

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¹⁾、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²⁾、尿中カリウム排泄量を利用したカリウム摂取量の評価³⁾が確立されている。水溶性ビタミンについても、ヒト介入試験によって、ビタミンB₁₂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^{4,5)}。さらには、自由に生活するヒトにおいてチアミン平均摂取量と尿中チアミン平均排泄量が高い相関を示すこと⁶⁾、自由に生活する若年成人および小学生において尿中水溶性ビタミン排泄量は数日間の水溶性ビタミン摂取量と相関する⁷⁾。自由に生活している高齢者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栄養状態を評価することを目指して、本研究では70~84歳の高齢者を対象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排泄量との相関について検討した。本研究はまだ継続中であるが、解析に必要な被験者数を得たため、暫定的な結果を報告する。

B. 実験方法

1. 被験者

K県内に居住する70~84歳の高齢者55名を対象とした。このうち、24時間尿を採尿したこと、蓄尿時間が22時間以上26時間以内であること、尿量が250 mL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500 kcal以上4000 kcal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39名を調査の対象とした。

なお、本研究は滋賀県立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

秤量法による連続4日間の食事記録を対象者に記入させた。これは国民健康・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。予めデジタルクッキングスケール(タニタ)とデジタルカメラ、食事記録用紙を配布し、調査の目的と方法を説明した。並行して喫食の前後をカメラで撮影させた。複数の管理栄養士が食事記録表と写真をもとに材料の記入漏れや分量の妥当性を確認し、食事記録法の精度を高め、評価を標準化した。栄養素等摂取量は、五訂増補日本標準食品成分表⁸⁾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計算した。ただし、ビオチンは五訂増補日本標準食品成分に記載されていないため、水溶性ビタミン9種のうち、ビオチンを除く8種類の水溶性ビタミン摂取量を算出した。ニコチンアミドはトリプトファンからも生合成されるため、たんぱく質のトリプトファン含量は1%、60 mgのトリプトファンから1 mgのニコチンアミドが生合成されるものとして、ナイアシン当量摂取量を算出した。

3. 24時間尿の蓄尿

食事調査4日目に24時間尿を採取した。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し、使用するまで -20°C で保存した。

4. 分析

尿中チアミン量を測定するために、尿9 mLに1 mol/L HClを1 mL加えて安定化した。この尿をHPLCによる分析に供した⁹⁾。

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

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

尿中ビタミンB₁₂量を求めるために、尿900 μL に180 μL の100 mmol/L 酢酸緩衝液 (pH 4.8)、水680 μL 、0.025%シアン化カリウム溶液20 μL を加え、 120°C で5分間オートクレーブ処理した。氷冷後、20 μL の10%メタリン酸溶液を加え、遠心分離によって上清を得た。*Lactobacillus leichmanii* ATCC 7830を用いた微生物学的定量法にこの上清を供した¹²⁾。

尿中ニコチンアミド代謝産物量はニコチンアミド、*N*¹-メチルニコチンアミド (MNA)、*N*¹-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド (2-Py)、*N*¹-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 mol/L HClを1 mL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各含量を測定した¹³⁾。また、尿中MNA含量をHPLC法で測定した¹⁴⁾。

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

微生物学的定量法に尿を供した¹⁵⁾。

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

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5 mLに10%メタリン酸溶液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¹⁷⁾。

5. 統計処理

連続4日間の食事記録より栄養素等摂取量を求め、4日間の平均摂取量を算出した。ビオチンを除く8種類の水溶性ビタミンについて、4日間の平均摂取量と24時間尿中排泄量との間の相関を決定するために、Spearmanの順位相関係数を求めた。*p*値が0.05以下のとき、統計学的有意差があるものとした。この計算にはGraphPad Software社 (San Diego, CA, USA)のGraphPad Prism 5を使用した。

C. 結果

1. 被験者の特徴

表1に本研究で最終的な調査対象とした高齢者39名の年齢、身長、体重、BMI、4日間の平均栄養素等摂取量を示した。39名中、男性は2名、女性は37名であった。「平成17年国民健康・栄養調査報告」に記載された70歳以上の身体状況は、男性では身長 161.0 ± 6.4 cm、体重 60.3 ± 9.0 kg、BMI 23.3 ± 3.1 、女性では身長 146.9 ± 6.1 cm、体重 49.7 ± 8.5 kg、BMI 23.0 ± 3.7 である¹⁸⁾。被験者のほとんどを女性が占めていることを考えると、被験者の身長 149.6 ± 5.7 cm、体重 52.6 ± 6.7 kg、BMI 23.5 ± 2.8 という値は、全国平均と同程

度のものであった。

「日本人の食事摂取基準 (2005 年版)」における 70 歳以上の推定エネルギー必要量は、身体活動レベル II では男性 1850 kcal、女性 1550 kcal である¹⁹⁾。被験者の総エネルギー摂取量 1685 ± 343 kcal は、そのほとんどが女性であることを考慮すると、身体活動レベル II における推定エネルギー必要量にほぼ一致するものであった。「平成 17 年国民健康・栄養調査報告」の掲載値は男性 1984 ± 543 kcal、女性 1634 ± 469 kcal であり¹⁸⁾、これらの値とも変わらないものであった。

2. 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、4 日間の平均摂取量と 24 時間尿中排泄量との間の相関を調べた。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、ナイアシンについては、ナイアシン当量摂取量と尿中排泄量との間の相関を調べた。ビタミン B₆ およびビタミン B₁₂ を除く 6 種類の水溶性ビタミンについて、4 日間の平均摂取量と 24 時間尿中排泄量との間に正の相関が認められた (表 2)。特に、ビタミン B₁、パントテン酸、ビタミン C については、 $r > 0.600$ 、 $p < 0.001$ という強い相関が認められた。

D. 考察

本研究では、70~84 歳の高齢者 39 名を対象として、4 日間連続の食事調査、および食事調査最終日の 24 時間尿の採取を行い、4 日間の平均水溶性ビタミン摂取量と 24 時間尿中水溶性ビタミン排泄量との相関について調べた。ビオチンを除く 8 種類の水溶性ビタミンについて検討したところ、ビタミン B₆ とビタミン B₁₂ を除く 6 種類の水溶性ビタミン

において、平均摂取量と尿中排泄量との間に正の相関が認められた。これは、尿中水溶性ビタミン排泄量が高値を示した対象者の日頃の水溶性ビタミン摂取量は多く、尿中排泄量が低値を示した対象者の日頃の摂取量は少ないことを示している。

我々は、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栄養状態を評価することを旨として、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調べてきた。これまでに、半精製食と合成ビタミンを 7 日間連続して摂取させた被験者の尿中水溶性ビタミン排泄量を測定することにより、食事摂取基準の推奨量の水溶性ビタミンを摂取すると、どれだけの水溶性ビタミンが尿に排泄されるのかを明らかにした⁴⁾。また、一般的な食事に水溶性ビタミンを推奨量の 0~6 倍付加したときの尿中水溶性ビタミン排泄量を測定することにより、ビタミン B₁₂ を除く 8 種類の水溶性ビタミンについて、尿中排泄量は摂取量依存的に増大し、その相関は非常に高いことを明らかにした⁵⁾。これらの結果は、尿中水溶性ビタミン排泄量は水溶性ビタミン栄養状態を反映することを示しており、基準値を設けることによって尿中水溶性ビタミン排泄量から水溶性ビタミン栄養状態の不良および過剰摂取を評価できることを明らかにした。これらの結果はヒト介入試験によって得られたものだが、さらには、自由に生活を営む若年成人および学童を対象とした水溶性ビタミンの摂取量と尿中排泄量との関係について検討し、若年成人および学童のどちらにおいても、ビオチンを除く 8 種類の水溶性ビタミンのうちビタミン B₁₂ を除く 7 種類について、摂取量と尿中排泄量との間に正の相関が認められることを明らかに

した⁷⁾。本研究では、自由に生活を営む高齢者において、ビオチンを除く8種類の水溶性ビタミンのうちビタミン B₆ とビタミン B₁₂ を除く6種類について、摂取量と尿中排泄量との間に正の相関が認められた。高齢者では、咀嚼能力の低下、消化・吸収率の低下、エネルギー消費量の低下などが存在するため、水溶性ビタミン代謝にこれらの因子が影響をおよぼす可能性がある。しかし、高齢者においても若年成人と同様に水溶性ビタミンの摂取量と尿中排泄量との間に正の相関が認められたことから、若年成人と同様に高齢者においても尿を水溶性ビタミンの生体指標として用いることができることを示している。摂取量に対する排泄率について若年成人と高齢者とを比較することによって、各水溶性ビタミン代謝が加齢によってどのような変動を受けるのかを調べることができると考えられる。

若年成人においてはビタミン B₆ の摂取量と尿中排泄量との間に正の相関が認められたが⁷⁾、高齢者においては同様の相関は認められなかった。65歳以上では、年齢の進行に従って血漿 PLP 濃度が減少するという報告があるが²⁰⁾、高齢者のビタミン B₆ 代謝については不明な点が多い。血漿 PLP 濃度はたんぱく質当たりのビタミン B₆ 摂取量とよく相関することが知られている²¹⁾。高齢者のたんぱく質代謝あるいはビタミン B₆ 代謝が若年成人とは異なるのかもしれない。あるいは、本研究では39人の対象者から得たデータであるので、先の若年成人におけるデータのようにより多くの被験者を対象とすれば、ビタミン B₆ においても摂取量と尿中排泄量との間に相関が認められるかもしれない。

本研究において、自由に日常生活を過ごし

ている高齢者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、尿中水溶性ビタミン排泄量は強い相関を示した。したがって、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、食事調査と併用することにより、水溶性ビタミン栄養状態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

・第67回日本公衆衛生学会総会（平成20年11月・福岡市）

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. Shibata K, Fukuwatari T, Ohta M, Okamoto H, Watanabe T, Fukui T, Nishimuta M, Totani M, Kimura M, Ohishi N, Nakashima M, Watanabe F, Miyamoto M, Shigeoka S, Takeda T, Murakami M, Ihara H, Hashizume N. Values of water-soluble vitamins in blood and urine of Japanese young men and women consuming a semi-purified diet based on the Japanese Dietary Reference Intakes. *J Nutr Sci Vitaminol* (2005) 51, 319-28.
5. Fukuwatari T, Shibata K. Urinary water-soluble vitamin and their metabolites contents as nutritional markers for evaluating vitamin intakes in young Japanese women. *J Nutr Sci Vitaminol* (2008) 54, 223-9.
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* (2008) 62, 1139-47.
7. 柴田克己, 平成 19 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 19 年度総括・分担研究報告書. 2008.
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—五訂増補日本標準食品成分表—大蔵印刷局, 東京, 2005.
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 3rd, 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 B₁₂ 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, N¹-methyl-2-pyridone-5-carboxamide and N¹-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 N¹-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, 361-70.
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. 健康・栄養情報研究会編. 厚生労働省 平成 17 年国民健康・栄養調査報告, 第一出版, 東京, 2007.
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. Bates CJ, Pentieva KD, Prentice A, Mansoor MA, Finch S. Plasma pyridoxal phosphate and pyridoxic acid and their relationship to plasma homocysteine in a representative sample of British men and women aged 65 years and over. *Brit J Nutr* (1999) 81, 191-201.
21. 7. Vitamin B₆. In: Dietary reference intake: Washington DC: National Academy Press, p150-95, 1998.

表1 対象者の身体的特徴

	値
年 齢 (歳)	73.5 ± 3.2
身 長 (cm)	149.6 ± 5.7
体 重 (kg)	52.6 ± 6.7
BMI (kg/m ²)	23.5 ± 2.8
栄養素等摂取量	
総エネルギー (kcal/d)	1685 ± 343
たんぱく質エネルギー比 (%)	16.3 ± 1.9
脂質エネルギー比 (%)	25.0 ± 4.1
炭水化物エネルギー比 (%)	58.7 ± 4.9

値は平均±標準偏差 (n=39) として示した.

表2 水溶性ビタミンの平均摂取量と尿中排泄量との相関

ビタミン	平均摂取量	尿中排泄量	相関係数	有意確率
ビタミン B ₁	0.84 ± 0.20 mg/d	415 ± 399 nmol/d	0.667	<0.001
ビタミン B ₂	1.34 ± 0.37 mg/d	904 ± 860 nmol/d	0.409	0.012
ビタミン B ₆	1.21 ± 0.35 mg/d	4.54 ± 2.29 μmol/d	0.286	0.082
ビタミン B ₁₂	7.53 ± 4.34 μg/d	32.2 ± 33.5 pmol/d	-0.034	0.841
ナイアシン	26.2 ± 6.5 mgNE/d	93.0 ± 33.0 μmol/d	0.392	0.014
パントテン酸	5.60 ± 1.56 mg/d	15.6 ± 6.7 μmol/d	0.605	<0.001
葉酸	354 ± 121 μg/d	36.7 ± 19.3 nmol/d	0.324	0.043
ビタミン C	115 ± 63 mg/d	184 ± 227 μmol/d	0.611	<0.001

平均摂取量と尿中排泄量は平均±標準偏差 (n = 39) として示した。

平成 20 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. 慢性腎臓病患者（Chronic Kidney Disease : CKD）の栄養調査

－血中ビタミン濃度と尿中ビタミン排泄量－

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

低蛋白食を指示されている CKD 患者のビタミン栄養状態の把握するための第一歩として、食事記録によるビタミン摂取量と血中ビタミン量および 24 時間蓄尿による尿中ビタミン量を測定したので報告する。

A. 目的

本研究では、低蛋白食を指示されている慢性腎不全患者 (CKD) 患者に対し、食事記録によるビタミン摂取量と血中ビタミン量および 24 時間畜尿による尿中ビタミン量を測定し、CKD 患者のビタミン栄養状態を把握することを目的とした。

B. 方法

1. 被験者

本研究に対して同意の得られた N 病院と O 病院に通院中の CKD 患者を対象とした。このうち、低蛋白食事療法を指示されている患者であること、健康食品やサプリメントなどを服用していないことを満たす患者 36 名 (男性 23 名・女性 13 名) を対象とした。調査期間は、2007 年 2 月～2008 年 5 月に行った。なお、本研究は滋賀県立大学倫理審査委員会および名古屋共立病院並びに大野記念病院倫理審査委員会の承認を得て行ったものである。

2. 栄養素摂取量の算定

栄養素摂取量調査の方法は、食事記録法と写真撮影を併用し、さらに、管理栄養士による聞き取り調査を行くことにより精度を高めた。その後、五訂増補日本食品標準成分表¹⁾に基づいた解析プログラムソフトにて栄養素摂取量を算出した。

3. 24 時間尿の蓄尿

対象者には、来院日前日の起床後の 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。対象者には、尿の取りこぼしおよび取り忘れの有無を聞き取った。24 時間尿の容量を測定し、測定するまで 20°C で保存した。

4. 分析

血中総 VB₁ 濃度は、チアミン、TMP、TDP、

TTP の合計量とし、HPLC による分析に供した²⁾。尿中 VB₁ 量も HPLC により測定した²⁾。

血中総 VB₂ 濃度は、リボフラビン、FMN、FAD の合計量とした³⁾。リボフラビン、FMN、FAD はルミフラビンに光分解し、このルミフラビン量を測定した。尿中 VB₂ 量の測定には、尿をそのまま試料とし、HPLC による分析に供した³⁾。

血漿中ピリドキサルリン酸 (PLP) 濃度を HPLC により測定した⁴⁾。尿中 VB₆ 量として、ピリドキシン異化代謝産物である 4-ピリドキシン酸 (4-PIC) 量を HPLC により測定した⁵⁾。

血中総 Nam 濃度を定量するために、オートクレーブによって補酵素型ナイアシンを Nam に変換し、Nam を HPLC によって測定した⁶⁾。尿中 Nam 代謝産物量は Nam、N¹-メチルニコチンアミド (MNA)、N¹-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド (2-Py)、N¹-メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド (4-Py) の合計とした。尿を HPLC 法に供し、尿中 Nam、2-Py、4-Py 各含量を測定した⁶⁾。尿中 MNA 含量を HPLC 法で測定した⁷⁾。

血漿 FA 濃度の測定には、*Lactobacillus plantarum*, ATCC 8014 を用いた微生物学的定量法に血漿を供した⁸⁾。尿中 FA 量も同様に尿を微生物学的定量法に供した⁸⁾。

5. 統計処理

数値はすべて平均 ± 標準偏差 (SD) で表した。計算には GraphPad Software 社 (San Diego, CA, USA) の GraphPad Prism 4 を使用した。

C. 結果

1. 対象者の特徴

年齢は 64.9 ± 12.2 歳、BMI は 22.5 ± 2.5 kg/

m²であった。日本人のGFR推算式⁹⁾を用いて糸球体ろ過量を算出した。各病期におけるGFRは、病期3 (n=6) 44.4 ± 6.0 ml/min/1.73 m², 病期4 (n=14) 20.3 ± 4.0 ml/min/1.73 m², 病期5 (n=16) 10.1 ± 2.5 ml/min/1.73 m², 平均GFRは19.8 ± 12.7 ml/min/1.73 m²であった。

臨床検査成績は、BUN/Cr比は13.4 ± 5.8で低蛋白食事療法の遵守度は低かった。血清中の総蛋白質 (TP) は7.1 ± 0.4g/dL, Albは4.1 ± 0.3g/dLとたんぱく質の栄養障害は認められなかった。ヘモグロビン (Hb) は10.9 ± 2.0 g/dL, ヘマトクリット (Ht) は33.7 ± 4.4%と貧血の傾向を認めた。24時間蓄尿から算出した蛋白摂取量は41.8 ± 14.7 g/day, 食塩摂取量は6.8 ± 2.9 g/dayであった (表1)。

2. 食事摂取量調査

表2に栄養素摂取量を示した。医師から指示された栄養量は、標準体重あたりエネルギー 31.7 ± 2.8 kcal/kg/day, たんぱく質 0.7 ± 0.1 g/kg/day, 食塩 6~7 g/dayと緩やかな食事制限の指示であった。食事調査から算出した栄養素摂取量は、エネルギー 30 ± 5 kcal/kg/day, たんぱく質 0.8 ± 0.2 g/kg/day, 食塩 5.7 ± 1.9 g/dayであった。

3. ビタミン摂取量と血中・尿中ビタミン排泄量

各種ビタミン摂取量と尿中ビタミン排泄量および血中ビタミン濃度の関係を図1に示した。

D. 健康危機情報

特記する情報なし

E. 研究発表

1. 発表論文

なし

2. 学会発表

15th international Congress of Dietetics
September, 8~11, 2008.

F. 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

G. 引用文献

1. 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—五訂日本食品標準成分表—大蔵印刷局, 東京, 2000.
2. 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.
3. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi, K. New metabolites of riboflavin appear in human urine. *J Biol Chem* (1983) 258, 5623-8.
4. 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.
5. Gregory JF 3rd, Kirk JR. Determination of urinary 4-pyridoxic acid using high

performance liquid chromatography.

Am J Clin Nutr (1979) 32, 879-83.

6. Shibata K, Kawada T, Iwai K.
Simultaneous micro-determination of
nicotinamide and its major metabolites,
N-methyl-2-pyridone-5-carboxamide
and *N*-methyl-3-pyridone-4-
carboxamide, by high-performance
liquid chromatography. *J Chromatogr*
(1988) 424, 23-8.
7. 柴田克己. 高速液体クロマトグラフィー
による尿中 *N*-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.
8. 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.
9. (社) 日本腎臓学会編, CKD 診療ガイド,
東京医学社, 2007.

表 1. 対象者の特徴

	男性 23・女性 13
性別	男性 23・女性 13
年齢 (歳)	64.9 ± 12.2
身長 (cm)	158.6 ± 8.6
体重 (kg)	56.7 ± 8.0
BMI (kg/m ²)	22.5 ± 2.5
eGFR (ml/min/1.73 m ²) ¹	19.8 ± 12.7
病期 3	44.4 ± 6.0 (n= 6)
病期 4	20.3 ± 4.0 (n=14)
病期 5	10.1 ± 2.5 (n=16)
I/Cr	0.4 ± 0.2
BUN/Cr	13.4 ± 5.8
血中総タンパク (g/dL)	7.1 ± 0.4
血中アルブミン (g/dL)	4.1 ± 0.3
Ht (%)	33.7 ± 4.4
Hb (g/dL)	10.9 ± 2.0
K (mEq/L)	4.9 ± 0.7
Ca (mg/dL)	5.7 ± 2.1
IP (mg/dL)	3.8 ± 0.8
蛋白摂取量 (g/day) ²	41.8 ± 14.7
食塩摂取量 (g/day) ³	6.8 ± 2.9

それぞれの値は平均 ± 標準偏差を示す。

¹ eGFR 男 = $194 \times \text{Scr}^{-1.094} \times \text{Age}^{-0.287}$ 女 = $\text{GFR}(\text{男}) \times 0.739$

² 蛋白摂取量 = [尿中尿素窒素量 (g/day) + 0.031 × 現体重 (kg)] × 6.25

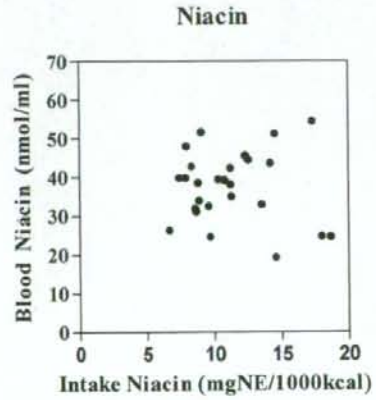
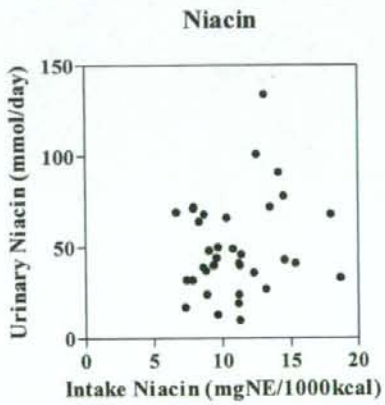
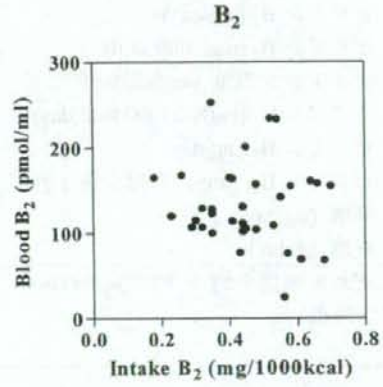
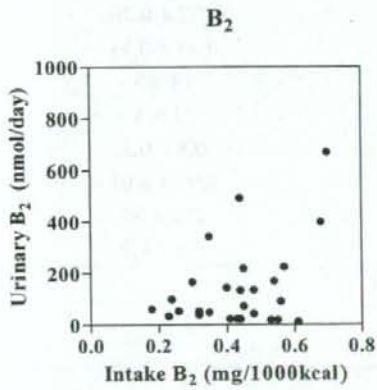
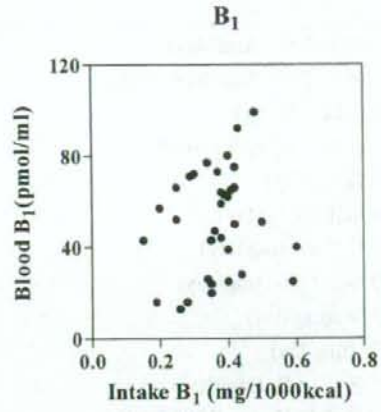
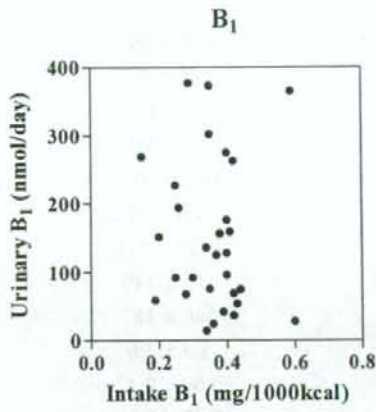
³ 食塩摂取量 (g/day) = 尿中 Na 排泄量 (mEq/L) × (尿量/17)

表 2. 栄養素摂取量

エネルギー (kcal/day)	1638 ± 291
エネルギー (kcal/TBW [*] /day)	30 ± 5
たんぱく質 (g)	43.3 ± 12.1
たんぱく質 (g/kg [*] /day)	0.8 ± 0.2
脂質 (g/day)	48.0 ± 10.7
炭水化物 (g/day)	247.8 ± 62.2
カリウム (mg/day)	1727 ± 514
カルシウム (mg/day)	352 ± 149
リン (mg/day)	660 ± 182
鉄 (mg/day)	5.4 ± 2.6
ビタミン B ₁ (mg/day)	0.60 ± 0.17
ビタミン B ₁ (mg/1000 kcal)	0.37 ± 0.10
ビタミン B ₂ (mg/day)	0.72 ± 0.26
ビタミン B ₂ (mg/1000 kcal)	0.44 ± 0.13
ナイアシン当量 (mgNE/day)	18 ± 5
ナイアシン (mgNE/1000 kcal/day)	11 ± 3
ビタミン B ₆ (mg/day)	0.8 ± 0.3
ビタミン B ₆ (mg/たんぱく質 1 g)	0.02 ± 0.01
葉酸 (μg/day)	229 ± 90
食塩 (g/day)	5.7 ± 1.9

それぞれの値は平均 ± 標準偏差はエネルギー比を示す。

* 標準体重



次頁へ続く

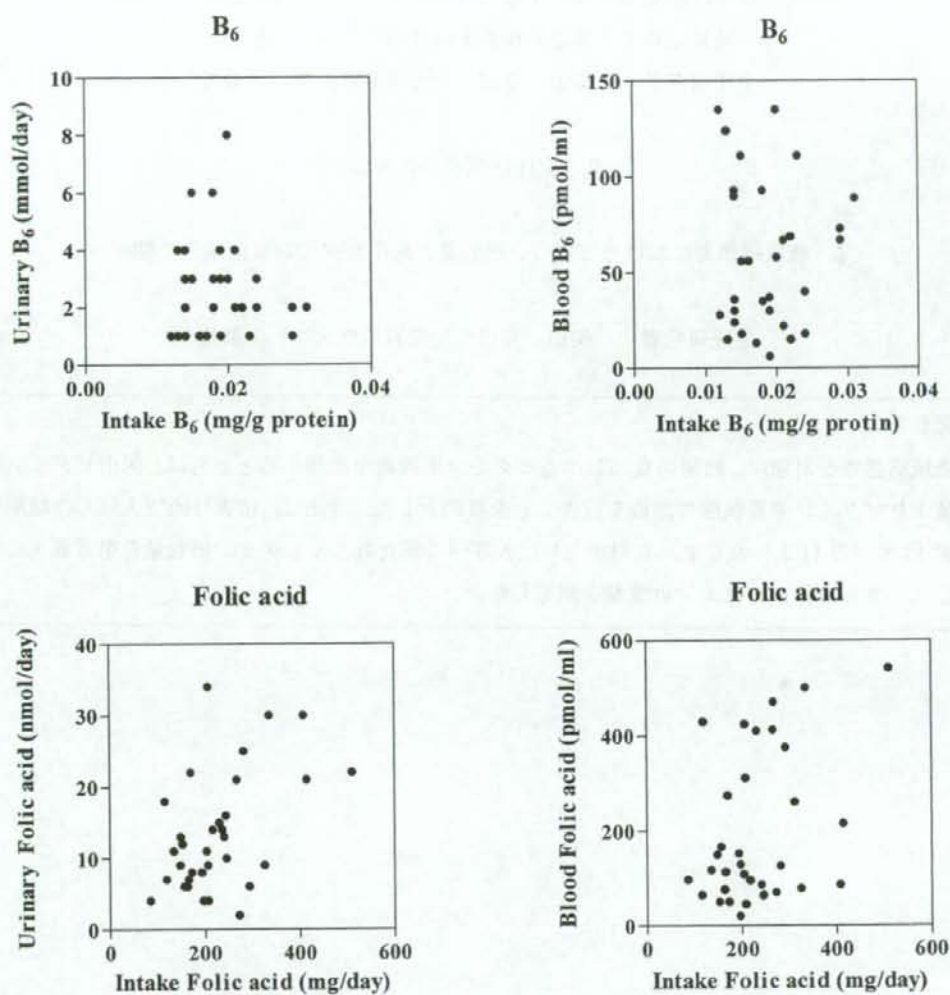


図 1. ビタミン摂取量と尿中ビタミン排泄量および血中濃度との関係

平成 20 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. 糖尿病患者におけるビタミン摂取量と尿中ビタミン排泄量との関係

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

糖尿病患者を対象に、糖尿病食におけるビタミン摂取量を把握するとともに、尿中ビタミン排泄量よりビタミン栄養状態の評価を行うことを目的とした。方法は、精査目的で入院した糖尿病患者 13 名（男 11 名、女 2 名）を対象とし、入院中の喫食量よりビタミン摂取量を患者個々に算出した。さらに尿中ビタミン排泄量を測定した。

A. 目的

糖尿病患者の食事療法において、ビタミンなどの微量栄養素は、健康な人と同じく1日の所要量を摂取することとされており¹⁾、明確に指示量などは示されていない。通常の経口摂取をしていれば、欠乏状態に陥ることはないと一般的には考えられている。一方で糖尿病患者では酸化ストレス亢進状態であり^{2,3,4)}、合併症予防に高用量の抗酸化ビタミン投与が有効であるとの報告がなされている⁵⁾。また、糖尿病患者では血管合併症を有するものが多く、血中ホモシステイン濃度が高値であることより⁶⁾、その補酵素として関与するビタミン B₆、B₁₂、葉酸が注目されている。最近では、2型糖尿病患者においては、尿中にチアミンが多く排泄されるために、血中チアミン濃度が低値を示すことが報告されている⁷⁾。これより、糖尿病患者におけるビタミン体内動態について把握することは、糖尿病進行抑制及び合併症予防にビタミン付加を設ける判断材料として非常に重要であると考えられる。しかし、現在までに、糖尿病患者におけるビタミン体内動態については明らかにはされていない。

本研究では、病院で提供されている糖尿病食におけるビタミン摂取量を把握するとともに、ビタミン栄養状態を鋭敏に反映する尿中ビタミン排泄量を指標とし、糖尿病患者におけるビタミン栄養状態についてその実態を把握することを目的とした。

B. 実験方法

1. 被験者

精査目的で入院した患者で糖尿病患者 13名 (男 11名, 女 2名) を対象とした。なお本研究は滋賀医科大学付属病院倫理審査委員

会において承認を得ており、患者には本研究についての主旨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. ビタミン摂取量

喫食量を知るために、独自に食事記録用紙を作成した。これは、献立名が記載されたものに、食べた量を0~10で記入するよう作成したもので、患者本人に摂取した量の記入を依頼した。入院当日を Day 0 とし、Day 1~Day 7 までの1週間、患者にこの食事記録用紙を配布した。栄養素摂取量は、五訂日本食品標準成分表に基づいた解析ソフトにて算出したものに、上記の方法で算出した喫食率を乗じ、さらに7日間 (Day 1~Day 7) の値を平均したものを栄養素摂取量とした。

3. 24時間蓄尿

入院6日目 (Day 7) 2回目の尿から入院7日目 (Day 8) 起床後1回目までの尿を採取し、これを24時間尿とした。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し (後述)、使用するまで-20℃で保存した。

4. 分析方法

尿中チアミン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 による分析に供した⁸⁾。

尿中リボフラビン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 による分析に供した⁹⁾。

尿中 4-PIC 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 による分析に供した¹⁰⁾。

尿中総ニコチンアミド代謝産物量はニコチンアミド、N¹-メチルニコチンアミド (MNA)、N¹-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド (2-Py)、N¹-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、尿中ニコチンアミド、2-Py、4-Py 各含量を測定とした¹¹⁾。また、尿中 MNA 含量を HPLC 法で測定した¹²⁾。

尿中パントテン酸量を測定するために、*Lactobacillus plantarum*, ATCC 8014 を用いた微生物学的定量法に尿を供した¹³⁾。

尿中葉酸量を測定するために、尿 9 mL に 1 M アスコルビン酸溶液を 1 mL 加えて安定化した。*Lactobacillus rhamnosus*, ATCC 2733 を用いた微生物学的定量法にこの尿を供した¹⁴⁾。

尿中 α -トコフェロール代謝物である 2,5,7,8-テトラメチル-2 (2'-カルボキシエチル)-6-ヒドロキシクロマン (α -CEHC) の測定は、尿 1 mL に β -glucuronidase を加え、抱合体を加水分解させた後、エーテル抽出し HPLC による分析に供した¹⁵⁾。

5. 統計処理

データは平均値 \pm 標準偏差で表した。グラフは、GraphPad Software 社 (San Diego, CA, USA) の GraphPad Prism 4 を使用した。

C. 結果

対象となる糖尿病患者 13 名の年齢は 65.1 \pm 14.1 歳、BMI は 24.1 \pm 5.6、糖尿病罹患歴(年)は 18.6 \pm 11.8 年、HbA1c は 8.8 \pm 1.9% であった。対象者における摂取量は、ビタミン B₁ が 0.80 \pm 0.09 mg、ビタミン B₂ が 0.98 \pm 0.10 mg、ビタミン B₆ が 1.2 \pm 0.1 mg、ナイアシンが 13.4 \pm 1.33 mgNE、パントテン酸が 5.38 \pm 0.49 mg、葉酸 345 \pm 22 μ g、ビタミン E が 6.3 \pm 1.0 mg であった。なお、ビタミン B₁、B₂、

ナイアシンに関しては、いずれもエネルギー代謝に深く関与する生化学的根拠があるビタミンであることより、グラフでは、摂取エネルギー 1000 kcal 当たりの摂取量を用いた。また、ビタミン B₆ に関しては、たんぱく質の代謝に深く関与するビタミンであることより、グラフでは摂取たんぱく質 1 g 当たりの摂取量を用いた。

ビタミン尿中排泄量については、ビタミン B₁ が 277.0 \pm 283.5 nmol/day、ビタミン B₂ が 518.4 \pm 369.5 nmol/day、ビタミン B₆ が 1.2 \pm 0.1 μ mol/day、ナイアシンが 70.8 \pm 40.3 μ mol/day、パントテン酸が 12.7 \pm 5.6 μ mol/day、葉酸が 19.5 \pm 15.3 nmol/day、ビタミン E が 1.03 \pm 0.73 μ mol/day であった。

D. 健康危機情報

特記する情報なし

E. 研究発表

1. 発表論文

なし

2. 学会発表

今井絵理、岩川裕美、福渡努、荒木信一、福井富穂、柴田克己、柏木厚典。第 6 回 日本栄養改善学会近畿支部学術総会 (西宮市民会館) 2007 年 12 月 9 日 (日)

F. 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

G. 引用文献

1. 糖尿病食事療法のための食品交換表.
第6版 日本糖尿病学会 (編) 文光堂
2. Sakurai T, Tsuchiya S Superoxide production from nonenzymatically glycosylated protein. *FEBS Lett* (1988) 236 (2), 406-10.
3. Lapolla A, Piarulli F, Sartore G, Ceriello A, Ragazzi E, Reitano R, Baccarin L, Laverda B, Fedele D Advanced glycation end products and antioxidant status in type 2 diabetic patients with and without peripheral artery disease. *Diabetes Care* (2007) 30(3), 670-6.
4. Sundaram RK, Bhaskar A, Vijayalingam S, Viswanathan M, Mohan R, Shanmugasundaram KR. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. *Clin Sci (Lond)* (1996) 90 (4), 255-60.
5. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ. Randomised controlled trials of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet* (1996) 347, 781-786.
6. Yvo M, Melina R, Marco T, Joseph S. Fasting and post-methionine homocysteine levels in NIDDM. Determinants and correlations with retinopathy, albuminuria, and cardiovascular disease. *Diabetes Care* (1999) 22, 125-132.
7. Thornalley PJ, Babaei-Jadidi R, Al Ali H, Rabbani N, Antonysunil A, Larkin J, Ahmed A, Rayman G, Bodmer CW. High prevalence of low plasma thiamine concentration in diabetes linked to a marker of vascular disease. *Diabetologia* (2007) 50 (10), 2164-70.
8. 福渡努, 鈴木千絵, 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.
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 3rd, Kirk JR. Determination of urinary 4-pyridoxic acid using high performance liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* (1979) 32, 879-83.
11. Shibata K, Kawada T, 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* (1988) 424, 23-8.
12. 柴田克己. 高速液体クロマトグラフィーによる尿中 *N*¹-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.
13. Skeggs HR, Wright LD. The use of *Lactobacillus arabinosus* in the microbiological determination of pantothenic acid. *J Biol Chem* (1944) 156, 21-6.
14. 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.