

- 英雄, 三浦錦一, 田口静子, 村上茂樹, 萩原康司, 野田靖子, 鶴川純男. 北海道在住成人における甲状腺疾患の疫学的調査 - ヨード摂取量と甲状腺機能との関係 -. 北海道医誌 (1994) 69, 614-626.
50. Zimmermann MB, Ito Y, Hess SY, Fujieda K, Molinari L. High thyroid volume in children with excess dietary iodine intake. *Am J Clin Nutr* (2005) 81, 840-844.
51. Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehtab O, Guigó R, Gladyshev VN. Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science* (2003) 300,1439-1443.
52. Beck MA, Levander OA, Handy J. Selenium deficiency and viral infection. *J Nutr* 2003; 133: 1463S-1467S.
53. Peng A, Wang WH, Wang CX, Wang ZJ, Rui HF, Wang WZ, Yang ZW. The role of humic substances in drinking water in Kashin-Beck disease in China. *Environ Health Perspect* (1999) 107, 293-296.
54. van Rij AM, Thomson CD, Mckenzie JM, Robinson MF. Selenium deficiency in total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* (1979) 32, 2076-2085.
55. Sunde RA (吉田宗弘訳). セレン. 最新栄養学第9版 (Bowman BA, Russel RM eds. (翻訳監修, 木村修一, 小林修平)). 建帛社, 東京 (2007) 478-496.
56. 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.
57. WHO/FAO/IAEA. Selenium. Selenium. In: *Trace Elements in Human Nutrition and Health*. WHO, Geneva (1996) 105-122.
58. Schroeder HA, Frost DV, Balassa JJ. Essential trace metals in man: Selenium. *J Chronic Dis* (1970) 23, 227-243.
59. 姫野誠一郎. セレン. 日本臨牀 (2004) 62 (増刊号 12), 315-318.
60. Yang G-Q, Zhou R-H. Further observations on the human maximum safe dietary selenium intake in a seleniferous area of China. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* (1994) 8, 159-165.
61. Stranges S, Marshall JR, Natarajan R, Donahue RP, Trevisan M, Combs GF, Cappuccio FP, Ceriello A, Reid ME. Effects of long-term selenium supplementation on the incidence of type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann Intern Med* (2007) 147, 217-223.
62. 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.
63. Knekt P, Aromaa A, Maatela J, Alfthan G, Aaran RK, Hakama M, Hakulinen T, Peto

- R, Teppo L. Serum selenium and subsequent risk of cancer among Finnish men and women. *J Natl Cancer Inst* (1990) 82, 864-868.
64. Kabuto M, Imai H, Yonezawa C, Akiba S, Kato H, Suzuki T, Land CE, Blot WJ. Prediagnostic serum selenium and zinc levels and subsequent risk of lung and stomach cancer in Japan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* (1994) 3, 465-469.
65. Vincent JB. Recent advances in the nutritional biochemistry of trivalent chromium. *Proc Nutr Soc* (2004) 63, 41-47.
66. Mertz WH. Chromium in human nutrition: A review. *J Nutr* (1993) 123, 626-633.
67. Food and Nutrition Board, Institute of medicine, National Academy of Sciences. Chromium. Selenium. In: *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc*. National Academy Press, Washington DC. (2001) 197-223.
68. Aung NN, Yoshinaga J, Takahashi J-I. Dietary intake of toxic and essential trace elements by the children and parents living Tokyo Metropolitan area, Japan. *Food Add Contam* (2006) 23, 883-94.
69. Bunker VW, Lawson MS, Delves HT, Clayton BE. The uptake and excretion of chromium by the elderly. *Am J Clin Nutr* (1984) 39, 797-802.
70. Offenbacher EG, Spencer H, Dowling HJ, Pi-Sunyer FX. Metabolic chromium balances in men. *Am J Clin Nutr* (1986) 44, 77-82.
71. Yoshida M, Takada A, Hirose J, Fukuwatari T, Shibata K. Molybdenum and chromium concentrations in breast milk from Japanese women. *Biosci Biotechnol Biochem* (2008) 72, 2247-2250.
72. Balk EM, Lau J, Tatsioni A, Lau J, Pittas AG. Effect of chromium supplementation on glucose metabolism and lipids. A systematic review of randomized controlled trials. *Diabetes Care* (2007) 30, 2134-2163.
73. Wasser WG, Feldman NS, D'Agati VD. Chronic renal failure after ingestion of over-the-counter chromium picolinate. *Ann Intern Med* (1997) 32, 410.
74. Lamson DW, Plaza SM. The safety and efficacy of high-dose chromium. *Altern Med Rev* (2002) 7, 218-235.
75. 吉田宗弘. 高用量クロム投与の生体影響. 高用量クロムを投与したラットの組織中クロム濃度と尿中クロム排泄. 平成20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—) 平成20年度総括・分担研究報告書 (2009) 210-217.
76. Rajagopalan KV. Molybdenum: an essential trace element in human nutrition. *Ann Rev Nutr* (1988) 8, 401-427.
77. Abumrad NN, Schneider WR, Steel D, Rogers LS. Amino acid intolerance prolonged total parenteral nutrition reversed by molybdate therapy. *Am J Clin Nutr* (1981) 34, 2551-2559.

78. Hattori H, Ashida A, Itô C, Yoshida M. Determination of molybdenum in foods and human milk, and an estimate of average molybdenum intake in the Japanese population. *J Nutr Sci Vitaminol* (2004) 50, 404-409.
79. Turnlund JR, Keyes WR, Peiffer GL, Chiang G. Molybdenum absorption, excretion, and retention studied with stable isotopes in young men during depletion and repletion. *Am J Clin Nutr* (1995) 61, 1102-1109.
80. Yoshida M, Hattori H, Ota S, Yoshihara K, Kodama N, Yoshitake Y, Nishimuta M. Molybdenum balance in healthy young Japanese women. *J Trace Elem Med Biol*. (2006) 20, 245-252.
81. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy of Sciences. Molybdenum. In: *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*, National Academy Press, Washington DC. (2001) 420-441.
82. Scientific Committee on Food: Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Molybdenum, European Commission, SCF/CS/NUT/UPPLEV/22 Final, Brussels, (2000).
83. Kovalsky VV, Yarovaya GA, Shmavonyan DM. The change in purine metabolism of humans and animals under the conditions of molybdenum biogeochemical provinces. *Zh Obshch Biol* (1961) 22, 179-191.
84. Fungwe TV, Buddingh F, Demick DS, Yang SP. The role of dietary molybdenum on estrous activity, fertility, reproduction and molybdenum and copper enzyme activities of female rats. *Nutr Res* (1990) 10, 515-524.
85. Turnlund JR, Keyes WR, Peiffer GL. Molybdenum absorption, excretion, and retention studied with stable isotopes in young men at five intakes of dietary molybdenum. *Am J Clin Nutr* (1995) 62, 790-796.
86. 吉田宗弘, 生田剛. 食品および飲料水中のバナジウム含量と日本人のバナジウム摂取量 (予報). *微量栄養素研究* (2007) 24, 65-70.

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—

平成 19 年度～21 年度 総合研究報告書

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

I 総合研究報告

13. 介護保険施設での栄養摂取状況に関する調査

分担研究者 森田明美（国立健康・栄養研究所）

研究協力者 河嶋伸久（国立健康・栄養研究所）

研究要旨

日本人の食事摂取基準において、高齢者は 70 歳以上の 1 つの年齢区分でエネルギー及び各栄養素の基準が示されている。しかし、高齢者では身体状況等は個人で大きく異なっており、また、介護が必要で施設等に入居している高齢者も多い。食事摂取基準の対象は基本的に健康な個人または集団であるが、高齢者の基準を考えるためには、介護を必要とする人の実際のエネルギー及び栄養素の摂取や、介護施設等での食事摂取基準の利用状況に関しての実態を知る必要があるが、これまで詳細な研究は行われていない。本研究では食事摂取基準の使用ならびに施設内のエネルギー・各栄養素の値の設定状況に関するアンケート調査を行うとともに、実際に高齢者施設で提供されている介護食中のエネルギー量及びいくつかの栄養素量を分析した。アンケート調査の結果、多くの介護保険施設で献立作成時に食事摂取基準を利用していることが分かった。また、献立の基準となるエネルギー量・栄養素量は年齢・性別に関わらずそれぞれ 1 つの値であり、食事の提供量等で入居者の年齢・性・身体状況等に応じた調整をしている施設が多かった。高齢者施設で提供されている介護食を分析した所、エネルギー・栄養素量は食事摂取基準に示された 70 歳以上のどの基準値よりも低く、栄養補助食品が 1 日の総エネルギー・栄養素中に占める割合が大きかった。介護保険施設の栄養摂取状況の実態については、今後さらなる研究が必要である。

A. 研究目的

日本人の食事摂取基準では、高齢者は70歳以上の1つの年齢区分としてエネルギー及び各栄養素の基準が示されている。しかし高齢者では身体活動レベルの低下、咀嚼・嚥下の低下、消化・吸収率の低下などが起こっており、これら低下の程度は個人によって大きく異なっていると考えられる。そのため、食事摂取基準を一律に適用するのではなく、高齢者の身体状況等を十分に考慮した上で食事摂取基準を活用していくことが重要である。

現在、日本では100万人近くの高齢者が寝たきりと言われており、在宅での生活が困難となった要介護者が生活する介護保険施設には、約79万人が入居している。介護保険施設は、設立目的によって介護老人福祉施設、介護老人保健施設、介護療養型医療施設の3施設に分けられており、介護側のスタッフ配置も異なっている。介護保険施設には、介護度の高い寝たきりの状態の高齢者も多数生活しており、低栄養状態や何らかの慢性疾患を有している者も多い。このような入所高齢者に対しては、可能な範囲できめ細かいアセスメントを実施して客観的な情報を得るとともに、これらに基づいた栄養計画・食事計画（献立作成）を行っていく必要がある。しかしながら、介護保険施設でどのようにエネルギー及び栄養素の基準を設けて献立が作成されており、実際にどれくらいのエネルギー・栄養素が摂取されているかに関してはあまり知られていない。

そこで今回、全国6都道府県の介護保険施設に、食事摂取基準の利用ならびに献立作成時のエネルギー・各栄養素の値の設定状況に関するアンケート調査を行った。

また、パイロットケースとして、実際に高齢者施設において提供されている介護食を分析し、エネルギー・栄養素量の評価を行った。

B. 研究方法

I. 全国6都道府県の介護保険施設での食事摂取基準に関するアンケート調査

全国6都道府県（北海道・東京・神奈川・愛知・京都・熊本）の介護老人福祉施設、介護老人保健施設、介護療養型医療施設、計2769施設に「2005年版日本人の食事摂取基準の活用」に関するアンケートを、2007～2008年にかけて送付した。

アンケートは、自己記入式で管理栄養士または栄養士が回答を行った。質問項目としては、「食事摂取基準（2005年版）の使用頻度」、「エネルギー量の算出方法」、「残食率の考慮」、「各栄養素の基準量（たんぱく質、脂質、エネルギー比、コレステロール、食物繊維、ビタミンC、カルシウム、鉄、亜鉛、食塩）」、「その他の栄養素の考慮」、「食事摂取基準（2005年版）を使用する上での意見・要望」を挙げた。

II. 食品分析による介護食の栄養素量に関する調査

神奈川県の高齢者施設から介護食（流動食）を陰膳法で収集し、食品分析を実施した。食品分析は常法により、エネルギー量、たんぱく質、脂質、炭水化物、灰分、鉄、亜鉛、銅、マンガン、モリブデン、セレンについて分析を行った。食品分析の結果は、献立から得られた栄養価計算による数値との比較を行った。また、食品分析を行った食品サンプルは、粥（1食分）、味噌汁（1食分）、おか

ず(3食分)をミキサーで均一化したものであったため、1日の提供食の総エネルギー・栄養素量は食品分析の結果に粥・味噌汁2食分と毎食提供されている栄養補助食品(ソフトエット、キッセイ薬品工業社製)3食分のエネルギー・栄養素量を加えて評価を行った。

C. 結果

I. 全国6都道府県の介護保険施設での食事摂取基準に関するアンケート調査

2769施設中、1634施設から回答が得られた(返却率59.1%)。アンケート回答の地域別、施設種別の内訳は表1に示した。

「食事摂取基準(2005年版)の使用頻度」に関する質問では、「いつも使用する」が38.8%、「時々使用する」が39.4%であり、全体の約8割の施設において食事摂取基準が使用されていた。「ほとんど使用しない」もしくは「全く使用しない」と回答した施設では「第6次改定日本人の栄養所要量」や「施設独自の食事規約」などが献立作成時に主に用いられていた。施設の種別による食事摂取基準の使用頻度に大きな違いは見られなかった(図1)。

「エネルギー量の算出方法」では、年齢・性別に関わらず1つのエネルギー量で献立を作成している施設が多かった。施設別で見ると、介護療養型医療施設では、年齢・性別・身体活動等で数段階に分けるという割合が、他の2施設と比べて多かった。年齢・性別に関わらず1種類のエネルギー量で献立を立てていると回答した施設では、実際の基準となるエネルギー量として1600kcalが最も多く用いられていた。この値は、2005年版食事摂取基準における70歳以上男性の身体活動レ

ベルIの推定エネルギー必要量と同じであった。施設別に見ると介護老人福祉施設で他の2施設よりもエネルギーが低く設定される傾向にあった(図2)。また、基準となるエネルギー量を設定し、主食や主菜の量でエネルギー量を調整しているという記述が備考欄等に多く見られた。

各栄養素の基準については男女別に、献立作成の基準となる栄養素量を回答してもらい、2005年版の70歳以上の食事摂取基準値と比較した所、栄養素量は男性・女性どちらか一方の推奨量または目標量に献立の栄養素量を設定している施設が多く見られた。

II. 食品分析による介護食の栄養素量に関する調査

食品分析の結果(粥・味噌汁1食+おかず3食)と献立からの計算値との比較を行った所、エネルギー、主要栄養素(たんぱく質、脂質、炭水化物)で食品分析の値は献立から栄養計算して得られた値よりも高く、ミネラル(鉄、亜鉛、マンガン)では献立からの計算値よりも分析値の方が低い値となった(表2)。

食品分析の結果に、献立計算から粥・味噌汁2食と栄養補助食品(ソフトエット)のエネルギー・栄養素量を加えたものを1日の提供食の総エネルギー・栄養素量とした(表3)。1日の提供食の総エネルギー量は1001kcalとなり、たんぱく質、脂質、炭水化物の栄養素量は、それぞれ32.9g、18.1g、173.7gであった。

1日の提供食の総エネルギー・栄養素量を、新しい日本人の食事摂取基準(2010年版)の70歳以上女性における、身体活動レベルIの推定エネルギー必要量(エネルギー)、推定平均必要量(たんぱく質、鉄、亜鉛、銅)、目

標量（脂質，炭水化物），目安量（マンガン）と比較したところ，炭水化物を除いた介護食中の総エネルギー量・栄養素量は食事摂取基準の各数値よりも低値を示した。

また提供食に含まれる栄養補助食品の寄与割合は，エネルギーの25%，たんぱく質の36.5%，脂質の43.1%，炭水化物の19.0%であった（図3）。

D. 考察

介護保険施設へのアンケート調査では，「日本人の食事摂取基準（2005年版）」の使用頻度については約8割が「いつも使用する」もしくは「時々使用する」と回答しており，多くの介護保険施設が食事摂取基準を献立作成時に利用している事が分かった。これに関しては，現在介護保険施設を含めた高齢者施設に特化された栄養ガイドラインといったものはないため，健康な個人または集団を対象とした食事摂取基準を用いていることも考えられる。

介護保険施設の入居者の多くは何かしらの疾患に罹っており，健康状態もそれぞれ異なっている。また，介護保険上では栄養ケアマネジメントが設定されており，入居者には基本的に栄養アセスメントを実施して，個人に対応した食事を提供する事が望ましいとされている。しかし今回のエネルギー量に関する回答では，6割以上の介護保険施設が性別・年齢に関わらず1種類しか設けておらず，あとは主食・主菜の量等で対応していると考えられた。年齢・性別・身体活動等で数段階に分けたエネルギー量の設定や，個別対応で献立を作成している施設は少なかった。ただし，介護療養型医療施設では，他の2施設と比べて年齢・性別・身体活動等で数段階に分

けるという割合がやや多かった。これは，介護療養型医療施設には介護とともに医学的管理も必要な高齢者が入所しているため，食事療法的な対応も必要であることや，医師・看護師の数が他の施設よりも多く医療機関と併設の場合も多いため，病院食と同等に数種類の食事を作ることが実際的に可能であることから，個々人に対応した食事提供が行われていると考えられる。介護保険施設の3施設で食事摂取基準の使用頻度に大きな違いは見られないため，基本的には食事摂取基準を参考にしていたとしても，施設の違によってその利用方法やエネルギー・各栄養素量の設定方法について異なると考えられた。

各栄養素の設定量については，70歳以上の男性もしくは女性どちらか一方の食事摂取基準の推奨量または目標量と一致している施設が多く見られた。

高齢者施設において実際に提供されている介護食の食品分析を行ったところ，食品分析の数値は献立から栄養価計算した値と比べてエネルギー・主要栄養素は高く，ミネラルは低い値を示した。これについては，調理段階で必要に応じて食品の使用量などは調整されている事，また，ミネラルなどにおいては，調理損失による影響なども考えられる。

次に，1日の提供食の総エネルギー量と栄養素量は炭水化物を除いて70歳以上女性の日本人の食事摂取基準（2010年版）の値よりも低い値となった。今回，介護食の提供を受けている者の大半は，要介護度の高い80-90歳代の施設入居者であるため，食事摂取基準の使用に該当しない者が多く含まれていることが予測される。従って，食事摂取基準に示されているエネルギー必要量や推定平均必要量よりも少ないからといって，一概に栄

養素が欠乏しているといった評価を行う事はできない。

また、今回の食品分析の結果はあくまでも基準となる献立のエネルギー及び栄養素量についての分析結果であり、アンケート調査から得られた結果からもわかるように、実際は入居者の身体状況等に合わせて食事の量や食物の形状を調節して提供が行われていることも考えられる。

今後はさらに、高齢者の実際の摂食量や生体指標による栄養状態の把握、および提供される食事に含まれる実際のエネルギーや栄養素量などについてより詳細な分析を行う予定である。それらの結果を踏まえ、高齢者に対するより適切な食事摂取基準を策定する一助としたい。

表 1. 地域別・施設別に見たアンケート回答数

	北海道	東京	神奈川	愛知	京都	熊本	合計
介護老人福祉施設	177	246	169	114	77	61	844
介護老人保健施設	88	106	106	76	21	52	449
介護療養型医療施設	80	60	35	51	22	59	307
その他	4	10	4	8	2	6	34
合計	349	422	314	249	122	178	1634

表 2. 介護施設での提供食サンプルにおける食品分析結果と献立表の栄養価との比較

	エネルギー	たんぱく質	脂質	炭水化物	灰分	鉄	亜鉛	銅	マンガン
	kcal	g	g	g	g	mg	mg	mg	mg
食品分析	502	15.9	9.1	89.3	4.3	1.2	1.3	0	0.48
献立表	411	8.8	1.9	87.9	5.4	1.7	1.4	0	0.93

表 3. 介護施設での1日の提供食の内訳と食事摂取基準 (2010年版)

	食品分析 粥・味噌汁1食 おかず3食	粥・味噌汁 (2食分)	栄養補助食品 ソフトエット (3食分)	1日の提供 食合計	食事摂取基準 (2010年版)*
エネルギー(kcal)	502	250	249	1001	1450
たんぱく質(g)	15.9	5	12	32.9	40
脂質(g)	9.1	1.2	7.8	18.1 (16.3) 1	20以上25未満
炭水化物(g)	89.3	51.4	33	173.7 (69.4) 1	50以上70未満
灰分(g)	4.3	3	0	7.3	-
鉄(mg)	1.17	0.6	0.6	2.37	5
亜鉛(mg)	1.34	1	0	2.34	7
銅(mg)	0.14	0.16	0	0.3	0.5
マンガン(mg)	0.48	0.36	0	0.84	3.5

1: () 内は%エネルギー

*: 食事摂取基準の値は70歳以上女性の身体活動レベル1の推定エネルギー必要量(エネルギー), 推定平均必要量(たんぱく質, 鉄, 亜鉛, 銅), 目標量(脂質, 炭水化物), 目安量(マンガン)

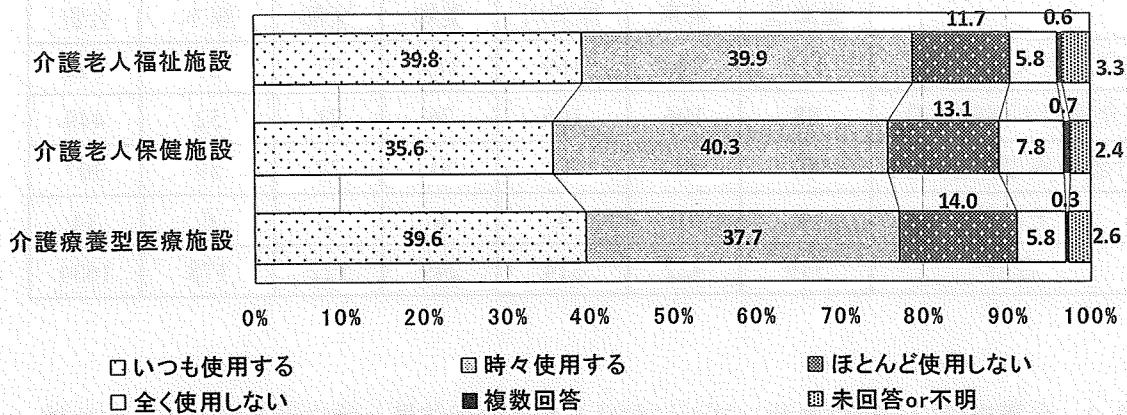


図 1. 施設別の食事摂取基準の使用頻度

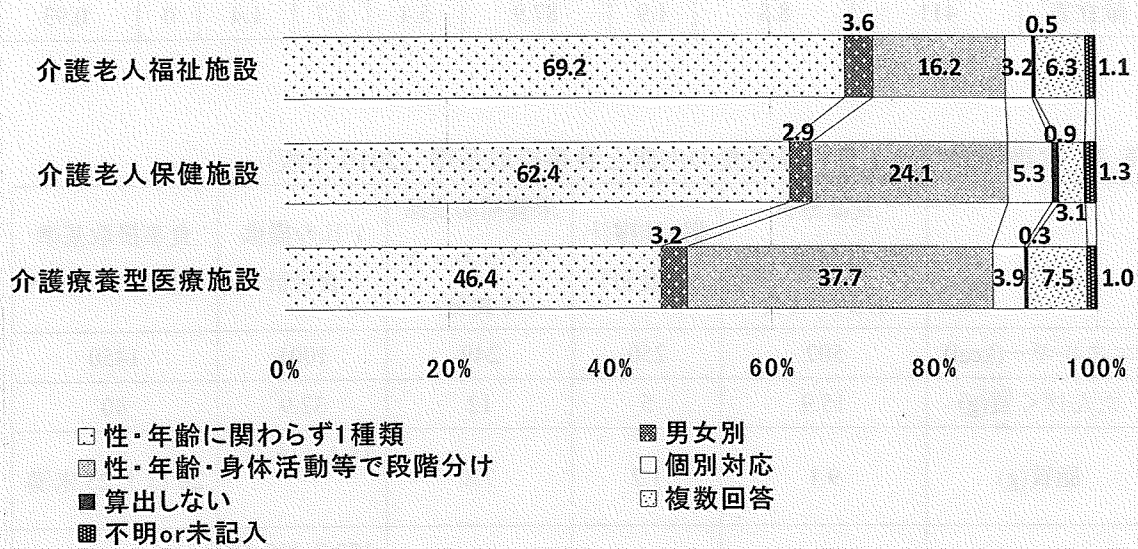


図 2. 施設別のエネルギー量の設定

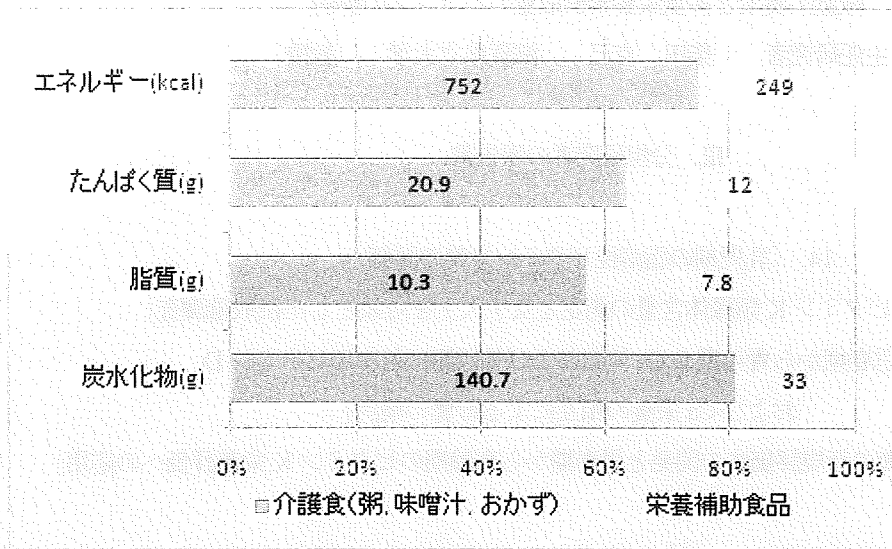


図 3. 介護施設での 1 日の提供食中に占める栄養補助食品の割合

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

14. 「乳児期の脂溶性ビタミン栄養の評価」

「食品中ビタミン K 類縁体含量の測定と女子大生を対象とした摂取量調査」

「思春期から青年期の Ca 代謝および骨代謝に対するビタミン D

および Ca 栄養の相互による影響の検討」

「ビタミン K 栄養の新規評価法の開発と思春期から高齢期のビタミン K 栄養評価への応用」

分担研究者	岡野 登志夫	神戸薬科大学 教授
研究協力者	津川 尚子	神戸薬科大学
研究協力者	鎌尾 まや	神戸薬科大学
研究協力者	須原 義智	神戸薬科大学
研究協力者	峯上 卓也	神戸薬科大学
研究協力者	出野 奈穂子	神戸薬科大学

研究要旨

研究 1 乳児期の脂溶性ビタミン栄養の評価：食事摂取基準の策定には、栄養状態の指標と各栄養素摂取量との関係を示すデータが必要となるが、日本人を対象とした栄養調査研究は少なく欧米のデータを使用しているのが現状である。本研究では、乳児の食事摂取基準策定のための基礎資料を得る目的で、LC-APCI/MS/MS による高感度定量法を用いて日本人授乳婦を対象とした母乳中脂溶性ビタミン濃度の調査研究をおこない、出産後日数と母乳中脂溶性ビタミン濃度の関係および各脂溶性ビタミン濃度間の相互関係について解析した。

研究 2 食品中ビタミン K 類縁体含量の測定と女子大生を対象とした摂取量調査：ビタミン K の体内利用に及ぼす他の脂溶性ビタミンの影響を調べる基礎データとして、日本人が日常的に摂取する食品のビタミン K 含量を類縁体別に測定し、女子大生を対象とした摂取量調査を実施した。

研究 3 思春期から青年期の Ca 代謝および骨代謝に対するビタミン D および Ca 栄養の相互による影響の検討：近年、血中 25-ヒドロキシビタミン D [25(OH)D] 濃度の低下とそれに伴う軽度な血中副甲状腺ホルモン (PTH) 濃度上昇を呈するビタミン D 不足状態が骨粗鬆症のリスク因子として問題になっている。若年期における最大骨量を維持することが骨粗鬆症予防に重要であるが、我が国では若年期のビタミン D 不足のカットオフ値の設定やビタミン D の

必要量を策定する為の十分な疫学調査研究が乏しく、ビタミンDと共に骨形成に重要なCa栄養との相互による影響を評価した研究はほとんどない。そこで、思春期および青年期女性のCa代謝および骨代謝に対するビタミンDおよびCa栄養の相互による影響を検討した。思春期では、25(OH)D濃度とCa摂取量がPTH濃度低下における独立影響因子であることを確認し、Ca摂取量の低下は血中25(OH)D濃度低下に伴うPTH濃度の上昇効果を強めること、一方、血中25(OH)D濃度の低下はCa摂取量低下に伴うPTH濃度上昇効果を強めることを確認した。このことから、思春期における両栄養素の栄養状態を良好に維持することの重要性が示唆された。一方、青年期女性のビタミンD栄養を評価した結果、食事摂取基準目安量5.5 $\mu\text{g/day}$ を満たす割合は82%と高いものの、目安量以上を摂取しても血中25(OH)D濃度20 ng/mL 未満のビタミンD不足者が約62%存在することを確認した。また、対象者を血中25(OH)D濃度20 ng/mL とCa摂取量の4分位点で8群に分類して骨密度を比較した結果、血中25(OH)D濃度20 ng/mL 以上かつCa摂取量649.7 mg/day 以上(平均約850 mg/day) を摂取する群において大腿骨近位部骨密度(Hip BMD)が有意に増加し、血中PTH濃度が有意に低下した。これらの結果は、若年健常女性の骨密度を高く維持するにはビタミンDとCa栄養を共に高く維持しなければならず、血中25(OH)D濃度20 ng/mL 以上の維持と、Ca摂取量850 mg/day 以上の摂取が有効であることが示唆された。

研究4 ビタミンK栄養の新規評価法の開発と思春期から高齢期のビタミンK栄養評価への応用：ビタミンK不足により、低カルボキシル化プロトンビン(PIVKA-II)や低カルボキシル化OC(ucOC)の血中濃度が上昇することから、血中PIVKA-IIおよびucOC濃度はビタミンKの不足マーカーとして利用できるが、これらを利用したビタミンK栄養評価法については確定されていないのが現状である。そこで、ビタミンK栄養評価を目的として曲率解析を応用した新規栄養評価法を開発し、血中PIVKA-II濃度ならびにucOC濃度を指標にビタミンK摂取量のカットオフ値を推定した。その結果、血中ucOC濃度を指標とした骨に必要なビタミンK摂取量のカットオフ値は、思春期男女で155~188 $\mu\text{g/day}$ 、高齢者で270 $\mu\text{g/day}$ と推定された。一方、思春期男女の血液凝固に必要なビタミンK摂取量は54~62 $\mu\text{g/day}$ (約1 $\mu\text{g/kg/day}$) と推定された。このことから、血液凝固においては現在の食事摂取基準(男子：75~80 $\mu\text{g/day}$ 、女子：60~65 $\mu\text{g/day}$)のビタミンK摂取量で充分であるが、骨の健康維持を目的とした場合にはより多くのビタミンK摂取が必要であり、高齢者は若年者に比べてより多くのビタミンK摂取が必要と推察された。高齢者については、さらに血中ビタミンK濃度および血中ucOC濃度を用いて曲率解析を行い、ビタミンK不足マーカーおよび臨床骨折予測因子としての血中ucOC濃度の意義について検討した。その結果、骨のビタミンK不足を表すucOC濃度のカットオフ値として4.1~4.4 ng/mL が得られた。血中ucOC濃度4.5 ng/mL をカットオフ値とし、臨床骨折発生に対する比例ハザード解析、Kaplan-Meier生存時間解析、ロジスティック回帰分析を行った結果、ucOC濃度4.5 ng/mL は骨におけるビタミンK不足の検出とともに臨床骨折の予測マーカーになり得る可能性が示唆された。

研究1：乳児期の脂溶性ビタミン栄養の評価

A. 目的

食事摂取基準の策定には栄養状態の指標と各栄養素摂取量の関係を示す調査研究が必要である。しかし、日本人を対象とした研究は少なく、特に、乳児を対象とした研究は不足している。我々は、これまでに日本人授乳婦より得られた母乳中脂溶性ビタミン濃度を測定し、乳児の推定摂取量を算出すると共に、授乳婦の血漿中脂溶性ビタミン濃度や食事摂取量との関係についての調査を実施した。そこで平成19年度の研究として、さらに母乳中脂溶性ビタミン濃度と出産後日数との関係および各脂溶性ビタミン濃度間の相互関係について解析した。

B. 方法

(1) 対象者

インフォームドコンセントが得られた出産後3~265日(0~8.8ヶ月)の日本人授乳婦82名を対象とした。背景は以下の通りである。

年齢 : 30.8±4.5 歳 (18-39 歳)

出産後日数 : 49.1±57.6 日 (3-265 日)

[1.6±1.9 ヶ月 (0.1-8.8 ヶ月)]

在胎週数 : 39.3±1.3 週 (36-42 週)

出産形態 : 経膈分娩 68 名 帝王切開 14 名

(2) 母乳中脂溶性ビタミンの抽出・測定

a. ビタミン A, D, E 類の抽出 (アルカリけん化法)

解凍後、超音波処理により均質化した母乳 10.0 mL を褐色の共栓付フラスコにとり、内部標準物質として d_6 -all-trans-retinol エタノー

ル溶液ⁱ⁾ 50 μ L 及び重水素あるいは重酸素ラベル化したその他の内部標準物質エタノール溶液ⁱⁱ⁾ 50 μ L, 1%塩化ナトリウム溶液 6 mL, 7%ピロガロール・エタノール溶液 (w/v) 20 mL, 60%水酸化カリウム溶液 10 mL を加え、70°C で 60 分間、加熱けん化した。室温まで冷却後、分液ろうとに移し、1%塩化ナトリウム溶液 38 mL, ヘキサン：酢酸エチル (9 : 1, v/v) 30 mL を加えて振とうし、有機層を取り分けた。水層に再びヘキサン：酢酸エチル (9 : 1, v/v) 30 mL を加えて振とうし、有機層を先の有機層に合わせた後、洗液がフェノールフタレイン試液で着色しなくなるまで蒸留水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、ろ過しながら褐色ナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレーターで乾固した。残渣をヘキサン：酢酸エチル (9 : 1, v/v) 2.5 mL に溶解し、このうち 1.0 mL をビタミン A, E 類測定用, 1.5 mL をビタミン D 類測定用とした。ビタミン A, E 類測定用の溶液は、ロータリーエバポレーターで乾固した後、残渣をエタノール 200 μ L に溶解し、50 μ L を LC-APCI/MS/MS に適用した。ビタミン D 類測定用の溶液は、ロータリーエバポレーターで乾固した後、以下の条件の HPLC にて精製し、DMEQ-TAD 誘導体化をおこなった。

<精製用 HPLC 条件>

ポンプ : Waters 600 (Waters 社製)

検出器 : Waters 996 (Waters 社製)

カラム : Zorbax SIL

(4.6 mm i.d.×250 mm, Agilent 社製)

移動相 : ヘキサン：2-プロパノール：メタノール (88:10:2, v/v/v)

流速 : 1.0 mL/min.

温度 : 室温

分取画分 : D 画分 3.5-5.0 min

25(OH)D 画分 5.0-8.0 min

分取したDおよび25(OH)D画分をロータリーエバポレーターで乾固した後、0.4% DMEQ-TAD 酢酸エチル溶液 150 μ L を加え、30 分間室温にて放置した。再度、0.4% DMEQ-TAD 酢酸エチル溶液 150 μ L を加えて、室温で60分間放置した後、エタノール 1.5 mL を加えて過剰な試薬を分解した。ロータリーエバポレーターで乾固した後、残渣をアセトニトリル 80 μ L に溶解し、30 μ L を LC-APCI/MS/MS に適用した。なお、測定対象は vitamin D₃ (D₃)、vitamin D₂ (D₂)、25-hydroxyvitamin D₃ [25(OH)D₃] 及び 25-hydroxyvitamin D₂ [25(OH)D₂] とした。

b. ビタミン K 類の抽出 (リパーゼ消化法)

母乳 3.0 mL を褐色のスクリュウコック付遠沈管にとり、ビタミン K 内部標準物質エタノール溶液 100 μ L、0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.7) 12 mL、リパーゼ (ブタすい臓製、ナカライテスク社製) 0.3 g を加え、混合した後、37 °C で 90 分間攪拌した。エタノール 12 mL を加えた後、超音波処理をおこない、ヘキサン 12 mL を加えた。ボルテックスミキサーで攪拌後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離し、ヘキサン層 10 mL を褐色ナス型フラスコに移した。残った水層にヘキサン 12 mL を加え、ボルテックスミキサーで攪拌後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離し、ヘキサン層 12 mL をナス型フラスコにあわせた。ヘキサン層をロータリーエバポレーターで乾固した後、残渣をヘキサン 3 mL に溶解し、あらかじめヘキサン 10 mL で洗浄した Sep-Pak Silica カートリッ

ジ (Waters 社製) に負荷した。ヘキサン : ジエチルエーテル (97 : 3, v/v) 5.0 mL により溶出させたビタミン K 画分を、ロータリーエバポレーターで乾固した。得られた残渣をエタノール 200 μ L に溶解し、50 μ L を LC-APCI/MS/MS に適用した。

c. ビタミン A, E, K 類の測定

ビタミン A, E, K 類は、以下の条件の LC-MS/MS にて測定した。

<HPLC 条件>

ポンプ : LC-10AD (島津製作所社製)

オートインジェクター : SIL-10AD (島津製作所社製)

カラム : CAPCEL PAK C₁₈ UG120 (資生堂社製)

(4.6 mm i.d. \times 250 mm, 5 μ m)

移動相 : (A) メタノール : 水 (90:10, v/v)

(B) アセトニトリル

0-10 min (A) 100 %

10-40 min (B) 0 \rightarrow 90 % のグラジエ

ント

40-100 min (A) : (B) = 10 : 90

流速 : 1.0 mL/min

温度 : 35°C

<APCI-MS/MS 装置及び MS 検出条件>

装置 : API-3000

(アプライドバイオシステムズ社製)

MS 検出イオン :

Precursor ion/product ion (m/z)

all-trans-retinol (m/z : 269.1/213.4)

β -carotene (m/z : 537.6/177.1)

α -tocopherol (m/z : 430.4/165.1)

PK (m/z : 451.5/187.1)

MK-4 (m/z : 445.5/187.3)
 MK-7 (m/z : 649.7/187.1)
 d₆-all-trans-retinol (m/z : 275.2/192.4)
 d₆-β-carotene (m/z : 543.6/180.1)
 d₆-α-tocopherol (m/z : 436.5/171.1)
 [¹⁸O₂]-PK (m/z : 455.4/191.1)
 [¹⁸O₂]-MK-4 (m/z : 449.4/191.1)
 [¹⁸O₂]-MK-7 (m/z : 653.7/191.1)

各脂溶性ビタミンの定量計算には、測定対象脂溶性ビタミン (5, 20, 100, 500, 2500, 12500, 62500 ng/mL) 及びその内部標準物質 (500 ng/mL) を含む標準溶液を用いた。内部標準物質と測定対象脂溶性ビタミンの濃度比に対してピーク面積比をプロットした検量線を作成し、以下の計算式より濃度を算出した。

$$\text{母乳中脂溶性ビタミン濃度 (ng/mL)} = \text{RS/V}$$

R : 検量線より得られた内部標準物質に対する測定対象脂溶性ビタミンの濃度比

S : 内部標準物質の添加量 (ng)

V : 母乳量 (mL)

d. ビタミン D 類の測定

ビタミン D 類は、以下の条件の LCMS/MS にて測定した。

<HPLC 条件>

ポンプ : LC-10AD (島津製作所社製)

オートインジェクター

: SIL-10AD (島津製作所社製)

カラム : CAPCEL PAK C₁₈ UG120 (資生堂社製)

(4.6 mm i.d. × 250 mm, 5 μm)

移動相 : (A) アセトニトリル
 (B) 水
 0 - 5 min (A) : (B) = 30 : 70
 5 - 35 min (A) 30 → 95 % のグラジ
 エント
 流速 : 1.0 mL/min.
 温度 : 35°C

<APCI-MS/MS 装置及び MS 検出条件>

装置 : API-3000
 (アプライドバイオシステムズ社製)

MS 検出イオン :

Precursor ion/product ion (m/z)

DMEQ-TAD-D₃ (m/z : 730.5/468.3)

DMEQ-TAD-D₂ (m/z : 742.6/468.3)

DMEQ-TAD-25(OH)D₃ (m/z : 746.5/468.1)

DMEQ-TAD-25(OH)D₂ (m/z : 758.5/468.2)

DMEQ-TAD-24,25(OH)₂D₃ (m/z : 752.5/468.0)

DMEQ-TAD-d₇-D₃ (m/z : 737.6/468.2)

DMEQ-TAD-d₆-25(OH)D₃ (m/z : 752.5/468.1)

ビタミン D 類の定量計算には、試料と同様に誘導体化した測定対象ビタミン D の標準物質 (2.5, 10, 50 ng/mL) 及びその内部標準物質 (50 ng/mL) を含む標準溶液を用いた。内部標準物質と測定対象ビタミン D の濃度比に対してピーク面積比をプロットした検量線を作成し、以下の計算式より濃度を算出した。

$$\text{母乳中脂溶性ビタミン濃度 (ng/mL)} = \text{RS/V}$$

R : 検量線より得られた内部標準物質に対する測定対象ビタミン D の濃度比

S : 内部標準物質の添加量(ng)

V : 母乳量(mL)

i) d_6 -all-trans-retinol エタノール溶液 : 用時, d_6 -all-trans-retinol acetate をアルカリけん化して調製した. ヘキサン : 酢酸エチル (9 : 1) 抽出液より得られた残渣を 2-プロパノールに溶解し, 325 nm の吸光度($A_{325 \text{ nm}}$)を測定した. 以下の式に基づき d_6 -all-trans-retinol 濃度を計算し, 1 $\mu\text{g/mL}$ のエタノール溶液を調製した. また, 蛍光検出 HPLC により純度検定をおこなった.

$$d_6\text{-all-trans-retinol 濃度}(\mu\text{g/mL}) = A_{325 \text{ nm}} \times 549/100$$

ii) その他の内部標準物質エタノール溶液 : d_6 - β -carotene , d_7 - D_3 , d_6 -25(OH) D_3 , d_6 - α -tocopherol , [$^{18}\text{O}_2$]-phyloquinone (PK), [$^{18}\text{O}_2$]-menaquinone-4 (MK-4) 及び [$^{18}\text{O}_2$]-menaquinone-7 (MK-7) をそれぞれ 1 $\mu\text{g/mL}$ となるようエタノールに溶解した.

(3) 統計解析

JMP 5.0.1J を用いた.

C. 結果

各脂溶性ビタミンの母乳中濃度を表 1-1 に示す. 全対象者において, ビタミン A 類である all-trans-retinol, β -carotene の平均濃度は 0.455 (範囲 : 0.097~1.783, 中央値 : 0.406) $\mu\text{g/mL}$, 0.062 (範囲 : 0.002~0.375, 中央値 : 0.045) $\mu\text{g/mL}$ であった. ビタミン D 類の母乳中濃度は低く, D_3 , D_2 , 25(OH) D_3 および 25(OH) D_2 の平均濃度は 0.088 (範囲 : 0.010~1.116, 中央値 : 0.061) ng/mL , 0.078 (範囲 : 0~1.300, 中央値 : 0.021), 0.081 (範囲 : 0.023

~0.172, 中央値 : 0.078) ng/mL および 0.003 (範囲 : 0~0.012, 中央値 : 0.003) ng/mL であった. 一方, α -tocopherol の母乳中濃度は最も高く, 5.087 (範囲 : 0.387~35.664, 中央値 : 3.590) $\mu\text{g/mL}$ であった. また, ビタミン K 類である PK, MK-4 および MK-7 の平均濃度は 3.771 (範囲 : 0.953~12.382, 中央値 : 3.481) ng/mL , 1.795 (範囲 : 0.720~4.750, 中央値 : 1.611) ng/mL および 1.540 (範囲 : 0.074~15.861, 中央値 : 1.001) ng/mL であった.

次に, 対象者を出産後日数が 0~11, 11~30, 31~90, 91~180 および 91~180 日の 5 グループに分け, 各脂溶性ビタミン濃度と出産後日数の関係について解析した. 大部分の脂溶性ビタミン濃度は, 出産後日数が経過するにつれ減少傾向を示し, 出産後日数が 0-11 日のグループにおける母乳中 all-trans-retinol, β -carotene, 25(OH) D_2 および α -tocopherol 濃度は他のグループに比べ有意に高値であった ($p < 0.05$). 一方, 母乳中脂質濃度については各グループ間で有意な差異は認められなかった.

母乳中脂溶性ビタミン濃度と他の関連因子および各脂溶性ビタミン濃度間の関係を表 1-2 に示す. 出産後日数と母乳中 all-trans-retinol, β -carotene, α -tocopherol および MK-4 濃度は有意な負の相関を示した. 一方, 各脂溶性ビタミン濃度間の関係については, all-trans-retinol 濃度が β -carotene, 25(OH) D_2 , α -tocopherol, PK, MK-4 および MK-7 濃度と有意な正の相関を示した他, β -carotene および α -tocopherol 濃度は 25(OH) D_2 および ビタミン K 類濃度と有意な正の相関を示した. ビタミン D 類については, D_3 - D_2 間および 25(OH) D_3 -25(OH) D_2 間に有意な正の相関が認められたが, D -25(OH) D 間には相関が認めら

れなかった。また、ビタミンK類においては3種の類縁体間で有意な正の相関が認められた。加えて、母乳中脂質濃度は25(OH)D₃、 α -tocopherol、PKおよびMK-4と有意な正の相関を示した。

D. 考察

25(OH)Dは血漿中に20~50 ng/mLの濃度で分布しているにもかかわらず、母乳中濃度は0.1 ng/mL以下と低いことが明らかとなった。

脂溶性ビタミン濃度と出産後日数の関係については、一般的に母乳中ビタミンAおよびE類濃度は初乳中で高く、その後は徐々に減少し、成熟乳において一定になるとされている。Sakuraiら¹⁾の報告においても同様に、母乳中all-trans-retinol、 β -carotene、 α -tocopherol濃度は出産後日数が経過するにつれて減少しているが、D₃については出産後日数との関係は認められていない。また、Kojimaら²⁾は、母乳中PKおよびMK-4濃度は初乳中で高く、出産後日数が経過するにつれて減少すると報告している。これらの結果と考え合わせると、ビタミンK類のなかでもMK-4の母乳中濃度はビタミンAおよびE類と同様に出産後日数に影響を受けるものと考えられる。

各脂溶性ビタミン濃度間の関係のうち、ビタミンD類については、D₃-D₂間および25(OH)D₃-25(OH)D₂間に有意な正の相関が認められたが、D-25(OH)D間には相関が認められなかったことから、ビタミンD類の血漿から母乳への分泌には化合物の極性が影響している可能性が考えられた。また、母乳中脂質濃度と各脂溶性ビタミン濃度の関係から、母乳中脂質濃度は母乳中ビタミンEおよびK

類濃度に影響を及ぼす重要な因子であると考えられるが、ビタミンAおよびD類については血漿中結合タンパク質など、他の因子の寄与も大きいと予想された。

研究2: 食品中ビタミンK類縁体含量の測定と女子大生を対象とした摂取量調査

A. 目的

栄養素は単独で摂取されるものではなく、食事全体の成分として摂取される。我々の食事は多くの栄養素や他の成分から構成されており、その中のいくつかは互いに何らかの形で影響しあうと予想される。従って、今後は、単一の栄養素における生体への影響のみならず、栄養素-栄養素間の相互作用についても検討することが重要となる。しかし現在のところ、栄養素-栄養素間相互作用を解析するための有効なアプローチは確立されていない。

我々は、食事摂取基準策定の基礎資料を得るため、日本人を対象として、各脂溶性ビタミンの血漿中濃度測定や摂取量調査などの栄養調査研究を進めてきた。このようにして集積されたデータを用いて、脂溶性ビタミン間の相互作用について何らかの傾向を見出すことが可能ではないかと考えた。ビタミンEが生体内においてビタミンKに拮抗的に作用するという報告³⁾があることから、まずはビタミンKの体内利用率に及ぼす他の脂溶性ビタミンの影響を調べることを計画した。本年度はその準備段階として、ビタミンK類摂取量を正しく評価するべく、我々が開発した改良型蛍光検出HPLC法⁴⁾を用いて、日本人が日常的に摂取している食品におけるビ

タミンK類を定量し、女子大生における摂取量調査をおこなった。

B. 方法

(1) 食品試料からのビタミンK類の抽出・測定

a. 一般的な食品試料からのビタミンK類の抽出

可食部 1~5 g と内部標準物質溶液(ビタミンKの側鎖を飽和アルキル基に置換した2種類の合成誘導体 IS-C16 および IS-C19³ 各 0.5 µg/100 µL エタノール) および海砂 1 g を乳鉢中ですりつぶし、アセトン 10 mL で3回抽出した。抽出液をろ過した後、分液ろうとに移し、ジエチルエーテル 40 mL で2回抽出した。ジエチルエーテル層を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、ロータリーエバポレーターで乾固し、残渣を 5 mL のヘキサンに溶解した。得られたヘキサン溶液を、あらかじめヘキサン 20 mL で洗浄した Sep-Pak Silica カートリッジ (Waters 社製) に負荷し、ビタミンK画分をヘキサン/エーテル (97:3, v/v) 10 mL により溶出した。溶出液をロータリーエバポレーターで乾固した後、得られた残渣を 1.0~2.5 mL のエタノールに溶解し、40 µL を2種類の条件の HPLC に適用した。

b. 油脂類からのビタミンK類の抽出

試料 1.0~2.5 g と内部標準物質溶液(ビタミンKの側鎖を飽和アルキル基に置換した2種類の合成誘導体 IS-C16 および IS-C19 各 0.5 µg/100 µL エタノール) を混合し、5 mL のヘキサンに溶解した。得られた溶液を5分間振とうした後、3,000 rpm で5分間遠心分離した。ヘキサン層 4.5 mL を、あらかじめヘキサン 20 mL で洗浄した Sep-Pak Silica カート

リッジ (Waters 社製) に負荷し、ビタミンK画分をヘキサン/エーテル (97:3, v/v) 10 mL により溶出した。溶出液をロータリーエバポレーターで乾固した後、得られた残渣を 1.0~2.5 mL のエタノールに溶解し、40 µL を2種類の条件の HPLC に適用した。

c. ビタミンK類の測定

ビタミンK類は以下の2種類の条件の蛍光検出器付き HPLC で測定した。

<HPLC 条件 1 (MK-4, IS-C16 分析条件)>

ポンプ : LC-10AD_{VP} (島津製作所社製)

オートインジェクター : SIL-10AD_{VP}
(島津製作所社製)

検出器 : RF-10A_{XL} (島津製作所社製)

励起波長 : 320 nm

検出波長 : 430 nm

カラム : CAPCEL PAK C₁₈ UG120
(4.6 x 250 mm, 5 µm, 資生堂社製)

移動相 : メタノール/水 (95:5, v/v)

流速 : 1.0 mL/min

<HPLC 条件 2 (PK, MK-7, IS-C19 分析条件)>

ポンプ : LC-10AD_{VP} (島津製作所社製)

オートインジェクター : SIL-10AD_{VP}
(島津製作所社製)

検出器 : RF-10A_{XL} (島津製作所社製)

励起波長 : 240 nm

検出波長 : 430 nm

カラム : CAPCEL PAK C₁₈ UG120
(4.6 x 250 mm, 5 µm, 資生堂社製)

移動相 : メタノール/エタノール (95:5, v/v)

流速 : 1.0 mL/min

MK-4 の定量には MK-4 (1, 5 および 10 ng/mL), I.S.-C16 (5 ng/mL) を含む標準溶液を, PK, MK-7 の定量には PK, MK-7 (1, 5 および 10 ng/mL), I.S.-C19 (5 ng/mL) を含む標準溶液を用いた. 内部標準物質と測定対象物質の濃度比に対してピーク面積比をプロットした検量線を作成し, 以下の計算式よりビタミン K 濃度を算出した.

$$\text{食品中ビタミン K 含量}(\mu\text{g}/100\text{g}) = \text{RS}/\text{V} \times 100$$

R: 検量線より得られた内部標準物質に対するビタミン K の濃度比

S: 内部標準物質の添加量 (μg)

V: 試料量 (g)

(2) 女子大生を対象とした摂取量調査

インフォームドコンセントが得られた女子大学生 125 名 (埼玉県に位置する女子栄養大学の在学学生, 平均年齢 21.2 歳) を対象とした. 平日 2 日, 休日 1 日を含む計 3 日間の食事摂取量を重量法にて記録した. 本研究で測定対象となった食品からのビタミン K 摂取量は, 後に示す類縁体別ビタミン K 含量を用いて算出した. 本研究で測定対象としなかった食品からのビタミン K 摂取量については, 5 訂増補日本食品成分表に記載されたビタミン K 含量を用いて計算した. ただし, 植物性食品は PK として, 動物性食品は MK-4 として計算した. また, MK-7 については, 以下の式により MK-4 換算重量とした後, 摂取量を求めた.

$$\text{MK-7 の MK-4 換算重量} = \text{C} \times 444.7/649.0$$

C: MK-7 含量

444.7: MK-4 の分子量

649.0: MK-7 の分子量

C. 結果

今回測定対象とした 11 食品群, 58 品目の食品中ビタミン K 類縁体含量を表 2-1 に示す. PK は小松菜, しそ, しゅんぎく, ブロッコリー, ほうれん草などの緑色野菜類に多く含まれていた. また, やきのり, ひじき, カットわかめなどの海藻類, 大豆油, 調合油などの植物性油脂類および抹茶にも多くの PK が含まれていた. 紅茶の茶葉には PK が多く含まれていたが, 溶出液中ではほとんど検出されなかった. マヨネーズなどの調味料にも比較的多くの PK が含まれていることが明らかとなった. MK-4 は魚介類, 肉類, 卵類, 乳製品, 調味料・香辛料に広く分布していたが, 平均的な含量は PK に比べて低かった. なかでも鶏もも肉, 卵黄, マヨネーズなどの食品には比較的多くの MK-4 が含まれていた. 一方, MK-7 は納豆類に特異的に多く含まれており, その含量は 700~1000 $\mu\text{g}/100\text{g}$ であった.

次に, 女子大生におけるビタミン K 類縁体摂取量の分布を図 2-1 に示す. 総ビタミン K 摂取量は平均 $230.2 \pm 143.3 \mu\text{g}/\text{day}$ となり, 対象者の 94.4% が食事摂取基準における目安量 (60 mg/day , 18-29 歳女性) に達していた. 類縁体別の平均摂取量は, PK 155.9 ± 91.1 , MK-4 16.9 ± 10.4 および MK-4 換算 MK-7 $57.4 \pm 83.7 \text{ mg}/\text{day}$ となり, 総ビタミン K 摂取量に対する各類縁体の割合は 67.7, 7.3 および 24.9% であった. また, 各食品群の総ビタミン K 摂取量に占める割合を算出したところ, 野菜類および納豆を含む豆類で全体の 78.3% を占めていることが明らかとなった.