

氏名(本籍)	嶋田崇史(兵庫県)			
学位の種類	博士(学術)			
学位記番号	博甲第5754号			
学位授与年月日	平成23年3月25日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	Omics to Multi-Omics: New Implications for Serum Bile Acid Profiles by Mass Spectrometry-Based Biomarker Discovery (オミックスからマルチオミックスへ：質量分析を用いた新しいバイオマーカー開発における血清胆汁酸プロファイルの可能性)			
主査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉	
副査	筑波大学教授	博士(薬学)	柳澤純	
副査	筑波大学准教授	博士(農学)	谷本啓司	
副査	筑波大学講師	博士(学術)	加香孝一郎	

論文の内容の要旨

質量分析とは、物質の重さを量る技術である。この感度や精度を向上させ、MSの複数乗を行うことで、分子の構造を解析するツールとなる。装置のハイスループット化に伴い、データを効率的に解析する周辺ソフトウェアも整備され、特に、農学や医学分野で大きく貢献しつつある非常に高いポテンシャルをもつ分野である。本研究では、質量分析を基盤としたオミックス的アプローチから二つのアウトプットと、基礎研究分野への貢献およびバイオマーカー開発研究に挑戦した。著者は、薬剤誘導肝障害/再生マウスモデルを用い、同一個体より経時的に採取された血清サンプルから、病理部位での生物学的パスウェイを表現する手法の開発、および臨床診断への応用研究を目指したバイオマーカー開発を行った結果について報告した。

プロテオミクスは、膨大なシーケンスデータベースを用いた網羅的解析を前提とし、タンパク質を同定する分野である。タンパク質同定を高精度、ハイスループットで行うことで、そのタンパク質リストから新しい知見、生物現象の全体像を得ようというのがこの手法の目的である。一方、プロテオーム解析により得られたデータは、非常に膨大なタンパク質リストが生成される。しかし、このデータのままだでは単なるデータの羅列であり、これをどのように扱って行くか、このバイオインフォマティックス的アプローチが重要な解決策となる。そこで著者は、データセット構築において、新しい概念の提唱を行った。個々のタンパク質のもつ機能情報を用い生物学的反応の全体像を表現するため、公共の機能データベースであるジーンオンロジーを用いた。そして、定量的プロテオームのデータセットに、オンロジー情報を付与、統計学的処理を行い、さらに経時的な概念を導入することで、病態の進行とともにダイナミックに変化する生物学的パスウェイを表現することが可能となった。

胆汁酸は、肝臓でコレステロールより多段階のステップを経て合成され、小腸と肝臓を循環する腸肝循環血流に乗って、特に脂質の吸収や運搬を促進する機能をもつ生理活性物質である。近年、分子生物学的アプローチにより、胆汁酸は核内受容体と結合、活性化し、コレステロールの恒常性維持など様々なシグナル伝達分子としての機能を持つことがわかってきている。そこで、胆汁酸の変動そのものをモニターし、新たな

バイオマーカーとしての価値を見いだすことを検討した。まず、血清より胆汁酸異性体の一斉検出・定量するハイスループット定量法（固相抽出-質量分析法）を開発した。この系を用い、血清胆汁酸変動をモニターした結果、肝障害誘導後3時間という急性期に、有意にタウロコール酸が上昇し、20時間でピークを迎え、その後肝組織の再生に伴い、急速に血清中レベルが低下するという、病態とリニアに反応するプロファイルが得られた。肝組織切片からの胆汁酸イメージングマスを解析により、肝障害の進行に伴い、胆汁酸は門脈付近から有意に検出され、中心静脈付近に広がっていく分布を示すことがわかった。つまり、肝障害・再生と胆汁酸分布に強い相関が示され、この血清胆汁酸プロファイルが、単に急性肝障害のバイオマーカーとしての価値のみならず、肝再生と胆汁酸シグナリングという新たな可能性を示唆する結果となった。

このような著者の研究から、複数のオミックスを用いた統合的アプローチは、生物学的現象を深く理解する方法になることが示され、さらに胆汁酸変動そのものが、肝障害のバイオマーカーとしての価値を十分に持つことが示された。また、プロテオーム解析結果からも、肝障害特異的、また肝再生特異的に血清中に放出されるタンパク質マーカー候補も検出され、今後の継続的な解析、応用が可能である。この成果は、現在肝疾患の中で新たな病態として着目されている非アルコール性脂肪性肝炎をはじめとする肝疾患のモニタリング、肝再生の分子機構や脂質代謝の解明など、非常に多くの展開が期待される。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究において、見出された知見は主に二つの項目から成る。一つ目は、オミックス解析における新たなデータアノテーション法である。オミックス解析からの確かな結果を導き出すための6つの項目（適切なサンプル調製、再現性および定量性、分子同定の精度、既知分子が含まれていること、適切なデータ数の設定と統計学的絞り込み、生物学的変化の経時的および統計学的抽出）を設定し、これを薬剤誘導肝障害/再生マウスモデルで証明した。二つ目は、新たなバイオマーカーの開発である。近年、シグナル伝達やホルモン機能分子として着目されている胆汁酸に着目し、複数の構造異性体を、末梢血より一斉にモニタリングする系を開発し、これを応用することで、胆汁酸が急性肝障害の早期診断が可能なエンドポイントマーカーになり得ること、また、この有用性を証明するため、複数のオミックス的手法を組み合わせ、特に、マスイメージング技術を初めて検証手法として用いた。さらに、胆汁酸分布と肝再生に強い相関があることも明らかにした。

以上のように、著者はオミックス研究における大規模データの解析手法を標準化する概念を提唱し、これを動物モデルにおいて表現することに成功した。また、複数のオミックス的手法を用いた新しいバイオマーカー研究分野における、新しいバイオマーカーおよびその概念を作る研究を行った。この研究成果は、単にオミックス研究にとどまらず、新たなバイオロジー、診断、臨床研究など各分野へ応用可能な知見を開拓したと判断される。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。