

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 15 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590926

研究課題名（和文）神経変性症における脳内鉄サイクルの制御・調節障害のメタロミクス研究

研究課題名（英文）Regulations on the brain iron cycle in the neurodegenerative disorders

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

研究成果の概要（和文）：

我々が 1987 年に発見した無セルロプラスミン血症の病態解析を進めることにより、セルロプラスミンの脳内での機能が明らかになった。セルロプラスミンは、主にアストロサイトで発現し、(1)細胞からの鉄の動員（細胞内から細胞外への排出）に関与する、(2)鉄酸化活性を有し 2 価鉄を 3 価鉄にする、(3)直接トランスフェリンに結合しない、(4)細胞膜の鉄トランスポーターであるフェロポルチンを安定化する、(5) GPI 結合型セルロプラスミンとして細胞外膜に結合して存在し、フェロポルチンを介して輸送された 2 価鉄を 3 価鉄に酸化してトランスフェリンに結合させる。脳内には血中の鉄イオンが血管上皮のフェロポルチンを介して細胞間隙に 2 価鉄として取り込まれ、あるいはアストロサイト内の鉄がフェロポルチンを介して 2 価鉄として動員され、GPI 結合型セルロプラスミンによって酸化されて 3 価鉄になりトランスフェリンに取り込まれ、神経細胞に運ばれる。神経細胞からフェロポルチンを介して細胞外へ動員された鉄は β アミロイド前駆体蛋白質によって酸化され、再びトランスフェリンに結合してアストロサイトへ運ばれる。脳内の 1 日鉄必要量は血中から取り込む量では足りず、半閉鎖的な脳内鉄サイクルを形成することで鉄を再利用している。今回はこのような脳内の鉄再利用メカニズムの一端を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

In 1987, we described the first case of aceruloplasminemia. This disease revealed an essential role for ceruloplasmin (Cp) in brain iron homeostasis. We now know that (1) Cp regulates the efficiency of iron efflux, (2) Cp functions as a ferroxidase and regulates the oxidation of ferrous iron (Fe^{2+}) to ferric iron (Fe^{3+}), (3) Cp does not bind to transferrin directly, (4) Cp stabilizes the cell surface iron transporter, ferroportin and (5) glycoposphosinositide-linked Cp (GPI-Cp) is the predominant form expressed in the brain. In the brain, serum transferrin-bound iron is endocytosed by brain endothelial cells in a manner dependent on transferrin receptor 1, and iron is released into the brain interstitial fluid through ferroportin. Extracellular iron is oxidized by GPI-Cp, which is found in the foot processes of astrocytes, and then the iron binds to the transferrin synthesized by oligodendrocytes and is transported into neurons. β -amyloid precursor protein (APP) was found to possess ferroxidase activity like Cp, and to interact with neuron ferroportin. The brain needs several times the concentration of iron obtained from the blood to maintain its normal function. Taken together, the known functions of the iron metabolic molecules suggest the presence of a cycle of iron storage and reutilization within the brain.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：神経難病、鉄代謝、遺伝子発現

1. 研究開始当初の背景

(1)脳での鉄代謝はほとんど解明されていない。我々は、脳内に鉄沈着を来す神経変性症無セルロプラスミン血症の病態解析を行い、過剰な鉄による細胞障害を明らかにするとともに、脳内の鉄サイクル機構を提唱してきた。

(2)アルツハイマー病、パーキンソン病などの神経変性症の脳では鉄濃度が増加しており、発症において鉄や銅などの金属元素が深く関与するとの報告が相次ぎ、改めて鉄と神経変性疾患の関連を見直す機運にある。

2. 研究の目的

(1)培養細胞における鉄の動員系蛋白質の発現、局在とその相互作用、機能解析を行い、脳内の鉄サイクルでの鉄動員の調節機能を明らかにする。

(2)無セルロプラスミン血症、アルツハイマー病、パーキンソン病の剖検脳での鉄の動員系蛋白質の発現、イメージング解析をして、正常剖検脳との差異を明らかにする。

(3)無セルロプラスミン血症患者に対して 4.7T MRI を用いて生体脳での鉄の分布と、定量化を試みる。

3. 研究の方法

(1)培養細胞における鉄関連蛋白の発現、局在と機能解析をして、脳内鉄サイクルの制御・調節機能を明らかにする

① 培養細胞を用いて、鉄関連蛋白の発現を確認する。次に、培地への鉄添加と鉄除去による鉄関連蛋白の mRNA および蛋白の発現、局在の変化をみる。

② 次に、フェリチン軽鎖、フェロポルチン、セルロプラスミンの wild および変異遺伝子の cDNA をそれぞれ培養細胞で強制

発現させた場合の鉄の挙動を観察し、これらの蛋白の鉄サイクルに及ぼす制御・調節機能を明らかにする。

(2)アルツハイマー病、パーキンソン病の剖検脳での鉄関連蛋白の発現、イメージング解析をして、正常剖検脳との差異を明らかにする

① 脳の鉄分布は部位により差がみられるため、正常剖検脳とアルツハイマー病、パーキンソン病の剖検脳について部位別に鉄濃度を測定し、鉄関連蛋白について mRNA と蛋白レベルで比較し、鉄サイクルの障害を明らかにする。

(3)国立環境研究所の 4.7TMRI を用いて無セルロプラスミン血症患者の脳 MRI を撮像し、鉄の分布と定量化を試みる。

4. 研究成果

(1)GPI 結合型セルロプラスミンが細胞内から輸送された 2 価鉄を酸化し、鉄のトランスフェリンへの結合を促進していることを明らかにした。

(2)GPI 結合型セルロプラスミンが細胞膜に存在しないとフェロポルチンの安定性が低下し、容易に分解されることが明らかになった。

(3)セルロプラスミンがないことでフェロポルチンは安定して細胞膜に存在できず、蛋白質発現早期に分解されていることを患者の肝組織細胞で証明した。

(4)剖検脳を用いて、患者脳でもフェロポルチンの安定性は障害されていることを明らかにした。

(5)アルツハイマー病の剖検脳では同年齢の健常者の 1.6 倍-3.1 倍に脳の鉄濃度が上昇していた。特に頭頂・側頭葉で明らかであった。

(6)アルツハイマー病、パーキンソン病の剖検脳の神経細胞内での鉄沈着が認められフェロポルチン、セルロプラスミンのホモログ蛋白質であるヘフェスチンの発現を同定した。しかし、神経細胞からの鉄の動員における鉄酸化作用は、主にβアミロイド前駆体蛋白質が行っているという報告が最近出た。

無セルロプラスミン血症の脳ではヘフェスチンの発現が増加しており、鉄代謝内におけるβアミロイド前駆体蛋白質との相互作用については今後の興味ある課題となった。

(7)無セルロプラスミン血症患者の脳では、脳内鉄は健常者と比較して、基底核では8倍以上に増加していた。また、前頭葉では5倍以上に増加していた。鉄は早期から基底核のみならず前頭葉に蓄積し、これが前頭葉機能に影響している可能性が考えられた。

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 13 件)

1. Kono S. Aceruloplasminemia. *Curr Drug Target* 13: 1190-1199, 2012.
2. Hattori A, Miyajima H, Tomosugi N, Tatsumi Y, Hayashi H, Wakusawa S. Clinicopathological study of Japanese patients with genetic iron overload syndromes. *Pathol Int* 62: 612-618, 2012.
3. Kono S, Ouchi Y, Terada T, Suzuki M, Yagi S, Miyajima H. Combined FDG and raclopride PET study in a case of ALS with the R521C FUS gene mutation. *J Neurol* 259: 367-369, 2012.
4. Kono S, Bunai T, Terada T, Shimoyama K, Konishi T, Shirakawa K, Miyajima H. Subacute progressive ophthalmoplegia associated with dermatomyositis. *J Neurol* 259: 1982-1984, 2012.
5. Terada T, Obi T, Yoshizumi M, Murai T, Miyajima H, Mizoguchi K. Frontal lobe-mediated behavioral changes in amyotrophic lateral sclerosis: Are they independent of physical disabilities? *J Neurol Sci* 309: 136-140, 2011.
6. Suzuki M, Kosugi I, Terada T, Shirakawa K, Suzuki H, Kono S, Miyajima H. A case of Epstein-Barr virus associated post-transplant lymphoproliferative disorder with CNS involvement: pathological findings at both biopsy and autopsy. *Neuropathol* 31: 440-445, 2011.
7. Kono S, Yoshida K, Tomosugi N, Terada T, Hamaya Y, Kanaoka S, Miyajima H. Biological effects of mutant ceruloplasmin on hepcidin-mediated internalization of ferroportin. *Biochim Biophys Acta* 1802: 968-975, 2010.
8. Kaneko Y, Miyajima H, Piperno A, Tomosugi N, Hayashi H, Morotomi N, Tsuchida KI, Ikeda T, Ishikawa A, Ota Y, Wakusawa S, Yoshioka K, Kono S, Pelucchi S, Hattori A, Tatsumi Y, Okada T, Yamagishi M. Measurement of serum hepcidin-25 levels as a potential test for diagnosing hemochromatosis and related disorders. *J Gastroenterol* 45: 1163-1171, 2010.
9. Kono S, Ouchi Y, Terada T, Ida H, Suzuki M, Miyajima H. Functional brain imaging in glucocerebrosidase mutation carriers with and without parkinsonism. *Mov Disord* 25: 1823-1829, 2010.
10. Watanabe M, Asai C, Ishikawa K, Kiyota A, Terada T, Kono S, Miyajima H, Okumura A. Central diabetes insipidus and hypothalamic hypothyroidism associated with aceruloplasminemia. *Intern Med* 49: 1581-1585, 2010.
11. Mehta SH, Parekh SM, Prakash R, Morgan JC, Miyajima H, Sethi KD. Predominant ataxia, low ceruloplasmin, and absent K-F rings: hypoceruloplasminemia or Wilson's disease. *Mov Disord* 25: 2260-2261, 2010.
12. 宮嶋裕明: 脳内の鉄動態. *細胞* 44: 5-7, 2012.
13. 宮嶋裕明: セルロプラスミンと鉄代謝調節. *日本医師会雑誌* 139: 306, 2010.

(いずれの英文論文は査読がある、日本語論文は査読なし)

[学会発表] (計 5 件)

1. 宮嶋裕明: 神経変性疾患における鉄代謝. 第36回 日本鉄バイオサイエンス学会 学術集会. シンポジウム 1. 鉄代謝の基礎と臨床. 2012. 9. 1. 札幌
2. 宮嶋裕明: 神経変性症における微量金属の役割 = 鉄蓄積性脳症、無セルロプラスミン血症を中心に=. 第5回 近畿亜鉛栄養治療研究会. 招待講演. 2012. 8. 4. 大阪
3. 宮嶋裕明: 「脳内鉄と線維状タンパクの変

性」一脳内疾病の原因一. 第 42 回繊維学会
夏季セミナー「感動繊維の独創と共創」. 特
別講演. 2011. 8. 29. 浜松

4. 宮嶋裕明: 脳と大脳基底核. 第 26 回 日本大
脳基底核研究会. 教育講演. 2011. 7. 2. 箱根
5. 宮嶋裕明: 脳の鉄代謝調節とその破綻による
神経変性症. 第 15 回 日本適応医学学会学術
集会. 教育講演. 2011. 6. 24. 浜松

[図書] (計 1 件)

- 1 河野智、宮嶋裕明: 無セルロプラスミン血
症の鉄過剰とその特徴. 日本鉄バイオサイ
エンス学会 (編) 慢性肝炎における鉄毒性
と除鉄治療. ~C型慢性肝炎を中心に~. 医
薬ジャーナル社. p. 179-191, 2012.

[その他]

ホームページ等

http://www2.hama-med.ac.jp/wlb/med1/neurology_kennkyuukatudoutop.html

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・医学部附属病院・講師
研究者番号: 40397386