

放牧の多面的効果を活かしたビタミンD強化牛乳の生産

宇都宮大学農学部（附属農場）：長尾 慶和、山口 美緒

要旨

現在における食生活の多様化および強い美容意識が結果的に体内におけるビタミンD (VD) 不足をもたらしている。アメリカ、カナダ、オーストラリアなどでは、VD と免疫あるいは慢性病との関連性の報告を受け、VD の摂取目安量を以前の2～3倍に引き上げた。元々、魚介類を頻繁に食べない欧米人は、牛乳にVD を添加およびサプリメント摂取でその不足を防いできた。しかし日本では、VD の血中濃度の目標値は従来のままであり、また食品中への添加剤を好まない食文化により、牛乳中へのVD 添加も行われていない。

そこで、我々は放牧、すなわち日光浴と生草摂取によるVD 強化牛乳について着目した。宇都宮大学農学部附属農場で飼養されている成牛ホルスタイン種泌乳中6頭を用い、実験区と対照区がそれぞれ3頭になるように振り分けた。2013年5～6月中に実験区を5時間放牧場に放牧し生草摂取および日光浴をさせ、対照区を生草摂取なしおよび日光浴または舎内繋留にした。晴天日の夕方搾乳において生乳をサンプリングした。

その結果、乳量および乳中IgM 濃度において放牧区が対照区と比較して有意に高く、乳中25-ヒドロキシVD (25-OHD₃) 濃度、乳中IgA 濃度および乳中IgG 濃度において放牧区が対照区と比較して高い傾向にあった。しかしながら、乳中25-OHD₃ 濃度と他の項目の間に相関性は見られなかった。

これらのことから、放牧（日光浴）は乳中に自然なVD 濃度および免疫グロブリン濃度を増加させ、ウシおよびこの乳を飲んだヒトにおける健康促進に寄与できる可能性があることが示唆された。

緒言

近年、日本の食生活は、魚介類・野菜・穀物食中心から肉食中心へと変わってきた。更に菓子類やジャンクフードといった栄養が偏る食品も多く消費されている。魚介類にはVDが豊富に含まれているので、従来日本人は十分な量のVDを食事で得ることが出来たが、肉食中心の食生活への変化はVD不足のリスクを高めている。また、VDは十分に日光を浴びていれば食事から摂取する必要はないが、日焼けによる皮膚ガンのリスクや美容目的により、日焼け止め剤の使用や、皮膚を服でカバーする人が増えたため、皮膚での十分なVD合成が出来なくなっている。また、年齢とともに皮膚でのVD合成量が低下することが知られている¹⁾。

VDは、カルシウム (Ca) 調整ホルモンである1,25-ジヒドロキシVD ($1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$) を生産するための前駆物質として重要である。ウシを含む大部分の哺乳動物は、皮膚に紫外線を受けることで7-デヒドロコレステロールをVD₃へ転換することにより、VDを皮膚中で生産できる。皮膚や飼料から供給されたVDは迅速に運搬され肝臓に貯蔵され、25-OHD₃に転換されて血中に放出される。25-OHD₃は腎臓で $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ に変換される。このホルモンは、腸管上皮細胞を通過するCaとリン(P)の能動輸送を増大させ、同時に上皮小体ホルモンの作用を強化して骨からのCaの再吸収を増加させる。この2つの作用は、生体内におけるCaとPの恒常性の維持のために必須である。VDが不足すると、CaとPの恒常性を維持できなくなり、その結果、血中のPが低下し、Caも低下する。これらが原因となって、クル病や骨軟症になる。これらはいずれも骨の病気であり、主要な機能障害は骨組織の無機化不全である。 $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ は、この作用の他に、免疫機能の維持にも関与している²⁾。 $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ は体液性免疫を促進し、同時に細胞性免疫を抑制するとされている³⁾。アメリカ、カナダ、オーストラリアなどでは、VD

と免疫あるいは慢性病との関連性の報告を受け、VD の摂取目安量を以前の2～3倍に引き上げた。元々、魚介類を頻繁に食べない欧米人は、牛乳にVD を添加およびサプリメント摂取でその不足を防いできた。日本では、VD の血中濃度の目標値は従来のままであり、また食品中への添加剤を好まない食文化により、牛乳中へのVD 添加も行われていない。

そこで、我々は放牧、すなわち日光浴と生草摂取によるVD 強化牛乳について着目した(図1)。乳牛の飼養管理においては、効率化を主眼においた繋留飼養、あるいはフリーストールによるTMR (Total Mixed Rations) の大量給与が主流である。しかしながら我々は、栄養学的および動物福祉学的側面に着目して乳牛の放牧の効果を評価している(山口ら、第115回日本畜産学会および第116回日本畜産学会)。これまでに放牧は牛乳中にビタミンEやβ-カロテンなど放牧草特有成分を増加させることが明らかとなり、飲用としての付加価値向上や乳牛の免疫機能を促進させることが示唆されている。これらと同様に、生草の自由摂取による生草特有成分の摂取と、日光浴による乳牛のVD 合成の促進は、結果的に生乳中VD 濃度の増加をもたらす可能性がある。添加剤を使用することなく、放牧によりVD をはじめとする機能的栄養成分を自然に高められることが明らかになれば、消費者が求めるより安心・安全で高機能な牛乳を提供できる。その結果、放牧を取り入れた生乳の差別化や動物福祉に配慮した飼養管理体系の普及にも貢献できるだろう。しかしながら、これまでに異なる飼養管理の乳牛から得られた生乳中におけるVD 濃度の比較については報告されていない。

本研究では、放牧による生草摂取および日光浴により生乳中にVD が増加するか否かおよびウシ自身の健康状態に及ぼす影響について検討した。

実験方法

1. 供試動物

宇都宮大学農学部附属農場で飼養されている成牛ホルスタイン種全飼養頭数17頭中、泌乳中6頭を用いた。放牧区と対照区がそれぞれ3頭になるように振り分けた。平均産次数は実験区については 2.00 ± 0.58 回、対照区については 3.67 ± 0.67 回である。泌乳日数は実験区については 216 ± 91.9 日、対照区については 228 ± 27.2 日である。

2. 飼養管理

供試牛の飼養管理スケジュールを図2に示した。供試牛は牛舎にパイプストールで繋留し、9:30から14:00まで放牧した。この時間を日光浴の時間とした。供試牛には7:00と15:00の1日2回、日本飼養標準⁴⁾に従いコーンサイレージ、自家配合飼料(図3)およびオーチャードグラスを主とする乾草を給与した。水は自由摂取とした。放牧するための放牧地は3カ所ある。合計4haで、1頭当たり平均面積は22.2aとなっている。牧草品種はイネ科のオーチャードグラス、トールフェスク、ケンタッキーブルーグラス、ペレニアルライグラス、ハイブリッドライグラスやマメ科の白クローバーの混播牧草である。乳牛の試験中の取り扱いおよび飼養管理は、宇都宮大学実験動物倫理規定に従って行われ、試験内容と共に宇都宮大学動物実験専門委員会に承認されたものである。

3. 実験区の設定

実験期間は2013年5月15日から同年6月14日までとした。放牧地に放たれたウシを放牧区とした(図4)。対照区は5月15日から同月21日まで日光浴は出来るが生草は摂取不可能とした条件下(以下、運動場区)(図5)、6月3日から同月9日まで舎内

繋留および窓に遮光設置なしとした条件下（以下、舎内（日光+）区）、6月10日から同月16日まで舎内繋留および窓に遮光設置ありとした条件下（以下、舎内（日光-）区）に置かれた（図6）。

4. 生乳サンプルの採取

生乳サンプルの採取は、各条件下における晴天となった日の夕方に行った。バルク乳を全頭平均とした。個体乳については、ミルクメーター付ミルクユニット (Strangko, Denmark) にサンプル瓶を設置して採取した。また、搾乳時に乳量も計測した。採取した生乳は15ml および50ml コニカルチューブに分注した後、分析に用いるまで-20℃で凍結保存した。

5. サンプルの分析

凍結生乳を融解後、乳中25-OHD₃濃度については25(OH)-Vitamin D Xpress ELISA Kit (Immundiagnostik)、IgA濃度についてはBovine IgA ELISA Quantitation Set (Bethy Laboratories, Inc.)、IgG濃度についてはBovine IgG ELISA Quantitation Set (Bethy Laboratories, Inc.)、IgM濃度についてはBovine IgM ELISA Quantitation Set (Bethy Laboratories, Inc.) を用いて、プレートリーダー (ARVO X, PerkinElmer) で分析した。測定値がCV値<10%になるように行った。

6. 紫外線強度測定

放牧場および牛舎内における紫外線強度をデジタル紫外線強度計 (UV-340C, 株式会社カスタム) (図7) を用いてサンプル採取日に測定を行った。

7. 統計解析

乳中成分の分析により得られたデータは平均値±標準誤差 (SEM) で示し、分散分析およびポストホックテストとして **Fisher's PLSD** 法により統計解析を行った。危険率 5%以下で有意差ありとした。

結果

乳量は、放牧区 ($7.40 \pm 2.02 \text{kg}$) において舎内 (日光+) 区 ($3.20 \pm 0.15 \text{kg}$) および舎内 (日光-) 区 ($2.70 \pm 0.61 \text{kg}$) と比較して有意に高かった (図 8)。

乳中 25-OHD₃ 濃度は、全区間において有意な差は見られなかったが (図 9)、対照区と比較して放牧区において高い傾向があった。運動場区においては放牧区との差は見られなかったが、舎内 (日光+) 区および舎内 (日光-) 区において低い傾向にあった。

乳中 IgA 濃度は、全区間において有意な差は見られなかったが (図 10)、対照区と比較して放牧区において高い傾向があった。

乳中 IgG 濃度は、全区間において有意な差は見られなかったが (図 11)、対照区と比較して放牧区において高い傾向があった。

乳中 IgM 濃度は、放牧区 ($97.4 \pm 17.0 \mu \text{g/ml}$) において運動場区 ($28.3 \pm 12.8 \mu \text{g/ml}$) および舎内 (日光+) 区 ($40.3 \pm 6.51 \mu \text{g/ml}$) と比較して有意に高かった (図 12)。

乳中 25-OHD₃ 濃度と、乳量、乳中 IgA 濃度、乳中 IgG 濃度および乳中 IgM 濃度それぞれにおいて相関性は認められなかった (図 13-16)。

考察

乳量については、放牧区において個体差が見られたが、対照区において個体差が小さいものの低下が見られたことから、運動場における他の牛群と隔離状態および舎内繫留によるウシの精神的および肉体的ストレスが乳量低下をもたらした可能性がある。産次
数および泌乳日数については実験区と対照区はほぼ同等と設定したため、これらの影響
によるものではない。

乳中 25-OHD₃濃度は、放牧区において高い値を維持しており、過去の報告^{5,6)}よりも
数倍高い値を示した。Bowland⁷⁾は、放牧されたウシから得られた乳は他の時期と比
較してわずかに多いVD濃度を持つことを報告した。Chick⁸⁾も、放牧することによ
る乳質の影響からウシに日光浴をさせることは重要決定因子であると述べている。低緯
度地域において日光にさらされた動物は、飼料中にVDを必要としない。しかしながら、
近年の日本では放牧飼養体系から、舎内で飼育し貯蔵飼料や副産物を給与する体系に移
行しつつあることから、乳牛の飼料にVDを添加する必要性が増している。本研究にお
いて、放牧区と対照区について有意な差が見られなかったことは、天日乾燥された乾草
は十分な量のVDを供給でき、VD欠乏を防止できる⁹⁾という報告から、生草の代わり
に宇都宮大学で天日乾燥した乾草を給与したことによるVD補給が行われていたことが
考えられる。また、25-OHD₃の半減期は約30日¹⁰⁾であるので、本研究の条件変更期間
が短かったために、舎内区においても大きく低下しなかった可能性がある。さらに、ヒ
トにおいて年齢および肌の色によって皮膚上のVD合成量が異なることは知られており、
ウシにおいても数値に個体差が大きいことから様々な要因が影響している可能性がある。

乳中IgA濃度、IgG濃度、IgM濃度は放牧されているウシにおいて高い傾向にあった。
過去の報告^{11, 12, 13)}と比較して、本研究では特にIgA濃度が高かった。IgGは血漿タンパ

ク質中から乳腺細胞によって選択的に吸収されて乳へ移行する。IgA および IgM は乳腺上皮細胞に接する形質細胞で合成される。IgA は腸管および他の粘膜で病原微生物を凝集して付着を防止する働きを持っており、IgM も IgA と同様に微生物を凝集して殺菌する働きを示す。放牧させたウシの乳には生草特有成分であるβ-カロテン濃度が豊富に含まれており、これが IgA 抗体分泌細胞を増加させ¹⁴⁾、IgA 濃度が高くなったと考えられる。

25-OHD₃ および乳量間に相関が見られなかったことは、VD は量依存的でない可能性がある。また、IgA、IgG および IgM との間にも相関が見られなかった。25-OHD₃ が変換した 1,25-(OH)₂D₃ において体液性または細胞性免疫を促進するという報告があるが、体内において一定濃度を保つので、25-OHD₃ が増加しても 1,25-(OH)₂D₃ が増加しなかったことが考えられる。

よって、本研究の結果から、放牧(日光浴)したウシから得られた乳中 25-OHD₃ (VD) 濃度が増加する傾向にあることが明らかとなった。また、放牧は 25-OHD₃ 濃度とは無関係に乳中免疫グロブリン類濃度も増加させる傾向にあることも明らかとなった。これらのことから、放牧(日光浴)は乳中に自然な VD 濃度および免疫グロブリン濃度が増加させ、ウシおよび放牧されたウシから得られた乳を飲んだヒトにおける健康促進に寄与できる可能性が示唆された。

本研究において、宇都宮大学で飼養しているウシの泌乳時期、健康状態および VD 値の血中個体差を考慮した結果、供試牛が限定されてしまった。その結果、統計学的に有意差が得られた項目は乳量および IgM だけとなった。しかしながら、VD を含む他の項目に置いても、放牧飼養に比較して舎飼飼養に値が低くなる傾向は明らかである。今後、追試頭数の増加、試験実施期間の延長、測定項目の追加などにより、放牧すなわち日光浴と青草摂取が VD をはじめとする乳成分を向上させる効果を明らかにすることができれば、生乳成分に人為的な操作を加えることのない消費者が求めるより安心・安全な VD 強化牛乳の生産体系を提案できるだろう。今後の継続的な試験実地を強く希望する。

文献

- 1) MacLaughlin J, Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D₃. *J Clin Invest.* 1985;76(4):1536-8.
- 2) Reinhardt TA, Hustmyer FG. Role of vitamin D in the immune system. *J Dairy Sci.* 1987;70(5):952-62.
- 3) Daynes RA, Araneo BA, Hennebold J, Enioutina E, Mu HH. Steroids as regulators of the mammalian immune response. *J Invest Dermatol.* 1995;105(1Suppl):14S-19S.
- 4) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構編. 日本飼養標準・乳牛 (2006 年版). 社団法人 中央畜産会. 2008.
- 5) Hollis BW, Roos BA, Draper HH, Lambert PW. Vitamin D and its metabolites in human and bovine milk. *J Nutr.* 1981;111(7):1240-8.
- 6) Reeve LE, Jorgensen NA, DeLuca HF. Vitamin D compounds in cows' milk. *J Nutr.* 1982;112(4):667-72.

- 7) Bowland JP, Grummer RH, Phillips PH, Bohstedt G. Seasonal variation in the fat, vitamin A, and vitamin D content of sow's colostrum and milk. *J Anim Sci.* 1951;10(2):533-7.
- 8) Chick H, Roscoe MH. Influence of Diet and Sunlight upon the Amount of Vitamin A and Vitamin D in the Milk afforded by a Cow. *Biochem J.* 1926;20(3):632-49.
- 9) Thomas JW, Moore LA. Factors Affecting the Antirachitic Activity of Alfalfa and Its Ability to Prevent Rickets in Young Calves. *J Dairy Sci.* 1951;34(9):916-28.
- 10) Hollis BW, Conrad HR, Hibbs JW. Changes in plasma 25-hydroxycholecalciferol and selected blood parameters after injection of massive doses of cholecalciferol or 25-hydroxycholecalciferol in non-lactating dairy cows. *J Nutr.* 1977;107(4):606-13
- 11) Porter P. Immunoglobulins in bovine mammary secretions. Quantitative changes in early lactation and absorption by the neonatal calf. *Immunology.* 1972;23(2):225-38.
- 12) Butler JE, Kiddy CA, Pierce CS, Rock CA. Quantitative changes associated with calving in the levels of bovine immunoglobulins in selected body fluids. I. Changes in the levels of IgA, IgG1 and total protein. *Can J Comp Med.* 1972;36(3):234-42.

13) Guidry J, Butler JE, Pearson RE, Weinland BT. IgA, IgG1, IgG2, IgM, and BSA in serum and mammary secretion throughout lactation. *Vet Immunol Immunopathol.* 1980;1(4):329-41.

14) Nishiyama Y, Sugimoto M, Ikeda S, Kume S. Supplemental β -carotene increases IgA-secreting cells in mammary gland and IgA transfer from milk to neonatal mice. *Br J Nutr.* 2011;105(1):24-30.

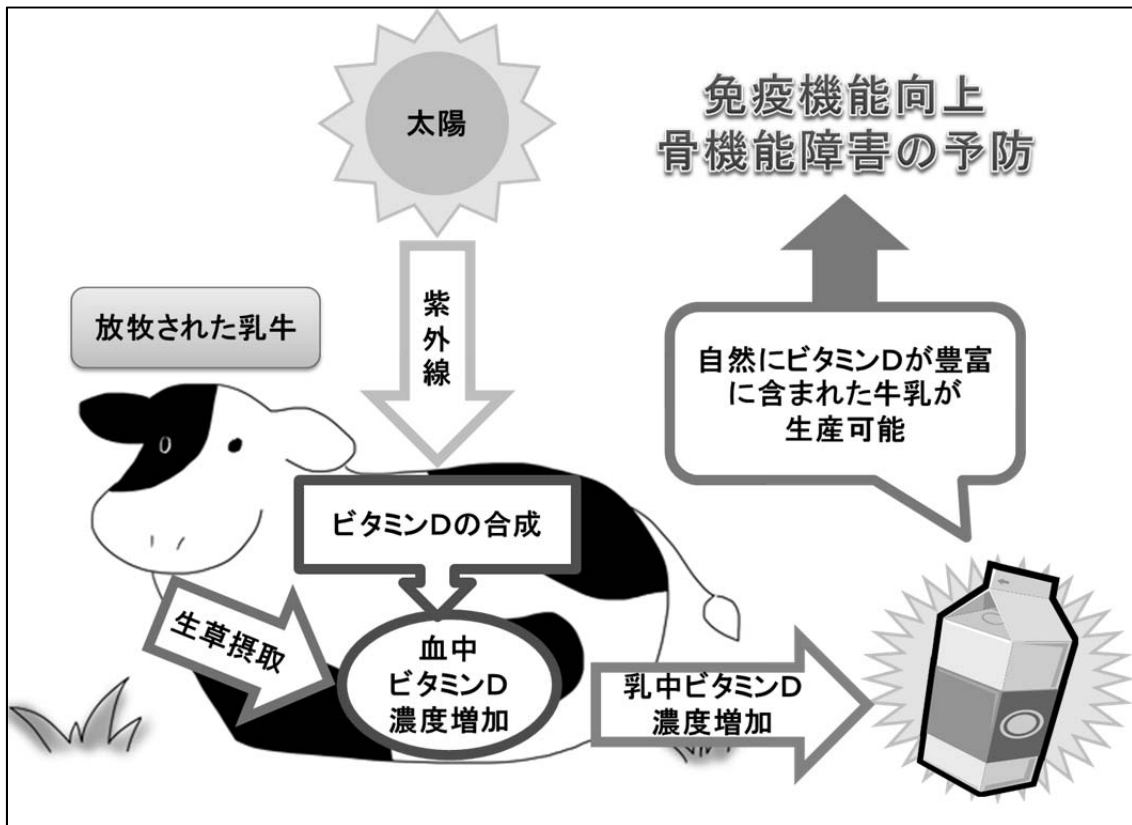


図1. 日光浴におけるVD合成によるVD強化牛乳生産の流れ



図2. 宇都宮大学農学部附属農場における乳牛の飼養管理スケジュール

品目名
米糠
大麦
麩
トウモロコシ
大豆粕
綿実
第2燐酸カルシウム
食塩
ビタミン剤

図3. 宇都宮大学で調製している濃厚飼料配合品目



図4. 放牧の様子



図5. 運動場区の様子



図6. 牛舎内の様子



図7. デジタル紫外線強度計 (UV-340C, 株式会社カスタム)

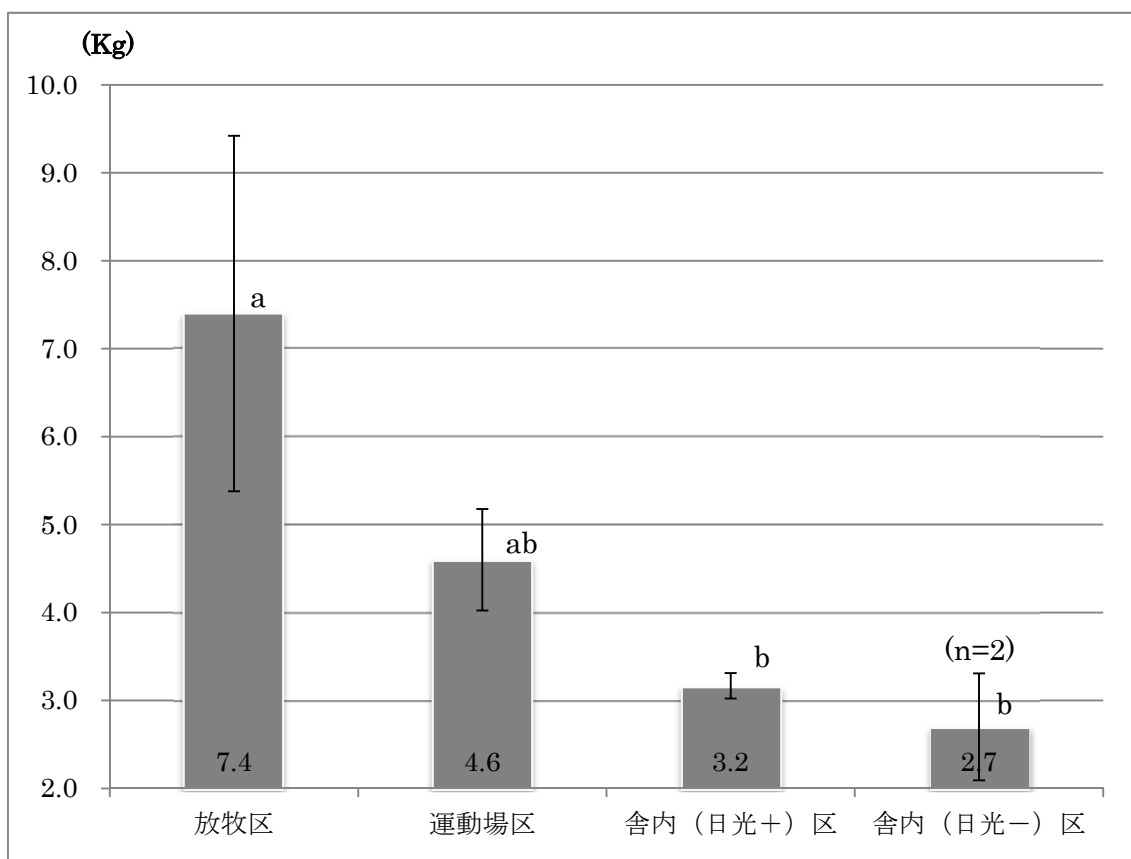


図8. 乳量に及ぼす放牧の影響

a-b : 異符号間に有意差あり

エラーバー : SEM

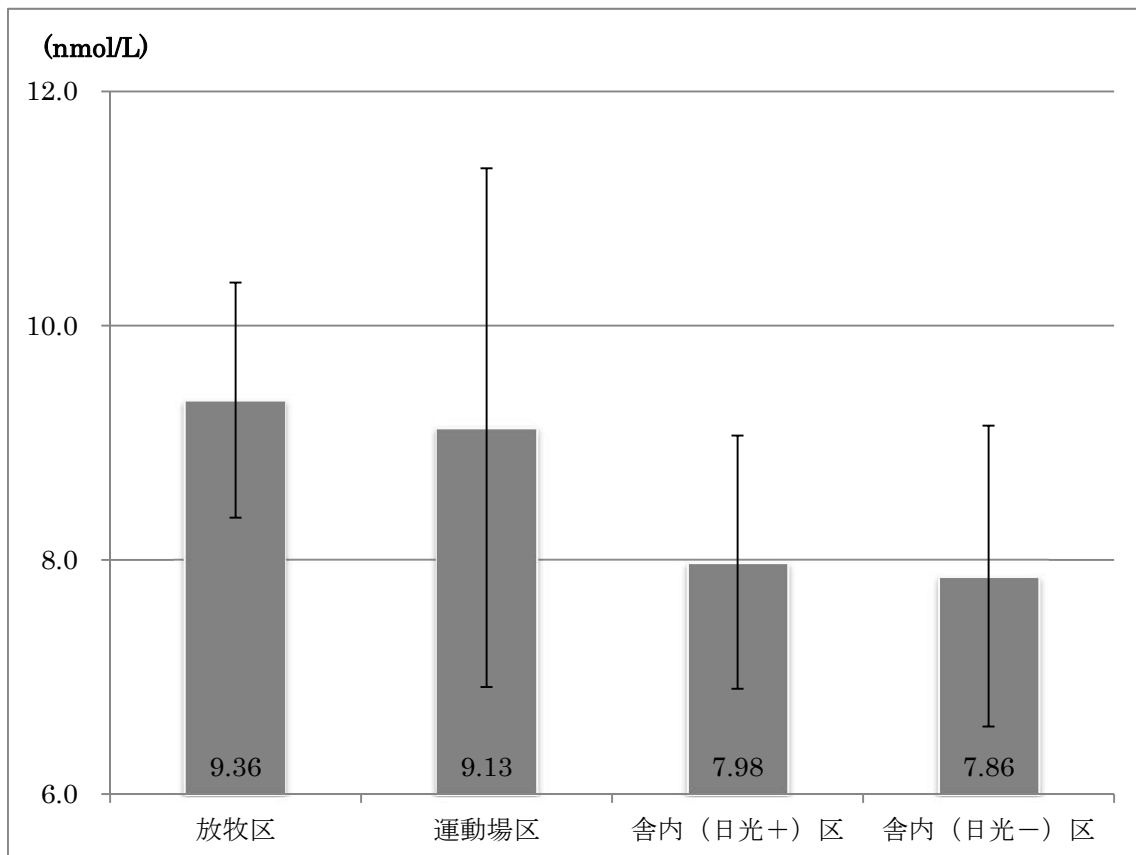


図9. 乳中 25-OHD₃濃度に及ぼす放牧の影響

エラーバー : SEM

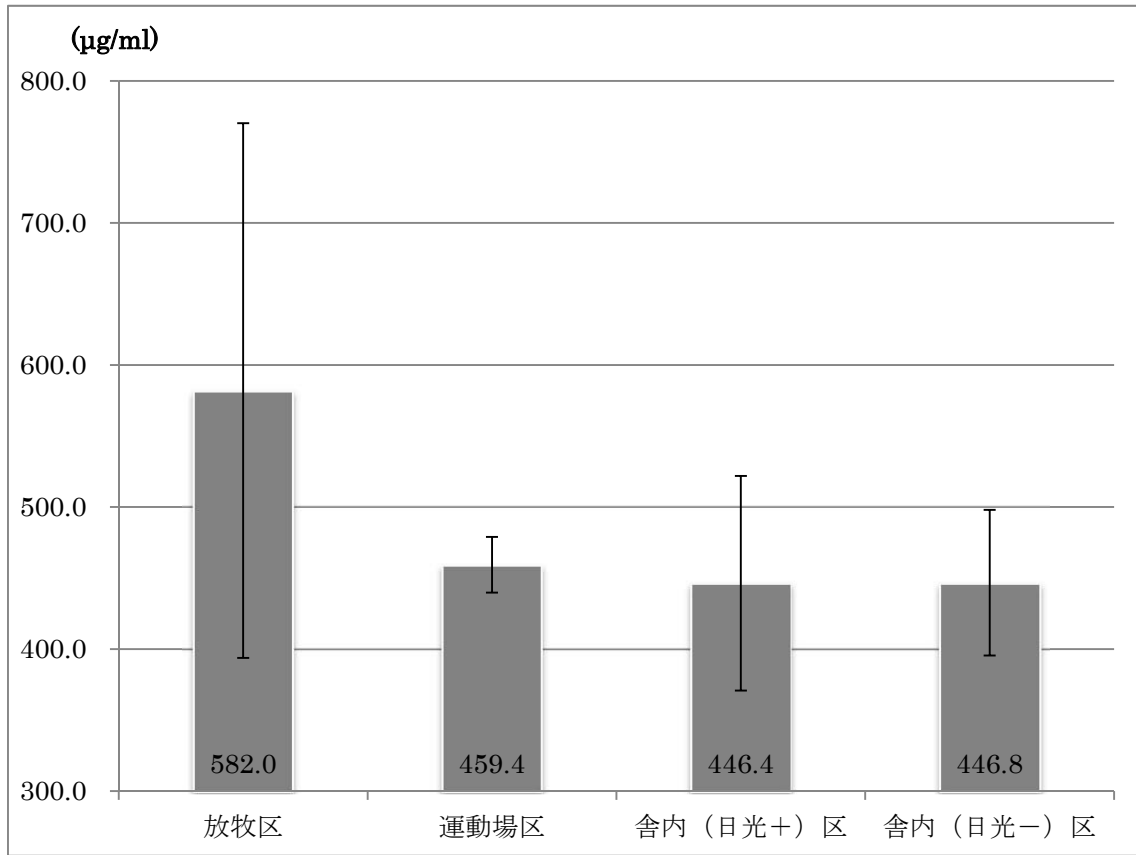


図 10. 乳中 IgA 濃度に及ぼす放牧の影響

エラーバー : SEM

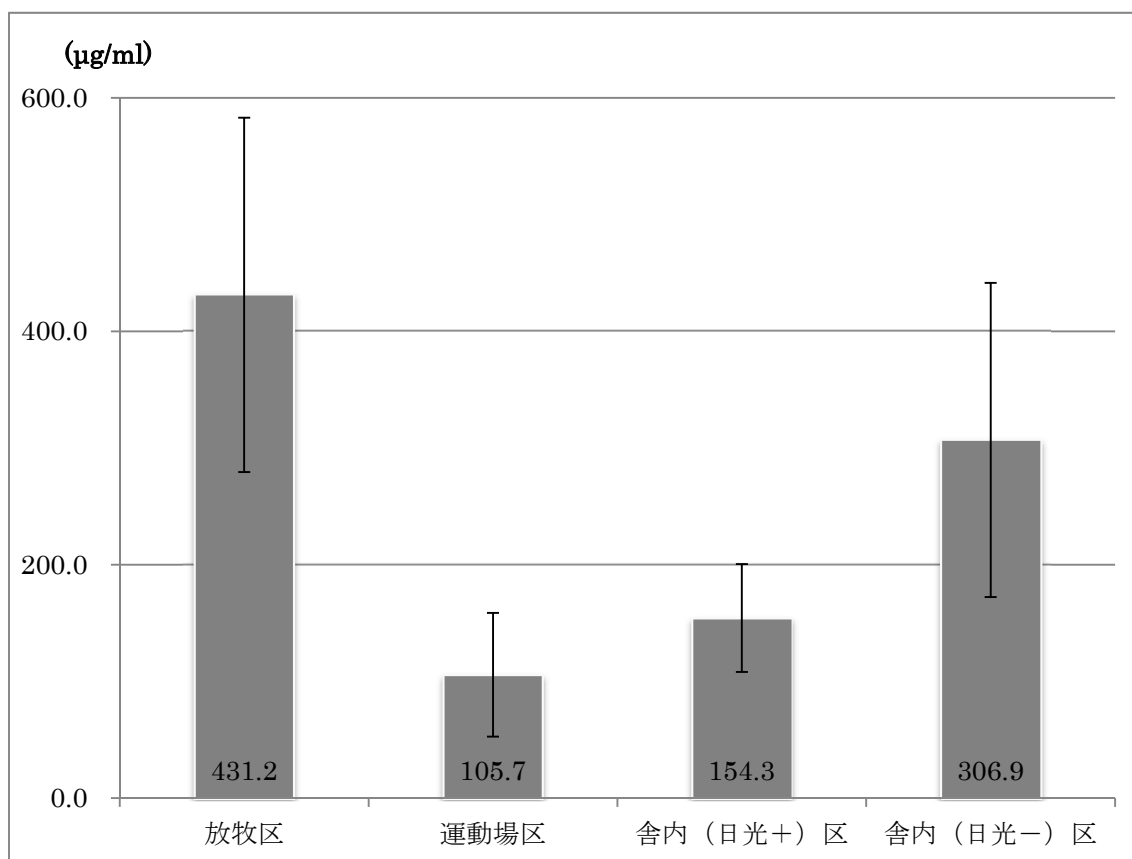


図 11. 乳中 IgG 濃度に及ぼす放牧の影響

エラーバー : SEM

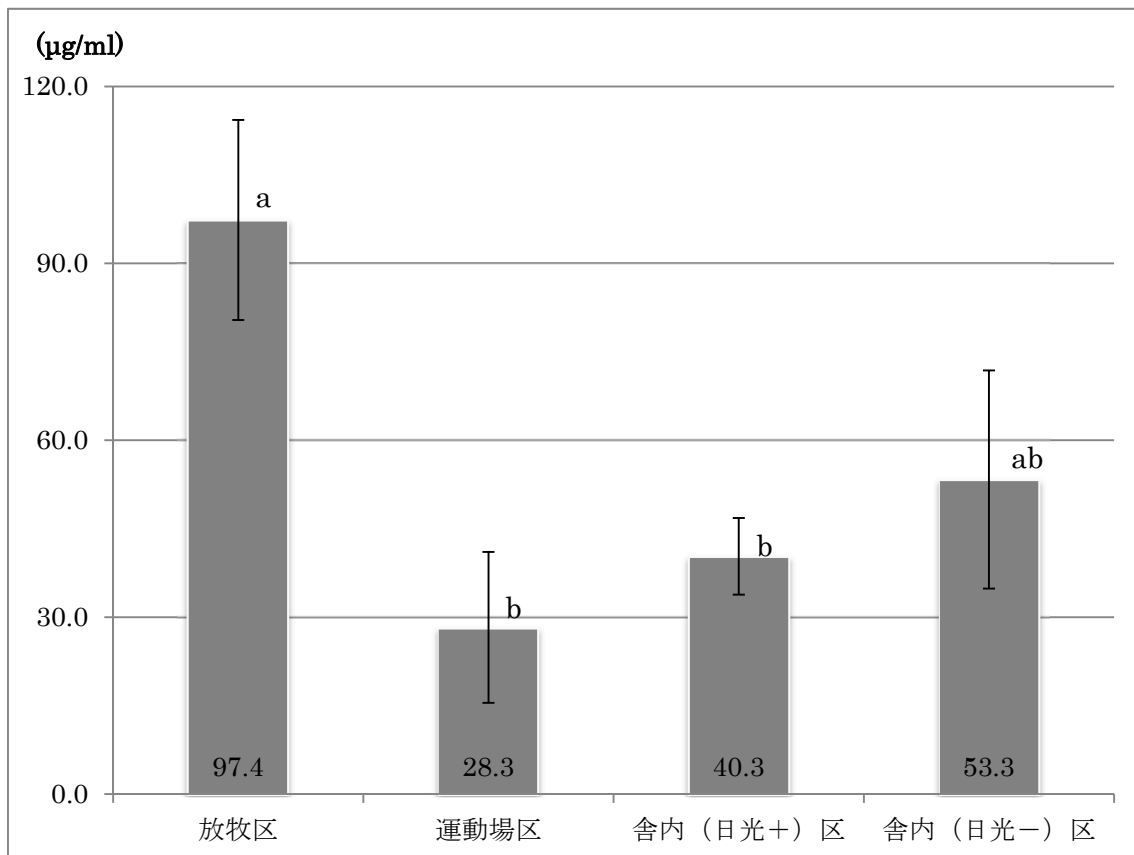


図 12. 乳中 IgM 濃度に及ぼす放牧の影響

a-b : 異符号間に有意差あり

エラーバー : SEM

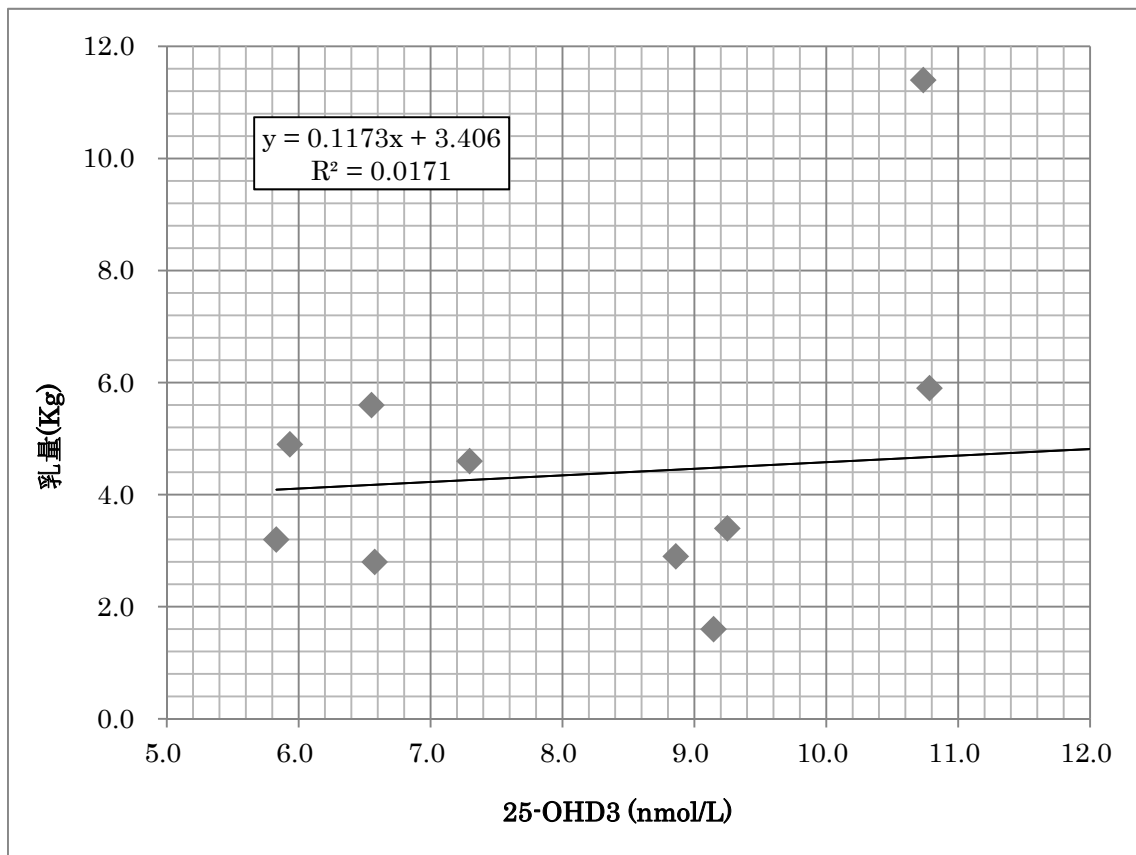


図 13. 乳中 25-OHD3 濃度および乳量間における相関

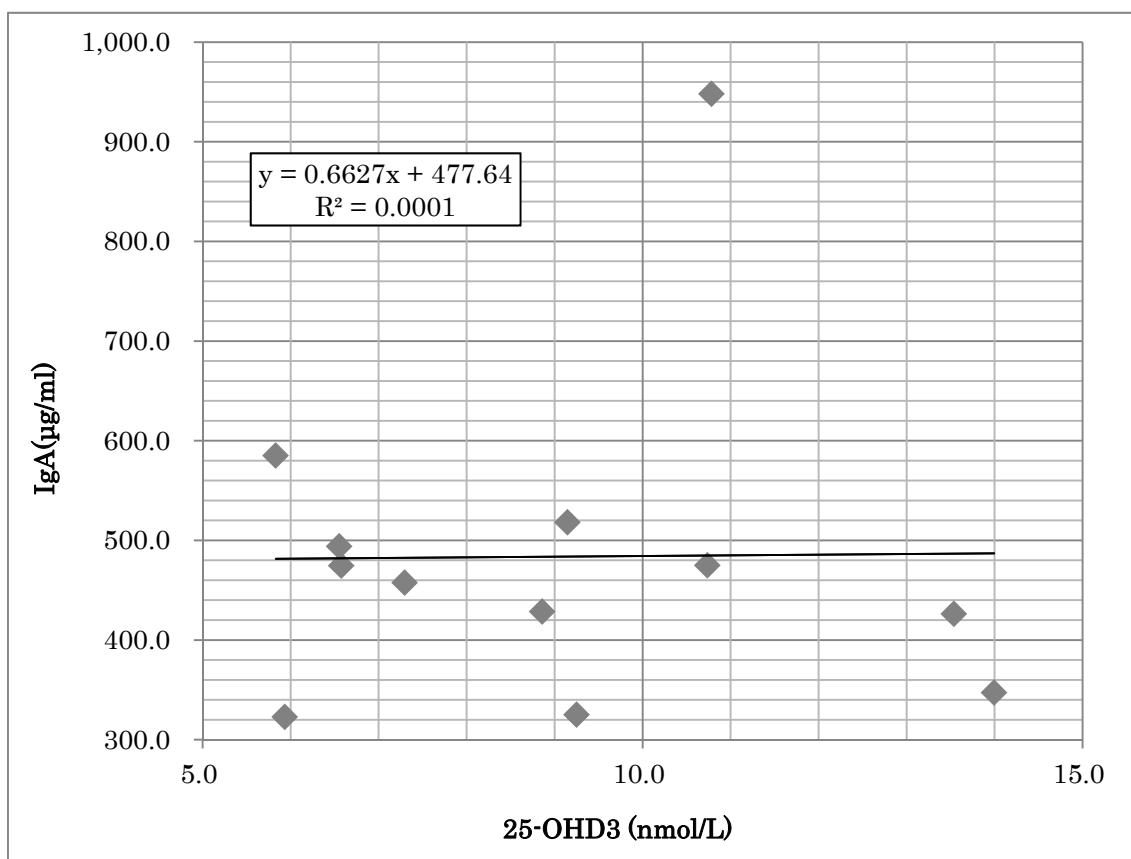


図 14. 乳中 25-OHD3 濃度および IgA 濃度間における相関

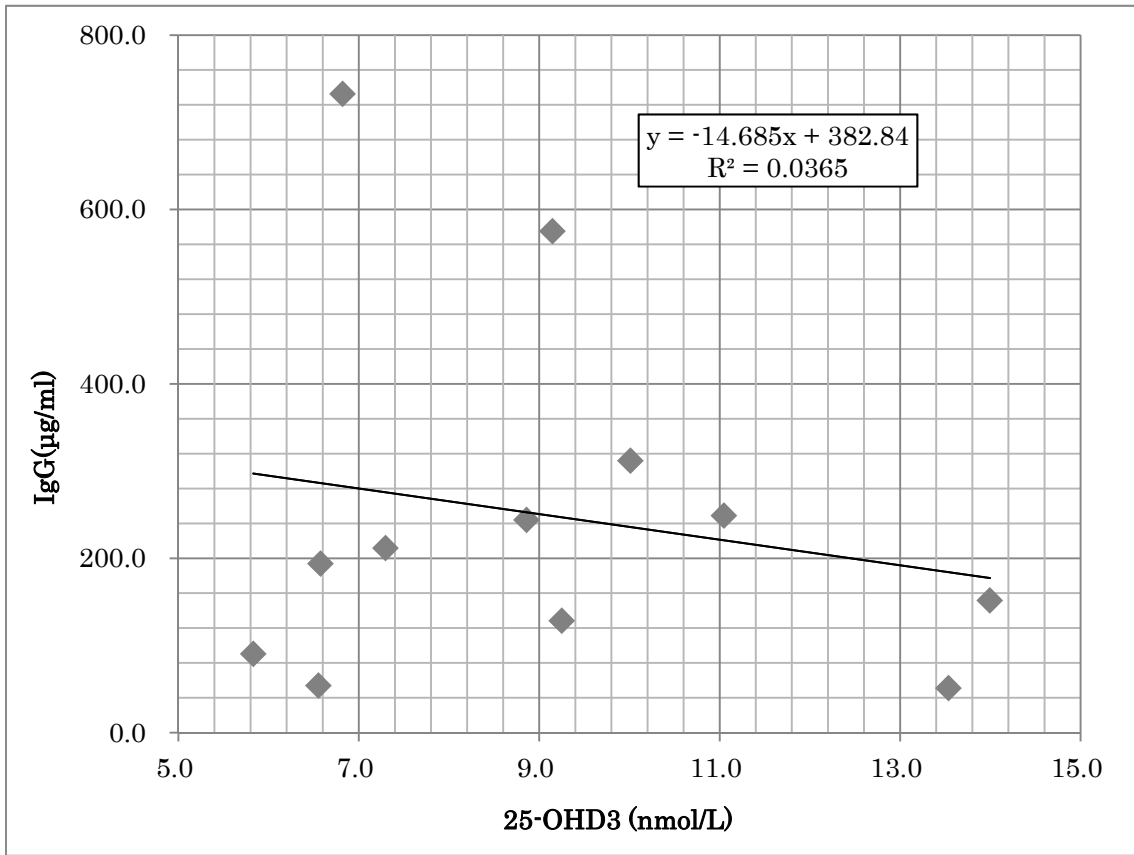


図 15. 乳中 25-OHD3 濃度および IgG 濃度間における相関

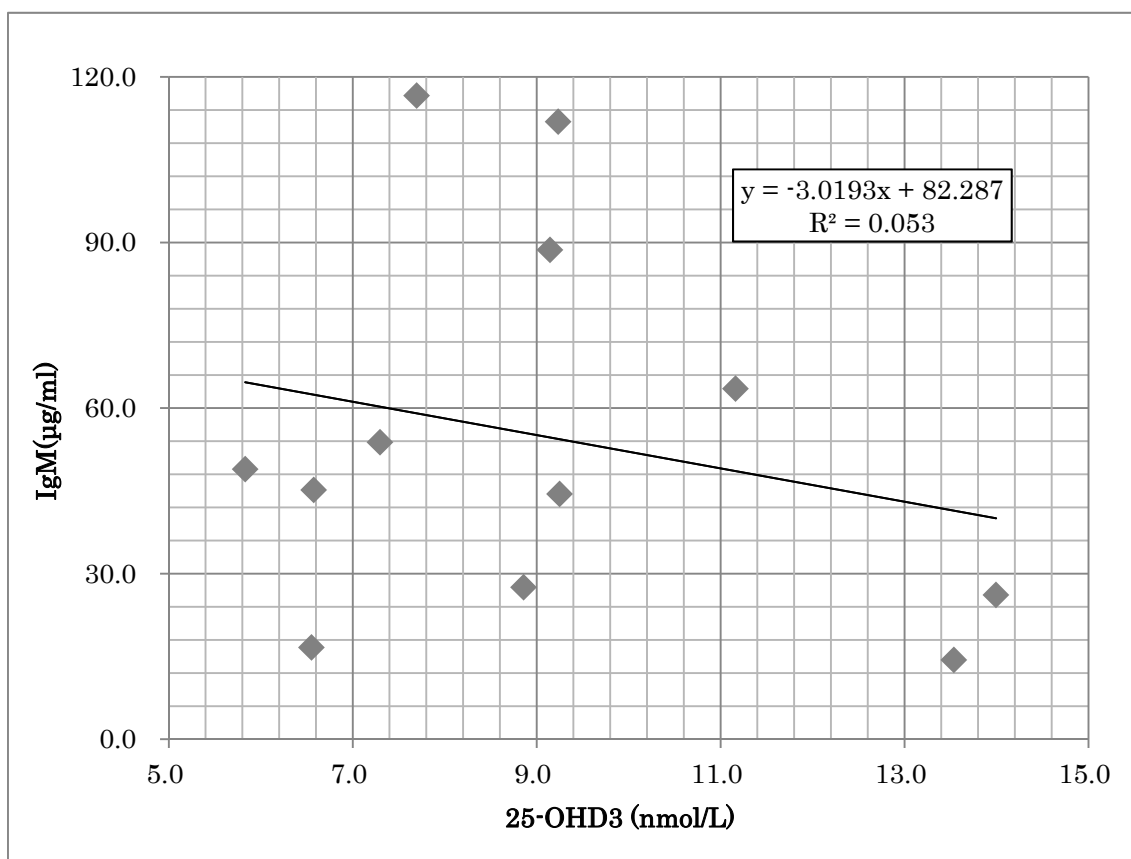


図 16. 乳中 25-OHD3 濃度および IgM 濃度間における相関