

平成14年度厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

分担研究報告書

先天異常モニタリング等に関する研究

分担研究課題：若年女性の葉酸栄養状態について

分担研究者 平岡 真実 女子栄養大学医化学研究室 助手
安田 和人 女子栄養大学大学院 教授

要約：若年女性の葉酸摂取量および血清葉酸値，総ホモシステイン（tHcy）値を調べ，更にメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素（MTHFR）遺伝子多型（C677T）が葉酸栄養状態に与える影響を検討した。女子大生（21-22歳）150名における，3日間秤量記録法による食事調査より算出した葉酸摂取量は， $341 \pm 155 \mu\text{g}/\text{日}$ で所要量 $200 \mu\text{g}$ を充足していた者は131名（87.3%）であった。また，主な葉酸供給源は，ほうれん草，ブロッコリー，なばな等緑黄色野菜やキャベツ等の他，緑茶が12%と高い割合を示した。血清葉酸濃度の平均は $17.1 \pm 4.7 \text{nmol}/\text{l}$ で，摂取量充足者と不足者の血中濃度に有意差がみられ，血清葉酸濃度と摂取量との間の相関は有意であった（ $r=0.177$ ）。血清 tHcy 濃度の平均は $6.6 \pm 2.1 \mu\text{mol}/\text{l}$ であり，摂取不足者の値は充足者と比べて高値を示した。また葉酸血清値と負の相関（ $r=-0.251$ ）がみられた。MTHFR 遺伝子多型（C677T）の頻度は CC 型 46 名（30.7%），CT 型 82 名（54.7%），TT 型 22 名（14.7%）であった。血清葉酸値および tHcy 値を遺伝子型間で比較すると，どちらも有意差が認められ，所要量の充足にかかわらず TT 型では血清葉酸値は低く，血清 tHcy 値は高値を示した。すなわち TT 型において，良好な葉酸栄養状態であるためには現行の所要量より更に高めに葉酸を摂取する必要があると考えられた。

研究目的：

我が国における葉酸所要量は，第六次改定日本人の栄養所要量で策定されたが，日本人を対象とした葉酸栄養状態の報告は十分ではないため，欧米の文献を参照して定められている¹⁾。しかし，人種差や個人差，生活習慣等の相違を考慮しなくてはならない。我々は女子大学生の葉酸摂取量を日本（五訂）とアメリカの食品成分表を用いて算出したところ，平均摂取量はアメリカでは所要量を下回ったが，五訂で大きく上回り，また成分表記載値も摂取頻度の高い食品では五訂のほうが高値を示すものが多かった^{2, 3)}。また，個人差には遺伝子多型が原因である場合もあり，例えば葉酸代謝関連酵素の一つであるメチレンテトラヒド

ロ葉酸還元酵素（MTHFR）多型が血中葉酸濃度に影響することは知られている⁴⁾。日本人を対象とした調査の中で，葉酸摂取状況に言及したものは少ない。そこで，女子大学生を対象に葉酸摂取状況調査および血清葉酸，総ホモシステイン（tHcy）濃度を測定し，更に，MTHFR C677T 一塩基多型の影響を検討した。

研究方法：

21～22歳の健康な女子大学生 150 名について，平日連続 3 日間の秤量記録法による食事調査を行い，葉酸摂取量を五訂日本標準食品成分表⁵⁾を用いて算出した。また，葉酸の供給源となっている食品を調べた。食事調査終了翌日，午前中空腹時採血を

行い、血清葉酸値を自動測定装置 Chemilumianalyzer ACS-180 および専用試薬 ACS Folate を用いて測定した。血清 tHcy は HPLC 法にて測定した。全血から抽出した DNA を用いて、MTHFR C677T 一塩基多型を PCR-RFLP 法⁶⁾にて調べた。

被験者にはあらかじめ研究の趣旨を口頭および文書にて説明し、書面による同意を得た。また女子栄養大学医学研究倫理委員会の承認を得た。

研究結果：

葉酸摂取量の平均は $341 \pm 155 \mu\text{g}/\text{日}$ で所要量 $200 \mu\text{g}$ を充足していた者は 131 名 (87.3%) であった。葉酸供給源は Table 1 に示すとおり、緑黄色野菜 (ほうれんそう、ブロッコリー、菜花など)、淡色野菜 (キャベツ、レタス) の他、緑茶 (せん茶、玉露) の比率が高かった。また、アメリカの葉酸供給源⁷⁾と比較すると、野菜類を除き大きく違いがみられた。

血清葉酸濃度は $17.1 \pm 4.7 \text{nmol/l}$ ($7.5 \pm 2.1 \text{ng/ml}$) で、Fig.1 のとおり摂取量充足者と不足者の血中濃度に有意差がみられ、血清葉酸値と摂取量との間の相関は有意であった ($r=0.177$)。血清 tHcy 濃度は $6.6 \pm 2.1 \mu\text{mol/l}$ であり、摂取不足者の値は充足者と比べて高値を示した。また血清葉酸値 ($r=-0.251$) と負の相関がみられた (Fig.2)。血清 tHcy 値が $10 \mu\text{mol/l}$ をこえた 5 名のうち、4 名は所要量を充足していた。

MTHFR C677T 多型の頻度は CC 型 46 名 (30.7%)、CT 型 82 名 (54.7%)、TT 型 22 名 (14.7%) であった。葉酸摂取量は遺伝子型による差はみられなかったが、血清葉酸値 ($p<0.01$)、tHcy 値 ($p<0.001$) のどちらも、遺伝子型間で有意差が認められ、血清葉酸値は CC 型が他の遺伝子型より有意に高く、すなわち T 型の対立遺伝子を持つ者が低値を示し、tHcy 値は TT 型が有意に高かった。更に所要量充足者と不足者に分けると、所要量の充足にかかわらず TT 型では血清葉酸値は低く、血清 tHcy 値は高値を示した (Table 2)。

考察：

葉酸は、従来、日本人の食習慣からみて欠乏はほとんどないとされてきたが、葉酸

摂取状況に関する報告はほとんどなかった。今回対象とした女子大学生の葉酸摂取量は、平均で所要量を大きく上回り、充足しなかった者はわずか 12.7%に過ぎなかった。葉酸供給源として、野菜類の比率が高いことは予測のつくことであるが、緑茶が約 12%と高比率であった。また、アメリカの葉酸供給源⁷⁾と比較すると、日本との食生活や、食品の違いなどの差が反映された結果となった。

MTHFR C677T 一塩基多型と血清葉酸濃度や tHcy との関係は、既に多くの報告があり、TT 型の遺伝子をもつものでは、高ホモシステイン血症のリスクが高いといわれている⁸⁾。この遺伝子型の日本人における研究は、妊婦における、子癩前症と MTHFR C677T 多型の関連を調べた報告⁹⁾などいくつかあるが、多型の頻度は、今回の被験者の結果と同程度であり、変異型の TT 型が 15%と欧米よりもやや高めである。本研究では、血清葉酸値が 7.0nmol/l (3.09ng/ml) を下回った被験者はみられなかったが、TT 型は野生型に比べて有意に低値を示した。また、葉酸を所要量以上摂取していたにもかかわらず、血清 tHcy 値が $18.5 \mu\text{mol/l}$ 、 $22.9 \mu\text{mol/l}$ と軽度のホモシステイン血症と思われる者が 2 名みられ、両者いずれも遺伝子型は TT 型であった。すなわち、TT 型をもつ者は現行の葉酸所要量 $200 \mu\text{g}/\text{日}$ より一層多めに摂取する必要があると思われる。

わが国の葉酸の栄養所要量 $200 \mu\text{g}/\text{日}$ (成人) は、欧米の文献値を用いて算定されている。しかし、葉酸供給源が異なる等の食生活の違いだけでなく、約 15%と高頻度である MTHFR C677T 多型の TT 型の存在は、我が国の葉酸栄養状態を考える上で重要であり、葉酸所要量の再検討が望まれる。

結論：

女子大学生の葉酸摂取量および血清葉酸値、tHcy 値を調べ、更に MTHFR C677T 一塩基多型の影響を検討した。葉酸の充足率は 87.3%と高く、また血清葉酸値が 7.0nmol/l 未満の者はみられなかった。MTHFR C677T 多型の TT 型は被験者の 15%を占め、摂取量の充足に関わらず、血清葉酸値は低く、血清 tHcy 値は低値であっ

た。したがって、TT型では所要量 200 μ g /日より多く葉酸を摂る必要があると考えられる。

Absence of association between a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and preeclampsia in Japanese women. *Am. J. Med. Genet.* 93: 122-125

参考文献

- 1) 健康・栄養情報研究会：第6次改定日本人の栄養所要量 食事摂取基準，第一出版，1999
- 2) Hiraoka, M. (2001) Nutritional status of vitamin A, E, C, B₁, B₂, B₆, nicotinic acid, B₁₂, folate, and β -carotene in young women. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 47: 20-27
- 3) 平岡真実, 安田和人：B群ビタミンにおける各国の食品成分表の比較検討. *ビタミン* 76:182-183, 2002
- 4) Bailey, L.B., Gregory, III, J.F. (1999) Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. *J. Nutr.* 129: 919-922
- 5) 科学技術庁資源調査会編：五訂日本食品標準成分表，大蔵省造幣局，2000
- 6) Frosst, P., Blom, H. J., Milos, R., Goyrtt, P., Sheppard, C.A., Matthews, R.G., Boers, G.J.H., den Heijer, M., Kluijtmans, L.A.J., van der Heuvel, L.P., Rozen, R. (1995) A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat. Genet.* 10: 111-113
- 7) Subar, A.M., Block, G., James, D. (1989) Folate intake and food sources in the US population. *Am. J. Clin. Nutr.* 50: 508-516
- 8) Brattstrom, L., Wilcken, D.E.L., Ohrvik, J., Brudin L. (1998) Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of meta-analysis. *Circulation* 98: 2520-2526
- 9) Kobashi, G., Yamada, H., Asano, T., Nagano, S., Hata, A., Kishi, R., Fujimoto, S., Kondo, K. (2000)

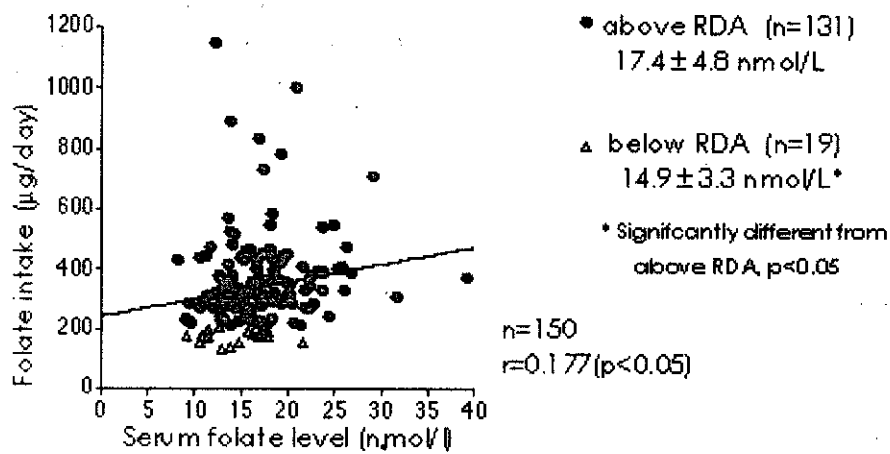


Fig.1 Correlation between folate intake and serum folate levels in female students

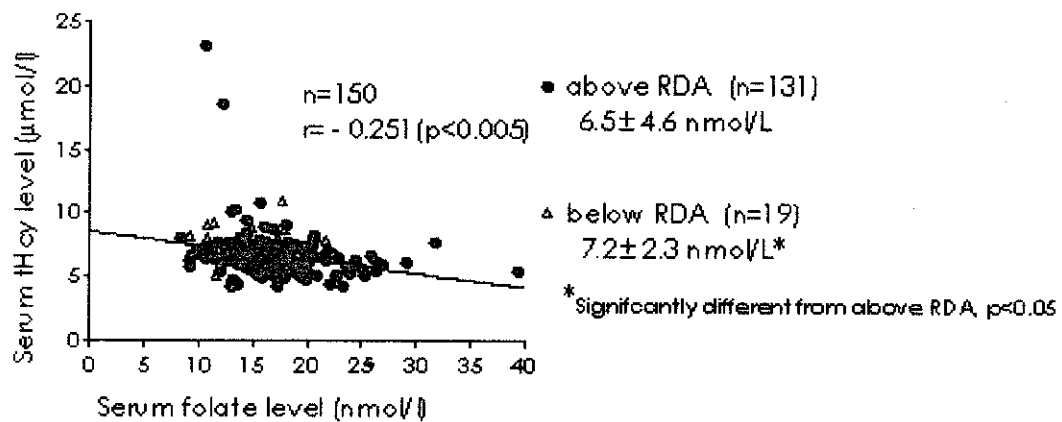


Fig.2 Correlation between serum thcy and serum folate levels in female students

Table 1. Comparison of major dietary sources of Folate in Japan and US.

	Japan	% of total Folate	US	% of total Folate
1	Spinach	8.5	Orange juice	9.7
2	Green tea: Sencha	6.8	White bread, rolls, crackers	8.6
3	Green tea: Gyokuro	5.0	Pinto, navy, and other dried beans(cooked)	7.1
4	Cabbage	5.0	Green salad	6.9
5	Eggs	4.0	Cold cereals (not bran or superfortified)	5.0
6	Broccoli	3.6	Eggs	4.6
7	Rice	3.1	Alcoholic beverages	3.9
8	White bread	2.7	Coffee, tea	3.4
9	Lettuce	2.7	Liver	3.1
10	Strawberries	2.1	Superfortified cereals	3.1

Table 2. Distribution of serum folate and tHcy by folate intake according to MTHFR genotype.

	Genotype		
	CC(n)	CT(n)	TT(n)
Serum folate (nmol/l)			
Total	18.8±4.3 (46) ^{ab}	16.4±4.5 (82) ^b	16.2±5.5 (22) ^a
Folate intake ≥200µg/d	19.1±4.4 (40) ^{ef}	16.8±4.6 (70) ^e	16.1±5.7 (21) ^f
Folate intake <200µg/d	17.1±3.2 (6) ^g	13.5±2.8 (12) ^g	17.9 (1)
Serum tHcy (µmol/l)			
Total	6.2±1.2 (46) ^c	6.4±1.2 (82) ^d	8.1±4.4 (22) ^{cd}
Folate intake ≥200µg/d	6.2±1.3 (40) ^h	6.3±1.1 (70) ⁱ	8.0±4.5 (21) ^{hi}
Folate intake <200µg/d	6.2±0.9 (6)	7.4±1.3 (12)	10.7 (1)

Values are means ± SD. Values within a row with similar superscripts are significantly different: ^{aefg}P<0.05, ^{bh}P<0.005, ⁱP<0.001, ^{cd}P<0.0005.

研究成果の刊行

雑誌

安田和人, 平岡真実, 荻原貴裕 : ビオチン・アビジンを用いる化学発光-競合的結合測定法 (CL-CPBA-BA) による血清葉酸の自動測定. 機器・試薬 25(5) : 441-448, 2002