

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19708

研究課題名（和文）腸内細菌制御により運動と同等の効果を褐色脂肪組織に与える研究

研究課題名（英文）Research on regulating gut bacteria to have the same effect on brown adipose tissue as exercise

研究代表者

平田 健一（Hirata, Ken-ichi）

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：20283880

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、運動と同等効果を持つ腸内細菌を探索し、肥満症治療の可能性を検証する事である。『運動』にて増加する腸内細菌の特定のために、肥満モデルマウスにトレッドミル運動負荷を行ったが、本実験では運動が肥満に影響せず、運動模倣菌を絞り込むことはできなかった。高脂肪食負荷による肥満モデルマウスにBacteroides 菌を、経口投与すると、肥満を抑制し、褐色脂肪細胞の分枝鎖アミノ酸代謝を改善し、運動で起きる熱産生を再現している可能性が示された。ヒトでやせ・肥満と腸内細菌叢との関係を再度調査し、肥満だけでなく反対の高齢者のやせの問題との関連性を調査することで、次につながる研究基盤を確立させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動が褐色脂肪細胞のアミノ酸利用とそれに引き続く熱産生能に与える影響を解明した。新規の菌の発見はできなかったが、その効果を持つ腸内細菌（プロバイオティクス）を特定しており、肥満症治療への応用を目指した研究基盤になると考えている。腸内細菌制御により肥満予防の可能性を示したことになり、近い将来に「腸からの新たな肥満管理法・治療法」での変革をもたらす事が期待できる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to search for gut bacteria with the same effect as exercise and to verify the possibility of treating obesity. In order to identify gut bacteria that increase with "exercise", obese model mice were subjected to treadmill exercise, but those exercise did not affect obesity, and it was not possible to identify the exercise-mimicking bacteria. Oral administration of Bacteroides species to fat diet loading obese model mice suppressed obesity, improved branched-chain amino acid metabolism in brown fat cells, and demonstrated the possibility of reproducing thermogenesis that occurs with exercise. By investigating the relationship between thinness/obesity and gut microbiota in humans, we found some novel evidence of gut flora type in association with thin elder person.

研究分野：循環器内科学

キーワード：腸内細菌 運動 プロバイオティクス アミノ酸代謝 分枝鎖アミノ酸 Bacteroides菌

様 式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

研究代表者の研究グループは、腸内細菌と循環器疾患との関連解明研究を行い、動脈硬化予防に関連する腸内細菌“*Bacteroides dorei*”と“*Bacteroides vulgatus*”の2菌を同定して、菌製剤化へ向けた研究へ繋げている(*Circulation*. 2018., *J Atheroscler Thromb*. 2019., *Sci Rep*. 2020. 特願 2018-022578, PCT/JP2019/004763.)。さらに、循環器疾患発症の危険因子となる肥満を研究対象疾患とした2菌の更なる有益効果の検証研究において、肥満モデルマウスでは肥満の程度依存的に褐色脂肪組織のBCAA代謝が低下する事、褐色脂肪組織でのBCAA代謝の低下により血中BCAA濃度が増加する事、を発見した(*iScience*. 2021.)。これらの事は、肥満の病態機序におけるBCAAを含むアミノ酸代謝の重要性と、アミノ酸代謝の改善により肥満を予防・治療できる可能性を示唆しているが、いかに安価で安全にアミノ酸代謝を改善させるか、について持続可能な健康社会の実現という概念を基軸に考えた結果、『運動』に行きついた。一方で、肥満と腸内細菌との密接な関連も報告され注目を浴びているが、腸内細菌への介入による肥満の制御法は未だ臨床応用されていない。本研究の完遂により、運動による肥満抑制効果についての未だ未解明の病態機序を一部解明し、腸内細菌制御により運動効果を模倣する事ができれば、革新的な抗肥満療法を提案できると考えた。

2. 研究の目的

褐色脂肪組織の熱産生機能の亢進は、持続的かつ強力な抗肥満効果を示す事が知られている。本研究の目的は、運動が褐色脂肪組織のアミノ酸利用とそれに引き続く熱産生能に与える影響を解明して、その効果と同等の効果を持つ腸内細菌(プロバイオティクス)を統合オミクス解析により探索し、肥満症治療への可能性を検証する事である。運動による体重減少効果の新たな分子機序を解明し、腸内細菌制御により運動を模倣する効果を再現できれば、肥満症治療に対する新たな変革をもたらす事が期待される。

3. 研究の方法

(1)運動に伴う腸内細菌の組成+機能解析と血中/褐色脂肪組織の代謝物解析の統合オミクス解析から、褐色脂肪組織のアミノ酸代謝を改善し得るプロバイオティクスを探索する

肥満症に対する減量手術前後のヒトの1,000種類に及ぶ網羅的な血中代謝物解析において、分岐鎖アミノ酸(BCAA: Branched Chain Amino Acids)が体重と強く正に相関する代謝物である事を同定した(*J Diabetes Investig*. 2021.)。続くマウスを用いた検討により、褐色脂肪組織において肥満の程度依存的にBCAA代謝の低下とBCAAの蓄積を認めた。この肥満により停滞したBCAA代謝を薬物的に亢進させた結果、熱産生能が亢進し、体重増加が有意かつ顕著に抑制された(*iScience*. 2021.)。これらの事は、褐色脂肪組織におけるBCAA代謝の低下が肥満形成の主要な要因である事、そしてBCAA代謝の低下は可逆的であり同代謝の回復により肥満が治療可能である事を示している。これらの研究基盤をもとに、『運動』によるダイエット効果は、肥満で低下した褐色脂肪組織のアミノ酸代謝を改善させる事が機序の一つなのであろうか？という疑問をいだいた。これを解決するために、肥満モデルマウスにトレッドミル装置を用いた運動負荷を行い、運動前後のアミノ酸の変化と腸内細菌の変化を解析する(図1)。図1のように、運動前後の血中な

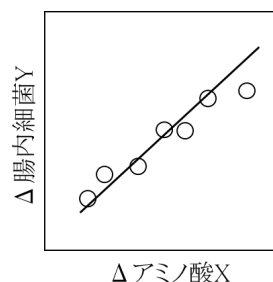


図1 運動前後のアミノ酸変化と腸内細菌変化の相関

らびに褐色脂肪組織のアミノ酸の変化と腸内細菌の変化の相関を解析し、正または負に強く相関するアミノ酸と腸内細菌を抽出する。この中から研究代表者がもつこれまでのデータや腸内細菌の持つ機能なども考慮し、運動によるダイエット効果を説明し得るアミノ酸と腸内細菌のセットを5つ選択する。

(2)(1)で探索したプロバイオティクスを肥満モデルマウスに投与する動物実験

5つ程度に絞った腸内細菌は、直接的に褐色脂肪組織の特定のアミノ酸を制御している可能性がある。そこで食餌性肥満モデルマウスに5つの菌を週5回、 1×10^9 個それぞれ経口投与し、褐色脂肪組織の代謝が運動負荷と同じように変化するのか、体重変化がどうなるのか、を評価する。加えて、食餌量、肥満関連パラメータである耐糖能、脂質プロファイル、白色脂肪ベージュ化、骨格筋量・インスリン抵抗性、脂肪肝の程度といった付随効果も解析する。

(3)(2)で効果を認めた腸内細菌が褐色脂肪組織のアミノ酸代謝を変える機序の解明研究

(2)で得られた結果から運動と同等の効果を褐色脂肪組織に与える腸内細菌とアミノ酸のセットを1つに絞り、褐色脂肪組織でのアミノ酸代謝応答やその適応の決定因子となる運動条件を詳細に検討しながら、なぜその腸内細菌が褐色脂肪組織のアミノ酸代謝を制御し得るのかについて、同菌自体がもつ機能に加え、その菌を投与した時に起こり得る菌叢全体の機能変化や代謝物変化を含めて解明を試みる。研究代表者/研究分担者は、特定の腸内細菌が褐色脂肪組織の炎症を抑制する事で BCAA 代謝を維持する仕組みを報告しており (*iScience*. 2021.)、引き続き褐色脂肪組織の免疫-代謝連関に着目しながら、このメカニズムの解明を進めたい。

以上の研究実施により、効果の全貌が未だ解明されていない『運動』に科学的エビデンスを付加し、腸内細菌制御により運動と同等の代謝改善効果を褐色脂肪組織に与える事を目指し、増加する肥満症の予防が期待される。なお、仮説通りに実験が進まない場合には、本質的な問題点をしっかりととらえ、方針を変更して、目的を達成するための根本的な疑問を解決するヒト腸内細菌叢の研究に変更する可能性がある。

4. 研究成果

肥満モデルマウスにトレッドミル装置を用いた運動負荷を行った。結果は、今回の実験では運動が肥満に影響せずに、それ以上の解析は困難であった。従って、運動を再現できる候補の菌を絞り込むことはできなかった。

仮説通りにいかなかったので、当初の研究計画を変更した。一つ目は、以前に機能性を発揮することを報告した *Bacteroides* 菌の肥満抑制効果に着目して、その詳細な機序の解明を目指した。二つ目は、ヒトの特に高齢者のやせた方の菌叢の解析とその特徴を捉えるための研究を実施した。

動脈硬化予防効果菌として報告した *Bacteroides vulgatus* と *Bacteroides dorei* をプロバイオティクスとして経口で高脂肪食負荷による肥満モデルマウスに投与することで、肥満を抑制することがわかり、さらに分枝鎖アミノ酸 (BCAA) 代謝を改善していることが判明した。詳細な機序を解明する動物実験を進め、*Bacteroides* 菌投与時に、褐色脂肪細胞の BCAA 代謝代謝への影響し、活性化させていることがわかり、運動で起きている熱産生を再現していることが示された。

この機序をさらに探索すると、BCAA 代謝経路の中で、TCA サイクルに向かう途中の分枝鎖ケト酸 (BCKA) を代謝する酵素、分枝鎖ケト酸脱水酸化酵素 (BCKDH) が、肥満状態ではリン酸化されて、不活化状態になっていることがわかり、それが血液中でも、褐色脂肪細胞内でも、肥満で BCKA が上昇している原因であることがわかった (図 2)。すなわち、肥満では、この酵素の不活化で代謝が停滞し、TCA サイクルにエネルギーとして入っていかない状態で、細胞機能の低下 (熱産生能力の低下) につながると考えられた。

そして、*Bacteroides* 菌投与によって、この BCKDH のリン酸化が解消し、酵素の活性化とともに、BCKA の濃度が低下し、代謝が正常化することが判明した。

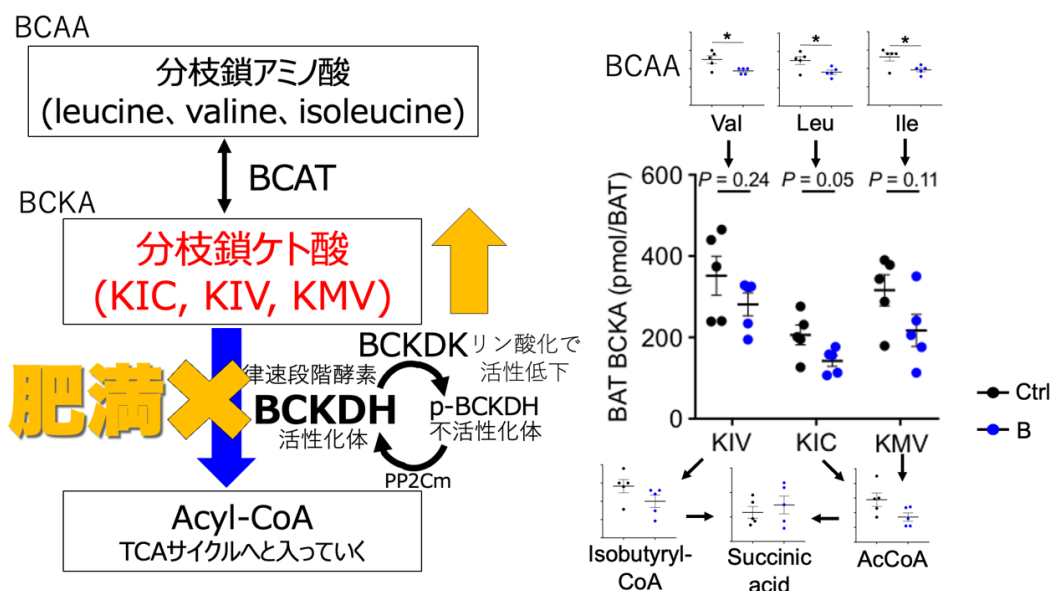


図2 肥満状態では、その代謝酵素BCKDHの不活化により代謝がそこで停滞し、褐色脂肪細胞 (BAT) 内での分枝鎖アミノ酸BCKAの濃度上昇が認められた。

以上のように、肥満でのアミノ酸代謝異常と、菌投与によるその解消を示し、運動の代替にはならないが、体重減少効果を示す腸内細菌制御による肥満症治療法の可能性を示すことができた。

そして、最終年度には当初の予定の中に提示した、仮説通りに進まない場合のオプション研究を実施した。ヒトの腸内細菌叢研究の Big Data (マクロバイオーム検査を手がける企業の持つデータベース) を利用した、“肥満”と“やせ”に関わる調査を実施した。

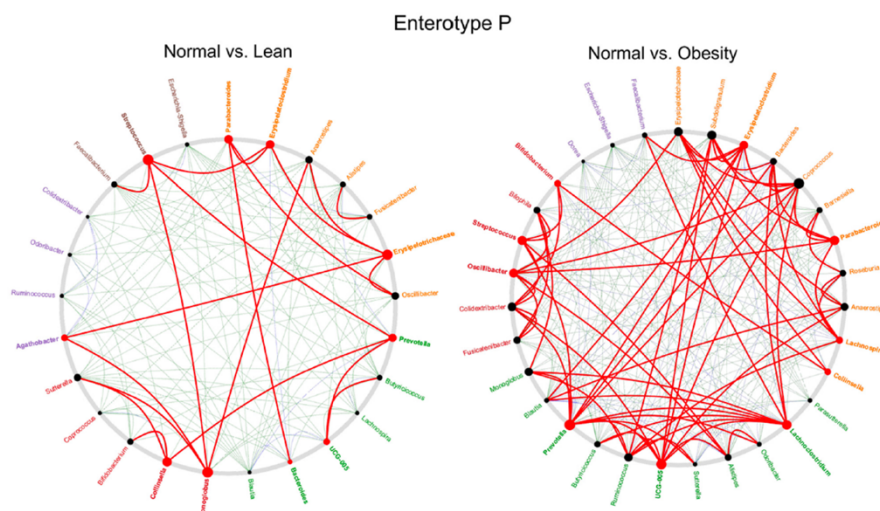


図3 腸内細菌叢プレボテラ (P) 型のヒトでは、肥満や正常体重の方に比較して、やせた人では、菌と菌の関係性が低いことが示された。

年齢及び Body Mass Index (BMI) で 9 つに層別化した健康な日本人の平均的な腸内細菌叢を解明した。さらに、腸内細菌-腸内細菌間の相互作用が、年齢及び BMI 毎に異なることが示唆された。

https://www.kobe-u.ac.jp/research_at_kobe/NEWS/news/2022_01_05_01.html

このデータを参考に、さらに解析を進め、高齢者の“やせ”で菌叢ネットワークの密度が低い（＝菌同志の関連性が低い）ことが観察されました（図 3）。

さらに、シミュレーションに基づく安定性解析の結果、やせで安定性の指標が低い（＝時間経過とともに変化しやすい）ことが明らかとなりました（図 4）。

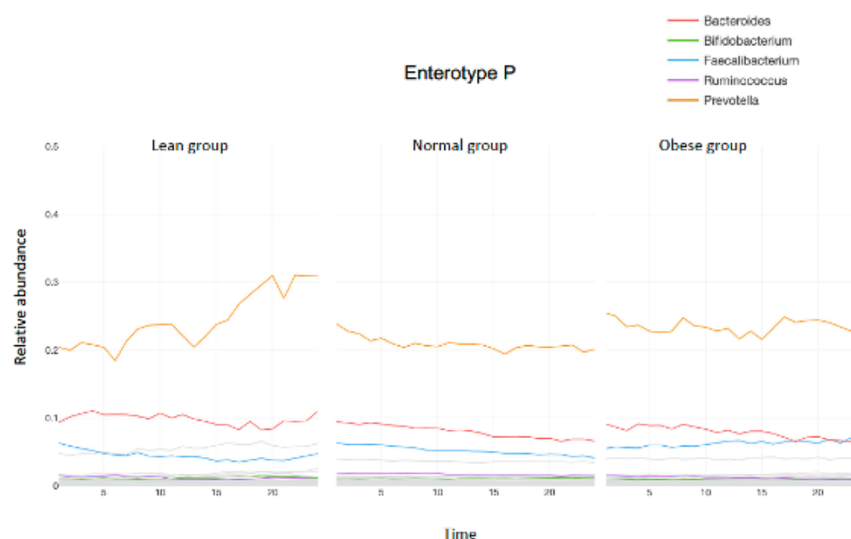


図4 やせた人では、時間経過と共に、菌の変化が大きいことが示された。

A. 考察・展望

最近の、運動が腸内細菌叢に与える影響を調査した複数の論文報告を見ると、一定の傾向はない結果であると解釈できる。そして、研究方法を詳細に見ると、運動の種類が一定ではなく、急激な運動・継続した運動・レジスタンス運動などがさまざま、腸内細菌への影響と結果としての菌叢変化が異なる原因かもしれない。研究・実験の実施、データの解釈の際に注意が必要と考えた。

これらの基盤となるヒトデータをもとにして、どのような介入が可能なのか？望ましいのか？という考えで研究を進め、運動の代替になる菌への介入方法や、やせ・肥満に対する介入方法の開発に繋げる研究を継続して実施する方針である。

B. 成果論文

Watanabe S, Yoshida N, Baba K, et al. Gut microbial stability in older Japanese populations: insights from the Mykinso cohort. *Biosci Microbiota Food Health*. 2024; 43: 64-72.

Yoshida N, Watanabe S, Yamasaki H, et al. Average gut flora in healthy Japanese subjects stratified with age and body mass index. *Biosci Microbiota Food Health*. 2022; 41: 45-53.

Yoshida N, Yamashita T, Osone T, et al. *Bacteroides* spp. promotes branched-chain amino acid catabolism in brown fat and inhibits obesity. *iScience*. 2021; 24: 103342.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Watanabe S, Yoshida N, Baba K, Yamasaki H, Shinozaki NO, Ogawa M, Yamashita T, Takeda AK.	4. 巻 43
2. 論文標題 Gut microbial stability in older Japanese populations: insights from the Mykinso cohort.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biosci Microbiota Food Health.	6. 最初と最後の頁 64-72
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.12938/bmfh.2022-047	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 Yoshida N, Ogawa M, Nakai M, Kanaoka K, Sumita Y, Emoto T, Saito Y, Yamamoto H, Izawa KP, Sakai Y, Hirota Y, Ogawa W, Iwanaga Y, Miyamoto Y, Yamashita T, Hirata K.	4. 巻 12
2. 論文標題 Impact of body mass index on in-hospital mortality for six acute cardiovascular diseases in Japan.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 18934
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-23354-y	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 Yoshida N, Watanabe S, Yamasaki H, Sakuma H, Takeda KA, Yamashita T, Hirata K.	4. 巻 41
2. 論文標題 verage gut flora in healthy Japanese subjects stratified with age and body mass index.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biosci Microbiota Food Health.	6. 最初と最後の頁 45-53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.12938/bmfh.2021-056.	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 山下 智也, 吉田 尚史, 平田 健一	4. 巻 66
2. 論文標題 Microbiomeと心血管系疾患	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 臨床検査	6. 最初と最後の頁 1346-1351
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11477/mf.1542203170	査読の有無 無
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 山下 智也，平田 健一	4．巻 31
2．論文標題 腸内細菌と循環器疾患	5．発行年 2022年
3．雑誌名 循環器専門医	6．最初と最後の頁 63-70
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1253/jjcsc.31.0_63	査読の有無 無
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2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1．発表者名 山下智也
2．発表標題 Possibility of clinical application of gut bacterial examination and live biotherapeutic products for cardiovascular diseases
3．学会等名 第88回 日本循環器学会学術集会
4．発表年 2024年

1．発表者名 山下智也
2．発表標題 腸から動脈硬化を予防する
3．学会等名 第23回日本抗加齢医学会総会
4．発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1．著者名 山下 智也，江本 拓央，斉藤 克寛，吉田 尚史，平田 健一	4．発行年 2022年
2．出版社 医学図書出版	5．総ページ数 62
3．書名 ICUとCCU	

〔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	山下 智也 (Yamashita Tomoya) (90437468)	神戸大学・科学技術イノベーション研究科・教授 (14501)	

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