

氏名	三ツ口 千代菊
学位の種類	博士 (栄養科学)
学位番号	第10号
学位授与年月日	平成30年3月20日
学位論文名	若年女性の葉酸摂取行動、血清葉酸値、血漿ホモシステイン値の検討ーメチレンテトラヒドロ還元酵素遺伝子多型 C677T の影響ー
論文審査委員	主査 教授 下方 浩史 副査 藤原 奈佳子 副査 教授 北川 元二 副査 教授 藤木 理代

### 論文内容の要旨

近年、葉酸と神経管閉鎖障害 (neural tube defects: NTDs) との関連が報告され、2000年に初めて栄養所要量に葉酸摂取量が示された。続いて、厚生省 (現厚生労働省) 通知として「神経管閉鎖障害の発症リスク低減のために、妊娠を計画している女性に対して妊娠1か月以上前から妊娠3カ月までの間、食品からの葉酸摂取に加えて、いわゆる栄養補助食品から葉酸400 $\mu$ g/日の摂取を推奨する」旨が出された。通知より、約15年過ぎているが、NTDsの発症率の低下はみられていない。

最近では、葉酸と動脈硬化症、認知症、がんとの関連の報告もあり、その重要性が注目されている。葉酸代謝はメチレンテトラヒドロ還元酵素 (MTHFR) 遺伝子多型 C677Tにより差がある。わが国では、MTHFR 遺伝子多型と葉酸摂取量、血清葉酸値、血漿ホモシステイン値 (pHcy 値) の関連をみた介入試験は少なく、葉酸を添加したプロバイオティクス食品による介入試験は見当たらない。

本研究では、妊娠可能な年齢にある女子大学生を対象に、葉酸・NTDsに対する知識と葉酸摂取量の関連を明らかにし、葉酸添加 (PtGlu1 200 $\mu$ g) 発酵乳 (葉酸添加発酵乳) による介入試験を行い、NTDs、巨赤芽球性貧血、動脈硬化症等予防も含めて、遺伝子多型と葉酸摂取量、血清葉酸値、pHcy 値との関連を検討した。

研究1 女子大学生における葉酸・神経管閉鎖障害に関する知識と葉酸摂取量および食物摂取構造解析

某大学管理栄養士養成課程の女子大学生337名を対象に、葉酸・NTDsの知識と葉酸摂取量、食物消費構造との関連について検討した。特に新入生の葉酸、NTDsに関する知識は十分ではなかった。知識と葉酸摂取量との間には関連が認められなかった。食物消費構造解析では副食および主食パターンが抽出された。葉酸推奨量未満の摂取者 (約60%) は葉酸ばかりではなく、他の栄養素の摂取量も低かった。これまで以上の葉酸・NTDs予防のための知識の啓発・普及と食事全体の質 (食事量と食品バランス) に関する教育が重要であることが示唆された。

研究2 葉酸添加発酵乳の摂取と血清葉酸値との関連ーメチレンテトラヒドロ還元酵素遺伝子多型 C677T 層化ランダム化比較対照試験ー

某大学管理栄養士養成課程の女子大学生143名を対象に葉酸添加発酵乳が血清葉酸値に及ぼす影響

を、MTHFR 遺伝子多型 C677T で層化し、ランダム化比較対照試験を行い、MTHFR 遺伝子多型別に葉酸摂取量、血清葉酸値の関連を検討した。投与群は PtGlu1 200 $\mu$ g を添加したビフィズス菌発酵乳（葉酸添加発酵乳）100 mL を 4 週間飲用、対照群はこれまで通りの食生活をしてもらった。血清葉酸値は化学発光免疫法、食事は食物摂取頻度調査法を用いて測定した。全対象者の MTHFR 遺伝子多型の分布は、CC 群 25.2%、CT 群 52.4%、TT 群 22.4%であった。介入前の平均葉酸摂取量は 246  $\mu$ g/日であり、MTHFR 遺伝子多型群間に差はなかった。血清葉酸値は平均 9.8 ng/mL であり、CC 群 > CT 群 > TT 群の順に有意に低値を示した。投与群の介入後の血清葉酸値は、すべての MTHFR 遺伝子多型群において介入前より約 1.5 倍上昇した。対照群は介入前後で変化はなかった。

NTDs 予防のための血清葉酸のカットオフ値 7 ng/mL を下回る者（割合）は、介入前 19 名/143 名（13.3%）であった。その内訳は CC 群 1 名（2.8%）、CT 群 10 名（13.3%）、TT 群 8 名（25.0%）であり、MTHFR 遺伝子多型群間に差があった。投与群では、介入前 10 名/73 名（13.7%）から介入後 2 名（2.7%）（CT 群 1 名、TT 群 1 名）に減少した。介入後にカットオフ値未満であった 2 名の血清葉酸値は、わずかにカットオフ値を下回っていた。本研究からみると、PtGlu1 200 $\mu$ g の添加食品で、NTDs リスク低減の可能性が示唆された。

研究 3 メチレンテトラヒドロ還元酵素遺伝子多型 C677T と葉酸摂取量、血清葉酸値および血漿ホモシステイン値との関連—葉酸添加発酵乳を用いたシングルアーム介入試験—

某大学管理栄養士養成課程の女子大学生 65 名を対象に、上記同様の葉酸添加発酵乳を投与したシングルアーム介入試験において、MTHFR 遺伝子多型別に葉酸摂取量、pHcy 値の関連を検討した。その結果、葉酸摂取量は、前報同様、遺伝子多型群間に差がなかった。pHcy 値は平均 8.0 nmol/mL で TT が CC、CT より有意に高値であった。pHcy 値は、介入前より介入後は、有意に 22.1%低下した。巨赤芽球性貧血の血漿 Hcy のカットオフ値 14 nmol/mL 以上の者は介入前後とも 2 名（3.1%）であり、いずれも TT 型であった。動脈硬化症の血漿 Hcy のカットオフ値 10 nmol/mL 以上の者は、介入前において全体で 9 名（13.8%）であり、介入後は 2 名（3.1%）に減少した。カットオフ値以上の 2 名はいずれも TT 型で、巨赤芽球性貧血のリスクと同じ対象者であった。本対象者の葉酸栄養状態は巨赤芽球性貧血の観点からみるとほぼ良好であり、動脈硬化症の予防の点からは PtGlu1 200 $\mu$ g 付加が有効であることが示唆された。

結語

女子大学生を対象に葉酸摂取行動、葉酸添加発酵乳の介入による血清葉酸値、pHcy 値への影響を MTHFR 遺伝子多型 C677T 別に検討した。その結果、女子大学生の葉酸、NTDs に対する知識は十分ではなく、知識と葉酸摂取量には関連はなかった。葉酸摂取量が推奨量未満の者は 6 割を占め、食生活の改善が必要であった。MTHFR 遺伝子多型別血清葉酸値は、TT 型が有意に低値を示し、pHcy 値は有意に高値を示した。しかし、低用量の葉酸（PtGlu1 200 $\mu$ g）添加発酵乳投与後の血清葉酸値は、NTDs リスクを回避できるレベルまで改善した。pHcy 値においては、投与後は低下し、動脈硬化症のリスク低減が示唆された。なお、巨赤芽球性貧血に対しては、葉酸の栄養状態には大きな問題はなかった。MTHFR 遺伝子多型にかかわらず、望ましい食生活のために食事のアセスメントを基に、バランスのとれた食事指導を行うこと、その上で、NTDs、動脈硬化症のリスク低減のために、低用量葉酸付加の勧奨が望ましいと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

近年、若年女性のやせ、低栄養が目立つようになってきている。特に、低栄養に伴う葉酸の欠乏は、妊娠早期の胎児への影響が大きく、神経管閉鎖障害（NTDs）のリスクとなっている。2000年には厚生省（現厚生労働省）通知として妊娠1ヶ月以上前から妊娠3ヶ月までの間、食品からの葉酸摂取に加えて、栄養補助食品から葉酸400 $\mu\text{g}$ /日の摂取を推奨する旨の通知がされている。しかし、多くの諸外国ではNTDs発症率は低下しているにもかかわらず、わが国では発症率は低下しておらず、葉酸摂取の重要性についての知識の普及が大きな課題となっている。

本研究では研究倫理委員会の承認を得て実施した3つの研究から、女子大学生における葉酸関連の知識、葉酸摂取の実態について明らかにするとともに、葉酸の代謝に関わるメチレンテトラヒドロ還元酵素（MTHFR）遺伝子多型C677Tで層化したランダム化比較対照試験（RCT）、血漿ホモシステイン値（pHcy）を含めた解析までを行い、葉酸強化食品による介入の効果を明らかにしている。

【研究1】女子大学生337名を対象に、葉酸やNTDsの知識、葉酸摂取量等について調査し、特に新入生の葉酸、NTDsの知識が不十分であること、葉酸摂取が推奨量未満である者が約6割存在し、摂取が不足している者では、葉酸以外の栄養素摂取量も不足していることを明らかにした。

【研究2】女子大学生143名をMTHFR遺伝子多型で層化し、葉酸強化食品（ピテロイルモノグルタミン酸:PtGlu1 200 $\mu\text{g}$ ）の介入をRCTで実施した。血清葉酸値が低値（10nmol/ml）の者は13.3%であった。MTHFR遺伝子多型ヘテロ接合体の者は54.2%、ホモ接合体の者は22.2%であり、血清葉酸値の低値に関連していた。葉酸強化食品による介入で、血清葉酸は1.5倍に増加し、MTHFRの多型と関係なく、NTDsのリスクの低減レベルまで改善することができた。

【研究3】女子大学生65名を対象に葉酸強化食品（PtGlu1 200 $\mu\text{g}$ ）の4週間の介入を行った。MTHFR遺伝子多型はpHcyの高値に関連していたが、MTHFR多型とは関係なく、pHcyを巨赤芽球性貧血および動脈硬化症の予防レベルまで改善することができた。

以上のように、本研究では若年女性を対象に、葉酸やNTDsの知識、葉酸摂取量等の実態から、RCTによる介入、さらに遺伝子多型による葉酸とホモシステインとの関連の解析まで、一貫性のある研究計画の元に実施されている。若年女性における血中葉酸値およびpHcy値の現状を示し、その背景にNTDsについての知識不足、葉酸の摂取不足、MTHFR遺伝子多型C677Tの影響があること、葉酸強化食品の摂取で血中葉酸値およびpHcy値が改善されることを系統的に明らかにした。日本でのNTDs発症率が低下しない原因と改善法を示した本研究の価値は高い。また、葉酸摂取の増強に強化食品を用いることで、遺伝因子や食生活に関わらず一定の効果を得ることができることを明らかにし、ハイリスク・アプローチよりもポピュレーション・アプローチが重要であることを示した。論文の構成においては、研究の背景に国内外の先行研究や資料を引用し、的確な問題提起がなされている。問題の分析には、適切な調査、解析方法が用いられている。論文の文章表現、体裁、論旨、図表、要旨なども適切である。研究2は英語論文として専門誌に掲載されており、また引用した英語論文の解釈も適切であり、十分な語学力を有していると判断できる。

当該研究者は、管理栄養士としての実績もあり、栄養学的見地から臨床研究を計画できる能力も高い。また、栄養学的な視点のみならず、公衆衛生学、栄養教育、医学の統合的・重層的な研究を実践できる研究者としても今後の活躍が期待される。これらを総合的に判断し、博士（栄養科学）の学位授与に値するものと判断する。