

令和 6 年 5 月 26 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19408

研究課題名（和文）D-アミノ酸による細胞内代謝調節機構と細胞増殖制御

研究課題名（英文）D-amino acids and cell proliferation

研究代表者

笹部 潤平（SASABE, JUMPEI）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：10398612

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）：D-アミノ酸のうち、D-セリンはL-セリンによるミトコンドリア内の一炭素代謝を抑制することにより、細胞増殖を抑えることを明らかにした。神経発達において、セリンの代謝はL-セリン合成からD-セリンに切り替わる時期に神経細胞では細胞増殖能を失うことから、このようなセリンの光学異性体の切り替えは、神経の機能的成熟と関連していることが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経成熟には、増殖や分化から神経伝達へ機能的な変化があるが、それに伴って細胞内のセリン代謝がどのように変化するかこれまで知られていなかった。本研究の達成により、セリン代謝がL-からD-へと変化することが、神経機能に応じた代謝の変化であることが判明し、神経の代謝と機能を繋ぐ理解が深まることが予想される。

研究成果の概要（英文）：Among D-amino acids, D-serine suppresses cell proliferation by inhibiting one-carbon metabolism in mitochondria. Since serine metabolism loses its cell proliferative potential in neurons at the time of switch from L-serine synthesis to D-serine during neuronal development, such switch of serine enantiomer synthesis may be related to functional maturation of neurons.

研究分野：生化学

キーワード：D-アミノ酸 キラリティ 細胞増殖

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

グリシンを除くタンパク合成アミノ酸にはD・L型の二つの光学異性体が存在するが、タンパク合成を含む多くの生命現象はL-アミノ酸を選択的に用いる。しかし、生命を構成する3つのドメイン(真正細菌、古細菌、真核生物)それぞれにL-アミノ酸ホモキラリティの例外が存在し、中でも真正細菌は多様なD-アミノ酸を合成・代謝できる。しかしながら、D-アミノ酸の分析技術の未発達と、D-アミノ酸は存在しないという一般的な先入観から、D-アミノ酸の生命における役割の多くは理解されてこなかった。申請者はこれまで一貫して「哺乳類におけるアミノ酸のホモキラリティの乱れ」に着目して研究を進めてきた。哺乳類体内には、内在性酵素により極めて例外的に産生される内因性D-アミノ酸と、共生する真正細菌が多様に合成する外因性D-アミノ酸が存在することを見出した(Sasabe et al., Nature Microbiol. 2016)。これまで多くのD-アミノ酸が生体内において代謝されているとは考えられてこなかったが、我々の近年の研究成果により、外因性の一部のD-アミノ酸は哺乳類の体内でL-アミノ酸の2-3割程度合成され、さらに無視できない量のD型異性体を哺乳類が代謝していることが判明した(Sasabe et al., Nature Microbiol. 2016; Suzuki and Sasabe* et al., Science Adv. 2021)。実際、D-アミノ酸代謝異常がエネルギー消費低下を引き起こすことがヒト臨床研究でも報告され(Piaggi et al., J Clin Endocrinol Metab 2020)。D-アミノ酸の代謝は哺乳類のエネルギー代謝にとって重要な意義があることが判明した。しかしながら、その分子メカニズムは全く未解明であった。

2. 研究の目的

本研究ではアミノ酸のキラリティが細胞内エネルギー代謝調節にどのように影響するかを検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) In vitroでの細胞機能に及ぼすD-アミノ酸の作用の検討

中枢神経系の初代培養神経細胞またはグリア細胞、および腫瘍細胞株を材料として、D-アミノ酸による細胞増殖および細胞死に及ぼす作用をスクリーニングする。得られたD-アミノ酸の作用を裏付ける分子機構をシグナル阻害薬群や細胞内代謝メタボロミクスにより検討する。さらに、初代培養細胞の分化度や腫瘍の未分化度によって、D-アミノ酸の細胞増殖・細胞死に及ぼす作用がどのように変わるかを調べる。

(2) Ex vivoでの腫瘍増殖に及ぼすD-アミノ酸の作用の検討

脳切片培養を行い、ここに腫瘍細胞(特に臨床的治療意義の高いグリオーマ系)を移植したのち、対象となるD-アミノ酸を投与して腫瘍の増大や浸潤を評価する。

4. 研究成果

(1) 主な成果、位置付け、今後の展開

D-アミノ酸のうち、D-セリンはL-セリンによるミトコンドリア内の一炭素代謝を抑制することにより、細胞増殖を抑えることを明らかにした。神経発達において、セリンの代謝はL-セリン合成からD-セリンに切り替わる時期に神経細胞では細胞増殖能を失うことから、このようなセリンの光学異性体の切り替えは、神経の機能的成熟と関連していることが考えられた。神経成熟には、増殖や分化から神経伝達へ機能的な変化があるが、それに伴って細胞内のセリン代謝がどのように変化するかこれまで知られていなかった。本研究の達成により、セリン代謝がL-からD-へと変化することが、神経機能に応じた代謝の変化であることが判明し、神経の代謝と機能を繋ぐ理解が深まることが予想される。L-セリンによる一炭素代謝は、様々ながん細胞において増殖に必須の代謝であることから、今後は、この現象に着目し、さらにD-セリンかその誘導体に

よる細胞増殖抑制効果の確認することで悪性腫瘍の新規治療標的の開発に繋がるのではないかと期待している。

(2) 成果の個別の実験結果

まず、RNA-Seq ライブラリーおよび Single-Cell sequence ライブラリーを用いて、神経発達に伴うセリンおよび周辺代謝に関連する遺伝子発現を解析した。その結果、L-セリン合成、一炭素代謝に関連する遺伝子群は、神経細胞の幼若期にのみ認められ、成熟とともに発現が低下した。一方で、D-セリン合成は成熟とともに発現が増加することが明らかとなった。このような光学異性体の合成変化は、組織レベルでも確認できた。

つぎに、幼若神経にはD-セリンは発現しないことから、幼若神経にD-セリンがどのような働きがあるのかを調べた。さまざまなD-アミノ酸の中で、D-セリンのみが幼若神経細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導した。一方で、D-セリンによるアポトーシスは、NMDA 受容体の阻害薬や下流分子の阻害薬では抑制できず、L-セリンによってのみ完全に抑制できた。

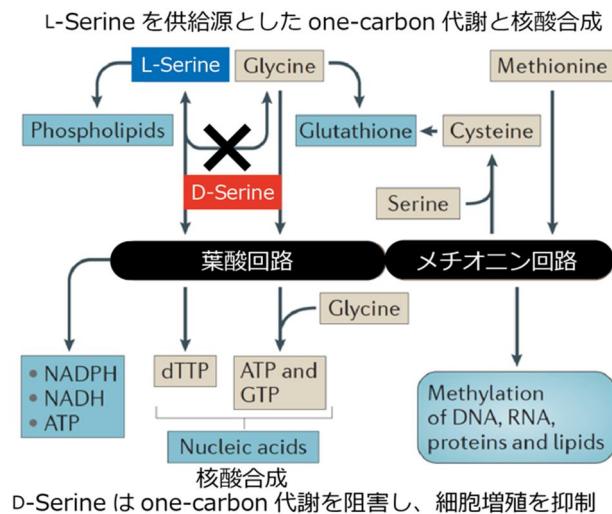
D-セリンはL-セリンの代謝にどのような影響を及ぼすのかを明らかにするために、D-セリンによる細胞内代謝をメタボロミクス解析により検討した。その結果、D-セリンによるアポトーシスと連動しているのはグリシンのみであることが判明した。このことから、D-セリンはL-セリン代謝によるグリシン合成を阻害していると考えられた。

L-セリンによるグリシン合成は、一炭素代謝により仲介される。実際、D-セリンによるアポトーシス誘導は、一炭素代謝の中間代謝物によって抑制することが確認できた。

そこで、L-セリンによるグリシン合成に関連する Shmt の酵素活性をD-セリンが阻害するのではないかと考えた。しかしながら、Shmt によるグリシン合成活性はD-セリンの有無によって影響を受けなかった。したがって、D-セリンはShmt の基質の供給に影響を与えている可能性を検討した。するとミトコンドリアにShmt 基質が供給されるのをD-セリンが阻害していることが判明した。

さらに、このような現象が幼若神経のみならず、悪性腫瘍にも認めるかを検討した。我々が検討した中枢神経系の腫瘍細胞の系統は全て、D-セリンによって容量依存的に増殖抑制効果を認め、さらにグリオーマの ex vivo 実験系でも同様の効果を確認することができた。

以上。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Osaki Akina, Aoyama Marie, Mita Masashi, Hamase Kenji, Yasui Masato, Sasabe Jumpei	4. 巻 641
2. 論文標題 Endogenous d-serine exists in the mammalian brain independent of synthesis by serine racemase	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 186 ~ 191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.12.037	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 Gonda Yusuke, Matsuda Akina, Adachi Kenichiro, Ishii Chiharu, Suzuki Masataka, Osaki Akina, Mita Masashi, Nishizaki Naoto, Ohtomo Yoshiyuki, Shimizu Toshiaki, Yasui Masato, Hamase Kenji, Sasabe Jumpei	4. 巻 120
2. 論文標題 Mammals sustain amino acid homochirality against chiral conversion by symbiotic microbes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2300817120	査読の有無 無
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4件（うち招待講演 4件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 笹部潤平
2. 発表標題 アミノ酸のキラリティによる免疫調節機構
3. 学会等名 第26 回腸内細菌学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jumpei Sasabe
2. 発表標題 Amino acid chirality modulates immune response to bacteria in mammals
3. 学会等名 Chirality 2022（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jumpei Sasabe
2. 発表標題 Life-long regulation of microbial D-amino acids in mammals
3. 学会等名 International Conference of D-Amino Acid Research 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jumpei Sasabe
2. 発表標題 Left-right asymmetry of amino acids modulates mammalian physiology
3. 学会等名 Yamada Conference LXXV "Origin of left-right asymmetry in animals" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------