

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）  
分担研究報告書

若年女性のやせ形成と健康障害の主要因を抽出するための基礎的研究  
～尿メタボローム解析によるエネルギーバランスの評価～

研究分担者：矢島 克彦 城西大学薬学部薬科学科・助教

研究代表者：緒形 ひとみ 広島大学大学院人間社会科学研究科・准教授

研究協力者：野上 真央 広島大学大学院人間社会科学研究科・博士課程後期

研究要旨

標準体型およびやせ体型の女性を対象に、生理周期ごとにサンプリングした尿に含まれるメタボロームの解析を行うことで、日常的な栄養素摂取状態やエネルギーバランスを反映する物質を見出すことを目的とした。標準体型 21 名、やせ体型 16 名の尿メタボローム解析の結果、やせ体型では複数のアシルカルニチン、ロイシン、イソロイシン、ニコチンアミドが有意な低値を示した。本研究により、標準体型群と比較しやせ体型群に特徴的な尿メタボロームが見出され、栄養素摂取状態やエネルギー収支バランスを評価する客観的指標の確立につながる知見を得た。

A. 研究目的

標準体型およびやせ体型の女性を対象に、生理周期ごと（月経開始 2 日目、月経開始 6 日目、月経開始 10 日目、次の月経開始前）にサンプリングした尿に含まれるエネルギー代謝関連メタボロームの解析を行うことで、日常的な栄養素摂取状態やエネルギー収支バランスを評価する指標を見出すことを目的とした。

B. 研究方法

1. 対象者

18～25 歳までの現在、月経周期正常または続発性無月経の BMI が 25.0 kg/m<sup>2</sup> 未満の女性を対象とし、学内掲示板にて参加者を募集した。除外基準は、摂食障害と診断されたことがある人、または現在治療中の人、月経不順の人（無月経の人は含めてよいこ

ととした）、週 5 日以上運動している人、過去半年以内にホルモン製剤（ピルなど）を服用/使用していた人、生活習慣病と診断されている人、妊娠中や授乳中の人、喫煙者とした。

事前測定時の Body Mass Index (BMI) に基づき、通常体型群 (KN 群：BMI 18.5- 24.99) 及びやせ体型群 (KT 群：BMI < 18.5) に群分けを行った。月経周期ごとに、早朝空腹時の尿をサンプリングし、液体クロマトグラフ質量分析計を用いてメタボローム解析を行なった。栄養素摂取状態<sup>1,2)</sup> およびエネルギー収支バランス<sup>3)</sup> を反映すると先行研究で報告されているメタボローム 45 種類を定量し、体型により 2 群間比較を行なった。

2. プロトコル（図 1）

図 1 のとおり、モニタリング期間の前

(事前測定) とその後の月経4サイクル (モニタリング期間) に以下の測定を実施した。

**事前測定**：身長、体重、体脂肪率等の測定、採尿

**モニタリング期間** (月経開始2日目、月経開始6日目、月経開始10日目、次の月経開始前 (黄体期))：採尿

### 3. 評価項目

(1) 尿中メタボローム

- ・クエン酸回路中間体

- ・アミノ酸
- ・アシルカルニチン各種
- ・ビタミン関連物質
- ・胆汁酸代謝物

合計45種類のメタボロームを、液体クロマトグラフ質量分析計 (LCMS-8050、株式会社島津製作所、京都、日本) を用いて定量した。

(2) ナトリウム/カリウム (Na/K) 比率  
オムロンナトカリ計 (HEU-001F、堀場アドバンステクノ、日本) の検査キットを使用し、Na/K 比率を測定した。

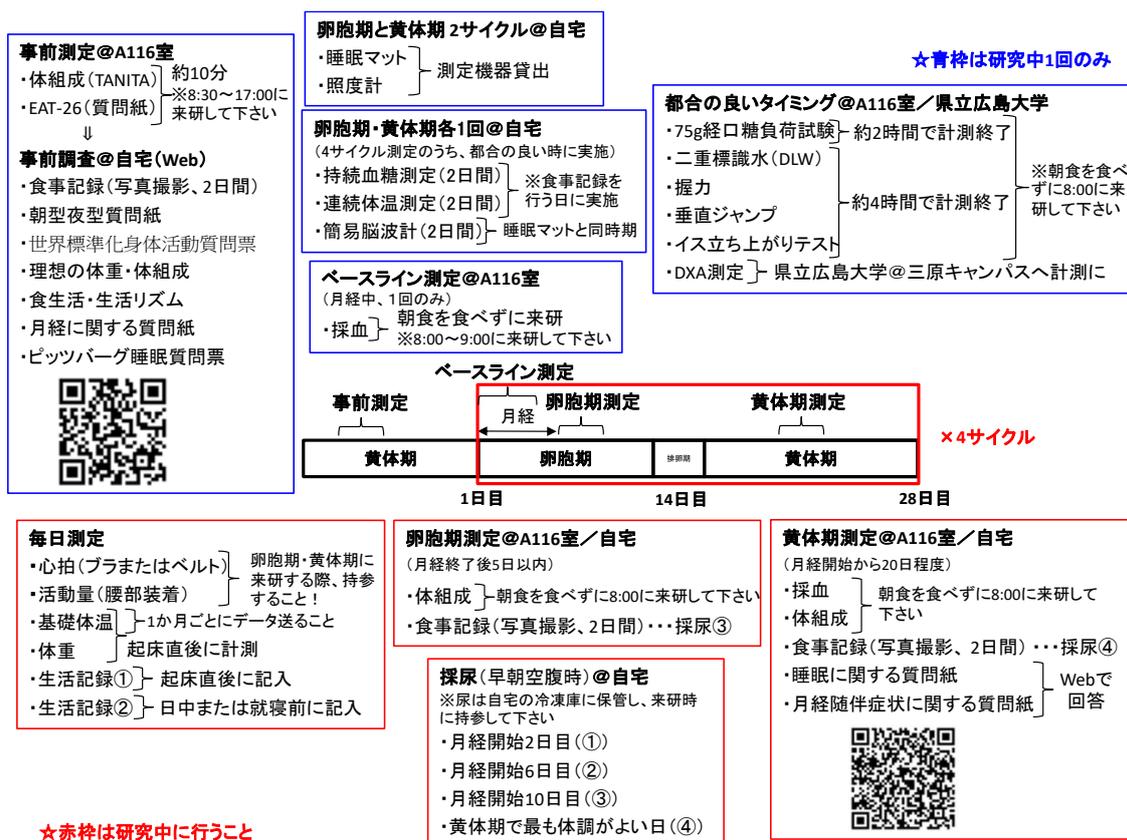


図 1. プロトコル

### C. 研究結果

(1) 対象者特性

被験者特性を表 1 に示した。体重において、2 群間に有意な差が観察された。

(2) 尿中メタボローム

尿中メタボローム解析の2群間の結果についてヒートマップ (図2) で示した。KN群の濃度を 100%としてKT群の濃度が高値を示した場合は赤色、低値を示した場合は青色に着色し、マップを作製した。全てのアシルカルニチンと複数のアミノ酸において、KT 群で濃度が低いことが確認された。さらに KN 群と比較し、KT 群では、C2-アシ

ルカルニチン、C5-アシルカルニチン、C5OH-アシルカルニチン、C6-アシルカルニチン、C16-アシルカルニチン、ニコチンアミド (Nicotinamide)、ロイシン (Leu)、イソロイシン (Ile) が有意に低値を示した。

最も多くの有意差を観察したアシルカルニチンについて、尿中濃度の2群間比較を Fig.3 に示した。C2-アシルカルニチン、C5-アシルカルニチン、C5OH-アシルカルニチン、C6-アシルカルニチン、C16-アシルカルニチンにおいて、KN 群と比較し、KT 群では有意な低値を示した。

表 1 被験者の特徴

	KN (n=21)	KT (n=16)	p value
年齢 (歳)	20.6 ± 0.3	20.5 ± 0.5	NS
身長 (cm)	158.4 ± 1.1	157.7 ± 1.4	NS
体重 (kg)	51.5 ± 1.2 *	44.1 ± 1.0	<.0001
MDQ 得点	31.2 ± 3.3	40.0 ± 6.1	NS

MDQ, Menstrual Distress Questionnaire

Mean ± SE. Student's t-test (\* p < 0.05)

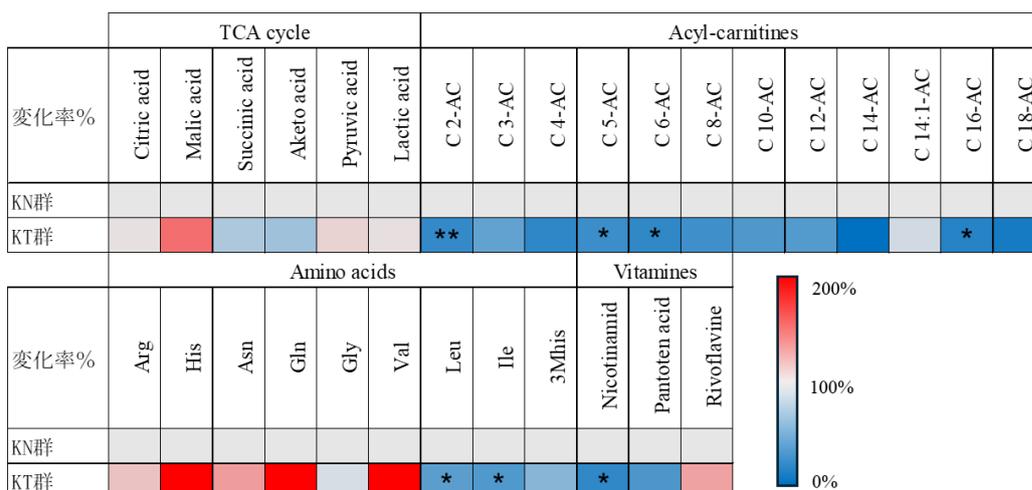


図2 尿中メタボローム解析の2群間比較

KN 群の濃度を 100%として、KT 群の濃度を算出。 Student` t-test (\* p < 0.05, \*\* p < 0.01) AC, アシルカルニチン. 3Mhis, 3-メチルヒスチジン

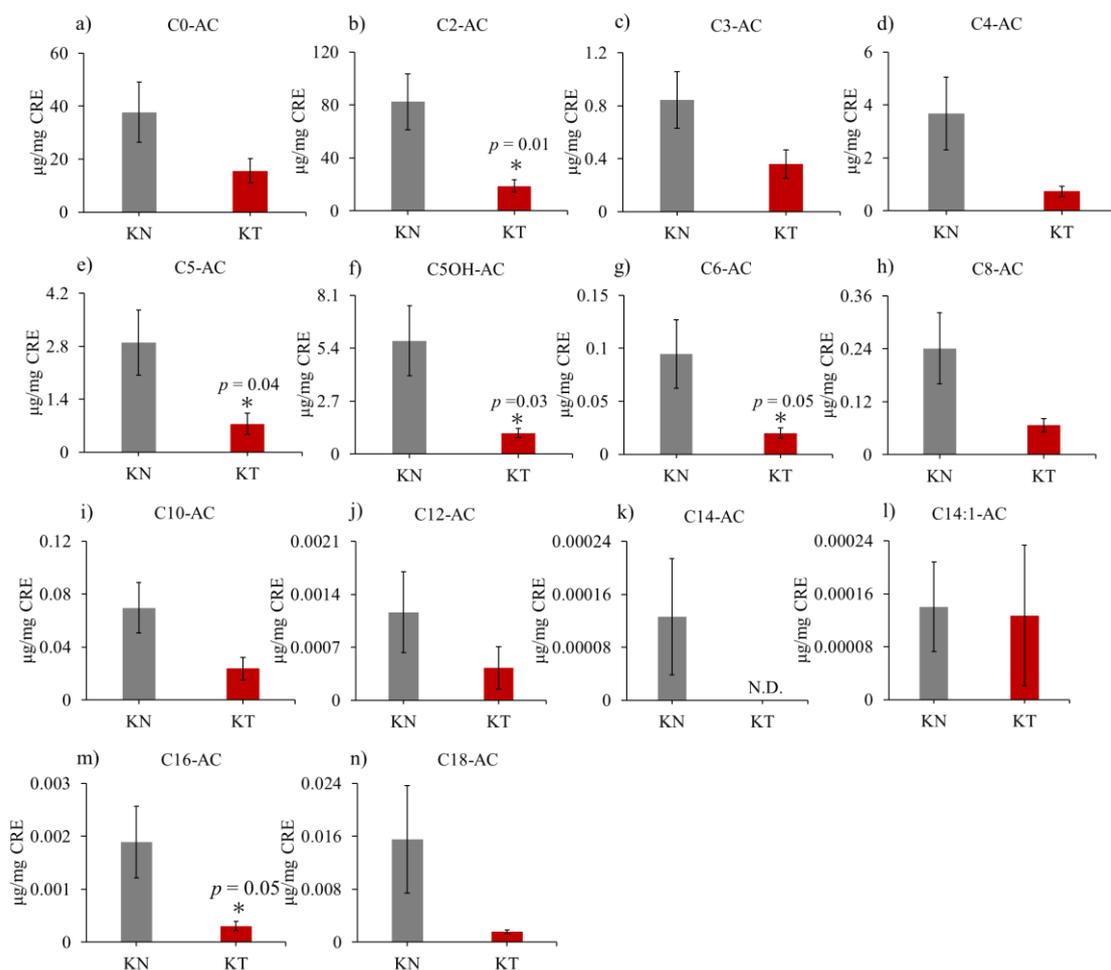


図3 尿中アシルカルニチン濃度の2群間比較 (Mean)  
Student's t-test (\*  $p < 0.05$ ) N.D. 検出限界濃度以下のため not detected

(3) 尿中 Na/K 比 率 (図4) を示した。尿中 Na/K 比率に2群 KN 群および KT 群における尿中 Na/K 比 間における有意な差は観察されなかった。

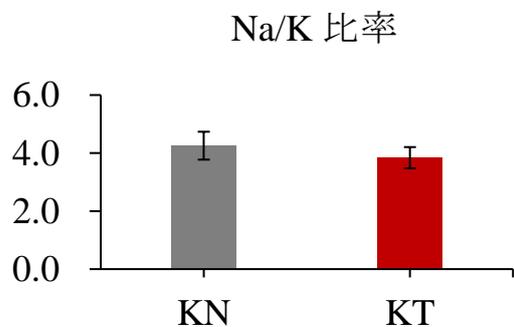


図4 尿中 Na/K 比率の2群間比較 (Mean)

#### D. 考察

分岐鎖アミノ酸であるロイシン、イソロイシンはたんぱく質代謝の指標となるアミノ酸であり<sup>4)</sup>、円滑なエネルギー代謝に不可欠なニコチンアミドはビタミン B 群の 1 つである<sup>5)</sup>。また、アシルカルニチンは、生体内で余剰となったアシル基がカルニチン誘導体化した物質であり、エネルギーバランスを反映するメタボロームである<sup>3)</sup>と考えられている。これらの結果は、通常体型群と比較してやせ体型群において、日常的なたんぱく質およびビタミンを含む食品の摂取量、および摂取エネルギー量が少ない可能性を示唆した。

アシルカルニチンは、脂肪酸が  $\beta$  酸化を受ける過程で産生され、ミトコンドリアマトリクスに運搬する担体として、生理的に重要な機能を担っている。つまり、脂質代謝において極めて重要な役割を果たす<sup>6,7)</sup>。本研究においては、対象者が実際に摂取した食事の評価を行っているわけではないので、日常的に摂取している脂肪酸の量や種類まで推定をすることはできない。尿中のアシルカルニチン変動について理解を深めるため、実際に摂取した脂肪酸とメタボロームの関連について詳細な情報を収集することが今後の研究では必要となる。

一方で、尿中 Na/K 比率に 2 群間差は観察されなかった。Na/K 比率は日常的な塩分摂取量や野菜・果物摂取量を反映する指標として活用されている<sup>8)</sup>。尿メタボロームを活用した栄養状態およびエネルギーバランスの評価手法を確立するためには、食物摂取頻度調査表や一定期間の詳細な食事記録などの主観的評価指標と組み合わせ、客

観的評価指標としての信頼性を担保することが必要であると考えられる。

#### E. 結論

標準体型群と比較しやせ体型群に特徴的な尿メタボロームが見出され、栄養素摂取状態やエネルギー支出バランスを評価する客観的指標の確立につながる知見を得た。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

特記事項なし。

##### 2. 学会発表

- 1) 野上真央、矢島克彦、緒形ひとみ、女子大学生における月経随伴症状と脂質摂取状況の関係性の検討、第 78 回日本栄養・食糧学会、2024 年 5 月 25 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

特記事項なし。

##### 2. 実用新案登録

特記事項なし。

##### 3. その他

特記事項なし。

#### I. 引用文献

1. Abhishek J, Li XH, Chen WN. An untargeted fecal and urine metabolomics

- analysis of the interplay between the gut microbiome, diet and human metabolism in Indian and Chinese adults. *Sci Rep.* 2019;9:9191.
2. Guasch-Ferré M, Bhupathiraju SN, Hu FB. Use of Metabolomics in Improving Assessment of Dietary Intake. *Clin Chem.* 2018;64:82-98.
  3. B Morio, B Comte Metabolomics reveals differential metabolic adjustments of normal and overweight subjects during overfeeding. *Metabolomics* 2015;11:920–938
  4. Mann G, Mora S, Madu G, Adegoke OAJ. Branched-chain Amino Acids: Catabolism in Skeletal Muscle and Implications for Muscle and Whole-body Metabolism. *Front Physiol.* 2021;12:702826.
  5. Xie N, Zhang L, Gao W, Huang C, Huber PE, Zhou X, Li C, Shen G, Zou B. NAD(+) metabolism: pathophysiologic mechanisms and therapeutic potential. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5:227.
  6. Opie LH. Role of carnitine in fatty acid metabolism of normal and ischemic myocardium. *Am Heart J* 1979;97, 375-88.
  7. Böhmer T, Rydning A, Solberg HE. Carnitine levels in human serum in health and disease. *Clinica Chimica Acta*, 1974; 1, 55-61
  8. Yamanaka N, Itabashi M, Fujiwara Y, Nofuji Y, Abe T, Kitamura A, Shinkai S, Takebayashi T, Takei T. Relationship between the urinary Na/K ratio, diet and hypertension among community-dwelling older adults. *Hypertens Res.* 2023;46:556-564.