

明らかとなってきた D-アミノ酸の機能

吉村 徹*

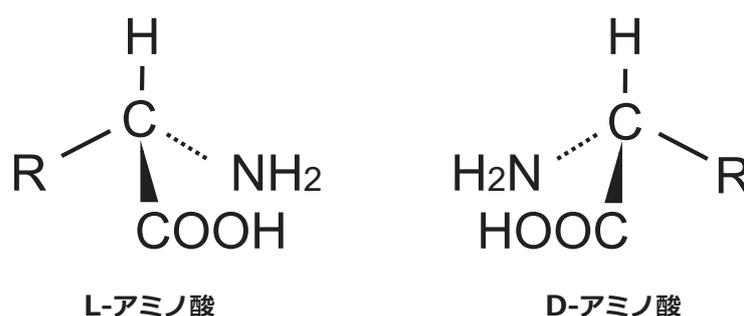
1. D-アミノ酸とその生理機能の発見

α -炭素にアミノ基, カルボキシル基, 水素 (プロリンを除く), および側鎖と称される多様な原子団が結合した α -アミノ酸は, タンパク質の構成成分になるなど, 生物にとって極めて重要である. タンパク質を構成する 20 種類の α -アミノ酸のうち, 側鎖が水素であるグリシンを除けば α -位の炭素はすべて異なる原子 (団) が結合している不斉炭素であり, エナンチオマーが存在する (図 1). アミノ酸や糖といった生体物質では各々のエナンチオマーを D-, L- という記号をつけて区別する. タンパク質を構成する α -アミノ酸はグリシン (Gly) を除きすべて L- 体である. 有機化学的にアミノ酸が生成する際には立体化学は区別されない. 原始地球上で生成したアミノ酸がラセミ体であったとすれば, 生物 (タンパク質) がどのようにして L- 体のアミノ酸のみを利用するようになったかは, 生命の起源に関連する謎として長らく議論されている¹⁾. はやぶさ 2 が持ち帰ったリュウグウの砂にはアミノ酸が存在すると

報道されたが, その立体化学の報告が待たれる.

タンパク質を構成するアミノ酸が L- 体のみであったこと, また L- 体に比べて極めて微量しか存在しないことから生体中の D-アミノ酸はほとんど注目されて来なかった. 例外的に D-アミノ酸の役割として知られていたのは, 細菌細胞壁の糖鎖-ペプチド構造体であるペプチドグリカンや一部の抗生物質の構成成分としての役割だけであった.

1990 年代以降, 分析技術の進展に伴って哺乳動物にもいくつかの D-アミノ酸が見出された²⁾. 主要なものには D-セリン (D-Ser), D-アラニン (D-Ala), D-アスパラギン酸 (D-Asp) があるが, D-Ser については *N*-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 型グルタミン酸レセプター (以下, NMDA レセプター) のコアゴニスト機能を持つことが明らかとなっている^{3,4)}. 神経系には, 神経細胞間あるいは神経と他種細胞間で情報を伝えるためのシナプスと呼ばれる構造がある. 化学物質で情報を伝達する化学シナプスでは, 刺激(情報)



Rが CH₃- アラニン (Ala)
 HO-CH₂- セリン (Ser)
 HOOC-CH₂- アスパラギン酸 (Asp)

図 1. D-アミノ酸と L-アミノ酸

*立命館大学総合科学技術研究機構 上席研究員

を伝える側であるシナプス前細胞から放出された神経伝達物質が、刺激を受け取る側の細胞（シナプス後細胞）の膜上の受容体（レセプター）に結合する。L-グルタミン酸（L-Glu）は中枢神経系で広く用いられる神経伝達物質であるが、L-Gluをリガンド（特定の受容体に特異的に結合する物質）とする受容体のうち *N*-メチル-D-アスパラギン酸によって活性化されるタイプを NMDA レセプターと呼ぶ。1988年、アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させた NMDA レセプターの活性化に L-Glu とともに Gly や D-Ser が必要であることが報告された。その後、哺乳動物の脳内に実際に D-Ser が存在し、その分布が NMDA レセプターの分布と類似することなどが明らかにされ、D-Ser が NMDA レセプターのコアゴニスト（単独では受容体を活性化しないがリガンドが働くのに不可欠な分子）として機能することが確認された。哺乳動物において D-Ser はセリンラセマーゼという酵素によって L-Ser から生合成され⁵⁾、D-アミノ酸オキシダーゼ（DAO）という酵素によってヒドロキシピルビン酸とアンモニアに分解される⁶⁾。

2. D-Ser の生理的役割

NMDA レセプターは記憶や学習といった脳の高次機能に深く関わるため、脳内での D-セリンの挙動は様々な神経活動や疾患と関係すると考えられる³⁷⁾。D-Ser の分解酵素である D-アミノ酸オキシダーゼの遺伝子をノックアウトして脳内 D-Ser 量を有意に上昇させたマウスや、逆にセリンラセマーゼ遺伝子をノックアウトして D-Ser 量を減少させたマウスを使った迷路実験などから、D-Ser が空間記憶の獲得と維持に関与することが示唆されている⁸⁾。また高齢健常者を対象とした研究で、D-Ser が空間記憶、問題解決能力、学習能力を促進することが報告されている⁹⁾。統合失調症の要因の一つに NMDA レセプターの機能低下が示唆されているが、統合失調症患者の脳脊髄液では、健常者の場合と比べて D-Ser 濃度や

D-Ser の対全セリン濃度比が有意に低下することが報告されている⁴⁾。この D-Ser 濃度の低下が NMDA レセプターの機能の低下をもたらしている可能性があり、それを裏付けるように統合失調症の症状が D-Ser やその関連化合物の投与によって緩和されるといった報告もある⁴⁾。また鬱病のモデルラットを用いた実験では、D-Ser に抗うつ作用があることも報告されている¹⁰⁾。

一方、慶応大学の笹部らは筋萎縮性側索硬化症（ALS）の患者や ALS モデルマウスの脊髄に、病態の進行に伴って D-Ser が蓄積することを見出した¹¹⁾。運動のシグナルは脳皮質の上位ニューロンから脊髄の下位ニューロンを経て筋肉に伝わるが、ニューロン間の情報伝達には主として NMDA レセプターが関わっている。ALS では過剰な D-Ser によって NMDA レセプターの異常な活性化が起こり、その結果、運動神経細胞の細胞死が起こる可能性がある。

小脳でも D-Ser の機能が議論されている。運動記憶の形成には小脳が関わるが、マウスの小脳では幼若期に著量の D-Ser が存在し成熟に伴って減少する。D-Ser は小脳の神経回路にある $\delta 2$ 受容体に結合するが、この $\delta 2$ 受容体は小脳シナプス表面に発現するグルタミン酸受容体数の制御を通して、シナプス可塑性に関与している。慶応大学の柚崎、掛川らはロータロッドテストという方法を用いて、 $\delta 2$ 受容体の D-Ser 結合能を欠損させたマウスでは運動記憶が著しく低下することを示し、D-Ser が $\delta 2$ 受容体を介して運動記憶形成に関与することを明らかにした¹²⁾。マウス小脳の D-Ser 濃度は個体の成熟につれて減少する一方、 $\delta 2$ 受容体は生涯を通じて維持される。楽器やスポーツの習得では早期教育が必要とされるが、これが小脳における D-Ser の消長と関連しているとすれば興味深い。

以上、脳神経系における D-Ser の役割について述べてきたが、NMDA レセプターは末梢組織、例えば軟骨細胞などにも発現しており、そのため D-Ser が骨格維持にも機能していることが報告さ

れている。また最近、D-Ser と腎障害の関係も注目されるようになってきている。腎障害の指標として用いられる糸球体ろ過量 (GRF) は、単位時間あたりに腎臓の糸球体で濾過される血液の量である。GFR を求めるには、血漿タンパク質と結合せず糸球体で自由に濾過され、尿細管で分泌も吸収もされない物質をマーカーとして使用する。実際にはイヌリンを静注し尿中に排泄されるイヌリン量を定量するが、この方法は煩雑なため事実上入院患者にしか適用できない。健診などでは、血清クレアチニン量から性別、年齢などを勘案して計算された推算糸球体濾過量 (eGFR) が使用されるが、eGFR は必ずしも GRF を正確に反映しない。腎機能を簡便かつ正確に把握できれば慢性腎障害の早期発見につながり、国民医療費の増大などで大きな問題となる人工透析患者の抑制が期待できる。そのため新たな腎機能のマーカーの開発が求められてきた。最近、阪大などのグループが、血中と尿中の D-セリン量の比較から GFR を迅速かつ正確に推定できることを報告した (https://www.amed.go.jp/news/seika/2022_seika_index.html)。これは D-Ser の近位尿細管での再吸収効率が低いため糸球体での濾過量がそのまま尿中濃度に反映されることによると思われる。D-Ser はもともと体内に存在する物質であり投与の必要はない。ただし D-Ser の測定には二次元 HPLC や GC/MS といった高価な分析装置や熟練したオペレーターが必要となるため、コストがかかる。この点については後で述べる。

3. D-Asp の生理的役割

D-Asp は D-Ser について哺乳動物での役割がよく研究されている D-アミノ酸である¹³⁾。D-Asp は松果体、下垂体、精巣、副腎といった内分泌組織中に高濃度存在しホルモンの合成及び分泌を制御する機能を担うと考えられている。松果体ホルモンであるメラトニンの分泌抑制、下垂体ホルモンであるプロラクチンの分泌促進などが知られている。D-Asp には生殖との関連も示唆されている。

ラット精巣ライディッヒ細胞の初代培養系に性腺刺激ホルモンを与えると、男性ホルモンであるテストステロンの合成・分泌が起こる。この時に D-Asp を加えると、添加量に依存してテストステロンの合成・分泌量が增大する¹⁴⁾。ライディッヒ細胞ではコレステロールがミトコンドリア内部へ運び込まれテストステロンに変換されるが、この取り込み過程がテストステロン合成の律速過程である。D-Asp はこの過程を促進するタンパク質の転写・発現を活性化することによってコレステロールの取り込みを促進している。

精液 (精漿) や精子には著量の D-Asp が含まれており、奇形精子症の場合では精子や精漿中の D-Asp 量が低下していることが知られている¹⁵⁾。ウサギの場合 D-Asp を経口投与すると D-Asp は精巣へ運ばれるとともに精子の運動性が亢進する。また D-Asp を投与したマウスの場合、凍結保存精子を使った体外受精効率の亢進や精子の形態学的異常の低下が報告されている¹⁶⁾。女性でも卵巣の卵胞液に D-Asp が存在しており、その量が加齢に伴い減少することが知られている。体外受精における受精効率と卵胞液中の D-Asp 濃度が相関するとの報告もあり、D-Asp の経口投与による不妊治療の試みもなされている¹⁷⁾。

この他にも D-Asp が神経調節機能を有することやミエリン鞘の保護効果があること、細胞に対する抗酸化性を有すること、コラーゲン産生を促し、美肌効果を有することなども報告されている。このように様々な機能が報告されている D-Asp であるが、NMDA レセプターのコアゴニスト機能が明らかとなっている D-Ser とは対照的に、D-Asp の機能の分子レベルでの理解は進んでいない。テストステロン生合成の促進効果を除けば、D-Asp の消長がある生理機能に相関するといった報告に留まっている。

4. D-アミノ酸の代謝関連酵素

D-アミノ酸の機能のより深い理解のためには D-アミノ酸の代謝酵素を知る事が大切である。

上述のように、哺乳動物において D-Ser はビタミン B₆ の補酵素型であるピリドキサル 5'-リン酸を補酵素とするセリンラセマーゼによって生合成される⁵⁾。本酵素はセリンのラセミ化を触媒するとともに、L-Ser および D-Ser をピルビン酸とアンモニアに分解するデヒドラーゼ活性も有する。D-Ser の生合成を担う酵素が同時にその分解活性も有することは一見奇妙だが、特に次に述べる D-アミノ酸オキシダーゼ (DAO) が少ない部位では、D-Ser のホメオスタシスと関連する可能性がある。哺乳動物において D-Ser 分解を担う主たる酵素である DAO は真核生物において最初に見出された D-アミノ酸代謝関連酵素であるが、長年その役割は明らかではなくエニグマ (謎) 酵素と言われていた。DAO は FAD (ビタミン B₂ 誘導体) を補酵素とし D-Ser を酸化的に脱アミノ化してヒドロキシピルビン酸とアンモニアを生成する⁶⁾。DAO は D-Ser 以外にも様々な D-アミノ酸を基質とするが D-Asp には作用しない。哺乳動物における D-Asp 分解は D-アスパラギン酸オキシダーゼが担っている¹⁸⁾。

筆者らは D-Ser の新たな分解酵素として出芽酵母に Fold-type III 型 D-セリンデヒドラーゼ (DsdSC) を見出した¹⁹⁾。DsdSC は PLP を補酵素とし、D-Ser をピルビン酸とアンモニアに分解するデヒドラーゼ反応を触媒する。上述のようにセリンラセマーゼも同様の反応を触媒するが両酵素は異なる酵素であり、活性は DsdSC の方がはるかに強い。DsdSC のホモログは脊椎動物から菌類などの下等真核生物、一部の細菌にも存在するが、脊椎動物の中で唯一哺乳動物には分布しない²⁰⁾。哺乳動物で D-Ser 分解を担う DAO の活性は DsdSC の 1/10 程度に過ぎない。哺乳動物に高濃度の D-Ser が存在し重要な機能を担っている背景には、DsdSC の欠失があるかもしれない。

DsdSC は D-Ser に対する基質特異性が極めて高い。筆者らはこの特性を利用して D-Ser の酵素定量法を構築した²¹⁾。この方法では DsdSC によって D-Ser から生成したピルビン酸を乳酸脱水素酵

素を用いて乳酸に転換し、その際に消費される NADH の量を 340 nm の吸光度の減少から求める。本法はキット化され上市されているが、尿中の D-Ser 量を簡便かつ正確に定量できるため、先に述べた腎疾患マーカーの推定に適用できる可能性がある。

哺乳動物における D-Asp の生合成酵素については発見したとの報告もあったが、まだ不分明の状況にあると考えている²²⁾。細菌などにはシステイン残基を触媒基とする PLP 非依存性のアスパラギン酸ラセマーゼがあり、二枚貝やアメフラシ等では真核細胞型のセリンラセマーゼによく似た構造を有する PLP 依存性のアスパラギン酸ラセマーゼが見出されているが、いずれも哺乳動物からは発見されていない。哺乳動物に存在する D-Asp の一部は腸内細菌が合成に寄与している可能性もある。

5. おわりに

哺乳動物に著量存在する D-アミノ酸には D-Ser, D-Asp の他 D-Ala が存在するが、その生合成には腸内細菌の関与が推測される。哺乳動物での D-Ala の役割は不分明であるが、D-Ala は脳下垂体前葉、膵臓のランゲルハンス島に局在することが知られており、糖尿病との関係に興味を持たれる²³⁾。なおエビやカニなどでは塩濃度が上昇するとアラニンラセマーゼが活性化され体内の D-Ala 濃度が上昇するものがある。この場合 D-Ala はオスモライトとして浸透圧調整に機能するものと考えられる²⁴⁾。

以上述べてきたように、近年 D-アミノ酸が記憶や学習、生殖やコラーゲン生成など生命活動の様々な局面で働いていることが明らかとなってきた。このように多様な機能を有する D-アミノ酸の理解のためには、医学、理学、工学、農学など様々な分野の研究者による学際的な研究を進めていく必要があるように思う。その特異な生理機能に加えて、D-アミノ酸の多くが爽やかな甘味を呈することもあり、D-アミノ酸を機能性食品に

利用することも考えられる。今後 D-アミノ酸の研究は応用面においても大いに期待される。

参考文献

- 1) Fujii N, Saito T. (2004) Homochirality and life. *Chem Rec.* **4**: 267-278.
- 2) 浜瀬健司, 財津 潔 (2004) 哺乳類体内微量 D-アミノ酸の選択的分析法の開発. *分析化学* **53**: 677-690.
- 3) Wolosker H. (2007) NMDA receptor regulation by D-serine: new findings and perspectives. *Mol Neurobiol.* **36**: 152-164.
- 4) 西川 徹 (2019) D-セリンと精神疾患. *生化学* **91**: 338-348.
- 5) Wolosker H, Mori H. (2012) Serine racemase: an unconventional enzyme for an unconventional transmitter. *Amino Acids.* **43**: 1895-1904.
- 6) Pollegioni L, Sacchi S, Murtas G. (2018) Human D-Amino Acid Oxidase: Structure, Function, and Regulation. *Front Mol Biosci.* **5**: 107.
- 7) 井上 蘭 (2019) 哺乳類 D-セリンの生理機能. *生化学* **91**: 329-337.
- 8) Maekawa M, Watanabe M., Yamaguchi S, Konno R, Hori Y (2005) Spatial learning and long-term potentiation of mutant mice lacking D-amino-acid oxidase. *Neurosci. Res.* **53**: 34-38.
- 9) Avellar M, , Scoriels L, Madeira C, Vargas-Lopes, Priscila Marques P, Dantas C, Manhães AC, Leite H, Panizzutti R. (2016) The effect of D-serine administration on cognition and mood in older adults. *Oncotarget* **7**: 11881-11888.
- 10) Gómez-Galán M, De Bundel D, Van Eeckhaut A, Smolders I, Lindskog, M (2013) Dysfunctional astrocytic regulation of glutamate transmission in a rat model of Depression. *Molecular Psychiatry* **18**: 582-594.
- 11) Sasabe J, Chiba T, Yamada M, Okamoto K, Nishimoto I, Matsuoka M, Aiso S. (2007) D-Serine is a key determinant of glutamate toxicity in amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO J.* **26**: 4149-4159.
- 12) Kakegawa W, Miyoshi Y, Hamase K, Matsuda S, Matsuda K, Kohda K, Emi K, Motohashi J, Konno R, Zaito K, Yuzaki M. (2011) D-Serine regulates cerebellar LTD and motor coordination through the $\delta 2$ glutamate receptor. *Nat Neurosci.* **14**: 603-611.
- 13) 本間 浩 (2008) 哺乳動物内の遊離型 D-アスパラギン酸の振舞いと機能. *生化学* **80**: 277-286.
- 14) Nagata, Y, Homma, H, Lee, JA, Imai K. (1999) D-Aspartate Stimulation of Testosterone Synthesis in Rat Leydig Cells. *FEBS Lett.* **444**: 160-164.
- 15) D'Aniello G, Ronsini S, Guida F, Spinelli P, D'Aniello A, Steril F. (2005) Occurrence of D-aspartic Acid in Human Seminal Plasma and Spermatozoa: Possible Role in Reproduction. *Fertility and Sterility.* **84**: 1444-1449.
- 16) Raspa M, Mahabir E, Paoletti R, Protti M, Mercolini L, Schiller P, Scavizzi F (2018) Effects of Oral D-Aspartate on Sperm Quality in B6N Mice. *Theriogenology* **121**: 53-61.
- 17) D'Aniello G, Ronsini S, Notari T, Grieco N, Infante V, D'Angel N, Mascia F, Di Fiore MM, Fisher G, D'Aniello A. (2012) D-Aspartate, a Key Element for the Improvement of Sperm Quality. *Advances in Sexual Medicine* **2**: 47-53.
- 18) Pollegioni L, Molla G, Sacchi S, Murtas G

- (2021) Human D-aspartate Oxidase: A Key Player in D-aspartate Metabolism. *Front. Mol. Biosci. Sec. Protein Biochemistry for Basic and Applied Sciences*, <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.689719>.
- 19) Ito T, Hemmi H, Kataoka K, Mukai Y, Yoshimura T (2008) A novel zinc-dependent D-serine dehydratase from *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem J.* **409**: 399–406.
- 20) 田中裕之, 山本 篤, 石田哲夫, 堀池喜八郎 (2009) 脊椎動物における D-セリンデヒドラーゼの発見と哺乳類におけるその欠損. *蛋白質核酸酵素* **54** : 1190–1196.
- 21) Ito T, Takahashi K, Naka T, Hemmi H, Yoshimura T (2007) Enzymatic assay of D-serine using D-serine dehydratase from *Saccharomyces cerevisiae*. *Anal Biochem.* **371**: 167–172.
- 22) 伊藤智和, 吉村 徹, (2011) ほ乳動物のアスパラギン酸ラセマーゼ. *ビタミン* **85** : 661–662.
- 23) Morikawa A, Hamase K, Ohgus T, Etoh H, Tanaka I, Koshiishi I, Shoyama Y, Zaitzu K (2007) Immunohistochemical localization of D-alanine to beta-cells in rat pancreas. *Biochem Biophys Res Commun* **355**: 872–876.
- 24) Abe H, Yoshikawa N, Sarower MG, Okada S (2005) Physiological function and metabolism of free D-alanine in aquatic animals. *Biol Pharm Bull.* **28**: 1571–1577.