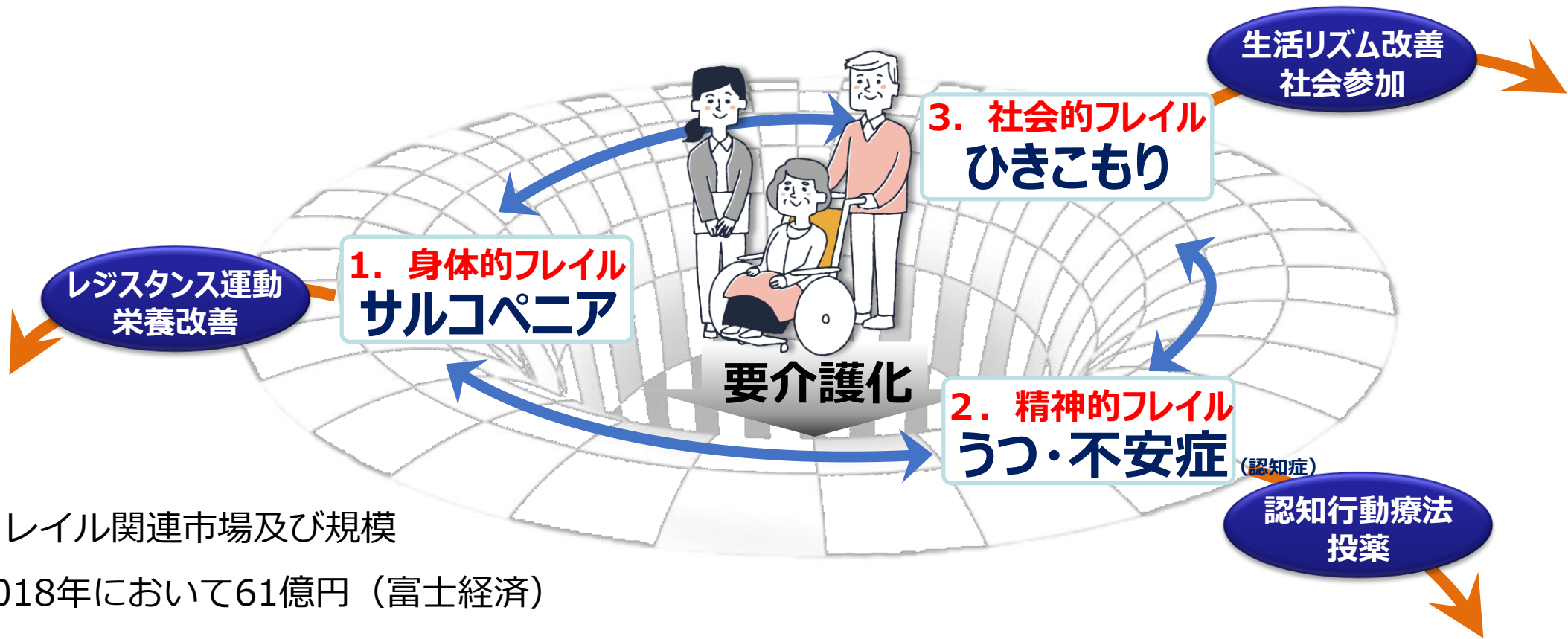


# 高齢者の健康を目指した 尿検査系の開発

京都産業大学 生命科学部 先端生命科学科  
教授 加藤 啓子

2024年2月29日

# フレイル3因子と要介護化防止策を目指す



フレイル関連市場及び規模

2018年において61億円（富士経済）

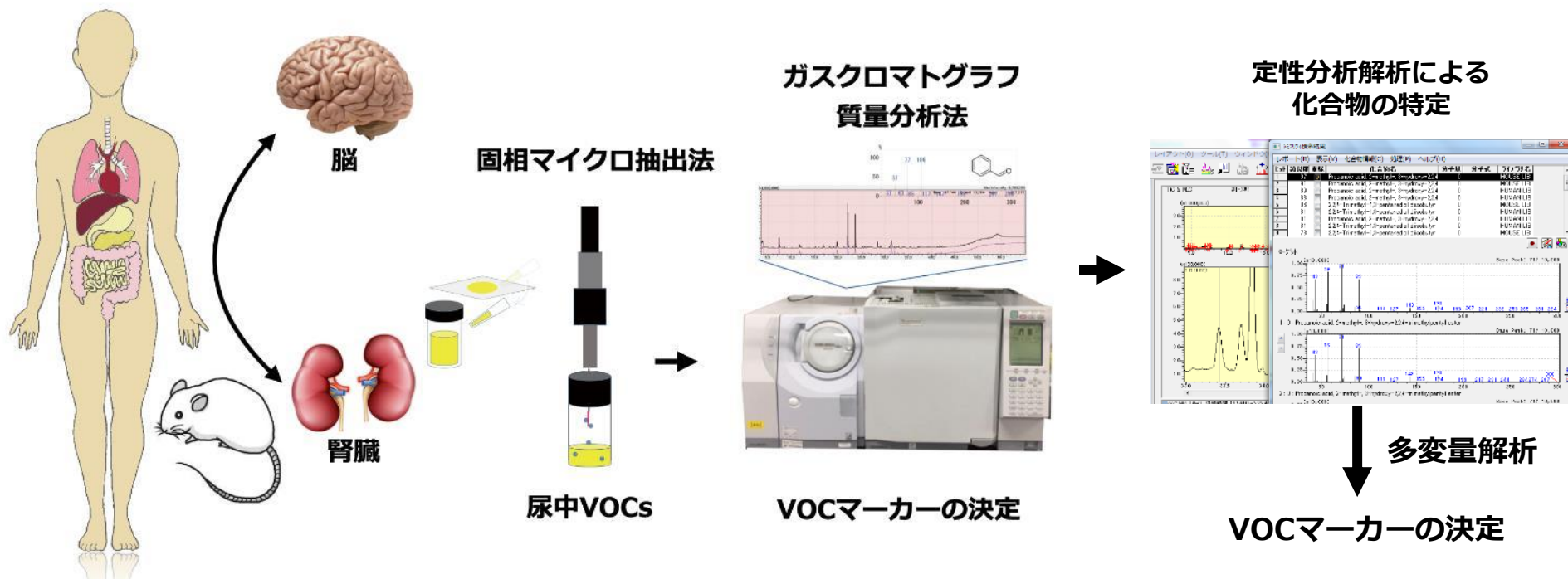
2025年には122億円の到達すると予測

2030年には1,270億円の到達すると予測

<https://www.fuji-keizai.co.jp/press/detail.html?cid=21030&la=ja>

（日本老年医学会ホームページ参照）

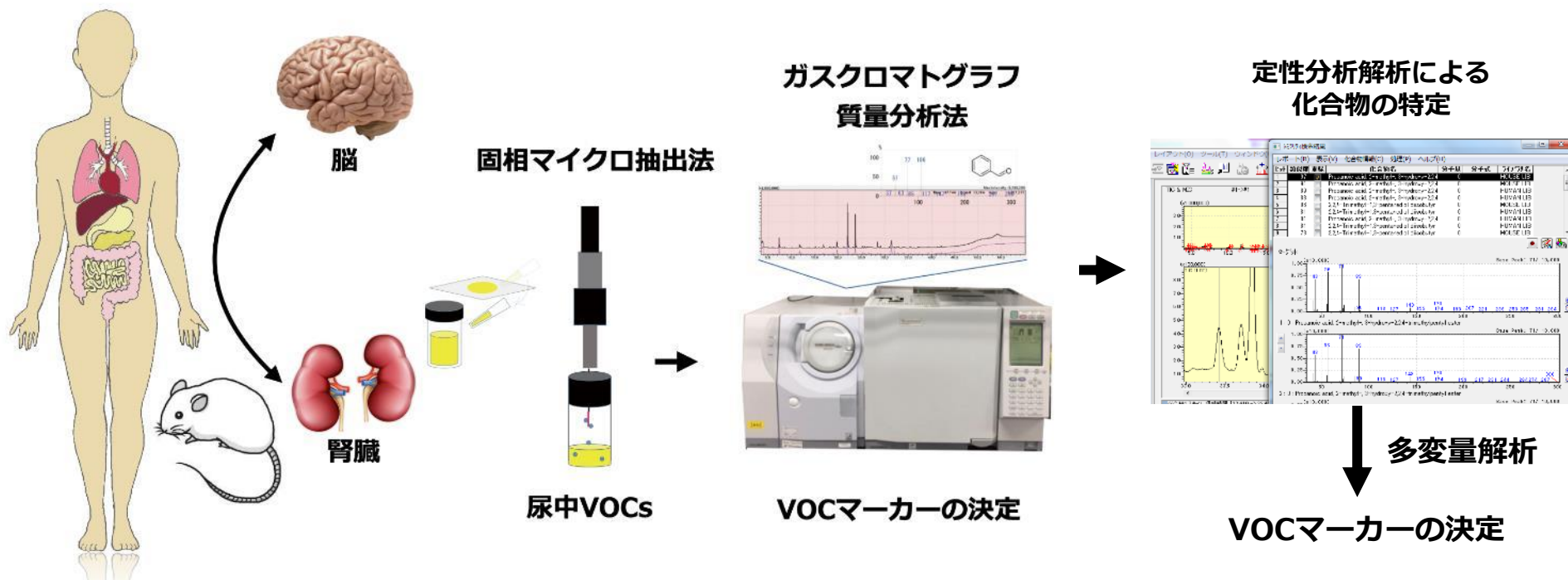
# 方法: SPME-GCMS技術



## 産業財産権：

- 【特許1】 マウスのうつ及び／又は不安症バイオマ-カ- 特許第7301327号（登録日：R5.6.23）  
（発明者：加藤啓子，藤田明子，出願人：学校法人京都産業大学）
- 【特許2】 マウスのてんかんバイオマ-カ- 特許7254334号（登録日：R5.3.31）  
（発明者：加藤啓子，藤田明子，出願人：学校法人京都産業大学）
- 【特許3】 ヒト尿中におけるうつ，不安症バイオマ-カ- 特許7057996（登録日：R4.4.13）  
（発明者：加藤啓子，藤田明子，田中雅嗣，河合恒，大淵修一；  
出願人：学校法人京都産業大学，地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター）

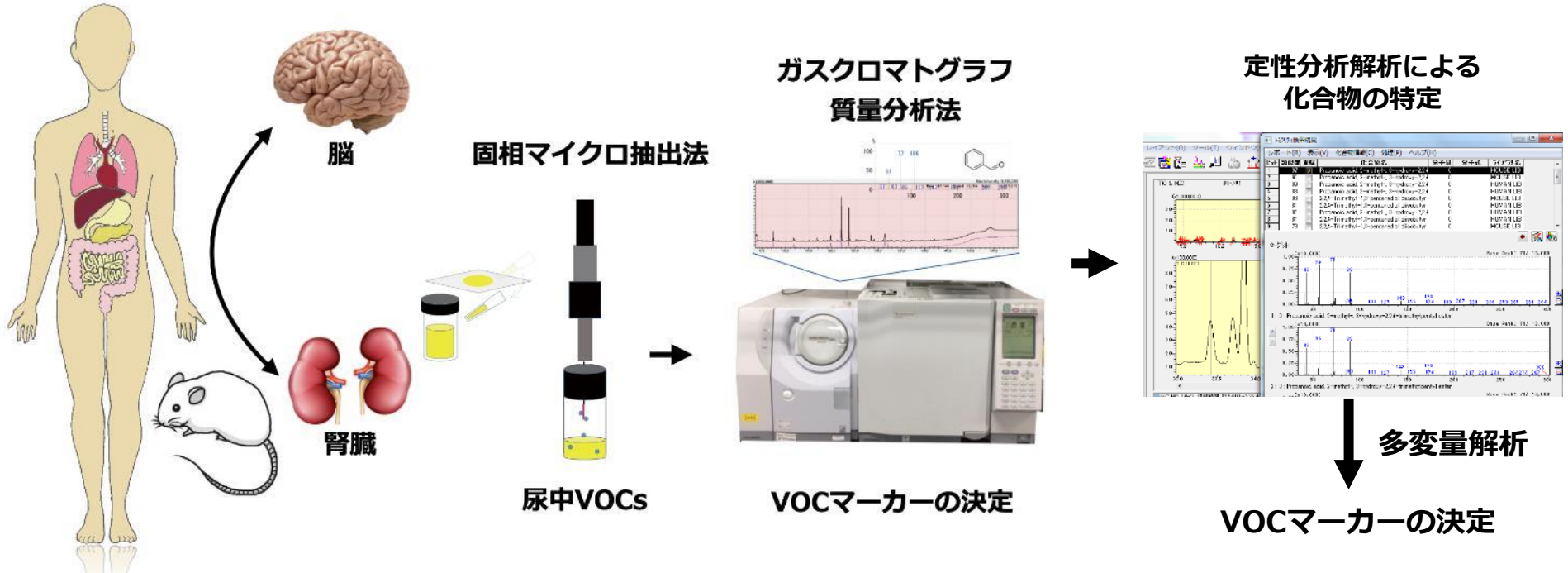
# 方法: SPME-GCMS技術



原著論文 (査読有) :

1. Fujita A, Ota M, Kato K. Urinary volatile metabolites of amygdala-kindled mice reveal novel biomarkers associated with temporal lobe epilepsy, **Scientific Reports** 9:10586, 2019.
2. Fujita A, Okuno T, Oda M, Kato K. Urinary volatilome analysis in a mouse model of anxiety and depression, **PLOS ONE** 15:e0229269, 2020.
3. Fujita, A., Ihara, K., Kawai, H., Obuchi, S., Watanabe, Y., Hirano, H., Fujiwara, Y., Takeda, Y., Tanaka, M. and Kato, K. 2022. A novel set of volatile urinary biomarkers for late-life major depressive and anxiety disorders upon the progression of frailty: a pilot study. **Discover Mental Health**. 2, 1 (2022), 20.

# SPME-GCMS技術と内容



大うつ病, 不安症患者: 9名  
同年齢の健常者: 9名  
157 VOCs

1次スクリーニング  
TIC定性分析  
20 VOCs

2次スクリーニング  
m/z定量分析  
6 VOCs

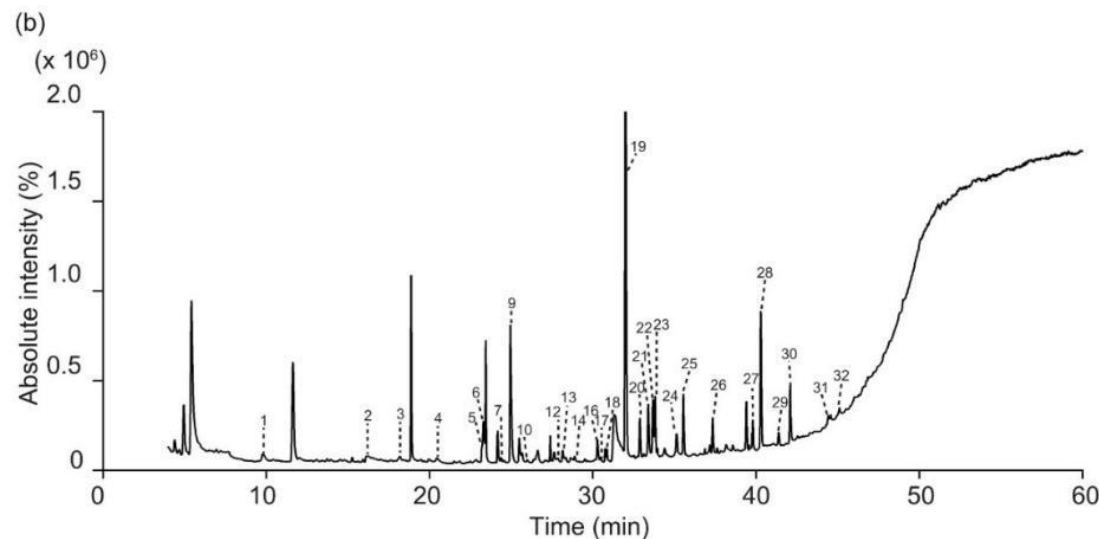
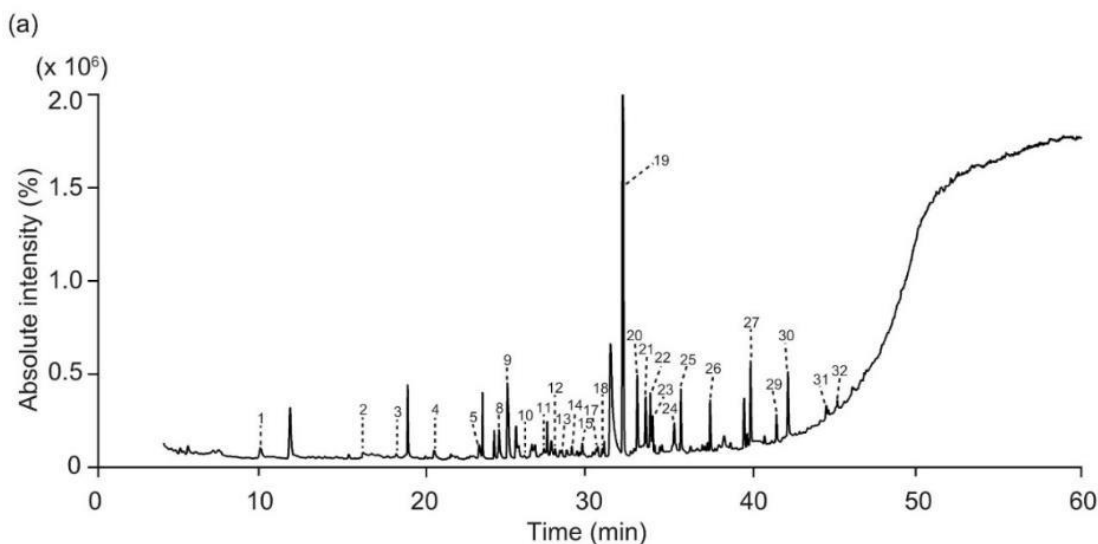
統計解析  
ROC解析  
線形回帰解析  
(結合インデックス)  
うつ・不安症: 3VOCs  
フレイル: 2VOCs

Fujita et al., *Discov. Ment. Heal.*2(1): 20 (2022)

# ヒト尿中VOCの全イオン電流(TIC)の 代表的なGC-MSクロマトグラム

(a)うつ・不安症を罹患していないヒトの  
尿中のVOCを示した典型的な図

(b)うつ・不安症を罹患しているヒトの  
尿中のVOCを示した典型的な図



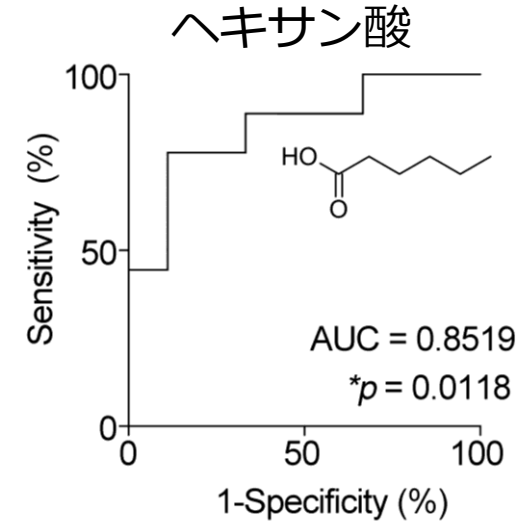
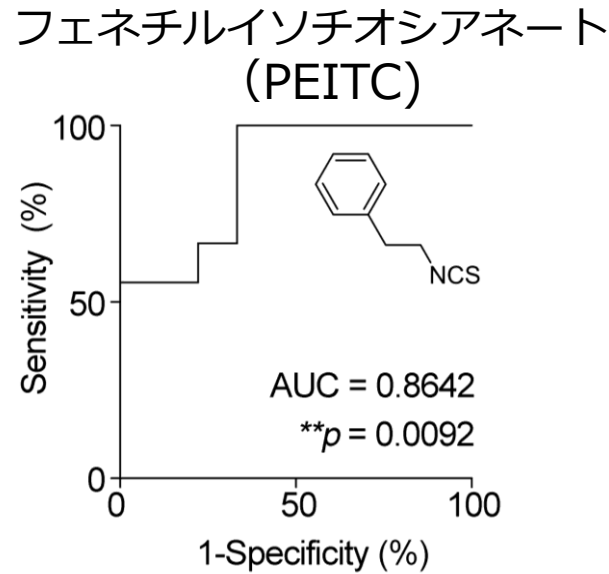
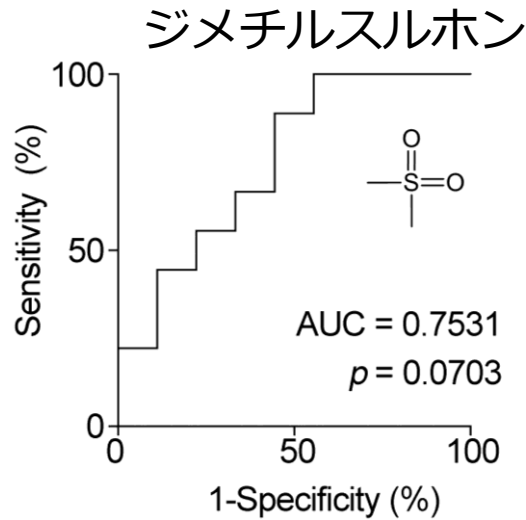
図中の番号1～32は、それぞれ同じ化合物。

# 高齢者うつ・不安症バイオマーカー候補化合物ROC 分析—精神的フレイルインデックスの開発

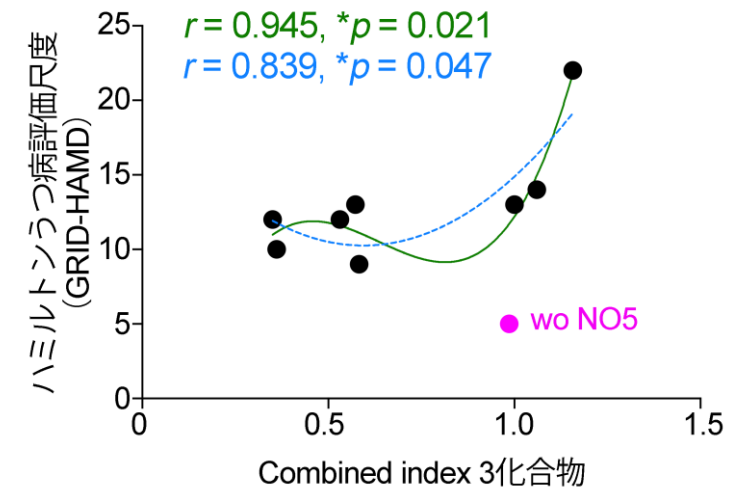
NO	高齢者ヒトうつ・不安症尿由来 VOCs	正確さ (Accuracy)	感度 (Sensitivity)	特異度 (Specificity)	面積 (AUC)	ヒトVOCに対応する モデルマウス尿由来VOCs	検査対象モデルマウス
①	ジメチルスルホン	72.22%	0.889	0.556	0.7531	メタンチオール, ジメチル ジスルフィド他	側頭葉てんかんモデル
②	フェネチルイソチオシアネート	83.33%	1.000	0.667	0.8642	ベンズアルデヒド	うつ・不安症モデル
③	ヘキサノール	83.33%	0.778	0.889	0.8519	2-ペンタノン	側頭葉てんかんモデル
④	デキサノール	94.44%	1.000	0.889	0.9877	デキサノール	うつ・不安症モデル
⑤	デキサノール異性体	83.33%	0.889	0.778	0.8889	デキサノール異性体	うつ・不安症モデル
①~⑤	複合指標値 1 (5種)	94.44%	1.000	0.889	0.9877		
①~③	複合指標値 2 (3種)	83.33%	1.000	0.667	0.9136		
④~⑤	複合指標値 3 (2種)	94.44%	1.000	0.889	0.9877		

(感度 = 1 とは, 偽陰性がないことである。)

# 高齢者うつ・不安症バイオマーカー 候補化合物ROC分析



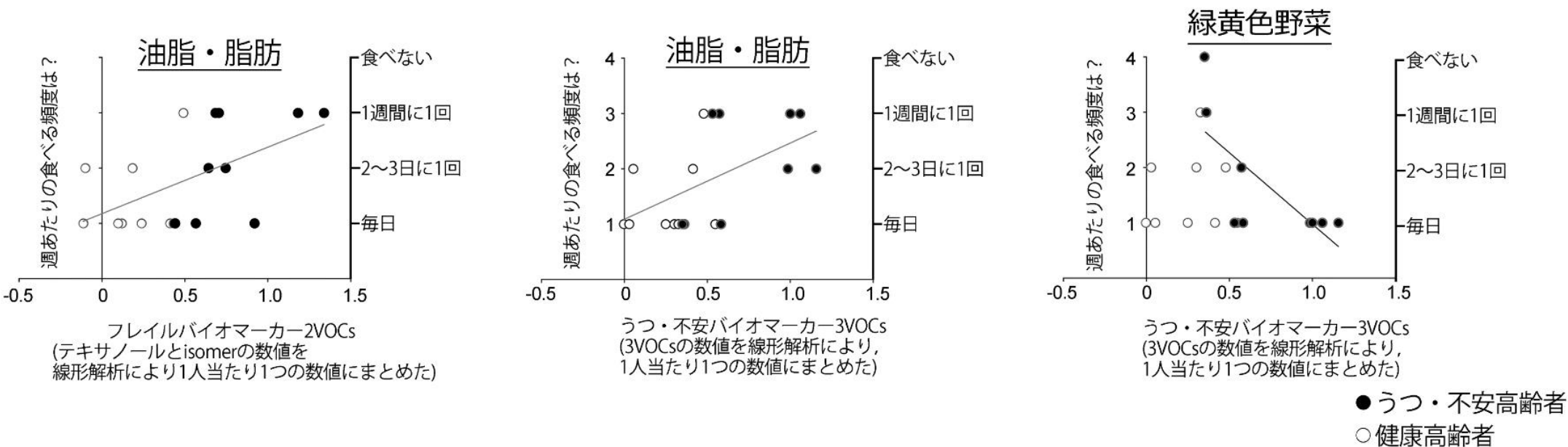
NO	高齢者ヒトうつ・不安症尿由来 VOCs	正確さ□ (Accuracy)	感度 (Sensitivity)	特異度□ (Specificity)	面積□ (AUC)
①	ジメチルスルホン□	72.22%	0.889	0.556	0.7531
②	フェネチルイソチオシアネート	83.33%	<b>1.000</b>	0.667	0.8642
③	ヘキサン酸	83.33%	0.778	0.889	0.8519
①~③	複合指標値□ (3種)	83.33%	<b>1.000</b>	0.667	0.9136



バイオマーカーは、  
コホート調査/診断評価と高い相関性



# 週あたりに食べる頻度と バイオマーカーVOCs数値との相関性



## 健康高齢者（○）と、うつと不安高齢者（●）

うつ不安症，健常者に関わらず，油脂を食べる頻度が高いとバイオマーカーの数値が低下する。一方，緑黄色野菜を食べる頻度が高いと，うつ不安症の人のみ数値が高くなり，健常者の代謝には影響しない。フェネチルイソチシアネートの代謝が低下したためと考察する  
(Discover Mental Health. 2, 1, 20, 2022)

うつ・不安症マウスの恐怖記憶が，油脂摂食により低下する知見を得ている  
(PLOS ONE. 0120753, 2015)

# ヒトとマウスのVOCバイオマーカー体内動態

VOCs	クラス	増減	外界の環境		体内環境		脳内分布の可能性	
			外環境	食品	腸内細菌	内因性		
マテ ウン スカ ん	トリメチルアミン	トリアルキルアミン	減少	○肉, 魚, バクテリア, (腐敗臭)		○		
	メタンチオール他*	硫黄化合物	減少	○野菜, 果物, ナッツ, 肉等		○	○	n.d.
	2-ブタノン他*	ケトン	増加	○ココナッツ油, パームやし油, ヤギミルク他		○		○
	2-アセチル-1-ピロリン他*	ケトン/ピロール	減少	○コーン, 米				n.d.
マウ ウツ ス不 安 症	トリメチルアミン	トリアルキルアミン	減少	○肉, 魚, バクテリア, (腐敗臭)		○		
	ベンズアルデヒド	ベンゼンイソチオシアネートの代謝産物	増加	○果物, 野菜, 肉等				n.d.
	3-ペンテン 2-オン	ケトン	減少	○果物, 肉, ハーブ等			○	
	テキサノール	炭化水素	増加	○建材や家庭用品添加剤				n.d.
高 う 齢 者 不 安 症	ジメチルスルホン	硫黄化合物	増加	○野菜, 果物, ナッツ, ハーブ		○	○	○
	フェネチルイソチオシアネート (PEITC)	硫黄化合物 ベンゼン環	増加	○ブロッコリー, キャベツ等 アブラナ科		●		○
	ヘキサン酸	中鎖脂肪酸	減少	○バニラ, チーズ		○		○
	テキサノール	炭化水素	増加	○建材や家庭用品添加剤				n.d.

## 腸内細菌による生成 (○) と分解 (●)

うつ不安症とサルコペニアのバイオマーカーの化合物名, どこから体内に入るか (外界の環境, 体内環境), 腸内細菌の代謝, 脳内に入る可能性 (脳内分布) を記している。

\*メタンチオール他: methanethiol, disulfide dimethyl, dimethyl trisulfide, 2,3,5-tirthiahexaneを含む。揮発性硫黄化合物

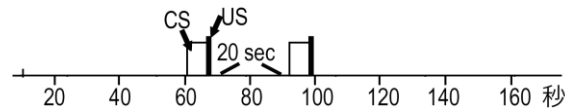
\*2-ブタノン他: 2-butanone, 2-pentanone, 2-heptanone(減少)

\*2-アセチル-1-ピロリン他: 2-Acetyl-1-pyrroline, 2-Acetylpyrroleを含む。餌の影響。

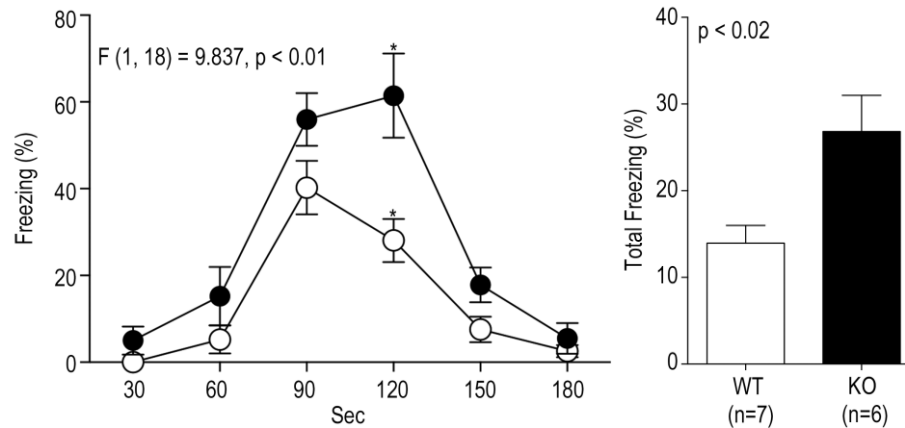
# ヒトとマウスのVOCバイオマーカー体内動態

## 食餌性油脂の恐怖条件付け試験への影響一例

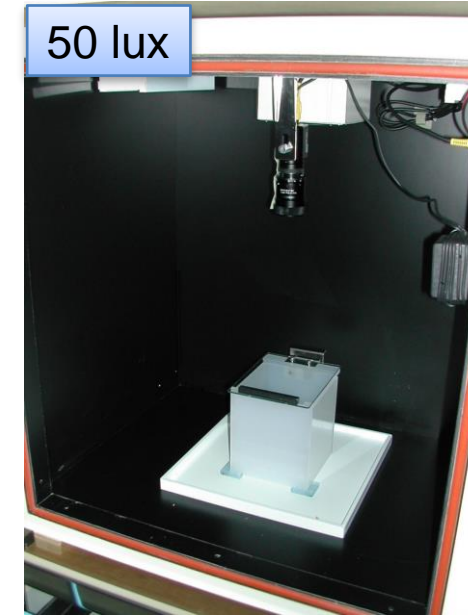
Day 1 : 条件付け試験



Day 3 : 音恐怖試験



音恐怖記憶

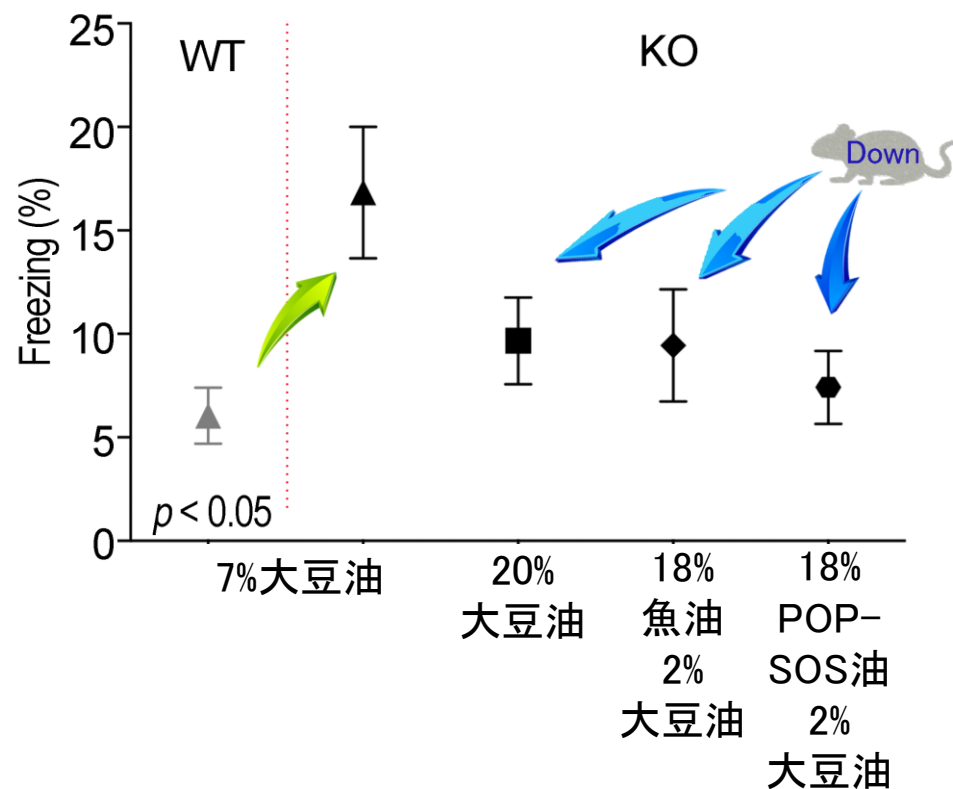
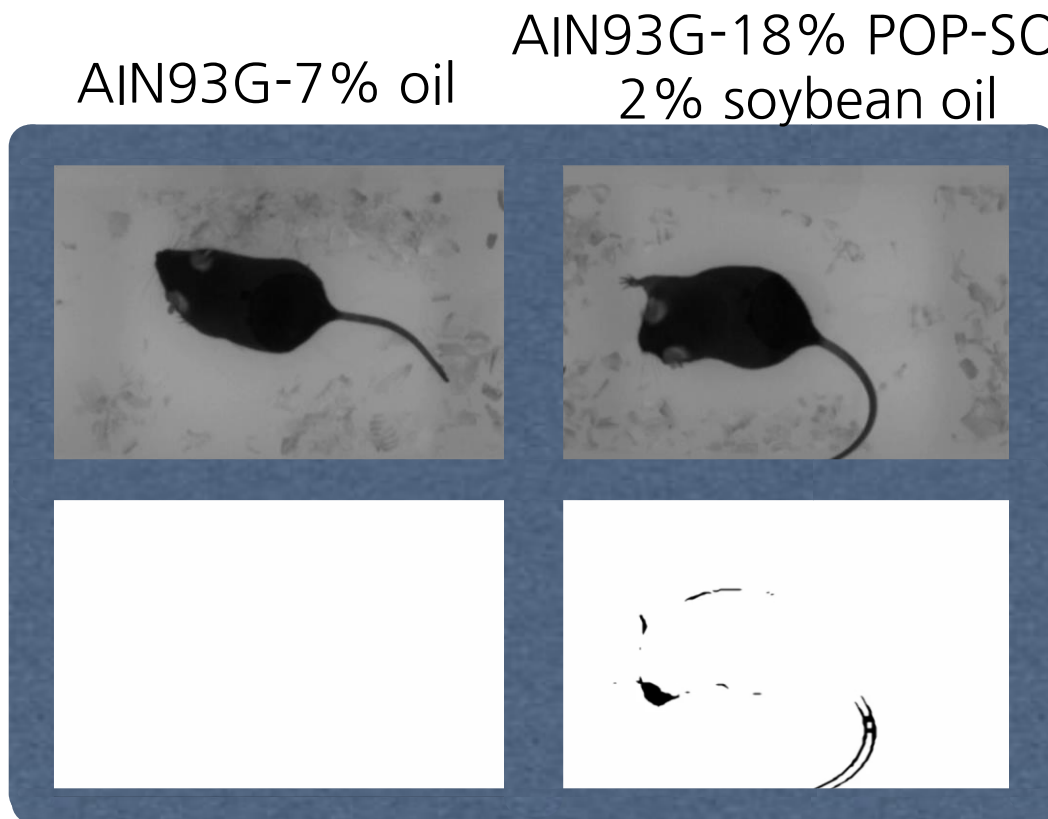


St3gal4-KOマウスは、音への恐怖記憶が強い

# ヒトとマウスのVOCバイオマーカー体内動態

## 食餌性油脂の恐怖条件付け試験への影響一例

St3gal4-KOマウスは、18%飽和脂肪酸油脂餌を3ヶ月食べた後、音手がかり恐怖記憶を弱めた



POP: 1-palmitoyl-2-oleyl-3-palmitoyl glycerol  
SOS: 1-stearoyl-2-oleoyl-3-stearoyl glycerol

In AIN93G

# 従来技術とその問題点—大うつ病

比較項目	本課題技術	Lee らが目指す技術, 2016年	Zhengらが目指す技術, 2016年	2006/2019に報告された論文から優位性の高いものを抽出, 2020年	Troyanらが目指す技術, 2020年
① 生物種	ヒト,マウス	ヒト	ヒト	ヒト	ヒト
② 検体	尿	血清	尿	唾液	血清
③ 侵襲度	非侵襲性	侵襲性	非侵襲性	非侵襲性	侵襲性
④ 対象化合物	揮発性有機化合物	選別無し	誘導体化化合物	多様	IGF-1
⑤ 技術	GCMS	LCMS+症状評価尺度	GCMS/ NMR	化学発光免疫測定法	ELISA
⑤ 将来目指す技術	GC /イムノクロマト				
⑥ 化合物数	3種セット/2種セット	6種	6種	1種 (cortisol)	1種 (IGF-1)
⑦ AUC	3種 0.914 2種 0.988	0.738	女性0.952 男性0.951	不明 (オッズ比 1.294)	0.820
⑪ 定量性	○	不明	不明	X (測定毎に異なる)	○
⑫ コスト	○	△	△	△	△
⑭ 代謝判定システム	○	X	X	X	X
⑮ 参考文献	特許第7057996号 <i>Discover Mental Health</i> . 2, 1, 2022	Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 69:60, 2016	Transl Psychiatry, 6:e955, 2016; Mol Cell Proteomics 12:207(2013) J	Mol Psychiatr 25, 321-338, 2020	Bmc Psychiatry 20, 208, 2020.

フレイルの診断は身体的特徴の計測や問診による判定方法が普及している。一方、客観的指標となるバイオマーカーを用いた診断支援技術が求められており開発が進んでいるが、競合する比較技術のほとんどが血液を利用しており、繰り返し検査を必要とする高齢者は採血が難しいことが多く、提案技術の尿を検体にできる非侵襲性のメリットは大きい。

# 新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術：フレイルの診断は身体的特徴の計測や問診による判定方法が普及している。生化学的データによる判定方法は開発中であり、利用できるものがない。
- 新技術：非侵襲性の尿検査により、被験者の身体的負担を大きく軽減できる。
- 新技術：複合インデックス(IC)を開発した。  
うつ・不安症ICの感度が100%, AUCが0.91であった。
- 本技術の適用により、うつ・不安症の発症に関連する代謝活性を多角的に調べることができる。

# 想定される用途

- 本技術の特徴を生かすためには、以下に適用することで社会事業に貢献できると考えられる。
  - ① – 1 食品や医薬品メーカーを対象とした有効性評価支援
  - ① – 2 コホート研究支援
  - ① – 3 高齢者を対象としたフレイルの診断支援  
(企業健康診断, 介護施設, 病院)
  - ② – 1 モデルマウスを用いた機能性食品, 医薬品開発

## 実用化に向けた課題

- 現在、VOCマーカークの組合せを用いた高精度の診断可能性を見出しているが、今後、本技術の実用化のため、検体数の増加に取り組み、確度を高める必要がある。
- 分析方法の簡易化、迅速化を行うことで、技術の汎用性を高めると共に、簡易分析の妥当性を検証していく必要がある。



## 企業への期待

- 未解決の検出方法の簡易化を進めたいと考えている。

例えば、VOCの簡易検出技術を保有する企業との共同開発を希望する。

- 有効性評価支援を求める，食品や医薬品メーカーとの共同研究を希望する。
- モデルマウスを用いた機能性食品，医薬品開発を目指す企業との共同研究を希望する。

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : ヒト尿中におけるうつ, 不安症バイオマーカー
- 出願番号 : 特許第7057996号 (登録日: R4.4.13)
- 出願人 : 学校法人京都産業大学, 地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター
- 発明者 : 加藤啓子, 藤田明子, 田中雅嗣, 河合恒, 大淵修一
  
- 発明の名称 : マウスのうつ及び/又は不安症バイオマーカー
- 出願番号 : 特許第7301327号 (登録日: R5.6.23)
- 出願人 : 学校法人京都産業大学
- 発明者 : 加藤啓子, 藤田明子
  
- 発明の名称 : マウスのてんかんバイオマーカー
- 出願番号 : 特許第7254334号 (登録日: R5.3.31)
- 出願人 : 学校法人京都産業大学
- 発明者 : 加藤啓子, 藤田明子

## 産学連携の経歴

- 2009年 JSTシーズ発掘試験研究に採択
- 2010年-2011年 JST A step 研究成果最適展開支援事業フュージビリティスタディ可能性発掘タイプ シーズ顕在化に採択
- 2011年-2012年 企業Aと共同研究 実施
- 2018年-2019年 企業Bと共同研究 実施

# お問い合わせ先

京都産業大学 研究推進センター

T E L 075-705-3255

F A X 075-705-1966

e-mail [ksu-kenkyusuishin@star.kyoto-su.ac.jp](mailto:ksu-kenkyusuishin@star.kyoto-su.ac.jp)