

世界で注目される A2 ミルクの有効性と乳加工に与える影響

齋藤 忠夫*

(国際酪農連盟日本国内委員会 (JIDF) 会長, 東北大学名誉教授)

A2 milk is attracting worldwide attention for its effectiveness and impact on milk processing.

Tadao Saito

(President of Japanese National Committee of IDF (JIDF), Emeritus Professor at Tohoku University)

要 旨

オセアニア, オランダ, 英国や米国, 中国および韓国では, 「A2 ミルク」と呼ばれる β -カゼインの A2 遺伝子型に注目した新しいジャンルの牛乳の製造・販売と消費が注目されている。ニュージーランドの新興乳業会社 A2 ミルクカンパニーは, 牛乳飲用後の不快症状を軽減する, おなかゴロゴロが改善する, などと乳糖不耐症に苦しむ人々にとって有益であると広く宣伝している。A1 ミルクについての *in vitro* での模擬消化試験の研究例は多いが, 摂取時の消化過程で生じると推定されるオピオイド活性を有するカゾモルフィン 7 を臨床科学的に *in vivo* 検証した論文はなく, 未解明な点が多く残されている。そのため, A2 ミルクの胃腸に焦点を当てた研究論文に対するメタ解析の結果でも, その優劣の結論はまだ出ていない。しかし, A2 ミルク研究により, 乳糖不耐症と診断された人の中には, 乳糖以外の成分が原因で腹部不快症状などを起こす可能性のあることを指摘した意義は大きい。一方, A2 ミルクはチーズ製造などの乳加工では, レンネット凝固時間の遅延や凝乳カードの緩さから歩留まりが減少してチーズ収量の減少に繋がる可能性が指摘されている。我が国での A2 ミルクの乳加工に対する詳細研究は不足しており, 今後の検討は必須である。将来の我が国での本格的なチーズ製造などの乳加工を考えた場合, 乳牛の β -カゼイン遺伝子型の A2/A2 型乳牛への拙速な統一や, A1/A2 や A1/A1 牛の選抜淘汰の推進に繋がらないよう慎重に対応する必要性がある。

はじめに

海外では以前より製造販売され, 日本国内でも最近関心が高まっている新しいタイプの牛乳に「A2 (エーツー) ミルク」がある。このミルクを一言で表現すると, 「 β -カゼインの遺伝子型が A2 タイプの牛乳」である。日本では知名度は低く, 国内では流通も少ないために, 全国どこのスーパーやコンビニでも販売されている訳ではない。海外では,

ニュージーランドの新興企業 (A2 ミルクカンパニー) が, 自国だけでなくオーストラリア, アメリカ, 中国やカナダでも製造・販売を精力的に展開している。

日本では北海道や北陸地方の一部の酪農家や乳業会社が注目して, 製造・販売が開始されたばかりの新商品であり, 久しぶりにヒットの無かった牛乳のネクストトレンドと期待されている。製造・販売する乳業メーカーは, 「A2 ミルクは消化しやすく, おなかに優しい牛乳」と宣伝している。しかし, A2

* E-mail : tadao.saito.a3@tohoku.ac.jp

ミルクの科学的な評価には研究者間でも賛否両論があるし、多くの科学論文をメタ解析した結果では、科学的にはまだ優劣の結論が出ていない。本稿では、A2 ミルクの特徴とその製品化の現状紹介とどこまで科学的に明らかになり、どこからが科学的に不明なのかを探り、さらに A2 ミルクの将来性も考えてみたい。

なお、A2 ミルクに関する科学情報については、(一社) J ミルクから 2024 年刊行された「ファクトブック A2 ミルク」¹⁾ および関連解説^{2,3)} も参照して頂きたい。

1. A2 ミルクの特徴と A1 ミルクとの違い

日本全国で飼育されている約 137 万頭の乳牛(2022 年農水省データ)の 95% 以上は、ホルスタイン種である。ホルスタイン種の牛乳は約 3.2% のたんぱく質を含み、その内の約 80% を主要たんぱく質の「カゼイン」が占めている。カゼインとは、ヨーグルトやチーズにおける凝固した固形部分を構成するたんぱく質をさしている。

牛乳カゼインは、4 種のカゼインたんぱく質(α_{s1} -, α_{s2} -, β -, κ -カゼイン)の少なくとも「39」の遺伝的変異体からなる⁴⁾。すべてのウシカゼイン遺伝子は多型であることが示されており、変異体の種類の組合せは牛乳の栄養や生産特性、チーズやヨーグルトの製造特性に大きく影響してくる。

乳たんぱく質は SDS-ポリアクリルアミドゲルによる電気泳動法により、分子量の違いにより分離される。図 1 に示した電気泳動図では、牛乳中のたんぱく質を SDS 化しているため、各成分は陰極側に向かって移動する。一番早く移動したのは低分子のホエイたんぱく質の 2 大成分 (β -ラクトグロブリンと α -ラクトアルブミン) であり、ついでカゼインの 4 大成分が κ -カゼイン、 β -カゼインおよび α_{s1} -および α_{s2} -カゼインの順番で検出されている。 γ -カゼインは β -カゼイン由来の酵素的分解成分なので、 β -カゼインに含めている。

β -カゼインは、カゼイン全体の約 3 分の 1 を占める主要タンパク質であるが、人乳カゼインでは

α_{s1} -カゼインの存在量が非常に少なく、 β -カゼインが主要タンパク質である。乳中ではカゼインはリン酸カルシウムと一緒に結合してカゼインミセルという小さな会合体として浮遊している。牛乳ではしっかりとカゼインミセルが形成されるが、人乳では α_{s1} -カゼインが少ないために牛乳ほど強固なミセルはできずに、摂取後に乳児の胃内で胃酸に接した際に人乳カゼインはソフトにゲル化することとも関連している。

A2 ミルクは、カゼインの中の約 35% を占める「 β -カゼイン」の遺伝的変異体のタンパク質の違いにより命名されたものである。遺伝的変異体では、分子全体のアミノ酸配列の中で、1 残基のアミノ酸の違いが存在する。一般にウシの β -カゼイン遺伝子は複数あり、DDBJ のデータベースからは A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2, I, J などの「13 種類」が確認されている。これらの変異体の大部分は点突然変異が原因であり、オープンリーディングフレーム内

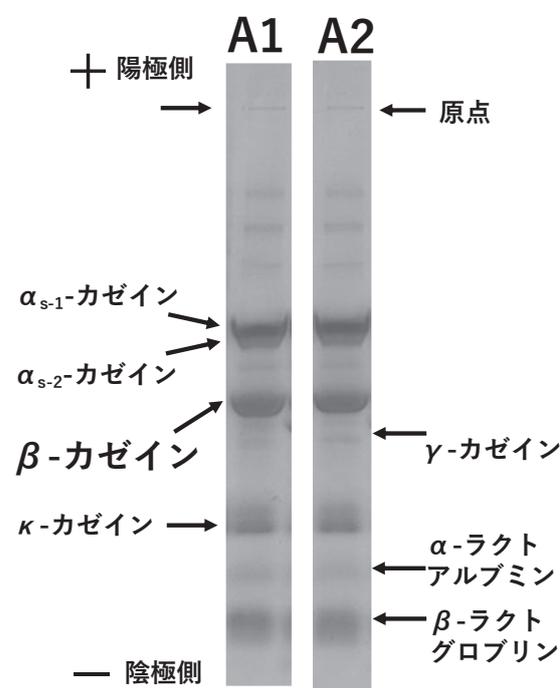


図 1 A1 ミルクおよび A2 ミルクからの乳たんぱく質の SDS-ポリアクリルアミド電気泳動 (SuperSep™ Phos-tag™ で誘導体化, 12.5% SDS-PAGE ゲル) (合同酒精株式会社酵素医薬品研究所より許可を得て掲載)

のSNP（一塩基多型）により引き起こされ、結果として成熟たんぱく質のアミノ酸交換（ミスセンス変異）が起こる。「一塩基多型」とは、ゲノム塩基配列中に一塩基が変異した多様性が見られ、その変異が集団内で1%以上の頻度の場合をさし、これ以下の頻度の場合には突然変異と呼ばれる。世界中のホルスタイン種やジャージー種の乳牛のβ-カゼインは、A1およびA2変異体の2種類が大部分を占めている。

β-カゼインのA2型変異体（以下A2β-カゼイン）は、もともと古代ヨーロッパ型および純血種のアジアおよびアフリカのウシに発生していた現代の乳牛の天然の原型である。その後、A2β-カゼインのポリペプチド鎖の67番目のアミノ酸のコドンで、シトシン（CCT）からアデニン（CAT）へ点変異が起こり、その結果アミノ酸がプロリン（Pro）からヒスチジン（His）に変異して現在はA1型変異体（以下A1β-カゼイン）が優勢になっている。この変異体のA1β-カゼインは、ウシの乳のみで報告されており、ヒトの母乳や他の動物種の乳からは発見されていない点は極めて重要である。

従って、乳牛の持つβ-カゼイン遺伝子の組合せはA1/A1、A1/A2、A2/A2の3パターンに分けられ、β-カゼインのA2/A2ホモ接合遺伝子を持つウシから搾乳された牛乳が「A2ミルク」と呼ばれる。日本のホルスタイン牛ではA2/A2の遺伝子を持つウシ

シは全体の約4割とされており、A2ミルクの生産を増やすためにはこの遺伝子を持つオスとメスのウシも選抜し、A1ミルクを生産するウシを淘汰して行く必要性が生じ、生産量は制限され選抜にも長期間を要する。また、A2/A2に遺伝子選抜した乳牛は、もとのA1タイプには戻すことはできなくなることも理解しておく必要がある。

A1ミルクとA2ミルクを比較検討するためには、まず両牛乳に含まれるβ-カゼインの科学的な違いを理解する必要がある。図2には、β-カゼインのA1変異体とA2変異体の、アミノ酸配列を簡略化して示した。両変異体ではほとんど差はなく、209個の全アミノ酸残基数も同じであり、分子量の24.0 kDa（24,000ダルトン）も同じである。ただ一つ異なる点は、N-末端のArgから数えて67番目（67位）のアミノ酸残基の違いである。両変異体を比較すると、A1変異体では67番目がヒスチジン（His）であるが、A2変異体ではプロリン（Pro）であり、アミノ酸一残基の違いがある。この違いが消化過程で種々のペプチドを生み出し、それが摂取した者に生理的な影響をもたらす可能性がある。

β-カゼイン変異体は、他のカゼイン成分とリン酸カルシウムとの間で複雑な凝集体を形成しカゼインミセルを形成していると考えられる。カゼインミセルの構造は、加工中の乳製品の安定性とゲル固化特性に影響を与える。β-カゼインはPro残基およ



図2 ホルスタイン種乳の2種のβ-カゼイン変異体とカゾモルフィン7生成

びリン酸化セリン (SerP) 残基の含有量が高いために、疎水性と Ca をキレートする性質が強い。したがって、ミセルサイズや表面疎水性に影響を及ぼし、ミセルの構造安定性にも影響を与える。

このアミノ酸一残基の違いのために、ヒトが摂取したあとのペプシンやトリプシン消化管酵素による加水分解性に差が出てくる。一般に Pro の箇所では、 α -ヘリックスや β -ターンなどの二次構造ができず、この部分はタンパク質の立体構造では、外側に露出するように存在することが多く、とくにプロリンが隣接する箇所などは酵素的な加水分解が起こりにくい。 β -カゼインは豊富な Pro 残基に恵まれた解放構造と SS 結合がないため、胃腸での消化過程で加水分解されやすく、降圧ペプチド、抗菌ペプチド、オピオイドペプチドなど様々な機能活性ペプチドが生成しやすいとされる。

1999 年、Jinsmaa と Yoshikawa⁵⁾ は、ウシ β -カゼインに *in vitro* でペプシン (タンパク質分解酵素) を作用させると、A1 変異体では 66 番目と 67 番目の間のペプチド結合が加水分解されるので、その上流のアミノ酸 7 残基からなる「カゾモルフィン 7 (Bovine Casomorphin: BCM7)」という生理活性ペプチド (Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile) が酵素分解過程で生じる。しかし、A2 変異体では同じ場所が Pro であるというアミノ酸の違いにより加水分解に抵抗性を示し、BCM7 は生成しないことを報告した。

この反応は試験管の中での酵素消化実験によるものであり、実際にヒトの消化管内でこの反応が起こり、消化過程で実際に BCM7 が生成しているか、実際にどの程度のペプチド量が吸収され血流に登っているか、などの臨床的な研究は実施されていない。

主な β -カゼイン変異体の構造的・物理化学的的特性の違いが、特定の技術的側面、特にチーズ製造に及ぼす可能性のある影響については、あまり検討されていない。67 位の Pro/His 置換は、 β -カゼイン配列の疎水性部分の構造とコンフォメーションに影響を与え、最終的に 2 つの遺伝的変異体の乳化・安定化特性と凝固能に影響を与えるようである。

図 2 には、 β -カゼインの A1 と A2 変異体の加

水分解性の違いを示し、主として A1 から生じる BCM7 のアミノ酸配列 (Tyr⁶⁰-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile⁶⁶) を示した。また、消化管酵素は β -カゼインのいろいろな箇所を加水分解するため、カゾモルフィンというペプチドは複数存在するが、それぞれがヒトに与える詳細な生理活性は不明である。

2023 年の S. Cattaneo らの研究⁶⁾ では、A1 ミルクと A2 ミルクおよびチーズの *in vitro* 消化試験により BCM7 の放出に対する酵素の種類などを検討した。その結果、BCM7 はどちらのミルク消化物からも検出され、A1 ミルクで顕著な放出であった。また、A2 チーズからの BCM7 の放出は、消化されたサンプル量の影響を受けたと報告した。2024 年、E. Bolat ら⁷⁾ は、遺伝型が A1/A1 および A1/A2 の β -カゼインからは消化過程で BCM-7 が生じるが、遺伝子型が A2/A2 の β -カゼインからは BCM-9 が主として生成し、同時に低量であるが BCM-7 も生成するとしている。すなわち、A2 β -カゼイン変異体のペプチド結合 Ile-Pro は、A1 β -カゼインの Ile-His 結合よりも酵素的切断に対して耐性があるが、切断されない訳ではないことを示している。

以上のように *in vitro* および *ex vivo* 酵素加水分解実験では、A2 β -カゼインからも BCM7 が生成することが確認されている点であるが、本当にヒトが摂取した場合に腸管内で生成しているかについては未解明と考えて良い。

2. A1 ミルクと A2 ミルクを識別する検査法

A1 ミルクと A2 ミルクを分泌する乳牛の識別は、ウシの血液や毛髪中の DNA の PCR 解析により β -カゼインの遺伝子型の解析により実施される。一方、乳業界では A1 と A2 の β -カゼインミルクをより厳密に区別する必要がある。図 1 の電気泳動図では、A1 ミルクと A2 ミルク中の β -カゼインが共に明瞭に検出はされているが、やはりアミノ酸 1 残基の違いでは差が小さ過ぎて、遺伝的変異体を相互分離することは極めて難しいことが分かる。

酪農現場や乳工場での受け入れや出荷検査では、潜在的なクロスコンタミネーションや不正を特定し

て排除するために、製造現場で使用可能で信頼性が高く、迅速で安価な変異体を区別して検出する方法の開発の必要性が高まっている。以下には、最近信頼性の高い分析法が開発され、 β -カゼインの遺伝的変異体の検出が可能となった3つの分析手法について紹介する。

1) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) などによる機器分析

たんぱく質やペプチド類の相互分離には、イオン交換や逆相系のカラムを用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) が一般的に広く用いられている。

2001年、G. Bordin ら⁸⁾ は、C4 逆相カラムによる HPLC により牛乳・乳製品中のたんぱく質成分の同定を、保持時間、ピーク面積比、2次誘導体 UV スペクトルを用いて行った。従来の乳試料からカゼインとホエイたんぱく質を別々に調製して解析する方法とは異なり、一回の分析で7つの主要な乳たんぱく質 (溶出順に κ -、 α_{s2} -、 α_{s1} -、 β -カゼイン、 α -ラクトアルブミン、 β -ラクトグロブリン B、 β -ラクトグロブリン A) の測定が可能であった。生乳および低温殺菌乳由来の乳たんぱく質のクロマトグラムでは、 β -カゼインの遺伝的変異体の A1 と A2 が明瞭に区別して検出され、両者の定性定量分析が可能となった。

2008年、J.M.L.Hek⁹⁾ らは、牛乳中のたんぱく質の相対濃度を正確に定量するために、キャピラリーゾーン電気泳動 (CZE) を行った。得られた電気フェログラムでは、 α -ラクトアルブミン、 β -ラクトグロブリン、 α_{s2} -、 α_{s1} -、 α_{s0} -、 κ -カゼイン、および β -カゼイン A1 と A2 が、この溶出順に明瞭に分離定量された。

2015年、Day ら¹⁰⁾ は、カゼインミセル径に及ぼす乳たんぱく質成分 (κ -カゼインと β -カゼイン) の解析のために、C18 逆相カラムによる HPLC を実施した。図3に小カゼインミセル (ミセル径が148~155 nm) を持つ6種の牛乳試料における乳たんぱく質の HPLC クロマトグラムを示した。それぞれの牛乳に含まれる β -カゼインの遺伝的変異体

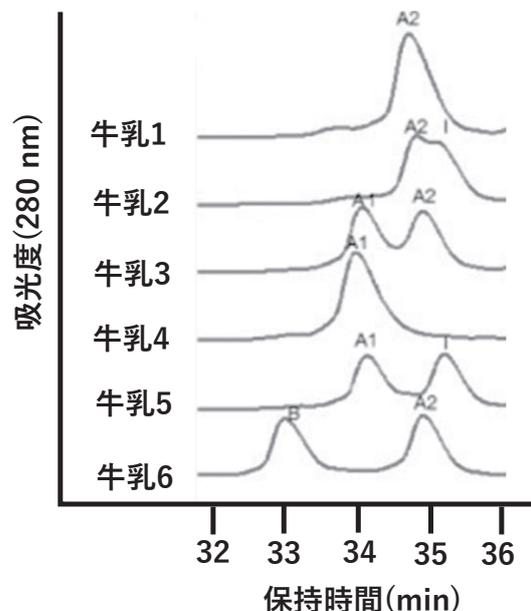


図3 高速液体クロマトグラフィーによるウシ β -カゼインの遺伝的変異体の分離分析
クロマトグラムは L.Day ら、2015年 (文献10) より部分引用

の B, A1, A2 および I の4種類が非常に綺麗に相互分離しており、 β -カゼイン変異体の定性定量分析が可能であった。

2022年、D. Daniloski ら¹¹⁾ は、フーリエ変換赤外分光法 (FTIR) と多変量解析を組み合わせ、ホルスタイン乳中のたんぱく質の立体構造解析を行った。この研究では、 β -カゼインの A1 および A2 カゼイン遺伝子ファミリーを特徴付け、区別が可能であった。

最近では、フーリエ変換赤外分光法 (FTIR) や一次元プロトン核磁気共鳴 (¹H-NMR) によるたんぱく質の立体構造測定のための β -カゼインの遺伝的変異体の定性定量分析の試みもなされている。しかし、これらの特殊な機器を用いての分析は一般的ではなく、より汎用性の高い「逆相 HPLC 分析」が乳業会社での生乳の受け入れや出荷製品検査段階での現実的な分析手段と考えられる。

2) 抗原抗体反応による ELISA 解析

β -カゼインの A1 型と A2 型を区別するのに、抗原抗体反応を用いた ELISA 法も開発されている。

日本では、東京農業大学の庫本高志教授らが開発した手法がある。この検査方法は、腸骨リンパ節法により作成したモノクローナル抗体を用いたサンドイッチ ELISA 法であり、A1 ミルクが5%混入していても区別できるという。逆に考えると5%未満のA1 ミルクの混入（コンタミ）は見抜けな可能性もある。また、ELISA 法での発色程度と、実際のA1 β -カゼインの存在量との検量線の精度については不明である。PCR 法によりウシ一頭一頭の遺伝子型を検出するのではなく、ウシが分泌した牛乳中に含まれている β -カゼインのA1型を直接短時間で検出できるとされる。

3) A1 対立遺伝子検出のための rhAmp[®]法

2020年、R.Gigliotiら¹²⁾により、牛乳中の β -カゼイン遺伝子（CSN2）A1およびA2対立遺伝子を直接同定するために rhAmp[®] SNP ジェノタイピング法が開発された。この方法は、RNaseH2を使用して、プライマーが標的部位に正常に結合した後にプライマーを活性化し、プライマー二量体の形成を減らし、反応の特異性を高める。プライマーは2つの対立遺伝子に特異的なフォワードプライマー（1つはFAM色素で、もう一つはYY色素で標識）の競合的結合によりバイアレル識別が達成された。この方法では、ホモ接合のA1A1とA2A2、およびヘテロ接合A1A2の遺伝子型を確実に識別して検出できた。A2サンプル中のA1の検出限界は、2%（10コピー）であり、A2ミルク中のA1ミルクのコンタミを検出可能であった。感度から比較すると、ELISA法よりも本法の検出感度の方が高い。

3. 乳タンパク質の消化過程で生成する生理活性ペプチド（BAP）

牛乳カゼインは、「生理活性ペプチド（BAP）」の重要な供給源として、最も良く研究されているたんぱく質である。乳たんぱく質の遺伝的多型は、その一次配列に潜在的に含まれるBAPの種類と放出に影響を与える。 β -カゼインは牛乳中の全カゼインの約40%を占め、6番染色体上のCSN2遺伝子によ

りコードされている。この遺伝子は高度に多型であり、 β -カゼインには現在までに「13」の異なる遺伝的変異が同定されている。 β -カゼインは遺伝子多型が多いことにより、さまざまな消化酵素による加水分解後に抗酸化性、ACE阻害活性、オピオイド活性など種々の活性を発現する生理活性ペプチドが生成されることが知られている¹³⁾。しかし、多くの研究では人工的な静的および動的消化システムによる実験研究での結果が多く、あるペプチドがこの人工システムで検出されても、実際にヒトの消化過程で生成したかの *in vivo* 確認と立証は難しい。

1986年、Brantlらにより市販のカゼインペプトンからモルヒネ様活性を有するペプチドとして β カゾモルフィン7（BCM7）が初めて単離された。このような生理活性を有するペプチドは、「オピオイドペプチド」と呼ばれる。BCM7の他にも、 β -カゼイン由来と考えられるBCM5、BCM8、BCM9、BCM11、BCM13、BCM21およびネオカゾモルフィン6（Tyr-Pro-Val-Glu-Pro-Phe）なども単離されており、中枢神経系、内分泌系、循環器系、消化器系などにさまざまな影響を及ぼす可能性が推定されている。

1999年、JinsmaaとYoshikawa⁵⁾は、 β -カゼインからの β カゾモルフィン放出に関与する酵素を探索した。[Val, Pro]-BCM9の放出にはペプシンとトリプシンが必要であり、[Val, Pro]-, [Val, Pro]-BCM9の放出にはロイシンアミノペプチダーゼが必要であった。本研究により、BCM7の *in vitro* 胃腸プロテアーゼにより放出されるためには、ペプシンとロイシンアミノペプチダーゼの2つの消化管酵素が必要であることが解明された。またこれまでBCM7の酵素放出が成功しなかった理由の一つは、最も多い遺伝的変異体のA2 β カゼインを使用していたからだろうと推定している。また、A1 β -カゼインからBCM7は放出されるが、A2 β -カゼインからは放出されないとした。

これまでの研究では、A1 β -カゼインを摂取するとBCM7が放出され、A2 β -カゼインからは放出されないとする報告が多い。最近の研究では、乳糖不耐症の人や牛乳不耐症の人において、A1およ

び A2 β -カゼインからの BCM7 の生成の有無と消化効果との関連性に焦点を当てた研究が進められている¹⁴⁾。

2017 年, Asledottir ら¹⁵⁾ は, ウシ A1 β -カゼインと A2 β -カゼインをヒト胃腸液で *in vitro* 消化後, 質量分析法により生成ペプチドを同定すると, BCM7 は両 β -カゼインから検出され, A1 からの濃度は A2 よりもやや高かった。従って, BCM7 の放出は, これまでの文献に示されているように A1 型 β -カゼインからのみ生成するということではなく, 濃度に差はあるもののどちらの遺伝的変異体からも BCM7 は生成する可能性を示している。

2019 年, T. Asledottir ら¹⁶⁾ は, ヒト胃腸液とブタ空腸ブラシ境界膜 (BBM) を使用して, BCM-7 の *in vitro* 消化過程における分解と安定性を研究した。合成ペプチド BCM7 は, 消化過程で 3 つの消化断片 (YPFPGP, PFPGPI, FPGPI) に低分子化することが LC-ESI-Q 質量分析で検出されたことより, BCM7 はヒト腸管で消化されることが推定された。逆相 (RP)-HPLC での定量試験 (UV 検出) で, 2 時間後には BCM7 の 42% が, 4 時間後には 79% が分解され, ほとんどの BCM7 分子は消化管酵素で分解された。ただし, 24 時間後でも無傷の BCM-7 分子が約 5% 検出され, これがヒト腸上皮細胞の活性トランスセプターを介して輸送され, 血液循環に入って生理活性を発現するかどうかは不明であった。

また, BCM7 はオピオイド受容体の親和性と比活性がノルモルフィンの 250 分の 1 と低いことを考慮すると, 同成分が強力な生物学的効果を発揮する可能性は低いとの指摘もある¹⁷⁾。牛乳たんぱく質を摂取後に, 消化過程で生成する各種の生理活性ペプチドは決して BCM7 だけではないことを示した。すなわち, BCM7 だけで A1/A2 ミルクを議論する現在の検討方法には, 再考の余地があるといえる。

BCM7 を構造化学的にみると, プロリンに富む配列 (YPFPGPI) である高プロリン構造を保有しているために, 基本的にはたんぱく質分解酵素に対して「抵抗性」がある。とくにトリペプチドモチーフである「PFP」部分が, BCM7 の構造安定性をもた

らしている。これらのペプチドの不活性化は, 生体では「ジペプチジルペプチダーゼ IV (DPPPIV, EC3.4.14.5)」による加水分解で迅速に達成される。この酵素は, 高度に特殊化された膜状アミノペプチダーゼであり, プロリンまたはアラニンが最後から 2 番目の位置にあるペプチドの N-末端からジペプチド部分を遊離させる。この酵素は腸を含むすべての組織の上皮・内皮細胞にあり, その多機能性とその広範な発現のために, 生体での正確な機能はまだ完全に解明されていない。分かっているのは, 食品由来の生物学的に活性なペプチド (BAP) の修飾, 処理, 不活性化において危害回避の重要な役割を果たしていることである。

最近では, A1 ミルクの摂取と BCM7 による牛乳不耐症の間いくつかの関連性があることが指摘されている¹⁸⁾。その後の検討では, カゼイン摂取後のヒト空腸廃液中の BCM7 を検出および定量することが試みられ, 最近では標準化された *in vitro* の消化モデルでヒト空腸の *in vivo* 消化データと実験的に比較すると, 乳たんぱく質消化物からは BCM7 が一貫して検出された。さらに, カゼイン由来ペプチドの乳幼児突然死症候群 (SIDS) の研究の中では, 母親が牛乳を摂取した後に乳児の血清中に BCM7 および BCM7 から誘導された BCM5 (f60-64) が同定された¹⁹⁾。しかし, この事例では, 乳児の血清中にウシ BCM7 が存在することと, それを分解する DPPIV 酵素活性の低かったことが発症の原因と推定される特殊例である。

食品成分が人間の健康に与える影響についてのメカニズムの理解を深めるには, 上部消化管での消化をシミュレートすることが必要である。これまでに, オランダの TNO 胃腸管モデル, 英国食品研究所モデル, フランスの INRA モデルなど優れた方法が提案されている。2014 年, M. Minekus²⁰⁾ らは, この様な実験には標準化したプロトコルが COST INFOGEST ネットワーク (消化分野で働く 32 カ国から 200 人以上の科学者が参加) により国際的なコンセンサスに基づいて 2014 年に開発されたことを報告している (<http://www.cost-infogest.eu>)。

この「INFOGEST法」は、食品と塩と消化液（酵素）の比率を一定にし、消化の各ステップで一定のpHを使用する「静的」な*in vitro*消化モデルであり*in vivo*消化の結果を予測するのに非常に有用である。

2019年、A. Brodkorbら²¹⁾は、さらに改良された消化法（INFOGEST 2.0）で、口、胃、腸の各ステップでの消化産物（ペプチド、アミノ酸、脂肪酸、単糖など）を分析し、食品の消化に起因するエンドポイントと内容を一週間以内に評価できることを示した。この消化法を利用してA1やA2β-カゼインからBCM7がどの程度の差で生成されるかの検討が期待される。

4. βカゾモルフィンの定性定量分析法

各種食品中のβカゾモルフィンの検出も、機器分析を使って実施されている。

2010年、De Noni and Cattaneo²²⁾は、10種類のチーズ、2種類の牛乳、6種類のヨーグルト、7種類の乳児用調製粉乳、4種の粉ミルク誘導体を*in vitro*模擬胃腸消化（SGID）後にHPLC-MS分析を行いBCM7とBCM5の発生量を検討した。BCM5は全ての乳製品から検出されなかったが、BCM7は7種のチーズ試料でのみ確認され、とくにチーズの消化物では最大21.77 mg/kg検出された。チーズの製造と熟成に関与するたんぱく質分解システムのみが、β-カゼインをBCM7に加水分解できる可能性を初めて示した。

2015年、Nguyenら²³⁾は、LC-MS/MSおよびLC-HRMSを適用して、オーストラリア全土の14種類の市販低温殺菌牛乳中のBCM7とBCM5含量を調査した。LC-MS/MS法は、液体クロマトグラフィーとタンデム質量分析の組合せであり、LC-HRMS法は液体クロマトグラフィーと衝突誘発解離を組み合わせた方法である。その結果、BCM7は10種の牛乳で0.13~2.38 ng/gの範囲で検出され、またBCM5は全ての牛乳で検出限界（LOD）を下回っていた。現在では、このような正確なβカゾモルフィンの定性と定量分析が可能となっている。

2015年、De Noniら²⁴⁾は、各種のβカゾモルフィ

ン（BCM3,4,5,6,7）の発生を各種のチーズを用いて超高速液体クロマトグラフィー/高分解能質量分析（UPLC/HR-MS）で調査を実施した。総BCMs含有量は0~11.74 mg/kgの範囲で、BCM7は0~7.63 mg/kgで検出された。2014年にMinekusら²⁰⁾により提案された標準化された*in vitro*静的胃腸消化法で検討すると、腸期の終わりでは全てのサンプルにBCM7（0.12~1.26 mg/kg）が検出された。しかし、チーズ一食分のサイズを*in vitro*消化しても、オピオイド活性を発現するほどのBCM量は放出されなかった。

これまでの報告では、牛乳、ヨーグルト、粉乳、乳たんぱく質濃縮物、乳児用調製粉乳の模擬消化後にBCM5は同定されなかったという報告もあるし、対照的にBCM7が牛乳、ヨーグルト、粉乳から検出されたという報告やBCM5が乳児用調製粉乳や高たんぱく質濃縮物で検出されたという報告もある。しかし、これらの研究のいずれも、ペプチドの正確な分子量による同定結果を報告しておらず、高分解能での分画過程で構造を確認したにすぎないという指摘もある。

5. βカゾモルフィン7（BCM7）の生理活性

βカゾモルフィン（BCM）は、ウシまたはヒトのミルクのβ-カゼインから放出されるオピオイド様ペプチド（アミノ酸鎖長4~11）で、乳たんぱく質の腸内での酵素消化の過程で生成する。BCMは、鎮痛剤のモルヒネと同様の効果を持ち、μ-オピオイド（MOP）受容体アゴニストに対して生物学的に活性を示す。MOP受容体は主に中枢神経系と消化管に見られ、ストレスや痛みへの対応、食物摂取の制御に重要な役割を果たしていると考えられている。

ウシBCM7は、モルヒネに類似したオピオイド活性を示し、内因性オピオイドペプチドとの構造的類似性に基づいて、1970年代には早くもその生理機能が推定されていた。βカゾモルフィンは、N-末端チロシンと3位に芳香族フェニルアラニン（F）を共有するペプチド構造モチーフにより、鎖長に関係なく、脳内のMPO受容体のリガンドとなり結合

し、アゴニスト特性を示す²⁵⁾。

天然 β カズモルフィンの BCM5, BCM7 および BCM9 の中では、最も強力なのは BCM5 と考えられている。また、BCM7 は、腸管バリアを貫通する能力を持つ、最も生物学的に活性の高い乳ペプチドの一つであると考えられている。複数の研究では、BCM7 が消化管にある MPO 受容体に結合し、消化機能を阻害することで、消化性の低下と通過時間の遅延等につながる可能性を指摘している。また、腸の炎症リスクと腸の透過性の増加に寄与する可能性も指摘されている。さらに、いくつかの研究では BCM7 には心血管疾患、糖尿病、そして最近では消化器疾患や腹部不快感など、乳糖不耐症の症状に似た影響が示唆されている¹⁸⁾。

しかしながら、経口投与または腸管で生成したと推定される BCM7 が中枢神経系に何らかの作用を発揮するためには多くの関門がある。第 1 に胃や小腸からの消化管酵素によりさらに分解され失活しないこと、第 2 にブラシ境界膜 (BBM) と血漿ペプチダーゼの両方に耐えて腸上皮から吸収されなければならない。第 3 に血液脳関門を通過できなければならない。これらを臨床的に検証することは非常に難しく、完全に証明された研究例はないと思われる。

BCM7 のオピオイド効果は、腹腔内または小脳内投与により *in vivo* で実証されているが、実際にヒトが A1 ミルクを飲んだ際に、小腸でどの程度の BCM7 が生成し、その内の何%が小腸から実際に吸収され、どの程度の薬理作用をもたらすのかについては、議論もされていないしもちろん論文も報告されていない。臨床的には大変に重要な検証試験になると思われるが、正確な研究が今後は是非とも必要だと考えられる。

6. A2 ミルクが消化管の不快症状を改善するという研究事例

A2 ミルクを摂取後には、A1 ミルクと比較して消化過程での不快症状が改善されたという研究報告がある。

2017 年、He ら²⁶⁾ は、中国で乳糖不耐を「自己

申告した」中国人 600 名を対象に、A2 ミルクと A1/A2 ミルクを摂取し、7 日間の間を空ける期間 (ウオッシュアウト) の前後に交互に一回 300 ml のミルクを摂取するランダム化 2 重盲検クロスオーバー試験が実施された。その結果、乳糖不耐症様の症状を自己申告した被験者では、A2 ミルク摂取後の不快症状が軽減された。また、牛乳摂取直後の急性胃腸症状も軽減した。これらの事例では、乳糖不耐と考えている人において、牛乳摂取後のおなかガゴロゴロするなどの胃腸症状は、乳糖そのものが原因ではなく、A1 ミルク中の A1 β -カゼインの存在と消化物に関連していることが示唆された。

2020 年、M. Ramakrishnan ら²⁷⁾ は、米国で乳糖不耐者 25 名を含む 33 名に対して、4 つの異なる種類の牛乳を 245 ml 摂取するクロスオーバー試験が実施された。これらのミルクは、A2 ミルク、ジャーキー牛乳 (A1/A2 = 25%・75%)、普通牛乳 (A1/A2 = 75%・25%)、無乳糖乳 (Lactaid) であった。その結果、25 人の乳糖不耐者では、A2 ミルクでは摂取後の顕著な下腹部痛の低減が認められた。

これらの研究では、明らかに乳糖が原因で起きている乳糖不耐の症状に対して、乳糖の含有量は A1/A2 ミルクと変わらない A2 ミルクが、どのような機構により消化器症状を軽減するのかの機構が全く説明されておらず、これらの研究結果とメカニズムを真に理解するためには、さらなる介入および臨床研究が必要と考えられる。

牛乳に対する不耐症は一般的に胃腸障害が主であり、通常は乳糖不耐症に起因することが多い。BCM7 の胃腸への影響を考えると、牛乳不耐症には乳糖自体ではなく、A1 β -カゼインの摂取と関連している可能性があることを示したことは重要な指摘である。

7. システマティックレビューによる A2 ミルクの評価

今日まで、A1 ミルク (および派生製品) の健康上への悪影響は、公式の保健機関によっては一切認識されていない。それにもかかわらず、A1 ミルク

は悪く A2 ミルクは良いという「A1/A2 ミルク仮説」は、多くの研究論文で展開され、一部の食品会社の商業戦略によっても世間の注目を集めている。この課題の解決のために、システムティックレビューによる評価方法が適用されている。システムティックレビューとは、A1/A2 ミルク仮説に関連する科学的学術誌などに掲載された複数の科学論文をくまなく調査し、そのデータを総括して正しく評価する方法で、これらの結果は研究論文や総説（レビュー）で報告され最も信頼性の高い評価方法とされる。

2005 年の Truswell によるレビューは、体系的でなく、とくに胃腸への影響に焦点を当てておらず、関連する研究を無視していると批判されてきた。2009 年より前の初期研究では、ブタの胃十二指腸プロテアーゼとウサギ空腸 BBM ペプチダーゼを用いて水牛 β -カゼインの逐次消化では BCM7 が検出されなかったため、*in vivo* での BCM7 の活性発現は疑問視された。これらの研究結果により、EFSA（欧州食品安全機関）の専門家パネルは、BCM7 摂取と生物学的影響との間には明確な因果関係は確認されないと結論付けた。またこの検討では、乳糖不耐症や胃腸への影響は調査の対象外とした²⁸⁾。

この時分析対象とされた研究の多くは、単純化された静的人工消化モデルを用いて行われており、正確な *in vivo* でのヒトの真の生理機能を十分に反映していない可能性があった。また解析に使用した多くの総説での研究は十分な質ではなく、被験者数が少なく、介入期間が短いなどの問題点があった。さらに、BCM7 の吸収に関連する一部の健康への影響は再現可能ではなかった。加えて、この時点では血漿などの試料中のごく微量の BCM7 は、クロマト的には検出できなかった可能性がある。

その後、A2 ミルクに関するシステムティックレビューのメタ解析は継続して実施された。

2017 年、S. Brook-Taylor ら²⁹⁾ は、2017 年 4 月以前の総説を除く全ての研究を網羅した最初の系統的レビューを発表した。このレビューの結論では、ヒトでは A1 β -カゼインの摂取が腸内通過の遅延と軟便に関連し、消化器系の不快感では A1 β -カゼイン

のみがヒトの炎症マーカーと関連していた。また、げっ歯類では、腸内輸送が遅延し、Tool 様受容体の発現が増強した。しかし、これらの研究は限られた数の研究であり、さまざまな集団や食事環境における消化機能への影響を考慮したさらなる研究が必要であるとした。

2019 年、Küllenberg de Gaudry ら³⁰⁾ は、2017 年 10 月以前に発表された研究では、A1 β -カゼインと A2 β -カゼインが消化器の健康に利益をもたらすという中程度の確実性を提供するが、その他の健康上の利点について確実性は低いとしている。最終的な科学的な結論を出すには、より多くの参加者を確保し、十分に長い介入期間と追跡期間をとって検討することが不可欠とした。

2021 年、Daniloski ら³¹⁾ は、A1 ミルクと A2 ミルクの摂取と健康関連に関して合計 2,006 件の査読付きジャーナル論文から 19 論文を抽出し検討した。その結果、A2 ミルクの摂取が腸関連の不快感を低下させ、牛乳不耐症の改善につながる可能性を示した。また、A1 β -カゼインと A2 β -カゼインはどちらも *in vivo* 消化過程で BCM7 を放出した。しかし、A2 ミルクに公衆衛生当局の推奨に値する十分な証拠はなく、ペプチドや遺伝子変異体の作用機序とその影響を理解するには、さらなる機能研究が必要であるとした。

2021 年、Daniloski ら³²⁾ は、 β カゾモルフィンがヒトの健康に及ぼす可能性のある欠点と潜在的な有益な効果を、*in vitro* および *ex vivo* 研究の範囲内で評価した。4 つの電子データベース（Scopus, Web of Science, PubMed, Cochrance）で文献検索を行い、適切な研究を抽出した。結果は、データに決定的なものではなかった。腸管がリーキーガット状態の人は、腸バリアの透過性が高まっており β カゾモルフィンの吸収が可能となり胃腸障害が起こる可能性がある。ペプチドの代謝経路と消化後の動態についてさらに実験的試験と調査が必要としている。

2022 年、M. Giribaldi ら³³⁾ は、A2 β -カゼインは A1 β -カゼインと比較して胃腸レベルで有益な効果を発揮するが、A1 β -カゼインがヒトの健康に悪影

響を及ぼすという証拠はないと結論づけた。

2023年、M.L. de Vasconcelos ら³⁴⁾は、A1 β -カゼインから放出されると考えられる BCM7 の腹部不快感や胃腸の炎症誘発反応などの報告により、BCM7 と微生物叢—腸—脳軸との相関関係があるという仮説についてレビューした。しかし、これらの悪影響が人口の少数の者に限定されていることと、*in vivo* 研究が少ないため、より決定的な結果が得られていない。何よりも、BCM7 の胃腸や全身レベルで生理反応を引き起こすのに必要な暴露の「閾値」が確立されていない。多くの文献では「仮説」のもっともらしい指標を提供するが、もっと *in vivo* 研究を進めないと真実は見えてこないと結論している。

2024年、Y. Sun ら³⁵⁾は、A1/A2 β -カゼインの変異体の構造と特性をまとめ、BCM7 が胃腸の健康に及ぼす影響を *in vivo* 研究で分析し、この分野における限界と将来の方向性を提示した。

このように、A1 ミルクや A2 ミルクを摂取後に私達の健康に及ぼす影響については、とくに *in vivo* における科学的な検証が不十分で、原時点で明確な結論を出すことは難しい。最終的な結論を導くには、今後の大規模で長期間の質の高い臨床的介入研究や作用機序を証明する機能研究が将来的に必須であると考えられる。

8. A1/A2 ミルクに関する公的機関の見解

2009年、欧州食品安全機関（EFSA：European Food Safety Authority）の Scientific Report は、A1 ミルクの摂取により消化過程で放出されるといわれる BCM7 について、心臓病や糖尿病のような非伝染性疾患との間に因果関係はないと結論した。この EFSA レポート³⁶⁾ では、BCM7 の摂取と各種疾病との因果関係は認められないとした。その根拠となったのは、BCM-7 が分解されないまま、腸管膜や血液脳関門を通過したとする臨床的な証拠がないからである。

また、A1 ミルクが摂取後の消化過程で、消化器系に対する不快感などをもたらす原因物質やその吸収機構などについては、現在までのところ公式見

解を出していない。

その理由としては、症状が命に係わるような重篤な症状でないことと、BCM7 を用いての *in vivo* での臨床試験例がないことに起因するものと思われる。

2011年8月に、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）より、A1 ミルクと A2 ミルクに関するファクトシートが発表された。A2 ミルクは子どもの自閉症や成人の統合失調症や糖尿病や心疾患を防ぐと言われるが、これらを裏付ける十分な証拠がないと結論した。

このように世界の公的機関では、現在までのところ A2 ミルクの優位性および A1 ミルクに対する有害性についての科学的な根拠はないと判断しており、今後の詳細研究が必要としている。

9. A2 ミルクの研究により得られた新発見

日本では、乳糖不耐症による腹部に起こる不快感を「おなかゴロゴロ」という独特の表現で表している。A2 ミルクの開発研究の過程では、この広く「おなかゴロゴロ」で表現されている乳糖不耐症には、実は乳糖の消化不良により発症する真正の乳糖不耐症の他に、別の不耐症が隠れて存在する可能性を指摘したと言える。それは、異種動物乳である牛乳中のタンパク質（主としてカゼイン）をヒトが摂取した際に、消化過程で生じる複数のペプチド類に対する不耐症である。この症状は、「乳ペプチド不耐症」とも考えられる。前述した様に、カゼインの消化過程では実に多種類の生理活性ペプチドが生成することが予想される。乳タンパク質の加水分解ペプチドに毒性が発現することは全く考えられないが、ごく一部の人には、低分子のペプチド成分に対して過剰な生理反応を起こすことは否定できない。この症状は、生成したペプチド類が腸管表層の受容体（センサー）に結合したり認識されることにより、脳から消化管の信号が送られ、吐き気や腹痛や下痢などが起こる事例が存在することが推定される。海外の文献では、「Dairy Intolerance」と表現され、和訳は「牛乳不耐症」となる。

また、同じく「おなかゴロゴロ」の腹部不快感状

には、真正の「乳糖不耐症」および「乳ペプチド不耐症」に加えて、牛乳タンパク質に対する「牛乳アレルギー」も含まれている。従って、牛乳を飲んで「おなかゴロゴロ」との腹部不快症状を呈する事例では、少なくとも3つの臨床的な障害事例が含まれているのではないだろうか。A2ミルクの開発研究により、従来あいまいな「おなかゴロゴロ」と表現されていた症例には、主要な乳糖不耐症の影に他の成分による不耐症が隠れている可能性を引き出したことは、意義深いと考えられる。

さらに、A2ミルク研究はカゼインミセル研究にも一石を投じている。カゼインミセルの存在は確実であるが、その内部構造について大きく見解が変わった。それは、長年内部にはサブミセル構造があり、カゼインミセルは約1000個のサブミセルを内部に保有するとされていた。その後、研究が進み、内部にはきちんとした規則構造はなく、リン酸カルシウムが重合して行く過程で、カゼイン成分が選択的に取り込まれ結合するという「ナノクラスターモデル」が2013年にHoltら^{37,38)}により提案され、現在では広く受け入れられている。

カゼインミセル研究では、ミセル径に一番影響を与えるのは κ -カゼインであり、小ミセル程糖鎖の結合したグリコシル化 κ -カゼインの割合が高いこと、A2 β -カゼインはほとんどが大ミセルに存在し、A1 β -カゼインは大ミセルと小ミセルに均等の割合で存在するなどの知見が得られている。

2018年、高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所の高木秀彰博士ら³⁹⁾は、放射光X線を利用した小角散乱法により、カゼインミセル内に「水ドメイン」が存在し、その形態や容積は温度やpHにより変化し、 β -カゼインはこの水ドメインを行き来することでミセル平衡が成立しているという新しいカゼインミセル像を提案している。A2ミセルとA1ミセルでは、ミセル径や構造も異なり、 β -カゼインがミセル形成にある役割を演じていることが推定され、ミセルの完全構造の解明に、A2ミルクの詳細研究が役立つ可能性が浮上している。

また、文献的にはヒトの臨床科学的に、A1ミル

クの摂取後に、ヒトの腸管や血中でのBCM7の生成についての論文が存在しないことが分かった。現在では、機器分析の精度が上がっているのだから、A2 β -カゼインを含むA2ミルクを摂取した後、ヒトの消化管や血中からBCM7を微量であっても検出できるのではないだろうか。数十年も未解明の部分のこの核心となる問題が解決されることが大いに期待される。

10. A2ミルクの乳加工産業に及ぼす影響

牛乳たんぱく質のペプチド構造内のアミノ酸変異の影響は、乳の加工特性に影響を及ぼす。ウシカゼインの遺伝的多型は、カゼインミセルの形態、カルシウム分布、ゲル化時のネットワーク形成、表面活性など、化学的、構造科学的、技術的特性に大きな影響を与える可能性がある。その結果として、乳加工食品を摂取した後の、栄養生理学的な特性にも影響を与える可能性がある。

近年、酪農家やブリーダーは、牛乳がチーズに加工されることの潜在的な影響に十分な注意を払わずに、A2ミルク生産に切り替える傾向がある。 β -カゼインの遺伝的変異体は、牛乳のレンネットカード形成に大きな役割を果たすと認識されている。最近のいくつかの研究では、ある β -カゼインと κ -カゼインの組合せでは、凝固特性が不十分かまたは全く凝固しない傾向が指摘されている。

2013年、Poulsenら⁴⁰⁾の研究では、レンネット凝固性が低い牛乳や非凝固性牛乳では、 β -カゼインA2/A2遺伝子型と κ -カゼインAA遺伝子型が優勢であり、総たんぱく質と総カゼインが少なく、 κ -カゼイン含有量が低く、ミネラル(Ca, P, Mg)も低かった。別の研究者も、乳のレンネットに対する凝固不良と非凝固性は、 κ -カゼイン含有量が低く、カゼインミセルが大きい傾向にあったとしている。

2022年、Bisuttiら⁴¹⁾は、 β -カゼインの遺伝子型とチーズ製造時の凝乳酵素キモシンによる凝固性とチーズ収量などの関連について1.133頭のホルスタイン牛からの乳について検討した。この研究では、チーズ製造特性に関するチーズミルクの乳量と組

成、レンネット凝固性、カード硬化形質、チーズ収量、カード栄養素回収率など18項目について評価した。その結果、 β -カゼインのA1/A1遺伝子型の乳では、A2/A2型乳に比較してホエイたんぱく質の β -ラクトグロブリン (-8.2 g/L) と α -ラクトアルブミン (-4.7 g/L) 含量が有意に低く、 β -カゼイン含量が高かった (+6.8 g/L)。したがって、チーズ製造ではA1ミルクを使用した場合には、カゼイン量が多いのでチーズ収量は高くなる。また、レンネット凝固時間の比較では、 β -カゼインA2/A2遺伝子型では β -カゼインA1/A1型と比較して7.1%、またBA1型 (β -カゼインの遺伝子型がBとA1の混合)と比較して28.6%も凝固時間が長くなり、かつレンネット添加30分でのカードの固さが低く、他の遺伝子型と比較してA2/A2型のチーズミルクが最も悪いパフォーマンスを示した。

2023年、Vigoloら⁴²⁾は、 β -カゼインのA1/A2多型がチーズ製造プロセスに及ぼす影響を検討した。A1ミルクとA2ミルクを各種ブレンドして合成30のチーズミルクでチーズ製造を試みた。その結果、A2 β カゼインの割合が25%を超えた場合、 κ -カゼインの割合は最大2%まで有意に減少した。そして、チーズ製造の1時間、48時間後にチーズ収量が有意に減少したが、7日の熟成後には影響は観察されなかった。

以上より、乳カゼインの遺伝子多型がキモシン凝固性とチーズの収量に関する形質に大きな影響を与えることが分かった。本研究の核心であったA1ミルクとA2ミルクのチーズ製造能力の間には「有意差」は見られなかった。しかし、A2対立遺伝子を含むA2ミルクをチーズ製造に使用することは、乳の技術的特性の悪化と関連しており、チーズ製造のプロセスの効率が低下するため推奨されていない。

2024年、D. Daniloskiら⁴³⁾は、チェダーチーズの製造における β -カゼインの遺伝子型の役割とチーズ構造および*in vitro*での胃消化特性に与える影響を研究した。その結果、A2/A2型チーズミルクでは、レンネット添加後にゲル化してカッティングするまでに長時間が必要であり、ゲル化したチーズマト

リックスが消化中のたんぱく質分解の遅さに影響を与えることが分かった。このことは、 β -カゼインA2/A2のみを含むチーズミルクを用いた場合、レンネット凝固に有意に時間がかかり、また摂食後のたんぱく質消化性が低いことを示唆していた。

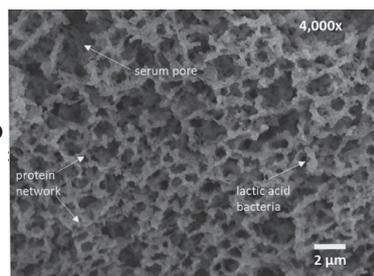
2024年、N. Gaiら⁴⁴⁾は、 β -カゼインの3種類の遺伝子型の牛乳を用いてチェダーチーズを製造し、チーズ工程と最終製品でその差を検討した。その結果、A2/A2チーズミルクでは、カード切断段階での遅延をもたらすコストと効率の点で懸念される可能性が指摘された。また、他の遺伝子型乳と比較して脂肪含量が低く、熟成後の食感に寄与した。また、組織はA2/A2型が最も固く熟成が遅れたが、3種類のチーズミルクでの総合評価では有意差はなかった。

一方、ヨーグルト製造におけるA1ミルクとA2ミルクの差異を検討した研究もある。

2018年、H.T.H Nguyenら⁴⁵⁾は、A1ミルクとA2ミルクを用いて製造したヨーグルトのゲルの微細構造や物理化学的性質を検討した。その結果、A2ミルクではゲル化時間が長く、貯蔵弾性率とゲル強度が低く、ヨーグルト組織はより多孔質の微細構造を持っていた。また、遊離イオン性カルシウムの割合が高く、優れた発泡形成能力を示した。図4には、両ヨーグルト組織の4,000倍の倍率での電子顕微鏡によるクライオSEM画像を示した。A2ミルクでは多孔質の微細構造が観察され、科学的な知見を支持していた。

以上のように、A2 β -カゼインを含むミルクは、酸ゲル化およびレンネット凝固特性には劣るが、優れたエマルジョンおよび泡形成能力を示すようである。従って、A2ミルクは一般的なチーズやヨーグルトの製造には適していないが、生成された弱いゲルが易消化性に繋がったり、特定のアプリケーションや機能特性を持つ新しい乳製品の開発にヒントを与えるなど、有利に働く場合があるかもしれない。

A2/A2ミルクの ヨーグルト組織



A1/A1ミルクの ヨーグルト組織

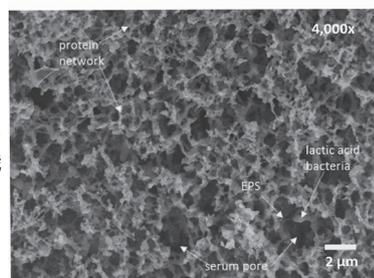


図4 A1ミルクとA2ミルクから製造したヨーグルト組織の違い（4000倍による電子顕微鏡観察）
H.T.H Nguyenら, 2018年（文献45）より部分引用

11. 国内外におけるA2ミルクの現状と将来性

海外ではA2ミルクに古くから注目しており、最近ではニュージーランド、オーストラリア、アメリカ、カナダおよび中国を中心に商品化が進んでいる。2022年から2030年までに、A2ミルクの市場規模は約3倍になると予想されるほど、世界的な関心とニーズは高まっている。とくにニュージーランドの新興乳業メーカーの「a2ミルクカンパニー」は、精力的にA2ミルクの製造販売を行っており、最近では同ミルクから育児用調製粉乳も製造販売されている。筆者が2023年10月に米国シカゴ市内の数か所のスーパーマーケットを訪れた際には、A2ミルクコーナーはどの店舗にも存在し、商品パッケージには図5に示した様な表示がされていた。これは健康強調表示（ヘルスクレーム）に相当し、一般の牛乳には日本では表記が許されていない。文章は、「文献では一部の人の胃の不快感を避けるのを助けるかもしれない」と表記されていた。当然であるが、乳糖不耐症を防止するとか腹部異常症状が治癒する、というような行き過ぎた表記はなかった。



健康強調表示
(ヘルスクレーム)

図5 米国でのA2ミルクパッケージの健康強調表示

日本国内でもA2ミルクは消費者の一部からは注目されており、なかしべつ乳業や近藤乳業やホリ乳業など複数の乳業会社から製造販売され、通信販売などでも入手可能となっている。

2020年、一般社団法人の「日本A2ミルク協会」（北海道富良野市、代表理事：藤井雄一郎）が発足した。2023年末には、東京農業大学と重井医学研究所の共同研究により、「A2ミルクの検査キット」が開発され、このキットを使用したA2ミルクの検査体制とA2認証基準ができた。2024年3月、A2ミルクの認証制度の正式運用が実現し、「日本A2協会牛乳」が発売され、東京農業大学附属の稲花（とうか）小学校の学校給食に同牛乳が採用されたという報道がされた。今後、A2ミルクの臨床面での研究が進んで行き、作用機構への理解が進めば、日本での消費も伸びてくるかもしれない。

12. A2ミルクの将来の発展性とA1遺伝子牛の早期切り捨てへの警鐘

牛乳の消費量は世界的に増加しているが、地域によってはここ数十年、消費量が減少し続けている箇所もある。我が国でも例外ではなく、生乳生産価格の上昇とともに牛乳の消費は低迷し、生乳生産者と酪農産業の双方が大きな危機に陥っている。2023年度の市販牛乳価格の値上げにより、消費者の購買率は実に11%も減少したという新聞報道もあった。この問題の解決策として考えられるのは、現在牛乳を消費していない人々に再び牛乳を飲み始めても

らうことや、より付加価値の高い牛乳・乳製品を製造・販売することである。この視点からは、A2ミルクは次世代の新しい希望あるトレンドとして期待される側面がある。

岡山県の蒜山（ひるぜん）酪農農業協同組合では、A2ミルクに本格的に取り組む姿勢を打ち出している。蒜山では全国に1万頭前後しか飼育されていないジャージー牛の約2割を多頭飼育していることで有名であり、ジャージー牛はA2タイプが多い。2020年度に同組合で飼育されている1,700頭の約3分の1の670頭をゲノム検査した結果、A2/A2が70%、A2/A1が30%そしてA1/A1はゼロという結果であった。蒜山酪農では、A2ミルクはジャージー牛がもともと保有する優位性であると考えており、「近い将来蒜山ジャージー牛乳は全てA2ミルクになるように取組みを行いたい」としている。蒜山酪農にはもともとA1 β カゼイン遺伝子を保有する乳牛が少ないので、全頭のA2タイプへの移行は短日間で実施可能であるかもしれない。

しかし、前述したようにA2ミルクではチーズ製造時の凝固時間が遅延し、生じたカードは脆弱でありカード生成量を減少させ、全体的にチーズの製造効率を低下させるという研究報告は多い。現在、日本のナチュラルチーズの国内生産量は約46,000トン（約半分はプロセスチーズ用）であり、その製造規模は大きくはない。しかし、将来的に海外からの輸入ナチュラルチーズへの関税率が減少し、日本が本格的に国産チーズ製造を開始する時点で、チーズ産業にA2ミルクは不向きであるという現実に気がついて遅いかもしれない。家畜の遺伝子選抜と移行はなかなか後戻りが難しいため、再考の余地があるのではないかと考えている。

おわりに

A2ミルクは、これまで牛乳を飲むと腹部不快感が起こり、牛乳摂取を控えていた人にとっては有効な選択肢が増えるかもしれない。しかし、その詳細な機構については、今後の研究の継続に委ねられる。飲用牛乳に関しては、新たな購買層の開拓に繋

がる可能性があるが、一方ではA2ミルクは、ヨーグルトやチーズ製造などに使用される加工乳としては望ましくない性質があり、推奨されない側面もある。従って、日本中のホルスタイン牛における β -カゼインのA2A2遺伝子牛への遺伝育種学的移行は、拙速に急ぐべきではなく慎重に対応して頂きたいと考えている。A2ミルクが本当に乳糖不耐や乳たんぱく質アレルギー以外の原因で腹部不快感の出る人への救世主であるか否かについては、多くのシステムティックレビューで指摘されているように、まだまだ詳細な臨床検討の余地が残されているからである。

謝辞

A1ミルクおよびA2ミルクからの乳たんぱく質のSDS-PAGE電気泳動図を提供して頂きました、合同酒精株式会社酵素医薬品研究所（千葉県松戸市）に対して深謝申し上げます。

引用文献

- 1) FACTOBOOK（ファクトブック）「A2ミルク “いま、わかっていること、まだわかっていないこと”」、齋藤忠夫監修、2024年9月（一般社団法人 Jミルク）
- 2) 齋藤忠夫、乳および乳製品の素晴らしさ 連載第7回 世界的に注目されるA2ミルク「 β -カゼインの特徴と機能特性」、*New Food Industry*, **66**(5):297-300 (2024).
- 3) 齋藤忠夫、「A2ミルク機能性の最終評価はまだ出ていない ～チーズの製造歩留まり低下を指摘する報告も多数」、*デーリイマン*, **74**(7):84-87 (2024).
- 4) J.L.Gallinat, S. Qanbari, C. Drogemuller, E.C.G. Primentel, G. Thaller and J. Tetens, DNA-based identification of novel bovine casein gene variants, *J. Dairy Sci.*, **96**:699-709 (2013). <https://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5908>
- 5) Y. Jinsmaa and M. Yoshikawa, Enzymatic release of neocasomorphin and β -casomorphin from

- bovine β -casein, *Peptides*, **20**:957-962 (1999). [https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(99\)000088-1](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(99)000088-1)
- 6) S. Cattaneo, F. Masotti, M. Stuknyte and I. De Noni, Impact of in vitro static digestion method on the release of β -casomorphin-7 from bovine milk and cheeses with A1 or A2 β -casein phenotypes, *Food Chemistry*, 404, Part A, 2023, 134617 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134617>
 - 7) E. Bolat, F. Eker, S. YiImaz, S. Karav, E. Oz, C. Brenna, C. Proestos, M. Zeng and F. Oz, BCM-7: Opioid-like Peptide with Potential Role in Disease Mechanisms, *Molecules*, **29**, 2161 (2024) <https://doi.org/10.3390/molecules29092161>
 - 8) G. Bordin, F.C. Raposo, B. de la Calle and A.R. Rodringuez, Identification and quantification of major bovine milk proteins by liquid chromatography, *J. Chromatography A*, **928**:63–76 (2001). [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01097-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01097-4)
 - 9) J.M.L. Heck, C. Olieman, A. Schennink, H.J.F. van Valenberg, M.H.P.W. Visker, R.C.R. Meuldijk, A.C.M. van Hoojdonk, Estimation of variation in concentration, phosphorylation and genetic polymorphism of milk proteins using capillary zone electrophoresis, *Int. Dairy J.*, **18**:548-555 (2008). <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.11.004>
 - 10) L. Day, R.P.W. Williams, D. Otter and M.A. Augustin, Casein polymorphism heterogeneity influences casein micelle size in milk of individual cows, *J. Dairy Sci.*, **98**:3633–3644 (2015). <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9285>
 - 11) D. Daniloski, N.A. McCarthy, T. Markoska, M.J. Auldish and T. Vasiljevic, Conformational and physicochemical characteristics of bovine skim milk obtained from cows with different genetic variants of β -casein, *Food Hydrocolloids*, **124**, 107186 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107186>
 - 12) R. Giglioti, G. Gutmanis, L.M. Katiki, C.H. Okino, M.C. de Sena Oliveira and A.E.V. Filho, New high-sensitive rhAmp method for A1 allele detection in A2 milk samples, *Food Chemistry*, **30**, 313, 126167 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126167>
 - 13) R.J. FitzGerald, M. Cermenon, M. Khalesi, T. Kleekayai and M. Amigo-Benavent., Application of in silico approaches for the generation of milk protein-derived bioactive peptides, *J. Functional Foods*, **64**, 103636 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103636>
 - 14) S. Jianqin, X. Leiming, X. Lu, G.W. Yelland, J. Ni and A.J. Clarke, Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of peoples with self-reported intolerance to traditional cow's milk, *Nutrition J.* **15**, 35 (2016). <http://doi.org/10.1186/S12937-016-0147-Z>
 - 15) T. Asledottir, T.T. Le, B. Petrat-Melin, T.G. Devold, L.B. Larsen and G. Vegarud, Identification of bioactive peptides and quantification of β -casomorphin-7 from bovine β -casein A1, A2 and I after ex vivo gastrointestinal digestion, *Int. Dairy J.*, **71**:98–106 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.jdairyj.2017.03.008>
 - 16) T. Asledottir, G. Picariello, G. Mamone, P. Ferranti, A. Roseth, T.G.Devold and G.E. Vegarud, Degradation of β -casomorphin-7 through in vitro gastrointestinal and jejunal brush border membrane digestion., *J. Dairy Sci.*, **102**:8622–8629 (2019). <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16771>
 - 17) A.Henschen, F. Lottspeich, V. Brantl and H. Terschmacher, Novel opioid peptides derived from casein (beta-casomorphins). II. Structure

- of active components from bovine casein peptone, *Hoppe-seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie*, **360**:12127–1224 (1979). PMID:511111
- 18) S. Pal, K. Woodford, S. Kukuljan and S. Ho, Milk Intolerance, Beta-Casein and Lactose, *Nutrients*, **7**:7285–7297 (2015). <https://doi.org/10.3390/nu7095339>
 - 19) J. Wasilewska, E. Sienkiewica-Szapka, E. Kuzbida, B. Jarmotowska, M. Kaczmarek and E. Kostyra, The exogenous opioid peptides and DPPIV serum activity in infants with apnoea expressed as apparent life threatening events (ALTE), *Neuropeptides*, **45**:189–195 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.npep.2011.01.005>
 - 20) M. Minekus, A. Almgier, P. Alvito *et al.*, A standardized static in vitro digestion method for food—an international consensus, *Food Funct.*, **5**:1113–1124 (2014). <https://doi.org/10.1039/C3FO60702J>
 - 21) A. Brodtkorb, L. Egger, M. Almgier *et al.*, INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion, *Nature Protocols*, **14**:991–1014 (2019). <https://doi.org/10.1038/S41596-018-0119-1>
 - 22) I. De Noni and S. Cattaneo, Occurrence of β -casomorphins 5 and 7 in commercial dairy products and in their digests following in vitro simulated gastro-intestinal digestion, *Food Chemistry*, **119**:560–566 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.058>
 - 23) D. D. Nguyen, F. Buseti, S. K. Johnson and V. A. Solah, Identification and quantification of native beta-casomorphins in Australian milk by LC-MS/MS and LC-HRMS, *J. Food Composition and Analysis*, **44**:102–110 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.08.009>
 - 24) I. De Noni, M. Stuknytė and S. Cattaneo, Identification of β -casomorphins 3 to 7 in cheeses and in their in vitro gastrointestinal digests, *LWT-Food Science and Technology*, **63**:550–555 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.036>
 - 25) R. Nagpal, P. Behare, R. Rana, A. Kumar, M. Kumar, S. Arora, F. Morotta, S. Jain and H. Yadav, Bioactive peptides derived from milk proteins and their health beneficial potentials: an update, *Food & Function*, **2**:18–27 (2011). <https://doi.org/10.1039/C0FO00016G>
 - 26) M. He, J. Sun, Z. Q. Jiang and Y. X. Yang, Effects of cow's beta-casein variants on symptoms of milk intolerance in Chinese adults: a multicentre, randomized controlled study, *Nutrition J.*, **16**:72 (2017). <https://doi.org/10.1186/s12937-017-0275-0>
 - 27) M. Ramakrishnan, T. K. Eaton, O. M. Sermet and D. A. Savaiano, Milk Containing A2 β -Casein ONLY, as a Single Meal, Causes Fewer Symptoms of Lactose Intolerance than Milk Containing A1 and A2 β -Caseins in Subjects with Lactose Maldigestion and Intolerance: A Randomized, Double-Blind, Crossover Trial, *Nutrients*, **17**:3855 (2020). <https://doi.org/10.3390/nu12123855>
 - 28) I. D. Noni, R. J. FitzGerald, H. J. T. Korhonen, Y. Le Roux, C. T. Livesey, I. Thorsdottir, D. Tome and R. Witkamp, Review of the potential health impact of β -casomorphins and related peptides, *EFSA Sci. Rep.*, **231**:1–107 (2009). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.231r>
 - 29) S. Brooke-Taylor, K. Dwyer, K. Woodford and N. Kost, Systematic Review of the Gastrointestinal Effects of A1 Compared with A2 β -Casein, *Adv. Nutr.* **8**:739–748 (2017). <https://doi.org/10.3945/an.116.013953>
 - 30) D. Küllenberg de Gaudry, S. Lohner, C. Schmucker, P. Kapp, E. Motschall, S. Hörrlein, C. Roger and J. Meerpohl, Milk A1 β -casein and

- health-related outcomes in humans: a systematic review, *Nutr. Rev.*, **77**:278–306 (2019). <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy063>
- 31) D. Daniloski, N.M.D. Cunha, N.A. McCarthy, T.F. O'Callaghan, S. McParland and T Vasiljevic, Health-related outcomes genetic polymorphism of bovine β -casein variants: A systematic review of randomized controlled trials, *Trends in Food Science & Technology*, **111**:233–248 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.073>
- 32) D. Daniloski, N.A. McCarthy and T. Vailjevic, Bovine β -Casomorphins: Friends or Foes? A comprehensive assessment of evidence from in vitro and ex vivo studies, *Trens in Food Science & Technology*, **116**:681–700 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.003>
- 33) M. Giribaldi, C. Lamberti, S. Cirrincione, M. G. Giuffrida and L. Cavallarin, A2 Milk and BCM-7 Peptide as Emerging Parameters of Milk Quality, *Frontiers in Nutr.* **9** – 2022 (2022). <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.842375>
- 34) M.L. de Vasconcelos, L.M.F.S. Oliveira, J.P. Hill and A.M.C. Vida, Difficulties in Establishing the Adverse Effects of β -Casomorphins-7 Released from β -Casein Variants–A Review, *Foods*, **12**: 3151. <https://doi.org/10.3390/foods12173151>.
- 35) Yilin Sun, Y. Ding, B. Liu, J. Guo, Y. Su, X. Yang, C. Man, Y. Zhang and Y. Jiang, Recent advances in the bovine β -casein gene mutants on functional characteristics and nutritional health of dairy products: Status, Challenges, and prospects, *Food Chemistry*, **443**, 138510 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138510>
- 36) EFSA, Review of the potential health impact of β -casomorphins and related peptides. *EFSA Scientific Report*. 2009, 231:1–107.
- 37) C. Holt, J.A. Carver, H. Ecroyd and D.C. Thorn, Invited review: Caseins and the casein micelle: Their biological functions, structures, and behavior in foods, *J. Dairy Sci.*, **96**:6127–6146 (2013). <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6831>
- 38) C. Holt, Casein and casein micelle structures, fuctions and diversity in 20 species, *Int. Dairy J.*, **60**:2–13 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.01.0004>
- 39) 高木秀彰, 中野智木, 青木孝良, 谷本守正, 中性子小角散乱法を利用したカゼインミセル構造の評価, *ミルクサイエンス*, **73**(1):3–10 (2024). <https://doi.org/10.11465/milk.73.3>
- 40) N.A. Poulsen, H.P. Bertelsen, H.B. Jensen, F. Gustavsson, M. Glantz, H.L. Mansson, A. Andren, M. Paulsson, C. Bendixen, A.J. Buitenhuis and L.B. Larsen, The occurrence of noncoagulating milk and the association of bovine milk coagulation properties with genetic variants of the caseins in 3 Scandinavian dairy breeds, *J. Dairy Sci.*, **96**:4830–4842 (2013). <http://doi.org/10.3168/jds.2012-6422>
- 41) V. Bisutti, S. Pegolo, D. Giannuzzi, L.F.M. Mota, A. Vanzin, A. Toscano, E. Trevis, P.A. Marsan, M. Brasca and A. Cecchinato, The β -casein (CSN2) A2 allelic variant alters milk protein profile and slightly worsens coagulation properties in Holstein cows, *J. Dairy Sci.*, **105**: 3794–3809 (2022). <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21537>
- 42) V. Vigolo, E. Visentin, Eva Ballancin, N. Lopez-Villalobos, M. Penasa and M. De Marchi, β -Casein A1 and A2: Effects of polymorphism on the cheese-making process, *J. Dairy Sci.*, **106** (8):5276–5287 (2023). <https://doi.org/10.3168/jds.2022-23072>
- 43) D. Daniloski, R.M. Page, P. Lamichhane, C.J. Fitzpatrick, T. Vasiljevic, A. Brodkorb, M. Timlin, J.P. Murphy, T.F. O'Callaghan and N.A. McCarthy, Cheddar cheese production, structure and in-vitro semi-dynamic gastric digestion; The role of β -casein phenotype, *Food Research*

- International*, **196**, November 2024, 115008 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.11150008>
- 44) N. Gai, D.S. Waldron, T. Unizcke-Lowe, B. Li, J. O'Regan, D.A. Goulding and A.L. Kelly, Influence of β -casein genotype on Cheddar cheese making and repening, *Int. Dairy J.*, **149**, 2024, 105824 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105824>
- 45) H.T.H. Nguyen, H. Schwendel, D. Harland and L. Day, Differences in the yoghurt gel microstructure and physicochemical properties of bovine milk containing A1A1 and A2A2 β -casein phenotypes, *Food Res. Int.*, **112**:217–224 (2018). <https://doi.org/j.foodres.2018.06.043>