

氏名	守谷 岳郎
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博乙第 4501 号
学位授与の日付	平成31年 3月25日
学位授与の要件	博士の論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文の題目	サンプル保存条件, 食事, 腸内細菌叢が哺乳類メタボローム解析データに及ぼす影響
論文審査委員	教授 田村 隆 教授 神崎 浩 教授 村田 芳行 准教授 守屋 央朗
<b>学位論文内容の要旨</b>	
<p>哺乳類メタボロームは摂食や腸内細菌の影響を含み, またサンプル保存条件によって化学反応や酵素反応の影響を受ける。多施設サンプリングを伴う臨床研究では, サンプリングタイミングや保存条件を規定するために摂食や保存温度が個々の代謝物に与える影響を知る必要がある。また個々の代謝物量に含まれる腸内細菌の影響を知る事は宿主-腸内細菌相互作用を理解する上で必須の基盤情報である。故にメタボローム解析への期待が高い臨床研究と腸内細菌研究においても外的因子の影響は重要な情報となる。過去に外的因子の影響を意図的に加えたサンプルを用いて 250 程度の代謝物が分析されているが, 得られた変動の多くは存在量の多い脂質やアミノ酸に限られている。そこで, 本研究では約 1,000 分子の情報が得られる最新技術を用いて保存条件と摂食がヒト血漿メタボロームに与える影響と腸内細菌がマウスの様々な部位のメタボロームに与える影響を検討した。健康人から採取した血漿を, 異なる温度と時間を組み合わせた 10 条件で保存した後, メタボローム解析を実施した。結果, 新たに 2 種の脂質とチオール基, ジスルフィド基を有する代謝物, アラントインが保存条件の影響を特に受けやすいことを確認した。また <math>N_6</math>-メチルアデノシンの温度および時間依存的な増加割合に個人差が無く, 血漿サンプルの保存状態の指標となる可能性が示された。次に健康日本人が日本食を摂取した前後の血漿メタボローム解析を行った。その結果, 脂質から糖へのエネルギー利用シフトを反映した代謝変化として, 新たに脂肪酸 <math>\beta</math> 酸化中間体である 3 ヒドロキシル脂肪酸の低下を認め他, 抱合体特異的な胆汁酸増加, <math>N</math>-アシルタウリンの減少を確認した。また食肉タンパク質の分解産物と考えられる 3-メチルヒスチジンに加えて, 食肉に含まれる <math>\beta</math>-アラニン, アンセリンの増加が認められ, 食肉由来代謝物の共通した増加が認められた。腸内細菌の影響を調べるために無菌マウス (GF) に SPF マウスの糞便を経口投与して脱無菌化したマウス (ExGF) を作成し, 腸管内容物の異なる 4 部位, 糞, 尿, 血漿, 組織について GF と比較メタボローム解析を行った。小腸内容物の解析から消化機能に腸内細菌が寄与すること, 大腸内容物と血漿, 組織の解析から, 大腸で細菌由来の多くの代謝物が作られて宿主内部の代謝物レベルに影響することが明確に示された。また腸内細菌の影響が大きい代謝物として新たにメバロン酸, メバロノラクトン, 過酸化脂質, <math>N_1</math>, <math>N_{12}</math>-ジアセチルスペルミジンを見出した。さらに腸内細菌によって肝スフィンゴ脂質が全般的に大きく低下することを確認した。本研究で得られた結果は各代謝物を分析する際の試験プロトコルの詳細を決める基盤情報となる他, 取得したデータから保存条件や摂食の影響を受けている物を除くことで精度の高い統計解析や生物学的解釈を可能にする。さらにメタボロームデータにおける摂食や腸内細菌の影響を見積もり, 組織機能に与える影響を理解する基盤情報となる。</p>	

## 論文審査結果の要旨

哺乳類メタボローム研究においては外的因子の影響を考慮する必要があるが、過去の知見は一部の脂質やアミノ酸に限定されていたため、本論文では、外的因子をサンプル保存条件・食事・腸内細菌叢に絞り、最新技術で検体内の 1000 程度の分子変動を定量し、その影響を解析した。

その結果、新たに 2 種の脂質とチオール基、ジスルフィド基を有する代謝物、アラントインが保存条件の影響を特に受けやすいことを確認した。また N6-メチルアデノシンの温度および時間依存的な増加割合に個人差が無く、血漿サンプルの保存状態の指標となる可能性が示された。

次に健常日本人が日本食を摂取した前後の血漿メタボローム解析を行ったところ、脂質から糖へのエネルギー利用シフトを反映した代謝変化として、新たに脂肪酸β酸化中間体である 3 ヒドロキシル脂肪酸の低下や、抱合体特異的な胆汁酸増加、N-アシルタウリンの減少を確認した。また食肉タンパク質の分解産物と考えられる 3-メチルヒスチジンに加えて、食肉に含まれるβ-アラニン、アンセリンの増加が認められ、食肉由来代謝物の共通した増加が認められた。

腸内細菌の影響を調べるために無菌マウス (GF) に SPF マウスの糞便を経口投与して脱無菌化したマウス (ExGF) を作成し、腸管内容物の異なる 4 部位、糞、尿、血漿、組織について GF と比較メタボローム解析を行った。小腸内容物の解析から消化機能に腸内細菌が寄与すること、大腸内容物と血漿、組織の解析から、大腸で細菌由来の多くの代謝物が作られて宿主内部の代謝物レベルに影響することが明確に示された。また腸内細菌の影響が大きい代謝物として新たにメバロン酸、メバロノラクトン、過酸化脂質、N1、N12-ジアセチルスペルミジンを見出した。さらに腸内細菌によって肝スフィンゴ脂質が全般的に大きく低下することを確認した。

本研究で得られた結果は各代謝物を分析する際の試験プロトコールの詳細を決める基盤情報となり、取得したデータから保存条件や摂食の影響を受けている物を除くことで精度の高い統計解析や生物学的解釈を可能にするとともに、メタボロームデータにおける摂食や腸内細菌の影響を見積もり、組織機能に与える影響を理解する基盤情報となることが期待できる。

これらの知見は、メタボローム研究の発展に寄与することが大いに期待される。

これらの研究内容について、国際学術的に 3 報が掲載され、さらに国内学会で 2 度の発表も行なっており、博士 (農学) の学位に見合う成果であると判断できる。