

研究

神経変性症における 微量金属の役割, 鉄を中心に

浜松医科大学内科学第一講座 宮嶋裕明

要 約

脳内に鉄蓄積を来す aceruloplasminemia や neuroferritinopathy の発見を契機に鉄関連蛋白質の同定と機能解析が行われ、脳内の鉄サイクルが明らかになってきた。また、古くから知られていた脳の鉄蓄積を伴う神経変性症 Hallervorden-Spatz 病や Infantile neuroaxonal dystrophy がミトコンドリアのエネルギー産生、あるいは脂質代謝と関連していることが明らかになった。さらにライソゾーム酵素の異常によるミトコンドリアへの鉄供給の障害や膜脂質のセラミドを中心とした細胞内シグナル伝達の障害に伴う二次性の脳内鉄蓄積症が明らかになり、神経細胞の活動がダイナミックな鉄代謝と深く関連していることが注目されている。

また最近では、アルツハイマー病、パーキンソン病、プリオン病など多くの神経変性症の病態解析の過程で、生理的に発現した蛋白質が、鉄、銅、亜鉛などの金属の存在下で重合して可溶性のオリゴマーあるいはプロトフィブリルを形成し、これらがシナプスの機能障害、神経細胞死を引き起こすことが症状の発現と関係していることが報告されている。これらの疾患は、“コンフォメーション病”といわれており、蛋白質の重合からアミロイド線維への形成過程で微量金属が介在しており、疾患の治療標的として注目されている。

はじめに

微量金属は種々の重要な蛋白質、酵素の構成要素で、生命維持に必須である。一方、銅や鉄などの遷移金属は活性酸素やフリーラジカルの産生を強力に触媒するので、アポトーシス反応、細胞膜の破壊、蛋白質の凝集などを促進する。したがって、生体内の金属は欠乏あるいは過剰にならないように厳密に調整されている。しかし、その分子機構、なかでも神経系での金属代謝はほとんど解明されていなかった。われわれが脳内をはじめ全身の組織に鉄蓄積をきたす神経変性症の aceruloplasminemia¹⁾ を報告した頃より、鉄関連蛋白質が相次いで同定され、鉄蓄積脳症の新たな原因遺伝子が同定されてきた。

また、神経系の発達や機能維持には鉄ばかりでなく、銅、亜鉛、マンガン、セレンが必須である。そして、鉄、銅、亜鉛、マンガンは神経終末のシナプス小胞に含まれ、神経伝達物質の受容体、イオンチャネルなどの活性をダイナミックに調整していることも明らかになった。最近では、アルツハイマー病、パーキンソン病、プリオン病などの神経変性症の病態における微量金属の関与が注目されている。

今回は主に、脳内の鉄代謝蛋白質の異常、あるいは金属を介した蛋白質の凝集が病態に関与する神経変性症について述べる。

1. 脳内の鉄動態

血液中のトランスフェリン鉄はトランスフェリン受容体を介したエンドサイトーシスによって血液脳関門を通過して取り込まれ、脳脊髄液の吸収を介して循環系に戻る。ただ脳内の鉄必要量は血液からの供給量よりも多く、脳内で鉄サイクルを形成して再利用していると考えられる(図1)²⁾。このため、体内の鉄欠乏あるいは鉄過剰の影響が脳内に及ぶことは少なく、代表的な鉄過剰症である遺伝性ヘモクロマトーシスでも体内への過剰な鉄蓄積はあるものの脳への異常鉄沈着は認められない。

2. 脳内の鉄サイクルの障害による鉄蓄積脳症

a. Aceruloplasminemia

セルロプラスミン(Cp)は、血中に分泌される分泌型Cpと細胞膜に結合するGPI(glycosylphosphatidylinositol)結合型Cpの2種類のアイソフォーム蛋白質が存在する。分泌型Cpは肝臓で生合成されるが、GPI結合型Cpは肝臓だけでなく、脳、網膜、肺、心臓、腎臓、骨

格筋など全身の組織で発現している。分泌型Cpは血中に存在し、その酸化活性によってNO代謝に関与している。一方、GPI結合型Cpは各組織の細胞内から細胞外への鉄の動員を鉄トランスポート蛋白質のフェロポルチンと共同して行っている。分泌型Cpは血液脳関門を通過できないため、脳内のCpではアストロサイトで発現するGPI結合型Cpが働いており、鉄代謝の中心的役割を担っている(図1)。

AceruloplasminemiaはCpのloss-of-functionによる全身諸臓器への鉄過剰蓄積を来す常染色体劣性遺伝性疾患である。脳内の鉄はおもにアストロサイトに沈着し、フリーラジカルの産生を促し、脂質過酸化の亢進、ミトコンドリアの障害を引き起こして細胞傷害をきたす³⁾。神経細胞にも鉄沈着はみられるが、ノックアウトマウスの実験から、神経細胞はアストロサイトから鉄が動員されないために、二次性の鉄欠乏による細胞障害が起きている。脳内の鉄沈着は広範に生じるが、特に基底核、小脳歯状核、視床の鉄濃度が高く、それを反映して不随意運動、小脳性失調、認知機能障害などの神経症状を引き起こす(図2)。脳以外にも全身の組織に鉄の蓄積が生じるため、臓器の重量に対する蓄積量が相対的に多い、甲状腺、心臓、膵臓では障害が起りやすい。肝臓への鉄蓄積も

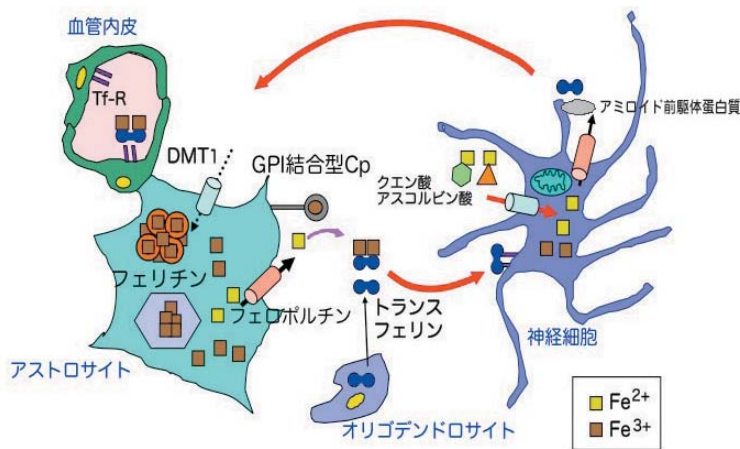


図1 脳内の鉄サイクル

神経細胞への鉄輸送は、血中からアストロサイトへ取り込まれた鉄がトランスフェリンを介して輸送される主要経路と、クエン酸・アスコルビン酸を介した副経路がある。アストロサイトではセルロプラスミンが、神経細胞ではアミロイド前駆体蛋白質が鉄の排出(動員)系で重要な役割をはたしている。

TfR: トランスフェリン受容体, DMT1: 鉄トランスポーター

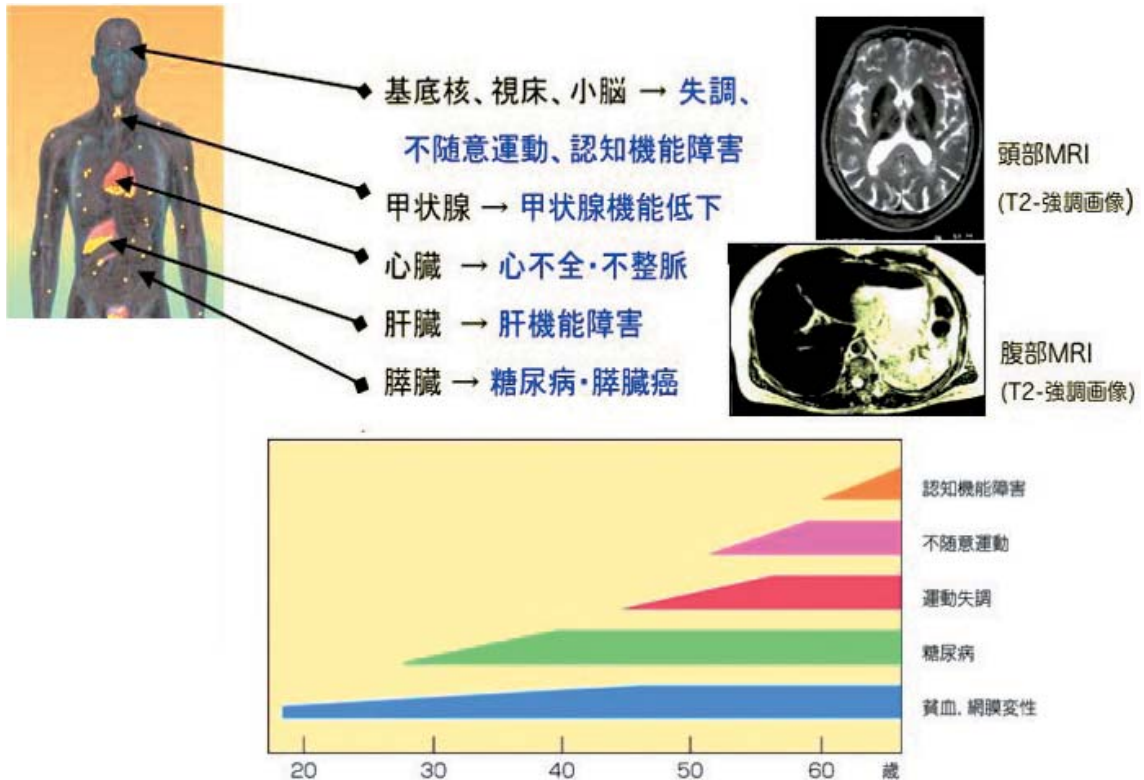


図2 Aceruloplasminemiaの臨床症候とMRI T2強調画像

脳内の鉄沈着は大脳基底核，視床に目立つ．肝臓にも著明な鉄沈着がある．これらの沈着部位に対応して症状が発現する．典型例での症候の発現時期は下図の通りである．

MRIなどの画像検査上では明らかであるが，実際に肝機能障害をきたすのはかなり末期である．GPI結合型Cpがないと鉄の動員に必要なフェロオキシダーゼ（鉄酸化）活性が欠損するだけでなく，細胞膜のフェロポルチンが速やかに分解され，細胞外への鉄の動員が阻害されて細胞内に鉄の蓄積が起こることが分かっている⁴⁾．

たまたまこの疾患の患者で，新鮮な生牡蠣からエキス分を抽出し濃縮した液状タイプの栄養補助食品を摂取していたところ症状が改善した．この食品には多くの亜鉛が含まれていることが分かり，他の患者を含め血中の亜鉛濃度を測定した．その結果，患者では同年代の健常者と比較して亜鉛濃度が低いことが判明した（図3）⁵⁾．そこで大学の倫理委員会の承認を得た後に，3名の希望者に亜鉛製剤を服用してもらったところ，いずれの患者でも3～6ヶ月後に不随意運動，あるいは運動失調の改善をみた．海外でも亜鉛治療が行わ

れ神経症状の著明な改善をみた18歳の女性例がある⁶⁾．

b. Neuroferritinopathy

フェリチンは体内の鉄貯蔵蛋白質として知られており，内部に鉄を貯蔵する中空部分をもつ可溶性蛋白質で，サブユニットH鎖とL鎖が24個集合している．フェリチンは反応性の高い2価鉄イオンを酸化して不活性な3価鉄イオンとして最大約4500分子を含有でき，体内の鉄の無毒化や鉄濃度のコントロールの役割を担っている．

Neuroferritinopathyは，フェリチンのL鎖の遺伝子異常による常染色体優性遺伝疾患で，基底核の鉄沈着によりジストニアなどの不随意運動，運動障害，認知機能障害をきたす⁷⁾．鉄蓄積はグリア細胞，主にアストロサイトに認められる．これはL鎖の遺伝子異常によりサブユニットの集合が難しくなるため鉄貯蔵能が低下することによ

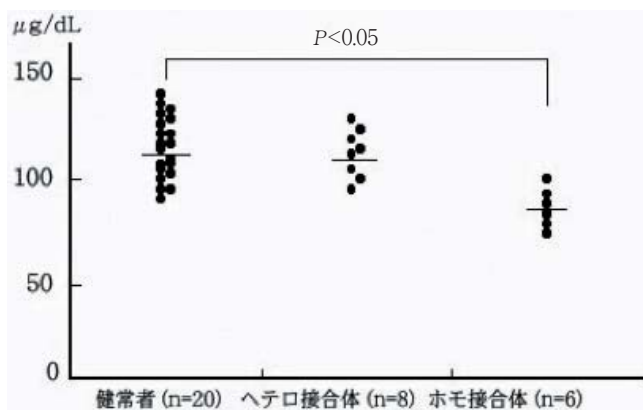


図3 血中の亜鉛濃度

Aceruloplasminemia 患者、セルロプラスミン遺伝子異常のホモ接合体患者は男女各3名（年齢 58.4 ± 8.2 歳）、ヘテロ接合体患者は男女各4名（年齢 52.8 ± 6.5 歳）、コントロールの健康者は男女各10名（年齢 55.4 ± 10.2 歳）。

ると考えられている。このため鉄介在性のフリーラジカルの産生によって、アストロサイトを中心に細胞傷害が引き起こされることになる。

3. 鉄代謝障害による二次的な鉄蓄積症脳症

a. Friedreich 失調症

Friedreich 失調症は、欧米では最も頻度の高い常染色体劣性遺伝の脊髄小脳失調症である。原因は、ミトコンドリア蛋白質の frataxin をコードする *FRDA* 遺伝子、第一イントロンの GAA リピートの異常伸張である。ミトコンドリアの TCA 回路においてクエン酸をイソクエン酸に変換する酵素アコニターゼは、活性中心に Fe-S クラスタが存在する。frataxin はアコニターゼに結合し、Fe-S クラスタを安定化、維持する機能を持つといわれる⁸⁾。さらにアコニターゼはエネルギー産生に関与するだけでなく、ミトコンドリア DNA と結合してこれを安定化させる作用も持っていると考えられている。

b. 古典的な Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation (NBIA)

古くより脳の過剰鉄蓄積と神経症状を呈する疾患を NBIA と称して、NBIA1 型は従来の Hallervorden-Spatz 病、NBIA2 型は Infantile

neuroaxonal dystrophy を指している。いずれも小児期より著明な神経症状を呈し、脳内の鉄蓄積を特徴とする。NBIA1 型では基底核への鉄沈着を特徴とし、MRI で中心が高信号でその周囲に低信号を示す特徴的な“eye of the tiger”所見を淡蒼球で認める。この患者の50%以上では Pantothenate kinase 2 遺伝子 (*PANK2*) の異常が認められ、Pantothenate kinase-associated neurodegeneration といわれている⁹⁾。Pantothenate kinase が欠乏すると、コエンザイム A (CoA) の欠乏が生じて、エネルギー産生や脂質二重膜の維持に破綻が生じて神経細胞が傷害される。NBIA2 型では脳内の鉄沈着と小脳萎縮が早期より認められ、約8割に脂質代謝におけるカルシウム非依存性グループ IV phospholipase A2 の遺伝子 (*PLA2G6*) の変異が認められる¹⁰⁾。

c. 常染色体劣性遺伝のパーキンソニズム・ジストニア症候群

遺伝性のパーキンソニズムとジストニアを中心とした神経症状をきたし、脳内の鉄沈着が認められる疾患に Kufor-Rakeb disease (*PARK9*) と Early onset *PARK14*-linked dystonia-parkinsonism (*PARK14*) が挙げられる。それぞれの原因遺伝子は *ATP13A2* と *PLA2G6* である^{11,12)}。*ATP13A2* 蛋白質は、ライソゾーム内の pH の維持を行い、脂質代謝において脂質のリサイクルに関与している。ライソゾームは細胞内の

小器官、なかでもミトコンドリアに鉄を供給する役割をもっており、ライソゾームに障害があるとミトコンドリアの鉄代謝に影響を及ぼすと考えられる。ほかにも糖脂質を分解するライソゾーム酵素、グルコセレブロシダーゼ (GBA) の欠乏による Gaucher 病では、パーキンソニズムを合併しやすく鉄の沈着もみられている。また、前述の PLA2G6 蛋白質はミトコンドリア内膜の phospholipid 代謝に関与し、脂質二重膜の維持を行っていると考えられている。

d. 新たな脳鉄蓄積症の原因遺伝子

脳内の鉄蓄積をきたす新たな神経変性症の原因遺伝子が3つ報告された、*FA2H*, *C2orf37*, *C19orf12*¹³⁻¹⁵⁾。脂質二重膜の維持、あるいは細胞活動を制御するシグナルとなるセラミドの生合成に関与する Fatty acid hydroxylase の遺伝子が *FA2H* である。ミトコンドリア蛋白質の遺伝子のひとつである *C19orf12* の変異では、40代からのパーキンソン病を呈するのが特徴である。いわゆる一般的な孤発生のパーキンソン病と臨床的には同じである。パーキンソン病で認められる Lewy 小体と鉄代謝の関係は古くから知られており、Hallervorden-Spatz 病でも鉄沈着に伴う Lewy 小

体の存在が報告されている。一般的なパーキンソン病の発症メカニズムのひとつにミトコンドリア障害が注目されており、ミトコンドリアの鉄代謝の異常がパーキンソニズムと関係している可能性が示唆される。

これらの新たな疾患と原因遺伝子の同定からミトコンドリア・ライソゾーム系の障害が鉄代謝と大いに関連することが予想される (図4)。

4. 金属が介在した蛋白質の凝集が病態に關与する神経変性症

アルツハイマー病を特徴づける病理学的所見は、1) 神経細胞外に沈着するアミロイドβ蛋白質 (Aβ) を主要構成成分とする老人斑、2) 神経細胞内に蓄積するリン酸化したタウ蛋白質を主要構成成分とする神経原線維変化、3) 選択的な神経細胞脱落、である。なかでも Aβ の沈着は最も早期に生じる変化で、それに続いて神経原線維変化が形成され、その頃から神経細胞が減少し始める。そうすると、海馬や皮質の連合野では神経ネットワークが崩壊し、徐々に認知症としての臨床症状が顕在化すると考えられている。Aβ は健常人でもアミロイド前駆体蛋白質から切り出

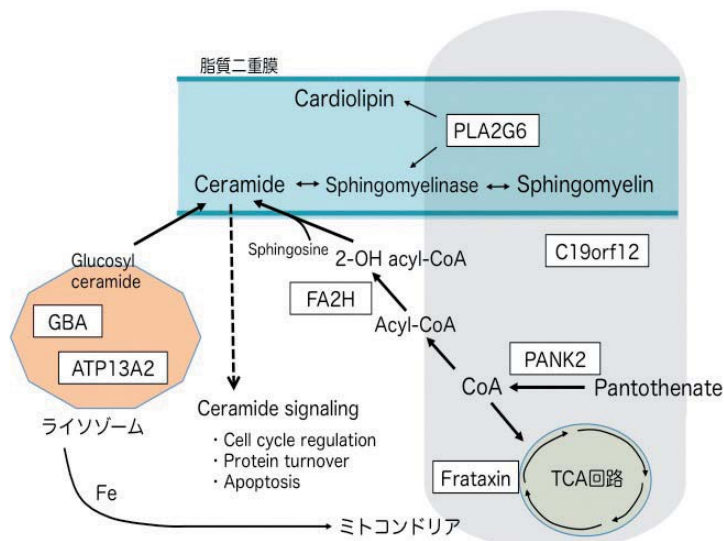


図4 ミトコンドリアの脂質代謝、エネルギー産生とライソゾームに関連する脳内の鉄関連蛋白質 □は鉄蓄積症の原因蛋白質を示す。これらの蛋白質はセラミド代謝を中心に関連している。

されるが、この場合 α セクレターゼによるアミノ末端の切断、 γ セクレターゼによるカルボキシル末端の切断が行われ、完全型の $A\beta$ は産生されない。これが、はじめに α セクレターゼでなく β セクレターゼにより切断される場合、 $A\beta$ が産生される。健康人でもアミロイド前駆体蛋白質から 10% 位は $A\beta$ が産生されるが、酵素ネプリライシンにより分解される。 $A\beta$ が産生される場合、複合体酵素である γ セクレターゼにより 40 アミノ酸からなる $A\beta_{40}$ と、カルボキシル末端側にアミノ酸が 2 つ分長い $A\beta_{42}$ がそれぞれ産生される。 $A\beta_{42}$ はより凝集性が高く、*in vitro* での神経細胞毒性が強い。近年、凝集した $A\beta$ よりも可溶性の $A\beta$ が数個から数十個重合したオリゴマーによるシナプス変性が神経細胞の脱落により重要であることが注目されている^{16,17)}。このオリゴマー $A\beta$ の形成にはガングリオシドが必要で、アポリポrotein E、鉄イオン、銅イオン、亜鉛イオンが重合を促進する(図5)¹⁸⁾。さらに補体系などが関与して老人斑の周辺には活性化したミクログリアが集積し局所的な炎症が生じる。

生理的に発現した蛋白質が重合してアミロイド

線維を形成し、病態の形成に関与するのはアルツハイマー病だけではない。いわゆる「コンフォメーション病」の範疇でとらえられる多くの神経変性症も同様の機序が議論されている。これらの疾患では脳内の蛋白質が β シートに富む構造へと変化してアミロイド線維として蓄積する。蛋白質の重合に微量元素が重要なことは、 $A\beta$ のほかにも、パーキンソン病の α シヌクレイン、プリオン病などでも観察されている。 α シヌクレインの凝集過程で、可溶性のプロトフィブリルがシナプスの機能障害を引き起こし症状を発現する¹⁹⁾。このプロトフィブリルの形成をアルミニウム>銅>鉄が促進する。これに対し、非可溶性の凝集物は生物学的な活性を持つプロトフィブリルのリザーバーとして働いていると考えられる。

プリオン病の代表的疾患クロイツフェルト・ヤコブ病は、認知機能障害から始まり精神・神経症状が急速に進行して死に至る疾患である。この原因は、脳の正常プリオン蛋白質 (PrP^c) が病原性異性体 (PrP^{sc}) に変化することにより、 PrP^{sc} は伝染性の病原性を有する。 PrP^c は 253 アミノ酸と銅原子 2-3 個からなる。この蛋白質は主に神経細胞に発現し、細胞膜の表面に移動して C 末端

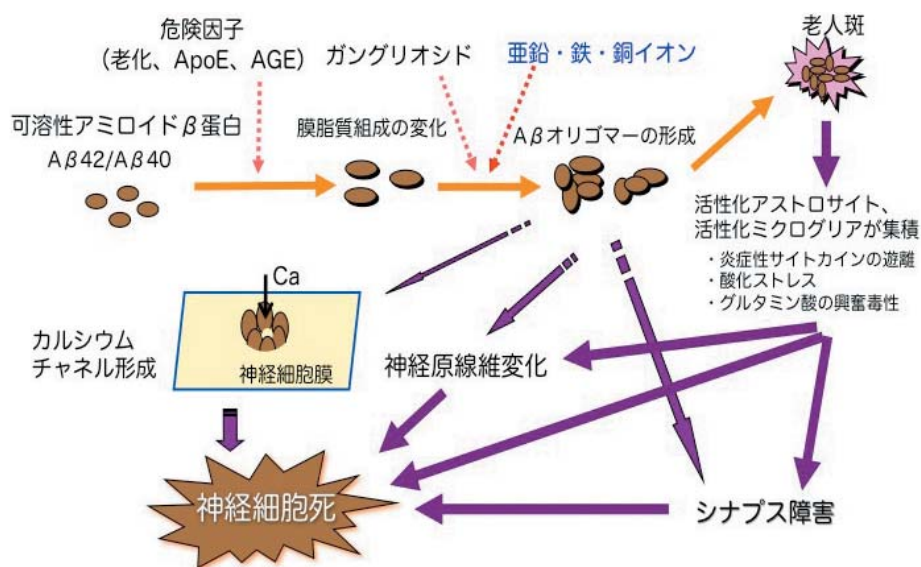


図5 アルツハイマー病で考えられているアミロイド β 蛋白質 ($A\beta$) による神経細胞障害

$A\beta$ オリゴマーによる、シナプス障害、神経原線維変化の誘導、カルシウムチャネル様の膜障害により神経細胞死がもたらされるという最近の仮説を中心に $A\beta$ による障害機序を示す。

の GPI アンカーで結合した後、ライソゾームでアミノ酸に分解され再利用される。PrP^c は抗酸化作用のある SOD 酵素の一種で、細胞表面で銅が自由電子を捕捉することにより神経細胞膜をフリーラジカルによる破壊から保護する、あるいは銅の細胞への出入りを調節してシナプス神経伝達機能に関与すると予想されている。PrP^{sc} は A β と同様に β シートの多い構造をとって凝集し、オリゴマーが 26S プロテアソームを阻害して神経細胞傷害を来す²⁰⁾。またオリゴマーの神経細胞毒性は鉄の存在によって増強される²¹⁾。その結果、神経細胞の脱落による海綿状脳症の病理像を呈すると考えられている。

脳内の鉄動態は未だ十分に解明されていないが、ライソゾームからミトコンドリアへの鉄の供給、ミトコンドリアでの脂質代謝、エネルギー産生と鉄動態が密接に関係している可能性がある。そして、その破綻により鉄蓄積を伴う神経変性をきたし、認知症、パーキンソニズムや小脳失調などを引き起こすことが考えられる。また、生理的

に発現している蛋白質、あるいは変異蛋白質は、微量金属の存在下で重合すると、細胞障害性を発揮する。したがって、この重合過程を選択的に阻害することで、新たな治療法に繋がることが期待される。

さらに最近、神経細胞の表面に A β の前駆体蛋白質 APP が存在し、これがフェロオキシダーゼ活性を持っておりフェロポルチンと共役して神経細胞から鉄を細胞外へ動員していることが報告された²²⁾。この作用は亜鉛によって抑制されるという。また、タウ蛋白質のノックアウトマウスでは APP が減少して黒質の神経細胞内の鉄が増加し、パーキンソン病様の症状をきたすことが報告された²³⁾。アルツハイマー病やパーキンソン病では神経細胞内に鉄が蓄積するが、APP が介在する脳内鉄サイクルの障害がこれらの疾患の病態に関連しているとする、これは神経変性症における新たな治療法のターゲットとなり得ると考えられる。

◆文 献

- 1) Miyajima H, Nishimura Y, Mizoguchi K, Sakamoto M, Shimizu T, Honda N : Familial aceruloplasmin deficiency associated with blepharospasm and retinal degeneration. *Neurology* 37 : 761-767, 1987
- 2) Madsen E, Gitlin JD : Copper and iron disorders of the brain. *Annu Rev Neurosci* 30 : 317-337, 2007
- 3) Miyajima H : Aceruloplasminemia, an iron metabolic disorder. *Neuropathol* 23 : 345-350, 2003
- 4) Kono S, Yoshida K, Tomosugi N, et al : Biological effects of mutant ceruloplasmin on hepcidin-mediated internalization of ferroportin. *Biochim Biophys Acta* 1802 : 968-975, 2010
- 5) 宮嶋裕明, 河野智, 高橋良知, 鈴木均 : 無セルロプラスミン血症における組織亜鉛濃度—亜鉛療法に向けて—*神経治療* 18 : 63-68, 2001
- 6) Kuhn J, Bewermeyer H, Miyajima H, Takahashi Y, Kuhn KF, Hoogenraad TU : Treatment of symptomatic heterozygous aceruloplasminemia with oral zinc sulphate. *Brain Dev* 29 : 450-453, 2007
- 7) Curtis AR, Fey C, Morris CM, Bindoff LA, et al : Mutation in the gene encoding ferritin light polypeptide causes dominant adult-onset basal ganglia disease. *Nat Genet* 28 : 350-354, 2001
- 8) Bulteau AL, O'Neill HA, Kennedy MC, Ikeda-Saito M, Isaya G, Szweda LI : Frataxin acts as an iron chaperone protein to modulate mitochondrial aconitase activity. *Science* 305 : 242-245, 2004
- 9) Hayflick SJ, Westaway SK, Levinson B, et al : Genetic, clinical, and radiographic delineation of Hallervorden-Spatz syndrome. *N Engl J Med* 348 : 33-40, 2003
- 10) Morgan NV, Westaway SK, Morton JE, et al : PLA2G6, encoding a phospholipase A2, is mutated in neurodegenerative disorders with high brain iron. *Nat Genet* 38 : 752-754, 2006
- 11) Ramirez A, Heimbach A, Gründemann J, et al : Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat Genet* 38 : 1184-1191, 2006

- 12) Chen XJ, Wang X, Kaufman BA, Butow RA : Aconitase couples metabolic regulation to mitochondrial DNA maintenance. *Science* 307 : 714-717, 2005
- 13) Kruer MC, Paisán-Ruiz C, Boddaert N, et al : Defective FA2H leads to a novel form of neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA) . *Ann Neurol* 68 : 611-618, 2010
- 14) Kruer MC, Boddaert N, Schneider SA, et al : Neuroimaging features of neurodegeneration with brain iron accumulation. *Am J Neuroradiol* 33 : 407-414, 2011
- 15) Hartig MB, Iuso A, Haack T, et al : Absence of an orphan mitochondrial protein, c19orf12, causes a distinct clinical subtype of neurodegeneration with brain iron accumulation. *Am J Hum Genet* 89 : 543-550, 2011
- 16) McLean CA, Cherny RA, Fraser FW, et al : Soluble pool of Abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 46 : 860-866, 1999
- 17) Haass C, Selkoe DJ : Soluble protein oligomers in neurodegeneration : lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8 : 101-112, 2007
- 18) Dong J, Canfield JM, Mehta AK, et al : Engineering metal ion coordination to regulate amyloid fibril assembly and toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104 : 13313-13318, 2007
- 19) Uversky VN : Neuropathology, biochemistry, and biophysics of alpha-synuclein aggregation. *J Neurochem* 103 : 17-37, 2007
- 20) Kristiansen M, Deriziotis P, Dimcheff DE, et al : Disease-associated prion protein oligomers inhibit the 26S proteasome. *Mol Cell* 26 : 175-188, 2007
- 21) Basu S, Mohan ML, Luo X, Kundu B, Kong Q, Singh N : Modulation of proteinase K-resistant prion protein in cells and infectious brain homogenate by redox iron : implications for prion replication and disease pathogenesis. *Mol Biol Cell* 18 : 3302-3312, 2007
- 22) Duce JA, Tsatsanis A, Cater MA, et al : Iron-export ferroxidase activity of β -amyloid precursor protein is inhibited by zinc in Alzheimer's disease. *Cell* 142 : 857-867, 2010
- 23) Lei P, Ayton S, Finkelstein DI, et al : Tau deficiency induces parkinsonism with dementia by impairing APP-mediated iron export. *Nat Med* 18 : 291-295, 2012