

平成 29 年 5 月 18 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350154

研究課題名(和文)健康寿命の高い静岡県民の緑茶、柑橘、魚、大豆製品等の日本型食生活と腸内環境の関連

研究課題名(英文) Relationships between human gut microbiota, dietary intakes of soy past products and green tea and health promotion among Shizuoka people with the highest healthy aging

研究代表者

栗木 清典 (KURIKI, Kiyonori)

静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授

研究者番号：20543705

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：次世代シーケンサーによる腸内細菌叢の種レベルの測定データを栄養疫学研究に適用できることを確認した後、前立腺や乳房のがんの一次予防に役立っているため、大豆イソフラボンであるダイゼインをエコールに代謝する腸内細菌の四季毎の保菌率と、その季節変動を明らかにした。

肥満予防による健康長寿では、内臓脂肪面積とBMIに対する緑茶摂取の関連には、季節変動があり、かつ、時間栄養学的な影響もあることを明らかにした。今後、がん検診や健康診断時で、腸内細菌叢の測定や、緑茶摂取の勧奨の有用性を評価していきたい。

研究成果の概要(英文)： Bacterial species in human gut microbiota, which are analyzed by a next-generation genome sequencer, revealed to be available to apply in epidemiologic studies. To make use of cancer prevention method on the prostate and breast, this study showed each proportion of carriers with bacteria species, but not genus, on the metabolism of soy isoflavone daizein to equol, and their seasonal variations in Japanese men and women.

This study also demonstrated that there were both seasonal variations and chrono-nutritional effects on negative relationships between green tea intake and the two types of obesity on body weight and visceral fat, especially in Shizuoka men and women with the highest levels of healthy aging and lower rates of obesity. For preventing obesity and longevity of health expectancy, the findings may be thought to be available to advice when and how much to take green tea.

研究分野：栄養疫学

キーワード：腸内環境 健康長寿 がん予防 肥満予防 大豆製品 緑茶 季節変動 時間栄養学

1. 研究開始当初の背景

「ヒト腸内環境」において、有用な菌は、抗炎症作用関連因子、抗酸化物質、遺伝的な素質の発現に影響を及ぼす因子を産生する。一方、有害な菌は、エネルギー代謝を介した遺伝子の制御不能を来すだけでなく、神経系や免疫系に悪影響を及ぼして DNA を変異させる物質を産生する。

そのため、2008年、第2のヒトゲノムとして、「ヒト腸内常在菌ゲノム」の国際コンソーシアム(米国、カナダ、イギリス、フランス、オーストラリア、日本、中国など)により、最小限のヒト腸内細菌叢(human gut microbiota: HGM)の菌がカタログ化された(引用文献:)。どの菌が腸管の恒常性維持や腸の免疫機能に重要で、健康増進や生活習慣病の予防に参与しているのか、一方、どの菌が破綻させているか、検討し始めた。

しかし、そのプロジェクトは HGM の各種の菌のゲノムを解明することが目的であって、HGM の「生存環境」に大きな影響を及ぼす食事などの食生活習慣や、性、年齢、健診データ(肥満度、血圧、血液生化学など)、遺伝子多型(第1のヒトゲノム)などの宿主要因との関連については十分に検討していない()。

2. 研究の目的

欧米諸国と比較して、日本人の緑茶、魚、大豆製品の摂取量は多く、肥満や糖尿病の有病率は低いので、国際的に、日本型食生活は、健康的な食生活として注目されている。しかし、「腸内環境」に影響を及ぼす食生活習慣との関連はほとんど検討されておらず、健診データ(肥満度や血清脂質など)や宿主の遺伝子多型と HGM の関連は検討されていない。

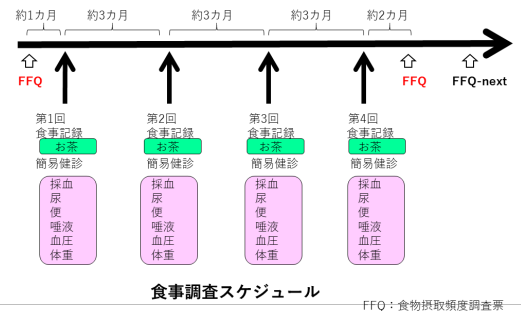
そこで、健康寿命の高い静岡県民を対象とした本研究により、

- (1) HGM について、性、世代、日本人の特性(宿主要因)、食事の特色(季節変動)、および、健診(身体計測、血液検査、尿検査など)との相互関連を明らかにして、
- (2) 健診時、日本型食生活を評価するバイオマーカーとして HGM を用いることを目指すとともに、
- (3) 日本型食生活の有用性を世界にアピールする。

3. 研究の方法

本学(J-MICC Sakura Diet Studyと命名)の研究倫理審査委員会の承認後、健康寿命の高い静岡県民に口頭・文章で研究内容を説明し、91人(複数の事業所勤労者や大学近隣の住民)から研究参加の同意を得た。この研究参加者は、日本多施設共同コホート(J-MICC)研究の対象者[男女別の3年齢群(25-34歳、35-49歳、50-69歳)であり、かつ、図中の厚労省研究班の「FFQ_next」の協力者()である26人を含んでいる。

- (1) 四季毎に、3日間の秤量法食事記録(3d-DR)、簡易健診[body mass index (BMI)、体脂肪率、内臓脂肪面積(VFA)等の肥満指標、血圧などの計測]を行い、血液、尿や便の試料、実際に飲用した緑茶試料、各種の調査票による資料を収集した(図)。



なお、第1と4回の3d-DRの前後に、科学的に妥当性のある食物摂取頻度調査票(FFQ:)と生活習慣調査票(飲酒、喫煙、運動、ストレス、現病・既往歴など)を用いた調査を行った。

- (2) 四季毎の食品・栄養素の摂取量、健診データ、HGM、ヒト遺伝子多型をデータベース化し、相互関係を統計学的に解析した。本研究では、緑茶、柑橘、魚、大豆製品などの日本型食生活との関連を検討した。
- (3) HGM を用いた「日本型食生活による生活習慣病の予防方法」の健診への導入を検討し、その成果を情報発信(ホームページなどでの公表を含む)する。

4. 研究成果

- (1) 従来の放射線被爆を伴う高額な腹部X線CT検査とは異なり、新規測定法として、腹部局所のインピーダンス法によるVFA測定計(体脂肪計ではない)で、健康寿命の高い静岡県民の腹囲とVFAを同時に測定し、緑茶などとの関連を検討した。その結果、季節にかかわらず、緑茶摂取に、腹囲と有意な負の偏相関($r = -0.25 \sim -0.29$)が、冬季と夏季で、BMI ($r = -0.28, -0.21$)とVFA ($r = -0.23, -0.24$)に有意な負の関連がみられた。

MANOVAにより交絡要因で調整すると、緑茶飲用の多い者で腹囲が低く、BMIでは低い傾向にあることが示唆された。

- (2) 腸内環境の測定は、当初の計画どおりterminal restriction fragment length polymorphismでHGMの各種の菌を属レベルで測定したが、時代の流れから、次世代シーケンサー(NGS)にて種レベルで測定し直した。この時、NGSによる種レベルの測定に関する精度管理の報告がなかった

ことから、NGS による HGM 測定の個人間変動と個人内変動、および、季節変動を要約し、栄養疫学研究への適用を確認した()。

- (3) メタボリックシンドロームの一次予防において、青魚に高含有の n-3 高度不飽和脂肪酸 (n-3 HUFA : EPA や DHA など) による VFA の減少の効果は明らかにされていない。本研究より、VFA に対し、赤血球膜 (RBC) の n-3HUFA 濃度は四季で一貫性のある関連をみいだせなかったが、冬に、有意な負の関連にあり、RBC 飽和脂肪酸濃度は有意な正の関連にあることを見出した。

よって、VFA を効果的に減らすには、冬に RBC_n-3HUFA 濃度を増加し、一方で、RBC_飽和脂肪酸濃度減少させる必要があると考えられた。

- (4) 前立腺や乳房の一次予防として大豆製品摂取を勧奨することと、がん検診で HGM 測定を導入することを考慮して、抗エストロゲン作用のある大豆イソフラボンのダイゼインをエコールに代謝する HGM の菌の同定と日本人の保菌率について検討した。文献検索システムによるシステムティックレビュー () によりエコールへの代謝産生菌を定義し、四季毎に、対象者の保菌率と、その季節変動を明らかにした。

なお、保菌者と非保菌者の大豆製品の摂取量に違いはみられなかったことから、エコール代謝産生菌の有無と大豆製品の摂取量に関連はないことを明らかにした。

- (5) 正常体重の対象者の VFA、BMI と腹囲に対する緑茶摂取との関連における季節変動を検討したところ、緑茶フラボノイドのカテキンやカフェイン摂取 (緑茶試料による実測値) とそれらの肥満指標に負の関連があることを見出した。それらの指標だけでなく、緑茶飲用にも季節変動があり、相互関連は季節による影響を受けることを明らかにした。

時間栄養学的な検討より、午前または午後の時間の飲用で、肥満予防の効果が期待できることを示唆した。また、食前の緑茶飲用を介した緑茶フラボノイド摂取は、正常値の範囲内で、インスリン濃度の上昇による血糖値の上昇の抑制、除脂肪 (筋肉) における、インスリン抵抗性の抑制が期待できることを示唆した。

- (6) 食事を含む生活習慣要因による血清 LDL-C 濃度の推定式は確立されていない。そこで、ジャポニカアレイ () で実際に測定した約 66 万 SNPs から、科学的エビデンスに基づいて 77SNPs を選出して検討したところ、4 SNPs を考慮することで、炭水化物と食物繊維、エネルギー、エタノール摂取量で負に関連する血清 LDL-C 濃度の推

定式を確立できた。

FFQと四季3d-DRで検討した式は季節の影響により同じではなかった。しかし、血清 LDL-C 濃度管理の効果を実測できると考えると、年に 1 回の健康診断・人間ドックで FFQ に回答すれば、その FFQ による血清 LDL-C 濃度の推定値を食事指導に活用できると。よって、効率的な血清 LDL-C 濃度管理および食事指導の評価を確立できるのではないかと期待している。

<引用文献>

Qin J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 2010, 464, 59-67.

Zhao L. Genomics: The tale of our other genome. *Nature*, 2010, 465, 879-80.

Ishii Y, Goto C (6/33), Kuriki K (18/33), et al. *J Epidemiol*. 2017. pii: S0917-5040(17)30022-9. doi: 10.1016 /j.je.2016.08.008.

Tokudome S, Goto C (2/6), et al. Development of a data-based short food frequency questionnaire for assessing nutrient intake by middle-aged Japanese. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2004, 5, 40-3.

Hisada T, Kuriki K (3/3), et al. Inter- and intra-individual variations in seasonal and daily stabilities of the human gut microbiota in Japanese. *Arch Microbiol*, 2015, 197, 919-34.

Sugiyama Y, et al. Influence of isoflavone intake and equol-producing intestinal flora on prostate cancer risk. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14, 1-4.

Kawai Y, et al. Japonica array: improved genotype imputation by designing a population-specific SNP array with 1070 Japanese individuals. *J Hum Genet*, 2015, 60, 581-7.

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

Hisada T, Endoh K, Kuriki K. Inter- and intra-individual variations in seasonal and daily stabilities of the human gut microbiota in Japanese. *Arch Microbiol*, 2015, 197, 919-34. (査読あり) doi: 10.1007/s00203-015-1125-0.

Ishii Y, Ishihara J, Takachi R, Shinozawa Y, Imaeda N, Goto C, Wakai K, Takahashi T, Iso H, Nakamura K, Tanaka J, Shimazu T, Yamaji T, Sasazuki S, Sawada N, Iwasaki M, Mikami H, Kuriki K, Naito M, Okamoto N, Kondo F, Hosono S, Miyagawa N, Ozaki E, Katsuura-Kamano S,

Ohnaka K, Nanri H, Tsunematsu-Nakahata N, Kayama T, Kurihara A, Kojima S, Tanaka H, Tsugane S. Comparison of weighed food record procedures for the reference methods in two validation studies of food frequency questionnaires. *J Epidemiol.* 2017. pii: S0917-5040(17)30022-9. (査読あり) doi: 10.1016/j.je.2016.08.008.

〔学会発表〕(計 14 件)
(口頭)

久田貴義, 遠藤 香, 栗木清典. ヒト腸内常在菌プロファイルの個人間変動および個人内変動, 第 68 回日本栄養・食糧学会大会 (札幌市教育文化会館 大ホール他, 北海道・札幌市), 要旨集 p173, 2014 年 5 月.

山田良明, 後藤百合香, 白井禎朗, 川口晋平, 遠藤 香, 栗木清典. 写真法による食事調査の精度に関するシステムティックレビュー, 第 3 回日本栄養改善学会東海支部会学術総会 (鈴鹿医療科学大学, 三重県・鈴鹿市), 要旨集 p26, 2014 年 6 月.

遠藤 香, 松井祐司, 竹下尚男, 片嶋充弘, 安永浩一, 栗木清典. 静岡県在住成人の茶摂取量の個人内および個人間変動, 第 73 回公衆衛生学会 (栃木県文化総合センター, 栃木県・宇都宮市), 要旨集 p580, 2014 年 11 月.

Kuriki K, Endoh K, Matsui Y, Takeshita M, Yasunaga K, Takashima M, Goto C. Seasonal variations in associations between bioelectrical impedance analysis-measured visceral fat area and diet. 第 25 回日本疫学会学術総会 (ウインク愛知, 愛知県・名古屋市), 要旨集 p252, 2015 年 1 月.

稲井茅乃, 中瀬 翠, 森山早咲, 白井禎朗, 山田良明, 烏 仁, 遠藤 香, 栗木清典. n-3 系硬度不飽和脂肪酸摂取による体重減少に関するシステムティックレビュー, 第 4 回日本栄養改善学会東海支部会学術総会 (名古屋文理大学, 愛知県・稲沢市), 要旨集 p43, 2015 年 6 月.

森山早咲, 中瀬 翠, 稲井茅乃, 白井禎朗, 山田良明, 烏 仁, 遠藤 香, 栗木清典. 腸内細菌叢と食事, BMI の関連についてのシステムティックレビュー, 第 4 回日本栄養改善学会東海支部会学術総会 (名古屋文理大学, 愛知県・稲沢市), 要旨集 p45, 2015 年 6 月.

栗木清典, 遠藤 香, 後藤千穂: 大豆イソフラボンを代謝する human gut microbiota と大豆製品摂取の関連, 第 62 回日本栄養改善学会学術総会 (福岡国際会議場・福岡サンパレスホテル, 福岡県・福岡市), 要旨集 p241, 2015 年 9 月.

山田良明, 白井禎郎, 遠藤 香, 栗木清典. 食事画像の局所特徴量を用いて食

品・栄養素摂取量を推定する (ミニトマトの計測編), 第 62 回日本栄養改善学会学術総会 (福岡国際会議場・福岡サンパレスホテル, 福岡県・福岡市), 要旨集 p243, 2015 年 9 月.

松下衿子, 秋元 柊, 古田有佳梨, 中瀬 翠, 鈴木和香子, 烏 仁, 遠藤 香, 栗木清典. 肥満者の緑茶フラボノイド摂取による体重減少と維持に関するシステムティックレビュー, 第 5 回日本栄養改善学会東海支部会学術総会 (金城学院大学, 愛知県・名古屋市), 要旨集 p21, 2016 年 6 月.

秋元 柊, 古田有佳梨, 松下衿子, 中瀬 翠, 鈴木和香子, 烏 仁, 遠藤 香, 栗木清典. 東アジア人の血清 LDL-C 濃度に関する遺伝子多型のレビュー, 第 4 回日本栄養改善学会東海支部会学術総会 (金城学院大学, 愛知県・名古屋市), 要旨集 p24, 2016 年 6 月.

栗木清典, 遠藤 香, 後藤千穂. 肥満に対する腸内細菌叢と栄養摂取量の関連における季節変動, 第 63 回日本栄養改善学会学術総会 (リンクステーションホール青森他, 青森県・青森市), 要旨集 p243, 2016 年 9 月.

Kuriki K. Eating rate as obese risk and seasonal variation of abdominal fat, the 2016 International Congress on Obesity and Metabolic Syndrome in conjunction with the 45th Annual Scientific Meeting of the Korean Society for the Study of Obesity (ICOMES) (Seoul, Korea), Abstract p371, Sept 2016.

(ポスター)

Kuriki K, Endoh K, Hisada T, Kawaguchi S, Goto C. Dairy foods consumption, anthropometric characteristics and human gut *Bifidobacterium* and *Lactobacillales* in Japanese, 12th Asian Congress of Nutrition (Yokohama, Japan), Program p14, May 2015.

栗木清典, 遠藤 香, 後藤千穂. 内臓脂肪面積と赤血球膜中脂肪酸構成割合の関連における季節変動: J-MICC Sakura Diet Study, 第 27 回日本疫学会学術総会 (ベルクラシック甲府, 山梨県・甲府市), 要旨集 p93, 2017 年 1 月.

〔その他〕

ホームページ等

文部科学省科学研究費 新学術領域研究「生命科学系 3 分野支援活動」の助成による J-MICC Study (日本多施設共同コーホート研究): 特集「明日の J-MICC 研究を支えるフロントランナーたち」

連載 第 12 回: 「J-MICC 研究静岡・桜ヶ丘地区」 静岡県立大学食品栄養

科学部公衆衛生学研究室
<http://www.jmicc.com/feature/feature12/>

学会ニュースレター等

栗木清典, がん予防研究に貢献できる栄養疫学研究の展開 (Introduction of J-MICC Sakura Diet Study for cancer prevention), 日本がん予防研究学会 NEWS LETTER, 2016, No.89, p6.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

栗木 清典 (KURIKI Kiyonori)
静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授
研究者番号: 20543705

(2) 研究分担者

後藤 千穂 (GOTO Chiho)
名古屋文理大学・健康科学部・准教授
研究者番号: 90367855