

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K10318

研究課題名（和文）パーソナルヘルスコード導入によるメタボリック症候群の予防と進行抑制法の開発

研究課題名（英文）Development of prevention and progression control methods for metabolic syndrome by introducing a personal health code

研究代表者

朴木 久恵 (Honoki, Hisae)

富山大学・医学部・協力研究員

研究者番号：40772330

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000 円

研究成果の概要（和文）：腸内微生物叢は代謝状態の重要な要因である。最近の研究では、腸内細菌叢が代謝障害の発症に先行することが証明されている。この研究では、49人の健康なボランティアからの採便により16S rRNA シーケンス分析、PHRを使用し食事記録や詳細なライフスタイルをアンケート調査し、代謝パラメーターとの分析を実行した。今回の結果より、健康であってもライフスタイルによって生体の代謝は変化する可能性があることを確認した。特定の腸内細菌の存在は日本人成人の代謝障害の予防に貢献する可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

富山県は平均BMIが比較的低いにも関わらず、メタボリック症候群の頻度と糖尿病の罹病率が高い。この課題解決のため、アプリを用いて予防に取り組む本研究は、医療費を削減しつつ、健康増進を図る新しい健康立県モデルの創出につながる。今回の研究により健診で健康と判断される人々でも、生活習慣などによって腸内細菌の組成が特徴づけられている。特定の同定できた腸内細菌は代謝異常のマーカーと負の相関があり、マウスにおいては肥満や耐糖能障害を改善することから、これらの菌が豊富にあることは、メタボリックシンドロームの予防に役立つかもしれないと考える。

研究成果の概要（英文）：Gut microbiota is an important driver of metabolic status. Recent studies have demonstrated that dysbiosis precedes the development of metabolic disorders. However, the bacterial species associated with metabolic syndrome and their physiological role in obesity and glucose metabolism have not been fully elucidated. In summary, our results suggest that microbial community structure can be altered by lifestyle even in good health. Moreover, maintaining microbial species may contribute to the prevention of metabolic disorders in Japanese adults.

研究分野：代謝

キーワード：メタボリック症候群 腸内細菌 生活習慣

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

富山県では一般に健康食と考えられている魚の摂取量が日本一で、平均 BMI も比較的低いにも関わらず、腹囲の大きいメタボリックシンドロームの頻度と糖尿病の罹病率が高いことから「とやまパラドックス」という逆説的な概念が提唱されている。その原因として、揚げ物・冷凍食品・プリン・アイスクリーム等への支出が富山県は全国トップクラスであり、飽和脂肪酸という生活習慣病の原因になる油を含むものや甘いものを食べ、内臓脂肪肥満になりやすいなど、食生活の影響が考えられる。内臓脂肪増加に伴うメタボリックシンドローム、糖尿病はともに食事、運動を含む生活習慣が原因となり、予防と治療は医療者による教育と自身の自己管理のもとに成り立つ。富山県の健康長寿日本一を達成するには「とやまパラドックス」を解消させるために、健診の段階で「食事 運動 生活習慣」と、メタボリックシンドロームの関係性を明らかにすることが重要であり、そこから得た結果を活用し、疾患の進行抑制や糖尿病発症率抑制につなげることが大切である。

### 2. 研究の目的

腸内細菌は代謝疾患との関連が世界中で報告されている。肥満や糖尿病では健常者と比べ腸内細菌が変化していることが知られているが、最近では非肥満、非糖尿病の段階から腸内細菌が変化していることが報告されている。また肥満や糖尿病に関する腸内細菌が宿主の代謝にどのようなメカニズムで作用しているかについて詳細を明らかにした報告は少ない。そのため地域における健康的なヒトの腸内細菌を分析し、メタボリックシンドロームのマーカーと関連する腸内細菌の特徴を明らかにし、その作用メカニズムを探求することを目的とした。本研究では、富山県で就業率の高い二次産業に勤める健康的な受検者を対象にした生活習慣や食事内容や腸内細菌解析とメタボリックシンドローム関連マーカーの分析を行う。さらにそこで同定されたメタボリックシンドローム関連腸内細菌をマウスに移植することでその作用メカニズムを明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1)対象者：富山県で最も就業率の高い二次産業の会社で行った。従業員は約 2000 名で、健診受診率は 100%、受診対象者は 25 歳以上である。富山大学の臨床研究管理センターの倫理審査で許可を受けた横断、観察研究である。研究に参加可能な従業員は書面及び口頭で説明したあと研究の同意書にサインをした。同意した 435 名のうち、さらに食事記録と便を提出した 49 名について解析を行った。除外基準として、内服をしている人、重度の腎機能障害 (eGFR30 未満)、重度の肝機能障害、食事の記録を提出できなかった人、便を提出できなかった人とした。

倫理申請

R2020059 富山県民のメタボリック症候群の生活習慣の実態調査と検証

R2019118 「とやまパラドックス」問診票の開発

(2)調査項目：メタボリック症候群に関わる採血項目として、血糖測定 (食前、随時)、HbA1c (%), HDL コレステロール (mg/dL)、中性脂肪 (随時) (mg/dL)、AST (mg/dL)、ALT (mg/dL)、収縮期血圧 (mmHg)、拡張期血圧 (mmHg)、身長 (cm)、体重 (kg)、BMI (kg/m<sup>2</sup>)、腹囲 (cm) を健診データより集め、内臓脂肪面積 (cm<sup>2</sup>) について追加計測を行った。採血は参加者の健診時に施行、工場の健診は 7 月におこなわれ、夜勤者もいることから随時血糖で行った。内臓脂肪計測は研究者、研究協力者により生体電気インピーダンス内臓脂肪計 (EW-FA90 パナソニック株式会社) を用いて、立位、軽呼吸時、臍レベルで行った。

(3)生活習慣質問項目について

我々は、健診の時に問診票で生活習慣について調査した。食事の食べ方、生活リズム、食習慣の癖、運動習慣について様々な質問を行った。

(4)食事解析について

参加者に約 1 週間の写真を撮ってもらい、オンキョウスポーツ(株)と協力して作成したカラダメモアプリに入力し、至学館大学栄養科に送った。食事を撮影する際には、食品のサイズを推定しやすくするために、原則として同じ写真内に 10 円玉と一緒に撮影した。すべての食事について、内容、おおよその量、食事の時間も記録された。平日 2 日休日 1 日の計 3 日分のデータをそれぞれ提出し、平均して 1 日分の摂取量として検討した。食事の写真は、日本食品標準成分表第 7 訂 (2015) に従って、食事分析の訓練を受けた栄養士による食品群および栄養成分分析をした。分析は、食事組成分析ソフトウェア (ヘルシーメーカープロ; マッシュルームソフト (株)) を使用した。食品解析項目は総エネルギー (kcal)、水分量 (g)、タンパク質量 (g)、脂質量 (g)、炭水化物量 (g)、水溶性食物繊維量 (g)、不溶性食物繊維量 (g)、ナトリウム (g)、VitD (μg)、アルコール (g)、飽和脂肪酸 (g)、1 価不飽和脂肪酸 (g)、多価不飽和脂肪酸 (g)、n 3 系脂肪酸 (g)、n 6 系脂肪酸 (g) について算出した。

(5)採便、腸内細菌叢解析方法について

参加者に便容器を渡し、食事記録の終わるころに採便をしてもらい、翌日以内に保健部に提出、マイナス 2 度の冷凍庫で保存、富山大学第一内科研究室で DNA 抽出を施行され、16S rRNA シークエンスによる腸内細菌叢解析を行った。そこでメタボリックシンドロームの診断項目と相関を認めた腸内細菌をマウスに移植しその体重の経過と、耐糖能について確認した。

( 研究を遂行する上で生じた問題点、及び解決方法 )

2019 年に科研費を得たが、その後コロナ禍に入り、健診を含めて活動の説明や健康保険活動の介入を施行するのが難しくなったため、食事の写真をアプリで取得することや採便を行い腸内細菌叢解析で横断研究を行うことに変更して対処した。この際に、腸内細菌叢解析を研究している藤坂志帆、渡邊善之と研究を進め、研究協力者とした。

#### 4 . 研究成果

##### (1)参加者は非肥満、非糖尿病の発症前のメタボリックシンドローム予備軍の人々である

Table1. Characteristics of the participants

	Average	SD		Average	SD
Age	43.5	± 9.0	LDLchol (mg/dL)	123.0	± 28.8
Male/Female	42/7		LDL/HDL	2.3	± 0.9
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.9	± 3.9	ALT (mg/dL)	23.0	± 8.0
Waist circumference (cm)	86.7	± 11.3	AST (mg/dL)	27.7	± 19.8
Visceral fat area (cm <sup>2</sup> )	93.8	± 54.7	γGTP ( IU/L)	49.6	± 60.3
Grip strength (kg)	40.2	± 10.0	Fasting blood glucose (mg/dL) (n=27)	97.7	± 10.1
Systolic blood pressure (mmHg)	122.2	± 14.1	Random blood glucose (mg/dL) (n=22)	106.0	± 18.2
Diastolic blood pressure (mmHg)	76.9	± 12.7	HbA1c (%)	5.5	± 0.3
Triglycerides (mg/dL)	196.4	± 293.4	Uric acid ( mg/dL ) (n=33)	7.0	± 1.7
HDL chol (mg/dL)	57.0	± 16.5			

参加者の年齢は平均 43.5 ± 9.0 歳、男性 42 名、女性 7 名と男性が多く、BMI 23.9 ± 3.9kg/m<sup>2</sup> と非肥満であった。腹囲は平均 86.7 ± 11.3cm で、男性としてはややメタボリックシンドロームの腹囲基準より大きく、内臓脂肪は 93.8 ± 54.7 cm<sup>2</sup> であった。平均血圧は 122 ± 14.1 ~ 76.9 ± 12.7 mmHg であった。平均中性脂肪は 196.4 ± 293.4 mg/dL と高値であったが、随時データであることが影響していると考えられた。空腹時血糖

は 97.7 ± 10.1 mg/dL、随時血糖は 106.0 ± 10. /dL、HbA1c 5.5% であった。( Table1 ) 全体として、男性中心、軽度の内臓脂肪蓄積を呈しているが非肥満、非糖尿病の集団であり、メタボリックシンドロームの前段階にある集団と考えられた。

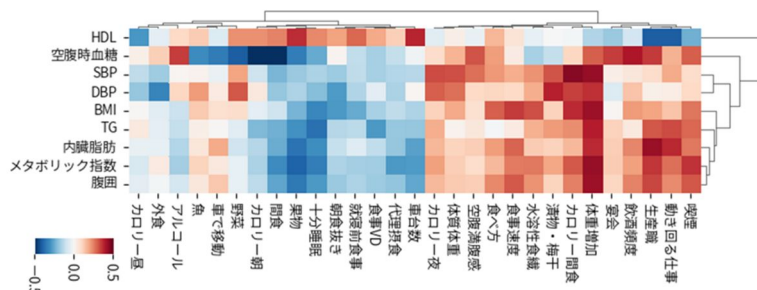


Figure1.メタボリックシンドローム関連マーカーと生活習慣

次に血液データにおけるメタボリックシンドロームの診断項目と生活習慣の間取り調査について解析を行った。( Figure 1 )メタボリックシンドロームの項目と共に正に相関する生活習慣は、よく歩き回る生産職で、喫煙をしており、アルコールを飲む機会や宴会が多く、20 歳の時から体重が 10kg 以上増加しており、間

食と夕食のカロリー摂取が多く、漬物、水溶性食物繊維をよく食べ早食いである、という結果であった。一方でメタボリックシンドロームの項目と負に相関している生活習慣は、車台数が多い、つまり家族が多く、寝る前に何かを食べる、朝食を抜く、十分な睡眠がある、果物や間食を食べる、朝食のカロリーが多いという傾向があった。これらの結果のうち明らかな有意差があるものは認めなかった。

##### (2)健康な健診受検者の腸内細菌叢は3つのエンテロタイプに分けられる

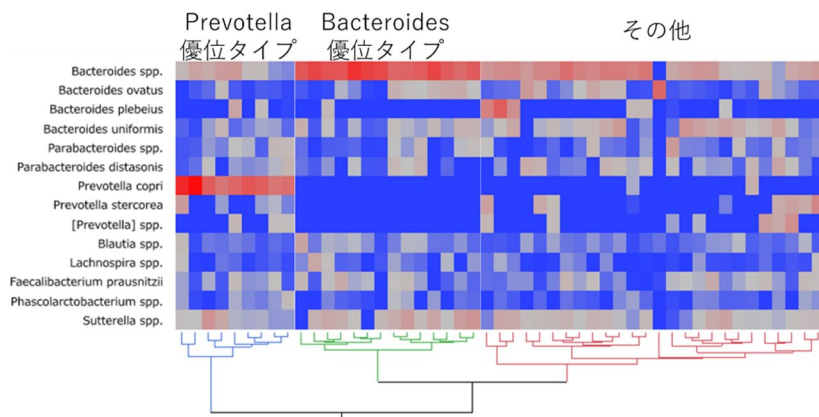


Figure2. 3つの腸内細菌エンテロタイプ

参加者の腸内細菌叢について階層解析を行うと、大きな区分として Prevotella 優位群 (G2)、Bacteroides 優位群 (G3)、その他 (G1) の群のエンテロタイプに分けられた。( Figure2 )

3 群に分けて各種のメタボリックシンドローム関連診断項目について解析をすると Prevotella 優位群は、身長、BMI、腹囲や内臓脂肪、随時血糖が大きく、HDL が低めで、メタボリックシンドロームの診断項目が多く陽性となる傾向であった。Bacteroides 優位群は、年齢、身長、BMI、腹囲や内臓脂肪が低く、HDL が高めでありメタボリックシンドロームの診断項目が陰性になる傾向であった。ただし有意差がついたものは身長 ( P=0.041 ) だけであった。( Figure3 )

G3: Bacteroides enterotype

G2: Prevotella enterotype

G1: Others enterotype

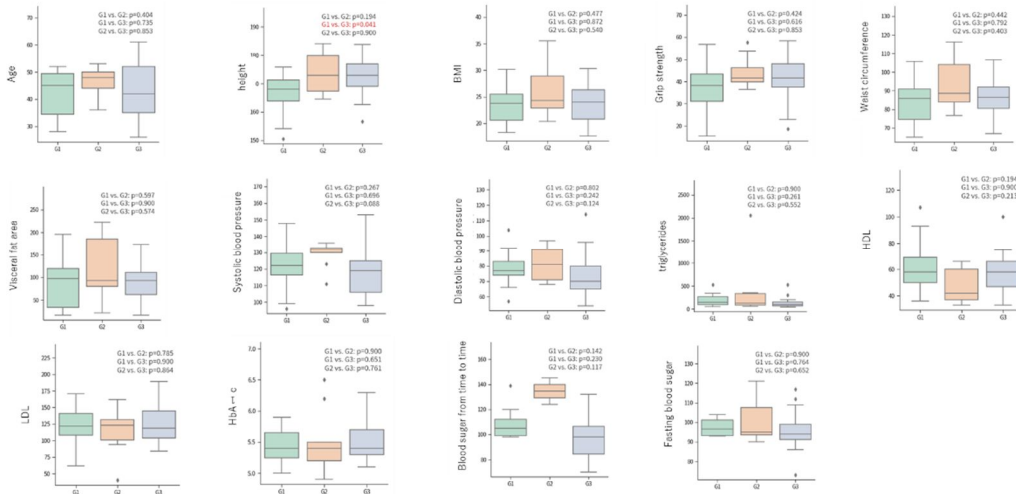


Figure3. 3群の健診データの特徴

(3)腸内細菌 D と調査委細菌 B の割合はメタボリックシンドローム関連マーカーと負に相関する

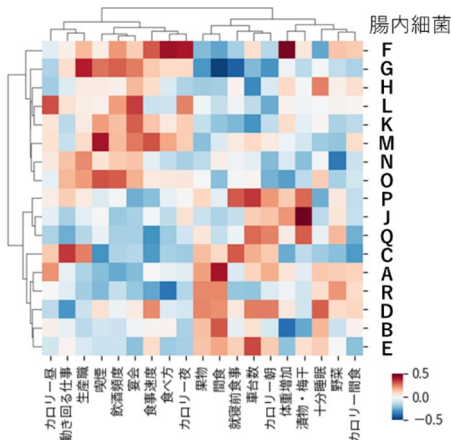


Figure4. 腸内細菌叢と生活習慣

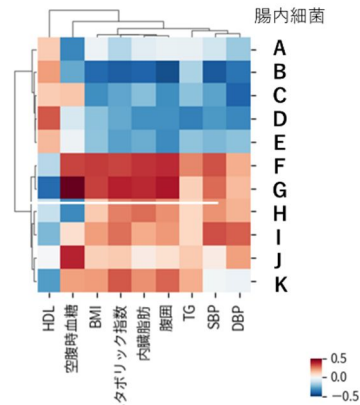


Figure5. メタボリックシンドローム関連マーカーと相関のある腸内細菌

続けて菌の種類と食事を含めた生活習慣についての解析を行った。生活習慣は受検者の腸内細菌叢の変化と関連していた。(Figure 4) 上側に示されている菌が多い群は活動量が多く、喫煙が多い生産職で早食いで夜に遅くカロリーを取る傾向があった。一方で下に占められている菌が多い群は果物や間食を多くとり、家に車が多くあって家族で住んでおり、朝に多くカロリーを取り、十分睡眠がとれているような群であった。

さらにメタボリックシンドローム関連パラメータについての相関を解析した。腸内細菌 A, B, C, D, E はメタボリックシンドローム関連パラメータと負に相関した。反対に F, G, H, I, J, K はメタボリックシンドローム関連マーカーと正に相関した。(Figure 5) これらの同定された菌のうち、生活習慣と代謝パラメータのどちらも相関がみられた菌として、腸内細菌 D, B, F に着目し解析を進めた。

4、腸内細菌 D, B 投与マウスは高脂肪食負荷マウスで肥満、耐糖能を改善する

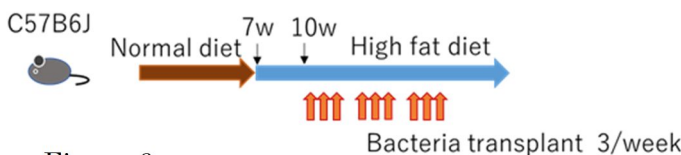


Figure 6

健診データから同定された細菌が、宿主の代謝にどのような影響を与えるのかについてマウスを用いた実験を行い調べた。C57B6J マウスに対して高脂肪食を与えて肥満させたのちに各種菌を経口投与で移植した。(Figure 6) 内細菌 F 投与マウスでは体重に変化は見られなかった一方で、腸内細菌 D や B を移植したマウスでは有意に体重の増加が抑制された。特に腸内細菌 D 投与マウスにおいては体重増加の抑制が顕著であった (Figure 7)。移植マウスでは WAT、特に iWAT の重量が有意に減少していた。肝重量には差を認めなかったも

健診データから同定された細菌が、宿主の代謝にどのような影響を与えるのかについてマウスを用いた実験を行い調べた。C57B6J マウスに対して高脂肪食を与えて肥満させたのちに各種菌を経口投与

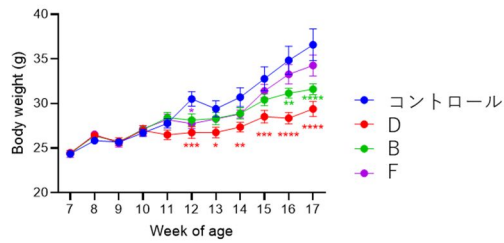


Figure7

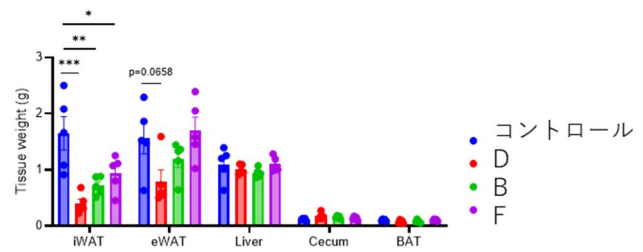


Figure8

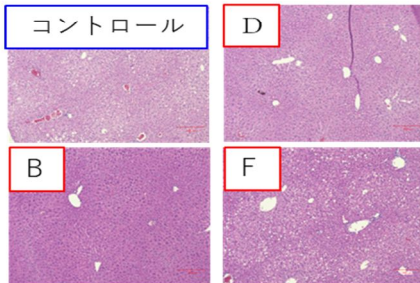


Figure9

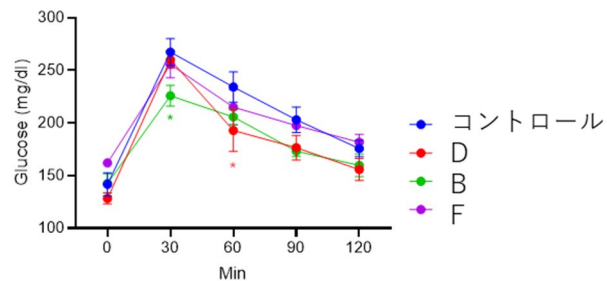


Figure10

この、HE 染色では腸内細菌 D,B 投与マウスで脂肪肝が改善していることが確認できた。(Figure8.9)

ブドウ糖負荷試験では、腸内細菌 D,B 投与マウスは耐糖能の改善をみとめた。(Figure10)

これらの結果より、腸内細菌 D,B は高脂肪食負荷に伴う肥満、耐糖能障害を改善することが判明した。

<まとめ>

健診で健康と判断される人々でも、生活習慣などによって腸内細菌の組成が特徴づけられている。腸内細菌 B や D の菌は代謝異常のマーカーと負の相関があり、マウスにおいては肥満や耐糖能を改善することから、これらの菌が豊富にあることは、メタボリックシンドロームの予防に役立つかもしれないと考える。

<引用文献>

伊藤裕、メタボリックドミノと先制医療、日本内科学会雑誌 107 巻 9号

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 朴木久恵、藤坂志帆、今度悠樹、篠田千恵、圓角麻子、瀧川章子、八木邦公、中條大輔、奥 牧人、戸邊一之、
2. 発表標題 富山県民のメタボリック症候群の生活習慣の実態調査
3. 学会等名 第64回 日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 朴木久恵、藤坂志帆、今度悠樹、篠田千恵、上野未樹、横山茉貴、四方雅隆、圓角麻子、瀧川章子、中條大輔、八木邦公、戸邊一之
2. 発表標題 企業健診におけるとやまパラドックス問診票の有効性とインスリン関連指数の関係
3. 学会等名 第75回富山県医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 朴木久恵、藤坂志帆、今度悠樹、山田眞之介、横山茉貴、圓角麻子、渡邊善之、瀧川章子、杉島有希、八木邦公、中條大輔、奥牧人、戸邊一之
2. 発表標題 富山県民のメタボリック症候群の生活習慣の実態調査における腸内細菌叢解析と食事記録解析
3. 学会等名 第43回日本肥満学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 朴木久恵
2. 発表標題 企業健診における食とメタボ、生活習慣とメタボの相関性について
3. 学会等名 第96回日本糖尿病学会中部地方会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 朴木久恵, 藤坂志帆, 圓角麻子, 渡邊善之, 瀧川章子, 八木邦公, 中條大輔, 奥牧人, 戸邊一之
2. 発表標題 企業健診における生活習慣を含む食事記録の解析と健診データと腸内細菌叢の関係性について
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hisae Honoki, Shiho Fujisaka, Yoshiyuki Watanabe1, Makito Oku, Tomonobu Kado, Yuki Kondo, Ayumi Nishimura, Allah Nawaz, Muhammad Bilal, Rahil Aslam, Yoshiko Igarashi, Asako Enkaku, Daisuke Chujo, Yoshitomo Morinaga, Kazuyuki Tobe
2. 発表標題 Identification of gut microbes that prevents metabolic syndrome in healthy Japanese adults
3. 学会等名 83th Scientific Sessions, American Diabetes Association (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 朴木久恵、藤坂志帆、今度悠樹、圓角麻子、渡邊善之、瀧川章子、戸邊一之、
2. 発表標題 特定健診におけるメタボリック症候群と関わる食品成分の解析と食品成分表7訂、8訂の比較検討
3. 学会等名 第44回日本肥満学会
4. 発表年 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
研究分担者	戸邊 一之  (TOBE Kazuyuki)  (30251242)	富山大学・学術研究部医学系・教授    (13201)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	八木 邦公  (Yagi Kunimasa)  (30293343)	金沢医科大学・医学部・教授    (33303)	

	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
研究 協 力 者	藤坂 志帆  (Fujisaka Shiho)  (30512082)	富山大学・学術研究部医学系・准教授    (13201)	
研究 協 力 者	渡邊 善之  (Watanabe Yoshiyuki)  (30912331)	富山大学・学術研究部医学系・病院特別助教    (13201)	

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