

A. 目的

ビタミンB₆はB群のビタミンの一つである。ビタミンB₆活性を有する化合物として、ピリドキシン(PN), ピリドキサーール(PL), ピリドキサミン(PM)がある。アミノ酸代謝に関与しており、神経伝達物質である生理活性アミンの生成にも関わっている。

近年、サプリメントなどの普及で手軽にビタミンB₆(ピリドキシン塩酸塩)を摂取できるようになり、不足を補うことができるようになった。その反面、知識の不足により、過剰に摂取してしまい、健康に悪影響を及ぼす危険性が懸念されている。

これまで、PN大量摂取時(数g/日を数ヶ月程度)には、感覚神経障害という明確な悪影響が観察されており¹⁾、食事摂取基準(2005年版)では18歳以上の男女のULを60mg/日と定めている²⁾。この値の根拠となっているのは、手根幹症候群の患者24人に、ピリドキシン100~300mg/日を4ヶ月間投与したが、感覚神経害は認められなかったという報告である³⁾。しかし、健常人を被験者としていないことや、LOAELが不明なこと、また、成人に対する値しか定められていないなどの問題がある。

そこで、本研究では、ピリドキシンのNOAEL(健康障害非発現量)とLOAEL(健康障害最低発現量)を算出するための実験を開始した。ヒトに対して、ピリドキシンの大量投与実験を行うことは倫理的に不可能であるので、ラットに大量のピリドキシンを投与し、体重増加量、飼料摂取量の測定、尿中の水溶性ビタミン量の測定、臓器重量及び肝臓中総ビタミンB₆量から、ラットに対するピリドキシンのNOAEL、LOAELを推定した。

B. 研究方法

動物飼育

(飼育方法)

3週齢のWistar系雄ラット20匹を日本クレア株式会社より購入し、平均体重がほぼ均等になるように4匹ずつ5群に分けて、ラット用代謝ケージ(日本クレア株式会社CT-10)に一匹ずつ入れた。その日から、表1に示した飼料を与えた。20% Casein食をControl食とし、test群は20% Casein食にピリドキシン-塩酸塩(PN-HCl)を0.1%, 0.5%, 0.8%, 1.0%添加したもので飼育した。飼料と水は自由摂取とし、毎日新しいものに交換した。ラットの世話は午前8時~午前10時の間に行い、体重と飼料摂取量を測定した。飼育条件としては、室温20°C、湿度60%、午前6時~午後6時を明、午後6時~翌朝6時を暗とする明暗サイクルで行った。

実験開始日をDay 0として、飼育最終日前日にあたるDay 30の1日尿(Day 30の午前9時~Day 31の午前9時:24時間)を集めた。尿は塩酸酸性下で採取し、-20°Cで保存した。なお、アスコルビン酸測定のために、採取後、直ちに一部の尿を取り出し、10%メタリン酸で2倍希釈し、-20°Cで保存した。

採尿終了後のDay 31の午前9時~午前10時に断頭屠殺し、採血及び肝臓、腎臓、肺、心臓、精巣、脳、脾臓の摘出を行い、各臓器の重量を測定した。また、尿中のB群ビタミン量と肝臓中のビタミンB₆量を測定した。

分析方法

・尿

Thiaminは、木村ら⁵⁾の方法で測定を行った。

Riboflavinは、riboflavin自体が発する蛍光

を蛍光検出器付の HPLC で測定した⁶⁾。

SUM は、Nicotinamide (Nam), *N*¹-methyl-2-pyridone-5-carboxamide (2-Py), *N*¹-methyl-4-pyridone-3-carboxamide (4-Py), *N*¹-methylnicotinamide (MNA) の合計を示すものである。Nam, 2-Py, 4-Py は、柴田らの方法により測定した⁷⁾。MNA は、柴田らの方法により測定した⁸⁾。

ビタミン B₁₂ 量は、*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* (*L. leichimannii*) ATCC 7830 を用いた微生物定量法を用いて、測定した⁹⁾。

葉酸量は、乳酸菌 *Lactobacillus casei* ATCC 2773 を用いた微生物定量法を用いて、測定した¹⁰⁾。

ビオチン量は、乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 を用いた微生物定量法を用いて分析した¹¹⁾。

ビタミン B₆ は、異化代謝産物である 4-Pyridoxic acid (4-PIC) をそれ自体が発する蛍光を、蛍光検出器付の HPLC で測定した¹²⁾。

パントテン酸量は、*Lactobacillus plantarum* ATCC 8041 を用いた微生物定量法を用いて測定した¹³⁾。

ビタミン C は、アスコルビン酸・デヒドロアスコルビン酸・2,3-ジケトグルン酸を、これらの総称である総アスコルビン酸の量で測定した¹⁴⁾。

・肝臓

ビタミン B₆ の試験溶液作成法は図 1 に示す。*Saccharomyces carlsbergensis* strain 4228 ATCC 9080 を用いた微生物定量法を用いて分析した^{15,16)}。

統計処理

結果はすべて平均値±標準偏差 (SEM) で表した。有意差検定には Instat software Ver.

2.00 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) を用いた。値を常用指数に変換し、One-way Analysis of Variance (ANOVA) により、有意差が認められた場合は、Turkey-Kramer Multiple Comparisons Test で個々の群の間の有意差をみた。

C. 結果と考察

◆ 体重増加量, 飼料摂取量, 肉眼的所見

体重増加量・飼料摂取量を示した(図 1)。体重増加量・飼料摂取量, とともに Control 群に比べ, 0.1%, 0.5%, 0.8% 添加群では影響が認められなかったが, 1.0% 添加群で有意な減少が認められた。飼育中, 下痢をしているラットは認められなかった。これらを指標にすると, 1.0% 添加群を LOAEL, 0.8% 添加群を NOAEL とした。

なお, 毛並み, 臓器は, 肉眼的所見において異常は認められず, 行動異常も認められなかった。

◆ 臓器重量

100g 当たりの相対臓器重量を表 2 に示した。脳は control 群と比べ, 0.8% と 1.0% 添加群で増大した。腎臓では, Control 群と 0.1%, 0.5% 添加群間では差異は認められなかったが, 0.8% と 1.0% 添加群との間に, 差が見られた。脾臓では, 対照群を基準にして比較すると, すべての群間において差異は認められなかったが, 0.1% 添加群と 1.0% 添加群の間には差異がみられた。肝臓は, 0.1% 添加群では差異は認められなかったが, 0.5% 添加群以上では, 差異が認められた。これらを指標にすると, 0.5% 添加群を LOAEL, 0.1% 添加群を NOAEL とした。

◆ 肝臓中ビタミン B₆ 量

肝臓中のビタミン B₆ 量は, Control 群・

0.1%添加群では Control 群との間には差異は認められなかったが、0.5%添加群以上では有意に高い値を示した(図3)。図3に示したように、肝臓中ビタミンB₆量は試料中のピリドキシン量に応じて増加した。水溶性ビタミンは貯蔵されにくいと考えられているが、ピリドキシンは特殊な水溶性ビタミンであるかもしれない。これらを指標にすると、0.5%添加群を LOAEL、0.1%添加群を NOAEL とした。

◆尿中の4-PIC 排泄量

尿中4-PIC 排泄量は Control 群に対して添加群で有意に増加したが、0.5%添加群以上からの増加量は少なく、ピリドキシン→4-PIC の反応が0.1%添加食でなるものと推定された(図4)。

また、4-PIC 排泄率は、PN-HCl の摂取量に応じて有意に低下した(図5)。Control 群に比べ0.1%群では排泄率が大きく低下し、それ以上は大きな低下は見られなかった。

つまり、ラットでは、PN-HCl 0.1%添加食で、代謝障害が起こったものと思われた。

これらを指標にすると、0.1%添加群を LOAEL とした。この指標では、NOAEL を特定することができなかった。

◆B 群ビタミンの代謝

ビタミンB₆を含めて、B 群ビタミンは補酵素として糖質、脂質、アミノ酸代謝において協同作業を行っているので、PN-HCl の大量摂取により、他のビタミン代謝の均衡を崩すおそれがある。しかし、パントテン酸を除いて、他のB 群ビタミンの尿中排泄量に影響は認められなかった(図5)。パントテン酸の尿中排泄量は、PN-HCl 0.1%添加群で急激に増加し、それ以上の摂取では有意に増加しなかった。したがって、PN-HCl

の大量摂取により、パントテン酸の代謝に何らかの影響を与えることは明らかであるが、増加の理由ははっきりしない。これらを指標にすると、0.1%添加群を LOAEL、とした。0.1%添加群を LOAEL とする。

◆PN-HCl の大量投与がナイアシン代謝産物尿中排泄量におよぼす影響

Nam, MNA, 2-Py, 4-Py, それぞれで有意に差が現れた(図7)。PN-HCl 摂取量の増加に伴い、MNA と 2-Py では増加傾向がみられ、0.8%添加群で有意に増加した。0.8%添加群を LOAEL とする。この指標では、NOAEL を特定することができなかった。

◆尿中(2-Py + 4-Py)/MNA

栄養状態に偏りが生じると、ニコチンアミド異化代謝産物である MNA から 4-Py に流れるための酵素の働きが悪くなり、4-Py の排泄量が減少してくる¹⁶⁾。故に、尿中の(2-Py + 4-Py)/MNA 比は栄養状態を知る上でよい指標となる。尿中の(2-Py + 4-Py)/MNA 比は Control 群と比べ0.1%と0.5%添加群では差異は認められなかったが、0.8%と1.0%添加群では有意に減少した(図8)。これらを指標にすると、0.8%添加群を LOAEL、0.5%添加群を NOAEL とした。0.8%添加群を LOAEL、0.5%添加群を NOAEL とする。

LOAEL を0.5%添加群、NOAEL を0.1%添加群とする。

以上のことから、ラットにおいて、PN-HCl 代謝能は、0.1%添加群において、飽和に達していることが分かった。そして、LOAEL を0.5%添加群、NOAEL を0.1%添加群とする。0.5%添加群の飼育最終日の平均体重は211.8gであり、PN-HCl の摂取量の平均が75.63mg/日であったため、{75.63 /

211.8×1000= 357.1 mg/kg weight /日} より、
 LOAEL は 357.1 mg/kg weight /日とする。また、
 0.1%添加群の飼育最終日の平均体重は
 235.6g であり、PN-HCl の摂取量の平均が
 16.98 mg / 日であったため、{235.6/16.98 ×
 1000 = 72.1 mg/kg weight/日} より、NOAEL
 は 72.1 mg/kg weight/日とする。

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. Schaumburg H, Kaplan J, Windebank A, Vick N, Rasmus S, Pleasure D and Brown MJ. Sensory neuropathy from pyridoxine abuse. *N Eng J Med*, 309, 445-8 (1985).
2. 日本人の食事摂取基準（2005年版）
 （日本人の栄養所要量－食事摂取基準－策定検討会報告書），厚生労働省 平成 16 年 10 月
3. Del Tredici AM, Bernstein AL, Chinn K.

Carpal tunnel syndrome and vitamin B₆ therapy. In: Reynolds RD, Leklem JE, (eds). Vitamin B₆: Its role in health and disease. Current topics in nutrition and disease. Alan R. Liss, New York. 1985: 459-62.

4. Kimura, M Fujita and T Itokawa, Y Liquid chromatographic determination of the total thiamin content of blood. *Chin.Chem.*, 28,1 9-31(1982).
5. Roughead Z, K., McCormick, and D.B. Urinary riboflavin and its metabolites: effects of riboflavin supplementation in healthy residents of rural Georgia (USA). *Eur. J. Clin. Nutr.*, 45, 299-307(1991).
6. Shibata K, Kawada T, Iwai K. Simultaneous micro-determination of nicotinamide and its major metabolites, N¹-methyl-2-pyridone-5-carboxamide and N¹-methyl-4-pyridone-3-carboxamide, by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatog.*, 424, 23-28 (1988).
7. Shibata K. Ultramicro-determination of N¹-methylnicotinamide in urine by high-performance liquid chromatography. *Vitamins(Japan)*, 61,599-604 (1987).
8. Watanabe F, Abe K, Katsura H, Takenaka S, Mazumder ZH, Yamazi R, Ebara S, Fujita T, Tanimori S, Kirihata M and Nakano Y. Biological activity of hydroxo-vitamin B₁₂ degradation product formed during microwave heating. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 5177-5180 (1998).
9. Herbert V. Minimal daily adult folate requirement. *Arch. Int. Med.*, 110, 649-653 (1962).

- Agar plate method using *Lactobacillus plantarum* for biotin determination in serum and urine. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **40**, 491-498 (1994).
11. Gregory, J. F., Kirk, J. R., Determination of urinary 4-pyridoxic acid using high performance liquid chromatography. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 879-883 (1979).
 12. Skeggs HR and Wright LD. The use of *Lactobacillus arabinosus* in the microbiological determination of pantothenic acid. *J Biol Chem*, **156**, 21-26 (1994).
 13. Shigeoka S, Yokota A, Nakano Y and Kitaoka S. The effect of illumination on the L-ascorbic acid content in *Euglena gracilis* z. *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 2053-2058 (1979).
 14. 岩井和夫：マイクロバイオアッセイ，基礎分析化学講座 29, 日本分析化学会編，共立出版，東京，(1965).
 15. Association of Official Analytical Chemists: Official Methods of Analysis, 15th ed., (AOAC, Inc., Arlington, VA USA, 1089 (1990).
 16. 柴田克己，ニコチンアミドの異化代謝産物、*N*¹-メチルニコチンアミドとそのピリドン体の排泄量比とアミノ酸栄養との関係，*ビタミン*，**64**, 1-18 (1990).

表 1. 飼料組成(%)

	Control diet	Test diet			
		0.1%群	0.5%群	0.8%群	1.0%群
Casein	20	20	20	20	20
L-Methionine	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Gelatinized cornstarch	46.9	46.9	46.9	46.9	46.9
Sucrose	23.4	23.4	23.4	23.4	23.4
Corn oil	5	5	5	5	5
Mineral mixture(AIN-93M MX)	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture(AIN93-VX)	1	1	1	1	1
PN-HCl (mg/上記飼料 100g)	0.6	100.6	500.6	800.6	1000.6
PN-HCl 添加量(%)	0	0.1	0.5	0.8	1.0

表 2. PN-HCl の大量投与がラットの臓器重量におよぼす影響(g/100g body weight)

	control 群	0.1%添加群	0.5%添加群	0.8%添加群	1.0%添加群
脳	0.51 ± 0.03 ^a	0.52 ± 0.01 ^{a,b}	0.59 ± 0.03 ^{a,c}	0.61 ± 0.01 ^{b,c}	0.66 ± 0.02 ^c
心臓	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.36 ± 0.01
腎臓	0.76 ± 0.00 ^a	0.77 ± 0.02 ^a	0.79 ± 0.01 ^a	0.85 ± 0.01 ^b	0.89 ± 0.01 ^b
肺	0.63 ± 0.05 ^a	0.52 ± 0.01 ^b	0.64 ± 0.02 ^a	0.62 ± 0.01 ^a	0.71 ± 0.02 ^a
脾臓	0.35 ± 0.05 ^{a,b}	0.31 ± 0.01 ^a	0.35 ± 0.01 ^{a,b}	0.41 ± 0.02 ^{a,b}	0.43 ± 0.02 ^b
精巣	0.97 ± 0.02	0.97 ± 0.05	1.02 ± 0.02	1.04 ± 0.04	1.07 ± 0.03
肝臓	4.83 ± 0.12 ^a	5.06 ± 0.08 ^a	5.84 ± 0.12 ^b	6.96 ± 0.14 ^c	7.31 ± 0.08 ^c

数値は平均値±SEM (n=4)で示した.

横列間の異なるアルファベット間で有意差有り (p<0.05) .

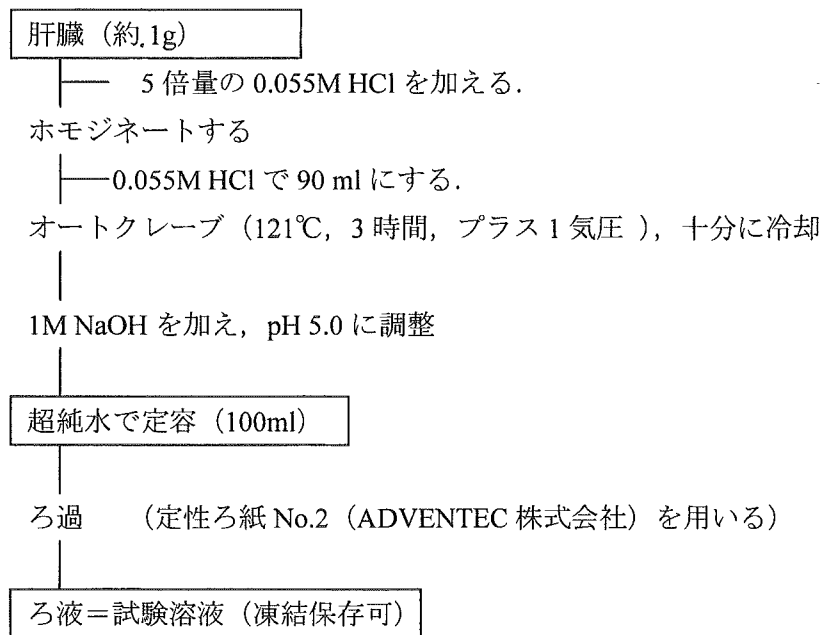


図 1. ビタミン B₆ 測定用の試験溶液の作成

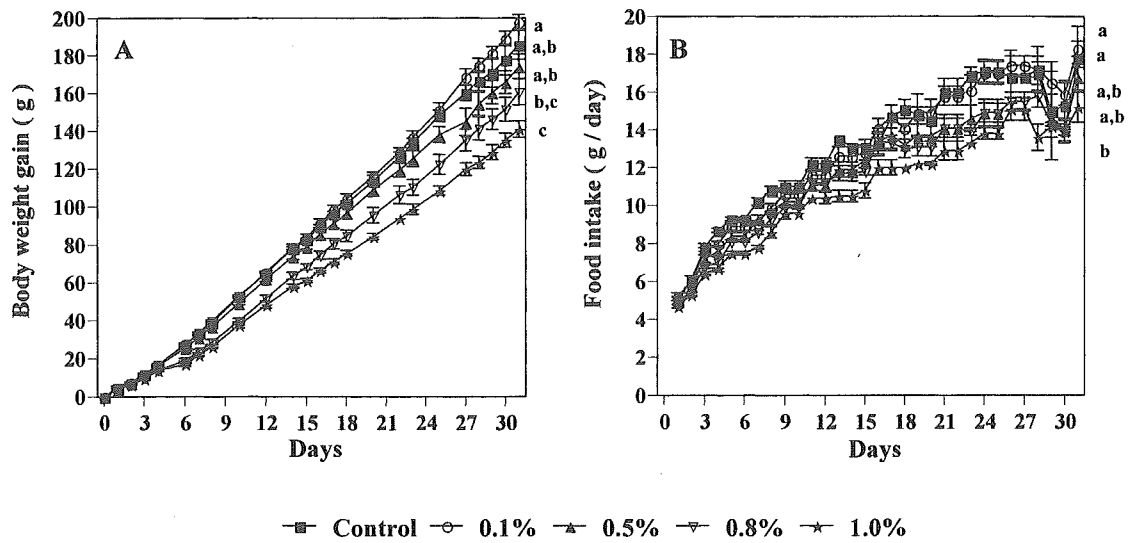


図2. PN-HClの大量投与が幼若ラットの体重増加量(A)と飼料摂取量(B)におよぼす影響。数値は平均値±SEM (n=4)で示した。異なるアルファベット間で有意差有り (p<0.05)。

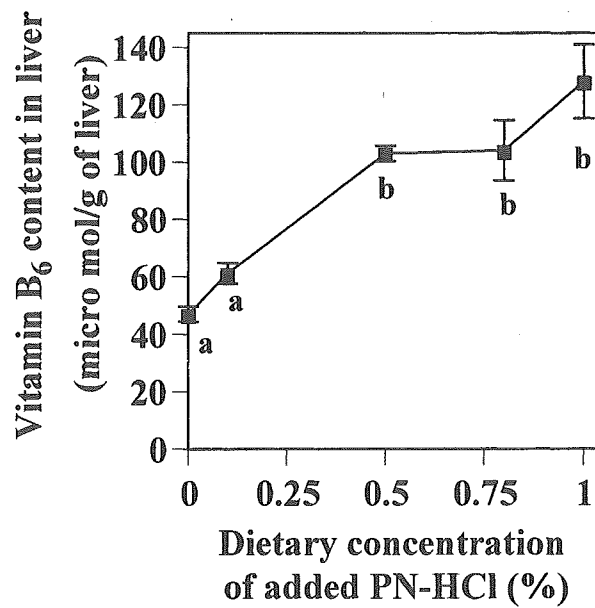


図3. PN-HClの大量投与が幼若ラットの肝臓中B₆量におよぼす影響。数値は平均値±SEM (n=4)で示した。異なるアルファベット間で有意差有り (p<0.05)。

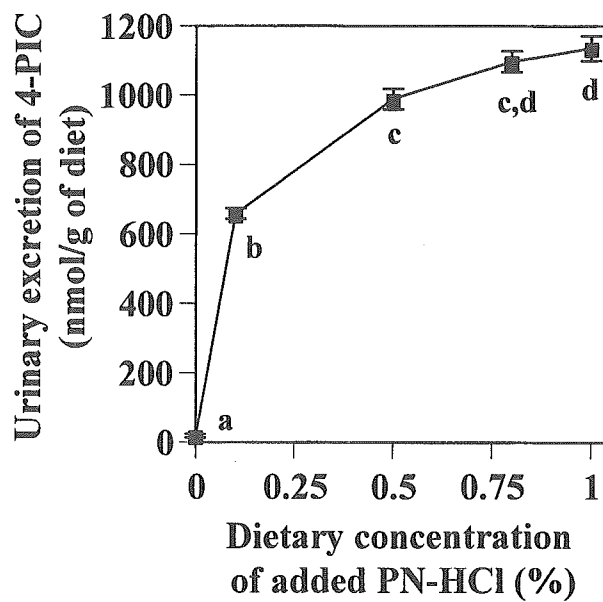


図4 . PN-HCl の大量投与が幼若ラットの尿中 4-PIC 排泄量におよぼす影響.
 数値は平均値±SEM (n=4)で示した. 異なるアルファベット間で有意差有り (p<0.05) .

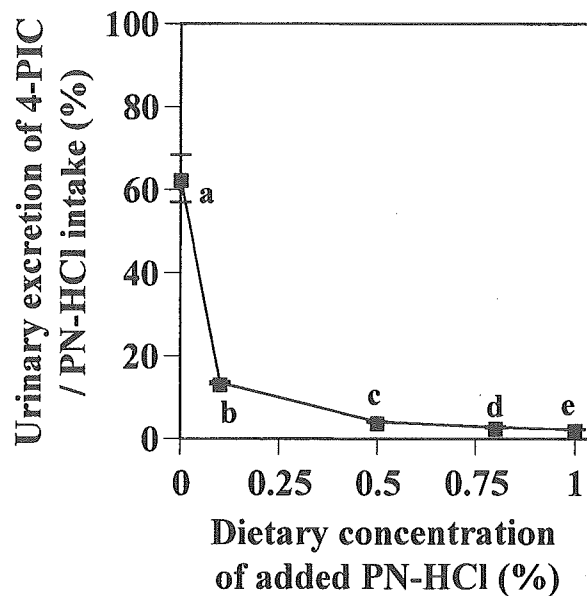
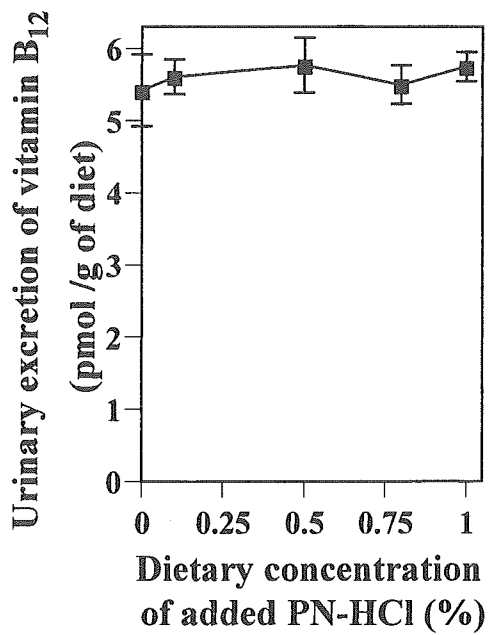
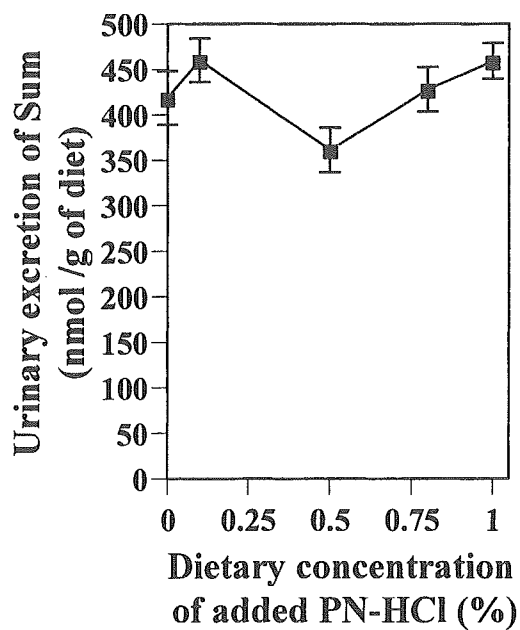
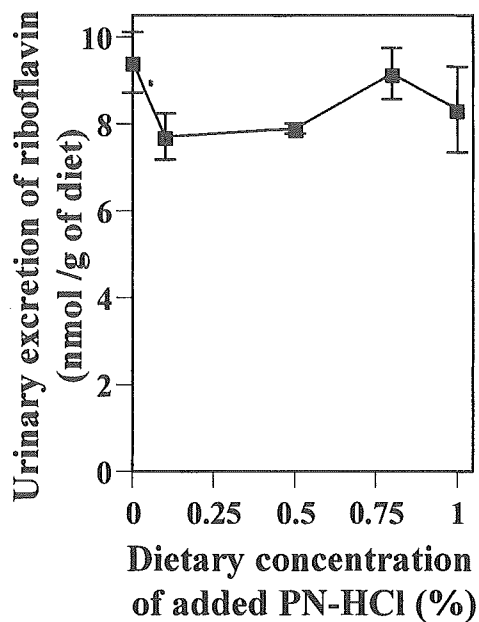
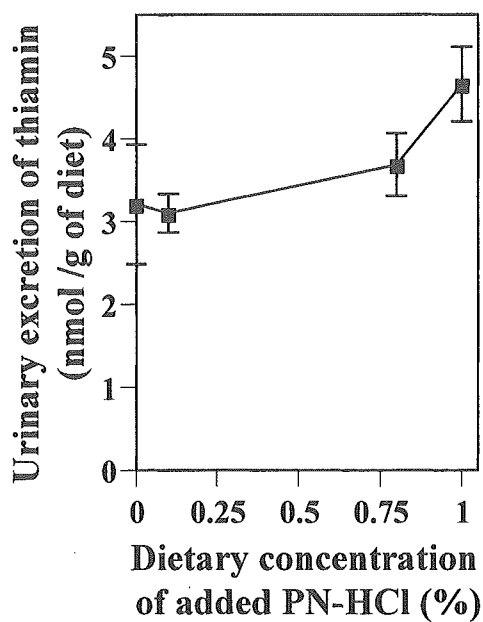


図5 . PN-HCl の大量投与が幼若ラットの尿中 4-PIC 排泄率におよぼす影響.
 数値は平均値±SEM (n=4)で示した. 異なるアルファベット間で有意差有り (p<0.05) .



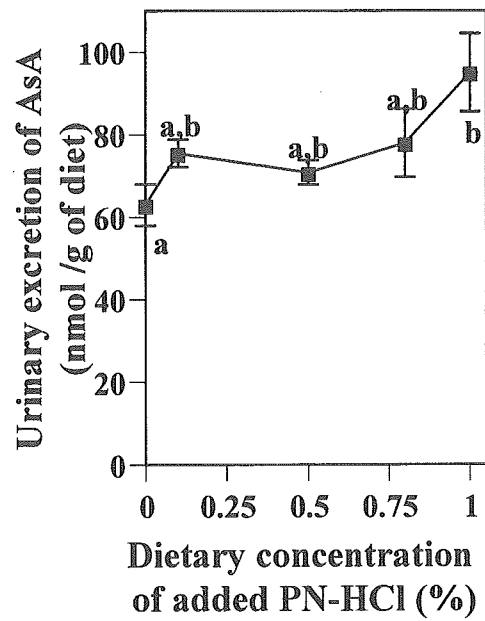
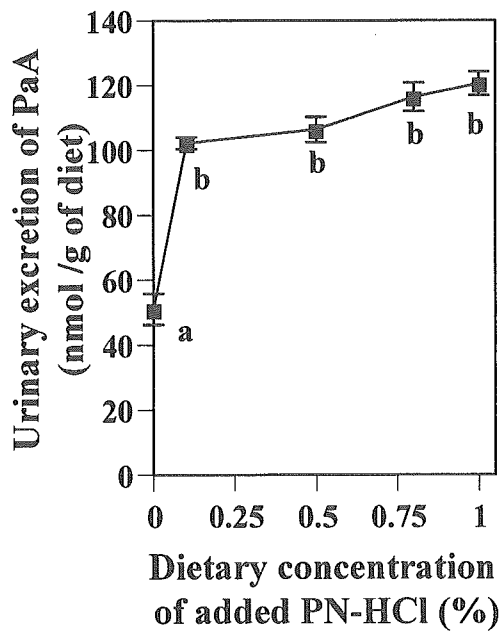
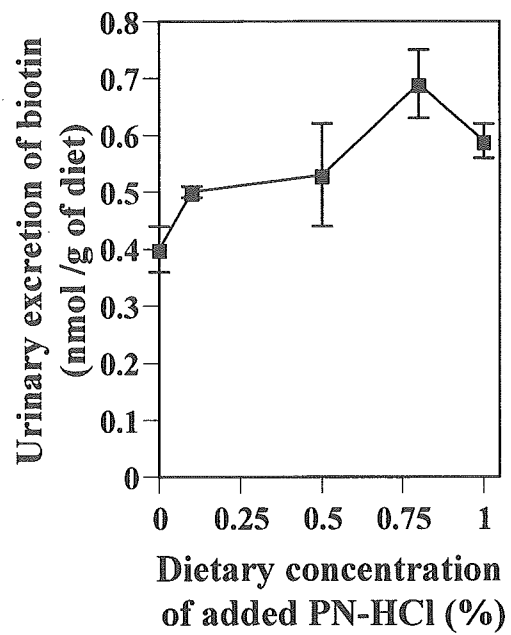
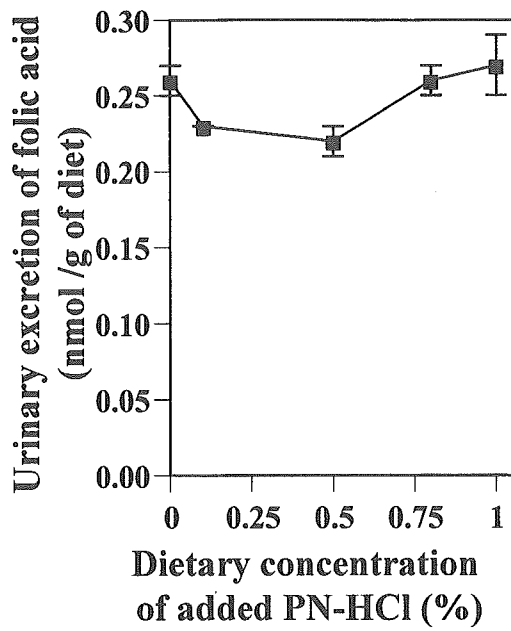


図6. PN-HClの大量投与がB群ビタミン尿中排泄量に及ぼす影響

数値は平均値±SEM (n=4)で示した。異なるアルファベット間で有意差有り (p<0.05)。

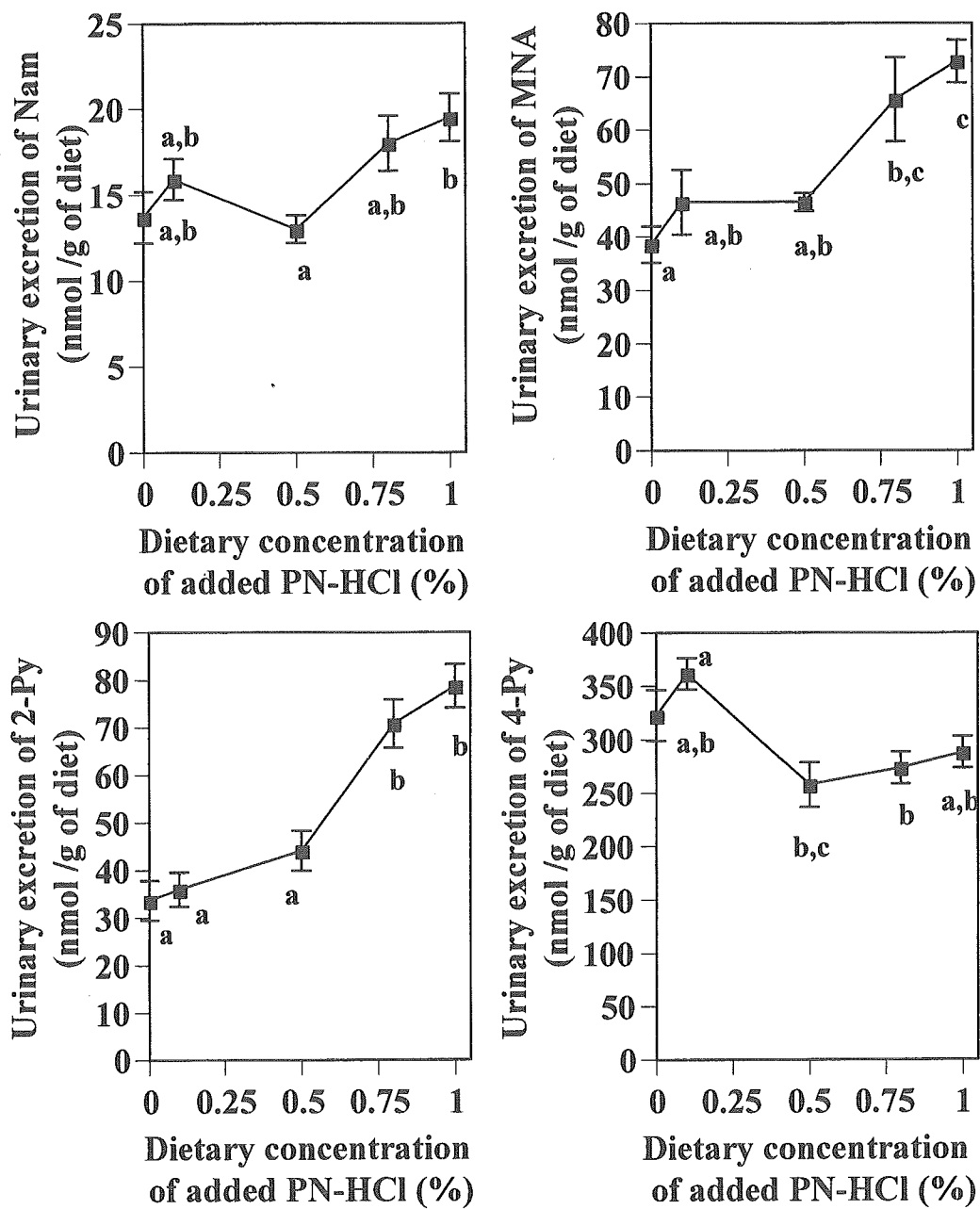


図7. PN-HClの大量投与が尿中ナイアシン代謝産物量に及ぼす影響
 数値は平均値±SEM (n=4)で示した。異なるアルファベット間で有意差有り (p<0.05)。

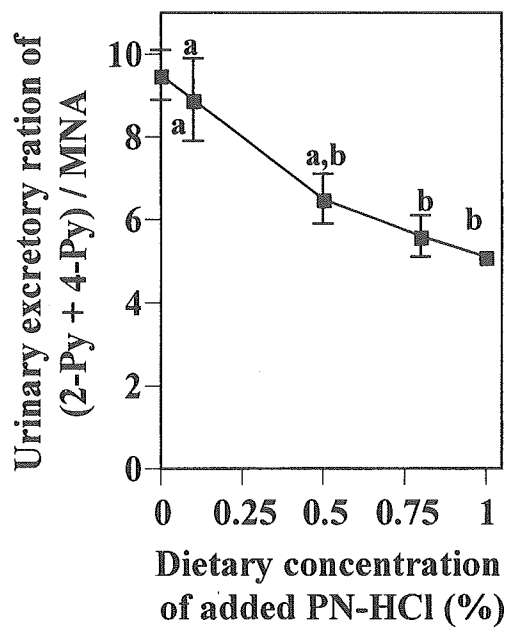


図 8. PN-HCl の大量投与が尿中 (2-Py+4-Py) / MNA 比に及ぼす影響
 数値は平均値±SEM (n=4)で示した。
 異なるアルファベット間で有意差有り

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

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—

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

水溶性ビタミンの 1 歳以上の食事摂取基準は、成人の推定平均必要量（EAR）からの外挿で算出されている。この外挿方法は、 $[\text{求めたい年齢階級の EAR} = \text{EAR の参照値} \times (\text{求めたい年齢階級の基準体重} / \text{EAR の参照値の基準体重})^{0.75} \times (1 + \text{成長因子})]$ である。この外挿方法が妥当かどうかの検証のひとつとして 3~5 歳の幼児の 24 時間尿中の水溶性ビタミンの排泄量を測定し、その値を体表面積当たりで計算し、既報の成人の相当値と比較した。例数が少ないので、確定的な判断はできないが、今回の件かから判断する限り、ビタミン B₂、ナイアシン、ビタミン B₁₂、ビオチンは外挿方法が妥当と判断された。一方、ビタミン B₁、B₆、パントテン酸、葉酸およびビタミン C は妥当ではないと判断された。今後、さらに例数を増やし、検討を加える。

A. 目的

成人の食事摂取基準¹⁾の外挿により算出している年齢層のうち、3~5歳の幼児の24時間尿の採取を行い、尿中の水溶性ビタミン排泄量を測定し、その値と既報の成人の相当値²⁾とを体表面積あたりで求めた値で比較することにより、体表面積比で算出する食事摂取基準の外挿方法が妥当か否かの検証を行なった。

B. 実験方法

1. 被験者

3~5歳の幼児を持つ地域活動栄養士協議会の会員である母親に調査の目的を説明し、協力の了解を得られた8名(男6名, 女2名)で尿サンプル数は全部で37例であった。調査当日は、3~5歳児の食事摂取基準どおりの食事をしてもらうようお願いした。

尿採取時点で4.7歳, 身長は 102.4 ± 5.4 cm (平均 \pm SD), 体重は 16.3 ± 1.8 kgであった。どの被験者も身長体重ともに成長曲線の $+2$ SDと -2 SDの間にあり、皆が順調に身体的に発育していた。

2. 尿採取

尿は、調査日の起床すぐの尿は捨て、第2回目の尿から次の日の起床後すぐの第1回目の尿までを遮光のボトルに集め、保冷剤入りの氷詰めクーラーボックスに回収するまで保管した。

回収後、尿量を測定したのちにビタミンごとに前処理を行い、分注し、分析まで -20°C で冷凍保存した。

3. 分析

尿中のチアミン量は、木村らの方法³⁾で測定した。

尿中リボフラビン量は、リボフラビン自体の発する蛍光を蛍光検出器付きのHPLCで測定した⁴⁾。

ニコチンアミドの異化代謝産物である尿中 N^1 -メチルニコチンアミド(MNA)は、アセトフェノンと縮合させることにより蛍光物質に変え、HPLC法⁵⁾で測定した。また、ニコチンアミドの別の異化代謝産物の尿中 N^1 -メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド(2-Py), N^1 -メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド(4-Py)は、アルカリ性ジエチルエーテルで抽出し、乾固させた抽出物を水に溶解し、その液をHPLCで測定した⁶⁾。

ビタミンB6の異化代謝産物である尿中4-ピリドキシニン酸(4-PIC)は、4-PIC自体が発する蛍光を蛍光検出器付きのHPLCで測定した⁷⁾。

尿中ビタミンB₁₂は*Lactobacillus delbrueckii* subsp *lactis* (*L. leichimannii*) ATCC 7830を用いた微生物学的定量法にて測定した⁸⁾。

尿中のパントテン酸は乳酸菌*Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014)を用いた微生物学的定量法にて測定した⁹⁾。

尿中の葉酸は乳酸菌*Lactobacillus casei* ATCC 2773を用いた微生物定量法を用いて測定した¹⁰⁾。

尿中のビオチンはビオチン要求株である乳酸菌(*Lactobacillus plantarum* ATCC 8014)を用いた微生物学的定量法¹¹⁾に従って測定した。

尿中アスコルビン酸は、メタりん酸酸性下で保存した尿をHPLCで測定した¹²⁾。

4. 統計処理

統計学的解析は統計ソフト Stat View 5.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を用いた。ビタミンごとにOne-factor factorial ANOVAで有意差があったものについてはGames-Howell法により多重比較検定を行なった。

C. 結果と考察

表1に各水溶性ビタミンの尿中への排泄量の平均値 \pm SD, 最低値, 最高値, 中央値を示した。回収できた37例のうち取りこぼしのあ

ったものなどを除く、28例について男女一緒に解析を行った。図1には、尿中排泄量（1日尿当たりの値）の分布図を示した。ビタミンB1の最低値が67 nmol/day、最高値が1065 nmol/dayと非常に幅が広く、ビタミンB2も61 nmol/dayと956 nmol/dayと幅が広がった。ビタミンB12（10→180 pmol/day）、ビタミンC（11→820 μmol/day）も幅が広がった。

既報の成人男、成人女の尿中排泄量²⁾と今回の幼児の尿中排泄量（1日尿当たりの値）の3つを図2に示した。また、図3には成人男、成人女、幼児1日あたりの尿中排泄量を、それぞれビタミンごとに体表面積当たりで計算して表した。

体表面積当たりでの算出方法は、各個人別に1日あたりの尿中排泄量を、デュボア式を用いて計算した体表面積で割った。

デュボア式体表面積算出式は

$$\text{体重(kg)}^{0.425} \times \text{身長(cm)}^{0.725} \times 0.007184 = \text{ ______ m}^2$$

である。

計算例を以下に示す。

例) 体重63.5 kg、身長171 cmの男の場合の体表面積は

$$63.5^{0.425} \times 171^{0.725} \times 0.007184 = 1.744(\text{m}^2)$$

となる。

チアミンの1日当たり排泄量が600 nmol/dayとすると体表面積当たりの排泄量は

$$600(\text{nmol}) / 1.744(\text{m}^2) = 344(\text{nmol} / \text{m}^2)$$

となる。

ビタミンごとに1日当たり尿中排泄量と体表面積当たり尿中排泄量の統計学的解析を行った。その結果、1日当たりではビタミンB1とビタミンCでは有意な差が見られず、他のビタミンでは成人男女と幼児、あるいは成人女と幼児との間に有意な差が見られた。

体表面積当たりでは、有意な差がなかったのはビタミンB2、ナイアシン、ビタミンB12およびビオチンであった。これらは1日当たりでは差が見られたが、体表面積当たりでは差が見られなくなり、体表面積比で算出する外挿方法が妥当であるのではないかと考えられた。

しかし、ビタミンB1、B6、パントテン酸、葉酸およびビタミンCでは、成人男女、あるいは成人女と幼児との間に有意な差が見られた。つまり、これらのビタミンは体表面積当たりで算出する外挿方法は妥当ではないと考えられた。

このように、尿中排泄量を体表面積当たりで表すという手法で食事摂取基準の外挿方法の妥当性を検討した場合、その外挿方法はすべてのビタミンに対して当てはまるものではないことがわかった。妥当でなかったビタミンについては、今後、適当な外挿方法を検討する必要がある。

D. 健康危険情報

特記する情報は無い。

E. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 口頭発表
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. 日本人の食事摂取基準 (2005 年版) (日本人の栄養所要量—食事摂取基準—策定検討会報告書) 平成 16 年 10 月 厚生労働省
2. Shibata K, Fukuwatari T, Ohta M, Okamoto H, Watanabe T, Fukui T, Nishimuta M, Totani M, Kimura M, Ohishi N, Nakashima M, Watanabe F, Miyamoto E, Shigeoka S, Takeda T, Murakami M, Ihara H and Hashizume N, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **51**, 319-328 (2005).
3. Kimura M, Fujita T and Itokawa Y. Liquid chromatographic determination of total thiamin content of blood. *Clin Chem* **28**, 29-31, (1982).
4. Ohkawa H, Ohishi N and Yagi K. New metabolites of riboflavin appear in human urine. *J Biol. Chem.*, **258**, 5623-5628, (1983).
5. Shibata K, Ultramicro-determination of *N*¹-methylnicotinamide in urine by high-performance liquid chromatography. *Vitamins (Japan)*, **61**, 599-604, (1987).
6. Shibata K, Kawada T and Iwai K. Simultaneous micro-determination of nicotinamide and its major metabolites, *N*¹-methyl-2-pyridone-5-carboxamide and *N*¹-methyl-4-pyridone-3-carboxamide, by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, **424**, 23-28, (1988).
7. Gregory JF and Kirk JR. Determination of urinary 4-pyridoxic acid using high performance liquid chromatography. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 879-883, (1979).
8. Watanabe F, Abe K, Katsura H, Takenaka S, Mazumder ZH, Yamaji R, Ebara S, Fujita T, Tanimori S, Kirihata M and Nakano Y. Biological activity of hydroxo-vitamin B₁₂ degradation product formed during microwave heating. *J Agric. Food. Chem.*, **46**, 5177-5180, (1998).
9. Skeggs HR and Wright LD. The use of *Lactobacillus arabinosus* in the microbiological determination of pantothenic acid. *J Biol. Chem.*, **156**, 21-26, (1944).
10. Tamura T, Microbiological assay of folates. In *Folic Acid Metabolism in Health and Disease. Contemporary Issues in Clinical Nutrition*, vol. 13 (Picciano MF, Stolstad ELR, and Gregory JF, III, eds) pp. 121-137, Wiley-Liss, New York, USA, 1990.
11. Fukui T, Iinura K, Oizumi J and Izumi Y Agar plate method using *Lactobacillus plantarum* for biotin determination in serum and urine. *J Nutr Sci. Vitaminol*, **40**, 491-498, (1994).
12. Kishida K, Nishimoto Y, and Kojo S, Specific determination of ascorbic acid with chemical derivatization and high-performance liquid chromatography. *Anal. Chem.*, **64**, 1505-1507 (1992).

表 1. 幼児の尿中への水溶性ビタミン排泄量

(n = 28)	Mean	SD	Minimum	Maximum	Median
Thiamin (nmol / day)	436	257	67	1065	372
Riboflavin (nmol / day)	355	222	61	956	287
MNA+2-Py+4-Py (μ mol / day)	43	20	17	89	38
4-PIC (μ mol / day)	2.06	0.82	0.55	3.95	1.77
Cyanocobalamin (pmol / day)	54	43	10	180	39
Pantothenic acid (μ mol / day)	11.8	4.2	5.0	22.2	10.9
Folates (nmol / day)	16.70	3.92	7.80	27.19	16.22
Biotin (nmol / day)	31.5	18.5	5.7	82.2	28.1
Ascorbic acid (μ mol / day)	179	201	11	820	109

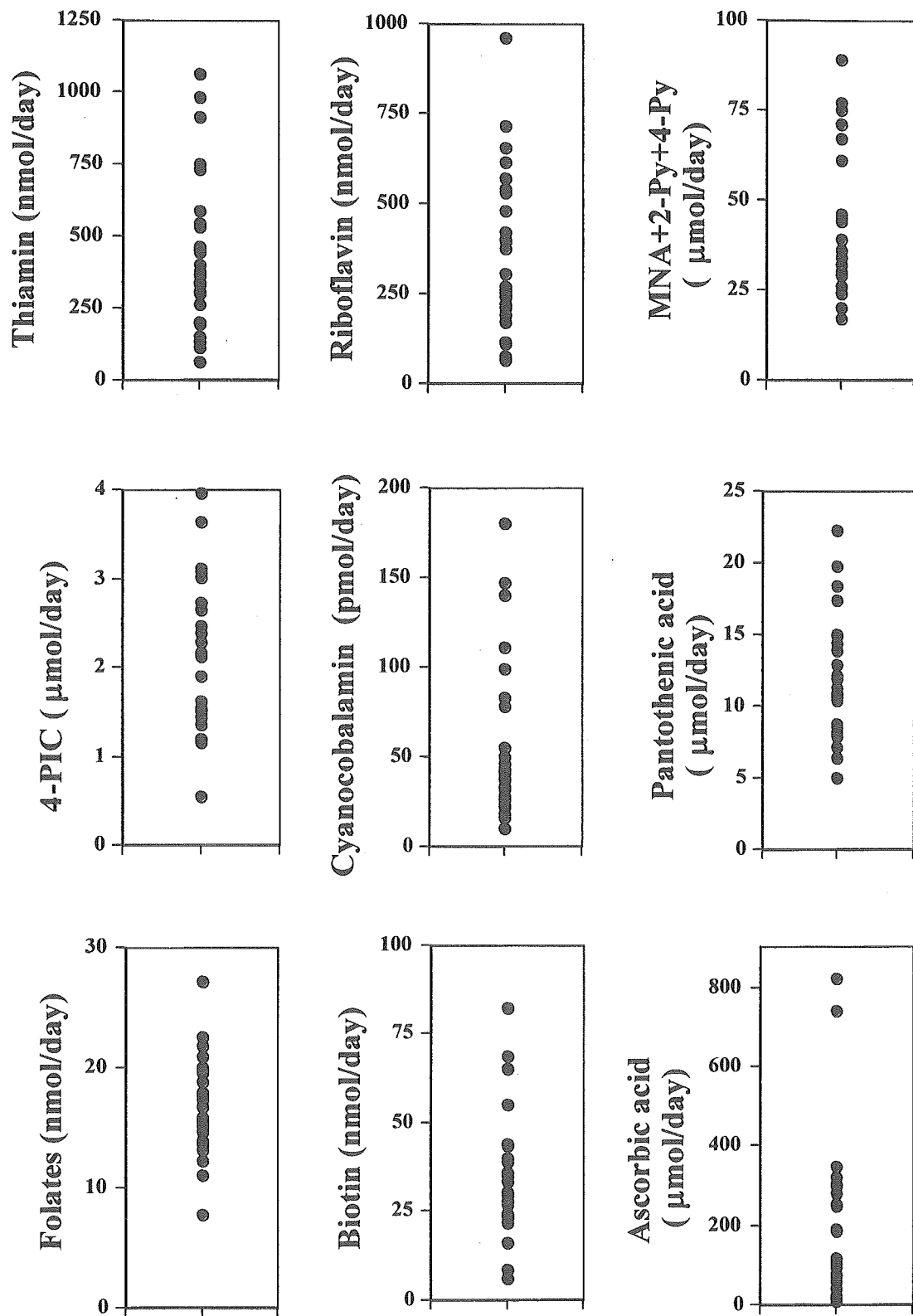


図1. 幼児の1日尿中への水溶性ビタミン排泄量

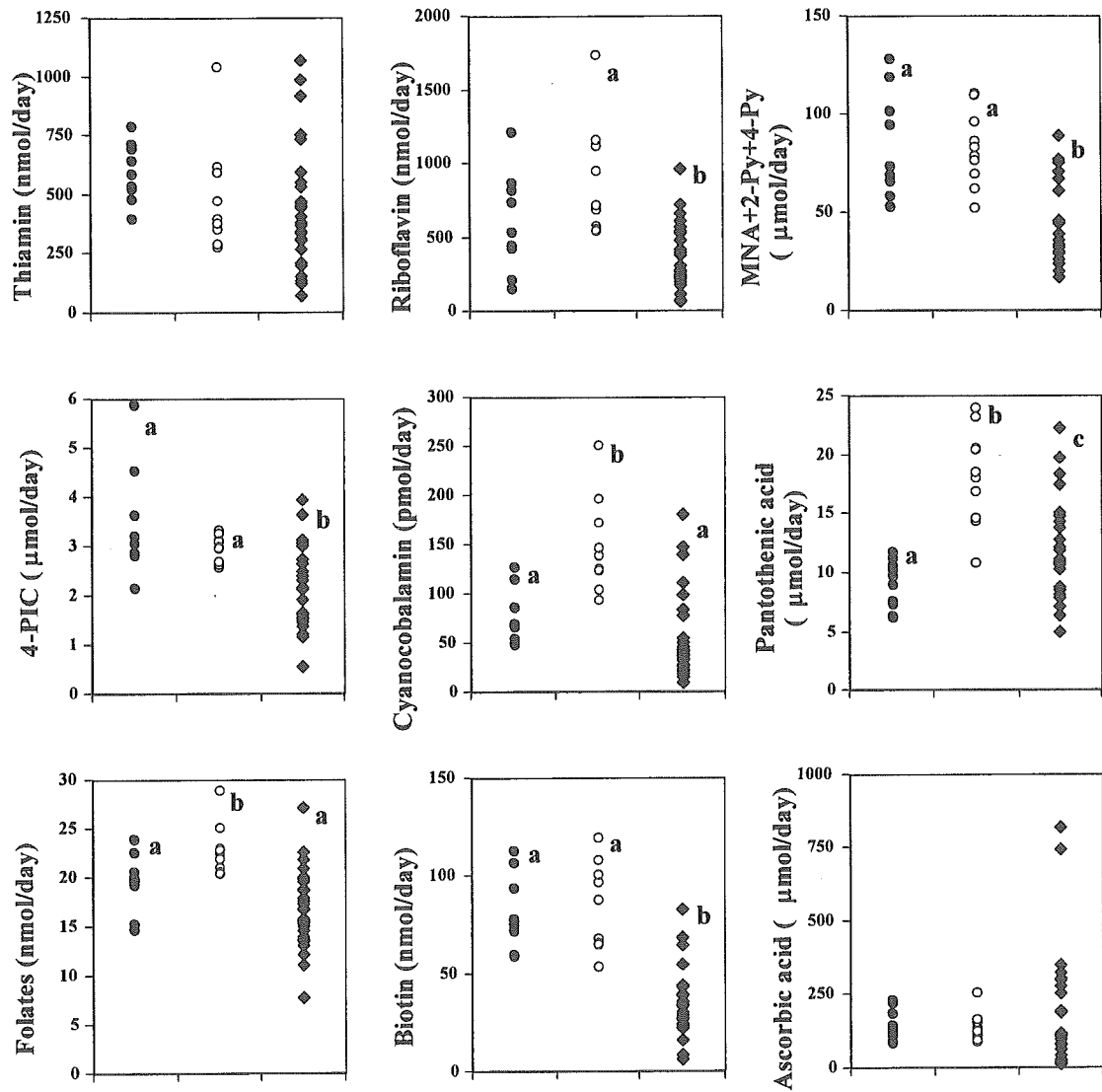


図2. 成人と幼児の1日あたりの尿中排泄量

(● : 成人男, n = 10, ○ : 成人女, n = 10, ◆ : 幼児, n = 28. 異なるアルファベット間で $p < 0.05$ の有意差あり)