

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：35309

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K21270

研究課題名（和文）運動習慣が成す腸内細菌叢は急性・慢性炎症における免疫反応のレギュレーターとなるか

研究課題名（英文）The potential of exercise-biased gut microbiota for the regulation of inflammation

研究代表者

川島 将人（Kawashima, Masato）

川崎医療福祉大学・医療技術学部・助教

研究者番号：90909590

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、肥満やそれに伴う慢性炎症に対して、習慣的な運動によって形成された腸内細菌叢の移植が及ぼす影響について検証した。運動習慣を有するドナーの腸内細菌叢を肥満したレシピエントへ移植すると、レシピエントの腸内細菌叢や代謝産物に変化はみられるものの、宿主の体組成や糖代謝能、炎症状態には顕著な影響を及ぼさない可能性が示された。肥満レシピエントの肥満関連パラメーターの改善には、便移植の有無よりも食事の影響が甚大である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糞便移植法は、現在国内外で注目を集めている腸内細菌療法の一つである。本研究で得られた習慣的な運動の効果を有する腸内細菌叢の移植のみでは肥満レシピエントの身体的特徴や炎症状態に変化がもたらされないという知見は、これから糞便移植法を用いた治療や健康サプリメントの開発を進める上で意義あるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to examine whether the fecal microbiota transplantation from exercised mice improves obesity and its related inflammation in obese recipient mice. Despite some changes in gut microbial communities and its metabolites by the transplant of exercise-biased gut microbiota, obesity and inflammation status were not improved. These results suggest that the transplantation of exercise-biased microbes alone is insufficient to ameliorate the parameters related to obesity in recipients.

研究分野：運動免疫学

キーワード：運動 腸内細菌叢 メタボリックシンドローム 炎症 免疫 マクロファージ 便移植

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。

## 1. 研究開始当初の背景

今や世界的な現代病といえる肥満症に伴って生じる全身性の慢性炎症は、糖尿病や動脈硬化症といった多様な疾患のリスクファクターとなってしまふ (Gregor and Hotamisligil, 2011)。習慣的な運動の実施が生活習慣病の予防や治療、ならびに生体内で生じる慢性炎症の改善に有効であることは周知の事実であるが、実際には運動を実施せずに、運動の恩恵を受けることができる方法が開発されれば画期的である。

2000年代に、腸内細菌叢が生活習慣病の発症に関与することが示され、その後の研究によって、習慣的な運動が腸内細菌叢を痩せ型タイプへと変化させることが明らかとなった (Kang et al., 2014; Petrizz et al., 2014)。興味深いことに、腸内細菌療法のひとつである糞便移植法によって、送り手 (ドナー) の腸内細菌叢をまるごと受け手 (レシピエント) に移植すると、ドナーの身体的特徴や代謝、行動特性がレシピエントに伝播することが報告されている (Oyanagi et al., 2018; Lahiri et al., 2019)。これらの知見は、糞便移植法を用いて、肥満型の腸内細菌叢を習慣的な運動の効果をもった腸内細菌叢に置き換えれば、肥満やそれに伴う慢性炎症を解消できるのではないかという期待を生じさせる。しかし、習慣的な運動によって形成される腸内細菌叢の特徴については統一した見解が得られておらず、運動型の腸内細菌叢移植がもたらす効果についても十分に理解されていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究は、習慣的な運動によって形成された腸内細菌叢の移植が、生体内で生じてしまう異常な炎症を解消できるのかについて検討することを目的とした。本研究では、腸内細菌叢の網羅的解析に加え、腸内細菌の代謝産物であり、宿主に有益な作用をもたらすことが知られている短鎖脂肪酸を精査することを通して、運動の効果をもつ腸内細菌叢移植が宿主パラメーターに及ぼす影響について探究することを目指した。

## 3. 研究の方法

### 実験 (1) 肥満レシピエントマウスに対する食餌介入と運動ドナーマウス便移植の併用効果

4週齢の C57BL/6J 雄マウスを 4 グループ (①高脂肪高糖質食餌摂取による肥満誘導後に食餌を継続し便移植を受けない群、②肥満後に食餌を通常食餌へと変え便移植を受けない群、③肥満後に食餌を通常食餌へと変え安静便移植を受ける群、④肥満後に食餌を通常食餌へと変え運動便移植を受ける群) に分けた。実験期間は、12 週間の肥満誘導期、1 週間の抗生剤投与期、4 週間の食餌介入 + 糞便移植期の合計 17 週間とした。ドナーマウスとして、安静ドナーと運動ドナーの 2 条件を設け、通常食餌を摂取させるとともに、運動ドナー条件にのみ飼育ケージ内にランニングホイールを設置して自発的な走運動を実施させた。糞便移植期には各ドナーマウスの新鮮便から糞便抽出液を作成し、便移植に使用した。レシピエントマウスについては、まず、肥満誘導期に高脂肪高糖質食餌を自由摂取させて肥満を誘導した。抗生剤投与期には全ての肥満レシピエントマウスに抗生剤含有水を自由摂取させ、腸内を除菌した。抗生剤には、アンピシリンとネオマイシンを使用した。食餌介入 + 糞便移植期には、食餌介入の有無に加えて、実験群に合わせて生理的食塩水 (便移植を受けない対照条件)・安静便抽出液・運動便抽出液のいずれかを胃ゾンデを用いて毎日投与 (100 $\mu$ l/匹) した。解析では、体組成、血中脂質濃度、糖代謝能、盲腸中短鎖脂肪酸濃度の評価を行った。

### 実験 (2) 肥満レシピエントマウスに対する運動ドナーマウス便移植の単独効果

実験 (1) と同様に、4 週齢の C57BL/6J 雄マウスを使用し、12 週間の肥満誘導期、1 週間の抗生剤投与期、4 週間の糞便移植期の合計 17 週間飼育するが、糞便移植期において、レシピエントマウスの食餌には介入せずに高脂肪高糖質食餌摂取を継続させ、便移植のみを実施した。したがって、レシピエントマウスは、3 グループ (①便移植を受けない群、②安静便移植を受ける群、③運動便移植を受ける群) に分けられた。また、運動ドナーマウスの自走運動量に関して、実験 (1) では飼育開始から 6~7 週間で運動量がピークに達し、その後徐々に低下していく傾向がみられたため、運動量が高い時期の糞便を使用するために、実験 (2) ではドナーマウスの導入時期を調整し、飼育開始 7 週目 (マウスの週齢は 11 週齢) から 4 週間の糞便移植を実施することとした。それ以外の実験内容は、実験 (1) と同様に設定した。解析では、体組成、血中脂質濃度、糖代謝能、炎症性サイトカイン発現、腸内細菌叢解析、盲腸中短鎖脂肪酸濃度を評価した。

## 4. 研究成果

### 実験 (1) 肥満レシピエントマウスに対する食餌介入と運動ドナーマウス便移植の併用効果

肥満レシピエントマウスの食餌を通常食餌へと変化した 3 群において、食餌介入 + 糞便移植期の終了後に体重減少や体脂肪率の低下といった体組成の大幅な改善がみとめられた。同様に、循環血中の総コレステロール濃度や中性脂肪濃度についても、食餌介入を行った 3 群が食餌介入を行っていない群よりも有意に低値を示した。グルコース負荷試験によって評価した糖代謝能についても、食餌介入を行った 3 群でのみ、食餌介入前と比べて食餌介入後に有意な改

善がみられた。盲腸中の主要な短鎖脂肪酸（酢酸、プロピオン酸、酪酸）の濃度は、食餌介入を行った 3 群が食餌介入を行っていない群よりも有意に高値を示した。しかしながら、食餌介入に加えて、安静便あるいは運動便を移植した条件では、いずれの評価項目においても、食餌介入のみを行った群との違いがみとめられなかった。この実験により、肥満レシピエントマウスの食餌を通常食餌へと変化させた場合、食餌変化の影響が甚大であり、便移植による相加効果はみられないことが明らかとなった。

#### 実験（2）肥満レシピエントマウスに対する運動ドナーマウス便移植の単独効果

実験（1）の結果を受けて、この実験では、肥満レシピエントマウスの食餌には介入せず、便移植の効果のみを検証した。すると、安静便・運動便のいずれの便移植を受けたレシピエントマウスにおいても、便移植を受けないレシピエントマウスと比較して、体組成や血中脂質濃度、糖代謝能に改善がみとめられなかった。全身性の慢性炎症の評価として、代表的な炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$  の循環血中濃度を測定したが、3 群間に有意な差はみられなかった。次世代シーケンサーを用いた腸内細菌叢のメタゲノム解析では、レシピエントマウスに安静便あるいは運動便を移植すると、便移植前の腸内細菌叢とは異なる腸内細菌叢へと変化することを確認できた。さらに、運動便移植を実施したマウスの腸内細菌叢においては、運動によって増加し、肥満や糖尿病の改善に寄与することが示されている *Akkermansia* の顕著な増大が観察された。また、盲腸中短鎖脂肪酸濃度の結果において、酢酸は、安静便・運動便のいずれの便移植を受けた場合においても、便移植を受けない条件と比べて有意に高値を示した。さらに、プロピオン酸については、運動便の便移植を受けた場合に、安静便の便移植を受けた条件と便移植を受けない条件よりも有意に高値を示した。この実験により、習慣的な運動の効果を有する腸内細菌叢移植は、肥満レシピエントマウスの腸内細菌叢および代謝産物の産生を変化させるものの、宿主の肥満関連パラメーターへの顕著な改善効果をもたらさないことが明らかとなった。

<引用文献>

- 1) Gregor M and Hotamisligil G. (2011) Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*, 29:415-445.
- 2) Kang S et al. (2014) Diet and exercise orthogonally alter the gut microbiome and reveal independent associations with anxiety and cognition. *Mol Neurodegener*, 9:36.
- 3) Petriz B et al. (2014) Exercise induction of gut microbiota modifications in obese, non-obese and hypertensive rats. *BMC Genomics*, 15(1):511.
- 4) Oyanagi E et al. (2018) Altered gut microbiota by voluntary exercise induces high physical activity in high-fat diet mice. *J Phys Fitness Sports Med*, 7 (1): 81-85.
- 5) Lahiri S et al. (2019) The gut microbiota influences skeletal muscle mass and function in mice. *Sci Transl Med*, 11(502):eaan5662.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Masato Kawashima, Takafumi Aoki, Hiroki Hamada, Chihiro Watanabe, Eri Oyanagi, Takashi Yamagata, Michael J. Kremenik, Hiromi Yano.
2. 発表標題 Additive benefits of exercise and dietary inulin supplementation on physical characteristics and glucose metabolism
3. 学会等名 The 15th Symposium of the International Society of Exercise and Immunology (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
---------------------------	-----------------------	----

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