

若年女性の尿中ホモシステイン排泄量に及ぼす葉酸摂取の影響

渡 来 れい子 常 松 滢 子

若年女性の尿中ホモシステイン排泄量に及ぼす葉酸摂取の影響

渡 来 れい子 常 松 滢 子

はじめに

ホモシステインは、食事中のタンパク質に含まれメチオニンが代謝される際に生成される中間代謝物であり、システインとして、尿中に排出される。ホモシステインの代謝には、シスタチオニン合成酵素、メチオニン合成酵素、5,10-メチレン・テトラヒドロ葉酸還元酵素の3つの酵素が関与し、これらの酵素の欠損又は、異常により血液中ホモシステインが増加する。ホモシステイン代謝に関与する酵素は葉酸、ビタミンB6、B12がコファクター、基質として関与し、これらのビタミンの不足により、血中ホモシステイン濃度が上昇する。血中ホモシステインの上昇が、心筋梗塞や¹⁾ 脳血管障害³⁾、アルツハイマー病⁴⁾の発症と関連があるという、いくつかの報告がある。そのメカニズムは、ホモシステインの自己酸化の過程で生じた過酸化水素や、スーパーオキシドラジカルを原因⁵⁾とするもの動脈内膜細胞のDNAのメチル化の減少が細胞の変異を生じるといふもの⁶⁾などが報告されている。血漿中ホモシステイン濃度は14.0 $\mu\text{mol/l}$ 以上で過ホモシステイン血症とする⁷⁾、という報告がある。尿中の排泄量については、慢性腎不全患者において血漿中のホモシステイン濃度と尿中の濃度に正の相関があると報告されている⁸⁾が、健常者の尿中の値の報告はあまりみられない。被験者に対して苦痛や危険を与えることなく、生体内の情報を得ることが可能な尿検査は、広範囲の被験者を対象とすることができ、医療機関以外での栄養調査の手段としても適用できる。一般に血漿ホモシステイン濃度は、男性より女性の方が低く、高齢者より、若年者の方が低い⁹⁾。また、血中ホモシステインレベルは葉

酸の補充によって減少することが確認されている¹⁰⁾¹¹⁾が、健常者の尿中ホモシステインレベルの減少についての検討はあまりされていない。我々は、健康な若年女性の24時間尿中のホモシステイン量を葉酸投与前後に測定し、葉酸摂取量と尿中ホモシステイン量との関連について検討してみた。

方法

本学管理栄養士専攻4年生21才から23才の16名を対象とした。

1. 採尿方法

6月下旬から7月上旬にかけて、24時間尿を採取。採取方法は、実際の尿量の1/50量が採取できる24時間尿比採取器(住友ベークライト株式会社、ユリンメードP)を用いておこなった。採尿後、葉酸(大塚製薬、ネイチャード葉酸)400 μg /日を2週間投与した後再び、24時間尿を採取し、 -40°C で保存後分析に供した。

2. 尿中ホモシステインの分析

ARAKI等の方法¹²⁾によって行った。すなわち、尿1.0mlをジメチルフォルムアミド(DMF)で還元し、10%TCAで除タンパク後発色剤SBD-Fを加え、 60°C で60分間インキュベートした試料10 μl について高速液体クロマトグラフィー分析法で測定した。

分析は次のような条件でおこなった。

島津製作所的高速液体クロマトグラフィー分析装置を使用し、カラムは島津製Shim-packCLC-ODS0.15 \times 6.0 ϕ)を使用した。分析条件は、カラム温度 40°C 。移動相はA液(2%メタノールを含む0.1M酢酸緩衝液)とB液(5%メタノールを含む0.1%リン酸緩衝液)を流速1ml/分でAからBへ20分間傾斜で流し、蛍光検出器を用いて、

E X : 385nm E M : 515nm の条件で測定した。

3. 食事調査

第1回目の採尿前3日間の食事調査は24時間思い出し法で実施し、食事中の葉酸、ビタミンB6、B12摂取量を栄養計算ソフト(BASIC-4 for windows 女子栄養大学出版部)によって算出した。

集計は前報¹³⁾と同様の方法で行った。

4. 統計処理

students t 検定の対応2サンプル平均値検定によって行った。

この実験は、東京家政学院大学倫理委員会の承認を得て実施した。

結果及び考察

実験の前後に採取した尿量は、325mlから1900mlと幅があった。採尿時期が夏ということで尿量の少ない場合はあり得るが、1/50量の採尿方法を使用したため、非常に尿量の少ない場合は容器に付着した尿の誤差の比率が高くなり、1日尿中の各成分の値にも誤差が生じてくる。

被験者16名の実験開始時と終了時の尿量と尿中クレアチニン量を表1に示した。

表1 尿素及びクレアチニン排泄量

被験者	尿量 ml / day		クレアチニン mg / day	
	開始時	終了時	開始時	終了時
A	670	800	936	698
D	1850	1250	928	774
B	350	930	694	1026
G	1360	1900	1274	814
M	1070	1090	773	637
H	690	970	737	708
L	560	975	564	577
C	470	450	815	779
E	430	1290	686	856
I	820	970	1208	962
K	565	700	707	660
F	410	520	781	825
O	660	1175	901	929
J	440	1180	760	946
N	540	485	793	693
P	325	325	451	487
平均	701	938	813	773

クレアチニンは食事中の摂取成分に影響されず、体タンパク質の分解などによって排泄される窒

素化合物であるので、採尿日による変動はあまりない。2回の採尿時の差が20%以上あり実験終了時の値のほうが低い者が3名いた。葉酸投与後のホモシステインの値に誤差が生じている可能性があるため、個別に検討した。

尿中ホモシステイン濃度は、図1に示したとおりA、Bの2名が著しく高く、この2名は葉酸摂取後には3nmol/ml以下に減少した。実験開始時における他の14名と葉酸投与後の16名全員の値はいずれも3nmol/ml以下であった。葉酸投与前後の平均値は、2.19nmol/ml、1.48nmol/mlで5%の危険率で有意の差があった。

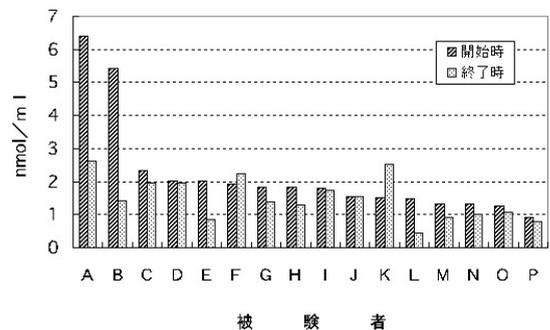


図1 尿中ホモシステイン濃度

24時間尿中のホモシステイン量は図2に示した。濃度が最も高かったAは、この値でも4 μ mol以上で、葉酸投与後の値は1/2以下に減少した。Dも平均値より高い値を示し葉酸投与後に35%の減少があった。Bは開始時の値は2 μ mol以下であり、葉酸投与後にかなりの減少が見られた。しかし、Bの開始時の尿量及びクレアチニン量は終了時に比べて30%以上低いことから、開始時の採尿が正確にされていなかったと推測される。24時間尿中ホモシステイン量の平均は1.47 μ molであり、葉酸投与後は1.35 μ molに減少しているが有意の差はなかった。

採尿の不適正を補正するためにクレアチニンの値に対する24時間尿中のホモシステイン量を比較して図3に示した。Aはこの比でも高い値を示し、葉酸投与後には減少した。DとBも投与前の高い値に対し減少した。しかし、被験者全体の平均値は、1.74 μ mol/dayと1.76 μ mol/dayで、葉酸投与による減少はみられなかった。

表2 葉酸投与前後の尿中ホモシステイン量平均値

	開始時	終了時
nmol/ml	2.19 ± 1.15	1.48 ± 0.64*
μmol/day	1.47 ± 1.13	1.35 ± 0.69
Hcys/クレアチニン	1.74 ± 1.13	1.76 ± 0.87

平均±SD
* P<0.05

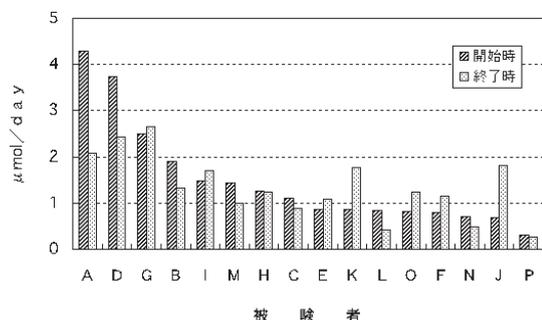


図2 24時間尿中ホモシステイン量

若年女性の尿中のホモシステイン量の正常値は明確になっていない。少ない被験者数の実験結果から結論を示すことは危険であるが、今回の実験から、若年女性の24時間尿中のホモシステイン量は、2μmol以下であり、3μmol以上では葉酸投与によって減少すると考えられる。

被験者の食事調査から、ビタミンB6、B12、葉酸の摂取量を算出した。各ビタミンの平均摂取量は表3に示してあるように、ビタミンB12と葉酸は所要量を満たしていたが、B6は所要量の6割の充足率であった。ホモシステイン量の多かったA、D、多いと推測されるBについてみると、A、Dはいずれのビタミンも充足していたが、BはビタミンB6、葉酸の摂取量が極端に低

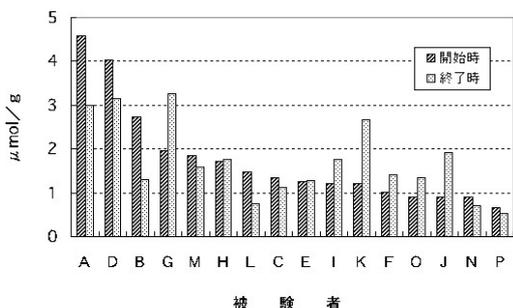


図3 クレアチン排泄量に対する24時間尿中ホモシステイン量

表3 被験者のビタミンB6、B12、葉酸摂取量

被験者	B6 (mg)	B12 (μg)	葉酸 (μg)
A	0.77	3.3	242
B	0.30	2.5	92
C	0.78	5.0	246
D	1.09	3.1	298
E	0.94	3.2	327
F	0.81	2.6	195
G	0.51	3.4	162
H	0.65	1.7	123
I	0.82	2.3	183
J	0.66	3.2	170
K	0.64	2.3	194
L	0.34	1.2	129
M	0.92	1.5	268
N	0.86	4.4	200
O	0.81	4.0	195
P	0.82	4.9	214
平均	0.73	3.0	202

かった。被験者全体については、ビタミン摂取量と尿中ホモシステイン排泄量との相関性は見られなかった。

わが国の成人の葉酸の所要量は食事から摂取可能な200μgとされている。¹⁴⁾ 他の栄養素の摂取状況からみても十分な内容とはいえない今回の被験者の食事調査結果でも葉酸摂取量の平均は200μg以上あった。葉酸摂取量が200μg以上摂取している被験者においても尿中ホモシステイン排泄量が多く、葉酸投与によって減少がみられたということは、食事の葉酸量は200μgでは十分ではない、ということを示唆しているのではないかと。

葉酸は巨赤芽球の正常赤血球への熟成に関与し、DNA、RNAの合成・分解や、タンパク質の合成・細胞分化にも関与している。米国及び英国においては妊娠を予定している女性では葉酸を400μg摂取すべきであるとされている。¹⁵⁾ 葉酸はレバーに非常に多く(800~1000μg/100g)含有されているが、その他の食品、豆類、緑黄野菜類にも70~300μg/100g含まれている。わが国の食生活の中で200μg以上を食事から摂取することはそれほど無理な基準ではない。特に成人における摂取基準について見直す必要があるのではないかと考える。

われわれは、中高年齢者を対象に尿中ホモシステイン量を測定し、葉酸投与前後の値は2.67μmol/dayから2.28μmol/dayに有意に減少したという結果を得た。¹⁶⁾ 若年女性の中にも葉酸摂取

量を増加することによって尿中ホモシステイン量の減少がみられた被験者があったことから、若年女性にも葉酸欠乏があり、尿中ホモシステイン量の多少によって、欠乏の判定が可能になるのではないかと考える。今回は被験者数が少なかったため、明確な知見はえられなかったが、さらに多くの人を対象に検討したい。また、ビタミン B6 の影響についても検討の必要があろう。

本実験は、平成 13 年度本学家政学部家政学科卒業の、中山陽子氏、浅井聡衣氏の協力によって、実施されました。協力に感謝いたします。

要約

若年女性 16 名を対象に、24 時間尿を 1/50 の尿比採取器で採尿後 1 日 400 μg の葉酸を 2 週間投与し終了時に再び採尿して、尿中ホモシステイン量を、測定した。尿中ホモシステイン濃度の平均値は葉酸投与後は有意に低くなった。24 時間尿中ホモシステイン量の平均値は 2 $\mu\text{mol}/\text{day}$ 以下であった。3 $\mu\text{mol}/\text{day}$ 以上の被験者は、葉酸投与により、尿中ホモシステイン量は減少した。食事調査の結果、葉酸摂取量の平均は所要量を満たしていたが、ビタミン B6 の充足率は約六割と、非常に低かった。食事からの葉酸摂取量と、尿中ホモシステイン量には相関は見られなかった。

参考文献

- 1) Stampfer MJ et al. : A prospective study of Plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. JAMA 268 : 877-881, 1992
- 2) Rosenberg. I H. : Homocystine, Vitamins and Arterial Occlusive Disease: An Overview. J. Nutr. 126 : 1235 S-1237 S, 1996
- 3) Perry IJ et al. : Prospective study of serum homocysteine and risk of Stroke in middle-aged British men. Lancet 346 : 1395-1398, 1995
- 4) Clarke R, Smith AD, Jobst KA, et al. : Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. Arch Neurol 55 : 1449-1455, 1998
- 5) 菊尾七臣, 梅田祐司, 島田和幸 : 血栓症—診断から治療まで 高ホモシステイン血症, 診断と治療 Vol. 86, 1624-1632 1999
- 6) Newman PE. : Can reduced folic acid and vitamin B12 levels cause deficient DNA methylation producing mutations which Initiate atherosclerosis? Med Hypotheses 53: 421-424, 1999
- 7) Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, Rush D, Rosenberg IH. : Vitamin status And intake as primary deteminants of Homocysteinemia in an elderly pulation. JAMA 270 : 2693-2698, 1993
- 8) Hultberg B, Anderson A, and Sterner. : Plasma homocysteine in renal failure. Clinical Ncpcbology 40 : 230-234, 1993
- 9) 長谷川卓 : 健常者における血中ホモシステインの老若差, 医学と生物学, 127, 63 - 66, 1993
- 10) Tucker, K.L. et al. : Folic acid fortification of the food supply Potential benefits and risks for the elderly population. JAMA 276 : 1879-1885, 1996
- 11) Malinow, M.R. et al. : Reduction of plasma homocyst(e)ine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients With coronary heart disease. N. Engl. j. Med., 338 : 1009-1015, 1998
- 12) ATSUSHI ARAKI and YOSIYASU SAKO : DETAERMINATION OF FREE AND TOTAL HOMOCYSTEINE IN HUMAN PLASMA BY HIGH-PERFORMANCELIQID CHROMATOGRAPHY WITH FLUORESCENCE DETECTION. J. Chromatography, 422 : 43-52, 1987
- 13) 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—東京家政学院大学紀要 自然科学・工学系, 42, 63 - 68, 2002
- 14) 健康・栄養情報研究会編 : 第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準— 第一出版, 東京, 1999
- 15) 木村修一, 小林修平監修 葉酸 : 最新栄養学, 専門領域の最新情報, 第 7 版, p 203 - 217. 建帛社, 東京 1997
- 16) 渡来れい子, 常松滯子, 千葉茂, 神長亜紀 : 中高年齢者への葉酸投与が尿中ホモシステイン排泄に及ぼす影響, 第 48 回日本栄養改善学会 学術総会講演集, 405, 2001