

メタボロミクスに挑戦！

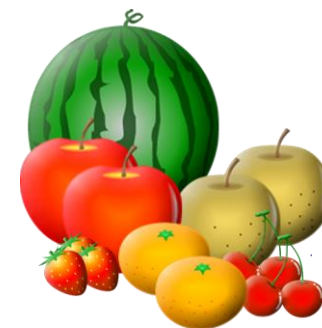
・・・でもちょっと待て。
メタボロミクスって何だろう？？



九州プロサーチ有限責任事業組合

メタボロミクスとは？

- 学校で習った三大栄養素「炭水化物」、「タンパク質」、「脂質」。
これらは摂取した後どうなるのでしょうか？ そうです。炭水化物や脂質はエネルギーに、タンパク質は筋肉になります。
- でもこれらは食べた後、すぐにエネルギーになったり、筋肉になったりするわけではありません。唾液、胃液や膵液に含まれる消化酵素によって分解され、腸から吸収されたあとに、血液にのってさまざまな臓器に運ばれて行きます。
- これらはさらに分解され、時には合体して様々な形に変えられていきます。エネルギーや筋肉以外にも、体に必要な構成要素(核酸など)などに生まれ変わることもあります。
- これら体内で加工された化合物の総称を「代謝物」と言います。英語ではmetabolite (メタボライト)といいます。
- 遺伝子を網羅的に分析することを「ゲノミクス」、タンパク質を網羅的に解析することを「プロテオミクス」と言いますね。その流れで代謝物(メタボライト)を網羅解析することを「メタボロミクス」と呼ぶようになりました。



メタボロミクスの歴史

- メタボロミクスの歴史は2000年頃にさかのぼります。当時はゲノミクス、プロテオミクスの全盛期で、すばらしい研究成果が相次ぎました。
- ゲノミクスやプロテオミクスに倣え！と、セントラルドグマの終着点である代謝物を網羅的に分析する試みが始まりました。しかし実はメタボロミクスは、ゲノミクスやプロテオミクスと比べると大きな違いがあったのです。
- 核酸はわずか4塩基の組み合わせから成り、タンパク質はアミノ酸20種の組み合わせから成ります。しかし代謝物は糖、アミノ酸、ビタミン、脂質、胆汁酸・・・など物性の異なる多種多様な化合物の総称です。これらを一度に分析することは極めて難しいことがわかりました。
- まず初めにこの問題に取り組んだ研究者は、イギリスのインペリアルカレッジのニコルソン先生でした。先生は当時、発展著しい高分解能型NMRを使って、尿中の代謝物を一斉分析する手法を考えました。
- NMR(核磁気共鳴装置)は、重水素化溶媒に溶かすだけでシグナルを得ることができます。物性の異なるものも一網打尽にできるため、NMRメタボロミクスは急速に普及しました。

NMRから質量分析へ

- NMRの特徴は測定が簡単であること、定量性が高いこと(モルに比例した信号強度を与えるため、標品を使った検量線が不要)です。しかし、分離に限界があり、検出できる代謝物の種類に限界がありました。一般に20～50程度の代謝物を調べることが精いっぱいだったようです。次第に研究者らはNMRメタボロミクスに物足りなさを感じるようになりました。
- 次に研究者らが着目したのが「質量分析」です。プロテオミクスでも使われていた質量分析は、当時、感度、分解能、スキャンスピードの発達が著しく、微量の複数成分を短時間に分析することが可能になっていました。
- 特にWaters社が開発したUPLC(微細粒子の充填剤を使い、短時間に高分離を提供するLC技術)の発明により、液体クロマトグラフィーのスループットが格段に向上したことが、メタボロミクスの普及を加速しました。
- メタボロミクス研究者はLC-MSに加え、GC-MSやCE-MSを組み合わせることで一度に100～500もの代謝物を同時に分析できるようになりました。

日本のメタボロミクス研究者

- もともと発酵研究が盛んな日本は代謝研究が進んでおり、メタボロミクスの分野でも多くの研究者を輩出しました。
- 日本のメタボロミクス研究者の先駆けは元アジレントテクノロジーの技術者であり、その後、慶應大学の教授になられた曾我朋義先生です。先生は特にアニオン成分の測定が困難であったCE-MS(キャピラリー電気泳動)の改良に努められ、CE-MSを国内外に広められました。
- 大阪大学の福崎英一郎先生はメタボロミクスに統計解析の一つである「主成分分析法」を導入し、メタボロミクスのビッグデータをわかりやすく視覚化することに成功しました。生体物質のみならず、食品、飲料の“味”解析にもメタボロミクスが有効であることを証明されました。
- 九州大学・生体防御医学研究所の馬場義裕先生は超臨界流体クロマトグラフィーをメタボロミクスに導入されました。超臨界流体クロマトグラフィーは水溶性成分から脂溶性成分までをひとつの手法で分離できる網羅性の高い手法であり、次世代メタボロミクスの手法として着目されています。
- 東北大学の三枝大輔先生の研究チームは、東北メガバンクの大規模コホート研究にメタボロミクス技術を導入し、食事などの生活習慣との関連を調べられています。

メタボロミクスが事業に

- メタボロミクス技術の発展にともない、多くの研究者が自分の研究にもメタボロミクスを使いたいと思うようになりました。ところが、メタボロミクスは誰でも簡単にできるものではありません。質量分析に関する高度な知識と、代謝物ライブラリーの準備、プログラミングに加え、生命現象を解釈する生化学の知識などが必要です。
- 難しいメタボロミクスを、生化学の研究者に代わって代行するメタボロミクス企業が登場しました。国内では慶應大学・曾我先生が開発された技術をプラットフォームとする「ヒューマンメタボロームテクノロジー」社が、同じ東北の秋田県にはリピドミクスを特徴とするJapan Lipid Technologies社も設立されました。
- 海外ではアメリカに超高分解能型質量分析装置を使う「メタボロン社」が登場しました。メタボロン社はメタボロミクス研究のみならず、自社で発明した糖尿病マーカーを使い、糖尿病のリスク判定ビジネスも行っています。
- 私たち九州プロサーチは様々な分野の専門家を要し、メタボロミクスのみならず、プロテオミク、遺伝子発現など様々な角度から生命現象を解明するお手伝いをさせて頂いております。

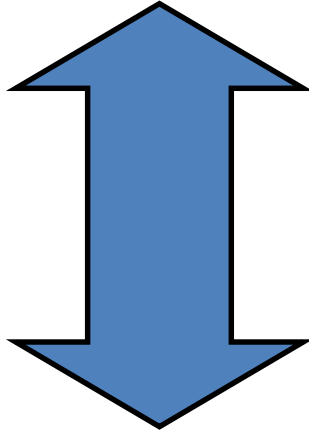
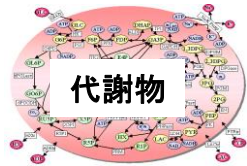
最近のメタボロミクス技術

- 最近のメタボロミクスには大きく二つの方向性があります。ノンターゲット法とターゲット法です。
- 一昔前は「ターゲット分析」というと、ある特定の一成分のみを分析することを言いましたが、スキャンスピードの向上に伴い、トリプルQ型質量分析装置を使って、一度に200～300の代謝物のターゲット分析ができるようになりました。
- これまでノンターゲットで使われてきたTOF型に比べますと、感度、特異度に優れるトリプルQ型は広く普及するようになりました。
- TOFを使ったノンターゲット法の利点は、スキャンモードで幅広いマスレンジのイオンを検出しても感度が低下しない点です。未知成分も含めて新しいマーカを探索したいときは、スキャン法を使ったノンターゲット分析が威力を発揮します。一般に血液をノンターゲット法で分析すると、一度に数万の成分が検出されます。
- 最近トリプルQを使ったターゲット分析と、TOFやQEを使ったノンターゲット分析のニーズが拮抗しています。

メタボロミクスの課題

- 夢膨らむメタボロミクスですが、解決しなければいけない課題はまだまだたくさんあります。
- 一つ目は「異性体」の識別です。質量分析では異性体の分離はできないため、これらはクロマトグラフィーで分離しなければなりません。しかし分子構造が近い異性体をクロマトグラフィーで分離することは、決して簡単ではありません。結局、分離不十分で、異性体を合算した値を提供しているところが多いようです。
- 二つ目は定量です。メタボロミクスは一度に数百の成分を扱うため、これらのすべてについて検量線をひくことは困難です。また仮に検量線で定量したとしても、イオン抑制の影響を強く受ける物質は、その定量値が真値から大きく外れる可能性もあります。
- 三つ目は結果の解釈です。メタボロミクス分析を行った結果、たくさんの代謝物の変動が見つかりましたが、結局何が起きているのかよくわからなかった・・・という経験はよくあります。代謝物の変動から生命現象を推察するには、コンピュータにたよらず、地道に論文を読むしかありません。

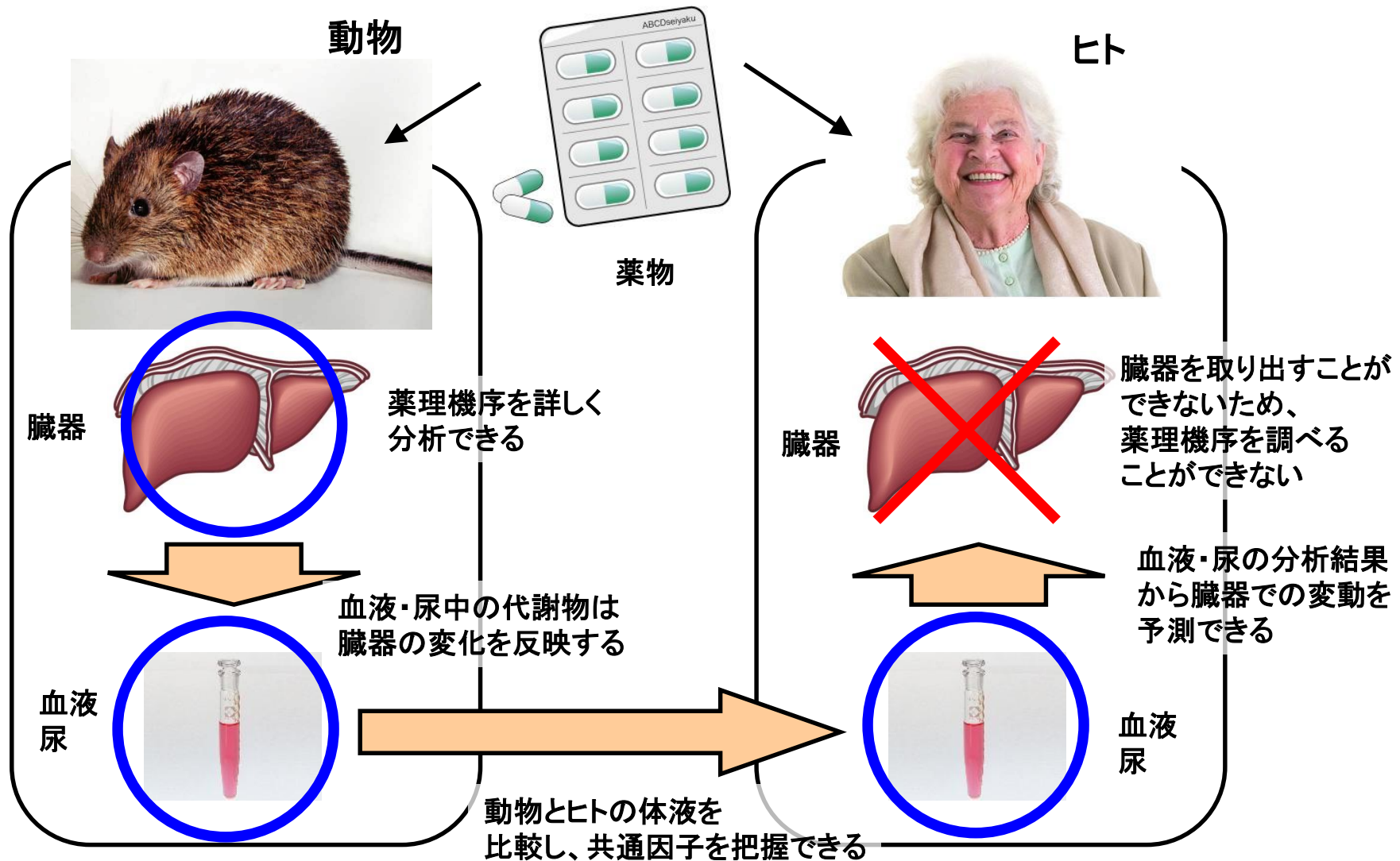
オミクス(網羅分析)の種類

網羅的解析手段 (オミクス)		対象疾患	分析対象	普及し始めた時
ゲノミクス	 DNA	 遺伝的要素の 強い病気	組織・(血液)	2000～2002
トランス クリプトミクス	 RNA		組織	1998～2000
プロテオミクス	 タンパク質		組織	2001～2003
メタボロミクス	 代謝物	遺伝支配の 弱い病気 (生活習慣病)	組織・ 血液・尿	2003～2005

メタボロミクスの測定法比較

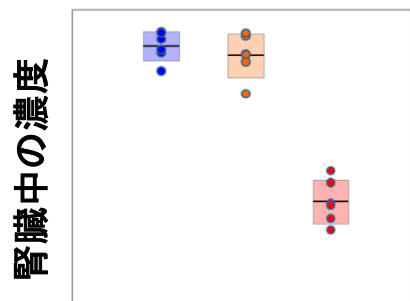
分析方法		長所	短所
NMR		- 分析が容易 - 装置の安定性高い	感度・分離が悪く、検出できる代謝物数に限りがある
GC-MS		- 分離能が高い - 再現性・安定性が高い	- 誘導体化が必要 - 熱不安定物質測定できない
LC-MS		- 分析が容易 - 安定性高い - 感度が高い	糖や核酸などの極性代謝物を分離できない
CE-MS		- 糖代謝物やアミノ酸などの極性代謝物が分析可能 - 分離能が高い	安定性・再現性が低い（ノウハウが必要）

メタボロミクス：動物と人と結びつける手段

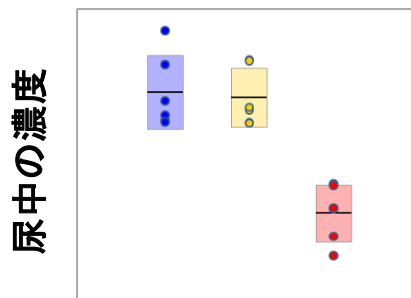


尿・血中代謝物から臓器の代謝を予測する

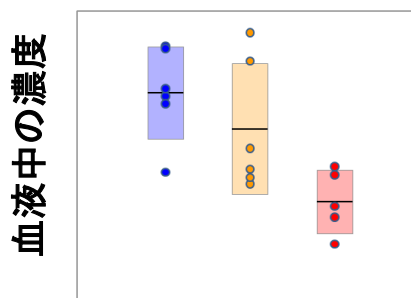
Guanidino acetateの変化



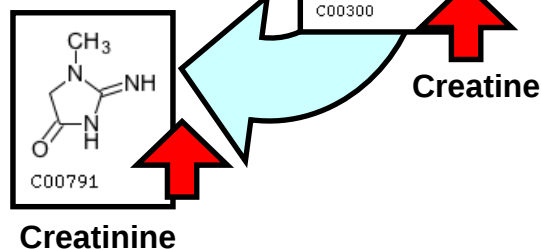
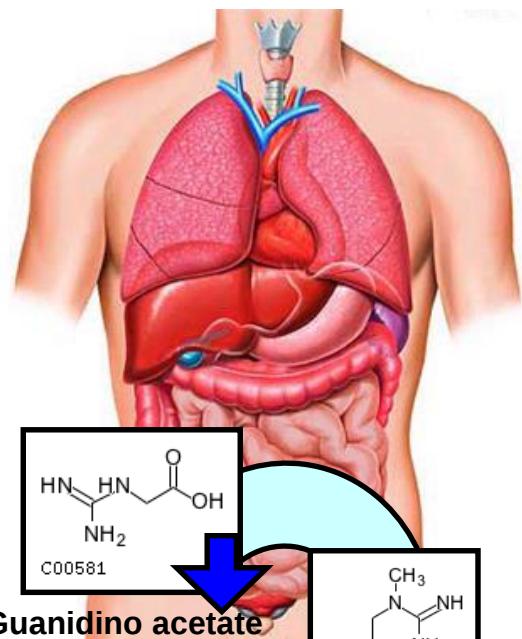
投与なし 少容量 大容量



投与なし 少容量 大容量

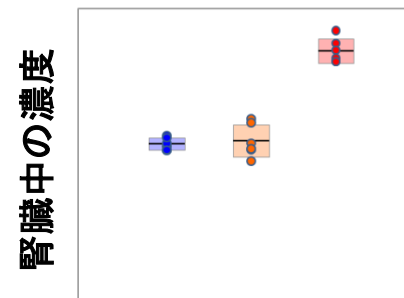


投与なし 少容量 大容量

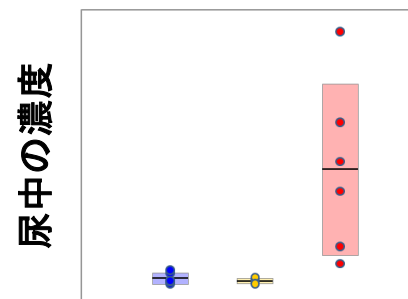


血液や尿中の代謝物が臓器の代謝を反映することがあります。

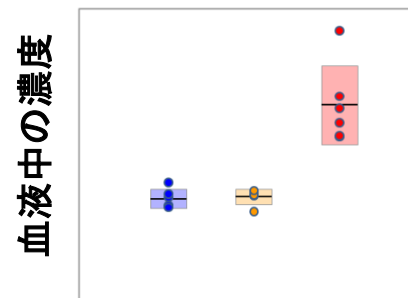
Creatinの変化



投与なし 少容量 大容量

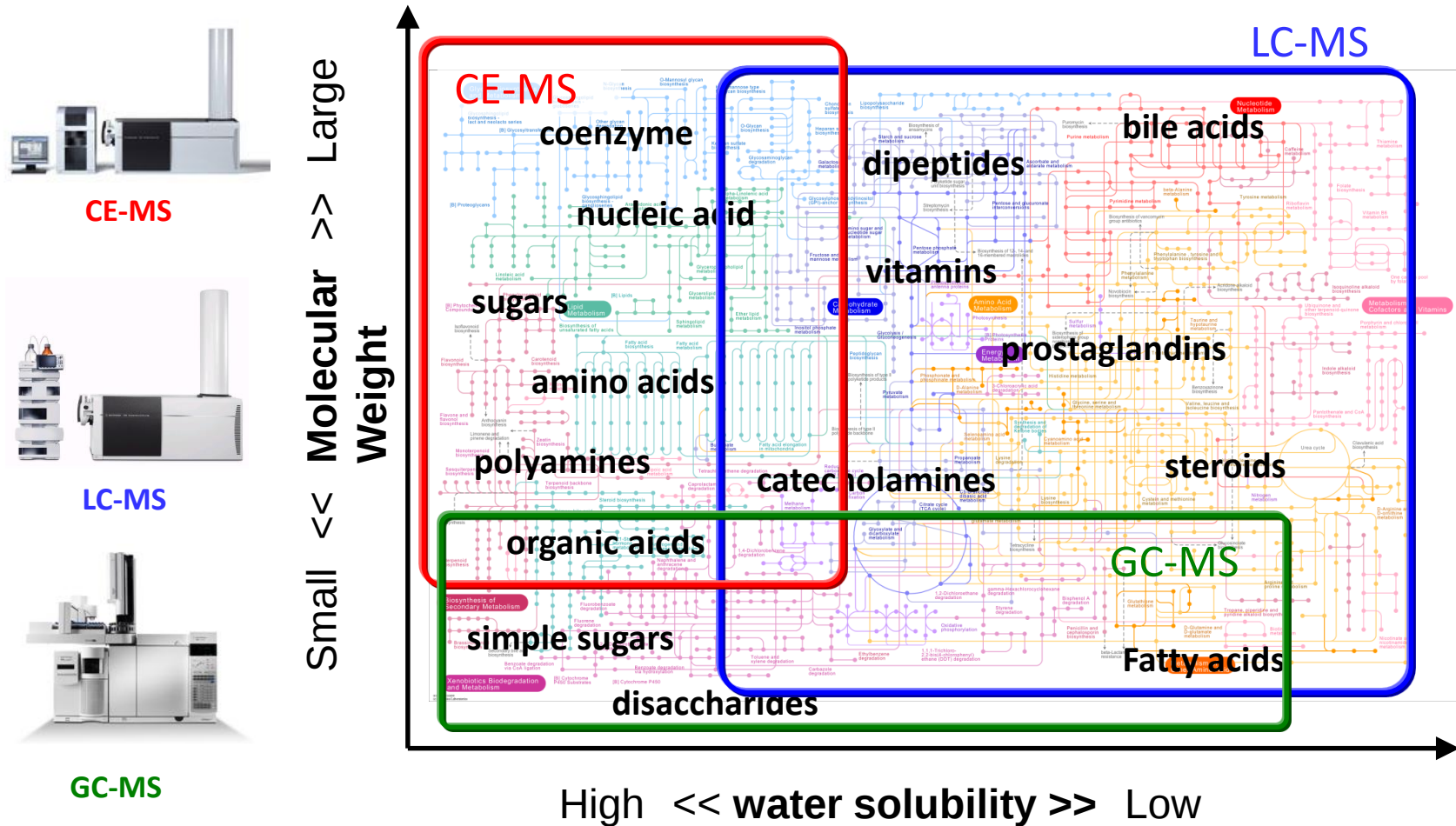


投与なし 少容量 大容量



投与なし 少容量 大容量

CE-MSとLC-MS



CE-MSは水溶性代謝物、LC-MSは脂溶性代謝物の分析に優れます。

網羅分析からターゲット分析へ

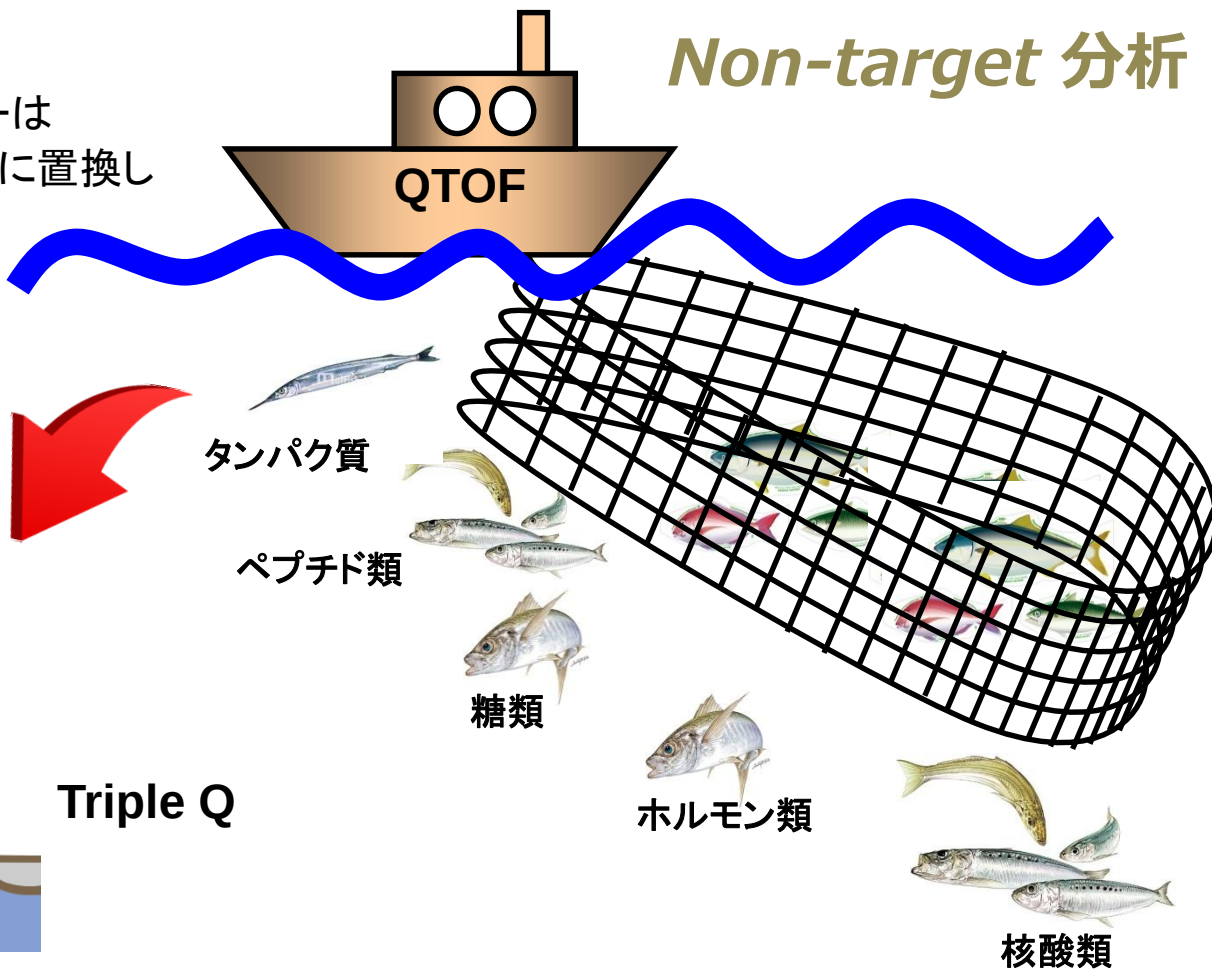
メタボロミクスで見つけたマーカーは
高感度、高精度のターゲット分析に置換し
て、さらに分析を続けます

Non-target 分析

Target 分析



高感度・高精度



ターゲット分析とノンターゲット分析の違い

分類	特徴	一度に測定する成分数	定量	濃度	装置
ノンターゲット分析	不特定多数成分の一斉分析する	1000～10,000	コントロールに対する増減率	ng/mL～	QTOF
ターゲット分析	特定成分を高精度に分析する	1～20	検量線による定量値	pg/mL～	Triple-Q