二分脊椎症と葉酸：葉酸経口摂取量と葉酸血清濃度

小牧市民病院泌尿器科, 名古屋大学病院泌尿器科*,

小牧市民病院栄養科・日本ゼネラルフード**

近藤 厚生 木村 恭祐 磯部 安朗 上平 修
松浦 治 後藤 百万* 岡井いくよ (管理栄養士)**

FOLIC ACID REDUCES RISKS OF HAVING FETUS AFFECTED
WITH NEURAL TUBE DEFECTS: DIETARY FOOD FOLATE
AND PLASMA FOLATE CONCENTRATION

Atsuo Kondo, Kyousuke Kimura, Yasuaki Isobe, Osamu Kamihira,
Osamu Matsuura, Momokazu Gotoh* and Ikuyo Okai**

Departments of Urology, Komaki Shimin Hospital,

*Department of Urology, Nagoya University Hospital,

**Departments of Nutrition, Komaki Shimin Hospital and Japan General Foods

(Objectives) Risk of having fetus affected with neural tube defects can be reduced by maternal periconceptional folic acid supplementation. The purpose of the present study is to investigate how folate is taken from diets and to measure plasma folate concentrations.

(Subjects and Methods) A total of 222 women comprising 5 groups, i. e., healthy women, mothers of myelodysplastic patients, pregnant women, myelodysplastic patients, nurse students, participated in our study. Food frequency questionnaires kept 3 days were analyzed based on the 5th standard table of food composition in Japan. Plasma folate concentrations were measured by means of chemiluminescent immunoassay method. Changes in plasma folate concentrations and possible adverse effects following the folic acid supplementation for 16 weeks were also investigated.

(Results) The dietary intake of folate, plasma folate concentration and energy intake averaged 293 µg/day, 8.1 ng/ml and 1,857 Kcal, respectively, among the subjects. Pregnant women took the largest amount of folate from diets and demonstrated the highest plasma folate concentration among the groups. The dietary folate in myelodysplastic patients and nurse students was significantly lower compared to that of healthy women. The Recommended Dietary Allowance of folate was not fulfilled in 22% of non-pregnant adult women and 72% of pregnant women. The dietary folate was mainly taken from the 3rd food group but the 4th group of food was consumed most. Mean folate intake was significantly correlated with circulating concentrations of serum folate ($p=0.012$ $r=0.186$). The consecutive administration of 400µg supplements for 16 weeks increased a baseline plasma value of 8.7 ng/ml to 32.6 but fell down rapidly to 17.3 24 hours later without any adverse effects.

(Conclusions) The dietary folate and serum folate concentrations averaged 293 µg/day and 8.1 ng/ml, respectively. The former is the first report based on the 5th standard table of food composition in Japan. Majority of pregnant women took less dietary folate than what recommended by the government. Those who are capable of becoming pregnant are recommended to consume much of the 3rd food group and those who are planning to become pregnant are recommended to take 400 µg of folic acid supplements from 4 weeks before to 12 weeks after conception.

Key words : Dietary intake of folate, Plasma folate concentration, Neural tube defects

要旨：(目的) 神経管閉鎖障害に罹患する胎児の発生リスクは、母親が妊娠前に葉酸を摂取すると低減できる。研究目的は、女性が食事から摂取する葉酸について検討し、葉酸血清濃度を測定することである。

(対象と方法) 対象者は一般女性、二分脊椎患者の母親、妊婦、二分脊椎患者、看護学生の5群からなる222名の女性。食事から摂取した葉酸量は、食事記録を5訂日本食品標準成分表に準拠して解析した。葉酸血清濃度は化学発光免疫測定法で測定した。

(結果) 対象者は食事から葉酸を平均293 μ g/日摂取しており、血清濃度は平均8.1 ng/ml、エネルギー摂取量は平均1,857Kcalであった。妊婦が食事から葉酸を最も多く摂っており、血中濃度も最高値を示した。「日本人の栄養所要量」が規定する葉酸量を充足しない対象者の割合は、成人女性が22%、妊婦が72%であった。葉酸は第3食品群(香川綾分類)から最も多く摂取されていた。葉酸サプリメント400 μ g/日を16週間内服すると、基線値は7.8ng/mlから17.3へ上昇した。

(結論) 葉酸経口摂取量は平均293 μ g/日、血清濃度は平均8.1ng/mlであった。妊婦の過半数は政府が勧告する葉酸量を摂取していなかった。妊娠可能期の女性は葉酸に富む第3食品群を多く摂り、妊娠を計画する女性は妊娠4週前から妊娠12週まで葉酸サプリメント400 μ g/日の内服が望ましい。

キーワード：葉酸経口摂取量、葉酸血清濃度、二分脊椎患者

緒 言

脊椎管は胎生期4週頃に閉鎖するが、この分化が障害されると神経管閉鎖障害(neural tube defect, NTD)が発生する。NTDには無脳症、脳瘤、髄膜瘤、脊髄髄膜瘤などを含み、泌尿器科外来で遭遇する二分脊椎症(脊髄異形成, myelodysplasia)の多くは腰仙部の神経管閉鎖障害に罹患している。嘗て二分脊椎症の発生率は地域差が大きく、英国・ウェールズでは10,000の正常分娩に12.8例と言われ、米国では9例、本邦で3~4例と報告されていた¹⁾。

1991年に英国で、葉酸を妊娠前後に経口摂取すると神経管閉鎖障害の再発防止に有効なことが、前向き多施設無作為対照試験で証明された²⁾。即ち、過去に神経管閉鎖障害児を妊娠・分娩した経産婦のうち妊娠を希望した1,817名を対象とし、臨床試験に参加した日から妊娠12週まで次の4群の製剤を内服させた：(1) 葉酸製剤(folic acid) 4,000 μ g/日、(2) 葉酸製剤(4,000 μ g/日) + 葉酸を含まないビタミン、(3) 葉酸を含まないビタミン、(4) 偽薬。その結果、葉酸製剤を摂取した2群における神経管閉鎖障害児の再発率が、対照群に比較して71%減少したと報告された。中国では英国の研究で採用された葉酸摂取量を1/10に減量し(400 μ g/日)、初産婦を対象にした臨床介入研究が実施された³⁾。葉酸の効果は統計的に有意であり、中国北部では79%の、中国南部では41%の神経管閉鎖障害児の発生が減少した。これらの事実に基づき欧州諸国、北米、豪州、ニュージーランド、南アフリカ、中国などの各国政府は、妊娠4週前から妊娠12週まで400 μ g/日またはそれ以上の葉酸を栄養補助食品(サプ

メント)として摂取するよう勧告している⁴⁾。欧米諸国では葉酸サプリメントの内服が一般化すると共に、生前診断に基づく人工妊娠中絶が多く実施されるようになり、現在では神経管閉鎖障害児の発生頻度は本邦と同レベルまで低下している。

本邦においては厚生労働省が2000年12月28日に都道府県・政令市・特別区の母子保健・栄養部長宛に文書を発送し、先天性奇形の発生リスクは葉酸で低減できる旨を関係機関へ周知するよう依頼した⁵⁾。「第6次改定日本人の栄養所要量」⁶⁾によれば、成人女性は200 μ g、授乳婦は280 μ g、妊婦は1日400 μ gの葉酸が必要と規定されている。食品に含まれる葉酸(food folate)の栄養学的特徴は、(1) ビタミンB群の1つでビタミンMとも呼ばれ、緑黄色野菜・果実・大豆、肝臓に多く含まれる、(2) 調理・冷蔵すると壊れ易く、体内での利用効率は約50%である⁵⁾⁷⁾、(3) 体内貯蔵が出来ないため毎日補給しなければならない、などである。一方サプリメントで摂取する葉酸(folic acid)の利用効率は85%³⁾である。

本邦では1999年までは食品中の葉酸値が不明であったため、葉酸経口摂取量を調査した論文⁸⁾⁹⁾は米国の食品成分表に準拠して推測していた。2000年に公表された5訂日本食品標準成分表¹⁰⁾により、この値が初めて公表されたが、この新たな値に基づく測定データは皆無である。本研究の目的は食品から摂取する葉酸の量、どのような食品から葉酸を摂取しているか、葉酸血清濃度、葉酸サプリメント長期投与による血清濃度の変化と副作用を検討することである。

対象と方法

対象者は15歳以上の女性222名である。内4名は葉酸サプリメント（栄養補助食品）を内服していた。研究前には本研究の目的を説明し、全員が本研究への参加を口頭で了承した。222名は次の5グループから成る。第Ⅰグループは一般女性61名（一般市民、看護婦、検査技師：年齢 37 ± 12 歳；body mass index (BMI) 21.0 ± 2.8)、第Ⅱグループは二分脊椎症患者の母親66名（年齢 42 ± 9 歳；BMI 21.6 ± 2.6)、第Ⅲグループは妊婦18名（年齢 33 ± 5 歳；BMI 21.7 ± 2.7)、第Ⅳグループは二分脊椎症に罹患する患者32名（日本二分脊椎症協会の会員：年齢 24 ± 8 歳；BMI 22.8 ± 3.8)、第Ⅴグループは看護学生の45名（公立春日井小牧看護専門学校生：年齢 20 ± 2 歳；BMI 20.1 ± 1.5)である。

経口摂取した食品中葉酸 (dietary folate, $\mu\text{g}/\text{日}$) は次のように推測した。対象者に食事内容を記録する栄養カルテ（明治乳業製）を手渡し、3日間にわたり食事・間食の内容を可及的に詳しく記載させた。この栄養カルテは五訂日本食品標準成分表¹⁰⁾に対応するコンピュータソフト（桔梗、八笑堂2000）を利用し、1名の栄養士が分析した。食品の分類は、香川綾子4群分類法に基づいた¹¹⁾。すなわち第1群は乳・乳製品と卵、第2群は魚介・肉類と豆・豆製品、第3群は緑黄色野菜、その他の野菜、芋類、果物、第4群は穀類、砂糖、油脂などである。分析したパラメーターは食事での葉酸摂取量 ($\mu\text{g}/\text{日}$)、4つの食品群に含まれる葉酸量 ($\mu\text{g}/\text{群}$)、4つの食品群の摂取重量 ($\text{g}/\text{日}$)、食品100g中の葉酸量 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)、および総エネルギー摂取量 (Kcal) である。

葉酸血清濃度 (plasma folate concentration, ng/ml) は、任意の時間に採血した血液2mlを化学発光免疫測定法 (CLIA法) で測定した（大塚アッセイ研究所）。葉酸を負荷するためには「葉酸サプリメント (folic acid, $200\mu\text{g}/\text{錠}$, ネイチャーメイド)」を内服させた。サプリメント内服後24時間にわたる血清濃度は、食事制限を課すことなく尿失禁手術後の入院患者4名（平均年齢49歳）で測定した。すなわち採血を9:00に行い、その直後に葉酸サプリメント $800\mu\text{g}$ を内服させた。その後、1, 2, 3, 4, 6, 12, 24時間後に採血して血清濃度の推移を調べた。サプリメントを16週間内服させた場合の血清濃度の変化は、検査技師9名（第Ⅰ群に含まれる；平均年齢31歳）で実施した。即ち $400\mu\text{g}$ または $800\mu\text{g}$ を、連日16週間にわたり朝食時に内服させ3～5時間後に採血した。9名のサプリメント内服履行率は

平均97% (91～100%) であった。採血時期は内服前、内服2週間後、4週間後、8週間後、16週間後である。最終日の内服に引き続き12時間後、24時間後、48時間後にも血清濃度を測定した。肝機能検査 (LDH, ALP, γ -GTP, GOT, GPT, ChE, 総ビリルビン) と末梢血球検査 (WBC, RWC, Ht, Hg, Plt) を、サプリメント内服前と16週後に実施した。

統計分析はMann-WhitneyのU検定（2群の対応のない比較）と、相関関係はPearsonの相関係数で検討した (StatView-J 5.0)。

結 果

1. 葉酸経口摂取量と葉酸血清濃度

表1は5つの対象群の葉酸経口摂取量 ($\mu\text{g}/\text{日}$)、血清濃度 (ng/ml)、エネルギー摂取量 (Kcal) を示す。対象者全員の平均値は各々 $293\mu\text{g}/\text{日}$, $8.1\text{ng}/\text{ml}$, $1,857\text{Kcal}$ であった。葉酸経口摂取量と血清濃度は妊婦群が最高値を示し、エネルギーは一般女性群が最大であった。一般女性群の値を基準にして、他の4群との有意差検定を実施した (Mann-WhitneyのU検定)。二分脊椎症患者の母親と妊婦の葉酸摂取状況は成人女性のそれと変わらなかった。経口摂取量では患者群と看護学生群が、血清濃度では看護学生群が、エネルギー量では患者の母親群と患者群と看護学生群が有意に低値であった。「日本人の栄養所要量」⁶⁾が規定する葉酸量は成人女性が $200\mu\text{g}/\text{日}$ 、妊婦が $400\mu\text{g}/\text{日}$ である。この栄養所要量を充足しない者の割合は、非妊婦の成人女性（一般、患者の母親、患者、学生）が22%、妊婦が72%であった。妊婦群の低い充足率が顕著である。

図1は葉酸経口摂取量のヒストグラムを示し、中央値は $269\mu\text{g}/\text{日}$ である。 $650\mu\text{g}/\text{日}$ 以上を摂取している女性が4名いた。図2は血清濃度を示し、中央値は $7.1\text{ng}/\text{ml}$ である。葉酸サプリメントを連日内服していた妊婦3名と成人女性1名の値は人為的値であるため、これらを排除した。これら4名の血清濃度は、平均 $26.6\text{ng}/\text{ml}$ ($17.3 \sim 43.5\text{ng}/\text{ml}$) と高値を示した。図3は葉酸経口摂取量と血清濃度との相関を示す。この2因子の間には統計学上有意な相関を認めたが、相関係数は0.183と低値であった ($p=0.012$, $r=0.183$, $n=186$)。なお葉酸サプリメント内服者4名を排除した。

2. 食品群と葉酸含有量

表2は食品群（香川綾子分類法）ごとの葉酸摂取量 ($\mu\text{g}/\text{日}$)、その百分率 (%), 食品重量 ($\text{g}/\text{日}$) を示す。葉酸は第3食品群 ($169\mu\text{g}$) から最も多く摂取されていたが (57%), 摂取した食品重量は第4群が最多 (79)

Table 1 The dietary folate intake, plasma folate concentration and energy intake were investigated in 222 women. Statistical difference was assessed between healthy women and other 4 groups in respect of the 3 parameters

Subjects	Dietary folate intake (μg/day)	Plasma folate concentration (ng/ml)	Energy intake (Kcal)
Healthy women (n=61)			
Mean (95% CI)	338 (305 ~ 370)	8.2 (7.6 ~ 8.9)	2,003 (1,900 ~ 2,107)
Mothers of myelodysplastic patients (n=66)			
Mean (95% CI)	301 (273 ~ 330)	8.2 (7.1 ~ 9.4) ^a	1,828 (1,733 ~ 1,923) *
Pregnant women (n=18)			
Mean (95% CI)	350 (299 ~ 401)	11.9 (7.1 ~ 16.6) ^b	1,959 (1,772 ~ 2,145)
Myelodysplastic patients (n=32)			
Mean (95% CI)	273 (237 ~ 308) *	7.3 (6.3 ~ 8.3)	1,747 (1,600 ~ 1,892) **
Nurse students (n=45)			
Mean (95%CI)	217 (196 ~ 238) **	6.8 (6.1 ~ 7.4) **	1,753 (1,622 ~ 1,885) **
Mean (95% CI)	293 (278 ~ 309)	8.1 (7.5 ~ 8.7) ^c	1,857 (1,802 ~ 1,912)

^aExclusion of 1 mother of myelodysplastic patients who had had supplementation decreases the value to 7.9 (7.0 ~ 8.9) ng/ml.
^bExclusion of 3 pregnant women who had had supplementation decreases the value to 8.6 (6.8 ~ 10.5).
^cExclusion of the above 4 women decreases the value to 7.7 (7.5 ~ 8.6).
* p < 0.05 ; ** p < 0.01. 95% CI : 95% confidence intervals.

図1 食事からの葉酸摂取量を示す (中央値 269 μg/日, n=218). 4名の女性が650 μg/日を摂取していた.

図2 葉酸血清値を示す (中央値 7.1 ng/ml, n=190). なお葉酸サプリメントを内服していた女性4名は除外した.

g/日)であった。葉酸は第3食品群に多く含まれるので (45μg/100g), 第3食品群を相対的に多くした食事を摂れば, 葉酸は効率的に摂取できることが分かる (図4).

3. 葉酸負荷による血清濃度の変化

葉酸サプリメントは速やかに吸収・排泄された。すなわちサプリメント800μgを単回投与すると, 基線値 (baseline value) 7.6 ng/ml は内服2時間後にピーク値 (C_{max}) 34.9ng/ml に到達し, 消失半減期 (T_{1/2}) は6時

間であった (図5)。図6はサプリメントを16週間にわたり内服させた場合の血清濃度と, 内服中止後2日間の推移を示す。内服前の基線値は8.7ng/mlであった。16週後の値は正確に内服3.0時間後に採血したもので, 400μg群は32.6ng/ml, 800μg群は64.1ng/mlであった。内服中止後の濃度は速やかに低下し, 12時間後の葉酸値は各々17.5ng/mlと19.9ng/mlに, 24時間後には17.3と19.4に, 48時間後には17.1と21.3になった。内服前と16週間後に, 肝機能検査と末梢血球

検査を実施したが、悪化例は1例もなかった。

考 察

神経管閉鎖障害の原因は、染色体異常、環境因子、葉酸欠乏などの多因子が複合的に関連して発生するものである。葉酸は細胞分裂を制御する DNA、RNA の機能に関与するばかりでなく、アミノ酸代謝にも関与する。葉酸を代謝する MTHFR (methylene tetrahydrofolate reductase) 酵素の活性度が低下すると、5、10-メチレン H4 葉酸から 5-メチル H4 葉酸の産生が減少し、アミノ酸のホモシステインがメチオニンへ代謝される過程が障害を受ける。この結果、血中ホモシステイン濃度が上昇し、神経管閉鎖障害が発現するといわれている。この代謝過程を正常化するために、葉酸サプリメント 400～4,000μg/日の摂取が有用であることが判明した²⁾³⁾。

図3 葉酸経口摂取量と血清濃度は有意に相関した (p=0.02:r=0.183, n=186)。なお葉酸サプリメントを内服していた女性4名を除外した。

Table 2 Values of the dietary folate intake, dietary folate percent and food weight consumed in each of 4 food groups where means and 95 percent confidence intervals (95% CI) were calculated

Food groups	Dietary folate Intake (μg)	Dietary folate percent (%)	Food weight (g/day)
Group 1			
Mean (95% CI)	25 (23 ~ 26)	8	166 (150 ~ 182)
Group 2			
Mean (95% CI)	42 (34 ~ 50)	14	189 (179 ~ 199)
Group 3			
Mean (95% CI)	169 (156 ~181)	57	369 (347 ~ 391)
Group 4			
Mean (95% CI)	61 (57 ~ 64)	21	799 (759 ~ 839)
Total (95% CI)	293 (278 ~309)	100%	1,525 (1,470 ~1,579)

食品由来の葉酸 (dietary folate) はプテロイルポリグルタミン酸型であり、これが小腸で加水分解されてプテロイルモノグルタミン酸に変換され、さらにメチル化されメチルテトラヒドロ葉酸の形で肝臓に貯蔵される。葉酸サプリメント (folic acid) は、プテロイルモノグルタミン酸に相当する。食事からの葉酸摂取量不足と共に、葉酸が関与する医原性神経管閉鎖障害も報告されている。白血病、膀胱癌などに使用される葉酸代謝拮抗剤メトトレキサート (メソトレキセート[®])、合成抗菌剤のトリメトプリム (バクタ[®])、抗結核剤のリファンピシン (リマクタン[®])、抗マラリア剤のピリメタミン (ファンシダール[®])、抗癌薬のフェニトイン (アレビアチン[®]) とバルプロ酸ナトリウム (デパケン[®]) などは、葉酸代謝を阻害または腸管からの吸収を阻害する。これら薬剤は、個々の患者で有益性が危険性を上回る場合のみ処方するべきである。

厚生労働省は平成 12 年 12 月に初めて「先天性奇形の発生リスクは葉酸摂取で低減できる」旨を国民へ公表した。即ち①妊娠可能な女性は栄養バランスのとれた食事が必要、②妊娠を計画する女性は妊娠 1 カ月以上前から妊娠 3 カ月まで、栄養補助食品 (サプリメント) で 1 日 400μg の葉酸摂取が有用、③二分脊椎児を過去に妊娠した女性は、医師の監督下に葉酸摂取が必要、④胎児の健全な発育のため、妊娠中の禁煙・禁酒が不可欠である。妊婦の喫煙と飲酒が、胎児の低体重、流産、口蓋裂などを引き起こすことは既知の事実である¹²⁾¹³⁾。最近では食生活の多様化と欧米化が進み、葉酸摂取が不十分な女性の増加が危惧され、その結果として二分脊椎児の出生頻度が増加傾向にある⁵⁾。

それでは葉酸サプリメントまたは葉酸を多く経口摂取すると、厚生労働省が勧告するように神経管閉鎖障

図4 対象者が摂取した食品を4群に分類し、各群に含まれる葉酸量を測定した ($\mu\text{g}/100\text{g}$)。

図5 葉酸サプリメント800 μg を単回投与した ($n=4$)。最大値は2時間後であり、消失半減期は6時間後であった (平均値 $\pm$ 標準偏差)。

害児の発生リスクは現実的に減少するのだろうか？この問いに適切に回答するためには、無作為対象試験 (RCT, randomized control study) を実施することが必須である。しかしながら現在の日本で、この種のRCTを実行することは倫理的見地からして不可能である。従って将来的には臨床介入研究を行い、葉酸の有用性を検証する以外には方法はないと思う。なお中国で実施された臨床介入研究³⁾では、葉酸サプリメント400 $\mu\text{g}/\text{日}$ の使用により、神経管閉鎖障害児の発生リスクは41~79%減少したという。日本人は中国人と同じ蒙古人種である故、(具体的減少率は不明であるが)日本でも葉酸の有効性は間違いなく期待できるであろう。

葉酸経口摂取量は、対象群によって大きく相違した

図6 葉酸サプリメントを連日16週間 (4カ月) 内服した場合の血清濃度の変化 (平均値 $\pm$ 標準偏差)。内服前の基線値は8.7 ng/ml。16週後の値は正確に内服3.0時間後に測定した。400 $\mu\text{g}/\text{日}$ 群 ($n=5$) は32.6 ng/mlへ、800 $\mu\text{g}/\text{日}$ 群 ($n=4$) は64.1 ng/mlへ上昇した。しかし12時間後には各々17.5と19.9へ急速に下降した。

(表1)。妊婦は最も栄養バランスに配慮した食事を摂取していることが数値から読み取れ、血清濃度は最大値を示した。一方、看護学生の葉酸経口摂取量と血清濃度は最低値であった。二分脊椎症患者と看護学生の生活活動強度はII~III (やや低い~適度) と判定される。この区分のエネルギー所要量は1,800~2,050 Kcalと規定⁶⁾されており、これら2群のカロリー摂取量 (1,750 Kcal 前後) が少ないことも明白である。二分脊椎児を出生した母親の葉酸経口摂取量と血清濃度を一般女性のそれと比較検討したが、統計的有意差は存在しなかった。すなわち過日の妊娠時には葉酸摂取量が不足し、これが二分脊椎児出生に関与した可能性はあるが、現時点では母親群の葉酸摂取状況は一般成人女性と何ら変わらなかった。「日本人の栄養所要量」⁶⁾によれば、成人女性は200 $\mu\text{g}/\text{日}$ 、妊婦は400 $\mu\text{g}/\text{日}$ の葉酸 (dietary folate) 摂取が必要と規定されている。この栄養所要量を充足しない者の割合は、非妊婦の成人女性が22%であったが、妊婦群は72%と高率であった。妊婦の葉酸摂取不足は神経管閉鎖障害児の出生と直接的に相関するので、早急な改善が必要である。具体的な解決策としては、サプリメントの内服が最も妥当な選択肢であり、厚生労働省の通達⁵⁾を支持するデータである。

葉酸経口摂取量は血清濃度と有意な相関を示した (図3, Pearsonの相関係数)。しかし相関係数は $r=$

0.183と低値を示し、2つの因子の「直線関係の度合い」はかなり希薄である。この理由は栄養カルテの記載がわずかに3日間であり、血清濃度を決定する日常的な食事内容を適切に再現できなかったことを示唆している。もし栄養カルテをより長期にわたり記載すれば、相関係数はより+1.0に近い値を示すはずである。しかしこの方法は対象者に大きな負担を強いることになり、現実的ではない。非侵襲的かつ簡便に食事内容から血清濃度や必要栄養素を推測できれば、その臨床的意義は大きい。滋賀医科大学の中西らが提案する特殊な食事内容分析表は25の質問で構成されるが¹⁴⁾、この分析表が葉酸血清濃度とどれほど相関するか興味がある。この件は次回に検討する予定である。

本邦における葉酸経口摂取量を検討した論文は少ない⁸⁾⁹⁾。平岡・安田らは女子大学生252名の空腹時葉酸血清濃度(CLIA法)は $7.8 \pm 2.3 \text{ ng/ml}$ 、葉酸経口摂取量は $190.6 \pm 70.0 \mu\text{g/day}$ と報告した⁸⁾。我々の葉酸血清値は彼らのそれとほぼ等しいが、経口摂取量は彼らのそれよりも $100 \mu\text{g}$ 高い $293 \pm 115 \mu\text{g/日}$ である。彼らのデータは第5訂日本食品標準成分表が発行される前に調査したものであり、本邦食品中の葉酸量は一切公表されていなかった。従って葉酸含有量は米国の成分表を引用し、そこから類推計算したものであり、その信頼性は低い。我々の測定値は第5訂日本食品標準成分表に基づくものであり、本邦初の標準的データとなるものである。

栄養カルテを分析すると、食事から摂取される葉酸の57%は第3食品群(香川県分類:緑黄色野菜、その他の野菜、芋類、果物)に、21%は第4食品群(穀類、砂糖、油脂など)に由来した。一方、摂取食品重量は第4食品群が最も多く食され、続いて第3食品群であった(表2)。本邦の伝統的食生活は、米飯、味噌、魚介類、野菜・芋などを主にするものであり、かなりの葉酸量が意図することなく摂取されていたと推測できる。この食生活が、欧米に比して神経管閉鎖障害児の発生が少なかった事実と相関している。しかし現在の若い世代の食習慣は大きく変換しており、インスタント食品、ファーストフードなどに依存することが多く、特に野菜・芋・果物の摂取量減少が心配されている。図4は単位重量当たりの葉酸含有量が、第3食品群で最も高いことを示している($45 \mu\text{g}/100\text{g}$)。代表的な第3群の食品(100g当り)の葉酸含有量は以下のようである。例:ほうれん草 $210 \mu\text{g}$ 、ブロッコリー $210 \mu\text{g}$ 、グリーンアスパラ $190 \mu\text{g}$ 、納豆 $120 \mu\text{g}$ 、アボガド

$84 \mu\text{g}$ 、日本かぼちゃ $80 \mu\text{g}$ 、白菜 $61 \mu\text{g}$ 、さつまいも $49 \mu\text{g}$ 。葉酸はこれら食品から効率的に摂れるので、積極的に食することが望ましい。なお第2食品群の肉類(100g当り)のうち、レバーには葉酸とビタミンA(レチノール当量, $\mu\text{g RE}$ で表示)が極めて大量に含まれるので注意が必要である。例えば、鶏レバーに含まれる葉酸とビタミンAは $1,300 \mu\text{g}$ と $14,000 \mu\text{g RE}$ 、牛レバーでは $1,000 \mu\text{g}$ と $1,100 \mu\text{g RE}$ 、豚レバーでは $810 \mu\text{g}$ と $13,000 \mu\text{g RE}$ である。「日本人の栄養所要量」⁶⁾はビタミンA所要量を $540 \mu\text{g RE/日}$ 、許容上限摂取量を $1,500 \mu\text{g RE/日}$ と規定している。ビタミンAを $3,000 \mu\text{g RE/日}$ 以上摂取すると高率に奇形児が誕生するとの報告がある¹⁵⁾。したがって妊娠可能期の女性が、葉酸摂取を意図するあまりレバーを大量に食することは回避しなければならない。

葉酸サプリメントを16週間にわたり連日投与したが(図6)、副作用は発生せず、サプリメント本体の安全性は確認できた。しかし栄養学的には、必要とされる葉酸はサプリメントに依存することなく、食事内容に配慮しつつ摂取することが望ましいはずである。ではサプリメント $400 \mu\text{g}$ に相当する葉酸を経口的に摂取することは可能であろうか? 理論的には葉酸の生体内効率50%⁵⁾⁷⁾を考慮して、主に緑黄野菜、果物、芋、レバー、肉などから $800 \mu\text{g/日}$ を摂取することになる。しかし現実的には、栄養バランスに留意している妊婦でさえ経口摂取量は $350 \mu\text{g/日}$ にすぎない。今回の対象者の内、食事で $855 \mu\text{g/日}$ を摂取していたのは、肉・レバーの焼肉料理と煮魚を大量に摂取した1名のみであった。しかし彼女の食事内容は望ましいそれとは少なからず乖離しており、このような食事を連日摂取すれば生活習慣病を惹起する危険性が大となる。従って現実的には、サプリメント $400 \mu\text{g}$ に相当する血中濃度を通常の食事で維持することは困難であり、かつ望ましくない。したがって妊娠を計画している女性と妊婦にとって、サプリメントの必要性は明白である。

外国での経口摂取量と血清濃度はどのような状況にあるのだろうか? 米国では1996年に神経管閉鎖障害児を予防するために、穀物100gに $140 \mu\text{g}$ の葉酸を添加することを定めた法律が制定され¹⁶⁾、実質的に1997年中頃には葉酸添加は完了した。Jacquesらは¹⁷⁾葉酸添加前と添加後に採血した研究群と、添加前に3年の間隔で2回にわたり採血したコントロール群とで葉酸血清濃度と葉酸経口摂取量を比較した。研究群は248名で、血清葉酸値は 4.6 ng/ml から 10.0 へ有意に

上昇し、低葉酸血症者 (<3ng/ml) の割合は 22% から 2% へ有意に減少したが、葉酸経口摂取量は不変であった。一方コントロール群 (553 名) の血清葉酸値と低葉酸血症者の割合に有意の変化はなかった。しかし経口摂取量は 275μg/日から 291 へ有意に増加したと言う。研究群での血清濃度の上昇は、葉酸強化食の効果を反映する可能性が極めて高く、米国政府の方針は初期の目的を達成しつつあることを示唆している。

1995 年に石渡ら¹⁸⁾は、帝京大学の職員と学生 363 名で葉酸血清濃度を CLIA 法で検討した。彼らの平均値 (5.7ng/ml) は、我々成人女性群 (8.1ng/ml) のそれよりも 2.4ng/ml も低値である。この理由は対象者の多くが栄養バランスに欠けた食事を摂っていたためと推測する。ここから得た値に基づき参考基準値は 2.4~9.8ng/ml と報告し、主要な葉酸血清濃度測定機関 (大塚アッセイ研究所, SRL など) が、この参考基準値を表示している。しかしこの下限値である 2.4ng/ml は如何にも低すぎ、低葉酸血症者に誤った認識を与える恐れがある。早期に修正する必要がある。将来は妊娠可能期の女性と妊婦に適合する葉酸血清基準値を新たに規定しなければならない。

結論：15 歳以上の女性 222 名 (一般女性、二分脊椎症患者の母親、妊婦、二分脊椎症患者、看護学生) の葉酸経口摂取量は平均 293μg/日、葉酸血清濃度は 8.1ng/ml、エネルギー摂取量は 1,857Kcal/日であった。経口摂取量は第 5 訂日本食品標準成分表に基づく本邦初のデータである。「日本人の栄養所要量」が規定する葉酸所要量は、成人女性が 200μg/日、妊婦が 400μg/日であるが、非妊婦成人女性の 22% と妊婦の 72% がこの値を満たさなかった。葉酸は第 3 食品群から効率的に摂取可能である。葉酸サプリメント 400μg/日を 16 週間連日内服すると、血清濃度は基線値の 8.7 ng/ml から 17 ng/ml へ約 2 倍上昇した。妊娠可能期にあるすべての女性は第 3 食品群を主体とする食事を心がけ、妊娠を計画する女性は妊娠 4 週前から妊娠 12 週まで葉酸サプリメント 400μg/日を摂取することが望ましい。

謝辞：以下の方々のご協力に深謝する (敬称略)：日本二分脊椎症協会の会員と関係者、小牧市の市民、公立春日井小牧看護専門学校の学生、小牧市民病院職員、福井大学病院 (元金沢大学) 横山 修、星ヶ丘厚生年金病院 百瀬 均、九州大学病院 関 成人、信州大学病院 佐藤智哉・井川靖彦、明治乳業株式会社の栄養士。この研究は「厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 (11 指—9)」によって行われた。

文 献

- 1) Kuroki, Y. and Konishi, H.: Current status and perspectives in Kanagawa birth defects monitoring program (KAMP). *Cong. Anom.*, **24**, 385—393, 1984.
- 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) Berry, RJ., Zhu Li, MPHTM., Erickson, JD., Li, S., Moore CA., Wang, H., Mulinare, J., Zhao, P., Wong, L-Y., Gindler, J., Hong S-X. and Correa, A.: Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. *N. Engl. J. Med.*, **341**: 1485—1490, 1999.
- 4) Cornel, MC. and Erickson, JD.: Comparison of national policies on periconceptional use of folic acid to prevent spina bifida and anencephaly (SBA). *Tetralogy*, **55**, 134—137, 1997.
- 5) 厚生省児童家庭局母子保健課長、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：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、厚生労働省通達文、東京、平成 12 年 12 月 28 日。
- 6) 健康・栄養情報研究会：第 6 次改定日本人の栄養所要量・食事摂取基準。第一出版株式会社、東京、平成 11 年。
- 7) 田口博国、長谷川敏男、真田 浩：食品中の葉酸含有量に関する研究 (II) 食品中の葉酸の加熱調理による損失。ビタミン, **47**, 21—25, 1973.
- 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) Hiraoka, M.: Nutritional status of vitamin A, E, C, B1, B2, B6, nicotinic acid, B12, folate, and β-carotene in young women. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **47**, 20—27, 2001.
- 10) 科学技術庁資源調査会：五訂日本食品標準成分表。大蔵省印刷局、東京、平成 12 年。
- 11) 女子栄養大学：野菜 1 日 300 グラムのとり方早わかり。女子栄養大学出版部、東京、平成 12 年。
- 12) Wright, JT., Macrae, KD., Barrison, IG. and Waterson, EJ.: Effects of moderate alcohol consumption and smoking on fetal outcome. *Ciba Found. Symp.*, **105**, 240—253, 1984.
- 13) Shaw, GM. and Lammer, EJ.: Maternal periconceptional alcohol consumption and risk for orofacial clefts. *J. Pediatr.*, **134**, 298—303, 1999.
- 14) 中西直子、畦西克己、岩川裕美、田村孝志、福井富穂、小島秀人、柏木厚典、繁田幸男：何を食べているのか表現できない人たち—栄養士は今後何をす

- べきか, 第 14 回日本肥満学会記録, 272—274, 1993.
- 15) Rothman, KJ., Moore, LL., Singer, MR., Nguyen, UDT., Mannino, S. and Milunsky, A. : Teratogenicity of high vitamin A intake. *N. Eng. J. Med.*, **333**, 1369—1373, 1995.
- 16) Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration : Food standards : Amendment of standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. *Fed. Regist.*, **61**, 8781—8807, 1996.
- 17) Jacques, PF., Selhub, J., Bostom, A., Wilson, PWF. And Rosenberg, I. : The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N. Engl. J. Med.*, **340**, 1449—1454, 1999.
- 18) 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. *JJCLA*, **20**, 29—37, 1995.
- (2002 年 10 月 29 日受付, 2003 年 1 月 31 日受理)
-