

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

### Ⅲ. 分担研究者の報告書

#### 11. ヒトにおける葉酸摂取量と血中濃度の関連

分担協力者 渡邊敏明 兵庫県立大学 教授  
研究協力者 榎原周平 兵庫県立大学 助手  
研究協力者 福井徹 病体生理研究所 室長

#### 研究要旨

平成 11 年に第六次改定日本人の栄養所要量－食事摂取基準で、水溶性ビタミンである葉酸およびビオチンなどの所要量が初めて策定された。しかし、ビタミンにおける摂取基準を策定するための根拠となる科学的データはわが国では少なく、十分な検討がされているとはいえない。我々は、東北地区に住む中高齢者を対象に健康・栄養調査を行なう機会を得た。そこで、この調査の一環として、本研究では、健常な中高齢者を対象に、食事から葉酸が摂取されているのか、血中濃度がどの程度存在しているのかを知るために調査を実施した。葉酸の摂取量は、全体の年平均値では  $435 \pm 117 \mu\text{g/day}$  であり、11 月で  $473 \pm 109 \mu\text{g/day}$  と高値と、8 月が  $405 \pm 120 \mu\text{g/day}$  と低値を示し、季節変動が観察された。血中葉酸濃度は全体において年平均値では  $6.8 \pm 2.8 \text{ng/mL}$  であり、2 月が  $4.9 \pm 1.5 \text{ng/mL}$  と低値を、8 月が  $8.8 \pm 3.3 \text{ng/mL}$  と高値を示し、季節変動が観察された。また、男女を比較すると、年平均で男性では  $5.8 \pm 2.2 \text{ng/mL}$  で、女性では  $7.8 \pm 2.8 \text{ng/mL}$  であり有意な相違がみられた。このようなことから、葉酸の推奨量の策定については男女差があることを考慮する必要性が示唆された。

## A. 目的

葉酸は水溶性ビタミンである。化学構造はN-ヘテロ環のプテリジンとp-アミノ安息香酸からなるプテロイル基、つまり4-[(2-アミノ-4(3H)-オキソプテリジン-6-イル)メチル]アミノ]安息香酸に1~7個のL-グルタミン酸が結合したプテロイル(ポリ)グルタミン酸である<sup>1)</sup>(Fig.1)。食品に含まれるのは、プテロイルポリグルタミン酸型[PteGlu(n=2-11)]であり、消化管内でモノグルタミン酸型(PteGlu)となり、吸収される。血漿や尿中では、モノグルタミン酸型、組織中ではポリグルタミン酸型としてタンパク質と結合した形で機能している。なお、小腸粘膜では、プテリジン環が還元されてテトラヒドロ型となり、さらにメチルテトラヒドロ型となり、血液中に放出される。還元型葉酸は、細胞内では補酵素として、ヌクレオチド類の生合成やメチル基の生成転換系などに関与している(Fig.2)。また、アミノ酸やタンパク質の代謝などにも不可欠であり、グリシン、セリン、メチオニンの代謝やビタミンB<sub>12</sub>とともにホモシステインからメチオニンの生成などにも関与している(Fig.3)<sup>2)</sup>。

葉酸の生理機能としては、正常な造血機能を保つために重要であるばかりでなく、成長や妊娠の維持にも欠かせないビタミンである。欠乏症状としては、造血機能に異常が生じ、巨赤芽球性貧血や神経障害が知られている。最近、多くの疫学調査によって、葉酸が、胎児における神経管閉鎖障害の発症リスクの低減に効果があることが認められている。また、葉酸の摂取量が低下すると、血漿ホモシステインが上昇し、動脈硬化症と関連がある血液凝固因子や血管内皮細胞に影響を及ぼすことが見出される<sup>3)</sup>。

平成11年に第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準で、水溶性ビタミンである

葉酸およびビオチンなどの所要量が初めて策定された<sup>4)</sup>。葉酸の所要量は15歳以上の男女で200 $\mu$ g/dayと決められた。また、日本人の食事摂取基準2005年版では12歳以上の男女で推奨量が240 $\mu$ g/dayとされている<sup>5)</sup>。しかし、米国や英国では妊娠を予定している女性は葉酸を400 $\mu$ g/day摂取すべきであると医学的ガイドラインで策定されている<sup>6)</sup>。また、ビタミンにおける摂取基準を策定するための根拠となる科学的データはわが国では少なく、十分な検討がされているとはいえない。

我々は、東北地区に住む中高齢者を対象に健康・栄養調査を行なう機会を得た。そこで、この調査の一環として、本研究では、健康な中高齢者を対象に、食事から葉酸が摂取されているのか、血中濃度がどの程度存在しているのかを知るために調査を実施した。

## B. 実験方法

### 1. 対象者

対象者は、東北地方にあるS市近郊に住む実年者(平均61.7 $\pm$ 8.5歳)で、男女各60名ずつの計120名である。調査の実施時期は、11月(秋期)、2月(冬期)、5月(春期)および8月(夏期)の計4回である。調査実施日の前夜から絶食して、当日の朝、空腹時に採血を行った。血液は、採血後遠心して血清を分離してサンプルとした。食事については、栄養士が24時間思い出し法で調査を行った。併せて生活習慣(飲酒の有無、運動量)および健康状態について調査した。

なお、本研究は、東北大学医学部の倫理委員会の承認を受け、ヘルシンキ宣言(1964年)(2000年修正)「ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則」に則って実施した。

### 2. 分析方法

血清の葉酸は、化学発光免疫測定法で分析

した。測定機器としては、イムライズ（ヤトロン社，東京）を使用し、測定の手順は Fig.4 のとおりである。

### 3. 統計学的方法

栄養価計算には Excel 栄養君 Ver. 3.0 を使用し、各栄養素を算出した<sup>7)</sup>。分析値は正規確率紙法を用いて算出し、平均±標準偏差で表した。統計ソフトは stss excel v5.5 および Excel 統計 Statcel を使用し、各群内の差および各群間の差の検定には分散分析および多重比較検定(Fisher's PLSD)を用いた。なお、有意水準は 5%未満とした。

正規確率紙法とは、分析値のバラつきが大きい場合に向け離れた値を統計学的に繰り返し削除する方法である。例えば、この分布 (Fig.5) では平均値が 2.5 であるが、正規確立紙法を用いると 3.8 となる。測定値の累積度数 (%) を確立紙にプロットし、累積度数 2.5 ~97.5%に相当する濃度を求め、この操作を繰り返し行い、測定値の数が減少しなくなった時の濃度を上限と下限とした。この範囲内の測定値の平均値と標準偏差、中心値、中央値を算出した。以下の結果は正規確率紙法を用いたものである。

### C. 結果

葉酸の摂取量は、全体の年平均値では  $435\pm 117\mu\text{g/day}$  であり、11 月で  $473\pm 109\mu\text{g/day}$  と高値と、8 月が  $405\pm 120\mu\text{g/day}$  と低値を示し、季節変動が観察された。Figure6 は葉酸の摂取量を男女別に示したものである。男女で比較すると、年平均で男性では  $432\pm 118\mu\text{g/day}$  で、女性では  $442\pm 119\mu\text{g/day}$  で、摂取量に差異はみられなかった。季節ごとでみると、11 月に男性で  $470\pm 124\mu\text{g/day}$ 、女性で  $478\pm 101\mu\text{g/day}$  と高値を示した。また、男性では 8 月に

$397\pm 110\mu\text{g/day}$ 、女性では 5 月に  $406\pm 100\mu\text{g/day}$  と低値であった。なお、男女共に季節変動が観察された。

血中葉酸濃度は全体において年平均値では  $6.8\pm 2.8\text{ng/mL}$  であり、2 月が  $4.9\pm 1.5\text{ng/mL}$  と低値を、8 月が  $8.8\pm 3.3\text{ng/mL}$  と高値を示し、季節変動が観察された。Figure7 は血清の葉酸濃度を男女別に示したものである。男女を比較すると、年平均で男性では  $5.8\pm 2.2\text{ng/mL}$  で、女性では  $7.8\pm 2.8\text{ng/mL}$  であり有意な相違がみられた。季節ごとでみると、2 月に男性で  $4.4\pm 1.6\text{ng/mL}$ 、女性で  $5.5\pm 1.1\text{ng/mL}$  と低値を示した。また、8 月に男性で  $7.4\pm 2.4\text{ng/mL}$ 、女性で  $10.1\pm 3.4\text{ng/mL}$  と高値を示した。なお、すべての季節において女性の方が有意に高値であった。

### D. 考察

平岡および安田<sup>8)</sup>は女子学生を対象として食物摂取状況調査を行い、葉酸摂取量は平均  $190.6\mu\text{g/day}$  で、RDA ( $200\mu\text{g/day}$ ) を充足している者は 40.2%と少なかったと報告している。オランダの DNFCs 調査<sup>9)</sup>では、1-92 歳を対象とした食品分析結果から算出した葉酸摂取量は  $189\mu\text{g/day}$  である<sup>10)</sup>。またサプリメントを摂取している場合には  $344\mu\text{g/day}$  と高値である。なお、RDA ( $200\mu\text{g/day}$ ) に対する充足している者は、男女それぞれ 42%および 54%である。また成人 (20-65 歳) を対象にした調査では、食事からの葉酸摂取量は男性  $232\mu\text{g/day}$ 、女性  $186\mu\text{g/day}$  と男女差がみられている。平成 14 年度の国民栄養調査では、葉酸の摂取量は男性の全平均で  $315\mu\text{g/day}$  で、女性では  $302\mu\text{g/day}$  で年齢に依存して高く、女性で低値である。これらの栄養調査から、摂取されている食事性葉酸の摂取量は、1 日あたりおおよそ  $200\text{-}300\mu\text{g}$  である<sup>11)</sup>。

葉酸の必要量については,食事由来の葉酸と葉酸サプリメントを組み合わせ,検討を行なわれている. これまでの報告から,葉酸摂取量を考える場合には,食事性葉酸と比較して,葉酸サプリメントの体内利用率を1.7倍として,換算する必要があるとされている. Milneら<sup>12)</sup>は,成人男性40名を対象に代謝室で食事性葉酸(200 $\mu$ g/day)の影響を調べている. また,血清葉酸量の変化は,試験開始時の葉酸の状態に依存している. つまり,血清葉酸量が10ng/mL以上では,葉酸レベルの減少は見られていない. このようなことから,200 $\mu$ g/day(150-250 $\mu$ g/day)の葉酸摂取量で体内の葉酸を維持するために十分であることが示唆される.

著者らは,最近半精製食を用いて,健常成人における葉酸の必要量についての検討をした. 葉酸摂取量は半精製食の原料となっている小麦粉200gに含まれる38 $\mu$ gも含め,238 $\mu$ gとなっている. この結果,血清葉酸量は男女共にすべて基準値内にあった. 女性成人では,試験期間後期において,開始日と比べて有意な増加が見られたが,男性成人では最終日に有意な減少がみられた. 従って,葉酸摂取量(238 $\mu$ g/day)については,男性ではやや不足しているが,女性では必要量を十分に満たしている,と考えられる<sup>13)</sup>.

今回の調査では,葉酸の摂取量は,年平均で男性では432 $\pm$ 118 $\mu$ g/dayで,女性では442 $\pm$ 119 $\mu$ g/dayで,文献値よりも高値であった. また,血中葉酸濃度は,男女とも冬期が低値で夏期が高値であり,季節変動が認められた. このように葉酸摂取量は男女間において差異はみられなかったが,血中葉酸量では男女間で有意な差が認められたことから,葉酸の生物有効性は性差が生じていることが考えられる. これらのデータから葉酸の推奨量の策定については男女差があることを考慮する

必要性が示唆された.

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  
2. 学会発表  
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許予定  
なし  
2. 実用新案登録  
なし  
3. その他  
なし

J. 引用文献

- 1) 糸川嘉則,柴田克己 ビタミン: 栄養・健康科学シリーズ 栄養学総論 [改定第2版], pp.169-191, 南江堂, 東京(1998)
- 2) 木村修一,小林修平監修 葉酸: 最新栄養学 [第8版] - 専門領域の最新情報-. pp.221-236, 建帛社, 東京. (2002)
- 3) Halsred CH. Intestinal absorption of dietary folates. In: Picciano MF, Stokstad ELR, Gregory JF, eds. Folic acid metabolism in health and disease. New York: Wiley-Liss, 1991: 23-45
- 4) 厚生省 葉酸. 日本人の食事摂取基準 [2005版], pp.92-95, 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, 東京(1999)
- 5) Institute of Medicine Folate. In. Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin,

- Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. National Academy Press, Washington DC. pp. 196-305. (2003)
- 6) 厚生省 葉酸. 第六次改定日本人の栄養所要量-食事摂取基準-, pp.103-105, 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, 東京 (1999)
- 7) 吉村幸雄エクセル栄養君 Ver.3.0, 建帛社, 東京. (2000)
- 8) 平岡真実,安田和人 女子大学生のビタミン B12,葉酸栄養状態について-血清ビタミン B12,葉酸濃度の分布範囲-. ビタミン 74: 271-280. (2000)
- 9) Melse-Boonstra A, de Bree A, Verhoef P, Bjorke-Monsen AL, Verschuren WMM Dietary monoglutamate and polyglutamate folate are associated with plasma folate concentrations in Dutch men and women aged 20-65 years. J nutr 132: 1307-1312. (2002)
- 10) Konings EJM, Roomans HHS, Dorant E, Goldbohm RA, Saris WHM, van den Brandt PA Folate intake of the Dutch population according to newly established liquid chromatography data for foods. Am J Clin Nutr 73: 765-776. (2001)
- 11) 健康・栄養情報研究会 国民栄養の現状. 平成 14 年度厚生労働省国民栄養調査結果. 第一出版,東京. (2002)
- 12) Milne DB, Johnson LK, Mahalko JR, Sandstead HH Folate status of adult males living in a metabolic unit: possible relationships with iron nutrition. Am J Clin Nutr 37: 768-773. (1986)
- 13) 渡邊敏明,大串美沙,前川紫,西牟田守,柴田克己,福井徹 (印刷中) 健康成人における葉酸の必要量についての検討. 日本栄

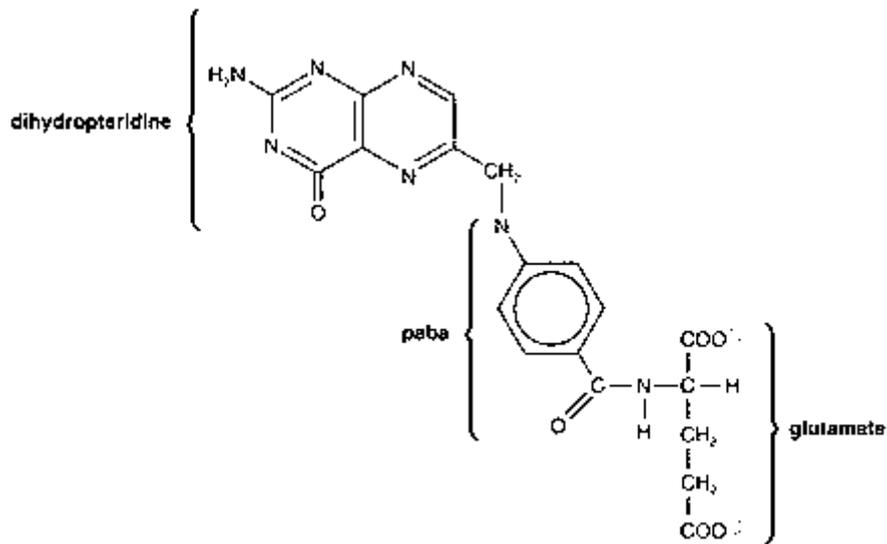


Fig. 1 葉酸の化学構造

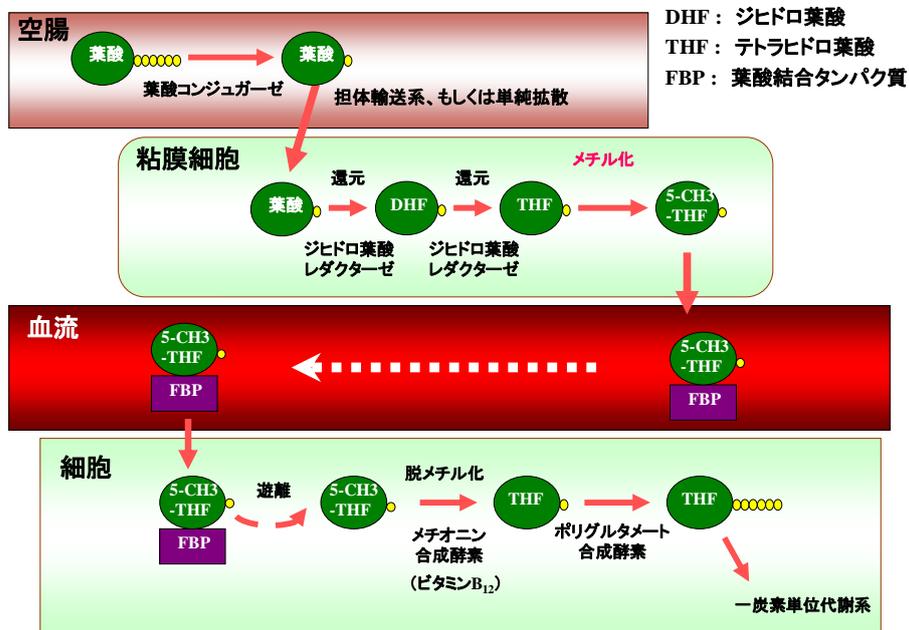


Fig. 2 葉酸吸収機構

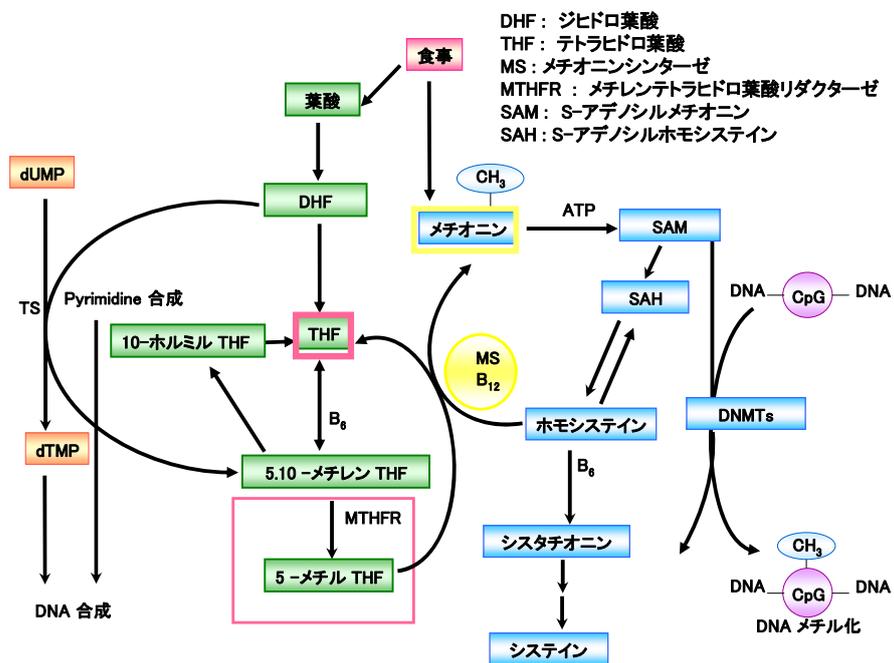


Fig. 3 葉酸の関与する代謝

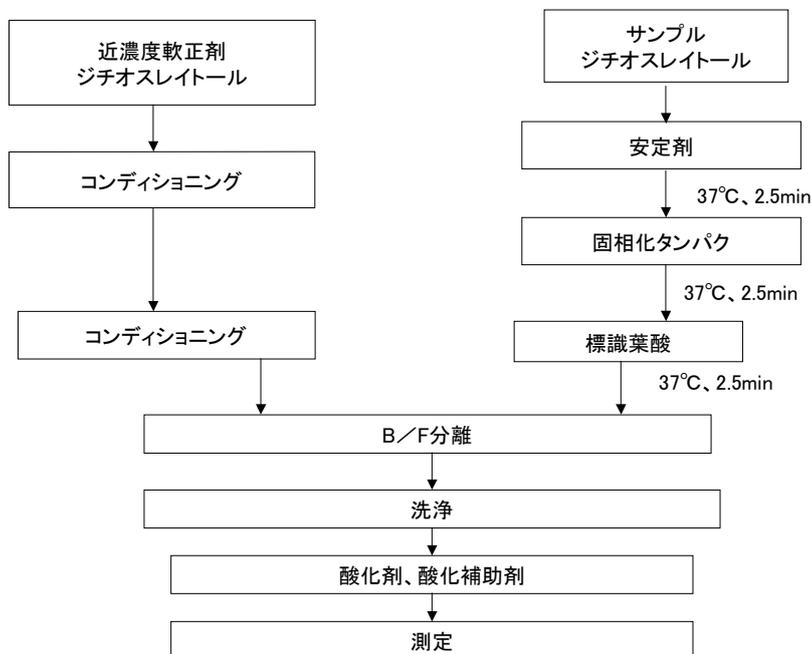
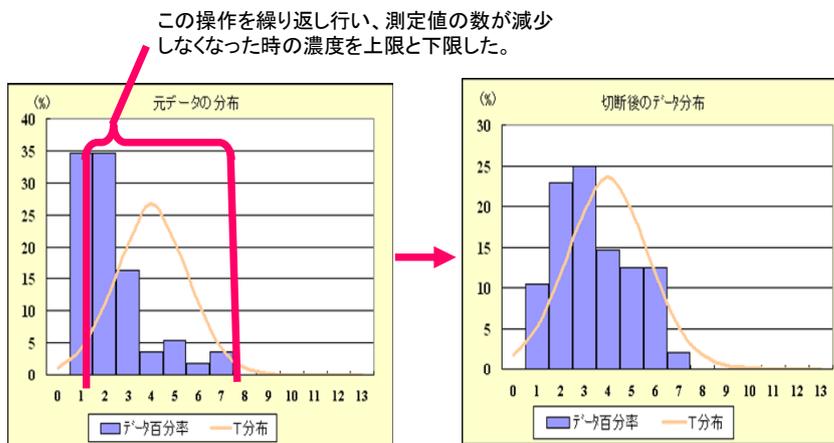


Fig. 4 血清葉酸の測定手順



平均値  
 標準偏差  
 中心値 : 95%信頼区間を元に平均 $\pm$ 2SD(パラメトリック)。  
 中央値 : 95%信頼区間を元に2.5%~97.5%としたときの中央値  
 (ノンパラメトリック)。

Fig. 5 データ解析法 (正規確立紙法)

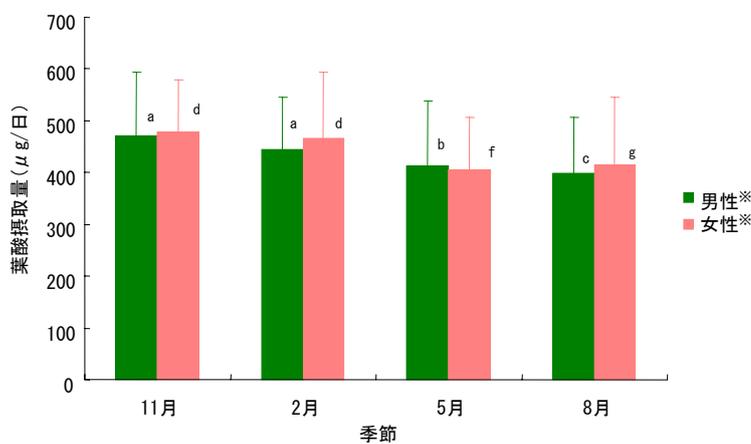


Fig. 6 葉酸摂取量の季節変化

mean $\pm$ SD ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

ANOVA : \*  $p < 0.01$

Fisher's PLSD : <sup>a-c, d-f</sup>,  $p < 0.05$

n=60

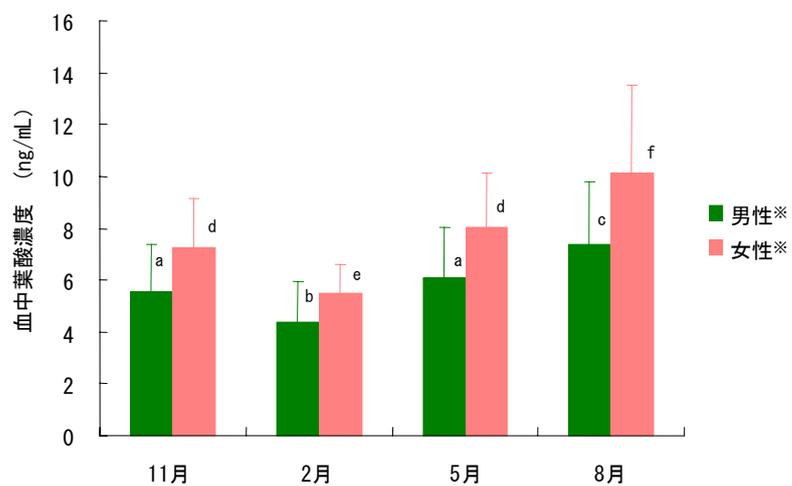


Fig. 7 血中葉酸濃度の季節変化

mean±SD (ng/mL)

ANOVA : \* p<0.01

Fisher's PLSD : <sup>a-c</sup>, <sup>d-f</sup>, p<0.05

男性 n=60

女性 n=60