

Role of zinc in the pathogenesis of neurodegenerative diseases

Masahiro Kawahara¹⁾, Yutaka Sadakane²⁾, Dai Mizuno¹⁾Department of Bio-Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Musashino University, Tokyo 202-8585, Japan.¹⁾Faculty of Pharmaceutical Sciences, Suzuka University of Medical Science, Mie 513-8670, Japan²⁾

◆ Abstract

Zinc (Zn) is an essential trace element that is abundantly present in the brain. Although Zn plays crucial roles in learning and memory, numerous studies have indicated that the disruption of Zn homeostasis, namely both depletion and excess Zn, cause severe damage to neurons and linked with various neurodegenerative diseases including Alzheimer's disease and vascular dementia. Here, we review the current understanding about the role of Zn in the pathogenesis of these neurodegenerative diseases. Based on our findings and other numerous studies, Zn acts as

a contributor to Alzheimer's disease in the oligomerization, and as a protector in the neurotoxicity of Alzheimer's β -amyloid protein. Furthermore, Zn plays a central role in ischemia-induced neuronal death and the pathogenesis of vascular dementia. Involvements of Ca^{2+} dyshomeostasis and endoplasmic reticulum (ER) stress in the mechanism of Zn-induced neurotoxicity are suggested. We also discuss the possible role of carnosine (β -alanyl histidine), a dipeptide that is present in the brain, as a protective substance for neuronal injury.

Key words : calcium homeostasis, Alzheimer's disease, β -amyloid protein, ischemia, vascular dementia

研究

海馬における亜鉛シグナリング

静岡県立大学薬学部統合生理学分野 武田厚司

要約

亜鉛は脳機能に不可欠であり、グルタミン酸作動性神経終末から放出され、細胞外に加えて細胞内でシグナルファクターとして働く。海馬における Zn^{2+} シグナルはシナプス神経伝達をダイナミックに調節し、記憶の細胞レベルでのメカニズムと考えられている長期増強や認知活動に関与する。一方で、視床下部-下垂体-副腎皮質系の活性化に伴いグルココルチコイド分泌は増加し、グルタミン酸放出を促進し、認知活動に関与する。したがって、グルココルチコイド分泌はグルタミン酸作動性神経終末からの亜鉛放出を促進する。ストレスにより認知活動は障害されるが、この障害に過剰なグルココルチコイド分泌を介した細胞内 Zn^{2+} シグナル過多が関与する。海馬シナプス Zn^{2+} シグナリングは認知活動と密接に関係する。

KEY WORDS 亜鉛シグナル, 海馬, 認知, グルココルチコイド, グルタミン酸

1. はじめに

亜鉛は神経細胞のシナプス小胞内に存在し、神経活動に伴いシナプス間隙に放出され、ダイナミックに脳機能を調節する (図 1)。シナプス小胞に亜鉛を高濃度を含む神経はグルタミン酸作動性神経のサブタイプであり、亜鉛作動性神経とも呼ばれている。大脳皮質では多数の皮質領域を結ぶネットワークが思考や記憶などの高次機能を営む。その内側面にある海馬は記憶と関係し、ストレス応答に重要な役割を担う。亜鉛作動性神経は大脳皮質、海馬に豊富に存在し、認知活動や精神活動に重要な役割を担うと考えられるが、その役割は十分には明らかにされていない。

高齢化、高度情報化社会のなかで脳の健康に対する関心が高まるなか、本稿では、亜鉛作動性神経機能に関する最近の知見を紹介し、海馬における Zn^{2+} シグナリングと認知活動との関係について概説する。

2. 亜鉛の脳内移行¹⁾

亜鉛は消化管 (主に小腸上部) から吸収され、血液を介して脳に移行する。脳内亜鉛濃度は出生後発育に伴い上昇する。亜鉛は血液脳脊髄液関門や血液脳関門が形成された後にも脳内に移行する。しかし、亜鉛の脳内移行は厳密に制御されており、若齢から高齢期にかけて健常人の脳内亜鉛濃度はほぼ一定である (ラット海馬では約 $300 \mu\text{M}$)。脳内に移行した亜鉛の生物学的半減期 (ラット脳では 16 ~ 42 日) は比較的長い。脳機能を維持するために亜鉛の脳内移行は不可欠である。脳内では、亜鉛濃度は海馬で高く、亜鉛作動性シナプスが密に存在することと関係すると考えられる。

3. 亜鉛摂取不足と脳機能障害²⁻⁵⁾

マウスやラットに亜鉛欠乏食を与えると速やかに血漿亜鉛濃度が低下し、食欲が減退する。その結果、血漿グルココルチコイド濃度が上昇する。

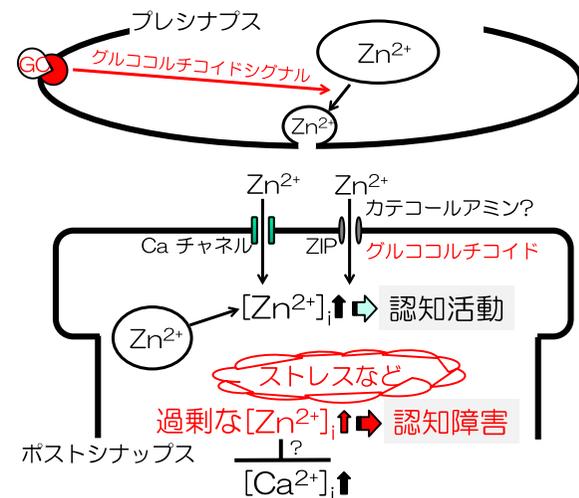


図1 Zn²⁺ シグナリングによる認知活動とその障害

亜鉛作動性神経終末から放出された Zn²⁺ はポスト神経細胞に取込まれ Zn²⁺ シグナルとなり、認知活動に関与する。神経終末から Zn²⁺ が放出されないシナプスではポスト神経細胞内ストアからの Zn²⁺ 放出が Zn²⁺ シグナルとなる。神経終末からの Zn²⁺ 放出過程はグルココルチコイドにより促進されるが、ストレスなどによりグルココルチコイドシグナルが過剰になると、Zn²⁺ シグナルも過剰となり認知障害を惹起する。GC, グルココルチコイド; ZIP, 亜鉛トランスポーター

これは、ストレス応答を担う視床下部-下垂体-副腎皮質 (HPA) 系が活性化され、副腎皮質からのグルココルチコイド分泌が増加することによる。血漿グルココルチコイド濃度が上昇する原因は明らかでないが、血漿亜鉛濃度の低下、なかでも血漿中にごくわずかな割合で存在する Zn²⁺ 濃度 (Zn²⁺ シグナルとして機能するプール) の低下に関与する可能性がある。亜鉛摂取が不足しても脳内亜鉛濃度は容易には減少しない。実験動物を長期間亜鉛欠乏食で飼育すると、脳細胞外亜鉛濃度は減少するが、脳全体の亜鉛濃度は有意に減少しない。しかし、成長期に亜鉛欠乏食を与えると、脳の重量は増加しない。すなわち、脳の成長が阻害される。

グルココルチコイドは脳の二つのバリアシステムを通過し、脳内に発現する受容体を介して作用する。グルココルチコイド受容体の発現は海馬神経細胞で高く、受容体を介した作用は歯状回顆粒細胞の生存に不可欠である。一方、海馬歯状回での神経新生は記憶獲得とともに、ストレス応答に関係し、神経新生の抑制はうつ症状と密接に関係する。亜鉛欠乏食をラットに与えると、神経新生が抑制され、うつ様行動が増加する。したがって、

亜鉛不足はうつ発症のリスクファクターであると考えられる。また、高齢者では血漿亜鉛濃度が低下する一方で、血漿グルココルチコイド濃度が(夜間において) 上昇する。高齢者のうつ症状に亜鉛不足が関与することが考えられる。興味深いことに、うつ病患者では血漿亜鉛濃度が低下しており、抗うつ薬投与により症状が改善されると、血漿亜鉛濃度が正常値に改善されるとの報告がある。亜鉛をサプリメントとして与えることにより抗うつ薬の効果が増強されるとの報告もあり、亜鉛不足がうつ発症の一因である可能性もある。

うつ病患者では HPA 系機能に対する負のフィードバック機構は障害されている (WHO の調査では約半数)。海馬は負のフィードバック機構の一端を担う。うつ症状、グルココルチコイド分泌異常、海馬萎縮、これら三者間に正の相関性があることが知られている。亜鉛摂取不足によるグルココルチコイド分泌増加は海馬神経の興奮性を高める。すなわち、グルココルチコイドは海馬神経活動と密接に関係する。グルココルチコイド (ミネラルコルチコイド) 受容体は、神経終末の細胞膜に存在し、グルタミン酸放出を促進する (図 1)。また、グルココルチコイドは細胞外グルタミ

ン酸の取込を阻害する。ストレスなどによりグルココルチコイド分泌が過剰に増加すると、海馬細胞外グルタミン酸濃度が過剰に増加し、記憶障害などの一因となる。また、亜鉛摂取不足による海馬神経細胞内の通常時 (ベースレベル) の Ca²⁺ レベルの上昇もグルタミン酸作動性神経活動を高める。このような興奮性変化によりストレス感受性が高まる。亜鉛欠乏食飼育によりてんかん発作感受性が増大するが、これには海馬細胞外グルタミン酸濃度の過剰な増加が関係する。細胞外グルタミン酸濃度の過剰な増加はグルタミン酸興奮毒性として知られ、様々な脳疾患における神経細胞死の共通メカニズムである。亜鉛摂取不足は過剰なグルココルチコイドシグナルを介してグルタミン酸興奮毒性を増大させ、脳の病態を悪化させると考えられる。

4. シナプス Zn²⁺ シグナリングと記憶⁶⁻⁸⁾

海馬では、貫通線維シナプス、苔状線維シナプス、シャーファー側枝シナプスの三シナプスを介して情報は処理される。いずれも亜鉛作動性シナプスを含むが、苔状線維はすべて亜鉛作動性である。脳脊髄液の亜鉛濃度は約 150 nM と報告されているが、脳細胞外亜鉛濃度に関しては明らかでない。しかし、脳細胞外液の Zn²⁺ 濃度は約 10 nM であると推定されている。また、神経細胞の細胞質 Zn²⁺ 濃度は通常時においてナノモル濃度以下であると推定されている。細胞外亜鉛蛍光プローブである ZnAF-2 は亜鉛作動性神経シナプスを選択的に染色することから、このシナプス間隙の通常時の Zn²⁺ 濃度はシナプス外の細胞外液よりも高いと推測される。細胞外亜鉛濃度は脳内局所で異なる可能性がある。

亜鉛作動性神経終末からグルタミン酸と Zn²⁺ がシナプス間隙に開口放出されると、グルタミン酸受容体サブタイプである α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate (AMPA)/kainate 受容体が活性化され、Zn²⁺ はカルシウムチャネル (カルシウム透過型 AMPA 受容体など) を介して速やかに細胞内に取込まれる (図 1)。すなわち、

Zn²⁺ シグナルはカルシウムチャネルを介して Ca²⁺ シグナルとクロストークし、グルタミン酸を介したシナプス伝達を調節すると考えられる。また、シナプス Zn²⁺ シグナルはグルタミン酸放出の負のフィードバックファクターとして機能する。Zn²⁺ シグナルは細胞外 γ -amino butyric acid (GABA) 濃度を高める。

記憶の細胞レベルでのメカニズムの一つと考えられている長期増強 (long-term potentiation: LTP) にシナプス Zn²⁺ シグナリングが関与することが報告されてきた。その一方で、ZnT3 欠損マウス (このマウスのシナプス小胞には亜鉛を輸送する ZnT3 トランスポーターが欠損しており、Zn²⁺ 染色法でシナプス小胞亜鉛は検出されない) はコントロールマウスと同様に学習・記憶すると 2001 年に報告された。しかしその後、ZnT3 欠損マウスの学習・記憶に関して相反する結果が報告された。ZnT3 欠損マウスではシナプス小胞以外に Zn²⁺ がプールされ、学習・記憶に関与すると考えられるが、Zn²⁺ シグナリングの量が不十分なために学習が高度 (複雑) になると (LTP などシナプス可塑的变化に要する時間が長くなると) 記憶力が低下すると考えられる。

海馬依存性記憶における海馬三領域の役割が明らかにされつつあるなか、海馬三シナプスでの Zn²⁺ シグナリングが海馬依存性記憶にどのように関与するかは明らかにされていない。海馬歯状回顆粒細胞内 Zn²⁺ シグナリングは物体認識記憶に必要である。一方、海馬で新たに誕生する神経細胞の分化・成熟には亜鉛が必要であり、歯状回顆粒細胞として機能的に神経回路に組み込まれたものが新しい記憶獲得に関与する。さらに、学習条件に応じて必要とされる Zn²⁺ シグナリングの量が異なる可能性があるが、この点は今後の課題である。

5. シナプス Zn²⁺ シグナリングと記憶障害⁹⁻¹¹⁾

グルタミン酸興奮毒性、すなわちグルタミン酸受容体の過剰な活性化によりシナプス後神経に過

剰量の Ca^{2+} が流入し、神経細胞死が惹起される。亜鉛作動性シナプスでは、神経終末から過剰量の Zn^{2+} が放出されると、シナプス後神経に Ca^{2+} とともに流入し、神経細胞死に関与する。カルシウム透過型 AMPA 受容体などを介したシナプス後神経への Zn^{2+} 流入による神経細胞死とそのメカニズムは欧米を中心に研究されてきた。しかしながら、 Zn^{2+} 流入の増加と記憶障害との関係は不明であった。細胞内 Zn^{2+} シグナリングの増加が LTP などのシナプス可塑性を障害し、さらにその増加が閾値を超えることにより神経変性が惹起される可能性がある。海馬 CA1 を高カリウム溶液で興奮させると記憶は一過性に障害され、この障害は細胞外からの Zn^{2+} 流入を阻害することにより回避される。すなわち、神経細胞内への過剰な Zn^{2+} シグナリングは一過性に記憶を障害することが明らかとなった。前述のように、グルココルチコイドは神経終末からのグルタミン酸放出を促進し、亜鉛作動性神経終末からは Zn^{2+} 放出を促進する。これらの促進作用がストレスによる記憶障害と関係することが考えられる (図 1)。グルココルチコイドシグナルと Zn^{2+} シグナルの連携に関する知見はきわめて限られており、記憶障害のみならず生理的役割の視点からその連携を明らかにする必要がある。

◆文献

- 1) Takeda A : Movement of zinc and its functional significance in the brain. *Brain Res Rev* 34 : 137, 2000
- 2) Takeda A : Zinc homeostasis and functions of zinc in the brain. *BioMetals* 14 : 343, 2001
- 3) Takeda A, Tamano H : Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. *Brain Res Rev* 62 : 33, 2009
- 4) Takeda A, Tamano H : Zinc signaling through glucocorticoid and glutamate signaling in stressful circumstances. *J Neurosci Res* 88 : 3002, 2010
- 5) Takeda A : Zinc signaling in the hippocampus and its relation to pathogenesis of depression. *Mol Neurobiol* 44 : 166, 2011
- 6) Takeda A, Nakamura M, Fujii H, Tamano H : Synaptic Zn^{2+} homeostasis and its significance.

6. おわりに

亜鉛欠乏食によるグルココルチコイド分泌増加は生体における亜鉛の重要性を意味する。亜鉛恒常性を制御する内分泌ホルモンは知られていないが、生体の恒常性維持ならびに環境への適応にはグルココルチコイドシグナルと Zn^{2+} シグナルの連携は不可欠である。

通常時細胞質 Ca^{2+} 濃度は細胞外と比べて 10^4 倍低い。 Zn^{2+} の場合にはそれほどの違いはないが、通常時の細胞質 Zn^{2+} 濃度は Ca^{2+} と比べると 100 倍以上低い。 Zn^{2+} は Ca^{2+} より細胞毒性が高いため、神経細胞は通常レベルをきわめて低く保ち、脱分極刺激に伴う活動時のシナプス Zn^{2+} シグナルをうまく利用していると考えられる。一方、グルココルチコイドシグナルは老化に伴い増加するが、HPA 系機能障害に伴うその異常な増加はうつ病やアルツハイマー病の病態と密接に関係する。シナプス Zn^{2+} シグナリングの異常はうつ・アルツハイマー病に関与すると考えられ、これらの脳疾患の予防・治療戦略において、シナプス Zn^{2+} シグナリングはターゲットとなるように思われる。

Synaptic Zn^{2+} Signaling in the Hippocampus

Atsushi Takeda

Department of Neurophysiology, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka

◆ Abstract

Zinc is important for physiological brain functions. Vesicular Zinc is released from glutamatergic (zincergic) neuron terminals and serves as a signal factor (Zn^{2+} signal) in the intracellular (cytosol) compartment, in addition to the extracellular compartment. Synaptic Zn^{2+} signal is dynamically linked to neurotransmission and participates in synaptic plasticity such as long-term potentiation (LTP) and cognitive activity. On the other hand, the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis activity, i.e., glucocorticoid secretion, which can potentiate glutamatergic neuron activity, is linked to

cognitive function. The HPA axis activity modifies synaptic Zn^{2+} dynamics at zincergic synapses. The increase in the HPA axis activity, which occurs after exposure to stress, may induce excess of intracellular Zn^{2+} signal in the hippocampus, followed by hippocampus-dependent memory deficit. Excessive excitation of zincergic neurons in the hippocampus can participate in cognitive decline under stressful and/or pathological circumstances. This paper deals with Zn^{2+} -mediated modification of cognitive activity.

Key words : Zn^{2+} signal, hippocampus, cognition, glucocorticoid, glutamate

- 7) Takeda A, Fujii H, Minamino T, Tamano H : Intracellular Zn^{2+} signaling in cognition. *J Neurosci Res* 92 : 819, 2014
- 8) Takeda A : Significance of Zn^{2+} signaling in cognition, insight from synaptic Zn^{2+} dyshomeostasis. *J Trace Elem Med Biol*, in press
- 9) Takeda A : Insight into glutamate excitotoxicity from synaptic zinc homeostasis. *Int J Alzheimers Dis* 2011 : 491597, 2011
- 10) Takeda A, Tamano H : Proposed glucocorticoid-mediated zinc signaling in the hippocampus. *Metallomics* 4 : 614, 2012
- 11) Takeda A, Tamano H : Cognitive decline due to excess synaptic Zn^{2+} signaling in the hippocampus. *Front Aging Neurosci* 6 : 26, 2014