

表2 13食品群を利用したビオチン摂取量の推定(つづき)

C:平成15年

Food group	Ingredient	ビオチン含量 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)		東京都栄養調査 食品摂取量 (g/日)	ビオチン摂取量 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	
		本研究 (分析値)	東京都 (推定値)		本研究値 使用	東京都値 使用
I	Rice	2.8	1.6	297.6	8.3	4.6
II	Cereals, Nuts, Seeds and Potatoes	21.2	2.7	180.7	38.3	4.8
III	Sugars, Sweeteners and Confectioneries	3.8	3.1	29.2	1.1	0.9
IV	Fats and Oils	0.1	2.6	11.7	0.0	0.3
V	Pulses	10.3	7.2	60.7	6.3	4.4
VI	Fruits	1.5	0.9	117.4	1.8	1.1
VII	Green and yellow vegetables	3.9	2.3	96.8	3.8	2.3
VIII	Other vegetables, Mushrooms and Seaweeds	13.5	2.0	217.2	29.3	4.4
IX	Seasonings and Beverages	6.2	3.0	689.6	42.8	20.6
X	Fishes and shellfishes	9.0	3.3	78.9	7.1	2.6
XI	Meats and Eggs	30.1	11.2	107.7	32.4	12.1
XII	Milks	3.3	1.3	142.6	4.7	1.9
XIII	Other food	—	5.6	11.6	—	0.6
	Total	—	—	2,041.7	175.9	60.7

ビオチン摂取量 (total) は、食品群ごとにビオチン含量と食品摂取量の積を算出した後、すべての食品群を総和したものである。

それぞれ 65.1, 54.9, 65.9 $\mu\text{g}/\text{日}$ となった。これらは、平成11年度の約1.5倍であった。

考 察

TDSは、従来、残留農薬や食品添加物などの1日摂取量を算出するために作成された方法である。しかしながら、TDSは、栄養素の食事からの摂取量をモニターしたり、食事摂取基準に対する充足率を評価するためにも重要な調査方法である^{24,25)}。またTDSを利用して、栄養素の供給源や寄与率、つまりどんな食品からどれだけ摂取しているかを明らかにすることも可能である。微量栄養の摂取量を算出するためには、食事調査では、一般に、対象者の負担やリコールバイアス、試料分析の手間や費用などが問題となるが、TDSでは、固有の問題点として、食品群の分類、食品の選択、対象とする食品数、選択基準、均一化、代表値の決め方などについての検討が必要である。

わが国の食品添加物のTDSプロトコールについては、1982年に厚生省で作成され、1991年に食生活の変化に伴い、修正が加えられた。この方式では、食品を7群に区別し、分析の際に夾雑物の影響を除き、分析をし易くするために主成分および状態がほぼ同じになるよう

にしている。一方、農水省が行っているダイオキシンおよび残留農薬の摂取量調査では、実施要領において85種類の食品をI-XIII群の13食品群と飲料水を1群加えた14食品群に区分している。各食品群の食品の選択や調理については、それぞれ細かく定めている。本研究で利用した東京都のTDSにおいては、残留農薬の摂取調査に準じて、食品を13食品群に分類し、調理をした後、食品群ごとにビオチン含量を分析して求め、ビオチン摂取量を算出している¹⁹⁾。一方、著者ら¹⁶⁾は、食品のビオチン含量を分析し、18食品群ごとにビオチン摂取量を算出した。しかし、ビオチン以外の栄養素については、日本食品標準成分表に記載されている栄養素の含量を基に、栄養素の摂取量を算出することができる。つまり、ビオチンのように食品分析をしなくとも、この調査法を利用することができる。このようにTDSで栄養素の摂取量を算出する場合、栄養素の特性を考慮すると、18食品群に分類するのが適切であると考えられる。この場合、国民栄養調査のデータをそのまま利用することが可能である。

食品分析によるTDSと食品成分表を利用した計算によるTDSの関連について、Penningtonら²⁶⁾は、9種類のミネラルの摂取量をTDSによる分析値とアメリカ農

表3 18食品群を利用したビオチン摂取量の推定

A:平成11年

日本食品群別番号	日本食品群	ビオチン含量 (μg/100g)		食品摂取量 (g/日)			ビオチン摂取量 ^a (μg/100g)					
		本研究 (分析値)	東京都 (推定値)	国民栄養調査		東京都 栄養調査	本研究 (分析値) 使用			東京都 (推定値) 使用		
				男性	女性		国民	女性	都民	国民	女性	都民
1	穀類 米類	2.0	1.6	190.5	137.4	140.9	3.9	2.8	2.9	3.0	2.2	2.3
	その他	3.5	2.7	94	86.0	105.6	3.2	3.0	3.6	2.5	2.3	2.9
2	いも及びでん粉類	2.7	2.7	68.7	66.8	64.1	1.9	1.8	1.8	1.9	1.8	1.7
3	砂糖及び甘味料	2.2	3.1	9.7	9.3	9.5	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3
4	豆類	10.3	7.2	74.5	66.7	59.8	7.7	6.9	6.2	5.4	4.8	4.3
5	種実類	35.2	2.7	2.2	2.3	2.5	0.8	0.8	0.9	0.1	0.1	0.1
6	野菜類 緑黄色野菜	5.7	2.3	95.2	93.2	107.6	5.4	5.3	6.1	2.2	2.1	2.5
	その他	3.4	2.0	188.7	176.6	171.1	6.5	6.0	5.9	3.8	3.5	3.4
7	果実類	1.5	0.9	107.5	130.0	120.4	1.6	1.9	1.8	1.0	1.2	1.1
8	きのこ類	13.5	2.0	14.3	13.4	11.8	1.9	1.8	1.6	0.3	0.3	0.2
9	藻類	—	2.0	5.5	5.6	5.3	—	—	—	0.1	0.1	0.1
10	魚介類	9.0	3.3	104.4	85.4	84.1	9.4	7.7	7.6	3.4	2.8	2.8
11	肉類	34.0	11.2	89.9	68.1	86.3	30.5	23.1	29.3	10.1	7.6	9.7
12	卵類	23.0	11.2	44.0	37.2	37.5	10.1	8.6	8.6	4.9	4.2	4.2
13	乳類	3.3	1.3	136.8	137.2	164.1	4.5	4.6	5.4	1.8	1.8	2.1
14	油脂類	0.1	2.6	17.6	15.6	19.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.4	0.5
15	菓子類	5.3	3.1	19.2	26.4	23.3	1.0	1.4	1.2	0.6	0.8	0.7
16	し好飲料類 ^b	6.2	3.0	270.5	110.5	207.2	16.8	6.9	12.8	8.1	3.3	6.2
17	調味料及び香辛料類 ^b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	調理加工食品類	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	合計	—	—	1,535.3	1,267.7	1,420.6	105.5	82.8	95.9	49.9	39.6	45.0

(つづく)

務省の食品標準成分表による推定値の違いを比較した。234食品を対象として、年齢階級、性別に毎日の摂取量を比較したところ、両者の違いは0.6~11.0%で類似していた。このように理論的にはどちらの調査法を利用しても一致した結果が得られるはずである。

著者らが使用した計算によるTDSと東京都が実施した食品分析によるTDSを比較してみた。まず、食品を13食品群に分類して、食品群ごとにビオチン含量をみると、食品群によって大きな差異が認められた。とくに豆類、種実類、肉類、きのこ類、卵類、乳類の5食品群で異なっていた。また算出した1日あたりのビオチン摂取量についても、両調査によって1.5~3倍の違いが認められた。

この理由として、いくつかのことが考えられる。まず食品の選択が両者の違いの原因となっている。種実類では一般にビオチン含量が高く、とくに落花生は81.0 μg/100gと高値である。著者らのTDSでは落花生を分析したが、東京都のTDSではどのような食品が分析されているか不明である。なお、諸外国では種実類のビオチ

ン含量は、本研究と同様に、高値を示している。次に食品群ごとにサンプルを均一化し、栄養素を分析した場合は、食品中の含量が微量で、食品間で含量に大きな差異がない場合には問題は少ないと考えられる。しかしながら、対象としている栄養素の食品中の含量に大きな違いがある場合には、食品の摂取量や食品中の含量に影響されることが考えられる。

次に、著者らの計算によるTDSにおいては、101品目を分析したのみであるが、東京都の食品分析によるTDSでは分析した食品数が230品目であった。また著者らが分析した食品は、比較的ビオチンを多く含む食品が多いために、食品群ごとのビオチン量が高くなっているものと考えられる。このため、分析食品数を増やすことによって、食品群のビオチン含量は適正になると考えられる。しかし、デンマークやドイツの食品成分表を使用して、ビオチンの摂取量を算出しても著者らの値と差異は見られなかった¹⁶⁾。なお、食品成分表に記載されている栄養素については、十分なデータがあるためにこのような問題は生じないかもしれない。このほか、食品群

表3 18食品群を利用したビオチン摂取量の推定(つづき)

B:平成14年

日本食品群別番号	日本食品群	ビオチン含量(μg/100g)		食品摂取量(g/日)			ビオチン摂取量 ^a (μg/100g)					
		本研究(分析値)	東京都(推定値)	国民栄養調査		東京都栄養調査	本研究(分析値)使用			東京都(推定値)使用		
				男性	女性		国民		国民	国民		
							男性	女性		国民	女性	都民
1	穀類 米類	2.0	1.6	417.9	297.1	301.2	8.5	6.0	6.1	6.7	4.8	4.8
	その他	3.5	2.7	113.8	100.7	132.1	3.9	3.5	4.6	3.1	2.7	3.6
2	いも及びでん粉類	2.7	2.7	62.8	62.3	52.6	1.7	1.7	1.4	1.7	1.7	1.4
3	砂糖及び甘味料	2.2	3.1	7.2	7.1	6.3	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2
4	豆類	10.3	7.2	60.9	57.1	51.9	6.3	5.9	5.3	4.4	4.1	3.7
5	種実類	35.2	2.7	2.4	2.2	2.0	0.8	0.8	0.7	0.1	0.1	0.1
6	野菜類 緑黄色野菜	5.7	2.3	88.5	89.2	291.1	5.0	5.0	16.4	2.0	2.1	6.7
	その他	3.4	2.0	188.2	174.4	196.8	6.4	6.0	6.7	3.8	3.5	3.9
7	果実類	1.5	0.9	110.4	136.6	128.7	1.6	2.0	1.9	1.0	1.2	1.2
8	きのこ類	13.5	2.0	15.3	14.5	14.2	2.1	2.0	1.9	0.3	0.3	0.3
9	藻類	—	2.0	14.9	14.4	13.4	—	—	—	0.3	0.3	0.3
10	魚介類	9.0	3.3	97.9	79.7	79.3	8.9	7.2	7.2	3.2	2.6	2.6
11	肉類	34.0	11.2	90.2	66.3	81.6	30.6	22.5	27.7	10.1	7.4	9.1
12	卵類	23.0	11.2	38.9	34.3	32.7	9.0	7.9	7.5	4.4	3.8	3.7
13	乳類	3.3	1.3	161.7	174.4	145.6	5.4	5.8	4.8	2.1	2.3	1.9
14	油脂類	0.1	2.6	12.1	9.9	12.5	0.0	0.0	0.0	0.3	0.3	0.3
15	菓子類	5.3	3.1	22.5	29.9	28.0	1.2	1.6	1.5	0.7	0.9	0.9
16	嗜好飲料類 ^b	0.3	3.0	596.2	474.8	613.5	1.9	1.6	2.0	17.9	14.2	18.4
17	調味料及び香辛料類 ^b	15.0	3.0	95.4	80.5	96.0	14.3	12.1	14.4	2.9	2.4	2.9
18	調理加工食品類	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	合計	—	—	2,197.2	1,905.4	2,082.7	107.8	91.6	110.4	65.1	54.9	65.9

^a ビオチン摂取量(合計)は、食品群ごとにビオチン含量と食品摂取量の積を算出した後、すべての食品群を総和したものである。

^b 平成12年度以前は調味嗜好飲料群と1つの群であったが、平成13年度から食品群の分類が変わり、嗜好飲料類と調味料類及び香辛料類の2つの群に分けられた。

の代表値を決める場合に、算術平均値で良いのか、加重平均値や中央値などがよいのか十分に検討する必要がある。また日常摂取している食品をどのような基準で選択するのか、とくに複数の栄養素を同時に分析する場合の食品の選択は難しくなる。

オランダ、イタリアや中国などにおいて、TDSによってミネラルや多数の栄養素の摂取量についての算出が試みられている²⁷⁾。Lombardi-Bocciaら²⁸⁾は、イタリアにおいてTDSによって主要元素5種類および微量元素4種類の摂取量を算出し、食形態および栄養状態と評価している。この結果、ミネラルの種類によって供給源となっている食品が大きく異なり、カルシウムおよび鉄の摂取量が十分でないことを明らかにしている。また、オランダでは、TDSによって18歳の青少年を対象に、重金属とともにミネラル摂取量の算出を行っている。亜鉛、セレンなどのミネラルについては、オランダの所要量を満

たしていることを明らかにしている^{25,29)}。アメリカにおいては、1991~1996年間のTDSによって、10種類のミネラルと4種類の化学物質の摂取量を同時に調査し、ミネラルの供給源となっている食品の寄与率を算出している³⁰⁾。

これらのTDSをまとめてみると、オランダのTDSでは、対象としている食品数は、日常的に摂取している234主要食品を選択し、これらを13食品群に区分して、分析に供している。また、イタリアのTDSでも同じように、1637食品を123食品型(タイプ)にまとめ、この中から191食品を選択し12食品群に分類した。最終的に6食品群として均一化し分析をしている。このように2つのTDSとも、偏りなくできるだけ多くの食品を選択し、ミネラルの分析を行っている。ミネラルは、調理によって熱変性や溶出することが少ないため、重金属や残留農薬の分析と同時に、食品中の含量を正確に分析

することができる。しかしながら、均一化するときに不純物の混入や試料を灰化するときに蒸発することなどの注意が必要である。ビタミンについては、調理損耗のほか、酸化、紫外線などの影響が考えられる。このため、ビタミンを対象として、TDSを利用する際には、対象としているビタミンの化学的特性についてあらかじめ十分に把握しておく必要がある。ビオチンについては、これらのことより、むしろ分析した食品数や選択した食品が大きく影響しているのかもしれない。今後、分析数を増やすとともに、代表値の決め方についても検討を加え、推定値の算出の精度を上げる必要がある。

食事摂取基準の策定においては、日本人を対象としたデータはほとんどなく、多くの場合、食生活が異なる欧米人のデータが用いられている³¹⁾。このため、現在用いられている食事摂取基準は、わが国の食生活を十分に反映しているとは云えない。「日本人の食事摂取基準(2005年版)」において、ビオチンやパントテン酸など5種類の水溶性ビタミンは推定平均必要量から推奨量が求められず、目安量の設定となっている³²⁾。ビオチンの食事摂取基準の策定においては、東京都のTDSによるビオチン摂取量が科学的な根拠として用いられている。この調査結果に基づき、健康な成人男女のビオチンの目安量が45 µg/日と策定されている。

東京都のTDSは、残留農薬のプロトコルに基づいて平成13年度に行われたものである。しかし、平成11年度の東京都栄養調査の摂取量を利用して、ビオチンの摂取量を45.1 µg/日と算出している。栄養調査では、平成13年度から、食品の食形態を考慮して摂取量を記載することになった³³⁾。たとえば、米類の摂取量が、平成11年度では国民栄養調査および東京都栄養調査でそれぞれ190.5 g(男性)および140.9 gであるのに対して、平成14年度ではそれぞれ417.9 g(男性)および301.2 gと、両年度で著しい差異が認められた。また嗜好飲料、調味料及び香辛料類の摂取量も、東京都栄養調査では平成11年度で207.2 gであるのに対して、平成14年度で709.5 gと、3倍の違いがあった。つまり、分析した食品群のビオチン含量を基に、平成11年度の摂取量を利用して、ビオチン摂取量を算出すると過少評価となると考えられる。著者らが、実際に平成14年度および15年度の東京都栄養調査の摂取量を利用して、ビオチンの摂取量を算出すると65 µgとなる。このようなことから、東京都のTDSで求められたビオチン摂取量については再検討の必要があるのかもしれない。

本研究においては、著者らが分析したビオチン含量および国民栄養調査の結果を利用して、ビオチンの摂取量の算出を試み、東京都のTDSの結果との比較検討を行った。両者のビオチン摂取量には大きな違いが認めら

れたが、TDSは栄養素の摂取量を求めるために有用な方法と考えられる。現在、TDSによって残留農薬の摂取量の調査が行われている。これと並行して、ある種の栄養素については摂取量の推定を行うことが可能である。今後TDSを利用して、ビタミンやミネラルの摂取量を算出することは、わが国の食事摂取基準を策定するための有効な手段として期待される。

結 論

TDSは、残留農薬や食品添加物の摂取量を求めるために開発され、広く使用されている。最近、この方法が栄養素の摂取量の算出にも使用されている。しかし、TDSによって、栄養素の推定を行うためには、食品数、食品の分類、食品の選択、食品群ごとの摂取量の算出などについての基礎的な検討が必要である。わが国では、現在TDSによって地域ごとに残留農薬の摂取量の調査が行われている。そこで、このTDSと並行して、栄養素の摂取量を算出することが可能になれば、得られたデータはわが国の食事摂取基準を策定するための基礎的な資料として有用である。このようなことから、栄養素を算出するための精度の高いTDSの早急な確立が求められる。

文 献

- 1) 坪野吉孝, 久道 茂: 栄養疫学, 南江堂, 東京 (2001)
- 2) 細貝祐太郎, 松本昌雄監修: 食品安全セミナー 2, 食品添加物, 中央法規出版, 東京, pp. 83-97 (2001)
- 3) 食品添加物研究会編: あなたが食べている食品添加物—食品添加物1日摂取量の実態と傾向—, 日本食品添加物協会, 東京, pp. 67-82 (2001)
- 4) World Health Organization: Pesticide Residues in Food. Technical report series no. 592, Geneva: WHO (1976)
- 5) World Health Organization: Guidelines for the Study of Dietary Intakes of Chemical Contaminants. WHO offset publication no. 87, Geneva: WHO (1985)
- 6) Iyengar GV, Kawamura H, Parr RM, Miah FK, Wang J-X, Dang HS, Djojusubroto H, Cho S-Y, Akher P, Natara ES, Nguy MS: Dietary intake of essential minor and trace elements from Asian diets. *Food Nutr Bull* 23: 124-128 (2002)
- 7) Ophaug RH, Singer L, Harland BF: Estimated fluoride intake of 6-month-old infants in four dietary regions of the United States. *Am J Clin Nutr* 33: 324-327 (1980)
- 8) Ophaug RH, Singer L, Harland BF: Dietary fluoride intake of 6-month and 2-year-old children in four dietary regions of the United States. *Am J Clin Nutr* 42: 701-707 (1985)
- 9) van Dokkum W, de Vos RH, Cloughley FA, Hulshof KFAM, Dukel F, Wijsman JA: Food additives and food components in total diets in The Netherlands. *Br J Nutr* 48: 223-231 (1982)
- 10) de Vos RH, van Dokkum W, Olthof PDA, Quirijns JK, Muys T, Van der Poll JM: Pesticides and other chemical residues in Dutch total diet samples (June 1976-July

- 1978). *Food Chem Toxicol* **22**: 11-21 (1984)
- 11) Chen J, Gao J: The Chinese total diet study in 1990. Part II. Nutrients. *J AOAC Internat* **76**: 1206-1213 (1993)
 - 12) Booth SL, Pennington JAT, Sadowski JA: Dihydrovitamin K₁: Primary food sources and estimated dietary intakes in the American diet. *Lipids* **31**, 715-720 (1996)
 - 13) Booth SL, Pennington JAT, Sadowski JA: Food sources and dietary intakes of vitamin K-1 (phyloquinone) in the American diet: Data from the FDA total diet study. *J Am Diet Assoc* **96**, 149-154 (1996)
 - 14) 齋東由紀, 牛尾房雄: トータルダイエット調査による東京都民のビオチン, ビタミン B₆, ナイアシンの一日摂取量の推定. *栄養学雑誌* **62**: 165-169 (2004)
 - 15) 渡邊敏明, 大串美沙, 福井 徹: わが国の実年者におけるビオチンの体内動態についての検討. *生物試料分析* **27**: 403-408 (2004)
 - 16) 谷口歩美, 大串美沙, 武智隆祐, 渡邊敏明: わが国の食品に含まれるビオチン量の分析. *日本栄養・食糧学会誌* **58**: 185-198 (2005)
 - 17) 食品成分研究調査会編: 五訂日本食品標準成分表. 医歯薬出版, 東京 (2001)
 - 18) 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会: 五訂増補日本食品標準成分表. 国立印刷局, 東京 (2005)
 - 19) 健康・栄養情報研究会編: 国民栄養の現状. 平成11年度厚生労働省国民栄養調査結果. 第一出版, 東京 (2001)
 - 20) 健康・栄養情報研究会編: 国民栄養の現状. 平成14年度厚生労働省国民栄養調査結果. 第一出版, 東京 (2004)
 - 21) 東京都衛生局編: 東京都民の栄養状況. 東京都, 東京 (1999)
 - 22) 東京都衛生局編: 東京都民の栄養状況. 東京都, 東京 (2002)
 - 23) 東京都衛生局編: 東京都民の栄養状況. 東京都, 東京 (2003)
 - 24) Pennington, JAT: Revision of the total diet study food list and diets. *J Am Diet Assoc* **82**: 166-173 (1983)
 - 25) van Dokkum W, de Vos RH, Muys Th, Wesstra JA: Minerals and trace elements in total diets in the Netherlands. *Br J Nutr* **61**: 7-15 (1989)
 - 26) Pennington JAT, Wilson DB: Daily intakes of nine nutritional elements: Analyzed vs. calculated values. *J Am Diet Assoc* **90**: 375-381 (1990)
 - 27) Pennington JAT, Schoen SA: Total diet study: Estimated dietary intakes of nutritional elements, 1982-1991. *Internat J Vitam Nutr Res* **66**: 350-362 (1996)
 - 28) Lombardi-Boccia G, Aguzzi A, Cappelloni M, di Lullo G, Lucarini M: Total-diet study: Dietary intakes of macro elements and trace elements in Italy. *Br J Nutr* **90**: 1117-1121 (2003)
 - 29) van Dokkum W, de Vos RH, Dukel F, Hilwig GNG: Analysis of macrocomponents and fatty acids in the market basket of male adolescents in the Netherlands. *J Am Diet Assoc* **90**: 77-81 (1990)
 - 30) Egan SK, Tao SS-H, Pennington JAT, Bolger PM: US food and drug administration's total diet study: Intake of nutritional and toxic elements, 1991-96. *Food Addit Contam* **19**: 103-125 (2002)
 - 31) 厚生省: 第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—. 平成11年6月, 東京 (1999)
 - 32) 厚生労働省: 日本人の食事摂取基準 (2005年版). 第一出版, 東京 (2005)
 - 33) 健康・栄養情報研究会編: 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, 東京 (2003)

Study on the Estimate of Dietary Intake of Biotin by Total Diet Study

Toshiaki WATANABE and Ayumi TANIGUCHI

Laboratory of Dietary Environment Analysis, School of Human Science and Environment, Himeji Institute of Technology, University of Hyogo

The total diet study is considered an important tool for monitoring the exposure to additives and contaminants through habitual diets and for estimating the health risk for the consumer. This study was undertaken to estimate the dietary intake of biotin, which is one of water-soluble vitamins, by total diet studies. Based on the mean biotin concentration of individual food in 18 food groups, the estimated biotin intakes were 107.8 µg/day for males and 91.6 µg/day for females using the Japanese National Nutrition Survey. On the other hand, based on the biotin concentrations of 13 food groups, the estimated biotin intake were 61.4 µg/day and 45.2 µg/day in 1999 and 2002, respectively, in the Tokyo Metropolitan area. There was a large difference in estimated biotin intakes between both studies. From these findings, total diet studies are suitable for evaluating the nutritional quality of diets. However, to establish the dietary intake of nutrients by total diet studies, it is necessary for confirming the chemical characteristics of nutrients, the classification and selection of foods, the number of foods used and how to calculate the mean or median of the food groups.

Key words : total diet study, dietary intake, vitamin, biotin, Dietary Reference Intakes

7. EBM の手法を用いたビタミン欠乏症の判定

渭原 博 橋詰 直孝 渡邊 敏明

はじめに

微量で動物の正常な生理的機能を調節し完全な新陳代謝を行わせ、それ自体としてはエネルギー源にもならず、生体構成成分にもならない物質をビタミンと呼ぶ。ヒトではほとんどのビタミンを体内で生成できないので、食事から供給しなければならない。このため各国では1日に食事から摂るべき量を定めており、わが国では食事摂取基準として欠乏症状が知られる13種のビタミンについて推奨量(Recommended dietary allowance: RDA)や目安量(Adequate intake: AI)が策定されている¹⁾。しかしながら血中ビタミン濃度の測定に検査実施料が認められているのは、このうち6種類(1 α ,25-(OH)₂ビタミンD₃, ビタミンB₁, ビタミンB₂, 葉酸, ビタミンB₁₂, ビタミンC)だけである。この理由は臨床検査としての有効性が無いか、もしくは有効性の根拠(エビデンス)が体系的に整理されていないことにある。ビタミン欠乏症の判定にEvidence-based Medicine(EBM)をどのように用いるか考えてみたい。

I. エビデンスの抽出

ビタミン欠乏症に関するエビデンスはエネルギー(炭水化物)、脂質、蛋白質、ミネラルなどの他の栄養素と同じように、疫学調査、食事調査、体位・体力、臨床症状(栄養障害で見られる身体徴候)、および臨床検査成績から求めら

れる。以下、栄養障害時の臨床症状(表1)と臨床検査(表2)を中心に幾つかのビタミンについて説明するが、臨床検査には欠乏したビタミンの直接測定と、ビタミン欠乏により引き起こされる代謝異常を調べる検査がある²⁾。

II. 臨床症状に基づくエビデンス

A. 脂溶性ビタミン

1. ビタミンA

欠乏症状のエビデンスとして暗順応の低下と夜盲症が認められている。ビタミンA欠乏症の早期発見に暗順応の時間測定が用いられるが、光感受性や視力の低下はビタミンA欠乏に特異的でない。

幼児および小児では角膜軟化症、学童では角膜乾燥(ビトー斑)と結膜乾燥症が欠乏症のエビデンスとなる。皮膚乾燥症や毛嚢角化症はビタミンA欠乏よりも必須脂肪酸不足で多い。欠乏により発育期の成長停止、感染症に対する抵抗力の低下が起こるが、ビタミンA欠乏に特異的でない。

2. ビタミンD

欠乏症のエビデンスにクル病などの骨化不全があげられる。骨の成長が停止している大人では骨軟化症から考える。

3. ビタミンE

未熟児新生児にビタミンE欠乏による赤血球膜の脆弱化や溶血性貧血がみられるが、欠乏症を臨床的に把握するのは難しい。

表1 エビデンスとなるビタミン欠乏症の臨床症状

	強いエビデンス	弱いエビデンス
ビタミンA	夜間視力減退(暗順応不良, 夜盲症), 結膜乾燥およびビトー斑, 眼球乾燥症および角膜軟化	発育期の成長停止, 感染症に対する抵抗力の低下, 角化性皮膚疾患
ビタミンD	くる病・骨化不全(小児), 骨軟化症(成人), 骨粗鬆症	ビタミンD代謝異常に伴う諸症状(低カルシウム血症, しびれ, テタニー, 骨痛, 骨病変)
ビタミンE	症状に特異性がない	赤血球の溶血亢進に伴った貧血
ビタミンK	新生児の脳蓋内出血, 新生児メレナ	出血傾向, 斑状出血
ビタミンB ₁	脚気の症状(神経系の障害, 循環器症状, 浮腫, ウェルニッケ脳症)	不定愁訴
ビタミンB ₂	口角炎, 口唇炎, 舌炎, 脂漏性湿疹, 結膜炎, 角膜炎, 皮膚炎	ナイアシン, ビタミンB ₆ 欠乏に似た口唇・口角炎および皮膚炎
ナイアシン	ペラグラの諸症状(紅斑・水疱・膿疱・カザールの首飾りに見られる皮膚病変, 下痢・口内炎・食欲不振などの消化器症状, 頭痛・不安・痙攣・知覚～運動麻痺などの神経系障害)	ビタミンB ₂ 欠乏に似た口唇・口角炎および皮膚炎
ビタミンB ₆	乳幼児では痙攣, 嘔吐, 成人では低色素性小球形貧血, 多発性末梢神経炎	ビタミンB ₂ , ナイアシン欠乏に似た口唇・口角炎および皮膚炎
葉酸	大球形・巨赤芽球性貧血	ビタミンB ₁₂ 欠乏と似た貧血症状を呈する, 神経管閉鎖障害(二分脊椎, 無脳症, 脳室ヘルニア)
ビタミンB ₁₂	悪性貧血の諸症状(大球形・巨赤芽球性貧血, 出血性素質, 消化器症状, スプルー, 末梢性神経障害)	葉酸欠乏と似た症状を呈する, 胃切除, メチルマロン酸尿症
ビオチン	症状に特異性がない	脂漏性皮膚炎, 萎縮性舌炎, 脱毛
パントテン酸	症状に特異性がない	末梢神経障害(足の灼熱感, 四肢のしびれ感)
ビタミンC	壊血病(毛嚢周囲に角化性疹と出血, 点状皮下出血, 斑状出血・紫斑症, 粘膜出血, 筋肉痛, 関節痛, 歯齦歯間・歯肉部の発赤膨脹と出血)	全身倦怠, 脱力, 食欲不振

4. ビタミンK

ビタミンK欠乏症の強いエビデンスに新生児出血がある。

B. 水溶性ビタミン

1. ビタミンB₁

欠乏症の強いエビデンスに脚気と多発性神経障害がある。ビタミンB₁欠乏の初期症状は、疲労感, イライラ, 不眠, 心窩部痛, 食欲不振, 腹痛, 便秘などの不定愁訴である。脚気の症状には、1) 神経系障害: 乾性(dry)脚気, Wernicke-Korsakoff 症候群, Wernicke 脳症, 2) 循環器障害および浮腫: 湿性(wet)脚気, 心臓脚気, 衝

心脚気, 3) 消化器症状などがある。中心静脈栄養(total parenteral nutrition: TPN)で引き起こされる乳酸アシドーシスでは、ビタミンB₁欠乏をエビデンスとする。

2. ビタミンB₂

口角炎, 口内炎, 口舌炎, 皮膚炎, 角結膜炎(広汎性表在角膜炎)ではビタミンB₂欠乏がエビデンスとなる。

3. 葉酸とビタミンB₁₂

大球形・巨赤芽球性貧血では葉酸およびビタミンB₁₂の欠乏がエビデンスとなる。神経管の発育不全による二分脊椎, 無脳症, 脳室ヘルニ

—臨床栄養に検査をどう生かすか—

表2 ビタミン欠乏症のエビデンスとなる臨床検査

	強いエビデンス	弱いエビデンス	基準範囲およびカットオフ値
ビタミン A	肝蓄積量	血清レチノール濃度 血清レチノール結合蛋白濃度 血清β-カロテン濃度	40~100μg/dl 2.9~7.9mg/dl 男性：<55μg/dl, 女性：<87μg/dl
ビタミン D	血清 25(OH)D ₃ 濃度 血清 1α, 25(OH) ₂ D ₃ 濃度	血清リン濃度 血清カルシウム濃度 血清アルカリホスファターゼ活性	9~34ng/ml; 欠乏症ではほぼ 0 20~60pg/ml; 欠乏症ではほぼ 0 2.5~4.5mg/dl; 欠乏症では 1~2.5mg/dl 8.4~10.4mg/dl 80~260 単位; くる病では 260~600 単位 と中程度増加
ビタミン E	赤血球α-トコフェロール濃度 血清α-トコフェロール濃度		7.5~14.1μg/ml; 無βリポ蛋白血症では ほぼ 0 未熟児新生児では 4μg/ml 以下 成人の欠乏症では 5μg/ml 以下 成人の欠乏症で高脂血症のとき 0.7mg/g 以下(総脂質補正)
ビタミン K	血清ビタミン K ₁ 濃度 血清ビタミン K ₂ 濃度	プロトロンビン時間(PT) 活性部分トロンボプラスチン時間 PIVKA-II 濃度	0.13~1.19ng/ml 0.04±0.01ng/ml 70~100% 23.5~42.5 秒 1.0μg/ml 未満
ビタミン B ₁	全血総チアミン濃度 赤血球トランスケトララーゼ活性	尿チアミン排泄量 血漿乳酸, ビルビン酸濃度	28~56ng/ml 100~200μg/日
ビタミン B ₂	全血リボフラビン濃度	尿リボフラビン排泄量 赤血球グルタチオンレダクターゼ活性	11.9~20.4μg/dl 欠乏症では 30μg/g 以下(クレアチニン 補正)
ナイアシン	血中ニコチン酸濃度 血漿 2-ピリドン濃度	尿中 N'-メチルニコチンアミド排泄量 尿排泄量	300~796μg/dl
ビタミン B ₆	全血ピリドキサル濃度 全血ピリドキシン濃度		男性：6~40ng/ml, 女性：4~19ng/ml 3.0ng/ml 以下
葉酸	血清葉酸濃度 赤血球葉酸濃度	血漿ホモシステイン濃度	2.4~9.8ng/ml 3~14μmol/l; 葉酸欠乏では 14μmol/l 以上に増加
ビタミン B ₁₂	血清コバラミン濃度		233~914pg/ml
ビオチン	血漿ビオチン濃度		292~1,049pg/ml; TPN が原因の欠乏症 ではほぼ 0
パントテン酸	血清パントテン酸濃度		0.2~1.8μg/ml
ビタミン C	血清(血漿)アスコルビン酸 濃度	ルンベル・レーデ現象, 出血・凝 固時間はエビデンスとならない	0.70~1.38mg/dl; 潜在性欠乏症では 0.4~0.7mg/dl; 顕性欠乏症では 0.2~ 0.4mg/dl

アなどの神経管閉鎖障害 (Neural tube defects : NTD) の発生や再発に受胎前後の葉酸欠乏がエビデンスとなるが、葉酸を十分に摂っても 50~70% の発症を抑えるにとどまる。また葉酸の欠乏は成人では、ホモシステインが代謝されずに血液中に蓄積し血管疾患やアルツハイマー病を起こす。

ホモシステインは体に必要な物質だが、過剰になると毒性を示すので体内では過剰に生成したホモシステインは排泄と再メチオニン化によってその濃度を調節している。ホモシステインの再メチオニン化にはメチオニン合成酵素とメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR) が働くが、この MTHFR には遺伝子多型が知られている。酵素蛋白をコードする遺伝子 (*cb1E*) は日本人の約半分がワイルドタイプの正常型にあるが、40% がヘテロの遺伝子変異による中間型、10% がホモ変異型にあり、血漿ホモシステイン濃度は中間型、変異型になるほど高値となる³⁾。これらの変異型のヒトは葉酸の摂取量が不足するとホモシステインが血液中に蓄積し、動脈硬化などを起こし易くなる。

III. 臨床検査に基づくエビデンス

A. 脂溶性ビタミン

1. ビタミン A

ビタミン A (レチノール)、輸送蛋白であるレチノール結合蛋白、前駆体である β -カロテンが測定される。血清濃度は肝蓄積量が枯渇後に減少することから低いエビデンスである。またレチノールの血清濃度はレチノール結合蛋白と等モルにある (相関係数 0.774, $p < 0.001$)。一例として陰イオン交換樹脂カラムを用いた血清ビリルビンの吸着療法においてビリルビンとともにビタミン A も吸着され、欠乏症のレベルにまで減少した症例をあげる⁴⁾。1 回の交換量 7,000ml, 2~3 日間隔での施行で 1,000 μ g のレチノールが失われる。食事から 900 μ g/日摂っているので 1 日に必要とする量 (推奨量 RDA : 700 μ g) を考えると 200 μ g の損失であるが、翌朝には血清レチノール濃度に基準範囲への復帰

が認められた。患者は 130,000 μ g の肝蓄積量 (推奨量の 6ヵ月分) を有するので、血清濃度は良いエビデンスとならなかった。

2. ビタミン E

ビタミン E はカイロミクロンのコアに取り込まれて吸収され肝臓に貯えられる。肝からはリポ蛋白質 (VLDL \rightarrow LDL と移動) と結合して血液中を輸送される。このように血清濃度は脂肪の摂取量に依存するので、高脂血症では総脂質濃度で補正する必要がある。健康な女子学生 54 名について試験食前後の血清 α -トコフェロール濃度を測定すると、試験食後に分散が小さくなり分布に収束が認められた。総脂質での補正によりさらなる収束が確認され 95% 範囲も狭まった。すなわち血清 α -トコフェロール濃度は試験食前 9.28 \pm 1.90 μ g/ml, 95% 分布範囲 6.21~13.35 μ g/ml (分布の CV 20.5%) であるが、試験食後 8.64 \pm 1.66 μ g/ml, 95% 分布範囲 5.84~12.36 μ g/ml (分布の CV 19.2%) であった。総脂質で補正したときには、試験食前 1.71 \pm 0.23mg/g, 95% 分布範囲 1.24~2.17mg/g (分布の CV 13.5%) であるが、試験食後 1.71 \pm 0.15mg/g, 95% 分布範囲 1.31~2.19mg/g (分布の CV 8.8%) となる。試験食前の 3 日間の食事調査では、被験者 54 名は平均 1 日 7 \pm 8mg の α -トコフェロールの摂取にある。試験食は 5mg の α -トコフェロール (1 日に必要とする量、ここでは目安量の 63%) を含む。血清 α -トコフェロール濃度と血清総コレステロール、中性脂肪、リン脂質および総脂質との相関は、それぞれ相関係数 0.723, 0.207, 0.748, 0.730 であった。

B. 水溶性ビタミン

1. ビタミン B₁

全血総チアミン濃度が欠乏症を診断するための強いエビデンスとなろう。全血中のチアミンには生理活性を持つチアミン 2リン酸、3リン酸と活性を有さない遊離チアミンとチアミン 1リン酸がある。生理活性を有する B₁ バイタマーは細胞 (赤血球) 内に、有さないものは細胞外液 (血漿) に局在するので赤血球は良い試料となる。赤血球分離の洗浄段階でチアミン 2リン酸

は細胞外に溶出して失われ低値を与える⁵⁾ので、全血総チアミンもしくは各バイタマーの分画測定が必要とされる。分画測定を行うとサプリメントを摂っている時には血漿中で遊離チアミンの増加を知ることができる⁶⁾。チアミン1リン酸の前駆体は唯一、チアミン2リン酸であるので、分画測定によるチアミン1リン酸も欠乏の良い指標となる⁶⁾。また全血総チアミン濃度のカットオフ値に対して、20ng/mlと28ng/mlの報告があるが、欠乏症例20名⁷⁾を含む77例名の解析では28ng/mlで最も高い病態識別を得た(図1)。

2. 葉酸とビタミンB₁₂

葉酸とビタミンB₁₂についてはEBM先進国である米国のRDA策定法⁸⁾を述べ、臨床検査の関与について説明する。わが国では血中(血清、赤血球)葉酸濃度およびホモシステイン濃度を基準範囲に保ち得る食事の葉酸の摂取量から推定平均必要量(Estimated average requirement: EAR, 後述)を求めた。健康な男性(40名)を20週の食事管理(200±68μg/日)におくと、血清葉

酸濃度は17nmol/l(前値:19nmol/l)、赤血球中濃度は713nmol/l(前値:786nmol/l)に安定する⁹⁾。被験者に貧血などの血液学的異常は生じないの

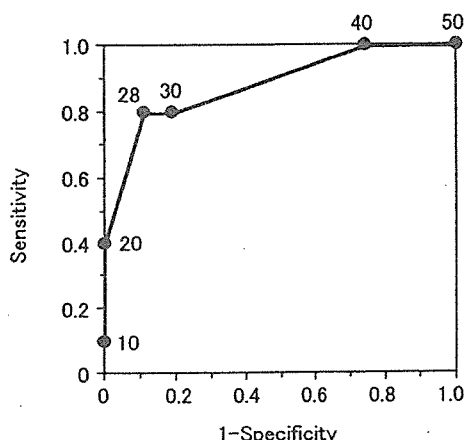


図1 全血総チアミン濃度のROC曲線とカットオフ値
Efficiencyは、カットオフ値10ng/mlで0.77、20ng/mlで0.84、28ng/mlで0.87、30ng/mlで0.81、40ng/mlで0.45、50ng/mlで0.26と、28ng/mlで優れていることが理解できる。

表3 葉酸とビタミンB₁₂についての米国RDAの計算法

[葉酸]		
	摂取量	食事濃度に換算
食事	30μg/日	30μg/日
+サプリメント	170μg/日	
吸収効率と食事換算で補正	×85/50(=1.7)	289μg/日
合計		319μg/日
EAR		320μg/日
RDA		400μg/日
[ビタミンB ₁₂]		
ステップ1	悪性貧血患者にビタミンB ₁₂ を筋注し、血液学的検査成績や血清ビタミンB ₁₂ 濃度を正常化するのに要する量	1.5μg/日
ステップ2	胆汁中へ排泄され利用されない量	-0.5μg/日
合計		1.0μg/日
ステップ3	生体利用率(食物からの吸収効率など)	×2
EAR		2.0μg/日
RDA		2.4μg/日

でEARを200 μ g/日として、この値を基に推奨量RDAを240 μ g/日とした。米国では食事よりもサプリメント主体の策定である。健康な女性5名に食事からの30 μ g/日に加えサプリメントで170 μ g/日の葉酸を10週間摂らせ、血清ならびに赤血球中葉酸濃度、さらに血漿ホモシステイン濃度の変化を観察した。この摂取量で3例が血清濃度7nmol/l以下、赤血球濃度300nmol/l以下に低下し血漿ホモシステイン濃度14 μ mol/l以上に上昇した。この摂取量からサプリメントの吸収効率1.7を考慮してEARを320 μ g/日と求めている(表3)。EARに1.2を乗じて400 μ g/日をRDAとする。

ビタミンB₁₂の策定法は日米で差を認めない。悪性貧血の患者にビタミンB₁₂を筋注し網赤血球数が上昇して平均赤血球容積(MCV)値、血清ビタミンB₁₂濃度が正常化(>200pg/ml)するのに必要な量を求めると1.5 μ g/日と推定される。悪性貧血の患者では胃内因子が不足のため血液中にビタミンB₁₂を保持できないので、胆汁中へ排泄され利用できない量(-0.5 μ g/日)を考慮すると1.0 μ g/日となる。生体利用率(50%)で補正するとEARは2.0 μ g/日となる。EARは数十名の患者について求めた栄養状態を正常化するのに必要な最小量である。その量を人数でプロットしたヒストグラムを図2に示した。数十名の患者について必要とする量の平均を求めると2.0 μ g/日が得られる。患者の数を増やし理論度数分布曲線を描くと平均値(正確には中央値)である2.0 μ g/日を境にして左右50%ずつとなり、この値以上で50%のヒトでの必要とする量を満たすことになる。正規分布において平均値+2SDの範囲を求めれば、97~98%のヒトでの必要量を満たすことになる。この値がRDAでEARに標準偏差(EARに10%の変動係数を乗じて代用)の2倍を足して算出した(2.4 μ g/日:表3)。

$$\begin{aligned} \text{RDA} &= \text{EAR} + 2\text{SD} \\ &= \text{EAR} + 2(0.1 \times \text{EAR}) \\ &= 1.2 \times \text{EAR} \text{ になる。} \end{aligned}$$

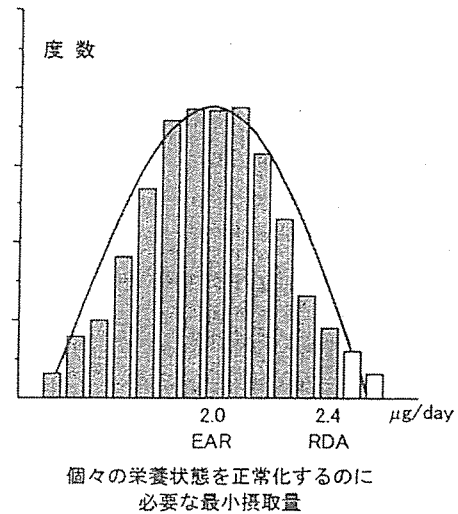


図2 推定平均必要量(EAR)と推奨量(RDA)

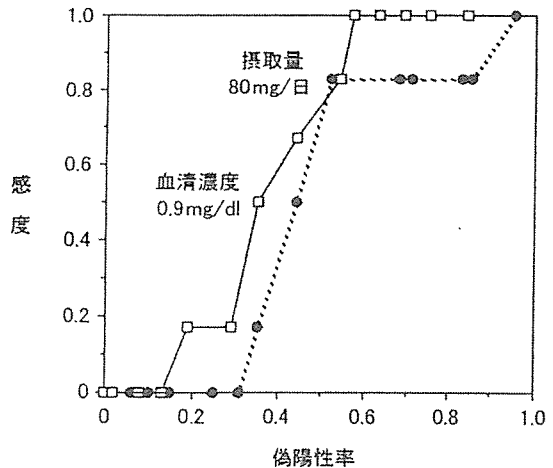


図3 ビタミンC欠乏症のROC曲線からみた感度(Sensitivity)と偽陽性率(1-Specificity)

カットオフ値は、摂取量(●)では80mg/日、血清濃度(□)では0.9mg/dlが求められた。欠乏症の検出は摂取量よりも血清濃度のほうが優れた指標のようである。

3. ビタミンC

わが国の第六次改定日本人の栄養所要量、いわゆる食事摂取基準2000年版¹⁰⁾では、ビタミンCのRDAは血漿ビタミンC濃度を0.7mg/dl以上の基準範囲に保つのに十分な摂取量として100mgが策定された。日本ビタミン標準化検討協議会の研究でも0.7mg/dlの基準下限値が得

—臨床栄養に検査をどう生かすか—

られている¹¹⁾。食事摂取基準 2005 年版¹⁾でも RDA は 100mg と策定されているが、欠乏症の検出には食事調査による摂取量よりも血清濃度が優れている(図3)。摂取量と血清アスコルビン酸濃度は相関係数 0.373(p<0.01)にある。しかしながら偽陽性率を考慮すると摂取量では 80mg/日、血清濃度は 0.9mg/dl をカットオフ値として欠乏を考えるのが妥当であろう¹²⁾。

IV. 摂取量の統計学を用いた評価法

米国の栄養学ではビタミンとミネラルの摂取量の確からしさに統計学を用いた評価が行われている。その方法は数日間の食事調査の平均値を EAR と比較して、個人ごとに必要とする量の EAR からの個体変動と個人の摂取量の日間変動から評価するものである。ビタミン C の摂取量を例にあげて説明すると 3 日間の食事調査の成績より 1 日当たりの平均ビタミン C 摂取量を計算し、統計学 Z 値(=d/D)より摂取量充足(また不足)の確からしさの確率を求める。

$d = (\text{3日間の食事調査による摂取量の平均値})$

$- (\text{EAR})$ 。

EAR はビタミン C では男女とも 85mg にあ

る。 $D = \{V_r + V_{\text{within}}/\text{調査日数}\}$ の平方根で、調査日数は 3 となる。 V_r は{個人ごとに必要とする量の EAR からの個体変動の SD}の 2 乗で、SD を EAR/10 で代用した値として 2 乗する。 V_{within} は{個人の摂取量の日間変動の SD}の 2 乗で、集団における摂取量の変動の SD で代用した値を用いて 2 乗する。集団における摂取量の変動の SD は男性で 93mg、女性で 73mg である。このようにして求めた Z 値を用いて確からしさの確率を正規分布表から読み取る(表4)。4 名とも 3 日間の平均摂取量は EAR (85mg/日)や RDA (100mg/日)以上あるが、1 日に必要なビタミン C 量を摂取していると言える確からしさ(確率)は 79% から 99% である。

まとめ

ビタミン欠乏症の症状をエビデンスとして病態をとらえ必要な検査を適切な間隔で行い診断をすすめるのが、臨床検査の EBM における役割と考える。とらえるべき臨床症状、行う検査の種類、検査間隔、診断のためのカットオフ値の設定など、これらについてのガイドラインの作成が必要であろう。

表4 統計学を用いたビタミン C 摂取量の評価法

	被験者 1	被験者 2	被験者 3	被験者 4
1 日目の摂取量	109	13	149	161
2 日目の摂取量	145	299	139	181
3 日目の摂取量	97	52	148	200
平均摂取量	117	121	145	181
$d [= (\text{平均摂取量} - \text{EAR})]$	32	36	60	96
$V_r [= (\text{EAR}/10)^2]$	$(85/10)^2$	$(85/10)^2$	$(85/10)^2$	$(85/10)^2$
$V_{\text{within}} [= \text{SD}^2]$	$(73)^2$	$(73)^2$	$(73)^2$	$(73)^2$
$V_r + (V_{\text{within}}/\text{調査日数})$	1,849	1,849	1,849	1,849
$D [= \text{SQRT}(V_r + V_{\text{within}}/\text{調査日数})]$	43	43	43	43
Z 値(=d/D)	0.74	0.84	1.40	2.23
確からしさ(確率)	79%	80%	92%	99%

被験者は全員 20 歳代の女性である。

EAR は 85mg/日、集団における摂取量の変動の SD は 73 mg/日(女性)である。

文 献

- 1) 厚生労働省編. 日本人の食事摂取基準(2005年版)平成16年10月. 厚生労働省生活習慣病対策室. 2) McCormick DB, Green HL. Vitamins, In: Tietz Text of Clinical Chemistry 2nd ed. (Burtis CA, Ashwood ER, eds), Philadelphia: WB Saunders Company; 1994. p.1275-316.
- 3) Moriyama Y, Okamura T, Kajinami K, et al. Effect of serum B vitamins on elevated plasma homocysteine levels associated with the mutation of methylenetetra-hydrofolate reductase gene in Japanese. *Atherosclerosis* 2002; 164: 321-8.
- 4) Ihara H, Shino Y, Hashizume N, et al. Decline in plasma retinol in unconjugated hyperbilirubinemia treated with bilirubin adsorption using an anion-exchange resin. *J Nutr Sci Vitaminol* 1998; 44: 329-36.
- 5) Ihara H, Matsumoto T, Shino Y, et al. Assay values for thiamine in whole blood do not depend on anticoagulant used. *J Clin Lab Anal* 2005; 19: 205-208.
- 6) Ihara H, Hirano A, Wang L, et al. Reference values for whole blood thiamine and thiamine phosphate esters in Japanese adults. *J Anal Bio-Sci* 2005; 28: 241-6.
- 7) 橋詰直孝. 全血総ビタミンB₁値標準化に関する報告書—高速液体クロマトグラフィーによる測定法を中心に—. *日本栄養・食糧学会誌* 1997; 50: 445-7.
- 8) Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic acid, Biotin, and Choline. National Academy Press, Washington, DC. 1998.
- 9) Milne DB, Johnson LK, Mahalko JR, et al. Folate status of adult males living in a metabolic unit: Possible relationships with iron nutrition. *Am J Clin Nutr* 1983; 37: 768-73.
- 10) 厚生省. 第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—. 平成11年6月. 厚生省生活習慣病対策室.
- 11) 藤原葉子, 大塚 恵, 沼原 博, 他. 血中のビタミンC測定法標準化ならびに基準値に関する報告書—高速液体クロマトグラフィーによる測定法を中心に—. *日本栄養・食糧学会誌* 2001; 54: 41-4.
- 12) Ihara H, Shino Y, Hashizume N. Recommended dietary allowance for vitamin C in the United States is also applicable to a population of young Japanese women. *J Clin Lab Anal* 2004; 18: 305-8.

原 著

日本人の母乳中の水溶性ビタミン含量についての検討

¹ 兵庫県立大学環境人間学部食環境解析学教室*, ² カゴメ株式会社総合研究所, ³ 病体生理研究所研究室,
⁴ 高知女子大学生活科学部健康栄養学科, ⁵ 東邦大学医学部附属大橋病院, ⁶ 昭和女子大学大学院生活機構研究科,
⁷ 独立行政法人国立健康・栄養研究所, ⁸ 滋賀県立大学人間文化学部生活文化学科

渡邊 敏明¹, 谷口 歩美¹, 庄子佳文子², 稲熊 隆博², 福井 徹³, 渡邊 文雄⁴
宮本 恵美⁴, 橋詰 直孝^{5**}, 佐々木晶子⁶, 戸谷 誠之⁶, 西牟田 守⁷, 柴田 克己⁸

Vitamins(Japan), 79(12), 573-581(2005)

The Concentraions of Water-Soluble Vitamins in Breast Milk of Japanese Women

Toshiaki WATANABE¹, Ayumi TANIGUCHI¹, Kayako SHOJI², Takahiro INAKUMA², ToFu FUKUI³, Fumio WATANABE⁴,
Emi MIYAMOTO⁴, Naotaka HASHIZUME⁵, Akiko SASAKI⁶, Masayuki TOTANI⁶, Mamoru NISHIMUTA⁷, Katsumi SHIBATA⁸

¹Department of Dietary Environment Analysis, School of Human Science and Environment, Himeji Institute of Technology, University of Hyogo, Himeji 670-0092, Japan, ²Research Institute, Kagome Co., Ltd., Nasu, Tochigi 329-2762, Japan, ³Clinical Laboratory, Byotai Seiri Laboratory, Itabashi, Tokyo 173-0025, Japan, ⁴Department of Foods and Nutrition, Kochi Women's University, Kochi 780-8515, Japan, ⁵Department of Laboratory Medicine, Ohashi Hospital, School of Medicine, Toho University, Meguro 153-8515, Japan, ⁶Department of Food Science and Nutrition, Graduate School of Human Life Science, Showa Women's University, Setagaya, Tokyo 154-8533, Japan, ⁷National Institute of Health and Nutrition, Shinjuku, Tokyo 162-8636, Japan, ⁸School of Human Cultures, University of Shiga Prefecture, Hikone 522-8533, Japan

The concentrations of 5 water-soluble vitamins were determined in the mature milk of healthy Japanese women in this study. The average concentrations of these vitamins were 0.28±0.14 ng/ml (0.21±0.11 pmol/ml) for vitamin B₁₂, 34.6±9.9 ng/ml (78.5±22.3 pmol/ml) for total folate, and 3.40±0.68 ng/ml (13.9±2.8 pmol/ml) for total biotin in 25 milks, and 1.55±0.56 μg/ml (12.7±4.6 nmol/ml) for total niacin, 6.92±2.83 μg/ml (31.5±13.0 nmol/ml) for total pantothenic acid in 15 milk specimens, which are not sufficient levels. The free form of vitamins comprised 25.6±8.2 %, 17.9±7.5 %, 69.4±16.9 % of total biotin, niacin and pantothenic acid, respectively. When the intakes of these vitamins by infants were estimated based on the concentration of each vitamin and the amount of breast milk intake by infants, daily intakes of folate, biotin and pantothenic acid in infants aged 0 through 5 months were lower than the respective levels of adequate intake recommended as Dietary Reference Intakes for Japanese, 2005. The present findings are important for establishing future Dietary Reference Intakes for these vitamins.

Keywords: water-soluble vitamins, mature milk, Japanese women, infants, Dietary Reference Intakes

(Received June 22, 2005)

* 〒 670-0092 姫路市新在家本町 1-1-12

** 現 和洋女子大学家政学部

緒 言

日本人の栄養所要量は、昭和 45 年に初回の策定が施行されて以来、日本人の体格、生活習慣などに合わせて、5 年ごとに改定されている。平成 11 年(1999 年)に第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—が策定された。この改定において、水溶性ビタミン 6 種類およびミネラル 6 種類の所要量がはじめて策定された。水溶性ビタミンでは、葉酸およびビオチンなどの摂取基準が算出された。摂取基準の算出においては、これまでに報告されている多くの栄養疫学調査や出納試験などの科学的なデータが利用されている。乳幼児における水溶性ビタミンの摂取基準を算出するためには、母乳中のビタミン含量が一つの指標として使用されている。

母乳にはタンパク質、炭水化物および脂肪ばかりでなくビタミンやミネラルなどの大部分の栄養素が含まれている。これらの栄養素は、消化、吸収の効率がよく、乳児にとってはバランスの取れた栄養源である。このため、一般に健康な母親の母乳で育てられている乳児には栄養欠乏症はほとんど見られない。これは、母乳には乳児の発育のために必要な栄養素が十分に含まれていることを示している。

わが国の母乳のビタミン分析については、井戸田ら²⁾が大規模な縦断的研究を行っている。著者らは、最近、全国の授乳婦から得た母乳のビオチン、パントテン酸およびナイアシンの含量を分析した³⁾。しかしながら、授乳婦の妊娠経過や乳児の発育などについて、十分に把握されていなかった。このように、これまで日本人を対象としたデータは少なく、わが国の食事摂取基準の策定においては、食生活が異なる欧米人でのデータが多く用いられている。このため、ビタミンの摂取基準の策定においても、わが国の食生活が十分に反映されているとは云えない。

そこで、本研究では、わが国の新しいデータを得るために、わが国の授乳婦から採取した母乳を利用して、水溶性ビタミン含量の分析を総合的に行った。B₆の分析結果については、本誌にすでに報告されている⁴⁾。今回は、これまでにまとまった B₁₂、葉酸、ビオチン、ナイアシン、パントテン酸の 5 種類の水溶性ビタミン含量を分析した結果について報告する。なお、ナイアシンおよびパントテン酸については、サンプル数が十分でなく、参考データとした。

実験方法

1. 被験者

被験者としては、妊娠ならびに出産が正常な経過で満期出産し、満月齢で 2-5 ケ月の乳児を完全母乳哺育している日本人授乳婦を対象にした。被験者は 25 名で、平均

年齢 31.1 歳、平均体重 52.8 kg、平均身長 158.7 cm であった。児(男児 15 名、女児 9 名、不明 1 名)はすべて単胎児であり、在胎期間は全児 38 週以上、妊娠経過は概ね正常で、軽度の妊娠中毒症、貧血が数名見られた以外に顕著な異常はなかった。被験者の在住地域は、東京都 8 名、静岡県 8 名、長野県 3 名、栃木県 2 名、神奈川県 1 名、大阪府 1 名、愛知県 1 名、和歌山県 1 名であった。

被験者は、栄養に対する興味も高くバランスのとれた食事を摂取していることを前提とした。被験者の摂取している食事については、3 日間の食事記録調査を行った。摂取エネルギーについて PFC バランスで見ると、P:F:C = 14.8%:28.6%:55.4% であり、バランスのとれた食事を摂っていた。母乳は、体調の良い 25 名の被験者から採取した。しかし、採取した母乳量が十分でないため、ナイアシンおよびパントテン酸の分析は 15 サンプルのみである。

被験者にはあらかじめ研究の趣旨及び方法を文書で説明し、協力を依頼し、同意を得た。また、今回の研究は、すべてヘルシンキ宣言に従って実施され、昭和女子大学における倫理委員会より承認を得て実施したものである(承認番号 01-06 平成 14 年 2 月 4 日承認)。

2. 母乳採取

母乳は、ほぼ 14 時-16 時の授乳後に、乳房をマッサージした後の後乳を採取して、冷凍母乳パック(カネソン本舗社製)に保存し、分析に供するまで -20°C にて保存した。

3. B₁₂ の分析

母乳に含まれる B₁₂ の定量は、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⁵⁾に準じて乳酸菌 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Lactis* (旧名 *L. leichimannii*) ATCC 7830 を用いた微生物学的定量法で行った。なお、母乳に含まれる B₁₂ 含量を考慮して母乳 1.0 ml (あるいは 0.5 ml) をサンプルとし、酢酸緩衝液、KCN 溶液、メタリン酸溶液はマニュアルに記載されている容量の 1/10 量(あるいは 1/20 量)で抽出を行った。本定量菌は、B₁₂ 以外にヌクレオチドやデオキシリボヌクレオチドにも B₁₂ 活性を示すため、これらをアルカリ耐性因子として別にアルカリ処理を行い、見かけの B₁₂ 含量からアルカリ耐性因子含量を差し引き、母乳中の正確な B₁₂ 含量を算出した。また、定量には日水製薬株式会社製のライヒマニ保存用培地、ライヒマニ接種用培地、ライヒマニ用 B₁₂ 定量基礎培地を用いて行った。

4. 葉酸の分析

母乳を解凍後、遠心分離してクリーム状の上層を取り除き、脱脂した。この試料に 0.1M リン酸緩衝液(pH6.1)を加えて、オートクレーブで加熱抽出した。冷却後、コ

ンジュガーゼ溶液(chicken pancreas, DIFCO社)を加え、恒温槽で37°C、2時間反応させた。酵素を失活させた後、0.1Mリン酸緩衝液(pH6.1)を加え、ろ過したものを検液とした。葉酸の分析は、乳酸菌 *Lactobacillus casei* ATCC 7469を用いて行った。

5. ビオチンの分析

採取したサンプルに1/15Mリン酸緩衝液を加えたものを測定用試料とした。検液は4.5N硫酸溶液で120°C、1時間加水分解し、4.5N水酸化ナトリウム溶液で中和した後に、ビオチン量を測定し、これを総ビオチン含量とした。サンプルを脱脂および除タンパクした後、硫酸による加水分解を行わないで測定したビオチン量を遊離型ビオチン量とし、総ビオチン量に対する遊離型ビオチン量の割合を遊離率とした。ビオチンの分析は、乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014を用いた微生物学的定量法の一つである比濁法に従った⁶⁾⁷⁾。

6. ナイアシンの分析

母乳中のナイアシンは、総量と遊離型に分けて測定した。総ナイアシン量については、母乳150 µlに20 µg/mlイソニコチンアミド溶液(イソニコチンアミドは内部標準として使用)1,350 µlを加え、オートクレーブにて121°C、10分間処理を行った。この処理により、補酵素型がすべて遊離型のニコチンアミドとなる。冷却後遠心し、得られた上清1,200 µlに70%過塩素酸70 µlを加えてよく混合し、遠心上清1,000 µlを検液とした。測定は、HPLCによって行った⁸⁾。一方、遊離型ナイアシン量は、上記の操作においてオートクレーブ処理せずに測定した。

7. パントテン酸の分析

母乳中のパントテン酸は、総量と遊離型に分けて測定した。総パントテン酸量については、母乳中の補酵素型を遊離型のパントテン酸にするために、アミダーゼ・ホスファターゼ処理を行った³⁾。処理後、定量菌として乳酸

菌 *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014を用いて、測定をした。一方、遊離型パントテン酸量は、上記の操作において酵素処理を行わずに測定した。

8. 統計学的解析

母乳のビタミン含量は、すべて平均値±標準偏差(SD)、範囲(最小値-最大値)および変動係数(CV)で表した。単位としては、重量濃度(ng/ml, µg/ml)とモル濃度(pmol/ml, nmol/ml)を併記した。また母乳へ分泌されたビタミンの様子を知るために、B₁₂、葉酸およびビオチンについては、それぞれの相関係数を算出し、関連を調べた。なお、統計学的解析には、すべて統計パッケージStatView-J 5.0(SAS Institute Inc., Cary, NC)を用いて行った。

結 果

母乳に含まれるB₁₂の分析結果を図1に示す。母乳のB₁₂含量は、平均値0.28±0.14 ng/ml (0.21±0.11 pmol/ml)、範囲0.08-0.73 ng/ml、CV 50.6%であった。

母乳の総葉酸含量は、平均値34.6±9.9 ng/ml (78.5±22.3 pmol/ml)、範囲17.3-58.9 ng/ml、CV 28.6%であった(図2)。

母乳に含まれるビオチンの分析結果をまとめたものが図3である。分析した母乳の総ビオチン含量は、平均値3.40±0.68 ng/ml (13.9±2.8 pmol/ml)、範囲2.55-4.97 ng/ml、CV 20.1%であった。また、遊離型ビオチン含量は、平均値0.87±0.31 ng/ml (3.6±1.3 pmol/ml)であり、遊離率25.6±8.2%であった(図3)。

総ナイアシン含量は、平均値1.55±0.56 µg/ml (12.7±4.6 nmol/ml)、範囲0.95-2.81 µg/ml、CV 36.1%であった。また、遊離型ナイアシン含量は、平均値0.30±0.26 µg/ml (2.49±2.16 nmol/ml)であり、遊離率17.9±7.5%であった。

母乳の総パントテン酸含量は、平均値6.92±2.83 µg/ml

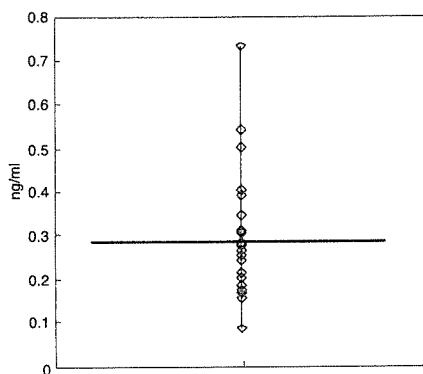


図1. 母乳のB₁₂含量。

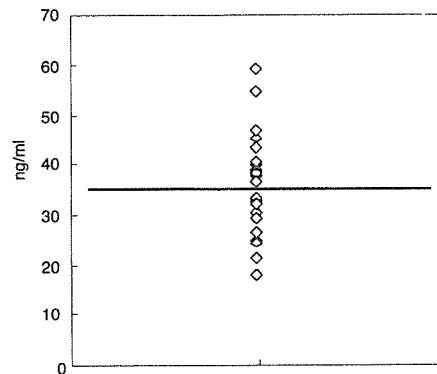


図2. 母乳の葉酸含量。

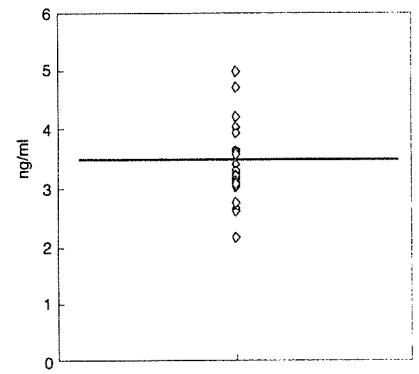


図3. 母乳のビオチン含量。

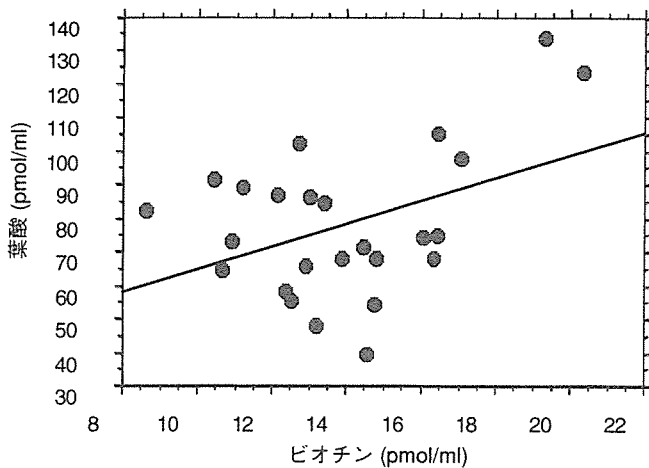


図4. 母乳のビオチン含量と葉酸含量との関連.

(31.5 ± 13.0 nmol/ml), 範囲 3.16-14.15 $\mu\text{g/ml}$, CV 40.9%であった。また, 遊離型パントテン酸含量は, 平均値 4.84 ± 2.90 $\mu\text{g/ml}$ (22.1 ± 13.2 nmol/ml)であり, 遊離率 69.4 ± 16.9 %であった。

母乳への分泌されたビタミン間の関連を見ると, 葉酸とビオチン含量には有意な相関($r=0.42$, $p<0.035$)が認められた(図4)。しかし, B_{12} 含量は葉酸やビオチン含量と関連は見られなかった。

考 察

1. B_{12}

井戸田ら²⁾は日本人の健康な母親の母乳中の B_{12} 含量を *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ATCC 7830 を用いた微生物学的定量法で測定したところ, 母乳中の B_{12} 含量は初乳または移行乳(0.4 ng/ml)から成熟乳(0.2 ng/ml)になるに従い減少し, その平均値は 0.2 ng/ml であることを報告している。また, Trugo と Sardinha⁹⁾も初乳から成熟乳にかけ B_{12} 含量が減少することを見出している。井戸田ら²⁾が用いた定量菌は, B_{12} の構造に対してかなり特異性は高いが, アルカリ耐性因子を補正したとする記載がない。そこで, 今回アルカリ耐性因子を補正して母乳中の B_{12} 含量を算

出した結果, 日本人の健康な母親の母乳では 0.14 ng/ml であった。

これまでに報告されている母乳中の B_{12} 含量を示したものが表1である。 B_{12} の定量法に関して, わが国と欧米では異なっているため, 単純に数値を比較することはできない。井戸田ら²⁾および今回測定した日本人の母乳の B_{12} 含量は, 欧米の報告と比べ低値を示したが, これが定量法の違いによるものなのか, 人種の差や食生活の違いによるものなのか明らかでない。

第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—では, 平均的な日本人の母乳の B_{12} 含量 0.2 $\mu\text{g/l}$, 哺乳量 0.75l/日を用いて摂取量(0.15 $\mu\text{g/日}$)を計算し, 0-5ヶ月の乳児の所要量を 0.2 $\mu\text{g/日}$ と策定された¹⁾。日本人の食事摂取基準(2005年版)では平均的な日本人の母乳の B_{12} 含量 0.2 $\mu\text{g/l}$, 哺乳量 0.78l/日を用いて摂取量(0.156 $\mu\text{g/日}$)を算出し, 目安量を 0.2 $\mu\text{g/日}$ と策定された¹⁰⁾。一方, 米国の食事摂取基準において母乳中の B_{12} 含量はわが国より高い値(0.42 $\mu\text{g/l}$)が採用され, 哺乳量 0.78l/日を用いて摂取量 0.33 $\mu\text{g/日}$ が算出され, 所要量を 0.4 $\mu\text{g/日}$ としている¹¹⁾。いずれも WHO の所要量(FAO/WHO1988)の 0.1 $\mu\text{g/日}$ を上回っているが, その理由は WHO の所要量が B_{12} 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¹²⁾。

ベジタリアンの母親とその乳児において, 母乳の B_{12} 含量が 0.49 ng/ml 以下のとき, 母乳栄養乳児の B_{12} 欠乏の指標である尿中メチルマロン酸排泄量が増加している。これらの乳児は体内に十分な B_{12} を貯蔵することなしに生まれてくるため, 平均摂取量 0.24 $\mu\text{g/日}$ は乳児の B_{12} 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¹³⁾。また, 母乳の B_{12} 含量が 0.49 ng/ml 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との報告もある¹⁴⁾。米国の食事摂取基準では乳児の B_{12} 欠乏症を予防するだけでなく, 疾病予防のため B_{12} 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 $\mu\text{g/日}$ 以上の摂取量が必要であることを指摘している¹¹⁾。

妊娠中から 2-4 $\mu\text{g/日}$ の B_{12} サプリメントを摂取すると母乳中の B_{12} 含量を高値(平均値 0.91 ng/ml)に維持する

表1. 母乳の B_{12} 含量.

文献	被験者数 (サンプル数)	母乳葉酸量		採乳時期	分析法
		ng/ml	pmol/ml		
Areekul <i>et al.</i> , '77 ⁴³⁾	45	0.41		2-10日	放射性同位体希釈法
Sandberg <i>et al.</i> , '81 ⁴⁴⁾	19	0.97		2-3ヶ月	放射性同位体希釈法
Trugo and Sardinha, '94 ⁹⁾	256	0.45		2ヶ月	放射性同位体希釈法
井戸田ら, '96 ²⁾	2,279*	0.2		1-3ヶ月	微生物学的定量法
Casterline <i>et al.</i> , '97 ¹⁴⁾	92	0.93		3ヶ月	放射性同位体希釈法
Present study	25*	0.28 ± 0.14 (0.08-0.73)	0.21 ± 0.11 (0.06-0.54)	2-5ヶ月	微生物学的定量法

mean \pm SD (min-max)

* 日本女性

ことができる¹⁵⁾。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¹⁶⁾。このため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. 葉酸

母乳では、葉酸はモノグルタミン酸型で大量に含まれている。授乳婦における葉酸の摂取量の減少による母乳の葉酸含量の低下はほとんど見られず、母乳の葉酸レベルは保たれている。このため、たとえビタミン欠乏になっても、母乳栄養児で葉酸の欠乏による貧血は報告されていない¹⁷⁾¹⁸⁾。

これまでの報告で、母乳中の葉酸含量はコンジュガーゼ処理の有無によって異なっている(表2)。1980年以前の報告では、酵素処理をしない場合には、0.3-32 ng/mlであるのに対して¹⁹⁾²⁰⁾、酵素処理をすると52-64 ng/mlであると報告されている²¹⁾²²⁾。American Academy of Pediatrics²³⁾においても、母乳の葉酸含量は2-50 ng/mlである、と示している。

わが国では、山田²⁴⁾が、正常分娩した健康な授乳婦8名(26サンプル)から母乳を採取して、プロテアーゼ処理をして分析したところ、総葉酸含量は平均71.8 ng/mlとしている。その後、Tamuraら²⁵⁾は、健康に発育している乳児(3-25週齢)を出産した39名の健康な日本人女性から母乳を採取して、葉酸含量をコンジュガーゼ処理して検討した。この結果、母乳中の総葉酸含量は平均141.4 ng/mlであり、遊離型葉酸含量は約40%であった。並行して、この内16名の女性にブテロイルモノグルタミン酸1 mg/日を4週間負荷した後、母乳を採取して、葉酸に与える影響を検討したが、葉酸の投与前後でそれぞれ130.2および136.6 ng/mlと、母乳中の葉酸含量に変化は見られなかった。なお、この結果から算出した場合、乳児の1日あたりの葉酸摂取量は57-165 μgと推定される。

Smithら²⁶⁾の報告では、11名の授乳婦(23-38歳)から授乳後6週および12週で採取した132サンプルをコンジュガーゼによる酵素処理後に分析したところ、母乳の総葉酸含量は平均78.9 ng/mlであり、遊離型は58%であった。これらの授乳婦は妊娠中に葉酸0.8-1 mgが含まれているビタミンミネラルサプリメントを摂取してい

表2. 母乳の葉酸含量.

文献	被験者数 (サンプル数)	母乳葉酸量		採乳時期	分析法
		ng/ml	pmol/ml		
山田, '79 ²⁴⁾	8*(26)	18.4 ± 10.6		初乳 - 成乳	微生物学的定量法 (<i>L. casei</i>) 1 酵素法 (プロテアーゼ)
	8*(26)	71.8 ± 26.1		初乳 - 成乳	
Tamura <i>et al.</i> , '80 ²⁵⁾	39*	141.4 ± 47.9 (62-280)		3-25 週	微生物学的定量法 (<i>L. casei</i>) 1 酵素法 (コンジュガーゼ)
	16	130.2 ± 45.9		葉酸摂取前	
	16	136.6 ± 41.2		葉酸摂取後	
Smith <i>et al.</i> , '83 ²⁶⁾	11(132)	45.6 ± 27.2		6, 12 週	微生物学的定量法 (<i>L. casei</i>) 1 酵素法 (コンジュガーゼ)
		(6-146): 遊離型量 78.9 ± 44.7 (16-210): 総量			
Smith <i>et al.</i> , '85 ²⁷⁾	67	85		3 週, 6 ヶ月	微生物学的定量法 (<i>L. casei</i>) 1 酵素法 (コンジュガーゼ)
Salmenperä <i>et al.</i> , '86 ⁴⁵⁾		45.6 ± 27.2 (6-146): 遊離型量 78.9 ± 44.7 (16-210): 総量			
井戸田ら, '96 ²⁾	2,434*(2,727)	32		分娩後 3-5 日	HPLC 法
		54		16-30 日	
		40		241-482 日	
Lim <i>et al.</i> , '98 ²⁸⁾	42	90.6 ± 3.5		3 ヶ月	微生物学的定量法 (<i>L. casei</i>) 3 酵素法
		81.5 ± 3.5		6 ヶ月後	
Mackey and Picciano, '99 ²⁹⁾	21	99	224.4 ± 11.6	3 ヶ月	微生物学的定量法 (<i>L. casei</i>) 3 酵素法
		82	187.0 ± 11.9	6 ヶ月	
Present study	25*	34.6 ± 9.9 (17.3-58.9)	78.5 ± 22.3 (39.3-133.5)	2-5 ヶ月	微生物学的定量法 (<i>L. casei</i>) 3 酵素法

1979 年以降
mean ± SD (min-max)

* 日本女性

た。この結果から乳児の摂取量を算出すると、6週齢および12週齢でそれぞれ45.5および50.5 $\mu\text{g}/\text{日}$ となり、Tamuraら³⁰⁾の報告と比べ低値である。

Smithら²⁷⁾は満期産の乳児67名の葉酸について出生から1年間観察した。生後6週と3ヶ月目に採取した母乳の葉酸含量は平均85 ng/ml であった。これらの時期において、乳児14名の葉酸摂取量(約65および70 $\mu\text{g}/\text{日}$)は同じであったが、母乳からの葉酸摂取量は、6ヶ月(85 $\mu\text{g}/\text{日}$)では増加したが、9ヶ月(50 $\mu\text{g}/\text{日}$)では減少していた。Limら²⁸⁾の報告においても、母乳の葉酸含量は授乳後3ヶ月と6ヶ月で差異は認められていない。

井戸田ら²⁾は、全国46地区に在住する17-41歳の授乳婦2,434名から得た母乳2,727サンプルの葉酸含量をHPLC法で分析した。母乳の葉酸含量は、採乳時期により平均32-54 ng/ml の範囲にあり、初乳から移行乳、成熟乳と増加し、その後減少することを示している。

MackeyとPicciano²⁹⁾は、授乳婦42名に葉酸サプリメント0 mgあるいは1 mgを与え、分娩後3ヶ月と6ヶ月後に母乳や母親の葉酸の状態を検討した。これらの結果、サプリメントを摂取していない場合、母乳の葉酸含量は、3ヶ月に比べ、6ヶ月では有意に減少していた。しかしながら、葉酸サプリメントを与えている場合には母乳葉酸含量の減少は認められていない。なお、これらの葉酸含量から、3ヶ月および6ヶ月における母乳からの葉酸摂取量は、それぞれ62 μg および55 $\mu\text{g}/\text{日}$ (母乳以外から14 μg)である。

第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—では、平均的な母乳の葉酸含量54 $\mu\text{g}/\text{l}$ 、哺乳量0.75/ 日 として、0-5ヶ月の乳児の所要量を40 $\mu\text{g}/\text{日}$ としている¹⁾。一方、日本人の食事摂取基準(2005年版)においては、日本人の成熟乳の葉酸含量として、54 $\mu\text{g}/\text{l}$ が採用され、哺乳量0.78/ 日 から、目安量は0-5ヶ月の乳児で42 $\mu\text{g}/\text{日}$ 、6-11ヶ月の乳児で63 $\mu\text{g}/\text{日}$ とされた¹⁰⁾。

3. ビオチン

これまでに報告されている欧米および本邦の母乳ビオチン含量をみると、まず母乳中のビオチンの生体利用率を知るために、Heardら³⁰⁾は、母乳を限外ろ過膜にかけてビオチンの存在状態について検討した。この結果、母乳のビオチン含量は平均20.3 \pm 2.0 ng/ml であり、限外分子量500Daの膜をとおしても、無処理および加水分解処理した母乳のビオチンの99%以上が回収された。このことは、母乳中のビオチンはタンパク質とは結合せずに、乳児に利用され易い状態で存在していることを示唆している。

分娩後の母乳中ビオチン含量の変化を見ると、分娩後1日目では2.95 \pm 0.37 ng/ml であるのに対して、7日目および49日目では6.81 \pm 0.58 ng/ml および12.46 \pm 0.81

ng/ml と増加している³¹⁾。このように初乳に比べ、成熟乳では高いビオチン含量である。一方、授乳婦に1日あたり3 mgのビオチンサプリメントを与えると、摂取5日後および10日後には成熟乳中のビオチン含量が20-30倍に増加した。10日後のビオチン増加量は460 ng/ml で、哺乳量を1日あたり0.78/ 日 とするとビオチン分泌量は358 $\mu\text{g}/\text{日}$ となり、これはビオチンサプリメントの12%に相当する。なお尿中ビオチン排泄量もビオチンサプリメント摂取10日後には16倍に増加していた。

Goldsmithら³²⁾は母乳のビオチン含量は、初乳期、移行期、成熟期でそれぞれ平均0.7, 3.0, 4.7 ng/ml と増加していることを示している。Fordら³³⁾の報告でも、満期産(39週以降)の母乳をみると、0.21, 2.21, 5.33 ng/ml と泌乳時期に伴って増加している。なお早期産(29-34週)の母乳でビオチン含量には大きな違いは見られていない。さらに出産後10日から6ヶ月の間に得た成熟乳でも、ビオチン含量は8.7 \pm 4.2 ng/g であった³⁴⁾。

Hiranoら³⁵⁾は、日本人授乳婦を対象にして、母乳ビオチン含量を分析している。この結果でも、これまでの結果と同様に、泌乳時期に従ってビオチン含量が増加している。35名の成熟乳のビオチン含量は平均5.2 \pm 2.1 ng/ml と欧米の報告と比べて差異は認められない。なお、遊離型ビオチンの割合が、初乳、移行乳および成熟乳でそれぞれ53.9, 64.0, 77.2%と増加している。一方、Heardら³⁰⁾の報告では母乳ビオチン含量が高値を示し、サンプルや分析法の違いについて検討が必要である。

Salmenperäら³⁶⁾はビオチン定量の前処理として、パパイン処理を用いている。出産後5日間ではほとんどの授乳婦で母乳中にビオチンは認められなかった。しかし、出産2ヵ月後ではビオチン含量は4.5 ng/ml に増加し、これ以降では変化は見られず一定である。また母乳中のビオチン含量と血漿中のビオチン濃度との間には有意な関連が認められている。

以上のように、これまでの報告では、初乳ではビオチン含量は多くの場合1 ng/ml 以下である。しかし、移行乳から成熟乳へと増加し、成熟乳での総ビオチン含量は平均で約5 ng/ml である。このように母乳中のビオチン含量は、初乳に比べて成熟乳で高値を示している。また、人種差は認められず食生活による影響はあまりないものと考えられる。一致した結果が得られていないが、ビオチンの一部はタンパク質と結合しているものと思われる。

著者らが、前回測定した母乳ビオチン含量は、平均3.87 ng/ml であった³⁾。採取時期や季節によって大きな差異は認められなかった。しかしながら、これまでに報告されている成熟乳のビオチン含有量と比べ低値を示している。この相違については明らかではない。また季節変動はみられず、夏季と冬季での摂取している食事には影響されないこ

とが示唆される。

ビオチンは、第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—において、栄養所要量がはじめて策定された¹⁾。これまでの各国における報告から、成熟乳のビオチン含量は平均6 µg/lである、としている¹¹⁾。この値に基づき、一日の哺乳量が0.75lとして、0-5ヶ月乳児におけるビオチン摂取量を4.5 µg/日としている。0-5ヶ月の乳児で、5 µg/日、6-11ヶ月の乳児で6 µg/日とされた。しかしながら、平成12年(2002年)に改訂された五訂および五訂増補(2005年)日本食品標準成分表にはビオチンは収載されていない³⁷⁾³⁸⁾。また平成15年(2003年)に食品添加物として認可されたが、使用が栄養機能食品に限られている。つまり食品や調製粉乳への添加はいまだに許可されていない³⁹⁾。日本人の食事摂取基準(2005年版)においては、日本人の成熟乳の値として、5.2 ng/ml (µg/l)が採用され、哺乳量0.78lから目安量は0-5ヶ月の乳児で4 µg/日、6-11ヶ月の乳児で10 µg/日とされた¹⁰⁾。

4. ナイアシン

母乳のナイアシン含量は1.55 µg/mlであった。前回報 告した平均値2.2 µg/mlと比較すると、低値であったが有意差は認められなかった³⁾。また、これまでの報告¹⁰⁾³³⁾と比較しても、有意な差異は認められず、母乳のナイアシン含量は成熟乳では比較的一定に維持されているものと思われる。母乳のナイアシンの存在形態としては、今回の実験により、約20%が遊離型で約80%は補酵素型で存在しているものと推定された。なお、NADはそのままの形では吸収されず、消化管内でNADからニコチンアミドとADP-リボースに加水分解され、遊離型のニコチンアミドとなった後に吸収されるものと思われる⁴⁰⁾。母乳中にそのままの形では吸収されない補酵素型のNADがなぜ多量に存在しているのか、この異議については、今後の課題である。

5. パントテン酸

今回の測定では母乳の総パントテン酸含量は6.92 µg/mlであったが、前回の測定ではアミダーゼ・ホスファターゼ前処理法では4.7 µg/ml、パパイン・ジアスターゼ前処理法では3.6 µg/mlであった。またこれまでにJonhsonら⁴¹⁾はアミダーゼ・ホスファターゼ前処理法で6.70 µg/ml、Picciano⁴²⁾はパパイン・ジアスターゼ前処理法で2.2-2.5 µg/mlと報告している。今回の値はJonhsonら⁴¹⁾の値に近いものであった。このように母乳中の総パントテン酸含量は、前処理方法の違いにより、値が大きく異なっている。なお、母乳の総パントテン酸含量と摂取パントテン酸量との間には関連があると報告されている。

総 括

わが国における母乳の水溶性ビタミン含量を明らかにするために、健常な授乳婦から得た母乳のB₁₂、葉酸、ビオチン、ナイアシンおよびパントテン酸の5種類の含量を分析した。母乳は、妊娠ならびに出産が正常な経過で満期出産し、満月齢で2-5ヶ月の乳児を完全母乳哺育している日本人授乳婦25名から得た。母乳のB₁₂含量は0.28 ± 0.14 ng/ml (0.21 ± 0.11 pmol/ml)であり、総葉酸含量は34.6 ± 9.9 ng/ml (78.5 ± 22.3 pmol/ml)であった。総ビオチン含量は3.40 ± 0.68 ng/ml (13.9 ± 2.8 pmol/ml)、遊離型ビオチン含量は0.87 ± 0.31 ng/ml (3.6 ± 1.3 pmol/ml)で、遊離率は25.6 ± 8.2%であった。総ナイアシン含量および総パントテン酸含量は、今回の分析データは参考データであるが、授乳婦15名でそれぞれ平均値1.55 ± 0.56 µg/ml (12.7 ± 4.6 nmol/ml)および6.92 ± 2.83 µg/ml (31.5 ± 13.0 nmol/ml)であった。母乳に含まれるビタミンの相互作用を解析すると、B₁₂は他のビタミン含量と関連はみられなかった。しかし、ビオチンと葉酸含量との間には高い関連がみられた。

表3. 食事摂取基準との比較.

ビタミン		第六次改定 所要量		食事摂取基準(2005版) 目安量		本研究		推定摂取量 ^{a)} (/日)
		0~(月)	6~(月)	0~(月)	6~(月)	母乳含有量 (/ml)	(/ml)	
B ₁	mg	0.2	0.3	0.1	0.3	-	-	-
B ₂	mg	0.2	0.3	0.3	0.4	-	-	-
B ₆	mg	0.1	0.1	0.2	0.3	0.25ng ^{b)}	1.45nmol	0.2
B ₁₂	µg	0.2	0.2	0.2	0.5	0.28ng	0.21pmol	0.2
ナイアシン	mgNE	2	4	2	3	1.55µg	12.7nmol	1.2
パントテン酸	mg	1.8	2	4	5	6.29µg	31.5nmol	4.9
葉酸	µg	40	50	40	60	34.6ng	78.5pmol	27.0
ビオチン	µg	5	6	4	10	3.4ng	13.9pmol	2.7
C	mg	40	40	40	40	-	-	-

^{a)} 母乳摂取量: 0.78l.

^{b)} 伊佐ら, 2004⁴⁾.