

## Studies on the cellular pathobiology of L-serine deficiency

濱野, 桃子

<https://hdl.handle.net/2324/2236300>

---

出版情報：九州大学, 2018, 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	濱野 桃子			
論 文 名	Studies on the cellular pathobiology of L-serine deficiency (L-セリン欠乏による細胞病理生物学に関する研究)			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	古屋 茂樹
	副 査	九州大学	教授	白石 文秀
	副 査	九州大学	准教授	片倉 喜範

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

可欠アミノ酸に属する L-セリンは、生体内で解糖系中間体である 3-phosphoglycerate からリン酸化経路と呼ばれる 3 段階の酵素反応によって *de novo* 合成される。同経路の初発酵素である 3-Phosphoglycerate dehydrogenase (Phgdh) の遺伝子を相同組換えにより不活性化した knockout (KO) マウスは、重篤な小頭症と全身性発達遅滞を伴い、胎生 13.5 日以降に致死となる。ヒトにおいても PHGDH 遺伝子変異が重篤な神経発達障害を呈する遺伝性セリン合成不全疾患および、死産または新生児致死に至る Neu-Laxova 症候群の原因であることが報告され、哺乳類個体発生における L-セリン *de novo* 合成の必須性が示された。しかし、L-セリン合成不全による重篤な発達不全と致死表現型を支配する分子機序の詳細は未だ十分に解明されていない。本研究は、L-セリン欠乏によって惹起されるストレス・細胞障害性発症の分子機序解明を目的としている。

まず、L-セリン合成能を欠損している *Phgdh* KO 胚由来線維芽細胞 (KO-MEF) の DNA マイクロアレイを用いた L-セリン添加および制限培養条件下での網羅的遺伝子発現比較解析により、L-セリン制限時のアポトーシス/細胞死、統合ストレス経路、炎症反応等の gene ontology (GO) カテゴリーに含まれる遺伝子群の発現増加と、コレステロール合成/代謝系遺伝子群の発現抑制を見いだしている。発現増加遺伝子には細胞内酸化ストレスに応答して炎症反応を誘発させる Thioredoxin-interacting protein (*Txnip*) と炎症反応を進行させるプロスタグランジン類を産生する酵素 Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (*Ptgs2*) が含まれていた。後者は炎症時に誘導される Cyclooxygenase 2 (COX2) として知られている。これらの炎症関連分子は mRNA だけでなくタンパク質も L-セリン制限条件により有意に増加していることを明らかにしている。

これらの遺伝子発現プロファイルより、L-セリン欠乏が酸化ストレスを惹起し、その下流で炎症反応を介したストレス・細胞傷害性を誘導する可能性を想定し、酸化ストレス-炎症反応の連関を解析している。L-セリン制限条件下の KO-MEF では細胞内レドックス消去を担う抗酸化分子グルタチオンの有意な総量減少と、活性酸素種産生細胞の有意な増加を確認している。また、L-セリン制限条件では KO-MEF の酸化ストレス脆弱性が亢進し、同添加条件に比べて低濃度の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> で細胞生存率が低下することを見いだしている。還元型グルタチオンの前駆体であり抗酸化作用を持つ *N*-acetyl-L-cysteine (NAC) を添加すると、L-セリン制限により誘導される *Txnip* および *Ptgs2* の mRNA 発現誘導が抑制されるだけでなく、細胞生存率が改善することを示している。さらに L-セリン制限条件における *Txnip* および *Ptgs2* の発現誘導機構について解析し、アミノ酸欠乏により転写能が活性化され、統合ストレス経路における遺伝子発現制御で中心的役割を担う転写因子 *Atf4* が両遺伝子の誘導に関与しないことを明らかにすることで、既知のアミノ酸欠乏による統合ストレス経路を介した転写応答とは異なる制御機序の関与が示唆されている。

以上要するに、本研究は L-セリン欠乏が惹起するストレス・細胞傷害性にかかわる機序の一端として、酸化ストレスと炎症反応の連携が関与するとの細胞レベルでの新規な知見を見いだしたものであり、システム生物学ならびに細胞病理生物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。