

ビタミンB1あるいはビタミンB2の大量摂取が幼若ラットの成長と水溶性ビタミン排泄量におよぼす影響

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者名	福渡, 努 葛谷, 真子 佐藤, 志織 柴田, 克己
発行元	[日本食品衛生学会]
巻/号	50巻2号
掲載ページ	p. 70-74
発行年月	2009年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ノート

ビタミン B₁ あるいはビタミン B₂ の大量摂取が幼若ラットの成長と水溶性ビタミン排泄量におよぼす影響

(平成 20 年 6 月 4 日受理)

福渡 努* 葛谷 真子 佐藤 志織 柴田 克己

Effects of Excess Vitamin B₁ or Vitamin B₂ on Growth and Urinary Excretion of Water-soluble Vitamins in Weaning Rats

Tsutomu FUKUWATARI*, Mako KUZUYA, Shiori SATOH and Katsumi SHIBATA

Department of Food Science and Nutrition, School of Human Cultures, The University of Shiga Prefecture: 2500 Hassaka, Hikone, Shiga 522-8533, Japan; * Corresponding author

To determine the tolerable upper intake levels of vitamin B₁ and vitamin B₂ in humans, we investigated the effects of excess thiamin or riboflavin administration on body weight gain, food intake, tissue weights, and urinary excretion of B-group vitamins in weaning rats. The weaning rats were freely fed ordinary diet containing 0.0006% thiamin-HCl or the same diet with 0.006%, 0.03%, 0.18% or 1.0% thiamin-HCl for 30 days, or the diet containing 0.0006% riboflavin or the same diet with 0.1%, 0.5 or 1.0% riboflavin for 22 days. Mild diarrhea was seen only in the rats fed with 1.0% thiamin-HCl diet. Excess thiamin-HCl or riboflavin did not affect body weight gains, food intake or tissue weights. The urinary excretions of water-soluble vitamins also did not differ among the diets. These results clearly showed that feeding a diet containing up to 1.0% thiamin-HCl or 1.0% riboflavin did not induce apparent adverse effects, and the no-observed-adverse-effect-levels (NOAELs) for thiamin-HCl and riboflavin in rats might be 1.0% in diet, corresponding to 900 mg/kg body weight/day.

(Received June 4, 2008)

Key words: チアミン thiamin; リボフラビン riboflavin; 過剰 excess; 上限量 tolerable upper intake level: UL; 健康障害非発現量 (無毒性量) no-observed-adverse-effect-level: NOAEL; 最低健康障害発現量 (最小毒性量) lowest-observed-adverse-effect-level: LOAEL; 食事摂取基準 Dietary Reference Intake

緒言

ヒトにおけるビタミン B₁ あるいはビタミン B₂ の健康障害非発現量 (no-observed-adverse-effect-level: NOAEL, 毒性学の領域では無毒性量と和訳されているが, 食事摂取基準では意識されて, このように和訳されている) および最低健康障害発現量 (lowest-observed-adverse-effect-level: LOAEL, 毒性学の領域では最小毒性量と和訳されているが, 食事摂取基準では意識されて, このように和訳されている) が明らかにされていないため, 「日本人の食事摂取基準 (2005 年版)」¹⁾ では, ビタミン B₁ とビタミン B₂ の上限量 (tolerable upper level intake: UL) は策定されなかった。「日本人の食事摂取基準 (2005 年版)」⁴⁾ での「上限量」とは, 健康障害をもたらす危険がないとみなされる習慣的な摂取量の上限を与え

る量のことである。

ビタミン B₁ の大量投与による悪影響として, 不安, 掻痒, 呼吸障害, 吐き気, 腹痛, アナフィラキシーショックなどの臨床症状が報告されている²⁾。また, チアミン 500 mg/日の筋肉注射により掻痒感を訴える症例が報告されており³⁾, 989 人へのチアミン塩酸塩 100 mg の静脈注射により 11 人が灼熱感を, 1 人が掻痒感を訴える症例も報告されている⁴⁾。このように, 非経口投与による悪影響は報告されているが, 経口投与時におけるビタミン B₁ の大量投与時の報告は見当たらない。

ビタミン B₂ については, 49 人の偏頭痛患者に 400 mg/日のリボフラビンを食事とともに 3 か月間服用させても副作用は現れず⁵⁾, 偏頭痛患者 55 人に 400 mg/日のリボフラビンあるいはプラセボを 3 か月間服用させるとリボフラビンを摂取した患者 2 名に下痢と多尿が認められた⁶⁾。また, 慢性疲労に苦しんでいる 24 歳の女性に 2 年間にわたって 100 mg/日のリボフラビンを投与しても

* 連絡先

滋賀県立大学人間文化学部生活栄養学科: 〒522-8533 滋賀県彦根市八坂町 2500

副作用は認められなかったという報告⁷⁾や、慢性疲労で苦しんでいる14歳の少女にはじめの1年間は200 mg/日のリボフラビンを、次の2年間は100 mg/日を投与しても悪影響はなかったという報告⁷⁾がある。しかしながら、これらの報告は、いずれも患者の自己申告であり、生化学的な指標の検査はしていないため、上限量の設定のデータとして使用することはできない。

上限量を設定するには健常者を被験者とした実験が必要である。しかし、ヒトに過剰害が現れる可能性があるほどの大量のビタミンを投与することは、倫理的に不可能である。そこで、著者ら実験動物を用いてビタミンの健康障害非発現量を調べることを目的として、これまでにニコチンアミド⁸⁾、パントテン酸⁹⁾、ビオチン¹⁰⁾、葉酸¹¹⁾の大量摂取が幼若ラットの成長と各ビタミンの体内動態に及ぼす影響について検討してきた。本研究では、ビタミン B₁ とビタミン B₂ の大量投与が幼若ラットの飼料摂取量と体重増加量、ビタミン B₁ とビタミン B₂ の体内動態に及ぼす影響について検討した。さらに、補酵素作用という共通の生理機能をもつ水溶性ビタミンの尿中排泄量を調べることに より、ラットにおけるビタミン B₁ とビタミン B₂ の NOAEL と LOAEL を推定した。

実験方法

1. 動物の飼育方法

本実験は滋賀県立大学動物実験委員会の承認を受けた。飼育室の温度は22°C前後、湿度は50%前後に維持し、明暗サイクルは、午前6時～午後6時を明、午後6時～午前6時を暗とした。

1.1 チアミン大量投与実験 (実験 1)

3週齢のWistar系雄ラット20匹を日本クレア株式会社より購入し、4匹ずつ5群に分けた。0.0006%のチアミン塩酸塩を含有する20%カゼイン食を対照食とし、対照食に0, 0.006, 0.03, 0.18, 1.0%のチアミン塩酸塩を添加した飼料を与え、30日間飼育した。飼育最終日の1日尿および1日糞を集めた。尿は塩酸酸性下で集め、採尿後、分析に供するまで-20°Cで保存した。採尿終了後、ラットを断頭屠殺し、採血および脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、精巣の摘出を行い、各臓器重量を測定した。

1.2 リボフラビン大量投与実験 (実験 2)

投与した飼料以外は、実験1と同じである。0.0006%のリボフラビンを含有する20%カゼイン食を対照食とし、対照食に0, 0.1, 0.5, 1.0%のリボフラビンを添加した飼料を与え、22日間飼育した。

2. 分 析

チアミン¹²⁾、リボフラビン¹³⁾、ルミフラビン¹⁴⁾、ビタミン B₆ 代謝産物 4-ピリドキシン酸 (4-PIC)¹⁵⁾、アスコルビン酸¹⁶⁾ は HPLC 法により測定した。ニコチンアミド (Nam)¹⁷⁾、N¹-メチルニコチンアミド (MNA)¹⁸⁾、N¹-メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド (2-Py)¹⁷⁾、N¹-メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド (4-Py)¹⁷⁾ は HPLC 法により測定し、これらの合計を総ニコチンアミド代謝産物とした。パントテン酸¹⁹⁾、葉酸²⁰⁾ は微生物学的定量法により測定した。

3. 有意差検定

すべてのデータは平均値±SEMで示した。有意差検定は、まず一元配置の分散分析を行い、有意差が認められた時には、Tukey-Kramerの多重比較テストを行った。有意差は、 $p < 0.05$ で判定した。なお、検定には、統計ソフト GraphPad Prism (version 5.01; GraphPad, San Diego, CA, USA) を用いた。

結果および考察

1. チアミンの大量投与実験 (実験 1)

1.1 体重増加量、飼料摂取量、肉眼的所見

薬剤や栄養素の大量摂取による明らかな健康障害を調べる指標の1つとして、飼料摂取量の低下とそれに伴う体重増加量の抑制が挙げられる。そこで、本研究では、3週齢 Wistar 系雄性ラットに 0.0006~1.0% のチアミン塩酸塩を添加した飼料を 30 日間与えた。この飼育期間において、飼料摂取量および体重増加量にはチアミン塩酸塩の大量摂取による影響は認められなかった (Table 1)。しかし、チアミン塩酸塩 1.0% 添加食を摂取したすべてのラット (4 匹中 4 匹) において、軽度の下痢が観察された。この下痢は投与 10 日目あたりから観察された。下痢が観察されたものの、飼料摂取量および体重増加量には影響が認められなかったことから、消化・吸収を阻害する重篤な影響を及ぼしたとは考えにくい。

1.2 臓器重量

脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、精巣の重量にはチアミン塩酸塩の大量摂取による影響は認められなかった。しかし、1.0% チアミン塩酸塩食を摂取したラットにおいて、盲腸が3倍程度に膨張し、内容物の滞留が観察された。この現象は難吸収性の化合物を大量投与したときに見られる共通的な現象であるため、悪影響とは見なさないことができる。なお、0.18% チアミン塩酸塩混餌食群では、盲腸の膨潤は認められなかった。

Table 1. Effects of excess thiamin-HCl administration on body weight gain and food intake

	Control	+0.006%	+0.03%	+0.18%	+1.0%
Initial body weight (g)	38.0±0.9	37.0±1.0	37.3±0.7	38.1±0.83	7.5±1.0
Final body weight (g)	223.1±3.5	216.1±6.9	208.0±3.5	230.5±7.3	239.4±8.9
Body weight gain (g/30 d)	185.1±3.3	179.1±6.0	170.8±4.1	192.4±7.5	201.9±8.2
Food intake (g/30 d)	408.0±7.2	408.3±14.5	401.3±1.6	433.6±11.9	433.2±12.5

Each value is expressed as the mean±SEM (n=4).

Table 2. Effects of excess thiamin-HCl administration on the thiamin contents in liver, blood, urine and feces

	Control	+0.006%	+0.03%	+0.18%	+1.0%
Liver (nmol/g)	34.1±0.5	48.4±1.3	50.4±1.0	62.6±2.3*	133.2±7.8*
Blood (nmol/mL)	0.82±0.01	1.30±0.04	1.52±0.05*	2.07±0.05*	6.80±0.31*
Urine (μmol/d)	0.06±0.01	1.33±0.09	1.91±0.15	5.57±0.48	56.91±3.59*
Feces (μmol/d)	0.02±0.01	0.27±0.02	3.68±0.26	39.74±2.54	123.32±34.47*

Each value is expressed as the mean±SEM ($n=4$). * $p<0.05$ versus control determined by ANOVA followed by Tukey-Kramer multiple comparison test.

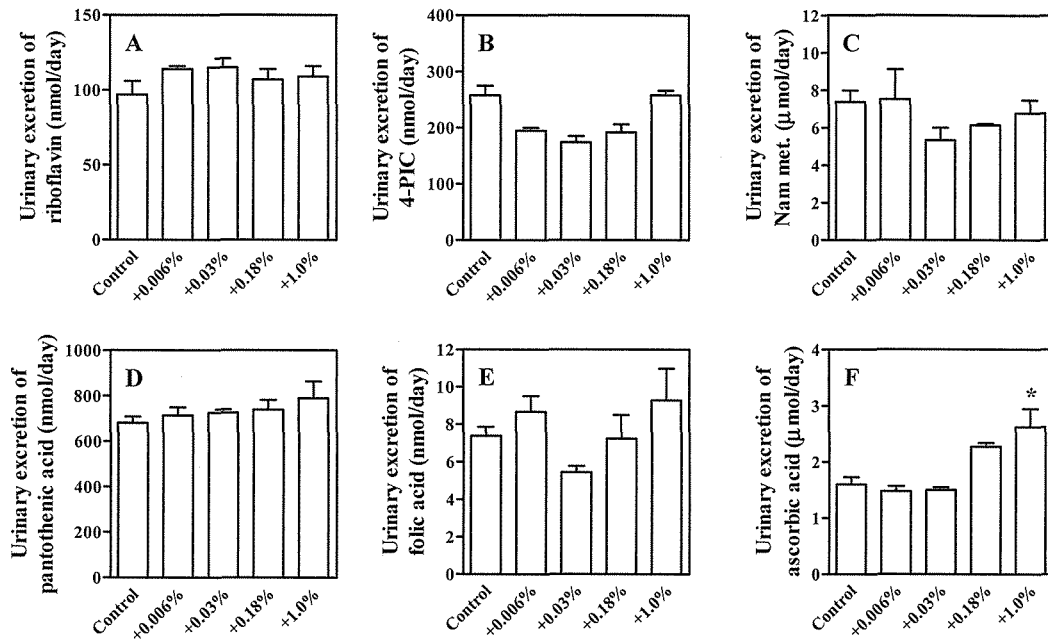


Fig. 1. Effects of excess thiamin-HCl administration on urinary excretions of riboflavin (A), 4-PIC (B), nicotinamide metabolites (Nam met) (C), pantothenic acid (D), folic acid (E) and ascorbic acid (F)

Each value is expressed as the mean±SEM ($n=4$). * $p<0.05$ versus control determined by ANOVA followed by Tukey-Kramer multiple comparison test.

1.3 肝臓、血液、尿および糞中のチアミン含量

大量摂取したチアミン塩酸塩の動態を明らかにするため、肝臓、血液、尿および糞中のチアミン含量を測定した。0.18% チアミン塩酸塩食摂取ラットの血液および肝臓におけるチアミン濃度は対照群ラットのそれぞれ2.5倍、1.8倍、1.0% チアミン塩酸塩食摂取ラットではそれぞれ8.3倍、3.9倍であった (Table 2)。ビタミンB₁の主要な貯蔵部位は肝臓であるが、チアミン塩酸塩の摂取量が300倍、約1,600倍に増加したことに比して、肝チアミン濃度の増加は低いものであった。

1.0% チアミン塩酸塩食摂取ラットの尿中チアミン排泄量は対照食摂取ラットの約900倍を示した。1.0% チアミン塩酸塩添加食摂取ラットの糞中チアミン排泄量は約6,000倍を示した。チアミン塩酸塩摂取量の増加に比して、尿中排泄量の増加は低く、糞中排泄量の増加が高かったことは、チアミン塩酸塩の摂取量が高くなるほど吸収率が低下し、糞中へ排泄されることを示している。

1.4 尿中水溶性ビタミン排泄量

B群ビタミンは糖質、脂質、アミノ酸の代謝に協調して関与することから、チアミン塩酸塩の大量摂取が他のB

群ビタミンの代謝に作用するかを検討した。飼育30日目の1日尿に含まれるリボフラビン、4-ピリドキシン酸、ニコチンアミドとその代謝産物 (MNA, 2-Py, 4-Py) の合計量、パントテン酸、葉酸の含量にはチアミン塩酸塩の大量摂取による影響は認められなかった (Fig. 1)。

ラットにとってはビタミンではないが、アスコルビン酸の排泄量に及ぼす影響も調べたところ、1.0% チアミン塩酸塩添加食摂取ラットにおいて、尿中アスコルビン酸排泄量が対照群ラットの1.6倍に増加した。ラットはアスコルビン酸合成能を有し、生体異物の摂取によりアスコルビン酸合成が促進²¹⁾、生体異物代謝に関連するCYPの合成は肝アスコルビン酸濃度に依存する²²⁾。したがって、1.0% チアミン塩酸塩食摂取ラットにおいて尿中アスコルビン酸排泄量が増加した理由として、体内に大量に吸収されたチアミンをより水溶性の高い化合物へと代謝し、より早く尿中に排泄される形態にするために、体内でアスコルビン酸の合成が高まった可能性が考えられる。しかしながら、今回の実験においては、チアミンの尿中異化代謝産物に関する検討は行わなかった。

1.5 まとめ

1.0% チアミン塩酸塩食を摂取したラットにはチアミン塩酸塩摂取による悪影響は認められなかったことから、本研究におけるチアミン塩酸塩の NOAEL を 1.0% 混餌食とした。ラットの体重当たりに換算すると、体重 200 g のラットが 1.0% のチアミン塩酸塩を含む食餌を 1 日に約 18 g 摂取したことから、ラットにおけるチアミン塩酸塩の NOAEL は 900 mg/kg 体重/日程度となった。

2. リボフラビンの大量投与実験 (実験 2)

2.1 体重増加量, 飼料摂取量, 肉眼的所見

3 週齢 Wistar 系雄性ラットに 0.0006~1.0% のリボフラビンを含む飼料を与えて 22 日間飼育した。この飼育期間において、飼料摂取量および体重増加量にはリボフラビンの大量摂取による影響は認められなかった (Table 3)。また、肉眼的所見において、毛並み、行動などに異常は認められなかった。

2.2 臓器重量

脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、精巣の重量にはリボフラビンの大量摂取による影響は認められなかった。また、開腹時の肉眼的所見にも異常は認められなかった。

2.3 肝臓, 血液, 尿および糞中のリボフラビン含量

本研究では、大量摂取したリボフラビンの動態を明らかにするため、肝臓、血液、尿および糞中のリボフラビン含

量を測定した。肝臓リボフラビン濃度は各群ともほぼ同じ値を示した (Table 4)。一方、血中リボフラビン濃度は 1.0% リボフラビン添加食摂取ラットにおいて対照群の約 2 倍を示した。

0.1% リボフラビン添加食群の尿中のリボフラビン排泄量は、対照群の約 2.5 倍に増加した。しかし、さらにリボフラビンの添加量を増やした 0.5, 1.0% 添加食群においても、尿中リボフラビン排泄量は増大しなかった。0.1% リボフラビン食摂取ラットの糞中リボフラビン排泄量は対照食摂取ラットの約 30 倍、0.5% リボフラビン食摂取ラットでは約 280 倍、1.0% リボフラビン食摂取ラットでは約 4,500 倍を示した。リボフラビンの摂取量が約 800 倍、約 1,600 倍に増加したことに比して、尿中排泄量の増加は低く、糞中排泄量の増加は高かったことから、リボフラビンを大量に摂取しても一定量しか吸収できず、吸収されなかったリボフラビンが糞中へ排泄されることを示している。血液および肝臓中のリボフラビン含量はリボフラビン大量摂取の影響をほとんど受けなかったことも、リボフラビンの吸収能には限界があることを示している。

2.4 尿中水溶性ビタミン排泄量

飼育 22 日目の 1 日尿に含まれるチアミン、4-PIC、ニコチンアミド代謝産物、パントテン酸、アスコルビン酸の含量を測定した。いずれの水溶性ビタミンの各尿中排泄量に

Table 3. Effects of excess riboflavin administration on body weight gain and food intake

	Control	+0.1%	+0.5%	+1.0%
Initial body weight (g)	39.0±1.3	38.8±1.1	39.1±1.3	39.1±0.6
Final body weight (g)	171.4±2.3	173.6±0.9	168.2±3.1	172.4±6.1
Body weight gain (g/30 d)	132.4±2.4	134.8±1.3	129.1±2.7	133.3±6.3
Food intake (g/30 d)	251.4±1.1	251.7±4.3	253.1±5.1	253.3±12.0

Each value is expressed as the mean±SEM (n=4).

Table 4. Effects of excess riboflavin administration on thiamin contents in liver, blood, urine and feces

	Control	+0.1%	+0.5%	+1.0%
Liver (nmol/g)	94.3±2.7	88.5±2.0	96.2±1.1	91.9±2.6
Blood (pmol/mL)	184±12	205±9	345±59	398±57*
Urine (μmol/d)	0.12±0.00	0.28±0.02*	0.27±0.03*	0.30±0.02*
Feces (μmol/d)	0.03±0.00	0.88±0.24	55.06±5.60	136.66±28.03*

Each values is expressed as the mean±SEM (n=4). *p<0.05 versus control determined by ANOVA followed by Tukey-Kramer multiple comparison test.

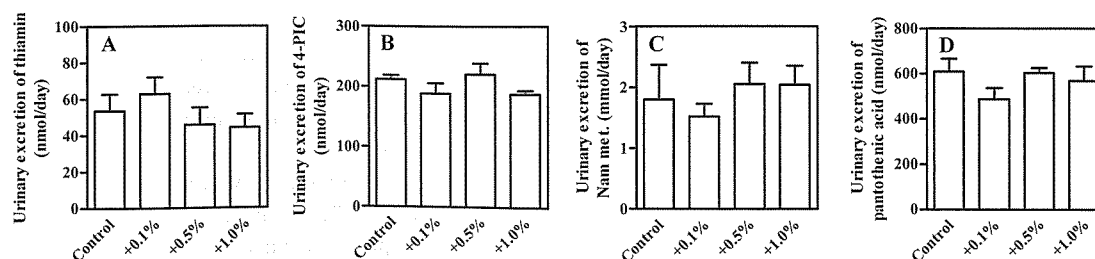


Fig. 2. Effects of excess riboflavin administration on urinary excretions of thiamin (A), 4-PIC (B), nicotinamide metabolites (Nam met) (C), and pantothenic acid

Each value is expressed as the mean±SEM (n=4).

についてもリボフラビン大量摂取による影響は認められなかった (Fig. 2).

2.5 まとめ

1.0% リボフラビン混餌食を摂取しても、リボフラビンはほとんど吸収されずに糞中に排泄されるだけであり、悪影響を及ぼさないことが考えられる。さらに、リボフラビンの大量投与が、他のB群ビタミンの尿中排泄量に及ぼす影響を調べたが、全く影響を及ぼさなかった。以上の結果から、本研究におけるリボフラビンのNOAELを1.0%混餌食とした。ラットの体重当たりに換算すると、体重170gのラットが1.0%のリボフラビンを含む食餌を1日に約15g摂取したことから、ラットにおけるリボフラビンのNOAELは900mg/kg体重/日程度となった。さらなる研究により、この値はさらに高く設定できることが予想される。

謝辞 本研究は、平成16年度～平成18年度の厚生労働科学研究費補助金「日本人の食事摂取基準（栄養所要量）策定に関する研究」（主任研究者：柴田克己）の成果の一部である。関係各位に謝意を表す。

文 献

- 1) 厚生労働省 (2004). 日本人の食事摂取基準 (2005年版) 日本人の栄養所要量-食事摂取基準-策定委員会報告書, 2004年10月.
- 2) Stephen, J. M., Grant, R., Yeh, C. S. Anaphylaxis from administration of intravenous thiamine. *Am. J. Emerg. Med.*, **10**, 61-63 (1992).
- 3) Royer-Morrot, M. J., Zhiri, A., Paille, F., Royer, R. J. Plasma thiamine concentrations after intramuscular and oral multiple dosage regimens in healthy men. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **42**, 219-222 (1992).
- 4) Wrenn, K. D., Murphy, F., Solvis, C. M. A toxicity study of parenteral thiamine hydrochloride. *Ann. Emerg. Med.*, **18**, 867-870 (1989).
- 5) Schoenen, J., Lenaerts, M., Bastings, E. High-dose riboflavin as a prophylactic treatment of migraine: Results of an open pilot study. *Cephalalgia*, **14**, 328-329 (1994).
- 6) Schoenen, J., Jacquy, J., Lenaerts, M. Effectiveness of high-dose riboflavin in migraine prophylaxis. A randomized controlled trial. *Neurology*, **50**, 466-470 (1998).
- 7) Peluchetti, D., Antozzi, C., Roi, S., DiDonato, S., Cornelio, F. Riboflavin responsive multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency: Functional evaluation of recovery after high dose vitamin supplementation. *J. Neurol. Sci.*, **105**, 93-98 (1991).
- 8) Fukuwatari, T., Wada, H., Sasaki, R., Shibata, K. Effects of excess nicotinamide administration on the urinary excretion of nicotinamide *N*-oxide and nicotinic acid in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**, 44-50 (2004).
- 9) Shibata, K., Takahashi, C., Fukuwatari, T., Sasaki, R. Effects of excess pantothenic acid administration on the other water-soluble vitamin metabolisms in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **51**, 385-391 (2005).
- 10) Sawamura, H., Fukuwatari, T., Shibata, K. Effects of excess biotin administration on the growth and urinary excretion of water-soluble vitamins in young rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2977-2984 (2007).
- 11) Fukuwatari, T., Shibata, K. Effects of excess folic acid on growth and metabolism of water-soluble vitamins in weaning rats. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Jpn.)*, **49**, 51-55 (2008).
- 12) Fukuwatari, T., Toriochi, M., Ohta, M., Sasaki, R., Shibata, K. Metabolic disturbance of tryptophan-nicotinamide conversion pathway by putative endocrine disruptors, bisphenol A and styrene monomer. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Jpn.)*, **45**, 1-7 (2004).
- 13) Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. New metabolites of riboflavin appear in human urine. *J. Biol. Chem.*, **258**, 5623-5628 (1983).
- 14) Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. A simple method for micro-determination of flavin in human serum and whole blood by high-performance liquid chromatography. *Biochem. Int.*, **4**, 187-194 (1982).
- 15) Gregory, J. F. 3rd, and Kirk, J. R. Determination of urinary 4-pyridoxic acid using high performance liquid chromatography. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 879-883 (1979).
- 16) Kishida, K., Nishimoto, Y., Kojo, S. Specific determination of ascorbic acid with chemical derivatization and high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.*, **64**, 1505-1507 (1992).
- 17) Shibata, K., Kawada, T., Iwai, K. Simultaneous micro-determination of nicotinamide and its major metabolites, *N*¹-methyl-2-pyridone-5-carboxamide and *N*¹-methyl-3-pyridone-4-carboxamide, by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **424**, 23-28 (1988).
- 18) Shibata, K. Ultramicro-determination of *N*¹-methylnicotinamide in urine by high-performance liquid chromatography. *Vitamins*, **61**, 599-604 (1987).
- 19) Skeggs, H. R., Wright, L. D. The use of *Lactobacillus arabinosus* in the microbiological determination of pantothenic acid. *J. Biol. Chem.*, **156**, 21-26 (1944).
- 20) Aiso, K., Tamura, T. Trienzyme treatment for food folate analysis: Optimal pH and incubation time for α -amylase and protease treatment. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **44**, 361-370 (1998).
- 21) Horio, F., Yoshida, A. Effects of some xenobiotics on ascorbic acid metabolism in rats. *J. Nutr.*, **112**, 416-425 (1982).
- 22) Horio, F., Shibata, T., Makino, S., Machino, S., Hayashi, Y., Hattori, T., Yoshida, A. UDP glucosyltransferase gene expression is involved in the stimulation of ascorbic acid biosynthesis by xenobiotics in rats. *J. Nutr.*, **123**, 2075-2084 (1993).