

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：34507

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K00864

研究課題名(和文) 乳幼児の健康栄養評価のための尿中ビタミン量と2-オキソ酸量の参照値の提言

研究課題名(英文) Proposal for a reference value of the urinary excretion amounts of 2-oxo acids in infants

研究代表者

柴田 克己 (Shibata, Katsumi)

甲南女子大学・医療栄養学部・教授

研究者番号：40131479

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)： 栄養失調時のモデル実験として、糖尿病ラットの尿中2-オキソ酸排泄量パターンの特徴を解析した。特徴的なことは、筋肉で代謝される分岐鎖アミノ酸由来の2-オキソ酸排泄量が、正常ラットの対照群と比べて、顕著に高くなっていた。つまり、糖尿病時では分岐鎖アミノ酸の異化代謝の抑制が観察された。

すでに終了していた未整理の若年女性を対象としたビタミン補充実験の解析を行った結果、既報の再現性が確認できた。

若年女性を対象として、2-オキソ酸排泄量の高い層にビタミン補充後、投与中止後の変動を調べたところ、補充すると速やかに正常値にまで低下すること、補充を中断すると再び上昇することが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人生100年時代、寿命の限界まで20歳台の体力と美貌で生き抜くためには、食べた物の栄養評価に基づいて、食べた人の栄養評価を行う間接的な栄養指導方法に限界がきている。

食べた人側の情報に基づく直接的な栄養指導方法として、尿中の2-オキソ酸を網羅的に測定して栄養評価を行い、その結果に基づいて個々に適した栄養指導を行うという提言である。

尿は非侵襲的な生体指標である。2-オキソ酸はエネルギー産生系で処理される時に生成する中間代謝産物である。エネルギー産生がスムーズでない時、いわゆる栄養失調時に体内に蓄積し、その結果、尿中への排泄量が増大する、体内の栄養バランスが調和してくると正常値にまで低下する。

研究成果の概要(英文)：(1) As a model experiment during malnutrition, the author analyzed the characteristics of the urinary 2-oxoacid excretion pattern in diabetic rats. The excretion amounts of 2-oxo acids derived from branched-chain amino acids metabolized in muscle was significantly higher than that in the control group of normal rats. In other words, suppression of catabolic metabolism of branched-chain amino acids was observed in diabetic conditions. (2) As a result of analyzing the vitamin supplementation experiment for young women who had already completed, the reproducibility of the previous report (Shibata et al., JNSV, 62, 220-228, 2016) was confirmed. (3) The author investigated the fluctuations after vitamin supplementation and after discontinuation of administration in the group of young women with high 2-oxo acid excretion, and found that the excretion amounts was rapidly decreased until normal value by supplementation and again increased by discontinuation.

研究分野：栄養学

キーワード：2-オキソ酸 アミノ酸 B群ビタミン 尿 機能性生体指標 栄養指導 栄養評価

## 1. 研究開始当初の背景

食べた物の栄養価に基づいて、食べた人の栄養評価を行う間接的な栄養指導方法の限界を打破するために、食べた人側の情報に基づくより直接的な栄養指導方法の一つとして、尿中の2-オキシ酸量を用いる方法を提唱している。2-オキシ酸は多量栄養素がエネルギー産生系で処理されるときに生成する中間代謝産物で、エネルギー産生がスムーズでない時に蓄積し、尿中への排泄量が増大するものと考えられている。この排泄量が高い層群のヒトに対して、2-オキシ酸の代謝に必要なビタミンを補充すると低下した。したがって、尿中の2-オキシ酸を測定することで、ヒトのエネルギー産生系の栄養状態、言い換えれば疲労度を推測することができ、適正なビタミン補充を行うことで、エネルギー産生系をスムーズに戻すことも可能であることが推察できた。

## 2. 研究の目的

体重と身長は乳幼児の健康評価として優れた評価であるが、親から日々の栄養状態を知りたいという声がある。望ましくない体内栄養環境がエピゲノム変化を起し、それが疾病素因となる。望ましくない体内栄養環境をいち早く知ることができれば、適正かつ先制的な栄養指導を行うことができる。申請者は、アミノ酸代謝産物の2-オキシ酸がB群ビタミンの栄養状態を反映する機能性生体指標として活用できる可能性を研究している。本申請研究では、乳幼児の尿中2-オキシ酸排泄量の参照値を求めることを目的とする。近い将来、集団を対象にした食べ物の栄養評価に、個々人の栄養素の代謝を反映する機能性生体指標を加味したヒト側に立った栄養評価方法を確立したい。

## 3. 研究の方法

- (1) 乳幼児の健康栄養評価のための尿中ビタミン量と2-オキシ酸量の参照値の提言のためのプレ実験として、ラットを用いてストレプトゾトシン糖尿病時の尿中2-オキシ酸排泄量パターンの特徴を、対照ラットと比較した。
- (2) 乳幼児の採尿が極め困難であることが判明したために、計画を変更した。ビタミン栄養状態が良好である健康な日本人若年女性において、2-オキシ酸尿中排泄量が8種類のB群ビタミン混合物の投与により有意に減少したことを報告した。本研究では、補充後の経日変動を中心に調べた。
- (3) ストレス克服に必要な水溶性ビタミン量を文献学的にまとめた。必要な資料はPubMed, J-Stageを中心として集めた。

## 4. 研究成果

- (1) 尿中の2-オキシ酸排泄量はストレプトゾトシン誘導糖尿病ラットでは増大する

アミノ酸，グルコース，および脂肪酸から異化される 2-オキソ酸は，エネルギー生産プロセスの観点から重要な中間体である．糖尿病状態では，エネルギー生産プロセスは正常な健康状態と比較して低くなることが知られている．申請者は，2-オキソ酸量が糖尿病状態時にどのように影響されるかに関心を持った．本研究では，尿中の 2-オキソ酸（ピルビン酸，オキサロ酢酸，2-オキソグルタル酸，2-オキソアジピン酸，2-オキソイソ吉草酸，2-オキソ-3-メチル吉草酸，2-オキソ-4-メチル吉草酸）量を，正常血糖対照ラットとストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットとの間で比較した．2 オキソ酸の尿中排泄量は，体内で使用できなかった 2-オキソ酸量を意味する．したがって，尿中排泄量が高いほど，体内の未使用の 2-オキソ酸が多かったことを意味し，エネルギー産生プロセスが損なわれていることを意味する．ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット群のピルビン酸+オキサロ酢酸量，2-オキソグルタル酸量，2-オキソアジピン酸量，2-オキソイソ吉草酸量，2-オキソ-3-メチル吉草酸量および 2-オキソ-4-メチル吉草酸量は，1g の食物摂取量あたりで，正常血糖対照ラット群と比較して，各々 2.0 倍，2.5 倍，1.5 倍，7.6 倍，6.1 倍および 2.1 倍であった．大きな違いが，2-オキソイソ吉草酸（パリンの異化代謝産物）および 2-オキソ-3-メチル吉草酸（イソロイシンの異化代謝産物）で観察された．これらの知見は，体内におけるエネルギー産生プロセスが，糖尿病状態において抑制されるようになったことを示している．適正なビタミン補充が必要である．

#### (2) 若年日本人女性における B 群ビタミン剤の摂取が尿中 2-オキソ酸排泄量の経日変化におよぼす影響

B 群ビタミンはアミノ酸代謝に必要であり，アミノ酸代謝産物である 2-オキソ酸の尿中排泄量が B 群ビタミン栄養状態を示す機能性生体指標として利用できる可能性が示されている．本研究では，B 群ビタミンと尿中 2-オキソ酸排泄量との関係を明らかにするため，ヒト介入試験を実施し，B 群ビタミン剤の補充が尿中 2-オキソ酸排泄量の経日変化におよぼす影響について検討した．29 名の若年日本人女性が 8 日間連続して 24 時間尿を採尿し，採尿 2 日目より 7 日間連続して B 群ビタミン剤を摂取した．採尿 1 日目の分岐鎖 2-オキソ酸，2-オキソグルタル酸，2-オキソアジピン酸，ピルビン酸の各排泄量に基づいて対象者を三分位に分け，解析を行った．上位の対象者において，いずれの尿中 2-オキソ酸排泄量も B 群ビタミン剤摂取 1 日目より低下しはじめ，摂取 2 日目には他の分位のレベルにまで低下した．以上の結果は，若年日本人女性において 2-オキソ酸代謝は直ちに B 群ビタミン剤摂取の影響を受けることを示している．したがって，尿中 2-オキソ酸排泄量は B 群ビタミン栄養状態の有用な機能性生体指標として利用できる可能性がある．

#### (3) ストレス克服に必要な水溶性ビタミン量

成長が終わった 20 歳ごろに美と体力・活き活きと生きる能力 (= 生活能力あるいは余剰能力) が最高点，頂上に達する．その頂上が寿命の限界まで平たく続いていることを，ヒトは望む．現実には，頂上に達した時点で余剰能力は下り坂となる．下り坂の速度を高める一因がストレスで

ある。健康維持の極意は体内環境の恒常性の維持である。ビタミンの第一義機能は補酵素，触媒機能である。酵素の合成には時間がかかるが，酵素 - 補酵素の合体は一瞬である。補酵素の量が恒常性維持の鍵である。ほ乳動物は，ビタミンの *de novo* 生合成経路を持たない。例外がある。ヒトでも，トリプトファンからニコチンアミドを合成できる。ニコチンアミド合成量はストレス時に変動する。ストレス克服には，体内水溶性ビタミン量を常に飽和させておくことが必要である。

植物は様々な環境に適応して生きるために，興味ある機能が存在する。シロイヌナズナの幼体には，傷害や食害によって誘導される ER body という細胞内小器官がある。この ER body は，  
-グルコシダーゼを蓄積するために小胞体の一部が分化した特殊器官である。植物の二次代謝産物には忌避物質と考えられているものがあり，これらは配糖体の形で液胞に貯蔵されている。ビタミンも 植物ではグルコシル化されて貯蔵されている。リボフラビン-5'-D-グルコシド，ニコチン酸-N-D-グルコシド，ニコチン酸-D-グルコシルエステル，パントテニル-D-グルコシド，ピリドキシン-5'-D-グルコシドなどが知られている。植物は，ビタミンの *de novo* 生合成経路を持ち，かつ，このようにビタミンをグルコシル化し，不活性化することで貯蔵し，ストレス対応のために備えている。そして，ストレス時には ER body に蓄えられている -グルコシダーゼにより素早く不活性型からビタミン体に変えられ 補充しているのであろう。さらに，*de novo* 生合成酵素の転写も，ストレス時には促進されるようである。このようにして，幼植物はストレスに挑戦し，生長するのであろう。ところが，植物においても成長すると ER body は消滅してくる。

幼植物のストレス対策を参考に考えると，ストレスに対応するために急激に亢進したエネルギー代謝を維持するには，絶え間ない補酵素の供給が肝要である。ヒトを含むほ乳動物においても，*de novo* 生合成経路が残っているビタミンがある。ナイアシンである。上述のように，必須アミノ酸のトリプトファンから 10 ステップの反応でニコチンアミドが合成される。

動物は外界からいつでもビタミンを十分補給できる環境で暮らしてきたために，ビタミンの *de novo* 生合成経路を捨て去ることで進化してきたものと思うが，ナイアシンは，NADH としてエネルギーの産生に，そして NADPH として同化のための還元力の付与という，生きるために必要な基本的な反応に関わっている。このために，ヒトでも *de novo* ニコチンアミド合成経路を保持しているものと思われる。したがって，このトリプトファン - ニコチンアミド転換率が落ちないようにすることが，ストレス克服の一つになるものと考えられる。

具体的には，トリプトファンが豊富な動物性タンパク質食品と卵類食品を毎日 300 g-400 g 程度食べることである。これらの食品群から，エネルギー産生に関わる 8 種類の B 群ビタミンも十分量摂れる。マスコミの宣伝では，ビタミンといえば野菜・果物というが，これらには，ビタミン C は含まれているが，B 群ビタミンはほとんど含まれていない。動物性タンパク質食品と卵類食品が苦手というヒトには，次世代型食品といわれるタンパク質サプリメントとビタミンサプリメントを活用すればよい。注意していただきたいことは，上述のようにビタミンインバランスという現象があることである。ビタミンインバランスの主体はナイアシン不足，正確に書けば，

補酵素 NAD<sup>+</sup>, NADH, NADP<sup>+</sup>, NADPH (= ピリジヌクレオチド補酵素) の不足である。ナイアシンを補酵素とする酵素は、全酵素の 20% 以上も占める。代謝地図をみると、なんと多くの酵素反応がピリジヌクレオチド補酵素を必要としているかがわかる。

ビタミンの *de novo* 生合成経路を有している植物でも緊急時に備えて水溶性ビタミンを貯蔵している。ヒトにおいても、「これからきびしい時間が始まるぞ」という前に、表 1 に示した水溶性ビタミン量を補充しておくことは、ストレス克服に有効であると考えられる。

表 1 . 体内を飽和させるために必要な水溶性ビタミン摂取量

ビタミン名	体内を飽和させるために必要な水溶性ビタミン量
ビタミン B <sub>1</sub>	2.0 mg/1,000kcal エネルギー
ビタミン B <sub>2</sub>	3.4 mg/1,000 kcal エネルギー
ビタミン B <sub>6</sub>	0.074 mg/g タンパク質
ビタミン B <sub>12</sub>	0.006 mg/日 <sup>*3</sup>
ニコチンアミド	47 mgNE*/1,000 kcal エネルギー
パントテン酸	40 mg/日
葉酸	1.54 mg/日 <sup>*5</sup>
ビオチン	1.0 mg/日
ビタミン C	210 mg/日

\*NE =niacin equivalent (ナイアシン当量).

NE = ニコチン酸 (mg) + ニコチンアミド (mg) + 1/60 トリプトファン (mg).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Maho Hirai, Sho Hatayama, Motoki Kimata, Katsumi Shibata, Tsutomu Fukuwatari	4. 巻 67
2. 論文標題 Effects of B-Group Vitamin Administration on Daily Change in Urine 2-Oxo Acids in Young Japanese Women	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Nutr Sci Vitaminol	6. 最初と最後の頁 63-67
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3177/jnsv.67.63.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Katsumi Shibata	4. 巻 64
2. 論文標題 Urinary excretion of 2-oxo acids is greater in rats with streptozotocin-induced diabetes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 292-295
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3177/jnsv.64.292.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 柴田克己	4. 巻 61
2. 論文標題 ストレス克服のための至適水溶性ビタミン量	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 New Food Industry	6. 最初と最後の頁 888-902
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 柴田 克己
2. 発表標題 トリプトファン代謝を支配するB群ビタミンの栄養状態
3. 学会等名 日本ビタミン学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------