

母乳の Bile Salt Stimulated Lipase に就て

国立岡山病院 山内逸郎

研究目的

乳児はその摂取熱量の約半分を脂肪から得ている。従って母乳の Bile Salt Stimulated Lipase の乳児栄養学的な意義は極めて大きい。特にこの酵素 (BSSL と省記) が、易熱性であることは、母乳の低温殺菌と関連して実際上の問題を提起するものである。即ち最近極小未熟児の哺育には、人乳が使用されることが多くなったが、もし donor milk を使用する場合には、biohazards 特にビールス・細菌などによる感染が問題になるので、低温殺菌が必要になる。しかし低温殺菌でも BSSL の活性は完全に消失する。従って極小未熟児の哺育には、低温殺菌人乳は適当でない。

此の様な観点から、BSSL の酵素学的特性を、未熟児哺育という臨床的見地から見直すために、検討を加えた。即ち母乳分泌の条件と BSSL 活性の関係、母乳処理の条件と BSSL 活性の関係、母乳冷凍の期間と BSSL 活性の関係、および母乳を基質とした場合の lipolysis について検討した。

研究方法

試料となった母乳は、国立岡山病院小児医療センター入院中の未熟児・成熟児の母乳、ならびに国立岡山病院産科で分娩した褥婦の母乳である。

BSSL の活性は、母乳々脂を基質とし、0.25 M glycine buffer pH 8.5 で、mercaptoethanol を安定剤として加え、33 mM/l の濃度に sodium cholate を添加して、単位時間に単位容量の母乳から生成する遊離脂肪酸の量によって表現した。

遊離脂肪酸の測定は ACS・ACOD・POD 法即ち遊離脂肪酸が ATP と Co A の存在下で、acyl-Co A-synthetase の作用により、acyl-CoA と AMP と PPI を生成し、この acyl-CoA は acyl-CoA oxidase の作用により、2・3-transenoyl-CoA と H₂O₂ を生成し、この H₂O₂ を 4-Bwino-antipyrin と N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfo-propyl)-m-toluidine sodium の存在下で peroxidase

の存在下で、酸化物縮合反応により赤紫色の quinone 色素を生成させ、これによって比色定量を行う。

母乳乳脂を基質とした場合の反応生成物の検索は、反応生成物を chromanod に展開し、Thin-chromograph によって、cholesterol acetate を内標として、水素炎イオン化検出器 FID を通して定量化し、triglyceride 1・2+1・3 diglyceride, monoglyceride, ならびに遊離脂肪酸 (それぞれ TG, DG, MG, FFA と略記す) として表現した。lipolysis の条件は BSSL 活性測定の条件と同一で、作用時間は 15 分、1, 2, 4, 8, 24 時間である。抽出は反応液 0.125 ml に pH 6.2 phosphate buffer 1.0 ml を加え、Folch 混合液 4.0 ml で抽出、水洗 3 回後、chloroform 層を蒸発乾固、Folch 0.05 ml に再溶解、1 μl を chromarod SII に点着、n・hexane : diethylether : formic acid = 70 : 0.5 : 2.2 で 8 cm, n・hexane : diethyl ether = 67.9 : 2.1 で 10 cm 流し、Iatroscan にて thinchromography を行った。

研究成果

1) 泌乳期と BSSL 活性 (図 1)

出生当日の初乳では BSSL 活性は認められるが極めて低値であるが、日齢 3 には急激に上昇、日齢 7 では日齢 3 の 5 倍に上昇、其後 7 カ月間にわたって、ほぼ同じ活性を維持している。

2) 母乳の脂肪濃度と BSSL 活性 (図 2)

脂肪濃度と BSSL 活性の相関は低い ($r = 0.234$)。

3) 母乳の蛋白濃度と BSSL 活性 (図 3)

蛋白濃度と BSSL 活性は相関しない。

4) 母乳の熱処理と BSSL 活性 (図 4)

BSSL は 100 °C 2 分でも、65 °C 2 分でも失活する。しかし 15 °C 3 時間、-80 °C 3 時間でも失活しない。

5) 母乳の凍結保存と BSSL 活性 (図 5)

母乳の14試料を -15°C に20~60日間にわたって凍結保存を行った。BSSL活性はこの間維持された。しかし10試料は、20日をピークに活性が上昇し、その後低下したが、凍結0日より低下したものはなかった。

6) 母乳を基質とした場合の lipolysis (図6)

TGは1時間で1/2以下の量に分解し、4時間でほぼ全量が分解する。FFAの動きはこれと丁度逆の関係にある。時間の平方に対して、濃度の対数をプロットすると、TGの変化は直線となる。この場合時間0のTG濃度はこの直線に乗らず、大きくはずれる。このように lipolysis に induction が見られるのは母乳の乳脂を基質としたからであって、BSSLが、脂肪球被膜を通過するために要した時間と考えられる。なおDGのピークよりMGのピークが遅れ、DGの減衰よりMGの減衰が大きく遅れていることは、lipolysisがTG, DG, MGの順序で生起していることを示唆するものであろう。これらに関しては、母乳でなく乳化TGを基質として、検討を重ねる必要がある。

考 按

母乳のBSSLは極めて強力な lipase であって、乳児の栄養生理学的に非常に大きな意義を有すると考えられる。例えば、sodium cholateの添加によって、2時間で最初のTGの5/6がFFAに分解されることは、広く理解されてよい。

従って未熟児哺育に母乳を使用する場合には、BSSLの活性を充分維持するためには、如何なる条件が満足されなくてはならないか留意しなくてはなるまい。

結 論

未熟児を人乳で哺乳する場合、低温殺菌乳はBSSLが失活しているので適当でない。しかし donor milk を低温殺菌せずに使用することは、biohazards を考慮すると好ましくない。 -15°C での凍結保存では、2カ月の保存でもBSSLの活性はよく保たれるので、未熟児哺乳には凍結保存母乳(児の母親の人乳)が最も好ましいと考えられる。

Lipase Activity differs during
The Various Stages of Lactation

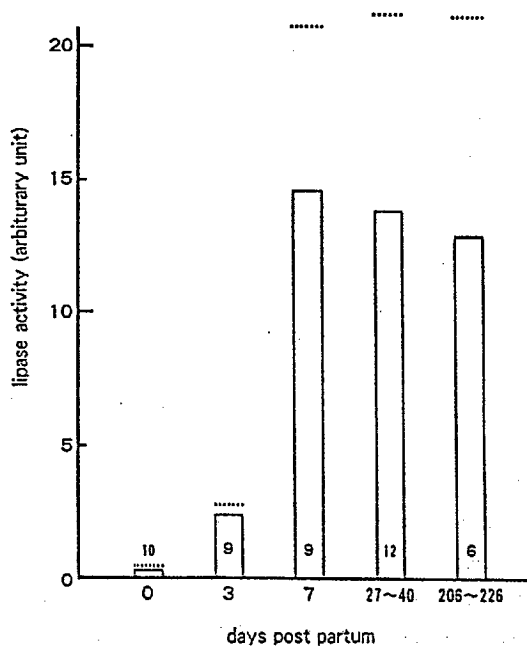


図 1.

母乳の脂肪濃度と母乳リパーゼ活性

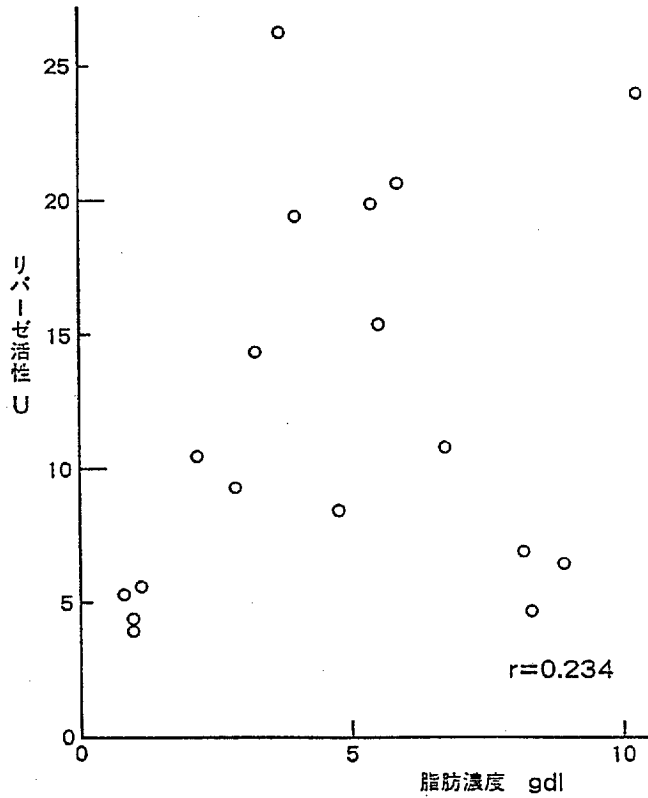


図 2.

Change in Activity of Lipase (BSSL) in Freeze Storage at -18°C

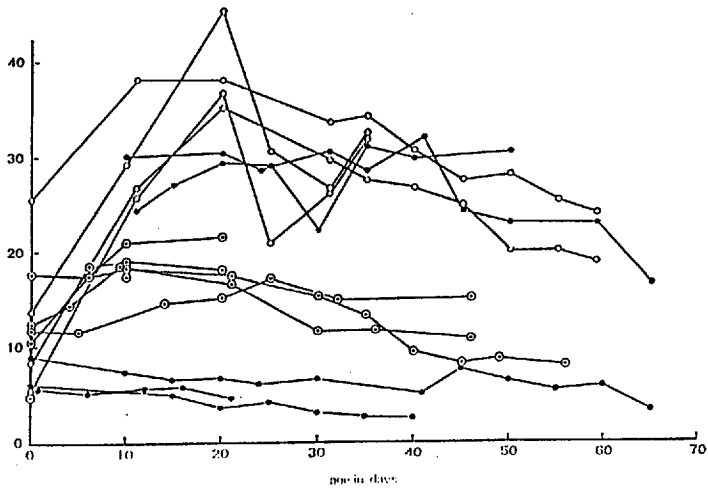
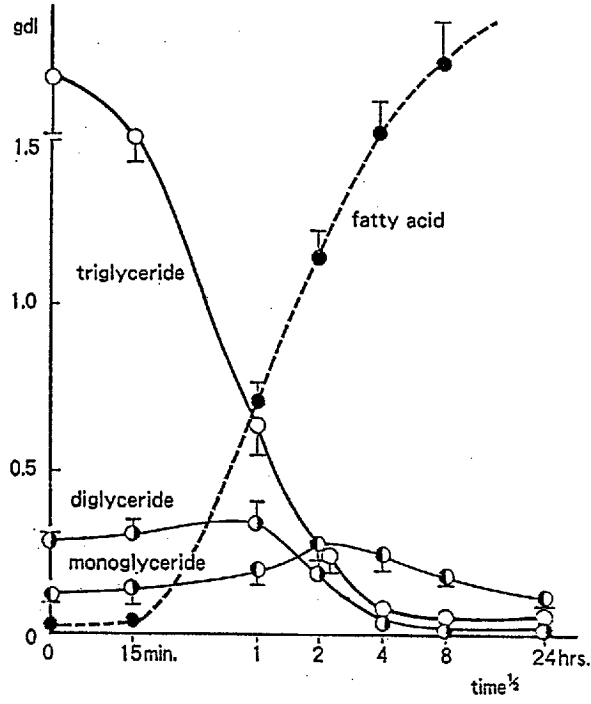


図 3.

Lipolysis of Human Milk Fat by Bile Salt Stimulated Lipase



⊠ 4.

母乳の蛋白濃度と母乳リパーゼ活性

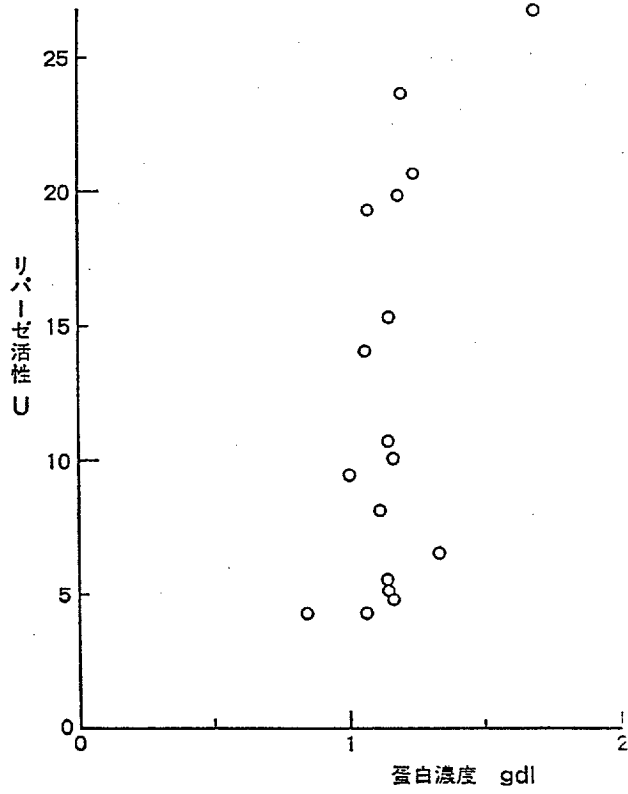


図 5.

Activity Change of Lipase (BSSL)
by Heating and Freezing

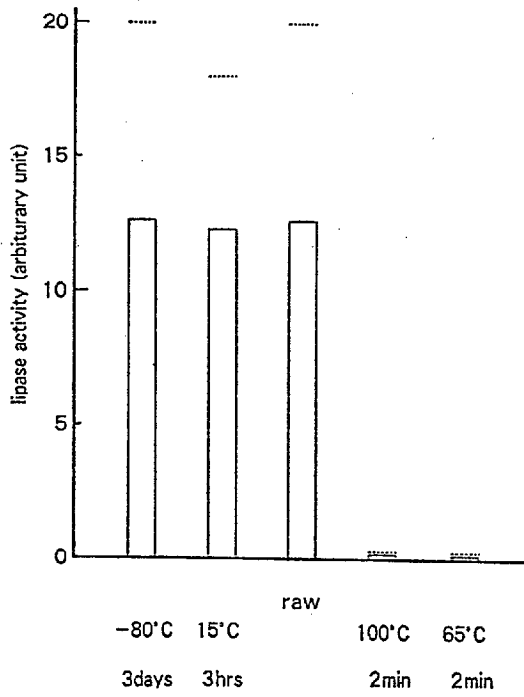


图 6.

↓ 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

研究目的

乳児はその摂取熱量の約半分を脂肪から得ている。従って母乳の Bile Salt Stimulated Lipase の乳児栄養学的な意義は極めて大きい。特にこの酵素(BSSL と省記)が、易熱性であることは、母乳の低温殺菌と関連して実際上の問題を提起するものである。即ち最近極小未熟児の哺育には、人乳が使用されることが多くなったが、もし do-nor milk を使用する場合には、biohazards 特にビールス・細菌などによる感染が問題になるので、低温殺菌が必要になる。しかし低温殺菌でも BS-SL の活性は完全に消失する。従って極小未熟児の哺育には、低温殺菌人乳は適当でない。

此の様な観点から、BSSL の酵素学的特性を、未熟児哺育という臨床的見地から見直すために、検討を加えた。即ち母乳分泌の条件と BSSL 活性の関係・母乳処理の条件と BSSL 活性の関係、母乳冷凍の期間と BSSL 活性の関係、および母乳を基質とした場合の lipolysis について検討した。