

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16730

研究課題名（和文）二次元高速液体クロマトグラフィーシステムを用いたD-アミノ酸測定による腎機能推定

研究課題名（英文）Estimation of renal function by measuring D-amino acids using a two-dimensional high-performance liquid chromatography system

研究代表者

川村 正隆（Kawamura, Masataka）

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：00808925

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：我々が専用開発した二次元高速液体クロマトグラフィーシステムにより、D-アミノ酸を高感度に検出することが可能となった。本研究では生体腎移植患者のD-アミノ酸と、イヌリンクリアランスを用いた実測腎機能との相関について解析を行い、D-アミノ酸により腎機能を推定し得るかを検討した。生体腎移植ドナーとレシピエントを対象に、血漿中および尿中のD-アミノ酸を測定した。D-セリンクリアランスは強く糸球体ろ過量と相関し、かつ従来の腎機能マーカーに比して偏りが小さかった。また、D-セリンクリアランスによる腎機能予測式を作成し、組み合わせることにより正確にGFRを算出することが可能になることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病とその悪化による透析療法導入は、人口高齢化に伴ってさらなる増加が懸念され、世界的に社会、医療、経済上の深刻な問題となっている。本研究成果を利用することによって腎機能を正確に評価することで、腎臓病の早期診断や重症度の正確な判定、腎障害時の投薬量の決定、などが可能となり、腎臓病の治療法改善を通じて人工透析導入の抑制なども期待される。また、D-セリンをバイオマーカーとして、新規治療薬の開発にもつながることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Our specially developed two-dimensional high-performance liquid chromatography system has made it possible to detect D-amino acids with high sensitivity. In this study, we analyzed the correlation between D-amino acids and measured renal function using inulin clearance, and examined whether D-amino acids could be used to estimate renal function. D-amino acids were measured in plasma and urine of living donors and recipients of renal transplants.

D-serine clearance was strongly correlated with glomerular filtration rate and showed less bias than conventional markers of renal function. We also developed an equation for predicting renal function using D-serine clearance and found that the combination of the two equations enabled accurate calculation of GFR.

研究分野：腎移植

キーワード：D-アミノ酸 D-セリン D-セリンクリアランス 腎機能 腎移植

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病は世界的な問題で、人口高齢化とともに頻度が高くなっている。日本においては人口の1割、世界では8.5億人が慢性腎臓病であると推定されている。増加し続けている人工透析患者数を減少させるためには、腎臓病の重症化を抑制することが重要であるが、そのためには、重要な腎機能の指標である糸球体ろ過量を簡便かつ精密に評価する方法の開発が必要である。正確な糸球体ろ過量評価にはイヌリンクリアランス測定が必要であるものの、イヌリンの点滴を要するなど検査が非常に煩雑なため、測定頻度は高くない。そのため、腎機能マーカーの血清クレアチニンやシスタチンC値と、それらから推定する推定糸球体ろ過量が簡便な方法として使用されているが、精度に課題があった。特に加齢に伴う腎機能の低下を評価するのが困難であった。また、クレアチニンのクリアランス(C-cre)評価は糸球体ろ過量に近いものの、大きな偏りがあるため実際には使用しづらいという問題があった。これらの技術的課題により、正確な糸球体ろ過量に基づく腎臓病の早期診断、重症度や治療効果判定に基づく投薬量調整などの適切な医療は十分には提供できていなかった。

一方、アミノ酸にはL-体とD-体のキラルアミノ酸(鏡像異性体)が存在し、体内にはL-体しか存在しないと長い間、考えられていた。これまでの研究により、体内にはごく少量のD-アミノ酸が存在し、特にD-セリンは加齢とともに変動すること、さらには、D-セリンの制御を腎臓が行っていることを発見してきた。

そこで今回、D-セリンが腎臓の機能をより直接的に反映しているのではないかと考え、D-セリンによって糸球体ろ過量を評価することが可能であるかの検討を進めた。

### 2. 研究の目的

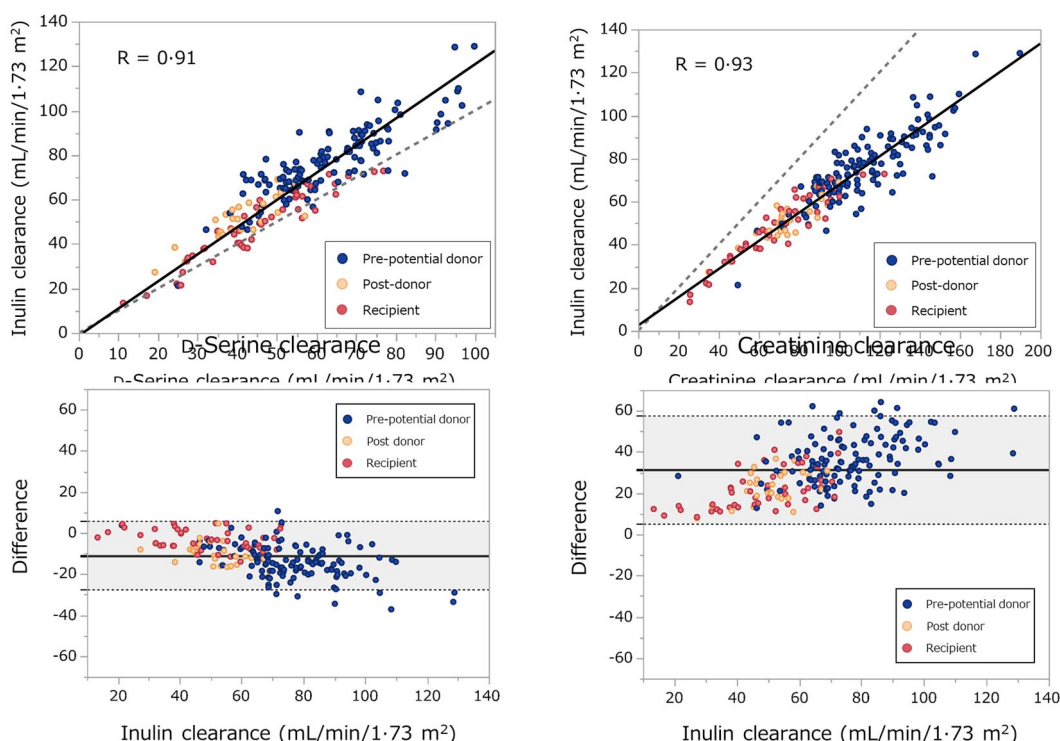
D-セリンの測定により腎機能の正確な測定が可能であるかどうかを明らかにすること。

### 3. 研究の方法

生体腎移植提供者(ドナー)と受容者(レシピエント)を対象に、イヌリンクリアランス測定による糸球体ろ過量評価時に、同時に体内のD-セリンのクリアランスを評価した。D-セリンクリアランス(C-dSer)とイヌリンクリアランス(C-in)との相関について解析を行った。日本の単一施設で2019年7月から2020年12月の間に登録された200人を対象とした横断観察研究である。D-セリンのクリアランス(C-DSer)は、二次元高速液体クロマトグラフィーで測定したD-セリンの血中および尿中濃度に基づいて算出した。129名の学習コホートをを用いて、線形回帰モデルを用いてC-DSerとC-creに基づくC-inの式を作成し、その性能を68名の検証コホートで検証した。

### 4. 研究成果

#### (1)



C-dSer が C-in の指標として信頼できるかどうかを検討するため、まず解析結果を分析した。全コホート集団において、C-dSer は C-cre (R = 0.93) と同様に C-in (R = 0.91, P < 0.0001) と有意かつ強い相関があった。C-dSer は C-in を 22.0% (95%信頼区間、14.2-29.8%) の比例バイアスと -1.24 (-5.78-3.31) の一定バイアスをもって過小評価したが、この比例バイアスは C-cre のそれ (比例バイアスは 34.6% [31.1-38.2%] 一定バイアスは 2.47 (-1.18-6.13)) より軽微であった。また、C-dSer の C-in 測定におけるバイアスは、C-cre のそれよりも小さいことが Brand-Altman プロットで確認された。

(2)

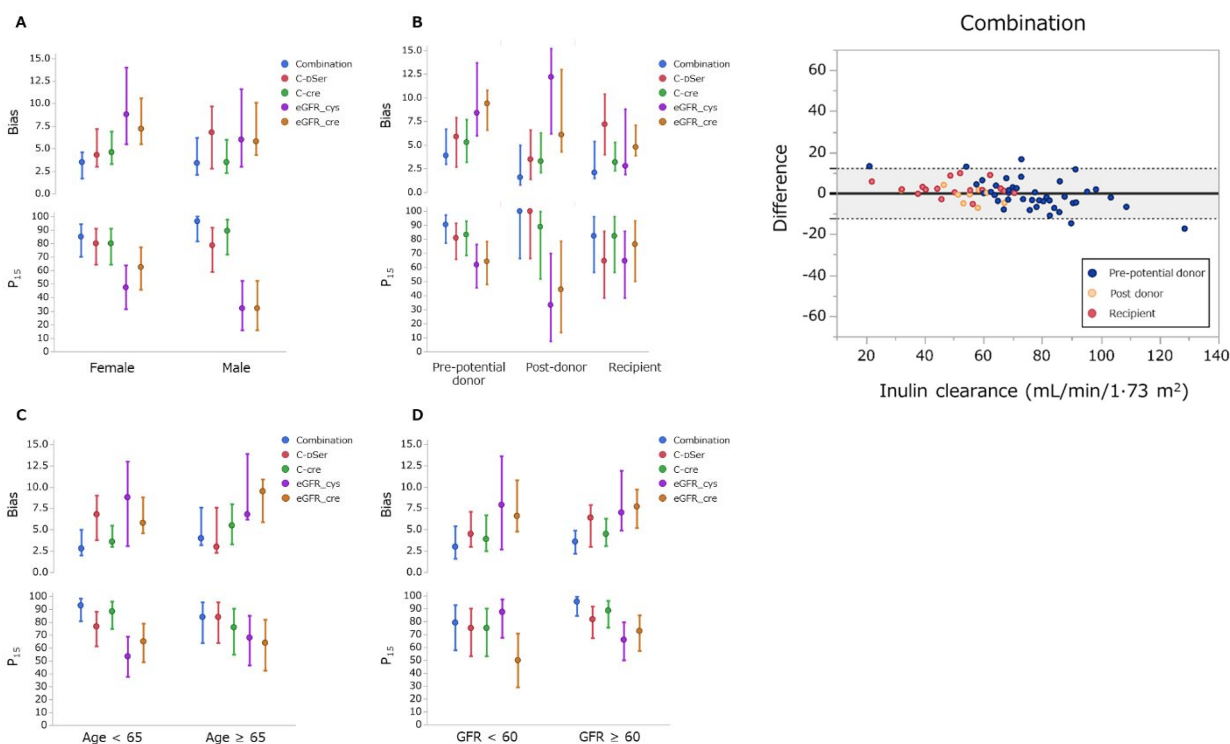
Parameter for equation	Equation for estimating GFR	95% CI of coefficient		
		D-Serine clearance	Creatinine clearance	Intercept
D-Serine clearance	$1.085 \times \text{C-dSer} + 6.434$	0.998-1.172	-	1.419-11.449
Creatinine clearance	$0.618 \times \text{C-cre} + 5.869$	-	0.577-0.660	1.606-10.133
Combination of D-serine and creatinine clearances	$0.391 \times \text{C-dSer} + 0.418 \times \text{C-cre} + 3.852$	0.210-0.572	0.318-0.518	-0.255-7.959

次に、GFR 測定における比例バイアスが小さいことが C-dSer の利点であるため、我々は C-dSer を用いた推定 GFR 式を開発した。この目的のために、全コホートを訓練コホート用に

129 人、検証用に 68 人に無作為に分割した (2:1)。C-dSer、C-cre、およびそれらの組み合わせについて、トレーニングデータセットに基づいて回帰分析により係数を算出した

Equations	R <sup>2</sup>	Bias (95%CI)	IQR (95%CI)	RMSE (95%CI)	P30% (95%CI)	P15% (95%CI)	P7.5% (95%CI)
Combination	0.90	3.5 (2.3-4.8)	6.5 (4.8-9.6)	6.2 (5.1-7.5)	98.5 (91.4-100.0)	89.7 (80.0-95.2)	64.7 (52.8-75.0)
D-Serine clearance	0.83	5.6 (3.5-7.2)*	10.7 (7.1-14.8)	8.2 (6.9-9.6)	97.1 (89.3-99.8)	79.4 (68.2-87.4)*	45.6 (34.3-57.4)*
Creatinine clearance	0.87	4.5 (3.2-5.7)*	8.9 (6.5-12.8)	7.3 (6.0-8.7)	97.1 (89.3-99.8)	83.8 (73.1-90.9)*	51.5 (39.8-63.0)*
eGFR_cys	0.65	7.2 (5.6-11.9)*	16.6 (11.4-19.9)	12.8 (10.6-15.4)	88.2(78.2-94.2)*	58.8 (47.0-69.8)*	36.8 (26.3-48.7)*
eGFR_cre	0.55	6.9 (5.3-9.4)*	14.1 (10.2-18.8)	13.7 (10.4-17.3)	85.3 (74.8-92.0)*	64.7 (52.8-75.0)*	33.8 (23.7-45.7)*

検証データセットでこの式の性能を調べた。C-dSer は非常に良好な結果を示し、C-dSer と C-cre を併用するとさらに良好になった。C-dSer と C-cre を組み合わせた式は、C-in の絶対残差の中央値で最も偏りが少なかった。この偏りは、C-cre を含む他のどの式よりも有意に小さかった。精度と RMSE に関しては、複合式が最も優れていた。精度に関しては、複合式は C-in とよく一致した。



Brand-Altman plot では、組み合わせ式と C-in の間の一致度が最も高く、GFR の値によって一貫性があり、偏りも少なかった。性別、移植関連状態、年齢、GFR で定義されたサブグループ間で、予測式の性能は一貫していた。内因性因子である D-セリンとクレアチニンのクリアランスの組み合わせに基づく方程式は、より低いバイアスと高い精度で GFR の測定を可能にした。

<引用文献> . 5. Kawamura M, Hesaka T, et al. Measurement of glomerular filtration rate using endogenous dserine clearance in living kidney transplant donors and recipients. EClinicalMedicine 43:101223

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kawamura Masataka, Hesaka Atsushi, Taniguchi Ayumu, Nakazawa Shigeaki, Abe Toyofumi, Hirata Makoto, Sakate Ryuichi, Horio Masaru, Takahara Shiro, Nonomura Norio, Isaka Yoshitaka, Imamura Ryoichi, Kimura Tomonori	4. 巻 43
2. 論文標題 Measurement of glomerular filtration rate using endogenous d-serine clearance in living kidney transplant donors and recipients	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 eClinicalMedicine	6. 最初と最後の頁 101223 ~ 101223
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.eclinm.2021.101223	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川村正隆
2. 発表標題 生体腎移植ドナーおよびレシピエントにおける内因性d-セリンクリアランスを用いた糸球体濾過量の測定
3. 学会等名 第111回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2023年 ~ 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------