よった。]

材料採取に当たりご協力をいただいた岩手県盛岡家畜保健衛生所の岩崎正幸氏をはじめ関係各位に感謝する。

文 献

- 1) HONMA, T., ONUMA, M., MIKAMI, T., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 42, 5~8 (1980).
- 2) MILLER, J. M. and VAN DER MAATEN, M. J.: *Europ. J. Cancer*, 13, 1369~1375 (1977).
- 3) 大島寛一: 獣医畜産新報 [(701) 737~741 (1979)], [(702) 8~10, (704) 139~143, (706) 267~268, (707) 340~341 (1980)].
- 4) OHSHIMA, K., MIURA, S., NUMAKUNAI, S., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 39, 77~82 (1977).
- 5) OHSHIMA, K., MIURA, S., NUMAKUNAI, S., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 40, 87~91 (1978).
- 6) 大島寛一, 岡田幸助, 沼宮内茂, ほか: 第 91 回日本獣医学会, 東京, III-54 (1981).
- 7) OHSHIMA, K., OKADA, K., NUMAKUNAI, S., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 43, 79~81 (1981).
- 8) OHSHIMA, K., OZAI, Y., OKADA, K., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 42, 297~309 (1980).
- 9) OHSHIMA, K., TAKAHASHI, K., OKADA, K., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 44, 479~488 (1982).
- 10) ONUMA, M., ISHIHARA, K., OHTANI, T., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 41, 601~605 (1979).
- 11) RESSANG, A. A., Ed.: *The serological diagnosis of enzootic bovine leukosis*. Commission of EC., Luxemburg, p. 188 (1978).

基 礎

乳牛の分娩前後におけるビタミン D₃ 代謝と血清ミネラル濃度

田 村 正 明*

(昭和 57 年 7 月 23 日受理)

Relationship between Serum Vitamin D₃ Metabolites and Serum Mineral Levels
in Dairy Cows at Puerperium

MASAAKI TAMURA (Faculty of Medicine, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113)

SUMMARY

The concentration of three vitamin D₃ metabolites were measured in the serum of dairy cows at puerperium using ligand binding assay. The 1,25-dihydroxy vitamin D₃ (1,25-(OH)₂-D₃) serum concentration increased responsively to hypocalcemia during parturition. The serum level of phosphorus increased markedly in corresponding to the elevation of the level of 1,25-(OH)₂-D₃ in a period following parturition. The serum levels of 25-hydroxy vitamin D₃ and 24,25-dihydroxy vitamin D₃, however, changed independently of serum mineral levels. These results indicate that homeostasis of calcium and phosphate during puerperium is tightly concerned with 1,25-(OH)₂-D₃.

要 約

臨床的に健康な産褥期の乳牛 1 例について、血清ビタミン D₃ 代謝産物 3 種の濃度を測定し、血清ミネラル濃度との関連を検討した。その結果、血清 1,25-dihydroxy vitamin D₃ (1,25-(OH)₂-D₃) 濃度は、分娩時の低カルシウム血症に反応的に上昇することが観察された。また、血清無機リン濃度は、1,25-(OH)₂-D₃ 濃度の上昇に伴って著しく上昇した。血清 25-hydroxy vitamin D₃ ならびに 24,25-dihydroxy vitamin D₃ 濃度は血清ミネラル濃度の変動とは無関係に推移した。これらの結果は、産褥期の乳牛の血清カルシウムならびにリンのホメオスターシスに 1,25-(OH)₂-D₃ が密接に関連することを示している。

* 東京大学医学部 (東京都文京区本郷 7-3-1) [現住所: バンダービルト大学医学部 (Nashville, Tennessee 37232, U. S. A.)]

乳牛はカルシウムを高濃度に含んだ乳汁を大量にかつ長期間分泌するように改良された動物である。しかしながら、泌乳の開始時に時として乳熱あるいは産前・産後起立不能症などのカルシウムならびにリンの代謝異常をひき起こす。このような疾病の予防や治療には高単位のビタミン D 製剤が使われている。さらに最近では、25-hydroxy vitamin D₃ (25-OH-D₃)¹¹⁾ あるいは 1 α -hydroxy vitamin D₃^{3,8,12)} などの投与による乳熱予防の試みも行われている。このように乳牛に対するビタミン D 製剤の使用頻度が高いにもかかわらず、乳牛のビタミン D 代謝に関する基礎的研究はきわめて少ない。このような事情を踏えて、われわれは新生牛から成牛にいたる健康な乳牛の血中ビタミン D₃ 代謝産物濃度を測定し、すでに報告した¹⁴⁾。いっぽう、産褥期の乳牛のビタミン D 代謝については、わずかに HORST ら^{4,5)}の研究をみるのみであり、本邦における報告は見当たらない。ビタミン D の代謝は、光線などの外的環境や飼養管理によって大きく影響を受けることから、地域的研究が重要であると思われる。

そこで、産褥期における健康な乳牛 1 例について、ビタミン D₃ 代謝産物 3 種の血中濃度を測定し、血清ミネラル濃度との関連を検討してみた。

1. 材料および方法

1) 供試牛

供試牛は新潟県南魚沼郡の一般農家に飼育されている健康な乳牛（ホルスタイン種、6 才、4 産、体重 615 kg）である。本牛は年間を通して日光照射をほとんど受けない牛舎内で飼育されていた。給与飼料は年間を通して同一であり、基礎飼料として稲ワラ、ヘイキューブを与え、さらに、ビートパルプ、圧変大麦、圧変トウモロコシ、フスマ、配合飼料、糖蜜、食塩、リン酸カルシウム、エーフィード、ミーストペレットを与えた。採血は分娩予定日の 3 日前から分娩日までは連日、分娩後は、1, 12, 24, 48, 72 時間および 7 日目に行った。血液は頸静脈より約 15 ml 採取し、血清を分離後、分析まで -20°C に保存した。

2) 血清 25-OH-D₃、24, 25-(OH)₂-D₃、1, 25-(OH)₂-D₃ 濃度の測定

血清 25-OH-D₃ ならびに 24, 25-dihydroxy vitamin D₃ (24, 25-(OH)₂-D₃) 濃度は、血清より両画分を抽出・精製した後、前報¹⁴⁾と同様の competitive binding assay によって測定した。血清 1, 25-dihydroxy vitamin D₃ [1, 25-(OH)₂-D₃] の測定は著者らの開発した正常雌ニワトリ小腸粘膜細胞質画分をリセプターとして用いる radioreceptor assay¹³⁾により行った。25-OH-D₃、24, 25-(OH)₂-D₃ および 1, 25-(OH)₂-D₃ 結晶はエーザイ株式会社より分与されたものを用いた。25-OH-[23, 24³H]-D₃ (80 Ci/m mol) ならびに 1, 25-(OH)₂-[23, 24³H]-D₃ (94 Ci/m mol)

は、Radiochemical Centre Amersham 社から購入した。24, 25-(OH)₂-[26, 27³H]-D₃ は 25-OH-[26, 27³H]-D₃ (11.7 Ci/m mol, Radiochemical Centre) から合成し²⁾、高速液体クロマトグラフィーによって精製したものを帝人株式会社生物医学研究所より供与された。これらの化合物は 99.5% エタノールに溶解して用いた。

3) 血清カルシウム、無機リンおよびマグネシウム濃度の測定

血清カルシウム濃度は WILLIS の方法¹⁵⁾に従って、血清を 0.5% 酸化ランタンを含む 25% 塩酸溶液で希釈した後、島津 AA-610 S 型原子吸光分析器を用いて測定した。血清無機リン濃度は CHEN らの方法¹⁾、血清マグネシウム濃度は MANN らの方法⁷⁾に準拠した和光純薬社製のマグネシウム測定キットにより、それぞれ測定した。

2. 結果

血清カルシウム濃度は、分娩 40 時間前には 9.6 mg/dl であったが、漸減し、分娩 1 時間後に 7.8 mg/dl と最低値を示した。しかし、その直後から増加し始め、分娩 36 時間後には分娩 40~16 時間前の値に復し、7 日後には正常値まで回復した。血清無機リン濃度は分娩 64 時間

図1 血清ビタミン D₃ 代謝産物ならびにミネラル濃度

前に 5.8 mg/dl であったが、分娩 40 時間前に一過性の低値を示したのち上昇し始め、分娩 60 時間後に最高値 10.8 mg/dl を示した。以後正常値まで漸減した。血清マグネシウム濃度は、全期間を通してほぼ一定値 (1.9~2.4 mg/dl) を示した (図 1-A)。

血清 25-OH-D₃ 濃度は分娩 12 時間後に一過性のわずかな上昇を認めたが、大きな変動は観察されなかった。血清 24,25-(OH)₂-D₃ 濃度は、分娩 64 時間前には 2.0 ng/ml であったが、分娩 40 時間前には 0.8 ng/ml に低下した。以後漸減して分娩 7 日後には 0.2 ng/ml と低値を示した (図 1-B)。

血清 1,25-(OH)₂-D₃ 濃度は、分娩 64 時間前には 49.5 pg/ml と比較的高値を示したが、分娩 40 時間前には 28.8 pg/ml に低下し、分娩前 16 時間までそのまま経過した。しかし、分娩 1 時間後には 52.0 pg/ml に上昇し、分娩 11 時間後に 65.4 pg/ml とピークを示した。以後漸減し、分娩 84 時間後に 21.0 pg/ml と最低値を示した。分娩 7 日後には、血清 1,25-(OH)₂-D₃ 濃度は、32.2 pg/ml であった (図 1-C)。

3. 考 察

産褥期の乳牛のビタミン D 代謝とミネラル代謝との関連を解明するための一助として、健康な産褥期の乳牛 1 例について 3 種のビタミン D₃ 代謝産物濃度を測定し、血清ミネラル濃度との関連を検討してみた。

本牛の血清カルシウム濃度は分娩 40 時間前から低下し始め、分娩直後に最低値を示し、その後徐々に回復した。この変動パターンは、JACKSON ら⁶⁾、HORST ら⁴⁾が産褥期の乳牛の血清カルシウム濃度について測定した値とよく一致することから、産褥期の乳牛の血清カルシウムの変動パターンとしては典型的なものと思われる。これに対して、血清ビタミン D₃ 代謝産物の中の 1,25-(OH)₂-D₃ だけが反応的に変動することが観察された。すなわち、分娩時の低カルシウム血症に対処するように血清 1,25-(OH)₂-D₃ 濃度の上昇が認められる。このことは HORST ら^{4,5)}が産褥期の乳牛に対して行った観察結果とよく一致しており、健康牛においては、血清カルシウム濃度の低下に 1,25-(OH)₂-D₃ が好適に反応し、血清カルシウム濃度を上昇させるものと解される。

血清無機リン濃度は、1,25-(OH)₂-D₃ 濃度の上昇にわずかに遅れて上昇し始め、1,25-(OH)₂-D₃ 濃度がある程度低下するまで上昇し、その後急速に低下した。このパターンは、従来、健康牛について報告されている血清無機リン濃度の変動パターン^{9,10)}とはその最高値において大きく異なっていた。この原因については明らかではないが、本牛の場合、血清 1,25-(OH)₂-D₃ は最初に血清カルシウム濃度の低下に反応して上昇し、1,25-(OH)₂-D₃ 濃度の急激な上昇に血清無機リンが鋭敏に反応した結果

と思われる。それゆえ、1,25-(OH)₂-D₃ は血清カルシウムばかりでなく、無機リンの代謝とも密接に関連することがうかがえた。

いっぽう、本牛の血清 1,25-(OH)₂-D₃ 濃度は、HORST らの測定値^{4,5)}に比べて全期間にわたって約 1/2 の低値を示した。しかしながら、健康牛の血清 1,25-(OH)₂-D₃ 値は、すでに報告したようにかなりのバラツキを示す¹⁴⁾ことから、本牛の血清 1,25-(OH)₂-D₃ 濃度が特に異常値とは考えられない。

血清マグネシウム濃度は、全期間にわたって著変なく推移した。したがって、血清マグネシウムは、ビタミン D₃ の代謝産物によって大きな影響を受けることなく代謝されるものと推察される。

血清 25-(OH)-D₃ 濃度は、分娩 12 時間後に一過性の上昇が認められるものの、大きな変動は観察されなかった。このことは、著者ら¹⁴⁾が先に報告したように、血清 25-OH-D₃ はビタミン D₃ の貯蔵型として、食事からの摂取量や体内合成量に依存して、その体内レベルはほぼ一定に保たれているものと推察された。いっぽう、血清 24,25-(OH)₂-D₃ 濃度は分娩 40 時間前に急激に減少した後、分娩後 7 日にかけて徐々に減少することが観察された。妊娠末期から分娩時にかけて、血清 24,25-(OH)₂-D₃ 濃度が突然減少することは HORST ら⁵⁾も乳熱牛において観察しており、24,25-(OH)₂-D₃ 代謝が分娩時のプロラクチンやエストラジオールなどのホルモンバランスの変化によって影響を受けることを示唆するものかもしれない。

以上のように 1 例報告ではあるが、産褥期の乳牛のカルシウムならびにリン代謝に対して、ビタミン D₃ 代謝産物のうち 1,25-(OH)₂-D₃ が密接な関わりを持つことが認められた。今後、多数例について検索し、乳牛の分娩生理に果たすビタミン D の役割を明確にすべきと思われる。

稿を終えるにあたり、24,25-(OH)₂-[³H]-D₃ の分与その他の便宜をいただいた帝人株式会社生物医学研究所ならびに結晶 1,25-(OH)₂-D₃ などの供与をいただいたエーザイ株式会社に感謝する。また、試料採取にご協力いただいた魚沼家畜指導診療所の中村信考所長に謝意を表す。

文 献

- 1) CHEN, P. S. Jr., TORIBARA, T. Y. and WARNER, H.: *Anal. Chem.*, 28, 1756~1758 (1956).
- 2) FRIEDLANDER, E. J. and NORMAN, A. W.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 170, 731~738 (1975).
- 3) GAST, D. R., MARQUARDT, J. P. and JORGENSEN, N. A., et al.: *J. Dairy Sci.*, 60, 1910~1920 (1977).
- 4) HORST, R. L., EISMAN, J. A. and JORGENSEN, N. A., et al.: *Science*, 196, 662~663 (1977).
- 5) HORST, R. L., SHEPARD, R. M. and JORGENSEN,

- N. A., et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 192, 512~523 (1979).
- 6) JACKSON, H. D., PAPPENHAGEN, A. R. and GOETSCH, G. D., et al.: *J. Dairy Sci.*, 45, 897~903 (1962).
- 7) MANN, C. K. and YOE, J. H.: *Anal. Chem.*, 28, 202~205 (1956).
- 8) McMURRAY, C. H., RICE, D. A. and McBRIDE, P. S.: *Vet. Rec.*, 107, 188~191 (1980).
- 9) 村上大蔵: 岩手大農学部報告, 5, 123~171 (1961).
- 10) 二本柳昴子, 飯塚三喜, 米村寿男, ほか: 家畜繁殖誌, 別輯, 13, 16~22 (1967).
- 11) OLSON, W. G., JORGENSEN, N. A. and SCHULTZ, L. H., et al.: *J. Dairy Sci.*, 56, 889~895 (1973).
- 12) SANSOM, B. F., ALLEN, W. M. and DAVIES, D. C., et al.: *Vet. Rec.*, 99, 310~312 (1976).
- 13) 志村二三夫, 田村正明: ビタミン, 52, 173~181 (1978).
- 14) 田村正明, 杉浦邦紀: 日獣学誌, 41, 377~384 (1979).
- 15) WILLIS, J. B.: *Anal. Chem.*, 33, 556~559 (1961).

症 例 報 告

ビタミンD過剰投与に起因した牛の石灰沈着症

中村菊保*¹⁾ 板倉智敏*²⁾ 中島信明*³⁾ 勝屋茂實*⁴⁾

(昭和 57 年 9 月 17 日受理)

Bovine Calcinosis due to Excessive Administration of Vitamin D
KIKUYASU NAKAMURA (Poultry Disease Laboratory, National Institute of Animal
Health, Kurachi, Seki-shi Gifu 501-32) et al.

SUMMARY

Typical calcinosis occurred in two adult dairy cows which had been administered with vitamin D for a long time to prevent osteomalacia after delivery. The cows displayed emaciation, weakness of heart sound, distention of the jugular vein, and diarrhea. Pathologically, Severe generalized calcification was revealed in them. Main calcified lesions were in the left atrial and ventricular endocardium of the heart, the media of arteries, the adventitia of veins, trabeculae of the spleen, the basement membranes of tubules of the renal medulla, the serosa of the rumen and omasum, and the gastric glands of the abomasum. Cartilaginous metaplasia was observed in some of the affected arterial walls. In the lungs calcification was seen in the bronchial cartilage, and multiple bony metaplasia in alveolar walls. The present cases were considered to have been caused by an excessive administration of vitamin D.

要 約

分娩後骨軟症に罹患したと疑われ、治療としてビタミンD剤が長期間投与された2頭の雌成乳牛に典型的石灰症を認めた。両牛は、臨床的には衰弱・心音の減弱・頸静脈拡張・下痢を、病理学的には重度の全身性石灰沈着を示した。石灰化病変は、心臓では左心房・左心室の心内膜、静脈では外膜、動脈では中膜、脾臓では脾柱、腎臓では髄質の尿細管基底膜、第一胃と第三胃では漿膜、第四胃では胃腺に見られた。このほか、動脈壁の一部では軟骨化生、肺では気管支軟骨の石灰化と肺胞壁の骨化生が見られた。以上の所見から、今回の石灰症はビタミンDの過剰投与に起因したとみなされた。

*¹⁾ 農林水産省家畜衛生試験場鶏病支場 (岐阜県関市倉知 4909-58)*²⁾ 鳥取大学農学部 (鳥取市湖山町南 4-101)*³⁾ 残留農薬研究所 (茨城県水海道市)*⁴⁾ 農林水産省家畜衛生試験場 (茨城県筑波郡谷田部町観音台 3-1-1)