

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域： 疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく革新的医療基盤技術の創出
2. 研究開発課題名： 医歯工連携によるユーザーフレンドリーなメタボロミクス技術の開発ならびに生活習慣病研究への応用
3. 研究開発代表者： 福崎英一郎（大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 教授）
4. 研究開発の成果 糖尿病や歯周病などの生活習慣病に焦点をあて、メタボロミクス技術を疾患メカニズムの解明やマーカー探索に適用した。ユーザーフレンドリーな解析システム開発を行った。

（1）福崎英一郎グループ（阪大院工学研究科）

①生体中の代謝物固相抽出の保持モードや適量の検討を行った。高極性代謝物の GC/MS 用誘導体化について、新規方法論（固相法）を検討した。結果として凍結乾燥工程が省略できた上に、反応時間が大幅に短縮した。原理実証された方法論の自動化の検討に着手した。②LC/ESI/三連四重極質量分析で得られたスペクトル情報を用いて分析種を同定し、多変量解析ソフトに分析結果を自動転送できるインターフェイスを開発した。また、超高分解能質量分析計による脂質類の精密解析用の統合ソフトウェアも合わせて作成した。③ LC/ESI/HRMS を用いたノンターゲット代謝ターンオーバー解析システムの構築を試みた。<sup>13</sup>C グルコースにて標識した細胞由来の代謝物を分析しピーク抽出、アイソトポマーグループリング等を検討した。

（2）下村 伊一郎グループ（阪大院医学系研究科）

①「血液メタボローム解析による糖尿病大血管症の病態解明と早期診断」：動脈硬化（性疾患）を模倣した培養細胞実験系を用い、これまでのメタボローム解析で得られた一部の物質が LPS 誘導性のマウスマクロファージ細胞株の活性化を抑制することを示唆する結果を得た。また、糖尿病患者を対象とした横断的/前向き観察研究を開始した。明らかな動脈硬化性疾患を伴わない 2 型糖尿病患者を対象として、血液サンプル中の GC/MS メタボロームと既存の 5 項目の早期動脈硬化の指標となる画像・生理学的検査の比較を実施した。②「メタボリックシンドロームの病態基盤である肥満脂肪組織代謝異常の網羅的分析～メタボリックマップの構築と予防標的の探索～」：前年度実施の肥満マウス（遺伝性肥満モデルマウス）の脂肪組織メタボローム解析に続き、食事誘導性モデルでも検討を行った。グルタミン酸が脂肪組織に豊富に存在することを発見した。肥満脂肪組織での代謝異常（グルタミン酸の上昇）と内分泌異常（アディポネクチン分泌異常）との接点の一旦を明らかにすることができた。

（3）久保庭 雅恵グループ（大阪大学歯学部附属病院）

①「唾液メタボローム解析による歯周病由来慢性炎症バイオマーカーの探索」：72 名の被験者について歯肉縁下より唾液中に放出される、歯周組織の炎症を反映する代謝物質の網羅的測定を実施し、物質同定および定量を完了した。②「メタボローム解析による歯周病重症化メカニズムの解明」：前年度結果を踏まえ、歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* のバイオフィーム表現型の変化を誘発する物質の探索を実施した。前年度開発した菌体間の代謝物質相互利用を観察することが可能なトランスウエルシステムを利用し、代謝物質を介した歯周病菌-他菌種間相互作用を検討した。歯周病原性混合菌種バイオフィーム形成の各ステージにおいて、近接した細菌種から放出される代謝物質が、*P. gingivalis* 菌体内における尿素回路近傍のメタボロームの変動とそれに続く表現型の変化の引き金となっていることを示唆する結果を得た。混合菌種バイオフィーム形成に中心的役割を果たす仲介菌 *F. nucleatum* との相互作用における *S. gordonii* ArcD の機能（オルニチン排出）の重要性を発見した。