

Disruption of lipid homeostasis by L-serine deficiency

江崎, 加代子

<https://hdl.handle.net/2324/1441325>

出版情報 : 九州大学, 2013, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :
権利関係 : やむを得ない事由により本文ファイル非公開 (3)



氏 名 : 江崎 加代子

論文題名 : Disruption of lipid homeostasis by L-serine deficiency
(L-セリン欠乏による脂質恒常性の破綻)

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

L-セリンは、生体内で主に解糖系中間体である 3-phosphoglycerate から 3 段階の酵素反応によって *de novo* 合成される非必須アミノ酸である。この経路の初発酵素である 3-phosphoglycerate dehydrogenase (Phgdh) の遺伝子を標的破壊した *Phgdh* knockout (KO) マウスは、重度の小頭症と全身性の発達遅滞を伴い、胎生 13.5 日以降に致死となる。ヒトにおいても *PHGDH* 変異による遺伝性セリン合成不全疾患が報告され、患者は共通に重篤な神経発達障害を呈す。これらの症状は、中枢神経系の発達を含む個体発達過程における *de novo* L-セリン合成の必須性を示すが、L-セリンの欠乏が細胞内代謝に及ぼす影響の詳細は未だ十分に解明されていない。本研究は、*Phgdh* 欠損により *de novo* L-セリン合成能が著しく低下したマウス胚性線維芽細胞 (KO-MEF) と脳特異的 *Phgdh* knockout (BKO) マウスを対象に、L-セリン欠乏によって惹起される生体膜脂質の代謝変化を解析することで、脂質類の恒常性維持における *de novo* L-セリン合成の生理機能の解明を目的としたものである。

まず、主要膜脂質成分であるグリセロリン脂質類の生化学的解析により、KO-MEF を培地L-セリン制限条件で培養することで細胞内L-セリン欠乏を導くとホスファチジルセリンが有意に減少し、同時にホスファチジルスレオニンと推定される新規分子種が出現することを見いだした。他の主要グリセロリン脂質類には有意な量的変化は認められなかった。脳内のL-セリン含量が正常対照の10～20%に低下しているBKOマウスの脳では、ホスファチジルセリンを含む主要なグリセロリン脂質分子種に有意な量的変化は検出されなかったことから、L-セリン欠乏に対するグリセロリン脂質類の変化は増殖性細胞と成熟脳では異なっていることを明らかにした。

次に、スフィンゴ脂質類へのL-セリン欠乏が及ぼす影響の包括的解析を目的に、質量分析装置による一斉分析システムを新たに構築した。この分析システムは、通常のスフィンゴ脂質に加え、L-アラニンとパルミトイルCoAの縮合により合成されるデオキシスフィンゴ脂質類について、従来法では困難であったスフィンゴイド塩基分子種とセラミド型分子種の分別定量を可能にした。KO-MEFを培地L-セリン制限条件で培養すると、セラミド、グルコシルセラミド及びスフィンガニンが顕著に減少し、一方で正常組織ではその存在が稀なデオキシスフィンゴ塩基である 1-deoxy-sphinganine (doxSa) が合成され、経時的に細胞内に蓄積することを見いだした。さらにdoxSaがアシル化されたdeoxy-dihydroceramide (doxDHCer) が量的に最も多く細胞内に蓄積することを示した。続いてKO-MEFにおけるこれらのデオキシスフィンゴ脂質類の合成が、スフィンゴ脂質生合成の第1段階を触媒するserine palmitoyltransferase (SPT) の触媒活性によるものであることを、SPTの特異的阻害剤であるD-セリン処理によって証明した。同時に、KO-MEFを培地L-ロイシン制限条件で培養してもデオキシスフィンゴ脂質類は合成されないことも確認した。一連の培養細胞での解析に加え、脳特異的にL-セリン合成能を喪失したBKOマウス脳においてもdoxSaやdoxDHCer等のデオキシスフィンゴ脂質類が正常対照に比べて有意に蓄積していることを明らかにし、同脂質類がセリン欠乏特異的なバイオマーカーとなることを示した。

さらに、デオキシスフィンゴ脂質類が合成される分子機構として、L-アラニン/L-セリン比の増大によってSPTの基質としてL-アラニンが利用されるとの機構を想定し、実際にKO-MEFを用いて培地

中のL-アラニン/L-セリン比が4:1以上になるとデオキシスフィンゴ脂質類の合成と蓄積が起こることを明らかにした。

また、デオキシスフィンゴ脂質類の合成と蓄積の予防に資する、効率的な体内のL-セリン含量増加手法の開発を目的とし、大豆ペプチド等に豊富に存在するL-セリン含有ジペプチドであるL-セリン-L-チロシン (SY) の経口摂取による体内のL-セリン含量変化を検討し、L-セリン単体に比べて合成SYは、その経口摂取により血中L-セリン濃度を長時間高濃度に維持できることを見いだした。

以上要するに本論文は、L-セリン欠乏によってL-アラニンが SPT の基質として利用されることでデオキシスフィンゴ脂質類の合成と蓄積に至り、主要膜脂質であるスフィンゴ脂質の恒常性を破綻に導くことを見いだしたものであり、システム生物学ならびに代謝生化学の発展に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。