

脳成長過程におけるマンガン、鉄、銅および亜鉛の局在分布と脳変性疾患への影響

| | |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/2297/14584 |

| | |
|-------------|--|
| 氏名 | 太郎田 融 |
| 学位の種類 | 博士 (理学) |
| 学位記番号 | 博甲第 756 号 |
| 学位授与の日付 | 平成 17 年 9 月 30 日 |
| 学位授与の要件 | 課程博士 (学位規則第 4 条第 1 項) |
| 学位授与の題目 | 脳成長過程におけるマンガン, 鉄, 銅および亜鉛の局在分布と脳変性疾患への影響 |
| 論文審査委員 (主査) | 山本 政儀 (自然計測応用研究センター・教授) |
| 論文審査委員 (副査) | 天野 良平 (医学系研究科・教授), 中西 孝 (自然科学研究科・教授), 本浄 高治 (自然科学研究科・教授), 川井 惠一 (医学系研究科・教授) |

Brain regional distributions of manganese, iron, copper and zinc during development and their influences on neurodegenerative disorders - Rat model experiments -

Abstract

Regional distributions of manganese, iron, copper and zinc were examined in the brains of normal rats during development and 6-hydroxydopamine-induced parkinsonian rats, using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and a radioactive multitracer. Manganese, Fe, Cu and Zn concentrations increased region-specifically with age, and their regional distributions showed some characteristics at the stage of the growth process. High concentrations of Mn, Fe and Zn were observed in the substantia nigra compared with those in neighboring regions. Manganese, Fe, Cu and Zn levels of the 6-OHDA-induced brains were observed to increase in all regions during three weeks after treatment. In the substantia nigra, the increase of Mn level occurred rapidly from 3 to 7 days and preceded those of the other elements reaching a plateau in the 6-OHDA brains. Iron and Zn levels increased gradually until 7 days and then increased rapidly from 7 to 10 days. Our results suggested that, in the 6-OHDA-treated substantia nigra, increasing Mn could accelerate the increases in levels of Fe and other elements and should lead to neurodegenerative disorders. Manganese may be trigger of 6-OHDA lesioning to induce terminal injuries and neuronal cell loss.

学位論文要旨

脳成長過程におけるマンガン、鉄、銅および亜鉛の局在分布と脳変性疾患への影響

脳の発達と機能維持の課題に、脳内微量元素マンガン、鉄、銅および亜鉛の局所動態の観点から追求する。

「脳」は、情報を感知・集積処理し、行動を指令することによりヒトをヒトたらしめている。脳は一見一つの臓器の様であるが、局所ごとに異なる働きを担い局所同士の連携により更に多彩な機能を生み出している。しかしその仕組みは複雑で未だに謎が多く、人体最後のフロンティアと言われている。この様な多彩な脳機能に対して脳内の必須微量元素がどのように働いているかは興味深い課題となっている。脳内の必須微量元素の働きとして、鉄は脳基底核にてドーパミンを作るための補酵素として働いている。亜鉛は海馬に多く存在し記憶や学習に大きく寄与している。銅は脳内の神経化学物質を合成し電子伝達系に関与している。マンガンはエネルギー代謝に関与していると言われているが、微量でその局在についての十分な説明はない。

その反面、これら元素の過剰や欠乏によりパーキンソン病、メンケス病、アルツハイマー病など様々な神経変性疾患を引き起こすことが知られている。しかしながら、必須微量元素が脳内でいつ集積を開始し、どのように集積していくか、更には複数の元素が互いにどのように相互作用するかなどに関する知見は十分でなく、また神経変性疾患の進行過程におけるこれら微量元素の集積挙動や相互関係も明らかになっていない。そこで、成長期ラット脳局所における微量元素の分布を明らかにし、正常脳における微量元素の濃度と恒常性を理解した上で、神経変性疾患の一つであるパーキンソン病と脳局所微量元素の集積との関係を明らかにした。

必須微量元素の分析はICP-MS分析法およびマルチトレーサー法を用いた。ICP-MS分析法は高感度で多元素同時分析が可能である。また、マルチトレーサー法は多元素同時追跡が可能で、完全に同一条件のもとに多くの元素についての情報が得られる特徴がある。パーキンソン病モデルラットは脳片側の黒質に6-hydroxydopamine (6-OHDA) を注入しドーパミン神経細胞を破壊することにより作成した。成長期ラット脳内局所のマンガン、鉄、銅および亜鉛の分布をFig. 1に示す。鉄では1日齢から14日齢まで多少ばらつきはあるものの局所間の顕著な濃度差は見られなかったが、21日齢から42日齢まで淡蒼球および脳梁、42日齢以降淡蒼球、77日齢以降黒質にて高度濃度を示した。平均濃度は1日齢から77日齢まで徐々に増加した。フェリチンは最も多くの鉄を運ぶ能力を持つタンパク質であり、成長や加齢と共に増加し続け、生後30日齢ぐらいで脳全体に集積すると考えられる。マンガンは4元素の中で最も低濃度を示した。平均濃度は21日齢まで急激に増加し、1日齢と21日齢では約4.5倍もの濃度差が生じた。局所別にみると、14日齢以降嗅覚結節および黒質で他の局所より高濃度を示し、21日齢から42日齢では脳梁においても高濃度を示した。マンガンはミトコンドリアでのエネルギー生産に寄与しており、成長期には特に重要である。銅の平均濃度は21日齢まで急激に増加し、21日齢以降ほとんど変化はなくほぼ一定になっている。局所別にみると、14日齢以降に視床および線条体に高濃度を示した。一方、海馬においては14日齢以降著しい低濃度を示した。亜鉛濃度は1日齢から42日齢まで徐々に増加し、42日齢以降はほとんど変化なくほぼ一定になっている。局所別の集積挙動は、14日齢以降では急激に増加するパターンと緩やかに増加するパターンの二通りに分類できた。21日齢以降では海馬、淡蒼球、脳梁および黒質に高濃度を示した。海馬への集積は亜鉛が学習と記憶機能を維持する重要な役割を担うためである。

6-OHDA 処理1、2週間後の黒質、線条体、淡蒼球および扁桃におけるマンガン、鉄、銅および亜鉛の集積をFig. 2に示す。6-OHDA パーキンソン病モデルラットにおいて、黒質の元素集積はマンガンが最も早く、次に鉄および亜鉛が集積し始め、銅が少し遅れて集積し始めた。これら4元素を同時に測定することでパーキンソン病進行におけるこれら元素の輸送や集積について新しい情報が得られた。6-OHDA 処理の黒質にてマンガンの迅速な集積があり、その後鉄や亜鉛が集積し始めた。マンガンの急激な集積が鉄の増加を加速させたと考えられる。一般的にアコニターゼは

ミトコンドリアでのエネルギー生産に関与し、細胞内の鉄の恒常性をコントロールしていることが知られているが、パーキンソン病における脳局所病変部位においては、マンガン曝露によってミトコンドリアのアコニターゼ活性が著しく抑制される。病変部位におけるマンガン集積が鉄の恒常性を破壊し、鉄の蓄積を誘発していることを裏付けた。

また、マルチレーザーによる 6-OHDA 処理 1、2 週間後の黒質、線条体、淡蒼球および視床下部におけるスカンジウム、マンガン、亜鉛およびルビジウムの集積を Table 1 に示す。マルチレーザー法の結果では、6-OHDA パーキンソン病モデルラットの黒質、線条体、淡蒼球および視床下部において、マンガンは他元素より早期に高い取込みを示した。ICP-MS 分析の結果と併せ総合的に考えると、マンガンはドーパミンの自動酸化や鉄の増加を促進することに加え、黒質線条体細胞層における一連のドーパミン作用細胞群の進行的損失を促していると考えられる。このことにより次第に神経変性が進みパーキンソン病が発症する。マンガンが脳内必須微量元素の中で最も早く集積し神経変性に関わる重要な役割を担っていることが理解できる。

パーキンソン病の進行に、マンガンが引き金になっていると考えられる。脳内マンガン濃度の変動は他の神経変性疾患の進行に関与しているかもしれない。

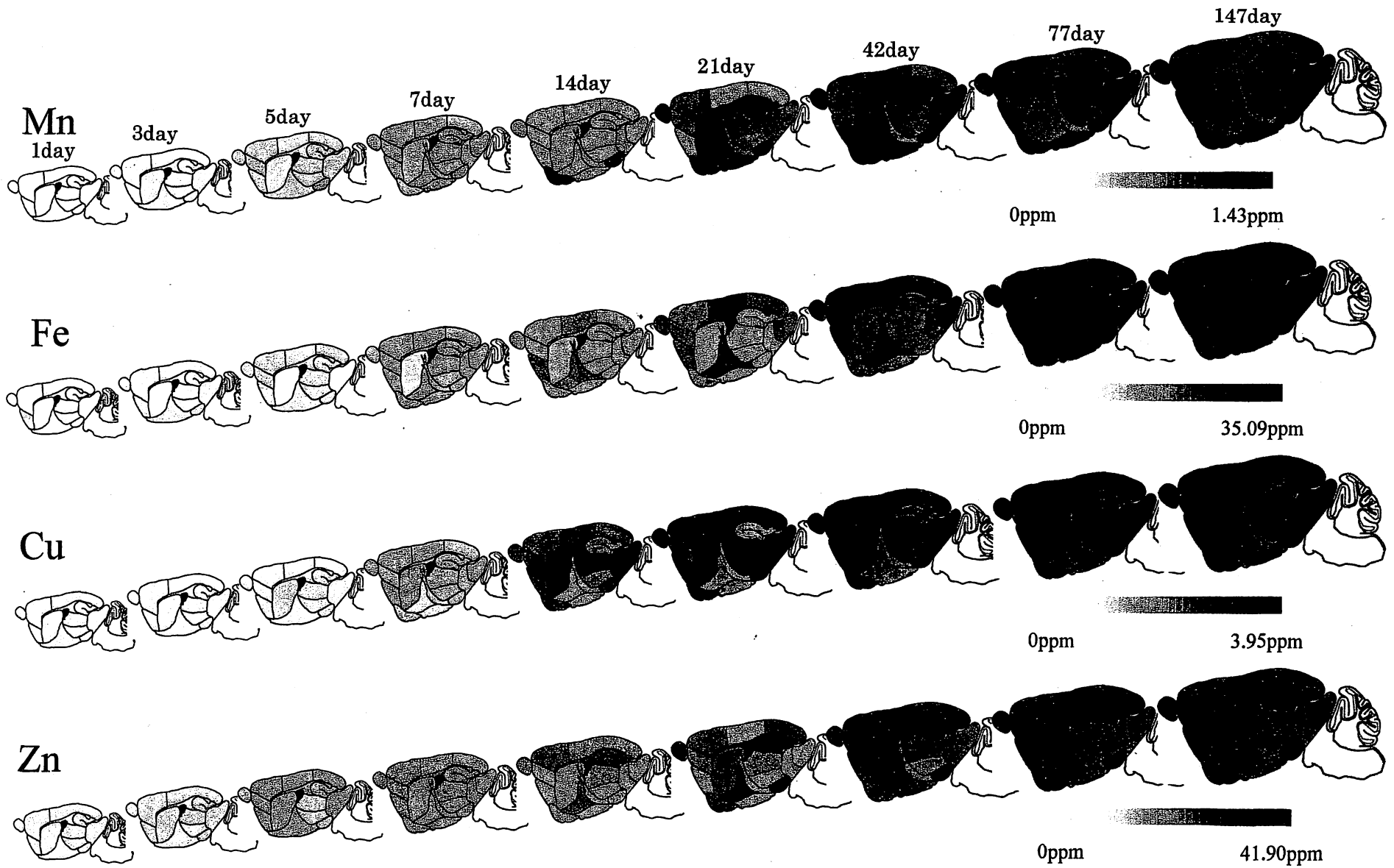


Fig. 1 Regional distribution map of Mn, Fe, Cu and Zn in the brain of 1-, 3-, 5-, 7-, 14-, 21-, 42-, 77- and 147-day-old rats. For each metal group, the maximum value of the concentration is assumed to be 100 % (black) and the minimum value (0 ppm) is to be 0 % (white)

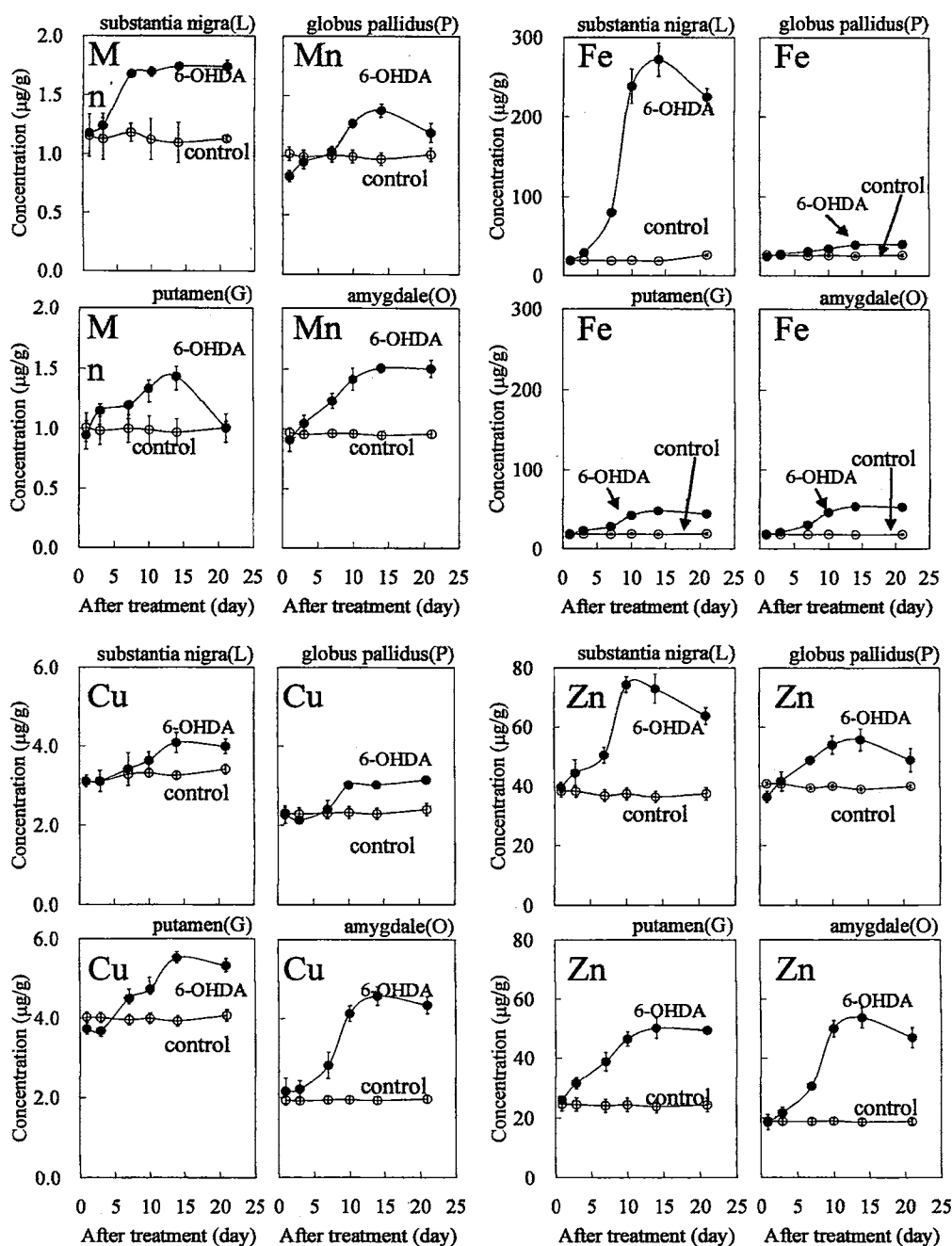


Fig.2 Changes in Mn, Fe, Cu and Zn concentrations in the substantia nigra (L), globus pallidus (P), putamen (G) and amygdale regions of control and 6-OHDA treated rats 1, 3, 7, 10, 14, and 21 days after treatment

Table 1 Accumulation rates of ^{46}Sc , ^{54}Mn , ^{65}Zn and ^{83}Rb in the substantia nigra, striatum, globus pallidus and hypothalamus 1 and 2 weeks after treatment.

| Tracer | Substantia nigra | | | Striatum | | | Globus pallidus | | | Hypothalamus | | |
|-------------------------|------------------|-------------|--------------------|-------------|-------------|--------------------|-----------------|---------------|--------------------|--------------|-------------|--------------------|
| | control | 6-OHDA | ratio [†] | control | 6-OHDA | ratio [†] | control | 6-OHDA | ratio [†] | control | 6-OHDA | ratio [†] |
| 1 week after treatment | | | | | | | | | | | | |
| ^{46}Sc | 1.15 ± 0.04 | 1.33 ± 0.03 | 1.2 | 0.97 ± 0.06 | 1.10 ± 0.05 | 1.1 | 1.08 ± 0.02 | 0.90 ± 0.05 * | 0.8 | 0.83 ± 0.05 | 1.21 ± 0.04 | *** 1.5 |
| ^{54}Mn | 0.08 ± 0.01 | 0.36 ± 0.03 | *** 4.5 | 0.10 ± 0.02 | 0.35 ± 0.01 | *** 3.5 | 0.11 ± 0.02 | 0.32 ± 0.03 | *** 2.9 | 0.12 ± 0.04 | 0.35 ± 0.01 | *** 2.9 |
| ^{65}Zn | 0.37 ± 0.01 | 0.60 ± 0.04 | *** 1.6 | 0.36 ± 0.02 | 0.59 ± 0.04 | *** 1.6 | 0.29 ± 0.03 | 0.53 ± 0.03 | *** 1.8 | 0.40 ± 0.01 | 0.63 ± 0.04 | *** 1.6 |
| ^{83}Rb | 0.71 ± 0.01 | 0.87 ± 0.04 | ** 1.2 | 0.72 ± 0.02 | 0.95 ± 0.05 | ** 1.3 | 0.44 ± 0.01 | 0.90 ± 0.05 | *** 2.0 | 0.82 ± 0.03 | 0.95 ± 0.06 | 1.2 |
| 2 weeks after treatment | | | | | | | | | | | | |
| ^{46}Sc | 0.44 ± 0.05 | 1.57 ± 0.08 | *** 3.6 | 1.43 ± 0.07 | 1.75 ± 0.08 | *** 1.2 | 0.71 ± 0.06 | 0.95 ± 0.03 | *** 1.3 | 1.53 ± 0.05 | 2.30 ± 0.03 | *** 1.5 |
| ^{54}Mn | 0.15 ± 0.01 | 0.58 ± 0.03 | *** 3.9 | 0.23 ± 0.02 | 0.37 ± 0.04 | *** 1.6 | 0.15 ± 0.02 | 0.29 ± 0.02 | *** 1.9 | 0.33 ± 0.01 | 0.39 ± 0.03 | * 1.2 |
| ^{65}Zn | 0.70 ± 0.01 | 1.46 ± 0.06 | *** 2.1 | 1.27 ± 0.04 | 1.45 ± 0.06 | ** 1.1 | 0.48 ± 0.04 | 1.01 ± 0.06 | *** 2.1 | 1.65 ± 0.05 | 1.89 ± 0.07 | *** 1.1 |
| ^{83}Rb | 0.34 ± 0.01 | 1.40 ± 0.09 | *** 4.1 | 1.16 ± 0.03 | 1.48 ± 0.08 | *** 1.3 | 0.70 ± 0.06 | 1.02 ± 0.10 | *** 1.5 | 1.29 ± 0.01 | 2.01 ± 0.02 | *** 1.6 |

Values represent means ± S.D.(standard deviation) for four rats.

Statistical significance was evaluated using Student's *t* test, **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.005 vs control value.

ratio[†] = 6-OHDA / control.

学位論文審査結果の要旨

本審査委員会は、審査の結果、上記学位論文に関して以下のように判定した。

本論文は、必須微量元素マンガン、鉄、銅および亜鉛の脳局在分布の成長に伴うおよび神経変性パーキンソンニズム進行に伴う変化と働きを追及したものである。本論文の成果は大別して次の4点からなる。

1) 正常ラットの誕生から21週齢の成長過程における脳局所18箇所のマンガン、鉄、銅および亜鉛濃度の変化を追跡し、これら4元素の濃度分布パターン図を作成した。

2) 6-hydroxydopamine (6-OHDA) 注入パーキンソン病モデルラットの脳黒質での鉄異常集積をマンガン、銅および亜鉛の黒質における濃度変化と比較解析しその過程を解明した。即ち、6-OHDA 注入脳黒質にて先ずマンガンの迅速な集積があり、その集積が続いて鉄の集積を加速させると考え、ミトコンドリアのアコニターゼ活性との関連性を考察した。

3) 6-OHDA パーキンソン病進行過程における微量元素の取込み挙動を、放射性マルチトレーサー法により検討し、黒質、線条体、淡蒼球および視床下部にて、早期に放射性マンガンが取込まれることを示した。ドーパミン作用性ニューロンへのマンガンの働きとパーキンソン病進行過程について考察した。

4) 脳内マンガン濃度は1 ppm程度と微量であるが、その濃度の僅かな変動は脳の機能変化や脳神経変性疾患のトリガーとなり得ると考察した。

以上のように、本論文は必須微量元素の成長過程におけるの局在分布の変遷とその特徴、パーキンソンニズムの進行に伴うその局在性の激変(恒常性の崩壊)を明らかにした。このことは脳機能の維持および脳神経疾患における微量元素の働きの重要性を示したものであり、研究展開は独創的でありその内容は一般性に富む新知見を提供している。従って本論文は博士の学位を授与するに十分に値するものと判定した。