

Title	D-Serine is useful for the diagnosis of chronic kidney disease and promotes kidney remodeling
Author(s)	部坂, 篤
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/87736
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	部坂 篤
論文題名 Title	D-Serine is useful for the diagnosis of chronic kidney disease and promotes kidney remodeling (D-セリンは慢性腎臓病診断に有用であり腎臓リモデリング促進効果を有する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>アミノ酸は、自然界および生体内は基本的にL体で存在し、D体は極微量かほとんど検出されず、生体内での作用は様々な違いが報告されている。例えば、腎機能の悪い群において、血中のD-セリン(Ser)濃度が上昇することが知られている。そこで、今回、D-Serが腎臓病診療における様々な課題に応用できないか、検討した。具体的には、正確な腎機能の評価、慢性腎臓病(CKD)の早期診断、腎移植ドナーにおけるD-Serの体内動態について、それぞれ評価を行った。また、メカニズムの解明として、D-Serによる生理学的機能についても検討を行った。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>まず、正確な腎機能の評価、CKDの早期診断に関して、CKD患者11名と健常者(腎機能正常者)15名を対象に、多施設横断研究を行った。正確な腎機能として、イヌリンクリアランスを測定し、糸球体ろ過量(glomerular filtration rate, GFR)を算出した。二次元高性能分離液体クロマトグラフィーを用いて、キラルアミノ酸メタボロミクスの評価を行った。血中D-Serは、CKD患者で高値となり、既存の腎バイオマーカー(クレアチニンやシスタチンC)と同程度以上にGFRと相関した。血中D-Serは正確な腎機能評価に有用であることが分かった。一方、尿中D-Ser排泄率はL体とは全く異なり、より多く排泄されていた。そして、健常者ではある一定の排泄率を保っていたが、CKD患者ではレンジが広がった。主成分分析では、尿中D-Ser排泄率はGFRと無相関であったが、血中D-Serと尿中D-Ser排泄率を散布図で示したところ、CKDの存在と関連することが分かり、CKDの早期診断が可能であった。</p> <p>次に、腎移植ドナー患者10名の手術前後を対象に単施設縦断研究を行い、D-Serの体内動態を評価した。手術後、D-Serのクリアランスが低下することで、血中D-Ser濃度は上昇した。また、血中D-Serは、既存の腎バイオマーカー同様、腎機能と相関した。このように、片腎を摘出することで、D-Serの体内動態が変動することが判明した。</p> <p>最後に、腎移植ドナーと同じモデルとして、片腎摘出(UNX)マウスを用いて、D-Serによる生理学的機能について検討した。UNXにより残腎の腫大をきたすことが知られているが、D-Ser投与でその作用が増強した。腎皮質のRNA sequenceでは細胞周期の亢進が確認された。腎組織のKi67染色では細胞増殖が確認され、蛍光免疫染色によって近位尿細管に限局することが分かった。HK-2(ヒト近位尿細管)細胞、RPTEC(ヒト近位尿細管プライマリー細胞)を用いて、この細胞増殖促進作用がキラル特異的であることを証明した。一般的に、片腎摘出による腎腫大はmTORが関与し、mTORはアミノ酸の代謝や細胞増殖・細胞周期に関連することが知られている。UNXマウスの腎皮質において、ウェスタンブロット(WB)で確認したところ、S6k蛋白のリン酸化が亢進し、D-Ser投与で作用が増強することが有意に示された。また、HK-2細胞において、WBでS6kのリン酸化を確認したところ、D-Ser投与によって亢進した。そこで、mTORのpathwayに重要であるp18, Rhebについてknock outした遺伝子組換え細胞で評価したところ、D-Serによる細胞増殖亢進作用を認めなかった。D-Serは、mTORに関連した経路で、細胞増殖を促進し、腎臓リモデリングを促進することが分かった。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>D-Serは腎臓のバイオマーカーであると同時に、生理学的濃度で腎臓のリモデリングを促進する可能性が示された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 部坂 篤	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 猪 阪 善 隆
	副 査 大阪大学教授 野々村 祝夫
	副 査 大阪大学教授 高 島 成 二
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>D-セリン (Ser) は、慢性腎臓病 (CKD) で血中濃度が上昇する。今回、腎臓病診療における別課題への応用、また、生理学的機能について検討した。まず、二次元高性能分離液体クロマトグラフィーを用いて、CKD患者と腎機能正常者を対象に、糸球体ろ過量 (glomerular filtration rate, GFR) とキラルアミノ酸メタボロミクスの評価を行った。血漿D-SerはGFRと相関した。D-Ser尿排泄率はGFRと無相関であったがCKDの存在と関連し、血漿D-Ser濃度と組み合わせる事によってCKDの早期診断が可能であった。次に、腎移植ドナー患者の手術前後を対象にD-Serの体内動態を評価した。手術後、D-Serのクリアランスが低下することで、血漿D-Ser濃度は上昇した。同内容のモデルとして、片腎摘 (UNX) マウスを用いて、D-Serによる生理学的機能について検討した。UNXにより細胞増殖が亢進し、残腎の腫大・リモデリングが進み、D-Ser投与でその作用が増強した。最後に、遺伝子組換え細胞を用いて生理学的機能の機序に迫り、mTORに関連した経路が判明した。以上の内容を踏まえ、博士 (医学) の学位授与に値する。</p>	