

## 原著論文

# 勤労男性における遺伝子多型別テーラーメイド栄養指導による血清葉酸、ホモシステイン濃度に対する影響

平岡真実<sup>1</sup> 坂本香織<sup>2</sup> 百合本真弓<sup>3</sup> 香川靖雄<sup>2</sup>  
淑徳大学看護栄養学部栄養学科<sup>1</sup> 女子栄養大学<sup>2</sup> ヤクルト本社<sup>3</sup>

Effect of genotype-based personalized nutrition guidance  
on serum folate and homocysteine concentrations in male workers

Mami Hiraoka<sup>1</sup>, Kaori Sakamoto<sup>2</sup>, Mayumi Yurimoto<sup>3</sup>, Yasuo Kagawa<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>School of Nutrition, College of Nursing and Nutrition, Shukutoku University  
<sup>2</sup>Kagawa Nutrition University  
<sup>3</sup>Yakult Honsha Co., Ltd.

### 抄録

**【目的】** 葉酸摂取不足や葉酸代謝関連酵素の遺伝子多型 *MTHFR* C677T は高ホモシステイン (Hcy) 血症を招き、動脈硬化性疾患のリスクを高める。そこで20～60歳代の勤労男性を対象に、遺伝子多型に基づくテーラーメイド栄養指導を行い、血清葉酸、Hcy濃度の変化と介入回数、期間の反映を検討した。

**【方法】** 対象は20～60歳代の自治体職員研修会参加者の男性で、血清葉酸およびHcy濃度、葉酸や緑黄色野菜摂取量と遺伝子多型に基づき、葉酸摂取を中心とした栄養指導を行った。A群 (n=43) では初回介入の3か月後とその約1年後に介入し、B群 (n=69) では初回介入の約1年後に介入して、葉酸栄養状態の指標を測定して比較した。

**【結果】** A群では血清葉酸濃度、血清Hcy濃度に有意な改善がみられ、TT型での変化量が他の多型より有意に大きくなった。B群の初回の葉酸、Hcy濃度は多型間差がなく、介入後有意な変化はみられなかった。葉酸や野菜摂取量は両群とも有意な増加はみられなかった。

**【結論】** 勤労男性への遺伝子多型に基づく栄養指導は、多型間差がある場合、葉酸栄養状態改善に効果があることが確認された。複数回の介入が改善状態の継続に有効である可能性が示された。

**キーワード：** 葉酸、ホモシステイン、遺伝子多型、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素、テーラーメイド栄養  
**Key Words:** folate, homocysteine, genotype, MTHFR, personalized nutrition

## I はじめに

葉酸の長期的な摂取不足は血中ホモシステイン (Hcy) 濃度の上昇をまねき、動脈硬化性疾患のリスクを高める。高Hcy血症は心筋梗塞、脳梗塞 (The homocysteine studies collaboration, 2020) を起こしやすくし、認知症の危険因子でもある。(Ravaglia et al., 2005 ; Smith et al., 2018)。葉酸とHcyはその代謝経路において密接に関係しており、そこで

は、ビタミンB<sub>12</sub>やビタミンB<sub>6</sub>およびB<sub>2</sub>が補酵素として作用している。したがって葉酸に限らずこれらのビタミンの不足によっても血中のHcy濃度が上昇する。また、葉酸代謝関連酵素の遺伝子多型にはHcy代謝に影響を及ぼすものがあり、なかでも特に影響が明確なのがメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (methylenetetrahydrofolate reductase : MTHFR) の一塩基多型 C677Tである。野生型ホモのCC型に比べて変異型ヘテロのCT型では約

35%、変異型ホモのTT型では70%酵素活性が低下する (Frosst et al., 1995) ため、結果としてCT型やTT型では血中Hcy濃度の上昇をまねきやすい。この多型の頻度には人種差や地域差がみられ、日本人では約15%がTT型である (Sadewa et al., 2002)。特にTT型では葉酸、ビタミンB<sub>6</sub>、ビタミンB<sub>12</sub>の摂取量が必要量を超えて摂取していてもCC型やCT型に比べて血中葉酸濃度は低く、Hcy濃度は高いことが示されており (Hiraoka, 2004a)、虚血性心疾患 (Klerk et al., 2002) や脳梗塞 (Morita et al., 1998) のリスクも高い。この遺伝子間の格差を解消するためにはTT型では葉酸を多く摂取する必要があることが明確になってきた (Hiraoka et al., 2004b)。TT型の血清葉酸濃度をCC型やCT型と同レベルにするには、1.4倍の葉酸摂取量が必要とした報告 (Miyaki et al., 2005) もある。

そこで我々は、葉酸をキーワードに掲げて地域住民を対象にした健康づくり活動、すなわち「さかど葉酸プロジェクト」を2006年より開始した (平岡, 2009a; 平岡他, 2009b)。官学協働の健康づくりの一環として野菜の摂取促進や食生活の改善を図り、葉酸摂取量を増加させて血中Hcy濃度を低下させ、認知症や脳梗塞などのリスク低減を目指すものである。最大の特徴は、*MTHFR* 多型に基づいたテーラーメイド栄養指導を実践している点である。広報誌や自治体ホームページで募った参加者を対象とした市民健康講座の半年間にわたるプログラムにおいて、栄養指導の前後データがそろっており比較ができた400名 (男性110名、女性290名、年齢61.2 ± 9.6歳; 男女数と年齢は未発表データ) では、血清葉酸濃度が上昇し ( $p < 0.001$ )、血清Hcy濃度が低下 ( $p < 0.001$ ) した。特にTT型においてこれらの栄養指標の変化量が最も大きく、遺伝子型を用いた栄養指導の効果がみられた (平岡他, 2015)。このようにリスク遺伝子型であると認識することは、他の指標よりも生活習慣改善に対する動機づけに効果的であり、改善効果の持続性の可能性も高いことが示唆されている (Joostet al., 2007; 山崎他, 2012)。

血中Hcy濃度に影響する生理的要因には加齢や男性、閉経がありこれらで高値となりやすい (松岡他, 2000)。勤労男性において血中Hcy濃度が

高いほど抑うつ症状が多いとの報告 (Nanri et al., 2010) もある。葉酸供給源となる緑黄色野菜や果物の日常的摂取はHcy値を低下させるが、男性は自分で調理をする頻度が少なく、食生活の改善は他者に依存している場合が多い。このような対象者にとって血中Hcy濃度上昇抑制の観点から、葉酸栄養状態の改善における効果的な支援を検討する意義は大きいと考えられる。これまでに我々が実施している遺伝子多型別テーラーメイド栄養指導において、男性のみを対象とした葉酸栄養状態の改善効果は検討されていない。そこで、本研究では20~60歳代の勤労男性を対象として、葉酸摂取量、血清葉酸濃度と血清Hcy濃度の変化において、*MTHFR* 遺伝子多型別栄養指導の回数と効果判定期間がどのように反映されるかを検討した。

## II 対象と方法

### 1. 対象

本研究は、女子栄養大学と坂戸市が協同で行っている「さかど葉酸プロジェクト」の一環として実施された自治体職員研修会への参加者の男性 (20歳代~60歳代) を対象とした。2006~2007年度参加者をA群、2012~2013年度参加者をB群とした。いずれも初めての参加であり、研修会スケジュールを全て修了した者 (A群 43名、B群 69名) を解析対象とした。研修会初回の講習会において文書と口頭によって研究目的、方法、血液検査や遺伝子検査、個人情報保護等を丁寧に説明して、署名による同意書の提出を受けた。本研究は、女子栄養大学ヒト・ゲノム遺伝子解析に関する倫理委員会の承認 (第186-G号) を受けて実施した。

### 2. 研修会スケジュールと栄養指導

研修会はA群: 2006年10月から2008年3月、B群: 2013年2月から2014年3月に開催された。研修会スケジュールを図1に示した。A群、B群いずれもまず認知症のメカニズムと食生活、葉酸の働き、遺伝子多型と葉酸等に関する講話を行い、葉酸摂取状況の評価や葉酸栄養状態の評価・診断および遺伝子多型解析のため、採血 (午前中空腹時) および食事調査 (初回) を行った (図1①)。

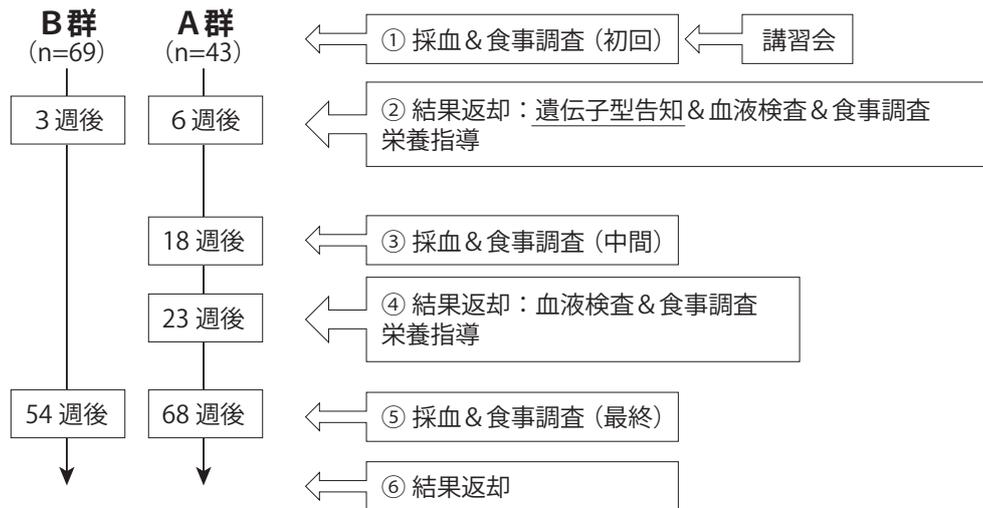


図1 研修会スケジュール

A群は2006～2007年度、B群は2012～2013年度に実施した。対象者はいずれも男性である。

約1ヵ月程度後(図1②)、遺伝子型を対象者一人ずつに医師から告知し、血液検査と食事調査結果を返却した。遺伝子型の意味、すなわち型によって葉酸代謝への影響が異なることの説明、血清Hcy濃度と血清葉酸濃度の確認、遺伝子型に応じたこれらの血中濃度目標値の説明、葉酸や緑黄色野菜摂取量の現状と摂取目標量について、さらに血清Hcy濃度上昇抑制のため葉酸、ビタミンB<sub>6</sub>、B<sub>12</sub>の必要性について集団指導した後、個別栄養アドバイスをを行った。詳細は文献(平岡, 2009b)に述べたとおりであるが、血清Hcy濃度と血清葉酸濃度の認知症予防目標値を達成するために、葉酸摂取量はCC型、CT型では300μg/日、TT型では400μg/日以上を目標と定めて、そのために緑黄色野菜の摂取目標量をCC型、CT型は150g/日、TT型は200g/日と設定した。基本的には食事の改善で葉酸摂取量の目標をこえる指導方針とし、摂取状況の評価と確認をしながら対象者の食生活に応じた葉酸摂取量を増やす工夫として、葉酸を多く含む野菜を『みどり色野菜』と称して名前をあげ、これらを使ったメニューを紹介してレシピを配布した。さらに葉酸だけでなくビタミンB<sub>12</sub>、ビタミンB<sub>6</sub>の摂取も心がけることを伝え、これらの含有量の多い食品一覧表も配布した。個別指導は、あらかじめ遺伝子多型と栄養について講習を受け、多型別栄養指導の方針や方法の研修を積んだ栄養士が担当した。A群ではその約3ヵ月後(図1

③)、葉酸栄養状態や摂取状況の評価・判定のため、再び採血と食事調査(中間)を行い、その約1ヵ月後(図1④)、結果に基づき②と同様に集団指導と個別アドバイスをを行った。ここでは血清Hcy濃度や葉酸濃度、葉酸摂取量や緑黄色野菜摂取量の目標達成度の確認、食生活の振り返りや目標の見直しも行った。約1年弱後(図1⑤)、フォローアップのため採血と食事調査(最終)を行った。一方B群では、図1②で結果返却と栄養指導を行った後の介入はなく、約1年後にフォローアップとして採血と食事調査(図1⑤)を行った。これらの結果は1ヵ月後に返却した(図1⑥)。

### 3. 測定項目

#### 3.1 血液検査

採血は午前中空腹時に行い、血清HcyはAZWELL Auto Kitによる酵素法でアルフレッサファーマに依頼して測定した。血清葉酸、血清ビタミンB<sub>12</sub>は化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)でエスアールエルに測定を依頼した。葉酸測定値は2012年の測定試薬変更にともないA群に比べてB群では約1.35倍高くなり、カットオフ値は<3ng/mLから<4ng/mLに変更された(西村他, 2012)。血清葉酸濃度の目標値はA群では7ng/mL以上、B群では試薬の補正值に基づき9.5ng/mL以上に設定した。血清Hcy濃度の目標値は7μmol/L未満に設定した(平岡, 2009b)。

### 3.2 メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR) C677T 遺伝子多型

EDTA・2K加血からDNAを抽出した。A群はエスアールエルに依頼し、B群は全自動核酸抽出装置 Magstration System 6GC (プレジジョン・システム・サイエンス) にて行った。MTHFR C677T 多型は、Hinf Iを用いたPCR-RFLP法 (Frosst et al., 1995) あるいはBIST法 (Kagawa et al., 2010) で遺伝子型を同定した。

### 3.3 食事調査

A群の初回 (図1①) と中間 (図1③) ではエクセル栄養君 食物摂取頻度調査法 (FFQg) Ver.1.1 (建帛社) を使用し、A群最終 (図1⑤) とB群 (図1①、⑤) では自記式食事歴法質問票 (DHQL) を用いた。回収日の1週間程度前にあらかじめ対象者に質問票を配布して記入を依頼し、採血当日に回収して栄養士による回答確認を行った。栄養素摂取量はエネルギー調整したのち解析に使用した。緑黄色野菜摂取量は、日本食品成分表にしたがった18食品群に分類された結果を使用した。葉酸、ビタミンB<sub>6</sub>、ビタミンB<sub>12</sub>および緑黄色野菜摂取量は、エネルギー1000kcalあたりの摂取量を算出して比較した。

### 4. 統計解析

各変数の正規性をShapiro-Wilk検定を用いて確認したところ、身長、体重、BMIを除いて正規性が認められなかったため、変数は中央値 (25パーセントイル、75パーセントイル) で結果を示し、ノンパラメトリック法による検定を行った。A群とB群の変数の比較はMann-Whitney検定を使用した。A群の初回、中間、最終での変数比較はFriedman検定で有意差が認められたのちの多重比較ではDunn検定を行った。B群における初回と最終の各指標の比較は、Wilcoxonの符合付順位検定を用いた。遺伝子多型間の比較には、Kruskal-Wallis検定ののち、有意差がみられた場合はDunn検定を行った。さらにHcy濃度の変動について多型間の相違を比較するため、初回と中間との差、初回と最終との差を3つの遺伝子多型間でKruskal-Wallis検定によりp値を求め、必要に応じ

てDunn検定を行った。血清葉酸濃度およびHcy濃度の目標達成状況の比較は $\chi^2$ 検定を用いた。Shapiro-Wilk検定にはIBM SPSS Statistics 22を用い、その他の検定はStatFlex Ver.6.0 (アーテック) を使用した。統計的有意水準は $p < 0.05$ とした。

## III 結果

研修会開始時の対象者特性を表1に示した。A群とB群間において年齢、体格ともに有意差は認められなかった。年齢分布はA群では30歳代2名、40歳代9名、50歳代以上32名、B群で20歳代9名、30歳代8名、40歳代19名、50歳代33名でありどちらも50歳代以上の割合が高かった。

血清葉酸濃度と血清Hcy濃度を表2に示す。A群で栄養指導を挟んだ3回の調査で血清葉酸濃度 ( $p < 0.001$ )、血清Hcy濃度 ( $p < 0.001$ ) とも有意差が認められた (表2 (a))。初回の値から中間、最終ともに血清葉酸濃度は有意に上昇し ( $p < 0.01$ )、血清Hcy濃度は有意に低下した ( $p < 0.01$ )。遺伝子多型間での差は、初回の血清Hcy濃度で有意 ( $p < 0.05$ ) であり、TT型がCC型より高く、血清葉酸濃度はCC型が高い傾向がみられた。中間、最終での多型間差は認められなかった。遺伝子多型別に血清葉酸濃度およびHcy濃度の変化量を表3に示す。血清葉酸濃度は、有意でないもののTT型の変化量が他の型より大きく、血清Hcy濃度の変化量は初回から中間まで ( $p < 0.01$ )、初回から最終まで ( $p < 0.05$ ) いずれも多型間で有意差が認められ、初回から中間までの変動はTT型がCC型 ( $p < 0.01$ )、CT型 ( $p < 0.05$ ) より多く、初回から最終までの変動はTT型がCC型 ( $p < 0.05$ ) より多かった。

B群では、栄養指導を挟んだ2回の調査で血清葉酸濃度、血清Hcy濃度に有意差はなく、遺伝子多型間差も認められなかった (表2 (b))。初回の血清Hcy濃度はA群がB群より高く ( $p < 0.001$ )、A群の中間とB群の最終の値では有意な差はなく、最終ではA群がB群より低かった ( $p < 0.005$ )。

表4に血清葉酸濃度と血清Hcy濃度の目標値達成状況を示す。初回と最終でA群とB群の分布を比べたところ、血清葉酸濃度では初回の目標達成者率に有意差はなかったが、最終の達成者率A群

表1 対象者の属性<sup>¶</sup>

	A群 (n=43)	B群 (n=69)
年齢(歳)	52 ( 49 , 54 )	48 ( 41 , 55 )
身長(cm)	171 ( 168 , 174 )	171 ( 168 , 174 )
体重(kg)	70.0 ( 65.0 , 77.3 )	68.5 ( 60.4 , 75.6 )
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	23.4 ( 22.6 , 25.6 )	23.4 ( 21.3 , 25.3 )

¶ 初回調査時  
 年齢は中央値(25%, 75%タイル値)を示す。  
 A群とB群との間に有意差はみられなかった。Mann-Whitney検定。

表2 栄養指導前後での血清葉酸濃度、血清Hcy濃度の変化

(a) A群							
	n	初回(前)	中間(中)	最終(後)	P	多重比較 §	
血清葉酸濃度 (ng/mL)							
全体	43	4.3 ( 3.8, 5.5 )	6.5 ( 5.2, 9.1 )	6.9 ( 5.5, 9.2 )	<0.001	前<中, 前<後	
<i>MTHFR</i> CC	20	5.0 ( 4.1, 7.4 )	7.0 ( 5.6, 9.5 )	7.9 ( 5.2, 9.0 )	0.002	前<中, 前<後	
<i>MTHFR</i> C677T多型	CT	15	4.2 ( 3.2, 5.4 )	6.1 ( 4.6, 7.7 )	6.5 ( 5.5, 8.0 )	<0.001	前<中, 前<後
	TT	8	4.3 ( 4.0, 4.6 )	8.5 ( 6.4, 16.3 )	8.8 ( 5.7, 12.4 )	0.010	前<中, 前<後
血清Hcy濃度 (μmol/L)							
全体	43	10.6 ( 8.9, 13.4 )	8.5 ( 7.4, 9.7 )	7.5 ( 6.6, 8.4 )	<0.001	前>中, 前>後, 中>後	
<i>MTHFR</i> CC	20	10.3 ( 8.4, 11.5 )	8.2 ( 7.2, 9.5 )	7.1 ( 6.3, 8.3 )	<0.001	前>中, 前>後, 中>後	
<i>MTHFR</i> C677T多型	CT	15	10.9 ( 9.7, 13.0 )	9.3 ( 8.1, 10.7 )	8.2 ( 6.4, 8.8 )	<0.001	前>中, 前>後, 中>後
	TT	8	16.3 ( 11.0, 21.0 )*	8.6 ( 7.1, 9.6 )	7.4 ( 7.1, 8.8 )	0.002	前>中, 前>後
(b) B群							
	n	初回(前)		最終(後)	P		
血清葉酸濃度 (ng/mL)							
全体	69	6.7 ( 5.4, 7.9 )		7.1 ( 5.5, 10.5 )	0.062		
<i>MTHFR</i> CC	28	6.7 ( 5.5, 8.1 )		7.5 ( 5.6, 10.7 )	0.213		
<i>MTHFR</i> C677T多型	CT	27	6.8 ( 5.4, 7.9 )		7.1 ( 6.1, 11.6 )	0.024	
	TT	14	6.6 ( 5.1, 7.6 )		6.2 ( 4.8, 10.1 )	0.271	
血清Hcy濃度 (μmol/L)							
全体	69	8.8 ( 7.8, 10.4 )		8.6 ( 7.2, 10.4 )	0.121		
<i>MTHFR</i> CC	28	8.9 ( 7.9, 10.1 )		8.5 ( 7.3, 9.5 )	0.153		
<i>MTHFR</i> C677T多型	CT	27	8.6 ( 7.6, 10.2 )		7.8 ( 7.1, 10.2 )	0.330	
	TT	14	9.5 ( 7.9, 14.7 )		10.6 ( 7.6, 13.3 )	0.777	

中央値(25%, 75%タイル値)  
 A群はFriedman検定、B群はWilcoxonの符合付順位検定  
 § 多重比較はDunn検定で行った。  
 \*p<0.05 (vs CC)

表3 A群における栄養指導前後での血清葉酸濃度とHcy濃度の変化量の*MTHFR*多型間比較

	<i>MTHFR</i> C677T多型			P	多重比較 §
	CC (n=20)	CT (n=15)	TT (n=8)		
血清葉酸濃度変化量 (ng/mL)					
初回-中間	2.0 ( 0.2, 2.6 )	1.7 ( 1.0, 2.3 )	4.2 ( 2.3, 11.8 )	0.055	
初回-最終	1.5 ( 0.7, 3.1 )	2.6 ( 1.4, 2.9 )	4.0 ( 1.6, 8.3 )	0.103	
血清Hcy濃度変化量 (μmol/L)					
初回-中間	-1.8 ( -2.4, -0.9 )	-1.8 ( -2.7, -1.5 )	-6.9 ( -13.5, -3.0 )	0.007	CC<TT, CT<TT
初回-最終	-2.2 ( -4.2, -1.7 )	-3.4 ( -3.9, -2.2 )	-7.5 ( -12.7, -3.6 )	0.040	CC<TT

中央値(25%, 75%タイル値)  
 Friedman検定  
 § 多重比較はDunn検定で行った。

48.8%、B群29.9%で有意差がみられた ( $p < 0.05$ )。血清Hcy濃度においては、初回A群で目標達成者はみられなかったが、最終ではA群37.2%とB群20.3%よりも多くなった ( $p < 0.05$ )。

表5にはエネルギー摂取量と、栄養指導で取り

上げた栄養素と緑黄色野菜の摂取量およびサプリメント等使用頻度を示す。A群において食事調査法が最終で異なるため3回の調査間での検定はできないが、葉酸、緑黄色野菜の摂取量では増加傾向を示した。一方B群では有意な変化はみられな

**表4 栄養指導前後での血清葉酸およびHcyの目標値達成状況**

	目標値 †	初回 (前)			最終 (終)		
		未達成	達成	<i>P</i>	未達成	達成	<i>P</i>
血清葉酸濃度	A群 (n=43) 7.0ng/mL以上	37 ( 86.0)	6 ( 14.0)	0.630	22 ( 51.2)	21 ( 48.8)	0.034
	B群 (n=69) 9.5ng/mL以上	57 ( 82.6)	12 ( 17.4)		49 ( 71.0)	20 ( 29.0)	
血清Hcy濃度	A群 (n=43) 7.0μmol/L未満	43 ( 100.0)	0 ( 0.0)	0.001	27 ( 62.8)	16 ( 37.2)	0.005
	B群 (n=69) 7.0μmol/L未満	60 ( 87.0)	9 ( 13.0)		55 ( 79.9)	14 ( 20.3)	

n (%),  $\chi^2$ 検定

† 血清葉酸濃度の目標値は、A群とB群では測定試薬の変更に伴い設定値が異なる。

**表5 エネルギー、葉酸、ビタミンB<sub>6</sub>、ビタミンB<sub>12</sub>、緑黄色野菜摂取量とサプリメント(含強化食品)使用状況**

	初回 (前)	中間 (中)	最終 (後)
A群 (n=43)			
エネルギー (kcal/日)	1915 ( 1667 , 2272 )	1832 ( 1586 , 2150 )	2247 ( 1805 , 2529 )
(kcal/kg*)	29.5 ( 26.1 , 34.6 )	29.1 ( 24.7 , 33.3 )	34.2 ( 29.0 , 40.6 )
たんぱく質 (%エネルギー)	13.9 ( 12.7 , 15.1 )	14.1 ( 12.7 , 14.7 )	13.5 ( 12.5 , 14.8 )
脂質 (%エネルギー)	27.7 ( 25.5 , 31.7 )	28.1 ( 24.7 , 31.1 )	23.5 ( 21.0 , 27.3 )
炭水化物 (%エネルギー)	58.1 ( 53.1 , 61.2 )	58.1 ( 53.9 , 61.2 )	62.5 ( 58.0 , 65.9 )
葉酸 (μg/日)	287 ( 242 , 336 )	302 ( 263 , 340 )	326 ( 282 , 404 )
(μg/1000kcal)	120 ( 108 , 137 )	127 ( 114 , 149 )	157 ( 121 , 214 )
ビタミンB <sub>6</sub> (mg/日)	1.33 ( 1.07 , 1.52 )	1.27 ( 1.12 , 1.57 )	1.32 ( 1.18 , 1.52 )
(mg/1000kcal)	0.57 ( 0.46 , 0.64 )	0.56 ( 0.50 , 0.61 )	0.55 ( 0.46 , 0.77 )
ビタミンB <sub>12</sub> (μg/日)	8.2 ( 6.3 , 10.8 )	9.0 ( 6.0 , 12.7 )	9.4 ( 7.8 , 11.7 )
(μg/1000kcal)	3.60 ( 2.63 , 4.48 )	3.80 ( 2.73 , 4.90 )	3.90 ( 2.43 , 5.85 )
緑黄色野菜 (g/日)	79 ( 51 , 109 )	83 ( 51 , 103 )	122 ( 76 , 155 )
(g/1000kcal)	34.0 ( 21.3 , 46.8 )	34.0 ( 29.3 , 42.0 )	52.0 ( 37.3 , 75.3 )
サプリメント使用者 (%)	18.6	32.6	32.6
B群 (n=69)			
エネルギー (kcal/日)	2114 ( 1762 , 2435 )		2016 ( 1801 , 2399 )
(kcal/kg*)	32.8 ( 26.9 , 39.8 )		32.0 ( 27.6 , 37.3 )
たんぱく質 (%エネルギー)	14.2 ( 13.0 , 18.1 )		13.2 ( 11.6 , 14.3 )
脂質 (%エネルギー)	29.8 ( 24.8 , 37.6 )		26.2 ( 22.4 , 29.5 )
炭水化物 (%エネルギー)	65.7 ( 62.1 , 76.4 )		60.0 ( 56.5 , 66.5 )
葉酸 (μg/日)	271 ( 213 , 332 )		286 ( 234 , 358 )
(μg/1000kcal)	150 ( 124 , 338 )		134 ( 109 , 151 )
ビタミンB <sub>6</sub> (mg/日)	1.12 ( 0.98 , 1.33 )		1.16 ( 0.98 , 1.34 )
(mg/1000kcal)	0.50 ( 0.44 , 0.59 )		0.53 ( 0.47 , 0.60 )
ビタミンB <sub>12</sub> (μg/日)	7.7 ( 5.7 , 9.9 )		7.4 ( 5.3 , 9.3 )
(μg/1000kcal)	3.50 ( 2.58 , 4.60 )		3.35 ( 2.46 , 4.25 )
緑黄色野菜 (g/日)	76 ( 43 , 107 )		88 ( 49 , 130 )
(g/1000kcal)	33.9 ( 18.8 , 47.9 )		40.7 ( 26.8 , 60.8 )
サプリメント使用者 (%)	32.6		46.4

中央値 (25%, 75%タイル値) \*標準体重1kgあたり

食事調査はA群初回、中間はFFQg、A群最終とB群初回、最終はDHQLを用いた。

A群は初回と中間で、B群は初回と最終でいずれも有意差はみられなかった (Wilcoxonの符合付順位検定)。

A群の最終は調査方法が異なるため、群間での検定対象としなかった。

かった。葉酸やその他のビタミンが含まれるサプリメントや強化食品の使用者は両群ともに初回に比べて増加した。

#### IV 考察

本研究では20～60歳代の勤労男性を対象に、葉酸代謝関連遺伝子多型に基づくテーラーメイド栄養指導を行い、葉酸摂取量や血清葉酸濃度と血清Hcy濃度の変化、さらに指導回数や期間との関連を検討した。A群においては、これまでに報告した半年間のプログラム（平岡ら，2009b）に続いて1年後のフォローアップを実施した。B群では、初回の栄養指導後の介入はなく1年後のフォローアップのみ行った。A群は血清葉酸濃度、血清Hcy濃度ともに初回から中間まで、初回から最終までどちらも有意に改善が認められた。一方B群では、いずれの指標も初回から最終で有意な改善はみられなかった。A群とB群で初回から2回目（Aでは中間、Bでは最終）調査の期間が異なっており、初回介入では3ヵ月程度と比較的短いほうが効果がある可能性が考えられた。A群の中間から最終の期間は約14ヵ月（1年弱）であるが、2回目の栄養指導など介入があり最終まで改善効果が継続していることが示唆された。すなわち栄養状態改善を継続するためには、適切な栄養指導の回数と介入期間の設定が重要であろう。

*MTHFR* C677T多型の多型間での比較を血清葉酸濃度と血清Hcy濃度で行ったところ、初回のA群血清葉酸濃度に有意な多型間差は認められなかったが、CC型が高くCT型やTT型が低い傾向がみられた。血清Hcy濃度では、TT型がCC型より高く、遺伝子多型間での有意差がみられた。栄養指導をはさんだ中間、最終では、多型間差が解消された。そこで血清葉酸濃度とHcy濃度の変化量を多型間で比較したところ、TT型の変化量がCC型やCT型より多いことが示され、TT型における血清葉酸やHcy濃度改善に対する遺伝子告知効果が確認された。すでに筆者らは地域住民を対象とした遺伝子多型別栄養指導により遺伝子告知効果があることを報告（平岡他、2015）しているが、勤労男性においてもリスク遺伝子型が行動変容の動機付けとして有効であると考えられる。

栄養介入前の初回検査と最終検査における血清葉酸濃度をA群とB群で比較することは、血清葉酸の測定値は試薬変更に伴い基準値が異なるため難しい。本研究での研修会における血清葉酸目標値はA群では7.0ng/mL以上と設定しており、これに試薬変更後の補正值1.35倍（西村他，2012）を用いてB群では9.5ng/mL以上とした。そこでこの目標値を達成している者と未達成者の人数の割合を両群で比較したところ、初回検査では有意差はみられなかったが、最終ではA群での達成者割合が有意に高くなった。これはA群で血清葉酸濃度が改善されたことと一致する。

血清Hcy濃度はB群においてはA群と比べて初回の血清Hcy濃度が低く、多型間差がみられなかった。目標値の達成者が13%とA群の0%よりも多くみられたが、最終ではA群での達成者割合が有意に高くなり、これはA群で血清Hcy濃度が改善したことを示す。A群の中間でのHcy濃度8.5μmol/L（中央値）は多型間差が解消されており、B群初回の血清Hcy濃度8.6μmol/L（中央値）と比べて有意差がないことから、今回のB群初回の血清Hcy濃度であれば多型の影響は少ない可能性が考えられた。TT型であってもHcy濃度が正常範囲内にあるものも多くみられることから、葉酸以外の様々な要因の影響を受けていることも考えられる。またHcy濃度の変化量は、ベースラインの濃度が高いほど大きい傾向がある（平岡ら，未発表）ため、B群において血清Hcy濃度が有意に変化しなかった可能性もある。

栄養素摂取量はA群では食事調査法が最終で変更されており、異なる食事調査からの結果を単純に比較することは困難である。そこでA群、B群それぞれ初回と中間、初回と最終を比較したところ有意差はみられなかった。A群においては有意でないが葉酸や緑黄色野菜摂取量が僅かながら増加傾向がうかがわれた。またA群とB群の最終は同じ食事調査法であるため摂取量を比較したところ葉酸摂取量（ $p < 0.01$ ）、緑黄色野菜摂取量（ $p < 0.01$ ）はいずれもA群で有意に高かった。これらの摂取量増加が血清葉酸濃度と血清Hcy濃度の改善につながっていることが示された。また国民健康・栄養調査結果（厚生労働省，2008；厚生労働省，

2013) の50歳代男性の摂取量と比べるとA群、B群とも初回の摂取量はやや低い傾向がみられたが、概ね大差なかった。葉酸摂取量の摂取目標量を最終で達成した者は、A群で58.1% (CC;n=15、CT;n=8、TT;n=2)、B群で31.8% (CC;n=11、CT;n=9、TT;n=2) であった。緑黄色野菜の摂取目標量をCC型、CT型は150g、TT型は200gと設定しているが、最終で目標に達している人は、A群で25.6% (CC;n=4、CT;n=5、TT;n=2)、B群で15.9% (CC;n=0、CT;n=9、TT;n=2) であった。既婚勤労男性の食生活意識と食物摂取頻度の調査(山下他, 2006)では、食生活で意識している上位に「なるべく野菜を摂る」が挙げられたが、意識をしていない人との間で摂取量に差がなく、意識に関わらず野菜の摂取ができていないことを指摘している。本研究で、A群の初回と中間調査において食事づくり(調理)の頻度を尋ねたところ、「ほとんど作らない」との回答が初回、中間ともに60%を占めており、「ときどき作る」が初回32.5%、中間30.2%であったことから、動機付けはできても野菜摂取という行動変容に繋げることは容易でないことが示された。

しかし緑黄色野菜の目標量より葉酸摂取目標量達成者のほうが多いことを鑑みると、緑黄色野菜からの葉酸摂取量は比較的少ないのかもしれない。荒木ら(2012)は、若年男性の血中Hcy濃度と海藻、納豆、豆腐、魚類、ヨーグルトの摂取量との間の逆相関関係を示し、これらは外食や中食でも比較的手軽に摂取でき、外食や中食への依存度が高い男性には摂取しやすい食品である可能性に言及している。

葉酸やビタミンを含むサプリメントや強化食品の使用者は、初回と比べて増加した。葉酸プロジェクトでは葉酸強化食品の開発にも関与しており、B群の研修会実施時にはすでに葉酸強化パンや葉酸強化米、葉酸たまごなど地域における普及も進み、葉酸摂取啓発活動も盛んであったことから、B群では初回からサプリメント使用者がA群より多くなったことが考えられる。今回はサプリメントからの葉酸摂取量を算出していないため、食事からの摂取量が目標値に達していなくても、実際に摂取している量はそれ以上の可能性もある。し

たがってB群においては初回の血清Hcy濃度と葉酸濃度がA群より目標達成者が多かったのかもしれない。穀類への葉酸強化が実施されている地域では、Hcy濃度に対するMTHFR遺伝子多型の影響は少ない(Holmes et al., 2011)。葉酸強化したパンや飯の摂取が葉酸栄養状態を有意に改善することは既に報告されており(Hiraoka et al., 2014)、今後、成人男性の血中Hcy濃度上昇抑制を目指す食生活について検討するうえで、野菜だけでなく他の食品や葉酸強化食品の摂取がどの程度葉酸摂取量に寄与しているのかを検討する必要がある。

本研究の限界点の一つは、食事調査法がプログラムの途中で変わったことが挙げられる。葉酸や葉酸供給源である緑黄色野菜の摂取量の変化を検証できなかった。さらにサプリメントや葉酸強化食品からの葉酸摂取量を算出していないため、実際に摂取している葉酸量を低めに見積もっている可能性がある。血清葉酸値は比較的短期間の葉酸栄養状態の指標であるため、採血日の直前にサプリメントを摂取することで濃度が高くなる。今後、中長期的な指標である赤血球葉酸濃度を指標として取り入れることが短期的な葉酸摂取量の増加の影響をさけて葉酸栄養状態を評価するために有効であると考えられる。

血清葉酸測定試薬の変更により測定値が高くなったことから、従来の基準値では欠乏者を見落としかねず、また旧試薬での測定値と比較して葉酸濃度が上昇したと誤って認識することが考えられる。今後統一して解析する際は、補正するなどして扱いに注意が必要である。

## V 結論

遺伝子多型に基づくテーラーメイド栄養指導は、勤労男性においても葉酸栄養状態改善に効果的であることが確認された。これは血清Hcy濃度に多型間差がある場合、顕著であった。初回介入後、3ヵ月程度での改善効果が認められ更に介入することでその後の継続性も高いことが示された。また緑黄色野菜の摂取量増加は簡単ではないことから、葉酸摂取を増やしHcy濃度を下げる食品摂取の検討が必要であると思われた。

## VI 謝辞

本研究を遂行するにあたり、参加していただきました皆様、企画、開催等全面的に協力をいただいている坂戸市スタッフならびに関係者各位に感謝いたします。血清Hcy測定はアルフレッサファーマの協力で行ないました。さかど葉酸プロジェクト開始時から共に研究を進めてきた前山梨学院大学教授 影山光代先生、前新潟県立大学教授 金胎芳子先生に心よりお礼申し上げます。本研究は、淑徳大学看護栄養学部学術研究助成、JSPS 科研費 JP23617026、JP19K11672 の助成を受けたものである。

## VII 利益相反

記載すべき利益相反はありません。

### 文献

荒木理沙, 丸山千寿子, 山口玲奈, 他 (2012) 若年成人男子における血漿ホモシステイン濃度と血清葉酸, ビタミンB<sub>12</sub>濃度および食品群別食物摂取頻度の関連. 日本栄養・食料学会誌65(4), 145-153.

Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. (1995). A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature genetics*, 10, 111-113.

Hiraoka M (2004a). Folate intake, serum folate, serum total homocysteine levels and methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in young Japanese women. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 50, 238-245.

Hiraoka M, Kato K, Saito Y, et al. (2004b). Genenutrient and gene-gene interactions of controlled folate intake by Japanese women. *Biochemical and biophysical research communications*, 316, 1210-1216.

平岡真実, 影山光代, 百合本真弓, 他 (2009a). 葉酸代謝関連遺伝子多型に基づくテラーメイド栄養学: さかど葉酸プロジェクト. *ビタミン*, 83, 265-275.

平岡真実 (2009b). 葉酸代謝関連遺伝子多型に基づくテラーメイド栄養の実践. 日本栄養・食糧学会監修, 合田敏尚, 岡崎光子 (責任編著). *テラーメイド個人対応栄養学* (pp131-157) 東京, 建帛社.

Hiraoka M, Fukushima A, Sakuma K, et al. (2014). Folic acid supplementation reduced depression score in young Japanese women with depression-susceptible genetic polymorphisms. *Journal of Nutrition and Health Sciences*, 1(2), 1-10.

平岡真実, 香川靖雄 (2015). 栄養素と遺伝子多型: テラーメイド栄養学の実践. *ビタミン*, 89(2), 59-64.

Holmes MV, Newcombe P, Hubacek JA, et al. (2011). Effect modification by population dietary folate on the association between *MTHFR* genotype, homocysteine, and stroke risk: a meta-analysis of genetic studies and randomised trials. *Lancet*, 387 (9791), 584-594.

Joost HG, Gibney MJ, Cashman KD, et al. (2007). Personalised nutrition: status and perspectives. *The British journal of nutrition*, 98, 26-31.

Kagawa Y, Hiraoka, M, Miyashita-Hatano Y, et al. (2010). Automated single nucleotide polymorphism typing using bead array in capillary tube. *Journal of bioscience and bioengineering*, 110(4), 505-508.

Klerk M, Verhoef P, Clarke R, et al. (2002). *MTHFR* 677CT polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA*, 288, 2023-2031.

厚生労働省, 健康局がん対策・健康増進課栄養指導室 (2013). 平成24年国民健康・栄養調査の結果の概要. 令和2年9月27日アクセス, <https://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantaisakukenkouzoushinka/0000099296.pdf>

厚生労働省, 健康局総務課生活習慣病対策室 (2008). 平成18年国民健康・栄養調査の結果の概要. 令和2年9月27日アクセス, <https://www.mhlw.go.jp/houdou/2008/04/dl/h0430-2c.pdf>

- Miyaki K, Murata M, Kikuchi H, et al. (2005). Assessment of tailor-made prevention of atherosclerosis with folic acid supplementation: randomized, double-blind, placebo-controlled trials in each *MTHFR* C677T genotype. *Journal of human genetics*, 50, 241–248.
- Morita H, Kurihara H, Tsubaki S, et al. (1998). Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke in Japanese. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 18, 1465–1469.
- 松岡秀洋, 今泉勉 (2000). ホモシステインの血管障害作用と防止法. *実験医学*, 18(5), 164–170.
- Nanri A, Mizoue T, Matsushita Y, et al. (2010). Serum folate and homocysteine and depressive symptoms among Japanese men and women. *European journal of clinical nutrition*, 64(3), 289–296.
- 西村和子, 森和雄 (2012). 葉酸：最近の話題. *生物試料分析*, 35(4), 299–308.
- Ravaglia G, Forti P, Maioli F, et al. (2005). Homocysteine and folate as risk factors for dementia and Alzheimer disease. *American journal of clinical nutrition*, 82, 636–346.
- Sadewa AH, Sunarti, Sutomo R, Hayashi C, et al. (2002). The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene among the Indonesian Javanese population. *The Kobe journal of medical sciences*, 48, 137–144.
- Smith AD, Refsum H, Bottiglieri T, et al. (2018). Homocysteine and dementia: an international consensus statement. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62, 561–570.
- The homocysteine studies collaboration (2002). Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA*, 288, 2015–2022.
- 山下直子, 西城戸宏美, 森野真由美 他 (2006). 首都圏在住の勤労男性における食生活の意識と食物摂取状況. *栄養学雑誌*, 64(2), 107–113.
- 山崎義満 (2012). 生活習慣病予防のためのオーダーメイド医療. *機器・試薬*, 35, 310–317.

## Abstract

Folate deficiency and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphisms lead to elevated blood homocysteine (Hcy) levels and increase the risk of arteriosclerosis. In this study, we investigated the effects of personalized nutrition guidance based on genetic polymorphisms and duration and frequency of interventions on serum folate and Hcy concentrations in working men. The subjects were men in their 20s and 60s who participated in a local government workshop. Based on serum folate and Hcy concentrations, green-yellow vegetable intake, and genetic polymorphisms, nutritional guidance was provided to increase folate intake. In group A (n=43), intervention was performed 3 months after the initial intervention and about 1 year thereafter. In group B (n=69), intervention was performed about 1 year after the initial intervention. Indicators of folate nutritional status were compared between the two groups. The serum folate concentration and the serum Hcy concentration were significantly improved in Group A. Changes in serum Hcy concentration were significantly greater in the TT genotype than in other polymorphisms. Neither serum folate concentration nor serum Hcy concentration was significantly changed in Group B.

In conclusion, genotype-based nutritional guidance was effective in improving folate nutritional status in male workers when there are differences between polymorphisms. It was also shown that the multiple interventions may be effective in maintaining a state of improvement.