

## 女子大生における血清葉酸値と葉酸摂取量の比較検討

松本希美<sup>1)2)</sup>, 溝畑秀隆<sup>1)</sup>, 渡邊敏明<sup>2)</sup>, 亀田隆<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>神戸松蔭女子学院大学\*, (<sup>2)</sup>兵庫県立大学 環境人間学部\*\*, (<sup>3)</sup>亀田マタニティ・レディースクリニック\*\*\*)

### Study on a serum level folate and dietary intake of folate in Japanese female college students

Kimi MATSUMOTO<sup>1)2)</sup>, Hidetaka MIZOHATA<sup>1)</sup>, Toshiaki WATANABE<sup>2)</sup>, and Takashi KAMEDA<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>*School of Human Science, Kobe Shoin Women's University,*

<sup>2)</sup>*Department of Dietary Environment Analysis, School of Human Science and Environment,*

*Himeji Institute of Technology, University of Hyogo,*

<sup>3)</sup>*KAMEDA Maternity and Ladies Clinic*

#### Summary

Folic acid is a water soluble B vitamin which functions in single-carbon transfer reactions. The folate deficiency leads to the abnormal hematological changes such as megaloblastic anemia. Also the evidence is strong that the risk of having a fetus with NTD (Neural Tube Defects) diseases with increasing intake of folate during gestation. However the folate intake of many young women is not sufficient to prevent the induction of NTD in Japan. Therefore aimed to evaluate the relationship between the folate intake and serum acid of folate in 17 young women, in Japan. The dietary folate intake was  $208 \pm 104 \mu\text{g}/\text{day}$  for the annual average, although the RDA (Recommended Dietary Allowance) for adults in  $240 \mu\text{g}/\text{day}$  of diet folates equivalent. The serum concentration in folic acid  $2.3 \pm 1.0 \text{ ng/ml}$  for the annual average, which was below the lower limit of the normal range. The high end of serum folate can be partly explained by dietary folate intake. Therefore it is recommended that much more green and yellow vegetable should be intaken in young women.

近年、若い女性の間ではやせ願望が強くなっている傾向がある。この一因として、間違ったボディイメージの認識により、若い女性の食生活が変化し、やせが誘因されると考えられる<sup>1)</sup>。平成22年の国民健康栄養調査では、20～30代の女性肥満者の割合は減少傾向にあるが、やせの割合は増加傾向であり、20代女性では29%となっている<sup>2)</sup>。「健康日本21」(平成12年)で掲げている15%以下の目標値には達していない<sup>3)</sup>。やせ願望の人は一般的にエネルギー不足と伴っている。エネルギーの摂取不足は、ビタミンやミネラルなどの微量栄養素の摂取不足とも関連している。このため、妊娠可能な女性において妊娠前後に必要な葉酸摂取が不足すると、胎児の神経管閉鎖障害の発症リスクが高くなることが危惧される<sup>4)</sup>。葉酸の摂取量が低下すると、血漿ホモシステインの上昇が見られ、心血管疾患とのかわりも報告されている<sup>5)</sup>。葉酸は、緑黄色野菜や果物に多く含まれている水溶性ビタミンであり、日本人食事摂取基準(2010年版)では、12歳以上の一般

男女での推奨量(RDA)は $240 \mu\text{g}$ である。妊娠を計画している女性、または、妊娠の可能性のある女性は、神経管閉鎖障害のリスク低減のために、付加量として $400 \mu\text{g}/\text{日}$ の葉酸摂取が推奨されている<sup>6)</sup>。しかし、わが国の国民健康栄養調査では20-29歳の女性における1日あたりの葉酸摂取量は $229 \mu\text{g}$ と少ない<sup>2)</sup>。そこで本研究では、女子大生を対象に食物摂取頻度調査を行い、葉酸の摂取量と葉酸栄養状態との関連を調べるとともに、葉酸不足の要因についての検討を行った。

#### 実験方法

##### 1) 対象者および食事調査

神戸市内の女子大学に通う健康な女子大生17名を対象とした。女子大生の平均年齢は $19 \pm 0.9$ 歳、平均身長 $159 \pm 5.1 \text{ cm}$ 、平均体重 $51.7 \pm 4.7 \text{ kg}$ 、平均BMI $20.4 \pm 1.4$ であった。女子大生の内訳として、自宅通学者は12名、下宿者は5名

\*所在地：兵庫県神戸市灘区篠原伯母野山町1-2-1 (〒657-0015)

\*\*所在地：兵庫県姫路市新在家本町1-1-12 (〒670-0092)

\*\*\*所在地：兵庫県神戸市灘区八幡町1-8-15 (〒657-0051)

である。調査は季節ごとの変化をみるために年3回実施した。血液採取は2008年1月、5月、8月、食物摂取頻度調査(FFQ g)は2008年1月、5月、9月に行った。

FFQgの調査表は自己記入式で行った。

## 2) 葉酸の測定方法

血清を採取した血液を遠心分離後、 $-40^{\circ}\text{C}$ で凍結保存した。葉酸の測定は微生物学定量法で行った。サンプルの前処理として、まず、血清を0.5%アスコルビン酸ナトリウムで50倍および100倍に希釈した。次に定量菌の調整を行うため、前培養として乳酸菌(*Lactobacillus rhamnosus* NBRC No.3425)をMRS培地に入れ、 $37^{\circ}\text{C}$ で一晩培養した。培養後、培養液を遠心(3000rpm, 2分)し、菌体を集め、0.9% NaClで3回洗浄した(3000rpm, 2分)。菌体濃度は、0.9%水酸化ナトリウム溶液で希釈し、波長610nmで吸光度を約0.1に合わせた。

標準液およびサンプル調整としてアスコルビン酸ナトリウム2gを蒸留水400mlで溶解し、0.5%アスコルビン酸ナトリウム溶液を作成した。葉酸を50mgとり、約30mlの20%エタノール含有0.01N水酸化ナトリウム溶液に溶解し、0.1N塩酸でpH7.0に調整した。次にメスフラスコで100mlに定容し、葉酸標準原液(500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )を作成した。この葉酸標準原液(500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )を100 $\mu\text{l}$ とり、0.5%アスコルビン酸ナトリウムで100mlに定容し、段階的に希釈して葉酸標準溶液は(500pg/ml)を作成した。葉酸定量用培地の作成については、Medium 7.05gとTween80 40 $\mu\text{l}$ と蒸留水100mlに溶解し、オートクレーブ( $121^{\circ}\text{C}\cdot 5$ 分)で滅菌した。

葉酸の定量は、マイクロプレートにサンプル100 $\mu\text{l}$ と定量用培地100 $\mu\text{l}$ 入れて攪拌し、 $37^{\circ}\text{C}$ で18時間培養した。培養後、分光光度計で、吸光度610nmを測定した。標準液の検量線を用いてサンプルの葉酸濃度を求めた。葉酸濃度が基準値(3-20ng/ml)の、3ng/ml以上を高葉酸摂取群、3ng/ml以下を低葉酸摂取群として解析を行った。

## 3) 食物摂取頻度調査(FFQg)

葉酸の摂取量を把握するために食物摂取頻度調査(FFQg)を用いて、半定量食物摂取頻度調査を行った。半定量食物摂取頻度調査は、最近の1-2ヵ月程度のうち1週間を単位として、食物摂取量(portion size)と摂取頻度(food frequency)から食品群摂取量・栄養素摂取量を推定することができる。被験者の葉酸およびエネルギー摂取量は、1日あたりとして摂取量を表記した。葉酸摂取量400 $\mu\text{g}/\text{日}$ 以上を高葉酸摂取群、400 $\mu\text{g}$ 以下を低葉酸摂取として、解析を行った。

## 4) 統計学的解析

各人の季節ごとに平均値を求め、3回の平均値を年平均値として求めた。また、血清葉酸値の基準値分けて比較した。3-20ng/mlの下限值3ng/mlおよび葉酸の推奨量

240 $\mu\text{g}/\text{日}$ を基準にデータの集計・解析にはエクセル統計(マイクロソフト(株), 東京), SPSS for Windows 17.0で解析を行った。経時的変化は対応あるt検定、各測定値間の相関はpearsonの相関係数を算出、検討した。分析値は、すべて平均値 $\pm$ 標準偏差(SD)で示した。統計解析における有意水準は5%とした。本研究は、世界医師会による「人を対象とする医学研究の倫理原則」(1964年, 2008年改正)についての声明、いわゆる「ヘルシンキ宣言」の精神に則って、実施した。とくに被験者の研究参加へのインフォームドコンセントについては、口頭で行い、文書で同意を得た。

## 結果

### 1) 血清葉酸値

女子大生17名における葉酸値の年平均値は、 $2.31 \pm 0.67\text{ng}/\text{ml}$ であり、最小値、最大値はそれぞれ1.2ng/mlおよび4.9ng/mlであった。わが国で使用されている基準値(3-20ng/ml)の下限值以下の割合は88%であった。季節ごとの血清葉酸値の平均をみると、1月 $1.89 \pm 1.26\text{ng}/\text{ml}$ 、5月 $2.82 \pm 0.82\text{ng}/\text{ml}$ 、8月 $2.23 \pm 0.86\text{ng}/\text{ml}$ であり、いずれの時期においても低値をであった。また、1月と8月に有意な差がみられ、季節間での変動がみられた(Fig. 1)。

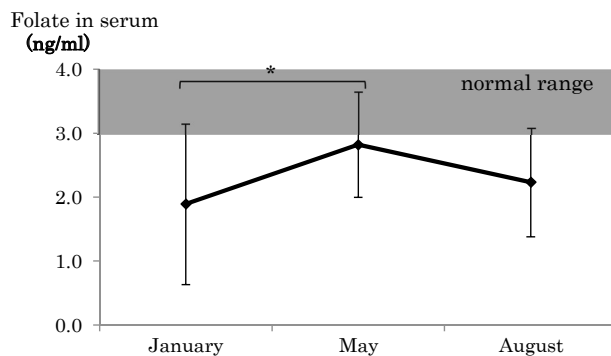


Fig. 1 Change of serum level of folate in young women

### 2) 葉酸摂取量

FFQgにおける葉酸摂取量の結果をみると、1日の平均摂取量は、1月では $225 \pm 122\mu\text{g}$ 、5月では $204 \pm 100\mu\text{g}$ 、9月では $195 \pm 78\mu\text{g}$ であり、1月が高値であった。食物からの葉酸の年平均摂取量は、 $208 \pm 87\mu\text{g}$ であり、推奨量(RDA)以下の割合は70%であった。

1日のエネルギー平均摂取量は、1月 $2102 \pm 432\text{kcal}$ 、5月 $1978 \pm 496\text{kcal}$ 、9月 $1808 \pm 493\text{kcal}$ であった。国民健康栄養調査における20-29歳の女性のエネルギー量は $1612 \pm 339\text{kcal}$ と比較し、年平均エネルギー摂取量は $1958 \pm 393\text{kcal}$ であり、推定エネルギー必要量を満たしていた。

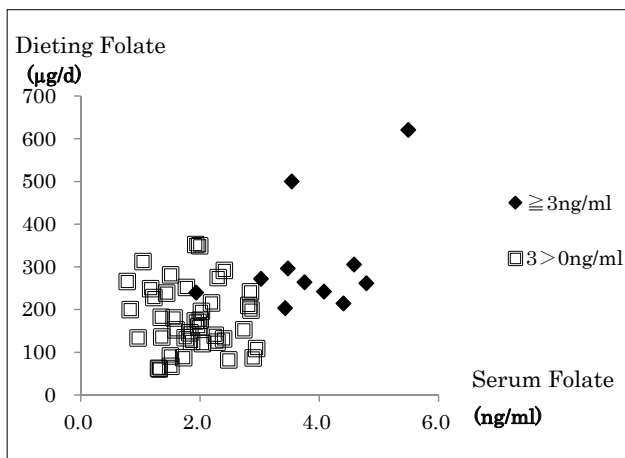
緑黄色野菜の平均摂取量については、1月 $53 \pm 51\text{g}$ 、5月 $50 \pm 45\text{g}$ 、9月 $50 \pm 30\text{g}$ であり、年平均摂取量は $51 \pm 37\text{g}$ であった(Table. 1)。

**Table 1** The amount of dietary intake by FFQg in young women

	Energy(kcal)	Protein(g)	Folate(g)	Vegetable(g)
January	2102 ± 432	68 ± 21	225 ± 122	53 ± 51
May	1978 ± 496	67 ± 19	204 ± 100	50 ± 45
August	1808 ± 493	60 ± 17	195 ± 78	50 ± 30
Average	1958 ± 393*	65 ± 16	208 ± 87	51 ± 37

### 3) 葉酸摂取量と血清葉酸との関連

葉酸摂取量と血清葉酸値の関連をみると、高血清葉酸群では、エネルギー、タンパク質、葉酸、緑黄色野菜の摂取量が多かった。血清葉酸値とエネルギー摂取量とにおいて相関がみられた ( $r = 0.741$ )。高葉酸摂取量群の血清葉酸値では、血清平均葉酸値も高値を示し、血清葉酸値と関連が認められた。しかし、低葉酸摂取量群では、相関がみられなかった (Fig. 2)。



**Fig. 2** Correlation of the intake folate according to a different level of serum folate.

## 考 察

本調査では、女子大生における葉酸の年平均摂取量は  $208 \pm 87 \mu\text{g}$  であり、推奨量  $240 \mu\text{g}$  と比較するとわずかに低値であった。国民健康栄養調査 (2011年) 結果の  $229 \mu\text{g}/\text{日}$  と比較すると、近い摂取量であったが、血清葉酸値は基準値より低値であった。しかし、我が国の推奨量  $400 \mu\text{g}/\text{日}$  以上の葉酸を摂取していた2名については、血清葉酸値も高値を示した。筆者らのこれまでの調査でも、血清葉酸値と葉酸摂取量は、葉酸摂取量  $400 \mu\text{g}/\text{日}$  以下の被験者では両者に相関はみられないが、 $700 \mu\text{g}/\text{日}$  以上摂取している被験者については、血清葉酸値の増加がみられている<sup>7)</sup>。これらのことより、血清葉酸値を増加させるには葉酸摂取量  $400 \mu\text{g}/\text{日}$  を目標にすることが必要ではあると示唆される。

血清葉酸値における変化をみると、1月には低値を示し、5月、8月で高値を示したことから、季節変動があることが示唆された。また、葉酸摂取量では1月において高値を示し、血清葉酸値との関連は見られなかった。葉酸は緑黄色野菜、レバー、大豆などの種々の食品に広く含まれてい

るが、葉酸は熱や酸素に不安定であるため、調理中の損失が大きい<sup>8)</sup>。日本人の食習慣について、冬期では生の状態の食品の摂取は少なく、ゆでなどの調理加工をした温かい状態の食品摂取が増える。このため、葉酸摂取量が増したにも関わらず、血清葉酸値が低値を示したのは、加熱による損失の影響が関係している点が考えられる。

これまでの研究結果と比較して、血清葉酸値が低値を示したことの問題点として3点考えられる。

1. 測定上の問題、2. サンプル保存状態、3. 対象者における要因である。一つ目は、葉酸を微生物学定量法にて分析した際、コントロール血清と呼ばれる標準血清を同時にプレートにまき、測定した。しかし、これらの標準血清において差異はなく、測定上の問題はないと考えられる。二つ目はサンプルの保存状態に関しては、凍結保存によるサンプルは、損失は見られていない。三つ目では今回対象とした女子大生は、運動部所属学生であったが、摂取量は一般の女子大生とあまり違いが見られなかった。このため、エネルギー消費の増加に伴い葉酸の消費が増加したのではないかと推測された。

葉酸の意識の必要性については、松尾ら<sup>9)</sup>の報告によると介入をしていない女子大生において、葉酸の認識率は45.4%であり、妊娠可能性のある年齢の女性における葉酸の認識率は低いことが問題視されている。さらに妊娠前の20-30歳代の女性において、葉酸の生体における役割を知っている者は野菜を積極的に摂取する割合が高いとの報告がある<sup>10)</sup>。緑黄色野菜摂取量について、国民健康栄養調査における緑黄色野菜摂取量は  $93.3 \text{g}$  であるのに対し、本調査での女子大生の平均摂取量は  $50.7 \text{g}$  と低値であった。食事調査方法として、食事そのものを秤量する秤量法、食べた物を記録する食事記録法、簡易的にできる調査として、食物摂取頻度調査 (FFQg) が主に使用されている。本調査では、FFQgを使用した。高橋ら<sup>11)</sup>の報告によると、食事記録法とFFQgとの比は90-110%の範囲にあり、緑黄色野菜では、FFQgでは  $51.0 \pm 34.4 \text{g}$ 、食事記録法では  $48.0 \pm 26.2 \text{g}$  と近い値を示していた。つまり、FFQgによる緑黄色野菜の摂取量の推定は、信頼が保たれていると考えられる。このようなことから、女子大生においては、いずれの時期においても緑黄色野菜の摂取量は不足していると考えられる。

しかしながら、緑黄色野菜の目標値は、健康日本21では葉酸が多く含まれる野菜の摂取量の増加を目指し、目標量を  $350 \text{g}$  としているが、緑黄色野菜のみでの葉酸の摂取目標は策定されていない。カルシウム給源として緑黄色野菜摂取量の目標を  $120 \text{g}/\text{日}$  以上としているが、葉酸摂取量を増加するための意図を組み込むことも必要ではないかと考えられた。これらのことより、女子大生においては緑黄色野菜摂取量が少ないことが、血清葉酸値が低値を示した要因のひとつでないかと示唆された。

## 結 語

最近の食生活の変化により、若い女性において葉酸などの微量栄養素摂取不足が懸念されている。とくに妊娠可能な年齢に対しては、葉酸をはじめとする微量栄養素と胎児発育との関連についての適切な助言が必要とされている。アメリカの食事摂取基準所要量では、一般女性における葉酸の推奨量は、1日あたり400 $\mu$ gであるが、日本人の食事摂取基準では推奨量240 $\mu$ gと少ない。今回の結果では、女子大生の血清葉酸値はいずれの時期においても基準値より低値を示した。要因として葉酸摂取量が少なく、特に緑黄色野菜摂取量が少ない傾向がみられた。これらのことより、妊娠可能な年齢の女性に対して葉酸が多く含まれる緑黄色野菜120g/日の積極的な摂取が望まれる。

## 参考文献

- 1) 宮崎由子：摂食障害を示す女子大生の心理特性と栄養状態評価 栄養学雑誌 Vol.64 No.1 31~43 (2006)
- 2) 健康日本21 厚生事務次官通知 (2001) 厚生省発健医第115号
- 3) 厚生労働省 (2011) 国民健康・栄養調査結果の概要
- 4) 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摂取にかかわる適切な情報の推進について。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通達。2000年12月28日

- 5) Ueland PM, Refsum H, Beresford SA, Vollset SE (2000): The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *A J Clin Nutr* 72:323-332
- 6) 安西正郷：厚生労働省査定 日本人の食事摂取基準 (2010年) 第一出版株式会社
- 7) 渡邊敏明, 他：葉酸の体内動態の評価における基礎的研究 平成16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) の査定に関する研究
- 8) 日本ビタミン学会 (2010年) ビタミン総合辞典朝倉書店
- 9) 松尾拓哉：学生における葉酸教育 ビタミン, 83, p.277-286. 2009
- 10) 赤井由紀子, 他：妊娠の葉酸認知について 母性衛生, 50, p.475-481. 2009
- 11) 高橋啓子：栄養素および食品群別摂取量を推定するための食物摂取状況調査票 (簡易調査法) の作成 栄養学雑誌, 61, p.161-169. 2003