

母乳哺育（その3）

ラクトフェリンなど乳清蛋白質の役割と意義

和歌山県立医科大学小児科 名誉教授 小 池 通 夫

前回は人類が有史以前から続けてきた酪農、牧畜に立脚した乳業科学の力を借りて牛乳などミルク、そしてチーズ、バター製造とそれにまつわる学術用語の話をさせていただきました。そして最後に比較動物学から見た乳成分の話、さらに少しばかりカゼインの話に踏み出しました。

最近の新聞やテレビではニュートリノが光速より速いとか、深海の熱水鉱床の話、小惑星探査機「はやぶさ」の成果とか目を見張るような話題にわいています。いずれも目の玉のとび出るほど高額な研究費ですが中には金ばかりかかって成果の上らない頼りない地震予知のようなものも多いわけです。

その中で哺乳類がそして人類を育て続けた母乳は少し手垢のついた手法で細々と研究が進められていますが、しかしその内容は新発見の連続なのです。こんなに古くからあり、身近で誰でもお世話になっているのと思うのですが。

生化学的な物質の知見だけでなく、乳房にすがりついて吸う母乳の時の口や舌、のどの動きと哺乳瓶から飲む時あるいは大人がビールを飲む時の動きとはどう違うのか、乳房の乳輪まで口にくわえこむ唇の位置の違いも大昔から差のあることは推定されていたのですが、エコーや圧力計を使って実際にその研究が始められたのはこの10年ほどのことです。母乳哺育を願う子に母乳が足らずに糖水を足す時に哺乳瓶は使わない、この場合スプーンで与えよ

うというのはその研究から得た反省に立脚したものですし、口蓋裂の子どもに直接乳房から母乳を与える介助法の開発などはその成果を応用したものです。

生まれてすぐのヒトの子は目も見えない、耳も。痛覚さえ鈍いと考えられていたのはまだそう古いことではありません。A. ポルトマン著の「人間はどこまで動物か」（高木正孝訳、岩波新書）には生まれて間もなく立つウマやシカの子に比べヒトの子は目もみえず巣にこもるタイプと、その差を表現していました。しかし胎児が羊水の甘さを識別し、指吸いをし、出生直後に薄暗い室内で母の顔を追いその真似をし、いくつかのブラジャーの中から母のものを臭いでかき分けるといった五感の揃っていることは今なら誰でも知っていることです。この一部は山内逸郎先生や小林登東大教授が始められた研究がスタートになっています。—これだけのことが30年ばかりの間の研究でわかったのです。

「アタッチメント」の母子愛着形成も有名になった言葉です。カルガモの赤ちゃんが母鴨について一列でお濠端を歩く光景は初夏の風物詩ですが、卵から孵化してすぐ眼の前で動くものを対象とした「刷り込み」の結果であるということ、ゼンマイ仕掛けの戦車が動いていれば夜は停ったそれに寄り添って休んでいるカモの仔たちの絵を思い出しませんか。孵化時に目の前に動いていれば何でもいいのです。

ヒトの子にも五感が備わることがわかり、

「刷り込み」の可能性も示されたのですが、母乳が出ない母から「心をこめて哺乳瓶で与えてもだめですか」と尋ねられ「オッパイだけでなくお母さんとの接触、お母さんの行動の1つ1つ、お母さんの匂いまで子どもがすべてを学習するのですから大丈夫だと思いますよ」と説明しつつ、本当に本当かと内心忸怩たる思いなのはまだ確実な結論が出ていないことだからです。母乳哺育には完全なrandomized controlled studyは出来ないのです。

というわけで、わかっている範囲という条件付の話であることをお許し下さい。

4 母乳と人乳 breast milk and human milk

普通「母乳」といえば母親の乳房から直接飲む直接母乳(直母)を指します。ヒトの子の場合その母乳の補給源はその子の母親。これはしかし全ての哺乳類に共通することで、仔ウシには母牛の牛乳が母乳です。ただヒト以外は他の哺乳類の乳を原則として飲むという文化がない、あるとすればそれは人間が介在する時だけです。

そういう意味で母乳とはヒトの母の乳房からの直接の母乳に限り、それ以外はイヌの母乳、ウシの母乳と条件をつけることにします。

後の方で述べるのですが、1人のお母さんの乳の成分はお産の後の経過につれて刻々と変わるものです。また未熟児を生んだお母さんの乳にはそれに共通する点があります。脂肪の脂肪酸組成はベジタリアンは違うというだけでなくもっと長い目でみた時代時代の食習慣で変化もあります。同じお母さんの1回の約15～20分の哺乳の間にも特に脂肪含量は大きく変化します(図2)。脂肪はグラム当たり9キロカロリーと高カロリーのため母乳のカロリー

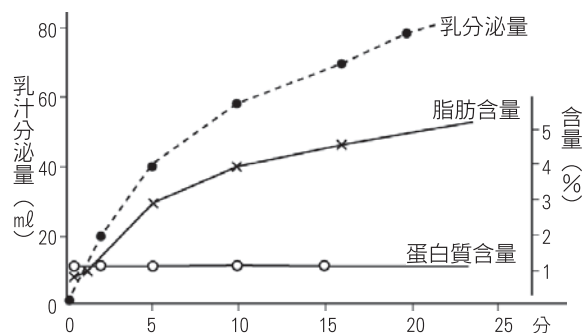


図2 一回哺乳中の母乳組成の変化

も変わります。1回の授乳の前半を前乳foremilk、後半を後乳hindmilkと呼びますが、最初の最初は40キロカロリー/dl、最後の最後には100キロカロリー/dlにも変貌を遂げるわけです。これは一回の哺乳のわずか15～20分の時間の間に脂肪の含量がぐっと増えるためで蛋白質、乳糖の含量はこのような変動はみられないのです。これは食欲に関連するのではないかという説がありますがこれも正確なところは不明のままです。

5 搾母乳と母乳を介する感染

その母乳を集めて生化学的成分の分析を行う検体とする—このサンプルは「人乳」と呼ばれます。集乳したものということがわかります。1回分かせいぜい数回分をプールし分析に供しますが、その出生後の日数(日齢)は余り差のないようにする—これは礼儀みたいなものです。

人乳集めには搾乳を行います。直母のあと残った母乳を乳房から搾ります。手を用いてあるいは搾乳器を用いて。これを自分の子に与えるとき搾母乳といいます。最近では自分の子以外に与えることはないで搾乳といえば搾母乳を指します。出生直後には赤ちゃんも母親も母乳を吸う、授乳するのに不慣れで、しかも十分に搾乳すると次の母乳の出が良好になるため産院で毎回これを行わせるところも少

なくないようです。

搾母乳はそのまますぐ飲ませることもありますが、母の外出などに備えて凍結保存することの方が多いと思います。NICUに残されたわが子のために母が家で搾り、凍結しそれを数日分まとめて病院に父や母が届ける。家族関係の樹立に欠かせぬものです。この時の凍結保存容器は何でもいいのではありません。通常、わが国では母乳パック(カネソン本舗—柳瀬ワイチ)が用いられます。この袋は外側は丈夫なナイロン製、しかしナイロンだけでは有害な可塑剤が溶け出しますのでその防止のために内側にポリエチレン膜がはりつけられた形に加工されています。これも山内逸郎先生の指導で作られたもので50ml用と100ml用が市販されています。搾乳直後に封入し、冷蔵庫の冷凍室の床に寝かせる形に置いて早く凍結させ、次の分の凍結時に前の分は凍結室の隅に立てかけます。病院へ運ぶ時は一緒に凍らせておいた保冷剤を入れて運んで下さい。

母乳パックに入って冷凍してあっても母乳は-20℃では内蔵されるリパーゼのため脂肪の分解が進みます。家庭ではせいぜい3日以内にとどめなるべく早く病院に届けて下さい。病院では-40℃以下の冷凍庫で保存し、その母親の子以外に使わないのが原則です。また一度解凍したものはその場ですぐ使い切り、残りはすぐ捨てるのが大切です。そのため50mlの袋があり、その子の使用量に応じ1回分(5mlとか10ml)に小分けして凍らせます。

山内先生は母乳銀行も創設され、その凍結母乳で未熟児を育て、死亡率、罹患率の低下を実証されました。しかし先生が亡くなれば、母乳が集まらなくなり、また母乳を通じた感染症の存在も明らかになり、母乳銀行はいつからかなくなりました。

欧米にもドナーの病気の検査も行い母乳を受け入れる母乳銀行が法律まで制定して創設されましたがこれも同じ運命をたどり、現在のような自分の子のためだけの凍結母乳がグローバルスタンダードとなった次第です。

母乳を乳房から直接哺乳させる場合には病原菌の感染の心配はいりません。乳首には雑菌は存在するでしょうがこれは邪魔物ではなく皮膚に大切な常在菌叢であり消毒は悪影響が心配です。乳首は乳暈^{ニョウウン}の周囲にあるワルトリン腺からの分泌物で覆われ保護されています。これをアルコールなどで消毒などでとり除くと乳首に亀裂を生じ、病原菌の感染を増やす恐れがあり、してはいけません。しかし一旦搾乳した母乳はそうはいきません。保存の間にたとえ雑菌であっても細菌増殖の恐れがあり、上述の保存上の細心の注意が必要とされるわけです。

狭義の経母乳感染、母乳を介する感染にはATL(HTLV-1)とHIVがあります。HBV、HCVは母乳は心配いりません。母の結核や梅毒などの性病も当然ありますがこれはこの際、おくことにしましょう。

ヒト成人型Tリンパ球性白血病ウイルス(ATLV)は2011年から正式に妊婦検診の検査項目に加えられることになりましたが、キャリアの母から母乳を介して児に感染するルートが重要とされるウイルスです。感染率が非常に低いこと、50歳以上になってATL(難治性白血病)を発症することがあるがその率は毎年1000人に1人程度(生涯の累積で5%以下)と低率であることがキーワードになります。また妊婦全員を対象としたスクリーニング検査では陽性が1%程度と低い上にそれが特定の地域に偏在していること、さらにスクリーニングの偽陽性の割合の高いことなど多くの問題があ

表3 授乳期間別児血清ATL抗体陽性率
(2000年12月31日現在)
(長崎県の成績)

栄養方法	陽性	陰性	合計	%
人 工	23	939	962	2.4
母乳短期(6か月未満)	14	155	169	8.3
母乳長期(6か月以上)	71	275	346	20.5

ります。厚生省研究班(森内浩幸班長)の報告では、長崎県下で行われてきた調査で栄養の与え方別の児への感染率は母乳哺育(6か月以上)の20.5%, 6か月未満8.3%, 完全人工栄養2.4%とされ、この結果から人工栄養が推奨されています。完全人工での2.4%は胎内か産道感染の存在を示すものでしょう(表3)。一部の産科で勧められている3か月程度の短期母乳哺育は8.3%に近い感染が推定されます。

凍結母乳がいいとされる理由ですが、ATLVは母乳中の細胞(主に顆粒球)の核内にプロウイルスDNAの形で存在し、凍結融解で細胞が破壊されると感染力を失うからです。この点は細胞から出されフリーなウイルスとして存在し、感染するRNAウイルスのHIVとは違う点です。

このようにATLVは凍結—解凍が理論的に有効と考えられます。しかし凍結母乳での哺育はお母さんに説明はするのにまだ成績がない(誰もそんなことしない)のが現状です。また最近の新型冷凍庫は急速冷凍が行われ細胞破壊にくいタイプの機種があり、もし実施するとしても要注意と森内教授は警告しておられます。

6 乳清蛋白質(群) milk serum proteins (表2) 再掲

スキムミルクからカゼインを除いた乳清に残されている蛋白質—このホエー蛋白には実にいろいろな蛋白質が含まれ、興味深いことはその多くが母乳中の形のままで消化管内で生理的役割を持っているという点です。その作用は多

表2 乳汁蛋白の多様性(再掲)

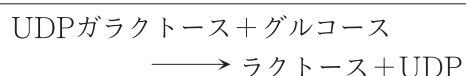
	母 乳	牛 乳
蛋白質 (g/dl)	0.89	3.31
カゼイン	0.25	2.73
α s-Cn [アルファエス]	(—)	(55%)
β [ベータ]	(60%)	(30%)
κ [カッパ]	(40%)	(15%)
乳清蛋白	0.64	0.58
α -ラクトアルブミン	0.26	0.11
ラクトフェリン	0.17	ir.
β -ラクトグロブリン	(—)	0.36
リゾチーム	0.05	ir.
血清アルブミン	0.05	0.04
Ig-A	0.10	0.003
Ig-G	0.03	0.06
Ig-M	0.002	0.003
蛋白N (mg/dl)	139	531
NPN (非蛋白態窒素)	35	28

注：下2行の数値(前号分を訂正)

くがまたお母さんのおっぱいからその子が直接哺乳で飲んだときに限って有効というのも特徴です。母乳を単なる栄養と考えないでほしい—母乳は神の恵みとする証拠の一つです。

(1) α -ラクトアルブミン

ヒトでは乳清蛋白中0.26g/dl(別の報告では0.26±0.07g/dl)と一番多い蛋白質でホエー蛋白中の40%を占め、牛乳でも20%を占めます。乳糖が合成される反応式で



この反応を触媒する酵素がラクトース合成酵素ですが、この酵素は本来肝臓に大量に存在し、糖蛋白の糖鎖の一番端にN-アセチルグルコサミンが位置する時、これにガラクトースを追加し糖鎖を延伸する糖蛋白-ガラクトシルトランスフェラーゼとしての働きの方が主な役割なのです。それが乳腺内でだけ乳糖合成に働いています。

実際に乳糖合成の反応式でこの酵素だけを加えても殆んど何も起こりませんが、ここに α -

表 4 ガラクトシルトランスフェラーゼ(GT)の基質特異性に対する α -ラクトアルブミン(α LA)の影響

	GT	GT + α LA
UDPガラクトース+グルコース	Trace	ラクトース+UDP
UDPガラクトース+N-アセチルグルコース	N-アセチルラクトスアミン+UDP	Trace

ラクトアルブミンが存在すると乳糖(Galactosyl- β 1,4-Glucose)がどんどん作られ、糖蛋白の代役のN-アセチルグルコースを基質として置換した場合 α -ラクトアルブミンの共存下では糖鎖の延伸は抑制されることがわかっています(表4)。

この α -ラクトアルブミンの作用は酵素のグルコースに対するKm値(ミカエリス恒数)を低下させた結果、酵素の基質親和性を修飾したための出来事であるところまではわかっています。ゴルジ体に存在する酵素に対し α -ラクトアルブミンはその膜に付着するようです。

しかし肝腎の酵素の量が乳腺には肝臓ほどには量がない。従って乳糖合成に果す役割は最後までは詰め切れずあいまいなままになっています。

しかし乳糖含量7g/dlと哺乳動物中最大の母乳の α -ラクトアルブミンが0.26g/dlとやはり哺乳類で一番多い。その一方で乳糖がtraceしかないクジラ、トド、アザラシ類のミルクには α -ラクトアルブミンはゼロに近いというデータも事実で、この両者の真相もまたゴールには至っていません。

ヒト α -ラクトアルブミンは分子量15,000、アミノ酸数123個、内94個がウシ α -ラクトアルブミンで同じアミノ酸が同じ位置にあり、さらに7個は類似アミノ酸で、ということで両者の類似性は極めて高いのです。この高い種の間の相同性は α -ラクトアルブミンに限られたものでカゼインなど他の乳蛋白質にはない特徴です。またシステイン8個、メチオニン2個と含硫アミノ酸の多さも特徴で、これは含硫ア

ミノ酸のないカゼインを補い栄養価を高めています。少し注釈を加えますと、含硫アミノ酸の中で体内で合成が出来ないのはメチオニンです。従ってメチオニンだけが本来、必須アミノ酸ということになります。このメチオニンからシスタチオニンを経てシステイン、さらにタウリンへと体内で代謝され、それぞれの形で利用されます。ところがそのうちメチオニンからシステインが作られる幾つかの酵素群(その殆んどがビタミンB₆を補酵素とする)が乳児ではすべて低値なのです。新生児では殆んどゼロに近い、従って新生児ではメチオニンとシステインの両方ともが必須アミノ酸であることになります。実際の体内ではメチオニンの9割はシステインに変換されて蛋白質に組み込まれています。従って母乳中にシステインの多いことは赤ちゃんには極めて大切なことです(後述)。

(2) β -ラクトグロブリン

牛乳では0.36g/dlと乳清蛋白の2/3を占めるのに母乳ではtraceという大差が特徴という蛋白です。母乳中にゼロではなく微量ながら存在することを示されたのは確か京大農学部井上教授だったと思いますが、系統発生的に見て人類に至って何らかの理由で生産停止となったのでしょう。

それよりもウシ β -ラクトグロブリンは乳幼児で多い牛乳蛋白アレルギーの主因であり、悪玉の代表として臨床的にも多くの報告があります。現在の育児用粉乳では β -ラクトグロブリンは徹底的に予備消化してあるかあるいは除去操作が行われていますが、それでもなおウシ β -ラクトグロブリンはアレルギーの主犯の位

置は不動のものです。消化されペプチドになってもなおアレルギー性が残る頑固さがあるのでしょう。

ついでに予備消化をすすめペプチドにする、さらに消化しアミノ酸にする—この操作がかえて人体に悪さをするものもあることも考えておいて下さい。予備消化はミルクの浸透圧を高くし、これは消化管を傷害する恐れがあります。アミノ酸乳を急速に小腸内に点滴した実験(神大、平田美穂教授)では一挙に吸収されたアミノ酸がアゾテミアとして腎障害をきたしたと報告されています。

このように β -ラクトグロブリンは悪玉ですが、これは牛乳に大量にあり母乳に似たものが殆んどないという代謝上の問題が大きいのだと考えられます。ということで β -ラクトグロブリンが仔牛であるいは母牛の乳房内でどんな役を果しているのかという研究は私は見たことがありません。勿論アレルギーさえなければ β -ラクトグロブリンも栄養価の上では良質な蛋白質です。あまり悪者、悪者といいすぎたことはごめんなさい。

(3) ラクトフェリン (その1)

母乳には 0.17 g/dl (別の報告では $0.28 \pm 0.06\text{ g/dl}$)と α -ラクトアルブミンに次ぐ乳清蛋白中第2位の蛋白です。初乳中には特に多く含まれ 0.4 g/dl と報告されています。一方、牛乳にはごく微量(上記別の報告では $0.01 \sim 0.04\text{ g/dl}$)の存在です。しかし前に述べた通り、牛乳の乳清は乳業会社にとっては廃棄物に近いものなのでウシラクトフェリン(bLF, bはbovine = 牛の略)は牛乳乳清を材料に精製される宝物です。

ヒトラクトフェリン(hLF)はアミノ酸692個(または691個)、分子量約8万の鉄蛋白でホトラクトフェリンは鉄イオン2分子が入っていま

す(ペプチドの始まりにある NH_2 側に近いN-ドメインに1つ、C-末端を含むCドメインに1つ)。

bLFはhLFとアミノ酸数、鉄2分子もほぼ同じですがアミノ酸相同率69%で勿論、糖鎖構造も違います。

ラクトフェリン製品にはbLFのほかに *Aspergillus niger*で、あるいは遺伝子操作を行った牛でその牛乳中、またコメ(rice)に作らせ精製抽出して得られるhLF製品が市販されています。遺伝子操作製品は禁輸のわが国には入っていませんが試薬としては販売されています。これらhLF製品はアミノ酸の数と構造はヒトラクトフェリンと同じですが糖鎖の数・糖構成はそれぞれ別のものということです。

ラクトフェリンは血清蛋白の1つのトランスフェリン、卵子中のオボトランスフェリンなどとアミノ酸残基数、鉄結合様式、立体構造などの点で極めてよく似ており、トランスフェリンファミリーと呼ばれています。ラクトフェリンそのものも母乳のほかまったく同じものが唾液、涙あるいは好中球(顆粒球)中にも存在することが知られています。

鉄蛋白であるラクトフェリンには鉄イオン2分子が入ったホロ(holo)ラクトフェリンとまったく入っていないアポ(apo)ラクトフェリン(母乳中のものはこちらに近い)があり、実際にはさまざまな鉄含量のものが存在します。

ラクトフェリンの生理的作用の発見はまず大腸菌に対する抗菌作用でした。大腸菌をラクトフェリンを加えた培地で培養すると発育抑制がみられるという報告です。この抗菌作用は静菌的なものでヘム鉄を添加すると解消されたことから、ラクトフェリンの鉄の親和力が発育に鉄が必須の大腸菌の鉄結合能を上まわり、鉄を奪い大腸菌の発育を停止したというわけ

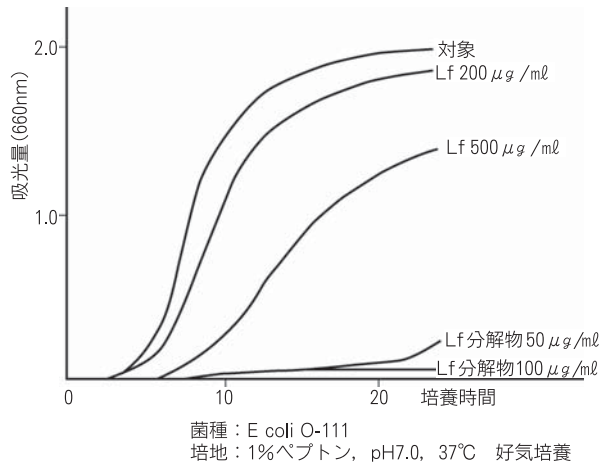


図3 ラクトフェリンおよびラクトフェリン分解物の抗菌活性

です。その過程でラクトフェリンはアポラクトフェリンからホロラクトフェリンの方向に動いています。ヘム鉄を加え鉄が満配のホロラクトフェリンになると鉄の取り合いはなくなる、発育が再開されると考えるのが妥当でしょう。

これは私も追試してみました。大腸菌が増殖すると培地が濁るのでこれを比濁計で読むという簡単なものです。時間経過をX軸に、濁り(菌増殖量)をY軸に記入すると、大腸菌の増殖曲線が画けます。ラクトフェリンを加えた培地(hLF 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$)では抑制は僅かですが500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に増やすと増殖が明らかに悪くなります(図3)。ここで実験を追加してラクトフェリンを酸性プロテアーゼのペプシンで予備消化したhLF分解物の形にして添加し培養すると、はるかに少ないラクトフェリン(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ あるいは50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)で大腸菌は殆んど生えなくなっていました。元々のhLFよりもペプシン消化したhLF分解物の方がはるかに高い抗菌力を示したのです

これは私が思ってもみなかった結果でした。私はhLFを分解すればLFは鉄との親和力を失うだろうからLFの抗菌作用は失われるだろうと想定していたものですから。

この時用いた大腸菌O111は標準株で大阪市

大の小寺先生から分与いただいたものと記憶します。今年(2011年)4月に富山市で出されたユッケ(生牛肉刺身・韓国風)を食べて発生した食中毒で181人が発症、5人がHUSで死亡した、あの焼肉酒場「えびす」(チェーン店)の事件の原因もO111株でしたが、あれは赤痢菌の志賀毒素(SLT)の産生能のある株でした。私の用いたO111は標準株でSLTは含まぬ普通の常在大腸菌だったと思います。昭和40~50年の私たちはベロ毒素とかHUSとかはまだ知りませんでした。今にして思えば昭和35年(1960年)に医師となってすぐ経験した2例の疫痢(当時は赤痢の乳幼児にみられる重症型と考えられていましたが2例とも赤痢菌は生えませんでした)、あれが腸管出血性大腸菌(EHEC)が原因と考えると症状経過が似ていると思っています(疫痢EHEC説)。

また余談になりましたが、いろいろ事情があって私の実験はここで終り、なぜhLF分解物が元のhLFより大腸菌発育を抑制したのかは不明のままになってしまいました。

この問題はその後余り日を経ずに、森永乳業の研究所からのラクトフェリシン(Lactoferricin)の報告があり氷解しました。

ラクトフェリシンはラクトフェリンをペプシンで消化した時に生じるペプチドでラクトフェリンのN-末端に近いところに位置するペプチドで、ウシではN末端から17番目から41番目まで25個のアミノ酸のペプチド、ヒトは途中で分子内のS-S結合をもつ47+11=58個のアミノ酸で構成される形をとっている(図4)。(注: 胃から分泌されるペプシンはフェニルアラニン(略号F)、チロジン(Y)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)のカルボキシル側でペプチドを切断)

ラクトフェリンの抗菌性は大腸菌O111でhLF

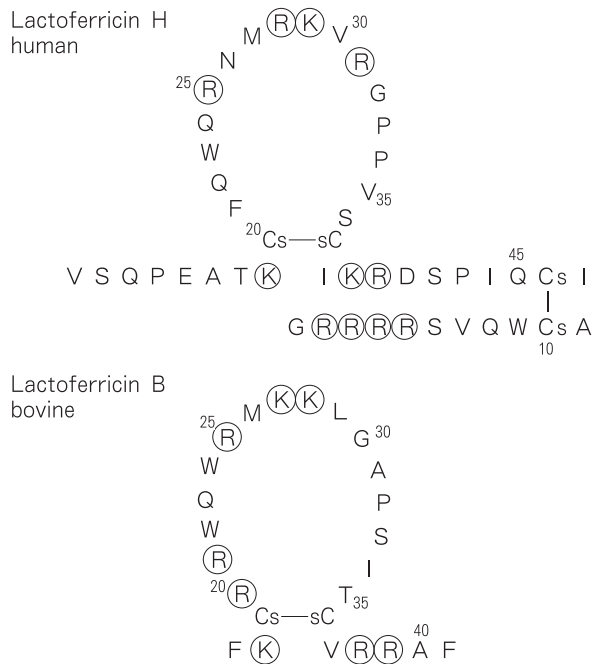


図4 ラクトフェリシンのアミノ酸構造

を1としたとして水解物は6倍、精製してhLFCinにすると30倍、bLFは1.5倍、水解物は20倍、bLFCinは333倍と算出されています。明らかにペプシン消化後の方が高力価になるのです。ラクトフェリシン同士の直接比較で増殖の最少阻止濃度はヒトでは100 μ g (18 μ M)/ml、ウシでは6 μ g (2 μ M)/mlでウシラクトフェリシンの方が少ない重量で有効というだけでなく、モル数での比較でも少量で有効ということで両者間に差のあることも明らかになった次第です

(森永研究所の報告)。

この報告で示された内容ではウシラクトフェリシンは10 pM/mlという超微量(注：p=pico= 10^{-12} でミリ>マイクロ>ナノ>ピコ>フェントの順)でサルモネラ(S.enteritidis)，黄色ブドウ球菌(S.aureus)，ジフテリア菌，クロストリジウム(C.perfringens)，セレウス菌(B.cereus)などの病原菌の発育をほぼ完全に阻止するのに、有益菌とされるビフィズス菌(B.bifidum, B.breve, B.longum など)などにはまったく阻害がみられぬという抗生剤とはまったく別の抗菌作用のあることが記されています(表5)。

ラクトフェリン，ラクトフェリシンに関してはその後の研究でウシ，ヒトでは糖鎖の構造，位置，数などペプチド構造以外の差も明らかになりました。一口にヒトラクトフェリンといっても遺伝子操作で作られた，米由来，牛乳，アルペルギルス由来の製品はアミノ酸の数やペプチドとしては全く同じものであっても糖鎖(数や長さ，構成する糖の性質など)はそれぞれの細胞でそれぞれ固有のものが付加されるものでそれぞれ全く異なることもすでに解明され証明されています。

表5 グラム陽性菌に対するラクトフェリシンB(10pM)の殺菌活性

菌 種	生存率(%)
<i>Listeria monocytogenes</i> 1DF-1b	<0.01
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC-6633	<0.04
<i>Bacillus natto</i> IFO-3009(納豆菌，枯草菌の1種)	<0.02
<i>Bacillus cereus</i>	1.4
<i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC-1925B	<0.59
<i>Streptococcus lactis</i> ATCC-19435	0.04
<i>Streptococcus bovis</i> JCM-5672	3.5
<i>Staphylococcus aureus</i> JCM-2151	0.8
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC-6013	0.8
<i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC-15696	100
<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC-15707	7
<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC-15700	12
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC-15703	32

(森永研究所の成績)

ラクトフェリンの蛋白分解でみられる抗菌性の増加はhLFでもbLFでもペプシン消化時に限られています。胃壁主細胞から分泌され酸性条件下で働くあのペプシンです。弱アルカリで働く膵酵素のトリプシン(アルギニン(R), リジン(K)のC側でペプチド切断), 枯草菌由来のプロナーゼ, 果物由来のパパイン(パパイヤ)やブロメライン(パイナップル)の消化では元々のラクトフェリンの抗菌性まで全く消失させてしまいます。そういうところからペプシン消化物からラクトフェリンが精製されたのですから。ところで鉄2分子の飽和されたホロラクトフェリンは試験管内の実験ではペプシンでもトリプシンでも消化され難い“消化抵抗性”であることがわかっています。消化後に残された蛋白(ペプチド)の鉄結合能も元のラクトフェリンと殆んど変化はありません。

In vivoでも経口的に母乳として摂取されたラクトフェリンが乳児の大便中から回収されています。これは確か新生児で行われた札幌医大小児科からの報告にあったと覚えています。もう少し大きい子でもホロラクトフェリンとして摂取した鉄はヘム鉄として摂取させた鉄より吸収効率が良いことも判明しており, このことからラクトフェリンはキャリア蛋白として体内に一旦吸収され, そこで鉄を放出した後さらにアポラクトフェリンはまた管腔側へ出て来る“シャトル”の役として鉄吸収に役立っている, そして働きを終えてアポラクトフェリンは消化吸収され, さらにその一部は大便中まで働きながら排泄されると考えられるようになりました。「蛋白質が大便中に排泄される」, このことを聞くとまず無駄とか蛋白漏出性胃腸症など考えざるを得ないとお考えのことと思いますが, よく似た母乳中のsIgAが腸管内でいろいろな働きを終えて大便中までその働きを続けて

いると考えると「よく働いてくれた」とその健気さにお礼の一つも言って当たり前なのではないでしょうか。

つまりこれが食べ物と考えるから「おかしい」のであって, 唾液とか膵液, 腸液中のsIgAなら「よく働いた」, 「健気だ」で当然だからです。それなら大便中のラクトフェリンもご苦労でしたとほめてやって欲しいのです。母乳中のラクトフェリンやsIgAは栄養物の蛋白質ではなく母から子に贈られた生物学的に活性のある働き手なのです。これが私が母乳は単なる食べ物ではなく体液だと申しあげる所以です。母乳は母の唾液, 涙と同じく母が分泌したものです。母の涙や唾が母自身の免疫に役立つのは明らかですが, 母の分泌物が子の免疫に役立つのかどうか私は知りません。しかし母乳はその母から生れた子の役に立つものだった……と考えれば当然のことです。ところで嬰兒の自らの涙, 唾液にはまだsIgAは存在しないことも思い出して下さい。これが“自然の摂理”であり“天然の妙”なのでしょう。

(4) ラクトフィランピン Lactoferrampin

ラクトフェリンと同じような抗菌活性をもつペプチドがもう1つ, ラクトフェリンの中にジグソーパズルの一枚の駒のように埋め込まれています。これがラクトフィランピンと呼ばれるペプチドです(Haney, EF et al, Biochimie 2009; 91:141-154)。

ラクトフィランピンはヒトラクトフェリンのN末端から269-285番目に一致するアミノ酸数17個のペプチドです。ウシラクトフェリンにも同じような位置にヒトのと全く同じ17aaのペプチドとして存在します。

ところでラクトフィランピンはそれ自体では抗菌活性はありません。N末端のトリプトファン(W)にアスパラギン酸-イソロイシン-ロイ

シンのトリペプチド(DAI)を延伸させる形の加工を行うことで抗菌性、抗カンジダ性(candida albicans, カビ)を示すようになります。

ラクトフェリンもまた特にラクトフェランピンはまだ海のものとも山のものとも分からぬものですが、抗生物質ともその他の抗菌剤とも違う抗菌剤としてまことに興味深いと乳業や製薬の世界では考えられて研究が進められています。

ラクトフェリンにはまだまだ多くの作用があることがその後の研究で明らかになり、multi-functional proteinと呼ばれています。これは次回の「ラクトフェリン (その2)」で触れることにします。

(5) 免疫グロブリン

① sIgA 分泌型IgA (表6)

母乳中には各種の免疫グロブリンの全てと補体が含まれています。中でも量的に一番多いのはsIgAです。IgAのサブクラス2つのうち母乳中にはIgA₂が多いとされています。血中のIgAが乳房内で分泌型IgAになり母乳中に出ますが、その量は初乳中に著しく高く4週後には著しく減少します(表6)。初乳の重要性が叫ばれる理由です。

母乳中のsIgAの量と質には地域差が大きく影響しています。一般に先進国では量も少なく、アフリカなど途上国では多い。個々の病原体に対する抗体の種類の多さや抗体価の高さも当然途上国に多い。しかし抗原量、抗体

価は個人差がそれ以上に大きいのです。この点は経胎盤的に母から児に移行するIgGとは少々様子が違うようです。児の出生直後の血清IgG量はmg/dlで見て母親の血清中IgG量をわずかに上まわる程度、これは先進国でも途上国でも変りないが、しかし個々のIgG抗体価はこれは明らかに途上国の方が高い。sIgAと血清中IgGとでは直接比較するわけにはいかないが母乳中のsIgAは表6に示した例では初乳中には410mg(0.41g)/dlで乳清蛋白の半分近い値、4週後には190mg/dl、2、3か月後の成乳では100mg/dlに低下しますがそれでも成人の血清中のIgAの標準値77.1mg/dl(幅70-312)の平均値よりはやや高い量です。これらの数値から判断すると乳汁中への能動輸送機序の存在が想定できます。初乳はそもそも泌乳量自体極めて少ないので成乳では単位当たりのIgAは少なくなっても量の多いことを考えるとIgAの絶対量には初乳も成乳も差がないという説もあります。別の報告ですが、母乳からのsIgA量は6週で947mg/日、12週で842mg/日という報告があります。同じ文献に記された母乳の摂取量から逆算すると夫々は120mg/dlと100mg/dlに相当しますのでまあ上述の量に比し妥当な数値です。この報告では6週時の947mg/日のうち159.5mg/日(16.6%)が便中に排泄され、しかもそれは消化をうけた形跡がない、sIgAのフルレングスの形のまま排泄されていると記されています。

一方、この論文ではラクトフェリンは1,426mg/日の摂取に対し便中排泄は14.3mg/日(1.1%)に過ぎぬとしています。口と肛門外だけで途中の出入りをすべて無視した値ではこうであるということかもしれません。このように研究者毎にデータに大差のあるのも母乳研究の特徴で調査した月齢、地域、個人などいろいろ

表6 母乳中の免疫グロブリン・補体(mg/dl) 出産後経日の変化

	Ig-A	Ig-G	Ig-M	C ₃
初乳	410	6.3	9.5	4.4
1週	210	6.3	1.7	1.1
2週	190	7.4	0.7	0
3週	190	6.3	0.1	0.6
4週	190	9.0	0	0

なことを考慮して判読して下さい。

sIgA の便中排泄が多いことに関し sIgA が唾液、膵液、腸液といった分泌液を介して追加されるのではないかという異論も出るでしょう。

しかし新生児の血清 IgA 値は臍帯血で 2.3 mg/dl (1.4–3.6), 1 か月 13 mg/dl (1.3–53) と殆んどゼロに近い値でこれからすると消化管内での分泌による追加はまずないでしょう。

ラクトフェリンの便中排泄が 6 週齢で低いことに関しこれは一般的な蛋白質の話としての母乳由来摂取量 8,980 mg/日 に対し便中排泄は 462 mg/日 (5.2%) でラクトフェリンの排泄量 1.1 % はこれより低いわけです。これに関しては sIgA とは逆の事実が知られています。それは小腸を中心とした吸収上皮の回転, 更新に伴う大量の脱落があるということです。

② 蛋白質は消化管内で自家生産され再吸収されている

小腸の吸収上皮細胞は絨毛の陰窩(クリプト)との境界で新生され絨毛壁をエスカレーターに乗った形で上昇しながら成熟し, 絨毛頂上で脱落を繰返しています。その $T \frac{1}{2}$ (半分が交代するのに要する時間) は通常時で約 3 日とされており, その際脱落する細胞の量は成人では赤身の肉に換算して 200 g/日, 蛋白質量として 40 g に相当する量になります。肉といってもヒトの肉です。大きな声ではいえない気持ちになります。アミノ酸組成など消化吸收(異化)して肝臓で再びヒトの蛋白質として作り直される(同化)のにパッチリの極めて良質の蛋白質です。通常成人は 60 g/日の蛋白質と 1.5 l の水分を食事として摂取し, 消化管内で唾液, 胃液, 膵液, 胆汁, 腸液とおおよそ 9 l の消化液とその中の酵素などの蛋白, 200 g の脱落上皮由来の肉(蛋白質 40 g) と合せて合計 100 ~ 120 g の蛋白質と 10 l の水分を全て再吸収し,

100 ~ 200 g の大便を排泄するということです。大便の中には消化されない腱などを構成するコラーゲンおよび爪や毛髪など硬質蛋白を除く普通の蛋白質で未消化のものは殆んど存在しません。しかし乳児の場合は蛋白質消化酵素の代表であるトリプシンも膵の分泌量が極めて少ない。膵が未熟のためで, これはトリプシン定量診断薬 パンクレアス・ダイアグノスタント® (東京田辺) での成績でも明らかです (15 ~ 18 歳でもまだ成人量よりやや低い)。従って乳児では 5 % 程度の未消化蛋白質の便中排泄は消化生理として妥当—と考えられます。つまり生後 6 週間にもなると未熟とはいえ母乳中のラクトフェリンは(多分アポラクトフェリンの形で)消化をうけ抗体に反応する能力を失うということです〔注: ラクトフェリン定量は抗原・抗体法で行われる〕。

③ 母乳中の IgG・IgM

母乳中の sIgA に比し IgG と IgM は量的にはるかに少ないのは別として, この 3 つの免疫グロブリンの経口摂取量と大便中の量とがいつの時期に調べても常に平行しているのが特徴です。従ってラクトフェリンの新生児期での便中大量排泄の事実, そして sIgA が生後 6 週後でも摂取量の 15 % もの量が便中出现するのはこれらが生理的に腸管内で働いていることを示唆する貴重な証拠であると思うわけです。

④ 児の血中抗体の推移

新生児の血清中には母由来(経胎盤)の IgG が存在し一方 IgM は出生時から児自体に産生能が備わっています。IgA だけが低値で産生能もないわけです。出生前後から成人に至るまでのこれら免疫グロブリンの変動を示す図 5 はどこかでご覧になったことがあると思います。

⑤ sIgA の母乳中への分泌

抗原で感作された B 細胞が IgA を作りその 2

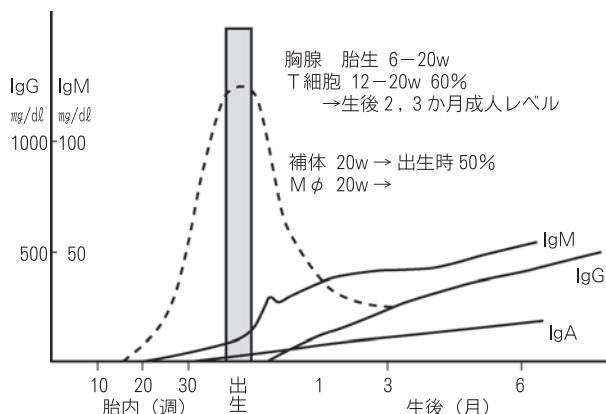


図5 免疫系の発達

分子が乳腺細胞で J-chain (J鎖) と secretory component (分泌因子 S.C.) が付加され sIgA として分泌される, これは sIgA の分泌コースとしてどこでもみられることです。

新生児は胎内生活でお母さんからもらったホルモンの影響で男の子でも(女の子は勿論)乳房が小さいながらにプクッとふくらんでいます。指先で軽くつまむと容易に黄色で半透明の液体が出ます。魔乳, 奇乳(witch's milk)と呼ばれています。ミルクのように真白に濁ることはありません。新生児には IgA 産生能はありません。魔乳の中にはカゼインなどの乳蛋白の他に IgA はないのに分泌因子(SC)だけが存在することが知られています。

魔乳以外にも新生児には奇妙な現象が多くあります。魔菌, これは一過性ではありませんが新生児のニキビ(面皰), まゆ毛や大泉門上の脂漏性湿疹は清潔にすれば一過性です。

⑥ 母乳中の sIgA の持つ抗体価

母乳中の sIgA には数々の細菌, ウイルスや寄生虫に対する抗体が存在することが in vitro で証明されています。その抗体価は母の抗体価などに影響され, 一般に途上国 > 先進国だが個人差の大きいことは前述の通りです。

(6) アルブミン

これこそ血清中に存在するアルブミンと同じ

ものです。50-80 mg/dL は血清中の 0.5-1 % と少量ですがシスチン含量が高く母乳蛋白の蛋白価(プロテイン・スコア)の向上に寄与しているのは α -ラクトアルブミンの項で述べた通りです。血清中と同様に母乳の中でも亜鉛, 銅など金属やビリルビン, 脂肪酸, ホルモンなどの担体として働くのか—報告はありません。

(7) リゾチーム

Lysozyme N-acetylmuramyl hydrolase

リゾチームは細菌細胞壁のペプチドグリカンを構成する N-acetyl glucosamine と N-acetyl muramic acid の間の β -1, 4 結合を切る酵素です。ここが切断されると細胞壁が破壊され, 細胞内外の浸透圧差から溶菌, 死滅に至ります。

リゾチームは分子量 15,000, 130 個のアミノ酸で構成されますが, この内 49 個が α -ラクトアルブミンと同じ位置にあることから両者は同一遺伝子から進化したと推定されています。

このような強い殺菌力をもつ母乳リゾチームが初乳中に 49 mg/dL と秤量できるほど存在するのも驚きですが, この母乳中リゾチームがリゾチームが最初に発見された唾液中のものと, あるいは涙, 唾液中のもの, また白血球中リゾチームと全く同じもので, ただ母乳中は量が異常に多いだけということでもた驚かされるわけです。

このヒト由来リゾチームに対し牛乳中のリゾチームは質も違い, 量も少なく, 比活性は母乳リゾチームの方が牛乳の 3,000 倍, リゾチーム製剤(卵白リゾチーム)製造の原材料となった卵白より母乳は 3.5 倍と報告されています。

乳児の糞便中に存在するリゾチームの測定結果では胎便には存在しない, 母乳を飲み始めると増加する, 母乳を加熱して哺乳させた時は低下し, 人工栄養に補足した例では母乳の時の 400 分の 1 であったと報告されています。このこ

とは消化管内で分泌されるリゾチームが母乳中
リゾチームに比し、はるかに微量であること、
母乳哺育児でリゾチームの活性が大便中まで維
持されることを示す成績です。

(8) 非蛋白態窒素

Non-protein Nitrogen(NPN) (表 2)

これを乳清蛋白の 1 つに加える気はありません。他に適当な項目のないこと、それにカゼインでないことは確かなのでここに含めました。

母乳でこれを問題にせねばならぬのは母乳の NPN が牛乳に比し著しく量が多いことです。母乳はそもそも蛋白質が 0.89 g/dl と少ないのですが、NPN は牛乳の 28 mg/dl (窒素として) に対し 35 mg 。 35 mg にアトウォーターの係数 (6.38) を乗じ、蛋白と仮定した値を算出すると 0.22 g になり、蛋白全体の 20.1% を占める数値にあります。 $0.9 + 0.2 = 1.1 \text{ g/dl}$ 、これは日本で現在、母乳の標準組成として引用されている「五訂増補 日本標準成分表」に記されている数値です。ここには NPN の記載はなく、蛋白質として計算されたための誤まりでしょう。

蛋白質の定量法にはいろいろあります。チロシン、フェニルアラニンという芳香族アミノ酸がアルブミンのような標準的蛋白質の中にはほぼ同じ割合で存在することから、それを定量するフォリン法、その 280 nm の紫外部吸光を測定する方法、蛋白と結合する性質をもつ色素を用いる色素法などのほか、ゴールドスタンダードとされているのがキエルダール法(Kjeldahl)です。通常はこれを少量化したマイクロキエルダール法を用います。これは蛋白などの窒素化合物中の N を測定するときそれを濃硫酸と少量の発煙硝酸で可溶化し、全てアンモニア(NH_3)とし、硫酸アンモニウム $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ として回収し、その後それからアンモニアガスとして回収し、アンモニア NH_4OH として滴定で

秤量する。湿性灰化に時間がかかり少々難しい方法です。

標準として牛血清アルブミン(BSA)を用います。BSA の $1/6.25$ が窒素ですのでマイクロキエルダール法で得た窒素の値にその逆数 6.25 を乗じると元の BSA の重量になるわけです。そこでこの 6.25 を Atwater の係数と呼び、食品中の蛋白質量の計算などによく用いられています。蛋白質を構成するアミノ酸は蛋白質の 1 つ 1 つで全て違います。6.25 は標準的なものでミルクの場合にはおよそその値で 6.38 という数値が用いられています。

とにかくこの様に母乳は窒素から換算した蛋白量の内 20% が NPN で本当の蛋白質は 80 % 分の 0.89 g/dl です。一方、牛乳は N からの計算では 3.57 g/dl ですが本当の蛋白量は表に示された 3.31 g/dl で両者の差となる 0.26 g/dl が NPN 相当分です。それは N 全体の 5.2% に過ぎません。母乳はミルクとしては異常なくらい NPN 含量が高いのが特徴なのです。

ところで NPN とは何か。血清とか尿で NPN といえばまず尿素窒素(尿素)、尿酸、クレアチン、クレアチニンなどですが、母乳ではさらにフリーのアミノ酸、それにアミノ糖、シアール酸など蛋白の糖鎖の構成成分(糖鎖としてあるいはオリゴ糖の形の化合物として)、それに核酸の関連物質があります。

また別の文献になりますが、母乳 NPN 中一番多いのはやはり尿素だそうです。その量は初乳移行乳では NPN の 42 mg 中 12 mg/dl (29%)、28 日以降の乳は 41 mg 中 22 mg (54%) となっています。この間、初乳から成乳へ蛋白質量そのものは減少が続いているはずの時期です。

クレアチニン、クレアチン、尿酸は合計でも 5 % 以下ですが、経日的変化は見られぬようです。

遊離アミノ酸は初乳NPN中8.6%，28日以降の乳では7.5%ですが，酸性アミノ酸のグルタミン酸が何れでも全遊離アミノ酸の半分を占めています。グルタミン酸ソーダ(味の素)だから味がよくなるだろうというジョークではなく，グルタミン酸はTCAサイクルへの α -ケトグルタル酸の補給源として消化管内でエネルギー供給をするとかいろいろな物質への前駆体になるのではといった可能性を示唆する報告があります。

グルタミン酸以外には含硫アミノ酸のメチオニン，システインに由来するタウリン，そして塩基性アミノ酸のリジン，アルギニンと続きます。

その次に多いのは核酸関連物質とポリアミンです。核酸を構成するプリン塩基(アデニン，グアニン)とピリミジン塩基(シトシン，チミン，ウラシル(RNAだけ))に五単糖(デオキシリボース，リボース(RNA))と燐酸から作られるヌクレオチッドは核酸の基本構造です。

母乳中にはこの核酸関連物質が多種類しかも量的にもNPNの20%を占める大量に存在しますが，牛乳中では母乳には存在していないオロト酸が1つ存在するだけです。これは母乳と牛乳との大きな違いですがその生理学的意義はまだ不明です。

母乳ではCMPとCDPが一番多く(シトシン-1-リン酸，シトシン-2-リン酸)，その他AMP, ADP, IMP, GMP, GDP, UMP, UDPなど少なくとも13種類があります。これらの母体内での産生機序，乳児での代謝などは全く不明です。

母乳中ポリアミンにはプトレッシン，スペルミジンなどが存在し，これらは乳腺内でカゼインのリン酸化や乳糖合成との関連を示す報告があります。

(9) その他の母乳中抗菌物質

母乳中にはこの他感染防禦に役立ちそうな多くのものが含まれています。①白血球，②ビフィズス因子，③その他IFN- α ，ラクトペルオキシダーゼなど多くのものがあります。①②以外は個人間の隔差が大きいと思われます。

① 白血球類

第2編に述べた通り，白血球は初乳には2,000-4,000/ mm^3 ，成乳でも1,000/ mm^3 と血液中の正常値6,000-8,000/ mm^3 に「桁」としては同レベルに存在しています。分画としてはマクロファージ，好中球，リンパ球が存在し，マクロファージには喰菌能があり，分離培養で血清中にIgA, IgMを産生する能力が示されています。IL-1産生能が微弱という点が一般のマクロファージと違う点です。

② ビフィズス因子 Bifidus factors

母乳中にはオリゴ糖として一括される蛋白の糖鎖部分とほぼ同じオリゴ糖が少なくとも80種は存在します。その内，昔はN-アセチル-グルコサミンを含む糖10個以下のオリゴ糖10種類ほどがビフィズス菌を増殖させる能力があるとしてビフィズス因子と呼ばれていました。

この実験は *Bifidobacterium bifidum* var. *Pennsylvanicus* (通称 var. Penn. 株) を用いて行われ，多くの動物種のミルクに試験管内での var. Penn. 株の増殖を促進させる因子が示され，ビフィズス因子と呼ばれるようになった(P. Gyorgy, 1965年)。

しかしその後 var. Penn. 株はヒト腸内(乳児を含め)には殆んど証明されないこと，ビフィズス因子のオリゴ糖を構成するグルコサミンやアミノ糖がないと生育できぬ株であることが明らかにされ，またビフィズス菌の新分類に含ませることの難しい特殊な菌株であることが分かり，var. Pen 株という言葉もビフィズス因子

という言葉も用いられなくなった。

しかし母乳にはその他にも多くのビフィズスファクターが含まれていて、健康母乳栄養児の糞便中のビフィズス菌は大便湿重量1g当たり $10^{11}-10^{12}$ 個、第2位の大腸菌はせいぜい 10^8 個とその比は3桁の開きがあります。1000：1の差といえば塗抹標本では純培養のように見えるのも当然で1000個の内の1つを顕微鏡

下に見分けは極めて困難、まして両菌種ともグラム陰性ですから。なおビフィズスの語源はこの菌が途中から2つに分かれていて、Yの字の形をしているからでbifid＝分岐が元になったものです。

次の(その4)は少し目先を変え、母乳哺育を乳児の側から眺めようと思っています。

