

Usefulness of perioperative nutritional therapy in liver transplantation

Toshimi Kaido, Shinji Uemoto

Division of Hepato-Biliary-Pancreatic and Transplant Surgery, Department of Surgery, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan

Change and innovation are essentials for advances in every field. We have developed many innovations in the field of liver transplantation. In this presentation, especially, we would like to introduce evidenced-based perioperative nutritional therapy in liver transplantation (LT).

Protein-energy malnutrition, which is common in patients with end-stage liver disease requiring LT, is closely associated with posttransplant risk of morbidity and mortality. Especially, infectious complications including sepsis often occur after LT and are the most frequent causes of in-hospital death despite recent advances in perioperative management. We reported that pretransplant nutritional status and supplementation with branched-chain amino acids (BCAA)-enriched nutrient mixture have potent impacts on the incidence of postoperative sepsis. Preoperative serum zinc level was markedly low, which showed negative correlation with ammonia level and positive correlation with prealbumin level. Moreover, early enteral nutrition with the new immuno-modulating diet enriched with whey-hydrolyzed peptide was useful to prevent posttransplant bacteremia. Most recently, we reported that sarcopenia was closely involved with post-transplant mortality in patients undergoing living donor LT and perioperative nutritional therapy significantly improved overall survival in patients with sarcopenia.

Based on these findings, we have developed a tailor-made perioperative nutritional therapy as follows.

- 1) Evaluation of nutritional status using body composition analyzer upon admission
- 2) Preoperative administration of zinc and BCAA-enriched nutrient mixture as late evening snack
- 3) Administration of probiotics and prebiotics(synbiotics)to modulate gut immunity and to prevent bacterial translocation
- 4) Perioperative rehabilitation aiming for postoperative early recovery
- 5) Preoperative oral rehydration therapy until 2 hours before anesthesia
- 6) Early enteral nutrition using a new immuno-modulating formula enriched with whey-hydrolyzed peptide

Key words : liver transplantation, sarcopenia, perioperative nutritional therapy, whey peptide, zinc

研究

神経疾患と亜鉛

武蔵野大学薬学部生命分析化学研究室¹⁾ 鈴鹿医療科学大学薬学部²⁾ 川原正博¹⁾ 定金豊²⁾ 水野大¹⁾

要 約

亜鉛は、脳内、特に海馬や大脳皮質中に高濃度で含まれており、その一部はシナプス小胞内に局在している。このシナプス内亜鉛は、神経細胞興奮時に興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸と共に放出され、神経情報の modulator として記憶・学習に重要な役割を果たすと考えられている。一方で近年、亜鉛ホメオスタシスの異常が、アルツハイマー病、脳血管性認知症、プリオン病等の神経疾患の発症に重要な役割を果たすことが報告されている。亜鉛は、アルツハイマー病においては、発症の要因となる β アミロイド蛋白の多量体化を促進し、アミロイド前駆体蛋白の ferroxidase 活性を抑制することによって発症を促進することが示唆される。

一方で、亜鉛は β アミロイド蛋白による神経毒性に対して保護的に働くことも示唆されている。また、亜鉛はグルタミン酸受容体に作用してその興奮性を抑制する一方で、脳虚血時に過剰に放出された場合には神経細胞死を引き起こし、脳血管性認知症の原因となると考えられている。従って、亜鉛は脳内において、ある場合には神経疾患の発症を促進し、ある場合には抑制するという両面の複雑な作用を果たしていると考えられる。ここでは、このような神経疾患の発症における亜鉛の役割について筆者等の研究を基に概説すると共に、神経疾患の予防・治療薬候補としてのカルノシンの可能性について述べる。

KEY WORDS カルシウムホメオスターシス、アルツハイマー病、 β -アミロイド蛋白、虚血、脳血管性認知症

1. はじめに

必須金属である亜鉛 (Zn) は人体内に約 2g 含まれており、脳内、特に海馬、大脳皮質などに 100ppm 近い高濃度で含まれている。脳内の Zn の多くは酵素や機能タンパク質と結合した状態で様々な役割を果たしているが、約 10% は free のイオンとしてグルタミン酸作動性神経のシナプス小胞内に含まれており、神経細胞の興奮時にグルタミン酸とともに放出される¹⁾。Fe など多くの必須金属は、ほとんど free イオンの状態では存在しないことを考えると、Zn は奇妙な金属である。シナプスから放出された Zn は、シナプス間隙周辺の神経細胞に拡散し、NMDA 型グルタミン酸

受容体や GABA 受容体に結合して興奮性を制御し、神経情報の modulator として働くことによって、シナプス可塑性の発現および記憶形成に働いている可能性が考えられる²⁾。従って、Zn の成長期における欠乏は、神経機能の発達異常や記憶学習の異常を引き起こす³⁾。成熟ラットにおいても LTP (Long term potentiation) を抑制し、記憶学習の異常を引き起こすことや⁴⁾、シナプス小胞への Zn 取り込みを担っているトランスポーター (ZnT-3) を knock out したマウスでは空間記憶に異常が生じることも報告されている⁵⁾。

しかしながら一方で、Zn ホメオスタシスの異常 (過剰及び欠乏) が様々な神経疾患の発症に関与しているという報告が近年増加してきている。

ここでは、老年性認知症（アルツハイマー病、脳血管性認知症）、プリオン病との関わりについて、筆者らの研究を含めて概説したい。

2. 亜鉛とアルツハイマー病

日本は現在、65 歳以上の高齢者が総人口の 25% を占める超高齢社会に突入している。その結果として老年性認知症患者数は 2012 年においてすでに 460 万人を越えており、予備群を含めると 800 万人以上と推計されている。老年性認知症は、アルツハイマー病（AD；Alzheimer's Disease）、脳血管性認知症（VD；vascular type of dementia）、レビー小体型認知症（DLB；dementia with Lewy bodies）などに大別される。老年性認知症の中で最も多い割合を占める AD は、老人斑および神経原線維変化というタンパク質の異常蓄積、シナプスの異常、神経細胞の脱落を病理的特徴とする。AD の発症原因としては、老人斑の主要構成成分である β アミロイドタンパク（A β P）の蓄積による神経細胞死が発症に大きな役割を果たすというアミロイド・カスケード仮説が有力視されてい

る⁶⁾。A β P は、38 ～ 43 アミノ酸残基からなるペプチドであり、前駆体タンパク質である APP（amyloid precursor protein）から、 β セクレターゼ（BACE1； β -site APP cleaving enzyme1）によって N 末部分が切り出され、続いて γ セクレターゼによって細胞膜内に存在する C 末部分の切断が起こり、脳内に分泌される（図 1）。

APP の mRNA には、鉄貯蔵タンパク質である ferritin 同様に、IRE（iron responsive element）が含まれている⁷⁾。従って、Fe 欠乏状態では RNA 結合タンパク質である IRP（iron responsive protein）が IRE に結合することによって ferritin や APP の発現を抑制し、過剰の Fe が存在すると IRP は分解され IRE から外れることによってこれらのタンパク質の発現が促進されることになる。APP の生理的役割については不明の点が多いが、Zn 結合ドメインおよび Cu 結合ドメインを持つことが報告されている⁸⁾。また、最近 Duce らは APP が ferritin や銅結合タンパク質である ceruloplasmin 同様に、Fe²⁺ を Fe³⁺ に変換する ferroxidase 活性を持っていることを報告している⁹⁾。すなわち、

APP は毒性が高い遊離の Fe²⁺ を Fe³⁺ に変換して transferrin などに受け渡すことによって、酸化ストレスを軽減し神経細胞を保護する役割を担っているのではないかと考えられる。また、この活性は Zn によって抑制されることから、Zn が APP による酸化ストレス制御に影響することも明らかとなった。

分泌された A β P は、通常は、ネプリライシンやインスリン分解酵素（IDE）などのタンパク質分解酵素（両者ともに金属結合能を持つメタロプロテアーゼである）によって分解され排泄されるが、何らかの原因によって長年月に渡って蓄積した A β P がシナプスの異常、神経細胞死を引き起こし、AD の発症に重要な役割を果たすと考えられている。A β P が培養神経細胞等に対して毒性を示すことが 1991 年に報告され、さらに A β P は α ヘリックスあるいはランダムコイル構造をとる単量体（monomer）の場合には神経毒性は低い、自己重合して β シート構造を持つ多量体（oligomer）となることによって毒性が増強されるという興味深い性質を持つことが明らかになった¹⁰⁾。A β P が若年時でも脳内に分泌されていることを考えると、A β P の多量体化およびコンフォメーション変化に影響する因子が AD の発症に重要な役割を果たすと考えられる。これまでに、抗ライ病薬である rifampicin、香辛料の curcumin などが抑制因子として報告されている。一方、37℃ での incubation、過酸化、ラセミ化などが多量体化を促進することが報告されているが、このようなコンフォメーション変化に影響する因子として重要なのがアルミニウム（Al）、Zn、銅（Cu）をはじめとする微量元素である。我々は、SDS-PAGE や HPLC を用いて Al が A β P の多量体化を顕著に促進することを見出している^{11,12)}。また、Bush らは Zn や Cu が A β P の多量体化を促進することを報告している^{13,14)}。A β P は、3 個の His 残基、1 個の Tyr 残基、1 個の Arg 残基を持ち、これらが金属と結合すると考えられており、老人斑に Al、Cu、Zn、Fe などの金属が沈着していることも報告されている^{15,16)}。また、ヒトやサルなどの霊長類では老化に伴って老人斑の蓄積が観察さ

れるが、ラット、マウスなどのげっ歯類ではほとんど観察されない。図 1 に示すように、霊長類の A β P とげっ歯類の A β P では 3 つのアミノ酸残基（Arg⁵、Tyr¹⁰、His¹³）のみが異なっており、これら 3 つのアミノ酸がいずれも金属結合能を持つことを考えると、金属が A β P の蓄積に重要な役割を果たしていることが考えられる。

さらに、Zn は A β P による神経細胞死 pathway にも影響する。A β P を神経細胞に投与すると、過酸化、小胞体ストレス昂進など様々な有害な変化を起こすことが報告されているが、何が primary な現象なのかは未だに議論がある。この点に関して Arispe らは、A β P が膜上で多量体からなるチャネル（pore）構造を形成し、このアミロイド・チャネルを介した細胞内 Ca ホメオスタシスの異常を引き起こすことを見いだしている^{17,18)}。いったん細胞内 Ca ホメ濃度が上昇したならば、フリーラジカルの生成やタウのリン酸化など様々な pathway の活性化を引き起こし、神経細胞死を生じることが考えられる。このような pore 形成による細胞死メカニズムは、補体などの生体防御機構や毒素（ブドウ球菌 α 毒素、ハチ毒メリチン、カエル皮膚毒など）でも知られており、いわば A β P は脳内で「防御メカニズム」「毒」として働いているのかもしれない。実際に、A β P が抗菌活性を持つことも報告されている¹⁹⁾。

パッチクランプ法を用いて A β P によって形成されたチャネルの性質を調べた結果、我々は細胞膜上でもアミロイド・チャネルが形成されるが、Zn によって抑制され、Zn キレーターである *o*-phenanthroline によって回復することを見いだした²⁰⁾。A β P によって形成されたチャネルは 5 ～ 8 量体からなる pore 状構造であり、His 残基がチャネル内側に露出しているためと考えられる。また、我々は A β P が細胞内 Ca²⁺ 流入を引き起こすことも明らかにしており²¹⁾、Zn が A β P による細胞内 Ca 流入を阻害することも報告されている²²⁾。従って、神経活動依存的に放出される Zn は、アミロイド・チャネルの活動を抑制することによって A β P による神経細胞死に対して保護的に働くことが考えられ、Arispe らはこの結果を基に、アミ

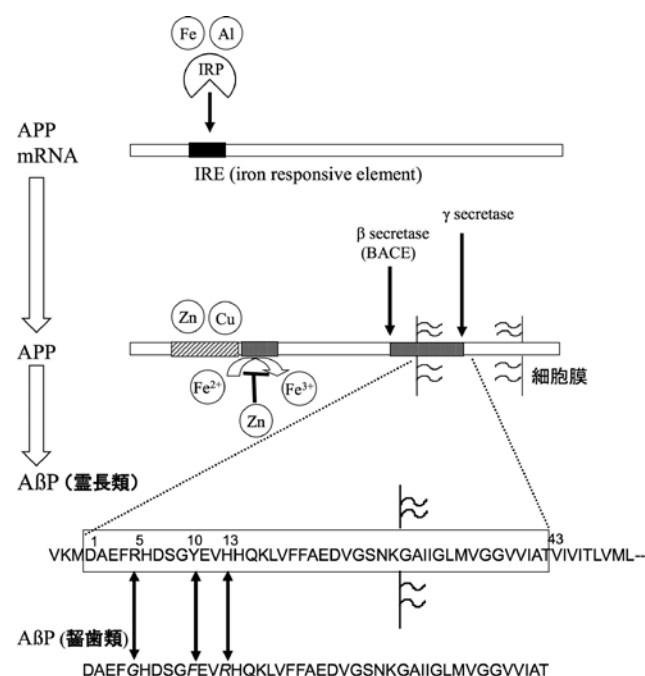


図 1 APP の発現と A β P の分泌における金属の関与

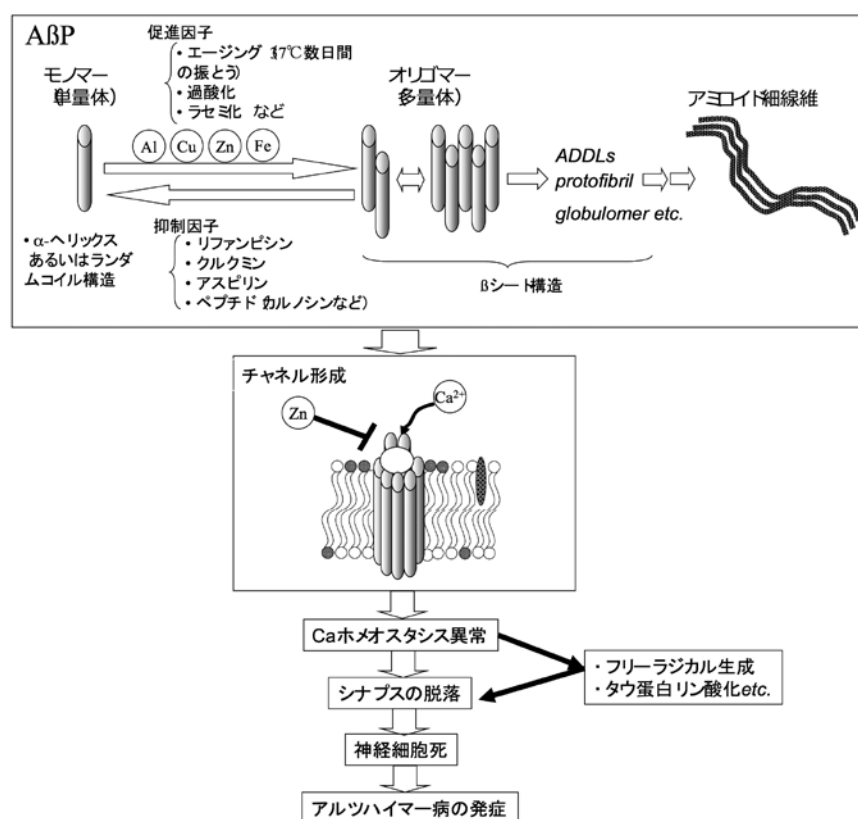


図2 AβP の神経毒性における金属の関与

ロイド・チャンネルを阻害することによってその毒性を抑制する His アナログを開発している²³⁾。

このような結果を考え合わせると、図2に示すように Zn は AD の発症において、ある場合には発症を促進し、ある場合には発症を抑制するという両面の作用を持つことが考えられる。Zn が AβP の多量体化を促進することによって AD 発症の引き金を引くのではないかという考えから、clioquinol (キノホルム) あるいはその誘導体 PBT2 を用いた AD の臨床試験が行われている²⁴⁾。しかしながら、AβP の分子種を詳細に解析した結果、すべての多量体が毒性を持つわけでは無いことも明らかになってきている。最近、Sharma らは dimer ~ trimmer からなる水溶性オリゴマー (soluble oligomer) は毒性を持つが、fibril 状の高分子量多量体は毒性を持たないことや、Cu によって多量体化した AβP は毒性を持つが Zn によ

って多量体化した AβP は毒性を示さないことなどを報告している²⁵⁾。従って、Zn と AD の関係、特に AβP の多量体化が本当に発症に繋がるかどうかに関しては今後更に検討する必要がある。

3. 亜鉛と脳血管性認知症

脳血管性認知症 (VD) は老年性認知症全体の約 3 分の 1 を占め、脳梗塞発作などで脳が虚血状態に陥り、酸素や栄養分が欠乏したことによって生じる神経細胞死が原因とされ、脳梗塞発作後 3 年以内に約 3 分の 1 の患者が発症すると報告されている。脳虚血後の神経細胞死においては、神経細胞の異常興奮は持続した結果、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸が過剰に放出され、標的神経細胞の興奮と細胞内 Ca 流入を引き起こし一方で AMPA/K 型グルタミン酸受容体のサブユ

ニットが脱落し、Ca 透過性が高まることによって生じた細胞内 Ca ホメオスタシスの異常が caspase 活性化、calpain 活性化などのアポトーシス経路の引き金を引くことが原因であると考えられている²⁶⁾。正常時には、シナプス間隙に放出される Zn は NMDA 型グルタミン酸受容体に作用して、その興奮を抑制する。ところが、虚血時においては神経細胞が異常興奮した際に、グルタミン酸と共に過剰な Zn が放出される。実際にどの程度の濃度の Zn がシナプス間隙に放出されるかについては実験動物の年齢や種類、刺激の強さなどで大きく異なり未だに確定してはいない^{27,28)}。しかしながら、シナプス間隙の小ささ (20nm × 240nm) とシナプス密度を考えると、シナプス間隙は脳内細胞外空間の約 1% 程度と推定される²⁹⁾。従って、シナプス間隙において Zn 濃度が 50 μM 上昇したとしても、脳全体では Zn 濃度が約 0.5 μM という微量しか上昇しないことになる (実際、脳梗塞モデル動物において microdialysis 法により 30ppb (約 460nM) の Zn 濃度が報告されている³⁰⁾)。また、Vogt らは電気刺激後 10 ~ 100 μM 程度の Zn が放出されることを報告している³¹⁾。Ca 通過型 AMPA/K 型グルタミン酸受容体を介して Zn が細胞内に侵入し³²⁾、虚血後アポトーシスを起こしている海馬神経細胞内に蓄積すること³³⁾や、Zn 自体がアポトーシスを引き起こし、グルタミン酸による神経細胞死を促進すること、膜非透過型の Zn キレートである CaEDTA によって脳梗塞後の神経細胞死が抑制されること³⁴⁾などから、Zn が VD の発症に大きく関与することが考えられ、Zn による神経細胞死を抑制することによって VD を予防できる可能性がある。

筆者等は、GT1-7 細胞 (不死化視床下部神経細胞) が Zn に対する感受性が高く、他の細胞系と比較して低濃度で顕著なアポトーシス様の神経細胞死を引き起こすことを偶然見だし、この *in vitro* 培養神経細胞系を用いて Zn による神経細胞死メカニズムを研究してきた^{35,36)}。GT1-7 細胞はマウス視床下部神経細胞から得られた細胞株であり、神経細胞としての性質を保持している一方で、グルタミン酸によっては細胞死を生じないため、

Zn による神経細胞死メカニズムを研究する上での良い tool となり得る。薬理学的実験の結果から、Zn による GT1-7 細胞の神経細胞死には、神経伝達物質 (グルタミン酸、GABA) のアンタゴニストやアゴニスト、Na⁺ チャンネルブロッカー (テトロドトキシン) は影響しないことが明らかとなった。しかしながら、ピルビン酸、クエン酸、他の金属イオン (Al³⁺, Gd³⁺, Ca²⁺)、Ca²⁺ チャンネルブロッカー (nimodipine) 等が阻害することが明らかになり、これらの物質がどのような細胞死 pathway に関わっているかについて、薬理実験、遺伝子発現、Ca イメージング等の方法を用いて検討した。Ca イメージングの結果、Zn は投与数分後に細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇を引き起こす事が明らかになり、Al は Zn による細胞内 Ca 濃度上昇を抑制することから³⁶⁾、Ca ホメオスタシス異常が Zn 神経細胞死 pathway において重要な役割を果たしていることが判明した。また、Zn がミトコンドリアにおけるエネルギー産生系を抑制し ATP 産生を阻害することによって細胞死を引き起こし、ピルビン酸が Zn による NAD⁺ 現象を阻害することによって神経細胞死を防ぐことも明らかになった^{35,37)}。

さらに、筆者等は、神経細胞を Zn から保護する物質が VD の予防・治療薬となり得るのではないかと考えてスクリーニング系を開発し、様々な魚介類抽出液等の活性探索を行った結果、カルノシン (β-alanyl histidine) およびヒスチジンが活性を持つことを見出した^{38,39)}。さらに、Zn 神経細胞死過程における遺伝子発現変動を解析した結果、GADD34 などの小胞体ストレス関連遺伝子の発現が増加しており、カルノシンやヒスチジンは亜鉛トランスポーターやメタロチオネイン等の発現には影響しないが、小胞体ストレス関連遺伝子の発現を抑制することも見出している⁴⁰⁾。これらの結果を基に、脳血管性認知症と Zn 神経細胞死について図3にまとめる。

4. プリオン病と亜鉛

プリオン病は、ヒトではクロイツフェルト・ヤ

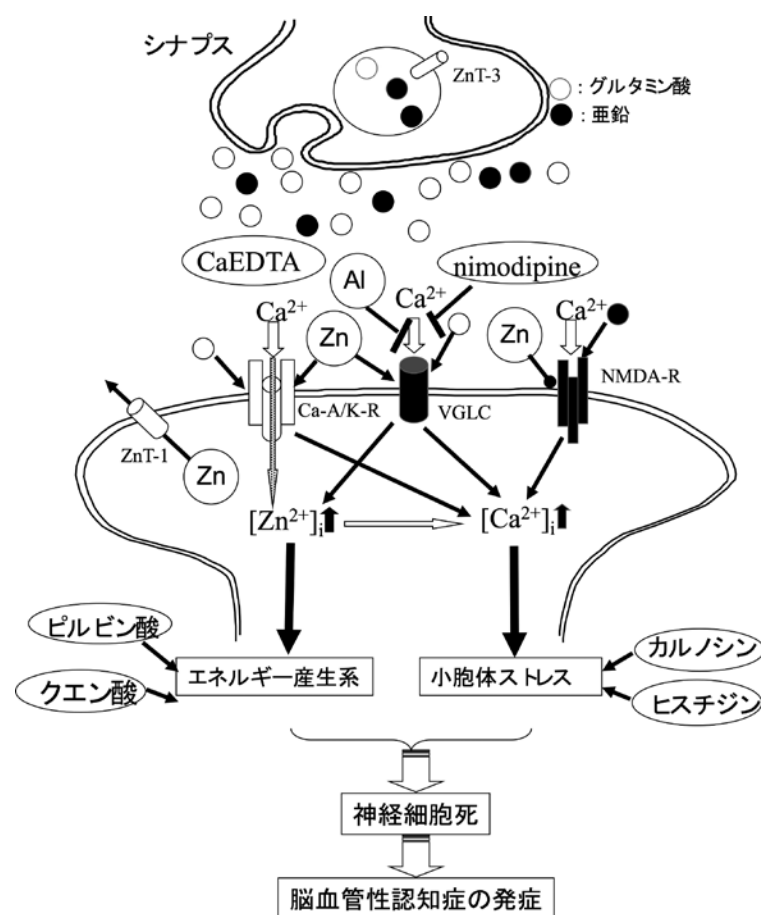


図3 Znによる神経細胞死と脳血管性認知症

コブ病 (CJD), クールー病, 牛では牛海綿状脳症 (いわゆる狂牛病) (BSE), 羊ではスクレイピーなどとして知られている伝染性の神経疾患である。プリオン病では神経細胞の変性・脱落が観察され, その発症にはプリオンタンパク質 (PrP) のコンフォメーション変化が大きく影響すると考えられている⁴¹⁾。PrP は分子量 30-35kD (253 アミノ酸残基) の GPI アンカー型膜糖タンパク質であり, 脳内に多量に発現しているがその役割については未だに不明の点が多い。経口摂取などにより脳内に侵入してきた異常型プリオンタンパク質 (PrP^{Sc}) が脳内に存在している正常型プリオンタンパク質 (PrP^C) を異常型に変化させ, その結果神経細胞死を起こすことが発症につながると考えられている。しかしながら, PrP^C と PrP^{Sc} の間に

は一次構造, 修飾などの化学的性質にはまったく差異が無く, 異常型 PrP^{Sc} では正常型 PrP^C に比べて β シート含量が増加している点が唯一異なっている。正常型 PrP^C の機能が喪失する (loss of function), あるいは異常型 PrP^{Sc} が神経毒性を発現する (gain of toxic function), いずれかの経路によって神経細胞死を引き起こすと考えられている。

図4に示すように, PrP には N 末近傍に octa-repeat ドメイン (-PHGGGWGQ-) が存在しており, 1 分子あたり octa-repeat ドメインに 4 原子, それ以外の His 残基に 2 原子の Cu を結合し, これらは Zn, Mn, Ni などの金属も同様に結合する⁴²⁾。Brown らは, 1997 年に PrP knock-out マウスでは脳内 Cu 含量や Cu 結合酵素活性が低下してい

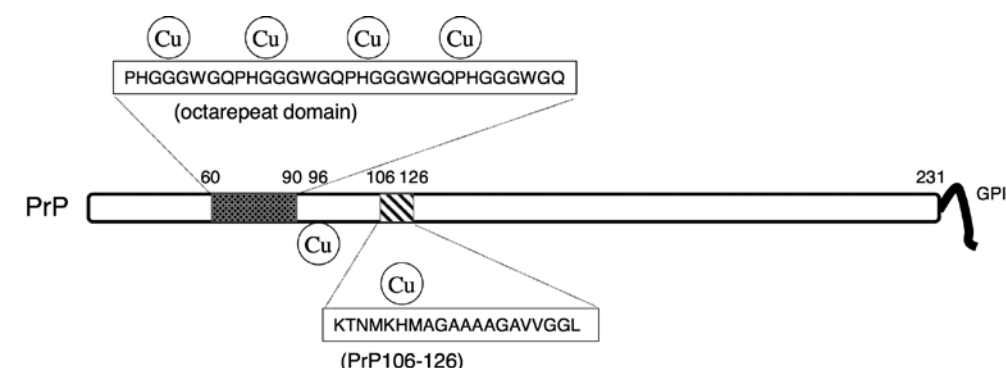


図4 プリオン蛋白の金属結合部位
PrP は 6 個の Cu 結合部位を持ち, Zn, Ni, Mn など同様に結合する

ることを見い出しており⁴³⁾, PrP^C は, Cu を endocytosis することや, Cu 依存的に NMDA 型グルタミン酸受容体の興奮性を制御すること, SOD 様の抗酸化活性を持つことなどが報告され, PrP^C が脳内における Cu ホメオスタシスを維持するために働いていると考えられている⁴⁴⁾。また, CJD 患者では膜内 Cu 含量が低下し Mn が増加していることや, Mn 結合した PrP は土壌中でも安定に存在し, 感染性が増大することなどから, Cu ホメオスタシス異常の結果生じる Mn の異常と発症との関連も注目されてきている⁴⁵⁾。

Zn は体内で Cu に比して高濃度で存在することを考えると, Zn が PrP^C による Cu の制御に影響している可能性が考えられる。最近, PrP^C の遺伝子と亜鉛トランスポーター (Zrt, Irt-like (ZIP) zinc transporter) の遺伝子の間に進化的な相関性が見られるという興味深い結果が報告されている⁴⁶⁾。ZIP は SLC39a ファミリーに属して現在 14 種類報告されており, 主に細胞外あるいは細胞内小器官から Zn を細胞質に輸送する働きを持つ。PrP^C は後シナプスに局在しており, ZIP5 と共存していることことも報告されており, PrP^C がシナプス部位における Zn 濃度のセンサーとして働いて, Ca-AMPA/K 型グルタミン酸受容体と共同して Zn の細胞内取り込みを制御しているのではないかと考えられている⁴⁷⁾。一方, Singh らは PrP^C が Fe³⁺ を Fe²⁺ に変換する ferrireductase と

して働き Fe の細胞内輸送に関与することも報告している⁴⁸⁾。

PrP^{Sc} の神経毒性モデルとして, PrP の断片ペプチドである PrP106-126 がよく用いられている⁴⁹⁾。PrP106-126 は β シート構造を取りやすく, 神経細胞死を引き起こし, Zn, Cu 等の金属結合能を持つ。我々は PrP106-126 が A β P 同様に培養神経細胞の Ca 流入を引き起こすことを見い出しており²¹⁾, PrP^{Sc} による神経毒性メカニズムにも Ca ホメオスタシス異常が関与しているのではないかと考えている。また, Cu および Zn が, PrP106-126 の β シート構造形成を抑制することによって海馬初代培養神経細胞に対する毒性を軽減することも見い出しており⁵⁰⁾, Zn はプリオン病の発症においても複雑に関与していることが考えられる。

5. 終わりに

脳内に含まれている多量の Zn は, 記憶・学習などの脳の機能に必須である一方で, これまで述べてきたように神経疾患の発症をある場合には促進し, ある場合には抑制するという複雑な作用を持っている。このような両面性を考えると, 脳内の Zn はいわばローマ神話におけるヤヌス神 (両面神) のような役割を持っており, Zn ホメオスタシスが崩れた場合に神経疾患が発症するのではないかと考えられる⁵¹⁾。脳内に多量の Zn がフリー

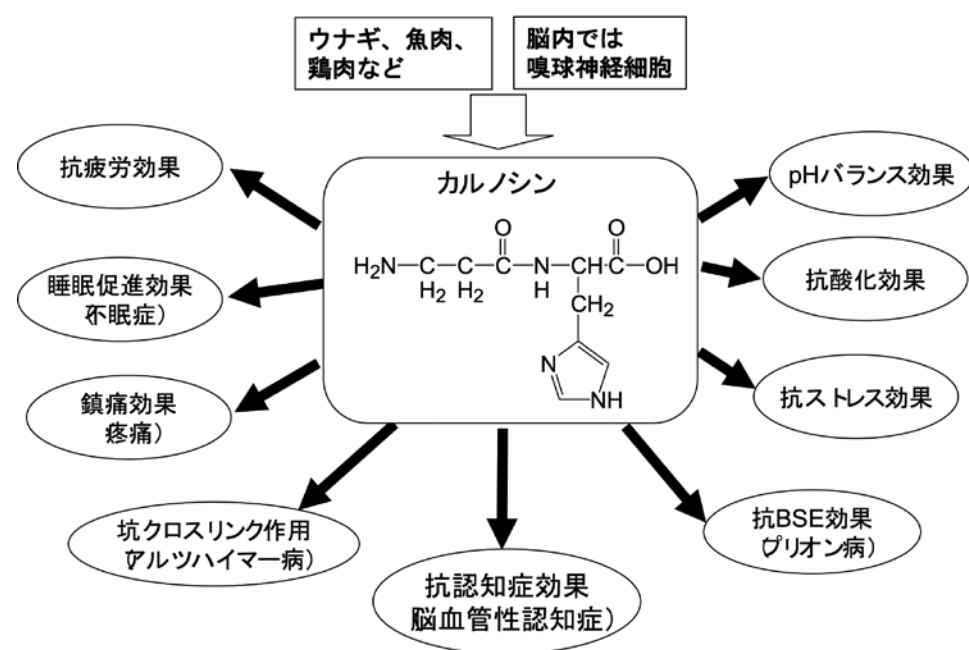


図5 カルノシンの構造と作用

に近い形で存在していることを考えると、生命が神経細胞の Zn に対する脆弱性を放置したまま進化してきたのはいかにも奇妙なことである。実際、Zn を細胞外に排出するトランスポーターである ZnT-1 がシナプス後部に局在していることも報告されている⁵²⁾。また PrP もシナプス間隙における Zn のコントロールを行っている可能性が考えられる。さらに、神経細胞はグリア細胞に取り囲まれており、Zn 結合能を持つメタロチオネイン 3 やカルノシンがグリア細胞にて合成され分泌されることを考えると⁵³⁾、このような Zn ホメオスタシスを維持する機構の異常が神経疾患の発症に関与する可能性が考えられる。その意味で、我々はカルノシンに注目している。カルノシンは哺乳類、魚類、鳥類等の筋肉内に多量に存在する水溶性ジペプチドであり、脳内では主に嗅球神経細胞内に存在している。カルノシンの生体内役割については未だに不明の点が多いが、抗酸化活性、抗糖化活性、抗クロスリンク作用、抗疲労効果、睡眠促進作用、鎮痛作用などを持つことが報告されている（図5）⁵⁴⁾。嗅球が外界からの情報のみならず

物質の入り口であることを考えると、カルノシンが内在性の神経保護物質（neuroprotector）としてゲートキーパー的な役割を果たしているのではないだろうか。カルノシンは我々の in vitro 実験のみならず、虚血モデル動物においても虚血後の神経細胞死を抑制することが報告されている⁵⁵⁾。また、AD モデルマウスにおける Aβ の蓄積および認知機能低下を抑制したこと⁵⁶⁾ やカルノシンの補充療法が高齢者の認知機能改善に有効であったことも報告されている⁵⁷⁾。そこで、我々はカルノシンが創薬シーズとして有用なのではないかと考え、脳血管性認知症の予防・治療薬としての特許を取得している（特許第 5382633 号、2013）。

神経系における Zn をはじめとする微量金属の役割についてはまだまだ不明の点が多い。今後、微量金属と神経疾患の発症に関して、金属-金属間相互作用、タンパク質-金属間相互作用などの観点から更に研究を進めていきたいと考えている。

◆文 献

- 1) Frederickson CJ, et al : Importance of zinc in the central nervous system. the zinc-containing neuron. J Nutr 130 : 1471S. 2000
- 2) Ueno S, et al : Mossy fiber Zn²⁺ spillover modulates heterosynaptic N-methyl-D-aspartate receptor activity in hippocampal CA3 circuits. The Journal of Cell Biology 158 : 215. 2000
- 3) Takeda A, et al : Synaptic Zn(2+) homeostasis and its significance. Metallomics 5 : 417. 2013
- 4) Sandstead HH : Subclinical zinc deficiency impairs human brain function. J Trace Elem Med Biol. 26 : 70. 2002
- 5) Sindreu C, et al : Zinc transporter ZnT-3 regulates presynaptic Erk1/2 signaling and hippocampus-dependent memory. Proc Natl Acad Sci U S A. 108 : 3366. 2011
- 6) Wirths O, et al : A modified beta-amyloid hypothesis, intraneuronal accumulation of the beta-amyloid peptide-the first step of a fatal cascade. J Neurochem 91 : 513. 2004
- 7) Rogers JT, et al : Iron and the translation of the amyloid precursor protein (APP) and ferritin mRNAs, riboregulation against neural oxidative damage in Alzheimer's disease. Biochem Soc Trans 36 : 1282. 2008
- 8) Spierri L, et al : The amyloid precursor protein copper binding domain histidine residues 149 and 151 mediate APP stability and metabolism. J Biol Chem 287 : 26840. 2012
- 9) Duce JA, et al : Iron-export ferroxidase activity of β-amyloid precursor protein is inhibited by zinc in Alzheimer's disease Cell 142 : 857. 2010
- 10) Kawahara M : Role of calcium dyshomeostasis via amyloid channels in the pathogenesis of Alzheimer's disease. Current Pharmaceutical Design 16 : 2779. 2010
- 11) Kawahara M, et al : Aluminum promotes the aggregation of Alzheimer's amyloid β-protein in vitro. Biochem Biophys Res Commun 198 : 531. 1994
- 12) Kawahara M, et al : Effects of aluminum on the neurotoxicity of primary cultured neurons and on the aggregation of β-amyloid protein. Brain Res Bull 55 : 211. 2001
- 13) Bush AI, et al : Rapid induction of Alzheimer Aβ amyloid formation by zinc. Science 265 : 1464. 1994
- 14) Atwood CS, et al : Dramatic aggregation of Alzheimer Aβ by Cu(II) is induced by conditions representing physiological acidosis. J Biol Chem 273 : 12817. 1998
- 15) Miller LM, et al : Synchrotron-based infrared and X-ray imaging shows focalized accumulation of Cu and Zn co-localized with beta-amyloid deposits in Alzheimer's disease. J Struct Biol 155 : 30. 2006
- 16) Yumoto S, et al : Demonstration of aluminum in amyloid fibers in the cores of senile plaques in the brains of patients with Alzheimer's disease. J Inorg Biochem 103 : 1579. 2009
- 17) Arispe N, et al : Alzheimer disease amyloid β-protein forms calcium channels in bilayer membranes, Blockade by tromethamine and aluminum. Proc Natl Acad Sci USA 90 : 567. 1993
- 18) Arispe N, et al : Zn²⁺ interaction with Alzheimer amyloid beta protein calcium channels. Proc Natl Acad Sci USA 93:1710. 1996
- 19) Kagan BL, et al : Antimicrobial properties of amyloid peptides. Mol Pharm 9 : 708. 2011
- 20) Kawahara M, et al : Alzheimer's disease amyloid β-protein forms Zn²⁺-sensitive, cation-selective channels across excised membrane

patches from hypothalamic neurons. Biophys J 73 : 67. 1997

21) Kawahara M, et al : Alzheimer's β -amyloid, human islet amylin and prion protein fragment evoke intracellular free-calcium elevations by a common mechanism in a hypothalamic GnRH neuronal cell-line. J Biol Chem 275 : 14077. 2000

22) Rhee S, et al : Amyloid beta protein-(1-42) forms calcium-permeable, Zn^{2+} -sensitive channel. J Biol Chem 273 : 13379.1998

23) Arispe N, et al : Polyhistidine peptide inhibitor of the $A\beta$ calcium channel potently blocks the $A\beta$ -induced calcium response in cells. Theoretical modeling suggests a cooperative binding process. Biochemistry 49 : 7847. 2010

24) Faux NG, et al : PBT2 rapidly improves cognition in Alzheimer's Disease, additional phase II analyses. J Alzheimers Dis 20 : 509. 2010

25) Sharma AK : The effect of Cu^{2+} and Zn^{2+} on the $A\beta$ 42 peptide aggregation and cellular toxicity. Metallomics 5 : 1529. 2013

26) Choi DW : Cellular defences destroyed. Nature 433 : 696. 2005

27) Frederickson CJ, et al : Cytoarchitectonic distribution of zinc in the hippocampus of man and the rat. Brain Research 27 : 335. 1983

28) Frederickson CJ : Synaptic release of zinc from brain slices. factors governing release, imaging, and accurate calculation of concentration. Journal of Neuroscience Methods 154 : 19. 2006

29) Kay AR : Imaging synaptic zinc, promises and perils. Trends in Neurosciences 29 : 200. 2006

30) Kitamura Yet, al : Release of vesicular Zn^{2+} in a rat transient middle cerebral artery occlusion model. Brain Research Bulletin 69 : 622. 2006

31) Vogt K, et al : The actions of synaptically released zinc at hippocampal mossy fiber synapses. Neuron 26 : 187. 2000

32) Weiss JH, et al : $Zn(2+)$. a novel ionic mediator of neural injury in brain disease. Trends Pharmacol Sci 21 : 395. 2000

33) Koh JY, et al : The role of zinc in selective neuronal death after transient global cerebral ischemia. Science 272 : 1013. 1996

34) Calderone A, et al : Late calcium EDTA rescues hippocampal CA1 neurons from global ischemia-induced death. J Neurosci 24 : 9903. 2004

35) Kawahara M, et al : Pyruvate blocks zinc-induced neurotoxicity in immortalized hypothalamic neurons. Cellular and Molecular Neurobiology 22 : 87. 2002

36) Koyama H, et al : Zinc neurotoxicity and the pathogenesis of vascular-type dementia. Involvement of calcium dyshomeostasis and carnosine, J Clin Toxicol : S3. 2012

37) Cai AL, et al : Zinc neurotoxicity is dependent on intracellular NAD levels and the sirtuin pathway. The European Journal of Neuroscience 24 : 2169. 2006

38) Kawahara M, et al : Protective substances against zinc-induced neuronal death after ischemia. carnosine a target for drug of vascular type of dementia, Recent Patents on CNS Drug Discovery 2 : 145. 2007

39) Kawahara M, et al : D-histidine and L-histidine attenuate zinc-induced neuronal death in GT1-7 cells. Metallomics 5 : 453. 2013

40) Mizuno D, and Kawahara M : The molecular mechanism of zinc neurotoxicity and the pathogenesis of vascular type dementia. Intern J Mol Sci 14 : 22067. 2013

41) Prusiner SB : Prion diseases and the BSE crisis. Science 278 : 245. 1997

42) Jackson GS, et al : Location and properties of metal-binding sites on the human prion protein. Proc Natl Acad Sci USA 98 : 8531. 2001

43) Brown DR, et al : The cellular prion protein binds copper in vivo. Nature 390 : 684. 1997

44) Brown DR : Brain proteins that mind metals, a neurodegenerative perspective. Dalton Trans 21 : 4069. 2009

45) Brown DR : Prions and manganese, A maddening beast. Metallomics : 3229. 2011

46) Schmitt-Ulms G, et al : Evolutionary descent of prion genes from the ZIP family of metal ion transporters. PLoS One 4 : e7208. 2009

47) Watt NT, et al : Neuronal zinc regulation and the prion protein. Prion 7 : 203. 2013

48) Singh A, et al : Prion protein regulates iron transport by functioning as a ferrireductase. J Alzheimers Dis 35 : 541. 2013

49) Bonetto V, et al : Synthetic miniprion PrP106. J Biol Chem 277 : 31327. 2002

50) Kawahara M, et al : Zinc, copper, and carnosine attenuate neurotoxicity of prion fragment PrP106-126, Metallomics 3 : 726. 2011

51) Kawahara M, et al : Disruption of zinc homeostasis and the pathogenesis of senile dementia. Metallomics 6 : 209. 2013

52) Sindreu C, et al : Zinc transporter-1 concentrates at the postsynaptic density of hippocampal synapses. Mol Brain 7 : 7. 2014

53) Sogawa CA, et al : Localization, regulation, and function of metallothionein-III/growth inhibitory factor in the brain. Acta Med Okayama 55 : 1. 2001

54) 川原正博 : 亜鉛と認知症, 脳の中のヤヌス. ファルマシア 48 : 216. 2012

55) Zhang X, et al : Carnosine pretreatment protects against hypoxia-ischemia brain damage in the neonatal rat model. Eur J Pharmacol 667 : 202. 2011

56) Corona C, et al : Effects of dietary supplementation of carnosine on mitochondrial dysfunction, amyloid pathology, and cognitive deficits in 3xTg-AD mice. PLoS One 6 : e17971. 2011

57) Szcześniak D I, et al : Anserine and carnosine supplementation in the elderly, Effects on cognitive functioning and physical capacity. Arch Gerontol Geriatr. 2pii : S0167. 2014

◆川原正博略歴

1985年	東京大学薬学部卒
1990年	同大学大学院博士課程修了 薬学博士
1990～2003年	(財)東京都医学研究機構 東京都神経科学総合研究所 研究員
1995年	National Institute of Health客員研究員
2003～2012年	九州保健福祉大学 薬学部 分析学講座教授
2010～2012年	九州保健福祉大学 薬学科長 薬学部長
2012年	武蔵野大学 薬学部生命分析化学研究室教授 現在に至る

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 elements 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 an 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 μM)．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）は比較的長いが，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．