

II. 研究分担者の報告書

4. 妊婦におけるビタミン B₆と葉酸の摂取量と血中濃度

研究分担者 柴田 克己 滋賀県立大学人間文化学部

研究協力者 福渡 努 滋賀県立大学人間文化学部

研究要旨

日本人の食事摂取基準（2015 年版）を策定するうえで、精度の高い妊婦におけるビタミン B₆と葉酸の付加量の策定に必要な科学的根拠を得ることを目的として、日本人妊婦を対象とした横断研究を行い、ビタミン B₆と葉酸の摂取量および血中濃度について調べた。滋賀県の産科に受診した日本人妊婦 235 名および産後 1 か月の女性 40 名を対象として、採血および自記式食事歴法質問票を用いた食事調査を行った。サプリメント摂取の有無にかかわらず血漿 PLP 濃度は妊娠の進行にともなって低下し、妊娠末期においては食事摂取基準（2010 年版）の EAR の策定に用いた基準値 30 nmol/L を維持することができなかった。ビタミン B₆欠乏時に現れる特徴は認められないことから、妊娠中の血漿 PLP 濃度の低下はビタミン B₆栄養状態を反映せず、妊娠特有の生理状態である可能性が示された。平均 220～250 μg/日の葉酸を摂取している集団において、赤血球葉酸濃度は食事摂取基準（2010 年版）の EAR の策定に用いた基準値 300 nmol/L を維持していた。これは、日本人においては妊娠時に葉酸栄養状態の指標である赤血球葉酸濃度が低下しないことを示している。以上の結果より、ビタミン B₆の付加量の策定には血漿 PLP 濃度以外の生体指標を利用する必要性があること、葉酸の付加量の策定には本研究結果を始めとする新たな科学的根拠を利用できる可能性が示された。

A. 目的

妊娠期の食生活は、本人に加えて児のライフステージの最も初期段階での栄養状態を形づくるものとして重要である。このため、日本人の食事摂取基準（2010 年版）¹⁾では、妊婦に対して水溶性ビタミンの付加量が設定された。しかし、日本人の食事摂取基準（2010 年版）の策定において、妊婦におけるビタミン B₆と葉酸の付加量の策定に必要な科学的

根拠が少ないため、通常の食事からは摂取の難しい値を策定せざるを得なかったという事情がある¹⁾。妊娠末期にはビタミン B₆栄養状態の指標として用いられる血漿 PLP 濃度が低下するが、妊婦のビタミン B₆付加量策定に必要な実験結果および調査結果が乏しい。このため、ビタミン B₆の付加量は、米国 DRIs にならって要因加算法を用いて策定された。葉酸の付加量については、中長期的な葉酸栄養

状態の指標として用いられる赤血球葉酸濃度が妊娠末期で低下し、100 µg/日のプテロイルグルタミン酸摂取によって赤血球葉酸濃度の低下を予防できたというエビデンスから策定された。しかし、100 µg/日以下のプテロイルグルタミン酸については調べられておらず、付加量よりも少ない摂取量で赤血球葉酸濃度を維持できる可能性がある。

策定された水溶性ビタミンの付加量の妥当性を検討するために、日本人妊婦を対象とした調査を行ったところ、ビタミン B₆と葉酸の平均摂取量は推定平均必要量 (EAR) に対してそれぞれ 60%と 70%であった²⁾。この摂取量は健康な非妊娠女性の平均摂取量と等しく、当該ビタミンの尿中排泄量も同等であった。この結果は、ビタミン B₆と葉酸の摂取量が必ずしも EAR でなくても、ビタミン B₆と葉酸の栄養状態を良好に維持できる可能性を示している。

本研究では、日本人の食事摂取基準 (2015年版) の策定において、精度の高い妊婦におけるビタミン B₆と葉酸の付加量の策定に必要な科学的根拠を得ることを目的とした。具体的には、日本人妊婦を対象とした横断研究を行い、ビタミン B₆と葉酸の摂取量および血中濃度を明らかにすることを目的とした。

B. 方法

1. 対象者

2011年5～12月に滋賀県彦根市の産科を受診した日本人妊婦および産後1か月の女性から参加者を募集した。研究の参加に同意した妊婦235名および産後女性40名を対象者とした。受診時に採血を行い、帰宅後に自記式食事歴法質問票 (DHQ) に記入してもらった。参加者のうち血漿サンプルあるいは赤血球サ

ンプルが得られた者、DHQの回答が得られた者、採血時から1か月前の間に葉酸あるいはビタミン B₆を含むサプリメント等を摂取しなかった者を選んだ (図1, 2)。妊婦は、妊娠週数に応じて妊娠初期 (妊娠16週未満)、妊娠中期 (妊娠16～30週)、妊娠末期 (妊娠31週以降) に分類した。

本研究は滋賀県立大学倫理審査委員会において承認を得ており、対象者には調査の目的、検査内容、個人情報保護などについて説明を行い、インフォームド・コンセントを得た。

2. 食事調査

食事調査にはすでに妥当性が確立されている DHQ³⁻⁵⁾を用い、対象者には採血後に自宅で DHQ に回答してもらった。これを五訂日本食品標準成分表⁶⁾に基づいて解析し、エネルギーおよび栄養素摂取量を算出した。

3. 分析

血液サンプルは血漿と赤血球に分離した。血漿 PLP 濃度は HPLC 法によって測定した⁷⁾。血漿葉酸濃度は *Lactobacillus casei* ATCC 27773 を用いた微生物学的定量法によって測定した⁸⁾。赤血球葉酸濃度の測定については、赤血球画分をプロテアーゼおよびコンジュガーゼ処理し、得られたモノグルタミン酸型葉酸を上記の微生物学的定量法に供した⁸⁾。

4. 統計処理

値は平均 ± 標準偏差として示した。妊娠期による違いを比較するには、まず一元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合は Tukey 法による多重比較検定を行った。各妊娠期におけるサプリメント摂取の有無による違いを比較するには、まず二元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合は Bonferroni 法による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 Prism (GraphPad Software, Inc, San Diego, California, USA) を用いた。

C. 結果

1. 対象者の特徴

血漿サンプルおよびDHQの回答が得られ、採血前1か月間にサプリメントを摂取していない対象者を妊娠初期(妊娠16週未満)、妊娠中期(妊娠16~30週)、妊娠末期(妊娠31週以降)、出産後1か月に分類し、身体的特徴と栄養素等摂取量を表1に示した。

妊娠期間中の総エネルギー摂取量は日本人の食事摂取基準(2010年版)¹⁾の推定エネルギー必要量の60~70%であった。妊娠初期の総エネルギー摂取量は妊娠末期および産後1か月よりも低値を示した。妊娠期間中のビタミンB₆および葉酸摂取量は、それぞれ日本人の食事摂取基準(2010年版)¹⁾のEARの約50%、約60%であった。ビタミンB₆および葉酸摂取量には妊娠期による違いは認められなかった。

2. 血漿PLP濃度

DHQの回答、サプリメント摂取の有無にかかわらず、得られたすべての血漿PLP濃度を妊娠期別に図3Aに示した。サプリメント摂取の有無にかかわらず血漿PLP濃度は妊娠中期以降に低下し、妊娠末期においては日本人の食事摂取基準(2010年版)¹⁾のEARの策定に用いた基準値30nmol/Lを維持することができなかった。サプリメントを摂取せず、ビタミンB₆摂取量の平均が0.8~0.9mg/日である妊婦においても血漿PLP濃度は妊娠中期以降に低下し(図3B)、サプリメントを摂取した妊婦の血漿PLP濃度は非摂取者の値と同レ

ベルであった(図3C)。産後1か月では、血漿PLP濃度は妊娠初期には至らないが、妊娠末期の約3.5倍に回復した。

3. 赤血球葉酸濃度および血漿葉酸濃度

DHQの回答、サプリメント摂取の有無にかかわらず、得られたすべての赤血球葉酸濃度を妊娠期別に図4Aに示した。サプリメント摂取の有無にかかわらず赤血球葉酸濃度は妊娠期間中には変動せず、妊娠末期においては日本人の食事摂取基準(2010年版)¹⁾のEARの策定に用いた基準値300nmol/Lを維持していた。サプリメントを摂取せず、葉酸摂取量の平均が220~250μg/日である妊婦においても、赤血球葉酸濃度は妊娠期を通じて300nmol/Lを維持していた(図4B)。サプリメントを摂取した妊婦の赤血球葉酸濃度は非摂取者の値と同レベルであった(図4C)。

DHQの回答、サプリメント摂取の有無にかかわらず、得られたすべての血漿葉酸濃度を妊娠期別に図5Aに示した。サプリメント摂取の有無にかかわらず血漿葉酸濃度は妊娠中期以降に低下したが、日本人の食事摂取基準(2005年版)⁹⁾のEARの策定に用いた基準値7nmol/Lを維持していた。サプリメントを摂取せず、葉酸摂取量の平均が220~250μg/日である妊婦においては、血漿葉酸濃度は妊娠中期に低下したが、妊娠期を通じて7nmol/Lを維持していた(図5B)。サプリメントを摂取した妊婦の血漿葉酸濃度は非摂取者より高値を示した(図5C)。

D. 考察

本研究では、235名の妊婦および40名の産後女性を対象として、採血およびDHQを用いた食事調査を行い、ビタミンB₆と葉酸の摂取量および血中濃度を求めた。妊婦は妊娠時

期に応じて初期、中期、末期に分類した。各時期における平均摂取量を日本人の食事摂取基準（2010年版）に記載された EAR と比較するとともに、各時期間の比較も行った。また、血中濃度については、各時期における値を日本人の食事摂取基準策定で用いた基準値と比較するとともに、各時期間の比較、サプリメント摂取の有無による比較も行った。

本研究における日本人妊婦のビタミン B₆ 摂取量の平均は 0.8~0.9 mg/日と妊婦の EAR である 1.7 mg/日の約 50%であった。この摂取量は、尿中ビタミン B₆代謝産物排泄量を指標としてビタミン B₆ 栄養状態が良好であると判断された日本人妊婦の集団と同じものである²⁾。本研究では、血漿 PLP 濃度は妊娠中期以降に 30 nmol/L 以下に低下した。サプリメント摂取者においても妊娠中期以降の血漿 PLP 濃度は低下し、その値はサプリメント非摂取者と等しかった。血漿 PLP 濃度はビタミン B₆ 栄養状態を表す指標として一般に用いられている。上記の 30 nmol/L とは、ビタミン B₆ 欠乏に起因する障害が観察されなくなる値であり^{10,11)}、日本人の食事摂取基準（2010年版）では成人、小児におけるビタミン B₆ の EAR を策定する際に基準値として利用された¹⁾。本研究の対象者にはビタミン B₆ 欠乏に起因する障害は一切観察されず、出産児にも問題はまったく認められなかった。妊婦の血漿 PLP 濃度の低下は妊娠時特有の生理状態によって生じるという考え方もあることと併せると、妊娠時の血漿 PLP 濃度はビタミン B₆ 栄養状態を表してはいないと推察される。

オーストリア人妊婦を対象とした調査では、血漿 PLP 濃度は妊娠末期に 30 nmol/L 以下に低下する¹²⁾。妊娠末期に 4~10 mg/日のピリドキシンを摂取すれば、血漿 PLP 濃度を非妊

娠期と同じレベルに維持できる¹³⁻¹⁵⁾。しかし、一般女性のビタミン B₆ 摂取量は 1 mg/日程度であり、5~10 mg/日を食事から摂取することは不可能であるため、米国の DRIs では胎児と胎盤への蓄積量、妊娠末期に胎児が成長することなどを考慮した要因加算法によって妊婦の EAR が策定された¹¹⁾。日本人の食事摂取基準（2010年版）では、米国の DRIs が算定した付加量 0.5 mg/日に相対生体利用率を考慮して 0.7 mg/日が付加量として策定された¹⁾。要因加算法は精度が低いこと、要因加算法を用いて策定した EAR の 50%しかビタミン B₆ を摂取していない妊婦にはビタミン B₆ 欠乏に起因する障害が観察されないこと、妊娠時の血漿 PLP 濃度はビタミン B₆ 栄養状態を表す指標としては不適切である可能性があることを併せると、妊婦のビタミン B₆ 栄養状態を判定する他の生体指標を利用する必要性があると考えられる。

本研究における日本人妊婦の葉酸摂取量の平均は 220~250 µg/日と妊婦の EAR である 400 µg/日の約 60%であった。この摂取量は、尿中葉酸排泄量を指標として葉酸栄養状態が良好であると判断された日本人妊婦の集団と同じものである²⁾。本研究では、赤血球葉酸濃度は妊娠期を通じて 300 nmol/L を維持してした。赤血球葉酸濃度は中・長期的な葉酸栄養状態を表す指標として一般に用いられている。上記の 300 nmol/L とは、葉酸欠乏に起因する障害が観察されなくなる値であり^{16,17)}、日本人の食事摂取基準（2010年版）では成人、小児におけるビタミン B₆ の EAR を策定する際に基準値として利用された¹⁾。本研究の対象者およびその出産児には葉酸欠乏に起因する障害は一切観察されなかった。また、血漿葉酸濃度は妊娠中期以降に低下したが、7

nmol/L を維持していた。以上の結果は、葉酸摂取量の平均が 220~250 µg/日である日本人妊婦の集団において、葉酸栄養状態は良好に保たれていることを示唆するものである。

英国人妊婦を対象とした調査では、赤血球葉酸濃度は妊娠末期に 300 nmol/L 以下に低下した¹⁸⁾。しかし、妊娠 20 週以降に 100 µg/日のプテロイルモノグルタミン酸を補足すると、赤血球葉酸濃度を 300 nmol/L 以上に維持することが可能であった¹⁸⁾。日本人の食事摂取基準 (2010 年版) では、このデータに基づき、プテロイルモノグルタミン酸を食事性葉酸に換算した 200 µg/日が付加量 (EAR) として策定された¹⁾。先の英国人妊婦に 100 µg/日のプテロイルモノグルタミン酸を補足した介入試験では、妊娠末期における赤血球葉酸濃度は約 420 nmol/L であった¹⁸⁾。100 µg/日以下の補足量でも赤血球葉酸濃度を 300 nmol/L に維持できる可能性があるが、100 µg/日以下の量については検討されていない。本研究に参加した日本人妊婦においては、英国人とは異なり、妊娠末期の赤血球葉酸濃度の平均値は 300 nmol/L を維持していた。この結果は限られた人数から得られたものであるため、対象者数を増やす必要があるが、葉酸の付加量の策定には本研究結果を始めとする新たな科学的根拠を利用できる可能性が示された。

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. 特許取得
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 (2010 年版), 2009.
2. 柴田克己, 福渡努. 平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金 (循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業), 日本人の食事摂取基準の改定と活用に資する総合的研究, 平成 19 年度総括・分担研究報告書 (研究代表者, 徳留信寛). 2011.
3. Sasaki S, Yanagibori R, Amano K. Validity of a self-administered diet history questionnaire for assessment of sodium and potassium: comparison with single 24-hour urinary excretion. *Jpn Circ J* (1998) **62**, 431-435.
4. Sasaki S, Yanagibori R, Amano K. Self-administered diet history questionnaire developed for health education: a relative validation of the test-version by comparison with 3-day diet record in women. *J Epidemiol* (1998) **8**, 203-215.
5. Sasaki S, Ushio F, Amano K, Morihara M, Todoriki O, Uehara Y, Toyooka E. Serum biomarker-based validation of a self-administered diet history questionnaire for Japanese subjects. *J Nutr Sci Vitaminol* (2000) **46**, 285-296.
6. 科学技術庁資源調査会編. 日本食品成分

- 表の改定に関する調査報告—五訂増補
日本標準食品成分表—大蔵印刷局, 東京,
2005.
7. 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**, 336-344.
 8. Aiso K, Tamura T. Trienzyme treatment for food folate analysis. Optimal pH and incubation time for alpha-amylase and protease treatment. *J Nutr Sci Vitaminol* (1998) **44**, 361-370.
 9. 厚生労働省. 日本人の食事摂取基準 (2005年版), 2004.
 10. Leklem JE. Vitamin B₆: A status report. *J Nutr* (1990) **120**, 1503-1507.
 11. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. Washington, DC: National Academy Press, 1998.
 12. Reinken L, Dapunt O. Vitamin B₆ nutriture during pregnancy. *Int J Vitminol Nutr Res* (1978) **48**, 341-347.
 13. Cleary RE, Lumeng L, Li TK. Maternal and fetal plasma levels of pyridoxal phosphate at term: adequacy of vitamin B₆ supplementation during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* (1975) **121**, 25-28.
 14. Hamfelt A, Tuvemo T. Pyridoxal phosphate and folic acid concentration in blood and erythrocyte aspartate aminotransferase activity during pregnancy. *Clin Chim Acta* (1972) **41**, 287-298.
 15. Lumeng L, Cleary RE, Li TK. Effect of oral contraceptives on the plasma concentration of pyridoxal phosphate. *Am J Clin Nutr* (1974) **27**, 326-333.
 16. Herbert V. Experimental nutritional folate deficiency in man. *Trans Assoc Am Physicians* (1962) **75**, 307-320.
 17. Milne DB, Johnson LK, Mahalko JR, Sandstead HH. Folate status of adult males living in a metabolic unit: possible relationships with iron nutriture. *Am J Clin Nutr* (1983) **37**, 768-773.
 18. Chanarin I, Rothman D, Ward A, Perry J. Folate status and requirement in pregnancy. *Br Med J* (1968) **2**, 390-394.

表 1 サプリメントを摂取していない 152 名の身体的特徴および栄養素等摂取量

	妊娠初期	妊娠中期	妊娠末期	産後 1 か月
人数	39	48	37	28
年齢 (歳)	30.1 ± 5.1	29.4 ± 4.4	30.1 ± 4.4	32.3 ± 5.3
妊娠週数 (週)	10.8 ± 1.5 ^a	27.6 ± 3.1 ^b	36.4 ± 0.8 ^c	—
身長 (cm)	159 ± 6	160 ± 5	160 ± 6	159 ± 7
体重 (kg)	53.2 ± 10.4 ^a	57.9 ± 7.0 ^{bc}	61.5 ± 8.1 ^b	54.3 ± 6.0 ^{ac}
BMI (kg/m ²)	21.0 ± 4.3 ^a	22.6 ± 2.1 ^{ab}	24.0 ± 2.5 ^b	21.5 ± 2.2 ^a
エネルギー摂取量 (kcal/d)	1418 ± 552 ^a	1591 ± 393 ^{ab}	1770 ± 374 ^{bc}	1939 ± 370 ^c
たんぱく質摂取量 (%E 比)	12.5 ± 2.2	12.9 ± 1.7	12.7 ± 1.9	12.8 ± 1.6
脂質摂取量 (%E 比)	25.3 ± 6.0 ^a	29.7 ± 5.9 ^b	30.3 ± 5.5 ^b	28.4 ± 5.7 ^{ab}
炭水化物摂取量 (%E 比)	61.5 ± 7.3 ^a	56.3 ± 6.3 ^b	56.0 ± 6.3 ^b	57.8 ± 6.3 ^{ab}
ビタミン B ₆ 摂取量 (mg/d)	0.83 ± 0.73	0.82 ± 0.30	0.87 ± 0.24	1.02 ± 0.30
葉酸摂取量 (μg/d)	229 ± 161	231 ± 85	257 ± 82	296 ± 108

値は平均 ± 標準誤差として示した。

右肩の異なるアルファベット間において有意差がある ($p < 0.05$)。検定は、一元配置分散分析の後、Tukey-Kramer 法による多重比較を行った。

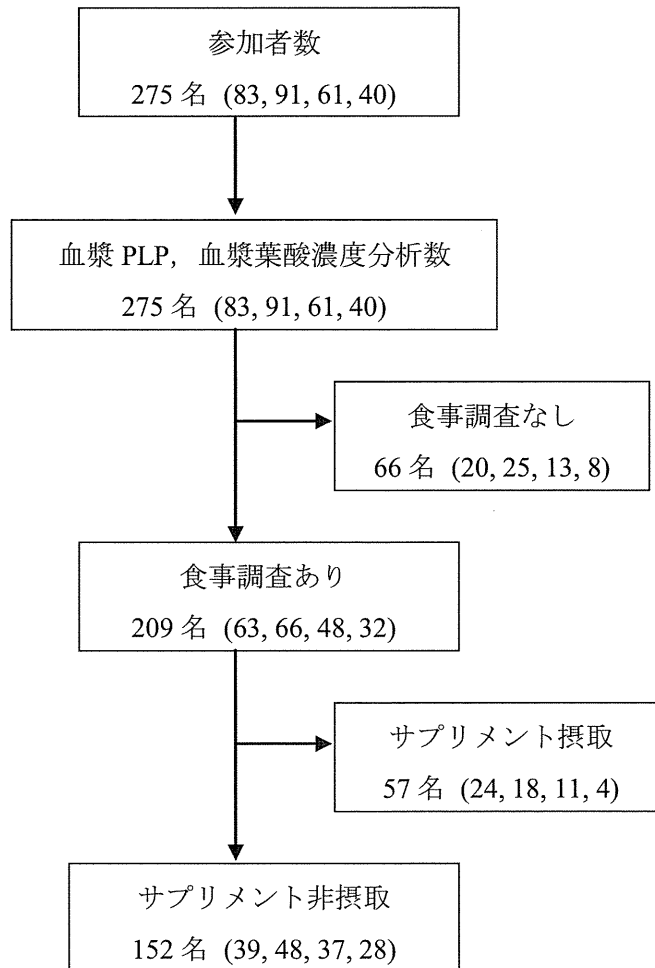


図1 血漿 PLP 濃度, 血漿葉酸濃度の分析に関するデータ数の内訳
括弧内は左から妊娠初期, 妊娠中期, 妊娠末期, 産後1か月の対象者数を示す.

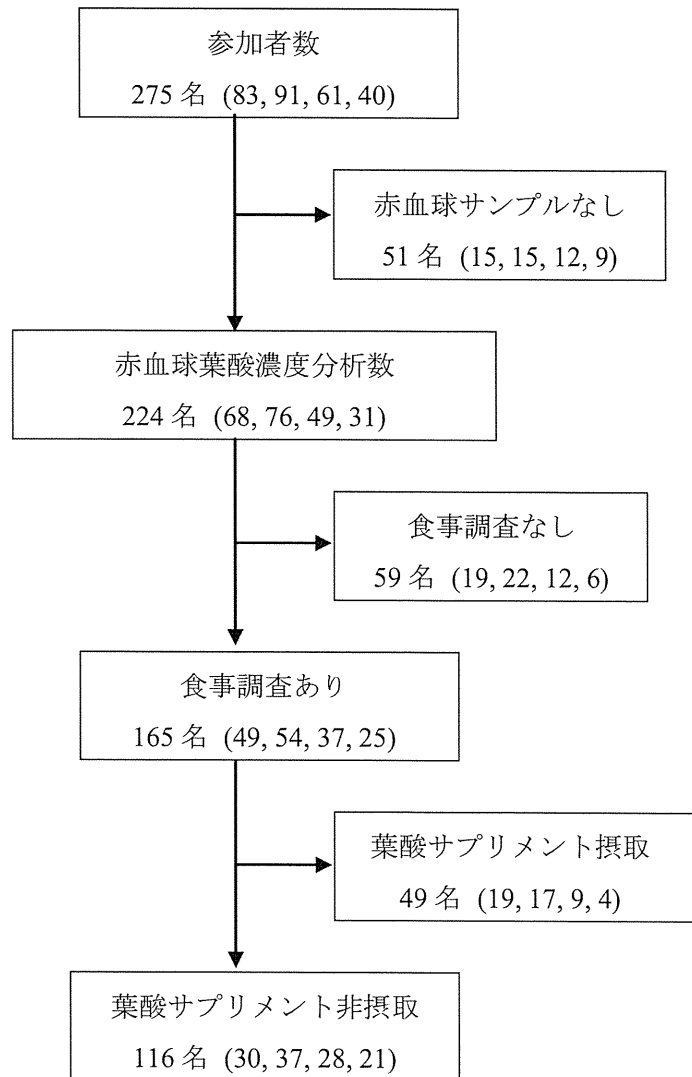


図2 血漿 PLP 濃度，血漿葉酸濃度の分析に関するデータ数の内訳
括弧内は左から妊娠初期，妊娠中期，妊娠末期，産後1か月の対象者数を示す。

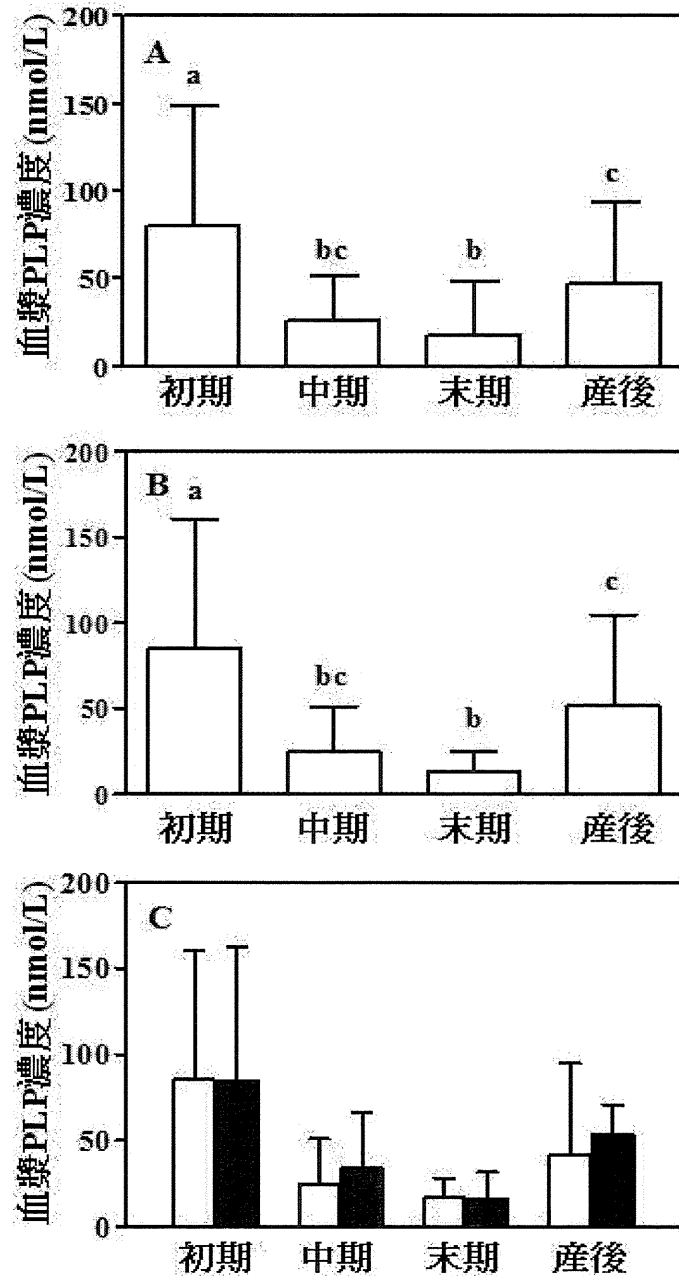


図3 日本人妊婦および産後1か月の日本人女性における血漿PLP濃度.

(A) 血漿サンプルを得たすべての対象者, (B) サプリメントを摂取していない対象者, (C) サプリメント非摂取者 (白) および摂取者 (黒) を示した. 対象者数は, 妊娠初期, 妊娠中期, 妊娠末期, 産後1か月の順に, 血漿サンプルを得たすべての対象者では 83, 91, 61, 40, サプリメントを摂取していない対象者では 39, 48, 37, 28, サプリメントを摂取した対象者では 24, 18, 11, 4 である. 数値は平均±標準偏差として示した. (A), (B)において, 一元配置分散分析および Tukey 法による多重比較検定の結果, 異なるアルファベット間で有意差がある ($p < 0.05$). (C) において, 同時期のサプリメント摂取の有無による比較を二元配置分散分析により行ったが, いずれに時期においても有意差は認められなかった.

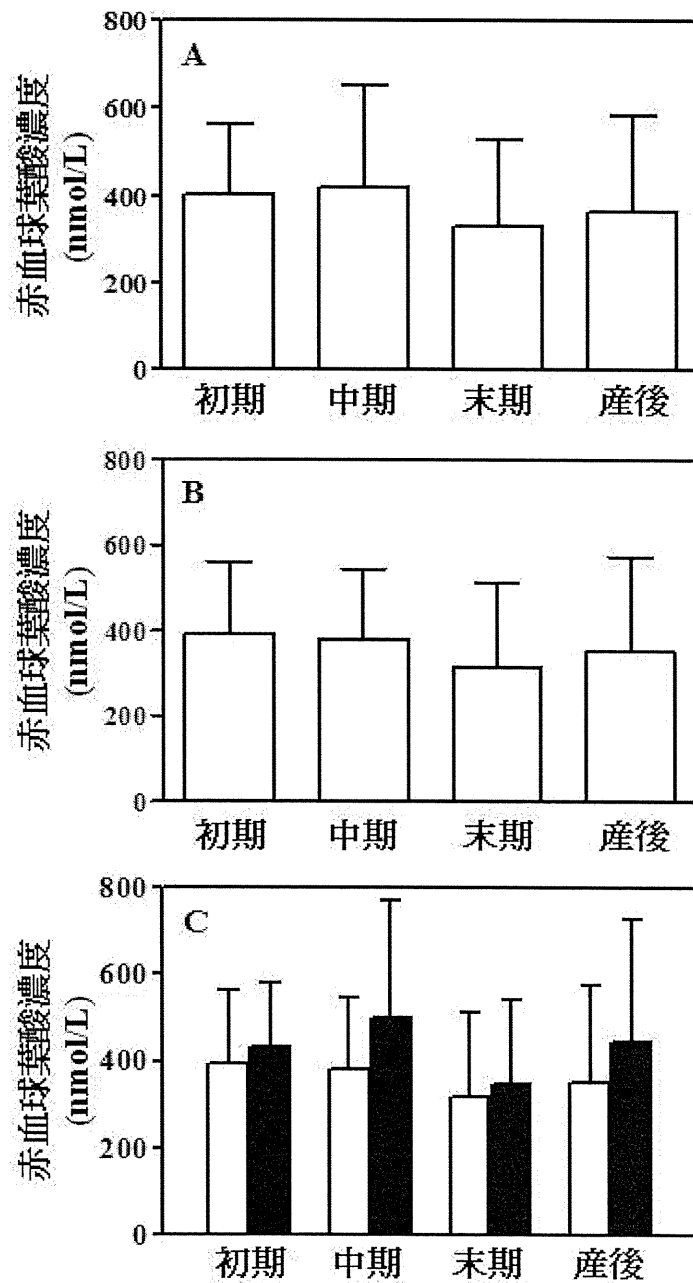


図4 日本人妊婦および産後1か月の日本人女性における赤血球葉酸濃度.

(A) 血漿サンプルを得たすべての対象者, (B) サプリメントを摂取していない対象者, (C) サプリメント非摂取者 (白) および摂取者 (黒) を示した. 対象者数は, 妊娠初期, 妊娠中期, 妊娠末期, 産後1か月の順に, 赤血球サンプルを得たすべての対象者では 68, 76, 49, 31, サプリメントを摂取していない対象者では 30, 37, 28, 21, サプリメントを摂取した対象者では 19, 17, 9, 4 である. 数値は平均±標準偏差として示した. (A), (B)において, 一元配置分散分析を行ったが, 各時期間に有意差は認められなかった. (C) において, 同時期のサプリメント摂取の有無による比較を二元配置分散分析により行ったが, いずれに時期においても有意差は認められなかった.

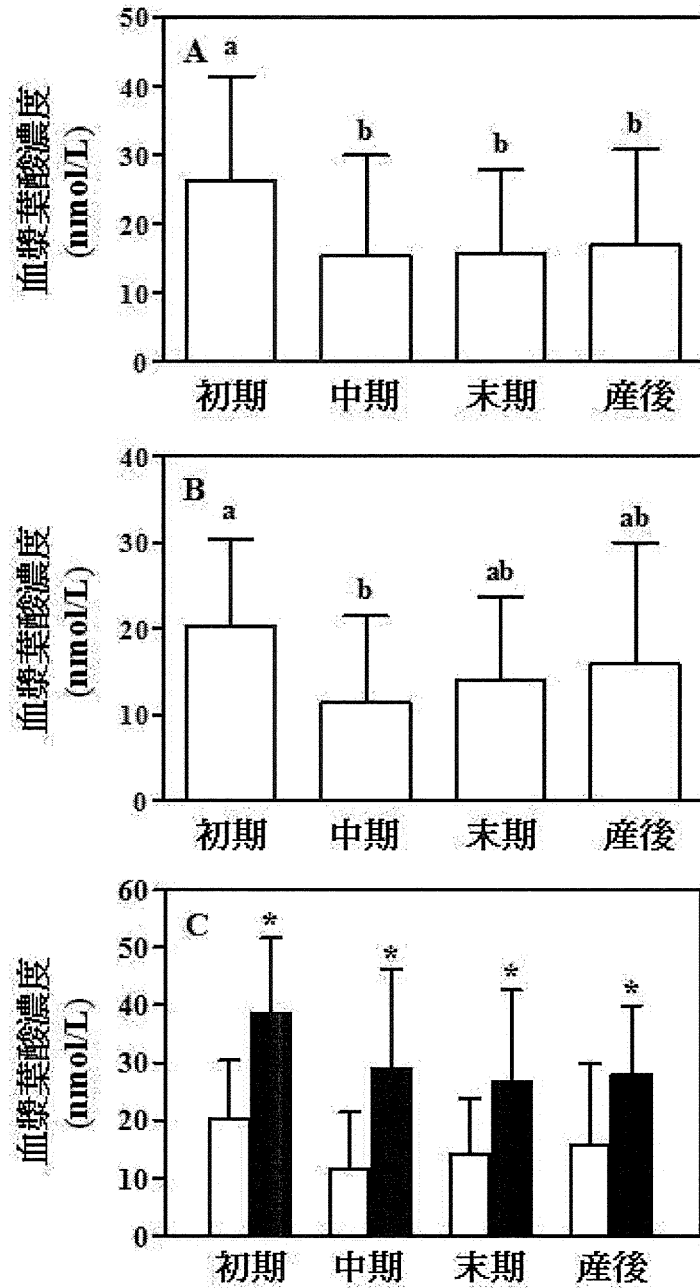


図5 日本人妊婦および産後1か月の日本人女性における血漿葉酸濃度.

(A) 血漿サンプルを得たすべての対象者, (B) サプリメントを摂取していない対象者, (C) サプリメント非摂取者 (白) および摂取者 (黒) を示した. 対象者数は, 妊娠初期, 妊娠中期, 妊娠末期, 産後1か月の順に, 血漿サンプルを得たすべての対象者では83, 91, 61, 40, サプリメントを摂取していない対象者では39, 48, 37, 28, サプリメントを摂取した対象者では24, 18, 11, 4である. 数値は平均±標準偏差として示した. (A), (B)において, 一元配置分散分析および Tukey 法による多重比較検定の結果, 異なるアルファベット間で有意差がある ($p < 0.05$). (C) において, *は二元配置分散分析および Bonferroni 法による多重比較検定の結果, 同時期のサプリメント非摂取者との間に有無に有意差があることを示す ($p < 0.05$).

II. 研究分担者の報告書

5. 乳児のトリプトファン-ニコチンアミド転換率に関する課題

研究分担者 柴田 克己 滋賀県立大学人間文化学部

研究要旨

日本人の食事摂取基準 2010 年版では、0～5 ヶ月児においてはトリプトファンからニコチンアミドへの合成は無いとしてナイアシンの必要量が策定されている。これはラットにおいて生後週齢が進むに従ってナイアシンの代謝産物の尿中排泄量が増加し、同様に肝臓中の Tryptophan 2,3-dioxygenase, Quinolinate phosphoribosyltransferase, Kynureninase といったトリプトファン-ナイアシン転換経路に関わる酵素の活性も増加することが報告されていることに基づいている。しかしナイアシンの代謝産物の尿中排泄量には生物種による差異が報告されていることから、ヒトにおける乳児の成長を追ったトリプトファン-ナイアシン代謝産物排泄量を明らかにする必要がある。そこで 0 ヶ月～1 歳前後までの乳児の尿を集めトリプトファン代謝産物の尿中排泄量を測定することで、トリプトファンからニコチンアミドへの転換経路が 0～5 ヶ月児においても存在するかどうかを調査した。

本年度は 3 ヶ月～1 歳 4 ヶ月までの乳児の随時尿を 11 名分集め、トリプトファンとトリプトファン-ナイアシン転換経路の途中に位置する代謝産物の測定を行った。その結果、3 ヶ月齢の乳児においてもトリプトファン-ナイアシン転換経路の中間代謝産物が検出され、0～5 ヶ月児においてもトリプトファンからナイアシンが合成されていることが示唆された。しかし今回集めた 11 名の対象者の中で、5 ヶ月齢以下の子供は 2 名だけであり、また随時尿であるため、0～5 ヶ月の年齢層を中心にサンプルを集めて分析する必要がある。

A. 目的

日本人の食事摂取基準 2010 年版において、0～5 ヶ月児のライフステージではトリプトファンから作られるニコチンアミドは無いものとしてナイアシンの必要量が策定されている。これは、ラットにおいて生後週齢が進むに従ってナイアシンの代謝産物の尿中排泄量が増加すること¹⁾、肝臓中の Tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO)^{2,3)}、Quinolinate phosphoribosyltransferase^{3,4)}、Kynureninase^{3,5)}といったトリプトファン-ナイアシン転換経路に関わる酵素の活性も週齢の増加に従って増加すること、更に TDO 活性が出産直後でほとんど検出されないことに基づいている。しかしナイアシンの代謝産物の尿中排泄量には生物種による差異が報告されていることから^{5,6)}、ヒトにおける乳児の成長を追ったトリプトファン-ナイアシン代謝産物排泄量を明らかにする必要がある。そこで 0 ヶ月～1 歳前後までの乳児の尿を集め、トリプトファン代謝産物の尿中排泄量を測定することで、トリプトファンからニコチンアミドへの転換経路が 0～5 ヶ月児においても存在するかどうかを調査した。

B. 方法

1. 対象者及びサンプルの採取

S 県 S 病院来院および入院中の乳児 (0～17 ヶ月齢) のうち、保護者の同意の得られた子供を対象者とし、随時尿を採尿した。採取した尿は分析までの間、-20℃で冷凍保存した。対象者の月齢、離乳食の有無、疾患の有無はカルテデータから抽出した。

なお、本研究は滋賀県立大学倫理審査委員会において承認を得ており、対象者の両親に

は調査の目的、検査内容、個人情報の保護などについて十分な説明を行い、インフォームド・コンセントを得ている。

2. 分析

乳児尿のトリプトファン-ナイアシン転換経路に関係する代謝産物とトリプトファンの含量を HPLC 法により測定した。測定物質はトリプトファン (Trp)⁷⁾、アンスラニル酸 (AnA)⁸⁾、キヌレン酸 (KA)⁹⁾、キヌレニン (Kyn)¹⁰⁾、3-ヒドロキシキヌレニン (3-HK)¹¹⁾、キサントレン酸 (XA)¹²⁾、3-ヒドロキシアンスラニル酸 (3-HA)¹²⁾、キノリン酸 (QA)¹³⁾、ニコチンアミド (Nam)¹⁴⁾、*N*¹-メチルニコチンアミド (MNA)¹⁵⁾、*N*¹-メチル-4-ピリドン-3-カルボキシアミド (4-Py)¹⁴⁾、*N*¹-メチル-2-ピリドン-5-カルボキシアミド (2-Py)¹⁴⁾ の 12 種類である。

C. 結果

1. 対象者の特徴

対象者の特徴を表 1 に示す。現段階での対象者の年齢層は 0～5 ヶ月 2 名、6～11 ヶ月 6 名、12～17 ヶ月 3 名であった。0～5 ヶ月児は全て離乳食なし、6～11 ヶ月児は離乳食なし 1 名、あり 5 名、12～17 ヶ月児は離乳食なし 1 名、経管栄養 2 名であった。男女比は 0～5、6～11 ヶ月の年齢区分では半々であったが、12 ヶ月～17 ヶ月では男児のみであった。本対象者は小児科の来院者と入院患者であるため、重症心身障害児 3 名を含む (0～5 ヶ月 1 名、12～17 ヶ月 2 名)。

2. 分析結果

トリプトファン-ニコチンアミド転換経路の鍵物質であるキノリン酸 (QA) は 0～5 ヶ月児で 36.0 ± 37.7 nmol/ml の濃度で検出された (表 2)。また、QA より上流に位置する

代謝産物も検出された。サンプル数が少ないため有意差検定は行っていないが、トリプトファン-ナイアシン転換経路の特に上流に位置する代謝産物の尿中排泄量が、月齢の進行に従って一律に上昇することは無かった。

参考として、トリプトファン-ニコチンアミド経路を図1に示した。なお、この経路上の酵素活性がすべて検出されるのは肝臓のみである。

D. 考察

これまで0~5カ月の乳児においては、トリプトファンからのナイアシンの合成は無いと考えられてきた¹⁾。しかし本研究ではトリプトファン-ニコチンアミド転換経路の鍵物質であるキノリン酸を含む他の中間代謝産物が3カ月児において尿中に検出されたことから、5カ月未満の乳児においてもトリプトファンからナイアシンが合成される可能性が示唆された。

E. 結論

これまで0~5カ月の乳児においては、トリプトファンからのナイアシンの合成は無いと考えられてきたが、本研究によって5カ月未満の乳児においてもトリプトファンからナイアシンが合成される可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 発表論文
なし
2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用案登録
なし
3. その他
なし

I. 引用文献

1. Shibata K. Effects of ethanol feeding and growth on the tryptophan-niacin metabolism in rats. *Agric Biol Chem* (1990) **54**, 2953-2959.
2. Greengard O, Dewey HK. The prematurely evoked synthesis of liver tryptophan oxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA* (1971) **68**, 1698-1701.
3. 和田英子, 福渡努, 木村尚子, 北村潤子, 佐々木隆造, 柴田克己. トリプトファン-ナイアシン代謝に関与する酵素活性から推定したラット乳児のトリプトファン-ナイアシン転換率. *ビタミン* (2005) **79**, 391-393.
4. Nishizuka Y. Metabolic regulation and its abnormalities in cancer cells, *Tanpakushitsu Kakusan Koso* (in Japanese) (1970) **15**, 370-388.
5. Kawai J, Okuno E, Kido R. Organ distribution of rat kynureninase and changes of its activity during development. *Enzyme* (1988) **39**, 181-189.
6. 柴田克己, 田口寛, 榊原義之. 種々の哺

- 乳動物の尿中ナイアシン及びその代謝産物の比較, *ビタミン* (1989) **63**, 369-372.
7. Shibata K, Onodera M, Aihara S. High-performance liquid chromatographic measurement of tryptophan in blood, tissues, urine, and foodstuffs with electrochemical and fluorometric detections. *Agric Biol Chem* (1991) **55**, 1475-1481.
 8. Shibata K, Onodera M. Measurement of 3-hydroxyanthranilic acid and anthranilic acid in urine by high-performance liquid chromatography. *Agric Biol Chem* (1991) **55**: 143-148.
 9. Shibata K. Fluorimetric micro-determination of kynurenic acid, an endogenous blocker of neurotoxicity, by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* (1988) **430**, 376-380.
 10. Fukuwatari T, Ohta M, Sugimoto E, Sasaki R, Shibata K. Effects of dietary di(2-ethylhexyl)phthalate, a putative endocrine disrupter, on enzyme activities involved in the metabolism of tryptophan to niacin in rats. *Biochim Biophys Acta* (2004) **1672**, 67-75.
 11. Shibata K, Onodera M. High-performance liquid chromatographic determination of 3-hydroxykynurenine with fluorimetric detection; comparison of preovulatory phase and postovulatory phase urinary excretion. *J Chromatogr* (1991) **570**, 13-18.
 12. Shibata K, Onodera M. Simultaneous High-performance Liquid Chromatographic Measurement of Xanthurenic Acid and 3-Hydroxyanthranilic Acid in Urine. *Biosci Biotechnol Biochem* (1992) **56**, 974.
 13. Mawatari K, Oshida K, Iinuma F, Watanabe W. Determination of quinolinic acid by liquid chromatography with fluorimetric detection. (1995) **302**, 179-183.
 14. Shibata K, Kawada T, Iwai K. Simultaneous micro-determination of nicotinamide and its major metabolites, *N*¹-methyl-2-pyridone-5-carboxamide and *N*¹-methyl-4-pyridone-3-carboxamide, by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* (1988) **424**, 23-28.
 15. Shibata K. Ultramicro-determination of *N*¹-Methylnicotinamide in Urine by High-performance Liquid Chromatography [in Japanese]. *Vitamins* (1987) **61**, 599-604.

表 1. 対象者情報

月齢	人数	性別	食事
0～5	2	男 1 : 女 1	離乳食なし : 2 離乳食有 : 0
6～11	6	男 3 : 女 3	離乳食なし : 1 離乳食有 : 5
12～17	3	男 3 : 女 0	離乳食なし : 3*

*2名は「ケトンフォーミュラ」を経管栄養により摂取

表 2. トリプトファン-ニコチンアミド転換経路に関わる代謝産物の尿中含量

	0～5 カ月	6～11 カ月	12～17 カ月
トリプトファン	40.3±47.5	35.4±25.5	26.5±23.8
アンスラニル酸	0.61±0.52	0.59±0.26	1.50±1.76
キヌレン酸	0.064±0.058	0.044±0.029	0.036±0.022
キヌレニン	4.71±5.20	2.57±2.07	2.66±2.38
3-ヒドロキシキヌレニン	0.11±0.10	0.066±0.05	0.018±0.030
キノリン酸	36.0±37.7	31.2±24.9	15.0±11.6
キサントレン酸	1.17±0.97	0.36±0.73	0.10±0.13
3-ヒドロキシアンスラニル酸	2.40±2.79	2.69±2.06	0.67±0.95
ニコチンアミド	0.00±0.00	0.00±0.00	0.37±0.64
<i>N</i> ¹ -メチルニコチンアミド	43.5±12.3	51.2±29.6	37.3±29.9
<i>N</i> ¹ -メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド	34.6±44.8	47.8±24.8	49.9±30.4
<i>N</i> ¹ -メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド	4.40±6.00	6.23±3.78	6.24±3.94
SUM* ¹	82.5±63.1	105.1±57.1	93.8±64.5

値は nmol/mL 尿で表し，平均値 ± 標準偏差で示した。

*¹SUM はニコチンアミド，*N*¹-メチルニコチンアミド，*N*¹-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミドおよび *N*¹-メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミドの合計値。

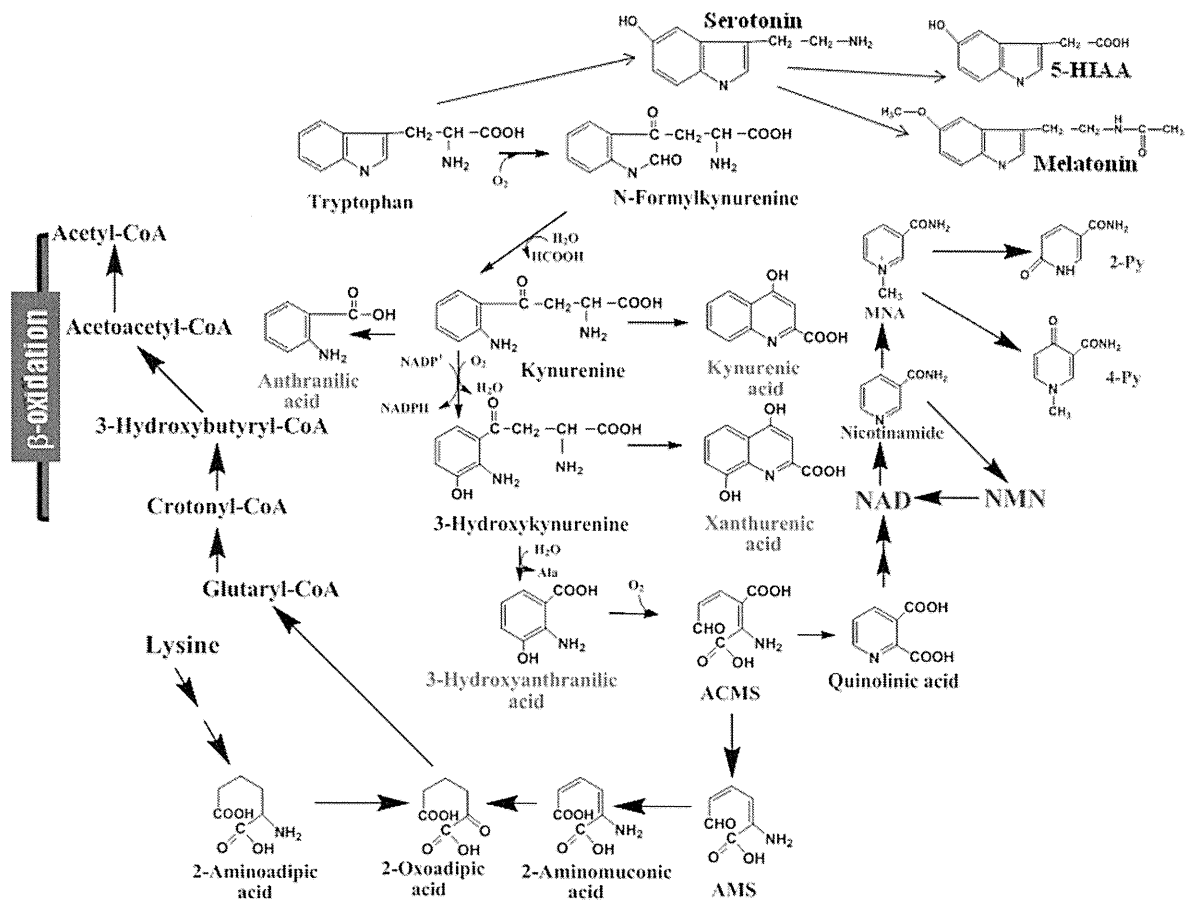


図1. トリプトファン-ニコチンアミド経路を中心としたトリプトファン代謝経路

5-HIAA=5-ヒドロキシインドール-3-酢酸, ACMS= α -アミノ- β -カルボキシムコン酸- ϵ -セミアルデヒド, AMS= α -アミノムコン酸- ϵ -セミアルデヒド, MNA= N^1 -メチルニコチンアミド, 2-Py= N^1 -メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド, 4-Py= N^1 -メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド, NMN=ニコチンアミドモノヌクレオチド.

II. 研究分担者の報告書

6. 妊娠期の鉄必要量を再考するための鉄栄養状態の検討

研究分担者 上西 一弘 女子栄養大学栄養生理学研究室

研究要旨

現在使用されている日本人の食事摂取基準 2010 年版では、妊娠期の鉄付加量は初期 2.5 mg、中期・末期 15.0 mg とされており、中期・末期の付加量を摂取することは難しい。本研究では妊婦の鉄摂取量の実態と、妊娠期間中の鉄栄養状態を縦断的に検討した。その結果、妊婦の鉄摂取量は全期間を通して約 7 mg であり、付加量を含む推奨量よりも少ない値であった。ヘモグロビンや赤血球数、フェリチンは初期から中期、末期にかけて低下するものの、MCV や MCH は低下せず、循環血液量が増加することによる血液の希釈の影響が大きいと考えられた。

A. 目的

現在使用されている日本人の食事摂取基準 2010 年版では、妊娠期の鉄付加量は初期 2.5 mg、中期・末期 15.0 mg とされており、中期・末期には 21.0 mg（18～29 歳）、21.5 mg（30～49 歳）の鉄摂取が必要となる。この値は、日本人の食生活から考えて実現することが難しい値である。

本研究では妊婦の鉄の必要量を再考するために、妊婦の鉄摂取量の実態と、妊娠期間中の鉄栄養状態を縦断的に検討した。

B. 方法

横浜市の産科に通院する妊婦 160 名を対象に妊娠初期（登録時、妊娠 5～12 週）、中期（妊娠 24 週）、末期（妊娠 34 週）出産時（出産後 2～3 日）産後 1 ヶ月に、身長、体重、踵

骨骨量、血液検査、食物摂取頻度調査（出産時を除く）を実施した。妊娠初期、中期、末期は秤量又は目安量記録法および写真記録法による食事調査を行った。

C. 結果

登録時の平均年齢は 31.7 ± 3.7 歳、身長は 158.9 ± 4.6 cm、体重は 51.5 ± 6.4 であった。BMI が 18.5 未満の者が 23.3%、25 以上の者が 4.9%存在した。

鉄摂取量は妊娠初期 6.6 mg [5.4～9.5 mg]（中央値 [25～75 パーセンタイル]）、中期 6.8 mg [5.9～9.4 mg]、末期 6.7 mg [5.7～8.5 mg]、産後 1 ヶ月 7.0 mg [6.0～8.7 mg] であった。

表 1 に調査期間中の血液検査データと鉄剤の処方率を示した。