

母乳中の1次及び2次経路に關与する補体の 証明とその滅染防御上の意義に關する研究

研究協力者 (東邦大小兒科) 矢田 純一
(東邦大免疫) 新保 敏和

血清中に含まれる補体やリゾチームは細菌感染に対し、その細胞膜を障害し、溶菌作用を示すことが知られ、生体の防禦機構の一部を担っていると思われる。

母乳中にもこれらの補体やリゾチームが含まれており、それらが血清と同様に溶菌作用を示し得るかについて検討を加えた。

I 方 法

1. 母乳中の補体成分が活性化され、細胞膜に附着し得るかの検討

補体には9成分があり、これらの各成分が母乳中にも含まれていることは知られているが、それら補体が溶菌活性を示し得るためには補体が活性化され、細胞膜に附着することが必要である。補体の活性化には2つの経路があり、IgGやIgM抗体を介して、第1成分(C1)より順次活性化される第1経路(classical pathway)と抗体の関与なしに第3成分(C3)より活性化される第2経路(alternate pathway)とである。

a) 第1経路による補体活性化の検討

Meyerの50%溶血法(CH50)を用い、IgM抗体感作ヒツジ赤血球に種々の濃度で母乳上清を加え、その赤血球の溶血の程度により、補体活性の測定を行った。

b) 第2経路による補体活性化の検討

パーキトリン腫由来の剖瘻株化細胞であるRaji細胞は新鮮血清が存在すると、ヒト赤血球とロゼットを形成するようになる。この現象は(1)血清を56℃、30分間熱処理し、補体活性をなくすとみられなくなり、(2)Mgイオン依存性で、Caイオン非依存性であり、さらに(3)Raji細胞表面へのC3分子の結合が証明されているなどから考えると、Raji細胞の細胞膜が第2経路により補体を活性化し、C3分子が細胞膜表面に結合し、そのC3bにヒト赤血球のC3bリセプターが結合することでロゼット形成を示したものであると思われる。

この現象を用い、Raji細胞にMg⁺⁺-EGTA-GVBで種々の濃度に希釈した母乳上清を加へ30℃、30分間反応後に、この細胞をEDTA-GVBで洗浄しヒトO型赤血球を加え、2コ以上の赤血球が結合するロゼット形成性細胞の百分率を求めた。最高の百分率を示す値を、同時にを行ったヒト新鮮血清の場合を100%として換算した。なお、以上の対照として(1)母乳をMgイオンを含まないEDTA-GVBで希釈した場合、および(2)母乳を56℃、30分間熱処理し、補体活性をなくした場合も検討した。

2. リゾチームが補体と共同し、細胞障害性を高めるかの検討

上記1-bで用いた補体結合Raji細胞に種々の濃度でリゾチームを加え37℃、2時間反応させることにより、Raji細胞を障害し得るかを検討した。その方法はトリパンブルー法により細胞生存率を求めた。

II 結 果

母乳は初乳7検体、成乳(生後30~40日目)4検体で検討した。

1. 母乳中のCH50値

血清中のCH50値は30~50であるが、母乳中では初乳で2.7~12.0(平均6.1)、成乳で0~2.6(平均0.7)であった。

2. 第2経路で活性化される母乳中の補体価

乳清処理のRaji細胞のヒト赤血球とのロゼット形成性による検討で、血清の場合を100%とすると、初乳で1.0~8.1%(平均3.3%)、成乳で0~2.4%(平均0.8%)であった。なお、対照としたMgイオンを除去した場合や補体活性をなくした母乳を用いた場合ではロゼット形成性はみられなかった。

3. リゾチームによる細胞障害作用の検討

Raji細胞にリゾチームを加えることで、細胞障害がみられるかを検討したが、Raji細胞に補体が結合している状態の時、リゾチームを加えると細胞障害性が最も強い傾向がみられた。また母乳だけによるRaji細胞の処理の時には、その細胞障害性は成乳より初乳の方で高くみられその程度も補体結合Raji細胞にリゾチームを加えた時の障害率に近い結果であった。

III 考 案

1. 母乳中の補体の役割

補体による細菌感染防御機構には補体の活性化により起る細胞膜障害、溶菌作用および補体の結合した細菌を補体リセプターをもつ好中球や単球などの貪食という処理作用などが考えられる。しかし、補体が活性化され、補体分子が細胞膜に結合するためには、抗体を必要とするclassical pathwayと抗体を必要とせず、細菌多糖体(LPS)などにより活性化されるalternate pathwayとの2つの経路がある。

母乳中に含まれる補体がこれらのいずれの系で活性化され、また実際に細胞膜に結合し得るかについて検討したが、それらのどちらでも母乳中の補体は活性化され得るし、活性化された補体は細胞膜を障害し得ることがみられた。しかし、その程度は血清に比し低値であり、初乳で見るとclassical pathwayを経て活性化されるものは血清の1/10~1/3であり、alternate pathwayでは1/100~1/8であった。その両者の程度は必ずしも相関せず、classical pathwayが高くてもalternate pathwayが低値であったり、またその逆の場合もみられた。一方、成乳では両系とも極めて低値でしかなかった。これらのことより、母乳、特に初乳において、その補体価は低値だとしても、抗体があればclassical pathwayを経て、また抗体がなくても大腸菌や肺炎双球菌の感染に対してはそれぞれの細胞壁成分であるLPSや

S IIIにより alternate pathway が活性化され、溶菌したり、たとえそのままでもゆかなくとも細胞膜を障害し細菌の活性を弱めたりする可能性が考えられる。

2. 母乳中のリゾチームの役割

血清中のリゾチームには溶菌活性があるが、これが母乳中のものでもみられるかを検討した。リゾチーム活性はRaji 細胞障害性を指標にみたが、リゾチームの単独よりも補体を加えることでより高い傾向を示した。このことは Raji 細胞を母乳で処理した場合でも同様で、補体活性の高い初乳の方がその活性の低い成乳より障害性が強かった。したがって、初乳に含まれるリゾチームにも細菌感染に対し、防御のひとつを担っている可能性を示唆していると考えられた。

IV ま と め

母乳、特に初乳中には抗体の存在で活性化され得る補体や alternate pathway を経て活性化され得る補体の両方があり、細菌の感染防御に役立つと考えられた。リゾチームも補体と共同し、細胞障害性に働くことより、初乳中のリゾチームも感染防御と一要素と思われる。また、ポリオやインフルエンザウィルスがマクロファージの遊走を阻止するが、この遊走阻止をリゾチームが緩和する作用があるかを検討しているがまだ結論がでていない。

母乳に関する免疫学的アプローチ

研究協力者 (東京警察病院) 財 満 耕 二

協同研究者 (東京大学小児科) 白 木 和 夫

(帝京大学小児科) 牛 島 広 治

吉 野 加 津 也

伊 東 繁

(自治医大小児科) 二 瓶 健 次

母乳に関し本年度は主として、

- 1) 初乳中の液性成分と細菌との関係
 - 2) 初乳中の免疫グロブリン産生細胞
 - 3) 初乳中のマクロファージの免疫学的検査 (MIT) への応用について検討した。また最近クローズアップされている妊婦のHBs 抗原と母乳栄養との関係についても触れたい。
- (1) 初乳中の液性成分と細菌との関係

初乳中の液性成分の抗菌作用を大腸菌 (NIJ 株) を使用し、in vitro での実験を行った。昨年度の本研究会議で、加える大腸菌の数を少なくしたら、その増殖抑制効果がより明らかになるのではないかという意見がだされ、今回加える NIHJ (E. coli) の菌数を 10^4 から

↓ **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

血清中に含まれる補体やリゾチ-ムは細菌感染に対し、その細胞膜を障害し、溶菌作用を示すことが知られ、生体の防御機構の一部を担っていると思われる。母乳中にもこれらの補体やリゾチ-ムが含まれており、それらが血清と同様に溶菌作用を示し得るかについて検討を加えた。