

## 生体微量元素の作用に着目した脳機能解析と脳疾患の予防

武田 厚司

## Essential Trace Metals and Brain Function

Atsushi TAKEDA

*Department of Medical Biochemistry, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka,  
52-1 Yada, Shizuoka 422-8526, Japan*

(Received June 9, 2004)

Trace metals such as zinc, manganese, and iron are necessary for the growth and function of the brain. The transport of trace metals into the brain is strictly regulated by the brain barrier system, i.e., the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. Trace metals usually serve the function of metalloproteins in neurons and glial cells, while a portion of trace metals exists in the presynaptic vesicles and may be released with neurotransmitters into the synaptic cleft. Zinc and manganese influence the concentration of neurotransmitters in the synaptic cleft, probably *via* the action against neurotransmitter receptors and transporters and ion channels. Zinc may be an inhibitory neuromodulator of glutamate release in the hippocampus, while neuromodulation by manganese might mean functional and toxic aspects in the synapse. Dietary zinc deficiency affects zinc homeostasis in the brain, followed by an enhanced susceptibility to the excitotoxicity of glutamate in the hippocampus. Transferrin may be involved in the physiological transport of iron and manganese into the brain and their utilization there. It is reported that the brain transferrin concentration is decreased in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease and Parkinson's disease and that brain iron metabolism is also altered. The homeostasis of trace metals in the brain is important for brain function and also for the prevention of brain diseases.

**Key words**—essential trace metal; brain function; brain disease; zinc; manganese; iron

## 1. はじめに

ヒトを含め生物の体の95%は水素(H)、炭素(C)、窒素(N)、酸素(O)の4元素で構成されており、残りの5%を構成しているものがミネラルである。ミネラルの中で、人体に必要な元素として、カルシウム(Ca)、リン(P)、硫黄(S)、カリウム(K)、ナトリウム(Na)、塩素(Cl)、マグネシウム(Mg)、鉄(Fe)、亜鉛(Zn)、マンガン(Mn)、銅(Cu)、セレン(Se)、ヨウ素(I)、モリブデン(Mo)、クロム(Cr)、コバルト(Co)の16種類がある。その中で鉄、亜鉛、マンガン、銅、セレン、ヨウ素、モリブデン、クロム、コバルトの9元素は体の中での存在量が少ないため、微量元素と呼ばれている。<sup>1)</sup> また、微量元素の分析法の進歩とともに

に、フッ素(F)、ケイ素(Si)、バナジウム(V)、ニッケル(Ni)、砒素(As)、スズ(Sn)の6種の微量元素が必須であると考えられている。さらに、リチウム(Li)、ゲルマニウム(Ge)、臭素(Br)、ルビジウム(Rb)、パラジウム(Pd)、カドミウム(Cd)、鉛(Pb)などの微量元素も必須である可能性がある。このように、発育並びに生命活動の維持に多くの微量元素が必要であることが明らかにされ、その重要性が広く認識されつつある。しかし、生体内での微量元素の恒常性維持機構並びに生理的役割は今なお十分には明らかにされていない。特に、脳においては不明な点が多い。これは、脳には血液脳関門と血液脳脊髄液関門の2つのバリアーシステムがあるため、微量元素の脳への移行と脳内代謝が厳密にコントロールされていることと関係する。また、微量元素の脳内濃度は末梢組織と比較すると一般に極めて低く、その代謝回転が遅いために微量元素の動態解析研究は遅れていた。亜鉛、鉄、マンガンなどはカルシウムと同様に、脳の発育、機

静岡県立大学薬学部医薬生命化学教室 (〒422-8526 静岡市谷田 52-1)

e-mail: takedaa@u-shizuoka-ken.ac.jp

本総説は、平成16年度日本薬学会学術振興賞の受賞を記念して記述したものである。

能に不可欠であることから、まずこれらの生体微量元素の脳内動態をバイオイメージングアナライザーによる画像解析法で検討した。亜鉛,<sup>2,3)</sup> マンガン,<sup>4,5)</sup> 鉄<sup>6)</sup>の脳内代謝の特徴を示し、亜鉛が脳腫瘍画像化のマーカーとなることを明らかにした。脳内神経活動とダイナミックに連動する亜鉛とマンガンについては、これらの金属がシナプス間隙の神経伝達物質レベルを変えることを初めて示した。また、亜鉛摂取不足に伴う脳機能障害、脳内微量元素代謝異常と脳の病態との関係を調べた。ここでは、われわれの研究成果の概要を中心に述べる。

## 2. 生体微量元素の脳内移行

毛細血管内皮細胞の密着結合から成る血液脳関門は脳室周辺部を除く脳全体に存在する。一方、脈絡叢上皮細胞の密着結合から成る血液脳脊髄液関門は脳室に存在する (Fig. 1)。生体微量元素が脳実質細胞に供給されるためには脳のバリアーシステムを通過する必要がある。生体微量元素の脳内輸送には血液脳関門が重要であると考えられてきた。しかし、ラット、マウスでの生体微量元素の放射性同位体を用いた脳内分布実験から、亜鉛やマンガンが脈絡叢に取り込まれ、血液脳脊髄液関門を介して脳内へ移行することがバイオイメージングアナライザー

を用いた画像解析から示された。<sup>7,8)</sup> <sup>65</sup>Zn や <sup>54</sup>Mn を側脳室内に投与した場合にも、これらのトレーサーは脳実質細胞に分布し、亜鉛、マンガンは血液脳脊髄液関門を介して脳内に移行することが示唆された。<sup>9)</sup> 一方、カドミウムの場合には、静注後に脈絡叢に取り込まれたが、脳実質細胞には分布せず、脈絡叢上皮細胞がバリアーとして働くことが示された。<sup>10)</sup> 生理的条件下において、微量元素の脳内移行の選択に脈絡叢上皮細胞が血液脳関門とともに重要な役割を担っていると考えられる。

脳バリアーを形成する細胞における生体微量元素の取り込みと放出に関してはこれまで十分には明らかにされていない。亜鉛は血漿中で大部分がアルブミンなどの蛋白質に結合し、1—2%程度がヒスチジンなどのアミノ酸と結合する。遊離の亜鉛イオンの濃度は極めて低いと報告されている。<sup>2)</sup> <sup>65</sup>Zn-ヒスチジンと <sup>65</sup>ZnCl<sub>2</sub>の体内分布を比較すると分布量に違いが見られたが、両者の分布パターンは極めて類似していた。<sup>11,12)</sup> <sup>65</sup>Zn を含む血漿を 100 μM ヒスチジン溶液で透析すると透析外液の放射能は増加した。<sup>13)</sup> アルブミンと結合した亜鉛がヒスチジンに結合し、透析されるためと考えられる。脳バリアーシステムにおいては亜鉛-ヒスチジンがヒスチジント

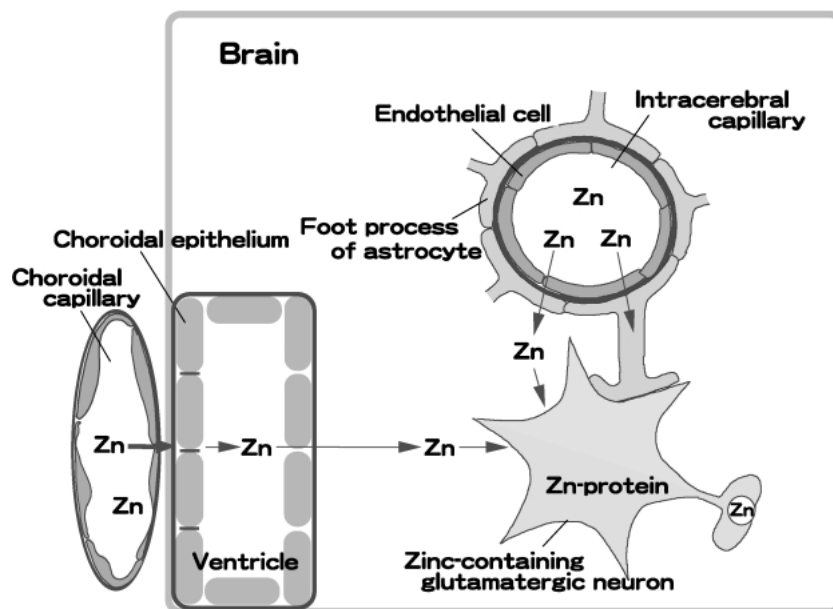


Fig. 1. Zinc Transport into the Brain

Zinc bound to albumin and amino acids, i.e., histidine and cysteine, serve as the exchangeable zinc pool in the plasma. The zinc may be involved in zinc transport into the brain via the blood-brain and the blood-CSF barriers. Some transporters such as DMT1, ZIP2 and PHT1 might be involved in the zinc transport. A large portion of zinc functions as zinc metalloproteins. A portion of zinc is sequestered in the synaptic vesicles of zinc-containing glutamatergic neurons and released from the neuron terminals.

ランスポーター (PHT1) を介してバリアーを形成する細胞に取り込まれる可能性がある。あるいは、亜鉛-ヒスチジンから亜鉛が遊離し、亜鉛トランスポーターを介して取り込まれることが考えられる。また、取り込まれた亜鉛の脳細胞外液への移行については亜鉛トランスポーターを介した放出が考えられるが、詳細は不明である。一方、 $^{65}\text{Zn}$  の代わりに  $^{109}\text{Cd}$  を用いて同様な透析実験を行ったところ、外液ヒスチジン濃度を  $1\text{ mM}$  に上げてても  $^{109}\text{Cd}$  はほとんど外液に検出されなかった。<sup>13)</sup> カドミウムの場合にはヒスチジンとの結合体が形成されず、血漿蛋白質と強固に結合する。この蛋白質との結合性がバリアー不透過性と関係すると考えられる。

鉄は血漿中では3価で存在し、トランスフェリンと結合する。鉄-トランスフェリンは脳毛細血管内皮細胞膜に存在するトランスフェリン受容体を介してエンドサイトーシスにより取り込まれる。脳細胞外液への放出に関しては、トランスサイトーシスによりトランスフェリンとの結合体が脳内に移行するとの報告と、トランスフェリンから遊離した鉄が脳内に移行するとの報告がある。<sup>6)</sup> マウスに3価の鉄を前投与して血漿中のアポトランスフェリンをホロ体にし、 $^{59}\text{FeCl}_3$  の脳内への移行性を調べてみると、血中からの $^{59}\text{Fe}$ の消失は極めて速くなり、肝臓における $^{59}\text{Fe}$ の取り込みが顕著に増加した。一方、脳における $^{59}\text{Fe}$ の取り込みはコントロールの40—50%レベルに減少した。<sup>14)</sup> 脳における $^{59}\text{Fe}$ 取り込みの減少と肝臓におけるその増加は後に述べるようにトランスフェリン欠損マウスを用いた実験でも観察された。<sup>15,16)</sup> 鉄の脳内移行におけるトランスフェリンの重要性を示す結果である。

マンガンは血漿中では2価あるいは3価で存在すると考えられる。<sup>5)</sup> 腸管から吸収されたマンガンはトランスフェリンとの結合体として血漿中で検出されており、<sup>17)</sup> 3価のマンガンはトランスフェリンと結合して脳に取り込まれることが考えられる。一方、 $^{54}\text{MnCl}_2$  静注後の血中クリアランスは速く、2価マンガンが脳内に移行することが考えられる。<sup>18)</sup> 2価のマンガン、鉄が脳毛細血管内皮細胞膜に存在するDMT1 (divalent metal transporter)などを介して細胞に取り込まれるルートである。また、マンガンは肝臓などに取り込まれた後、脳に再分布するものもある。<sup>18)</sup>

### 3. 神経伝達調節因子としての亜鉛機能

脳内亜鉛量の約90%は蛋白質に結合して働き、残りの約10%はグルタミン酸作動性ニューロンのシナプス小胞に存在する。海馬苔状線維ではシナプス小胞亜鉛濃度は $300\ \mu\text{M}$ と推定されている。<sup>19)</sup> この亜鉛は、カルシウムインパルスによりシナプス間隙に放出され、グルタミン酸受容体等への作用を介して興奮性のシナプス神経伝達に関与している可能性がある。しかし、亜鉛が学習・記憶のメカニズムと考えられている長期増強 (LTP) に必要でないとの報告もあり、<sup>20)</sup> その生理的意義に関しては明らかでなかった。 $^{65}\text{Zn}$ を用いた脳内分布実験から、<sup>21,22)</sup> 亜鉛が海馬、扁桃体に相対的に高く取り込まれ、長期に渡り滞留することが示された (海馬と扁桃体における亜鉛の生物学的半減期はそれぞれ27日と42日であった<sup>21)</sup>)。海馬、扁桃体にはシナプス小胞に亜鉛を含むニューロン終末が豊富に存在することから、このような集積性がシナプス小胞亜鉛の働きと関係している可能性がある。インビボマイクロダイアリス法を利用し、脳内局所における $^{65}\text{Zn}$ 輸送を検討したところ、 $^{65}\text{Zn}$ はニューロン内を軸索輸送されること、<sup>23)</sup> さらに扁桃体では軸索を介して輸送されてきた $^{65}\text{Zn}$ がニューロン終末から放出され、シナプス後ニューロンに取り込まれることが示唆された。<sup>24)</sup> 扁桃体ではシナプス小胞亜鉛の動態に関して知見が少なかったことから、この亜鉛と神経活動とのダイナミックな連動性を調べた。扁桃体に $^{65}\text{Zn}$ を添加し、その後高カリウム溶液で刺激したところ、扁桃体細胞外 $^{65}\text{Zn}$ 濃度は増加し、その増加はナトリウムチャンネル阻害剤であるテトロドトキシンを添加することで阻害されたことから、海馬グルタミン酸作動性ニューロンからの亜鉛放出と同様に扁桃体でもカルシウムインパルスによりニューロン終末から亜鉛が放出されることが示された。<sup>25)</sup> また、扁桃体細胞外 $^{65}\text{Zn}$ 濃度の増加時にグルタミン酸濃度も増加し、亜鉛がグルタミン酸作動性ニューロン終末から放出されることが示唆された。この亜鉛放出と扁桃体機能との関係を明らかにするために、扁桃体が一次嗅覚野であり、情動行動と関係することから、臭いの認知における亜鉛の役割についてインビボマイクロダイアリス法を用いて検討した。その結果、学習した嫌悪臭の認知は扁桃体細胞外液に亜鉛キレート剤を添加することにより可

逆的に阻害された。<sup>26)</sup> また、ステップダウンによる受動回避学習においても扁桃体細胞外亜鉛のキレート化により、学習が障害された。<sup>27)</sup> これらはリアルタイムで扁桃体細胞外亜鉛の役割を示した最初の報告であり、シナプス小胞亜鉛が扁桃体機能に関与することを示唆するものである。

学習・記憶を司る海馬は興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸により情報を伝達する。しかし、てんかん発作や脳虚血時にはグルタミン酸作動性ニューロンが過剰興奮し、細胞外グルタミン酸濃度が過剰に増加するためにニューロン死が惹起される。すなわち、海馬におけるグルタミン酸作動性ニューロンの興奮調節機能は極めて重要である。海馬 CA3 錐体細胞に投射する顆粒細胞からの苔状線維、海馬 CA1 錐体細胞に投射する海馬 CA3 錐体細胞からの Schaffer 側枝のシナプス小胞には亜鉛が含まれている。<sup>28)</sup> そこで、苔状線維と Schaffer 側枝からのグルタミン酸放出に対する亜鉛の作用を調べた。海馬 CA3 領域への亜鉛添加 (10—300  $\mu\text{M}$ ) により、細胞外液中のグルタミン酸濃度が有意に減少し、抑制性神経伝達物質である GABA ( $\gamma$ -アミノ酪酸) の濃度が顕著に増加した。<sup>29)</sup> 逆に、細胞外液に存在する内在性亜鉛をキレート化するために CaEDTA を添加すると、グルタミン酸濃度が増加し、GABA 濃度が減少した。また、CA1 領域への亜鉛添加によっても同様に細胞外液中のグルタミン酸濃度が有意に減少した。<sup>30)</sup> 海馬の介在ニューロンにはグルタミン酸受容体のサブタイプ AMPA/KA 受容体が存在しており、亜鉛はこの受容体の活性化に関与する。海馬 CA3 において、亜鉛による GABA 濃度の増加は AMPA/KA 受容体のアンタゴニストである NBQX の添加により抑制され、グルタミン酸濃度の減少も抑制された。<sup>29)</sup> 亜鉛は介在ニューロンからの GABA 放出を AMPA/KA 受容体の活性化を介して促進すること、これによりシナプス前ニューロン (苔状線維と Schaffer 側枝) からのグルタミン酸放出が抑制されることが示唆された (Fig. 2)。<sup>31)</sup> グルタミン酸放出に対する亜鉛のこの抑制的な作用とシナプス後ニューロンにある NMDA 受容体に対する亜鉛の抑制作用により、シナプス後ニューロンからのグルタミン酸放出が抑制される可能性がある。そこで、グルタミン酸作動性の CA1 錐体細胞の投射先が嗅内野であることに着

目し、CA1 領域への亜鉛添加時に、嗅内野細胞外液のグルタミン酸濃度を測定した。その結果、亜鉛添加により嗅内野のグルタミン酸濃度は減少した。<sup>30)</sup> さらに、CA1 領域へのグルタミン酸添加による嗅内野のグルタミン酸濃度の増加は、CA1 領域への亜鉛添加によって完全に抑制された。したがって、亜鉛がシナプス後ニューロンからのグルタミン酸放出に対しても抑制的に働くことが示唆された (Fig. 2)。これらの結果から、グルタミン酸作動性ニューロン終末から放出される亜鉛は、グルタミン酸放出に抑制的に働くことが初めて明らかとなった。亜鉛がグルタミン酸作動性ニューロンの興奮に対する負のフィードバック機構の一端を担うものと考えられる。また、亜鉛は CA3 領域では、グリシン、アスパラギン酸、セリンの細胞外濃度に影響を与え、アストロサイトからの神経伝達物質放出にも作用することが示唆された。<sup>32)</sup> 本知見はグルタミン酸入力のタイミングが重要な LTP や LTD におけるシナプス小胞亜鉛の役割を明らかにする上で意義あるものと考えられる。また、脳虚血やてんかん発作時のグルタミン酸神経毒性に対して亜鉛が防御的に作用することが考えられ、ニューロン死の予防に貴重な知見になるものと期待される。

#### 4. 亜鉛不足時のグルタミン酸神経毒性

亜鉛は遺伝子の複製や発現に不可欠であり、細胞の分裂や増殖、そして分化と密接に関与している。亜鉛充足率が 100% でない人口割合は世界全体で約

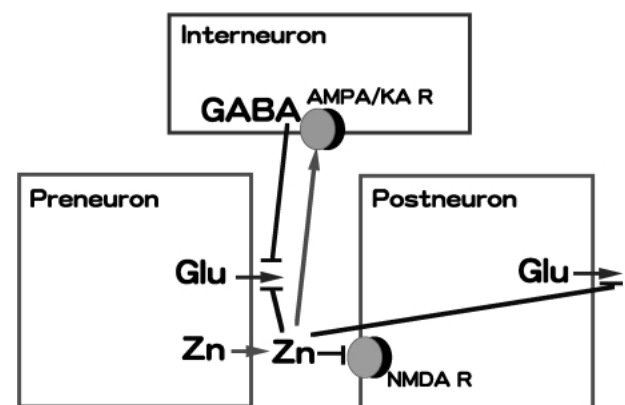


Fig. 2. Inhibitory Zinc Action against Presynaptic and Postsynaptic Glutamate Release in the Hippocampus

In the hippocampus, zinc may attenuate presynaptic glutamate release. GABA release from interneurons by zinc may be involved in this attenuation, followed by the attenuation of postsynaptic glutamate release. KA: kainate, R: receptor.

50%と報告されており、亜鉛不足は健康面で深刻な問題である。<sup>33)</sup> 亜鉛不足により成長遅延が惹起されることが知られているが、脳の成長や機能に対する影響は十分には明らかにされていない。<sup>34)</sup> 動物実験の結果から、発育期（特に授乳期）に亜鉛が不足すると脳の発達も障害されると報告されているが、そのメカニズムは不明である。てんかん発作によって脳からの亜鉛放出が促進され、海馬シナプス亜鉛濃度が発作によって減少した。<sup>35-38)</sup> また海馬シナプス亜鉛に抑制的な神経伝達調節作用が見い出されたことから、<sup>29,30)</sup> てんかん発作に対する低亜鉛食（通常食の約5%亜鉛量）摂取の影響を調べた。その結果、成長期のマウス、ラットに4週間低亜鉛食を与えるとカイニン酸で誘発される発作感受性が增大することが明らかとなった。<sup>39)</sup> また、隔離飼育した成長期のマウスでは、低亜鉛食を2-4週間与えることにより攻撃行動が顕著に高まることを新たに見出した。

脳内亜鉛量は低亜鉛食を4週間与えても有意に減少しなかったが、その摂取期間を長くすると、海馬の亜鉛量が有意に減少することを見出した。<sup>40)</sup> 海馬は亜鉛不足に対して高感受性部位であると考えられる。そこで、亜鉛不足に伴うラット海馬シナプス神経伝達の変化をインビボマイクロダイアリシス法で調べた。海馬細胞外液のグルタミン酸濃度とGABA濃度には通常食群と4週間の低亜鉛食群の間で有意な違いは見られなかったが、亜鉛濃度は有意に減少していた。<sup>41)</sup> 海馬細胞外液に高カリウム溶液（100 mM KCl）を添加してニューロンを非特異的に刺激したところ、細胞外グルタミン酸濃度が異常に増加した一方、GABA濃度の増加は全く見られなかった。亜鉛摂取不足によって、刺激時にグルタミン酸作動性ニューロンが過剰に興奮する一方、GABA作動性ニューロンの興奮が欠損しており、シナプスでのこの興奮-抑制のバランス崩壊がてんかん発作感受性増大と関連すると考えられる。カイニン酸投与後の海馬細胞外液における神経伝達物質濃度変化を調べてみると、低亜鉛食群では急激な間代性痙攣とともにグルタミン酸濃度は速やかに増加した。<sup>39)</sup> これに対して、通常食群では痙攣発作は徐々に増大し、グルタミン酸濃度の増加はわずかであった。一方、GABA濃度は通常食群では増加したが、低亜鉛食群ではまったく増加しなかった。以上

より、GABA濃度増加の欠損と関連したグルタミン酸濃度の増加が、亜鉛不足時に発作感受性が増大する一因であると示唆される。グルタミン酸神経毒性は脳虚血、脳外傷、てんかんなどの急性神経疾患に加えてアルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病などの慢性神経疾患で見られる神経細胞死の共通メカニズムの1つである。<sup>42)</sup> 本研究では、亜鉛不足によりグルタミン酸神経毒性に対する感受性が増大することを実験動物を用いて初めて明らかにすることができた（Fig. 3）。

また、成熟したラットでは低亜鉛食を4週間与えると、受動回避の学習能が顕著に低下した。<sup>43)</sup> しかし、乳児期に亜鉛が不足した場合は異なり、通常食を与えることによってラットの学習能は回復した。亜鉛不足は成長期の脳に重大な影響を与えるが、成長後でも脳機能を障害する。

### 5. 放射性亜鉛による脳腫瘍の画像化

臨床における脳腫瘍の画像診断は非侵襲的な診断法として極めて重要である。核医学画像診断の中で、<sup>201</sup>TlCl, Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>を用いたSPECT (single photon emission computed tomography) は血液脳関門の破壊に基づいた形態的变化を画像化する診断法であるが、[<sup>18</sup>F] FDG (fluorodeoxyglucose) や [<sup>11</sup>C]

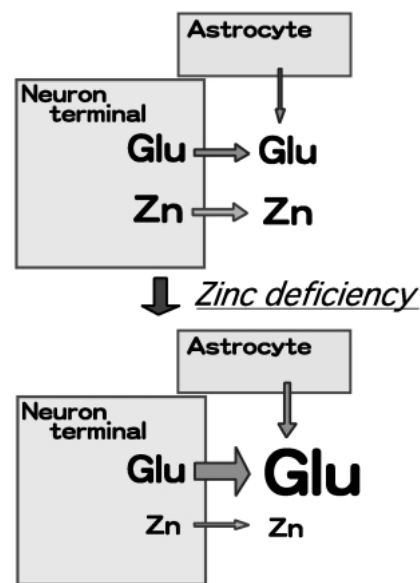


Fig. 3. Enhanced Susceptibility to Glutamate Excitotoxicity by Zinc Deficiency

Extracellular glutamate concentration in the hippocampus during excessive stimulation is more increased by zinc deficiency. This increase might be due to the enhanced glutamate release from neurons and astrocytes. Zinc concentration in synaptic vesicles is decreased by zinc deficiency and the amount of zinc released from neuron terminals is also decreased.

Methionine を用いた PET はグルコース代謝やアミノ酸代謝を反映した機能的画像診断法である。特に、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  は組織学的悪性度の評価、放射線治療後の腫瘍の壊死病巣と再発病巣の区別などに有用であることが報告されている。しかしながら、正常な脳組織においてもグルコース代謝が盛んなため、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  による画像診断では、脳腫瘍と正常組織の鑑別が困難な場合がある。<sup>44)</sup> また、PET は一般の医療施設に普及していない欠点もあり、腫瘍の代謝活動を反映する SPECT 用の放射性画像診断薬の開発が強く望まれている。

亜鉛の代謝回転は脳全体では遅い。<sup>7,9)</sup> この点に着目し、放射性亜鉛による脳腫瘍の画像化を検討した。海馬に C6 glioma を移植した脳腫瘍モデルラットを用いて $^{65}\text{Zn}$  の脳内分布を測定したところ、 $^{65}\text{Zn}$  は腫瘍部位に特異的に取り込まれ、脳腫瘍が鮮明に画像化された (Fig. 4)。<sup>45,46)</sup>  $^{65}\text{Zn}$  による脳腫瘍画像は $[^{14}\text{C}]\text{FDG}$  の画像と比べて、腫瘍/正常組織比が極めて高いため、微小な脳腫瘍の画像化が期

待され、短半減期放射性亜鉛 ( $^{69\text{m}}\text{Zn}$ ) が脳腫瘍画像診断薬として有用であると考えられる。

理研リングサイクロトロンで加速される重イオンビームで銀ターゲットを照射すると多種類の放射性核種が同時に産生される。得られたマルチトレーサー溶液を C6 glioma を移植した脳腫瘍モデルラットに投与して脳腫瘍への集積性を検討した。その結果、亜鉛以外にマンガン、ルビジウムが脳腫瘍に選択的に取り込まれることが明らかとなった。<sup>47)</sup>

#### 6. シナプス神経活動におけるマンガンの作用

スーパーオキシドディスムターゼはマンガン酵素として知られているが、脳ではグルタミン合成酵素もマンガンを必要とする。<sup>48)</sup> しかし、ヒトや動物の脳内マンガン濃度 (平均濃度は約  $0.25 \mu\text{g/g}$  湿重量) は低いため、これらの酵素に関する知見を除くと、神経活動とマンガン機能の関係はほとんど明らかにされていない。<sup>5)</sup> また、脳内局所のマンガン濃度も十分には解析されていなかったことから、 $^{54}\text{MnCl}_2$  による画像解析法を用いて、マンガンの脳内動態を

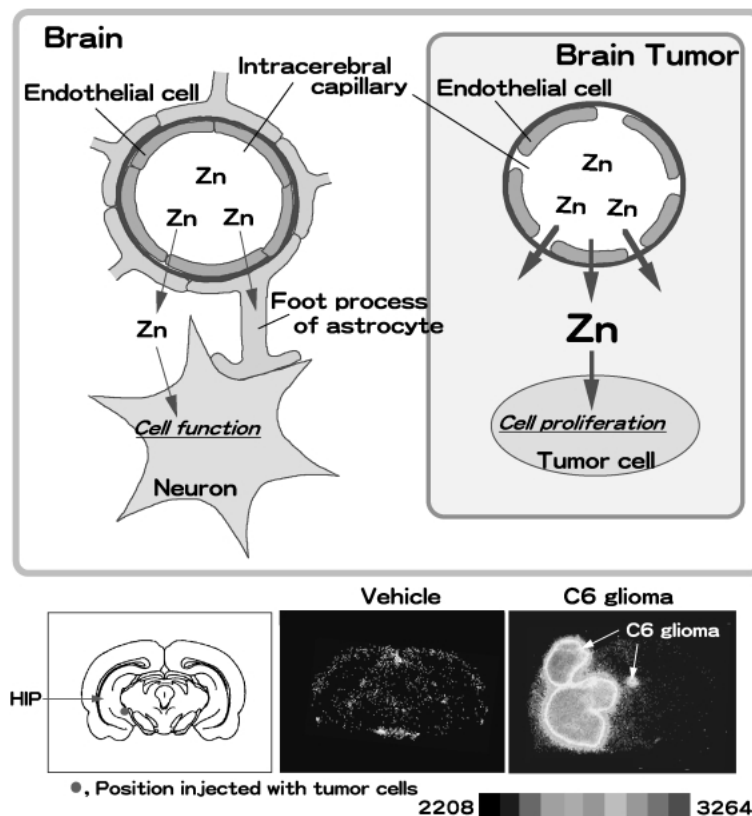


Fig. 4. Zinc Transport and Utilization in Brain Tumor

Zinc is easily transported into the extracellular fluid in brain tumor tissue, because the blood-brain barrier does not exist there. The zinc may be utilized for cell proliferation. As shown in bottom panels, C6 glioma, which was transplanted into the hippocampus, was positively imaged with  $^{65}\text{Zn}$ . The middle and right panels are brain autoradiograms 1 h after intravenous injection of  $^{65}\text{ZnCl}_2$ .

検討した。 $^{54}\text{Mn}$  は海馬 CA3 領域や歯状回, 下丘, 赤核, オリーブ核などに高く集積したことから,<sup>49)</sup> それらの領域でマンガンがより機能していることが考えられる。脳内局所からのマンガンの輸送を見てみたところ, 嗅球に投与された  $^{54}\text{Mn}$  は前交連, 梨状皮質, 扁桃体, 嗅内野で検出され, マンガンが嗅覚路に沿って輸送されることが示された。<sup>50)</sup> さらに, 嗅球内二次嗅覚ニューロンに取り込まれたマンガンは軸索輸送され, 扁桃体ではニューロン終末からシナプス間隙に放出され, シナプス後ニューロンに取り込まれることが示唆された。嗅覚路におけるマンガン輸送は亜鉛の場合と類似していた。そこで, 扁桃体神経活動とマンガン動態の関係をインビボマイクロダイアリス法により検討した。扁桃体に  $^{54}\text{Mn}$  を添加し, その後高カリウム溶液で刺激したところ, 扁桃体細胞外  $^{54}\text{Mn}$  濃度は増加し, その増加はテロドトキシンを添加することで阻害された。<sup>51)</sup> したがって, マンガンはカルシウムインパルスによりニューロン終末から神経伝達物質とともに放出されることが示唆された。そこで, 放出される部位と放出するニューロンのタイプに関して検討した。高カリウム刺激時の細胞外  $^{54}\text{Mn}$  濃度の増加はグルタミン酸濃度の増加とよく相関し, マンガンが海馬, 扁桃体, 線条体においてグルタミン酸作動性ニューロン終末から放出されることが示唆された (Fig. 5)。<sup>52)</sup> また, 黒質では細胞外  $^{54}\text{Mn}$  濃度が増加しなかった。次に, 海馬細胞外液にマンガンを添加し, 神経伝達物質濃度を測定した。マンガン添加により, グルタミン酸, アスパラギン酸, GABA, グリシンの細胞外液濃度が低下した。線条体では GABA 濃度が顕著に低下した。<sup>53)</sup> シナプス間隙に放出されるマンガンが神経伝達調節因子として働く可能性が初めて示唆された (Fig. 5)。本研究では知見が全くなかったシナプスでのマンガンの動態と作用に関してその一部を明らかにすることができ, 神経活動におけるマンガンの生理的役割を理解する上で大変意義があると考えられる。また, ドパミン作動性ニューロン等に対する酸化ストレスによると考えられてきたマンガンの神経毒性研究に対して, 新視点からのアプローチの引き金になると期待される。

## 7. 鉄, マンガンの代謝異常と神経変性疾患

鉄は酸素分子や過酸化水素の存在下で強力な酸化

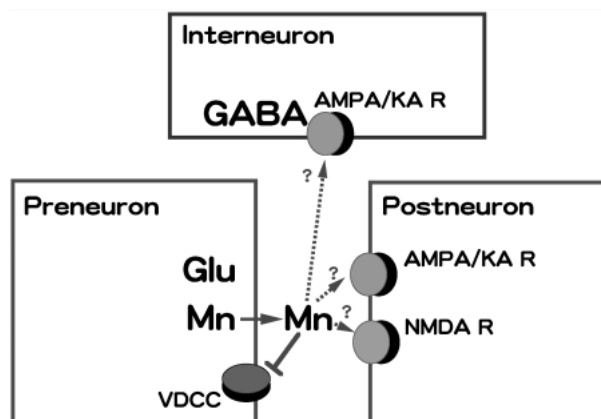


Fig. 5. Manganese Action in the Glutamatergic Synapse

Manganese may be released with glutamate from the neuron terminals. The manganese may influence neurotransmitter concentrations in the synaptic cleft, possibly via the action against neurotransmitter receptors and transporters and channels, e.g., voltage-dependent calcium channels (VDCC).

剤となり活性酸素 (hydroxy radical) を産生し, 細胞に障害を与える。アルツハイマー病の老人斑, パーキンソン病の脳基底核では鉄沈着が観察され, これらの病気の発症との関係で注目されている。<sup>54)</sup> アルツハイマー病, パーキンソン病患者の脳でトランスフェリンレベルが低下しているとの報告に着目し,<sup>55)</sup> トランスフェリン欠損マウスを用いて鉄代謝を検討した。<sup>15,16,56)</sup> トランスフェリンが利用できないと血漿中の  $^{59}\text{Fe}$  は速やかに肝臓に取り込まれたが, 脳への  $^{59}\text{Fe}$  移行量は減少した。一方, トランスフェリン欠損マウスの脳内鉄濃度は有意に増加していた。脳への鉄輸送にトランスフェリンが必要である一方, 脳内でトランスフェリンが利用できないと (脳内ではオリゴデンドロサイトや脈絡叢上皮細胞で合成され, 分泌される) 鉄が脳に異常沈着することが考えられる。

マンガンも鉄と同様に活性酸素を産生し, 細胞に障害を与える。マンガン暴露されたヒトでは, マンガンが脳基底核に沈着してパーキンソン病と類似した症状を示す。また, マンガンを含む輸液製剤が長期間与えられた患者や慢性肝炎患者でも, 頭部 MRI 画像 (脳基底核での高信号化) からマンガンが脳基底核に異常集積することが問題となった。<sup>5)</sup>  $^{54}\text{Mn}$ -トランスフェリンと  $^{54}\text{MnCl}_2$  の脳内分布を比較すると, 分布パターンは類似していたが, 分布量は  $^{54}\text{MnCl}_2$  の方が多かった。<sup>57)</sup> また, 暴露実験ではトランスフェリン非介在的な輸送によりマンガ

ンの大脳基底核などへの集積性が高まった。<sup>58)</sup>これに対して、トランスフェリンとの結合性が強い鉄の暴露実験では脳内鉄濃度は増加しなかった。マンガンと鉄の脳内移行性と蓄積性が輸送蛋白質であるトランスフェリンとの結合性により大きく影響されることを見出した。

#### 8. おわりに

生体微量元素の脳移行メカニズム、ニューロンやグリア細胞における取り込み、それぞれの細胞内での機能、細胞間コミュニケーションにおける役割などいずれも十分には解明されていない。微量なゆえに研究は難しく、課題は多く残されている。生体微量元素の機能発現には脳内環境が適正であることが不可欠である。一方、生体微量元素の至適濃度範囲は極めて狭いために、そのホメオスタシスは脳の機能や病態と密接に関係する。すなわち、脳はカルシウムとは異なった微量元素の活用法を持っており、その活用には厳密さが要求されると考えられる。それゆえに、生体微量元素に視点をおいた脳研究は、高齢化社会において脳を理解し、脳疾患を予防、治療する上で今後ますます重要となると予想される。今後この研究分野が大きく進展することを期待したい。

**謝辞** 本研究は静岡県立大学薬学部医薬生命化学教室で遂行されたものであり、一丸となり研究に協力していただいた学部学生、大学院生に心より深謝いたします。

#### REFERENCES

- Underwood E. J., "Trace Elements in Human and Animal Nutrition," 4th ed., Academic Press, New York, 1977.
- Takeda A., *Brain Res. Rev.*, **34**, 137-148 (2000).
- Takeda A., *BioMetals*, **14**, 343-352 (2001).
- Takeda A., *Biomed. Res. Trace Elements*, **12**, 188-196 (2001).
- Takeda A., *Brain Res. Rev.*, **41**, 79-87 (2003).
- Takeda A., *J. Health Sci.*, **47**, 520-524 (2001).
- Takeda A., Akiyama T., Sawashita J., Okada S., *Brain Res.*, **640**, 341-344 (1994).
- Takeda A., Kawai M., Okada S., *Brain Res.*, **769**, 193-195 (1997).
- Takeda A., Sawashita J., Okada S., *Brain Res.*, **658**, 252-254 (1994).
- Takeda A., Takefuta S., Ijio H., Okada S., Oku N., *Brain Res. Bull.*, **49**, 453-457 (1999).
- Takeda A., Suzuki M., Okada S., Oku N., *J. Health Sci.*, **46**, 209-213 (2000).
- Takeda A., Suzuki M., Okada S., Oku N., *Brain Res.*, **863**, 241-244 (2000).
- Takeda A., Suzuki M., Oku N., *BioMetals*, **15**, 371-375 (2002).
- Takeda A., Takatsuka K., Sotogaku N., Oku N., *Neurochem. Int.*, **41**, 223-228 (2002).
- Takeda A., Takatsuka K., Connor J. R., Oku N., *Brain Res.*, **912**, 154-161 (2001).
- Takeda A., Takatsuka K., Connor J. R., Oku N., *BioMetals*, **15**, 33-36 (2002).
- Davidsson L., Lonnerdal B., Sandstrom B., Kunz C., Keen C. L., *J. Nutr.*, **119**, 1461-1464 (1989).
- Takeda A., Sawashita J., Okada S., *Neurosci. Lett.*, **242**, 45-48 (1998).
- Frederickson C. J., Klitenick M. A., Manton W. I., Kirkpatrick J. B., *Brain Res.*, **273**, 335-339 (1983).
- Vogt K., Mellor J., Tong G., Nicoll R., *Neuron*, **26**, 187-196 (2000).
- Takeda A., Sawashita J., Okada S., *Brain Res.*, **695**, 53-58 (1995).
- Sawashita J., Takeda A., Okada S., *Dev. Brain Res.*, **102**, 295-298 (1997).
- Takeda A., Kodama Y., Ohnuma M., Okada S., *Brain Res. Bull.*, **47**, 103-106 (1998).
- Takeda A., Ohnuma M., Sawashita J., Okada S., *Neurosci. Lett.*, **225**, 69-71 (1997).
- Minami A., Takeda A., Yamaide R., Oku N., *Brain Res.*, **936**, 91-94 (2002).
- Takeda A., Sawashita J., Takefuta S., Okada S., *J. Neurosci. Res.*, **57**, 405-410 (1999).
- Takeda A., Minami A., Yamaide R., Oku N., *Neurosci. Lett.*, **358**, 119-122 (2004).
- Frederickson C. J., Danscher G., *Brain Res.*, **83**, 71-84 (1990).
- Takeda A., Minami A., Seki Y., Oku N., *J. Neurosci. Res.*, **75**, 225-229 (2004).
- Takeda A., Minami A., Seki Y., Oku N., *Epilepsy Res.*, **57**, 169-174 (2003).
- Takeda A., Minami A., Oku N., *Biomed. Res. Trace Elements*, **14**, 287-289 (2003).
- Takeda A., Minami A., Seki Y., Nakajima S.,



- Oku N., *Brain Res. Bull.*, **63**, 253–257 (2004).
- 33) Brown K. H., Wuehler S. E., Peerson J. M., *Food Nutri. Bull.*, **22**, 113–125 (2001).
- 34) Golub M. S., Keen C. L., Gershwin M. E., Hendrickx A. G., *J. Nutr.*, **125**, 2263–2271 (1995).
- 35) Takeda A., Hanajima T., Ijiro H., Ishige A., Iizuka I, Okada S., Oku N., *Brain Res.*, **828**, 174–178 (1999).
- 36) Hirate M., Takeda A., Tamano H., Enomoto S., Oku N., *Epilepsy Res.*, **51**, 109–116 (2002).
- 37) Takeda A., Hirate M., Tamano H., Oku N., *Epilepsy Res.*, **54**, 123–129 (2003).
- 38) Takeda A., Hirate M., Oku N., *BioMetals*, **17**, 141–144 (2004).
- 39) Takeda A., Hirate M., Tamano H., *J. Neurochem.*, **85**, 1575–1580 (2003).
- 40) Takeda A., Minami A., Takefuta S., Tochigi M., Oku N., *J. Neurosci. Res.*, **63**, 447–452 (2001).
- 41) Takeda A., Hirate M., Tamano H., Oku N., *J. Neurosci. Res.*, **72**, 537–542 (2003).
- 42) Obrenovitch T. P., Urenjak J., *Prog. Neurobiol.*, **51**, 39–87 (1997).
- 43) Takeda A., Takefuta S., Okada S., Oku N., *Brain Res.*, **859**, 352–357 (2000).
- 44) Kaschten B., Stevenaert A., Sadzot B., Deprez M., Degueldre C., Fiore G.D., Luxen A., Reznik M., *J. Nucl. Med.*, **39**, 778–785 (1998).
- 45) Takeda A., Tamano H., Enomoto S., Oku N., *Cancer Res.*, **61**, 5065–5069 (2001).
- 46) Takeda A., Tamano H., Oku N., *Brain Res.*, **965**, 170–173 (2003).
- 47) Tamano, H., Enomoto, S., Oku, N., Takeda, A., *Nucl. Med. Biol.*, **29**, 505–508 (2002).
- 48) Norenberg M. D., *J. Histochem. Cytochem.* **27** (1979) 469–475.
- 49) Takeda A., Ishiwatari S., Okada S., *J. Neurosci. Res.*, **56**, 93–98 (1999).
- 50) Takeda A., Kodama Y., Ishiwatari S., Okada S., *Brain Res. Bull.*, **45**, 149–152 (1998).
- 51) Takeda A., Ishiwatari S., Okada S., *Brain Res.*, **811**, 147–151 (1998).
- 52) Takeda A., Sotogaku N., Oku N., *Neuroscience*, **114**, 669–674 (2002).
- 53) Takeda A., Sotogaku N., Oku N., *Brain Res.*, **965**, 279–282 (2003).
- 54) Good P. F., Perl D. P., Bierer L. M., Schmeidler, J., *Ann. Neurol.*, **31**, 286–292 (1992).
- 55) Loeffler D. A., Connor J. R., Juneau P. L., Snyder B. S., Kanaley L., DeMaggio A. J., Nguyen H., Brickman C. M., LeWitt P. A., *J. Neurochem.*, **65**, 710–716 (1995).
- 56) Takeda A., Devenyi A., Connor J. R., *J. Neurosci. Res.*, **51**, 454–462 (1998).
- 57) Takeda A., Ishiwatari S., Okada S., *J. Neurosci. Res.*, **59**, 542–552 (2000).
- 58) Sotogaku N., Oku N., Takeda A., *J. Neurosci. Res.*, **61**, 350–356 (2000).