

あったためである。ニコチンアミドはトリプトファンから生合成されるため、ナイアシン欠食であっても、20%カゼイン食中のトリプトファンから十分な量のニコチンアミドを生合成することができる。従って、本研究で用いた20%カゼイン食では、他のB群ビタミンのように摂取量とナイアシンのバイオマーカーとの関係を調べることはできない。しかし、ナイアシン欠トリプトファン制限食はトリプトファン欠乏食を招くことなくナイアシン欠乏を引起すことのできる食餌である。ナイアシン摂取量とバイオマーカーとの関係は、このナイアシン欠トリプトファン制限食にナイアシンを少量ずつ加えていくことによって検討することが可能である。本研究では、ビタミン混合の量の多寡にかかわらず血中総ニコチンアミドが一定値を示したが、これは20%カゼイン食中のトリプトファンからニコチンアミドを生合成したためであると考えられる。0.1%ビタミン混合食では肝総ニコチンアミド量と尿中総ニコチンアミド代謝産物量は低値を示しており、これは食餌摂取量が他群よりも著しく低いために、トリプトファンからのニコチンアミド生合成量も少なかった可能性が考えられる。しかし、0.2%ビタミン混合食では、食餌摂取量に比して尿中総ニコチンアミド代謝産物排泄量は低く、何らかのB群ビタミン欠乏によってトリプトファン→ニコチンアミド転換率が低くなることが示唆された。

本研究において、尿中ビタミン B₁₂ 排泄量は血漿ビタミン B₁₂ 濃度および肝ビタミン B₁₂ 量と同様の変動を示した。しかし、ヒトにおいては、ビタミン B₁₂ の主な排泄経路は尿ではなく、胆汁から糞中へと排泄される。また、ヒト介入試験によって、ビタミン B₁₂

を大量に摂取しても尿中ビタミン B₁₂ 排泄量は全く変動しないことが示された³⁾。ヒトにおける尿中ビタミン B₁₂ 排泄量は尿量と非常に高い相関を示し、すなわち尿中のビタミン B₁₂ 濃度は一定であり、尿量が多ければそれに伴って尿中ビタミン B₁₂ 排泄量も増加する。以上のことから、ラットにおいては尿中ビタミン B₁₂ 排泄量は体内貯蔵あるいは摂取量を反映するバイオマーカーになりうるかもしれないが、ヒトにおいては尿中ビタミン B₁₂ 排泄量は体内貯蔵あるいは摂取量を反映するバイオマーカーとしては利用することはできない。

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. 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.
2. 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.
3. 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.
 4. 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.
 5. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi, K. New metabolites of riboflavin appear in human urine. *J Biol Chem* (1983) 258, 5623-8.
 6. Rybak ME, Pfeiffer CM. Clinical analysis of vitamin B₆: determination of pyridoxal 5'-phosphate and 4-pyridoxic acid in human serum by reversed-phase high-performance liquid chromatography with chlorite postcolumn derivatization. *Anal Biochem* (2004) 333, 336-44.
 7. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 17th ed., (2000) AOAC Inc, Arlington, VA, USA, 55-7.
 8. Gregory JF 3rd, Kirk JR. Determination of urinary 4-pyridoxic acid using high performance liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* (1979) 32, 879-83.
 9. 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 B₁₂ degradation product formed during microwave heating. *J Agric Food Chem* (1998) 46, 5177-80.
 10. Shibata K, Kawada T, Iwai K. Simultaneous micro-determination of nicotinamide and its major metabolites, N¹-methyl-2-pyridone-5-carboxamide and N¹-methyl-3-pyridone-4-carboxamide, by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* (1988) 424, 23-8.
 11. Shibata K. Ultramicro-determination of N¹-methylnicotinamide in urine by high-performance liquid chromatography. *Vitamins (Japan)* (1987) 61, 599-604.
 12. Skeggs HR, Wright LD. The use of *Lactobacillus arabinosus* in the microbiological determination of pantothenic acid. *J Biol Chem* (1944) 156, 21-6.
 13. Aiso K, Tamura T. Trienzyme treatment for food folate analysis. Optimal pH and incubation time for α -amylase and protease treatment. *J Nutr Sci Vitaminol* (1998) 44, 361-70.
 14. Fukui T, Iinuma K, Oizumi J, Izumi Y. Agar plate method using *Lactobacillus plantarum* for biotin determination in serum and urine. *J Nutr Sci Vitaminol* (1994) 40, 491-8.
 15. Rains TM, Emmert JL, Baker DH, Shay NF. Minimum thiamin requirement of weanling Sprague-Dawley outbred rats. *J Nutr* (1997) 127, 167-70.
 16. Hadj-Saad F, Lhuissier M, Guillaud JC. Chronic exercise affects vitamin B-6 metabolism but not requirement of growing rats. *J Nutr* (1997) 127, 1219-28.

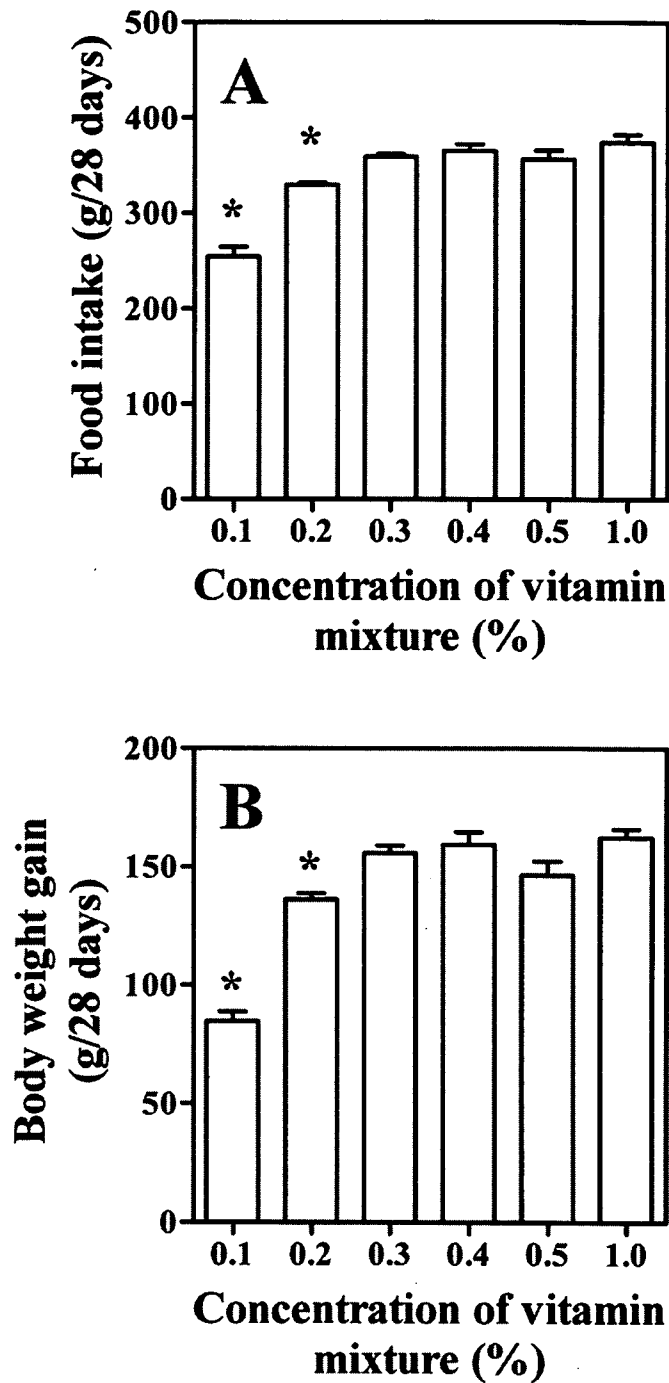
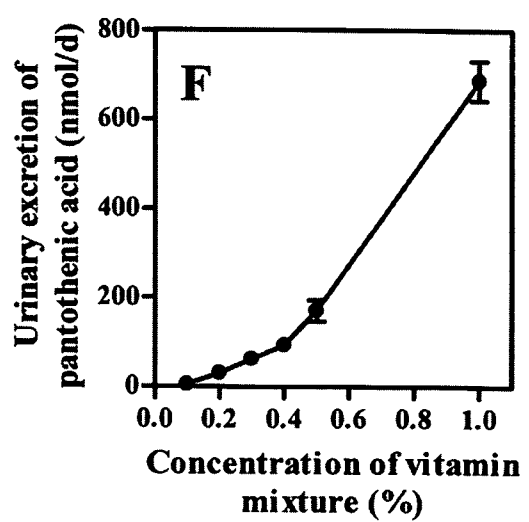
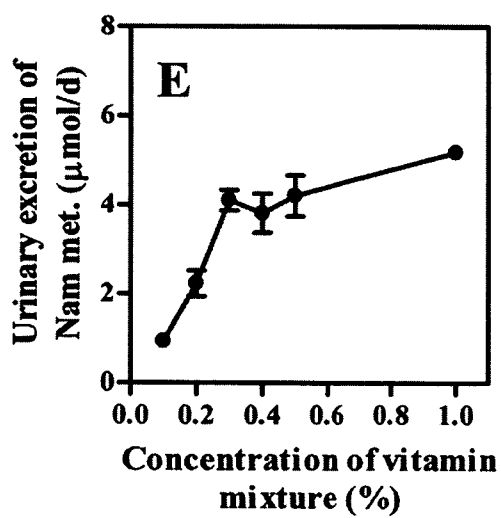
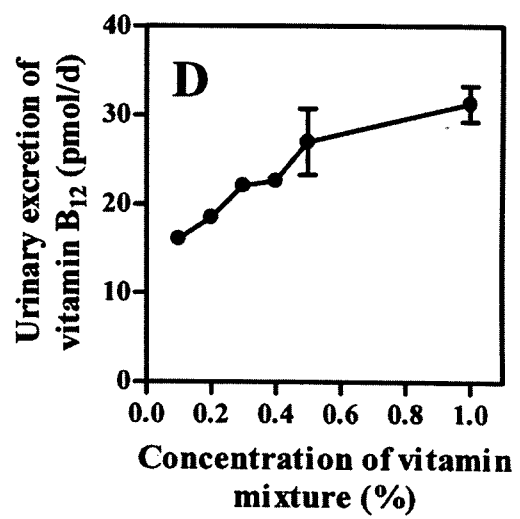
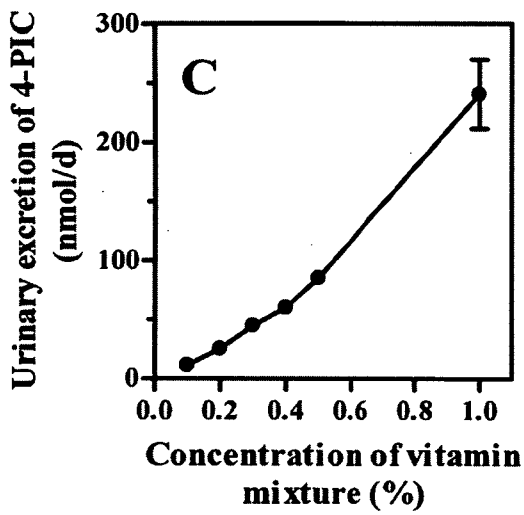
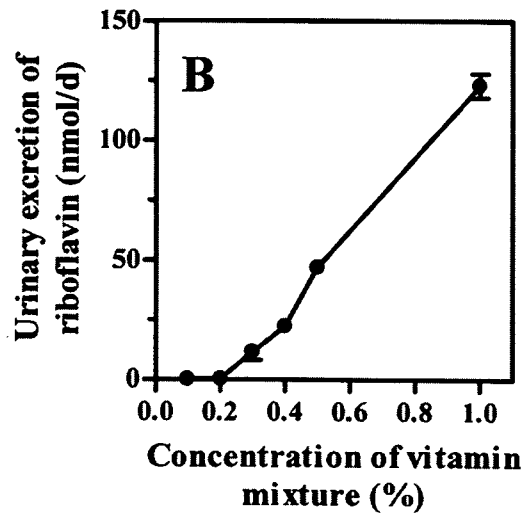
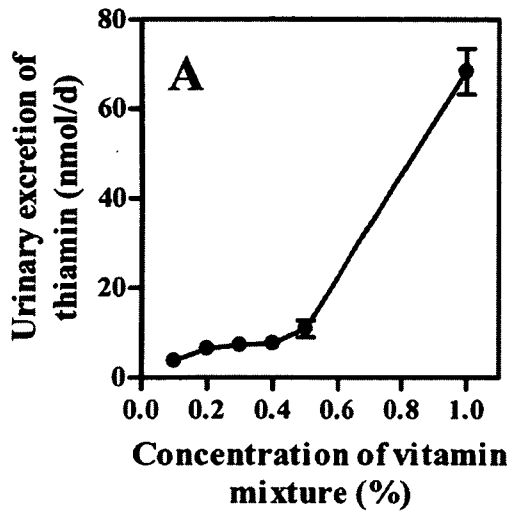


図 1. 幼若ラットにおける食餌中の AIN93 ビタミン混合濃度の違いが飼料摂取量 (A) および体重増加量 (B) におよぼす影響. 値は平均値 ± 標準誤差 (n=5) として示した.



次頁へ続く

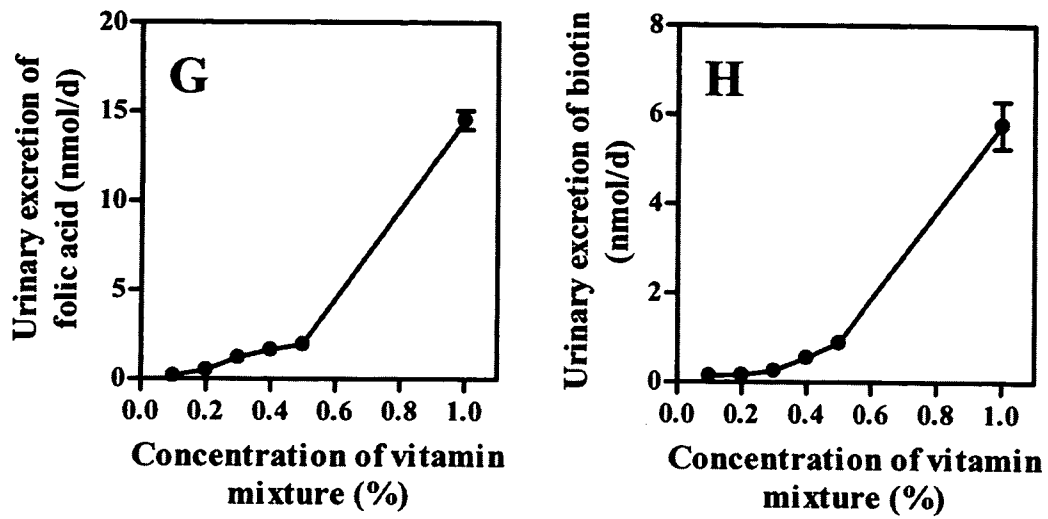
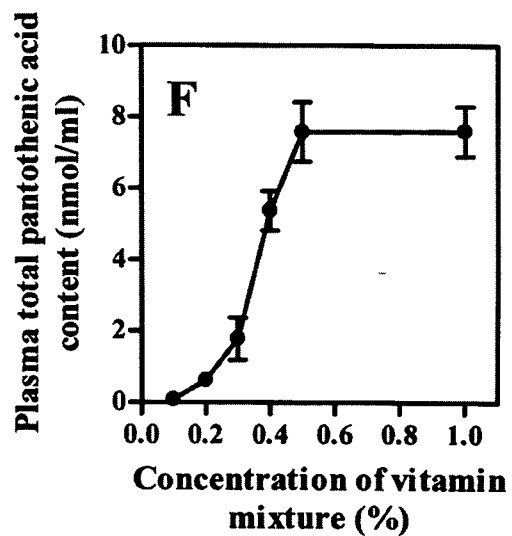
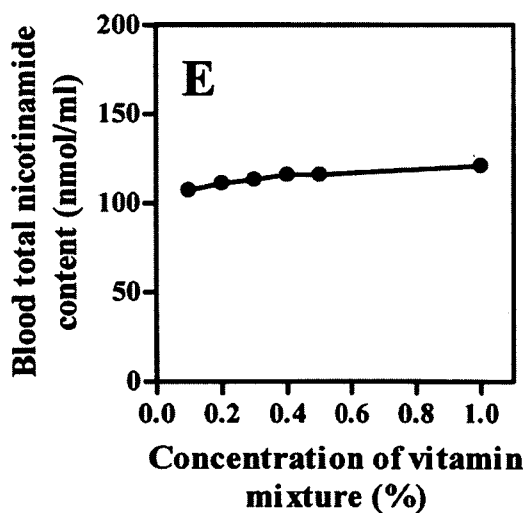
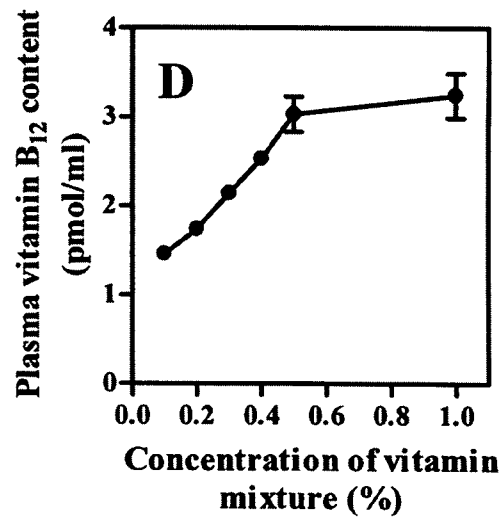
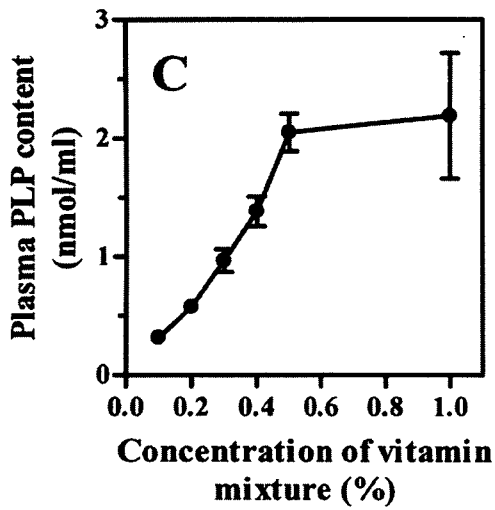
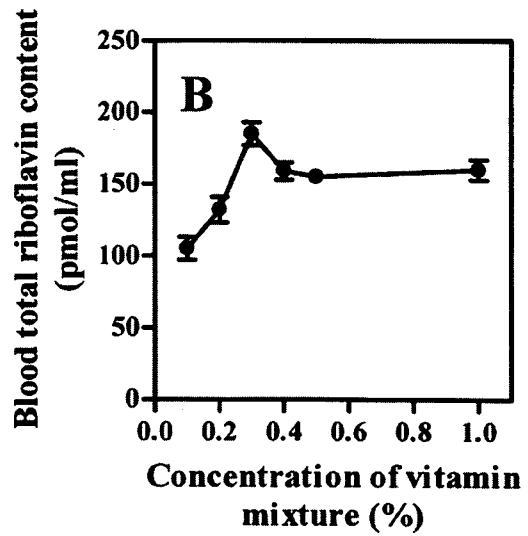
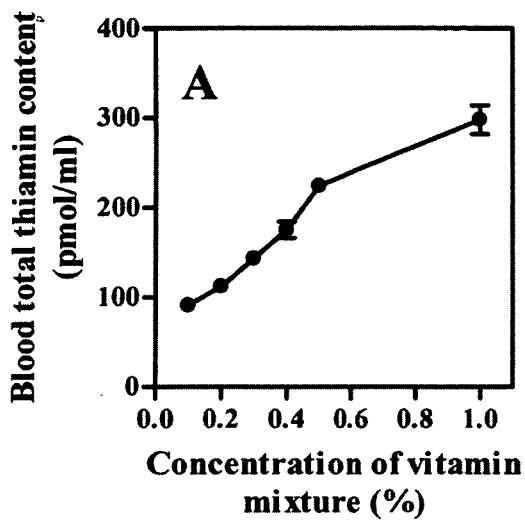


図2. 飼料中のAIN93 ビタミン混合濃度と尿中チアミン (A), リボフラビン (B), 4-PIC (C), ビタミン B₁₂ (D), 総ニコチンアミド代謝産物 (E), パントテン酸 (F), 葉酸 (G), ビオチン (H) 排泄量との関係. 値は平均値 ± 標準誤差 (n=5) として示した.



次頁へ続く

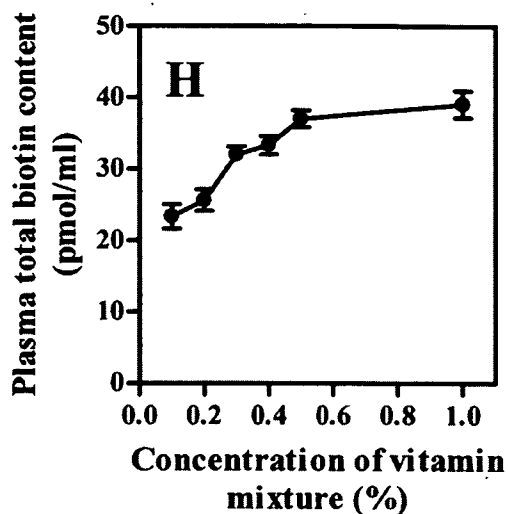
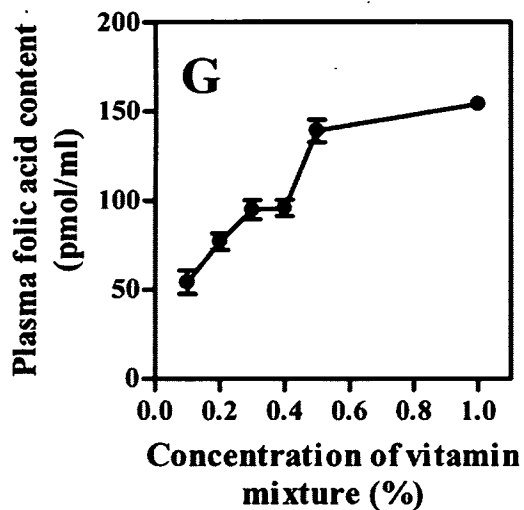
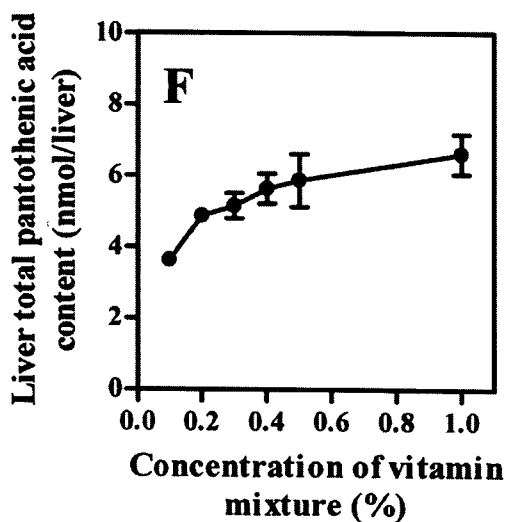
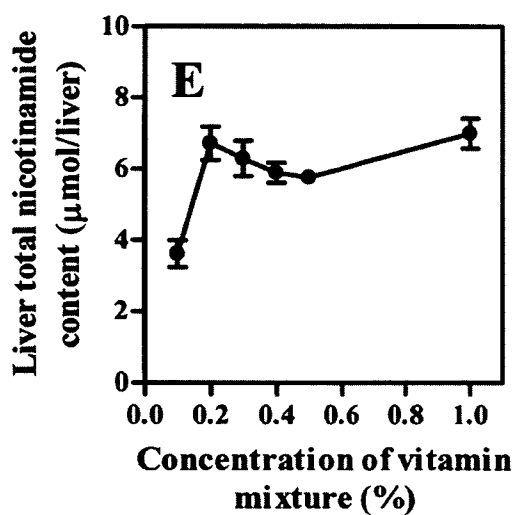
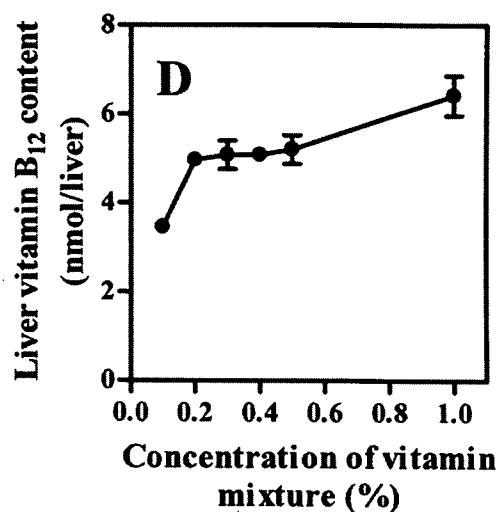
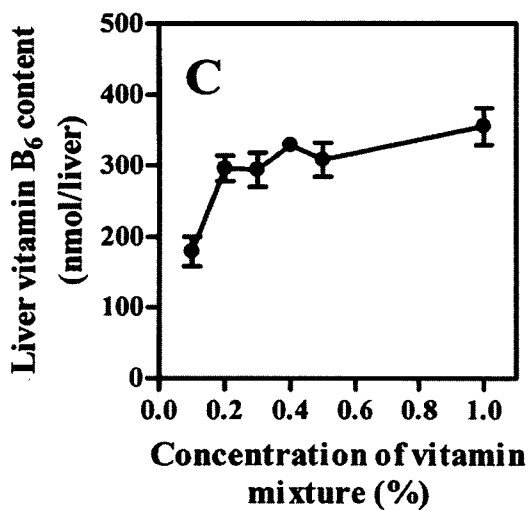
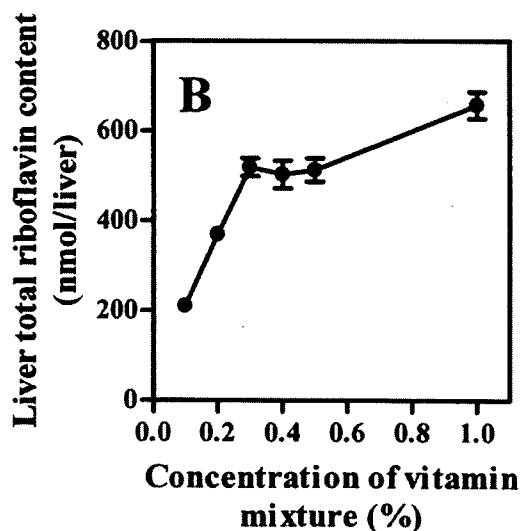
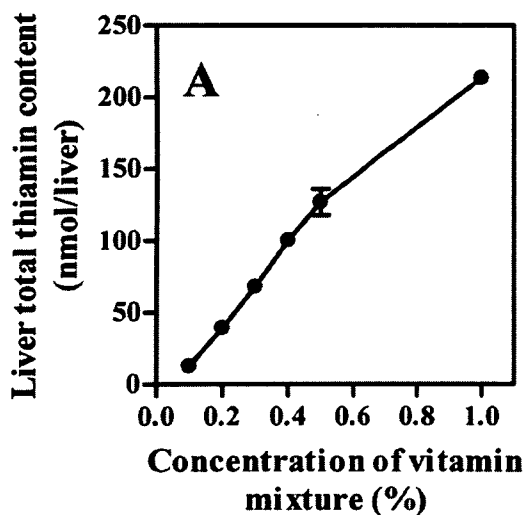


図3. 飼料中のAIN93 ビタミン混合濃度と血中総チアミン (A), 血中総リボフラビン (B), 血漿 PLP (C), 血漿ビタミン B₁₂ (D), 血中総ニコチンアミド (E), 血漿総パントテン酸 (F), 血漿葉酸 (G), 血漿総ビオチン (H) 濃度との関係. 値は平均値 ± 標準誤差 (n=5) として示した.



次頁へ続く

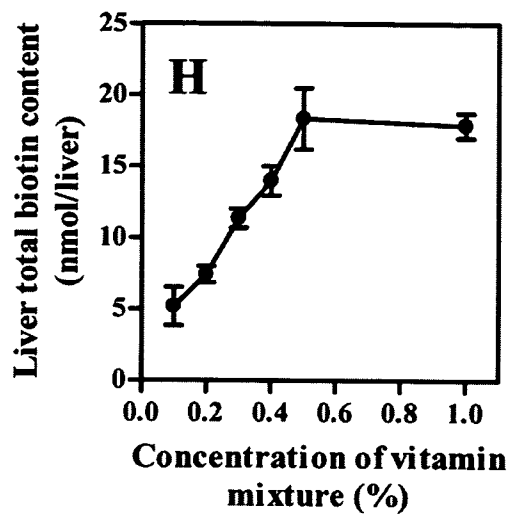
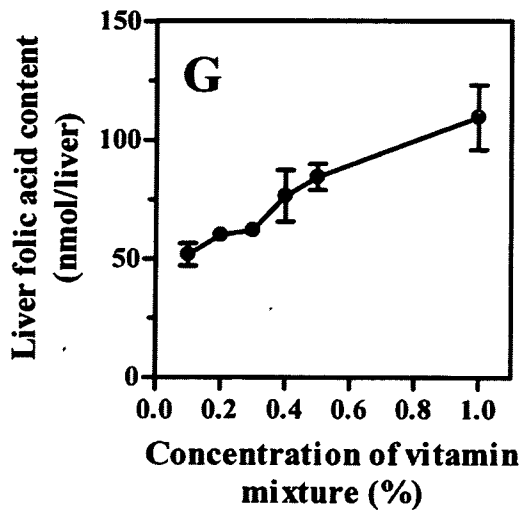
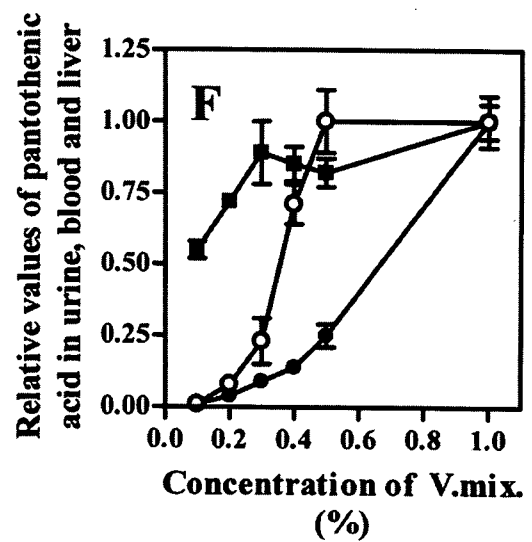
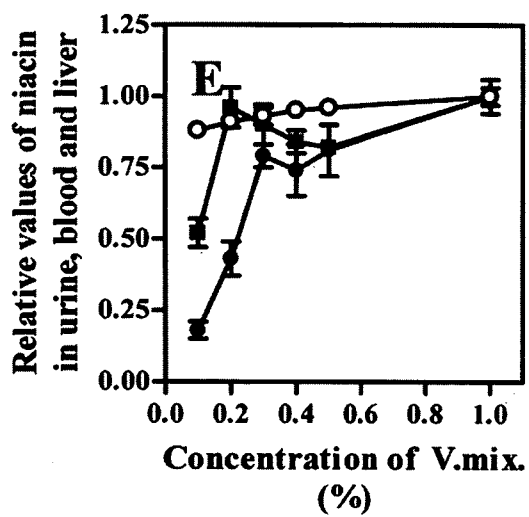
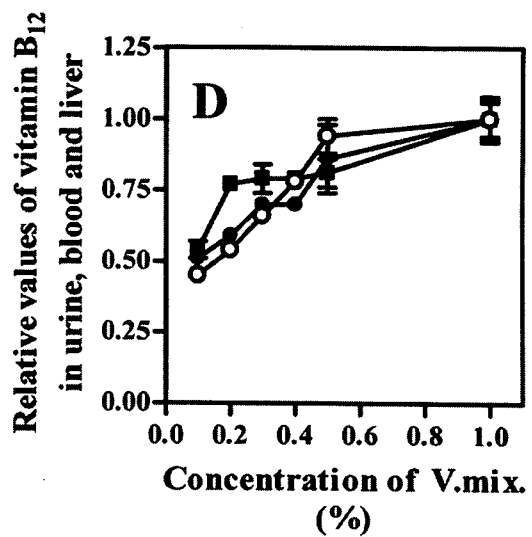
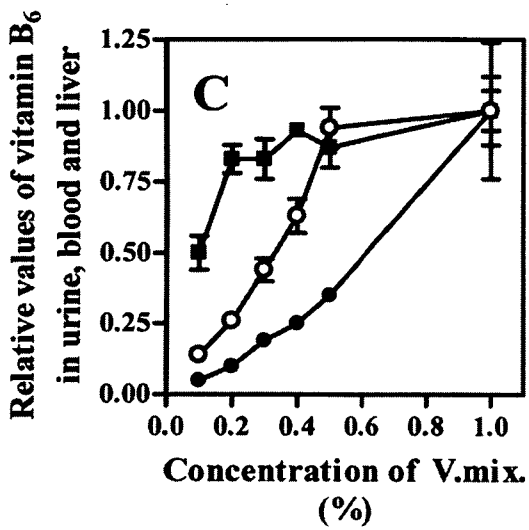
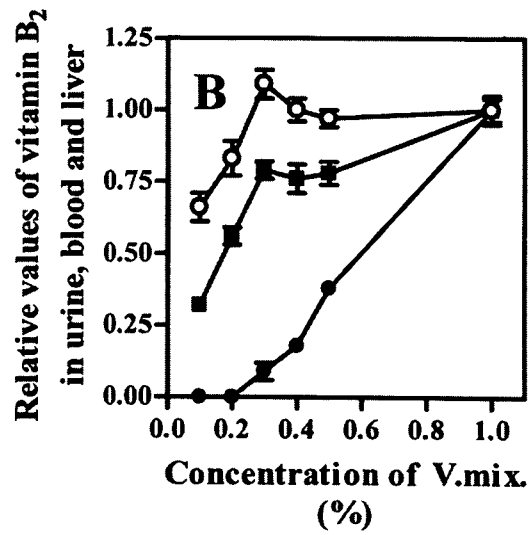
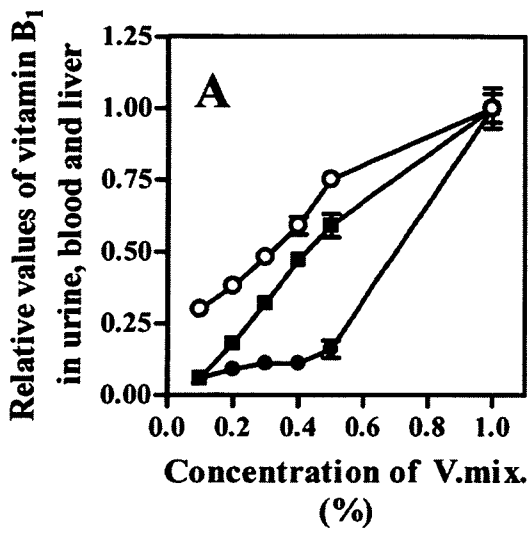


図4. 飼料中のAIN93 ビタミン混合濃度と肝総チアミン (A), 総リボフラビン (B), 総ビタミン B₆ (C), 総ビタミン B₁₂ (D), 総ニコチンアミド (E), 総パントテン酸 (F), 葉酸 (G), 総ビオチン (H) 量との関係. 値は平均値 ± 標準誤差 (n=5) として示した.



次頁へ続く

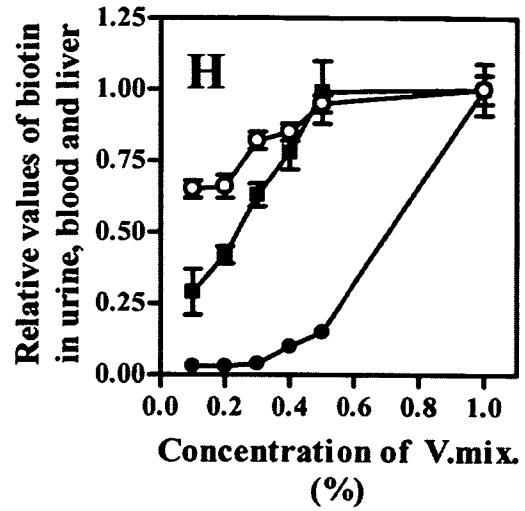
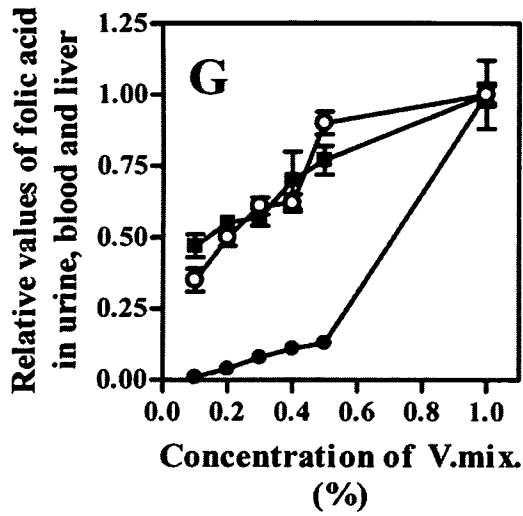


図5. 1.0%AIN93 ビタミン混合食摂食ラットのビタミンB₁(A), ビタミンB₂(B), ビタミンB₆(C), ビタミンB₁₂(D), ナイアシン(E), パントテン酸(F), 葉酸(G), ビオチン(H)の尿中排泄量(●), 血中濃度(○), 肝貯蔵量(■)を100%としたとき, 他の濃度のビタミン混合食摂取時の各バイオマーカーの相対値. 値は平均値 ± 標準誤差 (n=5) として示した.

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

16. 高脂肪食がパントテン酸の必要量におよぼす影響

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

ヒトにおいてパントテン酸の欠乏症に関する報告がほとんどないため、日本人の食事摂取基準（2005 年版）では目安量が策定されている。パントテン酸は脂質代謝に関与するため、パントテン酸の必要量に脂肪摂取量に関係する可能性が考えられる。本研究では、脂肪摂取量の増大がパントテン酸必要量を増加させるのかを明らかにすることを目的として、高脂肪食の投与がラットのパントテン酸必要量におよぼす影響についての研究を行った。パントテン酸を必要量含む 5% 脂肪食（標準食）あるいは 30% 脂肪食（高脂肪食）を幼若ラットに 28 日間与えたところ、高脂肪食を摂取したラットは、体重増加量が標準食を摂取したラットより低値を示した。高脂肪食摂取ラットの血漿、肝臓、尿中パントテン酸量は、標準食摂取ラットと比較して、低値を示した。一方、必要量の 4 倍のパントテン酸（標準パントテン酸含有）を摂取させたラットでは、高脂肪食摂取による体重増加量、血漿、肝臓、尿中パントテン酸量への影響は認められなかった。これらの結果より、高脂肪食摂取によってパントテン酸必要量が増加することが示され、パントテン酸必要量は脂肪摂取量の影響を受けることが始めて実証された。

A. 目的

日本人の食事摂取基準 (2005 年版) において、パントテン酸の基準値は、平成 13 年国民健康栄養調査結果の中央値を目安量として策定されている¹⁾。これは、ヒトにおけるパントテン酸欠乏症に関する報告がほとんどないためである。パントテン酸は、補酵素である CoA やアシルキャリアープロテインの構成成分であり、さまざまな代謝に関与している。その中でも特に脂質代謝において重要な役割を果たしている。ビタミン B₆ はアミノ酸代謝において重要な役割を果たしており、必要量はたんぱく質摂取量に伴って変動することが知られている²⁾。同様に、パントテン酸についても、必要量が脂肪摂取量によって変動する可能性が考えられる。この考えに基き、これまでに平成 17 年度および 18 年度の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」において、高脂肪食摂取によってパントテン酸必要量が高まることを示唆する結果を得た^{3,4)}。本研究では、脂肪摂取量の増大がパントテン酸必要量を増加させるのかを明らかにすることを目的として、必要量のパントテン酸を含む高脂肪食をラットに与え、パントテン酸の必要量におよぼす影響について検討した。

B. 実験方法

1. 動物飼育

本実験は、滋賀県立大学実験動物委員会で承認を受けた。飼育室の温度は 22°C 前後、湿度は 60% 前後に維持し、明暗サイクルは、午前 6 時～午後 6 時を明、午後 6 時～午前 6 時を暗とした。

3 週齢の Wistar 系雄ラットを日本クレア株式

会社 (東京) より購入し、平均体重がほぼ均等になるように 5 匹ずつ 4 群に分け、ラット用代謝ケージ (CT-10, 日本クレア株式会社, 東京) に入れた。0.00147% のパントテン酸を含む 5% 脂肪食 (標準パントテン酸含有・標準脂肪含有食), これとカロリー当りのパントテン酸摂取量が等しくなるようにした 0.00204% のパントテン酸を含む 30% 脂肪食 (標準パントテン酸含有・高脂肪含有食), 必要量である 0.00037% のパントテン酸を含む 5% 脂肪食 (必要量パントテン酸含有・標準脂肪含有食), 必要量食とカロリー当りのパントテン酸摂取量が等しくなるようにした 0.00051% のパントテン酸を含む 30% 脂肪食 (必要量パントテン酸含有・高脂肪含有食) の以上 4 種の飼料のうちいずれか 1 種を与え、4 週間飼育した (表 1)。飼料と水は自由摂取とし、1 日ないし 2 日おきの午前 9 時から午前 10 時の間に新しいものと交換した。また、その際に体重と飼料摂取量を測定した。飼育最終日に 1 日尿を集めた。その後、ラットを断頭、屠殺し、血液を採取し、肝臓を摘出した。尿、血液、肝臓はパントテン酸量の測定に使用した。

2. 分析

血漿総パントテン酸濃度を測定するために、*Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 を用いた微生物学的定量法に血漿を供した⁵⁾。肝総パントテン酸量を求めるために、摘出した肝臓を乾燥を防ぐために、ラップで包んだ後、37°C で 7 時間放置し、自己消化によって結合型パントテン酸を遊離型にした。その肝臓中のパントテン酸量を微生物学的定量法に供した。尿中パントテン酸量を測定するために、尿を微生物学的定量法に供した。詳細は II-2 に示した。

3. 統計処理

数値はすべて平均値 ± 標準誤差で表した。群間の比較には、*t*-test を用い、*p* 値が 0.05 以下のとき、統計的有意差があるものとした。計算には GraphPad Software 社 (San Diego, CA, USA) の GraphPad Prism 4 を使用した。

C. 結果

1. 高脂肪食が飼料摂取量および体重増加量におよぼす影響

幼若実験動物では栄養素欠乏症として食欲減退とそれに伴う成長抑制が認められる。本研究では、5%脂肪食における必要量であるパントテン酸を含む 30%脂肪食である高脂肪・必要量食を摂食したラットの飼料摂取量と体重増加量は、必要量のパントテン酸を含む 5%脂肪食である必要量食を摂食したラットより低値を示した (図 1, 2)。必要量の 4 倍のパントテン酸を摂取したラットにおいては、高脂肪食摂取による体重増加量への影響は認められなかった。

2. 高脂肪食が尿中のパントテン酸排泄量におよぼす影響

飼育最終日の 1 日尿に含まれるパントテン酸量を測定した (図 3)。必要量・高脂肪食を摂取したラットの尿中パントテン酸排泄量は必要量・高脂肪食を摂取したラットより低値を示した。標準のパントテン酸量を摂取したラットにおいては、高脂肪食摂取による尿中排泄量への影響は認められなかった。

3. 高脂肪食が血漿および、肝臓中のパントテン酸量におよぼす影響

血漿パントテン酸濃度および肝臓総パントテン酸量を測定した (図 4, 5)。必要量・高脂肪食を摂取したラットの血漿パントテン酸濃度および肝臓パントテン酸量は必要

量・標準脂肪含有食を摂取したラットより低値を示した (図 4-B, 5-B)。標準パントテン酸含有・標準脂肪含有食を摂取したラットにおいては、高脂肪食摂取による血漿パントテン酸濃度 (図 4-A) および肝臓パントテン酸量 (図 5-A) への影響は認められなかった。

D. 考察

本研究では、脂肪摂取量の増大がパントテン酸必要量を増加させるのかを明らかにすることを目的として、必要量パントテン酸含有・高脂肪含有食 (30%脂肪食) をラットに与え、パントテン酸必要量におよぼす影響について検討した。必要量のパントテン酸を与えたラットにおいて、5%脂肪食を摂取したラットに比べ、30%脂肪食を摂取したラットの体重増加量、尿中パントテン酸排泄量、血漿パントテン酸濃度、肝臓パントテン酸量のいずれもが低値を示した。食餌中のパントテン酸量はカロリー当りの量としたため、30%脂肪食を摂取したラットの総パントテン酸摂取量は 5%脂肪食を摂取したラットと同量であった。これらの結果は、脂肪摂取量の増加に伴ってパントテン酸必要量が増加し、食餌から必要量のパントテン酸を摂取することができなくなったために、パントテン酸栄養が悪化したことを示している。一方、標準パントテン酸含有食群においては、30%脂肪食を摂取しても体重増加量、尿中パントテン酸排泄量、血漿パントテン酸濃度、肝臓パントテン酸量のいずれも影響を受けなかった。これらの結果は、必要量以上のパントテン酸を摂取していれば、必要量のパントテン酸を摂取したラットで観察された 30%脂肪食摂取による影響は認められないことを示している。以上の結果から、高脂肪食がパントテン

酸の必要量を高めることが栄養学的手法において初めて実証された。

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. 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.
2. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. National Academy Press, Washington DC. 1998.
3. 柴田克己. 平成 17 年度厚生労働科学研究費, 循環器疾患等総合研究事業. 日本人の食事摂取基準 (栄養所要量) の策定に関する研究, 平成 17 年度総括・分担研究報告書. 2006.

4. 柴田克己. 平成 18 年度厚生労働科学研究費, 循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業. 日本人の食事摂取基準 (栄養所要量) の策定に関する研究. 平成 18 年度総括・分担研究報告書. 2007.
5. Skeggs HR, Wright LD. The use of *Lactobacillus arabinosus* in the microbiological determination of pantothenic acid. *J Biol Chem* (1944) 156, 21-6.

表 1. 飼料組成

	標準パントテン酸含有		必要量パントテン酸含有	
	標準脂肪食 (5%脂肪食)	高脂肪食 (30%脂肪食)	標準脂肪食 (5%脂肪食)	高脂肪食 (30%脂肪食)
カゼイン	20	20	20	20
L-メチオニン	0.2	0.2	0.2	0.2
α-コーンスターチ	46.8984	30.1978	46.8996	30.19945
ショ糖	23.4	15.1	23.4	15.1
コーン油	5	30	5	30
ミネラル混合	3.5	3.5	3.5	3.5
パントテン酸欠-ビタミン混合	1	1	1	1
パントテン酸カルシウム	0.0016	0.0022	0.0004	0.00055

値は%で示した.

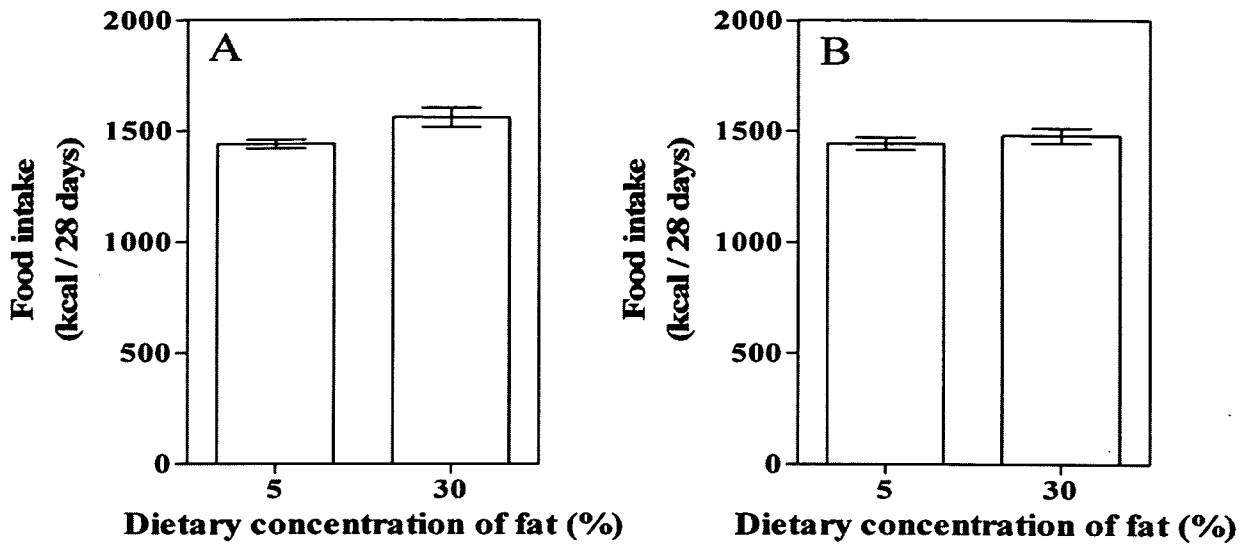


図 1. 高脂肪食が飼料摂取量におよぼす影響. (A) 標準パントテン酸含有食群, (B) 必要量パントテン酸含有食群.

値は平均値 ± 標準誤差 (n=5) として示した.

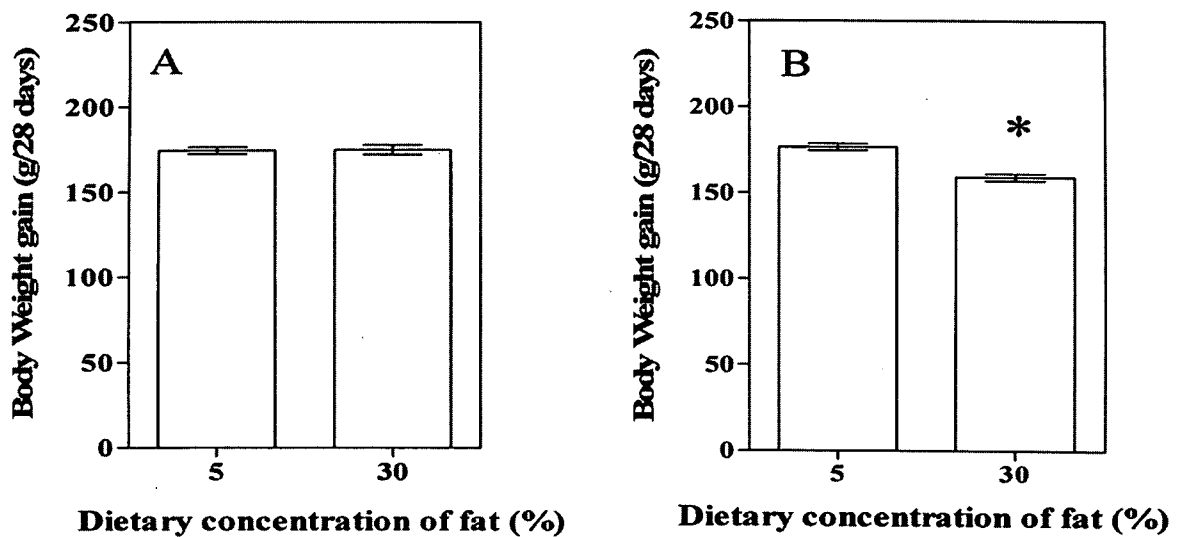


図 2. 高脂肪食が体重増加量におよぼす影響. (A) 標準パントテン酸含有食群, (B) 必要量パントテン酸含有食群.

値は平均値 ± 標準誤差 (n=5) として示した. *は 5%脂肪食を摂取したラットと 30%脂肪食を摂取したラットとの間に有意差があることを示す ($p < 0.05$).

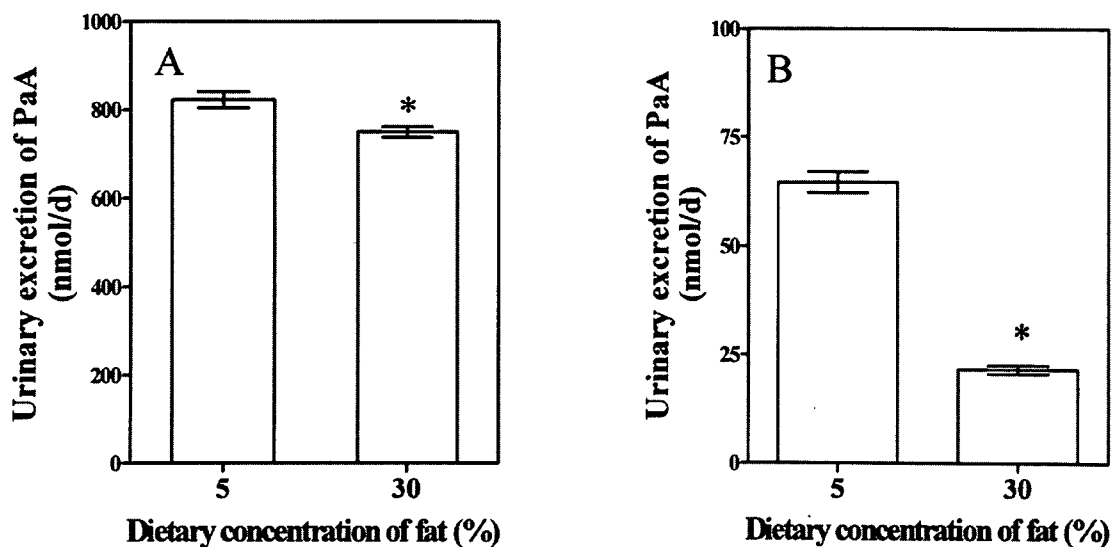


図 3. 高脂肪食が尿中パントテン酸排泄量におよぼす影響. (A) 標準パントテン酸含有食群, (B) 必要量パントテン酸含有食群. 値は平均値 ± 標準誤差 (n = 5) として示した. *は 5%脂肪食を摂取したラットと 30%脂肪食を摂取したラットとの間に有意差があることを示す ($p < 0.05$).

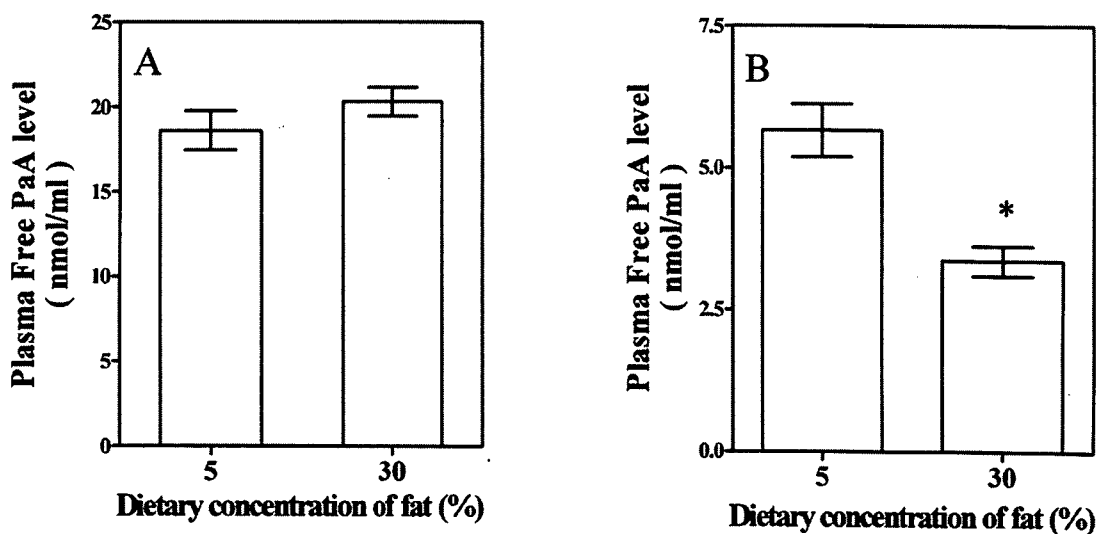


図 4. 高脂肪食が血漿パントテン酸濃度におよぼす影響. (A) 標準パントテン酸含有食群, (B) 必要量パントテン酸含有食群. *は 5%脂肪食を摂取したラットと 30%脂肪食を摂取したラットとの間に有意差があることを示す ($p < 0.05$).

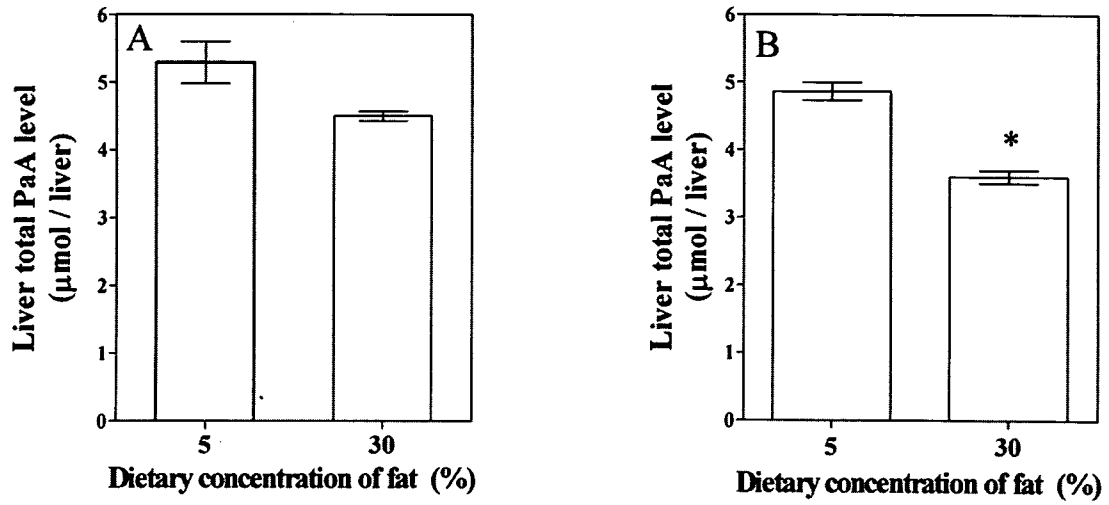


図5. 高脂肪食が肝臓中パントテン量におよぼす影響. (A) 標準パントテン酸含有食群, (B) 必要量パントテン酸含有食群.

*は5%脂肪食を摂取したラットと30%脂肪食を摂取したラットとの間に有意差があることを示す ($p < 0.05$).

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

17. パントテン酸前駆体のパントテン酸活性に関する研究

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

パントテン酸は酸やアルカリに不安定で、パントテン酸の前駆体でもあるパントラクトンとβ-アラニンに加水分解される。このことから、胃酸によってパントテン酸が加水分解される可能性があるが、パントテン酸欠乏の発生は全く報告されていない。その理由の一つに、腸内細菌によってパントラクトンとβ-アラニンから合成されたパントテン酸を利用している可能性が挙げられる。本研究では、パントラクトンとβ-アラニンにパントテン酸活性があるかを明らかにすることを目的として、パントテン酸欠乏食にパントラクトンとβ-アラニンを添加した飼料を幼若ラットに与え、パントテン酸に関する栄養指標について調べた。パントラクトンとβ-アラニンを摂取しても、体重増加量、飼料摂取量、尿中および肝臓パントテン酸量はパントテン酸欠乏ラットと同値を示した。この結果は、パントラクトンとβ-アラニンはパントテン酸活性を有さず、腸内細菌が合成したパントテン酸を利用できないことを示している。