

100%野菜ジュース摂取に伴う葉酸栄養状態の変化

細川 優*・鈴木知夏*・米山ひかる*・水上由紀**・細川裕子***

* 食生活科学科栄養生化学研究室 ** 相模女子大学栄養科学部 *** 目白大学短期大学部

Change in the nutritional status of folic acid with the intake of 100% vegetables juice.

Yu HOSOKAWA, Chika SUZUKI, Hikaru YONEYAMA, Yuki MIZUKAMI and
Yuko HOSOKAWA

*Department of Food and Health Sciences, Jissen Women's University, **Sagami Women's University,
***Mejiro University

We had 14 female college students take in 100% vegetable juice for 18 days to examine the influence of the 100% vegetable juice intake on internal folic acid nutritional status. We also examined a change of blood folic acid concentration, plasma homocysteine concentration and plasma cysteine concentration. The plasma folic acid concentration had significantly increased after the 100% vegetable juice intake. However, the red blood cell folic acid concentration did not have the change. In addition, the plasma homocysteine concentration which reflects an internal folic acid nutritional status, had significantly decreased after the intake of 100% vegetable juice, but there was no change to plasma cysteine concentration. From the above-mentioned result, it was supposed that the internal folic acid nutritional status was improved by an intake of the 100% vegetable juice for 18 days.

Key words : vegetables juice (野菜ジュース), vegetable dish (副菜), serving (サービング), folic acid (葉酸), homocysteine (ホモシステイン), cysteine (システイン)

1. はじめに

本研究は、20歳代の女性における葉酸栄養状態向上の方法論を探る目的で、体内葉酸栄養状態に及ぼす100%野菜ジュース摂取の影響を検討した。

葉酸の不足は、神経管閉鎖障害 (NTD: Neural tube defects) の発症リスクを増大する¹⁻⁵⁾。NTD発症原因の1つに、ホモシステイン濃度の上昇が示唆されている⁶⁻⁸⁾。葉酸は、5-メチル-テトラヒドロ葉酸の形で、ビタミンB₁₂依存性のメチオニンシンターゼの基質となり、ホモシステイン代謝に関与する。葉酸やビタミンB₆、B₁₂の不足は、軽度から中等度の高ホモシステイン血症を誘発する^{9,10)}。日本におけるNTDの発症頻度は、1972年には出生1万人に対して1人未満であったものが、2000年以降は出生1万人に対して5~6人に増加している¹¹⁾。これを受けて、厚生省は2000年に妊娠が予想される女性では400 μ g/日の葉酸

補給を推奨するガイドラインを策定した¹²⁾。我々は、2002年から実践女子大学の学生を対象として葉酸の栄養状態を追跡しており、葉酸の摂取量が経年的に減少するとともに、血漿葉酸濃度が低下していることを認めている。その原因として、葉酸のよい供給源となる副菜 (野菜類、きのこ類、豆類、海藻類) の摂取不足を指摘している。食事バランスガイドでは、100%野菜ジュース (200ml) の摂取は、副菜1サービング (SV) と数えることを可能としている¹³⁾。

本研究では、被験者に、18日間100%野菜ジュースを摂取してもらい、血漿および赤血球葉酸濃度に与える影響を検討するとともに、葉酸栄養状態によって影響を受ける血漿ホモシステイン、システイン濃度¹⁰⁾を指標として、100%野菜ジュース摂取の体内葉酸栄養状態向上に対する有効性を検証した。

2. 実験方法

2-1. 倫理委員会の承認と被験者の募集

実践女子大学生活科学部食生活科学科「人間を対象とした研究に関する倫理委員会」の承認を受けた後、被験者を募集した。研究の趣旨と倫理上の配慮を説明し、同意の得られた食生活科学科管理栄養士専攻の健康な3年生14人を被験者とした。

2-2. 100%野菜ジュースの摂取と採血

平成25年2月1日に1回目の採血を行った。その後、被験者には2月4日から27日までの24日間のうち、平日の18日間に1日当たり200mlの100%野菜ジュースを摂取してもらい、3月1日に2回目の採血を行った。なお、採血は朝(9時~9時30分)に、肘正中皮静脈から行った。野菜ジュースは、I社の100%野菜ジュース(「1日分の野菜」)200mlを用いた。表1に、実験に用いた野菜ジュースの栄養成分表示を抜粋して示した。100%野菜ジュースの葉酸の表示値は、4~83 μ gであったが、測定した結果、115 μ gの葉酸が含まれていた。

2-3. 写真記録法による食事調査と副菜SV数の算出

被験者には、24日間の実験期間のうち、日曜・祭日を除く任意の5日間を選び、1日分の食事を写真で記録し、提出してもらった。写真記録を基に、副菜のSV数、エネルギー、葉酸、ビタミンB₆およびB₁₂の摂取量を算出した。副菜のSV数算出には、食事バランスガイドを用いた。また栄養価計算には五訂増補日本食品標準成分表対応エクセル栄養君 Ver.6.0を用いた。

2-4. 血中葉酸および血漿ホモシステイン、システインの測定

葉酸は、Anne等の方法に準じて、微生物法で測定した¹⁴⁾。血漿ホモシステイン、システインは、蛍光標識試薬としてSBD-F(4-Fluoro-7-sulfobenzo-furazan)を用いたプレカラム誘導体化HPLC法で測定した¹⁵⁾。

2-5. 統計処理

統計解析ソフトSPSSver.21(IBM社)を用い、対応する2群間のt検定によって、100%野菜ジュース摂取前後における血漿、赤血球葉酸濃度および血漿ホ

モシステイン、システイン濃度の変化について、有意差検定を行った。

表1 100%野菜ジュースの栄養成分表示(抜粋)

成分	含有量(200ml当たり)
エネルギー	73kcal
たんぱく質	1.9g
脂質	0g
糖質、食物繊維	14.8g, 2.0~4.2g
ナトリウム	22~221mg
β -カロテン	4,720~15,460 μ g
ビタミンE	1.0~3.3mg
葉酸	4~83 μ g
ビタミンC	60~134mg
ビタミンK	10 μ g

3. 実験結果

3-1. 副菜SV数とエネルギー、ビタミンの摂取量

副菜は、葉酸のよい供給源となる。食事バランスガイドでは、副菜1SVの基準値は野菜70gとしており、写真法で得られた食事記録を、食事バランスガイドに当てはめて計算したところ、被験者の摂取副菜SV数の平均は 3.24 ± 0.95 で、摂取の目安とされている5~6SVよりかなり少なかった(表2)。目安量を達成している被験者は、1人しかいなかった。食事バランスガイドでは、100%野菜ジュース(200ml)の摂取は、副菜1SVと数えることを可能としている¹³⁾。24日中18日の100%野菜ジュース摂取で、1日平均0.75SVとなる。この値を加えた被験者実験24日間における摂取副菜SV数の平均は 3.99 ± 0.95 SVで、この結果、目標量(5~6SV)に達した被験者は2人になった。

次に、エネルギーおよびビタミン摂取量を検討した(表2)。写真法で算出した平均エネルギー摂取量は、 $1,516 \pm 250$ kcalで、食事摂取基準2010年版における18~29歳の推定エネルギー必要量と比較して78%と少なかった。しかし、この値は、他の研究の結果と大差ないことから、女子大学生では一般的に摂取するエネルギー量、すなわち食事が少ないことがうかがわれる¹⁷⁾。100%野菜ジュースには、200ml当たり73kcalが含まれており、ジュースから摂取したエネルギー(55kcal/日)を加算しても、被験者実験24日間の

表 2 副菜 SV 数およびエネルギー、葉酸、ビタミン B₆、ビタミン B₁₂ 摂取量

	副菜 (SV/日)	エネルギー (kcal/日)	葉酸 (μg/日)	ビタミン B ₆ (mg/日)	ビタミン B ₁₂ (μg/日)
食事からの摂取	3.24 ± 0.95	1,516 ± 250	238 ± 110	0.83 ± 0.24	4.58 ± 5.20
+100%野菜ジュース	3.99 ± 0.95	1,570 ± 250	324 ± 110	—	—
推奨量	5 ~ 6 ¹⁾	1,950 ²⁾	240 ³⁾	1.1 ³⁾	2.4 ³⁾

¹⁾ 食事バランスガイドにおける摂取目安量

²⁾ 18 ~ 29 歳女性の推定エネルギー摂取量 (食事摂取基準 2010 年版)

³⁾ 18 ~ 29 歳女性の推奨量 (食事摂取基準 2010 年版)

平均エネルギー摂取量は、1,570 ± 250kcal であった。

食事調査結果から算出した葉酸摂取量の平均は、238 ± 110μg/日であった。平成 24 年国民健康・栄養調査結果では、20 ~ 29 歳女性の葉酸の平均摂取量は、235μg/日と報告されており、今回得られた結果は非常に近い値であった¹⁶⁾。食事摂取基準 2010 年版における 18 ~ 29 歳女性の推定平均必要量と推奨量は、それぞれ 200μg/日と 240μg/日で、1 日の摂取量が推定平均必要量を下回ると、葉酸が不足している確率が高い。今回の研究において、葉酸の平均摂取量 (238 ± 110μg/日) だけみると、被験者の葉酸栄養状態は特に問題ないようにみえるが、個人差が大きく、1 日の葉酸摂取量が推定平均必要量以下の被験者が 6 人存在した。被験者実験に用いた「1 日分の野菜」には、115μg の葉酸が含まれており、被験者実験期間 (24 日間) にジュースから 1 日当たり 86μg の葉酸を摂取したことになる。野菜ジュース由来の葉酸を加えると、被験者実験期間における葉酸摂取量の平均は 324 ± 110μg/日となる。また、葉酸摂取量が推定平均必要量以下の被験者はゼロとなり、葉酸栄養状態は改善したと推測される。ホモシステイン代謝に影響するビタミン B₆ と B₁₂ の摂取量は、それぞれ 0.833 ± 0.24mg/日および 4.58 ± 5.20μg/日であった。食事摂取基準 2010 年版における 18 ~ 29 歳女性のビタミン B₆ の推

定平均必要量と推奨量は、それぞれ 1.0 および 1.1mg/日で、被験者の平均摂取量が推定平均必要量を下回るだけではなく、14 人中 11 人の被験者は、ビタミン B₆ 摂取量が推定平均必要量に達していなかった。平成 24 年国民健康・栄養調査結果では、20 ~ 29 歳女性のビタミン B₆ および B₁₂ の平均摂取量は、それぞれ 1.06mg/日および 4.4μg/日と報告されており¹⁶⁾、被験者のビタミン B₆ 摂取量は、この値と比べても少なく、ビタミン B₆ 栄養状態に問題があると考えられる。一方、ビタミン B₁₂ については、栄養状態が問題となる摂取量ではなかった (表 2)。

3-2. 血中葉酸および血漿ホモシステイン、システイン濃度

100%野菜ジュース摂取前の血漿と赤血球の葉酸濃度の平均は、それぞれ 3.44 ± 1.02ng/ml (基準値 > 3.0ng/ml) および 203.7 ± 64.9ng/ml (基準値 > 140ng/ml) で、平均値はいずれも基準値の範囲内に入っていた (表 3)。しかし、個人差が大きく、血漿葉酸濃度が基準値を下回る被験者は 4 人、赤血球葉酸濃度が基準値を下回る被験者は 2 人存在し、赤血球葉酸濃度が基準値を下回る被験者は、血漿葉酸濃度も基準値を下回っていた。この結果から、予想以上に体内葉酸栄養状態が悪いことが想像された。野菜ジュース摂取後の平成

表 3 血漿、赤血球葉酸濃度および血漿ホモシステイン、システイン濃度

100% 野菜ジュース	血漿葉酸 (ng/ml)	赤血球葉酸 (ng/ml)	血漿システイン (μM)	血漿ホモシステイン (μM)
摂取前	3.44 ± 1.02	203.7 ± 64.9	269.7 ± 42.7	10.79 ± 2.13
摂取後	4.89 ± 1.82 **	207.8 ± 65.7	246.9 ± 25.2	9.44 ± 1.29 *

*P<0.05, **P<0.01

25年3月1日の血漿葉酸濃度の平均は $4.89 \pm 1.82\text{ng/ml}$ で、野菜ジュース摂取前と比べて1%以下の危険率で有意に高かった。また、血漿葉酸濃度が基準値を下回る被験者は1人に減った。一方、野菜ジュース摂取後の赤血球葉酸濃度の平均は、 $207.8 \pm 65.7\text{ng/ml}$ で野菜ジュース摂取前とほとんど変わらなかった。

次に、体内の葉酸栄養状態によって影響を受けるホモシステイン、システイン代謝の変化を、これらのアミノ酸の血漿濃度を指標として検討した。100%野菜ジュース摂取前の血漿ホモシステイン濃度の平均は、 $10.79 \pm 2.13\mu\text{M}$ （最低値 $7.14\mu\text{M}$ 、最高値 $14.45\mu\text{M}$ ）であった。100%野菜ジュース摂取後の血漿ホモシステイン濃度の平均は、 $9.44 \pm 1.29\mu\text{M}$ （最低値は $6.21\mu\text{M}$ 、最高値は $10.99\mu\text{M}$ ）で、野菜ジュース摂取前と比べて5%以下の危険率で有意に低下した（表3）。また、野菜ジュース摂取後には、最低値と最高値も野菜ジュース摂取前より低値となった。血漿システイン濃度については、100%野菜ジュース摂取前の平均は、 $269.7 \pm 42.7\mu\text{M}$ （最低値 $189.3\mu\text{M}$ 、最高値 $335.2\mu\text{M}$ ）であった。100%野菜ジュース摂取後の血漿システイン濃度の平均は、 $246.9 \pm 25.2\mu\text{M}$ （最低値 $194.1\mu\text{M}$ 、最高値 $307.2\mu\text{M}$ ）で、平均値で約 $23\mu\text{M}$ 低下するとともに、最高値も低下したが、平均値は野菜ジュース摂取前と比べて統計的に有意差はなかった（表3）。しかし、14名中9名の被験者では、100%野菜ジュース摂取前と比べて野菜ジュース摂取後の血漿システイン濃度が低下しており、最も低下した被験者では、野菜ジュース摂取前と比べて摂取後には74%に低下した。上述したように、血漿葉酸濃度の変化および血漿ホモシステイン濃度、システイン濃度の変化から判断して、100%野菜ジュースの摂取によって、体内のビタミン、少なくとも葉酸の栄養状態は向上したことが推測される。

4. 考察

今回の研究では、写真法を用いて食事調査を行った。被験者14人の葉酸、ビタミンB₆、B₁₂の平均摂取量は、それぞれ $238 \pm 110\mu\text{g/日}$ 、 $0.83 \pm 0.24\text{mg/日}$ および $4.58 \pm 5.20\mu\text{g/日}$ であった。27名の女子大学生を対象とした調査では、葉酸、ビタミンB₆、B₁₂の平均摂取量は、それぞれ $236 \pm 107\mu\text{g/日}$ 、 $0.90 \pm 0.26\text{mg/日}$ および $5.25 \pm 3.74\mu\text{g/日}$ と報告されており¹⁷⁾、今

回行った我々の調査結果と大差なかった。この研究では、24時間思い出し法で食事調査を行っており、今回写真法の食事調査で得られたビタミン摂取量は、ほぼ信頼できる値であると判断される。また、ビタミンB₆摂取量の平均は、この調査でも推定平均必要量を下回っており、女子大学生では一般的にビタミンB₆摂取量が少ないことが推測される。これまでの調査で、葉酸摂取量と血漿葉酸濃度が経年的に減少傾向にあることを認めており、その原因として、葉酸のよい供給源である野菜類の摂取不足を推測している。食事摂取基準2010年版を用いて各被験者の葉酸摂取量を評価したところ、推奨量（ $240\mu\text{g/日}$ ）以上の葉酸を摂取できていた被験者は14名中4名しかいなかった。しかし、被験者実験期間の100%野菜ジュースからの葉酸摂取の増加分を考慮すると、推奨量以上の葉酸を摂取していた被験者は11名となり、摂取量が推定平均必要量を下回る被験者もいなくなった。また、今回の食事記録を食事バランスガイドにあてはめて解析した結果、副菜摂取量の平均は $3.24 \pm 0.95\text{SV}$ で目安量（5～6SV）の半分程度であり、野菜の摂取不足が明らかである。100%野菜ジュースからのSV数を加算すると、 $3.99 \pm 0.95\text{SV}$ となり、少なくとも女子学生においては100%野菜ジュース摂取の効果は大きいと推測される。健康日本21（第二次）では、国民1人あたりの野菜の平均摂取量を350gにすることを目標としている¹⁸⁾。平成24年国民健康・栄養調査結果¹⁶⁾では、20～29歳女性の野菜摂取量は 234.7g （うち、緑黄色野菜 70.3g ）で、野菜の摂取不足はこの年代の女性全般にみられる栄養学的課題であると考えられる。

100%野菜ジュース18日間摂取後の血漿葉酸濃度の平均は、野菜ジュース摂取前と比べて有意に上昇した。しかし、赤血球葉酸濃度は、100%野菜ジュース摂取前と比べて摂取後に有意な上昇はみられなかった。血漿葉酸濃度と比べて赤血球葉酸濃度は、より長期間の葉酸栄養状態を忠実に反映すると報告されている³⁾。今回の被験者実験では、実験期間24日に18日間100%野菜ジュースを摂取してもらったが、赤血球葉酸濃度が上昇するには、より長期間の野菜ジュース摂取あるいはより多い量の葉酸補給が必要であると考えられる。赤血球葉酸濃度が高くなるとNTDの発症リスクは低下し、 400ng/ml を超えるとNTDの発症

頻度は著しく低くなることが報告されているが³⁾、今回の調査では赤血球葉酸濃度が400ng/mlを超える被験者はいなかった。Brawn等¹⁹⁾は、妊婦に450μg/日の葉酸サプリメントを投与すると、赤血球葉酸濃度を400ng/mlに維持できると報告しており、通常の食事から摂取する葉酸量だけでは赤血球葉酸濃度を400ng/mlに維持することは難しいと判断される。

体内の葉酸、ビタミンB₆あるいはB₁₂の栄養状態によって影響を受ける血漿ホモシステイン濃度は、100%野菜ジュース摂取前と比べて摂取後には、有意に低下した。一方、血漿システイン濃度は、平均値には100%野菜ジュース摂取前後で有意差は認められなかったが(表2)、14名中9名の被験者では、100%野菜ジュース摂取前と比べて野菜ジュース摂取後に血漿システイン濃度が低下した。システインは、イオウ転移経路におけるホモシステインの代謝産物で、ホモシステインからシステインへの代謝には、2つのビタミンB₆依存性酵素が関与する¹⁰⁾。葉酸、ビタミンB₆、B₁₂の3つのビタミンのうちでは、ホモシステイン代謝に及ぼす影響は葉酸で最も大きい¹⁰⁾。食事調査の結果では、ビタミンB₆の摂取量は少ないが(表2)、ビタミンB₆は動物性食品に多く含まれており、今回用いた100%野菜ジュースの原材料である、にんじん、トマトを始めとする野菜類にはそれほど多くは含まれておらず、栄養成分表示にもビタミンB₆の含有量は示されていない(表1)。これらのことから、100%野菜ジュースの摂取によってビタミンB₆の体内栄養状態が向上した可能性は低く、葉酸の体内栄養状態の向上によって血漿ホモシステインとシステイン濃度が低下したと考えられる。

今回の調査では、被験者が14名と少なく、100%野菜ジュースの摂取期間が18日と短期間であったことから、100%野菜ジュース摂取の有効性を検証するためにはさらなる研究が必要である。しかし、普段の食事の補助として手軽に飲める100%野菜ジュース摂取は、女子大生の栄養状態向上にとって有効な手段であると考えられる。

参考文献

- 1) R. W. Smithells et al. Possible prevention of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *Lancet* 1 (8164) : 339-340 (1980).
- 2) MRC vitamin study research group.: Prevention of neural tube defects: Results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 338 (8760) : 131-137 (1991).
- 3) E. D. Leslie et al. Folate levels and neural tube defects. Implications for prevention. *J.A.M.A.* 274 (21) : 1698-1702 (1995).
- 4) N.J. Wald et al. Blood folic acid and vitamin B12 in relation to neural tube defects. *Br. J. Obstet Gynaecol.* 103 (4) : 319-324 (1996).
- 5) R. J. Berry et al.: Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. *N. Engl. J. Med.* 341 (20) : 1485-1490 (1999).
- 6) R. P. Steegers-Theunissen et al. : Maternal Hyperhomocysteinemia : A risk factor for neural-tube defects? *Metabolism* 43 (12) : 1475-1480 (1994)
- 7) J.L. Mills et al. : Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet.* 345 (8952) : 149-51 (1995).
- 8) B. Johansson et al. Is an Elevated Circulating Maternal Homocysteine Concentration a Risk Factor for Neural Tube Defects? *Nutr. Rev.* 53 (6) : 173-175 (1995).
- 9) S. S. Kong et al. Intermediate homocysteinemia : a thermolabile variant of methylene tetrahydro-folate reductase. *Am. J. Hum. Genet.* 43 (4) : 414-421 (1988).
- 10) J. Selhub Homocysteine Metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 19 : 217-246 (1999).
- 11) 平原史樹等 厚生労働科学研究費補助金(成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業)総合報告書. 本邦における先天異常モニタリングによる先天異常発生要因の分析とその対応に関する研究, 1-15 (2013).
- 12) 「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」厚生省 (2000).
- 13) 「食事バランスガイド」厚生労働省・農林水産省 (2005).
- 14) A. M. Molloy et al. Microbiological assay for serum, plasma, and, red cell folate using cryopreserved, microtiter plate methods. *Methods Enzymol.* 281 : 43-53 (1997).
- 15) I. Fermo et al. Total Plasma Homocysteine Analysis by HPLC with SBD-F Precolumn Derivatization. *Methods Enzymol.* 159 : 237-244 (2000).
- 16) 平成24年国民健康・栄養調査報告. 厚生労働省 (2014).
- 17) 常松 滯子、渡来 玲子. 1人暮らし女子大生の栄養素摂取状況一家族と同居との比較一. *東京家政学院大学紀要* 42 : 63-68 (2002).
- 18) 健康日本21(第二次)「国民の健康の増進の総合的な推進を図るための基本的な方針」厚生労働省 (2012).
- 19) J. E. Brown et al. Predictors of red cell folate level in women attempting pregnancy. *J.A.M.A.* 277 (7) : 548-552 (1997).

