

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23792633

研究課題名(和文) 母乳の味の生化学的解析に基づいた乳腺炎の予知

研究課題名(英文) Prediction of mastitis based on the biochemical analysis of the taste of breast milk

研究代表者

吉田 倫子 (Yoshida, Michiko)

秋田大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30463805

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円、(間接経費) 780,000円

研究成果の概要(和文)：乳腺炎時に乳児が授乳を拒否することがあり、原因の1つに母乳の味の変化が考えられる。そこで、母乳の味覚強度と呈味物質濃度について、乳腺炎と正常な母乳の比較を行ったところ、乳腺炎の母乳で旨味の強度が増加していた。片側性乳腺炎による炎症側と無症状側の母乳では、炎症側の母乳で旨味と塩味の強度が増加していた。炎症側の母乳ではグルタミン酸と5'-GMP、ナトリウムの濃度が増加し、カルシウムの濃度が減少していたことから、旨味と塩味の増加が、乳腺炎の母乳の特徴的な変化であると考えられた。また、授乳中の乳児の脳波を測定したところ、母乳育児の児で、授乳前よりも授乳中と授乳後の 波の増加や 波の減少が認められた。

研究成果の概要(英文)：At the time of lactation mastitis, infants sometimes refuse to suckle from a breast with mastitis. The refusal of infants to suckle suggests that the taste of the milk has changed. By comparison, in milk between breasts inflamed due to mastitis and normal breasts, the intensity of umami increased in milk from inflamed breasts. In milk from inflamed and contralateral asymptomatic breasts of mothers with unilateral mastitis, the intensity of umami and saltiness was increased in milk from inflamed breasts. Concentrations of glutamate, 5'-GMP and sodium increased, whereas calcium concentrations decreased in it. Therefore, we concluded that the intensity of both umami and saltiness increased in milk from the inflamed breasts of mothers with mastitis. In addition, I was measured brain waves of breast-feeding infant. As a result, breast-fed infants, reduction of beta waves and an increase in alpha wave was observed in the breast-feeding and post-lactating than before breast-feeding.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：看護学・生涯発達看護学

キーワード：母乳 乳腺炎 味 乳児 授乳

## 1. 研究開始当初の背景

母乳育児支援に関わる助産師の経験知の中に、母親が乳腺炎を起こす予兆として、乳児が授乳を嫌がる行動を示すという現象がある。過去の我々の調査において、味覚センサ(味認識装置 SA-402B インテリジェントセンサーテクノロジー社)を用いて母乳の味を分析したところ、乳腺炎および乳腺炎の前兆の母乳において、実際に母乳の味が変化していることが明らかとなり、乳児が示す授乳拒否の一因であることが示唆された。

そこで、本研究は、乳腺炎の母乳で起こる味の変化に関係する成分を分析し、その成分を検知することにより、乳腺炎の予知が可能であるかを検証することを目的とした。本研究により、母乳の味の変化について、生化学的な検証が可能となれば、それにより、乳腺炎の予知と予防が可能となる。また、乳腺炎時の味の変化に関係する成分を検知するという発想は、乳腺炎の予知を可能にする診断キットの開発に結びつけられると考える。

## 2. 研究の目的

1) 乳腺炎の母乳で起こる味の変化に関係すると考えられる成分を生化学的に分析し、さらにその成分から呈味物質と考えられる成分を選別・解析することにより乳腺炎の母乳で起こる味の変化を明らかにした。

2) 我々の先行研究において、乳腺炎時の母乳を拒否する児がいる一方で、乳腺炎時の母乳であっても拒否せずに飲む児もいたことから、乳児は母乳がおいしいから飲むのか、おいしくなくとも飲むのかについて、考察が必要となった。そこで、母乳を飲む児の嗜好性(快・不快)を脳波を用いて検討したいと考えた。本研究は、その第一段階として、母乳を飲む児の脳波について客観的に評価することを

目的とした。

## 3. 研究の方法

### 1) 対象

(1) 乳腺炎の母乳で起こる味の変化について

A県内で母乳育児を行っており、産後2か月まで乳房トラブルの無い24人の母親(正常群)と乳腺炎に罹患している14人の母親(乳腺炎群)を対象とした。正常群の母親には、産後3~5日、2~3週、4~5週、8~10週の時期に母乳の採取を依頼し、乳腺炎群の母親には、受診時と治癒後に母乳の採取を依頼した。母乳の採取は左右の乳房から各10ccとし、分析まで-80℃で凍結保存した。

本研究の正常群のサンプルは、先行研究で対象とした18サンプルに加えて、さらに対象者を募り、合計24サンプルとしている。

(2) 母乳を飲む児の脳波測定について

母乳で育てられている乳児2名(2か月児、5か月児)と混合栄養で育てられている1名(11か月児)を対象とした。

### 2) データ収集方法

(1) 乳腺炎の母乳で起こる味の変化について

対象となった母乳サンプルの4つの基本的な味の傾向(酸味・塩味・苦味・旨味)について味覚センサ(味認識装置 SA-402B インテリジェントセンサーテクノロジー社)を用いて客観的に明らかにした。

味覚センサとは

本研究で使用した味覚センサは、都甲潔らが開発したもので、正式名称は、「膜電位計測型味覚センサ(味認識装置 SA-402B、インテリジェントセンサーテクノロジー社)」といい、「人間が感じる味」を科学的に識別、定量化するものである。人間の舌を模倣した複数の脂質/高分子

ブレンド膜（以下、脂質膜電極）を味物質の受容部分とし、電位出力応答パターンから各種の味を識別する。味覚センサの測定時には、脂質膜電極と参照電極がサンプル内に入り、両者の電位差を測定する。電位差は味物質の脂質膜への影響で変化する。また異なった脂質膜電極を用いることで、異なった味物質の影響が評価できる。味覚センサでは、先味5項目（酸味、塩味、苦味、旨味、渋味）と後味3項目（苦味、旨味、渋味）が測定されるが、測定値の解析や解釈が煩雑となってしまうことから、本研究では、先味のうち酸味、塩味、苦味、旨味を分析対象とした。また、本研究の開始時点において、甘味の脂質膜電極が開発途中であったため、甘味についての評価はできなかった。味覚センサで出力される値は相対値であるため、毎回の測定にあたって、基準となる溶液が必要である。そこで、本研究では内容成分が明確にされており、かつ母乳と成分が似ていることから牛乳の測定値を基準値とした。測定の前日には前処理を行い、脂質膜電極と参照電極を基準となる溶液に浸けておくことで、電極の安定化を図った。

対象となった母乳サンプルについて、アミノ酸・アミノ酸関連物質・核酸・糖質・ミネラル・脂肪酸の濃度測定とpH測定を行った。

#### ・アミノ酸及びアミノ酸関連物質の分析

母乳中の遊離アミノ酸及びアミノ酸関連物質の濃度は、日立アミノ酸分析計L-8800を用いて、生体液分析法により濃度を測定した。前処理として、サンプル100 $\mu$ lを5%トリクロロ酢酸にて2倍に希釈し、遠心分離後、上澄みを分析サンプルとした。

#### ・核酸の分析

母乳中の核酸として、グアニル酸とイ

ノシン酸の濃度をHPLCにて測定した。前処理として、サンプル200 $\mu$ lに5%トリクロロ酢酸500 $\mu$ lを加えて希釈し、遠心分離後、上澄みをメンブランフィルターで濾過後に分析サンプルとした。

#### ・糖質の分析

母乳中の糖質濃度として、ラクトースとガラクトースの濃度HPLCにて測定した。前処理として、母乳0.5ccをエタノールで2倍希釈し、遠心分離後、カラム（Oasis HLB Waters社）を通した抽出液を分析サンプルとした。サンプルは蒸留水で100倍希釈し、そのうち25 $\mu$ lをHPLCにて測定した。

#### ・ミネラルの分析

サンプル500 $\mu$ lを蒸留水で10倍希釈後、母乳に含まれる各元素について誘導結合プラズマ発光分析装置（Thermo製iCAP6300型）により元素分析を行った。

塩素に関しては、塩分計（HORIBA製B-721型）にて測定した。微粒子を含むためメンブランフィルターを用いて測定を行った。

#### ・脂肪酸の分析

サンプル500 $\mu$ lを用いて、母乳に含まれている各脂肪酸の量をガスクロマトグラフィーによって分析した。その後、総脂肪酸量に対する各脂肪酸量から組成を計算した。

#### ・pH測定

サンプル500 $\mu$ lをpHメータ（HORIBA社pHメータD-53）にて測定した。

成分分析の結果を考察し、母乳の呈味物質と考えられる成分を以下のように選別し、決定した。各基本味を産生する主要な呈味物質の中で、塩味は、他のアルカリ金属イオンも弱く塩辛い味がするが、主にナトリウムイオンによるものと言われている。酸味は、H<sup>+</sup>を含有する酸により生成され、母乳中の甘さは、通常は糖

および他の物質によって生成されるが、ほとんどがラクトースによるものである。旨味の多くはグルタミン酸およびグアニル酸(5'-GMP)およびイノシン酸(5'-IMP)のような5'-リボヌクレオチドや遊離アミノ酸によって生成されるが、5'-IMPは、ヒトの母乳中には検出不可能である。硫酸キニーネ、尿素およびいくつかの金属イオンを含む多くの物質は、苦味と関連しているが、母乳中の苦味の主な原因は同定されていない。よって本研究において、以下の成分を母乳の味を生成する物質と考えて以後の分析を行った。また、アンモニアは、味に影響を与えないが、非常に強力で、独特の臭気を持っているため、その濃度についても検討した。

旨味：グルタミン酸、5'-GMP

塩味：ナトリウム

苦味：カルシウム、尿素

酸味：pH

甘味：ラクトース

## (2) 母乳を飲む児の脳波測定について

対象の授乳前後と授乳中の脳波測定を行った。シールドルームにて、脳波計 EEG-1250 を用い、対象の状況に応じて6~12chで測定した。母乳栄養の児2名の脳波は、授乳前後はベッドに寝かせて測定し、授乳中は母親がいつも行っている抱っここの方法で測定した。混合栄養の児は授乳前・中・後全ての場面において母親に抱かれた状態で測定した。

## 3) 解析方法

### (1) 乳腺炎の母乳で起こる味の変化について

母乳の各基本味の強度の分布は、コロモゴロフ - スミルノフ検定の結果に基づいて、パラメトリック検定とした。産後4-5週と8-10週の正常な母乳の各基本味の個体内変動については級内相関係数(ICC)を用いて評価した。乳腺炎群と正

常群間の各味の強度や味の主成分の違いは、泌乳時期や初経産、年齢、BMIを調整して共分散分析で調べた。成乳の主要な呈味物質の濃度と各基本味の強度の相関をみた。片側性乳腺炎による炎症の側と症状のない側の母乳について、基本的な味の強度と母乳の主要な呈味物質の濃度の違いを対応のあるt検定を用いて検討した。

### (2) 母乳を飲む児の脳波測定について

脳波の解析には、EEGトレンドプログラムQP-160A(日本光電)を使用し、授乳前・中・後を比較して分析した。データは、FFT解析後にDSA(Density Spectral Array)表示し、リラックスや安静時に出現するとされる波と興奮や活動時に出現するとされる派に着目してデータの変化を観察した。測定したデータを再生・編集するために、レビュープログラムQP-112A(日本光電)を使用した。

### (3) EEGトレンドプログラムとは

近年、脳神経機能の発達予後が重要視されている新生児領域において、脳機能を視覚的に分かりやすく、リアルタイムで確認できる“aEEG(Amplitude integrated EEG、脳波の振幅の変化を圧縮して表示したトレンドグラフ)”が組み込まれている。NICUでの長時間の脳波測定にて、従来の脳波測定に比べ、少ない電極で簡便に測定でき、判読も比較的容易に行うことができる。

## 4. 研究成果

### 1) 正常な母乳の各味覚強度

産後3~5日の母乳を初乳、産後2~3週、4~5週、8~10週の母乳を成乳として母乳を採取したところ、泌乳段階を経るごとに、塩味と旨味の強度が有意に減少し、酸味と苦味が有意に増加していた。各基本味の級内相関係数はそれぞれ酸味0.976、塩味0.966、苦味0.630、旨味0.978

であった。相関係数は極めて高いが、各基本味の強度は母親の間で大きく異なっていた。しかし、同じ母親間では酸味、塩味とうま味での日々の変動がかなり小さかった。

## 2) 母乳の基本味の強度の平均と主要な呈味物質の濃度の平均についての乳腺炎群と正常群の比較

基本的な味覚強度の平均と呈味物質濃度の平均について、乳腺炎の母乳と正常な母乳の比較を行ったところ、旨味の強度が乳腺炎の母乳で大幅に増加していた。さらに、グルタミン酸、5'-GMP、ナトリウム、カルシウム、尿素とアンモニアを含む母乳中の味物質の濃度が乳腺炎時の母乳と正常な母乳で違っていた。この乳腺炎の母乳中の呈味物質の濃度変化は、おそらく乳腺細胞からの分泌活動の減少と乳腺炎中の乳房組織の透過性の増加にあったと考えられる。

## 3) 片側性乳腺炎による炎症の側の母乳と症状のない側の母乳について、基本的な味の強度と母乳の主要な呈味物質の濃度の比較

Comparisons of intensity of basic tastes and concentration of main taste substances in milk from inflamed and contralateral asymptomatic breasts of mothers with unilateral mastitis (n = 11)

	Inflamed breasts	Asymptomatic breasts	P <sup>a</sup>
<i>Intensities of basic tastes</i>			
Sourness	3.98 ± 1.88	4.43 ± 2.43	0.071
Saltiness	-7.84 ± 1.18	-8.34 ± 1.07	0.016*
Bitterness	2.43 ± 0.84	2.21 ± 0.99	0.451
Umami	0.45 ± 0.88	0.26 ± 0.82	0.002†
<i>Concentrations of main taste substances</i>			
Lactose (mmol/L)	140 ± 19	149 ± 22	0.124
Glutamate (μmol/L)	27.1 ± 6.7	21.9 ± 9.1	0.025*
5'-GMP (μmol/L)	9.6 ± 5.6	5.3 ± 5.1	0.040*
Sodium (mmol/L)	10.7 ± 6.3	6.1 ± 2.9	0.010*
Calcium (mmol/L)	6.5 ± 1.3	7.0 ± 1.3	0.038*
Urea (μmol/L)	66.6 ± 20.3	63.9 ± 15.5	0.388
Ammonia (μmol/L)	4.9 ± 2.2	3.8 ± 1.7	0.251
pH	6.63 ± 0.20	6.61 ± 0.21	0.298

片側性乳腺炎による炎症の側と症状のない側の母乳について比較を行ったところ、炎症側の母乳でグルタミン酸、5'-GMPとナトリウムの濃度が有意に増加していた。一方、カルシウムの濃度が有意に減少していた。炎症側の母乳において、旨味と塩味の強度は、有意に増加していた。従って、本研究の結果として、旨味と塩

味の強度の増加が乳腺炎の母乳における特徴的な変化であると結論付けられた。

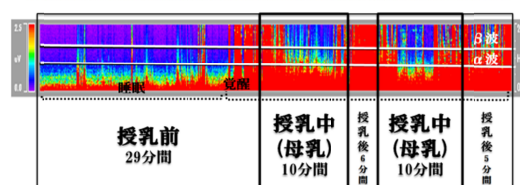
## 4) 母乳を飲む児の脳波測定について

母乳栄養の児2名では、授乳前よりも授乳中と授乳後で波が増えていたり、波の減少が認められており、授乳や授乳時の抱っこによる母親とのふれあい、母乳で空腹が癒えることにより、児が満足している様子が考えられた。一方、混合栄養の1名の児では、授乳前中後で脳波に変化が認められなかった。よって、混合栄養の授乳時に比べて、母乳栄養の授乳時の方が満足度が高い可能性が考えられた。

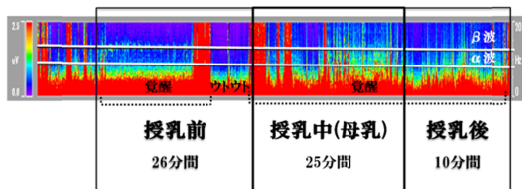
本研究の対象となった乳児には、2か月、5か月、11か月と月齢の差があった。授乳前・中・後の脳波は、月齢が小さい児ほど(2か月 > 5か月 > 11か月)変化が大きく認められたが、これは、月齢が小さい児ほど周囲の影響を受けづらく、授乳に集中しているからではないかと考えられた。反対に、月齢が増えるにつれ、乳児が周囲の影響を受けやすいため、授乳のみでの満足感を得られにくいのではないかと考えられた。

本研究は、母乳を飲む児の嗜好性(快・不快)を脳波を用いて検討するための第一段階として行った研究である。母乳を飲む児の脳波による客観的評価は、生後5か月までの月齢の小さい児を対象として行うことが適していると考えられた。また、母乳で育てられている児において、嗜好性の有意な結果が得られる可能性があると考えられた。この結果を土台にして今後も引き続き研究を続けていきたい。

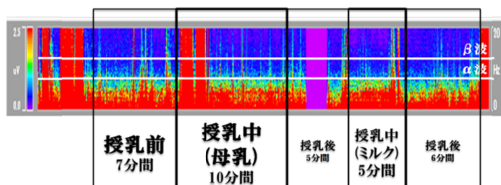
### ケースA 2か月児、母乳栄養



ケースB  
5か月児、母乳栄養



ケースC  
11か月児 混合栄養



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

1) Michiko Yoshida, Hitomi Shinohara, Toshihiro Sugiyama, Masanori Kumagai, Hajime Muto and Hideya Kodama. Taste of milk from inflamed breasts of breastfeeding mothers with mastitis evaluated using a taste sensor, Breastfeeding Medicine Refereed, Volume9, Number2, pp92-97, 2014

[学会発表](計 6 件)

1) 吉田倫子, 篠原ひとみ, 工藤直子, 成田好美, 兒玉英也. 母乳を飲む児の脳波に関する客観的評価, 第 29 回秋田県母性衛生学会学術集会, 2014 年 6 月, 秋田市.

2) Michiko Yoshida, Hitomi Shinohara, Hideya Kodama, The taste of milk from inflamed breasts of breastfeeding mothers with mastitis evaluated using a taste sensor, Rhythms of Infant Life Conference, 2014 March, England Durham University.

3) 吉田倫子, 兒玉英也, 篠原ひとみ, 成田好美, 工藤直子, 杉山俊博. 乳腺炎時の母乳の旨味増加に関連する旨味関連物質の調査, 第 53 回日本母性衛生学会学術集会, 2012 年 11

月, 福岡市.

4) 吉田倫子, 兒玉英也, 篠原ひとみ, 成田好美, 工藤直子. 乳腺炎時における母乳中脂肪酸組成の変化, 第 27 回秋田県母性衛生学会学術集会, 2012 年 6 月, 秋田市.

5) 吉田倫子, 篠原ひとみ, 成田好美, 兒玉英也, 杉山俊博. 味覚センサを用いた乳腺炎による母乳の味の客観的分析, 第 52 回日本母性衛生学会学術集会, 2011 年 9 月, 京都市.

6) 吉田倫子, 篠原ひとみ, 成田好美, 兒玉英也, 杉山俊博. 乳腺炎による母乳のアミノ酸濃度の変化と旨味との関係, 第 26 回秋田県母性衛生学会学術集会, 2011 年 6 月, 秋田市.

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 倫子 (Michiko Yoshida)  
秋田大学大学院医学系研究科・助教  
研究者番号: 30463805

(2) 研究協力者

兒玉 英也 (Hideya Kodama)  
秋田大学大学院医学系研究科・教授  
研究者番号: 30195747

篠原 ひとみ (Hitomi Shinohara)  
秋田大学大学院医学系研究科・教授  
研究者番号: 80319996