

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 4 月 3 日現在

機関番号：22702

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17614

研究課題名(和文)ゲノム変異と腸内細菌叢を組み合わせた肥満リスク層別化研究

研究課題名(英文) Novel approach on obesity risk stratification by combining human gut microbiome and genetic predisposition

研究代表者

中村 翔 (Nakamura, Sho)

神奈川県立保健福祉大学・ヘルスイノベーション研究科・准教授

研究者番号：00740656

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：合計で最終的に171名の腸内細菌叢解析を実施した。コホート生体試料支援プラットフォームからの支援を受け、72名について肥満の遺伝的リスクスコアと組み合わせた解析を行うことができた。本研究成果を踏まえて、神奈川県みらい未病コホート研究において腸内細菌叢解析を継続して実施できるように調整を進めている。これが実現することによって、本研究の成果も応用しつつ、腸内細菌叢解析と遺伝的リスクスコアの組み合わせによる、肥満リスクの層別化をより精緻化させ臨床応用につながる結果を創出できると考える。今回報告した結果の一部を含め、現在全体の結果をまとめており、近日中に査読付き英文誌にて公表を予定している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、BMIを目的変数として肥満関連GWASによる肥満関連SNPsあるいは、腸内細菌叢解析の結果を用いて肥満のリスク評価を試みた報告はあるもののこれらを組み合わせて評価を試みる報告はなされてこなかった。本研究はサンプル数の問題を含めてプレリミナリーな結果ではあるものの、新しいアプローチによって肥満のリスク評価を試みた。

今後最終解析の結果も踏まえてにはなるが、遺伝的リスクスコアおよび腸内細菌叢解析の両結果を用いることでこれまでよりも詳細に肥満リスクを層別化をすることができ、介入対象の細分化をすることができるので、これまでよりも効率的に肥満の予防介入を行うことができる可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：Analysis of human gut microbiome was performed for a total of 171 participants of ME-BYO cohort study (Kanagawa site of the J-MICC study). Owing to the support from Platforms for Advanced Technologies and Research Resources Platform, we were able to perform an analysis of 72 patients combined with the genetic risk score for obesity. Based on the results of this research, we are making adjustments so that microbiome analysis be carried out continuously in the ME-BYO cohort. By this, we will be able to update the results from this study and finally leading to the realization and clinical utilization of the risk stratification strategy using microbiome and genetic risk in combination. We are currently summarizing the additional results and planning to publish the final results in a peer-reviewed English journal in a mean time.

研究分野：疫学

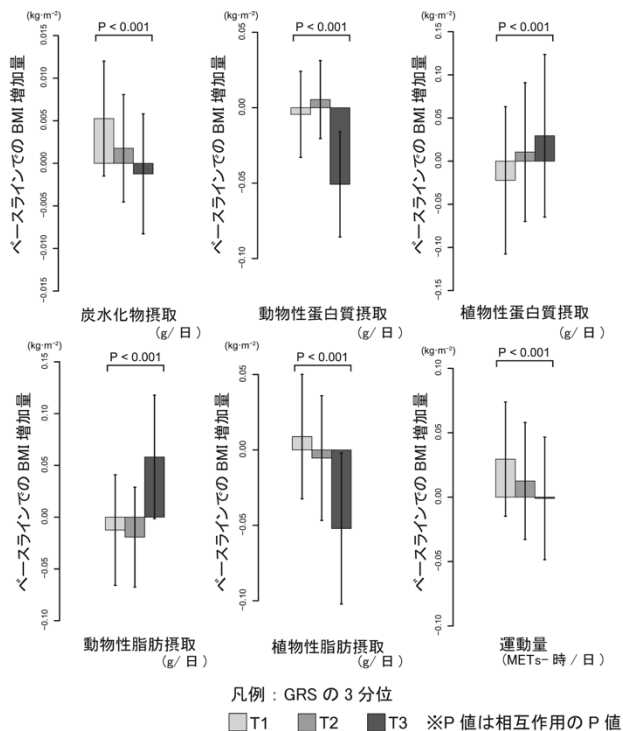
キーワード：腸内細菌叢解析 肥満リスク 遺伝的リスクスコア

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肥満人口は全世界で6.4億人を超えた。世界的に肥満人口は、ここ数十年間で急速に増加しており、肥満は、もはや先進国だけではなく、発展途上国においても顕在化してきている。肥満は、2型糖尿病だけではなく、日本人の3大死因である、がん、心疾患、脳血管疾患を増加させ、さらに、これに伴って、医療費増加の要因にもなっている。したがって、人々の健康増進という面は当然ながら、財政的な面からも、肥満に対する予防法や効果的な介入方法の確立が必要とされている。これまでの、画一的な医療ではない、個別化医療の確立である。これまで、生活習慣などの環境要因や遺伝的要因などに関して多くの研究がなされてきたが、これら単独を対象とした方法では大きな効果が期待できないことが分かってきた。この理由は、多くの生活習慣病がそうであるように、肥満も、環境要因と遺伝的要因などの体質が相互に作用しあうことで引き起こされると考えられ、これらの要因単独では、BMI増加に及ぼす効果が小さいためである。したがって、個別化医療の確立には、両者の組み合わせによって生じる、相互作用が重要で、これを明らかにする必要がある。

環境要因のうち生活習慣に関しては、これまで種々の研究が行われ、肥満の原因となる生活習慣が明らかになっている；脂質や糖質を多く含む食品の摂取（スナック菓子や加糖飲料、赤肉や加工肉）、過剰摂取、食事の回数が多いことや食事を摂る時間帯、運動習慣などである。体質に関しては、遺伝的要因だけでなく、近年、腸内細菌叢の影響が注目されている。前者の遺伝的要因に関しては、申請者はすでに、肥満に関連する遺伝的リスクを計算し（Genetic Risk Score; GRS）、肥満におけるGRSと環境因子との相互作用について報告している；<sup>1</sup>右図はGRSに応じて栄養摂取量や運動量がBMIにおよぼす影響の程度が異なることを示している。つまり、遺伝的要因は生活習慣がおよぼす肥満への影響を修飾していることが分かる；これが遺伝×環境相互作用である。一方、腸内細菌叢に関しては、腸内細菌叢そのものによって肥満が引き起こされるといふ、因果関係が明らかにされつつある。しかし、腸内細菌叢の個体差は、宿主であるヒトのゲノムが中心的な影響をおよぼしているが、環境要因によって容易に変容する。したがって、腸内細菌叢がおよぼす肥満への影響も環境要因との相互作用が重要であることが示唆される。申請者が報告した遺伝×環境相互作用解析の手法が、これに応用でき、さらにGRSを組み合わせることで、より個別化医療への応用に近い、肥満リスクの層別化が可能であると考え本研究に思い至った。



### 2. 研究の目的

本研究では、まず日本人の集団において肥満と関連する腸内細菌叢を明らかにするための解析を行う。肥満関連の遺伝的リスクは、すでに、これまでの研究成果から、ある程度明らかとなっている。本研究で用いるGRSは、大規模な網羅的ゲノム解析(genome-wide association study; GWAS)によって発見された一塩基多型(single nucleotide polymorphisms; SNPs)を複数組み合わせることで計算されるが、各SNPsがBMIに及ぼす影響の大きさには、人種によって差があることが知られている。腸内細菌叢も前述のとおり、環境要因(地理・地域的要因も含む)の影響を容易に受けるため、本研究の対象である集団においても、肥満と関連する腸内細菌叢を明らかにすることは不可欠である。本研究では16S rDNA法を用いて同定した特定の腸内細菌叢のうち、肥満のリスクと関連する腸内細菌叢を明らかにし、これをGRSと組み合わせ、肥満リスクの層別化を行い、生活習慣の面から日常臨床へ応用する方法を明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 地域住民コホートをを用いた、肥満に関連する腸内細菌叢の探索

神奈川県みらい未病コホート研究：申請者は、神奈川県西部において、日本多施設共同コホート研究(Japan Multi-Institutional Collaborative Cohort Study; J-MICC Study)との共同研究である、「神奈川県みらい未病コホート研究」の立ち上げに計画段階から携わっている(研究代表者：神奈川県立がんセンター臨床研究所がん予防・情報学部部長 成松宏人)。この研究は、文部科学省の科学研究費助成事業の新学術領域研究『学術研究支援基盤形成』により形成された研究基盤リソース支援プログラムの、コホート・生体試料支援プラットフォームの助成を受けて実施されており、ベースライン調査の予定期間は平成28年度から平成33年度である。神奈川県みらい未病コホート研究(コホート・生体試料支援プラットフォーム)から支援を受け、同

コホートで収集された生活習慣などの環境要因と、血液 (DNA)・尿の生体試料の情報に、本研究で腸内細菌叢解析のための糞便試料を収集し、これらを組み合わせた解析を行う。申請時点で、約 100 名を対象に 16S rDNA (ないし rRNA) 法により腸内細菌叢の解析を行うことを計画した。肥満との関連が報告されている腸内細菌のうち、フォルミテクス門とバクテロイデス門との比と肥満の関連を、日本人コホート集団において検証することとした。さらに、群間比較解析 (LEfSe) により BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> であるか否かと関連する細菌叢を探索的に解析した。

## (2) 遺伝的リスクスコア (GRS) と腸内細菌叢による肥満リスク評価法の比較・GRS と腸内細菌叢によるリスク評価

GRS の算出は、申請者らが以前行った研究の方法を応用し、<sup>1</sup>申請時は同研究と同様に 29~37 個の SNPs 変異をタイピングすることにより計算する予定であったが、その後日本人における GWAS で 85 個の SNPs が報告され行う；<sup>2</sup>網羅的ゲノム解析を行わないことで低コスト化を図る。SNPs の同定は、ジャポニカアレイを用いて行った。

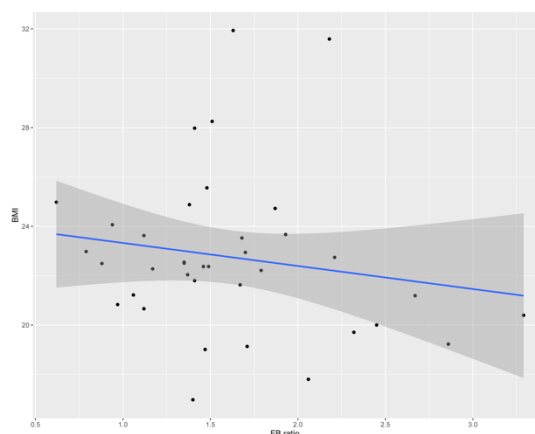
GRS と腸内細菌叢による肥満リスクの層別化とは、GRS と腸内細菌叢によって判別したグループごとに、種々の生活習慣が BMI に及ぼす影響 (肥満リスク) が異なってくることを明らかにする。

## 4. 研究成果

### (1) 腸内細菌叢解析

2019 年度末時点での、神奈川県みらい未病コホート研究の協力者数は、1601 名であった。このうち、腸内細菌叢解析を 171 名に実施することができた。目標である、100 名を超える解析を完了することができた。解析は、V1-2 領域の 16S rRNA シーケンシングによって行った。

右の図はフォルミテクス門とバクテロイデス門との比 (FB ratio) と BMI との関連を示したものである。神奈川県みらい未病コホート研究の集団において、負の相関を認めた。ただし、図に示したのは、2018 年度中に解析を完了している 82 名の結果を示している。



### (2) GRS の評価

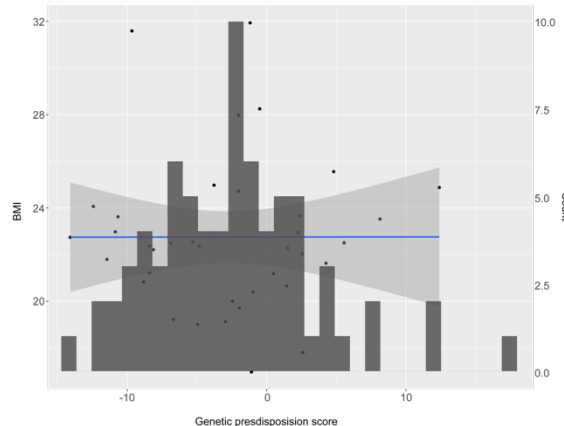
GRS は次のように計算した (一部図中 GRS を GPS [genetic predisposition score] と表記する)。

$$GRS_j = \sum_i \beta_i \times SNP_{i,j}$$

ここで  $\beta_i$  は SNP<sub>i</sub> における先行 GWAS での回帰係数 (beta coefficients)、SNP<sub>i,j</sub> は SNP<sub>i</sub> についての個人 j のジェノタイプ (0, 1, 2 ないし、0-1 の dosage 情報 [本研究では後者]) を指す。

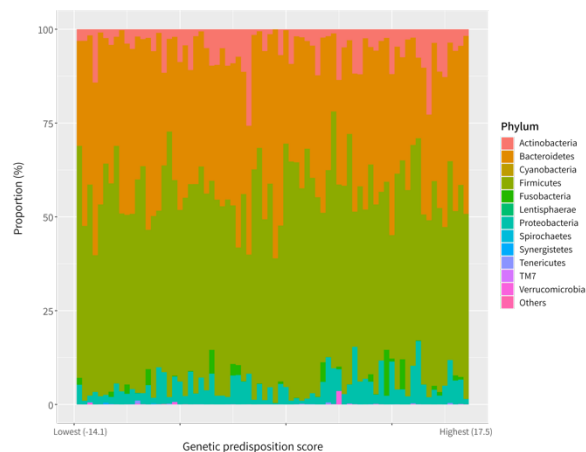
最終的に、ジャポニカアレイを用いて、192 名のジェノタイピングが神奈川県みらい未病コホート研究において実施された。このうち、半数の 96 名についてインピュテーションまで完了していた。

右の図は、GPS と BMI との関連を示したものである。96 名と対象者が少なかったため、標本集団に置いては、標本誤差が大きく明らかな一定の傾向を示唆するような結果を得るには至らなかった。

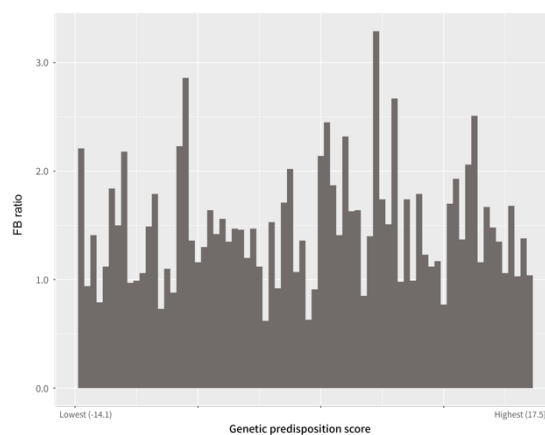
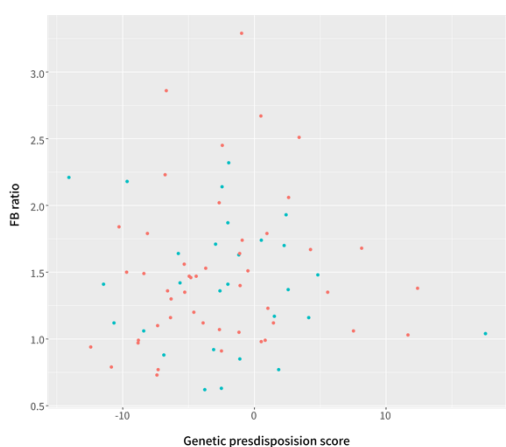


(3) 腸内細菌叢解析と遺伝的リスクスコアを組み合わせた解析

腸内細菌叢解析と遺伝的リスクスコアを組み合わせた解析の結果を74名の対象者について得ることができた。右に示す図は、GPSが最も低い対象者を横軸一番左、GPSが最も高い対象者を横軸一番右にとり、つまり、左から肥満の遺伝的リスクが低いものを順番に並べ、それぞれの対象者について腸内細菌叢の割合を示したものである。4(1)で示した関連は、橙と黄緑で示される部分であるが、傾向としては、ActinobacteriaやSynergistetesの構成割合の変化が、結果としてFB比に影響を与えていることが示唆される結果となった。

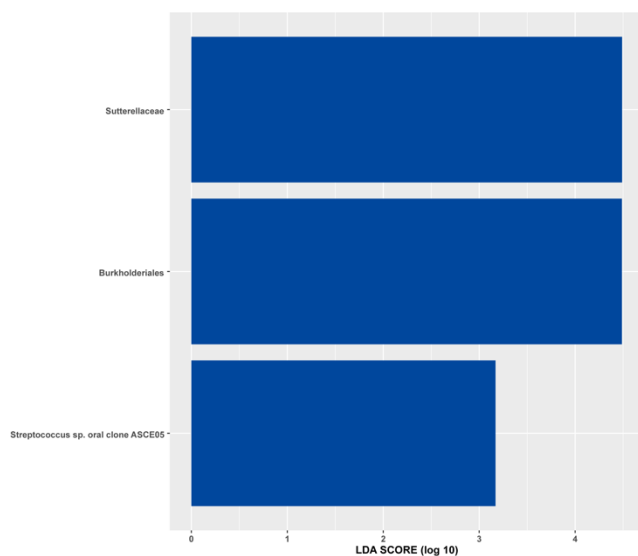


一方で、4(1)および、全段落でみたFB比を別の視点から見てみたものが、下の右図である。この結果を見ると、個人間のvariationが大きいことが見て取れる。これには、個人内のvariationも大きいことが影響していると考えられた。また、下の左図はGPSとFB ratioの関連を性別に見たものである。明らかな性差は今回の解析では指摘されなかった。



#### (4) LEfSe 解析の結果

LEfSe 解析の結果を下図に示す。Sutterellaceae 科、Burkholderiales 目、Streptococcus sp. oral clone ASCE05 種の3つの菌種がBMI $\geq$ 25kg/m<sup>2</sup>との関連が示唆される結果であった。



#### <引用文献>

1. Nakamura S, Narimatsu H, Sato H, et al. Gene-environment interactions in obesity: implication for future applications in preventive medicine. J Hum Genet. 2016;61(4):317 - 322.
2. Akiyama M, Okada Y, Kanai M, et al. Genome-wide association study identifies 112 new loci for body mass index in the Japanese population. Nat Genet. 2017;49(10):1458 - 1467.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------