

200722036A

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

「日本人の食事摂取基準」策定のための  
文献学的研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者: 佐々木 敏

平成20年(2008年)3月

## 目次

### 総括研究報告書

「日本人の食事摂取基準」策定のための文献学的研究 佐々木敏	3-6
-------------------------------	-----

### 分担研究報告書

文献検索システムの構築 佐々木 敏、森田明美、坪田(宇津木)恵	7-11
周産期を中心とした葉酸摂取量について 三宅吉博	12-15
葉酸類の安全性に関する論文調査 柴田克己	16-36
食物繊維の健康影響:系統的レビュー 佐々木敏、村上健太郎	37-69

### 資料

	70-136
1) Murakami K, Sasaki S, Okubo H, Takahashi Y, Hosoi Y, Itabashi M. Monetary costs of dietary energy reported by young Japanese women: association with food and nutrient intake and body mass index. <i>Public Health Nutr</i> 2007; 10: 1430-9.	
2) Murakami K, Sasaki S, Takahashi Y, Uenishi K, the Japan Dietetic Students' Study for Nutrition and Biomarkers Group. Dietary energy density is associated with body mass index and waist circumference, but not with other metabolic risk factors, in free-living young Japanese women. <i>Nutrition</i> 2007; 23: 798-806.	
3) Murakami K, Sasaki S, Okubo H, Takahashi Y, Hosoi Y, Itabashi M, the Freshmen in Dietetic Courses Study II Group. Dietary fiber intake, dietary glycemic index and load, and body mass index: a cross-sectional study of 3931 Japanese women aged 18-20 years. <i>Eur J Clin Nutr</i> 2007; 61: 986-95.	
4) Murakami K, Sasaki S, Takahashi Y, Uenishi K, Yamasaki M, Hayabuchi H, Goda T, Oka J, Baba K, Ohki K, Kohri T, Muramatsu K, Furuki M. Hardness (difficulty of chewing) of the habitual diet in relation to body mass index and waist circumference in free-living Japanese women aged 18-22 y. <i>Am J Clin Nutr</i> 2007; 86: 206-13.	
5) Murakami K, Sasaki S, Takahashi Y, Uenishi K, Yamasaki M, Hayabuchi H, Goda T, Oka J, Baba K, Ohki K, Watanabe R, Sugiyama Y. Nutrient and food intake in relation to serum leptin concentration among young Japanese women. <i>Nutrition</i> 2007; 23: 461-8.	
6) Murakami K, Sasaki S, Okubo H, Takahashi Y, Hosoi Y, Itabashi M, the Freshmen in Dietetic Courses Study II Group. Association between dietary fiber, water and magnesium intake and functional constipation among young Japanese women. <i>Eur J Clin Nutr</i> 2007; 61: 616-22.	
7) Murakami K, Sasaki S, Okubo H, Takahashi Y, Hosoi Y, Itabashi M, the Freshmen in Dietetic Courses Study II Group. Food intake and functional constipation: a cross-sectional study of	

- 3,835 Japanese women aged 18-20 years. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2007; 53: 30-6.
- 8) Okubo H, Sasaki S, Murakami K, Kim MK, Takahashi Y, Hosoi Y, Itabashi M, the Freshmen in Dietetic Courses Study II Group. Dietary patterns associated with functional constipation among Japanese women aged 18 to 20 years: a cross-sectional study. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2007; 53: 232-8.

総括研究報告書

「日本人の食事摂取基準」策定のための文献学的研究

主任研究者 佐々木 敏

独立行政法人国立健康・栄養研究所栄養疫学プログラム

研究要旨

【目的】初年度である本年度は、『日本人の食事摂取基準(2010年版)』の策定のための基礎的資料を得るための基盤整理を中心課題として、論文検索システムの構築と、『日本人の食事摂取基準(2005年版)』において、将来の検討課題として残された栄養素について、文献学的レビューを行った。

【研究内容】本年度に実施した各研究は次のとおりである。①文献検索システムの構築、②周産期を中心とした葉酸摂取量の必要性に関する系統的レビュー、③葉酸類の安全性に関する論文レビュー、④食物繊維の健康影響に関する系統的レビュー。

【主な結果】①本研究用に開発した論文検索・整理用のデータベースを用いて、論文の抽出ならびに整理を行った結果、栄養素によって数件～数千件と文献数に幅が認められた。最近の特徴として、「系統的レビュー、メタ・アナリシスが465件存在することが明らかとなり、その有用性が示唆された。②葉酸摂取の日米の比較や最近発表された葉酸サプリメントの介入研究の結果についてまとめた。③プテロイルモノグルタミン酸(F-G)と5-メチルテトラヒドロ葉酸(5-CH<sub>3</sub>-THF-G)の安全性について、既報の論文および書籍を利用して評価した。④食物繊維の健康影響を検討した学術論文を網羅的に収集し、現時点での科学的知見をまとめた。今回は、糖尿病、循環器疾患、がん、血圧、血中コレステロール、肥満、および便秘に焦点をしばって、文献収集を行った。

【今後の課題】本年度に構築した論文検索システムを活用して効率的かつ網羅的に、論文の検索、収集、整理、解説を行う。また、特に重点的な検討が必要と考えられる栄養素について、今年度行った葉酸、食物繊維同様に系統的レビューを進めていく必要がある。

【研究組織】

分担研究者

佐々木敏（東京大学大学院医学系研究科公共健康医学専攻疫学保健学講座社会予防疫学分野 教授）

田中茂穂（国立健康・栄養研究所 プロジェクトリーダー）

由田克士（国立健康・栄養研究所栄養疫学プログラム プロジェクトリーダー）

江崎治（独立行政法人国立健康・栄養研究所 プログラムリーダー）

柴田克己（滋賀県立大学人間文化学部 教授）

三宅吉博（福岡大学医学部公衆衛生学教室 准教授）

研究協力者

森田明美（独立行政法人国立健康・栄養研究所栄

養疫学プログラム プログラムリーダー）

坪田恵（独立行政法人国立健康・栄養研究所栄養疫学プログラム 研究員）

A. 背景と研究目的

A-1. 背景

平成16年度に改正された『日本人の食事摂取基準(2005年版)』の次回改定(平成20年度)に関連すると考えられる基礎資料を収集し、それを用いて系統的レビューを行い、次回の改定作業を円滑かつじゅう

ぶん科学的に行われるために役立つ資料を提供することを目的とする。前回の改定で提案された新しい概念に沿った新たな、そして重要な国内外の研究成果を系統的、網羅的に収集し、レビューすることは、次回の改定作業における基礎作業として不可欠のものである。

## A-2. 研究目的

本研究は、前回の改定で用いられた徹底した文献検索と、その客観的解釈による『系統的レビュー』の方法を用いる文献研究を行う。そのために必要となる文献検索ならびにその保管・整理を目的としたデータベースシステムを構築する。

また、前回改定でじゅうぶんな文献検索と、その吟味がなされなかった栄養素を中心に行う。具体的には、エネルギー、脂質の一部、炭水化物(食物繊維を含む)、葉酸、ビタミンD、ビタミンK、鉄を想定している。また、生活習慣病一次予防を目的として設定された『目標量』に関する理論的考察を加え、該当する栄養素に関して、徹底した系統的レビューを試みる。

本研究遂行のためには、数多くのレベルの高い栄養学者の協力を必要とする。そこで、前回の改定において協力した研究者のネットワークを用いて、研究協力者ネットワークを再構築し、研究レベルの向上と作業の効率化をめざすこととする。

研究初年度である本年度は、『日本人の食事摂取基準(2010年版)』の策定のための基礎的資料を得るための基盤整理を中心課題として、論文検索システムの構築と、『日本人の食事摂取基準(2005年版)』において、将来の検討課題として残された栄養素について、文献学的レビューを行うこととした。

## B. 研究方法

本年度に実施した各個研究は次のとおりである。①文献検索システムの構築、②周産期を中心とした葉酸摂取量の必要性に関する系統的レビュー、③葉酸類の安全性に関する論文レビュー、④食物繊維の健康影響に関する系統的レビュー。

## C. 結果

### ① 文献検索システムの構築

本研究用に開発した論文検索・整理用のデータベースを用いて、論文の抽出ならびに整理を行った結果、栄養素によって数件～数千件と文献数に幅が認められた。最近の特徴として、「系統的レビュー、メタ・アナリシスが465件存在することが明らかとなり、その有用性が示唆された。他に「必要量(requirement)」170件が該当した。最終的に残った論文の全文を入手し、整理・保管するとともに、タイトルなど引用に必要な情報を記載したデータベースを作成した。

### ② 周産期を中心とした葉酸摂取量の必要性に関する系統的レビュー

葉酸摂取の日米の比較や最近発表された葉酸サプリメントの介入研究の結果についてまとめた。葉酸のサプリメントの効果については、動脈硬化、虚血性心疾患、認知機能のいずれも明らかな予防効果は認められなかった。先天異常については、口蓋裂、唇裂、神経管欠損で、全てではないが統計学的に有意に予防的なメタ・アナリシスの結果が報告されている。日常の食事で葉酸摂取量の少ない集団で実施された研究であるのかもしれないので、日本人に適用されるかどうかは不明である。

日本における葉酸の強化やサプリメントの推奨には十分に注意すべきであると考えられた。

### ③ 葉酸類の安全性に関する論文レビュー

プテロイルモノグルタミン酸(F-G)と5-メチルテトラヒドロ葉酸(5-CH<sub>3</sub>-THF-G)の安全性について、既報の論文および書籍を利用して評価した。F-Gに関して

は、①ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏のマスキング、②てんかん誘発作用と神経毒作用、③F-G とビタミン B<sub>9</sub> 代謝を妨害する薬剤との相互関係、④F-G と亜鉛との相互関係、⑤F-G と腫瘍との関係、⑥F-G の添加がマラリアにおよぼす影響、⑦F-G の薬品アレルギーが問題に上げられていた。しかしながら、①のビタミン B<sub>12</sub> 欠乏のマスキングを除いて、ヒト試験ではすべて否定された事項であった。ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏の診断を受けていないヒトへの F-G の大量投与は、依然として問題であるが、この問題を解決するために登場したのが、

5-CH<sub>3</sub>-THF-G である。この化合物には安全性で問題となることは認められないことが明らかになった。

#### ④ 食物繊維の健康影響に関する系統的レビュー

食物繊維の健康影響を検討した学術論文を網羅的に収集し、現時点での科学的知見をまとめた。今回は、糖尿病、循環器疾患、がん、血圧、血中コレステロール、肥満、および便秘に焦点をしばって、文献収集を行った。①食物繊維摂取量と2型糖尿病の発症との関連を検討した前向きコホート研究の系統的レビュー、②食物繊維摂取量と循環器疾患、脳卒中、および心筋梗塞の発症および死亡との関連を検討した前向きコホート研究の系統的レビュー、③食物繊維摂取量とがん発症との関連を検討した前向きコホート研究、④食物繊維が血圧に与える影響を検討した介入試験のメタ・アナリシスのまとめ、⑤食物繊維が血中コレステロールに与える影響を検討した介入試験のメタ・アナリシスのまとめ、⑥食物繊維摂取量と肥満との関連を検討した前向きコホート研究の系統的レビュー、および⑦食物繊維摂取量と便秘との関連を検討した観察研究の系統的レビューを行った。文献検索には PubMed を用い、収集した文献の引用文献による文献収集も行った。その結果、食物繊維による、2型糖尿病、心筋梗塞、

結腸・直腸がん、高血圧、高コレステロール血症、肥満の予防効果が示唆された。今回収集した文献は、日本人の食事摂取基準 [2010 年版] の策定の際の基礎的な資料となるものである。しかしながら、日本人を含むアジア人を対象とした研究は依然として非常に少ないので、アジア人を対象とした研究が必要であると考えられた。

#### D. 考察

初年度である本年度は、『日本人の食事摂取基準 (2010 年版)』の策定のための基礎的資料を得るための基盤整理を中心課題として、論文検索システムの構築と、『日本人の食事摂取基準 (2005 年版)』において、将来の検討課題として残された栄養素について、文献学的レビューを行った。本年度に実施した各研究は次のとおりであった：①文献検索システムの構築、②周産期を中心とした葉酸摂取量の必要性に関する系統的レビュー、③葉酸類の安全性に関する論文レビュー、④食物繊維の健康影響に関する系統的レビュー。

本年度に構築した論文検索システムを活用して効率的かつ網羅的に、論文の検索、収集、整理、解説を行う。また、特に重点的な検討が必要と考えられる栄養素について、今年度行った葉酸、食物繊維同様に系統的レビューを進めていく必要があると考えられた。

#### E. 結論

初年度である本年度は、『日本人の食事摂取基準 (2010 年版)』の策定のための基礎的資料を得るための基盤整理を中心課題として、論文検索システムの構築と、『日本人の食事摂取基準 (2005 年版)』において、将来の検討課題として残された栄養素につい

て、文献学的レビューを行った。本年度に構築した論文検索システムを活用して効率的かつ網羅的に、論文の検索、収集、整理、解読を行う。また、特に重点的な検討が必要と考えられる栄養素について、今年度行った葉酸、食物繊維同様に系統的レビューを進めていく必要があると考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Murakami K, Sasaki S, Okubo H, Takahashi Y, Hosoi Y, Itabashi M. Monetary costs of dietary energy reported by young Japanese women: association with food and nutrient intake and body mass index. *Public Health Nutr* 2007; 10: 1430-9.
- 2) Murakami K, Sasaki S, Takahashi Y, Uenishi K, the Japan Dietetic Students' Study for Nutrition and Biomarkers Group. Dietary energy density is associated with body mass index and waist circumference, but not with other metabolic risk factors, in free-living young Japanese women. *Nutrition* 2007; 23: 798-806.
- 3) Murakami K, Sasaki S, Okubo H, Takahashi Y, Hosoi Y, Itabashi M, the Freshmen in Dietetic Courses Study II Group. Dietary fiber intake, dietary glycemic index and load, and body mass index: a cross-sectional study of 3931 Japanese women aged 18-20 years. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61: 986-95.
- 4) Murakami K, Sasaki S, Takahashi Y, Uenishi K, Yamasaki M, Hayabuchi H, Goda T, Oka J, Baba K, Ohki K, Kohri T, Muramatsu K, Furuki M. Hardness (difficulty of chewing) of the habitual diet in relation to body mass index and waist circumference in free-living Japanese

women aged 18-22 y. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 206-13.

- 5) Murakami K, Sasaki S, Takahashi Y, Uenishi K, Yamasaki M, Hayabuchi H, Goda T, Oka J, Baba K, Ohki K, Watanabe R, Sugiyama Y. Nutrient and food intake in relation to serum leptin concentration among young Japanese women. *Nutrition* 2007; 23: 461-8.
- 6) Murakami K, Sasaki S, Okubo H, Takahashi Y, Hosoi Y, Itabashi M, the Freshmen in Dietetic Courses Study II Group. Association between dietary fiber, water and magnesium intake and functional constipation among young Japanese women. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61: 616-22.
- 7) Murakami K, Sasaki S, Okubo H, Takahashi Y, Hosoi Y, Itabashi M, the Freshmen in Dietetic Courses Study II Group. Food intake and functional constipation: a cross-sectional study of 3,835 Japanese women aged 18-20 years. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2007; 53: 30-6.
- 8) Okubo H, Sasaki S, Murakami K, Kim MK, Takahashi Y, Hosoi Y, Itabashi M, the Freshmen in Dietetic Courses Study II Group. Dietary patterns associated with functional constipation among Japanese women aged 18 to 20 years: a cross-sectional study. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2007; 53: 232-8.

### 2. 学会発表

(なし)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

分担研究報告書

「日本人の食事摂取基準」策定のための文献学的研究  
文献検索システムの構築

分担研究者 佐々木 敏<sup>1</sup>、森田明美<sup>2\*</sup>、坪田 (宇津木) 恵<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> 東京大学大学院医学系研究科公共健康医学専攻疫学保健学講座社会予防疫学分野

<sup>1</sup> 独立行政法人国立健康・栄養研究所栄養疫学プログラム

\*研究協力者

研究要旨

2005年国民の健康を維持・増進するための、エネルギー・栄養素の摂取量の基準を示した「日本人の食事摂取基準」が公表された。本研究は平成20年度に予定される「食事摂取基準」改定作業に向け、基礎資料となる既存論文の系統的レビュー、ならびにデータベース構築を目的としている。本年度は研究初年度のため、重点項目として次の2点に焦点を絞って研究を行った。

①新たなエビデンスの抽出

最近(過去5年間)に学術雑誌に掲載された関連論文を系統的に抽出

②重点的に検討をする栄養素

「前回の改定で十分記載ができていないと考えられる数種の栄養素」

「健康維持・増進上、特に注目されている栄養素」

について、過去の文献に遡って系統的に学術論文を収集、整理を行う。

今回の検討の結果、新たなエビデンスについて0件から数百件と栄養素により学術論文の報告件数に幅が認められた。今後の改定で研究所内外の学識者による系統的かつ網羅的なレビューを行ってもらうためのデータベース作成により、改定作業の科学的根拠がより明確になるとともに、改定内容の更なる向上が期待できると考えられる。

A. 研究の背景ならびに目的

日本人の栄養摂取に関する基準は、第二次世界大戦後、国民食糧及び栄養対策審議会、総理府、科学技術庁などの所管を経て昭和44年から厚生労働省において所管することとなり、

「日本人の栄養所要量」として策定し、その後5年ごとに改定作業を行い現在に至っている。

2005年、国民の健康を維持・増進するためのエネルギー・栄養素の摂取量の基準を示した「日本人の食事摂取基準」が公表された<sup>1)</sup>。従来のエネルギー・栄養素の欠乏を回避することを目的とした「栄養所要量」と大きく異なる点は、国内外の関連文献を収集、栄養素欠乏症の予防だけでなく、健康増進や生活習慣病の一次予防

のためのエビデンスをもとに、系統的なレビューを行い、エネルギー・各栄養素について、摂取範囲が示されたことにある。

諸外国においてもこれまで栄養所要量が策定されており、従来集団を対象にし、栄養素欠乏症の解消を指標として策定されてきたものが、現在は、食事摂取基準(Dietary Reference Intakes; DRIs)として、欠乏症からも過剰症からも遠ざかってよりよい栄養状態を維持し、また健康増進するための指標としている。さらに慢性の非感染性疾患の危険要因を軽減するための指標として生活習慣病の一次予防に取り組むための指標となってきている。

「日本人の食事摂取基準」策定のための文献学的研究班では、平成20年度に予定される「食事摂取基準」改定作業に向け、基礎資料となる

既存論文の系統的レビュー、ならびにデータベース構築を行っている。本年度は、研究初年度のため、重点項目として次の2点に焦点を絞って研究を行った。

①新たなエビデンスの抽出

最近（過去5年間）に学術雑誌に掲載された関連論文を系統的に抽出

②重点的に検討をする栄養素

「前回の改定で十分記載ができていないと考えられる数種の栄養素」  
 「健康維持・増進上、特に注目されている栄養素」  
 について、過去の文献に遡って系統的に学術論文を収集、整理を行う。

B. 方法

新たなエビデンスについて、今回は「必要量 (requirement)」(図1)と「系統的レビュー、メタ・アナリシス (systematic review, meta-analysis)」(図2)に限定、前回のリストをもとに各栄養素のキーワードの抽出を行い、「必要量 (requirement)」については2002年以降、「系統的レビュー、メタ・アナリシス (systematic review, meta-analysis)」については過去に報告された全ての年時における文献を検索した。なお、検索に当たってはPubmed (MeSH) を用いた。

これらすべてについて、目視法を用いて、①タイトルから推定して除外する、②抄録から推定して除外する、③本文から推定して除外する作業を、ひとつの課題を複数の研究者が担当、順次検討を行った。

検索式 = requirement AND [nutrient(s)] 掲載年 = 2002-2007

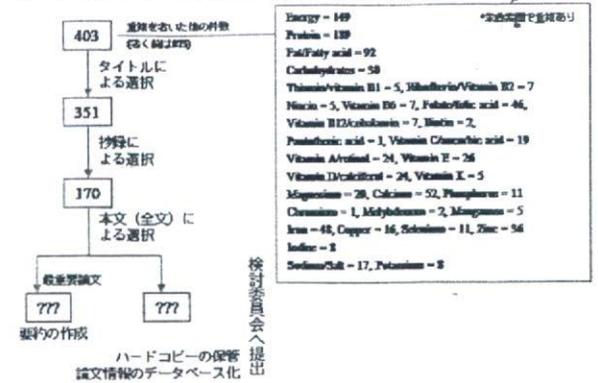


図1. 新たなエビデンスの抽出 (必要量・推奨量・目安量)

検索式 = [nutrient(s)] AND (meta-analysis OR "systematic review") 掲載年 = すべて



図2. 新たなエビデンスの抽出 (目標量=生活習慣病一次予防)

C. 結果

1. 新たなエビデンスの抽出  
 上記方法により抽出した結果、栄養素によって数件~数千件と文献数に幅があった。また栄養素によっても報告件数には差が認められた(図1、2)。最終的に、「必要量 (requirement)」170件、「系統的レビュー、メタ・アナリシス (systematic review, meta-analysis)」465件が該当、現在は、最終的に残った論文の全文を入手し、整理・保管するとともに、タイトルなど引用に必要な情報を記載したデータベースを作成している。

2. 重点的に検討をする栄養素

「前回の改定で十分記載ができていないと考えられる数種の栄養素」、「健康維持・増進上、特に注目されている栄養素」として今回の検討では、①高齢者、小児のエネルギー必要量②食

物繊維、炭水化物（糖）、鉄、葉酸、マグネシウムの収集に重点的に取り組んだ。

結果、たとえば、マグネシウムでは、マグネシウムと2型糖尿病発症予防との関連を報告したのものとして、表1に示す論文が該当、現在分析作業を進めている。

これらは次年度も継続して行うことを予定している。

### 3. データベースの構築

以上の重点項目2点で集められた文献並びに、2005年「日本人の食事摂取基準」で実際の参考文献に使われた文献に関しては、現在データベースを作成、構築作業を進めている（別紙）

表1 前向き研究：2型糖尿病発症予防とマグネシウム摂取の関連

	N	yrs	Dietary Assessment*	p-for trend**
USA	84360		6 SFFQ(v)	0.008
USA	65173		6 SFFQ(v)	<0.001
USA	42759		6 SFFQ(v)	0.004
USA	2548 (M)		6 IFFQ(v)	0.47
	9348 (W)			0.49
USA	35988		6 FFQ(v)	0.6
USA	42872		12 FFQ(v)	<0.001
USA	85060		18 FFQ(v)	<0.001
USA	38025		6 SFFQ(v)	0.09
Australia	31641		4 FFQ	0.07
US	41186		8 FFQ(v)	<0.001
Germany	25067		11 SFFQ(v)	0.87

S= self-administered, I= interview-administered, FFQ= food frequency questionnaire, (v)= validated.

### D. 考察

「日本人の食事摂取基準」として系統的レビューが取り入れられ検討が行われたのは、前回の改定からであるが、残念ながらその当時、作業過程で参考にされた文献に関する情報はあまり保存されていない現状にある。

今回の検討の結果、新たなエビデンスについて栄養素により学術論文の報告件数に幅が認められた。基準の根拠となるエネルギー・栄養素の報告は、平等に集積するものではないからである。そのため、アメリカ・カナダの Dietary

Reference Intakes、ならびにイギリスの Dietary Reference Values では、決まった年ごとの改訂は行っておらず、初版策定時には、エビデンスが不十分だった栄養素、ならびに近年疾患との関わりで報告が増えた項目や注目されている栄養素についてのみ、集中的に検討、随時改訂版を発行している。日本においては、5年毎の改定を行っているが、このような現状を踏まえると今後は5年間により重点的に明らかとなった栄養素を中心に検討を行うなどの方法が望まれよう。

今回新たなエビデンス抽出並びに際し、データベースを作成することにより、今後の改定で研究所内外の学識者による系統的かつ網羅的なレビューを行ってもらい、作業過程における文献情報も可能な限り保存することで、改定作業の科学的根拠がより明確になるとともに、改定内容の更なる向上が期待できる。特に、生活習慣病の一次予防を目的とした「目標量」の改定に資する情報の量的・質的向上が期待される。

### E. 結論

「日本人の食事摂取基準」として系統的レビューが取り入れられ検討が行われたのは、前回の改定からであるが、残念ながらその当時、作業過程で参考にされた文献に関する情報はあまり保存されていない現状にある。

今回の検討の結果、新たなエビデンスについて栄養素により学術論文の報告件数に幅が認められた。基準の根拠となるエネルギー・栄養素の報告は、平等に集積するものではないからである。そのため、アメリカ・カナダの Dietary Reference Intakes、ならびにイギリスの Dietary Reference Values では、決まった年ごとの改訂は行っておらず、初版策定時には、エビデンスが不十分だった栄養素、ならびに近年疾患との関わりで報告が増えた項目や注目されている栄養素についてのみ、集中的に検討、随

時改訂版を発行している。日本においては、5年毎の改定を行っているが、このような現状を踏まえると今後は5年間により重点的に明らかとなった栄養素を中心に検討を行うなどの方法が望まれよう。

今回新たなエビデンス抽出並びに際し、データベースを作成することにより、今後の改定で研究所内外の学識者による系統的かつ網羅的なレビューを行ってもらい、作業過程における文献情報も可能な限り保存することで、改定作業の科学的根拠がより明確になるとともに、改定内容の更なる向上が期待できる。特に、生活習慣

病の一次予防を目的とした「目標量」の改定に資する情報の量的・質的向上が期待される。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

DRI2010\_180308

ブラウザ  
0 9 ↑ ↓  
レコード  
レコード

888  
合計:  
1888  
リスト

# DRI2010データベース

全レコード表示

検索

新規 (追加)

保存・終了

抽出条件  
 2002.1-META\_REV  
 WG

DR使用  
 2005年版  
 2010年版

リスト照会 E/J  
 PMID 14608071  
 Type 論文

所属 本文

評価 WG  
 2005年(参)  
 2010年(参)

評価  
 栄研 論文 必要  
 抄録 必要  
 本文  
 WG

栄養素分類  
**【主栄養素】**  
 エネルギー  
 タンパク質  
 脂質  
 炭水化物  
 薬膳

**【水溶性ビタミン】**  
 ビタミンB1  
 ビタミンB2  
 ナイアシン  
 ビタミンB6  
 葉酸

**【脂溶性ビタミン】**  
 ビタミンA  
 ビタミンE  
 ビタミンK  
 ビタミンD  
 ビタミンC

**【ミネラル】**  
 マグネシウム  
 カルシウム  
 ナトリウム  
 カリウム

**【微量元素】**  
 クロム  
 モリブデン  
 マンガン  
 鉄  
 銅  
 セレン  
 亜鉛  
 ヨウ素

RESOURCE *J Nutr* 2003; 133(11): 3540-3545

TITLE Branched-chain amino acid requirements in school-aged children determined by indicator amino acid oxidation (IAAO)

AUTHORS Mager DR, Wykes LJ, Ball RO, Pencharz PB

ABSTRACT The current WHO/FAO/UNU recommendations for BCAA requirements in school-aged children are based on nitrogen balance studies that have tended to produce lower estimates of amino acid requirements than those determined using stable isotope methodologies. The new dietary reference intake (DRI) recommendations for total BCAA requirements in children were determined using a factorial approach that included adult BCAA requirements plus the additional needs for growth. The purpose of this study was to determine directly total BCAA requirements in school children aged 6-10 y using indicator amino acid oxidation (IAAO). Five children (8.5 +/- 1.2 y) were assigned randomly to receive 7 graded intakes of total BCAA. Individual BCAA in the test diet were provided in the same proportions as those present in egg protein to minimize the potential interactive effects of individual BCAA on assessment of requirement. Total BCAA requirement was determined by measuring the oxidation of L-[1-13C] phenylalanine to 13CO2 [F13CO2 in micromol/(kg x h)], after a primed, continuous infusion of the labeled tracer and using a two-phase linear crossover regression analysis. The mean requirement and the population-safety intake level (upper limit of the 95% CI) of the total BCAA in healthy school aged children were 147 and 192 mg/(kg x d), respectively. The estimated mean requirements of the total BCAA as determined by IAAO is approximately 48% higher than the current DRI recommendations, suggesting that these recommendations may be too low to meet the needs of school-aged children.

必要文献

出力する

エビデンスレベル

封条	
観察期間	
経緯表数	
結果 (95% 信頼区間)	
Memo	

文献を依頼する

データテーブル出力

## 周産期を中心とした葉酸摂取量について

分担研究者 三宅 吉博 福岡大学医学部公衆衛生学 准教授

### 研究要旨

妊婦における葉酸不足が胎児期の障害に影響する可能性があることから、本邦では妊娠を希望する女性に一日あたり 400  $\mu\text{g}$  の葉酸を摂取するよう推奨されている。日本人における葉酸摂取に関するエビデンスが不足している。本研究では、葉酸摂取の日米の比較や最近発表された葉酸サプリメントの介入研究の結果についてまとめた。

平成 16 年の国民健康・栄養調査結果によると、幼児から老年までのいずれの年齢層においても推奨量を上回った結果であった。ただし、妊娠時の葉酸摂取量は、推奨量のある程度下回っている状況である。

葉酸のサプリメントの効果については、動脈硬化、虚血性心疾患、認知機能のいずれも明らかな予防効果は認められなかった。先天異常については、口蓋裂、唇裂、神経管欠損で、全てではないが統計学的に有意に予防的なメタアナリシスの結果が報告されている。日常の食事で葉酸摂取量の少ない集団で実施された研究であるのかもしれないので、日本人に適用されるかどうかは不明である。

日本における葉酸の強化やサプリメントの推奨には十分に注意すべきである。

### A. 研究目的

葉酸は水溶性のビタミンであり、造血に必要な因子としてほうれん草から単離されたため、この名称がついている。葉酸は緑黄色野菜やレバーに多く含まれている。生体内では DNA やアミノ酸の合成にも関与している。

葉酸摂取が高ホモシステイン血症、循環器疾患、がんに予防的であるのかどうかの議論が続いている。また、胎児期の神経管閉鎖障害等の先天異常に予防的であるのかどうかも結論は得られていない。妊婦における葉酸不足が胎児期の障害に影響する可能性があることから、本邦では妊娠を希望する女性に一日あたり 400  $\mu\text{g}$  の葉酸を摂取するよう推奨されている。

米国 FDA は 1996 年 3 月、穀類製品の栄養価を高めるため、葉酸の強化を正式に認可、1998 年 1 月より義務化した。カナダにおいても 1998 年より葉酸の強化が義務づけられている。我が国においても葉酸強化の必要性があるのかどうかの是非が議論されつつあるが、日本人における葉酸摂取に関するエビデンスが不足している。

本研究では、葉酸摂取の日米の比較や最近

発表された葉酸サプリメントの介入研究の結果についてまとめた。

### B. 研究方法

PubMed を用いて、葉酸摂取をキーワードとして文献を収集した。本研究と関連する文献を検討した。

### C. 結果

#### 1) 葉酸摂取量の国間比較

##### a. 日本

平成 16 年の国民健康・栄養調査結果によると、計 8762 名の平均の葉酸摂取量は 294.2  $\mu\text{g}$  であった<sup>1)</sup>。幼児から老年までのいずれの年齢層においても推奨量を上回った結果であった。ただし、現在の日本の食事摂取基準で定められた妊婦と授乳期の女性の推奨量はそれぞれ 400  $\mu\text{g}$  と 280  $\mu\text{g}$  である。平成 16 年の国民健康・栄養調査によると、29 名の妊婦と 38 名の授乳期女性の平均葉酸摂取量はそれぞれ 286  $\mu\text{g}$  と 272  $\mu\text{g}$  であった。妊婦 865 名を対象とした疫学調査では、葉酸摂取量の平均値は 286  $\mu\text{g}$  であった<sup>2)</sup>。別の 70 名の妊婦を調査した研究では、葉酸摂取量の平均値は 289  $\mu\text{g}$  で

あったが、血清中の葉酸濃度と赤血球の葉酸濃度はそれぞれ 10.3 ng/ml と 519 ng/ml であり、諸外国のデータより高かった<sup>3)</sup>。妊娠時の葉酸摂取量という観点では、国の定めた推奨量をおよそ下回っている状況である。

#### b. 米国

米国の 15 から 44 歳の女性のデータでは、穀物製品への葉酸強化実施前である 1990 年前後の血清中の葉酸濃度と赤血球の葉酸濃度はそれぞれ 6.3 ng/ml と 181 ng/ml であった。葉酸強化実施後の 1999 年では、それぞれ 16.2 ng/ml と 315 ng/ml となり、上昇傾向が認められた<sup>4)</sup>。別の文献によると、葉酸強化実施前における思春期で妊娠した女性の葉酸摂取量は、240 μg 強から 275 μg であった<sup>5)</sup>。

#### c. カナダ

カナダの妊婦と授乳期の女性それぞれ 60 名程度のデータでは、食事による葉酸摂取量は妊婦で 469 μg、授乳期で 408 μg であり、その内、食品への葉酸強化による摂取量は妊婦で 132 μg、授乳期で 125 μg であった。つまり、内因的な食事による葉酸摂取量は妊婦で 337 μg、授乳期で 283 μg であった<sup>6)</sup>。

### 2) 葉酸以外のビタミン B 類摂取量

平成 16 年の国民健康・栄養調査結果によると、計 8762 名のビタミン B<sub>12</sub>、ビタミン B<sub>6</sub>、ビタミン B<sub>2</sub> の平均摂取量はそれぞれ、6.95 μg、1.72 mg、1.52 mg であった<sup>1)</sup>。

妊婦 865 名を対象とした疫学調査では、ビタミン B<sub>12</sub>、ビタミン B<sub>6</sub>、ビタミン B<sub>2</sub> の平均摂取量はそれぞれ、5.7 μg、1.0 mg、1.4 mg であった<sup>2)</sup>。

米国における葉酸強化実施前における思春期で妊娠した女性のビタミン B<sub>12</sub>、ビタミン B<sub>6</sub>、ビタミン B<sub>2</sub> の平均摂取量はそれぞれ、5.1 μg、1.7~2.0 mg、2.3~3.2 mg であった<sup>5)</sup>。

### 3) 葉酸サプリメントの効果

#### a. 後天性疾患

ビタミン B 類（葉酸、ビタミン B<sub>12</sub>、ビタミン B<sub>6</sub>）サプリメントの動脈硬化に対する 2 つの介入研究のメタアナシシスでは、統合した相対危険が、0.84 (95%信頼区間[CI]: 0.34~2.07) であり、効果は認められなかった<sup>7)</sup>。

葉酸サプリメントの循環器疾患に対する影響を調べた 12 の無作為化比較試験のメタアナシシスでは、循環器疾患の統合相対危険は

0.95 (95% CI: 0.88~1.03)、虚血性心疾患の統合相対危険は 1.04 (95% CI: 0.92~1.17)、脳卒中中の統合相対危険は 0.86 (95% CI: 0.71~1.04) であり、統計学的に有意な関連は認められなかった<sup>8)</sup>。

Balk らは葉酸サプリメントの認知機能に対する効果を調べた 3 つの介入研究を検討した<sup>9)</sup>。これら 3 つの介入研究をあわせた対象者数は 39 名と少なく、3 つ研究で一致した結果は得られず、介入による顕著な効果は認められなかった。血清葉酸値の低い群 (< 3 ng/ml) では、効果があるかもしれない。また、3 つのビタミン B<sub>6</sub> サプリメントの効果を調べた介入研究及び 6 つのビタミン B<sub>12</sub> サプリメントの効果を調べた介入研究でも、認知機能に対して特に有用ではなかった。

#### b. 先天性疾患

妊娠中の葉酸サプリメントの先天異常に対する効果を調べたメタアナシシスの結果を示す<sup>10)</sup>。5 つの前向き研究（コホート研究または介入研究）の統合した相対危険は、口蓋裂で 0.51 (95% CI: 0.32~0.95)、唇裂で 1.19 (95% CI: 0.43~3.28)、両方あわせて 0.55 (95% CI: 0.32~0.95) であった。12 の症例対照研究をまとめた結果では、口蓋裂で 0.77 (95% CI: 0.65~0.90)、唇裂で 0.80 (95% CI: 0.69~0.93)、両方あわせて 0.78 (95% CI: 0.71~0.85) であった。

妊娠前または妊娠期間の当初 3 分の 1 の期間におけるマルチビタミン・サプリメントの先天異常に対する効果を検討したメタアナシシスの結果を示す<sup>11)</sup>。神経管欠損に対して、8 つの症例対照研究の統合した相対危険は 0.67 (95% CI: 0.58~0.77) であり、11 のコホート研究または RCT では 0.52 (95% CI: 0.39~0.69) であった。口蓋裂に対して、10 症例対照研究では 0.76 (95% CI: 0.62~0.93) であり、2 つのコホート研究または RCT では 0.42 (95% CI: 0.06~2.84) であった。唇裂に対して、11 症例対照研究では 0.63 (95% CI: 0.54~0.73) であり、4 つのコホート研究または RCT では 0.58 (95% CI: 0.28~1.19) であった。尿路異常に対して、2 つの症例対照研究では 0.48 (95% CI: 0.30~0.76) であり、2 つのコホート研究または RCT では 0.68 (95% CI: 0.35~1.31) であった。心臓血管系の欠損に対して、5 つの症例対照研究では 0.78 (95% CI: 0.67~0.92) であり、2 つのコホート研究または RCT では

0.61 (95% CI: 0.40~0.92)であった。四肢の欠損に対して、2つの症例対照研究では0.48 (95% CI: 0.30~0.76)であり、2つのコホート研究またはRCTでは0.57 (95% CI: 0.38~0.85)であった。先天性水痘症に対して、2つの症例対照研究では0.37 (95% CI: 0.24~0.56)であり、2つのコホート研究またはRCTでは1.54 (95% CI: 0.53~4.50)であった。

#### D. 考察

日本人全体としては、葉酸摂取量は不足しておらず、適切に摂取されている。ただ、妊婦の摂取量は推奨量である400 µgを下回っている。

葉酸のサプリメントが生活習慣病や先天異常に予防的であると指摘されているが、確かな根拠は得られていない。先天異常に対して予防的であるというメタアナシシスの結果については、そもそも日常の食事で葉酸摂取量の少ない集団で実施された研究であるのかもしれないので、日本人に適用されるかどうかは不明である。

米国では、葉酸強化により、期待した摂取量の増加より約2倍も摂取量が増加したとの試算も示された<sup>12)</sup>。日本における葉酸の強化やサプリメントの推奨には十分に注意する必要がある。

#### E. 結論

日本人の妊婦では、葉酸の摂取量は推奨量を下回っている。しかしながら、日本における葉酸の強化やサプリメントの推奨には十分に注意すべきである。

#### F. 研究発表

- 1) 論文発表  
なし。
- 2) 学会発表  
なし。

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 特許取得  
なし。
- 2) 実用新案登録  
なし。
- 3) その他  
なし。

#### H. 文献

1. 健康・栄養情報研究会. 平成16年国民健康・栄養調査報告. 東京. 第一出版. 2006.
2. Miyake Y, Sasaki S, Tanaka K, Yokoyama T, Ohya Y, Fukushima W, Saito K, Ohfuji S, Kiyohara C, Hirota Y, The Osaka Maternal and Child Health Study Group. Dietary folate and vitamins B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub>, and B<sub>2</sub> intake and the risk of postpartum depression in Japan: The Osaka Maternal and Child Health Study. *J Affect Disord.* 2006; 96: 133-138.
3. Mito N, Takimoto H, Umegaki K, Ishiwaki A, Kusama K, Fukuoka H, Ohta S, Abe S, Yamawaki M, Ishida H, Yoshiike N. Folate intakes and folate biomarker profiles of pregnant Japanese women in the first trimester. *Eur J Clin Nutr.* 2007; 61: 83-90.
4. Kennedy E, Meyers L. Dietary Reference Intakes: development and uses for assessment of micronutrient status of women--a global perspective. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81: 1194S-1197S.
5. Moran VH. A systematic review of dietary assessments of pregnant adolescents in industrialised countries. *Br J Nutr.* 2007; 97: 411-25.
6. Sherwood KL, Houghton LA, Tarasuk V, O'Connor DL. One-third of pregnant and lactating women may not be meeting their folate requirements from diet alone based on mandated levels of folic acid fortification. *J Nutr.* 2006; 136: 2820-6.
7. Bley J, Miller ER 3rd, Pastor-Barriuso R, Appel LJ, Guallar E. Vitamin-mineral supplementation and the progression of atherosclerosis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84: 880-7.
8. Bazzano LA, Reynolds K, Holder KN, He J. Effect of folic acid supplementation on risk of cardiovascular diseases: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA.* 2006; 296: 2720-6.
9. Balk EM, Raman G, Tatsioni A, Chung M, Lau J, Rosenberg IH. Vitamin B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, and folic acid supplementation and cognitive function: a systematic review of randomized trials. *Arch Intern Med.* 2007; 167: 21-30.

10. Badovinac RL, Werler MM, Williams PL, Kelsey KT, Hayes C. Folic acid-containing supplement consumption during pregnancy and risk for oral clefts: a meta-analysis. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2007; 79: 8-15.
11. Goh YI, Bollano E, Einarson TR, Koren G. Prenatal multivitamin supplementation and rates of congenital anomalies: a meta-analysis. *J Obstet Gynaecol Can.* 2006; 28: 680-9.
12. Choumenkovitch SF, Selhub J, Wilson PW, Rader JI, Rosenberg IH, Jacques PF. Folic acid intake from fortification in United States exceeds predictions. *J Nutr.* 2002; 132: 2792-8.

平成 19 年度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）

「日本人の食事摂取基準」策定のための文献学的研究

主任研究者 佐々木 敏

滋賀県立大学 教授

### III. 分担研究者の報告書

#### 1. 葉酸類の安全性に関する論文調査

分担研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

#### 研究要旨

プテロイルモノグルタミン酸 (F-G) と 5-メチルテトラヒドロ葉酸 (5-CH<sub>3</sub>-THF-G) の安全性について、既報の論文および書籍を利用して評価した。F-G に関しては、①ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏のマスキング、②てんかん誘発作用と神経毒作用、③F-G とビタミン B<sub>9</sub> 代謝を妨害する薬剤との相互関係、④F-G と亜鉛との相互関係、⑤F-G と腫瘍との関係、⑥F-G の添加がマラリアにおよぼす影響、⑦F-G の薬品アレルギーが問題に上げられていた。しかしながら、①のビタミン B<sub>12</sub> 欠乏のマスキングを除いて、ヒト試験ではすべて否定された事項である。ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏の診断を受けていないヒトへの F-G の大量投与は、依然として問題であるが、この問題を解決するために登場したのが、5-CH<sub>3</sub>-THF-G である。この化合物には安全性で問題となることは認められない。

## 1. はじめに

### 用語の解説

ビタミン B<sub>9</sub>=ビタミン M=葉酸類(=プテロイルモノグルタミン酸=PGA、pteroylmonoglutamic acid=FA、folic acid)と同じ生理活性を示す化合物群の総称名。具体的には、FA、ジヒドロ FA=DHF、テトラヒドロ FA=THF、5-CH<sub>3</sub>-THF、5、10-CH<sub>2</sub>-THF、5、10-CH-THF 10-HCO-THF、5-HCO-THF、5-CH=NH-THF 及びこれらの構造中に2~8個のグルタミン酸残基が結合する化合物の総称名。

### 1. 栄養強化剤として登場の背景

現在の知識で、過去の研究論文をみると、最初のビタミン B<sub>9</sub>欠乏に起因する症例の報告は、英国の内科医 Lucy Wills が<sup>1)</sup>、インドにおいて貧しい織物工が妊娠中に巨大赤芽球性貧血(図1)となったことを報告したものである(1933年)。彼は、ラットやサルにタンパク質と野菜を欠乏した飼料を投与することにより、同じような症状を誘発させた。さらに、彼は、欠乏動物と妊娠性貧血患者をマーマイトと呼ぶ酵母抽出液で治療させた(1937年<sup>2)</sup>)。この治療因子の単離と合成は1940年代になされた。

ビタミンであるビタミン B<sub>9</sub>の欠乏は、妊娠性貧血、胎児の神経管閉鎖障害<sup>3)</sup>(図2)や無脳症<sup>3)</sup>(図3)を引き起こすばかりでなく、動脈硬化症の引き金となるホモシス테인<sup>4)</sup>の血清中の値を高くする(図4)。

日本での成人のビタミン B<sub>9</sub>の必要量の概数は200 μg/日であるが、妊娠を計画している人では400 μg/日の摂取を厚生労働省は提言している。ビタミン B<sub>9</sub>の特徴は、妊娠すると必要量がとくに高くなることである。

ビタミン B<sub>9</sub>の必要量が妊娠に伴って高くなること、酸化力の強いホモシス테인の血清中の濃度と循環器系の疾患との関係があり、ホモシス테인の濃度上昇をビタミン B<sub>9</sub>が抑制するという事実がある。さらに、ポストゲノム時代の流れとして、遺伝子情報を活用して健康の維持を目的とした個人に最適な栄養管理を目指すという新しい学問領域が現れた(パーソナライズ栄養学(Personalized Nutrition))。これは、ヒトの遺伝子多型に基づいたものである。ビタミン B<sub>9</sub>の必要量に係わるものでは、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素(EC 1.5.1.20)(MTHFR: 5、10-CH<sub>2</sub>-テトラヒドロ葉酸+NADH→

5-CH<sub>3</sub>-テトラヒドロ葉酸+NAD<sup>+</sup>)の遺伝子多型が知られている。MTHFRをコードする遺伝子のC677T(677番目の塩基がCは野生型、Tは変異型)多型のTT型(両親からT型とT型を遺伝したホモ)のMTHFRをもつヒトは高ホモシス테인血症を示し、脳梗塞や痴呆のリスクを高めることが明らかにされている。このような背景から、ビタミン B<sub>9</sub>の摂取量を400 μg/日に高めることに関心が持たれている。ところが、この数値は、生物系食料を基盤とする食生活からでは達成できる量ではない。そこで、ビタミン B<sub>9</sub>のサプリメントとしてF-Gの強化食品が米国などでは出現している。

化学合成されたF-Gの栄養学上の欠点は、一定濃度を超えると、そのままの形(F-G)で細胞に取り込まれ、DHF-G、THF-Gとなり、そしてポリグルタミン酸化されたものTHF-Gnとなり、さらに5、10-CH<sub>2</sub>-THF-Gnに変換され、dUMP→dTMP反応に利用されてしまうことである。生物系食料中のビタミン B<sub>9</sub>の形は5-CH<sub>3</sub>-THF-Gnであり、THF-Gnを産生するには必ずメチオニンシンターゼの手助けが必要である。つまり、メチオニンシンターゼ非依存的にDNA合成に必要なTHFを産生してしまうことである。この現象は、ビタミン B<sub>12</sub>欠乏患者の骨髄中でみられる赤血球の産生能低下を抑えてしまう。このような場合、より軽い症状である貧血が顕在化せず、より深刻な神経疾患症状(末梢神経炎→脊髄の亜急性連合変性症→死)が進行し、ビタミン B<sub>12</sub>欠乏の発見を遅らせることとなるため、F-Gの大量投与の危険性が指摘されている(詳細は後述)。このようなF-Gの栄養学的欠点を補うビタミン B<sub>9</sub>として、近年、5-CH<sub>3</sub>-THF-Gと5、10-CH<sub>2</sub>-THF-Gの強化食品が出現しようとしている。

ちなみに、日本ではビタミン B<sub>9</sub>含量の高い緑黄色野菜の摂取頻度が高いので、約300 μg/日の摂取量である。なお、食品中のビタミン B<sub>9</sub>の主要な形は5-CH<sub>3</sub>-THFのポリグルタミン酸型である。そのため、dUMP→dTMP反応に必要な5、10-CH<sub>2</sub>-THF-Gnを生成させるためにはTHF-Gnが必要であるため、必ず、メチオニンシンターゼにより生物系食料に由来する5-CH<sub>3</sub>-THF-GnがTHF-Gnに変換されなければならない。

### 2. 生化学

生物系食料由来のビタミン B<sub>9</sub>は、5-CH<sub>3</sub>-THF-Gとして細胞内に取り込まれる。

5-CH<sub>3</sub>-THF-G は、ビタミン B<sub>12</sub> 依存メチオニンシンターゼにより、THF-G に転換される。そして、ポリグルタミン酸化をうけ、5-CH<sub>3</sub>-THF-Gn として、細胞内に保持され、ビタミン B<sub>9</sub> 補酵素サイクルに入ることになる。

一方、サプリメントや強化食品に使用される F-G は完全にプテリジン環が酸化されたものである。酵素学的に活性型になるためには、まずプテリジン環がジヒドロ型 (DF-G) に還元され、引き続き還元されてテトラヒドロ型 (THF-G) となり、さらにポリグルタミン酸化 (THF-Gn) されなければならない。還元の際の両反応はジヒドロ葉酸還元酵素によって触媒される。完全に酸化された F-G から THF-G になる経路での律速反応は、F-G → DHF-G である。

ここで、重要なことは、ポリグルタミン酸化を受けるビタミン B<sub>9</sub> の形は THF-G であることである。生物系食料に由来するビタミン B<sub>9</sub> の形は 5-CH<sub>3</sub>-THF-G であるが、このメチル化されたままでは、ポリグルタミン酸化されない。5-MTHF-G → THF-G 反応を触媒する酵素はメチオニンシンターゼと呼ばれる酵素でメチルコバラミン (ビタミン B<sub>12</sub> の補酵素型) を補酵素として必要とする。したがって、ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏状態では、生物系食料に由来する 5-CH<sub>3</sub>-THF-G を葉酸補酵素として利用できないことになる。

THF-Gn はセリンから一炭素を受け取り、5、10-CH<sub>2</sub>-THF-Gn となる。5、10-CH<sub>2</sub>-THF-Gn は dUMP → dTMP 反応を触媒するチミジレートシンターゼの補酵素であり、5、10-CH<sub>2</sub>-THF-Gn は DHF-Gn となる。DHF-Gn は、再度、THF-Gn となり、ビタミン B<sub>9</sub> 補酵素系に入っていく、再利用される (図 5)。THF-Gn は、酵素的にプテリジン環の N5、N10 あるいは両方に 1 炭素単位 (ホルミル基、メチル基、メチレン基など) を結合できる。これらの 1 炭素単位の供給源は非必須アミノ酸のセリンの C3 である。これらの 1 炭素単位は、ピリミジンの生合成に利用される。すなわち、ウラシルにメチル基が渡され、チミジンが生成する。また、プリン環の C2 と C8 の供給源として生合成に寄与する。ピリミジンの生合成は DHF-Gn (結果的に THF-Gn となった後、関与するが) から始まる。重要なことは、この補酵素は絶えず THF-Gn に再生産されるので、細胞はごく微量しか必要としないことである。

葉酸はもう一つ重要なサイクル、メチルサ

イクルに参与している。数十個のメチルトランスフェラーゼが哺乳動物に存在している。これらの酵素は DNA、ドーパ、ニコチンアミド、タンパク質など非常に多岐にわたる分子にメチル基を転移させる。さらに、ミエリン、リン脂質のホスファチジルエタノールアミンにメチル基を転移させ、ホスファチジルコリンを生成させる反応もある。これらすべての反応のメチル基はメチオニン由来であり、ATP 依存反応により S-アデノシルメチオニン (SAM) となった後、種々の化合物にメチル基が転移される。SAM はメチル基を渡すと S-アデノシルホモシステイン (SAH) となる。SAH は、通常速やかにホモシステインに分解される。ホモシステインは引き続き、メチオニンシンターゼ (ビタミン B<sub>12</sub> を補酵素とする酵素) により新たにメチル基を付加され、このサイクルは終結する。この新しいメチル基は葉酸補欠分子族の 5-CH<sub>3</sub>-THF-Gn から供給される。このようにして、メチル化サイクルは連続的にメチル基を使用し、連続的に一つの葉酸補酵素を通じて供給される (図 5)。

### 3. 消化・吸収

細胞内葉酸補酵素は、異なる数のグルタミン酸が結合したポリグルタミン鎖が結合したものである。これらの鎖の長さは生物種によって異なる。このポリグルタミン鎖には二つの機能がある。細胞内に保持されるための機能と、葉酸依存性酵素と 1 炭素単位をより有効に転移させるための至適条件を付与するための機能である。細胞すなわち食品は、ポリグルタミン酸鎖と 1 炭素単位を結合した種々の還元型葉酸 (主要な形は 5-CH<sub>3</sub>-THF-Gn) を含んでいる。このポリグルタミン酸は空腸の冊子縁膜に存在するコンジュガーゼによって加水分解を受け、モノグルタミン産型となった後、特異的なトランスポータによって、能動的に吸収されて、粘膜細胞内ではモノグルタミン酸型として存在する。コンジュガーゼは亜鉛を補欠分子族とする酵素である。この酵素活性を阻害する化合物を含む食品として、オレンジジュースとバナナが有名である (表 1)。

天然のビタミン B<sub>9</sub> の半分以上は 5-CH<sub>3</sub>-THF 型である。残りは粘膜細胞に輸送される間、あるいは肝臓にはじめて輸送された時にこの形に転換される。通常、血漿中のビタミン B<sub>9</sub> の形はこの 5-CH<sub>3</sub>-THF である (図

5)。

F-G を摂取すると、**図 5** に示したように、一部は小腸で還元、メチル化を受け、5-CH<sub>3</sub>-THF-G となり、生物由来の 5-CH<sub>3</sub>-THF-G と区別なく、同じ代謝系に入る。一方、残りの一部は、F-G のままの形で細胞内に取り込まれ、THF-G となるため、メチオニンシンターゼを介することなく、細胞に取り込まれる。

#### 4. 細胞への取り込み

血漿中の 5-CH<sub>3</sub>-THF-G は促進拡散あるいは受動拡散によって細胞内に入るが、ポリグルタミン酸型となるまでは保持されない。このポリグルタミン酸化反応を触媒する合成酵素はモノ及びポリグルタミン酸型の 5-MTHF を良好な基質とはしない。したがって、この血漿中の葉酸を細胞内に保持するためには、すなわちポリグルタミン酸化するためには、はじめに 5-CH<sub>3</sub>-THF-G 型を THF 型に変換しなければならない。この変換反応は、ビタミン B<sub>12</sub> 依存型メチオニンシンターゼによって触媒される (**図 5**)。

化学合成された F-G の栄養学上の欠点は、一定濃度を超えると、そのままの形 (F-G) で細胞に取り込まれ、DHF-G、THF-G となり、そしてポリグルタミン酸化されたのち THF-Gn となり、さらに 5、10-CH<sub>2</sub>-THF-Gn に変換され、dUMP→dTMP 反応に利用されてしまうことである。つまり、メチオニンシンターゼ非依存的に DNA 合成に必要な dTMP を産生してしまうことである。この現象は、ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏患者の骨髄中でみられる赤血球の産生低下を抑えてしまう。このような場合、より軽い症状である大赤血球性貧血が顕在化せず、より深刻な神経疾患症状が進行し、ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏の発見を遅らせることとなる。

#### 5. 異化代謝と排泄

ビタミン B<sub>9</sub> の異化代謝は必要量を定めるための主要因子である。この異化代謝の正確な機構は未だ確立されていないが、異化代謝産物はプテリジン類と *p*-アミノ安息香酸グルタミン酸である。後者は相当するアセトアミドベンゾイルグルタメートとして排泄される。健常婦人の尿中に排泄される異化代謝産物量は 1 日あたり 200 ± 10 μg であり、妊婦になると 600 μg に増大するという報告もある<sup>9)</sup>。幼児の葉酸化合物類の排泄量は非常に少なく 1 日あたりで 2~3 μg 以下である。

これは、血漿中の 5-CH<sub>3</sub>-THF-G 型や他の還元型葉酸、例えば、5-ギ酸型が非常に効率よく腎臓で再吸収されていることを意味する。逆に、非還元型である F-G は循環系にみ込まれても、速やかに排泄されてしまう。

#### 6. 欠乏

ビタミン B<sub>9</sub> 欠乏の古典的見識は、5、10-CH<sub>2</sub>-THF-Gn 依存性のチミジレートシンターゼ (dUMP→dTMP) が不十分であることに起因する DNA 合成能力の低下による細胞分裂の阻止に基因する貧血であった。しかし、従来の判定では血漿中のビタミン B<sub>9</sub> 濃度が正常域範囲内であると判断されている軽度なビタミン B<sub>9</sub> 欠乏状態でも、二分脊椎のような神経管障害や虚血性心疾患や卒中の危険性を高めることが明らかとなった。

古典的見識では、ビタミン B<sub>9</sub> バランスが負になると、まず血漿中のビタミン B<sub>9</sub> レベルが低下する、次に組織中のビタミン B<sub>9</sub> レベル—これは容易に赤血球中のビタミン B<sub>9</sub> レベルでみられるが—下がる。生化学的な欠乏の証拠ははじめにわずかではあるが、確実に血漿中のホモシステイン濃度が高まる。次に、DNA サイクルが障害を受けてくると、はじめに骨髄の形態学的変化がみられる。そして非常にわずかであるが、末梢血にも同じような変化がみられてくる。これらの変化が最も顕著であるのが骨髄中の赤血球の前駆体—異常に大きな核を有する異常に大きい赤血球の前駆細胞、いわゆる巨大赤芽球—である。普通の赤血球よりも大きな赤血球が末梢血に現れた時、鉄欠乏が伴わない限り、平均赤血球容積 (MCV) が高くなる。ビタミン B<sub>9</sub> 摂取の負のバランスが続くと、結局、ビタミン B<sub>9</sub> とビタミン B<sub>12</sub> 欠乏である古典的な大赤血球性貧血となる。

## II. プテロイルモノグルタミン酸 (F-G)

### 1. 化学的性質

F-G 分子の基本構造は、N-ヘテロ環のプテリジンと *p*-アミノ安息香酸の二つの芳香環をもつプテロイル基にグルタミン酸が結合したものである (**図 6**)。F-G の場合、化学合成したものは完全にプテリジン環が酸化されたものである。橙色の粉末で市販されている。においはほとんどない。

### 2. 代謝

F-G を摂取すると、**図 5** に示したように、一部は小腸で還元、メチル化を受け、