

3. Horwitt MK, Harvey CC, Rothwell WS, Cutter JL, and Haffron D. (1956) *J. Nutr.*, **60**, 1-43.
4. Jacob RA, Swendseid ME, McKee RW, Fu CS, and Clemens RA. (1989) *J. Nutr.*, **119**, 591-598.
5. Institute of Medicine. (2000) Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline (1st ed.). p. 123-149. National Academy Press, Washington, DC.
6. Sauberlich HE, Skala JH, and Dowdy RP. (1974) Laboratory Tests for the Assessment of Nutritional Status. CRC Press, Boca Raton, FL.
7. 柴田克己, 村田希久 (1984) *ビタミン*, **58**, 507-511.
8. Shibata K, and Matsuo H. (1989) *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 1333-1336.
9. 柴田克己, 松尾弘子 (1990) *ビタミン*, **64**, 301-306.
10. Fukuwatari T, Sugimoto E, and Shibata. (2002) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 1435-1441.
11. Fukuwatari T, Shibata K, Ishihara K, Fushiki T, and Sugimoto K. (2001) *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **47**, 177-179.
12. 福渡努, 柴田克己, 早川史子, 杉本悦郎 (2000) *ビタミン*, **74**, 137-141.
13. 柴田克己, 松尾弘子 (1989) *ビタミン*, **63**, 569-572.
14. Shibata K, and Tanaka K. (1986) *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2941-2942.
15. Sander BJ, Oelshelgel FJ, and Brewer GJ. (1976) *Anal. Biochem.*, **71**, 29-36.
16. Shibata K, and Matsuo H. (1989) *Am. J. Clin. Nutr.*, **50**, 114-119.
17. 柴田克己, 小野寺学子, 島田俊一, 安田和人 (1992) *ビタミン*, **66**, 309-314.
18. Okamoto H, Ishikawa A, Yoshitake H, Kodama N, Nishimuta M, Fukuwatari T, and Shibata K. (2003) *Am. J. Clin. Nutr.*, **77**, 406-410.
19. 健康・栄養情報研究会編 (2002) 国民栄養の現状 (平成12年厚生労働省国民栄養調査結果), p. 第一出版
20. Fukuwatari T, Suzuki Y, Sugimoto E and Shibata K. (2002) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**(4), 705-710.
21. Horwitt MK, Harper AK, and Henderson LM. (1981) *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 423-427.
22. Shibata K, and Matsuo H. (1990) *J. Nutr.*, **120**, 1191-1197.
23. 柴田克己 (2002) 厚生科学研究補助金21世紀型医療界託す威信研究事業「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
24. 科学技術庁資源調査会編 (2000) 五訂日本食品標準成分表, p. 260-261. 大蔵省印刷局
25. 井戸田正, 菅原牧祐, 矢賀部隆史, 佐藤則文, 前田忠男 (1996) *日本小児栄養消化器病学会雑誌*, **10**, 11-20.
26. Behrman RE, and Vaughan VC. (1983) Nelson Textbook of Pediatrics (12th Ed.). p. 155. W. B. Saunders, Philadelphia.
27. Fomon SJ. (1993) Nutrition of Normal Infants. p. 359-395, Mosby Year Book, St. Louis.
28. George DE, and DeFrancesca BA. (1989) Textbook of Gastroenterology and Nutrition in Infancy (2nd ed). p. 239-261. Raven Press, New York.

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  
-ヒトにおける汗および糞中へのナイアシン排泄-

分担研究者 西牟田守 国立健康・栄養研究所 室長  
研究協力者 岡本秀己 滋賀県立大学人間文化学部 講師

研究要旨

摂取ナイアシン当量の60%程度がナイアシンの異化代謝産物として尿中に排泄されることが報告されているが摂取したナイアシン当量の残りの40%の体内動態については不明のままである。第七次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-において、日本人のための食事摂取基準値を設定するための科学的知見を得るため、日本人の平均的な身長、体重および食生活などの生活習慣をもつヒトにおいて、運動時に大量にでる汗中にどの程度のナイアシンが排泄されているのか、摂取したナイアシンのどの程度が吸収されているのかを調べた。ニコチンアミドの吸収率を60%程度であると考えていたが、今回の実験結果は推測値よりも高く、80-85%のナイアシン（今回の実験ではニコチンアミドとニコチン酸を区別していないためこの名称を使用）が吸収されていることが明らかとなった。汗中のナイアシン損失も今回の実験で非常にわずかであり、無視できることが明らかとなった。これらの事実は、ナイアシンの異化代謝産物として、MNA, 2-Py, 4-Py 以外にも主要な異化代謝産物が存在する可能性を示唆している。

## A. 研究目的

第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-では、単に欠乏症の予防という観点だけでなく、健康増進、慢性非感染症の危険要因を軽減、除去するための知見をも考慮して、食事摂取基準の設定が行われた。しかしながら、日本人のための食事摂取基準値を設定するための科学的知見は少ない。そこで第七次改定に向けて、日本人の平均的な身長、体重および食生活などの生活習慣をもつ、ヒトを対象にした本格的な栄養素代謝の基礎データが求められている。ヒトにおけるナイアシンに関する出納実験では、摂取ナイアシン当量の60%程度がナイアシンの異化代謝産物であるMNA (*N*<sup>1</sup>-methylnicotinamide), 2-Py (*N*-methyl-2-pyridone-5-carboxamide) 及び 4-Py (*N*<sup>1</sup>-methyl-4-pyridone-3-carboxamide) として尿中に排泄されることが報告されている。しかしながら、摂取したナイアシン当量の残りの40%の体内動態については不明のままである。ナイアシンはエネルギー代謝に関係する。そこで、運動時に大量にでる汗中にどの程度のナイアシンが排泄されているのかを調べた。さらに、摂取したナイアシンのどの程度が吸収されているのか、すなわち、摂取したナイアシンのどの程度が吸収されずに糞中に排泄されているのかを調べた。

## B. 方法

### 1) 被験者

被験者は、あらかじめ実験内容の説明を受け、書類にて、実験への参加を希望した女子大学生8名である。被験者の年齢は21±1歳(平均値±SD)、身長は157.6±3.1 cm、

体重は53.2±5.8 kgであった。なお、本研究は、独立行政法人国立健康・栄養研究所倫理委員会において承認を受け、ヘルシンキ宣言の精神に則って行われたものである。

### 2) 実験期間

実験期間は19日間で、国立健康・栄養研究所被験者実験棟に被験者を宿泊させ、実施した。実験計画の概要は、Fig. 1に示した。はじめの3日間をPre期(順応期間)とし、続く12日間を実験期間とし、それぞれ4日間のStep 1, Step 2, Step 3に区分した。そして、さらに最後の3日間をPost期(Step 3の糞便を回収するための期間)とした。なお、実験における1日は、8:30から翌日の8:30とした。

午前に運動した時と午後に運動をした時の汗中のナイアシン量を比較するために、Fig. 1に示したように、Exercise 1 groupとExercise 2 groupに被験者を4名ずつつけた。

Step 3は、Step 2と同一の生活・運動条件で、ポリデキストロース10g(食物繊維)を負荷したもので、Step 2とStep 3の比較により、ポリデキストロースの摂取が糞中のナイアシン排泄量に及ぼす影響を調べた。

### 3) 生活条件

被験者実験棟においては、快適な生活環境の確保等に留意し、Fig. 2に1日のスケジュールを示した。食事・運動時間以外は自由時間とした。

### 4) 食事条件と給食方法

#### 4-1) 献立条件

実験食は、市販されている食品のみを用い、被験者全員に、同一の成分食品を同量

供給し、1日3食を供した。水はイオン交換水を自由飲水とし、間食は禁止した。

献立は、4日間のサイクルメニューとし、1人1日当たり、エネルギー1800 kcal、タンパク質 70 g、脂質エネルギー比 25%、食塩 10 g の条件で作成した。また、供給した食事が全量摂取できるように、わかめ等の食品やイオン交換水を献立に加え、食器等に付着した食品を完全に摂取できるよう配慮した。

#### 4-2) 食品の調達方法と保存方法

毎回の食事が均一に供給できるように、業者と購入契約を結び、ロットの等しい食品を一括購入し、1回に使用する分量ずつをまとめ、適宜、常温、冷蔵、冷凍で保存

した。

なお、生肉は部位を指定し、挽肉にしたものを一括購入した。また、生鮮野菜は、同一産地のものが継続購入できるように業者に依頼した。

#### 4-3) 調理の条件と調理方法

食事は、食品の部位別組成が異なることを考慮し、以下の方法で作成した。

①あらかじめ計り置きできる食品（食塩等）は、感量 1mg の天秤を用い、精度を 0.01g として薬包紙に秤量した。

②食品は、なるべく細かく切り刻み、さらに混ぜ合わせ均一化して用いた。

③液状の食品は、大きなボール等に入れ、混ぜ合わせながら分配した。

Day	Pre.			Step1				Step2				Step3				Post			
	1	2	3	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	
Menu No.	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	
Sampling		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Meal	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Feces																			
Sweat	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Exercise 1 group	AM 1)		PM		PM		AM		AM		PM		AM		PM		AM		AM
Exercise 2 group	PM 2)		AM		AM		PM		PM		AM		PM		AM		PM		PM
Marker <sup>3)</sup>			*				*				*				*				*
Polydextrose <sup>4)</sup>													*	*	*	*	*	*	*

Fig. 1 Experimental protocol.

1) AM: Exercise was carried out from 10:30 to 11:30. 2) PM: Exercise was carried out from 14:30 to 15:30.

3) Marker was dosed before breakfast of the first day in each step. 4) Polydextrose was dosed with breakfast.

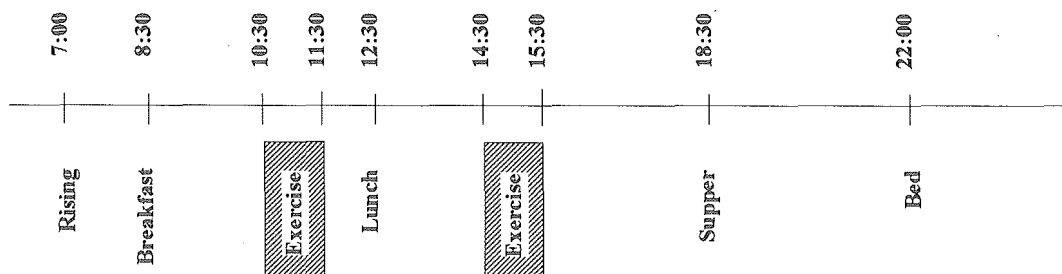


Fig. 2 Time schedule.

④1つの献立の調理操作は、用いるイオン交換水の量、火力、加熱時間等を定め、同一献立の調理者は同一人物とした。

⑤調理操作、秤量等は食品ごとに行い、最終段階で1人分ずつを盛り合わせた。

## 5) 運動条件と運動方法

### 5-1) 実施方法

運動は、被験者を4人ずつの2群 (Exercise group 1 と Exercise group 2) に分け、各 Step の2日目と4日目に実施した (Fig. 1 を参照)。運動は、10:30 あるいは 14:30 に開始した。

運動負荷には、モナーク社製自転車エルゴメータを用い、目標心拍数が 120 bpm になるように、負荷強度は 1.25~1.50 kp の範囲、回転数 60 rpm、実動時間 60 分に設定した。60 rpm、60 分は走行距離 21.6 km に相当し、被験者には、運動中に休憩することを許可し、走行距離 21.6 km で終了とさせた。

自転車は、つま先でペダリングできるようにサドルの高さを調節し、運動開始時には、負荷強度を漸増させ、その後、被験者自身が負荷強度を選択し、運動を行なった。終了時には負荷強度を漸減させ、クーリングダウンを実施した。

## 6) 試料の採取方法

### 6-1) 汗

運動中の経皮的ナイアシン損失を推定する目的で、上肢から運動中に分泌される汗を採取した。

汗の採取には、円筒型のポリエチレンチューブを加工し、腕の長さよりやや長くし、先端を鋭角にシールしたもの (アームバ

ック) を用いた。なお、総発汗量は運動前後の体重差とした。

詳細に説明すると、被験者は運動しやすい衣服 (T シャツとトレーニングパンツ等) を着用し、人工気候室前室にあるチャンバーに入り、除塵用エアシャワーを 15 秒間浴びた後に、無塵人工気候室に入った。脱衣後、体重を測定し、運動前体重とした。体重測定後着衣し、一方の上肢を洗浄した。洗浄は、界面活性剤 (サニーセーフ A、第一工業製薬 KK) を 10 倍希釈して洗剤として用い、ビニールタオルに含ませ、肩峰から指先までの皮膚を軽くこするように、また爪はブラシを用いて洗浄した。その後、体温程度に温めた水道水、イオン交換水、超純水で順に洗浄した。皮膚に残った水滴は、ガーゼを皮膚に軽く押し付けるようにして拭き取った。洗浄した上肢に、アームバックを付け、肩峰の開口部はサージカルテープ (マイクロポア、3M メディカル (株)) を用いて固定した。

運動終了後、アームバックの先端を下にし、アームバックと皮膚とを離すようにしながら、汗を先端に集め、先端をハサミで切りとり、ビーカーに汗を回収した。被験者は人工気候室で、運動前の体重と同様に、体重を測定し、運動後の体重とした。

### 6-2) 食事

食事は、毎食ごとに、20ポリビーカーに移し、ラップフィルムで蓋をして、4°C で保管した。1 晩以上保管後、イオン交換水で定容とし、ミキサーで 30 分ミキシングした後、低速回転に切り替え、ミキサー下部にあるノズルから一定量計り込み、冷凍保存した。

各 Step 期毎の食事に由来する糞便を区別するために、マーカーを用いた。

マーカーは、カルミン（メルク社）0.3 g を 1 人 1 回分とし、同量の蔗糖を加えたものをカプセルに入れ、被験者に各 Step 初日の朝食直前に投与した (Fig. 1 を参照)。糞便はマーカーを指標として Step ごとに集めた。なお、1 回ごとの糞便の保存は 4°C で行った。Step ごとに集めた糞便試料は秤量後、全量をミキサーカップに移し込み、イオン交換水で定容量にした。その他の操作は食事の場合と同じとした。

#### 7) ナイアシン定量の方法

食事時のナイアシンは、朝、昼、夕の食事試料から、一定容をとり、1 日分としてまとめたものをナイアシン定量用試料とした。食事及び糞便試料は、終濃度が 0.5M になるように硫酸を加え、ブレンダーで完全に均一化した後、オートクレーブ (120°C, 30 分間) を行った。冷却後、pH を 6.0 に調製し、濾過後、その濾液を測定用試料とし

た。

汗はそのままナイアシン定量試料とした。ナイアシン定量は、*Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 を用いる微生物定量法により行った。

#### 8) 統計処理

測定値は平均値±標準誤差で示した。統計学的検定は、2 群間の比較には、対応のある Student の *t* 検定を行った。汗中のナイアシン排泄量の経日変化については、一元配置分散分析を行った。

### C. 結果

#### 1) ナイアシンの供給量

実験用献立を五訂日本食品標準成分表 (成分表) で計算した結果を Table 1 に示した。実験期間を通じた平均ナイアシン摂取量は 15.6 mg/1810 kcal (8.6 mg/1000 kcal) であった。

**Table 1. Food compositions of the experimental diet (calculated based on Tables of Food Composition).**

		Energy		Lipid		Niacin		Niacin Equivalent
		kcal	g	g	g	mg	mg	
Menu No.1	Breakfast	455	24.1	4.3	79.0	4.2	212	7.6
	Lunch	786	29.5	36.7	83.2	1.7	364	7.7
	Supper	503	31.1	5.9	79.9	9.2	361	15.3
	Total	1744	84.6	46.9	242.1	15.1	937	30.6
Menu No.2	Breakfast	550	25.2	20.9	66.3	5.3	213	8.9
	Lunch	479	28.4	3.8	81.3	5.4	186	8.5
	Supper	807	36.9	29.9	93.6	3.2	488	1.3
	Total	1836	90.5	54.6	241.2	13.9	887	28.7
Menu No.3	Breakfast	529	20.9	14.5	79.5	2.0	277	6.6
	Lunch	759	31.8	32.5	81.8	7.8	391	14.3

	Supper	506	28.8	4.5	88.4	6.9	261	11.3
	Total	1795	81.5	51.5	243.7	16.7	929	32.2
Menu No.4	Breakfast	617	19.6	28.3	72.5	2.4	198	5.7
	Lunch	454	24.1	1.9	89.4	4.0	242	8.0
	Supper	794	43.0	24.8	96.5	10.4	431	17.6
	Total	1866	86.8	55.0	258.4	16.8	871	31.3
Mean	Breakfast	538	22.5	17.0	74.4	3.4	225	7.2
	Lunch	620	28.5	18.7	83.9	4.8	296	9.7
	Supper	653	35.0	16.3	8.6	7.4	385	13.8
	Total	1810	85.9	52.0	24.7	15.6	906	30.7

Table 2 Measured niacin contents of the experimental diets.

	Pre	Step1	Step2	Step3	Post	Average (%)
Menu No. 1		16.91 ± 0.36	14.19 ± 0.45	17.59 ± 1.1	17.49 ± 0.67	
(%)*		112.0	94.0	116.5	115.8	109.6
Menu No. 2	16.18 ± 2.18	14.98 ± 0.50	12.95 ± 1.20	13.29 ± 0.77		
(%)	116.4	107.8	93.2	95.6		103.2
Menu No.3	11.05 ± 0.27	12.13 ± 0.63	10.92 ± 0.53	11.35 ± 0.07		
(%)	66.2	72.6	65.4	68.0		68.0
Menu No.4	18.28 ± 2.02	13.77 ± 1.42	18.16 ± 0.53	15.75 ± 0.85		
(%)	108.8	82.0	108.1	93.8		98.2

\* Measured value×100/Calculated value

計算上のナイアシン量だけで所要量 (6.3 mg/1000 kcal) を満たすものであった。体内でナイアシンに転換されるトリプトファン由来分は 15.1 mg であり、ナイアシン当量としては、所要量の約 2 倍であった。このことは、すでにビタミン体となっているナイアシンそのものの摂取量と生体内でトリプトファンから合成されると推測されるナイアシン量とがほぼ等しいことを意味している。この比率は、自由に食事を摂取させた女子学生においても認められたことが報告されている。摂取ナイアシンそのものの 2 倍量がナイアシン当量摂取量となることが日本食の特徴である。

今回摂取した食事のナイアシン量を微生物定量方法で実測した結果と成分表を用い

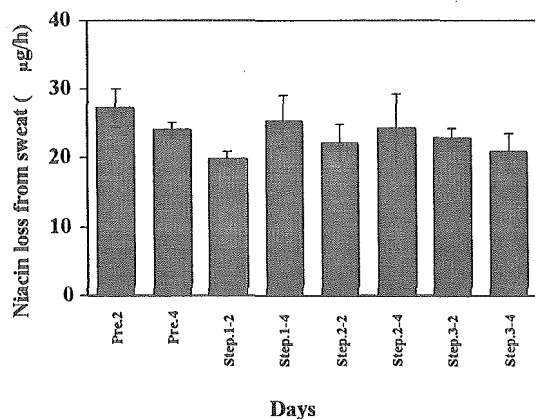
た計算値に対する割合を Table 2 に示した。なお、本定量法は、成分表に記載されている食品中のナイアシン量を測定する時と同じ方法である。

実際のナイアシン測定値はメニュー No. 1, No. 2, No. 4 においては、成分表を用いて計算した数値と近似していたが、メニュー No. 3 は、計算値の 68.0% であった。この理由については、No. 3 で使われた食材の中に、成分値より少ないナイアシン含量のものがあったためと推察されるが、今回は 1 日分の食事をまとめて定量したため、その食材の確定には至らなかった。

## 2) 汗中のナイアシン量

2-1) 実験期間中の汗中ナイアシン量の経日変動

1時間の運動中に汗の量はStep毎の変動も、午前運動群と午後運動群間との差異も認められず一定で約600 mlであった。Fig. 3に1時間あたりの汗の中のナイアシン量を測定日毎（運動時間帯は考慮に入れていない）に示した。



**Fig. 3. Changes niacin loss from sweat during the exercise.**

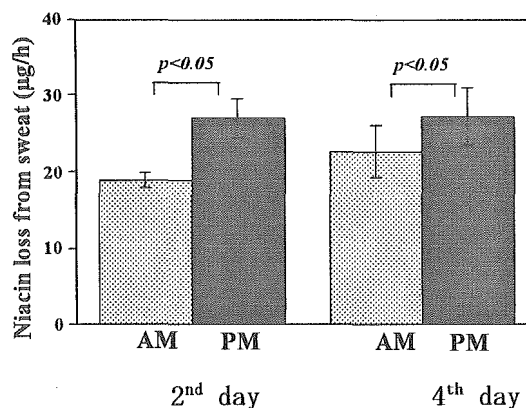
Values are means  $\pm$  SD (n=8).

There were no significant differences between the groups.

汗中に含まれるナイアシン量はほぼ一定で、20~25  $\mu$ g/hであった。軽い1時間程度の運動で約20  $\mu$ g (約160 nmol)のナイアシンを損失したことになる。炎天下での長時間の運動では、最大50程度の汗をかくといわれている。このような場合においても、損失は170  $\mu$ g {20 $\cdot$ (5/0.6)}程度となる。ナイアシン当量摂取量が30 mg/日であるので、汗によるナイアシンの損失は最大でも1%以下であり、ナイアシンの出納を考える上で汗中に排泄されるナイアシン量は無視してもかまわないことが明らかとなった。

2) 運動時間帯が汗中へのナイアシン排泄量に及ぼす影響

運動時間帯の影響（午前運動群と午後運動群間の比較）をみるため、Step 1とStep 2のデータを一緒にした後、午前運動群と午後運動群に分けて、平均化したデータをFig. 4に示した。



**Fig. 4. Difference of niacin loss from sweat between the exercise in the morning and the exercise in the afternoon.**

Data on the AM group and the PM group in 2nd day obtained from AM and PM of day 2 of Step1 and Step2 (see, Fig.1) were combined. Data on the AM group and the PM group in 4th day obtained from AM and PM of day 4 of Step1 and Step2 (see, Fig.1) were combined. Values are means  $\pm$  SD (n=8).

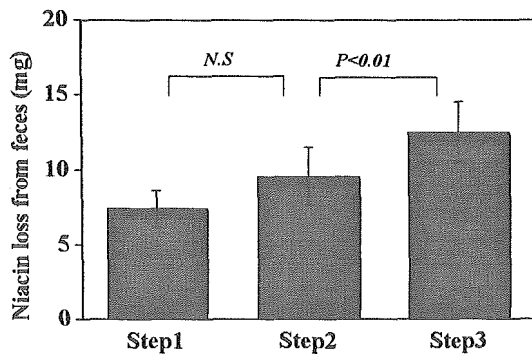
なお、摂取した食事の中のナイアシン量の影響を除くため、第2日運動と第4日運動に分けてデータ処理を行った。汗中ナイアシン排泄量は両日ともに午後に運動をした群の方が有意に高値を示した。なお、前に記載したように午前運動群と午後運動群の汗量とともに600 ml程度で有意差はなかったため、午後運動群の方が汗1 mlあたりのナイアシン含量が高いことを意味している。

3) 糞中のナイアシン量

3-1) 運動時間帯の違いとポリデキストロースの摂取が糞中へのナイアシン排泄量におよぼす影響

Fig. 5にStep毎のナイアシンの糞中排泄量を示した。Step 1とStep 2では被験者の運動時間帯が異なっている(Fig. 1を参照)。Step 3は、Step 2と同じ運動時間帯であるが、ポリデキストロースが付加されている期間である。





**Fig.5 Effects of exercise or polydextrose administration on niacin loss from feces.**

Step1 and Step2 differed in the time of exercise. In Step 2 and Step3, the subjects consumed a breakfast either without or with polydextrose, respectively. Values are means  $\pm$  SD (n=8). N.S, not significant.

Step 毎の糞便の区別はマーカ―を使用して行った。Step 毎のナイアシンの排泄量 (4 日間) は、Step 1 で 7.4 mg、Step 2 で 9.6 mg、Step 3 で 12.5mg であった。Step 1 と Step 2 では有意な差はなく、運動時間帯の違いが糞便中のナイアシン排泄量に影響を与えることはなかった。また、Fig. 5 に示したように、ナイアシンの排泄量は、Step 2 より、ポリデキストロースを添加した Step 3 の方が有意に高い値を示し、食物繊維の多い食事の際には、ナイアシンの糞中排泄が促進されることが明らかとなった。

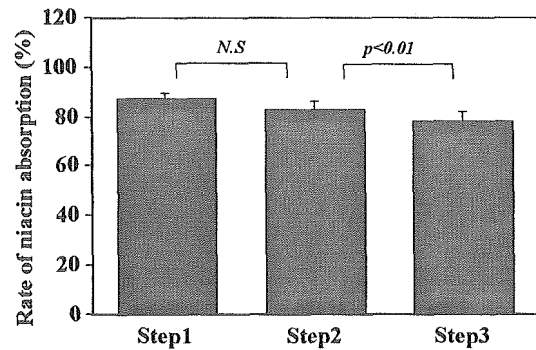
### 3-2) ナイアシンの吸収率

食事日と排便日のタイムラグを除くため、各 Step 初日の朝食前にマーカ―としてカルミンを摂取させた。

吸収率は、{(各 Step の実測ナイアシン摂取量, mg)-(各 Step の糞便中ナイアシン量, mg)} / (各 Step の実測ナイアシン摂取量, mg)  $\times$  100 から計算した。Fig. 6 に示したように、Step 1 は 88.2%、Step2 は 84.7%、Step3 は 80.0% の吸収率であった Step 1 と Step 2 の間には有意差はなかったが、Step 2 と Step 3 の間には有意な差異が認められ、ポリデキストロースが

ナイアシンの吸収を妨げていることが明らかとなった。

ヒトに総合ビタミン剤として投与したニコチンアミドの出納実験では、服用したニコチンアミドの 60% に相当する量が尿中に MNA, 2-Py



**Fig.6. Effects of exercise or polydextrose administration on niacin absorption.**

The details are the same as in Fig.5.

及び 4-Py として排泄されていた。ラットにおいても摂取量の 60% 程度が MNA, 2-Py 及び 4-Py として排泄されていたと報告されている。このような報告から、ニコチンアミドの吸収率を 60% 程度であると考えていたが、今回の実験結果は推測値よりも高く、80-85% のナイアシン (今回の実験ではニコチンアミドとニコチン酸を区別していないためこの名称を使用) が吸収されていることが明らかとなった。汗中のナイアシン損失も今回の実験で非常にわずかであり、無視できることが明らかとなった。これらの事実は、ナイアシンの異化代謝産物として、MNA, 2-Py, 4-Py 以外にも主要な異化代謝産物が存在する可能性を示唆している。

### D. 考察

汗中に出てくるナイアシン量を測定したが、仮に汗を 50 出したと仮定しても、摂取量の 1% 以下であり、無視できることが明らかとなった。糞便中に排泄されるナイアシン量は摂取ナイアシン量の 20% 程度であった。食事への食物繊維の付加は糞便中へのナイアシン量を増加させた。

## E. 健康危険情報

特記する情報はない。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

「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(Japan), 76 (10), 461-468  
(2002)

岡本秀己, 西牟田守, 児玉直子, 福渡努, 柴田  
克己

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

なし。

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-ストレスとナイアシン栄養-

分担研究者 西牟田守 国立健康・栄養研究所 室長  
研究協力者 岡本秀己 滋賀県立大学人間文化学部 講師

研究要旨

ストレスは多くの疾患と様々な関わりを持っており、生活習慣病因子の一つに挙げられている。ストレスがヒトの生体にどのような影響を及ぼすかはビタミン C、タンパク質と一部の無機質の要求量が増大する以外にほとんど研究されていないが、エネルギー代謝におけるナイアシンの役割を考えるとナイアシン利用率も増加する可能性が高いと思われる。

そこで食事条件や身体活動状況を規制し、それらによる変動要因を除外した上で、様々なストレスを負荷した際に、ヒトのナイアシン代謝がどのように影響を受けるのかを検討した。結果、MNA、2-Py、4-Py のナイアシン代謝産物にははっきりとした日内変動が認められ、ナイアシンは夜より昼間に再利用が促進していることが明かとなった。また、寒冷ストレスにのみこのようなナイアシン代謝への影響があり、寒冷ストレスはナイアシンの要求量を増大すると考えられた。

## A. 研究目的

ストレスは多くの疾患と様々な関わりを持っており、生活習慣病因子の一つに挙げられている。ストレスに対する生体反応は、副腎皮質ホルモンを中心に様々なホルモンの働きにより糖質、脂質、およびタンパク質の代謝を亢進させる。一方ナイアシンは体内で NAD または NADP として存在し、400 種類以上の酸化還元酵素の補酵素としてエネルギー代謝と深くかかわっており、最も必要量の多いビタミンとして知られている。

ストレスがヒトの生体にどのような影響を及ぼすかはビタミン C、タンパク質と一部の無機質の要求量が増大する以外にほとんど研究されていないが、エネルギー代謝におけるナイアシンの役割を考えるとナイアシン利用率も増加する可能性が高いと思われる。

そこで食事条件や身体活動状況を規制し、それらによる変動要因を除外した上で、様々なストレスを負荷した際に、ヒトのナイアシン代謝がどのように影響を受けるの

かを検討した。

## B. 実験方法

### 1. 被験者

被験者は、あらかじめ実験内容の説明を受け、書類にて、実験への参加を希望した 19 歳から 26 歳の健康な大学生女子 12 名を対象に実験を行った (Table 1)。実験は被験者を国立健康・栄養研究所被験者実験棟に宿泊させ、日常活動以外の過度な身体活動を制限した条件で実施した。本研究は、国立健康・栄養研究所倫理委員会規約第 6 条に基づき、審議、承認を経て、ヘルシンキ宣言及び本研究所倫理委員会規定に従って実施された。

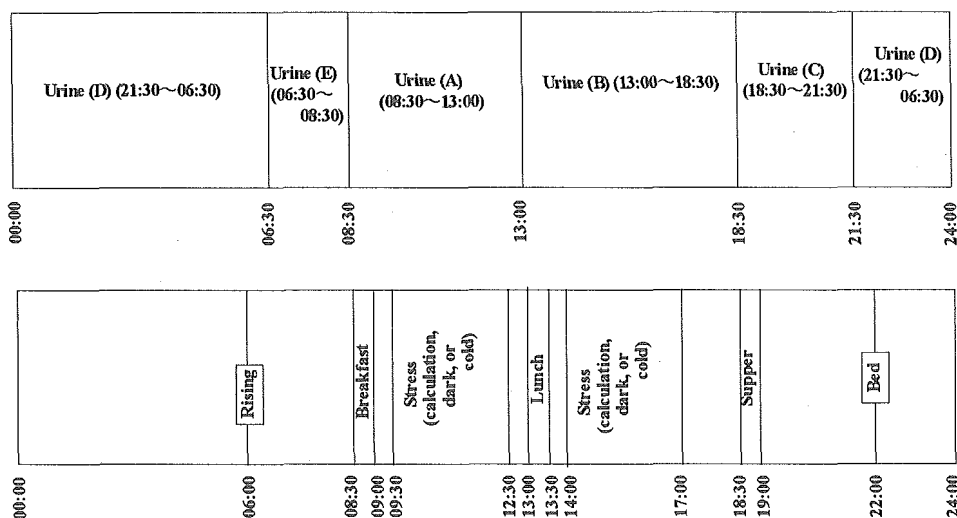
### 2. 実験期間

実験期間は 15 泊 16 日間で、最初の 5 日間を適応期とし、食事や環境に被験者を適応させ

Table 1. Subjects.

Subjects	Sex	Age	Height (cm)	Initial weight (kg)	Final weight (kg)
A	female	23	152.2	45.12	46.07
B	female	21	162.0	57.29	56.75
C	female	20	168.7	57.21	57.09
D	female	20	164.5	55.23	56.42
E	female	26	167.0	61.78	60.18
F	female	19	163.2	51.35	51.75
G	female	19	164.6	57.40	56.84
H	female	21	164.9	60.54	59.82
I	female	22	164.2	56.54	56.72
J	female	20	157.4	48.75	49.02
K	female	19	164.9	58.21	56.55
L	female	21	158.0	46.59	46.69
Mean		20.9	162.6	54.67	54.49
SEM		0.6	1.3	1.57	1.41

Fig.1 Time Schedule.



た。出納期間は1期4日、連続2期の8日間とした。そして、出納期間終了から3日間を予備期間とした。

### 3. 生活条件

被験者は、快適な生活環境の確保等に留意し、Fig. 1に示した1日のスケジュールで行動した。

### 4. 食事と給食方法

実験期間中は1サイクル4日間のサイクルメニューを用いた規定食を全量摂取させた。水分はイオン交換水を自由摂取としたが、その他の飲食は全て禁止とした。食事時間は朝食8:30、昼食13:00、夕食18:30とし、食事条件を均一とした。食事中のエネルギー及びナイアシン量は五訂日本食品標準成分表より算出し、Table2に示した。

### 5. ストレス負荷

#### a. 計算負荷（精神的ストレス）

小学校3年生用算数ドリルをできるだけ早く行い、1ページごとに答え合わせをし、間違った箇所はやりなおし、間違いがなく

Table 2. Food Compositions of the Experimental Diet.

	Energy (kcal)	Niacin (mg)	Trp (mg)	Niacin derived from Trp (mg)	Niacin equivalent (mg)
<b>Diet No.1</b>					
Breakfast	653	4.6	185	3.1	7.7
Lunch	766	6.6	175	2.9	9.5
Supper	646	1.9	357	6.0	7.9
Total	2065	13.1	717	12.0	25.1
<b>Diet No.2</b>					
Breakfast	582	2.6	158	2.6	5.2
Lunch	593	4.0	164	2.7	6.7
Supper	656	8.3	377	6.3	14.6
Total	1831	14.8	699	11.6	26.4
<b>Diet No.3</b>					
Breakfast	699	1.7	309	5.2	6.9
Lunch	490	1.6	121	2.0	3.6
Supper	599	9.2	278	4.6	13.8
Total	1788	12.5	707	11.8	24.3
<b>Diet No.4</b>					
Breakfast	434	4.6	204	3.4	8.0
Lunch	720	3.9	265	4.4	8.3
Supper	717	4.1	230	3.8	7.9
Total	1870	12.6	699	11.6	24.2

なったら次のページにすすむ方法で、午前午後各3時間行った。

b. 寒冷負荷 (身体的ストレス)

4°Cのクールドルーム内で防寒着を着用し、顔面を露出し着席する方法で、午前午後各2時間30分を行った。

c. 拘束

25°Cの人工気候室内を消灯し、アイマスクを着装し、背もたれのない丸椅子に着席し、沈黙する方法で午前午後各3時間行った。

6. 試料の採取方法

尿は E(早朝空腹; 6:30-8:30)、A(午前; 8:30-13:00)、B(午後; 13:00-18:30)、C(夕方; 18:30-22:00)、D(夜間; 22:00-翌朝 6:30)に分割して採取した (Fig.1)。採尿時間に被験者は各自で採尿を行い、その正確な時間を記録した。その後、尿体積を測定し、サンプルに入れ、-25°Cで凍結保存した。

尿中の、ナイアシン, MNA (N<sup>1</sup>-メチルニ

コチンアミド)、2-Py (N<sup>1</sup>-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド)、4-Py (N<sup>1</sup>-メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド) を測定した。測定は、Shibata らの方法によった。

#### 7.統計処理

測定値は平均値±標準誤差で示した。

### C. 結果

#### 1)ストレスに対するナイアシン代謝への影

響

各々のストレス負荷における1日の排泄MNA、2-Py、4-Py量をTable3~5に示した。また、分割尿1分あたりの排泄量をFig.2~4示した。

本実験期間におけるMNA、2-Py、4-Py、代謝産物合計、代謝産物比をFig. 5に示した。

Table 3. Effects of cold-exposure on the urinary excretion of nicotinamide metabolites in terms of daily urine.

	Cold-control ( $\mu\text{mol}/\text{daily urine}$ )	Cold-exposure ( $\mu\text{mol}/\text{daily urine}$ )
MNA	27.04 $\pm$ 12.44	34.57 $\pm$ 12.37 *
2-Py	42.90 $\pm$ 18.68	49.27 $\pm$ 14.72
4-Py	5.46 $\pm$ 3.08	6.52 $\pm$ 2.11
Sum <sup>1</sup>	75.40 $\pm$ 31.80	90.36 $\pm$ 30.14 *
(2-Py + 4-Py)/MNA	1.86 $\pm$ 0.35	1.69 $\pm$ 0.35
	(nmol/mg of creatinine)	(nmol/mg of creatinine)
MNA	24.76 $\pm$ 10.88	31.99 $\pm$ 10.56 *
2-Py	39.34 $\pm$ 17.08	45.59 $\pm$ 12.26
4-Py	5.02 $\pm$ 2.84	6.04 $\pm$ 1.80
Sum <sup>1</sup>	69.12 $\pm$ 28.54	83.62 $\pm$ 22.86 *

<sup>1</sup>Sum = MNA + 2-Py + 4-Py.

Each value is expressed as mean  $\pm$  SD (n = 12). The statistical analysis was performed by paired Student's *t*-test; \* *p*<0.05.

Table 4. Effects of calculation-treatment on the urinary excretion of nicotinamide metabolites in terms of daily urine.

	Calculation -control ( $\mu\text{mol}/\text{daily urine}$ )	Calculation-treatment ( $\mu\text{mol}/\text{daily urine}$ )
MNA	25.61 $\pm$ 10.11	27.35 $\pm$ 8.07
2-Py	43.49 $\pm$ 11.64	46.06 $\pm$ 9.94
4-Py	5.79 $\pm$ 2.15	6.06 $\pm$ 1.52
Sum <sup>1</sup>	74.89 $\pm$ 22.97	79.47 $\pm$ 16.14
(2-Py + 4-Py)/MNA	2.04 $\pm$ 0.48	2.02 $\pm$ 0.59
	(nmol/mg of creatinine)	(nmol/mg of creatinine)
MNA	23.59 $\pm$ 8.21	24.75 $\pm$ 6.44
2-Py	40.63 $\pm$ 10.53	42.15 $\pm$ 9.42
4-Py	5.38 $\pm$ 1.87	5.56 $\pm$ 1.45
Sum <sup>1</sup>	69.60 $\pm$ 20.65	72.46 $\pm$ 13.89

<sup>1</sup>Sum = MNA + 2-Py + 4-Py.

Table 5. Effects of dark-exposure on the urinary excretion of nicotinamide metabolites in terms of daily urine.

	Dark -control ( $\mu\text{mol}/\text{daily urine}$ )	Dark-exposure ( $\mu\text{mol}/\text{daily urine}$ )
MNA	27.82 $\pm$ 12.75	27.64 $\pm$ 9.73
2-Py	46.77 $\pm$ 14.83	49.44 $\pm$ 20.51
4-Py	6.66 $\pm$ 2.60	6.62 $\pm$ 2.77
Sum <sup>1</sup>	81.25 $\pm$ 26.92	83.70 $\pm$ 31.83
(2-Py + 4-Py)/MNA	2.07 $\pm$ 3.64	2.04 $\pm$ 0.55
	(nmol/mg of creatinine)	(nmol/mg of creatinine)
MNA	25.94 $\pm$ 11.67	25.91 $\pm$ 9.14
2-Py	43.49 $\pm$ 12.74	45.75 $\pm$ 18.43
4-Py	6.21 $\pm$ 2.36	6.13 $\pm$ 2.49
Sum <sup>1</sup>	75.64 $\pm$ 23.76	77.79 $\pm$ 28.72



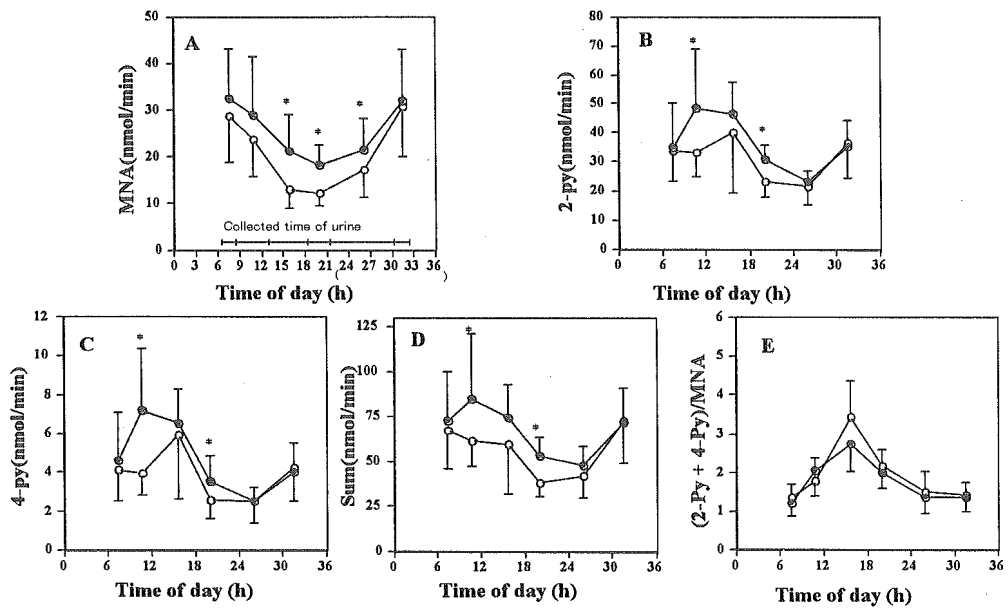


Fig. 3. Effect of cold-exposure on the urinary excretion of nicotinamide metabolites, MNA (A), 2-Py (B), 4-Py (C), and Sum (D), and the excretory ratio of (2-Py + 4-Py)/MNA (E). Each time point was mean  $\pm$  SE for 12 urine samples  $\circ$ , stress;  $\bullet$  control.

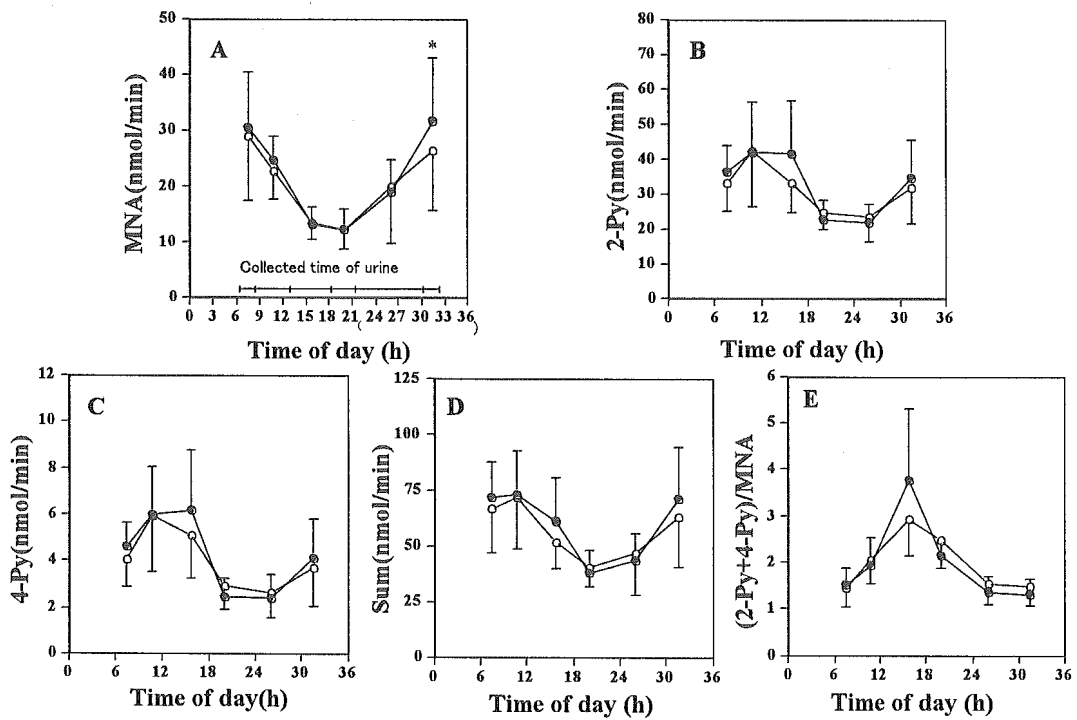


Fig. 4. Effect of calculation-treatment on the urinary excretion of nicotinamide metabolites

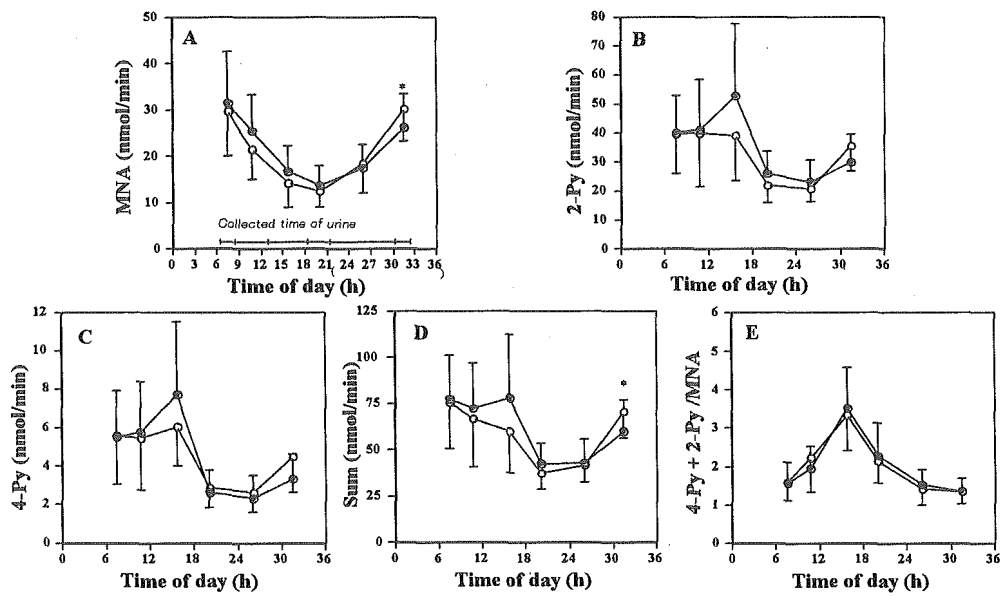


Fig. 5. Effect of dark-exposure on the urinary excretion of nicotinamide metabolites.

## 1. 寒冷ストレス

MNA の排泄量は、寒冷ストレス群、コントロール群共に早朝空腹時尿(E)と午前尿(A)で多く、夕方尿(C)で最も少なくなる日内変動を示した。寒冷ストレスを負荷した際、午前尿(A)で有意ではないが増加し、午後尿(B)、夕方尿(C)、夜間尿(D)では有意に増加した。

2-Py の排泄量は、寒冷ストレス群、コントロール群共に午前尿(A)、午後尿(B)で多く、夕方尿(C)、夜間尿(D)で少ない日内変動を示した。寒冷ストレスを負荷した際、午前尿(A)と夕方尿(C)で有意に増加した。

4-Py の排泄量は、ストレス群、コントロール共に午前尿(A)、午後尿(B)で多く、夕方尿(C)、夜間尿(D)で少ない日内変動を示した。寒冷ストレスを負荷した場合、午前尿(A)と夕方尿(C)で有意に増加した。

(MNA+2-Py+4-Py)代謝産物の排泄量合計(Sum)は、寒冷ストレス群、コントロール群共に午前尿(A)、午後尿(B)で多く、夕方尿(C)、夜間尿(D)で少ない日内変動を示した。寒冷ストレスを負荷した際、午前尿(A)と夕方尿(C)で有意に増加した。

寒冷ストレス群で(4-Py+2Py)/MNAの比は午後尿(B)で低下し、MNAから2-Py、4-Pyへの代謝が低下し、NADの再利用が高まった。

## 2. 計算ストレス

MNA の排泄量は、計算ストレス群、コントロール群共に早朝空腹時尿(E)と午前尿(A)で多く、夕方尿(C)で最も少なくなる日内変動を示した。計算ストレスを負荷した際、午前尿(A)、翌朝早朝空腹時尿(E)で有意に増加した。

2-Py の排泄量は、計算ストレス群、コン

トロール群共に午前尿(A)、で多く、夕方尿(C)、夜間尿(D)で少ない日内変動を示した。計算ストレスを負荷した場合、午後尿(B)でコントロールより増加したが有意な差ではなかった。

4-Py の排泄量は、計算ストレス群、コントロール群共に午前尿(A)、午後尿(B)で多く、夕方尿(C)、夜間尿(D)で少ない日内変動を示した。計算ストレスを負荷した場合、午後尿(B)で対照より増加したが有意な差ではなかった。

(MNA+2-Py+4-Py)代謝産物合計排泄量は、午前尿(A)、翌朝早朝空腹時尿(E)で多く、夕方尿(C)、夜間尿(D)で少ない日内変動を示した。計算ストレスを負荷した場合、午後尿(B)でコントロールより増加したが有意ではなかった。

(4-Py+2Py)/MNA比は、午後尿(B)で寒冷ストレス群で増加し、MNAからの2-Py、4-Pyへの代謝が高まり、NADの再利用が低下した。

## 3. 拘束ストレス

MNA の排泄量は、拘束ストレス群、コントロール群共に早朝空腹時尿(E)と午前尿(A)で多く、夕方尿(C)で最も少なくなる日内変動を示した。拘束ストレスを負荷した場合、午前尿(A)で有意に増加したが、翌朝早朝空腹時尿(E)では有意に減少した。

2-Py の排泄量は、拘束ストレス群、コントロール群共に早朝空腹時尿(E)、午前尿(A)、午後尿(B)で多く、夕方尿(C)、夜間尿(D)で少ない日内変動を示した。拘束ストレスを負荷した場合、午後尿(B)で対照より増加したが有意な差ではなかった。

4-Py の排泄量は、拘束ストレス群、コントロール群共に午前尿(A)、午後尿(B)で多

く、夕方尿(C)、夜間尿(D)で少ない日内変動を示した。拘束ストレスを負荷した場合、午後尿(B)でコントロールより増加したが有意な差ではなかった。また、翌朝早朝空腹時尿(E)では減少する傾向がみられた。

代謝産物合計の排泄量は、早朝空腹時尿(E)、午前尿(A)、午後尿(B)で多く、夕方尿(C)、夜間尿(D)で少ない日内変動を示した。拘束ストレスを負荷した場合、午後尿(B)でコントロールより増加したが有意な差ではなかった。また、翌朝早朝空腹時尿(E)で有意に減少した。

$(4\text{-Py} + 2\text{Py}) / \text{MNA}$ 比は、寒冷ストレス、計算ストレスのようなストレス負荷による影響は認められなかった。

#### D. 結論

MNA、2-Py、4-Pyの尿中排泄は一般的にナイアシン栄養の指標として使われている。今回の実験では、摂取ナイアシン量をできる限り正確に摂取し、その中でいくつかのストレス負荷を行い、その時の可能な限り正確に採取した排泄分尿からMNA、2-Py、4-Pyを測定した。

日内変動をみると、MNAでは夜より、昼間で排泄量は低く、2-Py、4-Py、そして代謝量合計は朝・夜より午後が低かった。代謝比は正午にピークがあった。エネルギー消費は一般的に夜間より昼間高い。日中の代謝産物が低いことはニコチンアミドの再利用が夜間より日中に高まっているためと考えられる。MNAとそのMNAピリドン体の日内変動のパターンの違いはニコチンアミドからのMNA、MNAから2-Py、MNAから4-Pyの反応における酵素の違った調節機構を示唆すると考えられる。

寒冷負荷では、MNA、2-Py、4-Pyの

各代謝産物排泄量、総排泄量が増加した。このことは、おそらくNADの利用の減少により、NADサイクルの回転を減少させたことを示唆する。この代謝の変化は、寒冷ストレスが代謝効率を減少させたか、エネルギー代謝を減少させたためかもしれない。

一般的には寒冷に対する生体の反応は、代謝の増大、すなわち熱産生の増加と考えられるが、今回のストレス負荷時にエネルギー代謝の測定を行っておらず、今後この点は明らかにする必要がある。代謝率は午前でストレス時にコントロールより低く、被験者にとってはあまり身体的に芳しいものではなかったことが推察される。

計算負荷では、ほとんどナイアシン代謝に影響は認められなかった。暗黒負荷では、午前尿においてのみ、2-Py、4-Pyの代謝に影響を与えたがMNAの代謝には影響を与えなかった。則ち、午前午後の負荷にも関わらず、被験者は午前にのみストレスを感じたと考えられる。

以上をまとめると、MNA、2-Py、4-Pyのナイアシン代謝産物にははっきりとした日内変動が認められ、ナイアシンは夜より昼間に再利用が促進していることが明らかとなった。また、寒冷ストレスにのみこのようなナイアシン代謝への影響があり、寒冷ストレスはナイアシンの要求量を増大すると考えられた。

#### E. 健康危険情報

特記する情報はない。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

① Effects of Stress on the Urinary Excretory