

# メタボロミクスの概要

## Outline of Metabolomics

”個人の遺伝的特徴についての情報は、身体の中で起きている様々な酵素反応の状態に反映されており、体液の定量分析を通じて得られる。さらに、体液の定量分析は、現在可能な方法に比べ、より効果的に多くの疾病の鑑別診断を可能にするであろう”

—ライナス・ポーリング 1971年  
彼が尿中のメタボローム解析のアイデアを提唱したとき<sup>1</sup>

### 2.1 代謝物質 —細胞のエネルギー通貨、材料、そして生命自身

かつて、著名な物理学者であるエルヴィン・シュレーディンガーは、“生命は負のエントロピー<sup>1</sup>を食べて生きている”と表現し、細胞は食物を摂取することでエントロピーの増大を相殺する開放定常系であるとした<sup>2</sup>。エントロピー増大の法則によれば、物質は崩壊して乱雑さを増し、平衡状態に到達する。彼は、生命は開放系システムであり、平衡系とは異なる定常系が成立することを予言した。負のエントロピーという概念はのちに否定されたが、細胞膜という半透性膜に囲まれた細胞が、高度に秩序立った分子を摂取し分解する（つまり代謝する）ことで、新たな秩序を生み出しているという点で、シュレーディンガーの洞察は的確なものであった。

これとほぼ時を同じくして、ドイツ出身の医師・生化学者であるルドルフ・シェーンハイマーは、食物として体内に入った栄養分はそのまま排泄されず、体内に取り込まれることを実験的に証明した<sup>3</sup>。彼らが<sup>15</sup>Nでラベルしたロイシンをマウスに与えたところ、与えた

\* 熱力学および統計力学における状態量のひとつ。系内部運動の複雑さの目安を与える。

ロイシンの70.4%が体内に取り込まれ、尿や便として排泄されたのはわずか3分の1であった。この発見はのちに生命の"動的平衡"という概念にまとめられ、生命の秩序維持の中心的な原理となる。すなわち、生命は秩序だった分子を摂取してそれらを代謝し、それにより細胞内で秩序を再構築していることが明確に理解されるようになった。

一方でアメリカの生理学者であるウォルター・B・キャノン<sup>4</sup>は、"ホメオスタシス(恒常性維持)"という重要な概念を提唱した。これは、生体内外の環境変化にかかわらず安定で定常的な状態を維持しようとする生体システムの振る舞いを意味する。体温や血圧、血糖などの維持がこの概念により説明され、ホメオスタシスが破綻した状態は一般に"疾病に罹患した状態"であると認識される。生体内で恒常性が維持されるメカニズムは様々であるが、代謝反応におけるル・シャトリエの法則<sup>1</sup>や負のフィードバック機構によって説明される。

このように、生体内で起きている物質代謝は生命の本質を語る上で欠かすことのできない基本的な事象であり、代謝物質に関する情報は、細胞機能や疾病の理解に直接的洞察を与える。地球上に息づく生命は、食物連鎖という生物種間の関係により説明される物質循環の一部であり、その本質は物質の相互変換である。"代謝(metabolism)"とはギリシャ語で"変化(change)"もしくは"交換(exchange)"を意味し、生体内で行われる物質の変化を示す。太陽エネルギーは植物や微生物の光合成により活性化された炭素として二酸化炭素から生産され、動物や微生物、また植物自身に栄養を与える。そして、栄養物質はエネルギーや身体を形作る材料、遺伝情報を運ぶ分子を生産するためにその形態を変化させていく。

少なくとも地球環境に存在する生命にとって、代謝を整然と行い、動的平衡状態の中でホメオスタシスを実現して一定の秩序を維持するには、固体系では自由度に欠け、また気体系では規則性に欠ける。よって液体を支持体とする系が採用され、その溶媒として水(H<sub>2</sub>O)が選択されたのは必然であると考えられる。なぜならば、水は地球表面の常温・常圧において液体であり、地球表面に豊富に存在し、物理化学的にも高い比熱、高い潜熱<sup>2</sup>(これらは生命の体温維持に好都合だろう)、高い表面張力(細胞の形態維持に好都合だろう)、低い粘度(物質拡散に有利だろう)、弱い電離度(ほぼ絶縁体であるが、電解質の溶解により伝導体となり、かつ中性環境を提供する)などの性質をもつからである。また、高い極性をもつため分子間相互作用が強く、上記の性質以外に酸や塩基性物質の溶解に極めて有利である。このように水を代謝反応の場とし、それをリン脂質の柔軟な膜で覆った混合体が、生命という高度な機能を持った個体を形成するようになったと考えられる。

水を基本溶媒として、生体は炭素を骨格とする一連の化合物を代謝物質として用いるようになった。炭素は自身を含む他の元素との結合強度が高いため、複雑で安定な高分子を得る上で有利であり、骨格として採用されたのであろう。炭素と同じ第14族元素で地球表層

\* 化学平衡状態の系において、温度や物質濃度など平衡を決定する変数に変化がおきたとき、その変化を逆方向に変動させるようにはたらくという法則。言いかえれば、物質濃度などに変化が生じたとき、系はできるだけその変化が小さくなるような新たな平衡状態に到達する。

\*\* 相転移にともなう熱。たとえば、融解においては、温度は一定で融解だけがおこる。このように、温度上昇をとまなわぬ熱を潜熱という。

に多く存在するケイ素も利用可能であるかもしれないが、炭素が二酸化炭素(気体)として地球表層に存在し、海水中に炭酸として溶け込んでいるのに対し、ケイ素酸化物は固体(いわゆるガラス)として岩石中に存在するのみであったため利用されていないと考えられる。ただし、植物においてはケイ素が生長に重要であるとも言われている<sup>5</sup>。第15族元素である窒素とリンを生物が用いている点は興味深い。空気の主成分である窒素ガスは地中の微生物によりアンモニアへと固定されるが、多くは水溶性のアンモニアのまま生物界を循環している。リンはリン酸として生体エネルギーの運搬や細胞膜成分として重要である。最近、ある種の微生物がリンの代わりに同じく第15族元素であるヒ素を利用して生育できる可能性が示唆された<sup>6</sup>。しかし、本当に生体内でリンと置換されたかどうかについては、結論は出ていない<sup>7</sup>。ヒ素のオキソ酸であるヒ酸のエステルは、水溶液中できわめて不安定であるため、リンが利用されていると言われている<sup>8</sup>。このようにして、水というきわめて特殊な溶媒を反応の場として、主に炭素鎖を基本骨格として水素、窒素、酸素、リンを含む分子が生命活動の基本的成分=代謝物質となったのである。

## 2.2 代謝物質の定義

現在広く受け入れられている"メタボローム"の定義は、生体内における低分子代謝物質をひとそろいにしたセットと言ってよいだろう<sup>9</sup>。これらには、アミノ酸、アミン、核酸類、糖類、脂質、その他の物質が含まれる。原則として、DNA、RNA、タンパク質は除外されるが、それらの消化物はときにメタボロミクスの標的となる<sup>10</sup>。多くの代謝物質は低分子であり、

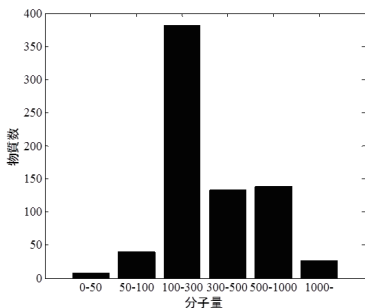


図 2.1 大腸菌代謝物質の分子量の分布

おおよそ 1,000 以下であるという点で共通認識となっている(図 2.1)<sup>11</sup>。

これら内因性の物質に加えて、外因性物質、例えば食品成分や薬剤、その他の環境分子もメタボロームに含まれるが、それらすべてを網羅することは実質的に不可能であるので、解析の際は除外されることが多い。これらの物質は"ゼノメタボローム(xeno-metabolome)"と呼ばれている(表 2.1)<sup>12</sup>。

金属イオンは一般に代謝物質としては認識されていないが、酵素の活性中心などに結合して酸化還元反応に関与し、また非酵素的な化学反応の触媒にもなることから、広義の代謝物質である。しかし、生体内での機能や分析手法が他の代謝物質とは大きく異なるため、金属イオン自身や生体内金属錯体、金属タンパク質の総体的解析を総括してメタロミクス(metallomics)と呼び、メタボロミクスとは区別

される<sup>13</sup>。一方で、補酵素<sup>\*</sup>は代謝物質として広く認識され、解析の対象となっている。

## 2.3 いくつかの代謝物質をわれわれは知っているだろうか？

ひとつの生体中に見出される代謝物質の総数は、実はそれほど多くはない。遺伝子の数に比べれば格段に少数である。しかし、代謝物質の総数は各生物種によって大きく異なり、自然界全体では膨大な数の代謝物質が存在する。これまでに報告されている各生物種の代謝物質数は、大腸菌で 1,000 種<sup>14</sup>、ヒトで 3,000 種<sup>15</sup>、植物界ではシロイヌナズナで 5000 種、合計 200,000 種<sup>16</sup> 存在し、アーケブスチダ<sup>\*\*\*</sup>(Archaeplastida) だけでも 20,000 種類以上の代謝物質が存在すると言われている。これらの代謝物質は大きく 2つのカテゴリーに分類される。すなわち、主要代謝物質（一次代謝物質）と二次代謝物質である。主要代謝物質は、解糖系やトリカルボン酸 (TCA) 回路、アミノ酸や核酸、脂質、補酵素の合成・分解経路など、生物の成育（増殖）に必須な代謝経路中間体である。このような文脈において、従属栄養<sup>\*\*\*\*</sup>微生物のほとんどの代謝物質は主要代謝物質の基本的セットであると言える。独立栄養<sup>\*\*\*\*</sup>植物の光合成も、主要代謝経路として認識されている。二次代謝物質は生物の成育に必ずしも必須ではなく、植物やカビ類、微生物に特徴的である。このカテゴリーに典型的な代謝物質は抗生物質、香氣成分、色素などであるが、多くの場合それらの生産者に対する機能・効能は不明であることが多い。しかし、二次代謝物質は工業的に有用なものが多く、医薬品や化粧品などの原料として利用されている。

次に、生体内に見出される代謝物質の総数に目を向けてみよう。腸内細菌の一種である大腸菌 (*Escherichia coli*) は、もっともよく解明されている生物のひとつであるが、約 700 種類の代謝物質が文献やデータベースで報告されている<sup>10,17</sup>。また、2007 年に行った我々の調査では、過去に出版された学術論文では 727 種類の代謝物質が報告され、それらのうち 453 代謝物質 (62%) が、リン源、炭素源、窒素源として各々リン酸、グルコース、アンモニアのみを含む最少培地中で成育する大腸菌の代謝物質であると推測された。その他の代謝物質は環境分子の分解、安息香酸類の分解もしくは推定上の試験管内酵素反応の中間体であると推測された<sup>10</sup>。

\* 酵素反応において基質分子の官能基授受に関与する低分子有機化合物で、反応前後でそれ自体は変化しない。キノン類やビタミンの多くが含まれる。生物にとって必須栄養素であることが多い。

\*\* 真核生物の系統であり、陸上植物、緑藻、紅藻と、さらに灰色植物 (藻類) からなる。二重膜に囲まれたプラストイド (葉緑体) をもつことを特徴とし、シアノバクテリアが一回だけ共生したことを示すことから、一次植物 (Primoplantae) とも呼ばれる。

\*\*\* 生育に必要な炭素源およびエネルギー源として、有機化合物を利用する栄養形式。光合成生物と独立栄養化学合成細菌類をのぞくすべての生物が従属栄養であり、食物連鎖における消費者である。

\*\*\*\* 無機化合物のみを利用して生育する栄養形式。一般に炭素源は二酸化炭素であり、太陽光をエネルギーとする。光合成植物や無機化学反応を利用する細菌類が知られている。食物連鎖においては生産者にあたる。

## 2.4 "オミクス"におけるメタボロミクスの位置づけ

1958年にフランシス・クリックが提唱した"セントラルドグマ(中心教義)"によると、細胞のもつ遺伝情報は複製されたDNAからmRNAを経てタンパク質に伝達される<sup>18</sup>。遺伝子(gene)の総体をゲノム(genome)と呼んだのはドイツの植物学者ハンス・ウィンクラーであるが、じつに1920年のことであった<sup>19</sup>。ウィンクラーによるゲノムの定義は"配偶子\*\*\*\*"がもつ一組の染色体"という意味であった。これは現在のものとは大きく異なるが、遺伝子の構造が不明であった時代背景を鑑みて、遺伝情報を総体として認識するという概念の始まりと捉えられる。その後長い時を経て、1991年にヒトゲノム解読プロジェクトが開始され、2003年に解読完了宣言がなされた(2000年にドラフト配列が発表されたときは、クリントン米大統領とブレア英首相が共同宣言を出した)。この間に多くのウイルスやバクテリアゲノムが解読されたが、ハイオインフォマティクス技術(多変量解析や統計解析を含む)の進歩とともに生物のもつ情報を網羅的に理解する機運が醸成されていった。つまり、遺伝子に限らずセントラルドグマに従って発現される遺伝情報を網羅的に計測し、これまでの仮説検証型の研究手法に加えて、データ駆動型(前向き連鎖型)の手法が指向され、実施されるようになった(これまでの仮説検証法はゴール駆動型もしくは後向き推論と言えるだろう)。これは生物学の研究現場において大きな転換点であり、予測できなかった事象の発見や先入観のない(仮説のない)研究が可能となった。

ゲノムに続く網羅的データ解析手法として、セントラルドグマに沿って、全mRNA解析を指向するトランスクリプトミクス(transcriptomics)手法が求められた。DNAマイクロアレイやDNAチップ、近年では次世代シーケンサーによる手法が開発され、生体内に存在する各mRNAレベルの網羅的解析が行われている。また、セントラルドグマの最下流に位置するタンパク質の網羅的解析(プロテオミクス: proteomics)も同様に注目され、様々な手法が生み出された。初期には二次元ゲル電気泳動が行われていたが、分析手法としての再現性や感度を克服するために、液体クロマトグラフィー質量分析(LC-MS)による手法が開発され、主流となっている。

一方、タンパク質の網羅的解析に続く分野も考えられ、酵素タンパク質による代謝動態を捉えるため、全代謝物質解析手法としてメタボロミクス(metabolomics)が行われるようになった。DNAやmRNA、タンパク質が同一の基本骨格をもつ分子群を標的としているのに対し、代謝物質は物理化学的性質が多岐にわたるため、2011年現在でも単一の分析手法での網羅的解析は実現していない。しかし、複数の機器を駆使して網羅性を向上させる努力がなされ、その解析範囲は年々広がっている。

メタボロミクスが求められる背景としては、1) 代謝物質が生体の栄養状態の変化やホメオスタシス破綻の直接的、化学的表現であることが期待されること、2) 医薬品や食品(添加

---

\*\*\*\* 生殖細胞のうち、有性生殖に関与するものを配偶子という。精子や卵子、種子植物に見られる胚嚢内の卵子や花粉管内雄核など。

物を含む)に含まれる低分子成分(=代謝物質)の多くは身体に摂取されたのち直接吸収されるため、それ自体に機能性があること、3)近年注目されている疾病の多く(生活習慣病など)が、血液などの代謝物質レベル異常により定義されていることなどが挙げられる。また、医薬原料や食品の醗酵生産においては、セントラルドグマに含まれる情報伝達データのみでは最終製品の評価が困難であることも理由のひとつである。データ駆動型研究においては、より多くのデータの取得が鍵となるが、メタボロミクスによるデータが不可欠となっている反面、各オミクスデータの統合的解析も今後の課題となっている。バイオインフォマティクス技術の進歩がメタボロミクスを含む今後のオミクス解析を大きく発展させるであろう。

## 2.5 "メタボロミクス"と"メタボノミクス"

メタボローム解析分野の第一人者であるジェレミー・ニコルソンは、解析対象である全代謝物質を総括的に解析するという物質的概念"メタボロミクス(metabol/omics)"に対して、"メタボノミクス(metabo/nomics)"という概念を提唱した(表 2.1)。彼の定義によると、メタボノミクスは"薬剤の発見と開発の各ステージにおいて、薬剤毒性、疾病段階、遺伝子機能に関する情報を約束する、*in vivo*代謝プロファイルを研究するためのシステム・アプローチ"である<sup>11,20,21</sup>。前者が"総体の研究"を示す接尾辞"オミクス(-omics)"との合成語であるのに対し、後者は"~の政策(ギリシア語 *nomos* から派生)"を示す"ノミクス(-nomics)"を用いることで、より高次の基本原理に支配もしくは制御された代謝の総体的理解という哲学的な意味合いを含んでいると推測される。メタボノミクスという単語は、日米の研究者に比べてヨーロッパ諸国の研究者により用いられることが多く、提唱者であるニコルソンがイギリス人であるということ、ヨーロッパ諸国では即物的概念よりも哲学的概念が好まれることが背景として挙げられるだろう。しかし、この概念においても代謝物質総体を"メタボノーム(metabo/nome)"と表記することに若干の無理があり、文献においては"メタボローム"が用いられることが多い(2011年8月現在、PubMed検索でのヒット件数は"メタボローム"が1,716件、"メタボノーム"が30件である)。上記の理由により、本書では代謝物質総体を"メタボローム"、それらを解析する研究手法および学問を"メタボロミクス"と表記するが、これは混乱を避けるためであり、ニコルソンの主張を軽んじている訳ではない。

表 2.1 メタボロミクスで用いられる用語<sup>11,22</sup>

単語	定義および解説
メタボローム Metabolome	細胞や体液中に存在する低分子代謝物質の完全なセット
メタボノーム Metabonome	複雑な系において複数のメタボロームの相互作用により与えられる産物およびそれらの理論的集合。ゲノム、共生、感染、環境、代謝的相互関係により生じる。尿や血漿はこれらの相互作用に由来する代謝特性を反映している。
ゼノメタボローム Xeno-metabolome	外因性化合物のプロファイル。環境や食餌、投与などにより個体もしくは集団が化合物に暴露された結果として体液などに検出される。薬剤やその代謝産物、汚染物質、食品成分など。
副代謝産物 Co-metabolite	少なくとも一つのゲノムに由来する生化学的機能の蓄積によってのみ産生される代謝物質。例えば哺乳類の腸内細菌由来代謝産物など。
メタボロミクス Metabolomics	メタボロームに含まれる各代謝物質レベルを可能な限り網羅的に分析し、代謝に関する定量的な解釈を与える研究手法、およびそれを用いる研究分野。
メタボノミクス Metabonomics	病理的影響や遺伝的变化に対する多細胞システムの経時的代謝応答を解析する研究手法。治療介入やストレスに対してシステムレベルでのホメオスタシス変化や病理的応答を評価する。
メタボリック・ プロファイリング Metabolic profiling	生体中存在する代謝物質を同定し、定量すること。代謝パスウェイやネットワークでの相互関係などで選択された、限られた数の代謝物質に対して実行可能である。
メタボリック・ フィンガープリンティング Metabolic fingerprinting	生体や組織にある代謝成分のハイスループット定性スクリーニング法。試料の比較や判別を目的とする。試料調製や分離分析の各ステップは可能な限り高速で単純化される。メタボリック・プロファイリングに先立って行われるのが一般的である。
ターゲット解析 Targeted analysis	広範なメタボローム解析や事前知識に基づいて選択された代謝物質グループについてより詳細に行われる生化学的プロファイリング。最適化された抽出法や測定法をもって行われる。

