

# 乳熱多発農家と低発生農家における乳牛の血清 酒石酸耐性酸ホスファターゼ活性値

佐藤 淳<sup>†</sup> 岡田啓司 佐藤れえ子 安田 準 内藤善久

岩手大学農学部 (〒020-8550 盛岡市上田3-18-8)

(2002年3月29日受付・2002年6月15日受理)

## 要 約

乳牛の各泌乳期における骨代謝の変化ならびに乳熱発生との関連性を観察する目的で、乳熱発生率の低い2戸の農家(農家AおよびB)と発生率の高い2戸の農家(農家CおよびD)で飼養されている乳牛83頭について、乾乳期、泌乳初期、泌乳最盛期、泌乳中期および泌乳後期における血清酒石酸耐性酸ホスファターゼ(TRAP)活性値を測定した。農家AおよびBでは血清TRAP活性値は乾乳期に比べ泌乳全期で高い傾向を示した。一方、農家Dではすべての期間において血清TRAP活性値は他の農家に比べ低い値を示し、特に乾乳期の骨吸収の低下が乳熱発生の一因であることが考えられた。また、農家Cの血清TRAP活性値は乾乳期では農家AおよびBとほぼ同じ値を示し、乳熱発生の原因は骨吸収量の低下ではなく、特に年齢的な要因が考えられた。——キーワード：乳牛、酒石酸耐性酸ホスファターゼ。

日獣会誌 55, 580～583 (2002)

乳熱は分娩前後に発生する代謝性疾患で、産乳の開始に伴う血中カルシウム(Ca)濃度の低下に起因して発生する[5, 6]。通常、血中Ca濃度は腎、骨および腸管からの吸収と排泄、それらに参与する上皮小体ホルモン(PTH)、カルシトニンおよび活性型ビタミンDによって恒常性が維持されている[7]。分娩前後の乳牛は急激な産乳によりCa代謝の恒常性が破綻し、乳熱を発症する[5, 6]。骨代謝の活性化に着目した乾乳期における低Ca飼料の給与[4, 8]や飼料中の陽陰イオン差(Dietary cation anion difference, DCAD)の調節[2, 11]など、これまでに多くの予防法が開発され効果がみとめられている。

人や実験動物では骨代謝を評価するために尿中や血中の多くの骨代謝マーカーが開発され、臨床診断や治療効果のモニタリング等に広く利用されている[1, 15]。乳牛では血中のヒドロキシプロリン濃度によって骨代謝の評価は行われてきた[2, 3]。最近ピリジノリンやデオキシピリジノリンなど、コラーゲン架橋の代謝産物の尿中排泄量が骨代謝の評価に利用されている[10]。

破骨細胞に多く含まれている酒石酸耐性酸ホスファターゼ(Tartrate-resistant Acid Phosphatase, TRAP)は人で汎用されている骨代謝マーカーである[1, 9, 12, 15]。牛においても、血清TRAP活性値の有用性が確認されている[14]。血清中のTRAP活性値は、通常赤血

球などにもTRAPが含まれていることから、破骨細胞に由来するTRAPを特異的に測定する必要があり、このためいくつかの測定法が報告されている[9, 12]。今回、乳熱発生率の低い農家と高い農家で飼養されている乳牛について、血清TRAP活性値測定を行い骨代謝活性を評価すると同時に乳熱との関連性について検討し、あわせて骨代謝に及ぼす給与飼料成分の影響について検討を加えた。

## 材料および方法

**調査対象農家：**岩手県内の乳熱発生率の低い農家2戸(農家AおよびB)と高い農家2戸(農家CおよびD)の計4戸。過去1年間に乳熱の発生率はそれぞれ、農家Aでは1.49%、農家Bでは2.04%、農家Cでは15.0%および農家Dでは12.5%であった。また、各農家の経産牛1頭当たりの305日補正乳量は、それぞれ9,348kg、10,101kg、9,646kgおよび8,529kgであった。

**供試動物：**各農家で飼養されている臨床的に健康なホルスタイン種乳牛83頭を供試した。供試牛は給与飼料が異なるため、各泌乳期を、乾乳から分娩までを乾乳期、分娩後8～50日を泌乳初期、51～110日を泌乳最盛期、111～220日を泌乳中期、221日以降から乾乳までを泌乳後期の5つの泌乳期に分けた。各農家における泌乳期別、年齢別の供試頭数ならびに平均年齢を表1に

<sup>†</sup> 連絡責任者：佐藤 淳 (岩手大学農学部臨床獣医学講座獣医内科学研究室)

〒020-8550 盛岡市上田3-18-8 ☎・FAX 019-621-6276

示した。なお、農家Bでは泌乳後期の牛はいなかった。

**給与飼料：**各農家の給与飼料はTMR主体で、体重と泌乳量から算出した必要量 [13] に対する供給量の割合から給与飼料のDM, TDN, CP, CaおよびPの充足率を算出した。各成分の充足率と給与飼料のCa/P比を表2に示した。

**検査項目および検査方法：**供試牛から採取した血液は常法に従い血清を分離した後、測定に供するまで-20℃で遮光保存した。血清中のCaと無機リン (iP)

a) 自動分析用カルシウム「RD」, ロッシュ・ダイアグノステイクス, 東京。

Lタイプワコー無機リン, 和光純薬工業, 東京。

b) Automatic Analyzer 7060, 日立製作所, 東京。

表1 各農家ごとの泌乳期別, 年齢別供試頭数, 供試牛の平均年齢および乳熟発生率

	農家A	農家B	農家C	農家D
乾乳期	5	3	2	8
泌乳初期	4	3	4	3
泌乳最盛期	4	6	2	5
泌乳中期	4	8	4	4
泌乳後期	4	0	4	6
2歳齢	6	6	2	6
3歳齢	4	6	4	9
4歳齢	3	4	2	4
5歳齢	4	0	2	3
6歳齢	1	3	1	4
7歳齢以上	3	1	5	0
合計(頭)	21	20	16	26
平均年齢(歳)*	4.0±1.9	3.6±1.6	4.9±2.3	3.6±1.4
乳熟発生率(%)	1.49	2.04	15.0	12.5

\*: 平均±標準偏差。

表2 各農家におけるDM, TDN, CP, CaおよびPの充足率と給与飼料中Ca/P比

	乳熟発生率の低い農家											
	農家A—充足率(%)						農家B—充足率(%)					
	DM	TDN	CP	Ca	P	Ca/P	DM	TDN	CP	Ca	P	Ca/P
乾乳期	134	107	121	96	89	1.7	96	91	112	105	100	1.7
泌乳初期	100	102	105	133	106	1.9	104	89	110	148	113	2.1
泌乳最盛期	101	102	106	136	115	1.9	99	98	103	139	106	2.1
泌乳中期	102	102	107	143	119	1.9	94	93	95	127	97	2.1
泌乳後期	102	102	107	141	117	1.9	—	—	—	—	—	—
	乳熟発生率の高い農家											
	農家C—充足率(%)						農家D—充足率(%)					
	DM	TDN	CP	Ca	P	Ca/P	DM	TDN	CP	Ca	P	Ca/P
乾乳期	132	115	86	104	66	2.5	135	118	158	87	153	0.9
泌乳初期	98	100	100	124	120	1.6	96	96	97	105	125	1.4
泌乳最盛期	99	101	100	131	109	1.9	96	96	97	106	126	1.4
泌乳中期	99	103	100	128	115	1.7	98	98	99	104	118	1.4
泌乳後期	100	101	100	130	114	1.8	101	100	101	116	120	1.6

DM: 乾物量, TDN: 可消化養分総量, CP: 粗蛋白質, Ca: カルシウム, P: リン。

濃度は、それぞれ市販の測定試薬<sup>a)</sup>を用いて自動分析器<sup>b)</sup>により測定を行った。また、血清TRAP活性値はLauら [9]の方法を一部改変して行った。破骨細胞由来のTRAPを特異的に測定するためにNakanishiら [12]の方法に従い、ヘパリンナトリウム (23,000U/l)を加え、反応基質液のpHを6.6に調節して測定を行った。

**統計処理：**各農家の同泌乳期における比較は、一元配置分散分析を行った後、有意差があった場合にScheffe法によって多重比較を行った。いずれの統計処理においても危険率5%未満の場合に有意差があるものと判断した。

### 成 績

**各農家における供試牛の血清TRAP活性値 (図1)：**各供試牛の血清TRAP活性値は、各農家および分娩後日数によって似かよった値が観察された。

**各農家の各泌乳期における血清TRAP活性値 (図**

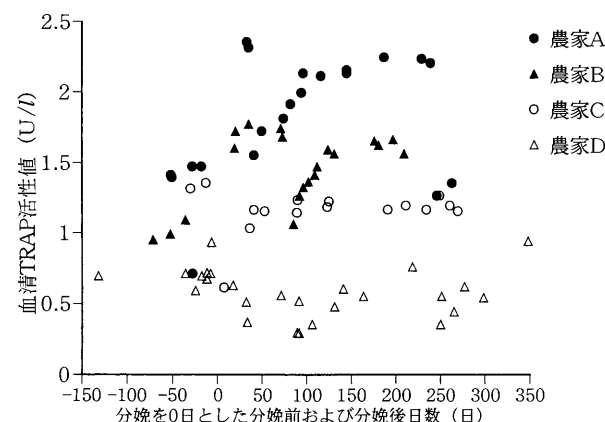


図1 各農家における各供試牛の血清TRAP活性値

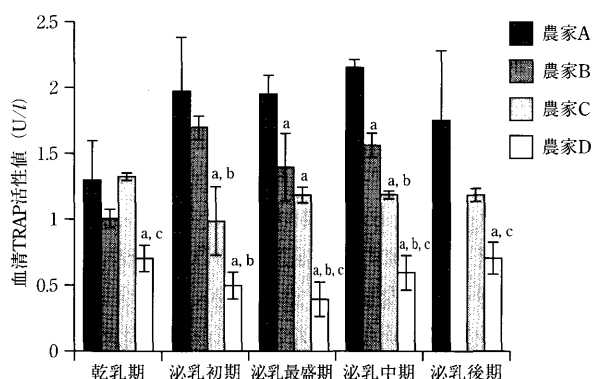


図2 各農家の各泌乳期における血清TRAP活性値

- a : 農家Aとの間に有意差あり.
- b : 農家Bとの間に有意差あり.
- c : 農家Cとの間に有意差あり.

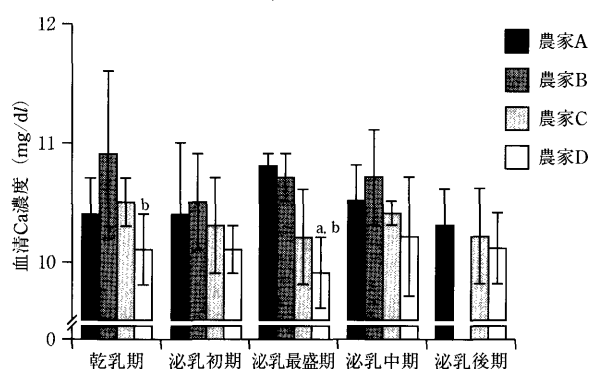


図3 各農家の各泌乳期における血清Ca濃度

- a : 農家Aとの間に有意差あり.
- b : 農家Bとの間に有意差あり.

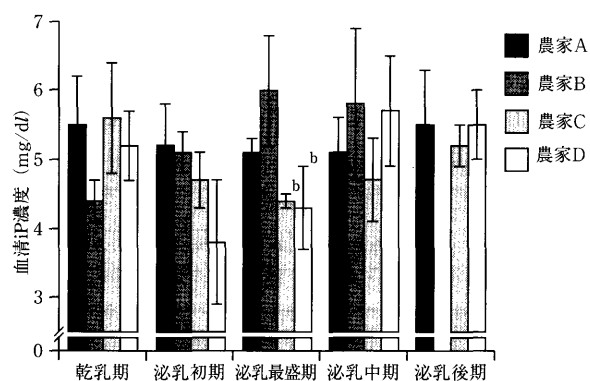


図4 各農家の各泌乳期における血清iP濃度

- b : 農家Bとの間に有意差あり.

2) : 農家Dではすべての期間において他の農家に比べ低い値を示した。また、乾乳期を除いて農家Cでは農家AとBに比べ低い値を示した。乾乳期と泌乳初期から後期の比較では、農家AとBでは乾乳期に比べ泌乳初期から後期でやや高い値を示したが、農家CとDでは乾乳期と泌乳初期から後期で大きな変化は認められなかった。各泌乳期における各農家間の有意差を図2に示した。

各農家の各泌乳期における血清Ca濃度(図3) : 農家CとDは農家AとBに比較して泌乳初期から後期では低い傾向を示した。特に農家Dではすべての期間に他の農家に比べ低い値を示し、乾乳期と泌乳最盛期では有意に低かった。各泌乳期における各農家間の有意差を図3に示した。

各農家の各泌乳期における血清iP濃度(図4) : 農家CおよびDでは泌乳最盛期にそれぞれ低値を示し、有意差が認められた。各泌乳期における各農家間の有意差を図4に示した。

### 考 察

TRAPは破骨細胞に多く含まれている酵素の一つで、その血清中活性値は骨吸収の程度を反映する骨吸収マーカーとして広く利用されている [1, 9, 12, 15]。乳熱発生率の低い農家A, Bと高い農家C, Dで飼養されている乳牛の各泌乳期における血清TRAP活性値を測定した結果、農家AおよびBと農家CおよびDに明確な違いが観察された。すなわち、農家AおよびBでは乾乳期に比べ泌乳全期でやや高い値を示したが、農家CおよびDでは乾乳期と泌乳全期の間には大きな変化は観察されず、骨代謝活性の違いが観察された。農家Dではすべての期間に低値を示したが、特に乾乳期の骨代謝の不活性化状態の持続は乳熱発生の一因となりうることが示唆された。

農家Dの泌乳期における給与飼料のCa充足率は100%は越えているものの、他の農家に比べて低く、血清Ca濃度は他の農家に比べ乾乳期と泌乳全期で低い傾向にあった。血中Ca濃度が低下するとPTHの分泌が刺激され、骨吸収は活性化されるが [5, 7]、農家Dでは血清Ca濃度がやや低い値を示したにもかかわらず、骨吸収は血清TRAP活性値から不活性化状態が観察された。血中Ca濃度の低下時にはPTHの他に、活性型ビタミンDの血中濃度が増加して腸管からのCa吸収が促進されるが、一方で増加した活性型ビタミンDは上皮小体には抑制的に働きPTHの分泌を抑制することが知られている [7]。今回PTHや活性型ビタミンDの定量は行っていないため、これらと骨代謝との関係を正確に把握することはできないが、農家Dの骨代謝の不活性化状態の原因は低いCa充足率に伴って増加した活性型ビタミンDの関与が推察された。しかし、骨代謝を含むCa調節系は飼料成分をはじめとした多くの要因によって影響を受けるため [7]、さらに詳細な検討が必要である。

また、加齢による乳牛の血清TRAP活性値に及ぼす影響は少ないとされている [14]。各農家ごとの分娩後日数が近似した供試牛ではほぼ同じ血清TRAP活性値が観察されていることから、骨代謝は年齢的な影響よりも、給与飼料に影響をより強く受けることが示唆された。

農家Cでは農家AおよびBに比べ乾乳期の血清TRAP活性値に大きな違いは認められなかったことから、農家Cの乳熱発生要因は骨代謝以外にあることが考えられた。加齢に伴い腸管での飼料中Caの吸収量は減少するため、乳熱の発生は5歳齢以上の乳牛に多発することが知られている [5]。農家Cの供試牛は他の3農家に比べ5歳齢以上の供試牛の割合が多く、年齢的な要因も乳熱の多発に関わっていることが示唆された。

今回はDCADについて調査は行わなかったが、DCADの調整により骨代謝も影響を受けるため [2, 11], 乳熱発生との関連性も含めた検討が必要である。

本試験の結果から、乳熱が多発する農家Dでは低いTRAP活性値が観察され、非活発的な骨代謝が乳熱の発生原因となっていることが示唆された。2戸の乳熱多発農家では、乾乳期と全泌乳期においてTRAP活性値の変化がないことも特徴的な所見であった。乳熱の発生に骨代謝がどの程度関与するかについては不明であるが、今後乳熱予防の一環として血清TRAP活性値の測定は有用であると考えられた。

最後に本研究にご指導いただいた福田 俊先生(放射線医学総合研究所)ならびに高橋直之先生(松本歯科大学)に深謝する。

#### 引用文献

[1] Cosman F, Nieves J, Wilkinson C, Schnering D, Shen V, Lindsay R : *Calcif Tissue Int*, 58, 236-243 (1996)

- [2] Goff JP, Horst RL : *J Dairy Sci*, 80, 176-186 (1997)  
 [3] Goff JP, Horst RL : *J Dairy Sci*, 81, 2874-2880 (1998)  
 [4] Green HB, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET : *J Dairy Sci*, 64, 217-226 (1981)  
 [5] Hester NL, Yates DJ, Hunt E : *Large Animal Internal Medicine*, Smith BP ed, 2nd ed, 1464-1471, Mosby, St. Louis (1996)  
 [6] Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA, Buxton DR : *J Dairy Sci*, 80, 1269-1280 (1997)  
 [7] Kanako JJ : 獣医臨床生化学, 第4版, 久保周一郎, 他監訳, 682-754, 近代出版, 東京  
 [8] Kichura TS, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET : *J Nutr*, 112, 480-487 (1982)  
 [9] Lau KHW, Onishi T, Wergedal JE, Singer FR, Baylink DJ : *Clin Chem*, 33, 458-462 (1987)  
 [10] Liesegang A, Sassi ML, Risteli J, Eicher R, Wanner M, Riond JL : *J Dairy Sci*, 81, 2614-2622 (1998)  
 [11] Moore SJ, VanderHaar MJ, Sharma BK, Pilbeam TE, Beede DK, Bucholtz HF, Liesman JS, Horst RL, Goff JP : *J Dairy Sci*, 83, 2095-2104 (2000)  
 [12] Nakanishi M, Yoh K, Miura T, Ohashi T, Rai SK, Uchida K : *Clin Chem*, 46, 469-473 (2000)  
 [13] 乳牛の飼養標準 NRC飼養標準第6版全訳, 佐藤正三監訳, デイリージャパン, 東京 (1990)  
 [14] Sato J, Okada K, Fukuda S, Sato R, Yasuda J, Naito Y : *J Vet Med Sci*, 64, 653-655 (2002)  
 [15] Woitge HW, Pecherstorfer M, Li Y, Keck A, Horn E, Ziegler R, Seibel M : *J Bone Miner Res*, 14, 792-801 (1999)

### Serum Activity of Tartrate-resistant Acid Phosphatase in Cows from Farms Where Milk Fever was Frequent and Farms Where It Was Rare

Jun SATO<sup>†</sup>, Keiji OKADA, Reeko SATO, Jun YASUDA and Yoshihisa NAITO

*Faculty of Agriculture, Iwate University, 3-18-8 Ueda, Morioka, 020-8550, Japan*

#### SUMMARY

To observe changes in bone metabolism and associations between it and the development of milk fever, we investigated serum tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) activity at each lactating stage in 83 cows. The animals were from farms A and B, where milk fever occurred rarely, and farms C and D, where it was frequent. On farms A and B, serum TRAP activity was higher at lactation stages than at dry stages. On farm D at all stages it was lower than on the other farms. Apparently, on farm D, inactive bone resorption during the dry stage accounted for frequent occurrences of milk fever. In the dry stage, the level of serum TRAP activity was at almost the same level on farm C as on farms A and B. These findings suggest that, on farm C, frequent occurrence of milk fever resulted not from reduced bone resorption, but from an age factor.

— Key words : cow, tartrate-resistant acid phosphatase.

<sup>†</sup> Correspondence to : Jun SATO (Faculty of Agriculture, Iwate University)

3-18-8 Ueda, Morioka 020-8550, Japan TEL · FAX 019-621-6276

*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 55, 580 ~ 583 (2002)