

(1) ビタミン B₆ の食事摂取基準と関連した基本事項について

1) ビタミン B₆ 化合物について

ビタミン B₆ 関連化合物はピリドキシン、ピリドキサミン、ピリドキサルおよびそれらのリン酸型であるピリドキシン 5'-リン酸 (PNP)、ピリドサミン 5'-リン酸 (PMP) およびピリドサル 5'-リン酸 (PLP) の 6 つが有効型である。ビタミン B₆ の食事摂取基準の数値は、五訂日本食品標準成分表¹⁾との整合性を重要視して、ピリドキシン相当量で策定した。植物にはそれ以外にピリドキシン-5'-β-グルコシド (PNG) が含まれており、後述のように一部は加水分解を受けてピリドキシンとして利用される。

2) ビタミン B₆ 化合物の消化・吸収とその後の動態

動物性食品中に含まれるビタミン B₆ の大部分は、リン酸化型である PLP や PMP である。これらは、小腸粘膜のホスファターゼにより遊離の PL、PM となり吸収される。一方、植物に含まれる PN の糖複合体である PNG は、消化管内で一部が加水分解を受け、PN を遊離する。加水分解を受けない PNG も吸収されるが殆どが尿中へ排泄される。これら遊離の B₆ ビタミンは吸収された後 PL キナーゼによるリン酸化を受け PMP および PNP となる。PNP と PMP は、さらに PNP/PMP オキシダーゼにより PLP に変換される。この反応にはビタミン B₂ が関与している。PLP は血液中には、アルブミンに結合しておりホスファターゼによる脱リン酸化を免れているが余剰分について

は脱リン酸化を受け PL となる。PL はアルデヒドオキシダーゼにより 4'-ピリドキシン酸 (PIC) に変換される。PIC は、ビタミン B₆ 効力を持たず、尿中へ排泄される。加水分解を受けなかった PNG はそのままの形で吸収されるが、生体内での加水分解は僅かであり、尿中へもそのままの形で排泄される。PNG の生体利用率は、人においては 50% と見積もられている²⁾。平均的な混合食におけるビタミン B₆ の生体利用率は 75% と報告されており、この値を生体利用率として用いた³⁾。

(2) 食事摂取基準策定における基本的な考え方および参考となる数値の根拠

1) 母乳中の含量

母乳中のビタミン B₆ 含量については文献により異なり、Trace から 0.33 mg/L に及んでいる。五訂日本食品成分表では Trace となっている。年代順に見ると West と Kirksey は、2.5 mg/日以下のビタミン B₆ 摂取をしている母親の母乳中のビタミン B₆ 含量は 0.13 mg/L と報告しており⁴⁾、Thomas らは、0.204 あるいは 0.21 mg/L と報告している^{5,6)}。その後、Borschel らは 0.11~0.33 mg/L⁷⁾、Andon らは、0.124 mg/L と報告している⁸⁾。これらは、バイオアッセイによる分析に基づく結果である。その後、HPLC の普及に伴って、HPLC による分析結果についても報告されるようになった。Morrison と Driskell は、0.162 mg/L と報告している⁹⁾。伊佐らは、柘植の方法¹⁰⁾により、0.25 mg/L と求めており、日本人の食事摂取基準 2005 年版では、この値を成熟乳のビタミン B₆ 含量として採用し

た。

2) 推定平均必要量 (EAR) 算定のための科学的根拠

体内組織のビタミンB₆貯蔵量を良く反映するビタミンB₆栄養の指標としては血漿 PLP が使われている¹¹⁾。PLP は、アミノ酸代謝に関与するビタミンB₆の補酵素型であり、神経伝達物質のような生理活性アミンの代謝にも関わっている。従って、その栄養状態が低下すると種々の障害が顕在化する。ビタミンB₆欠乏により脳波パターンに異常が見られた若い女性では血漿 PLP は 9 nmol/L に低下していたという報告¹²⁾、ビタミンB₆依存性痙攣を経験し、母乳で育てられた乳児の血漿 PLP は 15 nmol/L であったという報告¹³⁾から、栄養指標としての血漿 PLP 濃度は少なくとも 20 nmol/L¹⁴⁾、できれば 30 nmol/L¹⁵⁾を維持すべきである。一方、たんぱく質摂取量が増加するとビタミンB₆の必要量が増す¹⁶⁾。血漿 PLP は、たんぱく質当たりの添加ピリドキシン摂取レベルと良く相関することから、ビタミンB₆必要量は、血漿 PLP を 30 nmol/L に保つピリドキシン摂取レベルである 0.014 mg PN/g たんぱく質とし、生体利用率 75%³⁾を加味して成人におけるビタミンB₆の EAR を 0.019 mg PN/g たんぱく質とした。また RDA は、EAR × 1.2 により算出した。

3) UL 算定のための科学的根拠

食品起源のビタミンB₆の多量摂取と関連した悪影響についての報告はない。多くの症状に対してサプリメントとして投与され

たピリドキシンについて感覚神経障害がある。手根管症候群の患者 24 人にピリドキシン 100~300 mg/日を 4 ヶ月間投与したが、特に悪影響は認められなかったという報告¹⁷⁾から健康障害非発現量 (NOAEL) を 300 mg/日とした。この NOAEL は慢性摂取によるものではないこと、健常人により得られたデータではないことから不確定因子を 5 とし成人 (18 歳以上) における上限量 (UL) をピリドキシンとして 60 mg/日とした。

4) 日本人の食事摂取基準 2005 年版の概要

0~5 ヶ月乳児については、母乳を適正量摂取している限り正常に発育することから、目安量 (AI) として設定した。AI は、母乳中のビタミンB₆含量と哺乳量から算出した。成熟乳ビタミンB₆含量(0.25 mg/L)×1日の哺乳量 (0.78 L) から AI は 0.20 mg/day と算出した。6~11 ヶ月乳児については、0~5 ヶ月乳児の AI 値(0.20 mg/day)に体表面積比をかけた数値 0.25 mg/day (0~5 ヶ月乳児の値から外挿した値) と 18~29 歳の推奨量 (RDA) から外挿した値 0.39 mg/L の二つを求め、その平均値を平滑化し 0.33 mg/L とした。基本的にビタミンB₆の RDA は、AER × 1.2 である 0.023 mg/g たんぱく質をもとに 1 日当たりの値は各年齢区分のたんぱく質食事摂取基準の RDA を掛けて求めた。高齢者については、血漿 PLP の低下が指摘されているが、現時点では不明な点が多いことから、成人 (18~29 歳) の値を適用した。妊婦については、血漿 PLP の低下が報告されているが妊婦に特有の生理状態

によって生じるものと考えられている¹⁸⁾。妊娠期における要求量を満たすためのピリドキシン付加量として0.5 mg/日を採用した¹⁶⁾。生体利用率を考慮してビタミンB₆付加量は0.7 mg/日とし、RDAは1.2を掛けた0.8 mg/日とした。授乳婦については、母乳として与える量のビタミンB₆を付加する必要があると考え0~5ヶ月乳児のAIである0.2 mgに生体利用率75%を加味して授乳婦の付加量(AER)を求め、1.2を掛けてRDAを算出した。

(3) ビタミンB₆の食事摂取基準に関連する課題

ビタミンB₆は主にたんぱく質代謝に関わるビタミンであり、血漿PLP濃度を維持するためにはたんぱく質摂取量当たりでピリドキシン摂取量を算定している。水溶性ビタミンはそれぞれの機能が独立しているとはいえ、欠乏症のような現象は複合的な結果である。したがって、単独の影響以外に複合的な要因を前提とした解釈も必要になってくる。ビタミンB₆の代謝には、ビタミンB₂が関与しているが、ラットでの実験では、ビタミンB₂栄養状態が低下すると肝臓におけるPMPのPLPへの変換に影響がでることを指摘した¹⁹⁾。一方、生理状態がビタミンB₆栄養状態に影響することを示した実験がある。ひとつは、糖尿病ラットに同量のビタミンB₆を投与した場合にはビタミンB₆不足の状態を呈し、糖尿病によるビタミンB₆必要量の増加するというものである²⁰⁾。また、閉経前と閉経後の婦人におけるビタミンB₆栄養状態について調べた報告がある。

閉経の前後で血漿PLPとPL、赤血球PLP、PMPとPLは正常範囲で差はなかった。閉経後の血漿と赤血球の4-PIC濃度は閉経前の婦人に比べて高かったが、ビタミンB₆の摂取量が前者では有意に高く、その反映と考えられたが、血漿のエストラジオール濃度とは逆の相関であった。一方、尿中4-PIC排泄に差はなかった。結論として、閉経は必ずしもビタミンB₆栄養状態の低下と関連しないとしている²¹⁾。老年期における食事摂取基準については、十分な知見はない。妊婦への付加量や授乳婦への付加量についても同様である。特に日本人のデータはまだ不十分である。

ビタミンB₆栄養状態は脂質摂取との関係も興味深い。血漿ホモシステインは動脈硬化の一因であるが、ビタミンB₆欠乏状態における血漿ホモシステインは、多価不飽和脂肪酸含量が高い場合に著しく高くなる²²⁾。一方、適度に多めのビタミンB₆摂取は結腸細胞の増殖に対して抑制効果を示し、高脂肪摂取はビタミンB₆摂取による増殖抑制を増強する効果を持つ²³⁾。また、グリケーションに対してPLPは阻害剤としての新しい役割が提唱されている²⁴⁾。このように、ビタミンB₆の多量摂取は有効であるという知見がある一方で、光酸化ストレスの内因性の増感剤にもなるという報告もあり²⁵⁾、ULの問題もあるので、ほどほどの摂取が望まれる。なお、ULについては、たんぱく質欠乏飼料で飼育したラットでは、ピリドキシン大量投与での障害の程度が強いことが報告されている²⁶⁾。

参考文献

1. 日本食品成分表の改定に関する調査報告(2000)―五訂日本食品成分表― 科学技術庁資源調査会報告 第124号,平成12年.
2. Gregory JF3rd. (1997) Bioavailability of vitamin B₆. *Eur J Clin Nutr*, 51: S43-48.
3. Tarr JB, Tamura T and Stokstad EL. (1981) Availability of vitamin B₆ and pantothenate in an average American diet in man. *Am J Clin Nutr*; 34: 1328-1337.
4. West KD, Kirksey A (1976) Influence of vitamin B₆ intake on the content of the vitamin in human milk. *Am J Clin Nutr*, 29: 961-969.
5. Thomas MR, Kawamoto J, Sneed SM, Eakin R (1979) The effects of vitamin C, vitamin B₆, and vitamin B₁₂ supplementation on the breast milk and maternal status of well-nourished women. *Am J Clin Nutr*, 32, 1679-1685.
6. Thomas MR, Sneed SM, Cecelia W, Nail PA, Wilson M, Sprinkle EE III (1980) The effects of vitamin C, vitamin B₆, vitamin B₁₂, folic acid, riboflavin, and thiamin on the breast milk and maternal status of well-nourished women at 6 months postpartum. *Am J Clin Nutr*, 33: 2151-2156.
- 7 Borschel MW, Kirksey A, Hannemann RE (1986) Effects of vitamin B₆ intake on nutriture and growth of young infants. *Am J Clin Nutr*, 43: 7-15.
8. Andon MB, Reynolds RD, Moser-Veillon PB, Howard MP (1989) Dietary intake of total and glycosylated vitamin B₆ and the vitamin B₆ nutritional status of unsupplemented lactating women and their infants. *Am J Clin Nutr*, 50: 1050-1058.
9. Morriss LA, Driskell JA (1985) Quantities of B₆ vitamers in human milk by high-performance liquid chromatography: Influence of maternal vitamin B₆ status. *J Chromatogr*, 337: 249-258.
10. Tsuge H (1997) Determination of vitamin B₆ vitamers and metabolites in a biological sample. *Methods in Enzymol*, 280: 3-12.
11. Lui A, Lumeng L, Aronoff G R, Li T-K. (1985) Relationship between body store of vitamin B₆ and plasma pyridoxal-P clearance: Metabolic balance studies in humans. *J Lab Clin Med*;106: 491-497.
12. Kretsch MJ, Sauberlich HE, Newbrun E. (1991) Electroencephalographic changes and periodontal status during short-term vitamin B₆ depletion of young, non-pregnant women. *Am J Clin Nutr*, 53: 1266-1274.
13. Kirksey A, Roepke JL. (1981) Vitamin B₆ nutriture of mothers of three breast-fed neonates with central nervous system disorders. *Fed Proc*;40: 864.
14. Lui A, Lumeng L, Aronoff G R, Li T-K. (1985) Relationship between body store of vitamin B₆ and plasma pyridoxal-P clearance: Metabolic balance studies in humans. *J Lab Clin Med*; 106: 491-497.
15. Leklem JE. (1990) Vitamin B₆: A status report *J Nutr*; 120: 1503-1507.
16. Institute of Medicine. Dietary reference intake: 7. Vitamin B₆. (1998) Washington DC: National Academy Press, p150-195.

17. Del Tredici AM, Bernstein AL, Chinn K. Carpal tunnel syndrome and vitamin B₆ therapy. (1985) In: Reynolds RD, Leklem JE, eds. Vitamin B₆: Its Role in Health and Disease. Current Topics in Nutrition and Disease. New York: Alan R. Liss. p459-462.
18. Reinken L, Dapunt O. (1978) Vitamin B₆ nutriture during pregnancy. *Internat J Vit Nutr Res*; 48: 341-347.
19. 早川享志, 木村昌智, 三嶋智之, 伊佐保香, 柘植治人, 柴田克己 (2006) ビタミン B₂ 栄養の低下はビタミン B₆ 栄養にどのように影響するか. *ビタミン*, 80: 372-373.
20. 岡田美津子, 渋谷まゆみ, 山本英吏子, 村上陽子 (2000) ビタミン B₆ 要求量に対する糖尿病の影響. *ビタミン*, 74: 551-552.
21. Masse PG, Mahuren JD, Tranchant C, Dosy J: B-6 vitamers and 4-pydoxic acid in the plasma, erythrocytes, and urine of postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 80: 946-951.
22. Cabrini L, Bochicchio D, Bordoni A, Sassi S, Marchetti M, Maranesi M (2005) Corelation between dietary polyunsaturated fatty acids and plasma homocysteine concentration in vitamin B6-dependent rats. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 15: 64-99.
23. Komatsu S, Isobe M, Yanaka N, Kato N (2005) A high-fat diet enhances the inhibitory effects of dietary vitamin B6 on colon cell proliferation in mice. *Oncol Rep*, 14: 265-269.
24. Higuchi O, Nakagawa K, Tsuzuki T, Suzuki t, Oikawa S, Miyazawa T (2006) Aminophospholipid glycation and its inhibitor screening system: a new role of pyridoxal 5'-phosphate as the inhibitor. *J Lipid Res*, 47: 964-974.
25. 横地奈菜, 八木年晴 (2005) ビタミン B₆ 化合物を含めて, 3-ヒドロキシピリジン環を有する化合物はヒト皮膚細胞内で, 光酸化ストレスにおける内因性の増感剤となる. 79: 333-334.
26. Levine S, Saltzman A (2004) Pyridoxine (vitamin B6) neurotoxicity: enhancement by protein-deficient diet. *J Appl Toxicol*, 24: 497-500.

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業）
日本人の食事摂取基準（栄養所要量）の策定に関する基礎的研究
平成16年度～18年度 総合研究報告書

主任研究者 柴田 克己

I. 総合研究報告

4. ビタミンB₁₂（シアノコバラミン）の食事摂取基準の資料

分担研究者 渡辺 文雄 鳥取大学 教授
研究協力者 宮本 恵美 長崎国際大学 講師

要旨

ビタミンB₁₂の食事摂取基準の策定に関連する事項の概略をまとめ今後の食事摂取基準の策定に向けての意見を総括報告書としてまとめた。

I. ビタミン B₁₂ 必要量を評価するための指標の検討

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。また、赤血球数、ヘモグロビン値、ヘマトクリット値も同様である。

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¹⁻³⁾ 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⁴⁾。日本ビタミン学会において臨床応用で推奨される血清 B₁₂ 量定量法が報告されているが⁴²⁾、分析機種の定量値に相違があり²⁾、標準化へ向けて現在検討されている⁴⁾。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⁵⁾。B₁₂ が不足するとき血清中の 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。現在、最も信頼される血清 MMA 定量法は、安定同位体 d₃-MMA を内部標準として用いたガスクロマトグラフィーマススペクトロメトリー法であるが、本法により同一血清サンプル中の MMA 量を各分析機関で定量・比較分析した結果、その定量値に大きな違いのあることが報告されており⁶⁾、検討課題を含んでいる。

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⁷⁾、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^{8,9)}。最近、ホロ TCII 量の信頼できる測定法が開発された^{10,11)}。ホロ TCII は、腸管より吸収された B₁₂ を体細胞へ輸送する生理作用を有し、且つ、代謝回転が非常に速いので日内変動を示すことが期待されたため、Hvas らは¹²⁾ 食事後

B₁₂の短時間の吸収変化を測定するために標準的な食事を摂取している健常人から20分ごとに24時間血液サンプルを採取し、血漿ホロTCII量、全TCII量、B₁₂量を測定し、日内変動について検討した。その結果、食事摂取後、血漿ホロTCII量の増加は認められず、一日中安定していた。“ホロTCII量は、食事より腸管吸収されたB₁₂よりもむしろB₁₂の栄養状態を反映する”という結果を強く支持するものであった。生体がホロTCII量へ及ぼす影響は複雑であり、注意深い解析を必要とするようである。

また、その他の指標においても顕著な日内変動は認められなかった。また、これまでの日本人の食事摂取基準のための基礎研究¹³⁾でB₁₂推奨量(2.4 µg/日)を摂取した成人男女の尿中B₁₂排泄量の日内変動を調べた結果においても尿中B₁₂排泄量に有意な変化は認められず、体内B₁₂および関連物質の顕著な日内変動は存在しないという上述の結果と一致した。

6. B₁₂栄養状態の新規な指標として血球中のB₁₂依存性酵素活性

ヒトを含む高等動物において2種類のB₁₂依存性酵素の存在が知られている。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(EC5.4.99.2)と5-メチルテトラヒドロ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依存性メチオニンシンターゼ(EC2.1.1.13)である。B₁₂栄養状態の新規な指標として血球中のB₁₂依存性酵素

活性が活用できるかどうかを検討した¹⁴⁾。

その結果、血球中のメチルマロニルCoA ムターゼ活性は、B₁₂欠乏により、約9倍の活性上昇が観察され、血球サンプルの数ヶ月間の冷凍保存(-80°C)による活性の消失は検出されなかった。一方、メチオニン合成酵素活性は、コントロールのB₁₂給与ラットにおいても非常に低値を示し、冷蔵保存中に顕著な活性低下が観察された。

また、ヒト組換えメチルマロニルCoA ムターゼ抗体を用いたウェスタン・ブロット分析の結果、B₁₂給与ラットの血球抽出液において抗体と反応するものは観察されなかったが、B₁₂欠乏ラットにおいて免疫反応物を観察することができた¹⁴⁾。以上の結果から、酵素の保蔵安定性、活性測定法の簡便さなどから血球メチルマロニルCoA ムターゼがB₁₂の栄養状態の指標の1つとして利用できる可能性が示唆された。今後、B₁₂欠乏ラットを用いて体内B₁₂貯蔵・蓄積量と血球中酵素活性の相関について詳細な検討が必要である。

II. ビタミン B₁₂ 必要量に及ぼす因子

1. 加齢

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¹⁵⁾。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る¹⁶⁾。加齢により胃酸の減少を示す血清ガストリン値が上昇すると食事由来の B₁₂ の吸収量が減少することも報告されている¹⁷⁾。健康な高齢者の結晶 B₁₂ の吸収量は健康な若者に匹敵しており、結晶 B₁₂ の吸収率は加齢により減少しないと考えられる¹⁸⁾。

2. 食事由来の B₁₂ 吸収不全

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 の吸収不全である¹⁹⁾。食品タンパク質結合 B₁₂ 吸収不全は胃の機能障害（減酸症や無塩酸症、胃の外科処置後、幽門形成術による迷走神経切断術後）を有する者や原因不明の低血清 B₁₂ 値を持った者に観察される^{19,20)}。正常血清ガストリン値の者と比べて血清ガストリン値が上昇している者は、食品タンパク質結合 B₁₂ の吸収量が減少している²¹⁾。

3. 萎縮性胃炎

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が^{16, 20-23)}、高齢者において萎縮性胃炎の多くは診断されずに放置されている可能性がある。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、²⁴⁾ 胃粘膜からのピロリ菌の除去だけでは不十分で、口腔内を衛生的にし、歯垢中のピロリ菌も除去する必要性が示された²⁵⁾。

我が国において胃酸分泌の減少が B₁₂ 栄養状態に及ぼす影響について調査した報告がない。そこで、本研究課題として日本人の 70 歳代成人男女の B₁₂ の栄養状態（血清 B₁₂ 量）と胃酸分泌の減少（血清ガストリン量）の関係を検討した¹⁴⁾。

日本人の 70 歳代成人男女の血清サンプル（99 名分）の血清 B₁₂ 含量を分析した結果、B₁₂ 欠乏群に 4 名、B₁₂ 低値群に 22 名となり、70 歳代成人の約 25%が血清 B₁₂ 含量の低い状態であることがわかった。また、胃酸分泌減少との関係を調べるために血清ガストリン含量を測定した結果、B₁₂ 欠乏群および低値群で増加傾向を示したが、有意差は認められなかった（調査 I・表 1）。

上述の調査 I において B₁₂ 欠乏群が非常に少なかったため、調査 II（表 2）においては、すでに血清 B₁₂ 含量測定済みの約 400 名の血清サンプルの中から B₁₂ 含量を指標に 3 群にわけ、B₁₂ 含量と胃酸分泌減少との関係を調べるために血清ガストリン含量を測定した。その結果、B₁₂ 欠乏群と正常群の間で血清ガストリン含量の差がより明確になったが、有意な結果は得られなかった。

今後、さらに詳細に萎縮性胃炎と食事由来 B₁₂ 吸収不全の関係について調査研究の必要性がある。

4. 性差

多数の若い男性・女性を対象とした研究においても血清 B₁₂ 値は男性で 477 pmol/L (647 pg/mL) 女性で 604 pmol/L (819 pg/mL) であった²⁶⁾。渡辺らも日本人の成人で同様な結果 (男性: 684 pg/mL, 女性: 827 pg/mL) を報告している²⁷⁾。所要量 (2.4μg/日) 摂取時の日本人の若い成人男性・女性 (各 10 名) の血清 B₁₂ 濃度は, 男性で 323 pmol/L (447 pg/mL), 女性で 664 pmol/L (900 pg/mL) であり, 十分にカットオフ値以上であり適正であったが,²⁸⁾ この性差による血清 B₁₂ 含有量の相違をどのように定量し, B₁₂ の必要量に反映しうるか不明であり, 今後検討が必要である。

III. ライフステージと性差による知見

1. 0歳から6ヶ月の乳児

健康で食生活の良好な成人母親からの母乳で育てられた乳児にはB₁₂欠乏症は起こらないと考えられ、一般的に0歳から6ヶ月の乳児のB₁₂所要量は、母乳栄養児のB₁₂摂取量を基礎した適正摂取量から策定されている。

井戸田ら²⁹⁾は日本人の健康な母親の母乳中のB₁₂含量を *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ATCC7830 を用いた微生物学的定量法で測定したところ、母乳中のB₁₂含量は初乳または移行乳 (0.4 μg/L) から成熟乳 (0.2 μg/L) になるに従い減少し、その平均値は 0.2 μg/L であることを報告している。また、Trugoら³⁰⁾も初乳から成熟乳にかけB₁₂含量が減少することを見出している。

また、井戸田らを用いた定量菌は、B₁₂の構造に対してかなり特異性は高いが、B₁₂以外にアルカリ耐性因子 (ヌクレオチドやデオキシリボヌクレオチド) にもB₁₂活性を示す。そのため見かけのB₁₂含量からアルカリ耐性因子含量を差し引き、正確なB₁₂含量を算出する必要があるが、井戸田ら²⁹⁾が用いた方法にはアルカリ耐性因子を補正したとする記載がない。そこで、本研究では五訂日本食品標準成分表で採用されている分析マニュアル³¹⁾に準じた微生物学的定量法を用いてアルカリ耐性因子を補正した母乳中のB₁₂含量を算出した結果、前回の調査した日本人の健康な母親25名の母乳に含まれるB₁₂含量の平均値は 0.28 ± 0.14 μg/L となった³²⁾。今回、平成17年度に採取された母乳126サンプルのB₁₂含量の平

均値は 0.943 ± 0.531 μg/L と顕著に増大した¹⁴⁾。また、Sakuraiらは³³⁾、日本人の母乳691サンプル中のB₁₂含量を 0.4 ± 0.2 μg/L であると報告している。

これまでに報告されている母乳中の平均的なB₁₂含量を表3に示す。母乳中に含まれるB₁₂の定量法に関して、我国では微生物学定量法が用いられているが、欧米では放射性同位体希釈法が主流である。血清B₁₂含量の測定において放射性同位体希釈法は微生物学的定量法より若干高い値 (約1.3倍) を示すことが報告されており³⁷⁾、単純に数値を比較することはできない。井戸田ら²⁹⁾および前回測定した日本人の母乳中のB₁₂含量は、他のものに比べ低値を示したが、平成17年度の母乳サンプル中には多量のB₁₂が含まれていた。この母乳B₁₂含の相違が何に由来するのか現在のところ不明である。

第六次改定食事摂取基準では、平均的な日本人の母乳中のB₁₂含量を 0.2 μg/L、泌乳量 0.75 L/日を用いて摂取量 (0.15 μg/日) を計算し、0~5ヶ月の乳児の所要量を 0.2 μg/日と策定された³⁸⁾。食事摂取基準 (2005年度版) では平均的な日本人の母乳中のB₁₂含量を 0.2 μg/L、泌乳量 0.78 L/日を用いて摂取量 (0.156 μg/日) を計算し、目安量を 0.2 μg/日と策定されている³⁹⁾。一方、米国の食事摂取基準において母乳中のB₁₂含量は我国より高い値 (0.42 μg/L) が採用され、泌乳量 0.78 L/日を用いて摂取量 (0.33 μg/日) が計算され、所要量を 0.4 μg/日としている⁴⁰⁾。いずれもWHOの所要量

(FAO/WHO1988)の0.1 μg/日を上回ってい

るが、その理由は WHO の所要量が B₁₂ 欠乏症の乳児の臨床症状の回復を指標として策定されているためである⁴¹⁾。

ベジタリアンの母親とその乳児の研究において、母乳の B₁₂ 含量が 0.49 µg/L 以下のとき、母乳栄養乳児の尿中メチルマロン酸排泄量 (B₁₂ 欠乏の指標) が増加した⁴²⁾。これらの乳児は体内に十分な B₁₂ を貯蔵することなしに生まれてくるが、平均摂取量 0.24 µg/日は乳児の B₁₂ バランスを維持するのに不十分であると報告されている⁴²⁾。また、母乳の B₁₂ 含量が 0.49 µg/L 以下のとき乳児の尿中メチルマロン酸排泄量が増加傾向を示す報告もある³⁵⁾。米国の食事摂取基準では乳児の B₁₂ 欠乏症を予防するだけでなく、疾病予防のため B₁₂ の体内バランスを正常に維持するためには少なくとも 0.3 µg/日以上摂取量が必要であることを指摘している⁴⁰⁾。

平成 16～18 年度の本研究調査により日本人の泌乳量 0.8 L/日となった。そこで、これまで報告されている日本人の母乳中の B₁₂ 含量に関する 4 論文の平均値を算出すると 0.46 µg/L となり、泌乳量 0.8 L/日で計算すると 0～5 ヶ月の乳児の食事摂取基準は 0.36 µg/日となる。

妊娠中から 2～4 µg/日の B₁₂ サプリメントを摂取すると母乳中の B₁₂ 含量を高値 (平均値 0.91 µg/L) に維持することができた⁴³⁾。母親の体内 B₁₂ 貯蔵量よりも食事から毎日摂取される B₁₂ の方が母乳への B₁₂ 分泌量に重要な影響を与えると考えられるので⁴⁴⁾、母親が厳格なベジタリアンである場合はもとより、動物性食品の摂取が低く B₁₂ 摂取

量が不十分な場合は母乳中の B₁₂ 含量が低下する可能性があるので注意する必要がある。

2. 成人 (19 歳から 50 歳)

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い。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理想的でないかもしれないが、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¹⁾。米国食事摂取基準の算定方法と結果が第六次改定食事摂取基準³⁸⁾と日本人の食事摂取基準 (2005 年版)³⁹⁾で採用されている。

①血清学的状態と血清 B₁₂ 値の維持

悪性貧血患者に B₁₂ を 0.25～10 µg/日で筋肉内投与した結果、0.5～2.0 µg/日の B₁₂ 投与量で血清学的回復が最大値を示すことが報告されている⁴⁵⁾。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、このデータと他の悪性貧血患者への B₁₂ の投与実験の結果から 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 量であると推定している。しかし、数週間ごと (あるいは数ヶ月ごと) の B₁₂ の単一投与量から 1 日あたりの投与量を補正・算出することは

必ずしも適切であるとは考えられない。

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¹⁾。一方、同一の研究結果から WHO の所要量 (FAO/WHO1988) では、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 量を 1.0 μg/日と評価している⁴⁶⁾。

一部の食用藻類を除き植物性食品に B₁₂ は含まれていないと一般的に考えられている。完全に動物性食品を含まない食事 (ベジタリアン食) の長期の摂取は B₁₂ 欠乏症を導く可能性があるが、胆汁中に排泄される多量の B₁₂ が再吸収されるため欠乏症はゆっくりと進行する。ベジタリアン (低 B₁₂ 摂取者) の研究から平均必要量を検討した結果、研究データが不十分であるが、B₁₂ の平均必要量は少なくとも 1.5 μg/日以上であるかもしれないことが示唆された。

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。しかし、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

ホール・ボディー・カウント法を用いた研究⁴⁷⁻⁴⁹⁾から体内 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% が消失することを示している。すな

わち、B₁₂ 貯蔵量 3.0 mg の人は 3~6 μg 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 2~3 mg と報告されているが⁵⁰⁻⁵²⁾、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。もし健康を維持できる最低体内 B₁₂ 貯蔵量を 300 μg⁴⁹⁾ (あるいは 500 μg とする報告もある)⁴⁶⁾ と見積もると、0.3~0.6 (0.5~1.0) μg/日を摂取すればよいことになる。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 3.0 mg 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 4.8 μg/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)。奥田は正常状態において出納は正のバランスを保つので、B₁₂ の排泄量から吸収率を考慮し、約 5 μg/日を食物から摂取する必要があると試算している⁵³⁾。

④B₁₂ 適正摂取量

通常の食生活をしている人では、B₁₂ の欠乏症は認められていない。これまでの報告から、日本人の若い成人女性における B₁₂ 摂取量は平均 3.5~4.8 μg/日と報告されている⁵⁴⁾。また、平成 13 年度国民栄養調査では男性 7.7~8.5 μg/日、女性 5.9~6.9 μg/日と報告され、⁵⁵⁾ 第六次改定食事摂取基準の所要量 (2.4 μg/日) の 2~3 倍を摂取量している。

食事 1 回あたり IF の B₁₂ 飽和量は、およそ 1.5~2.0 μg と推定されており、⁵⁶⁾ 1 日 3 回の食事からおよそ 4.5~6.0 μg/日の B₁₂ を吸収することができる。

最近 Bor らは⁵⁷⁾、B₁₂ の食事摂取量と体内 B₁₂ 状態の指標として血清 B₁₂ 量、ホロ TC II 量、MMA 量、ホモシステイン量を測定して適正な B₁₂ 摂取量の評価を検討した。その結果、すべての体内 B₁₂ 状態の指標を適正に導くためには、毎日 6 μg の B₁₂ の摂取が必要であることが明らかとなった。また、その他いくつかの研究⁵⁸⁻⁶¹⁾においても体内循環 B₁₂ 量を一定濃度に維持するためには 6-10 μg/日の B₁₂ の摂取が必要であると報告されている。

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 Fenech らは、ゲノム安定性を指標とした B₁₂ 所要量の策定方法を提唱している⁶¹⁻⁶³⁾。彼らの研究では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⁶⁴⁾。

⑥総合評価

血清学的指標や血清 MMA 量は、生体の B₁₂ 状態の変化に対して相対的に感度が低

いことが知られている⁸⁾。最近、生体の B₁₂ 状態の最も感度のよい指標が血清ホロ TC II 量であると報告されたが⁹⁻¹¹⁾、生体がホロ TC II 量へ及ぼす影響は複雑であり、注意深い解析を必要とするようである。

現在では、B₁₂ の食事摂取基準は欠乏症の予防から、健康維持・増進や種々の疾病予防を考慮して策定する必要がある。加齢や萎縮性胃炎による食品タンパク質結合 B₁₂ 吸収不全の危険性が増加するとき、体内 B₁₂ 貯蔵量が B₁₂ 欠乏症発症を遅らせる重要な因子となる。例えば、健康を維持できる最低体内 B₁₂ 貯蔵量を 300 μg⁴⁹⁾（あるいは軽度の B₁₂ 欠乏症で 250 μg とする報告もある⁴⁶⁾）とすると、食事からの B₁₂ 摂取・吸収が全く無くなった場合、正常な腸肝循環を有する成人がこの最低 B₁₂ 貯蔵量に到達するのに要する期間は 1 日あたりの排泄量を 0.15% と見積もると、体内 B₁₂ 貯蔵量が 1 mg の時 2.0 年、体内 B₁₂ 貯蔵量が 3 mg の時 4.2 年、体内 B₁₂ 貯蔵量が 9 mg の時 6.2 年となり¹⁾、50 歳までにできるだけ体内 B₁₂ 貯蔵量を高く維持しておく必要がある。そのために所要量は最低でも B₁₂ の出納バランスを維持でき、且つ、通常の食事から摂取・吸収可能な量である必要がある。以上のことを考慮すると第六次改定食事摂取基準ならびに日本人の食事摂取基準（2005 年版）の所要量（あるいは推奨量）の 2.4 μg/日は、B₁₂ 欠乏症発症の予防には適切な量であるが、疾病の予防や食品タンパク質結合性 B₁₂ 吸収不全による B₁₂ 欠乏症の発症遅延などの観点からは不十分であると考えられる。

米国においても推奨所要量 2.4 μg/日は、

低いのではないかという議論がある。現在の数値は、B₁₂欠乏症を予防するための最小量であり、現在世界的に広がりを見せる潜在性B₁₂欠乏症に対応できているかどうかは不明である。

適正なB₁₂の出納バランスを保つためには、最低約5 µg/日のB₁₂を食物から摂取する必要があると推定され(表4)、またB₁₂の適正摂取量から体内B₁₂状態を示す各種指標を適正レベルに導くB₁₂摂取量は6~10 µg/日であると報告されている⁵⁷⁾。また疾病予防の観点からゲノム安定性を指標とした場合には最低7 µg/日のB₁₂摂取が必要であると報告されている⁶⁴⁾。これらの情報を総合的に判断するとB₁₂の食事摂取基準は、適正摂取量(AI)策定で目安量6 µg/日程度が適切と考えられる。

3. 51歳以上の成人

50歳以上の人々の10~30%は胃酸分泌の低い萎縮性胃炎を患っており^{16,22-23)}、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。食事中のB₁₂の吸収率50%はこの年齢集団には適応できないので、平均必要量は食事摂取基準(2005年版)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。

米国食事摂取基準では、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¹⁸⁾、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ため、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⁾。

我国は米国と異なる食文化を有しており、日常摂取している食品の中に豊富に遊離型B₁₂を含むものが存在する可能性がある。また、伝統的あるいは新しい調理方法により胃酸分泌減少下でも食品タンパク質から遊離しやすくなる調理・加工法が存在する可能性もあり、今後詳細に検討する必要がある。

V. ビタミンB₁₂の摂取

1. 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⁶⁵⁾。また、魚介類、藻類の一部(アオノリ・アマノリ)に多く含まれている。その他、鶏卵や牛乳にも含まれ、特に牛乳はB₁₂含有量がそれほど高くないが、摂取しやすさから重要な供給源の1つである⁶⁶⁾。

食用藻類に含まれるB₁₂の生体利用率については古くから議論になっている。⁶⁷⁾ 栄養補助食品として流通しているスピルリナなど藍藻由来食品にはすべてヒトの生理的に不活性なシュードB₁₂が含まれていたが⁶⁹⁻⁷¹⁾、クロレラ⁷²⁾、アマノリ⁷³⁾、アオノリ⁷⁴⁾は真のB₁₂を豊富に含んでいた。動物実験においてアマノリの摂取がB₁₂欠乏症を完全に回復させたと報告されている⁷⁵⁾。

2. 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%, 牛肉内臓肉で 54~98%, 豚肉各部位で 76~90%, 豚肉内臓肉で 68~100% である⁷⁶⁾。一方, 魚肉に含まれる B₁₂ はいずれの調理方法においても保持率が高かった⁷⁷⁾。また, 調理に伴う食品の重量変化による B₁₂ 含有量の変化は少ないことが報告されている⁷⁸⁾。その他, 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⁷⁹⁾。また, 光照射による牛乳中のビタミン B₂ 光分解に伴う B₁₂ の分解も報告されている⁸⁰⁾。B₁₂ の加熱分解物が単離され, 実験動物に静脈内に投与されたが B₁₂ の代謝系を阻害する作用はなかった⁸¹⁾。

引用文献

- 1) Vitamin B₁₂ (1998) In: Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline, Institute of Medicine, National Academy Press, Washington DC, p 306-356.
- 2) Klee, G. G. (2000) Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B₁₂ and folate. Clin. Chem., 46, 1277-1283.
- 3) Green, R., Kinsella, L. J. (1995) Current concepts in the diagnosis of cobalamin deficiency. Neurology, 45, 1435-1440.
- 4) 橋詰直孝 (2002) 葉酸とビタミン B₁₂ の測定方法と基準値. 日本人の水溶性ビタミン
- 5) Pennypacker, L. C., Allen, R. H., Kelly, J. P., Matthews, L. M., Grigsby, J., Kaye, K., Lindenbaum, J., Stabler, S. P. (1992) High prevalence of cobalamin deficiency in elderly out-patients. J. Am. Geriatr. Soc., 40, 1197-1204.
- 6) Pfeiffer, C. M., Smith, S. J., Miller, D. T., Gunter, E. W. (1999) Comparison of serum and plasma methylmalonic acid measurements in 13 laboratories: an international study. Clin. Chem., 45, 2236-2242.
- 7) Moller, J., Rasmussen, K., Christensen, L. (1999) External quality assessment of methylmalonic acid and total homocysteine. Clin. Chem., 45, 1536-1542.
- 8) Herbert, V. (1990) Vitamin B₁₂. In: Present knowledge in Nutrition (Ed. by Brown, M. L.), International Life Science Institute-Nutrition Foundation, Washington, 170-178.
- 9) Carmerl, R. (2002) Measuring and interpreting holo-transcobalamin (Holo-transcobalamin II). Clin. Chem., 48, 407-409.
- 10) Ulleland, M., Eilertsen, I., Quadros, E., Rothenberg, S. P., Fedosov, S. N., Sundrehagen, E., Orning, L. (2002) Direct assay for cobalamin bound to transcobalamin (holo-transcobalamin) in serum. Clin. Chem., 48, 526-532.
- 11) Nexø, E., Christensen, A. L., Hvas, A. M.,

ン必要量に関する基礎的研究 平成 13 年度総括・分担研究報告書 (厚生科学研究費補助金 21 世紀型医療開拓推進研究事業) 68-71.

- Petersen, T. E., Fedosov, S. (2002) Quantification of holo-transcobalamin, a marker of vitamin B₁₂ deficiency. *Clin. Chem.*, 48, 561-562.
- 12) Hvas AM, Gravholt CH, Nexø E. (2005) Circadian variation of holo-transcobalamin (holo-TC) and related markers. *Clin Chem Lab Med* 43, 760-764.
- 13) 渡辺文雄, 宮本恵美 (2003) 水溶性ビタミンの食事摂取基準の妥当性の検討—ビタミン B₁₂— 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」平成 14 年度総括・分担研究報告書 66-84.
- 14) 渡辺文雄, 宮本恵美 (2006) - ビタミン B₁₂ の栄養評価に関する基礎的研究—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 255-276.
- 15) Van Asselt, D. Z., van den Broek, W. J., Lamers, C. B., Corstens, F. H., Hoefnagels, W. H. (1996) Free and protein-bound cobalamin absorption in healthy middle-aged and older subjects. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 44, 949-953.
- 16) Krasinski, S. D., Russell, R. M., Samloff, I. M., Jacob, R. A., Dallal, G. E., McGrandy, R. B., Hartz, S. C. (1986) Fundic atrophic gastritis in an elderly population: Effect on hemoglobin and several serum nutritional indicators. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 34, 800-806.
- 17) Scarlett, J. D., Read, H., O'Dea, K. (1992) Protein-bound cobalamin absorption declines in the elderly. *Am. J. Hematol.*, 39, 79-83.
- 18) McEvoy, A. W., Fenwick, J. D., Boddy, K., James, O. F. (1982) Vitamin B₁₂ absorption from the gut does not decline with age in normal elderly humans. *Age Ageing*, 11, 180-183.
- 19) Carmel, R., Sinow, R. M., Siegel, M. E., Samloff, I. M. (1988) Food cobalamin malabsorption occurs frequently in patients with unexplained low serum cobalamin levels. *Arch. Inter. Med.*, 148, 1715-1719.
- 20) Doscherholmen, A., Silvis, S., McMahon, J. (1983) Dual isotope Schilling test for measuring absorption of food-bound and free vitamin B₁₂ simultaneously. *Am. J. Clin. Pathol.*, 80, 490-495.
- 21) Hurwitz, A., Brady, D. A., Schaal, S. E., Samloff, I. M., Dedon, J., Ruhl, C. E. (1997) Gastric acidity in older adults. *J. Am. Med. Assoc.*, 278, 659-662.
- 22) Andrews, G. R., Haneman, B., Arnold, B. J., Booth, J. C., Taylor, K. (1967) Atrophic gastritis in the aged. *Australas Ann. Med.*, 16, 230-235.
- 23) Johnsen, R., Bernersen, B., Straume, B., Forde, O. H., Bostad, L., Burhol, P. G. (1991) Prevalences of endoscopic and histological findings in subjects with and without dyspepsia. *Br. Med. J.*, 302, 749-752.
- 24) Carmel, R., Aurangzeb, I., Qian, D. (2001) Associations of food-cobalamin malabsorption with ethnic origin, age, *Helicobacter pylori* infection, and serum markers of gastritis. *Am. J. Gastroenterol.*, 96, 63-70.

- 25) Avcu, N., Avcu, F., Beyan, C., Ural, A. U., Kaptan, K., Ozyurt, M., Nevruz, O., Yalcin, A. (2001) *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 92, 166-169
- 26) Fernandes-Costa, F., van Tonder, S., Metz, J. (1985) A sex difference in serum cobalamin and transcobalamin levels. *Am. J. Clin. Nutr.*, 41, 784-786.
- 27) 渡辺敏明 (2002) ビオチン, ビタミン B₁₂, 葉酸の必要量. 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究 平成 13 年度総括・分担研究報告書 (厚生科学研究費補助金 21 世紀型医療開拓推進研究事業) 72-76.
- 28) 渡辺文雄, 宮本恵美 (2003) 水溶性ビタミンの食事摂取基準の妥当性の検討ービタミン B₁₂ー, 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究 平成 14 年度総括・分担研究報告書 (厚生科学研究費補助金 21 世紀型医療開拓推進研究事業), 66-84.
- 29) 井戸田正, 菅原牧裕, 矢賀部隆史, 佐藤則文, 前田忠男 (1996) 最近の日本人乳組成に関する全国調査 (第十報)ー水溶性ビタミン含量についてー日本小児栄養消化器病学会誌, 10, 11-20.
- 30) Trugo, N. M., Sardinha, F. (1994) Cobalamin and cobalamin-binding capacity in human milk. *Nutr. Res.*, 14, 22-33.
- 31) 財団法人日本食品分析センター編集 (2002) 分析実務者が書いた五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説. pp.178-183, 中央法規, 東京
- 32) 渡辺敏明, 谷口歩美, 庄子佳文子, 稲熊隆博, 福井徹, 渡辺文雄, 宮本恵美, 橋詰直孝, 佐々木晶子, 戸谷誠之, 西牟田守, 柴田克己 (2005) 日本人の母乳中の水溶性ビタミン含量についての検討, *ビタミン*, 79, 573-581.
- 33) Sakurai, T., Furukawa, M., Asoh, M., Kanno, T., Kojima, T., Yonekubo, A. (2005) Fat-soluble and water-soluble vitamin contents of breast milk from Japanese womens. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 51, 239-247.
- 34) Areekul, S., Oumaum, K., Dougarn, J. (1977) Determination of vitamin B₁₂ and vitamin B₁₂-binding protein in human and cow's milk. *Mod. Med. Asia*, 13, 17-23.
- 35) Casterline, J. E., Allen, L. H., Ruel, M. T. (1997) Vitamin B₁₂ deficiency is very prevalent in lactating Guatemalan women and their infants at three months postpartum. *J. Nutr.*, 127, 1966-1972.
- 36) Sandberg, D. P., Begley, J. A., Hall, C. A. (1981) The content, binding, and forms of vitamin B₁₂ in milk. *Am. J. Clin. Nutr.*, 34, 1711-1724.
- 37) Arnaud, J., Cotisson, A., Meffre, G., Bourgeay-cause, M., Augert, C., Favier, A., Vuillez, J. P., Ville, G. (1994) Comparison of three commercial kits and a microbiological assay for the determination of vitamin B₁₂ in serum. *Scand. J. Clin. Invest.*, 54, 235-240.
- 38) 健康・栄養情報研究会 (1999) 第六次改定日本人の栄養所要量 食事摂取基準 第一出版社, 96-98.
- 39) 厚生労働省策定日本人の食事摂取基準 (2005 年版) (2005) 第一出版編集部, 96-99.
- 40) Vitamin B₁₂ (1998) In: *Dietary Reference*

- Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline, Institute of Medicine, National Academy Press, Washington DC, p 306-356.
- 41) Food and agriculture organization/world health organization (1988) Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B₁₂. FAO food and nutrition series No23, pp62-73.
- 42) Specker, B. L., Miller, D., Norman, E. J., Greene, H., Hayes, K. C. (1988) Increased urinary methylmalonic acid excretion in breast-fed infants of vegetarian mothers and identification of an acceptable dietary source of vitamin B₁₂. *Am. J. Clin. Nutr.*, 47, 89-92.
- 43) Donangelo, C. M., Trugo, N. M., Koury, J. C., Barreto Silva, M. I., Fretias, L. A., Feldheim, W., Barth, C. (1989) Iron, zinc, folate and vitamin B₁₂ nutritional status and milk composition of low-income Brazilian mothers. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 43, 253-266.
- 44) Luhby, A. L., Cooperman, J. M., Donnenfeld, A. M., Herrero, J. M., Teller, D. N., Wenig, J. B. (1958) Observations on transfer of vitamin B₁₂ from mother to fetus and newborn. *Am. J. Dis. Child*, 96, 532-533.
- 45) Darby, W. J., Bridgforth, E. B., Le Brocqy, J., Clark, S. L., De Oliviera, J. D., Kevany, J., McGanity, W. J., Perez, C. (1958) Vitamin B₁₂ requirement of adult man. *Am. J. Med.*, 25, 726-732.
- 46) Food and agriculture organization/world health organization (1988) Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B₁₂. FAO food and nutrition series No23, pp62-73
- 47) Amin, S., Spinks, T., Ranicar, A., Short, M. D., Hoffbrand, A. V. (1980) Long-term clearance of [57Co]cyanocobalamin in vegans and pernicious anaemia. *Clin. Sci.*, 58, 101-103.
- 48) Boddy, K., Adams, J. F. (1972) The long-term relationship between serum vitamin B₁₂ and total body vitamin B₁₂. *Am. J. Clin. Nutr.*, 25, 395-400.
- 49) Bozian, R. C., Ferguson, J. L., Heysse, R. M., Meneely, G. R., Darby, W. J. (1963) Evidence concerning the human requirement for vitamin B₁₂. Use of the whole body counter for determination of absorption of vitamin B₁₂. *Am. J. Clin. Nutr.*, 12, 117-129.
- 50) Reizenstein, P., Ek, G., Matthews, C. M. (1966) Vitamin B₁₂ kinetics in man. Implications on total-body B₁₂ determinations, human requirements, and normal and pathological cellular B₁₂ uptake. *Phys. Med. Biol.*, 11, 295-306.
- 51) Adams, J. F., Tankel, H. I., MacEwan, F. (1970) Estimation of the total body vitamin B₁₂ in the live subject. *Clin. Sci.*, 39, 107-113.
- 52) Adams, J. F. (1962) The measurement of the total assayable vitamin B₁₂ in the body. In: *Vitamin B₁₂ and Intrinsic Factor* (Ed., by Heinrich, H. C.), pp397-403, Enke, Stuttgart.
- 53) 奥田邦雄 (1973) ビタミン B₁₂, 葉酸の腸肝循環. 代謝, 10, 830-838.
- 54) 平岡真美, 安田和人 (2000) 女子大学生のビタミン B₁₂, 葉酸栄養状態について—血清ビタミン B₁₂, 葉酸濃度の分布範囲—. ビ

- タミン学会誌, 74, 271-280.
- 55) 健康・栄養情報研究会(2003)国民栄養の現状 平成13年度厚生労働省国民栄養調査結果, 第一出版, 68-82.
- 56) Scott, J. M. (1997) Bioavailability of vitamin B₁₂. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 51 Suppl 1:S49-S53.
- 57) Bor, M. V., Olsen, E. L., Moller, J., Nexø, E. (2006) *Am. J. Clin. Nutr.*, 83, 52-58.
- 58) Howard JM, Azen C, Jacobsen DW, Green R, Carmel R. Dietary intake of cobalamin in elderly people who have abnormal serum cobalamin, methylmalonic acid and homocysteine levels. *Eur J Clin Nutr* 1998;52:582-7.
- 59) Tucker KL, Rich S, Rosenberg I, et al. Plasma vitamin B-12 concentrations relate to intake source in the Framingham Offspring study. *Am J Clin Nutr* 2000;71:514-22.
- 60) van Asselt DZ, de Groot LC, van Staveren WA, et al. Role of cobalamin intake and atrophic gastritis in mild cobalamin deficiency in older Dutch subjects. *Am J Clin Nutr* 1998;68:328-34.
- 61) Fenech, M., Dreosti, I. E., Rinaldi, J. R. (1997) Folate, vitamin B₁₂, homocysteine status and chromosome damage rate in lymphocytes of older men. *Carcinogenesis*, 18, 1329-1336.
- 62) Fenech, M. (2001) Recommended dietary allowance (RDAs) for genomic stability. *Mutation Res*, 480-481, 51-54.
- 63) Fenech, M. (2001) The role of folic acid and vitamin B₁₂ in genomic stability of human cells. *Mutation Res*, 475, 57-67.
- 64) Fenech, M., Aitken, C., Rinaldi, J. (1998) Folate, vitamin B₁₂, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults. *Carcinogenesis*, 19, 1163-1171.
- 65) 5訂日本食品標準成分表, 科学技術庁資源調査会編, 2000.
- 66) 安田和人 (2003) B群ビタミンの供給源とサプリメント. *ビタミン学会誌*, 77, 196-197.
- 67) Watanabe, F., Takenaka, S., Kittaka-Katsura, H., Ebara, S., Nakano, Y. (2002) Characterization and bioavailability of vitamin B₁₂-compounds from edible alga. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 48, 352-331.
- 68) Watanabe, F., Katsura, H., Takenaka, S., Fujita, T., Abe, K., Tamura, Y., Nakatsuka, T., Nakano, Y. (1999) Pseudovitamin B₁₂ is the predominant cobamide of an algal health food, spirulina tablets. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4736-4741.
- 69) E. Miyamoto, Y. Tanioka, T. Nakao, F. Barla, H. Inui, T. Fujita, F. Watanabe, Y. Nakano. (2006) Purification and characterization of a corrinoid-compound in an edible cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* as a nutritional supplementary food. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 9604-9607.
- 70) F. Watanabe, E. Miyamoto, T. Fujita, Y. Tanioka, Y. Nakano. (2006) Characterization of a corrinoid compound in the edible (blue-green) algae, *suizenji-nori*. (2006) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70, 3066-3068.
- 71) F. Watanabe, Y. Tanioka, E. Miyamoto, T. Fujita, H. Takenaka, Y. Nakano. Purification