

### 2.2.4 T細胞機能の変化

ヒトの皮膚における遅延型過敏反応、PHA（フィトヘマグルチニン）やCon A（コンカナバリンA）などの植物由来レクチンに対するT細胞増殖反応などが加齢に伴い低下することが知られている<sup>5)</sup>（図2.4）。このことは結果として、高齢者における外来性の細菌やウイルスに対する易感染性やガン発生の増加と関連する。CD4<sup>+</sup>（ヘルパー）T細胞機能も加齢に伴い低下することから、外来抗原に対する抗体産生にも影響する。その他、移植臓器の拒絶反応に関わる細胞障害性T細胞機能も加齢に伴い低下する。

### 2.2.5 サイトカイン産生の変化

上述したように高齢者ではナイーブT細胞が減少する一方で、メモリーT細胞の増加がみられる。この背景にはヘルパーT細胞の亜群であるTh1からのサイトカイン（IFN $\gamma$ , IL-2, IL-12）産生が低下する一方で、Th2からのサイトカイン（IL-4, IL-5, IL-10）の産生が高齢者では増加することと関連している。また、高齢者では炎症性サイトカインのTNF $\alpha$ （腫瘍壊死因子）、IL-1およびIL-6産生が高いことが見出されており、高齢者が炎症を有していること、すなわち動脈硬化症、骨粗鬆症<sup>こつそしょうしょう</sup>および認知症（痴呆）などのリスクの高いことと一致している。

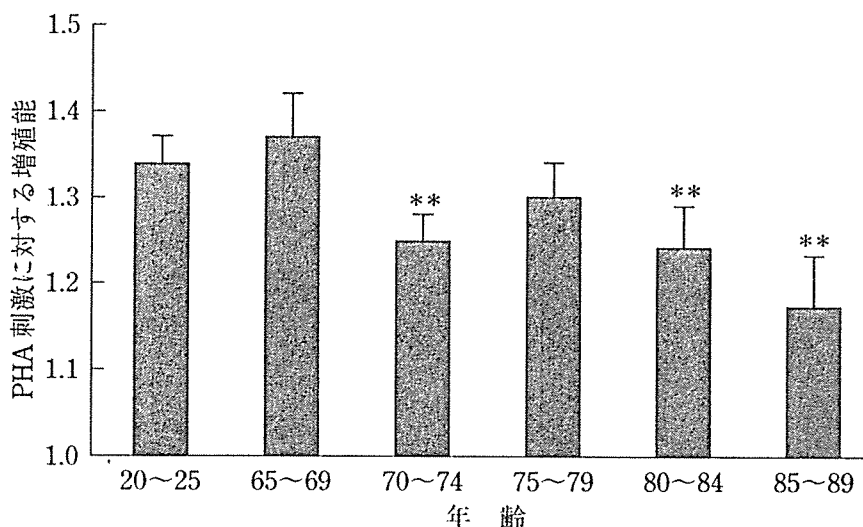


図 2.4 若齢者と高齢者の末梢血 T細胞機能の比較<sup>5)</sup>

\*\*  $p < 0.01$  (vs 20~25 歳)

### 2.2.6 ナチュラルキラー（NK）細胞機能の変化

自然免疫をつかさどる細胞の1つであるNK細胞割合は高齢者では増加することが知られている<sup>5)</sup> (図2.5)。しかし、ヒト白血病細胞由来のK562細胞を標的細胞とするNK細胞機能そのものは高齢者においても若年者とほとんど同等であることから、NK細胞当たりの活性が高齢者では低下し、それを補うためにNK細胞割合が上昇していることが示唆されている。

### 2.2.7 単球・マクロファージ機能の変化

血液中の単球が各組織で分化・成熟したのがマクロファージである。肺、腹腔に局在するマクロファージはそれぞれ肺胞マクロファージ、腹腔マクロファージと呼ばれる。また、肝臓で分化・成熟したものはクッパー（星状）細胞と呼ばれる。骨には破骨細胞と呼ばれるマクロファージが存在する。これらすべての細胞は局在部位が違っていても有する機能は同様であり、<sup>どんしよく</sup>貪食のう能、抗原提示（アクセサリー）機能および直接ガン細胞を障害する（抗腫瘍）

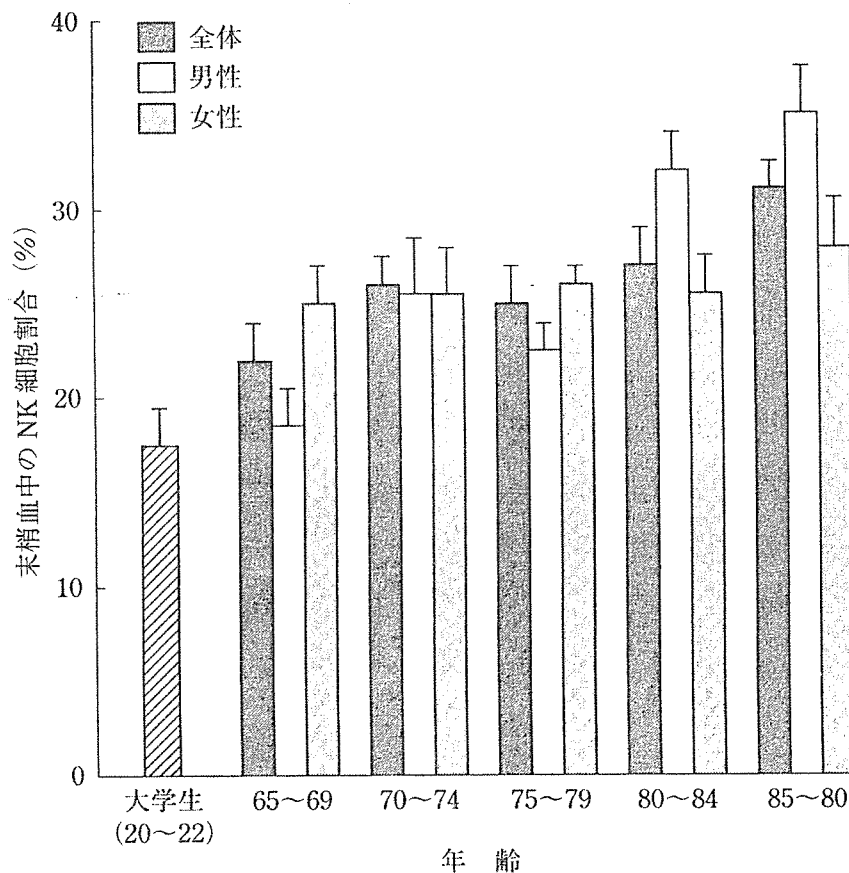


図 2.5 若齢者と高齢者における末梢血中のNK細胞割合<sup>5)</sup>

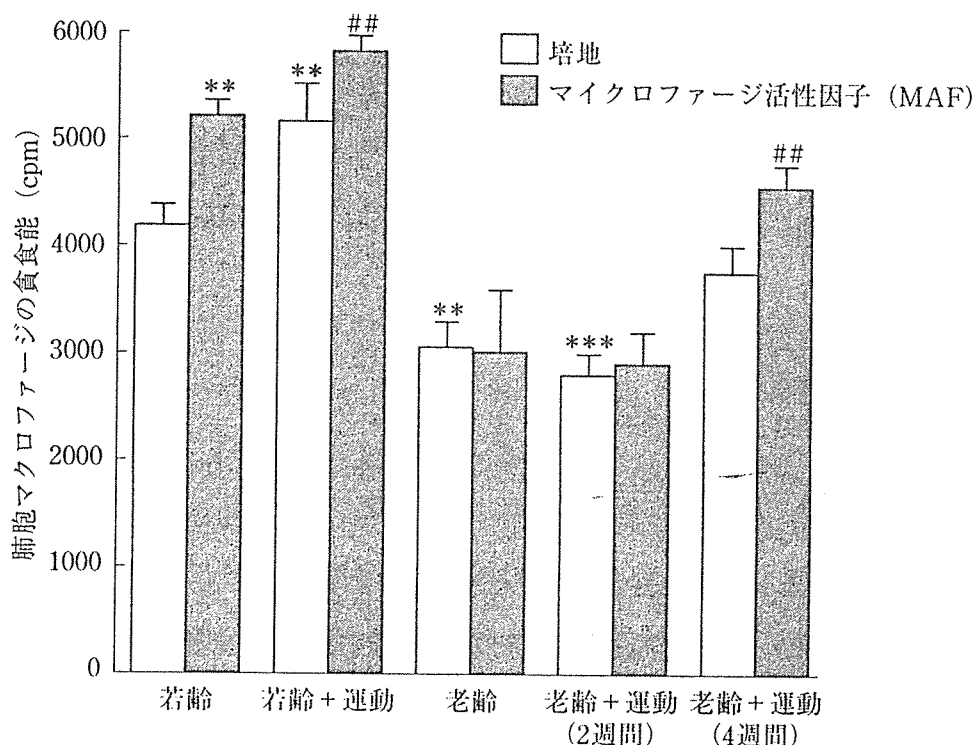


図 2.6 ラット肺胞マクロファージ貪食能の加齢による変化と運動の影響<sup>6)</sup>

\*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  (vs 若齢ラットの貪食能),

##  $p < 0.01$  (vs 無刺激時の貪食能)

機能を有している。一般に、これら機能は単球よりも局所で分化・成熟したマクロファージの方が高い。マクロファージ機能は低下したT細胞機能を補う意味でも加齢に伴って低下することはほとんどないと言われているが、実験動物を用いた結果では肺胞マクロファージの細胞膜表面にあるFcレセプターを介したオプソニン化ヒツジ赤血球 (SRBC) に対する特異的貪食能は加齢に伴い低下することが知られている<sup>6)</sup> (図2.6)。

## 2.3 高齢者における免疫能の異常亢進—自己免疫疾患

高齢者ではすべての免疫能が一様に低下するのではなく、中にはむしろ異常なほど免疫能が亢進する場合がある。その代表が自己免疫疾患である。自己免疫疾患の特徴として必ず血液中に自分の組織・細胞に対する抗体 (自己抗体) が検出される。自己抗体には臓器特異的な抗体と臓器非特異的な抗体があり、前者には抗サイログロブリン抗体、後者にはリウマチ因子や抗DNA

表 2.1 代表的な自己免疫疾患

疾 患	自 己 抗 体	標 的 臓 器
全身性エリテマトーデス	抗核抗体・抗 DNA 抗体・抗 Sm 抗体	腎臓・皮膚など
リウマチ様関節炎	リウマチ因子	滑膜
慢性甲状腺炎	抗マイクロソーム抗体・抗サイログロブリン抗体	甲状腺
強皮症	Scl-70 抗体	皮膚
多発生筋炎, 皮膚筋炎		筋組織・皮膚
シェーグレン症候群	SS-A 抗体・SS-B 抗体	涙腺・唾液腺
リウマチ熱	抗ストレプトリシン O	心膜・皮膚など

抗体などが含まれる。代表的な自己免疫疾患を表 2.1 に示した。全身性エリテマトーデス (SLE) はその名のとおりに、全身性の自己免疫疾患で比較的若年女性に現れるのに対し、慢性甲状腺炎 (橋本病) は限局性の自己免疫疾患である。高齢者において自己免疫疾患が比較的高率に発症する理由として、前述の胸腺の萎縮 (退縮) と関連することが示唆されている。本来、自分自身の細胞や組織に対しては自己免疫寛容が成立しており、抗体産生などの免疫反応は起こらない。しかし、自己免疫疾患では、この寛容が破綻して自己の細胞や組織が異物 (抗原) として認識され、抗体 (自己抗体) や感作 T 細胞などを産生して、自己の細胞や組織を攻撃し、障害する。その背景には胸腺の退縮に伴う機能低下により、特にサプレッサー T 細胞の数的および機能的低下が誘導され、その結果、誤って自分自身の細胞や組織に対する抗体 (自己抗体) が産生されても、その産生を止めることができないために自己免疫疾患が発症する。また、サプレッサー T 細胞数が減少する一因として、サプレッサー T 細胞そのものに対する自己抗体ができ、それによって障害を受け、破壊されることが考えられている。さらに、高齢者において自己免疫疾患が起きるもう 1 つの理由として、B 細胞の抗原に対する過剰反応が関与することが知られている。これら自己免疫疾患を引き起こす T および B 細胞の異常は単に加齢だけではなく、ウイルス感染、薬剤やホルモン投与、ガンなども原因となる。一般に、高齢者では男性よりも女性において多発する傾向がある。治療としては薬物療法が主流であり、免疫抑制剤や免疫調整薬などが使用される。

## 2.4 高齢者の栄養摂取と免疫能

高齢者では歯の脱落をはじめ諸臓器の機能低下がみられ、その結果として摂取する食品の傾向も若い頃と比べると大きく変わってくるのが知られている。豆類、果実類、いも類の摂取は高齢者では増加するが、その他の食品の摂取は減少する傾向にある。特に、加工食品、油脂類および肉類の摂取は加齢による減少傾向が強い。これら食品群の摂取傾向を栄養素別にみた場合、高齢者では炭水化物の摂取が増える一方で、脂肪の摂取が減少し、高糖質低脂肪の摂取傾向を示すようになる。また、タンパク質としては動物性のものから植物性のものへとその摂取傾向が移行している。これらの結果は限定されたある時期における横断的研究によるもので、同一集団を時系列に調査・検討したものではないが、比較的、高齢者の消化・吸収機能を含めた身体機能の低下に見合ったものであると考えられる。その結果、高齢者では十分な栄養摂取ができない場合や、たとえ十分な栄養摂取をしていても消化・

吸収機能の低下により体内に必要な栄養素を取り込めず、栄養不良状態になる者が多く見られる。これまで代表的なタンパク質・エネルギー栄養不良(PEM)として、エネルギーをはじめすべての栄養素の摂取が不足している消耗症と呼ばれるマラスムスと、エネルギー摂取は比較的足りていてもタンパク質摂取が著しく低いクワシオルコルと呼ばれるものがある。PEMになると血清アルブミン値の低下をまねき、3.5g/dL未満で慢性的栄養不良状態にあると判断される。高齢者ではインフルエンザの予防接種を前もってしても、栄養状態が悪い(血清アルブミン値3.5g/dL未満)とインフルエン

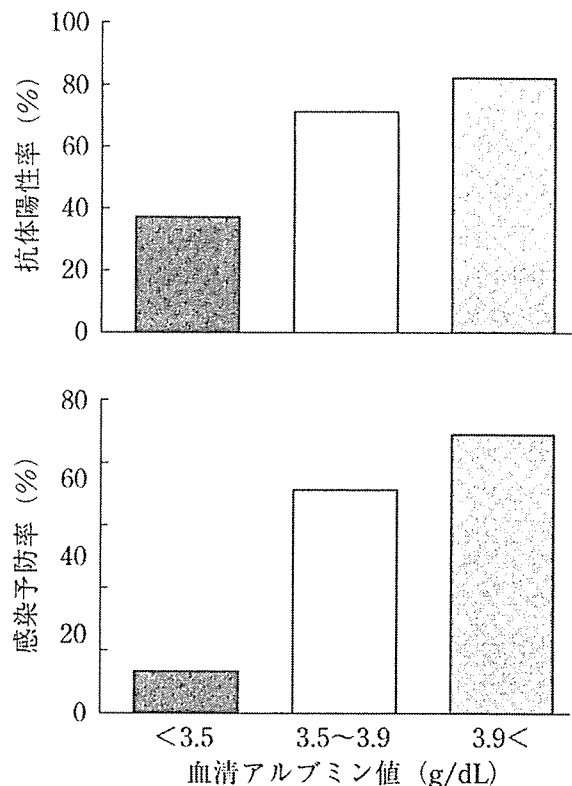


図 2.7 血清アルブミン値とインフルエンザ予防接種後の抗原 H1N1 に対する抗体陽性率と感染予防効果<sup>7)</sup>

ザの感染予防率が低く、それがインフルエンザウイルスに対する抗体産生の低下と関連することが見出されている<sup>7)</sup> (図2.7)。つまり、高齢者は前述のように、加齢に伴い細胞性免疫能を中心とする免疫能の顕著な低下を示すが、栄養状態の良し悪しが高齢者の易感染性を決定する重要な因子であり、インフルエンザの予防接種をしても栄養状態が悪い高齢者ではその効果が望めないことが分かる。さらに、PEMを有する場合、単にタンパク質とエネルギー

表 2.2 タンパク質・エネルギー栄養不良に伴うビタミン欠乏の発生頻度<sup>8)</sup>

ビタミン	重篤な栄養不良		中程度の栄養不良	
	調査数	欠乏(%)	調査数	欠乏(%)
ビタミン A	13/29	45	11/37	30
カロテン	32/33	97	25/32	78
葉酸	5/33	15	7/36	19
ビタミン C	0/20	0	0/19	0
ビタミン B <sub>1</sub>	12/28	43	18/27	67
ビタミン B <sub>2</sub>	5/31	16	3/24	13
ビタミン B <sub>6</sub>	12/34	35	8/42	19

表 2.3 種々のビタミン欠乏と免疫能<sup>9)</sup>

ビタミン	免疫能の変化
ビタミン B <sub>6</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ジフテリア毒素に対する抗体産生の低下</li> <li>・SRBCに対する抗体産生細胞数の低下</li> <li>・リンパ球混合培養反応の低下</li> </ul>
パントテン酸	<ul style="list-style-type: none"> <li>・サルモネラ菌に対する抗体価の低下</li> <li>・SRBCに対する抗体産生細胞数の低下</li> </ul>
ビタミン B <sub>1</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ラットにおけるヒト赤血球に対する抗体価の低下</li> </ul>
ビタミン B <sub>2</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ラットおよびブタにおけるヒト赤血球に対する抗体価の低下</li> </ul>
ビオチン	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ジフテリア毒素に対する二次抗体価の低下</li> </ul>
ビタミン B <sub>12</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・TおよびB細胞数は正常</li> <li>・PHAに対するヒト末梢血幼若化能の低下</li> </ul>
ビタミン A	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ジフテリア毒素に対する抗体反応の低下</li> <li>・遅延型過敏反応の低下</li> <li>・末梢血 T細胞数の低下と PHA に対する反応低下</li> </ul>
ビタミン C	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ツベルクリン反応に対する感受性発達を障害</li> <li>・皮膚移植片の拒絶反応の低下</li> <li>・胸腺由来体液性因子の産生低下</li> </ul>

一だけでなく、同時に種々のビタミン欠乏を併発することが知られている<sup>8)</sup> (表2.2)。これらビタミン欠乏では表2.3に示すような種々の免疫能の低下することが知られており<sup>9)</sup>、高齢者においては良好な栄養状態を保つことが健康を保持するうえで重要である。

一方、もし高齢者が若いときと同じような栄養摂取を続けていると、過剰栄養摂取となり、肥満を発症することが知られている。肥満は体内に脂肪の過剰蓄積をみる疾患であり、前述の栄養不良と比べると栄養素は過剰なほど十分あることから感染症とは無縁のように想像される。しかし、実際は肥満者の方がむしろウイルスや細菌などの感染症にかかりやすいことが知られている<sup>10)</sup>。つまり、肥満者では体内に侵入してきたウイルスや細菌などの微生物を排除する能力（免疫能）が低下していることが分かる。実際、BMI（体格指数）が30以上の高度肥満者で、30および40歳代ではNK細胞活性やT細胞増殖能が正常者に比べ同等か高値を示すのに対し、60歳代ではいずれの機能も著明に低下しており、高齢者における肥満が感染症やガン発生に対して増悪作用を有することが示唆される<sup>11)</sup> (図2.8)。肥満は40歳以降の年代で多発する成人病（現在の生活習慣病）の発症を高め、60歳以降の高齢者の易感染性や発ガンを助長する危険因子である。肥満が免疫能を低下させる機序

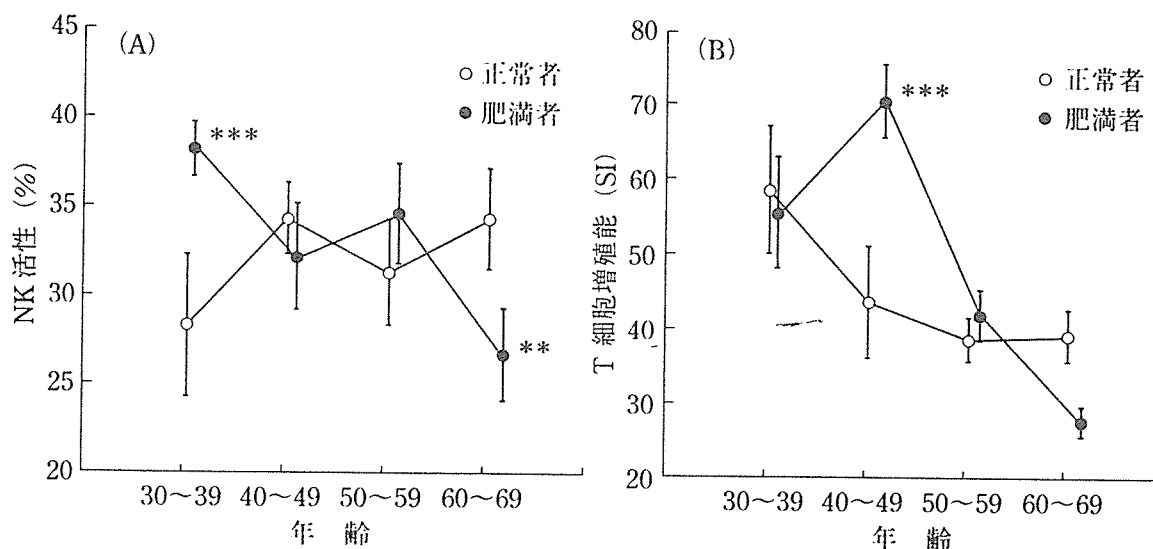


図2.8 加齢に伴う末梢血リンパ球のNK活性 (A) およびT細胞増殖能 (B) の変化に対する肥満の影響<sup>11)</sup>

正常者：BMI 20~25，肥満者：BMI >30，SI：刺激係数。

\*\*  $p < 0.01$ ，\*\*\*  $p < 0.001$  (vs 同年代の正常者)

として、T細胞増殖時に必要なエネルギー源であるグルコースの細胞内への取り込み低下と関連することが見出されている<sup>12)</sup>。さらに、顕著な体重減少を誘導しない程度の軽い運動トレーニングをすることにより、肥満に伴い低下していたグルコース輸送担体 (GLUT-1) の発現を改善し、その結果としてT細胞機能やNK細胞活性の回復することが明らかにされている<sup>13)</sup>。

## 2.5 加齢に伴う免疫能低下と栄養

老化と免疫に関する研究はラットなどの比較的短命な動物を用いても2年程度の期間を要することから、これまでそのほとんどの研究がある時点の各年齢集団を対象とする横断的研究による成果であった。近年、老化モデル動物が開発され、免疫だけでなく種々の諸機能についても加齢に伴う変化を縦断的に研究することが可能となった。著者らは、これまでヒトの本態性高血圧症のモデル動物として開発された自然高血圧易発症ラット (SHR) が免疫学的には老化モデルであることを再確認するとともに、ビタミンEによる免

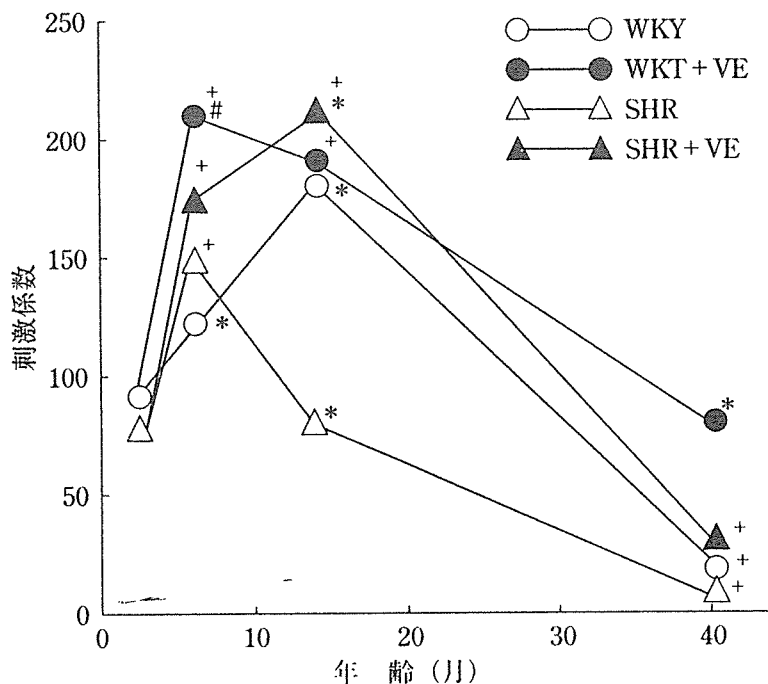


図 2.9 老化モデルラット SHR の加齢に伴う T 細胞増殖能に対する高ビタミン E 食投与の影響<sup>15)</sup>  
 +  $p < 0.05$  (vs WKY or SHR), \*  $p < 0.05$  (vs 同年齢 WKY), #  $p < 0.05$  (vs 同年齢 SHR)



疫賦活作用<sup>ふかつ</sup>について検討している。SHRでは血漿、胸腺および脾臓中のビタミンE濃度が対照のWistar Kyotoラット(WKY)に比べ約1/2に低下しており、ビタミンE欠乏状態にあることを認めた。さらに、高ビタミンE食投与によりこのSHRのビタミンE欠乏状態が改善されたことから、SHRの血漿などにおけるビタミンE濃度の低下がビタミンEの腸管での吸収障害などによって起きているのではなく、体内でのビタミンE消費がWKYに比べ高いためであると考えられる<sup>14)</sup>。SHRでは免疫学的には3か月齢頃から胸腺T細胞機能の著しい低下を認める。その機序としては胸腺における未熟T細胞の分化・成熟の低下や胸腺細胞に対する自己抗体(NTA)産生の亢進などが見出されている。また、対照群の10倍量の $\alpha$ -トコフェロールを含む高ビタミンE食は、このSHRの早期にみられるT細胞機能の低下を改善し(図2.9)、それがNTA抗体産生の抑制や胸腺におけるT細胞サブセット割合の改善と関連することが見出されている<sup>15)</sup>。

次に、免疫学的に正常なF344ラットを若齢時から15か月齢まで高ビタミンE食で飼育した場合の加齢に伴う細胞性免疫能の変化について検討した。その結果、図2.10に示すように、高ビタミンE食群の老齢ラット脾臓リンパ

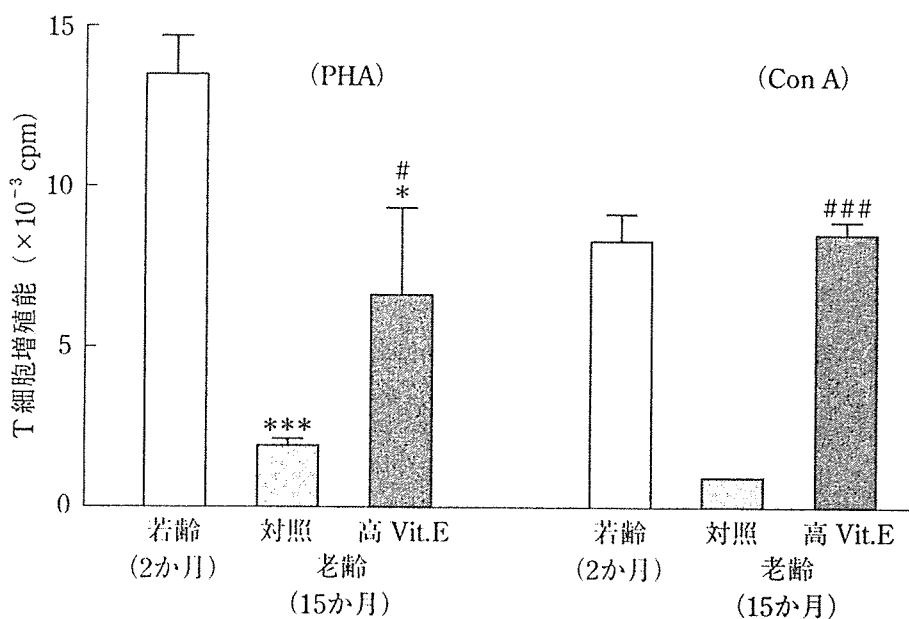


図 2.10 老齢ラットの脾臓リンパ球増殖能に対する高ビタミンE食投与の影響<sup>16)</sup>

\*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.01$  (vs 若齢ラット), #  $p < 0.05$ , ###  $p < 0.001$  (vs 老齢ラット-対照食)

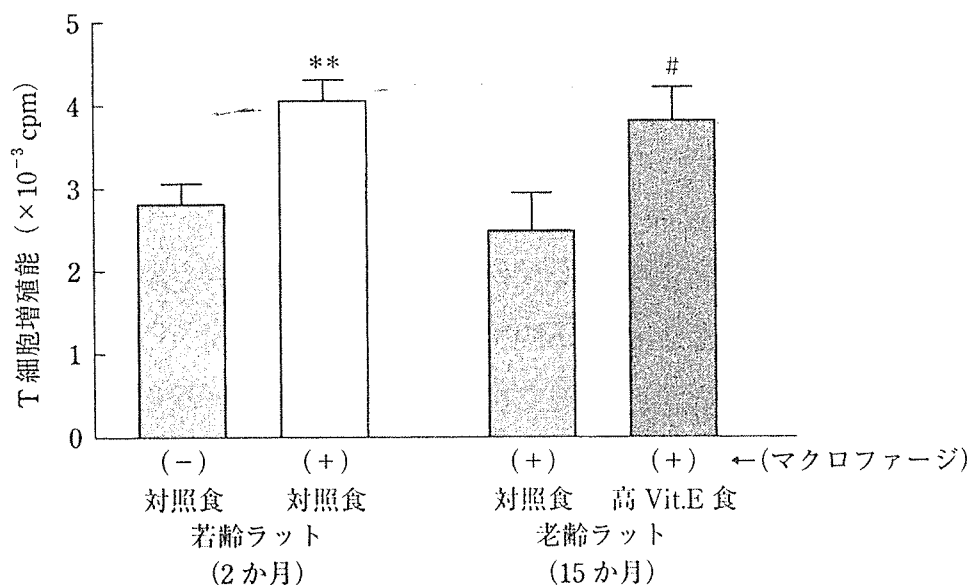


図 2.11 老齢ラットの脾臓リンパ球増殖能に対するマクロファージ添加の影響<sup>17)</sup>

\*\*  $p < 0.01$  (vs 若齢ラット脾臓リンパ球増殖能 (-)), #  $p < 0.05$  (老齢ラット脾臓リンパ球増殖能 (+) 対照食マクロファージ)

球増殖能の加齢に伴う低下は軽度か、あるいはほとんど見られなくなっており、特に Con A に対する反応性は若齢ラットとほぼ同等の能力を保持していた。この結果は、ビタミン E が加齢に伴う細胞性免疫能の低下を阻止あるいは軽減する可能性を示唆するものである。加齢に伴う T 細胞機能の低下がマクロファージを介して起こる可能性が既に見出されている<sup>16)</sup> ことから、次に、老齢および若齢ラット脾臓細胞から分離したマクロファージを用いて、脾臓リンパ球と *in vitro* 培養した場合の T 細胞増殖能を指標として、老齢ラットのマクロファージ機能とそれに対する高ビタミン E 食摂取の影響について検討した。その結果、老齢ラットのマクロファージが若齢ラットの脾臓 T 細胞の増殖反応を強く抑制した。しかし、高ビタミン E 食を摂取すると同じ老齢ラットのマクロファージでもその抑制作用が見られなくなることを認められた<sup>17)</sup> (図 2.11)。この機序としては、米国タフツ大学の Meydani 教授らのグループが、不飽和脂肪酸の 1 つであるアラキドン酸から合成されるプロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) がマクロファージの T 細胞増殖反応の抑制に関与すること、ならびにビタミン E が PGE<sub>2</sub> 合成を抑制することを見出し、報告している<sup>18)</sup>。

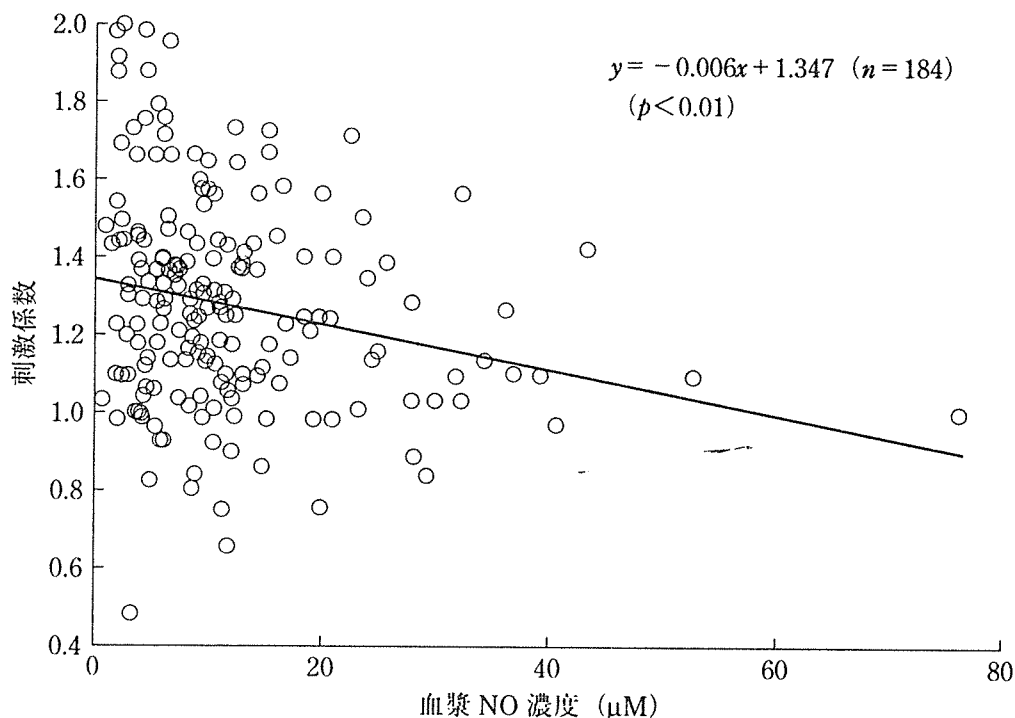


図 2.12 健常高齢者の血漿 NO 濃度と Con A 刺激に伴う末梢血 T リンパ球増殖能との相関<sup>21)</sup>

最近、加齢に伴う細胞性免疫能の低下と血中一酸化窒素 (NO) 濃度との関連が注目されている。NO は 1998 年度のノーベル医学生理学賞の対象となった物質で、強い血管弛緩作用を有するだけでなく、様々な生理活性作用を我々の体内で発揮している<sup>19)</sup>。その中にはガン細胞の増殖抑制作用に加えて、免疫抑制作用を有することも知られている<sup>20)</sup>。特に、T 細胞マイトジェンに対する増殖反応を強く抑制する。NO は非常に不安定な物質であるため、秒単位で分解され、より安定な物質へと転換することが知られている。そこで、実際には NO 濃度はグリース法によって亜硝酸イオン濃度として測定され、考察されている。血中の NO (亜硝酸イオン) 濃度を 65 歳以上の高齢者と 20 歳代の若者で比較した場合、高齢者の方が約 1.5 倍高いことを認めている<sup>21)</sup>。さらに、図 2.12 に示すように、高齢者の血中 NO (亜硝酸イオン) 濃度と末梢血 T 細胞増殖能との間に有意な負の相関があることを見出している。また、NO も活性酸素の一種であることから、抗酸化作用を有するビタミン E によりその生成が抑制される可能性が考えられる。しかし、血中 NO 濃度と  $\alpha$ -トコフェロール濃度との相関を見たところ有意な相関どころか、傾向さえも見られなかった。ここでビタミン E が脂溶性ビタミンであること

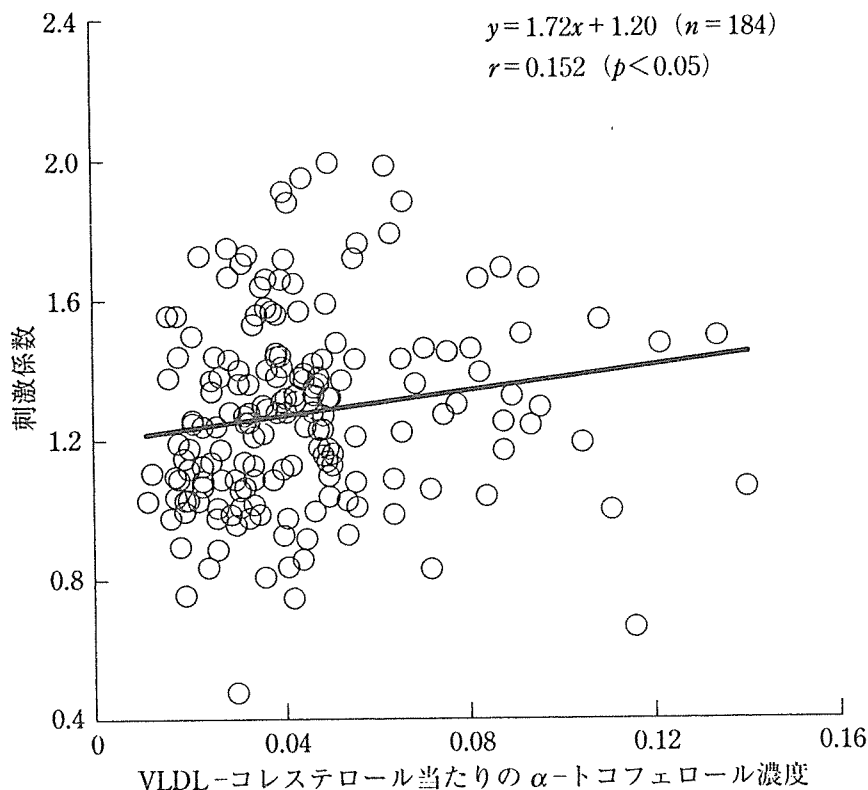


図 2.13 健常高齢者の血清 VLDL-コレステロール当たりの  $\alpha$ -トコフェロール濃度と Con A 刺激に伴う末梢血 T リンパ球増殖能との相関<sup>21)</sup>

から、その血中動態、つまり肝臓に取り込まれたビタミン E は VLDL-コレステロールとともに血中に入り、末梢組織へと運搬されていることに注目し、VLDL-コレステロール当たりのビタミン E ( $\alpha$ -トコフェロール) 濃度と血中 NO 濃度との相関について検討した。その結果、図 2.13 に示すように、VLDL-コレステロール当たりのビタミン E 濃度が高い高齢者ほど末梢血 T 細胞増殖能も高いことを認めた。このことは高齢者の免疫能を保持あるいは高めておく 1 つの手段として、血中ビタミン E 濃度を高めておくことが有効であることを示唆している。

## 2.6 ま と め

本章では加齢に伴う免疫能の変化について、免疫組織および免疫細胞の数的、質的ならびに機能的面から解説した。さらに、栄養状態との関連として肥満や栄養不良時の免疫能に対する影響について要約した。また、加齢に伴

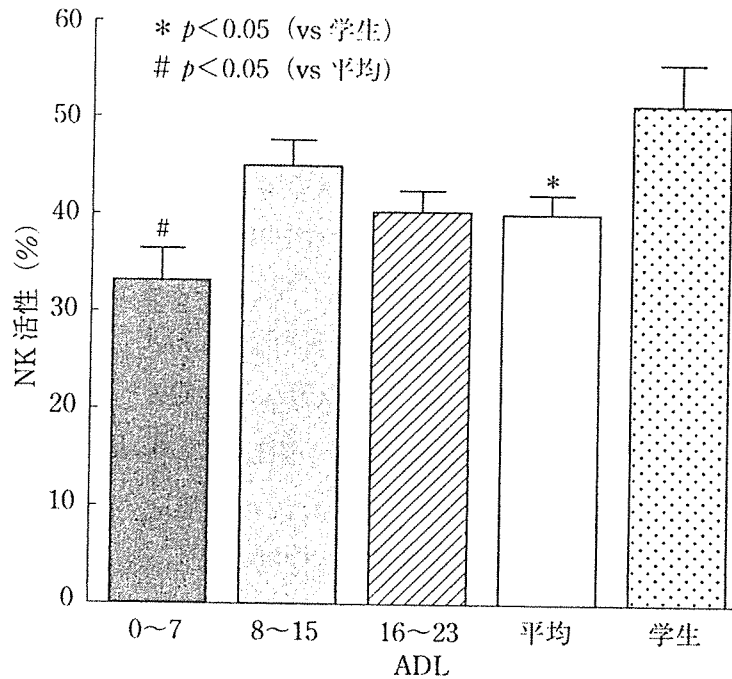


図 2.14 老人保健福祉施設入所者の NK 活性に対する日常生活機能 (ADL) の影響<sup>6)</sup>

う細胞性免疫能低下を遅延あるいは阻止する栄養素の1つとしてビタミンEをあげ、これまでの研究成果をもとにその免疫賦活作用について解説した。これら結果は、高齢者における健康保持・増進を図るには良好な栄養状態を保持することが第一であり、その上でビタミンEなどの免疫賦活作用を有する栄養素を補足することが望ましいことを示唆している。著者らはまた、老人保健福祉施設入所者を対象に日常生活機能 (ADL) と末梢血リンパ球のNK活性との関連を20歳代の大学生を対照として比較している。その結果、図2.14に示すように、寝たきりのようにADLが低下した高齢者ではNK活性が著明に低下しており、栄養だけでなく洗面、着脱衣などのADLを保持しておくことも高齢者の免疫能を保持するうえで重要であることを見出している<sup>6)</sup>。このように、加齢に伴う免疫能低下を栄養から制御することは可能であり、種々の免疫抑制因子 (栄養不良, 肥満, ADL低下など) を避け、良好な栄養状態を保持することが高齢者の易感染性や発ガンの可能性を防止するうえでも重要である。

## 参考文献

- 1) 厚生統計協会：厚生指標，臨時増刊「国民衛生の動向」，**49**, 52 (2002)
- 2) 森口 覚：臨床栄養，**95**, 781 (1999)
- 3) A. J. T. George *et al.* : *Immunol. Today*, **17**, 267 (1996)
- 4) M. Utsuyama *et al.* : *Mech. Ageing Dev.*, **63**, 57 (1992)
- 5) 渡辺陽子他：ビタミン研究の進歩 **X**, 50, ビタミンE研究会 (2002)
- 6) 森口 覚他：日本栄養・食糧学会誌，**53**, 23 (2000)
- 7) B. M. Lesourd : *Am. J. Clin. Nutr.*, **66**, 478S (1997)
- 8) C. G. Neumann *et al.* : *Am. J. Clin. Nutr.*, **28**, 89 (1975)
- 9) R. L. Gross and P.M. Newberne : *Physiol. Rev.*, **60**, 188 (1980)
- 10) P. M. Newberne : *Fed. Proc.*, **25**, 1701 (1966)
- 11) S. Moriguchi *et al.* : *Nutr. Res.*, **15**, 151 (1995)
- 12) S. Moriguchi *et al.* : *Am. J. Clin. Nutr.*, **67**, 1124 (1998)
- 13) S. Moriguchi *et al.* : *J. Appl. Physiol.*, **84**, 311 (1998)
- 14) S. Moriguchi *et al.* : *Nutr. Res.*, **13**, 1039 (1993)
- 15) S. Moriguchi *et al.* : *Nutr. Res.*, **15**, 401 (1995)
- 16) K. Oonishi *et al.* : *J. Nutr. Sci.*, **41**, 445 (1995)
- 17) S. Sakai and S. Moriguchi : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **43**, 113 (1997)
- 18) S. N. Meydani *et al.* : *Mech. Ageing Dev.*, **34**, 191 (1986)
- 19) 大柳義彦：NOと医学，一酸化窒素の生理作用と薬理作用，p.34，共立出版 (1994)
- 20) S. Denham and U. Rowland : *Clin. Exp. Immunol.*, **87**, 157 (1992)
- 21) 渡辺陽子他：必須アミノ酸研究，**158**, 39 (2000)

(森口 覚)

## 原 著

## 中高齢者における葉酸摂取量および血清葉酸濃度についての検討

<sup>1</sup>兵庫県立大学環境人間学部食環境解析学教室\*, <sup>2</sup>病体生理研究所研究室大串 美沙<sup>1</sup>, 榎原 周平<sup>1</sup>, 福井 徹<sup>2</sup>, 渡邊 敏明<sup>1</sup>

Vitamins (Japan), 80 (12), 579-585 (2006)

Study on Dietary Folate Intake and Serum Folate Concentration  
in the Middle-Aged and Elderly Population in JapanMisa Ogushi<sup>1</sup>, Shuhei Ebara<sup>1</sup>, Toru Fukui<sup>2</sup>, Toshiaki Watanabe<sup>1</sup><sup>1</sup>School of Human Science and Environment, University of Hyogo, Himeji, 670-0092, Japan<sup>2</sup>Clinical Laboratory, Byotai Seiri Laboratory, Itabashi, Tokyo 173-0025, Japan

There are little scientific data to estimate the dietary reference intake of vitamins in Japan. New additional information is needed on the requirements and dietary intake for folate. Therefore, this study was designated to evaluate the dietary folate intake and the serum folate concentration in middle-aged and elderly population (n=120, 61.7±8.5 y) in Japan. The dietary folate intake was 442±119 μg/day and 432±118 μg/day for the annual average in men and women, respectively. There were no large differences between sexes. On the other hand, the folate concentration in the serum was 5.8±2.2 ng/ml for the annual average in men, which significantly differed from 7.8±2.8 ng/ml in women (p<0.05). The serum folate concentration was highest in summer and lowest in winter. A seasonal variation in both men and women was clearly observed. From these findings, it is suggested that the recommended dietary allowance for folate should be estimated, primarily taking into account a sex difference.

**Key words:** folate, recommended dietary allowance (RDA), dietary intake, serum, sex difference

(Received March 29, 2006)

## 緒 言

水溶性ビタミンの一つである葉酸は、食品中においては主にプテロイル(ポリ)グルタミン酸型として存在している。しかし、細胞内では還元型であるテトラヒドロ型として存在し、補酵素として核酸の生合成やメチル基の生成転換系などに関与している。またアミノ酸やタンパク質の代謝などにも不可欠であり、グリシン、セリン、メチオニンの代謝やビタミンB<sub>12</sub>とともにホモシステインからメチオニンの生成などにも関与している。葉酸の生理機能としては、正常な造血機能を保つために重要であるばかりでなく、成長や妊娠の維持にも欠かせないビタミンである<sup>1,2)</sup>。欠乏症状としては、造血機能に異常が

生じ、巨赤芽球性貧血や神経障害が知られている。最近、多くの疫学調査によって、葉酸が、胎児における神経管閉鎖障害の発症リスク低減に効果があることが認められている<sup>3)</sup>。また、葉酸の摂取量が低下すると、血漿ホモシステインが上昇し、動脈硬化症の発症と関連がある血液凝固因子や血管内皮細胞に影響を及ぼすことが報告されている<sup>4)</sup>。

わが国では、平成12年に「第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-」において、葉酸やビオチンなどの所要量が初めて策定された。葉酸の所要量は15歳以上の男女で200 μg/日とされた<sup>5)</sup>。また、平成17年に改定された「日本人の食事摂取基準(2005年版)」では、12歳以上の男女で推奨量が240 μg/日となり、妊婦での付加量

\*〒670-0092 姫路市新在家本町 1-1-12

は  $200 \mu\text{g}/\text{日}$  とされている<sup>6)</sup>。一方、米国における葉酸の食事摂取基準においては、成人で  $400 \mu\text{gDFE}$  (食事性葉酸当量)/日であり、妊娠を予定している女性では葉酸  $600 \mu\text{gDFE}/\text{日}$  を摂取すべきであるとされている<sup>7)</sup>。しかしながら、葉酸の摂取基準の策定根拠となるデータは少なく、その根拠となる科学的エビデンスは必ずしも十分でなく、わが国での新しいデータの蓄積と解析が求められている。

著者らは東北地区に住む中高齢者を対象に健康・栄養調査を行う機会を得た。そこで、この調査の一環として、本研究では、ヒトにおける葉酸の体内動態を明らかにするために、健康な中高齢者を対象に葉酸摂取量と血中濃度の関連について、基礎的検討を行った。

## 実験方法

### 1. 対象者

対象者は、東北地方にある S 市近郊に住む中高齢者 (平均  $61.7 \pm 8.5$  歳) で、男女各 60 名ずつの計 120 名である。調査の実施時期は、1996 年 11 月 (秋期)、1997 年 2 月 (冬期)、5 月 (春期) および 8 月 (夏期) の計 4 回である。調査実施日の前夜から絶食して、当日の朝、空腹時に採血

を行った。血液は、採血後遠心して血清を分離してサンプルとした。食事については、24 時間思い出し法で栄養士によって調査を行った。調査の実施および対象者のサンプルの採取は、本人に直接説明をし、文書で承諾を得た後、医師および保健師の下で行った。また、データの管理には十分に配慮してきた。本研究は、「ヒトを対象とする生物医学的研究に関わる医師のための勧告、いわゆるヘルシンキ宣言 (1964 年) (2000 年修正)」の精神に則って実施した。

### 2. 分析方法

血清の葉酸は、ケミルミアナライザー ACS180 (バイエルメディカル社) を利用して、分析した。測定の手順は図 1 のとおりである。本法は、アクリジニウムエステルを用いて、アルカリ条件下で過酸化水素と反応し、発光することを利用した化学発光免疫測定法である。標識物と未反応物の分離は磁気分離固相法を採用し、反応形式は競合法である。ジチオスレイトールで処理を行い、タンパクから遊離後、分析に供した。血清中の葉酸濃度を求めた。

### 3. 統計学的方法

栄養価計算には Excel 栄養君 Ver. 3.0 (建帛社, 東京)

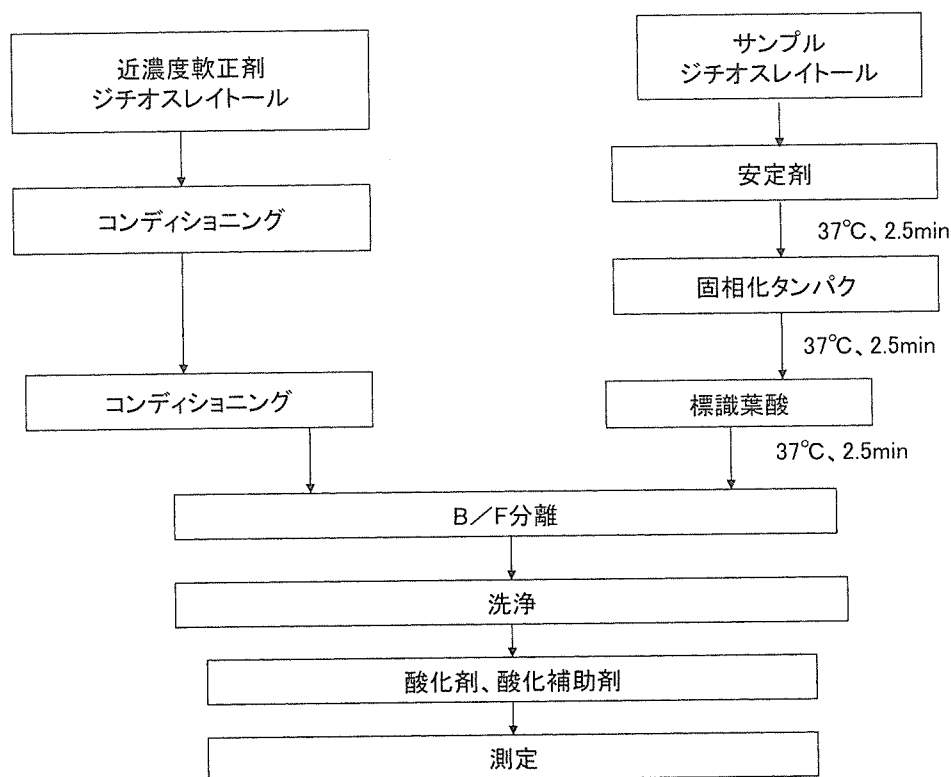


図 1. 血清葉酸の測定手順  
B: 標識物 (bound) F: 未反応物 (free)



を使用し、各栄養素を算出した<sup>8)</sup>。葉酸の摂取量および血清の葉酸値は正規確率紙法を用いて算出した。平均値±標準偏差で表した。統計ソフトとして、STSS/Excel v5.5(佐藤正一、社団法人 千葉県臨床衛生検査技師会)およびExcel統計Statcel(星雲社、東京)を使用した<sup>9)</sup>。各群内の差および各群間の差の検定には分散分析および多重比較検定(Fisher's PLSD)を用い、有意水準は5%未満とした。

正規確率紙法とは、分析値のバラツキが大きい場合にかけ離れた値を統計学的に繰り返し削除する方法である(図2)。分析値の累積度数(%)を確率紙にプロットし、累積度数2.5-97.5%に相当する濃度を求め、この操作を繰り返し行い、分析値の数が減少しなくなった時の濃度範囲を上限值と下限値とした。この範囲内の分析値から平均値、標準偏差、中心値および中央値を算出した。

正規確率紙法は、一般に血液生化学的検査結果の解析に用いられている方法であるが、最近、ビタミンの摂取量を解析する場合にも利用されている。この方法は、基準値以外の値(つまりはずれ値)を容易に把握できる利点を持っている。以下の実験結果は、正規確率紙法を用いたものであるが、必要に応じて、幾何平均値と比較検討した。

### 実験結果

葉酸の摂取量は、全体の年平均値では $445 \pm 85 \mu\text{g}/\text{日}$ であった。季節ごとにみると、11月では $473 \pm 109 \mu\text{g}/\text{日}$ と高値であり、8月では $405 \pm 120 \mu\text{g}/\text{日}$ と低値であり、

葉酸摂取量に季節変動が観察された( $p < 0.01$ )。図3は葉酸の摂取量を男女別に示したものである。男女で比較すると、年平均で男性では $432 \pm 118 \mu\text{g}/\text{日}$ 、女性では $442 \pm 119 \mu\text{g}/\text{日}$ と差異はみられなかった。季節ごとにみると、11月に男性で $470 \pm 124 \mu\text{g}/\text{日}$ 、女性で $478 \pm 101 \mu\text{g}/\text{日}$ と高値を示した。また、男性では8月に $397 \pm 110 \mu\text{g}/\text{日}$ 、女性では5月に $406 \pm 101 \mu\text{g}/\text{日}$ と低値であり、男女ともに季節変動が観察された( $p < 0.01$ )。

血清の葉酸濃度については、全体の年平均値では $6.8 \pm 2.8 \text{ng}/\text{ml}$ であった。また、2月に $4.9 \pm 1.5 \text{ng}/\text{ml}$ と低値を、8月に $8.8 \pm 3.3 \text{ng}/\text{ml}$ と高値を示し、季節変動が観察された。しかしながら、葉酸の摂取量と血中の葉酸濃度との関連は認められなかった。図4は血清の葉酸濃度の変化を男女別に示したものである。年平均でみると、男性では $5.8 \pm 2.2 \text{ng}/\text{ml}$ 、女性では $7.8 \pm 2.8 \text{ng}/\text{ml}$ と有意な差がみられた。季節ごとにみると、2月に男性では $4.4 \pm 1.6 \text{ng}/\text{ml}$ 、女性では $5.5 \pm 1.1 \text{ng}/\text{ml}$ と低値を示した。血清葉酸の基準値( $3.1 \text{ng}/\text{ml}$ )未満が男性で9名、女性で1名みられた。また、8月に男性では $7.4 \pm 2.4 \text{ng}/\text{ml}$ 、女性では $10.1 \pm 3.4 \text{ng}/\text{ml}$ と高値を示した。男女ともに、季節変動が観察された。なお、すべての季節において男性に比べ、女性において有意に高値であった。

なお、血清の葉酸濃度において、全体の年平均値を幾何平均でみると、 $7.0 \pm 1.4 \text{ng}/\text{ml}$ であり、正規確率紙法で算出した全体の年平均値 $6.8 \pm 2.8 \text{ng}/\text{ml}$ と差異は認められなかった。男女別の季節ごとの平均値も、両算出法で相違は認められなかった。また、血清葉酸濃度が高値

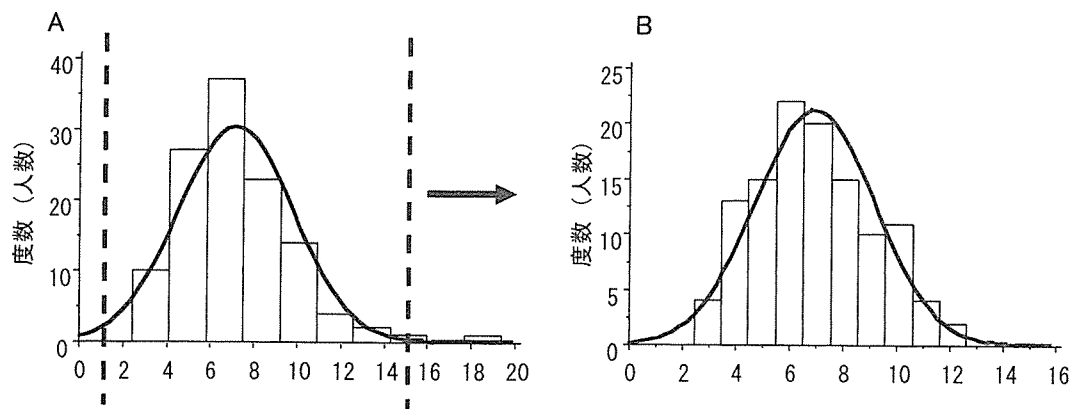


図2. 正規確率紙法によるデータの解析法の一例

- A: 分析値の元の分布。累積度数2.5～97.5%に相当する濃度(破線)を求め、この濃度範囲外を削除する。正規分布(曲線)。  
 B: 削除後の分布。この操作を繰り返し行い、分析値の数が減少しなくなった時の濃度範囲を上限值および下限値とする。この濃度範囲内にある測定値から、平均値およびSDを求めた。中心値とは95%信頼区間を基に求めた平均値(パラメトリック)である。中央値とは95%信頼区間を基に2.5%～97.5%としたときの中央値(ノンパラメトリック)である。正規分布(曲線)。

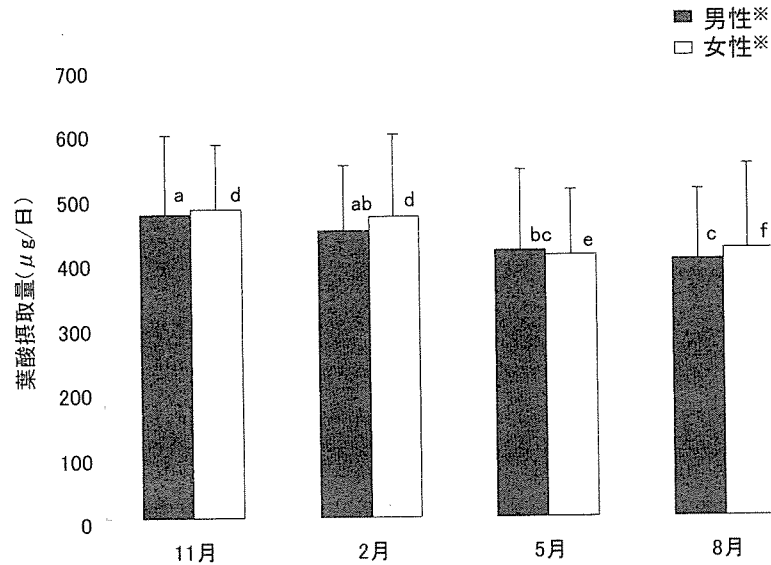


図3. 中高齢者における食事からの葉酸摂取量の季節変化 (正規確率紙法)

平均値 ± 標準偏差 (μg/日)

※ p<0.01 (ANOVA)    <sup>a-c</sup>p<0.05, <sup>d-f</sup>p<0.05 (Fisher's PLSD)

対象者数 (名)    男性 (女性): 60 (60)

分析者数 (名)    男性 (女性): 11月 57 (56), 2月 56 (58), 5月 56 (56), 8月 57 (57), 通年 58 (60)

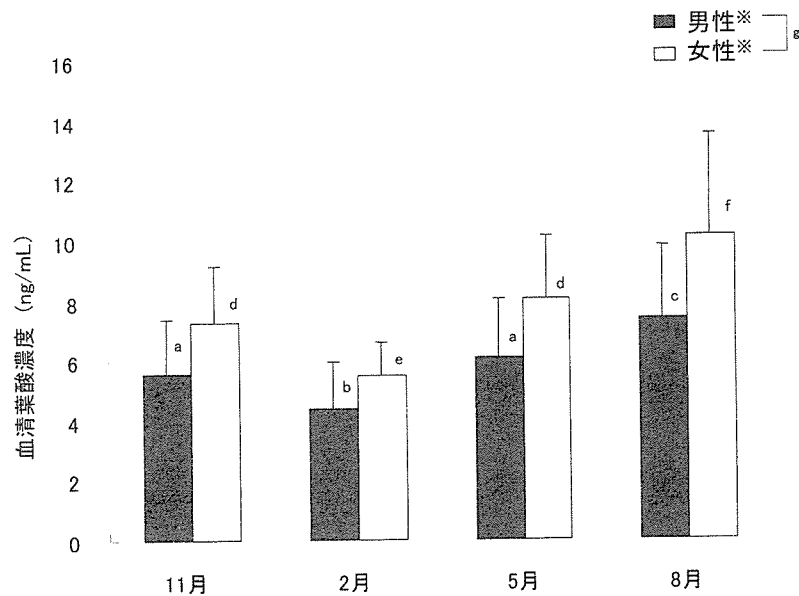


図4. 中高齢者における血清葉酸濃度の季節変化 (正規確率紙法)

平均値 ± 標準偏差 (ng/ml)

※ p<0.01 (ANOVA)    <sup>a-c</sup>p<0.05, <sup>d-f</sup>p<0.05, <sup>g</sup>p<0.05 (Fisher's PLSD)

対象者数 (名)    男性 (女性): 60 (60)

分析者数 (名)    男性 (女性): 11月 54 (57), 2月 52 (50), 5月 49 (56), 8月 51 (54), 通年 56 (58)

血清葉酸の基準値 (3.1ng/ml) 未満の人数 (名)

男性 (女性): 11月 2 (1), 2月 8 (1), 5月 2 (0), 8月 2 (0), 通年 4 (0)

を示した9名について、薬剤やサプリメントなどの摂取との関連は明らかではなかった。

### 考 察

葉酸の摂取基準値は、第六次改定の栄養所要量および食事摂取基準2005年版で、それぞれ所要量200 $\mu\text{g}$ /日および推奨量240 $\mu\text{g}$ /日と策定されている<sup>5)6)</sup>。葉酸の摂取量および必要量についての報告は、著者らの知る限りでは、これまでに数編あるに過ぎない(表1)。わが国においては、平岡および安田<sup>10)</sup>が、女子学生を対象として食物摂取状況調査を行い、葉酸の摂取量は平均190.6 $\mu\text{g}$ /日で、第六次改定の栄養所要量における葉酸の所要量(200 $\mu\text{g}$ /日)を充足している者は40.2%であることを報告している。しかし、推奨量(240 $\mu\text{g}$ /日)で考えると、充足している者はさらに低値になる。本研究での中高年齢者における葉酸の摂取量は、季節変動が見られるが、年平均で445 $\mu\text{g}$ /日と、平岡および安田<sup>10)</sup>の報告の女子学生と比較して2倍以上の高値を示した。平成14年度の国民栄養調査結果をみると、葉酸の摂取量は全年齢区分の平均値では男性が315 $\mu\text{g}$ /日、女性が302 $\mu\text{g}$ /日であるが、年齢に依存して高くなっている<sup>11)</sup>。葉酸の摂取量は、実際、20歳代では男性で266(女性で258) $\mu\text{g}$ /日であり、60歳代での男性で394(女性で370) $\mu\text{g}$ /日と、若年者と高齢者を比較すると、著しい違いが見られている。本研究における葉酸摂取量は、国民栄養調査結果における高齢者の結果と近い値であった。なお、現在使用しているわが国の食品標準成分表の葉酸値は、諸外国の値と大きく異なっているため、摂取量の比較には十分な注意が必要である<sup>10)</sup>。

オランダのDNFCS調査(Dutch National Food Consump-

tion Study)<sup>12)</sup>では、食品分析結果から算出した葉酸の摂取量は、1-92歳を対象として、182 $\mu\text{g}$ /日である。所要量(成人200 $\mu\text{g}$ /日)に対して、男女でそれぞれ42%および54%は充足していなかった。なお野菜からの葉酸摂取量に季節的な変動は見られていない。またオランダの成人(20-65歳)を対象にした調査では、食事からの葉酸摂取量は男性232 $\mu\text{g}$ /日、女性186 $\mu\text{g}$ /日と男女差がみられている<sup>13)</sup>。スペインでの調査では、葉酸摂取量は214 $\mu\text{g}$ /日であり、被験者の42%は所要量以下であった。しかし男女差は見られていない<sup>14)</sup>。このほかヨーロッパ各国での食事からの葉酸摂取量は、168-326 $\mu\text{g}$ /日の範囲にあることが報告されている<sup>15)</sup>。一方、アメリカのNHANES III(Third National Health and Nutrition Examination Survey)では、24時間思い出し法で17歳以上の成人の葉酸摂取量は283 $\mu\text{g}$ /日であり、男性で高値を示していた<sup>16)</sup>。またボストン地区でのNSS(Nutritional Status Survey)調査では、60歳以上の高齢者の葉酸摂取量は男性で271 $\mu\text{g}$ /日、女性で239 $\mu\text{g}$ /日であった<sup>17)</sup>。このように、これまで欧米での食事調査から、食事から摂取されている食事性葉酸の摂取量は、1日あたりおよそ200-300 $\mu\text{g}$ である。

葉酸摂取量の異なる原因の一つとして、食生活が関与している可能性が考えられる。葉酸は、野菜、レバー、大豆などの食品に多く含まれている。平成14年度国民栄養調査結果<sup>11)</sup>において、野菜類の摂取量を見ると、20歳代では平均242g/日、60歳代では平均317g/日と違いがみられており、葉酸の摂取量と関連があることが示唆される。なお、わが国においては、葉酸を所要量以上に摂取するためには、1日に350gの野菜を摂取することが勧

表1. 各国における葉酸の摂取量と血清葉酸濃度に関する栄養疫学調査

文献	被験者数 (性別:年齢)	期間	摂取量 ( $\mu\text{g}$ )		葉酸		ホモシステイン	備考
			食事	サプ リ メ ン ト	血清	赤血球		
Milne et al., 1986	40(男:19-54)	2-8ヶ月	200	0	減少(基準値内)	減少(基準値内)	増加傾向	介入研究
Sauberlich et al., 1987	3(女:21-40)	28日欠乏/21日添加	100	0	減少	減少	-	欠乏添加試験
	2(女性)		200	0	一定	減少	-	
O'Keefe et al., 1995	5(女:21-47)	70日	30	170	基準値以下(3/5)	基準値以下(3/5)	基準値以上(2/5)	介入研究
	6(女:21-47)		30	270	一定	一定	一定	
Jacob et al., 1994	10(男:33-46)	30日欠乏/15日添加	25	74	回復せず	回復せず	異常	欠乏添加試験
Shibata et al., 2005	10(男:19-23)	8日	0	200	一定(基準値以上)	-	-	介入研究
	10(女:20-22)		0	200	増加(基準値以上)	-	-	
渡邊ら, 2006	10(男:20.6)	8日	38	200	増加(基準値内)	-	-	介入研究
	10(女:20.4)		38	200	減少(基準値内)	-	-	
本研究	60(男:45-77)	3日×4回/年	432	0	一定(基準値内)	-	-	観察研究
	60(女:47-76)		442	0	一定(基準値内)	-	-	

められており、中高齢者の多くは基準を満たしているものと考えられる。

葉酸は、メチル基の供与体として、一炭素単位代謝系に関与している。このため、葉酸が欠乏すると、メチオニンの産生が阻害され、体内にホモシステインが蓄積することが知られている。このため、葉酸の必要量や栄養状態を知る指標としては、血清や赤血球中の葉酸濃度のみでなく、血清ホモシステインが感度の高い指標として注目されている。葉酸の必要量については、Milneら<sup>18)</sup>は、成人男性40名を対象に代謝室で食事性葉酸(200 $\mu\text{g}$ /日)の影響を調べている。また、血清葉酸濃度の変化は、試験開始時の葉酸の状態に依存している。つまり、血清葉酸濃度が10ng/ml以下では、葉酸レベルの減少は見られていない。なお、葉酸摂取量が400 $\mu\text{g}$ /日以下になると、血清ホモシステイン濃度は上昇する、200 $\mu\text{g}$ /日以上摂取していれば、上昇は見られるが基準値以下である。このようなことから、200 $\mu\text{g}$ /日(150–250 $\mu\text{g}$ /日)の葉酸摂取量で体内の葉酸を維持するために十分であることが示唆されている。

葉酸の吸収率は、食品では約50%であり、サプリメントでは約85%であることから、食事性葉酸と比較して、葉酸サプリメントの生体利用率が1.7倍であるとされている<sup>19)20)</sup>。そこで、葉酸の必要量を考える場合には、食事とサプリメントの組み合わせも考える必要がある。O'Keefeら<sup>21)</sup>は、血漿ホモシステイン濃度を指標として検討したところ、食事性葉酸当量(DFE)319 $\mu\text{g}$ /日(食事性葉酸30 $\mu\text{g}$ 、サプリメント葉酸170 $\mu\text{g}$ )では、血清葉酸濃度を維持するためには不十分としている。また、Jacobら<sup>22)</sup>はDFE151 $\mu\text{g}$ /日(食事性葉酸25 $\mu\text{g}$ 、サプリメント74 $\mu\text{g}$ )では、十分でないことを報告している。つまり、欧米の食事調査で得られている食事からの葉酸摂取量200–300 $\mu\text{g}$ /日では、必要量を満たしていないことを示している。一方、Sauberlichら<sup>23)</sup>は、成人女性の葉酸必要量は、血漿および赤血球の葉酸濃度から、200–250 $\mu\text{g}$ /日であると、推定している。このように葉酸の必要量については、摂取した葉酸化合物の違いや使用した葉酸状態のバイオマーカーの違いによって、十分に一致したデータは得られていない。

著者ら<sup>24)</sup>は、最近半精製食を用いて、健常成人における葉酸の必要量についての検討を行った。葉酸摂取量は、サプリメントとして200 $\mu\text{g}$ と半精製食の原料となっている小麦粉に含まれる38 $\mu\text{g}$ (小麦粉200gに含有される葉酸量)を合わせ、238 $\mu\text{g}$ /日(DFE、378 $\mu\text{g}$ /日)となっている。2週間摂取した結果、血清葉酸濃度は男女共にすべて基準値内にあった。しかし、成人女性では、試験期間後期において、開始日と比べて有意な増加が見られたが、成人男性では最終日に有意に減少した。したがって、葉酸摂取量(238 $\mu\text{g}$ /日)については、男性ではやや不足しているが、女性では必要量を十分に満たしている、と

考えられる。

今回の調査では、これまでの諸外国の調査と比較して、葉酸の摂取量は高値であったが、男女間において差異はみられなかった。しかし、血清葉酸濃度では男女間で有意な差がみられ、男女とも冬期が低値で夏期が高値であり、季節変動が認められた。これらのデータから葉酸の推奨量の策定においては、男女差があることを考慮する必要性が示唆された。

## 結 語

- 1) 中高齢者における葉酸の摂取量については、全体の年平均値では435 $\pm$ 117 $\mu\text{g}$ /日であり、男女とも11月が高値で8月が低値と、季節変動が観察された。しかし、葉酸の摂取量に男女差は認められなかった。
- 2) 血清の葉酸濃度については、全体の年平均値では68 $\pm$ 2.8ng/mlであり、男女とも8月が高値で2月が低値と、季節変動が観察された。男女別にみると、すべての季節において女性が有意に高値を示した。
- 3) 今後の葉酸推奨量の策定においては、男女差を考慮する必要があることを示した。

## 謝 辞

本研究は、「栄養と健康に関する調査」(代表 久道 茂)の一部として行ったものである。また本調査を実施するにあたり、ご協力頂いた関係者各位に深謝致します。

(平成18.3.29 受付)

## 文 献

- 1) Bowman BA, Russell RM (2002) 最新栄養学 第8版, 木村修一, 小林修平翻訳監修 pp. 221-236, 建帛社, 東京
- 2) Halsred CH (1991) Intestinal absorption of dietary folates. "Folic Acid Metabolism in Health and Disease" ed. by Picciano MF, Stokstad ELR, Gregory JF, pp. 23-45, Wiley-Liss, New York
- 3) Daly S, Mills JL, Molloy AM, Conley M, Lee YJ, Kirke PN, Weir DG, Scott JM (1997) Minimum effective dose of folic acid for food fortification to prevent neural-tube defects. *Lancet* **350**, 1666-1669
- 4) Schnyder G, Roffi M, Flammer Y, Pin R, Hess OM (2002) Effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid, vitamin B<sub>12</sub>, and vitamin B<sub>6</sub> on clinical outcome after percutaneous coronary intervention. *JAMA* **288**, 973-979
- 5) 厚生省保健医療局地域保健・健康増進栄養課生活習慣病対策室(1999) 第六次改定日本人の栄養所要量－食事摂取基準－, pp. 103-105
- 6) 厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室(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－策定検討委員会報告書), pp. 92-95
- 7) Institute of Medicine (2003) Folate. "Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B<sub>6</sub>, Folate, Vitamin B<sub>12</sub>, Pantothenic Acid, Biotin and Choline" pp. 196-305, National