

TABLE 2 女子大生 (n=258) におけるB群ビタミンの食品群別摂取構成比 (%)

| | B ₁ | B ₂ | ナイアシン | B ₆ | B ₁₂ | 葉酸 | パントテン酸 | ビオチン |
|-----------|----------------|----------------|-------|----------------|-----------------|------|--------|------|
| 穀類 | 22.8 | 7.7 | 16.8 | 14.8 | 0.5 | 11.0 | 20.3 | 16.8 |
| 種実類 | 0.6 | 0.2 | 0.6 | 0.6 | 0.0 | 0.4 | 0.2 | 0.7 |
| いも類 | 4.1 | 1.0 | 3.1 | 7.3 | 0.0 | 3.1 | 4.0 | 1.1 |
| 砂糖類 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.1 |
| 菓子類 | 4.9 | 5.7 | 2.7 | 3.0 | 1.7 | 2.4 | 5.8 | 0.2 |
| 油脂類 | 0.1 | 0.3 | 0.0 | 0.1 | 0.2 | 0.0 | 0.2 | 0.0 |
| 豆類 | 3.0 | 3.1 | 0.7 | 2.7 | 0.0 | 3.0 | 3.5 | 17.3 |
| 果実類 | 5.5 | 2.0 | 2.2 | 6.5 | 0.0 | 6.4 | 4.4 | 5.2 |
| 緑黄色野菜 | 7.7 | 6.9 | 5.0 | 11.1 | 0.0 | 23.5 | 5.9 | 6.8 |
| その他の野菜 | 5.8 | 3.2 | 2.8 | 10.3 | 0.0 | 17.3 | 5.2 | 6.0 |
| きのこ類 | 2.0 | 3.0 | 5.8 | 1.3 | 0.0 | 2.0 | 3.2 | 4.3 |
| 海藻類 | 0.6 | 1.2 | 0.6 | 0.2 | 5.0 | 2.4 | 0.2 | 0.0 |
| 調味料・嗜好飲料類 | 2.0 | 13.2 | 11.5 | 6.8 | 1.1 | 16.8 | 3.6 | 0.9 |
| 魚介類 | 5.4 | 5.5 | 20.3 | 11.8 | 56.3 | 2.0 | 5.4 | 4.3 |
| 肉類 | 23.3 | 10.0 | 24.9 | 15.9 | 12.9 | 2.5 | 12.8 | 5.4 |
| 卵類 | 4.4 | 11.3 | 0.3 | 2.4 | 6.8 | 4.2 | 8.2 | 17.1 |
| 乳類 | 5.9 | 24.6 | 1.4 | 5.1 | 15.4 | 2.6 | 16.5 | 13.8 |
| 調味加工・調味食品 | 1.8 | 1.3 | 1.3 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.3 | 0.0 |

TABLE 3 女子大生における食品別 B₁ 摂取比率

| 順位 | 食品群 | % | 累積% |
|----|------------------|------|-------|
| 1 | 精白米 | 7.94 | 7.94 |
| 2 | 普通牛乳 | 3.92 | 11.86 |
| 3 | ぶたひき肉・生 | 2.50 | 14.36 |
| 4 | 食パン | 2.31 | 16.67 |
| 5 | じゃがいも | 2.29 | 18.96 |
| 6 | マカロニ・スパゲッティ(乾) | 2.26 | 21.22 |
| 7 | ぶたもも脂身つき・生(大型種) | 2.22 | 23.44 |
| 8 | 鶏卵 全卵生 | 2.17 | 25.61 |
| 9 | ロースハム | 1.99 | 27.60 |
| 10 | ほうれんそう・生 | 1.71 | 29.32 |
| 11 | ぶたロース脂身つき・生(大型種) | 1.71 | 31.03 |
| 12 | 加工乳(低脂肪) | 1.60 | 32.62 |
| 13 | 即席中華めん(油揚げ味付け) | 1.50 | 34.12 |
| 14 | ウインナーソーセージ | 1.36 | 35.48 |
| 15 | トマト・生 | 1.10 | 36.58 |
| 16 | ぶたばら脂身つき・生(大型種) | 1.01 | 37.60 |
| 17 | キャベツ・生 | 0.98 | 38.58 |
| 18 | はいが精米 | 0.97 | 39.55 |
| 19 | ヨーグルト(脱脂加糖) | 0.97 | 40.53 |
| 20 | さつまいも・生 | 0.96 | 41.48 |

TABLE 4 女子大生における食品別 B₂ 摂取比率

| 順位 | 食品群 | % | 累積% |
|----|-----------------|-------|-------|
| 1 | 鶏卵 全卵生 | 11.06 | 11.06 |
| 2 | 普通牛乳 | 10.46 | 21.52 |
| 3 | せん茶 (浸出液) | 5.86 | 27.38 |
| 4 | 加工乳 (低脂肪) | 5.11 | 32.49 |
| 5 | ヨーグルト (脱脂加糖) | 3.45 | 35.94 |
| 6 | 糸引納豆 | 2.23 | 38.17 |
| 7 | ほうれんそう・生 | 2.21 | 40.38 |
| 8 | ヨーグルト (全脂無糖) | 2.05 | 42.43 |
| 9 | ぶた肝臓・生 | 1.61 | 44.04 |
| 10 | 精白米 | 1.41 | 45.45 |
| 11 | こいくちしょうゆ | 1.38 | 46.83 |
| 12 | プロセスチーズ | 1.31 | 48.14 |
| 13 | ウーロン茶 (浸出液) | 1.28 | 49.42 |
| 14 | 即席中華めん (油揚げ味付け) | 1.22 | 50.64 |
| 15 | ほんしめじ・生 | 1.17 | 51.81 |
| 16 | 玉露 (浸出液) | 1.01 | 52.82 |
| 17 | ミルクチョコレート | 1.00 | 53.82 |
| 18 | 食パン | 0.94 | 54.76 |
| 19 | ブロッコリー・生 | 0.93 | 55.69 |
| 20 | 若鶏もも皮つき・生 | 0.71 | 56.40 |

TABLE 5 女子大生における食品別ナイアシン摂取比率

| 順位 | 食品群 | % | 累積% |
|----|-------------------|------|-------|
| 1 | 精白米 | 7.46 | 7.46 |
| 2 | たらこ・生 | 2.81 | 10.26 |
| 3 | インスタントコーヒー | 2.60 | 12.86 |
| 4 | 食パン | 2.48 | 15.34 |
| 5 | くろまぐろ赤身・生(切り身) | 2.24 | 17.58 |
| 6 | じゃがいも・生 | 2.07 | 19.65 |
| 7 | せん茶(浸出液) | 2.07 | 21.72 |
| 8 | ほんしめじ・生 | 1.85 | 23.57 |
| 9 | 若鶏もも皮つき・生 | 1.74 | 25.30 |
| 10 | マカロニ・スパゲッティ(乾) | 1.71 | 27.02 |
| 11 | コーヒー(浸出液) | 1.71 | 28.73 |
| 12 | 若鶏むね皮つき・生 | 1.69 | 30.42 |
| 13 | えのきたけ | 1.54 | 31.96 |
| 14 | しろさけ・生(切り身) | 1.47 | 33.43 |
| 15 | ぶたひき肉・生 | 1.41 | 34.84 |
| 16 | ロースハム | 1.37 | 36.22 |
| 17 | まぐろ油漬缶詰(フック・初イ)ト | 1.37 | 37.59 |
| 18 | 若鶏ささ身・生 | 1.24 | 38.82 |
| 19 | ウインナーソーセージ | 1.18 | 40.00 |
| 20 | ぶた・大型種・ロース・脂身つき・生 | 1.13 | 41.13 |

TABLE 6 女子大生における食品別 B₆ 摂取比率

| 順位 | 食品群 | % | 累積% |
|----|-----------------|------|-------|
| 1 | 精白米 | 9.40 | 9.40 |
| 2 | じゃがいも・生 | 3.62 | 13.01 |
| 3 | たまねぎ・生 | 2.96 | 15.97 |
| 4 | 普通牛乳 | 2.32 | 18.29 |
| 5 | 鶏卵 全卵生 | 2.29 | 20.58 |
| 6 | バナナ | 2.16 | 22.74 |
| 7 | キャベツ・生 | 2.13 | 24.87 |
| 8 | さつまいも・生 | 1.92 | 26.79 |
| 9 | 西洋かぼちゃ・生 | 1.81 | 28.60 |
| 10 | しろさけ・生 (切り身) | 1.77 | 30.37 |
| 11 | ほうれんそう・生 | 1.72 | 32.09 |
| 12 | くろまぐる赤身・生 (切り身) | 1.69 | 33.78 |
| 13 | こいくちしょうゆ | 1.53 | 35.32 |
| 14 | にんじん・生 | 1.46 | 36.78 |
| 15 | ブロッコリー・生 | 1.39 | 38.17 |
| 16 | トマト・生 | 1.39 | 39.56 |
| 17 | せん茶 (浸出液) | 1.30 | 40.86 |
| 18 | 加工乳 (低脂肪) | 1.26 | 42.12 |
| 19 | 糸引納豆 | 1.06 | 43.18 |
| 20 | フライドポテト | 1.05 | 44.23 |

TABLE 7 女子大生における食品別 B₁₂ 摂取比率

| 順位 | 食品群 | % | 累積% |
|----|------------------|------|-------|
| 1 | 鶏卵 全卵生 | 6.45 | 6.45 |
| 2 | 普通牛乳 | 5.82 | 12.27 |
| 3 | あさり・生 | 4.13 | 16.40 |
| 4 | しろさけ・生 (切り身) | 4.08 | 20.48 |
| 5 | 焼きのり | 3.82 | 24.30 |
| 6 | たらこ・生 | 3.24 | 27.54 |
| 7 | すじこ | 3.18 | 30.72 |
| 8 | 加工乳 (低脂肪) | 3.16 | 33.88 |
| 9 | まさば・生 | 3.15 | 37.03 |
| 10 | ぶた肝臓・生 | 3.13 | 40.17 |
| 11 | プロセスチーズ | 3.07 | 43.23 |
| 12 | するめいか・生 | 2.98 | 46.21 |
| 13 | しろさけ・塩ざけ (切り身) | 2.88 | 49.09 |
| 14 | しじみ・生 | 2.43 | 51.53 |
| 15 | まあじ開き干し・生 | 2.14 | 53.67 |
| 16 | さんま・生 | 1.97 | 55.64 |
| 17 | ヨーグルト (脱脂加糖) | 1.92 | 57.56 |
| 18 | うし肝臓・生 | 1.36 | 58.92 |
| 19 | しろさけ・新巻き・生 (切り身) | 1.14 | 60.06 |
| 20 | ウインナーソーセージ | 1.14 | 61.20 |

TABLE 8 女子大生における食品別葉酸摂取比率

| 順位 | 食品群 | % | 累積% |
|----|-----------|------|-------|
| 1 | ほうれんそう・生 | 8.48 | 8.48 |
| 2 | せん茶(没出液) | 6.85 | 15.33 |
| 3 | 玉露(没出液) | 5.04 | 20.37 |
| 4 | キャベツ・生 | 4.97 | 25.34 |
| 5 | 鶏卵 全卵生 | 4.04 | 29.38 |
| 6 | ブロッコリー・生 | 3.56 | 32.95 |
| 7 | 精白米 | 3.09 | 36.03 |
| 8 | 食パン | 2.74 | 38.77 |
| 9 | レタス・生 | 2.69 | 41.46 |
| 10 | いちご・生 | 2.08 | 43.55 |
| 11 | なばな(和種)・生 | 1.96 | 45.51 |
| 12 | 糸引納豆 | 1.74 | 47.25 |
| 13 | 焼きのり | 1.65 | 48.90 |
| 14 | だいこん 根・生 | 1.55 | 50.45 |
| 15 | じゃがいも・生 | 1.39 | 51.84 |
| 16 | ぶた肝臓・生 | 1.32 | 53.16 |
| 17 | 普通牛乳 | 1.27 | 54.44 |
| 18 | トマト・生 | 1.26 | 55.69 |
| 19 | にんじん・生 | 1.22 | 56.91 |
| 20 | アスパラガス・生 | 1.20 | 58.11 |

TABLE 9 女子大生における食品別パントテン酸摂取比率

| 順位 | 食品群 | % | 累積% |
|----|-----------------|-------|-------|
| 1 | 精白米 | 10.04 | 10.04 |
| 2 | 普通牛乳 | 8.27 | 18.30 |
| 3 | 鶏卵 全卵生 | 8.05 | 26.35 |
| 4 | 加工乳 (低脂肪) | 3.18 | 29.53 |
| 5 | 糸引納豆 | 3.09 | 32.62 |
| 6 | 食パン | 2.38 | 35.00 |
| 7 | ヨーグルト (脱脂加糖) | 2.18 | 37.18 |
| 8 | じゃがいも・生 | 1.83 | 39.01 |
| 9 | ヨーグルト (全脂無糖) | 1.55 | 40.56 |
| 10 | 若鶏もも皮つき・生 | 1.43 | 41.99 |
| 11 | さつまいも・生 | 1.28 | 43.27 |
| 12 | マカロニ・スパゲッティ (乾) | 1.19 | 44.46 |
| 13 | ブロッコリー・生 | 1.12 | 45.58 |
| 14 | にんじん・生 | 1.03 | 46.61 |
| 15 | せん茶・(浸出液) | 1.01 | 47.62 |
| 16 | 西洋かぼちゃ・生 | 0.99 | 48.61 |
| 17 | ほんしめじ・生 | 0.99 | 49.61 |
| 18 | 若鶏もも皮なし・生 | 0.97 | 50.58 |
| 19 | こいくちしょうゆ | 0.84 | 51.42 |
| 20 | キャベツ・生 | 0.83 | 52.25 |

TABLE 10 女子大生における食品別ビオチン摂取比率

| 順位 | 食品群 | % | 累積% |
|----|-----------------|-------|-------|
| 1 | 鶏卵 全卵生 | 20.55 | 20.55 |
| 2 | 精白米 | 7.20 | 27.75 |
| 3 | 木綿豆腐 | 7.03 | 34.78 |
| 4 | 普通牛乳 | 6.65 | 41.43 |
| 5 | 豆乳 | 5.71 | 47.14 |
| 6 | 絹ごし豆腐 | 5.63 | 52.76 |
| 7 | マカロニ・スパゲッティ (乾) | 5.36 | 58.12 |
| 8 | 糸引き納豆 | 4.08 | 62.20 |
| 9 | 調製豆乳 | 3.58 | 65.78 |
| 10 | ほうれんそう・生 | 2.37 | 68.15 |
| 11 | ヨーグルト (脱脂加糖) | 2.37 | 70.52 |
| 12 | 加工乳 (低脂肪) | 2.24 | 72.76 |
| 13 | 食パン | 2.04 | 74.80 |
| 14 | りんご・生 | 2.04 | 76.84 |
| 15 | たまねぎ・生 | 1.90 | 78.74 |
| 16 | キャベツ・生 | 1.87 | 80.61 |
| 17 | ヨーグルト (全脂無糖) | 1.83 | 82.43 |
| 18 | トマト・生 | 1.79 | 84.23 |
| 19 | にんじん・生 | 1.73 | 85.95 |
| 20 | 油揚げ | 1.60 | 87.55 |

V. 分担研究者・研究協力者の報告書

15. デヒドロアスコルビン酸の生理活性

研究協力者 奈良女子大学 教授 小城 勝相

研究要旨

ODSラットを使用して、12臓器でのアスコルビン酸及びデヒドロアスコルビン酸濃度を求めることにより、デヒドロアスコルビン酸のビタミンCとしての正確な生理活性を評価した。

A. 緒言

ビタミンC (C) はその強い還元力から抗酸化作用をもつことで有名なビタミンである。Cは通常体内で酸化されモノデヒドロアスコルビン酸になり、モノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼによって、アスコルビン酸に還元再生されるか、不均化反応によって生じたデヒドロアスコルビン酸 (DHA) がグルタチオンやデヒドロアスコルビン酸レダクターゼによってアスコルビン酸に再生される。このサイクルによって再生されながら抗酸化作用を示す。

一方、貯蔵や調理の過程により食品中のCは酸化型のデヒドロアスコルビン酸 (DHA) になる。DHAの生理活性は従来Cと同等と考えられている。しかしながら、DHAは中性条件で瞬間的に2,3-ジケトグルコン酸(DKG)に変換され、DKGはもはやDHAやCに変換されることはない。動物臓器中ではDHAはタンパク質によって保護されているため、この加水分解反応はおこらないが、経口投与して消化器系に存在するときにはそのようなことは考えにくい。

これまで経口投与によるDHAの活性を正確な測定法に基づいて評価した例はない。我々は、Cの正確な測定法を1992年に確立した(1)。この正確な方法でラット血漿のCを測定すると従来法の3分の1しかないことが判明した。C研究において最も基礎的な測定法に特異性がないことが判明したため、Cの研究は最初からやり直す必要がある。

CおよびDHAの生理活性を正確に評価することは栄養所要量の策定など国民生活にも深くかわる重大事であり、社会的にも大きな意義を持つ。

これまで、上記のようにCの正確な測定法

を確立し、ヒトと同様遺伝的にCを合成できないODSラットを用いてそのC欠乏における12種類の臓器でのC減少速度を測定し4種類に分類できることを示した(2)。ODSラットを用いて生体内で実際にCとビタミンE(E)が相補的相互作用を行うことも証明した(3)。さらにストレプトゾトシン糖尿病(4)、各種化学物質たとえば、四塩化炭素(5)、チオアセトアミド(6)、D-ガラクトサミン(7)による肝障害において他の酸化ストレス指標 (E, 脂質ヒドロペルオキシド) に先駆けて変化するため酸化ストレスの鋭敏な指標になることを明らかにしてきた。

ODSラットは0.1%のCを含む飲料水で飼育すると正常に成長することがわかっている。これと同じ濃度の0.1%DHAで飼育したときの、12臓器でのC及びDHA濃度を求めることにより、DHAのCとしての正確な生理活性を評価した。

B. 実験方法

1) 実験動物の扱い

本研究はすべて、「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」(昭和55年3月総理府告示第6号)を遵守して行った。

遺伝的にCを合成できないODSラット(雄、6週齢)を5群に分け、それぞれに異なる濃度のCを含む水で飼育した。正常な発育をする0.1% C、低濃度の水として0.03% C、0.01% C、さらにCが0%の欠乏群を用意した。DHAは0.1%DHAを含む水(DHAは中性条件で瞬間的にDKGに変換するので1 mMの塩酸水溶液に溶解した)で飼育した。飼料は、Cを含まないAIN-76に基づいた粉末飼料を用いた。

ラットは24±2℃、明暗サイクル12h/12h中で飼育した。

2) 血液, 各臓器の採取

実験開始から3週間後, ラットを開腹し, 血液を採取後, 生理食塩水で灌流した後, 11臓器(肝, 腎, 副腎, 脾臓, 肺, 心臓, 脳, 胃, 小腸, 大腸, 筋肉)を摘出した。

血液は新鮮な状態で4°C, 10,000 rpmで5分間遠心し, 上清の血漿を採取した。

各臓器をその5倍量のPhosphate buffered saline (PBS) {0.9%NaCl/0.01 M phosphate buffer, pH7.2}を加えて水中でガラステフロン製ホモジナイザーを用い, ホモジナイズした。

ビタミンCの定量

〔原理〕

Cを酸化型アスコルビン酸 {DHA+DKG}に変換し, 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH)を反応させて生成するオサゾン(デヒドロアスコルビン酸ビス-ジニトロフェニルヒドラゾン)をHPLCで特異的に定量した(式1)。

アスコルビン酸の定量には, 比色定量法が広く用いられているが, この方法はDHA以外のケトン体などのカルボニル化合物とDNPHとの反応物をも含んでしまうため, アスコルビン酸を特異的に定量したことにはならない。そのため, 以前, 本研究室で開発したオサゾンのみをHPLCで分離定量する方法を用いた。

なお, 式1のオサゾンの構造は, ¹HNMR, ¹³CNMR, および相関NMRスペクトルを駆使して決定した。(1)

〔実験操作〕

今回の実験では, 総-アスコルビン酸, 酸化型C(デヒドロアスコルビン酸+2,3-ジケトグルコン酸)を定量した(図1)。

まず総-アスコルビン酸は, 5倍量のPBSでHomogenizeしたHomogenate 100µlに1% SnCl₂/20% HPO₃ 900µlを加えて除タンパクし, 10,000 rpmで5分間遠心し, その上澄みを100µl分取する。これに0.2% 2,6-ジクロロインドフェノール100µlを加え酸化した後, 1% SnCl₂/5% HPO₃ 50 µl, 2%ジニトロフェニルヒドラジン120 µlを加えて, 37°Cで3時間反応させてオサゾンを生成させた。

オサゾン生成の反応後, 水 1 mlと酢酸エチル1 mlを加え, 激しく振とうした後, 3,000 rpmで5分間遠心し, 酢酸エチル層を600 µl取り出す。これをevaporatorで濃縮乾固し, アセトニトリル200 µlで溶解後, 10 µlをHPLCに供した。酸化型C (DHA+DKG) はインドフェノールによる酸化を行わず, 以下は同様の手順で行った。さらに, DKGは, DHAをジチオ

スレイトール (DTT) で還元してCに変換し, 同様の操作をすれば測定できる。今回は以下に述べるように酸化型Cが総Cの5%以下であったことからDKGの測定は行わなかった。

HPLCポンプは島津LC-10AD型, 検出器は島津SPD-10A, 記録計は島津C-R6A型クロマトパックを用いた。また, HPLCの条件としては, カラムはµBondasphere 5µC18-100Aカラム(Waters), 溶媒は0.1%トリエチルアミンを含む50%アセトニトリル pH 3.5, 流量 1 ml/min, 波長505 nmにて検出した。

本法によるCの検出限界は1 pmolであり, 回収率も定量的である。

C. 結果と考察

C欠乏群以外の体重は順調に増加した。この事実はDHAが一定のC活性を持つことを意味している。次にこれらの動物臓器のC濃度について検討した。

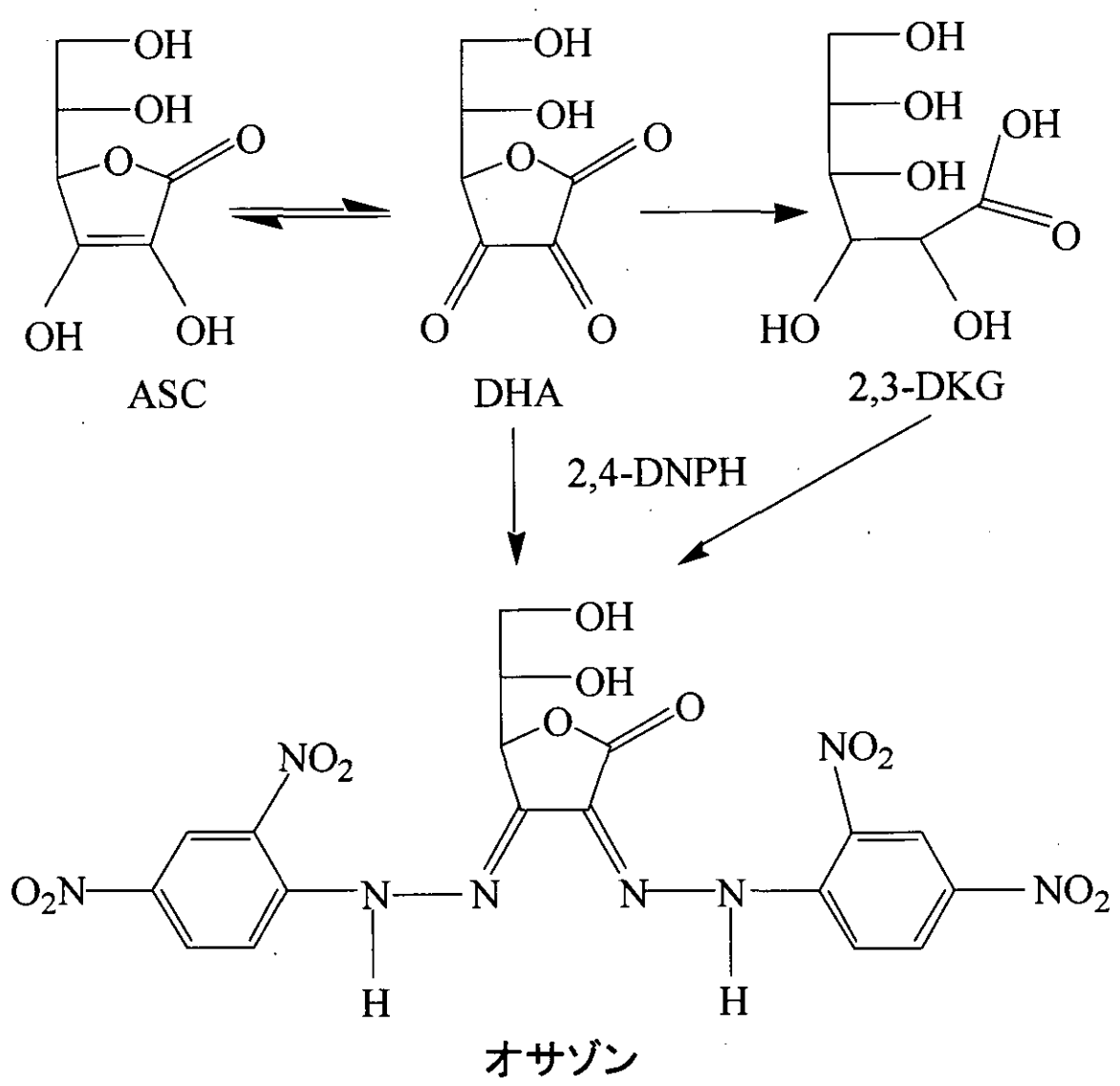
全臓器について酸化型C (DHA+DKG) はCの5%以下であったことから, DHAは吸収されたあと, 臓器ではCとして利用されていることは明らかである。図2には12臓器について, 0.1%-Cで飼育した対照群の臓器全C量を100%としたときの各群のC量の相対値を表すグラフを示した。この図より明らかのように, 0.1%-DHAで飼育した群のC濃度は, 0.1%-C群(対照群)もしくは0.03%-C群に比べて有意に低かった。全12臓器で有意差が無かったのは0.01%-C群であったことから, 経口投与のDHAのC活性はCの10%であることが判明した。

以上の結果より, 栄養所要量を考える場合, 食品中のCは, DHAとCを区別して, しかも正確な測定法を用いて測定する必要があると結論できる。

文 献

1. K. Kishida, Y. Nishimoto, and S. Kojo, Specific determination of ascorbic acid with chemical derivatization and high-performance liquid chromatography. *Anal. Chem.*, 64, 1505-1507 (1992).
2. S. Tokumaru, S. Takeshita, R. Nakata, I. Tsukamoto, and S. Kojo, Change in the level of vitamin C and lipid peroxidation in tissues of the inherently scorbutic rat during ascorbate deficiency. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 2748-2753 (1996).
3. K. Tanaka, T. Hashimoto, S. Tokumaru, H. Iguchi, and S. Kojo, Interactions between vitamin C and vitamin E are observed in tissues of inherently scorbutic rats. *J.*

- Nutr., 127, 2060-2064 (1997).
4. F. Sun, K. Iwaguchi, R. Shudo, Y. Nagaki, K. Tanaka, K. Ikeda, S. Tokumaru, and S. Kojo, Change in tissue concentrations of lipid hydroperoxides, vitamin C and vitamin E in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin. Sci.*, 96, 185-190 (1999).
 5. F. Sun, C. Tsutsui, E. Hamagawa, Y. Ono, Y. Ogiri, and S. Kojo, Evaluation of oxidative stress during apoptosis and necrosis caused by carbon tetrachloride in rat liver. *Biochim. Biophys. Acta*, 1535, 186-191 (2001).
 6. F. Sun, S. Hayami, Y. Ogiri, S. Haruna, K. Tanaka, Y. Yamada, S. Tokumaru, and S. Kojo, Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. *Biochim. Biophys. Acta*, 1500, 181-185 (2000).
 7. F. Sun, E. Hamagawa, C. Tsutsui, N. Sakaguchi, Y. Kakuta, S. Tokumaru, and S. Kojo, Evaluation of oxidative stress during apoptosis and necrosis caused by D-galactosamine in rat liver. *Biochem. Pharmacol.*, 65, 101-107 (2003).



式 1

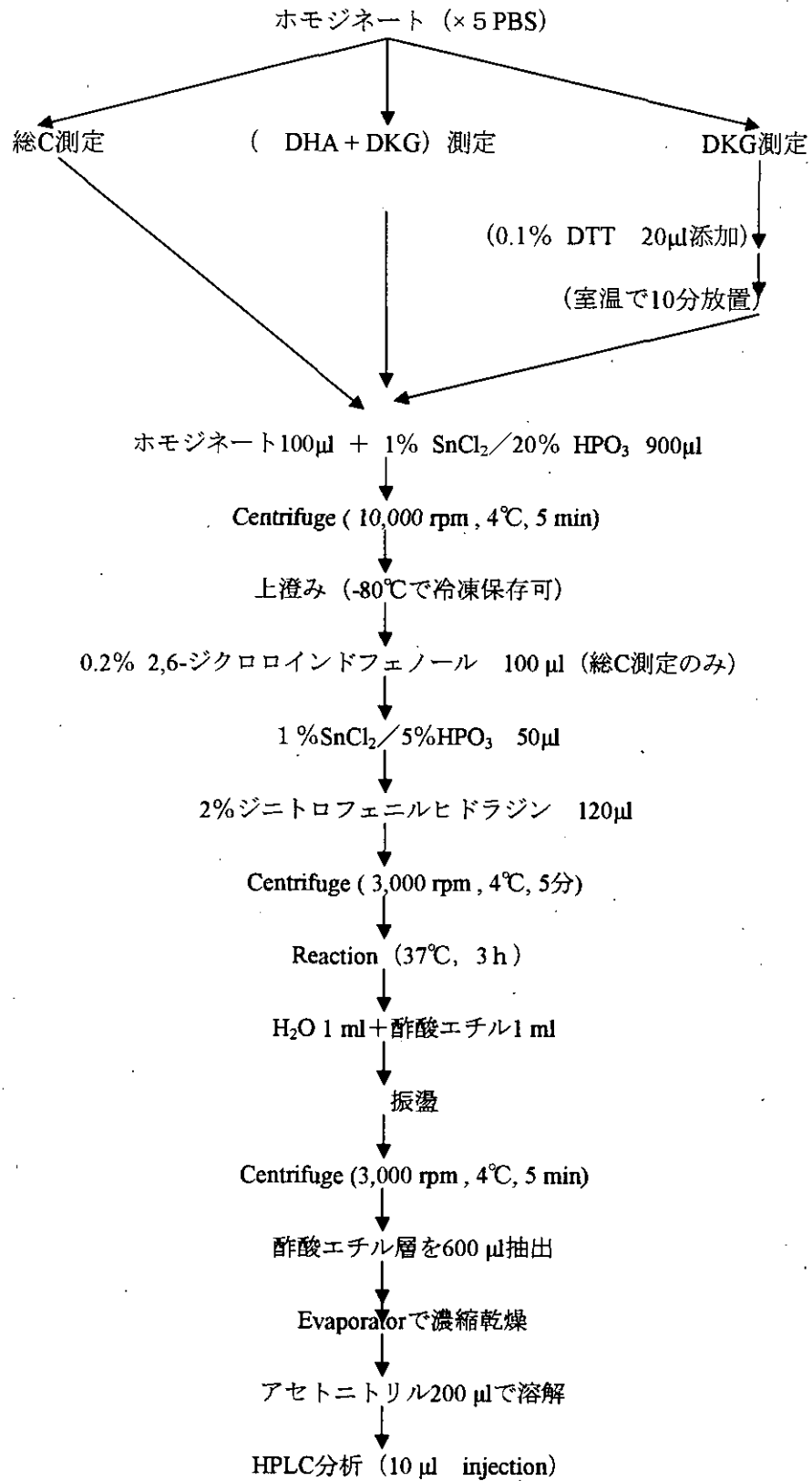


図 1. 実験操作方法の概略

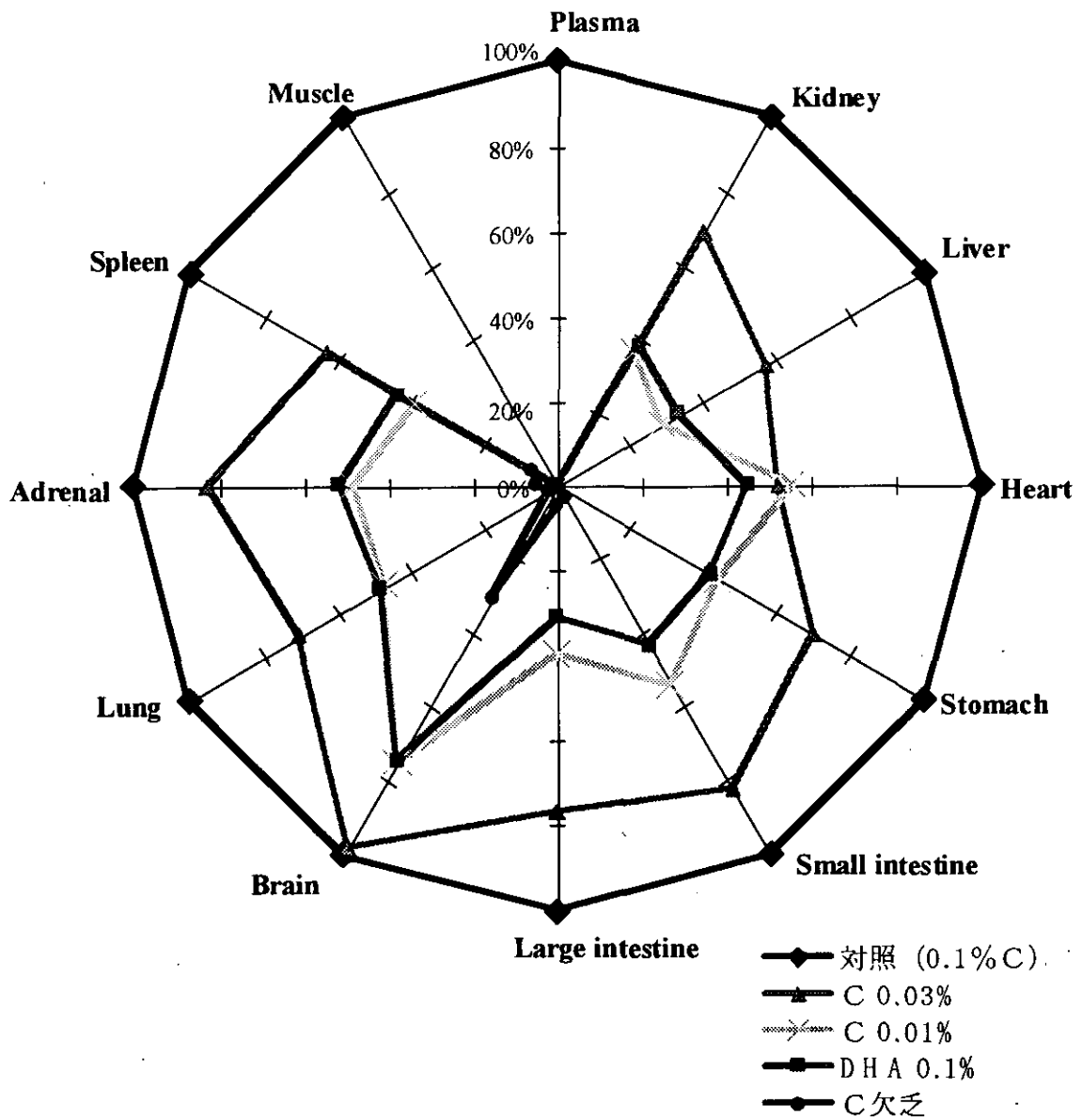


図2. 对照群の臓器C濃度を100%としたときの各臓器C濃度の相対値

平成 15 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

V. 分担研究者・研究協力者の報告書

16. 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究
-第4回講演会-
元気なカラダとビタミン摂取
-水溶性ビタミンの必要量について-

研究協力者 渡邊文雄（高知女子大学生生活科学部教授）

プログラム

日時：平成 15 年 11 月 22 日（土）午後 1 時～4 時 50 分

会場：高知女子大学 永国寺キャンパス 137 教室（高知市永国寺町 5-15）

12：30～13：00 受付

13:00 開会 渡邊文雄（高知女子大学生生活科学部教授）

13:05 日本人の水溶性ビタミンの食事摂取基準策定に関する現状 柴田克己（滋賀県
立大学人間文化学部教授）

13:50 葉酸－妊婦から高齢者まで－
渡邊敏明（姫路工業大学環境人間学部教授）

休憩

14:55 ビタミン B₁₂－熟年からのビタミン B₁₂ 吸収障害－渡邊文雄（高知女子大学生生活科学部
教授）

15:40 ビタミン C－多様な働きから所要量まで－
重岡 成（近畿大学農学部教授）

16:25 質疑・総合討論

16:50 閉会 渡邊文雄（高知女子大学生生活科学部教授）

主催：平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金 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」班

共催：高知女子大学

日本人の水溶性ビタミンの食事摂取基準策定に関する現状
滋賀県立大学人間文化学部生活文化学科 教授
柴田 克己

現状と課題

現在のスタイルの栄養所要量が策定されたのが、1970年（昭和45年）5月である。それ以来栄養学関連分野の進歩に合わせて、5年ごとに改定され、現在は第六次改定のもので（策定されたのが平成11年6月。使用期間は平成12年4月～平成16年3月）、日本人の健康・栄養施策を推進するために使用されている。第六次改定では、単に欠乏を阻止するための摂取量ではなく、生活習慣病誘発の危険因子を軽減・除去し、生活習慣病の予備群を解消して、生活習慣病の一次予防を推進することをも考えて食事摂取基準という考え方が導入された。第七次改定でも同じ考え方で望む。第六次改定では、「第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-」というタイトルであったが、第七次では「第七次改定日本人の食事摂取基準-栄養所要量-」というタイトルに変更され、より一層「食事摂取基準」という概念の徹底がはかれるものとなる予定である。

第七次改定作業では、水溶性ビタミンの食事摂取基準の数値の策定作業は、以下の表に示したものが行うこととなった。

| 氏名（所属） | 担当ビタミン名 |
|----------------|--|
| 柴田克己（滋賀県立大学） | ビタミンB ₁ 、ナイアシン、パントテン酸 |
| 早川享志（岐阜大学） | ビタミンB ₂ 、ビタミンB ₆ |
| 渡辺敏明（姫路工業大学） | 葉酸、ビオチン |
| 梅垣敬三（健康・栄養研究所） | ビタミンB ₁₂ 、ビタミンC |

この策定作業は、すでに作業が終了しているDRIプロジェクトでまとめたものをもとに行う。DRIプロジェクトのメンバーは、以下の表に示したとおりである。

| 担当ビタミン名 | 氏名（所属） |
|---------------------|--|
| ビタミンB ₁ | 木村美恵子（タケダライフサイエンスリサーチセンター） |
| ビタミンB ₂ | 大石誠子（応用生化学研究所） |
| ビタミンB ₆ | 柘植治人（岐阜大学教授） |
| ビタミンB ₁₂ | 渡辺文雄（高知女子大学） |
| ナイアシン | 柴田克己（滋賀県立大学） |
| パントテン酸 | 柴田克己（滋賀県立大学） |
| 葉酸 | 渡辺敏明（姫路工業大学）、岡純（国立健康・栄養研究所）、瀧本秀美（健康・栄養研究所） |
| ビオチン | 福井徹（東京保健会）、渡辺敏明（姫路工業大学） |
| ビタミンC | 鈴木恵美子（お茶の水女子大学） |

第六次改定では、ビタミンに関しては、念願であった13種類すべてのビタミンの食事摂取基準が策定された。水溶性ビタミンに限れば、科学的な根拠によってRDAが策定されたものが6種類（ビタミンB₁、B₂、B₆、B₁₂、ナイアシン、葉酸）、欠乏症状が認められる明確なデータがないパントテン酸とビオチンは、特定の集団においてある一定の栄養状態を維持するのに十分な量をAIとしている。ビタミンCは壊血病というビタミンCの欠乏を予防する量をもとにして策定された値ではなく、ビタミンCの必要量に影響を与える危険因子を克服する量を加味した値として策定されている。しかしながら、現在の日本において、食事摂取基準を策定するための基礎資料は少ない。そこで、第七次改定の作業に向けて、厚生労働省は基礎資料作成のための研究班を募集した。我々は水溶性ビタミン班を組織し（主任研究者、柴田克己；分担研究者、橋詰直孝、戸谷誠之、西牟田守、渡辺敏明）、応募し、採択された。まずはじめに、9種類の水溶性ビタミンの担当者を決めた。ビタミンB₁（橋詰直孝；研究協力者、木村美恵子）、ビタミンB₂（柴田克己；研究協力者、大石誠子）、ビタミンB₆（柴田克己；研究協力者、柘植治人）、ビタミンB₁₂（渡辺敏明；研究協力者、渡辺文雄）、ナイアシン（柴田克己；研究協力者、福渡努）、パントテン酸（柴田克己）、葉酸（渡辺敏明）、ビオチン（渡辺敏明）、ビタミン

C (西牟田守; 研究協力者, 重岡成). また, 母乳担当として戸谷誠之を加えた. さらに, リサーチレジデントとして太田万理を採用した.

水溶性ビタミン全体としての検討項目としては, 基本的な問題として, 摂取量を推定するために必要な食品およびビタミン栄養を評価するために必要な血液・尿の保存方法, 測定までの試料調製方法, 測定方法の標準化の問題がある, 食事摂取基準に関する数値の策定に関する検討項目としては, ①生物有効性を考慮した値 (ビタミン B₆ のみ有効性を考慮した策定となっている. ちなみに食品中のビタミン B₆ の有効性は 75% という値が採用されている. パントテン酸・葉酸・ビタミン B₁₂ は約 50% というデータがあるが全く策定された値には反映されていない), とするのか, あるいは利用率が 100% と考えられる化学的合成品を基本にした値とするのかがある. ②個々人の変動の問題の考え方, ③同一人における経日変動の問題の考え方, ④成人の EAR から他の年齢への換算方法の問題, ⑤乳児の AI から他の年齢への換算方法の問題がある.

教育に関わる問題として, ①ビタミン B₁ の食品成分表の値はチアミン-HCl 量として示されているのに対し, RDA はチアミンである. 換算してから比較しなければならない, ②「第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準」の表 5 (ビタミン摂取基準) は生活活動強度 III (適度) における摂取基準である. ビタミン B₁, B₂, ナイアシンの RDA はエネルギー当たりで策定されているので, 所要量と比較するときには表 5 の値をそのまま使用してはならない, ③ ナイアシン摂取基準はナイアシン当量という値で策定されている. 食品成分表に記載されているナイアシン量ではない. トリプトファンから体内で合成されるナイアシン量をたさなければならない.

策定の理論

水溶性ビタミンの必要量を考える上での基本的な考え方がある. 体内の貯蔵量が飽和した後に, はじめて尿中への排泄量が摂取量に応じて急激に増大するという考え方である.

第七次改定の具体的なことは策定されていないので, 以下に示す数値は第六次改定時の成人に限った策定の方法である. 他の年齢区分への適応は省略する.

体内の貯蔵量が飽和した後に, はじめて尿中への排泄量が摂取量に応じて急激に増大するという考え方に基づいて, 策定されたのがビタミン B₁, ビタミン B₂ である.

ビタミン B₁ は, 0.35 mg/1000kcal/day の摂取量をさかいにして, 急激に尿中への排泄量が増大する. この値を成人の EAR とし, $RDA = EAR \times 1.2$ の式から, 0.42 mg/1000 kcal とされた.

ビタミン B₂ は, 0.40 mg/1000kcal/day の摂取量をさかいにして, 急激に尿中への排泄量が増大する. この値を成人の EAR とし, $RDA = EAR \times 1.2$ の式から, 0.48 mg/1000 kcal とされた.

ビタミン B₆ は, 血漿中の PLP (ピリドキサルリン酸) 濃度とビタミン B₆/たんぱく質 (mg/g) 摂取量との関係と, 健康を維持するために必要な血漿中 PLP 濃度 (30 nmol/L) を保つ濃度から, 約 0.014 mg/g たんぱく質とされた. この値と食事での平均的な B₆ の生物有効性を 75% として, EAR を 0.019 mg/g たんぱく質とし, $RDA = EAR \times 1.2$ の式から, 0.023 mg/g たんぱく質とされた.

ナイアシンの EAR は, 特定の集団における 50% の人が必要量を満たすと推定される 1 日摂取量を求めた実験から決められた (表 1, 2, 3). 尿中への N¹-メチルニコチンアミド (MNA) 排泄量が 0.9 mg/day となるナイアシン当量 (NE) 摂取ではナイアシン欠乏のペラグラが発症するが, 1.1 mg/day となる NE 摂取では発症しないことから, EAR は尿中 MNA 排泄量が 1.0 mg/day となる NE 摂取量とされた. 尿中 MNA 排泄量が 1.0 mg/day となる NE 摂取量を求めた実験結果を表 3 にまとめた. これらの値から, 成人の NE の EAR を 4.8 mgNE/1000 kcal とされた. 変動係数が大きいので, $RDA = EAR \times 1.3$ の式から, 6.3 mgNE/1000 kcal とされた. 変動係数が大きい原因はナイアシンが人においてもトリプトファンから生合成されるためである. この能力が個々人によって異なるものと思われる. また, 未知の要因によって変動するものとも考えられる.

表1. 180mgTrp+4.7 mgナイアシン=7.9 mg NE=3.85mgNE/1000kcalの食事を摂取させ続けた時の尿中へのニコチンアミド異化代謝産物MNAの排泄量の変動（ナイアシン欠乏が発症）

| Days | 2-13 | 14-25 | 26-41 (ペラグラ発症) |
|---------------------|------|-------|----------------|
| 尿中へのMNA排泄量 (mg/day) | 1.8 | 1.6 | 0.9 |

表2. 230mgTrp+5.7mg ナイアシン=9.5 mgNE=4.75mgNE/1000kcalの食事を摂取させ続けた時の尿中へのニコチンアミド異化代謝産物MNAの排泄量の変動（ナイアシン欠乏は現れず）

| Days | 2-13 | 14-25 | 26-41 | 42-61 | 62-95 |
|---------------------|------|-------|-------|-------|-------|
| 尿中へのMNA排泄量 (mg/day) | 1.9 | 1.5 | 1.4 | 1.3 | 1.1 |

表3. MNA 排泄量が 1.0 mg/day となる時の NE 摂取量

| 被験者 | MNA排泄量が1 mg/dayとなるNE摂取量 |
|---------------|--------------------------------------|
| 5名の女性, 25-54歳 | 12.6±3.0 (23%) =6.8 mg NE/1000 kcal |
| 3名の女性, 26-60歳 | 10.9±0.9 (8%) =4.9 mg NE/1000 kcal |
| 7名の男性, 30-65歳 | 11.5±4.5 (39%) =4.9 mg NE /1000 kcal |
| 7名の男性, 23-39歳 | 11.3±4.6 (41%) =4.4 mg NE /1000 kcal |

ビタミン B₁₂ の特徴的な欠乏には巨大赤芽球性貧血がある。そこで、平均赤血球容積に異常がなく、かつ、血清中のビタミン B₁₂ 濃度が 0.15 pmol/ml 以上のグループの摂取量である 2.0µg/日 が EAR とされている。RDA は 2.0×1.2=2.4µg/日 とされている。

パントテン酸は、ヒトにおける特徴的な欠乏症状の報告はない。実験的な欠乏食を投与した実験で、9週間にわたりパントテン酸含量 0 の精製食を与えても欠乏症状はでなかったという報告がある。パントテン酸は生命の根幹に関わっているので、欠乏が起こらないように、外的にも内的にもパントテン酸の補給なり、活性型である CoA の生合成について万全の備えができていられると思われる。そのため、パントテン酸は AI 設定となる。通常の食生活をしている成人のパントテン酸摂取量は概ね 5 mg/日 である。この摂取量で尿中排泄量ともおおよそ均衡がとれている。そこで、5 mg/日 が成人の AI とされている。

葉酸の特徴的な欠乏症はビタミン B₁₂ 欠乏と類似の巨大赤芽球性貧血である。この欠乏症を予防するには、血清葉酸濃度を 7 pmol/ml 以上と赤血球葉酸濃度を 300 pmol/ml 以上に保つ必要がある。この量を維持するのに必要な葉酸摂取量は 170 µg/日 であるので、この値が EAR とされている。RDA は 170×1.2=200µg/日 とされている。

ビオチン欠乏は、生卵を 1 日に 20 個程度の摂取を 1 週間ぐらい続けると認められる。卵白中に含まれるアビジンというタンパク質がビオチンと特異的に結合して吸収を阻害するためである。欠乏の臨床症状としては、皮膚炎、脱毛、神経障害である。しかしながら、通常の食生活をしているヒトにおいて、欠乏症は認められていない。成人の食生活におけるビオチン摂取量は 30~70µg/日 である。一方、乳児のビオチン摂取量 5µg/日 を成人に外挿すると 27.0µg/日 となる。これらのデータから、成人の AI は 30µg/日 とされている。

ビタミン C 欠乏には壊血病という特徴的なものがある。この欠乏症の予防には 5~10 mg/日 で十分である。しかし、適正摂取量は種々のストレス、多量のアルコール、生体異物等の摂取、喫煙などによって影響を受けることが明らかにされている。これらの生活習慣病の危険因子を軽減するために必要な血漿ビタミン C 濃度は 7 µg/ml 以上である。この濃度を維持するには 100 mg/日 の摂取量が必要である。この数値がビタミン C の AI とされている。