

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yoh K, Uzawa T, Orito T, Tanaka K.	Improvement of quality of life (QOL) in osteoporotic patients by elcatonin treatment: a trial taking the participants' preference into account.	Japanese Clinical Medicine		In press	2012
Saito K, Yokoyama T, Yoshida H, Kim H, Shimada H, Yoshida Y, Iwasa H, Shimizu Y, Yoshitaka K, Handa S, Maruyama N, Ishigami A, Suzuki T.	A Significant Relationship between Plasma Vitamin C Concentration and Physical Performance among Japanese Elderly Women.	J Gerontol A Biol Sci Med Sci	67	295-301	2012
Ogawa A, Naruse Y, Shigemura Y, Kobayashi Y, Suzuki I, Wada S, Hayamizu K, Kuwahata M, Kido Y.	An evaluation of protein intake for metabolic demands and the quality of dietary protein in rats using an indicator amino acid oxidation method.	J Nutr Sci Vitaminol	57	418-425	2011
Ezaki O.	The optimal dietary fat to carbohydrate ratio to prevent obesity in Japanese population: a review of the epidemiological, physiological and molecular evidence.	J Nutr Sci Vitaminol	57	383-393	2011
木戸康博.	たんぱく質・アミノ酸の必要量に関する研究.	栄養学雑誌	69	285-293	2011
坪田 (宇津木) 恵.	欧米の循環器疾患予防のための食事ガイドラインの現状.	循環器内科	70	607-614	2011
笠岡 (坪山) 宣代, 桑木泰子, 瀧沢あす香, 田中律子, 藤生恵子, 斎藤トシ子, 恩田理恵, 山岸博之, 江田節子, 木村祐子, 小谷一子, 小田光子, 田代晶子, 池本真二.	諸外国における栄養士養成のための臨地・校外実習の現状に関する調査研究.	日本栄養士会雑誌	54	556-565	2011
田中清, 桑原晶子.	日本人の食事摂取基準における目安量は健康人の摂取の中央値でよいのか?	ビタミン	85	608-609	2011

A Significant Relationship between Plasma Vitamin C Concentration and Physical Performance among Japanese Elderly Women

Kyoko Saito,^{1,2} Tetsuji Yokoyama,² Hideyo Yoshida,¹ Hunkyung Kim,¹ Hiroyuki Shimada,³ Yuko Yoshida,¹ Hajime Iwasa,⁴ Yoko Shimizu,¹ Kondo Yoshitaka,⁵ Setsuko Handa,⁵ Naoki Maruyama,⁵ Akihito Ishigami,⁵ and Takao Suzuki⁶

¹Research Team for Promoting Independence of the Elderly, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo, Japan.

²Department of Human Resources Development, National Institute of Public Health, Saitama, Japan.

³Section for Health promotion, Department of Health and Medical Care, Center for Development of Advanced Medicine for Dementia, National Center for Geriatrics and Gerontology, Aichi, Japan.

⁴Department of Social Gerontology, School of Public Health, Tokyo University, Tokyo, Japan.

⁵Molecular Regulation of Aging, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo, Japan.

⁶Research Institute, National Center for Geriatrics and Gerontology, Aichi, Japan.

Address correspondence to Kyoko Saito, PhD, Research Team for Promoting Independence of the Elderly, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2, Sakaecho, Itabashi, Tokyo, 173-0015, Japan. Email:kyon@tmig.or.jp

Background. Maintenance of physical performance could improve the quality of life in old age. Recent studies suggested a beneficial relationship between antioxidant vitamin (eg, vitamin C) intake and physical performance in elderly people. The purpose of this study was to examine the relationship between plasma vitamin C concentration and physical performance among Japanese community-dwelling elderly women.

Methods. This is a cross-sectional study involving elderly females residing in an urban area in Tokyo, Japan, in October 2006. We examined anthropometric measurements, physical performance, lifestyles, and plasma vitamin C concentration of participants.

Results. A total of 655 subjects who did not take supplements were analyzed. The mean age (\pm standard deviation) of participants was 75.7 ± 4.1 years in this study. The geometric mean (geometric standard deviation) of plasma vitamin C concentration was $8.9 (1.5) \mu\text{g/mL}$. The plasma vitamin C concentration was positively correlated with handgrip strength, length of time standing on one leg with eyes open and walking speed, and inversely correlated with body mass index. After adjusting for the confounding factors, the quartile plasma vitamin C level was significantly correlated with the subject's handgrip strength (p for trend = .0004) and ability to stand on one leg with eyes open (p for trend = .049).

Conclusions. In community-dwelling elderly women, the concentration of plasma vitamin C related well to their muscle strength and physical performance.

Key Words: Plasma vitamin C—Physical performance—Elderly women—Japanese.

Received January 26, 2011; Accepted August 30, 2011

Decision Editor: Luigi Ferrucci, MD, PhD

PHYSICAL performance and physical ability are the most important indicators of health status in elderly people and are also closely related to the quality of life. Declines in physical performance and physical activity, whether from specific disease, fall, fracture, poor nutrition, or aging itself, are associated with future disability, morbidity, and death (1,2).

In recent years, many studies have examined the roles of diet, protein, and vitamins in physical performance and physical activity(3–5). Several studies have associated low serum albumin concentration with deteriorated muscle strength and function (6,7). Some other studies have examined the relationship between serum vitamin D level and

physical performance such as muscle mass, muscle strength, handgrip, walking speed, and functional capacity (8,9). Cesari et al. (3) examined the relationship between antioxidant vitamin intake (vitamin C, vitamin E, β -carotene, and retinol) and physical performance in elderly people and showed significant positive correlations between most antioxidants, especially vitamin C, and higher skeletal muscular strength in this group of people.

There are a number of mechanistic hypotheses about the potential beneficial effects of antioxidant vitamins(10–12). Vitamin C, vitamin E, β -carotene, and retinol are important antioxidants that are not synthesized by humans and, therefore, are mainly supplied via dietary intake. Vitamin C

(ascorbic acid) is a water-soluble antioxidant present in the cytosol and extracellular fluid and can directly react with free radicals such as superoxide ($O_2^{\cdot-}$) and hydroxyl radicals ($\cdot OH$) (13,14). Each one of these oxygen-derived intermediates is considered highly reactive because of their unstable electron configurations, which could attract electrons from other molecules, resulting in another free radical that is capable of reacting with yet another molecule. This chain reaction is thought to contribute to lipid peroxidation, DNA damage, and protein degradation during oxidative stress. Oxidative damage is thought to play an important role in the age-related decline of functional activity in human skeletal muscle (15). Concentration of plasma vitamin C, which has potent antioxidant activity, is known to increase after exercise (4).

An increase in the amount of blood vitamin C content has been used as an indicator of increased oxidative reaction (11). Previous studies have examined the effects of vitamin C supplementation on physical performance and exercise (4,11). Although findings from some of the previous studies do not support any beneficial effect of increased antioxidant intake on physical performance, other studies have shown improved recovery from exercise with antioxidant intake and have also shown a preventive role of antioxidant supplementation against oxidative damage. These studies were carried out on athletes after heavy exercise. So far, however, there has been no study examining the relationship between physical performance and blood levels of vitamin C, which may be a more direct marker of the antioxidative ability of the human body.

The present study, to the best of our knowledge, is the first report that examines the relationship between plasma vitamin C concentration and physical performance in Japanese community-dwelling elderly women.

SUBJECTS AND METHODS

Study Subjects

The present cross-sectional study was carried out as part of a project involving mass health examination of community-dwelling people (“Otasha-kenshin” in Japanese) aged 70 years and older living in Itabashi-ku, Tokyo. “Otasha-kenshin,” which literally means “health examination for successful aging,” is a comprehensive health examination program for community-dwelling older adults aimed at preventing geriatric syndromes including falls and fractures, incontinence, mild cognitive impairment, depression, and undernutrition (16).

The eligible subjects were all female residents, aged between 70 and 84 years, living in the Itabashi area, an urban part of Itabashi-ku, Tokyo, Japan in October 2006. The population of women belonging to this age range and residing in the Itabashi area was 5937, and they were recruited by invitation through postal mail. Of them, 1,112 women applied for admission and 957 women ultimately participated in this study. The participants who were taking vitamin C

supplements ($n = 238$) were excluded from the primary analyses for examination of the relationship between plasma vitamin C and physical performance because intake of supplements could strongly influence the plasma vitamin C level. Thus, data from 655 subjects were ultimately used for the primary analysis. However, data from the 238 supplement users were also used for subanalysis to determine whether any relationship exists between vitamin C supplementation and physical performance.

All participants were examined at the Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology’s hall. Physical performance, blood examinations, lifestyle assessments, and anthropometric measurements were performed as described below (9).

The present study was approved by the ethics review committee of the Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology. All subjects gave written informed consent.

Anthropometric Measurements

Height and weight of each participant were measured, and body mass index was defined as weight/height² (kg/m²). Body composition measurements (percent body fat) were obtained by segmental bioelectrical impedance using eight tactile electrodes according to the manufacturer’s instructions (In Body 3.0; Biospace, Seoul, Korea). Measurements for the triceps surae muscles were taken between the knee and the ankle, at the level of maximum circumference of the medial and anterior calf of the left leg of each participant at sitting position.

Physical Performance

Physical performance was assessed by muscle strength (handgrip strength), balance capability, and usual and maximal walking speeds, without prior practice before the actual measurements. These assessments are routinely conducted for the elderly community as described previously (9). Handgrip strength (kg) was measured once for the dominant hand with the subjects in a standing position using a Smedley’s Hand Dynamometer (Yagami, Tokyo, Japan). Grip devices were calibrated with known weights. Subjects held the dynamometer at thigh level and were encouraged to exert the strongest possible force. Balance capability was measured in terms of the length of time standing on one leg, that is, we asked the subjects to look straight ahead at a dot 1 m in front of them and to stand on the preferred leg with their eyes open and hands down alongside the trunk. The time until balance was lost (or maximum 60 seconds) was recorded. We used the better of two trials in the analysis. To determine the walking speed, participants were asked to walk on a flat surface at their “usual and maximum walking speeds.” Two marks were used to delineate the start and end of a 5-m path. The start mark was preceded by a 3-m approach to ensure that the participants achieved their pace of usual or maximum before entering the test path. The participants were also instructed to continue walking past the end of the 5-m path for a further 3 m to ensure that their walking pace was maintained

throughout the test path. The time taken to complete the 5-m walk was measured by an investigator and used for analysis. Walking test at maximum speed was repeated twice, and the faster speed was recorded for the test.

All physical performance tests were performed between 9 AM and 4 PM during the day. We have no data on the reproducibility of the measurements. To reduce interexaminer variation, each test was conducted by the same staff member specifically trained for this study.

Blood Examinations

Blood samples (nonfasting) were collected from the subjects between 9 am and 4 pm during the day. There was no difference in mean plasma vitamin C concentration with regard to the time of collection (data not shown). Venous blood samples were drawn into Ethylene diamine tetraacetic acid tubes. Plasma was then obtained by centrifugation at 3,000 rpm for 15 min at 4°C and subsequently used for biochemical assays. Plasma was treated with Ethylene diamine tetraacetic acid to prevent the spontaneous vitamin C degradation. Next, 100 µl of the plasma was dispensed into storage tubes, to which 450 µl of 3% metaphosphoric acid solution was added, and the mixture was stored at -80°C until further use. Vitamin C concentration was determined by an High performance liquid chromatography-electrochemical detection-based method (17). The analysis was carried out centrally in our laboratory. Serum albumin concentration was measured by the Bromocresol Green method (Special Reference Laboratories Inc., Tokyo, Japan). The coefficient of variation for serum albumin found using this method was less than 1% (9).

Lifestyle Assessment

Information regarding the participants' general health (such as medical history, smoking habits, alcohol drinking habits, regular exercise habits, vegetable intake, fruit intake and use of vitamin C supplement) was collected by interview, and history of medical conditions including hypertension, stroke, heart attack, diabetes mellitus, and hyperlipidemia was self-reported.

Alcohol drinking habits of the subjects were classified as nondrinker, current drinker, or ex-drinker. Smoking habits of the subjects were classified using three categories: never smokers, current smokers, and ex-smokers. The frequency of vegetable and fruit intake was asked using four categories: almost every day, once every two days, once or twice per week, and almost never. Subsequently, for analysis, the categories were summarized as almost every day and others.

Statistical Analysis

Data were summarized as mean and standard deviation or percentage values. The data of plasma vitamin C concentration was logarithmically transformed to approximate a normal distribution and was summarized as the geometric mean and geometric standard deviation.

Table 1. Characteristics of Study Subjects (*N* = 655)

Characteristic	Mean (SD)
Age (y)	75.7 (4.1)
Height (cm)	149.1 (5.7)
Weight (kg)	51.0 (8.3)
Body mass index (kg/m ²)	22.9 (3.4)
Triceps surae muscle (cm)	33.1 (2.8)
Plasma vitamin C (µg/ml)*	8.9 (1.5)
Serum albumin (mg/dL)	4.3 (0.2)
Body composition	
Percent body fat (%)	32.2 (7.0)
Physical performance tests	
Handgrip strength (kg)	18.7 (4.4)
One leg standing with eyes open (s)	35.2 (23.5)
Usual walking speed (m/s)	1.2 (0.3)
Maximal walking speed (m/s)	1.8 (0.4)
	%
Medical history	
Hypertension	50.7
Stroke	6.6
Heart attack	21.2
Diabetes mellitus	9.0
Hyperlipidemia	34.7
Alcohol drinking habit	
Current	25.3
Former	5.0
Never	69.6
Smoking habit	
Current	3.7
Former	5.7
Never	90.7
Regular exercise habit	
Yes	69.2
No	30.8
Vegetable intake	
Everyday	84.2
Others [†]	15.8
Fruit intake	
Everyday	81.8
Others [†]	18.2

Notes: Data of vitamin C supplement users were excluded.

*The geometric mean and geometric SD.

[†]Including participants taking vegetables/fruits not everyday or almost never.

The age-adjusted Pearson's correlation coefficient between the plasma vitamin C concentration and other factors were calculated. The least square means and SEs adjusted for potential confounders were calculated and compared between categories by analysis of covariance. To examine the relationship between plasma vitamin C concentration and physical performance, statistical adjustment was done by analysis of covariance for variables (except for other physical performance variables) that were correlated to plasma vitamin C concentration with *p* < .20. The same analyses were repeated for the 238 users of vitamin C supplement. All statistical analyses were performed using the SAS (version 9.0; SAS Institute Inc., NC).

RESULTS

Table 1 summarizes the basic characteristics of the subjects. As shown, the mean age (±standard deviation) of the

Table 2. Correlation between Plasma Vitamin C Concentration and Selected Factors ($N = 655$)

Factor	Correlation*	
	<i>r</i>	<i>p</i>
Age	-0.004	.91
Height	0.04	.27
Weight	-0.05	.19
Body mass index	-0.08	.054
Triceps surae muscle	0.001	.98
Serum albumin	-0.04	.33
Percent body fat	-0.12	.002
Handgrip strength	0.16	<.001
One leg standing with eyes open	0.15	<.001
Usual walking speed	0.14	<.001
Maximal walking speed	0.09	.036

Notes: Number of subjects is slightly different for the selected factors because of missing values.

*Age-adjusted Pearson's correlation coefficient between logarithm of vitamin C concentration and each factor.

subjects was 75.7 ± 4.1 years. The geometric mean (geometric standard deviation) of plasma vitamin C concentration was $8.9 (1.5) \mu\text{g/mL}$. The prevalence of women eating vegetables everyday was 84.2% and those eating fruits everyday was 81.8%.

The age-adjusted geometric mean of plasma vitamin C concentration was significantly lower in subjects who had a medical history of hypertension (8.53 vs 9.22 , $p = .0015$) and diabetes mellitus (7.59 vs 9.00 , $p = .002$) as compared with those who did not. A history of stroke, heart attack, or hyperlipidemia was not associated with plasma vitamin C concentration. Subjects who took fruits every day had a significantly higher concentration of vitamin C than those who did not (9.14 vs 7.78 , $p < .0001$). Vegetable intake, alcohol drinking habit and smoking habit were not related to plasma vitamin C concentration (not shown in table).

Table 2 shows the age-adjusted correlations between the plasma vitamin C concentration and selected factors. As

shown, the plasma vitamin C concentration was positively but modestly correlated with handgrip strength, length of time standing on one leg with eyes open, as well as usual walking speed and maximal walking speed, and modestly inversely correlated with body mass index and percent body fat of the subjects.

Table 3 shows the relationship between plasma vitamin C concentration and each physical performance after adjusting for confounding factors. Results obtained after the adjustment for potential confounders confirmed that the plasma vitamin C concentration was correlated with the handgrip strength independently from the other factors (eg, p for trend = .0004 after adjusting for age, body mass index, percent body fat, hypertension, diabetes mellitus, and fruit intake; Table 3). There was also a significant relationship between the plasma vitamin C level and the subject's length of time standing on one leg with eyes open after adjustments for age, body mass index, percent body fat, hypertension, diabetes mellitus, and fruit intake (Table 3; p for trend = .049). We did not observe any significant association between the plasma vitamin C level and the usual or the maximal walking speed of the subjects.

A subanalysis using data from the 238 vitamin C supplement users showed almost null relationship between handgrip strength and plasma vitamin C concentration (data not shown).

DISCUSSION

A previous study has shown an association between higher daily dietary intake of vitamin C and skeletal muscle strength in elderly people (3). Results described in the present study indicated that plasma vitamin C concentration was positively related with muscle and physical performance in community-dwelling elderly women. To the best of our knowledge, this is the first study showing a significant

Table 3. Relationship between Plasma Vitamin C Concentration and Physical Performance Adjusted for Potential Confounder

Physical performance	Quartile of plasma vitamin C level				<i>p</i> for trend
	Q1	Q2	Q3	Q4	
	Mean \pm SE	Mean \pm SE	Mean \pm SE	Mean \pm SE	
Handgrip strength (kg), <i>N</i>	154	159	154	152	
Age adjusted	17.70 ± 0.34	18.75 ± 0.33	18.75 ± 0.34	19.60 ± 0.34	.0001
Multivariate adjusted*	17.83 ± 0.34	18.83 ± 0.32	18.89 ± 0.33	19.60 ± 0.33	.0004
One leg standing with eyes open [†] (s), <i>N</i>	162	163	164	161	
Age adjusted	31.44 ± 1.71	33.98 ± 1.70	37.70 ± 1.70	37.83 ± 1.71	.003
Multivariate adjusted*	33.39 ± 1.74	34.08 ± 1.67	37.63 ± 1.67	37.50 ± 1.70	.049
Usual walking speed (m/s), <i>N</i>	146	154	145	147	
Age adjusted	1.13 ± 0.02	1.19 ± 0.02	1.23 ± 0.02	1.21 ± 0.02	.008
Multivariate adjusted*	1.18 ± 0.02	1.19 ± 0.02	1.22 ± 0.02	1.21 ± 0.02	.23
Maximal walking speed (m/s), <i>N</i>	146	154	154	147	
Age adjusted	1.70 ± 0.03	1.76 ± 0.03	1.82 ± 0.03	1.76 ± 0.03	.15
Multivariate adjusted*	1.76 ± 0.03	1.77 ± 0.03	1.80 ± 0.03	1.75 ± 0.03	.94

Notes: Values are least squares mean and SE adjusted for the factors by analysis of covariance. Q1–Q4: first to fourth quartile groups of plasma vitamin C concentration, respectively.

*Adjusted for age, body mass index, percent body fat, hypertension, diabetes mellitus and fruit intake.

[†]Length of time standing on one leg with eyes open.

correlation between plasma vitamin C concentration and handgrip strength and ability to stand on one leg with eyes open. We, however, were unable to find any relationship between skeletal muscle mass and plasma vitamin C concentration. Handgrip strength has been found to correlate well with the strength of other muscle groups and is thus a good indicator of overall strength (18). Consistent with this idea, handgrip strength was found to be a strong and consistent predictor of all-cause mortality and morbidity of Activities of Daily Living in middle-aged people (19). The handgrip test is considered an easy and inexpensive screening tool to identify elderly people at risk of disability. Handgrip strength, an indicator of overall muscle strength, is thought to predict mortality through mechanisms other than underlying disease that could cause muscle impairment (18,19). The one leg standing test is one of the balance tests (20). The test is a clinical tool to assess postural steadiness in a static position by quantitative measurement. Many studies have shown that the decreased one leg standing time is associated with declines in Activities of Daily Living and increases in other morbidities including osteoporosis and fall (20).

Our findings suggest that vitamin C may play an important role in maintaining physical performance and thereby may help to improve healthy life expectancy in the elderly. However, the usual and maximal walking speeds did not relate to plasma vitamin C concentration. Walking speed test may be an efficient tool in screening older persons with higher risk of mortality and may easily identify high-risk groups in the community (21). Walking is a rhythmic, dynamic, and aerobic activity of the large skeletal muscles that confers multifarious benefits with minimal adverse effects. Muscles of the legs, limbs, and lower trunk are strengthened, and the flexibility of their joints are preserved (22). One of the reasons why walking speed was not related to vitamin C concentration may be because walking requires coordinated movements of arms, legs, and many parts of the body rather than a simple muscle and balance function. Previous reports showed that walking balance function did not correlate with standing balance function (23). Although we did not find any clear association between walking and plasma vitamin C concentration in this study, vitamin C may still have effects on relatively simple strength and balance functions.

One of the possible explanations for the observed relationship between vitamin C and physical performance, especially handgrip strength and the ability to stand on one leg with eyes open, may be the potential protective effects of the antioxidant vitamins against muscle damage (4,11). Vitamin C is a six-carbon lactone that is synthesized from glucose in the liver of most mammalian species, but not in humans (12). Vitamin C is an antioxidant because, by donating its electrons, it prevents other compounds from being oxidized (12). Thus, vitamin C readily scavenges reactive oxygen and nitrogen species, thereby effectively protects other substrates from oxidative damage (10,24). Although

habitual exercise reduces systemic inflammation and oxidative stress as the production of endogenous antioxidants are enhanced, acute exercise increases the generation of oxygen-free radicals and lipid peroxidation (4,25). Strenuous physical performance can increase oxygen consumption by 10- to 15-folds over the resting state to meet the energy demands and results in muscle injury (26). Prolonged sub-maximal exercise was shown to increase the amount of both whole-body and skeletal muscle lipid peroxidation by-products; in the case of the former, the increase was indicated by greater exhalation of pentane but not of ethane (4,27,28). Supplementation with vitamin C was shown to decrease the exercise-induced increase in the rate of lipid peroxidation (27,28). Several studies suggested that oxidative damage may play a crucial role in the decline of functional activity in human skeletal muscle with normal aging (15). Consistent with this idea, several studies showed significantly lower plasma vitamin C level in the elderly population than in the younger adult population (29–31). Because the plasma vitamin C levels in these apparently healthy elderly persons rose markedly after an oral dose of vitamin C, their initially low plasma levels can be attributed to the low intake rather than to an age-related physiological defect.

In fact, the relationship between handgrip strength and plasma vitamin C concentration was significantly different between supplement users and nonusers, that is, an almost null relationship in the former and a positive relationship in the latter (data not shown). This finding suggested that vitamin C supplementation did not have any beneficial effect on the physical performance and muscle strength despite the increased plasma level of vitamin C. A number of studies reported that vitamin C supplement users had significantly higher blood vitamin C concentration than non-users (29, 32, 33). Several studies have examined the effects of exercise on changes in the serum vitamin C concentration (34–36). Some other experimental studies have shown that vitamin C supplementation can reduce symptoms or indicators of exercise-induced oxidative stress (37–40). However, the results regarding vitamin C supplementation are equivocal, and most well-controlled intervention studies report no beneficial effect of vitamin C supplementation on either endurance or strength performance (41,42). Likewise, vitamin C restriction studies showed that a marginal vitamin C deficiency did not affect the physical performance (43). Although evidence from a number of studies show that vitamin C is a powerful antioxidant in biological systems *in vitro*, its antioxidant role in humans has not been supported by currently available clinical studies.

Vitamin C is especially plentiful in fresh fruits and vegetables. Plasma vitamin C concentration may be merely a marker for intake of other nutrients that are abundant in fruits and vegetables. However, the statistical adjustment for fruit intake did not attenuate the relationship between plasma vitamin C and physical performance (Table 3), suggesting that vitamin C did have some beneficial effects

independently of other nutrients. A number of biochemical, clinical, and observational epidemiologic studies have indicated that diets rich in fruits, vegetables, and vitamin C may be of benefit for the prevention of chronic diseases such as cardiovascular disease and cancer (44,45). Several cohort studies have examined associations between plasma vitamin C concentration and mortality from stroke or coronary heart disease (30,46,47). The effects of vitamin C supplementation are, however, still unclear. A pooled study suggested reduced incidences of coronary heart disease events with higher intake of vitamin C supplement (48), while another study showed that a high intake of vitamin C supplement is associated with an increased risk of mortality due to cardiovascular diseases in postmenopausal women with diabetes (49). A randomized placebo controlled 5-year trial, however, did not show any significant reduction in the mortality from, or incidence of, any type of vascular disease or cancer (50). These studies, in fact, have failed to demonstrate any benefit from such supplementation.

There are a number of potential weaknesses in our study that should be mentioned here. The subjects used in this study were not selected randomly from the study population, and they may be relatively healthy elderly women who were able to come to the health examination hall from their homes. A previous study assessed the correlation of antioxidants with physical performance and muscular strength (3) and demonstrated that a higher daily intake of vitamin C and carotene associated with skeletal muscle strength. However, we have no data regarding the presence of other dietary antioxidants in blood such as vitamin E, retinol, and carotene. In our questionnaire, participants were asked to respond "Yes" or "No" to whether they took supplements, and not about the frequency and quantity of intake of the supplements. Thus, we were unable to examine the reason why plasma vitamin C was not related to the handgrip strength in the supplement users by considering the dose of vitamin C they took.

This study was a cross-sectional study and, therefore, does not provide cause/effect relationships, although we demonstrated a significant correlation between physical performance and concentration of plasma vitamin C. Therefore, longitudinal follow-up studies and controlled clinical trials are necessary to confirm the role of plasma vitamin C and physical performance of the elderly women. These limitations should be considered in future studies.

In conclusion, we found a strong correlation of a higher plasma vitamin C concentration with handgrip strength and one leg standing time in community-dwelling elderly women. Although the elderly are prone to vitamin C deficiency, and they appear to have a higher dietary requirement for vitamin C, the beneficial effects of vitamin C supplementation to maintain physical performance in elderly people are equivocal and thus, need further in-depth studies.

FUNDING

Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan (grant-in-aid 16390187 for Scientific Research [B] and grant-in-aid [21790591] for Young Scientists [B]).

ACKNOWLEDGMENT

We offer special thanks to Dr. Satoshi Sasaki for his suggestions and useful comments to this paper; we are indebted to Dr. Shoji Sinkai, Dr. Yoshinori Fujiwara, Mr Toshiro Tango, Mrs Sachiko Imai, Mrs Turuko Maekawa, Miss Erika Hosoi and the staff of the Otasha-kenshin who participated in this study.

REFERENCES

1. Fried LP. Epidemiology of aging. *Epidemiol Rev.* 2000;22:95–106.
2. Bartali B, Salvini S, Turrini A, et al. Age and disability affect dietary intake. *J Nutr.* 2003;133:2868–2873.
3. Cesari M, Pahor M, Bartali B, et al. Antioxidants and physical performance in elderly persons: the Invecchiare in Chianti (InCHIANTI) study. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:289–294.
4. Evans WJ. Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:647S–652S.
5. Houston DK, Cesari M, Ferrucci L, et al. Association between vitamin D status and physical performance: the InCHIANTI study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2007;62:440–446.
6. Corti MC, Guralnik JM, Salive ME, Sorkin JD. Serum albumin level and physical disability as predictors of mortality in older persons. *JAMA.* 1994;272:1036–1042.
7. Baumgartner RN, Koehler KM, Romero L, Garry PJ. Serum albumin is associated with skeletal muscle in elderly men and women. *Am J Clin Nutr.* 1996;64:552–558.
8. Howard C, Ferrucci L, Sun K, et al. Oxidative protein damage is associated with poor grip strength among older women living in the community. *J Appl Physiol.* 2007;103:17–20.
9. Kwon J, Suzuki T, Yoshida H, Kim H, Yoshida Y, Iwasa H. Concomitant lower serum albumin and vitamin D levels are associated with decreased objective physical performance among Japanese community-dwelling elderly. *Gerontology.* 2007;53:322–328.
10. Carr AC, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr.* 1999;69:1086–1107.
11. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr.* 2000;72:637S–646S.
12. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr.* 2003;22:18–35.
13. Nishikimi M. Oxidation of ascorbic acid with superoxide anion generated by the xanthine-xanthine oxidase system. *Biochem Biophys Res Commun.* 1975;63:463–468.
14. Bielski BH, Richter HW, Chan PC. Some properties of the ascorbate free radical. *Ann NY Acad Sci.* 1975;258:231–237.
15. Pansarasa O, Castagna L, Colombi B, Vecchiet J, Felzani G, Marzatico F. Age and sex differences in human skeletal muscle: role of reactive oxygen species. *Free Radic Res.* 2000;33:287–293.
16. Suzuki T, Iwasa H, Yoshida H, et al. [Comprehensive health examination ("Otasha-Kenshin") for the prevention of geriatric syndromes and a bed-ridden state in the community elderly. 1. Differences in characteristics between participants and non-participants]. *Nippon Koshu Eisei Zasshi.* 2003;50:39–48.
17. Sato Y, Uchiki T, Iwama M, Kishimoto Y, Takahashi R, Ishigami A. Determination of dehydroascorbic acid in mouse tissues and plasma by using Tris(2-carboxyethyl)phosphine hydrochloride as reductant in metaphosphoric acid/ethylenediaminetetraacetic acid solution. *Biol Pharm Bull.* 2010;33:364–369.
18. Rantanen T, Guralnik JM, Foley D, et al. Midlife hand grip strength as a predictor of old age disability. *JAMA.* 1999;281:558–560.

19. Rantanen T, Volpato S, Ferrucci L, Heikkinen E, Fried LP, Guralnik JM. Handgrip strength and cause-specific and total mortality in older disabled women: exploring the mechanism. *J Am Geriatr Soc*. 2003;51:636–641.
20. Michikawa T, Nishiwaki Y, Takebayashi T, Toyama Y. One-leg standing test for elderly populations. *J Orthop Sci*. 2009;14:675–685.
21. Rolland Y, Lauwers-Cances V, Cesari M, Vellas B, Pahor M, Grandjean H. Physical performance measures as predictors of mortality in a cohort of community-dwelling older French women. *Eur J Epidemiol*. 2006;21:113–122.
22. Morris JN, Hardman AE. Walking to health. *Sports Med*. 1997;23:306–332.
23. Shimada H, Obuchi S, Kamide N, Shiba Y, Okamoto M, Kakurai S. Relationship with dynamic balance function during standing and walking. *Am J Phys Med Rehabil*. 2003;82:511–516.
24. Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Radic Res*. 1996;25:439–454.
25. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol*. 2005;98:1154–1162.
26. Clarkson PM. Antioxidants and physical performance. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1995;35:131–141.
27. Gee DL, Tappel AL. The effect of exhaustive exercise on expired pentane as a measure of in vivo lipid peroxidation in the rat. *Life Sci*. 1981;28:2425–2429.
28. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun*. 1982;107:1198–1205.
29. Blanchard J, Conrad KA, Mead RA, Garry PJ. Vitamin C disposition in young and elderly men. *Am J Clin Nutr*. 1990;51:837–845.
30. Fletcher AE, Breeze E, Shetty PS. Antioxidant vitamins and mortality in older persons: findings from the nutrition add-on study to the Medical Research Council Trial of Assessment and Management of Older People in the Community. *Am J Clin Nutr*. 2003;78:999–1010.
31. Jacob RA, Otradovec CL, Russell RM, et al. Vitamin C status and nutrient interactions in a healthy elderly population. *Am J Clin Nutr*. 1988;48:1436–1442.
32. Sinha R, Block G, Taylor PR. Determinants of plasma ascorbic acid in a healthy male population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1992;1:297–302.
33. Newton HM, Schorah CJ, Habibzadeh N, Morgan DB, Hullin RP. The cause and correction of low blood vitamin C concentrations in the elderly. *Am J Clin Nutr*. 1985;42:656–659.
34. Gleeson M, Robertson JD, Maughan RJ. Influence of exercise on ascorbic acid status in man. *Clin Sci (Lond)*. 1987;73:501–505.
35. Camus G, Felekidis A, Pincemail J, et al. Blood levels of reduced/oxidized glutathione and plasma concentration of ascorbic acid during eccentric and concentric exercises of similar energy cost. *Arch Int Physiol Biochim Biophys*. 1994;102:67–70.
36. Duthie GG, Robertson JD, Maughan RJ, Morrice PC. Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. *Arch Biochem Biophys*. 1990;282:78–83.
37. Maxwell SR, Jakeman P, Thomason H, Leguen C, Thorpe GH. Changes in plasma antioxidant status during eccentric exercise and the effect of vitamin supplementation. *Free Radic Res Commun*. 1993;19:191–202.
38. Jakeman P, Maxwell S. Effect of antioxidant vitamin supplementation on muscle function after eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1993;67:426–430.
39. Kaminski M, Boal R. An effect of ascorbic acid on delayed-onset muscle soreness. *Pain*. 1992;50:317–321.
40. Bryer SC, Goldfarb AH. Effect of high dose vitamin C supplementation on muscle soreness, damage, function, and oxidative stress to eccentric exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2006;16:270–280.
41. Thompson D, Williams C, Kingsley M, et al. Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation. *Int J Sports Med*. 2001;22:68–75.
42. Gey GO, Cooper KH, Bottenberg RA. Effect of ascorbic acid on endurance performance and athletic injury. *Jama*. 1970;211:105.
43. van der Beek EJ, van Dokkum W, Schrijver J, Wesstra A, Kistemaker C, Hermus RJ. Controlled vitamin C restriction and physical performance in volunteers. *J Am Coll Nutr*. 1990;9:332–339.
44. Ness AR, Powles JW. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int J Epidemiol*. 1997;26:1–13.
45. Genkinger JM, Platz EA, Hoffman SC, Comstock GW, Helzlsouer KJ. Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality in a community-dwelling population in Washington County, Maryland. *Am J Epidemiol*. 2004;160:1223–1233.
46. Yokoyama T, Date C, Kokubo Y, Yoshiike N, Matsumura Y, Tanaka H. Serum vitamin C concentration was inversely associated with subsequent 20-year incidence of stroke in a Japanese rural community. The Shibata study. *Stroke*. 2000;31:2287–2294.
47. Gale CR, Martyn CN, Winter PD, Cooper C. Vitamin C and risk of death from stroke and coronary heart disease in cohort of elderly people. *BMJ*. 1995;310:1563–1566.
48. Knekt P, Ritz J, Pereira MA, et al. Antioxidant vitamins and coronary heart disease risk: a pooled analysis of 9 cohorts. *Am J Clin Nutr*. 2004;80:1508–1520.
49. Lee DH, Folsom AR, Harnack L, Halliwell B, Jacobs DR Jr. Does supplemental vitamin C increase cardiovascular disease risk in women with diabetes? *Am J Clin Nutr*. 2004;80:1194–1200.
50. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2002;360:23–33.

An Evaluation of Protein Intake for Metabolic Demands and the Quality of Dietary Protein in Rats Using an Indicator Amino Acid Oxidation Method

Aki OGAWA¹, Yuka NARUSE¹, Yasutaka SHIGEMURA², Yukiko KOBAYASHI¹, Isao SUZUKI³, Sayori WADA¹, Kohsuke HAYAMIZU⁴, Masashi KUWAHATA¹ and Yasuhiro KIDO^{1,*}

¹Division of Applied Life Science, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Kyoto Prefectural University, 1–5 Hangi-cho, Shimogamo, Sakyo-ku, Kyoto 606–8522, Japan

²Osaka Yuhigaoka Gakuen Junior College, 7–72 Ikutamadera-cho, Tennoji, Osaka 543–0073, Japan

³Department of Health and Nutritional Science, Nagoya Keizai University, 61–1 Uchikubo, Inuyama, Aichi 484–8504, Japan

⁴Human Life Science R & D Center, Nippon Suisan Kaisha Ltd., 2–6–2 Otemachi, Chiyoda-ku, Tokyo 100–8686, Japan

(Received June 27, 2011)

Summary Currently, protein requirements are generally determined based on nitrogen balance studies, but there are a variety of limitations associated with this method. The indicator amino acid oxidation (IAAO) method, with a theoretical base that differs widely from the nitrogen balance method, was developed as an alternative method for humans. The objective of the present study was to evaluate protein intakes for metabolic demands and protein quality, using protein itself, in rats employing the IAAO technique with L-[1-¹³C]phenylalanine. Male Wistar/ST rats (5–6 wk old) received a graded casein (4.3, 8.6, 12.9, 17.2, 21.5, 25.8%), or a wheat gluten (7.2, 10.8, 14.4, 18.0, 21.6, 25.2%) diet, along with L-[1-¹³C]phenylalanine. An isotopic plateau in breath was achieved 210 min after the start of the ¹³C ingestion. The protein intakes for metabolic demands were calculated by applying a mixed-effect change-point regression model to breath ¹³CO₂ data, which identified a breakpoint at minimal breath ¹³CO₂ in response to graded protein intake. The protein intakes for metabolic demands determined by the IAAO method were 13.1 g/kg BW/d for casein and 18.1 g/kg BW/d for wheat gluten, showing a tendency similar to that determined by the nitrogen balance method. These results demonstrated that the IAAO method could be employed to evaluate not only the protein intakes for metabolic demands, but the dietary protein quality in freely living rats, suggesting that this method might be viable in a clinical setting.

Key Words protein metabolic demand, protein quality, indicator amino acid oxidation, rats

The nitrogen balance method is normally employed to determine protein requirements, as specified in the 2007 WHO/FAO/UNU (1). However, the limitations of the nitrogen balance method, which can result in considerable error in the prediction of balance (2, 3), have been well described (4–6). In the nitrogen balance method, after the diet has been changed, a period of time is usually allowed for adaptation to be complete during the first 5–7 d (7). Therefore, employing the nitrogen balance method, the metabolic demand for protein cannot be assessed in patients with a widely varying metabolic demand. The indicator amino acid oxidation (IAAO) method was originally employed to study amino acid requirements in pigs (8), and thereafter it has been widely used for studies on pigs (9–11) and humans (12–17). Since the IAAO method does not require prior dietary adaptation (18) to each of the

varying protein intake levels, it could be available when an assessment of the metabolic demand for protein is required for post-operative patients or patients with injuries or infections.

In 2007, Humayun et al. (19) applied the IAAO method and conducted a reevaluation study on the protein requirements in healthy young men by feeding the subjects graded protein intake as a crystalline amino acid mixture and measuring changes in the oxidation of orally administered L-[1-¹³C]phenylalanine. However, no studies have previously been conducted on determining the protein requirement using protein itself in animals or humans employing the IAAO method. Therefore, sufficient evidence has not been gathered showing that the IAAO method is viable for measurements of the protein requirement, and it has not been sufficiently validated in studies employing experimental rats up to the present. We should consider that the mechanism of the assimilation of the amino acid mixture differed from that of the protein. Amino acid mix-

*To whom correspondence should be addressed.
E-mail: kido@kpu.ac.jp

Time	09:00	12:00	15:00	16:00	17:00	18:00	19:00
Exp. Diet ^a	▲	▲	▲			▲	
Stable isotope ^b							
L-[1- ¹³ C]Phe			●	●	●	●	
NaH ¹³ CO ₃			○				
Samples ^c							
Breath			■	■	■	■	■
Blood and tissues							□

Fig. 1. The protocols employed for each IAAO study day. ^aThe experimental diet was either a 4.3% or 17.2% casein diet. The diet was provided every 3 h (9:00–18:00). Each meal represented one-eighth of each rat's daily intake. ^bIsotope: Priming doses of L-[1-¹³C]phenylalanine and NaH¹³CO₃ were started with the third meal at 15:00, and the infusion of L-[1-¹³C]phenylalanine was continued hourly until the end of the study. ^cSample collection: Baseline breath sample was collected before the isotope protocol began. Nine breath samples were collected every 30 min after the initiation of the isotope protocol. Samples of blood, liver, and gastrocnemius muscle were collected at 18:30.

tures will be absorbed very rapidly, and protein utilization will show a higher efficiency, compared with slow proteins such as casein (20). Incidentally, a previous study by Moehn et al. (21) evaluated the metabolic availability of amino acids in peas, and they indicated the applicability of using IAAO for intact protein sources.

Measurements of the quality and quantity of the dietary protein employed can be used to facilitate adjustments to the diet to ensure that the metabolic demands for protein can be met sufficiently. Poor protein quality compromises the nutritional status and increases the protein requirement. In the 1991 FAO/WHO/UNU report (22), the protein digestibility corrected amino acid score (PDCAAS) value for casein is 1.00, compared with 0.25 for wheat gluten. Therefore, the protein requirement calculated for rats fed a wheat gluten diet is higher than that for rats fed a casein diet. In a clinical setting, the adequate quality and quantity of protein or amino acid for each disease might be estimated using the IAAO method.

The objective of the present study was to establish whether or not the IAAO method is viable for determining the metabolic demand for protein and to evaluate protein quality using protein itself, employing casein and wheat gluten as protein sources in experimental diets and using the IAAO method with L-[1-¹³C]phenylalanine.

MATERIALS AND METHODS

Animals. This study was performed in accordance with the guidelines for animal experimentation at Kyoto Prefectural University, Japan. Male Wistar/ST rats (4 wk old) were purchased from Japan SLC, Inc. (Hamamatsu, Japan). The rats were housed in individual mesh cages under controlled temperature (22±2°C) and lighting (lights on from 08:00 to 20:00) conditions. The rats were given free access to water and a 17.2% casein maintenance diet, and they were allowed to adapt to the laboratory environment for at least 1 wk before starting the experiment. After adaptation, 5- to 6-wk-old rats (initial BW=130.1±2.3 g) were used for the experiment. The amount of feed available and any feed not eaten were recorded for each rat for 3 d before

the first study day, and the total daily intake for each rat, equivalent to the 24-h dietary intake, was calculated on the basis of the average intake during the previous 3 d.

Experiment 1. The objective of Experiment 1 was to examine the effect of L-[1-¹³C]phenylalanine administration on breath ¹³CO₂ enrichment, and to evaluate whether the protein metabolism could be measured by the IAAO method in rats consuming different protein level diets. All of the eight rats were included in two IAAO studies, consuming both 4.3% and 17.2% casein diets (N×6.38) (23) with a time period of more than 2 d between the studies. The 17.2% casein maintenance diet employed for all of the studies was provided for at least 24 h. Then, the rats fasted overnight for 13 h from 20:00 on the day before the study day, but had free access to drinking water. The study protocol for all of the IAAO studies is depicted in Fig. 1. On the study day, the rats were weighed in the morning before feeding. Then, they received either 4.3% or 17.2% casein diets (Table 1). The study-day diet was provided in 4 isoenergetic, isonitrogenous diets, and each meal accounted for one-eighth of the rat's total daily intake. Specifically, the casein diet was consumed beginning at 09:00 and continued at each 3-h interval until 18:00 for a total of 4 meals. The rats were allowed free access to drinking water during the experiment period. The rats were fed the remaining half of the daily ration in the evening. The tracer protocol was started with the third meal at 15:00 to measure the phenylalanine kinetics with the use of L-[1-¹³C]phenylalanine, and continued hourly until 18:00. The rats were placed in the chamber immediately after the oral administration of the ¹³C substance. Breath samples were collected, and the ¹³CO₂ level in breath CO₂ was measured at 30-min intervals from 15:00 to 19:00. Baseline breath samples were collected before the isotope protocol began at 15:00. On a later day, the rats were dissected at 18:30; blood, liver and gastrocnemius muscle samples were collected for subsequent analysis of amino acid concentration in plasma and tissues.

Experiment 2. The protein intake for metabolic demands was measured using the IAAO method for rats fed the casein diets, and also for rats fed diets based on

Table 1. Composition of experimental diets.

Protein	Casein diet						Wheat gluten diet					
	4.3%	8.6%	12.9%	17.2%	21.5%	25.8%	7.2%	10.8%	14.4%	18.0%	21.6%	25.2%
	g/kg diet						g/kg diet					
Casein ^{1,2}	50	100	150	200	250	300	—	—	—	—	—	—
Wheat gluten ^{3,4}	—	—	—	—	—	—	100	150	200	250	300	350
Cornstarch ¹	557	523	490	457	423	390	527	498	470	440	411	383
Sucrose ¹	278	262	245	228	212	195	265	250	235	221	206	190
Rapeseed oil ⁵	35	35	35	35	35	35	31	27	22	18	14	9
Soy bean oil ⁶	15	15	15	15	15	15	12	10	8	6	4	3
Vitamins ^{1,7}	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Minerals ^{1,8}	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35
Cellulose ¹	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
L-Phenylalanine ⁹	11	9	7	5	2	—	9	7	5	3	1	—
L-Tyrosine ¹⁰	13	10	8	5	3	—	13	11	10	9	8	6
Energy (kJ/g)	15.4	15.4	15.5	15.5	15.5	15.6	15.5	15.5	15.5	15.5	15.6	15.6

¹ Oriental Yeast Co., Ltd., Japan.

² Protein, 86.2% (N×6.38). Amino acid (mg/100 g Casein): L-alanine, 2,700; L-arginine, 3,300; L-aspartic acid, 6,300; L-cysteine, 430; L-glutamic acid, 19,000; L-glycine, 1,600; L-histidine, 2,700; L-isoleucine, 4,900; L-leucine, 8,400; L-lysine, 7,100; L-methionine, 2,600; L-phenylalanine, 4,500; L-proline, 10,000; L-serine, 4,600; L-threonine, 3,700; L-tryptophan, 1,100; L-tyrosine, 5,000; L-valine, 6,000; total, 93,930.

³ Weston Bioproducts Ltd., Queens land, Australia.

⁴ Protein, 72.0% (N×5.70). Amino acid (mg/100 g wheat gluten): L-alanine, 2,100; L-arginine, 2,700; L-aspartic acid, 2,700; L-cysteine, 1,600; L-glutamic acid, 29,000; L-glycine, 2,700; L-histidine, 1,800; L-isoleucine, 3,000; L-leucine, 5,400; L-lysine, 1,400; L-methionine, 1,300; L-phenylalanine, 4,100; L-proline, 11,000; L-serine, 3,600; L-threonine, 2,000; L-tryptophan, 780; L-tyrosine, 2,500; L-valine, 3,300; total, 80,980.

⁵ Nisshin Oillio Ltd., Japan.

⁶ Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan.

⁷ AIN-76™ vitamin mixture (per g mixture): vitamin A, 400 IU; vitamin D₃, 100 IU; vitamin E, 5 mg; vitamin K₃, 0.005 mg; vitamin B₁, 0.6 mg; vitamin B₂, 0.6 mg; vitamin B₆, 0.7 mg; vitamin B₁₂, 0.001 mg; D-biotin, 0.02 mg; folic acid, 0.2 mg; calcium pantothenate, 1.6 mg; nicotinic acid, 3 mg; choline chloride, 200 mg; sucrose, 0.968 g.

⁸ AIN-76™ mineral mixture (g/kg mixture): calcium phosphate dibasic, 500.0; sodium chloride, 74.0; potassium citrate, 220.0; potassium sulfate, 52.0; magnesium oxide, 24.0; manganese carbonate, 3.5; ferric citrate, 6.0; zinc carbonate, 1.6; cupric carbonate, 0.3; potassium iodate, 0.01; sodium selenite, 0.0066; chromium potassium sulfate, 0.55; sucrose, 118.03.

⁹ L-Phenylalanine content was kept constant at 13,500 mg/kg diet in all diets, except the 25.2% wheat gluten diet (14,350 mg/kg diet).

¹⁰ L-Tyrosine content was kept constant at 15,000 mg/kg diet in all diets.

wheat gluten instead of casein to determine whether it was important to consider the effects of the source of the protein in the diet. Sixteen rats were used, and even when they were measured for the wheat gluten diets, the 17.2% casein diet was provided as a maintenance diet for the 2 d before the study day for all of the IAAO studies. On the study day, eight rats received, in random order without repeats, one of six levels of the casein (4.3, 8.6, 12.9, 17.2, 21.5, 25.8%) diet (N×6.38) (23), and the other eight rats received one of six levels of the wheat gluten (7.2, 10.8, 14.4, 18.0, 21.6, 25.2%) diet (N×5.70) (23). The tracer protocol employed was the same as that employed in Experiment 1, and ¹³C substance administration was performed for a total of four times at 15:00, 16:00, 17:00, and 18:00. However, breath samples were collected and the ¹³CO₂ level in the breath was measured only twice at 15:00 and 18:30. The experimental design was a completely randomized crossover design. Eight rats consumed the casein diet at

all six levels, and the other eight rats consumed the wheat gluten diet at all six levels. Each IAAO study day was separated by 2 d, and the six IAAO studies were completed within 2 wk. Except for these points, all of the protocols were the same as those employed in Experiment 1.

Tracer administration protocol. L-[1-¹³C]Phenylalanine (Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA) and NaH¹³CO₃ (Cambridge Isotope Laboratories) were used as tracers. Labeled compounds were dissolved in saline and stored at 4°C. Isotopic solutions were prepared and administered in a volume of 2.5 mL/kg BW. Oral priming doses of 0.88 mg/kg BW NaH¹³CO₃ and 7.92 mg/kg BW NaHCO₃ were given with the third meal at 15:00. An oral dosing protocol of 3.3 mg/kg BW L-[1-¹³C]phenylalanine and 29.7 mg/kg BW phenylalanine was commenced simultaneously with the third meal, and administration of 6.0 mg/kg BW L-[1-¹³C]phenylalanine and 54.0 mg/kg BW phenylalanine

was performed hourly until the end of the study.

Experimental diets. The composition and source of the powdery experimental casein and wheat gluten diets are shown in Table 1. Casein and wheat gluten provided the sole source of protein in the casein and wheat gluten diets, respectively. The compositions of the amino acids in the casein and wheat gluten are shown in the footnote to Table 1 (23). L-Phenylalanine and L-tyrosine were added to the diets to achieve an equal content of these amino acids in all diets. In the present study, L-phenylalanine (13.5 g/kg diet) and L-tyrosine (15.0 g/kg diet) were consumed in excess of these amino acid requirements for rodents (L-phenylalanine, 8.8 g/kg diet; L-tyrosine, 9.3 g/kg diet) (24), in order to minimize the net hydroxylation of phenylalanine to tyrosine. Each casein diet with varying protein content was kept at an identical energy level by varying the levels of sugar and starch. The oil levels in the wheat gluten diet were decreased because the energy level of wheat gluten is higher than those of casein. Thus, all of the diets had a similar energy level (15.4–15.6 kJ/g).

Breath sample collection and analysis. The instruments used for the collection of breath samples in the rats consisted of an acrylic chamber (10.6 L) fitted with a drinker, an aspiration pump (Columbus Instruments, Columbus, OH) and an air flow meter (Columbus Instruments). The chambers were continuously charged with fresh room air through the aspiration tube by a pump. The rats were moved outside the chamber for the administration of the ^{13}C substance, and thereafter moved back into the same chamber. Because the chambers filled with expired air were necessary in order to collect the breath samples, rats were placed in separate compartments for 30 min before the collection of the breath samples.

Breath samples of 200 mL volume drawn into a 200 mL syringe were injected into breath-sampling bags (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan). The $^{13}\text{CO}_2$ concentration in the expired air was measured by attaching the breath-sampling bags to the sampling joint of an infrared spectrometer (POCone; Otsuka Electronics Co., Ltd., Tokyo, Japan). Using the measurement system provided by POCone, the concentration of CO_2 in the aspirated air in the breath sampling bags was at least more than 0.5%. Therefore fresh room air was drawn through the system at comparatively low rates of approximately 0.4 L/min, and the CO_2 concentration within the chamber was stabilized at 0.8–1.2%. The $^{13}\text{CO}_2$ rate was measured as the $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ratio, and followed by a pulse of mixed gas composed of 5% CO_2 , 12% O_2 and the rest of the mixture was N_2 for the control. Isotopic abundances were expressed relative to the international Vienna Pee Dee Belemnite standard (‰) as over the baseline ($\Delta - \Delta_0$) value, further normalized by each rat's weight.

Blood and tissue samples collection and analysis. Blood samples drawn from the inferior vena cava were collected in tubes with heparin, and plasma was separated from the blood samples by centrifugation at $1,500 \times g$ for 5 min. The plasma was stored at -20°C until it was

analyzed. The liver and gastrocnemius muscle were rapidly removed and snap-frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C for analysis. Approximately 0.5 g of liver and muscle were homogenized in 4.5 mL of saline, centrifuged at $1,000 \times g$ for 10 min.

A 100 μL plasma sample and the supernatant of liver and muscle obtained as described above were deproteinized with 300 mL ethanol and centrifuged at $1,500 \times g$ for 10 min. A 200 mL sample of the supernatant fluid was cleared of contamination by using a strong cation exchanger (AG 50W-X8, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA), dried under a vacuum, derived to its 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) derivative using the Waters AccQ, Fluor Reagent Kit (Waters Corp., Milford, MA) and dried. Then the supernatant fluid was reconstituted in 200 μL of 0.1% formic acid. Phenylalanine and tyrosine concentrations were measured by an HPLC system. The individual amino acids were separated by an Inertsil ODS-3 column (250 \times 4.6 mm, GL Sciences, Tokyo, Japan) with a binary LC gradient (0–60% aqueous acetonitrile containing 0.1% formic acid). The areas under the peaks were integrated using Peak Net 5.1c (Dionex Corp., Osaka, Japan). L-[1- ^{13}C]Phenylalanine and L-[1- ^{13}C]tyrosine enrichment in the plasma and tissue samples was analyzed with a MS (LCQ Fleet, Thermo Scientific, Waltham, MA) coupled to the HPLC system. Selected ion chromatograms were obtained by monitoring ions m/z 336 and 337 for L-phenylalanine and L-[1- ^{13}C]phenylalanine, m/z 352 and 353 for L-tyrosine and L-[1- ^{13}C]tyrosine, respectively.

Statistical analysis. Data analysis was performed using Statcel2 software (Oms Publishing Inc., Tokyo, Japan). All results were presented as the mean \pm SE. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. Student's t test was used to analyze differences between two different groups, such as the protein intake. Statistical analysis for multiple comparisons was performed using one-way analysis of variance (ANOVA) with repeated measures followed by a Tukey-Kramer post hoc test.

The protein intake for metabolic demands was derived by applying a mixed-effect change-point model to breath $^{13}\text{CO}_2$ data (25), and the regression oxidation rate of the dietary protein contents. The first regression line showed a downward slope and the second line was horizontal with minimal or no slope. The breakpoint, the protein intake with a plateau in oxidation, was regarded as the protein intake for metabolic demand.

RESULTS

Experiment 1

The rats were given free access to a 17.2% casein diet as a maintenance diet for 3 d before the first study day, and the total daily intake for each rat was 16.5 ± 0.5 g/d (calorie, 255.9 ± 7.8 kJ/d; protein, 2.8 ± 0.1 g/d). The body weights for the rats used for the 4.3% and 17.2% casein diet experiments were 144.1 ± 5.7 g and 143.5 ± 5.0 g, respectively.

Complete data sets of 9 breath samples were obtained

in only 7 of the rats fed the 17.2% casein diet. One rat did not consume its feed completely at 18:00, which affected the $^{13}\text{CO}_2$ values thereafter. Regardless of the protein intake and the 4.3% or 17.2% casein diets, breath $^{13}\text{CO}_2$ enrichment gradually increased after the initiation of the isotope protocol (Fig. 2). The plateau breath samples were collected during the isotopic steady state every 30 min during the period from 16:30 to 19:00 in rats fed the 17.2% casein diet, and from 17:30 to 19:00 in rats fed the 4.3% casein diet. This isotope protocol had been shown to achieve a satisfactory isotopic steady state 2.5 h after the start of L-[1- ^{13}C]phenylalanine isotope administration. In addition, when the 4.3% casein diet was employed, the enrichment of breath $^{13}\text{CO}_2$ was greater than that achieved with the 17.2% casein diet, and during the period from 17:30 to 19:00, significant differences were shown between the 4.3% and 17.2% casein diets on breath $^{13}\text{CO}_2$ enrichment at 18:30 ($p < 0.01$) and 19:00 ($p < 0.01$).

The amino acid concentrations of plasma, liver and gastrocnemius muscle obtained at 18:30 on the IAAO study day are shown in Table 2. In both phenylalanine and tyrosine, ^{13}C -amino acid concentrations, ^{12}C -amino acid concentrations, and the total of these concentrations in the plasma and tissues of rats fed the 4.3% casein diet were similar to those of rats fed the 17.2% casein diet, and there were no significant differences.

Experiment 2

The rats were given free access to a 17.2% casein maintenance diet for 3 d before the first study day. The total daily intake for each rat used for the casein and wheat gluten diet experiments employing the IAAO method were 16.7 ± 0.3 g/d (calorie, 258.9 ± 4.3 kJ/d; protein, 2.9 ± 0.1 g/d) and 17.3 ± 0.5 g/d (calorie, 268.2 ± 7.0 kJ/d; protein, 3.0 ± 0.1 g/d), respectively. The body weights for the rats used for the 4.3, 8.6, 12.9, 17.2, 21.5, and 25.8% casein diet experiments

were 149.4 ± 5.7 , 141.0 ± 9.9 , 155.2 ± 10.8 , 147.4 ± 3.5 , 158.0 ± 2.4 , and 184.7 ± 3.1 g, respectively. The body weights for the rats used for the 7.2, 10.8, 14.4, 18.0, 21.6, and 25.2% wheat gluten diet experiments were 130.7 ± 3.5 , 148.8 ± 4.8 , 157.1 ± 5.4 , 160.8 ± 10.0 , 134.4 ± 2.8 , and 142.4 ± 3.0 g, respectively.

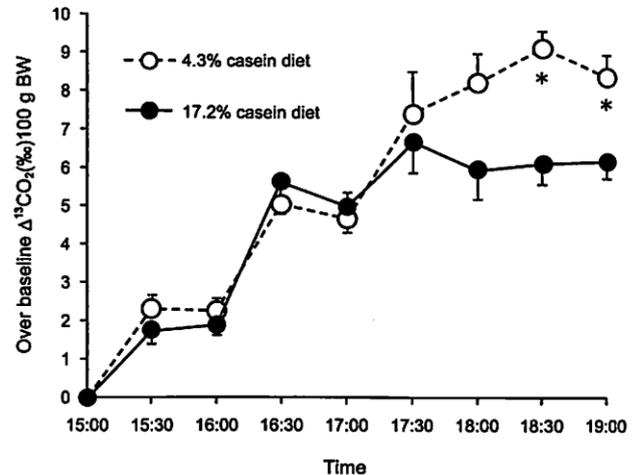


Fig. 2. The effect of L-[1- ^{13}C]phenylalanine infusion on $^{13}\text{CO}_2$ enrichment of the breath. Values are mean \pm SE for the 4.3% ($n=8$ per mean) and 17.2% ($n=7$ per mean) casein diets. On the study day, the rats received either a 4.3% or 17.2% casein diet every 3 h from 09:00. Each meal represented one-eighth of the rat's total daily intake. The administrations of L-[1- ^{13}C]phenylalanine were performed at 15:00, 16:00, 17:00, and 18:00. The establishment of a plateau in the breath samples on the basis of no significant differences among the timed samples was confirmed using repeated-measures ANOVA. The isotopic steady state was confirmed at 16:30–19:00 in rats fed the 17.2% casein diet, and at 17:30–19:00 in rats fed the 4.3% casein diet. *The asterisk marks shown significant differences ($p < 0.01$) between the 4.3% and 17.2% casein diets at 18:30 and 19:00.

Table 2. The concentrations of phenylalanine and tyrosine in the plasma, liver and gastrocnemius muscle in rats fed 4.3% or 17.2% casein diets.

Diet	Phenylalanine			Tyrosine		
	^{13}C -Phe	^{12}C -Phe	Total	^{13}C -Tyr	^{12}C -Tyr	Total
Plasma (nmol/mL)						
4.3% casein	13.2 ± 2.9	47.2 ± 4.3	60.4 ± 7.0	7.5 ± 2.0	113.0 ± 29.4	120.6 ± 30.7
17.2% casein	12.1 ± 2.5	50.8 ± 10.0	62.9 ± 11.8	8.5 ± 1.4	119.8 ± 15.2	128.3 ± 16.2
Liver (nmol/g)						
4.3% casein	10.6 ± 0.4	40.9 ± 5.1	51.5 ± 4.9	7.4 ± 1.3	99.4 ± 32.0	106.9 ± 33.2
17.2% casein	10.4 ± 2.1	43.1 ± 10.5	53.6 ± 12.3	8.8 ± 2.8	92.5 ± 7.5	101.4 ± 9.2
Gastrocnemius muscle (nmol/g)						
4.3% casein	13.0 ± 1.7	46.6 ± 4.5	59.6 ± 5.7	8.4 ± 0.8	91.9 ± 8.7	100.3 ± 8.5
17.2% casein	11.6 ± 1.9	48.2 ± 2.5	59.8 ± 3.6	7.0 ± 1.1	84.7 ± 5.8	91.7 ± 5.0

Values are shown as mean \pm SE for the 4.3% ($n=5$) and 17.2% ($n=5$) casein diets. Student's *t* test was performed to assess the effect of protein intake. No significant differences were demonstrated in the plasma and tissues phenylalanine or tyrosine concentrations between the 4.3% and 17.2% casein diets.

^{13}C -Phe, L-[1- ^{13}C]phenylalanine; ^{12}C -Phe, L-[1- ^{12}C]phenylalanine; ^{13}C -Tyr, L-[1- ^{13}C]tyrosine; ^{12}C -Tyr, L-[1- ^{12}C]tyrosine.

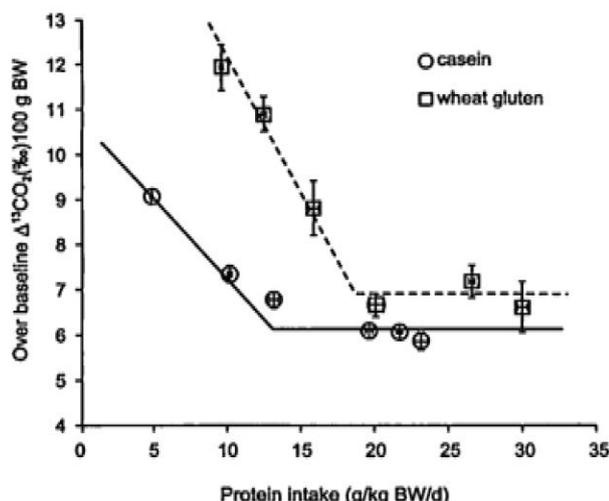


Fig. 3. The relationship between the intake of various proteins and the production of $^{13}\text{CO}_2$ from the oxidation of L-[1- ^{13}C]phenylalanine when the rats were fed a casein diet ($n=8$ per mean) or a wheat gluten diet ($n=8$ per mean). Values are shown as mean \pm SE. The breakpoint estimates the mean protein intake for metabolic demands. The linear regression equation for the estimated protein intake for metabolic demands for the casein diet is as follows: $y=10.73-0.35x$ and $y=6.17$, for the wheat gluten diet is as follows: $y=18.87-0.66x$ and $y=6.92$, for the downward slope of the line and the level part of the line, respectively. The protein (%) included in the casein and wheat gluten diets was converted into protein intake (g) per day, and further normalized according to each rat's body weight. The mean protein intakes for metabolic demands for the casein and wheat gluten diets were estimated to be 13.1 g/kg BW/d and 18.1 g/kg BW/d, respectively.

Figure 3 shows the mean breakpoints illustrated in the breath $^{13}\text{CO}_2$ data, which were representative of the mean protein intake for metabolic demands. As the protein intake increased, breath $^{13}\text{CO}_2$ decreased steadily until the breakpoints were reached. There was no further decrease in breath $^{13}\text{CO}_2$ with the increase in protein intake. The protein (%) included in the casein and wheat gluten diets was converted into protein intake (g) per day, and further normalized according to each rat's body weight. Application of a mixed-effect change-point regression models to the breath $^{13}\text{CO}_2$ data resulted in the identification of a breakpoint at a dietary casein intake of 13.1 g/kg BW/d and a dietary wheat gluten intake of 18.1 g/kg BW/d. The enrichment of breath $^{13}\text{CO}_2$ was consistently higher in rats fed the wheat gluten diet, compared with the casein diet.

DISCUSSION

In the current IAAO study on rats, the protein intake for metabolic demands was estimated to be covered by a 13.1 g/kg BW/d for casein. This result was similar to the value recommended by the AIN-93G diet for laboratory rodents (a purified 20% casein ($\geq 85\%$ protein)), which was developed based on nitrogen balance studies. According to procedures recommended by the AIN,

values were converted to dietary content by assuming a dietary intake of 15 g/rat/d for growing rats, and also for the rats fed 16.7 ± 0.3 g/rat/d in the present study. This is the first study conducted that employed the IAAO method to determine the protein intake for metabolic demands using protein itself in rats, and the determined the protein intake for metabolic demands should be considered provisional.

Temperature, age, and physical activity influence the energy requirements of rats. It is difficult to estimate the energy requirement for growth due to variations in the composition of weight gain (26–30) and variations in the energetic efficiency of net protein and fat synthesis. However, it has been suggested that rats will generally consume enough food to meet their energy requirements (31, 32). The AIN-93 specifications indicate that a diet containing at least 15.0 kJ/g will meet the energy requirement for maintenance and growth if the rats are allowed free access to food and the diet is not deficient in other nutrients. In the present study, the rats accepted a 15.5 kJ/g diet containing 17.2% casein as a maintenance diet. Furthermore, the rats were given free access to this diet and the 24-h dietary intake was regarded as an individual rat's energy requirement.

Humayun et al. (19) reevaluated the protein requirement in young men employing the IAAO method, and the protein source of the experimental diet was consumed hourly in small meals consisting of a crystalline amino acid mixture. In the present study, casein and wheat gluten were employed as the protein source, and therefore, as the rats consumed the experimental diet at 3-h intervals, it can be considered that the mechanism of assimilation differed from that of the amino acid mixture. Amino acid mixtures will be absorbed very rapidly, and protein utilization will show a lower efficiency, compared with slow proteins such as casein (20).

The phenylalanine and L-[1- ^{13}C]phenylalanine concentrations in the plasma, liver and gastrocnemius muscle were not affected by the amount of protein intake in the 4.3% or 17.2% casein diets, suggesting that the precursor pool for indicator oxidation did not change in size in response to the test protein intake. After phenylalanine is hydroxylated, conversion to tyrosine takes place, so the tyrosine concentration was also examined. In comparison with the ratio of L-[1- ^{13}C]phenylalanine to the total phenylalanine concentration, only a trace of L-[1- ^{13}C]tyrosine to the total tyrosine occurred in the plasma and tissues, regardless of the protein intake, suggesting that there was no tyrosine deficiency. In previous studies, the loss of the ^{13}C into the protein-bound tyrosine pool or tyrosine metabolites was minimized by providing a high-tyrosine diet before the study (19).

$^{13}\text{CO}_2$ breath tests are normally performed in the presence of a large background of naturally occurring isotope of approximately 1.1% ^{13}C (33). The ^{13}C rate of any unlabeled substrate ingested during a $^{13}\text{CO}_2$ breath test must be considered in order to eliminate artifacts that may reduce the sensitivity of the breath test and produce erroneous results (33). In our preliminary

examination, the stable rate of $^{13}\text{CO}_2$ production in breath was achieved between 5 h and 6 h and maintained until the end of the study. These results suggested that two meals received every 3 h were required to achieve constant $^{13}\text{CO}_2$ enrichment, and that the effect of the ^{13}C infusion could be evaluated correctly after the third meal at 15:00.

Experiment 1 demonstrated a similar pattern and a latter steady state ~ 2.5 h after the start of the stable isotope protocol (Fig. 2), so breath samples for the measurement of the protein metabolism were collected 210 min after the administration of the stable isotope began. Moreover, the protein intake level, the 4.3% or 17.2% casein diets, had a significant effect on breath $^{13}\text{CO}_2$ concentration at 18:30, showing that this protocol could detect differences in protein metabolism. These results reflected the supposition that if one indispensable amino acid (limiting) was deficient for protein synthesis, then all other indispensable amino acids (including the indicator amino acid, [^{13}C]phenylalanine) would be oxidized. Therefore, when the rats were fed a low protein diet, the 4.3% casein diet, most of amino acids were oxidized, and the $^{13}\text{CO}_2$ concentration in breath increased. By increasing the protein intake with the 17.2% casein diet, the intake of the limiting amino acid also increased, and the values produced by the IAAO method decreased, reflecting the increasing incorporation into protein.

The mean protein intakes for metabolic demands determined by the IAAO method were 13.1 g/kg BW/d for the casein and 18.1 g/kg BW/d for the wheat gluten. Therefore, the protein intakes for metabolic demands based on wheat gluten was higher than that based on casein. The differences between the casein and wheat gluten diets will be a function of the limiting amino acid in the respective protein source. This limiting amino acid will be dependent on both the amino acid profile and the digestibility of the protein. These results also conformed with our hypothesis, that the protein requirement will decrease with good quality (amino acid scoring pattern) protein intake, and increase with poor quality protein intake, validating the concept that the IAAO method could be employed to evaluate the quality of protein.

In regard to the measured phenylalanine oxidation, the enrichment of breath $^{13}\text{CO}_2$ differed between the rats fed the casein and wheat gluten diets. The enrichment of breath $^{13}\text{CO}_2$ was consistently higher in rats fed the wheat gluten diet, compared with rats fed the casein diet, even at the plateau line with a protein intake more than the metabolic demand for protein. According to intake of protein, specifically, the limiting amino acid, the indicator amino acid is partitioned between incorporation into proteins and oxidation. The quality of the protein also affected the $^{13}\text{CO}_2$ volume in the breath. Future extensions of this study to other protein sources will be necessary in order to confirm this relationship.

Hegsted (34) suggested the necessity of taking account of adaptation in their nitrogen balance methods, arguing that prior adaptation is required. The

IAAO method can be conducted in short time periods because no period of adaptation to each intake is employed (35). Therefore, the IAAO method could be employed to evaluate the metabolic protein demand for all age groups (infants, children, adolescents, adults, and the elderly), as well as for post-operative patients or patients with injuries or infections that have specific metabolic conditions, such as a widely varying metabolic demand. In a clinical setting, the adequate quality and quantity of protein or amino acid for each specific condition could be estimated using the IAAO method.

The results of this study demonstrated that the IAAO method can be employed to evaluate not only the protein intake for metabolic demands, but the dietary protein quality in freely living rats. Further studies are necessary to assess the viability of the IAAO method in a clinical setting.

Acknowledgments

We would like to thank Professor Kenji Sato for technical support. This study was supported in part by a Health and Labor Sciences Research Grant entitled "Studies on the Dietary Reference Intakes (Recommended Dietary Allowance) for Japanese" from the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan; Grant-in Aid for Scientific Research (C) (23617016) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan. None of the authors have any conflicts of interest.

REFERENCES

- 1) World Health Organization. 2007. Protein and amino acid requirements in human nutrition. Report of a joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation (WHO Technical Report Series, No. 935), Geneva.
- 2) Forbes GB. 1973. Another source of error in the metabolic balance method. *Nutr Rev* 31: 297-300.
- 3) Wallace WM. 1959. Nitrogen content of the body and its relation to retention and loss of nitrogen. *Fed Proc* 18: 1125-1130.
- 4) Hegsted DM. 1976. Balance studies. *J Nutr* 106: 307-311.
- 5) Hegsted DM. 1978. Assessment of nitrogen requirements. *Am J Clin Nutr* 31: 1669-1677.
- 6) Young VR, Bier DM, Pellett PL. 1989. A theoretical basis for increasing current estimates of the amino acid requirements in adult man with experimental support. *Am J Clin Nutr* 50: 80-92.
- 7) World Health Organization. 1985. Energy and protein requirements. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation (WHO Technical Report Series, No. 724), Geneva.
- 8) Kim KI, McMillan I, Bayley HS. 1983. Determination of amino acid requirements of young pigs using an indicator amino acid. *Br J Nutr* 50: 369-382.
- 9) Ball RO, Bayley HS. 1984. Tryptophan requirement of the 2.5-kg piglet determined by the oxidation of an indicator amino acid. *J Nutr* 114: 1741-1746.
- 10) Lin FD, Smith TK, Bayley HS. 1986. Tryptophan requirement of growing swine as determined by the oxidation of an indicator amino acid. *J Anim Sci* 62: 660-664.

- 11) Bertolo RF, Moehn S, Pencharz PB, Ball RO. 2005. Estimate of the variability of the lysine requirement of growing pigs using the indicator amino acid oxidation technique. *J Anim Sci* **83**: 2535–2542.
- 12) Zello GA, Pencharz PB, Ball RO. 1993. Dietary lysine requirement of young adult males determined by oxidation of L-[1-¹³C]phenylalanine. *Am J Physiol* **264**: E677–E685.
- 13) Roberts SA, Thorpe JM, Ball RO, Pencharz PB. 2001. Tyrosine requirement of healthy men receiving a fixed phenylalanine intake determined by using indicator amino acid oxidation. *Am J Clin Nutr* **73**: 276–282.
- 14) Di Buono M, Wykes LJ, Ball RO, Pencharz PB. 2001. Total sulfur amino acid requirement in young men as determined by indicator amino acid oxidation with L-[1-¹³C]phenylalanine. *Am J Clin Nutr* **74**: 756–760.
- 15) Turner JM, Humayun MA, Elango R, Rafii M, Langos V, Ball RO, Pencharz PB. 2006. Total sulfur amino acid requirement of healthy school-aged children as determined by indicator amino acid oxidation technique. *Am J Clin Nutr* **83**: 619–623.
- 16) Riazi R, Wykes LJ, Ball RO, Pencharz PB. 2003. The total branched-chain amino acid requirement in young healthy adult men determined by indicator amino acid oxidation by use of L-[1-¹³C]phenylalanine. *J Nutr* **133**: 1383–1389.
- 17) Pillai RR, Elango R, Muthayya S, Ball RO, Kurpad AV, Pencharz PB. 2010. Lysine requirement of healthy, school-aged Indian children determined by the indicator amino acid oxidation technique. *J Nutr* **140**: 54–59.
- 18) Elango R, Humayun MA, Ball RO, Pencharz PB. 2009. Indicator amino acid oxidation is not affected by period of adaptation to a wide range of lysine intake in healthy young men. *J Nutr* **139**: 1082–1087.
- 19) Humayun MA, Elango R, Ball RO, Pencharz PB. 2007. Reevaluation of the protein requirement in young men with the indicator amino acid oxidation technique. *Am J Clin Nutr* **86**: 995–1002.
- 20) Beaufre B, Dangin M, Boirie Y. 2000. Fast and slow protein concept. In: *Proteins, Peptides and Amino Acid in Enteral Nutrition* (Furst P, Young V, eds) (Nestle Nutrition Workshop Series, Clinical & Performance Program Vol. 3), p 121–133. Karger, Basel.
- 21) Moehn S, Bertolo RF, Pencharz PB, Ball RO. 2005. Development of the indicator amino acid oxidation technique to determine the availability of amino acids from dietary protein in pigs. *J Nutr* **135**: 2866–2870.
- 22) Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1991. Protein quality evaluation in human diets. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation (FAO Food and Nutrition Paper No. 51), Rome.
- 23) Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology. 2010. Standard tables of food composition in Japan, amino acid composition of foods 2010. Report of the Subdivision on Resources, The Council for Science and Technology. Tokyo.
- 24) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* **123**: 1939–1951.
- 25) Hayamizu K, Kato M, Hattori S. 2011. Determining amino acid requirements from repeated observations on indicator amino acid oxidation method by mixed-effect change-point regression models. *J Clin Biochem Nutr* **49**: 115–120.
- 26) Meyer JH. 1958. Interactions of dietary fiber and protein on food intake and body composition of growing rats. *Am J Physiol* **193**: 488–494.
- 27) Schemmel R, Mickelsen O, Motowi K. 1972. Conversion of dietary to body energy in rats as affected by strain, sex, and ration. *J Nutr* **102**: 1187–1197.
- 28) Hartsook EW, Hershberger TV, Nee JC. 1973. Effects of dietary protein content and ratio of fat to carbohydrate calories on energy metabolism and body composition of growing rats. *J Nutr* **103**: 167–178.
- 29) McCracken KJ. 1975. Effect of feeding pattern on the energy metabolism of rats given low-protein diets. *Br J Nutr* **33**: 277–289.
- 30) Deb S, Martin RJ, Hershberger TV. 1976. Maintenance requirement and energetic efficiency of lean and obese Zucker rats. *J Nutr* **106**: 191–197.
- 31) Berg RT, Bowland JP, Sibbald IR. 1956. Digestible energy in relation to food intake and nitrogen retention in the weaning rat. *J Nutr* **59**: 385–392.
- 32) Peterson AD, Baumgardt BR. 1971. Influence of level of energy demand on the ability of rats to compensate for diet dilution. *J Nutr* **101**: 1069–1074.
- 33) Schoeller DA, Klein PD, Watkins JB, Heim T, MacLean WC Jr. 1980. ¹³C abundances of nutrients and the effect of variations in ¹³C isotopic abundances of test meals formulated for ¹³CO₂ breath tests. *Am J Clin Nutr* **33**: 2375–2385.
- 34) Hegsted DM. 2000. From chick nutrition to nutrition policy. *Ann Rev Nutr* **20**: 1–19.
- 35) Brunton JA, Ball RO, Pencharz PB. 1998. Determination of amino acid requirements by indicator amino acid oxidation: applications in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **1**: 449–453.

Review

The Optimal Dietary Fat to Carbohydrate Ratio to Prevent Obesity in the Japanese Population: A Review of the Epidemiological, Physiological and Molecular Evidence

Osamu EZAKI

Department of Nutritional Science, National Institute of Health and Nutrition, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8636, Japan

(Received July 13, 2011)

Summary The prevention of obesity, which leads to diabetes and other diseases, is a major concern for public health. There might be an optimal dietary fat to carbohydrate ratio for prevention and treatment of obesity. According to the Japanese Dietary Reference Intakes (RDA) for 2010, the optimal fat intake is 20–30% of energy for ages 1–29 y and 20–25% for ages 30 y and over. Upper boundary values of this recommendation were the median of the percentage of energy from dietary fat in Japanese. In a systematic review to estimate the optimal dietary fat to carbohydrate ratio, it was found that obese subjects with hyperinsulinemia (or insulin resistance) lost more weight on a mild low-carbohydrate (LC) (or low-glycemic load diet; 40% carbohydrate, 30–35% fat) than on a low-fat (LF) diet (55–60% carbohydrate, 20% fat), whereas those without hyperinsulinemia showed the opposite. In non-obese primarily insulin-sensitive subjects, decreasing fat rather than carbohydrate intake is generally more effective to prevent obesity. Physiological and molecular evidence supports this conclusion. Increased carbohydrate intake, especially in high-glycemic food, leads to postprandial hyperglycemia and hyperinsulinemia, which are exaggerated in obese insulin-resistant subjects. Even in an insulin-resistant state, insulin is able to stimulate fatty acid synthesis in liver, activate lipoprotein lipase, and prevent lipolysis in adipose tissues, which all facilitate adipose tissue enlargement. Optimal dietary fat to carbohydrate ratio may differ in populations depending on their prevalence for obesity. Because the prevalence of overweight/obesity in Japanese is low, a LF diet is recommended in the general population.

Key Words low-carbohydrate diet, low-fat diet, RDA, insulin resistance, obesity

Obesity in the United States and in much of the westernized world has increased dramatically over the past several decades: 64.5% of adults in the United States are overweight (body mass index [BMI] ≥ 25 kg/m² and < 30 kg/m²) or obese (BMI ≥ 30 kg/m²) (1). Overweight/obesity (BMI ≥ 25 kg/m²) was the most important predictor of diabetes. In the Nurses' Health Study, during 16 y of follow-up, 3,300 new cases of type 2 diabetes were observed in the baseline population of 84,941 female nurses. The relative risk of diabetes was 38.8 for women with a BMI of 35.0 kg/m² or higher, 20.1 for women with BMI of 30.0 to 34.5 kg/m², and 7.59 for women with BMI of 25.0 to 29.9 kg/m², as compared with women who had a BMI of less than 23.0 kg/m² (2).

In Japan, the prevalence of overweight/obesity (BMI ≥ 25 kg/m²) in adults is very low compared with the United States: 30.4% in men and 20.2% in women in 2007, according to Japanese cross-sectional nationwide surveys (3). However, a strong positive association between baseline BMI and the incidence of diabetes in

the follow-up period was observed similar to that in the United States. In a Japanese cohort of healthy men ($n=16,829$) and women ($n=8,370$) followed for 7.4 y, new cases of diabetes were documented in 869 men and 224 women (4). The relative risk of diabetes was 5.55 for men with a BMI of 25.2 to 26.3, compared with men who had a BMI of 15.0 to 19.7, and the relative risk of diabetes was 5.70 for women with a BMI of 24.4 to 25.9, compared with women who had a BMI of 14.9 to 19.1. Therefore, in Japan also, the prevention of overweight/obese subjects is a major public issue.

The role of dietary fat and carbohydrate in the obesity epidemic has been a hotly debated topic for decades and remains unresolved. To reduce the incidence of obesity in general populations, public statements on optimal ratios of dietary fat to carbohydrate have been issued. Health organizations have recommended diets that are low in total and saturated fat and high in carbohydrates obtained from vegetables, fruits, and whole grains or fiber-rich foods (5–7). Dietary guidelines for Americans published in 2005 emphasized the importance of the amount of energy consumed rather than the proportions of protein, fat, and carbohydrate in the diet, pro-

E-mail: ezaki@nih.go.jp

vided that the macronutrients are within the AMDR, the acceptable macronutrient distribution range: 10–35% of energy from protein, 45–65% from carbohydrate, and 20–35% from fat (8). Dietary reference intakes for Japanese issued by the Ministry of Health, Labour, and Welfare in 2010 indicated that optimal fat intake is 20–30% for ages 1–29 y and 20–25% for ages 30 y and over. Upper boundary values of this recommendation were a median of the percentage of energy from dietary fat in Japanese, a recommendation that most Japanese are able to follow.

The present review was conducted to determine the optimal dietary fat to carbohydrate ratio to prevent obesity in the Japanese population. As a result, it was suggested that a mild low-carbohydrate (LC) diet was effective in reducing body weight in obese subjects with hyperinsulinemia (or insulin resistance), whereas a low-fat (LF) diet favored prevention of obesity in non-obese subjects or treatment of obese subjects without hyperinsulinemia. In addition, to elucidate the molecular mechanisms of obesity in response to a carbohydrate-rich diet, several aspects of insulin actions, namely lipogenesis in the liver, activation of lipoprotein lipase (LPL), and lipolysis under insulin-resistance state were also reviewed.

Methods of Review and Definitions

Selection of publications of epidemiological studies. For epidemiological studies, key words “(Diet, Fat-Restricted [MESH]) AND (dietary OR intake OR consumption) AND ((randomized controlled trial [PTYP] OR random [WORD]) OR (cohort studies [MESH] OR risk [MESH] OR (odds [WORD] AND ratio [WORD]) OR (relative [WORD] AND risk [WORD]) OR case control [WORD] OR case-control studies [MESH]))” with a limitation of “humans” were used in PubMed to select all publications through June 1, 2011 ($n=1,004$), initially to review the effects of dietary fat on mortality and mobility reported therein. From these publications, those related to changes in body weight were selected and reviewed. Other important topics, such as the effects of dietary fat subtypes, i.e., saturated, mono-unsaturated, $n-6$, and $n-3$ fatty acids, on obesity, are not discussed in this review. Because several reviews and meta-analyses have been published since the original search date, publications that appeared after this date are presented in this study with comments relating their findings to those of the previous reviews and meta-analyses. To show a visual representation of the results of the review, findings from representative publications are presented here in figures.

Current body weight is the result of the accumulated daily balance of energy intake and expenditure over previous days. Therefore, the causes of obesity are multifactorial, including such factors as physical activity level, energy intake, and food availability. It is difficult to assess these factors, and there are strong limitations to examining the effects of dietary macronutrients on obesity in cross-sectional and prospective studies (confounding factors may not be measured adequately). For

this reason, carefully conducted intervention studies in which dietary fat to carbohydrate ratios were changed were mostly selected for this review.

Selection of publications of physiological and molecular studies. In a review of the mechanism of lipogenic action of insulin (covered later in this review), key words “insulin AND obesity AND ((lipogenesis AND liver) OR LPL OR (lipolysis and adipose tissues))” were used initially in PubMed to select appropriate publications, including reviews. Additional publications, which were necessary to describe the effects of insulin in an insulin-resistance state, were included from citations obtained from review articles and personal reference lists.

Definitions of LF and LC diets. The term LF diet is used relative to that of a high-fat diet in the literature; therefore, the absolute amounts of fat were diverse. In general, a high-fat diet means fat intake provides more than 30% of energy and a LF diet means less than 30%. The LC diet has been used in two different types of diet: a very LC diet (ketogenic diet) and a mild LC diet (low-glycemic load diet). Glycemic load is the mathematical product of glycemic index and carbohydrate amount. In the ketogenic diet, carbohydrate intake is less than 40 g/d (9), whereas in the low-glycemic load diet, the total amount of carbohydrate is decreased by 10–20% of energy, and foods containing carbohydrate with lower glycemic index were used. In Japanese, median intake of energy in adults was 1,856 kcal/d, and median intakes of carbohydrate, fat, and protein were 258 g/d (56% of energy), 51 g/d (24.8%), and 68 g/d (15%), respectively, according to The National Health and Nutrition Survey in Japan, 2007 (3). In this review, these two types of LC diets are reviewed separately.

Results and Discussion

A LF diet prevents obesity in general populations

In a meta-analysis of general populations under free-living conditions, weight loss was positively and independently associated with a reduction in the percentage of energy as fat (0.37 kg/%, $p<0.005$) (10). Another meta-analysis of intervention studies also supports this conclusion (11). For every 1% decrease in energy from fat, there was a 0.28-kg decrease in body weight.

A large randomized intervention trial including 48,835 post-menopausal women in the United States (The Women’s Health Initiative Dietary Modification Trial) also supports a LF diet for the prevention of obesity (12). This intervention included group and individual sessions to promote a decrease in fat intake and did not include weight loss or energy restriction goals. Energy from fat was decreased from 38.8% to 29.8% in the intervention group, whereas there was no alteration of fat intake in the control group (from 38.8% to 38.1%). Concomitantly, energy from carbohydrate was increased from 44.5% to 52.7% in the intervention group, whereas there was no alteration of carbohydrate intake in the control group (from 44.5% to 44.7%). Women in the intervention group lost weight in the first year and maintained a lower weight than the control

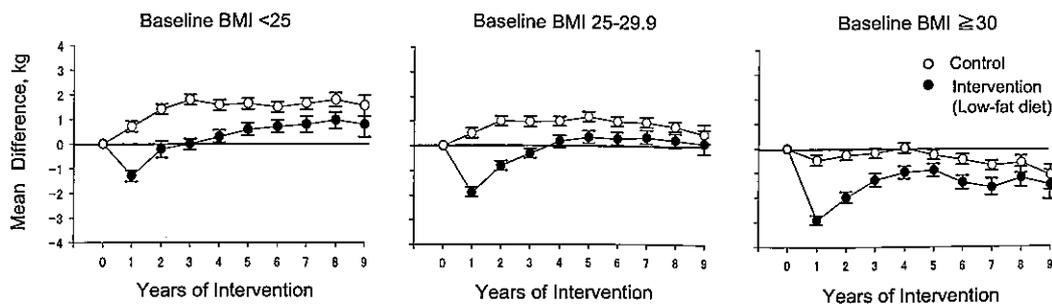


Fig. 1. Differences in body weight by body mass index (BMI) at screening in response to a low-fat (LF) diet. A large randomized intervention trial including 48,835 post-menopausal women during an average 7.5 y of follow-up supports a LF diet (energy from fat decreased from 38.8% to 29.8%) but not energy intake for the prevention of obesity. Women in the intervention groups lost weight in the first year and maintained lower weight than did women in the control groups. No tendency toward weight gain was observed in the intervention groups, whereas body weights in the control groups gradually increased. Error bars indicate 95% confidence intervals. Patient numbers at baseline for the intervention and control groups by BMI: BMI <25 kg/m², 5,072 and 7,585; BMI 25–29.9 kg/m², 6,940 and 10,446; and BMI ≥30 kg/m², 7,442 and 11,126, respectively. Reproduced with permission (12).

women over an average 7.5 y of follow-up (Fig. 1). No tendency toward weight gain was observed in the intervention group, whereas body weights in the control group gradually increased. In both groups, weight loss was greatest among women who decreased their percentage of energy from fat. Weight loss in response to fat reduction was also slightly greater in subjects with a baseline BMI of <25 kg/m².

Several mechanisms for body fat increase in response to a high-fat intake have been proposed (13, 14). Fat is the most energy-dense of the macronutrients and is palatable. Fat produces less of a thermogenic effect than does carbohydrate (15, 16), and fat intake is not regulated, whereas carbohydrate intake is regulated for combustion of carbohydrate substrates (17). A prompt increase in glucose oxidation occurs after ingestion of carbohydrate-containing meals, whereas fat oxidation is reduced after food consumption, even when meals provide substantial amounts of fat (18). These findings indicate that when energy intake is not intentionally restricted, a LF diet prevents body weight increase in the general population.

A very LC diet (ketogenic diet) decreases body weight in obese subjects

Intervention studies to compare the efficacy of LF and very LC diets to reduce body weight in obese subjects have been conducted and summarized in several meta-analyses (19–22). All analyses revealed that a very LC diet is more effective than a LF diet in reducing body weight in obese subjects. In a recent meta-analysis performed by Hession et al., studies comparing the weight loss effects of a very LC diet (less than 60 g/d carbohydrate without intentional energy restriction) against a LF diet with energy restriction (less than 30% fat with 600 kcal/d energy restriction) of more than 6 mo were included (21). Among 9 studies analyzed ($n=690$ in total), 6 studies (23–28) showed greater reduction in body weight by LC diet than by LF diet, whereas 3 studies (29–31) reported no differences between LC and LF diets in the decrease of body weight when measured at 6 mo of intervention.

However, several adverse effects were observed in a very LC diet. A meta-analysis showed an increase in LDL cholesterol (22). Increased blood ketone productions showed unfavorable effects, such as hyperuricemia and orthostatic hypotension (32). Recently, even under energy restricted conditions, it was reported that a very LC diet (60% fat/5% carbohydrate) for 6 wk (33) or a very LC diet (60% fat/4% carbohydrate) for 1 y (34) reduced endothelium-dependent flow-mediated dilation of brachial arteries. A relatively very LC diet (60% fat/20% carbohydrate) worsened the aortic augmentation index (35). These adverse effects might be mediated by a large amount of dietary fat. Therefore, a very LC diet was not recommended in the general population.

Mixed evidence that a mild LC diet (low-glycemic diet) decreases body weight in obese subjects

In a Cochrane review, a low-glycemic-index or low-glycemic load diet was compared with a high-glycemic-index or high-glycemic-load diet on different indices of body fat in 6 studies (36). Pooled data from 4 studies (37–40) showed that weight loss was significantly greater in participants ($n=163$ in total) receiving the low-glycemic diet (-1.1 kg of difference, $p<0.05$). Other studies reported a favorable percent change in body mass (41) or a favorable change in BMI on a low-glycemic diet (39, 42).

However, two recent intervention studies suggested that reduced-calorie diets resulted in meaningful weight loss, regardless of macronutrient balance. In one study, a total of 34 healthy overweight adults ate a high-glycemic load diet (20% fat, 20% protein, and 60% carbohydrate) or a low-glycemic load diet (30% fat, 30% protein, and 40% carbohydrate) under 30% energy-restricted conditions (43). There was no significant change in body weight between the two groups: percentage weight change at 12 mo was $-8.04 \pm 4.1\%$ in the high-glycemic load diet group and $-7.81 \pm 5.0\%$ in the low-glycemic load diet group. In the other study, a total of 811 overweight adults (BMI >25 kg/m²) ate one of four diets for 2 y (44). The targeted percentages of energy derived from fat, protein, and carbohydrate in

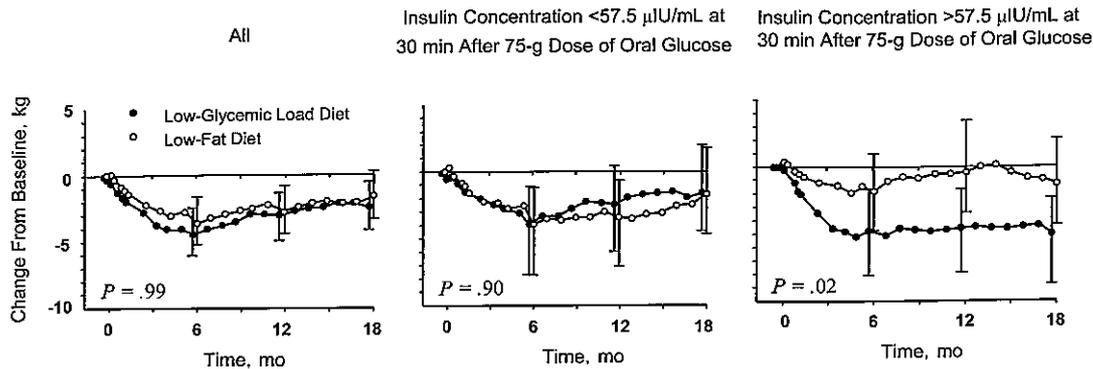


Fig. 2. Changes in body weight in insulin-sensitive and -resistant obese subjects. Obese nondiabetic insulin-sensitive (insulin concentration $\leq 57.5 \mu\text{U/mL}$ at 30 min after 75-g dose of oral glucose, $n=28$) and obese nondiabetic insulin-resistant (insulin concentration $> 57.5 \mu\text{U/mL}$ at 30 min after 75-g dose of oral glucose, $n=28$) young adults were randomized to either a low-fat diet (55% carbohydrate of energy, 20% fat, and 25% protein) or a low-glycemic load diet (or a low-carbohydrate diet; 40% carbohydrate, 35% fat, and 25% protein) for a 6-mo intervention and a 12-mo follow-up period. In the insulin-resistant groups, a low-glycemic load diet produced a greater decrease in weight than did the low-fat diet at 18 mo. Reproduced with permission (47).

the four diets were 20%, 15%, and 65% (LF/low protein [LP] diet); 20%, 25%, and 55% (LF/high protein [HP] diet); 40%, 15%, and 45% (LC/LP diet); and 40%, 25%, and 35% (LC/HP diet). At 2 y, weight loss remained similar in those who were assigned to a diet with 15% or 25% protein (3.0 and 3.6 kg, respectively), in those assigned to a diet with 20% fat or 40% fat (3.3 kg for both groups), and in those assigned to a diet with 65% carbohydrate or 35% carbohydrate (2.9 and 3.4 kg, respectively). There were no differences in reduction of body weights between groups when measured at 6, 12, and 18 mo. When considering the results of recent intervention studies, it is not conclusive that a mild LC diet is preferable for obese subjects.

A mild LC diet preferentially reduces body weights in obese subjects with hyperinsulinemia (insulin resistance)

The studies described above comprised mixed populations of insulin-sensitive and insulin-resistant obese subjects. However, when only the publications that separately examine the effects of LF and mild LC diets on body weight decrease in insulin-sensitive and insulin-resistant subjects were selected, a clear picture appeared. In obese subjects with hyperinsulinemia and insulin resistance, a mild LC diet was more likely than was a LF diet to reduce body weight under energy-restricted conditions (45–47).

In the first intervention study, obese nondiabetic insulin-sensitive (fasting insulin $< 10 \mu\text{U/mL}$, $n=12$) and obese nondiabetic insulin-resistant (fasting insulin $> 15 \mu\text{U/mL}$, $n=9$) women were randomized to either a LF diet (60% carbohydrate, 20% fat, and 20% protein) or a mild LC diet (40% carbohydrate, 40% fat, and 20% protein) for 16 wk under a 400-kcal energy deficit/d (45). A marked difference was observed in body weight reduction. Insulin-sensitive women on the LF diet lost $13.5 \pm 1.2\%$ ($n=6$) of their initial body weight, whereas those on the mild LC diet lost $6.8 \pm 1.2\%$ ($n=6$). In contrast, among the insulin-resistant women, those on the mild LC diet lost $13.4 \pm 1.3\%$ ($n=5$) of their initial body

weight as compared with $8.5 \pm 1.4\%$ ($n=4$) lost by those on the LF diet. Differences in resting metabolic rate, physical activity, or energy intake between the two dietary groups were not observed (45).

In the second intervention study, obese (BMI $25\text{--}29.9 \text{ kg/m}^2$) insulin-sensitive (insulin concentration $\leq 66 \mu\text{U/mL}$ at 30 min after 75-g dose of oral glucose, $n=16$) and obese nondiabetic insulin-resistant (insulin concentration $> 66 \mu\text{U/mL}$ at 30 min after 75-g dose of oral glucose, $n=16$) adults were randomized to either a LF diet (or high-glycemic diet; 60% carbohydrate, 20% fat, and 20% protein) or a mild LC diet (or low-glycemic diet; 40% carbohydrate, 30% fat, and 30% protein) for 6 mo at 30% calorie restriction compared to baseline individual energy needs (46). In the insulin-resistant groups, the mild LC diet produced a greater decrease in weight (-10.2 vs -6.2 kg) than did the LF diet at 6 mo. There were no significant differences in weight decrease between the mild LC and LF diets in the insulin-sensitive groups.

In the third intervention study, obese nondiabetic insulin-sensitive (insulin concentration $\leq 57.5 \mu\text{U/mL}$ at 30 min after 75-g dose of oral glucose, $n=28$) and obese nondiabetic insulin-resistant (insulin concentration $> 57.5 \mu\text{U/mL}$ at 30 min after 75-g dose of oral glucose, $n=28$) young adults were randomized to either a LF diet (or high-glycemic diet; 55% carbohydrate, 20% fat, and 25% protein) or a mild LC diet (or low-glycemic diet; 40% carbohydrate, 35% fat, and 25% protein) for a 6-mo intervention and 12-mo follow-up period (47). Although both the mild LF- and LC-diet groups decreased energy intake similarly by 400 kcal/d, effects of LF and LC diets on body weight reduction were markedly different between the insulin-sensitive and -resistant groups. In the insulin-resistant groups, the mild LC diet produced a greater decrease in weight (-5.8 vs -1.2 kg) and body fat percentage (-2.6 vs -0.9%) than did the LF diet at 18 mo (Fig. 2). There were no significant differences in decreases in weight and body

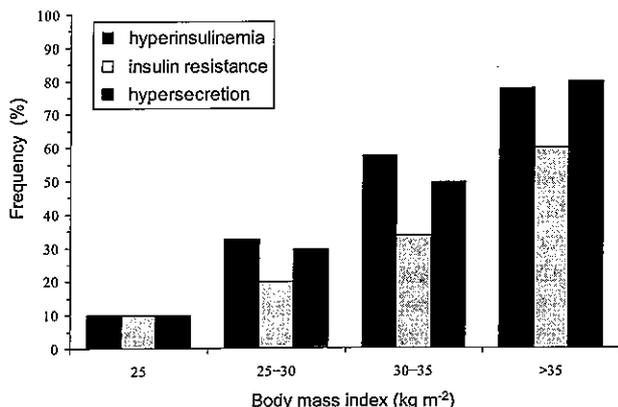


Fig. 3. Prevalence rates of insulin resistance, hyperinsulinemia, and insulin hypersecretion (all defined as the top decile of the respective distributions in lean subjects) as a function of the body mass index (BMI). Black bars, hyperinsulinemia; light gray bars, insulin resistance; dark gray bars, hypersecretion. Reproduced with permission (51).

fat between the mild LC and LF diets for any subjects or in the insulin-sensitive group.

Metabolic syndrome is closely associated with hyperinsulinemia (48). A recent study examining the effects of LF and mild LC diets in subjects with and without metabolic syndrome under 500-kcal/d energy deficit conditions indicated that a LF diet is preferable in insulin-sensitive obese subjects (49). In this study, 202 obese subjects were randomized to either a LF diet (55–60% carbohydrate, less than 30% fat, and 15% protein) or a mild LC diet (or low-glycemic diet; 30–35% carbohydrate, 35–40% fat, and 25–30% protein) for a 12-mo follow-up period. In the subjects with metabolic syndrome, both the mild LC and LF diets were equally effective in reducing waist circumference, whereas in subjects without metabolic syndrome, the LF diet was preferable to that of the mild LC diet: the change in waist circumference was -7.8 ± 7.1 cm in the LF diet group versus -3.8 ± 5.0 cm in the mild LC diet group.

Thus, these four studies suggest that a mild LC diet preferentially reduces body weight in obese subjects with hyperinsulinemia (insulin resistance), whereas a LF diet preferentially reduces body weight in obese subjects without hyperinsulinemia.

Physiological aspects of a mild LC diet making it preferable in obese, insulin-resistant subjects to reduce body fat

It is known that not all obese subjects show insulin resistance (50, 51). In a European study of insulin resistance in the obese, hyperinsulinemia, insulin resistance, and insulin hypersecretion were found to increase linearly with an increase in BMI (Fig. 3) (51). In this study, hyperinsulinemia was defined as the upper 10% of fasting plasma insulin concentrations in the lean groups. Insulin resistance was defined as the bottom 10% of glucose disposal estimated by euglycemic insulin clamp technique in the lean groups, and insulin hypersecretion was defined as the upper 10% of the distribution of posthepatic insulin delivery rate.

According to these criteria, roughly one-half of the obese subjects ($\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$) were insulin resistant. The frequency of insulin resistance was 20% in subjects with a BMI of 25–30 kg/m^2 , 34% in subjects with a BMI of 30–35 kg/m^2 , and 60% in subjects with a BMI of $> 35 \text{ kg/m}^2$, relative to 10% in subjects with a BMI of 25 kg/m^2 (51). Similar trends were observed in regard to hyperinsulinemia and insulin hypersecretion.

Insulin resistance in liver and skeletal muscles elevates glucose concentrations, by which insulin secretion is increased. Moreover, pancreatic beta cells can acutely assess the body's sensitivity to insulin and translate this information into an insulin response that is precisely balanced to offset the severity of insulin resistance (52). In patients with insulin resistance, the increment of insulin secretion from β -cells in response to a fixed amount of glucose is greater than that in normal subjects (53). Therefore, the sensitivity of glucose to an increased blood insulin level is augmented in obese subjects. Diets with higher glycemic load resulted in higher postprandial insulin concentration in a dose-dependent manner in lean young adults (54). It is well known that obese subjects show hyperinsulinemia after oral glucose tolerance testing (glucose is a substance of high glycemic load) (55, 56). Postprandial hyperglycemia and hyperinsulinemia augmented by an increase in dietary carbohydrate intake in obese subjects may further promote fat cell enlargement (57).

Increased blood insulin stimulates the synthesis of fatty acid in liver and the preferential uptake of fatty acids in adipose tissues to store fat and prevents lipolysis in adipose tissues, all of which facilitate adipose tissue enlargement. Furthermore, these lipogenic effects of insulin are not impaired in obese subjects, whereas the glucose-lowering effects of insulin (inhibition of gluconeogenesis/glycolysis in the liver and stimulation of glucose uptake in skeletal muscles) is severely impaired. Recently, it was shown that hyperinsulinemia is associated with increased production of intestinal apolipoprotein B-48, which is one of the causes of postprandial hypertriglyceridemia (58). This effect of insulin also indirectly promotes obesity. In the following sections, the mechanisms of insulin-mediated increases in lipid synthesis and fat accumulation in the insulin-resistant state are reviewed.

Insulin-induced lipogenesis in liver is not impaired in insulin-resistant animals or humans

The insulin signaling pathway is thought to proceed through receptor-mediated tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate (IRS)-1 and/or IRS-2. This leads to activation of phosphoinositide 3-kinase (PI3K) and activated Akt (also known as protein kinase B). In activating hepatic lipogenesis, insulin increases transcription of genes encoding acetyl-CoA carboxylase, fatty acid synthase, and others. These actions are caused by an insulin-induced increase in sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) mRNA (59).

To examine the insulin signaling pathway and lipogenesis in the insulin-resistant state, two different ani-

mal models of insulin resistance and hyperinsulinemia, those of lipodystrophy induced by overexpression of the aP2-SREBP1c transgene in adipocytes and obesity induced by mutational disruption of the leptin gene (ob/ob mice) were investigated (60). Both animal models showed a reduction of IRS-2 mRNA and protein and increased gluconeogenesis in livers, whereas they showed an increase in SREBP-1c mRNA and lipogenesis. IRS-1 mRNA in the liver was not altered in these animal models. In addition, prolonged insulin treatment in isolated rat hepatocytes led to a fall in IRS-2 mRNA and protein and an increase in SREBP-1c transcript, suggesting that chronic hyperinsulinemia promotes gluconeogenesis in the liver and hyperglycemia, whereas it stimulates fatty acid synthesis in the liver and hypertriglycemia (60). It was shown with IRS-1 and IRS-2 liver knockout mice that IRS-1 could convey signals to increase SREBP-1c mRNA and lipogenesis (61, 62). The complete blockage of insulin signaling observed in liver insulin receptor knockout mice showed a decrease in the expression of SREBP-1c (63), suggesting that selective insulin resistance may occur in animal models of insulin resistance (64). Recently, a branch point in the insulin signaling pathway that may account for selective insulin resistance (in which insulin loses its ability to block glucose production but retains its ability to stimulate lipogenesis) was identified (65). In rat hepatocytes, subnanomolar concentrations of rapamycin, an inhibitor of the mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1), blocked insulin induction of SREBP-1c but had no effect on insulin suppression of phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPCK), suggesting that the kinase complex designated mTORC1 was a branch point in the insulin signaling pathway. Therefore, the IRS-1/Akt/mTORC1 pathways are thought to mediate the increase of lipogenesis in the insulin-resistant state.

The finding that insulin-induced lipogenesis in the liver was not impaired in the insulin-resistant state in animal studies could apply to humans. The pattern of stored energy distribution derived from a high-carbohydrate meal is different in young, lean, insulin-resistant individuals (fasting insulin concentration of 12.1 ± 1.2 $\mu\text{U/mL}$) compared with young, lean, insulin-sensitive individuals (fasting insulin concentration of 7.6 ± 0.6 $\mu\text{U/mL}$) (66). In contrast to the insulin-sensitive subjects, who stored most of their ingested energy in the liver as glycogen, the insulin-resistant subjects had a marked defect in muscle glycogen synthesis and diverted much more of their ingested energy into hepatic de novo lipogenesis, as assessed by incorporation of deuterated water into plasma triglyceride, resulting in increased liver and plasma triglycerides (TGs). Increasing very-low-density lipoprotein-TG secretion from the liver may lead to increased fat accumulation in adipose tissue (67). Therefore, insulin activation of the liver IRS-1/Akt/mTORC1 pathway in the insulin-resistant state may lead to obesity.

An increase in lipoprotein lipase (LPL) activity in adipose tissue in response to insulin is not impaired in obese subjects

LPL, located on the capillary endothelium of tissues, catalyses the rate-limiting step in the hydrolysis of TGs from circulating chylomicrons and very-low-density lipoproteins. Most LPL is found in adipose tissues and skeletal muscles, where some of the liberated free fatty acids are taken up and are either stored or oxidized, respectively (68). In healthy humans, a combination of stable isotope labeling and arteriovenous difference measurements in adipose tissues showed that in postprandial periods, there is preferential uptake of fatty acids released from chylomicrons by LPL in adipose tissues and also a release of LPL-derived fatty acids into plasma (69). Therefore, an increase in LPL activity in adipose tissues may promote fat cell enlargement via increased uptake of fatty acids into adipocytes, in addition to an increased supply of fatty acids to muscle and liver.

Regulation of LPL activity is complex and is controlled by several modulators, such as apoproteins and angiopoietin-like proteins ANGPTL3 and ANGPTL4 (70). LPL is active as a dimer, whereas its monomer is inactive. ANGPTL4 inhibits LPL activity by promoting the conversion of active LPL dimers into inactive LPL monomers. Insulin not only increases the level of LPL mRNA but may also regulate LPL activity through both posttranscriptional and posttranslational mechanisms (71). The fact that feeding increases active dimeric LPL from inactive monomeric LPL in adipose tissues suggests that insulin may stimulate dimer formation of LPL by an unknown mechanism (72). Glucose also increases adipose tissue LPL activity and enhances the stimulatory effects of insulin, possibly by the glycosylation of LPL (73).

In humans, feeding or insulin/glucose infusion stimulates LPL activity in adipose tissues, whereas its activity decreases in skeletal muscles (74). This divergent response would serve to direct lipoprotein TG-derived fatty acids away from muscle to adipose tissue for storage. A high-carbohydrate diet for 16 d in normal-weight subjects increased postprandial LPL activity in adipose tissue, with elevation of blood glucose and insulin concentrations after meals, relative to a high-fat diet (75). Therefore, increased insulin and glucose from a high-carbohydrate diet may promote obesity via activation of LPL in adipose tissues.

The LPL activity in adipose tissues in response to insulin during maintenance of euglycemia was examined in 22 obese and 8 normal-weight subjects (76). Basal levels of LPL activity per g of fat tissue in the obese and control groups were 18.7 ± 2.0 and 9.6 ± 2.7 nEq/g/min, respectively. When the responses of LPL in absolute change from basal values were compared between the obese and control groups, no significant differences were found. However, because of the higher baseline LPL activity in the obese subjects, the percent increase in LPL from the basal value was significantly blunted in obese subjects. Basal LPL activity expressed per 10^6 cells correlated positively with cell size, and both the

obese and normal-weight subjects were found to respond similarly to insulin. These data suggest that insulin activates LPL in adipose tissues in obese subjects, irrespective of insulin resistance.

Inhibition of lipolysis in adipocytes in response to insulin is not impaired in insulin-resistant subjects

The concentration of blood free fatty acids (FFA) is determined primarily by their rate of appearance from adipose tissues (lipolysis) and also by their rate of disappearance from plasma. Blood FFA concentrations are elevated during fasting and decreased after feeding. Lipolysis is stimulated by catecholamines during fasting and inhibited by insulin after feeding. If the antilipolytic effect of insulin in obese subjects were impaired due to insulin resistance, fat mass would be smaller in obese subjects. However, most of the studies suggested that insulin resistance is not observed at this step in obese subjects (see following paragraph), although the resistance of insulin to increased glucose oxidation in enlarged adipocytes was clearly shown and is due to a marked decrease in GLUT4 in adipocytes (77, 78).

The antilipolytic effects of insulin on fat cells of different sizes were examined in the 1970s by measuring glycerol release. Basal lipolysis was larger in larger cells (79). The antilipolytic effects of insulin on noradrenalin-stimulated lipolysis were more pronounced in the large cells at all tested concentrations (80, 81). Responsiveness and sensitivity to insulin was not altered in adipose tissues of either control or obese subjects (82). Rather, a marked resistance to the lipolytic effect of noradrenalin was observed in isolated adipocytes from obese subjects (83).

In vivo studies also show that the antilipolytic effect of insulin is not impaired in obese subjects. Both antilipolytic and antiketotic actions occurred at lower insulin concentrations ($<90 \mu\text{U}/\text{mL}$) than those required for hypoglycemic activity ($>1,000 \mu\text{U}/\text{mL}$) (84), suggesting that marked insulin resistance might be required to reduce antilipolytic action in adipose tissues. Decreases in blood FFA and glycerol observed during oral glucose tolerance tests were not impaired in obese subjects (85). Insulin and glucose infusion rapidly produced antilipolysis in obese and normal groups, as evidenced by large falls in FFA at 20 min after insulin infusion, where FFA was 47% of the basal level in the obese subjects and 31% of the basal level in the normal subjects (76).

Triglycerides in tissues are hydrolyzed in a sequential process involving different lipases. Adipose triglyceride lipase (ATGL) and hormone-sensitive lipase (HSL) are necessary for proper hydrolysis of tri- and diglycerides, respectively. The last step in lipolysis is performed by monoglyceride lipase (MGL), which hydrolyzes monoglycerides to form glycerol and fatty acids (86). The activity of ATGL and HSL is tightly regulated by catecholamines and insulin. β -Adrenergic stimulation of the G-protein-coupled receptor activates adenylate cyclase to increase cellular cAMP levels. The antilipolytic action of insulin is mediated by lowering cAMP levels via activation of phosphodiesterase 3B (87). The IRS-1/PI3K/PDE3IK (an insulin-stimulated protein serine

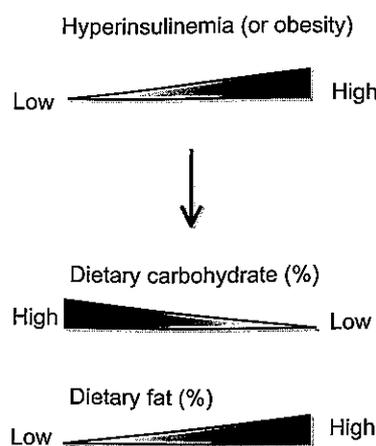


Fig. 4. A proposed model of optimal dietary fat to carbohydrate ratio according to the degree of hyperinsulinemia (or obesity). A key to macronutrient balance in the reduction of body weight is the state of hyperinsulinemia (insulin resistance or obesity); thus, optimal dietary fat to carbohydrate ratios may differ between prevention and treatment of obesity. A mild low-carbohydrate diet (40% carbohydrate) is preferable for obese, hyperinsulinemic, insulin-resistant subjects, whereas a low-fat diet (20–25% fat) is preferable for normal-weight, normoinsulinemic, insulin-sensitive subjects.

kinase) signaling pathway is involved in PDE3B activation (88). cAMP binding to protein kinase A (PKA) induces phosphorylation of HSL and perilipin, a protein coating the lipid droplet. PKA phosphorylation of HSL causes HSL translocation from the cytosol to the lipid droplet, whereas phosphorylation of perilipin by PKA alleviates the barrier function of this protein and promotes lipolysis (89). ATGL is phosphorylated on two conserved serine residues (Ser 404 and 428), although PKA does not phosphorylate ATGL (90). However, insulin treatment downregulates ATGL mRNA levels in adipocytes (91, 92). To my knowledge, it has not been shown that decreases in cAMP concentration or ATGL mRNA in adipocytes in response to insulin are blunted in adipocytes from obese subjects.

Shift from a mild LC diet to a LF diet during obesity treatment (hypothesis)

When a mild LC diet is given to obese subjects, body weights might decrease with improvement in hyperinsulinemia and insulin resistance. Data from the National Weight Control Registry of people who were successful in losing weight and maintaining reduced body weight show that despite wide variation in the methods used to lose body weight, there was remarkable similarity in how they maintained the weight loss, including a diet that was, on average, 24% fat (93). Therefore, fat intake might be gradually decreased with a concomitant increase in carbohydrate intake with improvement in obesity (Fig. 4).

Conclusions

In terms of epidemiological, physiological, and molecular aspects, the optimal dietary fat to carbohydrate ratio varies due to the amount of body fat present and

to hyperinsulinemia (insulin resistance). No evidence was found that the lipogenic effects of insulin were impaired in subjects with insulin resistance. In general, in non-obese subjects, most of whom are insulin sensitive, decreasing fat intake is more effective than decreasing carbohydrates to prevent obesity. However, for obese subjects with insulin resistance, a mild LC diet favors a reduction in body weight. The optimal dietary fat to carbohydrate ratio may differ depending on whether the goal is prevention or treatment of obesity, and public guidelines on macronutrients should either be based on the prevalence of obesity in the target society or individualized.

Acknowledgments

This work was supported by research grants from the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare (Tokyo, Japan).

REFERENCES

- 1) Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. 2002. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999–2000. *JAMA* **288**: 1723–1727.
- 2) Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, Willett WC. 2001. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med* **345**: 790–797.
- 3) Ministry of Health, Labour, and Welfare. 2010. The National Health and Nutrition Survey in Japan, 2007. Tokyo (in Japanese).
- 4) Nagaya T, Yoshida H, Takahashi H, Kawai M. 2005. Increases in body mass index, even within non-obese levels, raise the risk for Type 2 diabetes mellitus: a follow-up study in a Japanese population. *Diabet Med* **22**: 1107–1111.
- 5) Bantle JP, Wylie-Rosett J, Albright AL, Apovian CM, Clark NG, Franz MJ, Hoogwerf BJ, Lichtenstein AH, Mayer-Davis E, Mooradian AD, Wheeler ML. 2006. Nutrition recommendations and interventions for diabetes—2006: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* **29**: 2140–2157.
- 6) Kush LH, Byers T, Doyle C, Bandera EV, McCullough M, McTiernan A, Gansler T, Andrews KS, Thun MJ. 2006. American Cancer Society Guidelines on Nutrition and Physical Activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. *CA Cancer J Clin* **56**: 254–281.
- 7) Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch HA, Franklin B, Kris-Etherton P, Harris WS, Howard B, Karanja N, Lefevre M, Rudel L, Sacks E, Van Horn L, Winston M, Wylie-Rosett J. 2006. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation* **114**: 82–96.
- 8) Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. 2005. Macronutrients and healthful diets. In: *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*, p 769–879. National Academy Press, Washington DC.
- 9) Freedman MR, King J, Kennedy E. 2001. Popular diets: a scientific review. *Obes Res* **9** (Suppl 1): 1S–40S.
- 10) Astrup A, Ryan L, Grunwald GK, Storgaard M, Saris W, Melanson E, Hill JO. 2000. The role of dietary fat in body fatness: evidence from a preliminary meta-analysis of ad libitum low-fat dietary intervention studies. *Br J Nutr* **83** (Suppl 1): S25–32.
- 11) Yu-Poth S, Zhao G, Etherton T, Naglak M, Jonnalagadda S, Kris-Etherton PM. 1999. Effects of the National Cholesterol Education Program's Step I and Step II dietary intervention programs on cardiovascular disease risk factors: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* **69**: 632–646.
- 12) Howard BV, Manson JE, Stefanick ML, Beresford SA, Frank G, Jones B, Rodabough RJ, Snetselaar L, Thomson C, Tinker L, Vitolins M, Prentice R. 2006. Low-fat dietary pattern and weight change over 7 years: the Women's Health Initiative Dietary Modification Trial. *JAMA* **295**: 39–49.
- 13) Pi-Sunyer FX. 1990. Effect of the composition of the diet on energy intake. *Nutr Rev* **48**: 94–105.
- 14) Gershoff SN. 1995. Nutrition evaluation of dietary fat substitutes. *Nutr Rev* **53**: 305–313.
- 15) Donato K, Hegsted DM. 1985. Efficiency of utilization of various sources of energy for growth. *Proc Natl Acad Sci USA* **82**: 4866–4870.
- 16) Astrup A. 1993. Dietary composition, substrate balances and body fat in subjects with a predisposition to obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* **17** (Suppl 3): S32–36.
- 17) Flatt JP. 1995. McCollum Award Lecture, 1995: diet, lifestyle, and weight maintenance. *Am J Clin Nutr* **62**: 820–836.
- 18) Flatt JP, Ravussin E, Acheson KJ, Jequier E. 1985. Effects of dietary fat on postprandial substrate oxidation and on carbohydrate and fat balances. *J Clin Invest* **76**: 1019–1024.
- 19) Dansinger ML, Schaefer EJ. 2006. Low-carbohydrate or low-fat diets for the metabolic syndrome? *Curr Diab Rep* **6**: 55–63.
- 20) de Souza RJ, Swain JE, Appel LJ, Sacks FM. 2008. Alternatives for macronutrient intake and chronic disease: a comparison of the OmniHeart diets with popular diets and with dietary recommendations. *Am J Clin Nutr* **88**: 1–11.
- 21) Hession M, Rolland C, Kulkarni U, Wise A, Broom J. 2009. Systematic review of randomized controlled trials of low-carbohydrate vs. low-fat/low-calorie diets in the management of obesity and its comorbidities. *Obes Rev* **10**: 36–50.
- 22) Nordmann AJ, Nordmann A, Briel M, Keller U, Yancy WS Jr, Brehm BJ, Bucher HC. 2006. Effects of low-carbohydrate vs low-fat diets on weight loss and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* **166**: 285–293.
- 23) Brehm BJ, Seeley RJ, Daniels SR, D'Alessio DA. 2003. A randomized trial comparing a very low carbohydrate diet and a calorie-restricted low fat diet on body weight and cardiovascular risk factors in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab* **88**: 1617–1623.
- 24) Due A, Toubro S, Skov AR, Astrup A. 2004. Effect of normal-fat diets, either medium or high in protein, on body weight in overweight subjects: a randomised 1-year trial. *Int J Obes Relat Metab Disord* **28**: 1283–1290.
- 25) Foster GD, Wyatt HR, Hill JO, McGuckin BG, Brill C, Mohammed BS, Szapary PO, Rader DJ, Edman JS, Klein S. 2003. A randomized trial of a low-carbohydrate diet for obesity. *N Engl J Med* **348**: 2082–2090.
- 26) Samaha FF, Iqbal N, Seshadri P, Chicano KL, Daily DA, McGrory J, Williams T, Williams M, Gracely EJ, Stern L.

2003. A low-carbohydrate as compared with a low-fat diet in severe obesity. *N Engl J Med* **348**: 2074–2081.
- 27) Seshadri P, Iqbal, N, Stern L, Williams M, Chicano KL, Daily DA, McGrory J, Gracely EJ, Rader DJ, Samaha FF. 2004. A randomized study comparing the effects of a low-carbohydrate diet and a conventional diet on lipoprotein subfractions and C-reactive protein levels in patients with severe obesity. *Am J Med* **117**: 398–405.
- 28) Yancy WS Jr, Olsen MK, Guyton JR, Bakst RP, Westman BC. 2004. A low-carbohydrate, ketogenic diet versus a low-fat diet to treat obesity and hyperlipidemia: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* **140**: 769–777.
- 29) Brinkworth GD, Noakes M, Keogh JB, Luscombe ND, Wittert GA, Clifton PM. 2004. Long-term effects of a high-protein, low-carbohydrate diet on weight control and cardiovascular risk markers in obese hyperinsulinemic subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* **28**: 661–670.
- 30) Dansinger ML, Gleason JA, Griffith JL, Selker HP, Schaefer EJ. 2005. Comparison of the Atkins, Ornish, Weight Watchers, and Zone diets for weight loss and heart disease risk reduction: a randomized trial. *JAMA* **293**: 43–53.
- 31) Truby H, Baic S, deLooy A, Fox KR, Livingstone MB, Logan CM, Macdonald IA, Morgan LM, Taylor MA, Millward DJ. 2006. Randomised controlled trial of four commercial weight loss programmes in the UK: initial findings from the BBC “diet trials.” *BMJ* **332**: 1309–1314.
- 32) Larosa JC, Fry AG, Muesing R, Rosing DR. 1980. Effects of high-protein, low-carbohydrate dieting on plasma lipoproteins and body weight. *J Am Diet Assoc* **77**: 264–270.
- 33) Varady KA, Bhutani S, Klempel MC, Phillips SA. 2011. Improvements in vascular health by a low-fat diet, but not a high-fat diet, are mediated by changes in adipocyte biology. *Nutr J* **10**: 18.
- 34) Wycherley TP, Brinkworth GD, Keogh JB, Noakes M, Buckley JD, Clifton PM. 2010. Long-term effects of weight loss with a very low carbohydrate and low fat diet on vascular function in overweight and obese patients. *J Intern Med* **267**: 452–461.
- 35) Bradley U, Spence M, Courtney CH, McKinley MC, Ennis CN, McCance DR, McEneny J, Bell PM, Young IS, Hunter SJ. 2009. Low-fat versus low-carbohydrate weight reduction diets: effects on weight loss, insulin resistance, and cardiovascular risk: a randomized control trial. *Diabetes* **58**: 2741–2748.
- 36) Thomas DE, Elliott EJ, Baur L. 2007. Low glycaemic index or low glycaemic load diets for overweight and obesity. *Cochrane Database Syst Rev* **18**: CD005105.
- 37) Bouche C, Rizkalla SW, Luo J, Vidal H, Veronese A, Pacher N, Fouquet C, Lang V, Slama G. 2002. Five-week, low-glycemic index diet decreases total fat mass and improves plasma lipid profile in moderately overweight nondiabetic men. *Diabetes Care* **25**: 822–828.
- 38) McMillan-Price J, Petocz P, Atkinson F, O’Neill K, Samaan S, Steinbeck K, Caterson I, Brand-Miller J. 2006. Comparison of 4 diets of varying glycemic load on weight loss and cardiovascular risk reduction in overweight and obese young adults: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* **166**: 1466–1475.
- 39) Slabber M, Barnard HC, Kuyil JM, Dannhauser A, Schall R. 1994. Effects of a low-insulin-response, energy-restricted diet on weight loss and plasma insulin concentrations in hyperinsulinemic obese females. *Am J Clin Nutr* **60**: 48–53.
- 40) Sloth B, Krog-Mikkelsen I, Flint A, Tetens I, Bjorck I, Vinoy S, Elmstahl H, Astrup A, Lang V, Raben A. 2004. No difference in body weight decrease between a low-glycemic-index and a high-glycemic-index diet but reduced LDL cholesterol after 10-wk ad libitum intake of the low-glycemic-index diet. *Am J Clin Nutr* **80**: 337–347.
- 41) Ebbeling CB, Leidig MM, Sinclair KB, Seger-Shippe LG, Feldman HA, Ludwig DS. 2005. Effects of an ad libitum low-glycemic load diet on cardiovascular disease risk factors in obese young adults. *Am J Clin Nutr* **81**: 976–982.
- 42) Ebbeling CB, Leidig MM, Sinclair KB, Hangen JP, Ludwig DS. 2003. A reduced-glycemic load diet in the treatment of adolescent obesity. *Arch Pediatr Adolesc Med* **157**: 773–779.
- 43) Das SK, Gilhooly CH, Golden JK, Pittas AG, Fuss PJ, Cheatham RA, Tyler S, Tsay M, McCrory MA, Lichtenstein AH, Dallal GE, Dutta C, Bhapkar MV, Delany JP, Saltzman E, Roberts SB. 2007. Long-term effects of 2 energy-restricted diets differing in glycemic load on dietary adherence, body composition, and metabolism in CALERIE: a 1-y randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* **85**: 1023–1030.
- 44) Sacks FM, Bray GA, Carey VJ, Smith SR, Ryan DH, Anton SD, McManus K, Champagne CM, Bishop LM, Laranjo N, Leboff MS, Rood JC, de Jonge L, Greenway FL, Loria CM, Obarzanek E, Williamson DA. 2009. Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *N Engl J Med* **360**: 859–873.
- 45) Cornier MA, Donahoo WT, Pereira R, Gurevich I, Westergren R, Enerback S, Eckel PJ, Goalstone ML, Hill JO, Eckel RH, Draznin B. 2005. Insulin sensitivity determines the effectiveness of dietary macronutrient composition on weight loss in obese women. *Obes Res* **13**: 703–709.
- 46) Pittas AG, Das SK, Hajduk CL, Golden J, Saltzman E, Stark PC, Greenberg AS, Roberts SB. 2005. A low-glycemic load diet facilitates greater weight loss in overweight adults with high insulin secretion but not in overweight adults with low insulin secretion in the CALERIE Trial. *Diabetes Care* **28**: 2939–2941.
- 47) Ebbeling CB, Leidig MM, Feldman HA, Lovesky MM, Ludwig DS. 2007. Effects of a low-glycemic load vs low-fat diet in obese young adults: a randomized trial. *JAMA* **297**: 2092–2102.
- 48) DeFronzo RA, Ferrannini E. 1991. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* **14**: 173–194.
- 49) Klemsdal TO, Holme I, Nerland H, Pedersen TR, Tonstad S. 2010. Effects of a low glycemic load diet versus a low-fat diet in subjects with and without the metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **20**: 195–201.
- 50) Brochu M, Tchernof A, Dionne IJ, Sites CK, Eltabbakh GH, Sims EA, Poehlman ET. 2001. What are the physical characteristics associated with a normal metabolic profile despite a high level of obesity in postmenopausal women? *J Clin Endocrinol Metab* **86**: 1020–1025.
- 51) Ferrannini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N, Mingrone G. 1997. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for the Study of Insulin

- Resistance (EGIR). *J Clin Invest* **100**: 1166–1173.
- 52) Diamond MP, Thornton K, Connolly-Diamond M, Sherwin RS, DeFronzo RA. 1995. Reciprocal variations in insulin-stimulated glucose uptake and pancreatic insulin secretion in women with normal glucose tolerance. *J Soc Gynecol Investig* **2**: 708–715.
 - 53) DeFronzo RA. 2009. Banting Lecture. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes* **58**: 773–795.
 - 54) Brand-Miller JC, Thomas M, Swan V, Ahmad ZI, Petocz P, Colagiuri S. 2003. Physiological validation of the concept of glycemic load in lean young adults. *J Nutr* **133**: 2728–2732.
 - 55) Perley MJ, Kipnis DM. 1967. Plasma insulin responses to oral and intravenous glucose: studies in normal and diabetic subjects. *J Clin Invest* **46**: 1954–1962.
 - 56) Le Stunff C, Bougneres P. 1994. Early changes in postprandial insulin secretion, not in insulin sensitivity, characterize juvenile obesity. *Diabetes* **43**: 696–702.
 - 57) Brand-Miller JC, Holt SH, Pawlak DB, McMillan J. 2002. Glycemic index and obesity. *Am J Clin Nutr* **76**: 281S–285S.
 - 58) Duez H, Pavlic M, Lewis GF. 2008. Mechanism of intestinal lipoprotein overproduction in insulin resistant humans. *Atheroscler Suppl* **9**: 33–38.
 - 59) Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. 2002. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* **109**: 1125–1131.
 - 60) Shimomura I, Matsuda M, Hammer RE, Bashmakov Y, Brown MS, Goldstein JL. 2000. Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice. *Mol Cell* **6**: 77–86.
 - 61) Kubota N, Kubota T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Mineyama T, Ogata H, Tokuyama K, Ohsugi M, Sasako T, Moroi M, Sugi K, Kakuta S, Iwakura Y, Noda T, Ohnishi S, Nagai R, Tobe K, Terauchi Y, Ueki K, Kadowaki T. 2008. Dynamic functional relay between insulin receptor substrate 1 and 2 in hepatic insulin signaling during fasting and feeding. *Cell Metab* **8**: 49–64.
 - 62) Guo S, Capps KD, Dong X, Park S, Cheng Z, Poci A, Rossetti L, Sajan M, Farese RV, White ME. 2009. The Irs1 branch of the insulin signaling cascade plays a dominant role in hepatic nutrient homeostasis. *Mol Cell Biol* **29**: 5070–5083.
 - 63) Biddinger SB, Hernandez-Ono A, Rask-Madsen C, Haas JT, Aleman JO, Suzuki R, Scapa EE, Agarwal C, Carey MC, Stephanopoulos G, Cohen DE, King GL, Ginsberg HN, Kahn CR. 2008. Hepatic insulin resistance is sufficient to produce dyslipidemia and susceptibility to atherosclerosis. *Cell Metab* **7**: 125–134.
 - 64) Brown MS, Goldstein JL. 2008. Selective versus total insulin resistance: a pathogenic paradox. *Cell Metab* **7**: 95–96.
 - 65) Li S, Brown MS, Goldstein JL. 2010. Bifurcation of insulin signaling pathway in rat liver: mTORC1 required for stimulation of lipogenesis, but not inhibition of gluconeogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**: 3441–3446.
 - 66) Petersen KF, Dufour S, Savage DB, Bilz S, Solomon G, Yonemitsu S, Cline GW, Befroy D, Zeman L, Kahn BB, Papademetris X, Rothman DL, Shulman GI. 2007. The role of skeletal muscle insulin resistance in the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**: 12587–12594.
 - 67) Yamazaki T, Sasaki E, Kakinuma C, Yano T, Miura S, Ezaki O. 2005. Increased very low density lipoprotein secretion and gonadal fat mass in mice overexpressing liver DGAT1. *J Biol Chem* **280**: 21506–21514.
 - 68) Goldberg IJ. 1996. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res* **37**: 693–707.
 - 69) Bickerton AS, Roberts R, Fielding BA, Hodson L, Blaak EE, Wagenmakers AJ, Gilbert M, Karpe F, Frayn KN. 2007. Preferential uptake of dietary fatty acids in adipose tissue and muscle in the postprandial period. *Diabetes* **56**: 168–176.
 - 70) Lichtenstein L, Kersten S. 2010. Modulation of plasma TG lipolysis by angiopoietin-like proteins and GPIIIBP1. *Biochim Biophys Acta* **1801**: 415–420.
 - 71) Wang H, Eckel RH. 2009. Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **297**: E271–288.
 - 72) Bergo M, Olivecrona G, Olivecrona T. 1996. Forms of lipoprotein lipase in rat tissues: in adipose tissue the proportion of inactive lipase increases on fasting. *Biochem J* **313** (Pt 3): 893–898.
 - 73) Ong JM, Kern PA. 1989. The role of glucose and glycosylation in the regulation of lipoprotein lipase synthesis and secretion in rat adipocytes. *J Biol Chem* **264**: 3177–3182.
 - 74) Farese RV Jr, Yost TJ, Eckel RH. 1991. Tissue-specific regulation of lipoprotein lipase activity by insulin/glucose in normal-weight humans. *Metabolism* **40**: 214–216.
 - 75) Yost TJ, Jensen DR, Haugen BR, Eckel RH. 1998. Effect of dietary macronutrient composition on tissue-specific lipoprotein lipase activity and insulin action in normal-weight subjects. *Am J Clin Nutr* **68**: 296–302.
 - 76) Sadur CN, Yost TJ, Eckel RH. 1984. Insulin responsiveness of adipose tissue lipoprotein lipase is delayed but preserved in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* **59**: 1176–1182.
 - 77) Ezaki O, Fukuda N, Itakura H. 1990. Role of two types of glucose transporters in enlarged adipocytes from aged obese rats. *Diabetes* **39**: 1543–1549.
 - 78) Ezaki O, Tsuji E, Momomura K, Kasuga M, Itakura H. 1992. Effects of fish and safflower oil feeding on subcellular glucose transporter distributions in rat adipocytes. *Am J Physiol* **263**: E94–101.
 - 79) Jacobsson B, Smith U. 1972. Effect of cell size on lipolysis and antilipolytic action of insulin in human fat cells. *J Lipid Res* **13**: 651–656.
 - 80) Jacobsson B, Holm G, Bjorntorp P, Smith U. 1976. Influence of cell size on the effects of insulin and noradrenaline on human adipose tissue. *Diabetologia* **12**: 69–72.
 - 81) Ostman J, Backman L, Hallberg D. 1975. Cell size and the antilipolytic effect of insulin in human subcutaneous adipose tissue. *Diabetologia* **11**: 159–164.
 - 82) Arner P, Bolinder J, Engfeldt P, Ostman J. 1981. The antilipolytic effect of insulin in human adipose tissue in obesity, diabetes mellitus, hyperinsulinemia, and starvation. *Metabolism* **30**: 753–760.
 - 83) Reynisdottir S, Ellerfeldt K, Wahrenberg H, Lithell H, Arner P. 1994. Multiple lipolysis defects in the insulin resistance (metabolic) syndrome. *J Clin Invest* **93**: 2590–2599.
 - 84) Schade DS, Eaton RP. 1977. Dose response to insulin in man: differential effects on glucose and ketone body

- regulation. *J Clin Endocrinol Metab* **44**: 1038–1053.
- 85) Howard BV, Savage PJ, Nagulesparan M, Bennion LJ, Unger RH, Bennett PH. 1979. Evidence for marked sensitivity to the antilipolytic action of insulin in obese maturity-onset diabetics. *Metabolism* **28**: 744–750.
- 86) Zimmermann R, Lass A, Haemmerle G, Zechner R. 2009. Fate of fat: the role of adipose triglyceride lipase in lipolysis. *Biochim Biophys Acta* **1791**: 494–500.
- 87) Shakur Y, Holst LS, Landstrom TR, Movsesian M, Degerman E, Manganiello V. 2001. Regulation and function of the cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE3) gene family. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* **66**: 241–277.
- 88) Degerman E, Belfrage P, Manganiello VC. 1997. Structure, localization, and regulation of cGMP-inhibited phosphodiesterase (PDE3). *J Biol Chem* **272**: 6823–6826.
- 89) Holm C. 2003. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Biochem Soc Trans* **31**: 1120–1124.
- 90) Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-Gruenberger R, Riederer M, Lass A, Neuberger G, Eisenhaber F, Hermetter A, Zechner R. 2004. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science* **306**: 1383–1386.
- 91) Kim JY, Tillison K, Lee JH, Rearick DA, Smas CM. 2006. The adipose tissue triglyceride lipase ATGL/PNPLA2 is downregulated by insulin and TNF-alpha in 3T3-L1 adipocytes and is a target for transactivation by PPARgamma. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **291**: E115–127.
- 92) Kralisch S, Klein J, Lossner U, Bluher M, Paschke R, Stumvoll M, Fasshauer M. 2005. Isoproterenol, TNF-alpha, and insulin downregulate adipose triglyceride lipase in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Endocrinol* **240**: 43–49.
- 93) Klem ML, Wing RR, McGuire MT, Seagle HM, Hill JO. 1997. A descriptive study of individuals successful at long-term maintenance of substantial weight loss. *Am J Clin Nutr* **66**: 239–246.

たんぱく質・アミノ酸の必要量に関する研究

木戸 康博

京都府立大学大学院生命環境科学研究科応用生命科学専攻栄養科学研究室

摂取エネルギーは十分であっても、摂取たんぱく質が不足した時にクワシオコールが発症し、感染症などを併発しやすい。たんぱく質必要量は、身体の構造と機能を正常に維持するために必要な摂取量（代謝要求量）であり、食事たんぱく質必要量は、それらの要求量を満たす量である。たんぱく質必要量は、窒素出納法によって決定されてきた。しかし、窒素出納法にはその方法上様々な問題がある。指標アミノ酸酸化（IAAO）法は、窒素出納法とは原理が大きく異なり、窒素出納法の代替法として動物とヒトにおいて開発された。私たちは、指標アミノ酸酸化法を用いてラットと健康成人男性の食事たんぱく質必要量とたんぱく質の質を再評価した。その結果、指標アミノ酸酸化法は全てのライフステージ（幼児、小児、学童、成人、高齢者）の食事たんぱく質必要量の評価だけでなく、代謝要求量が大きく変化している術後、傷害、感染症などいろいろな病態時の食事たんぱく質必要量の推定、また、たんぱく質の質の評価にも利用できることがわかった。

栄養学雑誌, Vol.69 No.6 285-293 (2011)

キーワード: たんぱく質・アミノ酸, たんぱく質必要量, 代謝要求量, 窒素出納法, 指標アミノ酸酸化法

はじめに

たんぱく質必要量に関する議論は1955年に「タンパク質必要量に関するFAO委員会」¹⁾で行われた。このFAO委員会¹⁾では、人の不可欠アミノ酸必要量パターンを重視し、これと同じ理想的なアミノ酸組成を持つたんぱく質（比較基準たんぱく質）の必要量が決められた。

1963年の「タンパク質必要量に関するFAO/WHO合同専門グループ」²⁾では、たんぱく質必要量は無たんぱく質食摂取時に身体から失われる不可避窒素損失量によって規定されるという新しい概念が導入された。

1971年の「エネルギーとタンパク質の必要量に関するFAO/WHO合同特別専門家委員会」³⁾では、エネルギーとたんぱく質が初めて一緒に検討された。この特別専門家委員会では、生物価の高いたんぱく質であっても、窒素平衡維持のための最小必要量は、不可避窒素損失量よりも大きいとした。また、集団に対する必要量を決定する場合、エネルギーとたんぱく質とでは考え方が異なることも明確にした。

1981年の「エネルギーとタンパク質必要量に関する協議会」⁴⁾では、個人のたんぱく質必要量を最適レベルの身体活動を行ってエネルギー平衡を維持している人の、身体から失われる窒素と等しい最小の食事たんぱく質摂取量と定義された。子どもや妊婦、授乳婦では、良好な健康状態を維持しながら、組織の増殖肥大、あるいは乳汁分泌に必要なたんぱく質も含まれる。すべての必要量の算定値は、適当な期間続けて求められた要求量を参考に

決められた。このような期間の摂取量は、ある特定の1日の摂取量と区別するために、「習慣的」あるいは「日常の摂取量」といえる。習慣的摂取量を「1日当りの摂取量」で表しているが、これらの量が毎日摂取しなければならない量であることを意味しているわけではない。

2002年の「タンパク質とアミノ酸の必要量に関するWHO/FAO/UNU合同専門家協議会」⁵⁾では、成人のアミノ酸必要量の算定根拠が窒素出納法の成績から¹³C-指標アミノ酸を用いたトレーサー実験に変わった。たんぱく質必要量については、引き続き窒素出納法の成績が用いられたが、皮膚などからの損失は1981年の8 mgN/kg/日より低い5 mgN/kg/日の値が採用され、安全摂取量が0.75から0.83 g/kg/日に改定された。

このように、たんぱく質とアミノ酸の必要量に関する研究は、確実に進歩してきた。しかし、窒素出納法と¹³C-指標アミノ酸を用いたトレーサー実験の結果の解釈等、議論を必要とする課題は山積している。本稿では、私たちの最新のデータを示すとともにたんぱく質とアミノ酸の必要量の考え方について概説する。

I. たんぱく質欠乏症

たんぱく質欠乏症は、イギリス領黄金海岸（現ガーナ共和国）で1933年にCicely D. Williams⁶⁾によって最初に報告され、クワシオコール（kwashiorkor）と命名された。クワシオコールの主原因は、エネルギーは足りているがたんぱく質が不足することである。浮腫、毛髪の変

本論文は、平成23年度（第58回日本栄養改善学会学術総会）学会賞受賞対象論文である。

連絡先：木戸康博 〒606-8522 京都府京都市左京区下鴨半木町1-5 京都府立大学大学院生命環境科学研究科
電話・FAX 075-703-5402 E-mail kido@kpu.ac.jp

色、ペラグラ様皮疹、下痢、低たんぱく質血症、発育障害などが特徴である。1990年から1年間、国際協力事業団（現国際協力機構）の専門家として、ガーナ共和国ガーナ大学医学部野口記念医学研究所で、現地の乳幼児の栄養調査と栄養改善プログラムの開発に関わることができた。この時はじめて、途上国における栄養問題の重要性を実際に感じる事ができた。現地では、ガーナ共和国保健省、WHO、UNICEFなど関係組織とともに2回のセミナーを開催した⁷⁻⁹⁾。

II. たんぱく質必要量の考え方

食事中的たんぱく質必要量とは、生体が必要とする量、すなわち代謝要求量を満たすために必要な摂取量である（図1）。代謝要求量は、アミノ酸を消費する代謝経路を維持するために必要な量と成長、妊娠、授乳など特別な必要量の和として求めることができる。維持必要量とは、アミノ酸を消費し、尿、糞便、皮膚、毛髪、分泌物など生体から排泄される全ての損失を補完できる量をいう。

たんぱく質の必要量がエネルギー摂取量に大きく影響を受けるにもかかわらず、健康づくりのための運動基準相当の運動を行った時のたんぱく質必要量については全く検討されていなかった。そこで、厚生省（現厚生労働省）の健康づくりのための運動所要量（現健康づくりのための運動基準2006）に相当する運動施行時にたんぱく質必要量が変動するかを検討した結果、運動所要量に相当する運動を行ってもたんぱく質必要量を増加させる必要がないことを明らかにした^{10,11)}。窒素出納法を用いた

この研究では、尿、糞便、だけでなく皮膚など生体から排泄される窒素損失量を測定した。表1に示したように、皮膚などから排泄される窒素を測定していれば、「健康づくりのための運動（200～400 kcal/日のエネルギー消費）をしても摂取するたんぱく質を増やす必要はない」と結論できる。しかし、皮膚などから排泄される窒素を測定しないと、「健康づくりのための運動（200～400 kcal/日のエネルギー消費）を実施すると、摂取するたんぱく質を増やさなくても体たんぱく質の蓄積が増加する」という結論になる。すなわち、窒素出納試験を用いてたんぱく質代謝を評価するためには、尿、糞便、皮膚、毛髪、分泌物など生体から排泄される全ての損失を測定しなければならない。実際に、尿、糞便、皮膚、毛髪、分泌物など生体から排泄される全ての損失を測定することは非常に困難である。

食事たんぱく質必要量とは、代謝要求量を満たし、窒素平衡を維持するために食事として摂取すべきたんぱく質またはその成分であるアミノ酸、またはその両者である。したがって、食事たんぱく質必要量は次式で示すことができる。

$$\text{食事たんぱく質必要量} = \text{代謝要求量} \div \text{利用効率}$$

食事からの窒素摂取量がゼロで、エネルギーとその他の栄養素が十分量摂取されている場合に、尿中に排泄される窒素量は徐々に減少し、一定の値となる。尿中に排泄される窒素量が一定となるためには5～7日間を要することが報告されている（図2）¹²⁾。すなわち、食事からのたんぱく質摂取量を変化させた時には、少なくとも7日間の適応期間を要し、このようにして得られた窒素平

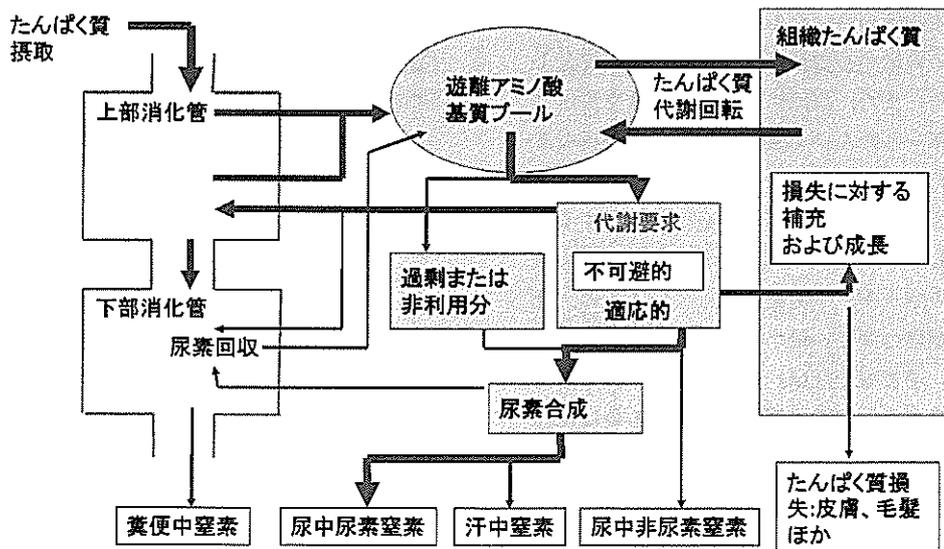


図1 アミノ酸の代謝要求の概略図

成人の不可欠アミノ酸必要量は、窒素平衡をもたらすために必要なアミノ酸摂取量として測定される。

表1 1.08 g/kg/日のたんぱく質摂取量時の窒素出納値に及ぼす運動 (400 kcal/日) の影響¹⁰⁾

Subjects	Non-exercise period						Exercise period					
	IN	FN	TD	DN	UN	NB	IN	FN	TD	DN	UN	NB
L	181.9	15.5	98.3	7.6	150.6	8.1	181.0	15.5	98.3	17.6	149.3	-1.4
M	177.2	19.4	96.0	3.5	124.8	29.5	177.8	16.1	97.9	9.7	123.5	28.5
N	181.9	12.6	99.9	10.3	145.9	13.1	180.0	17.5	97.2	18.4	134.0	10.0
O	179.0	16.8	97.6	8.2	147.9	6.1	179.2	17.8	97.0	9.8	145.5	6.1
P	177.7	20.7	95.3	8.4	152.0	-3.4	178.3	24.0	93.5	9.5	136.8	8.0
Q	180.5	17.7	97.1	5.6	142.2	15.0	179.2	16.8	97.6	7.4	135.6	19.5
Mean	179.7	17.1	97.4	7.3	143.9	11.4	179.3	18.0	96.9	12.1*	137.5*	11.8
SD	2.0	2.9	1.6	2.4	10.0	11.0	1.2	3.1	1.7	4.7	9.1	10.6

(p<0.05 vs non-exercise period)



摂取たんぱく質量：1.08 g/kg/日
 エネルギー摂取量：42.8~43.8 kcal/kg/日
 代謝性糞中排泄量：12.4 mgN/kg/日
 運動強度：65% VO₂max
 運動によるエネルギー消費量：400 kcal/日

略語：IN, 摂取窒素；FN, 糞中窒素；TD, 真の吸収率；DN, 経皮窒素；UN, 尿中窒素；NB, 窒素出納値

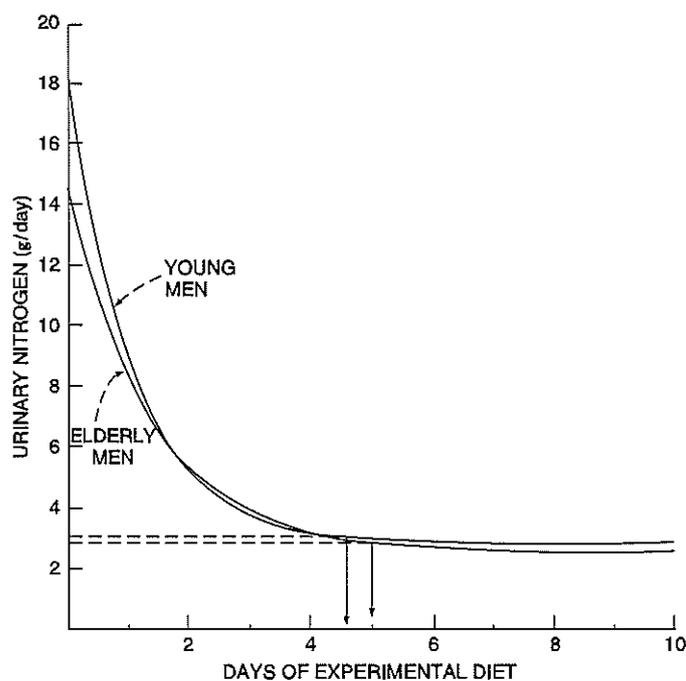


図2 無たんぱく質摂取後の尿中窒素排泄量の変化

(J Nutr; 108, 97 (1978) を改変)

維持に必要な食事からのたんぱく質摂取量は、最小たんぱく質必要量と定義できる。

私たちは、たんぱく質代謝には、適応現象が存在することに着目した。習慣的なたんぱく質摂取状態に適応しており、低たんぱく質代謝適応が成立していない状態(たんぱく質摂取レベルを変更した実験日)で、たんぱく質代謝を推定できる指標アミノ酸酸化(indicator amino acid oxidation: IAAO)法を用いることにより、習慣的な

たんぱく質摂取状態でのたんぱく質代謝要求量の推定を試みた。たんぱく質の摂取量を習慣的な摂取量より少ない摂取量に変化させた時に、その少ない摂取たんぱく質量でのたんぱく質代謝状態を反映する期間は、少なくとも7日間を要する(図3)。つまり、一過性のたんぱく質代謝応答は、その時の習慣的なたんぱく質摂取時の代謝を反映していることを意味する。習慣的に十分量のたんぱく質を摂取している時に、生体内で合成されるたん

ばく質と分解されるたんぱく質はほぼ一定であり、たんぱく質代謝回転が定常状態であると考えられる。この時たんぱく質合成に必要なアミノ酸は、体内の遊離アミノ酸プールから供給される。この遊離アミノ酸プールのアミノ酸の供給源は、食事、体たんぱく質の分解、および体内合成である（図4）。

たんぱく質必要量とたんぱく質代謝要求量は、その意味するところが異なる。窒素出納法で求めるたんぱく質必要量は、低たんぱく質栄養状態に適応した状態での最小たんぱく質摂取量を意味する。この最小たんぱく質必要量を下回る摂取量が続けると、たんぱく質欠乏症が発症すると考えられる。一方、IAAO法で求めるたんぱく質代謝要求量は、その時の習慣的なたんぱく質摂取時の代謝を維持するために必要なたんぱく質摂取量を意味する。このたんぱく質代謝要求量を下回る摂取量が続いてもたんぱく質欠乏症が発症することはなく、その時のたんぱく質摂取量でのたんぱく質代謝に適応していくと考えられる。

たんぱく質摂取量を窒素出納法で求めたたんぱく質必要量に適応させた時のたんぱく質代謝要求量は、たんぱ

く質必要量と一致すると考えられる。すなわち、窒素出納法で求めた最小たんぱく質必要量にたんぱく質代謝が適応すると、体内の遊離アミノ酸プールもその時のたんぱく質代謝に見合ったサイズになると推定される。このため、この低たんぱく質状態に適応したたんぱく質代謝を維持するために必要なたんぱく質代謝要求量は、最小たんぱく質必要量と一致すると考えられる。

III. 指標アミノ酸酸化 (IAAO) 法の原理

IAAO法の理論は、食事に含まれているあるアミノ酸がたんぱく質代謝要求量以下であれば（すなわち、制限アミノ酸）、他のすべての不可欠アミノ酸（ ^{13}C -標識アミノ酸を含む）はたんぱく質合成には利用することができず、この余分の不可欠アミノ酸は酸化されて、不可逆的に重炭酸塩プールに遊離され、呼気中に排泄される、というものである。例えば、図5に示したように、遊離アミノ酸プール中の制限アミノ酸（ここではリシン）がたんぱく質要求量よりも少ないと、たんぱく質合成量は低下し、余った指標アミノ酸（ここでは $[1-^{13}\text{C}]$ フェニルアラニン (^{13}C -Phe)）の酸化量が増加し、その炭素骨格は $^{13}\text{CO}_2$ として排泄される。この $^{13}\text{CO}_2$ 排泄量は、摂取するたんぱく質量が増加し、遊離アミノ酸プール中の制限アミノ酸（ここではリシン）がたんぱく質要求量たんぱく質要求量と等しくなるまで減少する。制限アミノ酸（ここではリシン）が合成すべきたんぱく質に必要な量以上に供給されると、たんぱく質をそれ以上合成する必要がないので、指標アミノ酸由来の呼気 $^{13}\text{CO}_2$ 排泄量は一定となる（図6）。この屈曲点が食事たんぱく質必要量と考えられる。この条件を満たすためには、指標アミノ酸として ^{13}C -Phe を利用する場合に、組織や血液中の ^{13}C -Phe と ^{12}C -Phe 濃度の割合と量が一定であることが必要である。

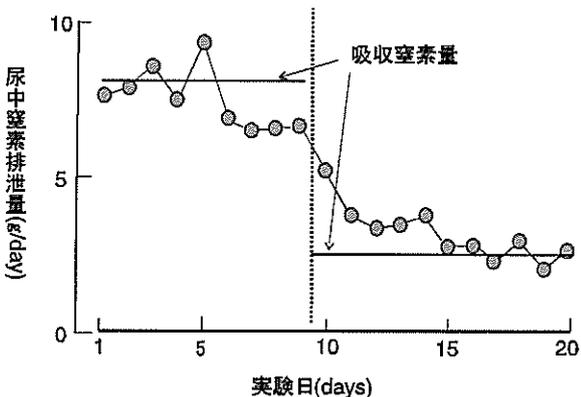


図3 たんぱく質の摂取量を変化させた時の尿中窒素排泄量の変化

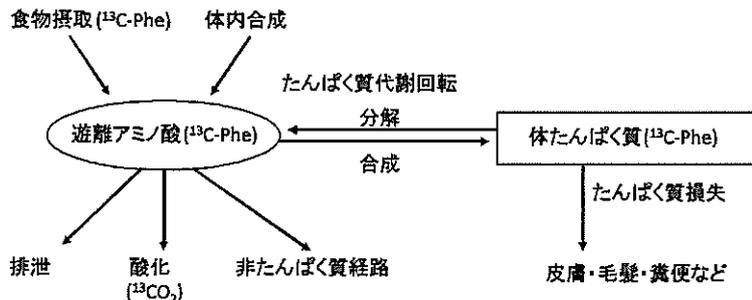


図4 たんぱく質必要量の考え方

成人のたんぱく質必要量は、体外に失われる窒素量を補い、体たんぱく質量を維持するために必要な食事たんぱく質の最小摂取量である。

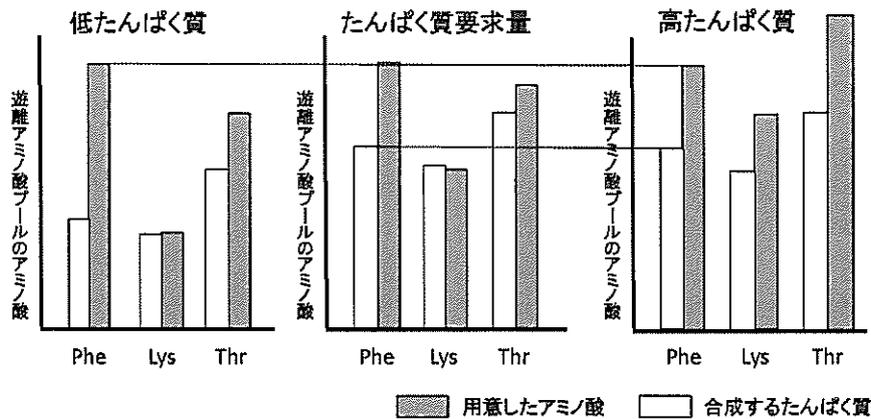


図5 指標アミノ酸酸化法の原理

リシンが第一制限アミノ酸と仮定すると、合成するたんぱく質よりも用意したアミノ酸の量が少ない状態（低たんぱく質）では、合成すべきたんぱく質に必要なリシン量が供給されないため、たんぱく質合成量は低下し、他の余った指標アミノ酸は分解され、その炭素骨格は呼気CO₂として排出される。しかし、合成すべきたんぱく質に必要な量以上にリシンが供給される（高たんぱく質）と、たんぱく質はそれ以上合成する必要がないので、指標アミノ酸由来の呼気CO₂の排泄量は一定となる。

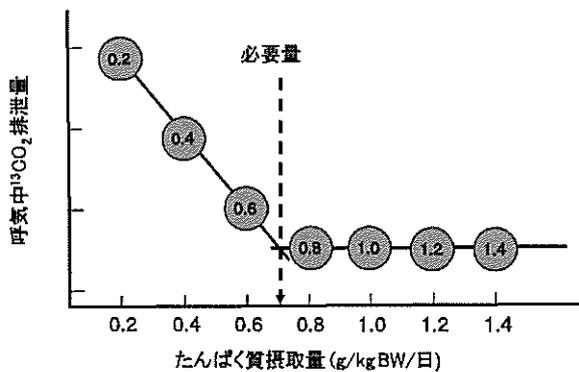


図6 指標アミノ酸酸化法 (IAAO 法)

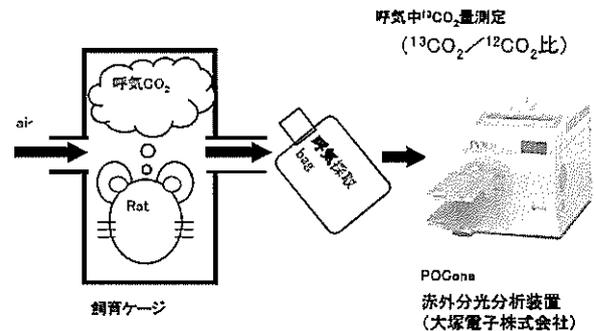


図7 呼気の採取と呼気分析の方法

IV. たんぱく質代謝研究における IAAO 法の利点

たんぱく質代謝研究における IAAO 法の利点は次の3つが考えられる。

第1に、トレーサーが試験たんぱく質とは別なので、栄養学的にかなりの量のトレーサーを与えても問題がないことである。指標アミノ酸の摂取量は一定に保たれているので、試験たんぱく質よりも指標アミノ酸のほうが濃度の変化が小さい。指標アミノ酸としては、¹³C-Phe が最も高い頻度で利用されてきた。今後、様々なアミノ酸を指標アミノ酸として利用し、たんぱく質代謝に用いる指標アミノ酸としての評価も必要である。

第2に、出納試験を必要とせず、異なるたんぱく質摂取レベルに対して事前に実験食に適應させる必要がないことである。習慣的な食生活の条件でたんぱく質代謝要

求量を求めることが可能である。個々人に見合ったたんぱく質代謝要求量が算出でき、体調や生活スタイルが変化すれば、その都度、最適なたんぱく質代謝要求量を算出することができる。また IAAO 法は、成人だけでなく成長期から高齢者まで同じ方法でたんぱく質代謝要求量を再評価できると考えられる。

第3に、アミノ酸酸化測定の精度や正確さについて高いレベルが要求されないことである。屈曲点は、試験たんぱく質摂取量が十分であることの上の指標であり、それは指標物質の酸化率が正確に測定されているか否かに依存しない。私たちは、一定速度で空気を送り込んでいる飼育ケージにラットを入れ、飼育ケージ内の気体を呼気採取バッグに採取し、赤外分光分析装置（大塚電子株式会社）を用いて、呼気¹³CO₂量を¹²Cとの割合として測定している（図7）。

V. ラットにおける IAAO 法によるたんばく質代謝要求量の測定¹³⁾

実験食のたんばく質源としてカゼインと小麦グルテンを用い、IAAO 法によるたんばく質代謝要求量について、実験食のたんばく質源により違いが見られるかを検討した。ラットは、小麦グルテンを実験食として用いる場合も含めたすべての実験について、実験前24時間以上、20%カゼイン食を自由摂取とした。実験日、ラットは、6段階のカゼインを含む実験食 (4.3, 8.6, 12.9, 17.2, 21.5, 25.8%カゼイン食)、または、6段階の小麦グルテンを含む実験食 (7.2, 10.8, 14.4, 18.0, 21.6, 25.2%小麦グルテン食) のうち一つを09:00から18:00まで3時間ごとに4回摂取した。1回の給餌量はラットの1日摂食量の1/8量ずつとした。¹³C 標識物質投与は3回目の給餌時の15:00 (NaH¹³CO₃, 0.88 mg/kg BW; NaHCO₃, 7.92 mg/kg BW; ¹³C-Phe, 3.3 mg/kg BW; Phe, 29.7 mg/kg BW) に開始し、16:00, 17:00, 18:00 (¹³C-Phe, 6.0 mg/kg BW; Phe, 54.0 mg/kg BW) まで続けた。¹³C 標識物質経口投与後ただちにラットをチャンバーに入れた。15:00から19:00まで30分ごとに、チャンバー内の気体を呼気サンプルとして呼気採取バッグに採取し、赤外分光分析装置 (POCone; 大塚電子株式会社) により呼気中 ¹³CO₂ 量を測定した。

たんばく質含量が6段階のカゼイン食を実験食とする実験 (n=8) と小麦グルテン食を実験食とする実験 (n=8) それぞれ6回の IAAO 法は、実施日は2日間間隔と

し、2週間以内に完了した。実験食の組成を表2に示した。

IAAO 法においては、低たんばく質食から十分なたんばく質食に食事内容を変化させても、食事時の ¹³C-Phe と ¹²C-Phe の量および [1-¹²C] チロシン (¹²C-Tyr) の量を一定に保つ必要がある。このように調整された食事を摂取した時に、組織や血漿中の ¹³C-Phe だけでなく、¹³C-Tyr と ¹²C-Tyr の量も一定であることを確認することが必要である。4.3%カゼイン食と17.2%カゼイン食を摂取した時のラットの血漿 Phe と Tyr 濃度を表3に示した。カゼイン食のたんばく質レベルを4.3%から17.2%に変化させても、血漿 ¹³C-Phe と ¹²C-Phe 濃度の割合と量が一定であった。また、血漿 ¹³C-Tyr と ¹²C-Ty 濃度の割合と量も一定であった。さらに、¹²C-Ty に対する ¹³C-Tyr の割合は、¹²C-Phe に対する ¹³C-Phe の割合よりも小さく、このことは、Phe から Tyr への代謝は亢進していないことを示唆している。また、肝臓および腓腹筋の遊離アミノ酸について測定した結果、血漿と同様にカゼイン食のたんばく質レベルを4.3%から17.2%に変化させても、血漿 ¹³C-Phe と ¹²C-Phe 濃度の割合と量および血漿 ¹³C-Tyr と ¹²C-Ty 濃度の割合と量も一定であった (表3)。

たんばく質代謝要求量は、18:30の ¹³CO₂ 量を特異的回帰法 (2段階線形交差)¹⁴⁾ により解析し、段階的なたんばく質摂取量に対する呼気中 ¹³CO₂ が最小値となる屈曲点として算出した。本研究では、ラットにおいて IAAO 法により、カゼインをたんばく質源とした時のたんばく

表2 実験食の組成

Protein	Casein diet						Wheat gluten diet					
	4.3%	8.6%	12.9%	17.2%	21.5%	25.8%	7.2%	10.8%	14.4%	18.0%	21.6%	25.2%
	g/kg diet						g/kg diet					
Casein	50	100	150	200	250	300	-	-	-	-	-	-
Wheat gluten	-	-	-	-	-	-	100	150	200	250	300	350
Cornstarch	557	523	490	457	423	390	527	498	470	440	411	383
Sucrose	278	262	245	228	212	195	265	250	235	221	206	190
Rapeseed oil	35	35	35	35	35	35	31	27	22	18	14	9
Soy bean oil	15	15	15	15	15	15	12	10	8	6	4	3
Vitamins	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Minerals	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35
Cellulose	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
L-Phenylalanine	11	9	7	5	2	-	9	7	5	3	1	-
L-Tyrosine	13	10	8	5	3	-	13	11	10	9	8	6
Energy (kJ/g)	15.4	15.4	15.5	15.5	15.5	15.6	15.5	15.5	15.5	15.5	15.6	15.6

カゼインのたんばく質含量は86.2% (N×6.38)、小麦グルテンのたんばく質含量は72.0% (N×5.70) である。食事のフェニルアラニン含量は、全ての食事では13,500 mg/kg diet とした。ただし、25.2%小麦グルテン食の場合には、14,350 mg/kg diet とした。また、食事のチロシン含量は、全ての食事では15,000 mg/kg diet とした。

表3 血漿, 肝臓, 腓腹筋のフェニルアラニンおよびチロシン濃度

Diet	Phenylalanine			Tyrosine		
	¹³ C-Phe	¹² C-Phe	Total	¹³ C-Tyr	¹² C-Tyr	Total
Plasma (nmol/mL)						
4.3% casein	13.2 ± 2.9	47.2 ± 4.3	60.4 ± 7.0	7.5 ± 2.0	113.0 ± 29.4	120.6 ± 30.7
17.2% casein	12.1 ± 2.5	50.8 ± 10.0	62.9 ± 11.8	8.5 ± 1.4	119.8 ± 15.2	128.3 ± 16.2
Liver (nmol/g)						
4.3% casein	10.6 ± 0.4	40.9 ± 5.1	51.5 ± 4.9	7.4 ± 1.3	99.4 ± 32.0	106.9 ± 33.2
17.2% casein	10.4 ± 2.1	43.1 ± 10.5	53.6 ± 12.3	8.8 ± 2.8	92.5 ± 7.5	101.4 ± 9.2
Gastrocnemius muscle (nmol/g)						
4.3% casein	13.0 ± 1.7	46.6 ± 4.5	59.6 ± 5.7	8.4 ± 0.8	91.9 ± 8.7	100.3 ± 8.5
17.2% casein	11.6 ± 1.9	48.2 ± 2.5	59.8 ± 3.6	7.0 ± 1.1	84.7 ± 5.8	91.7 ± 5.0

平均値 ± SE (4.3% casein, n=5; 17.2% casein, n=5). 全てのデータに4.3% casein 群と17.2% casein 群との間に Student's t-test にて有意差を認めなかった。

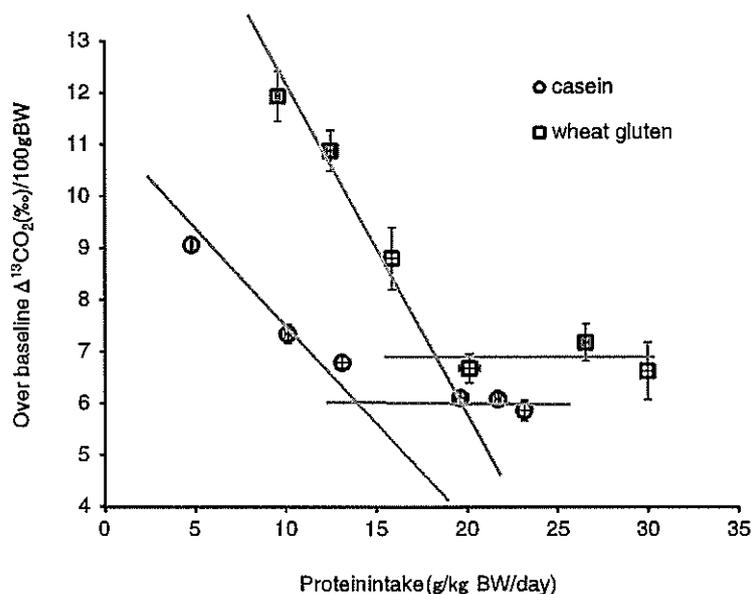


図8 たんぱく質代謝要求量の算出

カゼイン食 (n=8) と小麦グルテン食 (n=8) のたんぱく質摂取量を変化させた時の呼吸 ¹³CO₂ 産生量の変化を平均値 ± 標準偏差で示した。カゼイン食の回帰直線式は、 $y = 10.73 - 0.35x$ と $y = 6.17$ であり、小麦グルテン食の回帰直線式は、 $y = 18.87 - 0.66x$ と $y = 6.92$ であった。屈曲点は、カゼイン食が 13.1 g/kg BW/日、小麦グルテン食が 18.1 g/kg BW/日であった。

質代謝要求量は 13.1 g/kg BW/day に相当すると推定された (図8)。

小麦をたんぱく質源とした IAAO 法では、たんぱく質代謝要求量は 18.1 g/kg BW/day と算出され、カゼインをたんぱく質源とした時よりも高い値であった。たんぱく質必要量は良質のたんぱく質摂取で低く、劣質のたんぱく質摂取で高くなったという結果は、我々の仮説に合致し、IAAO 法はたんぱく質の質評価に利用できると考えられた。

VI. ヒトにおける IAAO 法によるたんぱく質代謝要求量の測定

1日の総窒素必要量は、不可欠アミノ酸の適切な摂取レベルとバランス、それに α -アミノ窒素源となる十分な可欠アミノ酸を供給することを満たすものである。2007年に Humayun ら¹⁵⁾ は、IAAO 法を用いて成人のたんぱく質必要量を再評価している。彼らによると成人男性のたんぱく質必要量は、0.93 g/kg BW/日であった。我々も、IAAO 法を用いて日本人成人男性のたんぱく質代謝要

求量を評価した。その結果、0.91 g/kg BW/日と推定した（データは未発表）。また、IAAO法を用いて、成人女性では0.91 g/kg/日¹⁶⁾、学童期では1.3 g/kg/日¹⁷⁾と報告されている。いずれも、窒素出納法で策定された値よりも大きい。

以上のように、IAAO法はたんぱく質代謝要求量の評価だけでなく、たんぱく質の評価にも利用できることがわかった。さらに、ライフステージ別のたんぱく質代謝要求量やいろいろな病態時のたんぱく質代謝要求の推定にも利用できる方法であると考えられた。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、荣誉ある日本栄養改善学会学会賞を授与されたことに対し、選考委員の先生をはじめ、本学会の諸先生に厚く御礼申し上げます。本研究は、大塚製薬株式会社徳島研究所、徳島大学大学院栄養学研究科ならびに京都府立大学大学院生命環境科学研究科で行われたものです。研究を遂行するにあたり終始ご指導いただいた岸恭一徳島大学名誉教授（現名古屋学芸大学教授）に深謝致します。また、大塚製薬株式会社では多大なご指導とご助言をいただきました郡英明博士（元佐賀研究所所長）に心より感謝申し上げます。京都府立大学では常にご助言とご指導をいただきました中坊幸弘京都府立大学名誉教授（現川崎医療福祉大学教授）に厚く御礼申し上げます。最後になりましたが、徳島大学大学院栄養学研究科栄養生理学講座および京都府立大学大学院栄養科学研究室での共同研究者ならびに大学院・学部卒業生、在校生の皆さんに深く感謝いたします。

文 献

- 1) FAO: Protein requirements, Report of the FAO Committee, FAO Nutritional Studies, No. 16 (1957) FAO, Rome
- 2) WHO: Protein requirements, Report of a Joint FAO/WHO Expert Group, WHO Technical Report Series, No. 301 (1965) WHO, Geneva
- 3) WHO: Energy and Protein requirements, Report of a Joint FAO/WHO ad hoc Expert Committee, WHO Technical Report Series, No. 522 (1973) WHO, Geneva
- 4) WHO: Energy and Protein requirements, Report of a Joint FAO/WHO ad hoc Expert Committee, WHO Technical Report Series, No. 724 (1985) WHO, Geneva
- 5) WHO: Energy and Protein requirements, Report of a

Joint FAO/WHO ad hoc Expert Committee, WHO Technical Report Series, No. 935 (2007) WHO, Geneva

- 6) Williams, C.D.: A nutritional disease of child-food associated with a maize diet, *Arch. Dis. Child.*, 8, 423-433 (1933)
- 7) Proceeding of a seminar on weaning practices in Ghana, *Bulletin of Noguchi Memorial Institute for Medical Research*, 4, 1-101 (1991)
- 8) Proceeding of a seminar on child nutrition and survival, *Bulletin of Noguchi Memorial Institute for Medical Research*, 5, 1-185 (1992)
- 9) Armar-Klemesu, M., Rikimaru, T., Kennedy, D.O., et al.: Household food security, food consumption patterns, and the quality of children's diet in a rural northern Ghana community, *Food Nutr. Bull.*, 16, 27-33 (1995)
- 10) Kido, Y., Tsukahara, T., Rokutan, K., et al.: Japanese dietary protein allowance is sufficient for moderate physical exercise in young men, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 43, 59-71 (1997)
- 11) Kido, Y., Tsukahara, T., Rokutan, K., et al.: Recommended daily exercise for Japanese does not increase protein requirement in sedentary young men. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 43, 505-514 (1997)
- 12) Uauy, R., Scrimshaw, N.S., Rand, W.M., et al.: Human protein requirements: Obligatory urinary and fecal nitrogen losses and the factorial estimation of protein needs in elderly males, *J. Nutr.*, 108, 97-103 (1978)
- 13) Ogawa, A., Naruse, Y., Shigemura, Y., et al.: An evaluation of protein intake for metabolic demands and the quality of dietary protein in rats using an indicator amino acid oxidation method, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 57, 418-425 (2011)
- 14) Hayamizu, K., Kato, M., Hattori, S.: Determining amino acid requirements from repeated observations on indicator amino acid oxidation method by mixed-effect change-point regression models, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 49, 115-120 (2011)
- 15) Humayun, M.A., Elango, R., Ball, R.O., et al.: Reevaluation of the protein requirement in young men with the indicator amino acid oxidation technique, *Am. J. Clin. Nutr.*, 86, 995-1002 (2007)
- 16) Tian, Y., Liu, J., Zhang, Y., et al.: Examination of Chinese habitual dietary protein requirements of Chinese young female adults by indicator amino acid method, *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 20, 390-396 (2011)
- 17) Elango, R., Humayun, M.A., Ball, R.O., et al.: Protein requirement of healthy school-age children determined by the indicator amino acid oxidation method, *Am. J. Clin. Nutr.*, 94, 1545-1552 (2011)

(受理：平成23年11月28日)

Dietary Requirements of Protein and Amino Acids

Yasuhiro Kido

Laboratory of Nutrition Science, Division of Applied Life Science, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Kyoto Prefectural University

ABSTRACT

Even when energy intake is adequate, the classic protein deficiency disease kwashiorkor increases susceptibility to infection. The protein requirement defines the requirement in terms of the needs to maintain the physical structure and body functions, i.e. metabolic demands, and the dietary protein requirement will satisfy those demands. Protein requirement is generally determined by nitrogen balance studies, but various limitations are associated with this method. The indicator amino acid oxidation (IAAO) method, with a theoretical foundation quite different from that of the nitrogen balance method, was developed as an alternative for studies in animals and humans. We employed the IAAO technique to evaluate dietary protein requirements and protein quality in rats and healthy men. The results indicated that the IAAO method is effective for evaluating the dietary protein requirements for people of all ages and for postoperative patients or those with injuries or infections, all of who represent a wide range of metabolic demand. This method could also be used to evaluate protein quality.

Jpn. J. Nutr. Diet., 69 (6) 285~293 (2011)

Key words: amino acid and protein, protein requirement, metabolic demand, nitrogen balance method, indicator amino acid oxidation method



解説

欧米の循環器疾患予防のための食事ガイドラインの現状*

坪田(宇津木) 恵**

Key Words: dietary guideline, diet, lifestyle, cardiovascular disease

はじめに

昨今, さまざまな媒体を通じ, 健康と栄養に関する情報が身近なものとなった結果, 国民の健康意識, “健康的な食事”, “バランスのとれた食事”の重要性が認識されてきている。

生活習慣病の予防, 健康の維持・増進のためにエネルギー・栄養素の摂取基準値を示したものとしては, 日本では厚生労働省が5年おきに公表している「日本人の食事摂取基準2010年版(平成22年から26年まで使用)」があげられるが, 諸外国においても同様なものが作成されている。しかし, 通常食品を購入し食事という形で栄養を摂取する多くの消費者にとっては, エネルギー・栄養素個々の値から全体の食事バランスを考え, 健康な食生活を図ることは, 非常に困難である。それぞれの栄養素の働きについての十分な知識なしに, エネルギー・栄養素の基準である「日本人の食事摂取基準」を日常の食事で活用することには限界がある。

食事ガイドラインとは

食事ガイドラインは, 政府, もしくは政府関連機関が, 循環器疾患および特定のがんなどの生活習慣病を予防し, 健康増進を図ることを目的に, 理想的な栄養素組成や食品構成, 食習慣のあり方を平易な文章で示したものである。対

象は主として一般住民であるが, 種々の疾病予防ガイドライン策定にかかわる政府関係者, ならびに健康教育を進める医療従事者にも用いられる。

なお, 食事ガイドラインの多くは, 生活習慣病全般を予防することを目的に, 一般住民を対象としたものであり, 疾患を持つ特定集団を対象とした治療ガイドライン(高血圧ガイドライン, 糖尿病ガイドライン, 心疾患関連ガイドライン, 虚血性心疾患の一次予防ガイドラインなど)とは区別されたい。

ところで, 食事ガイドラインを視覚的にわかりやすくしたものが, 日本における食事バランスガイドや, 欧米諸国における食品ピラミッド, 食事プレートである。欧米諸国の中には, 視覚媒体とした食事プレートと食事ガイドラインが一体になっているものがあるが, 本稿では, 食事ガイドラインを中心に概要を記述する。

欧米の食事ガイドライン

表1に, 日本と欧米の食事ガイドラインを示した^{1)~9)}。

疾病予防・健康増進のための実践活動では, 文化, 環境, 政治, 経済, 行動学的背景の影響を多分に受けるため, その国独自の方法が求められる。しかし, 生活習慣病予防および健康増進を目的とした食事ガイドラインの内容は, 日

* Dietary guidelines for the prevention of cardiovascular disease in United States and Europe.

** Megumi TSUBOTA-UTSUGI, Ph.D., MPH, R.D.: 独立行政法人国立健康・栄養研究所栄養疫学研究部食事摂取基準研究室/国際産学連携センター[〒162-8636 東京都新宿区戸山1-23-1]; Department of Nutritional Epidemiology, Center for International Collaboration and Partnership, National Institute of Health and Nutrition, Tokyo 162-8636, JAPAN

表1 日本および欧米諸国の食事ガイドライン

	日本 ¹⁾	アメリカ ²⁾	イギリス ³⁾
機関	厚生労働省	Department of Health and Human Services, and the U.S. Department of Agriculture	Food Standard Agency
年	2000	2010	2006
項目数	10	11	5
類似点	果物 野菜	↑ ↑	↑ } 少なくとも ↑ } 5 ポーション/日
	豆類	↑	○ 肉・魚に代わる蛋白質源として
	穀類	↑	↑ 全粒粉
	油脂類	↓	○ 種類を変える
	飽和脂肪酸	↓ 10%	↓
	トランス脂肪酸	↓	↓
	コレステロール	↓ 300mg/day未満	↓
	魚介類	↑ 小魚	○ } +卵
	肉類	○ 赤身	○ } 適正に
	乳・乳製品	↑ 無脂肪, 1%脂肪	↑ 低脂肪
	食塩	↓	↓
	砂糖	↓	↓
	飲酒	↑ 男性2杯/日, 女性1杯/日まで	↓
	適正体重	○	○
相違点	食文化 食品安全 無駄の軽減 食事のリズム 団楽, コミュニケーション 食事のバランス (主食, 主菜, 副菜)	食品安全 食事バランス(食事パターン, カロリーバランス) 運動	
特記事項			視覚媒体: 食事プレートと一体

↑: 摂取増加, ↓: 摂取減少, ○: 表示有

本および欧米諸国でそれほど大きな差がないのが特徴である。

〔類似している推奨項目〕

1. 野菜, 果物摂取を増加させる

野菜, 果物摂取を推奨する理由として, アメリカのガイドライン²⁾では3つあげている。

①葉酸, マグネシウム, カリウム, 食物繊維, ビタミンA・C・Kの主要な供給源である。

②野菜・果物摂取は, 種々の生活習慣病リスクの減少と関連している。特に, 1日少なくとも2.5カップ以上の野菜・果物摂取をしている人々では, 循環器疾患のリスクを下げる事が報告されている。

③多くの野菜・果物は, 低カロリーである。高カロリーの食品を食べる代わりに野菜・果物をとることで, 適正体重の維持につながる。

同様の記述は, ほかの国でも認められる⁴⁾⁵⁾。

表記については, a)イギリス, フランス, ドイツ, デンマークなどのように, 具体的な摂取量を示している国, b)調理方法を示している国⁶⁾⁷⁾, とそれぞれ自国の食文化や摂取量に応じた推奨を行っている。

2. 穀類摂取の増加

米を主食とする日本と異なり, 欧米諸国はパン, パスタなど小麦粉を主食とすることから, 精製された粉ではなく, 栄養価の高い全粒粉を

表1

フランス ⁴⁾	ドイツ ⁵⁾	イタリア ⁶⁾	デンマーク ⁷⁾⁸⁾	スウェーデン ⁹⁾
Agence française de sécurité sanitaire des aliments	German Nutrition Society	Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione	The Danish Veterinary and Food Administration	LIVSMEDELS VERKET
2001	2008	2003	2008	1991
7	10	10	8	7
↑ } 5 ポーション ↑ } /日以上	↑ } 5 ポーション/日以 ↑ } 上, できるだけ生 で, 調理は短く, ジュースは1杯まで	↑ ↑	↑ } 6 ポーション ↑ } /日以上	↑ } 季節の物を, ↑ } できるだけ生で
↑ } ↑ } ↓ 全体的に — (↑植物由来) — (↓動物由来)	— ↑ 全粒粉+芋類 ↓ 60~80g/日 ↓ (↑植物由来)	— ↑ ○ 量・質を気をつける	— ↑ +芋類, 毎日 ↓	↑ 肉・魚の代わりに ↑ 全粒粉 ↓ 低脂肪のものを
— — ↑ } 少なくとも2回/週 ○ } +卵類 ○ 3杯/日 ↓ ヨウ素入り食塩の使用 — ○ ワイン: 男性3グラス/ 日, 女性2グラス/日 —	— ○ 1~2回/週 ○ 赤身, 300~600g/週 ○ 毎日 ↓ ↓ 種類を変える ○ とくとき ○	— — — — — ○ 適正に ○ 適正に ○	— — — ○ 数回/週 ○ 赤身 ○ 低脂肪 — ↓ — ○	— — — ↑ ○ 赤身 ○ 低脂肪 — — — —
菓子・嗜好飲料↓ 運動: 少なくとも30分/日 水分↑ (嗜好飲料は除く)	食事を楽しむ 食料バランス (高栄養, 低エネルギー) 調理方法 食品安全 水分↑ 1.5l/日	菓子・嗜好飲料: 適正に 食品安全 種類を多く 運動↑	菓子↓ 運動: 30分/日 水分↑	
				視覚媒体: 食事サークル, および食事プレートと一体

摂取することが勧められている^{21)~51)}。

全粒粉とは、小麦の外皮に含まれるすべて一ふすま、胚芽、胚乳一を含んだもので、鉄、マグネシウム、セレン、ビタミンB群、食物繊維を豊富に含んでいる。全粒粉摂取を勧める根拠として、アメリカのガイドラインでは、全粒粉を摂取している人々では循環器疾患のリスクが減ること、適正な体重の維持につながっていることをあげている²⁾。そのため、全穀類摂取の少なくとも半分以上を全粒粉にするよう推奨している。

3. 油脂類摂取を減らす

全体としては摂取を控えることが勧められて

いる。なかでも、「動物由来の油脂に代えて植物由来の油脂摂取を勧める」など、具体的にどの種類の油脂を摂取すべきかを示している国も散見される²⁾⁵⁾⁶⁾。

油脂類は、エネルギー、必須脂肪酸を供給するほか、脂溶性ビタミンの吸収を助ける働きがある。脂肪酸は、飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸、多価不飽和脂肪酸に分類される。油脂はこれら異なった脂肪酸が混ざったものである。アメリカのガイドラインでは、飽和脂肪酸をエネルギーの10%未満に抑え、代わりに循環器疾患リスクを下げる一価不飽和脂肪酸、多価不飽和脂肪酸を使用するよう推奨している²⁾。

ところで、近年問題となっているトランス脂肪酸は不飽和脂肪酸であるが、自然食品に含まれる通常の不飽和脂肪酸と構造的に異なり、人工的なトランス脂肪酸は循環器疾患のリスクを増加させることが知られている。

4. 蛋白質源

蛋白質は、魚介類、肉類、卵類、豆類、種実類などに含まれる。これら食品群は蛋白質のほか、ビタミンB群(例；ナイアシン、ビタミンB₁、ビタミンB₂、ビタミンB₆)の供給源としても重要である。その他、蛋白質は乳・乳製品などにも含まれる。

全体として、魚介類、豆類からの摂取を増加させ、肉類から摂取する際は脂肪の少ない赤身の肉や鶏肉などの食品を選択することを勧めている。特に魚介類の摂取に関しては、週あたりの推奨量を示している国もある²¹⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾。具体例として、アメリカのガイドラインでは週あたり8オンス以上、蛋白質全摂取量では20%以上を魚介から摂取することを勧めている²⁾。

5. 食塩摂取を減らす

食塩、ナトリウムは人体に不可欠な栄養素であるが、その必要量は非常に少量であり、平均的には多く取りすぎていることは知られている。適切な食塩量の摂取は血圧を適正に保ち、循環器疾患のリスクを下げる。

6. 乳・乳製品の摂取を増加させる

乳・乳製品はカルシウム、ビタミンD、カリウムの供給源として重要である。特に小児期においては、乳・乳製品の摂取が骨と関連することがいわれている。また、成人においては、乳・乳製品の摂取が循環器疾患、糖尿病のリスクを下げる事が報告されている。

世界的に日常的に摂取されている豆乳を含む乳・乳製品は、推奨される量より少ないことがいわれており、摂取の増加が求められる。しかしその一方で、乳・乳製品は高脂肪でもあるため、低脂肪や無脂肪の乳・乳製品を摂取することが推奨される²⁾³⁾⁷⁾⁹⁾。

7. 適正な飲酒

また、食事以外の項目として、体重を定期的に測定し、適正体重を維持することの重要性が述べられている。

異なる推奨項目としては、日本やドイツなどのように、食事バランスや調理方法、食事を楽しむ団樂の重要性といった食事にかかわる文化的背景について言及している国がある一方¹⁰⁾、健康の維持に重きを置き、水摂取の増加や運動を推奨している国が認められた。具体的にどのような表記がなされているかについては、それぞれの出典を参照されたい。

参考までに、2011年1月31日アメリカが最新のDietary Guidelines for Americans, 2010を公表したので紹介する(表2)。

Dietary Guidelines for Americansは、Department of Health and Human Services (HHS)ならびにthe U.S. Department of Agriculture (USDA)より1980年に初版が発表されて以降、5年ごとに改定されている。

Dietary Guidelines for Americans, 2010では、国民がトータルで健康的な食事を選択することができるよう3つの目標を軸に、一般住民に対しては23の提言、妊産婦や50歳以上の高齢者など特段の注意が必要な対象については6つの追加提言がなされている。

循環器疾患に特化した食事ガイドライン

ところで、諸外国の中には、一般住民を対象とした食事ガイドラインとは別に、循環器疾患ガイドラインの一部として、食事に関する特記があるものが認められる。

アメリカ心臓協会の食事、生活習慣のためのガイドライン〔The American Heart Association (AHA) 2006 Diet and Lifestyle Recommendation〕

2006年、AHAは、アメリカにおいて死亡、障害の主要な要因である循環器疾患を予防するためのAHA 2006 Diet and Lifestyle Recommendationを報告した(表3)¹⁰⁾。

本策定の初回は2000年であるが、2006年ではいくつかの改訂が行われた：

- 1)食事は健康的な生活習慣の一部という認識から、生活習慣をタイトルに加えた
- 2)2000年のガイドライン策定以降、明らかとなった新たな科学的エビデンスを追加した

表 2 Dietary Guidelines for Americans, 2010²⁾

＜目標＞	
1. 体重を維持するために食事と運動のバランスをとる 2. 果物, 野菜, 全粒穀物, 無脂肪・低脂肪の乳製品, および魚介類の積極的摂取に努める 3. ナトリウム(食塩), 飽和脂肪酸, トランス脂肪酸, コレステロール, 砂糖追加, 精製された穀物の摂取を控える	
＜具体的な推奨項目＞	
(体重維持)	
<ul style="list-style-type: none"> ・食習慣と運動習慣の改善により過体重および肥満を防ぐ/減らす ・体重を維持するために総カロリー摂取量を調整する。特に過体重・肥満の人々については, 食事, 飲料からのカロリー摂取を控える ・運動量を増加し, デスクワーク中心の活動を減らす ・それぞれのライフステージにおける適切なカロリーバランスを維持する—小児期, 青年期, 成人期, 妊娠中および授乳中, 高齢期 	
(摂取量の増加が望まれる食品・栄養素)	
それぞれのカロリー摂取量に応じた健康的な食事パターンの一部として以下の推奨を実施することが望ましい	
<ul style="list-style-type: none"> ・野菜, 果物摂取の増加 ・さまざまな種類の野菜, 特に葉物, 赤色やオレンジ色の野菜, 豆類, 種実類の摂取 ・総穀物摂取のうち, 少なくとも半分は全粒穀物を摂取する。精製された穀物の代わりに全粒穀物の摂取を増加させる ・無脂肪・低脂肪牛乳および乳製品(牛乳, ヨーグルト, チーズ)や大豆強化製品の摂取増加 ・さまざまな食品から蛋白質源を摂取—魚介類, 脂肪の少ない肉および鶏肉, 卵, 豆・種実類, 大豆製品, 無塩の豆・種類 ・肉, 鶏肉の代わりに, 魚介類を選択する。魚介類摂取の量と種類を増加させる ・飽和脂肪やカロリーの低い食品, 油の種類を変えることで蛋白質源となる食品の質を変える ・可能な限り飽和脂肪の代わりに油を使う ・カリウム, 食物繊維, カルシウム, ビタミンDを供給してくれる食品—野菜, 果物, 全粒穀物, 牛乳および乳製品—を選択する 	
(摂取量の減少が望まれる食品・栄養素)	
<ul style="list-style-type: none"> ・ナトリウムの摂取を2,300mg未満, 51歳以上の高齢者やアフリカ系アメリカ人もしくは高血圧・糖尿病, 腎臓病を持つ全年齢のものについては1,500mg未満に努める。ナトリウム摂取量1,500mgは子どもや多くの成人を含むアメリカ国民の半分に推奨される ・一価不飽和脂肪酸や多価不飽和脂肪酸を使用することにより, 飽和脂肪酸の摂取を10%減少させる ・食事由来コレステロールを300mg/day未満に抑える ・トランス脂肪酸の摂取を, 可能な限り低くする ・固形油脂, 砂糖の追加によるカロリー消費を抑える ・精製された穀物, 特に固形油脂, 加糖, ナトリウムの含まれた精製穀物の摂取を制限する ・もし飲酒をする場合は女性なら1杯/日, 男性なら2杯/日までとし, 適度な摂取に努める 	
(健康的な食事パターンの形成)	
<ul style="list-style-type: none"> ・長期にわたって適切なカロリーレベルを維持できる食事パターンを選択する ・あらゆる飲食の摂取を考慮に入れ, 総合的に健康的な食事パターンを満たすための方法を検討する ・料理および食事の際には食品安全の勧告に従う 	

3) 2006年の策定では, よりわかりやすい情報提供を心がけた

4) ガイドラインでは, 循環器疾患を予防するための環境に関する項目を加えた

5) 積極的に食事や生活習慣の変容を行うための実践的な手引きとした

6) 自宅および外出先で食事する際, ガイドラインに従う重要性を強調した

7) 人々がガイドラインを順守するために, 医

療従事者, レストランや, 食品業界, 学校, 地域の果たす役割の重要性を強調した。

2006年版食事・生活習慣のためのガイドラインは, 2歳以上の一般住民が対象である。なお, 成長期の子供については, 別項のAHA食事ガイドラインにも記載しているので参照されたい。

方向性としては先述の欧米の食事ガイドラインと類似しているが, 食事だけでなく生活習慣も含めた包括的な取り組みが必要なことを示し

表3 AHA 2006 Diet and Lifestyle Recommendation¹⁰⁾

<目標>

1. 健康的な食事
2. 健康的な体重を目標とする
3. 推奨されるレベルの, LDLコレステロール, HDLコレステロール, 中性脂肪の維持
4. 適切な血圧の維持
5. 適切な血糖値の維持
6. 積極的な運動
7. 能動・受動喫煙を避ける

<具体的な推奨項目>

- ・健康で適正な体重を維持するために, カロリー摂取と運動のバランスをとる
- ・野菜・果物の積極的摂取
- ・全粒粉, 高食物繊維の食品を選択する
- ・魚介類の摂取—特に油の多い魚介類を少なくとも週に2回以上
- ・飽和脂肪酸を, 全摂取カロリーの7%未満, トランス脂肪酸は1%未満, コレステロールは300mg未満に抑える
 - 脂肪の少ない肉の摂取や, 代わりに野菜を選択する
 - 無脂肪(スキムミルク), 1%, 低脂肪の乳・乳製品を選択する
 - 一部水素化された油脂類の摂取を最小限にする
- ・砂糖の添加された嗜好飲料, 食品の摂取を最小限にする
- ・きわめて少ないか, 無塩の食品(できあいの食品)を選択する
- ・もし飲酒をするなら適量に
- ・外食するときには, 本AHA Diet and Lifestyle Recommendationに従う

<推奨項目を実施するための具体的なヒント>

(生活習慣)

- ・健康的な体重を達成・維持するために, 必要なカロリーを知ろう
- ・あなたが普段食べている食べ物, 飲み物に含まれるカロリーを知ろう
- ・体重, 運動量, カロリー摂取量を記録しよう
- ・少なめのポーション(食事量)で準備し, 食べよう
- ・可能なら, スクリーンを見る時間を記録し, 減らそう(例; テレビを見る, ネットサーフィンをする, コンピュータゲームをする)
- ・普段の生活の中に身体的動きのあることを取り入れよう
- ・喫煙や, たばこ製品の使用をやめよう
- ・飲酒するなら適量にしよう(男性なら1日あたり2杯, 女性なら1杯にとどめる)

(食品選択および準備)

- ・食品を購入する際は, 食品表示や原材料名の欄を活用しよう
- ・高カロリーのソース, 塩や砂糖の添加されていない, 新鮮, 冷凍, 缶詰の野菜や果物を食べよう
- ・高カロリーの食品の代わりに野菜と果物を食べよう
- ・豆類, 全粒穀物, 果物, 野菜などから, 食物繊維摂取を増加させよう
- ・固形油脂の代わりに液体の植物由来の油脂を使用しよう
- ・砂糖の添加された嗜好飲料や食品摂取を制限しよう. 通常の, 砂糖添加の形態としては, ショ糖, ブドウ糖, 果糖, 麦芽糖, デキストリン, コーンシロップ, 濃縮果汁, はちみつがある
- ・練り菓子や, 高カロリーの菓子パンを減らそう(例; マフィン, ドーナッツ)
- ・無脂肪や低脂肪の乳・乳製品を選択しよう
- ・以下の方法で食塩の摂取を減らそう
 - 類似品の食塩量を比較し, 食塩の少ない方を選択しよう(例; 異なったブランドのトマトソース)
 - 食塩量の少ないシリアルやパンといった加工品を選ぼう
 - 調味料の使用を制限
- ・赤身の肉を使用したり, 食べるときに皮を除こう
- ・飽和脂肪やナトリウムの多い加工肉は食べる量を制限しよう
- ・魚, 肉を食べるときは, (鉄板で)焼く, (オーブンで)焼く, ゆでるといった調理をしよう
- ・自分のレシピに植物ベースの肉(大豆など)を代用しよう
- ・ジュースの代わりに野菜, 果物そのものを利用しよう

た点、栄養・食品摂取と循環器疾患リスクに関する先行研究から、エビデンスがあり、特に重視してほしい項目を示した点、具体的な行動としてどのようなことを実践・選択したらいいのかを示した点が特徴的である。

〔具体的な推奨項目〕

1. 健康で適正な体重を維持するために、カロリー摂取と運動のバランスをとる

体重増加を避けるために、カロリーコントロール、すなわちエネルギー摂取量と消費量が一致することが求められる。このコントロールのためには、自身が自分の普段摂っている食べ物、飲み物に含まれるカロリーに関心を持つことが肝要である。

一方、運動習慣に関しては、体重にかかわらずすべての人々において、循環器疾患のリスクを下げる点で勧められる。

AHAでは、すべての成人に対しほぼ毎日合計して30分以上の運動を推奨している。また、体重を減らしたい人々に関しては、少なくとも60分以上の運動が勧められる。

これらを達成するためには、テレビやパソコンなどのスクリーン画面を長時間見るといった座位の活動を減らす、日々の生活の中でできるだけ動く(例；エレベーターの代わりに階段を利用)、といった生活習慣の変容が求められる。

2. 野菜・果物の積極的摂取

さまざまな種類の野菜・果物摂取が勧められる。特に、色の濃い野菜・果物(例；ホウレンソウ、ニンジン、モモ、ベリー)は、ほかの野菜・果物よりビタミン、ミネラルなどの栄養素が多く含まれていることから、より摂取を勧める。

フルーツジュースは食物繊維が豊富な果物の代わりにはならず、勧められない。

3. 全粒粉、高食物繊維の食品を選択する

先行研究から、全粒粉や食物繊維の多い食事パターンは食事の質を上げ、循環器疾患のリスクを下げる事が明らかとなっている。食物繊維は満腹中枢を刺激し、結果としてカロリー摂取を抑えることにつながる。

AHAでは、少なくとも穀類摂取の半分を全粒粉からの摂取にするよう勧める。

4. 魚介類の摂取—特に油の多い魚介類を、少なくとも週に2回以上

魚、特に油の多い魚は、オメガ3を多く含む多価不飽和脂肪酸、なかでもeicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA)を多く含む。EPA, DHA含有量の高い魚類を週2回以上食べる人々は、突然死、ならびに冠状動脈疾患による死亡リスクが減少することが報告されている。

5. 飽和脂肪酸を全摂取カロリーの7%未満、トランス脂肪酸は1%未満、コレステロールは300mg未満に抑える

飽和脂肪酸、トランス脂肪酸、コレステロールの低い食事はLDLコレステロール値を下げることから、結果として循環器疾患リスクを下げる事が知られている。

飽和脂肪酸、コレステロールを下げるためには、同じ動物由来油脂でも、不飽和脂肪酸の多いものに代える、低脂肪の食品にするといった方法がある。なかでも、肉の代わりに代替品(大豆)や、魚類を使用することは、一つの戦略と考えられる。

6. 砂糖の添加された嗜好飲料、食品の摂取を最小限にする

砂糖添加を減らすことの主要な理由としては、砂糖添加を減らすことでカロリー摂取が抑えられ、栄養の適正化を促進することにつながる事があげられる。

7. きわめて少ないか、無塩の食品(できあいの食品)を選択する

食塩はさまざまな食品に含まれるため、ナトリウム1.5g/日未満とすることはかなり困難である。暫定的な目標として、2.3g/日未満とすることを推奨する。

8. もし飲酒をするなら適量に

適量の飲酒が循環器疾患のリスクを下げる事が種々の対象集団において検討されている。

9. 外食するときには本AHA Diet and Lifestyle Recommendationに従う

健康的な食事を達成するためには、外食時においても賢い選択をすることが求められる。

結 語

以上、欧米における食事ガイドラインをみてきた。食文化、食習慣が異なるにもかかわらず、生活習慣病予防、健康増進のために推奨される項目は種々の国で類似していた。近年では科学的エビデンスの増加に伴い、具体的な数値や種類まで言及している国もみられた。“健康的な食事”、“バランスのとれた食事”といった人々の行動変容を促す一助として、食事ガイドラインの使用は有用であると考えられる。

文 献

- 1) 日本人の食生活指針. 厚生労働省. Available from : URL : http://www1.mhlw.go.jp/houdou/1203/h0323-1_11.html. Accessed Oct. 4, 2011.
- 2) Dietary Guidelines for Americans 2010. U.S. Department of Agriculture U.S. Department of Health and Human Services. Available from : URL : <http://health.gov/dietaryguidelines/dga2010/DietaryGuidelines2010.pdf>. Accessed Oct. 4, 2011.
- 3) FSA Nutrient and Food Based Guidelines for UK Institutions. Food Standards Agency. Available from : URL : <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/nutrientinstitution.pdf>. Accessed Oct. 4, 2011.
- 4) LA SANTÉ VIENT EN MANGEANT-LE GUIDE ALIMENTAIRE POUR TOUS. Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Available from : URL : <http://www.inpes.sante.fr/CFESBases/catalogue/pdf/581.pdf>. Accessed Oct. 4, 2011.
- 5) THE NUTRITION REPORT 2008 SUMMARY. German Nutrition Society. Available from : URL : <http://www.dge.de/pdf/en/DGE-Nutrition-Report-summary-2008.pdf>. Accessed Oct. 4, 2011.
- 6) LINEE GUIDA PER UNA SANATA ALIMENTAZIONE ITALIANA. Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione. Available from : URL : http://www.inran.it/648/linee_guida.html. Accessed Oct. 4, 2011.
- 7) De 8 kostråd. Danmarks Fodevareforskning. 2010.5.2. Available from : URL : http://www.altomkost.dk/Anbefalinger/De_8_kostraad/forside.htm. Accessed Oct. 4, 2011.
- 8) Kostrådene 2005. Danmarks Fodevareforskning. Available from : URL : http://www.meraadet.dk/gfx/uploads/rapporter_pdf/Kostraadene%202005_www.pdf. Accessed Oct. 4, 2011.
- 9) Matcirkeln och tallriksmodellen. LIVSMEDELS VERKET. Available from : URL : <http://www.slv.se/sv/grupp1/Mat-och-naring/Matcirkeln-och-tallriksmodellen/>. Accessed Oct. 4, 2011.
- 10) Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, et al. Diet and lifestyle recommendations revision 2006 : a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation* 2006 ; 114 (1) : 82.

* * *

日本栄養士会雑誌 (栄養日本)

JOURNAL OF THE JAPAN DIETETIC ASSOCIATION

別刷



社団法人 日本栄養士会

研究・事例報告

諸外国における栄養士養成のための 臨地・校外実習の現状に関する調査研究

笠岡(坪山)宣代*^{1,2}、桑木泰子*²、瀧沢あす香*²、田中律子*^{1,3}、藤生恵子*^{1,4}、斎藤トシ子*^{1,5}、
山岸博之*^{1,6}、江田節子*^{1,6}、木村祐子*^{1,7}、小谷一子*^{1,8}、小田光子*^{1,9}、伊勢岡義充*^{1,10}、
田代晶子*^{1,11}、池本真二*^{1,12}

*¹(社)日本栄養士会全国研究教育栄養士協議会、*²(独)国立健康・栄養研究所、*³北海道文教大学、
*⁴宇都宮文星短期大学、*⁵新潟医療福祉大学、*⁶関東学院大学、*⁷京都栄養医療専門学校、
*⁸大手前栄養学院専門学校、*⁹比治山大学短期大学部、*¹⁰徳島大学、*¹¹南九州大学、*¹²聖徳大学

Study on Supervised Professional Practice for Training of Dietitians in Foreign Countries

Nobuyo Tsuboyama-Kasaoka*^{1,2}, Yasuko Kuwaki*², Asuka Takizawa*², Ritsuko Tanaka*^{1,3},
Keiko Fujii*^{1,4}, Toshiko Saito*^{1,5}, Hiroyuki Yamagishi*^{1,6}, Setsuko Eda*^{1,6}, Yuko Kimura*^{1,7},
Kazuko Kotani*^{1,8}, Mitsuko Oda*^{1,9}, Yoshimitsu Iseoka*^{1,10}, Shoko Tashiro*^{1,11}, Shinji Ikemoto*^{1,12}

*¹The Japan Dietetic Association; *²National Institute of Health and Nutrition; *³Hokkaido Bunkyo University;
*⁴Utsunomiya Bunsei Junior College; *⁵Niigata University of Health and Welfare; *⁶Kanto Gakuin University;
*⁷Kyoto College of Nutritional and Medical Sciences; *⁸Otemae College of Nutrition; *⁹Hijiyama University Junior College;
*¹⁰The University of Tokushima; *¹¹Minami Kyushu University; *¹²Seitoku University

要旨：国際栄養士連盟（International Confederation of Dietetic Associations, ICDA）が示す栄養士養成教育の最低必須条件は、①学士号（大学卒業）と②監督下での専門的な実習 500 時間である。本研究では、この国際的スタンダードの達成状況を明らかにすることを目的として、諸外国の栄養士養成における臨地・校外実習制度を調査した。

各国を代表する栄養士にかかわる職能団体および関連の政府機関から出されている、通知文書、報告書、ホームページ等から、栄養士の免許取得前に実施する臨地・校外実習に関する情報を収集した。詳細に関しては、各国の担当者に直接連絡することにより具体的な内容を把握した。日本は管理栄養士の臨地・校外実習を調査対象とした。

調査した 21 カ国では、日本とノルウェーを除くほとんどの国で国際的スタンダードの 500 時間を超える臨地・校外実習を実施していた。実施時期は国によって異なり、日本と同じく養成課程在学中に実施するタイプと、養成課程卒業後にインターンシップとして実施するタイプが混在していた。臨地・校外実習の科目は、臨床栄養、食事療法を中心に学ぶ国が多かった。一方、人口 10 万人対の栄養士数は日本が最も多く、活躍する職域の数も最も多かった。

本研究の結果から、わが国の管理栄養士養成制度の弱点および利点が浮き彫りとなった。わが国は、管理栄養士の人数および職域の数が多く、国民の身近に活躍しているという利点を生かしながら、臨地・校外実習の時間数を拡大し、専門家としての資質を向上させる独自の対策が求められる。

キーワード：栄養士、制度、臨地・校外実習、教育

I 緒言

わが国の制度は、栄養士と管理栄養士の 2 種類の

資格が存在する点、栄養士から管理栄養士に比較的容易に移行できる点において他国に例がなく、世界的に見てもユニークである。しかしながら、わが国

平成 20 年度政策課題の報告

受理日：平成 22 年 4 月 1 日、採択日：平成 23 年 3 月 11 日

連絡責任者：笠岡(坪山)宣代 〒162-8636 新宿区戸山 1-23-1 (独)国立健康・栄養研究所栄養疫学研究所食事摂取基準研究室

TEL：03-3203-5721 FAX：03-3202-3278 E-mail：ntsubo@nih.go.jp

の管理栄養士・栄養士を取り巻く国内外の状況は変化しており、特定保健指導等の新たなニーズの増大や、国際的な考え方との整合性への対応がますます必要となってきた。国際栄養士連盟 (International Confederation of Dietetic Associations, ICDA) では、国際的な栄養士の定義、および栄養士教育の最低必須条件を国際的スタンダードとして示している³⁾。栄養士の定義として、「栄養士とは、栄養と食事療法の分野で、国が承認した資格を有するものをいう。栄養士は、栄養に関する科学的知識を、集団および個人を対象とした、健康と疾病に関する教育や食事療法に応用するものである」が示され、栄養士は栄養科学のトランスレーターであるとされている⁴⁾。また、栄養士養成の最低必須条件として、①学士号 (大学卒業)、②監督下での専門的な実習 500 時間を示している。この内容は、2008 年にわが国で初めて開催された第 15 回国際栄養士会議 (International Congress of Dietetics, ICD2008) においても確認されている¹⁾。

本研究では、諸外国の栄養士養成制度における国際的スタンダードの達成状況について、現状を調査した。諸外国においては、栄養士制度のみを有する国が一般的であるため、栄養士制度を調査対象とした。わが国においては管理栄養士と栄養士の 2 種類の制度が存在するが、管理栄養士が国際的スタンダードの役割を担うべきであることから、わが国の調査対象は管理栄養士制度とし、諸外国の臨地・校外実習制度との比較検討を行った。ICDA の国際的スタンダードでは、実習を supervised professional practice としており、必ずしも臨地・校外実習に限定して明言しているわけではない。しかしながら、国際的一般的認識として、supervised professional practice は栄養士免許を取得する前に実施する臨地・校外実習と解釈されている国が多いことから、本研究においては栄養士免許 (日本においては管理栄養士) を取得する前に実施する臨地・校外実習に焦点を当て、調査研究を行った。

須永らは、厚生労働科学研究費研究班として諸外国の栄養士養成制度に関して報告^{2,3)} しているが、わが国におけるこの分野での研究的な側面からの系統的な検討はわずかであり²⁻⁴⁾、諸外国の臨地・校外

実習に関する情報は少ないのが現状である。また、諸外国においても、さまざまな検討がなされていると思われるが、政策的・制度的背景が大きく異なり、教育制度も各国独自の制度を有するため、その結果をそのままわが国に適用することはできない。

したがって、本研究では、わが国の管理栄養士制度を考える上できわめて重要な課題として、諸外国における栄養士養成のための臨地・校外実習の時間数、具体的な制度やその内容、育成された人材の就職先を対象に調査研究を行った。

II 方法

ICDA の報告書⁵⁾ より、栄養士制度を有する国を抽出した。2002 年に ICDA は、37 カ国の栄養士会を対象に国際的な栄養士養成制度に関するアンケート調査を実施している。回答の得られた 31 カ国 (オーストラリア、オーストリア、ベルギー、カナダ、チリ、キプロス、デンマーク、フィンランド、フランス、ドイツ、ギリシャ、ハンガリー、アイスランド、インド、アイルランド、イスラエル、イタリア、日本、ルクセンブルク、オランダ、ニュージーランド、ノルウェー、南アフリカ、スペイン、スーダン、スウェーデン、スイス、トリニダード・トバゴ、トルコ、イギリス、アメリカ) のうち、栄養士養成にかかわる独自の教育制度を持っていない国は 3 カ国で、キプロス、アイスランド、ルクセンブルクであった⁵⁾。独自の栄養士養成制度を有する国々の中から、栄養士免許を取得する前に実施する臨地・校外実習の時間数に関して論文、公の報告書などのデータが公表されている国を 21 カ国抽出し、養成課程の年数、臨地・校外実習の時間数を調査した。人口 10 万人対の栄養士数については、ICDA が 2008 年に実施した調査報告書も参照した⁶⁾。さらに、比較的信頼度の高いデータを有する 11 カ国については、臨地・校外実習の科目、方法、職域などに関するより詳細な内容を調査した。

日本では、栄養士と管理栄養士の 2 種類の資格が存在するが、本研究では国際的スタンダードとの比較という観点から、その責務を果たすべき管理栄養士を調査対象とした。また、アメリカには登録栄養士 (registered dietitian, RD) と、RD の補助的な

仕事を行うテクニシャンである dietetic technician, registered (DTR) が存在するが、栄養士として認知されている RD を調査対象とした。また、栄養士免許を取得する前に実施する臨地・校外実習の範囲は、栄養士養成課程において実施される supervised professional practice、practical training、supervised practice、professional practice、practicum program、practice placement 等と表記されている実習とした。また、養成課程卒業後に実施される上記トレーニングおよびインターンシップであっても、栄養士免許取得前に実施する場合には調査対象とし、臨地・校外実習として取り扱った。一方、栄養士免許取得後に栄養士に対して実施する実習や教育トレーニング、卒後研修は調査対象から除外した。臨地・校外実習の最低必須時間数に関する情報が得られない国に関しては、養成課程において一般的に実施されている臨地・校外実習の時間数やカリキュラムの単位から換算した臨地・校外実習に相当する時間数を示した。

調査方法は、栄養士にかかわる代表的な職能団体、政府機関の栄養に関連する部署および栄養・食事に関連する学術団体等から出されている、論文、通知文書、各種報告書、およびインターネットのホームページ等を対象とし、当該各国において栄養士免許を取得する前に実施する臨地・校外実習制度の情報を収集した。詳細が不明な国に関しては、各国の栄養士にかかわる代表的な職能団体の担当者、政府機関の関連部署の担当官に電子メールおよび国際電話等により直接連絡することにより詳細かつ具体的な実態を把握し、2名以上から同様の情報が得られた場合のみ結果として採用した。また、事例を収集する目的で、栄養士を養成する施設（大学、大学院など）の教員、担当者に電子メールおよび国際電話等により直接連絡をし、各校での取り組み、プログラム内容に関する実態調査を行った。収集したデータについてわが国の管理栄養士養成制度と比較検討を行った。

III 結果

◆◆ 1 諸外国の栄養士制度の現状

調査した 21 カ国のうち、日本のように栄養士と

管理栄養士という 2 種類の制度で栄養士を分類している国はなかった。アメリカでは、アメリカ栄養士会 (American Dietetic Association, ADA) が認定する RD を栄養士として位置づけ、RD の補助的な仕事を行うテクニシャンとして DTR を認定し、それぞれの仕事内容を明確にしていた。また、欧州を中心とした数カ国においては、専門性により栄養士を分類していた。卒業後に専門性を分けるのではなく、栄養士養成課程の段階から専門的な教育を受ける制度であり、卒業した栄養士には特有の名称を与えていた。administrative dietitian は、給食管理を専門として学んだ学生に与えられ、clinical dietitian は、治療や疾病予防のための臨床栄養や食事療法に関して重点的に学んだ学生に与えられていた。これらの国々においては、日本のように栄養学全般を広く学ぶプログラムもあり、このような一般的な課程を卒業した栄養士を general dietitian としていた。

◆◆ 2 諸外国の栄養士数

人口 10 万人対の栄養士数を表 1 に示した。日本の管理栄養士数は、世界で最も多かった⁶⁾。さらに、栄養士の数を加えれば日本の管理栄養士・栄養士総数は世界でも類を見ない最高レベルであった。

◆◆ 3 諸外国の栄養士養成課程年数、必須学位

調査対象とした 21 カ国における栄養士養成課程の年数、必須学位を表 1 に示した。養成課程の年数は、教育制度を背景に各国異なっていた。学位に関しては、国際的スタンダードである学士号を必須学位としている国が多かったが、日本をはじめフランス、ドイツ、スペイン、スイスでは、学士号が必須ではなかった。ノルウェーには、主に臨床に携わる clinical dietitian と給食業務に携わる administrative dietitian の 2 種類が存在し、clinical dietitian は 5 年間の教育を受けた学士であるのに対し、administrative dietitian は 2 年間で取得でき、学士号も必須ではなかった。アメリカ、カナダ、オーストラリア、イギリスでは大学院においても栄養士の養成を実施していた。当該大学院は、研究活動ではなく専門家養成のための大学院であり、専門教育とインターンシップを学び、修士号を取得できる。大学で栄養学以外の学問を学んだ幅広い能力を持つ栄養

表1 各国栄養士の養成課程年数、必須学位、臨地・校外実習時間数、人口10万人対の栄養士数

	日本(管理栄養士)	アメリカ	カナダ	オーストラリア	イギリス	フランス	ドイツ
養成課程の年数	4年間 ^{*2}	4年間 ^{b)} (大学院でも取得可)	4年間 ^{d)} (大学院でも取得可)	4年間 ^{7,c)} (大学院でも取得可)	4年間 ^{9,10,e)} (大学院でも取得可)	2年間(BTSおよびDUT) ¹⁰⁾	3年間 ^{10,g)}
必須学位	学士以外	学士(大学院でも取得可)	学士(大学院でも取得可)	学士(大学院でも取得可)	学士(大学院でも取得可)	学士以外	学士以外
臨地・校外実習の時間数 ^{*1}	4週間程度(最低4単位) ^{*2} 最低180時間	約24-96週間 ^{b)} 最低1,200時間 ^{*3}	約40週間 ^{d)} 約1,600時間 ^{d)}	最低20週間 ^{7,c)} 約800時間	28週間 ^{8,9,e)} 約1,040時間 ¹⁰⁾	BTS: 20週間 ^{17,f)} DUT: 15週間 ^{15,f)} 約1,015-1,305時間 ¹⁰⁾	約39週間 ¹⁰⁾ 1,400時間 ^{g)}
人口10万人対の栄養士数	56人 ⁶⁾	16-20人 ⁶⁾	21-25人 ⁶⁾	16-20人 ⁶⁾	6-10人 ^{6,10)}	6-10人 ^{6,10)}	—
	イタリア	アイルランド	スウェーデン	オーストリア	ベルギー	デンマーク	フィンランド
養成課程の年数	3年間 ¹⁰⁾	4.5年間 ¹⁰⁾	3-4年間 ^{10,i)}	3年間 ¹⁰⁾	3年間 ¹⁰⁾	3.5年間 ¹⁰⁾	5年間 ¹⁰⁾
必須学位	学士	学士	学士	学士	学士	学士	学士
臨地・校外実習の時間数 ^{*1}	50週間 ¹⁰⁾	約34週間 ¹⁰⁾ 1,210-1,430時間 ¹⁰⁾	約10-約13週間 ¹⁰⁾ 約440-520時間 ¹⁰⁾	約67週間 ¹⁰⁾ >3,315時間 ¹⁰⁾	約18週間 ¹⁰⁾ 約990-1,210時間 ¹⁰⁾	約17週間 ¹⁰⁾ 660-780時間 ¹⁰⁾	約24週間 ¹⁰⁾ >845時間 ¹⁰⁾
人口10万人対の栄養士数	2-5人 ⁵⁾	16-20人 ⁶⁾	clin.: 6-10人 adm.: 21-25人 ^{5,10)}	11-15人 ^{6,10)}	—	>25人 ⁶⁾ clin.: 6-10人 ^{5,10)} adm.: >25人 ^{5,10)}	>1-<2人 ⁵⁾
	ギリシャ	ハンガリー	オランダ	ノルウェー	スペイン	トルコ	スイス
養成課程の年数	4年間 ¹⁰⁾	4年間 ¹⁰⁾	4年間 ¹⁰⁾	clin.(学士): 5年間 adm.(学士以外): 2年間 ¹⁰⁾	学士: 3年間 学士以外: 2年間 ¹⁰⁾	4年間 ¹⁰⁾	3年間 ¹⁰⁾
必須学位	学士	学士	学士	学士: clin. 学士以外: adm.	学士以外	学士	学士以外
臨地・校外実習の時間数 ^{*1}	約38週間 ¹⁰⁾ >910時間 ¹⁰⁾	約25週間 ¹⁰⁾ 約665-855時間 ¹⁰⁾	約30週間 ¹⁰⁾ 約1,045-1,235時間 ¹⁰⁾	clin.: 約3週間 ¹⁰⁾ adm.: 0週間 ¹⁰⁾ clin.: 約83-98時間 ¹⁰⁾ adm.: 0時間 ¹⁰⁾	学士: 約12週間 ¹⁰⁾ 学士以外: 約10週間 ¹⁰⁾ 学士: 約455-585時間 ¹⁰⁾ 学士以外: <490時間 ¹⁰⁾	約34週間 ¹⁰⁾ <1,015時間 ¹⁰⁾	約69週間 ¹⁰⁾ 約2,750-3,250時間 ¹⁰⁾
人口10万人対の栄養士数	2-5人 ⁵⁾	6-10人 ⁶⁾	16-20人 ^{6,10)}	clin.: 2-5人 adm.: 11-15人 ⁵⁾	2-5人 ⁶⁾	2-5人 ⁶⁾	11-15人 ^{6,10)}

BTS: 中級技術者養成課程食事療法学²⁾。DUT: 技術短期大学部生物工学食療法学選択課程²⁾。clin.: clinical dietitian。adm.: administrative dietitian

*1 必須時間数または各種調査データ等からの概算値。*2 栄養士法施行規則(昭和23年1月16日厚生省令第2号、最終改正:平成19年12月25日厚生労働省令第152号)。*3 2009年3月より900時間から引き上げ^{b)}、調査時(2010年3月)は移行期間。

士を育成でき、より高い専門性を学べる意味で栄養士の資質向上に寄与していると思われた³⁾。

◆◆ 4 諸外国の臨地・校外実習の時間数

21カ国中、多くの国はICDAによる国際的スタンダードの500時間を超える臨地・校外実習を実施していた(表1)。アメリカは臨地・校外実習の必須時間として900時間を設定していたが、2009年3月より新制度となり1,200時間に引き上げ、調査時(2010年3月)は移行期間であった。しかしながら、新制度に移行する以前から、アメリカでは実際には1,000時間を超えるプログラムが大部分であった^{b)}。また、オーストラリアは最低20週を必須条件と

しており、これを1日8時間、5日/週で計算すると800時間に相当した^{7,c)}。アメリカ、オーストラリア以外の国において最低必須時間に関する情報は得られなかった。そのため、一般的に実施されている臨地・校外実習時間や養成課程カリキュラムから換算した臨地・校外実習時間数など公表されている時間数を示した。カナダ^{d)}では、約40週間の臨地・校外実習を実施しており、時間数に換算すると1,600時間に相当した。また、イギリスは、28週間の臨地・校外実習を実施しており^{8,9,e)}、時間数に換算すると1,120時間であった。ヨーロッパにおける代表的な栄養士団体である European Federation of

the Associations of Dietitians (EFAD) では、2002年に欧州各国の栄養士制度に関する調査を実施し、栄養士課程の年数、時間数、カリキュラム全体に占める臨地・校外実習の割合などを報告している¹⁰⁾。このEFAD報告書によると、イギリスの臨地・校外実習時間は1,040時間とされていた。また、ドイツ¹¹⁾は1,400時間以上の臨地・校外実習を実施していた。

一方、調査対象とした21カ国のうち、国際的スタンダードである500時間を明確に下回っていたのは日本とノルウェーの2カ国だけであった。日本では、栄養士法施行規則で管理栄養士の臨地・校外実習時間を4単位以上と規定しており、厚生労働省では1単位を45時間と定めていることから、最低必須時間は180時間となった。わが国においても、臨地・校外実習を重視した教育を実施している施設も存在するが、平均的な臨地・校外実習の時間数に関するデータは不明である。ノルウェーでは、臨床に携わるclinical dietitianでも臨地・校外実習時間は約3週間(時間数にして約83~98時間)であり、給食管理に携わるadministrative dietitianでは臨地・校外実習は必須ではなかった¹⁰⁾。

◆◆5 諸外国の臨地・校外実習の内容

各国の臨地・校外実習の内容を表2に示した。科目・分野に関しては、「臨床栄養」、「公衆栄養」、「給食(経営)管理」を中心にプログラムが組まれている国が多かった。その中でも、多くの国で臨床栄養を重視しており、病態栄養や食事療法を中心とした医療スタッフとしての臨地・校外実習に多くの時間が費やされていた。イギリスは臨地・校外実習の内容に特徴があり、臨地・校外実習を段階的に設定し、Placement A、B、Cと呼ばれる3つに分類されていた^{8,9)}。Placement Aは、仕事内容や役割、環境を知る、Placement Bは、Placement Aで得た経験をもとに、特定の患者、集団を対象とした場合の理論、知識、スキルを獲得する、Placement Cは、臨床的な理論を実践に応用するステージで、より複雑な臨床ケースに介入する機会を与えられ、多くの専門家領域で臨地・校外実習を行うとされていた。学士号を必須としないフランス、ドイツにおいても、医療機関における十分な臨地・校外実習

を実施し、臨床スタッフとしての実習が実施されていた。

また、指導方法については、日本では少数グループ単位で指導を受けることが一般的であるが、マンツーマンでの徹底した指導を重視したアメリカをはじめ、マンツーマン指導を取り入れている国も存在した。

臨地・校外実習の時期は、多くの国で養成課程在学中に実施していた。アメリカおよびカナダでは、2種類の養成制度が存在し、①養成課程を卒業した後にインターンシッププログラムを修了する、②養成課程とインターンシップが組み合わされたプログラム(コーディネイトプログラム、インテグレートッドプログラム)を卒業する^{b,d)}であった。しかし、アメリカおよびカナダ共に養成課程を卒業した後にインターンシップの形で臨地・校外実習を実施するのが一般的であった^{b,d)}。インターンシップは有料であることが多く、インターンになるための選抜試験等が存在した。アメリカ、カナダ共にインターンシップの受け入れ数に制限があるため、養成課程卒業生の約半数しかインターンシップへ進むことができない^{12,d)}。一方、在学中にインターンシップを実施するコースでは、全員がインターンシップを受けられるが、週末や夏期休暇などの長期休暇中にもインターンシップを組み込んでいる場合もあった¹³⁾。

◆◆6 諸外国の栄養士の職域

栄養士免許取得後の進路は、卒業生の大多数が栄養士として勤務する国が多数を占めた(表2)。分野は臨床栄養分野が多く、医療スタッフとして医療現場で働く国が多いことが明らかとなった。アメリカでは約55%¹⁴⁾、カナダでは約61%^{d)}、イギリスでは約60%⁹⁾、ドイツは約90%¹¹⁾が医療分野で医療スタッフとして勤務していた。一方、日本では卒業生が栄養士として就業する率が低く、平成19年度の調査では管理栄養士課程卒業生のうち栄養士として就職した者の割合は約55%であった¹⁵⁾。栄養士として就職した者のうち、病院勤務者の割合は約27%¹⁵⁾であった。わが国では、病院勤務の管理栄養士であっても、給食管理(フードサービス)スタッフとしての位置づけがある場合もあり、他国とは事

表2 各国栄養士の臨地・校外実習内容および職域

	日本 (管理栄養士)	アメリカ	カナダ	オーストラリア			
臨地・校外実習の時期	在学中 ^{*1}	卒業後が一般的 ^{b1} (コーディネートプログラム ^{*3} は在学中)	卒業後が一般的 ^{d1} (integrated undergrad program は在学中)	在学中 ^{7,c1}			
実習科目および各時間数	「臨床栄養学」、「公衆栄養学」、「給食経営管理論」合計で4単位以上(ただし「給食の運営」に係る校外実習の1単位を含む) ^{*1}	一般型:「臨床栄養」、「コミュニティ栄養」、「フードサービス」などを含む 専門型:「栄養療法」、「栄養教育」、「母子栄養」など専門性を重視 ^{b1} プログラムは一般型から専門性重視型まで多様 ^{b2} 科目時間は選択プログラムにより異なる ^{b1}	「病院」、「長期療養施設」、「健康管理施設」、「コミュニティ施設」、「食品業界」など特定機関で35-40週	「個別ケアマネジメント」最低10週間、「地域・集団の健康問題」最低4週間、「食品・栄養システムマネジメント」最低4週間、「選択実習」最低2週間 ^{7,c1}			
臨地・校外実習の方法	少数グループが一般的 ^{*2}	マンツーマンが一般的(1-2週間以上) ^{*2} 現役のRDプリセプターから直接指導 ^{b1} ローテーションにより複数のRDから指導 ¹³⁾	現役のRDプリセプターの監督下でマンツーマンおよびグループ実習 ^{d,*2}	個別ケアマネジメント実習のうち4週間は常勤栄養士が2名以上の病院での実習が必須 ^{2,7)} 個人の経験、雇用による経験が実習期間に認められる場合も有 ⁷⁾			
臨地・校外実習を受ける学生の割合	100%(養成課程の学生全員が実習) ^{*1}	約50%(希望者は60%以上) ¹²⁾	約50%	100% ^{*2}			
臨地・校外実習の出願の有無および選抜方法	出願:無 選抜方法:大学から派遣。養成課程の学生は全員実習可能	出願:有 ^{b1} 選抜方法:CADE認定施設に出願 ^{b1} (コーディネートプログラムは養成課程に実習を含む) コンピューターマッチングシステムにより選抜(学業成績、ボランティア/職務経験、小論文など) ^{b1}	出願:有 ^{d1} 選抜方法:コンピュータ選択プロセス(integrated undergrad programは養成課程に実習を含む)	出願:無 選抜方法:大学から派遣			
臨地・校外実習の費用	無料(学費に含まれる)	有料が一般的 ^{b1} (無料および有給のインターンも一部有)	有料が一般的 ^{d1}	無料(学費に含まれる)が多数 ^{*2}			
就職状況および職域	栄養士業務への就職率は約55%(卒業時点) ¹⁵⁾ 新卒の就職状況(栄養士業務の内訳) ¹⁵⁾ :工場・事業所38.2%、病院27.2%、福祉施設15.3%、学校4.5%、官公署4.5%、養成施設0.7%	多くはRDとして就職 ^{*2} 職域 ¹⁴⁾ :臨床栄養55%、食品・栄養管理12%、地域栄養11%、コンサルタント・ビジネス11%、教育・研究6%	大多数が栄養士の職に就く ^{d,*2} 新卒の就職状況 ^{d1} :臨床栄養士61%、コミュニティ栄養士24% 職域 ^{d1} :一般および急性期病院37%、コミュニティ、クリニック29%、長期療養施設、リハビリ23%、開業、食品産業8%	大多数が栄養士の職に就く ^{*2}			
	イギリス	フランス	ドイツ	イタリア	アイルランド	スウェーデン	ノルウェー
臨地・校外実習の時期	在学中 ^{10,e1}	在学中 ²⁾	在学中 ²⁾	在学中 ^{*2}	在学中 ³⁾	通常在学中 ^{*2}	-
実習科目および各時間数	「臨床栄養」(一部「コミュニティ栄養」含む) ^{e1} 3段階のプレイスメントにより実施 Placement A 4週間、Placement B 12週間、Placement C 12週間 ^{8,9,e1}	BTS:「食堂」実習6週間、「臨床医学治療法」実習10週間、選択実習4週間 ^{17,1)} DUT:治療学分野最低8週間 ^{16,1)}	「栄養学」(食事療法が中心、一部厨房作業を含む)700時間、「調理・厨房管理」衛生を含む200時間、「食・栄養カウンセリング」150時間、デイスクリビューション120時間、その他230時間 ^{11,e1} 実習は病院にて実施 ^{11,e1}	-	-	「臨床栄養学」 ¹⁾	-
臨地・校外実習の方法	資格を持つ栄養士の監督下にてその他の医療関係者と共に実習 ⁹⁾	マンツーマンもしくは最大2-3人の少数グループ(病院の場合)	-	-	-	-	-

	イギリス	フランス	ドイツ	イタリア	アイルランド	スウェーデン	ノルウェー
臨地・校外実習を受ける学生の割合	—	—	—	—	—	—	—
臨地・校外実習の出願の有無および選抜方法	出題：無 選抜方法：実習は養成課程に含まれる。health professional council によって承認された病院やコミュニティにて実習	—	—	—	—	—	—
臨地・校外実習の費用	無料(学費に含まれる) ^{*2}	無料(学費に含まれる) ^{*2)}	—	無料 ^{*2}	—	—	—
就職状況および職域	職域 ¹⁰⁾ ：病院 40%、ファミリードクター 20%、健康教育 10%	ほとんどが栄養士として就職 ^{*2} 職域 ¹⁰⁾ ：病院・ファミリードクター・健康関連施設・看護施設・健康教育・地域アドバイザー 65%、コンサルタント(開業)20%、その他 15%	ほとんどが栄養士として医療専門職に就職(病院、リハビリテーションクリニック勤務が大多数) ⁶⁾ 職域 ¹⁰⁾ ：病院 90%、健康教育 5%、コンサルタント(開業)5%	職域 ¹⁰⁾ ：病院 80%	職域 ¹⁰⁾ ：病院 60%、ファミリードクター 19%、製薬会社 10%	職域 ¹⁰⁾ ：clin.；病院 50%、ヘルスセンター・ファミリードクター 14%、製薬会社 2% adm.；病院 25%、コミュニティーアドバイザー 15%、給食会社 10%	職域 ¹⁰⁾ ：病院 40%、看護施設 40%、社員食堂 5%、軍隊食堂 5%

BTS：中級技術者養成課程食事療法学²⁾。DUT：技術短期大学部生物工学食療学選択課程²⁾。clin.：clinical dietitian。adm.：administrative dietitian。RD：registered dietitian。CADE：Commission on Accreditation for Dietetics Education（栄養士教育公認委員会）

*1 栄養士法施行規則（昭和 23 年 1 月 16 日厚生省令第 2 号、最終改正：平成 19 年 12 月 25 日厚生労働省令第 152 号）。*2 各国の栄養士関連職能団体の担当者、政府機関担当官等からの直接回答。*3 アメリカのコーディネイトプログラムおよびカナダの integrated undergrad program は、養成課程とインターンシップが統合されたコース。

情が異なる。しかし、それであっても管理栄養士課程の卒業生が病院で勤務する割合は、諸外国と比較すると少ないことが明らかとなった。

一方、職域の幅では、多くの国の栄養士が医療職に特化しているのに対し、日本の管理栄養士は臨床分野だけでなく、給食管理、福祉施設、学校、官公庁等に勤務し、諸外国と比較して多くの分野で活躍していることが明らかとなった。

IV 考察

本研究により、日本の管理栄養士養成課程における臨地・校外実習は、諸外国と比べ全体の時間数が非常に少なく、マンツーマンでのトレーニングが実施されていないことから、「人を診る専門職」という観点から考えると実習内容が不十分であることが明確となった。管理栄養士の資質向上のためにも、臨地・校外実習の時間数の拡大が望まれる。ICDA が提唱する国際的スタンダードである「監督下での専門的な実習 500 時間」をわが国において実施するためには、以下のような方法が考えられる。

①在学中の週末、夏期休暇など長期休暇期間中に臨地・校外実習を実施する。

- ②在学中の臨地・校外実習時間数、比率を増加させる（それに伴う授業時間数の減少の可能性あり）。
- ③臨地・校外実習終了後、選択実習を設ける。
- ④在学中のボランティア実習、施設研修などを単位化する。
- ⑤大学院において臨地・校外実習を重視した養成課程を設ける。
- ⑥アメリカ・カナダで実施している養成課程終了後のインターンシップ制度を導入する。

しかしながら、日本の管理栄養士の養成数が増加しても最多であることから、すべての学生に対して臨地・校外実習を必須とする現行の制度では、臨地・校外実習の時間数増大に受け入れ施設が対応できずに破綻する可能性が考えられる。アメリカおよびカナダにおいても、インターンシップの枠は限られており、養成課程卒業生の約半数しかインターンシップに進学することができない^{12, 1)}。インターンシップへ進めなかった卒業生は、次期にインターンシップへ進む場合、栄養士免許は取得せずに栄養の専門家として活躍する場合などがある。また、インターンシップへ進めた場合でも、受け入れ施設のインターンシップだけでは修了できないことが多い。アメリ

カの例では、臨床栄養を学ぶため病院でのインターンに進めた場合でも、フードサービスやコミュニティー等の他分野のインターンシップ経験も必要であることから、自ら他分野のインターンシップ先を探さなければならない場合もある。日本においても、すべての養成課程の学生に臨地・校外実習を必須として、実習先を与える制度を再考する必要もある。管理栄養士として勤務を希望している学生のみを対象とした強化型臨地・校外実習や専門型の養成課程を設けるなど、わが国独自の対応が必要である。また、日本では在学中に種々の学内実習や実験を実施しているが、諸外国では学内の実験実習を実施していない例も存在する。例えば、アメリカでは養成課程において授業実習や学内実習はほとんど実施しておらず、実務レベルでの経験はインターンシップに集中させている。ICDA が示している「監督下での専門的な実習」の範囲や定義をわが国として再考する必要もある。

また、オーストラリアの卒後教育制度も参考になる。オーストラリアでは新卒の栄養士は条件付 APD (provisional accredited practising dietitian) とされ、Full APD の指導のもとで勤務する⁷⁾。Full APD に昇格するためには、卒後 2 年以内に指導者の承認と共に申請しなければならない。この制度は、免許を持っているだけの実務経験のない栄養士と、実務を行っている栄養士を明確にすることができる点で、わが国のように就業率が低い場合には有効である。さらに、専門職意識を高める可能性もある。

ICDA が提唱する国際的スタンダードである「監督下での専門的な実習 500 時間」を実施するためには、上述した種々の方法が考えられるが、本研究の結果から、わが国の管理栄養士養成制度の利点も浮き彫りとなった。第一に、管理栄養士数が世界でも最多であること、第二に、管理栄養士の職域が広く、国民の身近で活躍していることである。管理栄養士数が最多であることは、国際的スタンダードである 500 時間の臨地・校外実習の実現を困難にしている一因でもある。しかし、わが国が諸外国に例を見ない管理栄養士数を有することは、国民全体の健康に寄与している可能性も否定できない。わが国の

管理栄養士制度は、健康を支える社会的基盤となり、世界をリードするための根拠となり得る可能性も十分考えられる。ICDA の掲げる栄養士の国際的スタンダードを諸外国と単純に比較するのではなく、専門職としての社会における役割や影響力の大きさ等も考慮し、わが国の利点を生かした現状に合った独自の対策が求められる。

V 結 論

諸外国において栄養士免許取得前に実施されている臨地・校外実習制度を調査し、日本の管理栄養士養成制度の現状と比較した。その結果、ほとんどの国で ICDA が提唱する国際的スタンダードである「監督下での専門的な実習 500 時間」を実施していることが明らかとなった。さらに、500 時間にとどまらず時間数のさらなる拡大の動きがアメリカの制度改定等にも見られることから、日本の管理栄養士養成においても、人を診る専門職として臨地・校外実習の時間数の増加が望まれる。一方、本研究の結果から、わが国の管理栄養士数が世界でも最多であること、管理栄養士の職域が広く、国民の身近で活躍していることが明らかとなった。多数の専門職の存在はわが国の健康を支える基盤とも考えられることから、わが国の利点を生かした今後の対策が望まれる。

謝 辞

本研究は、平成 20 年度(社)日本栄養士会政策経費事業の助成を受け、全国研究教育栄養士協議会の政策事業「管理栄養士養成のための臨床研修制度についての検討」の一環として行った。

参 考

- a) International Confederation of Dietetic Associations: International Definition of Dietitian and Educational Standard: <http://www.internationaldietetics.org/upload/document/0NJEMNDMACADPGNONBCGFKMFD;%20ASPESSIONIDCCSDCSCA1.pdf> (2010 年 2 月 23 日)
- b) アメリカ栄養士会 (ADA) ホームページ, <http://www.eatright.org/default.aspx>
The American Dietetic Association: Coordinated Programs in Dietetics: <http://www.eatright.org/>

- students/education/cpd.aspx (2010年2月23日)
- c) オーストラリア栄養士会 (DAA) ホームページ, <http://www.daa.asn.au/>
Dietitians Association of Australia: Becoming a Dietitian: <http://www.daa.asn.au/index.asp?pageID=2145833487> (2010年2月23日)
- d) カナダ栄養士会 (CD) ホームページ, <http://www.dietitians.ca/>
Dietitians of Canada: Internships & Practicum Programs: http://www.dietitians.ca/public/content/career_in_nutrition/internships.asp (2010年11月16日)
- e) イギリス栄養士会 (BDA) ホームページ, <http://www.bda.uk.com/>
The British Dietetic Association: Clinical Placements: <http://www.bda.uk.com/edclinplac.html> (2010年2月23日)
The British Dietetic Association: Curriculum Framework for the Pre-Registration Education and Training of Dietitians: <http://www.bda.uk.com/ced/CurriculumDocument080826.pdf> (2010年2月23日)
The British Dietetic Association: Want a career as a dietitian?: <http://www.bda.uk.com/ced/CareersLeaflet.pdf> (2010年2月23日)
- f) フランス栄養士会 (AFDN) ホームページ, <http://www.afdn.org/?id=index>
Association française des diététiciens nutritionnistes: Le BTS de diététique: <http://www.afdn.org/bts-dietetique.html> (2010年2月23日)
Association française des diététiciens nutritionnistes: Arrêté portant définition et fixant les conditions de délivrance du brevet de technicien supérieur diététique: <http://www.afdn.org/referentiel-bts.html> (2010年2月23日)
Association française des diététiciens nutritionnistes: Le DUT Génie biologique-option diététique: <http://www.afdn.org/dut-genie-biologique-dietetique.html> (2010年2月23日)
Association française des diététiciens nutritionnistes: Programme Pédagogique National du DUT «Génie biologique»: <http://www.afdn.org/fileadmin/pdf/referentiel-dut-dietetique.pdf> (2010年2月23日)
- g) ドイツ栄養士会 (VDD) ホームページ, <http://www.vdd.de/index.php>
Verband Diätassistenten Deutscher Bundesverband e.V.: Education of Dietitians in Germany: <http://www.vdd.de/servicenavigation/english/education/> (2010年2月23日)
Verband Diätassistenten Deutscher Bundesverband e.V.: Ausbildungs- und Prüfungsverordnung für Diätassistentinnen und Diätassistenten (Diät Ass-APrV): http://www.vdd.de/fileadmin/downloads/VDD_Ausbildungsverordnung.pdf (2010年2月23日)
- h) アイルランド栄養士会 (INDI) ホームページ, <http://www.indi.ie/>
The Irish Nutrition & Dietetic Institute: Jobs & Careers - How to become a Dietitian: <http://www.indi.ie/index.php?page=30> (2010年2月23日)
- i) スウェーデン栄養士会 (DRF) ホームページ, The Swedish Association of Clinical Dietitians (DRF) Dietisternas Riksförbund: <http://www.drifnu/>

文 献

- 1) 笠原賀子, 野中博雄: 第15回国際栄養士会議 ICDA ワークショップ, 日本栄養士会雑誌(栄養日本), 52, 530-536 (2009)
- 2) 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「保健・医療サービス等における栄養ケアの基盤的研究」平成19年度総括研究報告書, 主任研究者須永美幸, pp.1-191 (2008)
- 3) 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「保健・医療サービス等における栄養ケアの基盤的研究」平成20年度総括研究報告書, 研究代表者須永美幸, pp.1-279 (2009)
- 4) 笠岡(坪山)宣代, 桑木泰子: 管理栄養士養成のための臨床研修制度についての検討「諸外国における栄養士養成のための臨地・校外実習の現状に関する調査研究」, 平成20年度日本栄養士会全国研究教育栄養士協議会政策事業報告書, pp.1-4 (2009)
- 5) International Confederation of Dietetic Associations (ICDA): The Education and Work of Dietitians (2004), pp.5-6, 11 (2004)
- 6) International Confederation of Dietetic Associations (ICDA): Dietitians around the world; their education and their work (2008), pp.4-5 (2010)
- 7) Dietitians Association of Australia: Dietitians association of Australia (DAA) manual for accreditation of dietetic education programs, pp.8-10, 13-15 (2007)
- 8) The British Dietetic Association: Curriculum framework for the pre-registration education and training of dietitians, pp.13-14 (2008)
- 9) NHS Education for Scotland: Dietetic practice placement project final project report, pp.10, 31 (2007)
- 10) European Federation of the Associations of Dietitians: Education programmes and work of dietitians in the member countries of EFAD, pp.1-21 (2003)
- 11) Verband Diätassistenten Deutscher Bundesverband e.V.: Training and examination regulation for dietitians and dietetic assistants (2007)
- 12) Commission on accreditation for dietetics education the accrediting agency for the American Dietetic Association: 2008 Annual report, p.14
- 13) Purdue University: Coordinated program in dietetics, student/intern handbook, Purdue University, De-

- partment of Foods and Nutrition, 2007-2009, p.5 (2009)
- 14) Rogers D: Compensation & benefits survey 2007: above-average pay gains seen for registered dietitians, *J Am Diet Assoc*, 108, 416-427 (2008)
- 15) (社)全国栄養士養成施設協会:平成19年度栄養士及び管理栄養士課程卒業生の就職実態調査の結果, 全栄施協月報, 578, pp.13-79 (2008)
- 16) Ministère de l'éducation nationale, de l'enseignement supérieur et de la recherche: Programme pédagogique national du DUT «Génie biologique» présentation de la formation, pp. 3, 5, 9 (2005)
- 17) Ministère de l'éducation nationale de la recherche et de la technologie, ministère de l'emploi et de la solidarité: Arrêté portant définition et fixant les conditions de délivrance du brevet de technicien supérieur diététique, p. 88 (1997)

Abstract : The International Confederation of Dietetic Associations (ICDA) stipulates the minimum level of education of a dietitian is "1: a bachelor's degree, and 2: a period of supervised professional practice of at least 500 hours." In this study, we conducted a survey of practical training systems for dietetic students in the world, and compared the result with the current educational system of registered dietitians in Japan. We collected information from notification documents and reports published by government agencies and national professional dietetic organizations and web pages. To collect more detailed information, we contacted the representatives of countries. Over 500 hours of practical training in accordance with ICDA educational standards were conducted in 21 countries investigated, but not in Japan and Norway. Timing of practical training differs depending on the country; in some countries as Japan students receive practical training during the dietetic course; whereas in the U. S. and Canada, students generally receive such training after completing the dietetic course. The contents of training in many countries were mainly clinical nutrition and nutritional therapy. Of the countries investigated, Japan has the largest number of dietitians per 100,000 of the population and the largest number of occupational areas. This study brought out weak points and advantages of the registered dietitian training system in Japan. Japan should adopt unique countermeasures for improving the expertise of dietitians by increasing the hours of practice training of dietetic students by taking advantage of a great number of dietitians and their occupational areas and their proximity to people's lives.

Key words : dietitian, system, practice, education

日本人の食事摂取基準における目安量は健康人の摂取の中央値でよいのか？

Adequate intake (AI) for vitamin D; how is it to be determined?

本稿はトピックスの原稿として書いたものであるが、最近の話題を取り上げて概説するという本来のトピックスではない。著者らがふだん疑問に感じている点を述べて、ビタミン学会会員諸先生のご意見を承りたいという意図で書いたものであり、いわば著者らの個人的見解を述べたものであることを、最初におことわりしておく。

ビタミンの欠乏により、古典的欠乏症が起こる。ビタミンB₁欠乏による脚気・ウェルニッケ脳症、ナイアシン欠乏によるペラグラ、ビタミンC欠乏による壊血病、ビタミンK欠乏による出血傾向など、多数の有名な例がある。少なくともわが国においては、これらの多くはほぼ克服されたといつてよいが、近年ビタミンの新たな意義が注目されている。

古典的な欠乏症を起こすほどのビタミン欠乏 (deficiency) より軽度のビタミン不足 (insufficiency) であっても、疾患のリスクが増加する。

ビタミンDを例に述べると、骨はタンパク質(主にコラーゲン)の枠組みの上に、リン酸カルシウムが沈着して(石灰化)形成される。ビタミンDの最も基本的な作用は、腸管からのカルシウム・リン吸収促進なので、ビタミンD欠乏の結果、石灰化障害が起こるのがクル病・骨軟化症である。

一方、より軽度の不足の場合、石灰化障害は起こらないが、骨粗鬆症・骨折のリスク増加が起こる。副甲状腺ホルモン(PTH)とビタミンDは血清カルシウム濃度を維持するのが重要な役割であり、PTHはビタミンDの活性化を促進し、活性型ビタミンDはPTH分泌を抑制するという形で、両者は協調して、血清カルシウム濃度を維持するのに作用するが、作用が過剰となって、高カルシウム血症を起こさないように、フィードバック調節を受けている。したがって、ビタミンD不足状態においては、PTH分泌が亢進し、それによって骨吸収が亢進して、骨粗鬆症をきたす。なお、ビタミンD栄養状態の最もよい指標は、血中25-ヒドロキシビタミンD(25OHD)濃度である。

わが国において、残念ながらまだまだ、ビタミン不足の重要性が十分認識されているとはいえない状況であるが、その重要性がわかりにくいのも事実である。脚気・クル病・壊血病と列挙すれば明らかなように、古典的欠乏症は外見上の異常を伴うので、個々の人ごとにその有無が判定できる。しかし、ビタミンD不足の場合、外見上は何の異常もなく、疫学調査により初めて疾患リスクが増加していることが明らかになる。

食事摂取基準においても、改訂の度に徐々にビタミン

D不足の意義が考慮されるようになってきたと思われる。例えば、第六次改訂日本人の栄養所要量においては、「20～46歳の人で、1.7 μ g(68 IU)/日以下のビタミンD摂取を数年間続けると骨軟化症が認められるようになり、2.5 μ g(100 IU)/日では発生はみられなかったとの報告があるので、2.5 μ g(100 IU)/日とした」と述べられており、この記述はクル病・骨軟化症防止を念頭においた、欠乏症対策と理解される。しかし、現行の2010年版においては、「成人、とくに高齢者において、ビタミンD欠乏とはいえないもののビタミンD不足の状態が長期にわたって続くと、血中副甲状腺ホルモン濃度が上昇し、骨密度が低下する。したがって、正常なカルシウム利用能が保持され、血中副甲状腺ホルモン濃度が上昇しない血中25-ヒドロキシビタミンD濃度を維持するのに必要な量のビタミンDを摂取することが、骨折や骨粗鬆症などの予防の観点から重要と考えられる。しかし、その血中濃度を与えるビタミンD摂取量に関する根拠は乏しいため、その血中濃度を維持していると考えられる集団のビタミンD摂取量の中央値を目安量とした」との記述がみられ、これは明らかに、ビタミンD不足による骨折リスク増加対策をも意識したものである。このように、不足をも考慮する時代になると、目安量の策定において、欠乏対策だけを考えていた時代にはなかった、新たな問題点を生じてきたのではないかというのが、著者らが最近考えていることである。

目安量の策定理論に関して、2010年版の記述を引用すると、「特定の集団において、生体指標等を用いた健康状態の確認と当該栄養素摂取量の調査を同時に行い、その結果から不足状態を示す者がほとんど存在しない摂取量を推測し、その値を用いる。対象集団で不足状態を示す者がほとんど存在しない場合には栄養素摂取量の中央値を用いる。」とされている。

ビタミンDに関する具体的な数字として、「成人において血中副甲状腺ホルモン濃度の上昇を抑制し、骨密度の低下を予防するのに最低限必要な血中25-ヒドロキシビタミンD濃度は50 nmol/L前後であると考えられる」と書かれている。

表1は、食事摂取基準2010年版のビタミンDの項に示されている表を改変引用したものである。確かにここで引用されている論文において、50～69歳の集団における平均25OHD濃度は50 nmol/L(20 ng/mL)を越えているが、平均値が50 nmol/L(20 ng/mL)を越えているからといって、「特定の集団において不足状態を示す人がほとん

表1 日本人女性を対象として血清 25-ヒドロキシビタミン D 濃度を測定した報告

文献	人数	調査地域	血清 25 ヒドロキシビタミン D 濃度 (nmol/L)	50 nmol/L 未満者の割合	対応する年齢階級のビタミン D 摂取量中央値 ($\mu\text{g}/\text{日}$)
49	24	新潟(9月)	83 \pm 22	6.7%	5.7
48	7	新潟(2月)	54.7 \pm 9.4	30.9%	
54	244	長野(限定せず)	50.1 \pm 13.6	49.7%	
49	70	新潟(9月)	80 \pm 16	3.0%	
50	122	新潟(9月)	78.6 \pm 18.2	5.8%	
50	122	新潟(2月)	59.7 \pm 17.1	28.5%	
51	151	新潟(2月)	59.9 \pm 17.0	28.0%	
52	117	新潟(2月)	59.1 \pm 16.1	28.6%	
53	600	新潟(11月)	55.6 \pm 14.6	35.1%	

日本人の食事摂取基準 2010 年版¹⁾より改変引用した。「50 nmol/L 未満者の割合」は、正規分布するものと仮定して、平均値・標準偏差に基づき、著者らが計算したものである。

ど観察されない」と言えるのであろうか。仮に 25OHD 濃度が正規分布するものとして、摂取基準の表に示されている平均 \pm 標準偏差の値に基づき、50 nmol/L を下回る対象者の割合を概算した結果を、「50 nmol/L 未満者の割合」として加筆した。一見して明らかに、多くの文献において、50 nmol/L 未満者の割合はかなり高い値であった。するとこれらの集団はビタミン D が充足している集団であるから、それに対応する性・年齢階級における摂取の中央値をもって目安量としてもよいのだろうかという疑問が生じてくる。

そうすると、ビタミン D の摂取基準策定にどのような方法論を用いることができるのであろうか。2010 年カルシウム・ビタミン D について、アメリカ・カナダの食事摂取基準が全面改訂された。方法論からみると、目安量ではなく、推定平均必要量 (EAR)・推奨量 (RDA) に変わったのが大きな変化である。これらは欠乏・充足実験によって定められるのが原則であり、EAR は当該集団において 50% の人が必要量を満たす量、RDA はほとんどの人 (97~98%) が満たす量として定められる。このアメリカ・カナダの食事摂取基準においては、骨の健康を維持するための血中 25OHD 濃度 (50 nmol/L) を基に、ビタミン D の摂取量が算定されており、RDA は、血中 25OHD 濃度と摂取量の容量依存性試験の結果から定められている。アメリカ・カナダの食事摂取基準における RDA は、1 歳から 70 歳まで 600 IU/日となっている²⁾。一方わが国の平成 19 年国民健康栄養調査の結果を見ると、成人で 600 IU/日摂取できているのは、集団の上位 10% に限られているのが実際であり³⁾、この数字を日本に適用できるのかどうかについては、多くの議論が必要であるが、ビタミン不足をも考慮した場合、この策定の方法論は注目すべきものと思われる。

誤解のないように一言述べておくと、著者らは 2010 年版に定められた目安量の値が不適切であると述べている

のではなく、従来の目安量の概念に従って策定するならば、現行の摂取基準のような定め方にならざるを得ないのであろう。しかし、栄養素の不足をも考慮した場合の摂取基準策定において、その摂取の中央値をもって目安量とすることができるような健常人というものはそもそも存在するのであろうか。一見して外見上の異常を伴わない対象者であっても、不足のリスクの低い人から高い人まで連続的に分布すると考える方がより摂取基準の精神に合致するように思われてならない。

ビタミン不足をも考慮しなければならぬ時代においては、目安量策定の方法論に関して、再検討の時期が来ているのではないだろうか。

Key Words : Dietary reference intakes, adequate intake, vitamin D, median, osteoporosis

¹⁾Department of Food and Nutrition Kyoto Women's University

²⁾Department of Health and Nutrition, Osaka Shoin Women's University

Kiyoshi Tanaka¹ Akiko Kuwabara²

¹京都女子大学家政学部食物栄養学科

²大阪樟蔭女子大学学芸学部人間栄養学科

田中 清¹, 栗原 晶子²

参考文献

- 1) 第一出版編集部編：厚生労働省策定日本人の食事摂取基準 (2010 年版), 第一出版, 東京, 2009.
- 2) Institute of Medicine 2011 Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington, DC: The National Academies Press
- 3) 健康・栄養情報研究会：国民健康・栄養の現状—平成 19 年厚生労働省国民健康・栄養調査報告—, 第一出版, 東京, 2009