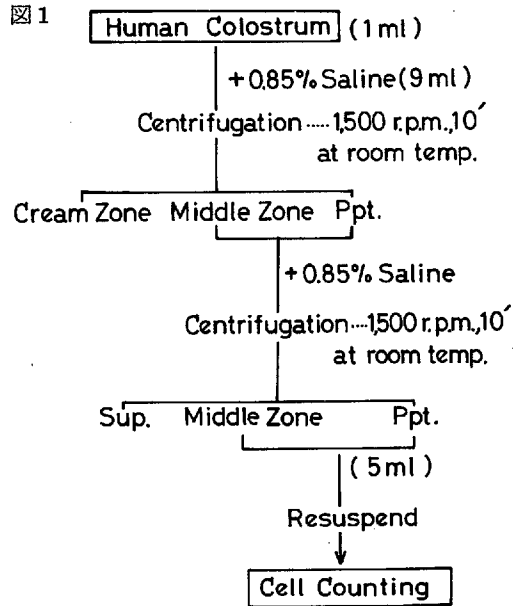
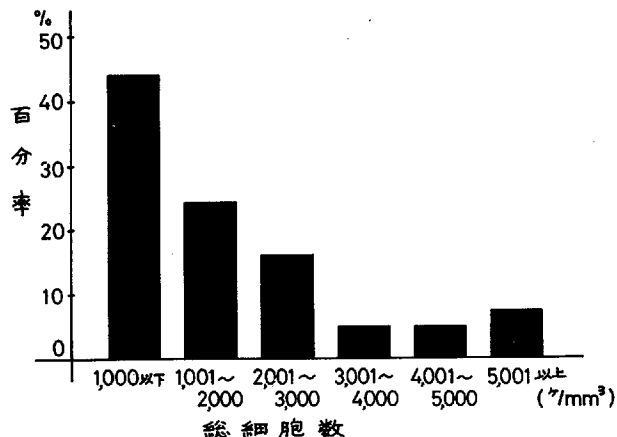


図2 ヒト初乳中の総細胞数分布（155検体）



分娩後3日目 $2,084/\text{mm}^3$ ，分娩後4日目 $1,444/\text{mm}^3$ ，分娩後5日目 $1,155/\text{mm}^3$ であった。また分娩後1カ月目では $1,226/\text{mm}^3$ も存在していた。また同一個人（32例）について総細胞数を算定してみると，分娩後日数がたつにつれて急速に減少してくる。分娩後の日数が少ないほど細胞数が多いことも判明した。分娩後5日目頃から分泌量が増加してくることを考慮してもなお総細胞数は日数がたつにつれて減少傾向にあることは確かである。

考按：

ヒト初乳中の総細胞数に関して，Mohr や Simon らの報告がみられる。Mohr らは分娩後24時間までの健康妊婦を対象に検討しており，初乳中には平均 $2,100/\text{mm}^3$ ，分娩後4～14日目では平均 $1,500/\text{mm}^3$ が存在していたという。Simon らは初乳で $6,000/\text{mm}^3$ 以上が56%， $10,000/\text{mm}^3$ 以上が17%であったという。我々の成績はMohr らの成績に近いものであろう。これらの多数の細胞が実際に初乳中に存在しているが新生児に摂取されたときには胃内で殆んどが破壊されてしまうと考えられている。しかしながら初乳中に Anti trypsin₁ が存在すること，母乳の胃内通過が牛乳に比してはよいこと，哺乳後胃内 pH が中性近くにまで上昇すること，そして約2時間位持続することなどの事実を考えると，そのうちの一部が腸内にとどまって働いている可能性があり，すべて死滅してしまわないのかもしれない。この点に関しては今後の検討にまちたい。また総細胞数の算定に関しては非常に小型の細胞およびこわれ易い細胞の算定がうまくゆくようになれば，もう少し総細胞数が増加してくるものと思われる。

II ヒト初乳中ラクトフェリンの病原大腸菌 O_{11} に対する発育阻止効果について

実験材料および実験方法：

ラクトフェリンは Johansson の方法で抽出したものをを用いた。病原大腸菌は O_{11} を heart infusion agar で培養し，菌数を $200\text{ケ}/\text{ml}$ 程度に調製し実験に用いた。ヒト初乳中細胞成分は横浜市立愛児センターで分娩した産褥婦から採取した。採取した初乳は遠沈し，沈渣を滅菌生食水で3回洗滌し，細胞数 $2 \times 10^6/\text{ml}$ になるように調製して実験に供した。乳清は高速遠沈後 $0.45\mu\text{ミ}$ リポア₁ 透過したものをを用いた。

第1回目の実験群はラクトフェリン（飽和鉄の状態）群，乳清群，細胞群，ラクトフェリン+細胞群，乳清+細胞群，生食群の6群にわけて実験を行った。

第2回目の実験群はラクトフェリン添加群，ラクトフェリン非添加群，乳清群，の3群にわけた。

実験成績：

実験 I ；

細胞を加えた群ではすべて培養直後から $3.2 \times 10^3/\text{ml}$ と多くの細胞が認められたため，細胞成分はかなり細菌で汚染されていることが判明した。またラクトフェリン群では飽和鉄の状態を用いたため，発育阻止効果がみられず，培養18時間後では 10^5 以上 $/\text{ml}$ の菌数の増加を認めている。乳清群でははじめ $286/\text{ml}$ の菌数が培養18時間後には 10^5 以上 $/\text{ml}$ になっていることが目立った。

（図3）

実験Ⅱ；

ラクトフェリン添加群では培養7時間後でもなお126/mlと発育阻止がみられるのに対してラクトフェリン非添加群では培養3時間後283/ml, 培養5時間後520/ml, 培養7時間後608/mlと増加し, 培養18時間後には 10^5 以上/mlの菌数に達している。乳清群でははじめの3時間目頃までは184/mlと発育がおさえられているようで, その後は次第に増加し, 培養18時間後には対照と全く差がみられないくらい菌数は増加していた。

考按：

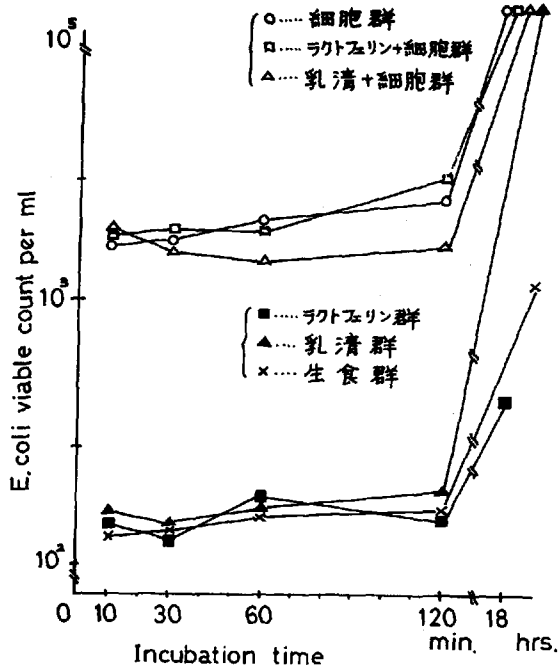
Bullenらはヒト初乳中から抽出したラクトフェリンが病原大腸菌O_mに対してbacthirostaticな働きのあることを報告している。我々は追試をかねてラクトフェリンの病原大腸菌O_mに対する発育阻止効果および細胞成分の関与に

についても検討を加えた。その結果, 初乳は無菌であるといわれているが, 分泌されてくる過程で細菌にかなり汚染されることが明らかになった。これら細菌が新生児の感染症および免疫にプラスに働くかマイナスに働くかは今後の検討にまたなければならない。病原大腸菌O_mの発育に関する細胞成分の関与は別の機会にしたい。今回はラクトフェリンの病原大腸菌O_mに対する発育阻止効果について検討した。その結果, 飽和鉄の状態に含まれているラクトフェリンを用いるときは全く発育阻止効果は認められず, Bullenらの報告と同様の成績をえている。不飽和鉄の状態にしたラクトフェリン(最終濃度9.3mg/ml)を用いると, 培養7時間後であってもなお病原大腸菌O_mの発育をおさええているが, 培養18時間後には 10^5 /mlと増加していた。病原大腸菌の発育にFeが必要であることから, お互いにうばいあり状態になり, 菌の増殖がおさえられるのであろう。乳清では約3時間までが発育抑制の限界で, それからあとは逆に増殖培地になる印象をうけている。この点に関しては今後検討してゆきたい。

以上の成績から不飽和Feの状態になっているラクトフェリンは病原大腸菌O_mに対してbacteriostaticに働いていることが明らかになったが, pHによってラクトフェリンに結合するFe

図3 実験Ⅰの成績

病原大腸菌に対する母乳成分の静菌効果



が影響をうけるので、今後は pH について配慮する必要がある。

Bullen らは pH 6.95 以下であると、病原大腸菌の発育をおさえきれないと報告していることから興味のあるところであろう。いづれにしてもラクトフェリンは病原大腸菌 O₁₁₁ に対して bacteriostatic にしか効かず、このあとに bactericidal に働くものは一体何であるのか大変興味があり、今後さらに追求してゆく予定である。

まとめ:

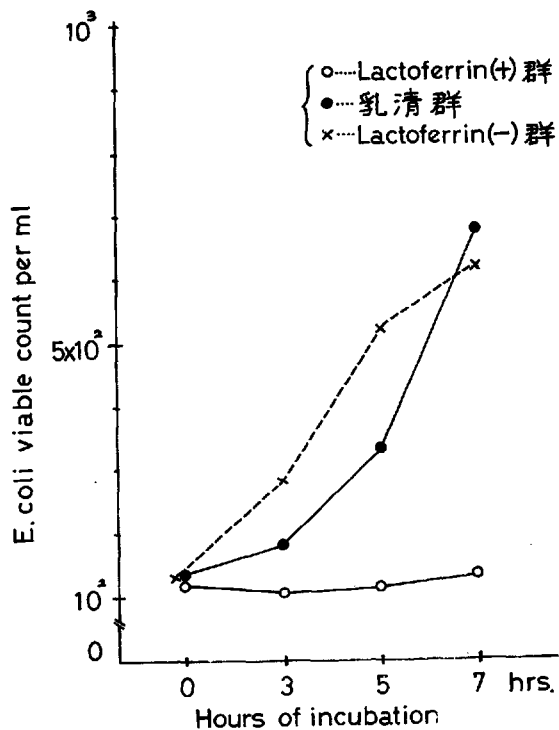
- 1) ヒト初乳 (155 検体) 中には分娩後日数によって下記の総細胞数が含まれていた。

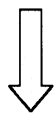
分娩後日数	検体数	平均総細胞数
2 日目	19	3,841 / mm ³
3 日目	49	2,084 / mm ³
4 日目	47	1,444 / mm ³
5 日目	40	1,155 / mm ³

- 2) 総細胞数 3,000 / mm³ 以下は全体の 83.9 % であった。
- 3) 総細胞数は分娩後日数が増につれ急速に減少する。
- 4) ラクトフェリン (不飽和鉄を含んだ状態) は 9.3 mg/ml の濃度で病原大腸菌 O₁₁₁ に対して約 7 時間まで発育阻止効果がみられた。一方乳清では約 3 時間まで発育が抑制されているが、その後は発育を抑制しえず、培養 18 時間後にはさらに菌数が増加していた。このことから乳清は逆に病原大腸菌 O₁₁₁ の発育を促進しているような印象をうけた。

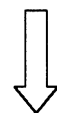
図 4 実験 II の成績

病原大腸菌に対する母乳成分の静菌効果





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



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ろうかと考える考え方もある。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 0 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。