

考察

8-OHdG は X 線やフリーラジカルによって DNA 上のグアニンから生成される酸化的 DNA 障害のマーカーのひとつであり、修復酵素により 8-OHdG は DNA から離れ尿中に排泄される。糖尿病、急性白血病または喫煙者では DNA 中 8-OHdG は高値を示すことが知られている。また 8-OHdG と抗酸化ビタミンに関しては、喫煙者に対するビタミン C, E, β -carotene の投与がリンパ球 DNA の酸化を軽減させたとの報告がある。本研究においては 800mg/日のビタミン E の投与では健常人の 8-OHdG 排泄に変化はみられず、DNA 損傷が少ないと考えられる健常人においては、酸化的 DNA 損傷に対するビタミン E の予防効果は小さいと考えられた。しかし 800mg 以上の投与量もしくは他の抗酸化物質との併用により効果が期待できる可能性もあり、今後のさらなる研究が必要である。

分担研究報告書 ヒトにおけるセレン、モリブデンの測定と動態に関する研究
分担研究者 糸川嘉則 福井県立大学教授

研究要旨 健康人におけるセレン、モリブデンの動態を分析した。血清セレン、モリブデンを既に開発した方法を援用して摂取物（乳汁）中濃度の測定を併用しようと試みたが乳汁での直接測定は困難であった。次に健康人血清中のセレン、モリブデンの濃度と主要栄養素、準主要ミネラルの摂取、血清濃度との関係を分析したところ、亜鉛のとセレンの血清濃度に相関がみられた。

研究目的

栄養素の動態を把握するには出納と体内含有の状態を同時に測定する必要がある。これまでに人の体内の微量元素を分析するために実用性と主眼にセレン、モリブデンの血清中濃度の、簡易で安定性的な測定法を確立した。今回は動態の把握を目的に摂取内容の分析を試みた。

研究方法

まず、人調整粉乳溶解液を検体としてセレン、モリブデン濃度を黒鉛炉原子吸光（GF-AAS）法により測定するための条件と測定値の信頼性を検討した。次に健康ボランティア延46人から3日間の自己申告と聞き取りを併用した食事調査を行い、食品成分表をもとにエネルギー、3大栄養素、銅、亜鉛同時期の1日平均摂取量を求めた。また同時期に採血を行い、血清分離の後、カルシウム、マグネシウム、銅、亜鉛濃度を誘導結合プラズマ原子発光分析（ICP-AES）法により、セレン、モリブデン濃度を本研究の先行年度に開発したGF-AAS法により測定し、栄養摂取及び他のミネラルと、血清セレン、モリブデン濃度との関係をみた。

研究結果

調整乳汁中の微量元素測定は混在する多量の有機物の除去飛散物の炉への影響と、栄養原として含まれる主要ミネラルによる干渉のため極めて信頼性に乏しかった。装置への悪影響もあることが判明し、乳汁（牛乳、人乳、調整粉乳溶解液）を簡便な処理のみで直接GF-AAS法の検体として用いるのは適当でない判断した。

健康ボランティアは年齢（7～68歳、平均32.3歳）、性別（男18、女28人）、身体計測値（体重24～80kg、平均39.9kg、身長124～180cm、平均156cm）であった。血清中セレン濃度は 123.4 ± 22.2 ng/mL、モリブデン濃度は 5.7 ± 1.5 ng/mL、この2元素と主要栄養素の全摂取量、体重当摂取量、カルシウム、マグネシウム、銅、亜鉛の摂取量および血清濃度との関係をみたところ、血清中の亜鉛とセレンの濃度の間に相関が見られた（図）。他の値の間にはこのような関係はなく、各ミネラルと血清濃度の間にも相関は見られなかった。

考察

微量栄養素の出納、生体内分布の定量には測定精

度と並んで測定の安定性と検体処理の簡便性が求められる。また検査材料の選択も重要で、経口摂取分としてなるべく均一で定量の容易なものが望ましい。この目的で哺乳児を対象として当初の計画を立てた。これまでの経験から直接検体投入GF-AAS法が感度と安定性の均衡のとれた方法であったため、食品にも引き続き適用しようと試みた。しかし、三大栄養原をはじめとする大量で多彩な栄養素が狭雑物として混在するのが障害となり、比較的単純な食品である調整粉乳溶解液でも添加剤や処理温度等の測定条件の調整だけでは信頼できる測定が極めて困難であることが判明した。同様の事態は生体内材料として溶血全血を用いた際にも問題となったが、より高濃度の糖質や脂質のせいか全血よりもさらに条件が厳しかった。GF-AAS法では血清程度の有機物と共存ミネラルの濃度が測定可能な限界かも知れない。他の定量法を検討するか、損失や検体誤差を承知の上、もっと狭雑物を除去する検体処理を行うかを検討すべきところ、今回は設備と時間の制約のため断念した。

そこで、別の方法と観点から食事内容と微量元素の関係をみることにし、ボランティアの協力のものとに食事調査と体内含有量とを分析した。同時に他のミネラルの内、準主要金属であるカルシウムとマグネシウム、食事中の含有量がある程度推定可能な銅、亜鉛を血清濃度とともに比較検討した。注目点は2つあり、1点はエネルギーと蛋白の摂取量が吸収、利用を介して微量元素の体内濃度に影響するか、2点目は微量栄養素間相互に共通の動態をとったり相互関係を有しないかである。

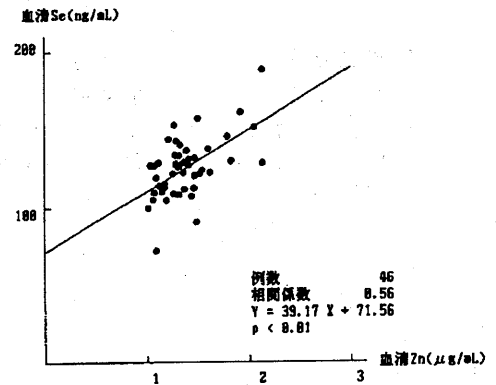
対象とした2元素はいずれも微量栄養素で、飲料・調理用水や土壌・食物の汚染によっても体内に取り込まれ、食事内容と直接関係する可能性は低いことが予想された。事実調査による大まかな推定ではあるが、主要栄養素等の摂取量との間には明らかな関係は得られなかった。またカルシウムやマグネシウムは濃度依存性の生理活性物質で、正常時には体液中では非常に狭い濃度の範囲に維持されているのに対し、血清中のセレン等の微量元素は、生理活性物質と結合している一部のものを除くと主に被運搬体として存在し、食事の影響も容易に受けるとされている。今回の結果でも、主要栄養素ならびにミネラルの摂取状況はセレン、モリブデンの血清濃度には関係せず、カルシウム、マグネシウム、の摂取量とも相関は無かった。栄養分析で取り扱える元素

として今回偶々銅と亜鉛を用い、対象元素と比較したところ、血清中の亜鉛とセレンの濃度間にも有意な相関が認められ、この2元素は吸収または体内動態のいずれかのところで関連している可能性が示唆された。

測定技術の進歩もあり、これまで各栄養素毎の分析はかなり詳しくなされてきたが、元素間の関係についてはあまりよく知られていない。今回の摂取量は粗い推定値であり、地域差や食事内容の傾向など、体内動態以外の要因も考えられるが、少なくとも微量元素のいくつかの間には体内動態に関して何らかの関連を有する可能性が考えられる。

結論

1. GF-AAS検体直接投入法では乳汁中のセレン、モリブデンの測定は困難で、何らかの検体処理あるいは技法の変更が必要である。2. 微量栄養素には栄養素として、あるいは体内での利用などに関して、他のミネラルと量的に関連関連する可能性がある。



血液透析患者における血中ビタミン C 濃度および ビタミン E との関連に関する検討

分担研究者	湯川 進	和歌山県立医科大学 第三内科 教授
研究協力者	宗 正敏	同 助教授
	大谷晴久	同 講師

研究要旨

酸化ストレスが亢進しているとされる透析患者での、ビタミン E (VE) の抗酸化作用については、いくつかの報告がなされているが、今回我々は、同じく抗酸化ビタミンのビタミン C (VC) に注目し、血中濃度および、VE 濃度との関連等につき検討した。対象は維持透析中の患者 189 名 (男性 91 名、女性 98 名、平均年齢 61.9 ± 11.2 歳、VC、VE を内服中の患者はそれぞれ 21 名、43 名で VC、VE 共に内服中は 8 名)。透析開始前に静脈血採血し、血清の VC (アスコルビン酸)、VE (α トコフェロール) 濃度を HPLC 法にて測定した。そのうち 5 名は透析終了後にも採血し、透析開始前との比較を行なった。VC を内服していない患者の血清アスコルビン酸濃度は、0.2 mg/dl 未満の VC 欠乏群が 48.2 % と多く、0.2 以上 0.4 mg/dl 未満の潜在的欠乏群が、23.2 %、0.4 ~ 1.5 mg/dl の正常群は 22.6 %、1.5 mg/dl 以上の高値群は 13.7 % であり、欠乏群、潜在的欠乏群を合わせると全体の 71.4% を占め、VC 欠乏者が高頻度であった。血清 VC 濃度は、年齢と有意な負の相関関係を認めた。また、透析開始前と終了後の血清 VC は、透析開始前に比べ、透析終了後は平均で 65.5% 減少していた。以上より、維持透析患者では高率に VC 欠乏が認められ、透析操作により VC が失われることが示されたことから、今後、VC の補給が検討されるべきと思われた。また、血清 VC 濃度を低値群、正常群、高値群にわけて、VE 濃度を比較したところ低値群は正常群、高値群に比較して、有意に低値であった。すなわち血中 VC、VE 濃度が関連することも示された。

A. 研究目的

透析患者では、酸化ストレスが亢進していると言われている¹²⁾。透析患者におけるビタミン E (VE) の抗酸化作用については、いくつかの報告がなされている³⁴⁾が、今回我々は、同じく抗酸化ビタミンであるビタミン C (VC) に注目し、血中濃度および、VE 濃度との関連等につき検討した。

採血および測定の同意は口頭で得た。

2) 方法

透析開始前に静脈血採血し、血清の VC (アスコルビン酸)、VE (α トコフェロール) 濃度を HPLC 法にて測定した。そのうち 5 名は透析終了後にも採血し、透析開始前との比較を行なった。

C. 研究結果

VC を内服していない患者の血清アスコルビン酸濃度 (図 1) は、0.2 mg/dl 未満の VC 欠乏群が、168 人中 81 名 (48.2 %) と多く、0.2 以上 0.4mg/dl 未満の潜在的欠乏群が、39 人 (23.2 %)、0.4~1.5 mg/dl の正常群は、38 人 (22.6 %)、1.5 mg/dl 以上の高値群は 23 人 (13.7 %) であり、欠乏群、潜在的欠乏群を合わせると全体の 71.4% を占め、VC 欠乏者が高頻度であった。

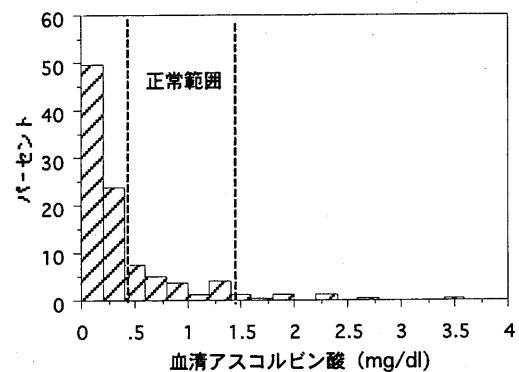


図 1. 血清アスコルビン酸濃度

年齢と血清アスコルビン酸濃度との関連 (図 2) では、VC を内服していない患者 168 人の血清アスコルビン酸濃度は、年齢と有意 ($p < 0.001$) な負の相関関係を認めた。

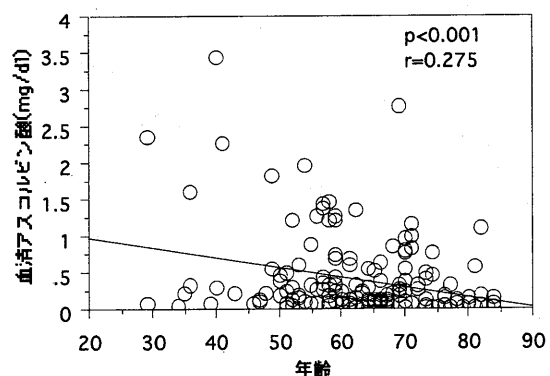


図 2. 年齢と血清アスコルビン酸濃度との関連

VC の内服の有無と血清アスコルビン酸濃度との関連では、VC を内服していない患者に比べて、内服している患者の血中濃度は有意 ($p < 0.0001$) に高値であった (図 3)。

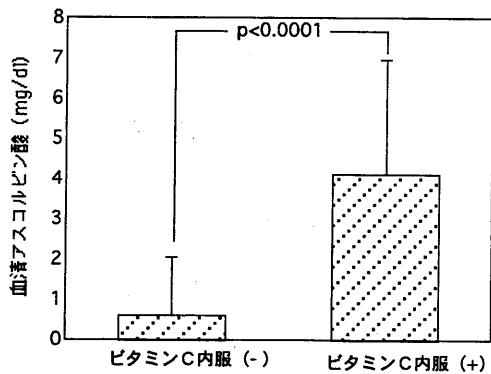


図3. ビタミンC内服の有無と血清アスコルビン酸濃度

透析開始前と終了後の血清アスコルビン酸は、透析開始前に比べ、透析終了後は平均で 65.5%減少していたが(図4)、 α トコフェロール濃度に関しては、透析前後で変化は認めなかった。

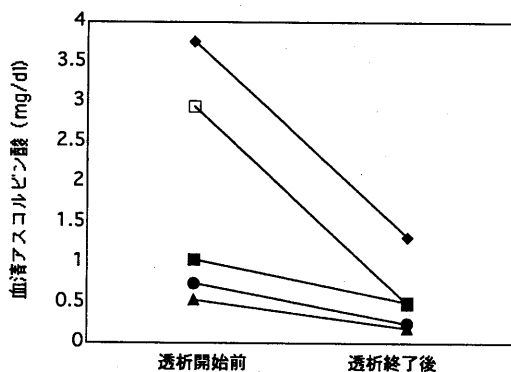


図4. 透析開始前と終了後の血清アスコルビン酸濃度の変化

血清アスコルビン酸濃度を 0.4 mg/dl 未満の低値群、0.4 以上 1.5 mg/dl 未満の正常群、1.5 mg/dl 以上の高値群にわけて、 α トコフェロール濃度を比較したところ低値群は正常群、高値群に比較して、有意に

低値であった。正常群と高値群では有意な差は認められなかった(図5)。

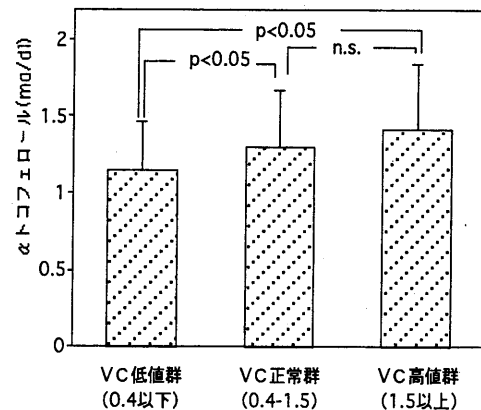


図5. 血清アスコルビン酸濃度と α トコフェロール濃度との関連

D. 考察

かつては透析患者では VC が欠乏していると報告されていた、すなわち高カリウム血症予防のため、果物や野菜の摂取が制限されていることや、透析により VC が除去されるため VC が欠乏する⁵⁾⁶⁾とされ、VC の補給が一般に行われていた。しかし、近年、VC 投与は腎不全の二次性高尿酸血症を増悪させることや、十分な食事をしているかぎり VC は欠乏しておらず、VC を補給する必要は無いという報告がなされ⁷⁾、VC は補給されなくなっている。

我々は、最近透析患者の血中酸化 LDL の検討を行なった際に、透析患者は VC が欠乏しているのではないかという結果を得、今回多数の症例で血清 VC 濃度の検討を行った。

その結果、透析患者にはVC欠乏状態が高頻度に認められることが確認され、透析治療自体により高率にVCが失われる事が示された。なぜ小野の報告と、我々の結果が異なったのかは不明であるが、測定法による違い(DNPH法とHPLC法)や、透析患者の高齢化がすすんだことによりVC欠乏患者が増えた可能性なども考えられる。

我々は今回の結果から、今後、VCの補給も再度検討すべきであろうと考える。高尿酸血症により悪化が懸念されてきた血管の石灰化や、抗酸化ビタミンの影響を受ける酸化LDL等を指標としながら、透析患者のVCの至適投与量を検討していきたい。

また、VCとVEの血中濃度の関連性については、*in vitro* 実験⁸⁾⁹⁾あるいは動物実験¹⁰⁾で報告されているようにVCが酸化型VEを再生することにより、VEが維持されると考えられているが、我々は、75歳以上の高齢者でVC欠乏状態であった患者ではVCとVEの血中濃度が相関することを報告し、人の生体内でも同様の反応が起こり得ることを報告した。今回の透析患者の検討でも同様の現象が認められ、人の生体内で、VCとVEの相互作用が起こりうる事が改めて示された。

E. 結語

維持透析患者では高率にVC欠乏が認められ、透析操作によりVCが失われることが示されたことから、今後、VCの補給が検討されるべきと思われる。また、血中VC、VE濃度が関連することも示された。

[文 献]

1. Maggì E, Bellazzi R, Falaschi F, et al.: Enhanced LDL oxidation in uremic patients: An additional mechanism for accelerated atherosclerosis. *Kidney Int* 45: 876-883, 1994
2. 湯川 進: 透析患者の脂質代謝異常—最近の知見を中心に—。透析会誌 25: 87-92, 1992
3. Yukawa S, Sonobe M, Tone Y, et al.: Prevention of aortic calcification in patients on hemodialysis by long-term administration of vitamin E. *J Nutr Science Vitaminol Special Number*: 187-190, 1992
4. Mune M, Yukawa S, Kishino M, et al.: Effect of vitamin E on lipid metabolism and atherosclerosis in ESRD patients. *Kidney Int* 56 (Suppl 71): s126-129, 1999
5. Bradley DW, Maynard JE, Webster H: Plasma and whole blood concentration of ascorbic acid in patients undergoing longterm hemodialysis. *Am J Clin Path* 59: 145-147, 1973

6. Sullivan JF, Eisenstein AB: Ascorbic acid depletion during hemodialysis. JAMA 220: 1697-1699, 1972
7. 小野慶治：外来透析患者に対するビタミンC補給の必要性と毒性. 透析会誌, 23;93-97, 1990
8. Packer JE, Slater TF, Willson R: Direct observation of free radical interaction between vitamin E and vitamin C. Nature 278: 737-739, 1979
9. Niki E, Tsuchiya J, Tamura R, Kamiya Y: Regeneration of vitamin E from α -chromanoxyl radical by glutathione and vitamin C. Chem Lett 1982: 789-792
10. Igarashi O, Yonekawa Y, Fujiyama-Fujihara Y: Synergistic action of vitamin E and vitamin C in vivo using a new mutant of Wistar-strain rats, ODS, unable to synthesize vitamin C. J Nutr Sci Vitaminol 37:359-369, 1991

平成 12 年度研究報告書

分担研究課題 ビタミン C の安全摂取範囲の設定

—文献検索と日本人のビタミン C 摂取基準値について—

分担研究者 藤原葉子 (お茶の水女子大学生生活科学部助教授)

研究要旨

第 6 次栄養所要量改訂にあたり大規模な文献調査が行われ、ビタミン C の所要量は一日 100mg と設定されたが、上限値は十分な科学的根拠が得られなかったため設定されなかった。特に栄養所要量策定後にビタミン C の大量摂取により白血球において DNA damage が見られる可能性が報告されたため、その後のいくつかの研究報告を検討したが、細胞への DNA damage への影響については意見が分かれており、現時点ではこの観点から摂取基準値を決めることはできないと考えられた。またビタミン C の栄養所要量や上限値を設定する上で日本人を対象としたデータが少ないため、アメリカを中心としたデータから考えざるを得ない。そこで日本人のビタミン C 標準値を調べるため、54 名の女子大生ボランティアに一日 200mg のビタミン C を含む食事を 3 日間摂取させ、血中のビタミン C 値を測定した。試験食 3 日間摂取後に血中のビタミン C は平均 1.04mg/dl、95%信頼区間では 0.7~1.38 mg/dl となり、栄養所要量策定の際に基準とした血中のビタミン C 値 0.7 mg/dl と一致した結果が得られた。女子大生という限られた集団で数も少ないデータではあるが、日本人においても血中のビタミン C 値はアメリカの報告とほぼ同程度と考えて良いと思われる。

A 研究目的

ビタミン C 大量投与 (1,000mg 以上) による健康への影響や副作用は認められておらず、過剰症についてもほとんど知られていない。しかしビタミン C の大量摂取により、尿中シュウ酸濃度、鉄吸収、銅代謝、ビタミン C に対する依存性 (リバウンド現象) などが影響を受けると言われている。第 6 次栄養所要量改訂にあたり大規模な文献調査が行われ、ビタミン C の所要量は一日 100mg と設定されたが、上限値は十分な科学的根拠が得られなかったため設定されなかった。最近になってビタミン C の大量投与により白血

球中の DNA 損傷が引き起こされるという報告が Nature に掲載され注目を集めた。そこで近年のビタミン C 大量投与による影響、特に白血球の DNA 損傷についての文献検索を行い、その危険性について検討することとした。また、ビタミン C の栄養所要量や上限値を設定する上で日本人を対象としたデータはほとんど無いため、欧米を中心としたデータから考えざるを得ない。日本人の基準となるビタミン C の値についてもこれまでに調べられた例はない。そこで一定量のビタミン C を一定期間摂取したときの血中ビタミン C レベルを測定し、日本人の値と比較す

ることにより、アメリカでのデータをどの程度日本人に適用できるのかを検討することとした。

B 研究方法

ビタミンCの大量投与による影響についての文献検索は主にMedlineを用い、最近のビタミンCと白血球のDNA damageを中心に文献を検索した。

また、54人の女子大生ボランティアに3日間普段と変わらない食生活をしてもらい、食事調査を行った。採血の後、一日200mgのビタミンCを含む食事を3日間拘束して摂取させ、再び採血を行った。試験前後の血液から血漿を分離し、血漿中のビタミンC値をHPLC/ECD法で測定した。

C 研究結果

30人の健常者に一日500mgのビタミンCを6週間投与したところ、白血球のDNA damageの指標としてGC-MSで測定した8-oxoadenineが著しく増加したという報告が1998年のNatureに掲載された。これまでに問題ないとされていた大量摂取一日1000mgの半分である500mgでDNA損傷が見られたこと、ビタミンC投与により8-oxoguanineでは減少したのに対し、8-oxoadenineで増加した点で注目を集めた。ビタミンCが生体内で抗酸化剤と酸化促進剤の両面の作用を持つことを示唆したものであるが、細胞内でのDNA damageが増加したという報告は、260mgのビタミンCと14mgの鉄を同時に摂取したときに見られた一報と、尿中の8-oxodGに差が見られた報告が他にない。また、in vitroの実験では、DNA損傷を防ぐ効果が多く見られ、現時点

では結論を出すことはできないようである。54人の女子大生ボランティアの食事調査から実際の一日の摂取量を計算したところ、摂取量の平均値は3日間で98.9mgであったがその幅は広く、最低摂取値は5mg、最高摂取値は1066mg値であった(Table 1)。このときの血中ビタミンC値は 0.97 ± 0.27 mg/dlであり、3日間試験食を摂取した後は 1.04 ± 0.17 mg/dlとなった。この集団の95%は0.7~1.38 mg/dlに入ることとなる(Table 2)。この0.7 mg/dlという値は第6次栄養所要量策定のときに参考にした、Levineらによる血中ビタミンCのプラトー値から基準とした値と一致する。

D 考察

ビタミンCの大量摂取により影響を受けると考えられているのは、主に尿中シュウ酸排泄量と消化器官への影響が上げられる。腎臓結石の生成にシュウ酸カルシウムが関与しているため、ビタミンCを大量に摂取すると尿中へのシュウ酸排泄量が増加することが問題となる。ビタミンC投与量と尿中シュウ酸排泄量は相関するという報告もあれば、健康な成人に7日間にわたり8gビタミンCを投与しても尿中シュウ酸排泄量には有意な増加が見られなかったという報告もある。また、成人男子へビタミンCを30~200mg投与したときのシュウ酸排泄量はおおよそ30mgであり、1000mgでは40mgに達するという。この結果から見ると、シュウ酸排泄量に影響を与える1000mgがビタミンCの最小摂取量と思われる。

一方数gのビタミンCを摂取すると悪心や下痢がみられることがあり、下痢などの

消化器官への影響に対してのビタミンC最小摂取量は3g程度と思われる。

白血球のビタミンC濃度は高く、血漿の30倍にもなることが知られている。われわれの実験データ(今回は未発表)からも、顆粒細胞ではビタミンCを負荷することにより、NADPH oxidase 活性を促進することが明らかとなっている。白血球はこれらの酵素で活性酸素種を生成することによって異物を消去するのであるが、活性酸素が過剰に生成される場合には、自らを傷つける可能性も十分考えられる。ビタミンCの投与により、カタラーゼ活性やグルタチオンのレベルを上げることで細胞内の活性酸素消去作用が働いていることが知られているが、近年報告された白血球でのDNA damage に関しては、このようなビタミンCのもつ抗酸化効果と酸化促進効果の2面性を示唆するものである。その安全性についてはさらに今後の課題となるであろう。現時点では最近発表されたアメリカの食事摂取基準(DRI)においても、証拠が十分でないということでこの点は見送られ、LOAELを成人で3g/day、NOAELを2g/day、ULを2g/dayとしている。

今回我々は54名の女子大生という限られた少ない集団ではあるが、食事調査と同一のビタミンCを摂取したときの血中ビタミンCの基準値を調べた。栄養所要量をみたと一日200mgのビタミンCを摂取すると血中のビタミンCは1.04mgに収束すること、95%の集団の値が栄養所要量策定の際に基準とした値に一致したことから、日本人の血中ビタミンCの値や応答は欧米でのデータとほぼ同程度であると考えられた。今回の実験にあたり、試験食のビタミンC

の実測値を測定したところ、計算上では一日200mgのビタミンCを摂取しているはずであったが、実測値は1, 2, 3日目それぞれ169mg、142mg、137mgであった。これは食品の加熱調理などによるロスと考えられ、食事調査によるビタミンCの摂取レベルは実際には計算値より低くなっているものと思われる。また、食物として摂取する場合とサプリメントとして摂取したときでは損失分はかなり異なることが推察される。試験前の個々の食事調査を見ると、一日にビタミンCの摂取が1000mgを超えているものが2件、500~1000mgを摂取しているものが2件みられた。これらケースを見ると、3日間のうちの1回のみ多量摂取しており、その他の2日間は100mg以下の摂取であった。これは、特に意識して摂取しなくても、飲料等で大量なビタミンCを摂取していることを示しており、この点はサプリメントを摂取するときに特に注意が必要である。

ビタミンCの生理効果は血液・組織中濃度に依存していると考えられ、1gのビタミンC摂取で血中の濃度はほぼプラトーに達する摂取量の増加に伴い尿中排泄量も増加することから栄養補助として期待されるビタミンCの有用性は約1gの摂取で十分確保されることが考えられる。また、尿中シュウ酸排泄量を考慮して安全量を1g以下とする報告もある。国民栄養調査の結果から見たビタミンCの摂取量(全国平均125mg)を考え合わせると、ビタミンCの上限値を一日1g程度とするのが妥当と思われる。

E 結論

54名の女子大生ボランティアの血中ビタミンC標準値を検討したところ、栄養所要量を満たす一日200mgのビタミンCを摂取すると、血中濃度は0.7~1.38 mg/dlになることが明らかとなり、栄養所要量策定にあたり基準とした値と一致した。女子大生という限られた集団の少ないデータではあるが、日本人の血中ビタミンC値は文献中の欧米人のデータと大きく異なることはないと思われた。ビタミンCは大量投与による過剰障害が認められていないビタミンであるが、その生体内での抗酸化効果だけでなく酸化促進剤としての効果についてはまだ研究の過程にあり、ビタミンCが高レベルに蓄積される白血球などの細胞レベルでの安全性について、今後さらに検討する必要があるであろう。

F 研究発表

1. 論文発表

1) 血中のビタミンC測定法標準化ならびに標準値に関する報告書-高速液体クロマトグラフィーによる測定法を中心に-

藤原葉子、大塚恵、涓原博、伊藤信吾、藤崎誠、猪俣美智子、苫米地幸之助、小高要、五十嵐脩、奥田邦雄、美濃眞、千畑一郎、橋詰直孝、糸川嘉則 (2001) 日本栄養・食糧学会誌, 54(1), 41-44

2) Reduction of dehydroerythorbic acid in vitamin C-deficient guinea pigs

Yan Cui, Megumi Otsuka, Yoko Fujiwara J. Ntri. Sci. Vitaminol (submitted)

2. 学会発表

1) 顆粒様細胞のスーパーオキシド生成に及ぼすアスコルビン酸の影響

大浦由樹子、大塚恵、藤原葉子 日本栄養・食糧学会総会(平成10年沖縄)

Table 1. Vitamin C intake before experiment

No	Day1	Day2	Day3	Average	No	Day1	Day2	Day3	Average
1	61	56	121	79.3	31	92	35	59	62.0
2	61	42	5	36.0	32	58	33	92	61.0
3	55	70	72	65.7	33	67	80	93	80.0
4	138	102	49	96.3	34	64	132	78	91.3
5	149	139	148	145.3	35	44	38	93	58.3
6	188	49	47	94.7	36	22	17	1066	368.3
7	89	131	50	90.0	37	40	36	34	36.7
8	16	612	115	247.7	38	39	79	87	68.3
9	54	73	15	47.3	39	148	160	91	133.0
10	271	131	152	184.7	40	56	117	98	90.3
11	19	16	15	16.7	41	36	15	5	18.7
12	105	237	179	173.7	42	17	69	0	28.7
13	132	127	37	98.7	43	82	43	11	45.3
14	83	83	50	72.0	44	110	62	9	60.3
15	38	89	59	62.0	45	101	114	100	105.0
16	22	117	30	56.3	46	7	3	0	3.3
17	77	29	104	70.0	47	48	83	77	69.3
18	15	14	1002	343.7	48	108	94	214	138.7
19	81	125	30	78.7	49	150	68	555	257.7
20	57	159	195	137.0	50	55	41	198	98.0
21	30	50	64	48.0	51	81	55	8	48.0
22	18	109	28	51.7	52	45	23	13	27.0
23	31	104	9	48.0	53	42	58	105	68.3
24	88	33	105	75.3	54	48	137	42	75.7
25	51	104	131	95.3	Average	79.5	92.3	124.8	98.9
26	373	8	391	257.3					(mg/day)
27	26	48	130	68.0					
28	65	138	114	105.7					
29	102	220	61	127.7					
30	240	177	101	172.7					

Table 2. Prospective reference ranges for total ascorbic acid concentration in plasma

Before experiment (mean±SD, mg/dl)	After experiment (mean±SD, mg/dl)	95% reference range (mg/dl)
0.97±0.27	1.04±0.17	0.70-1.38

ミネラルの安全性評価

分担研究者 鈴木 和春 東京農業大学教授

微量栄養素の一つであるミネラルは健康の保持増進に対し必須であると、同時に生活習慣病とある種のミネラル欠乏との間には深い関係があることも最近の研究で知られるようになってきている。そのためミネラルを中心にした栄養補助食品の開発が進められている昨今である。また、国民に対し、この様な栄養補助食品を多量に摂取した時には生体に対し危険をおよぼすことが考えられる。

そこで、安全な摂取量について Mg, P, Fe, Se, Zn, Cu のミネラルの許容上限摂取量を文献的な検討考察を行った。

次に、実験動物を用いて、ミネラルの過不足による生体内ミネラルの過剰蓄積が生体に及ぼす影響について、食事の鉄を不足により引き起こす肝臓中の過剰な銅蓄積が生体内の酸化ストレスに影響し、活性酸素生成系の酵素や抗酸化系酵素の変化が重なり過酸化脂質量の変化を引き起こしたものと考える。さらに、マグネシウム欠乏による組織中過酸化リン脂質の増加は遷移元素である Fe や Cu の蓄積が見られ、この現象が過酸化反応を引き起こす原因であることが推察された。また、食事中ミネラル量の変化とビタミン動態との関係は、鉄欠乏状態ではレチノールや α トコフェロールが肝臓に蓄積される結果をえて、VDRKO マウスに食事中リン濃度を変化させることによるカルシウム利用について検討したところ、低リン食の方がカルシウムの利用が良好の結果を得た。

微量栄養素の一つであるミネラルは健康の保持増進に対し必須であると、同時に生活習慣病とある種のミネラル欠乏との間には深い関係があることも最近の研究で知られるようになってきている。そのためミネラルを中心にした栄養補助食品の開発が進められている昨今である。また、国民に対し、この様な栄養補助食品を多量に摂取した時には生体に対し危険をおよぼすことが考えられる。そこで、安全な摂取量について十分な検討を行う必要がある。まず、Mg, P, Fe, Se, Zn, Cu のミネラルの許容上限摂取量を検討する目的で文献的な検討考察を行った(表1)。

次に、実験動物を用いて、ミネラルの過不足による生体内ミネラルの過剰蓄積が生体に及ぼす影響について検討を試みた。

食事の鉄を不足させることにより、肝臓中に過剰な銅が蓄積したことを見出した。この肝臓に蓄積された銅は生体内の過酸化

を促進させ、生体内の過酸化脂質量を増加させることが考えられると同時に、細胞膜に影響を与えることが考えられる。さらに、鉄欠乏状態で引き起こされる肝中高濃度の銅の存在形態を銅結合タンパク質であるセルロプラスミン(Cp)と銅輸送膜タンパク質である ATP-7B について、両者の mRNA 発現量と遊離銅量を持って検討したところ、肝臓中 ATP-7B mRNA 発現量は鉄欠乏食投与により 1 週目では顕著な差はみられなかったが、4 週目では低値を示し、Cp mRNA 発現量は 1, 4 週ともに低値を示した。また、血漿中銅濃度および Cp 量は鉄欠乏食投与により 4 週目で低値を示した。このことは、肝臓中に存在している高濃度の銅が生体内の酸化ストレスに影響し、さらに、活性酸素生成系の酵素や抗酸化系酵素の変化が重なり過酸化脂質量の変化を引き起こしたものと考える(1-4)。

一方、マグネシウム欠乏が引き起こす臓器中の鉄・銅含量と過酸化脂質量の変化について、検討したところ、即ちラットに Mg の欠乏食を投与した時の組織中ミネラル分布と過酸化リン脂質の変化について検討を行った。その結果 Mg 欠乏食投与により肝臓、心臓中鉄含量は上昇し、血漿、赤血球膜中の銅含量も上昇した。この様な遷移元素である Fe や Cu の蓄積が見られ、血漿赤血球膜、肝臓、心臓および大動脈中 PCOOH 量は増加した。また、Mg 欠乏食投与により抗酸化酵素である SOD もしくは GPX の活性が肝臓、腎臓、心臓および血漿で低下し、Mg 欠乏食投与により血漿中脂質濃度の増加が観察されており、リポタンパク質が酸化傷害されている可能性が示唆された。さらに生体内 DNA の酸化的傷害マーカーである 8-OH dG の尿中排泄量の増加が確認された。以上のことからこれらの組織中過酸化リン脂質の増加は遷移元素である Fe や Cu の蓄積が見られ、この現象が過酸化反応を引き起こす原因であることが推察された(5)。

食事中ミネラル量の変化とビタミン動態との関係について、鉄欠乏状態ではレチノールや α トコフェロールが肝臓に蓄積される結果を得た。また、VDRKO マウスに食事中リン濃度を変化させることによるカルシウム利用について検討したところ、低リン食の方がカルシウムの利用が良好であった(6-10)。

発表論文

- 1) Uehara M, et al. : Induction of increased phosphatidylchone hydroperoxide by an iron-defecient diet in rats. *J. Nutr., Biochem* 8, 385-391 (1997)
- 2) 千葉大成他：鉄欠乏ラットにおける肝中過酸化脂質量の経時的変動。日本栄養・食糧学会誌 51, 201-206 (1998)

- 3) 土屋 一他：鉄欠乏食投与ラットの肝臓中銅蓄積について。 *Biomed Res Trace Elements* 9, 117-118 (1998)
- 4) 千葉大成他：鉄欠乏状態における肝臓への銅蓄積とセルロプラスミン mRNA 発現量との関係。 *Biomed Res Trace Elements* 10, 191-192 (1999)
- 5) 千葉大成他：マグネシウム欠乏状態による組織中ミネラル分布の変動に関連した過酸化リン脂質量の誘導。日本栄養・食糧学会誌 52, 373-380 (1999)
- 6) 坪井他：鉄欠乏食投与によるアスコロビン酸合成能欠如ラットの組織中過酸化リン脂質量の変動。第 23 回日本過酸化脂質・フリーラジカル学会大会 (1999)
- 7) 池田他：鉄欠乏ラットの肝臓中レチニルパルミテート加水分解酵素の変動。 *JsoFF* 第 5 回学術集会講演要旨集 p21 (2000)
- 8) R. Masuyama et al: High P diet induces acute secretion of parathyroidhormone without alteration of serum calcium levels in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 64, 2316-2319 (2000)
- 9) R. Masuyama et al: Chronic phosphorus supplementation decreases the expression of renal PTH/PTHrP receptor mRNA in rats. *Am J Nephrol* 20, 491-495 (2000)
- 10) R. Masuyama et al: Dietary phosphorus restriction reverses the impaired bone mineralization in vitamin dreceptor knockout mice. *Endocrinogy* 142, 494-497 (2001)

Mg,P,Fe,Se,Zn,Cuの上限摂取量について

ミネラル	1日の摂取量	上限摂取量(1日当たり)
Mg	279±39mg	700mg(NOAEI)
P	1320~1370mg	2500mg 4000mg*
Fe	10.8ug	18~65mg(NOAEI) 100mg(LOAEI)
Se	88~104ug	400ug
Zn	7.8~8.9mg	30mg(NOAEI) 60mg(LOAEI)
Cu	1.2~1.3mg(男性) 0.9~1.2mg(女性)	10mg(NOAEI)

* : 第六次改訂日本人の栄養所要量の値

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
大谷晴久、宗正敏、湯川進、雑賀保至、板部洋之、高野達哉	血液透析患者におけるビタミン E, ビタミン C の血漿酸化 LDL に及ぼす影響	ビタミン E 研究会	ビタミン E 研究の進歩IX	ビタミン E 研究会	東京	2000	138-141
糸川嘉則	最新ミネラル栄養学	なし (単著)	最新ミネラル栄養学	(株)健康産業新聞社	東京	2000	総234

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
C.Kiyose, H.Saito, K.Kaneko, K.Hamamura, M.Tomioka, T.Ueda and O.Igarashi	Dose α -tocopherol affect for the urinary and biliary excretion of 2,7,8-trimethyl-s(2'-carboxyethyl)-6-hydroxychroman in the rats, γ -tocopherol metabolite ?	Lipids	in press		2001
C.Kiyose, H.Saito, T.Ueda and O. Igarashi	Simultaneous determination of α -, γ -tocopherol and their quinones in rat plasma and tissues by using reverse-phase high-performance liquid chromatography.	J.Nutr.Sci.Vita minol.	in press		2001
K.Kaneko, C.Kiyose, T.Ueda, H.Ichikawa and O.Igarashi	Studies of the distribution and metabolism of α -tocopherol stereoisomers in rats using 5-methyl- ¹⁴ C-SRR- and RRR- α -tocopherols.	J.Lipid Res.	41	357-367	2000

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
C.Kiyose, K.Kaneko, R.Muramatsu, T.Ueda and O. Igarashi	Simultaneous determination of RRR- and SRR- α -tocopherol and their quinones in rat plasma and tissues contained in using chiral high- performance liquid chromatography	Lipids	34	415-422	1999
藤原葉子、大塚 恵、涓原博、伊 藤信吾、藤崎誠、 猪俣美智子、苜 米地幸之助、小 高要、五十嵐脩、 奥田邦雄、美濃 眞、千畑一郎、 橋詰直孝、糸川 嘉則	血中ビタミン C 測定法 標準化ならびに基準値 に関する報告書 -高速液体クロマトグラ フィーによる測定法を 中心に-	日本栄養・食糧学 会誌	54	41-44	2001
糸川嘉則	ミネラルの栄養所要量 設定の基礎	Health Digest	15	1-8	2000
M.Terasawa,T. Nakahara,N.Ts ukada,A.Suga wara and Y.Itokawa	The Relationship between thiamine deficiency and performance of learning task in rats	Metabolic Brain Disease.	14	137-147	1999
デリベル・アブ・デ エム、森田明美、木 村美恵子、糸川 嘉則	老化促進モデルマウスの生体 内ビタミンB ₁ 分布の加 齢変化	日本栄養・食糧学 会誌	51	289-293	1998
樫村淳、木村美 恵子、糸川嘉則	難消化性少糖類摂取が ミネラルの吸収・保留に 及ぼす影響	JJSMgR	16	35-40	1997
松田晃彦、木村 美恵子、糸川嘉 則	完全静脈栄養施行時の Mg および Ca 動態に及 ぼす微量元素の栄養	JJSMgR	16	59-64	1997
平地秀和、横井 克彦、木村美恵 子、糸川嘉則	Mg,Ca,ビタミンKの母 体から胎児・新生児への 移行	JJSMgR	16	75-79	1997
森田明美、木村 美恵子、糸川嘉 則	雌マウスの加齢による 生体内ミネラルの変化 -老化促進モデルマウス を中心に-	JJSMgR	16	143-149	1997