

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04430

研究課題名(和文) 人類の低タンパク適応能の研究

研究課題名(英文) Low protein adaptation of humans

研究代表者

梅崎 昌裕 (Umezaki, Masahiro)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・教授

研究者番号：30292725

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,700,000円

研究成果の概要(和文)：本申請課題の目的は、タンパク栄養と腸内細菌叢との関連を手がかりに、腸内細菌を移植した動物を用いた実験、そしてパプアニューギニア高地における観察研究を実施することにより、低タンパク適応における腸内細菌の機能を具体的に突きとめることにある。これまでの研究で、パプアニューギニア高地人の糞便を移植したマウスは、低タンパクの餌を与えても体重減少が少ないこと、パプアニューギニアのなかでもタンパク摂取量の少ない個人は糞便へのアミノ酸の排出が多いことなどが明らかになった。本研究の成果は、人類の生存とタンパク摂取あるいは肉類の摂取にかかわる関係性についての新たな知見をもたらすものであると考えている。

研究成果の概要(英文)：The inconsistency between Papua New Guinea Highlanders' protein-deficient diet and their muscular physique is well known. Moreover, although their protein intake is less than biologically adequate, protein-deficiency related disorders have rarely been reported in this setting. We have speculated that the populace have adapted to a low-protein diet by utilizing air nitrogen fixed by intestinal bacteria and/or by intensive "recycling" of urea that passes into the gastrointestinal tract. The recent emergence of genome science have enabled us to examine the unsolved question of Papua New Guinea Highlanders' adaptation to a low protein diet in more direct way. In our project, we evaluated gut microbiota for individuals in four Papua New Guinea communities subject to different degrees of protein deficiency. Animal experiments were also conducted. Association of gut microbiota and variation of protein intake and nutritional biomarkers were investigated.

研究分野：人類生態学

キーワード：低タンパク適応 パプアニューギニア 腸内細菌

## 1. 研究開始当初の背景

本申請課題は、代表者が責任研究者をつとめた最先端・次世代研究開発プログラム(内閣府)の研究プロジェクト『パプアニューギニア高地人がサツマイモを食べて筋肉質になるのはなぜか』(平成 22~25 年度)の成果、研究設備、研究ネットワークを前提として計画されたものである。腸内細菌叢を移植した動物を用いた実験、パプアニューギニアでの観察研究など、これまでより踏み込んだ方法論を採用することにより、低タンパク適応の謎を、腸内細菌の役割に着目しながら具体的に解明することを目指している。

2000 年ごろまで、人間の腸内細菌の研究は、感染症の原因となる病原性細菌およびビフィズス菌をはじめとする一部の好気性菌を対象にしたものに限られていた。その背景には、大部分の腸内細菌はただ腸管に存在するだけで何ら宿主への影響を及ぼしてないと信じられていたことがある。そもそも、腸内細菌の大部分は難培養性の嫌気性菌であり、腸管内にどのような細菌がどのくらい存在するかという、基本的な状況すら明らかではなかった。

ところが、近年、腸内細菌が人間の栄養状態および健康状態と密接に関連していることを示す研究が多く発表されるようになった。たとえば、ワシントン大学のゴードン教授のグループは、肥満の人間とそうでない人間は、異なる腸内細菌叢を有し、肥満の人間のもつ腸内細菌叢を移植したマウスは肥満になることを報告した(Vanessa et al, 2013)。一方、アフリカの馬拉ウィ国でおおく発症するクワシオコルという成長障害の研究のなかで、クワシオコルを発症した子どもがもつ腸内細菌叢をマウスに移植したところ、そのマウスがクワシオコル様の成長障害の症状をみせたことが報告され、腸内細菌叢が子どもの成長障害に関与していることが示唆された(Smith et al., 2013)。潰瘍性大腸炎、クローン病などの炎症性疾患と腸内細菌叢との関連を検討する研究もおおい。

パプアニューギニア高地人の「低タンパク適応」についての最初の報告は 1950 年になされた。オーストラリアが戦後統治するための資料として実施された栄養調査では、成人のタンパク摂取量はわずか 20~30 グラムであり栄養学的な必要量よりも少ないにもかかわらず、人々は大きな筋肉を発達させ、タンパク欠乏にともなう臨床症状はみられないと報告された。このような「低タンパク適応」の存在は、その後のパプアニューギニアにおける栄養調査でも確認され、これまでその謎を解明するための研究がいくつかおこなわれてきた。そのなかで提示されたシナリオのうち有望なものは、(1) 腸内細菌による窒素固定がおこなわれ、それが食物以外を源とする窒素源として人間の栄養に利用されている、(2) 人間が腸管に排出した尿素が腸内細菌の働きによりアミノ酸に代謝さ

れ、人間の栄養源として再利用される効率が高い、の二つである。

窒素固定が人間のタンパク栄養に寄与している可能性については、パプアニューギニア高地人は経口的に摂取する窒素量よりも排出する窒素量が少ない(負の窒素平衡)という報告、パプアニューギニア高地人の糞便から窒素固定能をもつ細菌が確認されたという報告などによって支持された。一方、尿素的の再利用効率が高いという仮説については、1980 年代に実施された小石秀夫教授をリーダーとする栄養人類学研究によって具体的なデータが示されている。

パプアニューギニア高地人の「低タンパク適応」に特定の腸内細菌が関与しているのはほぼ間違いないと考えられ、今後は、すでに作成された「低タンパク適応」に関与する腸内細菌の候補リストにある細菌のそれぞれについての詳細な検討、窒素固定と尿素再利用の「低タンパク適応」に対する相対的・絶対的寄与量の評価をおこなうことが必要である。それができれば、タンパク質摂取量の少ない状況にある人類の具体的な栄養適応のメカニズムを明らかにできると考えている。

## 2. 研究の目的

本申請課題の目的は、これまでの申請者の研究で明らかになってきたタンパク栄養と腸内細菌叢との関連を手がかりに、腸内細菌を移植した動物を用いた実験、そしてパプアニューギニア高地における観察研究を実施することにより、低タンパク適応における腸内細菌の機能を具体的に突きとめることにある。本研究の成果は、腸内細菌に働きかけることによるタンパク栄養改善法への道筋をつけるだけでなく、人類の生存とタンパク摂取あるいは肉類の摂取にかかわる関係性についての新たな知見をもたらすものであると考えている。

## 3. 研究の方法

本研究は、1) パプアニューギニアで収集されたサンプルを対象に既の実施した解析結果についての継続的な分析、2) パプアニューギニア人の糞便あるいは実験動物の腸内容物を対象にしたゲノム解析、3) 「低タンパク適応」の状態にあるパプアニューギニア高地人の腸内細菌叢を移植した動物を用いた実験、4) パプアニューギニア人のサンプルおよび動物実験で採集されたサンプルを対象にしたタンパク栄養のバイオマーカの 4 パートによって構成されている。

## 4. 研究成果

(1) 無菌マウスにパプアニューギニア高地人の腸内細菌叢を移植する実験

「低タンパク適応」の状態にあるパプアニューギニア高地人の腸内細菌をマウスに移植する実験をさまざまな条件のもとで実施し

た。具体的には、パプアニューギニア高地レバニ渓谷に居住する個人のなかで、タンパク摂取量が少ないにもかかわらず筋肉量の大きい8名を選び、その糞便を無菌状態で経代飼育されてきたマウスに移植した (PNG 群)。コントロールとして、十分なタンパクを摂取している日本人の糞便を移植したマウスを用いた (JPN 群)。これらのマウスに、滅菌処理をした低タンパク食 (タンパク含有量 3%) と普通タンパク食 (12%) を与え、1 ヶ月間の体重変化を記録し、その後、糞、尿、血液、筋肉、毛、肝臓を採材した。

この実験により以下の3点が明らかになった。1) 低タンパク食を与えた PNG 群は JPN 群と比較して、体重の減少が有意に小さかった。2) PNG 群は JPN 群と比較して、血清 Alb 濃度、肝臓の相対重量が有意に高かった。3) 低タンパク食を与えた PNG 群では、*Enterococcus* 属、*Ruminococcus* 属、*Faecalibacterium* 属の細菌割合が特異的に増加していた。

結果の重要なポイントは、同一の低タンパク食を摂取した場合でも、腸内細菌叢の違いによって、体重変動およびタンパクの栄養状態に違いがみられること、そして低タンパクに適応した腸内細菌叢には ATP 産生菌とウレアゼ産生菌の割合が増加していることである。これらの発見は、腸内細菌叢の関与による窒素固定および尿素再利用の亢進というタンパク摂取量の不足を補うメカニズムをパプアニューギニア高地人がもっているという仮説に整合するものである。

(2) パプアニューギニアで収集した生体試料の生化学・ゲノム分析

パプアニューギニア高地人の低タンパク適応メカニズムの探求のなかで、腸内における窒素固定遺伝子の発現と同定、腸内における尿素再利用の指標がタンパク摂取量によって変動すること、パプアニューギニア高地人の腸内細菌叢が先進国集団のものとは大きく異なること、あるグループの腸内細菌はタンパク摂取量が多い個人では減少していることなどを明らかにし、その成果を学術雑誌に発表した (Naito et al. 2015; Igai et al., 2016; Umezaki et al., 2016)。そのプロセスで、低タンパク適応の状態にある個人の代謝にかかわる特徴を網羅的に明らかにする必要があると判断し、糞便と尿を対象にしたメタボローム解析と、糞便から抽出した腸内細菌の代謝物をもちいた細胞実験をおこなった。

パプアニューギニア高地人とパプアニューギニア低地人 (低タンパク適応メカニズムを有しない) 日本人の糞便にふくまれるアミノ酸を比較すると、パプアニューギニア低地人の糞便にはほとんどアミノ酸が含まれていないのに対して、パプアニューギニア高地人にはそれよりも有意に多いアミノ酸が検出され、そのレベルは日本人と変わらな

った。しかも、パプアニューギニア高地人のなかでは、タンパク摂取量が極端に少ない個人ほど糞便中のアミノ酸濃度が高かった。これらの結果から、パプアニューギニア高地人の低タンパク適応においては、アンモニアからアミノ酸を合成する腸内細菌の役割が重要であることが示唆され、それに対応する機能遺伝子の探索と細菌の同定・単離の努力が続いている。

## 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8件)

\* 全て査読あり

Tomitsuka E, Igai K, Tadokoro K, Morita A, Baba J, Suda W, Greenhill AR, Horwood PF, Soli KW, Siba PM, Odani S, Natsuhara K, Morita H, Umezaki M. (2017) Profiling of faecal water and urine metabolites among Papua New Guinea highlanders believed to be adapted to low protein intake. *Metabolomics*, 13:105.

Horwood P, Soli KW, Maure T, Naito YI, Morita A, Natsuhara K, Tadokoro K, Baba J, Odani S, Tomitsuka E, Igai K, Larkins JA, Siba PM, McBryde E, Umezaki M, Greenhill AR. (2017) A high burden of asymptomatic gastrointestinal infections in traditional communities in Papua New Guinea. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 97: 1872-1875.

Rarau P, Vengiau G, Gouda H, Phuanukoonon S, Kevau IH, Bullen C, Scragg R, Riley I, Marks G, Umezaki M, Morita A, Oldenburg B, McPake B, Pulford J. (2017) The prevalence of non-communicable disease risk factors in three sites across Papua New Guinea: A cross-sectional study. *BMJ Global Health*, 14: doi: 10.1136/bmjgh-2016-000221

Igai K, Itakura M, Nishijima S, Tsurumaru H, Suda W, Tsutaya T, Tomitsuka E, Tadokoro K, Baba J, Odani S, Natsuhara K, Morita A, Yoneda M, Greenhill AR, Horwood PF, Inoue J, Ohkuma M, Hongoh Y, Yamamoto T, Siba PM, Hattori M, Minamisawa K, Umezaki M. (2016) Nitrogen fixation and nifH diversity in human gut microbiota. *Scientific Reports*, 6:31942 | DOI: 10.1038/srep31942.

Morita A, Natsuhara K, Vengiau G, Chen CCJ, Odani S, Inaoka T, Tadokoro K, Suda K, Furusawa T, Siba P, Phuanukoonon S, Umezaki M. (2016) Reduced morning cortisol

level in saliva associated with obesity: Evidence from community-dwelling adults in Papua New Guinea. *American Journal of Human Biology*, 28: 587-590.

Umezaki M, Naito IY, Tsutaya T, Baba J, Tadokoro K, Odani S, Morita A, Natsuhara K, Phuanukoonnon S, Vengiau G, Siba MP, Yoneda M. (2016) Association between sex inequality in animal protein intake and economic development in the Papua New Guinea Highlands: the carbon and nitrogen isotopic composition of scalp hair and fingernail. *American Journal of Physical Anthropology*, 159: 164-173.

Naito Y, Morita A, Natsuhara K, Tadokoro K, Baba J, Odani S, Tomitsuka E, Igai K, Tsutaya T, Yoneda M, Greenhill A, Horwood P, Kevin S, Phuanukoonnon S, Siba P, Umezaki M. (2015) Association of protein intakes and variation of diet-scalp hair nitrogen isotopic discrimination factor in Papua New Guinea Highlanders. *American Journal of Physical Anthropology*, 158: 359-370.

Morita A, Natsuhara K, Tomitsuka E, Odani S, Baba J, Tadokoro K, Igai K, Greenhill A, Horwood P, Soli K, Phuanukoonnon S, Siba P, Umezaki M. (2015) Development, validation, and use of a semi-quantitative food frequency questionnaire for assessing protein intake in Papua New Guinean Highlanders. *American Journal of Human Biology*, 27: 349-357.

〔学会発表〕(計8件)

増岡弘晃, 梅崎昌裕, 須田互, 冨塚江利子, 山田章雄, 平山和宏. 「低タンパク適応」における腸内細菌叢の役割. 第21回日本腸内細菌学会(神戸市産業振興センター, 神戸) 2017年6月15-16日.

Masuoka H, Umezaki M, Suda W, Tomitsuka E, Yamada A, Hirayama K. Adaptation to low-protein diet induced by transplantation of human microbiota in germfree mice. The 19th International Symposium on Gnotobiology (Tokyo). 7-10 June 2017.

冨塚江利子, 増岡 弘晃, 須田互, 猪飼 桂, 田所 聖志, 馬場 淳, 森田 彩子, 内藤 裕一, Paul Horwood, Andrew Greenhill, Peter Siba, 小谷 真吾, 夏原 和美, 服部 正平, 森田 英利, 平山 和宏, 梅崎 昌裕. 腸内細菌による宿主代謝変化の解析 - 低タンパク適応機構の解明 - . 第39回日本分子

生物学会年会(パシフィコ横浜). 2016年11月30日 - 12月2日.

梅崎昌裕. パプアニューギニア高地人の低タンパク適応と腸内細菌叢. 第38回日本臨床栄養学会総会シンポジウム(大阪国際会議場). 2016年10月9日.

Umezaki M. Nutritional Adaptation Studies in Papua New Guinea Highlands. The 11th International Conference of the Society of Human Ecology (Santa Ana, California). 12-15 April, 2016.

冨塚江利子, 増岡 弘晃, 須田互, 猪飼 桂, 田所 聖志, 馬場 淳, 森田 彩子, 内藤 裕一, Paul Horwood, Andrew Greenhill, Peter Siba, 小谷 真吾, 夏原 和美, 服部 正平, 森田 英利, 平山 和宏, 梅崎 昌裕. 腸内細菌代謝物と腸内細菌移植マウスの解析によるパプアニューギニア高地人の低タンパク適応機序の解明. 日本薬学会 第136年会(横浜) 2016年3月26-29日.

猪飼桂, 板倉学, 西嶋傑, 鶴丸博人, 須田互, 冨塚江利子, 田所聖志, 馬場淳, 小谷真吾, 夏原和美, 森田彩子, 米田穰, 井上潤一, 大熊盛也, 本郷裕一, 山本太郎, Peter Siba, 服部正平, 南澤京, 梅崎昌裕. ヒト腸内微生物叢における窒素固定活性と nifH 遺伝子の多様性. 日本微生物生態学会第30回大会. 2015年10月17-20日(土浦).

冨塚江利子, 猪飼 桂, 須田互, 田所 聖志, 馬場 淳, 森田 彩子, 内藤 裕一, 小谷 真吾, 夏原 和美, Paul Horwood, Andrew Greenhill, Peter Siba, 森田 英利, 服部 正平, 梅崎 昌裕. 腸内細菌メタボローム解析およびヒト腸管を模した細胞培養系による低タンパク適応機序の解明. 第56回新潟生化学懇話会. 2015年6月20日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

梅崎 昌裕 (Umezaki, Masahiro)  
東京大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号: 30292725

### (2) 研究分担者

平山 和宏 (Hirayama, Kazuhiro)

東京大学・農学生命科学研究科・准教授  
研究者番号： 60208858

(3)研究分担者

須田 互 (Suda, Wataru)  
理化学研究所・マイクロバイオーム研究チ  
ーム・副チームリーダー  
研究者番号： 20590847

(4)研究分担者

冨塚 江利子 (Tomitsuka, Eriko)  
新潟薬科大学・薬学部・助教  
研究者番号： 90313098