

200/0566

厚生科学研究費補助金  
21世紀型医療開拓推進研究事業

**日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究**  
**平成13年度 総括・分担研究報告書**

主任研究者 柴田 克己

平成14(2002)年5月

## 目 次

I.	総括研究報告書		
	日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究	—————	01
	柴田克己		
II.	分担研究者		
1.	葉酸とビタミンB <sub>12</sub> の測定方法と基準値	—————	68
	橋詰直孝		
2.	ビオチン, ビタミンB <sub>12</sub> , 葉酸の必要量	—————	72
	渡辺敏明		
3.	水溶性ビタミンの日内変動—ナイアシン代謝	—————	77
	西牟田守		
4.	乳児期における哺乳量の調査研究	—————	82
	戸谷誠之		
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	—————	85
IV.	研究成果の刊行物・別刷	—————	85

厚生科学研究費補助金（21世紀型医療開拓推進研究事業）  
総括・分担研究報告書

日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究  
主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学人間文化学部教授

**研究要旨** 第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—（平成13年度から平成17年度まで使用）において、9種類のすべての水溶性ビタミンの栄養所要量が策定され、かつ、「食事摂取基準」という新しい考え方が導入されるなど大きな進展があり、国民の健康度アップに貢献しているが、同時に食事摂取基準の数値を設定するための指標の妥当性並びに指標の数値を求めるための測定方法の精度に関する課題なども明らかとなった。所要量RDAをだすためには、平均必要量EARが必要である。したがって、EARがないものは指標を決めかつその測定方法を決めてだすこと、あるものは指標の妥当性の検討と指標の数値を測定するための方法の精度を検討すること、さらに、EARを求めることが不可能な場合は、適正摂取量AIの精度を高めること、並びに栄養補助食品の普及による過剰摂取量を防ぐために、許容上限摂取量ULを求めることを目的とする。そのために、我々は論文をレビューし、問題点となる項目を上げ、実験を行うことができれば実験を行い処理していくという方策で解決している。平成13年度は、①ナイアシンの必要量に関する論文レビューを行った。②高齢者のビタミンの必要量の数値の妥当性を検討した。③妊娠時のナイアシン必要量の検討を行った。④各水溶性ビタミンの摂取量を調査するとともに、実生活上、各水溶性ビタミンの主要な給源となる食品を特定した。⑤講演会「日本人の水溶性ビタミンの必要量」を平成14年3月5日滋賀県大津市にて開催した。⑥日本を代表するビタミン学者を研究協力者として迎えることにより、一つの試料で同時に9種類のビタミンを測定するということが、世界で初めて可能となったので、成人女子に所要量に示された量のビタミンを1週間投与し続けた時の血中・尿中のビタミン量の変動を調べた。⑦乳児の水溶性ビタミンの精度の高いAIを設定するために、母乳を集めた。

分担研究者氏名・所属機関名及び所属機関  
における職名

橋詰直孝・東邦大学医学部教授  
渡辺敏明・山形大学医学部助教授  
戸谷誠之・昭和女子大学大学院教授  
西牟田守・国立健康・栄養研究所室長

取基準—（平成13年度から平成17年度まで使用）において、9種類のすべての水溶性ビタミンの栄養所要量が策定され、かつ、「食事摂取基準」という新しい考え方が導入されるなど大きな進展があり、国民の健康度アップに貢献しているが、同時に食事摂取基準の数値を設定するための指標の妥当性並びに指標の数値を求めるための測定方法の精度に関する課題なども明らかとなった。

A. 研究目的

第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂

そこで、第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—に示された水溶性ビタミンの食事摂取基準値の4つの数値(①平均必要量(EAR = estimated average requirement), ②所要量(RDA = recommended dietary allowance), ③所要量(AI = adequate intake ; 本来は適正摂取量と訳されるべき), ④許容上限摂取量(UL = tolerable upper limit intake)の指標として使用された項目の妥当性と指標の数値を設定するために使用された測定方法の精度を高めることを目的とする。

## B. 研究方法

論文をレビューし、問題点となる項目を上げ、実験を行うことができれば実験を行い処理していくという方策。平成13年度に行った実験の具体的な方法は研究結果に記載した。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立健康・栄養研究所の倫理委員会規約第6条に基づき、審議を経て承認された後に、ヘルシンキ宣言、および、本研究所倫理委員会規定に従って実施するほか、各研究施設の倫理委員会規定に従って実施する。

験者は、被験者に対して、あらかじめ実験の主旨、方法、実験に参加することの不利益、苦痛を説明し、被験者の自由意志でいつでも実験から離脱できることを文書で保証した後、文書による被験者の実験参加同意を得て研究を実施する。

各実験の負荷は、予備実験を行い、あらかじめ験者が体験し、過剰な負担にならないように配慮する。

取得されたデータは、基本的には全被験者の傾向を求めるような処理にかける。また、個人名は研究者が管理し、データの管理は別に

定める記号により行う。

採取した血液等は必用検査項目を測定した後、血清は冷凍保存するが、血球成分などは速やかに廃棄し、遺伝子分析は行わない。

## C. 研究成果

1) 各責任者を決定し、各ビタミンの測定方法を検討し、決定した。

ビタミンB<sub>1</sub>(木村美恵子, タケダライフサイエンスリサーチセンター 所長)

ビタミンB<sub>2</sub>(大石誠子, 応用生化学研究所 副所長)

ビタミンB<sub>6</sub>(柘植治人, 岐阜大学農学部 教授)

ビタミンB<sub>12</sub>(渡辺文雄, 高知女子大学生生活科学部 教授)

ナイアシン(柴田克己, 滋賀県立大学人間文化学部 教授)

パントテン酸(柴田克己, 滋賀県立大学人間文化学部 教授)

ビオチン(渡辺敏明, 山形大学医学部 助教授。平成14年4月より, 姫路工業大学環境人間学部 教授)

葉酸(渡辺敏明, 山形大学医学部 助教授。平成14年4月より, 姫路工業大学環境人間学部 教授)

ビタミンC(重岡成, 近畿大学農学部 教授)

2) 食事摂取基準を設定するための基礎資料作成のために、論文をレビューする作業を開始した。

*J. Nutr., Am. J. Clin. Nutr., J. Nutr. Sci.*

*Vitaminol.*, 日本栄養・食糧学会誌, 日本ビタミン学会誌, 日本家政学会誌, ビタミン関係の書籍(Dietary Reference Intakesなど)をナイアシン, 必要量, ヒト, 代謝をキーワードとして検索を行ない, 引っかかって

きた論文を集め、読み、有用なものに絞った後、まとめた。平成14年度、15年度もこの作業を続けるとともに、他の水溶性ビタミンに関してもこの「ナイアシンの必要量」という冊子を基準にしてまとめた。担当者はすでに決定済みである。まとめ方を具体的に示すために主任研究者が担当するナイアシンについてまとめたものを下記に示す。すべての完成は平成15年度を目標とした。

## 1. 基礎

### 1. 発見にいたる歴史

#### 1-1. ペラグラの発見と流行

スペインのPhilip 五世の内科医であったGasper Casal が1735年に、はじめてライ病から区別して独立の疾患，“mal de la rosa(バラ病)”として認めたことに始まる。しかし、「ペラグラ」という名前を使った最初の報告は1771年にミラノのFrancesco Frapolli によってなされた。イタリア語で「荒い皮膚」という意味である。ペラグラはトウモロコシが北イタリアの主要穀物となるにつれて蔓延するようになった。そのため、1784年にLeganoという都市に最初のペラグラ病院が作られた。1810年には、ペラグラは食物不足から起こるとMarzari は主張したが、その当時、この病気を積極的に引き起こす原因に焦点が集まっていたので、誰もペラグラが食べ物中に何か足りないものがある、この「ある物」の欠乏によって引き起こされるという考え方は広まらなかった。

一方、スペイン人のCasalが発表した“mal de la rosa”とイタリア人のFrappolliが発表したペラグラが同一の病気であるか否かは長い間疑問視されていたが、Rousselが1814年に同一であることを証明し、解決した。それ以降、1829年にはフランスで、1858年にはルーマニアで、

1874年にはエジプトでペラグラが発生したという記載があり、トウモロコシ栽培の拡大とともに、世界中に広がっていった。

アメリカでのペラグラの認識は1907年のアメリカ医学会でのGeorge Searcy のレポートに始まる。彼は、ペラグラの症状が詳細に書かれているイタリアの古い医学書を丹念に調べ、熟慮の末、1906年にAlabamaのMt. Vernon の精神病院で88名のペラグラ患者が見いだされたと報告した。Searcyの報告以来、この病気が20以上の州から報告され、アメリカ合衆国における重要な公衆衛生学上の問題となってきた。そこで、この問題を解決するために、1908年米国でペラグラ協議会が開催された。1909年にはペラグラ国際協議会も開催されて、本症の究明がなされはじめた。しかし、ペラグラの原因は伝染性で昆虫が媒介すると考えてられていたので、ペラグラ発症の本質にはせまることができなかった。

#### 1-2. 抗ペラグラ因子の存在の発見

アメリカ合衆国でも、ペラグラは貧困者に流行したが、綿の価格の高騰により農民が裕福になるとペラグラの流行はおさまってしまった。しかし、再び綿の価格が低下すると、ペラグラが再流行しはじめた。そこで、1914年に米国公衆衛生局のJoseph Goldbergerらにこの問題の解決が命じられた。彼らはMississippi のJacksonという町の孤児院を調査の対象に選び、疫学的な調査を行った。調査開始後すぐに、ペラグラはそこで勤務している医師や看護婦には全く発生していないことに気づき、ペラグラは伝染性の病気ではないと主張した(1915年)。翌年、この主張に反論する人々を納得させるために、GoldbergerとGoldberger夫人をはじめとするボランティアに、ペラグラ患者の血液を注射したり、ペラグラ患者の鼻や喉からの排

泄物を飲んだり、ペラグラ患者の皮膚を食べたりもした。しかし、誰も、ペラグラには掛からなかった。

そこで、彼らは、では一体なにがペラグラの原因かを探しはじめた。孤児院の子供らと医師らとの衣食住を徹底的に比較した。異なっていたのは食のみであった。医師らは肉や牛乳を充分にとっていたが、孤児院の子供らはこのような良質のタンパク質を食べる経済的余裕がなかったからである。Goldbergerらは政府機関に運動し、孤児院の子供らに肉と牛乳を与えるのに十分な基金を2年間にわたり得ることに成功した。すると、ペラグラの発生は速やかになくなった。しかし、基金がきれ、再び貧しい食生活に戻ると、ペラグラは再び流行しはじめた。

ペラグラの病因については古くから種々の説が唱えられていた；トウモロコシの過度の摂取、病原菌、食品中の栄養素の不足。しかし、これらの説についてはいずれも確実な実験的証明はなかったが、少なくとも食物と密接な関係があるものと信じられていた。

1913年、ビタミンの発見者である(現在のビタミンB<sub>1</sub>)Funkは、ペラグラが一種の欠乏症状であるという説を発表している。その後、ビタミン研究の著しい進歩につれ、いわゆるビタミンBも、単一物質ではなく水溶性の多数の因子から成っていることが証明された。1925年に至って、Goldbergerらは、この疾病を治癒し予防する因子は、B群に属すべきものであることを指摘し、さらに翌年B群中に熱に対する抵抗力を異にする二種の因子の存在を証明した。以来、Bのうち、熱に安定な因子をビタミンB<sub>2</sub>と呼び、熱に不安定なものをビタミンB<sub>1</sub>(抗神経炎因子)と唱えるようになった。さらに、1926年、Goldbergerらは、B<sub>2</sub>以外のすべてのビタミンを

含む飼料でラットを飼育したところ、成長が停止して皮膚炎の発現が現れることを報告した。この症状がペラグラに酷似することから、これを予防し治癒する因子にペラグラ予防因子(Pellagra-preventing factor:PP因子)という名称を与え、B群に関する研究に多くの示唆と暗示を与えた。しかし、その後Goldbergerらの唱えた症状には数種の因子が関係していることが、多くの研究者により漸次解明され、B<sub>2</sub>は、少なくとも、成長促進因子と、抗皮膚炎性の異なる2因子からなるという、B<sub>2</sub>二元説が提唱された。しかし、的確な実験的根拠のないままに数年の月日が過ぎていった。

B<sub>2</sub>群に関する動物実験に多大な困難を伴った。そのため、研究者により、この欠乏による特殊な皮膚障害の発現について、意見を異にしていった。この特殊な症状の把握を困難にした原因は、B<sub>2</sub>欠乏飼料に補うべきB<sub>2</sub>群をどのようにして調製すべきかという点にあった。この難関を突破しようとして多くの研究者は種々その飼料に改良を試み、或いは使用する実験動物の変更を試みた。

このように多数の研究者がB<sub>2</sub>群の研究に没頭しつつある時、1933年に、Kuhn, Gyorgy, Wagner-Jaureggはオボフラビンを純粋に分離し、これがB<sub>2</sub>(成長促進)として有効であることを発表し、B<sub>2</sub>複合体の分離を容易ならしめた。すなわち、Gyorgyはブルクマン・シャーマン氏飼料を用い、これにビタミンB<sub>1</sub>、ラクトフラビンを補給して、ラットにペラグラ様皮膚炎を規則的に起こすことに成功し、かつこの傷害を予防または治癒する因子の存在を1934年に明らかにした。彼はこれをビタミンB<sub>6</sub>と命名した。以降多くの研究者によって追求され、1938年に至って、結晶状に純離され、いわゆるB<sub>2</sub>二元説に実験的証明が与えられた。

しかしながら、これらの因子だけでは、すべての実験結果を説明することができず、またヒトのペラグラ及びニワトリのペラグラ問題をも解決することは不可能であった。Lepkovskyの濾過性因子、Koehn, Elvehjemの抗ペラグラ因子の研究は、その解決に向かって進められたものであった。

1931年Ringrose, Norris, Heuserはニワトリにペラグラ様症状が発現されることを見出し、これが酵母または牛乳から得たビタミン濃厚物によって予防され得ることを報告した。1934年、Elvehjem, Koehnは、このニワトリのペラグラ様疾患が加熱飼料でニワトリを飼育する際に著しく悪化されることを報告し、口部の皮殻、眼瞼の膠着、脱毛、成長の停止等を観察し、この状態をニワトリのペラグラと唱えた。1935年Lepkovsky・Jukesは、ニワトリのペラグラを予防する因子はラットのペラグラに有効であるビタミンB<sub>6</sub>とは明らかに異なっていることを報告した。なお、この問題については、1939年にJukesが酵母の発育促進因子の一つであるパントテン酸が抗皮膚炎の作用を有することを発表し、解決した。

### 1-3. 抗ペラグラ因子（ニコチン酸とニコチンアミド）の発見

Goldbergerの抗ペラグラ因子説提唱（1925年）以来、この因子の定量は主としてイヌの黒舌病治癒によって行われていた。この黒舌病の主な症状は、食欲減退、体重減少に続いて、舌部、唇粘膜、口粘膜に傷害が起こり、出血を見る。目に分泌物がはなはだしく、嘔吐を催し、血液を混ざる下痢を起こして憔悴する。つまり、ペラグラの原因解明にはイヌが必要であった。

黒舌病の最初の報告は、1852年にHoferによってなされた。それ以降、この病気はアメリカ合衆国の南部の獣医の間ではよく知られてい

たそうである。しかし、ペラグラの場合と同じく原因は不明であった。1916年になると、獣医のSpencerは“Is 'black tongue' in dogs pellagra?”という論文で、黒舌病を牛乳、卵、あるいは生肉を与えることで治癒させることに成功したと報告している。さらに、その論文の中で、歯医者者のHoustonがペラグラになったが、自分自身の判断で、高窒素含有食を摂取することにより治癒した、ということを紹介している。1917年には、ChittendenとUnderhillが黒舌病と類似の病気を実験的に引き起こすことに成功した。そして、1922年には、Wheeler, Goldberger, BlackstockはChittendenとUnderhillがイヌに実験的に引き起こした病気が黒舌病であると同定し、同じ食事を囚人に与えて、ペラグラを引き起こすことに成功した。以降イヌが唯一の実験動物となったが、黒舌病を引き起こすには長時間がかかり（これはイヌが糞を食べるからである）、世話も大変なためペラグラ解明の研究は手間どった。

Elvehjemらは、抗ペラグラ活性の検索の方法としてヒヨコのペラグラ様症状の改善を指標として種々の化合物あるいは活性があると考えられた濃縮物を試した結果、ビタミンB<sub>2</sub>は不活性であり、フラー土処理によってビタミンB<sub>2</sub>を除去した肝臓濃縮物は活性を有していることを1935年に明らかにした。Elvehjemはその当時から、抗ペラグラ活性を有する化合物の検索として、本当にヒヨコのペラグラ様症状を治癒する化合物として、検索しても良いのかという疑問を感じていた。実験方法としてはイヌの黒舌病の治癒を指標とした方が、良いことはわかっていたが、彼らは実験方法の煩雑さからイヌを実験動物として使用することをさけていた。しかし、抗ペラグラ因子の検索方法として、イヌの黒舌病を治癒する方法をとる方が、ヒヨコより

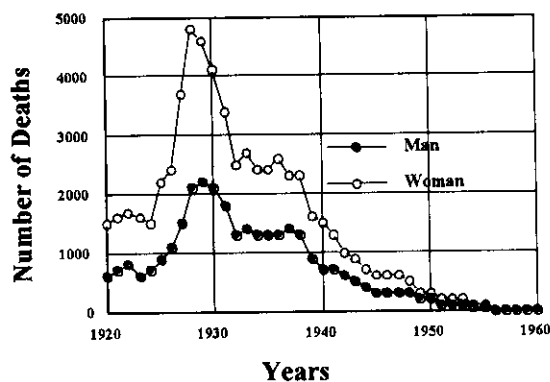
も有効ではないかと思い、両方法を併用して検索をすることにした。

1937年に、とうとうElvehjemらは黒舌病のイヌに30mg/日のニコチン酸(当時, East Kodak Companyより市販されていた)を投与し続けると、食欲が直ちに戻り、体重も増加しはじめ、下痢も止まり、黒舌病も治癒することを見出した。そして、黒舌病治癒因子を肝臓濃縮液から単離し、ニコチンアミドであることを明らかにした。

話は遡るが、Elvehjemらがニコチン酸に興味を抱いた理由は以下のものであると思われる。Funkが1911年に米ヌカから白米病治癒因子を針状結晶として単離したと発表したのが、1913年にこれがニコチン酸であったと訂正していること、そして1937年のはじめに、Knightはニコチン酸が*Staphylococcus aureus*の生育因子であることを報告したこと、である。このように、ある種の微生物の生育因子としてニコチン酸が必要であることが報告されていた。そのようなことから、Elvehjem研究室ではニコチン酸が黒舌病を治癒するのではないかという期待が高まってきた。ニコチン酸は酸性中で熱処理しても、アルカリ性で熱処理しても安定であることから、肝臓濃縮物をこのような処理をしてもまだ黒舌病治癒活性があるか否かを調べたところ、活性が残存していることがわかった。そこで、黒舌病のイヌにニコチン酸を投与してみることに決定した。その結果、ニコチン酸投与によって黒舌病は劇的に速やかに治癒した。これは、1937年の8月にElvehjem, Madden, Strong, Woolley連名でJournal of American Chemical Society に発表された。1937年の11月にはFouts, Helmer, Lepkovsky, Jukesにより、ニコチン酸投与によりペラグラが治癒することが報告された。つまり、ペラグラはニコチン酸・ニコ

チンアミドの欠乏症であると結論づけられたわけである。

参考までに、図I-1にアメリカ合衆国におけるペラグラの年次死亡者数を示した。



図I-1. アメリカ合衆国におけるペラグラによる死亡者の年次変化

#### 1-4. トリプトファンのナイアシン代替効果の発見

これで、ペラグラに関してはすべてのことが解決されたように思えたが、まだ不明のままであることがあった。それは、ペラグラや黒舌病はミルクを投与することにより治癒するが、ミルク中のナイアシン含量は非常に少なく、ペラグラを引き起こすトウモロコシのナイアシン含量よりも少ないことであった。黒舌病を引き起こす飼料は70%のYellow corn, 18%のCaseinを基本としていた。この飼料中のナイアシン含量は通常のイヌの飼料(黒舌病を引き起こさず、正常に生育する飼料)よりも25%程度多いものであった。したがって、トウモロコシの存在そのものが、黒舌病の原因になっていることが明らかである。つまり、トウモロコシがナイアシンの必要量を高めているものと考えられた。そこで、ラットでもイヌで見られたように、トウモロコシの添加によってナイアシンの必要量が高まるか否かをElvehjem研究室のKrehlは調べてみた。



その結果、1945年に、Krehlらは15%カゼイン食100gに40gのコーングリッツを混ぜた飼料(カゼイン含量は9%になる)をラットに投与すると、顕著に体重の伸びが悪くなるとともに、毛並みが悪くかつ脱毛が見られ、足、鼻及びひげの回りに赤い色素の沈着が認められた、と報告した。さらに、肝臓、筋肉中のナイアシン含量も対照群に比して、低下していることも明らかにした。そして、これは飼料に、0.001%のニコチン酸を投与することにより回復することを見出した。つまり、ラットでもイヌの場合と同じくトウモロコシの添加はナイアシンの必要量を高めることが明らかとなった。これで、実験動物として煩雑なイヌを使用しなくてもトウモロコシのペラグラ誘発性の研究ができることになり、実験は大いにはかどった。20%カゼイン食100gに40%コーングリッツを混ぜても(カゼイン含量は12%となる)、ラットの成長は正常であった。つまり、トウモロコシのペラグラ誘発性はカゼイン含量を高くすることにより防止できることが明らかとなった。そこで、トウモロコシのタンパク質とカゼインとのアミノ酸組成を比較してみると、リジンとトリプトファン含量が特に異なっていた。つまり、トウモロコシではトリプトファンとリジン含量がカゼインに比して極端に少なかった。つまり、15%カゼイン食に40%のコーングリッツを添加すると(9%カゼイン食になる)、リジンとトリプトファンが欠乏してナイアシンの必要量が高まるが、20%カゼイン食に40%コーングリッツを添加した場合には(12%カゼイン食になる)これらのアミノ酸が不足していないためにナイアシンの必要量が高まらないものと判断された。そこで、15%カゼイン+40%コーングリッツ食100gに0.5gのリジンを添加した飼料を投与してみたが、なにも改善されなかった。ところが、上記飼料に100gにトリプトファンを50mg補足した飼料を投与すると、ラット

は正常に成長し、ニコチン酸を1mg添加した飼料を投与したラットと全く体重の伸びは等しかった。すなわち、コーングリッツによる悪影響はトリプトファンの添加によって完全に取り除かれることが見出された。

コーングリッツにラットの成長を遅延させる作用が見出されたので、Krehlらは他の穀類ならびに豆類についても調べてみた。その結果、精白米、ライ麦、小麦及びダイズを添加した飼料は、トウモロコシを含む飼料よりもナイアシン含量は少ないにもかかわらず、トウモロコシ食よりも体重の増加量は高かった。特に、コメの場合はナイアシン含量が約半分でかつトリプトファン含量は等しいのに、体重の増加量は全く正常であったことは特筆に値する。さらに、9%カゼイン食にトリプトファンを含まないゼラチンあるいはゼインを添加すると、やはりナイアシンあるいはトリプトファンの要求量が高まった。また、一つのアミノ酸あるいは数種のアミノ酸を添加して、アミノ酸組成を変えるとナイアシンあるいはトリプトファンの要求量が高まった。このことは、アミノ酸組成によってナイアシンあるいはトリプトファンの要求量が非常に異なることを意味している。言い換えれば、アミノ酸インバランスはナイアシンあるいはトリプトファンの要求量が高めることを意味している。つまり、アミノ酸インバランスはナイアシン欠乏の一つの現象であると考えられる。このようにして、ラットでは必須アミノ酸のトリプトファンがビタミンのナイアシンの代替性を示すことがKrehl, Elvehjemらにより1945年に明らかにされた。ヒトでもトリプトファンからナイアシンが生合成されていることはGoldsmith(1956年)あるいはHorwittらの研究(1956年)から明らかにされ、今では60mgのトリプトファンから1mgのナイアシンが生成されるものとされている。

## 1-5. 中央アメリカではトウモロコシを主食としているのになぜペラグラは発生しないのか

トウモロコシのペラグラ誘発性はナイアシンが不足しているというよりも、アミノ酸のインバランスが引き起こされることによりナイアシンあるいはその前駆体のトリプトファンが必要量が異常に高まったことによるものと結論づけられた。つまり、トリプトファンからナイアシンへの転換率が異常に低下していることが想像された。

しかし、まだトウモロコシのペラグラ誘発性に関しては、疑問が残っていた。すなわち、1863年にメキシコ人のSalasは、メキシコの農夫はペラグラの原因となるすべての条件(貧困、惨めな境遇、強い光、動物タンパク質不足、そしてトウモロコシを主食)が揃っているにもかかわらず、ペラグラにはならないことを報告していたことが、スコットランドのLagunaとCarpenterによって新たに指摘された。彼らはKrehlのナイアシン欠乏飼料中のトウモロコシをあらかじめ熱ライム水で処理しておく、体重の増加量は対照群に比して、全く差異が認められなかったことを報告した。つまり、ライム処理によってトウモロコシのペラグラ誘発性は完全に消去されたことを報告した。事実、メキシコではトウモロコシの穀粒を焼成貝殻粉末を入れた水で煮、水洗後、調理している(この方法でできた食品をトルティーヤという)。

ライム処理によって取り除かれたトウモロコシのペラグラ誘発性の第一の理由として次のことが主張された。1959年、Kodicekらはトウモロコシをはじめとする穀類中のニコチン酸は高分子化合物と結合した状態で存在しており、熱ライム水処理によって高等動物が利用できる遊離型のニコチン酸になることを示した。このために、メキシコ人はトウモロコシを多食している

のにペラグラとならない、と主張した。しかし、ニコチン酸は水溶性であるので、熱ライム水処理をすると、当然ながらニコチン酸をはじめ多くの水溶性ビタミンの損失が起こる。ニコチン酸の損失は大体70%程度である。1kgのトウモロコシ中の総ナイアシン含量は24mg程度であり、その中の1/3に相当する8mgが高等動物に利用可能な形である。ライム水処理を行うとすべて利用可能な形になるが、上述のように2/3が水に溶けて、1/3がトウモロコシの実の中に残る。つまり、ライム処理をする前と後とを比較するとトウモロコシ1kg中の有効ナイアシン含量は全く同じである。したがって、アルカリ処理により摂取する有効なナイアシン含量が増えたために、ペラグラとならない、という考え方は誤っている。それにもかかわらず、トウモロコシをライム処理すると、ペラグラ誘発性がなくなるのは事実であり、Carpenterばかりでなく、他の研究者も確認している。

第二の理由としてライム処理によってアミノ酸インバランスが解消されたという可能性も指摘された。トウモロコシの主要タンパク質であるゼインはトリプトファンを含まず、ロイシンが多いことが特徴である。しかし、1958年、Harper・Elvehjemらはライム処理によってアミノ酸組成が改善されることはないことを報告している。

第三の理由として、ライム処理によってペラグラ誘発性の毒物が除去されたと考えられる。これに関しては、1946年にWoolleyがトウモロコシ中にアルカリ性クロロホルムによって抽出される物質が存在し、このものがナイアシン欠乏を引き起こすことを報告しており、3-アセチルピリジンではないかと述べている。しかし、最近我々は、3-アセチルピリジンを腹腔内投与すると体重の減少が起こるが、飼料中に添加すると逆にナイアシン活性を示すことを報告した。

つまり、3-アセチルピリジンは経口投与ではナイアシン欠乏を引き起こさないことを明らかにした。

ナイアシンの拮抗体として6-アミノニコチンアミドが知られている。6-アミノニコチンアミドの化学的性質を我々が調べたところ、非常にアルカリ性水溶液に溶解やすく、かつアルカリ性クロロホルムにも溶解しやすい化合物であった。すなわち、Woolleyが報告したトウモロコシ中に含まれるペラグラ誘発性の化合物の性質に類似している。

第4の可能性として、焼成カルシウム処理(トルティーヤ処理)によって、トリプトファンからナイアシンへの転換を促進する化合物が生成した可能性もある。例えば、ピラジニアミドをラットに投与すると、この転換率は10倍も高まる。また、このピラジニアミドをナイアシン欠乏食に添加した飼料をラットに投与すると、顕著な体重の増加が認められる。したがって、このような化合物がトウモロコシをアルカリ処理することによって生成している可能性も否定できない。

最近、第5の可能性が考えられるようになった。トルティーヤ処理によるアミノ酸の異性化、特にD-アスパラギン酸の生成であり、このD-アスパラギン酸からキノリン酸を経てナイアシンが生成されるという可能性である。トウモロコシタンパク質のツェインをトルティーヤ処理に相当するようなアルカリ処理をすると、L-アスパラギン酸の半分がD-体に変化することが報告されている。Finleyは、トルティーヤ中には12%程度のD-アスパラギン酸が含まれていると報告している。ナイアシンは哺乳動物においてはL-トリプトファンから生合成される。一方、微生物・高等植物においてはL-トリプトファンからの経路は存在せず、大腸菌では遺伝子*nadA*によってコードされる酵素、Quinolate synthetase-A

proteinと*nadB*によってコードされるQuinolate synthetase-B proteinの触媒作用により、L-アスパラギン酸とジヒドロキシアセトンリン酸から、重要中間代謝産物であるキノリン酸を経てナイアシンが生合成される事実を1975年にGriffithらが証明している。2年後の1977年に、Sakakibaraらは、大腸菌由来のQuinolate synthetase-A proteinが非常に不安定であることから、その安定化因子検索中に偶然大腸菌のQuinolate synthetase-B proteinの代替作用のあるタンパク質をラット肝臓中に見いだしたと報告した。さらに、1978年、Nasuらは、Sakakibaraらが見いだしたラット肝臓由来のQuinolate synthetase-B proteinと大腸菌由来のQuinolate synthetase-A proteinの再構成Quinolate synthetaseでは、L-アスパラギン酸とジヒドロキシアセトンリン酸からではなく、D-アスパラギン酸とジヒドロキシアセトンリン酸からキノリン酸が生成すると報告した。すなわち、1977年にSakakibaraらが、ラット肝臓由来のB proteinと大腸菌由来のA proteinの再構成Quinolate synthetaseにおいても、L-アスパラギン酸とジヒドロキシアセトンリン酸からキノリン酸が生成したという誤った報告をだしたのは、彼らが使用した<sup>14</sup>C-L-アスパラギン酸中に<sup>14</sup>C-D-アスパラギン酸が混入していたためである。1982年、Nasuらは、大腸菌由来のQuinolate synthetase-B proteinは、大腸菌由来のQuinolate synthetase-A proteinが存在しない場合にはL-アスパラギン酸をオキザロ酢酸に変換することを示し、大腸菌由来のB proteinはL-Aspartate oxidaseであることを証明した。さらに、彼らは、大腸菌由来のQuinolate synthetase-B proteinの代替酵素であると思われていたラット肝臓由来の酵素は、L-Aspartate oxidaseではなく、D-Aspartate

oxidaseであることを証明した。これらの結果を基に考えると、大腸菌の Quinolinate synthetase-A proteinと同様の酵素が哺乳動物においても存在するならば、D-アスパラギン酸からナイアシンが生合成されるはずである。しかしながら、*in vitro*系の実験では哺乳動物の Quinolinate synthetase-A proteinの存在は認められていない。これは、大腸菌のこの酵素タンパク質が非常に不安定であることが知られていることから、哺乳動物においても存在しているにも関わらず、*in vitro*系では失活しているため、活性が認められないのかもしれない。そこで、ヒトとラットの *in vivo*系を使用して、D-アスパラギン酸からナイアシンが生成するか否かを調べた。しかしながら、その結果は、否定的なものであった。すなわち、ヒトにおいて、D-アスパラギン酸からナイアシンが生合成される可能性はきわめて可能性が低いことが明らかとなった。ちなみに、D-トリプトファンもトルティーヤ処理によって生成し、そのD-トリプトファンがL-トリプトファンよりも非常に高い効率でナイアシンに転換されている可能性が考えられる。そこで、ラットを使用してそのナイアシン有効性をL-トリプトファンと比較したが、D-トリプトファンのナイアシンに有効性は全く同等であり、D-トリプトファンがより有効にナイアシンに転換されているという結果は得られなかった。

ペラグラというナイアシン欠乏によって引き起こされる疾病は、トウモロコシしか食べられないような極度に貧困な人々に多発する疾病であることは間違いない事実である。したがって、「ペラグラは何によって起きるのか？」という問いに対しては、「トウモロコシしか食べられないような経済的困窮によって起きる」と答えざるを得ない。

トウモロコシのペラグラ誘発性は穀粒をアル

カリ処理することにより消えるということも事実である。それでは、トウモロコシをアルカリ処理にすることにより、何が起きているかという未だに確固たる実験証拠は得られていない。

未だに、ペラグラを引き起こす何かを我々は見落としているのであろう。

## 2. 名称と性質

ナイアシンという名称は「ナイアシン活性」というようにビタミンとしての生理活性を表す時に使用され、ニコチン酸と同じ生物活性を有するピリジン-3-カルボン酸誘導体の総称として使われている。ナイアシン活性を有する代表的なものにニコチン酸(ピリジン-3-カルボン酸)とニコチンアミド(ピリジン-3-カルボキサミド)がある。さらに、キノリン酸や必須アミノ酸のトリプトファンも弱いながらナイアシン活性を有する。ニコチン酸という名称は上述したように、ニコチンを酸化して得られたことによって名づけられ、またニコチンアミドという名称はニコチン酸のアミド体であることにちなんで名づけられたものである。しかし、ニコチン酸はニコチンと名前が似ているため、よく混同されがちだったため、1952年に、ニコチン酸はナイアシン(Nicotinic acid→下線部分 + nからNiacin)、そしてニコチンアミドはナイアシンアミドと変更されたが、現在ではこのような使われ方はあまりされていない。なお、現在、食品栄養学の分野ではナイアシンという名称はニコチン酸とニコチンアミドの総称名的に使われている。

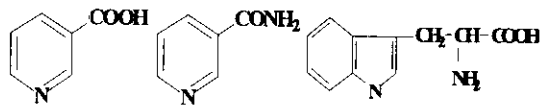
ニコチン酸とニコチンアミドは、安定な化合物であり、通常の保存あるいは調理中に破壊されることはない。ただし、ニコチンアミドは酸性溶液中でオートクレーブすると定量的にニコチン酸に変換される。ニコチン酸とニコチンアミドは酸性溶液中では安定である。

ニコチン酸、ニコチンアミド、トリプトファンの

構造式を図I-2に示した。

## 2-1. ニコチン酸

ニコチン酸は、ピリジン-3-カルボン酸、ピリジン-β-カルボン酸、PP(pellagra-preventive)因子、ビタミンPP、抗ペラグラビタミンとも呼ばれている。構造式は図I-2に示したとおりである(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>N,分子量=123.11)。植物性食品に含まれるが、動物性食品には含まれていない。ナイアシン活性はニコチンアミドと等価である。白色粉末として市販されている。融点は234-237°Cである。1gのニコチン酸は60mlの水、あるいは80mlのエタノールに可溶である。熱水、熱アルコール、アルカリ性水溶液には非常によく溶ける。ニコチン酸は、水溶液、1-2Nの鉍酸かアルカリ溶液中で、120°Cで10分間オートクレーブしても分解しない。50mMリン酸カリウム緩衝液、pH7.0中におけるニコチン酸の吸収極大は260nmにあり、そのときの分子吸光係数は2800M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>である。



ニコチン酸      ニコチンアミド      トリプトファン

図I-2. ニコチン酸 ニコチンアミドおよびトリプトファンの構造

## 2-2. ニコチンアミド

ニコチンアミドはピリジン-3-カルボキサミド、ニコチン酸アミド、ペラグラミン、ピリジン-β-カルボン酸アミドあるいはビタミンPPとも呼ばれている。構造式は図I-2に示したとおりである(C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>ON<sub>2</sub>,分子量=122.12)。動物性食品には含まれているが、植物性食品には含まれていない。ナイアシン活性はニコチン酸と等価である。白色粉末として市販されている。融点は129-131°Cである。1gのニコチンアミドは1ml

の水、あるいは1.5mlのエタノールに可溶である。中性付近では安定であるが、1Nの鉍酸あるいはアルカリ中で100°Cに加熱すると、脱アミノ化してニコチン酸となる。ニコチンアミドの水溶液は中性であり、それを120°Cで10分間オートクレーブしても分解しない。水溶液中での吸収極大は260nmにあり、そのときの分子吸光係数は3300M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>である。

## 2-3. トリプトファン

構造式は図I-2に示したとおりである(C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>,分子量=204.33)。白色粉末として市販されている。分解点は289°C。等電点は5.89。水100gに0.82g(0°C)、1.14g(25°C)溶ける。トリプトファンは必須アミノ酸であり、タンパク質中に1%程度含有されている。しかし、コラーゲン(皮膚タンパク質)、ツェイン(トウモロコシタンパク質)は全くトリプトファンを含んでいない。タンパク質中のトリプトファンはL型である。ナイアシン活性効率はニコチン酸のナイアシン活性を1とすると、重量比では1/60程度、モル比では1/36程度である。水溶液中での吸収極大は280nmにあり、そのときの分子吸光係数は4930 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>である。

## 3. 補酵素への生合成経路

ナイアシンの供給源となる獣鳥魚肉類の生細胞内では補酵素型のNAD(P)として存在しているが、食品として摂取する時にはすでにニコチンアミドにまで分解されている。また、仮にNAD(P)が残っていても、小腸内で消化され、血液中に表れる形はニコチンアミドである。小腸ではニコチンアミドは受動拡散によって吸収されると考えられている。ニコチン酸も同様に受動拡散によって吸収されると考えられている。ニコチンアミドの肝臓による取り込み速度はニコチン酸に比べて非常に遅い。これは、ニコチンアミドを肝臓以外の組織に回すための巧み

な機構である。ニコチン酸は肝臓にすばやく取り込まれ、NAD<sup>+</sup>を経たのち、ニコチンアミドとなり肝臓以外の組織に分配するために放出されている。また、トリプトファンからNAD(P)を合成できるのも肝臓だけであり、ニコチンアミドに変換後、放出されている。肝臓以外の組織はニコチンアミドのみをNAD(P)の前駆体として利用できる。ニコチンアミドはヒトではMNAを経て2-Pyあるいは4-Pyに肝臓で異化代謝されて、尿中に排泄される。ヒトでは、2-Py/4-Pyは7~10であり、2-Pyの方が多い。ちなみにラットでは全くヒトと逆で、4-Pyの方が7~10倍多い。ヒトでは、摂取されたナイアシン当量の50~70%がMNA、2-Py、4-Pyとして尿中に排泄されている。ニコチンアミドそのものの排泄は認められない。もちろん、ニコチン酸の排泄も認められない。動物ではニコチンアミダーゼ活性がきわめて弱いため、ニコチン酸からニコチンアミドへの反応は一方通行となる。腸内細菌がニコチンアミド→ニコチン酸反応を触媒しているという説もあるが、NAD代謝全体での寄与度は小さいものと考えられる。

ニコチン酸およびニコチンアミドの生理作用のほとんどはピリジンヌクレオチド補酵素、すなわち酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD<sup>+</sup>)、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NADH)、酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリジン酸(NADP<sup>+</sup>)、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリジン酸(NADPH)(図1-3)の生理作用に帰することができる。なお、NAD<sup>+</sup>は1904年にHardenとYoungによって、アルコール発酵の「コチマーゼ」として見いだされ、NADP<sup>+</sup>は1934年にWarburgとChristianによって、水素伝達補酵素として見いだされた。これらの発見はペラグラの克服とは、全く無関係になされた。今日では

500種類以上の酵素がピリジンヌクレオチド補酵素を必要としている。

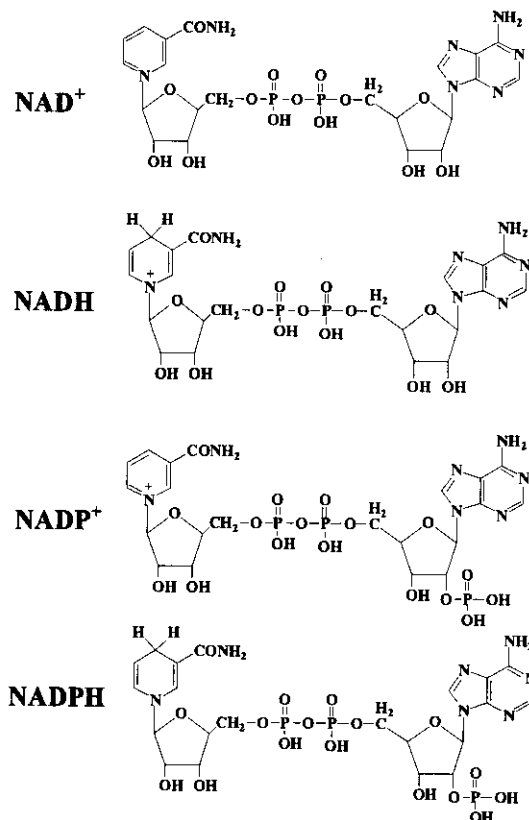


図1-3. NAD<sup>+</sup>, NADH, NADP<sup>+</sup>, NADPHの構造

### 3-1. ニコチン酸とニコチンアミドからのナイアシン補酵素生合成経路(ピリジンヌクレオチド補酵素のsalvage生合成経路)

ナイアシンは、そのままの形では生理活性はない。ピリジンヌクレオチド補酵素に生合成されなければならない、ニコチン酸とニコチンアミドからの生合成経路の概略を図1-4に示した。

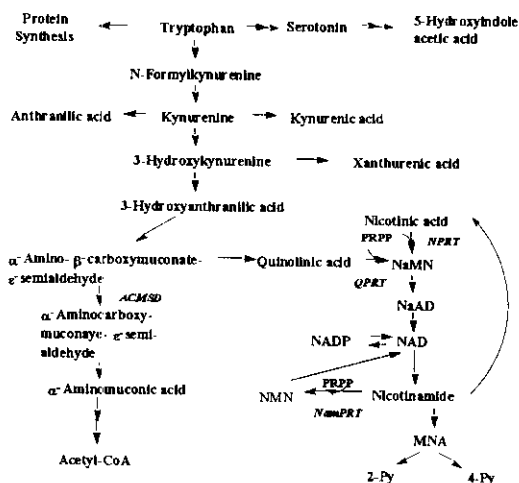


図1-4. ピリジンヌクレオチド補酵素の生合成経路と異化経路

この経路の特徴は二つある。

一つはニコチン酸とニコチンアミドは別々の酵素により5-ホスホリボシル-1-ピロリン酸 (PRPP)と縮合して、各々ニコチン酸モノヌクレオチド、ニコチンアミドモノヌクレオチドとなることである。Nicotinate phosphoribosyltransferase (NPRT) と Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NamPRT) という酵素が触媒する。なぜ、ニコチン酸がニコチンアミドとなった後PRPPと縮合しないのか、あるいは逆にニコチンアミドがニコチン酸となった後PRPPと縮合しないのか。さらに、後述するが、ピリジンヌクレオチド補酵素は *de novo* 生合成経路をもっている。この経路の場合、ニコチン酸、ニコチンアミドに相当する化合物はキノリン酸であるが、この反応も Quinolinate phosphoribosyltransferase (QPRT) という独自の酵素が触媒している。なぜ、3つものPhosphoribosyltransferaseが必要なのか。核酸生合成経路とPRPPを取り合うのに必要なのか。あるいは、ピリジンヌクレオチド補酵素欠乏に陥りにくくするための機構なのか。

二つ目は、ニコチン酸からの生合成の場合、NAD<sup>+</sup>は細胞質で産生されるが、ニコチンアミドの場合は核内で産生されることである。この産生場所の違いがどのような意義をもつのか不明である。ピリジンヌクレオチド補酵素の分解は主に核内で起こる。

細胞全体中のピリジンヌクレオチド補酵素含量は分かっているが、細胞内分布に関する情報は皆無である。

### 3-2. ニコチン酸-ピリジンヌクレオチド補酵素生合成経路とニコチンアミド-ピリジンヌクレオチド補酵素生合成経路の臓器分布

これらの経路に関わる酵素活性の有無を *in vitro* で調べた実験結果から、ニコチンアミドからの生合成経路はすべての臓器・組織に存在するが(表I-1)、ニコチン酸からの生合成経路は主に肝臓でのみ作動している(表I-2)。

表 I-1. ニコチンアミド→NMN→NAD<sup>+</sup> 経路の酵素活性の臓器分布

臓器	NamPRT	NMN AT	経路の有無
nmol/hr/g wet weight			
肝臓	102 ± 11	6352 ± 236	有
腎臓	21 ± 1	4179 ± 494	有
小腸	1	1153 ± 243	有
脾臓	16	2378 ± 355	有
心臓	14	485 ± 29	有
脳	9	1522 ± 15	有
精巣	10 ± 1	412 ± 55	有
骨筋肉	21	255 ± 65	有
肺	10	1235 ± 159	有
すい臓	2	1899 ± 173	有

NamPRT = nicotinamide phosphoribosyltransferase, 肝臓、腎臓、精巣は4匹のラットの平均値±SEMである。他は4匹のラットの1匹あたり測定した値である。  
NMNAT = nicotinamide adenine dinucleotide synthetase, 5匹のラットの平均値±SEMである。

表 1-2. ニコチン酸→NaMN→NaAD→NAD<sup>+</sup>経路の酵素活性の臓器分布

臓器	NPRT	NaMN AT	NAD <sup>+</sup> synthetase	経路の有無
肝臓	102 ± 11	6352 ± 236	590 ± 62	有
腎臓	70 ± 2	4179 ± 494	262 ± 22	有
小腸	N.D.	1153 ± 243	N.D.	無
脾臓	N.D.	2378 ± 355	170 ± 23	無
心臓	11 ± 1	485 ± 29	N.D.	無
脳	N.D.	1522 ± 15	N.D.	無
精巣	N.D.	412 ± 55	N.D.	無
骨筋肉	N.D.	255 ± 65	N.D.	無
肺	N.D.	1235 ± 159	N.D.	無
すい臓	15 ± 2	1899 ± 173	N.D.	無

NaMN = nicotinic acid mononucleotide, NaAD = nicotinic acid adenine dinucleotide, NPRT = nicotinic acid phosphoribosyltransferase, NaMN AT = nicotinic acid mononucleotide adenyltransferase. 5匹のラットの平均値±SEMである。

したがって、肝臓に障害がある時には、ニコチン酸はピリジヌクレオチド補酵素に生合成されにくくなる。肝臓はニコチン酸をNAD<sup>+</sup>を経てニコチンアミドに変換し、他の臓器・組織に分配する役割を持っている。

ニコチン酸→ニコチンアミドの反応を触媒する酵素は見いだされていない。ニコチン酸部分のアミド化はニコチン酸アデニンジヌクレオチド→NAD<sup>+</sup>の反応で行われる。一方、ニコチンアミド→ニコチン酸の反応は遊離型のレベルで起こるが、哺乳動物ではこの反応を触媒するNicotinamidase活性のKm値が異常に高く(0.1 M)、生理的(食品から摂取できる量で20 mg/日程度)の摂取では、この酵素は働くことはできない。事実、ヒトの尿中にニコチンアミドは検出されるが、ニコチン酸は検出されない。

### 3-3. トリプトファン-キノリン酸-ピリジヌクレオチド補酵素生合成経路の臓器分布

栄養学上意義のある量のキノリン酸を生成している臓器は肝臓のみである。これは、トリプトファン2,3-ジオキシゲナーゼ活性が、肝臓に

のみ検出されることに起因する。ラットの臓器中のQPRT活性をin vitroで測定すると、表1-3に示すごとく、活性が検出されたのは肝臓と腎臓のみであった。腎臓にはトリプトファン2,3-ジオキシゲナーゼ活性とキヌレニナーゼ活性が検出されないことから、腎臓独自ではトリプトファンからナイアシンを作ることはできない。

表 1-3. キノリン酸→NaMN→NaAD→NAD<sup>+</sup>経路の酵素活性の臓器分布

臓器	QPRT	NaMN AT	NAD <sup>+</sup> synthetase	経路の有無
肝臓	352 ± 18	6352 ± 236	590 ± 62	有
腎臓	193 ± 12	4179 ± 494	262 ± 22	有
小腸	N.D.	1153 ± 243	N.D.	無
脾臓	N.D.	2378 ± 355	170 ± 23	無
心臓	N.D.	485 ± 29	N.D.	無
脳	N.D.	1522 ± 15	N.D.	無
精巣	N.D.	412 ± 55	N.D.	無
骨筋肉	N.D.	255 ± 65	N.D.	無
肺	N.D.	1235 ± 159	N.D.	無
すい臓	N.D.	1899 ± 173	N.D.	無

NaMN = nicotinic acid mononucleotide, NaAD = nicotinic acid adenine dinucleotide, QPRT = quinolinic acid phosphoribosyltransferase, NaMN AT = nicotinic acid mononucleotide adenyltransferase. 5匹のラットの平均値±SEMである。

### 3-3-1. トリプトファン-ナイアシン転換率を左右する因子

#### a. ロイシン

Gopalanらは1960年に、インドでモロコシを主食とする地域でペラグラが頻繁に発生するのはモロコシ(Jowar)のタンパク質が異常に多くのロイシンを多く含むことに起因するのではないかという仮説を発表した。しかしながら、日本、米国の研究ではこの考え方に否定的な動物実験結果が得られていたが、柴田らにより、正確なトリプトファン-ナイアシン代謝産物の定量方法が確立され、それらの方法で測定した結果、低タンパク質食摂取時にロイシンを含む分岐鎖アミノ酸(バリン、イソロイシン)を数%摂取すると、トリプトファン-ナイアシン転換率が有意



に低下することが明らかにされた。

#### b. エストロゲン, ビタミンB<sub>6</sub>

Rosefは1966年, 経口避妊薬服用者の尿中の3-ヒドロキシキヌレニンおよびキサントレン酸の排泄量が非服用者に比して高いことを見いだした。この変化はビタミンB<sub>6</sub>製剤の服用により消失した。すなわち, 経口避妊薬の投与によりビタミンB<sub>6</sub>の必要量が高まったことを意味する。ビタミンB<sub>6</sub>は3-ヒドロキシキヌレニン→3-ヒドロキシアンスラニル酸の反応(3-ヒドロキシキヌレニナーゼ)に補酵素として関わっている。3-ヒドロキシキヌレニン→キサントレン酸の反応もビタミンB<sub>6</sub>を必要とするがB<sub>6</sub>欠乏に対して耐性を示すため, 本反応は低下しない。そのため, B<sub>6</sub>欠乏ではキサントレン酸の排泄が高まる。つまり, エストロゲン投与, 結果としてビタミンB<sub>6</sub>欠乏により, 3-ヒドロキシアンスラニル酸以下の中間代謝産物の生成量が低下するために, トリプトファン-ナイアシン転換率は低下する。

#### c. ビタミンB<sub>2</sub>, ナイアシン

ビタミンB<sub>2</sub>(FADとして), ナイアシン(NADPHとして)はキヌレニン→3-ヒドロキシキヌレニンの反応に関わっている。したがって, B<sub>2</sub>, ナイアシン欠乏状態ではキヌレニン, キヌレン酸, アンスラニル酸の生成量が高まり, 3-ヒドロキシキヌレニン以降の中間代謝産物の生成量は低下する。したがって, B<sub>2</sub>もしくはナイアシンの欠乏ではトリプトファン-ナイアシン転換率が低下する。ナイアシン欠乏で最も影響を受ける代謝経路はこのトリプトファン-ナイアシン転換経路である。

#### d. 糖質

ラットにナイアシン欠-トリプトファン制限食を投与すると, 飼料中の等質の種類により, 成長度が変わることが知られている。デキストリン食, デンプン食はしょ糖食よりも成長度が高い, こ

の機序は不明である。

#### e. 脂質

アミノカルボキシムコン酸脱炭酸酵素(ACMSD)(図I-4)はトリプトファン-ナイアシン転換経路において, 重要な役割を果たしている。本酵素活性の低下はキノリン酸の生成量を増大させる。不飽和脂肪酸を多く含む飼料の投与は, この酵素活性を低下させる。つまり, 不飽和脂肪酸の摂取はトリプトファン-ナイアシン転換率を高める。

#### f. タンパク質

高用量のタンパク質はACMSD活性を増大させる。つまり, 適正量以上のタンパク質の摂取はトリプトファン-ナイアシン転換率を低下させる。

#### g. ホルモン

糖尿病ラットではトリプトファン-ナイアシン転換率が低下する。これは糖尿病ラットではACMSD活性が10倍程度高くなるためである。インスリンの投与により回復する場合もある。また, 脳下垂体-副腎系もトリプトファン-ナイアシン転換率に関与している。

エストロン, プロゲステロンという雌性ホルモンの投与はトリプトファン-ナイアシン転換率を低下させる。一方, 雄性ホルモンであるテストステロンは影響をおよぼさない。

チロキシンは転換率を増大させる。アドレナリンは低下させる。

#### h. 薬剤

##### \*ピラジニアミド・ピラジニカルボン酸

両薬剤ともに, 抗結核剤として使用されているものである。これらの薬剤をラットに投与すると, トリプトファン-ナイアシン代謝経路で3-ヒドロキシアンスラニル酸以降の代謝産物が顕著に増大する。したがって, トリプトファン-ナイアシン転換率が数倍に増大する。

\*クロフィブレート

抗脂血漿薬である。この薬剤をラットに投与すると、トリプトファン-ナイアシン代謝経路のキノリン酸以降の代謝産物を増大させる。したがって、トリプトファン-ナイアシン転換率が数倍に増大する。

i. 食品汚染物質

フタル酸エステル類が食品中に含まれている。この化合物は内分泌攪乱物質あるいはシックハウス症候群の候補にあげられている。この化合物をラットに投与すると、トリプトファン-ナイアシン代謝経路のキノリン酸以降の代謝産物を増大させる。したがって、トリプトファン-ナイアシン転換率が数倍に増大する。

j. 妊娠

本年度に実施した。報告は後述。

3-4. ニコチンアミド-ニコチン酸-ピリジヌクレオチド補酵素生合成経路の臓器分布

ニコチンアミドが直接脱アミノされてニコチン酸となり、ピリジヌクレオチド補酵素に生合成される経路であるが、表I-4に示すごとく、この経路の初発酵素であるNicotinamidase活性が検出されたのは肝臓と小腸のみである。肝臓のNicotinamidaseのKm値は、0.1 Mと異常に高く、生理的な量状態での活性発現は無理である。実際、ラット、ヒトの血液中にニコチン酸を検出することはできないし、尿中にもニコチン酸は検出されない。したがって、この経路は哺乳動物では作動していないと考えられる。

表I-4. Nicotinamidase活性の臓器分布

臓器	Nicotinamidase nmol/hr/g wet weight
肝臓	13 ± 3
腎臓	N.D.
小腸	18 ± 2
脾臓	N.D.
心臓	N.D.
脳	N.D.
精巣	N.D.

骨筋肉	N.D.
肺	N.D.
すい臓	N.D.

5匹のラットの平均値±SEMである。

3-5. NAD<sup>+</sup>濃度を一定にする機構

NAD<sup>+</sup>濃度はどのようにして一定に維持されているのか。トリプトファンからのNAD<sup>+</sup>の合成は肝臓に限られている。また、異化代謝経路も肝臓にのみ存在している。肝臓はニコチン酸からも、トリプトファンからも、ニコチンアミドからもNAD<sup>+</sup>を合成できる。しかし、肝臓以外の臓器・組織ではNAD<sup>+</sup>はニコチンアミドのみからしか合成できない。ニコチンアミドからNAD<sup>+</sup>への合成経路は2ステップで進み、最もシンプルなNAD<sup>+</sup>生合成経路である。ニコチンアミド→ニコチンアミドモノヌクレオチド反応を触媒する酵素はNicotinamide phosphoribosyltransferaseと呼ばれ、生理的量のNAD<sup>+</sup>によってフィードバック阻害を受ける(表I-5)。

表I-5. NAD<sup>+</sup>によるNamPRT活性の阻害

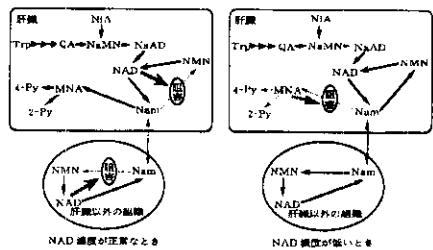
臓器	相対NamPRT活性 (%)	
	+ 0.2 mM NAD <sup>+</sup>	+ 1.0 mM NAD <sup>+</sup>
肝臓	97	52
腎臓	79	41
小腸	58	22
心臓	62	27
脳	75	16
精巣	70	2
骨筋肉	7	5
肺	96	52
すい臓	87	55
胃	75	50

5匹のラットの平均値±SEMである。

つまり、細胞内に正常濃度のNAD<sup>+</sup>が存在すると、この反応(ニコチンアミド→ニコチンアミドモノヌクレオチド)は進まない。したがって、ニコチンアミドは異化代謝経路に入ることになる。最初の反応はニコチンアミドのナイアシン環のN位のメチル化である。生成したMNAはナイアシン活性を持たない。この反応を触媒するNicotinamide methyltransferaseはMNAによって強く阻害されるが、NAD<sup>+</sup>濃度が正常に維持

されている時(言い換えれば、栄養状態が良好な時)は、すみやかに2-Pyと4-Pyに代謝され、肝臓に蓄積しない。一方、NAD<sup>+</sup>濃度が低下してくると、NAD<sup>+</sup>によるNicotinamide methyltransferaseの阻害がゆるみ、ニコチンアミド→ニコチンアミドモノヌクレオチド反応が進行するようになる。そして、異化代謝経路の方では、2-Pyと4-Py生成酵素活性が著しく低下するので、肝臓にMNAが蓄積してくる。そうなると、Nicotinamide methyltransferase活性が阻害され、ニコチンアミドは異化代謝経路に入れなくなる。

図I-5に上記の関係を示した。つまり、体内のNAD<sup>+</sup>濃度は肝臓中のMNA濃度によって調節されている。この反応を触媒するNicotinamide methyltransferaseは、MNA oxidasesと異なり栄養状態が悪くなると活性が高くなる。



Trp:トリプトファン, QA:キノリン酸, NIA:ニコチン酸, NaMN:ニコチン酸モノヌクレオチド, F, NaAD:ニコチン酸アデニンジヌクレオチド, NMN:ニコチンアミドモノヌクレオチド, Nam:ニコチンアミド, MNA:N-メチルニコチンアミド, 2-Py:N-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド, 4-Py:N-メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド。

図I-5. NAD<sup>+</sup>濃度を一定にする機構

### 3-6. 動物組織中のNAD, NADP含量

ラットの臓器中のNAD (NAD<sup>+</sup> + NADH), NADP(NADP<sup>+</sup>+NADPH) 含量を表I-6に示した。NAD含量は臓器含量がかなり異なっていた。

表 I-6. 種々の臓器のNAD (NAD<sup>+</sup> + NADH) 及びNADP (NADP<sup>+</sup> + NADPH)含量

臓器	NAD	NADP
nmol/g wet weight		
肝臓	974 ± 11	348 ± 13
腎臓	616 ± 27	78 ± 12
小腸	219 ± 24	-

脾臓	144 ± 10	-
心臓	599 ± 27	-
脳	271 ± 27	-
精巣	154 ± 4	-
骨筋肉	574 ± 23	-
肺	106 ± 8	-
すい臓	233 ± 9	-
血液	85 ± 3	13.0 ± 0.6

5匹のラットの平均値±SEMである。

NADP含量は、測定していない臓器が多く、今後の課題である。

ヒトの血液中の値を表I-7に示したが、NAD含量はラットと比較して顕著に低い値であったが、NADP含量はほぼ同じであった。

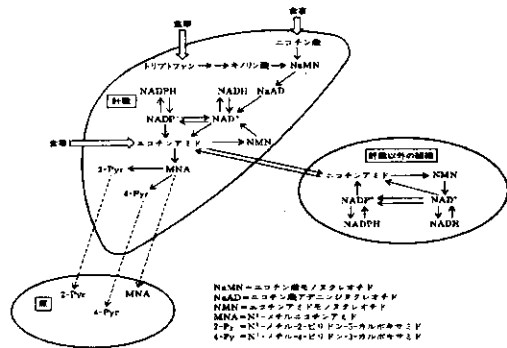
表 I-7. ヒト血液中のNAD (NAD<sup>+</sup> + NADH) 及びNADP (NADP<sup>+</sup> + NADPH)含量

臓器	NAD	NADP
nmol/ml of whole blood		
血液	35.5 ± 7.0	10.7 ± 0.8

自由食事摂取の女子学生の平均値±SD (n = 214) である。

## 4. 異化経路

ナイアシン補酵素の異化代謝は、はじめに、ニコチンアミド部分とADP-リボース部分が加水分解されることではじまる。異化代謝経路は動物種により異なり、ヒトではニコチンアミドはN-メチルニコチンアミド(MNA)となる。そしてさらに、N-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド(2-Py)あるいはN-メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド(4-Py)にまで代謝される。MNA, 2-Py, 4-Pyは体内に蓄積されることはなく、尿中に排泄される。この異化経路は肝臓においてのみ作動している(図I-6)。



図I-6. ナイアシン代謝

哺乳動物の範囲でみれば、NAD(P)<sup>+</sup>の異化経路として次の7経路が知られている。

- (I) NAD(P)<sup>+</sup>→ニコチンアミド→MNA→2-Py;
- (II) NAD(P)<sup>+</sup>→ニコチンアミド→MNA→4-Py;
- (III) NAD(P)<sup>+</sup>→ニコチンアミド→ニコチンアミドN-オキシド;
- (IV) NAD(P)<sup>+</sup>→ニコチンアミド→ニコチン酸→ニコチヌル酸;
- (V) NAD(P)<sup>+</sup>→ニコチンアミド→ニコチン酸→N1-メチルニコチン酸;
- (VI) NAD(P)<sup>+</sup>→ニコチンアミド→6-ヒドロキシニコチンアミド;
- (VII) NAD(P)<sup>+</sup>→ニコチンアミド→ニコチン酸→6-ヒドロキシニコチン酸。

異化代謝経路は動物種によってかなり異なる。これらの化合物の尿中への排泄量からどの動物においてどの程度が主に作動しているかを推定すると、草食動物にはNAD(P)<sup>+</sup>→ニコチンアミドまでの経路しか存在していない。したがって、草食動物には異化経路は存在していない。

肉食動物はNAD(P)<sup>+</sup>→ニコチンアミド→MNAまでの不完全な異化代謝経路しか作動していないらしい。つまり、MNAの酸化反応は起こらない。つまり、MNAの酸化反応は起こらないか

非常に弱いものと思われる。

雑食動物はMNAを酸化する能力をもっている。ヒト、モルモット、ブタ、サル類では、経路(I)が、ラットでは経路(II)が、主に作動している。マウスおよびハムスターでは経路(I), (II), (III)が比較的均等に作動している。

経路(IV), (V), (VI), (VII)は、ニコチンアミドもしくはニコチン酸を多量に投与した時のみ作動する解毒経路であると考えられる。

異化経路が作動している主要な臓器は、ラットでは肝臓である(表I-8)。

表 I-8. NMT, 2-Py-forming MNA oxidase及び4-Py-forming MNA oxidase活性の臓器分布

臓器	NMT	2-Py-forming MNA oxidase	4-Py-forming MNA oxidase
nmol/hr/g wet weight			
肝臓	282 ± 23	647 ± 34	3285 ± 324
腎臓	77 ± 3	71 ± 9	239 ± 7
小腸	N.D.	N.D.	N.D.
脾臓	N.D.	N.D.	N.D.
心臓	N.D.	N.D.	N.D.
脳	N.D.	N.D.	N.D.
精巣	N.D.	N.D.	N.D.
骨筋肉	N.D.	N.D.	N.D.
肺	N.D.	N.D.	N.D.
すい臓	N.D.	N.D.	N.D.

NMT = nicotinamide methyltransferase, 2-Py = N<sup>1</sup>-methyl-2-pyridone-5-carboxamide, 4-Py = N<sup>1</sup>-methyl-4-pyridone-3-carboxamide, 5匹のラットの平均値±SEMである。

アミノ酸栄養との関係において、ヒトとラットの異化代謝経路は興味ある事実がある。

ヒトにおいてもラットにおいても、一つ以上の必須アミノ酸を除くとMNAの尿中排泄量が完全アミノ酸摂取群に比して顕著に増大する。また、アミノ酸組成が悪いとき、すなわち必須アミノ酸の絶対摂取量が少ない時にもMNA排泄量が増大する。これは、トリプトファン-ナイアシン転換率が高まった結果ではなく、アミノ酸栄養が悪いと、MNAを2-Pyおよび4-Pyに変換する酵素MNAオキシダーゼ活性が著しく低下することによる。つまり、MNA→2-Pyもしくは4-Pyの反応が極端に低下し、MNAが蓄積した結果