

28AB-am289

メタボノミクスのための $^1\text{H NMR}$ 尿分析法の改善に関する研究

○明樂一己¹, 石丸 絵理¹, 見留 英路¹, 野原 彩香¹, 柳町 幸², 丹藤 雄介², 中村 光男³
(¹松山大薬, ²弘前大医, ³弘前市医師会健診センター)

【背景・目的】近年、 ^1H 核磁気共鳴 ($^1\text{H NMR}$) 測定によるメタボノミクスは診断、薬効・毒性評価などにおいてその有用性が実証されつつある。種々の体液の中でも尿は、非侵襲的に採取可能であり多数の代謝物を高濃度で含んでいることから、 $^1\text{H NMR}$ メタボノミクスの分析対象として有望である。しかしながら、尿の $^1\text{H NMR}$ 分析では検体間の濃縮度の違いにより、化学シフトの変動やスペクトルの位相の歪みが見られるなど、メタボノミクスの結果に影響するいくつかの問題点がある。当研究室ではこれらの問題を解決するために、ラット尿について、クレアチニン (Cr) 濃度を指標に濃縮度を一定にして分析する方法を報告した。今回は、臨床応用を目指してヒト尿について検討を行った。

【方法】数名の被験者から得た尿について、凍結乾燥後に再溶解することにより種々の濃縮度の尿試料を調製し $^1\text{H NMR}$ を測定した。

【結果・考察】Cr 濃度が 0.5 mg/mL 以下の試料では、スペクトルの位相が合わない場合があったが、1 mg/mL 以上の試料では、そのような現象はみられなかった。濃縮度が高い試料ほど水シグナル (~4.8 ppm) が小さいため、周辺シグナルを明瞭に観測できた。しかし、Cr 濃度が 2.0 mg/mL 以上の試料では再溶解時に析出物がかなりみられ、定量性に影響を与える可能性が考えられた。以上の検討から、濃縮度は 1 mg/mL の Cr 濃度で一定にするのが良いことがわかった。この濃縮度では、ほとんどの化学シフトの変動を 0.005 ppm 以内に抑えることができた。また、この濃縮度で糖尿病患者の尿検体を測定したところ、水シグナル近傍の α -グルコース 1 位の ^1H シグナル (8.53 ppm) を歪みなく捉えることができた。