

図-2 ビタミンB₁₂の腸管吸収機構

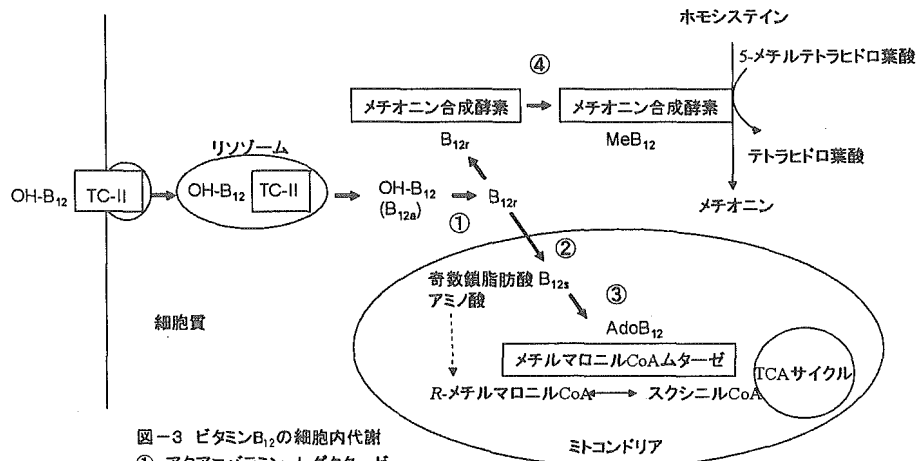


図-3 ビタミンB₁₂の細胞内代謝
 ① アクアコバラミン レダクターゼ
 ② コバ(II)アラミン レダクターゼ
 ③ コバ(I)アラミン アデノシルトランスフェラーゼ
 ④ メチオニン合成酵素レダクターゼ

図 3. B₁₂ 補酵素の生合成経路

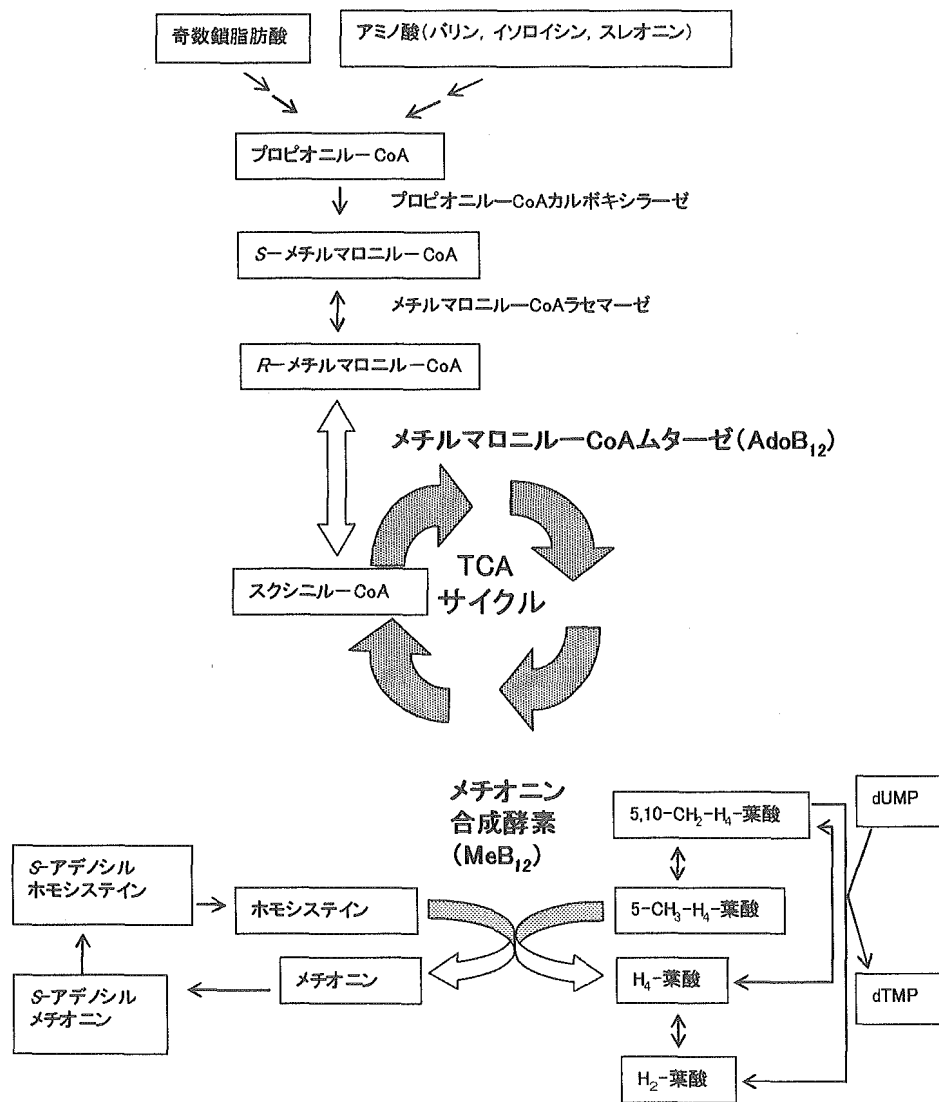


図-4 ビタミンB₁₂の補酵素作用

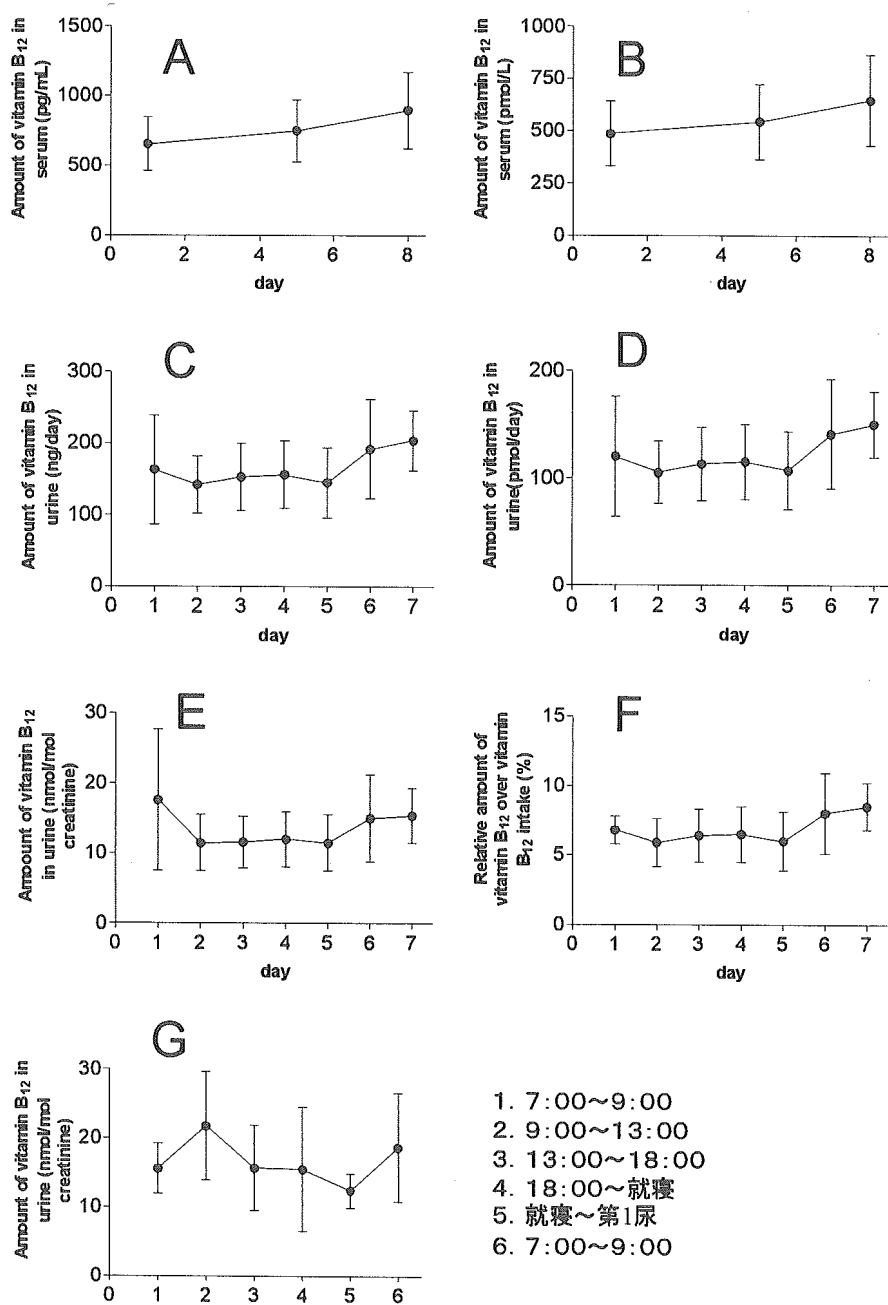


図-5 所要量摂取時の女性(10人)における血清および尿中ビタミンB₁₂量

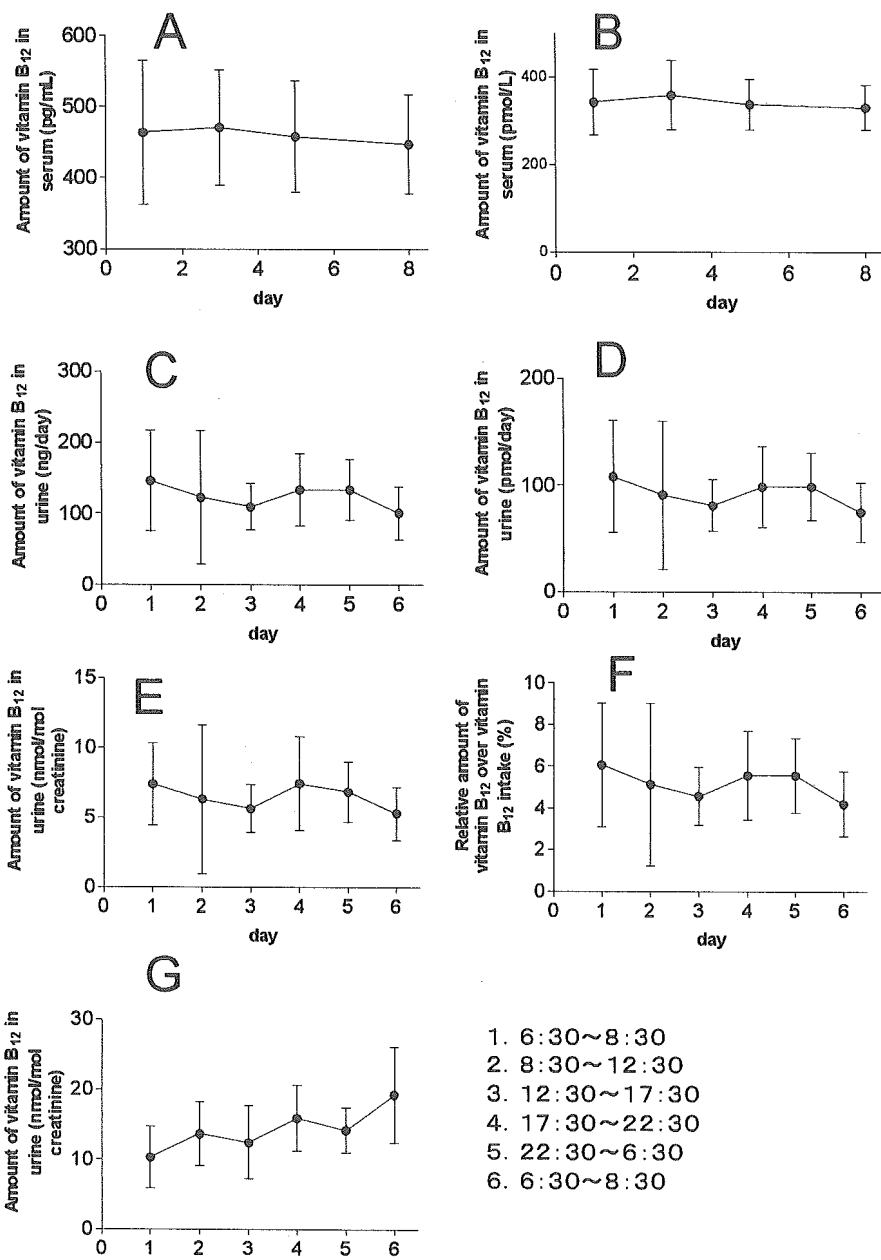
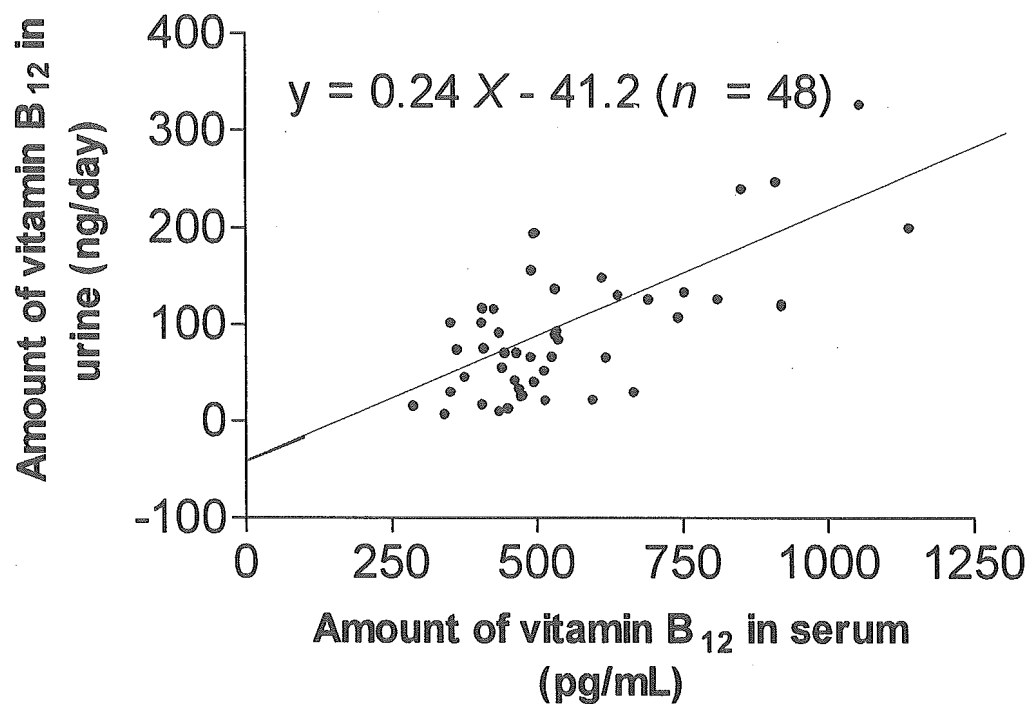
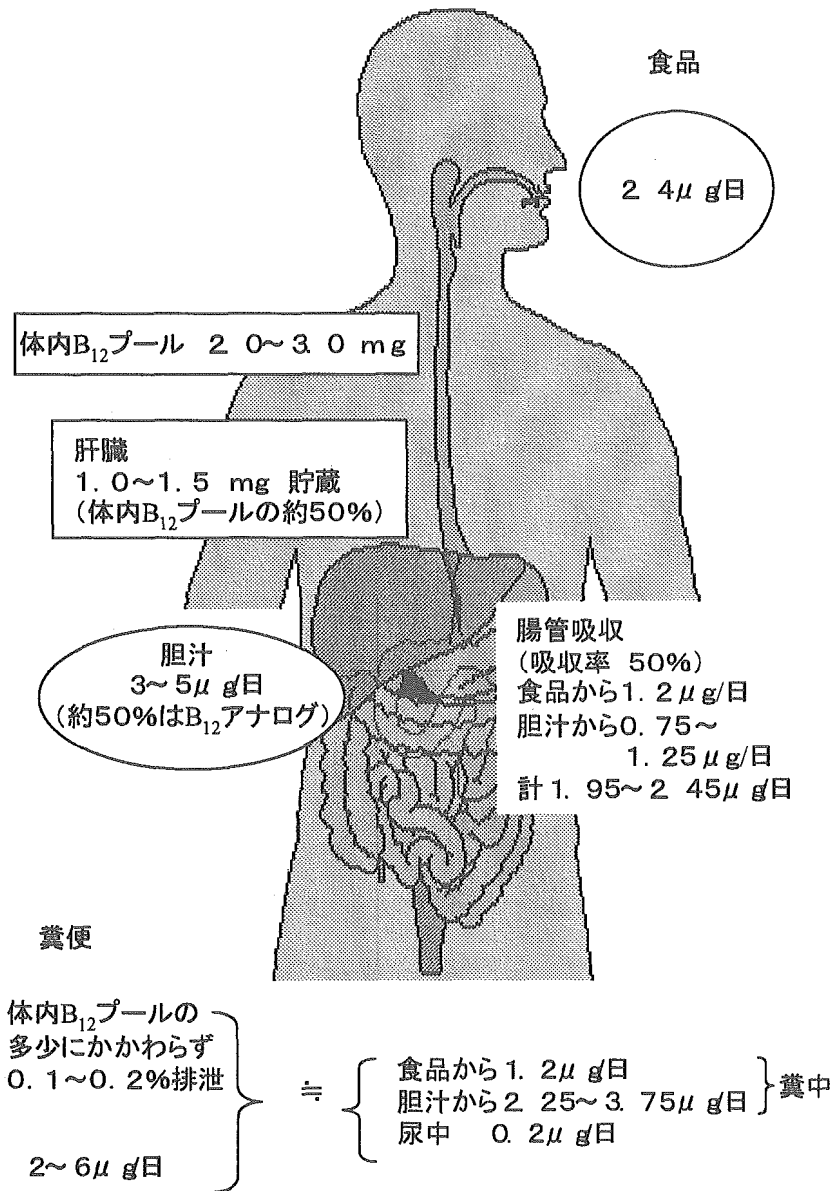


図-6 所要量摂取時の男性(10人)における血清および尿中ビタミンB₁₂量



図一 7 血清 B₁₂ 濃度と尿中 B₁₂ 排泄量



図一八 種々のデータから推定される所要量摂取時のビタミンB₁₂の出納

厚生労働科学研究費（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）

日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

研究報告書

水溶性ビタミンの食事摂取基準の妥当性の検討 -ナイアシン-

研究協力者 福渡努 滋賀県立大学人間文化学部 助手

研究要旨

第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-において、ナイアシンの栄養所要量は米国で行われた研究結果に基づいて策定された。本年度においては、日本人を対象として、この策定値が妥当であるか化学的根拠を示すことを目的とした。成人女性および男性を対象として、一定期間、所要量通りの試験食を摂取させ、サプリメントとして所要量と同じ量のビタミン混合物を摂取させた。血液および尿を採取し、ナイアシン関連化合物量を測定し、すでに明らかにされている健常人の基準値と比較した。これらの結果から、現在のナイアシン所要量の妥当性は高いことが示された。しかしながら、被験者にはトリプトファンとニコチンアミドを同時に与えたため、トリプトファン-ナイアシン転換経路がどの程度ナイアシン栄養に寄与しているのか明らかにすることができなかった。来年度においては、トリプトファン-ナイアシン転換率を明らかにする必要がある。

A. 目的

1950年代にナイアシン必要量に関する研究がアメリカ合衆国で行われ、ナイアシン欠乏症であるペラグラ症状が現れない程度の食事に含まれるナイアシン量や、ナイアシン代謝産物の一つである *N*-メチルニコチンアミド (MNA) の尿中排泄量から、成人のナイアシン必要量は 4.8 mg NE/1,000 kcal と報告された¹⁻⁵⁾。第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-では、この値を成人のナイアシン必要量とし、変動係数 (CV) を 15% として 1.3 を乗じることにより、成人のナイアシン所要量は 6.3 mg NE/1,000 kcal と策定された。そこで、成人男女学生 (19-23 歳) 各 10 名に栄養所要量通りの栄養素精製食を与えたときの血中および尿中ナイアシン関連化合物量を測定し、すでに明らかにされている健常人の基準値と比較することにより、現在の成人のナイアシン所要量が妥当であるか科学的根拠を示すことを目的とする。

第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-において、妊婦のナイアシン所要量に関するデータの不足が指摘され、妊婦のナイアシン所要量はエネルギー増加からの換算により策定された。昨年度、基礎データの集積を目的として、妊娠中期よりラットのトリプトファン-ナイアシン転換率が増加することを明らかにした。本年度は、妊婦の尿についてナイアシン関連化合物量を測定し、妊娠期間とナイアシン代謝との関係を調べることにより、妊婦のナイアシン代謝に関するデータの集積を目的とする。

乳児期の栄養所要量は、哺乳量と母乳中の栄養成分から適正摂取量 (AI) として算出される。そこで、母親の栄養素摂取量、乳児の哺乳量、母乳中のナイアシン含量を調査、測定す

ることにより、第七次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-における乳児の栄養所要量策定ための基礎データ集積を目的とする。

B. 研究方法

被験者

現在の成人のナイアシン必要量が妥当であるか科学的根拠を示すことを目的としたヒト試験では、成人男女学生 (19-23 歳) 各 10 名を被験者とした。成人女性の実験は 3 月 1 日-3 月 8 日の期間、成人男性の実験は 8 月 27 日-9 月 3 日の期間に実施した。被験者の生活活動強度を II とし、栄養所要量通りの栄養素精製食を 7 日間与えた。第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-に従い、トリプトファン-ナイアシン転換率は重量比で 1/60 とした。成人女性には 1 日当たり 13 mgNE (トリプトファン由来 10.2 mgNE, ニコチンアミド 2.8 mg) のナイアシンを、成人男性には 1 日当たり 17 mgNE (トリプトファン由来 12.8 mgNE, ニコチンアミド 4.2 mg) のナイアシンを毎日 3 回に分けて与えた。起床後第二尿から翌朝の第一尿までを 24 時間尿とし、試験期間中毎日 24 時間尿を採尿した。試験 7 日目には、起床後第二尿より朝食前までの 2 時間、朝食時より昼食前までの 4 時間、昼食時より夕食前までの 5 時間、夕食時より就寝前までの 5 時間、就寝時より翌朝第一尿までの 8 時間に分割して採尿した。女性の試験では試験 1 日目、3 日目、8 日目の朝食前に、男性の試験では試験 1 日目、3 日目、5 日目、8 日目の朝食前に採血した。

妊婦のナイアシン代謝に関するデータの集積を目的とした研究では、平成 14 年 5 月に彦根市内の神野レディースクリニックを外来診療で訪れた妊娠 5-40 週の健康な妊婦 434 名、産

後4~6週の女性50名、対照として非妊娠女性10名を被験者とした。診療時に各被験者からスポット尿を採尿した。

母乳

本調査研究への参加を承諾した授乳婦15名から母乳を得た。

分析

血液20 μ lを100 mMニコチンアミド-50 mM KPB (pH 6.0) 40 μ lに加えてよく混合し、90°Cで15分間加熱処理した後、遠心上清を血中NADおよびNADP含量の測定に用いた。血中NAD含量の測定として、サンプル10 μ l, 2.5 mg/ml MTT溶液10 μ l, 1 mg/ml PMS溶液80 μ l, 0.1Mニコチンアミドと0.5Mエタノールを含む65 mMグリシルグリシン-NaOH緩衝液(pH 7.4) 150 μ l, 75 IU/ml ADH溶液50 μ lをよく混和し、37°Cで20分間加温した後、570 nmにおける吸光度を測定した。血中NADP含量の測定として、サンプル20 μ l, 2.5 mg/ml MTT溶液10 μ l, 1 mg/ml PMS溶液80 μ l, 0.15Mニコチンアミドを含む0.15Mグリシルグリシン-NaOH緩衝液(pH 7.4) 80 μ l, 10 mMグルコース6-リン酸溶液80 μ l, 2 IU/ml G6PDH溶液50 μ lをよく混和し、37°Cで20分間加温した後、570 nmにおける吸光度を測定した。

血液75 μ lを2 μ gイソニコチンアミド溶液1425 μ lに加えてよく混合し、121°Cで10分間オートクレーブした後、遠心上清1 mlを血中総ニコチンアミド含量の測定に用いた。母乳150 μ lを0.1 μ gイソニコチンアミド溶液1350 μ lに加えてよく混合し、121°Cで10分間オートクレーブした後、遠心上清1.2 mlに70%過塩素酸70 μ lを加えてよく混合した。この遠心上清1 mlを母乳総ニコチンアミド含量の測定に用いた。尿中*N*-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド(2-Py), *N*-メチル-4-ピリドン-3-

カルボキサミド(4-Py)の測定には尿1 mlを用いた。ニコチンアミド, 2-Py, 4-Pyの測定として、各サンプル1 mlに炭酸カリウム1.2 gを添加した後、ジエチルエーテル10 mlを加えてよく混合し、エーテル層を蒸発乾固させた。この乾固物を水0.5 mlに溶解し、0.45 μ mフィルターで濾過し、20 μ lをHPLCによる分析に供した。分析条件は、カラム: Chemcosorb 7-ODS-L (ϕ 4.6 x 250 mm), 移動相: 10 mM KH₂PO₄ (pH 3.0)-アセトニトリル (96:4 v/v), 流速: 1 ml/分, カラム温度: 25°C, 検出器: 紫外分光光度計 260 nmとした。内部標準であるイソニコチンアミドのピーク面積から回収率を求め、ニコチンアミド, 2-Py, 4-Py量を算出した。

尿中MNA含量の測定として、尿0.1 ml, 水0.7 ml, 1Mイソニコチンアミド溶液0.2 ml, 0.1Mアセトフェノン溶液0.5 mlを混合した後、6M NaOH溶液1 mlを加えて10分間氷冷し、99%ギ酸0.5 mlを加えて15分間室温で放置した。沸騰水浴中で5分間放置した後、十分に氷冷し、遠心上清を0.45 μ mフィルターで濾過し、20 μ lをHPLCによる分析に供した。分析条件は、カラム: Tosoh ODS 80Ts (ϕ 4.6 x 250 mm), 移動相: 1 g/l 1-ヘプタスルホン酸ナトリウムおよび1 mM EDTA-2Naを含む20 mM KH₂PO₄ (pH 3.0)-アセトニトリル (97:3 v/v), 流速: 1 ml/分, カラム温度: 40°C, 検出器: 蛍光分光光度計, 励起波長 382 nm, 蛍光波長 440 nmとした。

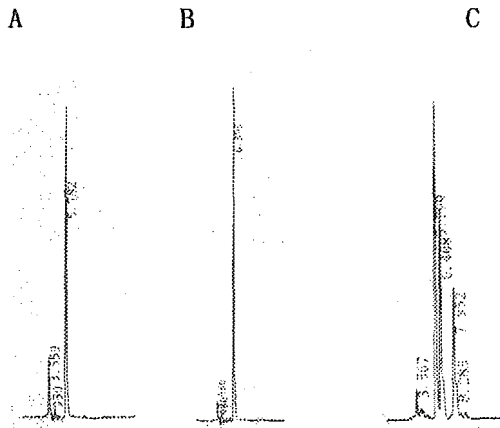


図1 イソニコチンアミド標準溶液 (A), ニコチンアミド標準溶液 (B), 母乳サンプル (C) のクロマトグラム例

尿中キノリン酸含量の測定として、尿を 0.45 μm フィルターで濾過し、20 μl を HPLC による分析に供した。分析条件は、カラム：Unisil Q C18 (particle size 5 μm , ϕ 4.6 x 250 mm), 移動相：0.00045%水酸化テトラメチルアンモニウムおよび1.2%過酸化水素を含む20 mM KH_2PO_4 (pH 3.8), 流速：0.6 ml/分, カラム温度：40°C, 検出器：蛍光分光光度計, 励起波長 326 nm, 蛍光波長 380 nm とした。

尿中 3-ヒドロキシアンスラニル酸含量の測定として、尿を 0.45 μm フィルターで濾過し、20 μl を HPLC による分析に供した。分析条件は、カラム：STR ODS II (particle size 7 μm , ϕ 4.6 x 250 mm), 移動相：3 mg/L EDTA-2Na を含む 50 mM KH_2PO_4 (pH 3.0)-アセトニトリル (90 : 10 v/v), 流速：1 ml/分, カラム温度：40°C, 検出器：電気化学検出器, 印加電圧 500 mV とした。

C. 研究成果

ナイアシン所要量の妥当性の科学的根拠を示す研究-ヒト試験-

第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-において、ナイアシン所要量の策定するた

めに用いたデータは MNA 尿中排泄量を指標としている。ヒトにナイアシン制限食を長期間投与し、ペラグラ症状を発症した被験者の MNA 尿中排泄量が 0.9 mg/day, ペラグラ症状を発症しなかった被験者の MNA 尿中排泄量が 1.1 mg/day であったことから、MNA 尿中排泄量が 1.0 mg/day となるナイアシン摂取量をナイアシン必要量としたものである⁵⁾。そこで、現在のナイアシン所要量が妥当であるか科学的根拠を示すため、まず各被験者の MNA 尿中排泄量を測定した。MNA 1.0 mg/day をモル換算すると 5.8 $\mu\text{mol/day}$ なる。ナイアシン所要量である 13 mgNE を 7 日間摂取させた成人女性 10 名, 17 mgNE を 7 日間摂取させた成人男性 10 名の全員が 5.8 $\mu\text{mol/day}$ よりも多い MNA 尿中排泄量を示した (図 2)。試験 6 日目に最も低値を示した者でも女性では 16.7 $\mu\text{mol/day}$, 男性では 13.6 $\mu\text{mol/day}$ であり、MNA 尿中排泄量を指標とした場合、現在のナイアシン所要量の妥当性は高いことが示された。また、MNA 尿中排泄量が 5.8~17.5 $\mu\text{mol/day}$ の範囲内であれば、ナイアシン低栄養状態とする考えもある⁶⁾。この考えに従うと、試験 6 日目においては成人女性 1 名が 16.7 $\mu\text{mol/day}$, 成人男性 1 名が 13.6 $\mu\text{mol/day}$ という値を示し、ナイアシン低栄養状態であると判定される。

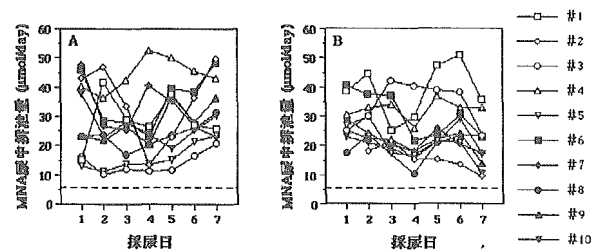


図 2 成人女性 (A) および成人男性 (B) における MNA 尿中排泄量の経日変化。(A) に 10 名の平均値±標準偏差, (B) に各個人の変動を示した。点線は 5.8 $\mu\text{mol/day}$ (1.0 mg/day) を示す。

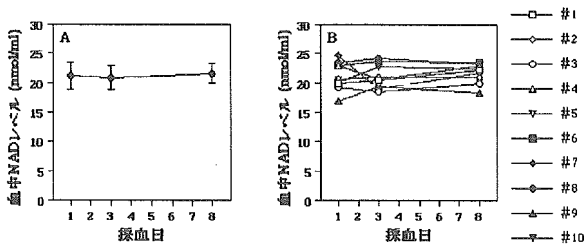


図3 成人女性における血中NADレベルの経日変化. (A) に10名の平均値±標準偏差, (B) に各個人の変動を示した.

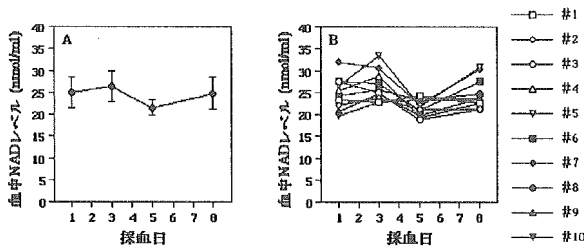


図4 成人男性における血中NADレベルの経日変化. (A) に10名の平均値±標準偏差, (B) に各個人の変動を示した.

ナイアシンの貯蔵部位は肝臓であるため、ナイアシン栄養状態を判定するうえで最も精度の高い指標は肝臓中のNAD含量である⁷⁾。ヒトの肝NAD含量を測定することは不可能だが、ナイアシン栄養状態が不良である場合、動物実験から血中NADレベルは肝NAD含量およびニコチンアミド代謝産物尿中排泄量と高い相関を示す^{7, 8)}。そこで、ナイアシン栄養状態の指標となりうる血中NADレベルを測定した。男女ともに血中NADレベルに試験期間中の変動は認められなかった(図3, 4)。血中総ニコチンアミドレベルは血中のNAD, NADP, 遊離ニコチンアミドの合計を示すが、血中総ニコチンアミドレベルに関する報告は少なく、ナイアシン栄養状態との関連も明らかではない。そこで、血中総ニコチンアミドレベルに関するデータを蓄積するため、血中総ニコチンアミドレベルを測定した。成人女性の血中総ニコチンアミドレベルは、試験開始日の 48.7 ± 3.8 nmol/mlから試験最終日の 59.5 ± 8.6 nmol/mlへと有意に増加した(図

5)。成人男性の血中総ニコチンアミドレベルについては、試験期間中の変動は認められなかった(図6)。ヒトにニコチンアミドを投与しても血中NADPレベルは変わらず⁹⁾、ナイアシン欠乏動物の血中NADPレベルも健常な動物と同じ値を示すことから¹⁰⁾、血中NADPレベルはナイアシン栄養状態を判定する指標にはならない。男女ともに試験期間中の変動は認められなかった(図7, 8)。

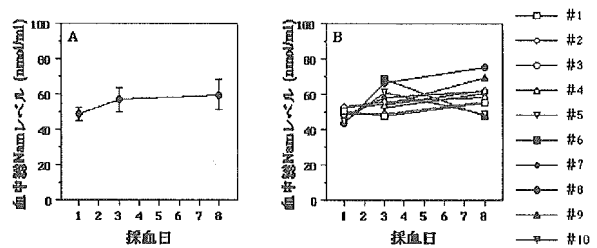


図5 成人女性における血中総ニコチンアミドレベルの経日変化. (A) に10名の平均値±標準偏差, (B) に各個人の変動を示した.

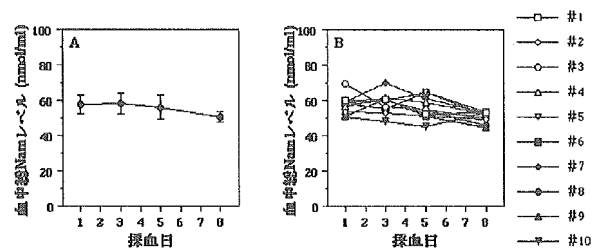


図6 成人男性における血中総ニコチンアミドレベルの経日変化. (A) に10名の平均値±標準偏差, (B) に各個人の変動を示した.

血中総ニコチンアミドレベル、血中NADレベルに関しては、ナイアシン栄養状態を判定する基準値が設定されていない。本ヒト試験で得られた血中ナイアシン関連化合物含量の結果が妥当であるか検討するため、過去に報告された値との比較を行った(表1)。血中総ニコチンアミドレベルについては報告がほとんどない。健常人の血中NADレベルは概ね30 nmol/ml前後であり、本ヒト試験で得られた値もこれまでに報告された値と類似したものであった。血

中 NADP レベルはナイアシン栄養状態の如何にかかわらず一定の値を示すことが報告されており^{9, 10)}, 本ヒト試験で得られた値もこれまでに報告された値と類似したものであった。

ヒトにおいてナイアシン栄養状態が良好である場合, 余剰のナイアシンはニコチンアミド代謝産物として MNA, 2-Py あるいは 4-Py として尿中に排泄される¹⁶⁾. ナイアシン栄養状態が不良である場合, 尿中に排泄される各ニコチンアミド代謝産物量は著しく少なくなる⁴⁾. MNA 尿中排泄量, 2-Py 尿中排泄量, 4-Py 尿中排泄量の合計をニコチンアミド代謝産物尿

中排泄量とし, ナイアシン栄養状態の指標となりうるニコチンアミド代謝産物尿中排泄量を測定した. 男女ともに試験期間中の変動は認められず, 試験 6 日目におけるニコチンアミド代謝産物尿中排泄量は成人女性では $83 \pm 19 \mu\text{mol}$, 成人男性では $84 \pm 26 \mu\text{mol}$ であった (図 9, 10). これらの値は摂取ナイアシン当量のそれぞれ 78%, 60%に相当する. 総合ビタミン剤としてニコチンアミドを投与したヒトにおいては, 摂取ニコチンアミドの約 60%が尿中に排泄される¹⁷⁾. 従って, ナイアシン栄養状態が良好であるならば, ナイアシン摂取量に対するニコチンアミド代謝産物尿中排泄量は 60%前後になる. ニコチンアミド代謝産物尿中排泄量を指標とした場合においても, 成人女性は排泄率が 78%と高く, 成人男性においてもナイアシン栄養状態の良好が認められ, 現在のナイアシン所要量の妥当性は高いことが示された.

本ヒト試験で得られたナイアシン関連化合物尿中排泄量の結果について, 過去に報告された値との比較を行った (表 2). MNA 尿中排泄量および 2-Py 尿中排泄量については, 摂取ナイアシン量を制限した研究⁴⁾で報告された値よりも大きく, 十分量と考えられるナイアシン量を投与した研究^{4, 16)}で報告された値と類似したものであった. 4-Py 尿中排泄量に関する報告は少なく, そのほとんどは主任研究者である柴田による報告である. これは, 4-Py が市販

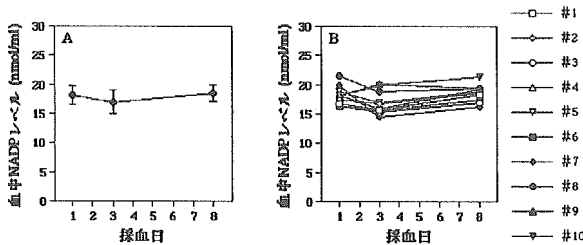


図 7 成人女性における血中 NADP レベルの経日変化. (A) に 10 名の平均値 ± 標準偏差, (B) に各個人の変動を示した.

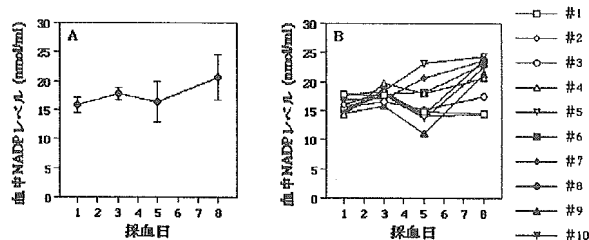


図 8 成人男性における血中 NADP レベルの経日変化. (A) に 10 名の平均値 ± 標準偏差, (B) に各個人の変動を示した.

表1 ヒトの血中ニコチンアミド, NAD, NADPレベルに関する報告

	年	被験者	摂取NE (mgNE)	血中NAD (nmol/ml)	血中NADP (nmol/ml)	血中総Nam (nmol/ml)
ヒト試験 (成人女性)	2002	女性10名	13	22	17	60
ヒト試験 (成人男性)	2002	男性10名	17	25	20	60
Fukuwatari et al ¹¹⁾	2001	女性43名	運動前	29	11	—
			運動直後	33	13	—
			運動30分後	34	11	—
Fukuwatari et al ¹²⁾	2000	女性36名	16	26	13	—
Shibata et al ⁹⁾	1990	女性 8名	投与前	31	12	—
			150mg投与	52	11	—
Shibata et al ¹³⁾	1989	女性19名	—	30	11	62
Shibata et al ¹⁴⁾	1986	女性50名	—	36	20	—
Sander et al ¹⁵⁾	1976	—	—	28	13	—

されておらず、4-Py の定量技術を有するのは柴田に限られているためである。本ヒト試験で得られた 4-Py 尿中排泄量の結果は、これまでに柴田が報告した値¹⁶⁾と類似したものであった。

将来、検診などでナイアシン栄養状態を判定するうえで、採血は被検者の苦痛を伴い、24 時間尿の採尿は非侵襲的ではあるものの長時間の労力を要求する。スポット尿の利用が最も簡便であるが、採尿時間にかかわらず目的化合物の排泄量が一定であることが求められ

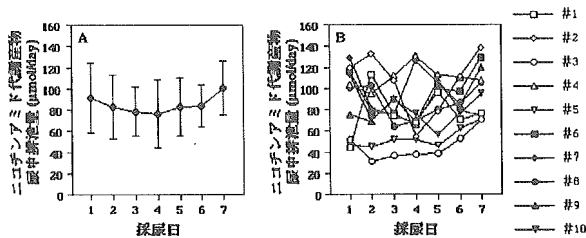


図 9 成人女性におけるニコチンアミド代謝産物尿中排泄量の経日変化。(A) に 10 名の平均値±標準偏差、(B) に各個人の変動を示した。

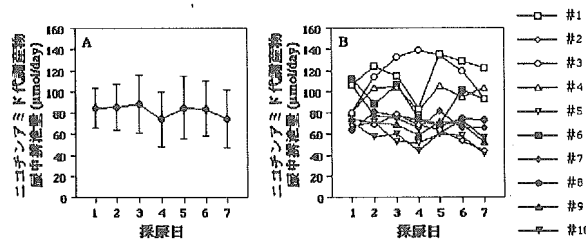


図 10 成人男性におけるニコチンアミド代謝産物尿中排泄量の経日変化。(A) に 10 名の平均値±標準偏差、(B) に各個人の変動を示した。

る。そこで、試験最終日に 1 日を起床後第二尿より朝食前までの 2 時間、朝食時より昼食前までの 4 時間、昼食時より夕食前までの 5 時間、夕食時より就寝前までの 5 時間、就寝時より翌朝第一尿までの 8 時間に分割して採尿し、ニコチンアミド代謝産物尿中排泄量に日内変動が認められるか検討した。また、検診で利用されることを前提とし、ニコチンアミド代謝産物尿中排泄量は尿中クレアチニン 1 mol 当たりの値で示した。成人女性においては日内変動が認められ、夕食時～就寝前には起床後第二尿～昼食

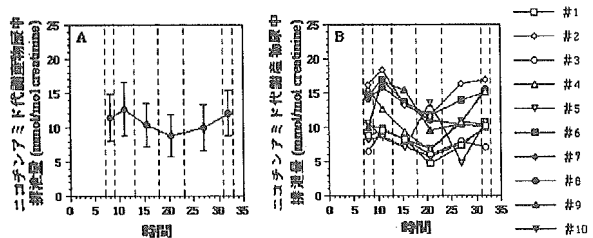


図 11 成人女性におけるニコチンアミド代謝産物尿中排泄量の日内変動。(A) に 10 名の平均値±標準偏差、(B) に各個人の変動を示した。

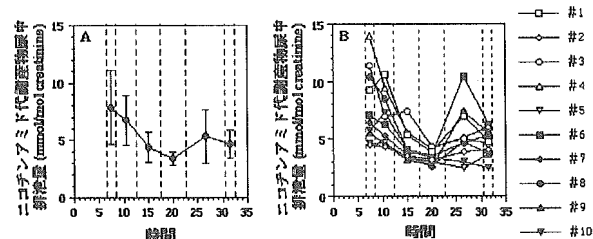


図 12 成人男性におけるニコチンアミド代謝産物尿中排泄量の日内変動。(A) に 10 名の平均値±標準偏差、(B) に各個人の変動を示した。

表2 ヒトのニコチンアミド代謝産物尿中排泄量に関する報告

年	被験者	実施期間 (日)	摂取エネルギー (kcal/day)	摂取NE (mgNE)	尿中MNA (mmol/day)	尿中2-Py (mmol/day)	尿中4-Py (mmol/day)
ヒト試験 (成人女性)	女性10名	7	1,800	13	30	45	7
ヒト試験 (成人男性)	男性10名	7	2,300	17	25	50	7
Shibata et al. ¹⁶⁾	女性84名	3	1,600	20.6	31	60	7
Jacob et al. ⁹⁾	男性 7名	13	2,500	19.6	21	43	—
	男性 3名	36	2,500	6.1	6	6	—
	男性 4名	36	2,500	10.1	6	19	—
	男性 3名	15	2,500	25	19	68	—
	男性 3名	15	2,500	32	33	116	—
Goldsmith et al. ¹⁷⁾	女性 5名	41	2,000	7.9	6	N.D.*	—
	女性 1名	41	2,000	9.5	10	—	—

*N.D.は検出限界以下を示す。

前よりもニコチンアミド代謝産物尿中排泄量は少なくなった (図 11). 12 名の成人女性を 12 日間コントロール下においてニコチンアミド代謝産物尿中排泄量の日内変動を調べた報告においても, 起床後第二尿-夕食前には日内変動は認められていない¹⁸⁾. 従って, 起床後より夕食前であるならばクレアチニン単位量当たりのニコチンアミド代謝産物尿中排泄量は一定しており, スポット尿を利用したナイアシン栄養状態の判定を行うことが可能であると考えられる. 成人男性においても日内変動が認められたが, 起床後第二尿-朝食前, 朝食時-昼食前, 昼食時-夕食, 夕食時-就寝前の各期間の間に差が認められた (図 12). 成人女性では試験 8 日目の起床後第二尿-朝食前のニコチンアミド代謝産物尿中排泄量は前日の同時時間の値とほぼ等しかったが, 成人男性では試験 8 日目の起床後第二尿-朝食前のニコチンアミド代謝産物尿中排泄量は前日の同時時間の値の約 60%と異なる値を示した. 従って, 本結果をもって成人男性のニコチンアミド代謝産物尿中排泄量は起床後より就寝に至るまで大きく変動すると断定するのは早急であり, 今後, さらなる検討を要する.

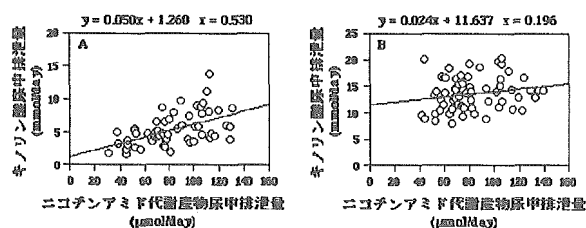


図 13 成人女性 (A) および成人男性 (B) におけるキノリン酸尿中排泄量とニコチンアミド代謝産物尿中排泄量との相関.

食事調査によれば, 我々日本人が一般的な食事をしている場合, 生体が利用するナイアシンの約 50%はトリプトファンから供給されている¹⁹⁾. 本ヒト試験においては, 第六次改定

日本人の栄養所要量-食事摂取基準-が採用しているトリプトファン 60 mg からナイアシン 1 mg が生合成されるという値を用い, 所要量通りとなるようニコチンアミドとタンパク質由来のトリプトファンを被験者に摂取させた. ナイアシン要求量を十分に満たす量のトリプトファンを含むナイアシン欠飼料を実験動物に与えると, トリプトファン-ナイアシン転換経路の中間代謝産物であるキノリン酸の尿中排泄量はトリプトファン-ナイアシン転換率と高い相関を示す²⁰⁾. 本ヒト試験では, 被験者にニコチンアミドも与えたため, トリプトファン-ナイアシン転換率を求めることは不可能である. しかし, 生体が利用したナイアシンにどの程度トリプトファン-ナイアシン転換経路が寄与しているのか, キノリン酸尿中排泄量とニコチンアミド代謝産物尿中排泄量との相関を調べた. 成人女性では $r = 0.530$ ($p < 0.0001$) と両尿中排泄量間に高い相関を示したが, 成人男性では $r = 0.196$ ($p = 0.11$) と相関は認められなかった (図 13). ナイアシン栄養状態が良好であるならば, ナイアシン摂取量に対するニコチンアミド代謝産物尿中排泄量は 60%前後になる. 成人女性の排泄率は 78%と高く, その理由としてトリプトファン-ナイアシン転換率が高い可能性が考えられる. トリプトファン-ナイアシン転換率が高いために, 排泄率が高く, またキノリン酸尿中排泄量とニコチンアミド代謝産物尿中排泄量間に高い相関を示したと考えられる. 成人男性の排泄率は 60%であったことから, トリプトファン-ナイアシン転換率は通常のレベルであった可能性が考えられる. 成人女性に比べてニコチンアミドを多く摂取したことが, キノリン酸尿中排泄量とニコチンアミド代謝産物尿中排泄量間に相関が認められなかった要因の一つであるかもしれない. トリプトファン 60 mg からナイアシン 1 mg が生合成されるという根拠を示した研究では, タン

パク質量を一定にした食事に遊離トリプトファンを添加することによって算出している²¹⁾。しかし、トリプトファン-ナイアシン転換率はタンパク質摂取量によって左右されるため、トリプトファンをタンパク質の構成アミノ酸として摂取するのか、遊離アミノ酸として摂取するのかによって、トリプトファン-ナイアシン転換率は異なることになる²²⁾。次年度においては、ヒト試験によってトリプトファン-ナイアシン転換率を明らかにする必要がある。

妊婦のナイアシン代謝変動に関する研究

第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準において、妊婦のナイアシン必要量および所要量について「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を付加する」と記述されている。昨年度、妊娠ラットのトリプトファン-ナイアシン転換率は妊娠中期より徐々に増加し、妊娠後期には約5倍にまで増加することを明らかにした²³⁾。今年度は、産婦人科に外来診療で訪れた妊娠5-40週の健康な妊婦434名、産後4-6週の女性50名、対照として非妊娠女性10名の述べ494名からスポット尿を採尿し、妊娠期のナイアシン代謝変動について検討した。ナイアシン代謝の指標となりうるニコチンアミド代謝産物尿中排泄量は妊娠中期より増加し始め、妊娠33週目には非妊娠者の約2.5倍に達した(図14)。その後、ニコチンアミド代謝産物尿中排泄量は減少し、産後4-6週目には非妊娠者に近いレベルに戻った。この代謝変動は妊娠ラットと同一の傾向を示した。

妊娠ラットにおけるナイアシン代謝変動を調べた研究においては、ラットはナイアシンを含まない食餌を摂取したため、ラットの示すナイアシン代謝変動はトリプトファン-ナイアシン転換経路の変動を示す。ヒトにおいてもラッ

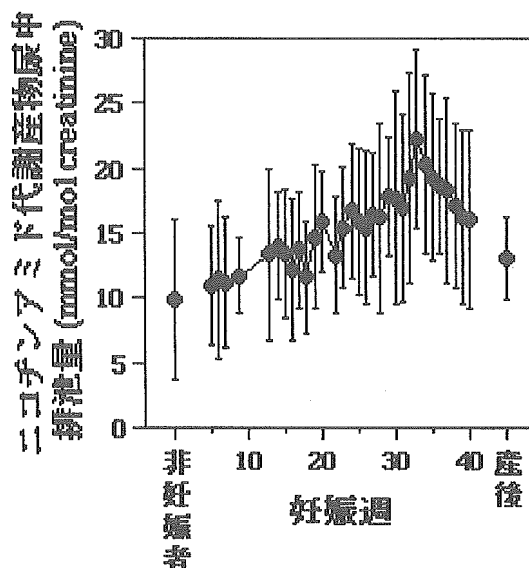


図14 妊婦におけるニコチンアミド代謝産物尿中排泄量。平均値±標準偏差として示した (n = 5-50)。

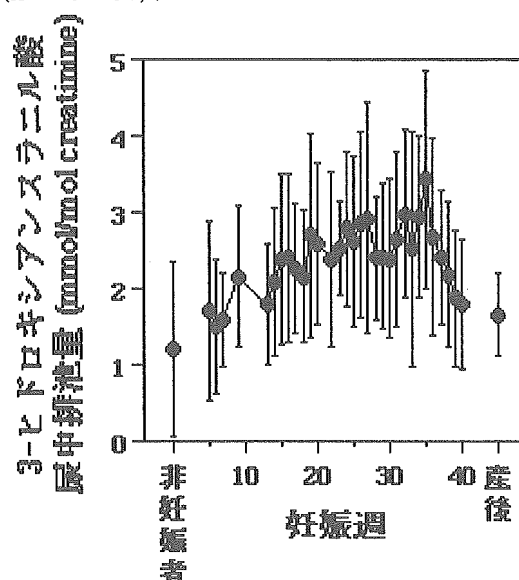


図15 妊婦における3-ヒドロキシアンスラニル酸尿中排泄量。平均値±標準偏差として示した (n = 5-50)。

トと同様のナイアシン代謝変動が認められたことから、妊娠によってトリプトファン-ナイアシン転換経路がどのような挙動を示すのか、トリプトファン-ナイアシン転換経路の中間代謝産物である3-ヒドロキシアンスラニル酸およびキノリン酸の尿中排泄量を測定した。3-ヒドロキシアンスラニル酸尿中排泄量は妊娠中期より増加し始め、妊娠35週目には非妊娠

者の約3倍に達した(図15)。その後、3-ヒドロキシアンスラニル酸尿中排泄量は減少し、産後4-6週目には非妊娠者に近いレベルに戻った。キノリン酸尿中排泄量も同様に妊娠中期より増加し始め、妊娠35週目には非妊娠者の約3倍に達した(図16)。その後、キノリン酸尿中排泄量は減少したが、産後4-6週目の値は非妊娠者の約1.5倍であった。

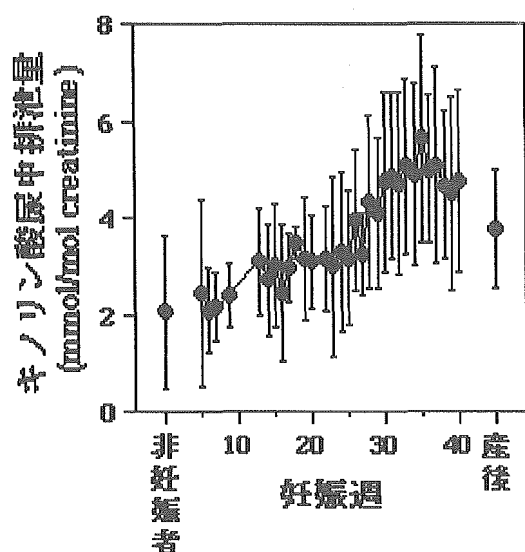


図16 妊婦におけるキノリン酸尿中排泄量。平均値±標準偏差として示した(n=5~50)。

トリプトファン-ナイアシン転換経路の中間代謝産物である3-ヒドロキシアンスラニル酸およびキノリン酸の尿中排泄量の変動がニコチンアミド代謝産物尿中排泄量の変動と同一の挙動を示したことから、ニコチンアミド代謝産物尿中排泄量と3-ヒドロキシアンスラニル酸尿中排泄量、ニコチンアミド代謝産物尿中排泄量とキノリン酸尿中排泄量との相関について調べた。ニコチンアミド代謝産物尿中排泄量と3-ヒドロキシアンスラニル酸尿中排泄量間には $r = 0.211$ ($p < 0.0001$)、ニコチンアミド代謝産物尿中排泄量とキノリン酸尿中排泄量間には $r = 0.319$ ($p < 0.0001$)と非常に

高い相関が認められた(図17)。被験者となった妊婦の食事は自由摂取としたため、各被験者のナイアシン摂取量およびトリプトファン摂取量は異なり、トリプトファン-ナイアシン転換率の変動を正確に求めることはできない。しかし、トリプトファン-ナイアシン転換経路中間代謝産物の尿中排泄量とニコチンアミド代謝産物尿中排泄量との間に非常に高い相関が認められたことから、妊娠中期から認められるナイアシン代謝変動はトリプトファン-ナイアシン転換経路の変動に基づくものであることが示唆される。

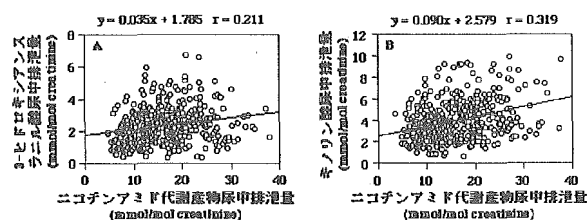


図17 妊婦におけるニコチンアミド代謝産物尿中排泄量と3-ヒドロキシアンスラニル酸尿中排泄量(A)あるいはキノリン酸尿中排泄量(B)との相関

母乳中のナイアシン含量の測定

授乳婦15名から採取した母乳について、総ニコチンアミド含量を測定した。母乳中の総ニコチンアミド含量の平均値は 12.7 ± 4.6 nmol/ml (1.55 ± 0.56 $\mu\text{g/ml}$)、最小値は7.8 nmol/ml (0.95 $\mu\text{g/ml}$)、最大値は23.0 nmol/ml (2.81 $\mu\text{g/ml}$)であった(表3)。本研究で得られた母乳中総ニコチンアミド含量の結果について、五訂日本食品標準成分表²⁴⁾、井戸田らの報告²⁵⁾、欧米諸国の成書の代表値²⁶⁻²⁸⁾と比較した(表4)。本研究で得られた値はこれまでに報告された値と類似したものであった。母乳中のビタミン含量に関する調査研究では、約100名の授乳婦から母乳を提供してもらう予定である。本年度では15名の母乳についてナ

ニアシン含量を測定した。授乳婦の食事調査、乳児の24時間哺乳量、泌乳期、季節を考慮に入れた研究については次年度に行う予定である。

表3 母乳中の総ニコチンアミド含量

サンプル名	nmol/ml	µg/ml
M001	23.0	2.81
M002	22.8	2.78
M003	12.5	1.52
M004	12.5	1.52
M005	9.1	1.12
M006	9.8	1.20
M009	11.8	1.45
M010	12.1	1.47
M011	12.3	1.50
M012	10.7	1.30
M013	7.8	0.95
M016	10.0	1.22
M017	8.0	0.98
M018	14.4	1.76
M019	13.9	1.69
平均	12.7	1.55

表4 母乳中のニアシン含量に関する報告

	年	ニアシン含量 (µg/ml)
本研究	2002	1.55
五訂食品成分表 ²⁹⁾	2000	2
井戸田ら ²⁹⁾	1996	2.3
Nelson Textbook of Pediatrics ³⁰⁾	1983	1.47
Nutrition of Normal Infants ³¹⁾	1993	2
Textbook of Gastroenterology and Nutrition in Infancy ³²⁾	1989	1.83

D. 結論

・成人男女20名に栄養所要量通りのニアシンを7日間摂取させたところ、全20名のMNA尿中排泄量は基準値よりも高い値を示したことから、現在のニアシン所要量の妥当性は高いことが示された。

・成人女性にはニコチンアミド代謝産物尿中排泄量に日内変動が認められた。起床後より夕食

前までの期間には変動しないことから、スポット尿を用いたニアシン栄養状態の判定に利用されることが期待される。成人男性については、はっきりとした結果が得られず、さらに検討を必要とする。

・妊娠中期よりニコチンアミド代謝産物尿中排泄量が増加し、妊娠後期にはその値は非妊娠者の約2.5倍に達した。その要因として、トリプトファン-ニアシン転換経路の亢進が示唆された。

・トリプトファン-ニアシン転換経路はタンパク質摂取量の影響を受けるが、現在採用されているトリプトファン-ニアシン転換率はタンパク質摂取量の影響を考慮に入れずに行った研究報告に基づいている。従って、トリプトファン-ニアシン転換経路におよぼす栄養因子を考慮に入れたうえで、トリプトファン-ニアシン転換率を明らかにする必要がある。

・現在、ニアシン栄養状態の判定基準となる指標にはMNA尿中排泄量だけが設定されている。MNA尿中排泄量はニコチンアミド代謝産物尿中排泄量の約30%にすぎず、タンパク質栄養の低下によってMNA尿中排泄量が増大することから、他の指標についてもニアシン栄養状態の判定基準になりうるか検討する必要がある。

E. 健康危機情報

特記する情報なし

F. 研究発表

1. 発表論文

・米倉麗子, 伊藤康宏, 柴田克己, 福渡努, 齋藤邦明, 小栗誼人, 朝山正己, 長村洋一 (2002) 走行運動負荷がTrp-NAD経路に及ぼす影響. *健康創造研究*, 1(1), 57-64.

・Tanabe A, Egashira Y, Fukuoka S, Shibata K, and Sanada H. (2002) Purification and molecular cloning of rat

2-amino-3-carboxymuconate-6-semialdehyde decarboxylase. *Biochem. J.*, 361(3), 567-575.

• Fukuwatari T, Suzuki Y, Sugimoto E and Shibata K. (2002) Elucidation of toxic mechanism of plasticizers, phthalic acid esters, a putative endocrine disrupter: effects of dietary di(2-ethylhexyl)phthalate on the metabolisms of tryptophan to niacin in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66(4), 705-710.

• 福渡努, 木戸亜也子, 柴田克己 (2002) 幼若ラットにおける小麦ふすまのナイアシン活性. *日本家政学会誌*, 53(5), 477-481.

• Fukuwatari T, Morikawa Y, Sugimoto E, and Shibata K. (2002) Effects of fatty liver induced by niacin-free diet with orotic acid on the metabolism of tryptophan to niacin in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66(6), 1196-1204.

• Tanabe A, Egashira Y, Fukuoka S, Shibata K, and Sanada H. (2002) Expression of rat hepatic 2-amino-3-carboxymuconate-6-semialdehyde decarboxylase is affected by a high protein diet and by streptozotocin-induced diabetes. *J. Nutr.*, 132(6), 1153-1159.

• Fukuwatari T, Sugimoto E, and Shibata K. (2002) Growth-promoting activity of pyrazinoic acid, a putative active compound of antituberculosis drug pyrazinamide, in niacin-deficient rats through the inhibition of ACMSD activity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66(7), 1435-1441.

• Fukuoka S, Ishiguro K, Yanagihara K, Tanabe A, Egashira Y, Sanada H, and Shibata K. (2002) Identification and expression of a cDNA encoding human

alpha-amino-beta-carboxymuconate-epsilon-semialdehyde decarboxylase (ACMSD). A key enzyme for the tryptophan-niacin pathway and "quinolinate hypothesis". *J. Biol. Chem.*, 277(38), 35162-35167.

• 岡本秀己, 西牟田守, 児玉直子, 福渡努, 柴田克己 (2002) ヒトにおける汗および糞中へのナイアシン排泄量. *ビタミン*, 76(10), 461-468.

• Okamoto H, Ishikawa A, Yoshitake H, Kodama N, Nishimuta M, Fukuwatari T, and Shibata K. (2002) Effect of stresses on the urinary excretory pattern of niacin catabolites, the most reliable index of niacin status, in humans. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 48(5), 417-419.

• Fukuwatari T, Suzuki Y, Sugimoto E, and Shibata K. (2002) Identification of a toxic mechanism of the plasticizers, phthalic acid esters, which are putative endocrine disrupters: time-dependent increase in quinolinic acid and its metabolites in rats fed di(2-ethylhexyl) phthalate. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66(12), 2687-2691.

• 福渡努, 齊藤智恵, 佐々木隆造, 柴田克己 (2003) ラットにおけるインスタントコーヒーのナイアシン活性. *日本家政学会誌*, 54(1), 77-82.

• Okamoto H, Ishikawa A, Yoshitake H, Kodama N, Nishimuta M, Fukuwatari T, and Shibata K. (2003) Diurnal variations in human excretion of nicotinamide catabolites. *Am. J. Clin. Nutr.*, 77(2), 406-410.

2. 学会発表

• 福渡努, 大崎聖子, 佐々木隆造, 柴田克己 : フタル酸モノエステルがトリプトファン-ナイアシン代謝におよぼす影響. 日本農芸化学会 2002年度大会 (平成14年3月・東北学院大学)

• 柴田克己, 福渡努, 杉本悦郎, 佐々木隆造 :

抗結核剤ピラジンカルボン酸の作用部位

-ACMSDase 活性の阻害. 日本ビタミン学会第 54 回大会 (平成 14 年 4 月・こまばエミナース)

・福渡努, 斉藤智恵, 佐々木隆造, 柴田克己: ラットにおけるインスタントコーヒーのナイアシン活性. 日本家政学会第 54 回大会 (平成 14 年 6 月・昭和女子大学)

・Shibata K, Fukuwatari T, Murakami M, and Sasaki R.: Increase in conversion of tryptophan to niacin in pregnant rats. 10th International Meeting on Tryptophan Research (June, 2002, Padova, Italy)

・Fukuwatari T, Ohsaki S, Suzuki Y, Fukuoka S, Sasaki R, and Shibata K: The Effects of Phthalate esters on the tryptophan- niacin metabolism. 10th International Meeting on Tryptophan Research (June, 2002, Padova, Italy)

・Fukuoka S, Ishiguro K, Tanabe A, Egashira Y, Sanada H, Fukuwatari T, and Shibata K: Identification and expression of the cDNA encoding human

2-amino-3-carboxymuconate-6-semialdehyde decarboxylase (ACMSD): a key enzyme for tryptophan- niacin pathway and 'quinolinate hypothesis'. 10th

International Meeting on Tryptophan Research (June, 2002, Padova, Italy)

・福渡努, 太田万理, 木村尚子, 佐々木隆造, 神野佳樹, 柴田克己: 妊娠ラットにおけるトリプトファン-ナイアシン代謝変動. 日本農芸化学会関西支部大会 (平成 14 年 10 月・近畿大学)

・柴田克己, 福渡努, 木村尚子, 太田万理, 佐々木隆造, 神野佳樹: 妊婦のナイアシン必要量. ビタミン B 研究委員会第 389 回研究協議会 (平成 14 年 10 月・大阪科学技術センター)

・木村尚子, 福渡努, 佐々木隆造, 早川史子, 柴田克己: 日本人女子学生のビタミン摂取量. 第 41 回日本栄養・食糧学会近畿支部大会 (平

成 14 年 11 月・辻学園調理技術専門学校)

・柴田克己, 福渡努: 内分泌攪乱物質の候補である可塑剤フタル酸エステルの毒性発現機構の解明: ラットにおいてジ(2-エチルヘキシル)フタレートがトリプトファン-ナイアシン転換率におよぼす影響. 第 24 回日本家政学会関西支部研究発表会 (平成 14 年 11 月・滋賀女子短大)

・柴田克己, 福渡努, 太田万理, 木村尚子, 佐々木隆造, 神野佳樹: 妊娠時のトリプトファン代謝. 必須アミノ酸研究委員会 (平成 14 年 11 月・徳島大学)

・柴田克己: トリプトファンからビタミン-*de novo* NAD 生合成の調節. 第 25 回日本トリプトファン研究会学術集会シンポジウム (平成 14 年 12 月・三重大学)

・福渡努, 太田万理, 木村尚子, 福岡伸一, 佐々木隆造, 神野佳樹, 柴田克己: ヒト妊娠時におけるトリプトファン-ナイアシン代謝変動. 第 25 回日本トリプトファン研究会学術集会 (平成 14 年 12 月・三重大学)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許予定
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

H. 引用文献

1. Goldsmith GA, Sarett HP, Register UD, and Gibbens J. (1952) *J. Clin. Invest.*, 31, 533-542.
2. Goldsmith GA, Rosenthal HL, Gibbens J, and Unglaub WG. (1955) *J. Nutr.*, 56, 371-386.