研究

腸管恒常性における亜鉛トランスポーターの役割

富山大学大学院　医学薬学研究部（医学）分子医科薬理学講座　大橋若奈

要　約

必須微量元素である亜鉛の欠乏は生体のあらゆる機能に障害をもたらす．亜鉛トランスポーターは亜鉛の体内への取り込み，生体内での様々な組織における亜鉛の分布を制御する役割を果たしており，現在までに20種類以上が同定されている．近年の遺伝子改変マウスを用いた解析やヒトにおける大規模な遺伝子解析から，亜鉛トランスポーターが果たしている特徴的な生物学的機能，種々の疾患の成因と病態における関わりが明らかとなりつつある．本稿では，腸管恒常性の維持における亜鉛トランスポーターの役割についての我々の研究成果を紹介する．

KEY WORDS　ZIP transporter, intestinal epithelium, ER stress, Zinc

はじめに

生体内において，亜鉛は鉄に次いで2番目に多く含まれ，成人においては約2gほど存在する．鉄にはフェリチンなどの貯蔵タンパク質の存在が明らかとなっているが，亜鉛は鉄におけるフェリチンのような貯蔵システムが発達していないことから，日々多くの亜鉛を食事より摂取することが必要とされている．実際に，厚生労働省の日本人の食事摂取基準2015年版によると，成人男性における鉄の食事摂取基準は7.0～7.5mg/日であるのに対し，亜鉛の食事摂取基準は約10mg/日と定められ，亜鉛の摂取基準は鉄のそれを上回った量が設定されていることが分かる．ちなみに，女性の鉄の食事摂取基準は，月経等の有無により異なるため，一概に単純な比較は難しいが，鉄とほぼ同程度量の亜鉛の摂取が推奨されている．亜鉛の摂取不足や吸収障害は，亜鉛欠乏症を引き起こす．亜鉛欠乏症は，1960年代にPrasadによって小児疾患の症例の発見により初めて示されている[1]．亜鉛が欠乏すると，成長障害，味覚障害，脱毛，性腺機能障害，創傷治癒遅延，免疫機能低下，味覚低下，情緒不安定，運動失調，耐糖能低下など全身性に症状が出現する．このような亜鉛欠乏症状の多様さからも生体における亜鉛の重要性は明らかである．亜鉛は主として，小腸の腸管上皮細胞によって取り込まれる．腸管上皮細胞は亜鉛の体内への通路を提供するのみならず，その恒常性維持に亜鉛を必要としている．

1．生体内における亜鉛の役割

生体内において亜鉛は二価のイオン（Zn^{2+}）として存在し，タンパク質の立体構造形成や酵素活性の発揮に重要な役割を果たしている．亜鉛は，タンパク質を構成するアミノ酸残基の中でシステイン（Cys）やヒスチジン（His），アスパラギン酸残基と好んで配位する．

亜鉛フィンガーモチーフは転写因子のDNA結合ドメインによく見られる亜鉛結合モチーフであり約30アミノ酸から構成される[2]．亜鉛結合モチーフ中の亜鉛の配位アミノ酸の違いにより，Cys_2His_2型，Cys_3His_1型，Cys_4型，Cys_6型などに分類される．亜鉛フィンガーモチーフに亜鉛が四面体に配位すると，αヘリックスとβシートからなる球状のコンパクトな立体構造が形成され，転写因子のDNAへの結合が起こり，遺伝子発現の調節がなされる．すなわち，亜鉛は転写因子のDNA結合型構造の形成に重要であり，全ゲノム配列にコードされた遺伝子のうち約2～3%の遺伝子が亜鉛フィンガーモチーフをその一次配列中に有している[3]．金属プロテアーゼの活性中心にはHis-Glu-X-X-His（Xは任意）を基本とする保存配列があり，亜鉛が配位する．金属プロテアーゼの活性中心において，亜鉛は主として保存配列中の3つのアミノ酸及び水と配位している．タンパク質の分解，すなわち，ペプチド結合の加水分解においては，亜鉛に配位している水分子から水素イオン（プロトン）が抜き取られ切断されたペプチド結合のNHへの付与が行われ，亜鉛はペプチド結合の加水分解において，水を供給する役割を担うと考えられる．実に，ヒトにおいては2,800ものタンパク質が亜鉛結合性であると推定され，これはゲノムにコードされている全タンパク質の約10%に相当する[4]．実際に，構造維持，酵素活性の発揮に亜鉛を必要とするタンパク質は300種類を超える．

2．生体内における亜鉛動態制御

食事等から摂取された亜鉛は主として小腸上部にて腸管上皮細胞の一種である吸収上皮細胞によって取り込まれる．吸収上皮細胞は極性化された細胞であり，管腔側に接する頂端膜から亜鉛を取り込み，基底膜から亜鉛を血中へと放出する．血中へ放出された亜鉛は全身へと運ばれる．亜鉛欠乏状態では，吸収上皮細胞を介した亜鉛の取り込みが促進される一方で，亜鉛が十分供給されている状態においては亜鉛の取り込みは抑制される[5]．亜鉛は骨格筋や骨に最も多く含まれ，海馬，前立腺，膵臓，眼，腎臓などが比較的高い濃度で亜鉛を保持している[6]．細胞内において亜鉛は，核，小胞体，ミトコンドリア，細胞質に分布し，細胞質内においては主としてタンパク質と結合した状態で存在しており，遊離亜鉛レベルは低く維持されている．膵β細胞，神経細胞，肥満細胞，腸上皮細胞のパネート細胞の分泌顆粒中には亜鉛が高濃度で含まれている．生体，組織，細胞の各階層における亜鉛の移動や分布は厳密に制御されており，細胞膜を介した亜鉛の移動は亜鉛トランスポーターが介在している．

3．亜鉛トランスポーター

亜鉛トランスポーターは亜鉛を輸送する方向によって二つのファミリーに分類される（図1）[7,8]．SLC39/ZIPトランスポーターは細胞外から細胞内への亜鉛の取り込みを担う．細胞内小器官から細胞質への亜鉛の輸送もZIPトランスポーターが担っている．すなわち，ZIPトランスポーターは細胞質へ亜鉛を運ぶインポーターとして機能する．これまでに14種類が同定され，ZIP1，ZIP2，ZIP3，ZIP4，ZIP5，ZIP6，ZIP10，ZIP14は細胞膜上への分布し，ZIP7，ZIP8，ZIP13は小胞体，リソソーム，ゴルジ体，といった細胞内小器官へ発現している．SLC30/ZnTトランスポーターは，細胞質から細胞外へ，または細胞質から細胞内小器官へ亜鉛を輸送する役割を担う．すなわち，細胞質から亜鉛を排出するエクスポーターとして機能する．これまでに8種類が同定され，ZnT1が細胞膜上へ，ZnT2，ZnT4はエンドソームやリソソームに，ZnT3は神経シナプス小胞，ZnT5，ZnT6，ZnT7は小胞体とゴルジ体，ZnT8はインスリン顆粒へ発現する．全身における亜鉛トランスポーターの分布は一様ではなく，各トランスポーターにより特徴的な発現パターンを示す．ZIP4は腸管からの亜鉛

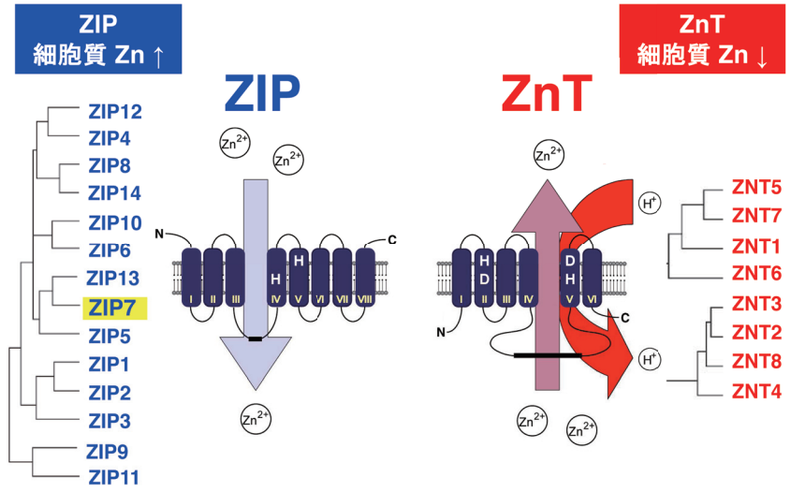

図1　亜鉛トランスポーター[7]

亜鉛トランスポーターは亜鉛を輸送する方向によってZIPとZnTの二つのファミリーに分類される．

の吸収を担う重要なトランスポーターであり腸管上皮細胞に高く発現する．ZIP4は亜鉛レベルに応じて，発現，プロセシング，分解，局在変化の制御を受けて，亜鉛の取り込みを調節する機構が明らかとなっている[9,10]．亜鉛レベルの変動の他に，炎症やストレス，外部からの受容体刺激などによって亜鉛トランスポーターの発現は動的に変動することが明らかとなってきている[10]．

4. 亜鉛トランスポーターの機能と疾患との関わり

亜鉛トランスポーターの遺伝子変異と疾患との関わりが明らかとなっている．先天性の亜鉛欠乏症である腸性肢端皮膚炎は，生後間もなく口や四肢の末端の皮膚炎，脱毛，下痢の症状を持って発病する．この疾患の原因遺伝子としてZIP4が同定されており，ZIP4遺伝子変異により腸管からの亜鉛の吸収が障害されたことに起因する[12,13]．現在までに疾患と関わるZIP4の変異が多数報告されている[14]．深田らは，遺伝子欠損マウスを用いた解析から，ZIP13の欠損により，骨，歯，皮膚などの硬組織や結合組織の発生に異常が生じることを見出し，ZIP13欠損マウスの表現型と高い相関を示す症状を有する疾患が存在することを突き止めた[15]．当該患者の遺伝子解析からZIP13は新しいタイプのエーラスダンロス症候群(Spondylocherio dysplastic form of Ehlers-Danlos syndrome)の原因遺伝子と同定されている[15]．

ゲノムワイド関連解析により2型糖尿病の疾患感受性遺伝子として，ZnT8が同定されている[16]．ZnT8は膵臓β細胞に発現し，細胞内ではインスリン分泌顆粒膜へ局在する．インスリン分泌顆粒は高濃度に亜鉛を蓄積している．ZnT8を欠損すると分泌顆粒中の亜鉛が減少することから，ZnT8はインスリン分泌顆粒への亜鉛の取り込みを担っていると考えられる[17-21]．ZnT8は亜鉛の放出を介して膵臓より分泌されたインスリンの肝臓での消失制御に関わることが報告されている[17]．母乳中の亜鉛の減少は，その母乳で育てられる乳児に亜鉛欠乏を引き起こす原因となり，生後の乳児の成長を障害する重大な問題となる．このような低亜鉛母乳を生じる原因としてZnT2遺伝子の変異の関与を示す報告が相次いでなされており[22,23]，母乳中へ亜鉛を供給するZnT2の重要性に注目が集まっている．なお，ヒトにおいては母乳中への亜鉛の供給はZnT2の機能が重要であるが，マウスにおいてはZnT4が重要に機能しており，ZnT4遺伝子の変異によって低亜鉛母乳が引き起こされる[24]．シナプス小胞は亜鉛を多く含有し，神経終末からシナプス間隙に亜鉛が放出される．ZnT3はシナプス小胞に特徴的に発現する．ZnT3の一塩基多型と女性の統合失調症との関わりが示唆されている[25]．

遺伝子工学技術の進歩により，目的の遺伝子を欠損させた動物を作成しての機能解析が盛んになされ，亜鉛トランスポーターについても，種々のノックアウトマウスを用いた解析から，その生物学的役割が明らかとなりつつある．ZIP4，ZnT1を全身性に欠損したマウスは胎生致死を示し，胚発生におけるこれらのトランスポーターの重要性が報告されている[26]．ZIP14はGタンパク質共役型受容体のシグナル伝達に関わり個体成長に貢献し[27]，ZIP10は獲得免疫細胞であるB細胞の生存や分化の制御に関わり抗体産生や獲得免疫応答に重要であることや[28,29]，ZnT5の肥満細胞が介在する遅延型アレルギー応答における役割[30]，創傷治癒におけるZnT2を介した亜鉛の促進的役割などが次々と示されている．

5. 腸管上皮細胞の恒常性

亜鉛は主に小腸の上部領域，十二指腸と空腸から吸収される．小腸の表面は一層の腸管上皮細胞で覆われ，絨毛と陰窩の二つの領域に分けられる．陰窩の底部には腸管上皮幹細胞が位置する[31]．腸管上皮幹細胞は自己複製と共に未熟な一過性増殖細胞を生み出す．一過性増殖細胞は主として陰窩中部に位置し，活発に増殖し，その数を増やし，各系列細胞へと分化していく．分化した腸管上皮細胞のうち，管腔からの物質の取り込みを担う吸収上皮細胞，粘液の分泌を行う杯細胞，ホルモン産生に関わるタフト細胞と内分泌細胞は，陰窩から抜け出し，絨毛に沿って上へと移動していく．絨毛の頂点に達するとアポトーシスによる細胞死により管腔側へと押し出される．陰窩底部には幹細胞と共に分化したパネート細胞が位置し，種々の抗菌タンパク質や幹細胞保護因子を産生し生体防御と幹細胞維持を担っている．腸管上皮細胞は，絶えず腸管上皮幹細胞からの増殖と分化，アポトーシスを繰り返しており，パネート細胞を除きヒトにおいては約1週間で新しい細胞に置き換わる．パネート細胞の寿命は長く，2ヵ月ほどとされている[32]．このように，腸管上皮細胞は身体の中でも最も活発に再生活動を行っている細胞集団の一つである．

6. 腸管上皮細胞の恒常性維持における亜鉛の役割

生体において亜鉛が欠乏すると，消化管においては，下痢や潰瘍，炎症，浮腫といった症状を呈する[33]．動物モデルを用いた解析から，亜鉛欠乏は，絨毛の短縮化，粘膜を覆う粘液組成の変化，腸管粘膜細胞の細胞死の増加などを起こすことが報告されており，腸管粘膜表面を覆う上皮細胞の機能異常の関わりが示唆される[33]．

腸管上皮細胞の系列細胞の一つ，パネート細胞は亜鉛欠乏に対する感受性が高いことが知られている[34]．パネート細胞は多くの顆粒を細胞内に持ち，この顆粒には亜鉛が豊富に含まれている[35]．亜鉛キレーターであるジチゾン処理によりパネート細胞がアポトーシスにより喪失する[34]．このジチゾン処理によるパネート細胞の喪失は，マウスやラットにおけるパネート細胞機能解析のためのパネート細胞欠失モデル作成に応用されている．パネート細胞の顆粒亜鉛のパネート細胞維持における役割の詳細は未だ不明であるが，最近になって顆粒に亜鉛を運ぶトランスポーターとしてZnT2が同定された[36]．

腸管上皮細胞はパネート細胞を含む種々の分化した細胞及び幹細胞が秩序だった並びで存在して維持される．我々は，この腸上皮細胞の恒常性維持における亜鉛の重要性の検証を行った．まず，マウス小腸より腸管上皮細胞を単離し，基底膜を模したマトリゲル中にて3次元培養することにより培養腸組織を得た．培養腸組織は，生体における腸上皮の組織構築や恒常性は保たれている一方で，体内において腸上皮と近接して存在する間葉系細胞などから受ける影響が排除されるため，腸上皮への直接的な影響を評価することができる[37]．培養腸組織に亜鉛キレーターであるTPENを添加

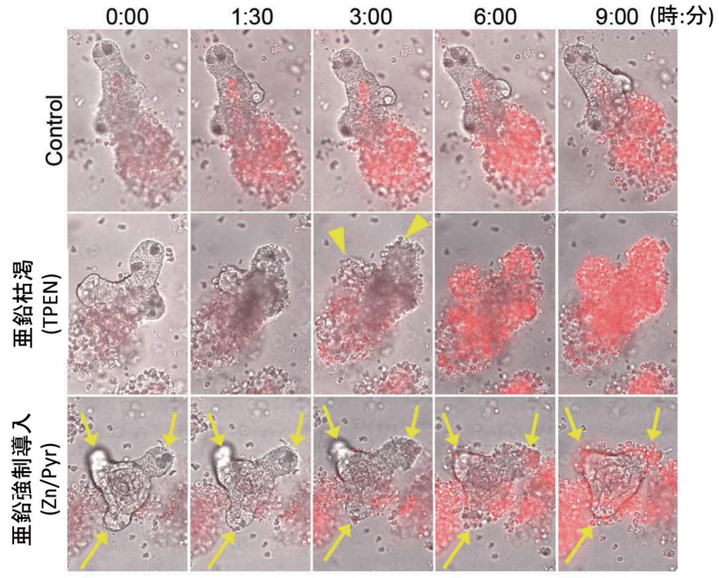

図２　培養腸組織恒常性に対する亜鉛の効果

TPEN 処理による亜鉛枯渇を誘導すると，陰窩（黄色矢頭），絨毛領域ともに構造の崩壊が見られる．亜鉛とピリチオン同時投与による亜鉛強制導入条件下では，陰窩（黄色矢印）領域が喪失した．赤：死細胞

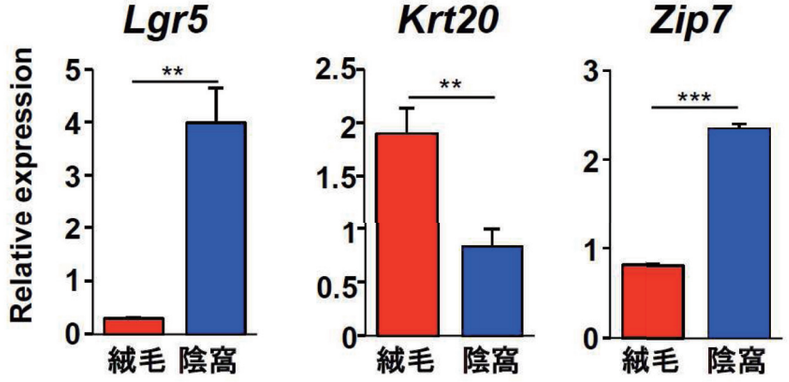

図３　腸上皮における ZIP7 の発現

マウス小腸より絨毛上皮と陰窩上皮を単離し，ZIP7 の遺伝子発現レベルを検討した．ZIP7 は陰窩上皮に高く発現する．

し亜鉛欠乏状態を誘導すると，パネート細胞が存在する腸陰窩領域の喪失が見られた．と，同時に，絨毛領域の上皮細胞の喪失が見られ，亜鉛は陰窩，絨毛の両方の上皮細胞の維持に必須の因子であることが確認された（図２）．対照的に，亜鉛イオノフォアであるピリチオンと共に亜鉛を添加した亜鉛供給過剰状態では，陰窩領域は亜鉛欠乏状態と同様に敏感に反応し短時間のうちに喪失した一方で，興味深いことに，絨毛領域は陰窩領域が喪失したのちもしばらくはその構造が保たれていた（図２）．以上の結果から，陰窩領域は絨毛領域に比べて，亜鉛レベルの変動に特に感受性が高いことが示され，陰窩領域における亜鉛動態の制御は腸管上皮細胞の恒常性の維持において重要性であることが示唆された．

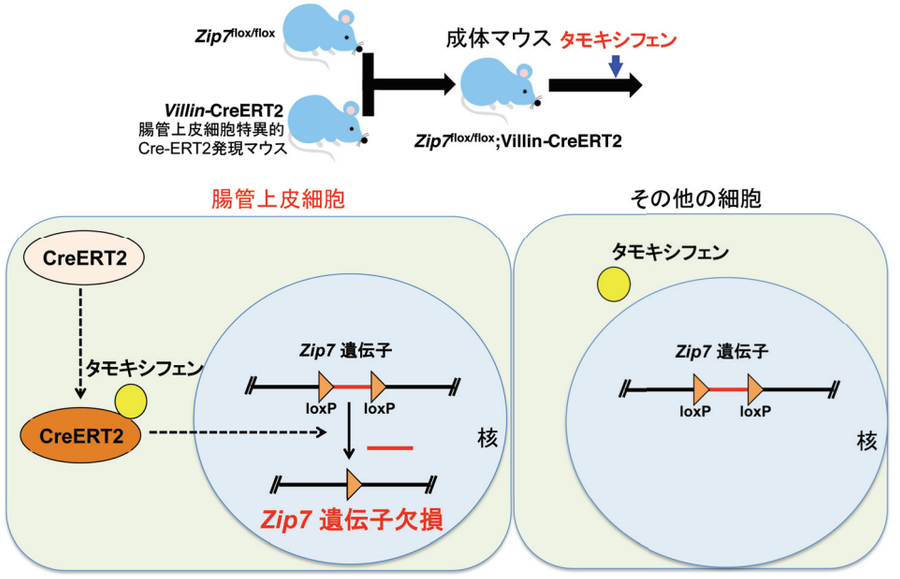

図４　タモキシフェン誘導性腸上皮細胞特異的 ZIP7 欠損マウス

7．腸管上皮細胞における亜鉛トランスポーター ZIP7の機能解析

これまでの我々の研究グループのマウスを用いた解析により，ZIP7 は胚発生期に発現し，全身性の ZIP7 欠損マウスは胎生致死を示すことを見出している．

胚発生期に加えて，ZIP7 は生体マウスのほぼ全身の臓器での発現が認められた．胃，小腸，大腸を含む消化管においてもその発現が認められたことから，我々は消化管粘膜表面を構成する腸管上皮細胞に ZIP7 が発現しているのではないかと考え，発現解析を行った．マウスより摘出した小腸から EDTA キレート法により絨毛と陰窩を含む上皮領域を剥離し，更に，絨毛上皮細胞と陰窩上皮細胞に分離した．各上皮細胞における ZIP7 の発現解析から，絨毛上皮細胞に比べて，陰窩上皮細胞において高く発現していることが示された（図３）．陰窩は，腸管上皮幹細胞が存在し腸管上皮細胞の恒常性において極めて重要な領域である．腸管上皮幹細胞に加えて，幹細胞を保護し維持するための特別な微小環境を提供しているパネート細胞，幹細胞より派生し活発な増殖を繰り返し行いおびただしいほどの分化細胞を生み出す一過性増殖細胞が存在する．これら３種の細胞の特異的マーカーを駆使した詳細な組織学的解析から ZIP7 は幹細胞，パネート細胞，一過性増殖細胞の全てに発現していることを突き止めた．

ZIP7 の腸管上皮細胞における機能を解析するため，我々は ZIP7 の遺伝子領域に二つの loxP 配列が組み込まれた $ZIP7^{flox/flox}$ マウスと腸管上皮細胞特異的に Cre-ERT2 タンパク質を発現する Villin-CreERT2 マウスとの交配を行い，タモキシフェン誘導型腸管上皮細胞特異的 ZIP7 欠損マウス（$Zip7^{\Delta IEC}$ マウス）を樹立した（図４）．本マウスは，全ての腸管上皮細胞に CreERT2 タンパク質が発現するよう遺伝子改変がなされている．通常，発現した CreERT2 タンパク質は細胞質に存在するが，タモキシフェンの投与により，CreERT2 とタモキシフェンが結合，核内へと移行する．核内に移行した CreERT2 タンパク質は ZIP7 遺伝子内に組み込まれた二つの loxP 配列を

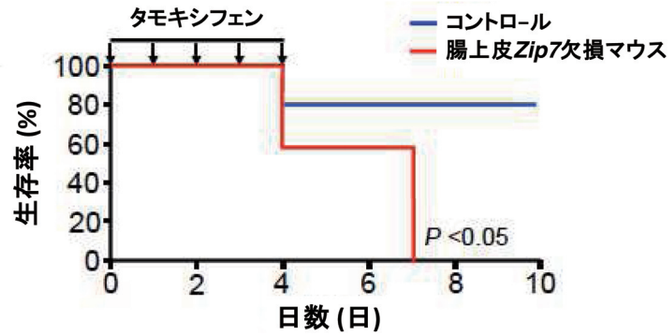

図5　腸上皮 ZIP7 欠損マウスの生存解析
腸上皮細胞での ZIP7 欠損誘導はマウスの個体死を誘導する．

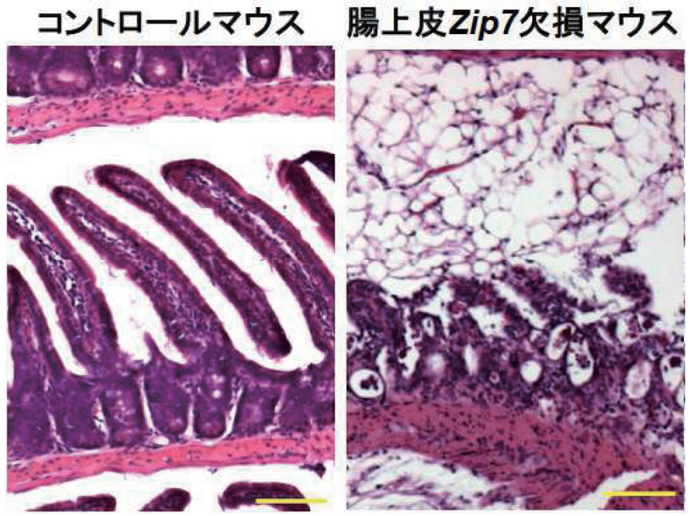

図6　腸上皮 ZIP7 欠損マウスの腸組織像
腸上皮細胞での ZIP7 欠損誘導により絨毛，陰窩構造が喪失し腸組織構造が崩壊する．

目印に組換え反応を起こし，loxP 配列によって挟まれたいくつかのエクソンを含む ZIP7 遺伝子領域の一部が除去される（図4）．結果として，腸管上皮細胞において ZIP7 遺伝子欠損が誘導される．一方で，腸管上皮細胞以外の CreERT2 タンパク質が発現していない細胞においては，タモキシフェン投与による ZIP7 遺伝子の除去が行われないため，ZIP7 遺伝子はそのまま保たれる．本マウスの成体への成長を待ったのちに，タモキシフェンを投与し腸管上皮細胞における ZIP7 の遺伝子欠損を誘導したところ，投与開始後 4 日目から死亡する個体が出現し，1 週間程度で全個体が死亡し（図5），腸管上皮細胞の ZIP7 は個体の生存に必須の役割を果たしていることが明らかとなった．腸上皮細胞は強固な物理的，化学的関門を構築して体内と体外を厳密に隔て，腸管内に流入する外来性物質（食事や細菌類など）から生体を防御すると共に，必要成分の吸収を行っている．腸管上皮細胞の大きな特徴は，幹細胞からの増殖と分化により絶えず新しい細胞に置き換わっていることである．多量の放射線照射により幹細胞からの増殖と分化が著しく傷害され腸上皮細胞を喪失すると，下痢や細菌感染，体液の漏出をもたらしその個体は死亡する．*Zip7*$^{\Delta\ IEC}$ マウスの腸組織標本を作成すると，ZIP7 欠損により絨毛と陰窩の構造は著しく崩壊し，多くの腸管上皮細胞が劇的に喪失していることが見られた（図6）．特異的マーカーを用いた検出から，ZIP7 欠損誘導により，一過性増殖細胞と腸管上皮幹細胞が完全に失われていることが分かった．これらの結果は，腸管上皮恒常性維持に亜鉛トランスポーターが必要不可欠な役割を果たしていることを明らかに示している．ZIP7 は腸管上皮幹細胞と一過性増殖細胞の維持に必須の遺伝子として機能していることが明らかとなった．

ZIP7 欠損誘導により，腸管上皮細胞はたちどころにその増殖と幹細胞維持の機能を失い，恒常性が破綻する．その詳細を調べるため，電子顕微鏡による解析を行ったところ，ZIP7 欠損誘導により陰窩中央部において著しいアポトーシスが生じていることが分かった．陰窩中央部には，主として一過性増殖細胞が位置する．一過性増殖細胞は素早い増殖を行い，その数を増やし，分化した細胞を生み出す重要な役割を果たしている．さらに，アポトーシスにより生じたアポトーシス小体は，アポトーシスを起こしていない近隣の幹細胞への取り込みが認められた．一般的に，アポトーシスを起こした細胞は，マクロファージなどの貪食細胞や近隣の細胞に取り込まれる．腸上皮細胞においてもアポトーシスを起こした上皮細胞の破片は近隣の幹細胞を含む上皮細胞に取り込まれる[38,39]．ZIP7 欠損は一過性増殖細胞のアポトーシスによる細胞死を誘導し，その破片が腸管上皮幹細胞に取り込まれている可能性が考えられた．

アポトーシスを起こす経路は様々である．ZIP7 欠損により一過性増殖細胞ではどのような機能に異常が生じ，アポトーシスを起こすに至ったのか．その手がかりを探るため，ZIP7 欠損誘導を行ったマウス小腸よりフローサイトメトリーにより一過性増殖細胞を単離し，遺伝子発現変動の網羅的な解析を実施した．ZIP7 欠損誘導により発現が上昇する遺伝子群と発現が減少する遺伝子群に分類し，それぞれの特徴を調べたところ，発現が上昇する遺伝子群には小胞体の機能と関連する遺伝子群が多く含まれていることが示された（図7A）．興味深いことに，特に小胞体ストレス応答に関す

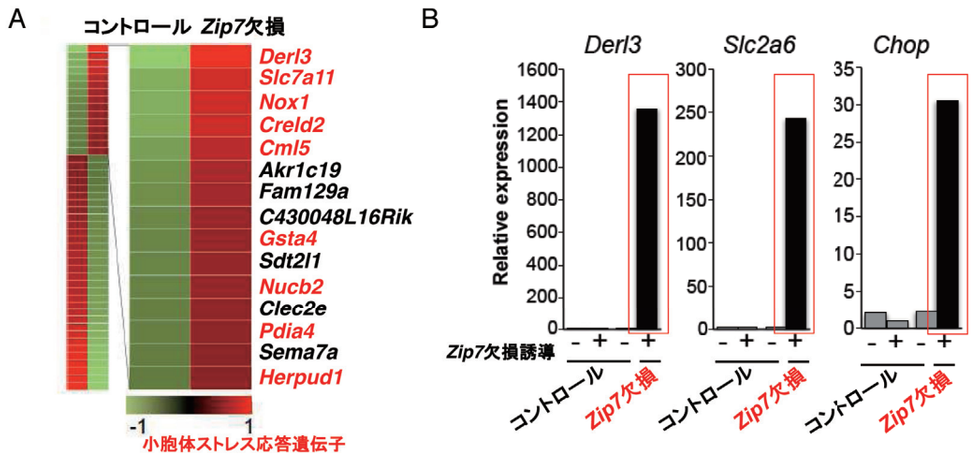

図7　ZIP7 欠損により小胞体ストレスが亢進する
A. コントロールおよび ZIP7 欠損一過性増殖細胞の DNA マイクロアレイ解析．ZIP7 欠損誘導により一過性増殖細胞において小胞体ストレスが亢進する．
B. 培養腸陰窩の qPCR 解析．ZIP7 欠損誘導により小胞体ストレス応答遺伝子（Derl3, Slc2a6）やアポトーシス誘導遺伝子（Chop）の発現が上昇する．

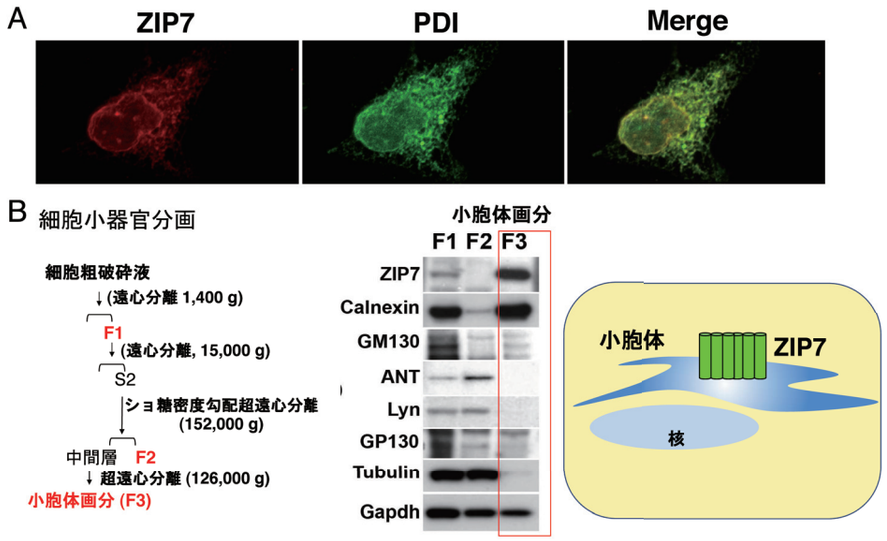

図８　ZIP7 は小胞体に局在する

A. ZIP7 と小胞体マーカータンパク質(PDI)との共染色像.
B. 超遠心分析法による小胞体画分の精製の流れ(左)．左法により得た画分のウエスタンブロット解析．ZIP7 は小胞体画分に検出される.

る遺伝子群の発現の亢進していることが分かった．小胞体の重要な機能として分泌タンパク質や膜タンパク質の立体構造の折り畳みがある[40]．この立体構造の折り畳みの過程では一定の割合で，正しく折り畳まれないタンパク質が生じる．通常の状態であれば，正しく折り畳まれないタンパク質はいくつかの機構により正しい折り畳み構造へ直されたり，小胞体から排出されたのち分解によって処理される．何らかの原因により正しく折り畳まれないタンパク質が小胞体へ異常に蓄積すると，小胞体に負荷（ストレス）をかける結果となる．このストレスを解消するために発動される一連の応答は，小胞体ストレス応答と呼ばれる．小胞体にかかったストレスが軽度な場合，ストレスを解消して小胞体及び細胞を救済する策がとられる一方で，小胞体にかかるストレスが重篤な場合，アポトーシス経路が活性化され，結果として細胞死が誘導される．一過性増殖細胞は素早い増殖活動を行っており，腸管上皮幹細胞と比較して小胞体ストレスレベルが高い状態にあると示されている[41]．ZIP7 欠損により，小胞体ストレス応答の高まりとともにアポトーシスが誘導されたことから，ZIP7 欠損による小胞体ストレスの亢進が考えられた．そこで，この可能性について検証を行ったところ，ZIP7 欠損誘導により小胞体ストレス応答が亢進し，更に，小胞体ストレス性のアポトーシス遺伝子の発現が著しく上昇することが明らかとなった(図７B)．これらの結果から，ZIP7 の喪失により小胞体ストレスが著しく亢進し，細胞死が誘導されていることが示唆された．すなわち，ZIP7 は小胞体ストレスの解消に重要な分子であることを示している．

ZIP7 は細胞内の小胞体に局在することを，我々の検討からも確認している(図８)．ZIP ファミリーは細胞質へ亜鉛を輸送することから，ZIP7 の欠損により小胞体から細胞質への亜鉛の供給が損なわれている可能性が考えられた．そこで，我々は，ZIP7 欠損による小胞体ストレスの亢進は亜鉛を細胞内へ補充することによって抑制されるかについて，薬剤誘導型 ZIP7 欠損マウス胎仔繊維芽細胞を用いて検証を行ったところ，細胞外亜鉛の補充は効果を示さなかった．その一方で，ZIP7 タンパク質の補充は，ZIP7 欠損による小胞体ストレスの亢進を抑制した．以上より，ZIP7 により制御された亜鉛の輸送が小胞体ストレスの解消に重要である可能性が示された．腸管上皮細胞は，幹細胞からの増殖と分化を絶えず繰り返すことによってその恒常性が維持されている．これまで，腸管上皮細胞の増殖と幹細胞維持において小胞体ストレス応答は重要な役割を担うことが知られてきた．今回の我々の検討により，亜鉛トランスポーター ZIP7 が小胞体ストレスを解消し，腸管上皮細胞の恒常性維持に必須の役割を果たしていることが明らかとなった(図９)．これは，腸上皮恒常性維持を担う小胞体ストレスの制御においてのこれまで全く知られていなかった ZIP7 の役割を提示している．

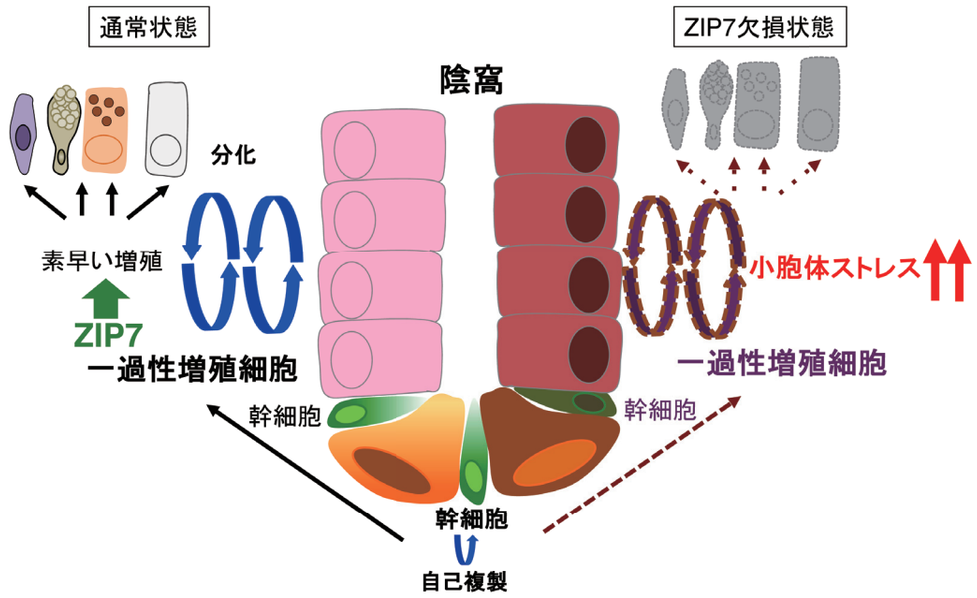

図９　腸管上皮恒常性における ZIP7 の役割

おわりに

同じく必須微量元素である鉄や銅のトランスポーターと比較して，同定されている亜鉛のトランスポーターの数は多い．この数の多さは生体内における亜鉛動態の制御様式の多様性を生み出し，亜鉛の多彩な生理作用の発揮に関わっていることが考えられる．実際に，近年の遺伝子改変マウスを用いた解析により，亜鉛トランスポーター欠損マウスはそれぞれ独自の表現型が示されており，生体内において，亜鉛トランスポーターはそれぞれ固有の生理学的な役割を果たしている様子がうかがえる．今回の我々の研究により，腸上皮の恒常性における亜鉛トランスポーター ZIP7 の必要不可欠な役割が示され，小胞体ストレス解消における小胞体を介した亜鉛輸送制御の重要性が示唆される．今後の更なる解析により，亜鉛トランスポーター及び亜鉛トランスポーターが輸送する亜鉛が果たしている生物学的役割の詳細が明らかとなり，亜鉛が有する多彩な生理作用への理解が深まっていくことが期待される．

◆文　献

1) Prasad AS, Halsted JA, Nadimi M：Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. Am J Med 31：532-546, 1961
2) Klug A, Schwabe JWR：ZInc fingers. The FASEB Journal 9：597-604, 1995
3) Tupler R, Perini G, Green MR：Expressing the human genome. Nature 409：832-833, 2001
4) Andreini C, Banci L, Bertini I, et al：Counting the zinc-proteins encoded in the human genome. J Proteome Res 5：196-201, 2006
5) Taylor CM, Bacon JR, Aggett PJ, et al：Homeostatic regulation of zinc absorption and endogenous losses in zinc-deprived men. Am J Clin Nutr 53：755-763, 1991
6) Jackson MJ, Mills CF：Zinc in human biology. Physiology of zinc, 1989
7) Kambe T, Yamaguchi-Iwai Y, Sasaki R, et al：Overview of mammalian zinc transporters. Cell Mol Life Sci 61：49-68, 2004
8) Fukada T, Kambe T：Molecular and genetic features of zinc transporters in physiology and pathogenesis. Metallomics 3：662-674, 2011
9) Weaver BP, Dufner-Beattie J, Kambe T, et al：Novel zinc-responsive post-transcriptional mechanisms reciprocally regulate expression of the mouse Slc39a4 and Slc39a5 zinc transporters (Zip4 and Zip5). Biol Chem 388：1301-1312, 2007
10) Mao X, Kim B-E, Wang F, et al：A histidine-rich cluster mediates the ubiquitination and degradation of the human zinc transporter, hZIP4, and protects against zinc cytotoxicity. J Biol Chem 282：6992-7000, 2007
11) Murakami M, Hirano T：Intracellular zinc homeostasis and zinc signaling. Cancer Sci 99：1515-1522, 2008
12) Wang K, Zhou B, Kuo Y-M, et al：A novel member of a zinc transporter family is defective in acrodermatitis enteropathica. Am J Hum Genet 71：66-73, 2002
13) Küry S, Dréno B, Bézieau S, et al：Identification of SLC39A4, a gene involved in acrodermatitis enteropathica. Nature Genetics 31：239-240, 2002
14) Schmitt S, Küry S, Giraud M, et al：An update on mutations of the SLC39A4 gene in acrodermatitis enteropathica. Hum Mutat 30：926-933, 2009
15) Fukada T, Civic N, Furuichi T, et al：The Zinc Transporter SLC39A13/ZIP13 Is Required for Connective Tissue Development, Its Involvement in BMP/TGF-β Signaling Pathways. PLoS ONE 3：e3642, 2008
16) Frayling TM：Genome-wide association studies provide new insights into type 2 diabetes aetiology. Nat Rev Genet 8：657-662, 2007
17) Tamaki M, Fujitani Y, Hara A, et al：The diabetes-susceptible gene SLC30A8/ZnT8 regulates hepatic insulin clearance. J Clin Invest 123：4513-4524, 2013
18) Pound LD, Sarkar SA, Benninger RKP, et al：Deletion of the mouse Slc30a8 gene encoding zinc transporter-8 results in impaired insulin secretion. Biochem J 421：371-376, 2009
19) Wijesekara N, Dai FF, Hardy AB, et al：Beta cell-specific Znt8 deletion in mice causes marked defects in insulin processing, crystallisation and secretion. Diabetologia 53：1656-1668, 2010
20) Nicolson TJ, Bellomo EA, Wijesekara N, et al：Insulin storage and glucose homeostasis in mice null for the granule zinc transporter ZnT8 and studies of the type 2 diabetes-associated variants. Diabetes 58：2070-2083, 2009
21) Lemaire K, Ravier MA, Schraenen A, et al：Insulin crystallization depends on zinc transporter ZnT8 expression, but is not required for normal glucose homeostasis in mice. Proc Natl Acad Sci USA 106：14872-14877, 2009
22) Chowanadisai W, Lönnerdal B, Kelleher SL：Identification of a mutation in SLC30A2 (ZnT-2) in women with low milk zinc concentration that results in transient neonatal zinc deficiency. J Biol Chem 281：39699-39707, 2006
23) Itsumura N, Kibihara Y, Fukue K, et al：Novel mutations in SLC30A2 involved in the pathogenesis of transient neonatal zinc deficiency. Pediatr Res, 2016
24) Huang L, Gitschier J：A novel gene involved in zinc transport is deficient in the lethal milk mouse. Nature Genetics 17：292-297, 1997
25) Perez-Becerril C, Morris AG, Mortimer A, et al：Allelic variants in the zinc transporter-3 gene, SLC30A3, a candidate gene identified from gene expression studies, show gender-specific association with schizophrenia. Eur Psychiatry 29：172-178, 2014
26) Andrews GK, Wang H, Dey SK, et al：Mouse zinc transporter 1 gene provides an essential function during early embryonic development. genesis 40：74-81, 2004
27) Hojyo S, Fukada T, Shimoda S, et al：The Zinc Transporter SLC39A14/ZIP14 Controls G-Protein Coupled Receptor-Mediated Signaling Required for Systemic Growth. PLoS ONE 6：e18059, 2011
28) Miyai T, Hojyo S, Ikawa T, et al：Zinc transporter SLC39A10/ZIP10 facilitates antiapoptotic signaling during early B-cell development. Proc Nat Acad SciUSA 111：11780-11785, 2014
29) Hojyo S, Miyai T, Fujishiro H, et al：Zinc transporter SLC39A10/ZIP10 controls humoral immunity by modulating B-cell receptor signal strength. Proc Nat Acad SciUSA 111：11786-11791, 2014
30) Nishida K, Hasegawa A, Nakae S, et al：Zinc transporter Znt5/Slc30a5 is required for the mast cell-mediated delayed-type allergic reaction but not the immediate-type reaction. J Exp Med 206：1351-1364, 2009
31) Van der Flier LG, Clevers H：Stem Cells, Self-Renewal, and Differentiation in the Intestinal Epithelium. Annu Rev Physiol 71：241-260, 2009
32) Ireland H, Houghton C, Howard L, et al：Cellular inheritance of a Cre-activated reporter gene to determine Paneth cell longevity in the murine small intestine. Dev Dyn 233：1332-1336, 2005
33) Vela G, Stark P, Socha M, et al：Zinc in gut-brain interaction in autism and neurological disorders. Neural Plasticity 2015：972791-972815, 2015
34) Sawada M, Midorikawa O, Takahashi K, et al：Selective killing of Paneth cells by intravenous administration of dithizone in rats. Int J Exp Pathol 72：407-421, 1991
35) Elmes ME, Jones JG：Paneth cell zinc, a comparison of histochemical and microanalytical techniques. The Histochemical Journal 13：335-337, 1981
36) Podany AB, Wright J, Lamendella R, et al：ZnT2-Mediated Zinc Import Into Paneth Cell Granules Is Necessary for Coordinated Secretion and Paneth Cell Function in Mice. Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology 2：369–83, 2016
37) Sato T, Vries RG, Snippert HJ, et al：Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. Nature 459：262-265, 2009
38) Cheng H, Leblond CP：Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. I. Columnar cell. Am J Anat 141：461-479, 1974
39) Searle J, Lawson TA, Abbott PJ, et al：An electron-microscope study of the mode of cell death induced by cancer-chemotherapeutic agents in populations of proliferating normal and neoplastic cells. J Pathol 116：129-138, 1975.
40) Kadowaki H, Nishitoh H：Signaling Pathways from the Endoplasmic Reticulum and Their Roles in Disease. Genes 4：306-333, 2013
41) Heijmans J, van Lidth de Jeude JF, Koo B-K, et al：ER Stress Causes Rapid Loss of Intestinal Epithelial Stemness through Activation of the Unfolded Protein Response. Cell Rep 3：1-12, 2013

The role of Zinc transporter in the maintenance of intestinal epithelial homeostasis

Wakana Ohashi

Department of Molecular and Medical Pharmacology, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama

The essential trace element zinc is required for the normal functions of the many organs including the intestine. Dysregulation of zinc homeostasis has been implicated in disorders such as intestinal inflammation and aberrant epithelial morphology. Specific zinc transporters are responsible for the spatiotemporal regulation of intracellular zinc storage. Zinc transporters are classified into two major families, SLC39A/ZIP and SLC30A/ZnT. The ZIP family of proteins facilitates zinc influx to the cytoplasm from extracellular spaces as well as intracellular compartments, including the ER, whereas the ZnT family of proteins transport zinc in the opposite direction. Recently, it have demonstrated the involvement of SLC39A/ZIP family members in a variety of cellular functions, including cell proliferation, differentiation, survival, and migration. Here, we discuss a novel link between intracellular zinc regulation by ZIP transporter and resolving ER stress to maintain homeostatic self-renewal of intestinal epithelium.

Key words：ZIP transporter, intestinal epithelium, ER stress, Zinc

◆大橋若菜略歴

1999年	東邦大学薬学部卒業
2001年	京都大学大学院薬学研究科修了
2001年	理化学研究所　ゲノム科学総合研究センター タンパク質構造機能研究グループ
2008年	理化学研究所　免疫アレルギー科学総合研究センター　サイトカイン制御研究グループ
2013年	富山大学大学院 医学薬学研究部(医学)分子医科薬理学講座　助教