牛乳の抗体蛋白質に関する研究(3)

Studies of the Antibody Produced in Milk (Part 3)

初乳の免疫学的意義

Immunological significance of colostrum

(昭和 40 年 2 月 9 日 受理)

仁 木 達
(Tôru Niki)

祐 川 金次郎
(Kinziro Sukegawa)

繁 田 晴 美
(Harumi Handa)

1) A cow a month before parturition was injected, hyperdermic and intramuscular, with antipertussis vaccine. The total dose of 1,580 billion was divided into increasing 10 portions and injected at 3-day intervals.

2) Agglutination tests of the experimental cow serum with pertussis (10 billion) were positive in dilution of 1:2 before the vaccination, as compared to 1:2,560 after the vaccination. The value on the control cow serum was 1:4.

3) The agglutination test with pertussis was positive at 1.7 γ /ml in whey nitrogen content of the immune colostrum and at 30 γ /ml of the control colostrum.

The antibody titer of the control colostrum decreased daily, and gave negative agglutination after 3 days of the lactation. The immune milk gave positive values at 1.7 γ /ml even after a week in the experimental period.

4) The daily decreasing in antibody titer of blood and milk was not affected by the additional vaccination, which was given in the immunized cow after the parturition with the total amount of 7,765 billion of pertussis bacilli divided into 20 doses.

5) The serum of the immunized calf or the control cow caused negative or weakly positive agglutination reaction at delivery.

After the calves fed on dam's colostrum, the calf serum of control dam caused the positive reaction at 1:1 to 2; and the calf serum of immunized dam showed an immediate increase in serum antibody and gave the positive reaction at about 1:4,000.

6) The results apparently indicate that the calves acquire the immune agglutinin in blood just after the feeding on colostrum, and they are not able to absorb the immune agglutinins from dam's blood, even at high concentration in antibody, during their gestation period.

7) A calf 2 months postpartum fed on the immune normal milk for a week showed an increased serum antibody by 60 times.

Abderhalden の防禦酵素理論以来、生後1週間ぐらゐの乳幼児は、乳を通じて母体から免疫性を得るといわれてきたが、それ以後の幼児あるいは成人には乳を飲んで免疫性を得ることが不可能であるという確定的な結果は得られていない。

消化器から免疫抗体を吸収することによって、疫病が予防される現象は自然界に広く行なわれており、数種の動物は出生時にはその血液の中に免疫抗体を含んでなく、初乳あるいは出生後初期の乳汁を摂取しなければ血清中に γ -グロブリン分画の現われないことも知られている。初乳摂取によって獲得された免疫抗体が免疫能力を有し、かつ消化器から吸収されることは Ehrlich によ

ても提示されている。すなわち、Ehrlich は、毒性アルブミンを妊娠中のねずみに注射しこれに対する抗体が胎盤を通して仔ねずみに移行するとともに、乳汁を通して移行することを示している。乳汁を通しての抗体移行はその後多くの動物について証明されている¹⁾²⁾。これに反して、ヒトでは、抗体は出生前にすでに母体からうつがれる。Kuttner ら³⁾は、ジフテリア抗毒素をもつ母体からの新生児は、初乳を飲用する前にすでに抗毒素が認められることを報告している。電気泳動分析によればヒトの胎児あるいは新生児の血液中の γ -グロブリン含量はむしろ高い^{4)~6)}。これが出生後2、3カ月の間に下降し、以後10カ月ぐらゐ低い値を得てから次第に増加し

て成人に達するという。

第3報には、分娩前の乳牛に対して百日せき菌ワクチンを注射し、免疫初乳を摂取した新生仔牛および非免疫初乳摂取仔牛ならびに生後2カ月の仔牛に免疫常乳を飲用させた場合の血中抗体の変動を百日せき菌に対する凝集反応によって測定した結果および血中蛋白質分層を電気泳動的に測定した結果について報告する。

実 験 方 法

1. 免疫法

分娩前乳牛の皮下および筋肉に百日せき菌ワクチンを初回100 billion, 3日間隔に漸次増量して注射した。免疫10回、菌数として1,580 billion注射後、雄2頭を分娩した。親牛に対する免疫は、分娩後も同様間隔で筋肉注射を20回実施した。

2. 免疫牛および非免疫牛の初乳抗体価の測定

免疫牛および非免疫牛の分娩直後搾乳した初乳の抗体価は、脱脂および除カゼイン後ホエーを中和し、百日せき菌10 billionに対する凝集反応によって測定した。詳細については第1報に記載した。

3. 免疫牛、非免疫牛および仔牛の血中抗体価の測定

百日せき菌1,580 billionを皮下および筋肉注射後、分娩したときの親牛および分娩直後の仔牛の血中抗体価と初乳飲用中1週間の血中抗体価、さらに非免疫牛および分娩後2カ月の仔牛に対する免疫常乳を1週間飲用させたものについて、それぞれの血清の百日せき菌10 billionに対する凝集で抗体価を測定した。

4. 血清の各蛋白質分層の測定

チゼリウス電気泳動法による血清蛋白質の各分層の測定は、血清を透析後、リン酸緩衝液、pH 7.8, $\mu=0.144$, 1~2°C, 5 mA, 80分泳動させ、その各面積の重量比から求めた。

汙紙電気泳動は、汙紙 No. 51 (東洋汙紙)40×15cm, 緩衝液はペロナール buffer (Veronal-Na. 8.82 g, 酢酸ソーダ4.68 g, N/10酢酸 80.8 ml を2 lになるように蒸留水で希釈する。) pH 8.4, $\mu=0.045$ を使用した。血清は0.02 ml スポットし、200V, 3 mA, 5~10°C (冷蔵庫内) 5時間泳動させた。染色はアミドブラック10B (アミドブラック10B 5 gをメタル:氷酢酸=9:1のもの1 lに溶解する) 液に20分間浸し、2%酢酸液で、10, 10, 30分間および20時間脱色後風乾、アタゴ式デンスリトメーター、フィルター61, スリット1×28 mmで測定した。

実験結果および考察

分娩1カ月前の妊娠牛の皮下および筋肉に、百日せき

菌ワクチンを3日間隔に、初回100 billion, 漸次増量して計10回、菌数1,580 billion 免疫後の血清中の抗体は、百日せき菌10 billion に対する凝集反応では2,560倍となった。この牛の免疫前の血清凝集価は、血清の2倍希釈までは陽性を示した。また百日せき菌1,580 billion を注射した免疫牛および非免疫牛の分娩後1週間の初乳の百日せき菌に対する凝集価、さらに免疫を継続した場合の血清および乳汁の抗体価の変動を図1に示した。

図1 百日せき菌免疫による血中および乳汁中の抗体価の変動

免疫牛および非免疫牛の血中抗体さらにそれぞれの仔牛が、分娩後初乳で飼育されたときの血中抗体価の上昇および分娩2カ月後の仔牛に免疫常乳を投与した場合の結果については、表1に示した。

非免疫親牛の血中百日せき菌凝集能は、血清4倍希釈まで反応を示したが、初乳の1~2日目のものでは、ホエー窒素30γ/mlで凝集が認められた。しかし、それ以降の乳汁ではほとんど凝集能を示さない。この牛から分娩された仔牛の初乳摂取前の血中には、百日せき菌に対して凝集を示す抗体は認められない。初乳哺乳後は1~2倍希釈までかすかな凝集を示したにすぎない。

一方、百日せき菌免疫親牛の血中抗体は、免疫前2倍であったものが百日せき菌1,580 billion 免疫後は2,560倍に上昇した。この牛から分娩された仔牛2頭の哺乳前の血中抗体は、非免疫牛のものと同様0~1倍でほとんど凝集を示さなかったが、ホエー窒素として1.7γ/mlで反応を示す初乳飲用後は、急激に血中抗体が上昇し、最高約4,000倍となった。

表 1 免疫牛および非免疫牛の初乳摂取による仔牛血中凝集価の変動

分娩後日数	非 免 疫 牛			免 疫 牛				免疫常乳 分娩2カ月 後仔牛血清
	ホエーの ⁽¹⁾ 抗体価	母牛血清 ⁽²⁾ 抗体価	仔牛血清 ⁽²⁾ 抗体価	ホエー 抗体価	母牛血清 抗体価	仔牛1 抗体価	仔牛2 抗体価	
1	30	4	0	1.7	2,560	0	1	0
2	30		2	1.7	2,560	4,080	4,080	.
3	200		2	1.7	2,560	4,080	2,040	.
4	—		1	1.7	2,560	4,080	2,040	64
5	—		1	1.7	2,560	2,040	4,080	.
6	—		1	1.7	2,560	2,040	2,040	.
7	—		1	1.7	2,560	2,040	1,020	32

(1) ホエー中の抗体価は、百日せき菌 10 billion に対して凝集を示すホエー室数の γ 数である。

(2) 血中抗体価は、百日せき菌 10 billion に対して凝集を示す血清希釈倍数で示した。

分娩後2カ月の仔牛に、ホエー室素として10~12 γ /mlで凝集を示す免疫常乳を1週間(6 kg/day)摂取させた場合には血中抗体が64倍に上昇した。

以上の結果から、親牛の血液中に相当強度の免疫抗体が存在しても、仔牛の血液中にはほとんどか、あるいは全く移行しないということになる。つまり牛胎児においては、胎内における血中抗体移行はないものと考えられる。しかし、この実験からは、百日せき菌に対して凝集を示す凝集素についてのみい得ることであって、その他の免疫抗体については不明である。一般にヒトの場合においても、百日せき菌に対する抗体は乳児の血中にはほとんど現われないといわれており、むしろ体液または組織に認められると報告されている。しかし、百日せき菌免疫乳牛の初乳摂取後の仔牛の血中凝集素が、非免疫乳牛の仔牛に比較して、著しく増加していることは、ある種の抗体については、初乳摂取によって免疫抗体が与えられ、経口的にも免疫抗体が充分血液中に移行することの証明になり得ると考えられる。この場合の血中抗体濃度が果して感染防禦抗体として作用するか否かについては、今のところ不明であるが、ヒトの場合には、百日せき菌に対する血中抗体の凝集価が320倍以上では感染防禦能を示すといわれている。またヒトでは、一度百日せきに罹患すれば、終生その感染を免れるけれども、血中からは血清学的に抗体をあまり多量には証明できないとも報告されている。また腸チフス罹患後は、かなり多量の凝集素を含有しているものでも1~2年後にはほとんど測定し得なくなるが、感染に対する抵抗は永く持ち続けるといわれている。したがって血中抗体の多寡で“感染に対する抵抗”を測定することにも多少の疑問はあるが抵抗力というものは抗体量と比例するらしいという報告もある。さらに、ジフテリアアナトキシンで能動免疫したモルモット、抗毒素血清を注入したモルモットについて、血中抗毒素が測定し得ないモルモットでも、再感染

実験での感染症状は、初感染時に比較して軽症であったとの報告もある。

各血清のチゼリウス電気泳動図および濾紙電気泳動による血清蛋白質の各分層については、図2および表2、3にそれぞれ示した。免疫牛および非免疫親牛の血清には γ -グロブリンが認められ、しかも免疫牛血清には γ -グロブリン含量が高い。しかし分娩直後の仔牛血清中にはいずれも γ -グロブリンが存在しなく、分娩後初乳摂取によって始めて血中 γ -グロブリンが現われる。この場合にも免疫初乳を飲用した仔牛血中の γ -グロブリンが高く、約50%を示している。以後次第に減少して行くが、

図2 免疫牛と非免疫牛血清の電気泳動図

pH 7.8, $\mu=0.144$, リン酸緩衝液, 1~2°C, 5mA, 80 min.

表2 チゼリウス電気泳動による血清蛋白分層 (%)

血清 蛋白分層	免疫親牛	免疫初乳摂取仔牛血清			非免疫	非免疫初乳摂取仔牛血清		
	血 清	分娩直後	摂取1日後	摂取7日後	親牛血清	分娩直後	摂取1日後	摂取7日後
アルブミン	37.5	57.9	31.4	34.9	42.7	50.0	43.1	41.1
α -グロブリン	15.2	29.2	21.9	16.9	14.2	30.4	20.9	22.1
β - "	9.3	12.6		29.3	11.3	19.0	15.3	18.5
γ - "	38.6		45.9	18.5	30.9		20.0	17.1

表3 汙紙電気泳動による血清蛋白分層 (%)

血清 蛋白分層	免疫親牛	免疫初乳摂取仔牛血清			非免疫	非免疫初乳摂取仔牛血清		
	血 清	分娩直後	摂取1日後	摂取7日後	親牛血清	分娩直後	摂取1日後	摂取7日後
アルブミン	23.4	68.0	27.7	34.3	45.2	60.4	37.0	39.4
α_1 -グロブリン	3.6	32.0	5.4	9.0	4.6	39.6	6.3	9.3
α_2 - "	16.0		8.5	17.0	11.3		14.7	17.8
β - "	13.3		8.2	17.0	9.5		16.8	15.2
γ - "	43.7		50.0	22.7	29.9		25.7	18.3

血中凝集素と関連して興味ある問題で、しかも初乳摂取による免疫の獲得ということを考慮した場合、生理上極めて重要なことであると考えられる。

表2および表3に示したチゼリウス電気泳動法と汙紙電気泳動法から求めた血清各蛋白分層の含量差は、分析法による差で、ある程度やむを得ないことであるが、両方法とも同様な傾向を示している。

要 約

百日せきワクチンを総菌数 1,580 billion, 分娩前の乳牛に対して皮下および筋肉注射し、そのときの乳汁、血清、分娩直後の仔牛血清ならびに初乳摂取後の仔牛血清の抗体価、さらに分娩2ヵ月後の仔牛を免疫常乳で飼育した場合の血中抗体価の変動について、百日せき菌に対する凝集能、血清の電気泳動的变化を測定し、次のような結果を得た。

1. 分娩約1ヵ月前の妊娠牛に対して、百日せきワクチンを皮下および筋肉注射した。初回は百日せき菌 100 billion とし、漸次増量して3日間隔に10回、総菌数 1,580 billion を免疫した。

2. 免疫前の血清は、百日せき菌 10 billion に対して血清2倍希釈、免疫後は2,560倍希釈で凝集反応が認められた。一方非免疫牛では4倍であった。

3. 免疫牛および非免疫牛の初乳では、百日せき菌に対して、ホエー窒素 1.7 γ および 30 γ で凝集を示したが非免疫牛からの乳汁では、経時的に凝集価の減少を示し搾乳3日以降では1,000 γ でも反応が認められない。一方、免疫牛では1週間後も1.7 γ で凝集を示した。

4. 免疫牛に対しては、分娩後も免疫を継続し、20回総菌数 7,765 billion 注射したが、血中および乳汁中の抗体価は、免疫量に比例することなく漸減した。

5. 分娩直後の仔牛血清は、いずれも凝集反応陰性、あるいはわずかに陽性を示したが、初乳摂取によって、非免疫牛からのものでは、血清1〜2倍希釈で反応が認められた。一方、免疫牛の仔牛では、初乳摂取後速かに血中抗体が上昇し、約4,000倍となった。

6. 以上のことから、仔牛の場合における凝集素免疫抗体は、初乳摂取後はじめて血中に現われるもので、親牛血中に相当強度の免疫抗体が存在しても胎内では仔牛血中に移行しないことが認められた。しかし、体液、組織抗体の確認およびその他の抗体についての問題は検討中である。

7. 分娩後2ヵ月の仔牛に免疫常乳を摂取させた場合では、血中抗体が約60倍となった。

8. 血清の電気泳動では、分娩直後の仔牛血清には γ -グロブリン区分が認められなく、初乳摂取後にはじめて γ -グロブリンが現われる。とくに免疫初乳飲用の仔牛血中 γ -グロブリンは約50%で、非免疫初乳飲用の仔牛のそれに比較して著しく高い。なお免疫牛の血中 γ -グロブリンも非免疫牛のそれに比べて高かった。

文 献

- 1) Orcutt, M. L. and Howe, P. E.: *J. Exp. Med.*, 36, 291 (1922)
- 2) Hansen, R. G. and Phillips, P. H.: *J. Biol. Chem.*, 171, 223 (1947)
- 3) Kutter, A. and Ratner, B.: *Am. J. Dis. Child.*,

- 25, 413 (1923)
 4) Du Pan, P. M. and Moore, L.: *Am. J. Obstetr.*, 57, 322 (1949)
 5) 橋元祐二, 永好千鶴子: 生物物理化学, 2, 311 (1954)
 6) 梅原ミヤ: 日小児, 63, 1269 (1959)
 7) 和泉成之: 小児科診療25巻, 4号, p. 51 (1962)
 (雪印乳業技術研究所)

ウ サ ギ の 乳 成 分

チンチラ種, ニュージランドホワイト種のウサギの乳成分を分析した。試料は初乳, 4日, 7日, 18日, 21日乳である。総固形分は比較的高く25.7~36.0%, そのうち脂肪10.2~17.7%, タンパク質11.9~13.2%, 乳糖1.12~1.76%である。そのほかK 145~212 mg, Na 82~160 mg (100 g中), ビタミン含量はかなり幅があり, ($\mu\text{g/ml}$) B₁0.3~1.7, B₂2.3~4.9, B₆0.9~3.6, B₁₂

0.05~0.11, ビオチン0.08~0.45, 葉酸0.003~0.30, ナイアシン2.0~8.7, パントテン酸6.2~22.1, A 0.84~6.70であった。初乳についてはビタミンA, B₁₂の含量は高く, B₆, ビオチン, 葉酸, ナイアシンは低い。
 (表2)

The Composition of Rabbit's Milk.
 by Coates M. E., Gregory M. E., Thompson S. Y., *Brit. J. Nutrition*, 18, 583~586(1964)
 (宮崎)

カ ル ニ チ ン の 生 合 成

ビタミン B₁₂ として知られるカルニチンの生合成に関して, マウスにラベルした前駆体を投与して研究した。その結果, (1)4トリメチルアミノ酪酸はマウスのカーカス中で急速に水酸化される。(2)4ジメチルアミノ酪酸は主として4ジメチル3ハイドロキシ酪酸に水酸化され, 少量のカルニチンを生成する。また一部は脱メチルされて4メチルアミノ酪酸を生成し, さらに4アミノ酪酸となる。

(3)4アミノ酪酸からはカルニチンは生成されない。(4)4トリメチルアミノブタン1オールからカルニチンの生成がみられた。(表1, 図7)

Studies on the Biosynthesis of Carnitine.
 by Lindstedt G, Lindstedt S,
J. Biol. Chem., 240, 316~321 (1965)

(宮崎)