



Title	メタボロミクスによる胃潰瘍の血中バイオマーカー探索
Author(s)	竹内, 健一郎
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52250
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (竹内 健一郎)

論文題名 メタボロミクスによる胃潰瘍の血中バイオマーカー探索

論文内容の要旨

胃潰瘍は臨床において頻繁に報告されている副作用の一つである。胃潰瘍を惹起する薬物として非ステロイド性消炎鎮痛剤 (NSAIDs) が知られている。NSAIDsとはアスピリンやイブプロフェンをはじめとする抗炎症作用、鎮痛作用、解熱作用を有する薬剤の総称であり、NSAIDsの服用により患者が胃潰瘍を発症するリスクが3倍高くなると言われている。また、NSAIDsを長期間服用している患者の実に15-30%は胃潰瘍もしくは出血を患っているとの報告もある。NSAIDsにより誘発された胃潰瘍を検出する容易な方法は存在せず、胃カメラ等の内視鏡を用いて発見するしか無い。通常の胃腸管障害の自覚症状である痛みは、NSAIDsが誘発する胃潰瘍においてはNSAIDsの鎮痛作用により抑制されるため、発見時には既に致命傷となっていることもある。そこで、NSAIDs胃潰瘍の存在や進行度を微量の血液で検出できる指標があれば、より適切なNSAIDsの利用に貢献できる。また、内視鏡検査は治験者にとって大きな負担になることから、血液検査等の侵襲性が低い方法で胃潰瘍を鋭敏に検出できれば、このような副作用をもつ医薬品のより安全な開発に繋がると期待される。しかし、これまでそのようなバイオマーカーは報告されていなかった。そこで筆者はメタボロミクスを用い新たな胃潰瘍の血中バイオマーカーを見いだすことを目的として研究を行った。

“メタボロミクス”は生体中の内因性代謝物を対象にした“オミクス”研究の一つであり、細胞や生体内の代謝物を網羅的に測定し、その変化を包括的に理解しようとする学問分野である。メタボロミクスでバイオマーカーを探索する場合は、動物モデルから採取したサンプル中の代謝物を網羅的に測定し、正常動物と異常動物の違いを見出すことでその候補を抽出する。さらにその実用化に際しては抽出されたバイオマーカー候補の変動機序やそのプロファイルを明らかにする必要があるが、これまでバイオマーカー探索研究は多くなされているものの、その変動機序やプロファイルまで検討した研究例はほとんど報告されていない。そこで本研究ではより実用化に近づけるため単にバイオマーカー候補を探索するだけでなく、候補となる代謝物の濃度が変動する要因や機序、プロファイルも含めて明らかにし、実際のバイオマーカー開発につなげることを目的に実験を行った。

本研究は、まずNSAIDs胃潰瘍の早期診断に向けたバイオマーカー候補の探索を目的とし、代表的なNSAIDsであるアスピリン及びイブプロフェンを単回経口投与して胃潰瘍を惹起したラットの胃及び血液サンプルのメタボロミクスを行った。その結果、CE-MSによる測定で得られた580代謝物のデータから胃潰瘍の惹起を特異的に反映していると思われる7つの内因性代謝物を抽出した。さらにこれらの内因性代謝物の血中濃度との相関を確認して、有意な相関関係が確認されたcis-aconitate, succinate, o-acetylcarnitine, 3-hydroxybutanoic acid, proline及び hydroxyprolineの5つを胃潰瘍のバイオマーカー候補とした。次にバイオマーカー候補とされた代謝物群の変動要因および機序を明らかにすることを目的に、胃酸の放出を抑制する事でNSAIDsによる胃潰瘍の惹起を抑制する作用がある事が知られているH₂ブロッカー及びプロトンポンプインヒビターを用いてアスピリンによる胃潰瘍惹起の過程を途中で止めた場合の内因性代謝物の変化を確認した。この検討において、アスピリンの単独投与で見られた変化がH₂ブロッカーやプロトンポンプインヒビターを共投与する事で正常に戻った場合、その変化は惹起された胃潰瘍を直接反映するバイオマーカーであり、NSAIDsによる胃潰瘍の原因となる過程に依存したバイオマーカーとは区別できると期待される。この検討の結果、バイオマーカー候補のうちhydroxyprolineが胃潰瘍の惹起により直接変化するバイオマーカー候補であること、その他のバイオマーカー候補は胃潰瘍が惹起される過程で副次的に変化するバイオマーカーであることを確認した。さらにバイオマーカー候補の変動機序及びその適応範囲を明らかにすることを目的にエタノールやストレス等NSAIDs投与以外の要因で胃潰瘍を誘発させたラットについてバイオマーカー候補の変動パターンをNSAIDsで誘発した場合のそれと比較した。胃潰瘍は胃において攻撃因子と防御因子のバランスが崩れることで惹起されることが知られているが、バランスが崩れる機

序はその原因により大きく異なっている。そのためこの検討において全てのモデルでバイオマーカー候補の変動が共通して見られた場合はそのバイオマーカー候補は胃潰瘍が惹起されたことにより変動したものであること、他方NSAIDsモデルでのみ確認されたバイオマーカー候補は薬物によって胃潰瘍が惹起される過程でのみ見られる変化であることを明らかにすることができる。そこでこの検討によりバイオマーカー候補の変動する原因を再確認するとともに、バイオマーカー候補がどのような目的に使えるかを明らかにする事を試みた。その結果、hydroxyprolineの減少については今回検討した全てのモデルで確認され、hydroxyprolineがNSAIDs投与による胃潰瘍の惹起を示すのみならず胃潰瘍の原因を問わず用いることが出来る有力な胃潰瘍のバイオマーカーとなりうる期待されるとの結果を得た。

以上の検討により、本研究では胃潰瘍の血中マーカー候補としてhydroxyprolineを見出し、さらにそれを実用化するために必要な変動機序やプロファイルを解析して以下の事を明らかにした。すなわち血中hydroxyproline濃度は、

- ・ 胃潰瘍の発症に伴って減少し、回復すると正常値に戻る。
- ・ 臓器内のhydroxyproline量の変化とよく相関し、その減少は胃潰瘍の発現を意味している。
- ・ 胃酸分泌抑制剤によって胃潰瘍を阻止した場合には変化しない。
- ・ NSAIDsにより誘発される胃潰瘍のみならずエタノールやストレスによる胃潰瘍でも変化する。

以上の結果から血中hydroxyproline濃度の減少は胃潰瘍が惹起されたことを血液検査で検出できるバイオマーカーとなりうる期待された。このバイオマーカーの変化は胃潰瘍惹起により一般的に観察される胃潰瘍部位におけるコラーゲン量の減少に起因するものと考えてられていることから、臨床において様々な原因で惹起された胃潰瘍を鋭敏に検出できる初の血中バイオマーカーとなりうる可能性を秘めていると期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (竹内 健一郎)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 大久保 忠恭 副 査 教授 宇野 公之 副 査 教授 高木 達也
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>本研究で申請者は、非ステロイド性消炎鎮痛剤(NSAIDs)等により引き起こされる胃腸管障害を迅速かつ簡便に検出する方法を開発するために、メタボロミクス的手法を駆使して胃潰瘍の血中バイオマーカーの探索を行い、臨床検査での使用が有効と考えられる胃潰瘍の血中バイオマーカー候補を発見することに成功した。NSAIDsは医療現場で広範に用いられている薬剤であるが、胃潰瘍を発症するリスクが3倍高くなり、特に長期間服用した場合、最大30%の患者が胃潰瘍を発症する。しかし、胃腸管障害を検出する実用的方法が患者にとって大きな負担になる内視鏡検査しか無いため胃潰瘍等の発見は遅れがちであり、時としては致命傷となることもある。そこで申請者は血液検査等の侵襲性が低い方法で胃潰瘍を鋭敏に検出する新たな方法を開発するために、血中代謝産物のメタボロミクス解析を行い胃潰瘍の存在や進行度を的確に示す血中バイオマーカーを見出した。検出精度向上のために申請者はバイオマーカーの変動機序やプロファイルを新たに考慮に入れて解析する手法を導入した。また、生体内の主要な代謝産物がイオン性低分子物質であることに注目して、イオン性物質を高分離・高感度で測定できるキャピラリー電気泳動質量分析装置(CE-MS)を駆使してメタボロミクス解析を行っている。NSAIDs誘発胃潰瘍モデルと無処置動物の代謝物プロファイルをCE-MSにより検出して、両者の比較検討から複数のバイオマーカー候補を探索した。さらにバイオマーカー候補の変動機序や疾患との関連を考察した仮説を構築し、それを検証するためNSAIDsによって胃潰瘍が惹起されるのをプロトンポンプインヒビターやH2ブロッカー等で抑えた場合の代謝物プロファイルの変化、NSAIDs以外の胃潰瘍モデルにおける代謝物プロファイルの変化からバイオマーカー候補が変動する機序の明らかにした。最終的にヒドロキシプロリンが胃潰瘍の有力な血中バイオマーカー候補であることを明らかにした。</p> <p>上記成果はNSAIDsが引き起こす胃腸管障害による代謝物プロファイルの変化過程の解明と胃潰瘍に対する有効かつ実用的な新規検査法の開発に関して有用な知見を与えるものであると考えられ博士(薬学)の学位論文として相応しいものと認める。</p>	