

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

#### IV. 研究協力者の報告書.

##### 1. 中高年者のビタミン摂取量と生活習慣病

研究協力者 廣瀬潤子 滋賀県立大学 助手

###### 研究要旨

中高年は生活習慣病の危険因子の一部が異常域あるいは異常域近傍にあるが、医療処置などを受けていない人が多い。そのような人が水溶性ビタミンを飽和量摂取し続けることによって生活習慣病発症の予防や進行をおさえることができるか否かを調査した。被験者7名（男性5名，女性2名，30才～67才）で，所定のビタミン剤を摂取するほかは生活スタイルの規定は行わず，ビタミン剤を摂取後に血液生化学検査，血中ビタミンおよび尿中ビタミン量を測定した。摂取開始81日目の血液生化学検査値において，生活習慣病危険因子とされる検査項目で大きな変化は認められなかった。生活習慣病危険因子の改善効果についての検討にはさらに長期にわたって観察が必要であると思われる。また，調査途中者の解析続行，および被験者の数を増やす必要がある。

## A. 目的

現在、多くの中高齢者が、いくつかの生活習慣病の危険因子を抱えている。そのような異常域あるいは異常域近傍にあるが医療処置を受けていない者が水溶性ビタミンを飽和量摂取し続けることにより、生活習慣病発症を予防・軽減できるかを調査する。

## B. 実験方法

### 1. 被験者

今回の実験の趣旨を理解し、医師が健康と判断した人について、本人の同意を得て、ヘルシンキ宣言に則って実験を行った。朝食、昼食、夕食後に所定のビタミン製剤(表1) 1錠を服用し、ほかにビタミン製剤を摂取しないこと以外は生活スタイルの規定は行わなかった。服用開始後一定期間の後に採血および採尿を行い、血液生化学検査、血液中および尿中ビタミン量を測定した。採尿方法については、平成15年度厚生労働科学研究費補助金 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究 平成15年度 総括・分担研究報告書に記載されている方法で行った。今回参加した被験者は7名(男性5名, 女性2名, 年齢は30代女性2名, 40代1名, 50代3名, 60代1名)であった。

### 2. 検査項目および測定方法

血液生化学検査および血中ビタミン量の一部の測定は、三菱化学 BCL に依頼した。検査項目は、白血球数, 赤血球数, ヘモグロビン, ヘマトクリット, 血小板数, MCV, MCH, MCHC, 総蛋白, アルブミン (BCG法), アルブミン/グロブリン比 (A/G), AST, ALT,  $\gamma$ -GTP, コリンエステラーゼ, クレアチニン, 尿酸, ホモシステイン, グルコース, ヘモグロビン A1c (HbA1c), 総脂質, 中性脂肪 (TG), 総コレステロール, HDL-コレステロール, LDL-コレステロール, ビタミン B<sub>12</sub>, 葉酸, 総ビリルビンである。

ビタミン B<sub>12</sub> については CLIA 法 (Chemiluminescence immunoassay) で測定した。その原理は、血清試料に水酸化ナトリウム溶液とジチオスレイトールを加え、血清中のビタミン B<sub>12</sub> と結合しているタンパク質を変性させ、ビタミン B<sub>12</sub>

をすべて遊離状態とする。次に、磁性鉄微粒子でコーティングした精製豚内因子とアクリジニウムエステルビタミン B<sub>12</sub> (シアノコバラミン) を加え、磁性鉄微粒子に結合したビタミン B<sub>12</sub> 内因子に対し、競合的に反応させる。磁性鉄粒子でコーティングした精製豚内因子に結合した血清中のビタミン B<sub>12</sub>, アクリジニウムエステル標識ビタミン B<sub>12</sub> および内因子に結合しなかったアクリジニウムエステルの分離は、磁力を用いて行った。上清部分にある内因子に結合しなかったアクリジニウムエステル標識ビタミン B<sub>12</sub> は除去した。次に下層に酸化剤として過酸化水素および硝酸, 酸化補助剤として水酸化ナトリウムを加えると、アクリジニウムエステルは酸化され、結合開裂を生じ、励起状態の中間体を形成する。この中間体が基底状態に戻るときに発光するので、その光量を計測し、検量線よりビタミン B<sub>12</sub> の含量を求めた。

葉酸は CLIA 法 (Chemiluminescence immunoassay) で測定した。原理はビタミン B<sub>12</sub> とほぼ同様の原理を用いているが、牛乳由来の葉酸結合タンパク質, アクリジニウムエステル標識葉酸 (プロテイルモノグルタミン酸) を用いて行い、試料中の葉酸含量を求めた。

尿中ビタミン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C, パントテン酸, ビオチン, 葉酸, および血液中ビタミン B<sub>1</sub>, ビタミン B<sub>2</sub>, ビタミン B<sub>6</sub>, C, パントテン酸, ビオチン, NAD 量については、平成15年度厚生労働科学研究費補助金 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究 平成15年度 総括・分担研究報告書 II. 水溶性ビタミン関連物質の定量方法に報告された方法に従った。

## C. 結果と考察

### 被験者の主観的健康状態

水溶性ビタミン剤摂取は最長の人で5ヶ月経過したが、被験者からの体調変化についての報告はなかった。

### 血液生化学検査

水溶性ビタミン剤摂取開始直後の検査では被験者 A, B, D において、生活習慣病発症と関連が深い検査項目について2項目以上が検査基準値から外れていた。C はすべ

ての項目が基準値内であった。また、2回以上測定のできたAとDについては、摂取開始から10日目、81日目での測定値では大きな変化はみとめられなかった。(表2. A~D)

#### 血液中ビタミン量

ビタミンB<sub>1</sub>, ビタミンB<sub>2</sub>, ビタミンB<sub>6</sub>, ビタミンB<sub>12</sub>, ビタミンC, ビオチン, 葉酸, NADは被験者A~Dのほぼすべてにおいて厚生労働科学研究費補助金 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究 平成13~15年度 総括・分担研究報告書第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準に従った規定食を投与したときの血液中水溶性ビタミン量, 成人男女(学生)で行った実験で得られた血液中の量に近い値であった。

#### 尿中ビタミン排泄量

測定の終了したビタミンB<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>は平成15年度厚生労働科学研究費補助金 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究 平成14年度 総括・分担研究報告書 水溶性ビタミン値の妥当性を判断するために成人男女(学生)で行った実験で各ビタミンを栄養所要量摂取した時に得られた量を上回る値であり, 過剰摂取分が尿中へ排泄されたと考えられる。しかし, 通常の食事に加え, 90mg/dayの投与のあったビタミンCは, 食事摂取基準量投与された学生で行われた結果に比べ, 中高年者の尿中への排泄量は少なかった。今回の被験者数が少ないことと, 前回測定した尿中ビタミンC量は個人差があったのでそれらの点も考慮しなければならないが, 中高年では, 通常の食事からのビタミンC摂取量が少ないか, または学生に比べ必要量が高まっている可能性も考えられる。また, 被験者BのビタミンB<sub>2</sub>量は284.8nmol/dayと極端に低値であったが, 原因は解析中である。

今回は被験者7名(ビタミン摂取開始直後の者3名は未測定)と非常に少なかったため, 今後はさらに被験者の数を増やし, 性別および年齢層も可能な限り均等に解析する必要がある。また, 生活習慣病危険因子の改善の検討には長期の観察が必要だと思われる。この点についても, 引き続き実

験を進めている。

#### D. 健康危機情報

特記する情報なし

#### E. 研究発表

なし

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許予定

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

その他

なし

#### G. 引用文献

1. 厚生労働科学研究費補助金, 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業, 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究, 平成14年度 総括・分担研究報告書, 主任研究者 柴田克己, 平成15年(2003)4月.
2. 厚生労働科学研究費補助金, 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業, 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究, 平成13~15年度総合報告書, 主任研究者 柴田克己, 平成16年(2004)4月.
3. Shibata K, Fukuwatari T, Ohta M, Okamoto H, Watanabe T, Fukui T, Nishimuta M, Totani M, Ohishi N, Nakashima M, Watanabe F, Miyamoto E, Shigeoka S, Takeda T, Murakami M, Ihara H, and Hashizume N. Values of water-soluble vitamins in blood and urine of Japanese young men and women consuming a semi-purified diet based on the Japanese Dietary Reference Intakes. J. Nutr. Sci. Vitaminol., under contribution.

表1. 使用したビタミンのビタミン含量

	単位	第六次改定の所要量(A)	飽和点(B)	(B)/(A)	1錠当たりの含有量 (mg)
チアミン	mg/1000kcal	0.420	1.200	2.9	0.520
リボフラビン	mg/1000kcal	0.480	2.200	4.6	1.147
ピリドキシン	mg/g protein	0.017	0.066	3.9	0.980
ニコチンアミド	mg/1000kcal	6.300	34.500	5.5	18.800
パントテン酸	mg/day	5.000	24.000	4.8	6.333
プテロイルモノグルタミン酸	mg/day	0.200	0.780	3.9	0.193
D(+) <small>ビオチン</small>	mg/day	0.030	0.100	3.3	0.023
L-アスコルビン酸	mg/day	100.000	190.000	1.9	30.000
計					57.997

1日摂取カロリー2000kcalとした場合  
 1日摂取カロリー2000kcalとした場合  
 1日のタンパク質必要量を60gとした場合  
 1日摂取カロリー2000kcalとした場合

すべてのビタミンの値は塩の形ではない遊離の形の重量.

チアミン塩酸塩を使用する場合は  $337.5/265.35=1.27$  倍にする.

リン酸リボフラビンナトリウムを使用する場合は  $478.33/376.4=1.27$  倍にする.

塩酸ピリドキシンを使用する場合は  $205.64/169.2=1.21$  倍にする.

パントテン酸カルシウムを使用する場合は  $476.54/436.4=1.09$  倍にする.

表2. 水溶性ビタミン投与後の血液生化学検査および血液中と尿中ビタミン量 (A~D)

A 67才 1937/4/6生 摂取開始2004/10/1

血液生化学検査

採血日	2004/10/12	2004/12/21	
検査項目	測定値	測定値	単位
白血球数	5000	5100	/ l
赤血球数	463	475	$\times 10^4$ / l
ヘモグロビン	15.0	15.3	g/dl
ヘマトクリット	45.0	47.0	%
血漿板数	14.8	17.4	$\times 10^4$ / l
MCV	97	99	f l
MCH	32.4	32.2	pg
MCHC	33.3	32.6	%
総蛋白	7.3	7.7	g/dl
アルブミン: BCG法	4.6	4.5	g/dl
A/G	1.7	1.4	
AST (GOT)	30	32	IU/l
ALT (GPT)	29	28	IU/l
$\gamma$ -GTP	39	41	IU/l
コリンエステラーゼ	5004	5173	IU/l
クレアチニン	0.83	0.84	mg/dl
尿酸	5.2	4.7	mg/dl
ホモシステイン	8.0	6.8	nmol/ml
グルコース	95	98	mg/dl
HbA1c	5.1	5.1	%
総脂質	772	808	mg/dl
TG (中性脂肪)	127	144	mg/dl
総コレステロール	H 242	H 248	mg/dl
HDL-コレステロール	H 79	H 77	mg/dl
LDL-コレステロール	136	148	mg/dl
総ビリルビン	0.6	0.4	mg/dl

血液中ビタミン

採血日	2004/10/12	2004/12/21		
ビタミン	測定値	測定値	単位	
B <sub>1</sub>	151.1	159	pmol/ml	※全血1mlあたり
B <sub>2</sub>	213.9	185.3	pmol/ml	※全血1mlあたり
B <sub>6</sub>	233.6		nmol/L	※血清1Lあたり
B <sub>12</sub>	0.386	0.394	pmol/ml	※血清1mlあたり
C	54.4		mol/L	※血漿1Lあたり
パントテン酸				
ビオチン	5.1		ng/ml	※血清1mlあたり
葉酸	57.3	53.1	pmol/ml	※血清1mlあたり
NAD	24.4		nmol/ml	※全血1mlあたり

尿中ビタミン

採尿日	2004/10/6	
ビタミン	測定値	単位
B <sub>1</sub>	787	nmol/day
B <sub>2</sub>	719.0	nmol/day
B <sub>6</sub>		
B <sub>12</sub>		
C	72.2	mol/day
パントテン酸		
ビオチン		
葉酸		nmol/day

空欄は未測定

表2-A. 水溶性ビタミン投与後の血液生化学検査および血液中・尿中ビタミン量

B

48才 1956/1/13生

摂取開始2004/11/01

## 血液生化学検査

採血日	2004/12/21	
検査項目	測定値	単位
白血球数	7300	/ l
赤血球数	530	$\times 10^4$ / l
ヘモグロビン	15.6	g/dl
ヘマトクリット	45.7	%
血漿板数	19.3	$\times 10^4$ / l
MCV	86	fl
MCH	29.4	pg
MCHC	34.1	%
総蛋白	7.7	g/dl
アルブミン: BCG法	4.4	g/dl
A/G	1.3	
AST (GOT)	33	IU/l
ALT (GPT)	33	IU/l
$\gamma$ -GTP	51	IU/l
コリンエステラーゼ	5813	IU/l
クレアチニン	0.83	mg/dl
尿酸	H 7.5	mg/dl
ホモシステイン	6.4	nmol/ml
グルコース	107	mg/dl
HbA1c	4.9	%
総脂質	475	mg/dl
TG(中性脂肪)	108	mg/dl
総コレステロール	129	mg/dl
HDL-コレステロール	L 37	mg/dl
LDL-コレステロール	75	mg/dl
総ビリルビン	0.6	mg/dl

## 血液中ビタミン

採血日	2004/12/21		
ビタミン	測定値	単位	
B <sub>1</sub>	75.0	pmol/ml	※全血1mlあたり
B <sub>2</sub>	161.2	pmol/ml	※全血1mlあたり
B <sub>6</sub>		nmol/L	※血清1Lあたり
B <sub>12</sub>	0.215	pmol/ml	※血清1mlあたり
C		mol/L	※血漿1Lあたり
パントテン酸			
ビオチン		ng/ml	※血清1mlあたり
葉酸	34.0	pmol/ml	※血清1mlあたり
NAD			

## 尿中ビタミン

採尿日	2004/11/14	
ビタミン	測定値	単位
B <sub>1</sub>	992	nmol/day
B <sub>2</sub>	284.8	nmol/day
B <sub>6</sub>		
B <sub>12</sub>		
C		mol/day
パントテン酸		
ビオチン		
葉酸		nmol/day

空欄は未測定

表2-B. 水溶性ビタミン投与後の血液生化学検査および血液中・尿中ビタミン量

C

57才 1947/2/12生

摂取開始2004/10/23

## 血液生化学検査

採血日	2004/12/21	
検査項目	測定値	単位
白血球数	5700	/ l
赤血球数	494	$\times 10^4$ / l
ヘモグロビン	15.7	g/dl
ヘマトクリット	47.4	%
血漿板数	21.5	$\times 10^4$ / l
MCV	97	fl
MCH	31.8	pg
MCHC	32.9	%
総蛋白	7.6	g/dl
アルブミン: BCG法	4.5	g/dl
A/G	1.5	
AST (GOT)	29	IU/l
ALT (GPT)	36	IU/l
$\gamma$ -GTP	66	IU/l
コリンエステラーゼ	5377	IU/l
クレアチニン	0.94	mg/dl
尿酸	5.9	mg/dl
ホモシステイン	10.0	nmol/ml
グルコース	89	mg/dl
HbA1c	5.1	%
総脂質	646	mg/dl
TG(中性脂肪)	104	mg/dl
総コレステロール	210	mg/dl
HDL-コレステロール	60	mg/dl
LDL-コレステロール	128	mg/dl
総ビリルビン	1	mg/dl

## 血液中ビタミン

採血日	2004/12/21	
ビタミン	測定値	単位
B <sub>1</sub>	142.0	pmol/ml ※全血1mlあたり
B <sub>2</sub>	248.4	pmol/ml ※全血1mlあたり
B <sub>6</sub>	139.1	nmol/L ※血清1Lあたり
B <sub>12</sub>	0.71	pmol/ml ※血清1mlあたり
C		mol/L ※血漿1Lあたり
パントテン酸		
ビオチン	3.9	ng/ml ※血清1mlあたり
葉酸	195.3	pmol/ml ※血清1mlあたり
NAD	35	nmol/ml ※全血1mlあたり

## 尿中ビタミン

採尿日	2004/11/23	
ビタミン	測定値	単位
B <sub>1</sub>	3185	nmol/day
B <sub>2</sub>	8316.4	nmol/day
B <sub>6</sub>		
B <sub>12</sub>		
C		mol/day
パントテン酸		
ビオチン		
葉酸		nmol/day

空欄は未測定

表2-C. 水溶性ビタミン投与後の血液生化学検査および血液中・尿中ビタミン量

D

53才 1951/8/27生 摂取開始2004/10/1

## 血液生化学検査

採血日	2004/10/4	2004/10/12	2004/12/21	
検査項目	測定値	測定値	測定値	単位
白血球数	6500	5700	6000	/ l
赤血球数	527	516	532	$\times 10^4$ / l
ヘモグロビン	16.2	15.6	15.9	g/dl
ヘマトクリット	47.2	46.6	48.7	%
血漿板数	22.0	24.1	25.7	$\times 10^4$ / l
MCV	90	90	92	fl
MCH	30.7	30.2	29.9	pg
MCHC	34.3	33.5	32.6	%
総蛋白	7.2	6.9	6.9	g/dl
アルブミン: BCG法	4.9	4.8	4.6	g/dl
A/G	H 2.1	H 2.3	2	
AST (GOT)	16	16	16	IU/l
ALT (GPT)	14	13	15	IU/l
$\gamma$ -GTP	20	19	20	IU/l
コリンエステラーゼ	5913	5580	5525	IU/l
クレアチニン	1.00	0.94	0.94	mg/dl
尿酸	6.3	6.5	6.2	mg/dl
ホモシステイン	7.4	7.5	6.5	nmol/ml
グルコース	82	80	78	mg/dl
HbA1c	4.6	4.6	4.5	%
総脂質	632	625	709	mg/dl
TG (中性脂肪)	100	115	155	mg/dl
総コレステロール	212	203	216	mg/dl
HDL-コレステロール	48	46	47	mg/dl
LDL-コレステロール	H 149	H 136	H 140	mg/dl
総ビリルビン	H 1.7	H 1.3	H 1.3	mg/dl

## 血液中ビタミン

採血日	2004/10/12	2004/12/21		
ビタミン	測定値	測定値	単位	
B <sub>1</sub>	151.1	90.0	pmol/ml	※全血1mlあたり
B <sub>2</sub>	213.9	208.2	pmol/ml	※全血1mlあたり
B <sub>6</sub>	233.6		nmol/L	※血清1Lあたり
B <sub>12</sub>	0.336	0.420	pmol/ml	※血清1mlあたり
C	54.4		mol/L	※血漿1Lあたり
パントテン酸				
ビオチン	5.1		ng/ml	※血清1mlあたり
葉酸	67.9	117.0	pmol/ml	※血清1mlあたり
NAD	24.4		nmol/ml	※全血1mlあたり

## 尿中ビタミン

採尿日	2004/10/6	
ビタミン	測定値	単位
B <sub>1</sub>	787	nmol/day
B <sub>2</sub>	719.0	nmol/day
B <sub>6</sub>		
B <sub>12</sub>		
C		mol/day
パントテン酸		
ビオチン		
葉酸		nmol/day

空欄は未測定

表2-D. 水溶性ビタミン投与後の血液生化学検査および血液中・尿中ビタミン量