

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 4 月 10 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461291

研究課題名(和文) 神経細胞における鉄排出システムの補完作用と亜鉛による調節効果の解析

研究課題名(英文) Zinc effect for iron efflux from the neuronal cells

研究代表者

宮嶋 裕明 (Miyajima, Hiroaki)

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号：90221613

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：抗酸化作用のある亜鉛について培養細胞の鉄排出系における亜鉛の効果を検討した。その結果、亜鉛が鉄トランスポーターのフェロポルチンの安定化をすること、また細胞外へ排出された鉄がトランスフェリンに結合する際にその安定化と結合促進に作用することを明らかにした。また、亜鉛トランスポーター-ZnT10がマンガンを輸送することを見出した。亜鉛は鉄代謝異常の改善を図る治療法に結びつく可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Zinc can play an important role in the stability of ferroportin and ferrous iron binding to transferrin. We found that zinc transporter ZnT10 is localized to the plasma membrane and functional in Mn metabolism by effluxing cytosolic Mn. Because zinc has antioxidant activity, treatment with zinc may be useful in patients with neurodegeneration with brain iron accumulation to diminish iron accumulation in the brain.

研究分野：神経内科学

キーワード：鉄 亜鉛 フェロポルチン セルロプラスミン トランスフェリン 亜鉛トランスポーター マンガン

1. 研究開始当初の背景

(1) 体内の鉄欠乏や鉄過剰が脳内の鉄代謝に影響を及ぼすことは一般的には少ないが、我々はセルロプラスミン遺伝子(CP)の変異により、脳を含む全身に過剰な鉄沈着をきたす無CP血症を見出した。本疾患では貧血、糖尿病に加え、不随意運動、運動失調、認知症などの神経症状を成人で発症する。

(2) CPは細胞膜の鉄トランスポーターのフェロポルチンにより細胞内から運ばれた2価鉄を細胞外で3価鉄に酸化する鉄酸化活性があり、この3価鉄は鉄のトランスポーターであるトランスフェリンと結合して細胞間を運搬される。無CP血症では細胞からの鉄排出系の障害により著明な細胞内鉄蓄積が起こると考えられる。

(3) 脳内の鉄代謝はほとんど解明されていなかったが、無CP血症の解析により、CPが発現するアストロサイトに著明な鉄蓄積が認められ、神経細胞は鉄欠乏状態になることより、脳内には半閉鎖系鉄サイクルの鉄リサイクルモデルが予想された。

2. 研究の目的

無CP血症の脳における症状発現は中年期以降であり鉄の蓄積は緩徐である。したがって、アストロサイトからの鉄排出系でCPの役割を補完しているシステム、鉄代謝関連タンパク質の発現の調節が予想される。この補完系は治療へ応用できる可能性がある。

そこで今回の研究では次の3点を明らかにすることを目的とした。

(1) 無CP血症における血中、組織内での鉄、銅、亜鉛、マンガンなどのニューロメ

タル量を測定し、相互の関係について検討する。

(2) フェロポルチン-鉄排出系におけるニューロメタルの作用について、無CP血症の脳および培養細胞で解析し、metal-metal interactionを明らかにする。

(3) それぞれのニューロメタルの細胞からの排出メカニズムを検討する。

3. 研究の方法

(1) 臨床症候、遺伝子変異が認められた無CP血症患者の血液においてニューロメタルを測定する。診断の確定した患者剖検脳において、脳組織の染色、原子吸光法での測定によりニューロメタルの分布と濃度をみる。

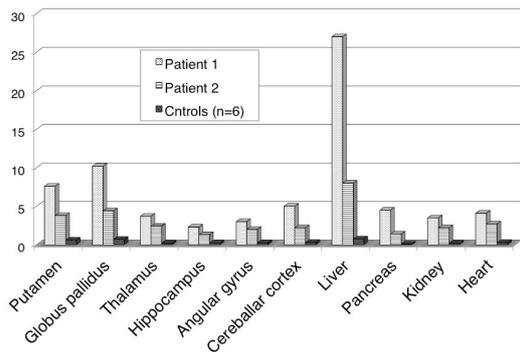
(2) 無CP血症患者の剖検脳における鉄放出関連タンパク質、フェリポルチン、ヘフェスチン、アミロイドβ前駆体タンパク質、ヘプシジンの局在と発現の程度を観察する。また、培養細胞における亜鉛の鉄放出関連タンパク質に対する効果と細胞の保護効果について観察する。

(3) 培養細胞においてフェロポルチン、亜鉛トランスポーターによるニューロメタルの排出機構について特異性を検討する。

4. 研究成果

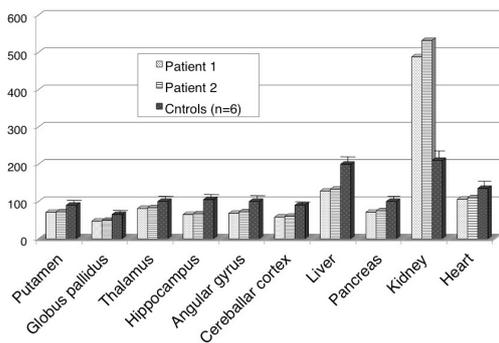
(1) 亜鉛の血中濃度は、無CP患者の9名のホモ接合体では $89.7 \pm 19.8 \mu\text{g/dl}$ ($p < 0.05$)、12名のヘテロ接合体では $114.5 \pm 24.8 \mu\text{g/dl}$ 、24名の年齢・性を合わせた健常者24名では $118.2 \pm 29.4 \mu\text{g/dl}$ であり、ホモ接合体患者では減少することが分かった。また、剖検脳のニューロメタルは、鉄が脳で

は基底核・視床・歯状核・黒質>大脳皮質>
大脳白質の順で過剰に沈着し、臓器では肝臓

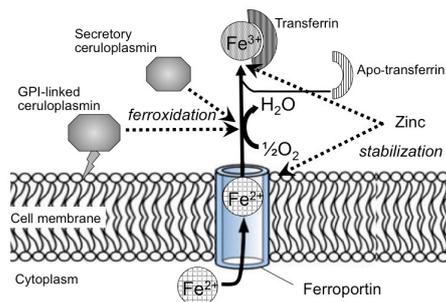


に著明に沈着していた(上図)銅、マンガンも同様の傾向が認められた。これに対し、亜鉛は脳だけでなく、いずれの臓器においても減少が認められ、唯一例外的に腎臓で増加していた(下図)。

(2) 剖検脳における鉄放出関連タンパク



ク質の発現は、フェリポルチンは減少、ヘフェスチンは増加、アミロイドβ前駆体タンパク質は増加、ヘプシジンは減少しており、鉄を排出する方向に関連タンパク質が発現していた。これらに対する亜鉛の作用は、フェロポルチンを安定化して鉄排出を促進すること、トランスフェリンの前駆体タンパク質



であるアポトランスフェリンへの3価鉄の結合を安定化し、促進することである。今回はこれらについて明らかにした(左下図)。

(3) フェロポルチンは鉄の輸送だけでなくマンガンも輸送すること、マンガンはCPにより酸化されてトランスフェリンに結合することを明らかにした。さらに、亜鉛トランスポーターZnT10がマンガンを送送することを新たに見出した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

- ① Nishito Y, Tsuji N, Fujishiro H, Takeda TA, Yamazaki T, Teranishi F, Okazaki F, Matsunaga A, Tuschl K, Rao R, Kono S, Miyajima H, Narita H, Himeno S, Kambe T. Direct comparison of manganese detoxification/efflux proteins and molecular characterization of ZnT10 protein as a manganese transporter. *J Biol Chem* 291(8): 14773-14787, 2016.
- ② Miyajima H. Investigated and available therapeutic options for treating aceruloplasminemia. *Expert Opinion on Orphan Drugs* 3(9): 1011-1020, 2015.
- ③ Ono Y, Ishigami M, Hayashi K, Wakusawa S, Hayashi H, Kumagai K, Morotomi N, Yamashita T, Kawanaka M, Watanabe M, Ozawa H, Tai M, Miyajima H, Yoshioka K, Hirooka Y, Goto H. Copper accumulates in hemosiderins in livers of patients

with iron overload syndromes. J Clin
Transl Hepatol 3(2): 85-92, 2015.

- ④ Tai M, Matsuhashi N, Ichii O, Suzuki T, Ejiri Y, Kono S, Terada T, Miyajima H, Harada M. Case of presymptomatic aceruloplasminemia treated with deferasirox. Hepatol Res 44(12): 1253-1258, 2014.

[学会発表] (計2件)

- ① 宮嶋裕明. Aceruloplasminemia. 日本神経病理学会 2014. 6. 7.
② 宮嶋裕明. 鉄代謝の解明に向けて～新たな創薬のターゲット～. 日本神経治療学会 2015. 11. 27.

[図書] (計2件)

- ① Kono S, Miyajima H. Aceruloplasminemia. In: Rosenberg RN, Pascual JM eds. Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease. Fifth Edition. Elsevier, Academic Press, London, Chapter 45, p. 495-506, 2015.
② 河野智、宮嶋裕明: 鉄代謝と神経疾患. 鈴木則宏、荒木信夫、宇川義一、桑原聡、川原信隆 (編) Annual Review 神経 2017. Basic Neuroscience 生化学(分子生物学). 中外医学社. P. 30-38, 2017.

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

Miyajima H. Aceruloplasminemia. 2003 Aug 12 [Updated 2015 Nov 5]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2015. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1493/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮嶋 裕明 (MIYAJIMA, Hiroaki)
浜松医科大学・医学部・教授
研究者番号: 90221613

(2) 研究分担者

河野 智 (KONO, Satoshi)
浜松医科大学・医学部・講師
研究者番号: 40397386

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者