

平成 17 年度厚生労働科学研究費（循環器疾患等総合研究事業）

日本人の食事摂取基準（栄養所要量）の策定に関する研究

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

Ⅱ．主任研究者の報告書

1．UVA 照射が生体中の葉酸量に及ぼす影響

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

我々が 2002 年に行った実験では、ビタミンの摂取量は同じであるのにも関わらず、男性の血清中葉酸値は 15.6 ± 4.6 pmol/mL（平均値 $\pm$ SD, n=10）であるのに対し、女性の血清中葉酸値は 30.2 ± 8.6 pmol/mL（平均値 $\pm$ SD, n=10）であり、男性の方が女性に比べ有意に低い値であった。女性は 3 月に、男性は 8 月に実験を行った。この差異の原因の一つに、男性が夏の紫外線の強い時間帯にランニング・短パンといった露出部の多い格好で野外で活動することが多かったことで、紫外線を多く浴び、血清中の葉酸が壊されたのではないかと考えられた。実際に紫外線により葉酸が壊されるということは以前から言われており、1949 年の論文によると、葉酸は紫外線照射により次々に違う物質に変化すると述べられている。そこで、今回は、紫外線の中でも波長が長く真皮まで到達する UVA（波長 400～320nm）が葉酸を壊すということを確認、日常的に紫外線曝露の多い人に対して葉酸付加の必要性が必要か否かを検討するため実験を行った。葉酸標準溶液に UVA 照射を行うと、約 2 時間で葉酸（プテロイルモノグルタミン酸）とは異なる物質に変化した。ヒトにおいても、2 時間の紫外線曝露により、血清中葉酸値は低下した。

A. 目的

我々は2002年に男女大学生を被験者としたビタミン必要量に関する介入実験を行った¹⁾。この実験では健康な男女大学生それぞれ10名に7日間、当時の栄養所要量に基づいた完全栄養食を摂取させ、8日目の朝に採血を行った。女性は3月1日から3月8日にかけて、男性は8月27日から9月3日にかけて実験を行った。この結果、男性の血清中葉酸値は 15.6 ± 4.6 pmol/mL (平均値 $\pm$ SD)であり、女性の血清中葉酸値 30.2 ± 8.6 pmol/mL (平均値 $\pm$ SD)に比べ有意に低い値であった。これは、男性が夏の紫外線の多い時間帯にランニング・短パンといった露出部の多い格好で野外で活動することが多かったことで、紫外線を多く浴び、血清中の葉酸が壊されたのではないかと考えられた。葉酸は光に対して不安定であり、実際に紫外線照射により葉酸は次々に異なる物質に変化するという報告があり²⁾、UVAは血管中で葉酸を破壊する可能性があるという報告もある^{3,4)}。

そこで、今回は、紫外線の中でも波長が長く真皮まで到達するUVA (波長400～320nm)が葉酸を壊すということを確認、日常的に紫外線曝露の多い人に対して葉酸付加の必要性を有無を検討するため、ヒトの紫外線曝露前後の血清中葉酸値を測定し、比較した。また、葉酸は妊娠可能な若い女性にとっては神経管閉鎖障害の予防⁵⁾など、特に重要となるビタミンであり、積極的な摂取が望まれる⁶⁾。そこで今回は女性のデータを得るため、成人女性を被験者として実験を行った。

B. 実験方法

1. 第一実験 (葉酸標準溶液における UVA

照射実験)

マイクロプレート (SUMITOMO BAKELITE CO., LTD. SUMILON MULTI WELL PLATE MS-8496F 0.4 mL×96 Wells Flat bottom) に 24.5μ M, 49μ M の葉酸 (ブテロイルモノグルタミン酸) 溶液を 300μ l ずつ入れ、照射ボックスの中に入れて紫外線ランプ (365nm) を照射した。ランプからマイクロプレートの距離は10cmとした。紫外線強度計 (UM-10 受光部: UM-360 MINOLTA) を用いて積算量を測定し、120分でのUVA積算量は 2022 mJ/cm^2 であった。そして、30・60・120分の各時間にそれぞれの濃度の葉酸標準溶液を 20μ l 取り出し、HPLCにてクロマトグラフパターンを比較した。

<HPLC 測定条件>

カラム: Chemeosorb7-ODS-L ($4.6 \times 250 \text{ mm}$)

カラム温度: 40°C

流速: 1.0 ml/min

検出器: UV DETECTOR SPD-10Avp

検出方法: 280 nm

オートインジェクター: SIL-10AD

STOP TIME: 15 min

プロセッサー: C-R8A

STOP TIME: 14 min

カラムオーブン: CTO-10A

ポンプ: LC-10AD

(すべて SHIMADZU 製)

2. 第二実験 (ヒトにおける紫外線曝露実験)

(1) 被験者

21歳から24歳の女性9名 (身長 $158.24 \pm 3.95 \text{ cm}$, 体重 $50.74 \pm 8.33 \text{ kg}$, BMI 20.13 ± 2.73) を対象とした。食事は自由食とし、実験開始2日前の朝食から当日の朝食ま

で、毎食後にサプリメント（表 1）を服用させ、血中の葉酸を飽和状態にした。

（2）実験方法

実験日：平成 17 年 9 月 20 日

天候：晴れ時々曇り

方法：照射食前に上腕の静脈から採血を行い、11 時～13 時にタンクトップ姿で 2 時間、野外で紫外線を浴びた。紫外線強度計（UM-10 受光部：UM-250,360,400，MINOLTA）を用いて積算量を測定すると、120 分での紫外線積算量は、波長 400nm（UVA）：56590mJ/cm²，波長 360nm（UVA）：11990mJ/cm²，波長 250nm（UVB）：2297mJ/cm²であった。暴露終了直後に、再び採血を行った。そして暴露前後の葉酸値を比較した。

紫外線暴露前後の血清中葉酸値の測定は三菱化学 BCL に測定を依頼した。測定方法は、CLIA 法である⁷⁾。

C. 結果

1. 第一実験

照射時間と葉酸およびその破壊物のピークの時間、ピークの大きさ（ピーク面積で表示）の変化を図 1 に示した。

葉酸標準溶液の濃度（24.5 μM, 49 μM）に関わらず、ともにほぼ同様なグラフとなった。30 分間の処理では大きな変化が見られなかったが、60 分間になると急激に葉酸のピークが小さくなり、葉酸の破壊物である新しいピーク（FA-D1, FA-D2, FA-D3, FA-D4）が発現した。120 分間になると葉酸のピークはほとんど見られなくなり、新しいピークが大きくなっていった。このことから、UVA はほぼ 120 分間で葉酸を破壊し、異なる物質に変化させることが明らかとな

った。今回の実験で、紫外線により葉酸が壊され、異なる物質に変化するということが改めて確かめられた。

2. 第二実験

図 2 に紫外線暴露前後の血清中葉酸値の変化を示した。暴露前後で有意な差がみられた。すなわち、夏の晴れた昼間に皮膚の露出部の多い姿で 2 時間ほど野外で活動すると、血清中の葉酸が破壊されている可能性が示唆された。

D. 考察

葉酸（プテロイルモノグルタミン酸）標準溶液は UVA 照射 120 分（UVA 照射の積算量は 2022mJ/cm²）で壊され、異なる物質に変化することがわかった。しかし、この新しい生成物が葉酸活性を持つのかどうか確認していないため、今後の研究で確かめる必要がある。

ヒトによる紫外線暴露実験では紫外線暴露前後（波長 400nm（UVA）：56590mJ/cm²）で血清中葉酸値に有意な低下がみられたことから、神経管閉鎖障害のリスクを軽減するためにも、夏場、肌を露出するような格好で出歩く女性には葉酸の付加を推奨する必要があると思われるが、さらに検討を加える予定である。

E. 健康危機情報

特記する情報なし

F. 研究発表

1. 発表論文

なし

1. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許予定

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 引用文献

1. Shibata K, Fukuwatari T, Ohta M, Okamoto H, Watanabe T, Fukui T, Nishimuta M, Totani M, Kimura M, Ohnishi N, Nakashima M, Watanabe F, Miyamoto E, Shigeoka S, Takeda T, Muratani M, Ihara H and Hashizume N. Values of Water-Soluble Vitamins in Blood and Urine of Japanese Young Men and Women Consuming a Semi-Purified Diet Based on the Japanese Dietary Reference Intake. 2005. *J Nutr Sci Vitaminol.*, **51**, 319-328 (2005).
2. Lowry OH, Bessey OA, and Crawford EJ. Photolytic and enzymatic transformations of pteroylmonoglutamic acid. *J Biol Chem.*, **180**, 389-398 (1949).
3. Branda RF, and Eaton JW. Skin color and nutrition photolysis: an evolutionary hypothesis. *Science*, **201**, 625-626 (1978).
4. Gambichler T, Bader A, Sanuermann K, Altmeter P, and Hoffmann K. Serum folate levels after UVA exposure: a two-group parallel randomized controlled trial. *BMC Dermatol*, **1**:8 (2001). This article is available from: <http://biomedcentral.com/1471-5945/1/8>.
5. Emery AE. Folate and fetal central-nervous-system malformations. *Lancet*, Mar 26, 1(8013): 703 (1977).
6. 「神経管閉鎖障害の発祥リスク提言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」, 児母第 72 号, 健医地正発第 78 号, 平成 12 年 12 月 28 日, 厚生省自動家庭局母子保健課長, 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長.
7. 石渡幸久, 遠藤紀子, 池田律子, 安田和人. 全自動化学発光免疫測定装置 ACS-180 を用いた化学発光による血清ビタミン B₁₂ 葉酸の測定. *J JCLA*, 1995. 20: 29-36.

表 1. サプリメント錠組成 1 錠当たり

ビタミン名	一錠中の含量 (mg)
チアミン	0.63
リボフラビン	1.27
ピリドキシン	1.18
ニコチンアミド	18.16
パントテン酸	11.10
プテロイルモノグルタミン酸	0.25
D-ビオチン	0.03
L-アスコルビン酸	33.54

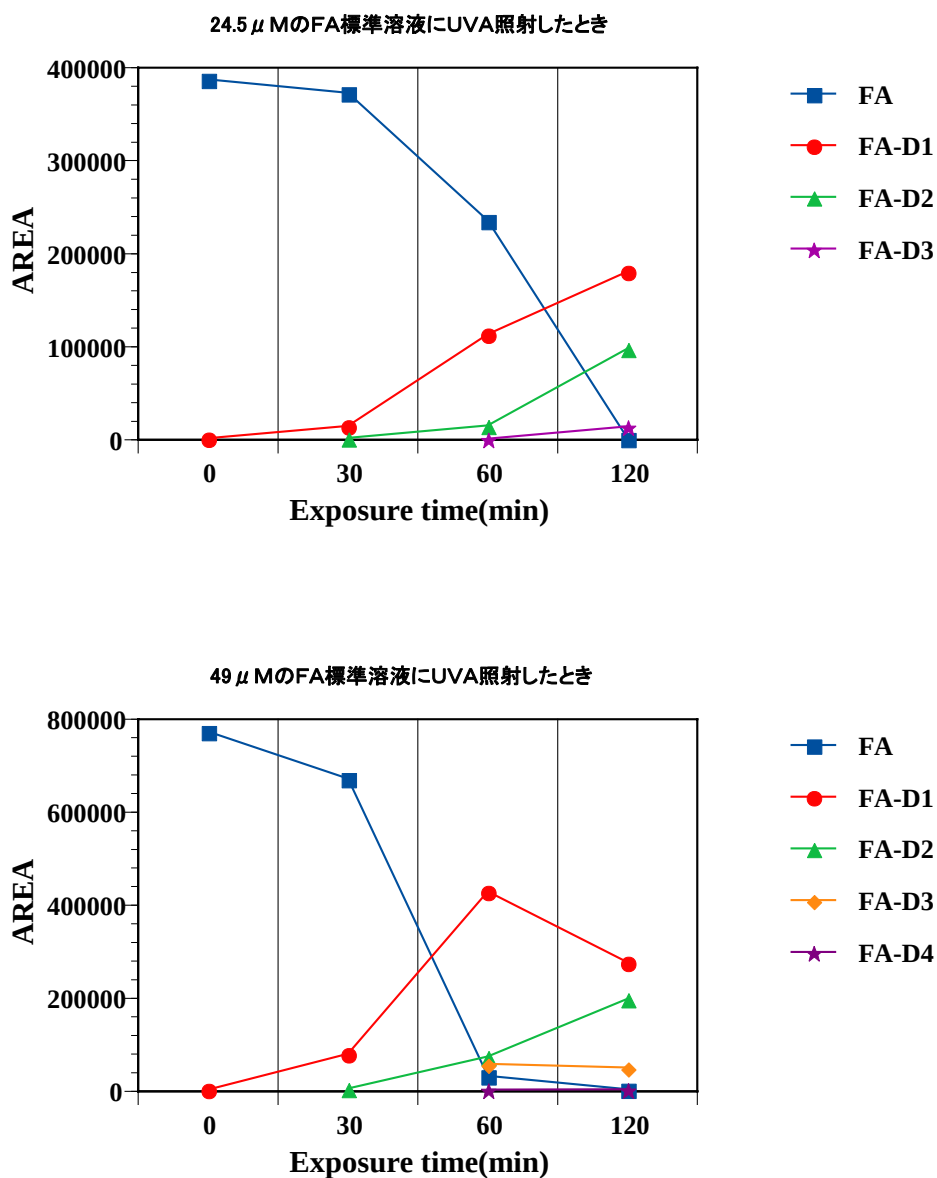


図1. UVA 照射時間とピーク AREA の変化

マイクロプレートに 24.5 μ M, 49 μ M の葉酸（プテロイルモノグルタミン酸）溶液を 300 μ l ずつ入れ，照射ボックスの中に入れて紫外線ランプ(365nm)を照射した．

そして，30・60・120 分の各時間にそれぞれの濃度の葉酸標準溶液を 20 μ l 取り出し，HPLC にてクロマトグラフパターンを比較した．FA-D's は葉酸が壊されてできた物質であり，溶出時間の早い順に D1, D2, D3, D4 とした．ランプからマイクロプレートの距離は 10cm とした．紫外線強度計（UM-10 受光部：UM-360 MINOLTA）を用いて積算量を測定し，120 分での UVA 積算量は 2022mJ/cm² であった．

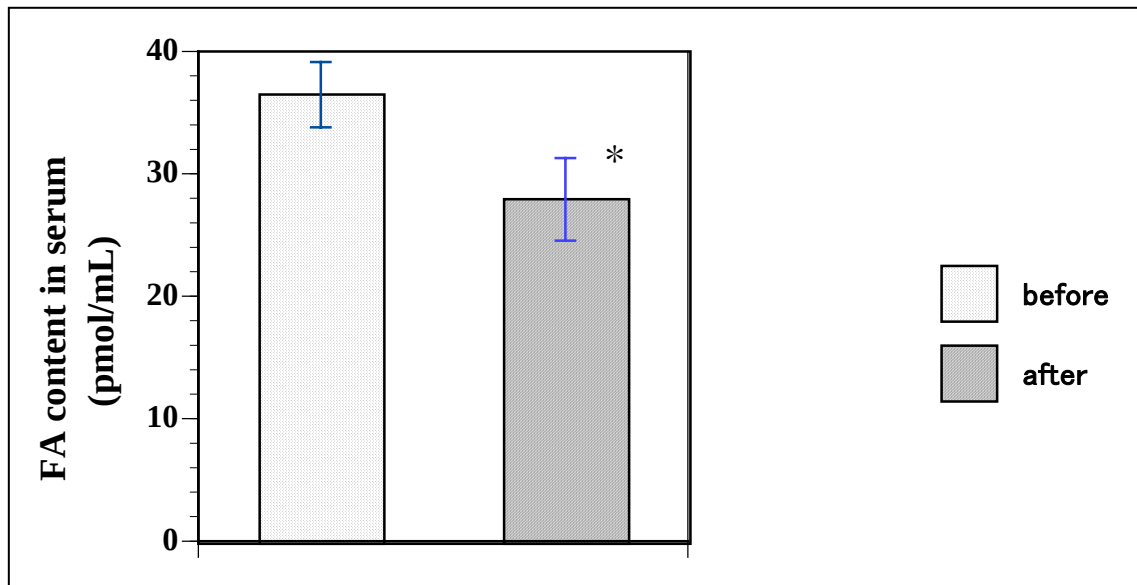


図 2. 紫外線曝露前後の血清中の葉酸量の変化

数値は平均値±SEM (n=9) で示した.

* Student-t 検定の結果, $p < 0.05$ で有意な差異が認められた.