研 究 ノ ー ト

母乳栄養および人工栄養哺育新生児 におけるラクトフェリン、 リゾチームならびに 免疫グロブリンの便中排泄

鈴木 隆*, 畑中 光代*, 山内 恒治**
川瀬 興三**, 富田 守**, 清沢 功***
小此木成夫*

* 森永乳業株式会社食品総合研究所
** 森永乳業株式会社栄養科学研究所
*** 玉川大学農学部農芸化学科

Fecal Excretion of Lactoferrin, Lysozyme and Immunoglobulin in Breast-fed and Bottle-fed Newborn Infants

Takashi SUZUKI,* Mitsuyo HATANAKA,*
Koji YAMAUCHI,** Kozo KAWASE,**
Mamoru TOMITA,** Isao KIYOSAWA***
and Shigeo OKONOGI*

* Food Research and Development Laboratory,
Morinaga Milk Industry Co., Ltd.,
Meguro-ku, Tokyo 153

** Nutrition Science Laboratory, Morinaga Milk
Industry Co., Ltd., Meguro-ku, Tokyo 153

*** Department of Agricultural Chemistry, Faculty
of Agriculture, Tamagawa University,
Machida 194

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc.
Nutr. Food Sci.*) 42, 259~263 (1989)

Lactoferrin, lysozyme and immunoglobulins were measured in feces from breast-fed and bottle-fed neonates immediately after birth until 40 days of age. The average concentrations of lactoferrin in breast-fed and bottle-fed neonates were, respectively, 6.5 mg/g and trace at birth to 10 days, 3.7 mg/g and trace at 11-20 days, 2.1 and 0.1 mg/g at 21-30 days and 1.3 and 0.2 mg/g at 31-40 days. Fecal lysozyme activities in neonates nursed by breast- and bottle-feeding were, respectively, 213.9 and 95.9 μ g/g at birth to 10 days, 135.0 and 33.0 μ g/g at 11-20 days, 114.7 and 52.5 μ g/g at 21-30 days, and 97.4 and 43.4 μ g/g at 31-40 days. In breast-fed neonates, concentrations of IgA, IgG and IgM were,

respectively, 2.6, 0.3 and 0.9 mg/g at birth to 10 days, 2.0, 0.4 and 0.7 mg/g at 11-20 days, 1.6, 0.2 and 0.5 mg/g at 21-30 days and 0.9, 0.3 and 0.5 mg/g at 31-40 days. The corresponding figures in bottle-fed neonates were trace, 0.1 mg/g and trace at birth to 10 days, <0.1, 0.1 and 0.1 mg/g at 11-20 days, 0.2, 0.1 and 0.4 mg/g at 21-30 days and 0.3, 0.1 and 0.5 mg/g at 31-40 days. These results suggest that endogenous lactoferrin in neonates may be produced at approximately 20 days after birth.

(Received October 7, 1988)

著者らは、ラクトフェリンに関して、これまで、乳汁中の含量¹⁾²⁾、病原性大腸菌に対する静菌作用³⁾⁴⁾、酵素消化物の性状⁵⁾⁶⁾ などについて検討を行い、ラクトフェリンが乳児栄養の観点からきわめて興味深い鉄結合性タンパク質であることを報告してきた。

ラクトフェリンは、広く体内に分布しているにもかかわらず、体内での産生開始時期については知られていなかった。1986年、Schanlerら⁷⁾は、生後約1~2カ月の低出生体重児便中の感染防御物質を検索し、ラクトフェリンが検出されることを見いだした。しかし、正常な新生児体内におけるラクトフェリンの産生開始時期は依然として明らかにされていない。これに対して、免疫グロブリンのヒト体内における産生開始時期は、血清、唾液および便に関する多数の研究によって明らかとなっており^{8)~14)}、たとえば、IgA⁸⁾は生後約1週後の正常な新生児の唾液中に出現することが報告されている⁸⁾。著者らは、今回、ヒト体内における産生開始時期と栄養法別の含量差異を明らかにすることを目的とし、母乳および人工栄養児便中のラクトフェリンの消長をリゾチームと免疫グロブリンとの比較で検討したので、以下に報告する。

実 験 方 法

1. 便 試 料

母乳および人工栄養哺育による健康な成熟新生児から自然排泄された便を速やかに滅菌シャーレに採取した後、分析に供するまで -15°C で凍結保存した。便は、使用時に 1g 当たり約 8 ml の蒸留水を加えてテフロン付ホモジナイザーにて十分均質・混和後、10 ml 定容とした。次いで、3,000 rpm, 10 分間の遠心分離を行い、上澄液を各分析に供した。なお、人工栄養哺育には、ラクチュロース配合、ラクトフェリン無添加の市販育児用調製粉乳を使用した。

2. 便中ラクトフェリンの定量

便中のラクトフェリンは、前報²⁾ に準じて測定した。

* 〒153 東京都目黒区目黒 4-4-22

** 〒153 東京都目黒区目黒 4-4-22

*** 〒194 東京都町田市玉川学園 6-1-1

Table 1. Lactoferrin and lysozyme contents in feces from breast-fed and bottle-fed infants at different ages after birth.

	Lactoferrin (mg/g)		Lysozyme (μ g/g)	
	Breast-fed	Bottle-fed	Breast-fed	Bottle-fed
~10 days	6.0 $\pm$ 1.5* (<i>n</i> =17)**	0 (<i>n</i> =15)	213.9 $\pm$ 60.9 (<i>n</i> =14)	95.9 $\pm$ 51.5 (<i>n</i> =22)
11~20 days	3.7 $\pm$ 1.3 (<i>n</i> =12)	0 (<i>n</i> =14)	135.0 $\pm$ 17.9 (<i>n</i> =11)	33.0 $\pm$ 16.1 (<i>n</i> =14)
21~30 days	2.1 $\pm$ 1.1 (<i>n</i> =10)	0.1 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =13)	114.7 $\pm$ 21.2 (<i>n</i> =10)	52.2 $\pm$ 40.1 (<i>n</i> =13)
31~40 days	1.3 $\pm$ 0.3 (<i>n</i> =10)	0.2 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =12)	97.4 $\pm$ 26.1 (<i>n</i> =11)	43.4 $\pm$ 23.5 (<i>n</i> =14)

* Values are mean $\pm$ SD. ** () Number of tested samples.

Table 2. IgA, IgG and IgM contents in feces from breast-fed and bottle-fed infants at different ages after birth.

	IgA (mg/g)		IgG (mg/g)		IgM (mg/g)	
	Breast-fed	Bottle-fed	Breast-fed	Bottle-fed	Breast-fed	Bottle-fed
~10 days	2.6 $\pm$ 0.3* (<i>n</i> =17)**	0 (<i>n</i> =15)	0.3 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =17)	0.1 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =14)	0.9 $\pm$ 0.7 (<i>n</i> =17)	0 (<i>n</i> =15)
11~20 days	2.0 $\pm$ 0.3 (<i>n</i> =12)	trace (<i>n</i> =14)	0.4 $\pm$ 0.2 (<i>n</i> =12)	0.1 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =14)	0.7 $\pm$ 0.2 (<i>n</i> =11)	0.1 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =14)
21~30 days	1.6 $\pm$ 0.4 (<i>n</i> =10)	0.2 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =14)	0.2 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =10)	0.1 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =13)	0.5 $\pm$ 0.2 (<i>n</i> =10)	0.4 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =13)
31~40 days	0.9 $\pm$ 0.3 (<i>n</i> =10)	0.3 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =14)	0.3 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =10)	0.1 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =14)	0.5 $\pm$ 0.2 (<i>n</i> =11)	0.5 $\pm$ 0.1 (<i>n</i> =11)

* Values are mean $\pm$ SD. ** () Number of tested samples.

である。

母乳栄養児便中リゾチーム活性の日齢進行に伴う変化はラクトフェリンの場合と同様の傾向を示し、日齢 10 日まで急減した後、ほぼ一定した含量となった。これらの値は従来の母乳栄養児に関する報告¹⁶⁾¹⁷⁾とほぼ一致していた。

一方、人工栄養児でも出生直後から明らかに便中リゾチーム活性が認められ、日齢の進行に伴って母乳栄養児に近似する傾向を示した。しかし、今回得られた値は成熟新生児について観察した従来の報告値¹⁶⁾¹⁸⁾より高い傾向にあった。育児用ミルクにはリゾチームが含有されていないので、今回観察された人工栄養児の便中活性は乳児体内のいわゆる内因性リゾチームに由来することは Braun の報告¹⁷⁾からも明らかである。井村ら¹⁹⁾は、体内の諸機能が未発達状態にある低出生体重児においても出生直後から人工栄養哺育による便中にリゾチーム活性が検出されることを報告している。また、人工栄養児のリゾチーム活性は育児用ミルクの種類によっても影響を受け、たとえば、ビフィズス菌増殖因子であるラクチュロース添加は乳児便中リゾチーム活性を高めることが知られている¹⁷⁾²⁰⁾。今回の結果では、人工栄養児のリゾチーム活性が母乳栄養児に近似する傾向を示したが、こ

れは使用した育児用ミルクに調乳液 100 ml 当り 65 mg のラクチュロースが含有されていたこととも関連があるかもしれない。

3. 便中免疫グロブリン含量

母乳および人工栄養哺育による便中の IgA, IgG および IgM の含量を日齢 10 日間ごとに区分して得た平均値は Table 2 に示すとおりである。

母乳栄養児では、IgA および IgM のいずれも出生直後に最も高い含量を示した後、日齢の進行に伴って減少し、その傾向は便中ラクトフェリン含量の変化に類似していた。これに対して、IgG は全例においてその含量が 1 mg/g 以下と低レベルにあり、また、日齢による変化はほとんど認められなかった。一般に、母乳中の免疫グロブリン、とくに、IgA と IgM 含量は常乳に比較して初乳に著しく高いことが知られており²¹⁾²²⁾、今回の日齢の進行に伴う IgA と IgM の含量変化はこのためと考えられる。

一方、人工栄養児では、低含量であったが、IgG が出生直後から全例に検出されたのに対して、IgA と IgM の消長は様相を異にした。すなわち、IgA は日齢 10 日までの 15 例すべてが検出限界以下であったが、日齢 15 日の 2 例中 1 例にはじめて検出された後、漸増傾向を示

した。しかし、母乳栄養児に比較して低レベルであった。また、IgM は日齢 13 日に至って 2 例中 1 例にはじめて検出された後に急増し、日齢 20 日以降には母乳栄養児に近似する傾向を示した。Selner ら⁹⁾ は新生児唾液中の免疫グロブリン含量を測定し、IgA は出生直後には検出されなかったが、生後 1 週間以降にはじめて出現し、4 週までには正常児の 92% が成人の唾液中 IgA 含量に達し、また、IgM も日齢 10 日以前には検出限界以下であったと報告している。今回の便中測定結果からも、IgA および IgM の体内における生合成開始時期はいずれも 10 日前後と推定され、Selner ら⁹⁾ の唾液中での研究結果とほぼ一致していた。一般に、IgG は胎盤を介して母体から胎児体内に移行するといわれており、IgG を含有しない育児用ミルクを摂取した人工栄養児便中に出生直後から検出されたのはこのためと考えられ、従来の知見との矛盾はみられなかった。

一方、Haneberg⁹⁾ は、人乳および牛乳哺育による乳児便中の免疫グロブリン含量を報告している。それによると、生後 1 カ月目における乾燥便 10 g 中の各 8 例の平均含量は、母乳および人工栄養児において、それぞれ、IgA : 98, 10; IgG : 7, 2 および IgM : 13, 6 mg であったとしている。これに対応する今回の結果は、例数が各 2 例にすぎなかったが、母乳および人工栄養児の生後 1 カ月目における平均含量は、それぞれ、IgA : 1.3, 0.3; IgG : 0.3, 0.1 および IgM : 0.7, 0.4 mg/g であった。今回の結果は湿潤状態の便 1 g 当りの含量であり、Haneberg の報告⁹⁾ と一概に比較することはできないが、両栄養法間の含量差異の傾向はほぼ一致していた。

本報では、便中含量の推移に基づいて、乳児体内におけるラクトフェリンの産生開始時期は約 20 日前後と推定するに至った。この結果から、生後間もない新生児を対象として使用される育児用ミルクに牛乳ラクトフェリンを添加・増強することは、乳児の生理代謝の面からも有意義と考えられる。

要 約

母乳および人工栄養哺育による成熟新生児を対象とし、出生直後から日齢 40 日までの便中ラクトフェリン、リゾチームおよび免疫グロブリン含量（平均値±標準偏差）を測定し、次の結果を得た。1) ラクトフェリン含量は、母乳および人工栄養児において、それぞれ、日齢～10 日 : 6.5 ± 1.5 , N.D.; 日齢 11～20 日 : 3.7 ± 1.3 , N.D.; 日齢 21～30 日 : 2.1 ± 1.1 , 0.1 ± 0.1 および日齢 31～40 日 : 1.3 ± 0.3 , 0.2 ± 0.1 mg/g であった。ラクトフェリンの乳児体内での産生開始時期は日齢 20 日前後と推定された。2) リゾチーム活性は、母乳および人工

栄養児において、それぞれ、日齢～10 日 : 213.9 ± 60.9 , 95.9 ± 51.5 ; 日齢 11～20 日 : 135.0 ± 17.9 , 33.0 ± 16.1 ; 日齢 21～30 日 : 114.7 ± 21.2 , 52.2 ± 40.1 および日齢 31～40 日 : 97.4 ± 26.1 , 43.4 ± 23.5 $\mu\text{g/g}$ であった。リゾチームは母乳栄養児ばかりでなく人工栄養児においても出生直後より便中に検出され、両栄養法間差異は日齢の進行に伴って接近する傾向を示した。3) 母乳栄養児における IgA, IgG および IgM 含量は、それぞれ、日齢～10 日 : 2.6 ± 0.3 , 0.3 ± 0.1 , 0.9 ± 0.7 ; 日齢 11～20 日 : 2.0 ± 0.3 , 0.4 ± 0.2 , 0.7 ± 0.2 ; 日齢 21～30 日 : 1.6 ± 0.4 , 0.2 ± 0.1 , 0.5 ± 0.2 および日齢 31～40 日 : 0.9 ± 0.3 , 0.3 ± 0.1 , 0.5 ± 0.2 mg/g であった。同様に、人工栄養児では、日齢～10 日 : N.D., 0.1 ± 0.1 , N.D.; 日齢 11～20 日 : 0.1 以下, 0.1 ± 0.1 , 0.1 ± 0.1 ; 日齢 21～30 日 : 0.2 ± 0.1 , 0.1 ± 0.1 , 0.4 ± 0.1 および日齢 31～40 日 : 0.3 ± 0.1 , 0.1 ± 0.1 , 0.5 ± 0.1 mg/g であった。IgA および IgM の乳児体内での産生開始時期はいずれも日齢 10 日前後と推定された。

文 献

- 1) Nagasawa, T., Kiyosawa, I. and Kuwahara, K.: *J. Dairy Sci.*, **55**, 1651 (1972)
- 2) 鈴木 隆, 野中真弓, 清沢 功, 小笠勝啓: 栄養と食糧, **30**, 317 (1977)
- 3) 鈴木 隆, 阿部美保子, 清沢 功, 久保山盛雄, 小笠勝啓: 第 30 回栄養・食糧学会総会講演要旨集, 77 (1977)
- 4) 山内恒治, 鈴木 隆, 川瀬興三, 清沢 功, 小此木成夫: 第 41 回栄養・食糧学会総会講演要旨集, 69 (1987)
- 5) 鈴木 隆, 野中真弓, 清沢 功, 小笠勝啓: 栄養と食糧, **31**, 395 (1978)
- 6) 鈴木 隆, 山内恒治, 川瀬興三, 富田 守, 清沢 功, 小此木成夫: 栄養誌, **42**, 13 (1989)
- 7) Schanler, R.J., Goldblum, R.M., Garza, C. and Goldman, A.S.: *Pediatr. Res.*, **20**, 711 (1986)
- 8) Selner, J.C., Merrill, D.A. and Claman, H.N.: *J. Pediatr.*, **72**, 685 (1968)
- 9) Haneberg, B.: *Scand. J. Immunol.*, **3**, 191 (1974)
- 10) Allansmith, M.R., McClellan, B.H. and Butterworth, M.: *J. Pediatr.*, **75**, 1231 (1969)
- 11) 藤井 肇, 白井朋包: 小児科, **15**, 263 (1974)
- 12) 渡辺孝義: 産婦誌, **20**, 669 (1968)
- 13) 田中陸男, 田端喜八郎, 奥田六郎: 小児科臨床, **22**, 819 (1969)
- 14) Laurell, C.B.: *Anal. Biochem.*, **15**, 45 (1966)
- 15) 柿崎義明: 日本内科学会誌, **48**, 591 (1959)
- 16) 森田 清: 小児科臨床, **28**, 29 (1975)
- 17) Braun, O.H.: *Moderne Aspekte der Künstlichen Säuglingsernährung, Internationales Symposium*, 139, Georg Thieme, Stuttgart (1971)
- 18) 坂田 堯: 小児科臨床, **30**, 706 (1977)
- 19) 井村総一, 望月俊太郎, 高田昌亮: 小児科臨床, **34**, 2295 (1981)
- 20) Kawase, K., Suzuki, T., Kiyosawa, I., Okonogi, S., Kawashima, T. and Kuboyama, M.:

Bifidobacteria Microflora, 2, 25 (1983)

21) Amman, A.J. and Stiehm, E.R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 122, 1098 (1966)

22) Lechtig, A., Mata, L.J. and Arroyane, G.:

Rev. Latinoam. Microbiol., 12, 131 (1970)

(1988年10月7日受理)

研究ノート

日常生活または絶食条件下における 運動鍛練者および非鍛練者の尿中 総カルニチン排泄量について

星代正範

福岡教育大学教育学部保健衛生学研究室

Effect of Fasting on Urinary Total Carnitine Excretion in Trained and Untrained Men

Masanori YASHIRO

*Laboratory of Health and Hygiene, Department
of Education, Fukuoka University of
Education, Munakata 811-41*

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.) 42, 263~266 (1989)

We examined the effect of fasting on urinary total carnitine excretion in trained and untrained men. Twenty-four-hour urinary total carnitine excretion was markedly higher in the trained group than in the non-trained group. Urinary creatinine excretion also showed a similar tendency. In the trained group, urinary total carnitine excretion was increased with fasting, but not in the untrained group. The rate of decrease in urinary nitrogen excretion due to fasting was greater in the trained group than in the untrained group. These results suggest that carnitine may play an important role in the enhancement of aerobic ability.

(Received October 11, 1988)

序

従来、運動トレーニングが積極的な脂肪酸の酸化利用能力、すなわち好氣的代謝能力の向上をもたらすことに対して重要な役割を演ずることはこれまでの研究^{1)~3)}が示すとおりである。細胞内顆粒成分のミトコンドリア内において長鎖脂肪酸が酸化燃焼される場合、脂肪酸はキャリアーとしてのカルニチンによってミトコンドリア内に輸送される必要があり、生体での長鎖脂肪酸の酸化燃

焼に果たすカルニチンの役割はきわめて重要⁴⁾である。脂肪酸酸化が亢進する絶食条件下では尿中カルニチン排泄レベルが高くなるという報告⁵⁾もあり、脂肪酸の酸化が促進されることに対してカルニチンは大きな影響を与えるものと考えられる。しかし、運動や栄養摂取条件とのかかわりでの生体におけるカルニチンの動態について検討された研究は限られており、とくにヒトを対象とした研究は少ない⁵⁾。

本研究では運動性の高いヒトでのカルニチンの動態を調べるために、運動鍛練者と非鍛練者を対象として絶食時および生理的条件下での尿中カルニチン排泄量を比較検討したので報告する。

実験方法

実験Ⅰ：全寮制の高校男子生徒15名 (Table 1) を対象とし、そのうち運動部所属の者10名を運動鍛練群 (中学校以来運動部に所属し部活動を行っている者)、非運動部の者5名を非鍛練群 (中学校以来運動部に所属せず、とくに継続的な運動を行っていない者) として、平日の1日尿を採尿しカルニチンおよびクレアチニンの分析に供した。採尿当日は部活動も含めて激しい運動は控えるよう配慮した。採尿前日および当日の食事は Table 2 に示すとおりである。なお、全寮制であるために入学以来、夏休みおよび冬休み等の期間を除けば年間を通じていずれの被検者もほぼ同様の食事を摂取していることが食生活における特徴である。

実験Ⅱ：被検者として大学の運動部所属学生4名を運動鍛練群 (中学校以来継続して運動部に所属し部活動を行っている者) および非運動部の者3名を非鍛練群 (中学校以来運動部に所属せず、とくに運動は行っていないもの) の2群 (Table 3) を設け、36時間の絶食を负荷した。被検者は絶食前後のおのおの2日ずつ Table 4 に示すミートフリー食を摂取した。1日尿の採尿は絶食前日から絶食終了後2日目までの計4日間行い、カルニチン、クレアチニンおよび窒素の分析に供した。なお、採尿期間の4日間は激しい運動は避けるよう配慮した。

尿中クレアチニンの定量は Folin の定量法⁶⁾により行った。尿中窒素量はマイクロケルダール法⁷⁾に準じて測定を行った。

尿中総カルニチン量については Marquis and Fritz⁸⁾の方法により分析した。尿中総カルニチン定量のために前処理として除タンパクを行った後、アシルカルニチン