

氏名・(本籍)	岩川 英弘 (秋田県)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第991号
学位授与の日付	平成31年3月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	Urinary D-serine level as a predictive biomarker for deterioration of renal function in patients with atherosclerotic risk factors (尿中 D-セリン濃度は動脈硬化危険因子を有する患者での腎機能悪化の予測マーカーとなる)
論文審査委員	(主査) 齋藤 康太 教授 (副査) 佐藤 滋 教授      中山 勝敏 教授

## 学位論文内容要旨

Urinary D-serine level as a predictive biomarker for deterioration of renal function in patients with atherosclerotic risk factors  
(尿中D-セリン濃度は動脈硬化危険因子を有する患者での腎機能悪化の予測マーカーとなる)

申請者氏名 岩川 英弘

### 研究目的

従来、生体内にはL型のアミノ酸しか存在しないと考えられてきたが、20年ほど前にその光学異性体であるD型のアミノ酸も発見され、生理機能を有しているということが分かってきた。近年、ヒトにおいて血中のD型セリン(D-セリン)濃度が推定糸球体濾過量(estimated glomerular filtration rate: eGFR)と逆相関し、血中D-セリン濃度の高値が腎機能の増悪と関連することが報告された。しかしながら尿中のDおよびL-セリンの臨床的意義は不明である。

高血圧、糖尿病、喫煙といった動脈硬化危険因子は、心血管疾患のみならず慢性腎障害(CKD)の原因ともなる。危険因子が共通であるがゆえに両疾患の合併が問題となってきている。そこで本研究は動脈硬化危険因子を有する患者において、尿中DおよびL-セリンと既知のバイオマーカーとの関連性を解析し、そして尿中DおよびL-セリンが腎機能の予後予測マーカーとなり得るかを検討した。

### 研究方法

2014年12月から2015年7月までの間に当院に入院した、動脈硬化危険因子(高血圧、脂質異常症、糖尿病、喫煙、慢性腎障害)を1つ以上有する患者65名を対象とした。

採取した尿検体の尿中DおよびL-セリン濃度は、名古屋大学大学院生命農学研究所で開発した技術である酵素反応法を用いて測定した。尿中DおよびL-セリン濃度は尿中クレアチニン濃度で補正した。

加えて糸球体濾過量のマーカーであるeGFR、尿細管障害のマーカーとされる尿中L型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)と尿中 $\beta$ -D-Nアセチルグルコサミニダーゼ(NAG)を測定し、尿中DおよびL-セリン濃度との相関関係を検討した。

尿中DおよびL-セリン濃度、D/L-セリン比と腎予後との関連を明らかにするため、患者を16ヶ月間にわたり追跡した(中央値:16ヶ月、25-75% IQR:9.8-24ヶ月)。本研究の主要エンドポイ

ントを血液透析導入、腎移植施行、またはeGFRのベースラインからの25%以上の低下と定義した。

### 研究成績

患者の平均年齢は68±12歳であり、このうち男性は81.5%であった。全患者の動脈硬化危険因子の有病率はそれぞれ高血圧症64.6%、脂質異常症49.2%、糖尿病41.5%、慢性腎障害53.8%、喫煙歴75.4%であった。

尿中D-セリン濃度はeGFRと正の相関を認めた( $r = 0.33$ ,  $R^2 = 0.11$ ,  $P = 0.01$ )。尿中L-セリン濃度もまたeGFRと正の相関を認めた( $r = 0.28$ ,  $R^2 = 0.077$ ,  $P = 0.03$ )。尿中D-セリン濃度とeGFRとの相関における交絡因子としてのL-セリン濃度、および尿中L-セリン濃度とeGFRとの相関における交絡因子としてのD-セリン濃度を調整した場合、相関関係は尿中D-セリン濃度とeGFRとの間のみ認められた( $P = 0.04$ )。しかし、尿中DおよびL-セリン濃度と尿細管障害マーカーである尿中L-FABP濃度、NAG濃度いずれの間にも相関関係は認められなかった。

追跡期間中、主要エンドポイントは18名に認められた。うち4名は血液透析導入、14名はeGFRのベースラインからの25%以上の低下であった。主要エンドポイントが認められた患者群ではベースラインの尿中L-FABP濃度、尿中アルブミン濃度、利尿薬を内服している患者の割合が有意に高く、eGFR、尿中DおよびL-セリン濃度、左室収縮能(LVEF)が有意に低かった。

ベースラインの尿中DおよびL-セリン濃度、D/L-セリン比の主要エンドポイント予測能を評価するためROC曲線を作成したところ、AUCはそれぞれ0.75、0.69、0.57であり、尿中D-セリン濃度が最も良好に主要エンドポイントを予測しえた。またカットオフ値を69.8 nmol/mg creatinineとした場合、感度74%、特異度74%であった。

尿中D-セリン濃度69.8 nmol/mg creatinine以上の群をhigh D-serine group ( $n = 40$ )、69.8 nmol/mg creatinine未満の群をlow D-serine group ( $n = 25$ )と定義したとき、カプラン-マイヤー曲線においてlow D-serine groupはhigh D-serine groupと比較して有意に腎予後が不良であった( $P < 0.001$ )。さらにCox回帰分析において、単変量解析では尿中D-セリン濃度低値、LVEF低値、利尿薬使用、血清ヘモグロビン濃度低値、eGFR低値、尿中L-FABP高値が腎機能悪化と有意に関連しており、多変量解析の結果、尿中D-セリン濃度低値、LVEF低値、尿中L-FABP高値が独立した腎機能悪化予測因子であり、それぞれのHazard ratioは12.60(95% confidence interval 3.49-45.51)、0.95(95% confidence interval 0.91-0.99)、4.65(95% confidence interval 1.47-14.64)であった。

### 結論

尿中D-セリン濃度は、動脈硬化危険因子を有する患者において糸球体濾過量と関連し、腎機能の予後予測マーカーとなり得る。

## 学位（博士一甲）論文審査結果の要旨

主査： 齋藤 康太

申請者： 岩川 英弘

論文題名： Urinary D-serine level as a predictive biomarker for deterioration of renal function in patients with atherosclerotic risk factors

(尿中 D-セリン濃度は動脈硬化危険因子を有する患者での腎機能悪化の予測マーカーとなる)

### 要旨

本研究は、生理機能について未解明な点が多い D 型アミノ酸である D-セリンの尿中濃度の臨床的意義について、腎機能との関連性を示したものである。これまで、血中 D-セリン濃度が推定糸球体濾過量と逆相関し、血中 D-セリン濃度の高値が腎機能の増悪と関連することが示されていたが、尿中濃度については不明であった。さらに、動脈硬化危険因子と腎機能障害に関連性があることから、本研究は、動脈硬化危険因子を有する患者において、尿中 D-セリンおよび L-セリンと既知のバイオマーカーとの関連性を解析した。結果、尿中 D-セリン濃度が、動脈硬化危険因子を有する患者において、糸球体濾過量と関連し、腎機能の予後予測マーカーとなり得ることを明らかにした。本論文の斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明瞭さは以下の通りである。

#### 1) 斬新さ

これまでの研究は、血中 D-セリン濃度と腎機能の関連に対してのみであり、尿中 D-セリン濃度と腎機能の関連性を明らかにした点で、本研究は新規であると考えられ

る。さらに、尿中 D-セリンおよび L-セリン濃度の測定法として、従来の HPLC 法に変わり、酵素反応法を採用した点で新規である。

#### 2) 重要性

本研究によって、初めて尿中 D-セリン濃度が腎機能の予後予測マーカーとなり得ることが明らかとなった。今回、非侵襲性の尿検体を用いて腎機能の予測に用い得ることを明らかにしたことは臨床的にも重要である。

#### 3) 研究方法の正確性

本研究は、尿中 D-セリンおよび L-セリン濃度を尿中クレアチニン濃度で補正している。さらに種々の統計学的解析を行うことにより、結論を導き出している点も評価できる。いずれも、客観的な評価方法を採用しており、正確性があると考えられる。

#### 4) 表現の明瞭さ

本論文は、研究を遂行する上での研究目的、方法、実験結果、および考察を簡潔かつ明瞭に記載していると考ええる。

以上述べたように、本論文は学位を授与するに十分値する研究と判定された。