

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K17387

研究課題名（和文）腸内環境からNAFLD、NASH進展への解明：メタゲノム解析とメタボローム解析

研究課題名（英文）Unraveling the Link between Gut Environment and Progression to NAFLD and NASH

研究代表者

飯野 勢（Iino, Chikara）

弘前大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90814343

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：1000人超の大規模健診でのFibroscan測定にてNAFLDを同定した。腸内細菌叢の検討で、NAFLDで多様性が大きく変化していること、酪酸酸性菌のFaecalibacteriumの有意な減少が認められた。これは腸管由来のエンドトキシンの上昇を反映しており、Gut-Liver-axisの破綻からの腸管透過性亢進を示していると考えられた。

肥満型のNAFLDとは代謝機序が異なるやせ型のLean NAFLDの男性においてエクオール産生者が極めて少なく、腸内細菌叢で特にSlackiaが有意に減少していることが確認された。Lean NAFLDはエクオール産生能が発症に関わっていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NAFLDでは腸内細菌叢の変化や破綻が起きており、特に善玉菌の酪酸酸性菌であるFaecalibacteriumの補充により、Gut-Liver axisの破綻を改善し、日本での罹患率が問題となっているNAFLDの進行の改善につながると考える。

また、女性ホルモン作用を示すエクオールは、エストロゲン作用によりメタボリックシンドロームに対して防衛的に働く可能性が報告されている。エクオール産生に関わる腸内細菌叢のSlackiaの減少を認めるLean NAFLDはエクオール産生能が低く、NAFLDの発症に関わると考えられる。エクオールを摂取することで、脂肪肝の発症や改善が認められると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In a large-scale health examination involving over 1000 individuals, NAFLD was identified through Fibroscan measurements. Examination of the gut microbiota revealed significant alterations in diversity among NAFLD patients, with a notable decrease in the abundance of the butyric acid-producing bacterium Faecalibacterium. This reduction was indicative of increased intestinal permeability stemming from the breakdown of the Gut-Liver-axis and the consequent elevation of endotoxins of gut origin.

In male individuals with Lean NAFLD, characterized by a different metabolic mechanism from the obese type, there was an extremely low prevalence of equol producers, particularly with a significant decrease in Slackia within the gut microbiota. It was suggested that equol production capacity might be implicated in the onset of Lean NAFLD.

研究分野：腸内細菌叢

キーワード：NAFLD 腸内細菌叢 エクオール NASH 脂肪肝 Faecalibacterium Slackia

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) 患者は増加しており、その 2 割が、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) となり、肝硬変、肝癌へと進展する。最近、NAFLD/NASH の病態に、腸内細菌叢と腸内代謝産物の異常が関与することが報告されている。しかし、NAFLD/NASH 発症には、炎症性サイトカイン、肥満、インスリン抵抗性、酸化ストレス、アディポサイトカイン、食事因子、遺伝的素因などの多様な原因があり、従来の腸内環境の評価法では限界があり、一定の見解が得られていない状況であった。

2. 研究の目的

本研究は、追跡調査ができる 1000 名以上の大規模住民健診から、多項目に及ぶ NAFLD/NASH 進展因子の調査を行う。腸内細菌叢に影響を与える因子について調整を行った上で腸内細菌叢の比較検討を行う。

エクオールは腸内代謝産物で、エストロゲンレセプターに強い親和性を示す。NASH 進展とエストロゲンへの関連があり、特に閉経後の女性に NASH の進行速度が速いことが報告されている。尿中エクオール濃度、尿中ダイゼイン濃度の比率より産生者を調査する。個々のエクオール産生能を明らかとし、NAFLD/NASH への病態形成の関係について明らかにする。

3. 研究の方法

NAFLD、NASH の評価は腹部超音波検査とファイブロスキャンの併用にて評価を行う。脂肪肝は、腹部超音波検査では、肝エコーレベルの上昇、肝腎コントラスト、深部エコーの減衰で評価を行う。ファイブロスキャンでは、肝臓組織内での超音波減衰量を測定である Controlled attenuation parameter を測定し、238 dB/m 以上を脂肪肝と定める。両検査の併用により、ほぼ、確実な脂肪肝の拾い上げを行える。肝線維化は、ファイブロスキャンにて、せん断波の伝搬速度より肝硬度を測定し、肝硬度が 8.0kPa 以上であるものを線維化陽性とする。

肝炎ウイルス感染、多量飲酒者、脂肪肝に影響を与える内服を行っていた者の除外を行う。

(腸内細菌叢測定): 便検体測定はテクノスルガ・ラボと東大医科研に委託し、16SrRNA 遺伝子解析とショットガンメタゲノム解析を施行する。全腸内細菌における門、綱、目、科、属、種における腸内細菌の質的量的異常を評価する。

4. 研究成果

(1) NAFLD と腸内細菌叢: 1148 例を対象にし、腸内細菌に影響を与える性別や年齢などの因子の調整を行い、NAFLD と正常群の比較を行った。NAFLD での多様性の変化 (図 1) と *Faecalibacterium* の有意な減少を認めた (図 2)。善玉菌である *Faecalibacterium* は腸内に定住する代表的な酪酸産生菌であり Lipopolysaccharides と負の相関が報告されている。この NAFLD での *Faecalibacterium* の減少は、腸管由来のエンドトキシンの上昇を反映しており、NAFLD の病態である Gut-Liver-axis の破綻による腸管透過性亢進を示している¹⁾。

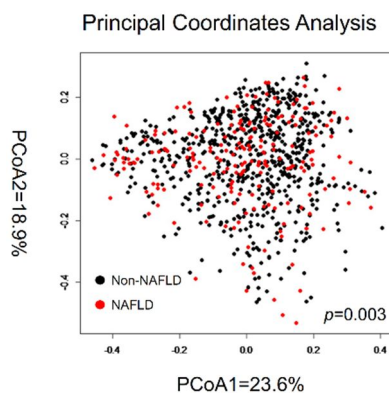


図 1



図 2

(2) エクオール産生菌と NAFLD の関連: エストロゲン作用と脂肪肝の関連について検討を行ったところ、肥満型の NAFLD とは代謝機序が異なるやせ型の Lean NAFLD の男性においてエクオー

ルの産生者が極めて少ないことが判明した。腸内細菌叢について LEfSe の解析でも、この Lean NAFLD と正常のやせ型の対象者との比較、そして Lean NAFLD の女性と比較しても、特に *Slackia* が有意に減少していることが確認された(図 3)。Lean NAFLD はエクオール産生能が発症に関わっていると考えられ、エクオールを摂取することで、脂肪肝の発症や改善が認められる可能性がある²⁾。

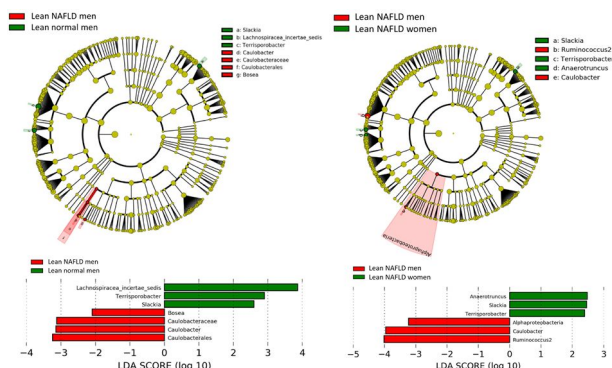


図 3

(3) 新たな脂肪肝の概念である MAFLD : 2020 年に metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD) という代謝障害を組み入れ基準とした脂肪肝の診断基準が提唱された。我々は MASLD と NAFLD の比較を行い、その診断の有用性の評価を行った。MASLD に正常者との比較において特に *Blautia* の有意な減少が認められた(図 4)。 *Blautia* は酢酸と酪酸を生成し、G-タンパク質共役受容体を調整することで肥満を減少に関連していることが報告されている。他の報告でも *Blautia* が内臓脂肪面積と逆相関していることが示されており、特に BMI が高い傾向がある MAFLD と *Blautia* に関連があると考えられた。また MAFLD と NAFLD では、86%の罹患者が一致していた。一部 *Lactobacillus* においてのみ NAFLD の方が有意に多い傾向があったが、その他の腸内細菌叢には大きな違いを認めなかった³⁾。

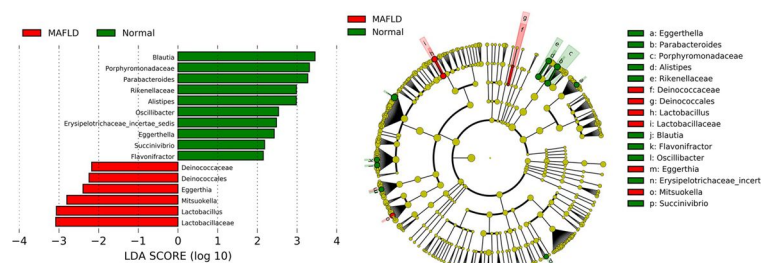


図 4

引用文献

- 1). Iino C, Endo T, Mikami K, Hasegawa T, Kimura M, Sawada N, Nakaji S, Fukuda S. Significant decrease in Faecalibacterium among gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease: a large BMI- and sex-matched population study. Hepatol Int. 2019, 13, 748-756.
- 2). Iino C, Endo T, Iino K, Tateda T, Sato S, Igarashi G, Mikami K, Sakuraba H, Yokoyama Y, Nakaji S, Fukuda S. Reduced equol production and gut microbiota features in men with lean nonalcoholic fatty liver disease. Am J Mens Health. 2022.16:15579883221115598.
- 3). Tateda T, Iino C, Sasada T, Sato S, Igarashi G, Kawaguchi S, Mikami K, Endo T, Sawada K, Mikami T, Fukuda S, Nakaji S, Sakuraba H. Evaluation of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease using FibroScan, diet, and microbiota: a large cross-sectional study. PLoS One. 2022.23;17:e0277930.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Chikara Iino	4. 巻 4
2. 論文標題 Reduced Equol Production and Gut Microbiota Features in Men With Lean Nonalcoholic Fatty Liver Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Am J Mens Health	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/15579883221115598.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tetsuyuki Tateda, Chikara Iino	4. 巻 17
2. 論文標題 Evaluation of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease using FibroScan, diet, and microbiota: A large cross-sectional study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0277930.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kawaguchi S, Sakuraba H, Horiuchi M, Ding J, Matsumiya T, Seya K, Iino C, Endo T, Kikuchi H, Yoshida S, Hiraga H, Fukuda S, Imaizumi T.	4. 巻 45
2. 論文標題 Hepatic Macrophages Express Melanoma Differentiation-Associated Gene 5 in Nonalcoholic Steatohepatitis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Inflammation	6. 最初と最後の頁 345-355
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10753-021-01550-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takuma Hasegawa, Chikara Iino, Tetsu Endo, Kenichiro Mikami, Masayo Kimura, Naoya Sawada, Shigeyuki Nakaji, Shinsaku Fukuda	4. 巻 12
2. 論文標題 Changed Amino Acids in NAFLD and Liver Fibrosis: A Large Cross-Sectional Study without Influence of Insulin Resistance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu12051450	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Masayo Kimura, Kenichiro Mikami, Tetsu Endo, Masashi Matsuzaka, Naoya Sawada, Go Igarashi, Chikara Iino, Takuma Hasegawa, Kaori Sawada, Masataka Ando, Itoyo Tokuda, Hiroyuki Suganuma, Mai Matsumoto, Shigeyuki Nakaji, Shinsaku Fukuda	4. 巻 3
2. 論文標題 Association between serum β -carotene-to-retinol ratio and severity of hepatic steatosis in non-alcoholic fatty liver disease in Japan: A cross-sectional study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrition	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nut.2020.110984	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kenichiro Mikami, Tetsu Endo, Naoya Sawada, Go Igarashi, Masayo Kimura, Takuma Hasegawa, Chikara Iino, Hirofumi Tomita, Kaori Sawada, Shigeyuki Nakaji, Masashi Matsuzaka, Natalie J Torok, Shinsaku Fukuda	4. 巻 126
2. 論文標題 Leptin/adiponectin ratio correlates with hepatic steatosis but not arterial stiffness in nonalcoholic fatty liver disease in Japanese population	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cytokine	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cyto.2019.154927	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Chikara Iino, Tetsu Endo, Kenichiro Mikami, Takuma Hasegawa, Masayo Kimura, Naoya Sawada, Shigeyuki Nakaji, Shinsaku Fukuda	4. 巻 6
2. 論文標題 Significant decrease in Faecalibacterium among gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease: a large BMI- and sex-matched population study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hepatology International	6. 最初と最後の頁 748-756
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12072-019-09987-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sato Satoshi, Iino Chikara, Chinda Daisuke, Sasada Takafumi, Tateda Tetsuyuki, Kaizuka Masatoshi, Nomiya Hiroki, Igarashi Go, Sawada Kaori, Mikami Tatsuya, Nakaji Shigeyuki, Sakuraba Hirotake, Fukuda Shinsaku	4. 巻 24
2. 論文標題 Effect of Liver Fibrosis on Oral and Gut Microbiota in the Japanese General Population Determined by Evaluating the FibroScan [®] Aspartate Aminotransferase Score	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 13470 ~ 13470
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms241713470	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 飯野 勢
2. 発表標題 Lean NAFLDでのダイゼイン摂取におけるエクオール産生能と腸内細菌の特徴
3. 学会等名 日本消化器病学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 飯野 勢, 遠藤 哲, 福田 眞作
2. 発表標題 大規模調査によるNAFLDにおける腸内細菌叢の変化
3. 学会等名 第105回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Chikara Iino, Tetsu Endo, Daisuke Chinda, Shinsaku Fukuda
2. 発表標題 CHARACTERIZATION OF GUT MICROBIOTA IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE: A LARGE POPULATION-BASED STUDY
3. 学会等名 DDW2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Chikara Iino, Satoshi sato, Go Igarashi, Hirotake Sakuraba
2. 発表標題 Characteristics of MASLD compared to NAFLD and MAFLD, and assessment of fibrosis
3. 学会等名 アジア太平洋肝臓学会 (国際学会)
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 飯野 勢、遠藤 哲、櫻庭 裕丈
2. 発表標題 NAFLD・肝線維化例の血清アミノ酸濃度の変化：インスリン抵抗性の調整による評価
3. 学会等名 JDDW2023
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 館田 哲幸、飯野 勢、笹田 貴史、佐藤 諭、五十嵐 剛、櫻庭 裕丈
2. 発表標題 一般住民健診におけるMAFLD診断の有用性の評価と栄養学的特徴の評価
3. 学会等名 第109回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 館田 哲幸、飯野 勢、佐藤 諭、五十嵐 剛、櫻庭 裕丈、福田 眞作
2. 発表標題 一般住民健診におけるMAFLD診断とFibroScan-AST scoreを用いた肝線維化の評価
3. 学会等名 JDDW2022
4. 発表年 2022年～2023年

〔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
---------	---------