

# メディアミルクセミナー

主催: 社団法人 日本酪農乳業協会 <http://www.j-milk.jp/>  
 後援: 農林水産省・独立行政法人 農畜産業振興機構

セミナー事務局 (株) トークス内 〒102-0074 東京都千代田区九段南4-8-8 日本YWCA会館  
 TEL (03) 3261-7715・FAX (03) 3261-7174

No.6

## “牛乳タンパク質における生体防御機能”

～ミルクムチン複合体が示す抗がん作用と感染防御作用～

岐阜大学応用生物科学部教授・農学博士  
 金丸 義敬

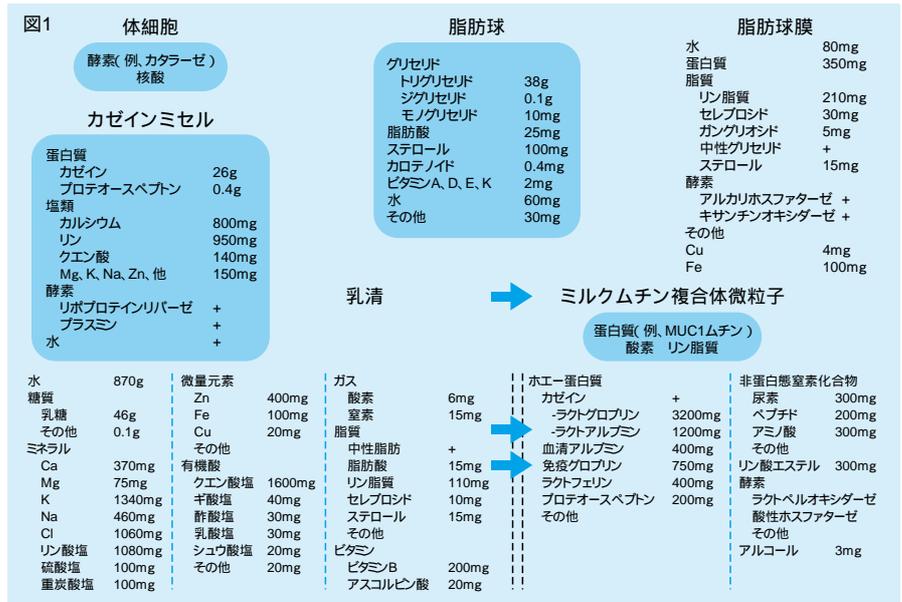
母乳には赤ちゃんを感染から守るための成分が含まれていることはよく知られています。しかし、実は牛乳にもヒトの免疫力の向上に役立つ成分が多く見つかっているのです。牛乳をはじめとする乳の生体防御機能について研究されている岐阜大学応用生物科学部の金丸義敬教授に、牛乳と免疫についてのお話を伺いました。

### 自然免疫と獲得免疫の2つのシステムで感染を防御する

私たち人間の体は、微生物などの外からの攻撃に対して自らの体を守る高度に発達したシステムを持っています。感染の原因となるものが体の中に入ってくると、まず自然免疫というシステムが働きます。自然免疫は食細胞やナチュラルキラー細胞などが担いますが、その効力は強くないため、獲得免疫を発達させて、感染源に対して特異的に防御をし、感染から回復します。獲得免疫の最も大きな特徴のひとつが免疫学的記憶で、この記憶があるために再感染が起こりません。これにはよく知られる抗体(免疫グロブリン)などが働きます。

今日は自然免疫系と獲得免疫系のそれぞれの物質が牛乳の中にあり、それが実際に我々の役に立ってくれるというところをお話します。

赤ちゃんに母乳を飲ませるのは非常



に重要です。赤ちゃんは免疫のシステムだけではなく、体全体のあり方が未熟で、体を守るために補助的な、あるいはもっと重要な働きをするものを母親が母乳を介して伝えるのです。人間の場合は科学技術の発達で育児用調整

乳がありますから、必ずしも母乳を飲ませなくても赤ちゃんは十分に育ってくれます。ところが、ほかの哺乳動物は母親の乳を与えないと死んでしまいます。つまり、ほかの動物にとって、乳は不可欠な食べ物なのです。

## 用語集

### \*抗体

異物を認識したときに、その異物に合うように産生されるタンパク質で、血液中に多く含まれる。免疫グロブリンとも呼ばれる。大きさや役割の異なるIgA、IgD、IgE、IgG、IgMの5種類がある。

### \*ロタウイルス

1969年に牛の便から発見されたウイルスで、乳

児に嘔吐、下痢を引き起こす。今のところ有効なワクチンはない。

### \*過免疫

通常よりも自然にあるいは人工的に免疫反応が進んだ状態。動物にウイルスなどを注射して免疫反応を進ませることをさす場合もある。

### \*初乳

初乳とは、分娩後数日間にわたって泌乳されるものであり、普通の母乳よりも免疫を高める作用が強いのが特徴。それ以降のものは常乳という。初乳は、乳糖以外ほぼすべての成分が常乳よりも多く含まれている。特にタンパク質、無機質、ビタミンが高濃度である。タンパク質では免疫グロブリン濃度が高く、ビタミン類ではビタミンAが特に多く含まれる。

牛乳にはたくさんの物質が含まれていますが(図1)中でも覚えておいていただきたいのは、牛乳が白く見える理由になっているカゼイン、クリームとも呼ばれる脂肪球、ヨーグルトの上澄みの透明な液体である乳清(ホエー)です。今回取り上げるのはミルクムチン複合体、乳清タンパク質(ホエータンパク質)の $\alpha$ -ラクトアルブミンや抗体です。

母乳には抗体やムチンがあり、それらが乳幼児の体を守ることに役立っていることはよく知られています。私の研究は牛乳においても、これらの物質が本当に体を守ってくれるのかどうかを実験で示すことです。



牛が作ったロタウイルスの抗体が赤ちゃんの下痢を抑える

感染は、微生物や毒素といった病原体が、ある標的とする細胞に影響を与えて成立します。牛乳中の成分が感染を防ぐメカニズムとしては、1.獲得免疫成分としての抗体がまず直接病原体に作用して、感染の最初の出来事をブロックする 2.ミルクムチン複合体のような自然免疫成分がやはり病原体の標的細胞への影響をブロックする 3. $\alpha$ -ラクトアルブミンのように病原体には直接作用せず、病原体の標的細胞の側に作用して、結果的に病原体の感染をブロックするという、3つのパターンがあります(図2)。

まず最初に獲得免疫成分である抗体を取り上げます。

我々は血液中に大量の抗体を持ち、腸管に抗体を流し出して環境中の微生物

物に対して抵抗しています。抗体にはIgA、IgD、IgE、IgG、IgMといった種類があり、それぞれ違う役割を持っています。

赤ちゃんは誕生時には母親の体から受け取ったIgGを血液中に高いレベルで保っていますが、その後は消費され、母親由来の抗体は8ヵ月程度でなくなります。一方、胎児のうちから、自身でも徐々に抗体を作り、血液中のIgGは1年ほどで80%程度とほぼ成人レベルにまで達します。ところがIgAやIgMは、1年経っても20%程度にしかありません。とくにIgAは腸管の生体防御を担う最も基本的な抗体で、そのため赤ちゃんは腸管の感染を起こしやすいのです。

そこで、それを補うように、母親は母乳を介して赤ちゃんにIgAをはじめとする抗体を伝えます。母親は自分が住む環境中の微生物の影響を受けて抗

体を作り、分娩すると自分の抗体を乳腺の細胞に取り込ませて、母乳に移行させるのです。こうして母乳を飲んだ赤ちゃんのおなかの中では母親由来の抗体が働きます。

ただし、これは母親と赤ちゃんが同じ環境に生きていればの話で、例えば乳母のように違った場所にいた女性と赤ちゃんの間では、個別的で厳密な意味での母子の抗体のやりとりはないかもしれませぬ。そういう意味では母親が母乳を与えるのは非常に重要なことなのです。

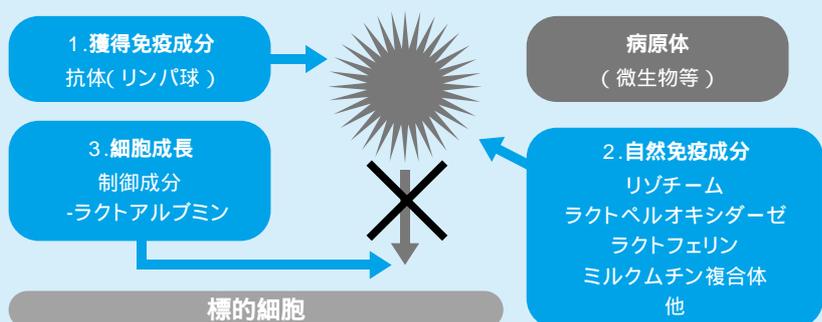
さて、牛乳の抗体をヒトの免疫に利用するアイデアは100年近く前から出されていました。

我々はロタウイルスを予防するために牛乳の抗体が利用できないかと考えました。ロタウイルスは激しい下痢とそれによる脱水症状を起こし、主にアフリカやアジアの発展途上国で毎年約87万人の赤ちゃんの死亡原因になっています。有効なワクチンの作成が急務なのですが、残念ながら一度できたワクチンは副作用が強く、市場から消えてしまいました。現在は有効なワクチンがなく、このロタウイルスを予防できるかは大きな課題です。

そこで牛にロタウイルスを注射して(過免疫という)抗体を作ってもらい、牛乳に伝わったその抗体がロタウイルスの予防に使えるかどうかをマウスを使って確認しました。便の状態は、ティッシュペーパーの上に落とすと、か

図2

乳による生体防御



ろうじて形を保つのが軟便、完全に形が崩れるのが下痢と判断します。

ロタウイルスの投与の1時間前にこの抗体の入った牛の初乳（分娩直後の母乳）を与えておくと下痢が全く見られず、一方、そういう処置をしない、あるいはロタウイルスの替わりに別のもの（ウイルスの増地）を投与しても、ほとんどの場合で下痢が起きてしまいます。つまり、過免疫した牛から採った初乳を与えることによって下痢を予防できるという結果が出ました（図3）。

古いデータですが、宮城県がんセンターの海老名先生との共同研究で、1991年1月から2月にかけてのロタウイルスの流行時に、ある保育所の1歳までの赤ちゃんたちに、抗体入りの牛乳を投与しました。A．抗体入りの牛乳を与えない群10人、B．下痢の症状が見られた後で投与した群4人、C．1日おきに投与した群3人、D．毎日投与した群3人 それぞれのグループに分けると、AとBではほとんどの赤ちゃんに下痢が見られましたが、Cでは下痢をしたのは1例、Dでは誰も下痢をしませんでした。こうしてヒトでも病原体に対する予防手段として牛の抗体を使えることが明らかになりました。

このように過免疫した牛の抗体を使う研究はすでに多く発表されています。しかし、過免疫をすると、その牛の出す牛乳は一般の市場に出せず、限られた使い方しかできません。そこで普通の牛乳にこのような働きがないかを調べてみると、いろいろな病原体に対する抗体があることがわかります。

例えば、ロタウイルスに対する普通

図3 TABLE III. Protective Effect of Cow Colostrum Against MO-Induced Diarrhea\*

初乳試料	実験群	マウスの数	下痢の数	下痢/トータル	下痢の割合
W-350	A	5	0	0/10	0
	B	5	0		
K-428	C	5	0	0/10	0
	D	5	0		
3-16-A	E	9	0	0/16	0
	F	7	0		
3-16-P	G	10	0	0/15	0
	H	5	0		
Unimmunized colostrum	I	5	5	10/10	100
	J	5	5		
Control MEM	K	8	7	21/23	91.3
	L	8	8		
	M	7	6		

\*One hour before being challenged with  $10^6$  FCFU of the human rotavirus MO strain, 5-day-old BALB/c suckling mice were orally inoculated with 50  $\mu$ l of colostrum

From Ebina, T. et al.: Passive Immunization of Suckling Mice and Infants with Bovine Colostrum Containing Antibodies to Human Rotavirus, J. Med. Virol., 38, 117-123, 1992

の牛の初乳では、過免疫した牛の初乳に劣らない、強い活性を示すものがあります。これはおそらくロタウイルスに自然感染をしたため、多数の牛をスクリーニングすれば、必ずしも過免疫しなくてもこういった抗体が得られると推測されます。ただし、スクリーニングの方法や抗体の有効性は今後検討しなくてはならないでしょう。

### ミルクムチン複合体もロタウイルスの感染防御に有効

さらに、標的細胞への病原体の感染を予防できる成分を探すうち、ミルクムチン複合体という物質に出会いました。ミルクムチン複合体は、牛乳から脂肪とカゼインを除くとできる乳清に含まれるたんぱく質の濃縮物から分離します。分子が大きいのが特徴で、牛乳の中では一番大きなサイズの分子の塊といえます。牛乳に近い白さで白濁していますが、沈殿はせず、溶液状に

なっています。

ムチンは一般的にウイルスの感染作用を防御するとされ、いろいろな種類があります。そこで、ミルクムチン複合体のほか、牛の顎下腺、豚の胃、卵にあるムチンにロタウイルスとロタウイルスが増殖するためのMA104細胞を混ぜた後、培養して観察しました。すると、ミルクムチン複合体はほかのムチンに比べ、強い活性を示しました。

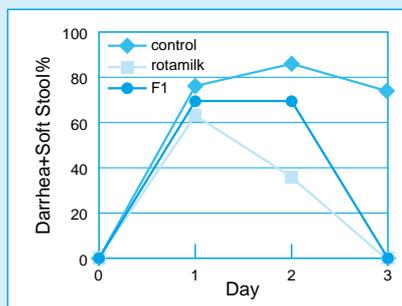
次に、まさに多くの成分の複合体であるミルクムチン複合体の中で何が重要かを見るために、ミルクムチン複合体を分子の大きさに従ってバラバラに分けました。量は一番大きなサイズの集合体が最も多かったのですが、最も強い活性を持っていたのは一番小さい分子サイズの集合体でした。また、別の方法でタンパク質の性質によって分離しても、やはり小さい分子サイズのものの集合体の活性が高いことがわかりました。

実際にミルクムチン複合体を応用するために、市販される牛乳と同様、加熱殺菌をした場合の活性を調べてみました。そうすると、ミルクムチン複合体の活性そのものは加熱によって落ちるところかむしろ若干増え、加熱の影響を受けずに十分使える状態で保持されることが示されました。さらに、ミルクムチン複合体の活性の本体に近いと考えられる分子のサイズの一番小さい部分を取り出すと、この部分は過免疫した牛の抗体と同レベルの高い活性を持っていました。

続いて、やはり動物実験も行いまし

図4 ヒトロタウイルスが引き起こす下痢に対する予防効果

	MIC	Litter	n	Diarrhea		
				Day		
				1	2	3
Control	0.3	A	5	2	4	0
		B	3	2	3	2
Rotamilk 3mg/ml	0.3	C	4	0	0	0
		D	4	0	0	0
F1 60mg/ml	25	E	4	0	0	0
		F	2	0	0	0



た(図4)。分娩後5日目の赤ちゃんマウスにロタウイルスと投与すると下痢を起こし、自然に回復するものの、3日目でも80%近い感染状態になります。しかし、ロタウイルスの投与1時間前にミルクムチン複合体を与えると下痢が完全に抑えられます。これは抗体入りの初乳を与えた前述の実験と同様の結果でした。

こうして細胞レベル、それから動物レベルで感染防御の可能性が示されたことで、赤ちゃんたちに応用できるのではないかと研究を続けているところです。

ミルクムチン複合体がどのように働くかは、抗体とよく似ています。抗体はウイルスが標的細胞に付く前にウイルスに先にくっつくことで、標的細胞への結合を防ぎます。ミルクムチン複合体も標的細胞にあるウイルスがくっつく部分(レセプター)とよく似た化学構造を持っており、ウイルスが誤って認識して結合するために、感染がブロックされると考えられます。

ミルクムチン複合体には、感染阻害のほかにも、がん細胞増殖阻害、コレステロール吸収阻害、微生物の阻害など、さまざまな生理活性があると推測されています。

## 間接的に免疫作用をする -ラクトアルブミン

一方、抗体やミルクムチン複合体のように病原体に直接作用するのではなく、標的細胞の側に影響を与えて感染を防御するものについても調べると、-ラクトアルブミンにその可能性があらわになりました。

-ラクトアルブミンは乳にしかない乳糖(ラクトース)を合成する際の必須のタンパク質として知られていますが、カルシウムや脂肪酸と結合することから、最近、カルシウムや脂肪酸の有効利用に使えるかもしれないと注目されています。

この -ラクトアルブミンをラットの腸細胞IEC-6を培養する際に入れると、IEC-6のDNA合成が止まり、数が増えません。細胞が死滅してしまうのです。その後、-ラクトアルブミンの分子の大きさを分けると、分子の大きな -ラクトアルブミンと通常の -ラクトアルブミンとに分離され、細胞を死滅させる能力を持つのはこの大きな -ラクトアルブミンであることが判明しました。別の方法で分離しても、やはり大きな分子量を持つ群に活性があることがわかりました。このことは今まで全く知られていなかった事実です。

この -ラクトアルブミンの細胞を殺す作用は感染防御につながるのか、あるいは逆に感染を促進させるのかを確認するために、動物実験を行いました。

今度は、ロタウイルスの投与の前には何もせず、ウイルス投与の後に下痢が起こって1日目に -ラクトアルブミンを与えます。何も処置をしない群では4日目でも40%程度の感染状態ですが、-ラクトアルブミンを下痢後の1日目に与えると、4日目には感染が全く見られなくなり、回復の速度が速いことが見てとれます。つまり、-ラクトアルブミンは感染防御に働くわけで、今このメカニズムを研究中です。

また、この -ラクトアルブミンはヒトの大腸がん由来のCaco-2細胞を死滅させることもわかっており、がんにも



有効かもしれないと考えられます。

人間も含め、新生哺乳動物にとって、乳は成長に必要な栄養素の供給源であるとともに、新生時期の感染等から身を守る防御機能の未熟さを補うためにも不可欠です。

今日お話ししたように、乳タンパク質には、病原体に直接働いて病原体の標的細胞への吸着を妨げるものと、標的細胞に働きかけて防御作用を発揮するものの2つの働きがあります。前者の作用の主役は獲得免疫成分として特異的そして効率的に病原体を排除する抗体、さらには抗体が足りないときに補完する自然免疫成分としての様々なタンパク質です。後者は細胞の成長を調節するタンパク質で、細胞の増殖を促進する、逆に阻害する、あるいは分化誘導といった作用を通して、感染から消化管を防御していると考えられます。このように牛乳を含め、哺乳動物の乳は身体を守るための自然の知恵がまだまだたくさん秘められていることがわかりただけだと思います。

## 質疑応答

**Q** ロタウイルスについて教えてください。

**A** ロタウイルスは衛生環境の良くないところに存在しており、便を媒体して食べ物から感染しますが、空気感染はありません。感染すると激しい下痢を起こし脱水症状を起こします。発展途上国では、ロタウイルスの感染により多くの新生児が死亡しておりますが、先進国では死亡例はほとんどありません。感染しても正しい処置を施せば、死に至ることはありません。

**Q** 牛乳に含まれるミルクムチン複合体の含有量はどのくらいでしょうか。

**A** 量としては微量です。1kgの牛乳を使って、数十mgのミルクムチン複合体を分離することが可能です。

**Q** 初乳と通常乳とで成分や免疫作用に関してどのくらい差がありますか。

**A** 獲得免疫に作用する抗体も、他の成分にしても一般に初乳の方が通常乳よりも多く、作用も強いといえます。しかし、-LA(アルファラクトアルブミン)は初乳と常乳で変わらず、ミルクムチン複合体微粒子よりももっとたくさん含まれておりまして、1kgのミルクに対して1200mgつまり1.2gという非常に高濃度なタンパクとして牛乳内に含まれております。