

排泄量が減少することが報告されている<sup>21)</sup>。本研究において、パントテン酸、葉酸について、摂取エネルギー1000 kcal当たりの値として補正した各水溶性ビタミン摂取量は、1日当たりの摂取量と比較して強い関係を示した。葉酸はエネルギー代謝とは関わりのないビタミンであるが、今回はエネルギー補正した値の方が強い関係を示した。ビタミンB<sub>1</sub>、ビタミンB<sub>2</sub>、ナイアシン当量は補正の有無に関わりなくほぼ類似していた。本研究においても、従来から指摘されているエネルギーと関わりの深いビタミンについて、水溶性ビタミンの習慣的な摂取量を摂取エネルギー当たりの補正值が尿中排泄量と、より強い関係を示した。しかし、ビタミンCがエネルギー代謝に関与するという報告はこれまでなく、尿中アスコルビン酸排泄量の変動とエネルギー摂取量あるいは消費量との関係についてさらに検討する必要がある。

ナイアシンはニコチニ酸、ニコチニアミド摂取だけではなく、トリプトファンからの生合成によっても供給されることから、本研究では尿中総ニコチニアミド代謝産物排泄量とナイアシン摂取量およびナイアシン当量摂取量との関係について調べた。尿中総ニコチニアミド代謝産物排泄量は、ナイアシン摂取量とナイアシン当量摂取量ともに強い相関を示した。この結果は、尿中総ニコチニアミド代謝産物排泄量にはニコチニ酸、ニコチニアミドだけではなくトリプトファン由來のニコチニアミドが寄与することも示している。トリプトファンから生合成されるニコチニアミドの量を重量比で1/60として算出すると、本研究で対象となった63名のトリプトファン由來のニコチニアミド量は12.4±3.7 mg/dであり、ナイアシン当量摂取量25.0

mgNE/dに占めるトリプトファン由來ニコチニアミド量は50%であった。動物実験において、トリプトファンニコチニアミド転換率はタンパク質摂取量および不飽和脂肪酸摂取量によって変動することが報告されている<sup>22,23)</sup>。本研究の被験者において、実際にトリプトファンから生合成されるニコチニアミドがナイアシン栄養にどの程度寄与したのかについては、尿中トリプトファンニコチニアミド転換経路代謝産物量の測定など、さらなる検討を行うことによって明らかになっていくかもしれない。

本研究において、介入試験により厳密にコントロールした水溶性ビタミン摂取量のみならず、自由に日常生活を過ごしている大学生を対象とした食事記録法による数日間の摂取量についても、尿中水溶性ビタミン排泄量は強い相関を示した。従って将来、尿中水溶性ビタミン排泄量を有効なバイオマーカーとして利用し、食事調査ではゴールドスタンダードな食事記録法による栄養アセスメントと併用することにより、水溶性ビタミン摂取量を評価することが期待される。

#### E. 健康危機情報

特記する情報なし

#### F. 研究発表

##### 1. 発表論文

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

##### 1. 特許予定

- なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし
- H. 引用文献
1. Bingham SA. Urine nitrogen as a biomarker for the validation of dietary protein intake. *J Nutr* (2003) 133, 921S-4S.
  2. Tasevska N, Runswick SA, McTaggart A, Bingham SA. Urinary sucrose and fructose as biomarkers for sugar consumption. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* (2005) 14, 1287-94.
  3. Tasevska N, Runswick SA, Bingham SA. Urinary potassium is as reliable as urinary nitrogen for use as a recovery biomarker in dietary studies of free living individuals. *J Nutr* (2006) 136, 1334-40.
  4. 柴田克己. 平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金, 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業. 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究, 平成 15 年度総括・分担研究報告書. 2004.
  5. 柴田克己, 平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金, 循環器等生活習慣病対策総合研究事業, 日本人の食事摂取基準(栄養所要量)の策定に関する研究, 平成 18 年度総括・分担研究報告書. 2007.
  6. Tasevska N, Runswick SA, McTaggart A, Bingham SA. Twenty-four-hour urinary thiamine as a biomarker for the assessment of thiamine intake. *Eur J Clin Nutr* (2007) advance online publication 13 June; doi: 10.1038/sj.ejcn.1602829.
  7. 科学技術庁資源調査会編. 日本食品成分表の改定に関する調査報告－五訂日本標準食品成分表－大蔵印刷局, 東京, 2000.
  8. 福渡努, 鈴浦千絵, 佐々木隆造, 柴田克己. 代謝攪乱物質ビスフェノール A のトリプトファン-ニコチニアミド転換経路の攪乱作用部位, *食品衛生学雑誌* (2004) 45, 231-8.
  9. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi, K. New metabolites of riboflavin appear in human urine. *J Biol Chem* (1983) 258, 5623-8.
  10. Gregory JF 3<sup>rd</sup>, Kirk JR. Determination of urinary 4-pyridoxic acid using high performance liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* (1979) 32, 879-83.
  11. Watanabe F, Abe K, Katsura H, Takenaka S, Mazumder ZH, Yamaji R, Ebara S, Fujita T, Tanimori S, Kirihata M, Nakano Y. Biological activity of hydroxo-vitamin B<sub>12</sub> degradation product formed during microwave heating. *J Agric Food Chem* (1998) 46:5177-80.
  12. Shibata K, Kawada T, Iwai K. Simultaneous micro-determination of nicotinamide and its major metabolites, N<sup>1</sup>-methyl-2-pyridone-5-carboxamide and N<sup>1</sup>-methyl-3-pyridone-4-carboxamide, by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* (1988) 424, 23-8.
  13. 柴田克己. 高速液体クロマトグラフィーによる尿中 N<sup>1</sup>-メチルニコチニアミドの超微量定量方法. ビタミン (1987) 61, 599-604.
  14. Skeggs HR, Wright LD. The use of *Lactobacillus arabinosus* in the microbiological determination of

- pantothenic acid. *J Biol Chem* (1944) 156, 21-6.
15. Aiso K, Tamura T. Trienzyme treatment for food folate analysis. Optimal pH and incubation time for  $\alpha$ -amylase and protease treatment. *J Nutr Sci Vitaminol* (1998) 44, 361-70.
16. Kishida K, Nishimoto Y, Kojo S. Specific determination of ascorbic acid with chemical derivatization and high-performance liquid chromatography. *Anal Chem* (1992) 64, 1505-7.
17. 健康・栄養情報研究会編. 厚生労働省 平成16年国民健康・栄養調査報告, 第一出版, 東京, 2006.
18. 厚生労働省. 日本人の食事摂取基準(2005年版), 日本人の栄養所要量—食事摂取基準—策定検討会報告書. 東京, 2004.
19. Sauberlich HE, Herman YF, Stevens CO, Herman RH. Thiamin requirement of the adult human. *Am J Clin Nutr* (1979) 32, 2237-48.
20. Soares MJ, Satyanarayana K, Bamji MS, Jacob CM, Ramana YV, Rao SS. The effect of exercise on the riboflavin status of adult men. *Br J Nutr* (1993) 69, 541-51.
21. Manore MM. Effect of physical activity on thiamine, riboflavin, and vitamin B-6 requirements. *Am J Clin Nutr* (2000) 72, 598S-606S.
22. 柴田克己. トリプトファン-ナイアシン転換率に及ぼすタンパク質・アミノ酸, 脂質, 糖質の影響. ビタミン (1996) 70, 369-82.
23. Egashira Y, Yamajima Y, Sanada H: Effects of various dietary fatty acids on  $\alpha$ -amino- $\beta$ -muconate- $\epsilon$ -semialdehyde decarboxylase activity in rat liver. *Biosci Biotechnol Biochem* (1992) 56, 2015-9.

表1 大学生の身体的特徴

	全体(n=77)	男子(n=16)	女子(n=61)
年 齢 (歳)	20.6 ± 0.6	20.7 ± 0.8	20.5 ± 0.6
身 長 (cm)	160.5 ± 7.0	169.8 ± 4.2	158.1 ± 5.4
体 重 (kg)	54.7 ± 7.7	62.1 ± 6.6	53.0 ± 7.0
BMI (体重 kg/身長 m <sup>2</sup> )	21.2 ± 2.4	21.5 ± 2.1	21.2 ± 2.5
栄養素等摂取量			
総エネルギー (kcal/d)	1761 ± 324	2033 ± 346	1690 ± 280
たんぱく質エネルギー比 (%)	14.1 ± 2.8	13.1 ± 3.0	14.4 ± 2.7
脂質エネルギー比 (%)	28.6 ± 8.2	28.8 ± 7.6	28.5 ± 8.0
炭水化物エネルギー比 (%)	55.6 ± 9.8	55.6 ± 9.6	55.6 ± 8.5

それぞれの値は平均±標準偏差を示す

食事記録より算出した連続4日間の栄養素等摂取量の平均値と標準偏差

表2 大学生の尿中窒素およびカリウム排泄量とたんぱく質、カリウム、総エネルギー摂取量との関連性

	n=77	測定値	①Day4 r 値	②Day 3 r 値	③Day 2 r 值	④Day 1 r 値	r 値
尿中窒素排泄量 (g/d)		0.77±0.22					
たんぱく質摂取量 (g/d)		60.5±18.9	0.5135***	64.1±15.2	0.600***	63.7±13.4	0.589***
尿中カリウム排泄量 (mE/l)		37.11±12.12					
カリウム摂取量 (g/d)		1.91±0.61	0.570***	1.99±0.51	0.663***	2.00±0.45	0.684***
総エネルギー摂取量 (kcal/d)		1714±427	0.302*	1795±367	0.385***	1793±330	0.421***

それぞれの値は平均土標準偏差を示す。

①Day4：採尿当日，②Day3：2日間の平均，

③Day2：3日間の平均，④Day1：連続4日間の摂取量の平均

有意確率 \*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$

表3 大学生の尿中水溶性ビタミン排泄量と連続4日間の食事記録から算出した栄養素等摂取量との関連性

	尿中水溶性ビタミン 排泄量	測定値 n	栄養素等摂取量	①Day 4 r 値	②Day 3 r 値	③Day 2 r 値	④Day 1 r 値	r 値
77	総エネルギー(kcal/d)	1714 ± 427	1795 ± 367	1793 ± 330	1761 ± 324			
	たんぱく質エネルギー比(%)	14.1 ± 4.4	14.3 ± 3.4	14.2 ± 3.0	14.1 ± 2.8			
	脂質エネルギー比(%)	29.2 ± 12.3	28.6 ± 9.5	28.6 ± 8.3	28.6 ± 8.2			
	炭水化物エネルギー比(%)	55.2 ± 11.9	55.3 ± 10.1	55.4 ± 9.4	55.6 ± 9.8			
チアミン (nmol/d)	506 ± 294	65	ビタミンB1(mg/d) ビタミンB1(mg/1000kcal)	0.87 ± 0.54 0.50 ± 0.31	0.228* 0.226*	0.93 ± 0.41 0.52 ± 0.23	0.367** 0.404***	0.99 ± 0.57 0.55 ± 0.32
リボフラビン (nmol/d)	224 ± 151	64	ビタミンB2(mg/d) ビタミンB2(mg/1000kcal)	1.15 ± 0.61 0.67 ± 0.36	0.267* 0.270*	1.18 ± 0.51 0.66 ± 0.29	0.352** 0.299*	1.22 ± 0.55 0.68 ± 0.31
4-PIC (μmol/d)	4.31 ± 1.40	70	ビタミンB6(mg/d) ビタミンB6(mg/1000kcal)	0.96 ± 0.60 0.56 ± 0.35	0.095 n.s. 0.024 n.s.	1.05 ± 0.56 0.59 ± 0.31	0.297* 0.006 n.s.	1.08 ± 0.59 0.60 ± 0.33
ビタミンB12 (nmol/d)	128 ± 74	76	ビタミンB12(mg/d) ビタミンB12(mg/1000kcal)	4.08 ± 4.03 2.38 ± 2.35	0.177 n.s. 0.048 n.s.	4.61 ± 3.58 2.57 ± 2.00	0.073 n.s. n.s.	4.68 ± 3.21 2.61 ± 1.79
ニコチンアミド代謝産物 (μmol/d)	84.4 ± 27.2	63	ナイアシン(mg/d) ナイアシン(mg/1000kcal)	12.4 ± 6.4 7.08 ± 2.42	0.349** 0.336**	13.45 ± 5.47 7.48 ± 2.32	0.408*** 0.194 n.s.	13.46 ± 5.46 7.48 ± 2.42
ナイアシン当量(mgNE/d) ナイアシン当量(mgNE/1000kcal)	22.6 ± 8.9 13.0 ± 2.9		0.299* 0.320*	24.13 ± 7.38 13.46 ± 7.05	0.319* 0.286*	24.03 ± 7.05 13.39 ± 2.82	0.315* 0.281*	24.03 ± 7.05 13.26 ± 2.35
パンントテン酸 (μmol/d)	16.3 ± 5.1	73	パンントテン酸(mg/d) パンントテン酸(mg/1000kcal)	4.83 ± 1.84 2.82 ± 1.08	0.080 n.s. 0.188 n.s.	5.06 ± 1.53 2.82 ± 0.85	0.256* 0.368**	5.25 ± 1.75 2.93 ± 0.97
葉酸 (nmol/d)	20.3 ± 6.6	71	葉酸(mg/d) 葉酸(mg/1000kcal)	252 ± 105 147 ± 61	0.215† 0.301*	257 ± 90 143 ± 50	0.348** 0.414***	254 ± 79 142 ± 44
アスコルビン酸 (μmol/d)	219 ± 199	73	ビタミンC(mg/d) ビタミンC(mg/1000kcal)	96.0 ± 93.0 56.0 ± 54.2	0.245* 0.232*	102 ± 70 56.5 ± 39.1	0.265* 0.232*	107 ± 77 59.6 ± 43.1

それぞれの値は平均値±標準偏差

①Day4：採尿当日, ②Day3: 2日間の平均,

③Day2: 3日間の平均, ④Day1: 連続4日間の摂取量の平均

有意確率 † p&lt;0.1, \*p&lt;0.05, \*\*p&lt;0.01, \*\*\*p&lt;0.001

平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業）

日本人の食事摂取基準を改定するためのエビデンスの構築に関する研究

－微量栄養素と多量栄養素摂取量のバランスの解明－

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

## II. 主任研究者の報告書

### 4. 小学生の食事記録で求めたビタミン摂取量と尿中排泄量との相関

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究協力者 辻 とみ子 名古屋文理大学 准教授

#### 研究要旨

普通に自由な生活を営んでいるヒトを対象に、尿中水溶性ビタミン排泄量を指標として水溶性ビタミン摂取量を評価できるのかを明らかにすることを目的として、今回、日本では始めての試みである小学校高学年児童 10～12 歳を対象に食事記録法から算出した水溶性ビタミン摂取量とその尿中水溶性ビタミン排泄量との関連性を検討した。調査日は通常の食生活を行った連続 4 日間（月曜日から木曜日）とし、24 時間尿は最終木曜日に採尿した。ビオチンを除く 8 種の水溶性ビタミンについて、被験者の 24 時間尿から測定した水溶性ビタミンと連続 4 日間の食事記録から算出した水溶性ビタミン摂取量で、①採尿当日の摂取量、②採尿当日と前日との 2 日間の摂取量の平均、③採尿当日とその前日、前々日の 3 日間の摂取量の平均、④4 日間の摂取量の平均との相関を調べた。ビタミン B<sub>12</sub> を除く水溶性ビタミンについて、尿中排泄量と①採尿当日の摂取量、②採尿当日と前日との 2 日間の摂取量の平均、③採尿当日とその前日、前々日の 3 日間の摂取量の平均、④4 日間の摂取量の平均値とのいずれの間にも正の強い相関が認められた。ナイアシンについては、ナイアシン摂取量よりもナイアシン当量摂取量が尿中総ニコチニアミド代謝産物量と強い相関を示した。水溶性ビタミン摂取量を摂取エネルギー量当たりの値で補正すると、ビタミン B<sub>1</sub>、ビタミン B<sub>2</sub>、ビタミン B<sub>6</sub>、ナイアシン当量、ビタミン C において、①採尿当日の摂取量、②採尿当日と前日との 2 日間の摂取量の平均、③採尿当日とその前日、前々日の 3 日間の摂取量の平均、④4 日間の摂取量の平均値との間に相関が認められた。以上の結果は、尿中水溶性ビタミン排泄量を有効なバイオマーカーとして利用し、食事記録による栄養アセスメントと併用することにより、水溶性ビタミン摂取量を評価できる可能性を示すものである。

## A. 目的

最近、栄養素摂取量を反映するバイオマーカーとして尿の利用が注目を集めている。これまでに、尿中窒素排泄量を利用したたんぱく質摂取量の評価<sup>1)</sup>、尿中スクロースおよびフルクトース排泄量を利用した糖類摂取量の評価<sup>2)</sup>、尿中カリウム排泄量を利用したカリウムおよびエネルギー摂取量の評価<sup>3)</sup>が確立されている。水溶性ビタミンについても、平成15年度厚生労働科学研究費補助金「日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究」<sup>4)</sup>および平成18年度厚生労働科学研究費補助金「日本人の食事摂取基準(栄養所要量)の策定に関する研究」<sup>5)</sup>で行われたヒト介入試験によって、ビタミンB<sub>12</sub>を除く8種の水溶性ビタミンについて、尿中水溶性ビタミン排泄量は水溶性ビタミン摂取量を鋭敏に反映することが明らかとなった。さらには、普通に生活するヒトにおいても、チアミン摂取量と尿中チアミン排泄量が高い相関を示すことが示された<sup>6)</sup>。本研究では、通常の食生活を行っているヒトにおいても尿中水溶性ビタミン排泄量を指標として水溶性ビタミン摂取量を評価できるのかを明らかにする目的として、食事記録法によって算出した水溶性ビタミン摂取量とその尿中への排泄量との関連性について検討した。

## B. 実験方法

### 1. 被験者

本研究の被験者は愛知県I市立O小学校5、6年生130名のうち、連続4日間の食事記録ならびに24時間尿の採尿を完了した77名とした。次いで、このうちから蓄尿時間が22時間以上26時間以内であること、尿量が250ml以上であること、クレアチニン(mg/d)/体

重(kg)比が10.8以上25.2以下であること、食事調査から算出したエネルギー摂取量が500kcal以上4000kcal以下であること、インフルエンザなど風邪の症状がないこと、少なくとも最近1カ月間はビタミン剤を服用していないことの全てを満たす72名を調査対象とした。さらに、各ビタミンについて解析を行う際、尿中排泄量が著しく高い者、すなわちビタミンB<sub>1</sub>ではチアミン排泄量が1200nmol/d以上、ビタミンB<sub>2</sub>ではリボフラビン排泄量が900nmol/d以上、ビタミンB<sub>6</sub>では4-ピリドキシン酸(4-PIC)排泄量が8.0μmol/d以上、ナイアシンでは総ニコチンアミド代謝産物排泄量が200μmol/d以上、パントテン酸ではパントテン酸排泄量が30μmol/d以上、葉酸では葉酸排泄量が40nmol/d以上、ビタミンCではアスコルビン酸排泄量が1200μmol/d以上を示した者については、調査対象から除外した。最終的な調査対象人数は、ビタミンB<sub>1</sub>では59人、ビタミンB<sub>2</sub>では69人、ビタミンB<sub>6</sub>では72人、ビタミンB<sub>12</sub>では72人、ナイアシンでは69人、パントテン酸では71人、葉酸では70人、ビタミンCでは69人であった。

なお、本研究は名古屋文理大学倫理審査委員会において承認を得ており、被験者には調査の目的、検査内容、個人情報の保護などについて十分な説明を行い、インフォームド・コンセントを得ている。

### 2. 秤量法による連続4日間の食事記録法

食事調査は秤量法により4日間食事記録法により行った<sup>7)</sup>。調査日は原則として通常の食生活を行った連続4日間(月曜日から木曜日)とし、保護者および本人に記入させた。食事記録と平行して食前・食後の写真撮影を

行い食事内容の確認を行った<sup>7)</sup>。これは国民栄養調査法ならびに長寿医療センター研究所の手法に準拠したものである。なお、昼食における学校給食は、予め学校栄養職員より同日間の4日分の献立表を入手し、高学年児童5年生用、6年生用の標準量を〔1.0〕として摂食量を7段階に分け、メニューごとに各自の摂食量を別の記録用紙に記入させた。後日、朝食・夕食・間食・夜食の食事記録票ならびに撮影後の使い捨てカメラを回収した。喫食前後に撮影した写真をもとに評価の標準化を図るため、複数の管理栄養士による材料の記入漏れや分量の妥当性、経口摂取時に一番近い状況の食材として“生”“ゆで”“皮の有無”“部首”“調味料”などの確認とともに食材のコード化などの補正を依頼した。次いで、栄養素等摂取量、食品群別摂取量は、五訂日本標準食品成分表<sup>8)</sup>に基づいた長寿医療センター研究所方式の解析プログラムを用いて算出した<sup>8)</sup>。

### 3. 24時間尿の蓄尿

被験者には、日常と同様の食行動および生活行動を採尿日（4日目、木曜日）に採るように依頼した。起床後の2回目の尿から翌朝起床後の1回目の尿までを採尿し、24時間尿とした。被験者は、採尿開始時刻、終了時刻、尿の取りこぼしおよび取り忘れの有無を記録した。24時間尿の容量を測定し、測定するビタミン毎に安定化処理をし、使用するまで-20°Cで保存した。

### 4. 分析

尿中チアミン排泄量を測定するために、尿9mlに1M HClを1ml加えて安定化した。この尿をHPLCによる分析に供した<sup>9)</sup>。

尿中リボフラビン量を測定するために、尿9mlに1M HClを1ml加えて安定化した。この尿をHPLCによる分析に供した<sup>10)</sup>。

尿中4-PIC量を測定するために、尿9mlに1M HClを1ml加えて安定化した。この尿をHPLCによる分析に供した<sup>11)</sup>。

尿中ビタミンB<sub>12</sub>排泄量を求めるために、尿900μlに180μlの100mM酢酸緩衝液(pH4.8)、水680μl、0.025%シアノ化カリウム溶液20μlを加え、120°Cで5分間オートクレーブ処理した。氷冷後、20μlの10%メタリん酸溶液を加え、遠心分離によって上清を得た。*Lactobacillus leichmanii* ATCC 7830を用いた微生物的定量法にこの上清を供した<sup>12)</sup>。

尿中ニコチンアミド代謝産物量はニコチンアミド、N<sup>1</sup>-メチルニコチンアミド(MNA)、N<sup>1</sup>-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド(2-Py)、N<sup>1</sup>-メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド(4-Py)の合計とした。尿中総ニコチンアミド代謝産物量を測定するために、尿9mlに1M HClを1ml加えて安定化した。この尿をHPLC法に供し、尿中ニコチンアミド、2-Py、4-Py各含量を測定とした<sup>13)</sup>。また、尿中MNA含量をHPLC法で測定した<sup>14)</sup>。

尿中パントテン酸量を測定するために、*Lactobacillus plantarum* ATCC 8014を用いた微生物的定量法に尿を供した<sup>15)</sup>。

尿中葉酸量を測定するために、尿9mlに1Mアスコルビン酸溶液を1ml加えて安定化した。*Lactobacillus rhamnosus* ATCC 27773を用いた微生物的定量法にこの尿を供した<sup>16)</sup>。

尿中アスコルビン酸量はアスコルビン酸、デヒドロアスコルビン酸、2,3-ジケトグルコン酸の合計とした。尿中アスコルビン酸量を測定するために、尿5mlに10%メタリん酸溶

液 5 ml を加えて安定化した。この尿を HPLC による分析に供した<sup>17)</sup>。

## 5. 統計処理

尿中排泄量と栄養素等摂取量を求めた。連続 4 日間食事記録より①採尿当日、②採尿当日と前日の 2 日間の平均値（以降 2 日間の平均と記載）、③採尿当日と前日、前々日の 3 日間の平均値（以降 3 日間の平均と記載）、④4 日間の平均値を算出し 4 群に分類した。それぞれの水溶性ビタミン摂取量と尿中排泄量を用いて、正の相関関係が認められるか SPSS 16.0 で統計解析した。

## C. 結果

### 1. 被験者の特徴

表 1 に本研究で調査対象とした 73 名の年齢、身長、体重、ローレル指数、肥満度、栄養素等摂取量を示した。また、日本学校保健会<sup>18)</sup>が示す肥満度計算式ならびに身長別標準体重の求め方を表 2 に示した。調査対象とした高学年児童の男子、女子とも身長では 10, 11 歳で全国平均とほぼ同値、12 歳はそれより低値を示した。体重では 10 歳女子を除く他の男子・女子とも全国平均よりやや低値であった。ローレル指数から判定すると、117 未満のやせが 27 名 (37.5%)、118 以上 148 未満の標準が 43 名 (59.7%)、161 以上の肥満が 2 名 (2.8%) であった。一方、日本学校保健会<sup>18)</sup>が示す肥満度（過体重度）(%)から判定すると、-20%以上-30%未満の軽度やせが 7 名 (9.7%)、±20%の標準が 63 名 (87.5%)、±30%以上±50%未満が 2 名 (2.8%) であった。栄養素等摂取量は、日本人の食事摂取基準<sup>19)</sup> (10~11 歳) と比較すると、男女とも推定エネルギー必要量（身体活動レベルⅡ男性

2300 kcal、女性 2150 kcal）よりも低値、総脂質エネルギー比は目標量 25%以上 30%未満のなかに位置していたが 30%の近値にあつた。国民栄養の現状<sup>20)</sup> (7~14 歳) と比較すると男子はほぼ同程度とし、女子は総エネルギー 126 kcal 増となり、炭水化物エネルギー比 54.7% (2.2%増) であった。

## 2. 尿中窒素排泄量とたんぱく質摂取量、および尿中カリウム排泄量とカリウム、エネルギー摂取量との関係

尿中窒素排泄量を利用したたんぱく質摂取量の評価<sup>1)</sup>、尿中カリウム排泄量を利用したカリウムおよび総エネルギー摂取量の評価<sup>3)</sup>がすでに確立されていることから、本研究の妥当性を調べるために、尿中窒素排泄量とたんぱく質摂取量（食事記録から算出した①採尿当日、②採尿当日と前日の 2 日間の平均（以降 2 日間の平均と記載）、③採尿当日と前日、前々日の 3 日間の平均（以降 3 日間の平均と記載）、④4 日間の平均値を算出）、尿中カリウム排泄量とカリウムおよび総エネルギー摂取量（同様な手法で 4 群間の平均値を算出）との関係について調べた。尿中窒素排泄量とたんぱく質摂取量では、④4 日間の平均で  $r = 0.62$ ,  $p < 0.001$  となり、最も相関が強く、他①採尿当日、②2 日間の平均、③3 日間の平均についても同様に相関が認められた（表 3）。尿中カリウム排泄量とカリウム摂取量では、②2 日間の平均において  $r = 0.50$ ,  $p < 0.0001$  と最も強い相関が認められ①採尿当日、③3 日間の平均、④4 日間の平均についても同様に相関が認められた。さらにエネルギー摂取量とでは、④4 日間の平均において  $r = 0.42$ ,  $p = 0.0002$  と最も強い相関が認められ、①採尿当日、②2 日間の平均、③3

日間の平均においても同様に相関が認められた(表4)。

### 3. 尿中水溶性ビタミン排泄量と水溶性ビタミン摂取量との関係

ビオチンを除く8種の水溶性ビタミンについて、尿中排泄量と摂取量との関係を調べた(表5)。トリプトファンからニコチニアミドが合成されるため、ナイアシンについては、ナイアシン摂取量およびナイアシン当量摂取量と尿中排泄量との関係について調べた。ピアソンの相関係数を求めるとき、ビタミンB<sub>1</sub>では、①採尿当日の摂取量とで $r = 0.42$ ,  $p = 0.0010$ と最も強い相関が認められ、②2日間の平均、③3日間の平均、④4日間の平均にも同様な相関が認められた。ビタミンB<sub>2</sub>では、④4日間の平均値で $r = 0.42$ ,  $p = 0.0003$ と最も強い相関が認められ、①採尿当日、②2日間の平均、③3日間の平均でも同様の相関が認められた。ビタミンB<sub>6</sub>では③3日間の平均で $r = 0.45$ ,  $p < 0.0001$ と最も強い相関が認められ、①採尿当日、②2日間の平均、④4日間の平均においても同様の相関が認められた。ナイアシン当量では、④4日間の平均値で最も強い相関が認められ、①採尿当日、②2日間の平均、③3日間の平均においても同様の相関が認められた。パントテン酸では、④4日間の平均で $r = 0.36$ ,  $p = 0.0019$ と最も強い相関が認められた。葉酸では、①採尿当日の摂取量において $r = 0.35$ ,  $p = 0.0027$ と最も強い相関があり②採尿当日と前日の2日間の平均、③3日間の平均、④4日間の平均においても同様の相関が認められた。

ビタミンCでは、②2日間の平均において $r = 0.48$ ,  $p < 0.0001$ と強い相関があり、①採尿当日、③3日間の平均、④4日間の平均に

も同様の相関が認められた。よって、B<sub>12</sub>を除く7種の水溶性ビタミンについては、尿中の排泄量と摂取量に正の相関がみられた。また、水溶性ビタミン摂取量を摂取エネルギー1000 kcal当たりに補正した値についても、尿中排泄量との関係を調べた。それぞれの排泄量と摂取量との間に同様にピアソンの相関係数を求めた。水溶性ビタミン摂取量を摂取エネルギー1000 kcal当たりで補正した値とでは、ビタミンB<sub>1</sub>では①採尿当日の摂取量で $r = 0.28$ ,  $p = 0.0326$ と相関があり、②2日間の平均、③3日間の平均、④4日間の平均では相関がなかった。ビタミンB<sub>2</sub>では④4日間の平均で $r = 0.24$ ,  $p = 0.0485$ のように相関があった。また①採尿当日、③3日間の平均においても相関が認められ、②2日間の平均では相関は認められなかった。ナイアシン当量摂取量で①採尿当日の摂取量の平均において $r = 0.26$ ,  $p = 0.0230$ で相関があった。②2日間の平均、③3日間の平均、④4日間の平均においては相関が認められなかった。ビタミンCでは④4日間の平均において $r = 0.48$ ,  $p < 0.001$ と相関があり、①採尿当日、②2日間の平均、③3日間の平均、においても同様に相関が認められた。ビタミンB<sub>6</sub>とビタミンCでは排泄量と摂取量との間で4日間とも相関が認められた。B<sub>12</sub>、パントテン酸、葉酸においては相関が認められなかった。

### D. 考察

水溶性ビタミンの尿中排泄量と摂取量との関係について、我々は平成15年度厚生労働科学研究費補助金「日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究」<sup>4)</sup>および平成18年度厚生労働科学研究費補助金「日本人の食事摂取基準(栄養所要量)の策定に関する

研究」<sup>5)</sup>においてヒト介入試験を行った。すなわち、日本人の食事摂取基準（2005年版）<sup>19)</sup>に記載された推奨量の0～6倍量の水溶性ビタミンを付加すると、ビタミンB<sub>12</sub>を除く8種の水溶性ビタミンについて、尿中水溶性ビタミン排泄量は摂取量依存的に増加し、排泄量と摂取量との間に非常に強い相関が認められた。ヒト介入試験は1カ月に渡って生活様式、食事内容を厳密に管理して行った実験であるため、本研究では通常の自由な生活を行った高学年児童を対象として水溶性ビタミンの尿中排泄量と摂取量との関係を調べた。本研究では、秤量法による食事調査法を用いて、連続4日間の食事記録から栄養素等摂取量を算出した。その結果、本研究において、ビオチンとビタミンB<sub>12</sub>を除く7種の水溶性ビタミンについて、小学校高学年児童10～12歳から採取した24時間尿中に排泄される水溶性ビタミン量が多い人ほど、水溶性ビタミン摂取量が多いことが示された。

なお、栄養素等摂取量の算出は五訂日本標準食品成分表<sup>8)</sup>に基づいているため、五訂日本標準食品成分表に成分値が記載されていないビオチンについては摂取量を算出することができなかったことから、本研究ではビオチンを対象とした解析は行わなかった。

本研究で得られた結果は、日常自由に生活して摂取した食事内容において、水溶性ビタミン摂取量と尿中水溶性ビタミン排泄量とが正の相関を示し、尿中水溶性ビタミン量の測定が数日間の水溶性ビタミン摂取量の評価に使用できる可能性を実証した。

尿中排泄量をバイオマーカーとして栄養素等摂取量を評価するために、すでに尿中窒素排泄量とタンパク質摂取量、尿中カリウム排泄量とカリウムおよび総エネルギー摂取

量との間に相関が認められることが報告されている<sup>1,2)</sup>。本研究においても、尿中窒素排泄量とタンパク質摂取量、尿中カリウム排泄量とカリウムおよび総エネルギー摂取量との間の関係について調べたところ、いずれの4日間の平均摂取量と尿中排泄量との関係が認められた。また、尿中ビタミンB<sub>12</sub>排泄量は尿量に依存するため、尿中ビタミンB<sub>12</sub>排泄量とビタミンB<sub>12</sub>摂取量との間の相関はないことが示されている<sup>5)</sup>。本研究においても、ビタミンB<sub>12</sub>排泄量と②Day 3から④Day 1の摂取量との関係は認められなかつた。本研究で得られた尿中窒素、カリウム、ビタミンB<sub>12</sub>排泄量に関する結果はこれまでの報告とほぼ一致するものであり、本研究で算出した栄養素等摂取量の妥当性を示している。

ビタミンB<sub>1</sub>、ビタミンB<sub>2</sub>、ナイアシンについては、いずれもエネルギー代謝に深く関与するビタミンであるという生化学的根拠がある。加えて、エネルギー消費量が増加すると尿中ビタミンB<sub>2</sub>排泄量が低下すること<sup>21)</sup>から、日本人の食事摂取基準（2005年版）においてビタミンB<sub>1</sub>、ビタミンB<sub>2</sub>、ナイアシンの推定平均必要量と推奨量はエネルギー1000kcal当たりの値として策定されている<sup>19)</sup>。パントテン酸もエネルギー代謝に深く関与するという生化学的根拠があり、ビタミンB<sub>6</sub>についても運動によるエネルギー消費量の増加に伴って尿中4-PIC排泄量が減少することが報告されている<sup>21)</sup>。本研究において、ビタミンB<sub>1</sub>、ビタミンB<sub>2</sub>、ビタミンB<sub>6</sub>、ナイアシン、パントテン酸、ビタミンCについて、1日当たりの摂取量の方が摂取エネルギー1000kcal当たりの値として補正した各水溶性ビタミン摂取量よりも尿中水溶性ビタミン排泄量との間には、ビタミンB<sub>6</sub>、ビタミ

ン C 以外はより強い関係を示した。葉酸はエネルギー代謝とは関わりのないビタミンであり、本研究においても摂取エネルギーを用いた補正によって摂取量と尿中排泄量との間の関係が強くなることはなかった。ナイアシンはニコチニ酸、ニコチニアミド摂取だけではなく、トリプトファンからの生合成によっても供給されることから、本研究では尿中総ニコチニアミド代謝産物排泄量とナイアシン摂取量およびナイアシン当量摂取量との関係について調べた。尿中総ニコチニアミド代謝産物排泄量は、ナイアシン摂取量よりもナイアシン当量摂取量と強い相関を示した。この結果は、尿中総ニコチニアミド代謝産物排泄量にはニコチニ酸、ニコチニアミドだけではなくトリプトファン由来のニコチニアミドが寄与することを示している。トリプトファンから生合成されるニコチニアミドの量を重量比で 1/60 として算出すると、本研究で対象となった 69 名のトリプトファン由来のニコチニアミド量は  $61.6 \pm 27.0 \mu\text{mol/d}$  であり、ナイアシン当量摂取量  $25.0 \text{ mgNE/d}$  に占めるトリプトファン由来ニコチニアミド量は 50% であった。動物実験において、トリプトファン-ニコチニアミド転換率はタンパク質摂取量および不飽和脂肪酸摂取量によって変動することが報告されている<sup>23,24)</sup>。本研究の被験者において、実際にトリプトファンから生合成されるニコチニアミドがナイアシン栄養にどの程度寄与したのかについては、尿中トリプトファン-ニコチニアミド転換経路代謝産物量の測定などさらなる検討を行うことによって明らかになっていくかもしれない。

本研究において、介入試験により厳密にコントロールした水溶性ビタミン摂取量のみ

ならず、普通に自由な生活を営んでいる高学年児童を対象とした食事記録法による数日間の摂取量についても、尿中水溶性ビタミン排泄量は強い相関を示した。従って、将来、尿中水溶性ビタミン排泄量を有効なバイオマーカーとして利用し、現在食事調査ではゴールドスタンダードとして用いられている食事記録法を併用することで、効果的な栄養アセスメントとして水溶性ビタミン摂取量を評価することが期待される。

#### E. 健康危機情報

特記する情報なし

#### F. 研究発表

1. 発表論文  
なし
2. 学会発表  
なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許予定  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

#### H. 引用文献

1. Bingham SA. Urine nitrogen as a biomarker for the validation of dietary protein intake. *J Nutr* (2003) 133, 921S-4S.
2. Tasevska N, Runswick SA, McTaggart A, Bingham SA. Urinary sucrose and fructose as biomarkers for sugar consumption.

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* (2005) 14, 1287-94.
3. Tasevska N, Runswick SA, Bingham SA. Urinary potassium is as reliable as urinary nitrogen for use as a recovery biomarker in dietary studies of free living individuals. *J Nutr* (2006) 136, 1334-40.
  4. 柴田克己. 平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金, 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業. 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究, 平成 15 年度総括・分担研究報告書. 2004.
  5. 柴田克己. 平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金, 循環器等生活習慣病対策総合研究事業, 日本人の食事摂取基準(栄養所要量)に関する研究, 平成 18 年度総括・分担研究報告書. 2007.
  6. Tasevska N, Runswick SA, McTaggart A, Bingham SA. Twenty-four-hour urinary thiamine as a biomarker for the assessment of thiamine intake. *Eur J Clin Nutr* (2007) advance online publication 13 June; doi: 10.1038/sj.ejcn.1602829.
  7. Imai T, Sakai S, Mori K, Ando F, Niino N, and Shimokata H. Nutritional Assessments of 3-Day Dietary Records in National Institute for Longevity Sciences-longitudinal Study of Aging(NILS-LSA). *J Epidemiology* (2000) 10:S70-S76.
  8. 科学技術庁資源調査会編. 日本食品成分表の改定に関する調査報告－五訂日本標準食品成分表－大蔵印刷局, 東京, 2000.
  9. 福渡努, 鈴浦千絵, 佐々木隆造, 柴田克己. 代謝攪乱物質ビスフェノール A のトリプトファン-ニコチンアミド転換経路の攪乱作用部位, *食品衛生学雑誌* (2004) 45, 231-8.
  10. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi, K. New metabolites of riboflavin appear in human urine. *J Biol Chem* (1983) 258, 5623-8.
  11. Gregory JF 3<sup>rd</sup>, Kirk JR. Determination of urinary 4-pyridoxic acid using high performance liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* (1979) 32, 879-83.
  12. Watanabe F, Abe K, Katsura H, Takenaka S, Mazumder ZH, Yamaji R, Ebara S, Fujita T, Tanimori S, Kirihata M, Nakano Y. Biological activity of hydroxo-vitamin B<sub>12</sub> degradation product formed during microwave heating. *J Agric Food Chem* (1998) 46:5177-80.
  13. Shibata K, Kawada T, Iwai K. Simultaneous micro-determination of nicotinamide and its major metabolites, N<sup>1</sup>-methyl-2-pyridone-5-carboxamide and N<sup>1</sup>-methyl-3-pyridone-4-carboxamide, by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* (1988) 424, 23-8.
  14. 柴田克己. 高速液体クロマトグラフィーによる尿中 N<sup>1</sup>-メチルニコチンアミドの超微量定量方法. ビタミン (1987) 61, 599-604.
  15. Skeggs HR, Wright LD. The use of *Lactobacillus arabinosus* in the microbiological determination of pantothenic acid. *J Biol Chem* (1944) 156, 21-6.
  16. Aiso K, Tamura T. Trienzyme treatment for food folate analysis. Optimal pH and incubation time for  $\alpha$  - amylase and protease treatment. *J Nutr Sci Vitaminol* (1998) 44,

17. Kishida K, Nishimoto Y, Kojo S. Specific determination of ascorbic acid with chemical derivatization and high-performance liquid chromatography. *Anal Chem* (1992) 64, 1505-7.
18. 文部科学省スポーツ・青少年局健康教育課. 児童生徒の健康診断マニュアル (改訂版). 財団法人 日本学校保健会. 東京, 2006.
19. 厚生労働省. 日本人の食事摂取基準 (2005年版), 日本人の栄養所要量—食事摂取基準—策定検討会報告書. 東京, 2004.
20. 健康・栄養情報研究会編. 厚生労働省 平成16年国民健康・栄養調査報告, 第一出版. 東京, 2006.
21. Manore MM. Effect of physical activity on thiamine, riboflavin, and vitamin B-6 requirements. *Am J Clin Nutr* (2000) 72, 598S-606S.
22. Hansen CM, Leklem JE, Miller LT. Changes in vitamin B-6 status indicators of women fed a constant protein diet with varying levels of vitamin B-6. *Am J Clin Nutr* (1997) 66, 1379-87.
23. 柴田克己. トリプトファン-ナイアシン転換率に及ぼすタンパク質・アミノ酸, 脂質, 糖質の影響. ビタミン (1996) 70, 369-82.
24. Egashira Y, Yamajima Y, Sanada H: Effects of various dietary fatty acids on  $\alpha$ -amino- $\beta$ -muconate- $\epsilon$ -semialdehyde decarboxylase activity in rat liver. *Biosci Biotechnol Biochem* (1992) 56, 2015-9.

表 1. 高学年児童の身体的特徴

	全体 (n = 72)	男子 (n = 40)	女子 (n = 32)
年齢 (歳)	10.8 ± 0.7	10.7 ± 0.7	11.0 ± 0.7
身長 (cm)	144.1 ± 7.4	142.2 ± 7.6	146.5 ± 6.6
体重 (kg)	36.0 ± 6.7	34.0 ± 6.1	38.4 ± 6.6
ローレル指数 <sup>1</sup>	119.7 ± 14.4	117.9 ± 12.8	121.9 ± 16.1
肥満度 <sup>2</sup> (%)	-3.9 ± 11.7	-5.8 ± 10.4	-1.5 ± 13.0
栄養素等摂取量 <sup>3</sup>			
総エネルギー (kcal/d)	2011 ± 297	2046 ± 332	1969 ± 245
たんぱく質エネルギー比 (%)	14.6 ± 2.2	14.6 ± 2.3	14.7 ± 2.1
脂質エネルギー比 (%)	29.3 ± 5.7	29.3 ± 6.1	29.3 ± 5.1
炭水化物エネルギー比 (%)	54.7 ± 8.4	54.7 ± 9.1	54.7 ± 7.3

それぞれの値は平均 ± 標準偏差を示す

<sup>1</sup> ローレル指数計算式：体重 (kg) / {身長 (cm)}<sup>3</sup> × 10<sup>7</sup>

<sup>2</sup> 肥満度 (過体重度) 計算式：

{実測体重 (kg) - 身長別標準体重 (kg)} / 身長別標準体重 (kg) × 100 (%)

<sup>3</sup> 食事記録より算出した 4 日間の栄養素等摂取量

表 2. 身長別標準体重を求める係数と計算式

年齢	男子		女子	
	a	b	a	b
10	0.752	70.461	0.730	68.091
11	0.782	75.106	0.803	78.846
12	0.783	75.642	0.796	76.934

\*身長別標準体重計算式：a × 実測身長 (cm) - b

a, b は係数を示す。

表3. 小学校高学年児童の尿中尿素窒素排泄量とたんぱく質摂取量との関連性

	たんぱく質摂取量	相関係数
	(g/d)	(r)
1日	74.7 ± 16.6	0.5419 ***
2日間の平均値	72.5 ± 12.4	0.5562 ***
3日間の平均値	72.8 ± 11.3	0.6178 ***
4日間の平均値	73.6 ± 11.1	0.6208 ***

それぞれの値は平均 ± 標準偏差 (n = 72) を示す. \*\*\* $p < 0.001$ ,

尿中尿素窒素排泄量は 1.00 ± 0.30 (g/d) であった.

表4. 尿中カリウム排泄量とカリウム摂取量、総エネルギー摂取量との関連性

カリウム	相関係数	総エネルギー摂取量	相関係数
	摂取量(g/d)		(r)
1日	2.23 ± 0.55	2040 ± 375	0.2892 *
2日間の平均値	2.23 ± 0.47	1992 ± 304	0.387 ***
3日間の平均値	2.24 ± 0.43	1973 ± 280	0.3895 ***
4日間の平均値	2.29 ± 0.44	2012 ± 297	0.4214 ***

それぞれの値は平均 ± 標準偏差 (n = 72) を示す. \*\*\* $p < 0.001$ , \* $p < 0.05$

尿中カリウム排泄量は 54.9 ± 26.5 (mE/l) であった.

表5. 小学校高学年児童の尿中水溶性ビタミン排泄量と4日間の食事記録から算出した栄養素等摂取量の相関

	n	1日 摂取量	r値	2日間の平均値 摂取量	r値	3日間の平均値 摂取量	r値	4日間の平均値 摂取量	r値
総エネルギー (kcal/d)	72	2040 ± 375		1991 ± 304		1973 ± 280		2011 ± 297	
たんぱく質エネルギー比 (%)		14.7 ± 3.3		14.6 ± 2.5		14.8 ± 2.3		14.6 ± 2.2	
脂質エネルギー比 (%)		30.8 ± 8.2		28.7 ± 6.1		28.9 ± 5.7		29.3 ± 5.7	
炭水化物エネルギー比 (%)		53.5 ± 10.3		55.5 ± 9.3		55.0 ± 8.7		54.7 ± 8.4	
ビタミンB <sub>1</sub> (mg/d)	59	1.05 ± 0.39	0.4162***	1.03 ± 0.31	0.3795**	0.98 ± 0.25	0.3421**	0.98 ± 0.25	0.2972*
ビタミンB <sub>1</sub> (mg/1000kcal)		0.52 ± 0.16	0.2786*	0.52 ± 0.14	0.2219	0.50 ± 0.12	0.1595	0.50 ± 0.13	0.0857
ビタミンB <sub>2</sub> (mg/d)	69	1.27 ± 0.34	0.3126**	1.31 ± 0.35	0.3353**	1.32 ± 0.35	0.4146***	1.34 ± 0.33	0.4182***
ビタミンB <sub>2</sub> (mg/1000kcal)		0.62 ± 0.15	0.1431*	0.66 ± 0.16	0.1213	0.66 ± 0.16	0.2068†	0.66 ± 0.13	0.2410*
ビタミンB <sub>6</sub> (mg/d)	72	0.99 ± 0.40	0.3842***	1.02 ± 0.51	0.4208***	1.02 ± 0.51	0.4475***	1.02 ± 0.40	0.4156***
ビタミンB <sub>6</sub> (mg/1000kcal)		0.49 ± 0.19	0.2684*	0.42 ± 0.22	0.2959*	0.42 ± 0.22	0.2808*	0.51 ± 0.19	0.2350
ビタミンB <sub>12</sub> (mg/d)	72	4.81 ± 2.95	0.3517**	5.63 ± 4.81	0.0258	5.63 ± 4.81	0.0893	5.89 ± 2.81	0.1118
ビタミンB <sub>12</sub> (mg/1000kcal)		2.35 ± 1.38	0.3211	2.84 ± 2.45	0.0730	2.84 ± 2.45	0.0094	2.96 ± 1.42	0.0144
ナイアシン (mg/d)	69	12.26 ± 5.13	0.2544*	12.51 ± 4.03	0.2873*	12.51 ± 4.03	0.2312†	12.41 ± 3.19	0.2813*
ナイアシン (mg/1000kcal)		5.97 ± 2.10	0.2451*	6.32 ± 2.15	0.1521	6.32 ± 2.15	0.0875	6.20 ± 1.52	0.0659
ナイアシン当量 (mgNE/d)		24.59 ± 5.61	0.2600*	24.59 ± 5.61	0.3206***	24.59 ± 5.61	0.2985*	24.68 ± 4.64	0.3338***
ナイアシン当量 (mgNE/1000kcal)		12.08 ± 2.71	0.2560*	12.41 ± 2.75	0.0732	12.41 ± 2.75	0.0895	12.32 ± 1.93	0.0238
パントテン酸 (mg/d)	71	5.97 ± 1.47	0.2796*	6.33 ± 1.59	0.2439*	6.33 ± 1.59	0.3116**	6.27 ± 1.41	0.3618**
パントテン酸 (mg/1000kcal)		2.94 ± 0.58	0.0589	3.18 ± 0.70	0.0631	3.18 ± 0.70	0.1102	3.12 ± 0.58	0.1234
葉酸 (mg/d)	70	232.1 ± 73.1	0.3556**	235.7 ± 116.5	0.2522*	242.8 ± 86.3	0.2641*	244.2 ± 79.2	0.3084*
葉酸 (mg/1000kcal)		114.2 ± 31.5	0.1843	125.4 ± 54.9	0.1335	123.6 ± 42.9	0.1391	121.7 ± 36.9	0.1447
ビタミンC (mg/d)	69	95.5 ± 126.8	0.3918***	253.7 ± 116.5	0.4822***	242.8 ± 8.63	0.4496***	244.2 ± 79.2	0.4733***
ビタミンC (mg/1000kcal)		47.7 ± 62.5	0.3607**	125.4 ± 54.9	0.4681***	123.6 ± 42.9	0.4716***	121.7 ± 36.9	0.4821***

それぞれの値は平均値 ± 標準偏差

† p &lt; 0.1, \* p &lt; 0.05, \*\* p &lt; 0.01, \*\*\* p &lt; 0.001

尿中水溶性ビタミン排泄量は、チアミン 640 ± 288 nmol/d, リボフラビン 207 ± 124 nmol/d, 4-PIC 2.37 ± 1.26 μmol/d, ビタミンB<sub>12</sub> 22.76 ± 14.40 nmol/d, ニコチニアミド代謝産物 61.6 ± 27.0 μmol/d, パントテン酸 10.1 ± 4.3 μmol/d, 葉酸 18.8 ± 8.1 nmol/d, アスコルビン酸 172 ± 271 μmol/d であった。

平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業）

日本人の食事摂取基準を改定するためのエビデンスの構築に関する研究

—微量栄養素と多量栄養素摂取量のバランスの解明—

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

## II. 主任研究者の報告書

### 5. ビタミン摂取量とスポット尿中のビタミン量の相関

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

#### 研究要旨

従来は栄養素摂取量という食品側の情報のみによって栄養評価が試みられていた。しかし、尿中の水溶性ビタミン排泄量を測定することで、生体側の情報を基にした栄養評価ができる。H15 年度では、24 時間蓄尿を用いた女子学生の水溶性ビタミンから栄養状態の評価を試みたところ、女子学生のビタミン摂取量を反映していた。そこで本年度は、24 時間蓄尿ではなく、スポット尿を用い水溶性ビタミン排泄量を測定し、栄養状態の評価を試みた。

小学生 80 名、大学生 102 名、高齢者 47 名を被験者としスポット尿を回収した。ビオチンを除く 8 種類の尿中水溶性ビタミン量を測定した。スポット尿中水溶性ビタミン量と採尿日前日 3 日間の水溶性ビタミン摂取量との間の相関を調べた。

ビタミン B<sub>2</sub> はどの年齢でもスポット尿中排泄量と水溶性摂取量との相関があった。ビタミン B<sub>12</sub>、葉酸はどの年齢でもスポット尿中排泄量と水溶性ビタミン摂取量との相関はなかった。その他のビタミンについては、年齢によって、スポット尿中水溶性ビタミン排泄量と水溶性ビタミン摂取量との相関があるものとないものは異なった。本実験結果はフリーリビングにおける尿を用いているため、介入試験などを行いさらにサンプル数を増加させ、さらに精度の高いデータを出す必要がある。

## A. 目的

平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金「日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究」では、24 時間蓄尿は鋭敏に水溶性ビタミン摂取量を反映しているということが明らかにされている<sup>1)</sup>。そのため食事調査を行わなくても、24 時間蓄尿中の水溶性ビタミン量を測定することで個人のビタミン充足率を知ることができ、その人にあった栄養指導を行うことができると平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金「日本人の食事摂取基準（栄養所要量）の策定に関する研究」での報告で明らかにした<sup>2)</sup>。しかしながら、もし個人の栄養状態を知る指標として、スポット尿を用いることができれば、24 時間蓄尿の手間は解消される。

本研究では小学生・大学生を対象に、採尿当日起床後 2 回目の尿を集め、その尿中水溶性ビタミン排泄量と水溶性ビタミン摂取量との関係について調べた。また、高齢者を対象にスポット尿中水溶性ビタミン排泄量と DHQ より算出し、水溶性ビタミン<sup>3)</sup>排泄量との関係について調べた。

## B. 実験方法

### 1. 被験者

小学生 80 名、大学生 102 名、高齢者 47 名を対象とした。なお本研究は滋賀県立大学倫理審査委員会の承認を得て行った。

### 2. 尿採取

尿は、調査日の起床後第 1 回目の尿は捨て、第 2 回目の尿をスポット尿として遮光ボトルに集めた。回収後、ビタミンごとに処理を行い、分析まで-20°Cで冷凍保存した。

### 3. 食事記録

小学生、大学生については、採尿日前日 3

日間の食事内容の記録と測量、写真より食品成分表を用いて、水溶性ビタミン摂取量を算出した。算出した 3 日間のデータを平均し、スポット尿中水溶性ビタミン排泄量との比較に用いた。高齢者については、自記式食事歴法質問票より算出された水溶性ビタミン摂取量を、スポット尿中水溶性ビタミン排泄量との比較に用いた。

## 4. 水溶性ビタミンの測定方法

チアミンを測定するために尿をそのまま測定用試料とした。尿中のチアミンは木村ら<sup>4)</sup>による HPLC 法を改変した福渡ら<sup>5)</sup>の方法に従って測定した。詳細は II-21 に記載した。

リボフラビンを測定するために尿をそのまま測定用試料とした。尿リボフラビンは HPLC 法に従って測定した<sup>6)</sup>。詳細は II-21 に記載した。

ビタミン B<sub>6</sub> を測定するために尿をそのまま測定用試料とした。ビタミン B<sub>6</sub> の異化代謝産物である 4-ピリドキシン酸 (4-PIC) の尿中排泄の測定は HPLC 法に従って測定した。詳細は II-21 に記載した<sup>7)</sup>。

ビタミン B<sub>12</sub> を測定するために尿をそのまま測定用試料とした。ビタミン B<sub>12</sub> は *Lactbacillus leichmanii* ATCC 7830 を用いた微生物的定量法にて測定した<sup>8)</sup>。詳細は II-21 に記載した。

ナイアシンを測定するために尿をそのまま測定用試料とした。尿中ニコチンアミド代謝産物量はニコチンアミド、N<sup>1</sup>-メチルニコチンアミド (MNA)、N<sup>1</sup>-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド (2-Py)、N<sup>1</sup>-メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド (4-Py) の合計とした。尿中総ニコチンアミド代謝産物量を測定するために、尿 9 mL に 1 M HCl を 1 mL 加えて安定化した。この尿を HPLC 法に供し、