

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07373

研究課題名（和文）環境要因による腸内フローラの変化が認知機能に影響するか

研究課題名（英文）Association between gut microbiota and cognitive function in community-dwelling older people in Okinawa

研究代表者

石田 明夫（ISHIDA, AKIO）

琉球大学・医学（系）研究科（研究院）・准教授

研究者番号：10343378

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：地域在住の自治会活動に参加している比較的健康な65歳以上の高齢者およびその家族176名の腸内細菌解析を行なった。認知機能評価と腸内細菌解析を実施した157名のデータ解析を行なった。研究対象者の約70%でMMSEやMoCA-Jで評価した認知機能低下が疑われた。加齢により腸内細菌のエンテロタイプは違いを認めた。認知機能の低下に伴い変化する腸内細菌が存在する可能性を見出した。今後、血管機能と腸内細菌との関連も解析していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知機能や血管機能の低下は加齢の影響が大きく、超高齢社会では今後さらに患者数が増加することが予想されている。しかし、有効な治療戦略はまだない。地域在住の比較的健康な高齢者においても認知機能低下と腸内細菌が関連する可能性を確認した。今後、腸内細菌をコントロールするための食生活を含めた生活習慣に関する研究を蓄積することで、認知症や脳心血管病発症の予防につながり、健康寿命の延伸に寄与する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to examine the relationship between cognitive function and gut microbiota in relatively healthy community-dwelling older adults aged 65 years and older who participated in community association activities. An observational cross-sectional study was conducted in 157 participants (median age, 82 years; 72% women) who underwent cognitive function tests and gut microbiota analysis using the 16S ribosomal RNA-based method. The results showed a higher proportion of Prevotella (enterotype E) in the group with cognitive impairment, as assessed by MMSE.

研究分野：内科学一般

キーワード：認知機能 腸内細菌 血管機能 動脈スティフネス 運動機能

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日系移民を対象とした研究により脳卒中の発症率が高い日本人が米国に移住すると、その子孫では虚血性心疾患による死亡率が増加することや(Worth et al. 1975)、ハワイ在住日系人は日本在住者と比べるとアルツハイマー型認知症が多く、血管性認知症が少ないことが報告され(White et al. 1996)、環境要因により脳心血管病や認知症のタイプが西欧型に変化する可能性が示された。食生活を含めた環境因子が腸内細菌に影響し、宿主の健康に作用する可能性が明らかにされてきたが、その詳細は不明である。沖縄からハワイに移住した沖縄県系人は沖縄在住者より急激な米国型生活環境に曝露された。我々は、2016年から2019年にハワイ州オアフ島在住沖縄県系人を対象に予備的調査を行い、ハワイ在住者のほうが肥満を含めた血管病危険因子が多いが、認知機能は保持されている可能性があることを確認した。劇的な栄養転換によりハワイ在住沖縄県系人と沖縄在住者では腸内環境が大きく変化し、認知機能や血管機能に影響している可能性がある。

2. 研究の目的

- (1). 食生活を含めた環境要因が劇的に変化した沖縄県系人と沖縄在住者の腸内細菌の違いに着目し、認知機能や血管機能との関連を明らかにすることを目的として研究を計画した。しかし、新型コロナウイルス感染症パンデミックのためハワイでのデータ収集ができない状況が続いたため、研究対象者を沖縄県在住の65歳以上の高齢者として、腸内細菌と認知機能および血管機能の関連を明らかにする研究に計画を変更した。今後、ハワイ在住沖縄県系人と比較できるように沖縄在住高齢者の腸内細菌データベースの基盤作りを行うことを新たな目的とした。
- (2). 沖縄県においても新型コロナウイルス感染症の影響で対面研究が実施不可能な期間が続いたため、既存の脳ドックデータベースを利用して認知機能の危険因子である脳小血管病と血管機能の関連を明らかにすることを目的とした研究を実施した。

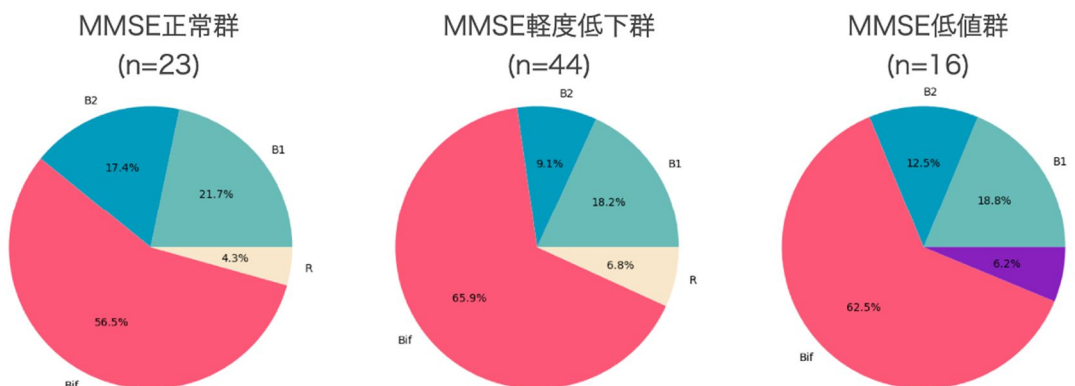
3. 研究の方法

- (1) 沖縄県宜野湾市の自治会活動に参加している65歳以上の高齢者および同一家系の20歳以上の家族を研究対象者とした。認知機能(MMSE、MoCA-J、CDR、SPMT、SDMT、TMT-A)、老年期うつ状態(GDS-15)、血管機能(中心血圧、四肢血圧、ABI、脈波伝播速度、反射波指標)、運動機能(握力、30秒間椅子立ち上がりテスト[CS-30]、Timed Up and Go test、片足立位保持)、身体測定、体組成、ヘルスリテラシー尺度(HLS-14)、高次生活機能(老研式活動能力指標)、食の多様性(FDS-11)、皮膚終末糖化産物、血液・尿検査、生活歴、既往歴、併存疾患、内服薬について調査した。
- (2) 腸内細菌解析
腸内細菌叢に関するデータ取得：糞便サンプルからゲノムDNA抽出後16S rRNAのV3/V4領域特異的ライブラリーを作成し、シーケンス解析・配列分析を行った。
バイオインフォマティクス解析：Qiime2 (Bolyen et al. 2019)による前処理および菌種の分類後、認知機能で分けた群間で分類群や多様性指標、エンテロタイプの比較を行った。エンテロタイプは日本人に適した5つのエンテロタイプ(Takagi T. 2022)に分けて解析した。
- (3) 沖縄県健康づくり財団で2013年から2020年に脳ドックを受診し、脈波検査を受けた1894名の初回データを解析した。脳小血管病は脳MR検査で、ラクナ梗塞、微小出血、白質病変、拡大血管周囲腔の4つの病変を評価した。動脈スティフネスは足関節-上腕脈波伝播速度で評価した。

4. 研究成果

- (1) 宜野湾市自治会活動に参加している65歳以上の高齢者とその家族196名(9家系、複数世代18名の腸内細菌解析)のうち同意撤回者や脱落者を除いた176名の腸内細菌データベースを作成した。認知機能評価と腸内細菌を解析した157名(女性114名)を解析した。
MMSEで評価した認知機能は、正常群(≥ 28)35%、軽度低値群(24-27)50%、低値群(≤ 23)15%に認めた。MoCA-Jでは軽度認知機能低下群を75%に認めた。MMSE、MoCA-J、CDR、SPMT、SDMT、TMT-Aで評価した認知機能はいずれも加齢に伴い低下した。
加齢に伴い*Bifidobacterium*タイプ(Type D)が減少し、90歳以上では*Prevotella*タイプ(Type E)が増加し、腸内細菌の加齢変化を認めた。認知機能におよぼす年齢の影響が小さい80歳台の高齢者83名の腸内細菌とMMSEの関連を調べた。
多様性解析：3つの異なる指標(Pielou's Evenness index、Shannon index、Faith's Phylogenetic Diversity)で評価した腸内細菌の多様性はMMSE低値群ほど高くなる傾向を認め、Faith's Phylogenetic Diversity指標でMMSE正常群と低値群で有意差を認め

たが、その他の指標では有意差はなかった。
科レベルで行なった階層クラスタリングでは、クラスター間で MMSE3 群の分布に明かな違いは認めなかった。
エンテロタイプの分布は MMSE 低値群でのみ *Prevotella* タイプ (Type E) を認めた。逆に、MMSE 正常群および軽度低下群で認めた *Ruminococcus* タイプ (Type A) は MMSE 低値群では認めなかった (図)。



Prevotella 属の占有率が MMSE 低値群で増加していた。
科レベルの解析では、MMSE 低値群で *Muribaculaceae*、*Clostridia*、*Prevotellaceae* の占有率が高かった。
属レベルの解析では、MMSE 低値群で *Actinomyces* や *Senegalimassilia* などの占有率が高いことが示された。

認知機能と特定のエンテロタイプや腸内細菌の関連が示唆された。KEGG Orthology データベースを利用した代謝酵素の予測解析を現在進めている。今後、腸内細菌と MMSE 以外の認知機能指標の関連性や血管機能 (ABI や PWV など) との関連についてさらなる分析を予定している。

(2). 運動機能と認知機能の関連について

上肢運動機能と下肢運動機能の違いに着目して解析を行なった。

上肢運動機能は全般性運動機能低下 (MoCA-J) と関連していたが、視覚性記憶機能 (SPMT) や注意分配性機能 (SDMT) とは関連がなかった。

下肢運動機能は全般性認知機能 (MMSE)、視覚性記憶機能、注意分配性機能と関連していた。

下肢運動機能、特に Timed Up and Go test は全般性認知機能だけでなく視覚性記憶機能や注意分配性機能と関連していた。

(3). 2017 年の認知機能と運動機能評価のコホート研究参加者のうち、今回の研究にも参加した 29 名を対象として、7 年の経過で MMSE 変化量が小さい群 (認知機能保持群) と大きい群 (認知機能低下群) のベースラインの違いを比較した。その結果、認知機能保持群では認知機能低下群と比べて 2017 年時の Timed Up and Go 所要時間が有意に短かった (波平ら.2024)。

Timed Up and Go test は検者内・検者間信頼性が高く、下肢筋力、バランス、歩行能力、日常生活機能との関連も高いため、認知機能の予後予測指標として有用である可能性が示唆された。

(4). 脳ドックデータベースを利用した研究

無症候性脳小血管病は認知機能低下や脳卒中発症の予測因子である。加齢や高血圧が脳小血管病の発症リスクであるが、高血圧がなくても脳小血管病を有する群が存在する。そこで、血圧 (カットオフ値 120/80 mmHg) と baPWV (カットオフ値 14.63 m/s) で 4 群に分けて脳小血管病の有病率を調べた。その結果、正常血圧でも baPWV 高値群は脳小血管病の有病率が高かった。血管機能が脳小血管病発症の危険因子であり、認知機能に影響を及ぼす可能性が示唆された (Miyagi et al. 2023)。

1. Worth RM et al. Epidemiologic Studies of Coronary Heart Disease and Stroke in Japanese Men Living in Japan, Hawaii and California: Mortality. *Am J Epidemiol* 1975;102: 481–90.
2. White L et al. Prevalence of Dementia in Older Japanese-American Men in Hawaii: The Honolulu-Asia Aging Study. *JAMA* 1996;276: 955–60.
3. Bolyen E et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol.* 2019;37:852–857
4. Takagi T et al. Typing of the Gut Microbiota Community in Japanese Subjects. *Microorganisms* 2022;10. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030664>.
5. 波平幸裕、石田明夫、宮城朋、國場和仁、石原聡、崎間洋邦、楠瀬賢也 地域在住高齢者における認知機能保持に關与する指標の検討 第 65 回日本神經学会學術集會 2024.6.1.東京
6. Miyagi T, Ishida A et al. Arterial Stiffness Is Associated With Small Vessel Disease Irrespective of Blood Pressure in Stroke-Free Individuals. *Stroke* 2023;54 (11): 2814–21.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miyagi Tomo, Ishida Akio, Shinzato Tomoko, Ohya Yusuke	4. 巻 54
2. 論文標題 Arterial Stiffness Is Associated With Small Vessel Disease Irrespective of Blood Pressure in Stroke-Free Individuals	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Stroke	6. 最初と最後の頁 2814 ~ 2821
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/STROKEAHA.123.042512	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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 波平幸裕、石田明夫、宮城朋、國場和仁、石原聡、崎間洋邦、楠瀬賢也
2. 発表標題 地域在住高齢者における認知機能保持に關与する指標の検討
3. 学会等名 第65回日本神経学会学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 石田明夫
2. 発表標題 実臨床における動脈スティフネス指標の有用性
3. 学会等名 第9回日本血管不全学会学術集会・総会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 宮城 朋、石田明夫、大屋祐輔
2. 発表標題 上腕-足首間脈波伝播速度高値は血圧にかかわらず脳小血管病と關連する
3. 学会等名 第52回日本心脈管作動物質学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ishida A, Miyagi T
2. 発表標題 Arterial stiffness is associated with cerebral small vessel disease irrespective of blood pressure in stroke-free individuals.
3. 学会等名 Pulse of Asia 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 波平幸裕、石田明夫、宮城朋、國場和仁、石原聡、崎間洋邦、楠瀬賢也
2. 発表標題 地域在住高齢者における認知機能保持に関与する指標の検討
3. 学会等名 第65回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 宮城 朋, 石田 明夫, 波平 幸裕, 金城 よしの, 國場 和仁, 石原 聡, 崎間洋邦, 大屋 祐輔
2. 発表標題 上腕-足首間脈波伝播速度高値は血圧にかかわらず脳小血管病と関連する
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮城 朋、石田明夫、大屋祐輔
2. 発表標題 上腕-足首間脈波伝播速度高値は血圧にかかわらず脳小血管病と関連する
3. 学会等名 第52回日本心脈管作動物質学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miyagi T, Ishida A, Ohya Y.
2. 発表標題 Higher arterial stiffness is associated with silent cerebral small vessel disease irrespective of blood pressure.
3. 学会等名 The 29th Scientific meeting of the international society of hypertension (ISH2022) (国際学会)
4. 発表年 2022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	渡嘉敷 崇 (TOKASHIKI TAKASHI) (10336365)	琉球大学・医学部・非常勤講師 (18001)	
研究分担者	池松 真也 (IKEMATSU SHINYA) (40442488)	沖縄工業高等専門学校・生物資源工学科・教授 (58001)	

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
---------	---------