

# 葉酸

林璧鳳 許瑞芬 陳冠如 蔣恩沛

## 前言

本次第七版 DRI 葉酸之修訂，除了沿用第六版根據調查與研究結果作為主要評估與制定的標準外，並參考十年內國內有關葉酸營養狀況的調查與疾病的相關性等研究發表，納入國人的葉酸營養與攝取資料，作為制定參考。同時，本版有多位葉酸專長的學者參與，收集各國最新營養調查研究資料，以供制定 DRI 參考資料。經過多次會議討論，提出國人的葉酸需要量。

## 營養生化生理功能

### 一、理化性質

葉酸 (folate) 為水溶性 B 群維生素，泛指具有 pteroylglutamic acid 及生理活性的一群化合物。基本化學構造為 pteridine、*p*-aminobenzoic acid 和 glutamate (麩胺酸) 三部份組成。雖然生物體分別可合成這三分子，但是單胃動物及一些微生物沒有連結 pteridine 和 *p*-aminobenzoic acid 的能力，而不能自行合成葉酸。麩胺酸的分子數依生物種類不同可由 3–10 分子鍵結為多鏈麩胺酸的 pteroylpolyglutamic acid，又因接受單碳而鍵結成許多不同型式的葉酸。而人工合成的葉酸 (folic acid) 則為單麩胺酸的 pteroylmonoglutamic acid，為營養補充劑的葉酸型式。葉酸容易受加熱、氧化和紫外光等破壞，失去活性。葉酸在弱鹼性下溶解度較高，但在弱酸下較穩定，在維生素 C 的存在下，可減少葉酸被分解破壞而失

去活性。

目前一般應用於食物的葉酸定量法為微生物定量法，以葉酸需求菌 *Lactobacillus casei* 菌種的生長情形來推算定量。一般食物中之葉酸以多數麩胺酸結合形態存在，無法被 *L. casei* 所利用，必須先經酵素 conjugase 水解麩胺酸後，再進行微生物定量，此結果即為 [總葉酸量]。但由於葉酸化合物型態繁多，*L. casei* 對其各型態利用率亦有所差異<sup>(1)</sup>，加上處理過程的少許流失，食物中之葉酸定量結果可能有低估 20 % 之虞<sup>(2)</sup>。

## 二、營養生化功能

葉酸主要參與單碳代謝反應，參與合成嘌呤和甲基化尿嘧啶去氧核糖為胸嘧啶核糖，以便合成 DNA，與細胞分裂有密切關係。同時是參與胺基酸代謝之輔酶，包括絲胺酸和甘胺酸互換反應、同半胱胺酸甲基化為甲硫胺酸、組胺酸代謝等。而甲基化同半胱胺酸所合成的甲硫胺酸，為形成 SAM (S-adenosyl-methionine) 的重要來源，是單碳的主要提供者，故對生物體內所有的甲基化反應十分重要。

## 三、生理吸收代謝、個體存量與排泄

### (一) 吸收

食物中的葉酸在腸內由酵素 conjugase 將多鏈麩胺酸水解，形成單麩胺酸的葉酸型式，才由腸膜細胞吸收。而單麩胺酸型式的合成葉酸，則可直接以主動運輸或少部份被動運輸機制吸收。由於食物中葉酸的生物利用率 (bioavailability) 約為合成葉酸的 50 %，因此制定葉酸當

量 (dietary folate equivalents, DFEs)，以表示不同葉酸型式或攝取狀態上，所達到不同的利用率。亦即 1 微克葉酸當量 = 1 微克食物葉酸 = 0.6 微克與食物同時攝食之合成葉酸 = 0.5 微克空腹時攝食之合成葉酸。

## (二) 個體存量

葉酸在血液中以 5-甲基單麩胺酸葉酸型式居多，在細胞內再合成多鏈麩胺酸型式作為輔酵素或與葉酸結合蛋白結合，貯於細胞內。葉酸在肝中的含量佔總體葉酸的一半左右，估計平均體內總葉酸含量約有 22 毫克，肝約有 11 毫克葉酸<sup>(3)</sup>。肝中葉酸必須再由酵素水解成單麩酸葉酸，才能輸送至其他組織，在組織細胞內再轉換成多鏈麩胺酸的葉酸，同時必須是還原態，才是活化型的輔酵素型式。

## (三) 排泄

葉酸代謝主要在 C9-N10 的鍵結被分解，形成 *p*-aminobenzoyl 多鏈麩胺酸後，再被分解成單麩胺酸，然後形成 N-acetyl 型式，由尿液排出。未被分解的葉酸可自由進入腎絲球，其中大部分由近端腎小管再吸收。因此，尿液中多為被分解的葉酸，只佔飲食葉酸的一小部份。膽汁中的葉酸每天約可高達 100 微克，但也能由小腸再吸收回體內<sup>(4)</sup>。糞便中的葉酸，因為亦可能為腸內菌所生成，較難估計其排出量。

# 葉酸需要量評估與營養缺乏症

## 一、葉酸缺乏症

由於葉酸參與 DNA 合成和胺基酸代謝的反應，與細胞分裂有關。故缺乏葉酸會導致巨球型貧血症 (megaloblastic anemia) 及生長遲緩等現象。飲食中葉酸缺乏約 4 週時可測得血清葉酸濃度偏低，缺乏約 6 週時中性白血球出現分葉過多現象 (hypersegmentation)，血比容、血紅素濃度及紅血球數偏低，平均紅血球體積值偏高，開始出現巨球型貧血。缺乏約 4 個月時可測得紅血球葉酸值偏低，血同半胱胺酸濃度升高，而骨髓也出現巨母紅血球 (megaloblast)。

貧血症狀逐漸產生的過程中，患者常有虛弱、疲勞、注意力難集中、急躁易怒、頭痛、心悸和呼吸短促等現象，有時也會出現萎縮性舌炎 (atrophic glossitis)。

## 二、生化/功能性指標

### (一) 評估指標

由於評估人體葉酸需要量相關指標的增加，對葉酸需要量的制定有較多的參考值。由人體或動物實驗指出，紅血球葉酸含量與組織葉酸含量呈正相關性<sup>(5,6)</sup>，可反應人體長期之葉酸營養狀況。目前有較多的研究顯示，紅血球葉酸濃度小於 305 nmol/L (140 ng/mL) 時訂為葉酸缺乏的切點<sup>(7,8)</sup>。缺葉酸產生的巨球型貧血症患者的紅血球葉酸濃度皆低於此切點<sup>(9)</sup>。最近的研究亦顯示，低於此切點的患者的 DNA 傷害指標較高，若補充葉酸即恢復<sup>(10)</sup>。

至於血清葉酸濃度則是早已使用的指標，與葉酸攝取

量有正相關，但只反應近期的葉酸攝取狀況<sup>(11)</sup>。目前以血清濃度低於 7 nmol/L (3 ng/mL) 作為缺乏切點，反應近期的葉酸攝取量小於葉酸排出的負平衡。

而血清或血漿同半胱胺酸濃度也是葉酸需要量的指標之一，目前以血漿同半胱胺酸濃度大於 14 或 16  $\mu\text{mol/L}$  為同半胱胺酸過高的切點。葉酸缺乏而無法順利進行甲基化反應時，導致同半胱胺酸濃度上升，且在高濃度範圍與血球和血清葉酸濃度呈現負相關。有研究指出女性每天攝取補充需大於 300 微克葉酸當量，才能使血漿同半胱胺酸濃度低於 14  $\mu\text{mol/L}$ <sup>(12)</sup>，但若每天葉酸攝取量在 350–400 微克時，血漿同半胱胺酸濃度趨於平緩<sup>(13)</sup>，顯示第六版葉酸建議攝取量 (180–200 微克) 是不足以維持低同半胱胺酸濃度。

此外有些指標，例如由尿葉酸排泄量估算葉酸代謝量，則因無法確實掌握糞便中內生性葉酸的代謝量，有低估總代謝量之虞。而血液學指標通常在晚期才表現出，不適合作為訂定 EAR 指標。至於是否以預防腦神經管缺陷為目標，目前認為該疾病主要是孕齡女性為危險群，若以此基準訂定高建議量只有要懷孕婦女受惠，且腦神經管缺陷發生率只有 1/1000，且要在受孕前及懷孕初期才有效果，非訂定 EAR 的主要宗旨，故暫不考慮。

近年來的研究在分析食物中葉酸含量時，使用更有效的萃取緩衝液<sup>(14)</sup>、或分解酵素<sup>(15-17)</sup>等改良步驟，皆可以增加食物中所測得的葉酸含量。顯示傳統的方法，可能有無法將食物中的葉酸由結合型式解離出，或切斷多鏈麩胺酸的前處理不完全，而低估了食物中的含量。因此在估算飲

食中葉酸攝取量可能低估，故不宜以目前的數據估算 EAR。

## (二) 影響需要量之因素

### 1. 生物利用率

在生物利用率方面，由於美國的葉酸強化政策，使得其葉酸食物來源包括添加的單麩胺酸，故在估算攝取量時，需注意葉酸來源與型式，例如在空腹時服用補充劑的生物利用率為 100 % 吸收<sup>(18,19)</sup>，若補充劑與餐點同時服用吸收率為 85 %<sup>(20)</sup>，補充劑葉酸與添加在強化食品的葉酸利用率同<sup>(21)</sup>。而食物中葉酸利用率仍採用上版的 50 %<sup>(22)</sup>，因此，生物體利用率換算後所得的攝取量以葉酸當量為單位：葉酸攝取量 (微克 DFEs) = 食物葉酸 (微克) + 1.7 × 人工合成葉酸 (微克) [註：1.7 = 85 %/50 %]

因此，在進行營養調查評估葉酸攝取量時，需要同時記錄飲食與補充劑的服用情形，雖然國內尚未有葉酸強化政策，葉酸攝取量只需由飲食記錄與食物葉酸組成數據資料換算而得，但若必須服用營養補充劑，則需再加上該補充劑的葉酸當量。

### 2. 營養素交互作用

目前雖然無資料顯示，攝取其他營養素會增加或減少葉酸的需要量，不過維生素 B<sub>12</sub> 和鐵缺乏所造成血液學上的改變，皆會影響葉酸缺乏症狀的判定，因此，在評估葉酸缺乏時，需排除維生素 B<sub>12</sub> 和鐵不足的影響。

### 3. 和食物中其他因子的交互作用

膳食纖維可能會降低葉酸的利用率，例如小麥麩皮，

但是也有研究顯示並無影響，故可能與纖維種類有關<sup>(19)</sup>。雖然在動物實驗被認為大腸內菌生產的葉酸可被吸收至組織<sup>(23)</sup>，但人體是否相同尚無證據。不過，有研究顯示，單羧胺酸葉酸是可由人類大腸細胞由促進擴散吸收<sup>(24)</sup>，而調查顯示膳食纖維攝取量與葉酸營養狀況呈正相關<sup>(25)</sup>。

由調查研究結果顯示，慢性酗酒者常有葉酸缺乏，酒精攝取過量可能造成小腸的葉酸吸收不良，和增加葉酸的腎排泄量<sup>(26)</sup>。

#### 4. 其他因素

研究顯示抽煙者血液葉酸值顯著較低，可能是葉酸攝取不足所造成<sup>(27)</sup>。另外，服用高劑量的某些藥物例如阿斯匹靈等一些抗發炎藥物，有拮抗葉酸作用<sup>(28)</sup>，抗瘰癧藥物和 methotrexate 等，也具有抗葉酸活性。

遺傳因素目前也是影響葉酸需要量之因素之一，其中最重要的包括與葉酸代謝有關的 5,10-methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) 酵素活性，在基因 C667T 使該酵素耐熱性低，而降低該酵素活性。研究指出，具同對偶基因突變 C667T 者有顯著較高的同半胱胺酸濃度，因此，這類基因遺傳缺陷者葉酸的需要量則有增加的必要<sup>(29)</sup>。

## 葉酸參考攝取量

### 1. 嬰兒 (0-12 個月)

嬰兒的需要量以每日由母乳中攝取的葉酸量為嬰兒足夠攝取量 (adequate intake, AI)。估算法以母乳所含葉酸平均量每公升 85 微克<sup>(30, 31)</sup>，乘以國人哺乳婦每天平均哺餵嬰兒

的母乳量 (表一)。0–6 月齡嬰兒一天攝食量，參考盧氏 (2009) 調查的線性回歸估算哺乳量，6 月齡的葉酸需要量計算得數值進位為 70 微克/天，與小兒科建議嬰兒每公斤體重攝取 110 毫升乳量，以 6 月齡國人嬰兒平均體重計算得 70 微克相符。美國 DRI 數據 0–6 個月嬰兒每公斤體重需要量約為 9.4 微克時，以國人 6 月齡嬰兒平均體重亦算得 70 微克<sup>(32)</sup>。

表一、0–12 月齡嬰兒葉酸需要量

年齡	體重 (kg)		母乳攝取量 (mL/d)	葉酸 85 µg/L × 母乳攝取量 (mL/d)	建議攝取奶量 (mL/d)	建議攝取奶量的葉酸攝取量 (µg/d)		母乳得平均葉酸攝取量 (µg/kg)		2010 AI	
	男	女				男	女	男	女		
1 月–	3.3	3.2	530	45 µg	363	353	31	30	13.6	14.1	70
2 月–	4.5	4.2	580	49 µg	495	462	42	39	10.9	11.7	
3 月–	5.6	5.1	620	53 µg	616	561	52	48	9.5	10.4	
4 月–	6	6	670	57 µg	660	660	56	56	9.5	9.5	
5 月–	7	6.4	720	61 µg	770	704	65	60	8.7	9.5	
6 月–	7.5	6.9	760	65 µg	825	759	70	64	8.7	9.4	
7 月–	7.9	7.3	788	67 µg*	869	803	74	68	8.5*	9.2*	85
8 月–	8.3	7.6			913	836	78	71	平均 8.8		
9 月–	8.6	7.9			946	869	80	74	× 平均體重		
10 月–	9	8			990	880	84	75	(9.4+8.7)/2		
11 月–	9.2	8.5			1012	935	86	79	= 83 µg/d		
12 月–	9.4	8.7			1034	957	88	81			

較少研究有關 6–12 月齡嬰兒一天的母乳攝食量。若參考上述盧氏 6 月齡嬰兒平均攝取量 788 毫升母乳的葉酸含量，除以該齡平均體重再乘以 12 月齡體重算得葉酸需要量 84 微克。若是除以 7 月齡平均體重，則男女平均每公斤葉酸攝取量為 8.8 微克，與美國 7–12 個月嬰兒每公斤體重需要量約為 8.8 微克相同<sup>(32)</sup>，乘以 12 月齡體重算得葉酸需要量 83 微克。若以嬰兒每公斤攝取



110 毫升乳量，以 12 月齡國人嬰兒平均體重算得約女 81-男 88 微克，平均 84.6 微克，故根據上述三種方式估算 6-12 月齡嬰兒一天的葉酸需要量，取 85 微克為國人 7-12 月齡嬰兒的葉酸足夠攝取量。

## 2. 孩童和青少年 (1-19 歲)

目前孩童與青少年尚無平均需要量 (EAR) 的數據，依據 Kleiber 理論指出，孩童與成人對於代謝基本需求之維持與體重有關<sup>(33,34)</sup>，Nevill 則指出兩者之間呈現 (weight, kg)<sup>0.75</sup> 的關係，除基本需求外，孩童因成長發育需要，需加上生長係數 (growth factor) 之考量<sup>(35)</sup>。平均需要量 EAR 則是估算能滿足 1/2 成人需要之平均需要量，目前成人平均需要量為 320 微克葉酸當量。故由成人的參考體重男性 64 公斤和女性 52 公斤，以下列外插法公式求得孩童與青少年的 EAR 後，再乘以 120%，即 2 個 10% CV，以涵蓋 97-98% 人群為 RDA 值，如表二所示。

$$EAR_{\text{child}} = EAR_{\text{adult}} \times (F), \quad RDA_{\text{child}} = EAR_{\text{child}} \times 120\%$$

$$F = (\text{weight}_{\text{child}} / \text{weight}_{\text{adult}})^{0.75} \times (1 + \text{growth factor})$$

表二、由外插法公式算得的孩童與青少年葉酸需要量

年齡	體重(kg)*		1+ growth factor		F 值		EAR		×1.2 = RDA		2010 RDA	2002年 RDA
	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女		
1-3 歲	13	13	1.30	1.30	0.40	0.46	126	147	151	176	170	150
4-6 歲	20	19	1.15	1.15	0.48	0.54	154	173	184	208	200	200
7-9 歲	28	27	1.15	1.15	0.62	0.70	198	225	238	270	250	250
10-12 歲	38	39	1.15	1.15	0.78	0.93	249	297	299	356	300	300
13-15 歲	55	49	1.15	1	1.03	0.96	328	306	394	367	400	400
16-18 歲	62	51	1.15	1	1.12	0.99	359	315	431	378	400	400

1-3 歲孩童的葉酸需要量算得後，考量本版此年齡層參考體重較上版 12.3 公斤重，以及適值生長快速的年齡層，故上調為 170 微克為葉酸需要量。4-6 歲孩童的葉酸需要量算得後，接近 200 微克，故此年齡層的葉酸需要量仍維持上版的 200 微克。

7-9 歲年齡層算得女生葉酸需要量雖然變高，根據「臺灣地區國小學童營養健康狀況調查 2001-2002」(NAHSIT Children 2001-2002)，7-9 歲學童每日葉酸攝取量分別約為 240-260 微克<sup>(36)</sup>，顯示平均攝取量尚能達到目前的 RDA，主要問題應是飲食習慣使個體間差異性大。若如美國定義攝取 < EAR 為攝取不足的指標，7-9 歲學童的葉酸攝取不足算得約 61%，而以血清濃度為標準，葉酸營養狀況不足 (< 6 ng/mL) 約 24%，小於葉酸攝取不足的評估指標，意即應加強葉酸攝取來改善攝取不足的問題，而不必再提高葉酸需要量的標準。因此，本版 7-9 歲年齡層的葉酸需要量無須上調，仍採 250 微克為 RDA。

10-12 歲年齡層也算得女生葉酸需要量變高，且與男生高出較多，由於本次 10-12 歲女生的參考體重和身高，皆低於上版數值，而與男生身高體重相近，故無須分性別制定。至於是否應上調需要量，根據上述 NAHSIT Children 2001-2002 調查，10-12 歲學童每日葉酸攝取量約為 260-320 微克左右<sup>(36)</sup>，顯示攝取量能達到目前的 RDA 的實際性，同樣是個體差異大的問題。10-12 歲學童的葉酸攝取不足 EAR 算得約占 47%，而以血清濃度為標準，葉酸營養狀況不足約占 37%，也小於葉酸攝取

不足的評估指標，因此，本版 10–12 歲年齡層的葉酸需要量也仍維持 300 微克為 RDA。

然而，10–12 歲的學童血清和紅血球葉酸濃度不足比率皆偏高，尤其是 12 歲男生和 11 歲女生正值進入青春發育期的葉酸營養狀況最差<sup>(36)</sup>。顯示正值進入青春期的臺灣學童和青少年的葉酸營養狀況值得注意。但是目前尚無國人幼兒和青少年的葉酸攝取狀況、平均需要量與葉酸營養狀況之功能性指標的相關性等研究發表。因此建議將此年齡層列為研究重點，探討飲食葉酸攝取狀況之差異對青少年血中同半胱胺酸濃度等各種重要功能性葉酸狀況指標之影響，以期未來能以更多直接的科學數據，評估目前所訂定之國人孩童及青少年葉酸平均需要量及建議攝取量之適切性，並作為未來平均需要量及建議攝取量之修正依據。

### 3. 評估成人 (19–50 歲) 葉酸平均需要量 (EAR)

評估成人葉酸需要量的原則，為利用評估葉酸營養狀況之綜合性指標，而非單一性指標，來考慮葉酸需要量，根據人體代謝研究結果，以紅血球葉酸濃度、血漿同半胱胺酸與葉酸濃度、或血清葉酸濃度，評估可以維持血液葉酸生化指標於正常濃度範圍之適當葉酸攝取量。

由缺乏與補回的代謝實驗指出，每天 100–150 微克葉酸當量，並無法使全部的 21–40 歲婦女的缺乏葉酸之紅血球葉酸含量回升<sup>(22)</sup>。而每天 200 微克葉酸當量攝取量，仍有 19–54 歲男性的血清和紅血球葉酸濃度過低<sup>(34)</sup>。若是攝取 320 微克葉酸當量，50% 受試者可以維持正常血清和紅血球葉酸濃度，若攝取 489 微克葉酸當

量，則可使所有受試者都回復至正常血清和紅血球葉酸濃度<sup>(12)</sup>。

流行病學調查也指出每天攝取低於 280 微克葉酸當量，同半胱胺酸濃度高於 140  $\mu\text{mol/mL}$ <sup>(13)</sup>，顯示 200 微克葉酸建議量偏低。郭等人研究 90 位台灣肝癌病患，以半定量式食物頻率問卷評估診斷疾病前半年的葉酸攝取量，指出在攝取葉酸 336 微克可維持 40 % 受試者正常血清葉酸濃度及正常同半胱胺酸濃度<sup>(38)</sup>。此外，同位素標定的動力學實驗也指出人體葉酸總量約有 20 毫克<sup>(3)</sup>，每天代謝排泄約 1 %，則估算約需補回每天消耗量 200 微克，以 50 % 吸收率估算得每天宜攝取 400 微克葉酸當量<sup>(39,40)</sup>。

因此，綜合以上研究，葉酸需要量無性別差異，評估 19–50 歲成人之葉酸平均需要量約為 320 微克。假設族群攝取量 CV 為 10 %，以 2 個 CV 涵蓋 97–98 % 健康族群之需要量，則 19–50 歲成人葉酸建議攝取量為 EAR 乘以 120 % 後，採進位為每日 400 微克葉酸當量為 RDA 值。

$\text{RDA (19–50 歲)} = \text{EAR (320 } \mu\text{g/d)} \times 120 \% = 400 \mu\text{g/d}$  葉酸當量

#### 4. 評估 > 51 歲成人葉酸的 EAR

此次評估葉酸 EAR，亦有考量國內營養調查的葉酸生化值與飲食攝取量、以及血漿同半胱胺酸濃度的變化做為修訂指標。雖然有研究指出老年人的葉酸利用率可能隨老化而降低<sup>(41)</sup>，但是由血清與紅血球葉酸狀況並未與年齡

有相關性<sup>(13)</sup>。國內老年人 NAHSIT 1999 調查結果也顯示，即使葉酸攝取量在 65 歲以上男性有隨年紀漸減的趨勢，不分性別血漿葉酸濃度並未隨年齡增加而有所變動<sup>(42)</sup>。

Jacob 等人<sup>(43)</sup>針對 8 位 49–63 歲停經後婦女進行缺乏與補回的代謝研究指出，每天補充 150 微克葉酸當量，無法使大部份之受試者耗盡的血漿葉酸回復正常，450 微克葉酸當量則可使全部受試者血漿葉酸回復正常，但是部份受試者之上升的同半胱胺酸在此短期回復期間並未獲得改善，若以外插方式計算能夠滿足此族群 50 % 的需要量約為 300 微克葉酸當量。

此外，亦有多篇的觀察研究指出，老年人的 EARs 與年輕成年人的 EARs 相似，而且每天攝取約 300 微克葉酸當量，能夠穩定平均同半胱胺酸濃度。雖然人體血漿同半胱胺酸隨著年紀的增加而增加，國內老年人 NAHSIT 1999 調查也顯示 65 歲以上老人的同半胱胺酸濃度與高同半胱胺酸血症盛行率，有隨年齡增加而上升之趨勢<sup>(44)</sup>，但老化過程似乎並不影響人體對葉酸的吸收利用，即葉酸營養狀態與年紀並無相關性<sup>(13)</sup>。所以老年人的 EARs 與年輕成年人的 EARs 相似乃為合理之結果。因此，> 51 歲成人 RDA 為採用 320 微克葉酸當量為 EAR 後，乘以 120 %，即 2 個 10 % CV 以涵蓋 97–98 % 人群為 RDA 值。

$$\text{RDA (> 51 歲)} = \text{EAR (320 } \mu\text{g/d)} \times 120 \% = 400 \mu\text{g/d}$$

葉酸當量

## 5. 孕婦

孕婦由於生理變化包括子宮，胎盤，胎兒與擴增本身血量與紅血球量等，需要葉酸支持單碳代謝與細胞快速分裂。當葉酸攝取不足時，母體血清與紅血球葉酸濃度下降，將導致巨球性貧血。由於，血漿或血清葉酸易因孕婦擴增本身血量而有稀釋效應，影響血清葉酸濃度，故評估孕婦葉酸營養狀況，主要以紅血球葉酸濃度作為反應組織的葉酸存量的指標。此外在許多因素（例如懷孕期內分泌激素變化）影響下，使得同半胱胺酸無法反映懷孕婦女葉酸營養狀態。因此，制定孕婦葉酸需要量的原則，是以紅血球葉酸做為主要生化指標。

有研究針對 3500 位懷孕婦女予以不同劑量 100、350 或 450 微克/天的葉酸，結果顯示補充 100 微克葉酸，約 1/3 懷孕婦女血漿葉酸值仍偏低。若補充 300 微克或 500 微克葉酸則可維持正常血漿葉酸濃度<sup>(45, 46)</sup>與紅血球葉酸濃度<sup>(47)</sup>。另外，孕婦攝取含 300 微克葉酸補強的玉米，於懷孕第 8 個月懷孕期仍維持正常葉酸營養狀況<sup>(48)</sup>。代謝實驗研究也指出，於懷孕期 14–24 週期攝取 600 微克葉酸當量，可防止體內葉酸的消耗<sup>(49)</sup>。McPartlin 等人測量尿液中葉酸代謝產物也指出，懷孕第二期之孕婦若每天攝取 660 微克葉酸當量，可防止葉酸於此時期的消耗<sup>(50)</sup>。

綜合以上研究資料顯示，對低葉酸攝食時之孕婦，補充 100 微克葉酸補充劑，即相當於 200 微克葉酸當量，能維持 50% 之孕婦為正常葉酸營養狀態。故孕婦的葉酸平均需要量，即以非懷孕婦女 EAR 的 320 微克葉酸當

量，加上 200 微克葉酸當量，等於 520 微克葉酸當量。平均需要量 520 微克乘以 2 個 10 % CV，取其整數值為 600 微克葉酸當量，以涵蓋 97-98 % 孕婦為每日建議量 RDA。此建議量亦與文獻中指出可維持孕婦正常的葉酸營養狀態的攝取量相近。

$RDA(\text{孕婦}) = EAR(520 \mu\text{g/d}) \times 120\% = 600 \mu\text{g/d}$  葉酸當量

## 6. 哺乳婦

而評估哺乳婦 EAR 是以非哺乳婦女之 EAR 加上能夠補償分泌於母乳之葉酸量的葉酸攝取量。估算乳汁葉酸濃度 85 微克/公升<sup>(30,31)</sup>，乘以幼兒平均攝乳量約 0.78 公升<sup>(51)</sup>，再除以 50 % 生物利用率，約為每天平均需多攝取 133 微克葉酸當量，加上非哺乳婦女 EAR 的 320 微克當量葉酸，等於約 450 微克葉酸當量，乘以 2 個 10 % CV 以涵蓋 97-98 % 孕婦為每日建議攝取量 RDA。

$RDA(\text{哺乳婦}) = EAR(450 \mu\text{g/d}) \times 120\% = 500 \mu\text{g/d}$  葉酸當量

## 國人葉酸營養狀態與慢性疾病風險相關性

### 一、主要食物來源

葉酸主要的食物來源為，肝臟、酵母、綠葉蔬菜、豆類及一些水果都是其豐富的食物來源。美國的葉酸食物來源主要是強化的早餐速食穀類製品 (cereals)，約佔 18 % 之多，其次為 12 % 的蔬菜，8 % 的麵包產品和 7 % 柑橘類。然而國內對速食穀類製品攝取並未普遍，麵粉亦未

添加葉酸，所以國人葉酸來源可能主要來自蔬菜與水果類。例如老年人 NAHSIT 1999 營養調查中以 24 小時回憶法估算國人葉酸食物來源，顯示台灣老人飲食中的葉酸來源，66 % 來自蔬菜類，其次是 11.8 % 來自水果類。此外，攝取較多蔬菜、菇蕈類、水果類或醬菜，可增加葉酸攝取量，有助於改善葉酸的營養狀況<sup>(42)</sup>。

## 二、攝取量

為估算國人葉酸的攝取量，參考呂和林<sup>(52)</sup>之國人攝食量較多的蔬菜的葉酸含量分析，和許<sup>(53)</sup>所整理的葉酸營養成分資料庫，代入台灣地區最近四次營養調查的 24 小時回憶法飲食攝取資料，估算近十幾年來國人每日葉酸平均攝取量。結果顯示 6–12.9 歲學童約為 232–282  $\mu\text{g}/\text{d}$ ；13–18 歲青少年約為 290  $\mu\text{g}/\text{d}$ ；19–50 歲成人約為 300–444  $\mu\text{g}/\text{d}$ ；51 歲以上老人約為 350–400  $\mu\text{g}/\text{d}$ ；65 歲以上老人約為 300–340  $\mu\text{g}/\text{d}$ 。顯示學童、成人的飲食葉酸攝取量已趨近 RDA，但是 13–18 歲青少年以及 65 歲以上老人的葉酸攝取量仍未達 RDA。若以葉酸攝取量低於平均需要量 EAR 定義為葉酸攝取不足，作為國人飲食葉酸攝取狀況的評估指標，結果顯示國人各年齡層的葉酸攝取不足盛行率仍高達 40–65 %，尤其是 7–10 歲學童和 70 歲以上老年人，以及十五年前調查的 13–18 歲青少年，也就是目前 19–30 歲的族群，葉酸攝取不足率皆高達 60 % 以上，是需要特別注意飲食習慣，加強攝取富含葉酸的食物。



### 三、慢性疾病風險相關性

#### (一) 國人葉酸營養狀況與慢性疾病風險相關性

分析老年人 NAHSIT 1999 的國人調查資料顯示，葉酸營養不足 (血漿葉酸 < 6 ng/mL) 與 65 歲以上老年人高同半胱胺酸血症的危險性有關<sup>(44)</sup>。血中的同半胱胺酸濃度，是目前備受矚目的心血管疾病危險因子，而葉酸被認為可以經由降低同半胱胺酸濃度，達到減少心血管疾病發生的風險。以竹東朴子地區 40 歲以上罹患心臟血管疾病之中老人進行的長期追蹤研究顯示，血漿中的葉酸濃度較低，並不會造成缺血型中風的危險性增加。然而，當血漿中葉酸、B<sub>6</sub> 與 B<sub>12</sub> 濃度皆低時，缺血型中風的危險性大幅度增加。此外，飲食葉酸的攝取量降低，會造成缺血型中風發生的危險性增加 (HR = 2.44; 95 % CI: 1.33–4.51)<sup>(54)</sup>。另一方面，老年人 NAHSIT 1999 研究顯示，台灣老人的葉酸營養不足與白內障的危險性有關；即使維生素 B<sub>2</sub>、B<sub>6</sub> 與 B<sub>12</sub> 營養皆充足時，葉酸營養不足仍與老人白內障的危險性有關。進行分層分析的結果顯示，年齡 ≥ 75 歲的男性，若同時伴隨著葉酸不足，則白內障的危險性高於單一年齡 ≥ 75 歲者<sup>(55)</sup>。故建議隨著年齡的增加，老年人應避免葉酸營養不足，以避免缺血型中風與白內障的危險性增加。

#### (二) 胎兒神經管缺陷 (Neural Tube Defect: NTD)

學者指出葉酸平均攝取量若低於 60 % DRI，會增加營養性或慢性疾病的風險，尤其是成年婦女需特別注意<sup>(56)</sup>。90 年代已有相當完整之研究指出飲食葉酸攝取不足及低血葉酸濃度，均與增加生育齡婦女的分娩神經管缺陷

風險性相關。飲食葉酸攝取 200–300 微克加上補充葉酸劑 360–800 微克，有利於降低孕婦分娩神經管缺陷風險性<sup>(57–60)</sup>。因此，葉酸營養與腦神經管缺陷的關係，促使美國等許多國家進行食品葉酸強化政策，以減少腦神經管缺陷的發生率。

除了神經管缺陷風險，近年來研究者指出低血葉酸濃度也與生育齡婦女的異常分娩有關，例如：與出生嬰兒重量與懷孕週期具顯著相關性<sup>(61)</sup>。針對台北地區醫院產檢孕婦的葉酸營養狀況調查指出<sup>(62)</sup>，孕婦紅血球葉酸過低 (< 200 ng/mL) 比率在懷孕前 16 週的初期約為 11%，到後期為 6%，產後六週可能由於坐月子的習慣則無缺乏情形。然而懷孕初期血漿葉酸越低的孕婦，懷孕後期和生產時，血漿和紅血球葉酸也越低，顯示懷孕前的葉酸營養狀況極為重要，育齡婦女應特別注意葉酸的充足攝取。

### (三) 葉酸營養與癌症風險性

近年來，越來越多研究報告指出，增加葉酸攝取量與調節慢性疾病風險的相關性，特別是某些癌症。回溯性研究建議相較於最低葉酸攝取量者，最高葉酸攝取量之受試者罹患結腸贅瘤之風險性降低 40%。綜合美國、加拿大、荷蘭、瑞典等地的 11 個前瞻性流行病學包括超過 500,000 位男女性的受試者的研究 (meta-analysis) 顯示，葉酸攝取量 (飲食與補充劑) 與結腸癌風險性呈顯著負相關性，最高葉酸攝取量之受試者罹患結腸贅瘤之風險性可降低 20%。美國的 Nurses' Health Study 研究 88,756 位女性護士，發現服用綜合維生素 (含 400 μg 葉酸) 達 15 年者，比未服用補充劑者，經多重因子調整後其罹患結腸

癌風險性降低 75 %<sup>(63-65)</sup>。

另一方面，挪威地區包括 6837 位血管栓塞病患，追蹤 10 年的 double-blind, placebo-controlled 研究指出，血管栓塞病患服用葉酸與 B<sub>12</sub> 補充劑比未服用補充劑者，被診斷罹患癌症相對風險性增加 (hazard ratio [HR], 1.21; 95 % confidence interval [CI], 1.03-1.41; *P* = 0.02)。具高血清葉酸濃度者 (> 27.66 ng/mL) 比血清葉酸濃度於 3.81–10.56 ng/mL 範圍者，有顯著較高的罹患癌症之風險性<sup>(66)</sup>。再者，甲基四氫葉酸 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 的基因多重性，尤其是 677CT 基因型，可能會調節攝取葉酸的代謝利用性，影響罹患癌症的風險。婦女具 MTHFR677TT 基因型有顯著較低的罹患肺癌風險性<sup>(67)</sup>。

葉酸營養與肝癌風險具相關性。以 20 位肝癌患者的 prospective cohort 研究指出低血漿葉酸濃度增加肝臟損傷及罹患肝癌風險性<sup>(68)</sup>。針對 90 位台灣肝癌病患葉酸營養狀態之研究發現，44 % 肝癌患者為邊緣性葉酸缺乏，其血清葉酸介於 7–14 nmol/L，每日平均葉酸攝取量 278 微克。16 % 受試者有葉酸缺乏狀態 (血清葉酸 < 7 nmol/L，每日平均葉酸攝取量為 207 微克)。相較於 90 位年齡與性別配對的健康對照組，台灣肝癌患者普遍有臨床性葉酸營養不良情況。經過調整年齡、性別、身體質量指數、抽煙喝酒，維生素 B<sub>12</sub> 與血漿同半胱胺酸濃度，低血漿葉酸濃度者比血漿葉酸濃度正常者罹患肝癌風險性增加 7.69 倍 (adjusted OR, 7.69; 95 % CI, 1.98–29.9)<sup>(69)</sup>。此外，臨床性低血清葉酸濃度與人體肝細胞癌進展具相關

性。研究結果發現肝癌病患葉酸營養不良狀態與肝腫瘤進展階段相關。血清葉酸濃度與肝腫瘤大小 ( $r = -0.29, P = 0.005$ )，數目 ( $r = -0.24, P = 0.018$ ) 與轉移率 ( $r = -0.39, P = 0.0001$ ) 呈顯著負相關性。位於高階癌進展 (stage I-IV: tumour size  $> 5$  cm, tumour multiplicity  $> 2$ ; portal metastasis) 之肝腫瘤病患，其血液葉酸濃度顯著低於低階癌進展 (stage I: tumour size  $< 5$  cm; tumour multiplicity  $< 2$ ; no metastasis)。經過調整年齡、性別、生活習慣與飲食攝取因子，臨床性低血葉酸濃度肝癌患者 ( $< 6$  ng/mL) 比高血葉酸濃度肝癌患者 ( $\geq 6$  ng/mL)，其肝腫瘤增大 5 cm 以上 (OR = 7.1; 95 % CI 2.2, 21.9;  $P = 0.0007$ )，多個腫瘤 (OR = 3.2; 95 % CI 1.07, 3.51;  $P = 0.004$ ) 與腫瘤轉移之風險性 (OR = 4.5, 95 % CI 1.11, 18.4;  $P = 0.03$ ) 皆顯著增加 (38)。

單碳代謝酵素基因多重性可能調節肝損傷與罹患肝癌之風險性。Ventura 等人<sup>(70)</sup>觀察具肝硬化之肝癌患者其血漿同半胱胺酸濃度顯著高於肝硬化患者 ( $P = 0.038$ )。相較於對照組與肝硬化組，肝硬化肝癌病患也有較高的 MTHFR 基因 *TT* 突變型的普遍率 (分別為 36.3 %, 22.7 %, and 41 %)。Zhu 等人<sup>(71)</sup>在中國大陸以 508 名肝細胞癌 (Hepatocellular carcinoma, HCC) 患者及 543 名對照組研究 MTHFR 基因多重性與肝癌的危險相關性。MTHFR 基因型分佈於 HCC 患者及對照組間並無顯著差異。然而攜帶 MTHFR *TT* 突變型者相較於攜帶 *CC* or *CT* 基因型者，其罹患肝癌之危險性顯著增加 (adjusted OR = 1.66, 95 % CI = 1.08–2.54,  $P < 0.05$ )。此趨勢於女性患者特別明顯。然而

其他研究卻觀察到相反之結果。Saffroy 等人<sup>(72)</sup>研究 80 名對照組與 300 名肝臟移植病患。其中分為酒精性與病毒性肝硬化的非肝癌患者，以及酒精性與病毒性肝硬化的肝癌患者。在患有酒精性肝硬化時，肝癌者 MTHFR 基因 CC 型頻率顯著高於非肝癌者，或病毒性肝硬化的肝癌患者。

2007 年 Yuan<sup>(73)</sup>等人發表結果顯示 MTHFR *TT* genotype 對調節肝癌風險具保護性。以台灣族群為研究對象，顯示 MTHFR *TT* genotype 比 *CC* genotype 有顯著較低之肝癌風險性 (adjusted OR, 0.004; 95 % CI, 0.01–0.06)，特別在葉酸營養缺乏狀態或攜帶低量粒線體 DNA 大片斷損時具保護性。顯示葉酸營養缺乏單碳代謝酵素基因多重性與 DNA 損傷產生交互作用，與罹患肝癌風險相關<sup>(74)</sup>。另一方面，仍有研究未能觀察到 MTHFR *TT* 基因型與肝癌風險的相關性<sup>(75)</sup>。未來仍需更多研究探討能夠調節降低肝癌症風險性的葉酸建議攝取量。

#### (四) 葉酸營養與腦神經退化性疾病

近年來對於葉酸營養與阿滋海默症等神經退化性疾病之相關性研究也日漸受到重視。部份由於飲食葉酸攝取不足的葉酸缺乏情況與智能下降，癡呆及阿滋海默症的風險性相關<sup>(76-78)</sup>。雖然因果關係之機制尚不清楚，增加葉酸攝取量被認為與降低發展阿滋海默症之風險具相關性<sup>(79)</sup>。服用葉酸補充劑似乎與顯著改善記憶與認知功能有顯著相關性<sup>(80)</sup>。另一方面，也有研究報導相反的結果<sup>(81)</sup>。

針對台灣族群為研究對象，以半定量式葉酸、B<sub>12</sub> 之食物頻率問卷評估中風老人的飲食葉酸攝取情況。超過

50 % 中風老人的飲食葉酸攝取低於 DRI (< 400  $\mu\text{g}/\text{day}$ )，平均葉酸攝取量顯著低於年齡與性別配對之健康對照組，可能因為選擇高葉酸密度食物之頻率較低有關<sup>(82)</sup>。具有高同半胱胺酸血症的台灣中風老人，其葉酸營養狀況顯著低於正常血同半胱胺酸量的中風老人，且其血漿葉酸與中風老人之 MRI 所介定的腦萎縮 (brain atrophy) 有顯著負相關性<sup>(83)</sup>。未來仍需更多研究探討能夠調節阿滋海默症等神經退化性疾病進展或降低腦神經退化性疾病風險的葉酸建議攝取量。

## 過量危害與毒性

### 一、毒性

曾有研究報告指出連續給予婦女每天 25 倍建議量的葉酸 10 毫克服用四個月後，並無其他不良症狀<sup>(18)</sup>。但攝食大量葉酸，例如每日建議量的 100 倍以上可能引起痙攣。動物實驗結果顯示給予注射大量葉酸可能沈積於腎臟，造成腎臟傷害<sup>(19)</sup>。

### 二、過量危害及上限攝取量之訂定

在美國的食品葉酸強化政策後，尚無有害影響的報告。所以過量危害主要針對補充劑的服用，因為葉酸與維生素 B<sub>12</sub> 缺乏，皆會出現有巨球型貧血的症狀，補充葉酸可矯正貧血，但是若起因於維生素 B<sub>12</sub> 缺乏，若只補充葉酸仍舊會導致維生素 B<sub>12</sub> 缺乏所引起的無法回復的腦神經病變。因此在大量服用葉酸補充劑需謹慎，避免遮掩了維生素 B<sub>12</sub> 缺乏的貧血症狀，延誤維生素 B<sub>12</sub> 缺乏的診治。

因此，UL 的制定以維生素 B<sub>12</sub> 缺乏、在大量服用葉酸補充劑情況下，不發生腦神經管病變為原則。近百篇研究報告中指出，導致惡性貧血患者在長期服用下產生腦神經病變的葉酸最低量為 5 毫克，故訂 5 毫克為最低危害量 (Lowest-observed-adverse-effect level, LOAEL)。UL 即是 LOAEL 除以不確定係數 (uncertainty factor) 為 5，得 1000 微克為 UL 量。

$$UL = 5 \text{ mg} / 5 = 1000 \text{ } \mu\text{g}/\text{d}$$

其他年齡層依成人單位體重的 UL 再依該年齡層體重換算得之。1-3 歲和 4-6 歲，因體重換算值接近於建議量，故取體重換算值與外插法公式值的平均值。嬰兒因無該年齡層之有害報告，且該年齡層的葉酸來源應只由食物供給，故不制定 UL。

## 參考文獻

1. Phillips DR, Wright AJA. Studies on the response of *Lactobacillus casei* to different folate monoglutamates. Brit J Nutr. 1982;47:183-9.
2. Phillips DR, Wright AJA. Studies on the response of *Lactobacillus casei* to different folate vitamin in food. Brit J Nutr. 1983;49:181-6.
3. Hoppner K, Lampi B. Folate levels in human liver from autopsies in Canada. Am J Clin Nutr. 1980;33:862-4.
4. Weir DG, McGing PG, Scott JM. Folate metabolism, the enterohepatic circulation and alcohol. Biochem Pharmacol. 1985;34:1-7.
5. Wu A, Chanarin I, Slavin G, Levi AJ. Folate deficiency in the alcoholic-its relationship to clinical and haematological abnormalities, liver disease and folate stores. Brit J Haematol. 1975;29:469-78.

6. Clifford AJ, Heid MK, Muller HG, Bills ND. Tissue distribution and prediction of total body folate of rats. *J Nutr.* 1990;120:1633-9.
7. Herbert V. Experimental nutritional folate deficiency in man. *Trans Assoc Am Physicians.* 1962;75:307-20.
8. Eichner ER, Hillman RS. The evolution of anemia in alcoholic patients. *Am J Med.* 1971;50:218-32.
9. Hoffbrand AV, Newcombe BF, Mollin DL. Method of assay of red cell folate activity and the value of the assay as a test for folate deficiency. *J Clin Pathol.* 1966; 19:17-28.
10. Blount BC, Mack MM, Wehr CM, MacGregor JT, Hiatt RA, Wang G, Wickramasinghe SN, Everson RB, Ames BN. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:3290-5.
11. Jacques PF, Sulsky SI, Sadowski JA, Phillips JC, Rush D, Willett WC. Comparison of micronutrient intake measured by a dietary questionnaire and biochemical indicators of micronutrient status. *Am J Clin Nutr.* 1993;57:182-9.
12. O'Keefe CA, Bailey LB, Thomas EA, Hofler SA, Davis BA, Cerda JJ, Gregory III JF. Controlled dietary folate affects folate status in nonpregnant women. *J Nutr.* 1995;125:2717-25.
13. Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA.* 1993;270:2693-8.
14. Gregory JF 3rd, Engelhardt R, Bhandari SD, Sartain DB, Gustafson SK. Adequacy of extraction techniques for determination of folate in foods and other biological materials. *J Food Comp Anal.* 1990;3:134-44.
15. Martin JJ, Landen WO Jr, Soliman AG, Eitenmiller RR. Application of a tri-enzyme extraction for total folate



- determination in foods. *J Assoc Anal Chem.* 1990;73: 805-8.
16. Tamura T, Mizuno Y, Johnston KE, Jacob RA. Food folate assay with protease,  $\alpha$ -amylase, and folate conjugase treatments. *J Agric Food Chem.* 1997;45: 135-9.
  17. Pfeiffer CM, Rogers LM, Gregory JF 3rd. Determination of folate in cereal-grain food products using trienzyme extraction and combined affinity and reversed-phase liquid chromatography. *J Agric Food Chem.* 1997;45: 407-13.
  18. Daly S, Mills JL, Molloy AM, Conley M, Lee YJ, Kirke PN, Weir DG, Scott JM. Minimum effective dose of folic acid for food fortification to prevent neural tube defects. *Lancet.* 1997;350:1666-9.
  19. Gregory JF 3rd. Bioavailability of folate. *Eur J Clin Nutr.* 1997;51 Suppl 1:S54-9.
  20. Pfeiffer CM, Rogers LM, Bailey LB, Gregory 3rd JF. Absorption of folate from fortified cereal-grain products and of supplemental folate consumed with or without food determined by using a dual-label stable-isotope protocol. *Am J Clin Nutr.* 1997;66:1388-97.
  21. Cuskelly GJ, McNulty H, Scott JM. Effect of increasing dietary folate on red-cell folate: implications for prevention of neural tube defects. *Lancet.* 1996; 347:657-9.
  22. Sauberlich HE, Kretsch MJ, Skala JH, Johnson HL, Taylor PC. Folate requirement and metabolism in nonpregnant women. *Am J Clin Nutr.* 1987;46:1016-28.
  23. Rong N, Selhub J, Goldin BR, Rosenberg IH. Bacterially synthesized folate in rat large intestine is incorporated into host tissue folyl polyglutamates. *J Nutr.* 1991; 121:1955-9.
  24. Zimmerman J. Folic acid transport in organ-cultured mucosa of human intestine. Evidence for distinct carriers. *Gastroenterology.* 1990;99:964-72.

25. Houghton LA, Green TJ, Donovan UM, Gibson RS, Stephen AM, O'Connor DL. Association between dietary fiber intake and the folate status of a group of female adolescents. *Am J Clin Nutr.* 1997;66:1414-21.
26. McMartin KE, Collins TD, Shiao CQ, Virdrine L, Redetzki HM. Study of dose-dependence and urinary folate excretion produced by ethanol in humans and rats. *Alcohol Clin Exp Res.* 1986;10:419-24.
27. Subar AF, Block G, James LD. Folate intake and food sources in the US population. *Am J Clin Nutr.* 1989; 50:508-16.
28. Baggott JE, Morgan SL, Ha TS, Vaughn WH, Hine RJ. Inhibition of folate-dependent enzymes by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Biochem J.* 1992;282:197-202.
29. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation.* 1996;93:7-9.
30. Brown CM, Smith, AM, Picciano MF. Forms of human milk folacin and variation patterns. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1986; 5: 278-82.
31. O'Connor DL, Tamura T, Picciano MF. Pteroylpolyglutamates in human milk. *Am J Clin Nutr.* 1991;53:930-4.
32. Smith AM, Picciano MF, Deering RH. Folate intake and blood concentrations of term infants. *Am J Clin Nutr.* 1985;41:590-8.
33. Kleiber M. Body size and metabolic rate. *Physiol Rev.* 1947;27:511-41.
34. Milne DB, Johnson Lk, Mahalko JR, Sandstead HH. Folate status of adult males living in a metabolic unit: possible relationship with iron nutriture. *Am J Clin Nutr.* 1983;37:768-773.

35. Nevill AM. The need to scale for differences in body size and mass: an explanation of Kleiber's 0.75 mass exponent. *J Appl Physiol.* 1994;77:2870-3.
36. Chen KJ, Shaw NS, Pan WH, Lin BF. Evaluation of folate status by serum and erythrocyte folate levels and dietary folate intake in Taiwanese schoolchildren. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2007;16 Suppl 2:572-8.
37. Milne DB, Johnson LK, Mahalko JR, Sandstead HH. Folate status of adult males living in a metabolic unit: possible relationship with iron nutriture. *Am J Clin Nutr.* 1983;37:768-73.
38. Kuo CS, Lin CY, Wu MY, Lu CL, Huang RFS. Relationship between folate status and tumour progression in patients with hepatocellular carcinoma. *Br J Nutr.* 2008;100:596-602.
39. Von der Porten AE, Gregory JF 3rd, Toth JP, Cerda JJ, Curry SH, Bailey LB. In vivo folate kinetics during chronic supplementation of human subjects with deuterium-labeled folic acid. *J Nutr.* 1992;122:1293-9.
40. Stites TE, Bailey LB, Scott KC, Toth JP, Fisher WP, Gregory JF 3rd. Kinetic modelling of folate metabolism through use of chronic administration of deuterium-labeled folic acid in men. *Am J Clin Nutr.* 1997;65:53-60.
41. Bailey LB, Cerda JJ, Bloch BS, Busby MJ, Vargas L, Chandler CJ, Halsted CH. Effect of age on poly- and monoglutamyl folacin absorption in human subjects. *J Nutr.* 1984;114:1770-6.
42. Chen KJ, Pan WH, Shaw NS, Huang RF S, Lin BF. Association between dietary folate intake and folate status of elderly Taiwanese. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2005;14:244-9.
43. Jacob RA, Gretz DM, Taylor PC, James SJ, Pogribny IP, Miller BJ, Henning SM, Swendseid M E. Moderate folate depletion increases plasma homocysteine and

- decreases lymphocyte DNA methylation in postmenopausal women. *J Nutr.* 1998;128:1204-12.
44. Chen KJ, Pan WH, Yang FL, Wei IL, Shaw NS and Lin BF. Association of B vitamins status and homocysteine levels in elderly Taiwanese. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2005;14:250-5.
  45. Willoughby ML, Jewell FJ. Investigation of folic acid requirements in pregnancy. *Br Med J.* 1966;2:1568-71.
  46. Willoughby ML, Jewell FJ. Folate status throughout pregnancy and in postpartum period. *Br Med J.* 1968;4:356-60.
  47. Lowenstein L, Brunton L, Hsieh YS. Nutritional anaemia and megaloblastosis in pregnancy. *Can Med Assoc J.* 1966;94:636-45.
  48. Colman N, Larsen JV, Barker M, Baker EA, Green R, Metz J. Prevention of folate deficiency by food fortification. III. Effect in pregnant subjects of varying amounts of added folic acid. *Am J Clin Nutr.* 1975;28 :465-70.
  49. Caudill MA, Cruz AC, Gregory JF 3rd, Hutson AD, Bailey LB. Folate status response to controlled folate intake in pregnant human subjects. *J Nutr.* 1997;127:2363-70.
  50. McPartlin J, Halligan A, Scott JM, Darling M, Weir DG. Accelerated folate breakdown in pregnancy. *Lancet.* 1993;341:148-9.
  51. 蘇郁芬、盧立卿、林家慧、謝武勳、方麗蓉。評估台灣嬰兒六個月前母乳攝取量及營養狀態之研究。台灣民國營養學會雜誌 2009;34:11-21。
  52. 呂麗琴、林璧鳳。台灣地區蔬菜之葉酸含量測定。中華民國營養學會雜誌 2000;25:29-37。
  53. Lee CH, Lee FI, Wong J, Tzeng MS, Huang RFS. Design of folate food frequency questionnaire and its application to assess folate in post-stroke patients. *Nutr Sci J.* 2003;28:210-7.

54. Weng LC, Yeh WT, Bai CH, Chen HJ, Chuang SY, Chang HY, Lin BF, Chen KJ, Pan WH. Is ischemic stroke risk related to folate status or other nutrients correlated with folate intake? *Stroke*. 2008;39:3152-8.
55. Chen KJ, Pan WH, Huang CJ, Lin BF. Association between folate status, diabetes, antihypertensive medication and age-related cataracts in elderly Taiwanese. *J Nutr Health Aging*. 2011;15:304-10.
56. Kennedy E, Meyers L. Dietary Reference Intakes: development and uses for assessment of micronutrient status of women—a global perspective. *Am J Clin Nutr*. 2005;81(suppl):1194S–7S.
57. Bower C, Stanley RJ. Dietary folate as a risk factor for neural tube defects. Evidence from a case-control study in western Australia. *Med J Aust*. 1989;150:613-9.
58. Shaw GM, Schaffer D, Velie EM, Morland K, Harris JA. Periconceptional vitamin use, dietary folate, and the occurrence of neural tube defects. *Epidemiology*. 1995;6:219-26.
59. Werler MM, Shapiro S, Mitchell AA. Periconceptional folic acid exposure and risk of occurrent neural tube defects. *J Am Med Assoc*. 1993;269:1257-61.
60. Daly LE, Kirke PN, Molloy A, Weir DG, Scott JM. Folate levels and neural tube defects. Implications for prevention. *J Am Med Assoc*. 1995;274:1698-702.
61. Scholl TO, Johnson WG. Folic acid: influence on the outcome of pregnancy<sup>1-4</sup>. *Am J Clin Nutr*. 2000;71(suppl):1295S–303S.
62. 陳冠如、蕭寧馨、林璧鳳。台北地區醫院產檢孕婦的葉酸營養狀況。中華民國營養學會雜誌 2006;31:8-16.
63. Kim YI: Folate and carcinogenesis: evidence, mechanisms, and implications. *J Nutr Biochem*. 1999;10:66–88.
64. Bailey LB, Rampersaud GC, Kauwell GP. Folic acid supplements and fortification affect the risk for neural

- tube defects, vascular disease and cancer: evolving science. *J Nutr.* 2003;133:1961S–8S.
65. Giovannucci E. Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: a review. *J Nutr.* 2002;132:2350S–5S.
  66. Ebbing M, Bønaa KH, Nygård O, Arnesen E, Ueland PM, Nordrehaug JE, Rasmussen K, Njølstad I, Refsum H, Nilsen DW, Tverdal A, Meyer K, Vollset SE. Cancer incidence and mortality after treatment with folic acid and vitamin B<sub>12</sub>. *JAMA.* 2009;302:2119-26.
  67. Shi Q, Zhang Z, Li G, Pillow PC, Hernandez LM, Spitz MR, Wei Q. Sex differences in risk of lung cancer associated with methylene-tetrahydrofolate reductase polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14:1477–84.
  68. Welzel TM, Katki HA, Sakoda LC, Evans AA, London WT, Chen G, O'Broin S, Shen FM, Lin WY, McGlynn KA. Blood folate levels and risk of liver damage and hepatocellular carcinoma in a prospective high-risk cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16:1279-82.
  69. Wu MY, Kuo CS, Lin CY, Lu CL, Huang RFS. Lymphocytic mitochondrial DNA deletions, biochemical folate status and hepatocellular carcinoma susceptibility in a case–control study. *Br J Nutr.* 2009;102,715-21.
  70. Ventura P, Rosa MC, Abbati G, Marchini S, Grandone E, Vergura P, Tremosini S, Zeneroli ML. Hyperhomocysteinaemia in chronic liver diseases: role of disease stage, vitamin status and methylenetetrahydrofolate reductase genetics. *Liver Int.* 2005;25:49-56.
  71. Zhu ZZ, Cong WM, Liu SF, Xian ZH, Wu WO. A study on the association of MTHFR C677T polymorphism with genetic susceptibility to hepatocellular carcinoma. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2006;14:196-8.

72. Saffroy R, Pham P, Chiappini F, Gross-Goupili M, Castera L, Azoulay D, Barrier A, Samuel D, Debuire B, Lemoine A. The MTHFR 677C>T polymorphism is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic cirrhosis. *Carcinogenesis*. 2004;25:1443-8.
73. Yuan JM, Lu SC, Van Den Berg D, Govindarajan S, Zhang ZQ, Mato JM, Yu MC. Genetic polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase genes and risk of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2007;46:749-58.
74. 黃琦雲、郭常勝、林勤益、呂瑾立、許瑞芬 (2009) 葉酸、單碳代謝酵素基因多型性與肝腫瘤惡化進展之相關性研究 中華民國營養學會 第 35 屆年會暨學術研討會 壁報論文競賽 臨床營養組 優勝獎 大會論文手冊 PB-08
75. Jin F, Qu LS, Shen XZ. Association between the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and hepatocellular carcinoma risk: a meta-analysis. *Diagnostic Pathology*. 2009;4:39-47.
76. Reynolds EH. Folic acid, ageing, depression, and dementia. *BMJ*. 2002;324:1512-5.
77. Reynolds E. Vitamin B<sub>12</sub>, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol*. 2006;5:949-60.
78. Ramos MI, Allen LH, Mungas DM, Jagust WJ, Haan MN, Green R, Miller JW. Low folate status is associated with impaired cognitive function and dementia in the Sacramento area Latino study on aging. *Am J Clin Nutr*. 2005;82:1346-52.
79. Luchsinger JA, Tang MX, Miller J, Green R, Mayeux R. Relation of higher folate intake to lower risk of Alzheimer's disease in the elderly. *Arch Neurol*. 2007;64:86-92.
80. Durga J, van Boxtel MP, Schouten EG, Kok FJ, Jolles J, Katan MB, Verhoef P. Effect of 3-year folic acid

- supplementation on cognitive function in older adults in the FACIT trial: a randomized, double blind, controlled trial. *Lancet*. 2007;369:208-16.
81. Morris MC, Evans DA, Bienias JL., Tangney, CC, Hebert, LE, Scherr, PA, Schneider JA: Dietary folate and vitamin B<sub>12</sub> intake and cognitive decline among community-dwelling older persons. *Arch Neurol*. 2005;62: 641–645.
  82. Lee CH, Wong J, Tzeng MS, Huang RFS. Dietary profile of folate intake in long-term post-stroke patients. *Nutr Res*. 2005;25:465-75.
  83. Yang LK, Wong KC, Wu MY , Liao SL, Kuo CS, Huang RFS. Correlations between folate, B<sub>12</sub>, homocysteine levels, and radiological markers of neuropathology in elderly post-stroke patients. *J Am Coll Nutr*. 2007;26:272-8.