

## 2号：メタボロミクス特集 ～網羅分析からターゲット分析へ～

### はじめに

メタボロミクスは質量分析の高スループット化、高感度化とともに進化し、これまで様々な病気の機序解明、薬物応答など臨床研究や、食品の味の研究、ビールの旨味の解明など幅広い分野に貢献してきました。メタボロミクスは数百の代謝物の中でどの代謝経路が「キー」になっているかを調べる研究手法です。分析の結果、ターゲットが明確になると次に「ターゲットを絞り込んで」測定します。網羅分析は時間も費用もかかりますが、測定したいものが数個であれば、それほど費用もかかりません。また費用を押さえればその分多くの検体を測定することができるわけです。ただし測定するものを減らすだけだから簡単？と思われがちですが、実はそうでもないのです。一般に測定項目を絞る分、分析精度を高めるために様々な検討を行っています。

たとえば、まず質量分析装置の種類が変わります。網羅分析（メタボロミクス）ではTOF型の質量分析装置が使われますが、ターゲット分析ではトリプルQ型の質量分析装置が使われます。次にメタボロミクスでは個々の代謝物について検量線は作成せず、ピーク面積の大小のみを比較しますが、ターゲット分析では検量線を作成して定量値を算出します。このように網羅分析とターゲット分析は「似て非なる」もののなのです。

### Target分析とNon-target分析

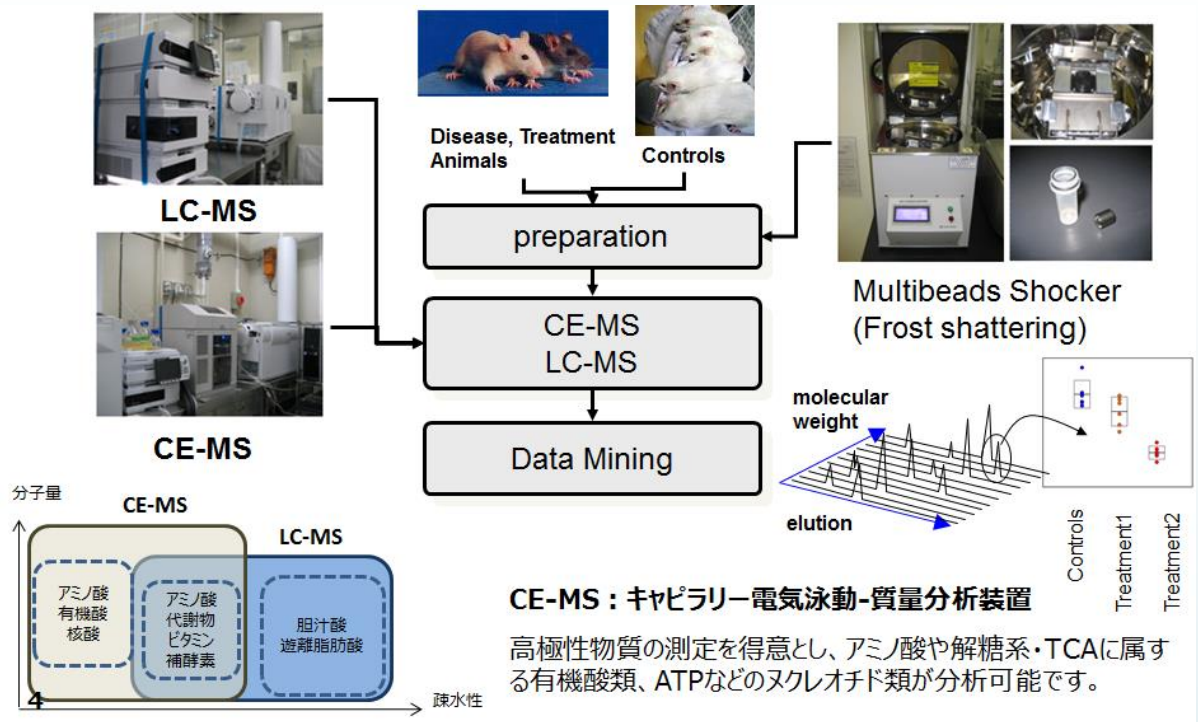
| 分類           | 成分数            | 検量線 | 内部標準 | 感度         | 分析精度     | 主な装置     |
|--------------|----------------|-----|------|------------|----------|----------|
| Target分析     | 1～30           | あり  | あり   | pg/mL<br>～ | CV < 15% | Triple-Q |
| Non-target分析 | 100～<br>10,000 | なし  | なし   | ng/mL<br>～ | CV < 20% | Q-TOF    |

### INDEX

- はじめに
- メタボロミクスの流れ
- 胆汁酸分析とインドキシル硫酸分析
- 第二回九州メタボローム研究会

## メタボロミクスの流れ

メタボロミクスは、数百の代謝物の発現量を2群間で“比較”する研究方法であるため、必ず「コントロール」と呼ばれる比較対象が必要です。臨床研究では「健常人」、治療効果研究では「治療前」が主にコントロールとして使われます。メタボロミクスは血液、尿、唾液、組織と材料を選びません。また、ヒトと動物とで代謝物の構造はほぼ同じですので、動物からヒトへの外挿も容易です。材料が組織である場合、凍結粉砕機で“代謝を止めたまま”代謝物の抽出を行います。



## KPSLメタボロミクスの特徴

KPSLでは、約1300個の標準代謝物のMSデータを含む独自のデータベースを保有しており、迅速に照合結果を提供します。ヒトの代謝物は約2000種あると言われており、そのうちの約半分がライブラリーに登録されています。代謝物データベースの登録数は、順次増加しております。KPSLおよびLSIMでは、独自に開発したプログラム「Marker Analysis」による解析結果をマクロ機能を付与したエクセルデータとして提供致します。クリックするだけで様々な解析ツールがご利用できます。

### KPSLのメタボロミクスの特徴① 1300を超える標準データベース

LSIMでは、**約1300個の標準代謝物**のMSデータを含む独自のデータベースを保有しています。ヒト代謝物約2000種のうち、約半分がライブラリーに登録されています。

### KPSLのメタボロミクスの特徴② マクロ機能を有するエクセルデータ

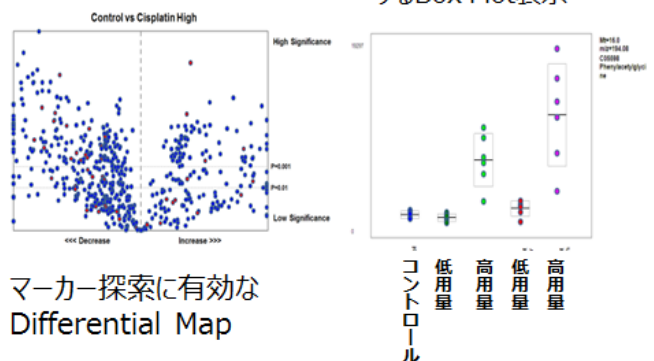
#### 自動処理された測定データが一つのExcelファイルとして集約されます

ピーク検出位置 同定代謝物 代謝物カテゴリー 測定法 グループ間のピークエリア相対比

| Metabolite Name                        | Category     | Method | Relative Peak Area Ratio |
|----------------------------------------|--------------|--------|--------------------------|
| Glucose                                | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose                               | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose                                | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose                                | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose                                | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose                              | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-6-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-6-phosphate                   | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-6-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-6-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-6-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-6-phosphate                  | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-1-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-1-phosphate                   | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-1-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-1-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-1-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-1-phosphate                  | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-5-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-5-phosphate                   | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-5-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-5-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-5-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-5-phosphate                  | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-4-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-4-phosphate                   | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-4-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-4-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-4-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-4-phosphate                  | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-3-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-3-phosphate                   | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-3-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-3-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-3-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-3-phosphate                  | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-2-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-2-phosphate                   | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-2-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-2-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-2-phosphate                    | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-2-phosphate                  | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-1,6-bisphosphate               | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-1,6-bisphosphate              | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-1,6-bisphosphate               | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-1,6-bisphosphate               | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-1,6-bisphosphate               | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-1,6-bisphosphate             | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-6-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-6-phosphate-1-phosphate       | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-6-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-6-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-6-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-6-phosphate-1-phosphate      | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-5-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-5-phosphate-1-phosphate       | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-5-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-5-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-5-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-5-phosphate-1-phosphate      | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-4-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-4-phosphate-1-phosphate       | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-4-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-4-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-4-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-4-phosphate-1-phosphate      | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-3-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-3-phosphate-1-phosphate       | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-3-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-3-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-3-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-3-phosphate-1-phosphate      | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-2-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-2-phosphate-1-phosphate       | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-2-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-2-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-2-phosphate-1-phosphate        | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-2-phosphate-1-phosphate      | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Glucose-1,6-bisphosphate-1-phosphate   | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Fructose-1,6-bisphosphate-1-phosphate  | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Sucrose-1,6-bisphosphate-1-phosphate   | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Lactose-1,6-bisphosphate-1-phosphate   | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Maltose-1,6-bisphosphate-1-phosphate   | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |
| Galactose-1,6-bisphosphate-1-phosphate | Carbohydrate | GC-MS  | 1.0                      |

代謝物名をダブルクリックするとBoxPlotが表示されます

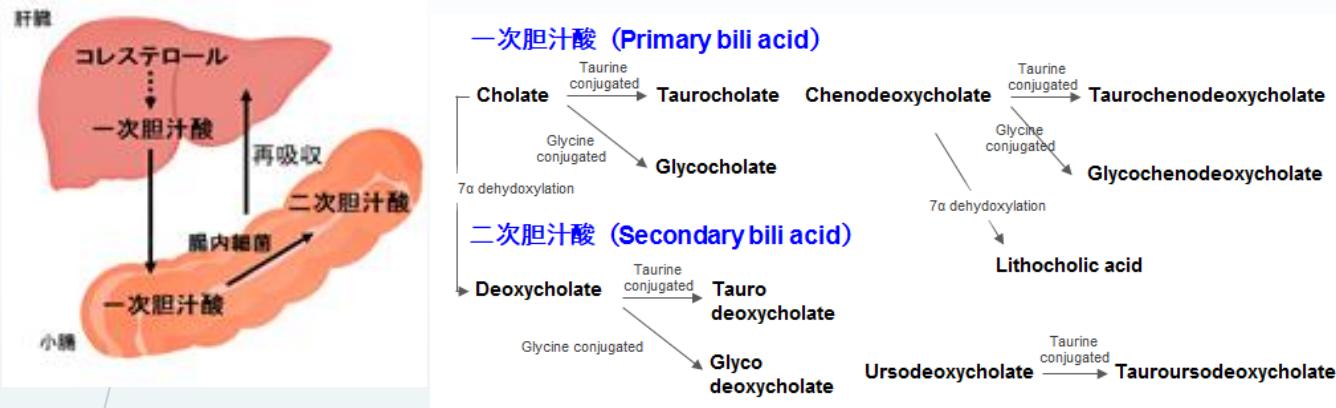
クリックするだけで  
様々な解析ツール  
がご利用できます



マーカー探索に有効な  
Differential Map

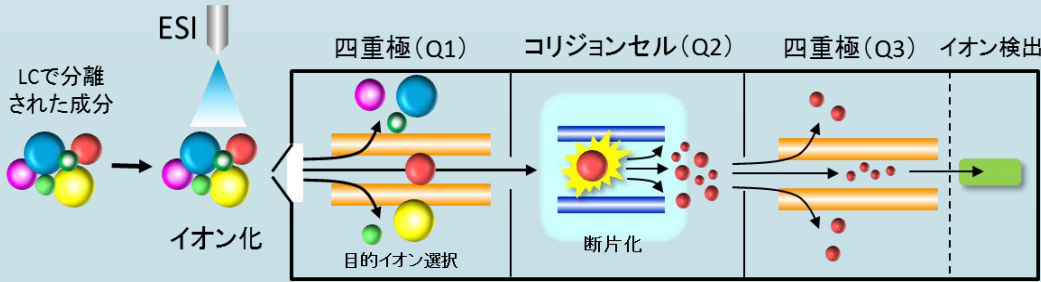
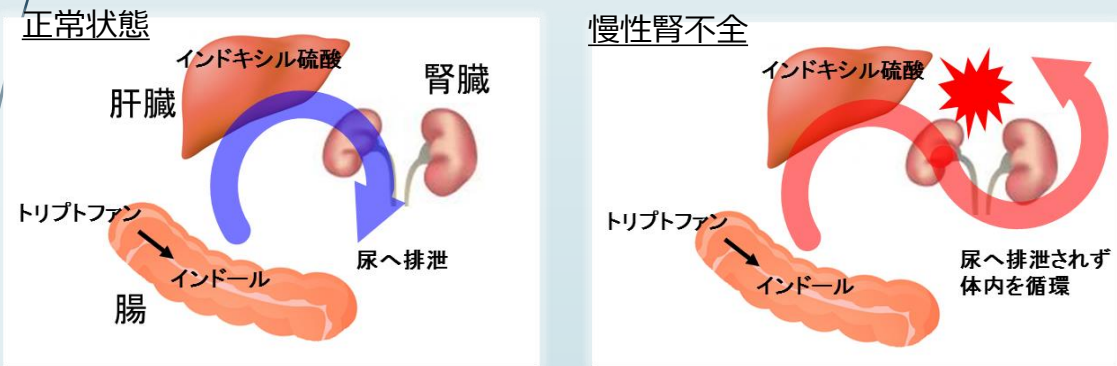
メタボロミクスから生まれたターゲット分析例①：胆汁酸分析

胆汁酸は哺乳類胆汁に広範に認められるステロイド誘導体で、主に消化管内で食物脂肪とミセルの形成を促進し、吸収を促進する働きがあります。肝臓で生合成されたものを一次胆汁酸といい、腸管で微生物による変換を受けたものを二次胆汁酸と言います。また胆汁酸はグリシンやタウリンと結び付いて抱合胆汁酸を形成します。ヒトでは一次胆汁酸であるコール酸（80%）、ケノデオキシコール酸（2%）、二次胆汁酸であるデオキシコール酸（15%）が代表的です。胆汁酸は肝臓の疾病によって血液中に放出されるため、肝臓病の検査に用いられることがあります。また、胆汁酸はコレステロールからの代謝物であることから、肝疾患だけでなく様々な疾患のマーカーとなり得る可能性が考えられています。KPSLではターゲット分析の一つとして「胆汁酸分析」を提供しております。



メタボロミクスから生まれたターゲット分析例②：インドキシル硫酸分析

タンパク質の構成要素であるトリプトファンが腸内細菌叢により、インドールに分解され、さらに肝臓内で硫酸抱合を受けた結果、インドキシル硫酸が生成します。通常、インドキシル硫酸は腎臓から尿中へ速やかに排泄されますが、慢性腎不全では腎クリアランスが低下し、血中のインドキシル硫酸濃度が増加します。また、インドキシル硫酸は腸内細菌叢の環境変化により増減するため、腸内環境の指標としても利用されます。パラクレシル硫酸、フェニル硫酸も、インドキシル硫酸同様、尿毒素のひとつとして知られています。



トリプルQ型質量分析の仕組み



## 第二回九州メタボローム研究会

### 九州メタボローム研究会

第2回学術講演会

日時：平成30年8月24日（金） 17時～20時10分

場所：TKPガーデンシティ博多 サットンホテル博多 5F 阿蘇1

福岡県福岡市博多区博多駅前3-4-8サットンホテル博多シティ内5階

電話：092-474-5111

#### 演題およびタイムスケジュール

|             |                                                                        |
|-------------|------------------------------------------------------------------------|
| 17:00～17:10 | 開会 中牟田 誠 先生（国立病院機構九州医療センター）                                            |
| 17:10～17:20 | 座長 八橋 弘 先生（国立病院機構九州医療センター）                                             |
| 17:20～17:50 | 講演1 膵内細胞癌の発生を介したBCAAのNAFLDに対する治療効果の検討<br>演者：吉岡 達 先生 九州プロサーチ有責任事業組合     |
| 17:50～18:20 | 講演2 膵内細胞癌プロファイルと代謝異常<br>演者：中牟田 誠 先生 国立病院機構九州医療センター                     |
| 18:20～18:30 | 座長 中牟田 誠 先生（国立病院機構九州医療センター）                                            |
| 18:30～19:00 | 講演3 肝細胞癌患者における薬剤投与前後でのメタボロミクスの変化についての検討<br>演者：阿比留 正剛 先生 国立病院機構九州医療センター |
| 19:00～20:00 | 特別講演 LC-ESI-MS/MSを用いた生体試料のメタボローム・胆汁酸分析<br>演者：本多 彰 先生 東京医科大学            |
| 20:00～20:10 | 閉会・連絡事項 清家 正隆 先生（大分大学医学部消化器内科）                                         |
| 20:10～      | 情報交換会（開フロア 阿蘇2）                                                        |

研究会参加費：1,000円

情報交換会費：2,000円

#### アクセス

- JR鹿児島本線 博多駅 博多口 徒歩5分
- 福岡市地下鉄空港線 博多駅 博多口 徒歩5分

主催 九州メタボローム研究会  
共催 株式会社LSメディエン



九州メタボローム研究会の様子

8月24日（金）福岡市にて第二回メタボローム研究会が開催されました。九州地区を中心に消化器系先生約30名にご参加いただき、熱いディスカッションが展開されました。東京医科大学からは胆汁酸の大家である本多先生には特別ゲストとしてご講演頂きました。肝臓で生合成される約90の胆汁酸が異なる役割をもって体内で機能しており、それらをひとつひとつ解析することが様々な疾患の解明につながるというお話でした。今後“バイルアシドーム”が脚光を浴びそうです。

## KPSLメタボロミクス受託サービス概要

### ● 測定対象代謝物

血清・血漿中では約200種類、組織・尿中では約300～400種類の代謝物が一斉定量できます。対象はKPSLホームページよりリストをダウンロードできます。

### ● 測定試料および最低検体数

組織（ホモジナイズできるもの）、血清・血漿、尿、唾液、脳脊髄液、培養細胞など（サンプル調製手順については別途お問い合わせください）

### ● 報告内容

各サンプル、各代謝物の比較定量値（ピーク強度をそのまま記します・単位はありません）  
2群間の有意差判定（T検定）、結果の視覚化（ボルケーノプロット、ヒートマップ、代謝マップ解析）を行います。

### ● 分析装置

Agilent社, Q-TOF 6520

### ● 報告期間

サンプル受領から1か月で速報を提示  
2か月以内に報告書提出  
（依頼サンプル数により変動する場合があります）

### ● 分析費用

別途お問い合わせください

### 【お問い合わせ先】

九州プロサーチ有責任事業組合

〒819-0388 福岡県福岡市西区九大新町4-1

TEL:092-805-3239 FAX:092-805-3239

MAIL: info@kpsl.jp

←URL: <https://kpsl.jp/>



**KPSL**  
九州プロサーチLLP