

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 24 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293032

研究課題名(和文) 亜鉛シグナルによる記憶障害から見たアルツハイマー病克服に向けた戦略的新展開

研究課題名(英文) Strategy for overcoming Alzheimer's disease based on Zn²⁺-mediated cognitive decline

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円

研究成果の概要(和文)：軽度認知機能障害は物忘れを特徴とし、この障害をもったヒトは5年間で約50%がアルツハイマー病に進行する。アルツハイマー病発症前に認知機能低下を予防することが重要である。正常な海馬において「神経細胞に細胞外Zn²⁺が過剰に流入すると記憶が一過性に障害される」との考えに基づき、アルツハイマー病の原因物質と考えられているアミロイド(A β)₁₋₄₂が細胞外Zn²⁺と結合し、海馬神経細胞に取り込まれ、短期記憶を一過性に障害することを明らかにした。また、この障害は細胞内外Zn²⁺キレーターで回避されることを明らかにした。海馬細胞外Zn²⁺はアルツハイマー病克服の標的物質であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The hippocampus plays important roles for spatial and declarative memory. Zn²⁺ is released from glutamatergic (zincergic) neuron terminals in the hippocampus and serves as a signal factor. Synaptic Zn²⁺ homeostasis is critical for cognitive activity in the hippocampus. Amyloid- β (A β) is a candidate for the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) and interacts with Zn²⁺. A β ₁₋₄₂ interacted with extracellular Zn²⁺ and was taken up into dentate granule cells, followed by transiently cognitive decline via attenuated LTP. Zn-A β ₁₋₄₂-mediated cognitive decline was rescued by extracellular and intracellular Zn²⁺ chelators. The present study indicates that extracellular Zn²⁺ in the hippocampus is a therapeutic target for AD.

研究分野：神経科学

キーワード：亜鉛 アミロイド 海馬 アルツハイマー病 記憶

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、神経終末からグルタミン酸と共に Zn^{2+} が放出される。シナプス Zn^{2+} シグナルは海馬依存性記憶に必要であるが、過剰な Zn^{2+} シグナルは記憶障害に関与することを明らかにした。

2. 研究の目的

アルツハイマー病では、アミロイド β ($A\beta$) タンパク質がアミロイド前駆体タンパク質 (amyloid precursor protein, APP) から切り出され、可溶性オリゴマー凝集体を形成し、強い毒性を発揮することから、その発症との関係で注目されている。 $A\beta$ は約 40 アミノ酸からなり $A\beta 1-40$ と $A\beta 1-42$ が主要な分子種である。アルツハイマー病患者の老人斑には亜鉛、銅、鉄が高濃度で検出され、これらの重金属イオンは $A\beta$ の凝集を促進する。本研究では、アルツハイマー病発症前の物忘れ (短期記憶障害) の機序とその予防の視点から、 Zn^{2+} と $A\beta$ の相互作用から見た記憶障害とその回避について検討した。

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、海馬歯状回シナプスでの LTP 誘導と記憶獲得との関係を、ヒト $A\beta 1-42$ と細胞外 Zn^{2+} との相互作用に着目してリアルタイムに解析した。

4. 研究成果

4-1. シナプス Zn^{2+} シグナリングと記憶

記憶の分子基盤と考えられているシナプス可塑性の一つである長期増強 (Long-term Potentiation, LTP) には、細胞内 Zn^{2+} シグナリングが必要である。記憶を司る海馬では、CA3 苔状線維と CA1 シャーファー側枝シナプスからグルタミン酸とともに放出される Zn^{2+} は CA3 錐体細胞、CA1 錐体細胞に取り込まれシグナル因子として機能する。内側貫通線維からは Zn^{2+} が放出されないため、シナプスを形成する歯状回顆粒細胞では細胞内ストアから放出される Zn^{2+} がシグナル因子となる。すなわち、細胞内 Zn^{2+} シグナリングは記憶の獲得ならびに保持に必要であることを明らかにした。その一方で、海馬神経細胞が過剰興奮すると、細胞外 Zn^{2+} は CA1 錐体細胞に過剰に流入し、CA1 LTP 誘導と物体認識を可逆的に障害する。さらに神経終末から Zn^{2+} が放出されない内側貫通線維-歯状回顆粒細胞シナプスでも、シナプス興奮により細胞外に存在する Zn^{2+} が顆粒細胞に過剰に流入し、LTP 誘導が障害され、物体認識が一過性に障害されることを明らかにした。すなわち、シナプス Zn^{2+} シグナリングは海馬依存性の記憶と密接に関係し、シナプス Zn^{2+} ホメオスタシスの

変化が記憶障害の一因となることを明らかにした。

4-2. 細胞外 Zn^{2+} と $A\beta$ の相互作用による記憶障害とその回避

アルツハイマー病において嗅内野は最も早く障害される部位であり、軽度認知機能障害 (MCI, mild cognitive impairment) においても萎縮が観察される部位である。嗅内野からは貫通線維を介して海馬歯状回に記憶情報が入力されるが、貫通線維-歯状回顆粒細胞シナプスは、アルツハイマー病発症前において $A\beta$ の標的部位であると考えられる。しかし、なぜこのシナプスが $A\beta$ 毒性に脆弱であるのか、その原因は明らかにされていない。正常なラット脳の歯状回にヒト $A\beta 1-42$ を投与すると、細胞外 Zn^{2+} と結合して顆粒細胞内に取り込まれ、内側貫通線維-歯状回顆粒細胞シナプスでの LTP が障害され、物体認識が一過性に障害されることを明らかにした。さらに、これらの障害は細胞外 Zn^{2+} キレーター (CaEDTA) あるいは細胞内 Zn^{2+} キレーター ($ZnAF-2DA$) で回避されることを明らかにした。 $A\beta$ は長い年月をかけて脳に蓄積するが、物忘れ (短期記憶障害) を特徴とする MCI をもったヒトは 5 年間で約 50% の確率でアルツハイマー病のステージに進行する。正常な脳細胞外 $A\beta 1-42$ 濃度は脳脊髄液濃度などから約 200-1000 pM レベルと推定されている。インビボマイクロダイアリシス実験から、この濃度がわずかに数倍から 10 倍に増加した場合に、脳細胞外 Zn^{2+} の存在により速やかに Zn - $A\beta$ オリゴマーが形成され、内側貫通線維-歯状回顆粒細胞シナプスでの LTP が障害されることを明らかにした。

正常な脳において細胞外液に放出される $A\beta$ 濃度のわずかな上昇と細胞外に存在する Zn^{2+} との相互作用により物忘れが惹起されることが示唆された。すなわち、細胞外液において Zn^{2+} と $A\beta$ の結合を阻害することにより、あるいは、細胞内に取り込まれた Zn - $A\beta$ から遊離する Zn^{2+} の作用をブロックすることにより、MCI を予防、あるいは MCI を遅延できる可能性がある。一方、細胞外 Zn^{2+} と $A\beta$ の相互作用は貫通線維シナプスで惹起されやすいのか、そうであるならばなぜか、さらなる検討が必要である。

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 31 件)

1. Atsushi Takeda and Hanuna Tamano: Innervation from the entorhinal cortex to the dentate gyrus and the vulnerability to Zn^{2+} . **J. Trace Elem. Med. Biol.**, in press.
2. Atsushi Takeda and Haruna Tamano: Significance of low nanomolar concentration of Zn^{2+} in artificial cerebrospinal fluid. **Mol. Neurobiol.**, in

- press.
3. Hanuna Tamano, Yuta Koike, Hiroyuki Nakada, Yukina Shakushi, and Atsushi Takeda: Significance of synaptic Zn^{2+} signaling in zincergic and non-zincergic synapses in the hippocampus in cognition. **J. Trace Elem. Med. Biol.**, in press.
 4. Haruna Tamano, Kazuki Ide, Paul Anthony Adlard, Ashley Ian Bush, and Atsushi Takeda: Involvement of Hippocampal Excitability in Amyloid β -induced Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia. **J. Toxicol. Sci.**, in press.
 5. Haruna Tamano, Enya Yusuke, Kazuki Ide, Atsushi Takeda: Influences of Yokukansankachimpihange on aggressive behavior of zinc-deficient mice and actions of the ingredients on excessive neural exocytosis in the hippocampus of zinc-deficient rats. **Exp. Anim.**, in press.
 6. Atsushi Takeda and Haruna Tamano: Significance of the degree of synaptic Zn^{2+} signaling in cognition. **BioMetals**, 29, 177-185 (2016).
 7. 武田厚司: 亜鉛とアミロイド β の相互作用から見た記憶障害とその回避. **BIO Clinica** 31, 88-89 (2016).
 8. Haruna Tamano, Yukina Shakushi, Mitsugu Watanabe, Kazumi Ohashi, Chihiro Uematsu, Tadamune Otsubo, Kiyoshi Ikeda, and Atsushi Takeda: Preventive effect of 3,5-dihydroxy-4-methoxybenzyl alcohol and zinc, Pacific oyster components, on glutamatergic neuron activity in the hippocampus. **Biol. Bul.**, 229, 282-288 (2015).
 9. Hiroyuki Yamamoto, Tomohiro Yamane, Kazuaki Iguchi, Kiyotaka Tanaka, Arunasiri Iddamalgoda, Keiko Unno, Minoru Hoshino, Atsushi Takeda: Melanin production through novel processing of proopiomelanocortin in the extracellular compartment of the auricular skin of C57BL/6 mice after UV-irradiation. **Sci. Rep.**, 5, 14579 (2015).
 10. Atsushi Takeda, Yukina Shakushi, and Haruna Tamano: Modification of hippocampal excitability in brain slices pretreated with low nanomolar concentration of Zn^{2+} . **J. Neurosci. Res.**, 93, 1641-1647 (2015).
 11. Atsushi Takeda, Miki Suzuki, Munekazu Tempaku, Kazumi Ohashi, Haruna Tamano: Influx of extracellular Zn^{2+} into the hippocampal CA1 neurons is required for cognitive performance via long-term potentiation. **Neuroscience**, 304, 209-216 (2015).
 12. Miki Suzuki, Yuki Fujise, Yuka Tsuchiya, Haruna Tamano, Atsushi Takeda: Excess influx of Zn^{2+} into dentate granule cells affects object recognition memory via attenuated LTP. **Neurochem. Int.**, 87, 60-65 (2015).
 13. Haruna Tamano, Tatsuya Minamino, Hiroaki Fujii, Shunsuke Takada, Masatoshi Nakamura, Masaki Ando, and Atsushi Takeda: Blockade of intracellular Zn^{2+} signaling in the dentate gyrus erases recognition memory via impairment of maintained LTP. **Hippocampus**, 25, 952-962 (2015).
 14. Haruna Tamano and Atsushi Takeda: Is interaction of amyloid β -peptides with metals involved in cognitive activity? **Metallomics**, 7, 1205-1212 (2015).
 15. Atsushi Takeda and Haruna Tamano: Regulation of extracellular Zn^{2+} homeostasis in the hippocampus as a therapeutic target for Alzheimer's disease. **Expert Opin. Ther. Tar.**, 19, 1-8 (2015).
 16. 武田厚司, 玉野春南: カキ肉エキス の生理活性成分の機能解析とその有効利用. **New Food Industry**, 57, 71-75 (2015).
 17. Atsushi Takeda, Masatoshi Nakamura, Hiroaki Fujii, Chihiro Uematsu, Tatsuya Minamino, Paul A. Adlard, Ashley I. Bush, Haruna Tamano: Amyloid β -mediated Zn^{2+} influx into dentate granule cells transiently induces a short-term cognitive deficit. **PLoS One**, 9, e115923 (2014).
 18. Atsushi Takeda, Haruna Tamano, Taisuke Ogawa, Shunsuke Takada, Masatoshi Nakamura, Hiroaki Fujii, Masaki Ando: Intracellular Zn^{2+} signaling in the dentate gyrus is required for object recognition memory. **Hippocampus** 24, 1404-1412 (2014).
 19. Haruna Tamano, Kotaro Fukura, Miki Suzuki, Kazuhiro Sakamoto, Hidehiko Yokogoshi, Atsushi Takeda: Advantageous effect of theanine intake on cognition. **Nutri. Neurosci.**, 17, 279-283 (2014).
 20. Hiroyuki Yamamoto, Hiromi Shimokawa, Tatsuomi Haga, Yuki Fukui, Kazuaki Iguchi, Keiko Unno, Minoru Hoshino, Atsushi Takeda: The Expression of Relaxin-3 in Adipose Tissue and its Effects on Adipogenesis. **Protein Pept Lett.**, 21, 517-522 (2014).
 21. Atsushi Takeda: Significance of Zn^{2+} signaling in cognition: insight from synaptic Zn^{2+} dyshomeostasis. **J. Trace Elem. Med. Biol.**, 28, 393-396 (2014).
 22. Atsushi Takeda, Hiroaki Fujii, Tatsuya Minamino, Haruna Tamano: Intracellular Zn^{2+} signaling in cognition. **J. Neurosci. Res.**, 92, 819-824 (2014).
 23. Atsushi Takeda and Haruna Tamano: Cognitive decline due to excess synaptic

- Zn²⁺ signaling in the hippocampus. **Front. Aging Neurosci.**, 6, 26 (2014).
24. 武田厚司:海馬における亜鉛シグナリング. 亜鉛栄養治療, 5, 37-41 (2014).
 25. Atsushi Takeda: Zinc signal in brain functions. "Zinc Signals in Cellular Functions and Disorders" T. Fukada and T. Kanbe eds., Springer (Japan), pp. 161-181, 2014.
 26. Akira Minami, Hiroshi, Matsushita, Yuuki Horii, Daisuke Ieno, Yukino Matsuda, Masakazu Saito, Hiroaki Kanazawa, Yuriko Ohyama, Akihiko Wakatsuki, Atsushi Takeda, Kazuya IPJ Hidari, Vilineswary Sabaratnam, Takashi Suzuki: Improvement of Depression-Like Behavior and Memory Impairment with the Ethanol Extract of *Pleurotus eryngii* in Ovariectomized Rats. **Biol. Pharm. Bull.**, 36: 1990-1995 (2013).
 27. Keiko Unno, Naoki Tanida, Naoto Ishii, Hiroyuki Yamamoto, Kazuaki Iguchi, Minoru Hoshino, Atsushi Takeda, Hayato Ozawa, Tsutomu Ohkubo, Lekh R Juneja, Hiroshi Yamada: Anti-stress effect of theanine on students during pharmacy practice: Positive correlation among salivary α -amylase activity, trait anxiety and subjective stress. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 111, 128-135 (2013).
 28. Atsushi Takeda, Masashi Iida, Masaki Ando, Masatoshi Nakamura, Haruna Tamano, Naoto Oku: Enhanced susceptibility to spontaneous seizures of Noda epileptic rats by loss of synaptic Zn²⁺. **PLoS One**, 8, e71374 (2013).
 29. 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).
 30. 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).
 31. Atsushi Takeda, Masatoshi Nakamura, Hiroaki Fujii, Haruna Tamano: Synaptic Zn²⁺ homeostasis and its significance. **Metalomics**, 5, 417-423 (2013).
- [学会発表](計 90 件)
招待学術講演(計 12 件)
1. 武田厚司:アミロイド -亜鉛形成から見た軽度認知機能障害. シンポジウム:「ニューロジンクとその結合・輸送タンパク質から見た脳科学の新展開」. 日本薬学会第 136 年会(横浜) S25-4, 2016 年 3 月 28 日.
 2. Atsushi Takeda: Bidirectional actions of hippocampal Zn²⁺ signaling in cognition and its decline. International Society for Trace Element Research 2015 (Dubrovnik, Croatia), J. Trace Elem. Med. Biol., 32S, 36, October 22, 2015.
 3. Atsushi Takeda: Bidirectional actions of hippocampal Zn²⁺ signaling in cognition: its involvement in amyloid- β -induced cognitive decline. "Plenary Lecture", 2015 Spring Annual Convention of Pharmaceutical Society of Korea (Osong, Korea) April 24, 2015.
 4. Atsushi Takeda: Bidirectional actions of hippocampal Zn²⁺ signaling in cognition: its involvement in amyloid- β -induced cognitive decline. "Special seminar", Hallym University (Chuncheon, Korea) April 22, 2015.
 5. Atsushi Takeda, Involvement of dentate gyrus LTP maintenance in retention of space recognition memory: insight from intracellular Zn²⁺ signaling. International Society for Zinc Biology 2014 Meeting (Asilomar, CA, USA) September 17, 2014.
 6. 武田厚司:海馬における亜鉛シグナリング. 第 9 回近畿亜鉛栄養治療研究会(大阪), 2014 年 8 月 2 日.
 7. 武田厚司:認知記憶における海馬歯状回亜鉛シグナルの役割. 第 25 回日本微量元素学会(岡山)Biomed. Res. Trace Elements 25, p.42, 2014 年 7 月 3 日.
 8. Atsushi Takeda: Intracellular Zn²⁺ signal in the dentate gyrus is required for object recognition memory. 第 91 回日本生理学会大会(鹿児島) Program 2014, p.93, 2014 年 3 月 16 日.
 9. Atsushi Takeda: Involvement of intracellular Zn²⁺ signal in the dentate gyrus in cognition. Xth International Society for Trace Element Research Conference (Tokyo), J. Trace Elem. Med. Biol., 27S1, 22, November 20, 2013.
 10. Atsushi Takeda: Zinc Signaling in Acquiring and Declining Aspects in Cognition. 10th Nordic Symposium on Trace and Mineral Elements in Health and Disease (Loen, Norway) Programme and Abstracts, p.20, August 26, 2013.
 11. Atsushi Takeda: Modulation of learning and memory by Zn²⁺ signal in the hippocampus. Franco-Japanese Workshop on Metallomics (Pau, France) Programme, p.20, July 7, 2013.
 12. 武田厚司:亜鉛シグナルから見た認知機能とうつ病の解析. 平成 25 年度静薬学会総会(静岡) 2013 年 5 月 19 日.

一般講演（計 78 件）
掲載省略

〔図書〕（計 2 件）

1. 武田厚司：亜鉛シグナル異常による脳機能障害. "毒性の科学", 熊谷嘉人, 姫野誠一郎, 渡辺知保編, 東京大学出版会（東京）, pp.127-131, 2014.
2. 武田厚司：亜鉛シグナルからみた脳の健康. "亜鉛の機能と健康", 駒井三千夫, 神戸大朋編, 建帛社（東京）, pp.131-150, 2013.

6 . 研究組織

(1)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