

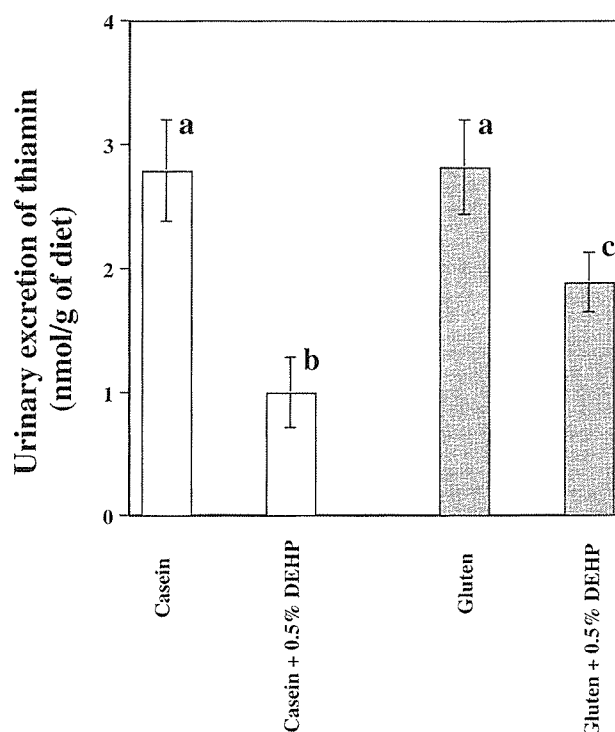


Fig. 5. Effect of DEHP on the Urinary Excretion of Thiamin in Rats Fed with the Gluten or Casein Diet.

Each bar is the mean $\pm$ SEM for 5 rats; a different superscript letter means significant difference at $p < 0.05$ as calculated by the Student-Neumann-Keuls multiple-comparison test. Unfilled column, casein diet group; hatched column, gluten diet group.

mean that the DEHP administration resulted in a lower need for Nam, because the conversion ratio of Trp to Nam was significantly increased (Fig. 2). It is likely that the need for Nam was increased by the DEHP administration. Therefore, when the toxicity of DEHP is being discussed, it is necessary to include the increased requirement of such vitamins as thiamin, riboflavin, and pantothenic acid. We therefore recommend when DEHP is being administered that it is necessary to increase the dietary intake of vitamin B₁, vitamin B₂, and pantothenic acid.

Acknowledgments

This report is a part of the continuing study on the alleviation of the effect of putative endocrine disruptor phthalic acid esters by Katsumi Shibata and was supported by a University of Shiga Prefecture grant for keynote research.

References

- Marx, J. L., Phthalic acid esters: biological impact uncertain. *Science*, **178**, 46–47 (1972).
- Giam, C. S., Atlas, E., Powers, M. A., and Leonad, J. E., Phthalic acids esters. In "The Handbook of Environmental Chemistry," ed. Hutzinger, O., Springer, Berlin, pp. 67–142 (1994).
- Koizumi, M., Ema, M., Hirose, A., and Hasegawa, R., Recent studies on toxic effects of phthalate esters on reproduction and development: focus on di(2-ethylhexyl)phthalate and di-*n*-butyl phthalate. *Jpn. J. Food Chem.*, **7**, 65–73 (2000).
- Mayer Jr., F. L., Stalling, O. L., and Johnson, J. L., Phthalate esters as environmental contaminants. *Nature*, **238**, 411–413 (1972).
- Shibata, K., Fukuwatari, T., Enomoto, A., and Sugimoto, E., Increased conversion ratio of tryptophan to niacin by dietary di-*n*-butylphthalate. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **47**, 263–266 (2001).
- Fukuwatari, T., Suzuki, Y., Sugimoto, E., and Shibata, K., Elucidation of the toxic mechanism of the plasticizers, phthalic acid esters, putative endocrine disruptors: effects of dietary di(2-ethylhexyl)phthalate on the metabolism of tryptophan to niacin in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 705–710 (2002).
- Fukuwatari, T., Suzuki, Y., Sugimoto, E., and Shibata, K., Identification of a toxic mechanism of the plasticizers, phthalic acid esters, which are putative endocrine disruptors: time-dependent increase in quinolinic acid and its metabolites in rats fed di(2-ethylhexyl)phthalate. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 2687–2691 (2002).
- Ohta, M., Kitamura, J., Fukuwatari, T., Sasaki, R., and Shibata, K., Effects of dietary di(2-ethylhexyl)phthalate on the metabolism of tryptophan to niacin in mice. *Exp. Anim.*, **53**, 57–60 (2004).
- Fukuwatari, T., Ohta, M., Sugimoto, E., Sasaki, R., and Shibata, K., Effects of dietary di(2-ethylhexyl)phthalate,

- a putative endocrine disrupter, on enzyme activities involved in the metabolism of tryptophan to niacin in rats. *Biochim. Biophys. Acta*, **1672**, 67–75 (2004).
- 10) Fukuwatari, T., Ohsaki, S., Fukuoka, S., Sasaki, R., and Shibata, K., Phthalate esters enhance quinolinate production by inhibiting α -amino- β -carboxymuconate- ϵ -semialdehyde decarboxylase (ACMSD), a key enzyme of the tryptophan pathway. *Toxicol. Sci.*, **81**, 302–308 (2004).
 - 11) Handler, P., and Dann, W. J., The inhibition of rat growth by nicotinamide. *J. Biol. Chem.*, **146**, 357–368 (1942).
 - 12) Shibata, K., and Tanaka, K., Effect of supplementation of excessive nicotinic acid, nicotinamide, quinolinic acid, trigonelline or N^1 -methylnicotinamide on the metabolism of niacin in rats. *The Bulletin of Teikoku-Gakuen*, **12**, 1–9 (1986).
 - 13) Shibata, K., Effect of adding the limiting amino acids to an amino acid diet simulating rice protein on the conversion of tryptophan to nicotinamide in rat. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 442–443 (1994).
 - 14) Manabe, A., Cheng, C. C., Egashira, Y., Ohta, T., and Sanada, H., Dietary wheat gluten alleviates the elevation of serum transaminase activities in D-galactosamine-injected rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **42**, 121–132 (1996).
 - 15) Nishizawa, N., Sato, D., Ito, Y., Nagasawa, T., Hatakeyama, Y., Choi, M. R., Choi, Y. Y., and Wei, Y. M., Effects of dietary protein of proso millet on liver injury induced by D-galactosamine in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 92–96 (2002).
 - 16) Aoyama, Y., Wada, M., and Morifuji, M., Orotic acid added to casein, but not to egg protein, soy protein, or wheat gluten diets increases 1,2-diacylglycerol levels and lowers superoxide dismutase activities in rat liver. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 2166–2173 (2001).
 - 17) Pullman, M. E., and Colowick, S. P., Preparation of 2- and 6-pyridones of N^1 -methylnicotinamide. *J. Biol. Chem.*, **206**, 121–127 (1954).
 - 18) 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-3-pyridone-4-carboxamide, by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **424**, 23–28 (1988).
 - 19) Reeves, P. G., Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J. Nutr.*, **127**, 838S–841S (1997).
 - 20) Shibata, K., Taguchi, H., and Sakakibara, Y., Comparison of the urinary excretion of niacin and its metabolites in various mammals. *Vitamins*, **63**, 369–372 (1989).
 - 21) Shibata, K., Ultramicro-determination of N^1 -methylnicotinamide in urine by high-performance liquid chromatography. *Vitamins*, **61**, 599–604 (1987).
 - 22) Shibata, K., Fluorimetric micro-determination of kynurenic acid, as endogenous blocker of neurotoxicity, by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **430**, 376–380 (1988).
 - 23) Shibata, K., and Onodera, M., Simultaneous high-performance liquid chromatographic measurement of xanthurenic acid and 3-hydroxyanthranilic acid in urine. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **56**, 974 (1992).
 - 24) Shibata, K., and Onodera, M., Measurement of 3-hydroxyanthranilic acid and anthranilic acid in urine by high-performance liquid chromatography. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 143–148 (1991).
 - 25) Mawatari, K., Oshida, K., Iinuma, F., and Watanabe, W., Determination of quinolinic acid in human urine by liquid chromatography with fluorimetric detection. *Anal. Clin. Acta*, **302**, 179–183 (1995).
 - 26) Kimura, M., Fujita, T., and Itokawa, Y., Liquid chromatographic determination of the total thiamin content of blood. *Clin. Chem.*, **28**, 29–31 (1982).
 - 27) Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K., New metabolites of riboflavin appear in human urine. *J. Biol. Chem.*, **258**, 5623–5628 (1983).
 - 28) Skeggs, H. R., and Wright, L. D., The use of *Lactobacillus arabinosus* in the microbiological determination of pantothenic acid. *J. Biol. Chem.*, **156**, 21–26 (1944).
 - 29) MacDonald, N., Chevalier, S., Tonge, R., Davinson, M., Rowlinson, R., Young, J., Rayner, S., and Roberts, R., Quantitative proteomic analysis of mouse liver response to the peroxisome proliferator diethylhexylphthalate (DEHP). *Arch. Toxicol.*, **75**, 415–424 (2001).
 - 30) Bouagla, A., Bouchenak, M., and Belleville, J., Low-protein diet prevents tissue lipoprotein lipase activity increase in growing rats. *Br. J. Nutr.*, **84**, 663–671 (2000).
 - 31) Imai, S., Yagi, I., Saeki, T., Kotaru, M., and Iwami, K., Quantity as well as quality of dietary protein affects serine dehydratase gene expression in rat liver. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **49**, 33–39 (2003).
 - 32) Schwerin, M., Dorroch, U., Beyer, M., Swalve, H., Metges, C. C., and Junghans, P., Dietary protein modifies hepatic gene expression associated with oxidative stress responsiveness in growing pigs. *FASEB J.*, **16**, 1322–1334 (2002).
 - 33) Rosenbrough, R. W., Poch, S. M., Russell, B. A., and Richards, M. P., Dietary protein regulates *in vitro* lipogenesis and lipogenic gene expression in broilers. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, **132**, 423–431 (2002).

健常成人における葉酸の必要量についての検討

渡 邊 敏 明^{*1}, 大 串 美 沙¹, 前 川 紫¹
西 牟 田 守², 柴 田 克 己³, 福 井 徹^{1,4}

(2004年11月8日受付; 2006年1月14日受理)

要旨: 第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—において, 葉酸の所要量は食事から摂取可能な量として, 成人で200 $\mu\text{g}/\text{日}$ と策定された。また日本人の食事摂取基準(2005年版)では240 $\mu\text{g}/\text{日}$ と改定された。しかしながら, この根拠となるわが国での科学的エビデンスは必ずしも十分でないので, 私たち自身の新しいデータの蓄積と解析が求められている。そこで, 健常な成人男女を対象にして, 所要量に見合った水溶性ビタミンをサプリメントとして与え, 葉酸の必要量を検討した。成人女性では, 血清および尿中葉酸レベルが増加した。一方成人男性では血清葉酸の減少がみられたが, 尿中葉酸排泄量は変化しなかった。このように, 葉酸の必要量に性差がみられ, 今回使用した葉酸量(200 $\mu\text{g}/\text{日}$)は, 男性では不足している可能性があるが, 女性では必要量を十分に満たしているものと考えられる。

キーワード: 葉酸, 食事摂取基準, 尿, 血清, 必要量

葉酸は, N-ヘテロ環のプテリジンと *p*-アミノ安息香酸からなるプテロイル基, つまり 4-[(2-アミノ-4(3H)-オキソプテリジン-6-イル)メチル]アミノ]安息香酸に1-7個のL-グルタミン酸が結合したプテロイル(ポリ)グルタミン酸である。食品に含まれるのは, プテロイルポリグルタミン酸型であり, 小腸粘膜でモノグルタミン酸型となり, 吸収される¹⁾²⁾。血漿や尿中では, モノグルタミン酸型, 組織中ではポリグルタミン酸型としてタンパク質と結合した形で機能している。なお, 小腸粘膜では, プテリジン環が還元されてテトラヒドロ型となり, さらにメチルテトラヒドロ型となる。還元型葉酸は, 細胞内では補酵素として, メクレオチド類の生合成やメチル基の生成転換系などに関与している。また, アミノ酸やタンパク質の代謝などにも不可欠であり, グリシン, セリン, メチオニンの代謝やビタミンB₁₂とともにホモシステインからメチオニンの生成などにも関与している。

葉酸の生理機能としては, 正常な造血機能を保つために重要であるばかりでなく, 成長や妊娠の維持にも欠かせないビタミンである。このため, 欠乏症状としては, 造血機能に異常が生じ, 巨赤芽球性貧血や神経障害が知られている。最近, 多くの疫学調査によって, 葉酸が, 胎児における神経管閉鎖障害の発症リスクの低減に効果があることが認められている³⁻⁵⁾。また, 葉酸の摂取量

が低下すると, 血漿ホモシステインの上昇がみられ, 動脈硬化症と関連がある血液凝固因子や血管内皮細胞に影響している⁶⁻⁸⁾。

葉酸の「所要量」は, わが国では食事から摂取可能な量として, 成人で200 $\mu\text{g}/\text{日}$ であるが, 米国では400 $\mu\text{g}/\text{日}$ となっている⁹⁾¹⁰⁾。なお, 妊婦および授乳婦での付加量は, それぞれ200および80 $\mu\text{g}/\text{日}$ となっている。葉酸の摂取量が, 1日当たり320 μg 以上であれば, 血漿のホモシステインレベルを一定に保つことができる。このことから, 米国では穀類に葉酸を140 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 添加するように勧告している。わが国でも, 1日に350gの野菜を摂取するように勧めている。また日本人の食事摂取基準(2005年版)では, 葉酸の「推奨量」が240 $\mu\text{g}/\text{日}$ に改定された¹¹⁾。許容上限摂取量は1mg/日となっているが, これ以上摂取すると葉酸過敏症(発熱や蕁麻疹など)を起こすことがある。

このように, 葉酸の推奨量を策定するために, その根拠となる科学的エビデンスは必ずしも十分でなく, わが国での新しいデータの蓄積と解析が求められている。そこで, 本研究では健常な成人男女を対象にして, 所要量200 $\mu\text{g}/\text{日}$ に見合った水溶性ビタミンをサプリメントとして与え, 葉酸の出納を検討した。なお, 葉酸が亜鉛の吸収を阻害するという報告があることから, 血清亜鉛の測定も合わせて行った。

* 連絡者・別刷請求先 (E-mail: watanabe@shse.u-hyogo.ac.jp)

¹ 兵庫県立大学環境人間学部食環境解析学教室 (670-0092 姫路市新在家本町 1-1-12)

² 独立行政法人国立健康・栄養研究所健康増進部 (162-8636 東京都新宿区戸山 1-23-1)

³ 滋賀県立大学人間文化学部 (522-8533 彦根市八坂町 2500)

⁴ 病体生理研究所 (173-0025 東京都板橋区熊野町 47-11)

方 法

1. 対 象

被験者として、喫煙、飲酒の習慣がなく、朝食を食べるなどの規則正しい食習慣をもつ大学生のうち、血液検査を受け、健康であることが確認できた成人女性20名(20.6±1.11歳)、成人男性10名(20.4±1.26歳)を選出した。血液検査においては、一般生化学的項目として、白血球、赤血球、ヘモグロビン、総タンパク、アルブミン、A/G、GOT、GPT、 γ -GTP、クレアチニン、総脂質、総コレステロール、中性脂肪、HDL-コレステロール、LDL-コレステロールを調べ、本試験に問題のないことを確認している。なお、本研究は独立行政法人国立健康・栄養研究所倫理委員会において承認を受け、対象者に内容を十分説明し、理解していただいた上で書面にて同意を得て、ヘルシキ宣言の精神に則って行われたものである。

2. 試験期間

葉酸の出納試験として、成人女性を対象としたもの2回、成人男性を対象としたもの1回の計3回行った。成人女性では2002年3月1日-2002年3月8日の期間と2003年3月4日-2003年3月11日の期間、成人男性では2002年8月27日-2002年9月3日の期間に実施した。それぞれ2002年女性、2003年女性および2002年男性とした。

3. 生活条件

被験者の快適な生活環境の確保等に留意した。大学生の一般的な日常生活をモデルとした通学、講義、実験、運動等の活動から構成された1日のスケジュールを作成した。被験者はこのスケジュールに従って試験期間中生活をした。

4. 食 事

食事は、第六次改定日本人の栄養所要量の生活活動強度IIに従い、女性は1,800 kcal/日、男性は2,300 kcal/日を摂取した。食事の組成は表1に示したように、通常の食品を使用せずに、栄養素の含有量がはっきりしている半精製食品を利用した。ビタミンおよびミネラルの混合物の組成は表2および表3に示したとおりである。なお、2002年の結果から、2003年女性においては、小麦粉(薄力粉・1等)を除いたほか、ビタミンB₁、ビタミンB₁₂およびビタミンCの摂取量を所要量の1.5倍量とした。

葉酸摂取量は、ビタミン混合物から1日当たり200 μ gであるが、小麦粉に葉酸化合物が9 μ g/100 g(五訂

表1 半精製食品の組成

食材名	2002年	2002年	2003年
	女性	男性	女性
小麦粉(薄力粉・1等)(g)	315	315	—
カゼイン(g)	—	—	39.5
グルテン(g)	37.3	56	25
ダイズ油(g)	4.8	7	10.1
なたね油(g)	16.8	21	13.8
やし油(g)	7.1	8.5	6.2
ラード(g)	5.9	8.4	8.9
グラニュー糖(g)	50	30	50
コーンスターチ(g)	33	118	274
ファイバゾル ^a (g)	0	0.8	3.6
麻セルロースパウダー ^a (g)	10.1	14.3	14.4
ビタミン混合 ^{b,c} (g)	1	1	1
ミネラル混合 ^{b,d} (g)	12	14.6	18
エネルギー量(kcal)	1800	2300	1800

—: 不含, ^a 水溶性食物繊維: 不溶性食物繊維=1:4, ^b 所要量に従った(ミネラル, ビタミン), ^c 表2参照, ^d 表3参照 (Se, Cr, Moは含まない)。

表2 ビタミン混合物の組成

ビタミン名	所要量 ^a		混合量		
	18-29 (女性)	18-29 (男性)	2002年女性	2002年男性	2003年女性
ビタミンA (μ g)	540	600	540	600	540
ビタミンD (μ g)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
ビタミンE (mg)	8	10	8	10	8
ビタミンK (μ g)	55	65	55	65	55
ビタミンB ₁ (mg)	0.8	1.1	0.8	1.1	1.2 ^c
ビタミンB ₂ (mg)	1.0	1.2	1.0	1.2	1.0
ビタミンB ₆ (mg)	1.2	1.6	1.2	1.6	1.2
ビタミンB ₁₂ (μ g)	2.4	2.4	2.4	2.4	3.6 ^c
ニコチンアミド (mgNE ^b)	13	17	13	17	11.2
パントテン酸 (mg)	5	5	5	5	5
葉酸 (μ g)	200	200	200	200	200
ビオチン (μ g)	30	30	30	30	30
ビタミンC (μ g)	100	100	100	100	150 ^c
グラニュー糖 (mg)	883	877	883	877	832

^a 第六次改定日本人の栄養所要量, ^b NE: ナイアシン当量, ^c 所要量の1.5倍。

表 3 ミネラル混合物の組成^a

化合物	女 性		男 性	
	混合量	含有量	混合量	含有量
CaHPO ₄ ·2H ₂ O (mg)	1100	Ca (mg) 253 P (mg) 198	1200	Ca (mg) 280 P (mg) 216
CaCO ₃ (mg)	900	Ca (mg) 360	1049	Ca (mg) 420
K ₂ PO ₄ (mg)	2200	K (mg) 631	2124	K (mg) 610
KHCO ₃ (mg)	3500	P (mg) 501 K (mg) 1365	3558	P (mg) 484 K (mg) 1390
MgCl ₂ ·6H ₂ O (mg)	2083	Mg (mg) 250	2594	Mg (mg) 310
FeSO ₄ ·7H ₂ O (mg)	60	Fe (mg) 12	49.8	Fe (mg) 10
MnSO ₄ ·4H ₂ O (mg)	12.2	Mn (mg) 3	17.6	Mn (mg) 4
ZnCl ₂ (mg)	19	Zn (mg) 9.1	22.9	Zn (mg) 11
CuSO ₄ ·5H ₂ O (mg)	6.3	Cu (mg) 1.6	7.1	Cu (mg) 1.8
KI (mg)	0.2	I (mg) 0.153	0.2	I (mg) 0.153
NaCl (mg)	2120	Na (mg) 833	4000	Na (mg) 1575
総重量 (g)	12		14.6	

^a Se, Cr, Mo : 不含。

日本食品標準成分表) 含まれていることを考慮すると、2002 年男女の葉酸摂取量は 1 日当たり 228 μ g/日となる。また、葉酸摂取量を考える場合には、食事性葉酸と比較して、葉酸サプリメントの体内利用率を 1.7 倍として、換算する必要がある。生体利用率を考慮して食事性葉酸当量 (Dietary folate equivalents : DFEs) として考えると、今回の葉酸摂取量は 2002 年男女で 368 μ g DFEs/日、2003 年女性で 340 μ g DFEs/日となる¹⁰⁾。

ビタミン混合剤は、食事終了後、水で服用させた。給食比率は朝：昼：夕＝3：4：3 とした。水分は市販ペットボトル詰め軟水とし、自由に摂取させた。平均的な 1 日摂取量は 2 L である。

5. 試料の採取方法

5.1 尿 尿は、第 2 尿 (2002 年男性は 6 時 31 分以降、2002 年女性および 2003 年女性は 7 時 01 分以降) から翌朝第 1 尿 (2002 年男性は 6 時 30 分に排尿、2002 年女性および 2003 年女性は 7 時 00 分に排尿) までの 24 時間尿を採取した。2002 年女性は試験 6 日目のみ、2003 年女性と 2002 年男性は試験 1 日目から 7 日目まで毎日採尿を行った。なお、2002 年男性の 7 日目は、朝 6 時 30 分から翌日の 8 時 30 分までの間、飲料水をできるだけ多く摂取させ、6 回 (6：30-8：30、8：30-12：30、12：30-17：30、17：30-22：30、22：30-6：30、6：30-8：30) に分けて採尿した。尿は、採尿中は冷蔵し、採尿後は -4℃ で氷結保存した。

5.2 血液 2002 年女性は試験 1、3、8 日目の朝食摂取前 9 時 00 分に、2003 年女性は試験 1、3、5、8 日目の朝食前 9 時 00 分に、2002 年男性は試験 1、3、5、8 日目の朝食摂取前 8 時 30 分に採血を行った。採取後は遠心し、血清を分離した。血清は、-40℃ で分析直前まで氷結保存した。

6. 葉酸の測定

血清および尿中の葉酸は、化学発光免疫測定法で分析した。測定機器としては、Centaur ケミルミアナライザー ACS180 および IMULIZE 2000 を使用した。

サンプルをジチオスレイトールで処理し、タンパクから遊離させた後、分析に供した。葉酸の分析には、葉酸測定キット (DPC・イムライズ葉酸-LKF01) を使用した。本法の最小検出感度は 0.5 ng/mL (1.1 pmol/mL) であり、プール血清で測定した葉酸値は 5.77 ng/mL (13.1 pmol/mL) であった。尿中の葉酸については、正常参考値となるような参考資料などがないので、血清と同じ測定条件で行った。

7. 亜鉛の測定

血清 250 μ L に 6.25% トリクロロ酢酸を 2.0 mL 加え、混和した後、室温で 10 分間放置した。その後、3,000 rpm で 10 分間遠心をかけ、上清 1 mL をとり、亜鉛を原子吸光光度計で測定した。

8. 統計処理

実験のデータについては、各群の分析値を平均値 $\pm$ 標準偏差 (means $\pm$ SD) で表した。データの統計処理には、統計ソフトは StatView (SAS Institutes Inc., Cary) Ver. 5.0 およびエクセル統計 (オーエムエス出版、所沢) を使用した。同性および異性間の比較は、二元配置分散分析 (Two-way repeated ANOVA) で、それ以外は一元配置分散分析 (One-factor ANOVA) で比較した。各分散分析後、有意差を Fisher's PLSD (Protected least significance test) にて検定した。いずれの場合にも、有意水準は、危険率 5% 未満を有意とし、5% 未満 (** $p < 0.05$) と 1% 未満 (***) ($p < 0.01$) に分けて表示した。

結 果

血清葉酸量を比較したものが図1である。2002年女性では、試験期間を通して平均11.2-13.5 ng/mL (25.4-30.5 pmol/mL) の範囲にあり、変化は認められなかった。しかし、2003年女性においては、平均9.2-13.5 ng/mL (20.8-30.5 pmol/mL) の範囲にあり、経日的に増加する傾向がみられた。試験1日目と比べ、すべての日で増加がみられ、3日目と8日目では有意であった。2002年女性と2003年女性との間には有意な差はみられなかった。一方、2002年男性では、血清葉酸量は平均6.9-9.8 ng/mL (15.6-22.2 pmol/mL) の範囲にあり、試験3日目以降は減少傾向にあり、試験8日目では有意に減少した。なお、2002年男性と女性との間には、差異がみられた。

図2は、1日当たりの尿中葉酸排泄量およびクレアチニンで補正した排泄量を示したものである。2003年女性では、尿中葉酸排泄量に有意な増加が認められ、クレアチニン補正值でも、経日的に増加する傾向がみ

れた(図2b)。しかし、2002年男性ではほとんど変化がみられなかった。

摂取量200 μ gとして尿中葉酸排泄率をみると、2002年男性で平均 $4.5 \pm 0.42\%$ 、2003年女性で平均 $4.6 \pm 0.47\%$ 、2002年女性は5.0% (試験6日目)であった。2003年女性では経日的に有意な変化がみられ、試験1日目と比べ、試験6日目で有意な増加がみられた(図3)。しかし、2002年男性では変化は認められなかった。また2002年男性と2003年女性の間には、差異はみられなかった。

図4aは、2002年男性における尿中葉酸排泄量の日内変動を示したものである。1日をとおして大きな変化がみられ、午前中に高い傾向を示したが、これ以外ではあまり変化は観察されなかった。また、クレアチニン補正した場合にも、日内変動を示し、午前中に高いピークを示した(図4b)。

試験期間中の血清亜鉛の変化を示したものが表4である。各群とも経日的な変化はみられなかった。しかし、2003年女性では、2002年男性と比較して、有意な差異

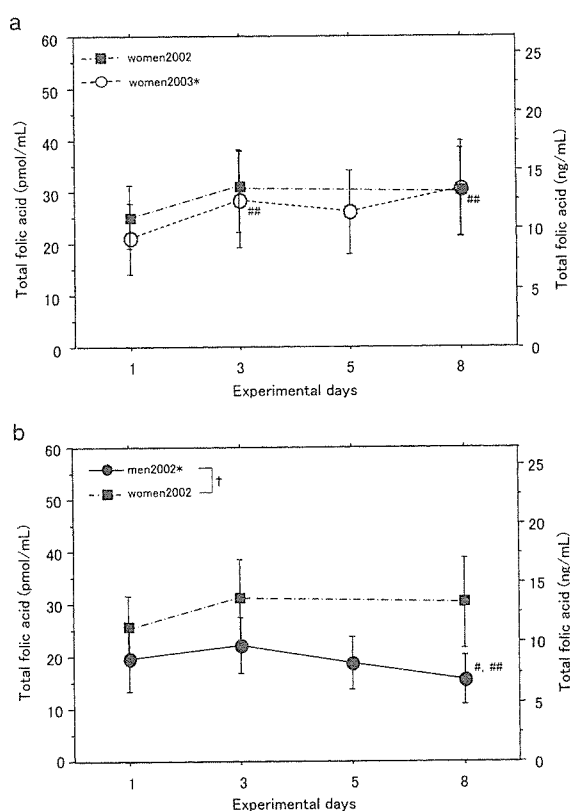


図1 半精製食品を摂取した成人の血清葉酸量の変化

(a) 血清葉酸濃度 (2002年女性と2003年女性)。* $p=0.083$, # $p<0.05$ (試験1日目との比較)。(b) 血清葉酸濃度 (2002年男性と2002年女性)。* $p=0.080$, † $p<0.01$, # $p<0.1$, ## $p<0.05$ (それぞれ試験1日目および試験3日目との比較)。

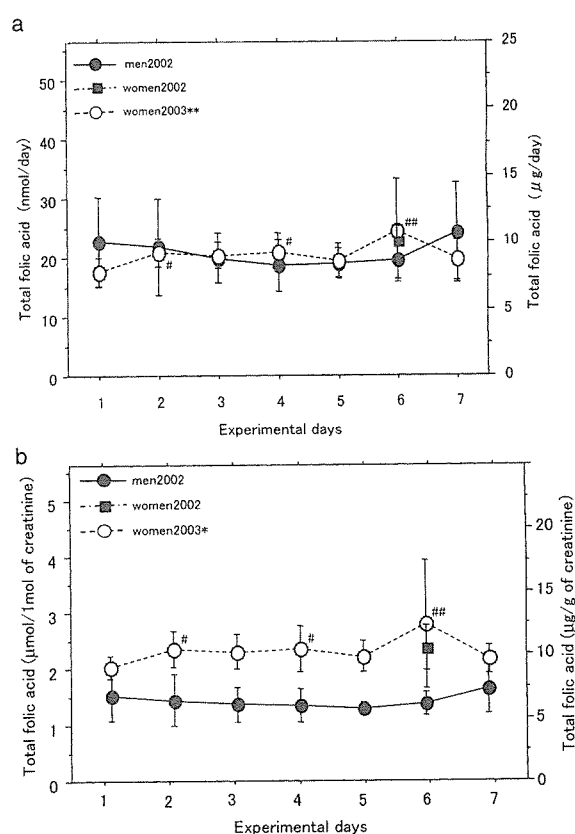


図2 半精製食品を摂取した成人の葉酸排泄量の変化

(a) 尿中葉酸 (1日当たり) の排泄量。** $p=0.029$, # $p<0.1$, ## $p<0.05$ (試験1日目との比較)。(b) 尿中葉酸濃度 (クレアチニン補正)。* $p=0.059$, # $p<0.1$, ## $p<0.05$ (試験1日目との比較)。

表 4 血清亜鉛

試験期間 (日)	血清亜鉛濃度					
	2002 年女性		2002 年男性		2003 年女性	
	nmol/mL	μg/mL	nmol/mL	μg/mL	nmol/mL	μg/mL
1	13.1±2.2	0.9±0.1	13.6±1.4	0.9±0.1	12.6±1.7	0.8±0.1
3	12.9±1.7	0.8±0.1	13.8±1.6	0.9±0.1	12.0±1.2	0.8±0.1
5	—	—	13.4±1.3	0.9±0.1	11.7±1.4	0.8±0.1
8	12.9±1.5	0.8±0.1	13.2±1.7	0.9±0.1	11.4±1.4	0.7±0.1

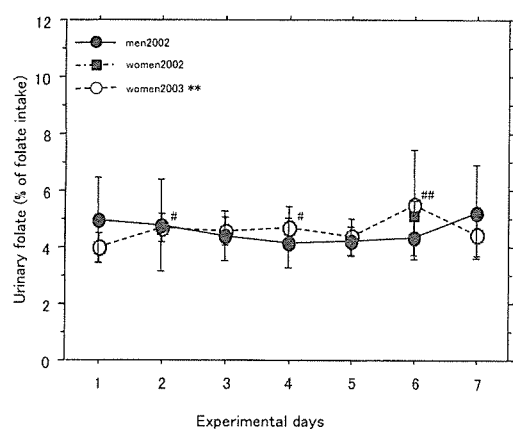
— : nd, † $p=0.003$.

図 3 半精製食品を摂取した成人の葉酸排泄率 (摂取量 200 μg とした場合)

** $p=0.029$, # $p<0.1$, ## $p<0.05$ (試験 1 日目との比較)。

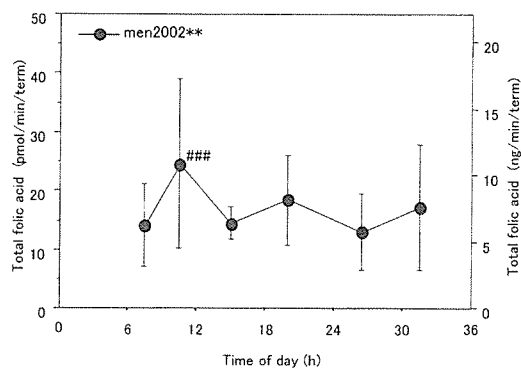
がみられた。

考 察

食事性葉酸の摂取量について、これまでの報告された栄養調査では、平岡・安田¹²⁾は女子学生を対象として食物摂取状況調査から、葉酸摂取量は平均 190.6 μg/日で、所要量 (Recommended Dietary Allowance: RDA) (200 μg/日) に対する充足率は 40.2% であると報告している。摂取量が 200 μg 以下と以上では、血清葉酸量に有意な差異が認められている。この結果は、オランダの DNFCS 調査 (1992 年) の結果と一致している¹³⁾。1-92 歳を対象とした食品分析結果から算出した葉酸摂取量は 189 μg/日である¹⁴⁾。サプリメントを摂取している場合には 344 μg/日と高値である。なお、RDA (200 μg/日) に対する充足率は、男女それぞれ 42% および 54% である。また成人 (20-65 歳) を対象にした調査では、食事からの葉酸摂取量は男性 232 μg/日、女性 186 μg/日と男女差がみられている。

著者らが行った東北地区における中高齢者 120 名の食事記録調査では、葉酸摂取量は平均 447 μg/日で季節変動がみられているが、男女差は観察されていない (未発

a



b

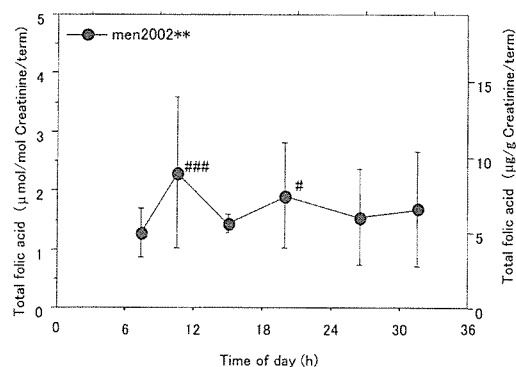


図 4 成人男性 (2002 年) の尿中葉酸日内変動

(a) 尿中葉酸排泄量 (単位時間当たり) の日内変動。 ** $p=0.020$, ### $p<0.01$ (試験 1 日目との比較)。(b) 尿中葉酸濃度 (クレアチニン比) の日内変動。 ** $p=0.041$, # $p<0.1$, ### $p<0.01$ (試験 1 日目との比較)。

表)。また平成 13 年度の国民栄養調査では、葉酸の摂取量は全平均で 313 μg/日で、年齢に依存して高く、女性で低値である¹⁵⁾。女子学生を対象に行った食事調査でも、葉酸摂取量は五訂成分表を用いた場合には 334 μg/日となるのに対して、米国の成分表では 197 μg/日となる¹⁶⁾。このように葉酸摂取量が高値であるが、これは日本食品標準分析表に掲載されている葉酸値が高いことによる可能性が示唆されている。なお、米国 Framingham

調査の高齢者 (67-90 歳) では、葉酸摂取量が $253 \mu\text{g}/\text{日}$ 以下では血漿ホモシステイン濃度が有意に増加するとの報告がある。しかしながら、ホモシステイン濃度は基準値 $14 \mu\text{mol}/\text{L}$ 以下である¹⁷⁾。これらの栄養調査から、摂取されている食事性葉酸の摂取量は、1 日当たり $200\text{--}300 \mu\text{g}$ である。食物摂取頻度調査の結果、食品を基礎として算出された非妊娠女性の所要量は、 $250 \mu\text{g}/\text{日}$ とされている¹⁸⁾。

本研究においては、使用した葉酸量は 1 日当たり $200 \mu\text{g}$ であるが、半精製食品の原料となっている小麦粉 315g に含まれる $28 \mu\text{g}$ も関与しているため、総葉酸量は $228 \mu\text{g}$ となっている。この食事をした結果、血清葉酸量は男女ともにすべて基準値内にあった。女性成人では、試験期間後期において、開始日と比べて有意な増加がみられたが、男性成人では最終日に有意な減少がみられた。また尿中葉酸排泄量に男女差は認められなかったが、女性では試験期間中に有意な増加が観察された。男性では葉酸排泄量に変化はみられなかった。このように、今回の葉酸摂取量については、男性では不足している可能性があるが、女性では必要量を十分に満たしている、と考えられる。また、女性においては、2002 年と 2003 年で血清葉酸量とその変化、尿中葉酸排泄量および排泄率に相違がみられなかった。このことは葉酸摂取量 $200 \mu\text{g}$ と $228 \mu\text{g}$ に差異がないことを示している。

葉酸摂取量の指標をみると、米国においては、血清葉酸では $<6.8 \text{nmol}/\text{L}$ 、赤血球葉酸では $<362 \text{nmol}/\text{L}$ 、および血漿ホモシステインでは $>16 \mu\text{mol}/\text{L}$ が基準値として用いられている¹⁹⁾。しかしながら、他の国においては、ホモシステインの下限値として、12 および $14 \mu\text{mol}/\text{L}$ も使用されている。これらの指標の中で、これまで一般的に用いられてきたものは血清葉酸レベルである。多くの分析データがあり、血液生化学的指標として用いられている。葉酸が不足すると、血清葉酸レベルが低下するとともに、ホモシステインが蓄積する。このため血清ホモシステインレベルが高くなり、尿中のホモシステイン排泄が多くなる。これらのことから、ホモシステインは感度の良い指標であることが示されている。

血清ホモシステインレベルは、血清葉酸レベルあるいは葉酸の摂取量と関連があるとの報告がある。またホモシステインは、詳細な発症メカニズムは不明であるが、動脈硬化症や神経管閉鎖障害の誘発にかかわっている⁸⁾。このため、ホモシステインを葉酸必要量の指標として考えることは、科学的根拠に基づくもので、非常に有用かつ重要である。しかしながら、ホモシステイン-メチオニン代謝経路においては、葉酸以外にもビタミン B_{12} およびビタミン B_6 がにかかわっているため、これらのビタミンのうち一つでも不足していると、ホモシステインが増加することが考えられる。このようなことから、葉酸の必要量を考える場合には、ホモシステインのみでなく血清葉酸レベルも考慮して、評価する必要がある。

米国の食事摂取基準の策定では、葉酸の平均必要量は血清葉酸レベル、赤血球葉酸濃度、血漿ホモシステイン濃度、血液学的検査 (赤血球数、網赤血球数、平均赤血球容積値、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度) を基準範囲に維持できる食事と定めている¹⁰⁾。わが国の第六次改定の所要量や食事摂取基準の推奨量の策定で用いられた根拠は、欧米の多くの報告を基にしている。

ヒトを対象として葉酸の必要量を検討した代表的な論文として、著者らの知る限りでは、4 編ある。これらのヒト試験では、食事由来の葉酸と葉酸サプリメントを利用して、検討を行っている。Milne *et al.*¹⁹⁾ は、成人男性 40 名を対象に代謝室で食事性葉酸 ($200 \mu\text{g}/\text{日}$) の影響を調べている。この結果、血清葉酸量の変化は、試験開始時の葉酸の状態に依存している。つまり、血清葉酸量が $10 \text{ng}/\text{mL}$ 以下であれば、食事によって葉酸レベルの減少はみられなかった。このようなことから、体内の葉酸レベルを維持するためには、 $200 \mu\text{g}/\text{日}$ ($150\text{--}250 \mu\text{g}/\text{日}$) 以上の葉酸摂取があれば、十分なようである。わが国では、葉酸が食品に強化されていないので、このデータはわが国で葉酸の食事摂取基準を考えるために重要な知見である。

食事とサプリメントの組み合わせを利用したものとして、O'Keefe *et al.*²⁰⁾ は、成人女性に低葉酸含量 ($30 \mu\text{g}/\text{日}$) の食事と葉酸サプリメント $200, 300, 400 \mu\text{g}/\text{日}$ を 70 日間与えて、葉酸の必要量を検討している。血清の葉酸レベルをみると、試験開始時に比べ、 $200 \mu\text{g}$ 群では有意に減少したが、 $400 \mu\text{g}$ 群では有意に増加した。赤血球葉酸量についても、試験開始時に比べ、 $300 \mu\text{g}$ および $400 \mu\text{g}$ 群では増加したが、 $200 \mu\text{g}$ 群では減少した。一方、試験終了時の血漿ホモシステイン量については、 $300 \mu\text{g}$ 群や $400 \mu\text{g}$ 群と比べ $200 \mu\text{g}$ 群で有意に増加した。 $200 \mu\text{g}$ 群では血漿ホモシステインと血漿や赤血球の葉酸レベルとの間に負の相関がみられた。この結果、これらの女性においては、葉酸 $200 \mu\text{g}$ の摂取量では、葉酸状態を維持するためには不十分である、と示唆している。米国における食事摂取基準の策定においては、この結果が基準となっている。

このほか、葉酸欠乏状態にした後、各種濃度の葉酸を摂取させて必要量を検討する欠乏-添加試験を行った報告がある。Sauberlich *et al.*²¹⁾ は、成人女性 10 名を 3 群に分けて代謝室で 92 日間検討した。まず 28 日間葉酸欠乏食を摂取した後、各種濃度の葉酸含有食を摂取し、血漿および赤血球中の葉酸の変化を調べた。欠乏食を摂取すると血漿葉酸は 60% まで減少する。その後、天然由来の葉酸 $200 \mu\text{g}$ を摂取すると血漿葉酸は減少せず、 $300 \mu\text{g}$ ではわずかながら上昇する。しかし、これらの濃度でも、赤血球葉酸は減少し続ける。このようなことから、成人女性の葉酸要求量は $200\text{--}250 \mu\text{g}/\text{日}$ と推定される。Jacob *et al.*²²⁾ は、成人男性 10 名を対象に代謝室で葉酸欠乏食と葉酸サプリメントを与えて、葉酸必要量を

検討している。葉酸欠乏 (25 $\mu\text{g}/\text{日}$) 期では、血漿葉酸が減少し、ホモシステインが増加した。葉酸添加期 (99 $\mu\text{g}/\text{日}$) では、血漿葉酸は増加するが、ホモシステインの低下はみられていない。この結果、所要量 200 $\mu\text{g}/\text{日}$ では十分でないことを示している。

葉酸の過剰摂取については、食事のみから多量に摂取することは困難であり、多くの場合サプリメントの利用によるものと考えられる。400 $\mu\text{g}/\text{日}$ のサプリメントによって、亜鉛の尿中への排泄量が低下することや糞便中の亜鉛量が増加することが報告されている²³⁻²⁵⁾。今回所要量に見合った葉酸サプリメントの摂取量では、試験期間中に血清亜鉛量の変化はみられなかった。しかしながら、ビタミン B₁, B₁₂, C を増やした場合に血清亜鉛量の低下が認められた。葉酸のみでなく、これらのビタミンも腸管からの亜鉛の吸収や体内での亜鉛の代謝に影響している可能性がある。今後さらに検討する必要がある。

最後に、第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—において、葉酸の所要量が 200 $\mu\text{g}/\text{日}$ とはじめて策定された。また日本人の食事摂取基準 (2005 年版) では、葉酸の推奨量が 240 $\mu\text{g}/\text{日}$ に改定された。今回使用した葉酸摂取量は 200 $\mu\text{g}/\text{日}$ であるが、生体利用率を考慮すると、368 μg あるいは 340 $\mu\text{gDFEs}/\text{日}$ となる。この結果では、男性ではやや不足している可能性があるが、女性では必要量を十分に満たしているものと考えられる。これまでの報告でも葉酸摂取量が 200 $\mu\text{g}/\text{日}$ で充足しているとする報告がある。わが国では、食品に葉酸が強化されていないため、葉酸の摂取量は食事から摂取可能な量として考える必要がある。今回の結果は、今後葉酸の食事摂取基準を策定するための基礎的な知見として重要である。

本研究は、厚生労働科学研究補助金「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-平成 15 年度) によるものである。

文 献

- 1) 岩井和夫 (1980) 葉酸 6.1 序論: ビタミン学 [II], (ビタミン学会編), p. 363-8. 東京化学同人, 東京.
- 2) 小橋昌裕 (1996) 葉酸: ビタミンの事典, (日本ビタミン学会編), p. 283-94. 朝倉書店, 東京.
- 3) Daly S, Mills JL, Molloy AM, Conley M, Lee YJ, Kirke PN, Weir DG, Scott JM (1997) Minimum effective dose of folic acid for food fortification to prevent neural-tube defects. *Lancet* **350**: 1666-9.
- 4) Czeizel AE, Dudas I (1992) Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med* **327**: 1832-5.
- 5) 渡辺敏明 (2002) 葉酸による先天異常の予防: ビタミン研究のブレークスルー—発見から最新の研究まで—, (日本ビタミン学会編), p. 265-70. 学進出版, 吹田.
- 6) Ueland PM, Refsum H, Beresford SAA, Vollset SE (2000) The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* **72**: 324-32.
- 7) Schnyder G, Roffi M, Flammer Y, Pin R, Hess OM (2002) Effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid, vitamin B₁₂, and vitamin B₆ on clinical outcome after percutaneous coronary intervention. *JAMA* **288**: 973-9.
- 8) 渡辺敏明, 大川恵子 (2001) 葉酸代謝と動脈硬化症. *臨床検査* **45**, 1117-22.
- 9) 厚生省 (1999) 葉酸: 第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—, p. 103-5. 厚生省保健医療局地域保健・健康増進栄養課生活習慣病対策室, 東京都.
- 10) Institute of Medicine (2003) Folate. In: Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline, p. 196-305. National Academy Press, Washington DC.
- 11) 厚生労働省 (1999) 葉酸: 日本人の食事摂取基準, 2005 年版, p. 100-3. 厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室, 東京都.
- 12) 平岡真実, 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* **74**, 271-80.
- 13) Melse-Boonstra A, de Bree A, Verhoef P, Bjorke-Monsen AL, Verschuren WMM (2002) Dietary monoglutamate and polyglutamate folate are associated with plasma folate concentrations in Dutch men and women aged 20-65 years. *J Nutr* **132**: 1307-12.
- 14) Konings EJM, Roomans HHS, Dorant E, Goldbohm RA, Saris WHM, van den Brandt PA (2001) Folate intake of the Dutch population according to newly established liquid chromatography data for foods. *Am J Clin Nutr* **73**: 765-76.
- 15) 健康・栄養情報研究会 (2001) 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.
- 16) Hiraoka M (2004) Folate intake, serum folate, serum total homocysteine levels and methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in young Japanese women. *J Nutr Sci Vitaminol* **50**: 238-45.
- 17) Selhub J, Jacques PF, Wilson PFW, Rush D, Rosenberg IH (1993) Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* **270**: 2693-8.
- 18) Higgins JR, Quinlivan EP, McPartlin J, Scott JM, Weir DG, Darling MRN (2000) The relationship between increased folate catabolism and the increased requirement for folate in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* **107**: 1149-54.
- 19) Milne DB, Johnson LK, Mahalko JR, Sandstead HH (1983) Folate status of adult males living in a metabolic unit: possible relationships with iron

- nutriture. *Am J Clin Nutr* **37** : 768-73.
- 20) O'Keefe CA, Bailey LB, Thomas EA, Hoffer SA, Davis BA, Cerda JJ, Gregory JF III (1995) Controlled dietary folate affects folate status in nonpregnant women. *J Nutr* **125** : 2717-25.
 - 21) Sauberlich HE, Kretsch MJ, Skala JH, Johnson HL, Taylor PC (1987) Folate requirement and metabolism in nonpregnant women. *Am J Clin Nutr* **46** : 1016-28.
 - 22) Jacob RA, Wu M-M, Henning SM, Swendseid ME (1994) Homocysteine increases as folate decreases in plasma of healthy men during short-term dietary folate and methyl group restriction. *J Nutr* **124** : 1072-80.
 - 23) Milne DB, Canfield WK, Mahalko JR, Sandstead HH (1984) Effect of oral folic acid supplements on zinc, copper, and iron absorption and excretion. *Am J Clin Nutr* **39** : 535-9.
 - 24) Butterworth CE, Jr, Tamura T (1989) Folic acid safety and toxicity: a brief review. *Am J Clin Nutr* **50** : 353-8.
 - 25) Keating JN, Wada L, Stokstad EL, King JC (1987) Folic acid: effect on zinc absorption in humans and in the rat. *Am J Clin Nutr* **46** : 835-9.

J Jpn Soc Nutr Food Sci **59** : 169-176 (2006)

Original Paper

Dietary Requirement of Folate in Healthy Japanese Adults

Toshiaki Watanabe,^{*,1} Misa Ohgushi,¹ Yukari Maekawa,¹
Mamoru Nishimuta,² Katsumi Shibata,³ and Toru Fukui^{1,4}

(Received November 8, 2004 ; Accepted January 14, 2006)

Summary : In the 6th revision of the Japanese Recommended Dietary Allowance (RDA)—Dietary Reference Intakes (DRI)—the RDA of folate was stated to be 200 $\mu\text{g}/\text{day}$ for an adult, all of which can be obtained from food. However, as evidence-based knowledge on this subject is insufficient, there is an obvious need for new data, collected by us in Japan, to be considered. To study the dietary requirement of folate, a group of healthy adults comprising 10 men and 10 women were fed a semi-purified diet following the Japanese RDA. In the women, the serum level and urinary excretion of folic acid were increased for the 8 days of the experiment. On the other hand, in the men, a decrease in the urinary excretion of folic acid was observed during the experimental period, but no change was noted in the serum level of folic acid. There was a sex difference in the dietary requirement of folic acid. These findings suggest that the 200 $\mu\text{g}/\text{day}$ intake used in this study would be adequate for maintaining a constant serum level of folic acid in women, but that a deficiency of folic acid might occur in this situation in men.

Key words : folate, dietary requirement, urine, serum, dietary reference intakes

* Corresponding author (E-mail: watanabe@shse.u-hyogo.ac.jp)

¹ Laboratory of Dietary Environment Analysis, Department of Environment for Life and Living, School of Human Science and Environment, Himeji Institute of Technology University of Hyogo, 1-1-12 Shinzaike Honcho, Himeji 670-0092, Japan

² Division of Human Nutrition, The Incorporated Administrative Agency of Health and Nutrition, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8636, Japan

³ School of Human Cultures, The University of Shiga Prefecture, 2500 Yasaka, Hikone, 522-8533, Japan

⁴ Byotai Seiri Laboratory, 47-11 Kumanochi, Itabashi-ku, Tokyo 173-0025, Japan

〈特集：栄養生化学に必要とされる食事摂取基準の知識〉

ビタミンの食事摂取基準の策定方法と策定に用いられた数値

柴田 克己、福渡 努、廣瀬 潤子

Process for establishing Japanese dietary reference intakes of vitamins and the reference values used

Katsumi Shibata, Tsutomu Fukuwatari and Junko Hirose

Summary The Dietary Reference Intakes were established for all of the 13 vitamins for a healthy Japanese population. Those Intakes for vitamins B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, A, and niacin and folic acid were set as the Estimated Average Requirement (EAR), while, the Intakes of pantothenic acid, biotin, vitamins E, D, and K were set as the Adequate Intake, because the data that might have determined the ability to prevent a specific deficiency were not obtained for these vitamins.

Key words: Vitamin, Dietary reference intakes, Reference values, Decision method

I. 1歳～69歳の食事摂取基準の策定 方法と策定に用いられた数値

1. 水溶性ビタミン

食事摂取基準で対象としている健康な人では、尿中への排泄量が、水溶性ビタミンの摂取量を反映していることは、すでに1945年にMelnick¹⁾らにより指摘されている。彼らは、アスコルビン酸、チアミン、リボフラビンの各尿中排泄量は各摂取量に応じて増大したこと、*N*-メチルニコチンアミド（ニコチンアミドの異化代謝産物の一つ）の尿中排泄量は摂取ニコチンアミド量に応じて増大したことを報告している。以来多くの研究者が、尿中の排泄量を利用してビタミ

ン必要量の判定とビタミンの栄養状態を評価している。

ラットの実験のデータ²⁾から作成したモデル図であるが、欠乏食投与後の血液中と尿中のビタミン含量の変化を図1に示した。

ところで、食事摂取基準を策定する目的は健康の維持・増進であり、具体的には、二つの項目に分けられる。一つは「欠乏症の予防」、二つ目は「生活習慣病の一次予防」である。現在の日本では、一つ目の目的である「欠乏症の予防」に関しては、克服することができたので、主目的が、「生活習慣病の一次予防」のための食事摂取基準へと変わりつつある。

滋賀県立大学人間文化学部生活文化学科
食生活専攻
〒522-8533 滋賀県彦根市八坂町2500

Laboratories of Food Science and Nutrition, Department
of Life Style Studies, School of Human Cultures,
The University of Shiga Prefecture,
Hikone, Shiga 522-8533, Japan

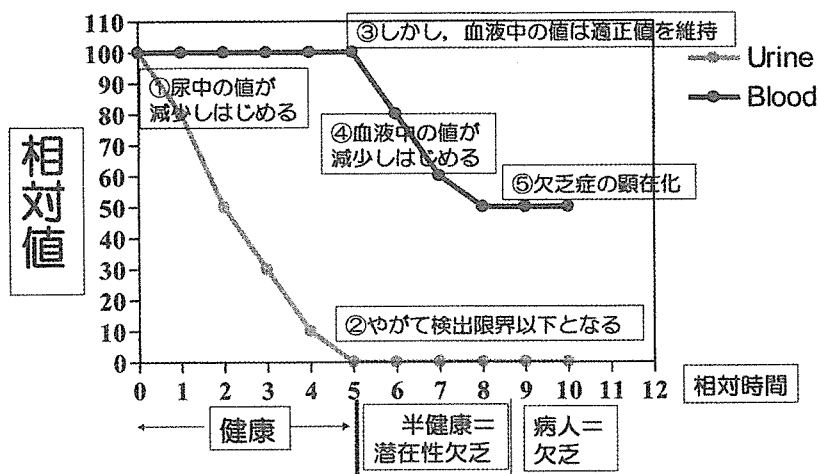


図 1 欠乏食投与後の血液中と尿中のB群ビタミン量の変化

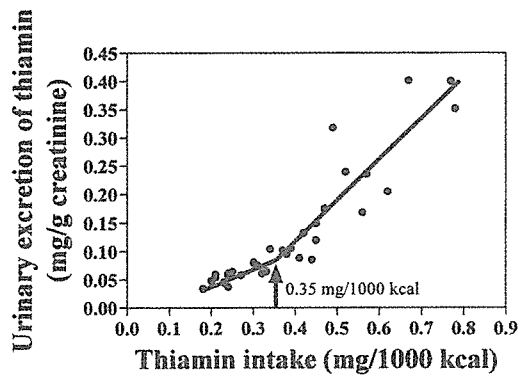


図 2 チアミン摂取量と尿中へのチアミン排泄量との関係

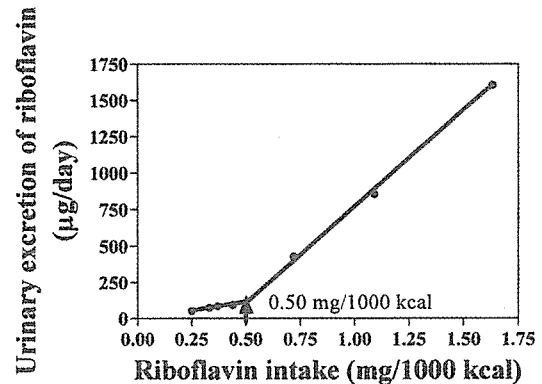


図 3 リボフラビン摂取量と尿中へのリボフラビン排泄量との関係

1-1. ビタミンB₁ (チアミン)

1) 背景

尿中へのチアミンの排泄形態はチアミンが主要な物であるが、チアミンの標識化合物の投与実験から、多くの異化代謝産物が存在することが知られている³⁾。その中でも、主要な異化代謝産物として、4-methylthiazole-5-acetic acid⁴⁾と3-(2'-methyl-4'-amino-5'-pyrimidylmethyl)-4-methylthiazole-5-acetic acid⁵⁾などが報告されている。しかしながら、これら異化代謝産物の標準品が入手できないこと、定量方法も開発されていないことから、現在でも、チアミンの栄養評価は、尿中に排泄されるチアミンを利用している。

2) 尿中の値から推定平均必要量を策定

18カ国から報告された類似のデータのメタ分析から⁶⁾、図2に示したように、必要量を満たす

と、はじめて尿中への排泄量を実質的に増大してくる。この時の摂取量はチアミン (分子量=265.3) として、0.35 mg/1000 kcalである。チアミン塩酸塩 (分子量=337.3) に換算すると0.45 mg/1000 kcalとなる。この値を推定平均必要量とした。推奨量は推定平均必要量×1.2としたので、0.54 mg/1000 kcalとなる。1日当たりの値にするには、対象年齢区分の推定エネルギー必要量を掛けて計算すればよい。

1-2. ビタミンB₂ (リボフラビン)

1) 背景

リボフラビンの主要な異化代謝産物として、Ohkawaら⁷⁾により、7 α -hydroxyriboflavin、8 α -hydroxyriboflavin、hydroxyethylflavinなどが報告されている。これら異化代謝産物の実用的な定

量方法も開発されている⁷⁾が、標準品が入手できないこと及び排泄量がリボフラビンそのものに対して無視できることから、リボフラビンの栄養評価は、尿中に排泄されるリボフラビンを利用している。

2) 尿中の値から推定平均必要量を策定

リボフラビンもチアミンと同じく、必要量を満たすと、図3⁸⁾に示したように、はじめて尿中への排泄量が実質的に増大してくる。この時の摂取量はリボフラビンとして、0.50 mg/1000 kcalである。この値を推定平均必要量とした。推奨量は推定平均必要量×1.2としたので、0.60 mg/1000 kcalとなる。1日当たりの値にするには、対象年齢区分の推定エネルギー必要量を掛けて計算すればよい。

1-3. ナイアシン

1) 背景

尿中へのナイアシンの排泄形態は、チアミン

とリボフラビンと異なり、主要な摂取形態であるニコチンアミドではなく、異化代謝産物であるN'-メチルニコチンアミド (MNA)、N'-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド (2-Py) とN'-メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド (4-Py) である⁹⁾。これらの異化代謝産物の排泄量比を表1に示した⁹⁾。異化代謝産物の中で最も多いのは2-Pyであるが、市販品がないことから、MNAの排泄量から平均必要量が求められている。

2) 尿中のMNAの値から推定平均必要量を策定

ナイアシン欠乏であるペラグラ発症の指標となるMNAの尿中排泄量は1.0 mg/日である (表2)¹⁰⁻¹³⁾。これらの報告の再解析より (表3)、MNA尿中排泄量が1 mg/日となるナイアシン当量 (NE) は、4.8 mg NE/1000 kcalである。この値を推定平均必要量とした。推奨量は推定平均必要量×1.2としたので、5.8 mg NE/1000 kcalとなる。1日当たりの値にするには、対象年齢区分の推定エネルギー必要量を掛けて計算すればよい。

3) トリプトファン-ナイアシン転換率

ヒトにおいても、肝臓でトリプトファンからNAD⁺を経てニコチンアミドが合成される。その転換率は重量比で1/60程度である¹⁰⁾。Fukuwatariら¹⁴⁾も日本人女性を被検者として調べたが、概ねこの数値を支持するデータを報告しているので、60 mgのトリプトファンから1 mgのニコチンアミドが体内で合成されているものとした。

ナイアシン当量 (mg) = ニコチン酸 (mg) + ニコチンアミド (mg) + 1/60トリプト

表1 1日尿中に排泄されるMNA、2-Pyおよび4-Py量(日本人女性)⁹⁾

化合物	値
ナイアシン摂取量 (μmol/日)	168.5±43.6 (78.1-293.4)
(mg/日)	20.7±5.4 (9.6-36.1)
MNA (μmol/日)	31.1±12.3 (11.9-66.9)
(mg/日)	4.26±1.68 (1.63-9.17)
2-Py (μmol/日)	59.8±26.5 (18.0-136.3)
(mg/日)	9.10±4.03 (2.74-20.76)
4-Py (μmol/日)	7.1±3.3 (2.4-15.8)
(mg/日)	1.08±0.50 (0.36-2.40)

平均値±SD (n=84)、かつこ内の数値は最低値と最大値

表2 Goldsmithらの実験における尿中のMNA排泄量

摂取量	Days 2-13	Days 14-25	Days 26-41
Trp, 180 mg	1.8 mg	1.6 mg	0.9 mg
Niacin, 4.7 mg	(13.1 μ mol)	(11.7 μ mol)	(6.6 μ mol)
NE, 7.7 mg			皮膚炎, 下痢,
3.85 mg/1000kcal			舌炎

摂取量	Day 2-13	Day 14-25	Day 26-41	Day 42-61	Day 62-95
Trp, 230 mg	1.9 mg	1.5 mg	1.4 mg	1.3 mg	1.1 mg
Niacin, 5.7 mg	(13.9 μ mol)	(10.9 μ mol)	(10.2 μ mol)	(9.5 μ mol)	(8.0 μ mol)
NE, 9.5 mg					
4.75 mg/1000kcal					

Goldsmith GA, Sarett HP, Register UD, Gibbens J: Studies on niacin requirement in man. I. Experimental pellagra in subjects on corn diets low in niacin and tryptophan. J. Clin. Invest., 31: 533-542, 1952.

表3 MNA排泄量が1 mg/日となるナイアシン当量摂取量

文献	被験者	MNA排泄量が1 mg/日となるNE摂取量
Goldsmithら(1952)	5名の女性、25-54歳	12.6 ± 3.0 (23%) = 6.8 mg NE/1000 kcal
Goldsmithら(1955)	3名の女性、26-60歳	10.9 ± 0.9 (8%) = 4.9 mg NE/1000 kcal
Horwittら(1956)	7名の男性、30-65歳	11.5 ± 4.5 (39%) = 4.9 mg/1000 kcal
Jacobら(1989)	7名の男性、23-39歳	11.3 ± 4.6 (41%) = 4.4 mg/1000 kcal

● Goldsmith GA, Sarett HP, Register UD: Gibbens J. Studies on niacin requirement in man 1. Experimental pellagra in subjects on corn diets low in niacin and tryptophan. J. Clin. Invest., 31, 533-542, 1952

● Goldsmith GA, Rosenthal HL, Bibbens J, Unglaub WG: Studies on niacin requirement in man. 2. Requirement on wheat and corn diets low in tryptophan. J. Nutr., 56, 371-386, 1955

● Horwitt MK, Harvey CG, Rothwell WS, Cutler JL, Haffron D: Tryptophan-niacin relationships in man: Studies with diets deficient in riboflavin and niacin, together with observations on the excretion of nitrogen and niacin metabolites. J. Nutr., 60, 1-43, 1956

● Jacob RA, Swendsen ME, McKee PW, Fu C, Clemens RC: Biochemical markers for assessment of niacin status in young men: Urinary and blood levels of niacin metabolites. J. Nutr., 119, 591-598, 1989

ファン (mg) である。簡便法として、ナイアシン当量 (mg) = ニコチン酸 (mg) + ニコチンアミド (mg) + 1/6たんぱく質 (g) の式を用いて計算してもよい。理由は食品たんぱく質のトリプトファン含量が重量比で1%程度であるからである。

1-4. ビタミンB₆ (ピリドキシン)

1) 背景

血漿中に存在するビタミンB₆補酵素であるピリドキサルリン酸 (PLP) は、体内組織のビタミンB₆貯蔵量を良く反映する¹⁵⁾。血清中のPLP濃度が低下した若年女性において、脳波パターンに異常が見られたという報告がある¹⁶⁾。

2) 血清中のピリドキサルリン酸から推定平均必要量を策定

神経障害の発生などのビタミンB₆欠乏に起因する障害が観察された報告を基に判断すると、血漿PLP濃度を30 nmol/Lに維持することができれば、これらの障害は観察されなくなる^{17,18)}。そこで、血漿PLP濃度を30 nmol/Lに維持できるビタミンB₆摂取量を推定平均必要量とすることにした。

一方において、ビタミンB₆の必要量は、たんぱく質摂取量が増加すると増し、血漿PLP濃度は、たんぱく質当たりのビタミンB₆摂取量と良く相関することが知られている⁶⁾。この解析値から¹⁸⁾、血清PLPを30 nmol/Lに50%の人が維持で

きるピリドキシン摂取量を指標として0.014 mg/gたんぱく質とした (図4)。生体利用率75%¹⁹⁾を加味して、ビタミンB₆の推定平均必要量を0.019 mg/gたんぱく質とした。ビタミンB₆の推奨量は、EAR×1.2、つまり、0.023 mg/gたんぱく質とした。1日当たりの値は、対象年齢区分のたんぱく質の食事摂取基準の推奨量をかけて計算すればよい。

1-5. 葉酸

1) 背景

高ホモシステイン血症が、脳血管疾患や心疾患のリスクファクターとなる²⁰⁾。葉酸はホモシステインからメチオニンの変換に必要なビタミンである。このため、葉酸の摂取量が必要量を

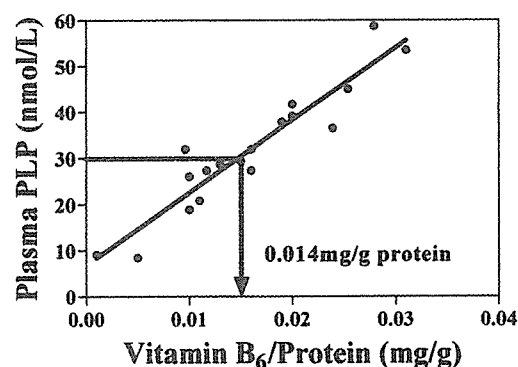


図4 ピリドキシン摂取量と血漿PLP濃度の関係

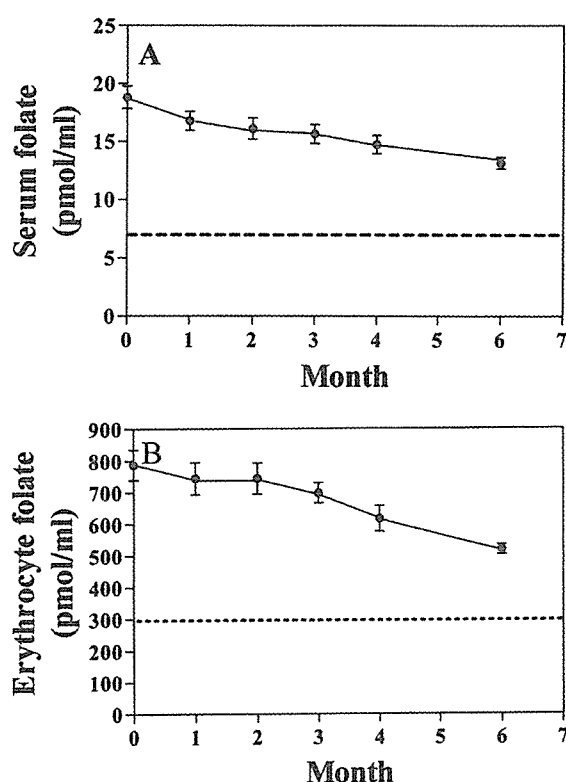


図5 約200 μ g/日の葉酸を含む食事を投与した時の血清中 (A) と赤血球中(B)の葉酸濃度の変動

満たさないと、血漿中のホモシステイン濃度の上昇がみられる。

2) 血液中の葉酸値とホモシステイン値から推定平均必要量を策定

血清ホモシステイン値を14 μ mol/L未満²¹⁾、血清葉酸値を7nmol/L以上²²⁾、赤血球葉酸値を300nmol/L以上²³⁾に50%の成人(18~49歳)が維持できる食事由来の葉酸摂取量から、推定平均必要量、200 μ g/日を求めた(図5)²⁴⁾。推奨量は、推定平均必要量 $\times$ 1.2としたので、240 μ g/日となる。

1-6. ビタミンB₁₂

1) 背景

ビタミンB₁₂が欠乏すると、赤血球のMCV(mean corpuscular volume=平均血球体積)が大きくなり、MCH(mean corpuscular hemoglobin=平均血球ヘモグロビン量)が高くなる。

2) 赤血球の性状維持と血清中のビタミンB₁₂濃度から推定平均必要量を策定

ビタミンB₁₂の必要量は、悪性貧血患者にさまざまな量のビタミンB₁₂を筋肉内注射し、彼らの血液学的性状および血清ビタミンB₁₂濃度を適正に維持するために必要な量を基にして算定した。20人の悪性貧血患者を対象とした研究によると、0.5 μ gから4.0 μ gまで投与量を変化させた結果、赤血球産生能は、投与量とともに増加し、およそ1.4 μ g/日で半数の患者が最大に到達した²⁵⁾。また、0.8~1.0 μ g/日の投与で患者の半数の血液学的性状および血清ビタミンB₁₂濃度が適正に保つことができ、1.7 μ g/日の投与では全患者の血液学的性状および血清ビタミンB₁₂濃度が適正に保つことができたとする報告^{26, 27)}がある。一方、0.1 μ g/日、0.6~0.7 μ g/日では悪性貧血を治療するのに十分ではなかったとする報告²⁸⁾がある。これら一連の研究結果から、1.5 μ g/日程度がビタミンB₁₂の必要量と考えられる。ところで、悪性貧血患者では、胆汁中に含まれる多量のビタミンB₁₂を再吸収することができないため、その損失量(0.5 μ g/日)を差し引くことによって、正常な腸管吸収能力を有する健康な成人における必要量に換算することができる。すなわち、1.5-0.5=1.0 μ g/日となる。

ビタミンB₁₂の吸収率は、食品中のビタミンB₁₂の含有量に左右される。つまり、1 μ g、5 μ g、25 μ gと摂取量を変えた場合の吸収率はそれぞれ、50%、20%、5%であったとの報告がある²⁹⁾。また、単一の食品を摂取させた場合の吸収率は、羊肉、卵、鶏肉、鰯肉で、それぞれ、65%、24~36%、60%、25~47%であったとの報告がある³⁰⁻³³⁾。これらの報告から生体利用率を50%とした。したがって、推定平均必要量を2.0 μ g/日とした。推奨量はEAR $\times$ 1.2から求め、2.4 μ g/日とした。

1-7. ビオチン

1) 背景

推定平均必要量を設定するに足る実験データはない。

2) 健康人の摂取量から目安量を策定

トータルダイエット調査による1日当たりのビオチン摂取量、45.1 μ gというデータを採用した³⁴⁾。この値を平滑化して、成人(18~69歳)の目安量を45 μ g/日とした。

1-8. パントテン酸

1) 背景

パントテン酸の欠乏症を実験的に再現できない³⁵⁾ため推定平均必要量を設定できない。そこで、食事調査の値³⁶⁾を用いた。

2) 健康人の摂取量から目安量を策定

Kimuraら³⁷⁾が調べた女子学生（34名、20～21歳）の結果では、平均値±SDが 4.63 ± 1.36 mg/日であった。また、平成13年国民栄養調査結果³⁸⁾における1歳～69歳のパントテン酸摂取量は、概ね4～6 mg/日の摂取量であった。この摂取量で欠乏が出たという報告はないので、パントテン酸の目安量を5 mg/日とした。

1-9. ビタミンC（アスコルビン酸）

1) 背景

ビタミンCの欠乏症は壊血病であり、その予防のためには、ビタミンCを10 mg/日程度摂取しておればよい³⁸⁾。しかしながら、さらに多く摂取すると抗酸化、心臓血管系の疾病予防が期待できることが明らかとなってきた。そこで、心臓血管系の疾病予防果を期待できる摂取量を設定した。

2) 血清中のアスコルビン酸値から推定平均必要量を策定

心臓血管系の疾病予防が期待できる血漿ビタミンC濃度は約 $50 \mu\text{mol/L}$ 以上と報告されている³⁹⁻⁴²⁾。ビタミンCの摂取量と血漿濃度を調べたメタ分析の報告から50%の人が $50 \mu\text{mol/L}$ の血漿濃度を維持する摂取量は約83 mg/日と算出されている⁴³⁾。そこで、成人（18～29歳）の推定平均必要量を85 mg/日とした。推奨量は、推定平均必要量 $\times 1.2$ から100 mg/日とした。

2. 脂溶性ビタミン

2-1. ビタミンA（レチノール）

1) 背景

ビタミンAの典型的な欠乏症として夜盲症がある。血漿レチノール濃度は肝臓のビタミンA貯蔵量が肝臓1 gあたり $20 \mu\text{g}$ に低下するまで血漿レチノール濃度の低下は見られない⁴⁴⁾。

2) 肝臓内ビタミンA貯蔵量（ $20 \mu\text{g/g}$ ）を維持できる摂取量から推定平均必要量を策定

成人が4 か月にわたってビタミンAの摂取低下があった場合でもビタミンA欠乏症状に陥る

ことのない肝臓内ビタミンA貯蔵量は、肝臓1 g当たりで $20 \mu\text{g}$ である⁴⁵⁾。この貯蔵量を維持するために必要なビタミンA摂取量を推定平均必要量とした。

そこで、このビタミンA蓄積量を維持するために必要なビタミンA摂取量を計算すると、体内のビタミンA消失率0.5%/日⁴⁵⁾、体重あたりの肝臓重量 30 g/kg ⁴⁵⁾、ビタミンA蓄積量の体全体と肝臓の比1.1、および摂取するビタミンAの蓄積効率を40%⁴⁶⁾と見積もることにより、 $0.005 \times 20 \mu\text{g/g} \times 30 \text{ g/kg} \times 1.1 \times 2.5 (100/40) = 8.25 \mu\text{g RAE/kg}$ 体重/日と算定される。

日本人成人男子の基準体重から求めると、 $530 \mu\text{g RE/日}$ となる。推奨量はEAR $\times 1.4$ から $750 \mu\text{g RE/日}$ となる。

3) レチノール当量（RE）

プロビタミンAとして体内でビタミンA作用を発揮するのは、 β -カロテン、 α -カロテン、クリプトキサンチンなどカロテノイドの一部である。

β -カロテンは中央開裂により2分子のビタミンA（レチナール）を生成する。他のプロビタミンAカロテノイドのプロビタミンA活性は β -カロテンの約50%である。レチノールの吸収率は70～90%である⁴⁷⁾。食品素材によって β -カロテンの吸収率は10%以下から60%まで大きく異なる⁴⁸⁾。通常の食事として摂取する野菜に由来する β -カロテンの吸収率は、精製 β -カロテンを油に溶かした β -カロテンサプリメントを摂取した場合と比べると1/7である⁴⁹⁾。果物やカボチャなどのように β -カロテンの吸収率の比較的高い（約50%⁵⁰⁾）食品の摂取頻度がわが国では8～11%であること⁵¹⁾を考慮に加えると、日本人の食事由来の β -カロテンの吸収率は、油に可溶化した β -カロテンの1/6と推定される。したがって、 β -カロテンからレチノールへの転換効率を50%と見積もり、食品由来 β -カロテン $12 \mu\text{g}$ のビタミンA活性は $1 \mu\text{g}$ のレチノールと等価〔レチノール活性当量RAE（retinol activity equivalents）¹⁸⁾〕であるとして換算するのが適当である。食品由来の場合、

$$\begin{aligned} 1 \mu\text{g RAE} \\ &= 1 \mu\text{g レチノール} \\ &= 12 \mu\text{g } \beta\text{-カロテン} \\ &= 24 \mu\text{g } \alpha\text{-カロテン} \end{aligned}$$

表4 健康な日本人を対象として血漿中 α -トコフェロール濃度と摂取量(平均値 $\pm$ SD)を測定した場合

参考文献	性別	人数 (人)	年齢 (歳)	血漿濃度 (μ mol/L)	摂取量 (mg/日)	国民栄養調査 ¹	
						年齢階級 (歳)	摂取量 (mg/日)
A)	男性	42	31~58	25.4 $\pm$ 5.6	11.1 $\pm$ 4.9	30~49	9.1 $\pm$ 4.3
	女性	44	24~67	31.8 $\pm$ 10.5	9.5 $\pm$ 3.9	30~49	8.2 $\pm$ 3.7
B)	女性	150	21~22	32.0 $\pm$ 10.5	7.0 $\pm$ 2.4 ²	18~29	8.2 $\pm$ 4.0
		10	21.6 $\pm$ 0.8	22.2 $\pm$ 2.2	7.1 $\pm$ 2.0 ³		
C)	女性	11	21.2 $\pm$ 0.8	26.3 $\pm$ 4.2	6.2 $\pm$ 2.4 ³		
		10	21.0 $\pm$ 0.7	28.5 $\pm$ 3.6	5.6 $\pm$ 2.0 ³		

¹ 参考値として、平成13年国民栄養調査における類似した年齢階級における摂取量を示した。

² トコフェロール含量。

³ トコフェロール、トコフェロール摂取量(mg/kg)と平均体重(kg)から算出した。

A) Sasaki S, Ushio F, Amano K, et al.: Serum biomarker-based validation of a self-administrated diet history questionnaire for Japanese subjects. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 46, 285-296, 2000

B) Hiraoka N: Nutritional status of vitamin A, E, C, B1, B2, B6, nicotinic acid, B12, folate, and beta-carotene in young women. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 47, 20-27, 2001

C) Maruyama C, Imamura K, Oshima S, et al.: Effects of tomato juice consumption on plasma and oxidative modification. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 47, 213-221, 2001

=24 μ g β -クリプトキサンチン
として換算できる。

なお、サプリメントとして摂取する油溶性 β -カロテンは2 μ gで1 μ gのレチノールに相当する⁴⁴⁾。

2-2. ビタミンE

1) 背景

ビタミンEの欠乏症の一つに溶血性貧血がある。そこで、必要量は、血中 α -トコフェロール値と過酸化水素による赤血球溶血試験結果を参考にして求めた。その結果、血中 α -トコフェロール値が6~12 μ mol/Lの範囲にある場合には、過酸化水素による溶血反応が上昇するが⁵²⁾、14 μ mol/Lあれば過酸化水素による溶血反応を防止できる⁵³⁾ことを認めている。このことから、米国/カナダの食事摂取基準⁴⁸⁾では50%のヒトに過酸化水素による溶血を防止できる血中 α -トコフェロール濃度として、12 μ mol/Lが採用され、この濃度を維持できる摂取量として12mg/日という数値を推定平均必要量として策定している。しかしながら、日本人を対象とした α -トコフェロール摂取量と血中 α -トコフェロール濃度を測定した報告は、異なっていた(表4)。

2) 血中 α -トコフェロール値と過酸化水素による赤血球溶血試験結果を参考にして目安量を策定

表4に示したように、日本人の平均摂取量は5.6~11.1mg/日であるにもかかわらず、血漿中の濃度の平均値は22 μ mol/L以上に保たれていた。そして、これらの値は、平成13年国民栄養調査³⁵⁾に近いものであった。つまり、日本人では、米国/カナダの食事摂取基準で採用された報告よりも低い α -トコフェロール摂取量で、過酸化水素による溶血を防止できる血漿中の α -トコフェロール濃度が達成されていた。言い換えれば、現在の日本人の摂取量(中央値)であれば、血漿中の α -トコフェロール濃度は12 μ mol/L以上に保つことができるものと判断した。したがって、平成13年国民栄養調査³⁵⁾における性・年齢階級別の摂取量中央値を目安量とした。

2-3. ビタミンD

1) 背景

欠乏症として、小児に現れるくる病がある。成人では、骨折と骨粗鬆症がある。

2) 血清中の25-ヒドロキシビタミンD値を参考にして目安量を策定

小児ではくる病の発症リスクが低いと考えられる血漿中25-ヒドロキシビタミンD濃度を維持できるビタミンD摂取量を目安量とした。血漿中25-ヒドロキシビタミンD濃度は、皮膚で産生

されたビタミンD量あるいは食物から摂取されたビタミンD量を正確に反映して変動する⁵⁴⁾。したがって、ビタミンD摂取量と血漿中25-ヒドロキシビタミンD濃度との関係に関する観察疫学的な報告はあるが、一貫性に乏しい。したがって、現在の日本人の摂取量中央値を用いて³⁵⁾、1～17歳までは策定した。

成人では、骨折と骨粗鬆症のリスク低減を指標として、血漿中副甲状腺ホルモン濃度が上昇しない血漿中25-ヒドロキシビタミンD濃度を維持できるビタミンD摂取量を目安量とした。血中25-ヒドロキシビタミンD濃度の平均値が25 nmol/L以上50 nmol/L未満に保つに必要な摂取量は、30～49歳では4.1 μ g/日、50～69歳では6.3 μ g/日である⁵⁵⁻⁶⁰⁾。したがって、 $(4.1+6.3) \div 2 = 5.2 \mu$ g/日となる。この値、5 μ g/日を成人の目安量とした。

2-4. ビタミンK (フィロキノン)

1) 背景

ビタミンKと総称する場合、フィロキノン、メナキノン-4およびメナキノン-7をいい、血液凝固因子としてのこれらの生物活性はほぼ同等と考えられている。ビタミンKの主な生理作用は、プロトロンビンやその他の血液凝固因子を活性化し、血液の凝固を促進することにある⁶¹⁾。また、骨に存在するたんぱく質オステオカルシンを活性化し、骨形成を促すことも重要な生理作用である⁶²⁾。さらに、ビタミンK依存性蛋白質MGP (Matrix Gla Protein) の活性化を介して動脈の石灰化を防止することも重要な生理作用の一つである⁶³⁾。しかし、人でビタミンK欠乏症が明確に認められているのは、現在のところ血液凝固に関してのみである。そこで、正常な血液凝固能を維持するに必要なビタミンK摂取量を基準としてビタミンKの食事摂取基準を策定した。

2) 正常な血液凝固能を維持するに必要な量から目安量を策定

血中フィロキノン濃度の低下や血中非カルボキシル化プロトロンビンの上昇が起こらないビタミンK摂取量を求め、これを目安量とする。潜在的欠乏状態を回避できる摂取量として80 μ g/日 (成人、体重72 kg, アメリカ/カナダの食事摂取基準¹⁸⁾) を採用した。体重比の0.75乗で外挿す

表5 母乳中のビタミン含量

ビタミン名	採用値
ビタミンB ₁	0.15 mg/L
ビタミンB ₂	0.40 mg/L
ナイアシン	2.0 mg/L
ビタミンB ₆	0.25 mg/L
葉酸	54 μ g/L
ビタミンB ₁₂	0.2 μ g/L
パントテン酸	5.0 mg/L
ビオチン	5.2 μ g/L
ビタミンC	50 mg/L
ビタミンA	0.352 mg/L
ビタミンE	3.5 mg/L
ビタミンD	3 μ g/L
ビタミンK	5.17 μ g/L

ることによって日本人成人の目安量を算出する。成人男子では75 μ g/日となる。

3) ビタミンK量

ビタミンK同族体の相対的な生理活性に関する科学的根拠は極めて乏しい。今回は、五訂日本食品標準成分表との整合性を重視してフィロキノンとメナキノン-4の合計量をビタミンK量として食事摂取基準を策定した。ただし、納豆などの発酵食品には栄養上無視できない量のメナキノン-7が含まれているので、このような食品についてはメナキノン-7の分子量 (649) から換算し求めたメナキノン-4 (分子量444.65) 相当量を加算してビタミンK量とする。

II. 乳児 (0～5 か月と6～11か月) の食事摂取基準の策定方法と策定に用いられた数値

1. 0～5 か月

乳児 (0～5 か月) は、母乳を適当量摂取している限り、健常に発育する。したがって、食事摂取基準は目安量 (AI) とした。目安量は母乳中のビタミン含量×泌乳量から計算した。表5に採用された値をまとめて示した。

2. 6～11か月

乳児 (6～11か月) の食事摂取基準は目安量 (AI) とした。基本的に、①乳児 (0～5 か月) からの外挿、乳児 (0～5 か月) の目安量×{(6～11か月の体重)/(0～5か月の体重)}^{0.75}と②成人 (18～29歳) からの外挿、成人 (18～29歳)

のデータ $\times \{(6 \sim 11 \text{ 月の体重}) / (\text{成人}(18 \sim 29 \text{ 歳}) \text{ の体重})\}^{0.75} \times 1.3$ 、の二つの値の平均値として策定した。

Ⅲ. 70歳以上の食事摂取基準の策定方法と策定に用いられた数値

身体活動は15～29歳をピークにして、それ以降の年齢では漸減する。しかし、加齢に伴う消化吸収率の低下などを考慮して、基本的に15～29歳の値と同じとした。

Ⅳ. 妊婦の食事摂取基準の策定方法と策定に用いられた数値

ビタミンの代謝特性を考慮して付加量を策定した。

Ⅴ. 授乳婦の食事摂取基準の策定方法と策定に用いられた数値

基本的に母乳中のビタミン含量と1日当たりの泌乳量から策定した。泌乳量は授乳量と同じであるとし、0.78 Lを採用した⁶⁴⁾。

文献

- 1) Melnick D, Hochberg M, Oser BL: Physiological availability of the vitamins. I. The human technic. *J. Nutr.*, 30: 67-79, 1945
- 2) Shibata K, Matsuo H: Effect of gradually increasing levels of nicotinamide in a niacin-free and tryptophan-limited diet on the blood NAD levels and the urinary excretion of nicotinamide metabolites in rats. *Agric. Biol. Chem.*, 53: 1333-1336, 1989
- 3) Tanphaichitr V: Thiamine, edited by Rucker RB, Suttie JW, McCormick DB, Machlin LJ: "Handbook of Vitamins Third edition" Marcel Dekker, Inc. New York, USA, 275-316, (2001)
- 4) Matsuo T, Suzuoki Z: The occurrence of 4-methylthiazole-5-acetic acid as a thiamine metabolites in rabbit, dog, man and rat. *J. Biochem.*, 65: 953-960, 1969
- 5) Amos WH, Neal RA: Isolation and identification of 3-(2'-methyl-4'-amino-5'-pyrimidylmethyl)-4-methylthiazole-5-acetic acid (thiamine acetic acid) and 2-methyl-4-amino-5-formylaminomethylpyrimidine as metabolites of thiamine in the rat. *J. Biol. Chem.*, 245: 5643-5648, 1970
- 6) World Health Organization Technical Report Series No. 362. FAO Nutrition Meeting Report Series No. 41. Requirements of Vitamin A, Thiamine, Riboflavin and Niacin. Reports of a Joint FAO/WHO Expert Group. Rome, Italy, 6-17 September 1965. pp.30-38, Published by FAO and WHO. World Health Organization, Geneva. (1967)
- 7) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K: New metabolites of riboflavin appear in human urine. *J. Biol. Chem.*, 258: 5623-5628, 1983
- 8) World Health Organization Technical Report Series No. 362. FAO Nutrition Meeting Report Series No. 41. Requirements of Vitamin A, Thiamine, Riboflavin and Niacin. Reports of a Joint FAO/WHO Expert Group. Rome, Italy, 6-17 September 1965. pp.39-44 Published by FAO and WHO. World Health Organization, Geneva. (1967)
- 9) Shibata K, Matsuo H: Correlation between niacin equivalent intake and urinary excretion of its metabolites, N'-methylnicotinamide, N'-methyl-2-pyridone-5-carboxamide, and N'-methyl-4-pyridone-3-carboxamide, in humans consuming a self-selected food. *Am. J. Clin. Nutr.*, 50: 114-119, 1989
- 10) Horwitt MK, Harper AE, Henderson LM: Niacin-tryptophan relationships for evaluating niacin equivalent. *Am. J. Clin. Nutr.*, 34: 423-427, 1981
- 11) Goldsmith GA, Sarett HP, Register UD, Gibbens J: Studies on niacin requirement in man. I. Experimental pellagra in subjects on corn diets low in niacin and tryptophan. *J. Clin. Invest.*, 31: 533-542, 1952
- 12) Goldsmith GA, Rosenthal HL, Bibbens J, Unglaub WG: Studies on niacin requirement in man. II. Requirement on wheat and corn diets low in tryptophan. *J. Nutr.*, 56: 371-386, 1955
- 13) Horwitt MK, Harvey CC, Rothwell WS, Cutler JL, Haffron D: Tryptophan-niacin relationships in man: Studies with diets deficient in riboflavin and niacin, together with observations on the excretion of nitrogen and niacin metabolites. *J. Nutr.*, 60: 1-43, 1956
- 14) Fukuwatari T, Ohta M, Kimura N, Sasaki R, Shibata K: Conversion ratio of tryptophan to niacin in Japanese women fed on a purified diet conforming to the Japanese Dietary Reference Intakes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 50: 385-391, 2004
- 15) Lui A, Lumeng L, Aronoff GR, et al.: Relationship between body store of vitamin B₆ and plasma pyridoxal-P clearance: Metabolic balance studies in humans. *J. Lab. Clin. Med.*, 106: 491-497, 1985
- 16) Kretsch MJ, Sauberlich HE, Newbrun E: Electroencephalographic changes and periodontal status during short-term vitamin B₆ depletion of young, non-pregnant women. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53: 1266-1274, 1991
- 17) Leklem JE: Vitamin B₆: A status report. *J. Nutr.*, 120: 1503-157, 1990
- 18) Institute of Medicine. The B vitamins and choline: overview and methods. In: Institute of Medicine. Dietary

- Reference Intakes: For thiamine, riboflavin, niacin, vitamin B₆, folate, vitamin B₁₂, pantothenic Acid, biotin, and choline. Washington, D.C., National Academy Press, 150-195, (1998)
- 19) Tarr JB, Tamura T, Stokstad EL: Availability of vitamin B₆ and pantothenate in an average American diet in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, 34: 1328-1337, 1981
 - 20) Gerhard GT, Duell PB: Homocysteine and atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.*, 10: 417-428, 1999
 - 21) Herbert V: Making sense of laboratory tests of folate status: Folate requirements to sustain normality. *Am. J. Hem.*, 26: 199-207, 1987
 - 22) Herbert V: Experimental nutritional folate deficiency in man. *Trans. Assoc. Am. Physicians.*, 75: 307-320, 1962
 - 23) Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, et al.: Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *J. Am. Med. Assoc.*, 270: 2693-2698, 1993
 - 24) Milne DB, Johnson LK, Mahalko JR, Sandstead HH: Folate status of adult males living in a metabolic unit: possible relationships with iron nutriture. *Am. J. Clin. Nutr.*, 37: 768-773, 1983
 - 25) Darby WJ, Bridgforth EB, LE Brocquy J, et al.: Vitamin B₁₂ requirement of adult man. *Am. J. Med.*, 25: 726-732, 1958
 - 26) Bastrup-Madsen P, Helleberg-Rasmussen I, Norregaard S, et al.: Long term therapy of pernicious anaemia with the depot cobalamin preparation betolvex. *Scand. J Haematol.*, 31: 57-62, 1983
 - 27) Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP, et al.: Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentrations. *Am. J. Hematol.*, 34: 99-107, 1990
 - 28) Sullivan LW, Herbert V: Studies on the minimum daily requirement for vitamin B₁₂. Hematopoietic responses to 0.1 microgram of cyanocobalamin or coenzyme B₁₂ and comparison of their relative potency. *N. Engl. J. Med.*, 272: 340-346, 1965
 - 29) Adams JF, Ross SK, Mervyn L, et al.: Absorption of cyanocobalamin, coenzyme B₁₂, methylcobalamin, and hydroxocobalamin at different dose levels. *Scand. J. Gastroenterol.*, 6: 249-252, 1971
 - 30) Heyssel RM, Bozian RC, Darby WJ, et al.: Vitamin B₁₂ turnover in man. The assimilation of vitamin B₁₂ from natural foodstuff by man and estimates of minimal daily dietary requirements. *Am. J. Clin. Nutr.*, 18: 176-184, 1966
 - 31) Doscherholmen A, McMahon J, Ripley D: Vitamin B₁₂ absorption from eggs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 149: 987-990, 1975
 - 32) Doscherholmen A, McMahon J, Ripley D: Vitamin B₁₂ assimilation from chicken meat. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31: 825-830, 1978
 - 33) Doscherholmen A, McMahon J, Economon P: Vitamin B₁₂ absorption from fish. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 167: 480-484, 1981
 - 34) 齋藤由紀, 牛尾房雄: トータルダイエツ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
 - 35) Fry P C, Fox HM., Tao HG: Metabolic response to a pantothenic acid deficient diet in humans. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 22: 339-346, 1976
 - 36) 厚生労働省 国民栄養の現状 平成13年国民栄養調査結果, 東京, (2003)
 - 37) Kimura N, Fukuwatari T, Sasaki R, Hayakawa F, Shibata K: Vitamin intakes in Japanese college women students. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 49: 149-155, 2003
 - 38) Hodges RE, Hood J, Canham JE, et al.: Clinical manifestations of ascorbic acid deficiency in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, 24: 432-443, 1971
 - 39) Byun J, Mueller DM, Fabjan JS, et al.: Nitrogen dioxide radical generated by the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-nitrite system promotes lipid peroxidation of low density lipoprotein. *FEBS Lett.*, 455: 243-246, 1999
 - 40) Frei B: Vitamin C as antiatherogen: Mechanism of action. In: Packer L, Fuchs J. Eds. *Vitamin C in health and disease*. Marcel Dekker Inc. New York. pp. 163-182, (1997)
 - 41) Gey KF: Vitamins E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer. *Biofactors*, 7: 113-174, 1998
 - 42) Yokoyama T, Date C, Koubo Y, et al.: Serum vitamin C concentration was inversely associated with subsequent 20-year incidence of stroke in a Japanese rural community. *Stroke*, 31: 2287-2294, 2000
 - 43) Brubacher D, Moser U, Jordan P: Vitamin C concentrations in plasma as a function of intake: meta-analysis. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 70: 226-237, 2000
 - 44) Sauberlich HE, Hodges RE, Wallace DL, et al.: Vitamin A metabolism and requirements in the human studied with the use of labeled retinol. *Vitam. Horm.*, 32: 251-275, 1974
 - 45) Olson JA: Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin A in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 45: 704-716, 1987