

## 亜鉛と脳機能

武田 厚司

(静岡県立大学薬学部医薬生命化学教室\*)

### Zinc and Brain Function

Atsushi TAKEDA

University of Shizuoka

Zinc is concentrated in the limbic system, and sequestered in the presynaptic vesicles in a subclass of glutamatergic neurons. This metal may serve as an endogenous neuromodulator in synaptic neurotransmission, in addition to the function as zinc metalloproteins. In the present paper, zinc functions on epileptic seizures were studied using El (epilepsy) mice and kinate (a seizure-inducing drug)-treated ddY mice. In El mice and kinate-treated ddY mice, zinc concentration in the brain, especially in the hippocampus, a vesicular zinc-enriched region, was affected by seizures. Dietary zinc deprivation also significantly affected zinc concentration in the hippocampus. The susceptibility to epileptic seizures induced with kinate, which may decrease vesicular zinc, was enhanced by zinc deficiency. Therefore, zinc homeostasis in the brain, especially in the hippocampus, is closely related to epileptic seizures. The levels of GABA in the extracellular space in the hippocampus were remarkably increased during hippocampal perfusion with zinc. It is likely that vesicular zinc is involved in regulation of excitatory neurotransmission via glutamate.

#### 【序】

亜鉛は脳の発育や機能に必要な金属である<sup>1,2)</sup>。脳の亜鉛濃度は出生後増加し、成長したヒトやラットでは10-20ppmである<sup>3)</sup>。<sup>65</sup>Znの静脈内あるいは側脳室内投与後の脳内動態に関する検討より、亜鉛の脳内移行には血液脳関門に加えて血液脳脊髄液関門が関与することを示してきた<sup>4-7)</sup>。脳内では亜鉛は海馬、扁桃体などの辺縁系に高く取り込まれ、高濃度で存在する<sup>8)</sup>。海馬、扁桃体にはシナプス小胞に亜鉛を含むグルタミン酸作動性ニューロンが多く存在する。小胞亜鉛(脳内亜鉛量の5-10%)はグルタミン酸による興奮性神経伝達の調節因子として働き、辺縁系の機能と密接に関係していると考えられる<sup>9,10)</sup>。

てんかんは部分てんかんと全般性てんかんに臨床上分類され、前者においては、辺縁系を焦点とする側頭葉てんかん(複雑部分発作)がよく知られている。近年、このてんかん発作の発現に、グルタミン酸作動性ニューロンの異常興奮に基づく、興奮-抑制のバランスの崩壊が関与することが報告されている。小胞亜鉛は電位依存性のカルシウムチャネルやグルタミン酸受容体のサブタイプであるNMDA(N-methyl-D-aspartate)受容体に抑制的に働くことから、海馬、扁桃体において興奮性神経伝達の抑制に関与していると考えられる<sup>9)</sup>。そこで、遺伝性のてんかんモデル動物であるEl(epilepsy)マウスや痙攣誘発剤であるカイニン酸(グルタミン酸のアナログでnon-NMDA受容体に対するアゴニスト)投与ddYマウスを用いて、痙攣発作に伴う脳内亜鉛動態の変化ならびに小胞亜鉛の機能について検討した。

\*所在地：静岡市谷田52-1 (〒422-8526)

本稿は第18回微量栄養素研究会シンポジウムにおいて行われたシンポジウムの内容をとりまとめたものである。

## 【実験方法】

EI (epilepsy) マウスは、放り上げ操作（週1回の割合で30cmぐらいの高さに40回ほど）による刺激により、刺激開始5週間後ぐらいから痙攣発作を発症する。痙攣発作を誘発したEIマウスに $^{65}\text{ZnCl}_2$ 溶液を尾静脈内投与して20日後に脳を摘出し、冠状面切片を作製した。切片乾燥後、BAS2000を用いてオートラジオグラフィーを行い、脳内放射能分布を測定した。ddYマウスに $^{65}\text{ZnCl}_2$ 溶液を投与し、6日後からカイニン酸（10mg/kg体重）を週3回の割合で2週間投与し、 $^{65}\text{Zn}$ 投与20日後に同様に脳内放射能分布を測定した。また、ddYマウスに低亜鉛食を4週間与え、カイニン酸（12mg/kg体重）により痙攣発作を誘発した場合の感受性を通常食ddYマウスと比較した。さらに、海馬の小胞亜鉛の機能を検討するために、ラットの左側海馬をマイクロダイアリシスプローブ（1mm長）を介して人工脳脊髄液で灌流し（2.0 $\mu\text{l}$ /分）、次いで亜鉛（10-30 $\mu\text{M}$ ）を含む人工脳脊髄液で灌流して神経伝達物質の放出に対する亜鉛の作用を調べた。

## 【結果・考察】

EIマウスに発作誘発処理をして4週間後に $^{65}\text{Zn}$ を尾静脈内に投与した。 $^{65}\text{Zn}$ の取込がほぼ最大に達する6日後では<sup>11)</sup>、脳内 $^{65}\text{Zn}$ 分布はコントロール（無処理）EIマウスやddYマウスと類似していた。投与20日後では、海馬、扁桃体など全体的に脳内 $^{65}\text{Zn}$ 分布が発作誘発処理群で低下していた（Fig. 1）<sup>12)</sup>。このような脳内 $^{65}\text{Zn}$ 分布の低下はddYマウスに

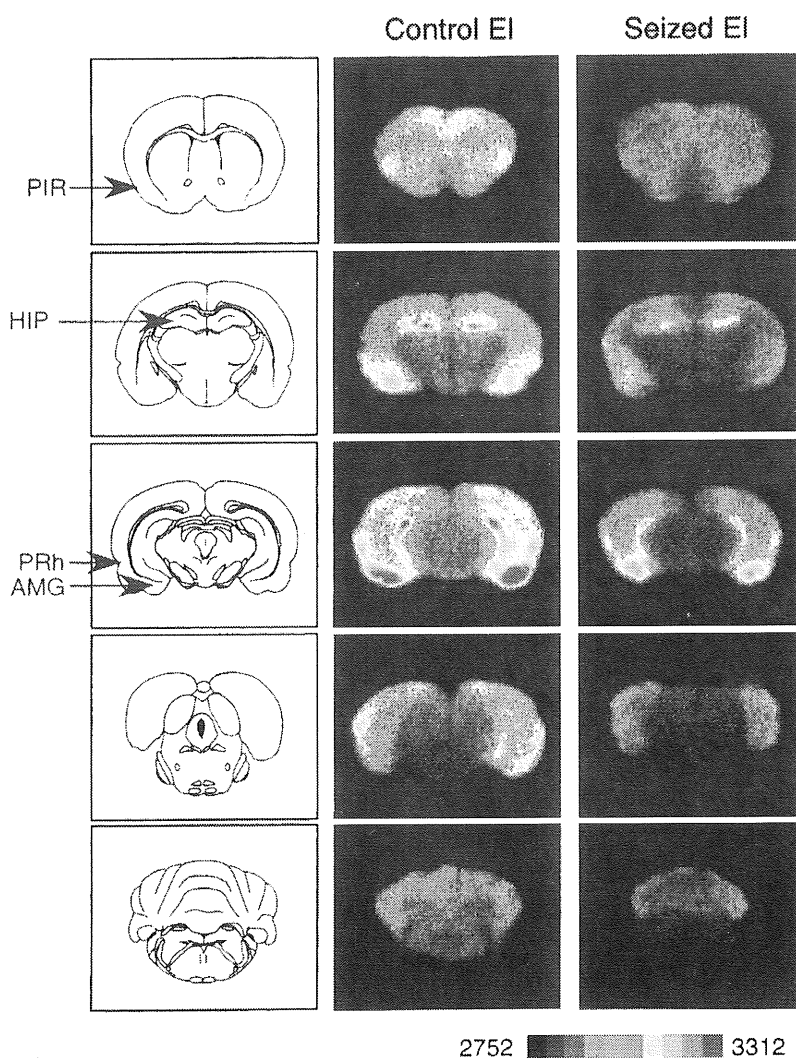


Fig. 1  $^{65}\text{Zn}$ -imaging of EI Mouse Brain.

痙攣誘発剤であるカイニン酸を投与した場合にも観察された。これらの結果より、痙攣発作の発症に伴い脳からの亜鉛放出が促進されることが示唆される。発作発症後のEIマウスでは海馬亜鉛濃度が低下するが、カイニン酸（10mg/kg体重、週3回で2週間）を投与した場合にも、海馬、視床、扁桃体等で亜鉛濃度が低下することが明らかになった。亜鉛含有グルタミン酸作動性ニューロンの異常興奮に伴って、その終末から亜鉛が過剰放出され、その結果脳からの亜鉛放出が促進されるものと考えられる。

低亜鉛食でラットやマウスを飼育すると、海馬亜鉛が顕著に低下する<sup>13,14</sup>。すなわち、亜鉛摂取不足に伴い、海馬小胞亜鉛濃度が低下し、発作に対する感受性が増大することが考えられる。そこで、低亜鉛食で飼育したマウスにカイニン酸を投与し、痙攣発作に対する感受性の変化を調べた。その結果、低亜鉛食で飼育することによって、痙攣発作に対する感受性が有意に高まることが明らかになった。小胞亜鉛レベルの低下により亜鉛含有グルタミン酸作動性ニューロンが過剰興奮する可能性がある。

一方、亜鉛含有グルタミン酸作動性ニューロン終末から放出される亜鉛の生理機能は十分には明らかにされていない<sup>9,15</sup>。そこで、インビボマイクロダイアリシス法により、ラット海馬において神経伝達物質の放出に対する亜鉛の作用を調べた。ラットの海馬を10-30 $\mu$ Mの亜鉛を含む人工脳脊髄液で灌流すると、灌流液中のGABA（ $\gamma$ -アミノ酪酸）濃度は顕著に増加した。亜鉛含有グルタミン酸作動性ニューロン終末から放出される亜鉛はシナプスを形成する介在GABA作動性ニューロンからのGABA放出を促進することが考えられる（Fig. 2）。この放出は亜鉛含有グルタミン酸作動性ニューロンの興奮抑制に意義あるものと考えられる。

以上より、亜鉛不足による海馬等での亜鉛濃度の低下により痙攣発作に対する感受性が高まること、ニューロンの異常興奮に伴って脳内局所の亜鉛濃度が著しく変動することが明らかになった。また、この変動にシナプス小胞亜鉛が関係し、亜鉛含有グルタミン酸作動性ニューロンの異常興奮に伴う小胞亜鉛レベルの低下により、興奮-抑制のバランスが崩れて発作感受性が高まるものと考えられる。

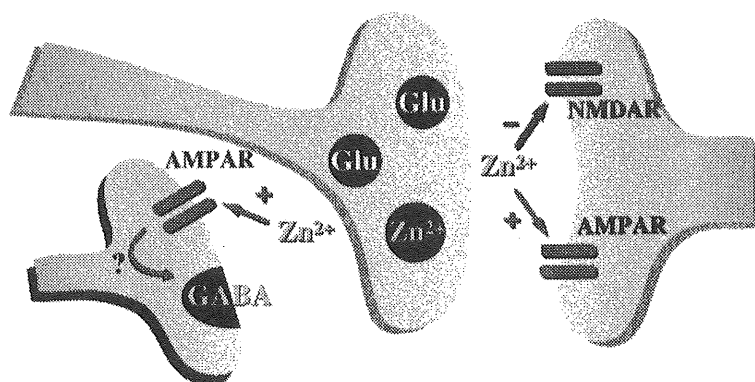


Fig. 2 Putative Zinc Functions in Synapses.

#### 【参考文献】

- 1) 武田厚司 (1998) 脳におけるバイオメタルの動態と役割, バイオメタル - 生体調節の多彩な役割と病態 - 山口正義編, 黒船印刷, pp.127 - 152.
- 2) 武田厚司 (1998) 脳における微量金属の動態と役割に関する研究, Biomed. Res. Trace Elem. 9 : 1 - 11.
- 3) Sawashita, J., Takeda, A., and Okada, S. (1997) Change of zinc distribution in rat brain with increasing age. Dev. Brain Res. 102 : 295 - 298.
- 4) Takeda, A., Akiyama, T., Sawashita, J., and Okada, S. (1994) Brain uptake of trace metals, zinc and manganese, in rats. Brain Res. 640 : 341 - 344.
- 5) Takeda, A., Kawai, M., and Okada, S. (1997) Zinc distribution in the brain of Nagase analbuminemic rat and

- enlargement of the ventricular system. *Brain Res.* 769: 193 - 195.
- 6) Takeda, A., Sawashita, J., and Okada, S. (1994) Localization in rat brain of the trace metals, zinc and manganese, after intracerebroventricular injection. *Brain Res.* 658 : 252 - 254.
  - 7) Takeda, A., Suzuki, M., Okada, S., and Oku, N. (2000)  $^{65}\text{Zn}$  localization in rat brain after intracerebroventricular injection of  $^{65}\text{Zn}$ -histidine. *Brain Res.* 863 : 241 - 244.
  - 8) Takeda, A., Sawashita, J., and Okada, S. (1995) Biological half-lives of zinc and manganese in rat brain. *Brain Res.* 695 : 53 - 58.
  - 9) Takeda, A. (2000) Movement of zinc and its functional significance in the brain. *Brain Res. Rev.* 34 : 137 - 148.
  - 10) Takeda, A., Sawashita, J., Takefuta, S., Ohnuma, M., and Okada, S. (1999) Role of zinc released by stimulation in rat amygdala. *J. Neurosci. Res.* 57 : 405 - 410.
  - 11) Takeda, A., Suzuki, M., Okada, S., and Oku, N. (2000) Influence of histidine on zinc transport into rat brain. *J. Health Sci.* 46 : 209 - 213.
  - 12) Takeda, A., Hanajima, T., Ijio, H., Ishige, A., Iizuka, S., Okada, S., and Oku, N. (1999) Release of zinc from the brain of El (epilepsy) mice during seizure induction. *Brain Res.* 828 : 174 - 178.
  - 13) Takeda, A., Takefuta, S., Okada, S., and Oku, N. (2000) Relationship between brain zinc and transient learning impairment of adult rats fed zinc-deficient diet. *Brain Res.* 859 : 352 - 357.
  - 14) Takeda, A., Minami, A., Takefuta, S., Tochigi, M., and Oku, N. (2001) Zinc homeostasis in the brain of adult rats fed zinc-deficient diet. *J. Neurosci. Res.* 63 : 447 - 452.
  - 15) Takeda, A. Zinc homeostasis and functions of zinc in the brain. *BioMetals*, in press.