

論 文 内 容 要 旨

Physiological and environmental parameters associated
with mass spectrometry-based salivary metabolomic
profiles

神奈川歯科大学 顎顔面診断科学講座

非常勤講師 杉本 昌弘

(指 導 : 槻木 恵一 教授)

論文内容要旨

近年、各種オミックス技術を用いて体液中の様々な分子を網羅的に測定し、疾患特異的なマーカーを探索する研究が盛んになってきた。唾液は非侵襲に採取可能で患者に採取の負担の少ないことから、癌のような早期発見が重要な疾患の検査が実用化できれば、学術的にも社会的にも意義が大きい。申請者はこれまで、キャピラリー電気泳動・質量分析装置 (CE-MS) を用いて口腔癌などで唾液中の代謝物(メタボローム)にどのような異常が見られるかを調べてきた(Sugimoto et al., *Metabolomics*, 2010)。しかし一方で、唾液中の代謝物は様々な環境要因がその濃度パターン(プロファイル)に影響する可能性があり、これらの情報とプロファイルの関係を調べ予め健常者の濃度変動幅を調べておく必要がある。そこで本研究では歯周病のない 20 代を中心とした若年層の唾液を採取し、CE-MS を用いてメタボローム解析を実施した。個々の物質の濃度を統計解析するだけでなく、代謝物全体の特徴を捉えるために主成分分析(PCA)も実施し、アンケートにて収集した関連情報(年齢、性別、喫煙の有無、朝食摂取の有無など)と、採取時間や採取方法との関係を調べた。合計 155 名から唾液を採取し、257 種類の代謝物を同定・定量した。はじめに唾液を直接チューブにとる *Passive drool* 法とコットンを使った方法を比較したが、多くの物質の変動が見られ、特に尿素、アスパラギン、アグマチンなどの変動が大きい結果であった。また、PCA の結果を元に各変数の影響を相対的に評価したところ、特に男女差と採取時間の影響が大きく、他の変数の解析には女性で午前にコットンを使って採取したデータだけを対象に解析を実施した。生活習慣として、飲酒、喫煙、サプリメントの摂取、歯磨きの有無などの影響は比較的小さい結果であった。喫煙ではニコチンの上昇や嫌気性代謝物質の上昇など、既存の研究との整合性も確認できた。口腔内環境として口内炎などの口腔内異常、歯並び異常、虫歯の数などを調べ、顎関節症疑いの有無が最も影響が大きい結果であった。チミン、アラニン、乳酸などの上昇とともに、酸化型グルタチオンの上昇が観測され、酸化ストレスの上昇が推測された。マクロファージの活性化に伴って分泌液中では乳酸だけでなくグリシンも大きく上昇するが(Sugimoto et al., *Metabolomics*, 2012)、これらは観測されず単なる炎症レベルの上昇とは別の現象であると考えられる。このような唾液プロファイルを変動させる原理の特定は今後の課題である。また、今回はアンケートの情報を基準に解析したため、より正確な診断結果とともに解析を実施すれば精度の向上が期待される。更に、変数によっては少ない症例数で解析しているケースもあり、大規模な症例数や別施設での汎化性の評価も今後の課題である。しかし、質量分析装置を使った唾液の代謝研究でこのような基礎データを集めた研究例は他になく、今後様々な疾患マーカー探索の研究で活用できる重要なデータベースを構築することができる可能性が示唆された。