

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（栄養所要量）の策定に関する基礎的研究

平成 16 年度～18 年度 総合研究報告書

主任研究者 柴田 克己

I. 総合研究報告

8. 成人におけるビオチンの目安量についての検討

分担協力者	渡邊敏明	兵庫県立大学	教授
研究協力者	榎原周平	兵庫県立大学	助手
研究協力者	木村幸子	兵庫県立大学	助手
研究協力者	谷口歩美	兵庫県立大学大学院	学生
研究協力者	福井 徹	病体生理研究所	室長

要旨

ビオチンは、カルボキシラーゼの補酵素として、炭酸固定反応に関与している。β-メチルクロトニ CoA カルボキシラーゼは分岐鎖アミノ酸のロイシンの分解に必要な酵素であり、ビオチン欠乏すると、尿中に 3-ヒドロキシイソ吉草酸 (3-hydroxyisovaleric acid:3-HIA) が増加することから、ビオチン栄養状態の指標として注目されている。日本人の食事摂取基準 2005 年版において、成人の目安量は 45μg/日と策定されたが、科学的根拠は十分ではない。食物や食物とサプリメントからのビオチン摂取の全国的に典型的な概算量というものは全くない。また、ビオチンの上限量の基準について十分なデータはない。そこで、本研究においては、ビオチン摂取量の新しい算出方法を検討するとともに、トータルダイエツト調査法を用いてビオチンの摂取量を算出した。得られた結果と、これまでの報告と勘案すると、ビオチンの目安量は 50μg/日が妥当と考えられる。

1. はじめに

ビオチンは1927年、酵母の成長促進の有機成分として Boas によって発見された。

この成分はビオス (bios) とよばれ、その後三つの異なった成分からなることが明らかになった。その一つのビオス II b がビオチンで、Kogl と Tonnies(1936)によって卵黄からメチルエステル化合物として単離、結晶化された。

一方、実験動物においては生卵白を多量に与えると、皮膚炎や脱毛などの特徴的な症状が引き起こされる卵白障害 (egg white injury) が知られていた。これらの症状は肝臓に存在する因子によって治癒することができた。

また、これとは別に、Gyogy(1931)も肝臓に存在する同様の因子を見出し、ビタミン H (Haut:皮膚の意) と名づけた。この因子は卵白障害防御因子とも呼ばれたが、根粒菌 (*Rizolium trifolii*) に存在している成長呼吸促進因子 (コエンザイム R: coenzyme R) と同じものであった。このほか、factor S, factor W, vitamin Bw などとも呼ばれたが、後にビオチンとビタミン H は生理学的、生化学的、生物学的に同一の特性をもつことが認められた。さらに、du Vigneaud ら (1940), Harris ら (1945) によってビオチンの構造が決定され、化学合成も可能になった。ビオチンの異性体として、卵黄および肝臓に存在しているビオチンをそれぞれビオチン α , β と区別した。

その後、ビオチンはカルボキシラーゼの補酵素として炭酸固定や炭酸転移反応に直接関与していることが判明し、さらに種々

のビオチン酵素の機能を介して糖新生、アミノ酸代謝、脂肪酸合成に重要な役割を果たしていることが明らかになった。一方ではビオチンの生合成経路の解明や定量法の開発がされ、ビオチン含有酵素異常による先天性代謝異常症をはじめ臨床面のビオチンの研究も進み、皮膚疾患や種々の疾患においてビオチンとの関連性に興味もたれている。また、ビオチンの新しい生理機能として、胎児の発育・分化における成長因子 (growth factor) としての役割も解明されつつある。

2. 生化学的特性

2-1 化学的構造

ビオチンは卵黄、ウシ肝臓およびミルクから初めて結晶化され、その化学名は (+)-cis-hexahydro-2-oxo-1H-thieno[3,4]-imidazole-4-valeric acid で、分子量は 244.3 である。天然に存在するビオチンは D 型で、2つの5員環の結合がシス配位し、絶対配位は X線解析によって決定されている。ウレイド環を形成する6個の原子 (C,N,O) は同一平面上にあり、環状部分は舟型をしている (図1)。

5員環部分は輸送タンパク質やアビジンとの結合に重要な役割を果たし、特にアビジンやストレプトアイジンとは特異的に強固な結合 ($K_d=10^{-15}M$) をする。吉草酸部分はビオチン補酵素のペプチド結合への関与や細胞内取り込みの際の認識部位となっている。

2-2 測定方法

ビオチンの定量は微生物学的定量法 (microbioassay), アビジンやストレプトアビジンとの結合法 (バインディングアッセイ, binding assay), 高速液体クロマトグラフィ (HPLC) 法に大別できる。

ビオチンは大部分がタンパク結合型であるため, 総ビオチンの定量には前処理が必要である。酸加水分解やパパインによる酵素処理によって遊離型とする。

生体試料の場合には微生物学的定量法が一般的であり, 特異性も高いため, 試料の分離精製が不要である。測定には特異性の点で乳酸菌の *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 を使用する場合が多い。しかし, 報告者によってヒト血清での基準域にバラツキがある。この中でも比濁法を改良した寒天プレート法は簡便性, 測定範囲, 精度, 感度などにおいて優れている。この方法での基準域は血清 1.6~3.0 ng/mL, 尿 4.0~25.0 μ g/g クレアチニンである。また, 非処理血清のビオチン (遊離型) 濃度は健常人において 0.4~1.1 ng/mL である。

バインディングアッセイは競合的タンパク結合反応を利用したもので, 酵素やラジオアイソトープを標識したビオチンと試料中のビオチンとをアビジンもしくはストレプトアビジンに競合させる方法で, 検出法としては比色法, 同位体希釈法が行われてきたが, 最近では電子スピン共鳴法, バイオセンサー法も報告されている。

HPLC 法はある程度の試料の精製が必要であり, 電気化学検出 (ECD), ラジオアイソトープ, 蛍光, 分離後のバインディングアッセイとの組み合わせで測定されている。

最近の HPLC による血清ビオチン値は 1.7 \pm 0.6 ng/mL である。

3. 生理作用

3-1 カルボキシラーゼ

ビオチンの生理作用は直接的にはビオチン酵素の補欠分子族としてカルボキシル化反応への関与であり, 間接的にはそれらの酵素反応が関与する糖新生, 分岐鎖アミノ酸代謝, 脂肪酸合成, エネルギー代謝である。ビオチンの欠乏はビオチン酵素を介して体内代謝に影響し, 特定の代謝物の体内レベルや尿中排泄量の増減として現れる。

ビオチンは哺乳動物の中で見出される 4 つのカルボキシラーゼの補酵素として機能するが, それはそれぞれビオチンと共有的に結合している

(Bonjour,1991;McCormic,1976)。4 つのカルボキシラーゼのうち 3 つはミトコンドリア内 (pyruvate carboxylase, methylcrotonyl-CoA carboxylase, propionyl-CoA carboxylase) にあるが, (acetyl-CoA carboxylase) はミトコンドリアと細胞質内に見出される。acetyl-CoA carboxylase の非活性型はミトコンドリア内でビオチンの貯蔵として提供することが求められてきた (Allred and Roman-Lopez,1988; Allred et.al.,1989; Shriver et. Al./1993)。

アセチル CoA カルボキシラーゼはアセチル CoA のマロニル CoA への反応を進め, 脂肪酸合成に関与する。

ピルビン酸カルボキシラーゼはピルビン酸をオキサロ酢酸に変える。そして, 肝臓, 腎臓などでグルコースに変えられる。ビオ

チン欠乏で本酵素の活性が低下すると、ピルビン酸や乳酸の蓄積が起こる。脳においては乳酸の蓄積によって緊張低下、けいれん、運動失調、発育遅延など、神経系症状と関連している。

β -メチルクロトニ CoA カルボキシラーゼは分岐鎖アミノ酸のロイシンの分解に必要な酵素であり、ビオチン欠乏によって本酵素の活性は低下し、ロイシンは他の経路によって3-ヒドロキシイソ吉草酸

(3-hydroxyisovaleric acid:3-HIA) と3-メチルクロトニルグリシン

(3-methylcrotonylglycine) の産生が増加する。

プロピオニル CoA カルボキシラーゼはプロピオニル CoA をD-メチルマロニル CoA の形にする。その後、スクシニル CoA になり、ひきつづいてTCAサイクルに入る。本酵素の活性低下は尿中に3-ヒドロキシプロピオン酸と3-メチルクエン酸排泄の増加として現れる(図2)。

細胞内タンパクの正常な分解ではこれらのビオチン含有酵素はビオシチン

(ϵ -N-biotinyl- L-Lysin) あるいはビオチン結合のリジン残基を含む短鎖のオリゴペプチドに分解される(Mock,1996)。ビオチニダーゼ(初期はビオシチナーゼと呼ばれていた)は加水分解酵素であるが、このオリゴペプチドを再利用するためにビオチンを遊離する(Mock,1996)。

分子生物学的にはグルコキナーゼ、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ、オルニチントランスカルバミラーゼの mRNA への影響が報告されている。また、

細胞分裂などの細胞周期の進行に必須であることが判明している。

3-2 3-Hydroxyisovaleric acid 排泄

最も重要な程度を実証されてきたビオチン状態の指標は尿中へのビオチン排泄の異常な減少と3-Hydroxyisovaleric acid の異常な増加である(NI Mock et al.,1997)。生卵白摂食の健常者で劇的にビオチンの尿中排泄が減少し、10名中9名で20日目までには著しく異常な値に到達した。Bisnorbiotin 排泄は併行して減少し、ビオチンの調節された異化の証拠を与えている。生卵白摂食14日までに10名全員で3-Hydroxyisovaleric acid 排泄は異常に増加(195 μ mol/day以上)し、ビオチンの消耗が β -methylcrotonylCoA の活性を減少させ、ビオチン欠乏症において比較的早期にロイシン代謝を変化させる(NI Mock et al.,1997)。

正常範囲は77-195 μ mol/day

(MEAN \pm 1SD:112 \pm 38)、ビオチン欠乏10日で272 \pm 92 μ mol/dayであった。ビオチン排泄の異常低下と3-Hydroxyisovaleric acid の異常増加、あるいは両者は明らかな数例のビオチン欠乏症例で報告されている(Carlson et al.,1995; Gillis et al.,1982; Kien et al.,1981; Lagier et al.,1987; Mock et al.,1981,1985)。これらの指標については性別による差は明らかではない。

4. 体内動態

4-1 吸収・代謝・排泄

ビオチンは食物中で遊離ビオチンとタンパク結合型として存在する。タンパク結合

型ビオチンの腸内加水分解のメカニズムは十分に特徴づけられていわずに生物学的利用能に影響を及ぼす要因が知られているにすぎない。最も多くの食事性ビオチンは肉と穀物の中でタンパクと結合していることは明らかであるが、穀物中ビオチンは生物学的に利用できにくいことが明らかである (Mock,1996) アビジン、これはかなりの量が生卵の卵白に見出されるものであるが、小腸内でビオチンと結合し、ビオチン吸収を妨げることが示されてきた

(Mock,1996) .

ビオチンダーゼはタンパクとの共有結合からのビオチンの解離において重要な役割を果たすと考えられている (Wolf et al.,1984) . ビオチンダーゼ欠損症の人に食事性摂取と見積もられた 50-150 $\mu\text{g}/\text{day}$ の範囲内の遊離ビオチンの投与は、ビオチンダーゼ欠損症にみられる症状を防止し、ビオチンダーゼ欠損症がビオチン結合タンパクの消化、あるいは不適當な腎臓再吸収、またはその両方の欠如を通じたビオチン欠乏症との関連の結果であることを示してきた。

4-2 腸管吸収と微生物合成

腸管境界膜ブラシ中に局在するビオチンキャリアーはナトリウムイオン濃度勾配に対抗してビオチンを運搬し、構造的に特異的で温度依存性であり、電気的中性である。すなわち、薬理的濃度においては拡散が支配する (Mock,1996) .

ビオチンは腸内細菌叢によって合成される (Bonjour,1991) .ビオチン吸収の中間輸

送体はラットの小腸基部において最もアクティブであり、結腸基部からのビオチンの大事な吸収が起こっている。そしてそれは、結腸の中での微生物合成されたビオチンがヒト要求量を満たすことに寄与している、という概念を立証させている。ビオチンの結腸点滴後の血中濃度上昇の報告ではビオチンはヒト結腸から吸収されていたことが明らかである (Innisa and Allardyce,1983, Oppel,1948,Sorrell,1971) . しかしながら、Kopinski とその同僚たち (1989) は、腸内細菌叢によって合成されたビオチンは局在せず、またはビオチン吸収に寄与する形では存在しないのかもしれないことを示している。

4-3 運搬

吸収後のビオチンの肝臓や他の臓器への運搬はそれほどよく確立されていない

(Mock,1996) . ビオチンダーゼはたぶんビオチン血漿中の結合タンパクとしての役割として、あるいはビオチンに細胞への取り込みを助けるものとして扱われている

(Chauhan and Dakshinamuruti,1988;Wolf et al.,1985). 他の研究は血清中のビオチンは80%以上が非結合であることを示唆している (Hu et al.,1994; Mock and Malik,1992 Schenker et al.,1993) . ビオチンに対して比較的特異的な腸管輸送と似てきている酸アニオンキャリアーは肝臓細胞による取り込みを介在することは明らかである

(Bowers-Komro and McCormic,1985) . 胎盤へのビオチンの取り込みと胎児への輸送はビオチンに対して特異的であることが証

明され、解明された(Hu et al.,1994; Karl and Fisheer,1992; Schenker et al.,1993)が、胎児はビオチンを濃縮せず、胎盤輸送は通過であることが明らかである。

4-4 代謝と排泄

ビオチンの多数の代謝物の分離と化学的
同定は微生物と哺乳類での利用の主な特徴
が解明されてきた (MacCormik,1976;
MacCormic and Wright,1971) . 約半分のビ
オチンは排泄前に代謝され、Bisnorbiotin と
Biotin sulfoxide になる。ビオチン、
bisnorbiotin, Biotin sulfoxide はヒト尿と血漿
中に分子量としてほぼ3:2:1の割合で存
在する (Mock,1996) . それ以外の少量の2
つの代謝物, bisnorbiotin methyl ketone, biotin
sulfone は最近になってヒト尿中から同定さ
れた (Zempleni et al.,1997) . ビオチンの尿
中排泄と血清中濃度, その代謝物は多量の
ビオチンの静脈または経口投与においても
ほぼ同様の形態で増加する (Mock and Heird,
1997; Zempleni et al., 1997) .

5. ビオチン欠乏症

5-1 食事性欠乏症

ビオチン欠乏障害を最初に報告したのは
Boas(1927)である。多量の生卵白飼料を与え
たラットに脱毛を伴った湿疹性の皮膚炎を
観察した。その後、多くのげっ歯類や小型
の哺乳動物では、卵白飼料を長時間与え
ると、体重の減少に伴って口周囲に赤色鱗状
斑や眼瞼の炎症を生じ、体毛が粗になり脱
毛が現れる。特に眼瞼周囲の脱毛(眼鏡状
脱毛: spectacle eye), 後肢のけいれん, 異

常姿勢(カンガルー様姿勢)などが特徴的
である。これらは卵白に含まれているアビ
ジンが消化管内でビオチンと特異的に結合
し、腸管からのビオチン吸収を阻害してい
るためである。これらの症状はビオチンの
飼料への添加や皮下注射により速やかに消
失する。

ヒトでの臨床所見は顔面周囲の皮膚炎,
結膜炎, 脱毛, 運動失調, 緊張低下, ケト
乳酸アシドーシス, 有機酸尿, けいれん,
皮膚感染, 乳児や幼児の発育遅延である。
さらに、慢性的に生卵白を摂取した成人や
青少年では毛髪の色を伴う脱毛, 落屑性
の脂漏性湿疹, 紅斑性湿疹, うつ, 嗜眠,
幻覚, 四肢の感覚異常がみられている。

免疫系では細胞性, 体液性の免疫機能に
おいて影響が現れ, 先天性ビオチン代謝異
常の小児においてカンジダ皮膚炎が観察さ
れている。このような小児では皮内テスト
で反応が遅く, IgA 欠乏やT細胞の割合が
低い。ラットでは抗体産生が低下し, マウ
スではビオチン依存性カルボキシラーゼの
活性の低下, 脾臓B細胞数は減少するが,
T細胞の割合は増加する。

5-2 臨床的欠乏症

ヒトにおけるビオチン欠乏症の兆候は長
期にわたる生卵白の摂取した健常人 (Baugh
et al., 1968) と short-gut 症候群を含む吸収不
全患者でのビオチン添加前の総合静脈栄養
(TPN) (Mock et al.,1981) で最終的に証明
された。ビオチン欠乏症の臨床的知見は皮
膚炎, 結膜炎, 脱毛, 中枢神経系障害を含
む (Mock,1996) .

成人において1ヶ月から1年の生卵白の摂取とビオチンを含まないTPNを受けることは薄毛，と頻繁に髪の毛の脱色を伴うことが報告されている．大部分の欠乏症の成人は頻繁に眼，鼻，口のまわりに，赤く，うろこ状の皮疹がある．大部分の成人は抑うつ，無気力，幻覚，末端の知覚異常を含む中枢神経系の症状がある．

ビオチンを含まないTPNで幼児はビオチン欠乏症の症状はTPN開始後3から6ヶ月の摂取で現れ始め，これは成人の場合よりも早期であり，多分成長に関連したビオチン要求の増加によるものであろう

(Mock,1996)．関連した皮疹は口，眼，鼻の周りに最初に現れる．これらの幼児に共通して観察される皮疹と異常に広がった太った顔はビオチン欠乏顔貌とよばれている．皮疹の広がりと同時に，耳と会陰開口部が冒される．結果として生じる皮疹は皮膚カンジダ症（通常，病巣から培養できるCandidaからそのように名づけられている）のそれと現れ方が似ており，亜鉛欠乏小に見られるそれと全くよく似ている．TPNの6から9ヶ月後の幼児において脱毛が特徴である．2名の幼児は脱毛開始の3から6ヶ月以内で眉毛とまつげを含む総ての毛がなくなってしまった(Mock,1996)．ビオチン欠乏症幼児では，特徴的な自閉性に伴っての低血圧，倦怠，発達遅延がビオチンの欠如に起因した中枢神経系疾患の総ての特徴である．自閉的行動は成人での中枢神経機能机上に基づく抑うつに相当するものかもしれない．

5-3 遺伝性欠乏症

アセチル CoA カルボキシラーゼとプロピオニル CoA カルボキシラーゼは前者が脂肪酸合成，後者がコレステロール側鎖および奇数鎖脂肪酸の代謝に直接関与するビオチン酵素であるが，ビオチン欠乏により引き起こされたこれらの酵素の活性低下は肝臓，皮膚，血清中の脂肪酸の割合を変化させ，特に奇数鎖脂肪酸の割合を増加させる．

ヒトのビオチン欠乏症は，先天性代謝異常症としてビオチンダーゼ欠損症，カルボキシラーゼ欠損症，栄養性ビオチン欠乏症として大量の生卵を摂取した者，特殊ミルク摂取の乳幼児，長期にわたりビオチン無添加の高カロリー輸液を受けた患者などにみられる．

ビオチンダーゼ欠損症は活性低下によって細胞内ではカルボキシラーゼの分解によるビオチンのリサイクルに障害を起し，細胞外ではビオシチンあるいはビオチンペプチドからのビオチンの遊離，細胞内へのビオチン取り込みの低下を起し，結果的にビオチン欠乏を引き起こす．血清ビオチンダーゼ活性が正常平均値の10%以下を完全欠損，10%~30%を部分欠損としている．

カルボキシラーゼ欠損症は単一あるいは多数のカルボキシラーゼ欠損がある．マルチプルカルボキシラーゼ欠損症は新生児・乳児型と遅発・乳幼児型があり，前者はホロカルボキシラーゼ合成酵素の欠損でビオチン薬理量のビオチン経口投与によってカルボキシラーゼ活性は正常に戻るが，後者は繊維芽細胞のカルボキシラーゼ活性は正

常であり、腸管でのビオチン吸収異常によって起こる。

これらの先天性代謝異常症に対して5～40mg/日のビオチン投与が一般的である。

栄養性ビオチン欠乏症は先天性代謝異常症とは異なり、腸管から吸収されるビオチンの不足によって引き起こされる。そのうち卵白障害の実験(Sydenstricker,1942)では、毎日200gの乾燥卵白を与えたとき、7週以降では体内のビオチン低下に伴って皮膚の発赤、疲労感、筋肉痛、知覚異常、嘔吐などの症状が現れ、血液学的にもヘモグロビン減少、コレステロールの増加などが観察されている。これらの症状はビオチン150 μ g/日を投与すると3～5日後に消失し、尿中ビオチンも正常にもどっている。

摂取不足によるビオチン欠乏症として、わが国ではアレルギー治療用特殊ミルクやメチルマロン酸血症治療用ミルクの摂取によるビオチン欠乏症、またビオチン無添加の高カロリー輸液によるビオチン欠乏症も報告されている。

5-4 その他のビオチン関連疾患

糖尿病では、インスリン依存性糖尿病でビオチン内服により絶食時血糖の低下が観察され、ビオチン欠乏ラットではインスリン分泌応答が低下し、ビオチン投与によって回復すること、さらにインスリン抵抗性糖尿病ラットへのビオチン投与による筋肉への糖の取り込みの実験においてビオチンはインスリン抵抗性を改善することが示唆されている。

乳幼児の脂漏性湿疹、レイナー病(Leiner's

disease: 落屑性紅皮症)で血中、尿中のビオチンが低下している。これは母乳中ビオチンの不足や腸管からのビオチン吸収障害が考えられている。一般に乳児では母乳からのビオチン供給が妨げられると、容易にビオチンの不足状態になる。突然死の乳幼児の肝臓ビオチン量が先天異常などを原因として死亡した乳幼児と比べ低くなっていることから突然死にビオチンの関与が考えられている。

掌蹠膿疱症性骨関節炎や乾癬、アトピー性皮膚炎がビオチンの大量投与によって改善が見られる例があり、ビオチンの免疫機能やアミノ酸代謝への関与が考えられている。

長期血液透析患者でもビオチン欠乏症状と種々の神経障害がみられ、ビオチン投与により神経症状の改善が報告されている。

抗けいれん剤の長期投与で血中ビオチン濃度の低下と有機酸の増加が認められている。特にプリミドンやカルバマゼピンは腸管でのビオチン吸収を妨げることが判明し、フェノバルビタール、フェニトイン、カルバマゼピンはビオチニダーゼとビオチンの結合を阻害し、細胞への取り込みに影響があると考えられている。

6. ビオチン欠乏の催奇形性作用

ビオチン欠乏は数種類の動物で催奇形性作用が報告されているが、哺乳動物ではげっ歯類において、ラットを妊娠前からビオチン欠乏状態にすると、胎仔や出産仔の数や体重の減少、吸収胚、死亡胎仔の増加がある。しかし、形態異常は認められていな

い。マウスでは妊娠中のビオチン欠乏は胎仔の奇形や死亡を著しく増加させる。主な形態異常は口蓋裂，小顎症，短肢症で，骨格は下顎骨，頭骸の低形成や頸椎弓の異常が特徴的である。ハムスターにおいても胎仔発育の抑制や吸収胚，死亡胎仔の増加があり，生存胎仔には妊娠中期から形態異常や骨格異常がみられる。げっ歯類の中での催奇形性の違いは母体から胎仔へのビオチン輸送の違いによって起こるものと思われる。

ビオチン欠乏によって生じた脂質代謝の変化がビオチン欠乏のヒナの発育と骨格に影響を及ぼしている可能性も報告されている。

雄の哺乳動物の生殖器およびその付属機関においても，長期間のビオチン欠乏状態で前立腺や精巣の萎縮，細精管の変性があり，ビオチンは雄性生殖腺の発育，機能維持に必要であり，性ホルモン合成と分泌に関連している。

7. 疫学調査

7-1 成人

部分欠損を含む先天的なビオチンダーゼ欠損症，ビオチン依存性のカルボキシラーゼ欠損症，特殊ミルクやビオチン無添加の高カロリー輸液によるビオチン欠乏症などはごくまれである。

このうち，先天性代謝異常症としてのビオチンダーゼ欠損症は，わが国ではこれまで完全欠損が1例のみで，部分欠損症の報告は数例に過ぎない。

海外では部分欠損を含む先天性ビオチン

ダーゼ欠損症の頻度は新生児の6万人に一人の割合であり，それも白人に限られている。単独のカルボキシラーゼ欠損症として最多のプロピオニル CoA カルボキシラーゼ欠損症の推定頻度は35万人に一人の割合である。他のカルボキシラーゼ欠損症の発生頻度はさらに低い。

わが国におけるビオチン欠乏症は，日常遭遇する疾患の中でのビオチン欠乏や依存症の可能性が推測されているが，データの蓄積は不十分である。

一方，健常者を対象とした血清，血漿，尿中ビオチン濃度は測定法，報告者によりさまざまである。

7-2 乳児

一方で母乳中，健常成人の血清中濃度や尿中濃度も測定されているが，いずれも小規模なものであり，さらに健常小児については困難な点が多く，日本人のビオチン必要量を推定するには至っていない。

8. 摂取基準

健常者の食品からのビオチン吸収と血中濃度，尿中排泄との関係，どの程度の食品中濃度でビオチン欠乏を起こすかという情報からビオチンのEARを推定し，栄養所要量を算出するためのデータは現状ではきわめて不十分である。最も重要な課題は通常食品中のビオチン濃度と生物学的有用性の測定が確立していないためである。

食品中ビオチン濃度は前述したように測定法の課題が残っており，生物学的有用性についても Mock らが HPLC とアビジン結

合法によってビオチンとビオチン代謝物の分別定量を報告したが、研究は緒についたところである。ヒト母乳が唯一ビオチン代謝物を含めて測定されてきた食品であり、初乳および成乳までの過渡的な母乳のビオチン代謝物濃度はビオチン濃度を上回るが、成乳ではビオチンは約 70%となる。この意義付けも明確ではない。また、多くの食品におけるビオチンの存在形態はタンパク結合であり、ビオチン測定のための前処理段階でビオチン自体の分解も問題となる。酸加水分解法では母乳の場合、ビオチンの 12~37%破壊されたと報告されており、食品中のビオチン濃度を真の値よりも低く算出することになる。

測定法の確立と標準化が焦眉の課題である。

8-1 目安量

所要量の指標に関してはビオチンが含まれない輸液を受けている患者、先天性代謝異常、大量の生卵白摂取によるビオチン欠乏症など、限られた症例やビオチンの生物学的利用や体内動態の研究を参考とする以外にない。

ビオチン欠乏の指標として、血清あるいは血漿ビオチン濃度があるが、生卵白摂取者の 50%、明らかなビオチン欠乏症の例でも低下が認められず、必ずしも良い指標とはいえない。

また、ビオチン欠乏によるプロピオニル CoA カルボキシラーゼ活性低下に伴って、血漿脂質の奇数鎖脂肪酸が蓄積され、コレステロールエステル、リン脂質、トリグリセ

リド、遊離脂肪酸の増加があるが、組成の変化が一定ではなく、この測定の感度と臨床的有用性は残された課題である。

尿ではビオチン欠乏によって尿中排泄が異常低下し、 β -メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼの活性低下によるロイシン代謝の変化で 3-HIA の異常増加があり、同時にビスノルビオチンの排泄も減少し、ビオチンの生物学的有用性の低下を表している。3-HIA は比較的早期に出現し、ビオチン欠乏の良い指標といわれている。

9. ビオチン摂取

9-1 食事からの摂取

US.DACS, NAANES[□], BNSS はビオチン摂取を報告していない。Murphy と Calloway(1986)は NHANES[□]からのデータを用いて、18 歳から 24 歳の若い女性の摂取量平均を 39.9 ± 26.9 (SD) $\mu\text{g/day}$ と概算した。この結果は人工の Canadian diet(62 $\mu\text{g/day}$)中のビオチンの食事性摂取の概算量と、実際の食事分析 (60 $\mu\text{g/day}$) (Hopper et. Al, 1978) よりもかなり低い。英国の成人と小児に対する計算上の平均摂取量は US の概算, 33 と 35 $\mu\text{g/day}$ (Bull and Buss, 1982; Lewis and Buss, 1988) と近似していた。

食品中のビオチン濃度は微生物学的定量法が使われている。ビオチンは種々の食品に含まれ、他のビタミン B 複合体とともに存在している。特にローヤルゼリー (約 400 $\mu\text{g}/100\text{g}$), 酵母 (200 μg), レバー (100 μg), 卵黄 (50 μg) や魚肉 (20 μg) などによく含まれているが、肉 (2~10 μg), 野菜 (2~10 μg),

果物 (1~3 μ g) には少ない。また、食品加工や保存加工によって損失し、残存率は 20~90% (肉では 70%) である。西洋人の食事からのビオチン摂取量は 35~70 μ g/日 (143~287nmol/日) と推定されている。

これまでの各国の報告で、ビオチン濃度は 3.9~12.7 μ g/L の範囲で平均 6 μ g/L である。成乳 750mL/日を飲んでる乳児はビオチン摂取量は 4.5 μ g/日である。腸内細菌叢のビオチン産生がどのように関係しているかは不明である。

9-2 サプリメントからの摂取

1986 年の NIHS によれば、約 17% の US の成人はビオチンを含むサプリメントを服用している (Moss et.al, 1989)。サプリメントからの摂取量について特にデータは得られていない。

ビオチンサプリメントはビオチン摂取に十分役立つものと思われる。ビオチンは哺乳動物の妊娠、胎仔発育・分化、乳児の成長の維持に関与しており、胎仔の形態形成過程において細胞増殖因子として重要な役割を果たしている。乳幼児の食品である調製粉乳は、牛乳が粉ミルクとなる過程とその希釈化によってビオチン総量や生物活性は著しく減少するため、WHO はビオチン添加を勧告し、世界中の粉乳にはビオチンが添加されるようになった。例外はわが国である。わが国の粉ミルク中のビオチン量は母乳や FAO/WHO の推奨値に比べ低値であり、添加されていないために引き起こされた、アレルギー治療用特殊ミルクやメチルマロン酸血症治療用ミルクの摂取によるビ

オチン欠乏症が報告されている。ビオチン添加を早急に実施する必要がある。

ビオチンはまた、高血糖やグルコース利用能との関連が示されており、その他の潜在的なビオチン欠乏状態による疾患も推測され、ビオチンの食品添加物としての有用性に期待できる。

10. ビオチン必要量に影響する因子

ビオチン所要量に影響する因子がいくつか確認されている。すなわち、□大量の生卵摂取の場合、これはビオチンと結合する基質 (アビジン) を含んでいる。□ビオチニダーゼ欠損症 (遺伝的欠損) の場合。□ビオチン異化を誘導する抗ケイレン剤を使用している人の場合。□妊婦である。後者の二つの場合は尿中のビオチンに対するビオチン代謝物の割合が増加する (Mock and Dyken,1997; Mock and Stadler,1997; DM Mock et al.,1997b)。妊娠はビオチンの必要量を増加させる。妊婦の尿中のビオチン、ビスノルビオチンの低下、3-HIA の増加、血清ビオチンの低下は、軽度のビオチン欠乏が起きていることを示している。授乳はまたビオチンの必要性を高める。

先天性ビオチニダーゼ欠損症は臨床症状が主として通常の食事摂取の中での副次的な結果として現われるため、ビオチン欠乏症の理解に特に関連している。

10-1 乳児

AI は主にヒト乳を摂取した乳児で観察された平均的ビオチンの取り込みを反映する。ヒトの初期と過渡期乳において、ビオチン

代謝物の濃度はビオチン濃度の2倍近い (DM Mock et.al,1997 a) .出産後の乳生産の成熟期で、ビオチン濃度は上昇するが、代謝物は総ビオチンの約1/3となる。成熟期乳(出産後21日以上ではビオチン濃度は多様になる (Mock et.al,1992) .すなわち前段階の量を超えてくる。このことは母乳へのビオチンの能動輸送があることを示唆している。Hiranoら(1992)によれば、母乳中の遊離ビオチン濃度は 3.8 ± 1.2 (SD) $\mu\text{g/L}$ (微生物学的定量法)で、加水分解処理後は $5.2\pm 2.1\mu\text{g/L}$ であり、初期の概算量のbaioasseiによる総ビオチン $4.5\mu\text{g/L}$ (Salmenpera et al, 1985)や $7\mu\text{g/L}$ (Paul and Southgate, 1985)よりもわずかに高い。最近の報告(Hirano et.al,1992)で最高値の結果であるが、他の研究(Paul and Southgate, 1985)の範囲内であり、ヒト母乳のビオチンの濃度は $6\mu\text{g/L}$ と概算された。

10-2 妊娠

最近の二つの研究(Mock and Stadler,1997; DM Mock et.al,1997 b)は以前の発表(NRC,1989)の妊娠期間内のビオチン充分量について疑問を投げかけてきた。いくつかの研究では血漿でビオチン低濃度であることを見出し(Bhagavan, 1969; Dostalova,1984)が、他の研究ではそうではなかった(Mock and Stadler,1997) . DM Mockら(1997b)は妊娠3ヶ月までの健康な妊婦の半数以上で尿中3-HIAが上昇し、ビオチンの尿中排泄は約50%の妊婦で減少したと報告している。これらの値の変化が妊婦にとって正常なことなのか、低濃度ビオチ

ン吸収が必要性に関係していることを示すのかは判っていない。しかしながら、これらのデータは青年期妊婦を除いては妊娠要求に応えるためのAI増大を判断するには充分ではない。

11. 上限量

ヒトや動物でのビオチンの影響の報告はない。ビオチン反応性先天性代謝異常症と急性ビオチン欠乏症に対して 200mg 以上の経口投与と、静注 20mg/day で治療した患者において毒性は報告されていない(Mock,1996) . 妊娠前後のラットに対して $10\text{mg}/100\text{g body weight}$ の急性投与が胎児と胎盤の発育を阻害したという研究報告がいくつかある(Paul and Duttagupta, 1975, 1976) . この投与量は 70kg のヒトに対して 70g 投与に等しく、推奨摂取量よりもはるかに多い。これらの結果は大量投与で、しかも投与方法と手段(0.1mol/L の皮下注射、これ自体が毒性があるだろう)、適正な対照群が欠落しているため、ヒトの摂取量に対して上限量(UL)を導くには有用であるとは思われない。

高ビオチン摂取の影響についてのデータは定量的危険評価に対して不十分であり、ULは引き出せない。高ビオチン摂取を含むいくつかの研究は影響がないことを報告している。Koutsikos et al(1996)は血液透析患者に対する 50mg のビオチン静注で副作用がなかったと報告している。Roth et.al(1982)は妊娠の9ヶ月間 10mg/day を投与し、母親と乳児に影響がなかったと報告している。Ramaekers et.al(1993)は先天性代謝異常の

MCD の 15 歳の少年に 10mg/day を投与し、副作用は認められなかったと報告している。Colamaria et.al(1989)は同様に無気力・薄毛・自閉症様挙動・間代性筋痙攣・薬物抵抗性発作を伴う症候群の乳児に 10mg/day 投与で影響なしとの報告をしている。合わせてみると、これらの研究は将来のビオチンの毒性研究の中で、摂取量の可能範囲を示唆している。

1 2. 生体利用率

Hamid M Said (1999) によれば、生体利用率については次のように考えられている。栄養素ビオチンに対する興味が増大にもかかわらず、ビオチンの生体利用率と栄養学的な位置づけに関して重要かつ基本的な内容は解明されていない。Zempleni と Mock の論文は、重要な生体利用率の知見について意義深い寄与をしている。ビオチンが 6 名の健康成人に対し経口的に投与 (2.1, 8.2, 89.1 μ mol) され、連続した 24 時間の中で、ビオチンとビオチン代謝物の増加した尿中排泄量はビオチンとビオチン代謝物について特異的に定量をした。生体利用率はビオチンの中間範囲の投与量 (18.4 μ mol) で排泄されたビオチンとビオチン代謝物の合計とよく似ていた。2 名の最大経口投与では約 100%であった。理由は理解できないが、最少量投与では回収率は 200%の生体利用率であった。100%以上の生体利用率を明瞭に説明できないにもかかわらず、Zempleni と Mock の研究はビオチンの生体利用率についてのわれわれの理解にとって意義深いものである。なぜなら、進歩した分析手法

を用いているからである。ビオチンとビオチン代謝物は HPLC を用いてビオチンとビオチン代謝物を分離し、続いてアビジン結合法でそれぞれの標準曲線によって個々に測定しているからである。これまでの研究でも経口投与後のビオチンの尿排泄の増加を測定しており、生体利用率は投与量に対する尿中へのビオチン排泄の割合を計算している。しかし、微生物学的定量法はほとんどのビオチン代謝物を検出できず、アビジン結合法はビオチン代謝物のアビジンへの弱い結合親和性を考慮していない、という定量法を用いていた。ビオチン代謝物は尿中で分子量としてビオチンとビオチン代謝物の合計の約 1/2 と計算されるため、最近の研究はビオチンの生体利用率を有意に少なく見積もっているようである。さらにその上に、最近の研究は対照として静脈投与を使っていない。

最近の研究の中で、研究者は測定された生体利用率 (24–58%) は多分最少の概算量であることを認識している。ビオチンの薬物学的投与は通常ビオチン依存的な先天性代謝異常への処置に使われる。したがって、Zempleni と Mock による研究結果はビオチン大量投与が正当であった小グループ直接的に有効であった。その上、薬物学的投与時のビオチンの高い生体利用率の発見は少なくとも生体利用率は低濃度投与においても高くなるだろうと予測できるいくつかの基礎を少なくとも提供するものである。不幸にしてラジオアクティブなビオチンの投与を避けることの要望が、トレーサーと薬物投与において安定したアイソトープ標

識バイオチンと確立されたマススペクトル法による尿中アイソトープ標識バイオチン測定を妨げる風潮となっている。

1.3. バイオチンの目安量

食事摂取基準の策定においては、日本人を対象としたデータはほとんどなく、多くの場合、食生活が異なる欧米人のデータが用いられている。このため、現在用いられている食事摂取基準は、わが国の食生活を十分に反映しているとは云えない。「日本人の食事摂取基準（2005年版）」において、バイオチンやパントテン酸など5種類の水溶性ビタミンは推定平均必要量から推奨量が求められず、目安量の設定となっている。バイオチンの食事摂取基準の策定においては、東京都のトータルダイエツト調査（TDS）によるバイオチン摂取量が科学的な根拠として用いられている。この調査結果に基づき、健全な成人男女のバイオチンの目安量が45 μ g/日と策定されている。

TDSは、従来、残留農薬や食品添加物などの1日摂取量を算出するために作成された方法である。しかしながら、TDSは、栄養素の食事からの摂取量をモニターしたり、食事摂取基準に対する充足率を評価するためにも重要な調査方法である。またTDSを利用して、栄養素の供給源や寄与率、つまりどんな食品からどれだけ摂取しているかを明らかにすることも可能である。微量栄養の摂取量を算出するためには、食事調査では、一般に、対象者の負担やリコールバイアス、試料分析の手間や費用などが問題

となるが、TDSでは、固有の問題点として、食品群の分類、食品の選択、対象とする食品数、選択基準、均一化、代表値の決め方などについての検討が必要である。

東京都のTDSは、残留農薬のプロトコールに基づいて平成13年度に行われたものである。しかし、平成11年度の東京都栄養調査の摂取量を利用して、バイオチンの摂取量を45.1 μ g/日と算出している。栄養調査では、平成13年度から、食品の食形態を考慮して摂取量を記載することになった。たとえば、米類の摂取量が、平成11年度では国民栄養調査および東京都栄養調査でそれぞれ190.5g（男性）および140.9gであるのに対して、平成14年度ではそれぞれ417.9g（男性）および301.2gと、両年度で著しい差異が認められた。また嗜好飲料、調味料及び香辛料類の摂取量も、東京都栄養調査では平成11年度で207.2gであるのに対して、平成14年度で709.5gと、3倍の違いがあった。つまり、分析した食品群のバイオチン含量を基に、平成11年度の摂取量を利用して、バイオチン摂取量を算出すると過少評価となると考えられる。著者らが、実際に平成14年度および15年度の東京都栄養調査の摂取量を利用して、バイオチンの摂取量を算出すると65 μ gとなる。

著者らは、分析したバイオチン含量および国民栄養調査の結果を利用して、バイオチンの摂取量の算出を試み、東京都のTDSの結果との比較検討を行った。両者のバイオチン摂取量には大きな違いが認められたが、TDSは栄養素の摂取量を求めるために有用な方法と考えられる。現在、TDSによって

残留農薬の摂取量の調査が行われている。これと並行して、ある種の栄養素については摂取量の推定を行うことが可能である。今後 TDS を利用して、ビタミンやミネラルの摂取量を算出することは、わが国の食事摂取基準を策定するための有効な手段として期待される。

最後に、表 1 に示したように、これまでのビオチンの摂取量に関する国内学のデータをまとめると、成人におけるビオチンの 1 日あたりの必要量は 50 μ g であると推定できる。

1 4 . 主な文献

- Booth SL, Pennington JAT, Sadowski JA: Dihydro-vitamin K1: Primary food sources and estimated dietary intakes in the American diet. *Lipids* 31, 715-720 (1996)
- Booth SL, Pennington JAT, Sadowski JA: Food sources and dietary intakes of vitamin K-1 (phylloquinone) in the American diet: Data from the FDA total diet study. *J Am Diet Assoc* 96, 149-154 (1996)
- Chen J, Gao J: The Chinese total diet study in 1990. Part II. Nutrients. *J AOAC Internat* 76, 1206-1213 (1993)
- van Dokkum W, de Vos RH, Cloughley FA, Hulshof, KFAM, Dukel F, Wijsman JA: Food additives and food components in total diets in The Netherlands. *Br J Nutr* 48, 223-231 (1982)
- van Dokkum W, de Vos RH, Muys Th, Wesstra JA: Minerals and trace elements in total diets in the Netherlands. *Br J Nutr* 61, 7-15 (1989)
- van Dokkum W, de Vos RH, Dukel F, Hilwig GNG : Analysis of macrocomponents and fatty acids in the market basket of male adolescents in the Netherlands. *J Am Diet Assoc* 90, 77-81 (1990)
- Egan SK, Tao SS, Pennington JA, Bolger PM: US food and drug administration's total diet study: Intake of nutritional and toxic elements, 1991-1996. *Food Addit Contam* 19, 103-125 (2002)
- Iyengar GV, Kawamura H, Parr RM, Miah FK, Wang J-X, Dang HS, Djojosebroto H, Cho S-Y, Akher P, Natera ES, Nguy MS: Dietary intake of essential minor and trace elements from Asian diets. *Food Nutr Bull* 23, 124-128 (2002)
- Lombardi-Boccia G, Aguzzi A, Cappelloni M, di Lullo G, Lucarini M: Total-diet study: Dietary intakes of macro elements and trace elements in Italy. *Br. J Nutr* 90, 1117-1121 (2003)
- Ophaug RH, Singer L, Harland BF: Estimated fluoride intake of 6-month-old infants in four dietary regions of the United States. *Am J Clin Nutr* 33, 324-327 (1980)
- Ophaug RH, Singer L, Harland BF: Dietary fluoride intake of 6-month and 2-year-old children in four dietary regions of the United States. *Am J Clin Nutr* 42, 701-707 (1985)
- Pennington, JAT (1983) Revision of the total diet study food list and diets. *J. Am. Diet. Assoc.*, 82-166-173.
- Pennington JAT, Wilson DB: Daily intakes of nine nutritional elements: Analyzed vs. calculated values. *J Am Diet Assoc* 90,

- 375-381 (1990)
- Pennington JA, Schoen SA: Total diet study: Estimated dietary intakes of nutritional elements, 1982-1991. *Internat J Vitam Nutr Res* 66, 350-362 (1996)
- de Vos RH, van Dokkum W, Olthof PDA, Quirijns JK, Muys T, Van der Poll JM: Pesticides and other chemical residues in Dutch total diet samples (June 1976-July 1978). *Food Chem Toxicol* 22, 11-21 (1984)
- World Health Organization : Pesticide Residues in Food. Technical report series no. 592, Geneva: WHO (1976)
- World Health Organization : Guidelines for the Study of Dietary Intakes of Chemical Contaminants. Technical report series no. 592, Geneva: WHO (1985)
- 健康・栄養情報研究会編：国民栄養の現状。平成11年度厚生労働省国民栄養調査結果。第一出版，東京 (2001)
- 健康・栄養情報研究会編：国民栄養の現状。平成14年度厚生労働省国民栄養調査結果。第一出版，東京 (2004)
- 健康・栄養情報研究会編：国民栄養の現状。平成13年度厚生労働省国民栄養調査結果。第一出版，東京 (2003)
- 厚生省：第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-。平成11年6月，東京 (1999)
- 厚生労働省：日本人の食事摂取基準 (2005年版)。平成16年11月22日，建白社，東京 (2005)
- 齋東由紀，牛尾房雄：トータルダイエット調査による東京都民のビオチン，ビタミンB6，ナイアシンの一日摂取量の推定。栄養学雑誌 62, 165-169 (2004)
- 食品成分研究調査会編：五訂日本食品標準成分表。医歯薬出版，東京 (2001)
- 食品添加物協会編：あなたが食べている食品添加物-食品添加物1日摂取量の実態と傾向-，日本食品添加物協会，東京，pp.67-82 (2001)
- 谷口歩美，大串美沙，武智隆祐，渡邊敏明：わが国の食品に含まれるビオチン量の分析。日本栄養・食糧雑誌 (印刷中)
- 坪野吉孝，久道茂：栄養疫学，南江堂 (2001)
- 東京都衛生局編：東京都民の栄養状況。東京都，東京 (1999)
- 東京都衛生局編：東京都民の栄養状況。東京都，東京 (2002)
- 東京都衛生局編：東京都民の栄養状況。東京都，東京 (2003)
- 細貝祐太郎，松本昌雄監修：食品安全セミナー2，食品添加物，中央法規出版，東京，pp.83-97 (2001)
- 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会：五訂増補日本食品標準成分表。国立印刷局，東京 (2005)
- 渡邊敏明，大串美沙，福井徹：わが国の実年者におけるビオチンの体内動態についての検討。生物試料分析 27, 403-408 (2004)

表1. 各国におけるビオチン摂取量の比較

文献	摂取量 μg/日	対象	調査法
Hoppner <i>et al.</i> , 1978	62.0 60.0	成人男女 (カナダ)	食事記録調査 陰膳法
Bull and Buss, 1982	35.5	7,277世帯 (イギリス)	食事記録調査
Murphy and Calloway, 1986	39.9±26.8	女性1,066名 (18~24歳) (アメリカ)	24時間思い出し法
Lewis and Buss, 1988	35-70	6,925世帯 (18,855人) (イギリス)	食事記録調査
Bliss <i>et al.</i> , 2000	32±12	成人男女39名 (25~85歳) (アメリカ)	連続8日間出納試験
Iyenger <i>et al.</i> , 2000	35.5±7.5	成人男性 (25~30歳) (アメリカ)	トータルダイエツト調査
渡邊ら, 2004	29.8-33.3	中高齢者 120名 (男女各60名, 45~76歳) (東北地方)	陰膳法
斎東と牛尾, 2004	45.1	成人男女 (東京都民)	トータルダイエツト調査
谷口ら, 2005	109.8 92.8	成人男性 (2001年度国民栄養調査結果) 成人女性 (2001年度国民栄養調査結果)	食品群別計算法 (17食品群)
渡邊と谷口, 2006	60.7	成人男女 (2002年度国民栄養調査結果および東京都民)	東京都トータルダイエツト調査 再解析
谷口と渡邊 (投稿中)	51.4 54.8	成人男女 (2004年度国民栄養調査結果)	トータルダイエツト調査 食品群別計算法 (98食品群)
渡邊ら, 2007	52.6	成人男女 (2003年度近畿/京阪神地区)	トータルダイエツト調査

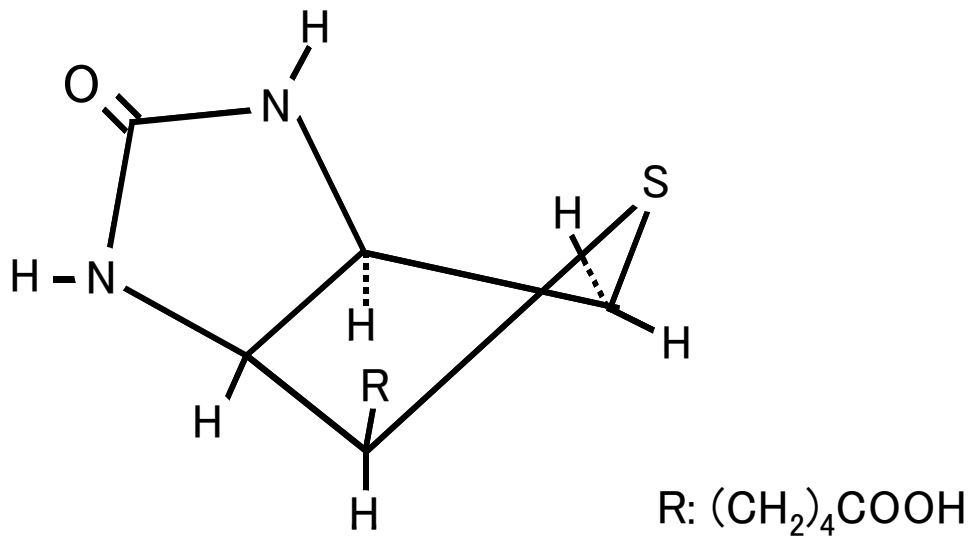


図1. ビオチンの絶対構造

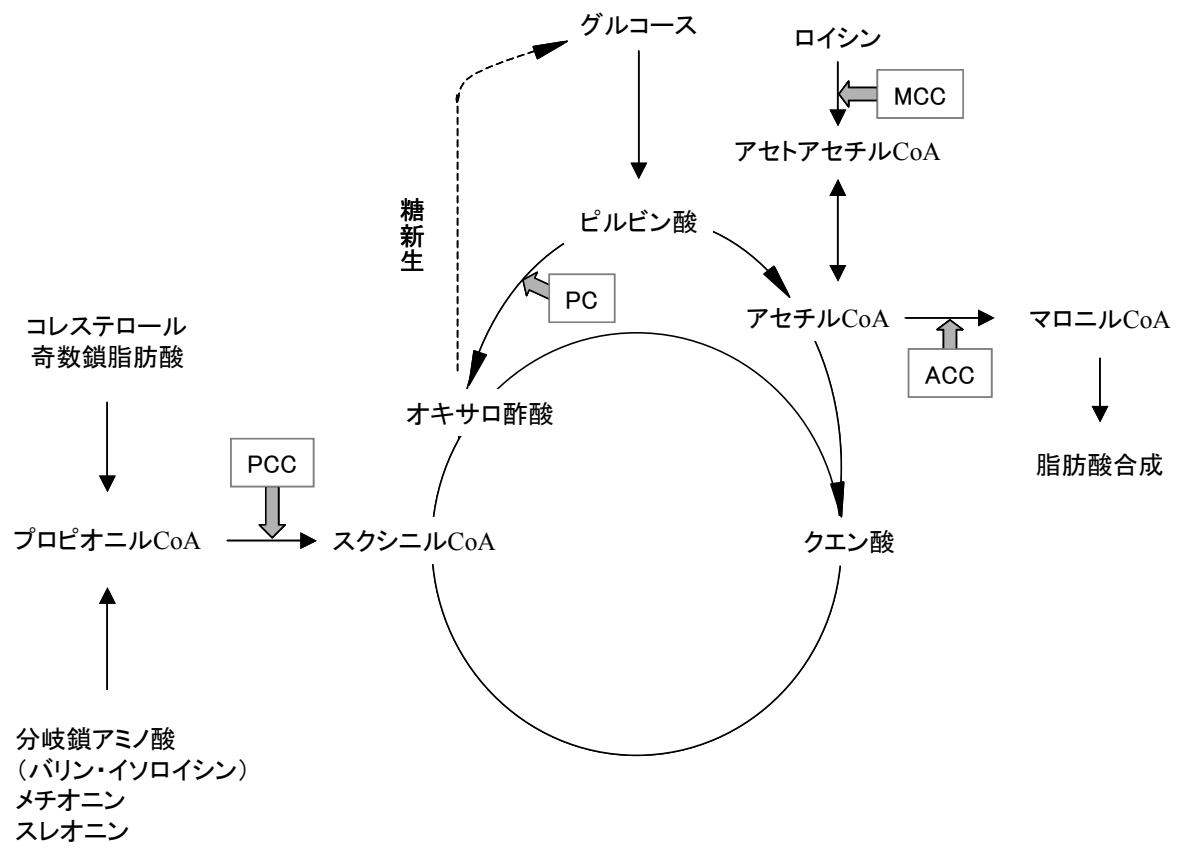


図2. カルボキシラーゼが関与している代謝経路