

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590637

研究課題名(和文) 微量測定法を用いた母乳のエネルギー量・蛋白質量・脂質量・糖質量

研究課題名(英文) The usefulness of the low-volume measurement for the contents of energy, protein, fat and carbohydrate in human milk

研究代表者

田中 越郎 (TANAKA, Etsuro)

東京農業大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：80211366

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：母乳中の成分測定法として血液測定用ドライケミストリー法の有用性を検討した。微量の母乳中の乳糖、蛋白質、脂質量をドライケミストリー法により測定を試みたところ、乳糖量及び蛋白質量の測定結果は従来法による測定値の間に有意な正の相関が認められた。以上より、ドライケミストリー法は微量母乳中の乳糖量およびたんぱく質濃度の簡便で迅速な測定法として有用であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study investigated the usefulness of the dry-chemistry method, as used for serum component analysis, for rapid measurement of lactose, protein, and fat in low-volume human milk. The content of lactose and protein in human milk measured with the dry chemistry method showed a strong correlation to those with the conventional methods. These results showed that the dry chemistry method was useful as a rapid measurement of lactose and protein in low-volume human milk.

研究分野：臨床栄養学

キーワード：母乳 乳糖 たんぱく質

1. 研究開始当初の背景

我が国では、1955年頃から人工栄養の安全性の向上により、母乳栄養児と人工栄養児の生育に遜色が無くなった。さらに女性の社会進出、美容優先や母乳汚染が問題となり母乳栄養が急激に減少し、1970年には約30%まで低下した。先進国においても母乳栄養率が20%以下にまで低下してきた。これを危惧した、ユニセフ・WHOをはじめとして、母乳栄養は、栄養補給だけで捉えるのではなく、授乳行為が育児の一つという観点から親子の信頼関係を築く重要な役割を担っている母乳哺育の推進が始まった。1974年厚生省の「母乳スローガン」、1989年ユニセフ・WHOの「母乳による育児を成功させるための10カ条」、赤ちゃんに優しい病院の認定、母乳週間や母乳の日などの制定が行われた結果として、母乳哺育率は上昇したものの、45%台で頭打ちとなっている。これは、現在提唱されている母乳哺育の重要性が、ヒトは哺乳類であるから、母乳で育てる、未知の成分が含まれている、母と子の絆を形成できるなど総論的であるため、個人に対応し切れていないためと考えられる。母乳を対象とした研究は、人工栄養を母乳に近づけるための、成分組成の分析が主であり、蛋白質量、脂質量、糖質量、ビタミン量、無機質量やその質を平均的に求めてきた。また、重要な成分も発見されてはいるが、その多くの母乳成分は、泌乳期や食事の摂取状況の違いなど個人差が大きいとされている。授乳婦が興味を持つことは、自身の母乳中に含まれる栄養成分等であり、自身の母乳を子供に与えても乳児の成育に問題がないかなどの疑問をもつこともある。しかし、今日に至るまで、母乳の成分を随時測定し、個人に対応した分析を行った報告はみられない。

昨今、母乳哺育の弊害となるものに、PCBやダイオキシンなどの母乳汚染、ビタミンK欠乏による頭蓋内出血などがある。さらに母親自身の母乳成分値が平均的な値か、不足している物質があるか、という不安から来る母乳への不信感があると考えられる。自身の母乳成分に対して、何らかの情報があれば、自分の母乳に自信がもて、母乳哺育の推進に寄与できると考えられる。しかし、申請者は、過去に蛋白質成分、脂質成分、酵素、免疫成分、電解質、微量成分について測定してきたが、いずれも測定操作過程が多く、試料が多量に必要であり、前処理過程も測定項目ごとに異なっている。医療の現場では、血液生化学検査の微量化及び自動化が進んでおり、数十項目を短時間で少ない試料量で測定可能となっている。この中のドライケミストリーによる生化学検査は、装置が小型、試薬調製が不要、ほとんどの項目が10 μ L/1項目、操作が簡便であるなどの特徴を備えている。さらに、母乳の乳脂肪分の着色は比色測定妨害をするがドライケミストリーは多層分析フィルムを使用しており各層へ展開するた

め、展開行程において母乳中の不要物質をろ別する作用がある。したがって、ドライケミストリー法は母乳分析に応用できると考えられる。この装置を使用することで母乳分析に必要な試料が微量化できれば、数mlしか分泌されない初乳を随時測定でき、成乳に至っても、少量の母乳提供であるため収集の同意が得易くなる。迅速かつ簡便に測定が可能になれば、蛋白、脂質、糖質を測定することにより個人対応の3大栄養素の基準値を構築できる。

2. 研究の目的

母乳成分は泌乳期や食事の摂取状況などの個人差が大きいとされている。しかし、母乳の研究は、たんぱく質量、脂質量、糖質量、ビタミン量、無機質などの平均的に求めるものであった。一方で、授乳婦にとって我が子に与える母乳の組成は何よりも関心が深い。随時母乳成分を分析でき、その成分に適した食事指導が行えれば母乳哺育を推進する原動力になると考えられる。しかし、母乳哺育の推進に対する随時母乳の分析法の有用性を検討した報告は見られない。以上より、血液の微量測定に使用される富士ドライケム3030による母乳の微量測定法と各成分の分析手法を比較することで母乳哺育の推進に寄与する随時母乳の分析法の有用性を検討した。

3. 研究の方法

研究の趣旨を説明し、賛同を得られた授乳婦から母乳の提供を受けた。これらの母乳を試料とし、試料は各項目の測定まで-80にて冷凍保存した。

母乳試料中の総蛋白質、アルブミン(以降、ALBとする)、グルコース(以降、GLUとする)、乳糖、トリアシルグリセロール(以降、TGとする)については富士ドライケム3030による測定値を用いて繰り返し測定することで測定値の信頼性を得る。母乳中の糖質は、ラクターゼによりグルコースとガラクトースに分解したのち乳糖量を求める。以上の検討から蓄積されたデータを、日本人を対象とした文献等と照らし合わせ各々の基準値を確定する。

4. 研究成果

(1)ドライケミストリー法による母乳中成分の測定の確立について

母乳中の乳糖量については、ドライケミストリー法による測定値 5.44 ± 0.63 g/dL (n=30) は、酵素法により測定した乳糖量 4.96 ± 0.57 g/dL (n=30) に比較して有意に高値を示した (p<0.05)。ドライケミストリー法で測定した乳糖量とレイン・エイノン法により測定した乳糖量は強い相関関係が認められた ($y=0.7694x+0.776$, $r=0.8433$, $p<0.05$, $n=30$)。このことは、ドライケミストリー法で求めた乳糖量は、補正

($y=0.9267x+0.5421$)を行なうことで、酵素法で求めた乳糖量と同様な評価を行うことができることを示した。

母乳中のタンパク質量についてはドライケミストリー法による測定値 $1.6 \pm 0.5\text{g/dL}$ ($1.1 \sim 4.3\text{g/dL}$, $n=64$) に比べて、ケルダール法により測定したタンパク質量 $2.0 \pm 0.5\text{g/dL}$ ($1.5 \sim 4.4\text{g/dL}$, $n=64$) は有意に高値($p<0.05$)であった。ドライケミストリー法により測定したタンパク質量とケルダール法により測定したタンパク質量の間には強い相関関係が認められた($y=0.9267x+0.5421$, $r=0.968$, $p<0.05$)。このようにドライケミストリー法とケルダール法とは測定原理が異なっているものの、両者の測定値を直線回帰分析により比較検討すると、 $r=0.968$ ときわめて強い正の相関を示した。このことは、ドライケミストリー法で求めたタンパク質量は、補正($y=0.9267x+0.5421$)を行なうことで、日本食品標準成分表のケルダール法で求めたタンパク質量と同様な評価を行うことができることを示した。

母乳中の脂質量は、ドライケミストリー法により、TG 濃度 $12.4 \pm 15.0\text{g/dL}$ ($n=498$)、T-cho 濃度 $17.9 \pm 6.7\text{g/dL}$ という測定値が得られた。しかし、ドライケミストリー法により求められたこれらの測定値と脂質測定の従来法であるレーゼ・ゴッドリーブ法により求められた測定値との間に有意な相関は見られなかった。そのため、ドライケミストリー法を用いた母乳中の脂質量の測定には前処理方法等さらなる検討が必要と考えられた。

(2) 泌乳経過による母乳中の乳糖量、TP、ALB 濃度の変動を検討した。

母乳中の乳糖濃度は、出産後の経過日数と有意な正の相関が認められた($y=0.0488x+5.9217$, $r=0.174$, $p<0.05$, $n=489$) さらに、母乳を出産直後から 5 日までを初乳、6~14 日までを移行乳、15 日以降を成乳と出産後の経過日数による泌乳経過別に分けて検討した。その結果、初乳中の乳糖量は出産後の経過日数と有意な正の相関がみられた($y=0.1504x+5.4388$, $r=0.203$, $p<0.05$, $n=279$)。移行乳および成乳中の乳糖量と出産後の経過日数には有意な相関関係は見られなかった。

母乳中の TP 濃度は、出産後の経過日数と有意な相関が見られた($y=-0.0443x+1.811$, $r=-0.330$, $p<0.01$)。また、母乳中の ALB 濃度と出産後の経過日数との間にも有意な負の相関が見られた($y=-0.025x+0.7557$, $r=0.308$, $p<0.01$)。

これらの結果より、出産後日数が経過するとともに母乳中の乳糖濃度は上昇し、TP 濃度、ALB 濃度は減少する事が示唆された。

したがって、母乳中の乳糖量およびたんぱく質量の測定法としてドライケミストリー

法は有用であることが示唆された。本研究の成果は、授乳婦が自身の母乳を乳児に与える際に、自身の母乳中の乳糖量および TP、ALB の含有量が迅速かつ簡便に測定することが可能になり、授乳婦が安心して自身の母乳による乳児の成育する環境を提供できることから、母乳哺育の推進に寄与すると考えられた。

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 3 件)

K Homma, N Wakana, H Ushijima, E Tanaka; Immune factors in breast milk --Immunoglobulin and apoptosis of human milk cells--, the journal of the Japanese society for breastfeeding research, 2013, 7(1), 42-54, 査読有り

K Homma, Y Wada, M Enomoto, S Obi, N Wakana, E Tanaka; Zinc deficiency in end-stage hepatocellular carcinoma patients treated with chemotherapy. Journal of Agriculture Science, Tokyo University of Agriculture, 2013, 58, 194-198, 査読有り

本間和宏、若菜宣明、裏木喜久江、山村節子、清川正章、牛島廣治、田中越郎;母乳栄養素の微量・短時間測定法としてのドライケミストリー法の有用性、日本健康医学会雑誌、2012、21(2)、101-104、査読有り

[学会発表](計 14 件)

若菜宣明、本間和宏、田中越郎;泌乳経過による人乳中のレプチン濃度とグレリン濃度の変動.第 24 回日本健康医学会総会、2014 年 11 月 24 日、ホテル日航東京(東京)

若菜宣明、本間和宏、山村節子、田中越郎;人乳中のレプチン・グレリン濃度と総たんぱく質濃度との関連性.第 29 回日本母乳哺育学会・学術集会、2014 年 10 月 11 日、横浜市教育会館(神奈川)

本間和宏、若菜宣明、浦勇春佳、中山真衣、裏木喜久江、山村節子、田中越郎;母乳中のポリフェノール組成.第 68 回日本栄養・食糧学会、2014 年 6 月 1 日、酪農学園大学(北海道)

若菜宣明、杉野翔子、青木加奈子、裏木喜久江、本間和宏、山村節子、田中越郎;日本人における母乳中のレプチン濃度とグレリン濃度の検討.第 68 回日本栄養・食糧学会大会、2014 年 5 月 30 日、酪農学園大学(北海道)

N Wakana, K Todoroki, K Homma, T Shizuma, E Tanaka, N Fukuyama.; Preoperative branched-chain amino acids administration improved prognosis after hepatectomy in the elderly rats with diabetes mellitus. The 91th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan. 2014年3月16日, Kagoshima University (鹿児島)

K Todoroki, Y Ikeya, E Tanaka, N Fukuyama, H Mori.; The analysis of the polyunsaturated fatty acids and the incidences of supraventricular arrhythmias of the elderly in group home. The 91th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan. 2014年3月16日, Kagoshima University (鹿児島)

若菜宣明, 畠木喜久江, 本間和宏, 田中越郎, 福山直人; 高齢糖尿病ラットの肝切除術後肝再生に対する術前分岐鎖アミノ酸投与の有効性. 第29回日本静脈経腸栄養学会学術集会, 2014年2月27日, ヨコハマコンチネンタルホテル (神奈川)

畠木喜久江, 池谷義守, 福山直人, 田中越郎, 盛英三; グループホームにおける心原性脳梗塞リスクの解析. 第29回日本静脈経腸栄養学会学術集会, 2014年2月27日, ヨコハマコンチネンタルホテル (神奈川)

若菜宣明, 畠木喜久江, 本間和宏, 田中越郎, 福山直人; 高齢糖尿病ラットの肝切除術後肝再生に対する術前BCAA投与の有効性. 第23回日本健康医学会総会, 2013年11月9日, 東京農業大学 (東京)

本間和宏, 若菜宣明, 畠木喜久江, 穂坂賢, 安藤達彦, 田中越郎; ジブチ共和国の乾燥・半乾燥地域における生活用水のフッ素濃度及び農民の健康調査. 第23回日本健康医学会総会, 2013年11月9日, 東京農業大学 (東京)

畠木喜久江, 福山直人, 田中越郎, 盛英三; グループホーム入居高齢者における高不飽和脂肪酸および心機能の解析. 第23回日本健康医学会総会, 2013年11月9日, 東京農業大学 (東京)

K Todoroki, Y Ikeya, E Tanaka, N Fukuyama, H Mori.; The risk factors for cardioembolism of the elderly in group home. The 8th Asia Pacific Conference on Clinical Nutrition. 2013年6月9日, The Tokyo Bay Maihama Hotel Club Resort (千葉)

N Wakana, K Todoroki, K Homma, T

Shizuma, E Tanaka, N Fukuyama.; Effect of preoperative branched-chain amino acids administration on liver regeneration in the elderly hepatectomized rats with diabetes mellitus. The 8th Asia Pacific Conference on Clinical Nutrition. 2013年6月9日, The Tokyo Bay Maihama Hotel Club Resort (千葉)

畠木喜久江, 池谷義守, 田中千陽, 若菜宣明, 本間和宏, 田中越郎, 福山直人, 盛英三; グループホームに入居する認知症高齢者における脳梗塞リスクの解析. 第55回日本老年医学会学術集会, 2013年6月4日, 大阪国際会議場 (大阪)

〔図書〕(計 1 件)

田中越郎, 本間和宏, 若菜宣明, 光生館, 最新臨床栄養学 (井上修二他), 第7章 栄養・食事の相互作用 (pp.93-100), 2015, 総ページ418

特になし

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

特になし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中越郎 (TANAKA Etsurou)

東京農業大学・応用生物科学部・教授

研究者番号: 80211366

(2) 研究分担者

本間和宏 (HOMMA Kazuhiro)

東京農業大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：00190273

若菜宣明 (WAKANA Noriaki)
東京農業大学・応用生物科学部・助教
研究者番号：30508221

(3)連携研究者
()

研究者番号：