

## 総説

脳血管性認知症発症における  
亜鉛と銅のクロストーク

武蔵野大学薬学部生命分析化学研究室 川原正博 根岸みどり 田中健一郎

## 要約

必須金属である亜鉛 (Zn) は、脳内では多くはシナプス小胞内に含まれ、神経細胞の興奮と共にシナプス間隙に放出される。シナプスの Zn は脳神経系の機能発現、記憶学習にとっても重要な働きを持つ一方で、脳虚血時に放出される過剰な Zn は神経細胞死を引き起こし、脳血管性認知症の発症に重要な役割を果たす。筆者らは、Zn 神経細胞死のメカニズムを検討する過程で、低濃度の銅 (Cu) が Zn 神経細胞死を顕著に増強することを見出した。さらにそのメカニズムを検討した結果、Cu と Zn は小胞体ストレス、フリーラジカル産生、JNK 経路などのアポトーシス関連経路において相互作用を行っていることが明らかになった。これらの結果を基に、シナプスにおける Zn と Cu の相互作用が神経疾患の発症に及ぼす影響について概説する。

KEY WORDS 小胞体ストレス, 老年性認知症, MAP キナーゼ, 金属-金属間相互作用

## 1. 序論～脳内の亜鉛～

鉄 (Fe)、亜鉛 (Zn)、銅 (Cu) などの必須微量元素は、脳内の様々な部位において神経伝達物質の合成や神経情報の伝達等の重要な役割を担っている。Zn は、脳内で Fe (169～206 $\mu\text{g/g}$ ) に次いで2番目に多く存在する微量元素元素であり、海馬、大脳皮質等に特に高濃度で局在しており、脳全体では 73.8～81.6 $\mu\text{g/g}$  と Cu (13.7～38.1 $\mu\text{g/g}$ ) よりも多く存在している<sup>1)</sup>。脳内 Zn のかなりの部分 (~10%) はイオン (Zn<sup>2+</sup>) としてあるいは低分子成分とゆるやかに結合した形で、興奮性神経細胞のシナプス小胞内に局在している<sup>2)</sup>。シナプス小胞内の Zn は、神経細胞の興奮時に興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸と共にシナプス間隙に放出され、N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸受容体を抑

制し、GABA 受容体、グリシン受容体、ATP 受容体等にも作用して脳の興奮性制御に働き、近傍のシナプスに神経興奮の空間-時間情報を伝播・修飾することによって、記憶・学習に重要な役割を果たしていると考えられている<sup>3)</sup>。

脳内では、図1(A)のような信号が入力された場合に、興奮性伝達物質とともに放出された抑制性物質が興奮部位近傍のシナプスを抑制する結果、信号のコントラストが強化され(B)のような信号が出力される“側抑制(lateral inhibition)”と呼ばれる情報処理が行われていることが知られており<sup>4)</sup>、視覚における錯視の原因であり、伝達物質とともに放出される ATP に由来する抑制性のアデノシンが側抑制のメカニズムに関与するのではないかと指摘されてきた<sup>5)</sup>。グルタミン酸と同時に放出される Zn は、周囲に漏れ出て (spill-over) 近傍のシナプスを抑制することによって、このような

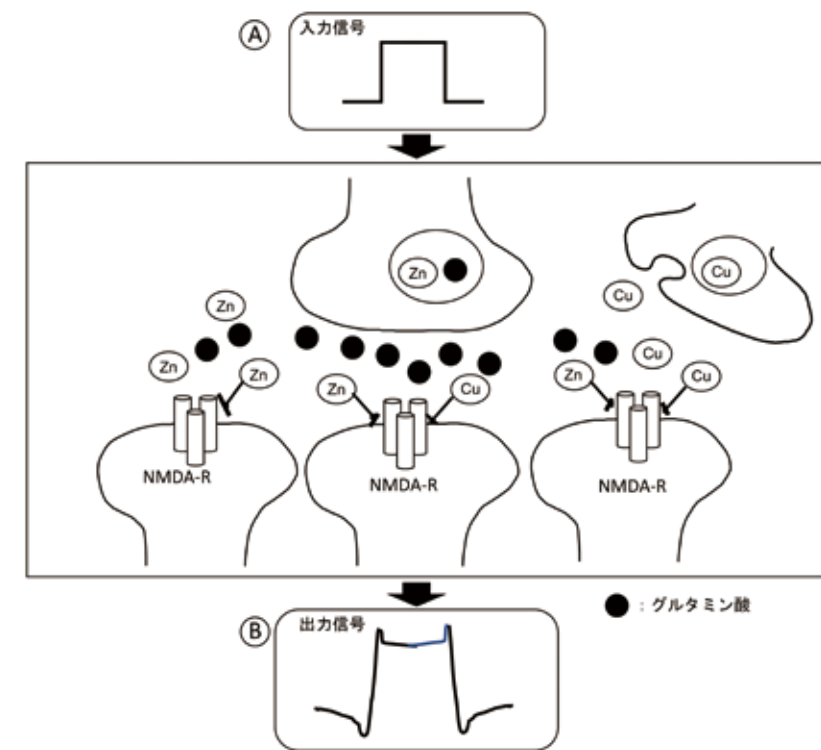


図1 シナプスにおける亜鉛と銅の生理機能

入力信号(A)が入り、中央のシナプスが興奮すると、グルタミン酸及び Zn が放出され、一部は spill-over して近傍のシナプスに拡散して、NMDA 型グルタミン酸受容体 (NMDA-R) をはじめ種々の受容体に作用して抑制性に働く。その結果、信号のコントラストが強くなり、(B)のような信号が出力されることになる。Cu も別の細胞から放出されるが、濃度によって興奮性あるいは抑制性の二相性に働くことによって、よりきめ細かく神経情報を修飾する。

情報処理に影響している可能性もあるのではないだろうか (図1)。実際、シナプスから spill over したグルタミン酸が周囲のシナプスに影響していることも報告されている<sup>6)</sup>。

従って、記憶学習に重要な役割を果たす Zn の欠乏はさまざまな神経系の異常を引き起こす。特に、乳幼児期における Zn は正常な神経発達には不可欠である。実際、小児てんかん患者では血清 Zn レベルが低下しているとの報告もあり<sup>7)</sup>、Zn 補充療法は、うつ病や自閉症などの疾患に対しても有効であることが報告されている<sup>8,9)</sup>。

一方、Cu は super oxide dismutase (SOD) や tyrosinase をはじめとする多くの酵素の補酵素として働いているが、最近の研究から Zn 同様にシナプス小胞内に局在して神経興奮時に放出されることが判明してきた<sup>10)</sup>。さらに Cu も Zn 同様に

NMDA 受容体等に結合して、興奮性を制御することが報告されており<sup>11)</sup>、Cu の濃度によって興奮性、抑制性の二相性の効果が生じるとの報告もある<sup>12)</sup>。従って、シナプスにおける Cu は、よりきめ細かい情報処理を行っている可能性もある。

しかしながら、多くの微量元素同様、過剰な Zn は神経系にとって有害である。実際、適度な Zn 補充は記憶学習に有効であるが、過剰な Zn は海馬における spine の減少や記憶障害を引き起こすことも報告されている<sup>13,14)</sup>。さらに、Zn ホメオスタシスの異常 (減少及び過剰) がアルツハイマー病、プリオン病等の神経疾患の発症と関与することも報告されている<sup>15,16)</sup>。ここでは、Zn と脳血管性認知症との関わりについて、Cu など他の金属との相互作用と Zn の神経細胞死メカニズムを中心に概説する。

## 2. 亜鉛と脳血管性認知症

日本は現在、75歳以上人口が総人口の2割を超える超高齢社会に突入しており、その結果として老年性認知症患者は予想を越えて増加し、平成24(2012)年の時点で既に400万人を超え、予備群(MCI)も合わせると800万人に達するといわれている。これは65歳以上高齢者の約7人に1人あたり、患者数は今後さらに年々増加することが予想されている。老年性認知症は、アルツハイマー病(Alzheimer's disease: AD)、脳血管性認知症、レビー小体型認知症などに大別される。脳血管性認知症は、老年性認知症の約1/3を占め、脳虚血、脳梗塞などの後で海馬、大脳皮質等の神経細胞死が生じることによって発症するが、近年Znが脳血管性認知症の発症に重要な役割を持つことが判明してきている。

虚血時においては、血管が閉塞し、栄養や酸素が欠乏した際に神経細胞が過剰興奮し、グルタミン酸を過剰放出した結果、NMDA型グルタミン酸受容体の活性化と共に、AMPA/Kainate型グルタミン酸受容体のサブユニットGluR2が脱落して、Ca<sup>2+</sup>通過型(Ca-A/K)となることによって細胞内Ca<sup>2+</sup>ホメオスタシスの異常が生じ、神経細胞死を引き起こすと考えられている<sup>17)</sup>。Znは、グルタミン酸とともに放出され、NMDA受容体、Ca-A/K型受容体、DGCC(電位依存型Ca<sup>2+</sup>チャンネル)を介して細胞内に入り<sup>18)</sup>、AMPA/Kainate型グルタミン酸受容体のCa通過性を昂進することや<sup>19)</sup>、虚血後アポトーシスを起こしている細胞内にZnが蓄積していること<sup>20)</sup>、ZnキレーターであるCaEDTAによって虚血時の神経細胞の脱落や脳梗塞の増悪が抑制されること<sup>21)</sup>などが報告されている。従って、Znによる神経細胞死メカニズムを解明することによって、虚血時の神経細胞死ひいては脳血管性認知症の発症機構を明らかにできる可能性がある。

我々は不死化視床下部神経細胞(GT1-7細胞)がZnに対する感受性が高く、低濃度のZnによってアポトーシス様の神経細胞死を引き起こすことを見出し<sup>22)</sup>、これをモデル系としてZn神経細胞

死のメカニズムを研究してきた。その結果、グルタミン酸受容体やGABA受容体のアゴニスト、アンタゴニスト等はZn神経細胞死に影響しないが、ピルビン酸やCa<sup>2+</sup>チャンネルブロッカーがZn神経細胞死を抑制し、thapsigargin等の細胞内Ca<sup>2+</sup>を増加させる薬物がZn神経細胞死を増強することから、ミトコンドリアにおけるエネルギー産生系と細胞内Ca<sup>2+</sup>ホメオスタシスが関与していることを明らかにした<sup>22-24)</sup>。また、RT-PCRやWestern blottingの結果、Zn神経細胞死の過程で小胞体ストレス関連遺伝子(*GADD34*, *ATF4*, *CHOP*等)の発現が増大していることを見出し、小胞体ストレス系が関与していることを見出している<sup>25,26)</sup>。

また、脳内ではZnのみならず他の金属も共存しており、金属-金属間相互作用が生じる可能性が考えられる。そこで、他の金属の共存がZn神経細胞死に及ぼす影響を検討した結果、Al<sup>3+</sup>やGd<sup>3+</sup>が抑制することを見出した<sup>27)</sup>。Al自身も神経毒性を持つことが筆者らの研究からも明らかになっているが、通常はAl<sup>3+</sup>の形では細胞内に侵入しにくいいため長期間投与あるいはmaltolのような共存物質存在下でないと毒性は低い<sup>28,29)</sup>。従って、細胞外に投与されたAl<sup>3+</sup>は、おそらくはCa<sup>2+</sup>チャンネルを阻害することによってZnによる細胞内Ca増加を抑制し、その結果Znの毒性を軽減していると考えられる<sup>24)</sup>。さらに我々は、Cu<sup>2+</sup>やNi<sup>2+</sup>の共存がZn神経細胞死を顕著に増強することを見出した<sup>30)</sup>。図2に示すように、Zn(30μM)単独投与の結果、24時間後には約40%の細胞が死滅するが、この細胞死は2.5μMのCu存在下(Zn:Cu=12:1)でも有意に増強され、20μMのCu存在下(Zn:Cu=3:2)ではほぼすべての細胞が細胞死を示した(図3)。

そこで、DNAマイクロアレイおよびRT-PCRを用いてCuによって増強されるZn神経細胞死(Cu+Zn神経細胞死)の過程で変動する遺伝子発現を解析した結果、小胞体ストレス関係遺伝子(*ATF4*, *GADD34*, *CHOP*)やMAPキナーゼ関連遺伝子(*c-jun*など)の発現が増加していることが判明した。小胞体ストレスは、折り畳み不全

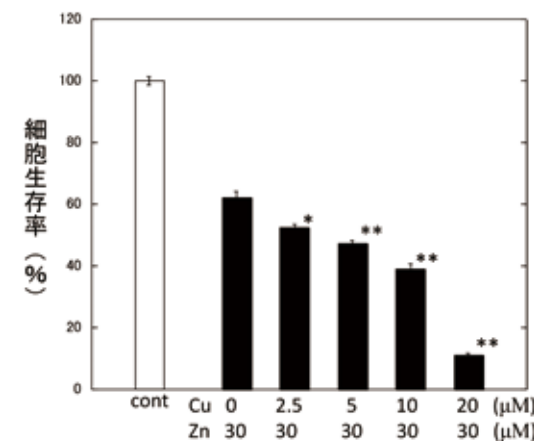


図2 亜鉛神経細胞死に及ぼす銅の効果

GT1-7細胞にZnCl<sub>2</sub>(30μM)を0~20μMのCuCl<sub>2</sub>とともに投与し、24時間後に細胞生存率をWST-1法により測定した。Mean±SEM, n=6. \*p<0.05, \*\*p<0.01(Znのみ投与群との比較)

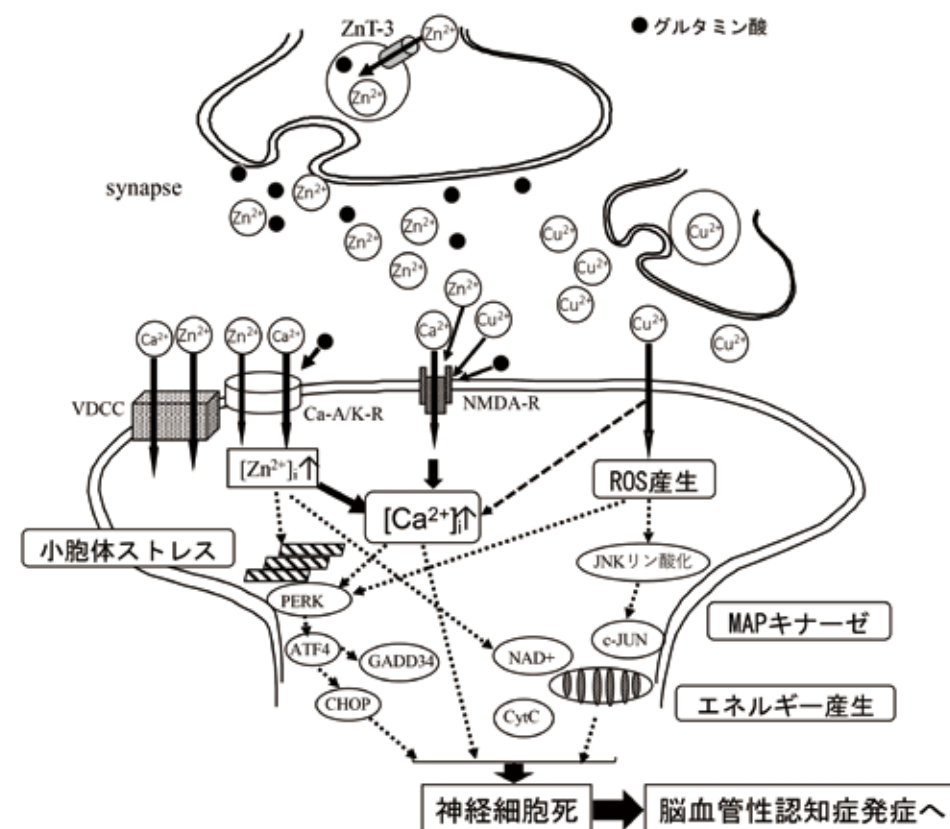


図3 亜鉛による細胞死メカニズムと銅の関与に関する仮説

虚血時には神経細胞が過剰興奮する結果、グルタミン酸(●)とともにZnが過剰にシナプス剣刺に放出される。また、周囲の神経細胞も興奮する結果、Cuもともに放出される。放出されたZnは電位依存型Ca<sup>2+</sup>チャンネルやCa通過型AMPA/Kainate受容体(Ca-A/K-R)、NMDA型受容体(NMDA-R)を介して細胞内に侵入する。Znは細胞内Ca<sup>2+</sup>を増加させ、小胞体ストレスを誘導して細胞死を引き起こす。また、NAD<sup>+</sup>を抑制してエネルギー産生を妨害する。さらにCuはおそらくROS産生を介してMAPキナーゼ経路の活性化、小胞体ストレス経路の活性化を行い細胞死を増強する。

タンパクの蓄積によるストレスであり、虚血、アルツハイマー病等の神経疾患発症に関与しており、主に小胞体膜に存在する3つの小胞体ストレスセンサー (IRE1 $\alpha$ , ATF6, PERK) が種々の経路を活性化することによって最終的にアポトーシスが生じることが知られている<sup>31)</sup>。他の小胞体ストレス関連遺伝子の発現を含め、さらに解析した結果、Cu+Zn 神経細胞死においてはPERK経路が重要な働きを持つ可能性が示唆された。

一方、様々な刺激にตอบสนองして種々のMAPキナーゼが活性化され、場合によっては細胞増殖あるいは細胞死の引き金となることが知られている。Cu+Zn 神経細胞死の過程では、c-junのリン酸化が増強されJNK経路の阻害剤であるSP600125がCu+Zn 神経細胞死を抑制することなどから、アポトーシス経路の中でもSAPK/JNK経路が関与していることが明らかになった<sup>32)</sup>。また、エネルギー産生系の基質であるピルビン酸やクエン酸が、Zn 神経細胞死同様にCu+Zn 神経細胞死を抑制することも報告している<sup>33)</sup>。さらに、Cu<sup>2+</sup>が活性酸素(reactive oxygen species; ROS)を産生することはよく知られているが、Znの共存はCuによるROS産生には影響しなかった<sup>32)</sup>。一方、抗酸化能を持つチオレドキシニン結合アルブミンはCu+Zn 神経細胞死を軽減した<sup>34)</sup>。従って、Cuによって生じたROSがトリガーとなって小胞体ストレス経路やMAPキナーゼ経路を活性化した結果、Zn 神経細胞死が増強される経路が考えられる。これらの結果を基に、現在、図3のようなZn 神経細胞死 pathwayに関する仮説を考えている。しかしながら、どの経路が最初に活性化されるかなどまだまだ未解明の点は多く、今後さらに検討を続けたい。

このように脳虚血におけるZnの重要性を考えると、神経細胞をZn毒性から保護する物質は、脳血管性認知症の予防・治療薬になる可能性がある。実際、先述したように*in vitro*でZn 神経細胞死を抑制するピルビン酸は、脳虚血モデルマウスに投与した結果、神経細胞死を抑え、虚血後の生存率低下を抑制することが報告されている<sup>35)</sup>。

そこで筆者らはGT1-7細胞を用いる簡便なZn

神経細胞死抑制物質スクリーニング系を開発し、数百種類の海産物や農産物を探索した<sup>36)</sup>。その結果、ウナギ中のカルノシン ( $\beta$ -Ala-His)、イワシ中のヒスチジン (His)、マンゴー中のクエン酸が有効であることを見出した<sup>37-39)</sup>。カルノシンは、虚血時に侵されにくい嗅球に多く含まれており、老化に伴い減少する。カルノシンはZnやCuとの結合能を保持しており、カルノシンのZn錯体であるポラプレジンは亜鉛補充療法や胃潰瘍治療に広く用いられている。さらにカルノシンは抗酸化作用、抗糖化作用や抗クロスリンク作用などの有用な性質を持つことから、脳内で神経保護物質として働いているのではないかと考えられている<sup>40)</sup>。また、ADモデルマウスにおける $\beta$ アミロイドタンパク質 (A $\beta$ P)の蓄積を抑制することや、カルノシンおよびその類縁物であるアンセリン (1-methyl carnosine)の補充療法が高齢者の記憶向上に有効であることも報告されている<sup>41)</sup>。このような結果を基に、筆者らは、ルノシン及びD-ヒスチジンに関して脳血管性認知症の予防・治療薬としてのカ特許を取得している(特許第5382633号(2013)、特許第5294194号(2013))。

### 3. シナプスにおける亜鉛、銅と疾患関連タンパク質のクロストーク

これまで述べてきたようなZnの作用は、シナプス間隙で生じており、シナプスはZnやCuが豊富に存在している部位である。シナプス間隙におけるZnの濃度は、諸説あるが1~100 $\mu$ Mと推定されており<sup>42)</sup>、Cuについては約15 $\mu$ Mと推定されている<sup>10)</sup>。シナプス間隙は、直径240nm、高さ20nm程度の非常に微細な領域であり、脳内には1 $\mu$ m<sup>2</sup>あたり約2.2個のシナプスが存在する<sup>43)</sup>。シナプス間隙の総体積は脳の細胞外体積の約1%を占めるに過ぎないため、虚血後には脳脊髄液のZn濃度が100nMに達するという報告<sup>44)</sup>を考えると、シナプス間隙においてはかなり高濃度のZnが存在している可能性がある。

さらに、シナプスはアルツハイマー病、プリオン病、Lewy小体型認知症など様々な神経疾患に

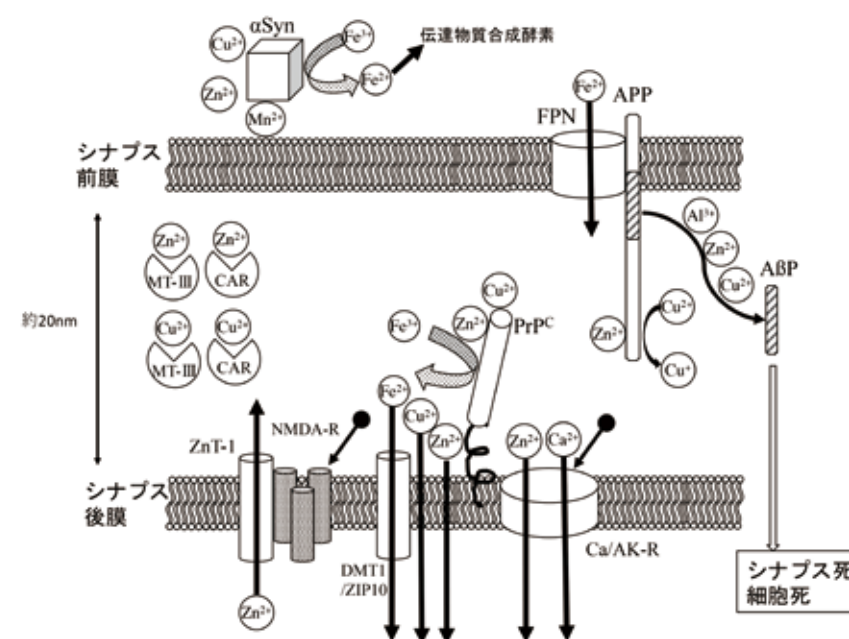


図4 シナプスにおける亜鉛、銅と疾患関連タンパク質の相互作用

アミロイド前駆体タンパク質 (APP) はシナプス前終末に局在し、ferroportin (FPN) と協同してFe<sup>2+</sup>の細胞外への排出に寄与する。また、APPはZnおよびCu結合能を持ち、Cu<sup>2+</sup>をCu<sup>+</sup>へ還元する。APPから切り出されたA $\beta$ Pは、Al, Zn, Cu, Feなどの金属によって多量体化され毒性が発現し、シナプス毒性を示す。正常プリオンタンパク質 (PrP<sup>C</sup>) は、後シナプスに局在して、Cuの細胞内取り込みに寄与し、NMDA-Rの作用を調整するとともに、Znセンサーとして働きAMPA-Rと協同してZnの細胞内取り込みに関与する。また、Fe<sup>3+</sup>をFe<sup>2+</sup>に還元するferrireductase活性を持ち、DMT1/ZIP10を介するFeの細胞内取り込みと酵素への提供に関与する。 $\alpha$ シヌクレイン ( $\alpha$ Syn) はシナプス前終末に局在して、Cu, Zn, Mnを結合するとともにferrireductase活性を持ち、Fe<sup>2+</sup>を酵素に提供することによって伝達物質合成等に関与する。

ZnおよびCuはシナプス間隙に存在して、これらのタンパク質によってそのホメオスタシスが保たれている。さらに、Znトランスポーター (ZnT-1)、カルノシン (CAR) 及びメタロチオネイン3 (MT-3) もシナプスにおけるZnのホメオスタシスを維持するために重要な役割を果たしている。

において、最初に異常が生じる部位である。近年、それぞれの疾患において、 $\beta$ アミロイドタンパク質 (A $\beta$ P)、プリオンタンパク質 (PrP)、 $\alpha$ シヌクレイン ( $\alpha$ Syn) 等のタンパク質 (疾患関連タンパク質) が、一次組成は異なるにも関わらず、同様に $\beta$ シート構造を持つアミロイド細繊維として異常蓄積するという共通点が明らかになり、さらにこれらの疾患関連タンパク質あるいはその部分ペプチドには、細胞毒性を持つという共通点を持つことから、コンフォメーション病という概念が提唱されている<sup>45)</sup>。さらにこれらの疾患関連タンパク質はシナプスに局在しており、金属ホメオスタシスの維持に関与していることが最

近の多くの研究から明らかになってきた<sup>46)</sup>。

アルツハイマー病の原因タンパク質と考えられているA $\beta$ Pは前駆体タンパク質であるAPP (amyloid precursor protein) から切り出されて放出され、Al, Cu, Znなどの金属と結合してそのコンフォメーションと毒性が変化することはよく知られている。APPはシナプス前終末に局在しており、APP自体もCu, Znなどの金属結合部位を持ち、Cu<sup>2+</sup>の還元能を持つ。さらにferroportinと結合して、Fe<sup>2+</sup>の細胞外排出に働いている。また、プリオン病では、正常プリオンタンパク (PrP<sup>C</sup>) がスクレイピー型 (PrP<sup>Sc</sup>) に変換することが発症の原因と考えられている<sup>47)</sup>。

PrP<sup>C</sup>はシナプス後膜に局在しており、N末にオクタリリピートドメイン(金属結合部位)を持ち、1分子内に6個の金属を結合する。PrP<sup>C</sup>はCuのホメオスタシス制御に関与し、NMDA受容体などと作用する。また、PrP<sup>C</sup>はZIP型亜鉛トランスポーターと進化的な相同性が報告されており、シナプスのZnセンサーとして働きAMPA受容体と協同してZnの細胞内取り込みに働いていると考えられている<sup>48)</sup>。また、 $\alpha$ Synはその名の通りシナプスに局在し、主にシナプス前膜あるいは細胞質内に局在しており、分子内にCu, Zn, Mnなどの結合部位を持つ<sup>49)</sup>。さらに、PrP<sup>C</sup>と $\alpha$ Synは、Fe<sup>3+</sup>をFe<sup>2+</sup>に還元するferrereductase活性を持つことが報告されている。通常、Fe<sup>2+</sup>はフリーの状態では毒性が高いため血中のceruloplasmin等のferroxidaseによってFe<sup>3+</sup>に酸化されて体内を輸送されるが、標的部位においてはferrereductaseによって還元されたFe<sup>2+</sup>として酵素・機能タンパク質(神経伝達物質合成酵素など)の補酵素として働く。従って、PrP<sup>C</sup>と $\alpha$ SynはFeの脳内利用における重要な役割を担っている。また、PrP<sup>C</sup>はFeの細胞内取り込みにも寄与している。シナプス間隙の狭さが約20nmであり、タンパク質自体の大きさと大差ない(例えば、分子量66kDaの牛アルブミンの粒子径は8.5nm程度である)ことを考えると、こ

れらのタンパク質同士が相互作用している可能性が考えられ、実際、PrPがA $\beta$ Pの産生に影響することが報告されている<sup>50)</sup>。

これらの結果から、図4のようなシナプスにおけるZn, Cuと疾患関連たんぱく質の相互作用に関する仮説を考えている。これらの疾患関連たんぱく質はZnやCuのホメオスタシスを維持する役割を担っており、Znはローマの両面神ヤヌスのように、これらの神経疾患の発症に神経保護と毒性との両面から寄与しているのではないだろうか。そして、これらの金属ホメオスタシスが異常をきたした場合に、神経系の機能異常、ひいては神経疾患が引き起こされるのではないだろうか。従って、金属ホメオスタシスを維持する因子はシナプスの維持のために重要である。例えば、ZnトランスポーターZnT-1もシナプスに局在してNMDA受容体と共同で作用することが報告されている<sup>51)</sup>。シナプスにおけるZnや他の金属のホメオスタシスを維持するもう一つの因子として重要なのがカルノシン<sup>39)</sup>とメタロチオネイン3(MT-3)<sup>52)</sup>である。

今後、このような作業仮説の下に研究を進めることによって、Znホメオスタシスに関与する種々の神経疾患に共通した発症メカニズムを明らかにし、予防治療薬を開発していきたいと考えている。

## ◆文献

- 1) Becker JS, Matusch, Palm, et al : Bioimaging of metals in brain tissue by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) and metallomics. *Metallomics* 2 : 104-111, 2010
- 2) Frederickson CJ and Bush AI : Synaptically released zinc : physiological functions and pathological effects. *Biometals, An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, 14 : 353-366, 2001
- 3) Ueno S, Tsukamoto M, Hirano T, et al : Mossy fiber Zn<sup>2+</sup> spillover modulates heterosynaptic

- N-methyl-D-aspartate receptor activity in hippocampal CA3 circuits. *The Journal of Cell Biology*, 158 (2) : 215-220, 2002
- 4) 外山敬介 : 生体と情報処理 : 3. 脳・神経系の構造 : 3.1 視覚系の構造と機能, 情報処理 : 1985
- 5) 黒田 洋一郎 : 記憶シナプスの可塑性とインパルス頻度—ATP, アデノシンの役割—, *生物物理*, 30 : 186-192, 1990
- 6) 大久保洋平 : グルタミン酸伝達を“観る”技術—グルタミン酸スピルオーバーの可視化解析—, *日薬理誌 (Folia Pharmacol. Jpn.)* 142 : 178-183, 2013

- 7) Nasehi MM, Sakhaei R, Moosazadeh M, Aliramzany M : Comparison of serum zinc levels among children with simple febrile seizure and control group : A systematic review, *Iran J Child Neurol*. 9 : 17-24, 2015
- 8) Lai J, Moxey A, Nowak G, et al : The efficacy of zinc supplementation in depression : systematic review of randomised controlled trials, *J Affect Disord*. 136 : e31-e39, 2012
- 9) Hagemeyer S, Sauer AK, Grabrucker AM : Prospects of zinc supplementation in autism spectrum disorders and shankopathies such as Phelan McDermid syndrome. *Front Synaptic Neurosci*. 10, 11, 2018. doi : 10.3389/fnsyn.2018.00011. eCollection 2018
- 10) D'Ambrosi N and Rossi L : Copper at synapse : Release, binding and modulation of neurotransmission. *Neurochemistry International*, 90 : 36-45, 2015
- 11) Scheiber IF, Mercer JF, Dringen R : Metabolism and functions of copper in brain. *Prog Neurobiol*. 116 : 33-57, 2014
- 12) Zhang Y, Lu W, Han M, et al : Biphasic Effects of Copper on Rat Learning and Memory in the Morris Water Maze. *Ann Clin Lab Sci*. 46 : 346-52, 2016
- 13) Yang Y, Jing XP, Zhang SP, et al : High dose zinc supplementation induces hippocampal zinc deficiency and memory impairment with inhibition of BDNF signaling. *PLoS One*. 8 : e55384, 2013
- 14) Nam SM, Kim JW, Kwon HJ, et al : Differential Effects of Low- and High-dose Zinc Supplementation on Synaptic Plasticity and Neurogenesis in the Hippocampus of Control and High-fat Diet-fed Mice. *Neurochem Res*. 42 : 3149-3159, 2017
- 15) 川原正博, 根岸みどり, 田中健一郎 : 亜鉛と神経疾患, *ファルマシア*, 54 : 663-666, 2018
- 16) Kawahara M, Mizuno D, Koyama H, et al : Disruption of zinc homeostasis and the pathogenesis of senile dementia, *Metallomics*, 6 : 209-19, 2013
- 17) Lee J, Grabb MC, Zipfel GJ, & Choi DW : Tissue responses to ischemia brain tissue responses to ischemia, 106 : 723-731, 2000
- 18) Weiss JH, Sensi SL, Koh JY : Zn(2+) : a novel

- ionic mediator of neural injury in brain disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 21 : 395-401, 2000
- 19) Sun Y, Jiang XD, Liu X, et al : Synaptic contribution of Ca<sup>2+</sup>-permeable and Ca<sup>2+</sup>-impermeable AMPA receptors on isolated carp retinal horizontal cells and their modulation by Zn<sup>2+</sup>. *Brain Res*. 1317 : 60-8, 2010
- 20) Koh JY, Suh SW, Gwag BJ, et al : The role of zinc in selective neuronal death after transient global cerebral ischemia. *Science*. 272 : 1013-6, 1996
- 21) Calderone A, Jover T, Mashiko T, et al : Late calcium EDTA rescues hippocampal CA1 neurons from global ischemia-induced death. *The Journal of Neuroscience*, 24 : 9903-9913, 2004
- 22) Kawahara M, Kato-Negishi M, and Kuroda Y : Pyruvate blocks zinc-induced neurotoxicity in immortalized hypothalamic neurons. *Cellular and Molecular Neurobiology* 22 : 87-93, 2002
- 23) Kawahara M, Konoha K, Sadakane Y : Neurotoxicity of zinc : the involvement of calcium homeostasis and carnosine, *Biomed Res Trace Elements*, 18 : 26-34, 2007
- 24) Koyama H, Konoha K, Sadakane Y, et al : Zinc neurotoxicity and the pathogenesis of vascular-type dementia : Involvement of calcium dyshomeostasis and carnosine, *J Clin Toxicol*, S3-002, 2011
- 25) Kawahara M, Sadakane Y, Koyama H, et al : D-histidine and L-histidine attenuate zinc-induced neuronal death in GT1-7 cells, *Metallomics*, 5 : 453-60, 2013
- 26) Mizuno D, Konoha-Mizuno D, Mori M, et al : Protective activity of carnosine and anserine against zinc-induced neurotoxicity : a possible treatment for vascular dementia, *Metallomics*, 7 : 1233-9, 2015
- 27) Konoha K, Sadakane Y, Kawahara M : Effects of gadolinium and other metal on the neurotoxicity of immortalized hypothalamic neurons induced by zinc, *Biomed. Res. Trace Elements*, 15 : 275-277, 2004
- 28) Kawahara M, Kato-Negishi M, Hosoda R, et al : Brain-derived neurotrophic factor protects cultured rat hippocampal neurons from aluminum maltolate neurotoxicity, *Journal of Inorganic Biochemistry*,

- 97 : 124-131, 2003
- 29) Kawahara M, Kato M, Kuroda Y : Effects of aluminum on the neurotoxicity of primary cultured neurons and on the aggregation of  $\beta$ -amyloid protein. *Brain Res Bull*, 55 : 211-217, 2001
- 30) Tanaka KI and Kawahara M : Copper enhances zinc-induced neurotoxicity and the endoplasmic reticulum stress response in a neuronal model of vascular dementia. *Front Neurosci*. 11 : 58, 2017
- 31) Sano R, Reed JC : ER stress-induced cell death mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1833 : 3460-3470, 2013
- 32) Tanaka KI, Shimoda M, Kasai M, et al : Involvement of SAPK/JNK signaling pathway in copper enhanced zinc-induced neuronal cell death. *Toxicol Sci*. pii : kfz043, 2019. doi : 10.1093/toxsci/kfz043.
- 33) Tanaka KI, Shimoda M, Kawahara M : Pyruvic acid prevents  $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ -induced neurotoxicity by suppressing mitochondrial injury. *Biochem Biophys Res Commun*. 495 : 1335-1341, 2018
- 34) Tanaka KI, Shimoda M, Chuang VTG, et al : Thioredoxin-albumin fusion protein prevents copper enhanced zinc-induced neurotoxicity via its antioxidative activity. *Int J Pharm*. 535 : 140-147, 2018.
- 35) Lee JY, Kim YH, Koh JY : Protection by pyruvate against transient forebrain ischemia in rats. *J Neurosci*. 21 : RC171, 2001
- 36) Kawahara M, Konoha K, Nagata T, Sadakane Y : Protective substances against zinc-induced neuronal death after ischemia : carnosine a target for drug of vascular type of dementia, *Recent Patents on CNS Drug Discovery*, 2 : 145-149, 2007
- 37) Konoha K, Sadakane Y, Kawahara M : Carnosine protects GT1-7 cells against zinc-induced neurotoxicity : a possible candidate for treatment for vascular type of dementia. *Trace Nutrient Res*, 23 : 1-8, 2006
- 38) Sadakane Y, Konoha K, Kawahara M : Protective activity of mango (*Mangifera indica* L.) fruit against a zinc-induced neuronal cell death is independent of its antioxidant activity, *Trace Nutrients Res*, 22 : 73-79, 2005
- 39) Kawahara M, Tanaka KI, Kato-Negishi M : Zinc, Carnosine, and Neurodegenerative Diseases. *Nutrients*. 10. pii : E147, 2018
- 40) Boldyrev AA, Aldini G, Derave W. : Physiology and pathophysiology of carnosine. *Physiol Rev*. 93 : 1803-45, 2013
- 41) Hisatsune T, Kaneko J, Kurashige H, et al : Effect of anserine/carnosine supplementation on verbal episodic memory in elderly people. *J Alzheimers Dis*. 50 : 149-59, 2016
- 42) Kay AR : Imaging synaptic zinc : promises and perils. *Trends in Neurosciences*, 29 : 200-206, 2006
- 43) Schikorski T, Stevens CF : Quantitative ultrastructural analysis of hippocampal excitatory synapses, 17 : 5858-5867, 1997
- 44) Frederickson CJ, Giblin LJ, Krezel A, et al : Concentrations of extracellular free zinc ( $\text{pZn}$ )e in the central nervous system during simple anesthetization, ischemia and reperfusion. *Exp Neurol*. 198 : 285-93, 2006
- 45) Carrell RW, Lomas DA : Conformational disease. *Lancet*. 350 : 134-8, 1997
- 46) Kawahara M, Kato-Negishi M, Tanaka K : Cross talk between neurometals and amyloidogenic proteins at the synapse and the pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Metallomics*. 9 : 619-633, 2017
- 47) Mizuno D, Koyama H, Ohkawara S, et al : Involvement of trace elements in the pathogenesis of prion diseases, *Curr Pharam Biotech* 15 : 1049-57, 2014
- 48) Watt NT, Griffiths HH, Hooper NM : Neuronal zinc regulation and the prion protein. *Prion*, 7, : 203-208, 2013
- 49) Mcdowall JS, Brown DR : Alpha-synuclein : relating metals to structure, function and inhibition. *Metallomics*, 8 : 385-397, 2016
- 50) Ordóñez-Gutiérrez L, Torres JM, Gavín R, et al : Cellular prion protein modulates  $\beta$ -amyloid deposition in aged APP/PS1 transgenic mice. *Neurobiol Aging*. 34 : 2793-804, 2013
- 51) Mellone M, Pelucchi S, Alberti L et al : Zinc transporter-1 : a novel NMDA receptor-binding protein at the postsynaptic density. *J Neurochem*. 132 : 159-68, 2015
- 52) Uchida Y : Growth-inhibitory factor, metallothionein-like protein, and neurodegenerative diseases. *Biol Signals*. 3 : 211-5, 1994

## Crosstalk of zinc and copper at synapse: implications of pathogenesis of vascular dementia

Masahiro Kawahara, Ken-ichiro Tanaka, Midori Kato-Negishi

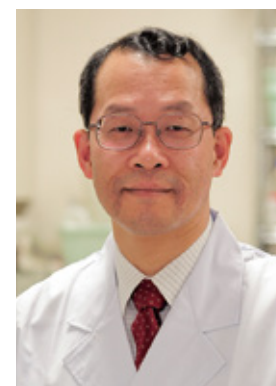
Department of Bio-Analytical Chemistry, Musashino University

Zinc (Zn) as well as copper (Cu) are accumulated in synaptic vesicles and secreted to synaptic clefts during neuronal excitation. Synaptic Zn plays crucial roles in the information processing and the memory formation. However, excess Zn secreted in the pathological conditions such as transient global ischemia is toxic, and plays central roles in the neurodegeneration after ischemia and the subsequent pathogenesis of vascular dementia. We have investigated the molecular mechanism of Zn-induced neurotoxicity GT1-7 cells (immortalized hypothalamic neurons), and found the involvements of ER pathway, Disruption of Ca homeostasis, mitochondrial degeneration and energy production. Furthermore, we investigated the effects if co-administration of other metals and revealed that the presence of Cu caused the markedly enhanced Zn-induced neurotoxicity. Using the RT-PCR technique and western blotting, the MAP kinase pathway () is involved in Cu-enhanced Zn neurotoxicity. It is highly possible that the crosstalk of Cu and Zn at synapse is important in the pathogenesis of vascular dementia. The interaction between amyloidogenic proteins of various neurodegenerative diseases and Zn/Cu is also discussed.

Keyword : ER, senile dementia, MAP kinase, metal-metal interaction, synapse

E-mail address

makawa@musashino-u.ac.jp



### ◆川原正博略歴

1985年	東京大学薬学部卒業
1990年	同大学院博士課程修了
	東京都神経科学総合研究所 (～2003年)
2003年	九州保健福祉大学薬学部教授 (～2012年)
2012年	武蔵野大学薬学部教授 現在に至る