

200500540A

平成17年度厚生労働科学研究費補助金
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

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 柴田 克己

平成18(2006)年4月

目次

I. 総括研究報告書

1. 平成 17 年度の成果の要約・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 001
柴田克己

II. 主任研究者の報告書

1. UVA 照射が生体中の葉酸量に及ぼす影響・・・・・・・・・・・・ 012
柴田克己
2. 食パンを主食としたときの水溶性ビタミンの生体利用率の検討・・・・・・・・ 019
柴田克己
3. 日本人の母乳中の水溶性ビタミン含量についての検討・・・・・・・・ 035
柴田克己, 廣瀬潤子, 成田宏史, 長尾早枝子
4. ビオチンの大量摂取がラットに与える影響・・・・・・・・・・・・ 066
柴田克己
5. ビタミンの上限量の検討 - ピリドキシン塩酸塩 - ・・・・・・・・ 077
柴田克己
6. 幼児の水溶性ビタミンの尿中排泄量 - 成人からの外挿値の妥当性の検討 - ・・・ 091
柴田克己
7. ラットにおける脂質摂取量と尿中パントテン酸排泄量との関係・・・・・・・・ 099
柴田克己

III. 分担研究者の報告書

1. 日本人の食事摂取基準の策定を目的とした新規母乳中脂溶性ビタミン濃度
一定量法の開発と脂溶性ビタミンの潜在性欠乏に関する評価・・・・・・・・ 110
岡野登志夫, 須原義智, 鎌尾まや, 津川尚子
2. ハンチントン病モデルマウスを用いたトリプトファン-NAD 変換系の解析・・・ 123
福岡伸一
3. α -Tocopherol Transfer Protein (α -TTP) 遺伝子発現調節機構の解析
- 乳汁中ビタミン E 含有量の調節機構について - ・・・・・・・・ 133
玉井浩
4. 大腿骨頸部骨折患者における脂溶性ビタミン (ビタミン D, ビタミン K) 欠乏に
関する検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 136
田中清, 木戸詔子
5. ビタミン E (α -トコフェロール) 栄養状態と食物アレルギーに関する研究・・・・ 147
森口覚
6. カロテノイドの必要量・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 191
寺尾純二, 板東紀子

7. 葉酸の分析ならびに生体利用率に関する検討	197
梅垣敬三	
8. ビタミン B ₂ 栄養の低下がビタミン B ₆ 栄養に及ぼす影響について	207
早川享志, 三嶋智之	
9. 標準飼料摂取下における若齢および成熟ラットのビタミン B ₆ 栄養について	219
早川享志, 三嶋智之	
10. ビオチン欠乏状態における 3-hydroxyisovaleric acid の新規な指標としての有用性 についての検討	229
渡辺敏明, 榎原周平, 福井 徹	
11. ヒトにおける葉酸摂取量と血中濃度の関連	236
渡辺敏明, 榎原周平, 福井 徹	
12. 日本人におけるビオチン摂取量の推定についての検討	245
渡辺敏明, 榎原周平, 福井 徹	
13. ビタミン B ₁₂ の栄養評価に関する基礎的研究	255
渡辺文雄	
IV. 研究協力者の報告書	
1. 岡山県の小学校児童におけるビタミン B ₁₂ ・葉酸摂取量	277
河田哲典	
V. 講演会の開催報告書	
1. 日本人の食事摂取基準（栄養所要量）の策定に関する研究 -第1回講演会- 「ビタミンと健康」	289
田中清, 木戸詔子	
2. 日本人の食事摂取基準（栄養所要量）の策定に関する研究 -第2回講演会- 「健康の維持・増進と食事-生活習慣病の治療と予防対策-」	316
柴田克己, 福井富穂, 廣瀬潤子	
3. 日本人の食事摂取基準（栄養所要量）の策定に関する研究 -第3回講演会- 「生活習慣病とビタミン」	332
森口覚	
VI. 研究成果の刊行に関する一覧表	372
VII. 研究成果の刊行物・別刷	377

平成 17 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

I. 総括研究報告

平成 17 年度の成果の要約

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

【食事摂取基準—ビタミン必要量—の精度向上】

- ①日本食品標準成分表に記載のないビオチン含量の分析：237品目を終了した。
- ②日本人の摂取量調査のないビオチン摂取量をトータルダイエツト方式で調査：60 μ g/日であった。
- ③乳児の必要量策定のためのデータを収集：約200試料の母乳中のビタミン含量を測定した。68例のほ乳量を調査した。
- ④母乳栄養児と人工栄養児の必要量の比較：人工栄養児は母乳栄養児よりも必要量が高いことを明らかにした。
- ⑤ビタミンD・Kが思春期での最大骨量獲得と高齢期の骨量維持に重要な役割を果たすことを解明した。
- ⑥生体のナイアシン必要量の半分以上を供給するトリプトファン—ナイアシン転換系に及ぼす食事性因子を検討し、転換率の精度を上げた。
- ⑦幼児・成人の尿中の水溶性ビタミンおよびそれらの代謝産物量を測定し、成人からの外挿法の妥当性を検証した。
- ⑧ β -カロテン摂取量と血漿脂質パラメータ、 β -カロテン摂取量とビタミンA濃度の関係を検討した。
- ⑨動物実験によるビタミン上限量策定のための基礎実験を遂行した。
- ⑩食品中の水溶性ビタミンの生体利用率を検討した。
- ⑪ビタミン—ビタミン相互作用、ビタミン—主要栄養素関連作用を検討した。

【ビタミン及びその関連化合物の定量方法の開発と精度向上】

- ①ビタミンK類縁体の精度の高い定量法を確立。
- ②LC-MS/MS法によるビタミンD代謝物の新規同時分別定量法を確立した。
- ③LC-MS/MS法による母乳中脂溶性ビタミンの同時—斉定量法を確立した。
- ④ビタミンB₁₂依存性大腸菌バイオオートグラフィー法を確立した。
- ⑤ヒト血漿およびLDL, HDL中に蓄積する β -カロテン, リコペン, ルテインのHPLC分別定量法を確立した。

【ビタミンの必要量と関連する新しい生体指標の確立】

- ①葉酸栄養の指標：血清中のセリン/グリシン比を検討した。
- ②ビタミンB₁₂栄養の指標：赤血球中のメチルマロニルCoAムターゼを検討した。
- ③高齢者：ビタミンE栄養の新しい指標を検討した。ビタミンB₁₂の吸収率を低下の程度を検討した。
- ④ビオチン栄養の指標：尿中のヒドロキシイソ吉草酸を検討した。
- ④パントテン酸栄養の指標：脂肪摂取量とパントテン酸必要量との関連に焦点をしぼり、尿中のパントテン酸を検討した。
- ⑤ β -カロテン栄養の指標として血漿HDL中の β -カロテン濃度を検討した。

【普及活動】

- ①平成17年度：3回開催。（1. 9月22日京都女子大学, 2. 12月17日滋賀県立大学, 3. 2月18日山口県立大学）。
- なお、本研究は3年計画の2年目である。

A. 目的

①厚生労働省策定「日本人の食事摂取基準(2005年版)」作業において懸案事項となった課題、特に社会的に関心の高いビタミンを中心とした課題に取り組み、解決し、2010年度の改定作業につなげることを、

②関連する研究基盤を構築すること、

③国民への「日本人の食事摂取基準(2005年版)」特に、ビタミンに対する正確な知識を普及させること、栄養バランスが良いということは、食事摂取基準に従うことを普及させることである。

今年は3年計画の2年目である。

B. 成果

1. 食品中のビオチン含量の測定と日本人の摂取量調査

2005年版の食事摂取基準の策定時にはきわめてデータが乏しかったビオチンに関する成果を図1に示す。

ビタミンは全部で13種類あるが、「日本食品標準成分表」には、ビオチンだけがのっていない。そこで、食品中のビオチンの分析を行い、現在237品目の分析を終了した。この表を使って、トータルダイエット方式でビタミン摂取量を調査した。その結果、1日当たり、60 μ gという値が得られた。2005年版の食事摂取基準では、ビオチンの目安量は45 μ gであるので、今回の値は高いものであった。2010年に予定されている改定では、どうするかであるが、さらにビオチン摂取量に関するデータを集め、同時に、ビオチンの必要量を示す根拠のある数値のデータをj得る計画も行っている。

2. 母乳中のビタミン含量の測定

2005年版の食事摂取基準では、前の私どもの研究班の成果から、日本人の乳児は1日で780 mLの母乳を飲んでいるというデータが採用された。さらに、データをj得るために、調査を重ねている。その成果を図2に示した。現在までにj得られた新規な68例の結果では、平均値で814 mLという値がj得られた。新規に分析している母乳中のビタミン含量であるが、現在国民の栄養指導、食糧計画に利用されている2005年版の食事摂取基準と同じ値のものもあるが、かなり含量が異なるビタミンもある。研究期間がまだ1年間あるので、試料数をさらに増やすと同時に、定量方法にも改良を加えて精度の高い値にする。

3. ナイアシンの必要量に影響を与えるトリプトファン→ナイアシン転換率に関する問題

ビタミンの中で、生体内で合成されるものがある。ナイアシンである。ナイアシン活性を持つ化合物は、ニコチンアミド、ニコチン酸、トリプトファンである。そこで、食事摂取基準では、「ナイアシン当量」という概念を作り、必要量をjだしている。ナイアシン当量はニコチンアミドとニコチン酸は当価で「1」とし、トリプトファンのナイアシン当量としての活性はニコチンアミドの「1/60」として、図3に示した式によって計算する。しかしながら、トリプトファンの摂取量は「食品成分表」だけではj分からないので、簡便法として、同じく図4に示した、摂取タンパク質量(g)に1/6をかける式が、2005年版の食事摂取基準にはj示されている。60gのタンパク質が10mgのナイアシンに相当するということである。ナイアシンの必要量は11mg程度であるので、j大変大きな数値である。つまり、トリプトファン→ナイアシン転換率の変動はナイアシン必要量をj決定する上で重要な影響を与えることを意味している。

転換率に影響を与える因子をjまとめてみますと、図4のようになる。j大変多くの因子によって変動することをj明らかにした。2005年版の食事摂取基準では、トリプトファン→ナイアシン転換率は、1/60とjされているが、2010年の改定ではjどのようなデータをj提示すればjよいか、困ったというところである。

4. 食事j中の水溶性ビタミンの生体利用率に関する問題

栄養指導の基礎となる資料として、「日本食品標準成分表」と「日本人の食事摂取基準」がある。食品中のビタミンはj遊離型ではj存在せず、多くは、jいわゆる結合型としてj存在している。「食品成分表」の値は、結合型をj可能な限りの前処理をして結合型をj遊離型とした後、j測定したものである。jいわゆる資源としての値である。一方、食事摂取基準の値は、jヒトがj利用できる値をj示したものである。j当然のことであるが、j食べた資源がjすべてj栄養となるものではない。

そこで、2005年版の食事摂取基準では、図5にj示したように、j生体利用率をj考慮し

てビタミンの必要量が策定された。我々が、推定平均必要量を設定するための実験は遊離型、言い換えれば、化学合成したビタミンを負荷したことが多い。ところが、我々の通常の食生活では、生命体が起源の食品の組み合わせ、つまり、食事からビタミンを摂取している。そのために、日本人が摂取している代表的な食事のビタミンの生体利用率の数値が必要である。影響を与える因子としては、構造的に破壊して活性を失わせるもの、消化・吸収に影響を与えるもの、構造類縁体、活性型への転換に影響を与えるもの、などが考えられる。2005年版ではビタミンB₆、ビタミンB₁₂、葉酸の三つのビタミンのみに生体利用率が考慮された。他のビタミンはデータがないため、考慮されなかった。

図6は、日本人が一般的に摂取しているとされる一日分の食事を食べた時のビタミンの生体利用率である。食パンを主としたメニューとしたのは、国際的に「食パンを主とするメニュー」という動きがあるからである。他の食事メニューの時の生体利用率をさらに検討し、2010年に予定されている改定に必要な資料を提出できるように計画を立てている。

生体利用率ができれば、食品成分表と食事摂取基準の数値の比較が、今以上に有効なものとなり、国民の健康の維持に貢献できるはずである。

5. 栄養状態の指標の検討

栄養状態の指標として何をもちいるのか、についての懸案事項の成果を述べる。

食事摂取基準の対象者は健康な人で、健康な人が寿命の限界まで健康に生きられるためには、どれだけ栄養素をとり続ければよいかを示すものである。

ヒトの場合、得られる試料は、通常では血液と尿である。血液は必要量以下の摂取日が続く、欠乏症が顕在化する直前で、はじめて低下してくる。したがって、栄養素の欠乏状態の診断には適しているが、予防には適していない。一方、尿は、摂取量の低下がすぐに反映されるので、欠乏の予防には適している。また、排泄量は代謝量を反映しているので、基準値を示すことで、基準値に達した時の摂取量が適正必要量であると考えられることができる(図7)。

図8は、ラットを使用したモデル実験であるが、この図は、尿中へのニコチンアミド代謝産物は、血液中のNADが飽和した後、はじめて摂取量に応じて増大する、というデータを示したものである。主張したいのは、健康人の必要量を推定するには尿中の値が適している、とい

うことである。

6. 栄養指標としての水溶性ビタミンの尿中排泄量

健康人の尿中の排泄量を調べた。必要量の基準となる水溶性ビタミン排泄量の暫定値をまとめたのが、図9である。

3年目は年齢区分を広げた値を得る計画である。

7. 研究基盤の構築

【ビタミン及びその関連化合物の定量方法の開発と精度向上】

- ①ビタミンK類縁体の精度の高い定量法を確立。
- ②LC-MS/MS法によるビタミンD代謝物の新規同時分別定量法を確立した。
- ③LC-MS/MS法による母乳中脂溶性ビタミンの同時一斉定量法を確立した。
- ④ビタミンB₁₂依存性大腸菌バイオオートグラフィー法を確立した。
- ⑤ヒト血漿およびLDL, HDL中に蓄積するβ-カロテン, リコペン, ルテインのHPLC分別定量法を確立した。

【ビタミンの必要量と関連する新しい生体指標の確立】

- ①葉酸栄養の指標：血清中のセリン/グリシン比を検討した。
- ②ビタミンB₁₂栄養の指標：赤血球中のメチルマロニルCoAムターゼを検討した。
- ③高齢者：ビタミンE栄養の新しい指標を検討した。ビタミンB₁₂の吸収率を低下の程度を検討した。
- ④ビオチン栄養の指標：尿中の-ヒドロキシイソ吉草酸を検討した。
- ④パントテン酸栄養の指標：脂肪摂取量とパントテン酸必要量との関連に焦点をしばり、尿中のパントテン酸を検討した。
- ⑤β-カロテン栄養の指標として血漿HDL中のβ-カロテン濃度を検討した。

8. 普及活動

1. 平成17年9月22日京都女子大学,
2. 平成17年12月17日滋賀県立大学,
3. 平成18年2月18日山口県立大学, 行った。

9. 今後の食事摂取基準策定の方向

今後の食事摂取基準策定の方向は、欠乏症を予防する推定平均必要量に加えて、有事において効果が期待できる量も提言した

事において効果が期待できる量も提言したいと考えている。言い換えると、食事摂取基準は、「国民の健康を保持し、生活の安定をはかるためには、どの程度の食糧を確保すればよいのか」という「食糧確保」の計算をするため基礎資料としての目的がある。そのため、欠乏を予防するために必要な最低限の栄養素を供給するための「食糧の量」という考え方が未だに根強くある。エネルギーとはならない微量栄養素に関しては、もっと積極的に考えて、有事、具体的な一つの例としては、「代謝性疾患」の予防のための必要量を提言することも必要ではないかと考えている。成果の一例であるが(図10)、チアミンを体内に飽和させるには、2005年版の食事摂取基準の推奨量である1.1mgの2倍量である2mgが必要であることをこの実験結果は意味している。

C. 倫理面への配慮

本研究は、各研究施設の倫理委員会規定に従って実施する。験者は、被験者に対して、あらかじめ実験の主旨、方法、実験に参加することの不利益、苦痛を説明し、被験者の自由意志でいつでも実験から離脱できることを文書で保証した後、文書による被験者の実験参加同意を得て研究を実施する。取得されたデータは、基本的には全被験者の傾向を求めるような処理にかける。また、個人名は研究者が管理し、データの管理は記号により行う。

D. 主な発表論文

1. Shibata K, Takahashi C, Fukuwatari T, and Sasaki R. Effects of excess pantothenic acid administration on the water-soluble vitamin metabolisms in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **51**, 385-391 (2005).
2. Shibata K, *et al.* 他17名. Values of water-soluble vitamins in blood and urine of Japanese young men and women consuming a semi-purified diet based on the Japanese Dietary Reference Intakes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **51**, 319-328 (2005).
3. Tsugawa N., Suhara Y., Kamao M., and Okano T. Determination of 25-hydroxyvitamin D in human plasma using

high-performance liquid chromatography—tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **77**, 3001-3007 (2005).

4. Suhara Y, Kamao M, Tsugawa N., and Okano T. Method for the determination of vitamin K homologues in human plasma using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **77**, 757-763 (2005).
5. Kamao M, Suhara Y, Tsugawa N, and Okano T. Determination of Plasma Vitamin K by High-performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection Using Vitamin K Analogs as Internal Standards. *J. Chromatogr. B*, **816**, 41-48 (2005).
6. Okubo H. and Sasaki S. Histidine intake may negatively correlate with energy intake in human: a cross-sectional study in Japanese female students aged 18 years. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **51**, 329-334 (2005).
7. Murakami K, Okubo H., and Sasaki S. Effect of dietary factors on incidence of type 2 diabetes: a systematic review of cohort studies. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **51**, 292-310 (2005).
8. Yoh K., Tanaka K.ら. Health-related quality of life (HRQOL) in Japanese osteoporotic patients and its improvement by elcatonin treatment. *J. Bone. Miner. Metab.*, **23**, 167-173 (2005).
9. 森口覚, 兼安真弓. ビタミンEと免疫, ビタミンEの臨床—最近の治験と臨床応用への展望—, 平井俊作編, *医薬ジャーナル*, pp.85-104 (2005).
10. Watanabe T, Oguchi K. Ebara, S., and Fukui, T. Measurement of 3-hydroxyisovaleric acid in urine of biotin-deficient infants and mice by HPLC. *J. Nutr.*, **135**, 615-618 (2005).
11. Adachi S, Miyamoto E, Watanabe F, Enomoto T, Kuda T. Hayashi, M., and Nakano, Y. Purification and characterization of a corrinoid compound from a Japanese salted and fermented salmon kidney “Mefun”. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **28**, 2561-2569 (2005).

E. 研究組織

①研究者名	②分担する研究項目	③最終卒業学校・卒業年次・学位及び専攻科目	④所属機関及び現在の専門（研究実施場所）	⑤所属機関における職名
柴田克己	統括．水溶性ビタミンリーダー ビタミンB ₁ ，ビタミンB ₂ ，ナイアシン，パントテン酸の必要量	京都大学・院 昭和54年 農学博士 食品工学	滋賀県立大学 栄養化学	教授
佐々木敏	副統括．文献レビュー	ルーベン大学・院 平成6年 医学博士 医学	国立健康・栄養研究所 疫学（栄養学）	栄養所要量策定企画・運営担当リーダー
岡野登志夫	脂溶性ビタミンリーダー．ビタミンDおよびKの必要量	大阪大学・院 昭和49年 薬学博士 薬学	神戸薬科大学薬学部 栄養生化学	教授
福岡伸一	結合型ビタミンの定量的遊離化法の開発	京都大学・院 昭和62年 農学博士 食品工学	青山学院大学 分子栄養学	教授
玉井浩	ビタミンAとEの必要量	大阪医科大学・院 昭和60年 医学博士 医学	大阪医科大学 小児科学	教授
田中清	ビタミンDとKの必要量	京都大学・院 昭和59年 医学博士 医学	京都女子大学 病態栄養学	教授
森口 寛	ビタミンEの必要量	徳島大学・院 昭和58年 保健学博士 栄養学	山口県立大学 公衆栄養学	教授
寺尾純二	カロテノイドの必要量	京都大学・院 昭和50年 農学博士 食品工学	徳島大学 食品化学	教授
梅垣敬三	葉酸，ビタミンCの必要量	静岡薬科大学・院 昭和60年 薬学博士 薬理学	国立健康・栄養研究所 栄養学 食品衛生学	室長
早川享志	ビタミンB ₆ の必要量	京都大学・院 昭和60年 農学博士 食品工学	岐阜大学 食品栄養学	教授

渡邊敏明	ビオチン, 葉酸の必要 量	新潟大学・院 昭和50年 医学博士・理学博士 理学	兵庫県立大学 公衆栄養学	教授
渡邊文雄	ビタミンB ₁₂ の必要量	大阪府立大学・院 昭和62年 農学博士 農芸化学	高知女子大学 食品化学	教授

食事摂取基準の精度向上
～データが乏しいビオチン～

日本食品標準成分表に記載のないビオチン含量の分析：237品目を終了した。

No.	日本食品 品番号	食品名	水分 (%)	ビオチン (μg/100g)	分析数				
					A	B	C	D	E
85	4001	あずき	14	10					
86	4012	えんどう			34.0				
87	4014	グリーンピース(揚げ豆)		114					
88	4017	さよげ	9	10.0				21.0	
89	4023	だいず(全粒・全粒穀)	13	21.9					
90	4029	豆						76.0	
91	4030	【豆類・油揚げ類】 油揚げ	85	6.4					
92	4033	【豆類】 絹揚げ	89	6.4					
93	4039	【納豆類】 納豆	32	4.2					
94	4046	【大豆類】 ひよこまめ	61	13.1				10.0	
97	4055	【大豆類】 ひよこまめ						7.5	
98	4071	【大豆類】 ひよこまめ						13.2	
99	4073	【大豆類】 ひよこまめ						18.0	
103	5001	アーモンド	2	32.9	0.4				
109	5006	カシューナッツ					1.3	1.5	
110	5010	【くり類】 くり							37.0
111	5014	【くり類】 くり	3	15.5	19.0				
112	5018	【くり類】 くり	2	11.4					
113	5028	ブラジルナッツ			2.0				
114	5029	【ナッツ類】 アーモンド			2.0				
115	5034	【ナッツ類】 らっきょう						34	
116	5035	【ナッツ類】 らっきょう						34.0	
117	5036	【ナッツ類】 らっきょう						39.0	
118	5037	【ナッツ類】 らっきょう						3.9	
121	12002	【穀類】 うずら餅	72	8.2					
122	12004	【穀類】 うどん	76	22.1b	25.0	25	25.0	22.5	27.2
123	12005	【穀類】 うどん	79	15.9b					
124	12009	【穀類】 うどん				84			
125	12010	【穀類】 うどん	48	63.9b	60.0	53		52.0	54.9
126	12013	【穀類】 うどん				110			
127	12014	【穀類】 うどん	88	5.0b				7.0	
128	12016	【穀類】 うどん						57	1.5
129	12017	【穀類】 うどん	68	13.5					
130	12018	【穀類】 うどん	71	11.6					
131	12024	【ドマツ加工品類】 ドマツ			1.5				
132	12026	【ドマツ加工品類】 ドマツ			1.5			1.8	
133	12027	【ドマツ加工品類】 ドマツ			12.0				
134	12044	【みそ類】 みそ	42	26.9a					
135	12047	【みそ類】 みそ	35	7.7					

さらに分析数を増やす。
必要量を示す生体指標の検索。

図1. 食品中のビオチン含量

食事摂取基準の精度向上 — 乳児（0～5か月） —

約200試料の母乳中のビタミン含量を測定.

前回の調査：780 mL/日

乳児（0～5か月）68例の哺乳量を調査.

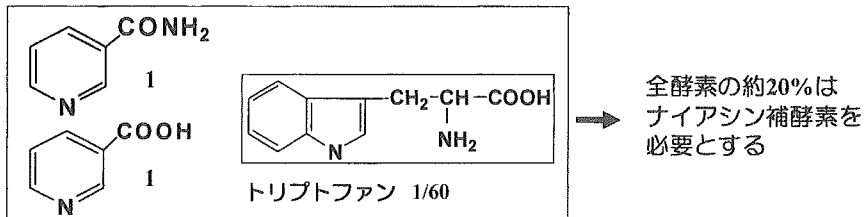
哺乳量平均値	814 mL/日
哺乳量最低値	356 mL/日
哺乳量最高値	1235 mL/日
標準偏差(SD)	171 mL/日
平均+SD	985 mL/日
平均-SD	643 mL/日
中央値	807 mL/日

ビタミン名	採用値	研究班の値
ビタミンB1	0.15 mg/L	0.14±0.07
ビタミンB2	0.40 mg/L	0.29±0.15
ナイアシン	2.0 mg/L	1.2±0.4
ビタミンB6	0.25 mg/L	0.11±0.06
葉酸	54 μg/L	50±27
ビタミンB12	0.2 μg/L	0.95±0.53
パントテン酸	5.0 mg/L	6.9±2.8
ビオチン	5.2 μg/L	3.0±2.1
ビタミンC	50 mg/L	47.8±11.3
ビタミンA	0.352 mg/L	0.4±0.2
ビタミンE	3.5 mg/L	4.2±2.6
ビタミンD	3 μg/L	1.2±0.6
ビタミンK	5.17 μg/L	6.4±3.4

次年度：試料数をさらに増やす。定量方法にも改良を加える。

図2. 母乳中のビタミン含量の測定

トリプトファン-ナイアシン転換率の問題



$$\text{NE (ナイアシン当量)} = \text{ニコチンアミド(mg)} + \text{ニコチン酸(mg)} + \frac{1}{60} \text{トリプトファン(mg)}$$

$$\text{簡便法: NE(mg)} = \text{成分表のナイアシン量(mg)} + \{ \frac{1}{6} \times \text{タンパク質量(g)} \}$$

60gのタンパク質は10mgのナイアシンに相当する。

↓ ナシアシンの必要量は11 mg/日程度

トリプトファン-ナイアシン転換率の変動はナイアシン必要量を決定する上で重要な影響を与える。

図3. トリプトファン-ナイアシン転換率の問題

転換率に影響を与える因子

増加させる因子	低下させる因子
<ul style="list-style-type: none"> ●良質タンパク質の適量摂取 ●不飽和脂肪酸の適量摂取 ●デンプンなどの多糖摂取 ●チロキシン ●高脂血漿薬 ●抗結核薬 ●フタル酸エステル類 ●妊娠 	<ul style="list-style-type: none"> Trp含量の低いタンパク質の摂取 過剰タンパク質摂取 低分子ペプチド食 飽和脂肪酸の過剰摂取 ショ糖・ブドウ糖・果糖の過剰摂取 ビタミンB₂・B₆摂取不足 ミネラル欠乏 女性ホルモン 副腎髄質ホルモンのアドレナリン 実験的糖尿病誘発剤 ビスフェノールA

2005年版の食事摂取基準では、トリプトファン-ナイアシン転換率は1/60とされているが、2010年の改定ではどのようなデータを提示すればよいか、困った。

図4. トリプトファン-ナイアシン転換率に影響を与える因子

生体利用率を考慮して策定

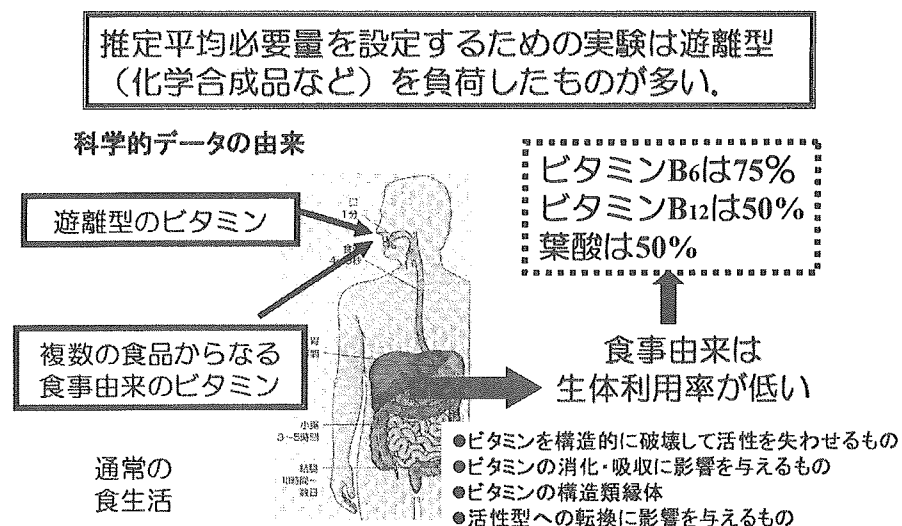


図5. 生体利用率を考慮して作成する方針

生体利用率の検討結果

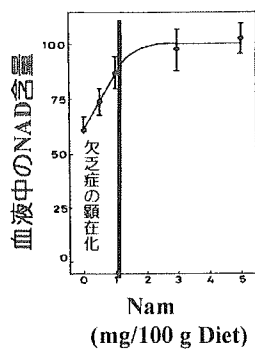
ビタミン	平均値±SD (%)	
	食パンを主食(1日の食事)	2005年版採用値
B ₁	59±24	
B ₂	52±22	
B ₆	80±19	75
ナイアシン	57±21	
パントテン酸	90±26	
葉酸	60±29	50
ビオチン	99±24	
C	102±18	

図6. 食パンを主食とした食事中的水溶性ビタミンの生体利用率

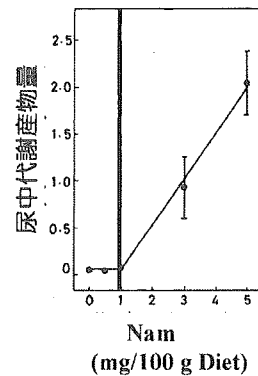
栄養状態の指標として何を用いるのか？

血液	<ul style="list-style-type: none"> ●必要量以下の摂取日が続き、欠乏症が顕在化する直前で、はじめて低下してくる。 ●欠乏の診断には適している。 ●予防には適していない。
尿	<p>摂取量の低下がすぐに反映されるので、欠乏の予防には適している。</p> <p>排泄量は代謝量を反映しているので、基準値を示すことで、基準値に達した時の摂取量が適正必要量であると考えることができる。</p>

図7. 栄養状態の指標の検討



尿中へのニコチンアミド代謝産物は血液中のNADが飽和した後、はじめて摂取量に応じて増大する。



健康人の必要量を推定するには尿中の値の測定が適している

ラットを使用したモデル実験

図8. 尿中の水溶性ビタミン排泄量は栄養状態の指標として適している

必要量の基準となる水溶性ビタミン排泄量
～暫定値～

水溶性ビタミン	成人女子(18~69歳)	園児(3~5歳)
ビタミンB ₁	250 nmol/day以上	100 nmol/day以上
ビタミンB ₂	350 nmol/day以上	100 nmol/day以上
ビタミンB ₆	3.0 μmol/day以上	1.0 μmol/day以上
ビタミンB ₁₂	70 pmol/day以上	20 pmol/day以上
ナイアシン	60 μmol/day以上	20 μmol/day以上
パントテン酸	10 μmol/day以上	8 μmol/day以上
葉酸	20 nmol/day以上	8 nmol/day以上
ビオチン	50 nmol/day以上	20 nmol/day以上
ビタミンC	90 μmol/day以上	30 μmol/day以上

図9. 必要量の基準となる水溶性ビタミン排泄量の値

欠乏症を予防する推定平均必要量に加えて、有事における効果が期待できる体内飽和量を維持できる摂取量も提言

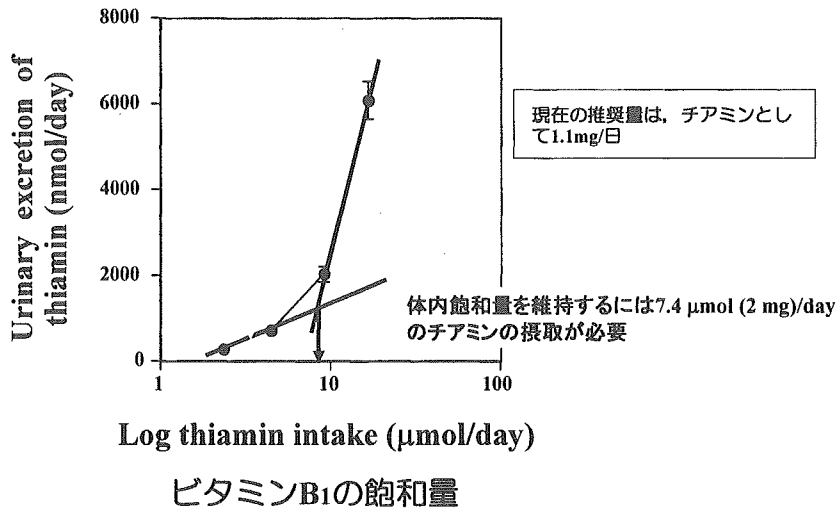


図 10. 今後の食事摂取基準策定の方

平成 17 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

II. 主任研究者の報告書

1. UVA 照射が生体中の葉酸量に及ぼす影響

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

我々が 2002 年に行った実験では、ビタミンの摂取量は同じであるのにも関わらず、男性の血清中葉酸値は 15.6 ± 4.6 pmol/mL（平均値 \pm SD, n=10）であるのに対し、女性の血清中葉酸値は 30.2 ± 8.6 pmol/mL（平均値 \pm SD, n=10）であり、男性の方が女性に比べ有意に低い値であった。女性は 3 月に、男性は 8 月に実験を行った。この差異の原因の一つに、男性が夏の紫外線の強い時間帯にランニング・短パンといった露出部の多い格好で野外で活動することが多かったことで、紫外線を多く浴び、血清中の葉酸が壊されたのではないかと考えられた。実際に紫外線により葉酸が壊されるということは以前から言われており、1949 年の論文によると、葉酸は紫外線照射により次々に違う物質に変化すると述べられている。そこで、今回は、紫外線の中でも波長が長く真皮まで到達する UVA（波長 400~320nm）が葉酸を壊すということを確認し、日常的に紫外線曝露の多い人に対して葉酸付加の必要性が必要か否かを検討するため実験を行った。葉酸標準溶液に UVA 照射を行うと、約 2 時間で葉酸（プテロイルモノグルタミン酸）とは異なる物質に変化した。ヒトにおいても、2 時間の紫外線曝露により、血清中葉酸値は低下した。

A. 目的

我々は2002年に男女大学生を被験者としたビタミン必要量に関する介入実験を行った¹⁾。この実験では健康な男女大学生それぞれ10名に7日間、当時の栄養所要量に基づいた完全栄養食を摂取させ、8日目の朝に採血を行った。女性は3月1日から3月8日にかけて、男性は8月27日から9月3日にかけて実験を行った。この結果、男性の血清中葉酸値は 15.6 ± 4.6 pmol/mL (平均値 \pm SD)であり、女性の血清中葉酸値 30.2 ± 8.6 pmol/mL (平均値 \pm SD)に比べ有意に低い値であった。これは、男性が夏の紫外線の多い時間帯にランニング・短パンといった露出部の多い格好で野外で活動することが多かったことで、紫外線を多く浴び、血清中の葉酸が壊されたのではないかと考えられた。葉酸は光に対して不安定であり、実際に紫外線照射により葉酸は次々に異なる物質に変化するという報告があり²⁾、UVAは血管中で葉酸を破壊する可能性があるという報告もある^{3,4)}。

そこで、今回は、紫外線の中でも波長が長く真皮まで到達するUVA (波長400~320nm)が葉酸を壊すということを確認、日常的に紫外線曝露の多い人に対して葉酸付加の必要性を有無を検討するため、ヒトの紫外線曝露前後の血清中葉酸値を測定し、比較した。また、葉酸は妊娠可能な若い女性にとっては神経管閉鎖障害の予防⁵⁾など、特に重要となるビタミンであり、積極的な摂取が望まれる⁶⁾。そこで今回は女性のデータを得るため、成人女性を被験者として実験を行った。

B. 実験方法

1. 第一実験 (葉酸標準溶液における UVA

照射実験)

マイクロプレート (SUMITOMO BAKELITE CO., LTD. SUMILON MULTI WELL PLATE MS-8496F 0.4 mL \times 96 Wells Flat bottom) に 24.5μ M, 49μ M の葉酸 (プロテロイルモノグルタミン酸) 溶液を 300μ l ずつ入れ、照射ボックスの中に入れて紫外線ランプ(365nm)を照射した。ランプからマイクロプレートの距離は10cmとした。紫外線強度計 (UM-10 受光部 : UM-360 MINOLTA) を用いて積算量を測定し、120分でのUVA積算量は 2022 mJ/cm^2 であった。そして、30・60・120分の各時間にそれぞれの濃度の葉酸標準溶液を 20μ l 取り出し、HPLCにてクロマトグラフパターンを比較した。

<HPLC 測定条件>

カラム : Chemeosorb7-ODS-L(4.6 \times 250mm)

カラム温度 : 40 $^{\circ}$ C

流速 : 1.0 ml / min

検出器 : UV DETECTOR SPD-10Avp

検出方法 : 280 nm

オートインジェクター : SIL-10AD

STOP TIME : 15min

プロセッサー : C-R8A

STOP TIME : 14min

カラムオープン : CTO-10A

ポンプ : LC-10AD

(すべて SHIMADZU 製)

2. 第二実験 (ヒトにおける紫外線曝露実験)

(1) 被験者

21歳から24歳の女性9名 (身長 158.24 ± 3.95 cm, 体重 50.74 ± 8.33 kg, BMI 20.13 ± 2.73)を対象とした。食事は自由食とし、実験開始2日前の朝食から当日の朝食ま

で、毎食後にサプリメント（表1）を服用させ、血中の葉酸を飽和状態にした。

（2）実験方法

実験日：平成17年9月20日

天候：晴れ時々曇り

方法：照射食前に上腕の静脈から採血を行い、11時～13時にタンクトップ姿で2時間、野外で紫外線を浴びた。紫外線強度計

（UM-10 受光部：UM-250,360,400，MINOLTA）を用いて積算量を測定すると、120分での紫外線積算量は、波長400nm

（UVA）：56590mJ/cm²，波長360nm

（UVA）：11990mJ/cm²，波長250nm（UVB）：2297mJ/cm²であった。暴露終了直後に、再び採血を行った。そして暴露前後の葉酸値を比較した。

紫外線曝露前後の血清中葉酸値の測定は三菱化学BCLに測定を依頼した。測定方法は、CLIA法である⁷⁾。

C. 結果

1. 第一実験

照射時間と葉酸およびその破壊物のピークの時間、ピークの大きさ（ピーク面積で表示）の変化を図1に示した。

葉酸標準溶液の濃度（24.5μM, 49μM）に関わらず、ともにほぼ同じようなグラフとなった。30分間の処理では大きな変化が見られなかったが、60分間になると急激に葉酸のピークが小さくなり、葉酸の破壊物である新しいピーク（FA-D1, FA-D2, FA-D3, FA-D4）が発現した。120分間になると葉酸のピークはほとんど見られなくなり、新しいピークが大きくなっていった。このことから、UVAはほぼ120分間で葉酸を破壊し、異なる物質に変化させることが明らかとなった。今回の実験で、紫外線により葉酸が

壊され、異なる物質に変化するということが改めて確かめられた。

2. 第二実験

図2に紫外線曝露前後の血清中葉酸値の変化を示した。曝露前後で有意な差がみられた。すなわち、夏の晴れた昼間に皮膚の露出部の多い姿で2時間ほど野外で活動すると、血清中の葉酸が破壊されている可能性が示唆された。

D. 考察

葉酸（プテロイルモノグルタミン酸）標準溶液はUVA照射120分（UVA照射の積算量は2022mJ/cm²）で壊され、異なる物質に変化することがわかった。しかし、この新しい生成物が葉酸活性を持つのかどうか確認していないため、今後の研究で確かめる必要がある。

ヒトによる紫外線曝露実験では紫外線曝露前後（波長400nm（UVA）：56590mJ/cm²）で血清中葉酸値に有意な低下がみられたことから、神経管閉鎖障害のリスクを軽減するためにも、夏場、肌を露出するような格好で出歩く女性には葉酸の付加を推奨する必要があると思われるが、さらに検討を加える予定である。

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

1. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

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. Shibata K, Fukuwatari T, Ohta M, Okamoto H, Watanabe T, Fukui T, Nishimuta M, Totani M, Kimura M, Ohnishi N, Nakashima M, Watanabe F, Miyamoto E, Shigeoka S, Takeda T, Muratani M, Ihara H and Hashizume N. Values of Water-Soluble Vitamins in Blood and Urine of Japanese Young Men and Women Consuming a Semi-Purified Diet Based on the Japanese Dietary Reference Intake. 2005. *J Nutr Sci Vitaminol.*, **51**, 319-328 (2005).
2. Lowry OH, Bessey OA, and Crawford EJ. Photolytic and enzymatic transformations of pteroylmonoglutamic acid. *J Boil Chem.*, **180**, 389-398 (1949).
3. Branda RF, and Eaton JW. Skin color and nutrition photolysis: an evolutionary hypothesis. *Science*, **201**,625-626 (1978).
4. Gambichler T, Bader A, Sanuermann K, Altmeter P, and Hoffmann K. Serum folate levels after UVA exposure: a two-group parallel randomized controlled trial. *BMC Dermatol*, **1**:8 (2001). This article is available from:
<http://biomedcentral.com/1471-5945/1/8>.
5. Emery AE. Folates and fetal central-nervous-system malformations. *Lancet*, Mar 26, 1(8013): 703 (1977).
6. 「神経管閉鎖障害の発祥リスク提言のための妊娠可能な年齢の女性等に対する葉酸の摂取に係る適切な情報提供の推進について」, 児母第 72 号, 健医地正発第 78 号, 平成 12 年 12 月 28 日, 厚生省自動家庭局母子保健課長, 厚生省保健医療局地域保健・健康増進栄養課生活習慣病対策室長.
7. 石渡幸久, 遠藤紀子, 池田律子, 安田和人. 全自動化学発光免疫測定装置 ACS-180 を用いた化学発光による血清ビタミン B₁₂ 葉酸の測定. *JJCLA*, 1995. 20: 29-36.

表1. サプリメント錠組成 1錠当たり

ビタミン名	一錠中の含量 (mg)
チアミン	0.63
リボフラビン	1.27
ピリドキシン	1.18
ニコチンアミド	18.16
パントテン酸	11.10
プテロイルモノグルタミン酸	0.25
D-ビオチン	0.03
L-アスコルビン酸	33.54

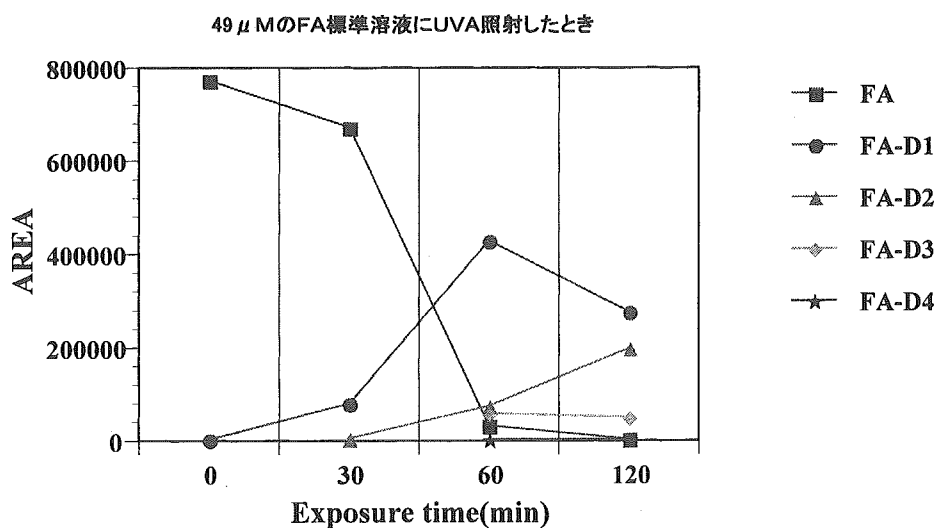
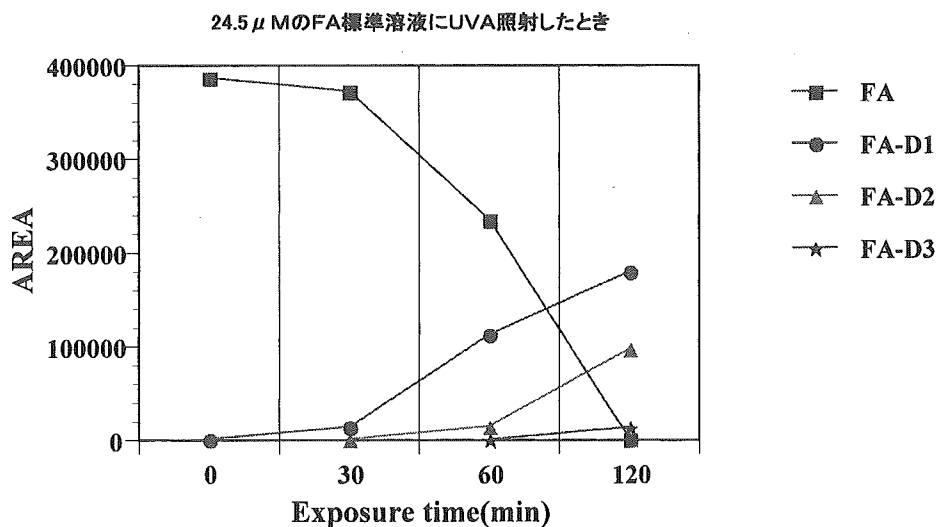


図1. UVA 照射時間とピーク AREA の変化

マイクロプレートに 24.5 μ M, 49 μ M の葉酸 (プテロイルモノグルタミン酸) 溶液を 300 μ l ずつ入れ, 照射ボックスの中に入れて紫外線ランプ(365nm)を照射した.

そして, 30・60・120 分の各時間にそれぞれの濃度の葉酸標準溶液を 20 μ l 取り出し, HPLC にてクロマトグラフパターンを比較した. FA-D's は葉酸が壊されてできた物質であり, 溶出時間の早い順に D1, D2, D3, D4 とした. ランプからマイクロプレートの距離は 10cm とした. 紫外線強度計 (UM-10 受光部: UM-360 MINOLTA) を用いて積算量を測定し, 120 分での UVA 積算量は 2022mJ/cm²であった.