

地域高齢者におけるビオチン栄養状態についての実態調査

渡邊 敏明¹⁾, 小笹 佐和子¹⁾, 大串 美沙¹⁾, 砂田 雅子¹⁾, 榎原 周平¹⁾
木村 幸子¹⁾, 福井 徹²⁾, 渡邊 令子³⁾, 西牟田 守⁴⁾

¹⁾ 兵庫県立大学環境人間学部, ²⁾ 病体生理研究所

³⁾ 県立新潟女子短期大学, ⁴⁾ (独) 国立健康・栄養研究所

Study on the Nutritional State of Biotin in the Elderly in Niigata, Japan

Toshiaki Watanabe¹⁾, Sawako Ozasa¹⁾, Misa Ogushi¹⁾, Masako Sunada¹⁾, Shuhei Ebara¹⁾
Sachiko Kimura¹⁾, Toru Fukui²⁾, Reiko Watanabe³⁾, and Mamoru Nishimuta⁴⁾

¹⁾ School of Human Science and Environment, University of Hyogo, Himeji

²⁾ Clinical Laboratory, Byotai Seiri Laboratory, Itabashi, Tokyo

³⁾ Department of Human Life and Environmental Science, Niigata Women's College, Niigata

⁴⁾ Nutritional Epidemiology Program, National Institute of Health and Nutrition, Shinjuku, Tokyo

Abstract: Biotin is widely contained in various foods. However, the content of biotin in foods is not on the 5th revised Japanese Standard Food Table. A nutritional survey was undertaken in order to estimate the dietary intake of biotin in elderly residents of homes in rural areas, Japan. Based on the mean biotin concentration of 98 food groups, the estimated biotin intake was 78.4 µg/day (95 % CI: 44.3 - 112.6 µg/day), which was higher than the Adequate Intakes (AI) for adults set at 45µg/day of biotin in the Dietary Reference Intakes in Japan 2005. However, the serum concentration of total and free biotin decreased with age. It is necessary to consider the nutritional characteristics of biotin in order to estimate the dietary intake of biotin in the elderly. The present findings are important for establishing Dietary Reference Intakes for biotin.

Key words: biotin, elderly, rural area, Dietary Reference Intakes, Adequate Intakes

はじめに

ビオチンは、水溶性ビタミンの一つで、生体内においてはカルボキシラーゼの補酵素として、炭酸固定反応に関与している¹⁾。ビオチンは種々の食品に広く分布しており、とくにロイヤルゼリー、レバー、卵黄に多く含まれている。このため、ヒトにおいて

は、ビオチンが不足することは稀である。しかし、実験動物においては、ラットに卵白を多量に与えると、脱毛や皮膚炎などがみられ、「卵白障害」としてビオチン欠乏の起こることが知られている。これは、卵白に含まれるアビジンが消化管内でビオチンと特異的に結合し、腸管からのビオチンの吸収を阻害す

るためである。

遺伝的なビオチン欠乏症には、ビオチン関連の先天性代謝異常症であるビオチニダーゼ欠損症やカルボキシラーゼ欠損症があり、脱毛や皮膚炎などの欠乏症がみられる。一方、食事性のビオチン欠乏症は、ビオチン摂取量の不足や腸管からのビオチンの吸収が阻害されることによって引き起こされる。近年、わが国では、アレルギーやメチルマロン酸血症などの先天性代謝異常児において、治療用特殊ミルクの摂取によるビオチン欠乏症が報告されている²⁾。これは、治療用特殊ミルクに含まれているビオチン量が不足していることによる。

最近、著者らは、生理的なビオチン欠乏症として、妊娠の後期において、妊婦の尿中ビオチン濃度が低下するのに伴って、ビオチン代謝と関連している有機酸の一種である 3-hydroxyisovaleric acid (3-ヒドロキシイソ吉草酸, 3-HIA) が増加することをみだした^{3), 4)}。これは胎児のビオチン要求量が増加していることを示しているのかも知れない。

ビオチンは、1999 年に初めて所要量が策定され⁵⁾、2003 年から食品添加物として栄養機能食品に利用することが可能になった⁶⁾。しかし、ビオチンは「日本食品標準成分表」に未収載の栄養素であり、食品中の含量やマトリックスをはじめ、食事からの摂取量についても明らかではない⁷⁾。また、ビオチン摂取量に関する報告は限られており、調査法によって 1 日あたりの摂取量が 30~100 μ g と約 3 倍の差異がある⁸⁾⁻¹⁰⁾。

ビオチンの摂取量は、これまで陰膳法で求められている。陰膳法は被験者の負担が大きいなどの欠点がある。そこで、著者らは、近年、新しい食事調査法として、食品群別計算法やトータルダイエット調査 (TDS) 法を開発した^{10), 11)}。食品群別計算法は、わが国の主要な食品に含まれるビオチン量から、簡易的にビオチン摂取量を算出する方法であり、この方法を用いてビオチンの 1 日摂取量を算出できる。

高齢者を対象にビタミンの栄養状態を調査した報告が少ないため、食事摂取基準の作成においては、成人の基準値をそのまま利用している。近年、高齢者において、萎縮性胃炎の罹患率が高いことが報告されている¹²⁾。これらの高齢者では、ビタミン B₁₂ の吸収が低下することが知られているが、このほかのビタミン吸収への影響については明らかではない。そこで、本研究では、地域在宅高齢者におけるビオチンの栄養状態について調査を行った。

実験方法

1) 対象者および調査方法

本研究は、一般的な健康状態と栄養素摂取の状態、身体測定、カリエスの根源となる歯の疾病との関係を調べるため、医学、歯学、栄養学およびスポーツ学などの視点から加齢についての長期的な前向き研究として、1998 年から開始した¹³⁾。最初に、新潟市に居住する 1927 年生まれで、70 歳の 4,542 名すべてにアンケート用紙を送付した。基礎研究を実施するため、回答者のうち性別を考慮して、およそ同じ人数になるように無作為に 600 名を選んだ。なお、本研究は、新潟大学大学院の医歯科学の倫理委員会において承認を受けた。参加者は、調査内容について口頭で十分なインフォームドコンセントを受け、医学的・歯学的検査を受けることを書面で同意した。また、本調査はヘルシンキ宣言の精神に従って行われた。

本調査においては、1998 年の基礎研究後 4 年間健康状態であった 62 名のボランティアを対象にした。これらのボランティアは、自らの健康と日々の食生活に関心があり、さらに社会的状態が良好である。また彼らの多くは積極的に地域社会に仕えたり、家庭菜園を作ったりするライフスタイルを楽しんでいる。

表 1. 対象者の身体的特徴

	調査 (年)	身長 (cm)	体重 (kg)	BMI (kg/m^2)
男性	2001	162.0 \pm 5.3	56.4 \pm 7.4	21.5 \pm 2.8
	2002	161.7 \pm 5.3	57.4 \pm 7.3	22.0 \pm 2.8
	2003	161.7 \pm 5.3	57.2 \pm 7.7	21.9 \pm 3.0
女性	2001	148.5 \pm 5.1	52.1 \pm 7.3	23.6 \pm 2.6
	2002	148.2 \pm 5.4	52.5 \pm 7.9	23.8 \pm 2.8
	2003	147.7 \pm 4.8	52.4 \pm 7.0	24.0 \pm 2.7

今回の調査では、2001 年に栄養調査に参加した 57 名（男性 31 名、女性 26 名）について、2002 年および 2003 年に追跡調査を行なった。毎年、健診時に血液および一時尿を採取し、試料とした。これらの試料は、生物医学研究所（東京）で生化学的検査を行なった。また身長および体重を測定し、肥満度指数 (BMI) を算出した。身体的特徴を表 1 に示した。

身体活動は、アンケートを利用して、第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準に基づき I - III に分類した。また生活活動強度 (ADL) は東京都総合老人研究所 (TMIG) の能力の指標を使って評価した。なお、栄養調査は、2001 年 11 月 5 日から 12 月 5 日に行われた。完全な 3 日間の食事摂取データは男性

31名および女性26名の計57名のボランティアから入手した。被験者はすべて74歳であった。

2) ビオチン摂取量

食品群別計算法

高齢者における食事摂取状況を把握するため、2001年11月に食事調査を行った。食事記録法（秤量法）で3日間の食事の記録をつけさせ、後日、栄養士による聞き取り調査を行った。

国民健康・栄養調査の食品群別表に従って、これまでにビオチン分析した食品328品目を98食品群に分類し、各群のビオチン含量の平均値を算出した。これらの平均値と国民健康・栄養調査結果（2005年度版）¹⁴⁾の98食品群の各摂取量を利用して、1日あたりのビオチン摂取量を算出した。

なお、栄養調査は2001年11月に行われたため、ビオチン摂取量の算出および評価は、「五訂日本食品標準成分表」⁷⁾および「第六次改定日本人の栄養所要量」⁵⁾に基づいて行なった。

3) 生化学的分析

ビオチンの定量

血清および尿中ビオチン濃度は、ビオチン要求株である乳酸菌（*L. plantarum* ATCC 8014）を用いた微生物学的定量法に従い、2001年は寒天プレート法¹⁵⁾、2002年および2003年は比濁法¹⁶⁾で測定した。

尿中3-HIA およびピルビン酸の測定

尿中3-HIA およびピルビン酸は、有機酸分析システム（㈱島津製作所、京都）は、分析対象成分が引き起こすイオン量の変化を測定することで、イオン性の物質を選択的に検出することができる電気伝導度検出と有機酸を分離するのに適しているといわれているイオン排除クロマトグラフを組み合わせた高速液体クロマトグラフィ（HPLC）である。本システムの特徴として、移動層に強酸水溶液（*p*-トルエンスルホン酸水溶液）を用いるために、有機酸の乖離が抑制され、感度の低下が引き起こされる。そこで、アルカリ緩衝溶液をカラムの溶出液と混合させてpHを緩衝させることにより、有機酸検出の感度を向上させている^{17), 18)}。この方法により、簡単な処理だけで分析が可能になるという利点がある。尿は、0.45 μ m マイクロフィルターMinisart RC4（Sartorius㈱、東京）でろ過したものをサンプルとして使用した。

3-HIA 標準液は、3-HIA（東京化成㈱、東京）に超

純水で希釈して測定を行い、検量線を作成した。測定の結果から、3-HIA のピークとされる21min 付近のピークの面積より、尿中の3-HIA 濃度を算出した。

ピルビン酸標準液は、ピルビン酸（和光純薬㈱、東京）を超純水で希釈して測定を行い、検量線を作成した。測定の結果から、ピルビン酸のピークとされる13min 付近のピークの面積より、尿中のピルビン酸濃度を算出した。

クレアチニンの測定

尿の自動分析装置を用い、Jaffe 反応を利用して測定した。

4) 統計学的解析

実験結果については、各群の分析値および計算値を平均値±標準偏差で表した。データの統計処理には、Excel 統計 Statcel 2 を使用した。同性および異性間の比較は、二元配置分散分析で、それ以外は一元配置分散分析で比較した。それぞれの分散分析後、有意差をFisher's PLSD にて検定した。いずれの場合にも、有意水準は、危険率5%未満を有意とし、 $p<0.05$ と $p<0.01$ に分けて表示した。

実験結果

1) ビオチン摂取量

表2. 食品群別計算法によるビオチン摂取量

食品群	ビオチン摂取量 (μ g/日)
1. 穀類	6.2
2. いも及びでん粉類	1.3
3. 砂糖および甘味類	0.4
4. 豆類	5.0
5. 種実類	1.4
6. 野菜類	9.9
7. 果実類	4.9
8. きのこと類	2.5
9. 藻類	0.7
10. 魚介類	10.0
11. 肉類	2.2
12. 卵類	8.4
13. 乳類	4.2
14. 油脂類	0.0
15. 菓子類	0.7
16. し好飲料類	13.3
17. 調味料及び香辛料類	7.3
合 計	78.4

表2に各食品群におけるビオチン摂取量の平均値を示した。被験者が1日に摂取したビオチンは平均 $78.4 \mu\text{g}$ であった。95%信頼区間は $44.3\text{--}112.6 \mu\text{g/日}$ であった。日本人の食事摂取基準2005年版における成人の目安量 $45 \mu\text{g/日}$ に対する充足率は174%であり、対象者全員が目安量を上回っていた。なお、食品群別の摂取量をみると、卵類や穀類からの寄与は少なく、嗜好飲料類や魚介類において高値を示した。

2) 血清ビオチン濃度

図1は、血清の総ビオチン濃度の経年変化を示したものである。総ビオチン量を年齢ごとに見ると74歳では $6.4 \pm 0.4 \text{ ng/ml}$ 、75歳では $4.6 \pm 1.5 \text{ ng/ml}$ 、76歳では $3.6 \pm 1.3 \text{ ng/ml}$ であった。男女ともに3年間で有意に低下した ($p < 0.01$)。しかしながら、男女間で差異はみられなかった。

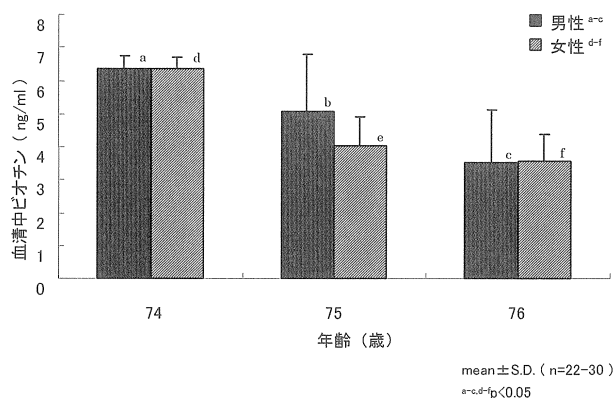


図1. 地域高齢者における血清総ビオチン濃度の経年変化

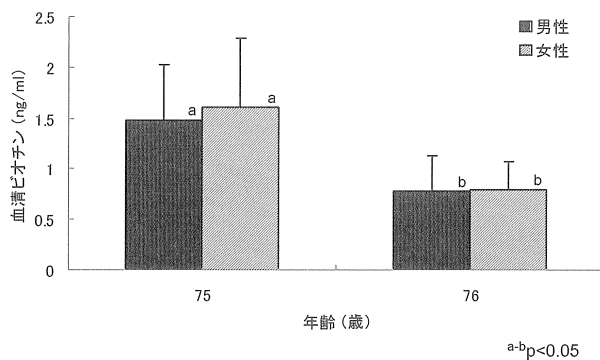


図2. 地域高齢者における血清遊離ビオチン濃度の経年変化

2002年および2003年における遊離型ビオチン量をみると、75歳では $1.5 \pm 0.6 \text{ ng/ml}$ 、76歳では $0.8 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$ であった (図2)。血清の遊離型ビオチンも2年間で有意に減少した ($p < 0.01$)。しかし、男女間で差異はみられなかった。

3) 尿の生化学的分析結果

尿中ビオチン

図3は、地域高齢者における尿中ビオチン排泄量の分布を示したものである。平均値は $8.5 \pm 5.1 \mu\text{mol/mol of creatinine}$ で、分布範囲は $0.9\text{--}43.9 \mu\text{mol/mol of creatinine}$ であった。男女とも加齢に伴う尿中ビオチン排泄量の経年変化はみられなかった (図4)。しかし、男女間では差異が見られ、女性が有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

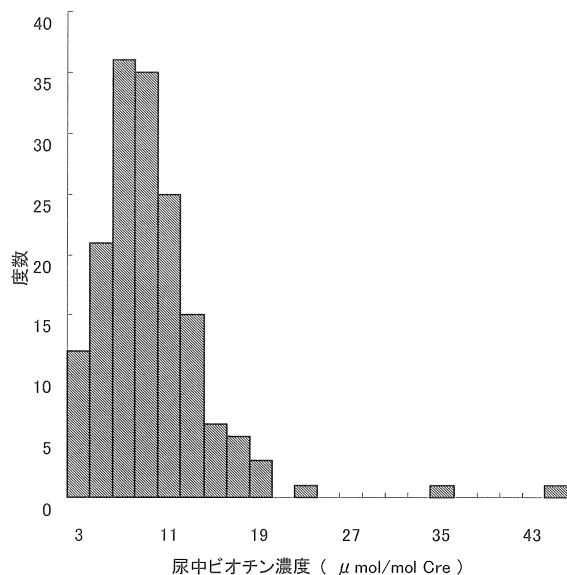


図3. 地域高齢者における尿中ビオチン排泄量の分布

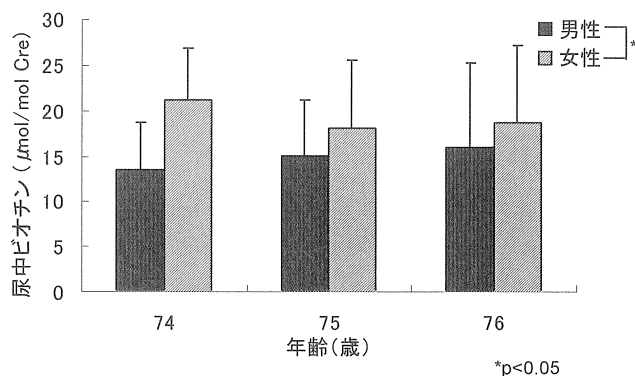


図4. 地域高齢者における尿中ビオチン排泄量の経年変化

尿中 3-HIA 濃度

図5は、地域高齢者の尿中に排泄される 3-HIA 量の分布を示したものである。平均値は $304 \pm 187 \text{ mmol/mol of creatinine}$ で、分布範囲は $6.3\text{--}783 \text{ mmol/mol of creatinine}$ であった。尿中 3-HIA 濃度の経年変化をみると、男性は加齢に伴って、有意に減少した ($p < 0.05$) (図6)。なお、男女間で差異がみられ、女性が有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

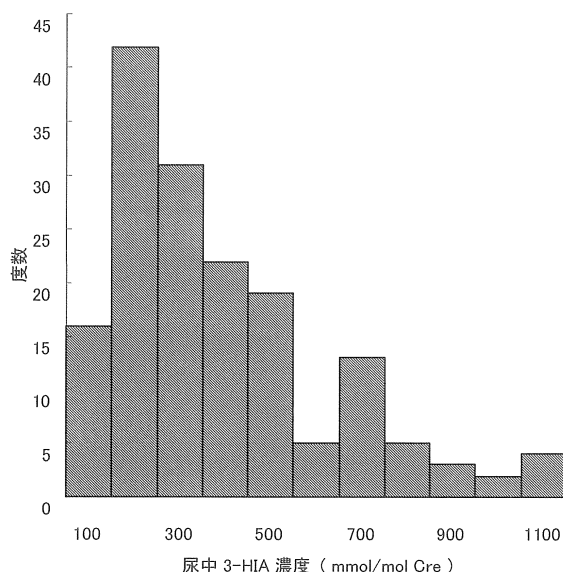


図5．地域高齢者における尿中 3-HIA 排泄量の分布

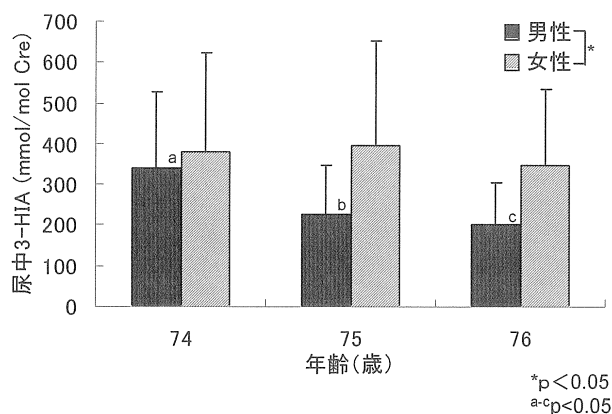


図6．地域高齢者における尿中 3-HIA 排泄量の経年変化

尿中ピルビン酸濃度

図7は、地域高齢者における尿中ピルビン酸排泄量の分布を示したものである。平均値は 945 ± 482

$\text{mmol/mol of creatinine}$ で、分布範囲は $63\text{--}2,150 \text{ mmol/mol of creatinine}$ であった。尿中ピルビン酸濃度の経年変化をみると、男女とも加齢に伴う変化はみられなかった (図8)。しかし、男女間で差異が見られ、女性が有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

ビオチンと 3-HIA との関連

年齢・性別ごとに、尿中に排泄されるビオチン量と 3-HIA 量を比較したところ、すべてにおいて関連はみられなかった。男性では、3 年間を通して尿中ビオチン量の変動していなかったにも関わらず、尿中 3-HIA 量が減少した。女性では 3 年間を通して、とくに変化はなかった。

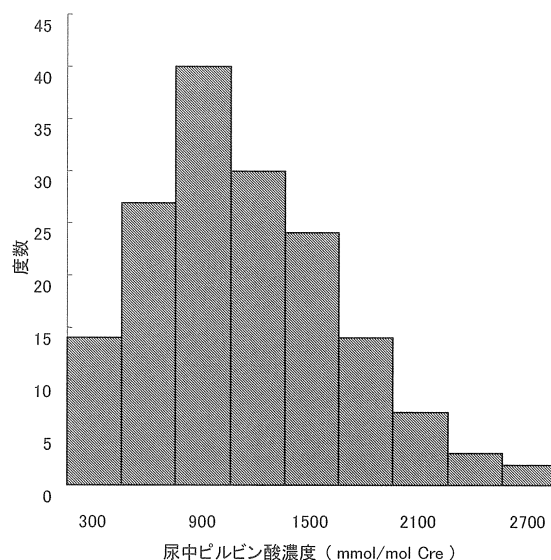


図7．地域高齢者における尿中ピルビン酸排泄量の分布

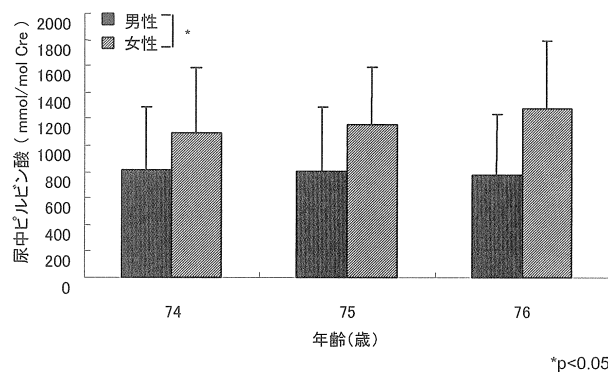


図8．地域高齢者における尿中ピルビン酸排泄量の経年変化

考 察

食事摂取基準の策定においては、日本人を対象としたデータはほとんどなく、多くの場合、食生活が異なる欧米人のデータが用いられている。従って、現在用いられている食事摂取基準は、わが国の食生活を十分に反映しているとはいえない。「日本人の食事摂取基準 (2005 年版)」において、ビオチンやパントテン酸などの5種類の水溶性ビタミンは、目安量の設定となっている¹⁹⁾。とくに高齢者については、ほとんどデータがなく、成人の基準値をそのまま利用している。

ビオチンの摂取量については、著者らが知る限りでは、これまでに国内外を合わせて11編の報告がある。国外においては、Hoppner *et al.*²⁰⁾は、カナダの一般的な食事を調査したところ、計算値で62 μ g/日、測定値で60 μ g/日の値であった。また、Lewis および Buss²¹⁾は、イギリスで6,925世帯を対象にした調査で、1日あたりのビオチンの平均摂取量は37.5 μ gであり、その内50%以上を卵類および乳類から摂取していると報告している。

わが国では、これまでに4編の報告があるに過ぎない。著者らは、2004年に秋田県に住む健康な45歳以上の中高年者685名(男性284名、女性401名)を対象にして陰膳法で1日のビオチン摂取量を測定した⁸⁾。この結果では、ビオチン摂取量は、対数正規分布を示し、平均29.8-33.3 μ g/日であり、季節変動が認められている。また、女性で低い傾向がみられた。

2005年、わが国で日常的に摂取されている主要な食品101品目に含まれるビオチン量を分析した¹⁰⁾。この分析結果を18食品群に分類し、2001年度国民栄養調査結果を利用した「食品群別計算法」で、わが国の成人1日あたりのビオチン摂取量を算出したところ、男性で109.8 μ g、女性で92.3 μ gであった。しかし、食品の分析数や選択食品の偏りなどがあるため、その後、2005年に著者らが再解析した結果、それぞれ107.8 μ g/日および91.6 μ g/日となった¹¹⁾。

齋東および牛尾²²⁾は、1999年に東京都で行われた「トータルダイエット調査(TDS, Total Diet Study)」を報告している。これは、食品中のビオチン含量を13食品群に分類して分析し、東京都民の栄養調査結果を利用してビオチン摂取量を算出したものである。この結果では、東京都民の1日あたりのビオチン摂取量は45.1 μ gと推定されている。TDSでは、調理後の食品を利用することになっているが、齋東およ

び牛尾²²⁾は調理前の摂取重量を用いて、ビオチン摂取量を算出している。そこで、2005年に著者らが調理後の摂取重量を用いて再計算した結果では、都民のビオチン摂取量は60.7 μ g/日と推定された¹¹⁾。

本研究における70歳以上の高齢者では、1日のビオチン摂取量がこれまでの報告に比べ高値であり、食事からのビオチン摂取量が高いことが明らかになった。しかしながら、血清中のビオチン濃度をみると経年的に減少傾向がみられた。とくに、血清濃度が基準値よりも低値を示している高齢者や、3-HIA濃度が高値を示している高齢者については、その原因について十分な検討が必要である。本研究で得られた結果は、食事摂取基準を策定するための基礎的なデータであるのみでなく、これから高齢者の食事指導においても重要である。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、ご協力を頂いた谷口歩美氏、鈴木愛氏および末村恭子氏に深謝します。

参考文献

- 1) 渡邊敏明：ビオチン．「ビタミンの事典」，日本ビタミン学会編，朝倉書店，東京，pp.299-323，1996.
- 2) 真々田容子，村田敬寛，谷口歩美，長谷川有紀，鈴木徹臣，幸田恭子，那須野聖人，渡邊敏明，山口清次，石黒精：牛乳蛋白アレルギー児に発症したアミノ酸調整粉末哺育によるビオチン欠乏症．アレルギー 57:552-557，2008.
- 3) Watanabe T, Oguchi K, Ebara S, and Fukui T: Measurement of 3-hydroxyisovaleric acid in urine of biotin-deficient infants and mice by HPLC. J Nutr 135:615-618, 2005.
- 4) Watanabe T, Nagai Y, Taniguchi A, Ebara S, Kimura S, and Fukui T: Effects of biotin deficiency on embryonic development in mice. Nutrition 25:78-84, 2009.
- 5) 厚生労働省：第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-(2000年版)．2000.
- 6) 厚生労働省：食品衛生法施行規則の一部を改正する省令及び食品，添加物等の規格基準の一部を改正する件について．2003.
- 7) 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科

- 会：五訂増補日本食品標準成分表．国立印刷局，東京，2005.
- 8) 谷口歩美，武智隆祐，福嶋厚，渡邊敏明：わが国の食品中ビオチン含量の分析，日本栄養・食糧学会誌 61:27-37，2008.
- 9) 渡邊敏明，大串美沙，福井徹：わが国の実年者におけるビオチンの体内動態についての検討．生物試料分析 27:403-408，2004.
- 10) 渡邊敏明，谷口歩美：トータルダイエツト調査によるビオチン摂取量の推定についての検討．日本臨床栄養学会雑誌 27:304-312，2005.
- 11) 谷口歩美，大串美沙，武智隆祐，渡邊敏明：わが国の食品に含まれるビオチン量の分析．日本栄養・食糧学会誌 58:185-198，2005.
- 12) Green TJ, Venn BJ, Skeaff CM, and Williams SM: Serum vitamin B₁₂ concentrations and atrophic gastritis in older New Zealanders. Eur J Clin Nutr 59:205-210, 2005.
- 13) Watanabe R, Hamori H, Kadoma M, Nishimuta M, and Miyazaki H: Nutritional intake in community-dwelling older Japanese adults: High intakes of energy and protein based on high consumption of fish, vegetables and fruits provide sufficient micronutrients. J Nutr Sci Vitaminol 50:184-195, 2004.
- 14) 健康・栄養情報研究会：国民栄養の現状(平成13年厚生労働省国民栄養調査結果) 第一出版．東京，2003.
- 15) Fukui T, Iinuma K, Oizumi J, and Izumi Y: Agar plate method using *Lactobacillus plantarum* for biotin determination in serum and urine. J Nutr Sci Vitaminol 40:491-498, 1994.
- 16) Ball GMF: Microbiological methods for the determination of the B-group vitamins. in Vitamins in Food, CRC Press, Boca Raton, pp. 339-368, 2005.
- 17) 島津高速液体クロマトグラフ有機酸分析システム応用データ集.
- 18) 有機酸分析システムの応用(その2) -UV 検出方途の比較 - . 島津アプリケーションニュース No. L213.
- 19) 厚生労働省:日本人の食事摂取基準(2005年版) . 2005.
- 20) Hoppner K, Lampi B, and Smith DC: An appraisal of the daily intakes of vitamin B₁₂, pantothenic acid and biotin from a composite Canadian diet. Can Inst Food Sci Technol J 11:71-74, 1989.
- 21) Lewis J, and Buss DH: Trace nutrients. 5. Minerals and vitamins in the British household food supply. Br J Nutr 60:413-424, 1988.
- 22) 齋東由紀，牛尾房雄：トータルダイエツト調査による東京都民のビオチン，ビタミン B₆，ナイアシンの一ツ日摂取量の推定．栄養学雑誌 62:165-169，2004.

(平成20年9月26日受付)