

*** 6M NaOH**

NaOH=40

$$40 \times 6 \times 0.5 = 120(\text{g})$$

NaOHを120 g秤量して、最初に250 ml程度
の水で溶かす。(この時、
刺激臭と発熱をするので、ドラフト内で、氷で
冷やしながらかす。)

溶けたらメスシリンダーに移し水で500 mlにメス
アップする。

*** 100 mM アセトフェノン(エタノールに溶解)**

アセトフェノン=120.15

$$120.15 \times 0.1 \times 0.2 = 2.403(\text{g})$$

アセトフェノンを2.4 g秤量し、エタノールで2
00 mlにする(和光純薬工業株式会社、特級、
室温で保存)。

*** ギ酸**

市販品の特級、純度99%を使用。

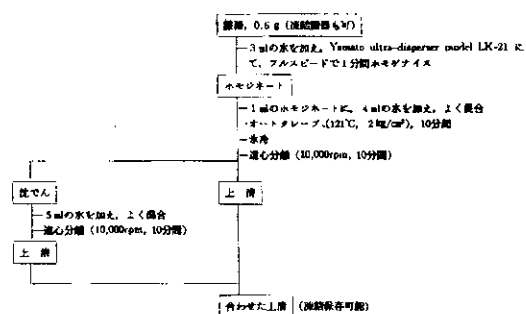
*** 1 M イソニコチンアミド**

$$122.13 \times 1 \times 0.01 = 1.2213(\text{g})$$

イソニコチンアミドを1.22 g秤量し、水にて
10 mlにする。

③操作

動物性食品および臓器を試料とした時の操作
方法を図II-20に示した。



図II-20. 動物食品および臓器からのMNA定量用試料の調製方法

血液を試料とした時の操作方法を図II-21に示

した。

0.95 mlの水を入れたねじ口マイクロチューブ

↓
全血を0.05 ml加え、十分に混合

↓
オートクレーブ(121°C, 10分間); NAD, NADP
はアセトフェノンと反応するため、ニコチンアミ
ドにまで分解する必要がある。

↓
十分に氷冷

↓
遠心分離(10,000rpm, 10分間)

↓
上清(凍結保存可能)

図II-21. 血液を試料とした時の操作方法

試料中のMNAを蛍光をもった誘導体化反
応の操作方法を図II-22に示した。

HPLC注入用試料作成方法

1. 希酸と1 M イソニコチンアミド以外は水中で十分に冷却しておくこと。
2. ねじ口試験管に順次下記の溶液をいれていく。
3. 操作はすべて水中で行うこと。

試料 (上の操作を参照)	0.80 ml
1 M イソニコチンアミド	0.20 ml
100 mM アセトフェノン	0.50 ml

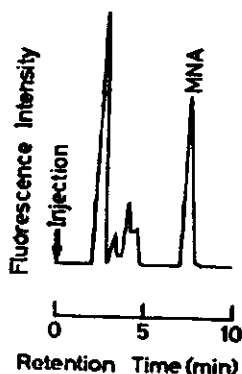
- ↓
6 M NaOHを1 ml添加後、正確に0°Cで10分放置
- ↓
99%でギ酸を0.5 ml添加後、正確に0°Cで15分間放置(この間にフタをすること)
- ↓
凍結水中に、正確に5分間放置
- ↓
1分氷冷する
- ↓
(1-methyl-7-isoxyl-1,5-dihydro-5-hydro-1,6-naphthylidene)が生成する)
- ↓
ろ過をしやすいように反応液の一部をマイクロチューブに写し、遠心分離
(Eppendorf Centrifuge 5412型, 10,000 rpm×3分間)
- ↓
上清を0.45 μmのフィルターで濾過
- ↓
ろ液(20 μl)をHPLCに注入

図II-22. MNAを蛍光物質に誘導体化する方
法

代表的な試料として、肝臓を用いた時の
HPLCクロマトグラムと分析条件を図II-23に示
した。

カラム	Tosoh ODS 80Ts(φ4.6×250mm)
移動相	1 M KH ₂ PO ₄ (リン酸でpHを3.0に調整) 30 ml 1-Heptanesulfonic acid sodium salt 1 g 100 mM EDTA-2Na 1 ml

流速	水	969 ml
カラム温度	アセトニトリル	290 ml
PRESSURE	1.0 (ml/min)	
検出方法	40°C	
MNAの溶出時間 (min)	11.0 kgf/cm ² 前後	
	蛍光法 励起波長(382 nm) 蛍光波長(440 nm)	
	8.48分	

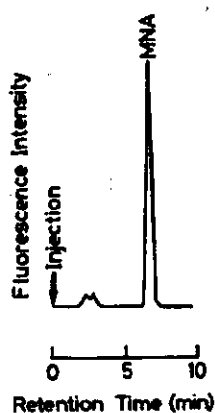


血液及び他の臓器も同じようなクロマトグラムである。

図II-23. 肝臓を用いた時のHPLCクロマトグラムと分析条件

尿を試料とした場合は図II-22の操作方法の試料として、尿を0.1 ml, 水を0.7 ml入れ, 他は全く同じ操作で行えばよい。

代表的な試料として、ヒト尿を用いた時のHPLCクロマトグラムを図II-24に示した。



試料としてラットの尿を0.1mlを使用した。ヒトの尿の場合も、ほぼ同じクロマトグラムである。

図 II-24 . MNA の 反 応 物 で あ る 1-methyl-7-phenyl-1,5-dihydro-5-oxo-1,6-naphthyridineのクロマトグラム

5. 現在行われている測定方法に関わる問題点と改良方法

植物性食品中には、ナイアシンはニコチン酸として存在しているが、ニコチン酸のみを測定する有効な化学的方法が見出されていない。小麦、コーヒー中のニコチン酸を測定するHPLC法は報告されているが、HPLC注入用試料の作成までが煩雑であり、精製過程におけるニコチン酸のロスも一定しない。すべての植物性食品に適用可能なニコチン酸のHPLC法の開発が必要である。

III. 摂取量

1. 日本人の平均摂取量

1972年から経年的に女子学生のナイアシン当量摂取量を行ってきた結果を表III-1に示した。ナイアシンはトリプトファンからも生合成でき、その換算値を1/60mgとして計算した値を加えると、ナイアシン当量の所要量である6.3 mg NE/1000kcalは調査した全員が超えているという非常にめずらしい栄養素である。

表 III-1. 自由摂取させた時の女子学生のエネルギー、タンパク質、トリプトファン、ナイアシン及びナイアシン当量(NE)摂取量

Year	n	Energy (kcal/day)	Protein (g/day)	Tryptophan (mg/day)	Niacin (mg/day)	NE*1 (mg/day)	NE/1000 kcal (mg/day)
1972	10	2155 ± 264	78.2 ± 17.1	970 ± 200	15.1 ± 3.8	31.3 ± 2	14.5 ± 2
1976	30	2009 ± 322	81.7 ± 9.6	970 ± 240	15.7 ± 5.5	31.9 ± *2	15.9 ± 2
1977	10	1570 ± 227	62.4 ± 18.5	700 ± 180	10.0 ± 3.6	21.7 ± 2	13.8 ± *2
1983	44	-*3	-*3	895 ± 219	13.3 ± 4.0	29.8 ± 12.8	
1984	49	-*3	-*3	712 ± 222	12.2 ± 4.0	24.0 ±	

					4.1	7.1		
1986	216	-*3	-*3	594 ± 234	10.8 ±	18.5 ±		
					5.6	7.8		
1998	36	1448 ±	58.8 ±	669 ± 216	12.3 ±	23.4 ±	16.1 ±	
		286	17.8		6.3	9.3	5.0	
2001	33	1622 ± 377	57.3	630 ± 181	13.3 ±	22.8 ±	14.1 ±	
			± 16.5		5.7	7.6	3.8	

Each value is expressed as mean + SD.

*1NE (niacin equivalent) = niacin (mg) + 1/60 Trp (mg).

*2Calculated from the mean values of Trp and niacin intakes.

*3Not described.

一番最近の調査結果(2001年)に関して述べれば、今回の被検者の平均エネルギー摂取量は1622 kcal/日程度で所要量に比して低値であったが、平均タンパク質摂取量は60 gほどでほぼ所要量に達していた。ナイアシンそのものの平均摂取量は13mg程度、トリプトファンの平均摂取量は630 mg程度でほぼ必要量を満たしているものと判断した。トリプトファン由来のナイアシン量の計算値は10.5 mgであった(630/60=10.5)。したがって、今回の調査における平均ナイアシン当量摂取量は22.8 mg(13.3 + 10.5 = 22.8)であった。この調査をはじめた1972年では1日当たりのエネルギー摂取量は2155 kcalであったが、1998年では1448 kcalまで低下し、2001年でも1622 kcalと低い値であった。この現象は、女子学生の肥満に対する強い忌避感があり、やせている方がきれいであるという流行によるものであろう。意識的に食事量、その結果炭水化物量を制限していることが観察される。また、1日当たりのナイアシン当量摂取量も31.3 mgから22.8 mgに低下したが、これは、炭水化物の給源となる穀類由来のナイアシン摂取量が低下したことに起因するものである。

ナイアシンの最も重要な役割がエネルギー産生系に関わることであるため、所要量を求め

るための基本値は1000 kcal当たりで決められている。そこで、1000 kcal当たりのナイアシン当量摂取量を計算すると、14.1 mgナイアシン当量摂取量となった。この値は所要量の6.3 mgナイアシン当量/1000 kcalをはるかに超えており、しかも2001年の被検者の全員が所要量を超えていた。同じ結果は、埼玉県的女子学生を被検者として行われた最近の平岡らの報告でも述べられている。すなわち、地方による違いがなく、エネルギー摂取量は少ないがタンパク質は十分に摂取しているという食習慣、すなわち、女子学生には低炭水化物・高タンパク質食品嗜好性のあることが明らかとなった。ちなみに、脂肪摂取量は、2001年の調査では55.5 ± 20.5 gであった。

ナイアシンは水溶性ビタミンであることから、煮るなどの調理過程において損失が起きる。浦部らの1985年の報告では、ナイアシンの実測値は計算値の約半分であるとされている。今回もこの値を摘要すると、実際のナイアシン摂取量は6 mg程度となり、ナイアシンそれ自体ではナイアシン不足に陥ることが明らかとなった。しかし、ヒトにおいても、ナイアシンはトリプトファンから肝臓で生合成され、全身に供給されているため容易に欠乏状態にならない。トリプトファンは「焼く」などという高熱処理で若干破壊されるが、調理過程における損失はきわめて少ないと考えられている。したがって、トリプトファンの調理過程における損失を0と仮定すると、今回の調査におけるトリプトファン由来のナイアシン供給量は10 mgとなり、ナイアシンそれ自体の摂取量の約2倍となる。つまり、このde novo経路はナイアシン補酵素の補助的な供給経路ではないことを意味している。なお、修正した実際のナイアシン当量摂取量は16 mg程度となり、この値でも所要量を超えてい

る。

高齢者のナイアシン栄養状態を調べた柴田らの結果がある。調査したのは、61歳から96歳の計73名である。男性が22名、女性が51名である。彼らの一人一日当たりのエネルギー、タンパク質、トリプトファン、ナイアシン、ナイアシン当量摂取量を表III-2に示した。

表III-2. 高齢者の一人一日当たりのエネルギー、タンパク質、トリプトファン、ナイアシン、ナイアシン当量摂取量

	1日目	2日目	3日目	平均値±SD	所要量	充足率(%)
エネルギー(kcal)	1744	1590	1604	1640±83	1750	94
動物性タンパク質(g)	68.3	68.3	69.3	68.6±0.6	66	106
植物性タンパク質(g)	36.3	30.2	39.3	35.2±4.7		
動物性タンパク質由来の Trp(mg)	506.8	432.8	560.2	493.3±64.8		
植物性タンパク質由来の Trp(mg)	321.0	361.0	300.0	334.0±42.0		
総 Trp(mg)	827.8	803.8	860.2	827.3±52.2		
ナイアシン(mg)	13.5	11.0	17.2	13.9±2.1		
Trp 由来のナイアシン(mg)	13.6	13.4	14.2	13.8±0.4		
総ナイアシン当量(mg)	27.3	24.4	31.4	27.7±3.5	14.0	197.9

これらの値は、女子学生と比較して、決して低い値ではなかった。さらに、高齢者のスポット尿を採取し、ニコチンアミド、MNA、2-Py、及び4-Py排泄量を調べ、女子学生と比較した。その結果を、表III-3と表III-4に示した。

表III-3. 高齢者と若年者とのニコチンアミド代謝産物排泄量の比較

観察者	年齢	人数	クレアチニン (mmol/mol)	MNA (nmol/mmol creatinine)	2-Py (nmol/mmol creatinine)	4-Py (nmol/mmol creatinine)	Sum (nmol/mmol creatinine)
高齢者							
男性	75±7.4	22	6.89±2.74	2.43±0.84	0.87±0.74	0.87±0.43	2.95±1.42
A地区	75±6.6	7	5.81±2.62	2.55±1.59	5.71±3.43	1.08±0.85	9.34±5.41
B地区	69±5.1	5	7.25±3.03	2.80±0.85	6.05±1.80	0.99±0.21	9.80±2.68
C地区	77±8.0	10	7.62±2.27	1.86±0.73	5.26±1.53	0.69±0.27	8.12±2.59
女性	72±7.7	51	6.76±2.85	3.36±1.73	0.58±0.74	1.83±0.49	10.86±3.33
A地区	70±4.8	16	6.90±3.21	2.91±1.52	6.17±4.29	0.96±0.51	10.07±5.77
B地区	69±6.3	28	6.46±3.78	3.46±1.77	0.88±3.27	1.31±0.46	11.76±4.72
C地区	86±5.4	7	8.11±5.85	3.24±1.98	6.16±4.55	0.82±0.62	10.45±8.78
若年者							
青年女子 ¹⁾	20-22	69	8.71±2.13	3.40±1.52	6.55±3.12	0.78±0.43	10.98±4.29
青年女子 ²⁾	20-22	26	8.59±1.83	2.99±1.72	7.00±3.04	0.90±0.43	10.89±4.90

¹⁾ 調査期間を有している観察者。柴田克己・松尾隆子・伊藤守実他、No. 13, 1-9 (1987) より引用。
²⁾ 調査期間を有している観察者。柴田克己・松尾隆子・若井和夫・ピタシン, 63, 243-248 (1988) より引用。

表III-4. 高齢者と若年者にニコチンアミド代謝産物排泄量比、2-Py/4-Pyおよび(2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比の比較

観察者	年齢	人数	2-Py/4-Py	(2-Py+4-Py)/MNA
高齢者				
男性	75±7.4	22	6.78±0.74*	2.79±0.68
A地区	75±6.6	7	5.29±0.57	2.71±0.62
B地区	69±5.1	5	6.08±0.63	2.62±0.66
C地区	77±8.0	10	5.91±0.80	2.93±0.72
女性	72±7.7	51	6.15±1.04*	2.45±1.22
A地区	70±4.8	16	5.63±0.93	2.60±1.04
B地区	69±6.3	28	6.22±1.06	2.49±1.34
C地区	86±5.4	7	6.83±1.12	2.13±1.25
若年者				
青年女子 ¹⁾	20-22	69	9.11±1.30*	2.27±0.85
青年女子 ²⁾	20-22	26	7.61±1.23*	2.80±0.69

値は平均値±SDで表した。同じ列で異なる値は統計学的に p<0.01 で有意差が認められたことを示す。

これらの尿中排泄量の各指標も、2-Py/4-Py排泄量比を除いて、女子学生と高齢者との間には有意な差異は認められなかった。しかし、2-Py/4-Py排泄量比が高齢者において若年者よりも低いということは、加齢によって4-Py生成酵素活性が低下していることを意味している可能性もある。ちなみに、ラットでは、この酵素活性は、体調が悪化すると鋭敏に低下する。

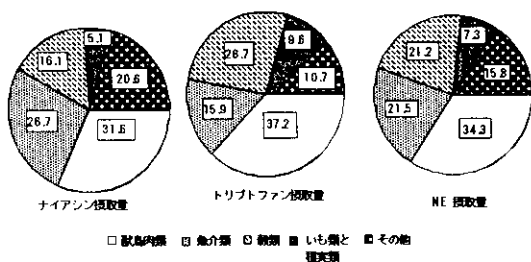
日本ではペラグラの流行がなかったことから、日本人はナイアシン欠乏に陥りにくい食習慣をもっていると考えている。その一つの理由として村田らは、トリプトファン摂取量とエネルギー摂取量との相関係数が $r = 0.781$ 、ナイアシン摂取量とエネルギー摂取量との相関係数が $r = 0.675$ でいずれも $p < 0.001$ で有意に相関していることをあげている。平岡らもナイアシン当量摂取量とエネルギー摂取量との間に $r = 0.670$ という強い相関関係が認められたことを報告している。我々も今回、その関係を計算してみたが、同じように、ナイアシン当量摂取量・トリプトファン摂取量・ナイアシン当量摂取量とエネルギー摂取量との間に強い相関関係が認められた。また、ナイアシン当量供給食品は相変わらず、肉類(獣鳥肉と魚肉)で60%程度を占めており、米・小麦などの穀類から供給される割合が過去に行われた結果に比して少ないと予想していたが、ほとんど変化せず、25%を占めていた。

以上のことより、女子学生のエネルギー摂取

量は近年少なくなってきたことが明らかとなった。一方、タンパク質は必要量を摂取しているが、脂質をほとんど含まない米・小麦などの穀類を選択している食習慣が伺えた。また、タンパク質摂取量とトリプトファン摂取量との間に著しく高い相関関係が認められたことはいわゆる良質のタンパク質を含む食品を摂取していることを意味し、このことが最もナイアシン欠乏に陥りにくくさせている原因と考えられる。すなわち、トリプトファンからのナイアシンの供給経路は従来いわれていたような補助的な経路ではなく、主要な経路であることを主張したい。この転換経路は肝臓にのみ(一部の経路は腎臓に存在するがどの程度寄与しているかは不明である)存在するので、肝臓に障害のあるヒトは転換効率が低下しているものと予想される。そのような状態に陥った時には、ナイアシン自体の摂取量を増やすべきであると考えられる。

2. 食品群別摂取量

魚・獣肉類が主要な供給源である(図III-1)。



図III-1. 食品群別ナイアシン、トリプトファン、NE(ナイアシン当量)摂取量

所要量は6.3ナイアシン当量/1000 kcalである。この値以下の食品は、油脂食品を除けば、コーングリッツとコーンフレークのみである。一般的にいえば、油脂含量の高い食品の偏食はナイアシン欠乏を招く。しかし、生体はうまくできていて、不飽和脂肪酸の多量摂取は、ラット

の実験ではトリプトファン→ナイアシン転換率を高める。

ニコチン酸の形で摂取する量はきわめて少ない。一般的に動物性食品はニコチンアミドの形で、植物性食品はニコチン酸の形で存在している。

ニコチンアミドは動物性食品中に、ニコチン酸は植物性食品中に含まれている。両者ともに、生細胞内では補酵素型のNAD(P)として存在しているが、保存中に動物性食品ではNAD(P)→ニコチンアミド、植物性食品ではNAD(P)→ニコチンアミド→ニコチン酸の反応が起こるためである。動物性食品では脱アミノ反応は通常起こらない。しかし、動物性食品、例えば、牛肉中にニコチン酸が検出される場合があるが、これは意図的に添加されたか、あるいは非常に鮮度が低いために微生物が繁殖し、ニコチンアミド→ニコチン酸の反応が起こったのかのどちらかである。

3. 調理・加工処理における損失

ニコチン酸、ニコチンアミドは水、特に熱水にはきわめて溶解しやすいため、煮物料理をすると煮汁中に70%ものニコチン酸あるいはニコチンアミドが移行する。また、肉類を空揚げすると、20~40%程度のニコチンアミドが油中に移行する。

4. ナイアシンの主要な供給源となる食品の生物有効性

これから、検討することであるが、結合型ナイアシンの生物有効性をどのような方法で評価するかが問題である。ヒトの消化酵素の作用によって遊離型にならなければ、吸収されないことから、食品の食物繊維を定量する方法で、食品を処理した後、化学的な方法(遊離型しか測定されない)で定量を行えば、かなり生物有効性に近い値が得られるのではないかと考

えられる。

実際の生物有効性は、遊離型の合成物を摂取させた時と当該食品を摂取させた時の尿中に排泄されるナイアシン異化代謝産物量の比較から求められる。

IV. 必要量と過剰

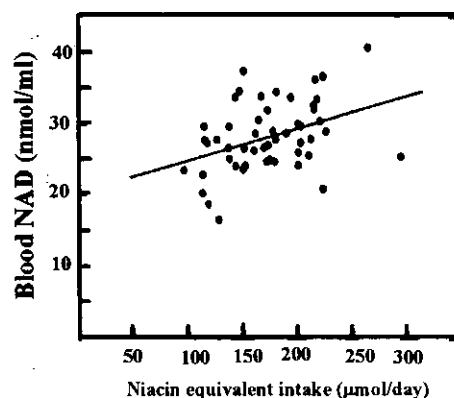
1. 平均必要量 (Estimated Average Requirement: EAR) を評価するための指標とEARに関する基礎的実験

1-1. EARを決めるための実験

柴田ら(K. Shibata, and H. Matsuo, Effects of gradually increasing levels of nicotinamide in a niacin-free and tryptophan-limited diet on the blood NAD levels and the urinary excretion of nicotinamide metabolites in rats. *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 1333-1336, 1989)が行ったラットを使用した実験結果を参考にすると、血液中のNAD値が飽和に達するまで、尿中に排泄されるナイアシン異化代謝産物であるMNA, 2-Py, 4-Pyはごくわずかであり、ナイアシン当量摂取量にはレスポンスしない。しかしながら、血液中のNADプールが飽和されると、これらの異化代謝産物はナイアシン当量摂取量に応じて尿中に排泄されてくる。したがって、EARを求めるには、血液中のNADを測定することが最も良い指標であると考えられる。同時に尿中に排泄されるこれらの異化代謝産物量を測定することも参考にはなる。現在の結論としては、EARを求めるには、血液中のNAD値と尿中のMNA, 2-Py, 4-Py値を測定することが必要であると考えられる。

過去の報告に、女子学生を被験者として自由食摂取時におけるナイアシン当量摂取量と血液中NADとの関係を調べたものがあるが、その結果は相関係数0.391で $p < 0.01$ で有意な相関関係があった(図IV-1)(K. Shibata, Blood

pyridine nucleotide levels reflect niacin equivalent intake in humans. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **3**, 37-45, 1987)。ナイアシン当量摂取量は 151 ± 64 (18.5 ± 7.5 mg) $\mu\text{mol/day}$ であり、NADの平均値は 34.7 ± 7.0 nmol/ml全血であった。血液中のNAD値が25 nmol/mlを与える時のナイアシン当量摂取量をEARとすると、 $100 \cdot \text{mol}(12.3 \text{ mg})/\text{day}$ となる。血液中のNAD値が22 nmol/mlを与える時のナイアシン当量摂取量をEARとすると、 $70 \mu\text{mol}$ (8.6 mg)/dayとなる。このときのエネルギー摂取量は2000 kcalであるので、前者をとれば6.2 mg/1000 kcalが、後者をとれば4.3 mg/1000 kcalがEARとなる。ただし、これらの値となる血液中NAD値がナイアシンの欠乏との関連がどのようになっているかは、現在では不明である。



図IV-1. ナイアシン当量摂取量と血液中のNAD含量との関係

EARではなく、適正摂取量(Adequate intake; AI)であるか否かを判断する材料としては、柴田ら(K. Shibata, H. Matsuo, Correlation between niacin equivalent intake and urinary excretion of its metabolites, *N*¹-methylnicotinamide, *N*¹-methyl-2-pyridone-5-carboxamide, and *N*¹-methyl-4-pyridone-3-carboxamide, in

humans consuming a self-selected food. *Am. J. Clin. Nutr.*, **50**, 114-119, 1989) (柴田克己, 松尾弘子, 女子学生にニコチンアミド投与後の血中NAD, NADP値並びにニコチンアミド異化代謝産物の尿中排泄量の変動. *ビタミン*, **64**, 301-306, 1989) (柴田克己, 小野寺学子, 島田俊一, 安田和人, ニコチンアミドを総合ビタミン剤として長期間投与時のニコチンアミド代謝の変動ならびにその有効性. *ビタミン*, **66**, 309-314, 1992) が調べた健常人のデータでは, ナイアシン当量摂取量の60%程度が尿中にMNA, 2-Py, 4-Pyとして排泄されていることから, この数値であれば, 対象者のナイアシン当量摂取量はAI以上であると判断できると考える.

一方, 米国・カナダでは下記に示すように, 1日尿中に排泄されるMNAが1 mgとなるナイアシン当量摂取量からEARを求めている. 日本の第六次改定でも基本的には同じと思われるが, 「ペラグラ症状が現れない程度のナイアシン欠乏食のナイアシン量や, 代謝産物であるN1-メチルニコチンアミドの尿中排泄量が増加する摂取量から, 成人のナイアシンの必要量は4.8 mg NE/1000 kcalと報告されているので (USDA: Dietary Reference Intake (1998) Niacin, P.6-1-17. National Academy Press, Washington, D.C.) という記載であり, 他国のデータをそのまま使用している.

そこで, 我が国でもEARを求めることができる実験を行うことが可能かという点, きわめて難しい. 実験方法としては, トリプトファンが第一制限アミノ酸となるような低タンパク食で(これによりトリプトファン由来のナイアシンをほとんど0とすることができる), ナイアシンを0とした食事を作成し, 順次ナイアシン含量を増やしていく食事を与える(一定のナイアシン量の食事を与え

る期間は少なくとも1週間は必要であり, 変化させるナイアシン量を4種類とすると総実験期間は4週間となる). 血液中のNAD含量が増加していき飽和値に達する. すると, 尿中のニコチンアミドの異化代謝産物のMNA, 2-Py, 4-Pyの排泄量がナイアシン摂取量に応じて増大しはじめる. ちなみに, ニコチンアミドそのものの排泄はごくわずかであり, 指標とならない. しかしながら, この種の実験をヒトを被験者として実施することは倫理面から困難である.

すると, 従来のように, 米国の成人を被験者としたデータを使用せざるを得ない.

- G. A. Goldsmith, H. P. Sarett, U. D. Register and J. Gibbens, *J. Clin. Invest.*, **31**, 533-543 (1952).

被験者; 25~54歳の白人女性

Corn diet; (2000 kcal. 低ナイアシン, 低トリプトファン食); 4.7 mgのナイアシンと180 mgのトリプトファンを含む = 7.7 mg. 3.85 mg/1000 kcal)

Wheat diet ; (通常食, 2000 kcal. 5.7 mgのナイアシンと230 mgのトリプトファンを含む = 9.5 mg. 4.8 mg/1000 kcal)

実験期間; 40~135日

尿中の測定項目: ナイアシン, MNA, 2-Py.

結果: Corn diet を投与し続けると, 50日目以降でペラグラの症状がみられた. 尿中の値では, MNAの排泄量は13 μmol (1.8 mg)/day程度から6.5 μmol (0.9 mg)/day程度の減少に留まっていたが, 2-Pyの排泄は15 μmol (2.5 mg)/day程度から検出限界以下となった. このような状態になっても, ニコチンアミドあるいはトリプトファンを適正量, Corn dietに補足した食事を与えることで急速にペラグラ症状は回復した.

一方, Corn dietに2 mgのニコチンアミドを

補足した食事を摂取させた被験者は122日間たってもペラグラの兆候は認められなかった(ナイアシン当量摂取量は, 9.7 mg /day, 4.9 mg/1000 kcal). また, Wheat dietを食べた被験者は95日間たってもペラグラの兆候は認められなかった.

これらの結果から, 7 mg/day (3.5 mg/1000 kcal)がナイアシンの最低必要量であるとしている.

- R. A. Jacob, M. E. Swendseid, P. W. McKee, C. S. Fu, and R. C. Clemens, Biochemical markers for assessment of niacin status in young men: Urinary and blood levels of niacin metabolites. *J. Nutr.*, **119**, 591-598 (1989).

被験者: 23~39歳の男性

食事:

Stabilization diet: 2500 kcal. 60 g of protein. 94 g of fat. 372 g of carbohydrate. ナイアシン当量, 19.6 mg. 7.8 mg当量/1000kcal

Low niacin diet: 2500 kcal. 57 g of protein, 57 g of fat, 398 g of carbohydrate. ナイアシン当量6.1 mg. 2.4 mg当量/1000 kcal.

実験期間: 11週間

結果: Stabilization dietを13日間投与すると, 11~13日後の尿中に排泄されたMNAは $21 \pm 3 \mu\text{mol}$ ($2.90 \pm 0.41 \text{ mg}$)/day, 2-Pyは $43 \pm 11 \mu\text{mol}$ ($7.21 \pm 1.86 \text{ mg}$)/dayであった. 2-Py/MNAは 2.07 ± 0.28 であった. その後, 続けてLow niacin dietに切り替えて36日間(実験開始日からでは49日)投与し続けると, これらの値は徐々に低下していき, 34~36日後(実験開始日からでは47~49日)では, MNAは $5.8 \pm 0.95 \mu\text{mol}$ ($0.80 \pm 0.13 \text{ mg}$)/day に, 2-Pyは $5.99 \pm 1.62 \mu\text{mol}$ ($1.00 \pm 0.05 \text{ mg}$)/day に低下した. 2-Py/MNAは 1.21 ± 0.27 と低下し

た. 一方, その後, 続けてニコチンアミドを補足したLow niacin diet(ナイアシン当量摂取量は 10.1 mg)に切り替えて36日間(実験開始日からでは49日)投与し続けると, これらの値は徐々に低下していき, 34~36日後(実験開始日からでは47~49日)では, MNAは $5.9 \pm 1.02 \cdot \text{mol}$ ($0.81 \pm 0.14 \text{ mg}$)/day に, 2-Pyは $18.56 \pm 4.25 \mu\text{mol}$ ($3.10 \pm 0.71 \text{ mg}$)/dayに低下した. したがって, 2-Py/MNAは 4.02 ± 1.20 と低下した. これ以前の論文は2-Py/MNAはナイアシン欠乏になると1以下の数値を示し, ナイアシン栄養の良い指標としているが, これらのデータから, 著者らは, 2-Py/MNAはナイアシン栄養の指標とはならないと結論している. 柴田らは 4-Pyも測定できるため, (2-Py+4-Py)/MNAとしているが, この値は決してナイアシン栄養の改善によって変動する値ではなく, タンパク質栄養の改善にもなってMNA→2-Pyおよび4-Pyの反応を触媒する酵素MNA oxidase活性が高くなるためであることをラットを用いて明らかにしている. すなわち, タンパク質栄養の指標として利用できると報告している. 10.1 mg ナイアシン当量摂取量の食事は4 mg/1000 kcalである. この量では, ナイアシン異化代謝産物量をICNNDガイドラインで示された欠乏と判断される尿中MNA排泄量である $5.8 \mu\text{mol}$ (0.8 mg)/dayと同じであった.

- National Academy Pressから発行された「Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic acid, Biotin, and Choline」

によれば, 成人男子のナイアシンのEARは尿中のMNAの値が 1 mg/day ($7.3 \mu\text{mol}/\text{day}$)となるナイアシン当量摂取量を求め, その値をEARとしている. すなわち, Goldsmithら (1952

年と1955年), Horwittら(1956年), Jacobら(1989年)の実験データから, 1 mgの尿中MNAを排泄させるナイアシン当量摂取量は, 11.6 ± 3.9 mg(変動係数は34%)と計算した. その時のエネルギー摂取量が2500 kcalであるので, 4.8 mg/1000 kcalとなる. 平滑化して, 12 mg/dayが成人男子のEARとしている. 成人女子は, 10%減の11 mg/dayをEARとしている. そして, EARの変動係数が34%であったことから, 男子のRDAを16 mgナイアシン当量, 女子のRDAを14 mgナイアシン当量としている.

幼児, 青年を用いたEARを推定できる実験データがないので, $EAR_{child} = EAR_{adult} (F)$ から計算により求めた. $F = (Weight_{child}/Weight_{adult})^{0.75}$ である.

妊婦に関しては, トリプトファンからのナイアシン生合成能力が, 妊娠後期において, 約2倍に上昇しているというデータがある(A. W. Wertz, M. E. Lojkin, B. S. Bouchard, and M. B. Derby, *Tryptophan-niacin relationships in pregnancy. J. Nutr.*, **64**, 339-353, 1958), 今回の米国・カナダのRDIsには触れられていない. この論文では, DL-トリプトファンを妊娠後期の女性に投与した時と分娩後の女性に投与した時との比較から, 妊娠後期において2倍に上昇していたとしている. なお, 彼らは, D-トリプトファンはヒトにおいては利用されないと考えている. ラットのデータではD-トリプトファンもL-体と同等にナイアシン前駆体として利用されることが報告されている(K. Shibata, M. Sawabe, T. Fukuwatari, and E. Sugimoto. *Effects of D-tryptophan as niacin in rats. Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 206-209, 2000). したがって, L-トリプトファンを使用して妊婦での転換率を調べる実験が必要である.

授乳中にナイアシンの必要量が増加するか

否かに関するデータはない.

妊娠・授乳中におけるトリプトファン-ナイアシン代謝の変動を明らかにすることは, ビタミン体として摂取するナイアシン量を定める上で重要である.

2. 必要とする要因

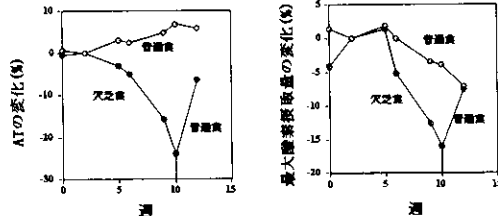
今世紀初頭にはじまる近代栄養学の進歩により, 多くの病気が適切な食品の摂取により予防あるいは治療できることが見いだされた. その中で, ビタミンと呼ばれる栄養素群はきわめて微量で顕著な治療効果があったため, 多くのヒトはビタミンに対して魔法のくすりのような認識を持ち, 健康の維持・増進に必要なものとして, さらにパフォーマンスの向上をはかるために, 食品からよりも"Supplements"として補給するものと信じ込んでいる.

日本でも, ビタミン剤を"Supplements"として, 摂取することがブームとなっている. 特に, スポーツ選手の間では, 一般大衆の間で広まるよりも前から, ビタミン剤が広く用いられている. 例えば, 一流選手の50~80%はビタミンの補足をしているといわれている. また, コーチの約70%はビタミンの補足を進めている.

その理由は, (1)運動・スポーツ時のエネルギー消費に伴う代謝亢進によるビタミンの消費量の増大をまかなうため, (2)運動・スポーツ時の発汗によって失われるビタミンを補給するため, (3)疲労耐性を高めるため, (4)疲労回復を早めるため, (5)体力・競技力の向上をはかるため, などである.

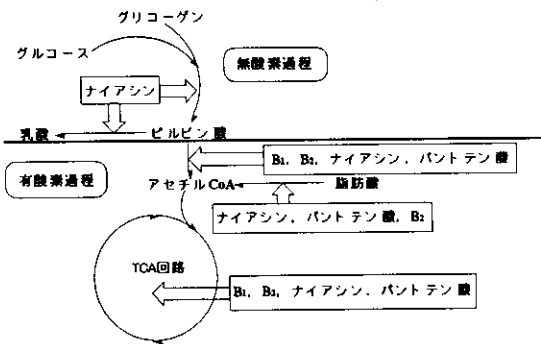
フォン・デル・ビーク(Van der Beek)らはビタミンB群とCを欠乏させた食事を摂取させた時に, AT値と最大酸素摂取量がどのように変化するかを2重盲検法で検討した(図IV-2). 8週間にわたる欠乏食投与の結果, AT値及び最大酸素摂取量は徐々に低下し, 8週間の時

点ではAT値は16%, 最大酸素摂取量は24%も低下した。また, その後2週間のビタミンの補給により, 回復することも示した。この実験結果は, そもそも良好な栄養状態が高い体力, 高い運動能力の基盤であることを示している。



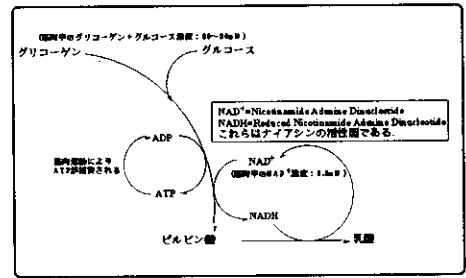
図IV-2. ビタミンB1, B2, B6及びVC欠乏及び再補給に伴うAT (Anaerobic Threshold; 血中乳酸値が4mmol/lの点)及び最大酸素摂取量の変化 (2週目の値を基準にして, 変化分を%で表した)
Van der Beek et al., Int. J. Sports Med., 5, Suppl., 28-31 (1984).

図IV-3は筋肉でのエネルギー産生系とビタミンとの関係を示したものである。



図IV-3. 筋肉でのエネルギー産生系とビタミンとの関係

この図の上のグリコーゲンあるいはグルコースからピルビン酸をへて乳酸が生成する過程は無酸素過程でも反応が進行し, ATPを作ることができる。この過程に必要なビタミンはナイアシンである。従って, 嫌気的なエネルギー産生経路ではナイアシンが重要な役割を果たしている。もう少し, 図IV-3の無酸素過程を詳しく書くと, 図IV-4のようになる。



図IV-4. 無酸素状態での筋肉細胞でのATP産生系とNAD⁺(ナイアシン)の重要性

この図はグルコースもしくはグリコーゲンから乳酸ができる経路でナイアシンの補酵素型であるNAD⁺が関与する反応系とATPが関与する反応を強調して書いたものである。グリコーゲンは非常に枝分かれをしているので, 多くの非還元末端から, ホスホリラーゼの作用によってグルコース単位が加リン酸分解され, グルコース1-リン酸として切り出される。このグルコース1-リン酸はATPを産生するために代謝される。一方, グルコースからATPを産生する場合にはまず, ATPが消費され, グルコース6-リン酸が生成する。従って, グリコーゲンからの方がグルコースからよりもエネルギー効率は高い。もう一つATPが使われる反応があり, それはフルクトース6-リン酸がフルクトース1,6-ビスリン酸となる時である。そして, グルセルアルデヒド3-リン酸から1,3-ジホスホグリセリン酸になる時にNAD⁺がNADHに還元される。ATPの産生は1,3-ジホスホグリセリン酸から3-ホスホグリセリン酸となる時とホスホエノールピルビン酸がピルビン酸となる時に産生される。産生されたATPは筋肉運動に利用され, ATP→ADPの反応が起き, サイクルが形成される。グリコーゲンからピルビン酸がどんどんできるとNAD⁺もどんどん使用され, NADHとなる。このNADHを

元に戻すには通常酸素を利用するが、嫌気的な状態では、筋肉細胞はピルビン酸を乳酸にすることで、NADHをNAD⁺に戻し、グリコーゲンからピルビン酸を生成してATPの産生を続ける。筋肉内には1.5%程度のグリコーゲンが貯蔵されている。これをモル濃度に換算すると、筋肉細胞には80 mM程度貯蔵されていることになる。一方、筋肉細胞内のNAD⁺濃度は0.6 mM程度である。グルコース1分子に対して、2分子のNAD⁺が必要であるので、グルコース・グリコーゲンの方が、NAD⁺の300倍も多く存在していることになる。従って、この反応の律速物質はNAD⁺である。すなわち、無酸素運動には特に、ナイアシン量が重要である。

図IV-3の下の部分の代謝経路は有酸素過程で、酸素の供給がないと進まない。脂肪酸からアセチルCoAができる反応はβ酸化経路と呼ばれるが、この代謝系にもナイアシン、パントテン酸、ビタミンB₂が関与している。なお、グルコースあるいはグリコーゲンから生成したピルビン酸も好気的な状態では、解糖系で生成したNADHをNAD⁺に戻す必要はないので乳酸に代謝されず、アセチルCoAとなってTCA回路で完全に分解され、多くのATPを産生する。この過程に必要なビタミンはB₁、B₂、ナイアシン、パントテン酸である。

従って、有酸素運動量の多いときには平時に比べてかなり多くのB₁、B₂、ナイアシン、パントテン酸が消費される。

発汗によってどの程度ビタミンが失われているか。表IV-1に、汗100 ml中に漏れでてくるビタミン量を示した。これらの量は1日必要量、すなわち概ね1日摂取量に対して、B₁で0.05%、B₂で0.03%、ナイアシンで0.05%、B₆で0.02%、パントテン酸で0.11%、葉酸で0.22%、Cで0.12%である。汗の量は1日何もせずじっと

している状態で300~500 ml、1日作業を続けるとすると、2~3リットル出る。従って、運動をすることによって1日に汗を3リットル出したとしても、ビタミンの損失は問題にはならない。つまり、汗によるビタミンの損失は気にすることはない。なお、脂溶性ビタミンであるA、D、E、Kが汗中に漏れでることはない。

表IV-1. 汗中に排泄されるビタミン量

ビタミン	含量(・g/100 ml)	必要量(・g/day)	必要量に対する%
B1	0.6	1,200	0.05
B2	0.5	1,300	0.04
ナイアシン	8.7	17,000	0.05
B6	0.17	1,600	0.01
パントテン酸	7.7	5,000	0.02
葉酸	0.88	200	0.44
C	60	100,000	0.06

スポーツマンは激しい運動をすることから、一般人よりも疲労物質が多く蓄積する。そのため疲労回復が遅くなりがちになる。疲労物質が何かはまだ明らかではないが、その候補物質として、乳酸とケトン体が上げられている。図IV-5は乳酸及びケトン体がどのようにして消去されるかの概略を示したものである。運動中に筋肉で生成した乳酸は血液を介して、肝臓、腎臓に運ばれ、再び糖新生作用でグルコースに作り直されて、血糖として放出される。この乳酸からグルコースができるには、ナイアシンとビオチンが関与している。

脂肪酸をエネルギー源として使用すると、一部がケトン体となる。このケトン体も血管を介して肝臓などに運ばれ、そこでエネルギー源として利用される。また、一部は脂肪酸に再合成される。ケトン体が代謝されるにはパントテン酸、ナイアシン、B₁、B₂、ビオチンが必要である。

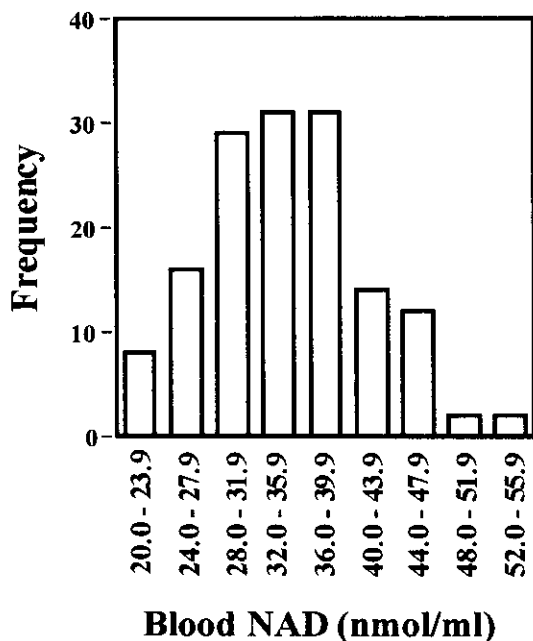
スポーツマンは、一般人よりも極度の緊張を経験することが多く、神経疲労の回復にも特に注意を払う必要がある。

が作動しはじめ、すなわち、Nicotinamidase活性とニコチヌル酸合成酵素活性が検出されるようになり、尿中にニコチン酸とニコチヌル酸を排泄する。通常は、これらの酸は検出されないし、体内にも検出されない。さらに、(2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比が低下してくる。これは、MNA oxidase活性が過剰摂取により低下してくるためである。これらを指標にすれば、とりあえず、ナイアシンが過剰であるか否かを判定できる。将来的には、これらの反応を触媒する酵素のmRNAの発現量を測定する方法を開発すれば、処理能力が飛躍的に上がる。

V. 健常人の濃度

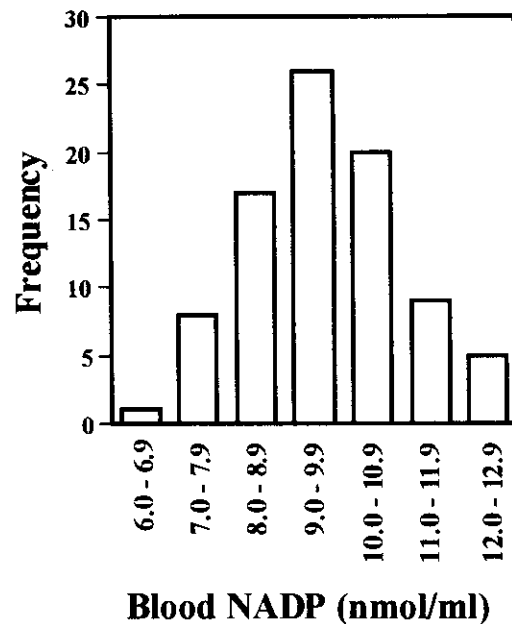
1. 血液(全血1 ml当たり, 血清1 ml当たりのビタミン体含量, 補酵素含量)

自由な食事をしているときの女子学生145名の全血1 ml当たりのNAD (NAD⁺ + NADH)含量の度数分布図を図V-1に示した。



図V-1. NAD (NAD⁺ + NADH)含量の度数分布図

平均値±SDは34.7±7.0 nmol/mlであった。図V-2に自由な食事をしている時の女子学生86名のNADP (NADP⁺ + NADPH)含量の度数分布図を示した。



図V-2. NADP (NADP⁺ + NADPH)含量の度数分布図

全血1 ml当たりの平均値±SD は10.2±2.4 nmol であった。

血清1 ml当たりのNAD含量は9.3 ± 2.2 nmol (n = 22), NADPは0.6±0.2 (n = 22) nmolであった。

女子学生の全血1 ml当たりに含まれるニコチンアミドおよびその関連化合物含量を測定した結果がある。その結果によれば、ヒトの全血1 ml中には総ニコチンアミドとして、61.8 ± 5.9 nmol (平均値 ± SD, n= 19), NADが30.4 ± 2.3 nmol, NADPが10.7 ± 0.8 nmol, 遊離ニコチンアミドが20.7 ± 6.0 nmol 含まれていた。MNA, 2-Pyおよび4-Pyは検

出限界以下あるいは、痕跡程度であった。

自由摂取をさせた女子学生8名を被験者として、ニコチンアミドを服用させた時の血液中のNADとNADP含量が増大するという報告がある。表V-1に示したように、服用前の値はNADが 30.8 ± 3.1 nmol/ml(平均値 \pm SD, $n = 8$)、NADPが 12.2 ± 1.1 nmol/mlであったが、朝食後に50 mgのニコチンアミドを、昼食後にニコチンアミドを服用させ、その後2時間後に採血して測定した結果、NAD含量は 51.8 ± 4.9 nmolとなり、有意に増大した。一方、NADP含量は 10.8 ± 0.6 nmolであり、全く増大しなかった。すなわち、血液中のNADは通常の食事摂取由来程度の量では飽和していなかった。一方、NADP値はニコチンアミドを服用しても全く変動せず、飽和していると思われた。ラットでも、血液中のNAD含量は飼料中のナイアシン含量に応じて変動するが、NADP含量は変動しない。つまり、血液中のNADP含量は、かなりきっちりと調節されている。

表V-1. ニコチンアミド投与による血中NADおよびNADP値の変動

名前	NAD		NADP	
	(前)	(後)	(前)	(後)
H.M.	33.2	51.5	13.3	10.8
A.K.	34.6	50.5	12.7	11.1
C.H.	29.4	52.6	10.4	10.1
Y.M.	33.1	52.3	12.6	10.8
M.M.	25.0	48.8	11.0	10.4
Y.T.	31.9	47.5	13.1	12.1
S.M.	29.0	48.4	13.3	10.5
M.S.	30.4	62.9	11.5	10.9
平均値	30.8	51.8	12.2	10.8
±	±	±	±	±
SD	3.1	4.9	1.1	0.6

値は nmol/ml 全血で示した。

「前」は、何も処置をせずに、昼食2時間後に、採血した時の値を、「後」は、50mgのNiA-NH₂を朝食及び昼食後服用させ2回目の服用2時間後に、採血した値を示す。

2. 尿(1日尿当たりの排泄量, 1 μ molク

シアチニン当たりの排泄量)

ヒトにおいては、尿中にニコチンアミドおよびニコチン酸はほとんど排泄されず、異化代謝産物のMNA, 2-Pyおよび4-Pyが排泄される。他の哺乳動物で報告されている異化代謝産物の排泄量は検出限界あるいは痕跡適度である。したがって、ヒトでは、MNA, 2-Pyおよび4-Pyを測定すれば、生体全体のナイアシン代謝を知ることができる。ニコチンアミドが若干量尿中に排泄されるが、この量は不可避ニコチンアミド量ともいべきもので、ナイアシン栄養を全く反映していない。

表V-2に食事を自由摂取させた時の女子学生の1日尿中に排泄されるMNA, 2-Py, 4-Py, 及びそれらの値から計算された値をまとめて示した。ナイアシン当量摂取量の平均値は $168.5 \cdot \text{mol}$, すなわち20.55 mgであり、3つの異化代謝産物の合計排泄量の平均値は98 μ mol, すなわちニコチンアミドとして11.96 mgであった。したがって、摂取したナイアシン当量の58%が尿中に排泄されていた。(2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比の平均値は2.4, 2-Py/4-Py排泄量比の平均値は8.6であった。

表V-2. 食事を自由摂取させた時の女子学生の1日尿中に排泄されるMNA, 2-Py, 4-Py, 及びそれらの値から計算された値

Compounds	Values
NE intake (μ mol/d)	168.5 ± 43.6 (78.1-293.4)
Creatinine (mmol/d)	8.7 ± 1.8 (5.8-14.7)
MNA (μ mol/d)	31.1 ± 12.3 (11.9-66.9)
(μ mol/mmol creatinine)	3.7 ± 1.4 (1.1-8.0)
2-py (μ mol/d)	59.8 ± 26.5 (18.0-136.3)
(μ mol/mmol creatinine)	7.0 ± 3.0 (1.9-14.4)
4-py (μ mol/d)	7.1 ± 3.3 (2.4-15.8)
(μ mol/mmol creatinine)	0.8 ± 0.4 (0.3-1.7)
Excretion ratio of 2-py plus 4-py to MNA	2.4 ± 0.7 (0.6-4.3)
Excretion ratio of 2-py to 4-py	8.6 ± 1.3 (3.9-14.7)

* $\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 84$. The numbers in parentheses are the minimum to maximum values. NE, niacin equivalent; MNA, N-methylnicotinamide; 2-py, N-methyl-2-pyridone-5-carboxamide; and 4-py, N-methyl-4-pyridone-3-carboxamide.

ラットでは、(2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比は

ナイアシンの摂取量に応じて変動しない。ラットにおいては、一般的に飼料組成が好ましくない組成になると(2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比は低下したが、最も鋭敏に低下したのは飼料の amino 酸栄養価であった。すなわち、(2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比はタンパク質栄養の指標として栄養できる。例えば、20%カゼイン食では、この排泄量比は10程度の値を示すが、10%カゼイン食では1程度にまで低下する。この原因は、タンパク質栄養が悪くなると肝臓のMNA oxidase活性が著しく低下するために、MNA→2-PyおよびMNA→4-Py反応が阻害され、MNAの段階で反応が止まるためである。

ペラグラ患者ではこの排泄量比が1以下になることが報告されている。ヒトにおける実験で、実験食から一つの必須アミノ酸を除去したものを与えると、MNA排泄量が完全食投与時と比較して顕著に増大することが報告されているので、ヒトでもラットと同様な機構で(2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比が低下するものと思われる。

表V-3にナイアシン当量摂取量と尿中に排泄されるMNA, 2-Py, 4-Py, (2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比との相関関係を調べた結果を示した。相関関係はナイアシン当量摂取量とMNAとの間では非常に弱かったが、2-Pyと4-Pyとの間には $r = 0.5$ 程度の相関係数で有意な関係が認められた。これは、2-Py及び4-Pyを1日尿当たりで表した時でも、クレアチニン当たりで表した時でも同じであった。(2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比との関係は有意ではあったが、2-Py及び4-Pyとの関係よりも低い関係であった。したがって、尿中の値では2-Pyおよび4-Pyを測定することが、ナイアシン当量摂取量の指標となる。ちなみに2-Pyと4-PyはHPLCを用いて同時定量できる。

表V-3. ナイアシン当量摂取量と尿中に排泄されるMNA, 2-Py, 4-Py, (2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比との相関関係

x	y	Regression line	r	p
NE intake (μmol/d)	MNA (μmol/d)	$y = 0.965 \pm 0.661x + 120.196 \pm 0.665$	0.229	<0.05
NE intake (μmol/d)	2-py (μmol/d)	$y = 0.177 \pm 0.412x + 13.690 \pm 0.457$	0.495	<0.001
NE intake (μmol/d)	4-py (μmol/d)	$y = 0.039 \pm 0.044x + 0.528 \pm 0.451$	0.529	<0.001
NE intake (μmol/d)	MNA (μmol/mmol creatinine)	$y = 0.902 \pm 0.019x + 3.675 \pm 0.043$	0.023	>5
NE intake (μmol/d)	2-py (μmol/mmol creatinine)	$y = 0.030 \pm 0.013x + 0.008 \pm 0.234$	0.458	<0.001
NE intake (μmol/d)	4-py (μmol/mmol creatinine)	$y = 0.004 \pm 0.002x + 0.092 \pm 0.273$	0.515	<0.001
NE intake (μmol/d)	Ratio of 2-py plus 4-py to MNA	$y = 0.006 \pm 0.004x + 0.188 \pm 0.014$	0.368	<0.01

* n = 34. See Table 1 legend for explanation of abbreviations.

自由摂取時の女子学生にニコチンアミドを朝食後50 mg, 昼食後50 mg, 夕食後50 mg服用させると、服用前と比較して顕著にMNA, 2-Py, 4-Py排泄量は増大した(表V-4)。服用した量が150 mg (1230 mmol), 尿中に排泄された量が776.2 mmol (863.3 - 87.1)であった。したがって、服用したニコチンアミドの63%が尿中に排泄されたことになる。ちなみに、ニコチンアミドを150 mg服用させても尿中にはニコチンアミドは排泄されなかった。つまり、体内で異化代謝を受けたニコチンアミドのみがMNA, 2-Pyあるいは4-Pyとして尿中に排泄されていることがわかった。2-Py/4-Py比はニコチンアミドを服用させても変動は見られなかったが、(2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比は有意に高くなった。ニコチンアミドの服用で栄養状態が改善されたのか、とも考えられる。

表V-4. ニコチンアミドを服用前後の尿中に排泄されるMNA, 2-Py, 4-Py量

年齢	MNA		2-Pyr		4-Pyr		Total*		2-Pyr/4-Pyr		(2-Pyr+4-Pyr)/MNA	
	(前)	(後)	(前)	(後)	(前)	(後)	(前)	(後)	(前)	(後)	(前)	(後)
H.M.	37.2	184.8	55.3	631.3	7.4	95.9	99.9	901.8	7.47	6.48	1.69	3.89
A.K.	36.6	191.5	59.9	517.3	8.6	57.2	105.1	768.1	6.97	9.04	1.87	3.00
C.II.	28.0	199.3	49.3	518.7	5.3	61.8	82.8	774.6	8.96	8.84	1.96	2.89
Y.M.	40.4	189.0	46.5	580.5	6.1	74.8	93.6	824.3	7.62	7.76	1.30	3.88
M.M.	16.2	190.1	40.7	523.2	6.2	110.4	62.1	889.7	6.50	5.37	0.99	3.70
Y.T.	27.0	251.1	45.7	596.8	6.5	82.4	79.2	880.3	7.03	6.88	1.93	2.81
S.M.	40.3	273.6	77.2	686.1	11.3	92.6	128.8	1052.3	5.83	7.41	2.20	2.65
M.S.	21.7	245.1	21.7	502.4	2.7	65.8	46.3	813.3	8.04	7.64	1.12	2.32
平均値	39.8	219.0	49.5	572.7	6.8	80.1	87.1	862.3	7.44	7.37	1.90	3.17
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
SD	9.3	35.6	15.0	82.4	2.6	18.6	25.8	92.4	0.78	1.13	0.60	0.56

※尿中の値は μmol/l 日尿で示した。

* MNAは2-Py+4-Py

「前」は 何も服用せず1日尿を集め、MNA, 2-Py, 及び 4-Py 排泄量を測定した。

「後」は 90 mg の Niacin₂ を朝晩食、昼食後及び夕食後の計3回服用させた時の1日尿を集め、MNA, 2-Py, 及び 4-Py 排泄量を測定した。

ヒトは150 mg程度のニコチンアミドを摂取した方がよいのかと思われた。

そこで、21名の男子学生を被験者として、7名ずつ3群にわけ、ビタミン負荷実験を40週間にわたって行った。I群には毎朝1回朝食後、総合ビタミン剤(組成は表V-5)を4錠(常用量の2倍でニコチンアミドを150 mg含む)、II群には同剤を2錠(常用量でニコチンアミドを75 mg含む)とプラセボを2錠、III群にはプラセボを4錠服用させた。実験期間中の食事は各自自由に摂取させた。定期的に1日尿を集め、MNA、2-Py及び4-Pyを測定した。ちなみに、ニコチンアミドの排泄はすべての群において、検出限界以下であった。

表V-5. 総合ビタミン剤の組成(1錠当たり)

バルミチン酸レチノール	1,000 U (ビタミンA)
エルゴカルシフェロール	100 IU
フルスルチアミン塩酸塩	5.45 mg
リボフラビン	3.5 mg
塩酸ピリドキシン	4.5 mg
ニコチン酸アミド	37.5 mg
シアノコバラミン	6.5 µg
アスコルビン酸	125 mg
酢酸トコフェロール	5 mg
パントテン酸カルシウム	15 mg
沈降性炭酸カルシウム	40.75 mg
無水リン酸水素カルシウム	42.5 mg
炭酸マグネシウム	60.1 mg

I群の服用前の1日尿当たりのMNA、2-Py及び4-Pyの排泄量の平均値±SDは、36.5 ± 13.8 µmol, 48.4 ± 14.9 µmol, 7.6 ± 2.1 µmolであった。服用を開始すると、直ちにこれらの値は顕著に増大したが、服用期間による際は一元配置の分散分析によれば有意ではなかった。服用期間中の各値の平均値はMNAが338.6 µmol, 2-Pyが402.2 µmol, 4-Pyが57.0 µmolであった。服用を40週間行い、服用中止1週間後の尿中の値を測定したが、すべて服

用前の値に戻っていた。このビタミンに含まれているニコチンアミドの量は150 mg (1230 µmol)である。服用に増大した量は705.3 µmolである。この量は服用したニコチンアミドの58%に相当する。2-Py/4-Py (7-8) 及び(2-Py + 4-Py/MNA排泄量比(約2)は服用によって変動しなかった。

II群の服用前の1日尿当たりのMNA、2-Py及び4-Pyの排泄量の平均値±SDは、39.7 ± 22.5 µmol, 48.8 ± 28.8 µmol, 7.7 ± 5.6 µmolであった。

I群と同様に、服用を開始すると、直ちにこれらの値は顕著に増大したが、服用期間による際は一元配置の分散分析によれば有意ではなかった。服用期間中の各値の平均値はMNAが175.8 µmol, 2-Pyが225.9 µmol, 4-Pyが31.8 µmolであった。服用を40週間行い、服用中止1週間後の尿中の値を測定したが、すべて服用前の値に戻っていた。このビタミンに含まれているニコチンアミドの量は75 mg (615 µmol)である。服用に増大した量は337.3 µmolである。この量は服用したニコチンアミドの55%に相当する。2-Py/4-Py及び(2-Py + 4-Py/MNA排泄量比は服用によって変動しなかった。

III群はプラセボ群である。これらの値は実験期間を通じてほぼ一定に維持され、季節による変動は認められなかった。全期間にわたる平均値±SD値は、1日尿当たりで、MNAが47.6 ± 16.1 µmol, 2-Pyが61.6 ± 26.2 µmol, 4-Pyが8.8 ± 4.0 µmolであった。2-Py/4-Py及び(2-Py + 4-Py/MNA排泄量比も実験期間中一定に維持された。

尿中に排泄されるニコチンアミドがナイアシン栄養の指標とならないことは、Millerら、Moyerらも述べている。

3. 糞中の排泄量(1日当たりの排泄量)

測定結果を報告する論文はなかったので、平成14年度に実施する。

VI. 適正量を摂取するには

1. 多く含む食品

後述の「日本人の水溶性ビタミンの摂取量調査」を参照。

2. 生物利用効率の高い食品

データなし。実生活上の各水溶性ビタミンの給源となる食品を平成13年度の調査により特定できた(後述)ので、平成14年度にこれらの食品の生物有効性を調べる。

3. 利用を阻害する化合物を含む食品

データはないが、このデータを必要とする緊急性は低いと判断したので、本研究期間では実施しない。

VII. 食事摂取基準の案

1. 基本的な考え方

ナイアシンはトリプトファンからも合成されるため、所要量はナイアシン当量という値で示されている。トリプトファン→ナイアシン変換量は種々の条件で変わるが、現在のところトリプトファン60mgからナイアシン1mgが生成するとされている。食品中のニコチン酸、ニコチンアミドおよびトリプトファンの三者の効力をあわせて判断するために、ナイアシン当量という概念が用いられている。ナイアシン当量(mg) = ニコチン酸(mg) + ニコチンアミド(mg) + 1/60トリプトファン(mg)。ニコチン酸、ニコチンアミドの生体内での最も大きな役割はエネルギー産生反応に関わることである。例えば、グルコース1分子が6分子の水と6分子の二酸化炭素に分解されて38分子のATPを産生する一連の反応に10分子のNADが使われている。NADはグルコースと異なり、再生されて何度も使われるが(もしNADが再生されないと仮定すると、1日に摂取される300gのグルコースを処理するにはなんと

2100gものナイアシン当量を摂取しなければならなくなる)、その間にどうしても損失が生じる。1000kcal当たり4.4mg当量以上ではナイアシン欠乏の発症がみられないということから、損失もこの程度であろう。また、1000kcalあたり5.5mg当量でニコチンアミド代謝産物(MNA, 2-Py, 4-Py)の尿中排泄量が急激に増大する(いわゆる飽和量を示す)。

1-1. ナイアシン活性

ナイアシンの生理機能は、生体内で補酵素NAD(NAD⁺, NADH, NADP⁺, およびNADPHの総称として使用する)となり発揮されるので、NADの前駆体となりうる化合物をナイアシン活性を有する化合物という。代表的な化合物がニコチン酸とニコチンアミドである。この両者を合わせた総称名としてナイアシンという名前が使用される。

ナイアシン活性はニコチン酸およびニコチンアミドより低い。アミノ酸のトリプトファンもナイアシン活性を有する。

1-2. トリプトファン→ナイアシン転換率

ニコチン酸およびニコチンアミドは直接NAD生合成のために利用されるが、トリプトファンはタンパク質合成など他の目的のためにも利用される。そこで、トリプトファンからどの程度の比率でナイアシンが生合成されているかを示す表現としてトリプトファン→ナイアシン転換率という言葉が使用される。この転換率は、{1日尿中に排泄されたナイアシンおよびナイアシン代謝産物の含量(モル) × 100} ÷ {採尿日に摂取したトリプトファン量(モル)}から計算される(この転換率を測定する場合は、実験食からナイアシンを除去することが必要となる)。そして、この転換率から、トリプトファン60 mgがナイアシン1 mgに相当するという数値が導き出される。

トリプトファン→ナイアシン転換率は、女性ホルモン投与などの生理条件や、脂質の種類・摂取量、タンパク質の種類・摂取量、ビタミンB₂・B₆などの食事条件で変化することが動物実験で明らかにされている。しかし、人においてはまだ明確ではないので明らかにする。

1-3. ナイアシン当量 (niacin equivalent = NE)

トリプトファンからナイアシンへの転換率は1/60と低い(この数値が本研究の進展により、変わる可能性があるが、とりあえずこの数値を使用して計算する)摂取するトリプトファン量が多いため、NADの前駆体として無視することはできない。そこで、ナイアシン当量(通常NEと略記されることが多い)という概念が生まれた。

1 ナイアシン当量とは1 mgのニコチン酸、1 mgのニコチンアミドあるいは60 mgのトリプトファンである。従って、食品中のナイアシン当量(NE)は、

$$NE = \text{ニコチン酸(mg)} + \text{ニコチンアミド(mg)} + \{1/60 \times \text{トリプトファン(mg)}\}$$

から算出される。日本食品標準成分表に記載されている「ナイアシン」の項はニコチン酸とニコチンアミドの合計量、すなわちナイアシン量が記載されている。従って、ナイアシン当量を計算するには、その食品のトリプトファン含量(単位をmgにすること)に1/60を掛けた数値を足さなければならない。式で示せば、以下の様になる。

$$NE = \text{食品成分表のナイアシンの値} + \{1/60 \times \text{トリプトファン(mg)}\}$$

なお、ナイアシン当量算出の簡便方法として以下の計算式を使用しても、一般的には上記の式で得られた数値と大差はない。

$$NE = \text{食品成分表のナイアシンの値} + \{0.2 \times \text{タンパク質摂取量(g)}\}$$

この式が成り立つ根拠は以下の通りである。

- ①一般的に動物性タンパク質は約1.4%、植物性タンパク質は約1.0%のトリプトファンを含む。
- ②現在の日本人の平均的な摂取タンパク質の給源は動物性と植物性がほぼ1:1である。
- ③従って、摂取タンパク質1 gの中の1.2%がトリプトファンである。その中の1/60がナイアシンに変換される。
- ④式を立てると、 $1 \text{ (g)} \times 0.012 \times 1/60 = 0.0002 \text{ (g)} = 0.2 \text{ (mg)}$ となる。すなわち、1 gのタンパク質から0.2 mgのナイアシンが体内で作り出されることになる。言い換えれば、5 gのタンパク質は1 mgのナイアシンに相当することになる。

2. 必要量

2-1. 乳幼児

母乳中のトリプトファン含量は泌乳の時期によって異なり、多くの分析値が報告されているが、概ね21 mg/100g(22 mg/100 ml)である。母乳100 g中のナイアシン量を0.2 mg程度である、エネルギーを65 kcalとすると、8.5ナイアシン当量/1000 kcalとなる。但し、トリプトファン→ナイアシン転換効率を重量比で1/60と仮定した場合である。しかし、幼若ラットを用いた実験結果では、トリプトファンからナイアシンへの転換はきわめて少なく、ヒトにおいても乳幼児においてどれだけトリプトファンからナイアシンが合成されているかを示すデータはない。平成14年度に、採取してある母乳を用いて、乳中の水溶性ビタミン含量を測定する。

トリプトファン→ナイアシン転換率をどのようにするかは学問上興味のあることであるが、現実に乳児にナイアシン欠乏が現れておらず、乳の中にはこの転換率に関係なく、トリプトファンが含まれおり、この値から調整粉乳も作成されているので、乳児におけるトリプトファン→ナイ

アシン転換率を求める実験は緊急を要する項目ではない。

2-2. 小児

成人の値から体重換算によって設定されている数値の根拠を、平成14・15年度で検討し直す。

2-3. 青少年

成人の値から体重換算によって設定されている数値の根拠を、平成14・15年度で検討し直す。

2-4. 成人

ナイアシン摂取量(ニコチン酸(mg) + ニコチンアミド(mg))と**ナイアシン当量摂取量**(ニコチン酸(mg) + ニコチンアミド(mg) + 1/60トリプトファン(mg))を明確に区別し、**ナイアシン必要量ではなく、ナイアシン当量必要量とする。**

成人の最小必要量は4.4 ナイアシン当量/1000 kcal(これを確かめる必要があるがヒトを被験者として欠乏実験を行うことはできないため、発表された論文を現在の知識でもって精読し、検討を加えることにより、精度を高める)、尿中にナイアシンおよびナイアシン代謝産物の排泄量が増加しはじめる飽和量として5.5 ナイアシン当量/1000 kcalとし、これに20%の安全率を加えて、**6.3 ナイアシン当量/1000 kcalを必要量の基準**とした。

2-5. 高齢者

高齢者については、調査結果から、現行の所要量に対し、ほぼ十分量のナイアシン当量の摂取がみられ、さらに高齢者と成人とでナイアシン代謝上の差異はみられていない。これらのことを考慮して高齢者に対する特別な配慮は要しないと思われる。しかし、まだ血液中のNADの測定がないので、平成13年度に実施した。詳細は後述。

2-6. 妊婦、授乳者

妊婦で転換率が高くナイアシン代謝が異なる可能性が示唆され、胎児の成長も考慮する必要があるが、まだ十分な情報もなく、現行の所要量で特に問題となる点が指摘されていない。妊娠中にインドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ活性が1000倍も増える。この増加はトリプトファン→ナイアシン転換率の増大をもたらす可能性があるが、実証はない。今後確かめる必要あり。基礎として、ラットを用いて、妊娠期間とトリプトファン→ナイアシン転換率との関係を調べた(後述)。妊婦の尿は採取したので、平成14年度に分析する。

3. 許容上限摂取量

第六次改定では、ニコチン酸の許容上限摂取量が30 mgというのは問題がある。値をもっと高くすべきである。再検討すべきである。ニコチンアミドの許容上限摂取量は設定されていないが、これは設定すべきである。平成14年度、平成15年度に検討する。

ナイアシンは過剰摂取となると、解毒経路が作動しはじめ、すなわち、Nicotinamidase活性とニコチヌル酸合成酵素活性が検出されるようになり、尿中にニコチン酸とニコチヌル酸を排泄する。通常は、これらの酸は検出されないし、体内にも検出されない。さらに、(2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比が低下してくる。これは、MNA oxidase活性が過剰摂取により低下してくるためである。これらを指標にすれば、とりあえず、ナイアシンが過剰であるか否かを判定できる。将来的には、これらの反応を触媒する酵素のmRNAの発現量を測定する方法を開発すれば、処理能力が飛躍的に上がる。

3) 高齢者の血中水溶性ビタミンの測定

第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂

取基準—には高齢者と成人でナイアシン代謝上差異はみられなかったと記載されているが、これは尿中の値のみの結果から導かれた結果である。そこで、高齢者の血液中のNADとNADP含量を調べた。これらの値を図1～図3に示した。なお、他のビタミンに関しては、平成14・15年度に実施する。

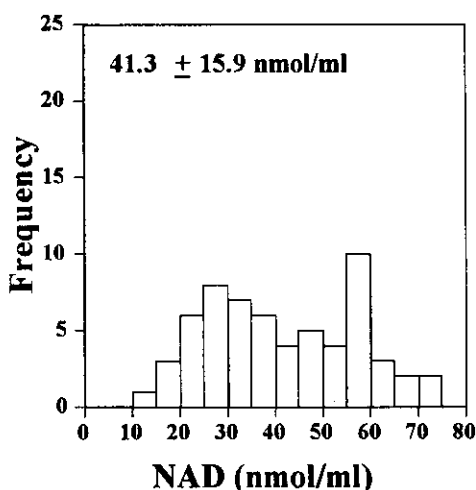


図1. 高齢者(73-74歳の男女)の全血中のNAD(NAD⁺ + NADH)含量の度数分布表

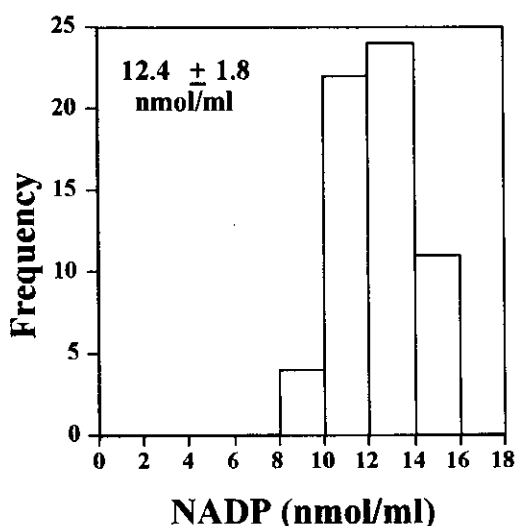


図2. 高齢者(73-74歳の男女)の全血中のNADP(NADP⁺+NADPH)含量の度数分布表

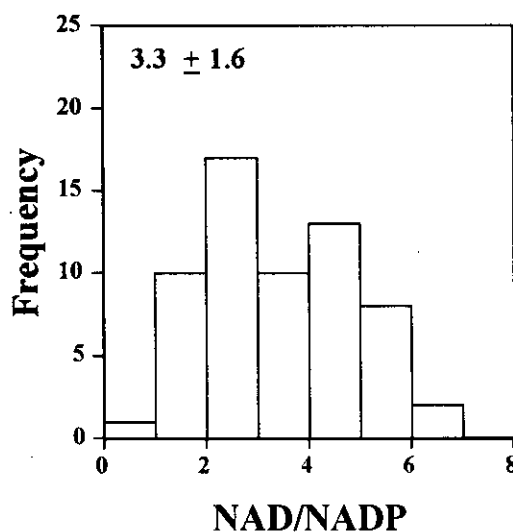


図3. 高齢者(73-74歳の男女)の全血中のNAD/NADPの度数分布表

73～74歳の男女 (n=61) について全血中のNAD (41.3 ± 15.9nmol/ml) およびNADP (12.4 ± 1.8nmol/ml) 含量を測定した。20歳前後の学生の値はNADが35nmol/ml程度、NADPが10nmol/ml程度であることから、高齢者の血液中のナイアシン補酵素レベルが高齢者において低い値を示すとはないことが明らかとなった。NAD/NADP比は3.3±1.6であった。この値は学生の値と同じであった。特徴としては、NADの値において分布が非常に広いということであった。次年度(平成14年度)も引き続き、同じ被験者の血液を用いてNAD、NADPを測定し、この広い分布の原因を探る。

4) 妊娠による水溶性ビタミンの代謝変動

第六次改定栄養所要量—食事摂取基準—では、妊娠時のナイアシン必要量について、次のように記載されている。「妊婦で転換率が高く、ナイアシン代謝が異なる可能性が示唆され、胎児の成長も考慮する必要があるが、まだ十分な情報もないことから、付加量をエネルギーの増加から換算し、妊婦は2 mgNEを付加す