

機関番号：32612

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25670303

研究課題名(和文)疫学手法とメタボローム解析技術の融合による一次予防への新たなアプローチ

研究課題名(英文)A novel epidemiological approach for primary prevention with metabolomics

研究代表者

武林 亨 (Takebayashi, Toru)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：30265780

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)：本研究において、アミノ酸をはじめとする極性物質と脂質類をそれぞれメタボローム測定することとした。後者は、本研究を通じて前処理、測定条件の確立を進め、安定的な測定条件の確立によって血漿を用いて脂肪酸類、アシルカルニチン、酸化脂肪酸、胆汁酸類等が測定できる系をほぼ確立した。データ解析については、「健康の要因」として運動、飲酒、食事摂取を、「健康状態」と肝機能障害、高血圧、メタボリック症候群を取り上げ、CE-MS法で測定した血漿中代謝物との関連性を、交絡因子や多重比較性の調整を行いつつ検討した。その結果、飲酒、運動、蛋白質摂取のそれぞれに関連した血漿中のアミノ酸および関連代謝物質が同定された。

研究成果の概要(英文)：In this project, we developed metabolomics methodology for epidemiological setting both for CE-MS (polar) and LC-MS (lipids). In the statistical analysis, the association between health-related life style factors such as physical activity, alcohol drinking, diet intake and risk factors of non-communicable diseases including hepatopathy, hypertension, metabolic syndrome. As a result, various polar metabolites determined by CE-MS were determined with relation to alcohol drinking, hypertension, and physical activity. Branched-chain amino acids, leucine, isoleucine and valine, were significantly associated with degree of physical activity or clustering of metabolic syndrome. Further follow-up study is needed to elucidate whether these metabolites can be used for preventive biomarkers.

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：メタボローム 疫学 バイオマーカー 予防医学

1. 研究開始当初の背景

健康寿命を延伸させることの重要性が、より一層認識されている。今後、一次予防戦略を推進するためには、要因ごとではなく、これらを含むシステムとしての理解をすすめることが欠かせない。近年の生命科学と分析技術の進歩は、環境要因と遺伝要因の相互作用によって生じる疾患へのシステムとしてのアプローチを可能にし、いわゆるオミックス研究が精力的に行われるようになった。メタボロームは、生体内の低分子化合物(有機酸、アミノ酸など)や代謝産物で、内因性には約 3000 物質あると推測されており、遺伝子発現、たんぱく質の同化・異化という一連の代謝とシグナル伝達の過程を反映している。また、環境要因による代謝過程への修飾も反映するので、メタボローム解析で血中・尿中のメタボロームを網羅的かつ定量的に測定することによって、鋭敏に、生体情報を把握することが可能である。疫学研究の領域でもメタボローム解析技術の導入が進みつつあり、INTERMAP metabolomic 研究の成果が 2008 年の Nature 誌に掲載されるなど、生活習慣や危険因子を測定して疾患との関連を検討する従来型の疫学研究から、病態に基づいた新しいバイオマーカーの発見を伴う二次予防疫学への展開が期待されている。健康増進を目指す一次予防においても、詳細な生体情報に基づいた「健康」への理解が不可欠であることから、疫学手法とメタボローム解析技術の融合により、「健康」を構成する要素とメタボロームとの関連性を明らかにする「ヘルスマタボロミクス研究」の実施を着想するに至った。

2. 研究の目的

本研究は、ヘルスマタボロミクス研究、すなわちメタボローム解析技術を地域在住者のコホート集団に適用し、運動、栄養、睡眠といった「健康の要因」と健康状態との関係をヒトにおいて網羅的かつ客観的に記述するという新たなアプローチを提案、実施し、一次予防の推進に資することを目的とする。

3. 研究の方法

鶴岡市民を対象とした地域コホート研究参加者 500 名の血漿メタボローム解析を行ってメタボロームプロファイルを作成する。あわせて、身体活動量の評価や食品摂取頻度調査による栄養素摂取の推定など、健康に密接に関わる要因の評価を行う。これらのデータについて、主成分分析法、OPLS-DA 法(orthogonal partial least square)を用い、健康状態の違いに基づく各群のプロファイルを判別することが可能なメタボロームを明らかにする。さらに、健康要因ごと、食品/栄養素摂取群ごとに、血漿中アミノ酸濃度、脂肪酸濃度といったメタボローム濃度を比較する。その際には、交絡しうる要因を考慮する。また、コホート集団として継続的な

調査、追跡を行う体制を整備する。

(1) 研究対象者の選定

「鶴岡市民を対象とした地域コホート研究」は、山形県鶴岡市民を対象としたコホート研究である。平成 24 年度～26 年度までのベースライン期間中、毎年 3,000～3,500 人を調査参加者数としてリクルートする計画で、本研究計画申請時点(平成 25 年 10 月)で参加同意者が 3,000 名を超え、順調に進んでいる。平成 25 年度は、主として 60 歳以上の住民から構成される鶴岡市国民健康保険加入者で市の人間ドック健診を受診する者(約 3,000 名)と、主として 60 歳未満の住民(勤労者)から構成される鶴岡市内にある機関・企業の職場健診受診者(約 1,500 名)を対象とし、3000 名程度の参加を見込んでいることから、コホート研究参加同意者から、年齢と健康状態によって層化無作為抽出した 500 名を本研究の対象とする。

(2) メタボローム解析ならびにその他の情報の収集

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 法と LC-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、300 名分のメタボローム・プロファイルを作成する。運動習慣、現症、既往歴、服薬状況など、データ解析に必要な情報は、コホート研究のベースライン調査で実施している質問票のデータを用いる。食事摂取頻度調査は、日本多施設共同研究(J-MICC 研究)と同じ FFQ を用いる。

(3) データ解析

主成分分析法、OPLS-DA 法を用い、健康状態の違いに基づく各群のプロファイルを判別することが可能なメタボロームを明らかにする。さらに、健康要因ごと、食品/栄養素摂取群ごとに、血漿中アミノ酸濃度、脂肪酸濃度といったメタボローム濃度を比較する。その際には、交絡しうる要因を考慮する。

(4) コホートとしての継続調査、追跡調査への基盤整備

本研究は、時間断面研究であり、健康に関する生体情報が真に causal であるかどうかは明確にはならない。そのため、健康状態の変化を把握できるような追跡体制、継続調査実施へ向けた基盤整備を、本年度中に行う。

4. 研究成果

(1) 本研究においては、「鶴岡市民を対象とした地域コホート研究」に調査参加に同意したものに対して、メタボローム解析を実施した。メタボローム解析は、キャピラリー電気泳動(CE)-MS 法によりアミノ酸をはじめとする極性物質を、液体クロマトグラフィー(LC)-MS 法により脂質類を測定することとした。

LC-MS 法については、本研究を通じて疫学研究で用いるための前処理、測定条件の確立

を進めた。その結果、前処理時にスピнкаラムを用いるなどの新たな工夫を加え、サンプルの凍結安定性チェックや測定データのチェック体制を構築でき安定的な測定条件の確立が可能となり、最終的に血漿を用いて脂肪酸類、アシルカルニチン、酸化脂肪酸、リゾリン脂質、スフィンゴ脂質、胆汁酸類が測定できる系をほぼ確立した。

(2) データ解析については、コホート研究参加に同意し血漿を提供した者のうちメタボローム解析を終えたものを対象に、「健康の要因」として運動、飲酒、食事摂取を、「健康状態」と肝機能障害、高血圧、メタボリック症候群を取り上げ、CE-MS 法で測定した血漿中代謝物との関連性を、交絡因子の調整を行いつつ検討した。また、統計学的に問題となる多重比較性については、Benjamin-Hochberg の方法を用いて、False discovery rate の調整を行った。

その結果、飲酒、運動のそれぞれに関連した血漿中のアミノ酸および関連代謝物質が同定された。また、飲酒による肝機能障害、メタボリック症候群に関連した代謝物も統計学的に明らかとなった。これらには、分枝鎖アミノ酸代謝経路、グリシン、セリン、トレオニン代謝経路、アラニン・グルコース経路、アラニン、グルタミン酸経路等の代謝物が含まれており、これらの代謝物単独、あるいはその組み合わせによって、健康状態や健康リスク要因の変化を早期に感知しうる血漿バイオマーカーの可能性があると推察された。

いくつかの代謝物は、飲酒習慣、運動不足、メタボリック症候群に共通して変化しており、単なるサロゲートマーカーとしてのみならず、病態を反映するバイオマーカーである可能性があると考えられた。

(3) また食事からの栄養摂取と健康との関連性を評価するため、本研究では調査に用いる食事摂取調査票の精度、妥当性の検討も併せて行った。通常食事摂取調査票に並行して秤量を用いる詳細食事記録調査を実施し、管理栄養士が両者の比較を行った。

(4) 本研究は、時間断面研究であり、健康に関する生体情報が真に causal であるかどうかは明確にはならない。そのため、健康状態の変化を把握できるような追跡体制、継続調査実施へ向けた基盤整備を行った。

以上より、当初の目標であった「健康要因」の代謝物プロファイリングについて一定の成果を得るとともに、今後のコホート化へ向けた準備を進めることができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

(1.) 武林亨、メタボローム、動脈硬化予防、査読なし、12 巻 4 号、2014 年。

〔学会発表〕(計 2 件)

(1.) Toru Takebayashi, Sei Harada, Ayako Kurihara, Miki Akiyama, Tomonori Okamura, Yuji Nishiwaki, Taichiro Tanaka, Akiyoshi Hirayama, Masahiro Sugimoto, Tomoyoshi Soga, Masaru Tomita. Accumulation of metabolic syndrome risk factors and plasma amino acids and their related metabolites: Tsuruoka Metabolomic Cohort Study. 10th Annual Meeting of Metabolomics Society. 2014 June 23-26. Tsuruoka.

(2.) Sei Harada, Toru Takebayashi, Ayako Kurihara, Miki Akiyama, Daisuke Sugiyama, Kazuyo Kuwabara, Ayano Takeuchi, Akiyoshi Hirayama, Masahiro Sugimoto, Tomoyoshi Soga, Masaru Tomita. Metabolomic profiling reveals novel biomarkers of alcohol-induced hypertension in community-dwelling men: Tsuruoka metabolomic study. 10th Annual Meeting of Metabolomics Society. 2014 June 23-26. Tsuruoka.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://tsuruoka-mirai.net/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武林 亨 (Takebayashi Toru)
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号：30265780

(2) 研究分担者

池田 和貴 (Ikeda Kazutaka)

慶應義塾大学・政策・メディア研究科・特
任助教
研究者番号：10466732

(3)連携研究者

岡村 智教 (Okamura Tomonori)
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号：00324567

曾我 朋義 (Soga Tomoyoshi)
慶應義塾大学・環境情報学部・教授
研究者番号：60338217

富田 勝 (Tomita Masaru)
慶應義塾大学・環境情報学部・教授
研究者番号：60227626

(4)研究協力者

栗原 綾子 (Kurihara Ayako)
慶應義塾大学・医学部・助教

原田 成 (Harada Sei)
慶應義塾大学・医学部・大学院生