

## 最近の日本人乳組成に関する全国調査 (第八報)

### —人乳ポリアミンの組成と泌乳期別濃度変化—

雪印乳業株式会社 栄養科学研究所 \*品質保証部 分析センター

川上 浩・中埜 拓・前田 忠男\*・井戸田 正

**Key Words:** 人乳, ポリアミン, 濃度, 泌乳期変化, 非蛋白態窒素成分

#### 要 旨

母乳に含まれるポリアミンは、乳児の未熟な消化管の成熟化に寄与すると考えられている。そこで、人乳ポリアミンの組成と濃度を、泌乳期および人乳を採取した地域や季節ごとに調べた。人乳ポリアミンの中で最も濃度が高いのはスペルミン (612~1,025 ng/ml) で、二番目がスペルミジン (384~723 ng/ml) であった。これに対して、プトレッシン濃度は18~27 ng/mlであり、カダベリンは検出限界以下であった。スペルミンとスペルミジン濃度は、泌乳期11~15日目でも最も高かった。また、北海道、東北、および関東・甲信越で採取した人乳のポリアミン濃度が全国平均よりも高く、中部以西で集めた人乳の方が低いという地域差がみられた。

#### はじめに

ポリアミンは、第一級アミノ基を2つ以上もつ直鎖脂肪族炭化水素の総称である。生体内には20種類以上のポリアミンが存在し、主なものにスペルミン、スペルミジン、カダベリンおよびプトレッシンがある。生理作用としては (i) 核酸の安定化 (ii) 核酸合成の促進 (iii) 蛋白質合成の活性化 (iv) ヒストンのアセチル化促進 (v) 非ヒストンクロマチン蛋白質のリン酸化促進 (vi) 金属イオン依存型酵素の活性化などが知られている<sup>1)~3)</sup>。最近では、消化管上皮細胞の増殖や分化を促進する作用が報告されており<sup>4)~9)</sup>、障害を受けた消化管粘膜の治療や、病態栄養食への利用という観点で注目されている。Wildら<sup>9)</sup>は、ポリアミ

ンが乳児期ラットの消化管粘膜の増殖を促進したり、粘膜細胞膜の二糖類分解酵素の活性を変化させることを報告している。したがって、人乳に含まれるポリアミンも、乳児の未熟な消化管の成熟化に寄与していることが示唆される。

人乳の非蛋白態窒素成分には、カルニチン、タウリン、ヌクレオチドなどの生理活性物質が数多く存在する<sup>10)</sup>。ポリアミンも人乳の非蛋白態窒素成分の一つとして古くから知られていた<sup>11)</sup>が、従来の分析方法は複雑で検出感度も低いため、乳中に存在する微量のポリアミンを定量するには限界があった。しかしながら、蛍光標識したポリアミンを高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定する方法が最近になって開発され、ナノグラムレベルのポリアミンを精度よく定量することができるようになった<sup>12)13)</sup>。

当社は、乳児用調製粉乳 (育粉) の開発において、母乳への近似化を第一の目標としており、1990

別刷請求先: 〒350-11 川越市南台1-1-2  
雪印乳業株式会社栄養科学研究所  
川上 浩

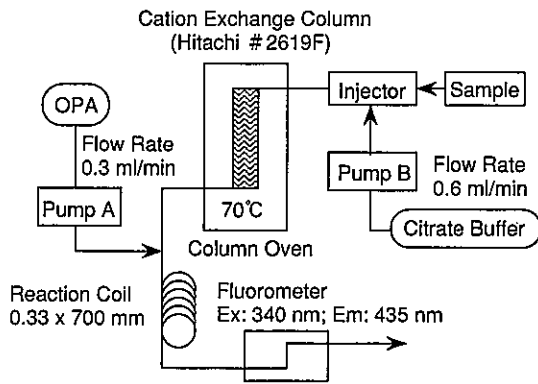


図1 Scheme of Polyamine Measurement by HPLC

年から日本人の母乳成分に関する全国調査を実施している。現在までに、一般組成、アミノ酸組成、脂肪酸組成、ミネラル組成といった主要な成分組成<sup>14)~16)</sup>のほか、ガングリオシド<sup>17)</sup>やヌクレオチド<sup>18)</sup>などの微量な生理活性物質に関する分析も行ってきた。今回は、人乳のスペルミン、スペルミジン、ガダベリンおよびプトレッシン濃度をHPLCで測定し、組成や濃度の違いを、泌乳期や人乳を採取した季節や地域ごとに明らかにした。

## 方 法

### 1. 人乳試料の採取

全国各地に在住する年齢17歳から41歳までの授乳婦2,434名から、2,727検体の人乳を採取した。このうち、母子の健康状態、乳児の体重、搾乳時刻、搾乳方法などの点で、あらかじめ設定した基準<sup>14)</sup>に合致した2,279検体を分析の対象にした。1989年1~3月に集めた乳を冬季乳、同年7~9月の乳を夏季乳とし、次に示すような泌乳期に分けた。すなわち、分娩後日数を3~5日、6~10日、11~15日、16~30日、31~60日、61~120日、121~240日、および241~482日の8期間に分け、それぞれの期間にあてはまる複数の試料を等量ずつ混合して、各泌乳期毎の混合乳を調整した。また、厚生省国民栄養調査の地域ブロック<sup>19)</sup>を基本に全国を7地域に分類し、各々の地域で得た分娩後16~90日の試料を等量ずつ混合して地域別の人乳試料を調製した。

## 2. ポリアミンの測定

試料5mlを25mlの温水(50°C)と混合し、総量が50mlとなるように1M過塩素酸を加えて十分攪拌した。4°Cで20分間静置して蛋白質を沈澱させた後、ろ紙(Toyo, No.5C)とクロマトディスクフィルター(クラボウ, 0.45 $\mu$ m)で不溶物を除去して試料溶液とした。ポリアミン分析用のHPLC装置(日立)の構成を図1に示す。強酸性陽イオン交換樹脂(日立カスタムイオン交換樹脂#2619F)を充填圧180kg/cmでカラム(6.5mm $\times$ 60.0mm)に充填し、ポリアミン分析用HPLCカラムとした。溶離液には0.2Mクエン酸緩衝液(pH3.9)を用いた。溶出したポリアミンとo-フタルアルデヒド(OPA, Sigma)を、リアクションコイル(0.33mm $\times$ 700mm)内で反応させた後、蛍光光度計(励起波長:340nm; 蛍光波長:435nm)で検出した。OPA試薬の流量は0.3ml/minとした。分析時間は1試料あたり65分間であった。

ポリアミンの定量に用いる検量線は、Sigmaのスペルミン(S-3256)、スペルミジン(S-2626)、ガダベリン(C-1541)およびプトレッシン(P-7505)で作成した。いずれも相関係数が0.999となり、直線性の高い検量線が得られた。

## 結 果

### 1. 人乳ポリアミン濃度の泌乳期変化

ポリアミン濃度を泌乳期別および季節別に測定した結果を図2~4に示す。冬季乳のプトレッシン濃度は、泌乳期を通じてほとんど変化しなかったが、夏季乳では初乳で濃度が最も低く、泌乳期16~30日目までゆるやかに増加した(図2)。スペルミジン濃度は、初乳から移行乳にあたる泌乳期15日目まで増加し、その後は減少した(図3)。増減の程度は、夏季乳に比べて冬季乳の方が大きかった。スペルミン濃度も泌乳期11~15日目で最も高く、夏季乳に比べて冬季乳の増減の程度が大きかった(図4)。また、スペルミジンおよびスペルミン濃度は、夏季乳で若干高い傾向を示したが、泌乳期11~15日目では冬季乳の方が高かった。

夏季乳と冬季乳のポリアミン濃度の平均値を表1に示す。人乳ポリアミンの中で最も濃度が高い

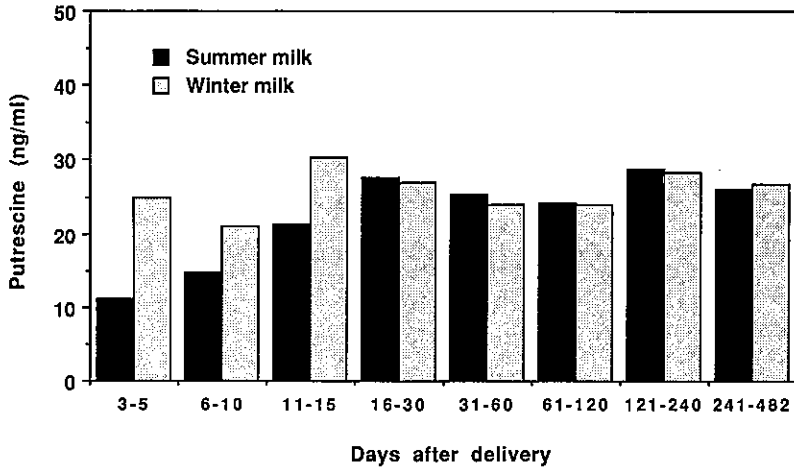


図2 Changes in the Concentration of Putrescine in Human Milk during Lactation

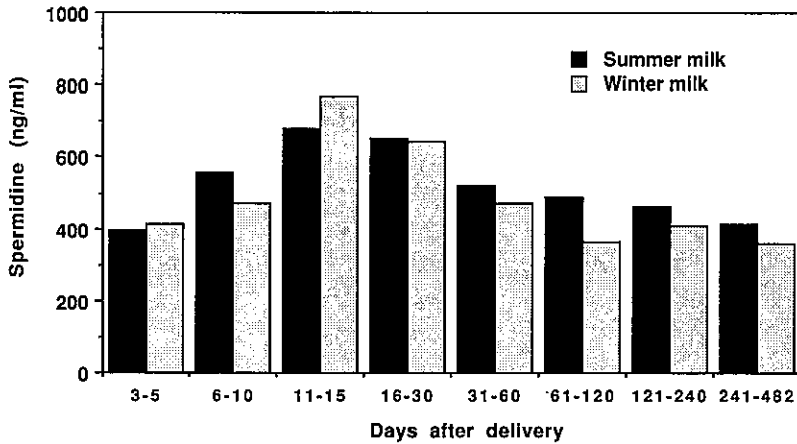


図3 Changes in the Concentration of Spermidine in Human Milk during Lactation

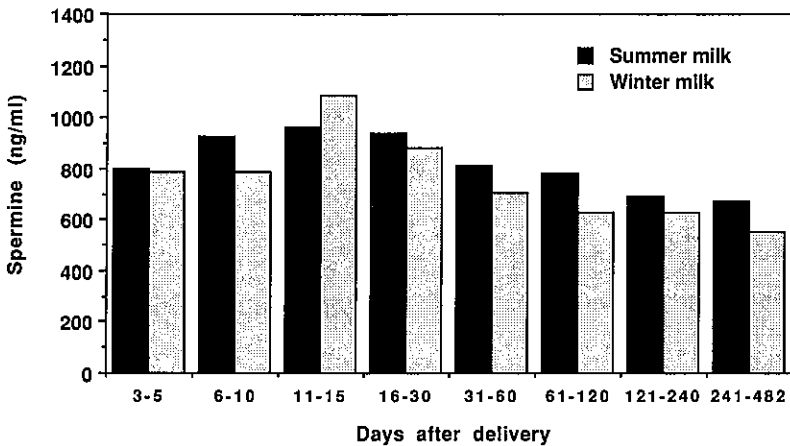


図4 Changes in the Concentration of Spermine in Human Milk during Lactation

表1 Polyamine Concentrations in Human Milk at Different Stages of Lactation

Days after delivery	(ng/ml)			
	Putrescine	Cadaverine	Spermidine	Spermine
3-5	18±9	ND	402±23	793±57
6-10	18±5	ND	514±48	855±79
11-15	26±9	ND	723±53	1,025±70
16-30	27±5	ND	647±9	910±42
31-60	25±3	ND	495±29	757±63
61-120	24±1	ND	426±69	702±85
121-240	29±4	ND	435±30	659±44
241-482	26±5	ND	384±33	612±74

Values for human milk are means ±SD of two determinations, each of which was assayed in triplicate on milk samples collected in winter and summer. ND means not detected.

表2 Polyamine Concentrations in Human Milk Collected at 16-90 Days Postpartum in Various Regions of Japan

Region	(ng/ml)				
	Putrescine	Cadaverine	Spermidine	Spermine	Total
Hokkaido	25	ND	561	828	1,414
Tohoku	22	ND	564	858	1,444
Kanto/Koshin'etsu	22	ND	555	862	1,439
Cyubu/Tokai	19	ND	518	746	1,283
Kinki	22	ND	485	736	1,243
Cyugoku/Shikoku	15	ND	512	719	1,246
Kyusyu/Okinawa	14	ND	529	780	1,323
Mean	20	ND	532	789	1,340

Values are means of two determinations which were assayed in triplicate. ND means not detected.

のはスペルミン (612~1,025ng/ml) であり、二番目がスペルミジン (384~723ng/ml) であった。これに対して、プトレッシン濃度は18~27ng/mlであり、カダベリンは検出限界以下であった。

## 2. 人乳ポリアミン濃度の地域差

泌乳期16~90日目の人乳を、採取した地域ごとに分けてポリアミン濃度を測定した。表2に示すように、北海道、東北、関東・甲信越で採取した試料乳のポリアミン濃度が全国平均よりも高く、中部以西で集めた人乳の方が低いという地域差がみられた。

## 3. 人乳非蛋白態窒素とポリアミン態窒素の泌乳期変化

非蛋白態窒素とポリアミン態窒素の泌乳期別濃度変化を図5に示す。非蛋白態窒素濃度は初乳(3~5日目)で最も高く、泌乳期を経るに従って減少したが、ポリアミン態窒素濃度は泌乳期11~15日目で最も高かった。

## 考 察

人乳のポリアミン濃度に関する報告は、現在までに数報しか見あたらない。1972年に Sanguansermisri ら<sup>11)</sup>が、薄層クロマトグラフィーで人乳と牛乳のポリアミン濃度を測定したが、分析精度に限界があった。最近、Romain ら<sup>12)</sup>は、逆相カラムによる HPLC で泌乳期6カ月目までの人乳

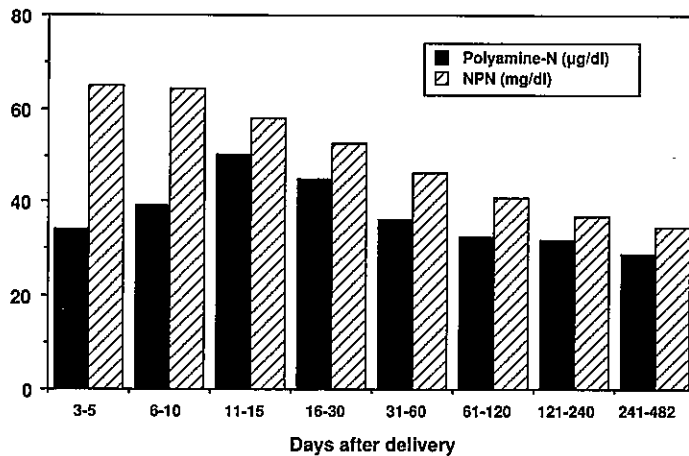


図5 Changes in the Concentration of Non-protein Nitrogen and Polyamine Nitrogen in Human Milk

ポリアミン濃度を測定した。彼らの結果では、プトレッシンが63~210ng/ml, スペルミジンが268~1,321ng/ml, スペルミンが434~1,675ng/mlであった。我々の結果では、プトレッシンが18~29ng/ml, スペルミジンが384~723ng/ml, スペルミンが612~1,025ng/mlであり、プトレッシン濃度は低かったが、スペルミジンとスペルミンの濃度は Romain ら<sup>12)</sup>の値の範囲内であった。また、Pollack ら<sup>13)</sup>は我々と同じイオン交換カラムを使った HPLC で、泌乳期4カ月目までの人乳を分析している。彼らの結果では、プトレッシンは18~54ng/ml, スペルミジンは107~509ng/ml, スペルミンは146~907ng/mlであり、我々の結果と比較すると、スペルミジンとスペルミンの濃度が若干低かった。Romain ら<sup>12)</sup>と Pollack ら<sup>13)</sup>の結果は、いずれも個乳の分析結果をもとに、泌乳期ごとの平均値を算出している。また、泌乳期によっては試料数が2検体 (n=2) の場合もあるため、混合乳を測定した我々の結果に比べて測定値のばらつきが大きかった。

また、人乳のポリアミン濃度には、地域差がみられた。すなわち、全国平均値と比べて明らかに北海道、東北、関東・甲信越で採取した人乳のポリアミン濃度が高く、中部以西の地域では低かった(表2)。この理由は明らかではないが、母乳成分は食生活の影響を受けることから、オルニチン

の前駆体であるアルギニンやグルタミン酸の摂取量などが関係しているかもしれない。

人乳ポリアミンの中で最も多く含まれるのはスペルミン(ポリアミン中の57~65%)であり、スペルミジンと合わせると全体の97%以上を占めた。人乳ではカダベリンが検出されなかったが、牛乳にはカダベリンも含めて今回測定した4種類のポリアミンが含まれる(未発表データ)。哺乳動物の生体内では、オルニチンデカルボキシラーゼの作用でオルニチンからプトレッシンが合成され、さらにシンターゼの働きでスペルミジンやスペルミンが生合成される<sup>20)</sup>。一方、カダベリンは他の3つのポリアミンとは代謝系が異なり、リジンからリジンデカルボキシラーゼによって合成される<sup>21)</sup>。ヒトの肝臓や尿ではカダベリンの存在が確認されているが<sup>21)</sup>、人乳では検出されなかった。

乳に含まれるポリアミンの生理的意義は、ラットによる動物実験で得られた結果から、乳児期の未熟な消化管粘膜を成熟させることであると考えられている<sup>9)</sup>。ラットの場合、生後3週間まで消化管粘膜が成熟するといわれている<sup>12)</sup>が、これはちょうど離乳の時期と一致する。離乳後は母乳以外の食餌成分を摂取するようになるので、哺乳期に消化管粘膜を成熟させ、その後に摂取する食餌成分を十分に消化したり、異物(アレルゲンや細菌など)を体内に侵入させないようにする必要がある。

したがって、乳が消化管粘膜の成熟化促進成分を含むことは、自然の摂理にかなったことといえる。最近、Burrinら<sup>22)</sup>は、授乳期のブタを使った実験で、初乳と成熟乳がどちらも小腸の消化機能や形態を成熟させることを報告している。また、経口投与したポリアミンが、消化管の成熟化に寄与して、消化管での高分子蛋白質の透過性を低下させることも明らかにされている<sup>23)</sup>。

今回の結果から、人乳の総ポリアミン濃度は分娩後11～15日目で最も高くなり、その後ゆるやかに減少することが明らかとなった(図2～4)。一般的に、母乳成分の濃度は初乳で高く、泌乳期を経るに従って減少するか、もしくは泌乳期を通じてほぼ一定値を保つものが多い。非蛋白態窒素濃度の泌乳期変化と比べても、ポリアミン態窒素濃度の変化は特徴的である(図5)。初乳には比較的高分子の生理活性成分が含まれており、これらは体内に吸収された後に機能を発揮するともいわれている<sup>24)</sup>。したがって、初乳を摂取する間は、こうした機能成分を体内に取り込むために、乳児の消化管がある程度未熟なまま維持され、移行乳から常乳を摂取するようになる分娩後11～15日目に、ポリアミンなどの成熟化因子が消化管に作用するのではないかという仮説が、ポリアミンの特徴的な泌乳期変化から類推される。この仮説については、母乳中のその他の消化管成熟化因子(上皮細胞成長因子(EGF)やインシュリン様成長因子(IGF)など)とも合わせて、今後明らかにする必要がある。

## 結 論

未熟な消化管粘膜を成熟させると考えられているポリアミンが、人乳の非蛋白態窒素成分の一つとして含まれることを確認した。授乳期に消化管粘膜を成熟させることによって、離乳期に母乳以外の食餌成分を十分に消化できるようにしたり、異物(アレルゲンや細菌など)を体内に侵入させないようにする必要がある。母乳にはポリアミンを始めとして様々な消化管成熟化因子が含まれる。今後、こうした因子が、乳児の栄養生理学上どのような機能を発揮しているのかを明らかにす

る必要があると考える。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、母乳の提供にご協力を賜りました全国各地の病産院の先生、看護婦、栄養士の方々、およびお母様方に厚く御礼申し上げます。

尚、本稿の一部は、平成5年10月に開催された第20回日本小児栄養消化器病学会で発表した。

## 文 献

- 1) Rath, N. C., and Reddi, A. H.: Changes in polyamines, RNA synthesis, and cell proliferation during matrix-induced cartilage, bone, and bone marrow development. *Dev. Biol.* 1981; 82: 211-216.
- 2) Tabor, C. W., and Tabor, H.: 1, 4-diaminobutane (putrescine), spermidine, and spermine. *Ann. Rev. Biochem.* 1976; 45: 285-306.
- 3) 岡 考己: 最近のスペルミジンの研究について、その動物細胞での機能を中心として。蛋白質・核酸・酵素 1975; 20: 101-115.
- 4) Grant, A. L., Holland, R. E., Thomas, J. W., King, K. J., and Liesman, J. S.: Effects of dietary amines on the small intestine in calves fed soybean protein. *J. Nutr.* 1989; 119: 1034-1041.
- 5) Georges, P., Dandrifosse, G., Vermesse, F., Forget, P., Deloyer, P., and Romain, N.: Reversibility of spermine-induced in testinal maturation in the rat. *Dig. Dis. Sci.* 1990; 35: 1528-1536.
- 6) Wang, J.-Y. and Johnson, L. R.: Polyamines and ornithine decarboxylase during repair of duodenal mucosa after stress in rats. *Gastroenterology* 1991; 100: 333-343.
- 7) Wang, J. - Y., McCormack, S. A., Viar, M. J., and Johnson, L. R.: Stimulation of proximal small intestine mucosal growth by luminal polyamines. *Am. J. Physiol.* 1991; 261: G 504-G 511.
- 8) Buts, J. - P., De Keyser, N., Kolanowski, J., Sokal, E., Van Foof, F.: Maturation of villus and crypt cell functions in rat small intestine, role of dietary polyamines. *Dig. Dis. Sci.* 1993; 38: 1091-1098.
- 9) Wild, G. E., Daly, A. S., Sauriol, N., and Bennett, G.: Effect of exogenously administered polyamine on the structural maturation and enzyme ontogeny of the postnatal rat intestine. *Biol. Neonate* 1993; 63: 246-257.
- 10) Atkinson, S. A., Schnurr, C. S., Donovan, S. M., and Lönnnerdal, B.: Non-protein nitrogen components in human milk, biochemistry and potential functional role. In: Atkinson, S. A. and Lönnnerdal, B. editors. Protein and non-protein nitrogen in human milk. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1989: 117-133.
- 11) Sanguansermisri, J., György, P., and Zilliken, F.:

- Polyamines in human and cow's milk. *Am. J. Clin. Nutr.* 1974 ; 27 : 859-865.
- 12) Romain, N., Dandriofosse, G., Jeusette, F., and Forget, P. : Polyamine concentration in rat milk and food, human milk, and infant formulas. *Pediatr. Res.* 1992 ; 32 : 58-63.
  - 13) Pollack, P. F., Koldovsky, O., and Nishioka, K. : Polyamines in human and rat milk and in infant formulas. *Am. J. Clin. Nutr.* 1992 ; 56 : 371-375.
  - 14) 井戸田正, 桜井稔夫, 石山由美子, 村上雄二, 窪田潤一, 伊井直記, 坂本隆男, 土岐良一, 下田幸三, 浅居良輝 : 最近の日本人乳組成に関する全国調査 (第一報) 一般成分およびミネラル成分について. *日本小児栄養消化器病学会雑誌* 1991 ; 5 : 145-158.
  - 15) 井戸田正, 桜井稔夫, 菅原牧裕, 松岡康浩, 石山由美子, 村上雄二, 森口宏康, 竹内政弘, 下田幸三, 浅居良輝 : 最近の日本人乳組成に関する全国調査 (第二報) 脂肪酸組成およびコレステロール, リン脂質含量について. *日本小児栄養消化器病学会雑誌* 1991 ; 5 : 159-173.
  - 16) 井戸田正, 桜井稔夫, 菅原牧裕, 石山由美子, 村上雄二, 前田忠男, 矢野正幸, 下田幸三, 浅居良輝 : 最近の日本人乳組成に関する全国調査 (第三報) 総アミノ酸組成および遊離アミノ酸組成について. *日本小児栄養消化器病学会雑誌* 1991 ; 5 : 209-219.
  - 17) 川上 浩, 出家栄記, 村上雄二, 井戸田正 : 最近の日本人乳組成に関する全国調査 (第六報) 人乳ガングリオシドの泌乳期別濃度変化と脂肪酸組成に関する研究. *日本小児栄養消化器病学会雑誌* 1994 ; 8 : 36-43.
  - 18) 菅原牧裕, 石山由美子, 中埜 拓, 井戸田正 : 人乳ヌクレオチドの泌乳期変化. *日本小児栄養消化器病学会雑誌* 1992 ; 6 : 113.
  - 19) 厚生省公衆衛生局栄養課編. 昭和57年版国民栄養の現状 (昭和55年国民栄養調査成績). 東京 : 第一出版, 1982 : 31-40.
  - 20) Pegg, A. E. : Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes. *Biochem. J.* 1986 ; 234 : 249-262.
  - 21) アミノ酸代謝III. スミス, ヒル, レフコビッツ, ハンドラー, ホワイト編. 生化学. 第7版. 鈴木旺 他訳. 東京 : 広川書店, 1986 : 467-471.
  - 22) Burrin, D. G., Dudley, M. A., Reeds, P. J., Shulman, R. J., Perkinson, S., and Rosenberger, J. : Feeding Colostrum rapidly alters enzymatic activity and the relative isoform abundance of jejunal lactase in neonatal pigs. *J. Nutr.* 1994 ; 124 : 2350-2357.
  - 23) Harada, E., Hashimoto, Y., and Syuto, B. : Orally administered spermine induces precocious intestinal maturation of macromolecular transport and disaccharidase development in suckling rats. *Comp. Biochem. Physiol.* 1994 ; 109A : 667-673.
  - 24) Baintner, K. : Macromolecular absorption from the digestive tract in young vertebrates. In : Baintner, K. editor. *Intestinal absorption of macromolecules and immuno transmission from mother to young.* Boca Raton, Florida : CRC Press, 1986 : 7-55.

Polyamine composition of human milk and changes in its concentration during lactation

Nutritional Science Laboratory, Quality Assurance Department\*, Snow Brand Milk Products Co., Ltd.

Hiroshi KAWAKAMI, Taku NAKANO, Tadao MAEDA\*, Tadashi IDOTA

Polyamines are considered to be involved in cell proliferation and differentiation in many tissues, including the gastrointestinal tract. Oral administration of polyamines has been shown to induce the maturation of the intestinal mucosa in a rat model. We verified the presence of polyamines (spermine, spermidine, cadaverine, and putrescine) in human milk, and determined their concentrations by high performance liquid chromatography.

Over 2,700 specimens of human milk were obtained at 3-482 days postpartum from 2,434 mothers living in various regions of Japan in the winter and summer of 1989. Five milliliters of sample was mixed with 25 ml water, and then with 1 M perchloric acid to precipitate proteins and allow efficient extraction of polyamines. After 20 min at 4°C, the sample mixtures were filtered with filter papers and microfilters (0.45µm). The polyamine concentration of the permeate was analyzed by using a Hitachi HPLC system equipped with a cation exchange column.

Mean values of polyamines ranged (per milliliter) from 612 to 1,025ng spermine, from 384 to 723ng spermidine, and from 18 to 27ng putrescine. Cadaverine was not detected in human milk. Spermine and spermidine concentrations reached maximum at 11-15 days postpartum, and gradually decreased after 16-30 days postpartum. In addition, the variations in polyamine concentration were observed in human milk samples collected at different regions of Japan.