

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

#### IV. 研究協力者の報告書

##### 2. ビタミン B<sub>12</sub>に関する研究報告

研究協力者 渡邊 文雄 鳥取大学 教授

###### 研究要旨

ビタミン B<sub>12</sub> の 2010 年度版食事摂取基準を策定するための研究報告をまとめた.

## A. 基礎

### 1. 単位

ビタミン B<sub>12</sub>はコバルトを含有する化合物(コバミド)であり、アデノシルコバラミン、メチルコバラミン、スルフィトコバラミン、ヒドロキシコバラミン、シアノコバラミンがある。ビタミン B<sub>12</sub>の食事摂取基準の数値はシアノコバラミン相当量(図1)で策定した。

### 2. 性質<sup>1)</sup>

コリノイドは赤、黄、紫、褐色、緑など美しい色を呈し、紫外および可視部に特徴ある吸収スペクトル(長波長側から $\alpha$ および $\beta$ 帯(420-660 nm付近)と $\gamma$ 帯(350-370 nm付近))を示し、ビタミン B<sub>12</sub>化合物の同定に用いられる。シアノコバラミンは針状またはプリズム状結晶であり、固体状態では安定である。溶液ではpH 4~6で最も安定で、遮光下、室温で数年間保存できる。オートクレーブ殺菌も可能であり、強酸性、強アルカリ性では徐々に分解する。

### 3. 補酵素型への生合成経路

ヒトを含む哺乳動物でのビタミン B<sub>12</sub>補酵素の合成経路の詳細は未だよくわかっていない。先天性代謝異常症の研究からビタミン B<sub>12</sub>補酵素の合成経路が推定されている(図2)<sup>2)</sup>。細胞内に取り込まれたヒドロキシコバラミン(コブ(III)アラミン)は、アクアコバラミンレダクターゼ(EC 1.6.99.8)の作用でコリン環の3価のコバルトが1電子還元され、コブ(II)アラミンとなる。コブ(II)アラミンはコブ(II)アラミンレダクターゼ(EC 1.6.99.9)の作用でさらに1電子還元されコブ(I)アラミンとなる。その後、コブ(I)アラミンアデノシルトランスフェラーゼ(EC 2.5.1.17)の作用でアデノシルコバラミンを生成する。ヒトの肝臓などにNADPHと

NADHに共役したアクアコバラミンレダクターゼ活性の存在が報告されている<sup>3)</sup>。

しかし、近年、ゲノム情報等の高度な解析により新規な知見が次々と報告され、ヒトにおいて新たなモデル系が提唱されている(図3)。細胞内に取り込まれた後、リソゾームで遊離したビタミン B<sub>12</sub>は、細胞質でMMACHCタンパク質(シアノコバラミンデシアナーゼ)と結合した後、還元酵素により3価のコリン環コバルトが還元され、コブ(II)アラミンが生成する<sup>4)</sup>。細胞内に取り込まれたビタミン B<sub>12</sub>がシアノコバラミンの場合は、このステップで還元的脱シアノ化されることになる。その後、生成したコブ(II)アラミンはMMACHCタンパク質と結合することで還元状態を保ちながら下方配位子ヌクレオチド塩基はBase-off型に安定化される。MMACHCタンパク質からメチオニン合成酵素(MS)にコブ(II)アラミンが受け渡された後、MS還元酵素の作用でコブ(II)アラミンはさらに1電子還元されコブ(I)アラミンとなり、S-アデノシルメチオニンからメチル基が転移されメチルコバラミンを生成する<sup>5)</sup>。メチオニン合成酵素は、この還元的活性化により触媒機能を発現する。一方、MMACHCタンパク質からミトコンドリアに取り込まれたコブ(II)アラミンはビタミン B<sub>12</sub>アデノシルトランスフェラーゼ(ATR)に結合した後、ATR還元酵素の作用でさらに1電子還元され、コブ(I)アラミンを生成する<sup>6)</sup>。このコブ(I)アラミンにATPからアデノシル基が転移されアデノシルコバラミンを生成する。ATRタンパク質に結合したアデノシルコバラミンの下方配位子ヌクレオチド塩基はBase-off型であり<sup>7)</sup>、その後、ATRはメチルマロニルCoAムターゼと相互作用することでアデノ

シルコバラミンをメチルマロニル CoA ムターゼに受け渡すと推定されている<sup>8)</sup>。

#### 4. 異化代謝経路

ヒトの血清や胆汁中にはコビンアミド (コリン環コバルトと配位したヌクレオチドが存在しないコリノイド化合物) 様 B<sub>12</sub> 化合物がかなり存在することが報告されている<sup>9)</sup>。どのようなメカニズムでこれらビタミン B<sub>12</sub> 化合物が生成されるのかについては不明であり、ビタミン B<sub>12</sub> の異化代謝経路に関する報告はない。最近、ヒト糞中に見出されるビタミン B<sub>12</sub> 化合物の 98%以上が真のビタミン B<sub>12</sub> 以外の天然型コリノイド化合物であることが報告され (図 4)<sup>10)</sup>、腸内での生成機構や生体に及ぼす影響に興味を持たれる。

#### 5. 補酵素作用<sup>11)</sup>

ヒトを含む高等動物において2種類のビタミン B<sub>12</sub> 依存性酵素が知られている。生体内で奇数鎖脂肪酸やアミノ酸 (バリン, イソロイシン, スレオニン) の代謝に関与するアデノシルコバラミン依存性メチルマロニル CoA ムターゼ (EC5.4.99.2) と, N<sup>5</sup>-メチルテトラヒドロ葉酸 (5-CH<sub>3</sub>-H<sub>4</sub>-葉酸) とホモシステインからメチオニンの生合成に関与するビタミン B<sub>12</sub> 依存性メチオニン合成酵素 (EC2.1.1.13) である。

#### 6. 補酵素作用以外の作用

ビタミン B<sub>12</sub> について補酵素作用以外の生理作用の報告はない。

#### 7. 欠乏症発症機構

ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏によりアデノシルコバラミン依存性メチルマロニル CoA ムターゼ活性が低下すると、生体内にメチルマロン酸 (MMA) が蓄積し、尿中に MMA が排泄される<sup>12)</sup>。この MMA 排泄量の増加はヒトを含む高等動物のビタミン B<sub>12</sub> 欠乏状態の指標とし

て広く用いられている。また、動物実験において生体内の MMA 蓄積により TCA サイクル関連酵素の阻害など種々の代謝障害が生じることが報告されている<sup>13)</sup>。

一方、ビタミン B<sub>12</sub> 依存性メチオニン合成酵素の活性低下は、S-アデノシルメチオニン (生体内のメチル基供与体) の減少と S-アデノシルホモシステイン (メチル基転移反応の阻害作用) の増加を引き起こし、生体内の種々のメチル化反応に影響を与える<sup>14)</sup>。また、ビタミン B<sub>12</sub> 依存性メチオニン合成酵素の活性低下は、ホモシステインの増加による神経障害の発症にも関連している<sup>15)</sup>。実際にビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症患者の脳神経組織において、奇数鎖脂肪酸や分岐鎖脂肪酸の異常な蓄積やミエリン鞘の障害 (脱ミエリンなど) が観察され、ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏性神経障害の一要因と推定される<sup>16-18)</sup>。

また、ビタミン B<sub>12</sub> 依存性メチオニン合成酵素はメチオニン代謝と葉酸代謝の接点に位置する。ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏によるメチオニン合成酵素活性の低下は、葉酸代謝にも著しく影響を及ぼし、DNA 合成が顕著に低下する。ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏における巨赤芽球出現の機構として葉酸代謝と共役した DNA 合成異常によるとする「メチル葉酸トラップ説」が提唱されている<sup>19)</sup>。

#### 8. 薬理作用

ヒドロキシコバラミンは容易に CN アニオンと結合しシアノコバラミンを生じる性質があるため、ヒドロキシコバラミンは食品中やタバコの煙などから生体に取り込まれる微量な CN アニオンのスクャベンジャーとなりうる。この性質を利用し、火災などで発症した CN 中毒症の解毒剤としての利用も検討されている<sup>20)</sup>。また、ヒドロキシコバラミン

は生理活性物質である一酸化窒素のスキベンジャーとしての作用<sup>21)</sup>やメチルコバラミンは睡眠・覚醒リズム障害の治療効果<sup>22)</sup>が報告されている。近年、アデノシルコバラミンやメチルコバラミン等に抗マラリア活性を有することが報告されている<sup>23)</sup>。

## 9. 毒性

健常者において食物およびサプリメントからの過剰なビタミン B<sub>12</sub> 摂取に伴う悪影響はない。定期的なビタミン B<sub>12</sub> の大量投与は悪性貧血症の一般的な治療方法であり、悪性貧血患者に大量 (1~5 mg) のビタミン B<sub>12</sub> を定期的に非経口投与しても過剰害は生じない<sup>24)</sup>。また、大量に経口投与された場合でも投与ビタミン B<sub>12</sub> 量の数パーセントが腸管から吸収されるのみである<sup>25)</sup>。以上のことはビタミン B<sub>12</sub> が明らかに低毒性であることを示している。

ビタミン B<sub>12</sub> 製剤はシアノコバラミン、ヒドロキソコバラミン、アデノシルコバラミン、メチルコバラミンなどの形で使用されているが、経口投与では嘔吐、下痢、腹痛などの消化器症状 (稀に発疹、足の灼熱感) が、非経口投与では頭痛、耳鳴、顔面蒼白などが報告されている<sup>26)</sup>。

大量にビタミン B<sub>12</sub> を非経口投与されるときそう (俗に、にきび) を生じる可能性が示唆されたが、主にシアノコバラミンよりも、むしろヒドロキソコバラミンの投与で生じ、市販されているビタミン B<sub>12</sub> 標品中の不純物によると推定されている<sup>27)</sup>。また、アデノシルコバラミンの非経口投与後、アナフィラキシー反応を発症し、死亡した例が報告されている<sup>26)</sup>。アレルギー反応の発症機構としてビタミン B<sub>12</sub> 製剤中の不純物、安定化剤、防腐剤などによるものか、あるいはビタミン B<sub>12</sub>

のコバルト原子が抗原として感作したものが、詳細は不明である。通常は最も低毒性のビタミン B<sub>12</sub> 製剤でも極めて稀であるが重篤な副作用の存在することを認識する必要がある。

## B. ライフステージにおけるビタミン B<sub>12</sub> の必要量

ライフステージにおけるビタミン B<sub>12</sub> の必要量を表 1 に示した。

### 1. 乳児 (0~5 ヶ月)

健康で食生活の良好な成人母親の母乳で育てられた乳児にはビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症は起こらないと考えられ、一般的に 0~5 ヶ月の乳児のビタミン B<sub>12</sub> の食事摂取基準は、母乳栄養児のビタミン B<sub>12</sub> 摂取量を基礎した適正摂取量から策定されている。

井戸田ら<sup>28)</sup> は日本人の健康な母親の母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量を *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* ATCC 7830 を用いた微生物学的定量法で測定したところ、母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量は初乳または移行乳 (0.4 µg/L) から成熟乳 (0.2 µg/L) になるに従い減少し、その平均値は 0.2 µg/L であることを報告している。また、Trugo ら<sup>29)</sup> も、初乳から成熟乳にかけビタミン B<sub>12</sub> 含量が減少することを見出している。

また、井戸田ら<sup>28)</sup> が用いた定量菌は、いわゆるアルカリ耐性因子 (ヌクレオチドやデオキシリボヌクレオチド) にもビタミン B<sub>12</sub> 活性を示す。そのため見かけのビタミン B<sub>12</sub> 含量からアルカリ耐性因子含量を差し引き、正確なビタミン B<sub>12</sub> 含量を算出する必要があるが、井戸田ら<sup>28)</sup> が用いた方法にはアルカリ耐性因子を補正したとする記載がない。また、Sakurai ら<sup>30)</sup> はアルカリ耐性因子を補正

しない AOAC 法を用いて日本人の母乳 115 サンプル中のビタミン B<sub>12</sub> 含量を  $0.4 \pm 0.2 \mu\text{g/L}$  と報告している。日本食品標準成分表で採用されている分析マニュアルに準じてアルカリ耐性因子を補正した母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量を算出した結果では、日本人の健康な母親 25 名の母乳に含まれるビタミン B<sub>12</sub> 含量は  $0.28 \pm 0.14 \mu\text{g/L}$  と報告されている<sup>31)</sup>。また、柴田ら (投稿中)<sup>32)</sup> は、日本人の母乳 194 サンプルのビタミン B<sub>12</sub> 含量を  $0.68 \pm 0.26 \mu\text{g/L}$  と報告している。これまでに報告されている母乳中の平均的なビタミン B<sub>12</sub> 含量を表 2 に示す。

母乳中に含まれるビタミン B<sub>12</sub> の定量法に関して、わが国では微生物学定量法が用いられているが、欧米では放射性同位体希釈法が主流である。血清ビタミン B<sub>12</sub> 含量の測定において放射性同位体希釈法は微生物学的定量法より若干高い値 (約 1.3 倍) を示すことが報告されており<sup>33)</sup>、単純に数値を比較することはできない。日本人の母乳に関して井戸田ら<sup>28)</sup>・渡邊ら<sup>31)</sup>による日本人の母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量の平均値 ( $0.2 \sim 0.28 \mu\text{g/L}$ ) に比べ、Sakurai ら<sup>30)</sup>・柴田ら (投稿中)<sup>32)</sup>による数値 ( $0.4 \sim 0.68 \mu\text{g/L}$ ) が高値を示したが、この母乳ビタミン B<sub>12</sub> 含量の相違がどのような理由で生じたのかは不明である。

第六次改定食事摂取基準では、平均的な日本人の母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量を  $0.2 \mu\text{g/L}$ 、泌乳量  $0.75 \text{ L/日}$  を用いて摂取量 ( $0.15 \mu\text{g/日}$ ) を計算し、0~5 ヶ月の乳児の所要量を  $0.2 \mu\text{g/日}$  と策定した<sup>34)</sup>。食事摂取基準 (2005 年版) では平均的な日本人の母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量を  $0.2 \mu\text{g/L}$ 、泌乳量  $0.78 \text{ L/日}$  を用いて摂取量 ( $0.156 \mu\text{g/日}$ ) を計算し、目安量を  $0.2 \mu\text{g/日}$  と策定した<sup>35)</sup>。一方、米国の食事摂取

基準において母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量はわが国より高い値 ( $0.42 \mu\text{g/L}$ ) が採用され、泌乳量  $0.78 \text{ L/日}$  を用いて摂取量 ( $0.33 \mu\text{g/日}$ ) が計算され、推奨量を  $0.4 \mu\text{g/日}$  としている<sup>36)</sup>。米国の食事摂取基準では乳児のビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症を予防するだけでなく、疾病予防のため、ビタミン B<sub>12</sub> の体内バランスを正常に維持するためには少なくとも  $0.3 \mu\text{g/日}$  以上の摂取量が必要であることを指摘している<sup>36)</sup>。

最近、人工乳栄養児に比べ、母乳栄養児は生後 6 ヶ月においてビタミン B<sub>12</sub> の栄養状態を示す各種バイオマーカー (血清ビタミン B<sub>12</sub> 量, ホロトランスコバラミン II (TCII) 量, 血清メチルマロン酸 (MMA) 量) の挙動が低ビタミン B<sub>12</sub> 栄養状態を示し、特に血清 MMA は一過性ではあるが顕著な増加を示すことが報告されている (図 5-1, 5-2)<sup>37)</sup>。また、ベジタリアンの母親とその乳児の研究において、母乳のビタミン B<sub>12</sub> 含量が  $0.49 \mu\text{g/L}$  以下るとき、母乳栄養児の尿中 MMA 排泄量が増加した<sup>38,39)</sup>。今後、この時期の乳児へビタミン B<sub>12</sub> の補完等を検討する必要があるかもしれない。

そこで、今回 2005 年以降に報告された日本人の母乳のビタミン B<sub>12</sub> 含量に関する 3 論文の数値の平均値  $0.45 \mu\text{g/L}$  を採用した。基本方針に従い泌乳量  $0.78 \text{ L/日}$  で計算すると、0~5 ヶ月の乳児の食事摂取基準 (目安量) は  $0.35 \mu\text{g/日}$  となる。

## 2. 乳児 (6~11 ヶ月)

データは存在しない。そこで基本方針に従って算定することとする。

男性は、 $\{0.35 \times (8.8 / 6.6)^{0.75} + 2.4 \times (8.8 / 63.0)^{0.75} \times 1.3 / 2 = 0.57 \mu\text{g/日}$ ,

女性は、 $\{0.35 \times (8.2 / 6.1)^{0.75} + 2.4 \times (8.2 / 50.0)^{0.75} \times 1.3 / 2 = 0.62 \mu\text{g/日}$ 。

つまり、6～11ヶ月の乳児は、0～5ヶ月の乳児の0.35 µg/日の外挿値(0.43 µg/日)と成人の推奨量からの外挿値(0.75 µg/日)の平均値0.59 µg/日とし、平滑化した。

### 3. 1～69歳

成人のための推定平均必要量を導き出すための単一の指標はない。一般的に次のような方法が考えられる [i. 適正な血清学的状態(正常なヘモグロビン値, 正常なMCV, 正常な網状赤血球反応)を維持するために必要なビタミンB<sub>12</sub>量で決定する方法, ii. 血清ビタミンB<sub>12</sub>量と各種ビタミンB<sub>12</sub>バイオマーカー(MMA値, ホロTCII値など)を適正に維持するのに必要な食事からのビタミンB<sub>12</sub>摂取量を評価する方法, iii. ビタミンB<sub>12</sub>の出納バランス, あるいは体内貯蔵量を適正に維持するのに必要なビタミンB<sub>12</sub>量を評価する方法, iv. その他]。

米国の食事摂取基準<sup>36)</sup>は、理想的でないかもしれないが、策定当時、信頼できるデータが唯一存在したi.の方法が平均必要量を導き出す方法に選ばれ、わが国でも第六次改定食事摂取基準<sup>34)</sup>と日本人の食事摂取基準(2005年版)<sup>35)</sup>で採用された。

i. 適正な血清学的状態(正常なヘモグロビン値, 正常なMCV, 正常な網状赤血球反応)を維持するために必要なビタミンB<sub>12</sub>量の評価

悪性貧血患者にビタミンB<sub>12</sub>を0.25～10 µg/日で筋肉内投与した結果、0.5～2.0 µg/日のビタミンB<sub>12</sub>投与量で血清学的回復が最大値を示すことが報告されている<sup>40)</sup>。米国食事摂取基準では適正な血清ビタミンB<sub>12</sub>量を150 pmol/L(200 pg/mL)以上とし、このデータと他の悪性貧血患者へのビタミンB<sub>12</sub>の投与実験の結果から、1.5 µg/日が悪性貧血症患者の

血清学的状態を適正に維持するために必要とされるビタミンB<sub>12</sub>量であると推定している(表3)。しかし、数週間ごと、あるいは数ヶ月ごとのビタミンB<sub>12</sub>の単回投与量から1日あたりの投与量を補正・算出することは必ずしも適切であるとは考えられない。

悪性貧血患者は胆汁中に含まれる多量のビタミンB<sub>12</sub>を再吸収することができないため、米国食事摂取基準ではこのビタミンB<sub>12</sub>量(1.5 µg/日)からその損失量(0.5 µg/日)を差し引き、正常な腸管吸収能力を有した健康な成人における吸収率(50%)で補正することで推定平均必要量を算定している(表4)。

最近、Borら<sup>41)</sup>はビタミンB<sub>12</sub>の食事摂取量と体内ビタミンB<sub>12</sub>栄養状態を示すバイオマーカー(血清ビタミンB<sub>12</sub>量, ホロTCII量, MMA量, ホモシステイン量)から適正なビタミンB<sub>12</sub>摂取量を検討した。その結果、すべての体内ビタミンB<sub>12</sub>栄養状態の指標を適正に導くためには、毎日6～10 µg/日のビタミンB<sub>12</sub>の摂取が必要であることを報告している(図6)。

iii. ビタミンB<sub>12</sub>の出納バランス, あるいは体内貯蔵量を適正に維持するのに必要なビタミンB<sub>12</sub>量の評価

ホール・ボディ・カウント法を用いた研究から体内ビタミンB<sub>12</sub>貯蔵量に関係なく、1日あたり体内ビタミンB<sub>12</sub>貯蔵量の0.1～0.2%が消失することが示された<sup>42-44)</sup>。すなわち、ビタミンB<sub>12</sub>貯蔵量が3 mgの成人は3～6 µgを毎日排泄することになる。健康な成人の平均のビタミンB<sub>12</sub>貯蔵量は約2～3 mgと報告されているが<sup>45,46)</sup>、健康を維持するための必要最小の体内ビタミンB<sub>12</sub>貯蔵量に関する情報がない。仮に健康を維持できる必要最小貯蔵量を300 µgと見積ると<sup>45)</sup>、ビタミン

B<sub>12</sub>欠乏症を防ぐには0.3~0.6 µg/日を摂取・吸収すればよいことになる。よって、米国食事摂取基準では長期間ビタミン B<sub>12</sub>の摂取が不十分であっても体内に多量に貯蔵されたビタミン B<sub>12</sub>から補充することができるとしている。しかし、一般的に栄養素の出納が負になることは好ましいことではないと考えられる。健康な成人の体内ビタミン B<sub>12</sub>貯蔵量を3 mgと仮定すると、その0.1~0.2% (3~6 µg/日)が毎日代謝・排泄される。図7に示すように種々の要因を考慮すると、ビタミン B<sub>12</sub>の出納バランスが適正となるビタミン B<sub>12</sub>の摂取量は約4.8 µg/日以上と試算され、その時の排泄量は上述のホール・ボディー・カウント法を用いた結果とよく一致している。奥田も正常状態において出納は正のバランスを保つので、ビタミン B<sub>12</sub>の排泄量から吸収率を考慮し、約5 µg/日を食物から摂取する必要があると試算している<sup>47)</sup>。

#### iv. その他

DNAの損傷率の増加は発癌の危険性の増加と老化の促進に関係が深いことが示されているため、ゲノムの損傷や異数性を防ぐことは微量栄養素の新しい食事摂取基準を策定するための1つの重要な指標であるとしてFenechらは、ゲノム安定性を指標としたビタミン B<sub>12</sub>の食事摂取基準の策定方法を提唱している<sup>48-50)</sup>。彼らの研究では米国食事摂取基準で用いている悪性貧血症予防のための最低血清中ビタミン B<sub>12</sub>レベル [150 pmol/L (203 pg/mL)]は、ゲノム安定性の指標 (リンパ球の微小核インデックス)の最低レベル [300 pmol/L (406 pg/mL)]のおよそ半分であり、ゲノム安定性を指標とすると最低7 µg/日のビタミン B<sub>12</sub>の摂取が必要であると報告している。

#### 総合評価

今回、ビタミン B<sub>12</sub> (2010年版)では、食事摂取基準 (2005年版)と同様にビタミン B<sub>12</sub>欠乏症の予防の観点から策定された推奨量2.4 µg/日を採用した。

しかし、わが国の食事摂取基準は栄養素の欠乏症の予防から、健康維持・増進や種々の疾病予防を考慮して策定されている。加齢や萎縮性胃炎により食品タンパク質結合ビタミン B<sub>12</sub>吸収障害の危険性が増加するとき、体内ビタミン B<sub>12</sub>貯蔵量がビタミン B<sub>12</sub>欠乏症の発症を遅らせる重要な因子となる。健康を維持できる最少必要ビタミン B<sub>12</sub>貯蔵量を300 µgと仮定した時<sup>46)</sup>、ビタミン B<sub>12</sub>欠乏症を発症する年月を試算すると (1日あたりのビタミン B<sub>12</sub>の排泄量を体内貯蔵量の0.15%と見積もった場合)、体内ビタミン B<sub>12</sub>貯蔵量が1 mgの時は2.0年、体内貯蔵量が3 mgの時は4.2年、体内貯蔵量が9 mgの時は6.2年となり、高齢者になるまでに体内ビタミン B<sub>12</sub>貯蔵量を高く維持しておくことが疾病発症の予防となる。

体内ビタミン B<sub>12</sub>の栄養状態の各種バイオマーカーを適正レベルに導くのに必要とされるビタミン B<sub>12</sub>摂取量は、6~10 µg/日と報告され<sup>42)</sup>、この値はビタミン B<sub>12</sub>の出納バランス (体内貯蔵量)を適正に維持することが可能であると考えられる。また、食事1回あたりの内因子 (IF)を介した吸収機構の飽和量は、およそ~2.0 µgと推定されており<sup>51)</sup>、1日3回の食事から6.0 µg/日程度のビタミン B<sub>12</sub>を吸収することができることも考慮する必要がある。

よって血清ビタミン B<sub>12</sub>量とビタミン B<sub>12</sub>の栄養状態を反映する各種バイオマーカーを適正に維持するのに必要なビタミン B<sub>12</sub>摂

取量は 6 µg/日となる。ビタミン B<sub>12</sub> の出納バランスを正とし、若年時から体内にビタミン B<sub>12</sub> を蓄積しやすくすることで、加齢による体内ビタミン B<sub>12</sub> の減少と食品タンパク質結合ビタミン B<sub>12</sub> 吸収不良により発症するビタミン B<sub>12</sub> 欠乏性神経障害の発症を遅らせることが可能であると考えられる。

平成 18 年国民健康・栄養調査結果の概要において国民のビタミン B<sub>12</sub> 摂取量は、男性で 7.6 µg/日、女性で 6.3 µg/日、全体で 6.9 µg/日となり、概してこの数値を満たしている<sup>52)</sup>。

血清ビタミン B<sub>12</sub> 濃度は男性に比べて女性で高いことが報告されているが<sup>53)</sup>、その詳細は明確になっていないこともあり、今回は男女差を考慮しなかった。

### 3-1. 幼児 (1~2 歳)

データは存在しない。そこで基本方針に従って算定することとした。成人の推定平均必要量 = 2.0 µg/日を基に、対象年齢区分の体表面積の値の比較を示す式 [ (対象年齢区分の基準体重 / 18~29 歳の基準体重)<sup>0.75</sup> × (1 + 成長因子) ] を用いて計算し、0.1 µg 単位で平滑化した。

男性の推定平均必要量は、 $2.0 \times (11.7/63.0)^{0.75} \times 1.3 = 0.736 \approx 0.7$  µg/日、

女性の推定平均必要量は、 $2.0 \times (11.0/50.6)^{0.75} \times 1.3 = 0.828 \approx 0.8$  µg/日。

### 3-2. 幼児 (3~5 歳)

データは存在しない。そこで基本方針に従って算定することとした。成人の推定平均必要量 = 2.0 µg/日を基に、対象年齢区分の体表面積の値の比較を示す式 [ (対象年齢区分の基準体重 / 18~29 歳の基準体重)<sup>0.75</sup> × (1 + 成長因子) ] を用いて計算し、0.1 µg 単位で平滑化した。

男性の推定平均必要量は、 $2.0 \times (16.2/63.0)^{0.75}$

$\times 1.15 = 0.831 \approx 0.8$  µg/日、

女性の推定平均必要量は、 $2.0 \times (16.2/50.6)^{0.75}$

$\times 1.15 = 0.979 \approx 1.0$  µg/日。

### 3-3. 小児 (6~7 歳)

データは存在しない。そこで基本方針に従って算定することとした。成人の推定平均必要量 = 2.0 µg/日を基に、対象年齢区分の体表面積の値の比較を示す式 [ (対象年齢区分の基準体重 / 18~29 歳の基準体重)<sup>0.75</sup> × (1 + 成長因子) ] を用いて計算し、0.1 µg 単位で平滑化した。

男性の推定平均必要量は、 $2.0 \times (22.0/63.0)^{0.75} \times 1.15 = 1.045 \approx 1.1$  µg/日、

女性の推定平均必要量は、 $2.0 \times (22.0/50.6)^{0.75} \times 1.15 = 1.231 \approx 1.2$  µg/日。

### 3-4. 小児 (8~9 歳)

データは存在しない。そこで基本方針に従って算定することとした。成人の推定平均必要量 = 2.0 µg/日を基に、対象年齢区分の体表面積の値の比較を示す式 [ (対象年齢区分の基準体重 / 18~29 歳の基準体重)<sup>0.75</sup> × (1 + 成長因子) ] を用いて計算し、0.1 µg 単位で平滑化した。

男性の推定平均必要量は、 $2.0 \times (27.5/63.0)^{0.75} \times 1.15 = 1.235 \approx 1.2$  µg/日、

女性の推定平均必要量は、 $2.0 \times (27.2/50.6)^{0.75} \times 1.15 = 1.444 \approx 1.4$  µg/日。

### 3-5. 小児 (10~11 歳)

データは存在しない。そこで基本方針に従って算定することとした。成人の推定平均必要量 = 2.0 µg/日を基に、対象年齢区分の体表面積の値の比較を示す式 [ (対象年齢区分の基準体重 / 18~29 歳の基準体重)<sup>0.75</sup> × (1 + 成長因子) ] を用いて計算し、0.1 µg 単位で平滑化した。

男性の推定平均必要量は、 $2.0 \times (35.5/63.0)^{0.75}$

$\times 1.15 = 1.496 \div 1.5 \mu\text{g}/\text{日}$ ,  
女性の推定平均必要量は,  $2.0 \times (34.5/50.6)^{0.75}$   
 $\times 1.15 = 1.726 \div 1.7 \mu\text{g}/\text{日}$ .

### 3-6. 小児 (12~14 歳)

データは存在しない. そこで基本方針に従って算定することとした. 成人の推定平均必要量 =  $2.0 \mu\text{g}/\text{日}$ を基に, 対象年齢区分の体表面積の値の比較を示す式 [ (対象年齢区分の基準体重 / 18~29 歳の基準体重) $^{0.75} \times (1 + \text{成長因子})$ ] を用いて計算し,  $0.1 \mu\text{g}$  単位で平滑化した.

男性の推定平均必要量は,  $2.0 \times (48.0/63.0)^{0.75}$   
 $\times 1.15 = 1.876 \div 1.9 \mu\text{g}/\text{日}$ ,  
女性の推定平均必要量は,  $2.0 \times (46.0/50.6)^{0.75}$   
 $\times 1.15 = 2.141 \div 2.1 \mu\text{g}/\text{日}$ .

### 3-7. 青年 (15~17 歳)

データは存在しない. そこで基本方針に従って算定することとした. 成人の推定平均必要量 =  $2.0 \mu\text{g}/\text{日}$ を基に, 対象年齢区分の体表面積の値の比較を示す式 [ (対象年齢区分の基準体重 / 18~29 歳の基準体重) $^{0.75} \times (1 + \text{成長因子})$ ] を用いて計算し,  $0.1 \mu\text{g}$  単位で平滑化した.

男性の推定平均必要量は,  $2.0 \times (58.4/63.0)^{0.75}$   
 $\times 1.15 = 2.173 \div 2.2 \mu\text{g}/\text{日}$ ,  
女性の推定平均必要量は,  $2.0 \times (50.6/50.6)^{0.75}$   
 $\times 1.15 = 2.300 \div 2.3 \mu\text{g}/\text{日}$ .

### 3-8. 青年 (18~29 歳)

データは存在しない. そこで基本方針に従って算定することとした. 成人の推定平均必要量 =  $2.0 \mu\text{g}/\text{日}$ を基に, 対象年齢区分の体表面積の値の比較を示す式 [ (対象年齢区分の基準体重 / 18~29 歳の基準体重) $^{0.75} \times (1 + \text{成長因子})$ ] を用いて計算し,  $0.1 \mu\text{g}$  単位で平滑化した.

男性の推定平均必要量は,  $2.0 \times (63.0/63.0)$

$^{0.75} \times 1 = 2.000 \div 2.0 \mu\text{g}/\text{日}$ ,  
女性の推定平均必要量は,  $2.0 \times (50.6/50.6)^{0.75}$   
 $\times 1 = 2.000 \div 2.0 \mu\text{g}/\text{日}$ .

### 3-9. 成人 (30~49 歳)

データは存在しない. そこで基本方針に従って算定することとした. 成人の推定平均必要量 =  $2.0 \mu\text{g}/\text{日}$ を基に, 対象年齢区分の体表面積の値の比較を示す式 [ (対象年齢区分の基準体重 / 18~29 歳の基準体重) $^{0.75} \times (1 + \text{成長因子})$ ] を用いて計算し,  $0.1 \mu\text{g}$  単位で平滑化した.

男性の推定平均必要量は,  $2.0 \times (68.5/63.0)^{0.75}$   
 $\times 1 = 2.129 \div 2.1 \mu\text{g}/\text{日}$ ,  
女性の推定平均必要量は,  $2.0 \times (53.0/50.6)^{0.75}$   
 $\times 1 = 2.070 \div 2.1 \mu\text{g}/\text{日}$ .

### 3-10. 成人 (50~69 歳)

データは存在しない. そこで基本方針に従って算定することとした. 成人の推定平均必要量 =  $2.0 \mu\text{g}/\text{日}$ を基に, 対象年齢区分の体表面積の値の比較を示す式 [ (対象年齢区分の基準体重 / 18~29 歳の基準体重) $^{0.75} \times (1 + \text{成長因子})$ ] を用いて計算し,  $0.1 \mu\text{g}$  単位で平滑化した.

男性の推定平均必要量は,  $2.0 \times (65.0/63.0)^{0.75}$   
 $\times 1 = 2.047 \div 2.0 \mu\text{g}/\text{日}$ ,  
女性の推定平均必要量は,  $2.0 \times (53.6/50.6)^{0.75}$   
 $\times 1 = 2.088 \div 2.1 \mu\text{g}/\text{日}$ .

## 4. 高齢者 (70 歳以上)

70 歳以上の成人は食品に含まれるビタミン B<sub>12</sub> の吸収率が減少していることが推測されるが, 70 歳以上の成人の吸収率に関する科学的な情報がないため, 若年成人と同じ値とした.

そこで基本方針に従って算定することとした. 成人の推定平均必要量 =  $2.0 \mu\text{g}/\text{日}$ を基に, 対象年齢区分の体表面積の値の比較を示

す式 [ (対象年齢区分の基準体重 / 18~29 歳の基準体重)<sup>0.75</sup> × (1+成長因子) ] を用いて計算し、0.1 μg 単位で平滑化した。

男性の推定平均必要量は、 $2.0 \times (59.7/63.0)^{0.75} \times 1 = 1.921 \approx 1.9 \mu\text{g}/\text{日}$ 、

女性の推定平均必要量は、 $2.0 \times (49.0/50.6)^{0.75} \times 1 = 1.952 \approx 2.0 \mu\text{g}/\text{日}$ 。

#### 注意事項

50 歳以上の成人の 10~30%は胃酸分泌の低い萎縮性胃炎を患っており<sup>54,55</sup>、ビタミン B<sub>12</sub> の吸収率の減少が推測される。平成 16~18 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 (渡辺文雄, 宮本恵美 (2007) )<sup>57)</sup> で、日本人の 70 歳代成人男女の血清サンプル (99 名) のビタミン B<sub>12</sub> 含量を分析した結果、ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏群 [ <170 pmol/L (230 ng/L) ] に 4 名、ビタミン B<sub>12</sub> 低値群 [170 ~ 258 pmol/L (30 ~ 350 ng/mL) ] に 22 名が存在し、約 25%の 70 歳代成人の血清ビタミン B<sub>12</sub> 量が低値であった。また、胃酸分泌の減少の関係を調べるために血清ガストリン含量を測定した結果、正常群 [ > 258 pmol/L ] に比べビタミン B<sub>12</sub> 欠乏群と低値群で増加傾向を示した。この結果は、わが国の高齢者においても体内ビタミン B<sub>12</sub> の栄養状態が低下していることを示唆している。

萎縮性胃炎等で胃酸分泌の低い成人集団では、ビタミン B<sub>12</sub> の吸収率 50%は適応できないが、この集団に対して吸収率をどのように補正し、食事摂取基準に反映しうるかについての情報が無い。そこで、米国食事摂取基準では結晶ビタミン B<sub>12</sub> の吸収率が萎縮性胃炎患者においても減少しないため<sup>56)</sup>、ビタミン B<sub>12</sub> 強化食品やビタミン B<sub>12</sub> を含むサプ

メントを摂取すれば、若年成人集団と同じ推定平均必要量と推奨量に設定ことができるとしている。そのためビタミン B<sub>12</sub> の供給源としてビタミン B<sub>12</sub> 強化食品あるいはサプリメントを積極的に摂取することを推奨している<sup>33)</sup>。

最近、食品タンパク質結合ビタミン B<sub>12</sub> 吸収不良によるビタミン B<sub>12</sub> 低栄養状態の高齢者でビタミン B<sub>12</sub> 強化食品あるいはサプリメントの有効性が検討されている。ビタミン B<sub>12</sub> 低栄養状態の高齢者に比較的少量 (6 μg/日) のビタミン B<sub>12</sub> やビタミン強化シリアル (ビタミン B<sub>12</sub> 含量 4.8 μg/日) を数ヶ月間摂取させた時、血清 MMA 量の減少には至らなかったが、血清ビタミン B<sub>12</sub> 量の増加が認められた<sup>57,58)</sup>。この結果は、ビタミン B<sub>12</sub> 強化食品あるいはサプリメントの摂取に一定の有効性が示され、米国食事摂取基準の対策を支持している。一方、大量 (600 μg 以上) のビタミン B<sub>12</sub> を経口投与した場合は、血清ビタミン B<sub>12</sub> 量の顕著な増加と MMA 量の減少が認められ、ビタミン B<sub>12</sub> 栄養状態が顕著に改善した<sup>59-61)</sup>。比較的少量でもビタミン B<sub>12</sub> を含むサプリメントやビタミン B<sub>12</sub> 強化食品を継続的に摂取することで高齢者のビタミン B<sub>12</sub> 栄養状態の改善が期待できると推察される。

#### 5. 妊婦の付加量

胎児は、肝臓中のビタミン B<sub>12</sub> 量から推定して、平均 0.1~0.2 μg/日のビタミン B<sub>12</sub> を蓄積する<sup>62-64)</sup>。そこで、妊婦に対する付加量として、中間値の 0.15 μg/日を採用し、吸収率 (50%) を考慮して 0.3 μg/日を付加量 (目安量) とした。

しかし、Koebnick ら<sup>65)</sup> は、妊婦 (109 名) の血清ビタミン B<sub>12</sub> とホモシステイン量から、

妊婦において少なくとも 3 µg/日のビタミン B<sub>12</sub> を摂取する必要があると報告している (図 8)。また、最近、妊娠 32 週目と出産時に血清 MMA 量が顕著な上昇率を示すことが観察され、この時期の細胞内ビタミン B<sub>12</sub> の栄養状態が低下している可能性を示唆している (図 9)<sup>66)</sup>。よって、妊娠中母親は十分量のビタミン B<sub>12</sub> を摂取する必要がある。

## 6. 授乳婦の付加量

基本的な考え方にしたがって算定した。

授乳婦には母乳として与える量のビタミン B<sub>12</sub> を付加する必要があるという考え方から、乳児 (0~5 ヶ月) の目安量に、食品中のビタミン B<sub>12</sub> の吸収率<sup>50)</sup> を加味して、授乳婦の付加量 (目安量) を (0.35 µg/日 × 2 = 0.7 µg/日)とした。

## C. 上限量

ビタミン B<sub>12</sub> は胃から分泌される IF を介した吸収機構が飽和すれば食事中から過剰に摂取しても吸収されない<sup>47)</sup>。また大量 (500 µg 以上) のシアノコバラミンを経口投与した場合でも投与量の数%が吸収されるのみである<sup>23)</sup>。さらに非経口的に大量 (1~5 mg) のシアノコバラミンを投与しても過剰症は認められていない<sup>67)</sup>。このように、現時点ではビタミン B<sub>12</sub> の過剰摂取が有害作用を示す科学的根拠がないため、上限量は設定しなかった。

## D. 生体利用率

### 1. 吸収率

成人のビタミン B<sub>12</sub> の吸収率を測定するために、放射性ビタミン B<sub>12</sub> を投与したホール・ボディ・カウンター法を用いて検討されている。生体内のビタミン B<sub>12</sub> の栄養状態に

よってビタミン B<sub>12</sub> の吸収がどのように影響を受けるかについての詳細なデータはない。ビタミン B<sub>12</sub> 経口摂取量が増加すると吸収率は減少するが、摂取量の増加に伴い全吸収量は増加する<sup>68)</sup>。結晶ビタミン B<sub>12</sub> が生理的量 (<5 µg) 経口投与されたとき、約 50~60% が吸収されるが<sup>69)</sup>、大量投与 (≥500 µg) されたときは投与量のおよそ 1% まで IF 不関与で吸収することができる<sup>23,70)</sup>。

健康な成人における食品中のビタミン B<sub>12</sub> の吸収率を表 5 に示した。1 回の食事あたりおよそ 1.5~2.0 µg のビタミン B<sub>12</sub> で IF の回腸レセプターが飽和するため<sup>47)</sup>、それ以上は生理的には吸収されない。特に、正常な胃の機能を有した健康な成人において、食品中のビタミン B<sub>12</sub> の吸収率はおよそ 50% と評価できる。ビタミン B<sub>12</sub> を豊富に含む食品を多量に摂取した場合、吸収率は顕著に減少する。

## 2. 腸肝循環

胆汁中に排泄される総コリノイド量の平均値は 2.5 µg/日と報告され<sup>71)</sup>、健康な成人において胆汁中に排泄されたビタミン B<sub>12</sub> の約 50% は再吸収され、体内で利用される。Kholty ら<sup>9)</sup> によると胆汁に排泄される総コリノイド量 (平均値は 2.5 µg/日) の 55% (1.4 µg/日) がビタミン B<sub>12</sub> であり、残りの 45% (1.1 µg/日) は IF に結合せず、パプトコリンと結合することができるコビンアミド (コリン環コバルトと配位したヌクレオチドが存在しないコリノイド化合物) であった。このようなコリノイド化合物は食品中に含まれていたとしても腸管吸収に関与する IF と結合することができないために腸管から吸収されない。どのようなメカニズムでこのようなコリノイド化合物が体内で生成するのかはわかっていない。また、胆汁に加え、他の消

化液や消化管剥離細胞中にもビタミン B<sub>12</sub> が含まれることが推測され、多量のビタミン B<sub>12</sub> が消化管内を循環している。

#### E. 調理・加工処理における損失

日本人の中高齢者は、ビタミン B<sub>12</sub> を魚介類 (77~84%)、肉類 (5~13%)、牛乳および乳製品 (3~6%)、藻類 (1~6%)、卵 (3~4%) から摂取している<sup>72)</sup>。若年成人においては、各食品からの摂取割合が若干異なるものの、同様な傾向を示している<sup>73)</sup>。

焼く・ゆでる・揚げるなどの加熱調理によるビタミン B<sub>12</sub> 残存率は牛肉各部位で 61~88%、牛肉蔵肉で 54~98%、豚肉各部位で 76~90%、豚肉蔵肉で 68~100%である<sup>74)</sup>。日本人の主要な供給源である魚肉においてビタミン B<sub>12</sub> の調理損失 (85.2~97.7%残存) は非常に少ない<sup>75)</sup>。また、調理に伴う食品の重量変化によるビタミン B<sub>12</sub> 含有量の変化も少ないことが報告されている<sup>76)</sup>。

その他、牛乳中のビタミン B<sub>12</sub> は加熱調理により顕著に減少し、電子レンジ3分加熱および直火30分の加熱で約50%のビタミン B<sub>12</sub> が消失する<sup>77)</sup>。また、光照射による牛乳中のビタミン B<sub>12</sub> 光分解に伴うビタミン B<sub>12</sub> の分解も報告されている<sup>78)</sup>。ビタミン B<sub>12</sub> の加熱分解物が単離され、実験動物の静脈内に投与されたが、ビタミン B<sub>12</sub> の代謝系を阻害することはなかった<sup>79)</sup>。

#### F. 活用

##### 1. 血液

血清のビタミン B<sub>12</sub> 濃度は、ビタミン B<sub>12</sub> の摂取と体内貯蔵の両方が反映される。成人の血清ビタミン B<sub>12</sub> 濃度のカットオフ値は、おおよそ 0.12~0.18 pmol/mL (163~244

pg/mL) である<sup>33)</sup>。日本人の成人にビタミン B<sub>12</sub> を推奨量 (2.4 μg) 含む食事を7日間摂取させた時の血清ビタミン B<sub>12</sub> 濃度は、男性で 0.34 pmol/mL (460 pg/mL)、女性で 0.67 pmol/mL (908 pg/mL)であった<sup>80)</sup>。

男性に比べて女性で高いという血清ビタミン B<sub>12</sub> 濃度の性差について、同様な結果が報告されている<sup>49)</sup>。

##### 2. 尿

Mollin と Ross によると、健常者 (6名) の尿中ビタミン B<sub>12</sub> 排泄量は 81.2~199.3 pmol/日であるが、悪性貧血患者では 36.9 pmol/日以下に減少する<sup>81)</sup>。また、Adams は健常者の尿中ビタミン B<sub>12</sub> 排泄量の平均値は 121 pmol/日であり、血清ビタミン B<sub>12</sub> 量と尿中排泄量は相関することを報告している<sup>82)</sup>。日本人の成人にビタミン B<sub>12</sub> を推奨量 (2.4 μg) 含む食事を7日間摂取させた時の尿中ビタミン B<sub>12</sub> 排泄量は、男性で約 100 pmol/日、女性で 150 pmol/日であった<sup>49)</sup>。

##### 3. 糞中の排泄量

ヒト糞中にはビタミン B<sub>12</sub> は 1.4%程度しか含まれておらず、98%以上がビタミン B<sub>12</sub> 以外の天然型コリノイド化合物であり、特に下方配位子の塩基が 2-メチルアデニンである分子種が主要であった<sup>9)</sup>。20名 (25 μg 以下のサプリメント摂取者を含む) の糞中の総コリノイド量の平均値は 1.3 μg/g 湿重量であり、多量 (1~2 mg) のビタミン B<sub>12</sub> を経口摂取すると糞中の総コリノイド量が4倍程度増加すると共に、ビタミン B<sub>12</sub> の割合が 36%程度まで増加する。

##### 4. 指標となる他の生体成分の量

血清のビタミン B<sub>12</sub> 濃度は、ビタミン B<sub>12</sub> の摂取と体内貯蔵の両方が反映される。欠乏症が進行するとき、組織に貯蔵されたビタミ

ン B<sub>12</sub> が血中に供給されることで血清ビタミン B<sub>12</sub> 濃度は一定に保たれる。そのため、カットオフ値以上の血清ビタミン B<sub>12</sub> 濃度が必ずしも適切なビタミン B<sub>12</sub> の栄養状態を示しているとは限らない。

ビタミン B<sub>12</sub> が不足するとき血清中のメチルマロン酸 (MMA) 濃度は上昇する。血清 MMA 濃度はビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症に特異的であるので、ビタミン B<sub>12</sub> の栄養状態を示す良い指標となる。血清 MMA の基準値は 73~271 nmol/L であり、271 nmol/L 以上になればビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症である<sup>83)</sup>。しかし、推定平均必要量の策定に利用できるような食事からのビタミン B<sub>12</sub> 摂取量と血清 MMA 濃度の関係を明らかにした研究は非常に少ない。

血清ビタミン B<sub>12</sub> 結合タンパク質の中でトランスコラバラミン II (TC II) は標的細胞へのビタミン B<sub>12</sub> の取込みに関与している。血清ビタミン B<sub>12</sub> の 10~20%のみが TC II-ビタミン B<sub>12</sub> 複合体として存在しており、この画分をホロ TC II と呼び、最も感度の良いビタミン B<sub>12</sub> 栄養状態の指標である<sup>84,85)</sup>。しかし、ホロ TC II 濃度は、ビタミン B<sub>12</sub> 摂取量よりも体内栄養状態を反映すると報告され<sup>85)</sup>、食事からのビタミン B<sub>12</sub> 摂取量とホロ TC II 濃度の関係を調べる研究が推定平均必要量の策定に利用できるかどうかは不明である。

## 5. 特記事項

### 5-1. 薬剤の影響

ビタミン B<sub>12</sub> の吸収に影響を及ぼす薬剤とその作用を表 6 にまとめた<sup>86)</sup>。長期間胃酸分泌抑制剤 (オメプラゾール) で治療をした患者は食品からのビタミン B<sub>12</sub> の吸収率が減少するので、ビタミン B<sub>12</sub> 強化食品あるいはサプリメントから適量の結晶ビタミン B<sub>12</sub> を摂取する必要がある<sup>87,88)</sup>。最近、インスリン

非依存型糖尿病 (II 型糖尿病) の治療で 사용되는経口血糖降下剤メトホルミンの長期服用もまたビタミン B<sub>12</sub> 吸収障害を生じることが報告されている<sup>89)</sup>。

## G. 引用文献

1. ビタミン B<sub>12</sub> (1987) ビタミンの辞典 (日本ビタミン学会編) 朝倉書店, 324-354.
2. 渡辺文雄. ビタミン B<sub>12</sub> の基礎. モダンフィジシャン (2007) 27, 1213-5.
3. Watanabe F, Nakano Y, Tachikake N, Tamura Y, Yamanaka H, Kitaoka S, Haga S, Imai S, Saido H. Occurrence and subcellular location of NADH- and NADPH-linked aquacobalamin reductases in human liver. *Int J Biochem* (1991) 23, 531-3.
4. Kim J, Gherasim C, Banerjee R. Decyanation of vitamin B12 by a trafficking chaperone. *Proc Natl Acad Sci USA* (2008) 105, 14551-4.
5. Leclerc D, Wilson A, Dumas R, Gafuik C, Song D, Watkins D, Heng HH, Rommens JM, Scherer SW, Rosenblatt DS, Gravel RA. Cloning and mapping of a cDNA for methionine synthase reductase, a flavoprotein defective in patients with homocystinuria. *Proc Natl Acad Sci USA* (1998) 95, 3059-64.
6. Leal NA, Olteanu H, Banerjee R, Bobik TA. Human ATP:CoB (I) alamin adenosyltransferase and its interaction with methionine synthase reductase. *J Biol Chem* (2004) 279, 47536-42.
7. Stich TA, Yamanishi M, Banerjee R, Brunold TC. Spectroscopic evidence for the

- formation of a four-coordinate Co<sup>2+</sup> cobalamin species upon binding to the human ATP:cobalamin adenosyltransferase. *J Am Chem Soc* (2005) 127, 7660-1.
8. Yamanishi M, Vlasie M, Banerjee R. Adenosyltransferase : an enzyme and an escort for coenzyme B<sub>12</sub>? *Trends Biochem Sci* (2005) 30, 304-8.
  9. el Kholty S, Gueant JL, Bressler L, Djalai M, Boissel P, Gerard P, Nicolas JP. Portal and Biliary phases of enterohepatic circulation of corrinoids in humans. *Gastroenterology* (1991) 101, 1399-1408.
  10. Allen RH, Stabler S. Identification and quantitation of cobalamin and cobalamin analogues in human feces. *Am. J Clin. Nutr* (2008) 87, 1324-35.
  11. 渡辺文雄, 中野長久. ビタミン B<sub>12</sub>. *日本臨床* (2000) 57, 2205-10.
  12. Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP, Allen RH. Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentration. *Am. J Hematol* (1990) 34, 99-107.
  13. Toyoshima S, Watanabe F, Saido H, Miyatake K, Nakano Y. Methylmalonic acid inhibits respiration in rat liver mitochondria. *J Nutr* (1995) 125, 2846-50.
  14. Stabler S, Allen RH, Dolce ET, Johnson MA. Elevated serum S-adenosylhomocysteine in cobalamin-deficient elderly and response to treatment. *Am J Clin. Nutr* (2006) 84, 1422-9.
  15. Reynolds E. Vitamin B<sub>12</sub>, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol* (2006) 5, 949-60.
  16. Kishimoto Y, Williams M, Moser HW, Hignite C, Biermann K. Branched-chain and odd-numbered fatty acids and aldehydes in the nervous system of a patient with deranged vitamin B<sub>12</sub> metabolism. *J Lipid Res* (1973) 14, 69-77.
  17. Frenkel EP. Abnormal fatty acid metabolism in peripheral nerves of patients with pernicious anemia. *J Clin Invest* (1973) 52, 1237-45.
  18. Maamar M, Mezalek T, Harmouche H, Adaoui M, Maaouni AA. Contribution of spinal NRI for unsuspected cobalamin deficiency in isolated sub-acute combined degeneration. *Eur J Inter Med* (2008) 19, 143-5.
  19. Nexø E, Christensen AL, Hvas AM, Petersen TE, Fedosov SN. Quantification of holo-transcobalamin, a marker of vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *Clin Chem* (2002) 48, 561-2.
  20. Houetto P, Hoffman JR, Imbert M, Levillain P, Baud FJ. Relation of blood cyanide to plasma cyanocobalamin concentration after a fixed dose hydroxocobalamin in cyanide poisoning. *Lancet* (1995) 346, 605-8.
  21. Foresti R, Clark JE, Green CJ, Motterlini RJ. Thiol compounds interact with nitric oxide in regulating heme oxygenase-1 induction in endothelial cells. *J Biol Chem* (1997) 272, 18411-7.
  22. Uchiyama M, Mayer G, Okawa M, Meier-Ewert K. Effects of vitamin B<sub>12</sub> on human circadian body temperature rhythm. *Neurosci Lett* (1995) 192, 1-4.
  23. Chemaly SM, Chen CT, van Zyl RL.

- Naturally occurring cobalamins have antimalarial activity. *J Inorg Biochem* (2007) 101, 764-73.
24. Berlin H, Berlin R, Brante G. Oral treatment of pernicious anemia with high doses of vitamin B<sub>12</sub> without intrinsic factor. *Acta Med Scand* (1968) 184, 247-58.
25. Doscherholmen A, Hagen PS. A dual mechanism of vitamin B<sub>12</sub> plasma absorption. *J Clin. Invest* (1957) 36, 1551-7.
26. 中山志朗, 吉田輝夫, 矢部博樹, 永井譲一. ビタミン B<sub>12</sub> 投与後に顆粒球減少症, 重症肝機能障害を発症して死亡した高齢者悪性貧血の 1 例. *臨床血液* (1984) 25, 1854-9.
27. Dupre A, Albarel N, Bonafe JL, Christol B, Lassere J. Vitamin B<sub>12</sub>-induced acnes. *Cutis* (1979) 24, 210-1.
28. 井戸田正, 菅原牧裕, 矢賀部隆史, 佐藤則文, 前田忠男. 最近の日本人乳組成に関する全国調査 (第十報) -水溶性ビタミン含量について- *日本小児栄養消化器病学会誌* (1996) 10, 11-20.
29. Trugo NM, Sardinha F. Cobalamin and cobalamin-binding capacity in human milk. *Nutr Res* (1994) 14, 22-33.
30. Sakurai T, Furukawa M, Asoh M, Kanno T, Kojima T, Yonekubo A. Fat-soluble and water-soluble vitamin contents of breast milk from Japanese womens. *J Nutr Sci Vitaminol* (2005) 51, 239-47.
31. 渡邊敏明, 谷口歩美, 庄子佳文子, 稲熊隆博, 福井徹, 渡邊文雄, 宮本恵美, 橋詰直孝, 佐々木晶子, 戸谷誠之, 西牟田守, 柴田克己. 日本人の母乳中の水溶性ビタミン含量についての検討. *ビタミン* (2005) 79, 573-81.
32. 柴田克己, 遠藤美佳, 山内麻衣子, 廣瀬潤子, 福渡努. 日本人の母乳中 (月齢 1 ~5) の水溶性ビタミン含量 (資料) *日本栄養・食糧学会誌*, 投稿中
33. Arnaud J, Cotisson A, Meffre G, Bourgeay-causse M, Augert C, Favier A, Vuillez JP, Ville G. Comparison of three commercial kits and a microbiological assay for the determination of vitamin B<sub>12</sub> in serum. *Scand J Clin. Invest* (1994) 54, 235-40.
34. 健康・栄養情報研究会第六次改定日本人の栄養所要量 食事摂取基準 第一出版社, (1999) 96-8.
35. 厚生労働省策定. 日本人の食事摂取基準 (2005 年版) 第一出版編集部 (2005) 96-9.
36. Vitamin B<sub>12</sub> In: Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B<sub>6</sub>, Folate, Vitamin B<sub>12</sub>, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline, Institute of Medicine, National Academy Press, Washington DC, (1998) 306-56.
37. Hay G, Johnston C, Whitelaw A, Trygg K, Refsum H. Folate and cobalamin status in relation to breastfeeding and weaning in healthy infants. *Am J Clin Nutr* (2008) 88, 105-14.
38. Specker BL, Miller D, Norman EJ, Greene H, Hayes KC. Increased urinary methylmalonic acid excretion in breast-fed infants of vegetarian mothers and identification of an acceptable dietary source of vitamin B<sub>12</sub>. *Am J Clin Nutr* (1988) 47, 89-92.

39. Casterline JE, Allen LH, Ruel MT. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency is very prevalent in lactating Guatemalan women and their infants at three months postpartum. *J Nutr* (1997) 127, 1966-72.
40. Darby WJ, Bridgforth EB, Le Brocqy J, Clark SL, De Oliveira JD, Kevany J, McGanity WJ, Perez C. Vitamin B<sub>12</sub> requirement of adult man. *Am J Med* (1958) 25, 726-32.
41. Bor MV, Olsen EL, Moller J, Nexø E. A daily intake of approximately 6 µg vitamin B-12 appears to saturate all the vitamin B-12-related variables in Danish postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* (2006) 83, 52-8.
42. Amin S, Spinks T, Ranicar A, Short MD, Hoffbrand AV. Long-term clearance of [57Co] cyanocobalamin in vegans and pernicious anaemia. *Clin Sci* (1980) 58, 101-3.
43. Boddy K, Adams JF. The long-term relationship between serum vitamin B<sub>12</sub> and total body vitamin B<sub>12</sub>. *Am J Clin Nutr* (1972) 25, 395-400.
44. Bozian RC, Ferguson JL, Heyssel RM, Meneely GR, Darby WJ. Evidence concerning the human requirement for vitamin B<sub>12</sub>. Use of the whole body counter for determination of absorption of vitamin B<sub>12</sub>. *Am J Clin Nutr* (1963) 12, 117-29.
45. Reizenstein P, Ek G, Matthews CM. Vitamin B<sub>12</sub> kinetics in man. Implications on total-body B<sub>12</sub> determinations, human requirements, and normal and pathological cellular B<sub>12</sub> uptake. *Phys Med Biol* (1966) 11, 295-306.
46. Adams JF, Tankel HI, MacEwan F. Estimation of the total body vitamin B<sub>12</sub> in the live subject. *Clin Sci* (1970) 39, 107-13.
47. 奥田邦雄 (1973) ビタミン B<sub>12</sub>, 葉酸の腸肝循環. 代謝, (1973) 10, 830-8.
48. Fenech M, Dreosti IE, Rinaldi JR. Folate, vitamin B<sub>12</sub>, homocysteine status and chromosome damage rate in lymphocytes of older men. *Carcinogenesis* (1997) 18, 1329-36.
49. Fenech M. Recommended dietary allowance (RDAs) for genomic stability. *Mutation Res* (2001) 480-481, 51-4.
50. Fenech M. The role of folic acid and vitamin B<sub>12</sub> in genomic stability of human cells. *Mutation Res* (2001) 475, 57-67.
51. Scott JM. Bioavailability of vitamin B<sub>12</sub>. *Eur J Clin Nutr* (1997) 51 Suppl 1:S49-S53.
52. 健康局総務課生活習慣病対策室, 平成 18 年国民健康・栄養調査結果の概要, 厚生労働省ホームページ
53. Fernandes-Costa F, van Tonder S, Metz J. A sex difference in serum cobalamin and transcobalamin levels. *Am J Clin Nutr* (1985) 41, 784-6.
54. Krasinski SD, Russell RM, Samloff IM, Jacob RA, Dallal GE, McGrandy RB, Hartz SC. Fundic atrophic gastritis in an elderly population: Effect on hemoglobin and several serum nutritional indicators. *J Am Geriatr Soc* (1986) 34, 800-6.
55. Johnsen R, Bernersen B, Straume B, Forde OH, Bostad L, Burhol PG. Prevalences of endoscopic and histological findings in subjects with and without dyspepsia. *Brit*

- Med J* (1991) 302, 749-52.
56. McEvoy AW, Fenwick JD, Boddy K, James OF. Vitamin B<sub>12</sub> absorption from the gut does not decline with age in normal elderly humans. *Age Ageing* (1982) 11, 180-3.
57. Blacher J, Czernichow S, Raphaël M, Roussel C, Chadeaux-Vekemans B, Morineau G, Giraudier S, TiBi A, Henry O, Vayssière M, Oudjhani M, Nadaï S, Vincent JP, Bodak A, Menza De C, Ménard J, Zittoun J, Ducimetière P. Very low oral doses of vitamin B-12 increase serum concentrations in elderly subjects with food-bound vitamin B-12 malabsorption. *J Nutr* (2007) 137, 373-8.
58. Tucker KL, Olson B, Bakun P, Dallal GE, Selub J, Rosenberg IH. Breakfast cereal fortified with folic acid, vitamin B-6, and vitamin B-12 increases vitamin concentrations and reduces homocysteine concentrations: a randomized trial. *Am J Clin Nutr* (2004) 79, 805-11.
59. Eussen S, JPM, de Groot LC, Clarke R, Schneede J, Ueland PM, Hoefnagels WH, van Staveren WA. Oral cyanocobalamin supplementation in older people with vitamin B12 deficiency. A dose-finding trial. *Arch Intern Med* (2005) 165, 1167-72.
60. Andrès E, Kaltenbach G, Noel E, NoBlet-Dick M, Perrin AE, Vogel T, Schlienger JL, Berthel M, Blickle JF. Efficacy of short-term oral cobalamin therapy for the treatment of cobalamin malabsorption: A study of 30 patients. *Clin Lab Haem* (2003) 25, 161-6.
61. Dhonukshe-Rutten RA, van Zutphen M, de Groot LC, Eussen SJ, Blom HJ, van Staveren WA. Effect of supplementation with cobalamin carried either by a milk product or a capsule in mildly cobalamin-deficient elderly Dutch persons. *Am J Clin Nutr* (2005) 82, 568-74.
62. Baker SJ, Jacob E, Rajan KT, Swaminathan SP. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in pregnancy and the puerperium. *Br Med J* (1962) 1, 1658-61.
63. Loria A, Vaz-Pinto A, Arroyo P, Ramires-Mateos C, Sanches-Medal L. Nutritional anemia. VI. Fetal hepatic storage of metabolites in the second half of pregnancy. *J Pediatr* (1977) 91, 569-73.
64. Vaz Pinto A, Torras V, Sandoval JF, Dillman E, Mateos CR, Cordova MS. Folic acid and vitamin B<sub>12</sub> determination in fetal liver. *Am J Clin Nutr* (1975) 28, 1085-6.
65. Koebnick C, Hoffmann I, Dagnelie PC, Heins UA, Wickramasinghe SN, Ratnayaka ID, Gruendel S, Lindemans J, Leitzmann C. Long-term ovo-lacto vegetarian diet impairs vitamin B-12 status in pregnant women. *J Nutr* (2004) 134, 3319-26.
66. Murphy MM, Molloy AM, Ueland PM, Fernandez-Ballart JD, Schneede J, Arija V, Scott JM. Longitudinal study of the effect of pregnancy on maternal and fetal cobalamin status in healthy women and their offspring. *J Nutr* (2007) 137, 1863-7.
67. Mangiarotti G, Canavese C, Salomone M, Thea A, Pacitti A, Gaido M, Calitri V, Pelizza D, Canavero W, Vercellone A. Hypervitaminosis B<sub>12</sub> in maintenance hemodialysis patients receiving massive

- supplementation of vitamin B<sub>12</sub>. *Int J Artif Organs* (1986) 9, 417-20.
68. Adams JF, Ross SK, Mervyn RL, Boddy K, King P. Absorption of cyanocobalamin, coenzyme B<sub>12</sub>, methylcobalamin, and hydroxocobalamin at different dose levels. *Scand J Gastroenterol* (1971) 6, 249-52.
69. Heyssel RM, Bozian RC, Darby WJ, Bell MC. Vitamin B<sub>12</sub> turnover in man. The assimilation of vitamin B<sub>12</sub> from natural foodstuff by man and estimates of minimal daily requirements. *Am J Clin Nutr* (1966) 18, 176-84.
70. Doscherholmen A, Hagen PS. A dual mechanism of vitamin B<sub>12</sub> plasma absorption. *J Clin Invest* (1957) 36, 1551-7.
71. Gueant JL, Monin B, Boissel P, Gaucher P, Nicolas JP. Biliary excretion of cobalamin and cobalamin analogues in man. *Digestion* (1984) 30, 151-7.
72. Yoshino K, Inagawa M, Oshima M, Yokota K, Umesawa M, Endo M, Yamagishi K, Tanigawa T, Sato S, Shimamoto T, Iso H. Trends in dietary intake of folate, vitamin B<sub>6</sub>, and vitamin B<sub>12</sub> among Japanese adults in two rural communities from 1971 through 2001. *J Epidemiol* (2005) 15, 29-37.
73. Kimura N, Fukuwatari T, Sasaki R, Hayakawa F, Shibata K. Vitamin intake in Japanese women college students. *J Nutr Sci Sci* (2003) 49, 149-55.
74. 食肉の栄養成分と調理による変化 2 (牛・豚 6 部位 + 内臓の微量成分) 財団法人 日本食肉消費総合センター (平成 3 年度食肉消費改善総合対策事業)
75. 西岡道子, 彼末富貴, 谷岡由梨, 宮本恵美, 渡辺文雄. カツオ魚肉のビタミン B<sub>12</sub> 含量と各種加熱調理が魚肉ビタミン B<sub>12</sub> 含量に及ぼす影響. *ビタミン* (2006) 80, 507-11.
76. 渡邊智子, 鈴木亜夕帆, 荻原清和, 見目明継. 調理による成分変化を考慮した栄養価計算のための成分表. *日本栄養・食糧学会誌* (2002) 55, 165-76.
77. Watanabe F, Abe K, Fujita T, Goto M, Hiemori M, Nakano Y. Effects of microwave heating on the loss of vitamin B<sub>12</sub> in foods. *J Agric Food Chem* (1998) 46, 206-10.
78. Watanabe F, Katsura H, Abe K, Nakano Y. Effect of light-induced riboflavin degradation on the loss of cobalamin in milk. *J Home Econ Jpn* (2000) 51, 231-4.
79. Watanabe F, Abe K, Katsura H, Takenaka S, Zakir Hussain Mazumder, Yamaji R, Ebara S, Fujita T, Tanimori S, Kirihata M, Nakano Y. Biological activity of hydroxo-vitamin B<sub>12</sub> degradation product formed during microwave heating. *J Agric Food Chem* (1998) 46, 5177-80.
80. 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* (2005) 51, 319-28.
81. Mollin DL, Ross GI. The vitamin B<sub>12</sub>

- concentrations of serum and urine of normals and patients with megaloblastic anaemias and other diseases. *J Clin Path* (1952) 5, 129-39.
82. Adams JF. Correlation of serum and urine vitamin B<sub>12</sub>. *Brit Med J* (1970) 1, 138-9.
  83. Rajan S, Wallace JI, Beresford SA, Brodtkin KI, Allen RA, Stabler SP. Screening for cobalamin deficiency in geriatric outpatients: prevalence and influence of synthetic cobalamin intake. *J Am Geriatr Soc* (2002) 50, 624-30.
  84. Bor MV, Nexø E, Hvas AM. Holo-transcobalamin concentration and transcobalamin saturation reflect recent vitamin B<sub>12</sub> absorption better than does serum vitamin B<sub>12</sub>. *Clin Chem* (2004) 50, 1043-9.
  85. Chen X, Remacha AF, Sarda MP, Carmel R. Influence of cobalamin deficiency compared with that of cobalamin absorption on serum holo-transcobalamin II. *Am J Clin Nutr* (2005) 81, 110-4.
  86. Ovesen L. Drugs and vitamin deficiency. *Drugs* (1979) 18, 278-98.
  87. Schenk BE, Kuipers EJ, Klinkenberg-Knol EC, Bloemena EC, Sandell M, Nelis GF, Snel P, Festen HP, Meuwissen SG. Atrophic gastritis during long-term omeprazole therapy affects serum vitamin B<sub>12</sub> levels. *Aliment Pharmacol Ther* (1999) 13, 1343-6.
  88. Termanini B, GiBril F, Sutliff VE, Yu F, Venzon DJ, Jensen RT. Effect of long-term gastric acid suppressive therapy on serum vitamin B<sub>12</sub> levels in patients with Zollinger-Ellison syndrome. *Am J Med* (1998) 104, 422-30.
  89. Ting RZW, Szeto CC, Chan MHM, Ma KK, Chow KM. Risk factors of vitamin B<sub>12</sub> deficiency in patients receiving metformin. *Arch Intern Med* (2008) 166, 1975-9.
  90. Areekul S, Oumaum K, Dougbar J. Determination of vitamin B<sub>12</sub> and vitamin B<sub>12</sub>-binding protein in human and cow's milk. *Mod Med Asia* (1977) 13, 17-23.
  91. Sandberg DP, Begley JA, Hall CA. The content, Binding, and forms of vitamin B<sub>12</sub> in milk. *Am J Clin Nutr* (1981) 34, 1717-24.
  92. Bastrup-Madsen P, Helleberg-Rasmussen I, Norregaard S, Halver B, Hansen T. Long term therapy of pernicious anaemia with the depot cobalamin preparation betolvex. *Scand J Haematol* (1983) 31, 57-62.
  93. Will JJ, Mueller JF, Brodine C, Kiely CE, Friedman B, Hawkins VR, Dutra J, Vilter RN. Folic acid and vitamin B<sub>12</sub> in pernicious anemia. Studies on patients treated with those substances over a ten-year period. *J Lab Clin Med* (1959) 53, 22-38.
  94. Sullivan LW, Herbert V. Studies on the minimum daily requirement for vitamin B<sub>12</sub>. Hematopoietic responses to 0.1 microgram of cyanocobalamin or coenzyme B<sub>12</sub> and comparison of their relative potency. *N Engl J Med* (1965) 272, 340-6.
  95. Doscherholmen A, McMahon J, Ripley DP. Vitamin B<sub>12</sub> absorption from fish. *Proc Soc Exp Biol Med* (1981) 167, 480-4.
  96. Russell RM, Baik H, Kehayias JJ. Older man and women efficiently absorb vitamin B<sub>12</sub> from milk and fortified bread. *J Nutr* (2001) 131, 291-3.

表 1. ビタミン B<sub>12</sub> の食事摂取基準 (μg/日)

性別	男性				女性			
	推定平均必要量	推奨量	目安量	上限量	推定平均必要量	推奨量	目安量	上限量
0～5 (月)			0.4	-			0.4	-
6～11 (月)			0.6	-			0.6	-
1～2 (歳)	0.8	0.9		-	0.8	0.9		-
3～5 (歳)	0.9	1.1		-	0.9	1.1		-
6～7 (歳)	1.1	1.4		-	1.1	1.4		-
8～9 (歳)	1.3	1.6		-	1.3	1.6		-
10～11 (歳)	1.6	2.0		-	1.6	2.0		-
12～14 (歳)	2.0	2.4		-	2.0	2.4		-
15～17 (歳)	2.0	2.4		-	2.0	2.4		-
18～29 (歳)	2.0	2.4		-	2.0	2.4		-
30～49 (歳)	2.0	2.4		-	2.0	2.4		-
50～69 (歳)	2.0	2.4		-	2.0	2.4		-
70 以上 (歳)	2.0	2.4		-	2.0	2.4		-
妊婦 (付加量)	/						+ 0.3	-
授乳婦 (付加量)							+ 0.7	-

表 2. 母乳中のビタミン B<sub>12</sub> 含量

	サンプル数	B <sub>12</sub> 含量 (μg/L)	測定法	文献
Areekul <i>et al.</i> (1977)	45	0.41	放射性希釈法	90
Trugo <i>et al.</i> (1994)	256	0.45	放射性希釈法	29
Sandberg <i>et al.</i> (1981)	19	0.97	放射性希釈法	91
Casterline <i>et al.</i> (1997)	92	0.93	放射性希釈法	35
-----				
日本人の母乳				
井戸田ら (1996)	2279	0.2	微生物法	28
渡邊ら (2005)	25	0.28 ± 0.14	微生物法	31
Sakurai <i>et al.</i> (2005)	115	0.4 ± 0.2	微生物法	30
柴田ら (2008)	194	0.68 ± 0.26	微生物法	32 (投稿中)

表 3. 成人の推定平均必要量を算定するために用いられた悪性貧血症患者へのビタミン B<sub>12</sub> の筋肉内投与の結果

B <sub>12</sub> 投与量	期間	被験者数	年齢	結果	備考	文献
2～5 μg/日	15 日間	14	34～85	3 μg/日を 15 日間投与された 5 人は血清学的回復を示したが、その後さらに 100～1000 μg/日投与された時これ以上の回復は示されなかった。		91
0.25～10 μg/日		7	39～65	0.5～2.0 μg/日の B <sub>12</sub> 投与で血清学的回復が最大値を示すが、ほとんどの人は 0.5～1.0 μg/日である。		37
1 mg を 2～3 ヶ月ごとに投与	8 年間	112	33～78	血清 B <sub>12</sub> 量が基準値以上を示し、完全な血清学的回復を示した。	米国食事摂取基準では 2～3 ヶ月ごと 1 mg の B <sub>12</sub> の単一投与を 1.7 μg/日の B <sub>12</sub> 投与と同等と評価	92
10 μg を 2 週間ごとに投与あるいは 20 μg を 1 ヶ月ごとに投与	10 年間	40		血清 B <sub>12</sub> 量が基準値を超えるものはいなかった。	著者により、平均 0.7 μg/日の B <sub>12</sub> 投与と同等と評価	93
0.1 μg/日	10 日間	8	46～86	血清 B <sub>12</sub> 量が基準値を超えるものはいなかった。		94

表4. 米国食事摂取基準および日本人の食事摂取基準 (2005年版) のビタミンB<sub>12</sub>推定平均必要量および推奨量の算定方法

I	悪性貧血症患者を正常に保つために必要な平均的な筋肉内ビタミン B <sub>12</sub> 投与量	1.5 μg/日
II	悪性貧血症患者は胆汁中のビタミン B <sub>12</sub> を再吸収できないので損失量を差し引く	-0.5 μg/日
III	小計 (健康な成人に吸収されたビタミン B <sub>12</sub> の必要量)	1.0 μg/日
IV	吸収率 (50%) を補正	÷ 0.5
V	健康な成人のビタミン B <sub>12</sub> の推定平均必要量	2.0 μg/日
VI	推奨量 = 推定平均必要量 × 1.2 =	2.4 μg/日

表 5. 健康な成人による食物からのビタミン B<sub>12</sub> の吸収率

食品	被験者数	B <sub>12</sub> 摂取量 (μg)	吸収率 (%)	文献
羊肉	7	1	56~77	65
	7	3	76~89	65
	7	5	40~63	65
羊レバー	10	38	2.4~19.5	65
鶏肉	3	0.42~0.64	57.6~74.2	95
	3	0.85~1.28	48.2~75.9	95
	3	1.26~1.92	48.5~74.5	95
鶏肉			24~47	96
魚肉 (マス)	3	2	38.1~46.4	97
	3	4	32.9~47.2	97
	3	10~16	25.3~41.4	97
ミルク	5	0.25	48~88	98
B <sub>12</sub> 強化パン	5	0.25	50~65	98

表 6. ビタミン B<sub>12</sub> の吸収に影響を与える薬剤

薬剤	推定される作用
バイグアニド	吸収の減少
コレスチラミン	IF の阻害
コルヒチン	消化酵素の阻害
ネオマイシン	腸壁の障害
経口避妊薬	組織分布の変化
パラ-アミノシアル酸	吸収の減少
塩化カリウム	回腸 pH の低下

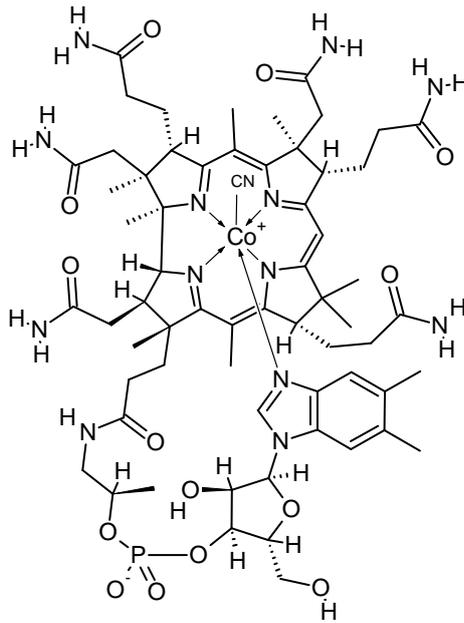


図 1. シアノコバラミンの構造式 ( $C_{68}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ , 分子量 = 1355.37)

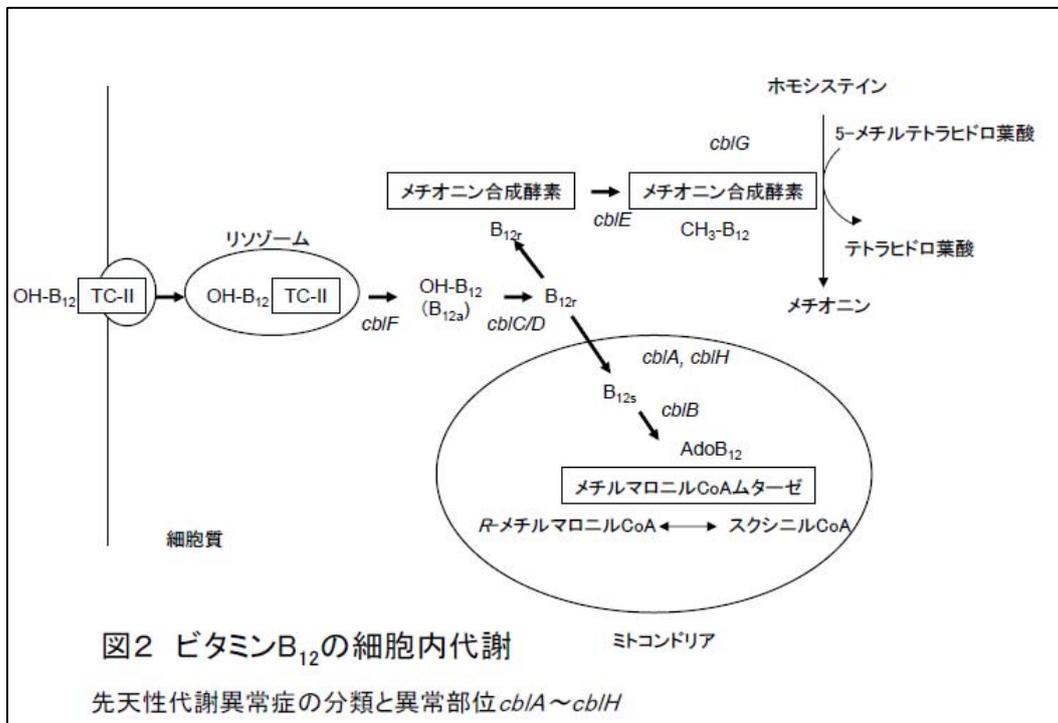


図 2. ビタミン  $B_{12}$  の細胞内代謝

図3 補酵素合成系(最近の新しいモデル)

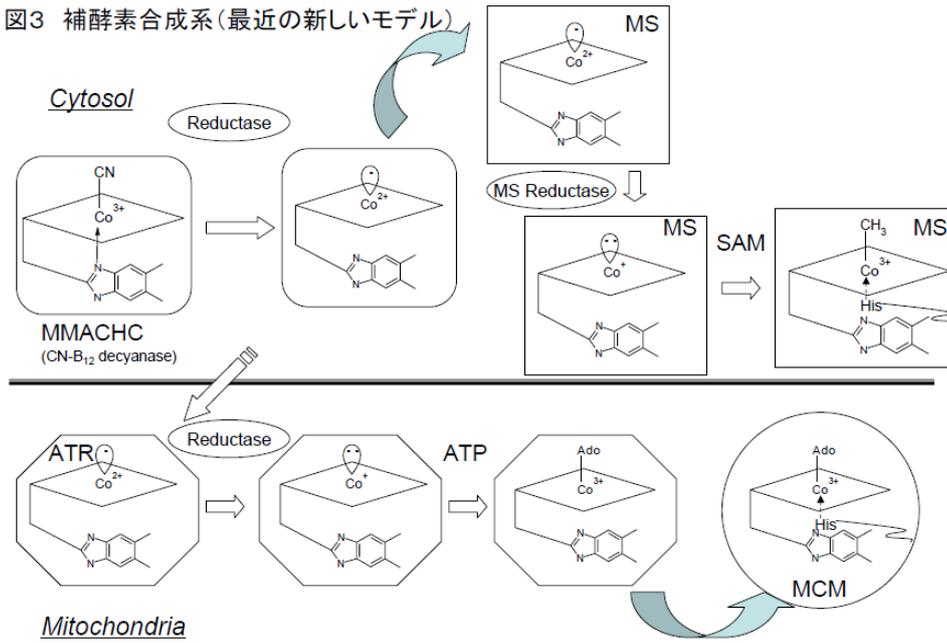


図3. 補酵素合成系 (最近の新しいモデル)

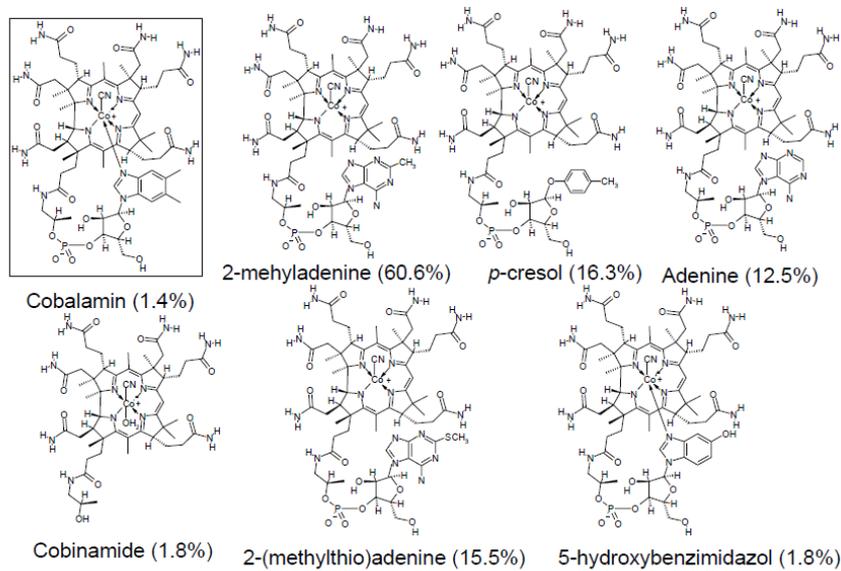
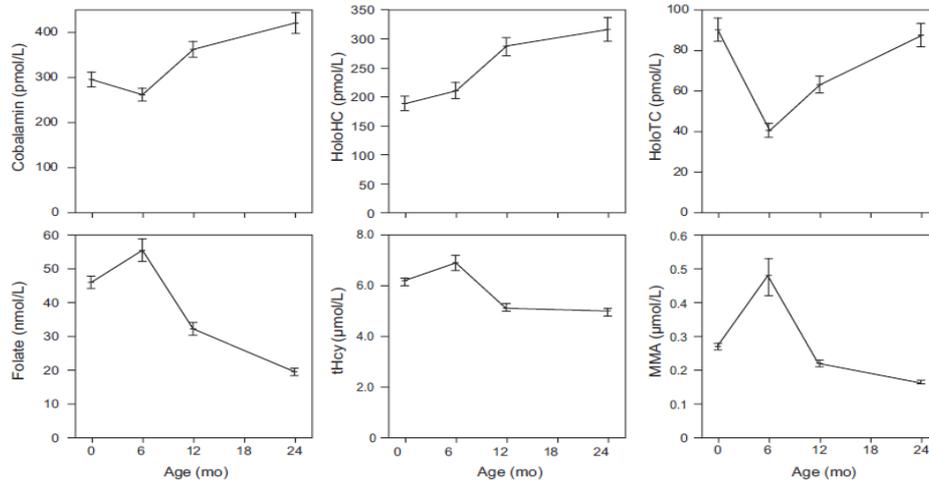


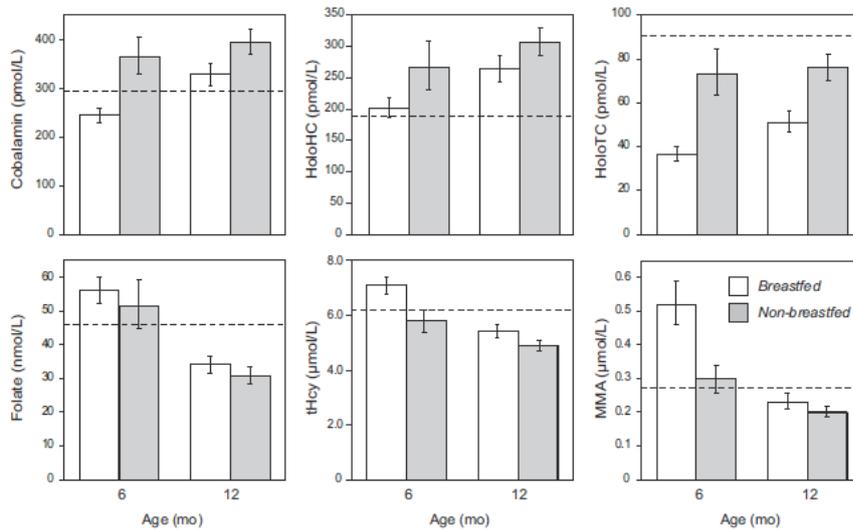
図4 ヒト糞中に見出されるビタミンB<sub>12</sub>化合物

図4. ヒト糞中に見出されるビタミン B<sub>12</sub> 化合物



**FIGURE 1.** Geometric mean (95% CI) of folate and cobalamin indexes in serum from birth to age 24 mo in the total group. The number of available results at 0, 6, 12, and 24 mo are the following: Cobalamin,  $n = 359, 262, 243, 223$ ; holohaptocorrin (holoHC),  $n = 325, 186, 223, 219$ ; holotranscobalamin (holoTC),  $n = 328, 186, 223, 219$ ; folate,  $n = 360, 258, 242, 223$ ; total homocysteine (tHcy),  $n = 361, 254, 243, 224$ ; methylmalonic acid (MMA),  $n = 361, 253, 242, 222$ . Significance was first tested by repeated-measures ANOVA for the period of 0–24 mo ( $P < 0.001$  for all indexes), followed by pairwise comparison with Bonferroni correction between the concentrations at 6, 12, and 24 mo and the concentrations at birth. At age 6 mo, the concentrations of all indexes, except holoHC, were significantly different from the concentrations at birth ( $P < 0.001$ ). At age 12 mo, all indexes were significantly different from those at birth ( $P < 0.003$ ). At age 24 mo, all indexes except holoTC were significantly different from those at birth ( $P < 0.001$ ).

図5-1. 生後6ヶ月母乳栄養児におけるビタミンB<sub>12</sub>の栄養状態を示す各種バイオマーカー (血清ビタミンB<sub>12</sub>量, ホロトランスコバラミン II (TCII) 量, 血清葉酸量, 血清ホモシステインB<sub>12</sub>量, 血清メチルマロン酸 (MMA) 量) の挙動



**FIGURE 2.** Geometric mean (95% CI) of folate and cobalamin indexes in breastfed (BF) and nonbreastfed (NBF) infants at age 6 and 12 mo. The number of available results at 6 mo in BF and in NBF infants and at 12 mo in BF and in NBF are: Cobalamin, 221, 41, 114, 128; holohaptocorrin (holoHC) and holotranscobalamin (holoTC), 158, 28, 104, 118; folate, 218, 40, 113, 128; total homocysteine (tHcy), 213, 41, 115, 127; methylmalonic acid (MMA), 212, 41, 115, 126. Student's  $t$  test was used to compare groups. At age 6 mo, all cobalamin indexes differed significantly between BF and NBF infants ( $P < 0.001$  for cobalamin, holoTC, MMA, and tHcy;  $P = 0.002$  for holoHC). At age 12 mo, all cobalamin indexes differed significantly between BF and NBF infants ( $P < 0.001$  for cobalamin and holoTC;  $P = 0.006$  for holoHC;  $P = 0.019$  for MMA; and  $P = 0.002$  for tHcy). To test for a breastfeeding status  $\times$  age interaction, repeated-measures ANOVA was carried out in the group of children that did not change breastfeeding status between age 6 and 12 mo ( $n = 94$  BF and 34 NBF). In these analyses, the effect of breastfeeding status remained highly significant for all indexes ( $P < 0.001$ ). The  $P$  value for interaction was  $< 0.1$  for all indexes and thus significant: Total cobalamin,  $P < 0.001$ ; holoTC,  $P = 0.001$ ; folate,  $P = 0.034$ ; holoHC,  $P = 0.044$ ; MMA,  $P = 0.045$ ; tHcy,  $P = 0.059$ .

図5-2. 生後6ヶ月人工乳栄養児と母乳栄養児におけるビタミンB<sub>12</sub>の栄養状態を示す各種バイオマーカー (血清ビタミンB<sub>12</sub>量, ホロトランスコバラミン II (TCII) 量, 血清葉酸量, 血清ホモシステインB<sub>12</sub>量, 血清メチルマロン酸 (MMA) 量) の挙動

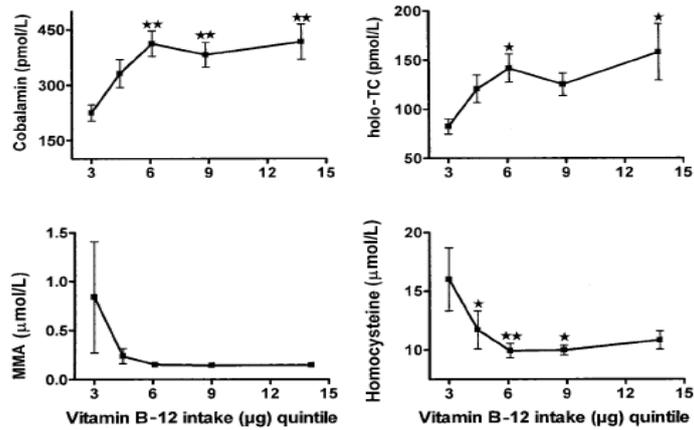


FIGURE 1. Relation between vitamin B-12 intake and concentrations of cobalamin, holo-transcobalamin (holo-TC), methylmalonic acid (MMA), and total homocysteine for all ( $n = 98$ ) subjects. Mean ( $\pm$  SEM) concentrations are plotted against the median intake for each quintile ( $n = 20$  for all quintiles, except quintile 5,  $n = 18$ ). Concentrations of holo-TC ( $P = 0.009$ ), cobalamin ( $P = 0.0004$ ), and total homocysteine ( $P = 0.003$ ), but not of MMA ( $P = 0.06$ ), differed significantly between quintiles of vitamin B-12 intake (Kruskal-Wallis test). \*\*\*Significantly different from the lowest quintile (Dunn's multiple comparisons test): \* $P < 0.05$ . \*\* $P < 0.01$ .

図6. ビタミンB<sub>12</sub>の食事摂取量と体内ビタミンB<sub>12</sub>栄養状態を示すバイオマーカー (血清ビタミンB<sub>12</sub>量, ホロTCII量, MMA量, ホモシステイン量) からの適正なビタミンB<sub>12</sub>摂取量の推測

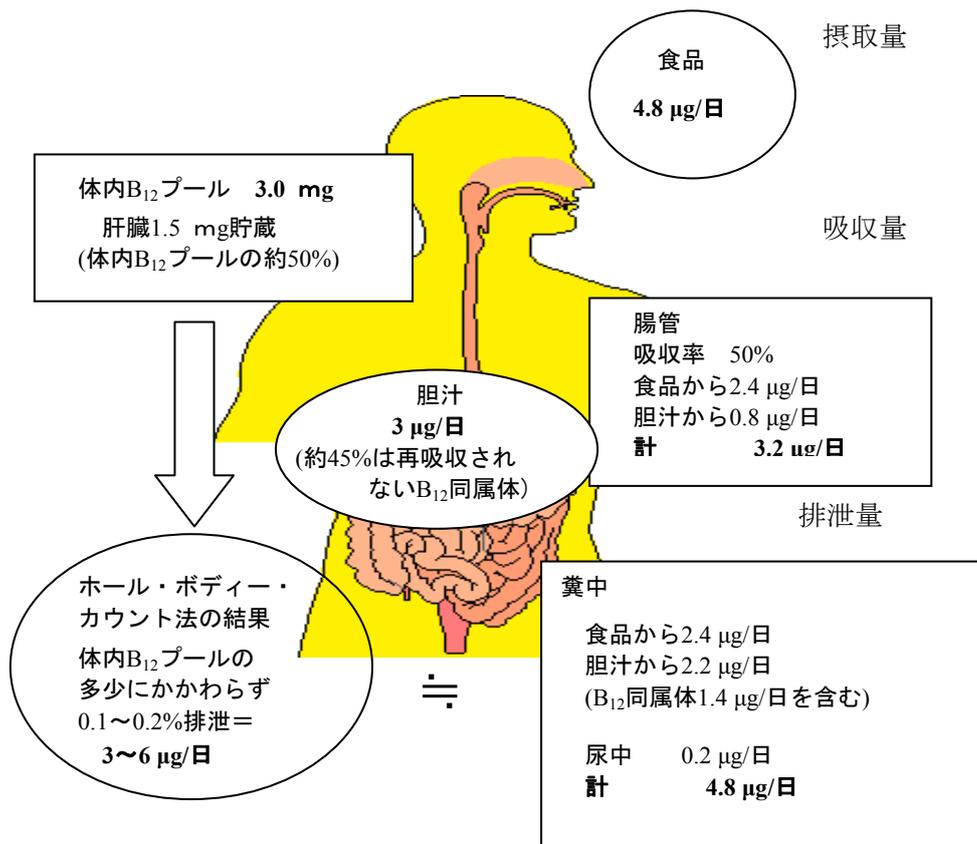
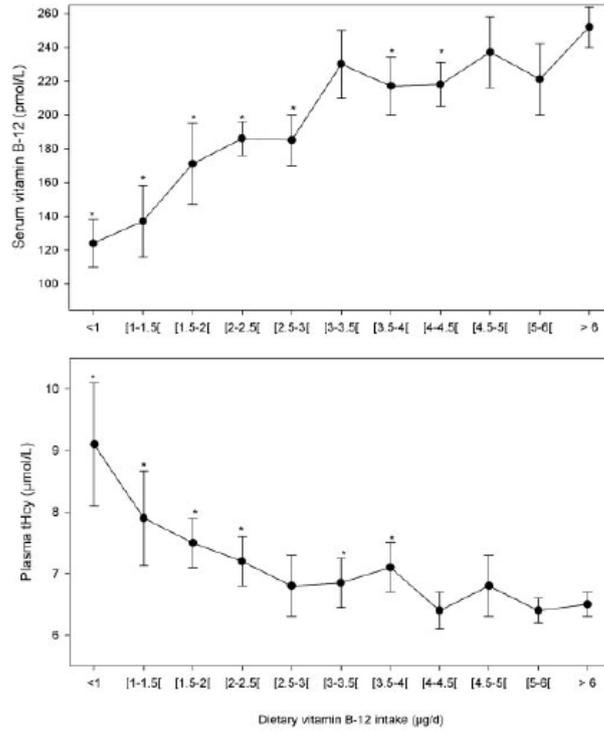
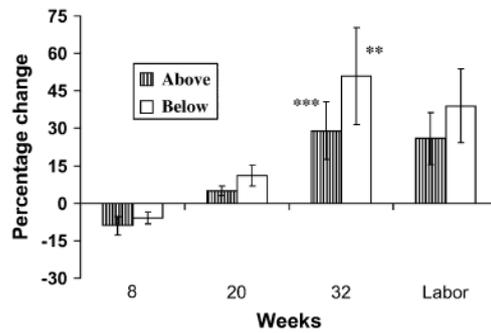


図7. 種々のデータから推定されるビタミンB<sub>12</sub>の出納バランス



**FIGURE 3** Serum vitamin B-12 and plasma tHcy concentrations according to dietary intake of vitamin B-12 in pregnant women ( $n = 109$ ). Data are means of values in all trimesters. \* $P < 0.05$  compared with values at a vitamin B-12 intake  $>6 \mu\text{g/d}$  estimated from the GEE model. Plasma tHcy concentrations are adjusted for erythrocyte folate concentrations.

図 8. 妊婦におけるビタミン B<sub>12</sub> 摂取量と血清ビタミン B<sub>12</sub>, ホモシステイン量



**FIGURE 1** Percentage changes in plasma MMA concentration from preconception throughout pregnancy in women above and below the preconception holoTC median (67 pmol/L), corrected for hemodilution. Values are means  $\pm$  SEM,  $n = 28$ . Asterisks indicate different from the preceding timepoint: \*\*\* $P < 0.001$ , \*\* $P < 0.01$ .

図 9. 妊娠 32 週目と出産時の血清 MMA 量上昇率