

## 1. 基本的事項

### 1-1. ビオチンの基礎

ビオチンは、高等動物や酵母では必須のビタミンで、ビオチン量が多いのは肝臓、腎臓、膵臓、乳汁および酵母である。ビオチンの生理作用は、ビオチン酵素として、種々の炭酸固定反応に直接関与し、重要な役割を果たしている。とりわけ、ビオチンは4種類のカルボキシラーゼ - pyruvate carboxylase (PC),  $\beta$ -methylcrotonyl- CoA carboxylase (MCC), propionyl-CoA carboxylase (PCC), acetyl-CoA carboxylase (ACC) - の補酵素として共有的に結合<sup>1-3)</sup>し、直接的にはカルボキシル化反応への関与と、間接的にはそれらの酵素反応が関与する糖新生、分岐鎖アミノ酸代謝、脂肪酸合成、エネルギー代謝の機能を担っている。

これらのカルボキシラーゼはともにミトコンドリア内に存在するが、ACCは細胞質内にも存在している。ミトコンドリア内ACCはアポ酵素としてビオチン貯蔵の役割を果たしている<sup>4-6)</sup>。ACCはacetyl CoAから脂肪酸合成の基質となるmalonyl CoAへの反応を進める。PCはピルビン酸をオキサロ酢酸に変える。オキサロ酢酸はTCAサイクルの中間体であり、肝臓、腎臓などの組織でグルコースに合成されて行く。MCCはロイシンの分解に必要な酵素であり、ビオチン欠乏によって本酵素の活性は低下し、ロイシンは他の経路によって3-ヒドロキシイソ吉草酸(3-HIA)と3-メチルクロトニルグリシンになり、尿への排泄量が増加する。このため3-HIAはビオチン欠乏の初期の段階での良い指標となる<sup>7)</sup>。PCCはプロピオニルCoAをD-メチルマロニルCoAに変える。D-メチルマロニルCoAはその後スクシニルCoAとなり、引き続いてTCAサイクルに入って行く。PCC活性の低下

によって尿中では3-ヒドロキシプロピオン酸と3-メチルクエン酸が増加する。

細胞内でこれらの酵素はビオシチン( $\epsilon$ -N-biotinyl-L-Lysin)やビオチニルペプチドに分解され、ビオチンダーゼによってビオチンは遊離し、再利用される<sup>8)</sup>。

アビジンは、鳥類、両生類、および爬虫類の輸卵管および卵白にみられ、七面鳥の卵白にとくに多く存在している。生理学的意義はよく分かっていないが、アビジンによって溶菌現象を起こすことが知られている。また鳥類のマクロファージを細菌で刺激したり、組織に炎症が生じたりするとアビジンが産生される。つまり生体防御タンパク質の一種であると考えられている。

アビジンは、分子量が68,000の糖タンパク質で、4個の同一サブユニットから構成されている。精製アビジンには、1mg当たり15.1 $\mu$ gのビオチンが結合していることからアビジン1分子に4個のビオチン結合部位が存在している。ビオチンとの結合は可逆的であるが、非常に強固で解離定数は $K_d = 10^{-15}$ Mであり、等電点は $pI = 10 - 10.5$ である。なお、卵白中のアビジンはビオチンとほとんど結合していない。

ビオチンの構造式を図1に示した。食事摂取基準の数値はビオチン相当量で策定した。

### 1-2. 消化・吸収・利用

#### 1-2-1. 食品中での形態と分布

ビオチンは食物中で遊離型とタンパク結合型として存在し、他の水溶性ビタミンとは異なって、ほとんどが結合型で存在している。すなわち、タンパク質のリジンの $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>残基に共有結合し、補酵素型となっている。主な食品中ビオチンは、微生物学的定量法で測定され、遊離型とタンパク結合型を含めた総ビ

オチン量として報告されている。ビオチンはさまざまな食品に含まれているが、特にローヤルゼリー (約 400 µg/100g)、酵母 (200 µg)、米 (60 µg)、レバー (100 µg)、卵黄 (50 µg) や魚肉 (20 µg) などによく含まれている。肉 (2~10 µg)、野菜 (2~10 µg)、果物 (1~3 µg) には少ない。また、食品加工や保存加工によって損失し、残存率は 20~90% (白米では 20%, 肉では 70%) である<sup>9)</sup> (表 1 参照)。

遊離型とタンパク結合型の比率は加工食品ではベビーフードについて調査されている。米飯類で 10.2~15.5%、主菜類 10.3~20.0%、芋類 27.6%、野菜・果実類 24.9%、スープ類は 59.9%、おやつ類は穀類を主体としたものは 4.4%、ゼラチン主体 48.8%、乳製品主体 52.2%、果汁飲料 61.5%であった<sup>10)</sup>。主食や副食となる加工食品においても、大部分のビオチンは食品中でタンパクと結合している。

タンパク結合型ビオチンの腸内での加水分解のメカニズムは十分に解明されていないが、このものは中間からは吸収されず、ビオチニダーゼによって遊離型ビオチンに変換されてから吸収される。すなわち、腸内においては、まずタンパク質分解を受け、ビオチンやビオチニルペプチドが最終的に膵臓由来のビオチニダーゼによって加水分解され、ビオチンが遊離する<sup>11)</sup>。遊離型ビオチンは、腸管粘膜のレセプターに補足され、吸収される。腸管から吸収されたビオチンは血中の輸送タンパク質でもあるビオチニダーゼと結合し、ビオチンを必要としている臓器の細胞表面レセプターに結合し、細胞内に取り込まれてアポカルボキシラーゼと共有結合をし、補酵素として働く。

腸内においてビオチンは腸内細菌叢によっ

ても産生されると言われているが、その根拠は成人において尿と便へのビオチン排泄量が常に食事によるビオチン吸収量以上であるという観察<sup>12-14)</sup>である。しかし、以後腸内細菌叢のビオチン産生とその寄与に関しての定量的な試みはされていない。細菌では大腸菌をはじめとして 30 種類以上の細菌がビオチンを合成できることが知られている<sup>15)</sup>。一方、*Pseudomonas* 属菌においてはビオチン分解<sup>16)</sup>がある。しかし、腸内細菌叢のビオチン代謝経路の報告はない。

腸内で遊離したビオチンの吸収に影響を及ぼすのが生卵白中のアビジンである。小腸内でビオチンと強固に結合し、ビオチン吸収を妨げることが示されてきた<sup>7-17)</sup>。実験動物においては、多量の生卵白飼料を長期間与えると、体重の減少に伴って、口周囲や目瞼の炎症や皮膚炎を生じ、さらに体毛が粗になり、脱毛が現れる。一般に卵白障害として知られている。なお、これらの症状は、卵白飼料にビオチンを投与するか、欠乏動物にビオチンを皮下投与すると、すみやかに消失する。このほか、マウスやハムスターでは、妊娠中にビオチン欠乏状態にすると、胎児発育の遅延が見られるとともに、ビオチン欠乏胎児には口蓋裂や小顎症などの異常が非常に高率に認められている。

#### 1-2-2. 腸管吸収

ヒトでのビオチンの腸管吸収の機序は明らかではないが、経口投与後すみやかに吸収され、血中濃度は 30~60 分でピークに達する<sup>18-20)</sup>。ビオチンを高濃度にした場合、小腸だけでなく大腸においても吸収される<sup>21)</sup>。

#### 1-2-3. ビオチン代謝

ヒトにおいてビオチンのウレイド環の分解は起こらないが、イミダゾール環において、

$\beta$  酸化やイオウの酸化が起こり、ビオチンの代謝物が尿中に排泄される。健康人の尿中のビオチン代謝物の割合は総ビオチン化合物の 50~70 mol% であり、ビオチン欠乏によって尿中ビオチン濃度は低下し、この比率は大きくなる<sup>22,23)</sup>。

このように、生細胞中のビオチンは、ほとんどがタンパク質中のリジンと共有結合した形で存在する。食品の調理・加工過程において、ほとんど遊離型になることはない。消化管においては、まずたんぱく質が分解を受け、ビオチニルペプチドやビオシチンとなる。これらが加水分解された後、最終的にビオチンが遊離され、おもに空腸から吸収される。これらの過程は食品ごとに異なると推測される。相対生体利用率を網羅的に検討した報告は見当たらない。日本で食されている平均的な食事でのビオチンの遊離型ビオチンに対する相対生体利用率は 80% 程度であると報告されている<sup>24)</sup>。

## 2. 目安量

### 2-1. 成人・小児

#### 2-1-1. 目安量の策定

ビオチンの所要量は、「第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—」<sup>25)</sup>において、葉酸やビタミン B<sub>12</sub> などとともに初めて策定された。食事からの摂取可能量として、成人で 30  $\mu\text{g}$ /日、授乳婦での付加量は 5  $\mu\text{g}$ /日であり、米国と同様である。しかし、ビオチンの所要量策定の根拠となるデータの蓄積が不十分である、とされていた。今回の策定においても、ビオチンについては、推定平均必要量を設定するに足る実験データがない。そこで、これまでの食事調査において、トータルダイエット調査が行われている。この調査

は本来農薬や食品添加物の摂取量を算出するための方法である。この調査によると、1日あたりのビオチンの摂取量は、アメリカ人で 35.5  $\mu\text{g}$ 、日本人で 45.1  $\mu\text{g}$  という報告がある<sup>26,27)</sup> (表 2)。そこで、日本人のデータを基に、成人の目安量が 45  $\mu\text{g}$ /日と設定されている。

#### 2-1-2. ビオチンと 3-ヒドロキシイソ吉草酸 (3HIA) 排泄

最も重要な程度を実証されてきたビオチン状態の指標は尿中へのビオチン排泄の異常な減少と 3-HIA の異常な増加である<sup>7)</sup>。生卵白摂取の健康者で劇的にビオチンの尿中排泄が減少し、10 名中 9 名で 20 日目までには著しく異常な値に到達した。Bisnorbiotin 排泄は併行して減少し、ビオチンの調節された異化の証拠を与えている。生卵白摂取 14 日までに 10 名全員で 3HIA 排泄は異常に増加 (195  $\mu\text{mol/day}$  以上) し、ビオチンの消耗が  $\beta$ -methylcrotonyl CoA の活性を減少させ、ビオチン欠乏症において比較的早期にロイシン代謝を変化させる<sup>7)</sup>。

正常範囲は 77-195  $\mu\text{mol/day}$  (MEAN  $\pm$  SD : 112  $\pm$  38)、ビオチン欠乏 10 日目で 272  $\pm$  92  $\mu\text{mol/day}$  であった。ビオチン排泄の異常低下と 3-HIA の異常増加、あるいは両者は明らかな数例のビオチン欠乏症例で報告されている<sup>28,29)</sup>。これらの指標については性別による差は明らかではない。

以上のように、推定平均必要量を設定するに足る実験データはない。1日当たりのビオチン摂取量は、トータルダイエット調査では、アメリカ人で 35.5  $\mu\text{g}$ <sup>30)</sup>、日本人で 45.1  $\mu\text{g}$ <sup>26)</sup> や 60.7  $\mu\text{g}$ <sup>27)</sup> などの報告がある。そこで、これらのデータから成人の目安量を 50  $\mu\text{g}$ /日とした。小児については、成人の目安量の 50  $\mu\text{g}$ /

日を基に、対象年齢区分の体表面積の値の比較を示す式、{(対象年齢区分の体位基準値の体重/18~29歳の体位基準値の体重)<sup>0.75</sup> × (1 + 成長因子)}を用いて計算した。

高齢者に関するデータはほとんどないため、成人と同じ値とした。

## 2-2. 乳児

母乳は測定法により、測定値に隔たりがあるが、一般的な微生物学的定量法では全体として0.45~0.65 µg/100 mlの間にあり、日本人の母乳においても他国と同様な値である。また、調製粉乳においても0.6~0.8 µg/100mLで似通った値であった。

したがって、日本人の成熟乳の値として、5 µg/Lを採用した<sup>31-35)</sup>。0~5か月の乳児は、母乳含量(5 µg/L) × 1日の哺乳量(0.78 L)<sup>36,37)</sup>から3.9 µg/日とし、平滑化した。6~11か月の乳児は、0~5か月の乳児の3.9 µg/日から外挿した値、4.9 µg/日とし、平滑化した(表3)。

## 2-3. 妊婦・授乳婦：付加量

これまでの研究では血漿でビオチンが低濃度であることを見出したが<sup>38,39)</sup>、他の研究ではそうではなかった<sup>40,41)</sup>。Mockら<sup>7)</sup>は妊娠3ヶ月までの健康な妊婦の半数以上で尿中3-HIAが上昇し、ビオチンの尿中排泄は約50%の妊婦で減少したと報告している。これらの値の変化が妊婦にとって正常なことなのか、低濃度ビオチン吸収が必要性に関係していることを示すのかは判っていない。

このように、妊婦において、妊娠後期に尿中のビオチン排泄量及び血清ビオチン量の低下することや有機酸の増加することが報告されていることから<sup>42)</sup>、妊娠はビオチンの要求量を増大させるものと考えられる。しかしながら、どの程度付加すべきであるかとい

うデータはない。そこで、この改定においては暫定的に、(0~5か月の乳児の目安量) × {(妊婦のエネルギー付加量の平均値) / (0~5か月の男女乳児の推定エネルギー必要量の平均値)}の値、2.0 µg/日を付加量とした。授乳婦の付加量を{(哺乳量 × 栄養素濃度) ÷ 相対生体利用率}から算定した。相対生体利用率は80%とした<sup>24)</sup>。

## 3. 上限量

ヒトでのビオチン大量摂取による影響の報告については十分ではない。妊娠ラットに対する10 mg/100g体重のビオチン皮下注射により胎児と胎盤の発育阻害の報告はあるが、量および投与方法に問題があり、有用なデータではない。先天性ビオチン欠乏症での10~20 mg/日の長期投与においても副作用は報告されていないが、健康人においてこれ以上摂取しても健康の維持に寄与しないと思われる量はビオチンの医薬品としての常用投与量である2 mg/日と考えられる。

ヒトや動物でのビオチンの影響の報告はない。ビオチン反応性先天性代謝異常症と急性ビオチン欠乏症に対して200 mg以上の経口投与と、静注20 mg/dayで治療した患者において毒性は報告されていない<sup>43)</sup>。

妊娠前後のラットに対して10 mg/100g body weightの急性投与が胎児と胎盤の発育を阻害したという研究報告がいくつかある<sup>44,45)</sup>。

この投与量は70 kgのヒトに対して70 g投与に等しく、推奨摂取量よりもはるかに多い。これらの結果は大量投与で、しかも投与方法と手段(0.1 mol/Lの皮下注射、これ自体に毒性があるだろう)、適正な対照群が欠落しているため、ヒトの摂取量に対して摂取量上限許

容量 (UL) を導くには有用であるとは思われない (表 4, 表 5)。

以上の結果から、健常者においては、十分なデータが得られていないので、策定は行わなかった。なお、ビオチン関連代謝異常症の患者において、大量のビオチンが経口投与されているが、副作用などの報告はない<sup>46)</sup>。

しかしながら、動物実験では毒性が報告されている<sup>47)</sup>。幼若ラットの成長実験や生化学的栄養代替指標から、ビオチンの NOAEL を 38.4 mg/kg/日という値が提案されている<sup>47)</sup>。種差を 10、個体差を 10 として、100 で割ると、ヒトの NOAEL は 384  $\mu$ g/kg/日となる。UF を 5 とすると、UL は 76.8  $\mu$ g/kg/日となる。

#### 引用文献

1. Du Vigneaud V et al. On the structure of biotin. *J Am Chem Soc* (1942) 64, 188.
2. Lane MD et al. The enzymatic synthesis of holotranscarboxylase from apotranscarboxylase and (+)-biotin. I. Purification of apoenzyme and synthetase; characteristics of the reaction. *J Biol Chem* (1964) 239, 2858.
3. Achuta Murthy PN and Mistry SP. Synthesis of biotin-dependent carboxylases from their apoproteins and biotin. *Biochem Rev* (1972) 4, 247.
4. Allred JB and Roman-Lopez CR. Enzymatically inactive forms of acetyl-CoA carboxylase in rat liver mitochondria. *Biochem J* (1988) 251, 881-885.
5. Allred et al. Mitochondrial storage forms of acetyl-CoA carboxylase: Mobilization/activation accounts for increased activity of the enzyme in liver of genetically obese Zucker rats. *J Nutr* (1989) 119, 478-483.
6. Shriver et al. Depletion and repletion of biotinyl enzymes in liver of biotin-deficient rats: Evidence of a biotin storage system. *J Nutr* (1993) 123, 1140-1149.
7. Mock NI et al. Increased urinary excretion of 3-hydroxyisovaleric acid and decreased urinary excretion of biotin are sensitive early indicators of decreased biotin status in experimental biotin deficiency. *Am J Clin Nutr* (1997) 65, 951-8.
8. Thomas RW, Peterson WH. The enzymatic degradation of soluble bound biotin. *J Biol Chem* (1954) 210, 569.
9. Harding MG and Crooks H. Lesser known vitamins in foods. *J Am Diet Assoc* (1961) 38, 240.
10. 渡辺敏明. わが国のベビーフードに含まれるビオチン量の分析. *日本栄養・食糧学会誌* (1997) 50, 449-456.
11. Hymes J, Wolf B. Biotinidase and its role in biotin metabolism. *Clin. Chim. Acta* (1996) 255, 1-11.
12. Gardner J et al. Human biotin metabolism on various levels of biotin intake. *Arch Biochem* (1945) 8, 339.
13. Gardner J et al. Human utilization of biotin from various diets. *Am J Med Sci* (1946) 211, 198.
14. Denko CW et al. The excretion of B-complex vitamins in urine and feces of several normal adults. *Arch Biochem* (1946) 10, 33.
15. Gyogy P: Biotin, in Sebrell WH Jr, Harris

- RS(eds): The vitamins VII —Chemistry, Physiology, Pathology, Methods. New York, Academic, p303,1967.
16. McCormik DB: Biotin. *Nutr Rev* (1975) 33, 97.
17. Baugh CM et al. Human biotin deficiency. A case history of biotin deficiency induced by raw egg consumption in a cirrhotic patient. *Am J Clin Nutr* (1968) 21,173-82.
18. Theone JG et al. Impaired intestinal absorption of biotin in juvenile multiple carboxylase deficiency. *N Engl J Med* (1983) 308, 639.
19. Baumgartner et al. Infantile multiple carboxylase deficiency: evidence for normal intestinal absorption but renal loss of biotin. *Helv Paediatr Acta* (1982) 37,499-502.
20. Fukui T et al. Agar plate method using *Lactobacillus plantarum* for biotin determination in serum and urine. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* (1994) 40, 491-8.
21. Sorrel MF et al. Absorption of vitamins from the large intestine in vivo. *Nutr Rep Int* (1971) 3, 143.
22. Mock DM et al. Biotin and biotin analogs in human urine: biotin accounts for only half of the total. *J Nutr* (1993) 123, 1844-51.
23. Zempleni J et al. Identification of biotin sulfone, bisnorbiotin methyl ketone, and tetranorbiotin-l-sulfoxide in human urine. *Am J Clin Nutr* (1997) 65, 508-11.
24. 福渡努, 柴田克己. パンを主食とした食事中に含まれる水溶性ビタミンの遊離型ビタミンに対する相対利用率. *日本家政学雑誌* (2008), 60: 57-63.
25. 厚生省. 第六次改訂 日本人の栄養所要量 —食事摂取基準—. 1999.
26. 齋東由紀, 牛尾房雄. トータルダイエツト調査による東京都民のピオチン, ビタミンB<sub>6</sub>, ナイアシンの一日摂取量の推定. *栄養学雑誌* (2004) 62, 165-9.
27. 渡邊敏明, 谷口歩美. トータルダイエツト調査によるピオチン摂取量の推定についての検討. *日本臨床栄養学会雑誌* (2006) 27, 304-12.
28. Mock DM, deLorimer AA, Liebman WM, Sweetman L, Baker H. Biotin deficiency: an unusual complication of parenteral alimentation. *N Engl J Med* (1981) 304, 820-3
29. Mock DM, Baswell DL, Baker H, Holman RT, Sweetman L. Biotin deficiency complicating parenteral alimentation: Diagnosis, metabolic repercussions, and treatment. *J Pediatr* (1985) 106, 762-769.
30. Iyengar GV, Wolfe WR, Tanner JT, et al. Content of minor and trace elements, and organic nutrients in representative mixed total diet composites from the USA. *Soci Total Environ* (2000) 256, 215-26.
31. Hirano M, Honma K, Daimatsu T, et al. Longitudinal variations of biotin content in human milk. *Int J Vitam Nutr Res* (1992) 62, 281-2.
32. 渡邊敏明, 谷口歩美, 福井徹, 他. 日本人女性の母乳中のピオチン, パントテン酸およびナイアシンの含量. *ビタミン* (2004) 399-407.
33. 渡邊敏明, 大串美沙, 福井徹. わが国の実年者におけるピオチンの体内動態についての検討. *生物試料分析* (2004) 27, 403-408.
34. Sakurai T, Furukawa M, Asoh M, Kanno T,

- Tadsashi Kojima T, Yonekubo A. Fat-soluble and Water-Soluble Vitamin Contents of Breast Milk from Japanese Women. *J Nutr Sci Vitaminol* (2005) 51, 239-47.
35. 柴田克己, 遠藤美佳, 廣瀬潤子, 他. 日本人の母乳中(1~5か月)の水溶性ビタミン含量の分布(資料) 日本栄養食糧学会誌印刷中. (2009) 62, in press.
36. 鈴木久美子, 佐々木晶子, 新澤佳代, 他. 離乳前乳児の哺乳量に関する研究. *栄養学雑誌* (2004) 62, 369-72.
37. 廣瀬潤子, 遠藤美佳, 長尾早枝子, 他. 日本人母乳栄養児(0~5か月)の哺乳量. *日本哺乳学会誌* (2008) 2, 23-8.
38. Bhagavan HN. Biotin content of blood during gestation. *Int Z Vitaminforsch* (1969) 39, 235-237.
39. Dostálová L. Vitamin status during puerperium and lactation. *Ann Nutr Metab* (1984) 28, 385-408.
40. Mock DM and Stadler DD. Conflicting indicators of biotin status from a cross-sectional study of normal pregnancy. *J Am Coll Nutr* (1997) 16, 252-7.
41. Mock DM, Stadler DD, Stratton SL, Mock NI. Biotin status assessed longitudinally in pregnant women. *J Nutr* (1997) 127, 710-6
42. Mock DM, Quirk JG, Mock NI. Marginal biotin deficiency during normal pregnancy. *Am J Clin Nutr* (2002) 75, 295-9.
43. Mock DM. Biotin. In: Ziegler EE, Filer LJ Jr, eds. *Present Knowledge in Nutrition*, 7<sup>th</sup> ed. Washington, DC: ILSI Nutrition Foundation. 220-235.
44. Paul PK, Duttugupta PN, Agarwal HC. Effects of an acute dose of biotin on the reproductive organs of the female rat. *Curr Sci* (1973) 42, 206-8.
45. Paul PK, Duttugupta PN. The effect of an acute dose of biotin at the pre-implantation stage and its relation with female sex steroids in the rat. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. (1975) 21, 89-101.
46. Roth KS, Yang W, Foreman JW, Rothman R, Segal S. Holocarboxylase synthetase deficiency: A biotin-responsive organic academia. *J Pediatr* (1980) 96, 845-9.
47. Sawamura H, Fukuwatari T, Shibata K. Effects of excess biotin administration on the growth and urinary excretion of water-soluble vitamins in young rats. *Biosci Biotechnol Biochem* (2007) 71, 2977-84.

表1. 食品中のビオチン含量

	総量 ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	遊離型 ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	結合型 ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	遊離率 (%)
こめ	27.2	0.6	26.6	2.2
さつまいも	5.6	2.4	3.2	42.9
ニンジン	7.9	3.2	4.7	40.5
リンゴ	4.7	2.0	2.7	42.6
鶏肉	6.4	1.5	4.9	23.4
豚もも肉	4.9	0.9	4.0	18.4
鶏レバー	291.8	164.0	127.8	56.2
卵黄 (ニワトリ)	90.4	64.3	26.1	71.1
卵黄 (ダチョウ)	75.3	55.7	19.6	74.0



表2. 食事調査によるビオチン摂取量の検討

文献	摂取量 ( $\mu\text{g}/\text{日}$ )	備考
Hopner et al., '78	62.0 カナダ 60.0	食事計算値 食事分析値
Bull and Buss, '82	35.5 イギリス	食事記録調査
Murphy and Calloway, '86	39.9±26.8 アメリカ	女性(18-24歳)
Lewis and Buss, '88	37.5(35-70)	食品から算出
Iyengar et al., '00	35.5±7.5 アメリカ	TDS
渡邊ら, '04	29.8-33.3 東北地方	実年者: 陰膳法、幾何平均値
	54.3	算術平均値 <sup>a</sup>
齋藤および牛尾, '04	45.1 東京都	TDS(13食品群)
谷口ら, '04	109.8 男性 92.3 女性	食品群別計算法(18食品群:100食品) (平成13年)
渡邊および谷口, '06	60.7	東京都TDS(13食品群)再解析
	107.8 男性	食品群別計算法(18食品群:101食品) <sup>b</sup> (平成14年)
	91.6 女性	
本研究	50.7 全年齢	TDS(18食品群) (平成17年)
	50.1 全年齢	(平成18年)
	52.5 成人(20歳以上)	TDS(18食品群) (平成18年)
	(57.6 成人男性)	(平成18年)
	(48.1 成人女性)	(平成18年)
	54.5	食品群別計算法(98食品群:330食品) (平成17年)

<sup>a</sup>本研究で再解析。

<sup>b</sup>改良法: 穀類および野菜類において「その他」を区別。

- Hoppner DM, Lampi B, Smith DC. An appraisal of the daily intakes of vitamin B12, pantothenic acid and biotin from a composite Canadian diet. *Can Inst Food Sci Technol J* (1978) 11, 71-74.
- Bull NL, Buss DH. Biotin, pantothenic acid and vitamin E in the British household food supply. *Hum Nutr Appl Nutr* (1982) 36, 190-196.
- Murphy SP, Calloway DH. Nutrient intakes of women in NHANES II, emphasizing trace minerals, fiber, and phytate. *J Am Diet Assoc* (1986) 86,1366-1372.
- Lew J, Buss DH: Trace nutrients 5. Minerals and vitamins in the British household food supply. *Br J Nutr* (1988) 60,413-424.
- Iyengar GV, Wolfe WR, Tanner JT, et al. Content of minor and trace elements, and organic nutrients in representative mixed total diet composites from the USA. *Soci Total Environ* 2000 (2000) 256, 215-26.
- 渡邊敏明, 谷口歩美, 福井徹, 他. 日本人女性の母乳中のビオチン、パントテン酸およびナイアシンの含量. *ビタミン* (2004) 399-407.
- 渡邊敏明, 大串美沙, 福井徹: わが国の実年者におけるビオチンの体内動態についての検討. *生物試料分析* (2004) 27, 403-408.
- 齋東由紀, 牛尾房雄. トータルダイエット調査による東京都民のビオチン、ビタミンB<sub>6</sub>、ナイアシンの一日摂取量の推定. *栄養学雑誌* (2004) 62, 165-9.
- 渡邊敏明, 谷口歩美, 福井徹, 他. 日本人女性の母乳中のビオチン、パントテン酸およびナイアシンの含量. *ビタミン* (2004) 399-407.

表3. 母乳のビオチン含量

文献	母乳ビオチン量 µg	種類	採乳時期	分析法
Hood and Johnson, '80	0.295/100ml	初乳	1日	同位体希釈法
	1.246	成熟乳	49日	
Goldsmith et al., '82	0.07/100g	早期移行乳	3-8日	微生物学的定量法(比濁法)
	0.3	移行乳	10-14日	
	0.47	成熟乳	30-47日	
Ford et al., '83	0.021/100ml	初乳	1-5日	微生物学的定量法(比濁法)
	0.22	移行乳	6-15日	
	0.533	成熟乳	1-244日	
Friend et al., '83	0.87/100g	成熟乳	10日-6ヶ月	微生物学的定量法(比濁法)
Salmenpera et al., '85	n.d./100ml	出産後	<5日	微生物学的定量法(比濁法)
	0.45 (n.d.-2.7)	授乳	2ヶ月	
	nd-1.8	授乳	6ヶ月	
	0.18-1.0	授乳	9ヶ月	
Heard et al., '87	2.03/100ml	蓄積母乳		放射化学的定量法
Hirano et al., '92	0.08/100ml	初乳	<5日	微生物学的定量法(プレート法)
	0.18	移行乳	6-14日	
	0.52	成熟乳	15-24日	
渡邊ら, '04	0.41/100ml	成熟乳	21-89日	微生物学的定量法(比濁法)
	0.36	成熟乳	90-179日	
渡邊ら, '04	0.34±0.07/100ml	成熟乳	2-5ヶ月	微生物学的定量法(比濁法)
Sakurai et al., '05	0.50±0.23/100ml			微生物学的定量法(比濁法)

- Hood RL, Johnson AR. Supplementation of infant formulations with biotin. *Nutr Rep Internat* (1980) 21, 727-731.
- Goldsmith SJ, Eitenmiller RR, Feeley RM, Barnhart HM, Maddox FC. Biotin content of human milk during early lactational stage. *Nutr Res* (1982) 2, 579-583.
- Ford JE, Zechalko A, Murphy J, Brooke OG. Comparison of the B vitamin composition of milk from mothers of preterm and term babies. *Arch Dis Child* (1983) 58, 367-72.
- Friend BA, Shahani KM, Long CA, Vaughn LA. The effect of processing and storage on key enzymes, B vitamins, and lipids of mature human milk I. Evaluation of fresh samples and effects of freezing and frozen storage. *Pediatr Res* (1983) 17, 61-64.
- Salmenpera L, Perheentupa J, Pispala JP, Siimes MA. Biotin Concentrations in maternal plasma and milk during prolonged lactation. *Int J Vit Nutr Res* (1985) 55, 281-285.
- Heard GS, Redmond JB, Wolf B. Distribution and bioavailability of biotin in human milk. *Fed Proceed* (1987) 46, 897.
- Hirano M, Honma K, Daimatsu T, et al. Longitudinal variations of biotin content in human milk. *Int J Vitam Nutr Res* (1992) 62, 281-2.
- 渡邊敏明, 谷口歩美, 福井徹, 他. 日本人女性の母乳中のビオチン、パントテン酸およびナイアシンの含量. *ビタミン*. (2004) 399-407.
- 渡邊敏明, 大串美沙, 福井徹. わが国の実年者におけるビオチンの体内動態についての検討. *生物試料分析* (2004) 27, 403-408.
- Sakurai T, Furukawa M, Asoh M, Kanno T, Tadsashi Kojima T, Yonekubo A. Fat-soluble and Water-Soluble Vitamin Contents of Breast Milk from Japanese Women. *J Nutr Sci Vitaminol* (2005) 51, 239-47.

表 4. ヒトにおけるビオチン投与の影響

文献	投与量 (mg/日)	投与方法	期間	その他
Gautier ('57)	2-6	経口	7-28 日	9 名
	5	筋注	5-17 日	乳児 15 名
Weirich ('60)	120	経口	40 日	成人 5 名 (18-48 歳)
Pawlowski ('65)	10	経口	28 日	成人女性 28 名 (17-51 歳) (200 $\mu$ g/kg 体重)
National Research Council ('72)	60	経口	3 週	
	100	筋注	3 週	
SCOGS ('78)	10	経口		
Wolf et al. ('80)	40			MCD
Roth ('80)	10			HCD
Miller and Hayes ('82)	10		6 ヶ月	乳児
				1-10 ng

アトピー性皮膚炎, 乾癬, 掌跖膿胞性皮膚炎,  
 ビオチン欠乏 (完全静脈栄養)

表 5. 動物におけるビオチン投与の影響

報告者	内 容
Paul PK (1973)	ラットに対し、0.1N-HaOH で溶解したビオチンを 5mg/100g 体重皮下注射。 発情サイクル異常発現
Paul PK (1975)	ラットの受精後 0.1N-HaOH で溶解したビオチン 10 mg/100 g 体重皮下注射。胎児と胎盤を吸収。

- Paul PK, Duttagupta PN, Agarwal HC. Effects of an acute dose of biotin on the reproductive organs of the female rat. *Curr Sci* (1973) 42, 206-8.
- Paul PK, Duttagupta PN. The effect of an acute dose of biotin at the pre-implantation stage and its relation with female sex steroids in the rat. *J Nutr Sci Vitaminol* (Tokyo). (1975) 21, 89-101.

ビオチンの食事摂取基準 (μg/日)

性別	男性				女性			
	推定平均必要量	推奨量	目安量	上限量	推定平均必要量	推奨量	目安量	上限量
0～5 (月)	-	-	4	-	-	-	4	-
6～11 (月)	-	-	10	-	-	-	10	-
1～2 (歳)	-	-	20	1000	-	-	20	1000
3～5 (歳)	-	-	25	1000	-	-	25	1000
6～7 (歳)	-	-	30	2000	-	-	30	2000
8～9 (歳)	-	-	35	2000	-	-	35	2000
10～11 (歳)	-	-	40	3000	-	-	40	3000
12～14 (歳)	-	-	50	4000	-	-	50	4000
15～17 (歳)	-	-	55	4000	-	-	55	4000
18～29 (歳)	-	-	50	5000	-	-	50	4000
30～49 (歳)	-	-	50	5000	-	-	50	4000
50～69 (歳)	-	-	50	5000	-	-	50	4000
70 以上 (歳)	-	-	50	5000	-	-	50	4000
妊婦 (付加量)					-	-	+2	-
授乳婦 (付加量)					-	-	+5	-

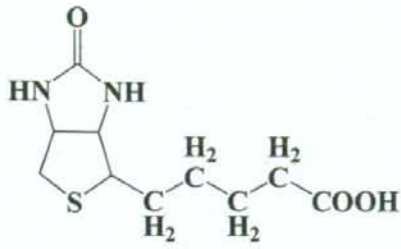


図 1. ビオチンの構造式 ( $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ , 分子量 = 244.3)

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

#### IV. 研究協力者の報告書

##### 2. ビタミン B<sub>12</sub>に関する研究報告

研究協力者 渡邊 文雄 鳥取大学 教授

#### 研究要旨

ビタミン B<sub>12</sub> の 2010 年度版食事摂取基準を策定するための研究報告をまとめた。

## A. 基礎

### 1. 単位

ビタミン B<sub>12</sub> はコバルトを含有する化合物 (コバミド) であり, アデノシルコバラミン, メチルコバラミン, スルフィトコバラミン, ヒドロキシコバラミン, シアノコバラミンがある. ビタミン B<sub>12</sub> の食事摂取基準の数値はシアノコバラミン相当量 (図 1) で策定した.

### 2. 性質<sup>1)</sup>

コリノイドは赤, 黄, 紫, 褐色, 緑など美しい色を呈し, 紫外および可視部に特徴ある吸収スペクトル (長波長側から  $\alpha$  および  $\beta$  帯 (420-660 nm 付近) と  $\gamma$  帯 (350-370 nm 付近)) を示し, ビタミン B<sub>12</sub> 化合物の同定に用いられる. シアノコバラミンは針状またはプリズム状結晶であり, 固体状態では安定である. 溶液では pH 4~6 で最も安定で, 遮光下, 室温で数年間保存できる. オートクレーブ殺菌も可能であり, 強酸性, 強アルカリ性では徐々に分解する.

### 3. 補酵素型への生合成経路

ヒトを含む哺乳動物でのビタミン B<sub>12</sub> 補酵素の合成経路の詳細は未だよくわかっていない. 先天性代謝異常症の研究からビタミン B<sub>12</sub> 補酵素の合成経路が推定されている (図 2)<sup>2)</sup>. 細胞内に取り込まれたヒドロキシコバラミン (コブ (III) アラミン) は, アクアコバラミンレダクターゼ (EC 1.6.99.8) の作用でコリン環の 3 価のコバルトが 1 電子還元され, コブ (II) アラミンとなる. コブ (II) アラミンはコブ (II) アラミンレダクターゼ (EC 1.6.99.9) の作用でさらに 1 電子還元されコブ (I) アラミンとなる. その後, コブ (I) アラミンアデノシルトランスフェラーゼ (EC 2.5.1.17) の作用でアデノシルコバラミンを生成する. ヒトの肝臓などに NADPH と

NADH に共役したアクアコバラミンレダクターゼ活性の存在が報告されている<sup>3)</sup>.

しかし, 近年, ゲノム情報等の高度な解析により新規な知見が次々と報告され, ヒトにおいて新たなモデル系が提唱されている (図 3). 細胞内に取り込まれた後, リソゾームで遊離したビタミン B<sub>12</sub> は, 細胞質で MMACHC タンパク質 (シアノコバラミンデシアナーゼ) と結合した後, 還元酵素により 3 価のコリン環コバルトが還元され, コブ (II) アラミンが生成する<sup>4)</sup>. 細胞内に取り込まれたビタミン B<sub>12</sub> がシアノコバラミンの場合は, このステップで還元的脱シアノ化されることになる. その後, 生成したコブ (II) アラミンは MMACHC タンパク質と結合することで還元状態を保ちながら下方配位子ヌクレオチド塩基は Base-off 型に安定化される. MMACHC タンパク質からメチオニン合成酵素 (MS) にコブ (II) アラミンが受け渡された後, MS 還元酵素の作用でコブ (II) アラミンはさらに 1 電子還元されコブ (I) アラミンとなり, S-アデノシルメチオニンからメチル基が転移されメチルコバラミンを生成する<sup>5)</sup>. メチオニン合成酵素は, この還元的活性化により触媒機能を発現する. 一方, MMACHC タンパク質からミトコンドリアに取り込まれたコブ (II) アラミンはビタミン B<sub>12</sub> アデノシルトランスフェラーゼ (ATR) に結合した後, ATR 還元酵素の作用でさらに 1 電子還元され, コブ (I) アラミンを生成する<sup>6)</sup>. このコブ (I) アラミンに ATP からアデノシル基が転移されアデノシルコバラミンを生成する. ATR タンパク質に結合したアデノシルコバラミンの下方配位子ヌクレオチド塩基は Base-off 型であり<sup>7)</sup>, その後, ATR はメチルマロニル CoA ムターゼと相互作用することでアデノ



シルコバラミンをメチルマロニル CoA ムターゼに受け渡すと推定されている<sup>8)</sup>。

#### 4. 異化代謝経路

ヒトの血清や胆汁中にはコビンアミド (コリン環コバルトと配位したヌクレオチドが存在しないコリノイド化合物) 様 B<sub>12</sub> 化合物がかなり存在することが報告されている<sup>9)</sup>。どのようなメカニズムでこれらビタミン B<sub>12</sub> 化合物が生成されるのかについては不明であり、ビタミン B<sub>12</sub> の異化代謝経路に関する報告はない。最近、ヒト糞中に見出されるビタミン B<sub>12</sub> 化合物の 98%以上が真のビタミン B<sub>12</sub> 以外の天然型コリノイド化合物であることが報告され (図 4)<sup>10)</sup>、腸内での生成機構や生体に及ぼす影響に興味を持たれる。

#### 5. 補酵素作用<sup>11)</sup>

ヒトを含む高等動物において2種類のビタミン B<sub>12</sub> 依存性酵素が知られている。生体内で奇数鎖脂肪酸やアミノ酸 (バリン、イソロイシン、スレオニン) の代謝に関与するアデノシルコバラミン依存性メチルマロニル CoA ムターゼ (EC5.4.99.2) と、N<sup>5</sup>-メチルトetraヒドロ葉酸 (5-CH<sub>3</sub>-H<sub>4</sub>-葉酸) とホモシステインからメチオニンの生合成に関与するビタミン B<sub>12</sub> 依存性メチオニン合成酵素 (EC2.1.1.13) である。

#### 6. 補酵素作用以外の作用

ビタミン B<sub>12</sub> について補酵素作用以外の生理作用の報告はない。

#### 7. 欠乏症発症機構

ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏によりアデノシルコバラミン依存性メチルマロニル CoA ムターゼ活性が低下すると、生体内にメチルマロン酸 (MMA) が蓄積し、尿中に MMA が排泄される<sup>12)</sup>。この MMA 排泄量の増加はヒトを含む高等動物のビタミン B<sub>12</sub> 欠乏状態の指標とし

て広く用いられている。また、動物実験において生体内の MMA 蓄積により TCA サイクル関連酵素の阻害など種々の代謝障害が生じることが報告されている<sup>13)</sup>。

一方、ビタミン B<sub>12</sub> 依存性メチオニン合成酵素の活性低下は、S-アデノシルメチオニン (生体内のメチル基供与体) の減少と S-アデノシルホモシステイン (メチル基転移反応の阻害作用) の増加を引き起こし、生体内の種々のメチル化反応に影響を与える<sup>14)</sup>。また、ビタミン B<sub>12</sub> 依存性メチオニン合成酵素の活性低下は、ホモシステインの増加による神経障害の発症にも関連している<sup>15)</sup>。実際にビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症患者の脳神経組織において、奇数鎖脂肪酸や分岐鎖脂肪酸の異常な蓄積やミエリン鞘の障害 (脱ミエリンなど) が観察され、ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏性神経障害の一要因と推定される<sup>16-18)</sup>。

また、ビタミン B<sub>12</sub> 依存性メチオニン合成酵素はメチオニン代謝と葉酸代謝の接点に位置する。ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏によるメチオニン合成酵素活性の低下は、葉酸代謝にも著しく影響を及ぼし、DNA 合成が顕著に低下する。ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏における巨赤芽球出現の機構として葉酸代謝と共役した DNA 合成異常による「メチル葉酸トラップ説」が提唱されている<sup>19)</sup>。

#### 8. 薬理作用

ヒドロキシコバラミンは容易に CN アニオンと結合しシアノコバラミンを生じる性質があるため、ヒドロキシコバラミンは食品中やタバコの煙などから生体に取り込まれる微量な CN アニオンのスクベンジャーとなりうる。この性質を利用し、火災などで発症した CN 中毒症の解毒剤としての利用も検討されている<sup>20)</sup>。また、ヒドロキシコバラミン

は生理活性物質である一酸化窒素のスキベンジャーとしての作用<sup>21)</sup>やメチルコバラミンは睡眠・覚醒リズム障害の治療効果<sup>22)</sup>が報告されている。近年、アデノシルコバラミンやメチルコバラミン等に抗マalaria活性を有することが報告されている<sup>23)</sup>。

## 9. 毒性

健康者において食物およびサプリメントからの過剰なビタミン B<sub>12</sub> 摂取に伴う悪影響はない。定期的なビタミン B<sub>12</sub> の大量投与は悪性貧血症の一般的な治療方法であり、悪性貧血患者に大量 (1~5 mg) のビタミン B<sub>12</sub> を定期的に非経口投与しても過剰害は生じない<sup>24)</sup>。また、大量に経口投与された場合でも投与ビタミン B<sub>12</sub> 量の数パーセントが腸管から吸収されるのみである<sup>25)</sup>。以上のことはビタミン B<sub>12</sub> が明らかに低毒性であることを示している。

ビタミン B<sub>12</sub> 製剤はシアノコバラミン、ヒドロキソコバラミン、アデノシルコバラミン、メチルコバラミンなどの形で使用されているが、経口投与では嘔吐、下痢、腹痛などの消化器症状 (稀に発疹、足の灼熱感) が、非経口投与では頭痛、耳鳴、顔面蒼白などが報告されている<sup>26)</sup>。

大量にビタミン B<sub>12</sub> を非経口投与されるとぞそう (俗に、にきび) を生じる可能性が示唆されたが、主にシアノコバラミンよりも、むしろヒドロキソコバラミンの投与で生じ、市販されているビタミン B<sub>12</sub> 標品中の不純物によると推定されている<sup>27)</sup>。また、アデノシルコバラミンの非経口投与後、アナフィラキシー反応を発症し、死亡した例が報告されている<sup>26)</sup>。アレルギー反応の発症機構としてビタミン B<sub>12</sub> 製剤中の不純物、安定化剤、防腐剤などによるものか、あるいはビタミン B<sub>12</sub>

のコバルト原子が抗原として感作したものが、詳細は不明である。通常は最も低毒性のビタミン B<sub>12</sub> 製剤でも極めて稀であるが重篤な副作用の存在することを認識する必要がある。

## B. ライフステージにおけるビタミン B<sub>12</sub> の必要量

ライフステージにおけるビタミン B<sub>12</sub> の必要量を表 1 に示した。

### 1. 乳児 (0~5 ヶ月)

健康で食生活の良好な成人母親の母乳で育てられた乳児にはビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症は起こらないと考えられ、一般的に 0~5 ヶ月の乳児のビタミン B<sub>12</sub> の食事摂取基準は、母乳栄養児のビタミン B<sub>12</sub> 摂取量を基礎した適正摂取量から策定されている。

井戸田ら<sup>28)</sup> は日本人の健康な母親の母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量を *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* ATCC 7830 を用いた微生物学的定量法で測定したところ、母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量は初乳または移行乳 (0.4 µg/L) から成熟乳 (0.2 µg/L) になるに従い減少し、その平均値は 0.2 µg/L であることを報告している。また、Trugo ら<sup>29)</sup> も、初乳から成熟乳にかけビタミン B<sub>12</sub> 含量が減少することを見出している。

また、井戸田ら<sup>28)</sup> が用いた定量菌は、いわゆるアルカリ耐性因子 (ヌクレオチドやデオキシリボヌクレオチド) にもビタミン B<sub>12</sub> 活性を示す。そのため見かけのビタミン B<sub>12</sub> 含量からアルカリ耐性因子含量を差し引き、正確なビタミン B<sub>12</sub> 含量を算出する必要があるが、井戸田ら<sup>28)</sup> が用いた方法にはアルカリ耐性因子を補正したとする記載がない。また、Sakurai ら<sup>30)</sup> はアルカリ耐性因子を補正

しない AOAC 法を用いて日本人の母乳 115 サンプル中のビタミン B<sub>12</sub> 含量を  $0.4 \pm 0.2$   $\mu\text{g/L}$  と報告している。日本食品標準成分表で採用されている分析マニュアルに準じてアルカリ耐性因子を補正した母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量を算出した結果では、日本人の健康な母親 25 名の母乳に含まれるビタミン B<sub>12</sub> 含量は  $0.28 \pm 0.14$   $\mu\text{g/L}$  と報告されている<sup>31)</sup>。また、柴田ら (投稿中)<sup>32)</sup> は、日本人の母乳 194 サンプルのビタミン B<sub>12</sub> 含量を  $0.68 \pm 0.26$   $\mu\text{g/L}$  と報告している。これまでに報告されている母乳中の平均的なビタミン B<sub>12</sub> 含量を表 2 に示す。

母乳中に含まれるビタミン B<sub>12</sub> の定量法に関して、わが国では微生物学定量法が用いられているが、欧米では放射性同位体希釈法が主流である。血清ビタミン B<sub>12</sub> 含量の測定において放射性同位体希釈法は微生物学的定量法より若干高い値 (約 1.3 倍) を示すことが報告されており<sup>33)</sup>、単純に数値を比較することはできない。日本人の母乳に関して井戸田ら<sup>28)</sup>・渡邊ら<sup>31)</sup> による日本人の母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量の平均値 ( $0.2 \sim 0.28$   $\mu\text{g/L}$ ) に比べ、Sakurai ら<sup>30)</sup>・柴田ら (投稿中)<sup>32)</sup> による数値 ( $0.4 \sim 0.68$   $\mu\text{g/L}$ ) が高値を示したが、この母乳ビタミン B<sub>12</sub> 含量の相違がどのような理由で生じたのかは不明である。

第六次改定食事摂取基準では、平均的な日本人の母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量を  $0.2$   $\mu\text{g/L}$ 、泌乳量  $0.75$  L/日を用いて摂取量 ( $0.15$   $\mu\text{g/日}$ ) を計算し、0~5 ヶ月の乳児の所要量を  $0.2$   $\mu\text{g/日}$  と策定した<sup>34)</sup>。食事摂取基準 (2005 年版) では平均的な日本人の母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量を  $0.2$   $\mu\text{g/L}$ 、泌乳量  $0.78$  L/日を用いて摂取量 ( $0.156$   $\mu\text{g/日}$ ) を計算し、目安量を  $0.2$   $\mu\text{g/日}$  と策定した<sup>35)</sup>。一方、米国の食事摂取

基準において母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量はわが国より高い値 ( $0.42$   $\mu\text{g/L}$ ) が採用され、泌乳量  $0.78$  L/日を用いて摂取量 ( $0.33$   $\mu\text{g/日}$ ) が計算され、推奨量を  $0.4$   $\mu\text{g/日}$  としている<sup>36)</sup>。米国の食事摂取基準では乳児のビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症を予防するだけでなく、疾病予防のため、ビタミン B<sub>12</sub> の体内バランスを正常に維持するためには少なくとも  $0.3$   $\mu\text{g/日}$  以上の摂取量が必要であることを指摘している<sup>36)</sup>。

最近、人工乳栄養児に比べ、母乳栄養児は生後 6 ヶ月においてビタミン B<sub>12</sub> の栄養状態を示す各種バイオマーカー (血清ビタミン B<sub>12</sub> 量、ホロトランスコバロミン II (TCII) 量、血清メチルマロン酸 (MMA) 量) の挙動が低ビタミン B<sub>12</sub> 栄養状態を示し、特に血清 MMA は一過性ではあるが顕著な増加を示すことが報告されている (図 5-1, 5-2)<sup>37)</sup>。また、ベジタリアンの母親とその乳児の研究において、母乳のビタミン B<sub>12</sub> 含量が  $0.49$   $\mu\text{g/L}$  以下のとき、母乳栄養児の尿中 MMA 排泄量が増加した<sup>38,39)</sup>。今後、この時期の乳児へビタミン B<sub>12</sub> の補完等を検討する必要があるかもしれない。

そこで、今回 2005 年以降に報告された日本人の母乳のビタミン B<sub>12</sub> 含量に関する 3 論文の数値の平均値  $0.45$   $\mu\text{g/L}$  を採用した。基本方針に従い泌乳量  $0.78$  L/日で計算すると、0~5 ヶ月の乳児の食事摂取基準 (目安量) は  $0.35$   $\mu\text{g/日}$  となる。

## 2. 乳児 (6~11 ヶ月)

データは存在しない。そこで基本方針に従って算定することとする。

男性は、 $\{0.35 \times (8.8 / 6.6)\}^{0.75} + 2.4 \times (8.8 / 63.0)^{0.75} \times 1.3 / 2 = 0.57$   $\mu\text{g/日}$ 、

女性は、 $\{0.35 \times (8.2 / 6.1)\}^{0.75} + 2.4 \times (8.2 / 50.0)^{0.75} \times 1.3 / 2 = 0.62$   $\mu\text{g/日}$ 。

つまり、6~11ヶ月の乳児は、0~5ヶ月の乳児の0.35 µg/日の外挿値(0.43 µg/日)と成人の推奨量からの外挿値(0.75 µg/日)の平均値0.59 µg/日とし、平滑化した。

### 3. 1~69歳

成人のための推定平均必要量を導き出すための単一の指標はない。一般的に次のような方法が考えられる [i. 適正な血清学的状態(正常なヘモグロビン値, 正常なMCV, 正常な網状赤血球反応)を維持するために必要なビタミンB<sub>12</sub>量で決定する方法, ii. 血清ビタミンB<sub>12</sub>量と各種ビタミンB<sub>12</sub>バイオマーカー(MMA値, ホロTCII値など)を適正に維持するのに必要な食事のビタミンB<sub>12</sub>摂取量を評価する方法, iii. ビタミンB<sub>12</sub>の出納バランス, あるいは体内貯蔵量を適正に維持するのに必要なビタミンB<sub>12</sub>量を評価する方法, iv. その他]。

米国の食事摂取基準<sup>36)</sup>は、理想的でないかもしれないが、策定当時、信頼できるデータが唯一存在したi.の方法が平均必要量を導き出す方法に選ばれ、わが国でも第六次改定食事摂取基準<sup>34)</sup>と日本人の食事摂取基準(2005年版)<sup>35)</sup>で採用された。

i. 適正な血清学的状態(正常なヘモグロビン値, 正常なMCV, 正常な網状赤血球反応)を維持するために必要なビタミンB<sub>12</sub>量の評価

悪性貧血患者にビタミンB<sub>12</sub>を0.25~10 µg/日で筋肉内投与した結果、0.5~2.0 µg/日のビタミンB<sub>12</sub>投与量で血清学的回復が最大値を示すことが報告されている<sup>40)</sup>。米国食事摂取基準では適正な血清ビタミンB<sub>12</sub>量を150 pmol/L(200 pg/mL)以上とし、このデータと他の悪性貧血患者へのビタミンB<sub>12</sub>の投与実験の結果から、1.5 µg/日が悪性貧血症患者の

血清学的状態を適正に維持するために必要とされるビタミンB<sub>12</sub>量であると推定している(表3)。しかし、数週間ごと、あるいは数ヶ月ごとのビタミンB<sub>12</sub>の単回投与量から1日あたりの投与量を補正・算出することは必ずしも適切であるとは考えられない。

悪性貧血患者は胆汁中に含まれる多量のビタミンB<sub>12</sub>を再吸収することができないため、米国食事摂取基準ではこのビタミンB<sub>12</sub>量(1.5 µg/日)からその損失量(0.5 µg/日)を差し引き、正常な腸管吸収能力を有した健康な成人における吸収率(50%)で補正することで推定平均必要量を算定している(表4)。

最近、Borら<sup>41)</sup>はビタミンB<sub>12</sub>の食事摂取量と体内ビタミンB<sub>12</sub>栄養状態を示すバイオマーカー(血清ビタミンB<sub>12</sub>量, ホロTCII量, MMA量, ホモシステイン量)から適正なビタミンB<sub>12</sub>摂取量を検討した。その結果、すべての体内ビタミンB<sub>12</sub>栄養状態の指標を適正に導くためには、毎日6~10 µg/日のビタミンB<sub>12</sub>の摂取が必要であることを報告している(図6)。

iii. ビタミンB<sub>12</sub>の出納バランス, あるいは体内貯蔵量を適正に維持するのに必要なビタミンB<sub>12</sub>量の評価

ホール・ボディー・カウント法を用いた研究から体内ビタミンB<sub>12</sub>貯蔵量に関係なく、1日あたり体内ビタミンB<sub>12</sub>貯蔵量の0.1~0.2%が消失することが示された<sup>42-44)</sup>。すなわち、ビタミンB<sub>12</sub>貯蔵量が3 mgの成人は3~6 µgを毎日排泄することになる。健康な成人の平均のビタミンB<sub>12</sub>貯蔵量は約2~3 mgと報告されているが<sup>45,46)</sup>、健康を維持するための必要最小の体内ビタミンB<sub>12</sub>貯蔵量に関する情報が無い。仮に健康を維持できる必要最小貯蔵量を300 µgと見積ると<sup>45)</sup>、ビタミン