慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	尿中及び血漿メタボロームプロファイリングによる肥満に関連する代謝物マーカーの解明
Sub Title	Investigation of obesity-related metabolic markers in plasma and urine using metabolome profiling
Author	栗原, 綾子(Kurihara, Ayako) 武林, 亨(Takebayashi, Toru) 原田, 成(Harada, Se) 竹内, 文乃(Takeuchi, Ayano) 岡村, 智教(Okamura, Tomonori) 杉山, 大典(Sugiyama, Daisuke) 飯田, 美穂(Iida, Miho)
Publisher	
Publication year	2018
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	PLS判別分析を用いて比較した結果, 肥満の判別に寄与する物質は, 尿では4つのアミノ酸代謝経路(グリシン, セリン, スレオニンの代謝, システインとメチオニンの代謝, フェニルアラニンの代謝, ヒスチジンの代謝), 血漿では2つのアミノ酸代謝経路(フェニルアラニンの代謝, アラニン, アスパラギン酸, グルタミン酸の代謝)に関連する物質であった。フェニルアラニンの代謝に関わる物質が血漿と尿に共通して肥満の判別に寄与していた。血漿脂質では3つの脂質代謝経路(脂肪酸の生合成, リノール酸の代謝, 不飽和脂肪酸の生合成)に関連する物質が肥満の判別に寄与していた。今後も, フォローアップ研究を続けながら検討を進める。 As a result of PLS discriminant analysis, the plasma metabolites related to the following four amino acid metabolic pathways contributed to obese distinction: glycine, serine and threonine metabolism, cysteine and methionine metabolism, phenylalanine metabolism, histidine metabolism. As for urine metabolites, two amino acid metabolic pathways were associated with obesity : phenylalanine metabolism, alanine, aspartate and glutamate metabolism. Metabolites of phenylalanine metabolism were commonly related to obesity in plasma and urine. The plasma lipid metabolites also contributed to obese distinction, especially regarding fatty acid biosynthesis, linoleic acid metabolism, biosynthesis of unsaturated fatty acids. We will continue with further examination while following the study subjects.
Notes	研究種目 : 若手研究(B) 研究期間 : 2016 ~ 2017 課題番号 : 16K19259 研究分野 : 栄養疫学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_16K19259seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成　３０　年　　６　月　　４　日現在

機関番号：　３２６１２
研究種目：　若手研究(B)
研究期間：　2016～2017
課題番号：　１６Ｋ１９２５９

研究課題名（和文）尿中及び血漿メタボロームプロファイリングによる肥満に関連する代謝物マーカーの解明

研究課題名（英文）Investigation of obesity-related metabolic markers in plasma and urine using metabolome profiling

研究代表者

栗原　綾子（Kurihara, Ayako）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：４０６４５４７０

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,100,000円

研究成果の概要（和文）：PLS判別分析を用いて比較した結果、肥満の判別に寄与する物質は、尿では4つのアミノ酸代謝経路（グリシン、セリン、スレオニンの代謝、システインとメチオニンの代謝、フェニルアラニンの代謝、ヒスチジンの代謝）、血漿では2つのアミノ酸代謝経路（フェニルアラニンの代謝、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸の代謝）に関連する物質であった。フェニルアラニンの代謝に関わる物質が血漿と尿に共通して肥満の判別に寄与していた。血漿脂質では３つの脂質代謝経路（脂肪酸の生合成、リノール酸の代謝、不飽和脂肪酸の生合成）に関連する物質が肥満の判別に寄与していた。今後も、フォローアップ研究を続けながら検討を進める。

研究成果の概要（英文）：As a result of PLS discriminant analysis, the plasma metabolites related to the following four amino acid metabolic pathways contributed to obese distinction: glycine, serine and threonine metabolism, cysteine and methionine metabolism, phenylalanine metabolism, histidine metabolism. As for urine metabolites, two amino acid metabolic pathways were associated with obesity: phenylalanine metabolism, alanine, aspartate and glutamate metabolism. Metabolites of phenylalanine metabolism were commonly related to obesity in plasma and urine. The plasma lipid metabolites also contributed to obese distinction, especially regarding fatty acid biosynthesis, linoleic acid metabolism, biosynthesis of unsaturated fatty acids. We will continue with further examination while following the study subjects.

研究分野：　栄養疫学

キーワード：　内臓脂肪蓄積量　肥満　メタボロームプロファイリング

１．研究開始当初の背景

肥満（症）は遺伝による発症と食事と運動のアンバランスによる発症とに大きく分かれるが、 特に後者を原因とする発症は先進国、途上国共に近年爆発的に増加しており、公衆衛生上、重要な課題となった。 我が国では 2008 年より脂肪細胞の質的異常による肥満に着目した、内臓脂肪症候群（メタボリックシンドローム）が定義され、健康日本 21 運動により国民の認知を広げてきた。メタボリックシンドロームは、内臓脂肪の蓄積に加えて、高血圧や糖尿病、脂質異常症（高脂血症）などを発症している状態であり、生活習慣改善のための保健指導を国を挙げて行ってきてはいるが、メタボリックシンドロームの該当者やその予備軍の数を満足に減少させるには至っていない（健康日本 21 最終評価、平成 23 年 10 月） 。

肥満の定義は各国で異なり、日本では BMI25 以上、西欧諸国の肥満度は BMI30 以上としている。西欧諸国と比較して、日本人にとって肥満は生活習慣病発症へ影響が大きく、早い段階から肥満を防ぐ必要がある。肥満（症）発症にかかわる代謝において特徴的なものとして、血中インスリンが挙げられる。 肥満の場合、血清インスリンが高値を示しながらも低血糖を生じるわけではない事から、インスリン感受性の低下、すなわちインスリン抵抗性について報告がされてきた。しかし、肥満発症の結果としてインスリン抵抗性を生じているのか、それともインスリン抵抗性発現のために肥満を生じたのかについては議論が続いている。

一方、近年、生体内の低分子化合物（有機酸、アミノ酸など）や代謝産物を鋭敏に反映するメタボローム解析を用いて肥満の代謝変化を明らかにし、その成果を予防へつなげようとする研究が行われつつある。代謝性疾患においては、肥満者及び非肥満者を比較し、インスリン抵抗性に 血液中のバリン、ロイシン、イソロイシンなどの分岐鎖アミノ酸が関連していることの報告 （Newgard CB et al. Cell Metabolism 2009;9:311-26）がされ、血液中の分岐鎖アミノ酸と、チロシン、フェニルアラニンが、将来の糖尿病発症に関連している（Wang et al. Nature Medicine 2011;17:448-53）ことを明らかにするなど、成果が上がりつつある。

我々は、2012 年より地域コホート研究（ 「鶴岡市民を対象とした地域コホート研究」 ）を開始しており、3 年間で 11002 名の協力者を得て、予定通り進行している。本研究においては、 従来の疫学研究で行ってきた生体指標や自記式調査票等に基づく生活習慣や食事摂取状況との解析に加えて、メタボローム解析を用いた新しい疫学研究のフィールドを構築してきた。

メタボロームは生活習慣や環境要因により影響を受け、より客観的に発症メカニズムを解明することができると期待され、本研究ではインスリン抵抗性や内臓脂肪蓄積度に応じた、アミノ酸代謝状況を詳細に把握することが期待できる。

これまでに、肥満に関連するメタボロームについて、ベースライン 1 年目の血漿メタボローム測定データを用いた検討はすでに学会発表を終えているが、肥満を内臓脂肪蓄積度や血清インスリンを併せて 評価することで、体格による肥満だけでなく、より詳細な体格の差による代謝の変化を明らかにすることが可能と考えた。

２．研究の目的

メタボロームの網羅的測定技術を用い、尿中と血漿の 2 つのメタボロームプロファイルを作成し、肥満関連因子（インスリン抵抗性、非侵襲的内臓脂肪蓄積度測定値等）との関連性をそれぞれ検討することにより、肥満に関連する代謝物マーカーを明らかにするとともに、尿中・血漿のプロファイルによる違いを明らかにすることを目的とした。

同時に、血漿脂質メタボロームについても肥満に関連する代謝物マーカーを検討した。

３．研究の方法

（１）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、参加時の年齢が 35～74 歳の山形県鶴岡市民を対象としたコホート研究である。

平成 24 年～26 年度までのベースライン調査では 11,002 名の参加があり、順調に進んでいる。メタボローム解析の進捗に差異があることから、血漿中、尿中、血漿脂質メタボローム別に集団を設定し、検討した。

① 尿中メタボローム解析は、平成 24 年度調査（ベースライン調査）の参加者約 4000 名に実施した。肥満関連因子は BMI と腹囲周囲径を用いた。
② 血漿メタボローム解析は、平成 27 年度調査（フォローアップ調査）の参加者約 3000 名に実施した。肥満関連因子は BMI と腹囲周囲径、インスリン抵抗性指数（空腹時血糖値・血中インスリン濃度(IRI)測定に基づく）、非侵襲的内臓脂肪測定器を用いて内臓脂肪蓄積度を評価した。
③ 血漿脂質メタボローム解析は、平成 27 年度調査（フォローアップ調査）の参加者から性年齢マッチングにより層化無作為抽出した約 370 名において実施した。肥満関連因子は BMI と腹囲周囲径を用いた。

（２）検体・データ収集

採血、採尿は、前日 20 時以降は水分摂取のみとした条件で採取し検体を用い、肥満度の評価には、健診データや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

ータを用いた。内臓脂肪蓄積量は、インピーダンス法による非侵襲的内臓脂肪測定値を用いた。

（３）メタボローム解析

血漿、尿中メタボローム解析は、それぞれ測定済みデータを用いた。測定は、慶應義塾大学先端生命科学研究所（鶴岡市）において実施した。

対象者から得られた尿は、直ちに-80℃で凍結保存し、解凍後直ちに濾過・遠心し、CE-MS に導入してメタボローム解析を行った。血漿は前処理を行った後、尿と同様に解析を行った。

血漿脂質メタボロームは SRL に委託し測定を行った。

（４）統計学的解析

収集した対象者のデータに基づき、肥満度とメタボロームプロファイルの関連を交絡因子を考慮しながら検討した。

４．研究成果

（１）尿メタボロームプロファイリング

解析を終えた約 4,000 名のメタボロームプロファイリングにより、肥満度（BMI、腹囲周囲径）に関連する代謝物マーカーの検証を行った。男女合わせた集団を肥満群（BMI ≥ 25.3）と標準体重群（BMI 21.0-23.0）の代謝プロファイルについて PLS 判別分析を用いて比較した結果、図１のような結果が得られ、肥満群（緑色）と標準体重群（赤色）では、アミノ酸プロファイルが異なることが示された。

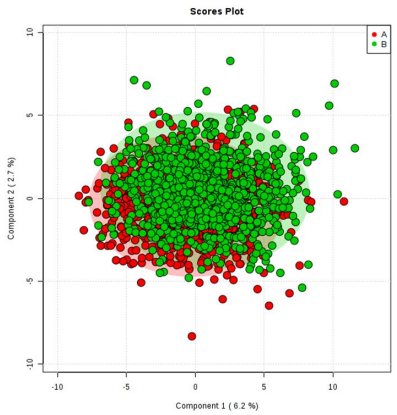


図１　BMI による肥満群と標準体重群のアミノ酸代謝プロファイルを用いた PLS 判別分析
（緑色=肥満群、赤色=標準体重群）

２つの肥満関連因子（BMI、腹囲周囲径）に共通して、メタボロームの判別に寄与する物質は４つのアミノ酸代謝経路（グリシン、セリン、スレオニンの代謝、システインとメチオニンの代謝、フェニルアラニンの代謝、ヒスチジンの代謝）に関連する物質であった。

（２）血漿メタボロームプロファイリング

解析を終えた約 3,000 名のメタボロームプロファイリングと肥満度に関連する代謝物マーカーの検証を行った。肥満度には、BMI、腹囲周囲径、内臓脂肪蓄積量、インスリン抵抗性（HOMA-R）を用いた。

肥満度の指標とした因子間にはそれぞれ正の相関がみられ（r > 0.5）、内臓脂肪蓄積量とインスリン抵抗性(HOMA-R)は正の相関（r = 0.51, P<0.001）がみられた。

男女合わせた集団をインスリン抵抗性による肥満群（HOMA-R ≥ 1.59）と標準体重群（HOMA-R 0.68-1.04）の代謝プロファイルについて、PLS 判別分析を用いて比較した結果、図２では、肥満群（緑色）と標準体重群（赤色）では、アミノ酸プロファイルが異なることが示された。

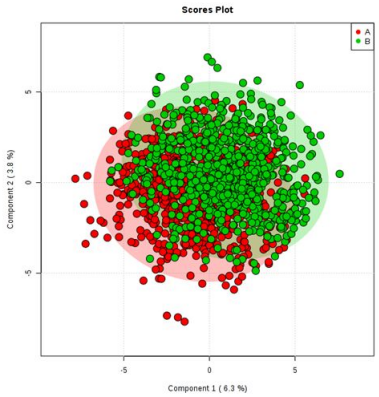


図２　HOMA-R による肥満群と標準体重群のアミノ酸代謝プロファイルを用いた PLS 判別分析
（緑色=肥満群、赤色=標準体重群）

４つの肥満関連因子（BMI、腹囲周囲径、内臓脂肪蓄積量、インスリン抵抗性）に共通して、メタボロームの判別に高く寄与するのは、2 つのアミノ酸代謝経路（フェニルアラニンの代謝、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸の代謝）に関連する物質であった。

血漿と尿メタボロームを併せて検討すると、フェニルアラニンの代謝に関わる物質が共通して肥満の判別に寄与していた。

（３）血漿脂質メタボロームプロファイリング

解析を終えた約 370 名のメタボロームプロファイリングにより、肥満度（BMI、腹囲周囲径）に関連する代謝物マーカーの検証を行った。男女合わせた集団を肥満群（BMI ≥ 25.2）と標準体重群（BMI 20.6-22.7）の代謝プロファイルについて PLS 判別分析を用いて比較した結果、図３、４、５のような結果が得られ、肥満群（緑色）と標準体重群（赤色）では、アミノ酸プロファイルが異なることが示された。

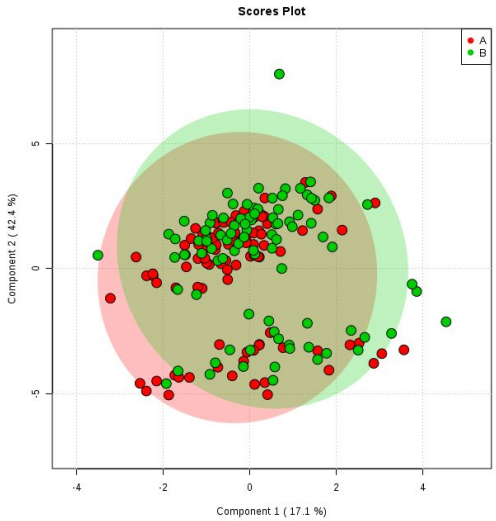


図３　BMI による肥満群と標準体重群の脂質代謝プロファイルを用いた PLS 判別分析
（緑色=肥満群、赤色=標準体重群）

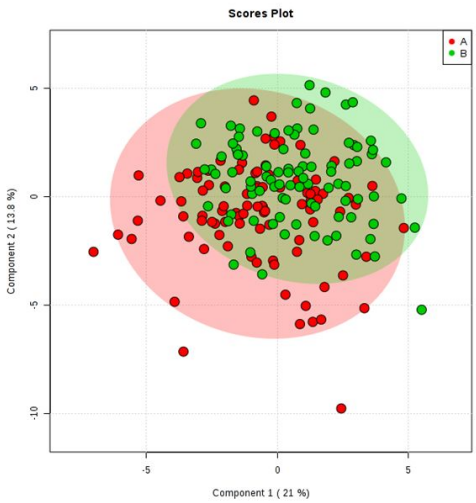


図４　腹囲周囲径による肥満群と標準体重群の脂質代謝プロファイルを用いた PLS 判別分析
（緑色=肥満群、赤色=標準体重群）

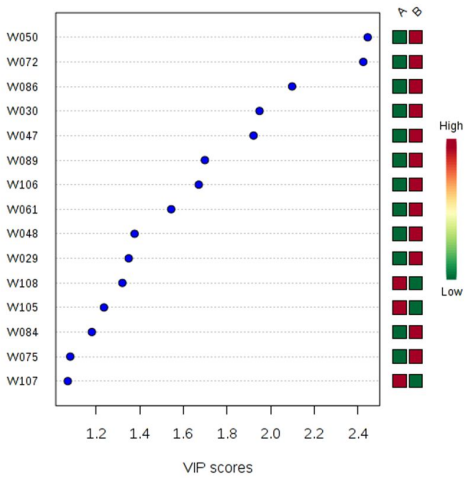


図５　BMI による肥満群と標準体重群の判別に特に寄与の大きい物質

BMI と腹囲周囲径に共通して判別に寄与する物質は、３つの脂質代謝経路（脂肪酸の生合成、リノール酸の代謝、不飽和脂肪酸の生合成）に関連する物質であった。

これまでに肥満とメタボロームの関連性を複数のバイオマーカーの共通性を示した研究は少なく、検体採取と並行してメタボローム解析を実施したコホート研究の成果は希少である。

血漿脂質メタボロームとの関連においても、測定できた集団は小さいが、肥満度とメタボロームの間に関連がみられた。

今後も、得られた集団並びにデータセットについて、フォローアップ研究を続けながら、メタボローム解析とメタボロームプロファイリングによる検討を進め、肥満に関連する代謝物マーカー研究の一助になるべく検討を進めたい。

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) Sei Harada , Akiyoshi Hirayama, Queenie Chan, Ayako Kurihara et al., Reliability of plasma polar metabolite concentrations in a large-scale cohort study using capillary electrophoresis-mass spectrometry. PLoS One. 2018;13(1) : e0191230. , 査読有

〔学会発表〕（計　1　件）

(1) Ayako Kurihara et al,. Plasma metabolome associated with obesity in community dwellers: Tsuruoka metabolomic cohort study. IUNS 21st International Congress of Nutrition, (Buenos Aires, Argentina), 2017年, 査読有

〔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
栗原　綾子（Kurihara, Ayako）
慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教
研究者番号：40645470

(2)研究分担者
（　　）
研究者番号：

(3)連携研究者
（　　）
研究者番号：

(4)研究協力者
武林　亨（Takebayashi, Toru）
原田　成（Harada, Sei）
竹内　文乃（Takeuchi, Ayano）
岡村　智教（Okamura, Tomonori）
杉山　大典（Sugiyama, Daisuke）
飯田　美穂（Iida, Miho）