

学 位 論 文 題 名

加齢に伴う脳内微量元素の変動に関する研究

学位論文内容の要旨

はじめに

微量元素は、中枢神経系において神経伝達を含む多くの機能に関与し、生体の生理機構の調節に重要な働きをしていることが解明されてきたが、微量元素と脳の老化との関連については、十分な研究が行われていないのが現状である。老化促進モデルマウス (Senescence-Accelerated Mouse : SAM)は、老化研究の動物モデルとして確立されており、老化促進を示すP(prone)系と通常の老化過程を示すR(resistant)系からなる。

本研究では微量元素が、脳の老化あるいは老化促進にどの様に関連するのか、また、加齢に伴う形態学的変化としての脳萎縮や脳機能の障害である学習・記憶障害にどの様に係わっているかを明らかにすることを目的として、SAMの脳内における微量元素濃度および海馬のアミノ酸放出量の加齢による変動について検討した。

対象と方法

実験には、脳萎縮と学習・記憶障害を特徴とするSAMP10と対照として通常の老化過程を示すSAMR1の3, 6, 9および12カ月齢の雄性マウスをそれぞれ7~9匹(計66匹)を用いた。各月齢のマウスを断頭後脳を摘出し、Growinskiらの方法で小脳、延髄と橋、視床下部、中脳と視床、線条体、海馬、大脳皮質、嗅球の8部位に分割した。脳の各部位をテフロン製の分解容器に移し、68%高純度硝酸0.5ml (大脳皮質のみ1ml)を加え、約120℃で2時間酸分解し、試料とした。試料を希釈後、誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)法により亜鉛、銅、マンガン、モリブデンおよびルビジウムを測定した。次に5および12カ月齢のマウス各4~6匹(計20匹)の海馬(CA3領域)にマイクロダイアリシス用プローブを装着し、高カリウム刺激前後におけるアミノ酸(グルタミン酸, グリシン, グルタミン, タウリン, アラニン)放出量を高速液体クロマトグラフィーおよび電気化学的検出器(HPLC-ECD)を用いて測定した。

結 果

1. 加齢による脳内部位別微量元素濃度の変動

亜鉛濃度は、通常の老化を示すR1群では線条体、海馬、大脳皮質において老化が進行

した12カ月齢で有意の低下を示した。老化が促進するP10群の亜鉛濃度は、各月齢を通じて多くの部位でR1群に比較して有意に低下し、特に海馬では9カ月齢と12カ月齢に有意な低下が認められた。R1群の銅濃度は、月齢が増すごとに増加を示した。P10群では、中脳と視床、大脳皮質、および嗅球の銅濃度はR1群に比較して有意に低下し、特に大脳皮質ではすべての月齢において顕著な低下が認められた。マンガン濃度は、R1群では月齢が増すごとに減少を示し、P10群では9カ月齢以降でR1群に比較して低下を示した。モリブデン濃度は、R1群では3カ月齢が最も高く、その後一旦減少した後、加齢とともに増加した。P10群では、多くの部位でR1群に比較して有意な増加を示した。

2. 加齢による海馬のアミノ酸放出量の変動

老化が促進するP10群のグルタミン酸放出量は、対照群に比較して、5カ月齢では有意な変動は認められなかったが、老化が進行した12カ月齢では、カリウム刺激終了20分後、有意な増加が認められた。P10群のグリシン放出量は、対照群に比較して、5カ月齢では、カリウム刺激終了20分後のみに有意な増加が認められたが、老化が進行した12カ月齢では、カリウム刺激でP10群のグリシン放出量が増加し、とくに、カリウム刺激直後および刺激終了20分後に有意な増加が認められた。

考 察

加齢による脳内微量元素の変動に関しては、これまで加齢に伴って亜鉛やルビジウム濃度は減少し、銅濃度は増加すること、マンガンやモリブデン濃度は若齢期に高濃度であることが人やラット脳内において報告されているが、本研究においても、マウス脳内では、加齢による各微量元素の変動はほぼ同様な傾向を示すことが明らかとなった。脳内微量元素と加齢に伴う脳萎縮や学習・記憶障害との関連については、萎縮が顕著であると報告されているP10の大脳皮質において、若齢期から銅濃度の低下が認められた。脳の発達段階に銅が欠乏するとミエリン合成、ドーパミン、ノルエピネフリン代謝が障害されることが報告されており、P10の大脳皮質における銅濃度の低下は脳萎縮と関連することが示唆された。亜鉛は海馬においては、ポストシナプス上のNMDA受容体に作用してグルタミン酸の神経伝達を抑制したり、プレシナプスの神経伝達物質の放出を抑制していることが報告されている。学習や記憶障害を呈するP10の海馬においては、老齢期に亜鉛濃度が低下し、グルタミン酸やグリシンの放出量の増加が明らかとなった。グリシンは、NMDA受容体に作用し、グルタミン酸の神経伝達強度を増加させることが報告されている。これらのことより、老化が促進するP10においては、老齢期の海馬の亜鉛濃度の低下が、グルタミン酸の放出やNMDA受容体への亜鉛による神経調節因子としての抑制作用を低下させ、その結果、グルタミン酸の放出量およびNMDAレセプターを介した過剰な神経伝達が起き、海馬の神経細胞障害が引き起こされ、学習や記憶障害をもたらすことが示唆された。

結 論

本研究の結果より、マウス脳内における微量元素(亜鉛, 銅, マンガン, モリブデン, ルビジウム)が加齢に伴って変動し、脳の老化機構や老化に伴う脳萎縮や学習・記憶障害に関与する可能性が明らかとなった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 齋 藤 和 雄

副 査 教 授 田 代 邦 雄

副 査 教 授 岸 玲 子

学 位 論 文 題 名

加齢に伴う脳内微量元素の変動に関する研究

微量元素が、脳の老化あるいは老化促進にどの様に関連するのか、また、加齢に伴う脳萎縮や学習・記憶障害にどの様に係わっているかを明らかにすることを目的に、老化促進モデルマウス(SAM)を用いて脳内微量元素濃度および海馬のアミノ酸放出量の加齢による変動について検討した。実験には、老化促進を示し、脳萎縮と学習・記憶障害を特徴とするSAMP10と対照として通常の老化過程を示すSAMR1の3, 6, 9および12カ月齢の雄性マウスを用いた。各月齢のマウスを断頭後脳を摘出し、小脳、延髄と橋、視床下部、中脳と視床、線条体、海馬、大脳皮質、嗅球の8部位に分割し、酸分解後、誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)法により亜鉛、銅、マンガン、モリブデンおよびルビジウムを測定した。さらに、5および12カ月齢のマウスの海馬(CA3領域)にマイクロダイアリス用プローブを装着し、高カリウム刺激前後におけるアミノ酸放出量を高速液体クロマトグラフィーおよび電気化学的検出器(HPLC-ECD)を用いて測定した。その結果、亜鉛濃度は、R1では線条体、海馬、大脳皮質において12カ月齢で有意の低下を示し、P10では各月齢を通じて多くの部位でR1に比較して有意に低下し、特に海馬では9カ月齢と12カ月齢に有意な低下が認められた。銅濃度は、R1では月齢が増すごとに増加を示し、P10では中脳と視床、大脳皮質、および嗅球においてR1に比較して有意に低下し、特に大脳皮質ではすべての月齢において顕著な低下が認められた。マンガン濃度は、R1では月齢が増すごとに減少を示し、P10では9カ月齢以降R1に比較して低下を示した。モリブデン濃度は、R1では3カ月齢が最も高くその後一旦減少した後、加齢とともに増加し、P10では多くの部位でR1に比較して有意な増加を示した。また、老化が促進するP10の海馬からのグルタミン酸放出量は、R1に比較して5カ月齢では有意な変動は認められなかったが、12カ月齢では、カリウム刺激終了20分後有意な増加が認められた。P10のグリシン放出量も12カ月齢でR1に比較してカリウム刺激終了後有意な増加が認められた。これまで加齢による脳内微量元素の変動に関しては、加齢に伴って亜鉛やルビジウム濃度は減少し、銅濃度は増加し、マンガンやモリブデン濃度は若齢期に高濃度であることが人やラット脳内において報告されている

が、マウス脳内においても、加齢による各微量元素の変動はほぼ同様な傾向を示すことが明らかとなった。脳内微量元素と脳萎縮や学習・記憶障害との関連については、萎縮が顕著であると報告されているP10の脳皮質において、若齢期から銅濃度の低下が認められ、脳の発達段階に銅が欠乏するとミエリン合成、ドーパミン、ノルエピネフリン代謝が障害されることが報告されていることより、P10の脳皮質における銅濃度の低下は脳萎縮と関連することが示唆された。亜鉛は海馬においては、ポストシナプス上のNMDA受容体に作用してグルタミン酸の神経伝達を抑制したり、プレシナプスの神経伝達物質の放出を抑制していることが報告されており、学習や記憶障害を呈するP10の海馬において老齢期に亜鉛濃度が低下し、グルタミン酸やグリシンの放出量の増加が明らかとなったことより、老齢期の海馬の亜鉛濃度の低下が、グルタミン酸の放出やNMDA受容体への亜鉛による抑制作用を低下させ、その結果、グルタミン酸の放出量およびNMDAレセプターを介した過剰な神経伝達が起き、海馬の神経細胞障害が引き起こされ、学習や記憶障害をもたらすことが示唆された。

審査にあたって、副査の岸教授から亜鉛と脳の萎縮との関係、SAMP10以外のモデル動物の脳内微量元素、ルビジウム、モリブデンと加齢との関係について、次いで副査の田代教授から脳内に蓄積するアルミニウムの必須性、雄性マウスを使用した理由、ルビジウムおよび銅の動きと加齢との関係について質問があったが、申請者はこれら何れの質問に対しても満足できる回答を行った。

以上、本研究は脳内微量元素と加齢との関係を老化促進モデルマウスを用いて検討したもので、得られた知見は今後の老化および老化促進研究に有益なものであり、審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位などを併せ、申請者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。