乳牛の分娩時低カルシウム血症に及ぼす Difructose Anhydride III の効果

佐藤 忠¹・中井朋一¹・佐渡谷裕朗¹・大谷昌之¹・花田正明²・岡本明治²

¹ 日本甜菜製糖株式会社総合研究所, 帯広市 080-0831

² 帯広畜産大学, 帯広市 080-8555

(2006. 5. 10 受付, 2006. 10. 2 受理)

要 約 Difructose Anhydride (DFA) III はヒトやラットで腸管からのカルシウム吸収亢進効果が認められており, ウシの第一胃微生物にも分解されにくく, 乳牛での利用が期待できる. そこで, 2 産以上のホルスタイン種乳牛を使用し, 乾乳後期の DFA III 給与が分娩時の血中カルシウム濃度に及ぼす影響を調査した. 胎子娩出直後の血中カルシウム濃度は DFA III 給与牛が 8.0 mg/100 mL で, 無給与牛の 6.6 mg/100 mL よりも高く, 6 および 24 時間後の血中カルシウム濃度も DFA III 給与牛が無給与牛よりも高い値を示した. DFA III 給与牛は胎子娩出後 6 時間目で血中カルシウム濃度が正常閾と考えられる 9 mg/100 mL に達し, 無給与牛は 72 時間目で 8.7 mg/100 mL になった. DFA III 無給与牛は産次が増えると胎子娩出直後の血中カルシウム濃度は低下したが, 給与牛ではこのような関係は認められなかった. 以上より, DFA III は分娩時の血中カルシウム濃度低下を抑制し, 低カルシウム血症の予防に有効であると考えられた.

日本畜産学会報 78 (1), 37-43, 2007

乳牛の血中カルシウム濃度は通常 9~11 mg/100 mL に維持されているが, 分娩時は低下し低カルシウム血症を呈することが多い. 低カルシウム血症はカルシウム剤の静脈内投与で多くの場合回復するが, 予防としては分娩前のカルシウム給与量の制限, ビタミン D の投与, 飼料中の陰・陽イオン塩の調整およびカリウム摂取量の制限など (Horst ら 1997) 種々の方法が講じられている. これらの方法は副甲状腺ホルモン (PTH) の分泌や活性型ビタミン D ($1,25\text{-(OH)}_2\text{D}$) の合成を刺激し, 骨からのカルシウムの移行, 腎臓でのカルシウムの再吸収および腸管でのカルシウム吸収を高め, 血中カルシウム濃度の低下を抑制しようとするものである. しかし, 分娩時は骨から血液へのカルシウム移行が遅延し (Liesegang ら 2000; Sato ら 2003; Kamiya ら 2005), 採食量の低下 (Hayirli ら 2003) や加齢によるビタミン D 受容体の減少 (Goff ら 1991) のために, 低カルシウム血症を予防する有効な方法は未だに得られていない.

腸管からのカルシウム吸収は上皮細胞内を通る transcellular pathway と上皮細胞間を通る paracellular pathway の 2 つの経路がある (Bronner 1998). 分娩前のカルシウム給与量の制限 (Horst ら 1997) や飼料中の陰・陽イオン塩の調整 (Joyce ら 1997) などは活性型ビタミン D 合成の反応を高め, transcellular pathway からのカルシウム吸収を促進する. 一方, paracellular pathway からのカルシウム吸収はカルシウムイオンの濃度差が影響

し, カルシウム剤の経口投与などによって増加する (Goff と Horst 1993). ヒトやラットなど単胃動物では難消化性糖類による paracellular pathway からのカルシウム吸収促進作用も報告されている. この作用は難消化性糖類が腸内微生物に分解されることによって発現するもの (Younes ら 1996) と, 微生物の分解作用を受けずに上皮細胞間のタイトジャンクションに直接作用し, カルシウム吸収を促進するものがある (Mineo ら 2001, 2002; Suzuki と Hara 2004).

Difructose anhydride III (以下 DFA III とする) はフラクトース 2 分子が結合したオリゴ糖であり, 腸内微生物による発酵を非常に受けにくく (Tamura ら 2004), 腸管において上皮細胞間のタイトジャンクションに直接作用し, カルシウム吸収を亢進していることがヒトやラットによる試験で報告されている (Mineo ら 2002; Mitamura ら 2002; Shiga ら 2003). また, ウシの第一胃微生物によっても分解されにくいことから (佐藤ら 2006), 乳牛においてもカルシウム吸収に効果があると予想されるが, 反芻動物を用いた報告はない. そこで, 乳牛への DFA III 給与効果を調査するためにホルスタイン種乳牛を用い, 予備試験として分娩後に DFA III と炭酸カルシウムの経口投与を行い, 血中カルシウム濃度の変化を調査した. さらに, 乾乳期給与試験として乾乳後期に DFA III 添加配合飼料を給与し, 胎子娩出時およびその後の血中カルシウム濃度について検討した.

連絡者: 佐藤 忠 (fax: 0155-47-0711, e-mail: satout@nitten.co.jp)

材料および方法

試験は日本甜菜製糖株式会社総合研究所附属清川農場で飼養している2産以上のホルスタイン種乳牛を用い実施した。供試牛は分娩予定の60日前に乾乳し、乾乳日から分娩予定3週間前(乾乳前期)と、その後分娩まで(乾乳後期)の2群に分けパaddock付きのフリーバーンで飼養した。

すべてのウシは試験期間中、チモシー主体1番乾草(DM 83.7~95.5%, CP 6.2~8.1%, NDF 62.8~76.3%, Ca 0.21~0.30%, P 0.17~0.24%)を自由摂取させた。さらに、乾乳前期は泌乳牛用配合飼料(DM 87.9%, CP 21.4%, NDF 17.5%, Ca 0.83%, P 0.53%)を2kg、乾乳後期には乾乳牛用配合飼料(DM 88.2%, CP 22.4%, NDF 18.8%, Ca 0.20%, P 0.57%, Vitamin D3 3000 IU/kg)を4kg給与した。分娩後3日間はグラスおよびコーンサイレージ主体の搾乳牛用TMR(DM 53.2%, CP 16.5%, NDF 37.3%, Ca 0.75%, P 0.51%)を20kgと乾乳前期に給与した泌乳牛用配合飼料を4kg給与した。

DFAⅢの効果は分娩後の経口投与による予備試験と、乾乳期給与試験により検討した。予備試験は2002年7月から2003年8月まで26頭の分娩牛を供し、胎子娩出直後とその6時間後の採血終了後に250 mLの水に混合した純度97%のDFAⅢ(日本甜菜製糖, 東京)90gと炭酸カルシウム(日鉄鉱業, 東京)100gの経口投与により行った。乾乳期給与試験は予備試験終了後の2003年8月から2004年7月まで26頭の乾乳牛を供し、13頭はDFAⅢ給与群として乾乳後期に1日当たり50gのDFAⅢを乾乳期用配合飼料4kgに添加して給与し、残り13頭には給与せず対照群として行った。なお、DFAⅢ給与群、対照群とも分娩後は予備試験と同様、胎子娩出直後とその6時間後にDFAⅢと炭酸カルシウムの経口投与を行い、対照群の試験処置は予備試験で行った方法と同一とした。

乾乳期給与試験に使用した牛26頭の内17頭は予備試験でも供した牛で、その内訳はDFAⅢ給与群10頭と、対照群7頭であった。

供試牛は分娩時にボディコンディションスコア(BCS)をFergusonら(1994)の方法で評価し、前産次の305日乳量を社団法人北海道乳牛検定検査協会の方法(1989)に準じ、TI法(Sargentら1968)を使用して推定した。

採血は10 mL真空採血管を使用し、胎子娩出直後(0)と6, 24および72時間後に尾静脈から採取した。血液は採血後直ちに氷冷し、実験室で1,580g, 10分遠心分離した。血清は分析まで-30℃で保存した。血清カルシウムはO-クレゾールフタレイン-コンプレクソン(OCPC)法により日立7350自動分析装置(日立製作所, 東京)を使用し分析した。なお、低カルシウム血症の判定はGoff

とHorst(1997)に準じ血中カルシウム濃度7.5 mg/100 mL以下とした。

データは平均±標準誤差で表し、統計処理はJMP 4.0.5J(SAS Institute., Cary, NC, USA)で行った。予備試験では、採血時間による血中カルシウム濃度の有意差を一元配置分散分析(対応あり)で検定し、平均値間の差をTukeyのHSD検定により多重比較した。また、採血時間と血中カルシウム濃度の関係を調べるために各採血時間による相関を求めた。乾乳期給与試験において、産次数、分娩時のBCS、前産次の305日乳量および分娩後の血中カルシウム濃度は、DFAⅢ給与群と対照群間の差異を一元配置法で検定した。予備試験と乾乳期給与試験の両試験で供試した17頭のウシについては、乾乳期給与試験時の処理群ごとに予備試験においても胎子娩出直後の血中カルシウム濃度を集計し、処理群間と試験間の有意差を一元配置法で検定した。予備試験の飼養管理は乾乳期給与試験の対照群と同じであり、産次ごとの胎子娩出直後の血中カルシウム濃度についても両者に差異はみられなかった。そこで、胎子娩出直後の血中カルシウム濃度および胎子娩出時低カルシウム血症発生数に対する産次の影響について、対照群は予備試験26頭を合わせ39頭で集計し、DFAⅢ給与群13頭と比較した。また、産次と胎子娩出直後の血中カルシウム濃度の関係は、DFAⅢ給与群と対照群ごとに1次回帰式を求め、産次による影響を検討した。

結 果

予備試験で供試したウシの産次数は 2.92 ± 0.17 産で、分娩時BCSは 3.44 ± 0.06 、305日乳量は $8,997 \pm 309$ kgであった。乾乳期給与試験では予備試験と比較し、産次数、分娩時のBCS、305日乳量ともやや増加したが、DFAⅢ給与群と対照群間に差はなかった(表1)。

1. 予備試験

胎子娩出直後とその6時間後の採血後にDFAⅢと炭酸カルシウムを経口投与した予備試験において、血中カルシウム濃度は胎子娩出直後がもっとも低く、 7.2 ± 0.3 mg/100 mLであった。6および24時間後の血中カルシウム濃度はいずれも 7.7 ± 0.3 mg/100 mLで胎子娩出直後よりも0.5 mg/100 mL増加し、72時間後には正常範囲である 9.3 ± 0.2 mg/100 mLに達した(図1)。0, 6および24時間後の血中カルシウム濃度間には表2に示したようにいずれも正の相関がみられ($P < 0.01$)、分娩直後の血中カルシウム濃度が高いほどその後の血中カルシウム濃度は高く、回復は早くなった。

2. 乾乳期給与試験

分娩後の血中カルシウム濃度の変化を図2に示した。DFAⅢ給与群の胎子娩出直後(0時間)の血中カルシウム濃度は 8.0 ± 0.2 mg/100 mLで、6時間後には正常範囲である 9.3 ± 0.3 mg/100 mLに達し、その後もこの値を維

Table 1 Means±SE parity, BCS and milk yield in cows of the preliminary experiment and the dry period feeding experiment in which cows were fed with or without DFA III during prepartum

	Preliminary experiment	Dry period feeding experiment		
		Control	DFA III	<i>P</i>
Number of cows, head	26	13	13	
Number of parity	2.92±0.17	3.31±0.33	3.15±0.27	0.7219
BCS at calving	3.44±0.06	3.50±0.08	3.50±0.07	0.6973
Milk yield in previous lactation period, kg/305 d	8,997±309	10,551±290	9,860±413	0.1160

Figure 1 Means±SE serum Ca concentrations after calving in the preliminary experiment cows (*n*=26). Values with different superscript letters are significantly different, *P*<0.05.Table 2 Correlation matrix of serum Ca concentrations after calving in the preliminary experiment cows (*n*=26)

Hours after calving	Hours after calving		
	6	24	72
0	0.5729**	0.6546**	-0.3652
6		0.7927**	-0.1670
24			-0.2455

** *P*<0.01.

持した。一方、対照群の0, 6および24時間後の血中カルシウム濃度は 6.6 ± 0.3 , 7.3 ± 0.3 および 7.5 ± 0.4 mg/100 mLとDFA III給与群よりいずれも有意に低く (*P*<0.01), 72時間後にほぼ正常範囲である 8.7 ± 0.2 mg/100 mLに達したもののDFA III給与群よりも回復は遅かった。

DFA III給与群13頭の内10頭と、対照群13頭の内7頭は予備試験でも供試したウシである。予備試験は乾乳期給与試験の前年に行った試験であり、これら17頭の乾乳期給与試験時の産次は予備試験時よりもそれぞれ1

Figure 2 Means±SE serum Ca concentrations after calving in cows treated with DFA III (●, *n*=13) during prepartum or in untreated control cows (○, *n*=13). ** Different from control at *P*<0.01.

産増えている。この17頭のウシの予備試験時と乾乳期給与試験時の胎子娩出直後の血中カルシウム濃度を図3に示した。DFA III給与群の予備試験時の血中カルシウム濃度は 7.4 ± 0.5 mg/100 mLで、1産次増えた乾乳期給与試験時は 8.1 ± 0.2 mg/100 mLと有意な差はないものの0.7 mg/100 mLの増加がみられた。一方、対照群は予備試験時 7.1 ± 0.6 mg/100 mLで、乾乳期給与試験時は 6.5 ± 0.3 mg/100 mLとDFA III給与群とは逆に0.6 mg/100 mLの低下がみられた。両群間において、予備試験時の胎子娩出時血中カルシウム濃度はほぼ同じで差は見られなかったが、乾乳期給与試験時ではDFA III給与群が対照群に比べて有意に高い値を示した。

産次と胎子娩出直後の血中カルシウム濃度の関係(図4)と、産次と胎子娩出時低カルシウム血症の発生数(表3)について、対照群は予備試験26頭を合わせ39頭で集計し、DFA III給与群13頭と比較している。

図4に示したように、対照群の胎子娩出時血中カルシウム濃度は産次数の増加に伴って低下し、2産 7.7 ± 0.3 mg/100 mL, 3産 6.7 ± 0.4 mg/100 mL, 4産 6.5 ± 0.3 mg/100 mLおよび5産 6.0 ± 0.0 mg/100 mLで、一次回帰式から求めた1産次増加による血中カルシウム濃度の低下は 0.6 ± 0.2 mg/100 mL (*P*<0.01)であった。これに対し、DFA III給与群は2産 7.7 ± 0.2 mg/100 mL, 3産 8.0 ± 0.3

mg/100 mL, 4産 7.9 mg/100 mL および 5産 8.7 ± 0.6 mg/100 mL で、産次数の増加による胎子娩出時の血中カルシウム濃度低下は認められなかった。

胎子娩出直後に血中カルシウム濃度が 7.5 mg/100 mL 以下の低カルシウム血症であったウシは、乾乳期に DFA III を給与しなかった対照群 39 頭中 26 頭, 67% に達し, 3 産以上の牛では 24 頭中 19 頭, 86% と高率であった (表 3)。一方, DFA III 給与群において低カルシウム血症は 13 頭中 3 頭, 23% で対照群よりも少ない割合であった。

考 察

予備試験において胎子娩出直後とその 6 時間後に行った計 2 回の DFA III と炭酸カルシウムの経口投与は, 6 時間後に胎子娩出直後よりも血中カルシウム濃度を 0.5 mg/100 mL 高め, 24 時間後においてもその濃度を維持することができた。分娩前後の血中カルシウム濃度を測定し, 分娩直後よりも分娩後 12~30 時間に血中カルシウム濃度が最少になったとする報告 (Goff と Horst 1990 ;

Goff と Stabel 1990 ; Tveit ら 1991 ; Yamagishi ら 2000) があることから, DFA III と炭酸カルシウムの投与は血中カルシウム濃度の回復に効果をもつ可能性が高いと考えられた。一方, 胎子娩出直後の血中カルシウム濃度とその後 6 および 24 時間目の血中カルシウム濃度の間に認められた正の相関は, 胎子娩出時に血中カルシウム濃度の高いウシほどその後の回復も早いことを示唆している。Joyce ら (1997) は分娩時の血中カルシウム濃度の改善は分娩後の採食量を高めることを報告している。本試験で採食量は確認していないが, 胎子娩出時とその後の血中カルシウム濃度回復における相関の要因の一つとして, 分娩直後の血中カルシウム濃度が高いほど採食量が向上し, その後の回復に影響した可能性がある。特に, 骨から血液へのカルシウム移行機能が低下しているといわれる分娩時において (Lieseang ら 2000 ; Sato ら 2003 ; Kamiya ら 2005), 血中カルシウム濃度回復のために飼料からのカルシウム供給は重要であり, 分娩直後の血中カルシウム濃度を高く維持する予防処置が低カルシウム血症を効率的に改善すると考えられる。

Figure 3 Means $\pm$ SE serum Ca concentrations at calving of the preliminary experiment and the dry period feeding experiment in cows treated with DFA III (■, $n=10$) during the prepartum of the dry period feeding experiment or in untreated control cows (□, $n=7$). ** Different from control at $P<0.01$.

Figure 4 Relationship between parity and serum Ca concentrations at calving in cows treated with DFA III (●) during prepartum or in untreated control cows including the preliminary experiment cows (○). * Different from control at $P<0.05$.

Table 3 Effect of parity on Incidence of hypocalcemia (serum Ca <7.5 mg/100 mL) at calving in cows treated with DFA III during prepartum or in untreated control cows including the preliminary experiment cows

	Control		DFA III	
	no. of cows	no. of hypocalcemia	no. of cows	no. of hypocalcemia
Parity				
2	15	7	3	1
3	9	7	7	2
4	13	10	1	0
5	2	2	2	0
Total	39	26	13	3

カルシウム吸収を亢進する DFAIII の効果は給与後、短い時間の内に発現し、血中カルシウム濃度を高めると考えられる。しかし、DFAIII は可溶性であるため消化管の通過速度は速く、投与後長時間効果を持続する可能性は低い。DFAIII は熱に安定で、吸湿しにくく、飼料としての利用が容易である。また、乾乳期の配合飼料に添加することで分娩という非日常的な状況に対応でき、経口投与よりも安全に給与することができる。このような点から予備試験に引き続き乾乳期給与試験を実施し、DFAIII の低カルシウム血症に対する予防効果を検討した。

予備試験を含め本試験の実施は低カルシウム血症予防のため、従来から提唱 (Goff と Horst 1993 ; Horst ら 1997) されている方法の中からカルシウム給与の制限とビタミン D の給与を分娩予定 3 週間前から分娩までの期間全供試牛に対して行った。すなわち、カルシウムの制限はカルシウムを含むミネラル剤が配合されていない乾乳期用配合飼料を使用し、カルシウム含量の低いチモシー主体の 1 番乾草を自由採食させることによって行った。また、ビタミン D はビタミン D₃ を 1 日当たり 12,000 IU 給与した。日本飼養標準 (乳牛, 農林水産省農林水産技術会議事務局 1999) では分娩前 3 週間の成雌牛 (体重 650 kg) のカルシウムとビタミン D の 1 日当たり要求量はそれぞれ 44 g, 6,300 IU と示され、これらの値と比較し、本試験において分娩前のカルシウムは不足の状態にあり、ビタミン D は不足することがないと考えられる。しかし、乾乳期に DFAIII を給与しなかった予備試験と乾乳期給与試験の対照群のウシにおいて、胎子娩出直後に低カルシウム血症となったウシは 67% と高率であった。Horst ら (1997) は乳熱予防としてのカルシウム給与量の制限は 10~20 g 以下と示しており、本試験程度のカルシウム制限では低カルシウム血症の予防効果は十分ではないと考えられた。

これに対し、乾乳期の DFAIII 給与によって胎子娩出直後の血中カルシウム濃度低下は大きく軽減された。これまで、DFAIII を含む難消化性糖類の多くは腸管からのカルシウム吸収を促進することがラットやヒトにおいて認められている。この難消化性糖類がカルシウム吸収を促進する機構の仮説として、佐久間 (2002) は ①短鎖脂肪酸による消化管内の pH 低下は不溶性カルシウムを可溶性にし、細胞間を拡散的に移行する、②短鎖脂肪酸はイオン化したカルシウムよりも吸収のよいカルシウムと酢酸の複合体を形成する、③短鎖脂肪酸の中で酪酸は上皮細胞の細胞増殖を促進する、など腸内微生物が難消化性糖類を分解し産生する短鎖脂肪酸の関与を示唆している。しかし、反芻動物は単胃動物と異なり、腸内微生物に分解されやすい難消化性糖類を第一胃で分解し、小腸以降でのカルシウム吸収への効果は少ないものと考えられる。一方、DFAIII, DFAIV, ラフィノース, フラクトオリゴ糖, マルチトール, メリビオースなどは腸内微生物

の関与を受けずに直接小腸上皮細胞間のタイトジャンクションを開き、カルシウム吸収を促進する難消化性糖類であることがラットやヒトで報告されている (Mineo ら 2001, 2002 ; Suzuki と Hara 2004)。特に、DFAIII はヒトの腸内微生物 (Tamura ら 2004) だけでなく、ウシの第一胃内微生物 (佐藤ら 2006) によっても分解作用を受けにくい。また、可溶性の物質であり、第一胃内滞留時間は液相に準じると考えられることから、摂取した DFAIII の大部分は第一胃をバイパスして腸管に到達すると考えられる。DFAIII が促進する上皮細胞間からのカルシウム吸収は腸管腔側と体液側のイオン濃度勾配によって受動的に行われ (Bronner 1998)、カルシウムのイオン濃度差が大きいほど、吸収が高まる (Tang と Goodenough 2003)。したがって、血中のカルシウム濃度低下が大きいほどイオン濃度差も大きくなり、受動的なカルシウム吸収能は大きくなる。その結果、DFAIII 給与群は血中カルシウム濃度の低下が抑制され、分娩時の血中カルシウム濃度を高く維持したものと考えられる。

乳牛の分娩時低カルシウム血症は加齢に伴い増加する (Rajala ら 1999)。本試験においてもこの関係は認められ、乾乳期給与試験の対照群の中で、予備試験でも供試した 7 頭の同一牛において、予備試験時から 1 産次増えた乾乳期給与試験時での胎子娩出時の血中カルシウム濃度は 0.6 mg/100 mL 低下した。さらに、予備試験を含めた乾乳期に DFAIII を給与しなかった 39 頭においても胎子娩出時血中カルシウム濃度の低下は 1 産次の増加につき 0.6 mg/100 mL と同じで、低カルシウム血症の割合は 2 産次 47%, 3 産次 78%, 4 産次 77% および、頭数は少ないが 5 産次 100% と加齢により増加すると考えられた。Goff ら (1991) は乳熱を発症したウシのうち、活性型ビタミン D の生産が不十分である割合は約 10% と少なく、分娩時に血中カルシウム濃度が低下したウシの多くは PTH と活性型ビタミン D 濃度が増加し、カルシウム濃度を維持する機能は正常に働いていることを示した。また、腸管の上皮細胞にあるビタミン D 受容体は加齢により減少することを示し、産次数の増加がより深刻な低カルシウム血症を引き起こす原因の一つはビタミン D 受容体の減少であるとしている。乾乳期に DFAIII を給与したウシにおいても、加齢によりビタミン D 受容体が減少し、上皮細胞内を通るカルシウムの吸収は減少していると予想されるが、産次と胎子娩出時血中カルシウム濃度に負の関係はみられなかった。DFAIII が亢進するカルシウム吸収作用は受動輸送に関係するものであり、ビタミン D 受容体が関与する能動輸送の影響を受けることはないと考えられる。その結果、DFAIII 給与群は血中カルシウム濃度の低下が抑制され、産次数の影響を受けなかったものと考えられる。

以上の結果より、乾乳後期の DFAIII 給与は分娩直後の血中カルシウム濃度低下を抑制し、その後の血中カルシ

ウム濃度の回復も早く、低カルシウム血症の改善が期待できると考えられた。また、この効果は産次数の影響を受けにくく、ラットやヒトで確認された腸管からのカルシウム吸収亢進効果が反芻動物である乳牛でも発現しているものと考えられた。

文 献

- Bronner F. 1998. Calcium absorption — a paradigm for mineral absorption. *The Journal of Nutrition* **128**, 917–920.
- Ferguson JD, Galligan DT, Thomsen N. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* **77**, 2695–2703.
- Goff JP, Horst RL. 1990. Effect of subcutaneously released 24F-1,25-dihydroxyvitamin D₃ on incidence of parturient paresis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* **73**, 406–412.
- Goff JP, Horst RL. 1993. Oral administration of calcium salt for treatment of hypocalcemia in cattle. *Journal of Dairy Science* **76**, 101–108.
- Goff JP, Horst RL. 1997. Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows. *Journal of Dairy Science* **80**, 176–186.
- Goff JP, Reinhardt TA, Horst RL. 1991. Enzymes and factors controlling vitamin D metabolism and action in normal and milk fever cows. *Journal of Dairy Science* **74**, 4022–4032.
- Goff JP, Stabel JR. 1990. Decreased plasma retinol, α -tocopherol, and zinc concentration during the periparturient period : effect of milk fever. *Journal of Dairy Science* **73**, 3195–3199.
- Hayirli A, Grummer RR, Nordheim EV, Crump PM. 2003. Models for predicting dry matter intake of Holsteins during the pre-fresh transition period. *Journal of Dairy Science* **86**, 1771–1779.
- Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA, Buxton DR. 1997. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **80**, 1269–1280.
- Joyce PW, Sanchez WK, Goff JP. 1997. Effect of anionic salts in prepartum diets based on alfalfa. *Journal of Dairy Science* **80**, 2866–2875.
- Kamiya Y, Kamiya M, Tanaka M, Shioya S. 2005. Effect of calcium intake and parity on plasma minerals and bone turnover around parturition. *Animal Science Journal* **76**, 325–330.
- Liesegang A, Eicher R, Sassi ML, Risteli J, Kraenzlin M, Riond JL, Wanner M. 2000. Biochemical markers of bone formation and resorption around parturition and during lactation in dairy cows with high and low standard milk yields. *Journal of Dairy Science* **83**, 1773–1781.
- Mineo H, Hara H, Kikuchi H, Sakurai H, Tomita F. 2001. Various indigestible saccharides enhance net calcium transport from the epithelium of the small and large intestine of rats *in vitro*. *The Journal of Nutrition* **131**, 3243–3246.
- Mineo H, Hara H, Shigematsu N, Okuhara Y, Tomita F. 2002. Melibiose, difructose anhydride III and difructose anhydride IV enhance net calcium absorption in rat small and large intestinal epithelium by increasing the passage of tight junctions *in vitro*. *The Journal of Nutrition* **132**, 3394–3399.
- Mitamura R, Hara H, Aoyama Y, Chiji H. 2002. Supplemental feeding of difructose anhydride III restores calcium absorption impaired by ovariectomy in rats. *The Journal of Nutrition* **132**, 3387–3393.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局編. 1999. 日本飼養標準・乳牛 (1999年版). 中央畜産会. 東京.
- Rajala PJ, Gröhn YT, McCulloch CE. 1999. Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science* **82**, 288–294.
- 佐久間慶子. 2002. フラクトオリゴ糖によるカルシウム吸収促進作用の分子生物学的メカニズム. 腸内細菌学雑誌 **16**, 11–19.
- Sargent FD, Lytton VH, Wall OG. 1968. Test interval method for calculating dairy herd improvement association records. *Journal of Dairy Science* **51**, 170–179.
- 佐藤 忠, 菊地裕人, 中井朋一, 佐渡谷裕朗, 花田正明, 岡本明治. 2006. 第一胃微生物による Difructose Anhydride III の分解性. 日本畜産学会報 **77**, 395–399.
- Sato J, Sato R, Takagi A, Goto T, Okada K, Yasuda J, Naito Y. 2003. Association between changes in plasma calcium concentration and plasma tartrate-resistant acid phosphatase activity in periparturient cows. *Journal of Veterinary Medical Science* **65**, 291–293.
- Shiga K, Hara H, Okano G, Ito M, Minami A, Tomita F. 2003. Ingestion of difructose anhydride III and voluntary running exercise independently increase femoral and tibial bone mineral density and bone strength with increasing calcium absorption in rats. *The Journal of Nutrition* **133**, 4207–4211.
- Suzuki T, Hara H. 2004. Various non-digestible saccharides increase intracellular calcium ion concentration in rat small-intestinal enterocytes. *British Journal of Nutrition* **92**, 751–755.
- 社団法人北海道乳牛検定協会. 1989. 乳牛の泌乳曲線. pp. 75–85. 社団法人北海道乳牛検定協会. 北海道.
- Tamura A, Shiomi T, Tamaki N, Shigematsu N, Tomita F, Hara H. 2004. Comparative effect of repeated ingestion of difructose anhydride III and palatinose on the induction of gastrointestinal symptoms in humans. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **68**, 1882–1887.
- Tang VW, Goodenough DA. 2003. Paracellular ion channel at the tight junction. *Biophysical Journal* **84**, 1660–1673.
- Tveit B, Svendsen M, Hove K. 1991. Heritability of hypocalcemia at first parturition in Norwegian cattle : genetic correlations with yield and weight. *Journal of Dairy Science* **74**, 3561–3567.
- Yamagishi N, Dohmae H, Shirato A, Sato J, Sato R, Naito Y. 2000. Effects of oral administration of “rumen-bypass” vitamin D₃ on vitamin D and calcium metabolism in periparturient cows. *Journal of Veterinary Medical Science* **62**, 403–408.
- Younes H, Demigne C, Remesy C. 1996. Acidic fermentation in the caecum increases absorption of calcium and magnesium in the large intestine of the rat. *The British Journal of Nutrition* **75**, 301–314.

Effect of Difructose Anhydride III on Hypocalcemia in Dairy Cows after Calving

Tadashi SATO¹, Tomokazu NAKAI¹, Hiroo SADOYA¹, Masayuki OHTANI¹,
Masaaki HANADA² and Meiji OKAMOTO²

¹ Research Center, Nippon Beet Sugar Manufacturing Co., Obihiro 080-0831, Japan

² Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro 080-8555, Japan

Corresponding : Tadashi SATO (fax : +81 (0) 155-47-0711, e-mail : satout@nitten.co.jp)

Difructose anhydride (DFA) III is an oligosaccharide, which increase calcium absorption in the intestine of humans and rats and is not easily degraded by rumen microorganism. Therefore, it is very probable that it would increase calcium absorption in ruminants as in humans. We fed DFA III to multiparous Holstein dairy cows before calving and investigated serum calcium of cows after calving. The serum calcium concentrations at calving were 8.0 mg/100 mL in cows treated with DFA III during prepartum, which was higher than the 6.6 mg/100 mL in untreated cows. Also at 6 hours and 24 hours after calving, the serum calcium concentrations were higher in cows treated with DFA III. The serum calcium reached the normal concentration of 9 mg/100 mL at 6 hours in cows treated with DFA III, whereas this took 72 hours in untreated cows. In the untreated cows, the serum calcium concentrations at calving decline with the parity but the cows treated with DFA III did not show reduced the serum calcium concentrations with the parity. These results suggest that DFA III prevents the decline in the blood calcium concentrations at calving, and is effective in preventing hypocalcemia.

Nihon Chikusan Gakkaiho 78 (1), 37-43, 2007

Key words : calcium absorption, difructose anhydride (DFA) III, hypocalcemia, milk fever, oligosaccharide.