

特集：D-アミノ酸制御システムのニューバイオロジー：
Frontier Science in Amino Acid and Protein Research

D-アミノ酸代謝システムの疾患酵素学

福 井 清

D-アミノ酸酸化酵素は、1935年にクエン酸回路で知られる Krebs によって発見されて以来、その反応機構について、詳細な解析がなされてきた。しかし、L型のアミノ酸のみで構成されると考えられていた生体において、D型のアミノ酸を酸化する本酵素が、腎臓や肝臓、並びに脳に存在する意義については、長い間不明とされてきた。ところが近年、本酵素の生理的役割を示唆するデータが蓄積されるとともに、本酵素の「中枢神経系における神経伝達制御因子」としての認識が高まり、統合失調症など難治性精神疾患の病態解明、および新規治療薬開発の可能性を探索する観点からも、本酵素を含めたD-アミノ酸バイオシステムの研究の重要性が注目されている。

本稿では筆者らがこれまで進めてきた本酵素の機能と構造に関する、ゲノム遺伝子レベルから、遺伝子発現レベル、タンパク質分子レベル、組織・細胞レベルにおける分子細胞生物学的研究の成果を述べるとともに、ヒト疾患をターゲットとした医学応用面への展望を紹介する。

1. はじめに

生命世界における左右非対称の存在(ホモキラリティー)は、生物を非生物世界から区別する重要な特徴の一つとなっている。この左右の識別を担う生体分子の分子認識機構は、哺乳類の中枢神経系機能の制御にも関与することが明らかとなってきている。近年、哺乳類体内に遊離型、またはタンパク質結合型としてD型不斉アミノ酸分子が発見され、L型のアミノ酸のみで説明されてきた哺乳類の生命現象の中に、D型アミノ酸が独自に構築する生命機能制御システム、「D-アミノ酸バイオシステム」が存在することが、日本の研究者を中心として提唱されている。

遊離型のD-アミノ酸としては、D-セリン(D-Ser)とD-

アスパラギン酸(D-Asp)が哺乳類で重要な生理作用を有することが明らかになっており、本特集でもD-Serについては西川の稿で、またD-Aspについては本特集本間の稿に詳述されている。

本稿では、D-アミノ酸バイオシステムを構成する制御系として、アストログリア細胞に局在するD-アミノ酸酸化酵素(DAO)が脳内D-Serの代謝に積極的に関与していることを示唆する知見を含め、本酵素の遺伝子とその発現並びに酵素タンパク質分子の構造と生理機能に関する我々の研究成果を紹介する。

2. D-セリン(D-Ser)

1) 分布や合成および生理機能

遊離型D-Serは日本の研究者による先駆的な研究により、その存在が中枢神経系で見いだされ、さらにその分布がグルタミン酸受容体のサブタイプであるNMDA受容体の分布とほぼ一致することが明らかとされた¹⁾。その後、脳内でD-Serはタイプ2アストロサイトに存在し、non-NMDA受容体の活性化によって細胞から放出されることが報告された²⁾。NMDA受容体は、イオンチャネルを内蔵

徳島大学疾患酵素学研究センター・病態システム酵素学研究部門 (〒770-8503 徳島市蔵本町 3-18-15)

Disease-oriented enzymology on D-amino acid metabolism
Kiyoshi Fukui (The Division of Enzyme Pathophysiology,
The Institute for Enzyme Research, The University of
Tokushima, 3-18-15 Kuramoto, Tokushima 770-8503, Japan)

し、速い神経伝達を担うチャンネル型グルタミン酸受容体のサブタイプであり、興奮性神経伝達、シナプス可塑性ならびに学習・記憶といった高次脳機能に重要な働きを有している。現在、D-Serの生理的な機能はNMDA受容体のグリシン結合部位の選択的コアゴニストと作用して、グルタミン酸による興奮を亢進することが明らかとされている³⁾。最近になり、D-Serの生合成に関してはSerラセマーゼがマウス脳から単離同定され、内因性D-Serはこの酵素によって細胞内のL-Serから合成されることが想定されている⁴⁾。

2) D-SerならびにD-Ser代謝系の病態生理学的意義

これまでの報告によると、NMDA受容体のコアゴニストとして作用するD-Serは、NMDA受容体を介する興奮性神経伝達における神経調節因子として位置づけられ、NMDA受容体の機能不全に由来する種々の疾患におけるその病態生理学的意義が示唆されている。Choiらにより、NMDA受容体の過興奮は細胞内へのカルシウムイオンの流入増大を招き、脳虚血、神経変性疾患などの様々な脳の病態における神経細胞死に関与している可能性が指摘されている⁵⁾。また、動物モデルでは一時的な脳虚血後、細胞外のD-Ser濃度の上昇が観察され⁶⁾、NMDA受容体のグリシン結合部位に対するアンタゴニストは脳虚血モデル動物において神経保護作用を有していることが報告されている⁷⁾。一方、NMDA受容体の機能低下は統合失調症との関連が示唆されており、統合失調症患者にD-Serを投与すると、陽性や陰性の症状および認知行動の障害の改善が認められている⁸⁾。NMDA受容体のNR1サブユニットの変異型マウスを用いた解析では、マウス個体で統合失調症様の異常行動が観察された⁹⁾。

統合失調症は多因子疾患であり、遺伝素因と環境因子の両方が発症に関与するとされているが、その発症と病態の病理学的メカニズムは未だ仮説の域を出ない。いくつかの神経伝達系の異常（ドーパミン説、セロトニン説、NMDA受容体機能低下説など）が仮説として提唱されており、単一のみならず、複数の神経伝達系の機能異常が統合失調症の多様な病態を形成していると考えられる。これらの中でD-Serの直接的関与が示唆された伝達系が、先に述べたNMDA受容体を介するグルタミン酸神経伝達系である。

NMDA受容体アンタゴニスト服用により統合失調症様症状が誘発されることは以前から知られている。このことはNMDA受容体機能低下説の根拠の一つとなっており、NMDA受容体の機能改善は統合失調症の病状の改善につながると考えられる。統合失調症様症状発現薬（NMDA受容体アンタゴニスト）による動物の異常行動がD-Ser投与で抑制されることや、統合失調症患者の薬物治療にNMDA受容体のアゴニストであるグリシンやD-Ser、また

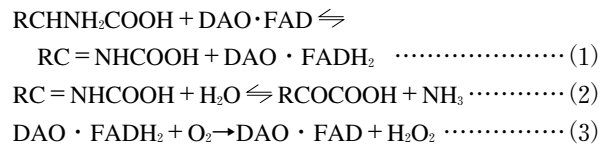
は抗結核剤であり、NMDA受容体のグリシン結合部位においては部分アゴニストとして働くD-シクロセリンを加えることで治療効果が高まることなどから、NMDA受容体を介する神経伝達異常にD-Serレベルの異常が関与している可能性は高いと考えられる。

さらに、Chumakovらはヒト13番染色体のSNPs解析より統合失調症の疾患感受性遺伝子の一つとしてG72遺伝子を同定し、酵母ツーハイブリッド法によりG72遺伝子産物とD-アミノ酸化酵素（DAO）との相互作用を確認し、G72の遺伝子産物（DAO activator：DAOA）はDAO活性を上昇させることを報告している¹⁰⁾。これらの多くの実験結果から、我々はDAOの活性の上昇が、神経調節因子であるD-Serのシナプス間隙の濃度減少を招き、NMDA受容体の機能不全に起因する統合失調症発症とその病態に関与するとの仮説を提唱している。

3. D-アミノ酸化酵素 (D-amino acid oxidase; DAO, EC 1.4.3.3)

1) 反応機構

1935年、Krebsによって発見され¹¹⁾DAOはその反応機構に関して詳細な酵素化学的解析が、ブタ腎臓から精製された酵素標品を用いて行われてきた。本酵素はFAD (flavin adenine dinucleotide) を補酵素とするフラビン酵素で、その触媒反応はFADの酸化還元状態に基づいて二段階に分けられる。以下の反応式と図1で示したように、本酵素によって基質は酸化的脱アミノ反応を受け、1分子のアンモニアと過酸化水素が発生する。



触媒反応は基質であるD-アミノ酸からFADに2電子が移行する還元的半反応(1)、続いて還元型FADが酸素分子を2電子還元し過酸化水素が発生する酸化的半反応(3)に

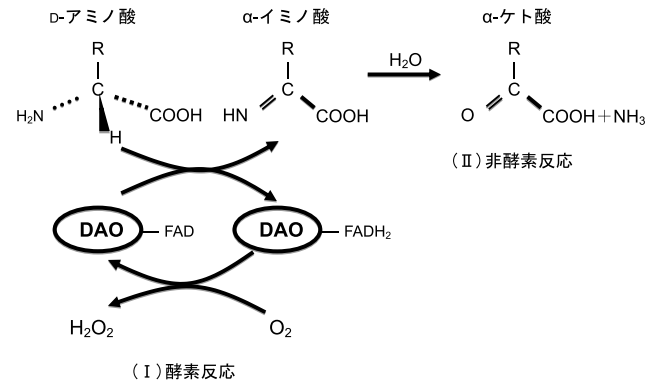


図1 DAOによるD-アミノ酸の代謝

よって進行する。生じた過酸化水素はペルオキシソーム内でカタラーゼなどによって加水分解されると考えられる。これら二つのステップは基質代謝における1サイクルであり、酸化型FADに新たな基質分子が反応することで次のサイクルが開始する。FADとDAOタンパク質との結合は非共有結合であり、したがってその結合は比較的弱い。DAOのFAD取り込みは、翻訳時もしくは翻訳後のいずれかの段階において起こると考えられる。本酵素はD-アミノ酸の中でも特に、中性および芳香族性のものをよい基質とする。

2) 遺伝子クローニング

DAO遺伝子はヒトゲノム12番染色体上に存在し¹²⁾、腎臓ならびに脳、腸管において組織特異的な遺伝子発現が認められる¹³⁾。腎臓では体液調節にかかわる近位尿細管に強い活性が認められる。筆者らはブタ¹⁴⁾、ヒト¹⁵⁾、マウス¹⁶⁾、さらに従来腎臓中には酵素活性が認められないとされているウサギ¹⁷⁾に関しても腎臓cDNAライブラリーよりクローニングを行ってDAOをコードする各動物種のcDNAの構造を決定した。各cDNAのサイズはブタ3.2kilobase(kb)、ヒト1.6kb、マウス1.6kb、ウサギ2.1kbで各々347アミノ酸残基から成る(マウスは345)タンパク質をコードする翻訳領域が存在した。

cDNAから予想される本酵素タンパク質の一次構造は4種の間で極めて相同性が高く(ブタに比して、ヒト85%、マウス77%、ウサギ80%)、とくにタンパク質高次構造の維持に重要なCys、Pro残基がよく保存されていた。またN末端ではGly-X-Gly-X-X-Gly配列を含む17アミノ酸残基から成る疎水性領域が、さらにC末端ではペルオキシソームへの移行シグナルSer-His-Leuの配列が4種間で保存されていた。

3) mRNAの発現とその分布

DAO遺伝子の発現を、ノーザンブロット法を用いてmRNAレベルで解析すると、ブタ腎臓・肝臓においては異なるポリA付加シグナルの使いわけにより3種類のmRNAが転写されることが明らかとなった¹³⁾。3種のうち発現量の少ないmRNAはポリA付加シグナルとしてAACAAAという特殊な配列を用いており、この配列による3'プロセシングの効率が極めて低いことが示された。*in vitro*のみならず*in vivo*の生理的な系においてもこのようなプロセシングの効率の異なるmRNAが実際に同時に存在することが明らかとなった。

本酵素の組織特異的な発現を検索することはDAOの生理的意義に重要な示唆を与えると考えられるが、ブタ脳では1種類のmRNAのみが発現されており、DAOが脳でも発現されていることおよびその発現の調節が腎臓・肝臓とは明らかに異なったものであることが、遺伝子レベルで確認された。この知見は、脳においてはDAOが腎臓・肝臓と

は異なった生理的意義を有する可能性を示唆するものであった。さらに消化管から体内にとりこまれる食物や腸内細菌に由来するD-アミノ酸とは異なった生理的基質が脳内に存在することが推察された。またddYマウスの集団においてはDAOmRNAの発現量と各個体の腎臓組織あたりの酵素活性との間に正の相関が認められたことから、DAO活性の個体差が遺伝子の転写調節を介して生じている可能性が示唆された。

4) タンパク質翻訳過程における発現調節

ウサギ腎臓中のDAO活性は従来より検出不可能なレベルとされ酵素タンパク質量もウェスタンブロット法の結果極めて微量であった。しかしながらDAOをコードすると考えられるmRNAが存在することがノーザンブロット法で明らかになった。続いてウサギDAOcDNAの構造を決定した結果¹⁷⁾、5'非翻訳領域が約700bpと極めて長く、さらに翻訳開始メチオニン周辺の塩基配列のうち-3の位置がCとなっておりKozakの提唱する配列とは異なっていることが明らかとなった。そこでこれらの構造上の特徴に関して、欠失および塩基置換を導入したcDNAを用いて次項に述べる無細胞合成系でタンパク質の発現を行った。その結果、変異導入前のcDNAでは全く認められなかったDAOに相当するタンパク質の発現が顕著に認められた。以上からウサギ腎臓における組織活性欠失の一因がDAOタンパク質発現の翻訳段階における著しい抑制にあることが示唆された。

5) 生合成過程および人工的合成

DAOの細胞内での生合成の場を明らかにする目的で無細胞タンパク質合成系を用いた解析により、DAOがフリーポリソームで合成され、その分子量が精製酵素と同一であることを明らかにした¹⁸⁾。この結果DAOタンパク質は生合成の過程においてタンパク質分解によるプロセシングは受けることなく機能発現の場であるペルオキシソームへ移行することが示された。DAOの細胞内の局在に関しては、本酵素のC末端にSer-His-Leuで構成されているPTS1(peroxisomal targeting signal 1)が存在するため、DAOタンパク質は、細胞質で成熟型タンパク質として生合成された後、ペルオキシソームに移行、局在すると考えられる。酵素の反応の結果による過酸化水素の発生という観点からみると、DAOが外来感染源に対する免疫面において何らかの役割を有している可能性が考えられる。さらにDAO機能亢進や基質過剰状態により過剰発生した過酸化水素は、細胞に対する酸化ストレスとなり、細胞死を誘導しうる。この観点から、ポリエチレングリコールによって修飾したブタDAOタンパク質を投与することによるがん治療法の開発が試みられている¹⁹⁾。

次にタンパク質分子レベルでの解析を行う目的で、cDNAクローンを利用した活性のある酵素の発現システム

として無細胞発現系を開発した¹³⁾。SP-6RNA ポリメラーゼのプロモーターを有する *in vitro* 転写用ベクターを用いて試験管内にて転写・翻訳を行う無細胞発現系により、約 5 μ g のキャップされた RNA から 200~250ng の活性のある DAO を得ることに成功した。この系を用いて生合成過程における FAD の関与とホロ酵素への成熟機構を検討した。FAD の添加の有無にかかわらずこの合成系における DAO の合成量および酵素活性がほぼ一定であることから、DAO はホロ酵素化するために特別な装置は必要ないと予想された。

6) ヒト遺伝性疾患との関連の解析

ヒト DAO 遺伝子の第 1 イントロンに存在する、CA 繰り返し配列により構成される塩基配列が遺伝子多型を示すマイクロサテライトマーカー D12S105 であることを同定した。その解析により DAO 遺伝子が、ヒト染色体 12q14-q24.33 に存在することを明らかとした。

そこでヒト遺伝病として 12 番染色体にマッピングされている脊髄小脳失調症 2 の遺伝子座との関連を分子遺伝学的に検索した。その結果、既に明らかとされている遺伝性脊髄小脳失調症で典型的に認められる (CAG) の繰り返し配列はヒト DAO 遺伝子内には存在しなかった。しかしながら、キューバ国における脊髄小脳失調症 2 (SCA2) の患者集団の家系を解析したところ、この SCA2 の病因遺伝子座がヒト DAO 遺伝子の近傍 1 センチモルガンの範囲内に存在することが明らかとなった²⁰⁾。

7) アストロサイトにおける DAO の発現と D-Ser 代謝

脳内における DAO 遺伝子の発現の場は、その生理学的意義を考察する上で、極めて重要であると考えられた。中枢神経系を構成する細胞として代表されるニューロンとグリアのどちらに DAO が発現しているかを明らかにするため、我々はラットの脳よりグリア細胞の初代培養系を確立し、RT-PCR 法を用いて本酵素の遺伝子発現を検討した。その結果、小脳のみならず、従来は否定的であった大脳由来のグリア細胞でも DAO の遺伝子発現が認められた (図 2)。さらにタイプ 1、タイプ 2 アストロサイトの分離培養により、D-Ser の産生の方が主としてタイプ 2 アストロサイトであると考えられるのに対し、DAO はタイプ 1 アストロサイトでの発現が顕著であることを明らかにしている²¹⁾。このことはアストロサイトが神経細胞の栄養因子の分泌のみならず、神経調節因子 D-Ser の代謝調節に積極的に関与することを示唆している。D-Ser と本酵素の生体内分布が負の相関を示すことから、我々は DAO は D-Ser を生理的基質として、その濃度を規定する制御因子であると考えている。

さらに細胞外に存在する D-Ser が、細胞内に存在する DAO によって代謝されるか否かを検証するため、D-Ser 添加がラット初代培養アストロサイトに与える影響を解析し

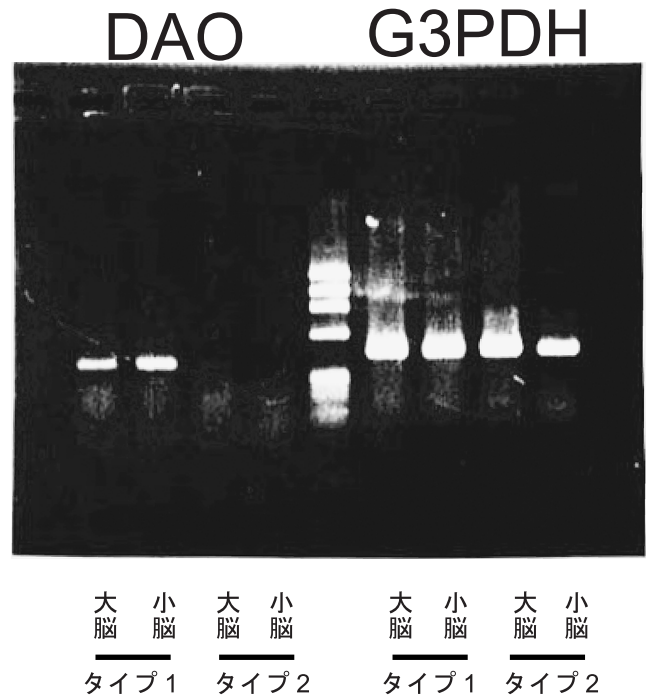


図 2 大脳および小脳由来のタイプ 1、タイプ 2 アストロサイトにおける DAO の遺伝子発現の RT-PCR 解析

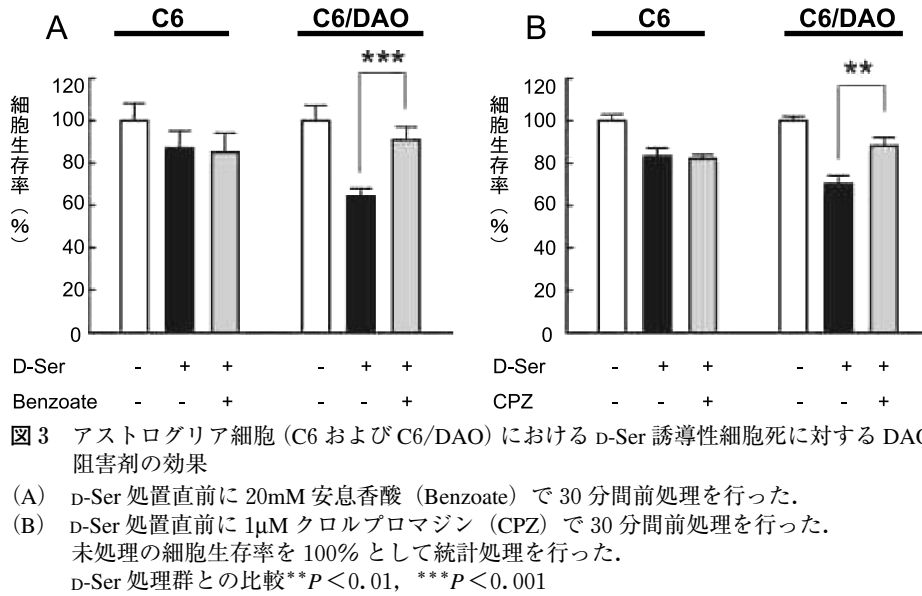
G3PDH : glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

た²²⁾。その結果、小脳由来アストロサイトの培養細胞にも、大脳由来アストロサイトにも、高濃度の D-Ser により細胞死が認められた。次にラットの C6 細胞 (glioma cell line) および DAO を強制発現させた C6 細胞 (C6/DAO) に D-Ser を添加後、細胞の変化を解析した結果、両者とも同様に濃度依存的に細胞死が観察され、C6/DAO 細胞は C6 細胞より低い濃度で細胞死が誘導されることが観察された。これらの現象は D-Ser の代謝後産生された過酸化水素の作用であることが示唆された。

一方、この細胞死は DAO の阻害剤である安息香酸 (benzoate) と統合失調症治療薬のクロロプロマジン (chlorpromazine) の添加によって抑制された²³⁾ (図 3)。クロロプロマジンは、古典的抗精神病薬として臨床で使用されているが、DAO の補酵素である FAD との競合によりブタ DAO の活性を阻害することが報告されている²³⁾。これらの結果は、D-Ser の添加により観察される C6 の細胞死には DAO 活性による D-Ser の代謝が関与することを示唆するものである。以上から、アストログリア細胞に局在する DAO が脳内 D-Ser の代謝に積極的に関与し、脳内の D-Ser 濃度調節において重要な生理的役割を担っている可能性が示唆された。これらの知見を踏まえ、我々は脳内には DAO による D-Ser 代謝系が存在して、神経調節物質である D-Ser 濃度を制御することを提唱している。

8) ヒト酵素の結晶構造の決定

クロロプロマジンによる DAO 阻害活性が、培養細胞を



用いた系で顕著に認められたことから、ヒト DAO 阻害剤開発が新規治療薬の開発に展開する可能性が示唆された。そこでヒト酵素の立体構造決定とその解析を目的として、組換え型酵素の合成系と精製法を確立した。まずヒト DAO の cDNA を、発現ベクターである pET-11b の T7 プロモーター下流に組み込み、大腸菌 BL21 (DE3) において IPTG 添加による発現誘導を行い、ウェスタンブロット法により発現を確認した。得られた菌体の粗抽出液を可溶性画分として回収し、59 $^{\circ}$ C、3 分間の熱処理後、硫酸による濃縮および解析を行い、DEAE セファロースおよびヒドロキシルアパタイトの二段階のカラムクロマトグラフィーによって精製した。4L の大腸菌の培養スケールから、約

100mg の精製酵素標品を得ることに成功した²⁴⁾。精製した酵素標品の、D-Ser、D-Ala、D-Pro など中性アミノ酸に対する K_m 値および k_{cat} 値、また拮抗的阻害剤である安息香酸ナトリウムに対する K_i 値は、ブタ酵素のパラメータとほぼ同等の値を示した。

しかしながら、ヒト酵素は FAD に対する結合が非常に弱く²⁵⁾、またブタ腎由来の酵素と比較して、FAD が還元される際の反応速度が極めて遅いことが明らかとなった²⁶⁾。ブタ酵素とヒト酵素は一次構造において 85% の相同性を示し、活性部位の立体構造は、ブタ酵素の構造の分子置換に基づく理論モデルからも同一であると考えられており、酵素化学的性質の違いを説明する分子機構は不明であっ

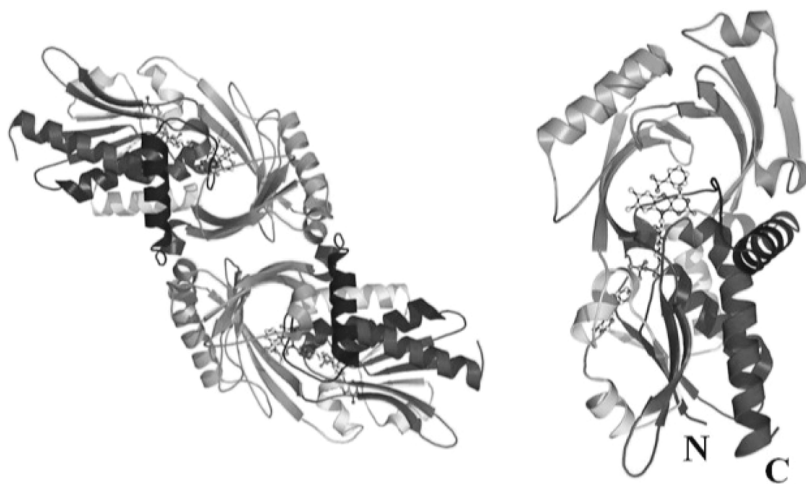


図4 ヒト DAO の結晶構造

全体の構造は、同一のサブユニットから構成される二量体である(左)。それぞれのサブユニット (1~347 アミノ酸残基、分子量 39kDa) は、1 分子の非共有結合している補酵素 FAD と基質アナログである阻害剤安息香酸 1 分子を含んでいる(右)。

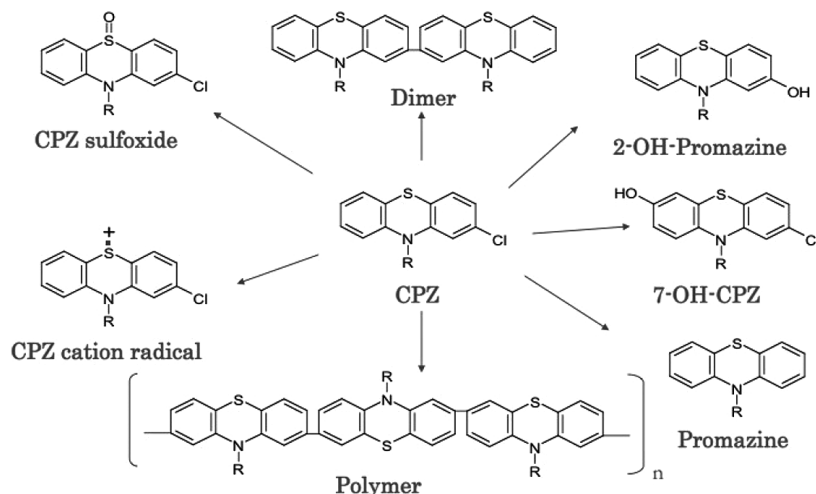


図5 クロルプロマジン (CPZ) とその代謝産物

た。

そこで我々は、ヒト酵素の結晶構造（三次元構造）をX線結晶解析により2.5オングストロームの分解能で決定した²⁷⁾ (図4)。ヒト酵素はブタ酵素と同様に二量体（39kDaが2分子）を形成しており、反応に重要な残基はFADのフラビン環の*re*面においては完全に保存されていた。しかしながらフラビン環の*si*面において、一次構造が完全に同一であるにも関わらず、疎水性ストレッチ（残基47-51, Val-Ala-Ala-Gly-Leu）の主鎖の構造がブタ酵素と比べて大きく異なっていた。このようにグリシンを含むペプチドには環境依存性に「主鎖の構造の多様性」が存在し、structurally ambivalent peptide (SAP) として知られている。以上のことから本酵素にもVAAGLストレッチにおける“構造のゆらぎ”が存在し、この構造がヒト酵素に特徴的な酵素化学的性質の一因であると考えている。

9) 抗精神病薬とDAO阻害活性

抗精神病薬クロルプロマジンの作用機序はドーパミン受容体の阻害によると従来考えられてきたが、本薬剤はDAOに対する阻害効果も有する。我々は大量合成に成功した酵素標品を用いた酵素学的解析法にて、その阻害形式はFADに対する拮抗阻害であることを確認した²⁸⁾。その阻害形式は、ブタ酵素を用いた報告とは一致したが、その阻害定数はブタ酵素について報告されている値より高い値となった。

そこで、クロルプロマジンの関連代謝物質によるDAOの活性阻害についても検討した。生体内で見られる本薬剤の代謝産物は多くの種類が知られており (図5)、クロルプロマジンの薬理効果にはその代謝産物も多く関与していると考えられている。さらに本薬剤は光に対し高い感受性を有しており、臨床における本薬剤投与時の副作用として光毒性と光線過敏症が知られている。また *in vitro* では本

薬剤が紫外線やバルオキシダーゼ等の酵素により、反応性の高いラジカルに変化することが報告されている。これらの知見より、服用後に本薬剤が太陽光の経皮的暴露もしくは体内の薬剤代謝系酵素によって何らかの活性化を受け、より強力な阻害作用を有する化合物に変化する可能性を想定した。この考察に基づき実験的に、本薬剤に白色光を照射して、DAOに対する阻害作用の変化を検討した。その結果、白色光照射によってクロルプロマジンのDAO阻害作用が増強することを見出した。さらにクロルプロマジンの光照射産物のうち、より強いDAO阻害活性を有する物質の分離同定をゲルろ過クロマトグラフィー、EPR、NMR、そして高分解能の質量分析法を用いて行った。その結果、クロルプロマジン単体より強いDAO阻害作用を有するクロルプロマジン三量体分子を見出した²⁸⁾。以上からクロルプロマジンの示す抗精神病薬としての薬理作用に、DAO活性阻害の作用が寄与している可能性が示唆された。

10) ヒト疾患をターゲットとした医学応用への展望—細胞外D-Serの濃度制御

NMDA受容体の機能異常に伴う神経伝達系の様々な疾患が存在することから、脳内シナプス間隙でNMDA受容体に対するコアゴニストとして機能するD-Serの細胞外濃度調節は非常に重要であると考えられる。D-Serの細胞外濃度調節メカニズムとしては、現在次のような因子が考えられる。

- 1) L-SerからD-Serへの転換を触媒するセリンラセマーゼが細胞外濃度調節因子の一つとして考えられる。これは、D-Ser合成系としてのセリンラセマーゼの関与を考えたメカニズムである。
- 2) 細胞膜上のトランスポーターによる調節。これに関しては、C6細胞と初代培養のアストログリア細胞を用いた研究でD-Serを取り込むトランスポーターの存在が

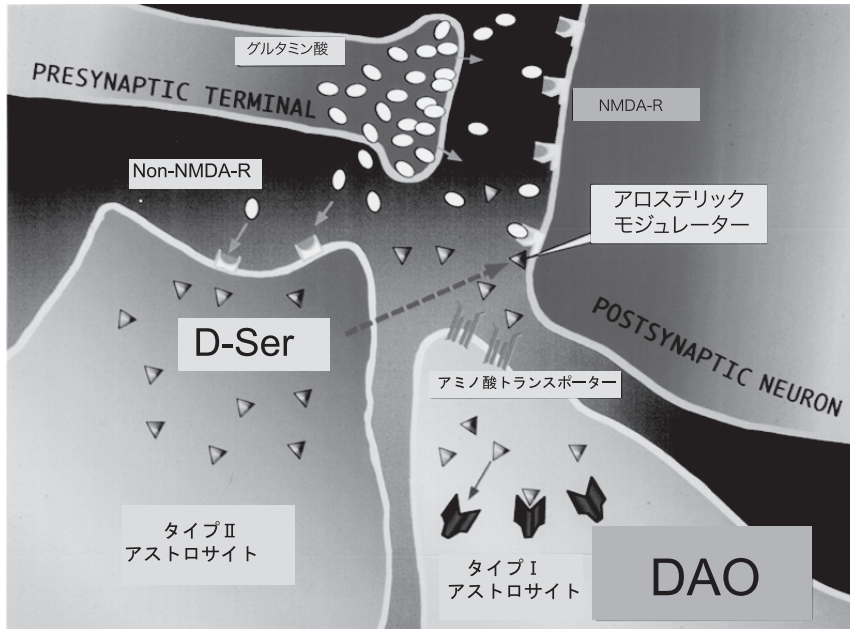


図6 グルタミン酸ニューロンにおけるD-セリン-DAOシステム

示唆されてきた²⁰⁾。さらに我々の実験結果では、C6とC6/DAO細胞に様々なアミノ酸を添加したところ、他のアミノ酸に比べ、D-Serの添加による細胞毒性が最も顕著であった²²⁾。以上から、神経調節物質であるD-Serに対する特異的トランスポーターがアストログリア細胞に存在する可能性が考えられる。このD-Serトランスポーターの実体が明らかになれば、その阻害剤の開発は臨床応用可能な薬剤へ展開する可能性が期待される。

3) 脳内のアストログリア細胞に発現するDAOによるD-Serの代謝。D-Ser代謝系としてのDAOの意義を考えたメカニズムであり、上述のトランスポーターにより細胞内へ取り込まれたD-Serを代謝分解することにより、細胞外のD-Serの濃度の調節を行うというモデルである²²⁾。クロルプロマジンによって示されたDAO阻害活性は、DAO阻害剤が新規抗精神病薬開発の戦略として有力であることを示唆している。ヒトDAOの結晶構造の決定とその解析は、酵素阻害剤開発の重要な物質的基盤を与えるものとして、今後の展開が期待される。

4. おわりに

本稿では哺乳類の脳内に存在するD-Serとその代謝酵素であるDAOの病態生理学的意義を中心に紹介した。D-Serがコアゴニストとして作用するNMDA受容体の機能不全は、様々な神経疾患に密接に関連している。現在、我々は中枢神経系アストログリア細胞における本酵素の遺伝子発現に基づき、脳内グルタミン酸ニューロンにおいて、D-Ser-DAOシステムが、神経情報伝達制御機構を構成するというモデルを提唱している(図6)。このような「D-ア

ミノ酸バイオシステム」の機能の解明により、NMDA受容体の機能異常に基づく難治性精神疾患や脳卒中における神経細胞死などの病態に対する新規治療薬の開発が期待される。

謝辞

本稿は、徳島大学疾患酵素学研究センター病態システム酵素学研究部門(旧・分子酵素学研究センター遺伝制御学部門)に所属する下記の方々による研究成果をまとめたものであり、ここに改めて感謝の意を表します。

朴 煥埼, 川添僚也, 岩名沙奈恵, 小野公嗣, Rabab M. Abou El-Magd, 鄭 丞弼, 浦井由光, 宍戸裕二, 宍戸明香, 陣内自治, 鈴江淳彦, 金森徳次郎, 尾林麻理子, 清水善久, 富田優美子, 頼田和子, 坂井利佳, 坂井隆志

また、X線結晶構造解析は徳島文理大学健康科学研究所津下英明教授との共同研究によるものであります。

文 献

- 1) Hashimoto, A., Nishikawa, T., Oka, T., & Takahashi, K. (1993) *J. Neurochem.*, 60, 783-786.
- 2) Schell, M.J., Molliver, M.E., & Snyder, S.H. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 3948-3952.
- 3) Mothet, J.P., Parent, A.T., Wolosker, H., Brady Jr., R.O., Linden, D.J., Ferris, C.D., Rogawski, M.A., & Snyder, S.H. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 4926-4931.
- 4) Wolosker, H., Blackshaw, S., & Snyder, S.H. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 13409-13414.
- 5) Choi, D.W. & Rothman, S.M. (1990) *Annu. Rev. Neurosci.*, 13, 171-182.

- 6) Lo, E.H., Pierce, A.R., Matsumoto, K., Kano, T., Evans, C.J., & Newcomb, R. (1998) *Neuroscience*, **83**, 449–458.
 - 7) Danysz, W. & Parsons, C.G. (1998) *Pharmacol. Rev.*, **50**, 597–664.
 - 8) Tsai, G., Yang, P., Chung, L.-C., Lange, N., & Coyle, J.T. (1998) *Biol. Psychiatry*, **44**, 1081–1099.
 - 9) Mohn, A.R., Gainetdinov, R.R., Caron, M.G., & Koller, B.H. (1999) *Cell*, **98**, 427–436.
 - 10) Chumakov, I., Blumenfeld, M., Guerassimenko, O., Cavarec, L., Palicio, M., Abderrahim, H., Bougueleret, L., Barry, C., Tanaka, H., La Rosa, P., et al. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 13675–13680.
 - 11) Krebs, H.A. (1935) *Biochem. J.*, **29**, 1620–1644.
 - 12) Fukui, K. & Miyake, Y. (1992) *J. Biol. Chem.*, **267**, 18631–18638.
 - 13) Fukui, K., Momoi, K., Watanabe, F., & Miyake, Y. (1988) *Biochemistry*, **27**, 6693–6697.
 - 14) Fukui, K., Watanabe, F., Shibata, T., & Miyake, Y. (1987) *Biochemistry*, **26**, 3612–3618.
 - 15) Momoi, K., Fukui, K., Watanabe, F., & Miyake, Y. (1988) *FEBS Lett.*, **238**, 180–184.
 - 16) Tada, M., Fukui, K., Momoi, K., & Miyake, Y. (1990) *Gene*, **90**, 293–297.
 - 17) Momoi, K., Fukui, K., Tada, M., & Miyake, Y. (1990) *J. Biochem.*, **108**, 406–413.
 - 18) Fukui, K., Momoi, K., Watanabe, F., & Miyake, Y. (1986) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **141**, 1222–1228.
 - 19) Fang, J., Deng, D., Nakamura, H., Akuta, T., Qin, H., Iyer, A. K., & Greish, K., & Maeda, H. (2008) *Int. J. Cancer*, **122**, 1135–1144.
 - 20) Gispert, S., Lunkes, A., Santos, N., Orozco, G., Ha-Hao, D., Ratzlaff, T., Aguiar, J., Torrens, I., Heredero, L., Fukui, K., et al. (1995) *Am. J. Hum. Genet.*, **57**, 972–975.
 - 21) Urai, Y., Jinnouchi, O., Kwak, K.T., Suzue, A., Nagahiro, S., & Fukui, K. (2002) *Neurosci. Lett.*, **324**, 101–104.
 - 22) Park, H.K., Shishido, Y., Ichise-Shishido, S., Kawazoe, T., Ono, K., Iwana, S., Tomita, Y., Yorita, K., Sakai, T., & Fukui, K. (2006) *J. Biochem.*, **139**, 295–304.
 - 23) Yagi, K., Nagatsu, T., & Ozawa, T. (1956) *Nature*, **177**, 891–892.
 - 24) Kawazoe, T., Park, H.K., Iwana, S., Tsuge, H., & Fukui, K. (2007) *Chem. Rec.*, **7**, 305–315.
 - 25) Raibekas, A.A., Fukui, K., & Massey, V. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 3089–3093.
 - 26) Molla, G., Sacchi, S., Bernasconi, M., Pilone, M.S., Fukui, K., & Pollegioni, L. (2006) *FEBS Lett.*, **580**, 2358–2364.
 - 27) Kawazoe, T., Tsuge, H., Pilone, M.S., & Fukui, K. (2006) *Protein Sci.*, **15**, 2679–2681.
 - 28) Iwana, S., Kawazoe, T., Park, H.K., Tsuchiya, K., Yorita, K., Sakai, T., Kusumi, T., & Fukui, K. (2008) *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.*, in press
 - 29) Hayashi, F., Takahashi, K., & Nishikawa, T. (1997) *Neurosci. Lett.*, **239**, 85–88.
-