

34. 乳幼児の腸内フローラ形成を助長するミルク開発

東北大学 大学院農学研究科 教授 野地 智法

概要

本研究では、乳汁由来 IgA が腸内細菌に与える影響とその機能的意義を明らかにすることを目的とした。*in vitro* 解析により、研究代表者が樹立した乳汁モノクローナル IgA は *Limosilactobacillus frumenti* に対して増殖段階依存のかつ特異的に結合する一方、近縁菌には結合しないことが示された。また、乳汁モノクローナル IgA は菌の増殖には影響を与えないものの、菌体表層構造を変化させることが明らかとなり、抗原特異性に依存しない物理的作用の存在が示唆された。さらに *in vivo* 解析では、乳汁モノクローナル IgA と *Limosilactobacillus frumenti* の併用投与により、*Limosilactobacillus frumenti* 単体投与と比較し、腸内細菌叢の多様性が増加し、また、その効果は IgA の特異性に依存しないことが明らかとなった。以上の結果から、乳汁 IgA は抗原認識に加え、菌体との物理的相互作用を介して腸内環境の形成に関与することが示唆され、母乳免疫を基盤とした新たな健全育成戦略の構築に寄与する知見が得られた。

背景および目的

母乳を介した栄養素および免疫因子の供給は、乳幼児が健康に成長する上で不可欠である。特に、乳児期に腸管内で適切な微生物環境が形成されることは、腸管免疫機能の正常な発達を促進し、その結果として将来的な生活習慣病の発症リスク低減に寄与すると考えられている。この過程において、乳汁中の抗体である IgA は重要な役割を担う。

しかしながら、母乳成分は母体の健康状態に大きく依存するため、不衛生環境や栄養不良状態にある母体では、乳汁中に十分な栄養素や免疫因子が含まれない可能性がある。この課題を背景に、母乳成分を模倣した粉ミルクなどの人工乳が世界的に普及し、その市場規模も拡大している。一方で、母乳由来 IgA の質的・量的特性を正確に再現した人工乳は未だ開発されておらず、機能性人工乳開発における重要な課題となっている。

研究代表者はこれまでに、母体腸管に存在する特定の微生物が腸管免疫系に作用し、その結果として乳汁中 IgA の産生が誘導されることを明らかにしてきた。さらに、乳汁 IgA 産生を増強する母体用プロバイオティクス開発に向けた学術基盤を構築し、知財化および論文発表を行ってきた。

本研究では、研究代表者が樹立に成功した世界初の乳汁モノクローナル IgA 産生ハイブリドーマ由来の抗体を用い、産子の健全育成に資する基礎的検討を行った。さらに、複数の乳汁モノクローナル IgA 抗体が *Limosilactobacillus frumenti* に対して特異的結合性を示すことが既に確認されていることから、その分子基盤および生理的意義の解明を目的とした。

方法

本研究では、*in vitro* 試験として、*Limosilactobacillus frumenti* および近縁菌 *Lactobacillus taiwanensis* を GAM 培地で培養し、各増殖段階の菌体を回収した。乳汁由来および糞便由来のポリクローナル IgA ならびに乳汁由来モノクローナル IgA を用い、ELISA およびフローサイトメトリーにより菌体との結合性を評価した。さらに、両菌

株に対してモノクローナル IgA 添加培養系を構築し、その影響を検討した。具体的には、CFU 測定により増殖動態を解析するとともに、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて菌体表層構造の変化を観察した。統計解析には *t* 検定および Tukey 法による多重比較検定を用いた。加えて、*in vivo* 試験として、哺育期の BALB/c マウスに乳汁由来モノクローナル IgA 単独、または *Limosilactobacillus frumenti* を経口投与し、投与後の腸内細菌叢をマイクロバイオーム解析により評価した。

小課題①

結果

本研究の *in vivo* 試験において、哺育期 BALB/c マウスに対し、*Limosilactobacillus frumenti* に対する特異性を有する乳汁モノクローナル IgA および非特異的乳汁モノクローナル IgA を経口投与し、さらに *Limosilactobacillus frumenti* 添加の有無を組み合わせ解析した。その結果、IgA の特異性にかかわらず、乳汁モノクローナル IgA と *Limosilactobacillus frumenti* の併用投与により、抗体単独または菌単独投与と比較して、腸内細菌叢の α 多様性が増加することが明らかとなった。また、 β 多様性においても、菌単独投与群と比較して IgA 併用群で有意な変化が認められた。特に顕著な影響を示した乳汁モノクローナル IgA は、*Limosilactobacillus frumenti* に対する特異性を有さないものであった。

考察

本研究結果は、乳汁モノクローナル IgA の機能が、特定微生物に対する抗原特異性のみに依存しないことを示している。すなわち、IgA はモノクローナル抗体であっても、その分子構造や糖鎖修飾などの違いにより機能的多様性を有し、腸内微生物叢に与える影響が異なる可能性が示唆された。特に、非特異的 IgA において顕著な効果が認められたことは、IgA が抗原認識とは独立した機構、すなわち菌体の物理的相互作用や微生物間相互作用を調節することで、腸内環境に影響を及ぼす可能性を示していた。今後、乳汁 IgA と腸内細菌の相互作用の分子基盤およびその生理的意義を明らかにすることで、母乳免疫を基盤とした産子の健全育成戦略の構築につながると期待された。

小課題②

結果

本研究の *in vitro* 試験により、乳汁由来 IgA は *Limosilactobacillus frumenti* に対して特異的な結合性を示し、その結合は菌の増殖段階に依存して変化することが明らかとなった。特に、対数増殖期終期において結合性が有意に上昇した一方、近縁菌である *Lactobacillus taiwanensis* には結合が認められなかった。また、糞便由来ポリクローナル IgA は *Limosilactobacillus frumenti* に対して顕著な結合性を示さず、乳汁由来ポリクローナル IgA との間で明確な機能差が認められた。さらに、モノクローナル IgA を用いた解析により、結合性および非結合性 IgA の存在が確認された。IgA 添加培養の結果、添加の有無による菌の増殖速度 (CFU) には有意な変化は認められなかったが、菌体表層構造には変化が観察された。興味深いことに、この形態変化は IgA の結合特異性とは無関係に認められ、乳汁 IgA が腸内細菌に対して広範な物理的影響を及ぼし、腸内環境形成に関与する可能性が示唆された。

考察

本研究結果は、乳汁由来 IgA と腸内細菌との相互作用が、単なる抗原特異的認識では説明できない複雑な機構に基づくことを示している。すなわち、*Limosilactobacillus frumenti* に対する結合は菌の増殖段階に依存しており、菌側の表層構造が動的に変化することで IgA との相互作用が調節されている可能性が示唆された。また、乳汁 IgA と糞便 IgA で結合特性が異なることから、IgA の誘導環境や分子構造、さらには、糖鎖修飾等の違いが機能差に寄与していると考えられた。さらに、IgA は菌の増殖には影響を与えない一方で、菌体表層構造の変化や凝集を誘導することが示され、抗原特異性に依存しない物理的作用を有する可能性が明らかとなった。これらの知

見は、乳汁 IgA が哺育期の産子の腸内において、細菌の定着様式や局在を制御することで、腸内環境の形成に寄与している可能性を示唆するものであった。

(完)

発表論文

- 1) Ito K, Islam J, Sakurai K, Koyama S, Matsuo A, Okano K, Hirakawa R, Furukawa M, Nochi T. Breast milk stabilizes bacterial communities in the large intestine even after weaning. *Biochem Biophys Res Commun.*, 756:151585, 2025
- 2) Hashimoto R, Nishiyama K, Namai F, Suzuki K, Sakuma T, Fukuda I, Sugiyama Y, Okano K, Shanoh T, Toyoshi E, Ohgi R, Saha S, Tsuchida S, Nishiyama E, Mukai T, Furukawa M, Nochi T, Villena J, Ikeda-Ohtsubo W, Yoshioka G, Nakazaki E, Suda Y, Kitazawa H. Milk sialyl-oligosaccharides mediate the early colonization of gut commensal microbes in piglets. *Microbiome*, 13: 135, 2025
- 3) Satake Y, Katsura T, Zhuang T, Urakawa M, Mineshima Y, Baba T, Yoshida G, Kitazawa H, Shirakawa H, Nakamura T, Nochi T, Sakai Y, Satoh M, Haga S, Aso H, Uemoto Y. Development of prediction equations for immunoglobulin A, immunoglobulin G, and immunoglobulin M concentrations in mature milk from Holstein cows using milk infrared spectral data. *J Dairy Sci.*, 108:7354-7369, 2025
- 4) Takanashi S, Yoshimura K, Endo Y, Urakawa M, Sato H, Zhuang T, Hayashi T, Kiku Y, Nagasawa Y, Kitazawa H, Rose MT, Uemoto Y, Watanabe K, Nochi T, Aso H. Elevated levels of cyclophilin A secreted in milk during bovine mastitis. *J. Dairy Sci.*, 108: 835-844, 2025
- 5) Islam J, Ohtani N, Shimizu Y, Tanimizu M, Goto Y, Sato M, Makino E, Shimada T, Ueda C, Matsuo A, Suyama Y, Sakai Y, Karrow NA, Yoneyama H, Hirakawa R, Furukawa M, Tanaka H, Nochi T. Freeze-dried fecal microorganisms as an effective biomaterial for the treatment of calves suffering from diarrhea. *Sci. Rep.*, 14: 28078, 2024
- 6) Teshigahara A, Banba Y, Yoshida H, Kaji M, Zhou Z, Koyama N, Sakai Y, Karrow NA, Ogasawara K, Hirakawa R, Islam J, Furukawa M, Nochi T*. Formation of the junctions between lymph follicles in the Peyer's patches even before postweaning activation. *Sci. Rep.*, 14: 15783, 2024
- 7) Koyama S, Ito K, Usami K, Wada S, Yamashita T, Ikeda-Ohtsubo W, Kitazawa H, Hirakawa R, Islam J, Furukawa M, Nochi T. Broad specificity of monoclonal IgA (TEPC15-IgA) for enteric bacteria via phosphorylcholine-mediated interaction. *J. Vet. Med, Sci.*, 86: 801-808, 2024