

平成 16 年度厚生労働科学研究費(循環器疾患等総合研究事業)

日本人の食事摂取基準(栄養所要量)の策定に関する研究

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

II. 主任研究者の報告書

10. 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仔のトリプトファン-ナイアシン転換率

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

トリプトファン-ナイアシン転換率は、成人では重量比で 1/60 というデータがあるが、乳児のデータはなく、離乳直後のラットと成熟期のラットにおける実験値の外挿から、0~5 ヶ月の乳児では 0、6~11 ヶ月の乳児では 1/120 とされている。そこで、乳児から幼児のトリプトファン-ナイアシン転換率を推定するために、新生仔から離乳前のラットを使用して、トリプトファン-ナイアシン代謝に関与する酵素活性を測定し、成熟ラットの酵素活性と比較した。その結果、トリプトファン-ナイアシン転換経路の初発酵素であるトリプトファン-2,3-ジオキシゲナーゼ (TDO) の活性が、出生直後の 0 日目および 6 日目では非常に弱かった。この結果は、乳児の初期においては、ほとんどトリプトファンからナイアシンは生合成されていないことを裏付けるものである。また、13 日目、20 日目の TDO 活性は日齢とともに増大したことから、このデータをヒトにあてはめれば、乳児の後期すなわち 6~11 ヶ月では本転換経路が作動しはじめており、成熟期の半分である 1/120 程度としてもさしつかえないと思われた。

A. 目的

乳児 (0~11 カ月) の水溶性ビタミン必要量の算定精度が低いことが指摘されている。乳児の水溶性ビタミン必要量を求めるための根本的な考え方は、「乳児 (0~5 カ月) は、母乳を適当量摂取している限り、健全に発育する。」¹⁾ というものである。また、6 カ月から 11 カ月の乳児は離乳食を摂るようになるので、必要量を求めるのは複雑になるため、精度の高いデータを得ることが困難であり、我々が調べた限り報告は認められなかった。現在の必要量の求め方の考え方は、「0~5 カ月児の必要量からの外挿値と成人の必要量からの外挿値を、平均化したものが適当であろう」¹⁾ である。具体的に述べれば、乳児 (0~5 カ月) の必要量に体表面積比、(6~11 カ月の基準体重/0~5 カ月の基準体重)^{0.75} をかけた数値と成人 (18~29 歳) の必要量に、{(6~11 カ月) の基準体重/成人 (18~29 歳) の体基準体重}^{0.75} × (1+成長因子の 0.3) をかけた数値の、二つの値の平均値である¹⁾。これらの 6~11 カ月の乳児の必要量の外挿値は、若年成人から外挿した値よりも乳児から外挿した値の方がかなり低くなる。単位重量当たりの代謝回転は乳児の方が若年成人よりも高いと思われるのに、なぜであろうかという疑問に光をなげかけるために、このシリーズの研究を開始した。今回は、新生仔におけるトリプトファン-ナイアシン転換率に関する問題に絞って実験を行った。

B. 実験方法

1. ラットの飼育方法

妊娠 20 日目の Wistar 系、雌ラットを日本クレア(株)より購入後、ただちに飼育ケージに入れ、固形飼料と水を自由に与えた。新生仔が出生した日を 0 日目とし、6 日目、13 日目、20 日目の肝臓をそれぞれ摘出した。また、日本クレア(株)より Wistar 系、雄ラットも購入し、同様に固形飼料と水を自由に与えて成熟(15 週齢)させ、対照として用いた。動物室は温度 20℃前後、湿度 60%前後を維持し、明暗サイクルは 6 時~18 時を明、18 時~6 時を暗とした。なお、本実験は滋賀県立大学動物実験委員会の承認を得たものである。

2. トリプトファン-ナイアシン代謝に関わる酵素活性の測定方法

断頭によりラットをと殺後、肝臓を摘出し

た。直ちに肝臓を細片し、5 倍量の冷却した 50mM のリン酸カリウム緩衝液 (pH7.0) を加え、テフロンホモゲナイザーで均一化した。このホモジネートを酵素源とし、トリプトファン-2,3-ジオキシゲナーゼ (TDO)²⁾、キヌレニナーゼ (Ky-ase)²⁾、3-ヒドロキシアンスラニル酸オキシゲナーゼ (3-HAO)²⁾、キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ (QPRT)³⁾ の活性測定を行った。

C. 結果

ナイアシンは必須アミノ酸のトリプトファンから体内で合成されている。このトリプトファン-ナイアシン転換率は成人では、重量比で 1/60 というデータがあるが⁴⁾、乳児のデータはなく、離乳直後 (21 日齢) のラットにおける実験値と成熟ラットにおける実験値の外挿から、乳児ではこの転換経路は作動しておらず、転換率は 0 とされている⁵⁾⁶⁾。この推測の精度を高めるために、出産当日の 0 日目、6 日目、13 日目、20 日目のラットの肝臓を取り出し、トリプトファン-ナイアシン転換経路の主要な酵素活性を測定した。その結果を表 1 にまとめた。TDO はトリプトファン-ナイアシン転換経路の初発酵素である。この酵素活性が、0 日目および 6 日目では非常に弱かった。他の酵素活性は、出産直後の 0 日目でも、すでに十分な活性が検出された。

D. 考察

ナイアシンは必須アミノ酸のトリプトファンから体内で合成される。その量は、成人では、重量比で 1/60 である⁴⁾。ところが、この比率は年齢によって変動し、「第六次改定 日本人の栄養所要量-食事摂取基準-」では、離乳直後のラットと成熟期のラットにおける本転換経路に関与する酵素活性の比較から、0~5 カ月の乳児では 0、6~11 カ月の乳児では 1/120 としている⁶⁾。このデータの精度を高めるために、出産当日の 0 日目、6 日目、13 日目、20 日目のラットの肝臓を取り出し、トリプトファン-ナイアシン転換経路の主要な酵素活性を測定した。その結果、本転換経路の初発酵素である TDO 活性が 0 日目、6 日目ではわずかに検出されたにすぎなかった。この事実は、乳児の初期においては、ほとんどトリプトファンからナイアシンは生合成されていない

ことを裏付けるものである。13日、20日目と日齢とともに活性は増大し、20日目では成熟ラットの約1/2であった。したがって、このデータをヒトにあてはめれば、乳児の後期すなわち6～11カ月では、本転換経路が作動しはじめており、成熟期の半分である1/120程度としてもさしつかえないと思われた。

E. 結論

離乳期のトリプトファン-ナイアシン転換率の精度を高めるために、ラットを用いて実験を行った。出産後、経目的にトリプトファン-ナイアシン転換経路の主要な酵素活性を測定した。その結果、本転換経路の初発酵素であるトリプトファン-2,3-ジオキシゲナーゼ活性が0日目、6日目ではわずかに検出されたにすぎなかった。13日目、20日目と日齢が進むとともに本酵素活性は増大し、成熟ラットの約1/2に達した。したがって、このデータをヒトにあてはめれば、乳児の後期すなわち6～11カ月では本転換経路は作動しはじめており、成熟期の半分であると算定してもさしつかえないと思われた。

F. 健康危険情報

特記する情報はない。

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

I. 引用文献

1. 厚生労働省 (2005) 日本人の食事摂取基準 2005年版. 東京
2. Shibata K (1987) Tryptophan-niacin metabolism in alloxane diabetic rats and partial prevention of alloxane by nicotinamide. *Agric Biol Chem* **51**, 811-816
3. Shibata K (2000) Reversed-phase high-

performance liquid chromatography of nicotinic acid mononucleotide for measurement of quinolinate phosphoribosyltransferase. *J Chromatogr* **749**, 281-285

4. Horwitt MK, Harper AE, Henderson LM (1981) Niacin-tryptophan relationships for evaluating niacin equivalent. *Am J Clin Nutr* **34**: 423-7
5. Shibata K (1990) Effects of ethanol feeding and growth on the tryptophan-niacin metabolism in rats. *Agric Biol Chem* **54**: 2953-9
6. 厚生省 (1999) 日本人の栄養所要量-食事摂取基準-. 東京

表 1. 出生後のトリプトファン→ナイアシン転換経路に関わる主要な酵素の活性変動 (ラット)

	0 日目	6 日目	13 日目	20 日目	成熟ラット
TDO	0.08±0.01	0.06±0.01	0.28±0.04	0.48±0.02	1.18±0.17
Ky-ase	0.50±0.01	0.41±0.02	0.50±0.06	1.02±0.03	1.39±0.18
3-HAO	528±38	684±25	638±30	570±20	627±54
QPRT	1.34±0.03	1.73±0.03	1.06±0.05	0.67±0.02	0.62±0.03

値は、3 匹のラットの平均値±標準偏差である。単位は $\mu\text{mol/hr/g liver}$ で示した。TDO = Tryptophan dioxygenase, Ky-ase = kynureninase, 3-HAO = 3-Hydroxyanthranilic acid oxygenase, QPRT = Quinolate phosphoribosyltransferase.