

図2 健康成人男性がたんぱく質 0.2 g/kg BW/day、1.2 g/kg BW/day 摂取時の血漿中 ^{12}C Phe、 ^{13}C Phe、 ^{12}C Tyr、 ^{13}C Tyr 濃度
結果は mean \pm SE で示した。全てのデータにおいて 0.2 g/kg BW/day および 1.2 g/kg BW/day との間に Student's t-test において有意な差を認めなかった。

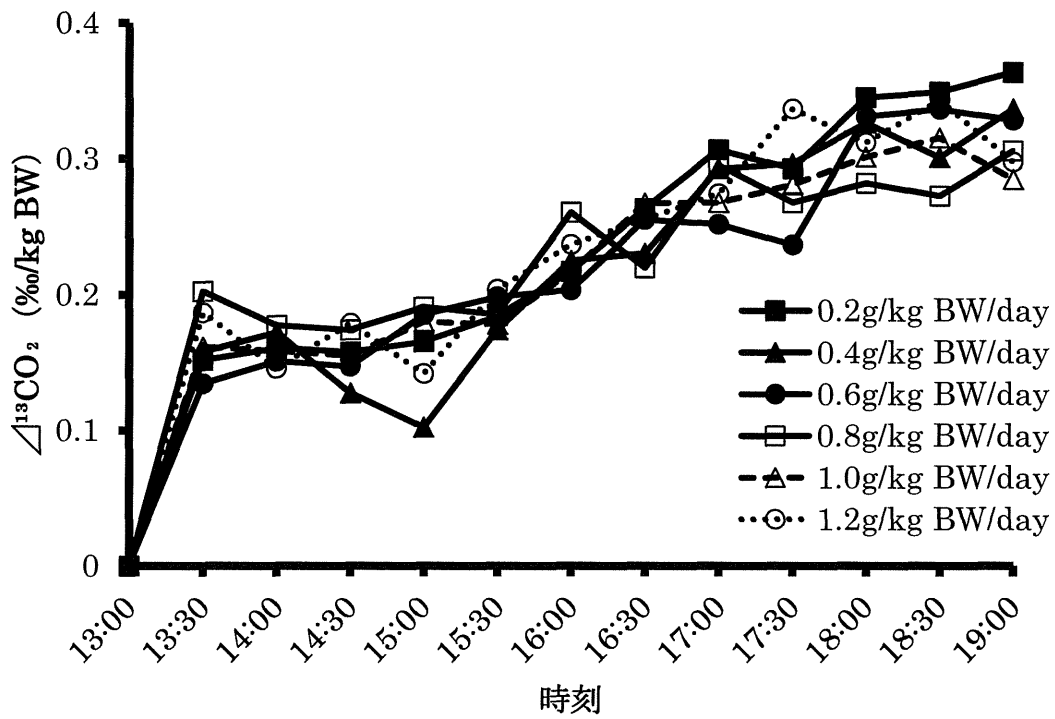


図3 日本人健康成人女性のIAAO法による呼気中¹³CO₂量の経時的変化
結果は平均値で示した。

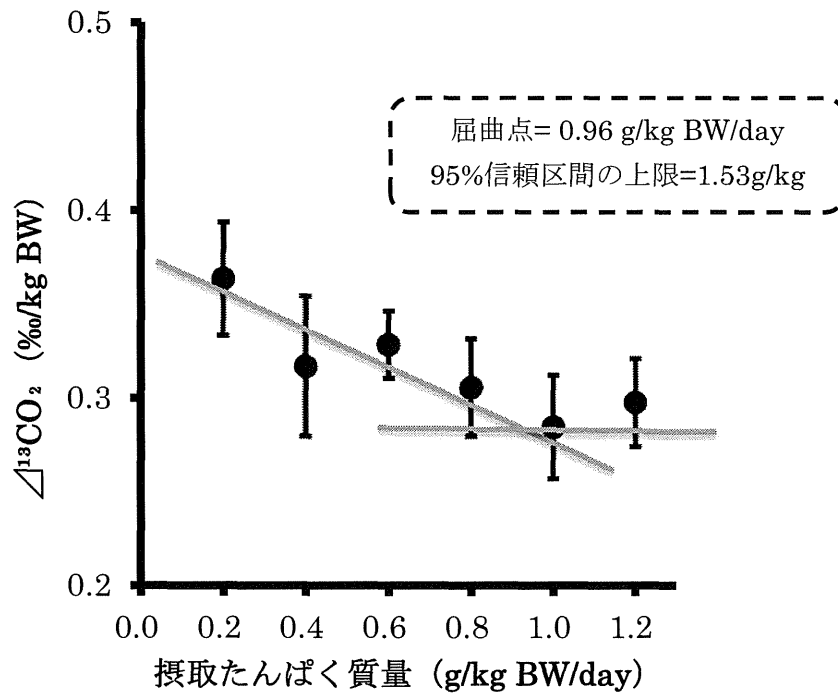


図4 日本人健康成人女性の摂取たんぱく質と呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 量
 結果は平均±標準誤差で示した。値は19時の $\Delta^{13}\text{CO}_2$ (‰/kg BW) を用い、屈曲点の算出にはME-CPRMを用いた。

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）
（総合）研究報告書

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

研究代表者 徳留 信寛 国立健康・栄養研究所 理事長

II. 研究分担者の報告書

3. 妊娠期のカルシウム、鉄摂取基準の妥当性の検討

研究分担者 上西 一弘 女子栄養大学

研究要旨

妊婦におけるカルシウムおよび鉄では、現在の妊娠・授乳期の付加量（EAR）の数値が適切であるかについて検討するため、妊娠期・授乳期にわたる縦断的検討を行うために、カルシウムについては160名、鉄については150名のデータの収集・解析をした。

その結果、踵骨骨量（スティフネス値）は妊娠期に低下、分娩時に最も低くなるが、出産後は上昇し、出産後3～6か月で回復していた。しかし、出産後1年後には再び低値傾向となっていた。

鉄の栄養状態として、ヘモグロビン、フェリチンは妊娠とともに低下するが、ヘモグロビンは出産後1か月で回復、フェリチンも回復傾向にあった。赤血球指数には妊娠・授乳期に大きな変動はみられなかった。

したがって、これらの栄養素について、現在の妊婦付加量を大幅に増加させる必要性は少ないと考えられるが、妊婦の摂取量および児の身体状況も含めた総合的な評価に基づいた対応が必要であると考えられた。

カルシウム吸収率に関して、閉経後女性を対象にダブルアイソトープ法により、真の吸収率を測定したところ、 $14.7 \pm 6.4\%$ であった。この値は現在用いられている値（25%）よりも低値であり、この値を用いて推定平均必要量を求めると現在よりも高い値となる。

A. 目的

妊娠期のカルシウム摂取基準の妥当性の検討

日本人の食事摂取基準では2005年版から妊婦・授乳婦では、カルシウムについては、目安量（2005年版）、推奨量（2010年版）を摂取していれば、付加量は必要なしとされている。これは妊娠期・授乳期には腸管からのカルシウム吸収率が上昇するということなど

が理由である。栄養所要量の時代には一貫して妊婦・授乳婦の付加量が示されていたことを考えると非常に大きな改定といえる。この付加量の削除が妥当かどうかを改めて検証しておく必要がある。そこで妊婦を対象に、妊娠および授乳中のカルシウム摂取量、踵骨骨量の変動を縦断的に観察した。

妊娠期の鉄摂取基準の妥当性の検討

妊娠期の食事摂取基準の大きな課題の一つが、鉄の必要量である。現在の食事摂取基準では妊娠中期・末期の鉄の付加量（RDA）は15 mgであり、この量は食事で摂取することは困難と考えられる。そこで、付加量の値の妥当性を検討するために、妊婦の鉄摂取の実態と鉄栄養状態を縦断的に観察した。

閉経後女性のカルシウム吸収率の検討

カルシウムの食事摂取基準は要因加算法によって策定されている。要因加算法では蓄積量と吸収率が非常に重要な指標となる。本年度は閉経後女性を対象にダブルアイソトープ法により真のカルシウム吸収率を測定した。

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、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。

踵骨骨量は超音波式骨量測定装置アキレスA-1000InSight（GEヘルスケア社）を用いて測定し、スティフネス値を骨量とした。本研究は横浜市立大学倫理委員会の承認を得て実施した。

閉経後女性のカルシウム吸収率の検討

閉経後女性を対象にダブルアイソトープ法により真のカルシウム吸収率を測定した。対象者は平均年齢67±5歳の閉経後女性9名。

閉経後年数の平均は17年である。

安定同位体である⁴⁴Caを経口投与、⁴²Caを静脈投与した。経口投与したカルシウムは炭酸カルシウムの形態で、300 mg中30 mgが⁴⁴Caである。静脈中には3 mgの⁴²Caを投与した。その後、24時間の採尿を行い、尿中の⁴⁴Ca、⁴²CaをICP-MSで測定し、腸管からのカルシウム吸収率を計算した。

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 kg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。

食物摂取頻度調査法による、カルシウム摂取量は妊娠初期409±128 mg（平均値±標準偏差）、中期465±128 mg、末期443±123 mg、出産後1ヶ月443±134 mgであった。

食物摂取頻度調査法による、鉄摂取量は妊娠初期6.6 mg [5.4～9.5 mg]（中央値 [25～75パーセントイル]）、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。

図1に妊娠初期、中期のカルシウム摂取量（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による結果）の分布を示した。

図2に出産後1年までのデータがそろった対象者（69名）の調査期間中の踵骨骨量（スティフネス値、SOS値、BUA値）の変動を示した。スティフネス値は初期から出産時にかけて低下したが、産後1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月と上昇していたが、1年目では再び低下傾向がみられた。

図3に妊娠初期、中期の鉄摂取量（秤量又は目安量記録法および写真記録法による食事

調査による結果)の分布を示した。

図4に調査期間中のヘモグロビン、フェリチン、MCV、MCHCの変動を示した。鉄栄養状態は、ヘモグロビン、フェリチンは妊娠とともに低下するが、ヘモグロビンは出産後1か月で回復、その後は6か月、1年と維持されていた。フェリチンも回復傾向にあったが、6か月、1年では妊娠初期よりも低値傾向にあった。なお、MCVやMCHCなどの赤血球指数は妊娠・授乳期を通して大きな変動はみられなかった。

閉経後女性のカルシウム吸収率の検討

ダブルアイソトープ法によるカルシウム吸収率は $14.7 \pm 6.4\%$ であった。

D. 考察

妊娠期のカルシウム付加量に関しては、今回の対象者のカルシウム摂取水準は低いが、スティフネス値の変動から考えると、現在の考え方(付加量なし)が妥当といえる。しかし、授乳期については再検討が必要と考えられる。

なお、スティフネス値はBUA値(超音波減衰係数)とSOS値(超音波透過速度)から算出される値である。また、BUA値は骨質を、SOS値は骨密度を推定する値と考えられている。出産後1年でスティフネス値が低下傾向にあった理由には、SOS値の低下の影響が大きく、骨密度が減少している可能性も考えられる。

鉄栄養状態は、妊娠期間中にはヘモグロビンが低下するが、赤血球指数は変動しておらず、血液の希釈による水血症の可能性が示唆された。しかし、フェリチンは低下しており、

授乳中にも十分に初期値まで回復していないことを考えると、今回の対象者の鉄摂取量は十分とは言えない可能性も考えられる。

閉経後女性のカルシウム吸収率の検討

ダブルアイソトープ法によるカルシウム吸収率は $14.7 \pm 6.4\%$ であった。この値は現在用いられている値(25%)よりも低値であり、この値を用いて推定平均必要量を求めると現在よりも高い値となる。

仮に現在用いられている日本人の食事摂取基準2010年版の要因加算法の数値、70歳以上のカルシウム蓄積量を0mg、尿中排泄量111mg、経皮損失量19mgを用いて、みかけの吸収率を現在の25%と今回の15%の2つを用いて推定平均必要量をそれぞれ計算すると、現状では $(111+19) \div 0.25 = 520$ mg、今回の吸収率では、 $(111+19) \div 0.15 = 867$ mgとなる。20%の安全率を見込んで推定平均必要量を算出すると、それぞれ、624 mg、1040 mgとなり、その差は約400 mgとなる。

カルシウムの吸収率については、摂取量や生体側の要求度、内分泌状態、同時に摂取するその他の栄養素などにより影響を受ける。したがって、今回の値をそのまま利用する必要はないが、今回の対象者以外の年齢区分、男性についてもさらに検討していく必要があると思われる。

要因加算法では蓄積量も大きな要因となるが、日本人を対象としたカルシウム蓄積量に関するデータは少なく、特に蓄積の著しい成長期のデータを中心に収集が必要と思われる。

E. 結論

妊娠期のカルシウム摂取基準は現状で妥当と判断される。授乳期についてはさらに検討が必要といえる。

妊娠・授乳期の鉄の摂取基準については、何を指標にするかで結論が変わる可能性があり、指標の検討が必要である。今回の対象者において、現状の摂取水準、赤血球指数、母子の健康状態をみる限りは、現在の付加量は高めに設定されている可能性がある。

閉経後女性のカルシウム吸収率の検討

ダブルアイソトープ法により、真の吸収率を測定したところ、 $14.7 \pm 6.4\%$ であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Uenishi K, Fujita T, Ishida H, et al.
Fractional absorption of active absorbable algal calcium (AAACa) and calcium carbonate measured by a dual stable-isotope method. *Nutrients* (2010) **2**, 752-764.
- 2) 善方裕美、渡辺優奈、上西一弘、他. 妊娠初期の骨密度とライフスタイル、栄養摂取状態についての検討—SKY Study (Saitama, Kobe, Yokohama Pregnant Cohort Study) 第1報—. *Osteoporosis Japan* (2012) **20**, 514-516.

2. 学会発表

- 1) 上西一弘他. ダブルアイソトープ法による閉経後女性のカルシウム吸収率の検討. 第12回日本骨粗鬆症学会. 大阪. 2011.10.23.
- 2) 渡辺優奈、上西一弘、石田裕美、善方裕美. 妊娠初期の鉄摂取量と鉄栄養状態の実態 第58回日本栄養改善学会学術総会. 広島. 2011.9.9.
- 3) 渡辺優奈、上西一弘、石田裕美他. 妊娠期及び産後までの鉄栄養状態の縦断的検討. 第59回日本栄養改善学会学術総会. 名古屋. 2012.9.13.
- 4) 善方裕美、渡辺優奈、上西一弘他. 妊娠期の骨密度と栄養摂取状態についての検討 ~SKY study (Saitama, Kobe, Yokohama pregnant cohort study) より~ . 第85回日本内分泌学会学術総会. 名古屋. 2012.4.19.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

図1 妊娠初期、中期のカルシウム摂取量の分布（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による）

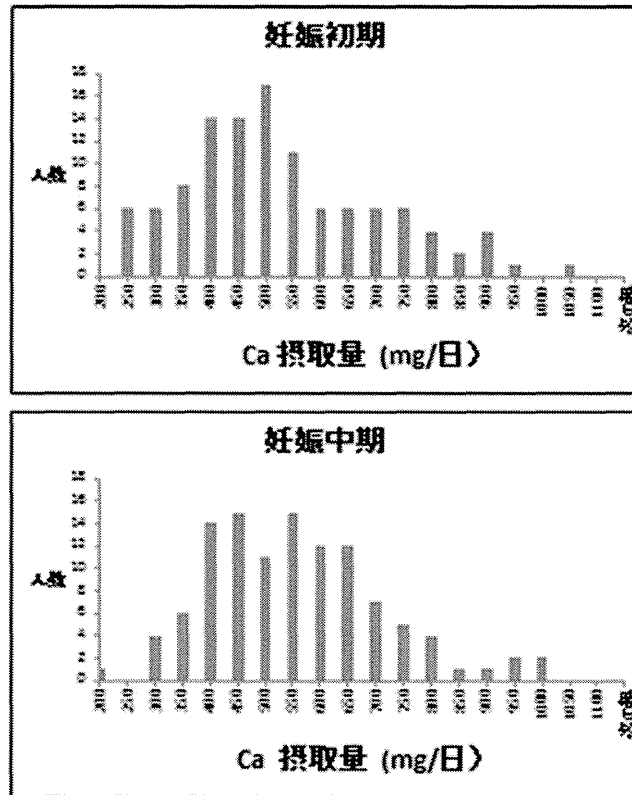


図2 妊娠・授乳期の骨量変化

妊娠・授乳期の骨量変化

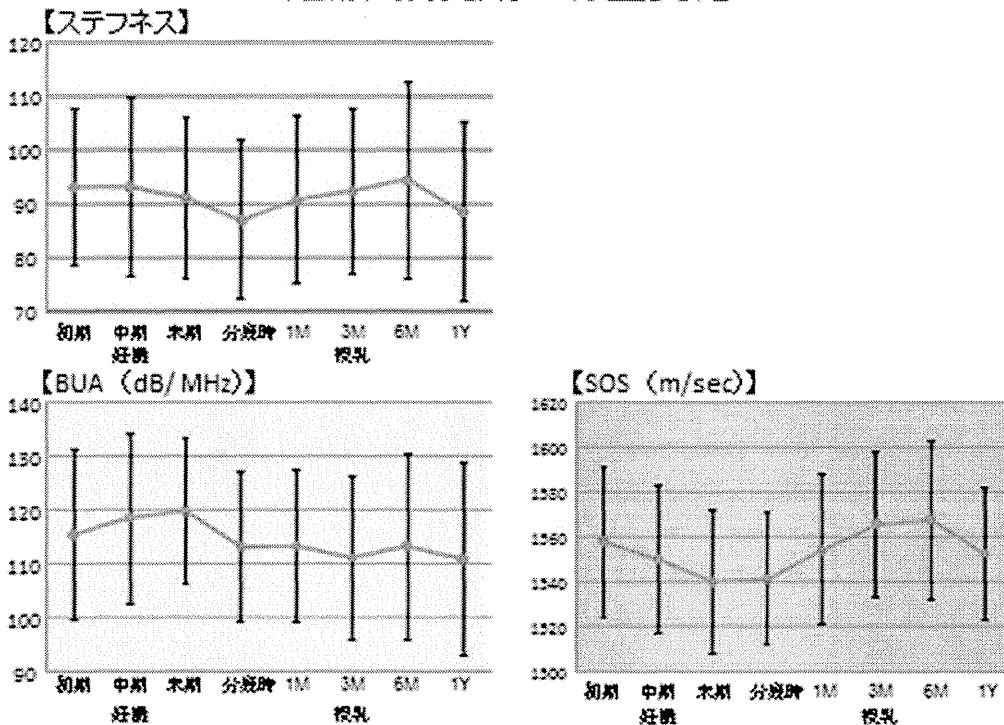


図3 妊娠初期、中期の鉄摂取量の分布（秤量又は目安量記録法および写真記録法による食事調査による）

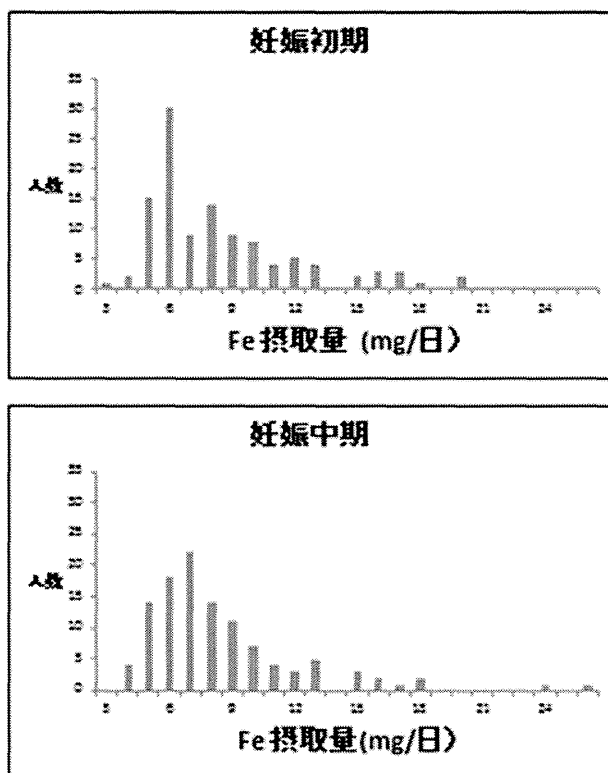
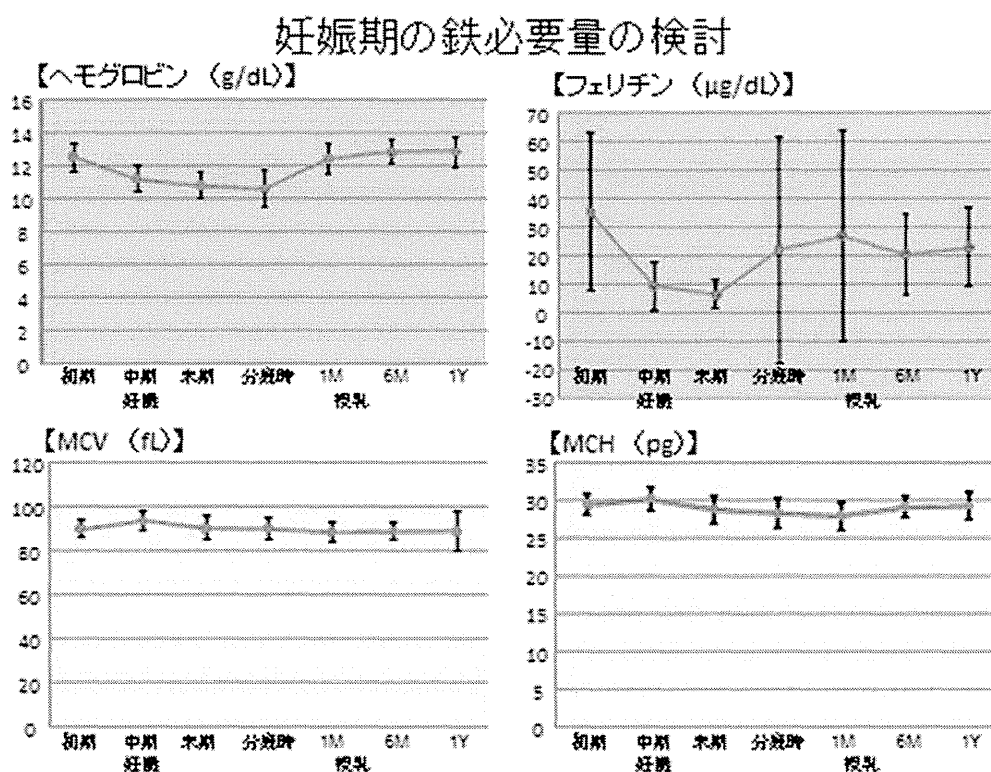


図4 妊娠・授乳期の鉄関連指標の変化



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）
（総合）研究報告書

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

研究代表者 徳留 信寛 国立健康・栄養研究所 理事長

II. 研究分担者の報告書

4. 妊婦のビタミン B₆ 必要量

研究分担者 柴田 克己 滋賀県立大学人間文化学部生活栄養学科

研究要旨

妊婦のビタミン B₆ 付加量は、推定平均必要量で 0.7 mg/日、推奨量で 0.8 mg/日と策定されている。日本人非妊婦女性のビタミン B₆ の推定平均必要量 1.0 mg/日、推奨量は 1.1 mg/日である。したがって、妊婦の推定平均必要量は 1.7 mg/日、推奨量は 1.9 mg/日となる。日本人女性の 1,000 kcal 当たりのビタミン B₆ 摂取量は 0.5 mg である。つまり、ビタミン B₆ 摂取量を 0.7 mg 増大させるのは、1,400kcal もの食事を摂らなければならないことを意味する。妊婦のビタミン B₆ の付加量が、なぜ実行が困難なこのような大きな値になっているのかを調べた。

A. 妊婦は妊娠中期、末期はビタミン B₆ 不足状態？

ビタミン B₆ 栄養に関することで、最も議論されていることは「妊娠の進行に伴って低下する血漿ピリドキサルリン酸 (PLP) 濃度を低下させないようにするには、妊婦に対してどの程度のビタミン B₆ を付加すべきか」という課題である。

A-1. 血漿中のピリドキサルリン酸(PLP)濃度を用いるビタミン B₆ 栄養状態の評価

背景

血漿中の主要なビタミン B₆ の化学形態は PLP である¹⁾。PLP は血漿中ではアルブミンと結合した状態で存在しており、その由来は肝臓である²⁾。ヒトにおいて、血漿 PLP 濃度は体内組織のビタミン B₆ 貯蔵量をよく反映する³⁾。また、血漿 PLP 濃度とビタミン B₆ 摂取量には高い相関関係が認められている⁴⁾。ラット実験によれば、PLP-アルブミン複合体は、組織中(肝臓と筋肉)のビタミン B₆ 貯蔵量が飽和されると血中に放出されるため⁵⁾、ビタミン B₆ 栄養状態のバイオマーカーとして最も信頼される指標であるとされている。カットオフ値として、Leklem⁶⁾が1990年に提唱した血漿 PLP 濃度、30 nmol/L という値が、多くの研究者に受け入れられている¹⁾。一方、血漿中の PLP 濃度が 20 nmol/L 以上であれば、脳波パターンに異常は現れなかったが、12 nmol/L 程度以下になると異常を示す被検者が現れた始めたことが報告されている⁷⁾。米国・カナダの食事摂取基準⁸⁾では、健常者の血漿 PLP 濃度の測定結果から、20 nmol/L をカットオフ値としてビタミン B₆

の推定平均必要量を算定している。

妊婦の血漿 PLP 濃度

血漿 PLP 濃度が、ヒトにおいてもマウスやラットにおいても、妊娠中期および末期において、妊娠前および妊娠初期に比べて、低下することは明らかな事実である⁹⁻²²⁾。これらの報告の中には、日本人妊婦を対象とした論文が一つある。里和らが1989年に報告した論文¹⁴⁾によれば、妊娠初期の血漿中の PLP 濃度は 40 nmol/L、中期は 23 nmol/L、末期は 16 nmol/L であった。我々が2011年～2012年に採血し測定した結果²²⁾では、妊娠初期の血漿中の PLP 濃度は 57 nmol/L、中期は 23 nmol/L、末期は 18 nmol/L であった。また、産後1ヶ月後の血漿 PLP 濃度は 44 nmol/L であった。つまり、日本人妊婦においても、妊娠中期と末期の血漿中 PLP 濃度は妊娠初期と比べて 1/2 程度にまで低下していた。

妊娠するとなぜ血漿中の PLP 濃度は低下するのか？

臍帯血の PLP 濃度は母親の血液中の PLP 濃度よりも顕著に高いという報告がある^{13,18,19)}。おそらく、PLP→ピリドキサル (PL) の反応を触媒する Alkaline phosphatase が胎盤から放出された結果、PLP→PL 反応が促進され、母親の血液中の PLP 濃度が低くなっているものと推察される¹⁷⁾。つまり、胎児のビタミン B₆ 要求量に応えるために、母親の血漿では PLP→PL 反応が促進され、生成した PL が胎児側に能動的に輸送されているものと推察される。その結果、臍帯血中の PLP 濃度が顕著に高い値となり、母親の血漿中 PLP 濃度が低下

するという機構が存在するものと考えられる。

では、母親の低下した血漿 PLP 濃度を維持するためにビタミン B₆ を摂取させた方が良いのか、あるいは自然な生理的現象であるので、付加することは不要であるか否かは悩ましい問題である。

どの程度のビタミン B₆ の付加すべきか

日本人妊婦を対象としたビタミン B₆ 付加実験はなされていないので、どの程度のビタミン B₆ の付加量で妊娠初期の値が維持できるか否かに関するデータはない。そこで、日本人の食事摂取基準—2010年版—²³⁾は、日本人以外の人のデータを使用して、日本人婦人が妊娠に伴って増大すると考えられるビタミン B₆ の付加量を試算して策定している。まず、参考にされた論文は、Cleary ら⁹⁾、Schuter ら¹³⁾、Lumeng ら¹⁸⁾ および Hamfelt と Tuvemo²¹⁾ の四つである。これらの論文には、妊婦の血漿中 PLP 濃度を、妊娠前の値と同じ量に維持するためには、妊娠初期には 2 mg/日の付加が、妊娠末期には 4~10 mg/日のビタミン B₆ の付加が必要であったと記載されている。日本人の食事摂取基準策定検討会では、しかしながら、これらの値をそのまま使用すると妊婦のビタミン B₆ 付加量が高すぎるため、別の方法、要因加算法で付加量を試算した。参考にした資料は米国・カナダの食事摂取基準⁸⁾である。試算した。妊婦のビタミン B₆ 含量は 1000 μmol = 169 mg 程度、胎児+子宮+胎盤はその内の 15%を占めるので、25 mg (169 × 0.15 = 25 mg) のビタミン B₆ が蓄積する。25 mg が妊娠期間の 280 日間に蓄積するので、1 日当たりでは 0.1 mg/日

(25 ÷ 280 = 0.09 mg) のビタミン B₆ の付加が必要である。この 0.1 mg に代謝亢進による付加と母親の体重増加量を考慮すると 0.25 mg となる。ビタミン B₆ はからだに貯蔵されないので、妊娠初期の余剰分が妊娠末期の必要量の増大に寄与することはない。そこで、妊娠末期の付加量を 0.5 mg/日とした。さらに、食事性ビタミン B₆ のピリドキシンに対する相対生体利用率の 73%^{24,25)} を考慮して、0.7 mg/日とされた。その結果、日本人妊婦のビタミン B₆ の推定平均必要量は 1.7 mg/日となった。ちなみに、非妊婦の推定平均必要量は 1.0 mg/日²³⁾。

妊婦に対する付加量の問題

日本人が食べる平均的な食事には 0.5 mg/1000 kcal のビタミン B₆ が含まれている^{26,27)}。したがって、非妊婦は 2000 kcal の食事をすれば、必要量のビタミン B₆ を摂取できる。ところが、1.7 mg となると、3400 kcal もの食事を摂取しなければいけない。これだけのエネルギーを摂れば、明らかに肥満となり、妊娠中の適正体重増加である 11 kg²³⁾ を完全に超えてしまう。妊婦はこの量を摂取することは非常に困難である。つまり、日本人妊婦は、日本人の食事摂取基準で策定された推定平均必要量のビタミン B₆ を、生物を給源とする食品からのみでは摂取できない。次世代型の成分栄養素食品（ビタミン B₆ を含むいわゆるサプリメントやビタミン剤など）の利用により可能となる推定平均必要量である。では、生物を給源とする食品からのみを摂取している妊婦はビタミン B₆ 欠乏状態になっているかということ、欠乏症である cheilosis（口角炎，口唇炎で、乾燥落屑と唇の裂溝を特徴とする状

態。ビタミン B₂ 欠乏によっても起こる), 舌炎あるいは神経障害²⁸⁾に関する報告は今の日本にはないことから, 日本人妊婦のビタミン B₆ 栄養状態は悪くはないと推察される。

B. ビタミン B₆, 避妊薬, 妊娠, トリプトファン代謝の関わり

参考にトリプトファン代謝の概略を図 1 に示した。

ビタミン B₆ 欠乏時のトリプトファン代謝

ビタミン B₆ 欠乏によりトリプトファンの代謝異常が起きていることをはじめて見いだしたのは, Lepkovsky ら²⁹⁾であり, 1943 年のことである。彼らは, ビタミン B₆ 欠乏ラットでは, キサンツレン酸の尿中排泄量が異常に高い値を示すことを報告した。Lepkovsky らは²⁹⁾, ラットをビタミン B₆ 欠乏状態にすると緑色の物質を尿中に排泄することから, キサンツレン酸を発見した。キサンツレン酸は鉄と反応すると緑色となることも見いだした。彼は, 後に「Had we been able to afford Monel metal or stainless cages, we would have missed xanthurenic acid」という言葉を残している。1949 年には, Greenberg らは³⁰⁾, ヒトにおいてもビタミン B₆ 欠乏になると尿中にキサンツレン酸の排泄量が増大することを報告した。このような背景から, 1952 年に, ビタミン B₆ の栄養状態を測定する方法として, トリプトファン付加による尿中キサンツレン酸排泄量の増大を指標とする方法が提唱された³¹⁾。

妊娠時のトリプトファン代謝

妊婦にトリプトファンを付加すると, ビタミン B₆ 欠乏時と同じようなトリプトファン代謝障害が報告されはじめた³²⁻³⁵⁾。つまり, 妊娠期には, ビタミン B₆ 不足状態になりやすいことが示唆された。

避妊薬とトリプトファン代謝

1966 年になると, Rose は^{36,37)} は, progestogen と estrogen を含む避妊薬を服用しているヒトに 2 g あるいは 5 g のトリプトファンを付加すると, キサンツレン酸の尿中排泄量が増大することならびにトリプトファン代謝の上流部分の代謝異常を報告した。1967 年には Price らが³⁸⁾, 1969 年には Toseland と Price が³⁹⁾, 1971 年には Luhby らが⁴⁰⁾, 同様な報告, すなわち, 避妊薬使用者にトリプトファンを付加するとトリプトファン代謝産物であるキサンツレン酸, 3-ヒドロキシキヌレニン, 3-ヒドロキシアンスラニル酸が, 非使用時と比べて異常に増大すること, そしてこの異常は大量のビタミン B₆ の投与 (数十 mg) により完全に正常な代謝量に戻ることを報告した。これらの報告の中で, Toseland と Price は³⁹⁾, トリプトファンを付加しなくても, 避妊薬使用者の中に 3-ヒドロキシアンスラニル酸の尿中排泄量が増大したヒトがいたことを報告している。

ビタミン B₆ とトリプトファン代謝との関わり

トリプトファン代謝経路において, ビタミン B₆ 補酵素, PLP を必要とする酵素は二つ知られている。Kynureninase (EC. 3.7.1.3) と Kynurenine aminotransferase (EC 2.6.1.7) である。Kynureninase は細胞の可溶性画分

に存在し、Kynurenine aminotransferase はミトコンドリア内膜に存在する。Kynureninase はキヌレニン→アンスラニル酸および 3-ヒドロキシキヌレニン→3-ヒドロキシアンスラニル酸の二つの反応を触媒する。Kynurenine aminotransferase はキヌレニン→キヌレン酸および 3-ヒドロキシキヌレニン→キサントレン酸の二つの反応を触媒する。この二つの PLP 酵素の酵素学的性質により、ビタミン B₆ 欠乏時にどのようなトリプトファン代謝異常が認められるかは、種によって異なることがビタミン B₆ とトリプトファン代謝との関係が見出された当初から指摘されていたが、唯一の共通現象として、尿中へのキサントレン酸の異常な排泄量の増加が認められていた²⁹⁾。

副腎皮質ホルモンはトリプトファン異化代謝活性を高めビタミン B₆ 不足を誘導する

男性に hydrocortisone を投与したのち、5 g のトリプトファンを負荷すると、hydrocortisone 非投与者と比較して、顕著にトリプトファン異化代謝産物(キヌレニン、3-ヒドロキシキヌレニン、キサントレン酸、3-ヒドロキシアンスラニル酸)の生成量が増大する。しかしながら、hydrocortisone と同時に 50 mg のビタミン B₆ を投与しておくと、トリプトファン異化代謝産物の増大はキャンセルできることが報告されている^{41,42)}。Hydrocortisone によるトリプトファン異化代謝の亢進は、Tryptophan 2,3-dioxygenase (EC 1.13.11.11) が誘導されるためである⁴³⁾。

5 g という大量のトリプトファンが投与され、かつ hydrocortisone 投与のよって Tryptophan 2,3-dioxygenase が誘導されると、

トリプトファンからキヌレニンが生成される。キヌレニンには三つの代謝経路がある(図 1)。一つ目はキヌレニン→アンスラニル酸(この反応は PLP-酵素である Kynureninase によって触媒)、二つ目はキヌレニン→キヌレン酸(この反応は PLP 酵素である Kynurenine aminotransferase によって触媒される)、三つ目はキヌレニン→3-ヒドロキシキヌレニン(FAD-酵素である kynurenine monooxygenase (EC 1.14.13.9) によって触媒される。反応には NADPH を必要とし、本酵素は FAD 酵素である。FAD = flavin adenine dinucleotide, ビタミン B₂ の補酵素型。NADPH = 還元型 nicotinamide adenine dinucleotide, ナイアシンの補酵素型)である。キヌレニンの三つの代謝産物の中でトリプトファン異化代謝経路の主経路の代謝産物は 3-ヒドロキシキヌレニンである。アンスラニル酸とキサントレン酸は、いわゆる副代謝産物である。トリプトファン異化代謝の主経路代謝産物である 3-ヒドロキシキヌレニンには二つの代謝経路がある。一つ目は主経路である 3-ヒドロキシキヌレニン→3-ヒドロキシアンスラニル酸(この反応は PLP 酵素である Kynureninase によって触媒される、キヌレニン→アンスラニル酸を触媒する Kynureninase と同じ酵素である)、二つ目は 3-ヒドロキシキヌレニン→キサントレン酸(この反応は PLP 酵素である Kynurenine aminotransferase によって触媒される。キヌレニン→キヌレン酸を触媒する Kynurenine aminotransferase と同じ酵素である)である。すなわち、キヌレニン代謝にかかわる PLP 酵素には Kynureninase と Kynurenine aminotransferase がある。大量のトリプトファンが投与され、

副腎皮質ホルモン投与により Tryptophan 2,3-dioxygenase が誘導されて、大量のキヌレンが産生されると、トリプトファン異化代謝主要経路の酵素活性能力では、キヌレニンを処理しきれなくなり、副経路であるキサントレン酸に流して処理しているものと推察できる。より、詳細に述べると、キヌレニン→3-ヒドロキシキヌレニンを触媒する酵素である Kynurenine monooxygenase は律速にはなっていない。次の反応を触媒する PLP 酵素である Kynureninase が律速となっている。副腎皮質ホルモン、トリプトファンを投与した状態で、キヌレニンを大量に産生しておいても、ビタミン B₆ をあらかじめ投与しておく、キサントレン酸の大量産生はキャンセルされることから、Kynureninase がビタミン B₆ によって誘導されるか、あるいはアポ酵素としては大量に産生されたキヌレニンを代謝可能な量が存在するが、PLP と結合したホロ酵素の存在量が少ないかもしれない。この点については、いまだ明らかにされていないので、まず動物実験レベルで、今後明らかにしたい。

一方、Kynurenine aminotransferase は大量に産生したキヌレニンあるいは3-ヒドロキシキヌレニンを処理するのに十分な量が存在すると同時にホロ型として存在しているものと推察される。Kynureninase が細胞質可溶性画分、Kynurenine aminotransferase がミトコンドリア外膜に存在することも関係するかもしれない。また、Kynurenine aminotransferase には複数のアイソザイムが存在することも関係するかもしれない。いずれにしろ、Kynureninase がビタミン B₆ の栄養状態に対して鋭敏に応答していることは間違いない。

トリプトファン異化代謝経路は種特異性が高い

最近、トリプトファン異化代謝経路のほとんどの代謝産物が高速液体クロマトグラフを利用した分析方法で簡便に測定できるようになり、動物種による差異、さらに同種でも系統差異や人種によりトリプトファン異化代謝経路が異なることが明らかにされつつある⁴⁴⁻⁴⁶⁾。

キサントレン酸とは？

臍帯血中の PLP 濃度が母親血漿中濃度よりも顕著に高く、それに伴い母親血漿中の PLP 濃度が、妊娠初期に比べて低くなること、一方、尿中への4-ピリドキシン酸の排泄量は低下しないことは事実である。血漿 PLP は、ビタミン B₆ の体内貯蔵量を反映する、また尿中の4-ピリドキシン酸は体内の余剰量を反映すると考えられている指標である。報告されている結果から考えると、妊娠中期から末期の妊婦は、胎児にビタミン B₆ を積極的に輸送するために (PLP→PLP への反応を触媒する Alkaline phosphatase は胎盤由来と考えられている)、母体それ自体のビタミン B₆ 貯蔵量は飽和していないが、母体+胎盤+胎児のビタミン B₆ は余剰であるという生理状態である。母体ビタミン B₆ 量が飽和していないので、不活性型の Kynureninase (つまりアポ型) の比率が高くなり、大量のトリプトファンを負荷されたりすると大量に産生されたキヌレニンをトリプトファン異化代謝主経路で処理できなくなるために、副経路に流し、キサントレン酸に転換し、尿中排泄して処理しているものと推察される。

では、キサントマチンには生理作用があるのであろうか。このキサントマチン(4,8-dihydroxyquinoline-2-carboxylic acid)は Musajo⁴⁷⁾によって1935年に発見された。Kotake と Inada は⁴⁸⁾ 1953年にキサントマチンには糖尿病誘発作用があることを報告した。一方で、彼らはキサントマチンにはインスリンの作用を調節する機能を認めており、必ずしもキサントマチンが悪い作用をしているのみではないことを強調している⁴⁹⁾。1998年には、Billker らは⁵⁰⁾、蚊由来のマラリア原虫の生殖母細胞-活性化因子がキサントマチンであることを報告した。ネッタイシマカ (*Aedes aegypti*) は血液を餌にする。中腸において、消化過程に生成するヘムや鉄が促進する酸化作用を抑える作用、すなわち抗酸化作用がキサントマチンにあることが、最近報告されている⁵¹⁾。すなわち、ネッタイシマカの中腸において、全血を餌として投与するとキサントマチンの産生量が顕著に増大すること、一方において血漿のみの投与ではキサントマチンの産生力は弱いことを証明した。蛇足ではあるが、昆虫の黄色と赤色はキサントマチンを直接の前駆体とするオモクローム系色素のキサントマチンである⁵²⁾。例えば、アカトンボは、その名の通り体の色が赤いのが特徴であるが、実際に赤くなるのは成熟したオスのみで、メスは黄色い。未成熟のオスとメスは体が黄色い。これはどちらにもキサントマチンと脱炭酸型キサントマチンが含まれているためである。しかしオスは成熟するとキサントマチン・脱炭酸型キサントマチンが黄色である酸化型から赤色の還元型に変化するためである。一方、メスは全てが赤色である還元型に変化せず、黄

色の酸化型も残るため、黄色に見える。さらに、この黄色の還元型キサントマチンと脱炭酸型キサントマチンは抗酸化物質としてトンボの体内で働いている。

哺乳類ではないが、このような生理作用が認められているので、妊娠中にトリプトファン異化代謝経路が亢進し、穏やかなビタミンB₆不足状態になることは、胎児の正常な成長に必要な母親の生理的変動であることも考慮に入れて、妊婦の付加量を考慮する必要がある。

先天性遺伝病として、低ホスファターゼ血症 (hypophosphatasia: 健康診断等の血液検査でも知られるアルカリフォスファターゼ (ALP) という酵素が生まれつき体中で作られなかったり、少なかったりするために全身の骨・軟骨に異常が出る難病 (国の定める難病指定はされていない、とても希な病気で、発症頻度は10万人に1人。重症の場合、命に関わることもあるおそろしい病気であるが、有効な治療法も薬もなく、子どもたちが亡くなっている⁵³⁾) が報告されており、この病気では血漿 PLP 濃度が1174 nmol/L にもなる、その一方で、尿中に4-ピリドキシン酸量には顕著な変動は認められない⁵⁴⁾。この論文の著者らは、血漿中の PLP 濃度のみでビタミンB₆栄養状態を評価することの危険性を指摘している。Barnard¹⁷⁾ も、文献 54 とは異なる結果から、血漿 PLP 濃度のみでビタミンB₆栄養状態を評価することの危険性を指摘している。

C. 結語

妊娠の中期から末期にかけて、血漿中 PLP 濃度が低下することは、人種を越えて共通に認められる現象である⁹⁻²²⁾。その低

下の機構としては、胎児が要求するビタミン B₆ を母体側から獲得するために、胎盤から Alkaline phosphatase が母親血漿中に放出され、その結果として、PLP→PL の反応が亢進し、かつ胎盤の PL 輸送系も同時に高まるものと思われる^{13,17-19}。ただ単に、PLP→PL の反応が亢進されるだけであれば、PL は母親の臓器・組織にも取り込まれてしまい、臍帯血の血漿 PLP 濃度が 2 倍以上となることは難しくなるからである。この低下した母親の血漿中 PLP 濃度を妊娠前にあるいは妊娠初期の値と同じにすべきか否かが、第一の課題である。妊娠末期に低下した母親の血漿中 PLP 濃度は、出産 1 ヶ月後には元の値に回復する²²。

第二の課題は、妊娠中に、ビタミン B₆ 不足によるトリプトファン異化代謝変動が認められるケースがあり³²⁻³⁵、妊娠期にしばしば認められる代謝変動を、非妊娠期のトリプトファン異化代謝と同じにする必要があるか否かである。トリプトファン異化代謝産物の妊娠期における役割も考えなければならない。また、トリプトファン異化代謝経路、特にキヌレニンの代謝運命がビタミン B₆ の栄養状態のみによって変動するという考え方は、再考を要する。遺伝的に酵素タンパク質そのものの発現量が規定されている（すなわち種特異性が高い）ことも考慮すべきである。それぞれの種、系統、ライフステージごとに異なる生理的なトリプトファン異化代謝変動を、非生理的な量のビタミン B₆ を投与することで無理矢理、限られた研究成果に基づいて、理想と考える状態に戻すことは、アミノ酸インバランスに似た現象を引き起こす危険性があることを頭に入れておくべきである。

妊娠中期、末期においても、ビタミン B₆ の異化代謝産物である 4-ピリドキシンの尿中排泄量は低下していない²⁷。

上記の二つの課題を解決するには、動物実験を用いた基礎研究が必要である。

D. 研究発表

1. 発表論文

- 1) Shibata K, Shimizu A, Fukuwatari T. Vitamin B1 deficiency does not affect the liver concentrations of the other seven kinds of B-group vitamins in rats. *Nutrition Insights*. in press.
- 2) Shibata K, Fukuwatari T, Sasaki S, Sano M, Suzuki K, Hiratsuka C, Aoki A, Nagai C. Urinary excretion levels of water-soluble vitamins in pregnant and lactating women in Japan. *J Nutr Sci Vitaminol*. in press.
- 3) Shibata K, Fukuwatari T, Imai E, Hayakawa T, Watanabe F, Takimoto H, Watanabe T, Umegaki K. Dietary Reference Intakes for Japanese 2010: water-soluble vitamins. *J Nutr Sci Vitaminol* (2013) **59**, suppl S67-S82.
- 4) Shibata K, Imai E, Sano M, Fukuwatari T. The urinary excretory ratio of nicotinamide catabolites was associated with the conversion ratio of tryptophan to nicotinamide in growing rats fed a niacin-free 20% casein diet. *Biosci Biotechnol Biochem*. (2012) **76**,186-188.
- 5) Yoshida M, Fukuwatari T, Sakai J, Tsuji T, Shibata K. Correlation between Mineral Intake and Urinary Excretion in Free-living Japanese Young Women.

- Food Nutr Sci* (2012) **3**,123-128.
- 6) Moriya A, Fukuwatari T, Sano M, Shibata K. Different variations of tissue B-group vitamin concentrations in short- and long-term starved rats. *Br J Nutr* (2012) **107**, 52-60.
- 7) Imai E, Tsuji T, Sano M, Fukuwatari T, Shibata K. Association between 24 h urinary alpha-tocopherol catabolite, 2,5,7,8-tetramethyl-2 (2'-carboxyethyl)-6-hydroxychroman (alpha-CEHC) and alpha-tocopherol intake in intervention and cross-sectional studies. *Asia Pac J Clin Nutr* (2011) **20**, 507-513.
- 8) Endo M, Sano M, Fukuwatari T, Shibata K. Vitamin contents in rat milk and effects of dietary vitamin intakes of dams on the vitamin contents in their milk. *J Nutr Sci Vitaminol* (2011) **57**, 203-208.
- 9) Shibata K, Yasui M, Sano M, Fukuwatari T. Fluorometric determination of 2-oxoadipic acid, a common metabolite of tryptophan and lysine, by high-performance liquid chromatography with pre-chemical derivatization. *Biosci Biotechnol Biochem* (2011) **75**,185-187.
- 10) Tsuji T, Fukuwatari T, Sasaki S, Shibata K. Twenty-four-hour urinary water-soluble vitamin levels correlate with their intakes in free-living Japanese school children. *Public Health Nutr* (2011) **14**, 327-333.
- 11) 今井絵理, 佐野光枝, 福渡努, 柴田克己. ストレプトゾトシン誘導糖尿病ラットのトリプトファン-ニコチンアミド代謝-摂取ビタミン量との関係. *日本栄養・食糧学会誌*. (2011) **64**, 313-321.
- 12) 柴田克己, 坂崎愛, 佐野光枝, 福渡努. ビタミン B₁ 最小必要量飼料投与ラットあるいは十分量飼料投与ラットを寒冷曝露させた時の肝臓, 血液および尿中のビタミン B₁ 量. *日本栄養・食糧学会誌*. (2011) **64**, 329-334.
- 13) 柴田克己, 福渡努, 吉田宗弘. 特集「栄養アセスメントー基礎から臨床へー」4. 生化学検査 (3) ビタミンと微量ミネラル. *評価と治療*. (2011) **28**, 143-147.
- 14) 柴田克己, 河田哲典, 石田香織, 清水篤史, 守谷彩, 寺方美希, 佐野光枝, 福渡努. ビタミン B₁₂ 欠乏ラットの種々の臓器, 血清, 尿中の B 群ビタミン含量. *ビタミン* (2011) **85**, 18-22.
2. 学会発表
なし
- E. 知的財産権の出願・登録状況・特許取得**
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし
- F. 引用文献**
- 1) Leklem JE. Vitamin B-6. In: Handbook of Vitamins, Third Edition, Revised and Expanded (Rucker RB, Suttie JW, McCormick DB, Mrchlin LJ ed.) Marcel-Dekker, New York. (2001) pp.339-396.

- 2) Fonda ML, Trauss C, Guempel UM. The binding of pyridoxal 5'-phosphate to human serum albumin. *Arch Biochem Biophys* (1991) **288**, 79-86.
- 3) Lui A, Lumeng L, Aronoff GR, Li T-K. Relationship between body store of vitamin B6 and plasma pyridoxal-P clearance: metabolic balance studies in humans. *J Lab Clin Med* (1985) **106**, 491-497.
- 4) Morris MS, Picciano MF, Jacques PF, Selhub J. Plasma pyridoxal5'-phosphate in the US population: the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003-2004. *Am J Clin Nutr* (2008) **87**, 1446-1454.
- 5) Lumeng L, Ryan MP, Li T-K. Validation of the diagnostic value of plasma pyridoxal 5'-phosphate measurements in vitamin B₆ nutrition in the rat. *J Nutr* (1978) **108**, 545-553.
- 6) Leklem JE. Vitamin B-6: A status report. *J Nutr* (1990) **120**, 1503-1507.
- 7) Kretsch M, Sauberlich HE, Newbrun E. Electroencephalographic changes and periodontal status during short-term vitamin B-6 depletion of young, nonpregnant women. *Am J Clin Nutr* (1991) **53**, 1266-1274.
- 8) Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Vitamin B₆. In: Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic acid, biotin, and Choline. National Academy Press, Washington DC. (1998) pp.150-195.
- 9) Cleary RE, Lumeng L, Li T-K. Maternal and fetal plasma levels of PLP at term: adequacy of vitamin B₆ supplementation during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* (1975) **121**, 25-28.
- 10) Brophy MH, Sitteri PK. Pyridoxal phosphate and hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Clin Nutr* (1975) **121**, 1076-1079.
- 11) Furth-Walker D, Leibman D, Smolen A. Changes in pyridoxal phosphate and pyridoxamine phosphate in blood, liver and brain in the pregnant mouse. *J Nutr* (1989) **119**, 750-756.
- 12) Shane B, Conractor SF. Assessment of vitamin B₆ status. Studies on pregnant women and oral contraceptive users. *Am J Clin Nutr* (1975) **28**, 739-747.
- 13) Schuter K, Bailey LB, Mahan CS. Effect of maternal pyridoxine-HCl supplementation on the vitamin B-6 status of mother and infant and on pregnancy outcome. *J Nutr* (1984) **114**, 977-988.
- 14) 里和スミエ, 三澤美紀, 神山一郎, 藤野容子. 妊婦血清中のビタミン B6 (3型) と Pyridoxal 5'-phosphate (PLP) 値. ビタミン(1989) **63**, 361-368.
- 15) Reinken L, Dapunt O. Vitamin B₆ Nutriture during pregnancy. *Internat J Vit Nutr Res* (1978) **48**, 341-347.
- 16) Trumbo PR, Wang JW. Vitamin B-6 status indices are lower in pregnant than in nonpregnant women but urinary excretion of 4-pyridoxic acid does not differ. *J Nutr* (1993) **123**, 2137-2141.
- 17) Barnard HC, de Kock JJ, Vermaak WJH,

- Potgieter GM. A new perspective in the assessment of vitamin B-6 nutritional status during pregnancy in humans. *J Nutr* (1987) **117**, 1303-1306.
- 18) Lumeng L, Cleary RE, Wagner R, Yu PL, Li TK. Adequacy of vitamin B₆ supplementation during pregnancy: a prospective study. *Am J Clin Nutr* (1976) **29**, 1376-1383.
- 19) Chang SJ. Adequacy of maternal pyridoxine supplementation during pregnancy in relation to the vitamin B₆ status and growth of neonates at birth. *J Nutr Sci Vitaminol* (1999) **45**, 449-458.
- 20) Hansen CN, Shultz TD, Kwak HK, Memon HS, Leklem JE. Assessment of vitamin B-6 status in young women consuming a controlled diet containing four levels of vitamin B-6 provides an estimated average requirement and recommended dietary allowance. *J Nutr* (2001) **131**, 1777-1786.
- 21) Hamfelt A, Tuvemo T. Pyridoxal phosphate and folic acid concentrations in blood and erythrocyte aspartate aminotransferase activity during pregnancy. *Clin Chim Acta* (1972) **41**, 287-298.
- 22) 柴田克己, 福渡努. 妊婦におけるビタミン B₆ の摂取量と血中濃度. 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 24 年度報告書 (2013).
- 23) 日本人の食事摂取基準(2010年版), 「日本人の食事摂取基準」策定検討会報告書, 平成 21 年 5 月, 厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室.
- 24) 福渡努, 柴田克己. 遊離型ビタミンに対する食事の B 群ビタミンの相対利用率. *日本家政学雑誌* (2008) **59**, 403-410.
- 25) 福渡努, 柴田克己. パンを主食とした食事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* (2009) **60**, 57-63.
- 26) Okubo H, Miyake Y, Sasaki S, Tanaka K, Murakami K, Hirota Y, Osaka Maternal and Child Health Study Group. Nutritional adequacy of three dietary patterns defined by cluster analysis in 997 pregnant Japanese women: the Osaka Maternal and Child Health Study. *Public Health Nutr* (2011) **14**, 611-621.
- 27) Shibata K, Fukuwatari T, Sasaki S, Sano M, Suzuki K, Hiratsuka C, Aoki A, Nagai C. Urinary excretion levels of water-soluble vitamins in pregnant and lactating women in Japan. *J Nutr Sci Vitaminol* (2013) **59**, in press.
- 28) Conbs GF, Jr. Vitamin B6 In: The Vitamins, Fundamental Aspects in Nutrition and Health. Third ed., Elsevier Academic Press, London, UK. (2008) pp. 313-329.
- 29) Lepkovsky S, Roboz E, Haagen-Smit AJ. Xanthurenic acid and its role in the tryptophane metabolism of pyridoxine-deficient rats. *J Biol Chem* (1943) **149**, 195-201.
- 30) Greengard LD, Bohr DF, McGrath H, Rinehart JF. Xanthurenic acid excretion in