

図 2. 絶食期間と尿中ビタミン排泄量の関係

尿中ビタミン B₁ (A), ビタミン B₂ (B), ビタミン B₆ 代謝産物 (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). 値は平均値 ± 標準誤差 (n = 5). *絶食前 (Day 0) と比較した有意差を示す.

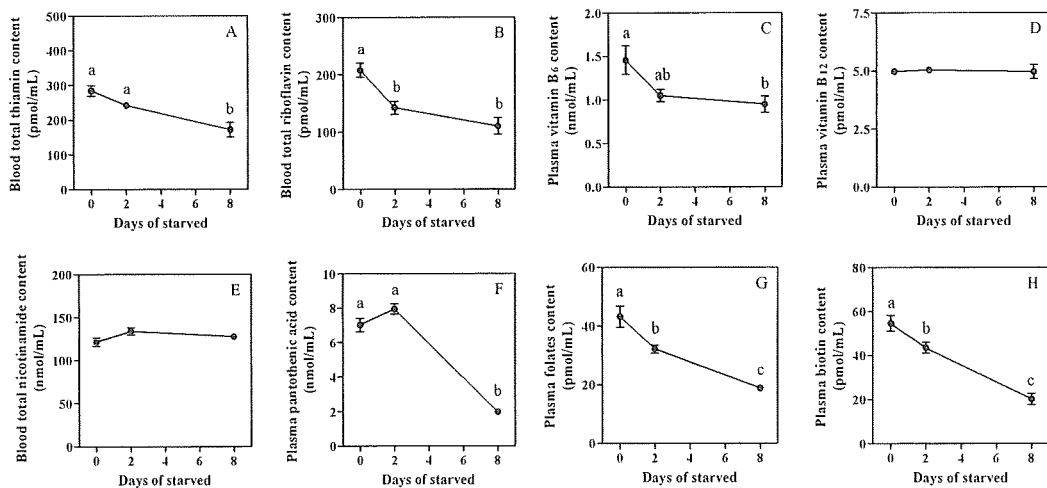


図 3. 絶食期間と血中ビタミン量の関係

血中ビタミン B₁ (A), ビタミン B₂ (B), ビタミン B₆ (C), ビタミン B₁₂ (D), 総ニコチンアミド (E), パントテン酸 (F), 葉酸 (G), ビオチン (H). 値は平均値 ± 標準誤差 (n = 5). Day 0 に CONT 群, Day 2 に Phase 2 群, Day 8 に Phase 3 群の値を示した. 異なる添字は有意差を示す.

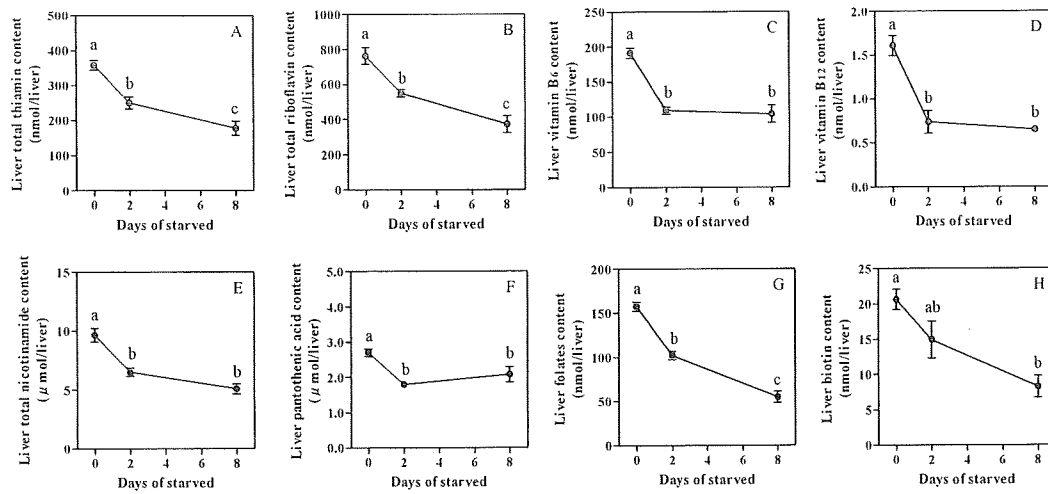


図 4. 絶食期間と肝臓中ビタミン量の関係

肝臓中ビタミン B₁ (A), ビタミン B₂ (B), ビタミン B₆ (C), ビタミン B₁₂ (D), 総ニコチンアミド(E), パントテン酸 (F), 葉酸 (G), ビオチン (H). 値は平均値 ± 標準誤差 (n = 5). Day 0 に CONT 群, Day 2 に Phase 2 群, Day 8 に Phase 3 群の値を示した. 異なる添字は有意差を示す.

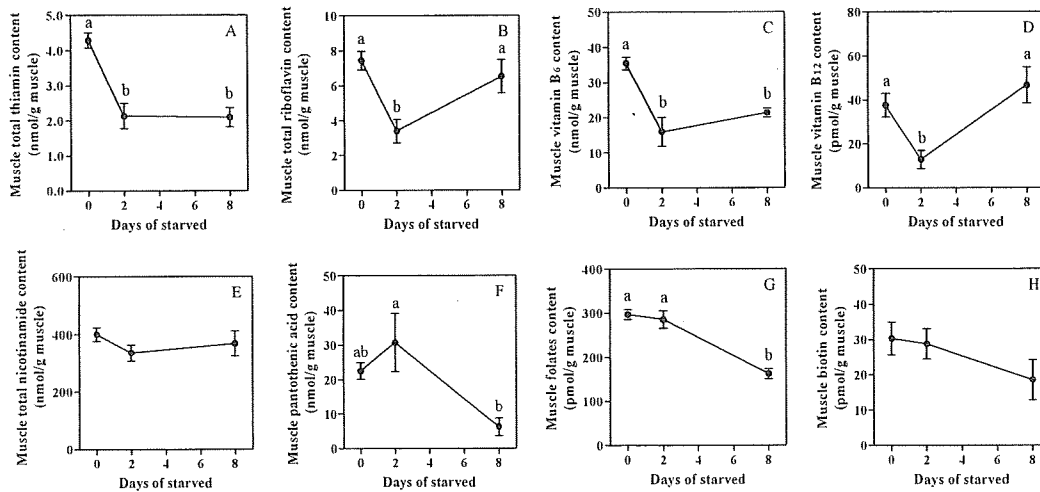


図 5. 絶食期間と筋肉中ビタミン量の関係

筋肉中ビタミン B₁ (A), ビタミン B₂ (B), ビタミン B₆ (C), ビタミン B₁₂ (D), 総ニコチンアミド(E), パントテン酸 (F), 葉酸 (G), ビオチン (H). 値は平均値 ± 標準誤差 (n = 5). Day 0 に CONT 群, Day 2 に Phase 2 群, Day 8 に Phase 3 群の値を示した. 異なる添字は有意差を示す.

平成 21 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

主任研究者の報告書

14. ラットにおけるビタミン B₁ 必要量の算定

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

ビタミン B₁ 代謝はエネルギー消費量，炭水化物摂取，アルコール摂取など様々な要因の影響を受ける可能性が指摘されている。これらの可能性について実験的に検証するためには，低ビタミン B₁ 栄養状態のヒトあるいは実験動物を対象とする必要がある。しかし，低ビタミン B₁ 栄養状態のヒトを対象とした介入試験を行うことは，倫理的な問題がある。本研究では，低ビタミン B₁ 栄養状態のラットを作製し，ビタミン B₁ に関わる生体指標を明らかにするために，ラットのビタミン B₁ 必要量を算定することを目的とした。3 週齢の Wistar 系雄ラットに，飼料 1 kg あたり 0, 0.5, 0.7, 0.8, 1.0, 6.0 mg のチアミン塩酸塩を含む食餌を与え，4 週間飼育した。この間の体重増加量と飼料摂取量を測定した。飼育終了後，ラットを屠殺し，血液および各臓器における総チアミン濃度を測定した。0.7 mg/kg diet 以下のチアミン塩酸塩摂取によって成長抑制が認められた。ビタミン B₁ 欠乏の典型的な症状は食欲不振とそれに伴う成長抑制であることから，成長抑制を指標としてビタミン B₁ 必要量を算定すると，0.8 mg/kg diet チアミン塩酸塩の摂取，すなわちチアミン塩酸塩として 80 μg/kg 体重/日が必要量となった。0.8 mg/kg diet チアミン塩酸塩を摂取したラットにおける血中総チアミン濃度は約 100 μmol/mL，肝総チアミン量は約 35 nmol/tissue であった。

A. 目的

尿中の水溶性ビタミン排泄量は環境や食事の変化に伴って鋭敏に変化する。一方、健康体であれば血中ビタミン濃度には変化が現れにくい。そのため、栄養状態の指標すなわち個人が有する最高能力を発揮するための栄養素摂取量を提言するための指標としてもつばら尿を試料として利用してきた。そのため、尿のデータは蓄積され、ヒトにおける尿中の水溶性ビタミンに関しては、暫定値ではあるが基準値が定めることができた¹⁾。しかしながら、将来的に疾患モデル動物などを扱うことを考えると、血中や臓器中のビタミン濃度の変化も視野に入れる必要がでてきた。

ビタミン B₁ (VB₁) は代謝の速いビタミンであり、運動、アルコール、炭水化物摂取などの要因によって VB₁ 代謝が影響を受ける可能性が指摘されている²⁻⁴⁾。これらの要因による VB₁ 代謝の変動は、劇的なものではないことが推察される。したがって、これらの要因について実験的に検証するためには、低 VB₁ 栄養状態のヒトあるいは実験動物を対象とし、さらなる VB₁ 栄養状態の悪化を指標とすればよい。しかし、低 VB₁ 栄養状態のヒトを対象として介入試験を行い、さらに VB₁ 栄養状態の悪化を招くことは倫理上の問題がある。本研究では、低ビタミン B₁ 栄養状態のラットを作製し、ビタミン B₁ に関わる生体指標を明らかにするために、ラットのビタミン B₁ 必要量を算定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。飼育室の温度は 22°C 前後、湿度は 50% 前後、午前 6 時から午後 6 時までを明、午前 6 時から午後 6 時までを暗とした。3 週齢の Wistar 系雄ラットを日本クレア (株) より 31 匹購入し、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、28 日間飼育した。20% カゼイン食 1 kg あたりに含まれる VB₁ 量をチアミン塩酸塩として 0 mg, 0.5 mg, 0.7 mg, 0.8 mg, 1.0 mg, 6.0 mg とした飼料をラットに与えた (表 1)。飼料と水は自由摂取とし、1 日ないし 2 日おきに新しいものと交換した。ラットの世話は、午前 9 時に行い、体重と飼料摂取量を測定した。飼育終了後に断頭屠殺し、採血した。また、大脳、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、精巣および大腿四頭筋を摘出し、各臓器重量を測定した。尿、血液、大脳、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、精巣および大腿四頭筋に含まれる VB₁ 量を測定した。

2. 分析

全血、肝臓、全脳、心臓、腎臓、脾臓、精巣、骨格筋中の総チアミン量は、チアミン、TMP、TDP、TTP の合計量とし、HPLC 法により分析した⁵⁾。

3. 統計処理

数値はすべて平均±標準偏差 (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なった。p < 0.05 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) GraphPad Prism4 を使用した。

C. 結果

1. 飼料摂取量および体重増加量

標準飼料に用いられる 6.0 mg/kg チアミン塩酸塩食を摂取したラットに比べ、0.5 mg/kg 以下のチアミン塩酸塩食を摂取したラットにおいて明らかな食欲減退と成長抑制が認められ、0.7 mg/kg チアミン塩酸塩食を摂取したラットにおいても食欲減退と成長抑制が認められた (図 1)。VB₁ 欠乏の典型的な症状は食欲不振とそれに伴う成長抑制であることから、成長抑制を指標として VB₁ 必要量を算定すると、0.8 mg/kg チアミン塩酸塩食の摂取、すなわち必要量はチアミン塩酸塩として 80 µg/kg 体重/日となった。

2. 血中および臓器中の総チアミン量

飼育終了後の全血、脳、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、精巣、大腿四頭筋における総チアミン量を測定した。0~1.0 mg/kg チアミン塩酸塩食を摂取したラットにおける血中総チアミン濃度は、6.0 mg/kg チアミン塩酸塩食摂取ラットよりも低値を示した (図 2A)。しかし、0~1.0 mg/kg では飼料中のチアミン塩酸塩の含量にかかわらず一定値を示し、その値は約 100 pmol/mL であった。

肝総チアミン量についても同様に、0~1.0 mg/kg チアミン塩酸塩食を摂取したラットの値は 6.0 mg/kg チアミン塩酸塩食を摂取したラットより低値を示した (図 2B)。しかし、0~1.0 mg/kg では飼料中のチアミン塩酸塩の含量にかかわらず一定値を示し、その値は約 35 nmol/tissue であった。

その他の臓器における総チアミン量の変動は 2 通りのパターンに分けられた。飼料中のチアミン塩酸塩含量依存的に総チアミン量が増加した臓器は、脳、脾臓、精巣であった (図 2C, E, G)。血中総チアミン濃度を反映した臓器は、心臓、腎臓、骨格筋であった (図 D, F, H)。

D. 考察

本研究では、ラットにおける VB₁ 必要量を算定することを目的として、幼若ラットに 0~6.0 mg/kg チアミン塩酸塩食を摂取させ、体重増加量、飼料摂取量、血中および臓器中総チアミン量を測定した。VB₁ 欠乏の典型的な症状である成長抑制を指標として必要量を算定すると、0.8 mg/kg 以上のチアミン塩酸塩食の摂取によって最大成長が認められたことから、ラットの VB₁ 必要量はチアミン塩酸塩として 80 µg/kg 体重/日となった。本研究と同様に、最大成長を指標としてラットの VB₁ 必要量を 0.55 mg/kg チアミン食と算定した報告がある⁶⁾。この値をチアミン塩酸塩に換算すると、0.7 mg/kg に相当する。本研究で得られた 0.8 mg/kg とほぼ同じ値ではあるが、本研究では 0.7 mg/kg チアミン塩酸塩食の摂取では成長遅延が認められた。この違いが認められた原因として、Wistar 系と SD 系という系統の違い、実験開始時期が 3 週齢と体重 90 g という違いが可能性として挙げられる。体重 90 g のラットは 4~5 週齢に相当することから、離乳後の 1~2 週間に VB₁ を貯えることができたため、その VB₁ を枯渇させるためにはより低含量の飼料を与える必要があったという可能性が考えられる。いずれにせよ、本研究により、3 週齢の Wistar 系ラットを用いる場合には、0.8 mg/kg チアミン塩酸塩食が VB₁ 必要量に相当する食餌であることを明らかにした。

本研究では、血液、肝臓を始めとする様々な臓器における総チアミン量を測定することにより、必要量の VB₁ を摂取したラットの生体指標を明らかにした。VB₁ の貯蔵組織は肝臓であり、VB₁ は血流を介して他の

臓器へ供給される。VB₁ 欠乏によって成長抑制が生じる機構は不明ではあるが、本研究より、VB₁ 欠乏を防ぐためには血中総チアミン濃度を 100 pmol/mL、肝総チアミン量を 35 nmol/tissue に維持することが重要であるようである。

本研究により、ラットにおける VB₁ 必要量を算出し、その生体指標を明らかにした。VB₁ 代謝に影響をおよぼす可能性のある要因はいくつか指摘されている。したがって、本研究結果に基づいて作製した低 VB₁ 栄養状態のラットを用い、それらの要因の負荷によって VB₁ に関する生体指標の変動を調べれば、その要因が VB₁ 代謝におよぼす影響を実験的に証明することが可能となる。動物実験で得られた知見に基づいて VB₁ 必要量に影響をおよぼす要因の仮説を立て、疫学研究などによってその仮説を検証すれば、ヒトにおける VB₁ 必要量に影響をおよぼす要因を明らかにすることができる。

E. 健康危険情報

特記する情報なし

F. 研究発表

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. 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.
2. Manore MM. Effect of physical activity on thiamine, riboflavin, and vitamin B₆ requirements. *Am J Clin Nutr* (2000)72, 598-606.
3. Hoyumpa Jr AM, Nichols SG, Wilson FA, Schenker S. Effect of ethanol on intestinal (Na, K) ATPase and intestinal thiamine transport in rats. *J Lab Clin Med* (1977) 90, 1086-95.
4. Elmadfa I, Majchrzak D, Rust P, Genser D. The thiamine status of adult humans depends on carbohydrate intake. *Int J Vitam Nutr Res* (2001) 71, 217-21.
5. 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.
6. Rains TM, Emmert JL, Baker DH, Shay NF. Minimum thiamin requirement of weanling Sprague-Dawley outbred rats. *J Nutr* (1997) 127, 167-70.

表 1 飼料組成 (%)

	チアミン含量 (mg/kg 食)					
	0	0.5	0.7	0.8	1.0	6.0
カゼイン	20	20	20	20	20	20
L-メチオニン	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
コーンスターチ	46.9	46.9	46.9	46.9	46.9	46.9
ミネラル混合 (AIN-93M)	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
コーン油	5	5	5	5	5	5
ショ糖	23.4	23.4	23.4	23.4	23.4	23.4
VB ₁ 欠ビタミン混合 (AIN-93VX)	1	1	1	1	1	1
チアミン塩酸塩	0	0.0005	0.0007	0.0008	0.001	0.006

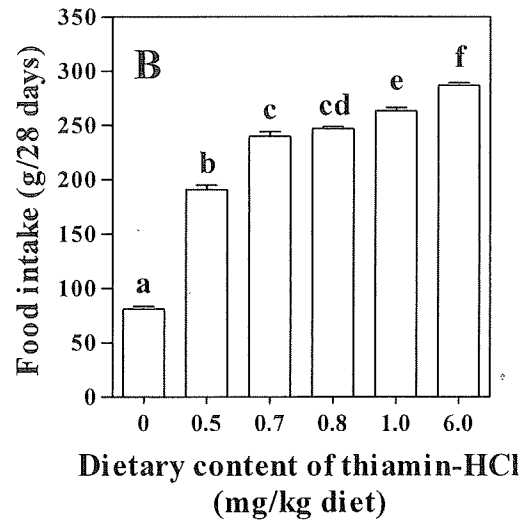
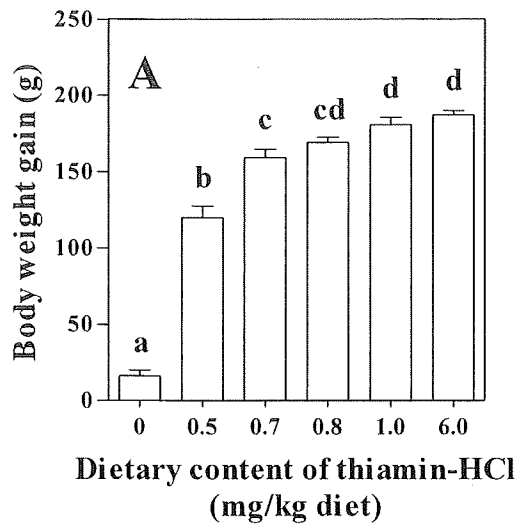


図1. 体重増加量 (A) および飼料摂取量 (B)

値は平均値 ± 標準誤差 (n = 4~6) として示した。異なる添え字間で $p < 0.05$ の有意差があることを示す。

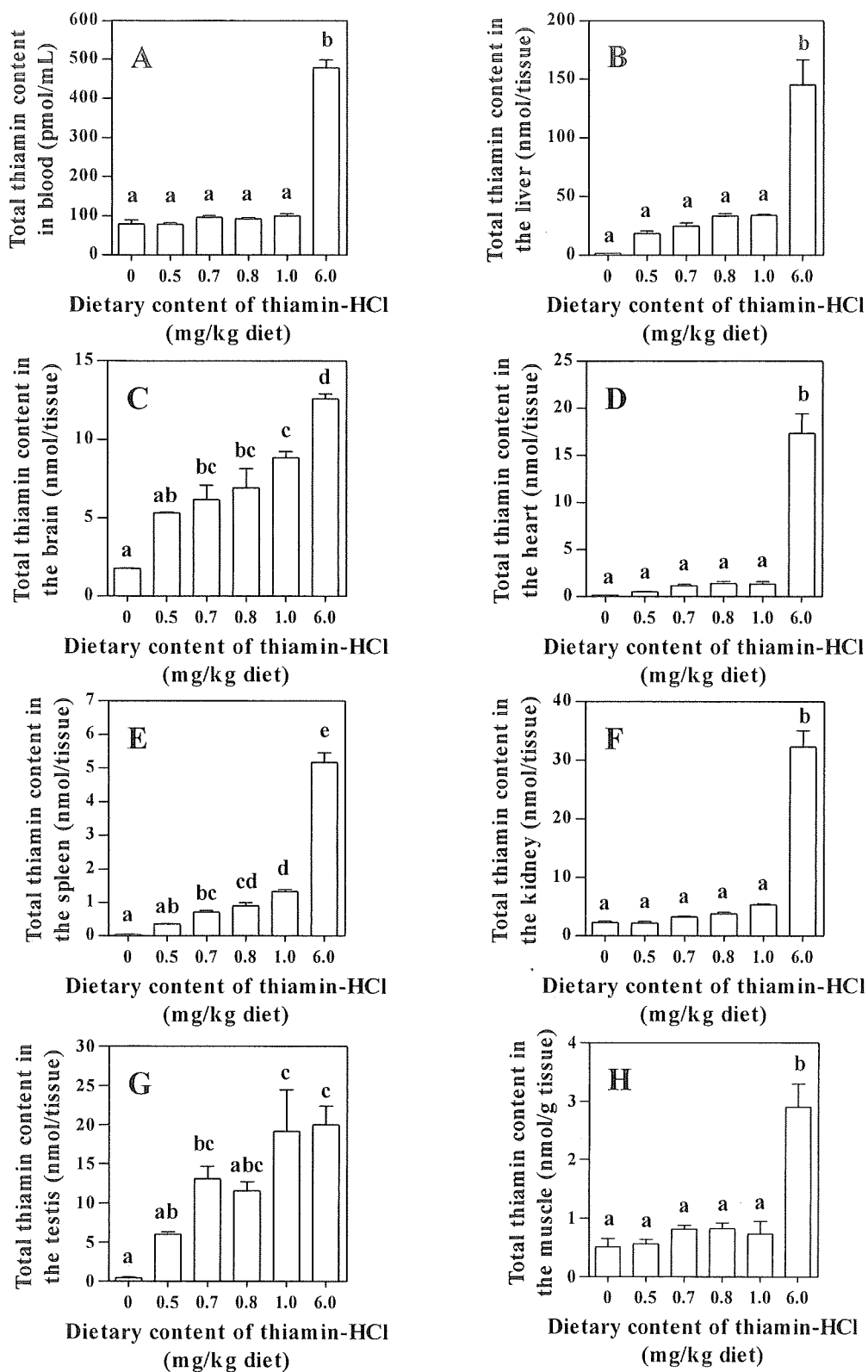


図 2. 飼料中のチアミン塩酸塩量が血中 (A), 肝臓 (B), 脳 (C), 心臓 (D), 脾臓 (E), 腎臓 (F), 精巣 (G), 大腿四頭筋 (H) の VB1 量におよぼす影響. 値は平均値±標準誤差 (n=4~6) として示した. 異なる添え字間で $p < 0.05$ の有意差があることを示す.

Ⅲ. 分担研究者の報告書

平成 21 年度厚生労働省科学研究費補助金（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

Ⅲ. 分担研究者の報告書

1. 前立腺がんの疑いで泌尿器科を受診した中高年男性の足爪セレン濃度

分担研究者 吉田 宗弘 関西大学 教授

研究要旨

前立腺がんの疑いで泌尿器科外来を受診した中高年男性 103 名（年齢：48～88 歳， 69.9 ± 7.5 歳）を対象にして、足爪セレン濃度を測定し、前立腺がん確定診断との関連を検討した。対象者中、前立腺がんの確定診断がなされた人は 63 名だった。対象全体の血清セレン濃度の平均値±標準偏差、および中央値は、それぞれ、 124 ± 29 、および 122 ng/mL であり、がん確定診断の有無による血清セレン濃度の差は認められなかった。対象者全体の足爪セレン濃度の平均値±標準偏差、および中央値は、それぞれ、 1.58 ± 0.75 、および 1.39 $\mu\text{g/g}$ だった。がん確定診断の有無によって対象者を二分し、比較したところ、いずれの集団も測定値 1～1.5 $\mu\text{g/g}$ の人が最多であったが、確定診断「あり」の集団において、測定値 2.0 $\mu\text{g/g}$ 以上の者の割合が高かったため、「あり」の集団は「なし」の集団に比較して有意に高い足爪セレン濃度を示した。これらの足爪セレン濃度の測定値は、諸外国での測定値に比較して高値であったが、これは日本人の高セレン摂取量を反映したものであると考えられた。血清と足爪セレン濃度との関連を検討したところ、全対象者における相関係数 (r) は -0.082、がん確定診断の有無によって対象者を二分した場合の相関係数は、「あり」の場合が -0.091、「なし」の場合が -0.149 であり、いずれも関連を認めなかった。両者に関連が認められなかったのは、両試料の採取日時が一致しない対象者が多かったためであると考えられた。

A. 目的

低セレン状態が、肺がんや前立腺がんなど、いくつか部位のがんの発症にとって危険因子であることが報告されている¹⁾。なかでも前立腺がんに関しては、高用量 (200 $\mu\text{g}/\text{d}$) セレンの投与による予防効果の可能性が指摘されたことから²⁾、米国において大規模な疫学介入研究が実施されている³⁾。しかし、わが国の場合、十分なセレン摂取が達成されており、低セレン状態にある人がきわめて少ないと考えられることから、がん発生とセレン状態の関連を認めることは難しいと判断されている。

以上のような、がんをはじめとする疾病発生とセレン状態との関連を検討する場合、対象者のセレン状態を明示する生体指標が必要となる。セレン状態の生体指標として、血清セレン濃度がもっともよく用いられているが、近年では足爪セレン濃度を用いる事例も増加している⁴⁻¹¹⁾。足爪は血清に比較して非侵襲的に採取可能であり、かつ伸長速度が緩やかであるため血清よりも長期間のセレン状態を反映するなどの利点がある。しかし、わが国において、日本人を対象として足爪のセレン濃度を測定した研究はない。

本研究では、前立腺がんの疑いで泌尿器科外来を受診した中高年男性を対象にして、足爪セレン濃度を測定し、前立腺がん確定診断との関連を検討した。

B. 実験方法

1. 対象者と試料

2007年から2009年にかけて泌尿器科を前立腺がんの疑いで受診した男性103名(年齢:48~88歳, 69.9 ± 7.5 歳)から採取された足爪試料(平均で1人当たり約50 mg)と

血清試料(約250 μL)をセレン測定用の試料とした。なお、足爪試料と血清試料の採取日は多くの対象者において一致していなかった。

2. 分析

収集した足爪は蒸留水と50%エタノールで洗浄し、付着している汚れを除去した。風乾、秤量後、採取全量を10 mLの目盛り付き試験管に移し、濃硝酸0.5 mLを加えた。数時間室温に放置した後、不溶物がなくなるまで約100°Cに加熱し、灰化した。灰化した試料に蒸留水を加えて容量を5 mLとし、セレン測定用の試料とした。

血清200 μL についても、同様に、10 mLの目盛り付き試験管中で濃硝酸0.5 mLを用いて灰化を行い、蒸留水で希釈することによって5 mLの試料溶液を調製した。

試料溶液中のセレンの定量は、誘導結合プラズマ質量分析法により行った。用いた機種は島津ICPMS-8500、分析質量数は82である。なお、測定限界は噴霧する試料溶液中濃度として1 ng/mLである。

C. 結果

1. 対象者の属性について

足爪の提供に同意した103名について、前立腺がん確定診断の結果にもとづいて二分し、年齢を表1にまとめた。103名中、前立腺がんの確定診断がなされた者は63名であった。がん確定診断の有無による年齢構成の違いは認められなかった。

表1 対象者の年齢

前立腺がん+	前立腺がん-
(n=63)	(n=40)
70.4 ± 7.7	69.2 ± 7.3

2. 血清セレン濃度

血清セレン濃度の分析結果を図1にまとめた。がん確定診断の有無による血清セレン濃度の差は認められなかった。対象全体の血清セレン濃度の平均値 ± 標準偏差、および中央値は、それぞれ、 124 ± 29 、および 122 ng/mL だった。

3. 足爪セレン濃度

足爪セレン濃度の分析結果を図2と図3にまとめた。対象者全体の足爪セレン濃度の平均値 ± 標準偏差、および中央値は、それぞれ、 1.58 ± 0.75 、および $1.39 \text{ } \mu\text{g/g}$ だった。がん確定診断の有無によって対象者を二分し、比較したところ、いずれの集団も測定値 $1 \sim 1.5 \text{ } \mu\text{g/g}$ の人が最多であったが、確定診断「あり」の集団において、測定値 $2.0 \text{ } \mu\text{g/g}$ 以上の者の割合が高かったため、「あり」の集団は「なし」の集団に比較して有意 ($p < 0.01$) に高い足爪セレン濃度を示した。

4. 血清と足爪セレン濃度との関連

図4に血清と足爪セレン濃度との関連を示した。全対象者における相関係数 (r) は -0.082 、がん確定診断の有無によって対象者を二分した場合の相関係数は、「あり」の場合が -0.091 、「なし」の場合が -0.149 であり、いずれも関連を認めなかった。

D. 考察

諸外国における足爪セレン濃度の測定結果を検索すると、平均値もしくは中央値を $0.5 \sim 1.0 \text{ } \mu\text{g/g}$ とするものがほとんどである⁴⁻¹¹⁾。今回の対象者中、前立腺がんでなかった人の足爪セレン濃度の平均値は $1.34 \text{ } \mu\text{g/g}$ であり、明らかに高値といえる。

足爪セレン濃度はセレン摂取量を反映することが知られている¹¹⁾。上記の報告の中には、

足爪とともに血清セレン濃度の測定やセレン摂取量の推定を行っている研究が存在しており、たとえば、ブラジルでの研究では、足爪セレン濃度、血清セレン濃度、セレン摂取量推定値を、それぞれ $0.40 \text{ } \mu\text{g/g}$ 、 51 ng/mL 、 $45 \text{ } \mu\text{g/d}$ ⁴⁾、サウジアラビアの研究では足爪と血清セレン濃度を、それぞれ $0.63 \text{ } \mu\text{g/g}$ と $107 \text{ } \mu\text{g/mL}$ としている⁵⁾。今回の対象者中で、前立腺がんでなかった人の血清セレン濃度は $121 \text{ } \mu\text{g/mL}$ であり、これまで成人日本人の分析値として報告されているもの¹²⁾に近似している。日本人のセレン摂取量が平均すると $100 \sim 150 \text{ } \mu\text{g/d}$ である¹³⁾ こともあわせて考えれば、今回の対象者は、英国やサウジアラビアの対象者よりも明らかに高セレン状態にあると推定できる。したがって、足爪セレン濃度の高値は、対象者の高セレン状態を反映したものと見えるだろう。

前立腺がん確定診断の有無別に血清および足爪セレン濃度を比較したところ、血清では差はなく、足爪では確定診断「あり」の人がやや高値を示した。しかし、一般に日本のような高セレン摂取地域では、がんの有無による組織中セレン濃度の差は生じないとされていること、さらにがんではなかった対象者も前立腺に何らかの異常を訴えて病院の泌尿器科を受診した人であって明確な対照者とはいえないことを考慮すると、今回観察されたがんの有無による足爪セレン濃度の差に生理的な意味があるとは考えにくい。

地域別に比較した場合、血清セレン濃度がセレン摂取量を反映することはよく知られている¹⁴⁾。足爪セレン濃度とセレン摂取量が関連するのであるから、足爪セレン濃度と血清セレン濃度との間に関連があると予想される。今回、足爪と血清セレン濃度との間の関連が

まったく認められなかったのは、両試料の採取時期が一致していないこと、対象者ががんでなかった者も含めて健常者ではなかったことが考えられる。

足爪は非侵襲的に採取できるため、試料として得やすいという利点がある。また、セレン濃度が比較的高いため、ごく少量であっても分析することが可能である。このような長所をもつ足爪について、そのセレン濃度に関して日本人の一般的な数値を求めていくことが今後必要と考えられる。

なお、本研究に用いた足爪および血清試料はヘルシンキ宣言の精神に則り採取されたものであることを明記しておく。

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

Nozawa M, Yoshida M, Saitoh Y, Ozeki T, Nakagawa M, Minami T, T. Hayashi T, Uemura H: Serum selenium and risk of prostate cancer in Japanese men. 第 68 回日本癌学会学術集会, 横浜, 2009.

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. 実用新案特許

なし

3. その他

なし

H. 引用文献

1. Combs GF Jr, Clark LC, Turnbull BW. An analysis of cancer prevention by selenium. *Biofactors* (2001) 14, 153-159.
2. Clark LC, Combs GF Jr, Turnbull BW, Slate EH, Chalker DK, Chow J, Davis LS, Glover RA, Graham GF, Gross EG, Krongrad A, Leshner JL Jr, Park HK, Sanders BB Jr, Smith CL, Taylor JR. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *JAMA* (1996) 276, 1957-1963.
3. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ, Lucia MS, Thompson IM, Ford LG, Parnes HL, Minasian LM, Gaziano JM, Hartline JA, Parsons JK, Bearden JD 3rd, Crawford ED, Goodman GE, Claudio J, Winquist E, Cook ED, Karp DD, Walther P, Lieber MM, Kristal AR, Darke AK, Arnold KB, Ganz PA, Santella RM, Albanes D, Taylor PR, Probstfield JL, Jagpal TJ, Crowley JJ, Meyskens FL Jr, Baker LH, Coltman CA Jr. Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA* (2009) 301, 39-51.
4. Cardoso BR, Ong TP, Jacob-Filho W, Jaluul O, Freitas MIA, Cozzolino SMF. Nutritional status of selenium in Alzheimer's disease patients. *Brit J Nutr* (2009) 93, in press.
5. Al-Saleh I, Billedo G. Determination of

- selenium concentration in serum and toenail as an indicator of selenium status. *Bull Environ Contam Toxicol* (2006) 77, 155-163.
6. Suzana S, Cham B, Ahmad RG, Mohd RR, Fairulnizal MN, Normah H, Fatimah A. Relationship between selenium and breast cancer: a case-control study in the Klang Valley. *Singapore Med J* (2009) 50, 265-269.
 7. Kotsopoulos J, Chen Z, Vallis KA, Poll A, Ghadirian P, Kennedy G, Ainsworth P, Narod SA. Toenail selenium status and DNA repair capacity among female *BRCA1* mutation carriers. *Cancer Causes Control* (2010) 21, in press.
 8. Wallace K, Kelsey KT, Schned A, Morris JS, Andrew AS, Karagas MR. Selenium and risk of bladder cancer: A population-based case-control study. *Cancer Prev Res* (2009) 2, 70-73.
 9. Koriyama C, Campos FI, Yamamoto M, Serra M, Carrasquilla G, Carrascal E, Akiba S. Toenail selenium levels and gastric cancer risk in Cali, Colombia. *J Toxicol Sci* (2008) 33, 227-235.
 10. Gao S, Jin Y, Hall KS, Liang C, Unverzagt FW, Ma F, Cheng Y, Shen J, Cao J, Matesan J, Li J, Hendrie HC, Murrell JR. Selenium level is associated with *apoE* $\omega 4$ in rural elderly Chinese. *Public Health Nutrition* (2009) 12, 2371-2376.
 11. Satia JA, King IB, Morris JS, Stratton K, White AE. Toenail and plasma levels as biomarkers of selenium exposure. *Ann Epidemiol* (2006) 16 53-58.
 12. 姫野誠一郎. セレン. *日本臨床* (2004) 62 (増刊号 12), 315-318.
 13. 吉田宗弘. 日本人のセレン摂取と血中セレン濃度. *栄養誌* (1992) 45, 485-494.
 14. Navarro M, López H, Ruiz ML, González S, Pérez V, López MC. Determination of selenium in serum by hydride generation atomic absorption spectrometry for calculation of daily dietary intake. *Sci Total Environ* (1995) 175, 245-252.

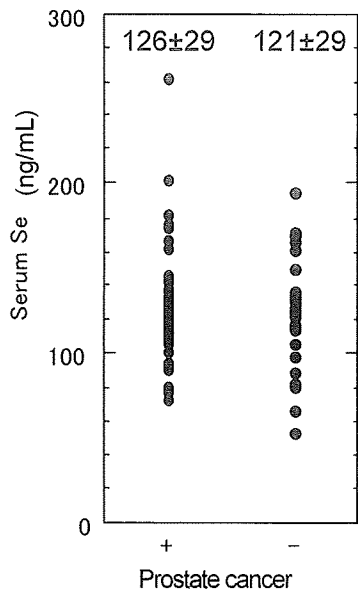


図1 血清セレン濃度

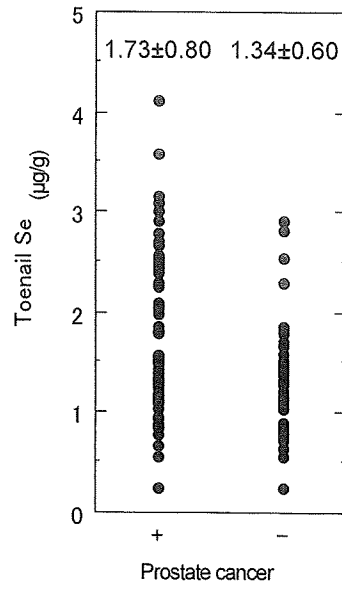


図2 足爪セレン濃度

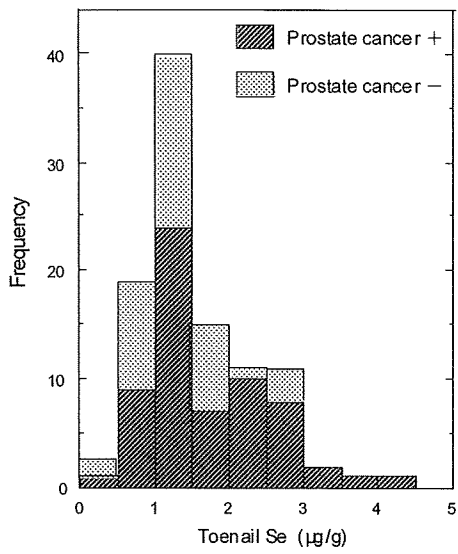


図3 足爪セレン濃度の分布

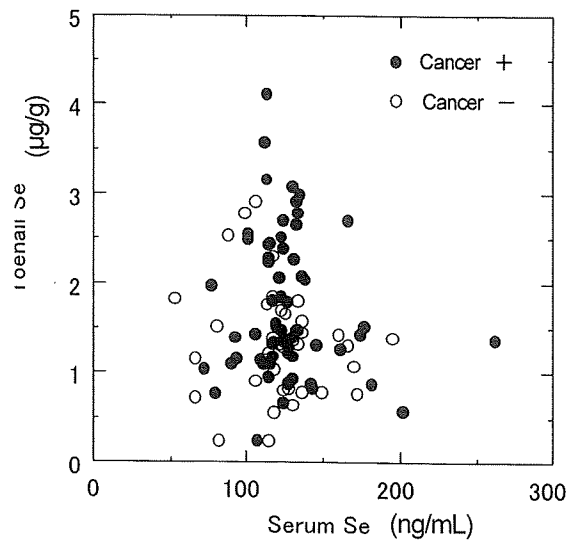


図4 血清セレン濃度と足爪セレン濃度との関連

平成 21 年度厚生労働省科学研究費補助金（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

Ⅲ. 分担研究者の報告書

2. 実測にもとづく菜食主義者の微量ミネラル摂取量

分担研究者 吉田 宗弘 関西大学 教授

研究要旨

ビーガンと呼ばれる厳格な菜食主義者では複数のミネラルの摂取に過不足の生じていることが指摘されている。実際にビーガンの食生活を実践している女性 3 名（対象者 A～C）3 日分の献立を収集してカルシウムと微量ミネラルの摂取量を実測し、日本の厳格な菜食主義者のミネラル摂取状況の評価を試みた。3 名の女性の 1 日当たりカルシウムおよび微量ミネラル摂取量は、対象者 A が、カルシウム 217 mg、鉄 11.6 mg、亜鉛 9.2 mg、銅 1.28 mg、マンガン 8.4 mg、セレン 15 μ g、モリブデン 108 μ g、対象者 B が、カルシウム 377 mg、鉄 10.4 mg、亜鉛 6.8 mg、銅 1.28 mg、マンガン 5.4 mg、セレン 35 μ g、モリブデン 90 μ g、対象者 C が、カルシウム 408 mg、鉄 14.5 mg、亜鉛 9.3 mg、銅 2.20 mg、マンガン 8.4 mg、セレン 38 μ g、モリブデン 187 μ g だった。厳格な菜食主義者では、カルシウムとセレンの摂取不足がきわだっており、栄養的な指導が必要である。

A. 目的

一般にベジタリアンと呼ばれる菜食主義者とは、「動物性食品を避け、穀物、豆類、種実類、野菜、果物などの植物性食品を中心に摂取する人々」と定義されている。この考え方の発祥は、紀元前6世紀の古代ギリシアの哲学者ピタゴラスの時代にまで遡ることができる。ピタゴラスは、弟子たちに肉食を減らすことが自然で健康的な食事法であると説いたため、菜食主義の祖とされている。今日では、健康維持以外に、畜産業に対する倫理観や穢れなども、菜食主義を選択する理由として挙げられており、国内外を問わず、これを実践する人は増加傾向にある。

菜食主義といっても、その水準は一様でない。もっとも厳格なのは、動物性のものは乳製品や卵であってもいっさい口にしないというもので、ビーガンと称される。これに対して、主に栄養学的な理由で、一部の動物性食品に対して寛容な菜食主義も存在している。このような寛容な菜食主義では、乳製品、卵、さらには魚介類の摂取も許容しており、ラクトベジタリアン、オボベジタリアンなどの呼称も存在する。

このような寛容な菜食主義が存在するのは、ビーガンと称される厳格な菜食主義に対して、一部の微量栄養素の摂取が明らかに不足しているという、栄養学上の問題点が指摘されるためである。日本においてビーガンのような厳格な菜食主義を実践する場合を想定してみよう。平成17年度国民健康・栄養調査成績によれば¹⁾、日本人は、総エネルギー摂取(1903 kcal)の76.3%を植物性食品から摂取しているのに対して、タンパク質は総摂取量(71.1 g)の53.5%(38.1 g)を植物性食品に依存しているに過ぎ

ない。タンパク質の推奨量が50~60 gであることを考慮すると、このことは、エネルギー摂取量の動物性食品相当分(約500 kcal)を植物性食品でカバーしようとする、100 kcalあたりで4 g以上のタンパク質を含有する高タンパク質の植物性食品(たとえば大豆や小麦グルテン製品)を主菜に据えなければいけないことを意味している。しかし、現実問題として、常に、大豆や小麦グルテンを主菜にすることは難しい。そこで、野菜やイモ類のみで副食を作成した場合は、主食である穀物(調理前の状態で100 kcalあたり2~3 gのタンパク質含量)の摂取を副食よりも増やすことによってタンパク質不足を解消しなければならない。

このようにしてエネルギーとタンパク質の問題をクリアした場合、微量栄養素の摂取量に歪みが生じることになる。微量ミネラルの場合を、平成17年度国民健康・栄養調査成績¹⁾やいくつかの報告²⁻⁴⁾をもとに検討してみる。食事摂取基準が対象とする8種の微量ミネラル中で、情報のほとんどないクロムとヨウ素を除く6種の微量ミネラルについて、植物性食品への依存割合を算定すると以下のようなになる。鉄、73.8%; 亜鉛、58.2%; 銅、81.6%; マンガン、97%; セレン、25%; モリブデン、89%。このことは、大豆や小麦グルテン製品の積極利用や、穀物摂取割合の増加によってエネルギーとタンパク質摂取をクリアした場合に、亜鉛とセレンの摂取不足とマンガンとモリブデンの大量摂取が引き起こされることを想起させる。実際、ビーガンにおける亜鉛とセレンの摂取不足が報告されている⁵⁻⁸⁾。

上記6種の微量ミネラル中、セレンとモリブデンは食品成分表に記載がない。また、記載の

ある鉄など4種に関しても、同一食品内での濃度変動の大きさが想定され、成分表を用いた計算による摂取量評価が現実を反映しているか疑念がある。以上より、本研究では、実際にビーガンの食生活を実践している人の献立を収集して微量ミネラルの摂取量を実測し、微量ミネラル摂取状況の評価を試みた。あわせてカルシウムの摂取についても評価した。

B. 方法

1. 試料の収集

NPO 法人日本ベジタリアン協会を介して、3名の女性ビーガン（以下、対象者 A, B, C とする）から、それぞれ3日分の全献立（合計9献立）を提供してもらい、試料とした。

2. 分析

献立1日分ごとに凍結乾燥し、ミルで細粉化した。細粉化した試料1gを濃硝酸10mLと過塩素酸2mLを用いて湿式灰化し、灰化溶液を蒸留水で10mLにメスアップした溶液中のセレンとモリブデンを誘導結合質量分析（ICPMS）により定量した。ICPMSにおけるセレンとモリブデンの分析質量数は、セレンが82、モリブデンが95, 97, 98である。モリブデンに関しては3つの質量数から得られた数値を平均し、分析値とした。またこれとは別に、細粉化試料1gに濃硝酸5mLを加えて、アルミブロック中100°Cで不溶物がなくなるまで加熱した。得られた灰化液を蒸留水で25mLにメスアップした溶液中のカルシウム、鉄、亜鉛、銅、マンガンをフレイム式原子吸光法で分析した。

乾燥細粉化試料中のタンパク質、脂質、エネルギー量の分析については、(財)日本食品分析センターに委託した。

得られたエネルギーと栄養素の分析値に試料重量を乗じ、献立1日当たりの摂取量を算出した。

C. 結果

表1に、収集した献立から摂取できる1日当たりのエネルギー量、タンパク質、脂質量と献立の脂肪エネルギー比をまとめた。エネルギー摂取量は、いずれの対象者も、食事摂取基準2010年版に記載されている推定エネルギー必要量および国民健康・栄養調査で示されている同世代の女性の摂取量中央値に近接していた。タンパク質摂取量は、いずれも食事摂取基準における推奨量を上回っていたが、3名中2名は同世代女性の中央値をかなり下回っていた。脂肪エネルギー比は三者三様であり、対象者Aが23%、Bが32%、Cが29%だった。

表2と3に、収集した献立から摂取できる1日当たりのカルシウムと微量ミネラル量をまとめた。カルシウム摂取量は、3名ともにすべての献立が食事摂取基準の推定平均必要量、および同世代女性の摂取量中央値を下回っていた。これに対して、鉄の摂取量は、すべての対象者において、同世代女性の摂取量中央値を凌いでおり、推奨量に近いが、これを上回っていた。亜鉛の摂取量は、対象者ごとに変動があり、対象者AとCは摂取基準の推奨量にほぼ匹敵したが、対象者Bでは推定平均必要量と同世代女性の摂取量中央値を下回った。銅とマンガンの摂取量は、いずれも推奨量、および同世代女性の摂取量を上回っていた。セレンの摂取量は、いずれも日本人の平均的な摂取量を大きく下回っており、とくに対象者Aは3日間とも推定平均必要量を下回っていた。モリブデンは、い

ずれも推奨量を大きく上回る摂取量だったが、日本人の平均的な摂取量を下回っていた。

D. 考察

考察では、まず対象者ごとに、エネルギー、主要栄養素、カルシウム、鉄、亜鉛、銅摂取量を検討し、その後、マンガン、セレン、モリブデンについて、全献立を総括した形式で検討する。

今回測定した献立はわずか3名から提供されたものであるが、それぞれが特徴的な内容であり、ビーガンの献立を栄養学的に考えるに十分な情報を有していると判断する。

対象者Aの献立は、玄米を主体とし、ミカンとバナナ、少量の副食として大豆製品や野菜が加わったものであった。個々の食材の重量は厳密には測定していないが、摂取エネルギーの8割近く（約1500 kcal）が玄米に由来すると推定できるものだった。食品成分表にもとづいて算定すると、玄米1500 kcal分を摂取した場合、タンパク質、カルシウム、鉄、亜鉛、銅は、それぞれ、29.1 g, 39 mg, 8.9 mg, 7.7 mg, 1.16 mg 摂取できることになる。タンパク質の摂取量が52.5 gであったことから、副食の中心であった大豆製品から20 g程度のタンパク質を補った計算になる。20 gのタンパク質摂取に必要な大豆量はもとの豆で50~60 gであり、摂取できるカルシウムと鉄は、成分表にもとづいて算定すると、それぞれ130 mgと1.8 mgである。以上より、対象者Aの、一見、アンバランスなカルシウム、鉄、亜鉛、銅の1日摂取量（それぞれ、217, 11.6, 9.2, 1.28 mg）は、この玄米大量摂取+少量の大豆製品という献立を十分反映したものであり、タンパク質摂取を高タンパク質

の植物性食品ではなく、主食の穀物に依存した場合の事例に相当するといえる。

対象者Bは、3日間9食中、玄米主食が5食、小麦製品主食が3食、雑穀主食が1食であった。一方、副食は、毎食、多様な植物性食品を様々な方法で調理したものであった。このような多様な食品を摂取した結果、カルシウム摂取は対象者Aよりも増加したが、亜鉛摂取量は逆に減少したといえる。脂肪エネルギー比が平均で30%を超えることになったのは、調理を工夫するさいに植物油を使用する頻度が高いためといえる。この事例は、菜食主義といえども、脂肪の過剰摂取が起こりうるということを示している。

対象者Cは、栄養士の資格をもった女性であり、主食と副食をバランスよく配置するなど、献立にも工夫が認められた。このため、カルシウムも同世代の女性と遜色ない摂取量に到達しており、鉄、亜鉛、銅の摂取量は十二分だった。

以上、カルシウム、鉄、亜鉛、銅の摂取量をまとめると、ビーガンの献立は、玄米、小麦製品、大豆製品を中心に食するため、カルシウム不足は避けられないが、鉄、亜鉛、銅に関しては、非菜食主義者を上回り、推奨量を超える摂取も十分に達成できる内容になるといえる。

マンガンの摂取量は、予想通り、日本人の平均的な摂取量を大きく超えるものだった。ただし、その量は最高でも10.4 mg/日であり、耐容上限量（11 mg/日）を超えなかった。米国では菜食主義者のマンガン摂取量が20 mg/日近くになるという報告もあるが⁹⁾、エネルギー摂取量が米国人よりも少ない日本人菜食主義者では10 mg/日を超える日が散発的に出現する程