

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：32661

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670340

研究課題名(和文)メタボローム解析を駆使した大規模コホートデータの応用研究：眼科疾患の病態解明

研究課題名(英文)Metabolite profiles and age-related macular degeneration

研究代表者

西脇 祐司(NISHIWAKI, Yuji)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：40237764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、鶴岡市で実施中のコホート研究の2012年度参加者の眼底写真を読影し、メタボローム分析結果と統合解析することを企図した研究である。男性1102名、女性1363名について、信頼性の高いメタボロームプロファイリング結果との突合が可能であった。そのうち、特に定量性が十分に担保されている82物質を使用して、加齢黄斑変性症(AREDS2以上)に特有のメタボローム・バイオマーカーを、PLS判別分析を用いて探索した。その結果、男性ではbeta-alanineが、女性ではmalateが、加齢黄斑変性メタボロームバイオマーカー候補として挙げられたが、男女共通のバイオマーカー候補は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：We planned to link a fundus photo data with a metabolomic profiling data collected from the participants of the cohort study in Tsuruoka. Main target of the analysis was age-related macular degeneration. For the analysis, we used metabolome profiling of 2465 plasma samples and quantified 82 metabolites. The Partial Least Squares Discriminant Analysis revealed beta-alanine for men and malate for women as candidate biomarkers of age-related macular degeneration. However, we could not identify the candidate biomarkers common among men and women.

研究分野：メタボロミクス疫学

キーワード：分子疫学 メタボローム 加齢黄斑変性

1. 研究開始当初の背景

WHO によれば、QOL を考慮した世界の 60 歳以上の Disease Burden の主要な原因の一つとして感覚器障害が挙げられており、感覚器疾患の予防が QOL 向上・健康寿命延伸の実現への重要な課題となっている。とりわけ視覚障害は、視力低下や加齢黄斑変性、網膜症等の網膜疾患による視力喪失が著しい QOL 低下を引き起こすことが知られ、またその発症・進展に環境要因が深く関わっており、衛生学の重要な研究課題となっている。このような背景の下、申請者らは、感覚器障害の予防を優先課題と掲げ、地域住民における加齢黄斑変性症の有病率や危険因子の推定、視力障害が将来の ADL に及ぼす影響などについての疫学研究を実施してきた。¹⁻⁴⁾ とくに加齢黄斑変性に関しては、いまだ決定的な治療法が開発されておらず、病態の解明や予防のためのバイオマーカーの発見が待たれている。

ところで、メタボロミクスは、ゲノミクス、プロテオミクスと同様、オミックス解析の 1 分野であり、2000 年ごろから注目され始めた新技術である。ゲノミクスが遺伝子、プロテオミクスが蛋白質を対象としているのに対して、メタボロミクスは低分子化合物を対象としている。細胞内または生体内の代謝物を網羅的に解析するメタボローム技術により、代謝産物の生合成ネットワークや代謝制御を互に関連付けて統合し、そこに生物学的意味を与えることにより、疾患病態や生体情報の包括的理解が進むものと大きく期待が寄せられている。申請者が平成 23 年まで所属していた慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学教室では、いち早くメタボローム技術と疫学の融合を画策し、武林亨(本研究の分担研究者)を中心に、山形県鶴岡市をフィールドにメタボロームコホート研究を立ち上げた。このような申請者の感覚器疫学研究の経験と、分担研究者の立ち上げたメタボロームコホート研究から得られる大規模データを融合させ、メタボローム解析を駆使して加齢黄斑変性症等眼科疾患の病態解明を行う本研究を着想した。

2. 研究の目的

本研究は、鶴岡市のメタボロームコホート参加者の眼底写真を読影、データ整備ののち、メタボローム分析結果と統合解析することにより、以下の目標を達成すべく企図されたものである。

- ・代謝からみた加齢黄斑変性症、糖尿病性網膜症等眼科疾患の病態解明。
- ・これら疾患、状態を予測するバイオマーカーの検索。

ここでは、とくに加齢黄斑変性に着目し、この疾患に係る眼底所見とメタボロームとの関連を解析することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 研究対象者

「鶴岡市民を対象とした地域コホート研究」は、35 歳から 74 歳の山形県鶴岡市民を対象としたコホート研究である。このうち鶴岡地区医師会立の人間ドックを受診した者には、眼底写真(無散瞳)の撮影が実施されており、これが本研究の対象者となる。コホートの全体計画の中には、人間ドックでの検診諸項目に加えて栄養、運動習慣、現症と既往歴、服薬状況なども含まれており、個人の背景情報は完備されている。

(2) 眼底所見の読影

平成 24 年度に眼底撮影を実施しえた対象者について、加齢黄斑変性に係る以下の項目を読影した。

- ・判定対象となる黄斑部グリッド内にドルーゼンが存在するか
- ・直径 125 μm 以上のドルーゼンが存在するか
- ・多発するドルーゼンが存在するか
- ・AREDS カテゴリー
- ・色素上皮異常が存在するか
- ・Early AMD が存在するか(125 μ 以上のドルーゼン + 色素上皮異常と定義)
- ・脈絡膜新生血管を伴う滲出型加齢黄斑変性が存在するか
- ・地図状萎縮が存在するか
- ・加齢黄斑変性(滲出型もしくは地図状萎縮の存在)が存在するか
- ・判定に十分な画質があるか
- ・特記事項

なお、AREDS カテゴリーについては、以下のように 4 分類した。

1	所見なしあるいは 63 μm 未満のドルーゼン	正常加齢変化	前駆病変
2	63-124 μm のドルーゼン	初期加齢黄斑変性	
3	125 μm 以上のドルーゼン、中心窩外の地図状萎縮	中期加齢黄斑変性	加齢黄斑変性
4	中心窩にかかると地図状萎縮、滲出性加齢黄斑変性	後期加齢黄斑変性	

(3) メタボロームデータとの統合

メタボローム解析は、血漿分離して -80 で凍結保存しているサンプルを用い、山形県鶴岡市にある慶應義塾大学先端生命科学研究所において、CE-MS 法を用いて網羅的に行い、代謝物としての同定を行って、メタボローム・プロファイルを作成した。このプロセスは、分担研究者(武林亨)が獲得している科研費基盤(B)により実施した。本研究では、このメタボロームデータと眼底データ、その他個人の背景情報を統合したデータセットを解析用に構築した。

(4) データ解析

読影データが得られた 4018 名のうち、2465 名（男性 1102 名、女性 1363 名）について、信頼性の高いメタロームプロファイリング結果が得られ、突合が可能であった。そのうち、特に定量性が十分に担保されている 82 物質を使用して、加齢黄斑変性症（AREDS カテゴリー-2 以上）に特有のメタローム・バイオマーカーを、PLS 判別分析を用いて探索した。解析は男女別を実施した。

4. 研究成果

(1) 結果（男性）

男性において、AREDS カテゴリー-1 の群と 2 以上の群のメタロームプロファイルを用いた PLS 判別分析により比較したところ、図 1 の結果を得た。

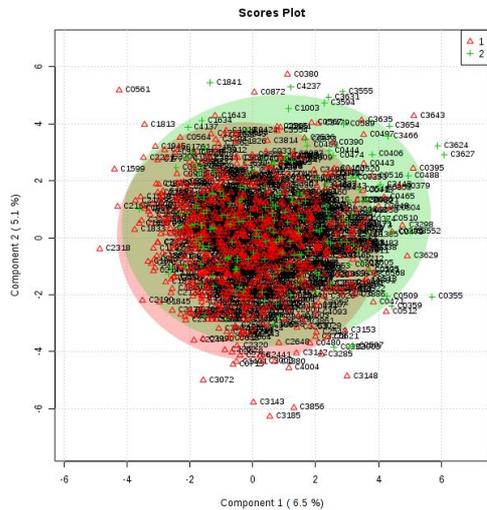


図 1 AREDS カテゴリー-1 の群と 2 以上の群のメタロームプロファイルを用いた PLS 判別分析（男性）

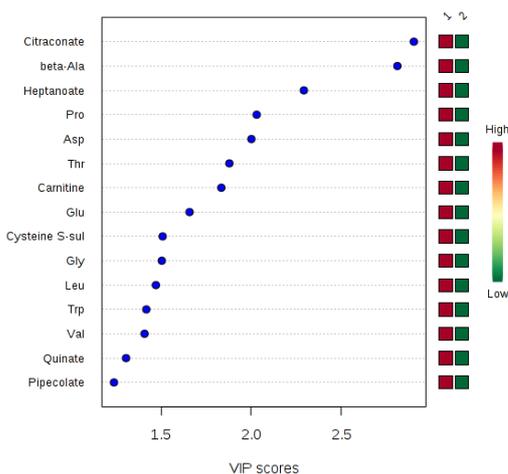


図 2 判別に寄与の大きな物質（男性）

判別に寄与するメタボライトは、図 2 のとおりであったが、そもそも R2、Q2 は 0 に近く、判別分析のモデルの当てはまりは総じて低かった。

(2) 結果（女性）

女性において、AREDS カテゴリー-1 の群と 2 以上の群のメタロームプロファイルを用いた PLS 判別分析により比較したところ、図 3 の結果を得た。

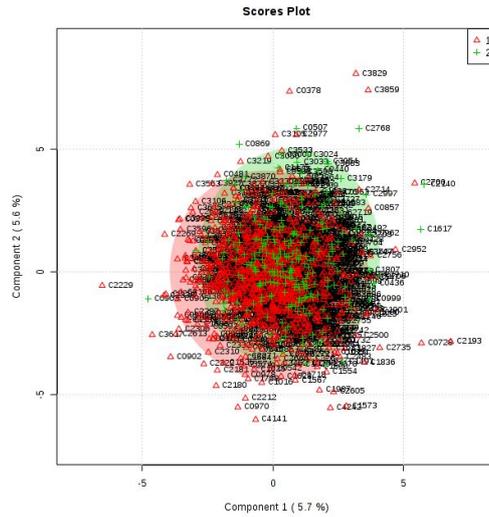


図 3 AREDS カテゴリー-1 の群と 2 以上の群のメタロームプロファイルを用いた PLS 判別分析（女性）

判別に寄与するメタボライトは、図 4 のとおりであったが、そもそも R2、Q2 は 0 に近く、判別分析のモデルの当てはまりは総じて低かった。

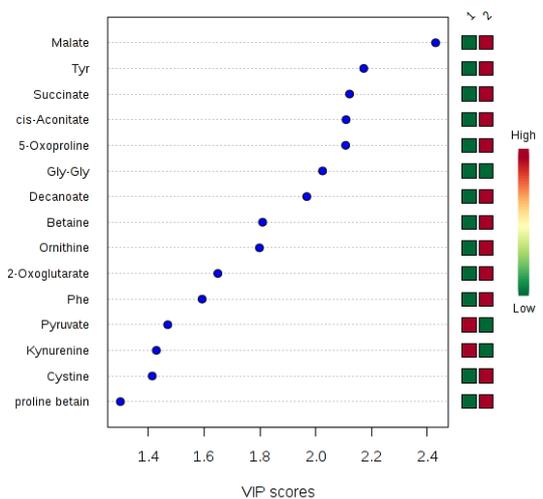


図 4 判別に寄与の大きな物質（女性）

本来であれば、図2および図4の上位のリストが、有望なバイオマーカー候補であるが、男女の結果がまったく異なることから chance 所見である公算が高いと判断された。

1) Harada S, Nishiwaki Y, Michikawa T, Kikuchi Y, Iwasawa S, Nakano M, Ishigami A, Saito H, Takebayashi T. Gender difference in the relationships between vision and hearing impairments and negative well-being. *Prev Med.* 2008;47(4):433-7.

2) Michikawa T, Ishida S, Nishiwaki Y, Kikuchi Y, Tsuboi T, Hosoda K, Ishigami A, Iwasawa S, Nakano M, Takebayashi T. Serum antioxidants and age-related macular degeneration among older Japanese. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2009;18(1):1-7.

3) Michikawa T, Nishiwaki Y, Kikuchi Y, Nakano M, Iwasawa S, Asakura K, Milojevic A, Mizutari K, Saito H, Ishida S, Okamura T, Takebayashi T. Gender-specific associations of vision and hearing impairments with adverse health outcomes in older Japanese: a population-based cohort study. *BMC Geriatr.* 2009; 22;9:50.

4) Uchino M, Nishiwaki Y, Michikawa T, Shirakawa K, Kuwahara E, Yamada M, Dogru M, Schaumberg DA, Kawakita T, Takebayashi T, Tsubota K. Prevalence and risk factors of dry eye disease in Japan: Koumi study. *Ophthalmology.* 2011;118(12):2361-7.

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〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

西脇 祐司(NISHIWAKI, Yuji)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：40237764

(2)研究分担者

武林 亨(TAKEBAYASHI, Toru)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：30265780

川崎 良(KAWASAKI, Ryo)

山形大学・医学部・准教授

研究者番号：70301067

(3) 連携研究者

竹内 文乃(TAKEUCHI, Ayano)

慶應義塾大学・医学部・専任講師

研究者番号：80511196

坪田 一男(TSUBOTA, Kazuo)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：40163878

佐々木 真理子(SASAKI, Mariko)

慶應義塾大学・医学部・特任助教

研究者番号：60276342