

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：25201

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20153

研究課題名（和文）メタボローム解析による生活習慣病予防のための客観的な食事調査方法の確立

研究課題名（英文）Establishment of objective dietary survey method for prevention of lifestyle-related diseases by metabolome analysis

研究代表者

多々納 浩（Tatano, Hiroshi）

島根県立大学・看護栄養学部・助教

研究者番号：60825082

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：食事と疾病の関係を明らかにするためには、従来の主観的評価では誤差が生じる恐れがあるため、客観的な指標により正確に食事摂取を評価することが必要である。本研究は、健常者を対象とした食品負荷試験により、生体中で食品特異的に変動する代謝物の経時変化について検討し、客観的な食事摂取の評価方法の確立を目指すものである。その結果、健康な成人男性において、摂取前後の血液や尿中の代謝物によって、肉や魚の摂取を評価することが可能であることが示唆された。今後も肉や魚以外の食品について検討を行い、客観的な食事摂取の評価方法の確立を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で示唆された結果を元に、客観的な食事摂取の評価方法の確立ができれば、特定の代謝物を指標として食生活の把握ができるため、簡易キットなどで食生活の早期把握が可能となり、生活習慣病の一次予防に繋がる事が考えられる。医療施設では、管理栄養士による栄養指導や医師による治療がよりの確となり、生活習慣病発症リスクが軽減することが期待される。

研究成果の概要（英文）： In order to clarify the relationship between diet and disease, it is necessary to accurately assess dietary intake using objective indices because conventional subjective assessment may lead to errors. This study aims to establish an objective method for evaluating dietary intake by examining the temporal variation of metabolites that fluctuate specifically with food in vivo through a food loading test in healthy subjects. The results suggest that it is possible to evaluate meat and fish intake in healthy adult males by metabolites in blood and urine before and after intake. We will continue to examine foods other than meat and fish to establish an objective method for evaluating dietary intake.

研究分野：食生活

キーワード：食生活 メタボロミクス 栄養学 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 従来食事調査方法と信頼性

生活習慣病は、食生活の乱れなどの不適切な生活が積み重なることで引き起こされるため、日々の食生活を振り返ることは重要である。食事と健康状態の関係を明らかにするため、食事記録法や24時間思い出し法、食品摂取頻度質問票 (FFQ) などの主観的な方法を用い、食事や栄養素摂取の評価がされている。しかし現在の調査方法では、本人の記録や申告に頼るため、思い出しバイアスや誤報告、ポーションサイズの評価の難しさなどの系統誤差が生じる (Westerterp et al. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2002) ことが問題視されている。また肥満者では、エネルギー摂取量を過小評価することが報告されており (Bedard et al. *PublicHealth Nutr*, 2004)、個人の主観などに影響されない食事調査方法についてはさらなる検討が必要である。

(2) 理想的な食品摂取バイオマーカー

生体情報はセントラルドグマに従い、遺伝子から mRNA、タンパク質・ペプチド、代謝物の順に伝達され、最終的に表現型として表れる。すなわち、生体内の代謝物の動態は生体の表現型に最も近い状態を表している。メタボロミクスとは、生体内の代謝物 (糖やアミノ酸などの低分子化合物) の総体の化学変化を包括的に捉える手法のことである。これを利用し、食事摂取による体内での代謝変動を読み取ることで、特定の食事に依存した変動を示す食品摂取バイオマーカーが解明できると考えられる。

食品摂取バイオマーカーは、客観的な食事調査方法の一つになることが期待される。例えば、柑橘類摂取は尿中のプロリンベタインを上昇させ、柑橘類摂取バイオマーカーとして有用である (Lloyd et al. *Br J Nutr*, 2011) ことが示唆されている。

理想的な食品摂取バイオマーカーは、特定の食品または食事に対する特異性が高く、摂取する用量や時間に依存した反応を示すものである。このようなバイオマーカーを特定するには、食品摂取後の血液および尿中の代謝物を系統的に調査することが必要である。

2. 研究の目的

本研究は、健常者を対象とした食品負荷試験により、生体中で特異的に変動する代謝物の経時的な変動について検討し、客観的な食習慣の評価方法の確立を目指すものである。

3. 研究の方法

(1) 対象

健康な成人男性 8 名 (年齢: 23.9 ± 1.1 歳、BMI: $21.1 \pm 2.6 \text{ kg/m}^2$) であり、試験日の間に少なくとも 1 週間のウォッシュアウトを設けた無作為クロスオーバー試験にて試験食を単回摂取し、採血・採尿を行った。

(2) 試験食

試験食として、18 種類の食品および 4 種類の飲料を使用した。試験食の重量を測定し、100g の生サンプルを -20°C で冷凍した。試験前に冷蔵庫で一晩解凍し、シリコンスチーマーに入れ、電子レンジを使用して 600w で 2 分間加熱し、被験者に試験食として提供した。

(3) 生体試料

血漿は食前および食後2時間後、尿は食前及び食後2、4時間後に採取した。血液はEDTA-2Na管を用いて採取し、直ちに3000rpm、4で10分間遠心分離して血漿を得た。尿はポリスチレンカップに採取し、サンプルストックチューブに分注した。すべてのサンプルは-80で保存し、凍結サンプルを用いてCE-TOFMSによるメタボローム解析を行った。

4. 研究成果

(1) 食前から食後にかけての代謝変化

主成分分析(PCA)およびOPLS判別分析により、血漿および尿中代謝物のどちらも試験食摂取前後の分離が明確に示された。これらの解析から、血漿および尿のメタボロームプロファイルは、食後に大きく変化することが確認された。

(2) 血漿メタボロームプロファイリング

肉類(牛肉、豚肉、鶏肉)および魚類(サバ、サケ)の摂取による代謝物の変動を比較した。OPLS判別分析によって、肉類摂取と魚類摂取のメタボロームプロファイルは明確な分離を示した。19代謝物のVIPスコアが1以上であり、肉類と魚類の判別に大きく寄与していることが確認された。これらの19代謝物のうち11代謝物の血漿濃度は、摂取前後および肉類と魚類の間で有意差があった。これらの代謝物のうち、N-アセチルアスパラギン酸濃度は肉類群のみで、TMAO濃度は魚類群のみで、それぞれ上昇した。ROC解析では、N-アセチルアスパラギン酸は曲線下面積(AUC)値が0.9648と高値を示し、肉類摂取の予測能力が高いことが考えられた。TMAOのAUCは0.9362であり、魚類摂取の予測能力が高いことが考えられた。

(3) 尿メタボロームプロファイリング

肉類(牛肉、豚肉、鶏肉)および魚類(サバ、サケ)の摂取による代謝物の変動を比較した。OPLS判別分析によって、肉類摂取と魚類摂取のメタボロームプロファイルは明確な分離を示した。試験食摂取後2時間および4時間において、29および38代謝物はVIPスコアが1以上であり、それぞれ肉類群および魚類群の判別に大きく寄与していることが示された。これらの代謝物のうち、摂取前後および肉・魚群間で尿中濃度に有意差があったのは6種類であった。特に、カルノシン濃度は肉類摂取のみで、TMAO濃度は魚類摂取のみで有意に高値を示した。ROC解析では、カルノシンはAUCが0.9193を示し、肉類摂取の予測能力が高いことが考えられた。また、TMAOもAUCが0.8393と高値を示し、魚類摂取の予測能力が高いことが考えられた。

以上より、健康な成人男性において、食前および食後の血液や尿中の代謝物を見ることによって、肉や魚を摂取したことの評価が可能であることが示唆された。これらの成果を集積していくことで、特定の代謝物を指標として食生活の把握が可能となると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山本 詩織, 奥村 仙示, 大浦 まゆ, 津村 綾里, 川上 葉奈, 多々納 浩, 大南 博和, 増田 真志, 竹谷 豊
2. 発表標題 日本食品成分表2020年版(八訂)を用いた魚介類・肉類・豆類・卵類のアミノ酸と脂肪酸の比較
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥村仙示、多々納浩、平山明由、渡邊果りん、大西康太、大南博和、増田真志、栗原綾子、原田成、武林亨、曾我朋義、富田勝、竹谷豊
2. 発表標題 血漿や尿から肉・魚介類の摂取を評価する栄養検査開発の取り組み
3. 学会等名 第23回日本病態栄養学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 多々納浩、奥村仙示、増田真志、竹谷豊
2. 発表標題 ヒト尿メタボローム解析による肉および魚摂取バイオマーカーの探索
3. 学会等名 第15回日本栄養改善学会中国支部学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊果りん、奥村仙示、多々納浩、梶浦大輔、大西康太、大南博和、増田真志、竹谷豊、平山明由、曾我朋義
2. 発表標題 フードメタボロミクスを用いた1滴の血漿や尿から肉・魚介類の摂取を評価する取り組み
3. 学会等名 第57回日本糖尿病学会中国四国地方会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 〔監修〕 福崎英一郎 〔執筆〕 奥村仙示、多々納浩 他	4. 発行年 2021年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 326
3. 書名 食品分野におけるメタボリックプロファイリング	

〔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
---------	---------