

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 26 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390025

研究課題名（和文） 海馬亜鉛による学習・記憶の調節と障害

研究課題名（英文） Modulation and Impairment of learning and memory by hippocampal zinc

研究代表者

武田 厚司（TAKEDA ATSUSHI）

静岡県立大学・薬学部・教授

研究者番号：90145714

研究成果の概要（和文）：

亜鉛シグナルはカルシウムチャネルなどを介してカルシウムシグナルとクロストークし、シナプス神経伝達に関与する。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）は海馬三シナプスにおいて亜鉛イオンにより多様に調節される。さらに、海馬依存性の物体・空間認識記憶に海馬シナプス亜鉛イオンが関与する。しかし、ストレスなどによりシナプス亜鉛イオンのホメオスタシスが崩壊すると記憶障害が惹起される。

以上、本研究では海馬シナプス亜鉛イオンが記憶の獲得と障害に関与することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Glutamatergic (zincergic) neurons are concentrated in the hippocampus, where Zn^{2+} plays an important role in memory acquisition. The accepted mechanisms of memory are synaptic plasticity. Long-term potentiation (LTP) is known as a cellular model of synaptic plasticity. Zn^{2+} multi-functionally modulates LTP induction in the hippocampus and is involved in memory acquisition. However, dyshomeostasis of synaptic Zn^{2+} in the hippocampus, which is induced by stress, is involved in the impairment of memory. The present study demonstrated that synaptic Zn^{2+} participates in acquisition and impairment of memory.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|------------|-----------|------------|
| 2010 年度 | 5,900,000 | 1,770,000 | 7,670,000 |
| 2011 年度 | 3,400,000 | 1,020,000 | 4,430,000 |
| 2012 年度 | 3,400,000 | 1,020,000 | 4,430,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 12,700,000 | 3,810,000 | 16,530,000 |

研究分野：医歯薬

科研費の分科・細目：薬学・環境系薬学

キーワード：亜鉛、海馬、学習、記憶、シナプス可塑性、長期増強

1. 研究開始当初の背景

認知活動に関する情報は海馬で処理され、記憶となる。海馬に入力した情報は三シナプスで処理されるが、いずれもグルタミン酸作

動性であり、脱分極刺激によりグルタミン酸と共に亜鉛が放出される。亜鉛はグルタミン酸放出に対するネガティブフィードバックファクターとして働くことを示した。グルタ

ミン酸放出はシナプス可塑性と密接に関係することから、長期増強 (Long-term Potentiation, LTP ; シナプス伝達効率の増加) に対する亜鉛の作用を検討した。塩化亜鉛 (1-5 μM) は苔状線維-CA3 錐体細胞間の LTP を減弱することが明らかとなった。興味深いことに、シャーファー側枝-CA1 錐体細胞間の LTP は逆に同濃度の亜鉛で増強された。苔状線維 LTP はプレシナプスからのグルタミン酸の放出増加に依存する一方、シャーファー側枝 LTP は N-methyl D-aspartate (NMDA) 受容体を介したポストシナプスに依存すると考えられている。

一方、動物実験では老化による記憶・学習能の低下、海馬 LTP の減弱が知られているが、その低下のメカニズム、海馬 LTP 減弱の生理的意義は明らかにされていない。申請者らは、90 週齢以上の老齢ラットでは、海馬細胞外液の亜鉛濃度が約 5 倍に増加していることを見出した。そこで、老齢時海馬 LTP における亜鉛の作用を調べたところ、苔状線維-CA3 錐体細胞間の LTP は若齢時とは異なり、亜鉛により増強されることが明らかとなった。また、シャーファー側枝-CA1 錐体細胞間 LTP に対する亜鉛の増強作用は消失することが判明した。亜鉛による海馬 LTP の調節は時空間的に巧妙に変化することを始めて明らかにした。

2. 研究の目的

学習・記憶のメカニズム解明は神経科学の大きな課題である。記憶形成にかかわる海馬グルタミン酸作動性神経のシナプス小胞には亜鉛が存在し、記憶の分子基盤と考えられているシナプス可塑性に関与する。本研究では海馬三シナプスでの亜鉛の作用変化の生理的意義を明らかにし、学習・記憶における海馬三シナプスの役割を独自の視点から解析する。一方、急性ストレス負荷に伴い海馬三シナプスでの亜鉛ホメオスタシスが変化し、LTP が減弱することを明らかにした。ストレス負荷に伴う学習・記憶障害における海馬シナプス亜鉛の関与を明らかにする。

3. 研究の方法

ラット脳にインジェクションカニューラ付き (あるいは透析膜付き) 電極を挿入し、インビボ電気生理的研究手法を用いて、海馬シナプスでの LTP 誘導と記憶獲得との関係を海馬シナプス亜鉛イオンの作用に着目してリアルタイムに解析する。また、ストレスなどによって惹起される海馬グルタミン酸作動性神経の過剰興奮と記憶障害との関係における海馬シナプス亜鉛イオンの関与を解析する。

4. 研究成果

膜透過型の亜鉛キレーターである clioquinol をラットに腹腔内投与すると、海馬のシナプス Zn^{2+} レベルは歯状回で顕著に減少し、歯状回 LTP が減弱され、物体認識記憶が障害されることを明らかにした。物体認識記憶に歯状回シナプス Zn^{2+} が関与すると考えられるが、clioquinol は歯状回以外のシナプス Zn^{2+} を減少させる。そこで、歯状回シナプス Zn^{2+} を選択的に減少させ、物体認識記憶における歯状回シナプス Zn^{2+} の役割を検討した。その結果、歯状回顆粒細胞内 Zn^{2+} シグナルが物体認識記憶に必要であることが明らかとなった。

ストレスは副腎からのグルココルチコイド分泌を増加させ、学習記憶を障害する。グルココルチコイドはその受容体を介して海馬グルタミン酸作動性神経の興奮性を高める。ストレスによる学習記憶の低下の一因としてグルココルチコイドを介したグルタミン酸作動性神経の活動亢進が考えられているが、シナプス Zn^{2+} の関与は明らかでない。本研究では、コルチコステロンは海馬 CA1 神経細胞を興奮させ、細胞内外で Zn^{2+} レベルを増加させることが明らかとなった。ポストシナプス神経における Zn^{2+} レベルの過剰な増加が学習記憶障害を惹起する可能性がある。そこで、高カリウム誘発過剰興奮モデルを用い、学習記憶障害に対するシナプス Zn^{2+} シグナル過多の関与を検討した。その結果、海馬 CA1 錐体細胞において Zn^{2+} レベルが過剰に増加すると一過性に物体認識記憶が障害されることが明らかとなった。

以上、本研究では海馬シナプス亜鉛イオンが記憶の獲得と障害に関与することを明らかにした。

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 27 件)

1. Atsushi Takeda, Masatoshi Nakamura, Hiroaki Fujii, Haruna Tamano: Synaptic Zn^{2+} homeostasis and its significance. **Metalomics**, in press.
2. Haruna Tamano, Kotaro Fukura, Miki Suzuki, Kazuhiro Sakamoto, Hidehiko Yokogoshi, Atsushi Takeda: Preventive effect of theanine intake on stress-induced impairments of hippocampal long-term potentiation and recognition memory. **Brain Res. Bull.**, 95, 1-6 (2013).
3. Hiroyuki Yamamoto, Rina Okada, Kazuaki Iguchi, Satoshi Ohno, Takashi Yokogawa, Kazuya Nishikawa, Keiko Unno, Minoru Hoshino, Atsushi Takeda: Involvement of plasmin-mediated extracellular activation

- of progalanin in angiogenesis. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 430, 999-1004 (2013).
4. Atsushi Takeda, Haruka Iwaki, Kazuki Ide, Haruna Tamano and Naoto Oku: Therapeutic effect of Yokukansan on social isolation-induced aggressive behavior of zinc-deficient and pair-fed mice. **Brain Res. Bull.**, 87, 551-555 (2012).
 5. Atsushi Takeda, Miki Suzuki, Haruna Tamano, Shunsuke Takada, Kazuki Ide, Naoto Oku: Involvement of glucocorticoid-mediated Zn²⁺ signaling in attenuation of hippocampal CA1 LTP by acute stress. **Neurochem. Int.**, 60, 394-399 (2012).
 6. Atsushi Takeda, Kosuke Itagaki, Masaki Ando, and Naoto Oku: Involvement of NMDA receptor subunits in zinc-mediated modification of CA1 LTP in the developing hippocampus. **J. Neurosci. Res.**, 90, 551-558 (2012).
 7. Atsushi Takeda, Haruna Tamano, Miki Suzuki, Kazuhiro Sakamoto, Naoto Oku, Hidehiko Yokogoshi: Unique induction of CA1 LTP components after intake of theanine, an amino acid in tea leaves and its effect on stress response. **Cell. Mol. Neurobiol.**, 32, 41-48 (2012).
 8. Atsushi Takeda, Haruna Tamano, Taisuke Ogawa, Shunsuke Takada, Masaki Ando, Naoto Oku, Mitsugu Watanabe: Significance of serum glucocorticoid and chelatable zinc in depression and cognition in zinc deficiency. **Behav. Brain Res.**, 226, 259-264 (2012).
 9. Atsushi Takeda and Haruna Tamano: Proposed glucocorticoid-mediated zinc signaling in the hippocampus. **Metallomics**, 4, 614-618 (2012).
 10. Atsushi Takeda: Zinc signaling in the hippocampus and its relation to pathogenesis of depression. **J. Trace Elem. Med. Biol.**, 26, 80-84 (2012).
 11. 武田厚司, 神戸大朋: それって亜鉛不足じゃない?. *Health & Beauty Review*, 28, 31-33 (2012).
 12. 武田厚司: ニューロジンクから見た脳機能. *ファルマシア*, 48, 211-215 (2012).
 13. Atsushi Takeda, Shunsuke Takada, Masatoshi Nakamura, Miki Suzuki, Haruna Tamano, Masaki Ando, and Naoto Oku: Transient increase in Zn²⁺ in hippocampal CA1 pyramidal neurons causes reversible memory deficit. **PLoS One**, 6, e28615 (2011).
 14. Atsushi Takeda, Kazuhiro Sakamoto, Haruna Tamano, Kotaro Fukura, Naoto Inui, Sang Won Suh, Seok-Joon Won, and Hidehiko Yokogoshi: Facilitated neurogenesis in the developing hippocampus after intake of theanine, an amino acid in tea leaves, and object recognition memory. **Cell. Mol. Neurobiol.**, 31, 1079-1088 (2011).
 15. Haruna Tamano and Atsushi Takeda: Dynamic action of neurometals at the synapse. **Metallomics**, 3, 656-661 (2011).
 16. Atsushi Takeda: Zinc signaling in the hippocampus and its relation to pathogenesis of depression. **Mol. Neurobiol.**, 44, 166-174 (2011).
 17. Atsushi Takeda: Insight into glutamate excitotoxicity from synaptic zinc homeostasis. **Int. J. Alzheimers Dis.**, 2011, 491597 (2011).
 18. Atsushi Takeda, Shunsuke Takada, Masaki Ando, Kosuke Itagaki, Haruna Tamano, Miki Suzuki, Haruka Iwaki, Naoto Oku: Impairment of recognition memory and hippocampal long-term potentiation after acute exposure to clioquinol. **Neuroscience**, 171, 443-450 (2010).
 19. Haruna Tamano, Fumika Kan, Naoto Oku, Atsushi Takeda: Ameliorative effect of Yokukansan on social isolation-induced aggressive behavior of zinc-deficient young mice. **Brain Res. Bull.**, 83, 351-355 (2010).
 20. Masaki Ando, Naoto Oku, Atsushi Takeda: Zinc-mediated attenuation of hippocampal mossy fiber long-term potentiation induced by forskolin. **Neurochem. Int.**, 57, 608-614 (2010).
 21. Atsushi Takeda, Miki Suzuki, Haruna Tamano, Masaki Ando, Naoto Oku: Differential effects of zinc influx via AMPA/kainate receptor activation on subsequent induction of hippocampal CA1 LTP components. **Brain Res.**, 1354, 188-195 (2010).
 22. Atsushi Takeda, Haruna Tamano, Sachie Imano, Naoto Oku: Increases in extracellular zinc in the amygdala in acquisition and recall of fear experience and their roles in response to fear. **Neuroscience**, 168, 715-722 (2010).
 23. Atsushi Takeda, Haruka Iwaki, Masaki Ando, Kosuke Itagaki, Miki Suzuki, Naoto Oku: Zinc differentially acts on components of long-term potentiation at hippocampal CA1 synapse. **Brain Res.**, 1323, 59-64 (2010).
 24. Mitsugu Watanabe, Haruna Tamano,

- Toshinori Kikuchi, Atsushi Takeda: Susceptibility to stress in young rats after 2-week zinc deprivation. **Neurochem. Int.**, 56, 410-416 (2010).
25. Atsushi Takeda and Haruna Tamano: Insight into neurozinc in the hippocampus. **Biomed. Res. Trace Elements**, 21, 194-203 (2010).
26. Atsushi Takeda and Haruna Tamano: Zinc signaling through glucocorticoid and glutamate signaling in stressful circumstances. **J. Neurosci. Res.**, 88, 3002-3010 (2010).
27. 武田厚司: 亜鉛と健康. **健康食品管理士認定協会会報**, 5, 9-13 (2010).

[学会発表] (計 115 件)

招待学術講演 (計 16 件)

1. Atsushi Takeda, Modulation of learning and memory by Zn²⁺ signal in the hippocampus. Symposium: Zinc signal: its molecular basis in cellular functions and disorders. 第 85 回日本生化学会大会 (博多) 生化学 84, p.34-35, 2012 年 12 月 14 日.
2. Atsushi Takeda, Zn²⁺ signaling: cognition, epilepsy and depression. University of New Mexico School of Medicine (Albuquerque, USA) October 18, 2012.
3. 武田厚司, 記憶の獲得と障害におけるニューロジンの作用. シンポジウム: 「分子生物学的手法を用いた微量元素研究の現状と今後の展望」 第 23 回日本微量元素学会 (東京) Biomed. Res. Trace Elements 23, p.140, 2012 年 7 月 5 日.
4. 武田厚司, 認知からうつに至る亜鉛の関与. 第 66 回日本栄養・食糧学会大会 (仙台) 講演要旨集, p.74, 2012 年 5 月 20 日.
5. 武田厚司, 認知からうつに至る亜鉛シグナルの関与. 東京大学医学系研究科セミナー (東京) 2012 年 3 月 2 日.
6. Atsushi Takeda, Transient Increase in Zn²⁺ in Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons Causes Reversible Memory Deficit. International Society for Zinc Biology 2012 Meeting (Melbourne, Australia) January 17, 2012.
7. 武田厚司, 亜鉛とうつ. シンポジウム: 「ニューロメタル・メタロチオネイン最前線」メタロチオネインおよびメタルバイオサイエンス研究会 2011 (名古屋) 講演要旨集, p.15, 2011 年 12 月 8 日.
8. 武田厚司, ジンクシグナリングから見た脳機能. 高知大学医学部大学院講義 (南国) 2011 年 11 月 4 日.
9. Atsushi Takeda, Zinc signaling in the hippocampus and its relation to pathogenesis of depression. 9nd International Society for

Trace Element Research Conference (Belek (Antalya), Turkey) Abstract, p.16, October 21, 2011.

10. Atsushi Takeda, Essential trace metals and brain function. 第 3 回中日保健医学学術交流会 (北京) 2011 年 9 月 23 日.
11. Atsushi Takeda, Impairment of memory processing by dyshomeostasis of Chelatable zinc in the hippocampus. 5th International Conference on Metals and Genetics (Kobe) Abstract Book, p.82, September 6, 2011.
12. 武田厚司, うつ様行動、恐怖体験とニューロジック. シンポジウム: 「脳神経系における金属の機能と毒性: ニューロメタル最前線」 第 22 回日本微量元素学会 (京都) Biomed. Res. Trace Elements 22, p.80, 2011 年 7 月 2 日.
13. 武田厚司, 視床下部-下垂体-副腎皮質系の機能亢進とストレス感受性. シンポジウム: 「ストレスと脳のはたらき」～健康長寿への展望～. 日本薬学会第 131 年会 (静岡) S03-1, 2011 年 3 月 29 日.
14. Atsushi Takeda, Significance of zinc signaling in memory and its related behavior. The 60th Fujihara Seminar (Osaka) “Zinc Signaling and Cellular Functions”, p.53, October 30, 2010.
15. 武田厚司, ニューロジックの動態解析と脳機能制御. 岡山大&理研ジョイントシンポジウム「最先端計測技術のトレンド 2010」(岡山) 2010 年 6 月 28 日.
16. Atsushi Takeda, Zinc signaling and neuropsychological symptoms in zinc deficiency. Addiction and Nutrition Workshop in NIDA/NIH (Rockville, Maryland, USA) June 3, 2010.

一般講演 (計 99 件)

掲載省略

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武田 厚司

(静岡県立大学・薬学部・准教授)

研究者番号: 90145714