令和7年度厚生労働行政推進調査事業費（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業） 総括研究報告書

サプリメント等の摂取量を考慮した栄養素等摂取量と それを反映する生体指標との関連の実態把握のための研究

研究代表者　　松本　麻衣
（国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所　栄養疫学・政策研究センター　室長）

【研究要旨】
日本人の食事摂取基準の改定に資するエビデンス構築にあたっては、丁寧な栄養素摂取量の定量評価とそれを反映する生体指標の把握が重要である。そこで、本研究班では、たんぱく質、ビタミン B_1、ビタミン B_2、ビタミン B_6 に関して、サプリメント等を含む栄養素摂取量と生体指標の関連を評価することを目的とした。令和 7 年度は 1 年目として、大阪府摂津市で実施した「せっつ健康調査」の追加調査として 7 日間のサプリメントも含めた詳細な秤量式食事記録及び血液検査、24 時間蓄尿および二重標識水法を 80 名に実施した。せっつ健康調査と併せて、200 名分（男性 91 名、女性 109 名）のデータを収集し、本研究基盤データを整備した。次年度以降、サプリメント等データベースと連結することによる栄養素摂取量の算出、生体指標分析を進めて、栄養素摂取量と生体指標の関連を解析していく予定である。

研究分担者
朝倉敬子（東邦大学　医学部　教授）
叶内宏明（大阪公立大学　生活科学部　教授）
畑本陽一（国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所　臨床栄養研究センター　室長）

A. 研究目的

日本人の食事摂取基準は、国民の健康の保持・増進、生活習慣病の発症予防・重症化予防を目的として、栄養素摂取量に関する科学的根拠に基づき策定されている。日本人の食事摂取基準（2025 年版）では、栄養素摂取量とそれを反映する特異的生体指標の関連に基づき、ビタミンの推定平均必要量（EAR）やたんぱく質の目標量の策定方針が一部見直されたが、日本人における定量的データは未だ不足している [1]。一方、ビタミンとたんぱく質の摂取量の評価にはサプリメント等の利用の拡がりも考慮すべきであるが、それらの成分値の網羅的データベースは整備されておらず、サプリメント等を踏まえた栄養素摂取量の定量評価とそれを反映する生体指標の同時測定を同一個体で行った報告は見当たらない。

そこで、たんぱく質、ビタミン B_1、ビタミン B_2、ビタミン B_6 におけるサプリメントを含めた栄養素摂取量と生体指標を評価するための調査を実施した。

B. 研究方法

1.　研究デザインおよび対象者

本研究は、大阪府摂津市で実施する「せっつ健康調査」を基盤とした観察研究である。本調査では、1 週間の測定期間を設け、連続 7 日間の秤量式食事記録および二重標識水法

による測定を実施した。また、同期間中に計 4 日間の 24 時間蓄尿を行い、測定期間終了翌日の 8 日目に採血を実施した(図1)。また、測定初日には生体インピーダンス法による体組成測定を実施した(MC-780, TANITA, Tokyo, Japan)。

対象は 18 歳以上を含む 20 歳代から 70 歳以上までの健康な成人男女とし、性・年代別に対象者を確保する計画とした。令和 7 年 9 月から 11 月に実施したせっつ健康調査の参加者 122 名に加えて、本研究課題の遂行のため、令和 7 年 12 月に 80 名の追加参加者を加えた合計 202 名の対象者からデータおよび生体試料を収集した。

2. 調査項目

■栄養素摂取量の評価

対象者の栄養素摂取量を推定するため、サプリメント等も含めて食べたもの、飲んだものすべてを秤量し、記録する連続 7 日間の秤量式食事記録を実施した。なお秤量式食事記録の補助とすべく、モバイル版食事記録アプリを用いてすべての食事について写真の撮影をお願いした。食事記録を始める前には、研究事務局から、食事記録の方法に関する説明を実施した。また、食事記録が終了した次の日に(8 日目)に、食事記録に不備のある点や、抜けている可能性がある食品などを確認するために管理栄養士による聞き取りを実施した。今後、データのクリーニング作業を進め、日本食品標準成分表を用いて、栄養素摂取量を算出する。

■たんぱく質の生体指標の評価

たんぱく質摂取量を反映する生体指標として、24 時間尿中尿素窒素(urinary urea nitrogen: UUN)を評価することとした。24 時間蓄尿は、1 週間の測定期間中に、各対象者につき計 4 回実施した。採尿は 24 時間蓄尿法に基づき、採尿開始時の尿を廃棄した後、以後 24 時間に排泄された尿をすべて採取し、採尿終了時刻の尿を含める方法で行った。採取した尿は総尿量を測定し、十分に混和した後、一部を分注して分析に用いた。尿中尿素窒素は、ウレアーゼ-GLDH・ICDH・UV 法(アンモニア消去法)により測定し、24 時間 UUN 排泄量は、尿中尿素窒素濃度に 24 時間尿量を乗じて算出する。

■血清シスタチン C の評価

腎機能の評価指標として、血清シスタチン C を測定することとした。シスタチン C は糸球体濾過量を反映する血中マーカーであり、血清クレアチニンに比べて筋肉量の影響を受けにくい指標として用いられる。血清シスタチン C の測定は、ラテックス凝集比濁法(latex agglutination turbidimetric immunoassay: LA 法)により実施する。

■ビタミン B_1 の生体指標の評価

・尿中チアミン濃度の測定

尿中チアミン濃度は消費者庁の「食品表示基準について」において栄養成分等の分析方法等として規定されているビタミンB1の分析法[2]に従うこととし、ポストカラム誘導体化-高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法を用いて測定中する。カラムは Unifinepac C18(150 × 4.6 mm, 日本分光)を使用した。尿検体は 2,000 ×g、5 分間、室温で遠心した上清を HPLC 試料としている。

・ETKac の測定

EGRac 測定は Jones らが報告した測定方法に従って行っている[3]。

①試薬調製方法

1) トリス緩衝液(100 mM, pH 7.6)

トリス塩基 12.1g を脱イオン水約 800 mL に溶解し、2M HCl で pH を 7.6 に合わせ、精製水を加えて最終容量を 1 L とした。調製後は 4℃で保存した。

2) チアミンピロリン酸(TPP)溶液 (3.6mg/mL)

TPP 5.0 mg をトリス緩衝液 1.39mL に溶解し

た。用時調製。
3) リボース-5-リン酸溶液(82.5mg/mL)
リボース-5-リン酸 100 mg をトリス緩衝液 1.21 mL に溶解した。用時調製。
4) NADH 溶液(3.75mg/mL)
NADH 5 mg をトリス緩衝液 1.33 mL に溶解した。用時調製。
5) αGDH-TPI 溶液 購入した試薬の unit を確認して使用。
6) Working reagent
トリス緩衝液 20mL、リボース-5-リン酸溶液 1 mL、NADH 溶液 1mL、αGDH-TPI 溶液 32 マイクロ L(34 unit 使用)、1% Tween 溶液 80 μL を混合し、使用まで 4℃で保管した。
②赤血球調製方法
EDTA を含む採血管に血液を採取した後、緩やかに転倒混和した。3,000×g、15 分間、4℃で遠心した上清(血漿)を除去し、続いてバフィーコート(白血球・血小板層)をパスツールピペットで除去した。残った赤血球画分に 0.9% 生理食塩水を 2 mL 添加し、転倒混和した。3,000×g、15 分間、4℃で遠心し、生理食塩水上清を除去した。この洗浄操作(再懸濁→遠心→上清除去)を合計 3 回、上清が透明になるまで繰り返した。最終洗浄後、上清に加えて赤血球層上部約 1 mm を除去し、生理食塩水の残留を可能な限り除去した。分注して-80℃で測定まで保存した。
③測定手順
赤血球に対して 2 倍量(v/v)の超純水を添加後、混和して 10 分間室温で静置し、溶血させる。溶血液を 4,000 × g、10 分間、4℃で遠心し、上清を新しい tube に移した。上清 50 μL にトリス緩衝液を 450 μL(1:10 希釈)添加し、測定試料とする。
測定試料、品質管理(quality control, QC)としてプール赤血球から調製した試料、およびブランクとしてリン酸緩衝液を、96 ウェルマイクロプレートに 23 μL ずつ 4 ウェルに分注する。Basal 活性測定用の 2 ウェルにはトリス緩衝液 12 μL を、Activated 活性測定用の 2 ウェルには TPP 溶液 12 μL を添加する。プレートを密封し、600 rpm で 60 秒間混合後、37℃で 15 分間インキュベートする。その後、各ウェルに working reagent 150 μL を添加し、600 rpm で 30 秒間混合後、直ちに吸光度測定を開始している。
④測定条件
吸光度測定はマイクロプレートリーダーを用い、340 nm にて実施している。測定は kinetic モードで行い、28℃に温度制御した状態で、各ウェルにつき 1 分間隔で 60 回連続測定している。各測定前には 5 秒間のプレートシェイクを行っている。測定開始後の温度平衡化時間を考慮し、最初の 20 回は解析から除外し、後半 20 回の吸光度変化より反応速度(ΔA/min)を算出する。ブランクウェルの吸光度変化の平均値を各試料の値から差し引き、補正後の反応速度を求める。TPP 添加条件下の反応速度を非添加条件下の反応速度で除した値を eETKac とする。

■ビタミン B_2 の生体指標の評価
・尿中リボフラビン濃度の測定
尿中リボフラビン濃度の定量は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いる。尿検体の前処理方法および HPLC 測定条件は柴田らが報告した方法に従う [4]。ただし、カラムは Chromolith Performance RP-18e (100 × 3 mm, Merck) を使用する。リボフラビン標準品を用いて作成した検量線および尿試料測定時の代表的なクロマトグラムを図に示す (図２)。

・EGRac の測定
EGRac 測定は Parkington らが報告した測定方法に従って行う [5]。
①試薬調製方法
1) リン酸緩衝液 (100 mM, pH 7.4)
KH_2PO_4 13.6 g および EDTA 1 g を精製

水約 800 mL に溶解し、10% NaOH で pH を 7.4 に調整後、精製水を加えて最終容量を 1 L とした。調製後は 4℃で保存した。

2) FAD 溶液

フラビンアデニンジヌクレオチド（FAD）3.8 mg を精製水 5 mL に溶解し、中間液（760 μg/mL）を調製した。アッセイ用希釈液（19 μg/mL）は、中間液 50 μL を精製水 4.95 mL に加えて調製した。調製後は分注して冷凍保存した。

3) 酸化型グルタチオン溶液（2 mg/mL）

酸化型グルタチオン 50 mg に 1% Tween 20 を 100 μL 添加し、100 mM リン酸緩衝液で最終容量 25 mL とした。調製後は分注して冷凍保存した。

4) NADPH 溶液（0.6 mg/mL）

NADPH 6 mg を 100 mM リン酸緩衝液 10 mL に溶解して調製した。調製後は分注して冷凍保存した。調製後 1 週間以内で使用する。

②赤血球調製方法

EDTA を含む採血管に血液を採取した後、緩やかに転倒混和した。3,000×g、15 分間、4℃で遠心した上清（血漿）を除去し、続いてバフィーコート（白血球・血小板層）をパスツールピペットで除去した。残った赤血球画分に 0.9% 生理食塩水を 2 mL 添加し、転倒混和した。3,000×g、15 分間、4℃で遠心し、生理食塩水上清を除去した。この洗浄操作（再懸濁→遠心→上清除去）を合計 3 回、上清が透明になるまで繰り返した。最終洗浄後、上清に加えて赤血球層上部約 1 mm を除去し、生理食塩水の残留を可能な限り除去した。分注して-80℃で測定まで保存した。

③測定手順

赤血球に対して 2 倍量(v/v)の超純水を添加後、混和して 10 分間室温で静置し、溶血させる。溶血液を 4,000 × g、10 分間、4℃で遠心し、上清を新しい tube に移す。上清 5 μL にリン酸緩衝液を 1,000 μL（1:200 希釈）添加し、測定試料とする。

測定試料、品質管理（quality control, QC）としてプール赤血球から調製した試料、およびブランクとしてリン酸緩衝液を、96 ウェルマイクロプレートに 60 μL ずつ 4 ウェルに分注する。Basal 活性測定用の 2 ウェルにはリン酸緩衝液 12 μL を、Activated 活性測定用の 2 ウェルには FAD 溶液 12 μL を添加する。プレートを密封し、600 rpm で 60 秒間混合後、37℃で 30 分間インキュベートした。その後、各ウェルにグルタチオン溶液 100 μL を添加し、600 rpm で 2 分間混合する。続いて NADPH 溶液 30 μL を添加し、600 rpm で 30 秒間混合後、直ちに吸光度測定を開始する。

④測定条件

340 nm の吸光度（A）測定はマイクロプレートリーダーを用いる。測定は kinetic モードで行い、28℃に温度制御した状態で、各ウェルにつき 3 分間隔で 18 回連続測定する。各測定前には 5 秒間のプレートシェイクを行う。測定開始後の温度平衡化時間を考慮し、最初の 10 回は解析から除外し、後半 8 回の吸光度変化より反応速度（ΔA/3 min）を算出する。プール赤血球を用いて測定した吸光度の変化を図２に示す（図３）。ブランクウェルの吸光度変化の平均値を各試料の値から差し引き、補正後の反応速度を求めた。FAD 添加条件下の反応速度を非添加条件下の反応速度で除した値を、EGRac とする。

■ビタミン B_6の生体指標の評価

36 μL の血漿に 39 μL の水と 25 μL の 40% トリクロロ酢酸を加えて混和し、60℃で 5 分間、遮光下で加温する。15,000 ×g、5 分間、4℃で遠心し、上清 25 μL を新しい tube に移す。1.25 μL の 5M NaOH、11.5 μL の 3.3 M K2

HPO4 および 5 µL の 400 mM シアン化カリウムを添加する。混和後、60℃で 30 分間遮光下で加温し、10,000g で 5 分間遠心した上清を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）の試料とする。カラムは Chromolith Performance RP-18e（100 × 3 mm, Merck）を用いる。移動相は 0.2% ギ酸（A）と 100%メタノール（B）の混合液（A:B=99.9:0.1）でカラムを平衡化する。流速は 0.3 mL/分とした。サンプル注入量は 5 µL とし、注入後、A:B の比率は 7 分まで 99.9:0.1 を維持、7.5 分までに 40:60 として 9.5 分まで維持、10 分までに 99.9:0.1 として 15 分まで維持した。蛍光検出器を用い、励起波長 325 nm、蛍光波長 418 nm で測定する。

■二重標識水（DLW）法による総エネルギー消費量の評価

総エネルギー消費量は、0 日目の来所時から 8 日目までの期間に二重標識水法を用いて評価し、7 日間の平均総エネルギー消費量を算出した。本研究では、DLW 法のプロトコルとして、Two-point 法を採用した。ベースライン（0 日目）の飲水前に、重水素（^{2}H）と酸素 18（^{18}O）の背景濃縮度を評価するために尿を採取した。先行研究のプロトコル [6, 7] に従い、推定総体水分量（TBW）の約 0.12 g/kg を $^{2}H_2O$（99.8 原子%、大陽日酸、東京、日本）と約 2.5 g/kg の $H_2{}^{18}O$（10.0 原子%、太陽日本酸）を経口摂取した。投与後 3 時間後と 4 時間後に尿を採取した。さらに、8日目の朝に 、1 時間おきに 2 回尿を採取した。測定期間中、対象者には通常の食事および身体活動を維持するよう指示した。

（倫理面への配慮）

本研究は、国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所倫理審査委員会の承認を受けて実施した（承認番号 M2025-004-02）。

C. 研究結果

調査の完遂状況を表1に示す。7 日間食事記録、24 時間蓄尿・血液検体・体組成測定、二重標識水法測定は 200 名（男性 91 名、女性 109 名）であった。

D. 考察

本研究の特徴は、通常食品に加えてサプリメント等を含む栄養素摂取量を詳細に把握し、同一個体で特異的生体指標を測定する点にある。サプリメント利用が広がる中で、通常の食事調査のみでは一部の栄養素摂取量を過小評価する可能性がある。そのため、サプリメント等由来の栄養素を含めた総摂取量と生体指標との関連を評価することは、食事摂取基準の基準値策定や栄養政策上の基礎資料として重要である。

令和 7 年度は、解析結果の提示に先立つ基盤形成の年度であり、調査対象者の確保、食事記録、生体試料収集が主要な課題であった。最終的に完遂者は200名に達しており、当初計画の 180 名を上回るデータ収集を達成した。これらのデータは、令和8年度以降に実施する栄養素摂取量算出、サプリメント等の摂取量評価、生体指標分析、栄養素摂取量と生体指標の関連解析に用いる基盤資料となる。

次年度以降、7 日間食事記録から得られる通常食品およびサプリメント等由来の栄養素摂取量を精緻に算出すること、サプリメント等の成分値データベースを整備すること、現在進行中の生体指標分析を計画的に進める予定である。

E. 結論

令和7年度は、せっつ健康調査および追加調査を通じて、サプリメント等を含む栄養素摂取量と摂取量特異的生体指標との関連を検討するためのデータおよび生体試料を収集した。200 名のデータが得られ、当初計画の 180 名を上回る規模で令和7年度の研究目標を達成

したことにより、令和 8 年度以降に実施する栄養素摂取量算出、サプリメントデータベース作成、生体指標分析、栄養素摂取量と生体指標の関連解析の基盤が整備できた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
   なし
2. 学会発表
   なし

H. 知的所有権の出願・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

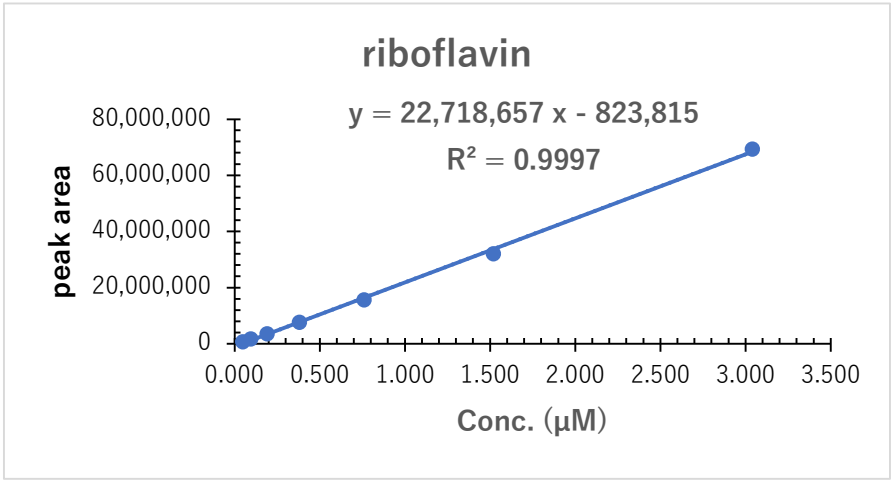
I. 参考文献

1. 厚生労働省. 日本人の食事摂取基準(2025 年版)2024.
2. 消費者庁. 消食表第 139 号の別添 栄養成分の分析方法 2015.
3. Jones KS, Parkington DA, Cox LJ, Koulman A. Erythrocyte transketolase activity coefficient (ETKAC) assay protocol for the assessment of thiamine status. Ann N Y Acad Sci. 2021;1498:77-84.
4. 柴田克己. 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究. II.水溶性ビタミン関連化合物の定量方法. 2. ビタミン B2 定量方法. 平成 15 年度厚生労働科学研究費. 2004:19-31.
5. Parkington DA, Koulman A, Jones KS. Protocol for measuring erythrocyte glutathione reductase activity coefficient to assess riboflavin status. STAR Protoc. 2023;4:102726.
6. Hatamoto Y, Tanoue Y, Tagawa R, et al. Greater energy surplus promotes body protein accretion in healthy young men: A randomized clinical trial. Clin Nutr. 2024;43:48-60.
7. Hewitt MJ, Going SB, Williams DP, Lohman TG. Hydration of the fat-free body mass in children and adults: implications for body composition assessment. The American journal of physiology. 1993;265:E88-95.

◆測定内容：ウェブ調査、食事記録調査、24時間畜尿、総エネルギー消費量測定（DLW）、水代謝、血液検査、体組成・体力測定、
24時間持続血糖モニタリング、活動量計調査



図 1　調査スケジュール



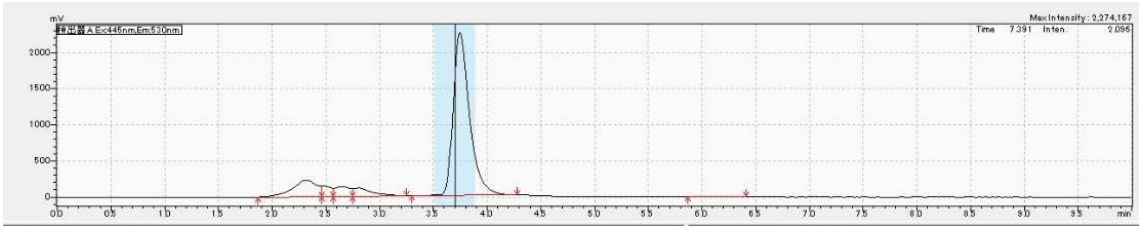


図２．リボフラビン標準溶液より作成した検量線および尿試料測定時の代表的なクロマトグラム．リボフラビンのリテンションタイムは 3.75 min.

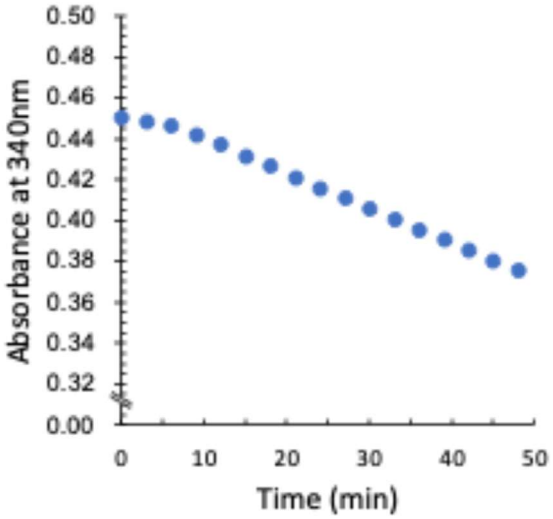


図３．プール赤血球における FAD 非添加条件下の吸光度変化

表 1　食事記録、24 時間蓄尿、血液検査、二重標識水法を完遂した対象者

年齢階級	Total	男性	女性
～29	43	20	23
30～39	33	13	20
40～49	47	20	27
50～59	39	17	22
60～69	26	13	13
70～	12	8	4
Total	**200**	**91**	**109**