

Award Accounts

第 14 回 D-アミノ酸学会奨励賞

推定糸球体濾過率で補正した血清 D-アスパラギン濃度は 尿路上皮癌の新規スクリーニングツールとして有用である

山本 順生¹⁾, 河嶋 厚成¹⁾, 木村 友則²⁾, 野々村祝夫¹⁾

1 大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学講座 泌尿器科学

2 大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 腎臓内科学

**Serum D-Asparagine concentration adjusted for eGFR could serve
as a novel screening tool for urothelial carcinoma**

Akinaru Yamamoto¹⁾, Atsunari Kawashima¹⁾, Tomonori Kimura²⁾, Norio Nonomura¹⁾

1 Dept. of Urology, Graduate School of Medicine, The University of Osaka

2 Dept. of Nephrology, Graduate School of Medicine, The University of Osaka

1.はじめに

尿路上皮癌 (urothelial carcinoma : UC) は、膀胱癌を主体とする泌尿器悪性腫瘍であり、世界的にも高い罹患率と死亡率を有する疾患である。米国においては 2022 年に約 8 万人が新規に診断され、約 1 万 7 千人が死亡したと報告されている¹⁾。UC の予後は診断時の病期に強く依存しており、早期 (Stage I) では 5 年生存率が 86.4% とされる一方、進行例 (Stage IV) では 19.1% にまで低下するとされている²⁾。したがって、低侵襲かつ高感度な早期スクリーニング法の確立は、UC 診療における重要課題である。

近年、腸内細菌由来代謝産物が、がんを含む多様な疾患の病態や診断に関与することが明らかとなってきた^{3, 4)}。我々はこれまで、尿路上皮癌患者の血中循環細胞外小胞に含まれる細菌情報が、癌免疫療法の効果予測因子となり得ることを報告してきた⁵⁾。これらの知見を基盤として、本研究では細菌関連代謝産物として D-アミノ酸に着目し、UC 診断に応用できないか検討することとした。本稿では、血清 D-Asn に着目した UC の新規血液スクリーニング法について概説する。

2. 尿路上皮癌のスクリーニング

現在、UC のスクリーニングとして広く用いられている尿潜血検査や尿細胞診検査は、簡便で非侵襲的である一方、低異型度腫瘍や早期病変に対する感度が低い (尿潜血検査: 38%, 尿細胞診検査: 16%) という限界を有している⁶⁾。さらに、既存の尿中バイオマーカーは特異度の低下や血尿・膿尿の影響を受けやすいうことが知られている^{7, 8)}。このような背景から、尿検体に依存しない新規バイオマーカーの探索が求められている。ここで、大部分の D-アミノ酸は主として細菌によって産生される代謝産物であり、腸内細菌叢と宿主の相互作用を介して、生体機能や免疫応答に影響を与えることが示されている^{9, 10, 11)}。また、腎臓は D-アミノ酸の排泄・代謝において中心的役割を担っており、血中 D-アミノ酸濃度は腎機能、とりわけ糸球体濾過量 (GFR) と密接に関連することが報告されている¹²⁾。このように、様々な疾患において D-アミノ酸が耳目を集めているが、癌研究の領域においてはまだあまり着目されていない。そこで、我々は UC 患者の体液中の D-アミノ酸を測定し、横断観察研究として実施した。

【責任著者/Corresponding Author】

山本順生 大阪大学大学泌尿器科学 〒565-0871 吹田市山田丘 2-2 TEL: 06-6879-3531
 Akinaru YAMAMOTO, Dept. of Urology, Graduate School of Medicine, The University of Osaka
 2-2, Yamadaoka, Suita City, Osaka, 565-0871, JAPAN
 E-mail: ayamamoto@uro.med.osaka-u.ac.jp

2016年から2022年に大阪大学医学部附属病院で手術を受けた計340例を対象にUC診断の評価と体液中キラルアミノ酸メタボロミクスを行った。血清、および尿中のD-アミノ酸は2D-HPLCを用いて定量され、22種類のD-アミノ酸を解析対象とした。解析の結果、ヒト血清、尿中で安定して検出可能であったD-アミノ酸はともに、D-Ala、D-Asn、D-Pro、D-Serの4種類であった（血清：図1A、尿：図1B）。このうち、血清D-Asnは、健常者およびRCC患者と比較してUC患者で有意に高値を示し（図1A）、UC診断において最も有用であることが判明した（血清：図1C、尿：図1D）。ここから、UC診断に用いる体液、及びD-アミノ酸は血清D-Asnが最も適していることが判

明した。一方で、血清D-Asn濃度はeGFRと有意な負の相関を示すことが明らかとなった（図1E）。すなわち、UC診断ではなく、腎機能低下そのものがD-Asn上昇に影響する可能性が考えられた。この影響を補正するため、共分散分析（ANCOVA）を用いてeGFRの影響を調整したところ、腎機能補正後もUC患者で有意なD-Asn上昇が確認された（図1F）。つまり、UC患者の血液中で上昇しているD-Asnは腎機能低下とは独立して、UC患者に特徴的に上昇していることが判明した。そこで、我々はUC診断性能をより向上させるために $\log_{10}(D\text{-Asn}) / \log_{10}(eGFR)$ という新規診断指標を構築した（図1G）。

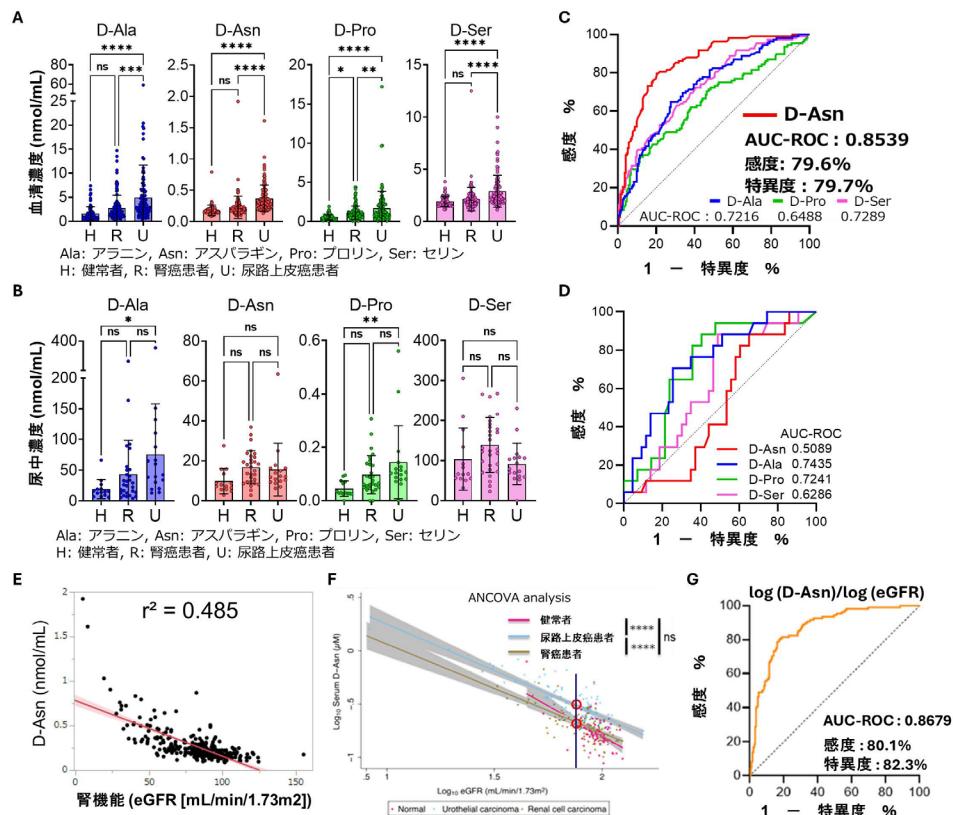


図1 尿路上皮癌診断における血清D-Asnの有用性

- (A, B) ヒト血清中(A)、および尿中(B)で測定可能であった4種のD-アミノ酸の癌種別濃度。
- (C, D) 血清中(C)、および尿中(D)で測定可能であった4種のD-アミノ酸が有する尿路上皮癌の診断性能。
- (E) 血清D-Asnと腎機能との相関関係。
- (F) ANCOVA解析により腎機能の背景を調整して、癌種別の血清D-Asn濃度を比較。
- (G) $\log_{10}(D\text{-Asn}) / \log_{10}(eGFR)$ という新規診断指標を用いた尿路上皮癌の診断性能。

* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001, **** P<0.0001.

(文献13より引用一部改変)

3. eGFR 補正血清 D-Asn が有する早期 UC 診断性能の評価

ここまでで、 $\log_{10}(\text{D-Asn}) / \log_{10}(\text{eGFR})$ という新規診断指標が UC 診断において有用であることが判明したが、次に、その UC 診断性能の確実性を機械学習により検討した。解析対象とした 340 例を導出コホート ($n=300$) と独立検証コホート ($n=40$) に無作為に割り付けて、機械学習の一つである 5 分割交差検証法により解析を行った（図 2A）。算出された本指標の診断性能は、トレーニングセットで AUC-ROC 0.852-0.887、感度 79.5-81.7%、特異度

79.8-85.5%（図 2B）、バリデーションセットで AUC-ROC 0.788-0.9924、感度 73.6-85.8%，特異度 75.6-87.9%と高値であった（図 2C）。さらに独立した評価コホートにおいても高性能な診断能が再現され、本指標の汎用性が示された（図 2D）。ここで、既存のスクリーニング検査の弱点である早期 UC に対する診断性能の評価を、早期癌である、病理学的 Ta 癌に限定して検討したところ、 $\log(\text{D-Asn})/\log(\text{eGFR})$ は Ta 癌においても有意に高値を示し（図 2E），早期病変に対する感度は 83.3%と尿潜血検査⁶⁾と比較しても大きく上回っていた（図 2F）。

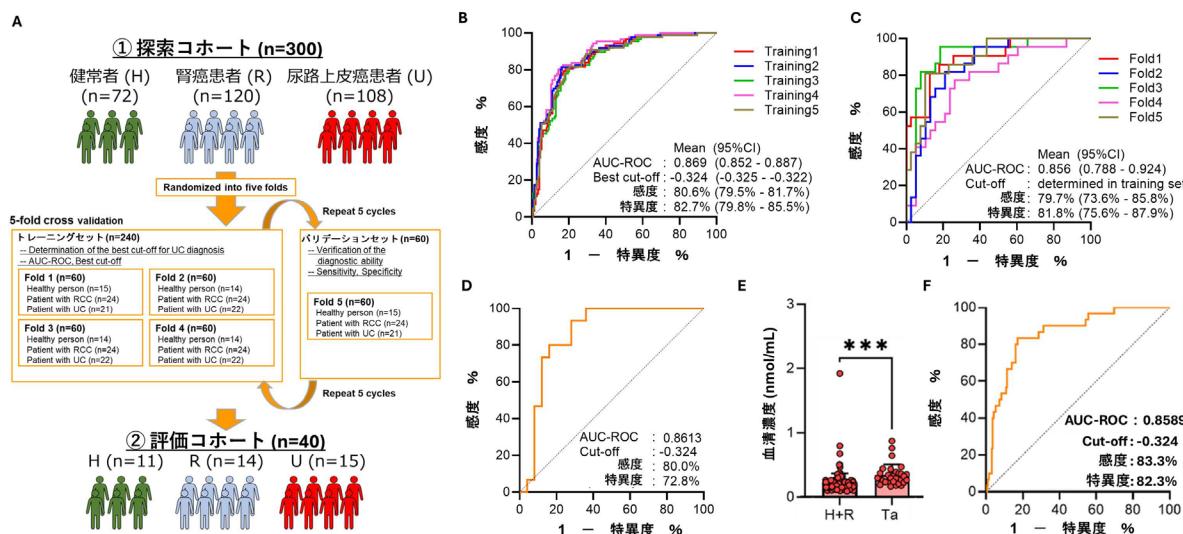


図 2 尿路上皮癌診断式 $\log(\text{D-Asn}) / \log(\text{eGFR})$ の診断性能評価

- (A) 5 分割交差検証法のスタディーデザイン。
- (B-D) トレーニングセット (B), バリデーションセット(C), 独立した評価コホート(D)における $\log(\text{D-Asn}) / \log(\text{eGFR})$ の尿路上皮癌診断性能。
- (E) 早期癌 (病理組織学的 Ta 癌)に限定した血清 D-Asn 濃度。
- (F) Ta 癌に限定した本診断式の尿路上皮癌診断性能。

(文献 13 より引用一部改変)

4. 臨床応用の可能性

以上より、血清 D-Asn を測定することで UC 診断を高性能に行うことが可能であることが示されている。さらに、D-Asn の測定により UC を早期ステージから診断することに役立てる他、既存検査である尿潜血検査と本指標を併用することで UC 診断の感度は 93.7% にまで向上し（図 3A）、また、尿細胞診検査で見過ごされていた UC 患者の 82.6% を UC として再分類が可能であった（図 3B）。これらの結果は、本指標が既存検査を補完する強力なツールとなり得ることを示している。さらに、根治手術後に $\log(D\text{-Asn})/\log(eGFR)$ 比が有意に低下することも判明した（図 3C）。ここから、本

指標の再上昇は UC の再発を示唆する可能性がある。すなわち、UC 治療後に定期的に本指標を測定することにより、UC の再発をモニタリングできる可能性も示唆されている。このように、早期 UC に対する、既存のスクリーニング検査よりも高い感度を有する点や、既存のスクリーニング検査の補完検査としてのみならず、UC 治療後の再発モニタリングにも活用できる可能性があることが示されたことから¹³⁾、UC 患者における血清 D-Asn の測定は非常に応用範囲が広い。今後、臨床現場の様々なシーンで活用されていくと考えられる。本指標は診断のみならず治療効果モニタリングへの応用可能性も示唆された。

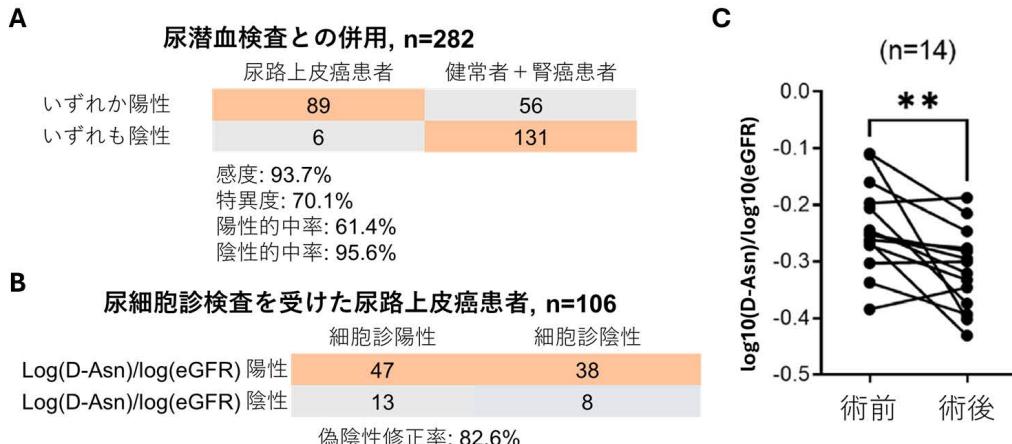


図 3 $\log(D\text{-Asn})/\log(eGFR)$ と既存のスクリーニングツールとの組み合わせ

- (A) 尿潜血検査と本指標との組み合わせによる尿路上皮癌の診断性能。
- (B) 尿細胞診検査により偽陰性であった患者を、本指標を用いて尿路上皮癌の陽性と再分類できる割合。
- (C) 尿路上皮癌根治術前後における本指標の変化。

（文献 13 より引用一部改変）

5. おわりに

D-Asn の血清濃度が UC 診断に有用であることについて概説した。今回、臨床応用についての言及であったが、UC 患者の血液中で D-Asn が健常者やその他の癌患者よりも高値となるメカニズムや、UC に対して与える生物学的影響については依然として不明な点が多い。血中 D-Asn 濃度が UC 患者において上昇することは原因であるのか、結果であるのかさえ判明していない。また、D-Asn が生体に与える影響が毒となるか薬となるか未解明である。今後、さらなる研究を通して、新規の UC と D-アミノ酸の相互関係の解明、さらには治療薬開発が期待される。

利益相反：無

【参考文献】

- 1) Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, et al: Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin* **73** : 17–48, 2023
- 2) Antoni S, Ferlay J, Soerjomataram I, et al: Bladder cancer incidence and mortality: a global overview and recent trends. *Eur Urol* **71** : 96–108, 2017
- 3) Poore GD, Kopylova E, Zhu Q, et al: Microbiome analyses of blood and tissues suggest cancer diagnostic approach. *Nature* **579** : 567–574, 2020
- 4) Markowski MC, Boorjian SA, Burton JP, et al: The microbiome and genitourinary cancer: a collaborative review. *Eur Urol* **75** : 637–646, 2019

- 5) Jingushi K, Kawashima A, Saito T, et al: Circulating extracellular vesicles carrying Firmicutes reflective of the local immune status may predict clinical response to pembrolizumab in urothelial carcinoma patients. *Cancer Immunol Immunother* **71** : 2999–3011, 2022
- 6) Tomiyama E, Fujita K, Hashimoto M, et al: Urinary markers for bladder cancer diagnosis: a review of current status and future challenges. *Int J Urol* **31** : 208–219, 2024
- 7) Schmitz-Dräger BJ, Droller M, Lokeshwar VB, et al: Molecular markers for bladder cancer screening, early diagnosis, and surveillance: the WHO/ICUD consensus. *Urol Int* **94** : 1–24, 2015
- 8) Oeyen E, Hoekx L, De Wachter S, et al: Bladder cancer diagnosis and follow-up: the current status and possible role of extracellular vesicles. *Int J Mol Sci* **20** : 821, 2019
- 9) Sasabe J, Miyoshi Y, Rakoff-Nahoum S, et al: Interplay between microbial D-amino acids and host D-amino acid oxidase modifies murine mucosal defence and gut microbiota. *Nat Microbiol* **1** : 16125, 2016
- 10) Suzuki M, Sujino T, Chiba S, et al: Host-microbe crosstalk governs amino acid chirality to regulate survival and differentiation of B cells. *Sci Adv* **7** : eabd6480, 2021
- 11) Hesaka A, Tsukamoto Y, Sakai S, et al: D-serine mediates cellular proliferation for kidney remodeling. *Kidney360* **2** : 1611–1624, 2021
- 12) Taniguchi A, Kawamura M, Sakai S, et al: D-asparagine is an ideal endogenous molecule for measuring the glomerular filtration rate. *Kidney Int Rep* **8** : 1192–1200, 2023
- 13) Yamamoto A, Kawashima A, Sakai S, et al: Serum D-asparagine concentration adjusted for eGFR could serve as a novel screening tool for urothelial carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* **733** : 150701, 2024

【ご略歴】



山本 顕生（やまもと あきなる）氏

2008-2014 大阪大学医学部医学科
 2014-2016 大阪労災病院 初期研修
 2016-2018 大阪労災病院泌尿器科 後期研修
 2018-2019 大阪警察病院泌尿器科 後期研修
 2019-2020 大阪母子医療センター / 大阪国際
 　がんセンター泌尿器科 後期研修
 2020-2021 大阪警察病院泌尿器科 医員
 2021-2025 大阪大学医学部附属病院泌尿器科
 　医員
 2021-2025 大阪大学大学院医学系研究科器官制
 　御外科学講座泌尿器科学
 2025-現在 大阪大学大学院医学系研究科器官制
 　御外科学講座泌尿器科学 招へい教員
 2025.4-2025.9 大阪ろうさい病院泌尿器科 医員
 2025.10-現在 Dept. of Oncology, Johns Hopkins
 　University,
 　Postdoctoral Research Fellow