

一次代謝物の相関分析を用いた性別による加齢の差異解析

中川 裕貴¹、志田 隆史²

¹ 株式会社島津製作所、² 東京都健康長寿医療センター研究所

ユーザーベネフィット

- ◆ Smart Metabolites Database™ Ver. 2を用いることで簡単にGC-MSを用いた一次代謝物測定が可能です。
- ◆ マルチオミクス解析パッケージを用いることで一次代謝物測定データを代謝経路図に可視化し、年代別解析や相関解析により各試料群に特徴的な成分を検出できます。

■はじめに

日本総務省統計局の調べによると2023年現在、日本の総人口1.25億人のうち65歳以上の高齢者が占める割合は29.0%とされ人口の約3人に1人は高齢者です¹⁾。1947年から1949年生まれの「団塊の世代」が2022年から75歳を迎え始めたことで、75歳以上（後期高齢者）の人口は他の年代と比較し特に顕著な増加傾向にあり2023年は総人口の15.5%（前年14.9%）を占めています¹⁾。

後期高齢者は疾病を発症するリスクが高く、また長期化しやすいため、日本では後期高齢者に他の年代と異なる医療制度を設けています。疾病罹患率の悪化の要因として加齢に伴う身体機能変化が考えられ、老化により糖代謝の異常による耐糖能の低下により食後血糖が上昇しやすくなることや、脂質代謝の異常により肝臓に保管される脂肪酸容量が減少することが論文により報告されています²⁾。

また同じ後期高齢者でも性別により加齢による健康状態の変化に差異があり、男性は心臓病や脳卒中などの生活習慣病に罹患し介護が必要になることが多く、女性は骨や筋力の衰えにより運動機能が低下し自立度が落ちていく傾向があるとされています³⁾。これらの差異にも代謝物量の変動が影響していると推測され、高齢者の性別間での代謝物量差異を解明していくことが喫緊の課題となっています。

本アプリケーションでは、70歳以上85歳未満の健康者の血清に含まれる一次代謝物をガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）で測定しました。測定結果から性別間の差異を見つけるため、「マルチオミクス解析パッケージ」を用いて解析しました（図1）。マルチオミクス解析パッケージは多変量解析（主成分分析や階級クラスター分析など）やボルケーノプロット、代謝マップなどのデータ可視化機能を備えた解析ソフトウェアです。一次代謝物測定データを代謝経路図に可視化し、年代別解析や相関解析により性別による差異を解析した分析例をご紹介します。

■実験

70歳以上85歳未満の10人の健康者の血清（男性：n=5、女性：n=5）を分析に用いました。前処理は「メタボロミクス前処理ハンドブック⁴⁾」に沿って行われ、GC-MSの分析条件はSmart Metabolites Database Ver.2を用いました。データ採取モードとしてMultiple Reaction Monitoring（MRM）を用いることで、37分の分析時間で604成分の化合物を高感度に測定することができました。前処理方法や分析条件の詳細は末項の「関連アプリケーション」記載のアプリケーションニュース01-00410「GC/MSを用いた遺伝子変異ショウジョウバエのメタボロミクス差異解析」をご参照下さい。

データ可視化・統計解析

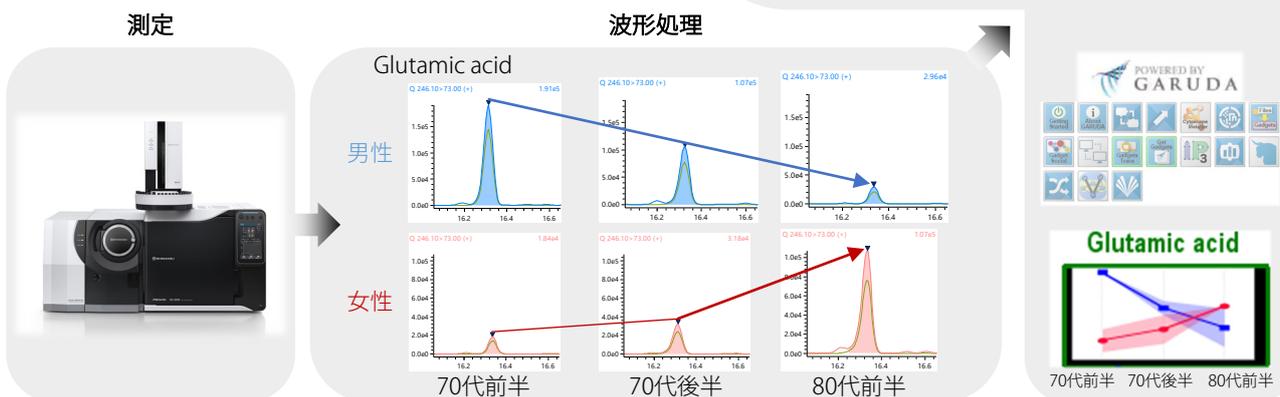
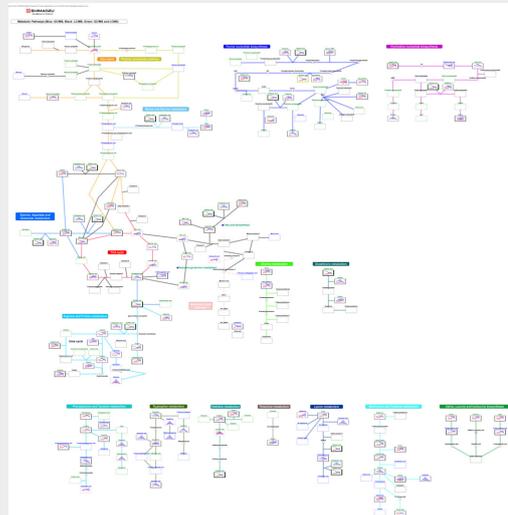


図1 GCMS-TQ™8040 NXによる測定からマルチオミクス解析パッケージでの解析までの流れ

■ 代謝経路図上での年代別解析と相関解析

GC-MSにより604成分の一次代謝物を測定したところ243成分がすべての血清試料で検出されました。これらの成分をマルチオミクス解析パッケージ搭載により「70代前半」「70代後半」「80代前半」に3区分した年代別および各性別で代謝経路図に投影しました。各代謝物ごとに男性は青色、女性は赤色の折れ線グラフで加齢に伴う代謝量変化を可視化しました(図2)。

性別により代謝物量変化で差異のある成分のひとつとしてグルタミン酸が挙げられました。女性では加齢とともに血清中グルタミン酸含有量が増加していることに對し、男性では減少傾向にあります。グルタミン酸は脳内に豊富に存在するアミノ酸であり、ニューロンでグルタミンから生成され、興奮性神経伝達物質として重要な役割を果たします。また生体内に存在する抗酸化物質グルタチオンはグルタミン酸を原料として生成され、生体内で生じるさまざまな酸化的ストレスに対する防御機構を有します⁵⁾。グルタミン酸は血清中では男性で高く検出されることの多い成分ですが血液への流出元となる体内組織中では女性の方が高いことが報告されています⁶⁾。

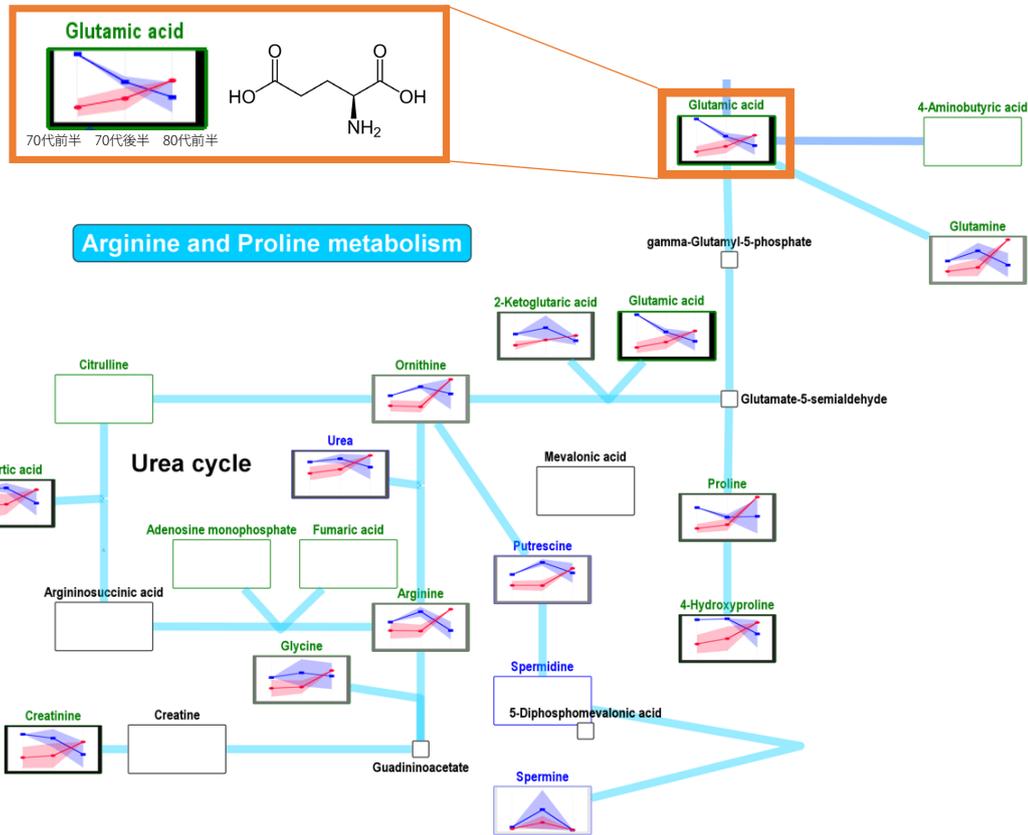


図2 グルタミン酸に関わる代謝経路の相関結果 (マルチオミクス解析パッケージの画像)

相関関係が低い

相関関係が高い

n	r	$-t = r / \sqrt{(1-r^2) / df} \times 0.5$	df	Probability (non-directional) (approximated to t-distribution)
6	0.101836	0.204737	4	0.847774

n	r	$-t = r / \sqrt{(1-r^2) / df} \times 0.5$	df	Probability (non-directional) (approximated to t-distribution)
6	0.455932	1.02455	4	0.36349

n	r	$-t = r / \sqrt{(1-r^2) / df} \times 0.5$	df	Probability (non-directional) (approximated to t-distribution)
6	0.928015	4.982053	4	0.007586

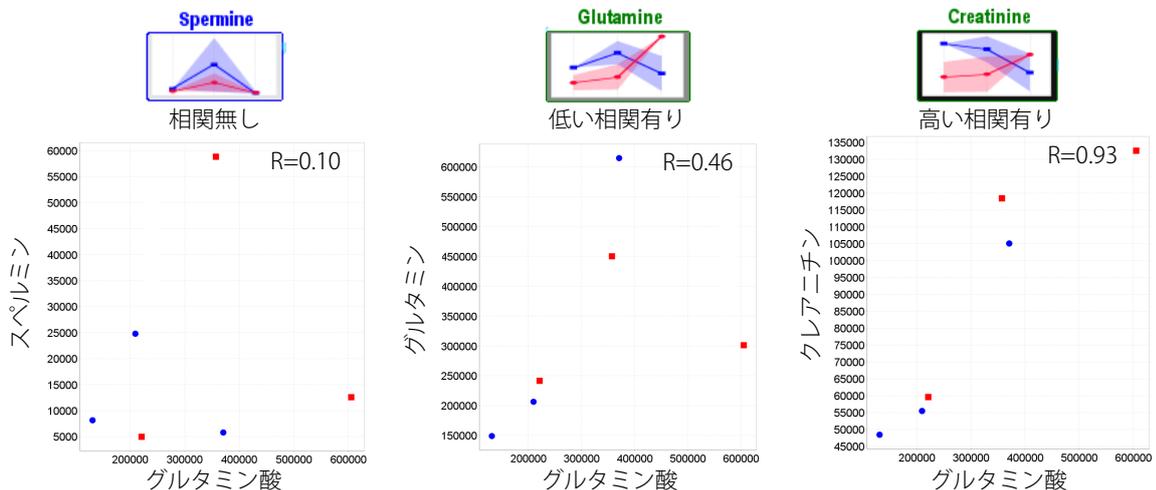


図3 グルタミン酸と各化合物の相関結果を示す散布図 (マルチオミクス解析パッケージの画像)
(化合物名: 青色はGC-MS測定成分、緑色はGC-MSとLC-MSで両方測定可能な成分)

またマルチオミクス解析パッケージの代謝経路図は特定の代謝成分の年代別変化に類似した(=相関関係の高い)代謝物を自動的に色分けする機能があります。そこで同機能を用いてグルタミン酸と類似した年代別変化を代謝経路図上で探索しました。その結果グルタミン酸と同様にアルギニン酸やプロリンの分解代謝経路で生成されるクレアチニンが相関関係が高いことが分かりました。

クレアチニンは、血液中の老廃物で肝臓でろ過され尿中に排出される成分です。男性の方が女性よりも若い年齢で血中濃度が下がることが知られています⁷⁾。

非必須アミノ酸であるグルタミンもグルタミン酸と相関関係があることが確認されました。しかし血中グルタミン量は怪我やストレスなどで減少することから相関関係はクレアチニンほど高くありませんでした。またグルタミン酸と相関関係が無かった成分としてスベルミンが検出されました。血中スベルミン量は年齢よりも個人差が大きく影響する成分として報告されています⁸⁾。

マルチオミクス解析パッケージによりクレアチニン、グルタミン、スベルミンの各化合物とグルタミン酸の相関関係を散布図で示しました(図3)。

散布図は横軸にグルタミン酸の年代別面積値、縦軸に各比較対象化合物の年代別面積値を示し、青色は男性、赤色は女性を表します。その結果、グルタミン酸との各成分の相関係数はクレアチニン：R=0.93、グルタミン：R=0.46、スベルミン：R=0.1であることが分かりました。

■まとめ

本報では70歳以上85歳未満の10人の健康者の血清(男性：n=5、女性：n=5)をGCMS-TQ8040 NXとSmart Metabolites Database Ver.2で分析しました。検出された243成分を基にマルチオミクス解析パッケージにより代謝経路図への投影と年代別解析と相関解析を行いました。その結果、性別および年代別で差異のある一次代謝物を検出することができました。

<参考文献>

- 1) [人口推計](#)、総務省統計局、2023年7月26日参照
- 2) [高齢者の代謝特性](#)、上垣 佐登子、外科と代謝・栄養52巻1号、2023年7月26日参照
- 3) [第6回 年を重ねると「健康状態」はどのように変化するのか](#)、日本生命、2023年7月26日参照
- 4) [メタボロミクス前処理ハンドブック](#)、島津製作所、2023年7月26日参照
- 5) [高齢者とグルタミン酸機能](#)、橋本謙二、2023年7月26日参照
- 6) [Sex Differences in Psychiatric Disease: A Focus on the Glutamate System](#)、Megan Wickens、2023年7月26日参照
- 7) [Use of serum creatinine concentrations to determine renal function](#)、T D Bjornsson、2023年7月26日参照
- 8) [アンチエイジングの本命=高ポリアミン食](#)、自治医科大学 大宮医療センター、2023年7月26日参照

<関連アプリケーション>

1. GC/MSを用いた遺伝子変異ショウジョウバエのメタボロミクス差異解析 [Application News No.01-00410-JP](#)
2. LC-MS/MSとICP-MSを用いた培地分析による抗体生産細胞の代謝解析 [Application News No.01-00498A-JP](#)

GCMS-TQとSmart Metabolites Databaseは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。Garudaは、Systems Biology Instituteの日本およびその他の国における商標です。

＞ アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



＞ GCMS-TQ™8040

NX

トリプル四重極型 ガスクロマトグラフ質量分析計

関連分野

＞ ライフサイエンス

＞ メタボロミクス

＞ 臨床研究・法科学

＞ 臨床研究

＞ 価格お問い合わせ

＞ 製品お問い合わせ

＞ 技術お問い合わせ

＞ その他お問い合わせ