

葉酸 - 妊婦から高齢者まで -

姫路工業大学 (兵庫県立大学) 環境人間学部 食環境解析学研究室

渡邊敏明

1. はじめに

葉酸は、水溶性ビタミンの1つで、細胞内では、ヌクレオチド類の生合成、メチル化やアミノ酸の代謝などに不可欠である。葉酸の生理機能としては、正常な造血機能を保つために重要であるばかりでなく、成長や妊娠の維持にも欠かせないビタミンである。葉酸は、ホモシステインからメチオニンの転移に不可欠である。このため葉酸の摂取量が低下すると、血漿ホモシステインの上昇が見られる。最近、ホモシステインがアテローム性冠動脈疾患のリスクファクターとして注目されている。

神経管閉鎖障害 (NTD) の発症は、古くは病害を受けたジャガイモの摂取が原因ではないかと疑われていたが、その後 NTD の発生頻度が社会経済階級と関連があることが明らかにされた。とくに NTD 児を出産した母親で赤血球の葉酸が減少していた。このようなことから、一連の疫学調査が実施され、葉酸摂取による NTD の予防効果が明らかにされてきた。

アメリカでは、1991年にNTD児の発症防止のための医学的ガイドラインが発表されている。妊娠可能な婦人は受胎計画時から妊娠第2週までの間、葉酸0.4mg/日を摂取すべきであり、NTDの再発防止には、妊娠第12週まで1日に4-5mgの葉酸が処方されるべきである。その後、多くの国々で同じ内容の勧告が出されている。アメリカでは、1994年にFDAによって「葉酸は胎児の神経管障害のリスクを軽減する」とした健康強調表示 (ヘルスクレーム) が認められ、1998年からは穀類に葉酸140µg/100g添加することが義務付けられている。

わが国では、2000年12月、旧厚生省から妊娠可能な女性に対しては妊娠の少なくとも1ヶ月以上前から妊娠3ヶ月まで葉酸0.4mg/日を摂取することによって、NTDの発症リスクを約28%減らすことができる、といった通達が出されている。また、第六次改定日本人の栄養所要量 (1999年) において、葉酸の所要量が初めて策定され、成人では1日あたり200µgであり、妊婦では200µgが付加されている。策定においては、体内で動的平衡状態が保つことができる必要量から算出されている。今後、葉酸関連代謝物であるホモシステインを指標とした検討が必要である。

近年、サプリメントの普及や微量栄養素に対する関心が高まりつつある。2001年に「五訂日本食品標準成分表」の作成および「保健機能食品」の制度ができた。栄養素の生理機能が再認識され、ビタミンに対する関心も高まりつつある。保健機能食品においては、栄養機能食品の規格基準および栄養機能表示が決められた。葉酸の上限値は200µgで、胎児の正常な発育に寄与する栄養素である、としている。このようにサプリメントとして、葉酸の予防効果としての役割が認められた (表1)。

表1. ビタミンによる疾病予防

脂溶性ビタミン

ビタミンA	ガン, 皮膚疾患
ビタミンD	骨粗鬆症
ビタミンE	動脈硬化症, アルツハイマー病
ビタミンK	骨粗鬆症

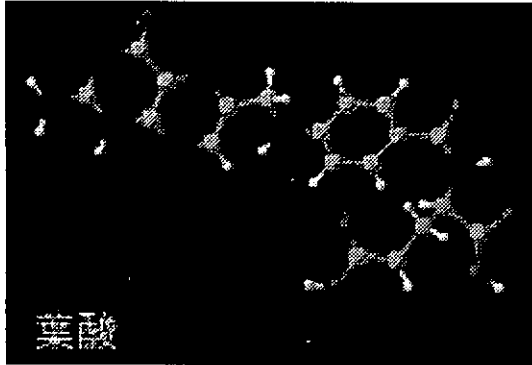
水溶性ビタミン

ビタミンB1	糖尿病, 動脈硬化症
ビタミンB2	動脈硬化症
葉酸	先天異常, 動脈硬化症
ビオチン	糖尿病, アトピー性様皮膚炎
ビタミンC	ガン, 骨粗鬆症, 動脈硬化症, 血圧正常化

2. 葉酸とは

葉酸は、下記のとおり、さまざまな化合物として存在している（図1）。血漿や尿中では、モノグルタミン酸型、組織ではポリγ-グルタミン酸型としてタンパク質と結合した形で機能している。レバー、ほうれん草、大豆、えび、まめなどの食品に多く含まれている（表2）。

図1. 葉酸の化学構造



(ビジュアル生理学)

4-[[[(2-アミノ-4(3H)-オキソプテリジン-6-イル)メチル]アミノ安息香酸+L-グルタミン酸

自然界	ジヒドロ葉酸 $H_2PteGlu$, テトラヒドロ葉酸 $H_4PteGlu$
血漿, 尿中, 胆汁	モノグルタミン酸型葉酸 $H_4PteGlu$ (FABP と結合)
組織	ポリγ-グルタミン酸型葉酸 $H_4PteGlu_n$ (FABP と結合)
食品中	ポリグルタミン酸型葉酸 (モノグルタミン酸型→肝臓貯蔵→胆汁排泄)

表2. 葉酸が多く含まれる食品

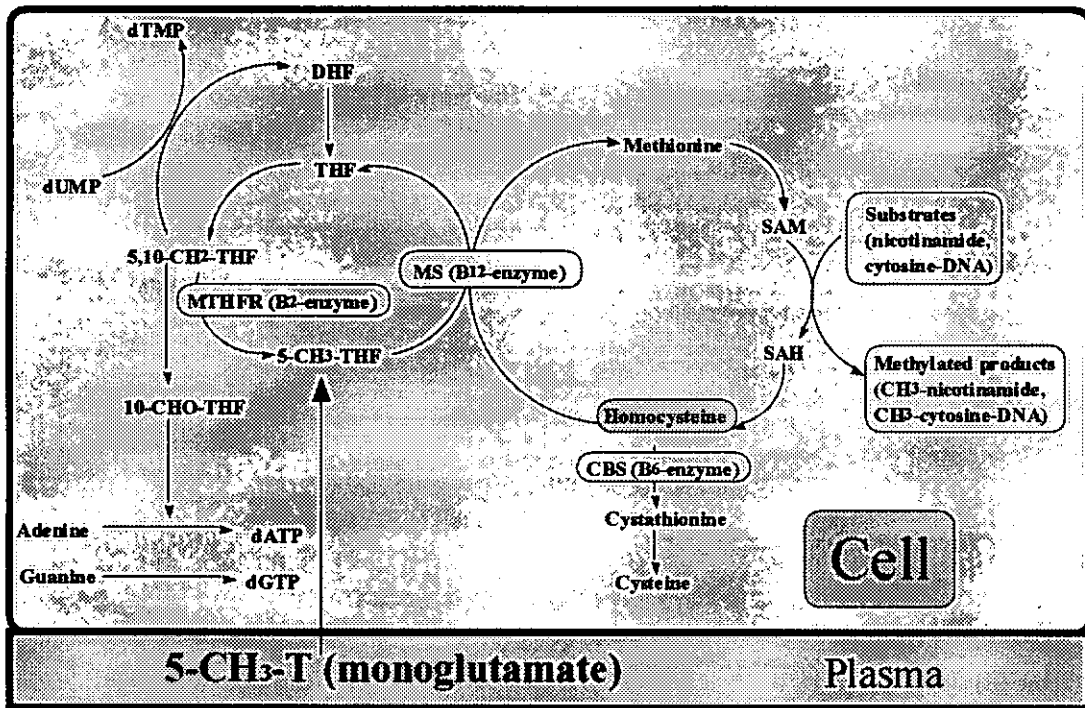
単位: μg /可食部 100 g

生うに	360
えだまめ (ゆで)	260
モロヘイヤ	250
和種なばな (ゆで)	190
アスパラガス (ゆで)	180
そらまめ (ゆで)	120
ブロッコリー (ゆで)	120
ほうれん草 (ゆで)	110
ライチ	100
いちご	90

(五訂日本食品標準成分表)

葉酸は、水溶性ビタミンの1つであり、細胞内では、補酵素として、ヌクレオチド類の生合成やメチル基の生成転換系などに関与している。また、アミノ酸やたんぱく質の代謝などにも不可欠であり、グリシン、セリン、メチオニンの代謝やビタミン B_{12} とともにホモシステインからメチオニンの生成などにも関与している。このため、葉酸の摂取が不足すると血液中のホモシステインの上昇が見られる（図2）。

図2. 葉酸、ビタミンB₁₂およびビタミンB₆の関与している代謝



3. 葉酸の必要量

葉酸の必要量がどのくらいであるかを評価する方法としては、血液像のほかに、体内の葉酸レベルあるいはホモシステインレベルが良い指標となる。一般に、摂取量と血清葉酸レベルを比較して、動的平衡状態が保たれている状態が必要量を満たしていると考えられる。これまでに報告から、成人で男女とも1日あたり200 μ gとされている。しかしながら、最近では、葉酸と関連が深く、体内代謝に重要な物質であるホモシステインのレベルを指標として、必要量が検討されている(表3, 表4)。

表 3. 評価基準

葉酸レベル (血清)	7nmol/L<
葉酸レベル (赤血球)	300nmol/L<
ホモシステインレベル (血清)	<14μmol/L

表 4. 食事調査

	被験者	摂取量	血清	RBC	Hcy
• '87 Sarberlich et al.	3	100	減少	減少	-
•		200	一定	減少	-
• '94 Jacob et al	10	151	正常	正常	異常
• '86 Milne et al	40	200	減少	減少	増加
• '88 O'Kerfe et al.	5	319	減少(3)	減少(3)	増加(2)
•	6	489	一定	一定	一定
• '02 Shiga study	10	200	増加	-	-

表 5. 第六次改定日本人の栄養所要量

第 6 次改定栄養所要量 (ビタミン)

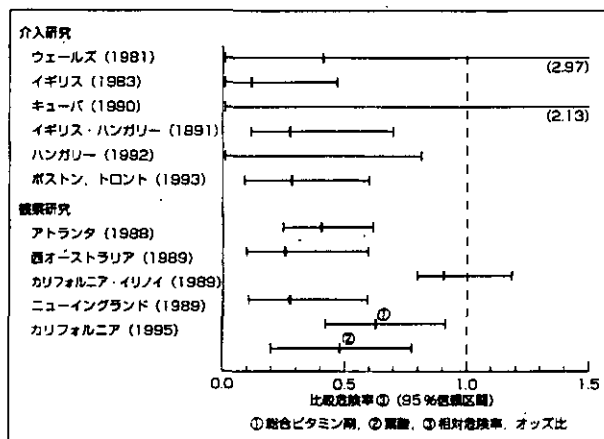
年齢 (歳)	葉酸		B12	ビオチン	パントテン酸
	所要量 (μg)	許容上限 摂取量	所要量 (μg)	所要量 (μg)	所要量 (mg)
0- (月)	40	-	0.2	5	1.8
6- (月)	50	-	0.2	6	2.0
1~2	70	300	0.8	8	2.4
3~5	80	400	0.9	10	3
6~8	110	500	1.3	14	3
9~11	140	600	1.6	18	4
12~14	180	800	2.1	22	4
15~17	200	900	2.3	26	4
18~29	200	1,000	2.4	30	5
30~49	200	1,000	2.4	30	5
50~69	200	1,000	2.4	30	5
70以上	200	1,000	2.4	30	5
妊婦	+200	+1000	+0.2	+0	+1
授乳婦	+80	+1000	+0.2	+5	+2

なお、妊婦においては、胎児の発育や形態形成と深く関わっているため、さらに200 μ gの付加量が必要である(表5)。

3. 葉酸と神経管閉鎖障害

葉酸の生理機能としては、正常な造血機能を保つために重要であるばかりでなく、成長や妊娠の維持にも欠かせないビタミンである。最近、胎児における神経管閉鎖障害の発症リスクの低減に効果が認められている(図3)。

図3. 葉酸による神経管障害の予防効果



神経管障害の発症リスクの低減については、アメリカをはじめ多くの先進国で妊娠可能な女性に対して、受胎前後における葉酸の大量摂取を勧告している。これと関連して、ヘルスクレームも認められている。わが国においても、一昨年に同様の勧告がなされている。しかしながら、葉酸の不足による神経管障害の発症メカニズムについては、ほとんど明らかにされていない。

4. ホモシステインと動脈硬化

ホモシステインが心筋梗塞や脳梗塞の新しい危険因子として注目されている。ホモシステインは食事の蛋白質に含まれるメチオニンがシステインに代謝される際に生成される中間代謝産物のアミノ酸である。血中のホモシステインの値が高くなるとホモシステインは自己酸化を起こし、酸化過程において生じたフリーラジカルなどが内皮細胞を障害し動脈硬化を起こすと考えられている(図4、図5)。

図4. ホモシステインと動脈硬化

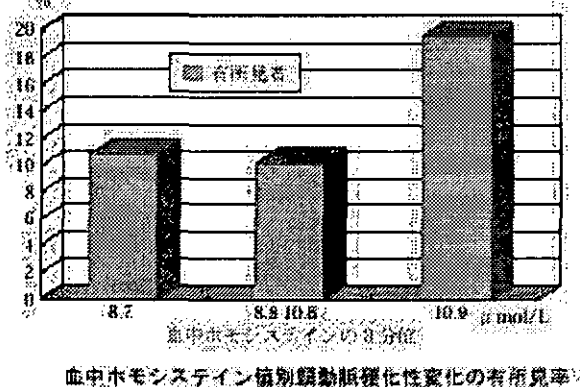


図5. 葉酸とホモシステインとの関連

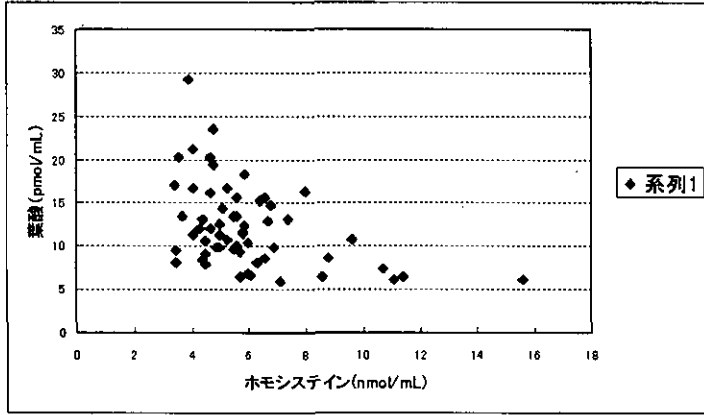


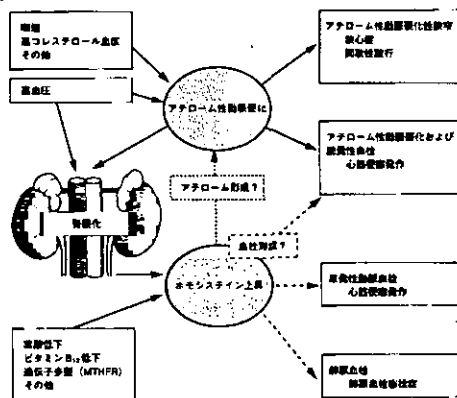
表6. 冠動脈疾患における葉酸投与の効果

測定項目	摂取前	摂取後	P
血清中葉酸 (ng/mL)	5.0±1.5	10.8±3.8	P<0.001
血清中ビタミンB12(pg/mL)	317.4±130.4	334.5±123.8	P<0.05
血清中α-トコフェロール (mg/L)	8.2±5.1	13.7±7.9	P<0.001
血清中ホモシステイン (μmol/L)	8.7±4.3	6.3±2.2	P<0.001
LDLの酸化 (nmol マロナルドヒド/mg たんぱく質)	2.6±1.1	1.6±1.1	P<0.001

葉酸 650μg, ビタミンE (α-トコフェロール) 150mg, β-カロテン 12.5mg

ホモシステイン値は、葉酸、ビタミンB₆、B₁₂などの食事性因子と関連することが指摘されており、これらの摂取量を増やすことによってホモシステイン値を低下させることが可能であると推測されます(表6, 図6)。

図6. ホモシステインによる動脈硬化症の誘発のメカニズム



5. まとめ

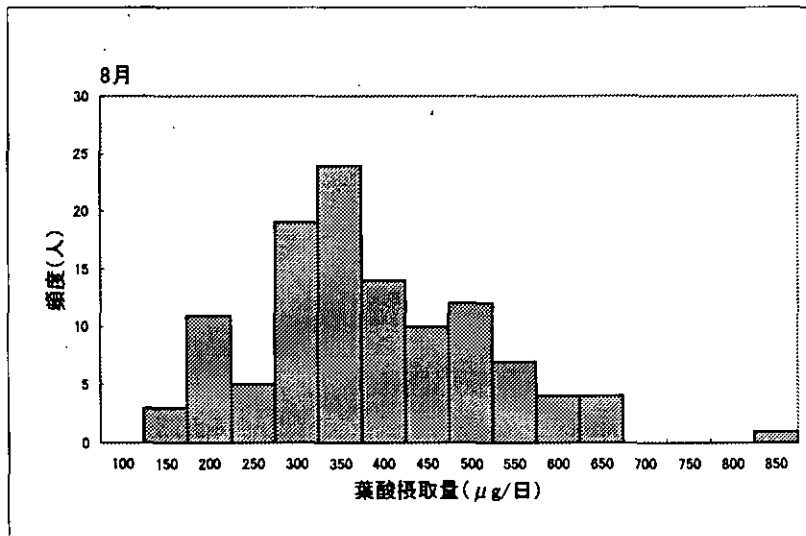
表7. 中高年者における葉酸の摂取量の季節変動

	11月	2月	5月	8月
被験者数	118	118	116	115
葉酸	487.8±137.4	465.7±141.5	424.3±131.8	409.0±127.4
範囲	218.0-1029.3	158.3-1141.3	155.3-853.3	155.0-875.0
RDA 以下(%)	0	1 (0.8)	2 (1.7)	3 (2.6)

μg/日.

範囲：最小値-最大値.

図7. 中高年者における葉酸摂取量の分布



葉酸の平均摂取量 (8月) は一日あたり 409 μg であり、充足率は 97.4% であるが、欧米の所要量 400 μg に対する充足率は 45.6% であった (表7, 図7).

表8. 国民栄養調査 (平成11年)

National nutrition survey in 2001			
Ages	Total	Male	Females
1-6	175	180	170
7-14	270	280	259
15-19	286	303	268
20-29	271	280	263
30-39	280	302	262
40-49	307	312	303
50-59	364	364	363
60-69	394	372	387
70-	349	359	342
Total	313	321	306

表9. 葉酸摂取量と食事内容

	食品 (g)	食品 (g)	食品 (g)
2200kcal	1類 にしん生 52	3類 トマト 75	5類 めし 450
蛋白cal比16%	鶏卵 80.9	4類 さんとうさい 44.6	ざらめ糖 3
脂質cal比26%	絹ごし豆腐 94.4	たくあん漬 25	上白糖 0.5
糖質 56%	油揚げ 26.1	さやえんどう 30	ポテトコロッケ 30
ビオチン 21.3 μ g	納豆 25	梅干し 3	6類 調合油 7
B12 21.6 μ g	塩ます 20	みかん飲料 200	他 食塩 0.6
葉酸 410 μ g	たらこ生 60	きゅうり漬 15	しょうゆ 19
	米みそ 20	夏みかん 99	調味料 1.1
	かつお節 0.3	大豆もやし 10	コーヒー 3
	しゅうまい 20		せん茶 520
	ぎょうざ 20		まんじゅう 35
	こしあん 10		ドーナツ 20
	2類 普通牛乳 210		せんべい 15
	コーヒー代 3		

最近の調査では、血清葉酸レベルには季節変動がみられ、葉酸は女性で高値を示した。葉酸の摂取量の平均は、栄養所要量の約2倍であり、普通の食事をしている限り、不足にはならない。しかしながら、妊婦や高齢者においては、十分な量の葉酸を継続して毎日摂取することが、健康な生活をするために必要であると考えられる（表8、表9）。

1. はじめに

ビタミン B₁₂ (B₁₂) は、コバルト元素を含む複雑な構造した水溶性ビタミンで、赤いビタミンとして知られている。B₁₂ は、他の B 群ビタミンと異なり、一部の食用藻類を除き植物性食品には含まれないと考えられており、主として動物性食品から摂取する必要がある。また、食品中の B₁₂ は特異な腸管吸収機構を介して体内に吸収・利用されるため、この吸収機構に何らかの障害があれば、いくら食品から B₁₂ を摂取しても吸収されないことになる。今回は、B₁₂ の腸管吸収機構や生理機能など基礎的な事項から所要量までを簡潔にまとめ、また高齢化社会を向かえたわが国にとって重要となる食品タンパク質結合性 B₁₂ 吸収不全症について考えてみたい。

2. ビタミン B₁₂ とは

B₁₂ は抗悪性貧血因子として肝臓中に発見された。1926 年に Minot と Murphy はヒトの悪性貧血の肝臓療法を確立し、1948 年に Folkers らや Smith らはこの因子を赤色結晶状に単離することに成功した。その後、B₁₂ は微生物の発酵により大量に生産されるようになり、その化学構造や性質が明らかとなった。B₁₂ および関連化合物の構造の名称を図 1 に示す。

これら化合物に共通して含まれるテトラピロール様骨格はコリン環と呼ばれ、コリン環を含む化合物はコリノイドと総称される。塩基に 5,6-ジメチルベンズイミダゾールを含むコバミドは B₁₂ 類またはコバラミンと呼ばれる。

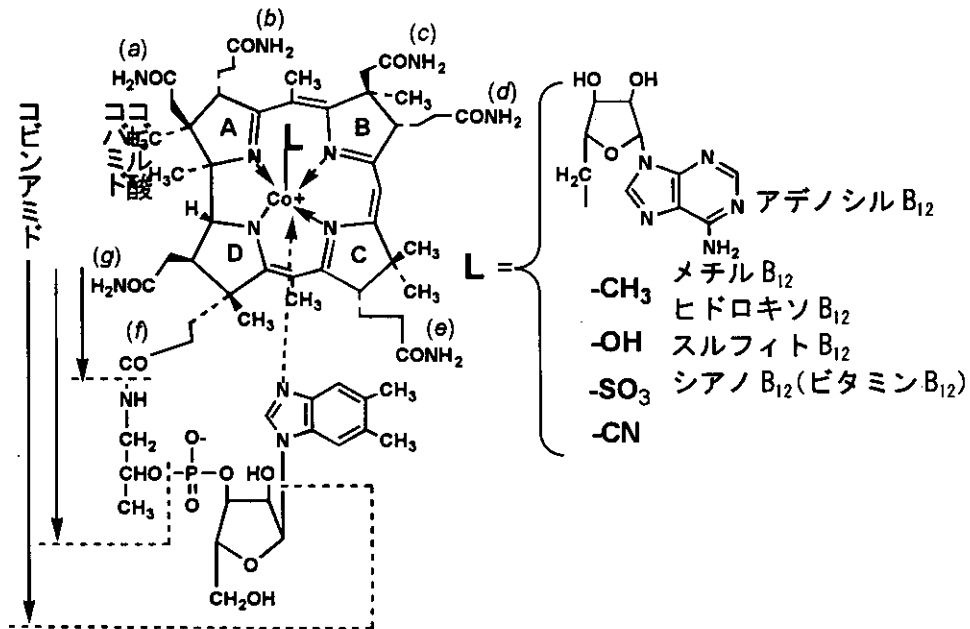


図 - 1 ビタミン B₁₂ 化合物の構造式

通常、B₁₂ は上方配位子 (L) にシアノ基を配位したシアノ B₁₂ (CN - B₁₂) をさすが、これは生体から B₁₂ 類を効率よく抽出するとき生成する人工産物である。B₁₂ は生体内に取込まれ活性型(補酵素型)のアデノシル B₁₂ (AdoB₁₂) とメチル B₁₂ (MeB₁₂) に変換され機能する。これら B₁₂ 補酵素はいずれも光に非常に不安定である。

2. ビタミン B₁₂ を多く含む食品

他の B 群ビタミンと異なり、B₁₂ は一部の食用藻類を除き植物性食品には含まれないと考えられており、通常、動物性食品から B₁₂ を摂取している。5 訂標準食品成分表において牛肉、豚肉、鳥肉などの肉類 (内臓肉を含む) 特に、レバーは B₁₂ 含有量が高い。食品群では魚介類、乳類、肉類から B₁₂ を摂取しており、食品としては牛乳、鶏卵、アサリ、サケ、焼のりが主

な B₁₂ の供給源と報告されている。

3. 調理・加工処理における損失

焼く・ゆでる・揚げるなどの加熱調理による B₁₂ 残存率は牛肉各部位で 61~88%, 牛内臓肉で 54~98%, 豚肉各部位で 76~90%, 豚内臓肉で 68~100% である。特に牛乳中の B₁₂ は加熱調理により顕著に減少し、電子レンジ 3 分加熱および直火 30 分の加熱で約 50% の B₁₂ が消失する。

4. 平均摂取量

平成 13 年国民栄養調査によると男性の 1 歳から 19 歳の平均摂取量は 4.2~8.1μg/日、20 歳から 49 歳の成人では 7.7~8.5μg/日、50 歳以上の成人では 8.6~11.0μg/日であり、女性の 1 歳から 19 歳の平均摂取量は 4.1~6.4μg/日、20 歳から 49 歳の成人では 5.9~6.9μg/日、50 歳以上の成人では 7.7~8.4μg/日である。男女とも、また各年齢階層とも概ね第六次改定食事摂取基準の所要量 (2.4μg/日) の 2~3 倍程度摂取している。

5. ビタミン B₁₂ の腸管吸収・体内輸送

B₁₂ の吸収と輸送には内因子 (intrinsic factor, IF), トランスコバラミン II (transcobalamin II, TCII), ハプトコリン (Haptocorrins, HC, あるいは R-binder) などの B₁₂ 結合タンパク質とそれらの受容体が関与している (図 2)。食物中の B₁₂ は多くの場合 AdoB₁₂ や OH-B₁₂ であるが、タンパク質と結合しており胃酸や消化酵素の作用で遊離する。遊離した B₁₂ は唾液腺由来の HC に結合し、ついで十二指腸において HC が膵液中のタンパク質分解酵素 (トリプシンなど) によって部分的に消化される。その後、胃の壁細胞から分泌された IF に移行する。IF - B₁₂ 複合体は腸管を下降していき、中性 pH 域においてカルシウム存在下で主として回腸下部の刷子縁膜微絨毛に分布する IF - B₁₂ 複合体受容体に結合し、エンドサイトシスにより腸管上皮細胞に取込まれる。その後、リソゾームで遊離した B₁₂ は腸上皮細胞内で生産された TCII と結合し門脈血中に出現する。

血液中の TCII - B₁₂ 複合体の標的細胞への取込は TCII - B₁₂ 複合体受容体を介したエンドサイトシスにより生じる。B₁₂ 複合体と受容体との結合には中性 pH 域においてカルシウム存在が不可欠である。一方、血液中でも HC が存在し、アシアログリコタンパク質受容体を介して肝臓の細胞に取込まれるが、その詳細な生理機能についてはわかっていない。

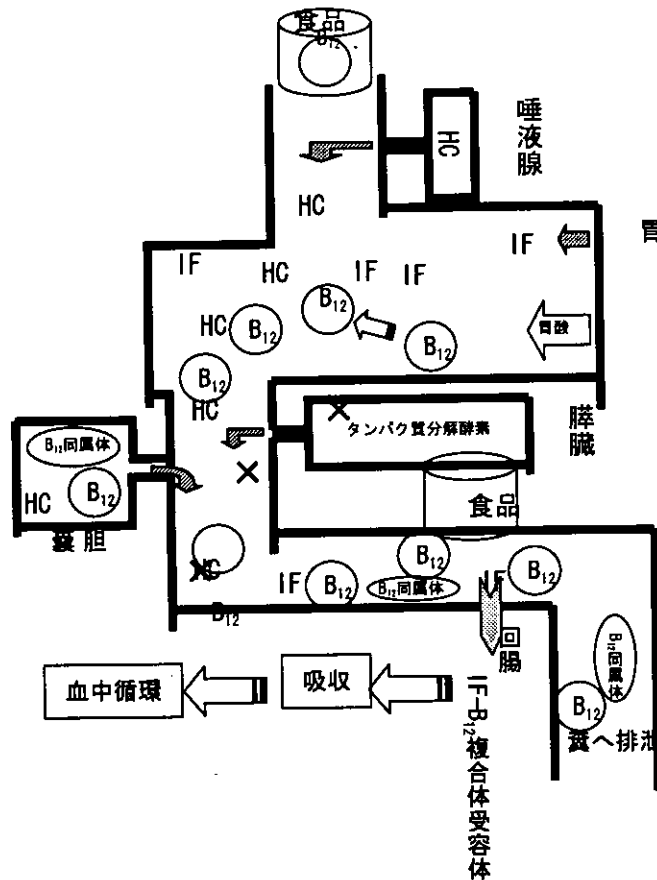


図 - 2 ビタミン B₁₂ の腸管吸収機構

6. 食物からの吸収率

正常な胃の機能を有した健康な成人において食品中の B₁₂ の吸収率はおよそ 50% とである。1 回の食事あたりおよそ 1.5~2.0 μ g の B₁₂ で IF の回腸レセプターが飽和するため、それ以上は生理的には吸収されない。特に、B₁₂ を豊富に含む食品を多量に摂取した場合、吸収率は顕著に減少する。

7. 腸肝循環・体内貯蔵・排泄

胆汁中に排泄される総コリノイド量の平均値は 2.5~8 \square g/日と報告され、健康な成人において胆汁中に排泄された B₁₂ の約 50% は再吸収され、体内で利用される。

健康な成人の体内 B₁₂ 貯蔵量は約 2~3mg である。体内 B₁₂ 貯蔵量にかかわらず 1 日当たり B₁₂ 貯蔵量の 0.1~0.2% が体外へ排泄される。ヒトの体内 B₁₂ 貯蔵量を 3mg とすると 1 日当たりの排泄量は 3~6 \square g となり、全体の排泄量に占める尿中排泄の割合は非常に小さく、通常ほとんどの B₁₂ は糞便へ排泄される。糞便中の B₁₂ の起源は食物や胆汁から吸収されなかった B₁₂、剥離細胞、胃腸からの分泌物、大腸で細菌により合成された B₁₂ が含まれている。

8. 生理作用・補酵素作用

現在までに、ヒトを含む高等動物において 2 種類の B₁₂ 依存性酵素が知られている(図 3)。生体内で奇数鎖脂肪酸やアミノ酸 (バリン, イソロイシン, スレオニン) の代謝に関与する AdoB₁₂ 依存性メチルマロニル CoA ムターゼ (MCM) (EC5.4.99.2) と、5-メチルテトラヒドロ葉酸(5-CH₃-H₄-葉酸) とホモシステインからメチオニンの合成に関与する MeB₁₂ 依存性メチオニン合成酵素 (MS) (EC2.1.1.13) である。

9. 薬理作用

OH-B₁₂ は容易に CN アニオンと結合し CN-B₁₂ を生じる性質があるため、OH-B₁₂ は食品中やタバコの煙などから生体に取り込まれる微量な CN アニオンのスクャベンジャーとなりうる。この性質を利用し、火災などで発症した CN 中毒症の解毒剤としての利用も検討されている。

また、OH-B₁₂は生理活性物質である一酸化窒素のスカベンジャーとしての作用も報告されている。また、MeB₁₂は睡眠・覚醒リズム障害や男性不妊症の治療効果が報告されている。

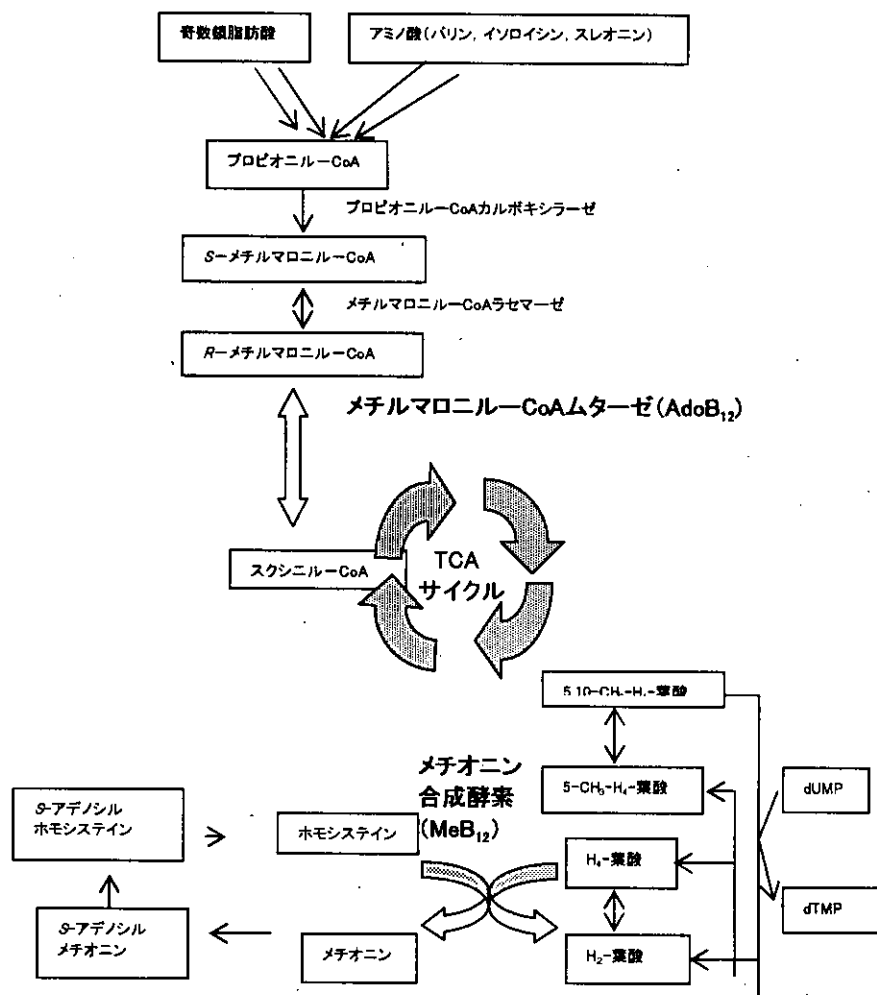


図 - 3 ビタミン B₁₂ の生理作用

10. ビタミン B₁₂ 欠乏症

B₁₂ 欠乏症は悪性貧血症である。葉酸欠乏と同様に貧血発症のメカニズムは正常な DNA 合成の阻害である。この結果、赤血球容量が増大し、巨大赤血球や異常な形態の赤血球を生じる。これらの血清学的症状は B₁₂ の投与により完全に回復する。

神経学的合併症は、B₁₂ 欠乏症患者の 75~90% にみられる。神経症は手足の知覚障害や歩行異常を含む運動障害を生じる。神経障害の進行は一般的にゆるやかであるが、B₁₂ の投与後回復するかどうかは、神経症発症の期間により異なる。

表-1 にビタミン B₁₂ 欠乏症の発病原因をまとめた。

11. ビタミン B₁₂ 必要量を評価するための指標及び測定方法

1) 血液学的検査：平均赤血球容積 (MCV) は正確に測定できるが、赤血球の長命が 120 日であるために B₁₂ 摂取に対するレスポンスに長時間を要するので、MCV の有効性は限定されている。

表-1 ビタミン B₁₂ 欠乏症を生じやすい状態

原因	発病機構
食事性欠乏症	不十分な B ₁₂ 摂取, 厳格なベジタリアンで見られる.
悪性貧血症	IF の欠如
胃切除	IF の欠如
萎縮性胃炎	食事タンパク質結合 B ₁₂ の消化ができない. 細菌による B ₁₂ の取込みと変換
小腸での細菌の異常増殖	細菌による B ₁₂ の取込みと変換
回腸下部の疾病および切除	B ₁₂ の吸収ができない.
不十分な膵臓の機能	食事タンパク質結合 B ₁₂ の消化ができない.

2) 血清 B₁₂ 量: 血清 B₁₂ 濃度は B₁₂ 摂取と貯蔵の両方を反映している. その最低限界は成人でおよそ 120~180 pmol/L (170 ~250 pg/mL) 程度と考えられているが, 分析に用いる方法や機器により一定でない. 欠乏症が進行するとき, 組織に貯蔵された B₁₂ が血中に供給されることで血清 B₁₂ 値は一定に保たれると考えられる. そのため, カットオフ値以上の血清 B₁₂ 値が必ずしも適切な B₁₂ 状態を示しているとは限らない.

3) 血清 (血漿) メチルマロン酸量: 血清メチルマロン酸 (MMA) に関する基準値は 73 から 271 nmol/L である. B₁₂ が欠乏するとき血清中の MMA 濃度は上昇する. 血清 MMA 濃度は B₁₂ 欠乏症に非常に特異的であるので, B₁₂ の栄養状態を示すよりよい指標となる. しかし, 平均必要量の基礎となるような B₁₂ 摂取と MMA 濃度の関係を直接に調べた研究がない. また, 測定法の改良が顕著であるので古い研究からの血清 MMA 値は最近得られた MMA 値と比較できない可能性もある.

4) 血清 (血漿) ホモシステイン量: 血清 (血漿) ホモシステイン定量法は種々開発されているが, 葉酸あるいは B₆ (あるいは両方) の不足もまた血清 (血漿) ホモシステイン濃度を上昇させることから, この指標は特異性が低く, 平均必要量を策定するのに有効な指標とならない.

5) 血清ホロトランスコバラミン II 量: 3種の血清 B₁₂ 結合タンパク質の中で TCII は標的細胞へ受容体を介しての B₁₂ の取込みに関与している. しかし, 血清 B₁₂ の 10~20%のみが TCII-B₁₂ 複合体として存在しており, この画分をホロ TCII と呼び, 最も感度のよい体内 B₁₂ 状態の指標であることが認識されつつある. 最近, ホロ TCII 量の信頼できる測定法が開発されたが, 臨床応用されるにはまだかなりの時間を要する.

1.2. 平均必要量・所要量

成人のための平均必要量を導き出すための単一の指標はなく, 一般的に次のような方法 ① 適正な血清学的状態 (正常なヘモグロビン値, 正常な MCV, 正常な網状赤血球反応) を維持するために必要な B₁₂ 量を決定する方法, ② 適正な血清 B₁₂ 値と MMA 値を維持するために必要な食事の B₁₂ 摂取量を評価する方法, ③ 体内貯蔵を維持するのに必要な B₁₂ 量を評価する方法などが考えられる.

米国の食事摂取基準では信頼できるデータが唯一存在する①の方法が平均必要量を導き出す方法に選ばれた. 米国食事摂取基準の算定方法と結果がわが国の第六次改定食事摂取基準で採用されている.

①血清学的状態と血清 B₁₂ 値の維持

米国食事摂取基準では適正な血清 B₁₂ 量を 150 pmol/L (200 pg/mL) 以上とし, 悪性貧血患者に B₁₂ を 0.25~10 μg/日 で筋肉内投与した結果, 1.5 μg/日 が悪性貧血症患者の血清学的状態を適正に維持するために必要とされる B₁₂ 量と推定している. 米国食事摂取基準ではこの B₁₂ 量 (1.5 μg/日) から悪性貧血患者は胆汁中に含まれる多量の B₁₂ 量を再吸収することができないため, その損失量 (0.5 μg/日) を差し引き, 正常な腸管吸収能力を有した健康な成人における生体利用率 (50%) で補正することで平均必要量を算定している (表-2).

表 - 2 悪性貧血患者で得られたデータを用いたビタミンB₁₂必要量の算定方法

①	悪性貧血症患者を正常に保つために必要な平均的な筋肉内ビタミンB ₁₂ 投与量	=	1.5μg/日
②	胆汁中のビタミンB ₁₂ を再吸収できないことによる損失量を引く	=	-0.5μg/日
	小計：正常人の吸収されたビタミンB ₁₂ の必要量	=	1.0μg/日
③	生体利用率（吸収率50%）を補正	=	+0.5
④	正常人の食物からのビタミンB ₁₂ の必要量（EAR）	=	2.0μg/日
⑤	所要量（RDA）=EAR X 1.2	=	2.4μg/日

②血清 MMA 値の維持

機能的な体内 B₁₂ 状態の指標として血清 MMA 量は、上述①の指標よりも敏感であるが、B₁₂ 摂取量と血清 MMA 量に関する研究が不足しているため平均必要量の策定には利用できない。

③体内 B₁₂ 貯蔵量の維持

体内 B₁₂ 貯蔵量の量にかかわらず、1日あたりその B₁₂ 貯蔵量の 0.1 から 0.2% が消失する。すなわち、B₁₂ 貯蔵量 3.0mg の人は 3~6μg を毎日排泄することになり、B₁₂ はかなり多量に体外に排泄させる。健康な成人の平均の B₁₂ 貯蔵量は約 2~3mg と報告されているが、健康を維持するためにどれほどの体内 B₁₂ 貯蔵量が必要なのか詳細な知見はない。米国食事摂取基準では長期的に不十分な B₁₂ の摂取や吸収不全があっても体内に多量に貯蔵された B₁₂ から補充することができるとしている。しかし、一般的に正常状態で 1日あたりの B₁₂ の出納が負になることは好ましいことではないと考えられる。体内 B₁₂ 貯蔵量を 3.0mg とし、その 0.1~0.2% が代謝・排泄され、さらに腸管循環や消化吸収率などを考慮すると B₁₂ の出納バランスを保つためには、約 4.8μg/日の B₁₂ を食物から摂取する必要があると推定される（図 4）。食事 1 回あたり IF の B₁₂ 飽和量は、およそ 1.5~2.0μg と推定されており、1日 3 回の食事からおよそ 4.5~6.0μg/日の B₁₂ を吸収することができる。

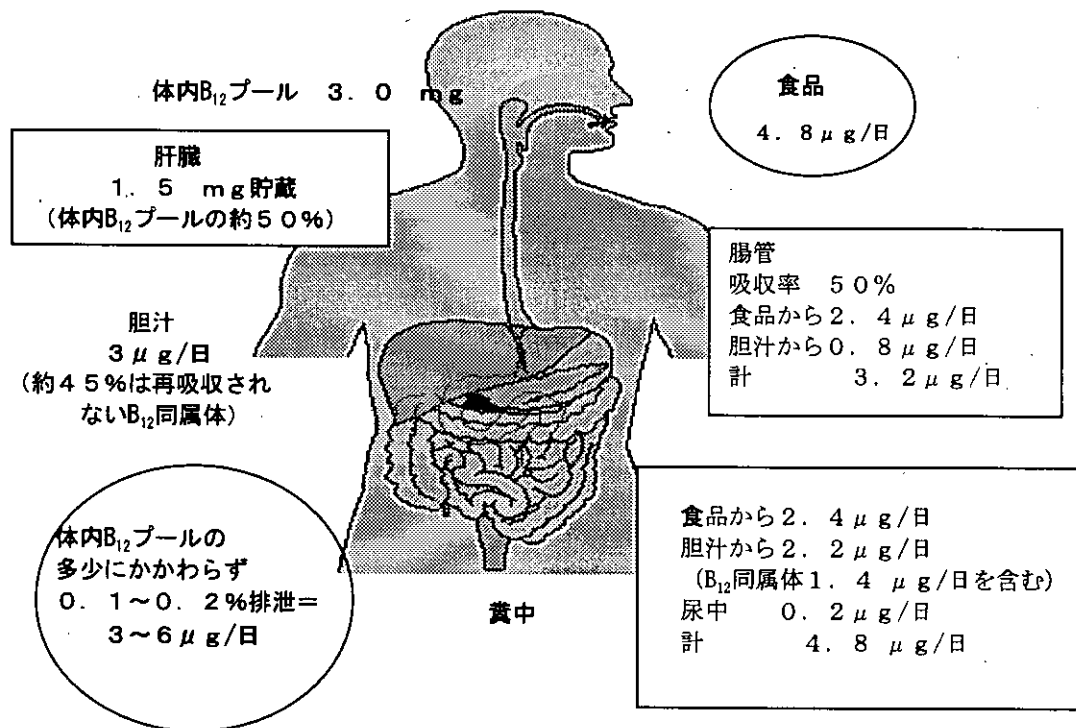


図 - 4 種々のデータから推定されるのビタミンB₁₂の出納バランス

⑤その他

DNA の損傷率の増加は発癌の危険性の増加と老化の促進に関係が深いことが示されているためゲノムの損傷や異数性を防ぐことは微量栄養素の新しい所要量を策定するための1つの重要なパラメーターであるとしてゲノム安定性を指標とした B₁₂ 所要量の策定方法が提唱されている。米国食事摂取基準で用いている悪性貧血症予防のための最低血清中 B₁₂ レベル[150 pmol/L(203 pg/mL)]は、ゲノム安定性の指標(リンパ球の微小核インデックス)の最低レベル[300 pmol/L (406 pg/mL)]のおよそ半分であり、ゲノム安定性を指標とすると最低 7 μg/日の B₁₂ 摂取が必要であると報告している。

1 3. ビタミン B₁₂ 必要量に及ぼす加齢の影響

年齢が増加するとともに胃酸の減少、萎縮性胃炎の発症、細菌の異常繁殖、B₁₂ 結合タンパク質の機能的・構造的損傷、肝臓 B₁₂ 貯蔵量の不足のため生体内の B₁₂ レベルが低下する。高齢者において重症の萎縮性胃炎に患っている者ほど血清 B₁₂ 量は低値を示す傾向であり、高齢者のおよそ 10~30%が萎縮性胃炎であると報告されている。また、ヘリコバクター・ピロリの感染により誘導される萎縮性胃炎と食事由来 B₁₂ 吸収不全の関係も報告されている。

悪性貧血症でなく低血清 B₁₂ 値を示すほとんどの者や神経障害を呈する者の 60%は、食品タンパク質へ結合した B₁₂ の吸収不全(食品タンパク質結合 B₁₂ 吸収不全)である。

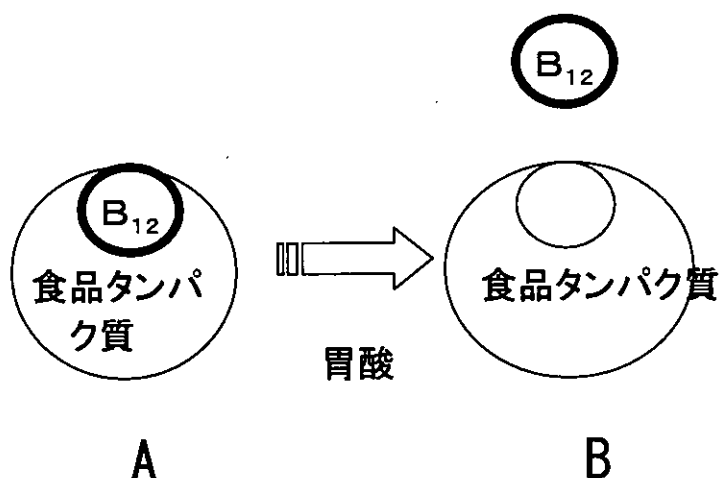


図3 食品タンパク質と結合したビタミンB₁₂の胃酸による遊離

A: 食品タンパク質結合性B₁₂吸収不全

B: 食品タンパク質からB₁₂の遊離(吸収可能)

1 4. 熟年からのビタミン B₁₂ 吸収障害

50歳以上の人のおよそ10~30%は胃酸分泌の低い萎縮性胃炎を患っており、食品からの B₁₂ の生体利用率(吸収率)が減少していると推測される。食品中の B₁₂ の吸収率 50%はこの年齢集団には適応できないので、平均必要量は第六次改定食事摂取基準で策定された 2.0 μg/日よりも高くなると考えられる。しかし、萎縮性胃炎を患っている集団の B₁₂ の吸収率をどのように補正し、平均必要量に反映しうるかについての情報がない。一方、結晶 B₁₂ の吸収率は萎縮性胃炎患者においても減少しないので、B₁₂ の食事起原として B₁₂ 強化食品や B₁₂ を含むサプリメント(およびその両方)を利用すれば若い成人集団と同じ平均必要量と所要量にすることができる。米国食事摂取基準では所要量のほとんどを B₁₂ 強化食品あるいは B₁₂ を含むサプリメントから摂取することを推奨している。

1 5. 許容上限摂取量

健常者において食物およびサプリメントからの過剰な B₁₂ 摂取に伴う悪影響はない。定期的

な B₁₂ の大量投与は悪性貧血症の一般的な治療方法であり、悪性貧血患者に大量 (1~5 mg) の B₁₂ を定期的に非経口投与しても過剰害は生じない。また、大量に経口投与された場合でも投与 B₁₂ 量の数パーセントが腸管から吸収されるのみである。以上のことは B₁₂ が明らかに低毒性であることを示している。

“ビタミンC”—多様な働きから所要量まで—

近畿大学 農学部 食品栄養学科

重岡 成, 武田 徹, 村上 恵

1. はじめに

1970年ポーリング博士は風邪の予防のためにビタミンCをグラム単位で摂取することが効果的であるという画期的な発表を行った。それ以来、ビタミンCが見直され、医学、薬学、食物学、栄養学などの領域で、新しい観点から研究が行われてきた。その結果、ビタミンCの多様な生理・薬理作用が明らかになってきているが、一方でヒトの健康を維持するためにはどれだけのビタミンCを摂取すればよいのか、ということについては明確な回答が得られていないのも事実である。本講演では、ビタミンCの特性、基本的な役割(生理・薬理作用)について概説し、我々がより健康な生活をするために、どれだけのビタミンCをどのような形で摂取するのが良いのかについて考えてみたい。

2. ビタミンC (VC) とは

セント-ジェルジ博士(1928年)がウシ副腎から新しい糖類様物質を結晶状に分離し、ヘキサロン酸と命名した。ほとんど同じ時期にキング博士らによってレモンから分離されたVCと確認された。VCの常用名はアスコルビン酸(L-ascorbic acid, AsA)であるが、これは抗壊血病効果をもつ酸、すなわち抗(anti-)、壊血病の(scorbutic)、酸/因子(acid)に由来する。生体内では、VCのほとんどは還元型AsAであるが、一部酸化型AsA(デヒドロアスコルビン酸, DAsA)として存在する。VCは酸味を有する無色の結晶で、水、アルコールにもよく溶けるが、エーテルやベンゼンなどの有機溶媒には不溶である。VCは酸性では比較的安定であるが、アルカリでは容易に酸化される。VCの酸化は二段階で進む。一電子が引き抜かれモノデヒドロAsA(MDAsA)になり、この中間体は二分子の不均化反応によりAsAとDAsAになる。VCが効率的に生理機能を発現するためには、再還元系が必要となる。MDAsAはNAD(P)Hを電子供与体とするMDAsA還元酵素により、DAsAはグルタチオンを利用する還元酵素により再還元される(図1)。

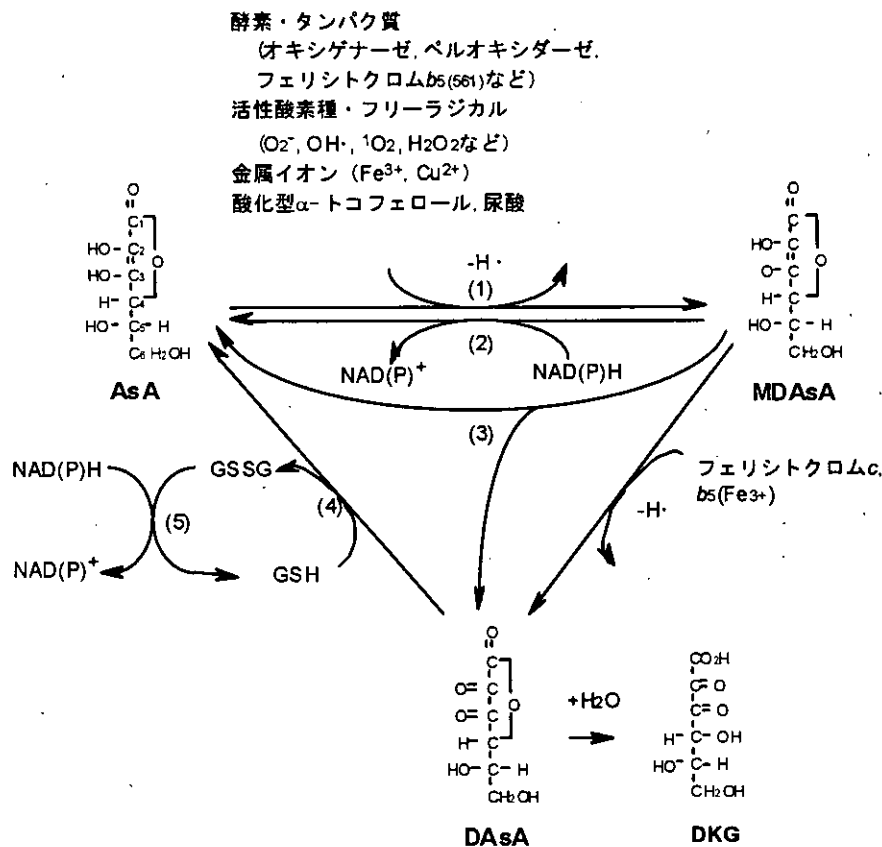


図1. ビタミンC (アスコルビン酸) の酸化還元系

(1) アスコルビン酸酸化系, (2) MDA sA還元酵素, (3) 不均化反応 (2分子),
 (4) DA sA還元酵素, (5) グルタチオン還元酵素

AsA, 還元型アスコルビン酸; MDA sA, モノデヒドロアスコルビン酸; DA sA,
 デヒドロアスコルビン酸; DKG, 2,3-ジケト-L-グルロン酸; GSH, 還元型グルタチ
 オン; GSSG, 酸化型グルタチオン

重岡 成: ビタミンの事典より (1996)

3. どのようにして分析するのか (表1)

生物試料中の VC の定量には, 一般的に分光光度法やクロマトグラフ法が使わ
 れている. 近年では, 特に白血球中の VC 定量などに高速液体クロマトグラフ法(HPLC 法)が
 頻繁に利用されている. この方法は感度が高く, 試料が少量でも測定できる. しかし, 分光光
 度法においても微量定量化により, HPLC 法と同様な感度と特異性を有することが可能となっ
 てきている. 分光光度法では, 銅などの酸化剤を用いて総 VC を DA sA やジケトグルロン酸に変
 化させ, その後ジニトロフェニルヒドラジン(DNP)との反応により, 生成する赤橙色のヒドラ
 ゾン (濃硫酸中の転移反応により 520nm に吸収極大をもつ) を定量する方法が広く用いられて
 いる. 日本標準食品成分表では, この生成物を HPLC によって分離定量し, 総 VC 量として示
 している. 還元型 AsA と DA sA を区別するためには, 還元型の酸化を省いて DA sA だけを測
 定し, 還元型 AsA は差し引きでもとめる. また, AsA がジクロロインドフェノール(DCIP)を
 還元し, 色が消失して 520nm の吸収が減少することを利用した簡便な方法もある. さらに, 分
 光光度法としてアスコルビン酸オキシダーゼによる定量がある. この方法は, アスコルビン酸
 オキシダーゼの AsA に対する特異性の高さ, VC の 265nm での吸収極大 (pH7.4~7.6), さ
 らには試料中の夾雑物の影響を受けにくいことを利用したものである. その他検出には蛍光法も
 用いられている. HPLC 法によって分離された AsA の検出には, 一般的に紫外吸収や電気化学
 的特性が用いられている. 多くの HPLC 法では直接 DA sA を測定できないため, カラムでの分
 離前後にジチオスレイトール(DTT)かフェニレンジアミンで還元する. 今回我々は, 試料を DTT

で還元した後、HPLC—紫外吸収で分離し、総 VC 量として定量した。この方法は電気化学的検出法とも結果の整合性がよく、迅速かつ高感度に検出できる方法である。

表 1. ビタミン C 定量法

測定法	感度	試料容量(μl)	AsA 特異性	対象
DCPI 法	>34 nmol	600-4000	No	食品
α,α'-ジピリジル法	>400 pmol	5-5000	No	食品, 血漿
DNP 法	>3 nmol	500-4000	No	食品
アスコルビン酸 オキシダーゼ法	>3 pmol	10-400	Yes	食品, 血漿, 植物
HPLC 法 (UV)	>50 pmol	5-450	Yes	血漿, 尿, 食品(野菜)
HPLC 法 (EC)				
Amperometric	>10 pmol	2- 50	Yes	食品(肉製品), 血漿
Coulometric		>0.1 pmol	5-100	Yes 食品, 血漿
HPLC法 (DNP)		>0.1 nmol	10-100	Yes 食品, 血漿
HPLC法 (蛍光)			Yes	食品

Washko, P. W. et al : Anal. Biochem. (1992) より一部改変

4. なぜヒトは VC を生合成できないのか

ヒトなどの霊長類とモルモットなどを除く動物、植物および藻類などの光合成生物は VC を生合成できる。動物ではブドウ糖 (D-グルコース) を初発物質として、L-グルノ- α -ラクトン酸化酵素が最終段階を触媒する経路により VC が生合成される。一方、植物では動物の生合成経路とは異なる経路や類似の経路で VC が生合成されると考えられているが、不明瞭な点も多く残されている。ヒト、霊長類とモルモットは L-グルノ- α -ラクトン酸化酵素が欠損しているために VC を合成できない。興味あることに、ラット、ウサギ、イヌなどの肝臓での VC の一日の合成能力を、ヒト体重 60kg おきかえて推定するとなんと数 g となる。

5. VC の多様な働き —生理・薬理作用—

VC の生理機能については、欠乏症である壊血病を防ぐという古くからよく知られた機能以外に、多様な機能があることがわかってきた。生理作用だけでなく、必要量をこえて VC を摂取したときに、薬理作用が現れることもわかってきた。以下に VC の生理・薬理作用について述べる。尚、VC の多様な働きの詳細は、村田の著書などを参照されたい。

1) 抗酸化作用：酸素分子から発生する様々な活性酸素種 (スーパーオキシド： $O_2^{\cdot-}$ 、ヒドロキシラジカル： OH^{\cdot} 、過酸化水素： H_2O_2 、一重項酸素： 1O_2) がもたらす酸素毒は癌や虚血性疾患など多くの成人病の発生要因といわれている。VC は水相で生成する活性酸素種の強力な消去剤として機能する。ヒト血漿には VC 以外に様々な抗酸化成分が存在するが、VC は水相に生成した活性酸素種に対して最初に作用し、それらを迅速に消去する (図 2)。このことにより、活性酸素種による脂質相の過酸化は抑えられる。また、血漿リポタンパク質中ではビタミン E が活性酸素種の消去に作用しているが、その際に生成するビタミン E ラジカルを元のビタミン E に再生するために VC は機能している。

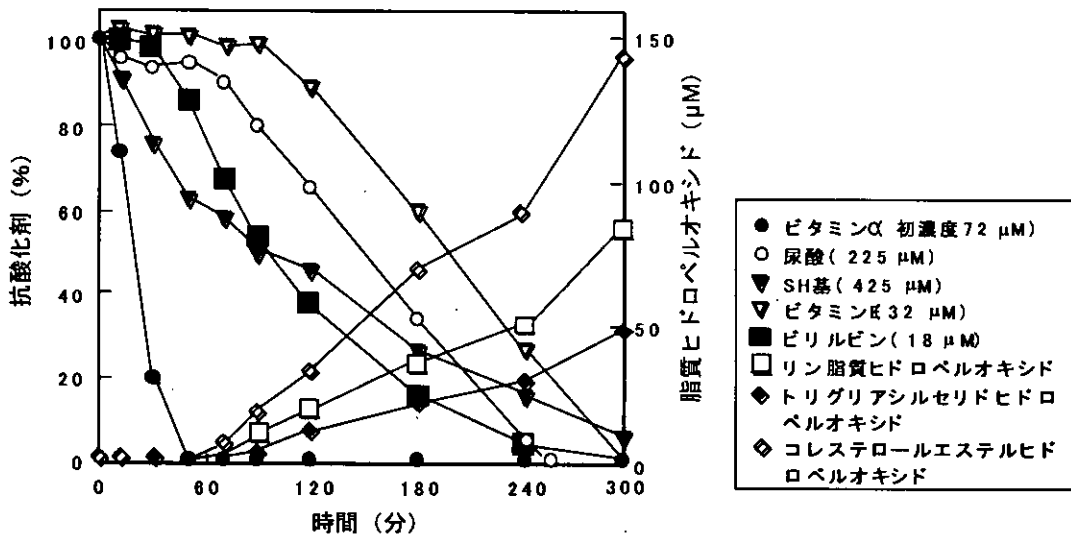


図2. ヒト血漿を水溶性ラジカル発生剤に曝露した場合の脂質過酸化と抗酸化剤の減少

Frei, B. et al : Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1988)

- 2) コラーゲンの形成：ヒトの総タンパク質の約 30%を占めるコラーゲンの合成に関与する。コラーゲンが正常な三次構造を形成するために、そのペプチド鎖中に多く含まれるプロリンとリジンが水酸化される必要がある。この水酸化を触媒する酵素(プロリルヒドロキシラーゼ、リジルヒドロキシラーゼ)は鉄イオンを必要とするが、その還元VCが必要である。
- 3) 生体異物の代謝：大気汚染やタバコの煙、飲料水中のトリハロメタン、薬剤、化学的合成の添加物、残留農薬など体内に取込まれた有害異物はシトクローム P450 という酵素で解毒/代謝される。VCは肝臓のシトクローム P450 活性の維持に重要な役割を果たしている。
- 4) カルニチン合成：カルニチンは脂肪酸の α -酸化に必須の成分であるが、VCは、カルニチンがリジンから生合成される過程の2つの水酸化酵素のコファクターとして必要である。
- 5) コレステロール代謝：実験動物では、コレステロールからの胆汁酸合成にVCが必要である。
- 6) アミノ酸、ホルモンの代謝：副腎髄質や神経組織でチロシンからノルアドレナリンが生成される過程に関与するドーパミンヒドロキシラーゼにVCが必要である。
- 7) 鉄の吸収：VCは鉄イオンを2価に保つことで小腸での吸収を促進する。
- 8) ニトロソアミンの生成抑制：消化管内でVCは発癌物質の一つであるニトロソアミンの生成を強く抑制する。
- 9) 免疫能の増強：健康者に1000~3000mgのVCを経口投与するか、1000mgのVCを静脈注射すると、末梢血の好中球の運動性および殺菌性が高まる。また、ヒトのマクロファージの培養にVCを添加すると、運動性が亢進する。疫学的研究により、VC不足状態では免疫能が低下し、感染に対する抵抗力が低下することが明らかになっている。
- 10) 抗腫瘍作用：一般的に食事(野菜など)や柑橘類からVCを多く摂取している人は、癌のリスクが低いことが示されている。これらVCによる癌予防効果はVCの抗酸化能に起因すると考えられる。実際、口腔周辺の癌、胃癌、肺癌、子宮癌などのリスクの減少にVC摂取との相関関係が認められている。
- 11) 抗動脈硬化作用：低比重リポタンパク質(LDL)の酸化とその血漿中レベルはアテローム動脈硬化や冠状動脈性心疾患の発症に関わっている。VCはin vitroでの実験でヒト血漿LDLを酸素毒による障害から保護する。
- 12) 抗血圧作用：高血圧患者にVCを長期間投与(500mg/日を1~3カ月間投与)すると、有意に血圧が低下した。
- 13) 抗ヒスタミン作用：VCはアレルギーの原因物質であるヒスタミンを非酵素的に分解する。VCを健康者に2週間2000mg/日投与すると血中ヒスタミン濃度が30~40%低下する。
- 14) 他に、VCは白内障など糖尿病の合併症の予防効果などを持つことが明らかになっている。