

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年04月05日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659557

研究課題名（和文） 脳内D型セリンの生成・代謝機構の解明

研究課題名（英文） Study of synthesis and metabolism of D-serine in the brain

研究代表者

橋本 謙二 (HASHIMOTO KENJI)

千葉大学・社会精神保健教育研究センター・教授

研究者番号：10189483

研究成果の概要（和文）：脳内のD型セリンは、セリンラセマーゼ（SRR）によって合成されることが知られている。今回、SRR 遺伝子欠損マウスの前脳において、D型アスパラギン酸が有意に低下していることを発見した。前脳におけるD型アスパラギン酸代謝酵素活性は、野生型と差が無いことから、今回の知見にはD型アスパラギン酸代謝酵素は関係していないことが判った。

研究成果の概要（英文）：D-serine in the brain is known to be synthesized from serine racemase (SRR). In this study, we found that levels of D-aspartic acid in the forebrain of SRR knock-out (KO) mice was significantly lower than those of wild type mice. Furthermore, the enzymatic activity of D-aspartate oxidase (DDO) in the forebrain of SRR-KO mice was not changed. It is unlikely that DDO activity plays a role in the findings of this study.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：D型アミノ酸、D型セリン、D型アスパラギン酸、セリンラセマーゼ

1. 研究開始当初の背景

D型アミノ酸の中で最も高濃度に脳に存在するD型セリンは、セリンラセマーゼ(SRR)によってL型セリンから生成されることが知られている。一方、D型セリンがD型アミノ酸酸化酵素(DAAO)によって分解されることが知られている。このように、D型セリンは、脳においてSRRによって合成され、DAAOによって分解される。しかしながら、SRRとDAAOの脳内分布は、相関していないことから、脳

におけるD型セリンの生成・代謝機構は未だ解明されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、SRR 遺伝子改変マウスを用いて、脳におけるD型セリン合成酵素およびD型セリンの役割を調べることを目的とした。

3. 研究の方法

成熟した SRR 遺伝子欠損マウスおよび野生型マウスから脳各部位および抹消臓器を分割して、 -80°C の冷凍庫に保管した。組織をメタノールで抽出して、メタノール層を採取し、メタノールを除去した後、溶媒に溶解し、蛍光標識試薬 NBD-F で誘導体化した。その後、カラムスイッチング付の蛍光検出器付高速液体クロマトグラフィーで分離し、定量した。

4. 研究成果

SRR 遺伝子欠損マウスの前頭前皮質や海馬における D 型セリン濃度は、野生型マウスと比較して有意に減少した (図 1)。成熟したマウスの小脳における D 型セリン濃度は、前頭前皮質や海馬と比較して著しく低く、SRR 遺伝子欠損マウスと野生型では大きな差は見られなかった (図 1)。一方、他のアミノ酸 (L セリン、グリシン、グルタミン酸、グルタミン) 濃度は両群で差は認められなかった。

マウス海馬における細胞外のアミノ酸濃度をインビボ脳内透析法を用いて調べたところ、SRR 遺伝子欠損マウスの海馬における D 型セリンは野生型と比較して有意に低かつ

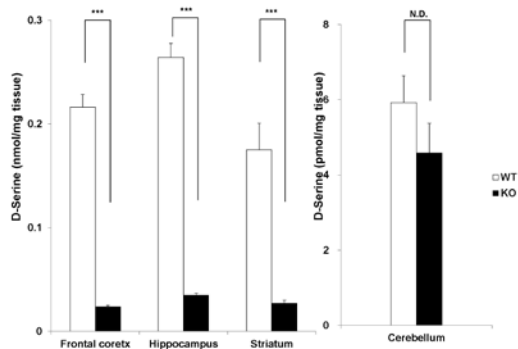


図1.野生型およびSRR遺伝子欠損マウス脳各部位におけるD型セリン濃度

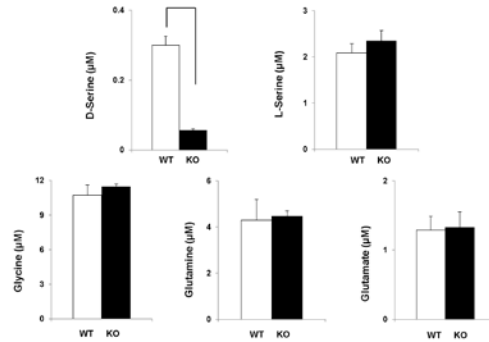


図2.野生型およびSRR遺伝子欠損マウス海馬における細胞外アミノ酸濃度

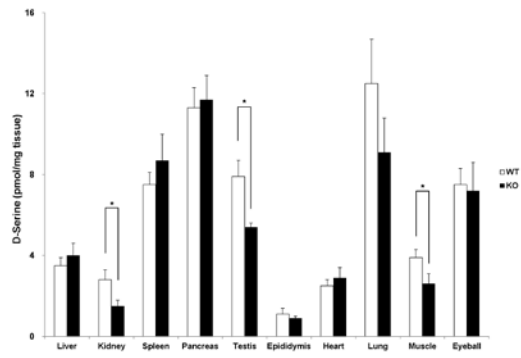


図3.野生型およびSRR遺伝子欠損マウス抹消臓器におけるD型セリン濃度

た (図 2)。しかしながら、他のアミノ酸は両群で差が無かった (図 2)。各種末梢臓器における D 型セリン濃度は、脳と比較するとかなり低濃度であるが、肝臓、腎臓、精巣、精巣上体などにおいて SRR 遺伝子欠損マウスにおいて有意に減少していた (図 3)。本研究結果より、脳における D 型セリンは SRR によって合成されていることが確認できた。また SRR 遺伝子欠損マウスの脳および末梢臓器において微量の D 型セリンが検出されたことから、

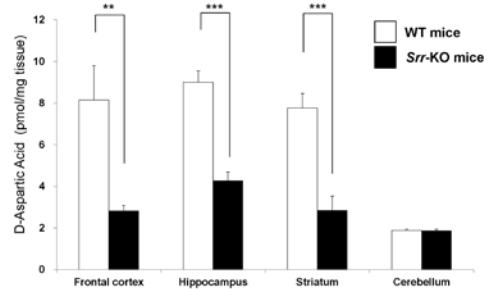


図4.野生型およびSRR遺伝子欠損マウス脳各部位におけるD型アスパラギン酸濃度

体内におけるD型セリンはSRR以外の関与が示唆された。

一方、D型アスパラギン酸やD型アラニンも脳に存在することが報告されているが、これらのD型アミノ酸の脳における生成・代謝機構も不明な点が多い。今回、SRR遺伝子欠損マウスと野生型マウスの脳におけるこれらのD型アミノ酸や他のアミノ酸濃度を測定した。その結果、SRR遺伝子欠損マウスにおける前頭皮質、海馬、線条体におけるD型アスパラギン酸濃度は、野生型と比較して有意に減少していることを見出した(図4)。また小脳におけるD型アスパラギン酸濃度は両群で差が無かった(図4)。他のアミノ酸(アラニン、タウリン、アスパラギン、スレオニン、GABA、メチオニン)濃度は、両群で差が無かった。

マウス精巣には高濃度のD型アスパラギン酸が存在することが報告されている。今回、SRR遺伝子欠損マウスの精巣におけるL型およびD型アスパラギン酸濃度を測定したが、野生型と比較して差は無かった(図5)。データは示していないが、D型アスパラギン酸分解酵素の酵素活性は、両群の前脳で差が無いことから、D型アスパラギン酸の分解によるものでは無いと思われる。

以上の結果より、SRR遺伝子欠損マウスにおけるD型アスパラギン酸濃度の低下は、前脳に特異的に起きている現象である。

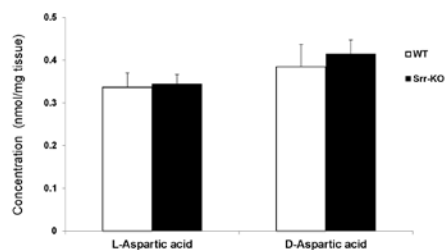


図5.野生型およびSRR遺伝子欠損マウス精巣におけるL型およびD型アスパラギン酸濃度

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. Horio, M., Mori, H., and Hashimoto, K. (2013) Is D-cycloserine a prodrug for D-serine in the brain? Biol. Psychiatry in press.
DOI: 10.1016/j.biopsych.2012.07.013 査読有
2. Horio, M., Ishima, T., Fujita, Y., Inoue, R., Mori, H., and Hashimoto, K. (2013) Decreased levels of D-aspartic acid in the forebrain of serine racemase (*Srr*) knock-out mice. Neurochem. Int. 62, 843-847.
DOI: 10.1016/j.neuint.2013.02.015. 査読有
3. Horio, M., Kohno, M., Fujita, Y., Ishima, T., Inoue, R., Mori, H., and Hashimoto, K. (2011) Levels of D-serine in the brain and peripheral organs of serine racemase (*Srr*) knock-out mice. Neurochem. Int. 59, 853-859. 査読有
DOI: 10.1016/j.neuint.2011.08.017.

[学会発表] (計2件)

1. 堀尾菜央、森 寿、橋本謙二 (2012) D-サイクロセリンは、脳においてD-セリンのプロドラッグか? 第8回D-アミノ酸研究会学術講演会. 平成24年9月7-8日. 滋賀県大津市.
2. 堀尾菜央、河野眞美、藤田有子、井上 蘭、森 寿、橋本謙二 (2011) セリンラセマーゼ遺伝子欠損マウスでの覚せい剤投与による行動感作の欠如. 第7回D-アミノ酸研究会学術講演会. 平成23年9月9-10日. 東京都.

[その他]
ホームページ等

<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/shakai/jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 謙二 (HASHIMOTO KENJI)
千葉大学・社会精神保健教育研究センター・教授
研究者番号：10189483

(3) 連携研究者

伊豫 雅臣 (IYO MASAOMI)
千葉大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：50191903

森 寿 (MORI HISASHI)
富山大学・大学院・医学薬学研究部 (医学)・教授
研究者番号：00239617