

平成 20 年度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を改定するためのエビデンスの構築に関する研究

—微量栄養素と多量栄養素摂取量のバランスの解明—

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

### 6. 新しい生体指標を用いた栄養評価—尿中ミネラルの活用法—

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

分担研究者 吉田 宗弘 関西大学 教授

#### 研究要旨

自由に日常生活を営んでいるヒトを対象に、尿中ミネラル排泄量を指標としてミネラル摂取量を評価できるのかを明らかにすることを目的とした。大学生を対象として食事記録をもとに五訂日本食品標準成分表から算出したミネラル摂取量とその尿中への排泄量との相関を決定した。日本人の食事摂取基準（2005年版）に必要量が策定されている13種類のミネラル（ナトリウム、カリウム、カルシウム、リン、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅、マンガン、モリブデン、セレン、クロム、ヨウ素）のうち、クロム、ヨウ素を除く11種類について、被験者の尿中ミネラル排泄量と平日連続4日間の食事記録をもとに算出した採尿前平均ミネラル摂取量との相関を調べた。鉄を除く10種類のミネラルについて平均摂取量と尿中排泄量との間に正の相関が認められた。以上の結果は、尿中ミネラル排泄量を有効なバイオマーカーとして利用し、食事記録によるミネラル摂取量と併用することにより、ミネラル栄養状態を評価できる可能性を示すものである。

## A. 目的

近年、栄養素摂取量を反映するバイオマーカーとして尿の利用が注目を集めている。これまでに、尿中窒素排泄量を利用したたんぱく質摂取量の評価<sup>1)</sup>、尿中スクロースおよびフルクトース排泄量を利用した糖質摂取量の評価<sup>2)</sup>などが確立されている。水溶性ビタミンにおいても、ヒト介入試験によって、ビタミンB<sub>12</sub>を除く8種類の水溶性ビタミンについて、尿中水溶性ビタミン排泄量は水溶性ビタミン摂取量を鋭敏に反映することが明らかとなった<sup>3,4)</sup>。また、ミネラルにおいても同様に、ナトリウム、カリウム、リンでは尿中排泄量が摂取量を反映することが明らかになっており<sup>5)</sup>、ヒト介入試験によって、カルシウム、マグネシウムの尿中排泄量と摂取量に相関があることが報告されている<sup>6)</sup>。本研究では、自由に日常生活を営んでいるヒトにおいて、尿中ミネラル排泄量を指標としてミネラル摂取量を評価できるのかを明らかにすることを目的とした。「日本人の食事摂取基準(2005年版)」<sup>7)</sup>に必要量が策定されている13種類のミネラルのうち、五訂日本食品標準成分表<sup>8)</sup>に掲載されている11種類(ナトリウム、カリウム、カルシウム、リン、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅、マンガン、モリブデン、セレン)について、食事記録をもとに算出したミネラル摂取量とその尿中への排泄量との相関について検討した。

## B. 実験方法

### 1. 対象者

S県内の大学に在籍する118人を対象とした。このうち、24時間尿を取りこぼしなく採尿した91人を対象とした。さらに、各ミネラルについて解析を行う際、尿中排泄量が著

しく高い者、すなわち鉄では1.0 mg/d以上、銅では150 µg/d以上の排泄量がある者、摂取量に対して明らかに排泄量が異常である者は調査対象から除外した。最終的な調査対象人数は、ナトリウムでは91人、カリウムでは91人、カルシウムでは91人、リンでは90人、マグネシウムでは90人、鉄では88人、亜鉛では89人、銅では86人、マンガンでは89人、モリブデンでは91人、セレンでは91人であった。

なお、本研究は滋賀県立大学倫理審査委員会において承認を得ており、被験者には調査の目的、検査内容、個人情報の保護などについて十分な説明を行い、インフォームド・コンセントを得ている。

### 2. 食事記録法

秤量法による平日連続4日間の食事記録を記入させた。これは国民健康・栄養調査法ならびに長寿医療センター研究所の手法に準拠したものである。あらかじめデジタルクッキングスケール(タニタ)とインスタントカメラ、食事記録用紙を配布し、調査の目的と方法を事前に説明した。秤量法による食事記録の方法について、(1)献立の記入に際し、朝食、昼食、夕食、間食の区分のコード化(夜食も間食として区分)、(2)献立名ならびに食材は経口摂取時に一番近い状況の“生”“ゆで”“皮の有無”“部位”“調味料”を確認しながら分量を秤量し正確に記入させた。並行して喫食の前後をインスタントカメラで撮影させ、後日、この双方を回収した。これらの精度をさらに高めることと評価の標準化を計るために、複数の管理栄養士が食事記録表と写真をもとに材料の記入漏れや分量の妥当性、食材のコードなどを点検した。栄養素等摂取量は五訂日本食品標準成分表<sup>8)</sup>に基

づいた長寿医療センター研究所方式の解析プログラムを用いて計算した。ただし、モリブデン、セレンに関しては Hattori らの報告<sup>9)</sup> および Miyazaki らの報告<sup>10)</sup>に記載されているモリブデン、セレン食品中含量表を利用した。

### 3. 24 時間尿の蓄尿

対象者には、起床後の 2 回目の尿から翌朝起床後の 1 回目の尿までの採尿を依頼し、24 時間尿とした。対象者は、採尿開始時刻、終了時刻、尿の取りこぼし、および取り忘れの有無を記入した。24 時間尿の容量を測定し、分析に使用するまで $-20^{\circ}\text{C}$ で保存した。

### 4. 分析

尿中ナトリウム、カリウム量は、電極法を用いて分析した。

尿中カルシウム量は、尿を遠心処理し、得られた上清を富士ドライケム 3500i (富士フィルム株式会社) を用いて分析した。

尿中リン量は、UV 計 (V-530, 日本分光株式会社) を用いてモリブデンブルー吸光法により分析した。

尿中マグネシウム量は、原子吸光分析装置 (AA-6300, 株式会社 島津製作所) を用いて分析した。

尿中鉄量は、試料 50 mL に対し、硝酸 5 mL を加えてホットプレートで加熱し、沸騰状態を約 10 分間保持した。放冷後、沈殿を 5A の濾紙で濾過し、100 mL に定容したものを ICP-AES (Ulmina2, 株式会社 堀場製作所) にて波長 259.940 nm で分析した。

尿中亜鉛、銅、マンガン量は、尿中鉄量測定と同様に前処理を行った後、ICP-AES を用いて分析した。波長はそれぞれ 218.856 nm, 324.754 nm, 257.610 nm を用いた。

尿中モリブデン、セレン量は、尿を遠心分

離後、得られた上清を 0.1 M 硝酸で 10 倍希釈した。その希釈液を 0.22  $\mu\text{m}$  ミクロフィルタで濾過し、ICP-MS (ICP-MS8500, 株式会社 島津製作所) で分析した。

### 5. 統計処理

尿中ミネラル排泄量と 4 日間の平均ミネラル摂取量との間の相関を決定するために、Pearson の相関係数を求めた。値は全て平均  $\pm$  標準偏差で表し、計算には、GraphPad Prism 4 (GraphPad Software, Inc., San Diego, California, USA) を用いた。

## C. 結果

### 1. 被験者の特徴

調査対象とした大学生の身体状況を表 1 に示した。厚生労働省編「平成 16 年国民健康・栄養調査報告」<sup>11)</sup>と比較すると、男子では、身長  $171.7 \pm 4.3$  cm (全国平均  $172.2 \pm 6.3$  cm)、体重  $66.3 \pm 6.9$  kg (全国平均  $65.5 \pm 9.7$  kg) とほぼ同値であった。女子では、身長  $158.2 \pm 5.0$  cm (全国平均  $158.8 \pm 4.4$  cm)、体重  $52.0 \pm 12.4$  kg (全国平均  $50.6 \pm 6.0$  kg) とほぼ同値であった。BMI は、男子  $22.4 \pm 2.3$  (全国平均  $22.5 \pm 3.6$ )、女子  $20.8 \pm 5.3$  (全国平均  $20.3 \pm 2.5$ ) であり、男女とも標準体重の域に位置していた。

### 2. 尿中ミネラル排泄量とミネラル摂取量との関係

クロム、ヨウ素を除く 11 種類のミネラルについて、尿中排泄量と摂取量との関連性を調べた。その結果、鉄を除く 10 種類のミネラルにおいて相関が認められた (表 2)。

### 3. 排泄率

尿中ミネラル排泄量からミネラル摂取量を評価するために、クロム、ヨウ素を除く 11 種類のミネラルについて、排泄率 (摂取量に

対する尿中排泄量の割合)を求めた(表3). 排泄率は、ナトリウムでは約90%, カリウムでは約80%, カルシウムでは約20%, リンでは約80%, マグネシウムでは約20%, 鉄では約3%, 亜鉛では約6%, 銅では約5%, マンガンでは約1.5%, モリブデンでは約55%, セレンでは約30%であった.

#### D. 考察

本研究では自由に生活する大学生を対象として、ミネラルの尿中排泄量と摂取量との相関について調べた. 秤量法による食事調査法を用いて、連続4日間の食事記録から栄養素等摂取量を算出した. なお、栄養素等摂取量の算出は五訂日本食品標準成分表<sup>8)</sup>に基づいているため、五訂日本食品標準成分表<sup>8)</sup>に成分値が記載されていないクロム、ヨウ素、モリブデン、セレンについては摂取量を算出することができなかった. しかし、モリブデン、セレンに関しては、Hattoriらの報告<sup>9)</sup>およびMiyazakiらの報告<sup>10)</sup>に記載されているモリブデン、セレン食品中含量表を利用して摂取量を算出することができた.

クロム、ヨウ素、鉄を除く10種類のミネラルについて、尿中ミネラル排泄量が多い人ほど、ミネラル摂取量が多いことが示された. これらの結果より、クロム、ヨウ素、鉄を除く10種類のミネラルについて、尿中ミネラル排泄量から数日間のミネラル摂取量の評価が可能であることが示された. また、各ミネラルの排泄率と尿中ミネラル排泄量を用いて、ミネラル摂取量を推定できることが示された. 本研究では、自由に日常生活を営んでいる大学生を対象とした食事記録法による数日間の摂取量について、尿中ミネラル排泄量は強い相関を示した. このことから、尿

中ミネラル量の測定が数日間のミネラル摂取量の評価に利用できる可能性が示された.

将来、尿中ミネラル排泄量を有効なバイオマーカーとして利用し、食事調査によるミネラル摂取量と併用することにより、ミネラル栄養状態を評価することが期待される.

#### 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(予定を含む)

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. Bingham SA. Urine nitrogen as a biomarker for the validation of dietary protein intake. *J Nutr* (2003) 133, 921S-4S.
2. Tasevska N, Runswick SA, McTaggart A, Bingham SA. Urinary sucrose and fructose as biomarkers for sugar consumption. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* (2005) 14, 1287-94.
3. Shibata K et al. 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* (2005) 51, 319-28.
4. Fukuwatari T, Shibata K. Urinary water-soluble vitamins and their metabolite contents as nutritional markers for evaluating vitamin intakes in young Japanese women. *J Nutr Sci Vitaminol* (2008) 54, 223-229.
  5. Kimira M, Kudo Y, Takachi R, Haba R, Watanabe S. Associations between dietary intake and urinary excretion of sodium, potassium, phosphorus, magnesium, and calcium. *Nippon Eiseigaku Zasshi*. (2004) 59, 23-30.
  6. Nishimuta M, Kodama N, Morikuni E, Yoshioka Y, Takeyama H, Yamada H, Kitajima H, Suzuki K. Balances of Calcium, Magnesium and Phosphorus in Japanese Young Adults. *J Nutr Sci Vitaminol* (2004) 50, 19-25.
  7. 厚生労働省. 日本人の食事摂取基準 (2005年版), 日本人の栄養所要量—食事摂取基準—策定検討会報告書. 東京, (2004) .
  8. 科学技術庁資源調査会編. 日本食品成分表の改定に関する調査報告—五訂日本食品標準成分表—大蔵印刷局, 東京, (2000) .
  9. Hattori H, Ashida A, Ito C, Yoshida M. Determination of molybdenum in foods and human milk, and an estimate of average molybdenum intake in the Japanese population. *J Nutr Sci Vitaminol* (2004) 50, 404-409.
  10. Miyazaki Y, Koyama H, Sasada Y, Satoh H, Nojiri M, Suzuki S. Dietary habits and selenium intake of residents in mountain and coastal communities in Japan. *J Nutr Sci Vitaminol* (2004) 50, 309-319.
  11. 健康・栄養情報研究会編. 厚生労働省 平成 16 年国民健康・栄養調査報告, 第一出版, 東京, (2006).

表 1. 大学生の身体的特徴

	全体 (n = 90)	男子 (n = 14)	女子 (n = 76)
身長 (cm)	160.3 ± 6.9	171.7 ± 4.3	158.2 ± 5.0
体重 (kg)	54.3 ± 12.9	66.3 ± 6.9	52.0 ± 12.4
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21.1 ± 4.9	22.4 ± 2.3	20.8 ± 5.3

値は平均値 ± 標準偏差を示す.

表 2. 大学生の尿中ミネラル排泄量と採尿前連続 4 日間の平均ミネラル摂取量との関連性

	n	尿中ミネラル排泄量	ミネラル摂取量	r 値
ナトリウム	91	2.76 ± 1.09 (g/d)	3.03 ± 0.81 (g/d)	0.580***
カリウム	91	1.49 ± 0.50 (g/d)	1.98 ± 0.52 (g/d)	0.602***
カルシウム	91	104 ± 38 (mg/d)	514 ± 157 (mg/d)	0.276**
リン	90	689 ± 247 (mg/d)	893 ± 231 (mg/d)	0.629***
マグネシウム	90	38.6 ± 16.2 (mg/d)	203 ± 54 (mg/d)	0.235*
鉄	88	0.20 ± 0.12 (mg/d)	7.08 ± 2.28 (mg/d)	-0.079
亜鉛	89	0.40 ± 0.14 (mg/d)	6.94 ± 1.98 (mg/d)	0.311**
銅	86	48.1 ± 22.3 (µg/d)	0.98 ± 0.29 (mg/d)	0.219*
マンガン	89	41.0 ± 24.5 (µg/d)	3.02 ± 1.01 (mg/d)	0.212*
モリブデン	91	158 ± 80 (µg/d)	299 ± 106 (µg/d)	0.457***
セレン	91	56.5 ± 21.1 (µg/d)	198 ± 70 (µg/d)	0.234*

値は平均値 ± 標準偏差を示す. 有意確率は\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  で示した.

表 3. 大学生のミネラル排泄率

	排泄率 (%)
ナトリウム	92.3 ± 33.4
カリウム	76.8 ± 21.7
カルシウム	21.5 ± 9.1
リン	78.3 ± 22.8
マグネシウム	20.3 ± 11.9
鉄	3.19 ± 2.36
亜鉛	6.16 ± 2.61
銅	5.15 ± 2.69
マンガン	1.45 ± 1.07
モリブデン	55.5 ± 29.5
セレン	31.7 ± 14.8

排泄率は、尿中排泄量 / 摂取量 × 100 より求めた。

値は平均値 ± 標準偏差を示す。