

令和元年6月17日現在

機関番号：13801

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K16175

研究課題名(和文) ライフスタイルを考慮した運動パターンの違いによる腸内フローラの比較

研究課題名(英文) The comparison of gut microbiota by different exercise patterns by each lifestyle

研究代表者

竹下 温子 (takeshita, haruko)

静岡大学・教育学部・准教授

研究者番号：10412850

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、ライフスタイルを考慮した運動パターンを4群に分け、(運動(Ex)群、運動非運動(ExS群)、3日置き運動(ExA)群、非運動運動(SEx)群)、非運動群(Se)と比較し、腸内細菌叢の変化を探った。運動は自発運動とし、24週間飼育した結果、体重増加率、白色脂肪量はEx, ExA群で有意に低値を示し、赤筋重量はExA群とSEx群で有意な増加が認められた。更に腸内細菌叢の変化が認められた群はExA群とSEx群であった。これらのことより運動の負荷量が腸内細菌叢の変化に関わっている可能性が示唆された。今後、どの運動パターンがより腸内細菌叢を介した健康に影響するか探っていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動の効果については、げっ歯類でも多くの研究がなされているが、そのほとんどは短期間の運動の効果で、急性な運動による体の応答に対する報告である。我々が既に報告した長期の習慣的運動は、24週(6か月)であり、12週目から運動量が一定を示すようになった。これは運動が、体に順応(習慣化)した結果であり、この地点での生体応答や代謝系を観察することが、長期の習慣的運動の効果を評価するのに重要である。さらに腸内細菌叢の変化には多くの要因が関与しており、運動そのものの効果を探るには、ヒトでは難しい。我々はストレスの少ない長期の習慣的自発運動モデルを確立しており、長期の習慣的運動そのものの効果を報告できる。

研究成果の概要(英文)：This study aims to separate the different exercise patterns by each lifestyle: Exercise(Ex), Stop exercise from the middle(ExS), Exercise every 3 days(ExA), Start exercising from the middle(SEx), into 4 groups, and examine the changes in microbiota. In 24weeks voluntary wheel exercise compared with Sedentary(Se) group, our results showed the ratio of gaining weight and white adipose tissue weight significantly decreased in Ex, ExA. Moreover, soleus muscle weight significantly increased in ExA, SEx of which gut microbiota changed. Thus, it was found that the exercise load can be associated with the gut microbiota changes. Further examination is necessary to explain the health science meanings of the changes of the gut microbiota.

研究分野：予防医学, 栄養学, 生活科学

キーワード：長期習慣的運動 ライフスタイル 腸内細菌叢 4門

1. 研究開始当初の背景

生涯にわたり QOL (Quality of Life) を高めた生活を送るためには、ライフステージにおける「運動」「栄養」のバランスを保ったマネジメントが重要となる。近年、腸内細菌と病態に関する報告は数多く存在し、腸内細菌叢の充実を図って健康を維持するためには、食と運動の両面からアプローチしていく必要がある。

運動の効果については、多くの研究がなされているが、そのほとんどは短期間の運動の効果で、急激な運動による体の応答に対する報告である。ラットやマウスなどの齧歯類においては、4~6週で長期の運動と報告しているものが多くみられる。しかしながら我々が報告した長期の習慣的運動は、24週(6か月)であり、図1に示すように、12週目から運動量が一定を示すようになった。これは運動が、体に順応(習慣化)した結果であり、この地点での生体応答や代謝系を観察することが、長期の習慣的運動の効果を評価するのに重要である。

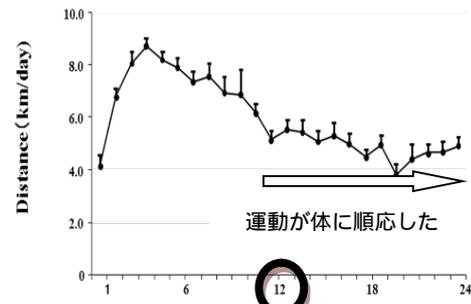


図1. 24週間の運動量

運動の重要性は多くの人々が認識しながら、実際に定着していない。その理由は、長期の習慣的運動の科学的根拠がまだまだ不十分な点と、健康への関心の多くが食に注がれていることが考えられる。しかしながら、健全な社会生活を送るためには、食だけでは健康は維持できない。腸内フローラの研究においても、食との関連は多く報告されているが、長期の習慣的運動との関係の報告は少ない。さらに、短期の運動に関する報告が多く、これは、体の急激な変化に対する応答であり定着したとは言いがたい。しかしながら、本研究では、ストレスの少ない長期の習慣的自発運動モデルを確立しているため、腸内細菌叢に影響を与える他の要因を省いた長期の運動のみの効果を報告することができ、運動が体に順応した地点での腸内細菌叢も含めた生体評価が行える。

2. 研究の目的

本研究では、運動そのものが腸内細菌叢に与える影響を明らかにするために、習慣的な運動と腸内フローラの関わり、ライフスタイルを考慮した運動パターンの違いによる腸内フローラの比較を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 糞採取時間帯の検討

糞を採取する時間帯で腸内細菌叢に違いが生じるか否かを検討するため、糞の採取時間を9時、14時、19時の5時間ごとに区切り、新鮮便を採取した。採取した糞はDNAを抽出し、Real-time PCRを用いて4門の検出量に違いがないか検討した。

(2) ライフスタイルを考慮した運動パターンの設定

ヒトのライフスタイルを考慮した運動パターンを設定するため、厚生労働省の国民栄養調査の結果を参考にして、非運動(Se)群、運動(Ex)群、途中から運動を3日に一回行う(ExA)群、途中から運動を止める(ExS)群、途中から運動をはじめる(SEx)群の5群とした。

(3) ライフスタイルを考慮した自発運動の生化学評価と腸内細菌叢の変化

A/Jマウスの雌5週齢を1週間順化後、ケージ装着型自発運動器具(夏目製作所)にて飼育するEx群(n=10)、ExA群(n=5)、通常ケージにて飼育するSe群(n=10)、途中から飼育ケージの形態が変わる群としてExS群(n=10)、SEx群(n=5)の5群を24週間飼育した。食餌は通常食(CE2; クレア社)とし、自由摂食・摂水とした。1週間毎に体重、摂食・摂水量、運動量を測定した。腸内細菌叢の測定に用いた新鮮便は0, 4, 12, 18, 24週の朝8時~10時の間に採取後、DNAを抽出し、Real-time PCRによる4門の解析を行った。

24週間の飼育後、6時間絶食し、イソフルラン麻酔下で心臓より採血し、頸椎脱臼にて安楽死させた。血液は遠心分離後、上清を-80°Cで保存した。臓器は重量測定後、液体窒素にて凍結し、-80°Cで保存した。脂肪細胞および肝臓中のRNAをTRIzolを用いて抽出しcDNAを合成後、脂質代謝に関連する遺伝子および腸内細菌叢が産生する短鎖脂肪酸の受容体として知られているGPR43の発現量を検討した。

4. 研究成果

(1) 糞採取時間帯の検討

糞を採取する時間帯によって腸内細菌叢に違いが生じるか否かを4門で検討した結果、図2に示した様に16SrRNA遺伝子の相対比率を比較するとActinobacteria門において、夕方採取便が有意に減少した。よって、糞採取時間を統一して比較していく必要がある。

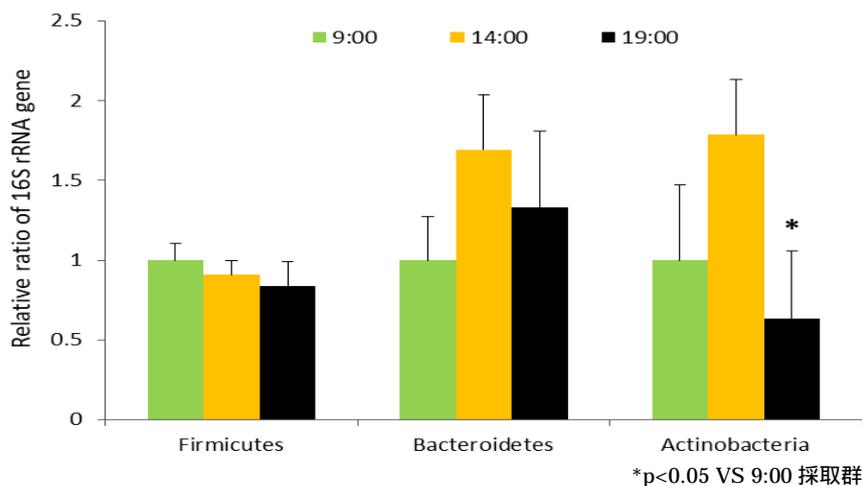


図2. 糞採取時間の検討 (左: 相対存在比, 右: 16SrRNA 遺伝子の比率)

(2) 生化学評価

運動量

24週間にわたるEx, ExA, SEx群の運動量を図3に示す。Ex群において運動のピーク量は2012年に我々が報告した距離より少なかったが¹⁾、3~4週で運動量のピークを迎え、12週までに緩やかに減少し、その後一定を保つという運動の経時変化は同様の傾向を示した(図3; 左Ex群)。ExA群では、運動が一定となる12週以降に3日1回の運動としたため、Ex群に比べ運動量は低下した(図3; 中央ExA)。このため期間中トータル運動量が最も多かったのはEx群となったが(図4)運動を行った日数で運動量を割った後、後半の12週間の合計を算出したところ、運動を行った日の1日当たりの運動量はどの群もほぼ変わりがないことが明らかとなった(図5)。

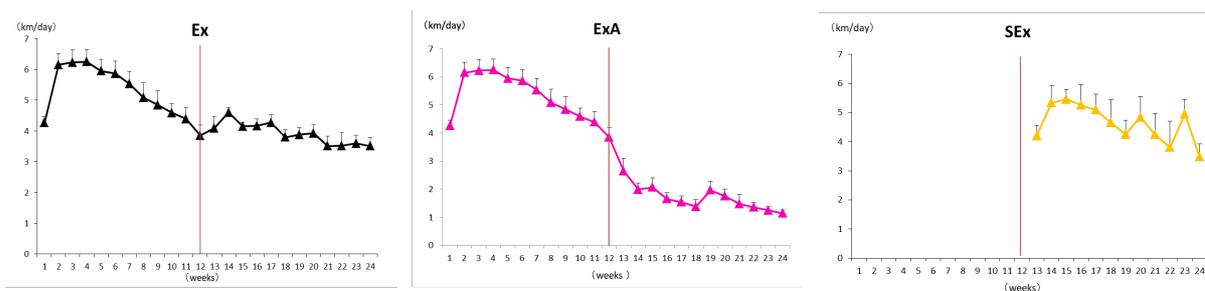


図3. 期間中運動量の比較

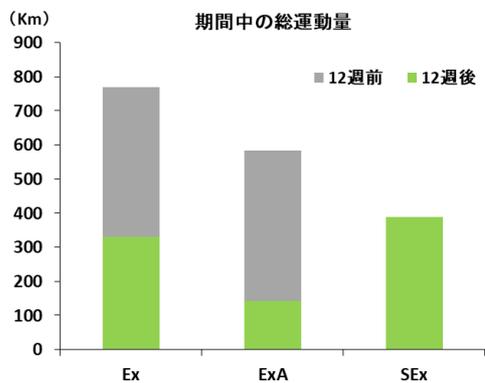


図4. 期間中の総運動量 (24週間)

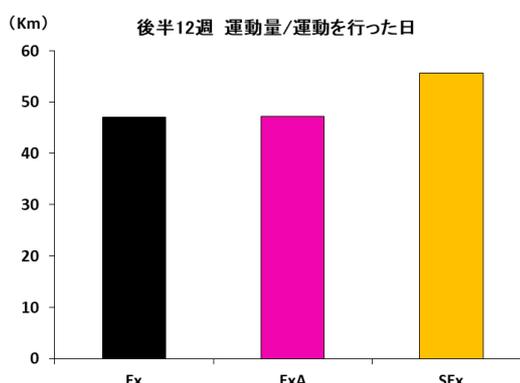


図5. 運動を行った日の総運動量 (後半)

体重増加率、摂食量

体重増加率は Ex 群が 2 週目から、Se 群に比べ有意に低下し、摂食量は Ex 群が有意に高い値を示していたことから、運動における消費エネルギーの増加が伺えた。24 週目の体重増加率を Se 群と比較すると全運動群で有意に低値を示し、 $ExA < Ex < SEx < ExS$ の順で増加率は上昇した。ExS 群は運動を止めた翌週から体重が急激に増加し始めたが、マウスは消費エネルギー量に合わせて摂食量が増減することや、常に同じ組成の食餌をしていることから、運動を止めて 12 週間たった 24 週目においても Se 群に比べて運動の効果が持続したと考えられた。

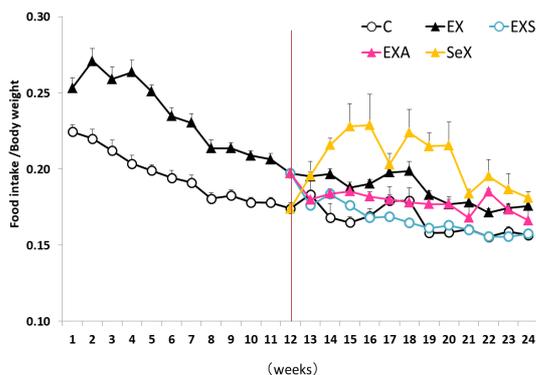


図 6. 体重当たりの摂食量

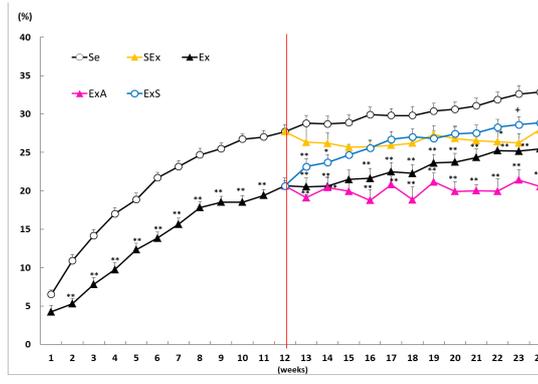


図 7. 期間中の体重増加率
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ VS Se 群

臓器重量の比較

次に体重当たりの心臓および腎臓重量は、すべての運動群で有意に増加し、運動における血流量の増加が伺えた。白色脂肪細胞量は Se 群に対して Ex 群および ExA 群が有意に低値を示し、赤筋重量は Se 群に対し $SEx < ExA$ の順で有意に増加していた。これらのことから、Ex 群のように長期間持続的に運動を行うよりも、3 日に 1 回のメリハリを持った運動負荷が、より筋肉増加に効果的であることが示唆された。SEx 群で赤筋量が増加した理由は、運動開始時には体重が増加しており、この体重が筋肉への負荷に影響を与えたと考えられた。また、SEx 群は副腎重量の肥大が生じていた。運動による副腎の肥大については、運動のストレス反応と考えられている。途中から運動を開始した SEx 群のみ副腎の肥大が見られことについて、運動が体に順応しきれず、体の急激な応答によるストレス反応が生じたと考えられた。このことから長期習慣的運動を評価するためには本研究の運動モデルのように 12 週以上の運動を行うことが重要であると考えられた。更に興味深い結果として大腸の重量が、Ex, ExA 群で有意に増加しており、大腸の長さに差が見られなかったことから、長期の習慣的な運動によって粘膜上皮細胞の厚みが増した可能性があり、これらが免疫にどのような影響をもたらすのか、今後検討していく必要がある。

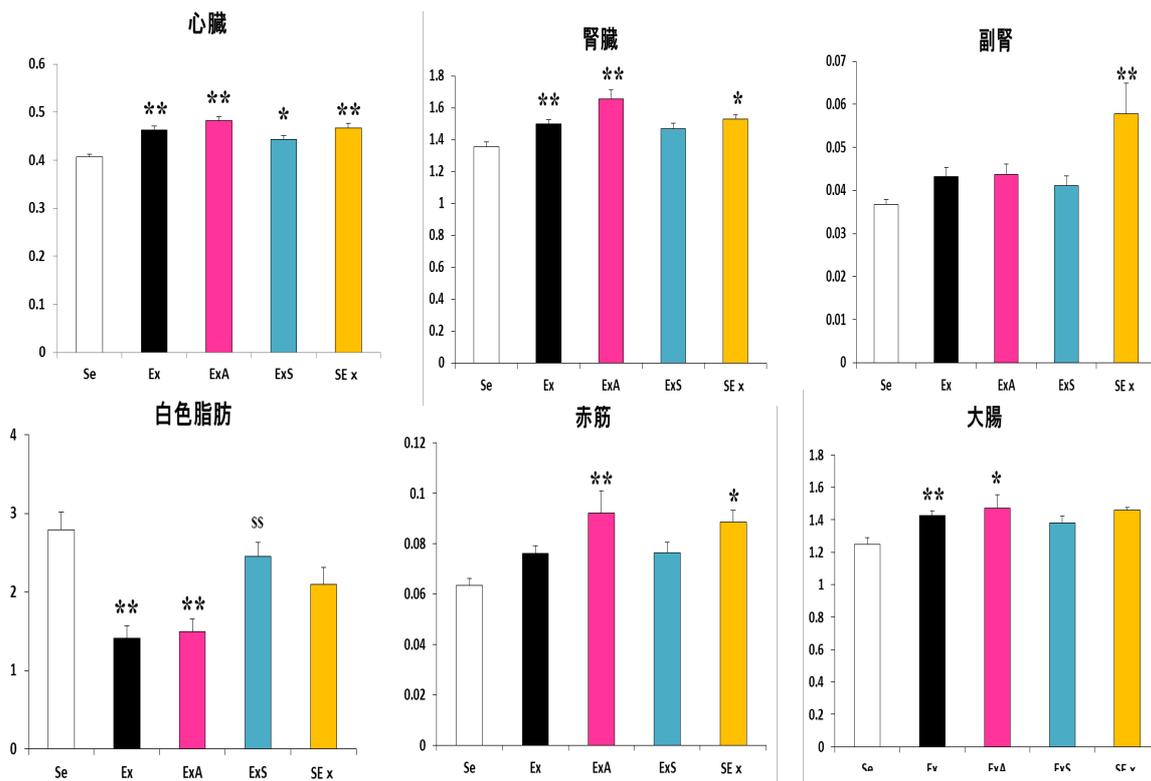


図 8. 体重当たり臓器重量

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ VS Se 群

自発運動における生体への影響および腸内細菌叢「門」レベルの変化

次に腸内細菌叢について、4門の相対存在比を求めた結果、Se群と比較して有意な差を示したのが、ExA群で、18,24週にFirmicutes門、Bacteroidetes門の優勢菌が逆転した。これと同様、SEx群でも24週目に優勢菌が逆転していた。ExA,SEx群に共通する結果として、赤筋重量の有意な増加が挙げられ、優勢菌が逆転する背景には、赤筋重量を肥大させる様な運動の負荷が、関わっている可能性が示唆された。またSe群に対して24週目ですべての群において有意にActinobacteria門が減少していた。

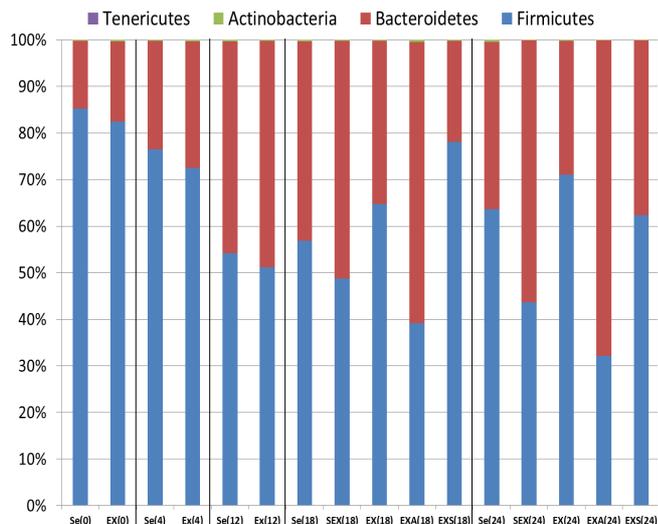


図9. 相対存在比の経時変化
(運動のターニングポイントで糞採取)

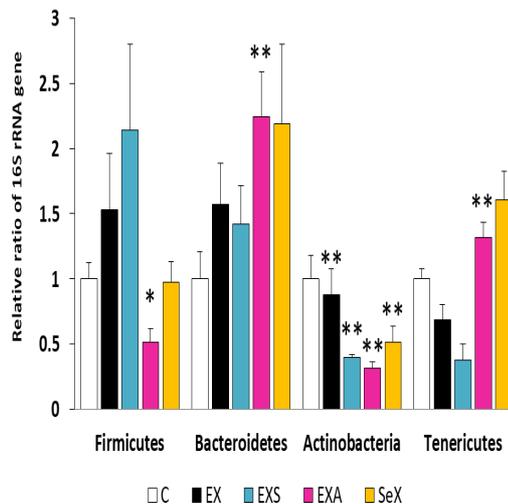


図10. 24週目の4門の相対比率

脂肪細胞中の遺伝子発現の検討

Se,Ex,ExS群について腸内細菌叢が産生する短鎖脂肪酸の受容体であるGPR43の脂肪細胞中の発現量を検討した結果、Ex群において、発現量が減少した。ExS群については発現量が少なく、データを得ることができなかった。腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸はGPR43受容体を介して脂肪細胞中に取り込まれ、脂肪蓄積抑制効果を導くとされているが²⁾、長期習慣的な運動での脂肪蓄積抑制効果は、腸内細菌叢が産生する短鎖脂肪酸による相互作用でない可能性が高まった。

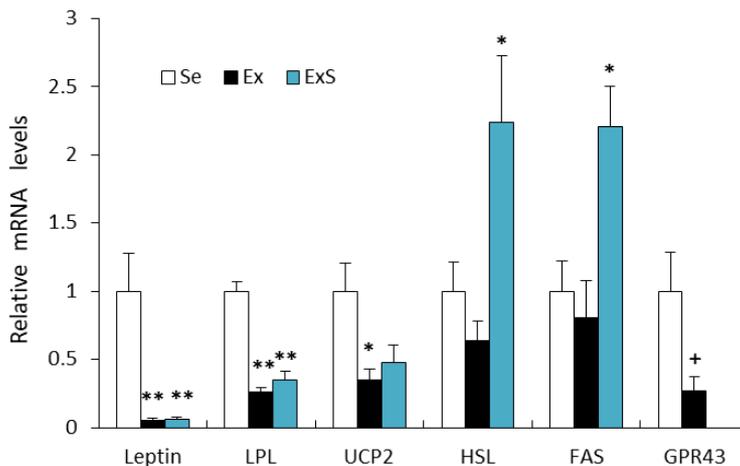


図11. 脂肪細胞における遺伝子発現量

考察

本研究課題により、運動パターンの違いによって、4門の菌叢に違いが生じることが明らかとなったが、この細菌叢の変化がどのような効果をもたらしているかは明らかにできなかった。よって、今後は次世代シーケンサーを用いた科、属、種レベルのより詳細な菌種の検討や、免疫への影響を検討し、どの運動パターンが健康により効果的か探っていく。

<引用文献>

- 1) Haruko Takeshita *et al.* Environ Health Prev Med (2012) 17:275-284
- 2) Ikuo Kimura *et al.* Nature communications (2013) DOI: 10.1038

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 2件)

1. 栗田桃子, 新井千智, 堀内正久, 竹下温子 ライフスタイルを考慮した運動パターンが腸内細菌叢に及ぼす影響～長期習慣的運動と運動停止群の比較～ 第 20 回ライフサイエンスシンポジウム, 2019 年 3 月 2 日, 静岡県立大学
2. 竹下温子, 新井千智, 伊達美里, 堀内正久, ライフスタイルを考慮した運動パターンが腸内細菌層に及ぼす影響, 第 89 回日本衛生学会学術総会, 2019 年 2 月 3 日 名古屋大学

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年:
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名:堀内 正久

ローマ字氏名:Horiuchi Masahisa

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。