

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19838

研究課題名（和文）慢性腎臓病の個別化予防実現へ向けたゲノム・メタボローム疫学研究

研究課題名（英文）Metabolome- and genome-wide profiling for prevention of chronic kidney disease in a population-based study

研究代表者

武林 亨（TAKEBAYASHI, Toru）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授

研究者番号：30265780

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：CE/MS法による尿中メタボローム測定信頼性評価は、血漿のメタボローム測定と比較してもCVは良好で、本測定系の再現性は高いと考えられた。  
ゲノム-メタボローム関連解析では、サンプルサイズが小さく、他方でゲノムとメタボロームの双方の変数が多いことから、多重比較調整のペナルティが非常に大きかったことから統計学的に有意な結果は得られなかったが、遺伝子-代謝物の関連の強さのランキングからは、これまでの知見が再現されていることが示唆される知見、さらに本研究に特異的だと示唆される知見が得られており、本研究を継続する意義は大きいと考えられた。腎機能とGWASの関連においても同様であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、ゲノムとメタボロームのマルチオミクス解析を地域在住者のコホート研究に適用し、その予防に資する代謝物と遺伝子多型の関連を探索的に検討する取り組みであった。本研究実施時点では、サンプルサイズの限界のために有意な結果は得られなかったが、鍵となる代謝物、遺伝子多型の関連の方向は検出されており、この研究での方法論の検討を経て、DNAアレイ解析を全コホート対象者に拡大することで、予防医学的に意味のある成果へとつながる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Measurement reproducibility of urine metabolomics by CE/MS was high enough. Although genome-metabolome association analysis did not show statistical significant results due to sample size reason, some key metabolites were found to be highly correlated with certain types of SNPs. Similar results were observed for GWAS analysis of kidney function. These results implies that increase in sample size, which is on-going up to 10000 samples, could lead to scientifically significant results with multi-omics approach of prevention of chronic kidney results.

研究分野：疫学、予防医学

キーワード：メタボローム疫学 個別化予防医療

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生活習慣病領域でのオーダーメイド予防医療の実現を目指し、生体内の代謝メカニズムを明らかにする手法として近年新たに着目されているのが、大規模コホートをを用いたメタボロームワイド関連解析である。血液や尿中の生体内低分子化合物を網羅的に測定するメタボローム解析は、遺伝要因と環境要因によって複雑に影響される生体内の代謝動態変化を鋭敏に把握するために有用であり、疫学分野においても、フラミンガム研究をはじめとして過去のコホートから重要な成果が出されつつある。しかしサンプリングや保存状態による測定誤差発生の制御が容易ではないため、メタボローム解析を適用した前向きコホート研究が必要と考え、2012年に鶴岡メタボロームコホート研究を立ち上げた。完全定量された大規模コホート・メタボロームデータは国際的にも類がなく、ここにGWASデータを組み合わせることで、疾患発症のメカニズムを、遺伝要因を含めて解き明かし、オーダーメイド予防医療の実現を加速させることができること、腎機能低下については、遺伝子型により発症メカニズムや効果的な介入方法が異なることが考えられるため、GWAS-尿メタボロミクス研究を実施する意義が大きいと考え、本研究を開始した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、第一には、申請者がこれまでの研究で蓄積してきた大規模メタボローム・プロファイル・データを活用して、遺伝子多型と随時尿メタボロームの関連を明らかにすることである。その際、尿中メタボロームデータの測定に関する信頼性の評価を行う必要性が明らかとなったため、最終年度に、尿中メタボローム測定の信頼性評価を追加して実施した。第二には、遺伝子多型と随時尿メタボロームに関する知見をオーダーメイド予防医療へ応用するモデルケースとして、腎機能と関連する遺伝子多型が、腎機能と尿メタボロームにどのような影響を与えるかを詳らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 大規模随時尿メタボロミクスのデータベース構築と大規模測定時の信頼性の評価

鶴岡メタボロームコホート研究参加者11002名のうち、ベースライン(2012年4月~2015年3月)時の早朝尿(12時間絶食後)について、CE/MS法による極性メタボローム測定のデータベース構築を行う。研究開始時は4200名の解析を終えていたが、研究終了時には、8363名までの測定を完了している。関連する人間ドック型健康診断結果、詳細な調査票に基づく生活習慣および健康に関する情報、尿クレアチニン値をはじめとする必要な生体検査値は既に収集済である。尿中メタボローム測定値の信頼性(再現性及び妥当性)評価は、測定開始時に精度管理(QC)用途で作成したプール尿の繰り返し測定(10検体ごと)のデータ(陽イオン811サンプル、陰イオン768サンプル)と、調査参加者6793名分の測定データを用いて実施した。

#### (2) GWAS解析

GWASの実施にあたっては、リソースの関係上、検体すべてについてGWASを行なうことは難しいことから、検出力を高めるために適切なサンプリングを行った上で本研究を進めることとした。そのための事前検討を行った結果、少数の検体から有意な結果を得るためには尿メタボロームが特に精度が高く測定されている検体を抽出し、その検体を選択的にサンプリングする必要があると考えられた。2017年度においては、尿メタボロームの測定精度を検討し、測定バッチごとの測定値の分布から、特に測定精度が高いと考えられる測定バッチ・検体を抽出し、その上で、50歳以上の男性で前日・当日に飲酒・喫煙を行っていない対象者473名について、eGFR値に基づいて層化したランダムサンプリングを実施、イルミナ社のInfinium OmniExpressExome-8 BeadChip Kitを用いてDNAアレイ解析に供した。

#### (3) 統計学的解析

尿中メタボローム測定の信頼性評価は、各代謝物ごとにQC検体および対象者検体のバッチおよびバッチ間の分散を線形混合モデルを用いて推定し、変動係数[CV]、級内相関係数[ICC]を推定することによって実施した。また、濃度の濃い尿、薄い尿(尿中Creatinine >0.3g/L及び<3.0g/L)を除外した感度解析も実施した。GWAS・尿メタボロミクス解析は、ゲノム-メタボロームの関連解析、腎機能についてのGWAS、腎機能の尿メタボロームの関連解析、を実施した。

### 4. 研究成果

#### (1) 尿中メタボローム測定の信頼性評価

##### 精度管理(QC)検体の結果

QC検体(陽イオン811サンプル、陰イオン768サンプル)で測定された123の代謝物について、87の代謝物(70.7%)はCVが20%以下と良好であった。また106代謝物(85.1%)はCVが30%以下と許容範囲であった。血漿のメタボローム測定と比較してもCVは良好で、本測定系の再現性は高いと考えられた。また、大規模な検体測定時にはバッチ間の誤差の制御が重要になるが、107代謝物(87.0%)でバッチ間のCVが20%未満であり、特にバッチ間特有の誤差は認められなかった。

### 対象者における検体の結果

QC 検体とは対照的に、CV の中央値が陽イオンで 81.2%、陰イオンで 55.5%と大きかったが、バッチ間の CV は陽イオンで 15.9%、陰イオンで 19.6%と小さかった。このことは、対象者の検体における分散が、測定誤差に由来しているというよりも、対象者個人の生物学的な特性に由来している可能性が高いことを示しており、本研究の尿中メタボローム測定結果が、疫学研究上、実用性が高いことを示していると考えられた。

### (2) GWAS・尿メタボロミクス解析の研究結果

#### ゲノム-メタボロームの関連解析

統計学的解析では、有意な結果は得られなかった。その理由として、今回の検討ではサンプルサイズが小さく、他方でゲノムとメタボロームの双方の変数が多いことから、多重比較調整のペナルティが非常に大きかったことが挙げられる。ただし、有意ではないものの、遺伝子-代謝物の関連の強さのランキングからは、これまでの知見が再現されていることが示唆される知見、さらに本研究に特異的だと示唆される知見が得られており、本研究を継続する意義は大きいと考えられた。

#### 腎機能と GWAS の関連

と同様に、同様にサンプルサイズの限界が大きかったが、得られた関連のランキングからは、既存の知見と矛盾のない結果が得られ、本研究の方法の妥当性が確かめられた。

#### 腎機能の尿メタボロームの関連解析

一方、腎機能と尿メタボロームの関連は非常に強く、尿中で測定された代謝物 123 物質のうち、約 3/4 にあたる、91 物質が FDR による多重比較調整後も有意に eGFR と関連を示した。このことは、腎機能を尿メタボロームにより精緻に検討・予測できる可能性を示唆した。

一方で、腎機能と尿メタボロームの関連について、因果関係の検討が困難であるため、遺伝要因を加えた解析が有用と考えられるが、今回の解析では、どの遺伝要因を加えて解析すべきかについて、十分な情報が得られなかった。

～ の結果、本研究を推進することの意義が確認されたため、より広く検体の遺伝子解析を実施する必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	原田 成  (HARADA Sei)  (10738090)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師    (32612)	