

平成 30 年 5 月 9 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15326

研究課題名(和文)慢性腎臓病の先制医療にむけたキラルアミノ酸の病態解析とバイオマーカー開発

研究課題名(英文) Pathophysiology of kidney diseases based on amino acids and related biomarker development

研究代表者

和田 隆志 (Wada, Takashi)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：40334784

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病では早期発見が重要である。そのため、軽微な腎障害の病態を反映し、その早期診断、治療反応性、予後を反映するバイオマーカー確立は慢性腎臓病の予後改善にむけて重要な課題である。本研究では、慢性腎臓病においてこのような病態を反映するアミノ酸の同定を行った。生体内のアミノ酸は光学異性体であるD体とL体が存在する。本研究では光学異性体のアミノ酸を区別し、かつ網羅的に解析可能なキラルアミノ酸メタボローム解析を用いた。その結果、慢性腎臓病の早期診断、予後などに関連するアミノ酸を同定した。腎生検によらない慢性腎臓病の非侵襲的診断、治療、予後を反映するバイオマーカーの確立に資する研究を施行し得た。

研究成果の概要(英文)：The number of patients suffering from chronic kidney disease (CKD), which is a risk factor for end-stage kidney disease resulting in requirement for renal replacement therapy is increasing all over the world. To overcome CKD, the establishment of adequate clinico-pathological parameters and related biomarkers for diagnosis and/or prediction for prognoses is required. Recent advances in research have shed light on the chirality of amino acids. The two-dimensional (2D) HPLC technique reveals that free D-amino acids and their L-forms are quantified quantitatively. In this study, we aimed to examine the pathophysiology of kidney diseases depending on amino acids and related relevant biomarker candidates for chronic kidney disease. As a result, we determined biomarker candidates, which were associated with the progression of chronic kidney disease.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：キラルアミノ酸 慢性腎臓病 バイオマーカー

### 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病において、腎機能低下は腎予後のみならず、全死亡ならびに心血管系イベントと密接に関連する。そのため、軽微な腎機能障害の病態を反映する因子の同定、その因子を用いた早期診断、特異的な診断、治療反応性、予後を反映するバイオマーカー確立は慢性腎臓病の予後改善にむけた重要な課題である。

一方、生体に必須のアミノ酸のうち、D-アミノ酸はこれまで高感度の分析技術がなく、ヒトでの動態、役割は未だ不明であった。現在、分析技術の進歩により、D-、L-アミノ酸を区別し、かつ網羅的に解析可能なキラルアミノ酸メタボロミクスが確立された。その結果、病態解析などに応用が可能となったことも本研究を推進する大きな背景である。

### 2. 研究の目的

慢性腎臓病の診療において無侵襲かつ個別化医療など目的に応じたバイオマーカーの開発とその臨床応用が期待されている。

本研究では、D-、L-アミノ酸を区別し、かつ網羅的に解析可能なキラルアミノ酸メタボロミクスを用いた。本研究では、腎臓病の病態、早期診断、予後と関連する D-アミノ酸を同定し、バイオマーカーとして臨床応用することを目的として、腎臓病において病態を反映するアミノ酸の同定を行った。

### 3. 研究の方法

本研究では、ヒト腎臓病の血液、尿、糞便、唾液を同時測定した。アミノ酸は腎臓の生理的機能はじめ生命の維持に不可欠な要素である。アミノ酸は光学異性体である D 体と L 体が存在する。本研究では、腎臓病の経時的な変化を反映するアミノ酸プロファイルを二次元高速液体クロマトグラフィーにて測定し、候補となるアミノ酸を検討した。その基盤データに基付き、臨床的意義解明、先

制医療、個別化医療に向けた研究を行った。ことに、腎臓病の早期診断、特異的病態、治療反応性、予後と関連するアミノ酸を同定し、慢性腎臓病の新規病態バイオマーカーの開発を目指した研究を行った。

### 4. 研究成果

本研究において、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ることにより、腎臓病において、微量でもキラルアミノ酸を高感度かつ網羅的に測定することが初めて可能となった。腎臓病患者の検体中のアミノ酸 D/L 比を評価することにより、D-アミノ酸の動態を敏感かつ正確に反映しえた。このことにより、血液、尿、糞便、唾液の分析結果から全身の動態を推測し、生理的並びに腎臓病の発症、進展に応じた病態における意義を初めて明らかにすることができた。実際、腎機能との相関、腎臓病に応じて変動する D-アミノ酸などそれぞれ臨床的に特徴があることも判明した。さらに、この腎臓病でのキラルアミノ酸の役割について、詳細な機序を *in vivo* 並びに *in vitro* で解析中である。

これらを通じて、腎生検によらない腎臓病の非侵襲的診断、治療、予後を反映するバイオマーカーの確立に資する研究を施行し得た。本研究により、D-アミノ酸を通じた腎臓病の病態解明、無侵襲かつ早期診断、治療、予後を反映するバイオマーカー確立と臨床への還元を目指している。特に、腎生検における病理所見との比較により、腎臓病の病態を診断できる無侵襲診断法に繋がるのが期待できる。現在、迅速診断法開発も同時に視野に入れ、先制医療に向けた研究が進行中である。これらの研究を通じて、早期の臨床応用を実現したいと考えている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3件)

- (1) Shimizu M, Furuichi K, Toyama T, Funamoto T, Kitajima S, Hara A, Ogawa D, Koya D, Ikeda K, Koshino Y, Kurokawa Y, Abe H, Mori K, Nakayama M, Konishi Y, Samejima KI, Matsui M, Yamauchi H, Gohda T, Fukami K, Nagata D, Yamazaki H, Yuzawa Y, Suzuki Y, Fujimoto S, Maruyama S, Kato S, Naito T, Yoshimura K, Yokoyama H, Wada T; Research Group of Diabetic Nephropathy, the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan and Japan Agency for Medical Research and Development. Decline in estimated glomerular filtration rate is associated with risk of end-stage renal disease in type 2 diabetes with macroalbuminuria: an observational study from JDNCS. Clin Exp Nephrol 査読有 22(2):377-387, 2018  
DOI: 10.1007/s10157-017-1467-9
- (2) Shinozaki Y, Furuichi K, Toyama T, Kitajima S, Hara A, Iwata Y, Sakai N, Shimizu M, Kaneko S, Isozumi N, Nagamori S, Kanai Y, Sugiura T, Kato Y, Wada T. Impairment of the carnitine/organic cation transporter 1-ergothioneine axis is mediated by intestinal transporter dysfunction in chronic kidney disease. Kidney Int 査読有 92(6):1356-1369, 2017  
DOI: 10.1016/j.kint.2017.04.032
- (3) 中出祐介・和田隆志: 腎臓を軸とした生体ネットワークの解明, 臨床病理, 査読無, 64(4):387-391, 2016

〔学会発表〕(計 8件)

- (1) 和田隆志: 慢性腎臓病における腸腎連関 トランスポーターの観点から, 日本薬学会第138年会(金沢) 2018年3月27日
- (2) 古市賢吾・和田隆志: 腎不全における臓器連関破綻~腸・腎連関~, 2017年度生命科学系学会合同年次大会 ConBio2017 2017年12月7日
- (3) 和田隆志: Clinicopathological characteristics and related biomarkers in diabetic nephropathy, 第64回日本臨床検査医学会学術集会・第29回世界病理臨床検査医学会連合会義 WASPaLM2017 2017年11月19日
- (4) 和田隆志: 腎領域のデータベースの整備と活用: 糖尿病性腎症レジストリー JDNCS, 第64回日本臨床検査医学会学術集会 2017年11月19日
- (5) 遠山直志・北島信治・古市賢吾・和田隆志: CKD と新たな検査, 日本臨床検査自動化学会第49回大会 2017年9月23日
- (6) 和田隆志: 腎腸連関とマイクロバイオーム, 第52回日本小児腎臓病学会学術集会 2017年6月2日
- (7) 岩田恭宜・和田隆志: 細菌ゲノム解析からみる進行性腎疾患と全身, 第59回日本腎臓学会学術総会 2016年6月17日
- (8) Takashi Wada: DAMPING Signals in Glomerular Resident Cells. ASN Kidney Week 2016, Chicago, 2016年11月18日

〔その他〕

- (1) 和田隆志: キラルアミノ酸バイオマーカーを用いた腎臓病病態の無侵襲診断, 科研費 NEWS 2017年度 VOL.2, 2017

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

和田 隆志 (WADA, Takashi)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：4 0 3 3 4 7 8 4

### (2)研究分担者

古市 賢吾 (FURUICHI, Kengo)

金沢大学・附属病院・准教授

研究者番号：5 0 4 3 2 1 2 5