

201222048A

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

**生活習慣病予防や身体機能維持のための
エネルギー・たんぱく質必要量の推定法に関する基盤的研究**

(H24-循環器等(生習)-一般-004)

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 田中 茂穂

平成25(2013)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

- 生活習慣病予防や身体機能維持のためのエネルギー・たんぱく質必要量
推定法に関する基盤的研究 ----- 1
田中茂穂、高田和子、木戸康博、吉田英世、佐々木敏、引原有輝、海老根直之

II. 分担研究報告

1. 自立した高齢者におけるエネルギー消費量および身体活動レベル----- 8
田中茂穂、高田和子、吉田英世、佐々木敏、中江悟司
2. 指標アミノ酸酸化法(IAAO法)に基づくたんぱく質の推定平均必要量の検討----- 14
木戸康博、吉田英世、小川亜紀
3. 自立した生活を営む後期高齢者におけるエネルギー・栄養素摂取量に関する調査：
3日間秤量式食事記録法 -----27
佐々木敏
4. 活動強度別の歩行及び生活活動時間と身体活動レベルの関係-----33
高田和子、田中茂穂
5. 中学生の身体活動レベルを決定する要因の検討-首都圏郊外の中学校の事例-----39
引原有輝、田中茂穂、渡邊将司
6. 子どもの推定エネルギー必要量のエビデンス収集を目的とする文献レビュー-----51
海老根直之、中江悟司

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----56

IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----58

生活習慣病予防や身体機能維持のためのエネルギー・たんぱく質必要量 推定法に関する基盤的研究

研究代表者 田中茂穂（独）国立健康・栄養研究所 基礎栄養研究部 部長

「日本人の食事摂取基準」におけるエネルギー必要量を決定するために、特に日本人の知見が不足している高齢者や小児を中心に、身体活動レベルや基礎代謝量などの推定を通じてエネルギー消費量の推定法を改善・確立することが、本研究の主な目的である。初年度目である 25 年度は、以下のような結果が得られた。1) 高齢者男女を対象に、二重標識水法に基づく総エネルギー消費量および基礎代謝量と、それらから得られる PAL のデータの収集を開始した。ただし、日本人としての代表性を確保するためには、75 歳以上の女性について、今後、活動的でない対象者を中心に募集する必要がある。2) そのうちの 10 名（75 歳以上 80 歳未満）を対象に、指標アミノ酸酸化（Indicator Amino Acid Oxidation; IAAO）法によるたんぱく質代謝要求量の EAR は 1.12 で、現在のたんぱく質必要量（0.85 g/kg BW/day）よりかなり大きな値が得られた。RDA は 1.75 g/kg BW/day と算出された。3) 東京都内に居住し、自立した生活を営む後期高齢者（88～92 歳）36 人（男性 17 人、女性 19 人）を対象として、日常生活におけるエネルギー・栄養素摂取量に関する資料を提示した。4) 二重標識水法により測定した 1 日当たりのエネルギー消費量と実測した基礎代謝量から求めた身体活動レベルと、三次元加速度計のデータを比較したところ、身体活動レベルには、男性では歩行活動が、女性では生活活動が影響していた。5) 首都圏郊外に位置する中学校の生徒の身体活動レベルを求め、中学生の PAL を決定するための要因について検討した結果、中学生の身体活動レベルは中高強度活動に要した時間との関係が強く、それは主に休み時間の過ごし方や学校部活動への参加状況に起因する可能性が示唆された。6) 幼児の推定エネルギー必要量の策定根拠として利用可能な文献資料の収集とその精査を行ったが、基礎代謝量の実測値から求められる身体活動レベルを報告する新たな文献は見あたらず、幼児の場合、体重あたりのエネルギー必要量の基準値を示すアプローチの方が有効である可能性が示唆された。

以上のように、高齢者や小児を中心に、総エネルギー消費量や身体活動レベル、基礎代謝量推定法の問題点を指摘するとともに、新たな方法を提示した。

研究分担者

高田和子（独）国立健康・栄養研究所 栄

養教育研究部 栄養ケア・マネージメント研究室長

木戸康博（京都府立大学大学院生命環境科学研究所 教授）

吉田英世（東京都健康長寿医療センター研究所 老年医学 副部長）

佐々木敏（東京大学大学院医学系研究科 公共健康医学専攻 教授）

引原有輝（千葉工業大学工学部 准教授）

海老根直之（同志社大学スポーツ健康科学部 准教授）

A. 研究目的

「日本人の食事摂取基準（2010年版）」において、推定エネルギー必要量は、二重標識水（DLW）法から得られたエネルギー消費量の値に基づき策定されている。他の栄養素と比べると、日本人のデータが数多く利用されているが、高齢者や小児の身体活動レベルなどについては、欧米のデータに依存しているなど、いくつかの課題を残している。

そこで、初年度目にあたる25年度は、高齢者や小児を中心に、日常生活における身体活動量・総エネルギー消費量、および基礎代謝量の推定法の改善を通して、食事摂取基準の推定エネルギー必要量決定に資する研究を行うこととした。

B. 研究方法

1. 自立した高齢者におけるエネルギー消費量および身体活動レベル

これまで大きな病歴がなく、日常生活をほとんど支障なく営んでいる69～85歳の男女を対象とした。二重標識水（DLW）法および基礎代謝量の実測による1日の身体活動レベルの測定と加速度計による測定を

行った。また、国民健康・栄養調査と比較できるように、歩数の測定を行った。

2. 指標アミノ酸酸化法(IAAO法)に基づくたんぱく質の推定平均必要量の検討

健康な高齢者(75歳以上80歳未満)男性4名、女性6名とした。被験者は、実験日に、9:00から18:00まで1時間ごとに、基礎代謝量 $\times 1.5\text{kcal/day}$ の1/12量のエネルギーおよび1日摂取量の1/12量のたんぱく質を含む実験食を摂取した。実験食は、たんぱく質源として玉子焼きを用い、摂取たんぱく質量は、0.5、0.7、0.9、1.0、1.2および1.4 g/kg BW/dayとした。

3. 自立した生活を営む後期高齢者におけるエネルギー・栄養素摂取量に関する調査：3日間秤量式食事記録法

東京都内に居住し、自立した生活を営む後期高齢者(88～92歳)36人(男性17人、女性19人)を対象として、訪問面接による3日間秤量式食事記録法を実施し、エネルギー・栄養素摂取量を求めた。

4. 活動強度別の歩行及び生活活動時間と身体活動レベルの関係

成人男性69名、女性34名を対象とした。女性の約1/3が専業主婦であったが、それ以外は仕事を持っている対象であった。また、男性では、事務職、営業職、販売、医療など多種にわたる職種であった。1日の身体活動レベルに影響をする活動内容を明らかにするために、二重標識水法により測定した1日のエネルギー消費量と実測した基礎代謝量から求めた身体活動レベルと、三次元加速度計のデータを比較した。三次

元加速度計のデータについては、歩行を主とした活動（歩行）とそれ以外の活動（生活活動）に区分し、それぞれを3METs未満、3～6METs、6METs以上に区分した。

5. 中学生の身体活動レベルを決定する要因の検討

首都圏郊外に位置する中学校の生徒の身体活動レベル（PAL）を求め、首都圏の中学校との比較を行うこと、さらに活動量計や質問紙を併用し、中学生のPALを決定するための要因について検討することを目的とした。対象者は、茨城県水戸市にある中学校に通う中学1年生および2年生、男女39名（男子20名、女子19名）であった。総エネルギー消費量の測定期間は8日間とし、その同一期間に3次元加速度センサを内蔵した活動量計を腰部に装着させた。活動量計から評価されたMETsをActivity level 1～8の強度に区分し、さらにActivity level 3～5をModerate activity、Activity level 6～8をVigorous activityとし、それらに要した時間を求めた。

6. 子どもの推定エネルギー必要量のエビデンス収集を目的とする文献レビュー

幼児の推定エネルギー必要量の策定根拠として利用可能な文献資料の収集とその精査を目的として、国際データベース（PubMed）、国内データベース（医中誌Web）を活用し、18歳までの年齢に限定して文献収集を行った。加えて、データベースに掲載されていない学術論文についても探索・収集した。

倫理面への配慮

本研究は、疫学研究に関する倫理指針（文部科学省・厚生労働省）に則り、各研究機関における倫理委員会の許可を得て実施した。測定にあたって、対象者に測定の目的、利益、不利益、危険性、データの管理や公表について説明を行い、書面にて同意を得た。データは厳重に管理し、外部に流出することがないようにした。測定に伴う危険性はない。

C. 研究結果

1. 自立した高齢者におけるエネルギー消費量および身体活動レベル

測定を完了した37名のうち、男性、および女性の65～74歳では、国民健康・栄養調査と近い値が得られていたが、75歳以上の女性における歩数は、それよりかなり多かった。

2. 指標アミノ酸酸化法(LAAO法)に基づくたんぱく質の推定平均必要量の検討

18時30分に採取した各たんぱく質摂取量での呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 量を、ME-CPRMを用いて解析したところ、変曲点は1.12 g/kg BW/dayと算出され、鶏卵たんぱく質をたんぱく質源とした際の健康な日本人高齢者のたんぱく質代謝要求量のEARは1.12 g/kg BW/day、RDAは1.75 g/kg BW/dayであった。

3. 自立した生活を営む後期高齢者におけるエネルギー・栄養素摂取量に関する調査：3日間秤量式食事記録法

男性、女性の順の平均値（1日当たり）：エネルギー（1917、1690kcal）、たんぱく質

(15.2、14.9%E[エネルギー])、脂質 (26.4、27.4%E)、炭水化物 (53.7、56.9%E)、アルコール (4.3、0.7%E)、飽和脂肪酸 (7.8、8.0%E)、食物繊維 (7.9、8.6g/1000kcal)、食塩相当量 (5.1、5.4g/1000kcal) であった。

4. 活動強度別の歩行及び生活活動時間と身体活動レベルの関係

身体活動レベルには、男性では歩行活動が、女性では生活活動が影響していた。

5. 中学生の身体活動レベルを決定する要因の検討

首都圏郊外の中学校に通う 39 名の生徒の平均 PAL は、 1.77 ± 0.16 であった。また、平均歩数は、 9066 ± 2437 歩であった。各活動強度区分に要した時間は、Moderate activity で 103 ± 26 分、Vigorous activity で 11 ± 8 分、MVPA (3 メッツ以上の活動) で 114 ± 31 分であった。PAL と活動量計から得られた各強度区分に要した時間との関係について検討した結果、男女とも、Activity level 4 以上との間に有意な相関が認められた。また、学校部活動への参加回数と身体活動量との関係を検討した結果、歩数、Active level 4 から Active level 8、Moderate activity、Vigorous activity、MVPA に要した時間との間にそれぞれ有意な相関が認められた。

6. 子どもの推定エネルギー必要量のエビデンス収集を目的とする文献レビュー

PubMed を用いた検索から、幼児ならびに幼児を含む対象者で、一日の総エネルギー消費量と身体活動レベルが共に掲載されている原著論文が 4 篇存在した。しかし、いずれの論文も 2010 年版レビューにおける

算入基準を満たしてはいなかった。幼児の総エネルギー消費量のみを報告している文献としては、4 篇の原著論文が確認された。日本人幼児・小児を対象に二重標識水 (DLW) 法を用いた研究は国際データベース上には確認されなかった。

国内データベースを用いた検索においても、過去 5 年間、日本人幼児または小児を対象に DLW 法を用いた研究論文は存在しなかったが、データベースに依存しない情報収集の結果、日本人低身長児 (5.2 ± 0.5 歳、8 名) を対象に実施された TEE と PAL の結果を含む論文が、和文学術雑誌にて出版待ちであることが確認された。

D. 考察

1. 自立した高齢者におけるエネルギー消費量および身体活動レベル

次年度における対象者の選抜において、75 歳以上の女性については、活動量が少ない女性に限定する必要があると考えられた。

2. 指標アミノ酸酸化法 (IAAO 法) に基づくたんぱく質の推定平均必要量の検討

本研究で算出された 1.12 g/kg BW/day という値は、現行のたんぱく質必要量である 0.85 g/kg BW/day と比較した場合、高値となった。現行のたんぱく質必要量は、窒素出納法で算出されており、窒素出納法で算出される値は最小たんぱく質必要量であるのに対し、IAAO 法で算出される値がたんぱく質代謝要求量であり、それぞれの算出値の意味するところが異なるため、本研究結果で高値を示したと考えられた。

3. 自立した生活を営む後期高齢者におけるエネルギー・栄養素摂取量に関する調査：3日間秤量式食事記録法

自立した生活を営む健康な者に限定された集団であること、都市部の居住者であること、秤量食事記録という負担の大きな調査に協力する意思と能力を有する者で構成された集団であったことなどから、この年齢層における集団代表性は保証できないものの、貴重な資料的価値を有するデータであると考えられる。

4. 活動強度別の歩行及び生活活動時間と身体活動レベルの関係

今後、簡易な質問項目による生活内容を具体的に比較することで、実際の活動内容（歩行、家事、運動など）を比較し、これらの男女差がどのような生活内容から生じているか比較できると考える。

ただし、今回、男性では身体活動レベルが平均で2.01であり、歩数からみても非常に活動的な集団であり、日本人の生活内容を代表するものではない可能性があるため、今後、職種や活動レベルを考慮したうえで、対象数を増加し、1日の身体活動レベルの推定方法を検討する必要がある。

5. 中学生の身体活動レベルを決定する要因の検討

今回の得られた首都圏郊外の中学校のPAL (1.77 ± 0.16) は、「日本人の食事摂取基準（2010年版）」における「ふつう」のPAL (1.65) より高かった。その一方で、首都圏の中学校のPAL (1.85 ± 0.28) と比較して、やや低値を示したものの統計的な有意差は認められなかった。

今後の課題として、学校部活動の実施時間、通学手段（例えば自転車通学あり）、休み時間や下校後の過ごし方に注目し、これらの活動において、これまでに対象となった2つの中学校とは大きく異なる可能性を有した対象校での検討が必要である。

6. 子どもの推定エネルギー必要量のエビデンス収集を目的とする文献レビュー

幼児を対象に、基礎代謝量の実測値から求められる身体活動レベルを報告する文献は新規に発見されなかった。このため、反映されるデータの数をエビデンスの強さと考えて基準値策定を行うのであれば、従来型の基礎代謝量×身体活動レベルから推定エネルギー必要量を求める方法ではなく、例えば、体重あたりの総エネルギー消費量の基準値を示すアプローチの方が、特にデータの少ない幼児のエネルギー基準値策定の際には有効ではないかと考えられた。

E. 結論

1. 自立した高齢者におけるエネルギー消費量および身体活動レベル

高齢者男女を対象に、二重標識水法に基づく総エネルギー消費量および基礎代謝量と、それらから得られるPALのデータの収集を開始した。ただし、日本人としての代表性を確保するためには、75歳以上の女性について、今後、活動的でない対象者を中心に募集する必要がある。

2. 指標アミノ酸酸化法(IAAO法)に基づくたんぱく質の推定平均必要量の検討

IAAO法を用いた健康な日本人高齢者(75

歳以上 80 歳未満)のたんぱく質代謝要求量の EAR は 1.12 で、現在のたんぱく質必要量 (0.85 g/kg BW/day) よりかなり大きな値が得られた。RDA は 1.75 g/kg BW/day と算出された。

3. 自立した生活を営む後期高齢者におけるエネルギー・栄養素摂取量に関する調査：3 日間秤量式食事記録法

世界的にみても 90 歳前後の後期高齢者を対象として精度の高い方法でエネルギー・栄養素摂取量を調査した報告は乏しい中で、東京都内に居住し、自立した生活を営む後期高齢者 (88~92 歳) 36 人 (男性 17 人、女性 19 人) を対象として、日常生活におけるエネルギー・栄養素摂取量に関する資料を提示した。

4. 活動強度別の歩行及び生活活動時間と身体活動レベルの関係

身体活動レベルに影響を与える活動内容には性差がある可能性が示唆された。

5. 中学生の身体活動レベルを決定する要因の検討

中学生の PAL は MVPA に要した時間との関係が強く、それは主に休み時間の過ごし方や学校部活動への参加状況に起因する可能性が示唆された。

6. 子どもの推定エネルギー必要量のエビデンス収集を目的とする文献レビュー

幼児の推定エネルギー必要量の策定根拠として利用可能な文献資料の収集とその精査を行ったが、基礎代謝量の実測値から求められる身体活動レベルを報告する新たな

文献は見あたらず、幼児の場合、体重あたりのエネルギー必要量の基準値を示すアプローチの方が有効であ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. 論文発表

田中茂穂. エネルギー代謝の加齢変化. 高石昌弘監修、樋口満・佐竹隆編著 からだの発達と加齢の科学. 大修館書店, 98-111, 2012

Hikihara Y, Tanaka S, Ohkawara K, Ishikawa-Takata K, Tabata I.

Validation and comparison of 3 accelerometers for measuring physical activity intensity during nonlocomotive activities and locomotive movements. *J Phys Act Health*, 9(7), 935-943, 2012

Tanaka S. Status of physical activity in the Japanese population. *J Phys Fitness Sports Med*, 1(3), 491-497, 2012

Hibi M, Ando T, Tanaka S, Tokuyama K. Human calorimetry: energy expenditure and substrate utilization measurements using a respiratory chamber. *J Phys Fitness Sports Med*, 2(1), 93-99, 2013

Tabata I, Ebine N, Kawashima Y, Ishikawa-Takata K, Tanaka S,

Higuchi M, Yoshitake Y. Dietary Reference Intakes for Japanese 2010: Energy. J Nutr Sci Vitaminol, 59(Supplement), S26-S35, 2013

Ohkawara K, Hikihara Y, Matsuo T, Melanson EL, Hibi M. Variable factors of total daily energy expenditure in humans. Journal of Physical Fitness and Sports Medicine, 1(3), 389-399, 2012

田中茂穂. エネルギー消費量の構成成分と肥満. 成人病と生活習慣病, 42(5), 527-531, 2012

三宅理江子, 田中茂穂. エネルギーを知る・運動を知るーその関係と仕組みを学ぶー 4 基礎代謝の推定式について. 臨床栄養, 121(7), 786-790, 2012

大島秀武, 引原有輝, 大河原一憲, 高田和子, 三宅理江子, 海老根直之, 田畑泉, 田中茂穂. 加速度計で求めた「健康づくりのための運動基準 2006」における身体活動の目標値(23 メッツ・時/週)に相当する歩数. 体力科学. 61(2), 193-199, 2012

田中千晶, 田中茂穂. 日本人勤労者の日常の身体活動量における歩・走行以外の身体活動の寄与 体力科学. 61(2), 435-441, 2012

2. 学会発表

田中茂穂. 総エネルギー消費量の変動に寄与する身体活動の種類及び肥満への関与. 第14回日本健康支援学会年次学術大会, 2013

Hikihara Y, Midorikawa T, Ohta M, Tanaka S. Validity of Triaxial Accelerometer for Assessment of Total

Energy Expenditure in Primary School Children against Doubly Labeled Water Method, European College of Sports Science, 2012, Bruges.

H. 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

自立した高齢者におけるエネルギー消費量および身体活動レベル

研究代表者 田中茂穂 （独）国立健康・栄養研究所 基礎栄養研究部 部長
研究分担者 高田和子 （独）国立健康・栄養研究所 栄養教育研究部
栄養ケア・マネジメント研究室室長
吉田英世 東京都健康長寿医療センター研究所 老年医学 副部長
佐々木敏 東京大学大学院医学系研究科 公共健康医学専攻 教授
研究協力者 中江悟司 （独）国立健康・栄養研究所 基礎栄養研究部 特別研究員

「日本人の食事摂取基準（2010年版）」の推定エネルギー必要量（estimated energy requirement: EER）において、70歳以上の身体活動レベル（physical activity level: PAL）は、平均年齢が70歳前半までの比較的元気な高齢者を対象とした論文に基づいており、70歳代後半～80歳代におけるPALの知見は乏しい。そこで、70歳代後半～80歳代を含むよう、65歳以上の日本人男女を対象に、DLW法に基づく総エネルギー消費量（total energy expenditure: TEE）および基礎代謝量（basal metabolic rate: BMR）と、それらから得られるPALのデータを収集し、日本人のEERの策定に資する資料を提供することを本研究の目的とする。初年度は、当初目的の約半数のデータを収集することとした。なお、たんぱく質の推定平均必要量に及ぼす影響についても検討できるように、一部の対象者については、指標アミノ酸酸化（IAAO）法による測定もあわせて行った。

現時点で解析したデータのうち、国民健康・栄養調査と同じ歩数計を用いて平日の歩数を評価したところ、男性、および65～74歳の女性では、国民健康・栄養調査と近い平均値が得られていた。しかし、75歳以上の女性における歩数はかなり多かった。そのため、今後の対象者数を追加する上で、日本人を代表させるPALを得られるようにするためには、特に、活動的でない75歳の女性を募集する点に留意する必要があると考えられた。

A. 研究目的

「日本人の食事摂取基準（2010年版）」の推定エネルギー必要量（estimated energy requirement: EER）において、70歳以上の身体活動レベル（physical activity level: PAL）は、「ふつう」が1.70であり、70歳未満の値（「ふつう」が1.75）とほとんど同じであ

る。しかし、これらの値は、平均年齢が70歳前半までの比較的元気な高齢者を対象とした、二重標識水（doubly labeled water: DLW）を用いた論文に基づいており、70歳代後半以上におけるPALの知見は乏しいのが現状である。最近、Speakman & Westerterp（2010）は、DLW法のデータを用いて、52歳

以降、PAL が低下していくという結果を提示している。また、90 歳以上の高齢者の PAL は低いという結果も得られている (Rothenberg, 2000)。

そのため、70 歳代後半～80 歳代を含むよう、65 歳以上の日本人を対象に、DLW 法に基づく総エネルギー消費量 (total energy expenditure: TEE) および基礎代謝量 (basal metabolic rate: BMR) と、それらから得られる PAL のデータを収集し、日本人の EER の策定に資する資料を提供することを、本研究の目的とする。初年度は、当初目標の約半数のデータを収集することとした。また、たんぱく質の推定平均必要量に及ぼす影響についても検討できるように、一部の対象者については、指標アミノ酸酸化 (indicator amino acid oxidation: IAAO) 法による測定もあわせて行った。本報告では、初年度における進行状況を記述する。

B. 研究方法

1. 対象者

2011 年板橋区お達者健診コホートの介入研究対象者 398 名の中から、これまで大きな病歴がなく、日常生活をほとんど支障なく営んでいる 69～85 歳の男女を対象とした。2012 年 12 月に、希望者に対する説明会を行い、たんぱく質必要量に関する対象者を含むように、本研究の対象者を決定した。食事摂取基準の EER の決定に資するよう、日本人の代表値を得られるようにするため、国民健康・栄養調査と同程度の歩数となるよう、対象者を選択する。

高齢者を対象とした過去の文献をレビューした上で (表 1)、以下の疾病等を有する者は除外した。

- ・動脈硬化性疾患(心筋梗塞、脳卒中、狭心症、鬱血性心不全)
- ・慢性閉塞性肺疾患
- ・悪性疾患(最近 5 年間の発症)、がん
- ・認知症
- ・重度な疾患
- ・運動禁忌
- ・日常生活に支障がある
- ・糖尿病
- ・うつ、軽症うつ

本年度は、目標の対象者数 80 名のうち、約半数の測定を実施することとした。その結果、41 名の測定を実施することとした。なお、IAAO 法の対象者は、そのうちの 13 名であった。

2. 方法

たんぱく質必要量に関する測定が全て終了した 2013 年 2 月に、日常生活での総エネルギー消費量・活動量の調査を実施した。調査期間は、約 2 週間とした。

主な項目は以下のとおりである。

- ・二重標識水の摂取、および調査期間中に計 8 回の採尿
- ・ダグラスバッグ法による基礎代謝量測定
- ・加速度計 (オムロンヘルスケア Active style Pro HJA-350IT) の装着
- ・歩数計 (YAMASA AS-200) の装着 (調査期間の中ほどの 3 日間のみ)
- ・身長・体重
- ・質問紙法による身体活動調査、食事調査、既往歴等の調査

これらの測定に基づき、期間中の TEE の平均値および PAL などを求めることとした。

3. 倫理面への配慮

本研究は、疫学研究に関する倫理指針（文部科学省・厚生労働省）に則り、独立行政法人国立健康・栄養研究所「研究倫理審査委員会（疫学研究部会）」の承認を得て実施した。測定にあたっては、対象者に測定の目的、利益、不利益、危険性、データの管理や公表について説明を行い、書面にて同意を得た。データは厳重に管理し、外部に流出することがないようにした。測定に伴う危険性はない。

C. 研究結果

測定に同意していた41名のうち、当日の体調不良や調査期間中の予定変更により4名が辞退した結果、37名について測定を実施した。現時点で、調査が終わったのは予定している対象者数の約半数であり、まだ分析も終了していない。そのため、次年度の対象者募集において重要な役割を果たす歩数調査、および基礎代謝量の結果のみを示す。

3日間の調査のうち、平日の平均値は表2の通りであった。男性、および女性の65～74歳では、国民健康・栄養調査と近い値が得られていたが、75歳以上の女性における歩数は、それよりかなり多かった。

また、体重当たりの基礎代謝基準量(kcal/kg/日)は、男女とも65～74歳で、基礎代謝基準値よりやや低めの値となっていた(表3)。

D. 考察

今回は、あくまで途中経過における仮分析である。本研究により、日本人におけるEERやPALの代表値を得ることを目的と

しているが、少人数における標本抽出の妥当性を評価するための指標としては、身長・体重の体格に加え、歩数が適切であると考えられる。そこで、国民健康・栄養調査の平均・標準偏差(SD)と比較したところ、男性、および女性の65～74歳では、国民健康・栄養調査との平均値の差は300歩/日以内であった。それに対し、75歳以上の女性における平均歩数は非常に多く、むしろ、74歳未満より大きな数値となっていた。そのため、次年度における対象者の選抜においては、75歳以上の女性については、活動量が少ない女性に限定する必要があると考えられた。

基礎代謝量(kcal/kg/日)は、65～74歳より、75歳以上の方の値が大きく、現在の基礎代謝基準値にも近かった。現在の基礎代謝基準値が年齢とともに小さくなることを考えると、予想外の結果とも言える。ただし、一方で、体重が小さいと体重当たりの基礎代謝量は大きいという傾向もある。まだ対象者数が十分ではないため、今後の検討が必要である。

E. 結論

75歳以上の高齢者におけるEER算出を主目的として、65歳以上の日本人男女を対象に、TEEやPALなどの測定を開始した。初年度は37名のデータが得られた。そのうち、男性、および女性の65～74歳では、国民健康・栄養調査と近い歩数が得られていたが、75歳以上の女性における歩数はかなり多かった。そのため、今後は、特に75歳以上の活動的でない女性を募集して測定を継続する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

田中茂穂. エネルギー代謝の加齢変化. 高石昌弘監修、樋口満・佐竹隆編著 からだの発達と加齢の科学. 大修館書店, 98-111, 2012

Hikihara Y, Tanaka S, Ohkawara K, Ishikawa-Takata K, Tabata I. Validation and comparison of 3 accelerometers for measuring physical activity intensity during nonlocomotive activities and locomotive movements. J Phys Act Health, 9(7), 935-943, 2012

田中茂穂. エネルギー消費量の構成成分と肥満. 成人病と生活習慣病, 42(5), 527-531, 2012

Tanaka S. Status of physical activity in the Japanese population. J Phys Fitness Sports Med, 1(3), 491-497, 2012

田中茂穂. エネルギー代謝の概論：基礎代謝、食事による熱産生、運動、NEAT. 内分泌・糖尿病・代謝内科, 35(4), 292-301, 2012
三宅理江子, 田中茂穂. エネルギーを知る

・運動を知る－その関係と仕組みを学ぶ－
4 基礎代謝の推定式について. 臨床栄養, 121(7), 786-790, 2012

Hibi M, Ando T, Tanaka S, Tokuyama K. Human calorimetry: energy expenditure and substrate utilization measurements using a respiratory chamber. J Phys Fitness Sports Med, 2(1), 93-99, 2013
Tabata I, Ebine N, Kawashima Y, Ishikawa-Takata K, Tanaka S, Higuchi M, Yoshitake Y. Dietary Reference Intakes for Japanese 2010: Energy. J Nutr Sci Vitaminol, 59(Supplement), S26-S35, 2013

2. 学会発表

田中茂穂. 総エネルギー消費量の変動に寄与する身体活動の種類及び肥満への関与. 第14回日本健康支援学会年次学術大会, 2013

H. 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

表 1. 高齢者を対象とした DLW 法を用いた研究における除外基準に関するレビュー結果

除外基準・選定基準(右の数字は文献	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩
代謝性疾患									○	
内分泌障害		△							○	
動脈硬化性疾患(心筋梗塞、脳卒中、狭心症、鬱血性心不全)			○							
慢性閉塞性肺疾患			○							
糖尿病			○							
悪性疾患(最近5年間の発症)			○							
認知症			○							
がん						○				
重度な疾患			○		△	○	○			○
アルコール依存症									○	
心電図異常			○							
服薬なし		○	○						○	
運動禁忌					△					
酸素吸入						○				
インスリン注射						○				
輸血・静脈内輸液						○				
高強度な身体活動(例:ランニング、エアロビクス)を2.5h/day行っている		○								
0.4km歩くことができる						○	○			
休憩なしで階段を10段のぼることができる						○	○			
DLW期間中に宿泊する旅行がないこと						○				
投薬治療、食事習慣・運動習慣に影響する他の研究に参加していないこと						○				
非喫煙者であること		△								
日常生活に支障がないこと						○	○			○

○: 除外基準・選定基準として明記されている

△: 対象者には含まれていなかったという記述がある(除外した結果かどうかはわからない)

<文献リスト>

①Baarends EM et al., Am J Respir Crit Care Med, 1997

②Sawaya AL et al., Am J Clin Nutr, 1995

③Rothenberg E et al., Eur J Clin Nutr, 1998

④Reilly JJ et al., Br J Nutr, 1993

⑤Bonney M et al., J Am Geriatr Soc, 2001

⑥Blanc S et al., Am J Clin Nutr, 2004

⑦Manini TM et al., JAMA, 2006

⑧Rothenberg E et al., Acta Diabetol, 2003

⑨Yamada Y et al., Eur J Appl Physiol, 2009

⑩Fuller NJ et al., Br J Nutr, 1996

表 2. YAMASA AS-200 を用いて評価した平日の平均歩数 (歩/日)

男性	本研究			H22年国民健康・栄養調査		
	平均	SD	n	平均	SD	n
65～74歳	6481	4599	9	6703	4482	608
75～85歳	4454	2138	7	4482	4115	386
女性	本研究			H22年国民健康・栄養調査		
	平均	SD	n	平均	SD	n
65～74歳	5576	4008	12	5705	3510	714
75～85歳	6211	2675	9	3025	2547	513

表 3. 体重と基礎代謝量の平均値

男性	体重(kg)		基礎代謝量(kcal/kg/日)	
	平均	SD	平均	SD
65～74歳	67.7	11.2	19.2	2.7
75～85歳	56.1	6.0	20.6	0.7
女性	体重(kg)		基礎代謝量(kcal/kg/日)	
	平均	SD	平均	SD
65～74歳	53.0	6.2	19.4	2.3
75～85歳	52.0	7.1	20.7	2.6

平成 24 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）
生活習慣病予防や身体機能維持のためのエネルギー・たんぱく質必要量の推定法に関する基盤的研究

研究代表者 田中 茂穂 国立健康・栄養研究所 基礎栄養研究部 部長

II. 研究分担者の報告書

指標アミノ酸酸化法(IAAO法)に基づくたんぱく質の推定平均必要量の検討
(指標アミノ酸酸化法による日本人高齢者のたんぱく質代謝要求量に関する研究)

研究分担者 木戸 康博 京都府立大学大学院生命環境科学研究科 教授
研究協力者 吉田 英世 東京都健康長寿医療センター研究所 研究副部長
小川 亜紀 京都府立大学大学院生命環境科学研究科 特任研究員

研究要旨

【目的】これまで、指標アミノ酸酸化 (Indicator Amino Acid Oxidation; IAAO) 法による日本人高齢者のたんぱく質代謝要求量の研究報告例はない。そこで本研究では、鶏卵たんぱく質をたんぱく質源とし、日本人高齢者のたんぱく質代謝要求量を IAAO 法により算出した。

【方法】被験者は健康な高齢者(75 歳以上 80 歳未満)男性 4 名、女性 6 名 (延べ 55 名)とし、平均年齢 76.9 ± 0.4 歳、平均体重 54.1 ± 2.3 kg、および平均 BMI は 22.1 ± 0.9 kg/m²であった。被験者は、実験日に、9:00 から 18:00 まで 1 時間ごとに、基礎代謝量 $\times 1.5$ kcal/day の 1/12 量のエネルギーおよび 1 日摂取量の 1/12 量のたんぱく質を含む実験食を摂取した。実験食は、たんぱく質源として玉子焼きを用い、摂取たんぱく質量は、0.5、0.7、0.9、1.0、1.2 および 1.4 g/kg BW/day とした。たんぱく質摂取量が 1.2 g/kg BW/day 以下の場合、1.4 g/kg BW/day での Phe と Tyr 摂取量 (76.6 mg/kg BW および 57.0 mg/kg BW)に達するまで Phe と Tyr をアミノ酸として追加摂取した。指標アミノ酸として、L-[1-¹³C]-フェニルアラニン (¹³C-Phe) を用いた。¹³C 標識物質として 13:00 に¹³C-Phe、¹³C 標識炭酸水素ナトリウム (NaH¹³CO₃) を経口摂取し、14:00 から¹³C-Phe を 1 時間ごとに 5 回、実験食とともに経口摂取した。¹³C 標識物質経口摂取開始より、最後の実験食摂取 1 時間後まで、30 分間隔で呼気を回収し、呼気中¹³C 標識二酸化炭素 (¹³CO₂) 量を赤外分光分析装置により測定した結果を Mixed Effect Change Point Regression Model (ME-CPRM) により解析した。

【結果・考察】13 時の安定同位体の摂取後、すべてのたんぱく質摂取量において急速に呼気中 ¹³CO₂ 量が上昇した。18 時 30 分に採取した各たんぱく質摂取量での呼気中 ¹³CO₂ 量を、ME-CPRM 用いて解析したところ、変曲点は 1.12 g/kg BW/day と算出され、鶏卵たんぱく質をたんぱく質源とした際の健康な日本人高齢者のたんぱく質代謝要求量の EAR は 1.12 g/kg BW/day、RDA は 1.75 g/kg BW/day であった。

【結論】IAAO 法を用いた健康な日本人高齢者(75 歳以上 80 歳未満)のたんぱく質代謝要求量の EAR は 1.12 g/kg BW/day、RDA は 1.75 g/kg BW/day と算出された。

A 目的

たんぱく質必要量の算出には、これまで窒素出納法が用いられてきた^{1,2)}。窒素出納法は、食事等からの摂取窒素量と、皮膚表面や尿、糞等からの排出窒素量を調べ、それらの出納に基づき窒素平衡を維持できる量をもってたんぱく質必要量としている。窒素出納法はたんぱく質栄養研究に最も標準的かつ有効な方法として用いられているが、摂取窒素量を過大評価し、排泄窒素量を過小評価することから、出納値が正に傾きやすいこと³⁾や、被験者および測定者への負担が大きいことが指摘されている。そこで、より簡便な測定法の確立が望まれてきた。

指標アミノ酸酸化 (Indicator Amino Acid Oxidation; IAAO)法は、近年新しく開発された¹³C 標識アミノ酸法の1つである。体内で必要とするたんぱく質が、過不足なく合成されるためには、たんぱく質の構成アミノ酸が、全て揃っている必要がある。体内で必要とするたんぱく質の合成は、第一制限アミノ酸量に依存しているため、摂取する第一制限アミノ酸量が少なければ、たんぱく質合成に利用されなかった他のアミノ酸の余剰分がエネルギーとして利用され、二酸化炭素 (CO₂)として呼気中へ排出される。一方、第一制限アミノ酸の摂取量が増すと、他のアミノ酸のたんぱく質合成への利用量も増加し、アミノ酸の酸化により発生する CO₂の呼気中への排出量も減少する。IAAO 法は、このアミノ酸代謝の反応を利用し、¹³C で標識された指標アミノ酸を経口摂取し、発生する [¹³C]-CO₂ (¹³CO₂)量を測定するものである⁴⁾。

IAAO 法は、現在までにブタやヒトにおいて、不可欠アミノ酸の必要量算出に用いられてきた^{5,6)}が、Humayun ら⁷⁾は、成人男性のたんぱく質必要量の測定に IAAO 法を応用した。その結果、たんぱく質必要量を 0.93 g/kg BW/day と算出し、現行の値より高

値であったと報告した。Humayun ら⁷⁾が行った成人男性を対象とした IAAO 法では、たんぱく質源としてアミノ酸混合物を用いており、アミノ酸混合の消化・吸収機構はたんぱく質とは異なると考えられる。本研究室で、たんぱく質源として鶏卵を用いて、IAAO 法により日本人成人男性および日本人成人女性のたんぱく質必要量 (たんぱく質代謝要求量) を検討した結果、それぞれ、0.89 g/kg BW/day⁸⁾、0.96 g/kg BW/day (卵胞期) (未発表) と算出した。IAAO 法は、適応期間を設けず、習慣的なたんぱく質摂取量におけるたんぱく質代謝応答でのたんぱく質必要量の算出が可能であるため、各ライフステージでの必要量だけでなく、急性期の傷病者に対しても試験の実施が可能である。

これまで、IAAO 法による学童期の子ども⁹⁾、成人男性^{7,8)} や成人女性¹⁰⁾ を対象としたたんぱく質代謝要求量について報告されているが、高齢者での報告はない。また、窒素出納法による高齢者のたんぱく質必要量についての研究報告例も少なく、日本人の食事摂取基準(2010年版)¹¹⁾においても70歳以上で1区分となっている。健康な在宅高齢者と施設入居者や在宅ケア対象の高齢者では、生理機能や生活活動量に差があるため、たんぱく質代謝要求量も異なることが考えられる。本研究では、鶏卵たんぱく質をたんぱく質源とする IAAO 法において、健康な日本人高齢者のたんぱく質代謝要求量の算出が可能であるかを検討し、たんぱく質代謝要求量の算出を試みた。

B 方法

本研究は、京都府立大学倫理委員会の承認(京都府立大学 平成24年承認番号50)を得たうえで行った。

1) 被験者

健康な高齢者(75歳以上 80歳未満)男性4名、女性6名(延べ55名)を被験者とした。各被験者の特徴および自記式食事歴法質問票(DHQ)による食事調査結果はTable 1に示した。被験者は、実験前日および実験中の激しい運動およびアルコールの摂取を避けた。また、前日21時以降は水、お茶および紅茶以外は摂取せず、実験開始まで12時間絶食とした。

2) 実験食

実験食1回の摂取量は、1日のエネルギー摂取量およびたんぱく質摂取量の1/12とした。エネルギー摂取量は、70歳以上の基礎代謝基準値(男性:21.5 kcal/kg BW/day、女性:20.7 kcal/kg BW/day)に個人の体重および身体活動レベルI(1.50)を乗じて算出した¹¹⁾。たんぱく質摂取量は、0.5~1.4 g/kg BW/dayの中で変化させた。食事は、たんぱく質源として全卵を用いた玉子焼き、エネルギー源として、ういろう、粉あめを用いた。各たんぱく質摂取量時の鶏卵たんぱく質の栄養成分組成をTable 2に示した。たんぱく質摂取量が1.2 g/kg BW/day以下の場合、1.4 g/kg BW/dayでのPheとTyr摂取量(76.6 mg/kg BW および 57.0 mg/kg BW)に達するまでPheとTyrをアミノ酸として追加摂取した(Table 3)。また、ういろうは、コーンスターチ、甘藷澱粉、スクロースおよび水を混合して加熱し、冷やしたものを必要エネルギー分切り分けた。粉あめは、必要エネルギー分を紅茶に溶かして摂取した。

3) 実験プロトコール

実験は調整日と試験日の計2日間とした。試験日前日の調整日には、被験者は激しい運動や暴飲暴食を避け、3食の調整食を摂取した。調整日の21時以降は水、お茶および紅茶以外は摂取せず、実験開始まで12時間絶食とした。試験日は9時より実験を開

始し、19時までとした。実験食は実験開始から1時間毎に同量ずつ計10回摂取した。安定同位体の摂取は、5回目の食事より開始し、5回目の食事では、 $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ を0.176 mg/kg BW、L-[1- ^{13}C]phenylalanine (^{13}C -Phe)(99 atom percent excess; Cambridge Isotope Laboratories)を0.66 mg/kg BW摂取した。それ以降では、実験食の摂取終了まで、実験食とともに ^{13}C -Pheを1.20 mg/kg BW摂取した。そして、安定同位体の摂取開始と同時に呼気バッグにて呼気回収を開始し、全ての実験食の摂取終了1時間後までTable 4のとおり呼気を回収した。回収した呼気は、赤外線分光分析装置POCone(大塚電子株式会社)にて呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 量を測定した。

4) 統計学的処理

結果は平均値±標準誤差で表した。変曲点の解析は、18時30分における呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 量を、Mixed Effect Change Point Regression Model (ME-CPRM)¹²⁾を用いて行った。

C 結果

結果は、13時の呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 量をPre値とし、測定値-Pre値(%/kg BW)を $\Delta^{13}\text{CO}_2$ (%/kg BW)として算出し、たんぱく質摂取量ごとの呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 量の経時変化を示した(Figure 1)。

13時の安定同位体の摂取後、すべてのたんぱく質摂取量において急速に呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 量が上昇した。たんぱく質摂取量が0.5 g/kg BW/dayおよび1.4 g/kg BW/dayでの呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 量は、14時以降たんぱく質摂取量の少ない0.5 g/kg BW/dayでは1.4 g/kg BW/dayに比べ高い値で推移した。18時30分に採取した各たんぱく質摂取量での呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 量の比較を行った結果、呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 量は、たんぱく質摂取量を増すにつれ、減少した(Figure 2)。

18時30分での呼気中¹³CO₂量を、ME-CPRM¹²⁾を用いて全てのたんぱく質摂取量で解析したところ、変曲点は1.12 g/kg BW/dayと算出された (Figure 3)。本研究の結果より、鶏卵たんぱく質をたんぱく質源とした際の健康な日本人高齢者(75歳以上80歳未満)のたんぱく質代謝要求量のEARは1.12 g/kg BW/day、RDAは1.75 g/kg BW/dayと算出された。

D 考察

本研究で、鶏卵たんぱく質を用いて算出された1.12 g/kg BW/dayという値は、現行のたんぱく質必要量である0.85 g/kg BW/dayと比較した場合、高値となった。現行のたんぱく質必要量は、窒素出納法で算出されており、窒素出納法で算出される値は最小たんぱく質必要量であるのに対し、IAAO法で算出される値がたんぱく質代謝要求量であり、それぞれの算出値の意味するところが異なるため、本研究結果で高値を示したと考えられた。窒素出納法で算出される最小たんぱく質必要量は、たんぱく質代謝状態を低たんぱく質状態に適応させた状態での窒素平衡維持に必要なたんぱく質摂取量である。したがって、このたんぱく質必要量を下回るたんぱく質量を継続的に摂取すると、たんぱく質欠乏症が発症すると考えられる。一方、IAAO法は、実験毎にそのたんぱく質摂取状態での適応を必要とせず、普通に生活している人が摂取している習慣的なたんぱく質摂取量でのたんぱく質代謝を維持するために必要なたんぱく質摂取量を推定することが出来る。習慣的なたんぱく質摂取量でのたんぱく質代謝状態を変化するためには、5~7日間を要する¹³⁾ので、たんぱく質摂取量を一時的に少ない摂取量に変化させても、習慣的なたんぱく質摂取量でのたんぱく質代謝応答となる。そのため、習慣的に十分量のたんぱく

質を摂取している状態で、IAAO法により算出した値は、習慣的なたんぱく質摂取量でのたんぱく質代謝に必要なたんぱく質代謝要求量と考えられる。したがって、このたんぱく質摂取量を下回るたんぱく質量を継続的に摂取してもたんぱく質欠乏症は発症しにくいと考えられる。

また本研究の結果は、これまでに本研究室で実施した日本人成人男性および女性のたんぱく質代謝要求量の検討結果と比べて、高い値となった。加齢により、最大換気量、腎血流量、肺活量等の生理機能は低下し、体組織では骨格筋が減少し、脂肪は増加傾向となる。高齢者では骨格筋の減少に伴い骨格筋におけるたんぱく質代謝は低下する。しかし、内臓におけるたんぱく質代謝はほとんど変化しない。たんぱく質の代謝回転速度や生理機能の低下が、高齢者のたんぱく質の生体内利用効率に影響を与えていると考えられる。そのため、成人男女に比べてより多くのたんぱく質を必要とすることが示唆される。さらに、成人男性および女性の結果に比べ、個人間の差が大きく (Figure 4)、これは生理機能の低下の個人差によるものであると考えられた。

現在、推定平均必要量および推奨量は窒素平衡を維持する値であり、加齢による除脂肪量の低下を防止できる値であるかどうかは不明である。高齢者のたんぱく質必要量では、骨格筋の変化によるたんぱく質代謝への影響も考慮する必要がある。また、身体活動量が低下すると骨格筋のたんぱく質代謝が低下し、たんぱく質の推定平均必要量は大きくなる。エネルギー摂取量が低い場合にもたんぱく質の推定平均必要量は大きくなるので、高齢者などでは考慮が必要である。

本研究において、被験者は食事調査により習慣的なエネルギー摂取量は、2,170 kcal/day、たんぱく質摂取量は1.6 g/kg

BW/day と算出され (Table 1)、平成 22 年国民健康・栄養調査の 70 歳男女におけるエネルギー摂取量の平均中央値(1694 kcal/day)、たんぱく質摂取量の平均中央値 (1.2 g/kg BW/day)と比較して、高かった。高齢者では、加齢に伴い身体機能が低下し、形態的にも変化が生じる。これらの変化は個人差が大きく、疾病もしくは障害の保有率にも違いが生じている。高齢者では、栄養摂取や身体活動における個人差も大きくなることが予想される。本研究の被験者の栄養摂取量は、国民健康・栄養調査の平均値と比べ高めではあったが、本研究で算出したたんぱく質代謝要求量は、75 歳以上の健康な高齢者が習慣的に摂取しているたんぱく質状態における代謝要求量であると考えられた。また、加齢による身体機能の低下の程度は、高齢になるほどその個人差が大きくなり、それは暦年齢よりも総死亡率と強い相関を示すと報告されている。そのため、高齢者については、暦年齢よりも現在の心身の状態を考慮した適切な栄養摂取を図ることが重要ではないかと考えられた。

E. 結論

IAAO 法を用いた健康な日本人高齢者(75 歳以上 80 歳未満)のたんぱく質代謝要求量の EAR は 1.12 g/kg BW/day、RDA は 1.75 g/kg BW/day と算出された。

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. Rose, W. C.: The amino acid requirements of adult man. *Nutr. Abst. Rev.*, 27: 631-647, 1957.
2. Rand, W. M., Pellet, P. L., Young, V. R.: Meta-analysis of nitrogen balance studies for estimating protein requirements in healthy adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, 77: 109-127 2007.
3. Hegsted, D. M.: Balance studies. *J. Nutr.*, 106: 307-311, 1976.
4. 岸恭一, 木戸康博: タンパク質・アミノ酸の新栄養学. 講談社, 東京, 2007.
5. Ball, R. O., Bayley, H. S.: Influence of dietary protein concentration on the oxidation of phenylalanine by the young pig. *Br. J. Nutr.*, 55: 651-658, 1986.
6. Kriengsinyos, W., Wykes, L. J., Ball, R. O., Pencharz, P. B.: Oral and intravenous tracer protocols of the indicator amino acid oxidation method provide the same estimate of the lysine requirement in healthy men. *J. Nutr.*, 132:2251-2257, 2002.
7. Humayun, M. A., Elango, R., Ball, R. O., Pencharz, P. B.: Reevaluation of the protein requirement in young men with the indicator amino acid oxidation technique. *Am. J. Clin. Nutr.*, 86: 995-1002, 2007.
8. 木戸康博: たんぱく質の出納と生活習慣