

長寿医療研究開発費 平成28年度 総括研究報告

高齢者のフレイル状態と食生活・腸内フローラに関する研究（28-33）

主任研究者 木下 かほり 国立長寿医療研究センター フレイル研究部（特任研究員）

研究要旨

本研究の目的は、高齢者のフレイル状態と栄養摂取、腸内細菌叢との関連性を横断的・縦断的解析から検証することである。

今年度は登録された52例の対象者について横断的解析の結果をまとめた。フレイル10名、プレフレイル29名、ロバスト13名の3群で比較したところ、フレイル群では、毒素や発がん物質の産生による健康阻害や老化促進への影響について報告のある*E. coli*/*Shigella* 属の割合が高い傾向を示したが統計学的な差は認めなかった。一方で、健康維持や老化防止に良い働きを示すとされる*Bifidobacterium* 属、*Lactobacillus* 属の割合についてもフレイル群で高い傾向を示した。菌種の豊かさを示す simpson 指数について統計学的な差は得られなかったが、フレイルほど菌の豊かさは乏しくなる傾向であった。

今後は個々の症例に掘り下げて菌叢の特徴の違いを考察する必要がある。来年度は、縦断的な解析を行い、フレイル発生との因果関係について検証する予定である。また、菌群の特徴をより詳細にとらえるために、比較対象を「菌属」から「菌種」へより細分化した検証を行う。

主任研究者

木下 かほり 国立長寿医療研究センター フレイル研究部（特任研究員）

A. 研究目的

近年、要介護を予防する観点から高齢者におけるフレイルの問題が注目されている。フレイルの出現や増悪は、加齢そのもののみならず、食生活をはじめとした生活習慣や併存症の状態にも影響を受けることが考えられる。近年の研究結果から、食生活に伴う腸内細菌叢の状態によって炎症性サイトカイン発現の変動、さまざまな臓器障害や代謝障害を引き起こす可能性が指摘され、高齢者のフレイル状態と腸内細菌叢の関連性を示唆する報告もされている。

高齢者では心身機能の低下、生活環境の変化が要因となり、食品確保の問題や摂取食品の偏りから食の多様性を失い、栄養に伴う体内環境の変化から健康障害やフレイル状態

を招く可能性が考えられる。しかしながら、生活機能、食事摂取、身体機能、認知機能、液性因子を腸内細菌叢の状態とともに体系的に評価した研究はほとんどなく、食多様性や食環境が可変的な要素であることを踏まえると、フレイルの進行を予防できる手立てとなりうる。そこで、本研究の目的は、高齢者のフレイル状態と栄養摂取、腸内細菌叢との関連性を横断的・縦断的解析から検証することとした。

B. 研究方法

国立長寿医療研究センター、ロコモ・フレイル外来および老年内科を受診する 65 歳以上の自力歩行可能（杖使用可）で通院できる高齢者を対象にする。横断的調査では、腸内細菌層と食事摂取（栄養素、食品群、多様性）の関連性、および、フレイル、サルコペニア、低栄養との関連性を調査する。縦断的調査では、腸内細菌層および食事摂取とフレイル状態の変化、要介護や死亡発生との関連を調査する。

（倫理面への配慮）

本研究は、国立長寿医療研究センター倫理・利益相反審査委員会の審査を受け、承認を受けて行った。対象者には研究の内容、方法、研究参加によるリスク・ベネフィットについて文章で十分に説明し、書面における同意を取得した。

C. 研究結果

（1）フレイル状態の有無と摂取栄養素の比較を行った。

対象者は、ロコモ・フレイル外来および老年内科を受診した 65 歳以上の高齢者 130 名で、J-CHS 基準によるフレイル評価、MNA-SF による栄養状態評価、簡易型自記式食事履歴問票による栄養素摂取量調査を行った。食事調査の過大申告または過少申告が疑われた 6 名を除外して解析した。はじめに、フレイル別に 2 群を比較した。次に、各種栄養素の摂取量について、日本人の食事摂取基準 2015 年版の基準に基づいて不足の有無を評価し、それぞれの栄養素の摂取不足ありについて、フレイル有に対するロジスティック回帰分析を行った。対象者の平均年齢は 79.6 ± 6.3 歳（男性 45 名、36.3%）で、32 名（25.8%）がフレイルであった。フレイル群と非フレイル群において、MNA-SF、BMI には差を認めなかった（フレイル、非フレイルの順に、MNA-SF（点）： $12.0[10.5-13.3]$ 、 $12.0[11.0-13.0]$ 、BMI (kg/m^2)： $22.2[20.0-26.1]$ 、 $22.0[19.2-24.2]$ ）。食品群別摂取量では、フレイル群において野菜類の摂取量が低い傾向を示し、果物類の摂取量が有意に低かった。栄養素の摂取量では、エネルギー摂取量には差がなく（フレイル、非フレイルの順に、 $1739.9[1368.2-2133.3]$ 、 $1963.3[1538.5-2454.4]$ 、 $p=.064$ ）、フレイル群において植物性タンパク質の摂取量が有意に低かった（フレイル、非フレイルの順に、 $27.4[22.7-34.3]$ 、 $34.2[25.1-40.1]$ 、 $p=.015$ ）。各種栄養素の不足とフレイル有に対するロジスティック回帰分析の結果から有意な関連性を認めたものは（年齢・性別・BMI で補正）、[ORs (95%CI), Cu: 6.09 (1.58-23.5), Mn: 2.58

(1.07-6.24), VA: 2.57 (1.06-6.21)] であった。また、フレイル群の食物摂取の傾向として特徴的であったのは、納豆、きのこ、コーヒーの摂取が非フレイル群に比べて低値を示したことであった。

フレイル群では、抗酸化に作用する栄養素の摂取量が低く、また、腸内フローラに影響し得る、野菜類、果物類、特に納豆、きのこの摂取量が低かった。

(2) フレイル別の腸内細菌の特徴を横断的に比較した。

登録された 52 例の対象者についてベースライン時のフレイル評価では、フレイル 10 名 (年齢 83 [78.5-91.0] 歳)、プレフレイル 29 名 (年齢 79.0 [76.5-83.5] 歳)、ロバスト 13 名 (年齢 77.0 [70.0-80.5] 歳) であった。身体機能、栄養状態、気分に関する評価はフレイル群で有意に低下していたが、認知機能、社会性については統計学的な差を認めなかった。

対象者から検出された菌の種類は、属レベルでは 431 種類が検出され、種レベルでは 2531 種類が検出された。

3 群における菌群について、門レベルで比較したところ有意な傾向は得られなかった。

毒素や発がん物質の産生による健康阻害や老化促進への影響について報告のある *E. coli*/*Shigella* 属の割合について、フレイル群で高い傾向を示したが統計学的な差は認めなかった (フレイル: 0.13 [0.02-2.38]%, プレフレイル: 0.02 [0.0-0.98]%, ロバスト: 0.01 [0.0-0.12]%, $P=0.084$)。一方で、健康維持や老化防止に良い働きを示すとされる *Bifidobacterium* 属、*Lactobacillus* 属の割合についてもフレイル群で高い傾向を示した (フレイル: 8.35 [0.34-20.51], プレフレイル: 3.59 [0.52-9.38], ロバスト: 3.91 [1.01-13.49], $P=0.584$)。菌種の多様性を示す simpson 指数について統計学的な差は得られなかったが、フレイルほど菌の多様性は乏しくなる傾向であった (フレイル: 0.96 [0.93-0.98], プレフレイル: 0.96 [0.95-0.97], ロバスト: 0.98 [0.96-0.98], $P=0.296$)。

基本背景

| | | Frail (n=10) | | | Pre-Frail (n=29) | | | Robust (n=13) | | | P-value |
|--------|----------------------|-----------------|------|------|---------------------|------|------|------------------|------|------|------------------|
| | | Median | 25% | 75% | Median | 25% | 75% | Median | 25% | 75% | |
| Age | (yrs) | 83.0 | 78.5 | 91.0 | 79.0 | 76.5 | 83.5 | 77.0 | 70.0 | 80.5 | .034 |
| BMI | (kg/m ²) | 21.3 | 19.7 | 24.3 | 22.6 | 19.9 | 24.5 | 23.4 | 21.8 | 25.7 | .253 |
| WS | (m/sec) | 0.8 | 0.6 | 1.0 | 1.1 | 0.9 | 1.2 | 1.3 | 1.1 | 1.5 | <.0001 |
| TUG | (sec) | 13.0 | 10.1 | 16.8 | 8.7 | 7.0 | 11.0 | 6.5 | 6.1 | 8.3 | <.0001 |
| 5CS | (sec) | 14.2 | 11.0 | 16.9 | 10.2 | 8.5 | 12.0 | 7.9 | 6.4 | 11.4 | .004 |
| RSST | (times) | 4.0 | 3.5 | 6.0 | 4.0 | 3.0 | 4.8 | 6.0 | 4.5 | 7.0 | .019 |
| LSNS-6 | (pts) | 12.5 | 8.0 | 17.5 | 14.0 | 9.5 | 18.5 | 16.0 | 13.0 | 20.0 | .298 |
| KCL | (pts) | 11.5 | 9.8 | 13.3 | 6.0 | 3.5 | 9.0 | 2.0 | 0.5 | 4.0 | <.0001 |
| MMSE | (pts) | 27.0 | 25.8 | 30.0 | 29.0 | 25.5 | 30.0 | 29.0 | 28.0 | 30.0 | .373 |
| GDS-15 | (pts) | 6.5 | 4.8 | 11.8 | 4.0 | 1.5 | 6.0 | 1.0 | 0.0 | 2.0 | <.0001 |
| MNA-SF | (pts) | 11.5 | 10.5 | 12.0 | 12.0 | 11.0 | 14.0 | 13.0 | 12.0 | 14.0 | .048 |

| | | Frail (n=10) | | | Pre-Frail (n=29) | | | Robust (n=13) | | | P-value | |
|------------------------------|-----|-----------------|-------|-------|---------------------|-------|-------|------------------|-------|-------|---------|--------|
| | | Median | 25% | 75% | Median | 25% | 75% | Median | 25% | 75% | ANOVA | Trend* |
| <i>Euryarchaeota</i> 門 | (%) | 0.00 | 0.00 | 0.16 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.13 | .790 | .790 |
| <i>Actinobacteria</i> 門 | (%) | 13.21 | 8.58 | 26.46 | 8.07 | 4.38 | 16.39 | 8.02 | 3.84 | 19.62 | .088 | .062 |
| <i>Bacteroidetes</i> 門 | (%) | 7.91 | 2.28 | 11.49 | 4.80 | 2.71 | 10.38 | 4.80 | 3.73 | 10.63 | .880 | .774 |
| <i>Chloroflex</i> 門 | (%) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | .601 | .627 |
| <i>Cyanobacteria</i> 門 | (%) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | .598 | .667 |
| <i>Deinococcus-Thermus</i> 門 | (%) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | .315 | .215 |
| <i>Firmicutes</i> 門 | (%) | 72.03 | 60.32 | 82.19 | 78.58 | 71.34 | 88.13 | 79.31 | 64.27 | 86.52 | .124 | .312 |
| <i>Fusobacteria</i> 門 | (%) | 0.00 | 0.00 | 0.08 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.04 | .091 | .211 |
| <i>Lentisphaerae</i> 門 | (%) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | .406 | .438 |
| <i>Proteobacteria</i> 門 | (%) | 0.76 | 0.10 | 6.50 | 0.85 | 0.19 | 2.93 | 0.48 | 0.22 | 1.79 | .849 | .606 |
| <i>Saccharibacteria_TM</i> 門 | (%) | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | .975 | .675 |
| <i>Synergistetes</i> 門 | (%) | 0.00 | 0.00 | 0.06 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | .295 | .374 |
| <i>Tenericutes</i> 門 | (%) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.04 | 0.00 | 0.00 | 0.05 | .609 | .235 |
| <i>Verrucomicrobia</i> 門 | (%) | 0.01 | 0.00 | 0.19 | 0.01 | 0.00 | 0.18 | 0.00 | 0.00 | 1.16 | .807 | .946 |

共分散分析・性別、年齢で調整。*:Jonckheere-Terpstra test

食品群と菌群の関連性

| | 穀類 | いも類 | 砂糖・甘味料類 | 豆類 | 緑黄色野菜 | その他の野菜 | 果実類 | 魚介類 | 肉類 | 卵類 | 乳類 | 油脂類 | 菓子類 | 嗜好飲料類 | 調味料・香辛料類 |
|------------------------------|-------|-------|---------|-------|-------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------|-------|----------|
| <i>Euryarchaeota</i> 門 | -.045 | -.105 | .209 | -.169 | -.126 | -.229 | -.108 | -.045 | .101 | .132 | -.092 | .017 | -.188 | .026 | -.117 |
| <i>Actinobacteria</i> 門 | -.132 | -.109 | -.070 | -.067 | .099 | -.135 | .039 | -.071 | .074 | -.003 | .081 | -.074 | .133 | .232 | -.164 |
| <i>Bacteroidetes</i> 門 | .240 | -.215 | .037 | .046 | -.096 | -.111 | -.127 | -.142 | -.106 | .037 | .157 | -.083 | -.206 | -.081 | .057 |
| <i>Chloroflex</i> 門 | -.162 | -.133 | .252 | -.167 | -.163 | -.137 | -.080 | -.063 | -.089 | .056 | -.014 | .032 | -.149 | -.015 | .039 |
| <i>Cyanobacteria</i> 門 | -.001 | -.006 | -.087 | .155 | -.044 | .081 | .004 | -.066 | .134 | -.205 | .037 | .209 | .172 | -.063 | -.095 |
| <i>Deinococcus-Thermus</i> 門 | .134 | -.045 | -.089 | .005 | .175 | -.033 | .195 | .000 | .221 | .150 | -.056 | .258 | .292* | -.027 | -.088 |
| <i>Firmicutes</i> 門 | -.110 | .267 | .014 | .169 | .007 | .204 | -.010 | .165 | -.016 | -.052 | -.051 | .072 | .010 | -.190 | -.009 |
| <i>Fusobacteria</i> 門 | .108 | -.145 | .202 | -.135 | .063 | .019 | -.035 | -.124 | .042 | .155 | -.188 | -.074 | -.133 | -.032 | .033 |
| <i>Lentisphaerae</i> 門 | .053 | -.164 | .061 | -.246 | -.214 | -.231 | -.236 | -.148 | .103 | .101 | -.193 | .054 | -.151 | .034 | -.105 |
| <i>Proteobacteria</i> 門 | .210 | -.132 | .073 | -.247 | -.025 | -.029 | .089 | -.035 | .014 | .054 | -.121 | .105 | -.021 | .049 | .192 |
| <i>Saccharibacteria_TM</i> 門 | .016 | -.271 | .050 | -.202 | -.252 | -.324* | -.167 | -.100 | .006 | .102 | -.087 | .007 | -.198 | -.093 | .005 |
| <i>Synergistetes</i> 門 | -.141 | -.015 | .057 | -.067 | -.248 | -.127 | -.022 | -.106 | -.129 | -.040 | -.174 | -.157 | .100 | .084 | -.098 |
| <i>Tenericutes</i> 門 | -.262 | -.041 | .030 | .142 | -.105 | -.129 | -.002 | -.075 | .011 | -.084 | -.073 | -.129 | -.031 | .152 | -.024 |
| <i>Verrucomicrobia</i> 門 | -.016 | -.022 | -.183 | .028 | -.188 | -.138 | -.054 | -.143 | -.033 | .037 | -.132 | -.217 | -.053 | .069 | .157 |

Pearsonの相関分析。*:P<.05、**:P<.01

D. 考察と結論

検証(1)より、フレイル群では抗酸化に作用する栄養素の摂取量が非フレイル群に比べて低かった。酸化ストレスは老化促進因子として考えられており、それらのストレス除去に働くため抗酸化作用のある栄養素、およびファイトケミカルが注目を集めている。酸化ストレスの原因となる過酸化物質は、通常の呼吸により酸素を取り入れることによっても産生されると考えられており、適量では生体防御に働くなどの役割を担うが、過剰になると老化、発がんなど生体において悪影響を及ぼすとされている。身体的・心理的ストレスはその産生を助長することが知られ、これらはフレイルの要因と重なる。生体内における炎症反応も酸化ストレスの要因の一つであり、炎症亢進状態もまたフレイルの要因である。これらのことから、フレイル高齢者における特徴的な食生活が、フレイルの発生や進行に関与している可能性が考えられたが、縦断的な評価による因果関係の追求が必要である。

検証(2)より、フレイルで菌多様性が乏しい傾向にあり、いわゆる悪玉と表現されることので多い *E. coli/Shigella* 属の割合が高い傾向が示された一方で、善玉と表現される *Bifidobacterium* 属、*Lactobacillus* 属の割合も高い傾向であった。特に後者については、プロバイオティクスとして市販される食品に取り入れられていることが多く、本研究対象者の中に、日常的にこれらの機能性食品を摂取している者がいたことが結果に影響を与えている可能性があるが、詳細な分析はこれから行う予定である。メタゲノム解析が発展してきた近年では、善玉、悪玉といった表現について疑問視されるようになり、菌の多様性が重要であるといった考え方がなされるようになってきた。フレイル状態別に統計学的な差は得られなかったが、フレイルほど多様性が乏しい傾向であった。

今後は個々の症例に掘り下げて菌叢の特徴の違いを考察する必要がある。来年度は、縦断的な解析を行い、フレイル発生との因果関係について検証する予定である。また、菌群の特徴をより詳細にとらえるために、比較対象を「菌属」から「菌種」とし、より細分化した検証を行う。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

とくになし

2. 学会発表

1) Kaori Kinoshita, Shosuke Satake, Yasumoto Matsui, and Hidenori Arai

Association between Frailty and Micronutrients Insufficiency in Japanese Older

Outpatients. 7th International Conference on Frailty & Sarcopenia Research (ICFSR2018), March, 1-3, 2018, Miami Beach

2) 木下かほり、佐竹昭介. 高齢者のフレイル状態と摂取栄養素の関連性.

第 33 回日本静脈経腸栄養学会学術集会 2018.2.22-23 横浜

3) Kaori Kinoshita, Shosuke Satake, Kazuyoshi Senda, Young-Jae Hong, Hidetoshi Endo, Hidenori Arai.

New ESPEN diagnostic criteria for malnutrition predict 2-year mortality in Japanese geriatric outpatients. 3rd Asian Conference for Frailty and Sarcopenia, October 27-28, 2017, Korea

4) Kaori Kinoshita, Shosuke Satake, Yasumoto Matsui, Hidenori Arai, and Atsushi Harada.

Association between Frailty and Nutrient Deficiency in Japanese Older Outpatients. 3rd Asian Conference for Frailty and Sarcopenia, October 27-28, 2017, Korea

5) 木下かほり、佐竹昭介、千田一嘉、洪英在、遠藤英俊、荒井秀典.

欧州臨床栄養代謝学会 (ESPEN) 基準による低栄養診断の有用性. 第 4 回日本サルコペニア・フレイル学会 1017. 10. 14-15 京都

6) 木下かほり、松井康素、荒井秀典、佐竹昭介、千田一嘉、竹村真里枝、飯田浩貴、原田敦. ロコモ・フレイル外来における低栄養の割合とフレイルとの関連、生活背景の特徴.

第 59 回 日本老年医学会学術集会 2017.6.14-16 名古屋

7) 木下かほり 谷川隆久 川嶋修司 サブレ森田さゆり 小嶋紀子 服部加代子 本多由紀 富田沙希 志水正明 徳田治彦. 高齢糖尿病患者のサルコペニア・フレイル有病率と栄養評価の特徴. 第 60 回 日本糖尿病学会年次学術集会 2017.5.18-20 名古屋

8) Kaori Kinoshita, Shosuke Satake, Satomi Furuzono, Kazuyoshi Senda, Young-Jae Hong, Keiji Nishihara, Shuji Kawashima, Hidetoshi Endo, Hidenori Arai.

Malnutrition assessed by the new ESPEN consensus definition and frailty status by the CHS criteria in Japanese geriatric outpatients. 6th International Conference on Frailty & Sarcopenia Research(ICFSR2017) April 27-28, Barcelona, Spain.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし