

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25670297

研究課題名(和文)核磁気共鳴データを用いたパターン認識による解析を応用した身体的加齢評価法の開発

研究課題名(英文)Diagnosis of aging using pattern recognition of NMR data

研究代表者

大鶴 繁(Otsuru, Shigeru)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：60437225

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：健康高齢者男性成人(65歳以上)75名、健康若年男性成人(20歳以上40歳未満)53名の血清を収集し、プロトン核磁気共鳴分光法(1H NMRスペクトル法)を用いて血清の化学特性を調べた。本研究では、血清1H NMRスペクトルのパターン認識を行うことにより、健康高齢者男性成人と健康若年男性成人を識別することが可能かを調べた。スペクトルデータの解析とデータの可視化には、主成分分析を用いた。本予備的研究において、我々は、健康高齢者男性成人と健康若年男性成人の血清の特徴の違いを可視化することができた。

研究成果の概要(英文)：Serum samples from 75 healthy elderly male adults (aged 65 years or more) and 53 healthy young male adults (20-40 years) were collected. Proton nuclear magnetic resonance (1H NMR) spectroscopy was used to study the chemical characteristics of sera. The purpose of this study was to ascertain if pattern recognition of 1H NMR spectra could differentiate sera obtained from healthy elderly and young male adults. Spectral data were analyzed and visualized by principal component analysis. In this preliminary study, we were able to visualize different characteristics of sera obtained from healthy elderly and young male adults using pattern recognition analysis of 1H NMR data.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学/疫学・予防医学

キーワード：予防医学

1. 研究開始当初の背景

現代の高齢化社会において、疾患の発症前から介入し発症を防止・遅延させる先制医療・予防医療の重要性が指摘されている。その主な対象は高齢者であるが、加齢は単に実年齢のみでは評価できず、同年齢でも身体的な加齢の程度は個人差が大きい。現状ではこの身体的加齢は、血管年齢や骨年齢などのように項目ごとに、多くの検査を組み合わせた上で評価されている。しかし身体的加齢をより簡便かつ信頼性のある指標で評価することができれば、実年齢より遙かに効率的に先制医療・予防医療の対象者をスクリーニングすることが可能となり、国民の健康の増進や医療費の削減につなげることができる。

我々はこれまでに、生体試料の計測値を解析する独自の技術を開発した。我々はこの手法を用いて、酸化ストレスや麻酔薬の組織・細胞への影響を良好に検出した。さらに、従来は急性期に鑑別が困難であった疾患の早期鑑別にも成功した(第114回日本小児学会学術集会にて報告)。

今回の研究は、日本抗加齢医学会専門医である研究代表者が、本検査法が身体的加齢の評価に応用できる可能性があると考え、計画した。

2. 研究の目的

我々が開発した、「血清や尿をNMR (nuclear magnetic resonance、核磁気共鳴)計測し、独自の技術で解析する手法」を用いることにより、健常高齢者と健常若年成人を識別できるか検討し、これまでに無い「身体的加齢評価法」の確立を目指した。

3. 研究の方法

健常高齢者男性成人(65歳以上)と健常若年男性成人(20歳以上40歳未満)の各グループから採取した血清や尿を使用し、「NMR計測し、独自の技術で解析する手

法」を用いると、両グループを識別できるか検討した。

(1) 対象

研究協力者である降旗謙一が院長を務める治験専門クリニックであるピーワンクリニックで検診を受けたボランティアのうち、下記の条件を満たす者を対象とした。

高齢者男性成人(65歳以上)または若年男性成人(20歳以上40歳未満)

BMI 18 kg/m² 以上 28 kg/m² 未満

診察およびスクリーニング検査により健康であると判断できる

インフォームド・コンセントの上、文書による同意が得られている

(2) 検体

対象者より検診時に採取した血液および尿検体の残余を使用した。

(3) NMR計測

検体の前処理・保存など

被験者より採取した血清・尿は、遠心分離により細胞成分等の不溶成分を除去し、-80に保存した。NMR計測時に解凍して使用した。

NMR測定試料の調整

解凍した血清・尿に、内部ロック用重水およびケミカルシフト確認用内部標準物質を加え、ガラス性NMR試料管に入れた。

NMR測定およびデータ収集

NMR装置は7テスラ(300MHz)FT-NMR装置(JEOL)にて行った。

測定は、核種はプロトン(1H)について行った。

多検体の連続自動測定が可能なケモメトリクス用自動測定プログラムを用いて、次の2種の異なる測定を行った。それぞれの積算回数は400回とした。

・水信号消去 1次元測定(低分子量の成分

や高分子の両成分が重なって検出される)
・CPMG スピンエコー測定(主として低分子量の成分が検出される)

(4) NMR計測値の数値化処理

データの転送・処理

NMR装置本体のPCよりデータを処理専用のPCに転送し、Alice2 ver5.5(JEOL)を使ってフーリエ変換、位相補正、ベースライン補正等通常のNMRスペクトルデータ処理を行った後、Alice2 for metabolome ver1.0(JEOL)にてデータを数値化し、CSV形式で保存した。

(5) パターン認識によるNMRデータ解析と全データを用いたデータマイニング

スペクトルデータ解析に用いるソフトウェアおよび解析手法と結果の検証について

ソフトウェアは、Unscrambler® ver10.2(CAMO)を使用した。

主成分分析(PCA)によるデータの可視化を行った後、SIMCA法、PLS-DA法を中心に、種々の解析アルゴリズムを用いて解析した。

各解析で得られた結果については、各アルゴリズムで適用されている有意性の評価法に従って検証するほか、クロスバリデーションによる検証・評価を行った。

血清NMR計測値・尿NMR計測値・臨床情報すべてを統合したデータの解析によるデータマイニングも行って、各NMR計測値と実年齢以外の被検者情報との関連も検索しながら、解析結果を総合評価を進めた。

4. 研究成果

ピーワンクリニックにて健常高齢者男性成人(65歳以上)75名、健常若年男性成人(20歳以上40歳未満)53名の血清を収集し、NMR計測を行った。「Alice2®」を使用しフーリエ変換、位相補正、ベースライン

補正等通常のNMRスペクトルデータ処理を行った後、観測周波数範囲の信号強度分布としてデータを数値化した。「Unscrambler®」を用いて、主成分分析(PCA)によるデータの可視化を行った後、PLS-DA法にて解析を行ったところ、両群が分離する傾向が見られた。尿検体も同時に採取しており、NMR計測は既に終了している。今後解析を行っていく予定である。

これらの結果は、我々の手法によって、加齢の検出が出来る可能性を示唆するものであり、この手法を洗練させてゆけば、より精度の高い加齢検出法を確立し、高齢者医療に貢献できるものとなるであろう。

5. 主な発表論文等

特になし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大鶴 繁(OTSURU, Shigeru)

京都大学大学院医学研究科・助教

研究者番号: 60437225

(2) 研究分担者

平川 慶子(HIRAKAWA, Keiko)

日本医科大学医学部・助教

研究者番号: 30165162

(3) 連携研究者

小池 薫(KOIKE, Kaoru)

京都大学大学院医学研究科・教授

研究者番号: 10267164

鈴木 崇生(SUZUKI, Takao)

京都大学大学院医学研究科・講師

研究者番号: 40328810

佐藤 格夫(SATO, Norio)

京都大学大学院医学研究科・講師

研究者番号：30409205

森山 剛 (MORIYAMA, Tsuyoshi)

東京工芸大学工学部・准教授

研究者番号：80449032