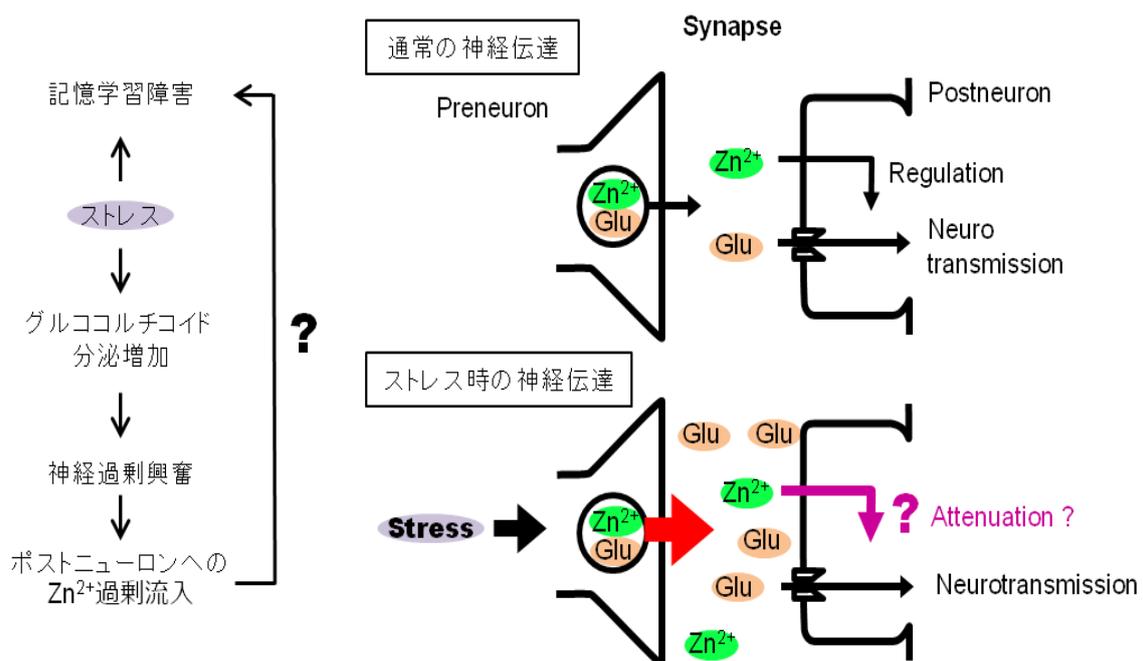


# 海馬における亜鉛イオンの一過性増加に伴う認知記憶障害

静岡県立大学大学院薬学研究科 博士前期課程 1年 中村 仁聡

海馬は記憶を司るとともにストレス応答に重要な部位であり、脳の中でも特に亜鉛イオン濃度が高い事が知られている。海馬亜鉛イオンの一部はグルタミン酸作動性神経のシナプス小胞に存在し、この亜鉛イオンは、グルタミン酸とともに放出される。亜鉛イオンはグルタミン酸放出に対して負のフィードバックファクターとして働き、神経細胞死の一因であるグルタミン酸興奮毒性に対して防御的に機能すると考えられている。その一方で、脳虚血など脳疾患におけるグルタミン酸興奮毒性発現時には、イオン透過型グルタミン酸受容体を介してカルシウムイオンとともに亜鉛イオンがシナプス後神経に過剰に流入し神経毒性を示すことが知られている。一方、生体にストレスが負荷されると学習記憶が障害される。この場合にも海馬グルタミン酸作動性神経が過剰に興奮するが、この興奮には副腎皮質からのグルココルチコイド分泌増加が関与する。この分泌増加は一過性であり、生体恒常性の維持に重要であると考えられているが、その一方で学習記憶を障害することがある。さらには、ストレスによる海馬グルタミン酸作動性神経の興奮により、亜鉛イオンがシナプス後神経に過剰に流入する可能性がある。そこで、海馬細胞内において亜鉛イオン濃度を一過性に増加させ、その時の神経伝達効率ならびに物体認識記憶に与える影響について検討した。



まずは海馬における細胞内亜鉛濃度を増加させるために本検討では、亜鉛のイオノフォアとして作用する Clioquinol (CQ) と  $ZnCl_2$  をモル比 2:1 で混合した Zn-CQ を腹腔内投与した。実際に Zn-CQ の腹腔内投与によって海馬内の亜鉛濃度が上昇するか、投与 2、6、24 時間後に脳を摘出し海馬スライスを作成し、細胞内亜鉛イオン濃度を共焦点レーザー顕微鏡で測定した。その結果投与後 2 時間ではコントロールに比べ、亜鉛濃度は上昇し、投与後 6、24 時間後ではコントロールレベルに戻った。よって Zn-CQ 腹腔内投与後 2 時間後に亜鉛濃度は一過性に上昇することがわかった。

次に海馬における亜鉛濃度の上昇と神経伝達変化の関連性について検討した。神経伝達の変化の指標として記憶のモデルである神経伝達効率の長期増強現象 (Long-term potentiation; LTP) を用いた。まず、Zn-CQ を腹腔内投与し、その 2、6、24 時間後にラットから脳を摘出し海馬スライスを作成し、高頻度の電気刺激を負荷し、LTP を誘導した。すると LTP は投与 2 時間後の群のみ有意に減弱し、6、24 時間後ではコントロールと同程度になった。以上より、海馬内の細胞内亜鉛濃度が上昇したときに *in vitro* LTP が抑制される事が示唆された。さらに生体ラットを用いてより生理的な条件下で検討できる *in vivo* LTP についても検討した。すると Zn-CQ 腹腔内投与 2 時間後に高頻度刺激を行なった結果、同様に LTP が抑制される事がわかった。

さらに、Zn-CQ 腹腔内投与による行動レベルでの影響について物体認識試験を用いて検討した。その結果、Zn-CQ 投与により認知記憶が障害されることが明らかとなった。以上より海馬内の亜鉛濃度が上昇したときに認知記憶障害が誘発されることが示唆された。

今までは腹腔内投与により海馬内の亜鉛濃度を上昇させていたが、この方法では海馬以外の部位の亜鉛濃度も上昇してしまう事が考えられる。そこで海馬に直接カニューレを挿入し、局所投与を行い、物体認識試験を行なった。結果は腹腔内投与の時と同じく認知記憶が障害された。

以上より海馬内の亜鉛濃度が上昇すると記憶学習が障害されることがわかった。本研究ではストレスによる記憶学習障害がグルココルチコイド分泌増加や、グルタミン酸毒性によるものだけでなく、海馬亜鉛濃度の上昇による影響も考えられる事を示した。今後はラットにストレス負荷をかけ、その上で海馬に細胞内亜鉛キレーターを局所投与することで、記憶学習障害を緩和できるかどうか検討したいと考えている。本研究成果がストレスによる記憶学習障害のメカニズム解明の一助となり、過剰なストレス負荷による記憶学習障害を緩和できるようになることを期待する。

“ Transient Increase in  $Zn^{2+}$  in Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons Causes Reversible Memory Deficit”

Takeda A, Takada S, Nakamura M, Suzuki M, Tamano H, Ando M, and Oku N

PLoS ONE in press