

乳熱の病態

山岸 則夫[†]

岩手大学農学部共同獣医学科 (〒020-8550 盛岡市上田3-18-8)

Pathophysiology of Milk Fever

Norio YAMAGISHI[†]*Cooperative Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Iwate University,
Ueda 3-18-8, Morioka, 020-8550, Japan*

はじめに

分娩後の乳牛では生理的に血中カルシウム (Ca) 濃度が低下し易く, その程度が著しい場合, 意識低下や骨格筋の弛緩麻痺などを主徴とする無熱性の起立不能症を発症する. このような起立不能症は乳熱 (milk fever), 産褥麻痺 (parturient paresis) あるいは分娩性低Ca血症 (parturient hypocalcemia) と呼ばれ, 乳牛の診療に従事する獣医師が遭遇する主要疾患の一つである.

乳熱に関する研究の歴史は古く, 18世紀末から20世紀初頭まで臨床症状や治療法に関して多く報告されてきた [1-3]. 1925年には, 乳熱罹患牛の血中Ca濃度が測定され, 初めて低Ca血症が乳熱の主因であることが立証された [4, 5]. これ以降, 乳熱に関する研究は加速し, 起立不能牛に関する血中Ca濃度の調査, 分娩前後並びに各産次の血中Ca, 無機リン (P) 及びマグネシウム (Mg) 濃度や初乳中Ca濃度の調査, 乾乳期飼料中ミネラル含量, Ca/P比及び塩酸添加による血中Ca濃度と乳熱発生率に関する調査, Ca剤の投与による乳熱の治療・予防に関する試験, さらにはCaキレート剤による乳熱再現試験が集中的に行われた [1, 3]. 1960年代以降は, 乳牛の内分泌ホルモンと各標的器官によるCa恒常性機構の解明, ビタミンD並びにその類似体による予防, 乾乳期飼料のCa等ミネラル含有量や陽イオン・陰イオンバランス (Dietary Cation-Anion Difference: DCAD) の調節による予防に関する研究が, 現在まで精力的に行われている [3, 6].

乳熱の主因である低Ca血症は単胃動物にはみられない特有のものであるが, 最近まで牛のCa代謝の理解には単胃動物の知見が多く引用されてきた. 本稿では, 乳熱の病態について理解を深めることを目的に, 牛や他の反芻動物のCa代謝に関する研究の最新成果を織り交ぜながら文献的知見を概説する.

内分泌ホルモンによるCa代謝調節

生体にはCa恒常性を維持し血中Ca濃度を一定に保つ機構が存在し, その調節を司る内分泌ホルモンとしてカルシトニン (CT), 上皮小体ホルモン (副甲状腺ホルモン: PTH), 並びに 1,25-dihydroxyvitamin D₃ [1,25(OH)₂D₃] が知られている [7]. CTは血中Ca濃度の上昇により甲状腺から分泌されるホルモンであり, 生理的用量では腎臓におけるCa排泄量を減少させるが, 薬理的用量では骨におけるCaの吸収抑制と沈着促進, 並びに腎Ca排泄量の増加を促す. 一方, PTHは血中Ca濃度の低下に呼応して分泌されるホルモンであり, 血中を循環して腎臓でのCa再吸収や骨からのCa動員を促進する (図1). PTHは腎臓の1 α -hydroxylaseを活性化させ, 25-hydroxyvitamin D₃から1,25(OH)₂D₃への変換を促進する. 1,25(OH)₂D₃は生体での生理活性が最も高いビタミンD₃代謝産物であり, 主として腸管でのCa吸収を促進させる. 1,25(OH)₂D₃の骨への影響については議論の余地があるが, 最近のわれわれや海外のグループの研究では, Ca摂取量の制限下では骨吸収が促進され [8], 通常のCa摂取条件下では骨形成が促

[†] 連絡責任者: 山岸則夫 (岩手大学農学部共同獣医学科)

〒020-8550 盛岡市上田3-18-8 ☎・FAX 019-621-6202 E-mail: yamagisi@iwate-u.ac.jp

[†] Correspondence to: Norio YAMAGISHI (Cooperative Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Iwate University)

Ueda 3-18-8, Morioka, 020-8550, Japan

TEL・FAX 019-621-6202 E-mail: yamagisi@iwate-u.ac.jp

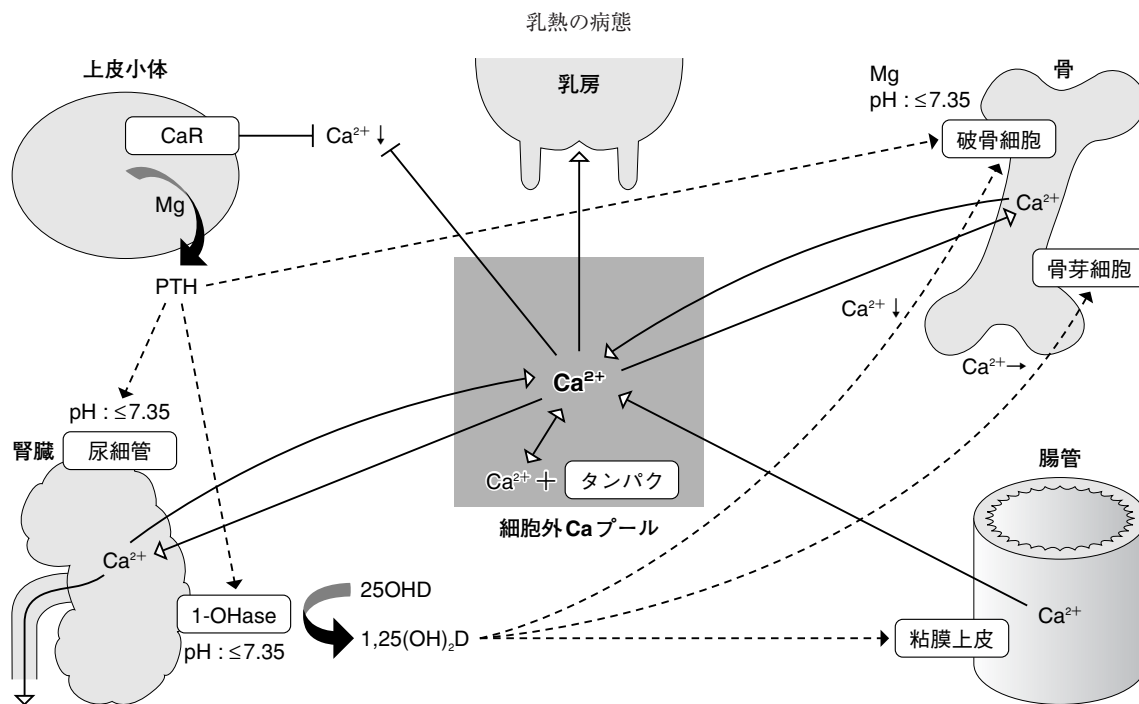


図1 乳牛における内分泌ホルモンによるCa代謝制御の概略図

1-OHase : 1 α -hydroxylase

25OHD : 25-hydroxyvitamin D

1,25(OH) $_2$ D : 1,25-dihydroxyvitamin D

CaR : calcium sensing receptor

進される [9-11].

1950年代、乳牛への上皮小体精製物の注射によって血中Ca濃度の上昇と乳熱予防効果がみられたことから、乳熱の低Ca血症の原因はPTH分泌不全と考えられていた [1, 6]. しかし、1960年代後半、乳牛の上皮小体の組織形態学的研究によって、乳熱罹患牛の上皮小体は活性化状態にあるとしてPTH分泌不全説に異議が唱えられた [12]. 1970年代後半には血中の内分泌ホルモン濃度の測定が可能になり、乳熱罹患牛の血中PTH並びに1,25(OH) $_2$ D $_3$ 濃度は非罹患牛と同等以上に上昇し [2, 13, 14], 血中CT濃度は乳熱罹患牛と非罹患牛で差がないことが確認された [13, 15]. 現在、乳熱における低Ca血症の原因として、内分泌ホルモンの分泌不全 (PTH及び1,25(OH) $_2$ D $_3$) や分泌過剰 (CT) は完全に否定されている。しかし、内分泌ホルモンの分泌と作用に関する解析が進み、稀ではあるが、乳熱再発牛の中に1,25(OH) $_2$ D $_3$ 合成の反応遅延 [16] やPTH及び1,25(OH) $_2$ D $_3$ に対する標的器官の反応性低下 [17] を示す症例の存在も報告されている。

骨代謝の特徴

放射性同位元素を用いた乳牛の分娩前後のCa動態解析 [18, 19] において、①分娩に伴う乳中への急激なCa流出により体内のCa貯蔵量が不足すること、②分娩後1~2週間は骨でのCa吸収は抑制されるため消化管からのCa吸収に多く依存することが示され、現在、この知見が乳牛の分娩前後におけるCa代謝を理解する上で

の基礎になっている。骨からのCa動員を抑制する要因として、骨吸収抑制因子の一つであるエストロジェンの作用が示唆されている [20]. 最近、われわれは乳牛の性周期において血中エストロジェン濃度の増加時に骨吸収が低下することを明らかにしている [21]. 一方、分娩前後の乳牛では分娩前日に血中エストロジェン濃度が劇的に増加し、この上昇が大きい場合に乳熱の発生が増加するとの報告がある [13]. これに対して、乳熱発生と血中エストロジェン濃度には有意な関係はないとの報告もあり [22], 今後、分娩と性ホルモンとの関係について詳細な検討が必要である。

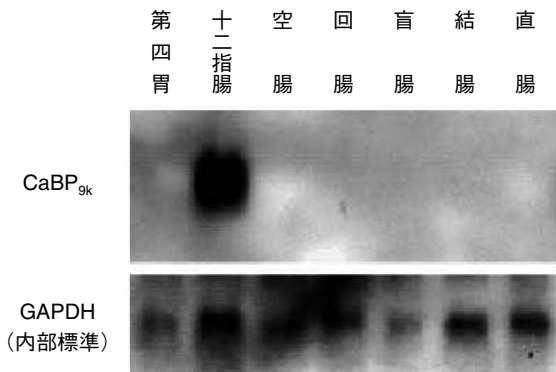
分娩乳牛において血中コルチゾール濃度が分娩直前より増加し、乳熱罹患牛では非罹患乳牛に比べて高値を示すことが知られている [23]. 最近、われわれが卵巣摘出乳牛に副腎皮質刺激ホルモンを投与して内因性コルチゾール分泌を誘発した実験 [24] では、顕著な低リン (P) 血症と血中骨吸収マーカー値の低下が認められた。今後、分娩前後の内因性コルチゾールの骨代謝への影響について検討が必要である。

乳牛における骨Ca吸収状態を間接的に把握する手法として、尿中や血中の骨吸収マーカーが測定されている。分娩乳牛に対して各種コラーゲン由来代謝産物を骨吸収マーカーとして用いた研究では、分娩後約1週間まで暫時増加することが示された [13, 25]. 一方、われわれは、破骨細胞が分泌する酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRAP5b) の血中濃度は分娩期に最高値に達することを明らかにした [26]. 骨吸収では破骨細胞による骨

融解を経てコラーゲンの分解が起こる [27] が、上述の2つの骨吸収マーカーのタイムラグはこのような骨吸収の一連の過程を反映した所見と考えられる。今後、骨形成マーカーも加え、分娩乳牛における骨代謝マーカーと骨Ca吸収量との関係についての精査が必要である。

消化管におけるCa吸収

Caが消化管で速やかに吸収されるためには消化管運動による吸収部位への搬送が必要だが、分娩乳牛では分娩ストレス、妊娠子宮による消化管への機械的圧迫、エストロジェンや副腎皮質ホルモンなどの影響を受けて消化管運動とCa吸収が抑制される [28-31]。一方、血中Ca濃度の低下も、消化管運動を抑制する要因の一つである [32-34]。したがって、分娩乳牛では消化管運動の低下に伴うCa吸収効率の低下により低Ca血症を招き、さらに低Ca血症による消化管運動の低下によって血中Ca濃度がさらに低下する状況にあると考えられる。



* Representative Northern blot of mRNA extracted from seven regions in the gastrointestinal tract.

図2 牛消化管粘膜におけるカルシウム結合タンパク (Calbindin D_{9k}; CaBP_{9k}) の遺伝子発現分布。GAPDH: glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

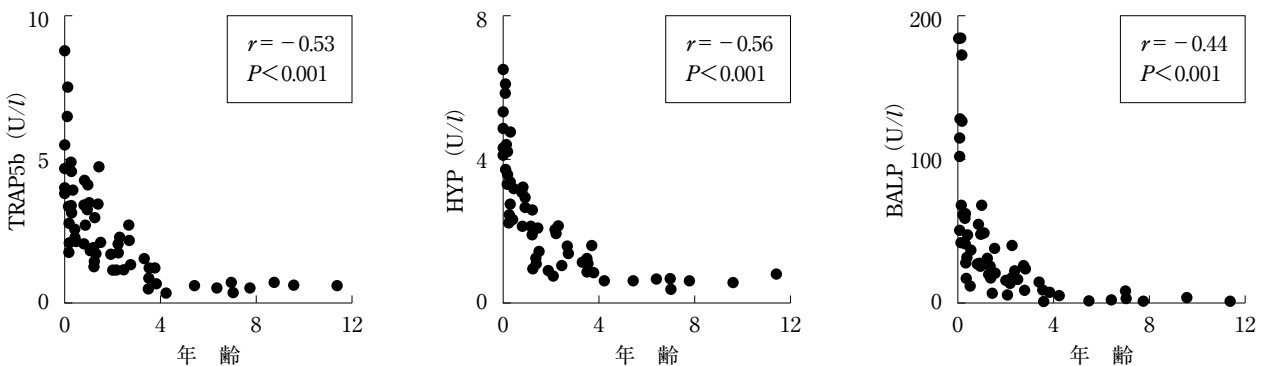
消化管におけるCa吸収様式は、①粘膜上皮細胞内を通過する能動輸送と②粘膜上皮細胞間隙を通過する受動輸送に大別される。能動輸送は、(a) 刷子縁膜を横切るCaの細胞内流入、(b) 刷子縁膜側から基底膜側へのCaの細胞質内移動、(c) 基底膜を横切る細胞外プールへのCa流出の3つの過程より成るが、いずれにも数種のCaチャネルやポンプ、担体などのCa輸送関連因子が関与し、1,25(OH)₂D₃によって制御されている [35]。単胃動物では小腸から盲腸までの比較的広い範囲で能動輸送が機能し、これは細胞質内Ca輸送に関与するCa結合タンパク質 (CaBP_{9k}) の発現分布と一致している [36, 37]。しかし、乳牛では消化管におけるCaBP_{9k} 遺伝子の発現は十二指腸に限局する [38] (図2) ため、乳牛は他動物種より低Ca血症に陥りやすいことが示唆されている。

受動輸送は小腸下部において活発であり、盲腸や結腸にまでその機能が備わっている。受動輸送では、Caは腸管内での溶解性 (イオン化) や量 (濃度)、滞留時間の影響を受け、化学的勾配に従ってタイトジャンクションをすり抜け移動する [35, 39]。

羊や山羊の第一胃では、酢酸塩、プロピオン酸塩及び酪酸塩等の短鎖脂肪酸の存在下で機能するCaの能動的吸収機構が存在する [40-42]。この機構には1,25(OH)₂D₃は関与せず、Ca輸送関連因子も必要としない [42, 43]。しかし、現時点において、乳牛では同様のCa吸収機構の存在は知られていない。

Ca代謝に影響を与える各種要因

加齢は骨代謝並びに消化管Ca吸収に影響を与える要因である。牛の血中骨吸収並びに骨形成マーカー値は加齢に伴い低下し [44, 45] (図3)、初産牛では経産牛に比較して分娩前後に高値で推移する [26, 44]。また、血中1,25(OH)₂D₃濃度は年齢 (月齢) と負の相関関係を示し、十二指腸粘膜のCaBP_{9k} 遺伝子発現量は血中



* Scatter diagrams showing the relationship between age and plasma bone markers in 65 cattle. r = correlation coefficient.

図3 牛の年齢と血中骨代謝マーカー値との関係

TRAP5b: 酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ, HYP: ハイドロキシプロリン, BALP: 骨型アルカリフォスファターゼ

1,25(OH)₂D₃濃度と正の年齢（月齢）と負の相関関係を示す [46].

内分泌ホルモンの分泌やその反応性にも、各種要因が影響を与える。PTHの分泌は、Mg不足や低Mg血症によって抑制され、低Ca含有飼料給与によって促進される [20, 47]. PTHの標的器官における反応性は、DCADの低下や急激な血中Ca濃度の低下によって促進され、低Mg血症や加齢では抑制される [20, 47]. 腎臓における1,25(OH)₂D₃産生は、DCADの増加、高P含有飼料、高無機P血症、もしくはVD₃の欠乏ないし過剰によって抑制される [20, 47].

近年、骨は体液の酸・塩基平衡の緩衝作用を担う器官として注目されている [20]. すなわち、酸性飼料摂取による血液pHの低下は、骨からの陽イオン（おもにCaイオン）の遊離を促し、血液pHを回復させる。結果として、正のCaバランスとなり、細胞外Caプールに流入した余剰分のCaは腎臓から排泄される。この状態で低Ca血症が起こると、尿中へのCa排泄量は劇的に減少し、血中Ca濃度の維持へと働く。DCADは、このような骨のCa代謝機構を利用した予防法と考えることが可能である。

カルシウム剤による治療

古くより乳熱の治療としてCa剤の投与が行われているが、現在、世界標準ともいえる治療法は、ボログルコン酸Ca (BG-Ca) 製剤をCaとして8~12g 静脈内投与する方法である [48-51]. 変法として、Ca投与量の増加 [48, 52] あるいはCa, P, マグネシウム (Mg) の供給源を含有するBG-Ca製剤 [48, 49, 51, 53] が応用されている。わが国では、おもな市販Ca剤として、25% BG-Caのみを含有する単独製剤 (BG-Ca 250 mg/ml; 500ml中にCa 10.5g含有) と25% BG-Ca液にCa, P, Mgの供給源を含有した複合製剤 (BG-Ca 250mg/ml, グリセロリン酸Ca 20mg/ml, 塩化Mg 20mg/ml; 500ml中にCa 12.4g, P 1.5g, Mg 2.6g含有) が普及している。

Caの投与量に関して、北欧4カ国での調査では、6g, 9g及び12gのCa投与量のCa剤を静脈内投与しても、乳熱罹患牛の治療率に差はなかった [54]. オーストラリアにおける同様の調査では、7.25~9.5gがCaの最適投与量として推奨された [55, 56]. 米国での治療試験では、Ca投与量を7.4gから12.3gに増加させても乳熱の治療成績に差がないことが示された [52]. 米国のテキストでは、乳熱罹患牛に対するCaの推奨投与量は体重100kg当たり2gとされ [53], 700kgの乳牛に換算すると14gのCa投与量となる。一方、乳熱罹患牛にBG-Ca製剤をCaとして8gを8分間静脈内投与した試験では、深刻な心電図異常が高頻度に出現し、本治療法

の危険性が指摘されている [57].

Ca剤にPやMgの供給源を含有することの有用性を検証した科学的研究はあまり多くない。一般に、Pを含有するCa製剤は、低Ca血症に併発する低P血症からの回復を期待して投与される [48-51]. 乳熱罹患牛に40% BG-Ca製剤500mlの単独、もしくはこれに10% リン酸水素ナトリウム液200~500ml (Pとして4~10g) を併用して静脈内投与した試験では、リン酸水素ナトリウム液併用投与は血清無機P濃度を一過性に正常範囲に回復させるが、治癒率に影響しないことが示されている [58]. 一方、Mgを含有するCa製剤の投与は、低Mg血症からの回復を図ることが目的であり、1.5~4gのMg投与量が推奨されている [48, 49, 51, 53]. MgはCa剤の投与による心興奮作用 (cardio-excitatory effect) を拮抗する目的でも投与される [49].

臨床現場では、分娩後の乳牛に対する輸液治療の一環として、乳熱罹患牛にもブドウ糖の静脈内投与を併用する獣医師も多い。しかし、近年、50%ブドウ糖の静脈内投与によって、高グルコース血症と高インスリン血症に呼応したPの細胞内シフトが起こり、低P血症が誘起されることが示されている [59, 60]. また、低P血症は、Ca剤の治療後も起立不能が持続する乳熱罹患牛 (ダウン牛症候群) で多く認められる血液生化学所見の一つである [61]. したがって、乳熱罹患牛に対するブドウ糖の静脈内投与では、血清無機P濃度の推移に注視する必要がある。

ダウン牛症候群

ダウン牛症候群は、広義的には起立不能に陥った乳牛の病的状態であるが、疫学的にも低Ca血症がダウン牛症候群の危険因子 [62] であることから、狭義的に治療後も起立しない乳熱罹患牛をダウン牛症候群と呼称することが慣習となっている [63]. 乳熱罹患牛がダウン牛症候群へ移行する要因として、難産、乳房炎、起立行動時の滑走による運動器損傷などの併発症があげられる。併発症を伴わない場合、起立不能時の自らの体重負荷によって後躯領域が圧迫を受け神経や骨格筋が虚血に陥ること (圧挫症候群) が要因になる [63]. 通常、ダウン牛症候群では後躯領域の虚血性障害に起因して起立不能が持続するが、起立不能であること以外に深刻な症状はみられない [63].

北欧諸国において、ダウン牛症候群の症例の約8%が、乳熱としての治療前から横臥、昏睡、痙攣、不整脈、頻脈並びに体温上昇などの重篤な症状を呈し死亡することが知られてきた [64-66]. わが国でも、分娩前後に起立不能となり、初診時より呻吟・苦悶、高度の頻脈並びに発作性の呼吸困難症状を呈して死産転帰を辿る低Ca血症乳牛として存在が知られてきた [67]. われわれ

の病理学的解析では、これらすべての症例では心筋の壊死性病変が共通して存在することが示されている [68-70]。また、心筋の電子顕微鏡所見 [71] と血中 ANP 濃度の解析 [72] により、これらの症例では分娩前からの持続的な心機能低下が示唆されているが、詳細な病理発生機序はいまだ不明である。

お わ り に

現在、乳熱の世界での発生率は約 3~20% [48, 73] といわれ、近年の目覚ましい飼養管理と予防技術の向上によってある程度のコントロールは可能であるが、今なお酪農家と獣医師を悩ます主要な疾患である。乳熱罹患牛では、治療前の臨床症状の重篤度と低 Ca 血症の程度は強く相関し [74]、これらは初回治療への反応性（起立の可否）にも影響を及ぼす [61]。臨床現場では即時に血液検査結果を得ることは困難なため、獣医師は稟告と臨床症状から低 Ca 血症の程度の推定と病状把握を行い、投与する Ca 剤の種類や投与量を決定しなくてはならない。しかし、上述のように Ca 剤の静脈内投与による治療には、Ca の投与量や他のミネラルの配合の必要性について議論の余地が残されており、今後、一定の治療指針を得るためにも、全国規模で家畜診療記録簿に基づいた回顧的調査が必要と考えられる。一方、本稿では取り上げなかったが、Kimura ら [75] の研究によって、乳房非切除した分娩牛では低 Ca 血症は発生せず、乳房非切除の分娩牛と同等に低 P 血症を呈することが明らかにされている。また、Onda ら [76, 77] の研究によって、乳牛における乳腺組織の Ca 代謝への役割が明らかされつつある。これらの研究成果は、今後、乳熱の病態に関する理解を深める上できわめて重要である。

引 用 文 献

- [1] Hibbs JW : Milk fever (parturient paresis) in dairy cows : A review, *J Dairy Sci*, 33, 758-789 (1950)
- [2] Horst RL, Eisman JA, Jorgensen NA, DeLuca HF : Adequate response of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D to parturition in paretic (milk fever) dairy cows, *Science*, 196, 662-663 (1977)
- [3] Murray RD, Horsfield JE, McCormick WD, Williams HJ, Ward D : Historical and current perspectives on the treatment, control and pathogenesis of milk fever in dairy cattle, *Vet Rec*, 163, 561-565 (2008)
- [4] Little WL, Wright NC : The aetiology of milk fever in cattle, *Brit J Exptl Pathol*, 6, 129-134 (1925)
- [5] Little WL, Wright NC : The aetiology of milk fever in cattle, *Vet Rec*, 31, 631-633 (1925)
- [6] Boda JM, Colle HH : Studies on parturient paresis in cattle, *J Dairy Sci*, 39, 1027-1054 (1956)
- [7] Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA : Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow, *J Dairy Sci*, 77, 1936-1951 (1994)
- [8] Wilkens MR, Mrochen N, Breves G, Schroder B : Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on calcium and phosphorus homeostasis in sheep fed diets either adequate or restricted in calcium content, *Domest Anim Endocrinol*, 38, 190-199 (2010)
- [9] Kim D, Kawakami Y, Yamagishi N, Abe I, Furuhashi K, Devkota B, Okura N, Sato S, Ohashi S : Response of plasma bone markers to a single intramuscular administration of calcitriol in dairy cows, *Res Vet Sci*, 90, 124-126 (2011)
- [10] Kim D, Yamagishi N, Abe I, Furuhashi K, Devkota B, Ohashi S : Effects of an oleaginous calcitriol on changes in plasma calcitriol, calcium and bone metabolic markers in dairy cows, *J Vet Med Sci*, 73, 185-191 (2011)
- [11] Kim D, Yamagishi N, Kawakami Y, Abe I, Furuhashi K, Devkota B, Sasaki K, Okura N, Sato S, Ohashi S : Dose-response effects of an aqueous formulation of calcitriol with evaluation of renal function in non-pregnant cows, *J Vet Med Sci* (in press, doi : 10.1292/jvms.11-0363)
- [12] Capen CC, Young DM : The ultrastructure of the parathyroid glands and thyroid parafollicular cells of cows with parturient paresis and hypocalcemia, *Lab Invest*, 17, 717-737 (1976)
- [13] Hollis BW, Draper HH, Burton JH, Etches RJ : A hormonal assessment of bovine parturient paresis : evidence for a role of oestrogen, *J Endocrinol*, 88, 161-171 (1981)
- [14] Horst RL, Jorgensen NA, DeLuca HF : Plasma 1,25-dihydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels in paretic dairy cows, *Am J Physiol*, 235, E634-637 (1978)
- [15] Garel JM, Barlet JP : Plasma immunoreactive calcitonin and parathyroid hormone levels in parturient cows, *J Endocrinol*, 66, 299-300 (1975)
- [16] Goff JP, Reinhardt TA, Horst RL : Recurring hypocalcemia of bovine parturient paresis is associated with failure to produce 1,25-dihydroxyvitamin D, *Endocrinology*, 125, 49-53 (1989)
- [17] 山岸則夫, 大泉俊昭, 佐藤れえ子, 内藤善久 : 乳熱病歴を有する乳牛の分娩前後における血漿中上皮小体ホルモンおよび 1,25-dihydroxyvitamin D 濃度の変動, *日獣会誌*, 49, 724-728 (1996)
- [18] Ramberg CF Jr, Johnson EK, Fargo RD, Kronfeld DS : Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia, *Am J Physiol*, 246, R698-704 (1984)
- [19] Ramberg CF Jr, Mayer GP, Kronfeld DS, Phang JM, Berman M : Calcium kinetics in cows during late pregnancy, parturition, and early lactation, *Am J Physiol*, 219, 1166-1177 (1970)
- [20] Goff JP : Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders, *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 16, 319-337 (2000)
- [21] Devkota B, Itagaki K, Kim D, Sasaki K, Osawa T, Furuhashi K, Yamagishi N : Relationship between

- sex hormone fluctuations and biomarkers of bone resorption in bovine plasma during the oestrous cycle, *Vet J*, (in press, doi : 10. 1016/j. tvjl. 2012. 03. 026)
- [22] Sasser RG, Falk DE, Ross RH : Estrogen in plasma of parturient paretic and normal cows, *J Dairy Sci*, 62, 551-556 (1979)
- [23] Goff JP, Kimura K, Horst RL : Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and beta-carotene status at parturition, *J Dairy Sci*, 85, 1427-1436 (2002)
- [24] Kim D, Yamagishi N, Devkota B, Furuhashi K : Effects of cortisol secreted via a 12-h infusion of adrenocorticotrophic hormone on mineral homeostasis and bone metabolism in ovariectomized cows, *Domest Anim Endocrinol* (in press, doi : 10. 1016/j. domaniend. 2012. 04. 002)
- [25] Liesegang A, Sassi ML, Risteli J, Eicher R, Wanner M, Riond JL : Comparison of bone resorption markers during hypocalcemia in dairy cows, *J Dairy Sci*, 81, 2614-2622 (1998)
- [26] Kim D, Yamagishi N, Ueki A, Miura M, Saito F, Sato S, Furuhashi K : Changes in plasma bone metabolic markers in periparturient dairy cows, *J Vet Med Sci*, 72, 773-776 (2010)
- [27] Seibel MJ : Biochemical markers of bone turnover : part I : biochemistry and variability, *Clin Biochem Rev*, 26, 97-122 (2005)
- [28] Drackley JK : Biology of dairy cows during the transition period : the final frontier?, *J Dairy Sci*, 82, 2259-2273 (1999)
- [29] Kimberg DV, Baerg RD, Gershon E, Graudusius RT : Effect of cortisone treatment on the active transport of calcium by the small intestine, *J Clin Invest*, 50, 1309-1321 (1971)
- [30] McCormick CC : Passive diffusion does not play a major role in the absorption of dietary calcium in normal adults, *J Nutr*, 132, 3428-3430 (2002)
- [31] Moodie EW, Robertson A : Dietary intake of the parturient cow, *Res Vet Sci*, 2, 217-226 (1961)
- [32] Daniel RC : Motility of the rumen and abomasum during hypocalcaemia, *Can J Comp Med*, 47, 276-280 (1983)
- [33] Madison JB, Troutt HF : Effects of hypocalcaemia on abomasal motility, *Res Vet Sci*, 44, 264-266 (1988)
- [34] Marquardt JP, Horst RL, Jorgensen NA : Effect of parity on dry matter intake at parturition in dairy cattle, *J Dairy Sci*, 60, 929-934 (1977)
- [35] Bronner F : Calcium absorption - a paradigm for mineral absorption, *J Nutr*, 128, 917-920 (1998)
- [36] Howard A, Legon S, Walters JR : Human and rat intestinal plasma membrane calcium pump isoforms, *Am J Physiol*, 265, G917-925 (1993)
- [37] Perret C, Desplan C, Brehier A, Thomasset M : Characterisation of rat 9-kDa cholecalciferol (CaBP) messenger RNA using a complementary DNA. Absence of homology with 28-kDa cholecalciferol mRNA, *Eur J Biochem*, 148, 61-66 (1985)
- [38] Yamagishi N, Ayukawa Y, Ishiguro N, Soeta S, Lee IH, Oboshi K, Yamada H : Expression of calbindin-D_{9k} messenger ribonucleic acid in the gastrointestinal tract of dairy cattle, *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 49, 461-465 (2002)
- [39] Bronner F, Pansu D : Nutritional aspects of calcium absorption, *J Nutr*, 129, 9-12 (1999)
- [40] Schroder B, Vossing S, Breves G : *In vitro* studies on active calcium absorption from ovine rumen, *J Comp Physiol B*, 169, 487-494 (1999)
- [41] Wadhwa DR, Care AD : The absorption of calcium ions from the ovine reticulo-rumen, *J Comp Physiol B*, 170, 581-588 (2000)
- [42] Sidler-Lauff K, Boos A, Kraenzlin M, Liesegang A : Influence of different calcium supplies and a single vitamin D injection on vitamin D receptor and calbindin D_{9k} immunoreactivities in the gastrointestinal tract of goat kids, *J Anim Sci*, 88, 3598-3610 (2010)
- [43] Schroder B, Goebel W, Huber K, Breves G : No effect of vitamin D₃ treatment on active calcium absorption across ruminal epithelium of sheep, *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 48, 353-363 (2001)
- [44] Sato R, Onda K, Ochiai H, Iriki T, Yamazaki Y, Wada Y : Serum osteocalcin in dairy cows : age-related changes and periparturient variation, *Res Vet Sci*, 91, 196-198 (2011)
- [45] Yamagishi N, Takehana K, Kim D, Miura M, Hirata T, Devkota B, Sato S, Furuhashi K : Fluorometric method for measuring plasma tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b and its application in cattle, *J Vet Med Sci*, 71, 1637-1642 (2009)
- [46] Yamagishi N, Miyazaki M, Naito Y : The expression of genes for transepithelial calcium-transporting proteins in the bovine duodenum, *Vet J*, 171, 363-366 (2006)
- [47] Goff JP, Horst RL : Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows, *J Dairy Sci*, 80, 176-186 (1997)
- [48] Goff JP : The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows, *Vet J*, 176, 50-57 (2008)
- [49] Hunt E, Blackwelder JT : Disorders of calcium metabolism, *Large Animal Internal Medicine*, Smith BP, ed, 1248-1252, Mosby, St. Louis (2002)
- [50] Oetzel GR, Goff JP : Milk fever (parturient paresis) in cows, ewes, and doe goats, *Current veterinary therapy : Food Animal Practice*, Howard JL, al eds, 4th ed, 215-218, Saunders, Philadelphia (1999)
- [51] Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD : Parturient paresis, *Veterinary medicine - a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*, 10th ed, 1626-1644, Saunders Elsevier, London (2007)
- [52] Doze JG, Donders R, van der Kolk JH : Effects of intravenous administration of two volumes of calcium solution on plasma ionized calcium concentration and recovery from naturally occurring hypocalcemia

- in lactating dairy cows, *Am J Vet Res*, 69, 1346-1350 (2008)
- [53] Goff JP : Calcium, magnesium, and phosphorus, *Large Animal Internal Medicine*, Smith BP, ed, 2nd ed, 1369-1377, Mosby, St. Louis (2009)
- [54] Alanko M, Cederquist B, Jonsgard K, Jonsson G, Nurmio P, Pehrson B, Simesen MG : The effect of different calcium doses in milk fever therapy. A comparative internordic field study, *Nord Vet Med*, 27, 616-626 (1975)
- [55] Fenwick DC : Parturient paresis (milk fever) of cows. I. The response to treatment and the effect of the duration of symptoms, *Aust Vet J*, 45, 111-113 (1969)
- [56] Fenwick DC : Parturient paresis (milk fever) of cows. 2. The quantity of calcium solution used in treatment and changes in heart beat characteristics, *Aust Vet J*, 45, 114-117 (1969)
- [57] Kwart C : The effect of calcium infusion on the electrocardiogram of parturient paretic cows, *Br Vet J*, 139, 192-199 (1983)
- [58] Braun U, Zulliger P, Liesegang A, Bleul U, Hassig M : Effect of intravenous calcium borogluconate and sodium phosphate in cows with parturient paresis, *Vet Rec*, 164, 296-299 (2009)
- [59] Grunberg W, Morin DE, Drackley JK, Barger AM, Constable PD : Effect of continuous intravenous administration of a 50% dextrose solution on phosphorus homeostasis in dairy cows, *J Am Vet Med Assoc*, 229, 413-420 (2006)
- [60] Grunberg W, Morin DE, Drackley JK, Constable PD : Effect of rapid intravenous administration of 50% dextrose solution on phosphorus homeostasis in post-parturient dairy cows, *J Vet Intern Med*, 20, 1471-1478 (2006)
- [61] Menard L, Thompson A : Milk fever and alert downer cows : does hypophosphatemia affect the treatment response?, *Can Vet J*, 48, 487-491 (2007)
- [62] Correa MT, Erb HN, Scarlett JM : Risk factors for downer cow syndrome, *J Dairy Sci*, 76, 3460-3463 (1993)
- [63] Cox VS : Nonsystemic causes of the downer cow syndrome, *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 4, 413-433 (1988)
- [64] Jönsson G, Pehrson B : Studies on the downer syndrome in dairy cows, *Zbl Vet Med*, A16, 757-784 (1969)
- [65] Hallgren W : Studies on parturient paresis in dairy cows, *Nord Vet Med*, 7, 433-463 (1955)
- [66] Waage S : The relationship between certain clinical characteristics and course of disease in milk fever in dairy cows, *Nord Vet Med*, 36, 346-353 (1984)
- [67] 小岩政照 : 乳牛の産褥性心筋症について, *家畜診療* 375, 37-38 (1994)
- [68] Yamagishi N, Okada H, Koiwa M, Kudo K, Matsuo N, Naito Y : Peripartum heart disease in cows, *J Comp Pathol*, 113, 373-382 (1995)
- [69] Yamagishi N, Naito Y : Calcium metabolism in hypocalcemic cows with myocardial lesion, *J Vet Med Sci*, 59, 71-73 (1997)
- [70] 山岸則夫, 佐藤 淳, 佐藤れえ子, 内藤善久 : 乳牛の心筋壊死病変を伴う低カルシウム血症の臨床所見, *日獣会誌*, 52, 493-497 (1999)
- [71] Yamagishi N, Ogawa K, Naito Y : Pathological changes in the myocardium of hypocalcaemic parturient cows, *Vet Rec*, 144, 67-72 (1999)
- [72] Yamagishi N, Kobayashi S, Miyamoto A, Soehartono RH, Lee IH, Miyahara K, Naito Y, Yamada H : Plasma atrial natriuretic peptide concentrations in hypocalcaemic cows, *Vet Rec*, 148, 628-629 (2001)
- [73] DeGaris PJ, Lean IJ : Milk fever in dairy cows : a review of pathophysiology and control principles, *Vet J*, 176, 58-69 (2008)
- [74] Marr A, Moodie EW, Robertson A : Some biochemical and clinical aspects of milk fever, *J Comp Pathol*, 65, 347-365 (1955)
- [75] Kimura K, Goff JP, Kehrl ME Jr, Harp JA, Nonnecke BJ : Effects of mastectomy on composition of peripheral blood mononuclear cell populations in periparturient dairy cows, *J Dairy Sci*, 85, 1437-1444 (2002)
- [76] Onda K, Sato A, Yamaguchi M, Matsuki N, Ono K, Wada Y : Parathyroid hormone-related protein (PTHrP) and Ca levels in the milk of lactating cows, *J Vet Med Sci*, 68, 709-713 (2006)
- [77] Onda K, Yamaguchi M, Ohashi M, Sato R, Ochiai H, Iriki T, Wada Y : Modification of the analysis of parathyroid hormone-related protein in milk and concentrations of this protein in commercial milk and milk products in Japan, *J Dairy Sci*, 93, 1861-1867 (2010)