

## Award Accounts

### 第9回 D-アミノ酸学会奨励賞

## D-Ser の体内動態評価は腎臓病診療に有用である 部坂 篤<sup>1)2)3)</sup>, 猪阪 善隆<sup>3)</sup>, 木村 友則<sup>1)2)3)</sup>

医薬基盤・健康・栄養研究所

難治性疾患研究開発・支援センター リバーストランスレーショナル研究プロジェクト<sup>1)</sup>

KAGAMI プロジェクト<sup>2)</sup>

大阪大学医学部腎臓内科<sup>3)</sup>

## The assessment of intra-body dynamics of D-Serine is useful for the management of kidney disease

Atsushi Hesaka<sup>1)2)3)</sup>, Yoshitaka Isaka<sup>3)</sup>, Tomonori Kimura<sup>1)2)3)</sup>

National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition (NIBIOHN)

Center for Rare Disease Research, Reverse Translational Project<sup>1)</sup>

KAGAMI Project<sup>2)</sup>

Department of Nephrology, Osaka University Graduate School of Medicine<sup>3)</sup>

## 1. はじめに

腎臓病の中でも慢性腎臓病(chronic kidney disease, CKD)は患者数が最も多い疾患群であり、世界的な問題である<sup>1)</sup>。日本では成人人口の約13%、1,330万人が慢性腎臓病を罹患していると言われており<sup>2)</sup>。結果として、33万人超の患者が末期腎不全となり、透析治療を受け、年間1兆6000億円の医療費を計上している<sup>3)</sup>。しかしながら、日常における慢性腎臓病診療の多くは、疾患に対する根本的な解決というより、対症療法に近いことが現状である。D-アミノ酸と腎臓の深い関係から、こうした慢性腎臓病の診療上の課題をD-アミノ酸によって解決できないか、これまで我々は検討してきた。具体的には、専門医を受診した108人の慢性腎臓病患者から

なる縦断コホートにおいて、血漿中のD-アミノ酸濃度を2D-HPLCを用いて測定し、腎予後との関係性を評価した<sup>4)</sup>。この研究において慢性腎臓病患者の血液からD-Ser, D-Ala, D-Pro, D-Asnを検出することができた。生存解析によって、D-SerをはじめとしたD-アミノ酸の血中濃度の高い患者の予後が悪いことが判明した。D-アミノ酸の血中濃度の高い患者は早く腎代替療法が必要になったり、死亡に至ったりするのである。このことから、D-アミノ酸の測定は慢性腎臓病の予後推定に有用であることが示唆され、別の課題に応用できないか検討することとした。本稿では、D-Serの体内動態評価の腎臓病診療上の有用性について概説する。

【責任著者・Corresponding Author】

部坂 篤 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目6番8号 医薬基盤・健康・栄養研究所

Atsushi Hesaka, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, 7-6-8, Saito-Asagi, Ibaraki City, Osaka, Japan Tel: 072-641-9910 E-mail: a.hesaka@kid.med.osaka-u.ac.jp

## 2. 慢性腎臓病の早期スクリーニング

正確な腎機能である、糸球体ろ過量 (glomerular filtration rate, GFR) 測定のゴールドスタンダードは、イヌリンクリアランスという手法で評価されるが、測定の煩雑さからほとんど測定されていない。従来の腎臓病のバイオマーカーである、クレアチニンやシスタチン C の測定に基づく、推定糸球体ろ過量 (estimated glomerular filtration rate, eGFR) は簡便であるが、推定の正確性等の限界も知られている<sup>5)6)</sup>。過去の検討において、血中 D-Ser が推定糸球体ろ過量と強く相関することが判明している<sup>4)</sup>。そこで、D-Ser 自体が実測の糸球体ろ過量と相関することで腎機能を正確に評価できないか、腎臓病の早期診断に D-Ser を活用できるのではないかと我々は考え検討した<sup>7)</sup>。慢性腎臓病患者 11 名と健常者 (腎機能正常者) 15 名を対象に、糸球体ろ過量評価とキラルアミノ酸メタボロミクスを行った。その結果、血中 D-Ser がイヌリンクリアランスと強く相関することが判明した (図 1)。この相関は、クレアチニンやシスタチン C と比べて同等以上であった。血中 D-Ser が腎機能の推定や腎臓病の早期診断に有用であると判明した。

次に、腎臓が D-Ser をどのように制御しているのか調べるため、尿中の分画排泄率 (fractional excretion, FE) を評価した。尿中排泄率は、ある物質の糸球体ろ過量と、尿排泄量の比率である。例えば L-アミノ酸の場合、糸球体ろ過を経た原尿から近位尿細管においてほぼ 99% 再吸収される。残りの 1% のみが尿排泄されるので、L-アミノ酸の尿中排泄率は 1% である。L-アミノ酸の尿中排泄率が低いのは、L-アミノ酸が重要な栄養素で尿に排泄しないように制御されているからである。驚いたことに、尿中 D-Ser 排泄率は光学異性体の排泄率と大きく異なっていた。健常者の尿中 D-Ser 排泄率は中間値で 62% であり、尿中 L-Ser 排泄率の中間値 1.3% に比して非常に高かった。つまり、糸球体でろ過された D-Ser は 4 割程度が排泄されていることになる。これらの事実は、腎臓がアミノ酸を光学異性体に分

けて認識していることを意味している。では、慢性腎臓病による尿中 D-Ser 排泄率への影響はどうか。一見したところ、尿中 D-Ser 排泄率は健常人と変わらないが、分布範囲が広いことに気づいた。逆に言うと、健常人での尿中 D-Ser 排泄率は、ある一定の範囲に収まっている。主成分分析により、尿中 D-Ser 排泄率は特有の情報を持っており、血中の D-Ser とは関連しないことが判明した。この解析において、血中 D-Ser は腎機能を反映することから、腎臓のマーカーである、クレアチニンやシスタチン C と同じ集団に存在していた。L-アミノ酸は基本的には同じような排泄動態を取るため、尿中 L-アミノ酸排泄率は別の集団を形成した。尿中 D-Ser 排泄率は腎臓マーカーとも、尿中 L-アミノ酸排泄率とも違う特有の性質を持っていた。では、尿中 D-Ser 排泄率は慢性腎臓病のスクリーニングに活用できるのだろうか。

結論として、尿中 D-Ser 排泄率は慢性腎臓病の存在下で反応するので利用できることが分かった (図 1)。血中と尿中排泄率で規定される D-Ser の体内動態は、健常人である一定のプロファイルを取る。一方で、慢性腎臓病の存在下で体内動態は多様に変動する。例えば、ある慢性腎臓病患者では血中の D-Ser は腎機能正常であることを反映して正常範囲にあるが、尿中 D-Ser 排泄率は高値となっている。このような場合、腎臓マーカーでは検出できない慢性腎臓病を、尿中 D-Ser 排泄率ではできるのである。尿中 D-Ser 排泄率は血中 D-Ser や腎臓マーカーとは違う観点から慢性腎臓病早期検出に役立つ。以上のように、D-Ser は慢性腎臓病検出に有用であることが判明した。血中 D-Ser は腎機能推定を介して慢性腎臓病を早期に検出する。さらに、D-Ser の体内動態は慢性腎臓病の早期から乱れるため、血中濃度と尿中排泄率の組み合わせは、より早期での慢性腎臓病検出を可能とする。D-Ser の体内動態の評価は慢性腎臓病検出に重要である。

### 3. 腎障害の活動性の評価

D-Ser の体内動態が慢性腎臓病の検出に有用であることが判明したが、次に、この動態が病気の活性を反映するのか検討した。全身性の炎症性臓器障害を起こす自己免疫疾患である、全身性エリテマトーデスに合併した急性腎障害 (acute kidney injury, AKI) の一例で検討した(図 2)<sup>8)</sup>。急性腎障害は、慢性腎臓病とは異なり、障害は可逆性であり、適切な治療により回復する。この治療過程において、この患者の D-Ser は臨床経過に合わせたダイナミックな変動をした。治療前の劇症時には、腎機能の廃絶を反映して、血中 D-Ser 濃度は異常高値であった。血中 D-Ser 濃度は治療に应答し、最終的には正常化した。この血中 D-Ser の正常化は、クレアチニンの変動と同様の経過をたどった。現在はクレアチニンが急性腎障害の診断および病勢評価に利用されているが、クレアチニンが急性腎障害に反応するのに時間差があるため、十分な評価ができていない。血中 D-Ser は急性腎障害において診断や病勢評価の補助に有用であることが示唆された。

一方、尿中 D-Ser 排泄率も興味深い動態をとった(図 2)。劇症時には尿中 D-Ser 排泄率は検出感度未満であった。これは、前述のように、健康人での尿中 D-Ser 排泄率が 60%程度あることを考えると非常に低い。回復期の血中 D-Ser が正常化する前に、腎臓は尿中 D-Ser 排泄率を一過性に過上昇させた。これは血中 D-Ser を正常化させるために应答していることを示唆している。最終的には尿中 D-Ser 排泄率は正常化した。この一連の変動において、尿中 D-Ser 排泄率は病勢に应答していた。D-Ser 体内動態の評価は、急性腎障害の病勢評価に有用である。

### 4. D-Ser の体内動態

以上より、D-Ser の体内動態を評価すると、腎臓病の包括的な管理が可能である<sup>9)10)</sup>。臨床的意義は広く、慢性腎臓病の検出および腎機能

の評価に使える。また、D-Ser の体内動態は病勢の評価や、病気の予後推定にも利用できる。急性腎障害と慢性腎臓病の両方にも活用できることから、非常に応用範囲は広い。今後、臨床現場の様々なシーンで活用されていくと考えられる。最後に、D-Ser の体内動態を規定する関係図を一覧にした(図 3)<sup>11)</sup>。セリン光学変換酵素 (serine racemase, SR)は主に大脳に局在し、L-Ser を D-Ser に変換することで、D-Ser を産生する<sup>12)</sup>。D-Ser は発酵の過程で作られるため<sup>13)</sup>、摂食によっても体内に取り込まれる<sup>14)</sup>。また、腸内細菌も体内の D-アミノ酸濃度を規定する<sup>15)</sup>。一方、D-アミノ酸酸化酵素(D-amino acid oxidase, DAO)は、全身に広く存在し<sup>16)17)</sup>、特に腎臓での活性が高く、D-Ser を酸化して分解する。D-Ser の体内動態の最重要な決定因子は GFR である。これまで述べてきたように、GFR が低下すると、D-Ser をろ過することができず、尿中に D-Ser を排泄できなくなってしまう。尿細管再吸収と尿排泄のバランスによって、腎臓は D-Ser 血中濃度を制御している。このように、血中の D-Ser は極めて低い濃度へ緻密に制御されている。低濃度での生理機能<sup>18)</sup>や高濃度での毒性<sup>19)20)21)</sup>も示唆されており、D-Ser の生理学的意義について、活発な研究活動が始まっている。

### 5. おわりに

D-Ser の体内動態が腎臓病診療に有用であることについて概説した。今回、臨床応用についての言及であったが、腎臓によって制御された D-Ser が全身、特に腎臓自体に与える影響のメカニズムは依然として不明な点が多い。血中 D-Ser 濃度が慢性腎臓病によって上昇することは結果であるか原因であるかさえ判明していない。また、D-Ser が生体に与える影響が毒となるか薬となるか未解明である。今後、研究を通して、新規の腎生理と病態の解明、さらには治療薬開発が期待される。

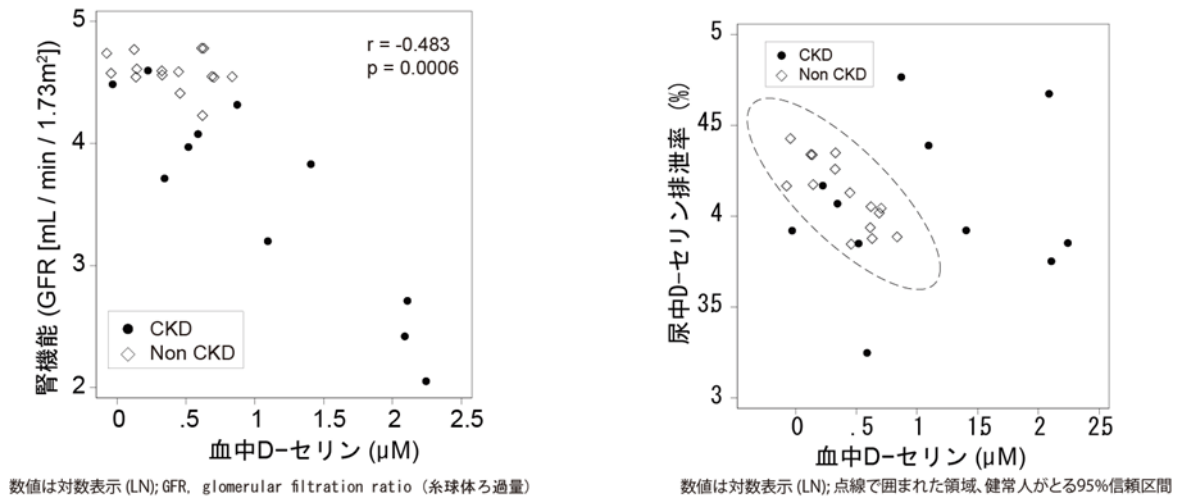


図1 腎臓病臨床における D-Ser の有用性

(左) 血中 D-Ser は腎機能(GFR)とよく相関しており、推定に有用である。数値は対数表示。

(右) D-Ser の血中濃度と尿中排泄率は慢性腎臓病(CKD)のスクリーニングに有用である。点線で囲まれた領域は健康人がとる 95%信頼区間。数値は対数表示。  
(文献<sup>7)</sup>より引用一部改変)

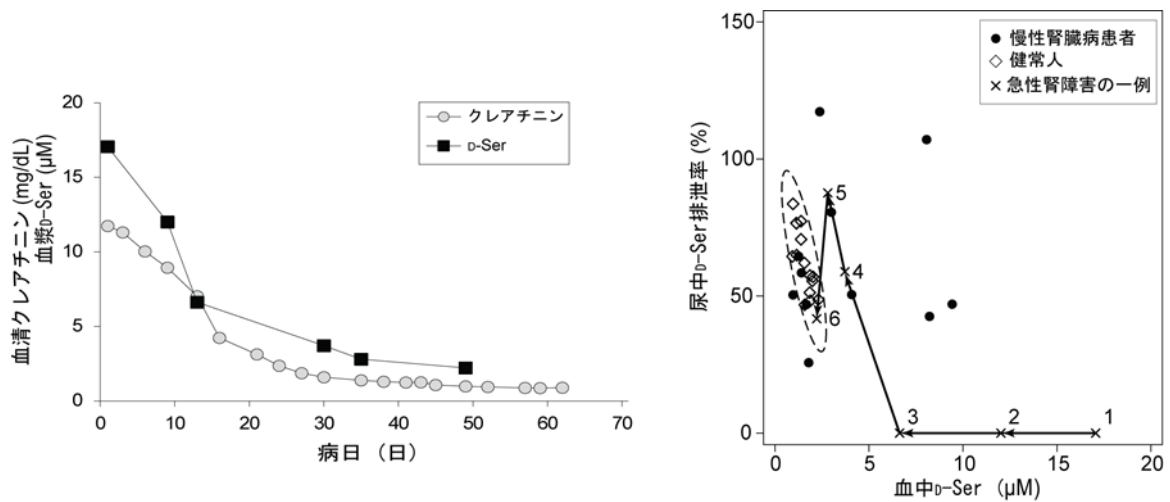


図2 急性腎障害治療過程における D-Ser の体内変動

(左) D-Ser はクレアチニンと並行して治療応答性に低下する。

(右) 尿中 D-Ser 排泄率は、回復期に排泄率を一時亢進し、D-Ser の体内動態を正常化する。

(文献<sup>8)</sup>より引用一部改変)

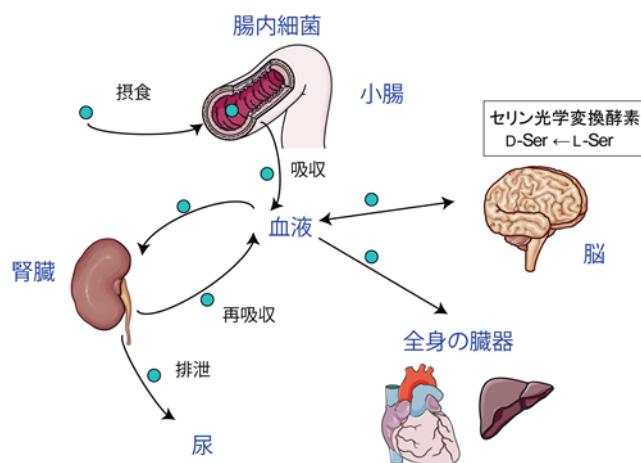


図3 D-Serの体内動態

D-Ser は、摂食・ラセミ化・腸内細菌によって産生され、酸化分解・尿中排泄によって消出する。腎臓における糸球体ろ過・尿細管再吸収・尿中排泄・酸化分解は、D-Serの体内動態の制御に極めて重要である。

(文献<sup>11)</sup>より引用一部改変)

参考文献

- 1) Levey AS, Atkins R, Coresh J, et al. Chronic kidney disease as a global public health problem: approaches and initiatives - a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney Int* 2007; 72: 247-259.
- 2) 日本腎臓学会. CKD 診療ガイド 2012; 7.
- 3) 日本透析医学会. わが国の慢性透析療法の現況 2017; 1: 1.
- 4) Kimura T, Hamase K, Miyoshi Y, et al. Chiral amino acid metabolomics for novel biomarker screening in the prognosis of chronic kidney disease. *Scientific Reports* 2016; 6: 26137.
- 5) Levey AS, Coresh J, Greene T, et al. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2006; 145: 247-254.
- 6) Stevens LA, Schmid CH, Greene T, et al. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int* 2009; 75: 652-660.
- 7) Hesaka A, Sakai S, Hamase K, et al. D-Serine reflects kidney function and diseases. *Sci Rep* 2019; 9: 5104.
- 8) Hesaka A, Yasuda K, Sakai S, et al. Dynamics of D-serine reflected the recovery course of a patient with rapidly progressive glomerulonephritis. *CEN Case Rep* 2019.
- 9) 木村友則. D-アミノ酸と腎臓病. *腎臓内科* 2020; 11: 448-455.
- 10) Kimura T, Hesaka A, Isaka Y. Utility of D-serine monitoring in kidney disease. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom* 2020: 140449.
- 11) Kimura T, Hesaka A, Isaka Y. D-Amino acids and kidney diseases. *Clinical and Experimental Nephrology* 2020; 24: 404-410.
- 12) Miya K, Inoue R, Takata Y, et al. Serine racemase is predominantly localized in neurons in mouse brain. *J Comp Neurol* 2008; 510: 641-654.
- 13) Miyoshi Y, Nagano M, Ishigo S, et al. Chiral amino acid analysis of Japanese traditional Kurozu and the developmental changes during earthenware jar fermentation processes. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2014; 966: 187-192.
- 14) Morikawa A, Hamase K, Inoue T, et al. Alterations in D-amino acid levels in the brains of mice and rats after the administration of D-amino acids. *Amino Acids* 2007; 32: 13-20.
- 15) Sasabe J, Miyoshi Y, Rakoff-Nahoum S, et al. Interplay between microbial D-amino acids and host D-amino acid oxidase modifies murine mucosal defence and gut microbiota. *Nature Microbiology* 2016; 1: 16125.
- 16) Pollegioni L, Piubelli L, Sacchi S, et al. Physiological functions of D-amino acid oxidases: from yeast to humans. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64: 1373-1394.
- 17) Koga R, Miyoshi Y, Sakaue H, et al. Mouse D-Amino-Acid Oxidase: Distribution and

- Physiological Substrates. *Front Mol Biosci* 2017; 4: 82.
- 18) Nakade Y, Iwata Y, Furuichi K, et al. Gut microbiota-derived D-serine protects against acute kidney injury. *JCI Insight* 2018; 3: e97957.
  - 19) Ganote CE, Peterson DR, Carone FA. The nature of D-serine--induced nephrotoxicity. *Am J Pathol* 1974; 77: 269-282.
  - 20) Carone FA, Ganote CE. D-serine nephrotoxicity. The nature of proteinuria, glucosuria, and aminoaciduria in acute tubular necrosis. *Arch Pathol* 1975; 99: 658-662.
  - 21) Okada A, Nangaku M, Jao TM, et al. D-serine, a novel uremic toxin, induces senescence in human renal tubular cells via GCN2 activation. *Sci Rep* 2017; 7: 11168.



部坂 篤 (へさか あつし) 氏

略歴

- 2005-2011 大阪大学 医学部医学科
- 2011-2013 JCHO大阪病院(旧大阪厚生年金病院)  
初期研修
- 2013-2016 JCHO大阪病院(旧大阪厚生年金病院)  
内科 後期研修
- 2016-2020 大阪大学大学院 医学系研究科  
腎臓内科学
- 2016-2020 大阪大学医学部附属病院  
腎臓内科 医員
- 2020-現在 大阪大学医学部附属病院  
腎臓内科 臨床登録医
- 2020-現在 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・  
栄養研究所 研究調整専門員  
(KAGAMI プロジェクト, 難治性疾患研究開  
発・支援センター リバーストランスレーショ  
ナル研究プロジェクト)