

201128206A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業 (No. 23163901)

二分脊椎の予防指針作成：

二分脊椎の病因探索と葉酸情報の伝達システムの研究

平成 23 年度

総括研究報告書

RECOMMENDATION ON PREVENTION OF SPINA BIFIDA :

**Investigation of Risk Factors related to Spina Bifida and Studies
to transmit important Information of a Role of Folic Acid**

研究代表者 近藤厚生
津島リハビリテーション病院院長
平成 24 年 (2012 年) 4 月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業 (No. 23163901)

二分脊椎の予防指針作成：
二分脊椎の病因探索と葉酸伝達システムの研究

平成 23 年度 総括研究年度終了報告書

RECOMMENDATION ON PREVENTION OF SPINA BIFIDA :
Investigation of Risk Factors related to Spina Bifida and Studies
to transmit important Information of a Role of Folic Acid

研究代表者 近藤厚生
津島リハビリテーション病院院長
平成 24 年 (2012 年) 4 月

厚生労働科学研究費補助金研究年度終了報告書

平成 24 年 4 月 1 日

厚生労働省大臣 殿
国立保健科学院長 殿

住 所 〒470-0111
愛知県日進市米野木町南山973-95

研究者 氏 名 コンドウ アツオ
近 藤 厚 生



(所属研究機関：津島リハビリテーション病院)
生年月日 1938年11月9日生

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)に係る研究事業の
平成23年度における実績について、次のとおり報告する。

研究課題名 (課題番号) :
二分脊椎の予防指針作成：二分脊椎の病因探索と葉酸情報の伝達システムの研究
(23163901)

国庫補助金精算所要額 : 金 5,000,000円也 (うち間接経費 0円)

目次

I.	総括研究年度終了報告	
	二分脊椎の予防指針作成：二分脊椎の病因探索と葉酸伝達システムの研究 (no. 23163901)	1
II.	分担研究年度終了報告	
1.	「二分脊椎の病因探索、妊婦のライフスタイルの調査、MTHFR ホモ接合体遺伝子型の検討、ホームページの作成」 研究分担者：近藤厚生	7
2.	「教員の葉酸の認知及び教育方法に関する研究」 研究分担者：福田博美	19
3.	「学生教育と葉酸の認知に関する研究」 研究分担者：松尾拓哉	53
4.	「若年女性の血中葉酸値と遺伝子多型の調査」 研究分担者：篠崎圭子	58
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	64
IV.	研究成果の刊行物・別刷	
V.	本研究に使用した参考資料	
1.	栄養カルテ（食事記録票、A3の縮小版）・・・近藤厚生	
2.	アンケート調査票：ライフスタイル調査・・・近藤厚生	
3.	アンケート調査票：二分脊椎病因探索・・・近藤厚生	
4.	葉酸って知ってますか？（ポスター、A2の縮小版）・・・福田博美	
5.	微量栄養素と先天異常（教材プリント、6枚）・・・松尾拓哉	
6.	母子栄養・先天性異常学講義前アンケート（2枚）・・・松尾拓哉	
7.	食物摂取頻度調査 FFGg 調査票・・・松尾拓哉	

二分脊椎の予防指針作成：二分脊椎の病因探索と葉酸情報の伝達システムの研究
(No. 23163901)

研究代表者 近藤厚生 津島リハビリテーション病院院長

研究要旨：

二分脊椎の予防指針を作成するために、広範囲の臨床研究を推進した。主要な研究成果は①症例対照研究により、「葉酸サプリメントの非内服」と「葉酸サプリメントを併用しないで抗てんかん薬を内服」することが二分脊椎の発症と有意に相関した。②妊婦が食事から摂取する葉酸量は平均 263 μ g/日と少なく、葉酸を最も必要とする前期の摂取量は 258 μ g/日であり、推奨量（RDA）のわずかに 54%に過ぎなかった。③妊婦の葉酸サプリメント内服率は 62%、葉酸認知率は 44%であった。④学校教育の現場では葉酸に関する教育は殆ど実施されていない。学習指導要領を改訂し、葉酸に関する授業を可能にすると共に、教諭の免許更新の際に葉酸の重要性を周知させることが有効である。⑤平均年齢 20 歳の女学生 469 名の調査では、学習機会の有無が学生の葉酸認知率に影響する。⑥MTHFR（メチルテトラヒドロ葉酸還元酵素）の 677 TT（ホモ接合体遺伝子型）の保有者でも葉酸サプリメントを 1 日 480 μ g/日内服すると、その血清濃度は十分な高さに到達する。

今回の研究成果に基づき、下記 8 項目の予防指針を提案する。厚生労働省と文部科学省は、これら指針を政策に反映し、二分脊椎の患者発生頻度を低下させるようご尽力いただきたい。

1. 二分脊椎は多因子が複雑に関与して発症する。しかし葉酸サプリメントを妊娠 4 週前から妊娠 12 週まで 1 日 400 μ g 内服すると、二分脊椎の発生リスクを低くすることが出来る。この趣旨を繰り返し国民へ伝達する。
2. 情報提供は学校教育の現場から若い女性へ、マスメディア・結婚式場・婚姻届を提出する役場などを介して国民一般へ伝達する。
3. 医師・看護師・薬剤師・栄養士など医療従事者へ、葉酸情報を繰り返し提供することが肝要である。
4. 母子健康手帳に葉酸情報が記載されている。しかしこの手帳が妊婦の手元に届くのは妊娠 10 週前後と、神経管閉鎖障害の発症を防止するには遅すぎる。したがって母子健康手帳がより早期に妊婦へ支給できる対策を考慮しなければならない。
5. 妊娠を計画する女性が葉酸サプリメントを必要とする場合には、これを無償で入手

できるシステムを構築するべきである。

6. てんかんに罹患する女性が妊娠を計画・希望する場合には、抗てんかん薬を単剤とし、葉酸を1日2-3 mg 併用して内服するべきである。この情報を関係する医療機関と患者会へ提供し、更に母子健康手帳に記載するべきである。
7. 現在、日本産婦人科医会に所属する「外表奇形等統計調査」の機構を刷新し、より多くの先天性奇形の情報が集められるシステムを構築・創設することが望まれる。
8. 妊娠前の女性へ葉酸の大切さを学校現場から伝達する。教諭の研修を通して、または教員の免許更新に伴う講習会において、葉酸の大切さを伝達する必要がある。

研究分担者氏名・研究機関名・職名

福田博美：愛知教育大学教育学部養護教育講座・准教授

松尾拓哉：近畿大学医学部医療情報システムセンター・講師

篠崎圭子：川崎医療福祉大学医療技術学部臨床栄養学・助教

A. 研究目的

1991年に英国から報告された無作為比較試験により、葉酸が神経管閉鎖障害の再発を72%防止する効果を有することが判明した(Lancet 1991)。しかし本邦における葉酸サプリメントの有効性は不明のままである。厚生労働省が2000年に妊娠を計画する女性は、神経管閉鎖障害の発生リスクを低くするために葉酸サプリメントを1日400 μ g内服するよう勧告した。しかし二分脊椎の発生率は低下せず、2009年のそれは6.2/分婭10,000件と史上最悪であった(日本産婦人科医会・外表奇形等統計調査)。このような状況を打破するために、二分脊椎の予防指針を立案し、二分脊椎患児の発生数を減少させるため今回の臨床研究を実施した。

B. 研究方法

- ① 二分脊椎の病因を探索するため、

症例対照研究(case-control study)を実施した。2001年1月から2011年にかけて二分脊椎患児を出産した母親311名、同じ時期に健常な新生児を出産した母親1334名をリクルートした。前者は日本二分脊椎症協会(患者団体)と日本二分脊椎研究会の協力を、後者は全国の産婦人科医250名の協力を得て実施した。アンケート調査票には、従来から二分脊椎の病因と報告されている12の要因(疾病、ライフスタイル)について尋ねた。

② MTHFR(メチルテトラヒドロ葉酸還元酵素)遺伝子多型(677TT=ホモ接合体遺伝子)が二分脊椎の発生因子となりうるか、患者の母親115名で実施した。

③ 妊婦169名から食事記録票を回収して、食事性葉酸摂取量(食事からの葉酸摂取量)を調査した。妊婦1103名からアンケート調査票を回収して彼

らのライフスタイルを検討した。

④ 葉酸の役割に関する情報を国民と関係者へ提供するため、インターネット上にホームページを開設した。さらに葉酸情報を直接に発信するため、全国 13 都道府県で開催された日本二分脊椎症協会の支部交流会/サマーキャンプ/療育相談会に能動的に参加し、葉酸情報を提供した。

⑤ 教育の現場において、葉酸に関する教育がどのように実施できるか調査した。第 58 回日本学校保健学会（平成 23 年 11 月）のランチョンセミナーへの出席者を対象としてアンケート調査をした。全国の中学校 1000 校、高等学校 1000 校へアンケート調査票と共にポスターを送付し、葉酸教育を実施している学校の割合、教育方法などについて調査した。

⑥ 大学・専門学校の学生（大多数は結婚前の若い女性）を対象として、栄養バランス、葉酸の存在、葉酸と神経管閉鎖障害との関連を承知しているか調査した。食事摂取頻度表を用いて、食事性葉酸摂取量を調査した。

⑦ 若い女性の MTHFR の遺伝子多型を調査し、これら対象者に葉酸サプリメント（480 μ g/日）またはプラシボ錠を 16 週間内服させ、その血中濃度の変化を継続的に調査した。

<<倫理面への配慮>> すべての研究において、「研究への参加は任意であり、参加しなくとも又は途中で不参加を表明しても不利益を被らないこと。得られた個人情報 は 厳重に保管し、研究データとしてのみ使用

する」旨を明記した。遺伝子多型の検査では、その目的と方法を詳細に説明し、インフォームドコンセントを入手した。データは個人が特定されないようコード化して、厳重に保管した。厚生労働省が規程するヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理委員会指針（平成 16 年）を遵守した。各研究者は自らの研究施設の倫理委員会へ研究内容を申請し、認可を得てから研究を開始した。

C. 研究結果

1. 症例対照研究において、ロジスティック回帰分析をおこない二分脊椎との関連を検討した。妊娠初期に葉酸サプリメントを内服していた母親は症例群で僅かに 10.0%、対照群で 15.6%に過ぎなかった。有意な相関は「葉酸サプリメントの非内服」であり、オッズ比は 1.6、95%信頼区間 1.05 - 2.46 であった。「葉酸サプリメントを併用することなく抗てんかん薬 (AED) を内服」することは、 χ^2 検定法 (Fisher の直接法) で二分脊椎の発生と有意に相関した ($p=0.0394$)。

2. 二分脊椎患児を出産した母親の MTHFR 677CT 遺伝子多型の解析をおこない、677CC (野生型接合体遺伝子型) は 46 名 (40%)、677CT (ヘテロ接合体遺伝子型) は 57 名 (49.6%)、677TT (ホモ接合体遺伝子型) は 12 名 (10.4%) であった。この母親の分布状況は本邦で報告されているコントロールのそれと有意差はなかった ($p=0.231$)。677TT の遺伝子多型は二分脊椎の発生とは相関しないことが判明した。

3. 妊婦 169 名の食事からの葉酸摂取量は平均値は 263 μ g/日であり、厚生労働省が報告した妊婦の推奨量 480 μ g/日の 54%に過ぎなかった。葉酸を最も大量に必要とする妊娠前期の摂取量は 258 μ g/日、妊娠中期は 247 μ g/日、後期は 286 μ g/日であった。妊婦 1103 名の内、葉酸認知率（葉酸が妊娠で果たす役割の認知）は 44%、葉酸サプリメント内服率は 62%であった。葉酸情報の入手源は、マスメディア（新聞・雑誌・TV）が最高の 54%、次に医療職の 23%、インターネットの 19%、母子健康手帳の 18%、その他 23%であった（複数回答）。一方、計画的な妊娠は 65%、妊娠を 6 週以内に確認したのは 72%、栄養バランスに留意いた食事は 64%、禁酒は 96%、禁煙は 92%、葉酸情報を若い女性へ伝達することに 98%は賛同した。

4. インターネット上にホームページを開設した。タイトルは「葉酸は赤ちゃんのビタミン」である (URL=<http://yousan-labo.jp>)。このホームページには、葉酸の果たす役割、二分脊椎の発生頻度、妊婦のライフスタイル、二分脊椎を予防するための助言などを掲載した。一方、日本二分脊椎症協会の支部交流会/サマーキャンプへは、平成 23 年 7 月以降 13 か所へ参加した：和歌山県、宮城県、静岡県、宮崎県、岡山県、北九州市、熊本県、長野県、東京都、沖縄県、愛知県、兵庫県、北海道である。これら支部交流会においては、合計約 1000 名の患者・家族と面談し、情報を提供した。医療行政側からの出席者も少数ながらあった。来年度は神奈川県、長崎県、四国地方、中国地方への訪問を予定している。

5. 葉酸の授業をしている教諭は、現時点で極めて少ないのが現状である。教諭養成課程、免許更新時、研修会などで葉酸に関する情報を提供し、葉酸の重要性を学生へ伝えるよう努めたい。また学校現場への視聴覚教材や資料の配布も必要であり、有効である。

6. 女学生の調査によれば、食の意識と葉酸推定摂取量の間に正の相関があった。したがって、葉酸に関する学習機会を増やすことは食生活の内容を改善する点で有効である。学生 220 名の食物頻度調査票を解析したところ、葉酸推定摂取量は平均 210 \pm 91 μ g であり、成人女性の推奨量 240 マイクログラムをほぼ満たす値であった。

7. 若い女性 52 名の MTHFR（メチールテトラヒドロ葉酸還元酵素）の遺伝子多型は、677CC が 19 人（37%）、677CT が 26 人（59%）、677TT（ホモ接合体遺伝子型）13%であった。葉酸サプリメント内服前の血清葉酸濃度基準値は 3–5 ng/ml と低値を示した。しかし葉酸サプリメント（480 μ g/日）を 16 週間内服した介入群では、葉酸濃度は有意に上昇し（15–24ng/ml）、さらにホモ接合体遺伝子型を有する女性でもその値は十分に高値（15.1 \pm 1.9 ng/ml）となった。プラセボ投与群では、血清濃度は有意な変化を示さなかった。

D. 考察

1991 年の英国の無作為比較試験により、葉酸サプリメントが二分脊椎の再発を有意に防止することが判明している。2009 年の二分脊椎の発生率は分娩 10,000 件あ

たり 6.2 となり、過去最悪の値を示した（日本産婦人科医会・外表奇形等統計調査）。それにも関わらず本邦では、コホート研究も症例対照研究などの臨床研究は実施されていない。したがって二分脊椎の病因も不詳のままであり、葉酸サプリメントの有効性も未だ確認されていなかった。今回の症例対照研究により、「葉酸サプリメントを内服しないこと」は、コントロール群に比べて二分脊椎の新生児を懐妊するリスクが 1.6 倍と判明した。また「葉酸を併用しないで抗てんかん薬を内服すること」も二分脊椎の発生リスクの 1 つと判明した。妊婦は食事から充分量の葉酸を摂取していないので、妊娠を計画する女性にとって葉酸サプリメントの内服は必須と言えよう。

MTHFR（メチールテトラヒドロ葉酸還元酵素）の遺伝子多型、677TT（ホモ接合体遺伝子型m）は二分脊椎の発生リスクと報告されているが、本邦の女性ではこの危惧は当てはまらない。ホモ接合体遺伝子型を保有する女性はホモシステイン・メチオニン代謝が阻害され、二分脊椎や心奇形の発症と関連する。しかし、葉酸サプリメントを前もって内服すれば、血清葉酸濃度は十分に高い濃度に到達できることが判明した。

学校教育の現場や研究者によれば、現時点で葉酸に関する教育は殆ど行われていない。養護教諭、栄養教諭、家庭科教諭には、葉酸の授業に前向きに取り組んでいただきたい。葉酸情報は教室からだけでなく、インターネット、マスメディア（TV・新聞・結婚情報誌・料理関連雑誌など）、結婚式場、婚姻届を提出する

役所などからも発信することが有効である。学校で葉酸に関する教育を受けた女学生は、葉酸サプリメントの内服率が上昇し、二分脊椎の発生リスクも低下することが期待できる。インターネット上にホームページを開設し

(<http://yousan-labo.jp/>)、ここから葉酸の役割、二分脊椎の病態、二分脊椎の予防法などについて国民一般へ情報提供をしている。

E. 結論

妊婦が「葉酸サプリメントを内服しない」と「葉酸サプリメントを併用しないで抗てんかん薬を内服する」ことは、二分脊椎の明確なリスク因子である。妊婦が食事から摂取する葉酸量は少なくため、葉酸サプリメントの必要性は極めて高度である。MTHFR（メチールテトラヒドロ葉酸還元酵素）677TT（ホモ接合体遺伝子型）は二分脊椎のリスク因子ではない。しかし677TTの保有者が妊娠を計画する場合には、葉酸サプリメントを内服することが必須である。今回の研究成果に基づき、8項目の勧告案を提示した（研究要旨）。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

Kondo A, Asada Y, Shibata K, Kihira M, Ninomiya K, Suzuki M, et al. Dietary folate intakes and effects of folic acid supplementation on folate concentrations

among Japanese pregnant women. J
Obstet Gynaecol Res 2011;37:331-6.

2.学会発表

1. 第28回日本二分脊椎研究会（平成
23年7月、神戸）

近藤厚生、岡井いくよ、下須賀洋一。妊
婦の葉酸認知率と葉酸サプリメント内
服率：どのように変化しているか？

2. 第28回日本二分脊椎研究会（平成
23年7月、神戸）

岡井いくよ、近藤厚生、下須賀洋一。妊
婦の食事記録票分析：食事性葉酸摂取量
は減少し、サプリメント内服率は増加傾
向

3. 第58回学校保健学会、ランチオン
セミナー（平成23年11月12日、名古
屋市）

近藤厚生、福田博美、松尾拓哉、篠崎
圭子：「葉酸は赤ちゃんの大切なビタミ
ン：学校からの情報伝達・二分脊椎の発
生リスクを低くするために」

4. 第38回日本小児臨床薬理学会。
（2011年11月、滋賀県）

篠崎圭子、口頭発表。

5. 第64回日本産科婦人科学会総会（平
成24年4月13-15日、神戸市）

森川重彦、成田 収、近藤東臣、石川元
春、他：妊婦は食事から葉酸を十分に摂っ
ているか？

6. 第64回日本産科婦人科学会総会（平
成24年4月13-15日、神戸市）

石田友彦、石郷岡哲郎、島袋 隆、石川
尚武、他：妊婦のアンケート調査：葉酸認
知率と葉酸サプリメント内服率は上昇傾向

を示す

7. 第64回日本産科婦人科学会総会（平
成24年4月13-15日、神戸市）

熊坂諒大、和田潤郎、大澤淑子、荒川正
人、他：妊婦の葉酸認知率、葉酸サプリメ
ント内服率、食事性葉酸摂取量：地域差は
あるか？（平成24年4月13-15日、神戸
市）

8. 第66回日本栄養・食糧学会大会、
（2012年5月19日、仙台市）

松尾拓哉：食生活意識と葉酸の認知

9. 第29回日本二分脊椎研究会（平成
24年6月30日、千葉市）

近藤厚生、岡井いくよ、福田博美、松尾
拓哉、篠崎圭子：症例対照研究による神
経管閉鎖障害の病因探索：アンケート調
査によるデータ解析。

10. 第29回日本二分脊椎研究会（平成
24年6月30日、千葉市）

岡井いくよ、近藤厚生、下須賀洋一：葉
酸認知率、葉酸サプリメント内服率、食
事性葉酸摂取量：妊婦は葉酸必要量を充
足しているか？

11. 松尾拓哉、「微量栄養素と先天異常
についての意識調査（第5報）」：第52
回日本先天異常学会学術集会、2012年
7月6日～8日、発表予定、東京都

12. 第19回日本排尿機能学会、（平成
24年8月28-31日、名古屋市）

松尾拓哉、近藤厚生：症例対照研究によ
る二分脊椎の病因探索：葉酸サプリメン
トは二分脊椎の防止に有効か？

H. 知的所有権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

二分脊椎の病因探索、妊婦のライフスタイルの調査、
MTHFR ホモ接合体遺伝子型の検討、ホームページの作成

研究分担者：近藤厚生 津島リハビリテーション病院院長

研究要旨：

1991年に英国から報告された無作為比較試験により、葉酸が神経管閉鎖障害の再発を72%防止する効果を有することが判明した。しかし本邦における葉酸サプリメントの有効性は不明のままである。症例対照研究により、2つの要因が二分脊椎の発生と有意に相関することが判明した。即ち「葉酸サプリメントの非内服」と「葉酸サプリメントを併用しないで抗てんかん薬を内服する」ことである。前者のオッズ比は1.6であり（95%信頼区間 1.049 - 2.459）、後者は χ^2 検定法（Fisherの直接法）により $p=0.0394$ であった。二分脊椎患児の母親115名のMTHFR（メチールテトラヒドロ葉酸還元酵素）C677Tの遺伝子多型を調査した。677TT（ホモ接合体遺伝子多型）を有することは二分脊椎の発生に相関しないことが判明した。妊婦169名が食事から摂取する葉酸量は平均263 $\mu\text{g}/$ 日と少なく、葉酸を最も必要とする前期の摂取量は僅かに258 $\mu\text{g}/$ 日であり、推奨量（RDA）のわずかに53%に過ぎなかった。妊婦の葉酸サプリメント内服率は60%、葉酸が妊娠に果たす役割を認知していたのは44%、計画的に妊娠したのは65%であった。インターネット上にホームページ（URL=<http://yousan-labo.jp/>）を開設し、妊娠適齢期の女性と国民一般へ葉酸の果たす大切な情報を提供している。葉酸の重要性を周知伝達するために、13都道府県で開催された日本二分脊椎症協会（患者団体）の支部交流会・療育相談会・サマーキャンプなどに参加し、葉酸に関する情報を積極的に発信した。

A.研究目的

1991年に英国で神経管閉鎖障害の子どもを妊娠または分娩した妊婦（ハイリスクグループの母親）を対象として、1日3mgの葉酸サプリメントを投与する無作為比較試験が実施された¹⁾。葉酸サプリメントの内服群はプラシボ群に比較して有意

に神経管閉鎖障害の発生を防止し（相対危険率28%）、神経管閉鎖障害の再発防止効果は72%であった。厚生労働省は2000年に神経管閉鎖障害の発生リスクを低減するために、栄養バランスに留意した食事を摂り、葉酸サプリメントを1日400 μg 内服するよう勧告した²⁾。一方、本邦にお

ける二分脊椎の発生頻度は減少傾向を示さず、2009年には過去最悪の6.2/分娩10,000件であった³⁾。我々が過去10年間継続している研究によれば、葉酸認知率と葉酸サプリメント内服率は徐々に上昇している⁴⁾。二分脊椎は先天性奇形のうち、唯一防止可能な疾患⁵⁾であり、この情報を国民へ伝達して発生率を低下させることは喫緊の課題である。我々の主要な研究目的は二分脊椎の病因探索をして、二分脊椎患児の発生率を減少させることである。

B.対象と方法

(1) 症例対照研究：症例群は平成13年から23年(2001-2011年)の期間に、二分脊椎の患児を出産した母親331である。対照群は同じ期間に健常な新生児を出産した母親1334名である。前者は日本二分脊椎症協会(患者団体)と日本二分脊椎研究会の、後者は全国の産婦人科医250名の協力を得てデータを収集した。質問事項は二分脊椎のリスク因子と称せられる病態・疾病・ライフスタイルなど12項目である^{6,7)}。すなわち葉酸が妊娠で果たす大切な役割を認知していたか(葉酸認知率)、計画的妊娠か、葉酸サプリメントを妊娠前1カ月から妊娠3ヵ月まで内服したか、栄養バランスに留意した食事、喫煙、抗てんかん薬を単独服用または葉酸サプリメントと併用していたか、肥満の有無(BMI=>30)、糖尿病、妊娠前期に高熱にかかったか、高温サウナ、不妊治療、親族内に二分脊椎患者がいるかである。症例群と対照群の出産時年齢は各々30.8歳と31.6歳、BMIは各々21.1と

20.9であった。

(2) 二分脊椎の患児を出産した母親115名から血液提供を受け、MTHFR(メチルテトラヒドロ葉酸還元酵素)677TTの遺伝子多型を調査した。平均年齢は39.9歳であった。

(3) 妊婦の食事性葉酸摂取量を検討するために、産婦人科250名の協力下に食事記録票を配布し、169名からデータを回収した。妊婦は3日間にわたり食事・間食・飲物などを半定量的に記載した。このデータを研究班員の篠崎圭子(管理栄養士)がコンピューターソフトを使用して解析した(らくらく栄養相談6、夢工房)。妊婦には、得られたデータをフィードバックした。妊婦の平均年齢は31.5歳(標準偏差5.0)、サプリメント内服者115名、BMI22.3、妊娠初期の妊婦が53名、中期が63名、後期が53名であった。

(4) 妊婦のライフスタイル調査。産婦人科医250名の協力でアンケート調査票を配布し、1105名からデータを回収した。年齢は10歳代+20歳代が40%、30歳代+40歳代が60%、学歴は低学歴(中学校/高校卒)が28%、高学歴(短大/専門学校以上)が51%、不詳が21%であった。

(5) 葉酸の生理作用、葉酸が妊娠に果たす大切な情報を発信するため、インターネット上にホームページを作成した。

(6) 症例対照研究およびMTHFR遺伝子多型の検査に協力して、調査情報と検査資料を提供した協力者には、薄謝を進呈した。全ての研究において、「研究への参加は任意であり、参加しなくとも又は途中で不参加を表明しても不利益を被らないこと、得られた個人情報 は 厳重に保管

し、研究データとしてのみ使用することを明記した。遺伝子多型の検査では、その目的と方法を詳細に説明し、インフォームドコンセントを取得し、データは厳重に保管した。データは個人が特定されないようコード化した。厚生労働省が規程する倫理規定を厳重に順守した。

C 研究結果

- (1) 症例対照研究において、ロジスティック回帰分析をおこない二分脊椎との相関を検討した (表 1)。妊娠初

期に葉酸サプリメントを内服していた母親は症例群で僅かに 10.0%、対照群で 15.6%に過ぎなかった。有意な相関は「葉酸サプリメントの非内服」であり、オッズ比は 1.6、95%信頼区間 1.05 - 2.46 であった。「親族に二分脊椎患者がいる」ことは相関する傾向を示した ($p=0.10$)。「葉酸サプリメントを併用することなく抗てんかん薬 (AED)を内服」することは、 χ^2 検定法 (Fisher の直接法)で二分脊椎の発生と有意に相関した ($p=0.0394$) であった。

	p-value	症例群	対照群	オッズ比	95%信頼区間	
サプリメント内服 (+)		33	208			
内服 (-)	0.009	298	1126	1.606	1.049	2.459
親族に患者なし		327	1329			
患者あり	0.100	4	5	3.213	0.797	12.95
AED 内服 (-)		292	1334			
葉酸サプリなし、AED 内服 (+)		2	0			

表 1: リスク要因とロジスティック回帰分析の結果。

- (2) 二分脊椎の患児を出産した母親の MTHFR 677CT 遺伝子多型の解析をおこなった (表 2)。677CC (野生型接合体遺伝子型) は 46 名 (40%)、677CT (ヘテロ接合体遺伝子型) は 57 名 (49.6%)、677TT (ホモ接合体遺伝子型) は 12 名 (10.4%) であった。この遺伝子多型の分布状況は Iida ら⁸⁾が検

討した本邦の分布 (2007 年と 2008 年に発表された 4 論文の 2029 名) と比較したが、有意差はなかった ($p=0.231$)。677TT の遺伝子多型は二分脊椎の発生とは相関しないことが判明した (表 2)。

	MTHFR 677 CC	MTHFR 677 CT	MTHFR 677 TT
母親 115 名	46 (40%)	57(49.6%)	12 (10.4%)
対照群 ⁸⁾ (n=2029)	733 (36.1%)	964 (48.5%)	332 (16.4%)

表 2：二分脊椎患児を出産した母親の遺伝子多型分析。χ² 検定法で p=0.231

(3) 妊婦 1103 名のライフスタイルをアンケート調査で検討した。葉酸認知率は 44%、葉酸サプリメント内服率は 62% であった。図 1 はこれらを過去のデータと共に示しており、2002 年から徐々に上昇していることが分かる。葉酸情報の入手源は、マスメディア（新聞・雑誌・TV）が最高の 54%、次に医療職の 23%、インターネットの 19%、

母子健康手帳の 18%、その他 23% であった（複数回答）。一方、計画的な妊娠は 65%、妊娠を 6 週以内に確認したのは 72%、栄養バランスに留意した食事は 64%、禁酒は 96%、禁煙は 92%、葉酸情報を若い女性へ伝達することに 98% は賛同した。これら 6 要因の値は過去 10 年の間ほとんど不変である。

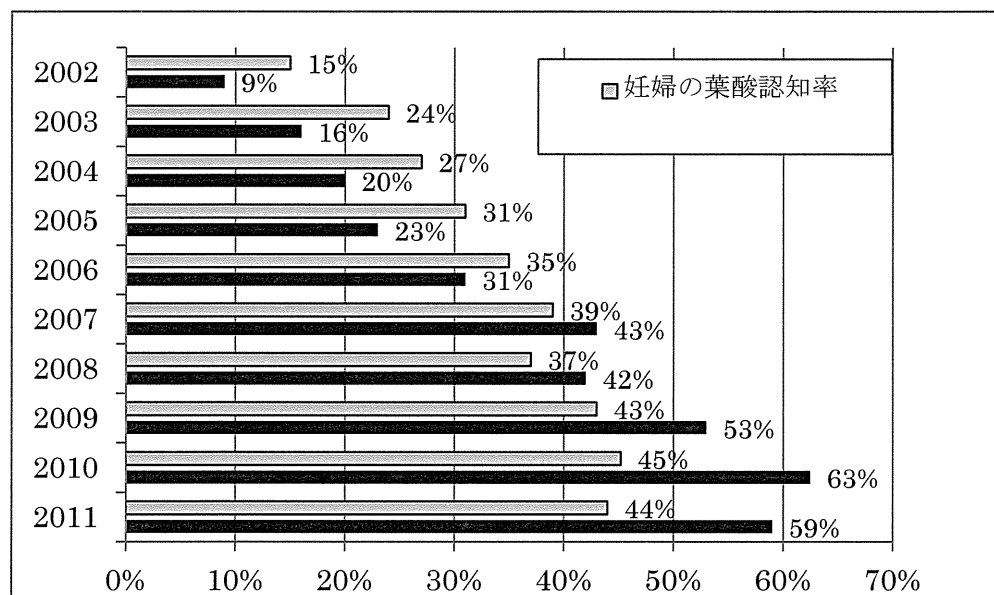


図 1：葉酸認知率と葉酸サプリメント内服率は年々上昇している。

(4) 食事記録票を妊婦 169 名から回収し、葉酸摂取量を日本食品標準成分表に基づき解析した。妊婦全体の平均値は 263μg/

日であり、厚生労働省が報告した妊婦の推奨量 480μg/日⁹⁾ の 54% に過ぎなかった。葉酸を最も大量に必要とする妊娠前期の

摂取量は 258 μ g/日、妊娠中期は 247 μ g/日、後期は 286 μ g/日であった。図 2 は 2003 年から 2011 年までの食事性葉酸摂取量の推

移を示しているが、摂取量は減少傾向を示している。

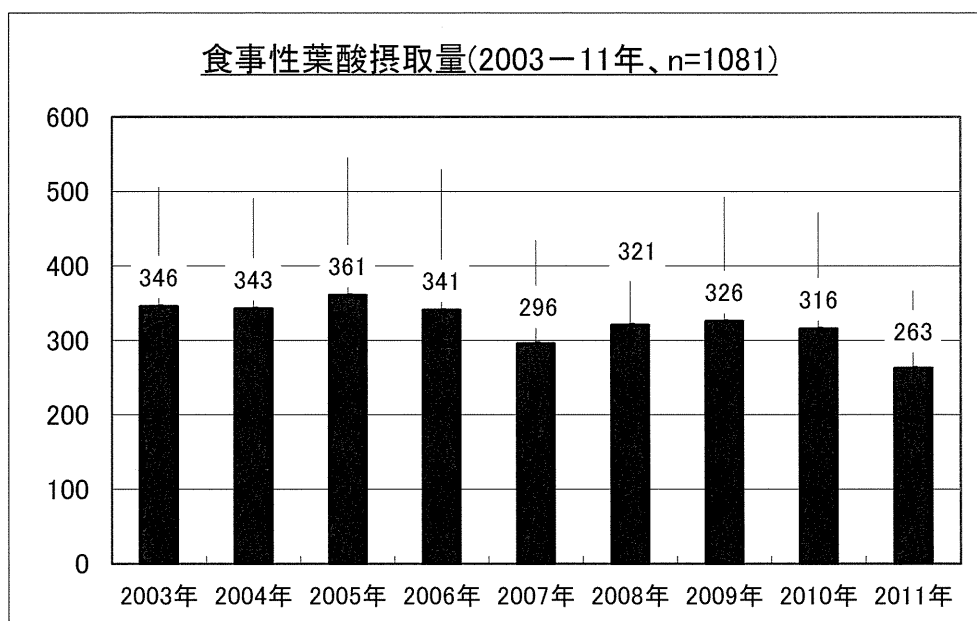


図 2：食事性葉酸摂取量は近年減少傾向を示している。

(5) 2011 年 11 月にインターネット上にホームページ(web site)を開設した (<http://yousan-labo.jp/>)。このウェブサイトを通して葉酸の役割、二分脊椎の病態と病因、二分脊椎の予防法などについて国民一般へ情報提供をしている。この他日本二分脊椎症協会(患者団体)の 13 支部が開催した支部交流会・サマーキャンプ・療育相談会などに能動的に参加して、葉酸に関する重要な情報を提供した。出席した地域は和歌山県、宮城県、静岡県、宮崎県、岡山県、北九州市、熊本県、長野県、東京都、沖縄県、愛知県、兵庫県、北海道である。面会した人数は約 1000 名におよび、地方自治体の医療関係者も数十名含まれる。

D 考察

二分脊椎の病因： 本邦で二分脊椎の発生病因を臨床的に検討・解明した論文は無い。この理由は先天性奇形を調査・登録するシステムの不備、プライバシーの過剰な保護意識、関係者の関心不足、患者家族との意志の疎通不足などが関与していると推測する。先天性奇形のうち二分脊椎は唯一予防可能な疾患¹⁰⁾と言われ、20 世紀に成果を挙げたポリオの根絶と同様にその抜本的対応策が喧しく論じられている¹¹⁾。従来から報告されている病因は、栄養的因子、環境因子、遺伝子因子などがある。今回の症例対照研究により、葉酸サプリメントを内服しない女性は、コントロール群に比べて 1.6 倍の発生リ

スクを有することが判明した。2000年に厚生労働省が発表した葉酸サプリメントに関する勧告内容の妥当性が、立証されたことになる。

二分脊椎患児の母親の葉酸サプリメントを内服率はどれほどであるか？我々の調査では症例群が10.0% (33/301名)、対照群が15.6% (208/1334名)であった。スイスの調査によれば、内服率は5.0% (神経管閉鎖障害児母親140名中の7名)で本邦の半分であった¹²⁾。一方米国では症例群の内服率は25.2% (97/385名)、対照群のそれは26.1% (965/3691名)であった¹³⁾。本邦の2.5倍の女性が内服している。これら2群間に有意差がない理由は、国民全員が葉酸添加食品から葉酸を摂取しているので、葉酸に感受性を有する二分脊椎の患者がいなくなったと考察されている。本邦においては葉酸サプリメントは二分脊椎の発生リスクを低減するので、今後ともその内服率を高めることが肝要である。米国(140 μ g/100g)とカナダ(150 μ g/100g)では、1998年に穀類への葉酸添加が法律で義務付けられた¹⁴⁾。現在では40カ国以上の国々で葉酸強化食品が提供されている。葉酸が添加されて以降、神経管閉鎖障害の発生率は確実に減少したことが報告されている。例えば、米国では50%¹⁵⁾、カナダでは46%¹⁶⁾、チリでは43%¹⁷⁾、南アフリカでは30.5%¹⁸⁾などである。我々はこの思い切った政策にも充分注意を払うべきであろう。

抗てんかん薬は葉酸の代謝障害を惹起し、血中葉酸濃度を低下させ、血中ホモシステイン濃度を上昇させる。抗てんか

ん薬の種類が増えると共に先天性奇形の発生リスクは上昇することが知られている¹⁹⁾、²⁰⁾。「日本神経学会

(<http://www.neurology-jp.org/>)」は妊娠の可能性のあるてんかん患者への対応を、ホームページに掲載し、妊娠前から葉酸の補充(0.4mg/日)を勧めている。一方「日本てんかん学会

(<http://square.umin.ac.jp/jes/>)」は、てんかんを持つ妊娠可能年齢の女性に対する薬剤の選択基準とともに、葉酸の補充をおこなうことを推奨している。しかし必要とする葉酸サプリメントの容量に触れていないのは、遺憾である。カナダ産婦人科学会のガイドライン²¹⁾は、一般女性は葉酸サプリメントを0.4 - 1.0 mg/日、ハイリスク群の女性は葉酸を4.0 - 5.0 mg/日内服するよう明快に述べている。我々が経験した症例群の2例は、残念ながら葉酸サプリメントを併用しないで抗てんかん薬を内服して二分脊椎が発症した。一方、対照群1334名中の2名は、葉酸サプリメントと抗てんかん薬を併用し、健常な新生児を分娩したと述べている。妊娠前からの葉酸補充の有効性は明らかである。妊娠を希望するてんかん女性の主治医は、抗てんかん薬を可及的に単剤とし、葉酸(フォリアミン)1-2 mg/日を同時に処方することが望まれる²²⁾。今回の調査では、糖尿病²³⁾、喫煙²⁴⁾、高熱発作²⁵⁾、高温サウナ、肥満²⁶⁾、不妊治療²⁷⁾、親族内の患者(遺伝子要因)²⁸⁾などは二分脊椎の発症と関連しなかった。しかし今後より多数例を解析する機会ができれば、幾つかの責任因子が本邦症例でも見つかる可能性はある。

遺伝子多型：諸外国では MTHFR（メチルテトラヒドロ葉酸還元酵素）のホモ接合体遺伝子型を有する女性は、二分脊椎のリスク因子であると報告されている²⁹⁾。Kirke ら³⁰⁾ はアイルランドの二分脊椎患者 395 名とコントロール 848 名で、MTHFR の遺伝子多型を測定した。ヘテロ+ホモ接合体遺伝子型の割合はコントロール群に比べて有意に高率であり、これら遺伝子多型が二分脊椎の 26% の発生に関与していると述べている。一方我々は、この因子は本邦の二分脊椎の発生には関連しないことを示した。興味深いことにブラジルにおいても、この遺伝子多型は二分脊椎の発生リスクではないと報告されている³¹⁾。MTHFR の遺伝子多型の分布は人種・民族間で大きな相違を示すことものである。

妊婦のライフスタイル：葉酸の認知率と葉酸サプリメント内服率は、各々 44% と 62% であった。図 1 は 10 年前からの推移を示しているが、2007 年以降はサプリメント内服率が認知率を凌駕するようになった。これら妊婦の多くは葉酸の正確な知識を持たないまま、周囲の同僚・友人などに勧められて内服していることを示唆するものである。65% の妊婦が計画的に妊娠しており、この数字を反映して 72% が妊娠 6 週以内に妊娠を確認している。したがって仮に妊婦の 65% が妊娠で果たす葉酸の大切な役割を承知していれば、妊娠前から葉酸サプリメントを内服するはずであり、その結果二分脊椎の発生頻度も低下すると推測できる。共同研

究者の松尾³²⁾ が示すように、学生の葉酸の認知率は、葉酸に関する指導・教育を受けた後に上昇することが判明した。したがって高校・短大・専門学校・大学などで葉酸に関する情報を若い女性に提供する機会を設けることが肝要である。禁酒・禁煙を守る妊婦は 90% 以上であり、胎児を慮る母親の行動は素晴らしいものである。

食事性葉酸摂取量：食事記録票は妊婦 169 名から回収し、日本食品標準成分表に基づき解析した。食事性葉酸摂取量は 1 日平均 $266 \pm 104 \mu\text{g}$ であり、厚生労働省の推奨量（Recommended Dietary Allowance, RDA） $480 \mu\text{g}/\text{日}$ には約 $200 \mu\text{g}$ も不足していた。図 2 は 2003 年以降の食事性葉酸摂取量を表すが、2010 年から 2011 年にかけて右肩下がりとなり、摂取量は減少している。厚生労働省は栄養バランスに留意した食事を推奨しているが、現実的には妊婦が食事から十分な葉酸量を摂取することは、不可能に近いと言えよう。したがってこの不足分を埋めるためにも、妊娠を計画する女性が葉酸サプリメントを内服することは必須である。本邦での妊婦の食事性葉酸摂取量は、中埜ら³³⁾ が 3 日間の食事記録票と写真撮影法を併用して調査している（2001 年データ）。妊娠前期 ($n=100$) の食事性葉酸摂取量は $336 \mu\text{g}/\text{日}$ 、中期 ($n=96$) は $376 \mu\text{g}/\text{日}$ 、後期 ($n=97$) は $363 \mu\text{g}/\text{日}$ であった。我々が報告した 2003 年、2004 年の調査データ（図 2）とほぼ等しい摂取量である。Takimoto ら³⁴⁾ は妊婦の食事記録票から食事性葉酸摂取量を測定した（2001-2003 年データ）。

妊娠前期(n=51)の食事性葉酸摂取量は276 µg/日、中期 (n=77) は 284 µg/日、後期 (n=82) は 271µg/日であり、中絶らのそれよりも 60-90 µg/日少なく、2011年に我々が測定した値とほぼ同じである。

ウェブサイトの開設: 2011年11月にインターネット上にウェブサイトを開設した。葉酸に関するサイトの多くは製薬会社、販売業者が開設者であることが多い。公的、非営利形態のサイトとしては、我々の葉酸普及研究会

(<http://yousan-labo.jp/>)、葉酸情報のページ(国立保健医療科学院。

<http://www.niph.go.jp/soshiki/shogai/yousan/>)、葉酸 Wikipedia (<http://ja.wikipedia.org/wiki/葉酸>)などが主要なものである。葉酸普及研究会のサイトには、妊娠を計画中の女性へ、二分脊椎とは、葉酸について、葉酸Q&A、葉酸研究会などについての情報を提供している。我々のアンケート調査によれば妊婦の葉酸情報の入手源として、インターネットはマスメディア、医療職に次ぐ3番目であった。現在の若い女性は、いわゆる情報技術 (IT、information technology) を自在に操る能力に長けているので、今後はこの技術を一層活用して大切な情報を提供することが肝要と考える。

「予防に勝る治療はない: An ounce of prevention is worth a pound of cure」・・・この格言に準じて妊娠を計画する女性は葉酸サプリメントを内服して、二分脊椎の発生を防止することが肝要である。

E 結論

症例対照研究により葉酸サプリメントの予防効果が、本邦において初めて確認することが出来た。更に「葉酸サプリメントを併用しないで抗てんかん薬を内服」することは、二分脊椎の重大なリスク要因である。従来から「糖尿病」、「不妊症」、「喫煙」、「肥満」、「高熱発作」、「家族内に患者がいること」、「栄養バランスに留意しない食事」などは二分脊椎の発生リスクに関与すると言われていたが、この事実は認めなかった。更にホモシステイン-メチオニン代謝に関与する

「MTHFR (メチールテトラヒドロ葉酸還元酵素) 677TT(ホモ接合体遺伝子型)」は二分脊椎の発生リスクではないことが判明した。妊婦が食事から摂取する葉酸量は推奨量の54%に過ぎない。

謝辞: 日本二分脊椎症協会の会員と母親、並びに健常な赤ちゃんを出産した全国の母親と妊婦などから貴重な情報を提供して頂いた。これら情報無くして、今回の臨床研究は完成できなかった。日本二分脊椎症協会、日本二分脊椎研究会、日本二分脊椎・水頭症研究振興財団のご協力にも謝意を表明します。

F. 文献

1. MRC vitamin study research group. Prevention of neural tube defects; Results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 9911338:131-37.
2. 厚生省児童家庭局母子保健課長：神経

管閉鎖障害の発症リスク低減のための妊娠可能な年齢の女性等に対する葉酸の摂取に係る適切な情報提供の推進について。厚生省通達・児母第72号、平成12年12月28日

3. 日本産婦人科医会：平成21年度外表奇形等統計調査結果。平成22年11月

4. Kondo A, Asada Y, Shibata K, Kihira M et al. Dietary folate intakes and effects of folic acid supplementation on folate concentrations among Japanese pregnant women. *J Obstet Gynaecol Res* 2011;37:331-6.

5. Bell KN, Oakley GP, Jr. Tracking the prevention of folic acid-preventable spina bifida and anencephaly. *Birth Defects Research (Part A)* 2006;76:654-7.

6. Hall J, Solehdin F. Folic acid for the prevention of congenital anomalies. *Eur J Pediatr* 1998;157:445-50. Botto LD, Moore CA, Khoury MJ, Erickson JD. Neural tube defects. *N Engl J Med* 1999;341:1509-19.

7. Mitchell LE, Adzick NS, Melchionne J, Pasquariello PS, Sutton LN, Whitehead AS. Spina bifida. *Lancet* 2004;364:1885-95.

8. Iida K, Tomita K, Okada R, Kawai S, Morita E, Hishida A, Naito M, Wakai K, Hamajima N. Applicability of allele/genotype frequency from documented controls for case-control studies on genotypes among Japanese: MTHFR C677T as an example. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2009;10:231-6.

9. 厚生労働省。日本人の食事摂取基準

(2010年版)。平成21年、東京

10. Bell KN, Oakley GP, Jr. Tracking the prevention of folic acid-preventable spina bifida and anencephaly. *Birth Defects Research (Part A)*, 2006;76:654-7.

11. Oakley GP, Jr., Bell KN, Brent RL. Bio-monitoring the elimination of folic acid-preventable spina bifida and anencephaly. *Reproductive Toxicology* 2008;25:395-6.

12. Poretti A, Anbeier, Zimmermann R, Boltsbauser E. Neural tube defects in Switzerland from 2001 to 2007: are periconceptional folic acid recommendations being followed? *Swiss Med Wkly* 2008;138:41-42.

13. Mosley BS, Cleves MA, Siega-Riz AM, Shaw GM, Canfield MA, et al. Neural tube defects and maternal folate intake among pregnancies conceived after folic acid fortification in the United States. *Am J Epidemiol* 2009;169:9-17

14. Food and Drug Administration. Food standards: amendment of standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. *Fed Regist* 1996;61:8781-807.

15. Mills JL, Signore C. Neural tube defect rates before and after food fortification with folic acid. *Birth Defects Research (Part A)* 9. 2004;70:844-6.

16. De Wals P, Tairou F, Van Allen M, Uh S-H, Lowry RB, et al. Reduction in neural-tube defects after folic acid fortification in Canada. *N Engl J Med* 2007; 357:135-42.

- 17 Hertrampf E, Cortes F. National food-fortification program with folic acid in Chile. *Food Nutr Bull* 2008;29:S231-7.
- 18 Sayed A-R, Bourne D, Pattinson R, Nixon J, Henderson B. Decline in the prevalence of neural tube defects following folic acid fortification and its cost-benefit in South Africa. *Birth Defects Research (Part A)*. 2008;82:211-6.
19. Kaneko S. Antiepileptic drug therapy and reproductive consequences: functional and morphologic effects. *Reprod Toxicology* 1991;5:179-98.
20. 兼子 直、安井則雄。妊婦のてんかんへの対応。臨床と薬物治療 1995 ; 14 : 51-4.
21. Wilson RD, Genetic committee. The use of folic acid for the prevention of neural tube defects and other congenital anomalies. *JOGC* 2006;138 : 959-73.
22. 近藤厚生、上平 修、小澤秀夫、後藤百万、岡井いくよ。抗てんかん薬と先天性奇形：処方医の認知度調査。日本医事新報 2006 ; 4281 : 67-70.
23. Becerra J, Khoury MJ, Cordero JF, Erickson JD. Diabetes mellitus during pregnancy and the risks for specific birth defects; A population-based case-control study. *Pediatrics* 1990;85:1-9.
24. McDonald SD, Perkins SL, Jodouin CA, Walker MC. Folate levels in pregnant women who smoke: An important gene/environment interaction. *Am J Obstet Gynecol* 2001;187:620-5.
25. Graham JM, Jr., Edwards MJ, Edwards MJ. Teratogen update: Gestational effects of maternal hyperthermia due to febrile illness and resultant patterns of defects in humans. *Teratology* 1998;58:209-21.
26. Watkins ML, Scanlon KS, Mulinare J, Khoury MJ. Is maternal obesity a risk factor for anencephaly and spina bifida? *Epidemiology* 1996; 7:507-512.
27. Hansen M, Bower C, Milne E, de Klerk N, Kurinczuk JJ. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects - a systematic review. *Human reproduction* 2005;20:328-38.
28. Chatkupt S, Skurnick JH, Jaggi M, Mitruka K, Koeningsberger MR, Johnson WG. Study of genetics, epidemiology, and vitamin usage in familial spina bifida in the United State in the 1990s. *Neurology* 1994;44:65-70
29. Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, Lee YJ, Conley MR, Weir DG. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural tube defects, *Lancet* 1995;35:149-51.
30. Kirke PN, Mills JL, Molly AM, Brody LC, O'Leary VB, Daly L, Murray S, et al. Impact of the MTHFR C677T polymorphism on risk of neural tube defects: case-control study, *BMJ* 2004;328:1535-6.
31. Perez ABA, D'Almeida V, Vergani N, de iva AC, de Lima FT, Brunoni D. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): Incidence of mutation C377T and A1298C in Brazilian population and