

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19479

研究課題名（和文）高速原子間力顕微鏡によるキラルアミノ酸代謝の可視化解析

研究課題名（英文）Visualization analysis for dynamics of chiral amino acids

研究代表者

和田 隆志（Wada, Takashi）

金沢大学・その他部局等・その他

研究者番号：40334784

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：腎臓病の病態解明とその克服は重要な課題である。本研究の目的は、腎臓病に関連するキラルアミノ酸の代謝を可視化することである。キラルアミノ酸の生理的・腎臓病類似環境での代謝機構を明らかにすることで、新規キラルアミノ酸代謝のメカニズムの解明を目指して検討した。本研究により、ことに高速原子間力顕微鏡を用いることで、これまで困難であった腎障害と病態に果たす意義を解明したい。今後も、キラルアミノ酸代謝を明らかにし、腎臓病の病態解明、予後改善・克服にむけて検討を進める。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高速原子間力顕微鏡（HS-AFM）を用いることで、これまで困難であった腎障害の病態に果たす意義を解明することにつながる可能性がある。これまでの検討結果を生かして、生理的、腎臓病病態下でのキラルアミノ酸代謝の機序を明らかにすることは学術的意義が高い。かかる検討成果により病態解明、予後改善にむけた取り組みをさらに展開する。今後は社会的にも重要な新しい学術体系の創発や、腎臓病の疾患バイオマーカー・治療シース開発につなげたい。

研究成果の概要（英文）：This study was aimed to examine the detailed mechanisms of D-amino acids involved in the progression of kidney diseases. We have established the involvement of D-alanine and D-serine in murine models of acute kidney injury and chronic kidney disease. In addition, D-alanine and D-serine are both associated with human kidney diseases. However, detailed molecular mechanisms of D-amino acids remain investigated. In this study, using HS-AFM, we have examined the biological significance of D-amino acids, which would provide future insights for elucidation of molecular mechanisms of kidney diseases.

研究分野：腎臓学、内科学、臨床検査医学

キーワード：キラルアミノ酸 腎臓病 高速原子間力顕微鏡

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

自然界には約 500 種類ものアミノ酸が発見されているが、我々のカラダのタンパク質を構成しているものはわずか 20 種類ほどである。アミノ酸は、右手と左手の関係のように、互いに鏡に映すと同一になる構造のものが存在し、L 体、D 体と識別されたものがキラルアミノ酸である。本研究では、生命現象に必須なアミノ酸、ことに D 体、L 体を識別するキラルアミノ酸に注目する。これまで、高感度かつ網羅的な分析技術キラルアミノ酸メタボロミクスを用いて分析が可能となった。しかしながら、キラルアミノ酸は未だ生体内で役割が不明である。さらに、腎臓病における役割は十分に解明されていない。一方、このキラルアミノ酸と腸内細菌に代表される生体で共存する細菌叢とは関連が深い。腸内細菌はこれまでも生体の恒常性維持に関連していることが明らかとなっている。腸内細菌と腎臓とも密接な関連が知られている。腎臓病において、腸内細菌叢が質的・量的に変化する *dysbiosis* が生じ、病態に深く関連していると考えられるようになってきた。この D-アミノ酸は、種々の細菌から産生され、菌体の細胞壁成分などに利用される。我々は新たな腸内細菌叢の代謝産物としてのキラルアミノ酸に着目し、腎臓と腸内環境との連関機構にはたす役割について検討を進めている。実際、慢性腎臓病や急性腎障害において、腎腸連関と考えられている腸内細菌叢の病態への関連性が報告されている。腸内細菌叢の質的・量的変化、すなわち *dysbiosis* が存在することも知られており、病態解明も進みつつある。さらに、腎臓病の治療を考えるうえで、腸内環境と関連するプレバイオティクス、プロバイオティクス、ポストバイオティクスによる制御の可能性も検討されている。これまでの検討において、腸内微生物由来の D-アミノ酸の急性ならびに慢性腎障害の意義を確認してきた。このうち、D-セリンはマウス急性腎障害モデルにおいて、腸内細菌叢より産生され、遠隔臓器である腎臓に対して保護作用をもつことも判明した。さらに、D-セリンがヒト急性ならびに慢性腎障害のバイオマーカーであることも報告してきた。さらに、D-アラニンも急性腎障害において経口投与すると、濃度依存的に腎保護作用が得られた。この機序として、尿細管上皮細胞において、D-アラニンは NMDA 受容体シグナルを介してミトコンドリアの低酸素誘導傷害を軽減させることを明らかにした。しかしながら、腎臓での生理的な状況や腎臓病での病態において、キラルアミノ酸の代謝等詳細な意義については十分な検討がなされていない。本研究では、腎臓病の発症・進展機序をさらに解明する目的で、高速原子間力顕微鏡を駆使して、より詳細にキラルアミノ酸の動態を検討し、病態解明を目指す。

2. 研究の目的

本研究の目的は、腎臓病に関連する D-セリンの代謝の分子レベルでの可視化に世界で初めて挑戦することである。キラルアミノ酸の代表として D-セリンの生理的・腎臓病類似環境での代謝機構を検討することで、新規キラルアミノ酸代謝のメカニズムの解明を進める。さらに、この代謝機構を明らかにすることで、新規キラルアミノ酸代謝の動態ならびに腎障害への関与のメカニズム解明を目指す。すなわち、高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM) を用い、キラルアミノ酸 (D-セリン) の取り込み、代謝過程など動態をナノメートルの空間分解能でリアルタイムに可視化する。本研究は、これまで困難であった腎障害に至る D-アミノ酸の意義の解明を目指す。今後、生理的、腎臓病の病態下でのキラルアミノ酸代謝の機序を明らかにし、病態解明、予後改善・克服にむけて検討を進める。本研究を基盤として、さらに腎臓病の疾患バイオマーカー・治療シーズ開発につなげたい。

3. 研究の方法

本研究において、高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM) を用い D-アミノ酸の動態を可視化することを目指す。培養細胞を用い腎臓病を模した培養条件で、一連のキラルアミノ酸、その代表として D-セリンの生理的・腎臓病類似環境での動態を明らかにする。本研究により、新規のキラルアミノ酸代謝機構ならびに腎障害への関与のメカニズムの解明を目指す。本研究の意義は、これまで不明であったキラルアミノ酸、ことに D-アミノ酸の病態に果たす役割を検討することである。以上、HS-AFM を用いて探索的・新規性・独自性の高い研究を遂行する。

4. 研究成果

腎臓病の病態解明とその克服は重要な課題である。本研究では、代表的な D-セリンなどキラルアミノ酸に着目し、生理的ならびに腎臓病類似環境での動態を検討した。本研究を通じて、D-

セリンの生理的・腎臓病類似環境での代謝機構ならびに病態への関与を明らかにすることで、新規キラルアミノ酸を介したメカニズムの解明を目指して検討してきた。これまで、キラルアミノ酸のうち、腸内細菌叢由来の D-セリン、D-アラニンが腎臓病で増加し、マウスの急性腎障害、慢性腎臓病での腎臓保護効果を示すことを明らかにしてきた。本研究では、これまでの検討を発展させ、腎臓病の発症・進展機序をさらに解明することを目的とした。高速原子間力顕微鏡を駆使して、より詳細にキラルアミノ酸の動態を検討し、病態解明を目指して研究を遂行しえた。今後もさらに検討を継続し、腎臓病にはたすキラルアミノ酸の病態解明、予後改善にむけた取り組みをさらに展開する。社会的にも重要な新しい学術体系の創発や、腎臓病の疾患バイオマーカー・治療シーズ開発につなげたい。

<引用文献>

Intra-Brain and Plasma Levels of L-Serine Are Associated with Cognitive Status in Patients with Chronic Kidney Disease.

Iwata Y, Nakade Y, Kinoshita M, Sabit H, Nakajima R, Furuichi K, Mita M, Nakane M, Sakai N, Kitajima S, Toyama T, Miyagawa T, Hara A, Shimizu M, Sato K, Oshima M, Nakagawa S, Yamamura Y, Ogura H, Koshino Y, Nakada M, Wada T. *Kidney Dis (Basel)*. 2023 Jan 13;9(2):118-129. doi: 10.1159/000527798. eCollection 2023 Apr.

Protective effect of d-alanine against acute kidney injury.

Iwata Y, Nakade Y, Kitajima S, Yoneda-Nakagawa S, Oshima M, Sakai N, Ogura H, Sato K, Toyama T, Yamamura Y, Miyagawa T, Yamazaki H, Hara A, Shimizu M, Furuichi K, Mita M, Hamase K, Tanaka T, Nishida M, Muramatsu W, Yamamoto H, Shichino S, Ueha S, Matsushima K, Wada T. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2022 Jun 1;322(6):F667-F679. doi: 10.1152/ajprenal.00198.2021. Epub 2022 Apr 18.

Increased levels of oral Streptococcus-derived D-alanine in patients with chronic kidney disease and diabetes mellitus.

Nakade Y, Iwata Y, Sakai N, Mita M, Nakane M, Hamase K, Suda W, Toyama T, Kitajima S, Hara A, Shimizu M, Ogushi C, Furuichi K, Koshino Y, Morita H, Hattori M, Wada T. *Sci Rep*. 2022 Dec 16;12(1):21773. doi: 10.1038/s41598-022-26175-1.

Significance of the Gut Microbiota in Acute Kidney Injury.

Kobayashi T, Iwata Y, Nakade Y, Wada T. *Toxins (Basel)*. 2021 May 22;13(6):369. doi: 10.3390/toxins13060369.

Gut microbiota-derived D-serine protects against acute kidney injury.

Nakade Y, Iwata Y, Furuichi K, Mita M, Hamase K, Konno R, Miyake T, Sakai N, Kitajima S, Toyama T, Shinozaki Y, Sagara A, Miyagawa T, Hara A, Shimizu M, Kamikawa Y, Sato K, Oshima M, Yoneda-Nakagawa S, Yamamura Y, Kaneko S, Miyamoto T, Katane M, Homma H, Morita H, Suda W, Hattori M, Wada T. *JCI Insight*. 2018 Oct 18;3(20):e97957. doi: 10.1172/jci.insight.97957.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kobayashi Taku, Iwata Yasunori, Nakade Yusuke, Wada Takashi	4. 巻 13
2. 論文標題 Significance of the Gut Microbiota in Acute Kidney Injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Toxins	6. 最初と最後の頁 369 ~ 369
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/toxins13060369	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Linh Hoang Thuy, Iwata Yasunori, Senda Yasuko, Sakai-Takemori Yukiko, Nakade Yusuke, Oshima Megumi, Nakagawa-Yoneda Shiori, Ogura Hisayuki, Sato Koichi, Minami Taichiro, Kitajima Shinji, Toyama Tadashi, Yamamura Yuta, Miyagawa Taro, Hara Akinori, Shimizu Miho, Furuichi Kengo, Sakai Norihiko, Wada Takashi 他	4. 巻 33
2. 論文標題 Intestinal Bacterial Translocation Contributes to Diabetic Kidney Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the American Society of Nephrology	6. 最初と最後の頁 1105 ~ 1119
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1681/ASN.2021060843	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Iwata Yasunori, Nakade Yusuke, Kitajima Shinji, Yoneda-Nakagawa Shiori, Oshima Megumi, Sakai Norihiko, Ogura Hisayuki, Sato Koichi, Toyama Tadashi, Yamamura Yuta, Miyagawa Taro, Yamazaki Hiroka, Hara Akinori, Shimizu Miho, Furuichi Kengo, Mita Masashi, Wada Takashi 他	4. 巻 322
2. 論文標題 Protective effect of <scpd>-alanine against acute kidney injury	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Renal Physiology	6. 最初と最後の頁 F667 ~ F679
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajprenal.00198.2021	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Nakade Yusuke, Iwata Yasunori, Sakai Norihiko, Mita Masashi, Nakane Maiko, Hamase Kenji, Suda Wataru, Toyama Tadashi, Kitajima Shinji, Hara Akinori, Shimizu Miho, Ogushi Chikako, Furuichi Kengo, Koshino Yoshitaka, Morita Hidetoshi, Hattori Masahira, Wada Takashi	4. 巻 12
2. 論文標題 Increased levels of oral Streptococcus-derived d-alanine in patients with chronic kidney disease and diabetes mellitus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 21773
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-26175-1	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Iwata Yasunori, Nakade Yusuke, Kinoshita Masashi, Sabit Hemragul, Nakajima Riho, Furuichi Kengo, Mita Masashi, Nakane Maiko, Sakai Norihiko, Kitajima Shinji, Toyama Tadashi, Miyagawa Taro, Hara Akinori, Shimizu Miho, Sato Kouichi, Oshima Megumi, Nakagawa Shiori, Yamamura Yuta, Ogura Hisayuki, Wada Takashi 他	4. 巻 9
2. 論文標題 Intra-Brain and Plasma Levels of L-Serine Are Associated with Cognitive Status in Patients with Chronic Kidney Disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Kidney Diseases	6. 最初と最後の頁 118 ~ 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000527798	査読の有無 有
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2件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 岩田恭直・中出祐介・和田隆志
2. 発表標題 腎腸連関と腎臓病
3. 学会等名 第51回日本腎臓学会西部学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 和田隆志
2. 発表標題 バイオマーカー開発と産学連携への期待
3. 学会等名 日本医療検査科学会 第54回大会 (招待講演)
4. 発表年 2022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
研究協力者	古市 賢吾 (FURUICHI kengo)	准教授	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	原 章規 (HARA akinori)		

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