

統計解析はエクセル統計 2000 を用い、無相関の検定により相関係数を求めた。

#### 実験 4. 葉酸欠乏動物における血液中の葉酸動態とアミノ酸代謝

これまで、血液中の葉酸量およびその化合物を測定し、葉酸化合物の存在形態から、血液中の葉酸状態について検討を行い、葉酸摂取量との関連を考察した。そこで葉酸欠乏動物を用い、その血液中の葉酸量を調べ、生体内での葉酸動態について検討を行った。

実験には、8 週齢の雌マウス（平均体重 30.9 g, n=11）を使用した。この雌マウスを一般試料で飼育し、12 週齢で雄マウスと交配させ、妊娠動物を得た。そして、妊娠マウスに葉酸欠乏飼料を与えた。このマウスから得られた出生児を 3 週で離乳させ、欠乏飼料群 (n=10) および対照飼料群 (n=7) に分けて、6 週間飼育した。飲料水には蒸留水を使用し、飲料水と飼料は自由に摂取させた。なお、葉酸対照飼料は、葉酸欠乏飼料 100g に対して 20mg の葉酸を添加したものをを用いた。

雄マウスをジエチルエーテル麻酔下で開腹し、心臓から採血し、血清を分離した。その全血液および血清を微生物学的定量法により測定した。また、全血液の葉酸量と血清葉酸量の差から、赤血球葉酸量を求めた。

血清アミノ酸量は、血清を除いた後、アミノ酸分析システム（高速液体クロマトグラフィ(HPLC)）により測定し、血清葉酸量との関係について検討した。

統計解析はエクセル統計を用い、対応のない 2 群間の差をウェルチの t 検定およびマン・ホイットニ検定により解析を行った。

#### アミノ酸分析法

カラムは Li 型イオン交換カラム Shim-pack Amino-Li, 移動相は島津アミノ酸移動相キット Li 型を用いて分析を行った。検出は o-フタルアルデヒド(OPA)溶液を用いたポストカラム誘導体化法により、分光蛍光検出器で行った。

### C. 結果および考察

#### 実験 1

女子学生 58 名の血清葉酸量は、微生物学的

定量法では平均  $17.6 \pm 9.5$  ng/ml, 化学発光法では平均  $5.4 \pm 2.1$  ng/ml と有意な差があった。しかし、両測定法で得られた血清葉酸量には非常に強い関連が見られた ( $r=0.85, p<0.01$ ) (図 2)。

血清葉酸量は、文献的には、微生物学的定量法(*L.casei*)で  $16.8 \pm 12.6$  ng/ml, 化学発光法で  $5.8 \pm 1.8$  ng/ml との報告がある<sup>11,12)</sup>。今回の測定結果は、微生物学的定量法および化学発光法ともこれらの値に近似していることから、真値を示すものと考えられた。両測定法の測定結果の違いについては、微生物学的定量法では全ての葉酸化合物を測定しているのに対して、化学発光法はプレロイル葉酸しか測定していないためと考えられる。

次に、今回の微生物学的定量法で求めた総葉酸量とメチル葉酸量を比較したところ、血清にはメチル葉酸が平均  $15.5 \pm 9.3$  ng/ml 含まれており、これは総葉酸量の  $83.7 \pm 10.8$  %にあたる。葉酸は、血漿では、活性型のメチル葉酸として存在しているのに対して<sup>13)</sup>、細胞内では脱メチル化されたテトラヒドロ葉酸として存在している<sup>14)</sup>。なお、血清メチル葉酸の割合は、これまでの報告と一致している。

化学発光法は、一般に化合物に対する特異性が高く、再現性があるため、臨床検査に使われている。血清葉酸の測定には、血液中の主成分であるメチル葉酸を標準物質として測定する必要がある。しかし、安定性の高いプレロイル葉酸に比べ、メチル葉酸は不安定で標準物質として用いることが難しい。そのためプレロイル葉酸を標準物質として用いる場合、メチル葉酸の測定に対する信頼性は低い<sup>9)</sup>。また試料中にタンパク質やホルモンなどの夾雑物が含まれていると正確な測定が出来ない<sup>15)</sup>。そのため、同時に総葉酸量とメチル葉酸量の測定が可能である微生物学的定量法は、複数の葉酸化合物や夾雑物が含まれる血液などの生体試料の測定に有効であると考えられる。

そこで、以下の実験では葉酸測定を微生物学的定量法で行った。

#### 実験 2

血液中の総葉酸量は、平均  $286.1 \pm 75.5$  ng/ml であり、赤血球では平均  $261.2 \pm 77.1$  ng/ml であり、赤血球に全体の 90%が含まれてい

た。また、葉酸化合物についてみると、赤血球ではメチル葉酸が平均  $240.3 \pm 79.5$  ng/ml であり、赤血球葉酸量の 90% がメチル葉酸型であった。血漿葉酸量は平均  $25.0 \pm 11.2$  ng/ml であり、メチル葉酸量は平均  $20.1 \pm 10.6$  ng/ml と、血漿葉酸量の 78% がメチル葉酸型であった (図 3)。

これまでの報告では、血漿では主にメチル葉酸、細胞内ではテトラヒドロ葉酸として存在し<sup>13,14)</sup>、赤血球では 74% がメチル葉酸として存在するとされている<sup>15)</sup>。化学発光法は、タンパク質やホルモンなどの夾雑物が含まれていると正確な測定が出来ない。このため、この測定法は、赤血球のように膜タンパクが含まれている試料の測定には適さない。そこで、赤血球葉酸量を測定する方法としては、微生物学的定量法が有用である<sup>16)</sup>。赤血球は血清とは異なり、一時的な葉酸摂取量の変化に左右されず、葉酸の蓄積もしくは減少などの変化は緩やかである<sup>17,18)</sup>。今回の赤血球メチル葉酸量の割合が文献と異なったことは、一時的な葉酸摂取量の増加により上昇したとは考えにくい。このことから、赤血球では、血清などの液体成分に多量に存在するメチル葉酸の取り込みが行われている可能性が考えられた。

### 実験 3

微生物学的定量法により測定した血清葉酸量は平均  $18.0 \pm 9.6$  ng/ml であった。女子学生の連続 3 日間の葉酸摂取量は平均  $264.1 \pm 109.2$  ng/ml/日 であった。また、図示しないが、摂取エネルギーが多いほど葉酸摂取量が多い傾向にあり、葉酸とエネルギー摂取量には相関が見られた ( $r=0.633, p<0.01$ )。

血清葉酸量と葉酸摂取量の関連を見たところ、葉酸摂取量が  $400 \mu\text{g}/\text{日}$  以下である大多数の被験者については両者に関連が見られなかった ( $r=0.075$ )。しかし、葉酸を  $700 \mu\text{g}/\text{日}$  以上と過剰に摂取した被験者については、1 名のみであるが血清葉酸量の増加が見られた (図 4)。一般的に血清葉酸量は短期間の葉酸の摂取状態を表すといわれている<sup>16)</sup>。今回の結果から、葉酸を過剰に摂取する人については、血清葉酸量が一時的な葉酸の摂取状態を表す鋭敏な指標となっている。しかし、葉酸摂取量が  $400 \mu\text{g}/\text{日}$  以下

の場合ではよい指標であるとは考えられない。

血清葉酸量とホモシステイン量の関係を見たところ、血清葉酸量が基準値  $3.09$  ng/ml (化学発光法) 以上ではホモシステイン量は平均  $5.47 \pm 1.5$  n mol/ml、 $3.09$  ng/ml 以下では平均  $8.95 \pm 3.5$  n mol/ml と、基準値以下ではホモシステイン量が多いという傾向が見られた (図 5)。ホモシステインは、葉酸や  $B_{12}$  などのビタミンと関連して必須アミノ酸であるメチオニンへ代謝される<sup>19-21)</sup>。これらのことから、葉酸の不足においては、ホモシステインからメチオニンへの代謝が正常に行われず、血清中のホモシステイン量が上昇したものと考えられる。そして、生体内での葉酸の欠乏および不足などの状態を示す指標として、血中ホモシステインを用いることが可能であることが示唆された。

### 実験 4

対照群と欠乏群の血中葉酸量を比較したところ、全血液中の総葉酸量については、対照群では平均  $239.9 \pm 13.2$  ng/ml、欠乏群では平均  $100.1 \pm 21.2$  ng/ml であり、欠乏群は対照群の葉酸量の約 41% と、有意に低値を示した ( $p<0.01$ ) (図 6)。そこで、赤血球と血清に分けてみると、赤血球の葉酸量については、対照群では平均  $182.2 \pm 10.1$  ng/ml、欠乏群では平均  $83.5 \pm 22.6$  ng/ml と、約 45% に有意に減少した ( $p<0.01$ )。一方、血清葉酸量については、対照群では平均  $57.7 \pm 8.7$  ng/ml、欠乏群では平均  $16.6 \pm 3.6$  ng/ml と、欠乏群は対照群の約 28% に有意に減少した ( $p<0.01$ )。このように、欠乏群の血清葉酸量は、赤血球葉酸量に比べ、著しく減少していた。これまでに、マウスに葉酸欠乏飼料を 17 週間投与すると、その血清葉酸量は  $8.33 \pm 0.99$  ng/ml と、対照群の  $63.45 \pm 2.05$  ng/ml の 13.1% に低下したとする報告がある<sup>22)</sup>。このように血清葉酸量は食事による葉酸摂取に影響されやすく、赤血球葉酸量は食事による影響を受けにくいといわれている<sup>15)</sup>。

このことから、血清葉酸量は葉酸欠乏や葉酸の摂取状態の鋭敏な指標となるが、葉酸摂取量に影響を受けやすいために、生体内の葉酸の栄養状態を表す指標に適さないのかもしれない。これに対し、赤血球の葉酸量は葉酸摂取量の影響を受けにくく、緩や

かに変化する。したがって、赤血球の葉酸量は、生体内の葉酸の栄養状態を示す、より有効な指標となると考えられている<sup>23,24)</sup>。今回の結果からも、生体内の葉酸の栄養状態を知るには、従来の血清葉酸量ではなく、赤血球葉酸量を指標とすることが重要であることが示唆された。

次に、葉酸欠乏によるアミノ酸代謝に及ぼす影響について検討した。図7に示すように、対照群と欠乏群の間に有意な差が見られなかった。そこで、一炭素単位代謝系で葉酸代謝に関係する、セリンとグリシンについて検討した。セリンは、対照群では平均  $198.9 \pm 42.1$  n mol/ml、欠乏群では平均  $227.2 \pm 33.9$  n mol/ml と、欠乏群で高値を示した。一方グリシンは、対照群では平均  $255.5 \pm 19.7$  n mol/ml、欠乏群では平均  $203.5 \pm 48.9$  n mol/ml と対照群が有意に高値を示し、セリンと相反する結果となった ( $p=0.029$ )。

そこで、セリンおよびグリシンと血清葉酸量との関係について解析した。セリンは、血清葉酸量の増加に伴い減少する傾向が見られた ( $y=-0.86x+243.3, r=-0.5$ )。一方グリシンは、血清葉酸量の増加に伴い増加する傾向が見られた ( $y=1.15x+189.2, r=0.58$ ) (図8)。セリン、グリシン比と血清葉酸量を比較するとその傾向は顕著である ( $y=0.01x+0.7, r=0.83, p<0.01$ ) (図9)。一炭素単位代謝系の中でセリンは、テトラヒドロ葉酸によってグリシンへ代謝される。対照群ではセリンよりもグリシンが多くなる。よって、葉酸が欠乏するとセリンからグリシンへの代謝が正常に行われず、セリンの血中濃度が上昇し、グリシンの血中濃度が低下する<sup>25)</sup>。このことから、血清中アミノ酸のセリンとグリシンの関係から生体内の葉酸状態を把握することが出来ることを示唆している。

#### まとめ

本研究は、葉酸の定量法を確立し、血液中の葉酸化合物の存在形態および葉酸の体内動態についての基礎的な検討を行った。また、葉酸摂取量と血清葉酸量との関連を検討した。

#### 1. 葉酸測定法の違いによる血清葉酸量の比較検討

微生物学的定量法と化学発光法における

ヒト血清葉酸量の測定結果を比較検討したところ、微生物学的量法では平均  $17.6 \pm 9.5$  ng/ml、化学発光法では平均  $5.4 \pm 2.1$  ng/ml と差異があったが、両測定法には非常に強い相関が見られた ( $r=0.85, p<0.01$ )。この差は、全ての葉酸化合物を測定する微生物学的定量法と、特定の葉酸化合物 (プテロイル葉酸) のみを測定する化学発光法の違いによるものと考えられる。そのため、複数の葉酸化合物が存在する生体試料を測定するには、微生物学的定量法が有効であると考えられた。

#### 2. 血清葉酸量と葉酸摂取量の関係

血清葉酸量と葉酸摂取量の関係を見たところ、葉酸の摂取量が  $400 \mu\text{g}/\text{日}$  以下である被験者については関連が見られなかった。しかし、葉酸を  $700 \mu\text{g}/\text{日}$  以上と過剰に摂取した被験者については、血清葉酸量の増加が見られた。このことから、葉酸を過剰に摂取する人については、血清葉酸量が一時的な葉酸の摂取状態を表す鋭敏な指標となるが、葉酸摂取量が普通程度 ( $400 \mu\text{g}/\text{日}$ ) の場合には、よい指標とならないことが考えられた。

血清葉酸量とホモシステイン量の関係を見たところ、血清葉酸量が基準値  $3.09$  ng/ml (化学発光法) 以下ではホモシステイン量が多いという傾向が見られた。このことから、ホモシステインが生体内の葉酸の栄養状態を表す指標として用いることが可能であると考えられた。

#### 3. 血液中の葉酸化合物の形態

ヒト血液中の葉酸化合物の存在について検討したところ、全血液に含まれる総葉酸量の90%が赤血球に含まれ、さらに赤血球では90%がメチル葉酸型で存在していた。このことから、赤血球では、血清などの液体成分に多量に存在するメチル葉酸の取り込みが行われている可能性が考えられた。

#### 4. 葉酸欠乏動物における血液中の葉酸動態とアミノ酸代謝

葉酸対照群と欠乏群の血中葉酸量を比較したところ、欠乏群の赤血球葉酸量は、対照群の45%程度であった。しかし、欠乏群の血清葉酸量は、対照群の28%程度とさらに低値を示した。そのため、生体内の葉酸の栄養状態を知るには、葉酸摂取量の影響を受けにくい赤血球の葉酸量を指標とするこ

とが重要であるということが示唆された。血清の葉酸量とアミノ酸量の関係について検討したところ、葉酸が欠乏するとセリン濃度が高く、グリシン濃度が低い傾向が見られた。このことから、血清アミノ酸のセリンとグリシン比から生体内の葉酸の栄養状態を示す明白な指標となることが示唆された。

#### D. 健康危機情報

特記する情報なし

#### E. 研究発表

##### 1. 発表論文

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### F. 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

#### G. 引用文献

1. Finnell RH, Spiegelstein O, Wlodarczyk B, Triplett A, Pogribny IP, Melnyk S, James JS. DNA methylation in Folbp1 knockout mice supplemented with folic acid during gestation. *J. Nutr.* 132: 2457-2461, 2002.
2. Brown JE, Jacobs DR, Hartman TJ, Barosso GM, Stang JS, Gross MD, Zeuske MA. Predictors of red cell folate level in women attempting pregnancy. *J. Am. Med. Assoc.* 277: 548-552, 1997.
3. Czeizel AE, Dudas I, Metneki J. Pregnancy outcomes in a randomized controlled trial of periconceptional multivitamin supplementation. Final report. *Arch. Gynecol. Obstet.* 255: 131-139, 1994.
4. Anonymous. Prevention of neural tube defects: Results of the Medical Research Council Vitamin Study. MRC Vitamin Study Research Group. *Lancet* 338: 131-137, 1991.
5. Jacob A, Wu M, Henning SM, Swendseid ME. Homocysteine increases as folate decreases in plasma of healthy men during short-term dietary folate and methyl group restriction. *J. Nutr.* 124: 1072-1080, 1994.
6. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *J. Am. Med. Assoc.* 274: 1049-1057, 1995.
7. Fohr IP, Langenohl RP, Bronstrup A, Bohlman AM, Nau H, Berthold HK, Pietrzik K. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase genotype determines the plasma homocysteine-lowering effect of supplementation with 5-methyltetrahydrofolate or folic acid in healthy young women. *Am. J. Clin. Nutr.* 75: 275-282, 2002.
8. Jennings E. Folic acid as a cancer-preventing agent. *Med. Hypotheses.* 45: 297-303, 1995.
9. Tamura T. Microbiological assay of folates. *Health Disease* 121-137, 1990.
10. Molloy AM, Scott JM. Microbiological assay for serum, plasma, and red cell folate using cryopreserved, microtiter plate method. *Methods in Enzymology* 281: 43-53, 1997.
11. 田中信夫, 山崎泰範, 山田尚ほか. ビタミン B12・葉酸の測定とその臨床的意義. *臨床病理* 26: 554-563, 1981.
12. 石渡幸久, 遠藤紀子, 池田律子, 安田和人. 新標準試料を用いた Non boil radioassay による血清ビタミン B12・葉酸の測定. *核医学* 31: 619-627, 1994.
13. Stokstad EL. New York: Wiley-Liss pp.1-5. 1990.
14. Shane B. Folylpolylglutamate synthesis and role in the regulation of one-carbon metabolism. *Vitam. Horm.* 45: 263-335, 1989.
15. Venn BJ, Green TJ, Moser R, McKenzie JE, Skeaff CM, Mann J. Increases in blood folate indices are similar in women of childbearing age supplemented with (6S)-5-methyltetrahydrofolate and folic acid. *J. Nutr.* 132: 3353-3355, 2002.
16. Clifford AJ, Noceti EM, Block-Joy A, Block TG. Erythrocyte folate and its response to folic acid supplementation is assay dependent in women. *J. Nutr.* 135: 137-143, 2005.

17. Quere I, Zittoun J, Gris JC, Janbon C, Moerloose P. Measurement of red blood cell methylfolate. *Lancet* 360: 1021-1022, 2002.
18. Milne DB, Johnson LAK, Mahalko JR, Sandstead HH. Folate status of adult males living in a metabolic unit: possible relationships with iron nutriture. *Am. J. Clin. Nutr.* 37: 768-773, 1983.
19. Klee G. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B12 and folate. *Clin. Chem.* 46: 1277-1283, 2000.
20. Ray JK, Cole DEC, Boss SC. An Ontario-wide study of vitamin B12, serum folate, and red cell folate levels in relation to plasma homocysteine: Is a preventable public health issue on the rise? *Clin. Bio.* 33: 337-343, 2002.
21. O'keefe CA, Bailey LB, Thomas EA, Hofler SA, Davis BA, Cerda JJ, Gregory JF. Controlled dietary folate affects folate status in nonpregnant women. *J. Nutr.* 125: 2717-2725, 1995.
22. Craciunescu CN, Brown EC, Mar MH, Albright CD, Nadeau MR, Zeisel SH. Folic acid deficiency during late gestation decreases progenitor cell proliferation and increases apoptosis in fetal mouse brain. *J. Nutr.* 134: 162-166, 2004.
23. Haltmayer M, Mueller T, Poelz W. Erythrocyte mean cellular volume and its relation to serum homocysteine, vitamin B12 and folate. *Acta Med. Austriaca* 29: 57-60, 2002.
24. 滑原博 葉酸ならびにビタミンB12の栄養生化学と臨床検査 日本臨床栄養学会雑誌 25(4):273-279, 2004.
25. Stam F, Smulders YM, van Guldener C, Jakobs C, Stehouwer CD, de Meer K. Folic acid treatment increases homocysteine remethylation and methionine transmethylation in healthy subjects. *Clin. Sci.* 2005.

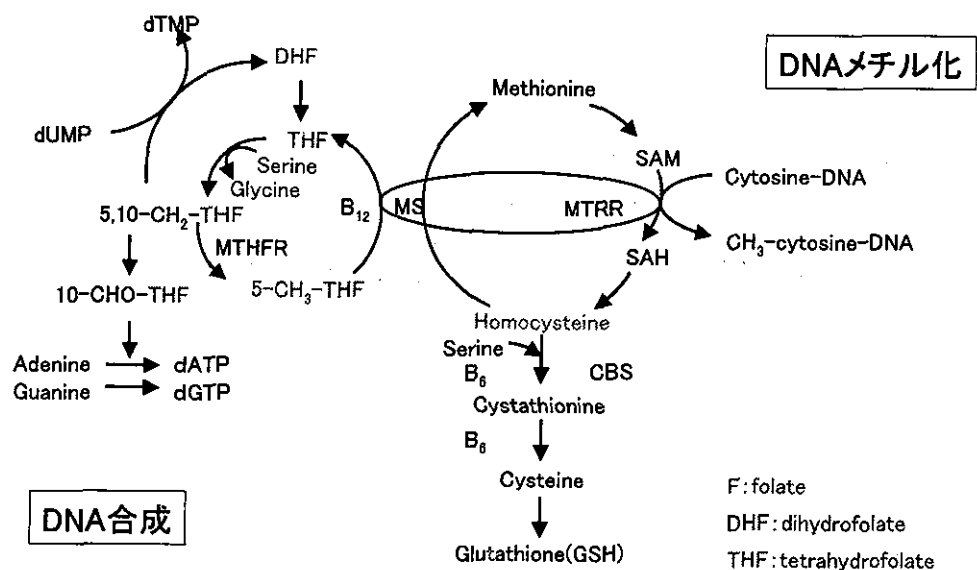


図1. 葉酸の関連する一炭素単位代謝系

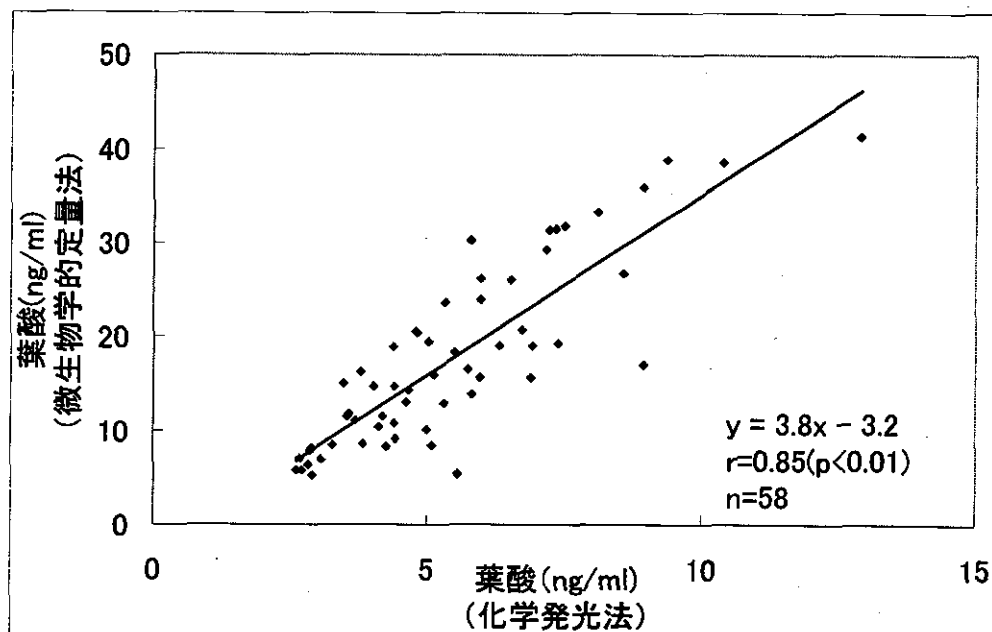


図2. 微生物学的定量法と化学発光法によるヒト血清葉酸量の比較

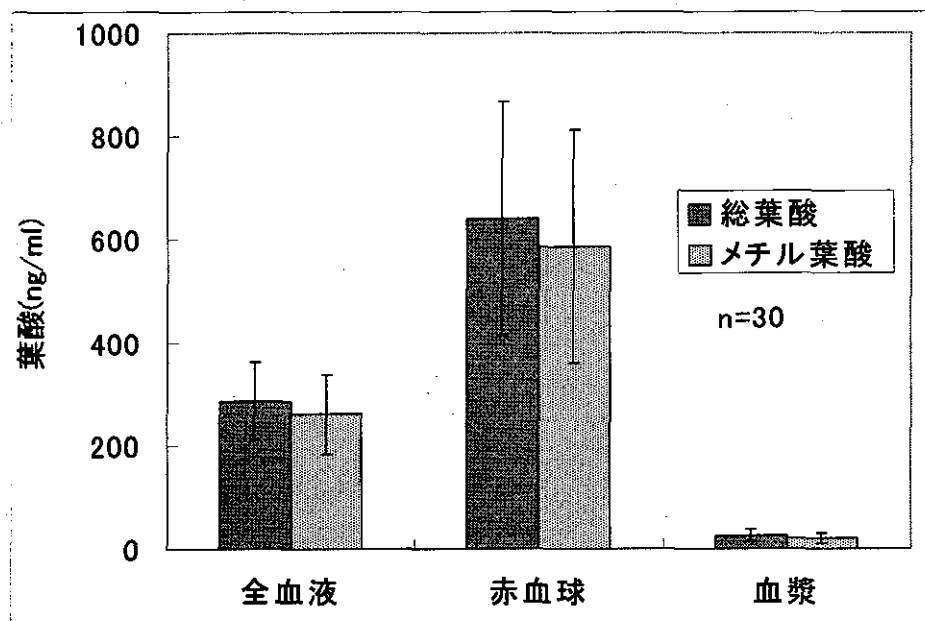


図 3. 血液中の葉酸化合物の形態

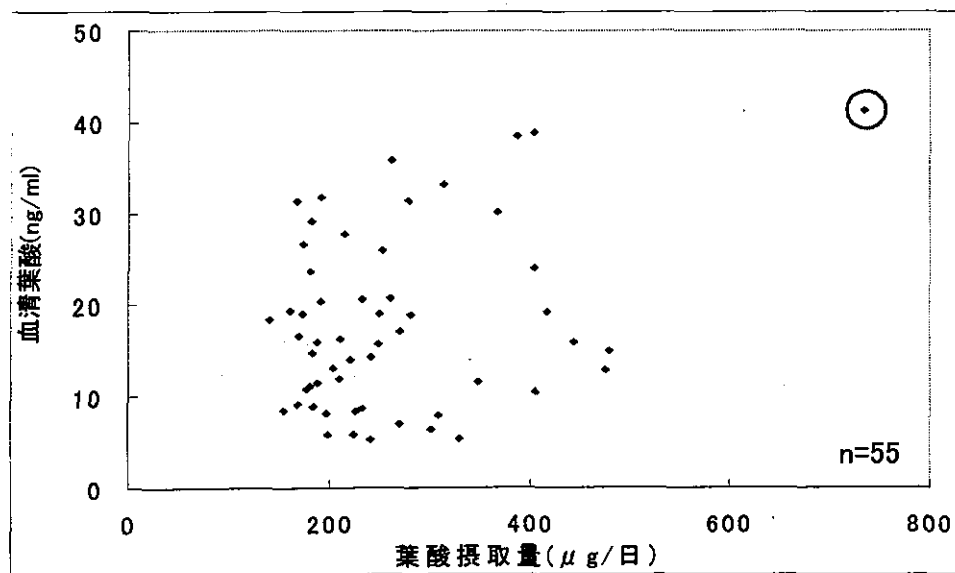


図 4. 血清葉酸量と葉酸摂取量の関係

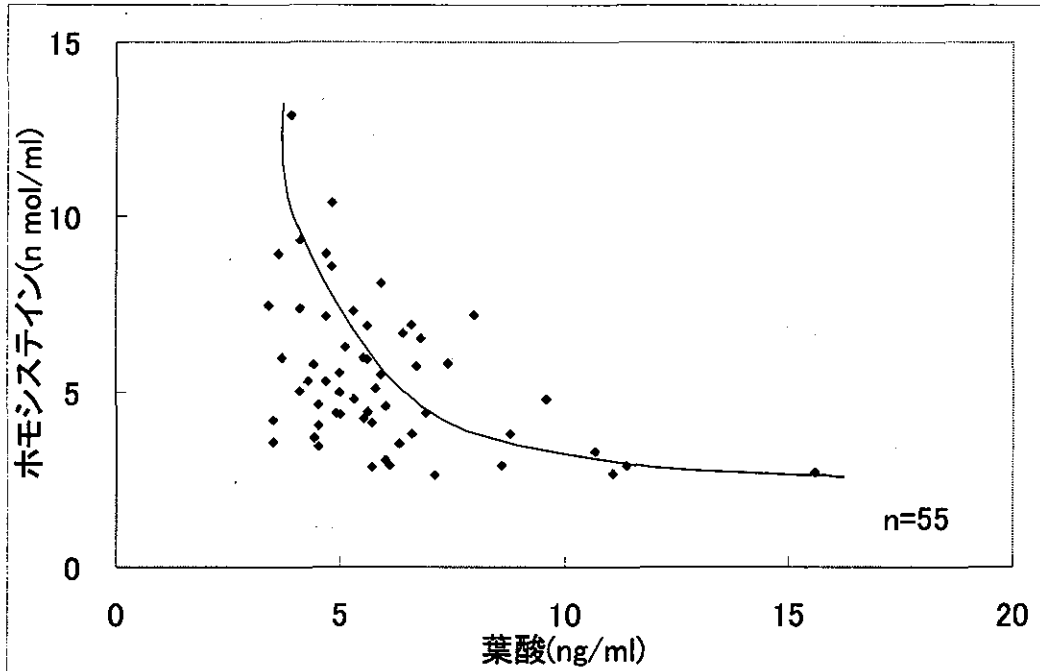


図5. 血清葉酸量とホモシステイン量の関係

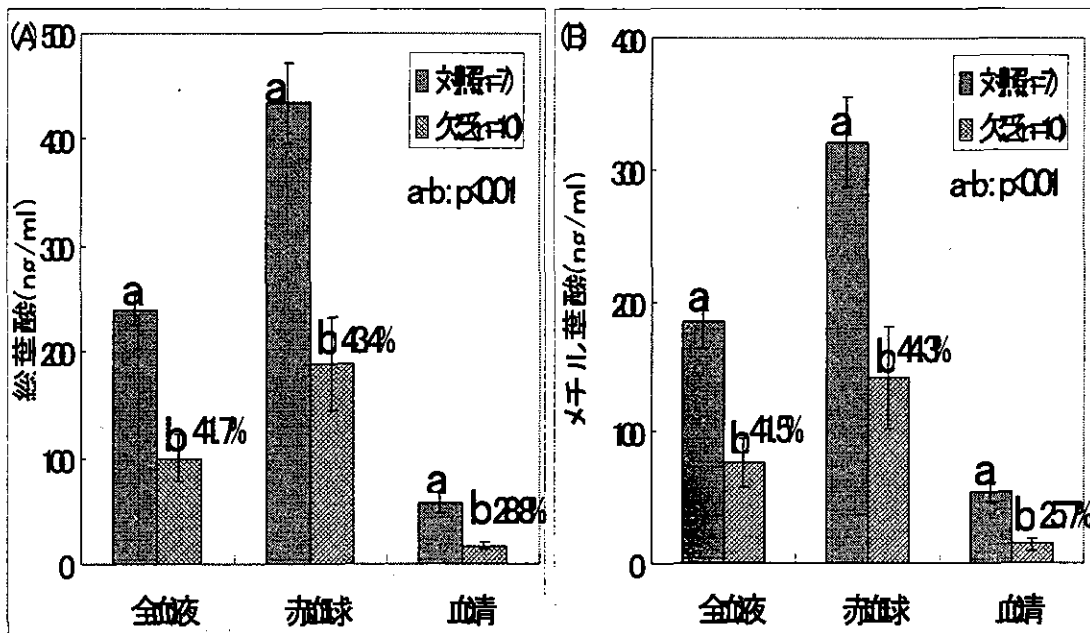


図6. 血液中の葉酸動態



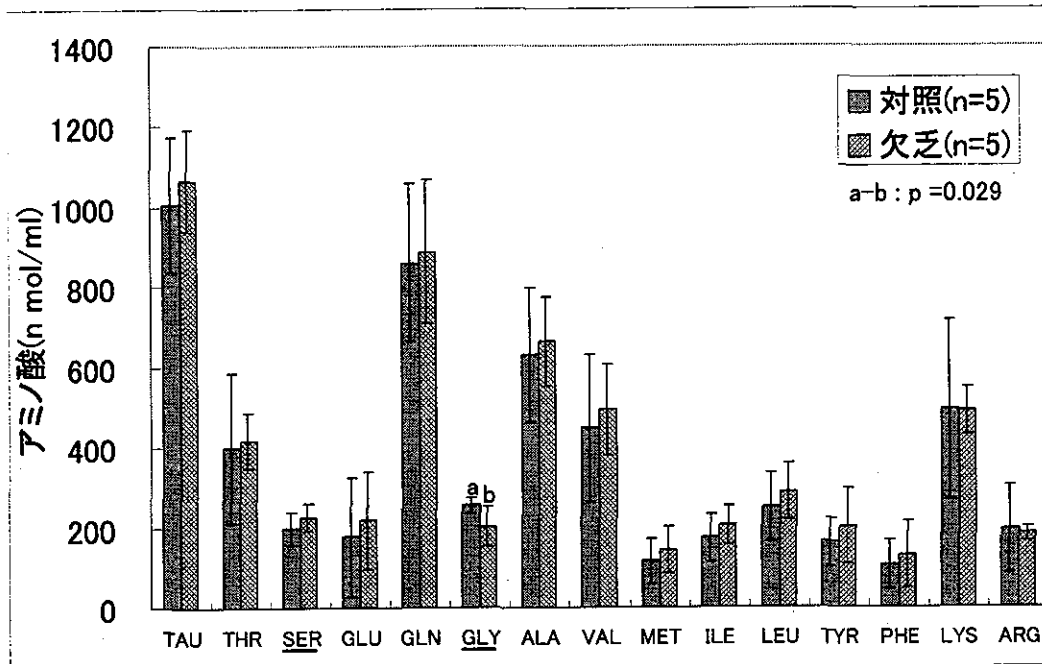


図7. 血清アミノ酸量の変化

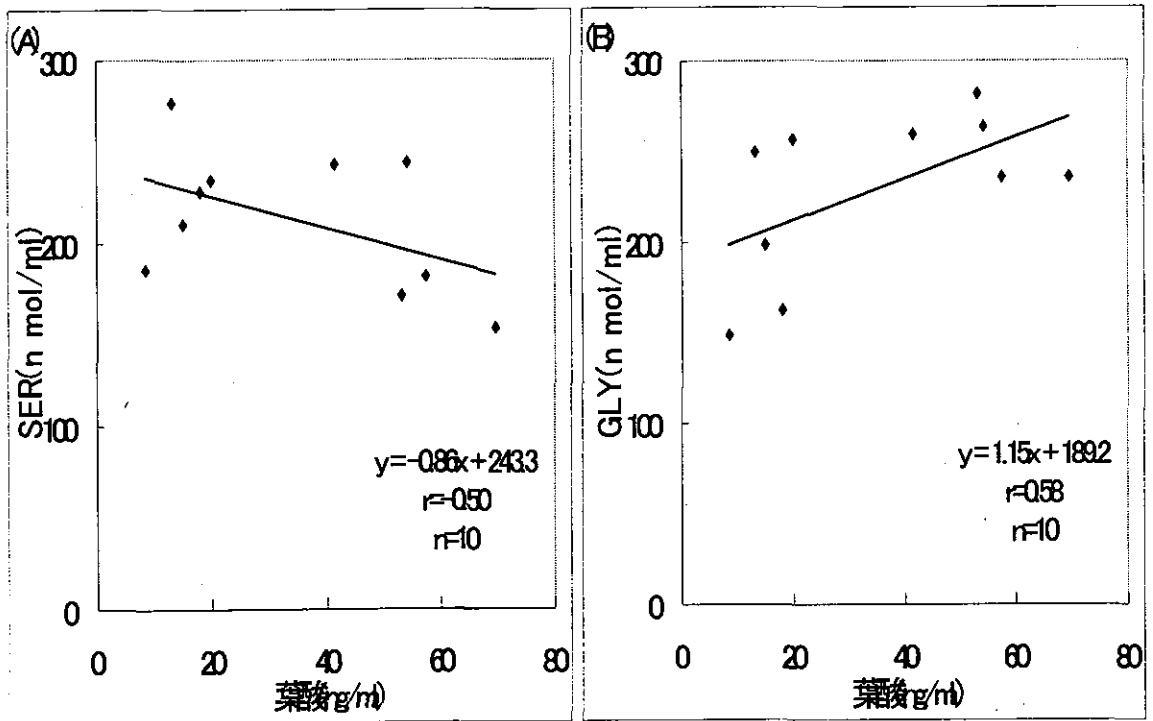


図8. セリンおよびグリシンの血清葉酸量の関係

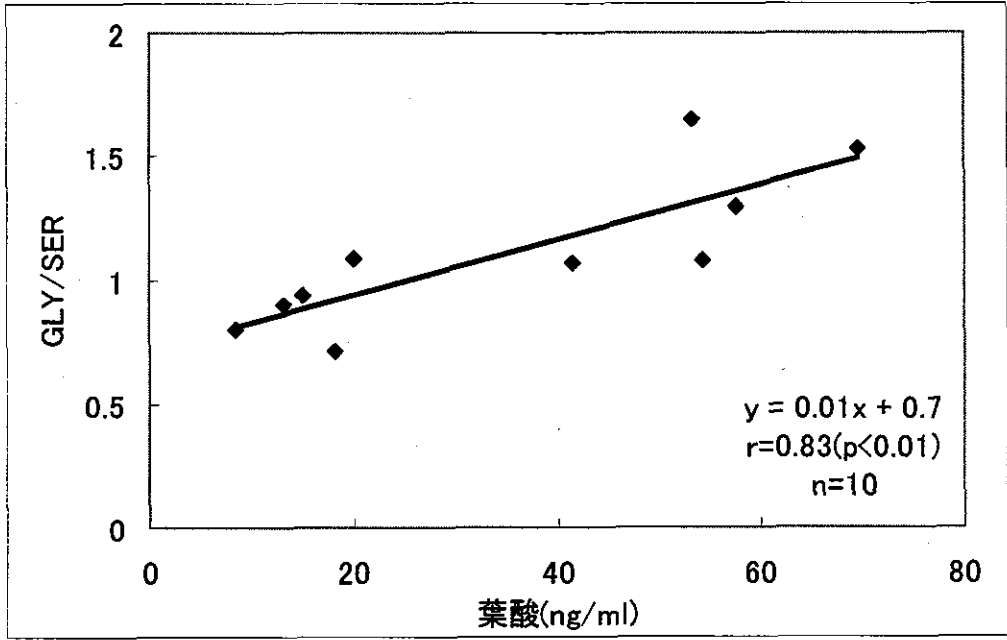


図9. セリン/グリシン比と血清葉酸

平成 16 年度厚生労働科学研究費（循環器疾患等総合研究事業）  
日本人の食事摂取基準（栄養所要量）の策定に関する研究  
主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

### Ⅲ. 分担研究者・研究協力者の報告書

#### 7. 乳児におけるビオチンの栄養状態に関する検討

分担協力者 渡邊敏明 兵庫県立大学 教授  
研究協力者 福井 徹 病体生理研究所 研究員

研究要旨 母乳栄養児および人工栄養児において、ビオチンが十分に摂取されているか否か、検討を行った。母乳栄養児では、尿中ビオチン量が乳児で平均 70.2  $\mu\text{g/g creatinine}$  と高値を示したが、早期新生児では平均 14.1  $\mu\text{g/g creatinine}$  と、低値であった。これは、初乳からのビオチン摂取量が少ないことによるのかもしれない。一方、一般調製粉乳および治療用特殊ミルクが与えられている人工栄養児では、母乳栄養児と比べ尿中ビオチン量が低値を示した。調製粉乳に含まれるビオチン濃度が不足していることが示唆された。調製粉乳、とくに治療用特殊ミルクに対する早急な対策が必要である。

## A. 目的

ビタミンは、ヒトや動物では、体内でほとんど合成することができないが、健康を保つために必須な栄養素である。このため、ビタミンが不足するといろいろな健康障害が起こる。とくに水溶性ビタミンは体内に貯蔵することがほとんどできないので、欠乏症が起こりやすい。水溶性ビタミンの一つであるビオチンは、多くの食品に含まれ、腸内細菌によっても合成されるために、通常の食生活をしている場合には欠乏はみられない<sup>1)</sup>。しかし、ビオチンの摂取量が低下したり、ビオチンが添加されていない輸液を使用したり、卵白中のアビジンによって吸収が阻害されたり、抗生物質の投与によって腸内細菌叢が変化したりすると欠乏症が誘発される。近年、わが国においては遺伝性のビオチン欠乏症は報告されているが、典型的な食事性の欠乏症はほとんどみられていない。

ビオチンは、2003年に食品添加物として、栄養機能食品に使用できるようになったが、調製粉乳にはいまだに認可されていない。このため、治療用特殊ミルクが与えられている乳児で、血清ビオチン量の低下によると考えられる皮膚炎などのビオチン欠乏症の誘発が報告されている<sup>2)3)</sup>。一方、第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準において、ビオチンの所要量がはじめて策定された<sup>4)</sup>。しかし、所要量が策定されたにもかかわらず、ビオチンは五訂日本食品標準成分表に記載されていないので、ビオチンの食事指導をすることができない現状にある。

葉酸は、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。このため、欠乏すると、造血機能に異常が生じ、巨赤芽球性貧血や神経障害の起こることが知られている<sup>1)</sup>。最近、多くの疫学調査によって、葉酸が、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あることが認められている<sup>5)6)</sup>。また、葉酸の摂取量が低下すると、血漿ホモシステインが上昇し、動脈硬化症と関連がある血液凝固因子や血管内皮細胞に影響している。最近の研究では、ホモシステインがパーキンソン病やうつ病の発症とも関連のあることが明らかに

なりつつある。

B<sub>12</sub>は、葉酸とともに核酸の合成にかかわっており、活性型であるメチルコバラミンは補酵素としてアミノ酸の代謝にも関与している。このビタミンの生理作用としては、骨髄における細胞分化、中枢神経の維持、脂肪の代謝に重要であり、欠乏すると巨赤芽球性貧血が起こる<sup>1)</sup>。B<sub>12</sub>は植物性食品には含まれておらず、主として動物性食品に含まれているので、厳格な菜食主義者には欠乏症が認められるが、通常の食生活をしているヒトでは欠乏症は見られない。このように、葉酸およびB<sub>12</sub>は、乳児の成長にも不可欠なビタミンであるため、調製粉乳に添加されている。

本研究においては、人工栄養児、とくに治療用特殊ミルクが与えられている先天性代謝異常症の乳児において、ビオチンが十分に摂取されているか否か、母乳栄養児と比べて検討を行った。また、乳児におけるビオチン摂取量を明らかにするために、早期新生児、幼児、青少年についても分析を試みた。

## B. 実験方法

### 1. 被験者

本研究で対象としたのは、協力病院に入院あるいは入院している早期新生児、乳児、幼児、学童および成人の計215名であり、その内訳は下記のとおりである。対象者は健常者と先天性代謝異常者であり、先天性代謝異常者にはフェニルケトン尿症(PKU)、アルギニノコハク酸尿症、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症およびガラクトース血症などが含まれている。

早期新生児(生後4-6日)としては、すべて健常者で、母乳栄養児20名(男児12名、女児8名)(平均4.5日齢)および人工栄養児20名(男児15名、女児5名)(平均4.5日齢)を対象者とした。

乳児は、母乳栄養児18名、混合栄養児5名、一般調製粉乳が与えられている人工栄養児7名の健常者と、母乳と治療用特殊ミルクが与えられているPKU児1名、母乳と治療用特殊ミルクが与えられているPKU以外の先天性代謝異常症児2名、一般調製粉乳と治療用特殊ミルクが与えられているPKU児22名とPKU以外の先天性代謝異常

症児 13 名である。

1 歳以上 6 歳未満の幼児では、PKU 児 28 名、アルギニノコハク酸尿症児 4 名、PKU およびアルギニノコハク酸尿症以外の先天性代謝異常症児 11 名、6 歳以上 16 歳未満の学童では、PKU 29 名、PKU 以外の先天性代謝異常症 13 名、および 16 歳以上の成人では、PKU 9 名、PKU 以外の先天性代謝異常症の 13 名であった。

担当医は、プロトコールに従って、対象者が病院を訪れた際に血液と尿を採取した。また対象者が入院している場合には、随時尿を採取したが、随時尿を採取できない乳幼児では採尿バックで採尿し、サンプルとした。

なお、対象者の血液、尿および母乳を採取するにあたっては、乳幼児では保護者、学童以上の年齢のものでは、保護者および本人の承諾を得て行った。また、本研究は、各協力機関の倫理委員会で承認を受け、「ヒトを対象とした生物医学的研究に携わる医師のための勧告、いわゆるヘルシンキ宣言（1964 年、2000 年修正）」の精神に則り実施した。

## 2. 分析方法

血清については、ビオチン（遊離および総）量、ビオチンの代謝と関連しているビオチニダーゼ（biotinidase）活性、 $B_{12}$  量、および葉酸量を分析した。尿については、ビオチン量およびクレアチニン（creatinine）量を測定した。それぞれの測定方法は下記のとおりである。

ビオチンに関しては、まず血清に 1/15 M リン酸緩衝液を加えたものを測定試料とした。試料の一部は、そのままビオチンの測定を行い、これを遊離ビオチン量とした。残りの試料は、4.5 N 硫酸で 121°C 1 時間加水分解し、4.5 N 水酸化ナトリウムで中和した後、ビオチン量を測定し、これを総ビオチン量とした。ビオチンの分析は、福井ら<sup>7)</sup>が開発した乳酸菌 *Lactobacillus plumarum* ATCC 8014 を用いた微生物学的測定法のひとつである寒天プレート法に従った。これらのビオチン量は、ng/ml として表わした。ビオチニダーゼ活性については、Wolf ら<sup>8)</sup>の方法に従って測定し、n mol/min/ml として表わした。これらの方法による血清中の遊離および総ビオチン量の基準値は、それぞ

れ 0.4-1.1 ng/ml および 1.6-3.7 ng/ml とした。また、ビオチニダーゼ活性は 3.4-7.5 nmol/min/ml を基準値とした。

葉酸および  $B_{12}$  は化学発光免疫測定（CLIA）法で分析を行った。しかし、乳児の血清が少ない場合には、正確な値が求められず、測定結果を  $20 <$ （2 倍希釈まで測定）や  $80 <$ （4 倍希釈まで測定）とした。なお、血清中の葉酸量および  $B_{12}$  量の基準値は、それぞれ 2.4-9.8 ng/ml および 249-938 pg/ml とした。なお、これらの基準値は、著者らがこれまでに分析して得られた成人のものである。

尿中のビオチン量は、クレアチニン量で補正してから、比較した。尿中のクレアチニンの測定は自動分析器で行った。尿中のビオチン量は ng/g creatinine として表した。

## 3. 統計学的分析

統計ソフトは、StatView Ver 5.0 (SAS Institutes Inc., Cary) を使用し、対象者間の差の検定には Student's unpaired *t*-test および ANOVA を用いた。有意水準は  $p < 0.05$  とし、分析値はすべて平均値  $\pm$  SD で表した。

## C. 結果

表 1 は、母乳栄養児および人工栄養児における血清ビオチン量をまとめたものである。まず、健常な乳児について血清総ビオチン量および遊離ビオチン量をみると、母乳栄養児 18 名ではそれぞれ平均 2.3 ng/ml および 0.6 ng/ml であり、混合栄養児 5 名ではそれぞれ 2.4 ng/ml および 0.6 ng/ml であった。これらの値は、一般調製粉乳のみが与えられている人工栄養児 7 名および一般調製粉乳と PKU 治療用特殊ミルクを併用している PKU 乳児 22 名と比較しても、差異は認められなかった。血清ビオチニダーゼ活性についてもこれらの対象者群の間で差異は見られなかった。なお、これらの値はいずれも基準値内であった。

PKU などの先天性代謝異常症で治療用特殊ミルクが投与されている幼児、学童、成人においても、血清総ビオチン量および遊離ビオチン量にほとんど差異はなかった。ただし、アルギニノコハク酸尿症の乳児で血清総ビオチン量およびビオチニダーゼ活性が、PKU 乳児と比較して、有意に高い値であった。とくにビオチニダーゼ活性は、

対象者数が4名と限られているが、平均7.7 mol/min/mlで、うち2名は基準値より高い値を示した。

尿中のビオチン排泄量についてまとめたものが表2である。健常者についてみると、早期新生児では母乳栄養児および人工栄養児の尿中排泄量は、それぞれ平均14.1および12.6 $\mu\text{g/g creatinine}$ と、両者に差異は認められなかった。一方、乳児についてみると、母乳栄養児では、尿中ビオチン量は平均70.2 $\mu\text{g/g creatinine}$ と高値を示した。しかし、大きなばらつきが認められ、もっとも高い尿中ビオチン量は250 $\mu\text{g/g creatinine}$ であった。母乳栄養児の尿中ビオチン量は、混合栄養児や人工栄養児と比べ、約2倍と高くなっていた。これらの値は、基準値内であった。なお、早期新生児の尿中ビオチン量は、乳児と比較すると有意に低い値であり、とくに母乳栄養の乳児の1/5であった。

先天性代謝異常症についてみると、PKU乳児の尿中ビオチン量は平均16.8 $\mu\text{g/g creatinine}$ と、健常な人工栄養児と比べ有意に低下していた。PKU患者の尿中ビオチン量は、幼児、学童、成人において、それぞれ8.2, 5.1, 11.0 $\mu\text{g/g creatinine}$ であり、何れも健常な人工栄養児の約1/2以下と低い値を示した。また、乳児、幼児、学童、成人と、年齢が大きくなるに従って低くなる傾向が観察された ( $p < 0.001$ )。アルギニノコハク酸尿症の乳児4名では、90.5 $\mu\text{g/g creatinine}$ と、ビオチン排泄量が増加した。

健常な乳児では、人工栄養児の血清 $B_{12}$ 量は平均1,201 pg/mlと、母乳栄養児375pg/mlに比べ、約3倍に増加しており、これは基準値よりも高い値であった。しかしながら、PKU乳児およびその他の先天代謝異常症乳児では、それぞれ729 pg/mlおよび791 pg/mlと、健常な人工栄養児と比べると、低い値であったが、何れも基準値内であった。しかし、健常な母乳栄養児や混合栄養児に比べると、約2倍の値であった。なお、PKUおよびその他の先天性代謝異常症の患児の血中の $B_{12}$ 量には、年齢による差異は見られなかった。

健常な乳児における血清葉酸量は、人工栄養児で47.7 ng/mlと、母乳栄養児の21.6 ng/mlおよび混合栄養児の12.0 ng/mlと比べ明らかに高い値であった。PKU乳児におい

ても、71.9 ng/mlと高い値を示した。PKU以外の先天性代謝異常症乳児では39.7 ng/mlと、健常な母乳栄養児の約2倍であった。PKU患者の血清葉酸量については、幼児、学童、成人においても、それぞれ69.1 ng/ml, 63.7 ng/mlおよび49.7 ng/mlと、いずれもPKU以外の先天性代謝異常症の患児よりも有意に高値を示し、成長に伴って減少する傾向が認められた。

#### D. 考察

早期新生児における尿中ビオチン量が、母乳栄養児および人工栄養児とも、乳児と比較して著しく低値であった。この原因として、初乳のビオチン含有量が成乳と比較して少ないため、人工栄養児と同様に母乳栄養児でも低い値となっていることが考えられる。これまでの諸外国の報告を見ると、初乳のビオチン含有量は0.22-3.0 $\mu\text{g/l}$ で、平均0.9 $\mu\text{g/l}$ である。一方、成乳では4.0-12.7 $\mu\text{g/l}$ で、平均6.4 $\mu\text{g/l}$ となっている<sup>9)10)</sup>。最近の報告<sup>11)</sup>によると、わが国の母乳の総ビオチン量は、成乳で平均3.87 $\mu\text{g/l}$ であり、これまでの報告と一致している。このため出産後1週間以内の乳児では血清ビオチン値が非常に低い。しかし、生後5ヵ月以内の健康な母乳栄養児の血清ビオチン値は成人とほぼ同じレベルであるといわれている。

このように母乳栄養の早期新生児においては、初乳からのビオチン摂取量が少ないために、尿中ビオチン量に影響していることが示唆される。このほか、早期新生児においては、腸内細菌叢が十分に発達していないことや消化管の機能が十分に整っていないことなどもビオチン排泄量の低下と関連しているのかもしれない。また、初乳にはビオチンダーゼが成乳の約5倍含まれており、これは新生児においてビオチン要求量が高いことを示唆している。このため母乳栄養児においても、出産後のビオチンの栄養状態に注意が必要である。

わが国の調製粉乳に含まれる総ビオチン量は、一般調製粉乳では平均1.04 $\mu\text{g}/100\text{kcal}$  (0.68 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ )であり、治療用特殊ミルクでは平均0.40 $\mu\text{g}/100\text{kcal}$  (0.27 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ )である<sup>12)13)</sup>ので、米国小児科学会(AAP)およびFAO/WHOの推奨値(1.5 $\mu\text{g}/100\text{kcal}$ )に比較して低い値である<sup>14)15)</sup>。調製粉乳を

飲んでいるわが国の乳児のビオチン摂取量を推定すると、一日 750ml 摂取しているとした場合に、一般調製粉乳では平均 5.2 $\mu$ g/日となり、最も含有量の少ないミルクの場合には 2.3  $\mu$ g/日である。一方、治療用特殊ミルクの場合には、平均で 2.3  $\mu$ g/日、最も少ないミルクの場合にはわずか 0.2  $\mu$ g/日である。これまでの症例報告で使用されている「明治乳業(株)エレメンタルフォーミュラ」および「雪印乳業(株)S-22」では、ビオチン摂取量は、それぞれ 0.75  $\mu$ g/日、0.4  $\mu$ g/日と著しく少ない<sup>13)</sup>。このことから、わが国では人工栄養児のビオチン摂取量が十分でないことが懸念される。

乳児のビオチン欠乏として、樋口ら<sup>2)16)</sup>および阿部ら<sup>3)</sup>は、ミルクアレルギーや先天性代謝異常症などの治療の目的で、治療用特殊ミルクが投与した乳児において、アトピー性様皮膚炎が見られ、血清ビオチンが低下することが報告している。これらの症例は、嘔吐、下血や下痢など食物アレルギーの症状を呈し、ミルクアレルギーと診断されたため、出産直後から特殊治療ミルクを与えられた。治療開始後アレルギー症状は消失したが、特殊治療ミルクを長期間摂取するに伴って、眼瞼、口唇周囲および陰部などに紅斑やおむつかぶれ様湿疹などのアトピー性様皮膚炎が見られてきた。皮膚炎の原因は明らかではないが、上記の 3 症例では血中ビオチン量が減少していた。このため、ビオチンを投与したところ、アトピー様皮膚炎の改善が見られている。

高野ら<sup>17)</sup>は、methylmalonic acidemia の乳児に中心静脈栄養と治療用特殊ミルクを与えていたところ、陰股部には湿疹様病変が出現し、眉毛と頭部に完全脱毛が認められたことを報告している。この患児の血清ビオチン量は 1.3 ng/ml と低値であったため、ビオチンを投与したところ、産毛が生えはじめ、皮疹も著明に改善されている。このように、治療用特殊ミルクの摂取による皮膚炎の発症については、ビオチンが何らかに関与していることが示唆される。一般に乳児では食事の多様性が少ないため、ビオチン供給が妨げられると、容易にビオチンの不足状態になるものと推測される。

わが国では、第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-において、新たに 9 種類

のビタミンおよびミネラルの所要量が策定された。ビオチンの所要量は、0-5 カ月乳児で 5 $\mu$ g/日、6-11 カ月乳児で 6  $\mu$ g/日とされており、この値は、米国の医学研究所が食事摂取基準として提唱している Adequate Intake の値と同じである<sup>18)19)</sup>。これらの値と比較すると、わが国の治療用特殊ミルクからのビオチン摂取量は非常に低い値であり、また一般調製粉乳においても、メーカーによっては、乳児の所要量を下回るものがある。調製粉乳、特に治療用特殊ミルクに対しては早急に添加することができるような対策が必要であると思われる。

幼児、学童および成人期においても、PKU や先天性代謝異常症の尿中ビオチン量は基準値内に入っているが、低い値であった。これは摂取している食事に含まれているビオチンが十分でないのかもしれない。PKU 児が利用している食品のビオチン含有量を分析したところ、0-58.5  $\mu$ g/100g の範囲にあった(表 4)。ビオチン含有量は、穀類やでんぷん食品ではが高く、果物類や野菜類では低値であり、一般の食品と差異は認められない。食品中のビオチン含有量から、PKU 幼児および学童のビオチン摂取量は、おおよそ 20~60  $\mu$ g/日と算出され、この値はこれまでに報告されている成人の摂取量と類似した範囲である<sup>20)</sup>。

わが国においてビオチンは、日本薬局方外医薬品規格、化粧品原料基準および飼料添加物として認可されている。しかし、食品添加物としては、2003 年に栄養機能食品のみに使用できるようになった。米国においては、GRAS 物質として認可されており、医薬品、化粧品、食品、飼料への添加が可能である。ヨーロッパにおいてもビタミンの一つとして、米国と同じ状況にある。ビオチンの摂りすぎによる健康影響については、著者らが知る限りでは報告されていない。これまで、臨床において大用量が使用されている症例があるが、健康障害は知られていない。このため第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-では、ビオチンの許容上限摂取量は策定されていない。しかし、米国 CRN の報告では、成人においては 1 日あたり 10 mg までは健康障害がみられないため、NOAEL が 2.5 mg/日となっている<sup>21)</sup>。また、栄養機能食品においては、ビ

オチンの上限量を 500 µg/日としている。

これまでの症例報告では、生後 3 ヶ月齢以下の乳児におけるビオチン投与試験では、1 日あたり 2-6 mg のビオチンを 7-28 日間経口投与した 9 名の乳児、5 mg を 5-17 日間投与した 15 名の乳児、およびこれらの併用投与した乳児において、副作用は見られていない<sup>22)</sup>。先天性ビオチン代謝異常症としては、ホロカルボキシラーゼ欠損症とビオチニダーゼ欠損症が知られている。これらはともに乳幼児期にビオチン欠乏症が発症し、ビオチンを投与すると劇的に緩解する。ホロカルボキシラーゼ欠損症では 10-40 mg/日、ビオチニダーゼ欠損症では 5-20 mg/日のビオチンが経口投与されている<sup>23)</sup>。しかし、これらの症例でビオチンの副作用は報告されていない。このようにビオチンの毒性は非常に低く、安全性が高いと考えられる。

最近、生体内のビオチンの動態を確認する指標としては、尿中ビオチン量の減少とともに有機酸の一つである 3-hydroxyisovalerate (3-HIA) の増加が有効であることが示唆されている<sup>24)25)</sup>。一方、血清ビオチン量は、ビオチン摂取量の低下を検出するには十分でないことが報告されている。たとえば、生卵を摂取したり、明らかにビオチン欠乏を起こしている場合でも、約半数しか血清ビオチンの低下は認められていないとされている<sup>26)27)</sup>。このように、今後、乳児においても、体内のビオチンの状態を知るためには尿中のビオチン量や 3-HIA 量が、ビオチン状態をスクリーニングするための 1 つの指標として、有用であるかもしれない<sup>28)29)</sup>。

今回の結果によると、一般の調製粉乳が与えられている健常な人工栄養児における血清および尿中ビオチン量は、健常な母乳栄養児および混合栄養児と同程度であった。また、人工栄養児と治療用特殊ミルクが与えられている PKU 乳児やその他の先天性代謝異常症乳児との間で、血清ビオチン量に差異は認められなかった。このように血清ビオチン量は、調整粉乳、つまり食事に含まれるビオチン量を十分に反映していないのかもしれない。一方、尿中ビオチン量は、母乳栄養児に比べ、一般調製粉乳の人工栄養児および治療用特殊ミルクが与えら

れている PKU 乳児で低下していた。これは、人工栄養児、とくに治療用特殊ミルクを使用している場合には、ビオチン摂取量が不十分である可能性があると考えられる。また、これらの乳児におけるビオチンの低下と皮膚炎の発症についての因果関係は明らかではないが、一般調製粉乳や治療用特殊ミルクが与えられている乳児においては、ビオチンの摂取量について慎重な管理が必要である。最近、ビタミンサプリメントが急速に広まってきている。ビオチンが食品添加物としてようやく認可され、栄養機能食品として使用することができるようになった。調製粉乳、とくに治療用特殊ミルクに対しても、早急に添加することができるような対策が必要である。

#### 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  
なし
2. 学会発表  
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 参考文献

- 1) 日本ビタミン学会編 (1980) ビタミン学。[II] 水溶性ビタミン。東京化学同人、東京
- 2) Higuchi R, Noda E, Koyama Y (1996) Biotin deficiency in an infant fed with amino acid formula and hypoallergenic rice. *Acta Paediatr* 85, 872-874
- 3) 阿部博紀, 金沢正樹, 大竹明 (1991) アミノ酸調製粉末 (605z) によると思われるビオチン欠乏症の 1 例。日本先天代謝異常学 7, 172 (抄録)
- 4) 健康・栄養情報研究会編 (1999) 第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基



- 準, 厚生省, 東京
- 5) 渡辺敏明 (1997) 葉酸の妊娠および胎児発育に及ぼす影響. ビタミン 71, 512-514
  - 6) Daly S, Mills JL, Molloy AM, Conley M, Lee YJ, Kirke PN, Weir DG, Scott JM (1997) Minimum effective dose of folic acid for food fortification to prevent neural-tube defects. *Lancet* 350, 1666-1669
  - 7) 福井徹, 大泉純, 飯沼和三 (1989) *Lactobacillus* を用いた血清ビオチンの簡易定量法. *病体生理* 23, 28-32
  - 8) Wolf B, Grier RE, Allen RJ, Goodman SI, Kien CL (1983) *Clin Chim Acta* 131, 272-283
  - 9) Salmenpera L, Perheentupa J, Pispä JP, Siimes MA (1985) Biotin concentration in maternal plasma and milk during prolonged lactation. *Int J Vit Nutr Res* 55, 281-285
  - 10) Hirano M, Honma K, Daimatsu T, Hayasaka K, Oizumi J, Zaima K, Kanke Y. (1992) Longitudinal Variation of biotin content in human milk. *Int J Vit Nutr Res* 62, 281-282
  - 11) 渡邊敏明, 谷口歩美, 福井徹, 太田万理, 福渡努, 米久保明得, 西牟田守, 柴田克己(2004) 日本人女性の母乳中ビオチン, パントテン酸およびナイアシンの含量. *ビタミン* 78, 399-407
  - 12) 渡辺敏明, 福井徹 (1996) わが国の調製粉乳に含まれているビオチン量の分析. *日本栄養・食糧学会* 49, 343-347
  - 13) Watanabe T, Fukui T (1998) Low biotin content of infant formulas made in Japan. *Food Add Contam* 15, 619-625
  - 14) American Academy of Pediatrics, Committee on Nutrition (1976) Commentary on breast-feeding and infant formulas, including proposed standards for formulas. *Pediatr* 57, 278-285
  - 15) Joint FAO/WHO Food Standard Programme, Codex Alimentarius Commission (1994) Codex standard for infant formula. CODEX STAN 72-1981 (amended 1983, 1985, 1987) 4, 17-24
  - 16) 樋口隆造, 水越真理, 小山佳紀 (1996) アミノ酸調整粉末によるビオチン欠乏症の2例. *日本小児科学会* 100, 1908-1912
  - 17) 高野祐子, 梅林典子, 広瀬伸一, 渡辺敏明, 吉田一郎, 満留昭久 (1998) 特殊調製乳 (S22) による栄養中にビオチン欠乏症を呈したメチルマロン酸血症の乳児例. *日本先天代謝異常学会* 14, 218 (抄録)
  - 18) IOM(Institute of Medicine) (1997) Biotin. in: *Dietary Reference Intakes: Vitamins*. Washington, DC, National Academy Press. pp. 11-1-11-9
  - 19) National Research Council (1989) *Recommended Dietary Allowances*, 10th ed., National Academy of Sciences, Washington, DC. pp.165
  - 20) Murphy SP, Calloway DH (1986) Nutrient intake of women in NHANES II, emphasizing trace minerals, fiber, and phytate. *J Am Diet Assoc* 86, 1366-1372
  - 21) Hathcock JN (1997) *Vitamin and Mineral Safety*. Council for Responsible Nutrition. Washington, DC.
  - 22) Gautier P (1957/1958) *Dermatite Seborrhoid et Biotine*. *Inter Z Vitaminforsch* 28, 61-67
  - 23) 成澤邦明 (1985) 先天性ビオチン代謝異常症. *代謝* 27, 129-135
  - 24) Mock NI, Malik MI, Stumbo PJ, Bishop WP, Mock DM (1997) Increased urinary excretion of 3-hydroxyisovaleric acid and decreased urinary excretion of biotin are sensitive early indicators of decreased status in experimental biotin deficiency. *Am J Clin Nutr* 65, 951-958
  - 25) Clevidence BA, Marshall MW, Canary JJ (1988) Biotin levels in plasma and urine of healthy adults consuming physiological doses of biotin. *Nutr Res* 8, 1109-1118
  - 26) Carlson GL, Williams N, Barber D, Shaffer JL, Wales S, Isherwood D, Shenkin A, Irving MH (1995) Biotin deficiency complicating long-term total parenteral nutrition in an adult patient. *Clin Nutr* 14, 186-190
  - 27) Khalidi N, Wesley JR, Thoene JG, Whitehouse WM, Jr, Baker WL (1984) Biotin deficiency in a patient with short bowel syndrome during home parenteral nutrition. *J Parenter Enteral Nutr* 8, 311-314
  - 28) 渡邊敏明, 大口憲一, 榎原周平, 福井徹 (2004) ビオチン欠乏状態の指標と

しての尿中 3-ヒドロキシイソ吉草酸の  
高速液体クロマトグラフィによる測定  
法の検討. 生物試料分析 27, 309-312

- 29) Watanabe T, Oguchi K, Ebara S, Fukui T  
(2005) Measurement of  
3-hydroxyisovaleric acid in urine of  
biotin-deficient infants and mice by  
high-performance liquid chromatography.  
J Nutr 135 615-618.

表1. 調製粉乳の摂取による血清ビオチン量への影響

	対象者	栄養状態	対象者数	ビオチン量		ビオチンダーゼ活性 nmol/min/ml
				遊離 ng/ml	総 ng/ml	
乳児	健常	母乳	18	0.6±0.2 <sup>b</sup>	2.3±0.6	5.0±1.3
	健常	混合	5	0.6±0.1	2.4±0.4	4.9±1.9
	健常	人工	7	0.8±0.4	2.4±0.5	6.2±1.6
	PKU	母乳	1	1.2	1.9	1.9
	その他 <sup>a</sup>	母乳	2	0.7±0.2	2.6±0.7	5.8±0.8
	PKU	人工	22	0.6±0.1	2.5±0.4	6.6±0.9
	その他 <sup>a</sup>	人工	13	0.8±0.3	2.7±0.4	6.4±2.1
幼児	PKU		28	0.6±0.2	2.4±0.4	5.9±1.6
	アルニノコハク酸尿症		4	0.6±0.1	3.1±0.4#	7.7±0.5##
	その他 <sup>a</sup>		11	0.7±0.2	4.1±0.2##	6.0±0.1
学童	PKU		29	0.7±0.5	2.4±0.7	5.7±0.9
	その他 <sup>a</sup>		13	0.6±0.2	3.4±0.4#	6.1±1.3
成人	PKU		9	0.6±0.2	2.1±0.4	5.8±0.7
	その他 <sup>a</sup>		13	0.5±0.1	2.0±0.2	6.0±0.6
基準値				0.4-1.1	1.6-3.7	3.4-7.5

<sup>a</sup>先天性代謝異常症.

<sup>b</sup>mean±SD.

#p<0.05, ##p<0.01、それぞれのPKU患者との比較(Student's t-test).

表2. 調製粉乳の摂取による尿中ビオチン排泄量への影響

対象者		栄養状態	対象者数	ビオチン量 $\mu\text{g/g creatinine}$
早期新生児	健常	母乳	20	$14.1 \pm 8.2^{**b}$
	健常	人工	20	$12.6 \pm 8.9^{**}$
乳児	健常	母乳	8	$70.2 \pm 61.8$
	健常	混合	5	$24.1 \pm 6.5$
	健常	人工	5	$39.3 \pm 24.2^*$
	PKU	母乳	0	-
	その他 <sup>a</sup>	母乳	2	$14.0 \pm 4.6^{**}$
	PKU	人工	20	$16.8 \pm 11.1\uparrow$
幼児	その他 <sup>a</sup>	人工	12	$22.6 \pm 10.1$
	PKU		16	$8.2 \pm 3.1\uparrow$
	アルギニノコハク酸尿症		4	$90.5 \pm 97.5$
学童	その他 <sup>a</sup>		9	$38.2 \pm 3.2$
	PKU		12	$5.1 \pm 1.2\uparrow$
成人	その他 <sup>a</sup>		9	$9.8 \pm 2.6$
	PKU		5	$11.0 \pm 7.9\uparrow$
	その他 <sup>a</sup>		10	$18.5 \pm 1.9$
基準値				4.0-25.0

<sup>a</sup>先天性代謝異常症.

<sup>b</sup>mean  $\pm$  SD.

\* $p < 0.01$ , \*\* $p < 0.01$ 、健常な人工乳児との比較 (Student's t-test).

$\uparrow p < 0.01$ , (ANOVA)