

- Intakes. *J Nutr Sci Vitaminol* (2005) 51, 319-28.
31. Wittwer CT, Schweizer C, Pearson J, Song WO, Windham CT, Wyse BW, Hansen RG. Enzymes for liberation of pantothenic acid in blood: use of plasma pantotheinase. *Am J Clin Nutr* (1989) 50, 1072-78.
 32. Eissenstat BR, Wyse BW, Hansen RG. Pantothenic acid status of adolescents. *Am J Clin Nutr* (1986) 44, 931-7.
 33. Stanbery SR, Snell EE, Spies TD. A note on an assay method for pantothenic acid in human blood. *J Biol Chem* (1940) 135, 353-4.
 34. Pearson PB. The Pantothenic acid content of the blood of mammalian. *J Biol Chem* (1941) 140, 423-6.
 35. Denko CW, Grundy WE, Porter JW. Blood levels in normal adults on a restricted dietary intake of B-complex vitamins and tryptophan. *Arch Biochem* (1947) 13, 481-4.
 36. 小柳達夫, 晴山信一, 菊池亮介, 鷹齋テル, 及川桂子, 赤沢典子. 学生の血中および尿中パントテン酸含量に及ぼすビタミン服用の影響. *ビタミン* (1969) 40, 27-31.
 37. 馬杉矣三. 小児および幼若動物におけるパントテン酸代謝 (I) 小児の血液および尿中パントテン酸量. *ビタミン* (1972) 46, 261-5.
 38. 石黒弘三. 婦人の血中パントテン酸量と加齢の関係について. *ビタミン* (1971) 44, 96-9.
 39. 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.
 40. Kerry E, Crispin S, Fox HM, Kies C. Nutritional status of preschool children. I. Dietary and biochemical findings. *Am J Clin Nutr* (1968) 21, 1274-9.
 41. Pace JK, Stier LB, Taylor DD, Goodman PS. Metabolic patterns in preadolescent children. 5. Intake and urinary excretion of pantothenic acid and of folic acid. *J Nutr* (1961) 74, 345-51.
 42. Fox HM, Linkswiler H. Pantothenic acid excretion on three levels of intake. *J Nutr* (1961) 75, 451-4.
 43. Fitzpatrick J, Tompsett SL. The excretion of riboflavin, biotin, Pantothenic acid, and nicotinic acid derivatives by normals. *J Clin Path* (1950) 3, 69-71.
 44. Schmidt V. The excretion of Pantothenic acid in the urine in young and old individuals. *J Gerontol* (1951) 6, 132-4.
 45. Srinivasan V, Christensen N, Wyse BW, Hansen RG. Pantothenic acid nutritional status in the elderly—institutionalized and noninstitutionalized. *Am J Clin Nutr* (1981) 34, 1736-42.
 46. Hatano M. Microbiological assay of Pantothenic acid in blood and urine. *J Vitaminol* (1962) 8, 134-42.
 47. 植嶋達之. 肝障害時におけるパントテン酸代謝. (I) 健康人ならびに肝疾患患者の尿パントテン酸排泄量について. *ビタミン* (1957) 10, 108.
 48. 山口順. 腸内細菌によるパントテン酸の合成とセルロース摂取の影響. *ビタミン*

(1959) 15, 39-43.

49. 福渡努, 三木啓子, 東野勲, 柴田克己.
パントテン酸前駆体の投与が幼若ラットの
の成長におよぼす影響. ビタミン (2009)
83, 印刷中.

表 1. 日本人の母乳中のパントテン酸含量の比較

文献	検体数	パントテン酸含量 (mg/L ± SD)	備考
渡邊ら ¹⁶⁾	78	5.3 ± 1.4	1~5 か月乳
	43	5.8 ± 1.4	1~2 か月乳
	35	4.7 ± 1.2	3~5 か月乳
渡邊ら ¹⁷⁾	25	6.9 ± 2.8	2~5 か月乳
柴田ら ¹⁸⁾	259	7.0 ± 2.5	0~5 か月乳

表 2. 胃チューブを利用して被験者に与えた食事²⁰⁾

食事組成	
しょ糖	290 g
コーンスターチ	75 g
精製カゼイン	125 g
L-シスチン	0.75 g
コーン油	90 g
ビタミン類	
ビタミン A	5000 U
ビタミン D	500 U
チアミン	1.2 mg
リボフラビン	1.5 mg
ピリドキシン	210 mg
ビタミン B ₁₂	12 µg
ナイアシン	6 mg
アスコルビン酸	50 mg
ミネラル類	
二りん酸カルシウム	136 mg
乳酸カルシウム	326 mg
クエン酸鉄	30 g
硫酸マグネシウム	138 mg
りん酸水素二カリウム	240 mg
りん酸二水素ナトリウム	88 mg
塩化ナトリウム	4.25 g

表3. 実験食の投与期間と実験食中の総パントテン酸量¹⁾

期間 ^a	パントテン酸非添加食群 (mg/日)	パントテン酸添加食群 (mg/日)
I ^b	6.45 (4.85~8.16)	7.62 (6.33~8.46)
II~X	なし ^c	10.00
XI	100.00	100.00
XII ^b	6.86 (1.97~12.36)	8.32 (5.74~9.57)

^a1週間単位

^b自由摂取食の計算値

^cパントテン酸欠食を与え、パントテン酸添加はなし

表4. 実験食の組成¹⁾

	量 (g)	エネルギー (kcal)
ビタミンフリーカゼイン	102.5	352
小麦デンプン	140.0	508
脂肪: クッキングファット ^a	105.0	928
テーブルファット ^b	21.3	188
ショ糖	214.7	836
ミネラル類 ^c		
ビタミン類 (パントテン酸欠) ^d		
総量	583.5	2,812

^aクッキングファットとは牛脂, 豚脂, 水素添加油脂, 綿実油である.

^bテーブルファットとはバターとマーガリンである.

^cR Leverton, M Gram, M Chaloupka, E Brodousky, AL Mithcell. *J Nutr* (1956) 58, 59.

^dチアミン, 3.0 mg; リボフラビン, 2.5 mg; ビリドキシン, 1.0 mg; ビタミン B₁₂, 20 µg; ニコチンアミド, 20.0 mg; 葉酸, 100 µg; アスコルビン酸, 50 mg; ビタミン A, 5,000 IU; ビタミン D, 500 IU.

表 5. 実験期間中の尿中パントテン酸排泄量 (mg/日) ¹¹⁾

	期間					
	I	IV	VII	X	XI Day 1	XII Day 7
非添加群	3.05 ± 1.20	1.86 ± 0.39	1.07 ± 0.45	0.79 ± 0.17	36.46 ± 11.64	59.40 ± 19.78
添加群	3.95 ± 0.23	4.42 ± 1.07	5.47 ± 0.64	5.84 ± 1.33	52.14 ± 12.50	62.19 ± 28.13

表 6. 実験期間中の血中総パントテン酸濃度 (nmol/mL) ¹¹⁾

	期間					
	I	IV	VII	X	XI Day 1	XII Day 7
非添加群	1.95 ± 0.41	1.41 ± 0.14	1.45 ± 0.37	1.52 ± 0.17	1.54 ± 0.14	2.76 ± 0.51
添加群	1.97 ± 0.34	1.73 ± 0.07	1.56 ± 0.07	1.81 ± 0.18	1.95 ± 0.37	2.70 ± 0.35

表7. パントテン酸の食事摂取基準 (mg/日)¹⁴⁾

性別 年齢	男性		女性	
	AI	UL	AI	UL
0～5 (月)	5	—	5	—
6～11 (月)	4	—	4	—
1～2 (歳)	3	—	3	—
3～5 (歳)	5	—	4	—
6～7 (歳)	5	—	5	—
8～9 (歳)	6	—	5	—
10～11 (歳)	6	—	6	—
12～14 (歳)	7	—	6	—
15～17 (歳)	7	—	5	—
18～29 (歳)	6	500	5	400
30～49 (歳)	5	500	5	400
50～69 (歳)	6	500	5	400
70 以上 (歳)	6	500	5	400
妊婦 (付加量)	/		+1	—
授乳婦 (付加量)			+1	—

表8. 水洗による白米中ビタミン含量の減少 (100 g 中)²⁹⁾

水洗回数	B ₁ (μg)	B ₂ (μg)	総パントテン酸 (mg)
-	45.5	42.4	0.70
1	32.5	23.2	0.32
2	32.5	23.2	0.29
3	4.8	23.2	0.28
7	2.8	22.0	0.25

表 9. ヒト血液中の総パントテン酸含量 (値は平均値 ± 標準偏差)

文献	血漿中のパントテン酸含量 (nmol/mL)
Stanbery ら ³³⁾	1.03
Pearson ³⁴⁾	1.57 ± 0.26
Denko ら ³⁵⁾	パントテン酸摂取量が 4.7 mg/日 : 0.27~1.00 (平均値は 0.55) パントテン酸摂取量が 1.1 mg/日 : 0.27~0.82 (平均値は 0.46)
小柳ら ³⁶⁾	0.26 ± 0.23 (n = 20) : パントテン酸摂取量 2.6 mg/日の岩手大学寮生
血清中のパントテン酸含量 (nmol/mL)	
斉藤ら ²⁹⁾	岩手県室根村 : 血圧 150 mmHg 以上 (平均年齢 58.8 歳) 0.58 ± 0.03 (n = 39) 血圧 149 mmHg 以下 (平均年齢 53.8 歳) 0.68 ± 0.28 (n = 25) 岩手県花巻地区 : 血圧 150 mmHg 以上 (平均年齢 56.5 歳) 0.40 ± 0.20 (n = 51) 平均パントテン酸摂取量 3.14 mg/日. 血圧 149 mmHg 以下 (平均年齢 44.0 歳) 0.54 ± 0.19 (n = 47) 平均パントテン酸摂取量 4.27 mg/day 花巻地区内 : 台温泉 (平均年齢 49.4 歳) 0.47 ± 0.19 (n = 31) 糠塚 (平均年齢 52.2 歳) 0.49 ± 0.20 (n = 35) 小瀬川 (平均年齢 52.2 歳) 0.41 ± 0.19 (n = 30)

表 10. 妊婦および授乳婦の血中および血漿総パントテン酸濃度²³⁾

	総パントテン酸濃度 (nmol/mL)			
	妊娠後期	出産 2 週間後	出産 3 ヶ月後	平均
妊婦・授乳婦	(n = 26)	(n = 23)	(n = 23)	
全血	1.85 ± 0.07†	2.03 ± 0.08†	2.06 ± 0.08†	1.98 ± 0.05†
血漿	0.50 ± 0.02	0.52 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.49 ± 0.01
非妊娠女性	(n = 17)	(n = 15)	(n = 15)	
全血	2.44 ± 0.09	2.40 ± 0.09	2.36 ± 0.09	2.40 ± 0.05
血漿	0.54 ± 0.03	0.51 ± 0.03	0.47 ± 0.03	0.51 ± 0.02

値は平均 ± 標準偏差で示した。†非妊娠女性の値と有意に異なることを示す ($p < 0.05$)。

表 11. 乳幼児, 小児の血中パントテン酸濃度³⁷⁾

	総パントテン酸	遊離パントテン酸	例数
	(nmol/mL)	(nmol/mL)	
臍帯血	6.42 ± 2.00	1.76	5
新生児	4.11 ± 0.40	1.71	4
0~1 歳	2.26 ± 0.17	0.82	8
1~2 歳	1.81 ± 0.34	0.49	6
2~6 歳	1.42 ± 0.21	0.34	40
6~12 歳	1.45 ± 0.25	0.27	26
12~16 歳	1.30 ± 0.14	0.18	27
成人	1.23 ± 0.14	0.15	25

表 12. 年齢別血中パントテン酸濃度平均値³⁸⁾

区分	例数	遊離パントテン酸	結合型パントテン酸
		(nmol/mL)	(nmol/mL)
40~44 歳	39	0.44	4.40
45~49 歳	36	0.44	4.60
50~54 歳	23	0.49	4.01
55~59 歳	22	0.40	3.85
60~64 歳	23	0.45	3.56
65~69 歳	17	0.48	4.15
70~74 歳	18	0.36	3.49
75 歳以上	11	0.51	3.37

表 13. パントテン酸の尿中排泄量

著者	尿中排泄量
Hodges ら ²⁰⁾	約 4 mg/日
Fry ら ¹¹⁾	3.41 ± 1.02 mg/日. 9 週間のパントテン酸欠食により 0.79 ± 0.17 mg/日
Song ら ²²⁾	授乳婦 46 名: 4.68 ± 1.97 mg/日
Song ら ²³⁾	妊婦 23 名: 2.64 ± 0.14 mg/日, 非妊婦 15 名: 2.59 ± 0.17 mg/日
Kerry ら ⁴⁰⁾	裕福層の 3.5~5.5 歳 20 名: 3.36 ± 2.11 mg/日 貧困層の 3.5~5.5 歳 20 名: 1.74 ± 1.22 mg/日
Pace ら ⁴¹⁾	摂取量 4.49 ± 0.76 mg/日の 7~9 歳の少女 11 名: 2.85 ± 0.60 mg/日 摂取量 5.00 ± 0.82 mg/日の 7~9 歳の少女 11 名: 1.71 ± 0.57 mg/日 摂取量 2.79 ± 0.33 mg/日の 7~9 歳の少女 11 名: 1.31 ± 0.28 mg/日
馬杉 ³⁷⁾	4~歳: 1.86 mg/日, 6~歳: 1.95 mg/日, 8~歳: 2.14 mg/日, 10~歳: 3.02 mg/日, 12~歳: 2.02 mg/日, 14~16 歳: 2.76 mg/日
Denko ら ³⁵⁾	日常食で 4.2~5.3 mg/日, 平均 4.7 mg の摂取量で 2.7~3.5 mg/日
Fox ら ⁴²⁾	6.7 ± 2.1 mg の摂取量で 3.9 ± 1.5 mg/日, 2.8 mg の摂取量で 3.2 ± 0.8 mg/日, 7.8 mg の摂取量で 4.5 ± 1.0 mg/日, 12.8 mg の摂取量で 5.6 ± 0.6 mg/日
Fitzpatrick ら ⁴³⁾	日常食で 2.5~9.6 mg/日
Schmidt ⁴⁴⁾	デンマーク人の日常食で 2~4 歳: 2.5 ± 0.7 mg/日, 16~45 歳: 2.7 ± 0.6 mg/日, 51~82 歳: 2.3 ± 0.6 mg/日 デンマーク人の日常食にパントテン酸 25 mg を付加すると 2~14 歳: 7.2 ± 1.1 mg/日, 16~45 歳: 7.1 ± 0.7 mg/日, 51~82 歳: 6.6 ± 1.1 mg/日
Srinivasan ら ⁴⁵⁾	5.8 ± 0.2 mg を摂取した平均 65 歳の老人で 3.9 ± 0.4 mg/g クレアチニン, 22.7 ± 6.4 mg を摂取した平均 65 歳の老人で 13.3 ± 3.8 mg/g クレアチニン
Eissenstat ら ³²⁾	4.14 ± 1.21 mg (2.17 ± 0.39 mg/1,000 kcal) を摂取した 13~17 歳女性 32 名で 4.49 ± 1.87 mg/g クレアチニン, 6.25 ± 2.07 mg (2.34 ± 0.42 mg/1,000 kcal) を摂取した 14~19 歳男性 25 名で 3.32 ± 1.33 mg/g クレアチニン
Hatano ⁴⁶⁾	成人で 11.86~26.00 μmol/日

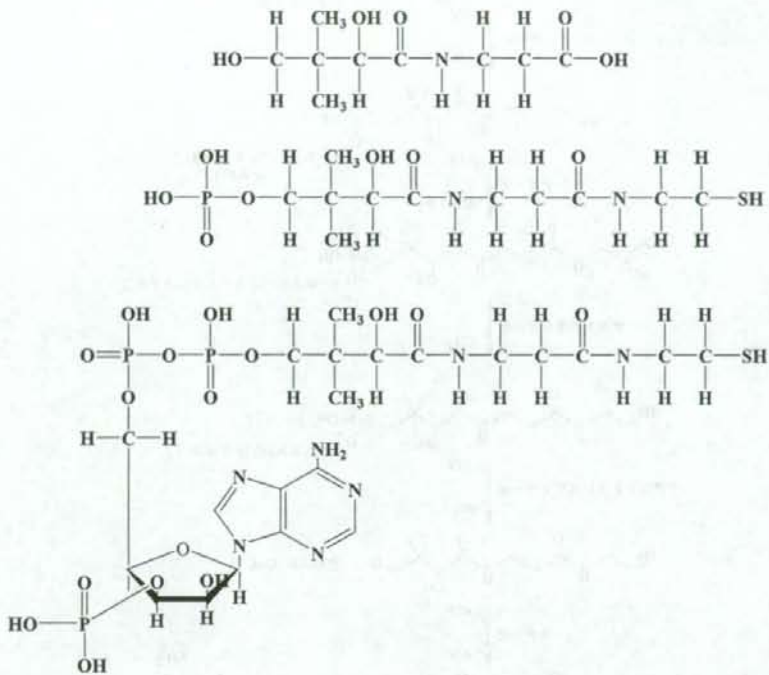


図1. パントテン酸 (分子量, $C_9H_{17}NO_5 = 219.2$), ホスホパンテテイン (分子量, $C_{11}H_{22}N_2O_7PS = 357.3$), コエンザイム A (分子量, $C_{21}H_{36}N_7O_{16}P_3S = 767.5$) の構造式

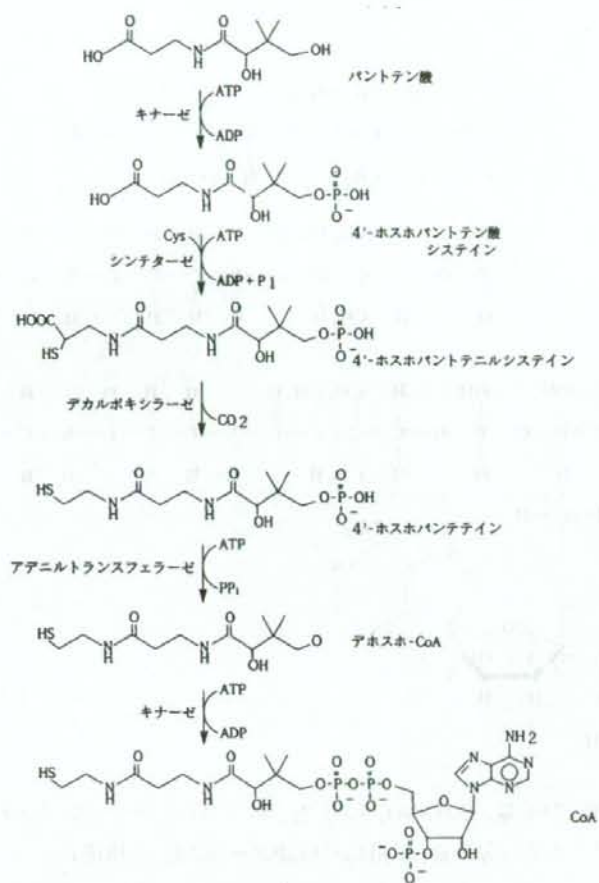


図2. パントテン酸から CoA の生合成経路

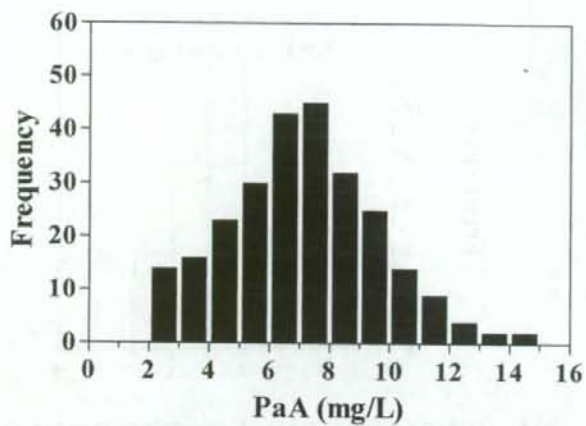


図3. 日本人母乳中のパントテン酸含量¹⁸⁾

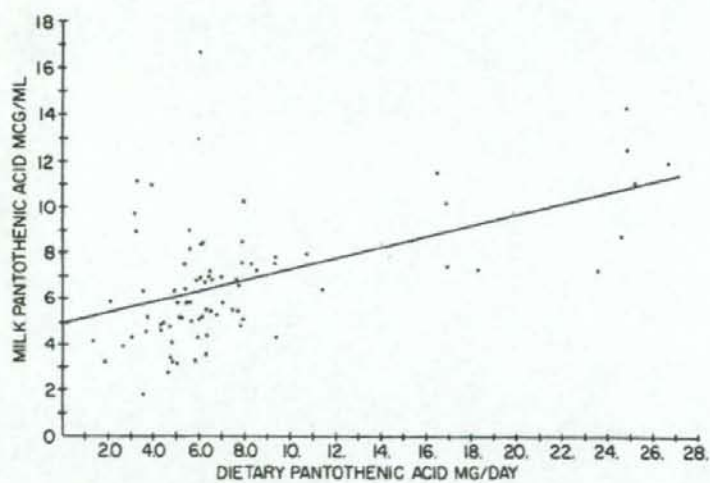


図4. ヒト母乳中の総パントテン酸濃度とパントテン酸摂取量との関係¹⁵⁾

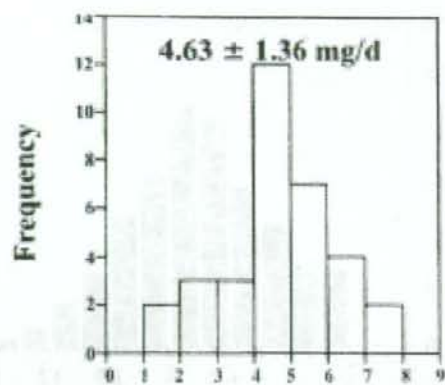


図5. 日本の女子学生のパントテン酸摂取量の分布¹³⁾

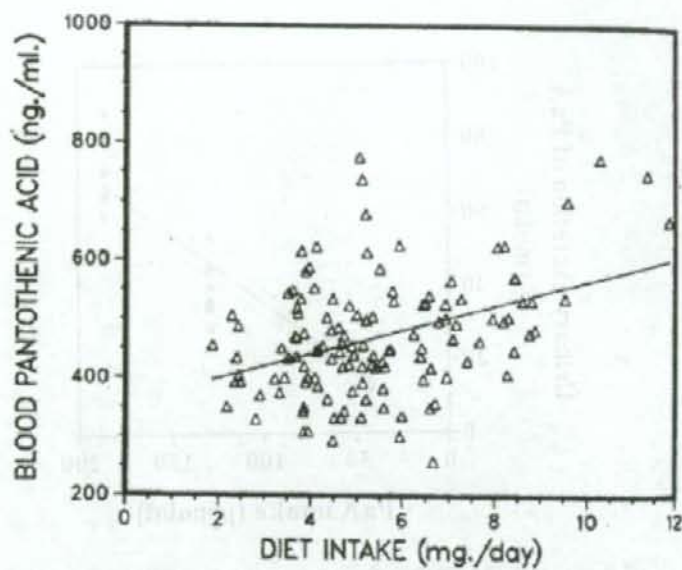


図 6. 血中総パントテン酸濃度とパントテン酸摂取量との関係²³⁾

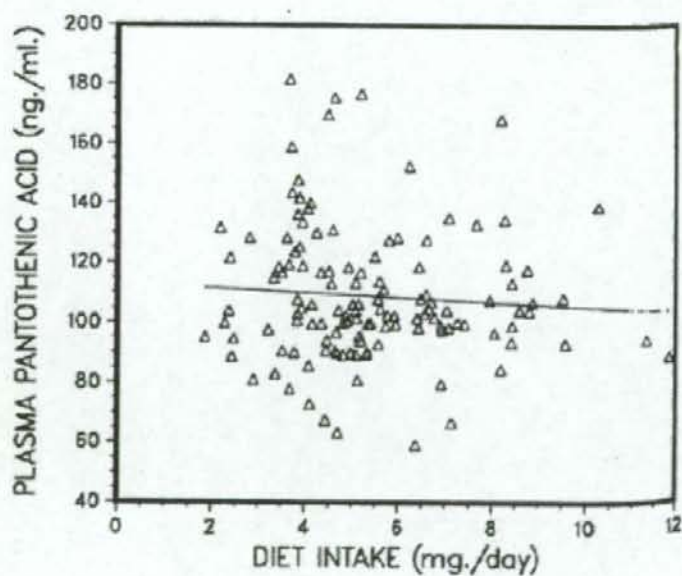


図 7. 血漿総パントテン酸濃度とパントテン酸摂取量との関係²³⁾

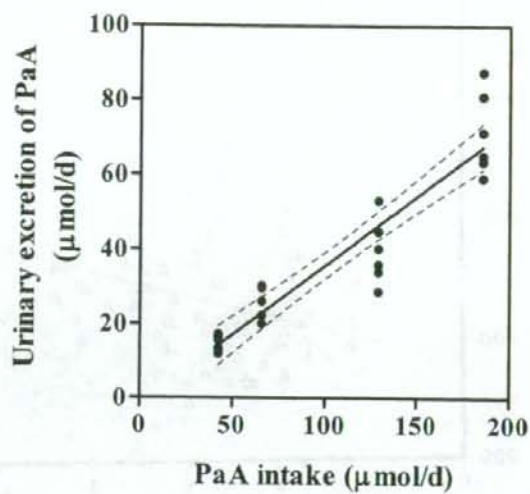


図 8. パントテン酸摂取量と尿中パントテン酸排泄量との関係³⁹⁾

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

10. ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおける ビタミン体内動態の解析

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

糖尿病患者では、血中抗酸化ビタミン濃度（ビタミン C, E）が低下することが知られている。しかし、血中濃度が低値を示す原因は明らかにはされていない。そこで、本研究ではストレプトゾトシン（STZ）誘発糖尿病ラットを用い、8種類の B 群ビタミンとビタミン E の体内動態について検討した。Wistar 系雄ラットにストレプトゾトシン（70 mg/kg/BW）を腹腔内投与し、2 週間後の血液および尿中ビタミン量の測定を行った。血中ビタミン濃度と 24 時間尿中ビタミン量より算出したビタミンクリアランス（ナイアシン除く）は、STZ ラットにおいて高値を示した。これより、STZ ラットでは、正常ラットに比して血中のビタミンが尿中により多く排泄されることが示され、糖尿病進展予防におけるビタミン付加の必要性が示唆された。

A. 目的

糖尿病患者では、血中ビタミンC、E濃度が低値を示すことが知られている^{1,2)}。また近年、糖尿病患者では腎臓でのチアミンクリアランス増加のために血中チアミン濃度が低下しており、チアミンの補給が有用であると示唆する報告がなされた³⁾。これは糖尿病患者におけるチアミンの潜在的な欠乏を示した最初の研究であるが、チアミンを除くその他のビタミンについては血中ビタミン濃度が低下するメカニズムについては明らかでない。チアミンと同様、血中ビタミン濃度が低値であるのは、尿中にビタミンが多く排泄されるためかもしれない。既に報告されているチアミン以外のビタミンにおいても尿中クリアランスが増大し、潜在的なビタミン欠乏が起こっている可能性がある。

本研究ではラットにストレプトゾトシンを投与し糖尿病を発症させ、血中および尿中ビタミン量より、ビタミンクリアランスを算出することを目的とした。

B. 実験方法

1. 動物飼育

本研究は、滋賀県立大学動物実験委員会の承認を受けた。本実験は、総理府の「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」及び滋賀県立大学実験動物委員会で承認を受けたものである。6週齢のWistar系雄ラットを日本クレア(株)より購入した。ラットは個別ケージで飼育し、飼料は20%カゼイン食(20%ビタミンフリーカゼイン、0.2%L-メチオニン、22.9%スクロース、45.9% α -コーンスターチ、5%コーンオイル、5%ビタミン混合、5%ミネラル混合(オリエンタル酵母工業株式会社)を自由摂取とし、水も自由摂取とした。

室温($22 \pm 2^\circ\text{C}$)、湿度($55 \pm 5\%$)、12時間の明暗サイクルが維持された飼育室にて飼育した。実験最終日(Day 27)の24時間尿(9時~9時)を集めた。尿は1Mの塩酸を1mL入れたコニカルビーカーに集めた。解剖時にEDTA入りの採血管に血液を採取し、全血、血漿を処理し、使用するまで -20°C で保存した。

2. 糖尿病ラットの作製

1週間の予備飼育後、ラットにストレプトゾトシン(STZ)(70 mg/kg/体重)(和光純薬株式会社)を腹腔内投与し、ストレプトゾトシン糖尿病ラットを作製した⁵⁾。そしてSTZラット作製1週間後に飽食状態での血糖値が300 mg/dL以上を示したラットをさらに2週間飼育し、糖尿病態ラットとして実験に使用した。なお、STZは0.1Mクエン酸にてpH 4.4に調整した生理食塩水に溶解し、使用した。対照群には生理食塩水(pH 4.4)を投与した。

3. ビタミンの測定方法

血中総チアミン濃度は、チアミン、TMP、TDPの合計とした。全血にトリクロロ酢酸を加えて除タンパクを行い、HPLCによる分析に供した⁶⁾。尿は、直接HPLCに注入して、分析に供した⁶⁾。

血中リボフラビン濃度は、リボフラビンFMN、FADをルミフラビンに光分解し、ルミフラビンを測定することにより総リボフラビン量とした。採血後、全血に水と硫酸を加えて熱処理を行った後、トリクロロ酢酸を加えて除タンパクした。遠心分離後の上清を得、この上清をアルカリ条件下で光照射し、これをHPLCによる分析に供した⁷⁾。尿は直接HPLCに注入し分析に供した⁷⁾。

血中ピリドキサールリン酸(PLP)濃度を測定するために、血漿にメタリン酸を加え除

タンパク質、HPLCによる分析に供した¹⁹⁾。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⁹⁾。

血漿ビタミンB₁₂濃度を求めるために、シアン化カリウム存在下で血漿中のビタミンB₁₂をシアノコバラミンに変換し、*Lactobacillus leichmanii*, ATCC 7830を用いた微生物学的定量法に供した¹⁰⁾。尿中ビタミンB₁₂量を求めるために、尿900 μLに180 μLの100 mM 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¹⁰⁾。

血中ニコチンアミド濃度を求めるために、全血にイソニコチンアミド溶液を加えてオートクレーブし、遠心分離後の上清を得、この上清をアルカリ中でエーテル抽出し、HPLCによる分析に供した¹¹⁾。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⁾。

血漿中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¹³⁾。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⁾。

血漿中ピオチン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¹⁴⁾。尿中ピオチン量を測定するために、尿を微生物学的定量法に供した¹⁴⁾。

血漿中葉酸濃度を測定するために、*Lactobacillus rhamnosus* ATCC 27773を用いた微生物学的定量法に血漿を供した¹⁵⁾。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 27773を用いた微生物学的定量法にこの尿を供した¹⁵⁾。

ビタミンEはα-トコフェロールとして表した。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¹⁶⁾。血漿トコフェロール量の測定は、玉井ら¹⁶⁾の方法に従いケン化法にて抽出を行い、蛍光検出器を装着したHPLCにて測定を行った。

4. ビタミンクリアランスの算出

ビタミンクリアランス(mL/min)は、24時間尿中ビタミン排泄量/{血中ビタミン濃度×1440(min)}から算出した。

5. 過酸化脂質の測定

血漿過酸化脂質は八木ら¹⁷⁾の蛍光法(TBA法)に従って測定し、脂質の過酸化に伴って生成するマロンジアルデヒドを測定し、チオバルビツール酸反応物(TBARS)として表した。

6. 血中グルコース、尿中グルコース、血中トリグリセライド、総コレステロールの測定

血漿中グルコース及びトリグリセライド、総コレステロール、尿中グルコース濃度は富士ドライケム ((株)富士フィルム) を用いて測定した。それぞれ、グルコースはグルコースオキシダーゼ、トリグリセライドはリポプロテインリパーゼ、総コレステロールはコレステロールオキシダーゼを用いた酵素法にて測定した。

7. 統計処理

データは平均値 \pm 標準偏差で表した。2群間の有意差検定は unpaired Student t-test によって行い、 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. 体重、飼料摂取量、臨床検査値、過酸化脂質値

Day 28 での STZ ラットの体重は、生理食塩水のみを投与した対照ラットと比較して減少した (図 1) が、飼料摂取量は増加した (図 1)。したがって、飼料効率は、STZ ラットが対照ラットに比べ約 3.6 倍低い値を示した。血中、尿中グルコース、血漿中トリグリセライド、血漿中総コレステロール濃度は、STZ ラットにおいてそれぞれ約 9.1 倍、66.5 倍、7.9 倍高く、高血糖に併せて脂質代謝異常であることも確認された。また、血中過酸化脂質値は STZ ラットにおいて有意に高値を示し、生体内で酸化ストレスが亢進していることが示唆された。

2. ビタミンクリアランス

血中ビタミン濃度と 24 時間尿中ビタミン排泄量よりビタミンクリアランスを算出し

た (図 2)。ビタミンクリアランス (mL/min) は、24 時間尿中のビタミン排泄量 / (血中ビタミン濃度 \times 1440) より算出した。これは尿中に排泄されるビタミンは、血液中のビタミンにして何 mL 分に相当するのかわを示す指標として使用した。ナイアシンを除く 8 種類のビタミンにおいて、STZ ラットが高値を示した (図 2)。STZ ラットの方が、約 3 倍から 21 倍ビタミンクリアランスが高いことが示された。つまり、STZ ラットでは、より多くの血中ビタミンが尿中に排泄されていることが明らかとなった。ナイアシンに関しては、両群間で差は認められなかった。

D. 考察

糖尿病における持続的高血糖状態では、酸化ストレスが亢進し、血中ビタミン濃度が低値を示すことが報告されている^{1,2)}。しかしながら、高血糖状態において血中ビタミン濃度が低下するメカニズムは明らかにはされていない。そこで、本研究ではストレプトゾトシンを投与した糖尿病ラットを作製し、血中及び尿中ビタミンを測定し、病態におけるビタミン体内動態について検討した。血中ビタミン濃度は、 B_6 に関しては、STZ ラットにおいて低値を示したが、その他のビタミンについては、2 群間で差は見られなかった (データには示していない)。STZ ラットにおいて血中ビタミン濃度が低値を示さなかった要因として、STZ ラットの飼料摂取量が対照群の 1.5 倍多いことに起因するものだと考えられた。

次に尿中ビタミン排泄量について検討した。健康人においては、尿中に排泄されるビ

タミン量が栄養指標として利用可能なことのデータが蓄積しはじめています。必要量を満たすことができないと、生体側は尿中に排泄されるべきビタミンを利用するために尿中ビタミン濃度は低下し始め、逆にサプリメントなどで過剰に摂取された場合には、速やかに尿中に排泄される。しかし、今回 STZ により糖尿病を誘発したラットの血中ビタミン濃度は、高値ではなかったにもかかわらず、尿には多くのビタミンが排泄されていた。この原因を明らかにするために、血中ビタミン濃度と尿中ビタミン排泄量よりビタミンクリアランスを算出し、検討した。ビタミンクリアランスは、ナイアシンを除き STZ ラットにおいて高値であった。これより STZ ラットでは、多くの血中ビタミンが尿中に排泄されていることが示された。糖尿病が進行すると腎肥大と糸球体過剰濾過が起こる。実際、STZ ラットの腎臓重量は、対照ラットの 6.8 ± 3.0 (g/kg BW) に対し、STZ ラットでは 18.4 ± 5.8 (g/kg BW) と約 3 倍増であり、腎機能が低下していることが考えられた。STZ ラットにおけるビタミンクリアランスの増加は、高血糖状態により腎機能が低下し、本来腎臓で再吸収されるであろうビタミンが尿中に過剰に排泄されたためであると示唆された。また、STZ ラットではビタミン体内プールが減少、つまりビタミンの生体内保持能が低下するために、尿中に多く排泄されたのではないかと考えられる。

以上より、STZ を投与した高血糖ラットでは、健常な状態とは異なり、血中ビタミン濃度が高値ではないにもかかわらず、尿中に多く排泄されることが確認された。これは、ク

リアランスを求めることによって血中ビタミンが尿中に多く排泄されることによるものだと明らかにされた。この STZ 誘発糖尿病ラットにおけるビタミンクリアランスの増加は、ナイアシンを除く 8 種類のビタミン全てにおいて確認された。高血糖状態である糖尿病患者においても同様にクリアランスが高値であることが考えられ、糖尿病進展におけるビタミン付加の必要性が示唆された。

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

今井絵理, 福渡努, 柴田克己 第 47 回 日本栄養・食糧学会近畿支部大会 (奈良女子大学) 2008 年 10 月 25 日 (土) ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおけるビタミン体内動態の解析

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