

「母乳の免疫学的優秀性について体系化」

—母乳内物質のヒト単核球増殖能に与える影響について—

分担研究：母乳内物質の人体（乳児）への影響に関する研究

豊橋市民病院小児科

研究協力者 **西村 豊**

共同研究者 **永井美勢穂**

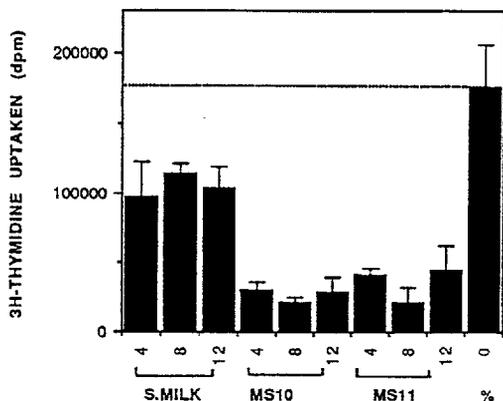
要約：新生児および幼若乳児の栄養法と重症感染症罹患について当科の入院患者での成績を基に全国調査を行い、非感染症罹患児を対照において統計的に処理した結果、母乳栄養児に有意に重症感染症罹患が少ないことが示された（平成4年、5年度）。平成6年度は母乳内物質の抗感染効果について文献的に整理し体系化の一助とした。またヒトの免疫機構の中で重要な役割を担う単核球に対し母乳内物質がどのような影響を与えるか、その増殖能を中心にin vitroで実験した。母乳を乳清と細胞成分に分離し、乳清と母乳細胞を各々別々にヒト成人末梢血、臍帯血、新生児血から分離した単核球とともに培養し³H-thymidineの取込みを指標に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³H-thymidineの取込みが低下し、単核球の増殖能を抑制することが示された。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みられた。

研究方法：母乳を10000G、4℃で15分高速遠心後、脂肪成分を除いた上清を乳清とし、それとは別に母乳を1800rpm、室温で15分遠心して得られた細胞を母乳細胞として用いた。成人末梢血、臍帯血からの単核球分離は、Ficoll-paqueを用いた比重遠心法にて行った。単核球増殖能の検討のため、単核球浮遊液に種々の濃度で母乳乳清を加えて24時間培養した場合と、Transwellを用いて母乳細胞と単核球のco-cultureを行った場合の単核球の³H-thymidineの取込みを液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。

対象の母乳は平成5年6月から平成6年1月に当院産科病棟に入院中の健康母体および未熟児病棟に入院中の母体計15名より得た残乳を用いた。児の在胎週数は34～40週、母乳採取日齢は4～69日であった。単核球は成人末梢血、臍帯血、新生児末梢血から分離した単核球と標準培養細胞（CEM、MT2）を用いた。臍帯血は、平成5年9月～12月に当院産科にて在胎29～41週の児を分娩した母体15名から得た。

見出し語：母乳乳清、母乳細胞、単核球増殖能、³H-thymidineの取込み

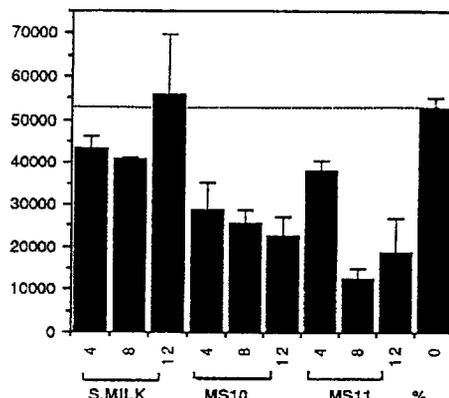
Fig. 1a Effect of Milk Serum on Proliferation of MT2



MS10：在胎38週6日
母乳採取時日齢7

MS：母乳乳清

Fig. 1b Effect of Milk Serum on Proliferation of CEM



MS11：在胎39週1日
母乳採取時日齢22

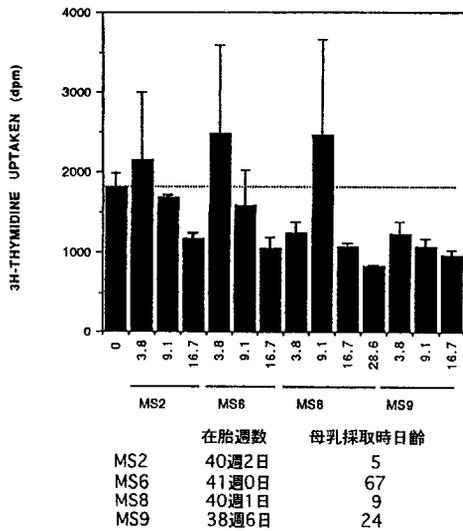
S.MILK：人工乳乳清

結果：乳清とともに成人末梢血、新生児末梢血、臍帯血単核球を培養すると単核球の³H-thmidineの取込みは低下する傾向がみられた。

母乳乳清と人工乳乳清での比較を単核球の代表的な標準培養細胞であるMT2 cell (Fig 1a)と、CEM cell (Fig 1b)を用いた。人工粉乳にしても母乳にしても、その乳清を加えることにより標準培養細胞の³H-thmidineの取込みは乳清を添加せず培養したものに比べ低下が見られた。人工乳乳清に比較し、母乳乳清の添加による培養細胞の³H-thmidineの取込みの減少すなわち増殖能の抑制が顕著にみられた。またCEM cellでは濃度依存性にこの傾向が認められた。

成人末梢血単核球と種々の濃度の母乳乳清を加えて培養し、単核球の³H-thmidineの取込みを測定した場合もCEM cellでみられたと同様、どの日齢から採取した母乳についても濃度依存性に単核細胞の増殖能の抑制傾向がみられた (Fig. 2)。

Fig. 2 Effect of Milk Serum on Proliferation of PBM



成人末梢単核球と臍帯血単核球とに同一濃度になる様に母乳乳清を加え培養し単核球の³H-thmidineの取込みを測定した場合、臍帯血単核球の増殖能が極めて強いが、その抑制は成人末梢単核球と同様濃度依存性の傾向が認められた (Fig. 3)。新生児単核球については採血量の関係で 2例についてのみ検討したが、濃度依存性に抑制傾向がみられ、細胞増殖は成人血より強い傾向であった。実験モデルとしては増殖能の強い臍帯血が抑制程度の定量化が出来るので、15例について種々の日齢で採取した母乳について検討したが、同じ傾向が認められた。

臍帯血単核球、標準培養細胞であるCEM cell、MT2

cellを単独培養した場合と母乳細胞を加えてして培養 (co-culture) した場合の各々の細胞の³H-thmidineの取込みは母乳細胞とco-cultureすると増加した (Fig. 4)。臍帯血単核球について実験をかさねたが同様の結果であった。

Fig. 3 Effect of Milk Serum on Proliferation of PBM and OBM

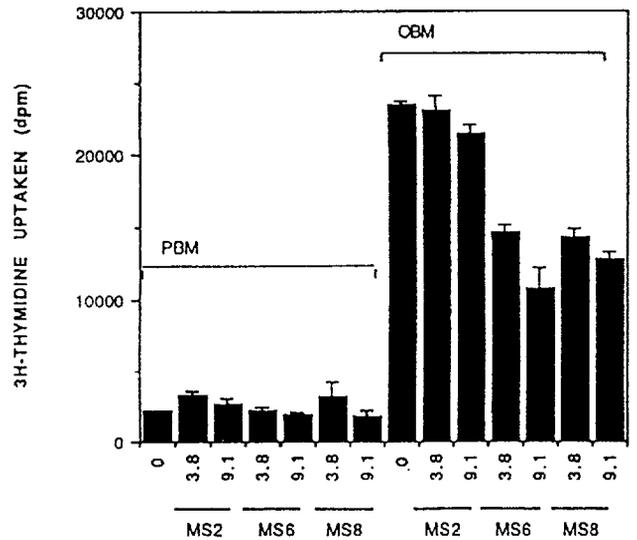
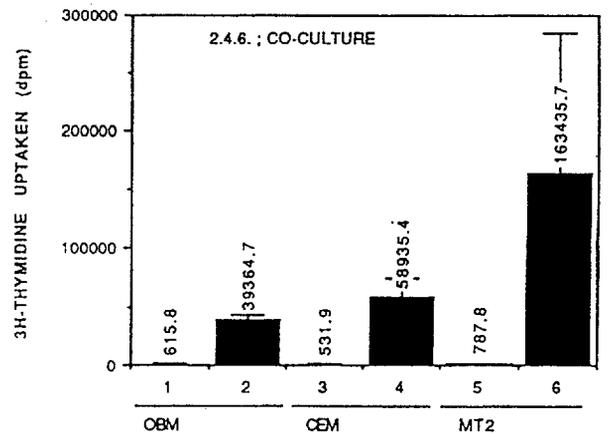


Fig. 4 Effect of Lymphocytes from Milk of Proliferation of OBM, CEM and MT2



OBM 臍帯血単核球 (在胎39週5日)

考察：母乳の感染防御効果については発展途上国を中心に多くの疫学的調査があるが、最近のわが国のまとまった報告は無い。新生児および幼若乳児の栄養法と重症感染症罹患 (敗血症、髄膜炎) について当科の入院患者での成績を基に全国調査を行い、集計された成熟児感染症罹患児 176例について非感染症罹患児 166例を対照において統計的に処理した結果、母乳栄養児に有意に重症感染症罹患が少ないことが示された (平成 4年, 5年度)。母乳内物質で感染防御に関与していることが一般に広く認められて

いるものを最近の文献を総括し表示した(Tab. 1)。分泌型IgAは腸管粘膜を通しての局所感染防御物質として有名であり、抗体としての中和作用により、Vibrio cholerae, ETEC, Campyrobacter, Shigellaなどの細菌性下痢症の発症防止に関与している。局所免疫組織としての乳腺、その機能的産物としての母乳という捕らえ方が成されているが、分泌型IgAと腸管免疫との関係で代表される。低出生体重児の母乳栄養保育により新生児壊死性腸炎(NEC)の減少は内外ともに広く認められている。また乳児の中耳炎罹患が母乳栄養児に少ないことも有名である。これは最近、母乳成分中の物質にH. influenzae, S. pneumoniaeの粘着をブロックすることが解り、それにより説明されている。その他、尿路感染、呼吸器感染、新生児敗血症の減少などに母乳栄養が関与しているといわれている。

Tab. 1 Anti-infective factors in human milk ¹⁾²⁾

Secretory immunoglobulin A
Milk immunoglobulin G and immunoglobulin M
Lactoferrin
Lysozyme
Lactoperoxidase
Complement(C1-9)
Cytokines Interferon,
Lipid(unsaturated fatty acids)
Lactobacillus bifidus growth factor
Milk cells -T and B lymphocytes,
-macrophages, polymorphonuclear cells
Receptor analogues and other protective factors
in human milk (Oligosaccharides)

核球の増殖に対し乳清中には何等かの抑制する物質の存在が、また母乳細胞中には促進する物質の存在が伺われた。この相反する現象が感染防御に合目的に作用しているものと考えられるが、その機序については検討出来なかった。

文献：

- 1) Narayan I: Human milk for low birth weight infants: Immunology, nutrition and practical technologies. Acta Paediatr Jpn, 31: 455-461, 1989.
- 2) Hanson LA et al: Breast feeding: Overview and milk immunology. Acta Paediatr Jpn, 36: 557-561, 1994.
- 3) Cunningham, A. S., Jelliffe, D. B., and Jelliffe, E. F. P: Breast-feeding and health in the 1980s: A global epidemiologic review. J Pediatr, 118: 659-666, 1991.
- 4) Lucas A and Cole TJ: Breast milk and neonatal necrotising enterocolitis. Lancet, 336: 1519-1523, 1990.
- 5) 桂新太郎：母乳の感染防御因子。小児医学, 22: 833-852, 1989.

Tab. 1に示した如く母乳内に抗感染的に作用する免疫物質についての詳細な検討は多いが、これらの物質と生体内の免疫細胞との相互関係についての研究は著についたばかりと言わざるを得ない。

今回、母乳内物質のヒト単核球増殖能に与える影響についてin vitroで検討した。増殖能の強い臍帯血単核球を中心に、成人末梢血単核球、新生児末梢血単核球および標準培養細胞と母乳乳清と母乳細胞を各々co-cultureし³H-thymidineの取込みを指標に単核球の増殖能を測定した。母乳乳清を加え培養するとヒト単核球の増殖能は抑制され、その作用には濃度依存性があると思われた。また母乳細胞を加え培養すると、ヒト単核球の増殖能を促進する現象がみられた。ヒトの免疫機構の中で重要な役割を担う単



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: 新生児および幼若乳児の栄養法と重症感染症罹患について当科の入院患者での成績を基に全国調査を行い、非感染症罹患児を対照において統計的に処理した結果、母乳栄養児に有意に重症感染症罹患が少ないことが示された(平成4年,5年度)。平成6年度は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 invitro 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、新生児血から分離した単核球とともに培養し 3H-thymidine の取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 3H-thymidine の取込みが低下し、単核球の増殖能を抑制することが示された。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みられた。