

哺乳類における D 型アミノ酸の生理機能

徳 久 幸 子*¹

D-Amino Acids in Mammals: Presence and Functions

Sachiko TOKUHISA*¹

はじめに

グリシン以外のアミノ酸は α 位の炭素が不整炭素であるため、L-型と D-型の光学異性体が存在する。一般の有機化学反応でアミノ酸を合成すると、L-型と D-型の等量混合物（ラセミ体という）が得られる。しかし生物体は両者を厳密に区別して生合成したり、分解したりしている。生物が合成するたんぱく質は L-アミノ酸のみで構成されている。太陽系に地球が生まれ種々の化合物が合成され始めたときは、L-アミノ酸と D-アミノ酸は等量存在していたが、36 億年の生命の歴史において L-型を優先的に利用するようになったと考えられている。このことを反映しているのであろうか、地球上に初期に出現した生物ほど多くの D-アミノ酸を多く含有している。細菌では遊離アミノ酸の 30~50%が D 型であるが、古細菌、真性粘菌と順次少なくなる。タコ・イカ・二枚貝などの軟体動物、エビなどの甲殻類、チョウ・ガなどの昆虫にも少なからず D-アミノ酸が存在するが、哺乳類ではさらに少なく、脳その他に偏在している。

D-アミノ酸は分析法の発達に伴い含量の多いものから発見されてきたので、最初は D-アミノ酸は天然には無いものとされ「非天然型」と呼ばれていた。次いで「細菌の細胞壁を構成するペプチドグリカンや微生物が産出する抗生物質などにのみ存在する。」さらに「下等動物には存在するが、哺乳動物には存在しない。」とされた。近年では哺乳動物においても D-アミノ酸（特に遊離型のアミノ酸）が生理機能に積極的な役割を果たしていると考えられるようになった¹⁻³⁾。

1990 年ごろまでに明らかにされた、D-アミノ酸の味・代謝などについては既に本学紀要 25 巻（1994）で述べたので、本稿ではその後明らかにされた哺乳動物およびヒトにおける D-アミノ酸の生理作用あるいはその可能性について記す。本稿は本学の分野の異なる諸氏にも読んで頂けるよう心して書いた心算である。

哺乳類における D 型アミノ酸の生理機能

分析機器、特に高速液体クロマトグラフィー（HPLC）の進歩により、ごく少量の D-アミノ酸の定量が可能となった。一方、抗体を利用して D 型アミノ酸の動物組織中の局在を調べる方法が開発された。目的物質に対する抗体を作成し、抗体に蛍光物質などで標識しておく（標識抗体という）。これを動物の組織片に添加すると目的物質は標識抗体と結合するので、顕微鏡でその部位を観察することができる。このような方法を免疫組織化学的方法と呼んでいる。

D-アスパラギン酸（Asp）

(1) 遊離型 D-Asp とラット各組織の機能

Lee らは D-Asp に対する抗体を調製して、免疫組織化学的に D-Asp のラット各組織や細胞における局在性を調べ、D-Asp の生理機能を推定した⁴⁾。

松果体：D-Asp はメラトニン分泌を抑制する

メラトニンはトリプトファンから松果体で合成・分泌される神経伝達物質である。その分泌量はほぼ 24 時間周期で高低が繰り返され、生体の 1 日周期のリズム（サーカディアンリズムという）を作っているもっとも重要な物質である。分泌量が多いと生体は睡眠など夜の体勢に、少ないと活動すなわち昼の体勢に入る。その合成は光によって調節され、暗いと合成が高まり、光を浴びると低下する。D-Asp は松果体の中でも特にメラトニンを合成・分泌している細胞（実質細胞）に局在している⁵⁾。実質細胞の初代培養系をノルエピネフィリンで刺激するとメラトニン分泌が亢進するが、D-Asp を加えるとその亢進が抑制される⁶⁾。そこで、松果体ではノルエピネフィリンによってメラトニンと D-Asp の放出が亢進され、この D-Asp が亢進したメラトニン分泌を抑制している可能性があると考えた。

下垂体：D-Asp はプロラクチン分泌を促進する

プロラクチンは脳下垂体前葉で合成・分泌され、乳腺

*¹ 生化学研究室, 女子栄養大学: Laboratory of Biochemistry, Kagawa Nutrition University

発育および乳汁分泌作用があるホルモンである。D-Asp は下垂体前葉のプロラクチン産生細胞に局在している⁷⁾。ラット下垂体由来のプロラクチンを合成・産生する細胞株 (GH3 細胞) を甲状腺刺激ホルモンで刺激するとプロラクチン分泌が亢進するが、D-Asp を加えるとその亢進が増強される。また、この細胞の培養中に D-Asp が増加した⁸⁾。さらに下垂体の単離細胞や組織片においても同様の現象が観察された^{9, 10)}。したがって下垂体プロラクチン産生細胞で D-Asp が生合成され、プロラクチンの分泌を制御している可能性がある。

精巣：D-Asp はテストステロン分泌を促進する

テストステロンは精巣から分泌される代表的な男性ホルモンであり、ライディッヒ細胞と呼ばれる細胞で合成・分泌される。D-Asp は成熟ラットの精巣の、成熟して鞭毛を有するようになった後期精子細胞の細胞質に局在している¹¹⁾。また、精巣の静脈血は他の部位の静脈血より D-Asp の濃度が高い¹²⁾。また、単離したライディッヒ細胞の初代培養系を性腺刺激ホルモンで刺激するとテストステロンの合成・分泌が亢進されるが、D-Asp を加えるとその亢進が増強される¹³⁾。

テストステロンがライディッヒ細胞で合成されるには、原料であるコレステロールが細胞内のミトコンドリア内へ入る必要がある。この運搬はある種のたんぱく質 (steroidogenic acute regulatory protein) が促進する。性腺刺激ホルモンはこのたんぱく質の合成を誘導することによってテストステロンの合成・分泌を促進する。ライディッヒ細胞に D-Asp を加えると、このたんぱく質の mRNA およびたんぱく質が増加した¹⁴⁾。以上のことから、精子細胞で生成された D-Asp がライディッヒ細胞に取り込まれてテストステロンの合成・分泌を促進する。テストステロンはフィードバックして精子の成熟を促すという機構が考えられる。

副腎、脳：D-Asp は組織の分化・成熟に関与している

一般に D-Asp は胎児期や生後の初期には中枢神経系に主に認められるが、生後から成熟期にかけては神経内分泌や内分泌器官に高濃度に認められる。副腎皮質においては D-Asp は、3 週齢で副腎皮質の内層 (網状帯と束状帯；糖質代謝に関与するホルモンを合成・分泌) に増加し、6 週齢で副腎皮質の外層 (球状帯；ミネラル代謝に関与するホルモンを合成・分泌) に増加する¹⁵⁾。脳においては、局在部位が神経芽細胞のなかで細胞質から軸索へと成長・分化とともに変化する¹⁶⁾。このように成長過程の特定の時期に特定の細胞群に局在することは、この物質が組織の分化・成熟に関与していることを示唆している。

(2) D-Asp 含有たんぱく質と老化関連疾患

動物が生合成するたんぱく質は L 型アミノ酸のみから構成されている。間違えて D 型アミノ酸が組み込まれる可能性はまず無い。たんぱく質の生合成に関与している酵素は厳密に D 型と L 型を区別して働くからであ

る。しかしながら、ヒトの身体を構成しているたんぱく質中にも D-Asp が見つかった。老化組織に多く蓄積していることから、老化や疾病との関連が研究されている。

眼の水晶体中の D-Asp は白内障の一原因

水晶体に特異的な水溶性たんぱく質を総称してクリスタリンと呼ぶ。分子量や等電点などの物理化学的・生化学的性質から、 α -A-, α -B-, β -, γ -クリスタリンに分類されている。ヒトの水晶体に加齢とともに D-Asp が増加することが解っていたが¹⁷⁾、80 歳のヒトの水晶体をホモジナイズし、電気泳動、加水分解、高速液体クロマト、質量分析、プロテインシーケンサーを駆使してさらに詳細に調べると、 α -A-クリスタリンの 151 および 58 番目の¹⁸⁾、 α -B-クリスタリンの 36 および 62 番目の Asp が D-型に変換していることが解った¹⁹⁾。一部のアミノ酸が D-に変換しただけでも、元のたんぱく質とは立体構造が著しく異なるものとなる。これがたんぱく質の不溶化、凝集を引き起こして白内障の原因の一つとなると考えられる。

アルツハイマー病患者の脳には D-Asp が存在する

一定の性質 (枝分かれのないたんぱく質繊維で、 β 折りたたみ構造をとる) を持つたんぱく質をアミロイドと呼ぶが、アルツハイマー病やダウン症候群の髄膜血管に沈着しているアミロイドは β -たんぱく質と名づけられ、アミノ酸 40~42 からなる。 β -たんぱく質の沈着を老人斑という。ヒトのミエリン (神経軸索を取り巻いている膜系) に D-Asp や D-セリン (Ser) が存在することは既に見出されていたが^{20, 21)}、さらに、アルツハイマー病患者の脳から得た β -たんぱく質の 1 および 7 番目の Asp が D 型に変換していることが認められた²²⁾。また、種々の位置に D-Asp を含む β -たんぱく質を合成して、その性質を調べたところ、23 番目に D-Asp を含むものは凝集しやすく、神経細胞を損傷しやすいことが示された²³⁾。

高齢者の顔の皮膚に D-Asp が存在する

D- β -Asp 含有たんぱく質の、ヒトの皮膚における存在を免疫化学的方法によって調べた。その結果、80 歳代のヒトの顔の皮膚には存在したが、腹部の皮膚や、幼児の顔の皮膚には存在しなかった²⁴⁻²⁶⁾。これは紫外線が D- β -Asp の生成を促進していることを示している。

歯、骨、動脈壁、靱帯にも D-Asp が存在する

上記のほか、歯²⁷⁻³⁰⁾、骨^{31, 32)}、動脈壁³³⁾、靱帯³⁴⁾ などにも加齢に伴ってたんぱく質中に D-Asp が増加することが示された。

(3) D-Asp 含有たんぱく質を分解する酵素が生体にある

このようにたんぱく質中の L-Asp は、自然に、さらに紫外線や酸化的ストレスにより加速されて D 型に変換して組織内に蓄積し、種々の病因となることが認められている。木野内らは生体にはこの D-Asp 含有たんぱく

質を認識して分解する酵素が存在するのではないかと考えた。そのような酵素の活性測定法を開発して、ウサギの肝臓、腎臓、脾臓にその活性を認め、その酵素に DAEP (D-aspartyl endopeptidase) と命名した³⁵⁾。その酵素活性測定法は次のようなものである。基質として [サクシニル基-D-Asp-メチルクマリルアミド] (蛍光無い) を合成した。これに [D-Asp 含有たんぱく質分解酵素] が働くと [メチルクマリルアミド] (蛍光有り) を生成するので、その蛍光を測定するものである。この酵素は大腸菌、酵母、線虫など短寿命の生物には見出されなかった。長寿命の生物は体内に自然に蓄積する有害物質を排除する能力を身に付けるようになったのであろう。

D-セリン (Ser)

統合失調症の薬の補助薬としてのD-Serの可能性

高等動物の中樞神経系における神経伝達物質の一つにグルタミン酸がある。細胞膜にはグルタミン酸を結合してそのシグナルを細胞内に伝達するグルタミン酸受容体が存在し、記憶や学習などの脳の高次機能に関与している。この受容体には構造やシグナル伝達機構の異なるものがいくつかあるが、その中の一つは N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) によって活性化されるので、NMDA 受容体と呼ばれている。NMDA 受容体にはグルタミン酸が結合する部位のほかにグリシン結合部位と名づけられた部位があって、神経伝達にはここにグリシンが結合することが必要である。さらに、このグリシン結合部位にグリシンの他に D-Ser, D-Ala なども結合することが明らかにされている。

統合失調症 (以前は精神分裂症と呼ばれた) の病因の一つは NMDA 受容体の機能障害であること³⁶⁾、D-Ser がラット脳中に存在すること³⁷⁻³⁹⁾、D-Ser が NMDA-受容体の内因性の調節因子であるらしいこと⁴⁰⁾、などが次々と明らかにされた。そこで、D-Ser と統合失調症状、アルコールの作用、痴呆モデル動物の学習能、虚血性神経細胞死などとの関係に関して多くの研究が行われた。PubMed で D-Serine ; schizophrenia ; review のキーワードで検索するとレビューだけで 24 報 (1999~2007) がヒットするほどである。

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者が関与するとされており、発症と病態のメカニズムはまだ仮説の域をでていないが、D-Ser が抗統合失調症薬として有望であることを示す研究結果に次のようなものがある。台湾人の統合失調症患者 28 人に抗精神病薬とともに D-Ser を投与したところ、D-Ser 非投与者より症状が改善された⁴¹⁾。統合失調症患者 42 人の血清 D-Ser 濃度は健常者より低い⁴²⁾。遺伝レベルの研究では、Chumakov らはフランス系カナダ人、ロシア人の統合失調症患者それぞれ 213 および 183 人の遺伝子を健常人と比べて、13 番目の染色体の q34 位置 (13q34) に異常を見つけてその遺伝子に G72 と名づけた⁴³⁾。この遺伝子から合成されるたんぱく質 (発現物質という) は D-ア

ミノ酸オキシダーゼという酵素 (D-Ser も酸化されてしまう) を活性化することも解った。すなわち、[G72 という遺伝子を持つヒト→これに由来するたんぱく質を作る→このたんぱく質は D-アミノ酸オキシダーゼを活性化→D-Ser が減少する→NMDA 受容体機能低下→統合失調症] という仮説を裏付けるものである。

D-アラニン (Ala)

統合失調症の薬の補助薬としての D-Ala の可能性

D-Ser のところで述べた如く、NMDA-受容体のグリシン結合部位に結合する化合物の一つである D-Ser が統合失調症の治療薬の補助薬として有効であったので、同じくグリシン結合部位に結合する D-Ala も有効である可能性が予測され、臨床試験が行われた。32 名の患者に D-Ala を 100mg/kg/日、6 週間、抗精神病薬とともに投与したところ D-Ala を与えた方がより改善が見られた。このことは、統合失調症においては NMDA 神経伝達が低下しているという仮説を支持するものであり、その薬物療法には NMDA 機能亢進薬が有望であることを示している⁴⁴⁾。

血糖の調節に D-Ala が関与している可能性

マウスの D-Ala に対する抗体を作成して、免疫組織化学的に膵臓における D-Ala の局在を調べた。D-Ala がインスリン産生細胞である膵臓ランゲルハンス島 β -細胞に存在することを、哺乳動物において始めて明らかにした。さらに、D-Ala はインスリンとは共存していたが、他のホルモン (グルカゴン、ソマトスタチン、パンクレアティック・ポリペプチド) とは殆ど共存していなかった。このことは D-Ala が血糖値の調節に関与している可能性を示唆している⁴⁵⁾。

概日リズムに D-Ala が関与している可能性

地球上の殆どの生物の生理状態は、地球の運行にならうように、1 日、1 月、1 年と言うような周期を持って変動している。外界から隔絶された環境で自由に生活させると、ヒトは 25 時間、ラットは 24.5 時間、マウスは 23.5 時間の周期に落ち着く。これを概日リズムあるいはサーカディアン・リズムといい、生体が本来持っている周期である。しかしながら、現在地球は 24 時間周期で 1 日を繰り返しているの、生物は光や社会的環境によって、24 時間周期に自らの時計を調整している。ホルモンを始めさまざまな生体成分濃度もこの周期で変動するが、覚醒と睡眠に関係するメラトニンがサーカディアン・リズムの研究にしばしば利用される。血中 (松果体) メラトニン濃度が減少すると覚醒し、増加すると眠くなる。

ラット脳下垂体前葉の D-Ala 濃度のリズムを調べたところ、明暗に関係なく、活動期 (餌を食べられるようにした時間帯) に低くなった。一方、松果体のメラトニン濃度は活動期、非活動期に関係なく、明るいとき (9~17 時) に低くなった。これは D-Ala が活動によって調整される概日リズムと関連することを示すものである⁴⁶⁾。

生物界における D 型アミノ酸の存在

以上は近年急速に明らかにされてきた哺乳動物における D 型アミノ酸の生理機能について述べた。以下には既に広く知られている D 型アミノ酸の天然における存在および起源について少し記しておく。

(1) 細菌, 植物, 哺乳類以外の動物

細菌, 植物, 哺乳類以外の動物には, 遊離型およびペプチド鎖の構成成分として D 型アミノ酸が広く存在することが古くから知られている。

細菌類: 細菌の細胞壁は糖鎖 (アミノ糖とウロン酸が多数結合したもの) とペプチド鎖 (アミノ酸が多数結合したもの) が網目状に結合したもの (ペプチドグリカンという) であるが, このペプチド鎖の中に D 型アミノ酸が含まれている。

細菌・放線菌・カビ類の生産するペプチド系抗生物質: D-アミノ酸が含まれている。

毒キノコ: タマゴテングタケの毒成分はペプチド化合物で D-スレオニンが含まれている。

納豆: 納豆の糸は D-グルタミン酸が多数結合したものである。

植物: 高等植物界にもかなり普遍的に D-アミノ酸が分布しており, マメ科植物芽生え中には N-マロニル D-Ala が検出されている。

哺乳動物以外の動物: 環形動物のミミズ, 節足動物のカメムシ, チョウ, ガ, ハチなどの昆虫類に遊離型の D-Ser, D-Ala が存在する。我々が食品として利用する海産二枚貝・タコ・イカなどの軟体動物, エビなどの甲殻類にも D 型アミノ酸 (特に D-Ala) が含まれている。両性類のカエルの皮膚から分泌されるモルヒネ様の鎮痛作用を持つペプチド (デルモルフィンという) は D-Ala を含む。

(2) 哺乳動物

上記のように, 歯のエナメル質, 眼の水晶体, 脳, 赤血球膜などのたんぱく質の構成要素である Asp が年令とともにラセミ化が進み D 型になることが知られていたが, 近年遊離型の D 型アミノ酸の存在が明らかにされてきたので本稿のテーマとした。

生物体内の D 型アミノ酸の起源

生物体内の D 型アミノ酸は, 1) 体外の D-アミノ酸を取り込んだものか, 2) 体内で L 型アミノ酸から変換したものか, あるいは 3) 他の D 型アミノ酸 (主に D-Ala) を使って生成したものかである。2) は酵素が無くてもゆっくりと進行するが, 酵素があれば速やかに起こる。酵素には遊離型の L 型アミノ酸を D-型に変換するラセマーゼと, ペプチド中の D 型アミノ酸を変換するイソメラーゼがある。3) は酵素 D-Ala アミノトランスフェラーゼが必要である。

(1) 体外からの取り込み

海産二枚貝などは D 型アミノ酸 (特に D-Ala) を海中から取り込み, 濃縮して浸透圧調節に利用しているのではないかと考えられたこともあったが⁴⁷⁾, 近年海産二枚貝中に D-Ala ラセマーゼ活性が検出されたので⁴⁸⁾, 海水からの取り込みと酵素による変換との両方の可能性がある。

(2) L 型アミノ酸からの変換

アミノ酸は D 型と L 型が 1:1 に混在している状態 (ラセミ体という) がエネルギー的に安定で, どちらかが多い状態では多い方が少ない方へと変化して, 1:1 に近づこうとする (ラセミ化という)。ラセミ化は自然に (非酵素的に) も起こるが非常に遅い。ラセマーゼ (遊離型のアミノ酸のラセミ化を触媒する酵素) やイソメラーゼ (ペプチド鎖中のアミノ酸のラセミ化を触媒する酵素) が存在すれば速く進行する。非酵素的なラセミ化の速度は, アミノ酸の種類 (Asp は最もラセミ化を受けやすいアミノ酸である), 置かれた環境 (温度, pH など), 遊離アミノ酸か, たんぱく質の構成成分か, などにより異なる。

非酵素的ラセミ化

生物体内で遊離の D 型アミノ酸が非酵素的に生成したとしても, 生成の速度より生物体の出納速度のほうが速いので検出できないであろう。代謝の遅い老化たんぱく質中の D 型アミノ酸は非酵素的に生成したものと考えられている。動物がたんぱく質を生合成するとき D 型アミノ酸が組み込まれる可能性はまず無いからである。アミノ酸の中でも Asp は分子の形からもっともラセミ化を受けやすいアミノ酸である。遊離型よりたんぱく質中の Asp のほうがさらにラセミ化され易い。その理由は次のように説明されている。

アミノ酸はアミノ基 ($-NH_2$) の向きにより L 型と D 型の区別がある。Asp は酸性アミノ酸でカルボキシル基 ($-COOH$) を 2 つ持つ。各々を α および β カルボキシル基とよぶ。Asp がたんぱく質に組み込まれるとき, L 型の $-NH_2$ と α 位の $-COOH$ が使われてペプチド結合 ($-CONH-$) ができる (L- α 型という)。眼の水晶体に存在する透明なたんぱく質をクリスタリンという。クリスタリン中の Asp は生成時には L- α 型であるが, 次のような反応の結果, L- β 型, D- α 型, D- β 型が混在することとなり, たんぱく質の立体構造を変え, 不溶性になると説明されている^{49, 50)}。

L- α 型 Asp のもう一方の (ペプチド結合に使われていない) β 位のカルボキシル基がペプチド結合の $-NH-$ と脱水して五角形の部分が生じる (L-サクシニミド中間体という)。L-サクシニミド中間体の一部は加水分解を受けるが, 先に脱水したところが加水分解すれば, 元の L- α 型に戻るが, もともとはペプチド結合していたところが加水分解すれば, L- β 型となる。一方, L-サクシニミド中間体はラセミ化を受けて D-サクシニミド中間体

となる。この平衡は D-型の方に偏っている。D-サクシニミド中間体は加水分解を受けて、D- α 型と D- β 型となる。つまり、[L- α 型] は [L-サクシニミド中間体] となる。加水分解の結果 [L- α 型] と [L- β 型] が出来る。一方、[L-サクシニミド中間体] はラセミ化を受けて [D-サクシニミド中間体] となる。これは加水分解の結果 [D- α 型] と [D- β 型] ができる。

眼水晶体および歯のたんぱく質中の L-Asp のラセミ化速度はそれぞれ、 $1.25 \times 10(-3)/y^{17)}$ および $8.29 \times 10(-4)/y^{29)}$ と測定された。後者は年齢不明の遺体の年齢推定に利用された⁵¹⁾。

非酵素的ラセミ化として、食品の加工や調理中におけるラセミ化が挙げられる。ローストしたパン・肉などに D-Asp が検出される。カゼインを 230°C、20 分加熱するとラセミ化が 62% 進んだ⁵²⁾。

ラセマーゼによるラセミ化

ほとんどの細菌には D-アミノ酸 (特に D-Ala, D-Glu) が含まれている。細菌はラセマーゼを有しており、これによって L 型アミノ酸を D 型アミノ酸に変換している。発酵食品 (チーズ、ヨーグルト、味噌、ぶどう酒など) には D-アミノ酸が含まれているが⁵³⁾、微生物由来のものである。ラセマーゼは初めは微生物に存在すると考えられたが、近年、Asp ラセマーゼが二枚貝から⁵⁴⁾、Ala ラセマーゼが二枚貝⁵⁵⁾ およびアメリカザリガニ⁵⁶⁾ から精製された。さらに Ser ラセマーゼがマウス脳⁵⁷⁾・ヒト胎盤⁵⁸⁾ からと微生物以外から次々と検出された。上記の哺乳動物における遊離型 D 型アミノ酸はラセマーゼによって生成したものであろうと考えられている。

イソメラーゼによるラセミ化

南アフリカの木登りカエルが作るモルヒネ様の鎮痛作用をもつペプチド (デルモルフィンという) には D-Ala が含まれているが、デルモルフィンの mRNA には D-Ala を指定する塩基配列は含まれていない。L-Ala の入ったペプチドが作られ次いで L-Ala が酵素 (イソメラーゼという) によって D-Ala に変換されることが示された⁵⁹⁾。

(3) 他の D 型アミノ酸を使って α ケト酸から生成

例えば、D-Ala + α ケトグルタル酸 $\rightarrow$ ピルビン酸 + D-グルタミン酸のような反応で、D-Ala を使って他の D 型アミノ酸を生成する酵素 (D-Ala アミノトランスフェラーゼ) が細菌類や植物に存在する。これらの生物はこのような方法で種々の D 型アミノ酸を生成していると考えられる。

哺乳動物体内における D-アミノ酸の代謝

哺乳動物が外から体内に取り込んだり、体内で生合成する D 型アミノ酸の量は通常非常に少ない。また、D 型アミノ酸が強い毒性を示すこともない。それにもかかわらず動物が D 型アミノ酸を代謝する酵素を高活性に備えている理由は謎である。

(1) D-アミノ酸オキシダーゼによる脱アミノ化

諸組織、特に肝・腎には高活性の D-アミノ酸オキシダーゼ [EC. 1.4.3.3] が存在している。この酵素は 1 種類であるにもかかわらず、ほとんどの種類の D 型アミノ酸に働き、アミノ基を他の化合物に転移する。D 型アミノ酸は対応する α ケト酸になる。 α ケト酸は通常の有機酸の代謝系に合流し、解糖系や TCA サイクルに入る。この酵素によって脱アミノされない D-グルタミン酸 (Glu) や D-アルギニン (Arg) はそれぞれ、D-グルタミンシクラゼ [EC. 4.2.1.48] や D-アルギナーゼ [EC. 3.5.3.10] によって代謝される。



(2) アミノ基転移酵素による再アミノ化

ある L 型アミノ酸が不足している場合は、そのアミノ酸に対応する α ケト酸 (D 型アミノ酸に D-アミノ酸オキシダーゼが働いて生成する) に各アミノ酸に特有のアミノ基転移酵素が働き、対応する L 型アミノ酸を作る。動物種によって異なるが、ほとんどの種類の L 型アミノ酸を作るアミノ基転移酵素が存在するが、L-リジンと L-スレオニンを作るアミノ基転移酵素は存在しない。

(3) D 型アミノ酸は L 型アミノ酸の代わりになるか

必須アミノ酸のうちの 1 種類のアミノ酸を D 型とした飼料を成長期の動物に与えて、体重が増加した場合は、その動物がそのアミノ酸の D 型を L 型に変換できることを示している。ラットは D-Met, Phe, His, Trp, Leu, Val, Tyr, Arg を L 型に変換できる⁶⁰⁾。また、ヒトでは成長実験を行うことが出来ないで、必須アミノ酸のうちの 1 種類を D 型とした食餌をヒトに与えて、窒素平衡が維持できた場合は、ヒトがそのアミノ酸の D を L 型に変換できることを示している。ヒトは D-Met, Phe を L 型に変換できる。しかし、このような実験は同時に摂取するアミノ酸や他の栄養素の量、動物の年齢などに影響を受け易く、筆者の研究室でも行っているが必ずしも一致した結果が得られない。どの動物種がどの D 型アミノ酸をどのくらい L 型に変換できるかは D-アミノ酸オキシダーゼの基質特異性とアミノ基転移酵素の存否によるが、さらに代謝中間体である α ケト酸の毒性なども関係する。

ま と め

哺乳動物における D 型アミノ酸の代謝に関する研究は、第二次大戦前後に、アミノ酸を化学合成し (ラセミ体が出来る) 動物の飼料や人の栄養剤として利用しようというドイツにおける発想があり、多くの研究が行われた。しかし、1960 年代になって微生物を用いた L 型アミノ酸合成法の特許のラッシュがあり、D 型アミノ酸を哺乳動物に与える必要は無くなった。一方、合成法の進歩により純粋な D 型アミノ酸が入手出来るようにな

り、分析法の発達によりごく少量の D 型アミノ酸の定量が可能になったことで、より詳細な研究が続けられてきた。1970 年代には薬害問題をきっかけに、それまで動物で得られた実験結果を人間に外挿して結論付けていたことを、人間で実験を行うことの重要性が見直された。今まで放射性同位元素を使って動物で行っていた実験を、本研究室では安定同位元素を使ってヒトで行うことを試みた。D 型フェニルアラニンの重水素標識体を合成して、人体において D 型フェニルアラニンが L 型に変換することを初めて証明した⁶¹⁻⁶⁴⁾。これらの研究の延長線上に、今まで異物として捉えられてきた D 型アミノ酸が哺乳動物において積極的な生理的役割を果たしている可能性を示唆する今日の研究がある。

引用文献

- Honnma H: D-aspartate in the mammalian body. *Viva origino.*, **30**, 204-215 (2002)
- 本間 浩：生体内の D-アスパラギン酸の役割 (ビタミン学会第56回大会シンポジウム講演). ビタミン, **79**, 285-294 (2005)
- 木野内忠稔, 藤井紀子, 本間 浩：哺乳類における D-アミノ酸の動態とその重要性—遊離型 D-アミノ酸と D-アミノ酸含有蛋白質の代謝とその制御機構. 蛋白質・核酸・酵素, **50**, 453-460 (2005)
- Lee JA, Homma H, Sakai K, Fukushima T, Santa T, Tashiro K, Iwatsubo T, Yoshikawa M, Imai K: Immunohistochemical localization of D-aspartate in the rat pineal gland. *Biochem Biophys Res Commun.*, **231**, 505-508 (1997)
- Hamase K, Homma H, Takigawa Y, Fukushima T, Santa T, Imai K: Regional distribution and postnatal changes of D-amino acids in rat brain. *Biochim Biophys Acta.*, **1334**, 214-222 (1997)
- Takigawa Y, Homma H, Lee JA, Fukushima T, Santa T, Iwatsubo T, Imai K: D-aspartate uptake into cultured rat pinealocytes and the concomitant effect on L-aspartate levels and melatonin secretion. *Biochem Biophys Res Commun.*, **248**, 641-647 (1998)
- Lee JA, Homma H, Tashiro K, Iwatsubo T, Imai K: D-aspartate localization in the rat pituitary gland and retina. *Brain Res.*, **838**, 193-199 (1999)
- Long Z, Lee JA, Okamoto T, Nimura N, Imai K, Homma H: d-Aspartate in a prolactin-secreting clonal strain of rat pituitary tumor cells (GH(3)). *Biochem Biophys Res Commun.*, **276**, 1143-1147 (2000)
- D'Aniello G, Tolino A, D'Aniello A, Errico F, Fisher GH, Di Fiore MM: The role of D-aspartic acid and N-methyl-D-aspartic acid in the regulation of prolactin release. *Endocrinology*, **141**, 3862-3870 (2000)
- Pampillo M, Theas S, Duvilanski B, Seilicovich A, Lasaga M: Effect of ionotropic and metabotropic glutamate agonists and D-aspartate on prolactin release from anterior pituitary cells. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.*, **110**, 138-144 (2002)
- Sakai K, Homma H, Lee JA, Fukushima T, Santa T, Tashiro K, Iwatsubo T, Imai K: Localization of D-aspartic acid in elongate spermatids in rat testis. *Arch Biochem Biophys.*, **351**, 96-105 (1998)
- D'Aniello A, Di Fiore MM, D'Aniello G, Colin FE, Lewis G, Setchell BP: Secretion of D-aspartic acid by the rat testis and its role in endocrinology of the testis and spermatogenesis. *FEBS Lett.*, **436**, 23-27 (1998)
- Nagata Y, Homma H, Lee JA, Imai K: D-Aspartate stimulation of testosterone synthesis in rat Leydig cells. *FEBS Lett.*, **444**, 160-164 (1999)
- Nagata Y, Homma H, Matsumoto M, Imai K: Stimulation of steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene expression by D-aspartate in rat Leydig cells. *FEBS Lett.*, **454**, 317-320 (1999)
- Sakai K, Homma H, Lee JA, Fukushima T, Santa T, Tashiro K, Iwatsubo T, Imai K: D-aspartic acid localization during postnatal development of rat adrenal gland. *Biochem Biophys Res Commun.*, **235**, 433-436 (1997)
- Sakai K, Homma H, Lee JA, Fukushima T, Santa T, Tashiro K, Iwatsubo T, Imai K: Emergence of D-aspartic acid in the differentiating neurons of the rat central nervous system. *Brain Res.*, **808**, 65-71 (1998)
- Masters PM, Bada JL, Zigler JS Jr.: Aspartic acid racemisation in the human lens during ageing and in cataract formation. *Nature*, **268**, 71-73 (1977)
- Fujii N, Satoh K, Harada K, Ishibashi Y: Simultaneous stereoinversion and isomerization at specific aspartic acid residues in alpha A-crystallin from human lens. *J Biochem-Tokyo*, **116**, 663-669 (1994)
- Fujii N, Ishibashi Y, Satoh K, Fujino M, Harada K: Simultaneous racemization and isomerization at specific aspartic acid residues in alpha B-crystallin from the aged human lens. *Biochim Biophys Acta.*, **1204**, 157-163 (1994)
- Shapira R, Chou CH: Differential racemization of aspartate and serine in human myelin basic protein. *Biochem Biophys Res Commun.*, **146**, 1342-1349 (1987)
- Fisher GH, Garcia NM, Payan IL, Cadilla-Perezrrios R, Sheremata WA, Man EH: D-aspartic acid in purified myelin and myelin basic protein. *Biochem Biophys Res Commun.*, **135**, 683-687 (1986)
- Roher AE, Lowenson JD, Clarke S, Wolkow C, Wang R, Cotter RJ, Reardon IM, Zurcher-Neely HA, Heinrikson RL, Ball MJ, et al.: Structural alterations in the peptide backbone of beta-amyloid core protein may account for its deposition and stability in Alzheimer's disease. 1: *J Biol Chem.*, **268**, 3072-3083 (1993)
- Tomiyama T, Asano S, Furiya Y, Shirasawa T, Endo N, Mori: Racemization of Asp23 residue affects the aggregation properties of Alzheimer amyloid beta protein analogues. *J Biol Chem.*, **269**, 10205-10208 (1994)
- Fujii N, Tajima S, Tanaka N, Fujimoto N, Takata T, Shimo-Oka T: The presence of D-beta-aspartic acid-containing peptides in elastic fibers of sun-damaged skin: a potent marker for ultraviolet-induced skin aging. *Biochem Biophys Res Commun.*, **294**, 1047-1051 (2002)
- Miura Y, Fujimoto N, Komatsu T, Tajima S, Kawada A, Saito T, Fujii N: Immunohistochemical study of chronological and photo-induced aging skins using the antibody raised against D-aspartyl residue-containing peptide. *J Cutan Pathol.*, **31**, 51-56 (2004)
- Ritz-Timme S, Laumeier I, Collins MJ: Aspartic acid

- racemization: evidence for marked longevity of elastin in human skin. *Br J Dermatol.*, **149**, 951-959 (2003)
- 27) Masters PM: Stereochemically altered noncollagenous protein from human dentin. *Calcif Tissue Int.*, **35**, 43-47 (1983)
 - 28) Ohtani S, Matsushima Y, Ohhira H, Watanabe A: Age-related changes in D-aspartic acid of rat teeth. *Growth Dev Aging.*, **Spring-Summer**; **59**, 55-61 (1995)
 - 29) Helfman PM, Bada JL: Aspartic acid racemization in tooth enamel from living humans. *Proc Natl Acad Sci USA.*, **72**, 2891-2894 (1975)
 - 30) Masuda W, Nouse C, Kitamura C, Terashita M, Noguchi T: D-Aspartic acid in bovine dentine non-collagenous phosphoprotein. *Arch Oral Biol.*, **47**, 75 (2002)
 - 31) Ritz S, Turzynski A, Schutz HW, Hollmann A, Rochholz G: Identification of osteocalcin as a permanent aging constituent of the bone matrix: basis for an accurate age at death determination. *Forensic Sci Int.*, **77**, 13-26 (1996)
 - 32) Cloos PA, Fledelius C: Collagen fragments in urine derived from bone resorption are highly racemized and isomerized: a biological clock of protein aging with clinical potential. *Biochem J.*, **345 Pt 3**, 473-480 (2000)
 - 33) Powell JT, Vine N, Crossman M: On the accumulation of D-aspartate in elastin and other proteins of the ageing aorta. *Atherosclerosis*, **97**, 201-208 (1992)
 - 34) Ritz-Timme S, Laumeier I, Collins M: Age estimation based on aspartic acid racemization in elastin from the yellow ligaments. *Int J Legal Med.*, **117**, 96-101 (2003). Epub Feb 28 (2003)
 - 35) Kinouchi T, Ishiura S, Mabuchi Y, Urakami-Manaka Y, Nishio H, Nishiuchi Y, Tsunemi M, Takada K, Watanabe M, Ikeda M, Matsui H, Tomioka S, Kawahara H, Hamamoto T, Suzuki K, Kagawa Y: Mammalian D-aspartyl endopeptidase: a scavenger for noxious racemized proteins in aging. *Biochem Biophys Res Commun.*, **314**, 730-736 (2004)
 - 36) Nishikawa T, Tani Y, Umino A, Hashimoto A, Hata N, Takashima M, Shirayama Y, Takahashi K: Phencyclidine, NMDA receptor and schizophrenia. *Yakubutsu Seishin Kodo.*, **11**, 65-69. Review. (1991)
 - 37) Hashimoto A, Nishikawa T, Hayashi T, Fujii N, Harada K, Oka T, Takahashi K: The presence of free D-serine in rat brain. *FEBS Lett.*, **296**, 33-36 (1992)
 - 38) Hashimoto A, Nishikawa T, Oka T, Takahashi K: Endogenous D-serine in rat brain: N-methyl-D-aspartate receptor-related distribution and aging. *J Neurochem.*, **60**, 783-786 (1993)
 - 39) Schell MJ, Molliver ME, Snyder SH: D-serine, an endogenous synaptic modulator: localization to astrocytes and glutamate-stimulated release. *Proc Natl Acad Sci USA.*, **92**, 3948-3952 (1995)
 - 40) Salt TE: Modulation of NMDA receptor-mediated responses by glycine and D-serine in the rat thalamus in vivo. *Brain Res.*, **481**, 403-406 (1989)
 - 41) Tsai G, Yang P, Chung LC, Lange N, Coyle JT: D-serine added to antipsychotics for the treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry.*, **44**, 1081-1089 (1998)
 - 42) Hashimoto K, Fukushima T, Shimizu E, Komatsu N, Watanabe H, Shinoda N, Nakazato M, Kumakiri C, Okada S, Hasegawa H, Imai K, Iyo M: Decreased serum levels of D-serine in patients with schizophrenia: evidence in support of the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, **60**, 572-576 (2003)
 - 43) Chumakov I, Blumenfeld M, Guerassimenko O, Cavarec L, Palicio M, Abderrahim H, Bougueleret L, Barry C, Tanaka H, La Rosa P, Puech A, Tahri N, Cohen-Akenine A, Delabrosse S, Lissarrague S, Picard FP, Maurice K, Essieux L, Millasseau P, Grel P, Debailleul V, Simon AM, Caterina D, Dufaure I, Malekzadeh K, Belova M, Luan JJ, Bouillot M, Sambucy JL, Primas G, Saumier M, Boubkiri N, Martin-Saumier S, Nasroune M, Peixoto H, Delaye A, Pinchot V, Bastucci M, Guillou S, Chevillon M, Sainz-Fuertes R, Meguenni S, Aurich-Costa J, Cherif D, Gimalac A, Van Duijn C, Gauvreau D, Ouellette G, Fortier I, Raelson J, Sherbatich T, Riazanskaia N, Rogaev E, Raeymaekers P, Aerssens J, Konings F, Luyten W, Macchiardi F, Sham PC, Straub RE, Weinberger DR, Cohen N, Cohen D: Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA.*, **99**, 13675-13680 (2002). Epub Oct 3 (2002)
 - 44) Tsai GE, Yang P, Chang YC, Chong MY: D-alanine added to antipsychotics for the treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry.*, **59**, 230-234 (2006). Epub Sep 9 (2005)
 - 45) Morikawa A, Hamase K, Ohgusu T, Etoh S, Tanaka H, Koshiishi I, Shoyama Y, Zaitu K: Immunohistochemical localization of D-alanine to beta-cells in rat pancreas. *Biochem Biophys Res Commun.*, **355**, 872-876 (2007). Epub Feb 21 (2007)
 - 46) Morikawa A, Hamase K, Zaitu K: Determination of D-alanine in the rat central nervous system and periphery using column-switching high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem.*, **312**, 66-72 (2003)
 - 47) Preston RL: Comp: Occurrence of D-amino acids in higher organisms: a survey of the distribution of D-amino acids in marine vertebrates. *Biochem Physiol.*, **87B**, 55-62 (1987)
 - 48) 長久英三, 菅野信弘, 横山雄彦: 水産無脊椎動物の代謝産物の有効利用に関する研究—D-アミノ酸— 海洋環境・国際共同研究事業・研究成果・報告書 平成11年～平成13年度 <http://www.pref.iwate.jp/~hp020901/report/text/r05/r05.html>
 - 49) Fujii N, Harada K, Momose Y, Ishii N, Akaboshi M: D-amino acid formation induced by a chiral field within a human lens protein during aging. *Biochem Biophys Res Commun.*, **263**, 322-326 (1999)
 - 50) Fujii N, Takemoto LJ, Momose Y, Matsumoto S, Hiroki K, Akaboshi M: Formation of four isomers at the asp-151 residue of aged human alphaA-crystallin by natural aging. *Biochem Biophys Res Commun.*, **265**, 746-751 (1999)
 - 51) Ohtani S, Yamagishi M, Ogasawara M, and Yamamoto K: Age estimation of two unidentified bodies by amino acid racemization in their teeth. *Bull of Kanagawa Dent Col.*, **18**, 23-27 (1990)
 - 52) Hayase F, Kato H, Fujimaki M: Racemization of Amino Acid Residues in Proteins During Roasting. *Agric Biol Chem.*, **37**, 191-192 (1973)
 - 53) Bruckner H, Hausch M: Gas chromatographic Determination of D-amino acids as Common Constituents of Fermented foods. *Chromatographia*, **28**, 487-492 (1989)

- 54) Abe K, Takahashi S, Muroki Y, Kera Y, Yamada RH: Cloning and expression of the pyridoxal 5'-phosphate-dependent aspartate racemase gene from the bivalve mollusk *Scapharca broughtonii* and characterization of the recombinant enzyme. *J Biochem-Tokyo*, **139**, 235-244 (2006)
- 55) Nomura T, Yamamoto I, Morishita F, Furukawa Y, Matsushima O: Purification and some properties of alanine racemase from a bivalve mollusc *Corbicula japonica*. *J Exp Zool.*, **289**, 1-9 (2001)
- 56) Shibata K, Shirasuna K, Motegi K, Kera Y, Abe H, Yamada R: Purification and properties of alanine racemase from crayfish *Procambarus clarkii*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.*, **126**, 599-608 (2000)
- 57) Wolosker H, Blackshaw S, Snyder SH: Serine racemase: a glial enzyme synthesizing D-serine to regulate glutamate-N-methyl-D-aspartate neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci USA.*, **96**, 13409-13414 (1999)
- 58) Chen Z, Huang W, Srinivas SR, Jones CR, Ganapathy V, Prasad PD: Serine racemase and D-serine transport in human placenta and evidence for a transplacental gradient for D-serine in humans. *J Soc Gynecol Investig.*, **11**, 294-303 (2004)
- 59) Richter K, Egger R, Kreil G: D-alanine in the frog skin peptide dermorphin is derived from L-alanine in the precursor. *Science*, **238**, 200-202 (1987)
- 60) Berg CP: Utilization of D-Amino Acids., Protein and Amino acid Nutrition, (Edited by Alubanes A A.ed.), p.71, Academic Press, New York and London (1959)
- 61) Tokuhisa S, Yoshikawa H, Ichihara S, Baba S: [Studies on phenylalanine metabolism by use of tracer techniques.] -Synthesis and physicochemical features of L-phenylalanine [arom.-d5] *Radioisotopes*, **26**, 630-635 (1977)
- 62) Tokuhisa S, Saisu K, Yoshikawa H, Tsuda T, Morishita T, Baba S: Studies on phenylalanine metabolism by use of tracer techniques. II. Measurement of distribution of L- and D-phenylalanine with their deuterated species. *Chem Pharm Bull-Tokyo*, **26**, 3647-3651 (1978)
- 63) Tokuhisa S, Saisu K, Yoshikawa H, Baba S: Site-specific deuteration of tyrosine and their assay by selective ion monitoring method. *J Nutr Sci Vitaminol-Tokyo*, **26**, 77-85. (1980)
- 64) Tokuhisa S, Saisu K, Naruse K, Yoshikawa H, Baba S: Studies on phenylalanine metabolism by tracer techniques. IV. Biotransformation of D- and L-phenylalanine in man. *Chem Pharm Bull-Tokyo*, **29**, 514-518 (1981)