

200/1046

平成13年度 厚生科学研究費補助金

健康科学総合研究事業

「健康日本21」における  
栄養・食生活プログラムの評価手法に関する研究

報告書

2002年3月31日

主任研究者 田中 平三

(独立行政法人 国立健康・栄養研究所)

## 目次

総括研究報告書	「健康日本21」における栄養・食生活プログラムの評価手法に関する研究 田中平三	4-8
分担研究報告書	「生体指標を用いた個人に対する食事評価法の開発、検証」 佐々木敏	9-17
	「ビタミンの生体指標測定方法の開発および実地応用」 梅垣敬三	18-22
	「新しいツールを用いた食事評価方法の開発と実地応用」 伊達ちぐさ	23-29
	「国民/県民栄養調査における新たな栄養生体指標の活用」 松村康弘	30-34
	「定点観測的なモニタリング調査による「健康日本21」地方計画の策定と評価」 吉池信男、田中平三	35-42
	「栄養調査の標準化ためのデータベース作成及び基礎検討」 石田裕美	43-52
	「都道府県民栄養調査等に関する各種手法の検討及び 地域における栄養・食生活データの活用」 中村美詠子	53-60
	「国民、県民栄養調査等での血液精度管理手法の検討」 中村雅一	61-63
資料		66-130
1)	Sasaki S, Yanagibori R: Association between current nutrient intakes and bone mineral density at calcaneus in pre- and postmenopausal Japanese women. <i>Journal of Nutritional Science and Vitaminology</i> , 2001; 47: 289-294	
2)	Takahashi Y, Sasaki S, Tsugane S: Development and validation of specific carotene food composition tables for use in nutritional epidemiologic studies for Japanese populations. <i>Journal of Epidemiology</i> 2001; 11: 266-275	
3)	Iwaoka H, Yoshiike N, Date C, Shimada T, Tanaka H: A validation study on a method to estimate nutrient intake by family members through a household-based food-weighing survey, 2001; <i>Journal of Nutritional Science and Vitaminology</i> , 2001; 47(3): 222-227	
4)	吉池信男、河野美穂、瀧本秀美、清野富久江、多島早奈英、荒井祐介、古畑公: 食事に対する自己評価と食事改善への意欲からみた食生活改善支援の方策に関する一考察. <i>栄養学雑誌</i> , 2001; 59(2): 87-98	
5)	Iida M, Sato S, Nakamura M: Standardization of laboratory test in the JPHC study, 2001; <i>Journal of Epidemiology</i> , 2001; 11(6 suppl): S81-S86	
6)	田中平三、吉池信男、伊達ちぐさ、松村康弘、山本昭夫、横山徹爾. 健康増進縦断疫学研究における運動の役割解明へのアプローチ. <i>臨床スポーツ医学</i> , 2001; 18(7): 751-759	
7)	Ohmura S, Moji K, Aoyagi K, Yoshimi I, Yahata Y, Takemoto T, Iwai N, Yoshiike N, Date C, Tanaka H. Body mass index, physical activity, dietary intake, serum lipids and blood pressure of middle-aged Japanese Women in a community in the Goto Archipelago. <i>J Physiol Anthropol</i> , 2002; 21(1): 21-28	

## 総括研究報告書

### 「健康日本21」における栄養・食生活プログラムの評価手法に関する研究

主任研究者 田中 平三 独立行政法人国立健康・栄養研究所

#### 研究要旨

食事摂取及び栄養状態を表す各種生体指標について、「健康日本21」関連地域栄養改善プログラムへの応用方法について下記の検討を行った。①血漿採取後の残りの血球画分からビタミンC測定用リンパ球を調製する手法を開発し、集団に対する調査研究に適用可能であることを見出した。②葉酸摂取量及び葉酸の血中濃度の基準データを得るために、地域住民879名に対して食事調査及び血液検査を行い、性・年齢階級別に分布を記載した。③全国4地区の20～69歳男女200名を対象として、4種類の食事調査票（食事履歴問票、食物摂取頻度調査法等）及び7日間の食事記録調査と同時に採血・24時間蓄尿を行い、実地応用面からみた各調査法の特性及び利用条件について検討した。

都道府県栄養調査等「健康日本21」地方計画策定・評価のために行われる集団レベルでの栄養関連指標の評価手法について、下記の検討を行った。①地域栄養計画推進に活用できるマニュアルを作成するために、都道府県、政令・中核市等に、地域栄養調査に関するアンケート調査を実施し、調査実施状況を把握するとともに解決すべき技術的問題点を明らかにした。②各種栄養指標の地域特性に関するデータ集を作成するため、平成7年～11年の国民栄養調査データを用いて、各指標の分布等の検討を行った。③H県農村部における約10年間3時点の定点観測データをもとに、人口5000～2.5万人の5つの町での地域栄養改善活動と各種指標の経年的変化との関連を検討した。④多くの食事調査に用いられている調味料摂取量の推定方法を検討するために、みそ汁・和え物を対象とした実験を行い、基礎データベースを構築した。⑤日本医師会の臨床検査精度管理調査及びCDC/CRMLNによる国際的な脂質標準化プログラムを選択し、13年国民栄養調査（検査委託機関：SRL）をモデルとして検討した。

研究計画初年度に実施したこれらの基礎的検討結果を、2年目以降相互に関連付けて、研究を発展させ、「健康日本21」地方計画における栄養・食生活プログラムの推進に資する基礎資料やマニュアル等を提供する予定である。

#### 【研究組織】分担研究者

佐々木 敏（国立がんセンター研究支所  
臨床疫学研究部室長）

梅垣敬三（独立行政法人国立健康・栄養研究所  
食品表示分析・規格研究部室長）

伊達ちぐさ（大阪市立大学医学部公衆衛生学  
助教授）

松村康弘（独立行政法人国立健康・栄養研究所  
健康栄養情報・教育研究部部長代理）

吉池信男（独立行政法人国立健康・栄養研究所  
研究企画・評価主幹）

中村美詠子（浜松医科大学衛生学教室助手）

石田 裕美（女子栄養大学栄養管理研究室助教授）

中村 雅一（大阪府立健康科学センター脂質基準分  
析室 ディレクター）

## A. 研究目的

「健康日本21」における栄養・食生活プログラムを国あるいは地域レベルで推進する際に、個人及び集団での栄養素等摂取状況や栄養状態を適正な手法を用いて評価することは、科学的な根拠に基づく保健政策上きわめて重要である。しかし、わが国においては、公衆衛生的な視点と結びついた実践栄養学的研究は極めて少ない。そして、現場で使用されている各種質問票も科学的検証がなされたものはほとんど無く、保健所や市町村の栄養士等からは、個人及び集団に対する栄養診断のための有用なツールを望む声大きい。

そこで、このような行政上のニーズに応えることを明確なゴールとして、地域保健現場等で必要とされる各種ツールを科学的な根拠に基づいて開発し、有用性を検証し、提供することを本研究課題の目的とする。

## B. 研究方法

### (1) 食事摂取及び栄養状態を表す各種生体指標の検討

- ① ビタミンCに関して、その生体内レベルの評価対象試料の選定とその妥当性に関する基礎的検討、実地応用の可能性に関する検討を行った。葉酸に関しては、クロラムフェニコール耐性菌とマイクロプレートを利用したバイオアッセイ法を立ち上げ、生体内葉酸レベルの評価に妥当な生体試料の選定や試料採取後の葉酸の安定性等に関する実験の準備を行った。
- ② 新潟県民栄養調査においては、平成13年に3740名を対象として栄養摂取状況調査を実施し、この内879名が血液検査を受診した。本研究では、これらの対象者の血中葉酸と食物摂取状況（葉酸摂取量や野菜等の摂取量）との関連、その他栄養摂取状況と健康状態等との関連について検討を行った。
- ③ 生活習慣病予防対策を主たる目的とした新

しい食事評価法の開発及び検証：生活習慣病との関連が示唆されている栄養素で、その摂取量を反映する生体指標が存在するという報告がある22種類（血中濃度として15種類、24時間尿中排泄量として7種類）の栄養素を選択した。地域性のばらつきを考慮して選定した4地域（大阪、鳥取、長野、沖縄）に在住する20～69歳の50人（10歳階級ごとに男女それぞれ5人：合計200人）の協力を得て、上述の生体指標を測定するとともに、7日間記録法及び4種類の食事質問票を用いて、その直前1か月間における栄養素摂取量及び食行動習慣を調査した。

### (2) 地域集団における栄養関連指標の疫学的評価手法に関する検討

- ① H県S郡において、約10年間3時点の定点観測データをもとに、人口5000～2.5万人の5つの町での経年的変化の検討及び町－郡－全国（13地区）の比較により、各町、郡における健康課題を検討し、市町村計画策定のための資料とした。特に減塩行動に関しては、24時間思い出し法による食塩摂取量と、減塩に関わる知識・態度（効力予期、結果予期）との関連を、集団間、集団内で解析した。F県の人口約3000名の村において、上記の検討により有用と思われた質問項目を含めた調査（無作為に抽出した約170世帯）を行った。
- ② 全都道府県、政令・中核市、特別区を対象に、地域栄養調査の実態調査を行い、課題分析、今後求められる実施体制・方法論等に関する検討を行った。また、国民栄養調査データを解析し、都道府県データ集のフォーマットを作成した。
- ③ 食塩含有量の多い調味料由来の食塩摂取量や調理油による脂肪摂取量の把握が困難なことに注目し、調味料摂取量の推定方法の考え方について現在の問題点を整理するため

の基礎実験及び揚げ物料理の吸油率データの文献的検討を行った。さらに平成7年の国民栄養調査に出現した揚げ物料理を分析し、種類や頻度の高い料理の確認を行った。

- ④ 日本医師会による臨床検査精度管理調査とCDC/CRMLNによる国際的な脂質標準化プログラムを選択し、平成13年国民栄養調査の実施時期に合わせ、実際に運用し、その精度管理状況を検証した。

## C. 結果

### (1) 食事摂取及び栄養状態を表す各種生体指標の検討

食事摂取及び栄養状態を表す各種生体指標について、「健康日本21」関連地域栄養改善プログラムへの応用方法を検討し、以下の結果を得た。

- ① 生体内ビタミンレベルの評価手法に関する基礎実験の結果、ビタミンCについては、(i)細胞中の含量、試料調製の問題から口腔粘膜細胞と血小板は用いることが出来ない、(ii)試料保存温度を4℃程度にすれば採取2時間後までは血球・血漿のビタミンCは安定であることを明らかにするとともに、血漿採取後の残りの血球画分からビタミンC測定用リンパ球を調製する手法を開発し、この方法が50人程度を対象とした調査研究に適用可能であることを確認した。
- ② 血清葉酸値は、女性の方が男性より有意に血清葉酸濃度が高い傾向であった。また、年齢階級別には、年齢が高くなるにつれ、血清葉酸値が高くなる傾向であった。血清葉酸値と摂取量との関連の内、一次結合の傾向が認められたのは、栄養素では、葉酸、ビタミンC、総食物繊維であり、食品群では、緑黄色野菜、果実(生)類、肉類であった。すなわち、血中葉酸値が高い者は、緑黄色野菜や果実(生)類を多く摂取しており、血中葉酸値が

低い物は、肉類の摂取が多い傾向であり、その結果として、血清葉酸の高い者は、葉酸、ビタミンC、総食物繊維の摂取量多かったものと推察された。

- ③ 全国4地区(大阪、鳥取、長野、沖縄)において20~69歳男女200名を対象として、4種類の食事調査票(食事歴質問票、食物摂取頻度調査法等)及び7日間の食事記録調査と同時に採血・24時間蓄尿を行い、生活習慣病対策にとって重要であると考えられる栄養素について合計22種類の生体指標を測定し、実地応用面からみた各調査法の特性及び利用条件について検討を行った。

### (2) 地域集団における栄養関連指標の疫学的評価手法に関する検討

都道府県栄養調査等「健康日本21」地方計画策定・評価のために行われる集団レベルでの栄養関連指標の評価手法の検討を行い、以下の結果を得た。

- ① 栄養調査の実施に関する状況は都道府県、政令市、特別区でそれぞれ異なっていたが、特に都道府県レベルで行われる栄養調査は、国民栄養調査と同じ調査方法を用いて、同じ調査時期に、国民栄養調査の対象者に対象者を追加して実施されることが多く、地域栄養調査で活用できるマニュアルを作成する際には、国民栄養調査との連携を考慮することが重要と考えられた。また、栄養調査実施上の技術的支援等に関するニーズが具体的に示された。
- ② 性・年齢階級別の栄養素摂取量と栄養素密度(／摂取エネルギー1000kcal)の平均値、標準偏差、パーセンタイル値について、統計量を記述した。その結果、ビタミンC、カルシウム等の栄養素摂取量は男女とも50歳代、60歳代等で最も高く、70歳代、80歳代で低い傾向を示した。また脂質摂取量は20歳代で最も高く、高齢になるほど低い

傾向を示した。一方、栄養素密度をみると脂質については、20歳代で最も高く、年齢の増加に伴い低くなる傾向を認めたと、他の栄養素では明らかな加齢による低下傾向は見られず、ビタミンC、カルシウム等は20～40歳代に比べ、50歳代以降で高い傾向を示した。

- ③ H県農村部における約10年間3時点の定点観測データからは、肥満者の増加傾向が観察されたが、車への依存傾向、運動不足感等、質問紙で簡便に調査できる事項を経年的に記載することは重要であると考えられた。喫煙・飲酒については、実際の行動変化として現れるまでのタイムラグを考慮し、知識・態度等の中間的な指標が有用であると思われた。さらに、地域間では、食塩摂取量と減塩にかかわる知識・態度との間に関連が認められたが、集団内においては相互の関連性は低かった。
- ④ 多くの食事調査に用いられている調味料摂取量の推定方法を検討するために、みそ汁・和え物を対象とした基礎実験を行い、調理後重量に対して一定比率を掛けることがより妥当であることがわかった。また、揚げ物料理の吸油率に関する文献的検討では、吸油率そのものの考え方が研究により異なり、そのことがデータのバラツキの一因となっていることが明らかとなった。
- ⑤ 日本医師会の臨床検査精度管理調査及びCDC/CRMLNによる国際的な脂質標準化プログラムを選択し、13年国民栄養調査（検査委託機関：株式会社SRL）をモデルとして検討し、総コレステロールの場合、正確度が+0.4%、精密度はCVで0.6%、HDLコレステロールの場合、正確度が+2.0%、精密度はCVで1.3%を記録し、脂質の測定精度は国際的な評価基準を満たしていることが確認された。

#### D. 考察

本研究において現在検討を行っている種々の課題が解決されることによって、「健康日本21」地方計画における栄養・食生活プログラムにおいて、下記のような点が大いに推進されるものと考えられる。

第一に、新しい生体指標を最大限活用し、地域保健現場で有効なツールとなり得る栄養評価手法（生体指標の測定や、科学的に妥当性が検証された簡易スクリーニング調査票等）を開発することにより、個人の特性に合わせた栄養指導・教育が可能となる。例えば、今回開発したビタミンC測定の手法は、血漿採取後に通常廃棄していた血球部分からビタミンC測定用リンパ球が調製できるため、被検者の負担が軽減でき、集団を対象とした評価にも応用できる。また、カロテノイド類・フラボン類・葉酸・脂肪酸など生活習慣病との関連が示唆されている栄養素の生体指標を標準化された方法で測定することによって、効率的かつ客観的なスクリーニング・栄養摂取評価が可能となる。加えて、今回行った食事調査票の妥当性・有効性の検討結果から、地域・個人の特性、栄養指導・教育の目的に見合った食事評価法（食事歴質問票・食物摂取頻度調査法等）を提供することが可能となる。

さらに、本年度の研究成果の一部については、地域保健の栄養担当部門に還元する準備が来ている。すなわち、地域栄養調査に関するアンケート調査結果を集計し、考察を加えて報告書を作成し、都道府県、政令・中核市等に配布する。現状では都道府県等が利用できる地域栄養調査に関する類似の資料が全くないため、本報告書は地域において活用されることが考えられる。国民栄養調査データに関する基礎的検討結果は、今後データ集及びマップとして、報告書を作成し、各都道府県等に配布する予定である。また、これらの資料の中に、減塩等の食行動に関する有用な指標、食事調査における調味料・吸油率

等に関するデータ、及び臨床検査精度管理方法等についても、現場で活用しやすいような形で盛り込んでいく予定である。

## E. 結論

「健康日本21」地方計画の策定及び推進のためには、国民栄養調査方式をベースとした都道府県や市町村における栄養調査により“地域診断”を行い、科学的に妥当かつ現実的に実施可能な方法で、集団およびそれを構成する個人に対して栄養教育・指導を行うことが必要である。今年度の研究成果からは、地域保健現場における栄養評価及び指導において、ビタミン等の生体指標が活用可能であることが明らかとなった。さらに、数種類の食事調査方法の妥当性に関する基礎データを収集するとともに、葉酸摂取量及び血清葉酸に関する基準データを得た。

地域集団を対象とした栄養状態の評価手法に関しては、都道府県等における栄養調査の技術的基盤に関する現状とニーズを把握することができた。また、食にかかわる知識・態度・行動等の指標の相互関連に関するデータ、栄養調査を高い精度で実施するために不可欠である調味料等の取扱い方に関する基礎データを得るとともに、血液検査における精度管理が地域における栄養調査等でも適用されるための検討を行った。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Sasaki S, Yanagibori R: Association between current nutrient intakes and bone mineral density at calcaneus in pre- and postmenopausal Japanese women. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2001; 47: 289-294
- 2) Takahashi Y, Sasaki S, Tsugane S: Development and validation of specific carotene food composition tables for use in nutritional epidemiologic studies for Japanese populations. *Journal of Epidemiology* 2001; 11: 266-275
- 3) Iwaoka H, Yoshiike N, Date C, Shimada T, Tanaka H: A validation study on a method to estimate nutrient intake by family members through a household-based food-weighing survey, 2001; *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2001; 47(3); 222-227
- 4) 吉池信男、河野美穂、瀧本秀美、清野富久江、多島早奈英、荒井祐介、古畑公: 食事に対する自己評価と食事改善への意欲からみた食生活改善支援の方策に関する一考察. *栄養学雑誌*, 2001; 59(2); 87-98
- 5) Iida M, Sato S, Nakamura M: Standardization of laboratory test in the JPHC study, 2001; *Journal of Epidemiology*, 2001; 11(6 suppl): S81-S86
- 6) 田中平三、吉池信男、伊達ちぐさ、松村康弘、山本昭夫、横山徹爾. 健康増進縦断疫学研究における運動の役割解明へのアプローチ. *臨床スポーツ医学*, 2001; 18(7): 751-759
- 7) Ohmura S, Moji K, Aoyagi K, Yoshimi I, Yahata Y, Takemoto T, Iwai N, Yoshiike N, Date C, Tanaka H. Body mass index, physical activity, dietary intake, serum lipids and blood pressure of middle-aged Japanese Women in a community in the Goto Archipelago. *J Physiol Anthropol*, 2002; 21(1): 21-28

## 分担研究報告書

生体指標を用いた個人に対する食事評価法の開発、検証

分担研究者 佐々木 敏

独立行政法人国立健康・栄養研究所栄養所要量策定企画・運営担当リーダー

### 研究要旨

全国で展開される「健康日本21」に沿った栄養（食習慣）改善の程度を標準化した方法で、かつ、客観的に評価できる栄養摂取量及び食習慣調査法は現在のところ存在しない。そこで、個人のレベルで目標値達成の程度を評価しうる食事調査法を開発することを目的として、分担研究者は、個人レベルの栄養素摂取状態を客観的に評価しうる生体指標（biomarkers）を開発し、その有効性を評価するとともに利用基準等を決定するための基礎研究を行っている。本年度は、血中濃度及び24時間尿中排泄量として測定が可能で、生活習慣病対策にとって重要と考えられる15種類（2マーカーを含む）及び7種類の栄養素に関して、地域性のばらつきと実施可能性を考慮して選定した4地域に在住する20～69歳の50人（10歳階級ごとに男女それぞれ5人：合計200人）の協力を得て、合計22種類の生体指標を測定するとともに、7日間記録法及び4種類の食事質問票を用いて、その直前1か月間における栄養素摂取量ならびに食行動習慣を調査した。有効なデータが得られた194人について、7種類の血清中生体指標と2種類の質問票調査から得られた摂取量との関連を検討した。全体としてあまり高い相関は得られなかったが、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、ビタミンB<sub>12</sub>、葉酸で有意な相関が観察され、この傾向は性を調整した場合でも顕著な変化はみられなかった。しかし、これら生体指標を用いて摂取量が低値の個人または集団をスクリーニングすることは现阶段では困難であると考えられた。今回の検討は予備的なものであったため、現在集計中の食事記録データを比較基準に用いるとともに、考えられる交絡因子を調整したうえで、再検討する必要があると考えられた。

### A. 研究目的

「健康日本21」で展開される栄養・食生活プログラムの評価手法のひとつとして、栄養摂取量及び食生活習慣の改善の程度を個人レベルで客観的に評価しうる生体指標とその利用方法を開発する。開発に当たっては、個人・集団特性の影響や健診などの場における実施可能性をじゅうぶんに考慮するものとする。

### B. 研究方法

#### 概略

血中濃度及び24時間尿中排泄量として測定が可能で、生活習慣病対策にとって重要と考えられる15種類（2マーカーを含む）及び7種類の栄養素に関して、地域性のばらつきと実施可能

性を考慮して選定した4地域（長野、大阪、鳥取、沖縄の各府県）に在住する健康な20～69歳の50人（10歳階級ごとに男女それぞれ5人：合計200人）の協力を得て、上記栄養素濃度及び排泄量を測定するとともに、7日間記録法及びすでに開発されたか開発中の4種類の食事質問票を用いて、その直前1か月間における栄養素摂取量及び食行動習慣を調査した。

#### 対象者の選択基準

対象集団・対象者は以下の条件を満たす者で調査に協力できる者とした。

- ① 1集団は、20歳から69歳まで10歳階級ごとに夫婦（または同居している性別の異なる兄弟）が1組ずつ。合計5組。年齢階級は女



性を優先とする（例： 妻が 29 歳で夫が 32 歳の場合は 20 歳の年齢階級に属する組（夫婦）とみなす）。

- ② 女性は一般女性が望ましいが、食生活改善指導員でもよい。栄養士は除く。
- ③ 自宅に FAX があり、使用できること。
- ④ 医師または栄養士から食事療法を現在受けている者は対象者から除く。糖尿病の教育入院など、栄養士から食事調査に関する教育を受けた経験がある者も除く。

#### 調査期間及び調査計画

平成 14 年 2 月から 3 月（一部地域は 4 月第 1 週）。調査は、質問票への記入（第 1 回目）、不連続な 7 日間秤量食事記録、24 時間蓄尿、血液採取、質問票への記入（第 2 回目）の順に行った（図 1）。食事記録はあらかじめ計画されていた非日常的な日は除いた。採血は空腹時とした。蓄尿は塩化ビニル製 1 リットルボトル（腐敗防止のためのホウ酸 1 グラム入り）を 3 または 4 本携帯させ、24 時間に排泄される全尿を採取した。

#### 調査対象地域

調査対象地域は以下の 4 地域とした。

長野地域・・・長野県松本市。

大阪地域・・・大阪府大阪市。

鳥取地域・・・鳥取県倉吉市。

沖縄地域・・・沖縄県玉城村。

都市部として大阪市を選択し、小規模都市（内陸部）として長野県、同（沿岸部）として鳥取県から 1 地域を選択し、食事習慣が他地域と顕著に異なる例として、沖縄県から 1 地域を選択した。

#### 調査に用いた質問票

- ① 簡易食事調査票： 非常に重要な質問に限って質問することにより、効率的に高危険度群をスクリーニングすることを目的とするもの。A4 大 1 ページ。
- ② 簡易型自記式食事歴法質問票（BDHQ）： 栄

養摂取量を集団間で相対的に比較したり、同一集団で変化を観察したりするために用いるもの。絶対量の把握や個人評価は目的とされていないが、個人レベルで目的とする栄養素摂取量がおおきく許容量からはずれる群（高危険度群）を抽出する、すなわち、高危険度群のスクリーニングに用いることも目的とするもの。A4 大 4 ページ。

- ③ 自記式食事歴法質問票（DHQ）： 個人レベルでの栄養摂取量評価と栄養指導に用いることを目的とするもの。A4 大 16 ページ。
- ④ 実寸法師： 個人レベルの栄養摂取状態を把握するために写真による食品モデルを用いる方法。DHQ と同様に個人レベルでの栄養摂取量評価と栄養指導に用いることを目的とするもの。

#### 生体指標の測定項目

血清中濃度は以下の項目について測定を行った。標準化のために、測定は SRL のひとつのラボで行った。

血清総コレステロール・HDL コレステロール・中性脂肪・LDL コレステロール・血糖・ヘモグロビン A1c・GOT・GPT・ガンマ GTP・尿酸・ビタミン C・ビタミン B<sub>6</sub>・ビタミン B<sub>12</sub>・葉酸・カロテン・脂肪酸・セレン・ビタミン E・イソプロスタノール。

24 時間尿は以下の項目について測定を行った。ナトリウム・カリウム・カルシウム・マグネシウム・クレアチニン・尿素窒素。

#### 測定及びデータ処理

食事記録データは報告書作成時点にて処理中である。DHQ と BDHQ については、暫定的な栄養価計算プログラムを開発し終えた（ただし、以下に示す生体指標に対応する栄養素のうち、セレンは除く）。生体指標については、血清は予定した項目のうち、ビタミン C・ビタミン B<sub>6</sub>・ビタミン B<sub>12</sub>・葉酸・脂肪酸（エイコサペンタエン酸（EPA）・ドコサヘキサエン酸（DHA））・ビタミン E・セレンについて測定が完了した。24

時間尿については、測定中である。

#### 解析・統計計算

本年度の報告書では、摂取量の生体指標となりうる可能性が考えられている7種類の指標について、DHQ及びBDHQから計算される栄養素摂取量を用いて、両者の相関を検討した。同時に地域差に関する簡単な検討を加えた。解析対象は有効なデータが得られた194人とした。ただし、一部のデータに欠損がある場合は解析対象に含めた。栄養素摂取量は栄養密度法によるエネルギー調整値を用いた。

#### C. 研究結果

今回検討した7種類の生体指標の地域・男女別平均値（標準偏差）を表1に、男女別・年齢階級別平均値（標準偏差）を表2に示す。ビタミンCとビタミンE濃度で有意な地域間差が認められ、ビタミンCは沖縄で低く、ビタミンEは沖縄で高い傾向が認められた。また、ビタミンB<sub>6</sub>、ビタミンB<sub>12</sub>、セレンでも一部で有意な地域間差を認めた。一方、有意な年齢階級間差を認めた栄養素は、EPAとDHAであり、ビタミンE、ビタミンB<sub>6</sub>でも一部で有意な差を認め、EPA、DHA、ビタミンEでは年齢階級があがるほど濃度が高く、ビタミンB<sub>6</sub>では40～59歳で低くなる傾向を認めた。

生体指標に対応する栄養素に関して、1回目調査のDHQで推定した値を表3及び表4に、BDHQで推定した値を表5及び表6に示す。DHQ、BDHQともにEPA、DHAで有意な地域間差を認めた。BDHQでは葉酸、ビタミンCでも若干の地域間差を認めた。EPA、DHAでは有意な年齢階級間差を認めた。ビタミンE、葉酸、ビタミンB<sub>12</sub>でも若干の年齢階級間差が認められた。

DHQ及びBDHQから推定した栄養素摂取量と関連する生体指標とのあいだの相関(Pearsonの積率相関係数)を表7に示す。全体としてあまり高い相関は得られなかったが、2回目調査におけるDHQとBDHQからの推定摂取量と、EPA、DHA、ビタミンB<sub>12</sub>、葉酸と有意な相関が観察された。この傾向は性を調整した偏相関係数でも顕著な変化はみられなかった。ビタミンB<sub>6</sub>とは1回目調査のBDHQからの推定値とのみ、弱い相関が認

められた。

摂取量が極めて低い個人または集団を抽出する能力を検討する目的で、血清バイオマーカー濃度が分布の5%未満に属した対象者のDHQまたはBDHQで推定した摂取量がどのように分類されるかを表8に示した。血清バイオマーカー濃度の分布で5%未満に属した対象者の多くが、DHQまたはBDHQで中位（摂取量で5%～95%）に分類され、小人数が5%未満に分類された。上位（95%より大）に分類されることはまれであった。

#### D. 考察

健康な一般住民において質問票を用いた食事習慣の把握、採血、蓄尿（及びその回収）がある程度可能であることが示された。今回は食事記録のデータが未完成のため、便宜的に、質問票（DHQ及びBDHQ）から推定した栄養素との関連を測定が終了した7種類の血清中に存在するバイオマーカーを用いて検討した。いままでの諸外国及び国内の研究と同様に、EPA、DHAは推定摂取量と意味があると考えられるレベルの相関が観察された。また、葉酸、ビタミンB<sub>12</sub>でも弱い相関が観察され、ホモシステイン関連のビタミン類のバイオマーカーとして、血清濃度を利用する可能性が示唆された。一方、非常に短期間（数日間）の摂取状態のマーカーと考えられている血清ビタミンC濃度に関しては、過去1か月間の食事習慣を調査するDHQやBDHQとの相関は低く、これは摂取期間のちがいによる結果であると考えられる。

今回の解析においては、喫煙その他の交絡要因の調整や摂取量調査で用いた食品成分表の不備などの問題がある。また、一般的にゴールドスタンダードと考えられている食事記録によって得られた摂取量ではなく、あくまでも推定値であるところの質問票（DHQ及びBDHQ）調査による摂取量との比較を行った。そのため、食品成分表の不備を検討したうえで、食事記録データを用いたうえで、上記の問題を考慮した解析を行う必要があるものと考えられた。また、今回検討した多くの栄養素に関して、血清濃度が極めて低い者は摂取量が少ない傾向にあることが確認されたが、その一致度は低く、現段階においては、これら栄養素の低摂取者をスクリ

ーングする目的で血清濃度を用いることは困難であるものと考えられる。しかし、これに関しても、上記で記したように、食事記録データを用いたうえで、上記の問題を考慮した解析を行うことが必要であると考えられた。

また、1か月間だけではなく、通年を通した調査を行い、個人の通年摂取量の代表値としての生体指標の利用可能性を検討することが必要である。

#### E. 結論

個人の摂取量を反映すると考えられる7種類の血清中生体指標を健康な一般住民200人より収集し、摂取状態の指標としての利用可能性を検討した。本年度は本研究の初年度であり、1か月間の食事状態を把握する目的で、4種類の食習慣質問票と7日間食事記録、採血、24時間蓄尿を行った。得られた試料の一部は測定中であり、得られたデータの多くは整理中であるため、結論を出すには至らなかったが、今回検討した7種類血清中生体指標は、そのままでは個人の摂取状態を反映する鋭敏な指標とはなにくいものと考えられた。しかし、より信頼度の高いデータを得たうえで、交絡因子を調整した解析を行い、生体指標の利用可能性について再度検討することが必要であると考えられた。

加えて、生活習慣病の予防の見地からは、1か月間だけではなく、1年を通した調査を行い、個人の通年摂取量の代表値としての生体指標の利用可能性を検討することが必要であると考えられるため、来年度以後に、これに関する調査・検討を計画している。

謝辞： 調査地域との調整及び調査実施において多大なご協力をいただいた等々力英美氏（琉球大医学部）、広田直子氏（長野県短大）、野津あき子氏（鳥取短大）、三浦綾子氏（琉球大教育学部）に深く感謝します。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Sasaki S, Yanagibori R. Association between current nutrient intakes and bone mineral density at calcaneus in pre- and postmenopausal Japanese women. *J Nutr Sci Vitaminol* 47: 289-294, 2001.
- 2) Takahashi Y, Sasaki S, Tsugane S. Development and validation of specific carotene food composition tables for use in nutritional epidemiologic studies for Japanese populations. *J Epidemiol* 11: 266-275, 2001.

##### 2. 学会発表 なし

図1 調査スケジュール及びその内容(要点)\*

	日曜日	月曜日	火曜日	水曜日	木曜日	金曜日	土曜日
第1週 (2月)	10	11	12	13	14	15	16 (Q)
第2週 (2月)	17 (DR)	18	19	20	21	22	23
第3週 (2,3月)	24	25 (DR)	26 (DR)	27	28	1	2
第4週 (3月)	3	4	5	6 (DR)	7 (DR)	8	9
第5週 (3月)	10	11	12	13	14	15 (DR)	16 (DR,U)
第6週 (3月)	17 (B)	18 (Q)	19	20	21	22	23

\* 調査地域及び対象者によって若干異なる。

Q=質問票、DR=食事記録、U=24時間蓄尿、B=採血。

表1 血清中バイオマーカーの平均(標準偏差):性、地域別

対象者数		長野		大阪		鳥取		沖縄		合計	ANOVA	
		男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性			
		22	22	23	23	25	24	22	26	92		
	合計	44	44	46	46	49	48	48	48	187		
		平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	p-値
エイコサヘンタエンサン酸	男性	60.6	(40)	57.6	(34.7)	71.8	(36.9)	51.9	(41.9)	60.8	(38.5)	0.340
	女性	49.3	(24)	66.4	(48.1)	57.8	(27.5)	52.3	(42.7)	56.4	(37.2)	0.424
	合計	54.9	(33.1)	62.0	(41.7)	64.9	(33)	52.1	(41.9)	58.6	(37.8)	0.310
ドコサヘキサエンサン酸	男性	155.1	(90.2)	141.4	(46.9)	152.7	(40.6)	126.3	(47.6)	144.1	(59.1)	0.348
	女性	132.3	(35.6)	156.4	(66)	139.8	(35.5)	121.7	(43.1)	137.1	(47.6)	0.076
	合計	143.7	(68.7)	148.9	(57.1)	146.4	(38.3)	123.8	(44.8)	140.6	(53.6)	0.087
ビタミンB <sub>6</sub>	男性	20.5	(23.6)	10.8	(6.2)	10.6	(5.2)	13.9	(8.9)	13.8	(13.4)	0.042
	女性	17.8	(16.3)	17.7	(31.6)	13.1	(13.1)	14.4	(13.3)	15.7	(19.7)	0.798
	合計	19.1	(20.1)	14.3	(22.8)	11.8	(9.9)	14.2	(11.4)	14.7	(16.8)	0.206
ビタミンB <sub>12</sub>	男性	479.1	(179.1)	483.5	(147.8)	538.0	(161.5)	405.0	(122.3)	478.5	(159)	0.039
	女性	665.5	(238.7)	552.6	(161.4)	536.7	(250.5)	627.7	(707.4)	595.3	(412.4)	0.682
	合計	572.3	(228.8)	518.0	(157)	537.3	(207.6)	525.6	(534.3)	537.8	(319)	0.861
葉酸	男性	9.6	(5.3)	9.3	(5.4)	10.7	(6.3)	8.9	(5.4)	9.7	(5.5)	0.739
	女性	14.7	(7.7)	9.5	(2.4)	12.0	(7.2)	11.8	(8.2)	12.0	(7)	0.088
	合計	12.2	(7)	9.4	(4.1)	11.3	(6.7)	10.5	(7.1)	10.8	(6.4)	0.192
ビタミンC	男性	6.6	(2.2)	7.6	(2.1)	7.2	(2)	2.9	(1.4)	6.1	(2.7)	<0.001
	女性	8.7	(2)	8.0	(2.2)	9.4	(2.2)	3.5	(1.6)	7.3	(3.1)	<0.001
	合計	7.7	(2.3)	7.8	(2.1)	8.3	(2.4)	3.2	(1.5)	6.7	(2.9)	<0.001
ビタミンE	男性	1.3	(0.4)	1.2	(0.2)	1.0	(0.2)	1.5	(0.5)	1.2	(0.4)	<0.001
	女性	1.3	(0.3)	1.1	(0.3)	0.9	(0.2)	1.5	(0.5)	1.2	(0.4)	<0.001
	合計	1.3	(0.3)	1.2	(0.3)	0.9	(0.2)	1.5	(0.5)	1.2	(0.4)	<0.001
セレン	男性	14.9	(1.7)	14.7	(1.8)	14.6	(1.7)	15.9	(1.8)	15.0	(1.8)	0.058
	女性	13.5	(1.8)	14.3	(1.6)	13.9	(1.3)	14.6	(1.7)	14.1	(1.6)	0.140
	合計	14.2	(1.8)	14.5	(1.7)	14.3	(1.6)	15.2	(1.8)	14.5	(1.8)	0.028

表2 血清中バイオマーカーの平均(標準偏差):性、年齢階級別

対象者数		20-29歳		30-39歳		40-49歳		50-59歳		60-69歳		合計	ANOVA	
		男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性					
		13	18	20	19	21	18	17	20	20	19	91		
	合計	31	31	39	39	39	37	37	39	39	39	185		
		平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	p-値
エイコサヘンタエンサン酸	男性	29.6	(10.7)	39.7	(17.2)	59.8	(25.7)	71.7	(42)	91.5	(46.6)	60.2	(38.3)	<0.001
	女性	31.8	(24)	36.5	(11.3)	55.5	(40.3)	72.9	(27.5)	84.6	(44.8)	56.7	(37.2)	<0.001
	合計	30.9	(19.3)	38.1	(14.5)	57.8	(32.8)	72.4	(34.4)	88.1	(45.3)	58.4	(37.7)	<0.001
ドコサヘキサエンサン酸	男性	104.7	(19.1)	112.0	(29.5)	149.4	(41.4)	151.5	(54.1)	188.2	(83.7)	143.7	(59.3)	<0.001
	女性	100.0	(36.4)	117.3	(23.8)	144.9	(68.1)	151.7	(32.6)	170.8	(34.3)	137.4	(47.8)	<0.001
	合計	102.0	(30)	114.6	(26.7)	147.3	(54.6)	151.6	(43.2)	179.7	(64.3)	140.5	(53.7)	<0.001
ビタミンB <sub>6</sub>	男性	16.5	(11.1)	15.7	(20.6)	9.8	(3.7)	10.5	(4.4)	16.9	(16.8)	13.8	(13.5)	0.307
	女性	24.0	(36.6)	11.2	(10.3)	11.5	(8.5)	10.1	(7.7)	22.6	(17.9)	15.8	(19.7)	0.061
	合計	20.9	(28.6)	13.5	(16.3)	10.6	(6.4)	10.3	(6.3)	19.7	(17.3)	14.8	(16.9)	0.013
ビタミンB <sub>12</sub>	男性	496.9	(162.1)	455.0	(136.9)	412.4	(103.4)	450.0	(191.4)	589.0	(154.5)	479.7	(159.5)	0.004
	女性	543.9	(224.2)	526.8	(176.9)	553.9	(212.2)	582.0	(253.1)	778.9	(806.4)	598.0	(413.7)	0.319
	合計	524.2	(198.9)	490.0	(159.7)	477.7	(175.7)	521.4	(233.5)	681.5	(573.8)	539.8	(320.1)	0.035
葉酸	男性	8.8	(3.2)	7.7	(2.6)	8.7	(2)	11.1	(7.6)	12.2	(8.1)	9.7	(5.6)	0.067
	女性	10.3	(7.5)	10.3	(2.3)	15.8	(9.3)	10.8	(4.8)	13.0	(8)	12.0	(7)	0.068
	合計	9.7	(6)	9.0	(2.8)	12.0	(7.3)	10.9	(6.2)	12.6	(8)	10.9	(6.4)	0.073
ビタミンC	男性	6.5	(3.4)	6.2	(2.7)	6.2	(2.3)	5.7	(2.7)	6.1	(2.7)	6.2	(2.7)	0.959
	女性	6.7	(3.6)	8.1	(2.9)	6.9	(2.1)	7.4	(3.2)	7.5	(3.5)	7.3	(3.1)	0.702
	合計	6.6	(3.5)	7.1	(2.9)	6.5	(2.2)	6.6	(3)	6.8	(3.2)	6.7	(2.9)	0.921
ビタミンE	男性	1.1	(0.3)	1.2	(0.4)	1.2	(0.3)	1.2	(0.3)	1.4	(0.5)	1.2	(0.4)	0.203
	女性	1.1	(0.2)	1.1	(0.3)	1.1	(0.3)	1.1	(0.3)	1.6	(0.6)	1.2	(0.4)	<0.001
	合計	1.1	(0.2)	1.1	(0.3)	1.1	(0.3)	1.2	(0.3)	1.5	(0.6)	1.2	(0.4)	<0.001
セレン	男性	14.3	(1.4)	15.0	(1.5)	15.3	(1.7)	15.1	(1.9)	15.1	(2.3)	15.0	(1.8)	0.651
	女性	13.5	(1.7)	14.2	(2)	14.2	(1.6)	14.0	(1.5)	14.6	(1.4)	14.1	(1.7)	0.406
	合計	13.8	(1.6)	14.6	(1.8)	14.8	(1.7)	14.5	(1.8)	14.8	(1.9)	14.5	(1.8)	0.158

表3 血清中バイオマーカーに対応する栄養素摂取推定量(DHQ1回目調査による)の平均(標準偏差):性、地域別

対象者数		長野		大阪		鳥取		沖縄		合計	ANOVA	
		男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性			
		25	25	24	23	25	25	23	25	97		
	合計	50	47	47	46	50	48	48	48	195		
		平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	p-値
イコサヘンタエンサン酸	男性	0.17	(0.07)	0.13	(0.08)	0.17	(0.15)	0.08	(0.04)	0.14	(0.10)	0.001
(%E)	女性	0.17	(0.11)	0.13	(0.08)	0.19	(0.10)	0.10	(0.06)	0.15	(0.09)	0.003
	合計	0.17	(0.09)	0.13	(0.07)	0.18	(0.13)	0.09	(0.05)	0.15	(0.10)	<0.001
ドコサヘキサエンサン酸	男性	0.04	(0.02)	0.03	(0.02)	0.04	(0.03)	0.02	(0.01)	0.03	(0.02)	0.005
(%E)	女性	0.04	(0.02)	0.03	(0.02)	0.04	(0.02)	0.03	(0.01)	0.04	(0.02)	0.031
	合計	0.04	(0.02)	0.03	(0.02)	0.04	(0.03)	0.02	(0.01)	0.03	(0.02)	<0.001
ビタミンB <sub>6</sub>	男性	0.84	(0.17)	0.79	(0.16)	0.89	(0.17)	0.76	(0.12)	0.82	(0.16)	0.033
(mg/1000kcal)	女性	0.88	(0.18)	0.84	(0.17)	0.91	(0.16)	0.95	(0.24)	0.9	(0.19)	0.245
	合計	0.86	(0.17)	0.82	(0.17)	0.9	(0.16)	0.86	(0.21)	0.86	(0.18)	0.175
ビタミンB <sub>12</sub>	男性	4.1	(1.2)	4	(1.4)	4.6	(2.4)	2.8	(1.2)	3.9	(1.7)	0.003
(mg/1000kcal)	女性	4.4	(1.8)	4.4	(1.7)	4.5	(1.7)	3.9	(2.3)	4.3	(1.9)	0.682
	合計	4.3	(1.5)	4.2	(1.5)	4.5	(2.1)	3.4	(1.9)	4.1	(1.8)	0.011
葉酸	男性	163	(35)	164	(54)	181	(50)	169	(46)	169	(47)	0.502
(mg/1000kcal)	女性	207	(40)	201	(66)	217	(35)	245	(113)	218	(71)	0.144
	合計	185	(43)	182	(62)	199	(47)	209	(94)	194	(65)	0.154
ビタミンC	男性	62.3	(29.5)	52.9	(34.7)	71.6	(30.2)	57.2	(25.6)	61.1	(30.5)	0.163
(mg/1000kcal)	女性	80.9	(33.9)	78.8	(37.2)	90.9	(24.1)	103.2	(72.3)	88.6	(46.1)	0.232
	合計	71.6	(32.8)	65.5	(37.9)	81.3	(28.7)	81.1	(59.3)	75	(41.4)	0.173
ビタミンE	男性	4.8	(0.8)	4.8	(1.2)	5.1	(1.1)	4.4	(1.7)	4.8	(1.2)	0.331
(mg/1000kcal)	女性	5.3	(0.9)	5.5	(1.1)	6.2	(1.4)	6.8	(3)	6	(1.9)	0.024
	合計	5	(0.9)	5.1	(1.2)	5.7	(1.4)	5.7	(2.7)	5.4	(1.7)	0.144

表4 血清中バイオマーカーに対応する栄養素摂取推定量(DHQ1回目調査による)の平均(標準偏差):性、年齢階級別

対象者数		20歳代		30歳代		40歳代		50歳代		60歳以上		合計	ANOVA	
		男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性			
		13	19	21	20	22	18	18	22	23	19	97		
	合計	32	41	41	40	40	40	40	42	42	42	195		
		平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	p-値
イコサヘンタエンサン酸	男性	0.10	(0.07)	0.11	(0.06)	0.12	(0.08)	0.18	(0.13)	0.17	(0.13)	0.14	(0.10)	0.089
(%E)	女性	0.10	(0.06)	0.12	(0.07)	0.16	(0.12)	0.18	(0.08)	0.18	(0.11)	0.15	(0.09)	0.007
	合計	0.10	(0.07)	0.12	(0.06)	0.14	(0.10)	0.18	(0.10)	0.18	(0.12)	0.15	(0.10)	<0.001
ドコサヘキサエンサン酸	男性	0.03	(0.02)	0.03	(0.01)	0.03	(0.02)	0.04	(0.02)	0.04	(0.03)	0.03	(0.02)	0.122
(%E)	女性	0.02	(0.01)	0.03	(0.02)	0.04	(0.03)	0.04	(0.02)	0.04	(0.02)	0.04	(0.02)	0.008
	合計	0.03	(0.02)	0.03	(0.02)	0.03	(0.02)	0.04	(0.02)	0.04	(0.02)	0.03	(0.02)	0.001
ビタミンB <sub>6</sub>	男性	0.74	(0.12)	0.78	(0.12)	0.82	(0.15)	0.86	(0.15)	0.87	(0.21)	0.82	(0.16)	0.108
(mg/1000kcal)	女性	0.84	(0.16)	0.83	(0.17)	0.9	(0.19)	0.9	(0.18)	1.01	(0.21)	0.9	(0.19)	0.021
	合計	0.8	(0.15)	0.81	(0.15)	0.86	(0.17)	0.88	(0.16)	0.94	(0.22)	0.86	(0.18)	0.004
ビタミンB <sub>12</sub>	男性	3.13	(1.41)	3.77	(1.83)	3.63	(1.38)	4.19	(1.4)	4.34	(2.24)	3.87	(1.74)	0.282
(mg/1000kcal)	女性	3.33	(1.44)	3.84	(1.88)	4.94	(2.68)	4.76	(1.19)	4.62	(1.66)	4.3	(1.88)	0.033
	合計	3.25	(1.41)	3.81	(1.83)	4.22	(2.15)	4.5	(1.3)	4.46	(1.98)	4.08	(1.82)	0.017
葉酸	男性	151	(30)	157	(40)	178	(54)	178	(32)	176	(59)	169	(47)	0.237
(mg/1000kcal)	女性	208	(45)	197	(39)	220	(64)	199	(50)	270	(115)	218	(71)	0.007
	合計	184	(48)	176	(44)	197	(62)	190	(44)	218	(99)	194	(65)	0.041
ビタミンC	男性	48.3	(19.2)	51.3	(26.3)	64.2	(33.7)	64	(22.7)	72.1	(37.8)	61.1	(30.5)	0.095
(mg/1000kcal)	女性	75.8	(33.4)	68.5	(24.4)	78.7	(29.9)	89	(28.7)	131.6	(72.5)	88.6	(46.1)	<0.001
	合計	64.6	(31.3)	59.7	(26.5)	70.8	(32.5)	77.8	(28.7)	99	(63)	75	(41.4)	<0.001
ビタミンE	男性	4.3	(1.1)	5	(1.4)	5.1	(1.2)	4.7	(1.2)	4.7	(1.2)	4.8	(1.2)	0.446
(mg/1000kcal)	女性	5.4	(1.7)	5.8	(0.9)	6.1	(1.3)	6	(1.4)	6.5	(3.2)	6	(1.9)	0.421
	合計	4.9	(1.6)	5.4	(1.2)	5.5	(1.4)	5.4	(1.5)	5.5	(2.5)	5.4	(1.7)	0.634

表5 血清中バイオマーカーに対応する栄養素摂取推定量(BDHQ1回目調査による)の平均(標準偏差):性、地域別

		長野		大阪		鳥取		沖縄		合計		ANOVA
対象者数	性別	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	p-値
	男性	25		23		25		23		96		
	女性	25		22		25		26		98		
	合計	50		45		50		49		194		
イコサヘンタエンサン酸(%E)	男性	0.20 (0.10)		0.16 (0.11)		0.19 (0.12)		0.09 (0.05)		0.16 (0.11)		0.001
	女性	0.23 (0.11)		0.15 (0.09)		0.20 (0.13)		0.13 (0.06)		0.18 (0.11)		0.001
	合計	0.21 (0.10)		0.16 (0.10)		0.20 (0.12)		0.11 (0.06)		0.17 (0.11)		0.009
ドコサヘキサエンサン酸(%E)	男性	0.04 (0.02)		0.03 (0.02)		0.04 (0.02)		0.02 (0.01)		0.03 (0.02)		0.000
	女性	0.05 (0.02)		0.03 (0.02)		0.04 (0.02)		0.03 (0.01)		0.04 (0.02)		0.001
	合計	0.05 (0.02)		0.03 (0.02)		0.04 (0.02)		0.02 (0.01)		0.04 (0.02)		0.006
ビタミンB <sub>6</sub> (mg/1000kcal)	男性	0.81 (0.16)		0.77 (0.13)		0.79 (0.11)		0.67 (0.11)		0.76 (0.14)		0.002
	女性	0.89 (0.20)		0.77 (0.15)		0.86 (0.13)		0.84 (0.14)		0.84 (0.16)		0.088
	合計	0.85 (0.18)		0.77 (0.14)		0.83 (0.13)		0.76 (0.15)		0.80 (0.16)		0.424
ビタミンB <sub>12</sub> (mg/1000kcal)	男性	4.6 (1.96)		4.6 (2.32)		4.8 (2.14)		3.1 (1.26)		4.3 (2.05)		0.015
	女性	5.3 (2.01)		4.7 (1.60)		4.9 (1.78)		4.3 (1.70)		4.8 (1.80)		0.211
	合計	5.0 (2.00)		4.7 (1.98)		4.8 (1.95)		3.7 (1.61)		4.5 (1.94)		0.333
葉酸(mg/1000kcal)	男性	162.2 (54.6)		147.2 (45.4)		161.9 (43.5)		143.4 (51.1)		154.0 (48.8)		0.413
	女性	186.1 (51.5)		171.6 (44.6)		199.2 (56.8)		210.8 (99.8)		192.7 (68.3)		0.224
	合計	174.1 (53.9)		159.2 (46.2)		180.6 (53.5)		179.1 (86.8)		173.6 (62.4)		0.000
ビタミンC(mg/1000kcal)	男性	49.8 (28.0)		41.2 (20.0)		50.4 (18.3)		32.8 (19.3)		43.8 (22.7)		0.020
	女性	68.6 (30.7)		54.1 (25.5)		70.4 (28.0)		67.7 (44.8)		65.6 (33.5)		0.337
	合計	59.2 (30.6)		47.5 (23.5)		60.4 (25.5)		51.3 (39.1)		54.8 (30.6)		0.000
ビタミンE(mg/1000kcal)	男性	4.0 (1.00)		4.1 (1.16)		4.2 (0.83)		3.4 (0.98)		3.9 (1.03)		0.040
	女性	4.7 (1.11)		4.4 (0.82)		5.1 (1.54)		5.7 (1.98)		5.0 (1.51)		0.018
	合計	4.3 (1.11)		4.2 (1.02)		4.6 (1.30)		4.6 (1.96)		4.5 (1.40)		0.115

表6 血清中バイオマーカーに対応する栄養素摂取推定量(BDHQ1回目調査による)の平均(標準偏差):性、年齢階級別

		20歳代		30歳代		40歳代		50歳代		60歳以上		合計		ANOVA
対象者数	性別	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	p-値
	男性	13		19		22		17		23		94		
	女性	19		18		18		22		19		96		
	合計	32		37		40		39		42		190		
イコサヘンタエンサン酸(%E)	男性	0.19 (0.14)		0.12 (0.09)		0.15 (0.08)		0.19 (0.11)		0.17 (0.12)		0.16 (0.11)		0.218
	女性	0.14 (0.11)		0.17 (0.09)		0.17 (0.10)		0.19 (0.09)		0.22 (0.13)		0.18 (0.11)		0.056
	合計	0.16 (0.13)		0.14 (0.09)		0.16 (0.09)		0.19 (0.10)		0.19 (0.12)		0.17 (0.11)		0.042
ドコサヘキサエンサン酸(%E)	男性	0.04 (0.03)		0.03 (0.02)		0.03 (0.02)		0.04 (0.02)		0.04 (0.03)		0.03 (0.02)		0.069
	女性	0.03 (0.02)		0.04 (0.02)		0.04 (0.02)		0.04 (0.02)		0.05 (0.03)		0.04 (0.02)		0.391
	合計	0.03 (0.02)		0.03 (0.02)		0.03 (0.02)		0.04 (0.02)		0.04 (0.03)		0.04 (0.02)		0.173
ビタミンB <sub>6</sub> (mg/1000kcal)	男性	0.81 (0.13)		0.70 (0.10)		0.76 (0.14)		0.78 (0.11)		0.78 (0.18)		0.76 (0.14)		0.342
	女性	0.81 (0.14)		0.78 (0.14)		0.85 (0.14)		0.85 (0.18)		0.93 (0.18)		0.84 (0.16)		0.081
	合計	0.81 (0.14)		0.74 (0.12)		0.80 (0.15)		0.82 (0.16)		0.85 (0.19)		0.80 (0.16)		0.352
ビタミンB <sub>12</sub> (mg/1000kcal)	男性	5.3 (2.62)		3.3 (1.49)		4.1 (1.53)		4.8 (1.98)		4.3 (2.38)		4.3 (2.06)		0.110
	女性	4.3 (1.89)		4.5 (1.10)		5.1 (1.91)		4.9 (1.96)		5.3 (2.13)		4.8 (1.80)		0.027
	合計	4.7 (2.13)		3.9 (1.42)		4.6 (1.76)		4.9 (1.94)		4.8 (2.30)		4.6 (1.95)		0.043
葉酸(mg/1000kcal)	男性	170.8 (57.0)		131.2 (36.5)		154.9 (47.0)		149.3 (46.9)		167.5 (53.4)		154.4 (49.2)		0.212
	女性	162.3 (40.2)		178.3 (36.7)		191.8 (43.6)		200.5 (65.7)		231.1 (112)		193.2 (68.8)		0.255
	合計	165.8 (47.0)		154.1 (43.2)		171.5 (48.6)		178.2 (63.0)		196.3 (89.6)		174.0 (62.9)		0.174
ビタミンC(mg/1000kcal)	男性	47.8 (22.8)		32.4 (17.7)		44.2 (17.9)		41.7 (19.5)		52.9 (29.3)		44.0 (22.8)		0.204
	女性	47.3 (19.4)		55.1 (19.5)		67.3 (27.1)		68.2 (28.6)		90.6 (50.0)		65.9 (33.8)		0.282
	合計	47.5 (20.5)		43.4 (21.7)		54.6 (25.0)		56.6 (28.1)		70.0 (43.8)		55.0 (30.8)		0.173
ビタミンE(mg/1000kcal)	男性	4.3 (1.01)		3.6 (1.13)		3.8 (0.81)		4.0 (1.04)		4.0 (1.09)		3.9 (1.02)		0.057
	女性	4.3 (0.92)		4.9 (1.30)		5.1 (1.10)		5.1 (1.75)		5.7 (1.99)		5.0 (1.52)		0.001
	合計	4.3 (0.94)		4.2 (1.35)		4.4 (1.16)		4.6 (1.57)		4.8 (1.76)		4.5 (1.41)		0.001

表7 血清中バイオマーカー濃度とDHQおよびBDHQで推定した  
 対応する栄養素摂取量(栄養密度)とのあいたの相関(ピアソンの積率相関係数)

	DHQ (n=185)		BDHQ (n=184)	
	粗値	性を調整	粗値	性を調整
1回目調査のDHQ・BDHQとの相関				
エイコサペンタエンサン酸	0.18	0.19	0.19	0.19
ドコサヘキサエンサン酸	0.13	0.19	0.13	0.13
ビタミンB <sub>6</sub>	0.08	0.07	0.18	0.17
ビタミンB <sub>12</sub>	0.17	0.15	0.04	0.02
葉酸	0.13	0.06	0.15	0.10
ビタミンC	-0.03	-0.10	0.11	0.05
ビタミンE	-0.01	0.00	0.02	0.02
2回目調査のDHQ・BDHQとの相関				
エイコサペンタエンサン酸	0.23	0.23	0.28	0.28
ドコサヘキサエンサン酸	0.16	0.16	0.25	0.26
ビタミンB <sub>6</sub>	-0.01	-0.02	0.05	0.04
ビタミンB <sub>12</sub>	0.13	0.13	0.23	0.22
葉酸	0.19	0.15	0.18	0.13
ビタミンC	0.16	-0.03	0.04	-0.02
ビタミンE	-0.01	-0.01	0.15	0.15

n=185の場合:  $r > 0.240$   $p < 0.001$ ,  $r > 0.189$   $p < 0.01$ ,  $r > 0.144$   $p < 0.05$ 。

n=184の場合:  $r > 0.241$   $p < 0.001$ ,  $r > 0.190$   $p < 0.01$ ,  $r > 0.145$   $p < 0.05$ 。

表8 血清中バイオマーカー濃度が分布の5%未満に分類された対象者のDHQまたはBDHQで推定された摂取量による分類(n=185)

	DHQまたはBDHQによる分類				合計
	<5%	5%-49%	50%-95%	>95%	
<b>1回目調査のDHQ</b>					
イコサペンタエンサン酸	2 (20%)	6 (60%)	2 (20%)	0 (0%)	10
ドコサヘキサエンサン酸	1 (11%)	5 (56%)	3 (33%)	0 (0%)	9
ビタミンB <sub>6</sub>	0 (0%)	2 (25%)	5 (63%)	1 (13%)	8
ビタミンB <sub>12</sub>	1 (11%)	4 (44%)	4 (44%)	0 (0%)	9
葉酸	1 (10%)	6 (60%)	2 (20%)	1 (10%)	10
ビタミンC	2 (22%)	2 (22%)	5 (56%)	0 (0%)	9
ビタミンE	1 (11%)	2 (22%)	6 (67%)	0 (0%)	9
<b>2回目調査のDHQ</b>					
イコサペンタエンサン酸	1 (11%)	6 (67%)	2 (22%)	0 (0%)	9
ドコサヘキサエンサン酸	0 (0%)	5 (63%)	3 (38%)	0 (0%)	8
ビタミンB <sub>6</sub>	1 (11%)	1 (11%)	7 (78%)	0 (0%)	9
ビタミンB <sub>12</sub>	0 (0%)	7 (78%)	2 (22%)	0 (0%)	9
葉酸	1 (13%)	5 (63%)	2 (25%)	0 (0%)	8
ビタミンC	0 (0%)	5 (63%)	3 (38%)	0 (0%)	8
ビタミンE	1 (11%)	3 (33%)	5 (56%)	0 (0%)	9
<b>1回目調査のBDHQ</b>					
イコサペンタエンサン酸	2 (20%)	6 (60%)	2 (20%)	0 (0%)	10
ドコサヘキサエンサン酸	2 (22%)	4 (44%)	3 (33%)	0 (0%)	9
ビタミンB <sub>6</sub>	0 (0%)	5 (5%)	4 (44%)	0 (0%)	9
ビタミンB <sub>12</sub>	2 (22%)	4 (44%)	3 (33%)	0 (0%)	9
葉酸	1 (10%)	5 (50%)	4 (40%)	0 (0%)	10
ビタミンC	2 (22%)	4 (44%)	3 (33%)	0 (0%)	9
ビタミンE	1 (11%)	2 (22%)	5 (56%)	1 (11%)	9
<b>2回目調査のBDHQ</b>					
イコサペンタエンサン酸	1 (11%)	7 (78%)	1 (11%)	0 (0%)	9
ドコサヘキサエンサン酸	1 (13%)	5 (63%)	2 (25%)	0 (0%)	8
ビタミンB <sub>6</sub>	0 (0%)	4 (44%)	4 (44%)	1 (11%)	9
ビタミンB <sub>12</sub>	1 (13%)	4 (50%)	2 (25%)	1 (13%)	8
葉酸	2 (25%)	5 (63%)	1 (13%)	0 (0%)	8
ビタミンC	0 (0%)	5 (63%)	3 (38%)	0 (0%)	8
ビタミンE	1 (11%)	3 (33%)	4 (44%)	1 (11%)	9



## 分担研究報告書

### ビタミンの生体指標測定方法の開発および実地応用に関する研究 分担研究者 梅垣敬三 独立行政法人 国立健康・栄養研究所 室長

#### 研究要旨

生体内ビタミンレベルを適切に評価することは、食生活の指導、栄養機能食品等の効果的な利用を行う上で重要である。本研究では実地応用可能な生体内ビタミンレベルの評価手法に関する基礎的検討を主にビタミンCについて検討した。その結果、侵襲性の低い口腔粘膜細胞はビタミンC含量が血液細胞に比べて極めて低いこと、好中球や血小板は血液からの分離操作や採血量の問題があることから、それぞれビタミンCの評価対象組織には適していないと考えられた。一方、血漿採取後の血球部分から分離するリンパ球はビタミンCの評価対象組織になり得ると考えられ、実地応用が可能であることも確認した。ビタミンCは極めて分解し易いため、測定用試料を採取後に低温に保ち、2時間以内に適切な前処理を行わなければ意味のある結果が得られないことが明らかになった。約100名の血漿とリンパ球におけるビタミンC濃度の関係を調べたところ、両者には有意な相関性はなかった。

#### A. 研究目的

近年、国民の健康に対する意識が高く、いわゆる健康食品やビタミンのサプリメントに対する関心も益々高くなっている。厚生労働省も昨年4月から、新しい保健機能食品制度下で、ビタミン等を含有した栄養機能食品の表示許可を行っている。ビタミンを効果的に利用するには、生体内のビタミンレベルを適切に評価し、その必要量、有効性・安全性を人において明確にすることが重要である。生体内ビタミンレベルを評価することは健全な食生活の状況を把握する上でも重要である。そのためには、生体内ビタミンレベルの適切な評価手法の開発、その手法による集団を対象とした調査・研究の遂行が必須になる。生体内ビタミンレベルの評価は、一般に血漿や血清を用いた評価が行われているが、より適切な評価対象試料、試料採取後のその取扱法等に関する基礎的検討は十分に行われていない。

本研究では、ビタミンとして、ビタミンC

と葉酸を取り上げ、その生体内レベルの評価を行う上での適切な生体試料（血漿、血小板、リンパ球、好中球、口腔粘膜細胞）の選定、試料採取後のその取扱法等に関する基礎的検討を行った。

#### B. 研究方法

ビタミンCは測定感度の高い電気化学検出器を装着したHPLC法により、葉酸はバイオアッセイにより測定した。生体試料としては、血漿、血小板、リンパ球、好中球、ならびに侵襲性の低い口腔粘膜細胞を利用した。口腔粘膜細胞は歯ブラシで頬粘膜を軽く擦ることにより採取した。また、リンパ球、好中球、血小板は遠心操作により分離して調製した。ビタミンCの安定性は、被験者から採取した試料を氷上、室温（25℃）で一定時間保存し、その経時的な濃度変化を測定することにより評価した。

実地応用を目的としたビタミンC測定用の血小板試料は、2mMEDTA含有リン酸緩衝液（EDTA-PBS）2mlを入れたマイクロチューブ

に全血 1ml を入れて転倒混和し、小型遠心機で 300 x g、3 分間遠心した。得られた多血小板血漿を別のマイクロチューブに移し、1800 x g、3 分間遠心して血小板を沈めて血漿を除去後、さらに遠心 (1800 x g、3 分間) により血小板を EDTA-PBS で 2 回洗浄、最終的に 5%メタリン酸に懸濁し、ドライアイスで凍結してビタミン C 測定用 HPLC 試料とした。また、実地応用を目的としたリンパ球の調製は、血漿採取後のバフィーコートに 1ml の PBS を入れた 2ml 容マイクロチューブに移して血球を懸濁した。次に、注射器 (21G の針付き) を用いて血球懸濁液の下層にフィコールを約 0.5ml 注入し、4500 x g、4 分間遠心した。この遠心により得られたリンパ球層を 2ml 容のマイクロチューブに移し、遠心 (4500 x g、4 分間) によりリンパ球を PBS で 2 回洗浄し、最終的に 5%メタリン酸に懸濁し、ドライアイスで凍結してビタミン C 測定用 HPLC 試料とした。(倫理面への配慮)

被験者実験は倫理面に十分配慮して遂行した。

### C. 研究結果

口腔粘膜細胞は、低侵襲性のため、生体試料として幼児から高齢者にわたる調査研究に活用できる可能性が高い。そこで、口腔粘膜細胞中のビタミン C 含量を測定し、他の血液細胞における含量と比較した。表 1 に示したように、口腔粘膜細胞中のビタミン C 濃度は、血液細胞の約 1/100 のレベルと極めて低く、高感度に分析できる電気化学-HPLC 法による分析でも安定した値を得ることが難しかった (表 1)。

血液採取後の血漿、血小板、リンパ球、好中球に存在するビタミン C の安定性を検討し、図 1 に示した。還元型 (アスコルビン酸)、ならびに総ビタミン C (還元型+酸化型) のいずれの値も、試料保存が氷上で

あれば試料分離後 2 時間程度までは安定していた。しかし、室温保存の条件では、その濃度は保存時間とともに明確に低下した。

一般に、生体内ビタミン C レベルの評価には好中球が適していると考えられている。しかし、検診等で行われているのは血漿や血清のビタミン C 濃度の測定である。これは、その単離操作が複雑でしかも時間を要することに関係している。単離操作の比較的簡単な血球としては血小板とリンパ球がある。そこで集団を対象とした調査研究に応用可能な血球ビタミン C 試料として、先ず血小板で検討した。血小板は低速の遠心により多血小板血漿を調製でき、さらに遠心することにより血小板を容易に単離することができる。集団を対象とした実地応用には、利用可能な遠心機の問題がある。そこで、手軽に持ち運び可能な小型遠心機を利用し、実地応用可能な血小板の単離操作法を検討した。検討した方法により約 12 検体のビタミン C 測定用血小板試料を 15 分程度で調製できた。ただし、血小板は単離操作の際に極めて凝集し易いため調製が難しいこと、血小板ビタミン C のみの測定に別途約 1 ml の血液を被験者から採取するため、多項目検査を行う際には採血量が多くなるという問題が生じた。そこで、次にリンパ球をビタミン C 測定の試料とする検討を行った。血球ビタミン C 測定のために被験者に新たな採血をせず、短時間にビタミン C 測定用のリンパ球を調製する方法として、図 2 に示した方法を考案した。この方法は血漿分取後に通常廃棄していた血球部分のバフィーコートからリンパ球を調製する方法であり、約 12 検体のビタミン C 測定用リンパ球試料を約 8 分程度で調製できた。実際、この方法を保健所レベルで行った 50 人程度の調査研究に適用し、問題なく実地応用できることを確認した。この手法を利用し、リンパ球と血漿中のビタミン C 濃度を

測定した。その結果、図 3 に示したように両者には有意な相関性が認められなかった。

葉酸の検討では、測定感度が高く、種々の形態の葉酸も定量できるバイオアッセイ法による定量の検討を行った。その際、クロラムフェニコール耐性菌、96well のプレ

ート、凍結保存菌体等の利用したバイオアッセイ法を採用し、血漿や血球の葉酸は測定できる状況になった。しかし、口腔粘膜細胞ではポリグルタメートになっている葉酸をコンジュガーゼ処理する必要があり、現在その処理方法の検討を行っている。

表 1 血漿と血液細胞ならびに口腔粘膜細胞中のビタミンC含量

	nmol/mL
血漿	50 - 100
	nmol/mg protein
血小板	70 - 120
リンパ球	100 - 130
好中球	30 - 50
口腔粘膜細胞	0.02 - 0.04

#### D. 考察

集団を対象としたビタミンCや葉酸等の生体内レベルの評価は、少人数を対象とした実験室レベルの研究では生じない種々の問題がある。例えば、試料の採取は、操作が簡単であり、特殊で高価な機器は利用せず、侵襲性が低いことが重要なポイントになる。結果に示したように、口腔粘膜細胞はビタミンC含量が極めて低いこと、血小板や好中球は採血量や単離操作の問題から、それぞれ集団を対象とした実地的なビタミンC評価指標の試料になり難いと考えられた。一方、血漿分取後のバフィーコートから単離するリンパ球は、その単離操作も複雑でなく、ビタミンC測定のために余分な採血を行う必要もなく、実地応用可能な血球ビタミンCの評価対象試料になると考えられた。生体内ビタミンCレベルは血漿や血清で評価されているが、それらのレベルは短時間内のビタミンの摂取状態が反映されるため、長期間のビタミンC摂取状態の指標にはならないことが示唆されている。実際、本研究で血漿とリンパ球のビタミンCレベルの関連を調べたところ、有意な相関性は検出できなかった。このリンパ球ビ

タミンC濃度が、食事からのビタミンCの摂取量等と如何なる関連を有するかについては今後詳細に検討する必要がある。

血球や血漿のビタミンC濃度は、採血後及び試料調製後に低温（氷上）で保存しておけば約2時間までは安定していた。一方、室温で保存すると著しいビタミンCの分解が認められた。この結果は、一般に集団を対象とした調査研究で行われているビタミンCの測定は、試料を低温に保つか、迅速に分解を抑制する前処理を行わなければ、意味のあるデータが得られないことを示唆した。

#### E. 結論

実地応用可能な生体内ビタミンCレベルの評価手法に関する基礎的検討を行った。その結果、侵襲性の低い口腔粘膜細胞は、ビタミンC含量が血液細胞に比べて極めて低いため、ビタミンCの評価対象組織には適していないと考えられた。また、好中球や血小板も血液からの分離操作や採血量の問題からビタミンCの評価対象組織とするには問題があった。一方、血漿採取後の血球部分から分離するリンパ球はビタミンC

の評価対象組織になると考えられ、実地応用も可能であった。実地応用した時のビタミンC濃度を血漿と血球と比較したとき、両者には有意な相関性がなかった。ビタミンCは分解し易いため、その測定用生体試料を採取後に低温に保ち、2時間以内に適切な前処理を行わなければ意味のある結果を得ることはできないことが明らかになった。

## F. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

## G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

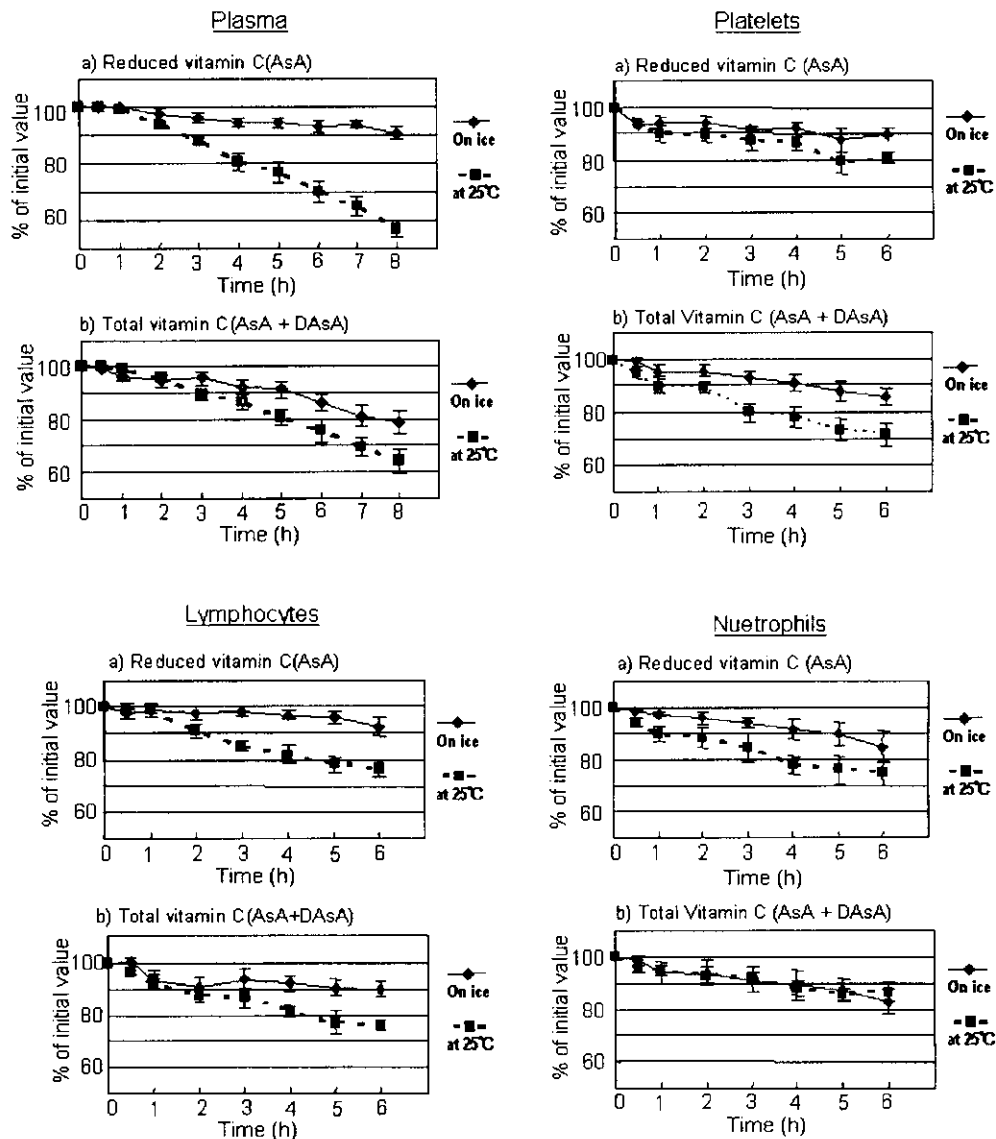


図1 血漿、血小板、リンパ球、好中球におけるビタミンC濃度と保存時間の関係

被験者から採取した血液から血漿、血小板、リンパ球、好中球を分離し、氷上または25℃で一定時間保存し、その後メタリン酸を添加してHPLCの前処理を行った。