

受講した学生が、多くの方々に葉酸の重要性を伝えることで二分脊椎児の発生数を減少させるためには、学生教育における数多くの学習機会を設けることが望まれる。

文献

- 1) 厚生省：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関わる適切な情報提供の推進について。児母第72号，健医地生発第78号，2000
- 2) Webpage 近畿大学：学校法人近畿大学個人情報保護に関する基本方針。2009，<http://www.kindai.ac.jp/site/privacy-policy.html> (accessed 30 March 2012).
- 3) Hilton JJ：A comparison of folic acid awareness and intake among young women aged 18-24 years. J Am Acad Nurse Pract 19, 516-522, 2007
- 4) Pöttsch S, Hoyer-Schuschke J, Seelig M, Steinbicker V：Knowledge among young people about folic acid and its importance during pregnancy: a survey in the Federal State of Saxony-Anhalt (Germany). J Appl Genet 47, 187-190, 2006
- 5) 厚生労働省「日本人の食事摂取基準」策定検討会報告書：日本人の食事摂取基準 [2010年版]，2010

F. 研究発表

1. 学会発表

- ① 松尾拓哉、「食生活意識と葉酸の認知」：第66回日本栄養・食糧学会大会、2012年5月19日発表予定、仙台市

- ② 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

G. 知的所有権の取得状況

無し。

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 川崎医療福祉大学医療技術学部臨床栄養学科 助教

研究要旨：

本研究では、若年女性を対象に葉酸代謝に関係する MTHFR (メチルテトラヒドロ葉酸還元酵素) 677T の遺伝子型を調査し、葉酸タブレット摂取により遺伝子型が血中葉酸値にどのような変化を及ぼすか調査することを目的とした。MTHFR 677T 遺伝子型で CC 型の人 は 37%、CT 型の人 は 50%、TT 型の人 は 13% であった。介入群の葉酸タブレット摂取 16 週後の赤血球葉酸値、血清葉酸値は共に、タブレット摂取前と比較してすべての群で有意に高値を示した。赤血球葉酸値は、介入群、対象群共に遺伝子型別による有意な差はみられず、TT 群は CC 群、CT 群と同様の推移で増加した。血清葉酸値は、TT 群が CC 群、CT 群よりも有意に低値を示した。プラシボー錠を投与した群では、16 週後も葉酸濃度に有意な差は認めなかった。

A. 研究目的

神経管閉鎖障害 (NTD) は、妊娠可能年齢にある女性の積極的な葉酸摂取によりその発症が抑制されることが報告されている¹⁻⁴⁾。本研究では、若年女性を対象に葉酸代謝に関係する

Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR, メチルテトラヒドロ葉酸還元酵素) C677T の遺伝子型を調査し、遺伝子型が葉酸タブレット摂取により血中葉酸値にどのような変化を及ぼすか調査することを目的とした。

B. 研究方法

1. 調査対象

川崎医療福祉大学の学生で、20 歳以上

の女子学生 60 名を対象とした。

2. 調査方法

(株)明治、(東京)に依頼して葉酸タブレット (2錠当たりの含有量：葉酸480μg、ビタミンB₆ 2.0μg、ビタミンB₁₂ 2.8μg)、およびプラシボータブレット (2錠当たりの含有量：葉酸 0μg、ビタミンB₆ 2.0μg、ビタミンB₁₂ 2.8μg) を準備した。被検者を無作為に二群へ分け、夕食後に2錠を16週間内服させた。PCR-RFLP法にて MTHFR677T の遺伝子型の測定 (CC型、CT型、TT型：遺伝子多型、以降それぞれ CC群、CT群、TT群) を行った。血液中葉酸値の測定は(株)SRLに依頼し、化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA) で分析した。赤血球葉酸値は、溶血試薬 (株)ベックマ

ンコールター) で溶血させ、分析結果より得られた全血液葉酸値を規定の計算式に準じて、ヘマトクリット値 (%)、及び血清葉酸値から算出した:

赤血球葉酸値ng/ml = {全血液中葉酸値ng/ml × 21 - [血清葉酸値ng/ml × (1 - Ht/100)] / Ht/100}。

血液採取はタブレット摂取前、タブレット摂取4~16週後の計5回行った。タブレットの摂取量は、ボトルに残っているタブレットを全体量(4週間分)から差し引いた量とし、それらを全体量で除した値をコンプライアンス (%) { (4週間分のタブレット - 残っているタブレット) / 4週間分のタブレット } とした。

本研究では、被験者から研究開始前に自由意思による同意を文書により得た。同意撤回書は、研究開始前、研究中でもいつでも止めれることを説明し、同意書と併せて配布した。本研究は川崎医療福祉大学倫理委員会の承認のもと実行した(承認番号:247)。

3. 妊婦が食事から摂取している3大栄養素、ビタミン、ミネラルなどを食事記録票から解析した(らくらく栄養相談6、夢工房)。全国から169名の妊婦が食事記録票を返送してきた。平均年齢は32歳、BMIは22.3、妊娠週は前期53名、中期63名、後期53名、平均22.3週であった。

4. 統計処理

統計解析は、SPSS(Ver.18)を用いた。血液中葉酸値は繰り返しのある二元配置分散分析(General linear models for

repeated measure)を用い、有意水準は5%とした。

5. 個人情報保護指針

血液データや遺伝子解析結果は個人が特定されないようにコード化した。遺伝子解析は、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針(平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)を遵守した。その他個人情報取り扱いは川崎医療福祉大学倫理委員会の方針に従った。

C. 研究結果

1. 遺伝子型の結果

60名中56名が16週間にわたる研究を継続できた。56名中1名は特殊な栄養食品を摂取していたため除外し、その他3名は血中葉酸値が異常値を示し(測定誤差)、またはとタブレット摂取コンプライアンスが80%に達しなかったために除外した。最終的には52名を対象としたデータ解析を行った。MTHFR C677T遺伝子型でCC型の人19人/52人(37%)、CT型の人26人/52人(50%)、TT型の人7人/52人であった。

2. タブレットのコンプライアンス

タブレットの全体のコンプライアンスは91±5%であった。

3. 血液中葉酸値の変化

赤血球葉酸値は、介入群で葉酸摂取前と摂取16週間後を比較すると、各群有意に上昇した(p<0.05)。介入群、対照群共に遺伝子型別による有意な差はみられなかった(表1、図1)。

タブレット摂取前の血清葉酸値は介入群で葉酸摂取前と摂取16週間後を比較

すると、各群有意に上昇した ($p<0.05$)。介入群の全体的な血清葉酸値で、TT 群は CC 群、CT 群よりも有意に低値を示した (それぞれ $p=0.036$ 、 $p=0.017$) (表 2、図 1)。

介入群で赤血球葉酸値では、タブレット摂取 12-16 週はすべての群で有意な増加はみられなかった。血清葉酸値では、CT,TT 群が 8-12 週、12-16 週で有意な増加はみられなかった。

4.妊婦の栄養素摂取量

食事からの葉酸摂取量は平均 263 μ g/日で、推奨値のわずかに 54%に過ぎなかった。主要栄養素、ミネラル、ビタミンなどの値を推奨量と比較すると次のようになる:エネルギー、80%、たんぱく質 118%、脂質 103%、炭水化物 71%、鉄 48%、マグネシウム 71%、カルシウム 75%、ビタミン A 68%、ビタミン B1 74%、ビタミン B2 81%、ビタミン C90%、食物繊維 76%、食塩 114%。図 2 は主要な栄養

素の充足率をグラフで示した。推奨量から 25%以上不足する栄養素は葉酸 (54%)、炭水化物 (71%)、鉄 (48%)、ビタミン A(68%)、ビタミン B1 (74%) であった。

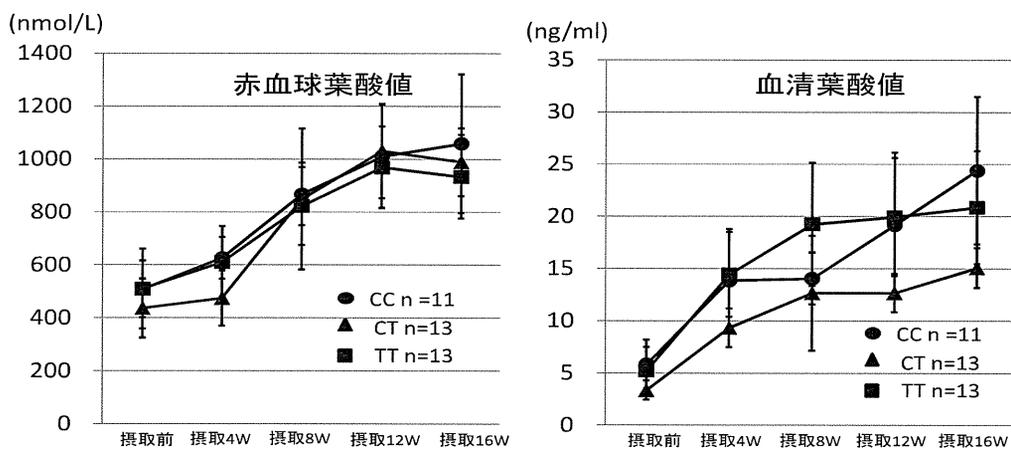


図1 介入群における血液中葉酸値の変化

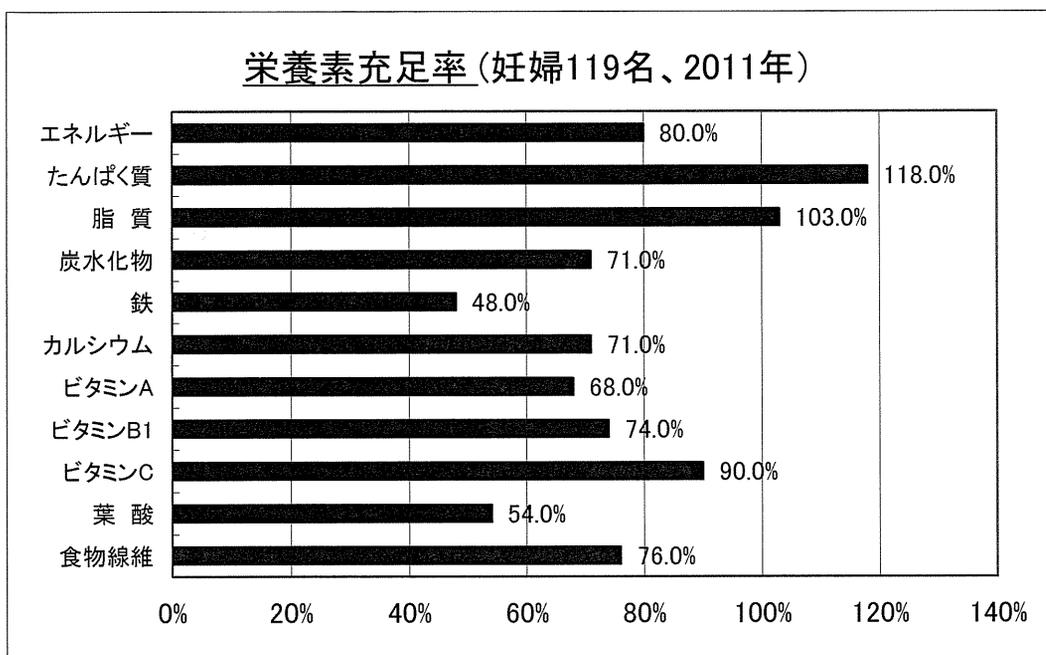


図2：妊婦が摂取する栄養素、ミネラル、ビタミンなどを推奨量の割合で示す。

表1 介入群における赤血球葉酸値の変化

介入群	(nmol/L)				
	摂取前	摂取4週後	摂取8週後	摂取12週後	摂取16週後
CC (n=11)	509 ± 107	626 ± 79	868 ± 118	1011 ± 195	1059 ± 262
CT (n=13)	510 ± 151	611 ± 135	823 ± 147	969 ± 155	934 ± 158
TT (n=4)	437 ± 112	475 ± 104	849 ± 267	1031 ± 178	989 ± 128

対象群	(nmol/L)				
	摂取前	摂取4週後	摂取8週後	摂取12週後	摂取16週後
CC (n=8)	458 ± 106	450 ± 66	481 ± 86	502 ± 92	420 ± 76
CT (n=13)	493 ± 140	479 ± 105	506 ± 109	526 ± 104	483 ± 110
TT (n=3)	550 ± 221	365 ± 124	582 ± 216	597 ± 224	520 ± 254

表2 介入群における血清葉酸値の変化

介入群	(ng/ml)									
	摂取前		摂取4週後		摂取8週後		摂取12週後		摂取16週後	
CC (n=11)	5.8	± 2.4	13.9	± 4.9	14.1	± 2.5	19.2	± 6.9	24.4	± 7.1
CT (n=13)	5.2	± 2.2	14.4	± 4.1	19.3	± 5.9	20.0	± 5.7	20.9	± 5.4
TT (n=4)	3.4	± 0.9	9.3	± 1.8	12.7	± 5.5	12.7	± 1.8	15.1	± 1.9

対象群	(ng/ml)									
	摂取前		摂取4週後		摂取8週後		摂取12週後		摂取16週後	
CC (n=11)	5.3	± 1.0	4.7	± 1.3	4.6	± 1.4	4.9	± 1.3	5.1	± 1.2
CT (n=13)	5.7	± 3.6	4.4	± 2.0	4.4	± 1.5	4.8	± 1.4	4.6	± 1.5
TT (n=4)	3.6	± 1.2	3.9	± 2.4	2.9	± 1.1	3.9	± 1.4	3.3	± 0.9

D. 考察

介入群で、赤血球葉酸値は群間で有意差はみられず、12週目をピークとする各群同様のパターンで増加した。480 μ g/日の葉酸を16週間摂取した場合、遺伝子型による赤血球葉酸値に大きな差はないことが示唆された。北米で目標値とされているNTD予防のための赤血球葉酸値は400ng/ml (906nmol/L) であり⁵⁾、今回の研究では、葉酸摂取12週後にすべての群で平均赤血球葉酸値がそれ以上となった。葉酸480 μ g/日の摂取では、NTD予防のための血中葉酸濃度に達するには約3か月必要であることが推察される。更に、赤血球葉酸値が12週目でピークに達し、それ以降は横ばいを示したことは、他の報告⁶⁾と一致した。

血清葉酸値はCC群、CT群がTT群と比較して有意に高値を示したが、ヒトの

超生理学的過剰レベルが20ng/ml

(45.3nmol/L)と言われており⁷⁾、これ以上は生物活性上余分な葉酸

(unmetabolized folic acid) が血清中に浸出していたことが予想される。米国で目標値とされているNTD予防のための血清葉酸値は15.9ng/mlであり、今回の研究では、葉酸摂取4週後にすべての群で平均血清葉酸値がそれ以上となった。

TT群は、血清葉酸値が他群と比較して低値を示したが、他群と同様の増加パターンで赤血球葉酸値が増加したことから、TT型の人でも葉酸を摂取すればNTD発症予防に期待できる可能性がある。しかしながら、測定方法やサンプル数を増やした更なる検証が必要である。

E. 結論

1. 葉酸480 μ g/日を16週間摂取するこ

とで、遺伝子型にかかわらず、すべての群で血液中葉酸値が増加することが示唆された。遺伝子多型である TT 型群は、CC 群、CT 群と同様の推移で赤血球葉酸値が増加した。

2. 妊婦が食事から摂取している葉酸量は厚生労働省が報告している推奨値のわずかに 54%に過ぎなかった。妊娠を計画する女性は、葉酸サプリメントでこの不足分を補充することが大切である。

文献

1. Smithells RW: Further experience of vitamin supplementation for prevention of neural tube defect recurrences, *Lancet*, 321:1027-1031, 1983
2. MRC Vitamin Study Research Group: Prevention of neural tube defects: Results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet*, 338:131-137, 1991
3. Czeizel AE: Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation, *N Engl J Med*, 327: 1832-1835, 1992
4. Berry RJ: Prevention of neural-tube defects with folic acid in China, *N Engl J Med*, 341:1485-1490, 1999
5. Daly LE : Folate levels and neural tube defects. Implications for prevention, *JAMA*, 274:1698-1702, 1995
6. Patricia Nguen: Steady state folate concentrations achieved with 5

compared with 1.1mg folic acid supplementation among women of childbearing age, *Am J Clin Nutr*, 89,844-852, 2009

7. Dary O: Nutritional interpretation of folic acid interventions, *Nutr Rev*, 67,235-244, 2009 平岡真美
(訳) : 合成葉酸介入の栄養学的解釈. 栄養学レビュー, 66,79-90, 2009

F. 研究発表

1. 学会発表
第 38 回日本小児臨床薬理学会. 口頭発表. 2011 年 11 月. 滋賀

G. 知的所有権の取得状況
無し

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

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 37: 331-336, 2011.

IV. 研究成果の別刷

V. 研究に使用した資料

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

Dietary folate intakes and effects of folic acid supplementation on folate concentrations among Japanese pregnant women

Atsuo Kondo¹, Yoshimasa Asada², Kanemitsu Shibata³, Masamichi Kihira⁴, Keiu Ninomiya⁵, Masatoshi Suzuki⁶, Hidenori Oguchi⁷, Yoshihiko Hayashi⁸, Osamu Narita⁹, Junichiro Watanabe¹⁰ and Yoichi Shimosuka¹¹

¹Department of Urology, Tsushima Rehabilitation Hospital, Tsushima, ²Asada Ladies Clinic, Kasugai, ³Department of Obstetrics and Gynecology, West Medical Center Johoku Municipal Hospital, Nagoya, ⁴St. Rose Clinic, Tsu, ⁵Department of Obstetrics and Gynecology, Kouda Hospital, Aichi, ⁶Wakabadai Clinic, Nagoya, ⁷Department of Obstetrics and Gynecology, Toyota Memorial Hospital, Toyota, ⁸Department of Obstetrics and Gynecology, Municipal Nagahama Hospital, Nagahama, ⁹Department of Obstetrics and Gynecology, Narita Hospital, Nagoya, ¹⁰Department of Obstetrics and Gynecology, Yokohama General Hospital, Yokohama, and ¹¹Department of Obstetrics and Gynecology, Komaki Shimin Hospital, Komaki, Japan

Abstract

Aim: To quantify the consumed amount of dietary folate and to evaluate effects of folic acid and balanced diets on serum folate concentrations.

Material & Methods: Food records collected from 641 pregnant women were assessed to quantify the consumed amount of dietary folate for a 6-year period from 2003 to 2008. Changes in serum folate concentrations were evaluated among 80 pregnant women who either took folic acid tablets or consumed balanced diets in 2008.

Results: Though the dietary folate intake averaged 331 µg daily, 200 women in the 1st trimester consumed the least amount of dietary folate, 294 µg daily. It was observed that 42% of the 200 women either consumed at least 440 µg of dietary folate daily or took 400 µg folic acid supplements daily, but that 58% of them neither consumed dietary folate of 440 µg nor took folic acid supplements. Intakes of 400 µg folic acid supplements for 5 weeks resulted in a significant increase in serum folate concentrations but the consumption of balanced diets had no effect on increasing folate concentrations.

Conclusions: The average intake of dietary folate did not fulfill the Recommended Dietary Allowance of 440 µg. Serum folate concentration significantly increased only among pregnant women who took folic acid supplements. Recommendations to consume balanced diets do not seem effective to decrease the incidence of neural tube defects.

Key words: dietary folate, folate concentrations, folic acid, food records, neural tube defects.

Introduction

In 1991, the Medical Research Council vitamin study research group¹ published details of a landmark randomized controlled trial: they found that a periconcep-

tional intake of 4 mg of folic acid a day prevented the recurrence of neural tube defects in offspring of multiparae by 72%. The effectiveness of folic acid in preventing such defects in the 1st pregnancy was confirmed in Hungarian primiparae² with 800 µg in

Received: January 14 2010.

Accepted: March 31 2010.

Reprint request to: Dr Atsuo Kondo, Department of Urology, Tsushima Rehabilitation Hospital, 1-114 Minami-Shinkai, Tsushima 496-0072, Japan. E-mail: akondo@fj8.so-net.ne.jp

1992 and in Chinese primiparae with 400 µg in 1999.³ In 2000, the Japanese government recommended that young women of reproductive age should eat a well-balanced diet and that women planning to conceive should take folic acid supplements of 400 µg daily in addition to consuming a healthy nutritious diet.⁴ In 2005 the government revised the Recommended Dietary Allowance (RDA) to 440 µg daily for pregnant women.⁵

The aim of our study was to assess how much folate pregnant women consume in their daily diets and to what extent serum folate concentrations actually increase through taking folic acid supplements or consuming folate-rich diets according to the governmental recommendation.

Methods

From 2003 to 2008, over 150 obstetricians/gynecologists selected from the Japan Society of Obstetrics and Gynecology randomly distributed approximately 3100 food records among pregnant women under their care for 4 months (September to December) each year (Table 1). Pregnant women were asked to voluntarily participate by recording their food items as quantitatively as possible with or without using scales for 3 days. The food records collected from 641 women were analyzed in detail regarding the total amount of folate, energy, protein, fat, carbohydrate, vitamins and minerals using a computerized dietary analysis program (Meicook 2005, Yumekobou Ltd, Kobe, Japan) which is based on the 5th edition of the standard tables of food composition in Japan.⁶ The women described their body height, bodyweight, jobs, gestation in weeks, presence of emesis and whether they took folate supplements every day. When a pregnant woman stated that she took folic acid supplements or multivitamins containing folic acid, we presumed the amount to be 400 µg a day. This is because the label on supplement bottles recommends that pregnant women should take 400 µg daily. Analyzed food records were returned to the women and their doctors, so that, if necessary, their dietary behaviors might be improved.

In the second part of the study, 10 obstetricians/gynecologists recruited 83 pregnant women, 30 of whom had taken folic acid supplements and 53 of whom had not taken the supplements. The former were asked to switch to new folic acid tablets and to take 400 µg every day which we provided (group A). The latter were divided into two groups depending on

Table 1 Characteristics of 641 pregnant women who presented food records over a period of 6 years. The proportion who took folic acid supplements increased year after year

Year	Food records collected (n)	Age (SD)	BMI (SD)	Supplement users (%)	Women in 1st trimester (n)	Women in 2nd trimester (n)	Women in 3rd trimester (n)
2003	52	30.8 (4.1)	21.3 (4.1)	5 (9.6)	27	18	7
2004	94	30.6 (4.0)	22.8 (2.7)	32 (34.0)	17	42	35
2005	104	32.2 (4.5)	22.3 (3.7)	29 (27.9)	23	54	27
2006	86	32.1 (4.4)	22.3 (3.2)	33 (38.4)	17	38	31
2007	105	31.2 (4.0)	21.6 (3.6)	51 (48.6)	42	27	36
2008	200	31.0 (4.5)	22.1 (3.3)	86 (43.0)	74	73	53
Total	641	31.3 (4.3)	22.1 (3.3)	236 (36.8)	200	252	189

BMI, body mass index; SD, standard deviation.

Table 2 Characteristic of 80 pregnant women who were assigned to one of the three groups. Statistical difference was not observed in age, BMI and gestation in weeks among the three groups but in the period of intervention between groups B and C ($P = 0.0343$)

Group	Women (n)	Age (SD)	BMI (SD)	Gestation in weeks (SD)	Period of intervention in weeks (SD)
A	28	30.9 (4.7)	22.1 (3.9)	11.0 (5.1)	4.6 (1.0)
B	31	32.9 (4.6)	22.7 (4.0)	10.5 (6.5)	4.5 (0.9)
C	21	30.9 (4.5)	22.9 (3.6)	13.7 (5.4)	5.2 (1.6)
Total	80	31.6 (4.7)	22.6 (3.8)	11.5 (5.8)	4.7 (1.2)

BMI, body mass index, SD: standard deviation.

their preference into either taking supplements 400 μg every day (32 women in group B) or consuming balanced diets every day according to the governmental recommendation (21 women in group C). For those of group C, a registered dietitian or a midwife explained the importance of folate-rich diets using a colored booklet on nutrition. The period of intervention averaged 4.7 weeks (4–9 weeks) and all the women gave written consent before being measured twice for the serum folate concentration prior to and after intervention. At the 2nd blood sampling, the women's compliance was assessed by a questionnaire, which revealed that all of them complied with our instructions with a completeness of 80 to 100%. The serum folate concentration was measured using a chemiluminescent immunoassay method (SRL Inc., Tokyo, Japan).

Definition of the trimesters followed the standard of Japan, that is, the 1st trimester is up to 15 weeks and 6 days, the 2nd trimester covers the period between 16 weeks and 27 weeks and 6 days, and the 3rd trimester is 28 weeks and over. The first study was approved by the Ethics Committee of Tsushima Rehabilitation Hospital and the second one was separately approved by the Ethics Committees of 10 hospitals. Statistical analyses were performed using the chi-squared test and the Mann-Whitney U -test (StatView-J5.0; SAS Institute, Cary, NC). A P -value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

Of the 3100 food recording sheets distributed over the 6-year period of the study, a total of 641 were returned by post in the stamped envelopes provided—a reply rate of 21%. The characteristics of the responders are depicted in Table 1. Their age and BMI averaged 31.3 and 22.1, respectively, and users of folic acid supplements gradually increased year after year, eventually reaching 43% in 2008. Two hundred women (31.2%)

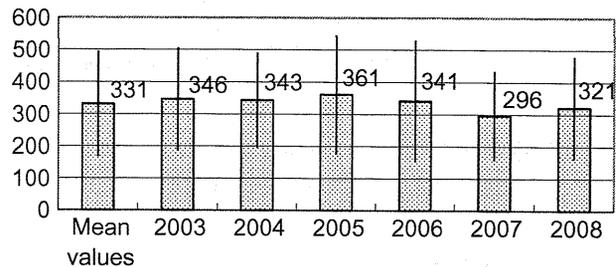


Figure 1 Dietary folate intakes averaged 331 \pm 164 μg a day, varying from 296 \pm 138 in 2007 to 361 \pm 185 in 2005, but the amount consumed never exceeded the Recommended Dietary Allowance of 440 μg a day.

were in the 1st trimester. For the measurement of plasma folate concentrations, 83 pregnant women were originally recruited but 3 dropped out during intervention; 1 woman in group A and 1 in group B suffered intrauterine fetal death and another woman in group A failed to attend the follow-up. Consequently, 80 women completed the study (Table 2); a significant difference was not observed in age, BMI and gestation in weeks among the groups but present only in the period of intervention between groups B and C. Figure 1 illustrates that dietary folate intakes among 641 pregnant women averaged 331 \pm 164 μg a day, varying from 296 \pm 138 μg in 2007 to 361 \pm 185 μg in 2005 with the amount consumed never exceeding the 440 μg of the RDA⁵ per day. Table 3 shows the average intakes of folate, energy, major nutrients, vitamins and minerals among the women in each trimester and all of the values for women in the 1st trimester were significantly less compared to the values in the other trimesters. For instance, folate intakes in the 1st trimester were unexceptional (294 \pm 147 $\mu\text{g/day}$) and were the lowest among the three trimesters. We further evaluated how the 200 women in the 1st trimester consumed folate

Table 3 Average intakes of folate, energy, major nutrients, minerals and vitamins among pregnant women in each trimester. All the values consumed in the 1st trimester were significantly less compared to the other trimesters

	1st trimester	2nd trimester	3rd trimester
Pregnant women (n)	200	252	189
Folate (µg/day)**	294 ± 147	358 ± 181	335 ± 150
Energy (Kcal/day)**	1712 ± 363	1847 ± 336	1856 ± 352
Protein (g/day)**	65 ± 16	72 ± 16	72 ± 18
Fat (g/day)*	57 ± 17	61 ± 16	61 ± 17
Carbohydrate (g/day)**	232 ± 51	247 ± 52	248 ± 48
Calcium (mg/day)**	499 ± 186	590 ± 270	567 ± 202
Iron (mg/day)**	7.1 ± 2.5	8.3 ± 3.3	8.1 ± 2.8
Vitamin A (µgRE/day)**	770 ± 578	1011 ± 765	1035 ± 924
Vitamin B1 (mg/day)*	1.0 ± 4.0	1.0 ± 2.5	1.3 ± 6.3

*P < 0.05; **P < 0.01. RE, retinol equivalents.

Dietary folate & folic acid supplements in the 1st trimester (n = 200)

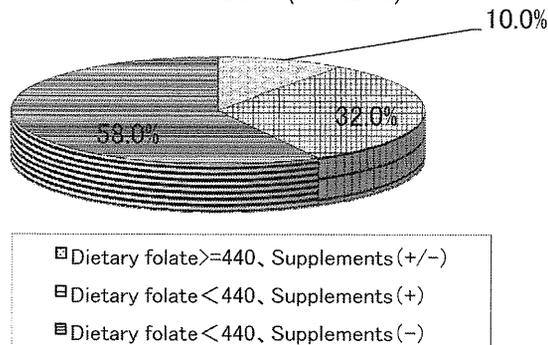


Figure 2 Ten percent of the women in the 1st trimester consumed folate more than the Recommended Dietary Allowance (RDA) of 440 µg a day with or without folic acid supplements, 32% consumed dietary folate less than the RDA but took supplements 400 µg, but 58% neither fulfilled the RDA of dietary folate nor took folic acid supplements.

through diets and/or supplements. Figure 2 shows that 10% of the women consumed an amount of folate greater than the RDA with or without folic acid supplements, that 32% of women consumed dietary folate less than the RDA but took supplements of 400 µg, but that 58% of women took neither 440 µg dietary folate nor 400 µg of supplements.

The intake of supplements in group A and group B (Fig. 3) resulted in an increase in folate concentrations from 15.5 ± 8.9 to 18.3 ± 8.1 ng/mL and from 6.5 ± 2.8 to 14.2 ± 5.7 ng/mL, respectively, and the latter was statistically significant. Women consuming folate-rich diets in group C, however, had a non-significant decrease in folate levels, that is, from 5.6 ± 2.4 to 5.5 ± 2.6 ng/mL.

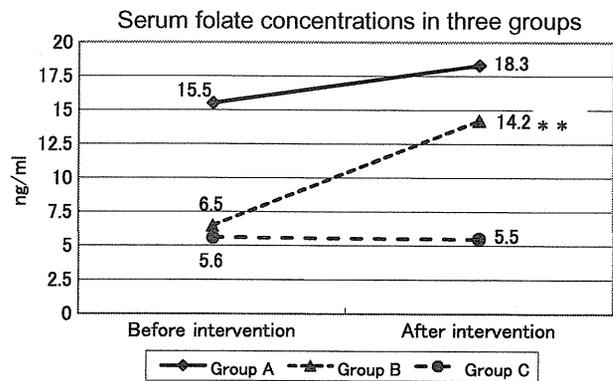


Figure 3 Effects of taking folic acid supplements (group A and B) or consuming folate-rich food (group C) on serum folate concentrations.

Discussion

Neural tube defects occur 4 weeks after conception and other congenital anomalies such as ventricular septal defects and cleft lip with or without cleft palate develop during the period of the 1st trimester. In order to prevent these anomalies, it is essential to take folic acid supplements well before conception and to continue taking these until 12 weeks after conception. In 2008, Oakley *et al.*⁷ stressed that prevention of folic acid-preventable neural tube defects is possible by primary prevention worldwide, similar to the manner in which poliovirus eradication programs have reduced the transmission of poliovirus. Hence, it can be considered that we are in the middle of a 'folic acid revolution' (Godfrey P Oakley Jr, personal communication, 2008) which aims to eradicate neural tube defects by implementing food fortification globally.

Dietary folate intake

We found that the mean intakes of dietary folate among pregnant women did not increase but remained low (below the RDA of 440 µg/day) during the 6-year study period (Fig. 1). This finding is most likely to be related with the fact that the rate of neural tube defects has not significantly decreased during the past decade in Japan.⁸ It was also observed that the 200 pregnant women in their 1st trimester, who were expected to consume the largest amount of folate, actually consumed the least, that is, 294 µg a day (Table 3). Although 42% of the 200 women either consumed dietary folate of the RDA or took folic acid supplements, the remaining 58% neither fulfilled the RDA of dietary folate nor took folic acid supplements (Fig. 2), suggesting that the women of the latter group face a real danger of conceiving fetuses affected with neural tube defects.

In 2005, the Japanese government revised the recommendation regarding folate, such that the RDA for non-pregnant women and pregnant women⁵ should be 240 and 440 µg daily, respectively. Recent studies have revealed that the former fulfilled the RDA but that the latter did not. Namely, the national surveillance on health and nutrition in 2007⁹ revealed that non-pregnant women of their 20s and 30s took dietary folate of 259 and 253 µg/day, respectively. On the other hand, 70 pregnant Japanese women in the 1st trimester¹⁰ consumed 289 µg of folate a day from natural foods, which is comparable to the amount consumed by women in our study. Nakano and Ishii¹¹ assessed the dietary folate intake of pregnant women and reported that the amount was 336 µg/day in the first half of pregnancy and 376 µg/day in the second half. These observations together with our data indicate that it is difficult for pregnant women to consume dietary folate of the RDA, probably because they are ignorant about the important role folic acid plays in the development of fetuses. Another possibility includes that they are unable to eat well-balanced diets due to the severe emesis or are reluctant to change their life styles immediately after becoming pregnant. Therefore, it is mandatory for those who plan to conceive or who are in the first trimester to take folic acid tablets of 400 µg a day.

Changes in the folate concentration

In 1999, Jacques *et al.*¹² observed that among 244 middle-aged and older adults, the mean plasma folate concentration was 4.6 ng/mL prior to the mandatory

food fortification in the US, which then increased to 10.0 ng/mL after fortification. It is to be noted the pre-intervention values observed in our groups B and C are almost the same as that before food fortification reported by the above authors. In our women who took folic acid supplements, folate concentrations increased to 18.3 ng/mL in group A and 14.2 ng/mL in group B, whereas no such increase was observed in those who consumed folate-rich diets (Fig. 3). The likely explanation for this difference lies in the known increased bioavailability of folic acid supplements compared with dietary folate⁴ or simply a failure to consume folate-rich foods every day.

The fact that the advice given to our pregnant women to consume folate-rich foods was completely ineffective in raising folate concentrations (Fig. 3) confirms the observations of three articles previously reported.¹³⁻¹⁵ Consequently, the Japanese government should take into consideration the ineffectiveness of taking dietary folate, strongly recommend taking folic acid tablets and lend support to the decision to fortify rice and wheat flour with folic acid in the near future.

Although 68% of pregnant women in Japan had a planned pregnancy, the proportions of those who were aware of the importance of folic acid and took folic acid were not high, 39% and 43% in 2007, respectively.¹⁶ Consequently, it is desirable that women of childbearing age or pregnant women should receive information on their folate status before conception or at the very first visit to the Obstetrics/Gynecology clinic, because the folate levels do reflect their daily eating habits. There have been three manuscripts since 2005 that reported folate concentrations among pregnant Japanese women: 11.9 ng/mL among 17 pregnant women at 16 weeks of gestation;¹⁷ 10.3 ng/mL among 70 pregnant women in the 1st trimester;¹⁰ and 10.2 ng/mL among 51 pregnant women in the 1st trimester.¹⁸ However, since the women documented in the three articles consumed dietary folate of only 276 to 356 µg a day and a few of them took folic acid supplements, their serum concentrations can not be regarded as the standard value. Consequently, the concentration prior to intervention in our group A (15.5 ng/mL) or the concentration after intervention in our group B (14.2 ng/mL) could be considered as the reference value to be ideally maintained. Herein, we propose that the norm of serum folate concentrations for pregnant women and women planning to conceive should be 15 ng/mL or above.

The findings of this study are subject to two limitations. First, the response rate for returned food records

was low among pregnant women (21%). The women were asked to record all the food items and drinks they consumed as quantitatively as possible. It is probable that the complexity of keeping a food record and the time required to fill the record sheet might have hampered the willingness of these women to complete it. Therefore, the results might be representative of only those with sufficient motivation in Japan. Second, 53 women were not randomly assigned into either group B or group C in order to measure folate concentrations. This is because the majority of the obstetricians/gynecologists stated that their women, from an ethical point of view, should themselves be able to state their preference. We do not know whether this selection bias affected changes in the folate concentrations in either of the groups.

Acknowledgments

The present study was supported by the Research Grants (14A-4 and 17A-6) for Nervous and Mental Disorders from the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan, and the Japan Spina Bifida and Hydrocephalus Research Foundation from 2003 to 2006. We thank obstetricians/gynecologists for distributing food records and registered dietitians for analyzing food records.

References

1. MRC vitamin study research group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 1991; **338**: 131–137.
2. Czeizel AE, Dudas I. Prevention of the first occurrence of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med* 1992; **327**: 1832–1835.
3. Berry RJ, Li Z, Erickson JD *et al.* Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. *N Engl J Med* 1999; **341**: 1485–1490.
4. The Ministry of Health and Welfare of Japan. Information on consumption of folic acid in order to reduce children afflicted with neural tube defects to women of childbearing age (in Japanese). Tokyo, 2000.
5. The Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Dietary reference intakes for Japanese, 2005 (In Japanese). Daichi Shuppan, Tokyo, 2005.
6. The Resources Council, Science and Technology Agency. The 5th standard tables of food composition in Japan (In Japanese). Tokyo, 2000.
7. Oakley GP Jr, Bell KN, Brent RL. Bio-monitoring the elimination of folic acid-preventable spina bifida and anencephaly. *Reprod Toxicol* 2008; **25**: 395–396.
8. International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research. Annual report 2008 with data for 2006. 2008. [Cited Dec 2009] Available from URL: <http://www.megaupload.com/?d=LMOZWKKG>
9. The Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. The Japanese national census on health and nutrition (In Japanese). 2007. [Cited Jun 2009] Available from URL: <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2008/12/dl/h1225-5d.pdf>
10. Mito N, Takimoto H, Umegaki K *et al.* Folate intakes and folate biomarker profiles of pregnant Japanese women in the first trimester. *Eur J Clin Nutr* 2007; **61**: 83–90.
11. Nakano T, Ishii K. Dietary survey of Japanese women during pregnancy and lactation (In Japanese). *Jpn J Diet* 2004; **62**: 103–110.
12. Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PWF, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med* 1999; **340**: 1449–1454.
13. Cuskelly GJ, McNulty H, Scott JM. Effect of increasing dietary folate on red-cell folate: implications for prevention of neural tube defects. *Lancet* 1996; **347**: 657–659.
14. Persad VL, Van den Hof MC, Dube JM, Zimmer P. Incidence of open neural tube defects in Nova Scotia after folic acid fortification. *CMAJ* 2002; **167**: 241–245.
15. Botto LD, Lisi A, Robert-Gnansia E *et al.* International retrospective cohort study of neural tube defects in relation to folic acid recommendations: are the recommendations working? *BMJ* 2005; **330**: 571–573.
16. Kondo A, Okai I, Hayakawa C, Shimosuga Y. How to decrease incidence of neural tube defects in Japan. Awareness of a role of folate, intake of folate supplements and dietary folate consumption among pregnant women (2003–2007) (In Japanese). *Vitamin (Japan)* 2009; **83**: 250–255.
17. Kondo A, Kamihira O, Shimosuka Y, Okai I, Gotoh M, Ozawa H. Awareness of the role of folic acid, dietary folate intake and plasma folate concentration in Japan. *JOGR* 2005; **31**: 172–177.
18. Takimoto H, Mito N, Umegaki K *et al.* Relationship between dietary folate intakes, maternal plasma total homocysteine and B-vitamins during pregnancy and fetal growth in Japan. *Eur J Nutr* 2007; **46**: 300–306.

カルテNO. - -

栄養カルテ

●氏名

●生年月日（昭和・平成） 年 月 日

●年齢 歳

●身長 cm

●体重 現在 kg

妊娠前 kg

●現在妊娠 週です

●分娩予定日 平成 年 月 日

●現在の職業 有⇒職種

無

●食事以外（サプリメントや総合ビタミン剤等）

から葉酸を内服していますか？

はい 時々内服しています

はい 毎日内服しています

いいえ 内服したことはありません

いいえ しかし妊娠前期までは内服していました

●栄養カルテ記載日 月 日

● 現在、つわりの為 食欲不振です

●返信を希望する住所を、郵便が届くように詳しくお書きください

〒 -

TEL -

●二分脊椎症（神経管閉鎖障害）の発生防止の為葉酸サプリメント（一日 400 μg）の内服を、強くお勧めします

●あなたの分娩後に赤ちゃんの健康状態についてお尋ねする調査票を、お送りしますのでご協力下さい

	月 日			月 日			月 日		
	献立名	材料名	目方又は目安量	献立名	材料名	目方又は目安量	献立名	材料名	目方又は目安量
朝 食									
昼 食									
夕 食									
間 食									

[アンケート調査票：ライフスタイル調査]

産婦人科外来受診者の皆様

2011年6月

元気で過ごしのこととお慶び申し上げます。

私達は厚生労働省科学研究班として「妊娠と生活習慣・妊娠と葉酸とのかかわり」を調査しています。今回妊娠が判明した女性にアンケート用紙をお渡ししますので、ご協力をお願いします。このアンケートは無記名で任意の調査です。お答えいただいたデータは個人名を伏せて保管し、研究用データとしてのみ使用させていただきます。

赤ちゃんが背中に「こぶ」を持って生まれる先天性奇形があり、これを「二分脊椎」と呼びます。妊娠前から葉酸（ビタミンB群の一つ）を十分に摂取すると、この先天性奇形を持ったベビーの生まれる危険性を低くできます。厚生労働省は「①神経管閉鎖障害（二分脊椎症）の発生リスクを低くするために、妊娠を計画する女性は、妊娠前1ヶ月から妊娠後3ヶ月まで葉酸サプリメントを1日400マイクログラム（=0.4mg）内服する、②過去に二分脊椎の赤ちゃんを妊娠した母親が妊娠を希望する場合は、医師の監督下に葉酸サプリメントの補充が必要」と発表しました（2000年）。

葉酸は赤ちゃんの細胞・臓器が作られる時期に大量に必要であり、女性のビタミンとも呼ばれています。葉酸サプリメントの役割は母子健康手帳にも記載されています。二分脊椎症、口唇・口蓋裂（兔唇）、心臓奇形などの防止にも有効です。二分脊椎症は新生児2,000名に1名の割合で発生し、歩行障害、尿失禁、大便失禁、水頭症などが起こります。二分脊椎は葉酸サプリメントの内服でその半数以上を防止可能です。二分脊椎の原因は葉酸不足だけでなく、抗てんかん薬、糖尿病、肥満、遺伝子異常などが関連することもあります。

（質問受付：電話：0567-23-0120、津島リハビリテーション病院・近藤厚生）

愛知県津島リハビリテーション病院院長

厚生労働省科学研究班主任研究員

近藤 厚生

回答文の文頭の□に、レ印を付けてください。

1. 新生児が背中に「こぶ」を持って生まれる先天性奇形、「二分脊椎」があります。妊娠前から葉酸（ビタミンB群の1つ）を十分に摂取すると、この先天性奇形にかかる赤ちゃんの生まれる危険性を低くできます。この情報を知っていますか？

知っている

⇒どこからこの情報を入手しましたか？

テレビ、 ラジオ、 新聞、 雑誌

医師、 薬剤師、 助産婦、 看護師、 保健師、 栄養士

母子健康手帳、 インターネット、 友人、 その他、

知らない。

2. 妊娠が判明したのは、妊娠何週でしたか？

第 週でした

3. 現在妊娠何週目ですか？

第 週目です

4. 妊娠は計画した妊娠ですか、予定外の妊娠でしたか？

計画妊娠です

予定外の妊娠です

<<裏へつづく>>

[アンケート調査票：二分脊椎病因探索]

症例番号・対照群番号：

アンケート調査にご協力をお願いします。

赤ちゃんが背中に「こぶ」を持って生まれる先天性の病気があり、これを「二分脊椎（にぶんせきつい）」と呼びます。妊娠前から葉酸サプリメント（ビタミンB群の1つ）を十分に内服すると、この赤ちゃんの生まれる危険性（リスク）を低くできます。

アンケート調査の目的は、お母さまのライフスタイルを調査させていただき、二分脊椎の発生リスクを低くする手がかりを掴むことです。これらデータは母子健康手帳に記載され、将来の妊婦に伝達されます。アンケート対象者は、平成13年1月以降に、元気な赤ちゃんを出産されたお母さまです。このアンケート調査（症例対照研究）は津島リハビリテーション病院倫理委員会で承認され、厚生労働省・難治性疾患克服研究事業の一環として実施しています。

この調査は任意の調査であり、参加しなくても不利益を被ることもありません。お答えいただいた大切なデータは、個人名を伏せて厳重に保管し、臨床研究にのみ利用させていただきます。回答していただいた方には、謝礼（クオカード、500円）をお送りします。

お尋ねの点があれば、下記へご連絡ください。

平成23年6月

〒496-0072 愛知県津島市南新開町1-114
津島リハビリテーション病院院長
厚生労働省科学研究・難治性疾患克服研究・主任研究員
近藤 厚生
電話：0567-23-0120

文頭の□に、レ印を付けてください。

- あなたは、平成 年（ 2 年）に（二分脊椎ではない）元気な赤ちゃんを出産されたお母さまです。この妊娠中のライフスタイルについてお尋ねします。
 はい、私はアンケート調査の対象者です
 いいえ、私はアンケート調査の対象ではありません・・・・・・返送不要です
- 妊娠を計画する女性は二分脊椎の発生リスクを低くするために、妊娠1ヵ月前から妊娠3ヵ月まで葉酸サプリメントを1日400マイクログラム内服するよう推奨されています（厚生労働省、2000年）。妊娠する前から、この情報を知っていましたか？
 はい
 いいえ

3. 今回の妊娠は計画した妊娠でしたか、予定外の妊娠でしたか？
- 計画妊娠でした
- 予定外の妊娠でした
4. あなたは妊娠1ヵ月前から妊娠3ヵ月にかけて、葉酸サプリメント、総合ビタミン剤、朝食用シリアル、乳酸飲料（ビフィーネS）、葉酸添加牛乳、ソイジョイ、カロリーメイトなどから、葉酸を摂取していましたか？
- はい、毎日（ほぼ毎日）摂取していました
- いいえ、摂取していませんでした/たまに摂取していました
5. 葉酸は緑黄色野菜・果物・レバーなどに多く含まれています。あなたは妊娠1ヵ月前から妊娠3ヵ月にかけて、栄養バランスに留意した食事を摂取していましたか？
- はい、毎日（ほぼ毎日）栄養バランスに留意していました
- いいえ、栄養バランスに留意しませんでした/たまに留意していました
6. 妊娠中の喫煙は葉酸の吸収を阻害するため、厚生労働省は禁煙を推奨しています。あなたは妊娠1ヵ月前から妊娠3ヵ月にかけて、タバコを吸っていましたか？
- はい、毎日（定期的に）喫煙していました
- いいえ、喫煙していませんでした/たまに喫煙していました
7. 抗てんかん薬は、二分脊椎の発生と強く関連することがあります。あなたは妊娠1ヵ月前から妊娠3ヵ月にかけて、抗てんかん薬を内服していましたか？
- はい、毎日（定期的に）抗てんかん薬だけを内服していました。
- はい、毎日（定期的に）抗てんかん薬と、葉酸製剤（フォリアミン）や葉酸サプリメントを同時に内服していました。
- いいえ、抗てんかん薬は内服していませんでした
8. 母体の高度肥満は、二分脊椎の発生と関連することがあります。妊娠前の体重と身長はどれほどでしたか、記載してください。
- 体重： Kg
- 身長： cm
9. 糖尿病は二分脊椎の発生と関連することがあります。あなたは妊娠1ヵ月前から妊娠3ヵ月にかけて、糖尿病の治療を受けていましたか？
- はい、毎日（ほぼ毎日）インスリン注射をしたり、血糖値を下げる糖尿病薬を内服していました
- いいえ、糖尿病にはかかっていませんでした/食事療法をしていました
10. 高熱発作は二分脊椎と関連することがあります。あなたは妊娠前期（0 - 15 週）において、インフルエンザや扁桃腺炎（へんとうせんえん）などのために高熱が続いたことがありますか？
- はい、39 度以上の高熱が24 時間以上継続しました
- いいえ、高熱発作はありませんでした

