

母乳および人工乳による新生児の糞便中 リゾチーム活性について

(昭和48年12月20日受付)

洪 伯良 羅 明鑑 陳 炳梅
 中華民國台北市立中興醫院小兒科

概要 新生児および未熟児 146例の糞便リゾチーム活性について測定した。母乳、人工乳共に出生後2日目までの乳児の糞便には、リゾチーム活性は認められなかつたが、3日目から出現し始めた。さらに、リゾチーム活性は6日目において最高値に達し、10日目まで減少した。母乳栄養児のリゾチーム活性は $291 \pm 90 \gamma/g$ 糞便であり、アチン添加および無添加の人工乳では、それぞれ $54.4 \pm 12.4 \gamma/g$ および $23.0 \pm 9.8 \gamma/g$ であつた。

緒 言

従来、人工栄養は乳児における皮膚疾患、浮腫、アレルギー、下痢および便秘などの点で母乳栄養に劣ることが指摘されてきたが、最近、人工栄養の改良がすすむにつれて、これらの問題も次第に改善されるようになった。しかし、人工栄養による乳児の罹病率ならびに死亡率は、母乳栄養児より高いことが指摘されており、人工栄養と母乳栄養の差異について、なお未解決の問題が多いのが現状である。

母乳栄養児が人工栄養児より罹病率が低い原因として、人乳中の感染防御物質、免疫性物質、ヒンライダス因子などの意義が強調されている¹⁾が、最近、人乳中のリゾチーム活性が牛乳より著しく高く²⁾³⁾、しかも、この酵素が唾液、胃液、胆汁、血液など体液中に広く分布し、ある種の細菌を溶菌する作用がある点から、乳児栄養学上、注目されるようになった。すなわち、リゾチームの蛋白質の消化に及ぼす影響⁴⁾、乳児の腸内細菌叢に及ぼす影響⁵⁾および非特異的感染防御因子⁶⁾としての作用等が究明されている。また、乳児および成人の糞便中リゾチーム活性についても既に報告されており、特に乳児の場合、牛乳栄養児の糞便リゾチーム活性は、母乳栄養児

に比較して著しく低いことが明らかになつてい⁷⁾⁸⁾。しかし、出生直後の乳児の糞便リゾチーム活性については、報告が少ない。

本報告では、生下時より生後10日までの新生児の糞便中リゾチームの活性値の変化な栄養法別に観察したので、その結果について報告する。

実験対象および実験方法

1972年2月より10月までに、台北市立中興醫院で正常分娩により出生した健康な成熟新生児(以下成熟児と略す) 115例ならびに体重1850g~2450gの低体重出生児(以下低体重児と略す) 31例の計 146例を対象とした。これらの新生児について栄養法別に3群に分けて観察した。即ち、第1群：母乳栄養群(成熟児15例)、第2群：アチン添加粉乳栄養群(成熟児40例、低体重児16例、計56例)、第3群：アチン無添加粉乳栄養群(成熟児60例、低体重児15例、計75例)、観察期間中、全例とも健康上の異常は認められなかつた(表-1)。

栄養方法：成熟児は出生後8時間より10% DW を与え、24時間より母乳あるいは13.5%調乳液に3%葡萄糖を添加したものを与えた。また、低体重児には乳児の情況により出生後24ないし36時間より人工栄養を開始し

表1 Feeding methods of 146 newborn infants

Formula	Breast milk		Modified milk		Total
	Newborn infants	With mucin added	without mucin added	Total	
F.N.S.D.	15	40	60	115	
L.B.W.	0	16	15	31	
Total	15	56	75	146	

た。
 糞便採取法：
 に採取し、BC
 濾紙(株)を
 保存した。リン
 た。

リゾチーム活
 Parry 法⁹⁾を用
 なお、実測値が
 場合には、検体
 液の濁度は、
 550mμ におい

各群の糞便中
 2および表-3
 の間にあつた。

表3

Age (day)	Stool new	
	With Gase	Without Gase
1	16	10
2	15	10
3	14	10
4	14	10
5	12	10
6	11	10
7	11	10
8	10	10
9	10	10
10	10	10

表2 Stool lysozyme activity (r/g) in F.N.S.D. newborn infants

Age (day)	Breadst milk With mucin added		Without mucin added		M	S.D.
	Cases	M	Cases	M		
1	15	0	40	0	60	0
2	15	0	36	0	57	0
3	12	201	62	6.8	52	5.6
4	9	220	85	10.8	46	12.5
5	9	278	104	25.4	42	19.4
6	8	291	90	46.8	35	23.0
7	7	259	64	54.4	35	16.8
8	7	244	83	42.4	31	13.6
9	7	219	120	37.0	27	11.3
10	6	211	78	35.4	25	9.7
				32.2		8.8

た。

糞便採取法：自然排泄した糞便の一部を滅菌シヤールに採取し，BCG，MRおよびBTBの再試験紙（東洋濾紙（株））を用いて再を測定した後，直ちに冷凍庫に保存した。リゾチーム活性の測定は可及的速かに行なつた。

リゾチーム活性の測定法：リゾチーム活性の測定にはParry法⁹⁾を用い，糞便の前処置は補崎法¹⁰⁾に従つた。なお，実測値が検量曲線の直線部分より高い値を示した場合には，検体を緩衝液で稀釈して再度測定した。反応液の濁度は，Coleman Spectrophotometerにより波長550m μ において測定した。

実験成績

各群の糞便中リゾチームの平均活性値をそれぞれ表一2および表一3に示した。糞便再は全例とも4.2~6.0の間にあつた。いずれの栄養法の成熟児及び低体重児と

表3 Stool lysozyme activity(r/g) in L.B.W. newborninfants

Age (day)	With mucin added		Without mucin added		M	S.D.
	Cases	M	Cases	M		
1	16	0	15	0	0	0
2	15	7.6	15	0	4.4	4.2
3	14	21.5	15	4.4	10.4	6.6
4	12	43.1	14	10.4	17.6	9.4
5	12	52.6	13	24.7	15.3	7.4
6	11	47.4	10.5	14.8	12.7	6.0
7	10	36.5	14.0	12	12.7	5.7
8	10	34.8	17.8	12	11.7	5.3
9	10	25.2	13.0	12	11.7	5.3
10	10	25.2	13.0	12	11.7	5.3

表4 Follow up study on lysozyme activity during the first 72 hours of 16 F.N.S.D. newborn infants fed with modified milk without mucin added

Age (hours)	Total cases	Lysozyme activity (r/gm)	
		present cases %	absent cases %
0 - 12	16	0	100
12 - 24	16	0	100
24 - 36	16	0	100
36 - 48	16	0	100
48 - 60	16	7	100
60 - 72	16	14	57.5
			12.5

も生後1日目および2日目の胎便にはリゾチーム活性は認められなかつた。しかし，出生後3日目から糞便リゾチーム活性が認められた。これらの結果を栄養法別にみると次のとおりになつた。

すなわち第1群では生後3日目に初めて糞便中リゾチーム活性が検出され，201 \pm 62 γ /gという高い活性値を示したその後リゾチーム活性値は増加し，生後6日目に最高値に達し，291 \pm 90 γ /gを示した。生後7日目より次第に減少して，生後10日目では211 \pm 78 γ /gを示した。また，第2群は，第1群と同様，成熟児ならびに低体重児共に生後3日目に初めて糞便中リゾチーム活性が検出され，それぞれ10.8 \pm 6.8 γ /gおよび7.6 \pm 5.6 γ /gを示した。さらに，生後4日目にリゾチーム活性値は急激に増加し，生後6日目に最高値に達し，それぞれ54.4 \pm 12.4 γ /g及び52.6 \pm 16.4 γ /gを示したが，生後7日目より次第に減少して，生後10日目にそれぞれ32.2 \pm 15.2 γ /g及び35.2 \pm 13.0 γ /gを示した。

第3群においても第1群及び第2群と同様に生後3日目の糞便中に初めてリゾチーム活性が検出され，成熟児では5.6 \pm 3.9 γ /g，低体重児では4.4 \pm 4.2 γ /gを示した。その後リゾチーム活性値は急激に増加し，生後6日目に最高値に達し，それぞれ23.0 \pm 9.8 γ /g及び24.7 \pm 8.2 γ /gを示した。生後7日目よりリゾチーム活性値は次第に減少して，生後10日目に，それぞれ9.7 \pm 8.8 γ /g及び11.7 \pm 8.3 γ /gを示した。このように，

栄養法の相違によつて新生児の糞便中リゾチーム活性には著しい相違が認められたが、出生後のリゾチーム活性値の変化は、いずれの栄養法でも同じ傾向を示すことが明らかである。

考 察

従来、健康な乳児の糞便中リゾチーム活性は、人乳及び唾液中に含まれるリゾチームに由来すると考えられている¹⁾。従つて、新生児が生後一定時間授乳しない場合には、新生児の胎便にリゾチーム活性が認められないのは当然と考えられる。著者らが成熟児ならびに低体重児について観察した結果によれば、栄養法の別を問はず全例、いずれも生後2日目までの胎便には、リゾチーム活性を認めなかつた。近藤²⁾も母乳、混合および人工栄養児について糞便中リゾチーム活性を観察し、いずれも胎便には活性を認めなかつたと報告している。しかし、その理由については言及していない。

本実験において146例の内、生後72時間まで、12時間毎に胎便中リゾチーム活性を測定し得たのは16例であつた。これは16例はすべて成熟児で、いずれもムチン無添加粉乳により哺育されたものである。これらの成績は表一4に示す如く、生後48時間までは糞便中にリゾチーム活性が認められず、生後48～60時間に16例中7例において6.8±3.4r/gの活性値を示し、また、生後60～72時間間に16例中14例において9.4±5.1r/gを示した。これら16例はいずれも生後60時間までの9例、生後72時間までの2例については、糞便中リゾチーム活性を抽出し得なかつた。

各栄養群別にその糞便中リゾチーム活性値をみると成熟児では、第1群におけるリゾチーム活性の最低値と最高値はそれぞれ201±62r/g、291±90r/gであり、他の2群に比較してはるかに高い活性値を示した。第2群の最低値は10.8±6.8r/g、最高値は54.4±12.4r/gとなり、第1群より低い活性値を示したが、第3群よりも比較的高かつた。生後10日目においては第3群が9.7±8.8r/gを示し、第2群は32.2±15.2r/gを示した。

この第2群の活性値は第3群における最高値よりも高かつた。第3群では最低値5.6±3.9r/g、最高値23.0±9.8r/gを示し、第1群及び第2群のいずれよりも低い活性値を示した。低体重児の糞便中リゾチーム活性値については、第2群では最低値7.6±5.6r/g、最高値52.6±16.4r/gを示し、第3群の最低値4.4±4.2r/g、最高値24.7±8.2r/gよりも比較的高い活性値を示した。生後10日目では、第2群は35.2±13.0r/gを示し、この活性値は第3群における最高値よりも高かつた。

上述の如く、栄養法別にそれぞれ異なつた糞便中リゾチーム活性値を示したが、概していずれも生後3日目より、即ち授乳後2日より糞便中にリゾチーム活性が検出され、生後4日に急激に上昇し、生後6日に最高値を示して、生後7日より生後10日まで次第に減少する傾向を示した。図一1は新生児について生下時より生後10日までの糞便中リゾチーム活性値の日令的消長を、ムチン無添加粉乳栄養児8例およびムチン無添加粉乳栄養児14例の平均値によつて示したものである。これによると、ムチン無添加粉乳栄養児が明らかに高い活性値を示すことが明らかである (P < 0.001)。

また、図一2は、生下時より生後10日までの各群における糞便中リゾチーム活性の平均値の比較曲線である。図に示す如く、母乳栄養群は他の人工栄養群のいずれよりも糞便中リゾチーム活性値は高く、有意差が認められた (P < 0.001)。

図1 Stool lysozyme activity in newborn infants from the 1st to 10th day of life.

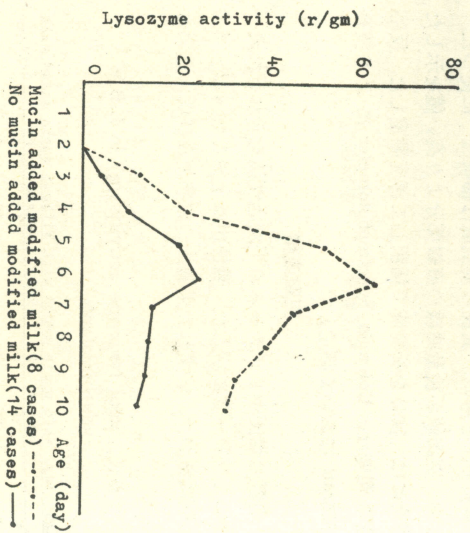
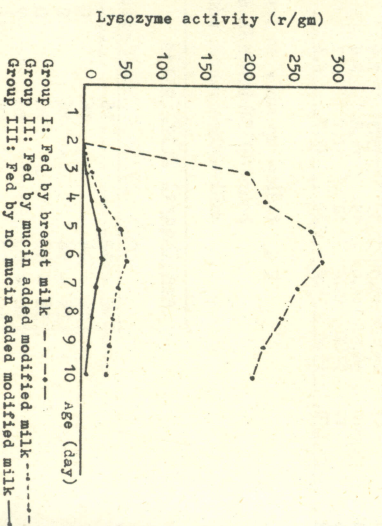


図2 Lysozyme activity in the stools of the three groups of newborn infants



元来、母乳中が、牛乳あるいどが知られていリゾチーム活性リゾチームに由養児の糞便中にいる。しかし性は摂取食餌中便中にも関係チーム活性が際なければなら9) になると、あるいは破壊る。しかし、4.2～6.0の一ム産生能が³⁾り⁴⁾、糞便中子は、極めてしかし、健康一ム活性値が⁵⁾ソを添加した⁶⁾チーム活性値糞便中のリゾわれるラクチ工粉乳の乳糖ともいわれてリゾチームじているかはるところが大

糞便中リゾ
 生後3日目よ
 活性が検出
 最高値を示
 する傾向を
 示す。生後10日
 ま、ムチン添
 養児14例の
 すると、ムチ
 示すことが明

の各群にお
 線である。
 のいずれよ
 が認められ

n infants

Age (day)
 Cases) —
 the three

(day)
 milk -----
 ed milk —

元来、母乳中には多量のリゾチームが含まれているが、牛乳あるいは山羊乳にはほとんど含まれていないことが知られている^{9), 10)}。そして、母乳栄養児の糞便中にリゾチーム活性が高いのは、人乳に多く含有されているリゾチームに由来するといわれ¹²⁾、母乳栄養児と人工栄養児の糞便中リゾチーム活性値の差異の原因と考えられている。しかし、Poliら¹²⁾は乳児の糞便中リゾチーム活性は摂取食餌中のリゾチーム含量の多寡のみならず、糞便中にも関係すると述べている。皆川¹³⁾は、糞便中リゾチーム活性が陽性であるためには、糞便中がpH7以下ななければならないと報告し、腸内がアルカリ性(pH7~9)になると、リゾチームは胆汁の作用により不活性化あるいは破壊されるといふPoliと同じ見解を示している。しかし、著者らの結果では、糞便中は全例いずれも4.2~6.0の間にあつた。また、ビフィダス菌にリゾチーム産生能があるのではないかという事も推論されており⁹⁾、糞便中リゾチーム活性に関与すると考えられる因子は、極めて複雑である。

しかし、健康な人工栄養児の糞便中からも高いリゾチーム活性値が観察される場合もある。このように、ムチンを添加した粉乳を新生児が摂取すると、糞便中のリゾチーム活性値が高まることが明らかとなつたが、乳児の糞便中のリゾチーム活性はこの外にビフィダス因子といわれるラクチン菌と蛋白質の比率を高めることにより高まるともいわれている^{11), 13), 14)}。

リゾチームが乳児栄養の面において如何なる役割を演じているかは興味ある問題であり、今後の研究に期待するところが大いといえよう。

結 論

1. 生下時より生後10日までの新生児146例について、糞便中のリゾチーム活性を測定した。
2. 全例において、生後2日目までの新生児の胎便にはリゾチーム活性は認められなかつた。
3. 健康な成熟新生児と低体重出生児との間には、糞便中リゾチーム活性値に差異は認められなかつた。
4. 糞便中リゾチーム活性は生後3日目に初めて検出され、生後4日より急激に増加して6日目に最高値を示し、生後7日より10日までに次第に減少する傾向を示し

た。
 5. 母乳栄養児の糞便中リゾチーム活性値は、人工栄養児のそれに比較して明らかに高い活性値を示した(P < 0.001)。

6. 人工栄養児では、ムチン添加粉乳栄養児群の糞便中リゾチーム活性値が、ムチン無添加粉乳栄養児群のそれに比較して高かつた(P < 0.001)。

本論文の要旨の一部は、1972年7月第52回中華民国小児科医学会、1972年10月第53回中華民国小児科医学会並びに1973年11月第56回中華民国小児科医学会において発表した。

本研究のご指導とご校閲を賜つた台北医学院院長恩師黄金江教授に厚く感謝致します。

文 献

- 1) 渡辺清綱他：栄養方法別環境因子別よりみられた乳児死亡率に関する研究, 小臨, 25: 1491, 1972.
- 2) György, P.: Biochemical aspects of human milk, Am. J. Clin. Nutr., 24: 970, 1971.
- 3) Jollés, P. and Jollés, J.: Lysozyme from human milk, Nature, 192: 1187, 1961.
- 4) Chandan, R.C. et al.: Lysozyme content of human milk, Nature, 204: 76, 1964.
- 5) 近藤恵信：乳児の糞便中 lysozyme 活性に関する研究, 日小会誌, 71: 1432, 1967.
- 6) Ferlazzo, A. and Lombardo, G.: Atti del 2 Symposium Intern. sul Lysozima di Fleming 1-14/VII, Milano, 1961.
- 7) Braun, O.H.: Faekale Lysozimausscheidung bei Säuglingen und Darmflora, Ernährungs-forschung, 10: 130, 1965.
- 8) 皆川公延：乳児における lysozyme の研究, 第2編, 健康乳児の糞便 lysozyme 活性に影響を及ぼす諸因子の検討, 日小会誌, 72: 1324, 1968.
- 9) Parry, R.M. et al.: A rapid and sensitive assay of muramidase, 119: 384, 1965.
- 10) 柿崎善明：糞便 lysozyme 測定法に関する研究, 日内会誌, 48: 591, 1959.
- 11) Braun, O.H.: Faekale Lysozimausscheidung bei Säuglingen, Ann. Paediat., 205: 266, 1965.
- 12) Poli, G. and Holzkecht, E.: Il lysozima nell'alimentazione del lattante, Minerva Pediat., 3: 386, 1951.
- 13) 伊藤拓他：二、三の乳児栄養法に於ける便中リゾチーム活性について, 小臨, 31: 359, 1968.

Lysozyme activity in the Stool of Newborn Infants on Different milk Formula

Por-Liang Hung, M.D., Ming-Chien Lo, M.D. and Pin-Mei Chen, M.D.
Children's Medical Service, Taipei Municipal Chung-Hsin Hospital Taipei,
Taiwan, Republic of China

A study was made of lysozyme activity in the stools of 146 full term and premature healthy newborn infants. Lysozyme activity was not observed in the stool of infant at 2nd days after birth, but began to appear at third days and abruptly increased to the maximum at sixth days. The activities in breast fed infant and bottle fed infant with and without mucin were 291 ± 90 , 54.4 ± 12.4 and 23.0 ± 9.8 r/g of stool, respectively. After that, the activities decreased gradually until tenth days after birth.

1955

成爲目前
日元(193)谷氏等²²

Reserp

生根之總

%。由於

常採 3-

雖難

chinensis

Rescin

嗜試栽培

入種子不

良好²³。

500株定

94%，其

際本省新

乃利用

供

爲播種

編號，

乾後供