

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

2. ヒト尿中のビタミン排泄量に関する研究

研究協力者 廣瀬潤子 滋賀県立大学 助手

研究要旨

自由摂取食事の 1 日尿中に排泄される女子学生のビタミン B₁, ビタミン B₂, ビタミン B₆ 異化代謝産物 4-PIC, ビタミン B₁₂, パントテン酸, 葉酸, ビオチン, ビタミン C の排泄量を調べた. その結果を下の表に示した.

	女子学生 ((平均値±SD, n = 28)
B ₁ (nmol/day)	556±361
B ₂ (nmol/day)	311±261
4-PIC (μ mol/day)	3.62±1.54
B ₁₂ (pmol/day)	62±30
パントテン酸 (μ mol/day)	12.5±3.7
葉酸 (nmol/day)	24.6±7.1
ビオチン (pmol/day)	79.6±29.4
ビタミン C (μ mol/day)	84±77

A. 目的

代謝が最も盛んな時期である、若年成人の尿中の水溶性ビタミンの値を知るために行った。前回(1,2)、第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—に従った栄養素組成をまねた半合成食を投与した時の男女学生の尿中の水溶性ビタミン含量について報告したので、今回は、自由に食事を摂取させた時の値を求めた。

B. 実験方法

1. 被験者

今回の実験の趣旨を理解し、問診票に答えてくれた学生のうち、我々が健常と判断した学生について、本人の同意を得た。そして、ビタミン剤摂取が少なくとも1週間以上ないことを再度口頭で確認後、24時間尿を集めた。採尿は採尿日の2回目の尿から翌日の1回目の尿を集めた。排尿後、直ちに光を通さない黒色のボトル(J-BOTTLE, 1000 ml, ROUND, Wide Mouth Black HD-PE, NIKKO Co., Ltd.)に蓄尿していき、蓄尿中は氷中で保存した。24時間尿を集め終わったら、直ちに容量を計測した。測定するビタミンの安定化のために以下の操作を直ちに行い、使用するまで -20°C で保存した。ビタミン B_1 、ビタミン B_2 、ビタミン B_6 の異化代謝産物である4-ピリドキシン酸(4-PIC)を測定するためには、1 mol/Lの HCl 0.9 mlを入れたPETチューブ(TP-80, (有)佐藤化成工業所)に原尿を8.1 ml入れ、十分に混合後、保存した。ビタミン B_{12} 、パントテン酸、ビオチンを測定するために、原尿を9 ml, PETチューブに入れて保存した。葉酸を測定するために、1 mol/Lのアスコルビン酸を0.9 ml入れたPETチューブに原尿を8.1 ml入れ、十分に混合後、保存した。ビタミンCを測定するために、10%メタリン酸を4 ml入れたPETチューブに原尿を4 ml入れ、十分に混合後、保存した。

被験者の女性(28名)の年齢の平均値 \pm SDは 20 ± 0.2 歳、身長は 159 ± 5 cm、体重は 49.8 ± 5.4 kg、BMIは 19.7 ± 1.8 であった。なお、今回の採尿に際して、食事調査は行わなかった。

2. 尿中のビタミンの測定方法

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した方法に従った(3)。

C. 結果

1. 尿中のビタミン B_1 排泄量

図1に示したように、自由食摂取時の女子学生の1日尿中への総ビタミン B_1 排泄量は、 556 ± 361 nmol/day (平均値 \pm SD, $n=28$)であった。この値は、前回(1,2)の介入試験で 0.94 mg (3540 nmol)/dayの摂取量の時の値、 495 ± 212 nmol/dayと有意な差異は認められなかった。

2. 尿中のビタミン B_2 排泄量

図2に示したように、自由食摂取時の女子学生の1日尿中への総ビタミン B_2 排泄量は、 311 ± 261 nmol/day (平均値 \pm SD, $n=28$)であった。この値は、前回の(1,2)の介入試験で 1.2 mg(3188 nmol)/dayの摂取量の時の値、 580 ± 146 nmol/dayと比較して、有意に低い値であった。

3. 尿中のビタミン B_6 異化代謝産物 4-PIC排泄量

図3に示したように、自由食摂取時の女子学生の1日尿中への4-PIC排泄量は、 3.62 ± 1.54 μ mol/day (平均値 \pm SD, $n=28$)であった。前回(1,2)は4-PICを測定していないので、比較をすることはできないが、尿中の4-PICの栄養状態の指標としての適正值は 3 μ mol/day以上という報告がある(4)。

4. 尿中のビタミン B_{12} 排泄量

図4に示したように、自由食摂取時の女子学生の1日尿中への総ビタミン B_{12} 排泄量は、 62 ± 30 pmol/day (平均値 \pm SD, $n=28$)であった。この値は、前回の(1,2)の介入試験で 2.4 μ g (1.77 nmol)/dayの摂取量の時の値、 145 ± 49 pmol/dayと比較して、有意に低い値であった。

5. 尿中のパントテン酸排泄量

図5に示したように、自由食摂取時の女子学生の1日尿中へのパントテン酸排泄量は、 12.5 ± 3.7 μ mol/day (平均値 \pm SD, $n=28$)であった。この値は、前回の(1,2)の介入試験で 5 mg(22.8 μ mol)/dayの摂取量の時の値、 16.9 ± 1.3 μ mol/dayと比較して、有意に低い値であった。

6. 尿中の葉酸排泄量

図6に示したように、自由食摂取時の女

子学生の1日尿中への葉酸排泄量は、 24.6 ± 7.1 nmol/day (平均値 \pm SD, n=28)であった。この値は、前回の(1,2)の介入試験で食事性葉酸として $340 \mu\text{g}$ (770 nmol)/day の摂取量の時の値、 22.7 ± 2.7 nmol/day と比較して、差異は認められなかった。

7. 尿中のビオチン排泄量

図7に示したように、自由食摂取時の女子学生の1日尿中へのビオチン排泄量は、 79.6 ± 29.4 pmol/day (平均値 \pm SD, n=28)であった。この値は、前回の(1,2)の介入試験で $30 \mu\text{g}$ (123 nmol)/day の摂取量の時の値、 83 ± 23 pmol/day と比較して、差異は認められなかった。

8. 尿中のビタミンC排泄量

図8に示したように、自由食摂取時の女子学生の1日尿中へのビタミンC排泄量は、 $84 \pm 77 \mu\text{mol/day}$ (平均値 \pm SD, n=28)であった。この値は、前回の(1,2)の介入試験で 100mg ($568 \mu\text{mol}$)/day の摂取量の時の値、 $140 \pm 51 \mu\text{mol/day}$ と比較して、有意に低い値であった。

D. 考察

水溶性ビタミンの必要量の研究を開始するに当たって、栄養状態の判定方法に関することを調べたが、欠乏状態の判定方法と混同されて論じられており、健常者の健康の維持のための判定方法が普及していないことに気づいた。欠乏の判定は血液中のビタミン量の低下となって現れるが、栄養状態の判定とはならない。欠乏症が現われてでは遅すぎるのである。栄養状態の判定では、欠乏状態が顕在化する前の状態を評価しなければならないことを痛感した。

そのためには、尿中に排泄されるビタミン量の基準値を決める必要がある。尿中の値で栄養状態を判定する際の欠点は、スポット尿での判定が困難なことである。1日尿を集めなければならないことである。しかしながら、採尿もなれば、苦にならない。特に男性では、直接ボトルに排泄可能である。女性においては、直接ボトルに排泄するにはロスという危険が伴うので、簡便な採尿方法の開発が必要である。

さて、尿中のニコチンアミドに関する研究は、すでに柴田らによる多くの報告があり、確立されている(5)。ナイアシンの場合、

ナイアシン活性を有する、すなわちビタミン体であるニコチンアミドとニコチン酸は推奨量程度の摂取量では検出限界以下である。ところが、異化代謝産物である N^1 -メチルニコチンアミド(MNA)、 N^1 -メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド(2-Py)及び N^1 -メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド(4-Py)の合計量は1日当たり $50 \mu\text{mol}$ 以上に達する。もし、これら3つの異化代謝産物の存在が知られていなければ、ナイアシンは尿中には排泄されず、尿はナイアシンの栄養状態の指標には適さない、ということになってしまう。これらの3つの化合物のうち、2-Pyと4-Pyは柴田が独自に合成し、独自に定量方法を開発したものである(6)。このことにより、ナイアシンの栄養状態の判定方法は、飛躍的に精度が上がった。ナイアシン栄養に関しては、上記の3つのナイアシン異化代謝産物の合計量が1日当たり $50 \mu\text{mol}$ 以上で、(2-Py + 4-Py)/MNA排泄量比が1.5を越えれば、良好と判断してよいことを明らかにした。

他の水溶性ビタミンに関する情報は乏しい。

ビタミン B_1 に関しては、米国・カナダの食事摂取基準(7)では、潜在性欠乏として $133\text{-}333$ nmol/dayの値を、欠乏として 40 nmol/dayの値をあげている。今回のように、自由に食事を摂取させた時の女子学生の尿中へのビタミン B_1 排泄量は、最低の値が 118 nmol/day、最高値が 1314 nmol/dayであった。平均値 \pm SD値は 556 ± 361 nmol/day (n = 28)であった。前回(1,2)の介入試験で 0.94mg (3540 nmol)/dayの摂取量の時の値では、10名中1名が 286 nmol/dayと 333 nmol/dayよりも低い値を示した。今回の実験結果では、 333 nmol/dayよりも低い値を示したものが28名中4名いた。118, 223, 287, 331 nmol/dayであった。これらの実験結果から、ビタミン B_1 の栄養状態の尿中の値として、 300 nmol/day以上であれば、良好と判断して差し支えないと考えられる。つまり、現段階の実験結果では、成人では、ビタミン B_1 栄養状態の維持の目標として、1日尿中へのビタミン B_1 の排泄量が 300 nmol/day以上の摂取量を心がけるという意味である。

ビタミン B_2 に関しては、米国で約 1.5 mg/day のビタミン B_2 摂取量時において、1

日尿中への排泄量が 319 nmol/day であったという報告がある (8) . 前回の(1,2)の介入試験で 1.2 mg(3188 nmol)/day の摂取時の値は 580±146 nmol/day であった. 最低値は 366 nmol/day であった(1,2). 今回の値は 311±261 nmol/day (平均値±SD, n=28)であり, 前回と比較して有意に低い値であった. これらのデータから, ビタミン B₂ の栄養状態の指標としての 1 日尿中へのビタミン B₂ 排泄量の値を, 明確に設定することは困難であるが, 暫定的に 350 nmol/day という数値を提示したい.

ビタミン B₆ に関しては, その異化代謝産物である 4-PIC の排泄量がビタミン B₆ 栄養状態の指標として利用できる. 尿中の 4-PIC の栄養状態の指標としての適正值は 3 μmol/day 以上という報告がある(4). この値は, 我々が, 男女学生に食事摂取基準に従った適正量のビタミン B₆ を投与した時の尿中の 4-PIC 値, 男性で 3.72±0.90 μmol/day, 女性で 3.33±0.33 μmol/day と報告した値(9), および今回の自由食摂取時の女子学生の 1 日尿中への 4-PIC 排泄量が 3.62±1.54 μmol/day あったことを考えあわせると, ビタミン B₆ 栄養状態の指標として, 1 日尿中への 4-PIC 排泄量を 3 μmol/day 以上に維持するという指標は妥当であると思われる.

ビタミン B₁₂ に関しては, 6 人の健常人において, 81.2~199.3 pmol/day であったという報告がある(10). また, その報告(10)によれば, 悪性貧血患者では 37 pmol/day 以下の数値であったとしている. 自由食摂取時の女子学生の 1 日尿中への総ビタミン B₁₂ 排泄量は, 62±30 pmol/day であった. この値は, 前回の(1,2)の介入試験で 2.4 μg (1.77 nmol)/day の摂取量時の値は 145 ± 49 pmol/day であり, 最低値は 94 pmol/day であった. 一方, 男子学生の値は 93±31 pmol/day で, 最低値は 69 pmol/day であった. これらのことから, ビタミン B₁₂ 栄養状態の指標として, 1 日尿中のビタミン B₁₂ 排泄量の値を 70 pmol/day 以上に維持できる摂取量をめざすことを提言する.

パントテン酸に関しては, 尿中への排泄量がパントテン酸の栄養状態の指標として適しているという明確な報告がある(11,12). これらの報告によれば, 成人健常者の 1 日尿中への排泄量は, 10~20 μmol/day である.

今回の自由食摂取時の女子学生の 1 日尿中へのパントテン酸排泄量は, 12.5±3.7 μmol/day あった. 前回の(1,2)の介入試験で 5 mg(22.8 μmol)/day の摂取量の時の値は, 女子で 16.9±1.3 μmol/day であり, 最低値は 14.8 μmol/day であった. 男子の介入試験においては, 9.3±2.3 μmol/day であり, 最低値は 6.2 μmol/day であった(1,2). これらのことを総合すると, 男子と女子ではパントテン酸必要量に差異がある可能性がある. つまり, 男子の方が, パントテン酸の要求量が女子よりも高いと思われる. しかし, この点については, さらなる検討を加え後に, 結論をだしたい. パントテン酸の栄養状態の指標としては, 尿中への排泄量を用いることが適していることは明確であるが, どの値以上を目標とするかについても, 男女差の点を考慮するか否かについても不明な点がある. ここでは, 男女ともに, 成人では, 暫定的に 10 μmol/day 以上の排泄量を維持する摂取量を提言する.

葉酸の尿中排泄量に関して, 11.3~90.7nmol/day であったという報告がある(13). 今回の自由食摂取時の女子学生の 1 日尿中への葉酸排泄量は, 24.6 ± 7.1 nmol/day であった. 一方, 前回(1,2)の介入試験で食事性葉酸として 340 μg(770 nmol)/day の摂取量時の値は 22.7±2.7 nmol/day であり, 最低値は 20.4 nmol/day であった. これらのことから, 葉酸の栄養状態を適切に保つには, 成人では 1 日尿中への葉酸排泄量が 20 nmol/day 以上を維持できる摂取量を提言する.

ビオチンに関しては, 今回の自由食摂取時の女子学生の 1 日尿中へのビオチン排泄量は, 79.6±29.4 pmol/day であった. 前回の(1,2)の介入試験で 30 μg(123 nmol)/day の摂取量時の値は 83±23pmol/day であり, 最低値は 54 pmol/day であった. これらのデータから, 50 pmol/day 以上の 1 日尿中排泄量を維持できるビオチン摂取量を, ビオチンの栄養状態の維持のために提言する.

ビタミン C に関しては, 自由食摂取時の女子学生の 1 日尿中へのビタミン C 排泄量は, 84±77 μmol/day であり, 図 8 に示したように非常にバラツキが目立った. 摂取量に大きなバラツキがあったものと推察される. 前回(1,2)の介入試験で 100 mg (568 μ

mol/day) の摂取量時の値は $140 \pm 51 \mu \text{mol/day}$ であり、最低値は $89 \mu \text{mol/day}$ であった。これらのデータから、ビタミンCの栄養状態を適切に維持できる指標としての尿中排泄量は $90 \mu \text{mol/day}$ を提言したい。まとめとして、表1に水溶性ビタミンの栄養状態の指標として、目標としたい尿中排泄量を示した。この表に示した尿中排泄量以上のビタミンを摂取することが、水溶性ビタミンの栄養状態を良好に保つ量であることを意味する。

E. 健康危機情報

特記する情報なし

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

1. 特許予定
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

H. 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(2003)年4月.
2. Shibata K, Fukuwatari T, Ohta M, Okamoto H, Watanabe T, Fukui T, Nishimuta M, Totani M, Kimura M, Ohishi N, Nakashima M, Watanabe F, Miyamoto E, Shigeoka S, Takeda T, Murakami M, Ihara H, 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.
3. 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, 主任研究者 柴田克己, 平成16(2004)年4月.
4. Leklem JE. (1990) Vitamin B-6: A status report. *J Nutr*, 120:1503-1507.
5. 厚生科学研究費補助金, 21世紀型医療開拓推進研究事業, 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年度 総括・分担研究報告書, 主任研究者 柴田克己, 平成14(2002)年5月.
6. Shibata K, Kawada T, Iwaqi K. (1988) Simultaneous micro-determination of nicotinamide and its major metabolites, N¹-methyl-2-pyridone-5-carboxamide and N¹-methyl-4-pyridone-3-carboxamide, by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, 424:23-28.
7. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. The B vitamins and choline: overview and methods. In: Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes: For thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B₁₂, pantothenic acid, biotin, and choline. Washington, D. C., National Academy Press, 1998: 58-86.
8. Roufhead ZK, McCormick DB. (1991) Urinary riboflavin and its metabolites: effects of riboflavin supplementation in healthy residents of rural Georgia (USA). *Eur J Clin Nutr*, 45:299-308.
9. 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年度~15年度 総合研究報告書, 主任研究者 柴田克己, 平成16(2004)年4月.
10. Mollin DL, Ross GIM. (1952). The vitamin B₁₂ concentrations of serum and urine of normal and of patients with megaloblastic anaemias and other diseases. *J Clin Pathol*, 5:129-139.
11. Fry PC, Fox HM, Tao HG. (1976) Metabolic response to pantothenic acid deficient diet in humans. *J Nutr Sci Vitaminol*, 22:339-346.
12. Fox HM, Linkswiler H. (1961) Pantothenic acid excretion on three levels of intake. *J Nutr*, 75:451-454.
13. Tamura T, Stokstad EL. (1973) The availability of food in man. *Br J Haematol*, 25:513-532.

表1. 目標としたい水溶性ビタミン排泄量 (暫定値)

水溶性ビタミン	目標としたい1日尿中排泄量
ビタミンB ₁	300 nmol/day 以上
ビタミンB ₂	350 nmol/day 以上
ビタミンB ₆	3 μmol/day 以上 (ビタミンB ₆ の異化代謝産物である4-PIC)
ビタミンB ₁₂	70 pmol/day 以上
ナイアシン	50 μmol/day 以上 (異化代謝産物であるMNA, 2-Py, 4-Pyの合計排泄量)
パントテン酸	10 μmol/day 以上
葉酸	20 nmol/day 以上
ビオチン	50 pmol/day 以上
ビタミンC	90 μmol/day 以上

上記の値を維持できる摂取量が望まれる.

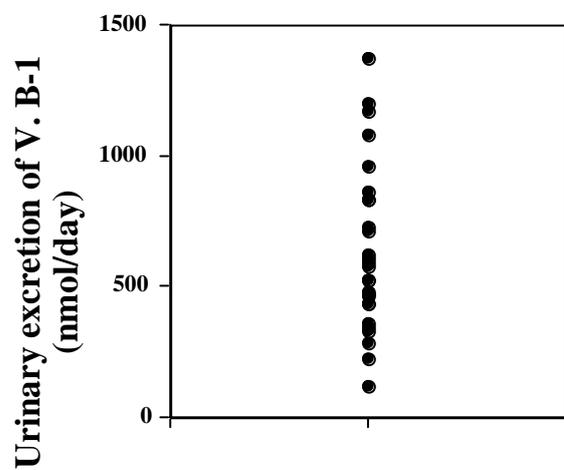


図 1. 自由食摂取時の女子学生のビタミン B₁ 排泄量

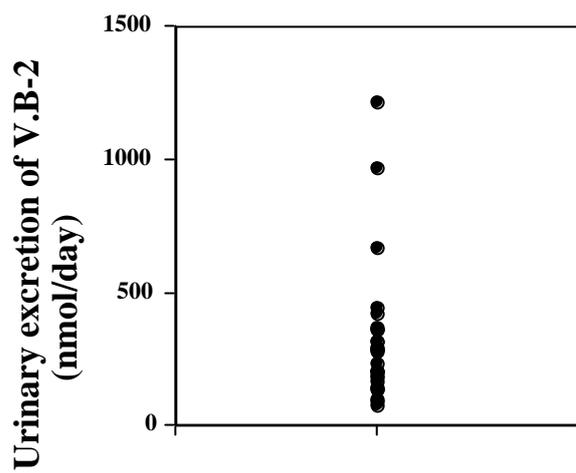


図 2. 自由食摂取時の女子学生のビタミン B₂ 排泄量

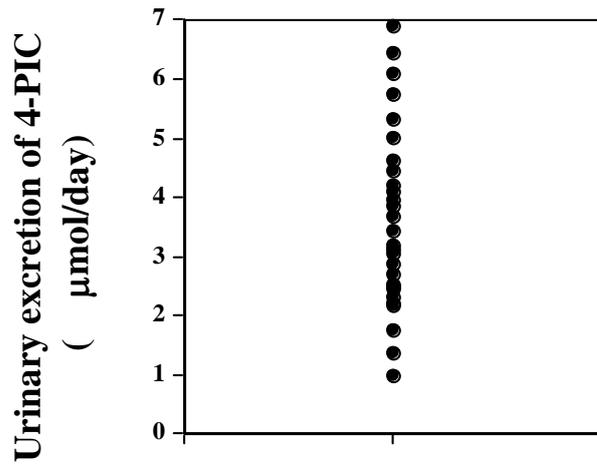


図3. 自由食摂取時の女子学生のビタミン B₆異化代謝産物 4-PIC 排泄量

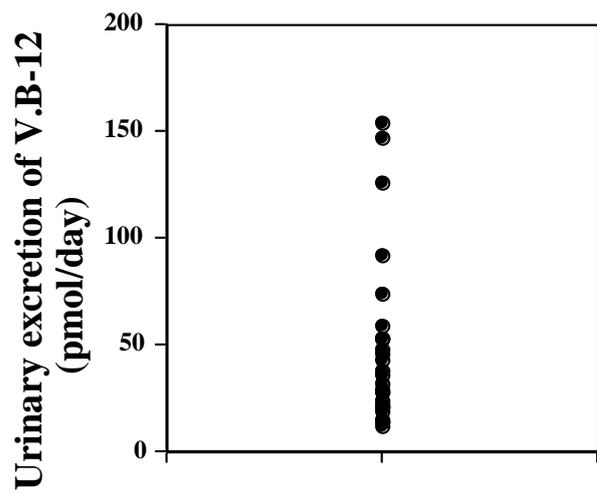


図4. 自由食摂取時の女子学生のビタミン B₁₂ 排泄量

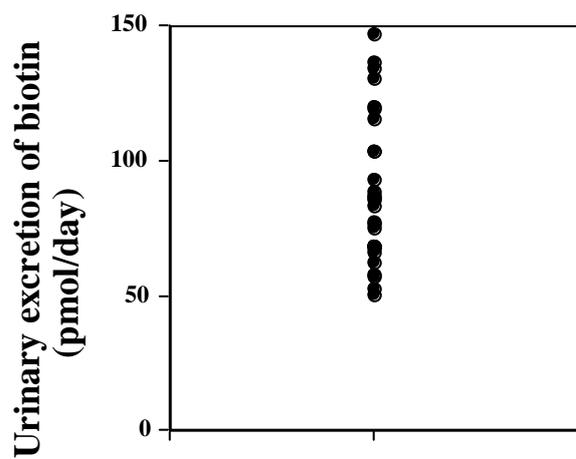


図7. 自由食摂取時の女子学生のビオチン排泄量

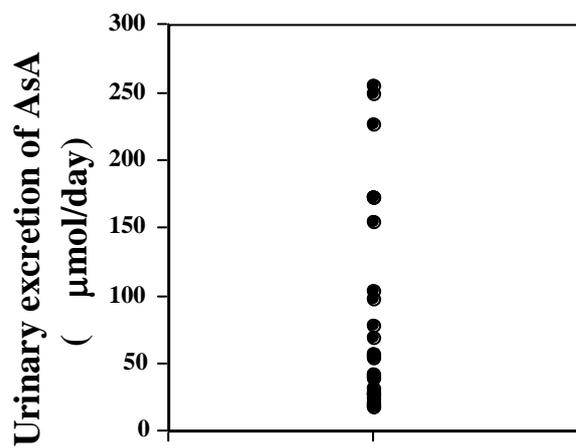


図8. 自由食摂取時の女子学生のビタミンC排泄量