

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 30 日現在

機関番号：11101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21650178

研究課題名（和文） 新たな健康指標としての腸内細菌叢の可能性－運動・生活習慣との関連からの検証－

研究課題名（英文） The possibility of the gut flora as a new health index -validation from the association between exercise, lifestyle and the gut flora -

研究代表者 梅田 孝 (UMEDA TAKASHI)

弘前大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：50311535

研究成果の概要（和文）：

本研究は近年開発された分子生物学的手法を用いた腸内細菌叢の簡便な測定方法を用いて、一般地域住民の腸内細菌叢を把握し、生活習慣病を惹起する運動を中心とする各生活習慣因子と腸内細菌叢の発現パターンとの関わりを解明し、新たな健康指標、生活習慣病のスクリーニング指標としての腸内細菌叢の有効性、運用性の可能性を検証する。また、本研究は本講座が実践する岩木健康増進プロジェクトのプロジェクト健診（成人健診）のなかで、本研究課題に関わる調査、研究を行った。

その結果、生活習慣病の一つであり、他の生活習慣病の主たる発症要因とも言える肥満と腸内細菌叢の発現パターンに有意な関連がみられることが明らかとなった。すなわち、本結果では OTU332(Lactobacillales：乳酸菌群)において男女共に「肥満群」、「標準群」に比して「やせ群」の比率が有意に高く、Lactobacillales が体格、肥満に影響を与える可能性が示唆された。また、このことは乳酸菌が肥満の予防因子となる可能性を示唆すると考えられた。

なお、肥満以外の各種生活習慣病と腸内細菌叢の発現パターンとの関連は、現在、詳細な解析をさらに進めており、検討中である。

研究成果の概要（英文）：

The simple measuring method of the gut flora using the molecular biological technique was developed recently. We examined the characteristic of the expression patterns of the gut flora using this method in general populations.

We verified whether observing the expression patterns of the gut flora would be effective as new health indicator and a screening index of a lifestyle-related disease. We examined all survey contents in this study with the result of the health-check up in the Iwaki Health Promotion Project.

The expression ratio of OTU332 (lactic acid bacterium) in the lean person group was significantly higher than those in the obesity group and the standard group in this result. This result suggested that obesity was significantly related to the expression patterns of gut flora, and it was one of the lifestyle-related diseases and the main risk factor of the lifestyle-related disease. This result suggested that a lactic acid bacterium might become the obese protective factors.

In addition, we are considered and analyzing in details now about the associations between lifestyle related diseases expect for obesity and the expression pattern of gut flora.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	0	1,500,000
2010年度	1,400,000	0	1,400,000
2011年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	120,000	3,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：応用健康科学

キーワード：住民健診、健康指標、応用健康科学、生活習慣病、腸内細菌

1. 研究開始当初の背景

現在、わが国の健康問題でその中心となる疾病が、メタボリックシンドロームをはじめとする生活習慣病であることは明らかである。また、生活習慣病の予防は第一次予防を中心とした生活習慣の改善が、最も重要な対策であることもいうまでもない。一方、生活習慣病の早期発見、早期治療を目的に全国規模で地域検診、職場検診が実施、展開されている。また、これらの検診の主目的は糖尿病、高脂血症、悪性新生物をはじめとする生活習慣病の早期発見である。しかし、本人の自覚がないまま長期に亘って進行、発症する生活習慣病の発症機序を考えた場合、検診はこれまでの実施目的に加え不適切な生活習慣を起因とする半健康者、自覚症状がなく症状が発現する以前の半健康者を速やかに抽出し、検診受診者に生活習慣を早急に改善する方策を提供することも極めて重要な課題となると考えられる。

現在、健康を把握するために多くの健康指標が研究開発、提案され活用されている。一方、検診時に測定される健康指標は短時間に一度に大量の試料を簡便に測定できること、安価であること、受診者に対して短期間に結果を還元できること等の条件が必須である。そのなかで、近年、比較的簡便に測定できることになった腸内細菌叢が様々な疾患、生活習慣病と関連ある可能性が示され注目されている。しかしながら、現在、腸内細菌叢と生活習慣病を初めとする様々な疾患との関連は、実験的あるいは断片的な調査、研究がなされてはいるものの、これを詳細かつ大規模に調査し、その分布やこれらの関連の特性を検討した研究はみられない。

2. 研究の目的

そこで、本研究は近年開発された分子生物学的手法を用いた腸内細菌叢の簡便な測定方法を用い、一般地域住民の腸内細菌叢を把

握し、生活習慣病を惹起する運動を中心とする各生活習慣因子と腸内細菌叢の発現パターンとの関わりを解明し、新たな健康指標、生活習慣病のスクリーニング指標としての腸内細菌叢の有効性、運用性の可能性を検証することを目的とした。また、本研究は本講座が実践する岩木健康増進プロジェクトのプロジェクト健診（成人健診）のなかで、本研究課題に関わる調査、研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 平成 21 年度の研究計画・方法

1) プロジェクト健診の実施

① 調査場所：青森県弘前市岩木地区健康福祉

プロジェクト健診受診者(成人)

	平成17年度	平成18年度	平成19年度	平成20年度	平成21年度	平成22年度	平成23年度
総数	1063	958	814	886	833	929	804
男性	406	343	340	326	327	334	306
女性	657	615	510	560	506	595	498
65歳未満	682	569	496	595	556	609	541
65歳以上	385	389	318	291	277	320	263
平成17年度	—	618	73	63	430	511	389
平成18年度	—	—	157	56	476	487	404
平成19年度	—	—	—	562	500	484	418
平成20年度	—	—	—	—	572	561	484
平成21年度	—	—	—	—	—	606	535
平成22年度	—	—	—	—	—	—	615

センター

② 対象者：青森県弘前市岩木地区に在住する男女成人 1000 名程度

③ 調査期間：平成 21 年 4 月中旬の 10 日間

2) 調査内容

① 問診（アンケート）：家族構成、既往歴、家族歴、運動習慣、食生活、薬物服用状況、喫煙状況、飲酒状況、身体活動状況（ADL、QOL:SF36）、アレルギー症状、ストレス（CESD）休養状況、睡眠状況、排便状況、整形外科聞き取り、骨密度聞き取り、精神科聞き取り

② 身体計測：身長・体重、体脂肪率、骨密度、

- ③ウエスト／ヒップ比、腹囲
- ④血圧
- ⑤圧脈波（四肢血圧）検査（動脈硬化の程度判定）
- ⑥心電図
- ⑦体力測定及び身体機能検査
  - ・体力測定：18-59歳対象
  - 内容；握力、反復横とび、長座体前屈、上体起こし（腹筋）、立ち幅とび、自転車エルゴメーター、30秒立上りテスト
  - ・身体機能検査：60歳以上対象
  - 内容；開眼片足立ち、長座体前屈、棒反応、握力、ファンクショナルリーチテスト、30秒立上りテスト
- ⑧血液検査：末梢血（白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット、血小板数）、白血球像、総蛋白、アルブミン、総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪、GOT、GPT、 $\gamma$ GTP、ビリルビン、クレアチニン、BUN、尿酸、血糖、鉄、HbA1c、IgG、IgA、IgM、C3、C4、血清Na、K、Cl、Ca、Pi、骨粗しょう症関連物質（インスリン、アディポサイトカイン、ホモシステイン、NTx、サイトカイン）
- ⑨好中球機能検査：活性酸素種産生能、食食能、血清オプソニン化活性
- ⑩尿検査：骨粗しょう症関連物質（NTx、ペントシジン）
- ⑪頸椎・腰椎・股関節検査
- ⑫膝関節機能検査
- ⑬X線検査：頸椎・腰椎・股関節・膝関節
- ⑭骨粗しょう症検査
- ⑮聴力検査
- ⑯痴呆症検査
- ⑰呼気中一酸化炭素濃度測定
- ⑱呼吸機能検査
- ⑲遺伝子検査：高血圧関連、糖尿病関連 難聴関連
- ⑳糞便検査：腸内細菌叢：Terminal-RFLP法

- ③ 調査の実施（プロジェクト健診時）
  - ・身体計測：研究支援技術者
  - ・採血：弘前大学大学院生、研究支援技術者
  - ・好中球活性酸素産生能・食食能・オプソニン化活性の測定：高橋一平、松坂方士
  - ・血液生化学検査：(株)三菱BCLに外注
  - ・腸内細菌叢測定：理化学研究所（微生物材料開発室室長・辨野義己）に委託
  - ・各種身体機能測定：梅田孝、研究支援技術者
  - ・生活習慣調査：梅田孝、研究支援技術者
- ④結果の分析・まとめ：梅田孝、中路重之、高橋一平、松坂方士
- ⑤研究支援技術者

本調査では1回の測定につき1000名の対象者の採血を迅速に行なうとともに、他の測定項目に関する測定者も必要となる為、調査に際する採血者及び測定者（各約5名）を必要とする。

4) 弘前市及び弘前大学の役割分担  
弘前市：①住民に趣旨を伝達する。②住民を調査場所に収集する。③相談会・講演会等の企画・運営する。

弘前大学：①調査の企画、運営する。②データを集計し、まとめる。③結果を還元する。④健康に関する講演会への積極的協力する。⑤介入活動を企画、運営、実行する。

5) 弘前大学内での実施手順  
①参加希望の各科、部門、センター等から具体的なプロジェクトを提示させる。

②プロジェクト実施の可能性につき話し合う（全体のプロジェクトとのバランス、経済面、倫理性等）。

③プロジェクト計画を弘前市に提示する。

④計画がまとまった段階で弘前大学医学部の倫理委員会に研究の実施につき申請する。

6) 平成22年度の研究計画・方法

①平成21年度に実施したプロジェクト健診を平成22年度も同様に計画し、所定の手続きに基づき実施する。

②平成21年度に収集した試料のうち、血清オプソニン化活性値等の実験室で行うべき測定を行う。

③平成21年度に実施し得られた約1000名の健診データを速やかに入力、統計処理し、結果を分析しまとめる。

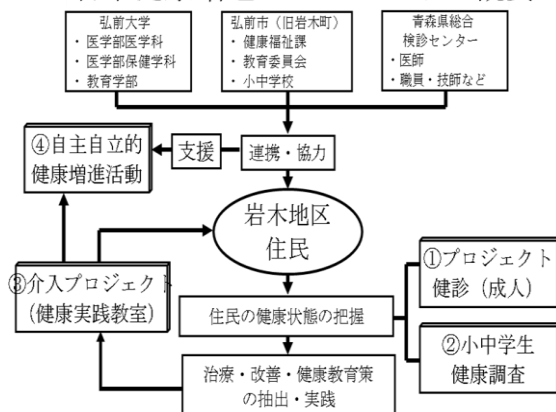
7) 平成23年度の研究計画・方法

①平成22年度に収集した試料のうち、血清オプソニン化活性値等の実験室で行うべき測定を行う。

②平成21年度の健診データに平成22年度の健診データを加え入力（合計約2000名）、統計処理し、結果を分析し、まとめる：生活習慣、生活習慣病の発症状況別の腸内細菌叢の発現パターンを解析、評価する。

③まとめた研究成果を関連学会で学会発表、論文で公表する。

### 岩木健康増進プロジェクトの概要



による腸内細菌プロファイルの解析

3) 研究における調査の流れと組織

- ① 総括：梅田孝
- ② 調査計画：梅田孝、中路重之

#### 4. 研究成果

前述したように本事業期間内での岩木健康増進プロジェクト・プロジェクト健診受診者数は、平成 21 年度 833 名、平成 22 年度 929 名、平成 23 年度 804 名、計 2,566 名（延べ人数）であった。

以下は現在、解析が終了し、その結果の一部を公表した内容である。

表 1 に対象者の特徴を示した。男性 266 名、女性 428 名と女性が多かった。対象者の平均年齢が高齢となっていた。BMI については男性 23.9±2.8、女性は 23.1±3.0 と男性で有意に高かった。表 2 に男性群の生活習慣を示した。やせ群の対象者が少数となっていた。表 3 に女性群の生活習慣を示した。やせ群が少数となっていた。また男性に比べ飲酒習慣、喫煙習慣のある人は少数であった。

図 1 に男性群における解析結果を示した。OTU332 において肥満群 1.77±0.33%、標準群 1.18±0.24%に比し、やせ群は 5.54±1.20% と OTU332 が有意に高値であった。

図 2 に女性群における解析結果を示した。OTU332 において肥満群 1.16±0.27%、標準群 1.43±0.15%に比し、やせ群は 3.35±0.63% と有意に高値であった。

本研究では OTU332(Lactobacillales)において男女共に肥満群、標準群に比しやせ群の比率が有意に高く、Lactobacillales が体格に影響を与える可能性が示唆された。一方、Kadooka らの研究では多施設無作為偽薬対照介入試験により 87 名の被験者に Lactobacillus gasseri SBT2055 を含む脱脂乳あるいはこれに含まない脱脂乳を 12 週間投与した結果、前者において体重、BMI、腹囲、ならびに内蔵及び皮下脂肪が有意に減少したと報告されている。すなわち、これは本研究で示唆されたことに矛盾しない。また、Armougom らは肥満と正常体重の被験者各 20 名から採取した便に qPCR による分析を行った結果、正常に比し肥満において Lactobacillus が多くと報告した結果に近似したと考えられた。

Lactobacillales が体格に影響を与えるメカニズムについても様々な報告がある。Sato らは L. gasseri SBT2055 が脂質の腸管からの吸収抑制を介してラットの白色脂肪細胞サイズを減少させると報告している。また、Takemura らは L. plantarum No. 14 が食餌誘導性肥満マウスおよび遺伝性 2 型糖尿病マウス (KK/Ta マウス) の体脂肪増加およびインスリン抵抗性を抑制し、これに白色脂肪組織における UCP-1 の異所性発現が関与する可能性を示唆している。また Lee らは動物実験にて抗肥満効果を有すると示されている共役リノール酸を産生する L. plantarum PL62 を食餌誘導性肥満マウスに投与し、これらが体重、

白色脂肪重量、及び血糖値を低下させると報告している。しかし最近のヒト臨床試験では、共役リノール酸の抗肥満効果について否定的な報告がされている。

このように本研究を含め腸内細菌と肥満との関連は様々な研究で指摘されているがそこにどのような関係があるかはまだ明らかではない。しかし今後研究が進展し、腸内細菌が体格に与える影響が明らかになれば腸内細菌と健康との関係が明らかになり、将来的にはプロバイオティクスなど腸内細菌の修飾による肥満治療への臨床的応用の可能性も考えられる。

表 1 対象者の特徴

	男性 (n=266)	女性 (n=428)
年齢 (歳)	57.5±12.8	58.9±12.3
身長 (cm)	166.3±6.7	152.9±6.1 *
体重 (kg)	65.8±9.8	53.7±7.4 *
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.9±2.8	23.1±3.0 *

数値：平均値±標準偏差

T-testにより比較検定 \* : P<0.01

表 2 対象者（男性）の生活習慣の特徴

男性		やせ (n=7)	標準 (n=168)	肥満 (n=91)
喫煙	非喫煙者	2(28.6)	70(41.7)	37(40.7)
	現在喫煙者	3(42.9)	49(29.2)	28(30.8)
	過去喫煙者	2(28.6)	49(29.2)	26(28.6)
飲酒	非飲酒者	2(28.6)	33(19.6)	27(29.7)
	現在飲酒者	5(71.4)	125(74.4)	63(69.2)
	過去飲酒者	0(0)	10(5.9)	1(1.1)

人(%)

本研究の限界としては(1)男女共にやせ群の対象者が少ないこと、(2)本研究は横断研究である為、腸内細菌と体格との因果関係について検討できないことが挙げられる。このため今後は対象数を増やし、さらなる調査を行うこと。食事などの生活環境との関わりを検討すること。岩木健康増進プロジェクトを通じた縦断研究への発展などが考えられた。

なお、肥満以外の各種生活習慣病と腸内細菌叢の発現パターンとの関連は、現在、詳細な解析をさらに進めており、検討中である。また、これらの解析結果が出次第、順次、公表する予定である。

表 3 対象者（女性）の生活習慣の特徴

女性

		やせ (n=18)	標準 (n=314)	肥満 (n=96)
喫煙	非喫煙者	14(77.8)	280(89.2)	89(92.7)
	現在喫煙者	3(16.7)	15(4.8)	6(6.3)
	過去喫煙者	1(5.6)	19(6.1)	1(1.0)
飲酒	非飲酒者	13(72.2)	242(77.1)	84(87.5)
	現在飲酒者	5(27.8)	67(21.3)	12(12.5)
	過去飲酒者	0(0)	5(1.6)	0(0)

人(%)

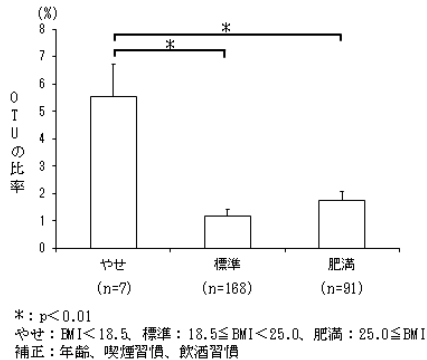


図1 男性における OTU332 (Lactobacillales)

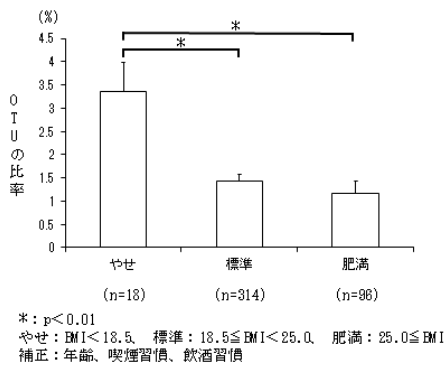


図2 女性における OTU332 (Lactobacillales)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

1. 長谷部達也, 梅田孝, 工藤淳子, 狭戸尾真梨子, 齋藤百合子, 浜田菜穂子, 船橋浩一, 中路重之. 一般住民の腸管内メタン産生と腸内細菌に関する研究 2010; 20(2):140-143
2. 渡邊清誉, 梅田孝, 有賀玲子, 谷川涼子, 浜野学, 松田基子, 松本秀彦, 中路重之. 腸内細菌による肥満への影響体力・栄養・免疫学雑誌 2010; 20(2):137-139.

3. Hasebe T, Umeda T, Danjo K, Takahashi I, Matsuzaka M, Kudo J, Semato M, Saito Y, Hisada T, Benno Y, Nakaji S, Hakamada K. Effect of human gut microbiota on methane production. Hirosaki Med J. 2011; 62(1): 7-17.

4. Inoue R, Ishibashi Y, Tsuda E, Yamamoto Y, Matsuzaka M, Takahashi I, Danjo K, Umeda T, Nakaji S, Toh S. Medical problems and risk factors of metabolic syndrome among radiographic knee osteoarthritis patients in the Japanese general population. J Orthop Sci. 2011;16(6): 704-9.

5. Lee S, Takahashi I, Matsuzaka M, Yamai K, Danjo K, Kumagai T, Umeda T, Itai K, Nakaji S. The relationship between serum selenium concentration and neutrophil function in peripheral blood. Biol Trace Elem Res. 2011; 144 (1-3) : 396-406.

6. Sato J, Takahashi I, Umeda T, Matsuzaka M, Danjo K, Tsuya R, Kida K, Takami H, Nakaji S. Effect of alcohol drinking and cigarette smoking on neutrophil functions in adults. Luminescence. 2011; 26(6): 557-64.

7. Sugawara N, Yasui-Furukori N, Sasaki G, Umeda T, Takahashi I, Danjo K, Matsuzaka M, Kaneko S, Nakaji S. Assessment of the Center for Epidemiological Studies Depression Scale factor structure among middle-aged workers in Japan. Psychiatry Clin Neurosci. 2011; 55(1): 109-11.

[学会発表] (計 8 件)

1. 長谷部達也, 梅田孝, 工藤淳子, 狭戸尾真梨子, 齋藤百合子, 浜田菜穂子, 船橋浩一, 中路重之. 一般住民の腸管内メタン産生と腸内細菌に関する研究. 第 20 回体力・栄養・免疫学会, 弘前市, 2010.
2. 長谷部達也, 梅田孝, 佐藤弘道, 鈴木隆, 谷本歩実, 徳田糸代, 徳安秀正, 山本博, 矢野智彦, 中路重之. 呼気中水素およびメタン濃度と腸内細菌叢の関連に関する研究, 第 80 回日本衛生学会学術総会, 仙台市, 2010.
3. 渡邊清誉, 梅田孝, 黒岩純, 竹石洋介, 田中充洋, 松田基子, 中路重之. 腸内細菌叢と肥満との関係. 第 81 回日本衛生学会学術総会, 東京都, 2011.
4. 渡邊清誉, 本田勝義, 矢野智彦, 米田勝朗, 三輪孝士, 和田尚子, 伊東良, 小川武志, 梅田孝, 中路重之. 腸内細菌と体脂肪の関連について第 20 回体力・栄養・免疫学会, 東京都, 2011.
5. 松坂方土, 大久保礼由, 檀上和真, 高橋



一平，梅田孝，兼板佳孝，大井田隆，中路重之．動脈硬化の独立した危険因子としての睡眠時間、自覚的睡眠の質の検討第 70 回日本公衆衛生学会総会，秋田市，2011.

6. 松坂方士，大久保礼由，檀上和真，高橋一平，梅田孝，兼板佳孝，大井田隆，中路重之．動脈硬化の独立した危険因子としての睡眠時間、自覚的睡眠の質の検討第 70 回日本公衆衛生学会総会，秋田市，2011.

7. 大久保礼由，松坂方士，佐藤真樹，小嶋新太，兼板佳孝，大井田隆，梅田孝，中路重之．日記式睡眠評価とメタボリックシンドロームの関係．第 82 回日本衛生学会学術総会，京都市，2012.

8. 渡邊清誉，高橋一平，本田勝義，米田勝朗，三輪孝士，和田尚子，伊東良，上谷英史，梅田孝，中路重之．腸内の乳酸菌と肥満の関連について．第 82 回日本衛生学会学術総会，京都市，2012.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

梅田 孝 (UMEDA TAKASHI)

弘前大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：50311535

### (2) 研究分担者

中路 重之 (NAKAJI SHIGEYUKI)

弘前大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：10192220

高橋 一平 (TAKAHASHI IPPEI)

弘前大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：70400132

松坂 方士 (MATSUZAKA MASASHI)

弘前大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：70431434

### (3) 連携研究者

該当なし