16. Macular マウス (Menkes 病のモデルマウス) の astrocyte の病態

目 黒 優 子¹⁾ 児 玉 浩 子¹⁾ 阿 部 敏 明¹⁾
小 林 繁 一²⁾ Michael H. Rayner³⁾ 鈴 木 和 夫³⁾
西 村 正 彦⁴⁾

帝京大学医学部 小児科¹⁾, 自治医科大学 小児科²⁾, 国立公害研究所 環境保健部³⁾,
浜松医科大学 動物実験施設⁴⁾

Menkes kinky hair disease (MKHD) は、中枢神経障害、特有な毛髪異常等を特徴とする先天性銅代謝異常症である。本症患者の小腸、腎、培養皮膚線維芽細胞など多くの臓器、細胞は、銅を蓄積するが、脳、肝臓は銅欠乏状態にある。中枢神経障害の主たる原因は、脳の銅欠乏によると考えられている。しかしながら治療としての静脈投与により、中枢神経障害は改善しない。脳細胞の一種である astrocyte は、血管内皮細胞とともに blood brain barrier の構成細胞の一つである。私たちは、MKHD のモデル動物である Macular マウスの astrocyte は銅を蓄積する細胞であるとの結果を得たので報告する。

対象および方法

astrocyte の培養は Furukawa らの方法¹⁾ に準じて行い、実験には passage 2 ないし 3 の培養細胞を用いた。confluent 状態になった細胞を、硫酸銅添加 (銅として 1 $\mu\text{g/ml}$) 培地で 16 時間培養後、培養細胞をトリプシン処理で集め PBS で洗浄後、銅濃度およびメタロチオネインの検索を行った。培養細胞の一部は astrocyte の確認のため GFAP 染色を行った。

銅濃度測定: 細胞を 50% 硝酸で加熱後、2N 硝酸濃度にして、ゼーマン型原子吸光光度計で測定した。

メタロチオネインの検索: Sunaga らの方法²⁾ に準じて行った。培養細胞をホモジナイズし、遠心して得た上清を HPLC-ICP により分析した。TSKgel G-3000SW カラムを用いて HPLC により蛋白分画を行い、HPLC に連結した ICP で銅を分析した。

結 果

培養細胞は GFAP 染色で陽性であり、astrocyte と判定した。Macular マウスの astrocyte の銅濃度は 38.0 ± 16.6 ($M \pm SD$, $n=5$, 範囲 18.8-56.8 ng/ 10^5 cells) であり、対照 7.70 ± 5.3 ($n=6$, 1.8-14.9 ng/ 10^5 cells) にくらべて有意に高値であった。また Macular マウス astrocyte の銅結合したメタロチオネイン

は、対照にくらべて有意に増加していることが HPLC-ICP の結果より明らかになった。

考 案

MKHD および Macular マウスの培養皮膚線維芽細胞など銅が蓄積する細胞ではメタロチオネインが増加しており、過剰の銅はメタロチオネインに結合している。今回の結果は Macular マウスの astrocyte も銅が蓄積する病態を持つ細胞であることを示している。astrocyte は blood brain barrier の構成細胞の一つであり、種々の物質が血管から神経細胞へ移行するのを調節している。今回の結果は Macular マウスでは、血中銅が神経細胞に移行する際に astrocyte で蓄積し、血中銅の神経細胞への移行が阻害されることを示唆している。MKHD 患者および Macular マウスの小腸粘膜細胞が銅を蓄積することにより、銅が腸管腔から体内へ移行せず、体内が銅欠乏になる。このような腸管と同じ現象が本症患者の脳内でも起こっており、血中銅が神経細胞に移行せず神経細胞の重篤な銅欠乏を引き起こしているものと考えられる。本症患者に静脈的に銅を投与しても、中枢神経症状は改善しない。一方 Macular マウスは生後 7 日に非経口的に銅を投与することによりほぼ正常に発達するが、生後 10 日以降の銅投与では効果がない。マウスの脳および blood brain barrier は、生後 7 日ではまだ未熟でありヒトの胎生末期に相当する。これらの結果から、blood brain barrier がまだ未熟な時期に非経口的に銅を投与すれば、本症においても投与された銅が神経細胞に移行し、神経障害の改善ないしは進行を阻止できるであろうと思われる。

文 献

- 1) Furukawa, S. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **136**, 57 (1986)
- 2) Sunaga, H. et al.: *Anal. Biochem.*, **160**, 160 (1987)