

# 「母乳内物質の人体への影響に関する研究」

香川医科大学

分担研究者 大西 鐘 壽

## 【要約】

母乳中のダイオキシン類縁物質濃度について、26の試料を分析した結果、全ての試料より各物質が検出された。そのレベルは、諸外国で報告されているものと大差はなかった。特に欧米人の母乳の分析結果に近く、我が国においても人体に対して先進国型の汚染が進んでいることが推測された。また母乳中の有害金属として鉛、カドミウム、総水銀、メチル水銀の濃度を測定し、諸外国のデータと近似した値であることが判明した。

成熟児と未熟児の母乳中の総窒素、non protein nitrogen (NPN) とその組成を測定した。前二者は経時的に減少し、総窒素に占めるNPNの比率は増加し、遊離アミノ酸、特にグルタミン酸が未熟児母乳に多かった。また、尿素は未熟児母乳でNPNに占めるその比率が経時的に増加し、未熟児の蛋白質合成に利用されていることが推測された。

初乳の乳漿中にTNF $\alpha$ 、IL-1、IL-8、sTNFR、IL-1raが検出されたが、sTNFRとIL-1raが格段に高濃度であった。また初乳細胞にIL-1 $\beta$ 、IL-8、IL-1raのmRNAの発現が認められた。乳漿中のTNF $\alpha$ 、IL-1、IL-8ならびに児の体内に侵入した初乳細胞の産生するTNF $\alpha$ 、IL-1、IL-8が児の能動免疫増強に、乳漿中の高濃度のsTNFR、IL-1raは母乳の抗炎症作用に関与する可能性が示唆された。また母乳の乳清と細胞成分ではヒト単核球細胞に対して前者は抑制的に、後者は促進的に作用するという相反する現象が見られた。一方母乳蛋白質のトリプシンおよびペプシン分解物であるmacromolecular glycoproteinが、細胞溶解毒素の活性阻害作用を有し、さらに両分解物に抗菌作用のあることが見いだされた。また、トリプシンによるカゼインの分解物グリコマクロペプチドに抗毒中和作用が認められた。

母乳黄疸の児を含む1カ月児において、血清の(ZZ)-ビリルビン濃度とその酸化物質である

propentdyopent物質の尿中排泄量および血清ビリルビン濃度との間に有意の正の相関が存在することが証明され、(ZZ)-ビリルビンがsacrificial antioxidantに寄与していることが立証された。

## 【見出し語】

母乳、polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin、polychlorinated dibenzofuran、(coplanar)polychlorinated biphenyl、鉛、カドミウム、総水銀、メチル水銀、尿素、non protein nitrogen、interleukin-1、interleukin -8、tumor necrosis factor  $\alpha$ 、soluble TNF receptor、interleukin-1 receptor antagonist、ヒト単核球細胞増殖、トリプシン分解物、ペプシン分解物、細胞溶解毒素活性阻害作用、抗菌作用、母乳黄疸、propentdyopent物質、ビリルビン

## 【研究方法、結果】

(1)母乳から検出される微量のダイオキシン、コプラナーPCBなどは実際にそれを飲んだ児に対して臨床的に問題となるような症状をきたすか。

(a)母乳中のダイオキシン類縁物質濃度とそのリスク評価：26の母乳試料中のダイオキシン類縁物質—polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin (以下PCDD)、polychlorinated dibenzofuran (以下PCDF)、コプラナー(coplanar)及びその他のpolychlorinated biphenyl (以下PCB) —を分析した。全ての試料より各物質が検出された。そのレベルは、諸外国で報告されているものと大差はなかった。特に欧米人の母乳の分析結果に近く、我が国においても人体に対して先進国型の汚染が進んでいることが推測された。

(b)有害金属の乳汁移行と乳児への影響：母乳中の鉛、カドミウム、総水銀、メチル水銀を測定した。熊本県に在住する母親から初乳、移行乳6検体、成熟乳13検体を採取し測定した結果、鉛 $4\pm 4\text{ng/ml}$ 、カドミウム $0.9\pm 1.7\text{ng/ml}$ 、総水銀 $0.9\pm 0.5\text{ng/ml}$ 、メチル

水銀 $0.2 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$ という結果を得た。これらの値は諸外国のデータと比較して特に高値であるとはいえないことが判明した。

(2)母乳中の内因性物質が乳児の健康に及ぼす良い影響は何か。

(a)母乳の栄養学的優秀性についての体系化：今年度は未熟児および成熟児の母乳中の総窒素、non protein nitrogen (NPN) とその組成を測定し比較検討した。母乳中の総窒素およびNPN含量は経時的に減少し、総窒素に占めるNPNの比率は増加した。NPNの主成分は尿素で、特に未熟児母乳でNPNに占めるその比率が経時的に増加し、未熟児の蛋白質合成に利用されているのではないかと推測された。遊離アミノN含量は初乳期から成熟乳期を通じて未熟児母乳の方が成熟児母乳より多く、特にグルタミン酸の経時的な増加が著明であった。尿酸N、アンモニアやヌクレオチド、ヌクレオシド含量は、いずれも微量であった。

(b)ヒト母乳とサイトカイン：母乳による児の能動免疫増強作用ならびに母乳の抗炎症作用の機序を知るために、初乳中のtumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ )、interleukin-1(IL-1)、interleukin-8(IL-8)、soluble TNF receptor (sTNF R)、IL-1 receptor antagonist(IL-1ra)を測定した。初乳の乳漿中にはTNF  $\alpha$ 、IL-1  $\beta$ 、IL-8、sTNF R、IL-1raが検出された。sTNF R、IL-1ra、IL-8はそれぞれTNF  $\alpha$ 、IL-1  $\beta$ に比較して段違いに高濃度であった。採取直後の初乳細胞にIL-1  $\beta$ 、IL-8、IL-1raのmRNAの発現が確認された。乳漿中のTNF  $\alpha$ 、IL-1、IL-8ならびに児の体内に侵入した初乳細胞の産生するTNF  $\alpha$ 、IL-1、IL-8が児の能動免疫増強に関与する可能性が示唆された。乳漿中の高濃度のsTNF R、IL-1raの存在は、母乳がもつ抗炎症作用の機序の一つであることが推察された。

(c)母乳の免疫学的優秀性についての体系化：母乳内物質の抗感染効果について文献的に整理し体系化の一助とした。またヒトの免疫機構の中で重要な役割を担う単核球に対し母乳内物質がどのような影響を与えるか、その増殖能を中心にin vitroで実験した。母乳を乳清と細胞成分に分離し、乳清と母乳細胞を各々別々にヒト成人末梢血、臍帯血、新生児末梢血から分離した単核球とともに培養し $^3\text{H}$ -thymidineの取り込みを指標に単核球の増殖能を測定した。単核球を母乳乳清とともに培養すると $^3\text{H}$ -thymidineの取り込みが低下し、単核球の増殖能が抑制されることが示された。逆に母乳細胞は単核球の増殖を促進した。

母乳の乳清と細胞成分ではヒト単核球増殖に対して相反する現象が見られた。

(d)母乳タンパク質に由来するペプチドの生理的機能：母乳タンパク質から蛋白分解酵素トリプシンおよびペプシンによって生成される分解物が有する抗毒中和作用及び抗菌作用について検討した。その結果、トリプシンおよびペプシン分解物の両者に、非常に大きな分子量を持つmacromolecular glycoproteinの残存が認められ、この糖タンパクが細胞溶解毒素の活性阻害作用を有することが判明した。トリプシン分解物の中には、カゼインの分解物で糖を多量に含んでいるグリコマクロペプチドがあり、この糖ペプチドはコレラトキシンに対して抗毒中和作用を有していることがわかった。また、母乳タンパク質のトリプシンおよびペプシン分解物の両者に食中毒菌であるAeromonas hydrophilaおよびBacillus cereusに対する抗菌作用があることが見いだされた。

(3)母乳黄疸の生物学的意義は何か。

母乳黄疸の児を含む1カ月児において、血清の(ZZ)-ビリルビン濃度とその酸化物質であるpropentdyopent物質の尿中排泄量(クレアチニン補正)および血清ビリベルジン濃度との間に有意の正の相関が存在することを証明した。このことから(ZZ)-ビリルビンが生体内の酸化され易い物質の安定化に寄与していると考え、血清中の不飽和脂肪酸およびレチノールについて(ZZ)-ビリルビンとの相関を検討したが有意な関係は認められなかった。今後、消化管でのビリルビンの抗酸化作用の意義を検討する必要がある。

#### 【考察】

「個体発生はその種に進化する過程で経験した系統発生の短縮された反復によりなされる」というセントラルドグマをヒトの乳児に当てはめて考えると、約2億年前に哺乳類が出現して以来進化の道を歩み、約200万年前にヒトに到達したその全過程において母乳哺育が営々と繰り返されてきた。その間の狩猟食物採集社会、約1万年前からの農耕社会、200年前からの工業化社会を経ていわゆる先進工業国社会となるにつれて、女性にとって育児が非常に困難な状況(例えばマタニティーブルーなど)に直面するようになり、育児支援の必要性が叫ばれるようになった。その原因については種々論じられているが、根本的にはヒューマンバイオロジーの原点として母乳哺育を中心に据えた育児が必須であると考えられる。

このような意味において母乳内物質の人体（乳児）への影響に関する研究が心身障害研究の研究課題として取り上げられたのは誠に時宜を得たものと考えられる。

母乳中への難分解物質や有害金属の移行とその意義について：

ヒトの個体発生において、体重に占める体脂肪の割合の変動について発達生物学的に分析すると、胎生中期まで殆ど存在せず、末期に至って急激に増加し始め、乳児期にピークを示し、幼児期から学童期にかけて一旦減少し、女性では思春期に再び増加して第二のピークを示す。次いで妊娠による内分泌的变化のために脂肪が体内に大量に蓄積し、出産後授乳により母乳を介して児へ移行する。女性の個体発生におけるこのような脂肪組織の変化に連動するかたちで、いわゆる難分解物質が、食物連鎖の頂点に立っている人類では、体脂肪へ濃縮され蓄えられる。そして母体に蓄積していた難分解物質の内、例えばダイオキシンについてはその50~60%が一回の妊娠、分娩、授乳により児に移行すると推定されている。今回の研究では26の母乳試料中のダイオキシン類縁物質-PCDD、PCDF、PCB-を分析し、全ての試料より各物質が検出された。そのレベルは、諸外国で報告されている値の内、特に欧米人の母乳の分析結果に近く、我が国においても人体に対して先進国型の汚染が進んでいることが推測された。一方熊本県に在住する母親から得られた母乳中の有害金属、鉛、カドミウム、総水銀、メチル水銀を測定した。これらの値は諸外国のデータと比較して大差のない値であることが判明した。

今後は環境汚染の最も的確な指標とされる母乳中のこれら難分解物質を継続的にモニターすると共に、その発生源に眼を向けて根絶する対策を国家的規模で継続することが必須と考えられる。

母乳の栄養学的有用性の側面について：

尿素は哺乳動物においてアミノ酸や蛋白質代謝の最終産物と見なされ、何ら代謝的意義は有しないと一般に考えられてきた。しかし、母乳中に含まれる窒素含量の約15%を尿素が占め、その約40%が再利用されていることが報告されている。大量のアミノ酸がエネルギー源として利用された結果尿素が生成され、それが再び加水分解を受けて生じたアンモニアが肝により非必須アミノ酸として、また腸内細菌叢により必須アミノ酸としても生合成され、宿主である乳児により利用されていることが注目されてい

る。従って乳児期早期、特に未熟児では蛋白質の必要量を経口的に摂取することが困難であるため尿素の再利用は生理的な代謝特性であると考えられ、今後更に詳細に検討すべき臨床的に重要かつ興味深い課題である。

母乳の免疫学的有用性の側面について：

乳汁中の蛋白質がアミノ酸まで加水分解されず、peptideの形で吸収されることが見いだされexorphinと名付けられてその生物学的意義が注目されてきたが、一方、トリプシンおよびペプシン分解物の両者に、腸管内において免疫学的意義を有するmacromolecular glycoproteinの残存が認められ、細胞溶解毒素の活性阻害作用を有すること、トリプシンによるカゼインの分解物であるグリコマクロペプチドがコレラトキシンに対して抗毒中和作用を有していること、母乳タンパク質のトリプシンおよびペプシン分解物の両者に抗菌作用があることが見いだされた。新しい観点からの免疫学的意義が裏付けられたので今後さらなる研究が期待される。

母乳を介して経口的に摂取されたIgGが消化管粘膜上皮細胞から能動輸送により新生仔の体内に移行して受動免疫が成立する機構であったものが、霊長類では、経胎盤的能動輸送へと進化した。一方IgAに関しては、分泌型IgAとして初乳中に高濃度に存在し、それを哺乳することによりいわゆるenteromammary systemを介するsIgAの消化管粘膜上皮細胞の表面へ所謂antiseptic paintingが起こる。こうした微生物やアレルギーの児の体内への侵入に対する防御機構が形成されている。本研究では重症細菌感染症やウイルス疾患の発生頻度が母乳哺育により統計的に有意に減少することが示された。それと共に、初乳の乳漿中にTNF $\alpha$ 、IL-1、IL-8、sTNFR、IL-1raが検出されたが、sTNFRとIL-1raが格段に高濃度であった。また初乳細胞にIL-1 $\beta$ 、IL-8、IL-1raのmRNAの発現が認められた。乳漿中のTNF $\alpha$ 、IL-1、IL-8ならびに児の体内に侵入した初乳細胞の産生するTNF $\alpha$ 、IL-1、IL-8が児の能動免疫増強に、乳漿中の高濃度のsTNFR、IL-1raは母乳の抗炎症作用に関与する可能性が示唆された。

母乳の乳清と細胞成分では、ヒト単核球増殖に対して前者は抑制的に、後者は促進的に作用するという相反する現象が見られた。

以上母乳に種々の発達免疫生物学的に有意な作用の存在することが明らかにされたことは注目すべき成果で、今後さらなる研究の展開が期待される。

なお新生児乳児期の化膿性髄膜炎の発症率が母乳哺育の方が低いという事実はそれによる脳性麻痺の発症低下につながる故、この疫学的有用性についても強調されるべきであると考ええる。

ビリルビンは従来核黄疸の原因物質として強い神経毒性のために悪役と見なされ、単にhemeの最終産物として生体にとって何ら有益な生物学的意義のない物質として扱われてきた。しかし新生児黄疸は進化の面でヒトに近い赤毛ザルなど非常に限られた種に限定して軽度に認められるに過ぎない。また母乳黄疸はヒト以外では記載がない。従って黄疸はむしろ進化の過程で獲得された結果であり何らかの生物学的意義を有すると考えられる。事実その強い疎水性のために生体膜の脂質二重層やリポ蛋白など生体内の隅々にくまなく分布し、活性酸素に対するsacrificial antioxidantとして作用することが最近注目されている。母乳黄疸の児を含む1カ月児において、血清の(ZZ)-ビリルビン濃度とその酸化物質であるpropentdyopent物質の尿中排泄量（クレアチニン補正）および血清ビリルジン濃度との間に有意の正の相関が存在することを証明した。すなわち(ZZ)-ビリルビンが生体内の酸化され易い物質の安定化に寄与していることが立証された。従って上述の考えを支持する非常に興味深い成績が母乳黄疸に関連して得られ、母乳哺育を推進するうえでプラスの要因として活用できる科学的根拠が新しく加わったことになるが今後さらなる研究の発展が望まれる。

本分担研究課題「母乳内物質の人体への影響に関する研究」に関連する今後に残された問題点について、以下に分担研究者の意見を述べる。

(1)食物連鎖の頂点に位置しているヒトの母乳に含有される難分解物質の濃度をモニターすることは地球環境汚染による人類の未来のリスクを予知する最も確かな指標であるので、国としては長期的な観点からこの研究をサポートする必要があると考えられる。それと同時に国家的規模でPCBの汚染源の散逸の根絶に向けて対策をたてると共にdioxinの発生、即ち塵芥の焼却を極力禁止する国家的施策が実施されるべきである。

(2)human biologyの原点である母乳哺育は人類といえども哺乳類の一員として育児の根幹に位置付けるべきものであり、従って栄養、感染、免疫、脳発育等への影響に関する母乳内の物質的な面のみならず、育児支援の面からも母性行動に及ぼす影響について

も検討すべきと考える。

(3)授乳中の母親への薬物投与により安易に母乳が中断されている事情に鑑み、母体へ投与された薬物の母乳中への移行と児への影響に関する研究が必要である。

(4)育児休業の推進と同時に専門職を持つ女性に対する育児支援の観点から冷凍母乳についての多面的研究が必要である。

(5)母乳黄疸が母乳の悪い面として扱われ、母乳中止が安易に行われている現状に鑑み、日本人に多い母乳黄疸の病態生理学的意義に関する研究を推進する必要がある。



## 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



### 【要約】

母乳中のダイオキシン類縁物質濃度について、26 の試料を分析した結果、全ての試料より各物質が検出された。そのレベルは、諸外国で報告されているものと大差はなかった。特に欧米人の母乳の分析結果に近く、我が国においても人体に対して先進国型の汚染が進んでいることが推測された。また母乳中の有害金属として鉛、カドミウム、総水銀、メチル水銀の濃度を測定し、諸外国のデータと近似した値であることが判明した。

成熟児と未熟児の母乳中の総窒素、non protein nitrogen(NPN)とその組成を測定した。前二者は経時的に減少し、総窒素に占める NPN の比率は増加し、遊離アミノ酸、特にグルタミン酸が未熟児母乳に多かった。また、尿素は未熟児母乳で NPN に占めるその比率が経時的に増加し、未熟児の蛋白質合成に利用されていることが推測された。

初乳の乳漿中に TNF $\alpha$ 、IL-1、IL-8、sTNFR、IL-1ra が検出されたが、sTNFR と IL-1ra が格段に高濃度であった。また初乳細胞に IL-1 $\beta$ 、IL-8、IL-1ra の mRNA の発現が認められた。乳漿中の TNF $\alpha$ 、IL-1、IL-8 ならびに児の体内に侵入した初乳細胞の産生する TNF $\alpha$ 、IL-1、IL-8 が児の能動免疫増強に、乳漿中の高濃度の sTNFR、IL-1ra は母乳の抗炎症作用に関与する可能性が示唆された。また母乳の乳清と細胞成分ではヒト単核球細胞に対して前者は抑制的に、後者は促進的に作用するという相反する現象が見られた。一方母乳蛋白質のトリプシンおよびペプシン分解物である macromolecular glycoprotein が、細胞溶解毒素の活性阻害作用を有し、さらに両分解物に抗菌作用のあることが見いだされた。また、トリプシンによるカゼインの分解物グリコマクロペプチドに抗毒中和作用が認められた。

母乳黄疸の児を含む 1 ヶ月児において、血清の(ZZ)-ビリルビン濃度とその酸化物質である propentdyopent 物質の尿中排泄量および血清ビリベルジン濃度との間に有意の正の相関が存在することが証明され、(ZZ)-ビリルビンが sacrificial antioxidant に寄与していることが立証された。