

研究

母乳中亜鉛の重要性を考える：
亜鉛トランスポーターの変異と
母乳中亜鉛量の調査報告

京都大学大学院生命科学研究科¹⁾ 長尾助産院²⁾ 滋賀県立大学人間文化学部生活栄養学科³⁾
神戸大朋¹⁾，長尾早枝子²⁾，福江和久¹⁾，廣瀬潤子³⁾

要 約

亜鉛は必須微量栄養素として我々の健康に重要な役割を果たしている。あらゆる世代の健康に亜鉛は必要となるが，日々著しく成長する乳児の健全な発育のためには特に重要であり，急激に成長する乳児には多量の亜鉛が必要となる。そのため，母親には，乳児の要求に応えるよう，母乳中に多量の亜鉛を輸送して分泌するための仕組みが備わっている。母乳中への亜鉛の輸送には亜鉛トランスポーター ZNT2 が必須の機能を果たしており，ZNT2 の機能を喪失すると十分な量の亜鉛を母乳中に分泌できなくなる（低亜鉛母乳）。その母乳で哺育された乳児は亜鉛欠乏に陥り，口周りや鼻唇溝，肘・膝・肛門周囲に浸潤性紅斑・膿痂疹様の病変を生じる。本稿では，一過性乳児亜鉛欠乏症（Transient neonatal zinc deficiency：TNZD）の原因となる低亜鉛母乳を引き起こす ZNT2 の変異に関する著者らの研究から得られた知見に加え，現在，実施している母乳中亜鉛量と食事中亜鉛摂取量調査に関するデータについて紹介する。

KEY WORDS 母乳中亜鉛，授乳婦，乳幼児，一過性乳児亜鉛欠乏症（TNZD），ZNT2，簡易型自記式食事歴法質問票（BDHQ）

はじめに

亜鉛は，生体内では二価陽イオンとして存在し，様々なタンパク質と相互作用してその機能を発揮する。プロテオーム解析の結果から，ヒトゲノムにコードされたタンパク質の 10% が亜鉛結合モチーフを有することが示されており，これが，亜鉛が極めて多様な生理機能を発揮することを支持する根拠の 1 つとなっている^{1, 2)}。生体内での亜鉛の機能は，通常，タンパク質の構造因子，酵素の補因子，細胞内外のシグナル調節因子に大別されるが，本知見からも，亜鉛が生命活動に必須であることは明らかである³⁾。亜鉛はあらゆる世代の健康に必要不可欠であるが，特に，日々著

しく成長する乳児の健全な発育のためには多量の亜鉛が必要となる^{4, 5)}。日本人の食事摂取基準（2015 年版）では，乳児の亜鉛摂取の目安量が設定されており，0～5 ヶ月児で一日あたり 2mg，6～11 ヶ月児で一日あたり 3mg となっている⁶⁾。一方，成人女性では 8mg の摂取推奨量が設定されているが，授乳婦には 3mg の付加量が推奨量として設定されている。興味深いことに，この付加量は，妊婦の 2mg の付加量よりも多く（表 1），妊婦の推奨量の方が高い鉄とは対照的な設定（妊娠中期・後期の分布では 15mg の付加量である一方，授乳婦の付加量は 2.5mg）となっている⁶⁾。この事実は，乳幼児の著しい成長には，亜鉛が必須であることを端的に表している。母乳中の亜鉛

表 1 亜鉛の食事摂取基準摂取（mg/ 日）

性別 年齢等	男性			女性		
	推定平均必要量	推奨量	耐容上限量	推定平均必要量	推奨量	耐容上限量
0 ～ 5（月）	—	2*	—	—	2*	—
6 ～ 11（月）	—	3*	—	—	3*	—
1 ～ 2（歳）	3	3	—	3	3	—
3 ～ 5（歳）	3	4	—	3	4	—
6 ～ 7（歳）	4	5	—	4	5	—
8 ～ 9（歳）	5	6	—	5	5	—
10 ～ 11（歳）	6	7	—	6	7	—
12 ～ 14（歳）	8	9	—	7	8	—
15 ～ 17（歳）	9	10	—	6	8	—
18 ～ 29（歳）	8	10	40	6	8	35
30 ～ 49（歳）	8	10	45	6	8	35
50 ～ 69（歳）	8	10	45	6	8	35
70歳以上	8	9	40	6	7	35
妊婦（付加量）	NA	NA	NA	+1	+2	—
授乳婦（付加量）	NA	NA	NA	+3	+3	—

NA：該当せず，*：推奨量ではなく目安量，日本人の食事摂取基準 2015 版（6）より引用

濃度は，乳幼児の高い亜鉛要求性に合わせて，分娩後の 1 ヶ月間は母親の血清の 3～5 倍も高い亜鉛濃度値になり，通常，2, 3 ヶ月は血清亜鉛値より高い値を示す^{3, 7, 8)}。その後，母乳中の亜鉛量は徐々に低下し，成乳では母親の血清と同レベルにまで低下する。したがって，乳幼児の成長時期に母乳中亜鉛量が低下すると，乳児は必然的に亜鉛欠乏の危険に曝されることとなる。即ち，低亜鉛母乳で哺育された乳児は，一過性乳児亜鉛欠乏症（Transient neonatal zinc deficiency：TNZD）を発症するリスクが高くなる^{9～11)}。以下，TNZD に関連した知見について詳しく紹介したい。

1. 先天性の乳児亜鉛欠乏症

一般的に，亜鉛欠乏は多様な症例を示すことが知られる^{5, 12)}。具体的な例として，味覚障害，皮膚炎，脱毛，免疫機能低下，成長遅延，下痢などがあげられ，乳児でも同様の症例が現れる⁴⁾。遺伝

性の乳児亜鉛欠乏症は 2 種類あり，本稿で焦点を当てる TNZD と，もう 1 つは腸性肢端皮膚炎（*Acrodermatitis enteropathica*：AE）である^{13～15)}（図 1）。AE は，消化管からの亜鉛吸収に必須の役割を果たす亜鉛トランスポーター ZIP4 の変異によって引き起こされ，消化管からの亜鉛吸収不全により，亜鉛欠乏に陥る先天性疾患である。したがって，AE 患児には，継続的な亜鉛投与（一日あたり 150 mg）が必要となる^{16, 17)}。ZIP4/SLC39A4 遺伝子には，ミスセンス変異，ナンセンス変異，フレームシフト，遺伝子欠損など AE 原因となる変異がこれまでに 30 種以上報告されている^{16～18)}。一方，TNZD に関しては，症例数や分子機序解析例の不足から，その発生率や発症リスクに関する詳細は明らかにされていなかったが，最近の報告から，TNZD の患者数はこれまでの予想よりも多くなる可能性が示唆されている（詳細については次章）。我々が小児科や皮膚科関連学会誌などの文献を検索した結果では，少なくとも 1981 年～2006 年に 24 報（そのうち，17 例

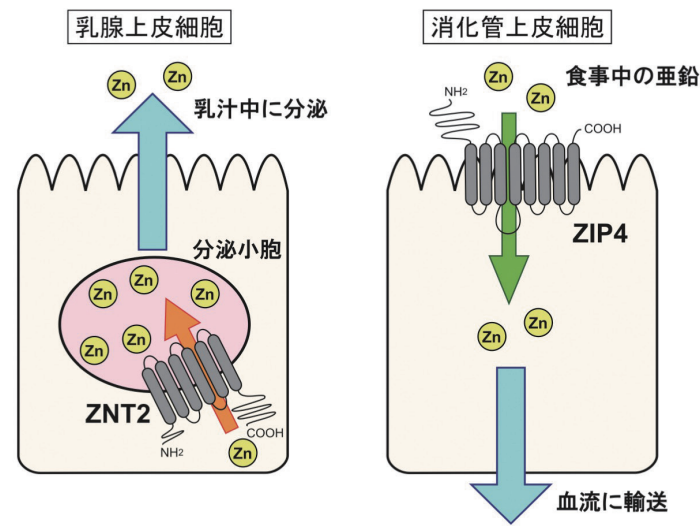


図1 TNZDとAEの発症に関わる亜鉛トランスポーターZNT2とZIP4

(左図) ZNT2は乳腺上皮細胞において亜鉛を分泌小胞へ輸送する。分泌小胞に輸送された亜鉛はエキソサイトーシスにより乳汁中に分泌される。

(右図) ZIP4は消化管上皮細胞の頂端膜に局在し、食事からの亜鉛を細胞内に取り込む。通常の食事に含まれる亜鉛の吸収には、ZIP4の役割が不可欠となる。

が満期出産乳児)、また、2007年～2014年に24報(そのうち、20例が満期出産乳児)TNZDが報告されていた¹⁹⁾。胎児体内には、妊娠後期(30週以降)に亜鉛貯蔵が促進されるため、十分に亜鉛をプールすることができない早産児や低出生体重児は亜鉛欠乏に陥るリスクが高くなるが、上記報告においては、ほとんどの患児が満期出産児となっていた。したがって、これらの患児は、母乳中の亜鉛が不足した結果、TNZDを発症した可能性が高いと考えられる。

現在、日本では、高齢出産の増加により低出生体重児の出現率が増加(近年では全出生の約9.6%)しており²⁰⁾、亜鉛欠乏の乳児が今後さらに増加すると考えられる。母乳中亜鉛に対しては、一層注意することが求められる。

2. 亜鉛トランスポーターZNT2/SLC30A2遺伝子に見出される変異

TNZD患児の母親の血清亜鉛値は異常は認められないことから、体内の亜鉛ホメオスタシス維持に重要な亜鉛トランスポーターとは異なる、母

乳への亜鉛輸送に特化した亜鉛トランスポーターの存在が示唆されていた。2006年、ZNT2/SLC30A2遺伝子の変異がTNZD患児の母親に見出され²¹⁾、ZNT2がTNZDに関わる候補として考えられていたが、その後、これを支持する結果報告されていなかった。このような中、2012、2013年に、我々のグループとイスラエルのグループが異なる変異をZNT2/SLC30A2遺伝子に見出し、ZNT2の変異がTNZDの発症に関わることが完全に立証された^{22, 23)}。この報告に続き、我々は、これまでに6種類の変異を報告しているが^{19, 20, 24)}、複合ヘテロ接合性変異の一例を除き、残りは全てヘテロ接合性変異であった。これらヘテロ接合体変異による母乳中の亜鉛量の減少は、ドミナントネガティブ(優性阻害)効果ではなく、ハプロ不全の様式で起こっていたことから^{24, 25)}、正常なアリルから産生されるZNT2だけでは、母乳中に多量に含まれる亜鉛を賄いきれないことが考えられた。上述したように、母乳中亜鉛濃度は分娩後1ヵ月間は母親血清亜鉛濃度の3～5倍もの値になるため、極めて高いレベルのZNT2の発現量が必要となるのであろう。

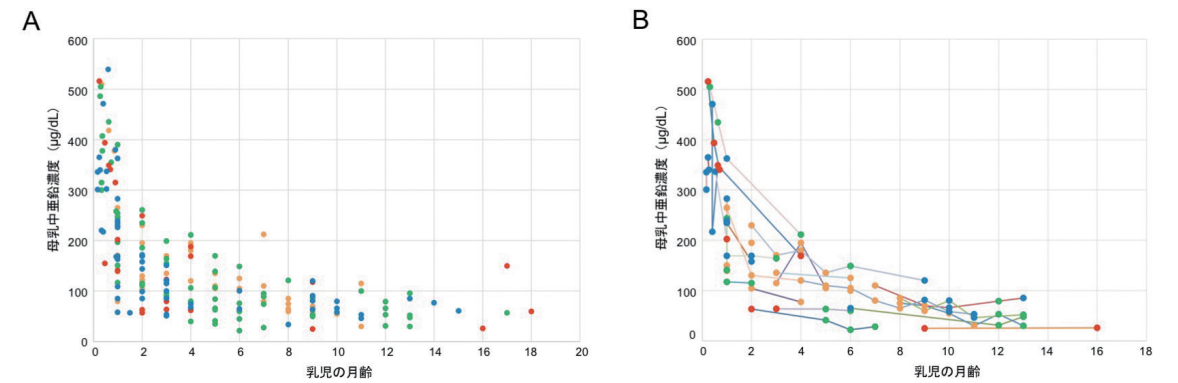


図2 食事に含まれる亜鉛量と母乳中亜鉛量の相関に関する調査結果

A. 乳児の月齢と授乳婦の母乳中亜鉛値、食事中亜鉛量との関係。赤：亜鉛摂取量11mg以上/日、青：亜鉛摂取量8～11mg/日、緑：亜鉛摂取量8mg以下/日、黄：情報無し。

B. Aの調査における同一の授乳婦の母乳中亜鉛値の経時的な変化。色分けはAと同じ。線で結ばれているのは同一の授乳婦による結果。

我々がこれまで見出しているZNT2/SLC30A2遺伝子の変異は、すべて日本人母親から同定した変異であり、その数、種類の両面で従来の理解よりも多かった。この結果は、低亜鉛母乳が原因となって発症するTNZDが、日本人においてこれまでの予想よりも数多く発生している可能性を示唆しており、今後も解析を進める意義は大きい。

3. 食事に含まれる亜鉛量と母乳中亜鉛量の相関に関する調査

我々は、TNZDの原因となるZNT2/SLC30A2遺伝子変異をこれまでに6つ見出しているが、TNZDの患児母親の当遺伝子に変異が見出されないケースが散見された。本結果は、授乳婦の僅かな亜鉛摂取不足や健康状態の悪化などにより、母乳中亜鉛量が簡単に影響を受ける可能性があることを示唆していると考えている。そこで、母乳哺育を実施している授乳婦の協力の下、摂取亜鉛量と母乳中亜鉛量の相関関係について調査を進めた。授乳婦の摂取亜鉛量を、簡易型自記式食事歴法質問票(brief-type self-administered diet history questionnaire: BDHQ)を使用して調査し、母乳中亜鉛量との関連性について解析した結果、摂取亜鉛量と母乳中亜鉛との間には、有意な

相関性を見出すことはできなかった(図2A)。また、同一の授乳婦における母乳中亜鉛量の経時変化を調査したところ、授乳初期に亜鉛量低値であった母親においては、母乳中亜鉛量の減量率が低いことが観察された(図2B)。さらに、本調査においても、母乳中亜鉛量が低値な授乳婦が一定数見出されており、その要因を特定することが、乳児の亜鉛栄養改善に重要であると考えられる。乳児を亜鉛欠乏の危険性から回避させて健やかな健康に結びつけるために、母親の摂取する食事を通して母乳中亜鉛量を充足させる意義は大きい。

国外の調査ではあるが、妊婦や授乳婦の80%が潜在的な亜鉛欠乏状態になるとの報告もなされている^{26, 27)}。今後は、このような調査の規模を拡大して母乳中亜鉛量についての理解を深めると同時に、母乳中亜鉛には血清亜鉛値と同様に日内変動があるのかなどについてのさらなる調査を進めることが肝要である。

おわりに

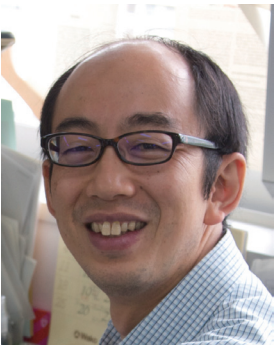
母乳中の亜鉛栄養の重要性は古くから知られている。ヒトでZNT2/SLC30A2遺伝子変異が最初に発見されたのは2006年であるが²¹⁾、マウスに

おいては, “*lethal milk* (死のミルク)” と呼ばれる変異マウスの原因遺伝子として²⁸⁾, 1997 年に別の亜鉛トランスポーター Znt4 が同定されている²⁹⁾. 現在まで, ヒトにおいて *ZNT4/SLC30A4* 遺伝子の変異が TNZD の発症と関わる低亜鉛母乳を引き起こすことを示した報告はないが, *ZNT5/SLC30A5* 遺伝子, 及び *ZNT6/SLC30A6* 遺伝子発現と低亜鉛母乳との関わりを示唆する報告が出されている³⁰⁾. 我々の解析では, TNZD 患児の母親の *ZNT2/SLC30A2* 遺伝子に変異が見出されないケースもあり, ZNT2 が関わらずに低亜鉛母乳分泌を引き起こす分子機序を明らかにすることは今後の課題となっている. また, 母乳中亜鉛分泌に影響を与える食生活習慣を明らかにすることも重要な課題となる. 我が国では, 育児用粉ミルクには乳児の必要量を満たす量の亜鉛が添加されているが, フォローアップミルクには亜鉛が

添加されていない. 亜鉛の重要性が明らかになっている今こそ, こういった情報を広く発信していくことも重要であると考え.

謝辞

本研究にご協力頂いた患者及びご家族の皆様, 並びに帝京平成大学の児玉浩子教授をはじめとする共同研究者の皆様に感謝申し上げます. 本研究で実施したヒト遺伝子解析及び母乳中亜鉛量調査は, 京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会 (承認番号: 第 G760 号「乳幼児の亜鉛欠乏予防のための基盤研究」) と, 公立大学法人滋賀県立大学研究に関する倫理審査委員会 (承認番号: 第 372 号「授乳婦の理想の体型に関する研究」) から承認を得て実施しております.



◆神戸大朋略歴

1995 年	京都大学農学部 卒業
1998 年	京都大学大学院農学研究科 助手
1999 年	京都大学大学院生命科学研究科 助手
2001 年	京都大学 博士 (農学) 取得
2006 年	ミズーリ大学 博士研究員
2007 年	カンザス大学 博士研究員
2008 年	京都大学大学院生命科学研究科 准教授

◆文 献

1) Andreini, C., Banci, L., Bertini, I., and Rosato, A. : Counting the zinc-proteins encoded in the human genome. *J Proteome Res* 5 : 196-201, 2006

2) Hara, T., Takeda, T. A., Takagishi, T., Fukue, K., Kambe, T., and Fukada, T. : Physiological roles of zinc transporters: molecular and genetic importance in zinc homeostasis. *J Physiol Sci* 67 : 283-301, 2017

3) Kambe, T., Tsuji, T., Hashimoto, A., and Itsumura, N. : The Physiological, Biochemical, and Molecular Roles of Zinc Transporters in Zinc Homeostasis and Metabolism. *Physiol Rev* 95 : 749-784, 2015

4) 児玉浩子 : 稀でない子どもの微量元素欠乏症 ～亜鉛を中心に考える～. 亜鉛栄養治療 3 : 4-13, 2012

5) Kambe, T., Fukue, K., Ishida, R., and Miyazaki, S. : Overview of Inherited Zinc Deficiency in Infants and Children. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 61 Suppl : S44-46, 2015

6) 厚生労働省. 日本人の食事摂取基準 (2015年版) https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/kenkou/eiyou/syokuji_kijyun.html.

7) Lonnerdal, B. : Trace element transport in the mammary gland. *Annu Rev Nutr* 27 : 165-177, 2007

8) Yamawaki, N., Yamada, M., Kan-no, T., Kojima, T., Kaneko, T., and Yonekubo, A. : Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. *J Trace Elem Med Biol* 19 : 171-181, 2005

9) 児玉浩子, and 稲毛康司 : 低亜鉛母乳による乳児亜鉛欠乏症. 内分泌・糖尿病・代謝内科 43 : 103-107, 2016

10) 増本幸二 : 小児における微量元素欠乏症ー特に栄養管理時におけるー. 日本臨牀 74 : 1214-1219, 2016

11) 神戸大朋 : 母乳栄養と亜鉛 : 亜鉛トランスポーターの変異により引き起こされる乳児亜鉛欠乏症. 生化学 89 : 881-884, 2017

12) Hambidge, M. : Human zinc deficiency. *J Nutr* 130 : 1344S-1349S, 2000

13) Barnes, P. M., and Moynahan, E. J. : Zinc deficiency in acrodermatitis enteropathica: multiple dietary intolerance treated with synthetic diet.

Proc R Soc Med 66 : 327-329, 1973

14) Wang, K., Zhou, B., Kuo, Y. M., Zemansky, J., and Gitschier, J. : A novel member of a zinc transporter family is defective in acrodermatitis enteropathica. *Am J Hum Genet* 71 : 66-73, 2002

15) Kury, S., Dreno, B., Bezieau, S., Giraudet, S., Kharfi, M., Kamoun, R., and Moisan, J. P. : Identification of SLC39A4, a gene involved in acrodermatitis enteropathica. *Nat Genet* 31 : 239-240, 2002

16) Maverakis, E., Fung, M. A., Lynch, P. J., Draznin, M., Michael, D. J., Ruben, B., and Fazel, N. : Acrodermatitis enteropathica and an overview of zinc metabolism. *J Am Acad Dermatol* 56 : 116-124, 2007

17) Schmitt, S., Kury, S., Giraud, M., Dreno, B., Kharfi, M., and Bezieau, S. : An update on mutations of the SLC39A4 gene in acrodermatitis enteropathica. *Hum Mutat* 30 : 926-933, 2009

18) Kambe, T., Hashimoto, A., and Fujimoto, S. : Current understanding of ZIP and ZnT zinc transporters in human health and diseases. *Cell Mol Life Sci* 71 : 3281-3295, 2014

19) Itsumura, N., Kibihara, Y., Fukue, K., Miyata, A., Fukushima, K., Tamagawa-Mineoka, R., Katoh, N., Nishito, Y., Ishida, R., Narita, H., Kodama, H., and Kambe, T. : Novel mutations in SLC30A2 involved in the pathogenesis of transient neonatal zinc deficiency. *Pediatr Res* 80 : 586-594, 2016

20) 小原隆史, 小松なぎさ, 逸村直也, 神戸大朋, 武藤雄一郎, 西原卓宏, 平井克樹, and 右田昌宏 : 母体 ZnT2 遺伝子変異に基づく低亜鉛母乳による亜鉛欠乏性皮膚炎. 日本小児科学会雑誌 120 : 1649-1656, 2016

21) Chohanadisai, W., Lonnerdal, B., and Kelleher, S. L. : 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

22) Lasry, I., Seo, Y. A., Ityel, H., Shalva, N., Podeshak, B., Glaser, F., Berman, B., Berezhovsky, I., Goncarencu, A., Klar, A., Levy, J., Anikster, Y., Kelleher, S. L., and Assaraf, Y. G. : A Dominant Negative Heterozygous G87R Mutation in the Zinc Transporter, ZnT-2 (SLC30A2), Results in Transient Neonatal Zinc Deficiency. *J Biol Chem*

- 287 : 29348-29361, 2012
- 23) Itsumura, N., Inamo, Y., Okazaki, F., Teranishi, F., Narita, H., Kambe, T., and Kodama, H. : Compound Heterozygous Mutations in SLC30A2/ZnT2 Results in Low Milk Zinc Concentrations: A Novel Mechanism for Zinc Deficiency in a Breast-Fed Infant. *PLoS One* 8 : e64045, 2013
- 24) Golan, Y., Itsumura, N., Glaser, F., Berman, B., Kambe, T., and Assaraf, Y. G. Molecular Basis of Transient Neonatal Zinc Deficiency: NOVEL ZnT2 MUTATIONS DISRUPTING ZINC BINDING AND PERMEATION. *J Biol Chem* 291 : 13546-13559, 2016
- 25) Golan, Y., Kambe, T., and Assaraf, Y. G. : The role of the zinc transporter SLC30A2/ZnT2 in transient neonatal zinc deficiency. *Metallomics* 9 : 1352-1366, 2017
- 26) Scheplyagina, L. A. : Impact of the mother's zinc deficiency on the woman's and newborn's health status. *J Trace Elem Med Biol* 19 : 29-35, 2005
- 27) Donangelo, C. M., and King, J. C. : Maternal zinc intakes and homeostatic adjustments during pregnancy and lactation. *Nutrients* 4 : 782-798, 2012
- 28) Piletz, J. E., and Ganschow, R. E. : Zinc deficiency in murine milk underlies expression of the lethal milk (lm) mutation. *Science* 199 : 181-183, 1978
- 29) Huang, L., and Gitschier, J. : A novel gene involved in zinc transport is deficient in the lethal milk mouse. *Nat Genet* 17 : 292-297, 1997
- 30) Kumar, L., Michalczyk, A., McKay, J., Ford, D., Kambe, T., Hudek, L., Varigos, G., Taylor, P. E., and Ackland, M. L. : Altered expression of two zinc transporters, SLC30A5 and SLC30A6, underlies a mammary gland disorder of reduced zinc secretion into milk. *Genes Nutr* 10 : 487, 2015

Importance Of Zinc Concentrations In Breast Milk For Healthy Infant Growth

Taiho Kambe¹⁾, Saeko Nagao²⁾, Kazuhisa Fukue¹⁾, Junko Hirose³⁾

- 1) Graduate School of Biostudies, Kyoto University
 2) Nagao Maternity Clinic
 3) School of Human Cultures, The University of Shiga Prefecture

Zinc concentrations in breast milk are considerably high to support an infant's healthy growth. If the zinc levels available do not meet the requirement of the infant, it can result in zinc deficiency manifested by growth restriction, skin lesions, and alopecia. Therefore, effective zinc transport mechanisms operate in secreting mammary epithelial cells, to mobilize large amounts of zinc into vesicles, which in turn results in secretion of zinc into milk during lactation. In this zinc mobilization process, the zinc transporter ZNT2 plays a pivotal role, and thus loss-of-function mutations in ZNT2 in the mother can result in low secretion of zinc into the breast milk. Thus, the breast-fed infant develops severe zinc deficiency, termed transient neonatal zinc deficiency (TNZD). At present, the prevalence of TNZD is found to be higher than initially thought. This is because TNZD is caused by ZNT2 haploinsufficiency, thus raising the possibility that several factors, including dietary zinc content, might be associated with low zinc concentrations in the breast milk of the mother. In this paper, we briefly review current knowledge of TNZD-causing ZNT2 mutations. Moreover, we present our findings regarding the relationship between zinc concentrations in the breast milk and dietary zinc content in nursing mothers.

Keyword : zinc, breast milk, nursing mother, transient neonatal zinc deficiency (TNZD), brief-type self-administered diet history questionnaire (BDHQ)

Address for correspondence
 Kitashirakawa-Oiwake-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan

E-mail address
 kambel@kais.kyoto-u.ac.jp