

母親の乳酸菌摂取は母乳哺育による経口免疫寛容の誘導を 増強する

誌名	ミルクサイエンス = Milk science
ISSN	13430289
著者名	青木,亮 木津,久美子 廣瀬,潤子 成田,宏史
発行元	日本酪農科学会
巻/号	59巻3号
掲載ページ	p. 345-348
発行年月	2010年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



「母親の乳酸菌摂取は母乳哺育による経口免疫寛容の誘導を増強する」

○青木 亮¹・木津久美子²・廣瀬潤子³・成田宏史²(¹グリコ乳業株式会社中央研究所, ²京都女子大学家政学部, ³滋賀県大・生活栄養)

1. はじめに

母乳哺育が児にとって栄養学的な点のみならず、免疫学的にも、また母と子の愛情形成といった点からも有用であることは明らかである。しかしながらアレルギー疾患との関連においては、母乳哺育がアレルギー疾患の発症に抑制的に働くのか、リスクファクターとなるのかについては未だコンセンサスが得られていないのが現状である。特に先進国においては、母親が食べた食物タンパク質が母乳中に移行して子供に対するアレルギー感作が成立しているのではないかと、との懸念があり、母乳哺育の妨げとなっている。

我々はこれまでに、母乳中には食物抗原が分泌型 IgA との免疫複合体 (Immune Complex: IC) として存在しているという発見に端を発し¹⁾、母乳は食物アレルギー予防の天然の飲むワクチンであるという説を提唱してきた^{2,3)}。本稿ではその概要とプロバイオティクス乳酸菌摂取との関わりを総説する。

2. 母乳とアレルギー

母乳中にはアレルギーの感作や寛容に関係する多数の因子が存在しており、これらの因子の相互作用やバランスが子供のアレルギー疾患の発症に関係していると考えられている⁴⁾ (表 1)。以下に母乳中の抗原および抗体と子供のアレルギーの関係について述べる。

母乳中には母親が摂取した食物由来のタンパクが ng- μ g/ml オーダーで検出される。検出されるタンパク質としては卵白・牛乳・小麦由来の場合が多いが、これは母親の摂取量に比例しているものと考えられる。Hirose ら¹⁾によると、卵白の主要なアレルギーであるオボムコイドに対するモノクローナル抗体を用いた分析の結果、

表 1 母乳中に存在するアレルギー誘導物質と抑制物質

	誘導物質	抑制物質
タンパク質	感作抗原	寛容抗原
抗体		sIgA
サイトカイン	IL-4	TGF- β
	IL-5	可溶性 CD14
	IL-13	
ケモカイン	RANTES	
	IL-8	
脂肪酸	n-6 系列	n-3 系列
その他		ポリアミン

糖タンパク質であるオボムコイドが高次構造を維持したまま、また糖鎖をつけたまま母乳中に分泌されていることが確認されている。このことから母乳中の抗原はかなり未変性状態を保ったまま分泌されていると考えられる²⁾。

母乳中の抗原が子供のアレルギーの発症にどのように関係しているのかは明らかにされておらず、過去、妊娠・授乳中の予防的除去食によってアレルギーの発症を防ぐ試みがこれまで繰り返し検討されてきたが、子のアレルギー発症率が下がるというエビデンスは得られていない。さらに近年、アトピー性皮膚炎に関しては、食物アレルギーへの暴露は経口的経路よりも経皮的経路を考慮する方向に傾いてきている⁵⁾。このような状況から、2005年の日本食物アレルギー診療ガイドラインでも妊娠・授乳中の母親のアレルギーの予防的除去は推奨しないとの立場をとっており⁶⁾、また世界的にも同様である⁷⁾。

さらに、母乳中の抗原によって仔のアレルギー性気管支炎が抑制されるとの報告もされており⁸⁾、生理的条件下においては母乳中の抗原が感作ではなくむしろ寛容誘導に寄与している可能性も指摘されている (図 1⁹⁾)。

母乳中には IgA の 2 量体に Secretory Component が結合した分泌型 IgA (secretory IgA: sIgA) が含まれており、一般的に sIgA は病原菌やウィルスなどの抗原の排除に働き、感染症に対して予防的に働くと考えられている。sIgA とアレルギーとの関係については、Machtinger らの報告¹⁰⁾によると、 β -ラクトグロブリン

連絡者 青木 亮
〒196-0021 東京都昭島市武蔵野 2-14-1 グリコ乳業株式会社中央研究所
(Tel: 042-544-2231, Fax: 042-545-9202,
E-mail: aoki-ryo@gd.glico.co.jp)
2010年10月25日 受付
2010年11月15日 受理

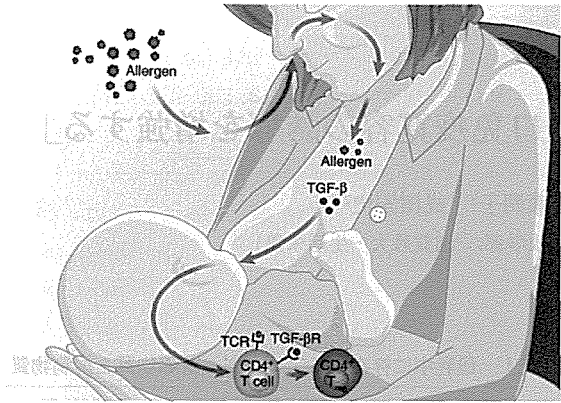


図1. 授乳中に摂取した抗原によって TGF- β 依存的に調節性 T 細胞が誘導され、アレルギー性気管支炎を予防する。

に対する特異的 IgA を多く含む母乳を飲んでいる子供は皮膚炎の発症率が低かったと報告しており、母乳中の sIgA は消化・吸収の未熟な乳児において食物抗原の排除機能を果たしているものと考えられている。

3. 母乳中の抗原-IgA 免疫複合体

タマゴの主要なアレルゲンであるオボムコイド (OM) が、母乳中でどのような状態で存在しているのかを検討した。ヒト母乳をゲルクロマトグラフィーにて分画し、溶出画分について ELISA 法にて OM の検出を行ったところ、遊離 OM の分子量 (28 kDa) の画分には検出されず、450 kDa 付近の画分に検出された (図2)。sIgA の分子量は約390 kDa であるので、1分子の sIgA に2分子の OM が結合したものとほぼ等しい値になる。そこで抗-OM 抗体と抗-IgA 抗体を用いたサンドイッチ ELISA (図3) によって OM-IgA 免疫複合体を検出したところ、OM の検出パターンと一致した¹⁾。また、その後の解析により母乳中には、オボアルブミン (OVA)、カゼイン、 β -ラクトグロブリン、小麦グリアジン、ソバ、ピーナッツ由来の食品タンパク質も sIgA との免疫複合体を形成していることが明らかとなっている³⁾。

腸管免疫においては小腸のパイエル板が中心的な役割を担っており、その中の M 細胞は抗原の取り込みを行っていると考えられる。近年、M 細胞がトランスサイトシスにより IgA 免疫複合体を効率よく体内に取り込んで、未熟な腸管免疫系の成熟や特異的な IgA の産生を促進させること¹¹⁾、さらに M 細胞が IgA 受容体を発現していることが報告されている¹²⁾。一般に外分泌中の IgA の役割は病原体や食物抗原の排除であるとされているが、これらの報告は生体が抗原を IC という形態で積極的に取りこんでいることを示している。つまり、母乳

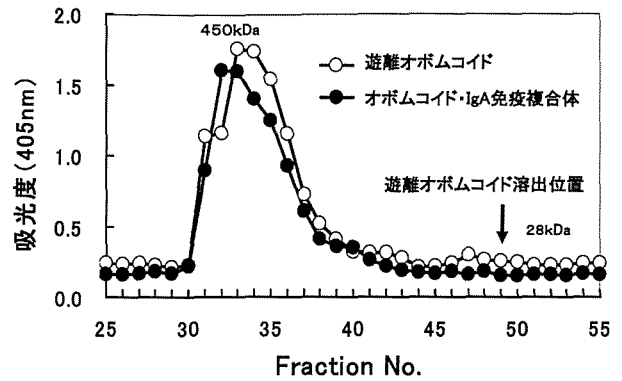


図2. 母乳のゲルろ過解析

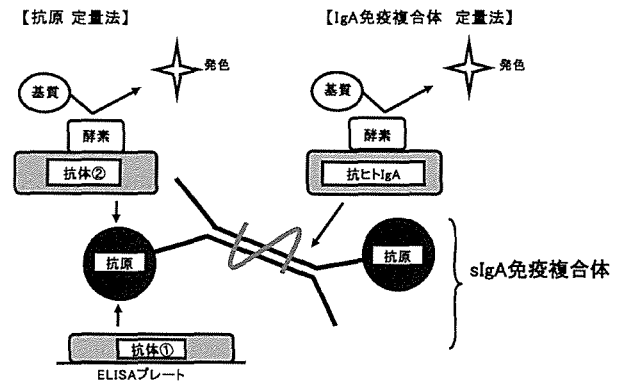


図3. サンドイッチ ELISA

中の IC が乳児に対して何らかのポジティブな役割を果たしていることが予想された。

4. 外分泌液中の免疫複合体の生理学的意義

そこで、母親のアレルゲン摂取が子供の免疫寛容にどのような影響を及ぼすかを検討した。食餌中のタンパク質が卵白由来のみの E 群、牛乳由来のみの M 群に分けて Balb/c マウスを飼育した。各群から生まれてその母乳のみで育った3週齢の仔マウスに Alum をアジュバントとして OVA で感作後、OVA を経口投与もしくは尾静脈投与することにより下痢もしくはアナフィラキシーショックを誘発させると、E 群において両症状の抑制が観察された。このとき、E 群では血清中の OVA, OM 特異的 IgG1, IgE 産生、さらには脾臓培養細胞の OVA 刺激による IL-4 産生も抑制されていた¹³⁾。つまり、母親が摂取していたタンパク質特異的にその母乳を飲んだ乳児に経口免疫寛容が誘導されたことが明らかとなり、母乳中のアレルゲンもしくは sIgA との免疫複合体を子供が摂取したことにより寛容が誘導されたと考えられた。

Mantis らの報告によれば、ヒトの sIgA がマウスの M 細胞に接着することが示されている¹²⁾。このことか

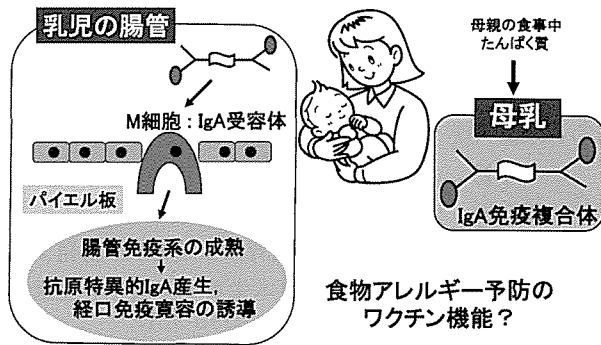


図4. 母乳中の食品タンパク質・IgA 免疫複合体の意義

ら、ヒトの免疫複合体もマウスに取り込まれ、免疫系に影響を及ぼすことが予想された。我々はヒト唾液中にも食品タンパク質がIgA免疫複合体として存在していることを明らかにしているのので、ヒト唾液をゲルろ過し、OVAのICが検出される画分を分取、濃縮してIC画分とし、これを8週齢のBalb/cマウスに6日間経口投与した。その結果、IC投与群ではこのIC画分に含まれる等量のOVAを単独で投与した対照群と比較して、有意にOVA特異的IgG1産生が抑制されていた¹⁴⁾。よって、母乳や唾液中に存在するICに食物アレルギーに対する“天然の飲むワクチン(図4)”としての機能がある事が明らかとなった。

またこの応用として、マウスモノクローナルIgAとOVAを化学的に結合させたpseudo-ICをマウスに経口投与した場合にも遊離OVAのみの経口投与より強い免疫寛容の誘導が確認された¹⁵⁾。より安全な寛容誘導のための新たなドラッグデリバリーシステムとしてのIgA免疫複合体の利用に期待が持たれる。

5. 免疫複合体とプロバイオティクス

プロバイオティクス乳酸菌が免疫調節作用を持つことは広く知られている。Kalliomäkiらは妊婦および乳児にプロバイオティクスを投与することによってアトピー性皮膚炎の発症率が低下することを報告しているが、その際妊婦の母乳中のTGF- β 2がプロバイオティクス投与群においてプラセボ投与群よりも分泌量が増加していたことが示されている^{16,17)}。また、分娩1ヶ月前からプロバイオティクスを投与すると、プラセボ投与群と比較して母乳中のIgA検出率、IgA濃度が増加すること、また母乳中のTGF- β 1の濃度が上昇したことが報告されている¹⁸⁾。そこでプロバイオティクス乳酸菌の妊娠・授乳中マウスへの投与が母乳中のIgA免疫複合体の分泌に与える影響について検討を行った。

妊娠Balb/cマウスを卵白タンパク質を含む餌で飼育し、2群に分けた後試験群には*Lactobacillus gasseri*

GCL1355株の凍結乾燥粉末を混餌投与した。分娩後、母乳中のIgA免疫複合体を測定したところ、乳酸菌投与群では対照群に比べてOMおよびOVAのIgA免疫複合体の濃度が有意に上昇していた。また、盲腸内容物中の特異的IgA濃度も乳酸菌投与群で上昇傾向が見られていたことから、プロバイオティクスによる腸管免疫系の活性化によって、母乳中のIC分泌の上昇につながったと考えられた¹⁹⁾。

次に、妊娠Balb/cマウスを(1)卵白タンパク質を含まない餌、(2)卵白タンパク質を含む餌、(3)卵白タンパク質および乳酸菌を含む餌で飼育し、分娩させた。仔マウスをOVAで2回腹腔免疫し、血中のOVAに対する抗体価を測定したところ、OVAに対するIgG1濃度は(1)>(2)>(3)の順で、有意差が認められた²⁰⁾。

以上のことから、妊娠・授乳中に*L. gasseri* GCL1355株を投与することによりIgA産生が亢進され、母親が食べたタンパク質とその特異的IgAとの免疫複合体の母乳への分泌量が増加し、食物アレルギーに対する仔の免疫寛容が増強されることが示唆された。ヒトは雑食であるので、マウスのように単一タンパク食を食べるわけではない。プレ・プロバイオティクスにより全体のIgA産生能を高めることで天然の飲むワクチンの効果を増幅できることは、ヒトに於いて特に重要となってくるであろう。

6. 今後の課題

以上より、母乳中のアレルギーはIgA免疫複合体として存在しており、仔の経口免疫寛容の誘導に深く関わっていることが明らかとなってきた。また、母親のプロバイオティクス摂取によって母乳中のIgA免疫複合体分泌が促進され、仔のアレルギーを効果的に抑制することも示唆された。しかし、IgA免疫複合体による経口免疫寛容誘導のシステムが人間でどこまで働いているのか、働いているとしたらそれでもなぜ食物アレルギーが多発するのか、今後さらなる調査・研究が必要であると考えている。また母親のプロバイオティクス摂取による仔の免疫寛容誘導についても、IC以外の母乳中の免疫成分や、母親から仔への腸内細菌叢の垂直伝播など、多面的な評価が必要であると思われる。

引用文献

- 1) Hirose J., et al., Occurrence of the Major Food Allergen, Ovomucoid, in Human Breast Milk as an Immune Complex. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 1438-1440 (2001)
- 2) 廣瀬潤子ほか, 経口摂取したタンパク質の腸管通

- 過機構とその生物学的合目的性 母乳中の食品タンパク質・IgA 免疫複合体の意義. *生物と化学* **45**(4): 230-232 (2007)
- 3) 小林陽之助, 金子一成 (監修) 食物アレルギーの治療と管理 診断と治療社 p218-224 (2004)
 - 4) Friedman NJ, Zeiger RS., The role of breast-feeding in the development of allergies and asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **115**(6), 1238-1248 (2005)
 - 5) Lack G., Epidemiologic risks for food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* **121**(6): 1331-1336 (2008)
 - 6) 向山徳子, 西間三馨 (監修) 食物アレルギー診療ガイドライン 日本小児アレルギー学会 食物アレルギー委員会 (2005)
 - 7) Greer F. R., et al., Effects of early nutritional interventions on the development of atopic disease in infants and children: the role of maternal dietary restriction, breastfeeding, timing of introduction of complementary foods, and hydrolyzed formulas. *Pediatrics.* **121**(1): 183-191 (2008)
 - 8) Verhasselt V., et al., Breast milk-mediated transfer of an antigen induces tolerance and protection from allergic asthma. *Nat. Med.*, **14**, 170-175 (2008)
 - 9) Puddington L, Matson A. Breathing easier with breast milk. *Nat. Med.* **14**(2): 116-8 (2008)
 - 10) Machtinger S, Moss R. Cow's milk allergy in breast-fed infants: the role of allergen and maternal secretory IgA antibody. *J. Allergy Clin. Immunol.* **77**(2): 341-7 (1986)
 - 11) Zhou F., et al., Mucosal IgA response to rectally administered antigen formulated in IgA-coated liposomes. *Vaccine* **13**(7): 637-644 (1995)
 - 12) Mantis N.J., et al., Selective adherence of IgA to murine Peyer's patch M cells: evidence for a novel IgA receptor. *J. Immunol.*, **169**, 1844-1851 (2002)
 - 13) 木津久美子ほか, 母乳哺育による食物アレルギーの予防. 日本農芸化学会大会講演要旨集 p176 (2010)
 - 14) 木津久美子ほか, 母乳哺育による OVA 誘発アレルギー性下痢の予防. 日本栄養・食糧学会誌講演要旨集 64: p181 (2010)
 - 15) 成田宏史ほか, 特許願2010-044468
 - 16) Kalliomäki M., et al., Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* **357**(9262): 1076-1079 (2001)
 - 17) Rautava S., et al., Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J. Allergy Clin. Immunol.* **109**(1): 119-21 (2002)
 - 18) Prescott S. L., et al., Supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* or *Bifidobacterium lactis* probiotics in pregnancy increases cord blood interferon-gamma and breast milk transforming growth factor-beta and immunoglobulin A detection. *Clin. Exp. Allergy.* **38**(10): 1606-1614 (2008)
 - 19) Aoki R., et al. *Lactobacillus gasseri* GCL1355 Elevates Antigen-specific IgA and Antigen-IgA Immune Complex in Breast Milk of Mice. *Abstract of 5th Asian Conference of Lactic Acid Bacteria* (2009)
 - 20) 青木 亮ほか, 母親の乳酸菌摂取は母乳哺育による経口免疫寛容の誘導を増強する. 日本栄養・食糧学会誌講演要旨集 64: p114 (2010)