



牛乳・乳製品の生産工程における A1およびA2ミルクの 品質制御に関する調査研究

岡山大学大学院 環境生命自然科学研究科 教授 西野 直樹

【要約】

牛群検定を行っている生産者2軒（農場ⅠおよびⅡ）のホルスタイン種計141頭を対象として、ゲノミック評価に基づくA2化のベネフィット・リスク評価を行った。農場ⅠにおけるCSN2遺伝子型頻度は、A1A1が0.19、A1A2が0.49、A2A2が0.32であり、農場Ⅱではそれぞれ0.10、0.49および0.41であった。クラリファイド・プラスで生産性、繁殖性、体型、乳質、疾病発生リスクなどを調べたところ、A2A2型の方が305日搾乳での脂肪量、タンパク質量、乳脂肪率、乳タンパク質率などさまざまな点で優れると評価された。305日搾乳での乳量、生産寿命に有意差はなく、A2化はベネフィットが大きいと判断されるが、娘牛妊娠率、経産牛受胎率が低く、第四胃変位のリスクが高いという知見は、ゲノミック評価を拡大して精度を高める必要がある。

続いて、ミルクおよびヨーグルトからカゼインを調製し、それらを酵素分解および限外ろ過してペプチドのBCM-7を測定した。A1ミルクからだけでなくA2ミルクからもBCM-7が少量生成し、DPP4活性を有する乳酸菌でヨーグルトを作成するとBCM-7生成量は半分以下となった。

1 はじめに

(1) A2ミルクの概況

A1型の β -カゼインが胃腸の運動性や炎症に影響するなどの報告を受けて、これを含まないA2ミルクが製造販売されるようになった。先導したのは2000年に設立されたニュージーランドのA2コーポレーション（現A2ミルクカンパニー）で、乳幼児突然死症候群、冠動脈性心疾患、I型糖尿病、自閉症といった多くの疾患にA1ミルクの摂取が関与するという主張がなされた。健康影響については当初から異論、反論があり、科学的レビューを行った欧州食品安全機関は、A2ミルクの優位性を示す根拠は十分でないと論じ

ている（EFSA Science Report 2009）。日本の食品安全委員会もその見解¹⁾を支持しているが、2018年にそれまで懐疑的だったネスレやフォンテラといった乳業メーカーが参入し、世界のA2ミルク市場は一気に活性化した。22年の市場は1兆3000億円規模と推測されており、29年には3兆5000億円規模になると予測されている。日本では一部の消費者がA2ミルクを知っているという程度であるが、アジア、特に中国ではA2ミルクに興味および購買意欲を示す消費者が増加傾向²⁾にある。A2ミルクは、 β -カゼインをつくりだすCSN2遺伝子^(注1)がA2A2の牛を集め、その生乳を同一ロットで殺菌・

じゅうてん
充填する体制があれば作ることができる。

A2ミルクを認めることは、普通のミルク(A1ミルク)に対する消費者の価値観に影響を及ぼす可能性がある。クーラーステーションを介した生産流通体制が主流ということもあり、日本ではこれまでA2ミルクに関する研究が非常に低調であった。一方、生産者の中にはA2ミルクに活路を見出そうとする者がおり、2018年12月にスタートしたJA中標津を皮切りに、現在10団体が小規模のBtoCマーケティングを行っている。A1ミルクが混入してはいけないので、製造ロットが小さい方がA2化に取り組みやすい。2020年にはA2ミルクに関する情報交換の場として、一般社団法人A2ミルク協会が設立されている。

(注1) 乳タンパク質の約80%はカゼインで、約20%がホエイタンパク質からなる。カゼインはさらに α s1-カゼイン、 α s2-カゼイン、 β -カゼイン、 κ -カゼインの4グループに分けられ、それらを作り出す遺伝子がCSN1S1、CSN1S2、CSN2およびCSN3遺伝子である。 β -カゼインは牛乳中カゼインの30～35%を占める。

(2) これまでの調査研究の経過

筆者らは、岡山県^{ひるぜん}蒜山地域のジャージー種を対象とした飼養、衛生、乳質管理に関わる調査研究を行ってきた。蒜山酪農農業協同組合(以下「蒜酪」という。)他の要望に応じて始めた問題解決型研究である。同地域でA2化の機運が高まったのは2018年ごろで、それを受けて筆者らは蒜酪組合員が飼育するジャージー種590頭のCSN2遺伝子診断を行った。岡山県(真庭家畜保健衛生所、農林水産総合センター畜産研究所)、中国四国酪農学校、蒜酪組合員の協力で実施できた実態調査である。ジャージー種でA2化を進める

基礎情報を提供することができたが、この調査研究を行う中で、A2ミルクに関する研究は未整備、未解明の課題が少なくないことに気付いた。育種改良に潜在するリスク、品質管理、品質保証の方法など、改善可能な部分がある。これら課題を払拭する乳製品製造方法の開発という、さらなる広がりが期待できる課題があることも分かった。専門分野を横断する調査研究が必要と考え、筆者らは22年10月の関西畜産学会岡山大会において、「A2ミルクって何？」というテーマで公開シンポジウムを開催した。このシンポジウムをきっかけに、酪農および食品産業関係者と意見交換する機会が増えた。

(3) 本稿における調査目的

日本の乳牛は99%以上がホルスタイン種であり、本稿ではホルスタイン種およびそのミルクを対象として品質管理および品質制御に関する調査を行った。ホルスタイン種はA1A1およびA1A2の牛が合わせて60～70%と多い。育種改良を誤ると、酪農乳業の持続性、乳製品の品質などに大きく影響する。一方、ホルスタイン種で社会実装につながる技術開発ができれば、A2市場は後発ながら、付加価値の高い日本ブランドを食品産業に加えることができるかもしれない。生乳は、飲用乳だけで消費されているのではなく、菓子・デザート、アイスクリームなど、加工によってさまざまな形態、味、食感に変化して消費されている。併せて、乳酸菌を利用した機能性修飾の可能性についても調査することとした。

2 A2化のベネフィット・リスク評価

(1) A2化と育種改良

ヒト、ヤギ、ヒツジ、ブタなど、ウシ以外の動物はCSN2遺伝子型がすべてA2A2で、A1ミルクはウシだけが産み出す。家畜化前はウシもA2A2だったと考えられており、A1という変異は改良が進んだホルスタイン種で多くみられる（図1）。すなわち、A2化はこれまでの育種改良を逆行させる可能性が

ゼロではない。A2A2牛は、A1A1およびA1A2牛より乳脂率が低いという報告もある。乳牛は育種計画から実際に生乳を得るまでおよそ3年の月日を要するため、搾乳牛すべてをA2A2牛とするA2化は、5～10年がかりの事業である。育種改良が誤りであれば、それを修正するのにも同様の時間がかかる。

図1 β-カゼインをコードするCSN2遺伝子の多様性

コドン	18	25	36	37	67	72	88	93	106	122	138
ウシ											
A1	Ser	Arg	Glu	Glu	His	Gln	Leu	Met	His	Ser	Pro
A2	Ser	Arg	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Met	His	Ser	Pro
A3	Ser	Arg	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Met	Gln	Ser	Pro
B	Ser	Arg	Glu	Glu	His	Gln	Leu	Met	His	Arg	Pro
C	Ser	Arg	Glu	Lys	His	Gln	Leu	Met	His	Ser	Pro
D	Lys	Arg	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Met	His	Ser	Pro
E	Ser	Arg	Lys	Glu	Pro	Gln	Leu	Met	His	Ser	Pro
F	Ser	Arg	Glu	Glu	His	Gln	Leu	Met	His	Ser	Leu
G	Ser	Arg	Glu	Glu	His	Gln	Leu	Met	His	Leu	Pro
H1	Ser	Cys	Glu	Glu	Pro	Gln	Ileu	Met	His	Ser	Glu
H2	Ser	Arg	Glu	Glu	Pro	Glu	Leu	Leu	His	Ser	Pro
I	Ser	Arg	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Leu	His	Ser	Pro
ヒツジ	Ser	His	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Met	His	Ser	Pro
ヤギ	Ser	His	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Met	His	Ser	Ser
ブタ	Ser	His	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Met	Arg	Ser	Pro
ウマ	Ser	His	Glu	Gly	Pro	Gln	Leu	Met	Arg	Arg	Leu
ヒト	Ser	Glu	Glu	Asp	Pro	Gln	Pro	Met	Gly	Pro	Pro

資料：筆者作成

注：マーカー部分は、CSN2遺伝子の変異によってA1型、A2型以外にもアミノ酸が置換され得ることを示す。

(2) 評価手法

現在のA2化は、CSN2遺伝子の表現型（A2A2）だけで進められているが、SNP情報^(注2)に基づくゲノミック評価を組み合わせれば、泌乳、繁殖、管理、体型などの形質を含めた遺伝情報統合型の育種改良が可能となる。まず、牛群検定を実施している2軒（農場IおよびII）の生産者を対象として、合計141頭（農場IおよびIIからそれぞれ91および50頭）のゲノミック評価を行った。毛根あるいは耳片を採取してゾエティス・ジャパン株式会社（本社東京都渋谷区）の検査

ラボに送り、クラリファイド・プラス（同社の提供するゲノム検査サービス）で生産性、繁殖性、体型、乳質、疾病発生リスクなどを評価した。一般社団法人家畜改良事業団でも乳牛のゲノミック評価は行われているが、本調査の実施時にはCSN2遺伝子のSNP評価は調査項目に含まれていなかった。なお、家畜改良事業団は2024年1月からβ-カゼインの遺伝子検査を開始している。

(注2) ある生物種集団のゲノム塩基配列中で、一塩基が変異していること。牛の全DNAの中に400万カ所以上存在しているとされており、この多型によって、さまざまな個体差が生じるといわれている。

(3) CSN2遺伝子型頻度

農場 I におけるCSN2遺伝子型頻度^(注3)は、A1A1が0.19、A1A2が0.49、A2A2が0.32であり、A1およびA2遺伝子頻度はそれぞれ0.43および0.57であった。農場 II ではA1A1が0.10、A1A2が0.49、A2A2が0.41であり、A1およびA2遺伝子頻度はそれぞれ0.35および0.65であった。調査した乳牛集団はいずれもCSN2遺伝子について選抜は行われていないと判断できた。農場 I の牛群では、A1A1型の方が娘牛妊娠率、経産牛受胎率、近交係数において優れる一方、A2A2型の方が305日搾乳での脂肪量、タンパク質量、乳脂肪率、乳タンパク質率、生涯利益、チーズ適正、牛乳適正、放牧適正、アイジェニティ能力指数^(注4)、娘牛分娩難度、娘牛死産率、体型、乳器混合指数、肢蹄混合

指数、肢蹄得点が優れていると評価された(図2)。305日搾乳での乳量、生産寿命に有意差はなかった。農場 II の牛群では、調査個体数が少なかったため有意差がみられる項目はほとんどなかったが、A2A2型の方が第四胃変位のリスクが高いと評価された。これらの結果は、A2化が育種改良を逆行させることはなく、生涯利益の向上も期待できることを示しているが、A2A2型の方が娘牛妊娠率と経産牛受胎率が低く、第四胃変位のリスクが高いという評価は無視できない懸念項目であろう。現時点では141頭を対象とした解析にとどまっているため、ゲノミック評価を拡大して精度を高めるよう努めたい。

(注3) ある遺伝子型を持つ個体の数を母集団の総個体数で割ったもの。

(注4) 能力に重み付けされた混合形質。高い方が好ましい。

図2 農場 I の牛群におけるゲノミック評価結果

レポート	平均値 (A1A1)	平均値 (A1A2)	平均値 (A2A2)	レポート	平均値 (A1A1)	平均値 (A1A2)	平均値 (A2A2)
Fat(lbs)	-18.059b	5.311a	22.241a	CCR	-0.724b	-2.016a	-2.003a
Fat(%)	-0.092b	-0.02a	0.007a	DSB	7.182a	6.813ab	6.269b
Pro(lbs)	1.412a	9.556a	20.345b	FLC	0.145a	0.409ab	0.602b
Pro(%)	-0.019a	0.003ab	0.014b	UDC	-0.071b	0.718a	1.103a
NM(\$)	-131.824a	-27.889a	136.966b	RLR	0.185a	0.702ab	0.944b
DPR	-0.624b	-1.782a	-2.045a	FTA	0.442a	0.948ab	1.121b
DCE	2.994a	2.833a	2.545b	FUA	0.116b	1.092a	1.581a
IPI	1851.412a	2019.8a	2202.828b	RUH	0.31b	1.42a	1.786a
GM(\$)	-154.941a	-65.556a	93.103b	RUW	0.246b	1.243a	1.611a
PTAT	0.634b	1.335a	1.599a	UDP	0.166a	0.765ab	1.201b
GFI	7.4b	8.836a	9.534a	FTP	-0.104b	0.492a	0.592a
CM(\$)	-134.941a	-27.711a	139.586b	RTP	0.075b	0.66a	0.74a
FM(\$)	-107.882a	-32.133ab	116.172b				

■ A1優性 ■ A2優性

資料：筆者作成

(4) 乳量、乳成分などの比較

続いて、農場 I の乳検データに基づいて、A1A1牛、A1A2牛、A2A2牛の乳量、乳成分などを比較した。6カ月間のデータであり、期間中に一定数の乳牛が乾乳あるいは

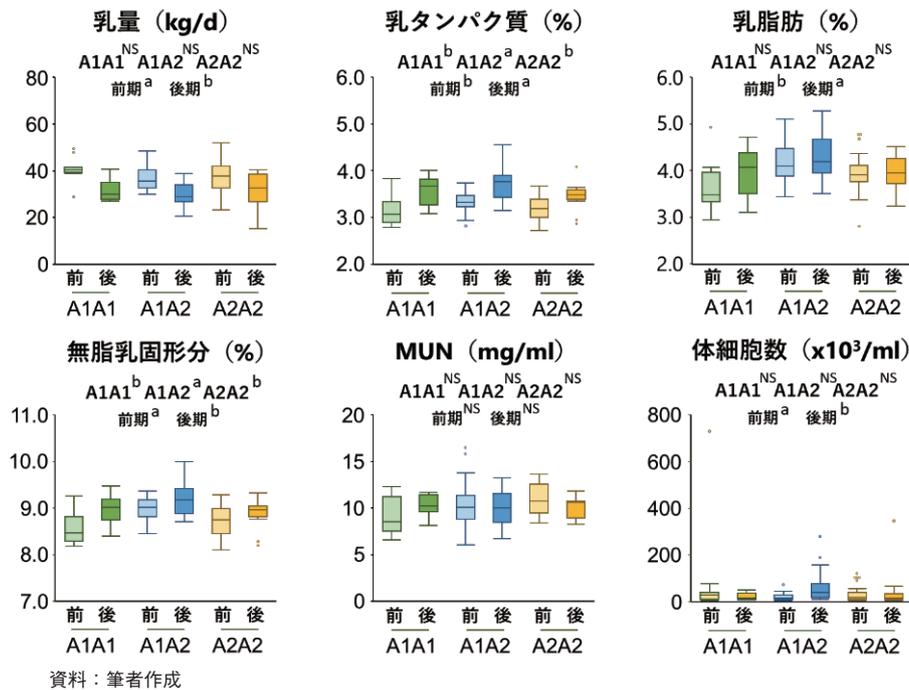
新たに搾乳を開始したほか、泌乳初期、最盛期、中期、後期という詳細な泌乳サイクルで評価できるほどの頭数を確保できなかった。それでも、分娩後5カ月を前期、それ以降を後期とすることで図3の結果が得られた。

乳量は前期で多く、乳タンパク質、乳脂肪、

無脂乳固形分の割合が後期で高くなるのは一般的だが、乳タンパク質と無脂乳固形分がA1A2牛でその他の遺伝子タイプより高いという知見は、調査事例を増やして確認する必要がある。有意差はなかったが、本調査ではA1A2牛で乳量が少ない傾向にあった。

そのことがA1A2牛の乳成分割合を高めたと考えられるが、A2A2牛に適した飼養管理技術というものがあるかもしれない。乳検日に採血を行っているので、血液性状のデータと合わせた解析を継続している。

図3 農場Iの牛検データに基づく乳量、乳成分の比較



3 A1ミルクとA2ミルクの品質評価とその制御

(1) A2ミルクとBCM-7生成

A1型とA2型のβ-カゼインに違いをもたらすのは、67番目のアミノ酸 (Pro67His) とされている。A2ミルクのβ-カゼインは Val⁵⁹ - Tyr⁶⁰ - Pro⁶¹ - Phe⁶² - Pro⁶³ - Gly⁶⁴ - Pro⁶⁵ - Ile⁶⁶ - Pro⁶⁷ - Asn⁶⁸のアミノ酸配列をもち、Val⁵⁹ - Tyr⁶⁰はエラスターゼ (消化酵素の一つ) で分解されるものの、Ile⁶⁶ - Pro⁶⁷はどの消化酵素にも分解されない。A1ミルクのβ-カゼインはIle⁶⁶ - His⁶⁷

となっており、このペプチド結合を切る消化酵素は複数ある。これによりA1ミルクからのみβ-カゾモルフィン7 (BCM-7; Tyr⁶⁰ - Pro⁶¹ - Phe⁶² - Pro⁶³ - Gly⁶⁴ - Pro⁶⁵ - Ile⁶⁶) が生じるとされ、BCM-7のオピオイド様作用 (モルヒネのような物質作用) で健康被害が生じるという主張が一部にある。そのため、A2ミルクと表示されるものの、重要なのはA1フリーすなわちBCM-7を生じないことである。しかし、カゼインを酵素分解してBCM-7生成の有無を

調べると、A2ミルクからも微量のBCM-7を確認できるという報告が多い。 α_{s1} -、 α_{s2} -、 κ -カゼイン、 α -ラクトアルブミン、 β -ラクトグロブリンにBCM-7に相当するアミノ酸配列はなく、これらをつくりだすCSN1S1、CSN1S2、CSN3、LALBA、LGB遺伝子に変異があってもBCM-7に相当するアミノ酸配列にはならない。搾乳後の生乳は、半日以上農場内のバルククーラーで低温（4度）保存される。集乳後も常に低温下に置かれるが、乳業会社で加熱殺菌されるまで低温細菌の活動が穏やかとはいえ継続し得る。この間にIle⁶⁶-Pro⁶⁷の結合が分解され、A2ミルクからBCM-7が生じるようになるのかもしれない。現在のところ、A2ミルクの品質保証は設計図（CSN2遺伝子の塩基配列）で行われており、製品（タンパク質）ではなされていない。

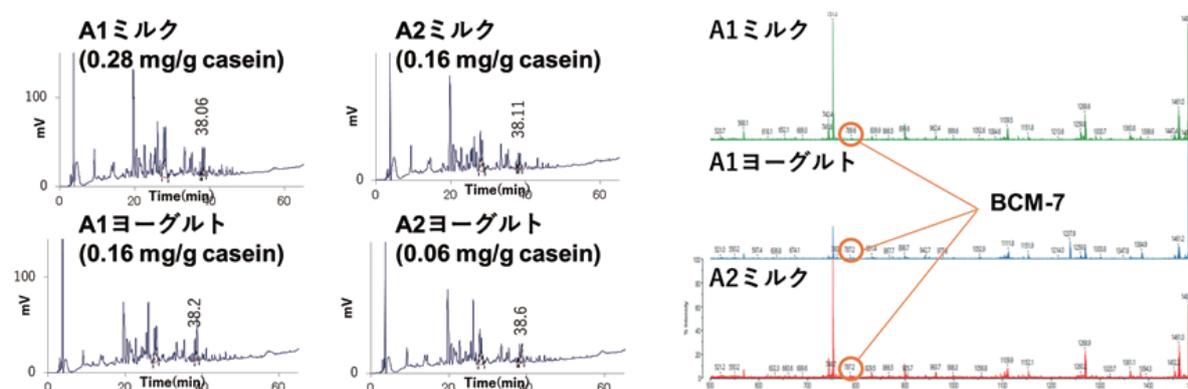
人であれ動物であれ、腸細胞にはDPP4（Dipeptidyl peptidase IV）と呼ばれるプロリン特異的なペプチダーゼ（ペプチドを加水分解する酵素の総称）が存在する。プロリン周辺のペプチド結合は消化酵素の作用を受けにくい、DPP4などのペプチダーゼが作用することで、われわれはカゼインに含まれるアミノ酸はほぼ100%（95%程度）吸収

できる。BCM-7の生成から、「 β -カゼインは消化吸収率が悪い」という誤解をもたれることがあるが、ミルクタンパク質の栄養価は疑いなく非常に優れている。一方、DPP4に類似する酵素活性が乳酸菌を含む多くの微生物に確認されることから、ヨーグルトやチーズの発酵中にBCM-7前駆体が分解される可能性が指摘されている。A1ミルクの不安を払拭する発酵法となるかは分からないが、品質の制御因子として調査を行った。

(2) BCM-7の測定方法

農場IのA1A1牛およびA2A2牛からバケツミルカーで搾乳を行い、65度で30分間殺菌した生乳からカゼインを凝固させた。遠心分離で脂肪を除き、凍結乾燥した粉末を脱脂してBCM-7の測定に供した。酵素消化はカゼイン24mg/mlの濃度で行い、ブタペプシン（pH2.5、37度、5時間）およびウシパンクレアチン（pH7.0、37度、5時間）によって生じたペプチドを、MWCO（分画分子量）10000および3000のVivaspin（遠心濃縮チューブ）で限外ろ過して分子量3000以下の分画を得た。これを逆相HPLC（高速液体クロマトグラフ）で分析すると

図4 A1ミルク、A1ヨーグルト、A2ミルク、A2ヨーグルトの酵素分解で生じたBCM-7



資料：筆者作成

ともに、MALDI-TOF-MS（マトリックス支援レーザー脱離イオン飛行時間質量分析計）でBCM-7の有無を確認した。

(3) BCM-7の測定結果

A1ミルクからだけでなく、A2ミルクからもBCM-7が生成することを確認した（図4）。生成プロセスの解明については調査を継続する必要があるが同様の結果を示す報告は少ない。前述のとおり、カゼイン、ラクトアルブミン、ラクトグロブリンにBCM-7に相当するアミノ酸配列はなく、A2ミルクからBCM-7が生成するということは、Ile⁶⁶-Pro⁶⁷のペプチド結合が考えられているほど強固ではないことを示唆する。消化酵素の基質特異性がそれほど厳密でなく、プロリン周辺のペプチド結合にも作用するということがあるかもしれない。また、低温耐性の微生物群が生乳保存中にDPP4様の酵素を作用させる可能性もある。今回用いたミルクは、サンプリング前日夕方の生乳と当日朝の生乳を混合したもので、カゼインを調製するまでに最大で20時間程度低温保存されていた。

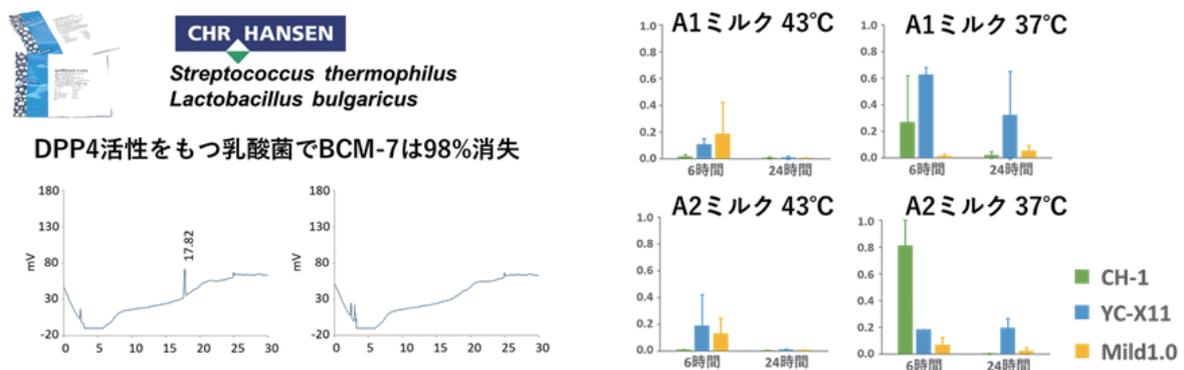
BCM-7はβ-カゼインに酵素が作用して生じるものであり、ミルクをそのまま用い

てもBCM-7を測定することはできない。ペプシン、トリプシン、キモトリプシンといった消化酵素を作用させて検出可能な形にする必要がある。本研究ではウシパンクレアチンを使用した^{すいぞう}が、パンクレアチンは膵臓由来の酵素混合物で、トリプシン、キモトリプシン、カルボキシペプチダーゼの他にアミラーゼ、リパーゼ、リボヌクレアーゼといった多様な酵素を含む。高度に精製された酵素ではなく、膵臓あるいは腸管に由来するDPP4が混在している可能性もある。もし酵素消化に用いる試薬に問題があるとすれば、BCM-7生成の有無からA1ミルクとA2ミルクを識別する方法は改良あるいは修正されなければならない。これらについての検討は始めており、総括できるよう知見を積み重ねて公表したい。

(4) DPP4活性のモニタリング

DPP4活性を有する乳酸菌スターターでBCM-7前駆体を発酵分解することは、市販スターター3種（CH-1、YC-X11、Mild1.0）のDPP4活性をモニタリングすることで調査した（図5）。A1A1型およびA2A2型の乳牛からミルクを採取し、65度で30分間殺菌した生乳にスターターを接種

図5 A1ミルクおよびA2ミルクに市販スターター3種を接種して作成したヨーグルトのDPP4活性



して37あるいは43度で6および24時間発酵させた。DPP4活性は、Gly-Pro-pNAからのニトロアニリン生成量およびBCM-7の分解率で測定した。

37度で培養すると、24時間後のpHはCH-1が3.9まで低下しており、YC-X11とMild1.0では4.3程度にとどまった。43度で培養した場合も、24時間後のpHはCH-1で最も低くなった。DPP4活性はスターターおよび培養条件による違いが明確で、CH-1とYC-X11は37度、6時間

後に高値を示す一方、24時間後には活性値が著しく低下した。また、43度では培養時間に関わらずDPP4活性が低値であった。すなわち、いずれのスターターもDPP4の耐酸性は低く、BCM-7前駆体を分解する能力があったとしても、ヨーグルト製造の初期段階でそれらは半減あるいは失活すると考えられた。スターターによって耐酸性や培養条件に対する反応は異なるので、BCM-7前駆体の分解をどこまで高められるかについて検討を続けている。

4 おわりに～今後の品質制御に関する調査～

A1ミルク、A2ミルクの品質制御という目的からすれば、低温保存、ホモジナイズ、加熱殺菌といった牛乳の生産工程でβカゼインのIle⁶⁶-Pro⁶⁷結合が脆弱^{ぜいじゃく}になるかなどを明確にすることが必要であった。現在もA1ミルクとA2ミルクの識別方法を明確にすることに注力しており、当初の計画通りには調査が進んでいない。サンプリングは順調に進んで

いるので、酵素消化に用いる試薬に問題がある場合は、近年示されたUHPLC^(注5)による直接識別を合わせて品質制御に関する情報を整えたい。

(注5) 超微粒子充填カラムを利用した高耐圧性をもった液体クロマトグラフ。従来のHPLCより高い分離効率と分析時間の短縮を可能にしている。

【参考文献】

- 1) 食品安全委員会 食品安全総合情報システム 食品安全関係情報詳細「2011年8月15日付オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ)、A1ミルクとA2に関するファクトシートを公表」
(<https://www.fsc.go.jp/fsciiis/foodSafetyMaterial/show/syu03412290208>)
- 2) 日刊酪農乳業速報「2024年9月19日付a2ミルク、中国向け好調で3年連続増収増益」
(<https://dailydairynews.jp/post/5962>)