

H. 引用文献

1. Dinçer Y, Alademir Z, Ilkova H, Akçay T. Susceptibility of glutathione and glutathione-related antioxidant activity to hydrogen peroxide in patients with type 2 diabetes: effect of glycemic control. *Clin Biochem.* (2002) 35(4),297-3012.
2. Vadde R, Rama J. Evaluation of oxidative stress in insulin dependent diabetes mellitus patients. *Diagnostic pathology* (2007) 2, 22
3. 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.
4. 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.
5. K Shibata. Tryptophan-NAD metabolism in streptozotocin diabetic rats. *Agric.Biol. Chem.*(1988) 52(8), 1993-1998.
6. 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.
7. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi, K. New metabolites of riboflavin appear in human urine. *J Biol Chem* (1983) 258, 5623-8.
8. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 17th ed., (2000) AOAC Inc, Arlington, VA, USA, 55-7.
9. Gregory JF 3rd, Kirk JR. Determination of urinary 4-pyridoxic acid using high performance liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* (1979) 32, 879-83.
10. Watanabe F, Abe K, Katsura H, Takenaka S, Mazumder ZH, Yamaji R, Ebara S, Fujita T, Tanimori S, Kirihaata M, Nakano Y. Biological activity of hydroxo-vitamin B₁₂ degradation product formed during microwave heating. *J Agric Food Chem* (1998) 46, 5177-80.
11. 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.
12. 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.
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. 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. 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.

16. Yoshikawa S, Morinobu T, Hamamura K, Hirahara F, Iwamoto T, Tamai, H. The effect of g-tocopherol administration on α -tocopherol levels and metabolism in humans. *Eur J Clin Nutr* (2005) 59, 900-5.
17. Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med* (1976) 15(2), 212-6.

表 1. STZ 糖尿病ラットにおける体重・飼料摂取量及び臨床検査値

	Control (n=5)	STZ (n=11)
Body weight gain (g)	186.94±3.78	80.2±7.30***
Total food intake (g)	430.44±7.56	675.82±9.53***
Food efficiency ratio	0.435±0.010	0.121±0.011***
Urine volume (mL/day)	13.2±0.8	302.9±9.6***
Urinary glucose (mg/dairy intake)	0.47±0.15	31.24±1.26***
Blood glucose (mg/dL)	93±42	849±256***
Plasma TG (mg/dL)	144±65	1142±435***
Plasma Total-cholesterol (mg/dL)	100±45	127±38
Urinary creatinine (mg/dL)	5.86±0.49	29.54±5.15***
TBARS (MDA nmol/mL)	4.74±0.05	9.02±0.67***

値は全て平均±標準誤差で表した。

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

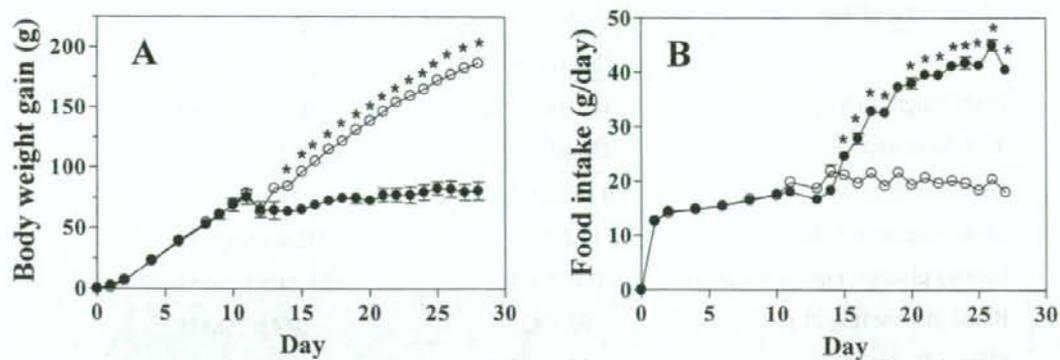
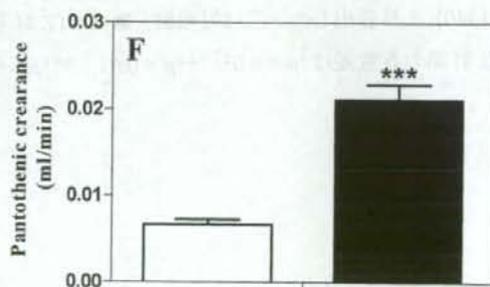
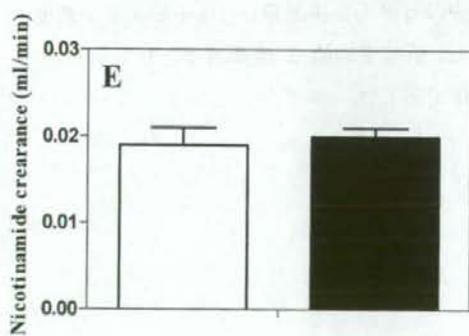
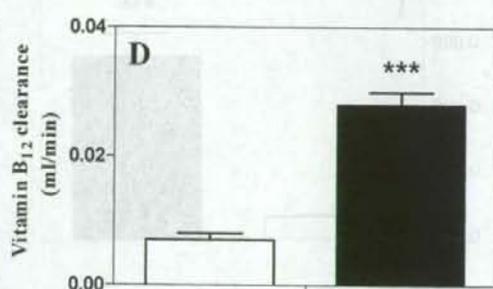
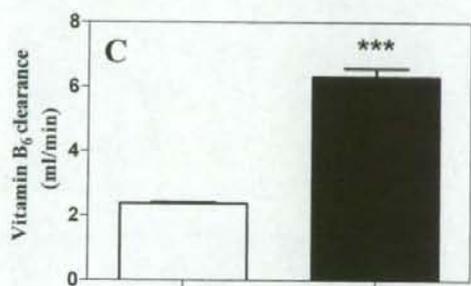
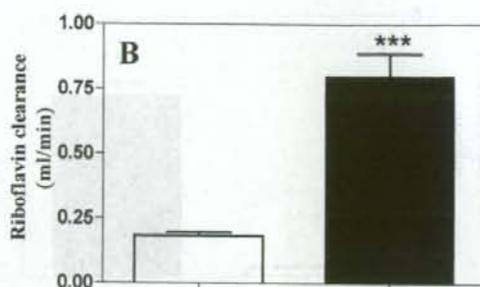
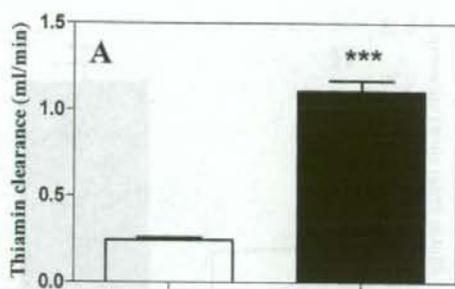


図1. STZラットにおける体重 (A) および飼料摂取量 (B)

対照群 (●), STZ群 (○), の値は平均値±標準誤差として示した. 購入後, 予備飼育を行い, 11日目~12日目にかけて16時間の絶食をし, 12日目にSTZ (70mg/kg BW) を投与した.

*はコントロールラットとSTZを投与したラットとの間に有意差があることを示す ($p < 0.05$).



次項へ続く

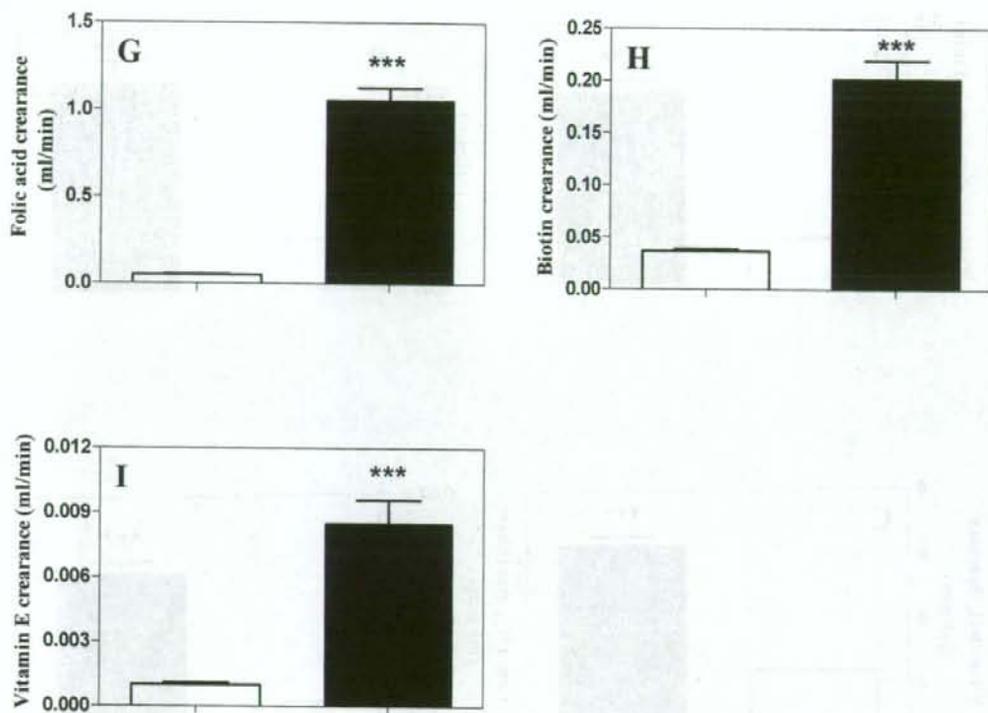


図2. STZにおけるビタミンB₁ (A), ビタミンB₂ (B), ビタミンB₆ (C), ビタミンB₁₂ (D), ナイアシン (E), パントテン酸 (F), 葉酸 (G), ビオチン (H), ビタミンE (I) クリアランス

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 × 1440) より算出した。□は対照群, ■はSTZ 群を表し, 値は平均値 ± 標準誤差として示した。2 群間の有意差は * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ で示した。

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

11. 絶食がラットの水溶性ビタミン動態におよぼす影響

—絶食日数による尿中、血中、肝臓中、筋肉中ビタミン量の推移—

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

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」において、絶食による尿中水溶性ビタミン排泄量の変動について調べた。水溶性ビタミンによって尿中排泄量の変動が異なったことから、絶食時の水溶性ビタミン動態がそれぞれの水溶性ビタミンによって異なる可能性が考えられた。本研究では、絶食が水溶性ビタミン動態におよぼす影響を明らかにするため、1～3 日間絶食させたラットにおける尿中水溶性ビタミン排泄量、血中水溶性ビタミン濃度、肝水溶性ビタミン量、筋水溶性ビタミン濃度を調べた。ビオチンを除く全ての水溶性ビタミンで尿中排泄量の減少が認められたが、パントテン酸は減少後に増加した。ビタミン B₁、ビタミン B₆、葉酸の血中濃度は絶食 3～4 日目に減少したが、他の血中水溶性ビタミン濃度は維持もしくは増加した。パントテン酸を除き、肝水溶性ビタミン量の減少が認められた。筋ビタミン濃度は、ビタミン B₁₂ と葉酸でのみ減少が認められた。以上の結果から、絶食時には肝水溶性ビタミン含量は減少するが肝水溶性ビタミン濃度は維持されること、そのために血中水溶性ビタミン濃度の減少は緩やかであり、血中ビタミン濃度を維持できなくなると尿中ビタミン排泄量は急激に減少することが明らかとなった。

A. 目的

水溶性ビタミンの栄養状態を評価するバイオマーカーとして、尿中や血中の水溶性ビタミン量が挙げられる^{1,3)}。平成19年度厚生労働科学研究費補助金「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—」において、ラットに異なる量の水溶性ビタミンを与え、尿中水溶性ビタミン排泄量、血中水溶性ビタミン濃度、肝水溶性ビタミン量におよぼす影響について調べた。必要量の2~3倍のビタミンを与えたラットでは血中水溶性ビタミン濃度や肝水溶性ビタミン濃度は変化せず、摂取量依存的に尿中排泄量が増加した。必要量前後の水溶性ビタミンを与えたラットでは、尿中排泄量の変動は小さく、摂取量依存的に血中濃度と肝含量が増加した²⁾。これらの結果から血中水溶性ビタミン濃度は欠乏の指標として、尿中水溶性ビタミン排泄量は摂取量の指標として利用できることが考えられた。

ヒトにおいては、急激にビタミン摂取量が減少する機会として、絶食が挙げられる。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」において、ヒトおよびラットを絶食させたときの尿中水溶性ビタミン排泄量の変化を調べた。絶食時には、すべての尿中水溶性ビタミン排泄量が一律に減少するのではなく、一部の水溶性ビタミンの尿中排泄量が増加した³⁾。短期絶食では、肝臓に貯蔵したビタミンを使用し、血中ビタミン濃度が一定に保たれる可能性が考えられるため、絶食時の水溶性ビタミン動態を明らかにするには、血液および肝臓のビタミン量を明らかにする必要がある。また、絶食時には筋タン

パク質がエネルギー源として使われる可能性が考えられるため、絶食と筋肉中ビタミン量の関係についても明らかにする必要がある。本研究では、絶食時の水溶性ビタミン動態の経時的な変動を明らかにすることを目的として、1~3日間絶食したラットにおける尿、血液、肝臓、筋肉中のビタミン量を測定した。

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。飼育室の温度は22℃前後、湿度は50%前後、午前6時から午後6時までを明、午後6時から午前6時までを暗とした。8週齢のWistar系雄ラットを日本クレア(株)より購入し、1匹ずつラット用代謝ケージ(CT-10, 日本クレア(株), 東京)に入れ11日間飼育した。

飼育開始から8日目の午前9時まで飼料と水を自由摂取させた。8日目の午前9時以降は飼料を与えず、水のみ自由に摂取可能な飢餓状態にした。この実験開始8日目(絶食開始前)をDay 0とし、9~11日目(絶食後1日~3日)までをそれぞれDay 1~3とした。世話は毎日午前9時に体重測定と水の交換を行った。Day 0から毎日5匹ずつ断頭屠殺し、採血した。また、大脳、肺、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、精巣、および大腿四頭筋(筋肉)を摘出し、各臓器重量を測定した。尿はそれぞれの屠殺前日から24時間尿を集めた。尿、血液、肝臓、筋肉は水溶性ビタミン量の測定に供した。

2. 分析

2-1. ビタミンB₁(VB₁)の測定法

全血中総VB₁濃度、肝総VB₁量、筋総VB₁

量は、チアミン、TMP、TDP、TTPの合計量とし、HPLCによる分析に供した⁴⁾。尿中VB₁量もHPLCにより測定した⁴⁾。

2-2. ビタミンB₂(VB₂)の測定法

全血中総VB₂濃度、肝総VB₂量、筋総VB₂量はリボフラビン、FMN、FADの合計量とした⁵⁾。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⁵⁾。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⁵⁾。

2-3. ビタミンB₆(VB₆)の測定法

血漿ピリドキサルリン酸(PLP)濃度をHPLCにより測定した⁶⁾。肝総VB₆量、筋総VB₆量は、*Saccharomyces carlsbergensis* strain 4228 ATCC 9080を用いた微生物学的定量法により測定した⁷⁾。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⁸⁾。

2-4. ビタミンB₁₂(VB₁₂)の測定法

血漿中VB₁₂濃度、肝VB₁₂量、筋VB₁₂量を測定するために、VB₁₂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⁹⁾。尿中VB₁₂量の定量も同様に、微生物学的定量法に供した⁹⁾。

2-5. ニコチンアミド(Nam)の測定法

全血中総Nam濃度、肝総Nam量、筋総Nam量を定量するために、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¹⁰⁾。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¹⁰⁾。尿中MNA含量をHPLC法で測定

した¹¹⁾。

2-6. パントテン酸(PaA)の測定法

肝総PaA量を求めるために、摘出した肝臓を37°Cで7時間置き、自己消化によって結合型PaAを遊離型にし、*Lactobacillus plantarum*, ATCC 8014を用いた微生物学的定量法に肝ホモジネートを供した¹²⁾。筋PaAを測定するために、筋ホモジネートをパンテイナーゼとホスファターゼで処理することによって結合型PaAを遊離型に変換し、遊離型PaAを微生物学的定量法に供した¹²⁾。尿中PaA量の測定には尿を微生物学的定量法に供した¹²⁾。

2-7. 葉酸(FA)の測定法

血漿FA濃度の測定には、*Lactobacillus rhamnosus* ATCC 27773を用いた微生物学的定量法に血漿を供した¹³⁾。肝FA量、筋FA量を測定するために、ホモジネートをコンジュガーゼとプロテアーゼで処理することによってFAをプテロイルモノグルタミン酸に変換し、微生物学的定量法に供した¹³⁾。尿中FA量も同様に、尿を微生物学的定量法に供した¹³⁾。

2-8. ビオチンの測定法

血漿総ビオチン濃度、肝総ビオチン量、筋総ビオチン量は、*Lactobacillus plantarum* ATCC 8014を用いた微生物学的定量法により測定した¹⁴⁾。尿中ビ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⁾。

2-9. アスכולビン酸(AsA)の測定法

血漿AsA量、尿中AsA量はアスכולビン酸、デヒドロアスכולビン酸、2,3-ジケトグルロン酸の合計としHPLC法により測定した¹⁵⁾。

3. 統計処理

数値はすべて平均 ± 標準誤差(SEM)で

表した。値の比較には一元配置分散分析を用い、有意差が認められた場合には Tukey の多重比較検定を行った。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。計算には GraphPad Software 社 (San Diego, CA, USA) の GraphPad Prism 4 を使用した。

C. 結果

1. 絶食と体重および臓器重量の関係

絶食前と絶食 1~3 日の体重および臓器重量を表 1 に示した。体重は絶食 1 日後から減少した。絶食 1~3 日後の体重減少は絶食前からそれぞれ平均で 16.9 g, 26.3 g, 35.5 g であった。

腎臓、脾臓の重量は絶食によって緩やかに減少した。肝臓重量は絶食 1 日後に約 60%まで減少し、その後、緩やかに減少した。大脳、肺、心臓、精巣の重量は絶食によって変化しなかった。

2. 絶食と尿中水溶性ビタミン排泄量の関係

絶食による尿中水溶性ビタミン排泄量の変動を図 1 に示した。ビオチンを除き、絶食による排泄量の変化が見られた。絶食 1 日後の VB₁ 排泄量は絶食前の 12% と顕著に低下し、その後も低い値のままであった。絶食 1 日後の PaA 排泄量は絶食前の 25% と顕著に低下したが、その後、絶食前の 80%、123% と増加した。その他の尿中水溶性ビタミン排泄量は絶食日数に伴って緩やかに減少した。

3. 絶食と血中ビタミン濃度の関係

絶食による血中ビタミン濃度の変動を図 2 に示した。VB₁、VB₆、FA 濃度は絶食に伴って緩やかに減少した。VB₁₂ 濃度は絶食 1 日後に低値を示したが、絶食 2~3 日後には絶食前の濃度に回復した。ビオチン濃度は絶食 2 日後に高値を示した。Nam と AsA の濃度は

絶食に伴って増加していった。

4. 絶食と肝ビタミン量の関係

絶食による肝ビタミン量の変動を図 3 に示した。肝 PaA 量は絶食の影響を受けなかった。肝 VB₁ とビオチン含量は、絶食 3 日後に減少し、その値はそれぞれ絶食前の 69% と 66% であった。他のビタミンの肝臓含量については、絶食 2 日後から減少が認められ、絶食に伴って肝含量が減少していった。

5. 絶食と筋ビタミン濃度の関係

絶食による筋ビタミン濃度の変動を図 4 に示した。絶食 1 日後の筋 VB₁₂ 濃度は絶食前の 42% と顕著に減少し、その後も低値を示した。筋 FA 濃度は絶食 3 日後に絶食前の 47% にまで減少した。その他のビタミンの筋濃度には変動は認められなかった。

D. 考察

本研究は絶食時のビタミン動態を明らかにすることを目的として、ラットを 1~3 日間絶食させ、体重、臓器重量、水溶性ビタミンの尿中排泄量、血中濃度、肝含量および筋濃度の推移を調べた。

体重は絶食後 1 日経った Day 1 から減少した (表 1)。体液性状の維持、異物除去、ホルモン産生など恒常性を維持する臓器、つまり肝臓、腎臓、脾臓の重量も低下していた。しかし、肺や心臓といった、機械的性質を持つ臓器の重量は減少していなかった。

尿中ビタミン排泄量より、特徴的な変動を示したビタミンは、VB₁ と PaA であった。VB₁ の排泄量は絶食 1 日から顕著に低下した。絶食初期では、体内に貯蔵しているグルコースをエネルギー源として利用するため、体内の VB₁ 必要量が急激に増え、その結果、尿への排泄量が減少した可能性が考えられる。PaA

排泄量は絶食 1 日に低下したが、2 日目以降で増加した。絶食時にエネルギー源として利用される脂肪酸の量が増えると、 β -酸化によってアセチル CoA に異化代謝される脂肪酸の量が増える。通常、アセチル CoA は TCA サイクルに入り、完全に酸化される。しかし、絶食時には、アセチル CoA は TCA サイクルへ入らず、アセト酢酸やアセトンなどのケトン体が多量に生成される。ケトン体を 1 分子生成するために、3 分子のアセチル CoA が使われ、副産物として 2 分子の CoA が生成する。この CoA の構成成分として PaA がある。絶食によってケトン体が多量に産生されると、CoA も多量に産生し、その CoA が PaA に分解され、体内の PaA 量が増加し、その結果、尿中 PaA 排泄量が増加したと考えられる。

血中水溶性ビタミン濃度の変動パターンは、大きく 3 つのタイプに分けることができた。1 つ目は、絶食により血中濃度が緩やかに減少していくタイプで、VB₁、VB₆、FA が挙げられる。2 つ目は、3 日間の絶食では変化しないタイプで、VB₂、VB₁₂、ビオチンがこれに当たる。3 つ目のタイプは、絶食により増加するタイプで、Nam と AsA が当てはまる。血中 Nam 濃度が増加した理由として、絶食によって体タンパクが崩壊し、トリプトファンから Nam に生合成された可能性が考えられる。ラットは AsA も合成可能であり、その経路はグルコースがペントースリン酸回路に進むまでに分岐する経路である。絶食によりこの代謝の制御が変化し、AsA 合成が増加した可能性が考えられる。

肝 VB₁、PaA、ビオチン量は絶食 1 日後で変化しないが、2 日後から緩やかに減少した。その他の水溶性ビタミンの肝含量は絶食 1 日後より減少した (図 3)。肝 VB₁、PaA、ビオ

チン量は、肝臓重量が減少してもほとんど変化しないため、肝臓中の濃度は高くなった。その他の水溶性ビタミンについては、肝臓重量と共に肝ビタミン量も減少したため、肝ビタミン濃度は変動しなかった。水溶性ビタミンの種類によってこのような違いが生じた理由は不明であるが、生体にとって重要な役割を持っているのかもしれない。

図 5 に絶食前の値を 100%とした時の各水溶性ビタミンの尿中排泄量、血中濃度、肝含量、筋濃度の相対値を示した。VB₂、VB₁₂、ナイアシンについては、肝含量と尿中排泄量は減少したが、血中濃度は維持されていた。VB₁、VB₆、FA については、肝含量、血中濃度、尿中排泄量のいずれもが減少した。ビオチンについては、肝含量は減少したが、血中濃度と尿中排泄量は維持された。肝含量と尿中排泄量に比べ、血中濃度の変動は小さかったが、絶食 3 日後の VB₆ と FA の血中濃度は絶食前に約 60%に低下した。VB₁₂、FA を除いて、筋水溶性ビタミン濃度の変動は認められず、絶食時でも濃度は一定に保たれていた。

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. 1.

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.

2. 柴田克己. 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—, 平成19年度総括・分担研究報告書. 2008.

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.

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. 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.

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. Kishida E, Nishimoto Y, Kojo S. Specific determination of ascorbic acid with chemical derivatization and high-performance liquid chromatography. *Anal Chem* (1992) 64, 1505-1507.

表 1. 絶食期間とラット体重 および臓器重量の関係

	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3
体重 (g)	253.2 ± 2.2 ^a	236.5 ± 3.8 ^b	227.6 ± 1.9 ^{b,c}	217.8 ± 3.0 ^c
大脳 (g)	1.32 ± 0.01	1.36 ± 0.01	1.35 ± 0.02	1.31 ± 0.03
肺 (g)	1.06 ± 0.08	1.09 ± 0.07	1.10 ± 0.08	1.10 ± 0.11
心臓 (g)	0.86 ± 0.02	0.87 ± 0.01	0.87 ± 0.04	0.81 ± 0.01
腎臓 (g)	1.85 ± 0.05 ^a	1.74 ± 0.05 ^{a,b}	1.69 ± 0.05 ^{a,b}	1.64 ± 0.03 ^b
肝臓 (g)	12.06 ± 0.30 ^a	7.60 ± 0.12 ^b	6.47 ± 0.07 ^c	5.93 ± 0.06 ^c
脾臓 (g)	0.72 ± 0.03 ^a	0.68 ± 0.02 ^a	0.56 ± 0.02 ^b	0.51 ± 0.01 ^b
精巣 (g)	2.67 ± 0.07	2.71 ± 0.04	2.78 ± 0.07	2.80 ± 0.04

値は平均値 ± 標準誤差 (n = 5) として示した。異なる添え字は有意差を示す。

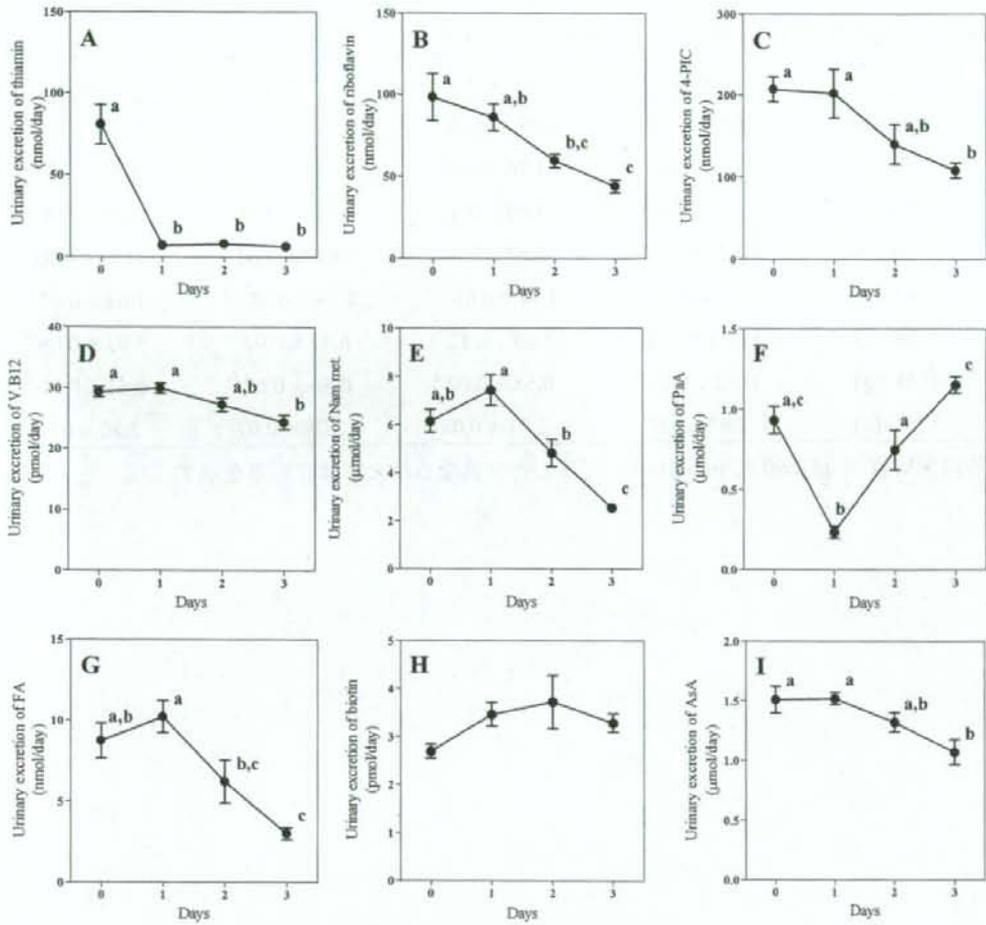


図1. 絶食期間と尿中ビタミン排泄量の関係

尿中VB₁ (A), VB₂ (B), VB₆代謝産物 (C), VB₁₂ (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), アスコルビン酸 (I). 値は平均値 ± 標準誤差 (n = 5) として示した. 異なる添え字は有意差を示す.

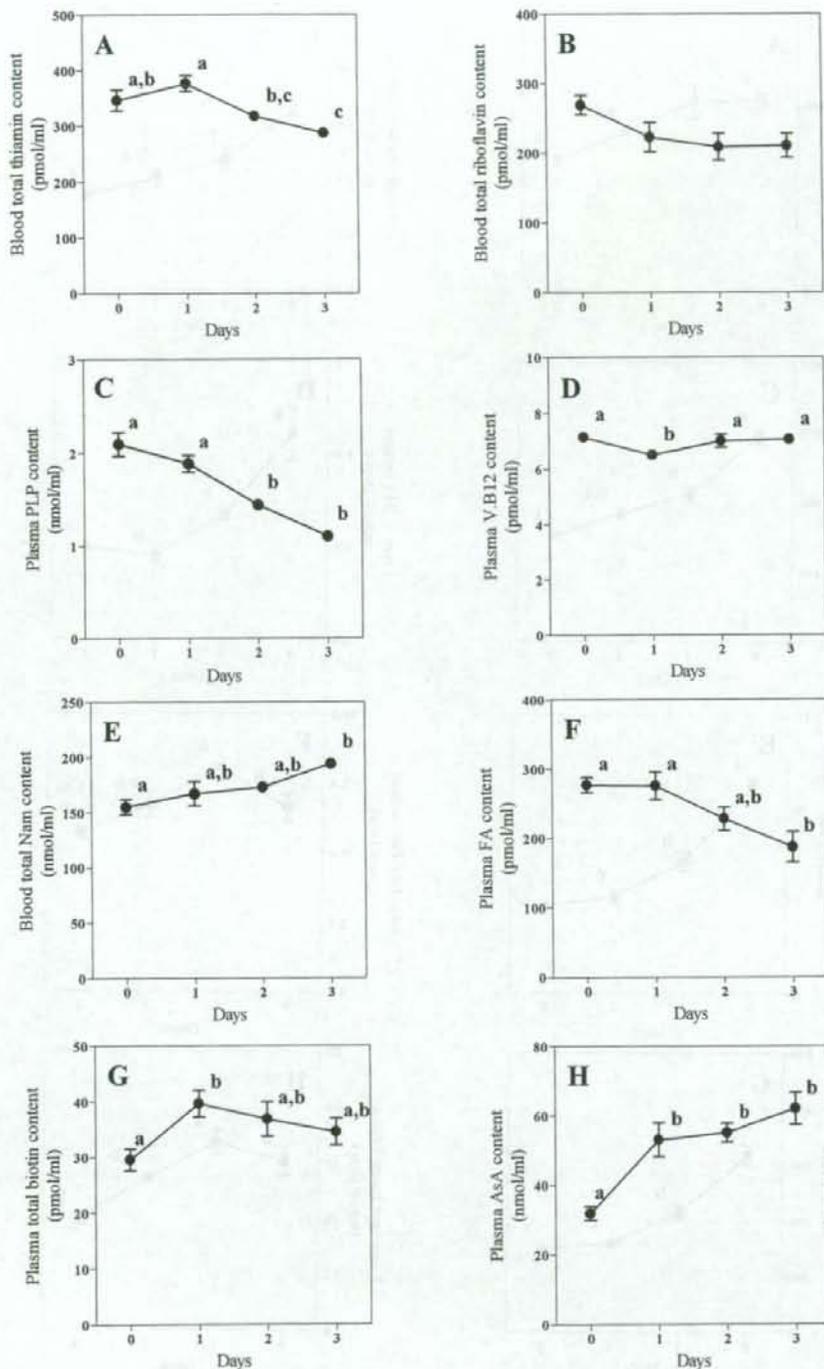


図2. 絶食期間と血中ビタミン量の関係

全血中総VB₁ (A), 全血中総VB₂ (B), 血漿中VB₆ (C), 血漿中VB₁₂ (D), 全血中総ニコチンアミド (E), 血漿中葉酸 (F), 血漿中総ビオチン (G), 血漿中アスコルビン酸 (H). 値は平均値 ± 標準誤差 (n = 5) として示した. 異なる添え字は有意差を示す.

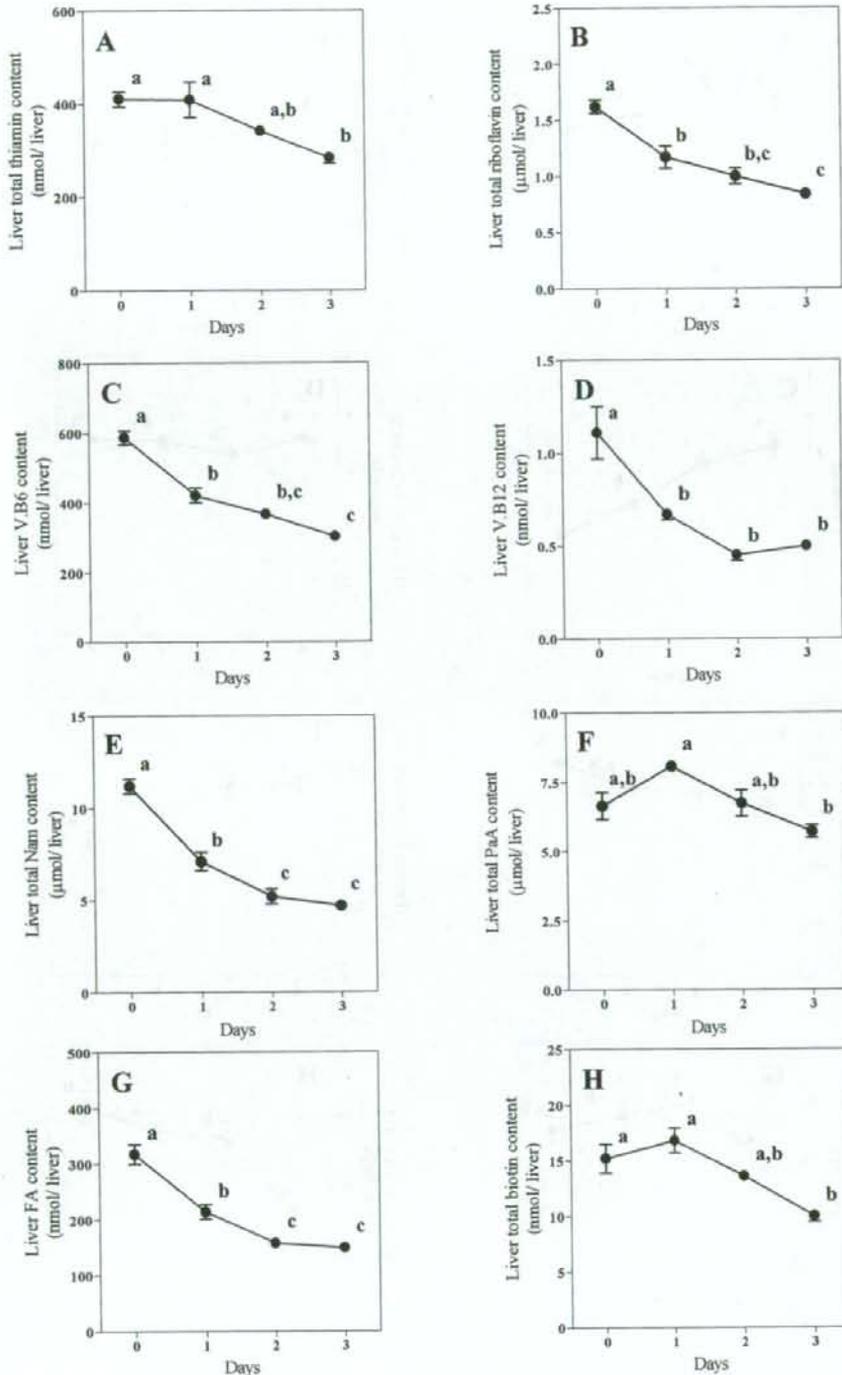


図3. 絶食期間と肝臓中ビタミン量の関係

肝臓中総VB₁ (A), 総VB₂ (B), 総VB₆ (C), 総VB₁₂ (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). 値は平均値 ± 標準誤差 (n=5) として示した. 異なる添え字は有意差を示す.

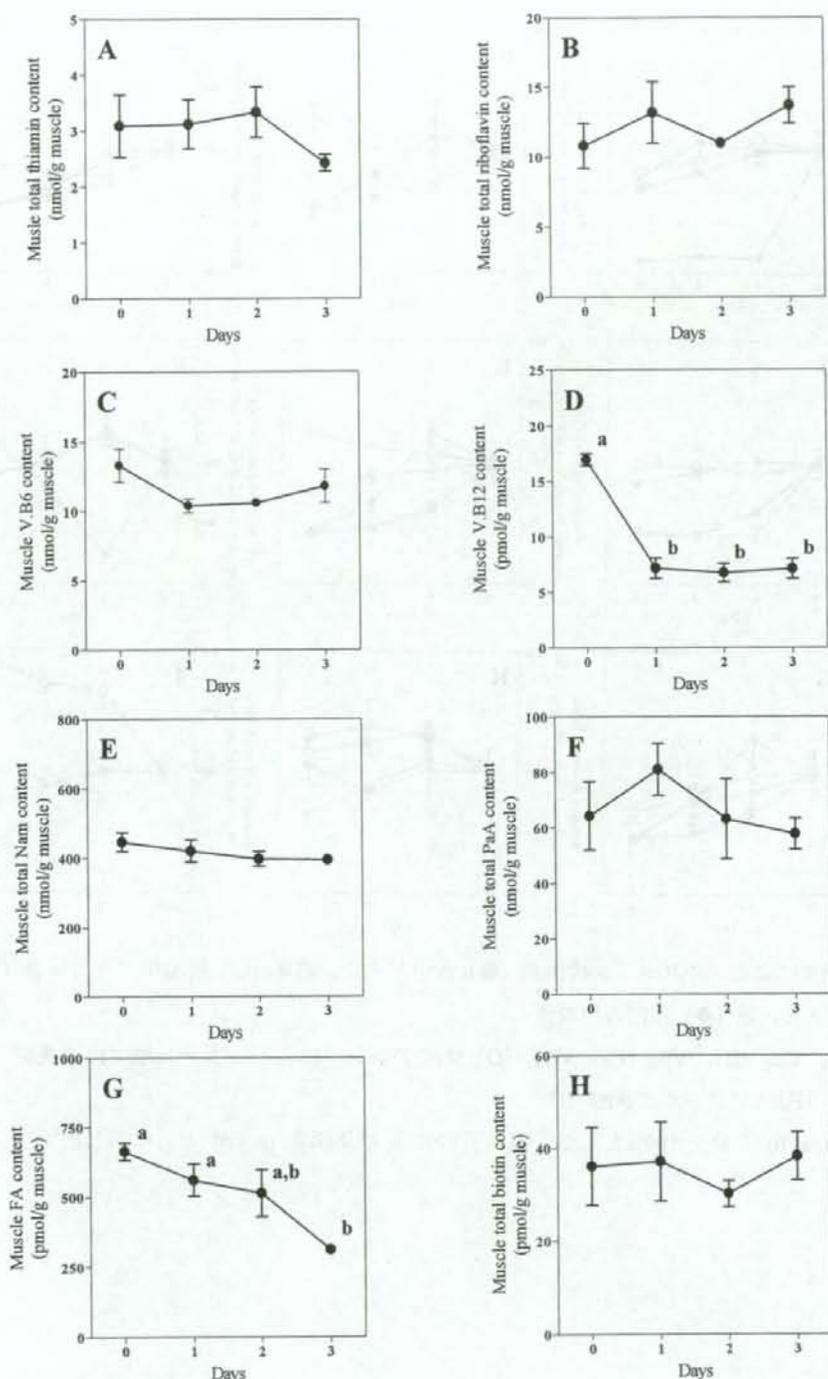


図4. 絶食期間と筋肉中ビタミン量の関係

筋肉中総VB₁ (A), 総VB₂ (B), 総VB₆ (C), 総VB₁₂ (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). 値は平均値 ± 標準誤差 (n=5) として示した.

異なる添え字は有意差を示す.

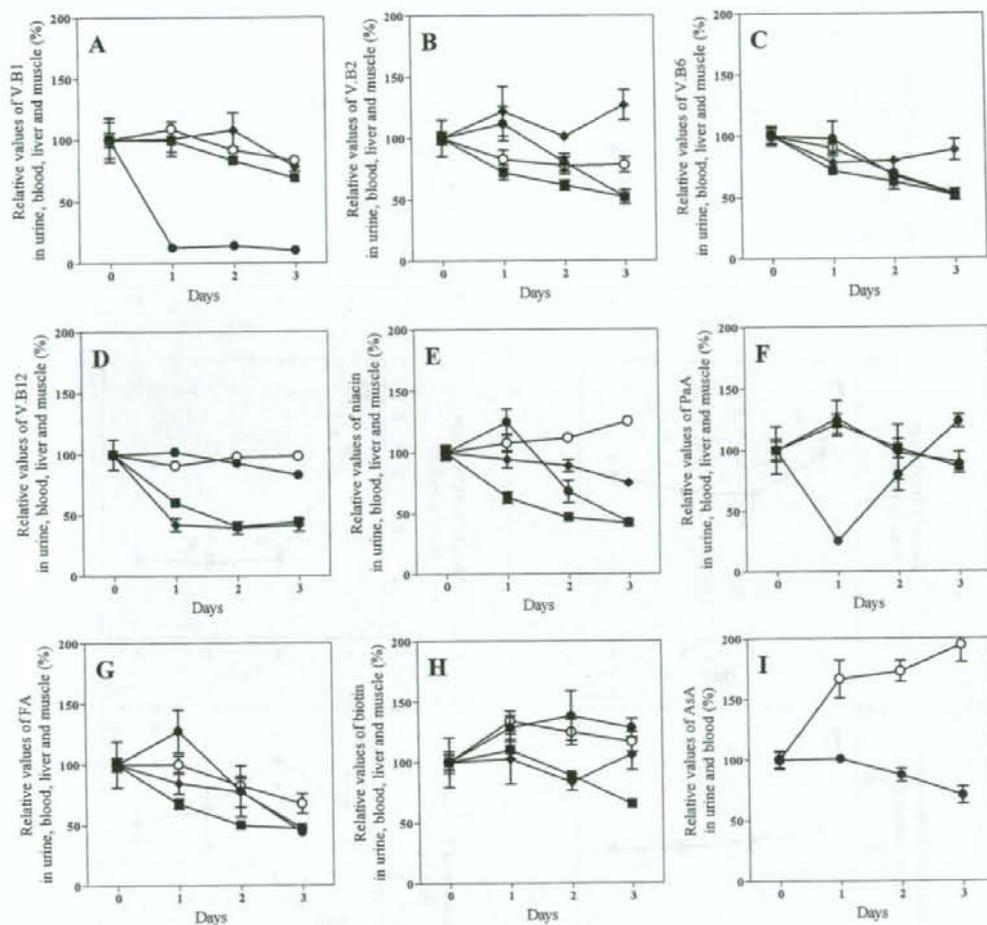


図5. 絶食による尿中ビタミン排泄量 (●), 血中ビタミン濃度 (○), 肝臓中ビタミン量 (■), 筋肉中ビタミン量 (◆) 変化の相対値
 VB₁ (A), VB₂ (B), VB₆ (C), VB₁₂ (D) ナイアシン (E), パントテン酸 (F), 葉酸 (G),
 ビオチン (H), アスコルビン酸 (I).

絶食前 (Day 0) の値を 100% とした。値は平均値 ± 標準誤差 (n=5) として示した。

平成 20 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

12. ニコチン酸大量摂取がトリプトファン—ニコチンアミド転換経路におよぼす影響

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

ニコチン酸は脂質異常症の治療薬、あるいはサプリメントとして頻繁に利用されているため、大量に摂取する可能性がある。本研究では、ニコチン酸の大量摂取がトリプトファン (Trp) —ニコチンアミド (Nam) 転換経路におよぼす影響について検討した。7 週齢 Wistar 系雄ラットに 0.5%ニコチン酸添加食を与え、Trp-Nam 転換経路における尿中代謝産物量および酵素活性を測定した。ニコチン酸大量摂取により、3-ヒドロキシアンスラニル酸より上流の尿中排泄量は変動せず、尿中キノリン酸排泄量が約 2 倍に増大した。肝臓におけるキノリン酸合成鍵酵素アミノカルボキシムコン酸—セミアルデヒド脱炭酸酵素 (ACMSD) 活性を測定したところ、ニコチン酸大量摂取群では対照群の約 1/2 の活性を示した。また、ニコチン酸大量摂取によって大量に産生する Nam 異化代謝産物は、ACMSD 活性を直接阻害しなかった。以上の結果より、ニコチン酸の大量摂取によって Trp-Nam 転換経路の鍵酵素 ACMSD の活性が低下し、キノリン酸以降の代謝産物量が増大することが明らかとなった。