

## 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： オミクス解析に基づくアレルギー発症機構の理解と制御基盤の構築
3. 研究開発代表者： 大野博司（国立研究開発法人理化学研究所統合生命医科学研究センター）
4. 研究開発の成果

## 課題 1. コホート研究からの小児アレルギー疾患の発症関連マーカーの同定

コホート①については 3, 4, 5 歳児の追跡調査(アレルギーの臨床診断も含む)ならび 5 歳時の糞便採取を行った。コホート②については被験者のリクルートを行い、順調にエントリーは進んだ。

## 課題 2. アレルギー関連バイオマーカーの探索とその機能解析

## ①低分子量代謝物候補分子の探索

1. 糞便サンプルからの代謝物抽出法の確立: 抽出溶媒に MeOH を用いることで脂質代謝物と水溶性代謝物を同時に抽出でき、かつ、糞便ペレット中の DNA と RNA は安定して回収できることを確認した。
2. 脂溶性代謝物メタボローム解析法の確立: 脂質代謝物のノンターゲット解析の確立に向けたプロトコルの至適化の結果、10 µg 相当量の糞便が最適な分析濃度であり、約 300 種類の脂質が同定可能になった。母乳についても、糞便と同様のプロトコルで約 200 種類の脂質が同定可能となった。
3. 水溶性代謝物メタボローム解析法の確立: MeOH 溶液から水溶性代謝物を抽出、GC-MS を用いたハイスループット解析法を確立し 185 物質（糖、アミノ酸、核酸など）を同定した。生後 1 週、生後 1 か月の各年齢において主成分分析（PCA）を行ったが、年齢毎にクラスタリングされ、アレルギー・非アレルギー群にはクラスタリングされなかった。

## ②腸内フローラ動態の解明

生後 1 週、1 ヶ月、1 歳での 3 時点の糞便検体が揃っていた約 70% の被験者（206 名）からの菌叢データの取得が終了した。

## ③統合オミクスデータのバイオインフォマティクス

先行して解析を始めた 24 被験者（13 被験者が 1 歳時にアトピー性皮膚炎と診断されたアトピー群、11 被験者が 1 歳時にアトピー性皮膚炎を発症していない非アトピー群）に関しては解析が終了した。その結果、アトピー群で非アトピー群より菌叢の多様性に富む系呼応が認められた。また、1 ヶ月の時点で *Staphylococcus* の増加が特徴的であった。*Staphylococcus* には皮膚に多く存在する常在菌が含まれており、1 歳の時点でのアトピー性皮膚炎の発症に寄与している可能性が示唆された。

## 課題 3. DAMPs が免疫系・アレルギーに及ぼす影響

脂肪酸とインフラマソーム活性化の分子機構については、ミトコンドリアの fission-fusion 変換、および ROS の産生が関与している事が分かった。さらに、小胞体ストレスのマーカーである活性型 XBP-1 が産生され、小胞体シャペロンである BiP が発現している事が確認できた。

マウスを用いた飽和脂肪酸と皮膚疾患の関係の検討では、アトピー性皮膚炎に特徴的である末梢血中 IgE 値の上昇が確認された。