

ヒト初乳中細胞成分および 感染防禦因子—ラクトフェリンに関する研究

研究協力者 (横浜市立大・小児科) 植地正文

協同研究者 沢登昭一・西山裕子

池沢芳江・小菅啓司

I ヒト初乳中細胞成分に関する研究

(A) ヒト初乳中細胞成分の分類

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Mohrら, Smittら, Simonら, Breborowiczらの研究によって明らかになったが, これら細胞が分娩後の日数によってどのように変動するものであるか検討した文献はみあたらない。われわれは昨年の本研究報告会においてこの点を検討し報告している。ヒト初乳中の細胞のうち, およそ90%はマクロファージであると云われているが, 初乳中の細胞群を形態的にすべてを分類することはきわめてむづかしい。そこで, われわれは細胞の形態と機能すなわちマクロファージの脂肪球貪食の状況および細胞表面レセプターことにIgG-Fcレセプターの有無によって初乳中の細胞成分の分類を試みたので, その成績を報告する。

実験材料および実験方法：

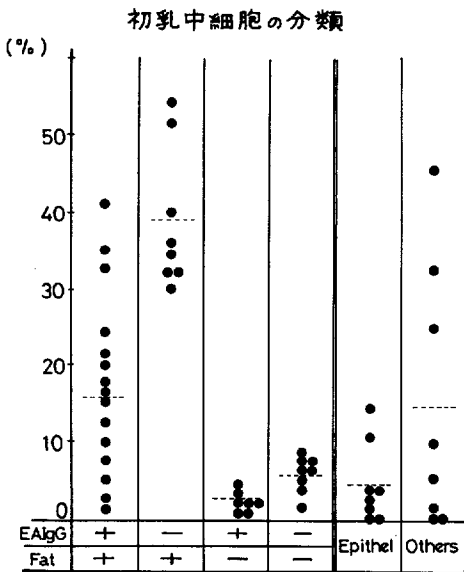
横浜市立愛児センターで正常分娩した産褥婦から初乳(分娩後1~5日目)の提供をうけた。採取された初乳は直ちに1,550 r.p.m 10分低速遠心し, 上層のクリーム層および乳清成分を吸引除去後, 沈渣の細胞塊に生食を加え, 2回洗滌したものを細胞分類のための試料にした。Fcロゼット形成法は血液中のリンパ球を用いるときの方法に準じた。細胞分類はブルースタンによる染色を行い直ちに分類した。

実験成績および考案：

このようにして行った成績は図1.に示す通りである。検体によりかなりのばらつきがあり, 常に一定の値をうる事が出来ないが, ほぼ6群に初乳中細胞群を大別することが出来た。第I群は脂肪球を貪食していて, Fcロゼットも形成している群で, 全細胞の2%から42%(平均17%)を占めており, 明らかにマクロファージがこの群に入る。第II群は脂肪球を貪食しているが, Fcロゼットを形成していない群である。この群は全体の31~54%(平均39%)も存在している。この細胞群に含まれる細胞は死滅したマクロファージかまたは逆に活性化しているマクロファージのことが考えられる。今後はこの群の検討をする予定である。第III群は脂肪球を貪食していないが, Fcロゼットを形成している群である。この群は1~4%(平均2%)と少なく, このなかにリンパ球B細胞やT細胞(Killer Cell)などが含まれていることや未熟なマクロ

ファージが含まれている可能性がある。次の第IV群は脂肪球も貪食せず、Fcロゼットも形成しない群で、全体の2~8% (平均6%) 含まれている。この群に含まれる細胞には主としてリンパ球T細胞などがあるだろうと想像される。第V群は上皮細胞群である。第VI群は「その他」で、他のどの群にも分類不能のものが入っており、全体の0~4% (平均1.5%) も占めていた。恐らくこの中にリンパ球や裸核に近い状態になった細胞が含まれていると推定される。

図1.



このように細胞の形態と機能の面から細胞群の分類を試みたが、初乳中の細胞であってもほぼ分類が可能であった。今回の試みでは多量に含まれているマクロファージを機能および形態の面からさらに分けることが出来たので、今後はその各々の機能について検討を加えてゆきたい。いづれにしてもヒト初乳中には免疫学的に大変関係のふかいリンパ球やマクロファージが存在していることは事実であり、これら細胞群が母体や新生児に対してプラスに働いているか、マイナスに働いているかは今後の検討にまたなければならない。

II ヒト初乳中の感染防禦因子—ラクトフェリンに関する研究

ヒト初乳中にはラクトフェリンが牛乳中よりもはるかに多量に含まれており、このラクトフェリンが不飽和鉄の状態になると、病原大腸菌 O₁₁₁ に対して Bacteriostatic な働きをもっている

ことは昨年すでに報告した。今回はこのラクトフェリンがヒト初乳中にどの程度含まれているか更に分娩後の日数によってその濃度がどのように変動するものなのか、そのほかにGoldmanらが推論しているようにC₃、C₄、リゾチームばかりでなく、ラクトフェリンまでもが細胞成分から産生されているものなのか否かについても検討を加えたので、その成績もあわせて報告する。

(A) ヒト初乳中ラクトフェリン濃度とその経時的変化について

はじめに：

ヒト初乳中ラクトフェリン濃度に関してはすでにMassonら、Nagasawaらの報告がみられるが、同一個人についてラクトフェリン濃度の変動を分娩後5日目までみているのはみあたらない。今回は新生児にとってもっとも重要な時期と考えられるこの5日目～6日目までのラクトフェリン濃度を測定したので、その成績を報告する。

実験材料および実験方法：

実験に用いた乳清は横浜市立愛児センターで正常分娩をした産褥婦(7人)からシリーズで採乳出来た初乳を低速遠心で細胞成分および脂肪層を除去したのち、30,000 r.p.m., 30分間超遠心した上清である。ラクトフェリン濃度測定用のImmunoplateは独自に作製し、一元平板免疫拡散法で定量を試みた。

実験成績および考案：

初乳中に含まれているラクトフェリン濃度は下表の通りである。

初乳中ラクトフェリン濃度と分娩後日数との関係

分娩後日数 検体番号	3日目	4日目	5日目	6日目
1	400*	500*	500*	370*
2	620	580	560	325
3	630	460	700	N.D
4	530	500	470	440
5	380	510	495	N.D
6	510	510	390	N.D
7	460	415	400	N.D
平均値	504	496	502	378

*単位：mg/dl

分娩後の日数ごとの初乳中ラクトフェリン濃度をみると、分娩後3日目では380～630 mg/dl (平均504mg/dl)、分娩後4日目では415～580mg/dl (平均496mg/dl)、分娩後5日目では390～700mg/dl (平均502mg/dl)、分娩後6日目では325～440 mg/dl (平均378mg/dl)であったが、個人によりかなりのばらつきがある。(図2参照)同時に初乳中の総細胞数も算定しているが、初乳中の総細胞数(平均)とラクトフェリン濃度

(平均) との関係を図にしてみると、図3のようになる。即ち初乳中総細胞数は分娩後の日数がたつにつれて急速に減少してくるのに反して、ラクトフェリン濃度は分娩後5日目まではほぼ一定である。そしてその後は急速に減少することが判明した。しかしながら全く0にはならず200mg/dl 前後の濃度で存在している。乳汁の分泌量の増加を考えあわせると、一定の濃度で分泌されていると考えられる。現在さらに例数をまして検討中である。

(B) 初乳中細胞成分から産生されると推定

されているラクトフェリンの検討

Goldman らはヒト初乳中細胞群からC₃ C₄、リゾチームなどと同様に恐らくラクトフェリンも産生されるであろうと推論しているのので、その追試を行ってみた。

ラクトフェリンの存在の有無を乳清、総細胞、Adherent Cell, Sup, (Adherent Cellをつくったときの上清), RPMI1640培地についてOuchterlany法により検討してみたところ、総細胞およびAdherent CellやSup, でもともに沈降線をつくらないことが明らかとなった。即ちラクトフェリンは細胞成分からは産生されていず、乳腺組織のどこかでつくられ、乳汁分泌の際にまざってくるのであろう。血液中にはラクトフェリンと類似のトランスフェリンが存在しているが、両蛋白のあいだにはアミノ酸組成や抗原構造においても差があり、乳汁中に高濃度に含まれているラクトフェリンの産生方法や産生場所を知る上にも興味ぶかいところである。

図2 初乳中ラクトフェリン濃度の経時的変化

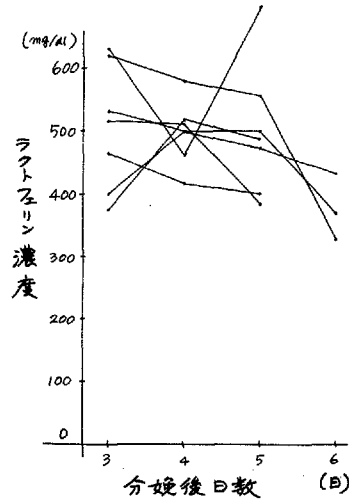
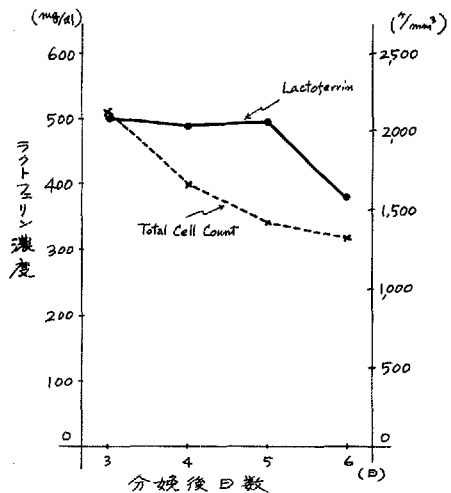


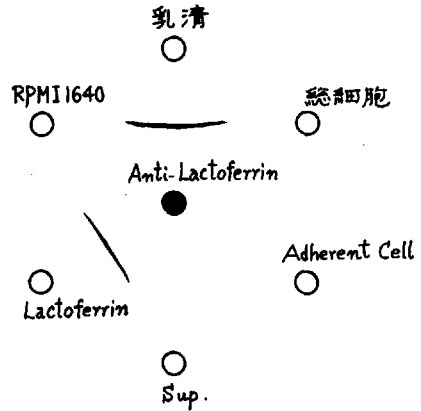
図3 初乳中ラクトフェリン濃度と総細胞数との関係



以上の事実から、初乳中に含まれているラクトフェリンは新生児の感染防禦機構の上で重要な役割をはたしている一員であることがさらに明らかとなった。このラクトフェリンの働きは Bacteriocidal なものでなく、Bacteriostatic な働きであるので、その他の感染防禦に関与しているものと協力してさらに強い感染防禦効果を発揮してゆくものと想像され、今後ますます検討を加えてゆかなければならない問題であろうと考える。

最近、ラクトフェリンの温度による影響に関する論文が発表されている。それによると 100℃ ではほぼ 100% ラクトフェリンはこわれてしまうという。このような事実から、母乳の有用性を強調するあまり、人乳をプールし、凍結保存し、使用時に煮沸してのませることは害こそあって益の少ないものになってしまうであろう。母乳バンクという考えよりもまず「自分の子供には自分の母乳で育てる」という母親をふやしてゆくキャンペーンを行うことがひいては新生児期の感染症を減少させることにもなり、さらには地球全体の省資源化にもつながるものと考えられる。

図 4



栄養法別にみた新生児腸内菌叢の動態とその意義

研究協力者 (東海大学医学部微生物学教室) 小 沢 敦

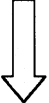
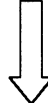
協同研究者 (東海大学医学部微生物学教室) 沢 村 貞 昭

(東海大学医学部小児科学教室) 高 倉 巖

栄養法別 (人工栄養, 母乳栄養) に新生児大便中の菌叢構成のパターンを、生後 1, 5, 30 日目まで経日的に追跡した。

(1) 人工栄養児における腸内菌叢の動態

人工栄養児における大便中の細菌叢の質的, 量的な解析を経日的におこなった結果, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* などの通性嫌気性菌が生後 1~5 日目に出現し, これらの菌種の出現より遅れて

 **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

ヒト初乳中細胞成分に関する研究

(A)ヒト初乳中細胞成分の分類

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 Mohr ら, Smitt ら, Simon ら, Breborowicz らの研究によって明らかになったが, これら細胞が分娩後の日数によってどのように変動するものであるか検討した文献はみあたらない。われわれは昨年の本研究報告会においてこの点を検討し報告している。ヒト初乳中の細胞のうち, およそ 90%はマクロファージであると云われているが, 初乳中の細胞群を形態的にすべてを分類することはきわめてむづかしい。そこで, われわれは細胞の形態と機能すなわちマクロファージの脂肪球貪食の状況および細胞表面レセプターことに IgG-Fc レセプターの有無によって初乳中の細胞成分の分類を試みたので, その成績を報告する。