

Table 2. The Composition of the Diet 1.

	Breakfast	Lunch	Dinner	Total
Energy (kcal)	402	689	617	1784
Protein (g)	19.5	23.8	25.2	68.6
Fat (g)	15.7	25.5	9.6	50.8
carbohydrates (g)	46.0	85.8	104.4	248.8
Fat-soluble vitamins				
Vitamin A (µg)	150	309	419	878
Vitamin D (µg)	1	0	2	3
Vitamin E (mg)	1.1	2.1	2.4	5.6
Vitamin K (µg)	8	204	98	311
Water-soluble vitamins ¹				
Vitamin B ₁ (mg as thiamin)	0.35	0.17	0.07	0.59
Vitamin B ₂ (mg as riboflavin)	0.47	0.20	0.25	0.92
Vitamin B ₆ (mg as pyridoxine)	0.20	0.36	0.68	1.24
Vitamin B ₁₂ (µg as cyanocobalamin)	0.7	0.5	6.2	7.4
Niacin equivalent ² (mg)	7.04	8.42	14.89	30.35
Pantothenic acid (mg)	1.97	4.21	3.14	9.32
Folic acid (µg as pteroil monoglutamic acid)	52	134	44	230
Biotin (µg)	21	20	26	67
Vitamin C (mg as L-ascorbic acid)	34	34	50	118
Minerals				
Na (mg)	794	1175	850	2845
K (mg)	592	601	625	1993
Ca (mg)	249	142	85	479
Mg (mg)	47	71	74	192
P (mg)	380	293	317	1071
Fe (mg)	0.8	3.4	2.6	6.7
Zn (mg)	1.8	3.7	2.5	8.0
Cu (mg)	0.15	0.44	0.43	1.02

¹Water-soluble vitamins except for vitamin B₁₂ are measured. Other nutrients are calculated by using the Standard Tables of Food Composition in Japan, Fifth revised edition -2000-, Resources Council, Science and Technology Agency, Japan.

²The niacin equivalent intake was calculated as follows: The average tryptophan content in food protein is 1.1 % and the 1/60 (in weight basis) of tryptophan taken was converted into niacin in the body.

Table 3. The Composition of the Diet 2.

	Breakfast	Lunch	Dinner	Total
Energy (kcal)	463	549	606	1693
Protein (g)	19.6	21.4	20.5	61.5
Fat (g)	22.3	12.8	10.0	45.0
carbohydrates (g)	46.1	85.6	105.5	249.8
Fat-soluble vitamins				
Vitamin A (μg)	294	144	444	882
Vitamin D (μg)	1	0	0	1
Vitamin E (mg)	2.7	0.6	2.9	6.2
Vitamin K (μg)	12	98	100	210
Water-soluble vitamins ¹				
Vitamin B ₁ (mg as thiamin)	0.35	0.09	0.02	0.46
Vitamin B ₂ (mg as riboflavin)	0.47	0.18	0.17	0.81
Vitamin B ₆ (mg as pyridoxine)	0.20	0.35	0.31	0.86
Vitamin B ₁₂ (μg as cyanocobalamin)	0.7	0.3	10.3	11.3
Niacin equivalent ² (mg)	7.04	8.08	9.67	24.79
Pantothenic acid (mg)	1.97	3.73	3.55	9.25
Folic acid (μg as pteroil monoglutamic acid)	52	125	105	282
Biotin (μg)	21	12	20	53
Vitamin C (mg as L-ascorbic acid)	34	25	53	112
Minerals				
Na (mg)	833	1237	1080	3177
K (mg)	594	851	615	2235
Ca (mg)	250	173	96	523
Mg (mg)	47	113	96	257
P (mg)	381	253	317	1032
Fe (mg)	0.8	6.2	3.2	10.2
Zn (mg)	1.9	2.8	4.2	8.9
Cu (mg)	0.15	0.33	0.47	0.95

¹Water-soluble vitamins except for vitamin B₁₂ are measured. Other nutrients are calculated by using the Standard Tables of Food Composition in Japan, Fifth revised edition -2000-, Resources Council, Science and Technology Agency, Japan.

²The niacin equivalent intake was calculated as follows: The average tryptophan content in food protein is 1.1 % and the 1/60 (in weight basis) of tryptophan taken was converted into niacin in the body.

Table 4. A Comparison of the Values between the 6th Revised Japanese Recommended Dietary Allowances (RDA) and the Saturated Points obtained from the Present Data.

Vitamins	Japanese RDA (Female, 18-29 years old)	Saturated point	Saturated point/Japanese RDA
Vitamin B ₁	0.42 mg/1000 kcal	1.2 mg/1000 kcal	2.9
Vitamin B ₂	0.48 mg/1000 kcal	2.2 mg/1000 kcal	4.6
Vitamin B ₆ *	0.017 mg/g protein	0.066 mg/g protein	3.7
Niacin	6.3 mg/1000 kcal	34.5 mg/1000 kcal	5.5
Pantothenic acid	5 mg/day	24 mg/day	4.8
Folic acid	0.2 mg/day	0.78 mg/day	3.9
Biotin	0.03 mg/day	0.10 mg/day	3.3
Vitamin C	100 mg/day	190 mg/day	1.9

*Pyridoxine was given to the subjects, so the bioavailability of 0.75 was not considered (EAR = 0.014 mg/g protein. RDA = EAR (0.014))

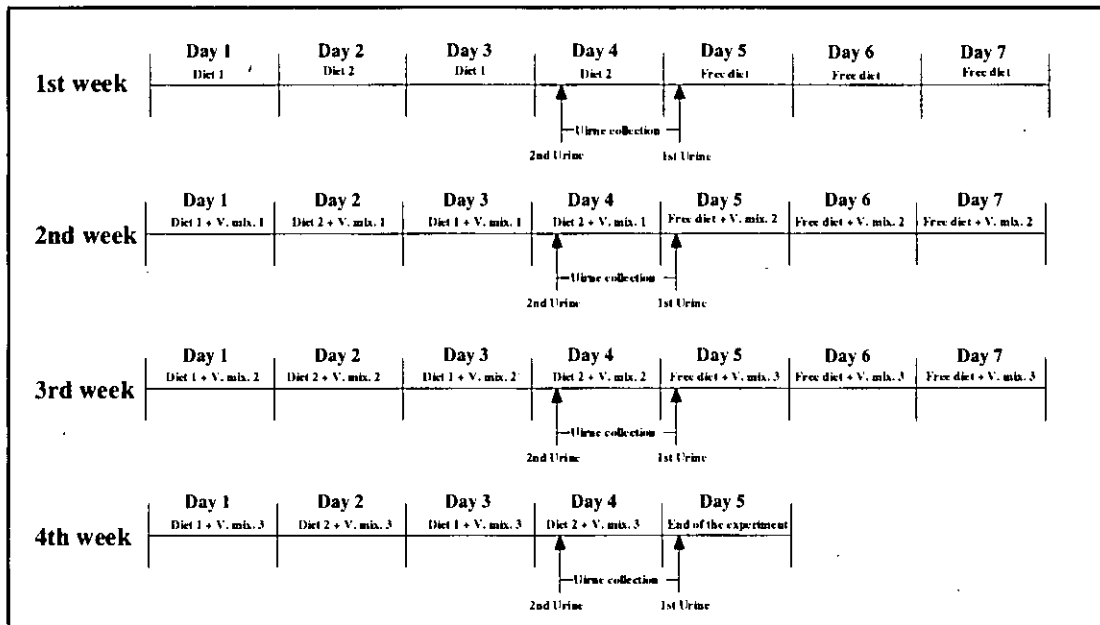


Fig. 1. The Scheme of the Study Design

The subjects were fed the diet shown in Tables 1 (diet 1) and 2 (diet 2) followed as in the Figure. The administration amount in each week was divided into 3:4:3 in breakfast:lunch:supper. Urine samples (around 07:00 on Day 4-07:00 on Day 5) were collected and the collected samples were immediately treated as shown in "Materials and Methods". After the urine collection had been finished, the subjects were taken free diet on Day 5-Day 7 on each week. "The vitamin mixtures 1 (The objected amount of each water-soluble vitamin was 1-fold for the respective RDA. The following values were chemically measured.)" contains 0.56 mg of thiamin, 0.92 mg of riboflavin, 0.96 mg of pyridoxine, 9.2 mg of nicotinamide, 4.77 mg of pantothenic acid, 0.205 mg of folic acid, 0.026 mg of biotin, and 98 mg of ascorbic acid. "The vitamin mixtures 2 (The objected amount of each water-soluble vitamin was 3-folds for the respective RDA. The following values were chemically measured.)" contains 1.78 mg of thiamin, 2.95 mg of riboflavin, 3.21 mg of pyridoxine, 36.4 mg of nicotinamide, 4.77 mg of pantothenic acid, 0.530 mg of folic acid, 0.084 mg of biotin, and 296 mg of ascorbic acid. "The vitamin mixtures 3 (The objected amount of each water-soluble vitamin was 6-folds for the respective RDA. The following values were chemically measured.)" contains 3.89 mg of thiamin, 5.74 mg of riboflavin, 6.61 mg of pyridoxine, 67.4 mg of nicotinamide, 4.77 mg of pantothenic acid, 1.34 mg of folic acid, 0.182 mg of biotin, and 600 mg of ascorbic acid.

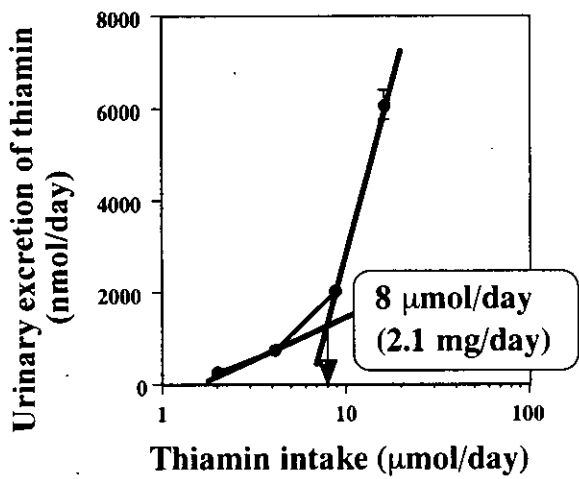


Fig. 2. The Relationships of Vitamin B₁ (Thiamin) Intakes and the Urinary Excretion of Vitamin B₁ (Thiamin).

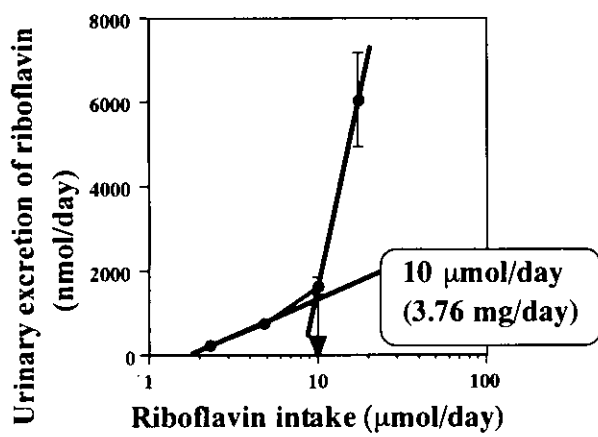


Fig. 3. The Relationships of Vitamin B₂ (Riboflavin) Intakes and the Urinary Excretion of Vitamin B₂ (Riboflavin).

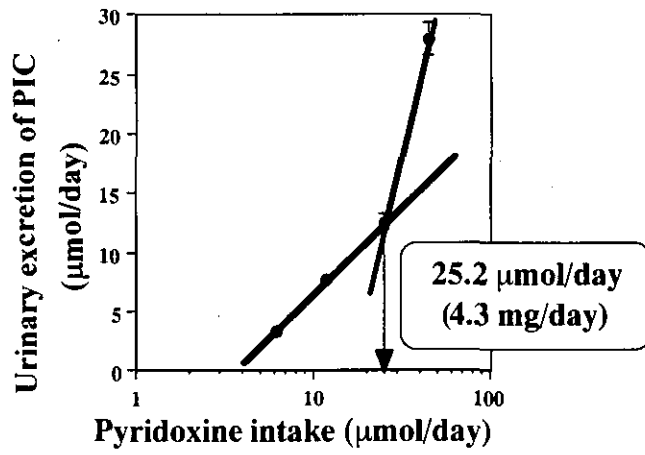


Fig. 4. The Relationships of Vitamin B₆ (Pyridoxine) Intakes and the Urinary Excretion of 4-Pyridoxic acid (Vitamin B₆ catabolite).

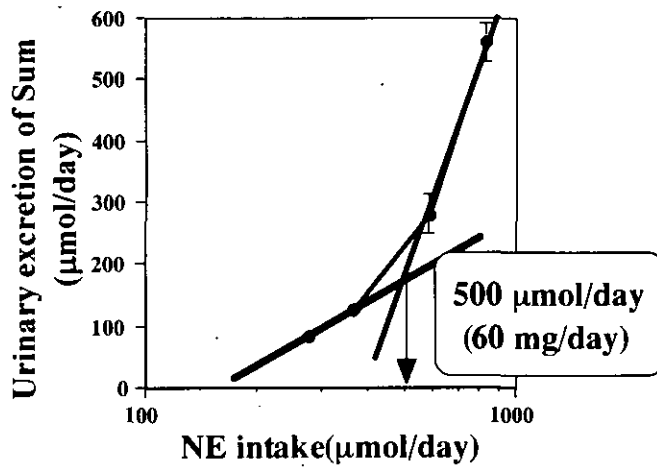


Fig. 5. The Relationships of Niacin-equivalent (Nicotinamide) Intakes and the Urinary Excretion of Sum of MNA, 2-Py and 4-Py (Nicotinamide catabolites).

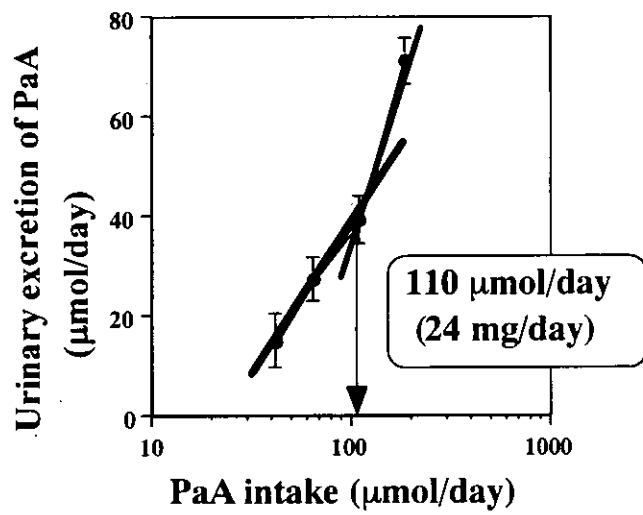


Fig. 6. The Relationships of Pantothenic Acid Intakes and the Urinary Excretion of Pantothenic Acid.

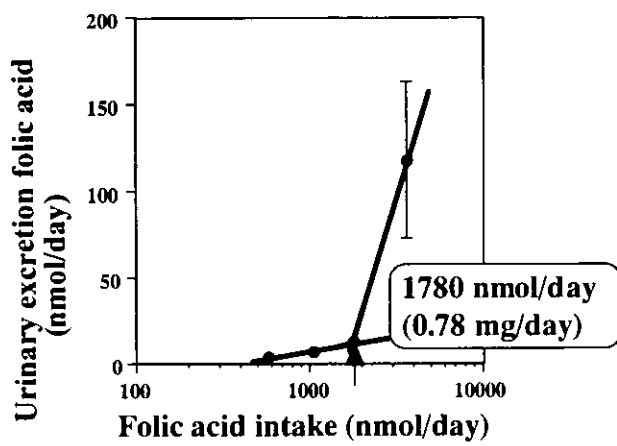


Fig. 7. The Relationships of Folic Acid Intakes and the Urinary Excretion of Folic Acid.

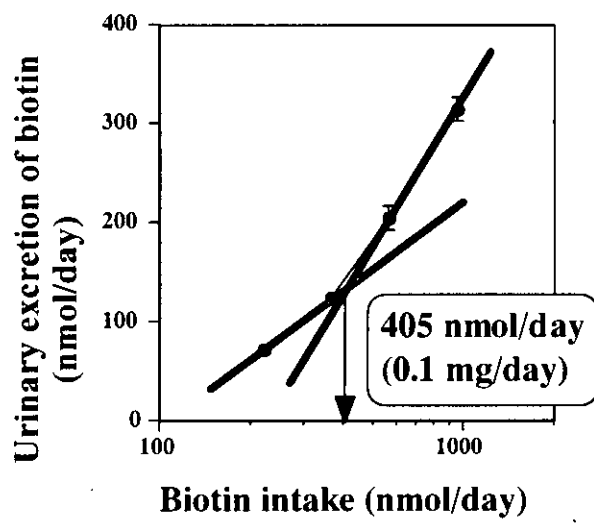


Fig. 8. The Relationships of Biotin Intakes and the Urinary Excretion of Biotin.

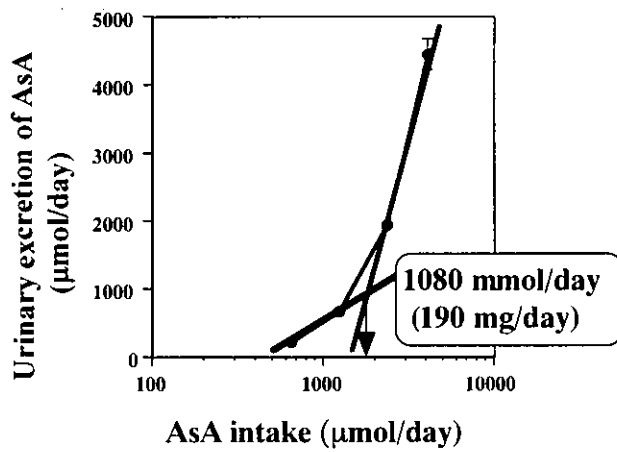


Fig. 9. The Relationships of Ascorbic Acid Intakes and the Urinary Excretion of Ascorbic Acid.

III. ヒトを用いた水溶性ビタミン食事摂取基準の検討

3. 食品中のB群ビタミンの生物利用率の測定方法の開発

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

食品中のB群ビタミンの生物利用率を、ヒトを用いて測定する方法を構築した。実験期間は12日間である。栄養所要量に示された量の栄養素をほぼ含む規定食を4日間摂取させた（特にB群ビタミンには配慮した）。実験第4日の1日尿を採取し、B群ビタミンの分析を行い、データ1とした。実験第5日～7日は、被験者の負担を軽減させるために自由食を摂取させた。但し、次の実験データを得るために、栄養所要量に示された量のB群ビタミン混合を付加させた。第2週目の第1日から第4日は規定食+栄養所要量に示された量のB群ビタミン混合を摂取させた。実験4日の1日尿を採取し、B群ビタミンの分析を行い、データ2とした。生物利用率は次のように計算した。ビタミンB₁を例に説明する。A = (データ2のビタミンB₁値 - データ1のビタミンB₁値) / B群ビタミン混合中のビタミンB₁量。B = (データ1のビタミンB₁値) / 食品中のビタミンB₁量。生物利用率 (%) = (B / A) × 100 から計算した。女子学生が普段摂取している代表的な食事を基本とした規定食を作成して、生物利用率を調べた。その結果、ビタミンB₁は67±20%（平均値±SD, n=6）、ビタミンB₂は64±16%、ビタミンB₆は73±5%、ナイアシンは67±19%、パントテン酸は69±11%であった。

A. 目的

食品中のビタミンの多くは、遊離型ではなく、いわゆる結合型と称される形で存在している。生細胞中のB群ビタミンは、酵素タンパク質の補酵素としてその活性中心に存在している。植物性食品では、ピリドキシン、ニコチン酸、パントテン酸のようにグルコースなどの糖と結合した形で存在しており、生物利用率の低いことが明らかとなっているものもある。従って、我々が食品中のB群ビタミンを吸収し、利用するには、まず結合型を遊離型にする消化という過程が必要である。この消化作用は、必ずしも完全ではない。従って、我々が、摂取したビタミンのうちの何%を吸収・利用できるのかをあらかじめ知っておくことにより、質の高い栄養を達成することができる。そのためには、食品中のビタミンの生物利用率を決めるための実用的な実験方法の開発が必要である。

B. 実験方法

被験者

女子学生を被験者とした。被験者の身体的特徴をTable 1に示した。

食事

2種類の食事を摂取させた。その栄養素成分はTable 2とTable 3に示した。ビタミンB₁₂を除く7種類の水溶性ビタミンは実測値である。他は五訂日本食品標準成分表を用いて、計算した。

実験計画

概略をFig. 1に示した。

女子学生が選択する一般的な食事メニューを、第1週目は4日間摂取させ、実験開始4日の24時間尿を採取し、水溶性ビタミン量を測定した(Data 1)。5日目の採尿終了後～7日目は自由食とした。但し、食事に含まれる水溶性ビタミン量とほぼ当量の水溶性ビタミン混合を摂取させた。第2週目は、引き続き、一定の食事を与え、さらに、その食事に含まれる水溶性ビタミン量とほぼ同じ量の水溶性ビタミン量混合を摂取させた。第2週目の4日目の24時間尿を採取し、水溶性ビタミン量を測定した(Data 2)。蓄尿中の尿は水中に保存し、24時間尿の採取後、直ちに容量を測定した。水溶性ビタミンは化学構造上の違いから、安定化条件が異なる。ビタミンB₁、ビタミンB₂、ビタミンB₆、ナイアシンとその異化代謝産物測定のためには、尿9 mlに1 mol/L HClを添加した後、-20°Cで保

存した。パントテン酸は尿をそのまま -20°C で保存した。

分析方法

ビタミン B₁

尿中のビタミン B₁ 定量方法に記した方法に従って行った。

ビタミン B₂

尿中のビタミン B₂ 定量方法に記した方法に従って行った。

ビタミン B₆ の異化代謝産物 4-ピリドキシン酸

尿中の 4-ピリドキシン酸定量方法に記した方法に従って行った。

ナイアシンの異化代謝産物 MNA, 2-Py, 4-Py

尿中の MNA, 2-Py, 4-Py 定量方法に記した方法に従って行った。

パントテン酸

尿中のパントテン酸定量方法に記した方法に従って行った。

C. 結果

食事を摂取している時の B 群ビタミンの尿中排泄量を Data 1 として、食事にビタミン混合を付加した時の排泄量を Data 2 として Table 4 に示した。また、ビタミン混合付加による増大量を Data 3 として Table 4 に示した。生体利用率の計算は、食事時のビタミンを 1 mg 摂取した時に尿中に排泄されるビタミン量と添加した合成ビタミンを 1 mg 摂取した時に増加したビタミン排泄量との比較から計算した。その結果を Table 5 に示した。

ビタミン B₁

生体利用率は以下の計算によって求めた。

$A = \text{Data 1 のビタミン B}_1 \text{ 排泄量 } (\mu\text{mol/day}) / \text{食事時のビタミン B}_1 \text{ 摂取量の値 } (\text{mg/day})$

$B = \text{Data 3 のビタミン B}_1 \text{ 排泄量 } (\mu\text{mol/day}) / \text{合成ビタミン B}_1 \text{ 付加量の値 } (\text{mg/day})$

生体利用率は「A」/「B」 $\times 100$ から求めた。その結果は、上述のように、平均値 \pm SD で、 $67\pm 20\%$ であった。最小値は 42%、最高値は 87%であった。

ビタミン B₂

生体利用率は、Table 5 に示したように $64\pm 16\%$ であった。最小値は 41%、最大値は 90%であった。

ビタミン B₆

生体利用率は、Table 5 に示したように $73\pm 5\%$ であった。最小値は 66%、最大値は 80%であった。

ナイアシン

生体利用率は、Table 5 に示したように $67\pm 19\%$ であった。最小値は 35%、最大値

は 80%であった。

パントテン酸

生体利用率は、Table 5 に示したように $69\pm 11\%$ であった。最小値は 51%、最大値は 78%であった。

D. 考察

標準的な米国人の食事時のビタミン B₆ の生体利用率は、相当する化学的合成品のビタミンの利用率の 75%程度、パントテン酸は 50%程度であることが報告されている (1)。ビタミン B₁₂ は、放射性ビタミン B₁₂ を投与したホール・ボディー・カウント法を用いて、経口投与した合成ビタミン B₁₂ の約 50%が吸収されたことが報告されている (2)。一方、標準的な日本食に関する報告はみあたらない。

今回、簡便で正確に食品中の水溶性ビタミンの生体利用率を求める方法を確立することができた。今回の実験では、女子学生が選択する典型的なメニューでの水溶性ビタミンの生体利用率を明らかにした。なお、今回明らかにできなかったビタミン B₁₂、葉酸、ビオチン、ビタミン C に関しては、今後明らかにしたい。

今回確立した方法を駆使して、各年齢層が食している典型的なメニューを選択し、食品中の水溶性ビタミンの生体利用率を明らかにすれば、栄養資源としての数値が記載されている食品を知ることができる。

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

なし

2. 口頭発表

なし

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. Tarr JB, Tamura T, Stokstad ELR (1981) Availability of vitamin B₆ and pantothenate in an average American diet in man. Am J Clin Nutr 34: 1328-37.

2. Heyssel RM, Bozian RC, Darby WJ, Bell MC (1966) Vitamin B₁₂ turnover in man. The assimilation of vitamin B₁₂ from natural

foodstuff by man and estimates of minimal daily requirements. Am J Clin Nutr 18: 176-84.

Table 1. Characteristics of the Subjects.

Subjects	Age (Yr)	Height (cm)	Body weight (kg)	BMI
Female 1	21	161.0	50.0	19.29
Female 2	21	161.0	52.5	20.25
Female 3	21	162.0	46.0	17.53
Female 4	21	160.7	53.0	20.52
Female 5	21	160.5	53.0	20.57
Female 6	21	165.0	52.5	19.28
Mean	21.0	161.7	51.2	19.57
SEM	0.0	0.6	1.1	0.46

Table 2. The Composition of the Diet 1.

	Breakfast	Lunch	Dinner	Total
Energy (kcal)	402	689	617	1784
Protein (g)	19.5	23.8	25.2	68.6
Fat (g)	15.7	25.5	9.6	50.8
Carbohydrates (g)	46.0	85.8	104.4	248.8
Fat-soluble vitamins				
Vitamin A (µg)	150	309	419	878
Vitamin D (µg)	1	0	2	3
Vitamin E (mg)	1.1	2.1	2.4	5.6
Vitamin K (µg)	8	204	98	311
Water-soluble vitamins ¹				
Vitamin B ₁ (mg as thiamin)	0.35	0.17	0.07	0.59
Vitamin B ₂ (mg as riboflavin)	0.47	0.20	0.25	0.92
Vitamin B ₆ (mg as pyridoxine)	0.20	0.36	0.68	1.24
Vitamin B ₁₂ (µg as cyanocobalamin)	0.7	0.5	6.2	7.4
Niacin equivalent ² (mg)	7.04	8.42	14.89	30.35
Pantothenic acid (mg)	1.97	4.21	3.14	9.32
Folic acid (µg as pteroil monoglutamic acid)	52	134	44	230
Biotin (µg)	21	20	26	67
Vitamin C (mg as L-ascorbic acid)	34	34	50	118
Minerals				
Na (mg)	794	1175	850	2845
K (mg)	592	601	625	1993
Ca (mg)	249	142	85	479
Mg (mg)	47	71	74	192
P (mg)	380	293	317	1071
Fe (mg)	0.8	3.4	2.6	6.7
Zn (mg)	1.8	3.7	2.5	8.0
Cu (mg)	0.15	0.44	0.43	1.02

¹Water-soluble vitamins except for vitamin B₁₂ are measured. Other nutrients are calculated by using the Standard Tables of Food Composition in Japan, Fifth revised edition -2000-, Resources Council, Science and Technology Agency, Japan.

²The niacin equivalent intake was calculated as follows: The average tryptophan content in food protein is 1.1 % and the 1/60 (in weight basis) of tryptophan taken was converted into niacin in the body.

Table 3. The Composition of the Diet 2.

	Breakfast	Lunch	Dinner	Total
Energy (kcal)	463	549	606	1693
Protein (g)	19.6	21.4	20.5	61.5
Fat (g)	22.3	12.8	10.0	45.0
Carbohydrates (g)	46.1	85.6	105.5	249.8
Fat-soluble vitamins				
Vitamin A (µg)	294	144	444	882
Vitamin D (µg)	1	0	0	1
Vitamin E (mg)	2.7	0.6	2.9	6.2
Vitamin K (µg)	12	98	100	210
Water-soluble vitamins ¹				
Vitamin B ₁ (mg as thiamin)	0.35	0.09	0.02	0.46
Vitamin B ₂ (mg as riboflavin)	0.47	0.18	0.17	0.81
Vitamin B ₆ (mg as pyridoxine)	0.20	0.35	0.31	0.86
Vitamin B ₁₂ (µg as cyanocobalamin)	0.7	0.3	10.3	11.3
Niacin equivalent ² (mg)	7.04	8.08	9.67	24.79
Pantothenic acid (mg)	1.97	3.73	3.55	9.25
Folic acid (µg as pteroil monoglutamic acid)	52	125	105	282
Biotin (µg)	21	12	20	53
Vitamin C (mg as L-ascorbic acid)	34	25	53	112
Minerals				
Na (mg)	833	1237	1080	3177
K (mg)	594	851	615	2235
Ca (mg)	250	173	96	523
Mg (mg)	47	113	96	257
P (mg)	381	253	317	1032
Fe (mg)	0.8	6.2	3.2	10.2
Zn (mg)	1.9	2.8	4.2	8.9
Cu (mg)	0.15	0.33	0.47	0.95

¹Water-soluble vitamins except for vitamin B₁₂ are measured. Other nutrients are calculated by using the Standard Tables of Food Composition in Japan, Fifth revised edition -2000-, Resources Council, Science and Technology Agency, Japan.

²The niacin equivalent intake was calculated as follows: The average tryptophan content in food protein is 1.1 % and the 1/60 (in weight basis) of tryptophan taken was converted into niacin in the body.

Table 4. The Comparison of the Values between Urinary Excretions of Vitamins when the subjects are fed on a diet only and when on a diet and vitamin mixtures.

Vitamins	Urinary excretion of Vitamins (μmol/day) Data 1	Urinary excretion of Vitamins (μmol/day) Data 2	Urinary excretion of Vitamins (μmol/day) Data 3
Thiamin	0.288 ± 0.074	0.780 ± 0.176	0.492 ± 0.149
Riboflavin	0.283 ± 0.072	0.758 ± 0.165	0.475 ± 0.115
Pyridoxine	3.435 ± 0.409	7.750 ± 0.652	4.315 ± 0.256
Nicotinamide	85.617 ± 10.848	131.612 ± 16.568	45.995 ± 15.202
Pantothenic acid	14.555 ± 1.982	25.742 ± 4.848	11.187 ± 3.149

Vitamins	Dietary vitamin intake (mg/day)	Added synthesized vitamin intake (mg/day)	
Thiamin	0.52	0.56	-
Riboflavin	0.87	0.92	-
Pyridoxine	1.05	0.96	-
Nicotinamide	27.6	9.2	-
Pantothenic acid	9.30	4.79	-

Data 1: The values are urinary excretions of vitamins when only the diet is fed to the subjects.

Data 2: The values are urinary excretions of vitamins when the diet and vitamin mixtures are fed to the subjects.

Data 3: The values are calculated "Data 2" - "Data 1".

Values are means ± SD for 6 subjects.

Table 5. Bioavailability of B-Vitamins in some foods.

Vitamins	Urinary excretion/mg vitamin intake* ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ dietary vitamin intake)	Increased urinary excretion/mg vitamin intake** ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ added synthesized vitamin intake)	Bioavailability (%)
Thiamin	0.554 ± 0.142	0.879 ± 0.267	67 ± 20
Riboflavin	0.326 ± 0.083	0.516 ± 0.125	64 ± 16
Pyridoxine	3.271 ± 0.389	4.495 ± 0.267	72 ± 5
Nicotinamide	3.102 ± 0.393	4.998 ± 1.652	67 ± 19
Pantothenic acid	1.565 ± 0.213	2.335 ± 0.657	69 ± 11

*The values are calculated as follows: Data 1 ($\mu\text{mol}/\text{day}$)/dietary vitamin intake (mg/day).

**The values are calculated as follows: Data 3 ($\mu\text{mol}/\text{day}$)/added synthesized vitamin intake (mg/day).

Values are means \pm SD for 6 subjects.

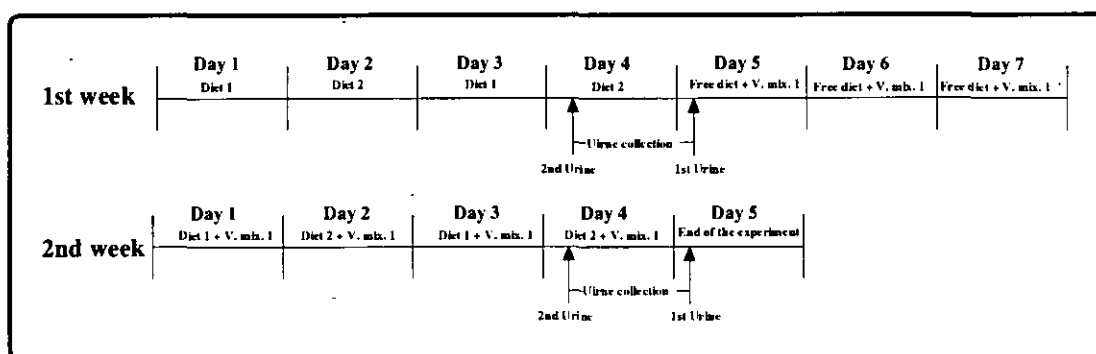


Fig. 1. Study Design

平成16年度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

III. ヒトを用いた水溶性ビタミン食事摂取基準の検討

4. ニコチンアミドの添加は *de novo* ニコチンアミド生合成経路に影響を及ぼさない（ヒト）

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

ニコチンアミドは、ヒトにおいてもトリプトファンから *de novo* 合成される。トリプトファン-ナイアシン転換係数を 60 とすると、日本人では、ナイアシン当量摂取量の半分はトリプトファンから生合成されたものであるため、この係数をどのように扱うかは、ナイアシンの必要量算定においてきわめて重要な問題となっている。ところが、この *de novo* ニコチンアミド合成経路が、ヒトにおいて摂取ニコチンアミド量によって影響を受けるか否かについては、未だに報告がない。もし、摂取ニコチンアミド量によって *de novo* ニコチンアミド生合成経路がフィードバック阻害をうけているならば、ナイアシンの必要量の策定に大きな影響を及ぼすことになる。そこで、6名の女性を被験者として、ニコチンアミドの添加が *de novo* ニコチンアミド生合成経路の中間代謝産物の産生に及ぼす影響を調べた。その結果、アンスラニル酸、キヌレン酸、キサントレン酸、3-ヒドロキシキヌレン酸、キノリン酸の産生量はニコチンアミドを 89 $\mu\text{mol}/\text{日}$ 、310 $\mu\text{mol}/\text{日}$ 、562 $\mu\text{mol}/\text{日}$ という量を付加させても、全く変動しなかった。すなわち、*de novo* ニコチンアミド生合成経路は目的産物であるニコチンアミドによってフィードバック阻害を受けていないことが明らかとなった。したがって、ナイアシンの必要量を算定する上で、摂取ニコチンアミド量を考慮に入れたトリプトファン-ナイアシン係数を算定する必要がないことが、はじめて明らかとなった。

A. 目的

生合成経路の一般的な調節機構の1つに最終産物によるフィードバック阻害がある。例えば、de novo コレステロール生合成経路は最終産物のコレステロールがその中間酵素であるHMG-CoA還元酵素をフィードバック阻害することで、体内のコレステロール含量が調節されている¹⁾。つまり、食事から摂取するコレステロール量が増大すると、de novo コレステロール生合成経路活性は低下する。

ビタミンは体内では生合成されないことが定義の1つとされるが、B群ビタミンの1つであるニコチンアミドは必須アミノ酸のトリプトファンから生合成されている。ヒトでは、60 mgのトリプトファンから1 mgのニコチンアミドが生合成されているものとして、ナイアシンの所要量が策定されている²⁾。しかし、このトリプトファン-ニコチンアミド転換率が、摂取したニコチンアミド量によって、フィードバック阻害を受けるか否かは未だに不明である。そこで、ニコチンアミド摂取量によってde novo ニコチンアミド生合成経路活性がどのように変動するのかをヒトを被験者として調べた。

B. 実験方法

被験者

女子学生を被験者とした。被験者の身体的特徴をTable 1に示した。

食事

2種類の食事を摂取させた。その栄養素成分はTable 2とTable 3に示した。ビタミンB₁₂を除く7種類の水溶性ビタミンは実測値である。他は五訂日本食品標準成分表を用いて、計算した。

実験計画

概略をFig. 1に示した。実験期間は4週間であり、各週ともに、Day 1-4はTables 2と3に示した食事を与え、Day 5-7は被験者の負担を軽減するために自由食を摂らせた。但し、ビタミンを含む食品の摂取は控えさせた。

第1週のDay 1-4はTables 2と3に示した食事のみを与えた。Day 4の尿を採取した。その後、すなわちDay 5の朝食から1日当たり89 μmol (約11 mg)のニコチンアミドを含む水溶性ビタミン混合を与えた。

第2週のDay 1-4はTables 2と3に示した食事と1日当たり89 μmol (約11 mg)のニコチンアミドを含む水溶性ビタミン混合を与えた。Day 4の尿を採取した。その後、

すなわちDay 5の朝食から1日当たり310 μmol (約38 mg)のニコチンアミドを含む水溶性ビタミン混合を与えた。

第3週のDay 1-4はTables 2と3に示した食事と1日当たり310 μmol (約38 mg)のニコチンアミドを含む水溶性ビタミン混合を与えた。Day 4の尿を採取した。その後、すなわちDay 5の朝食から1日当たり562 μmol (約69 mg)のニコチンアミドを含む水溶性ビタミン混合を与えた。

第4週のDay 1-4はTables 2と3に示した食事と1日当たり562 μmol (約69 mg)のニコチンアミドを含む水溶性ビタミン混合を与えた。Day 4の尿を採取した。

なお、服用させたニコチンアミドを含む水溶性ビタミン混合は朝食:昼食:夕食=3:4:3の割合で、食後すぐに摂取させた。

蓄尿中の尿は水中に保存し、24時間尿の採取後、直ちに容量を測定した。トリプトファン-ニコチンアミド代謝産物を安定化させるために、9 mlの尿に1 mol/LのHClを加えた後、-20°Cで使用するまで保存した。

分析方法

アンスラニル酸の定量

アンスラニル酸の定量方法に記載した方法に従った。

キヌレン酸の定量

キヌレン酸の定量方法に記載した方法に従った。

キサントレン酸の定量

キサントレン酸の定量方法に記載した方法に従った。

3-ヒドロキシアンスラニル酸の定量

3-ヒドロキシアンスラニル酸の定量方法に記載した方法に従った。

キノリン酸の定量

キノリン酸の定量方法に記載した方法に従った。

MNAの定量

MNA (N¹-メチルニコチンアミド)の定量方法に記載した方法に従った。

ニコチンアミド、2-Py、及び4-Pyの同時定量ニコチンアミド、2-Py (N¹-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド)、及び4-Py (N¹-メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド)の定量方法に記載した方法に従った。

C. 結果

摂取ニコチンアミド量と尿中ニコチンアミド及びその異化代謝産物合計排泄量との関係

Fig. 2に示したように、摂取したニコチン

アミド量に応じて、尿中ニコチンアミド及びその異化代謝産物合計排泄量は増大した。つまり、摂取したニコチンアミドが体内に吸収されて、余剰のニコチンアミドが異化代謝されていることを意味している。

摂取ニコチンアミド量と de novo ニコチンアミド生合成経路の上流中間代謝産物排泄量との関係

de novo ニコチンアミド生合成経路の中間代謝産物は、尿中に排泄される。出発物質は必須アミノ酸のトリプトファンである。摂取ニコチンアミドによってこの経路がどのような影響を受けているかを調べるには、中間代謝産物量を測定すればよい。その結果は Fig. 3 に示したように、アンスラニル酸、キヌレン酸、3-ヒドロキシアンスラニル酸、キノリン酸、すべて摂取したニコチンアミド量によって変動しなかった。これらの結果は、de novo ニコチンアミド生合成経路は最終代謝産物であるニコチンアミドによってフィードバック阻害を受けていないことが初めて明らかとなった。したがって、トリプトファン-ニコチンアミド転換効率は、ニコチンアミド摂取量とは関係がないことが明らかとなった。言い換えれば、ニコチンアミド摂取量がいくら多くても、de novo ニコチンアミド生合成経路が阻害されることはなく、全く独自に作動していることを意味している。

D. 考察

トリプトファン-ナイアシン転換経路は多くの栄養因子によって変動することが明らかにされている¹⁾。しかしながら、最終産物のニコチンアミドによって de novo ニコチンアミド合成経路がどのような影響を受けるか否かに関しては不明のままであった。今回の実験で、この de novo 経路は摂取ニコチン

アミド量によって全く影響を受けないことがはじめて明らかとなった。つまり、トリプトファン-ナイアシン転換効率に関しては、第六次改定日本人の栄養所要量では、60 mg のトリプトファンが 1 mg のナイアシンに相当するという数値が採用されているが、この値をニコチンアミドの摂取量に応じて変動させる必要がないことを意味している。コレステロール生合成系とは異なり、最終産物によって制御されていないことは、必要量を決めるという作業においては、きわめて好都合な結果であった。

ナイアシンそのものの生理作用はない。活性型は補酵素型の NAD である。NAD の細胞内濃度の制御機構はきちりしていることは、柴田がすでに報告している。

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

なし

2. 口頭発表

なし

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. 柴田克己, トリプトファン-ナイアシン転換立に及ぼすタンパク質・アミノ酸・脂質・糖質の影響. ビタミン, 70, 369-382 (1996).

Table 1. Characteristics of the Subjects.

Subjects	Age (Yr)	Height (cm)	Body weight (kg)	BMI
Woman 1	21	161.0	50.0	19.29
Woman 2	21	161.0	52.5	20.25
Woman 3	21	162.0	46.0	17.53
Woman 4	21	160.7	53.0	20.52
Woman 5	21	160.5	53.0	20.57
Woman 6	21	165.0	52.5	19.28
Mean	21.00	161.7	51.17	19.57
SD	0.00	1.7	2.80	1.16

Table 2. The Composition of the Diet 1.

	Breakfast	Lunch	Dinner	Total
Energy (kcal)	402	689	617	1784
Protein (g)	19.5	23.8	25.2	68.6
Fat (g)	15.7	25.5	9.6	50.8
carbohydrates (g)	46.0	85.8	104.4	248.8
Fat-soluble vitamins				
Vitamin A (µg)	150	309	419	878
Vitamin D (µg)	1	0	2	3
Vitamin E (mg)	1.1	2.1	2.4	5.6
Vitamin K (µg)	8	204	98	311
Water-soluble vitamins ¹				
Vitamin B ₁ (mg as thiamin)	0.35	0.17	0.07	0.59
Vitamin B ₂ (mg as riboflavin)	0.47	0.20	0.25	0.92
Vitamin B ₆ (mg as pyridoxine)	0.20	0.36	0.68	1.24
Vitamin B ₁₂ (µg as cyanocobalamin)	0.7	0.5	6.2	7.4
Niacin equivalent ² (mg)	3.45	8.42	18.48	30.35
Pantothenic acid (mg)	1.97	4.21	3.14	9.32
Folic acid (µg as pteroil monoglutamic acid)	52	134	44	230
Biotin (µg)				
Vitamin C (mg as L-ascorbic acid)	34	34	50	118
Minerals				
Na (mg)	794	1175	850	2845
K (mg)	592	601	625	1993
Ca (mg)	249	142	85	479
Mg (mg)	47	71	74	192
P (mg)	380	293	317	1071
Fe (mg)	0.8	3.4	2.6	6.7
Zn (mg)	1.8	3.7	2.5	8.0
Cu (mg)	0.15	0.44	0.43	1.02

¹Water-soluble vitamins except for vitamin B₁₂ are measured. Other nutrients are calculated by using the Standard Tables of Food Composition in Japan, Fifth revised edition -2000-, Resources Council, Science and Technology Agency, Japan.

²The niacin equivalent intake was calculated as follows: The average tryptophan content in food protein is 1.1 % and the 1/60 (in weight basis) of tryptophan taken was converted into niacin in the body.