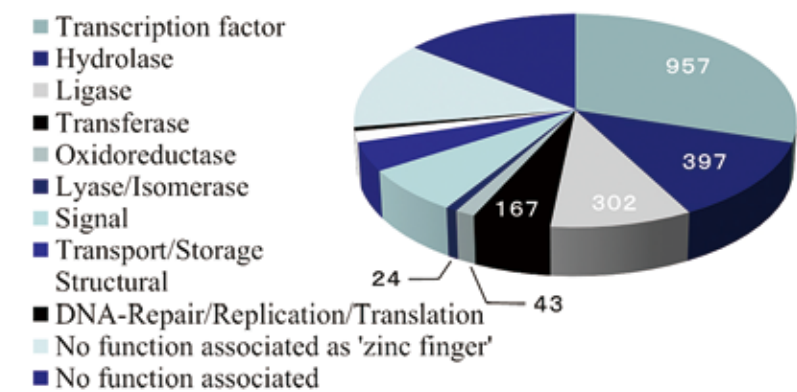


## 研究

# 亜鉛投与法の違いによる 摂食促進効果をラット脳視床下部 メタボローム解析で明らかにする ～ Zinc-ome (ジンクオーム) の観点から～

大分大学・医学部・全学研究推進機構<sup>1)</sup> 尚絅学院大学・総合人間科学部・健康栄養学科<sup>2)</sup>東北大学・大学院農学研究科・栄養学分野<sup>3)</sup>酒井久美子<sup>1)</sup> 西内美香<sup>2), 3)</sup> 白川 仁<sup>3)</sup> 駒井三千夫<sup>3)</sup>図1 ヒトにおける機能性亜鉛タンパク質の分類<sup>1), 2)</sup>

## 要約

臨床現場で経口で食事が摂取できない場合、血清亜鉛値が低下し、それに伴って味覚異常や食欲不振の症状を示す。この状況は経口で亜鉛を投与することで回復することから、周術期の亜鉛栄養の摂取の仕方が注目されている。私たちはこの状況をラットで再現し、亜鉛経口投与による摂食の改善がどのように起きているのか、そのメカニズムを明らかにするために、メタボロミックスの手法を用いた。非経口で腹腔内に直接亜鉛を投与した場合に比べて、経口投与では、代謝物が大きく増加したものが多く見られた。さらにこれらの有意に増加変動した代謝物群がどのような代謝経路に属するのか、バイオインフォマティクスを用いたパスウェイ解析を行ったところ、亜鉛そのものの関与が見いだされたので報告する。

KEY WORDS 亜鉛栄養, 摂食調節, メタボローム, パスウェイ解析, 亜鉛酵素

## はじめに

亜鉛は必須微量元素であり、代謝の調節や食欲の維持など多くの生体内機能に関係している重要な元素である。亜鉛は体内に約2～3g存在するが、その存在形態としては、多くはタンパク質に結合しており、ヒトでは約3,000種類以上存在し、そのうち酵素の約300種類以上で補因子として機能している。これらはX線結晶構造解析や既知のタンパク質のマルチプルアライメント、DNA配列のアノテーションなどから推定されている構造や機能がほとんどで、これらが登録されている種々のデータベースに日々実験的に確証を得た情報が追加されていく。実験、研究を行う者にとっ

てはこれらの情報を上手く利用することで、研究の範囲が広がり、様々な情報を得ることができる。亜鉛研究においては、亜鉛という多機能の分子をキーワードにして、実験結果の見直しや研究のさらなる展開を期待できる。今回は投与ルートに関する亜鉛栄養の研究に、メタボロミックスという方法を用いて、新たな知見を得ることを試みた。

日本は、総人口に対して65歳以上の高齢者人口の占める割合が平成29年9月現在で27.7%となり「超高齢社会」となっている。そのため病院へ入院する患者の高齢化も進み、80歳代でも侵襲の大きな手術の対象となっている。高齢者の場合、治療・手術後に食欲が回復しない場合は、静脈栄養法で栄養管理を行っているが、感染のリス

クが大きいため、なるべく早く経腸栄養法へ切り替えることが望ましい。またこの際、血清亜鉛値の低下により味覚異常や食欲不振を引き起こすことも知られている。一方で、「亜鉛」を投与すると食欲が回復するという症例があり<sup>3)</sup>、臨床現場での亜鉛栄養の摂取の方法が注目されている。これまでに共同研究者らは、亜鉛欠乏食を与えたラットに亜鉛溶液を腹腔内投与しても摂食量は上がらないが、経口的に与えると摂食量が急に上昇することを見出している。これは、経口投与により消化管を経由することで亜鉛シグナルの中枢への素早い伝達が起きていると推察された。また、亜鉛の腸管からの吸収率は約30%であり、吸収

の過程で他の2価陽イオンである鉄や銅、カルシウムなどと拮抗する可能性が示唆されている。これらを解明するため、今回、脳の摂食調節領域である視床下部の代謝物を解析することで、亜鉛の投与ルートの違いがどのような代謝の違いをもたらすかを検討した。

## 1. 亜鉛経口投与について

亜鉛の経口投与による食欲促進効果について、そのメカニズムを解明するため、共同研究者らによってラットで次のような実験が行われた<sup>3)</sup>(図2)。

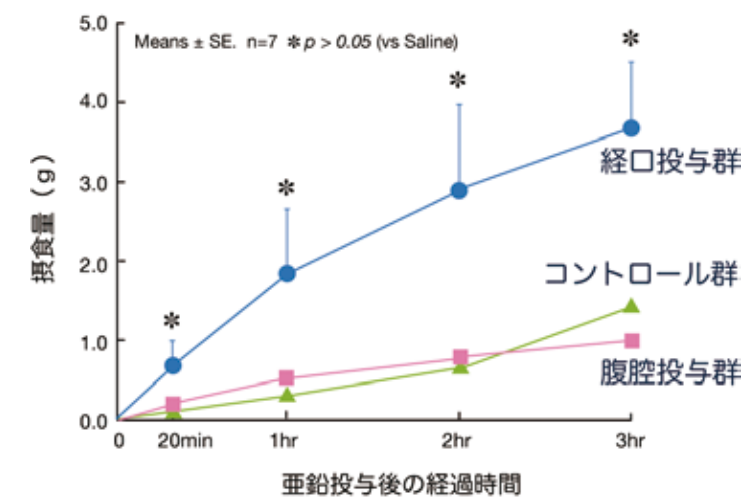


図2 亜鉛投与後のラット摂食量の時間変化

投与 3 時間後の亜鉛血漿値は、経口投与、比経口投与で差は見られなかったが、摂食量を見ると、経口投与群で明らかに非経口投与群、生食群に比べて多かった。経口投与群での摂食量の上昇は短時間で起こることから、消化管経由の亜鉛シグナルの脳中枢への伝達が働いたものと考えられる。またこの結果に基づいて、医療現場において侵襲の大きい手術を受けた高齢患者で、亜鉛を経口で付加した場合の方が食欲の回復が早いという知見も得られた<sup>4)</sup>。これらは、亜鉛投与ルートの違いによって、脳の摂食調節領域での代謝が変化していることを示唆しており、本研究では脳視床下部領域のメタボローム解析を行い亜鉛投与ルートの違いがもたらす摂食関連の代謝調節について検討を行った。

2. メタボローム解析とは

メタボロームとは、ある特定の時刻における、生体中の小分子や代謝産物の総称であり、メタボロミクスはそれぞれの代謝の違いを捉え、バイオインフォマティクスの手法を用いて解析する。メタボローム解析はオミクス解析の中でも新しい分野であり、質量分析計を用いて、分子の質量を測定してどのような代謝物がどのくらい存在しているのかを調べる解析方法である。代謝物は、細胞や組織、あるいは個体といった表現型に近い階層に位置しており (図 3)、代謝物の変動をモニターすることが、ダイナミックな生体活動の変化を直接的に調べることに繋がると考えらる。

また、メタボロミクスは他のオミクス解析に比べて次のような大きな特徴がある。

- ①対象とする物質数が少ない；ヒトの場合、ゲノムは 100,000 種類あるのに対してプロテオームは 25,000 種類あるが、メタボロームは 4,000 種類しかない。この程度の数ならば包括的に解析することが可能である。
- ②対象とする物質が低分子である；それ故、それぞれの代謝物についての知識がこれまでに生化学手法などで蓄積されている。
- ③生体内での出来事を直接的に観察することが

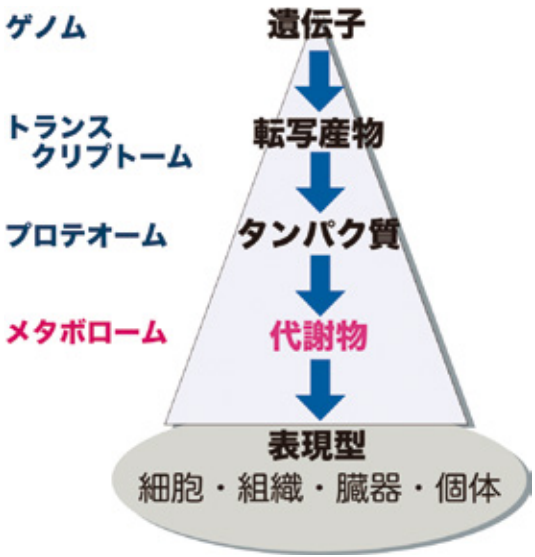


図 3 メタボローム解析の位置づけ

できる；代謝物は酵素の働きによって作られ、代謝物を網羅的に解析するということは、つまりタンパク質の活性を観察することにつながり、より直接的に生命現象をとらえることが可能となる。

④動物種特異性がない；マウスとヒトでは遺伝子やタンパク質が違うが、代謝物であるアミノ酸や脂肪酸は変わらないため、測定や解析が一律で楽である。

それでは代謝物とは実際にどのようなものか？生体の代謝反応の過程で生じる中間生産物もしくは最終生産物で低分子化合物であり、アミノ酸、アミン、核酸類、糖類、脂質、その他の物質が含まれる。それぞれ極性や水溶性などさまざまな物性を持っており、代謝物すべてを一度に測定できる技術は今のところない。今回は質量分析装置に試料を導入する前の分離手段として、ガスクロマトグラフ質量分析計 (Gas Chromatograph-Mass Spectrometry : GC-MS) を用いた。生体内物質の糖・アミノ酸・有機酸は気化しやすいように誘導体化する必要があるが、歴史が古く、データベースが充実している。分析は必要なメソッドを選び試料のバッチファイルを作成し、装置のオートサンプラーに並べ、測定を開始する。今回用いた機器は GC-MS/MS で、2 段階で質量を分離し、

特定のイオンをモニターする MRM (Multiple Reaction Monitoring) モードで測定を行った。メタボロームの試料は生体液や組織など、多くの代謝物や多様な夾雑物が含まれているため、それらの成分が重なり合い、同定を難しくしているが、この MRM 法と、469 代謝物成分が登録されているデータベースにより、微量成分でも化合物の同定が正確かつ容易に行える。通常の代謝成分の分析では 1 試料あたり約 37 分で、データベースに対して測定された質量よりピークの同定を行い、保持時間および面積値を算出したデータ表がアウトプットされる<sup>5)</sup>。このデータを用いて、多変量解析を行い、変動した代謝物を抽出する。続いて、パスウェイ解析を行って、生物学的・医学的な意義を考察する。

3. 研究手法

4 週齢の SD 系雄ラットを 4 日間 F-2 食 (固形飼料、船橋農場) で順化後、亜鉛欠乏食を 2 日間与えた。3 日目の朝、2 時間絶食させた後、硫酸亜鉛溶液 (3mg ZnSO<sub>4</sub>/5mL) を経口投与 (Z-PO 群)、または腹腔投与 (Z-IP 群) した。溶液の投与量は体重あたり 5mL/kg とした。同様に、生

理食塩水を経口投与した群 (S-PO 群) を対照とした。試験溶液の投与後、再給餌を行い、3 時間経過後に断頭を行った。氷上にて迅速に脳視床下部を摘出し、ただちに液体窒素に保存し、試料とした。ホモジナイズ後、Brigh & Dyer 法で処理し、水溶性画分を誘導体化した。島津製作所トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計 GCMS-TQ8040 による MRM 法で 469 個の代謝化合物データベースに対して代謝物の分離同定を行い、代謝物の情報を得た。

4. 多変量解析

質量分析より得られた結果 (データベースに対して同定された代謝物名、保持時間、面積値、質量数など) を精査し、SIMCA13 (Umetrics 社) で多変量解析を行った。多変量解析で、はじめに PCA 法で大まかに群が分けられることを確認した後、OPLS-DA 法でより詳細に群別の情報を解析した。

まず、脳の 3 部位別の Score Plot を示す (図 4)。部位別に明確に 3 群に分けられたが、図の 1 点はマウス 1 匹のデータと対応し、この場合、経口投与 (Z-PO) 群、腹腔内投与 (Z-IP) 群、

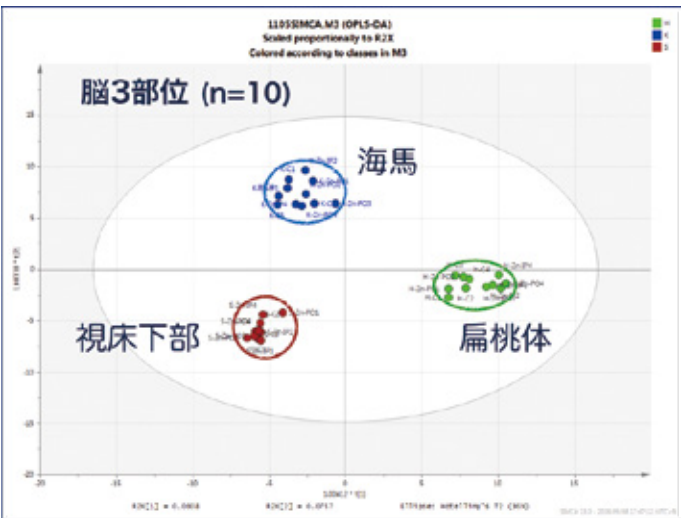


図 4 脳部位の違いによるメタボローム解析 (Score Plot)



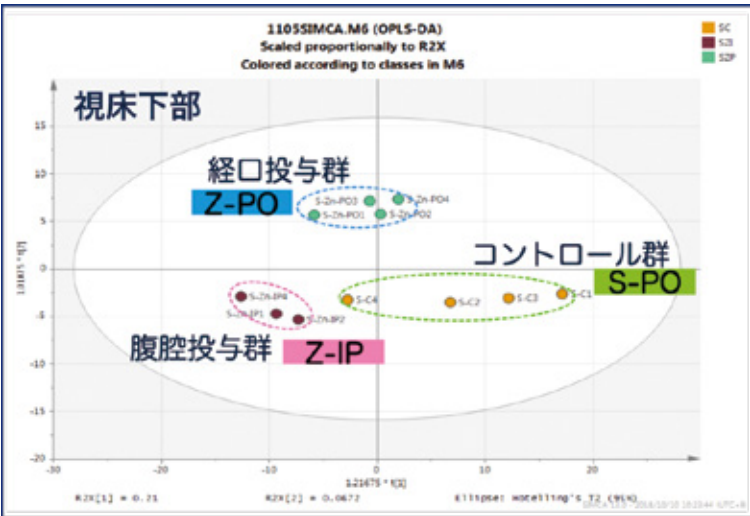


図5 脳視床下部の亜鉛投与ルート別メタボローム解析 (Score Plot)

生食 (S-PO) 群ともに部位の群内に示されている。つまり、投与ルートの差違より部位による代謝の差が著しいことを示している。このうち、視床下部の投与ルート別の3群について、さらに多変量解析を行った結果を図5に示す。生食のコントロール群は少し横にばらついたが、経口投与群とは明らかに分かれた。また、腹腔内投与群とも群別された。

次にどのような代謝物がこれらの群を分ける要因となったかを、経口投与 (Z-PO) 群と腹腔内投与群で比較し、S-plot を用いて解析した (図6, 7)。この図の1点は代謝物1個のデータと対応し、中心をゼロ点とし、上下に優位さ、左右に量の変化を示している。まず、経口投与 (Z-PO) 群および腹腔内投与 (Z-IP) 群を生食 (S-PO) 群と比較した S-plot 図を図6に示した。いずれも大きく代謝変動した化合物は少なかった。次に図7に経口投与 (Z-PO) 群および腹腔内投与 (Z-IP) 群を比較した S-plot 図を示した。右側が経口投与群、左側が腹腔内投与群である。経口投与群では有意差が大きく、かつ量も大きく増えた代謝物が多く見られた。逆に腹腔内投与群で優位な代謝物も見られたが、いずれも量の変化は小さかった。この図から得られた変動代謝物一覧を表1に示す。

この中から確実に優位とされる縦軸の絶対値

0.8以上の代謝物に関して、KEGGでパスウェイ解析した結果はすでに報告している<sup>6)</sup>。図7および表1に示すように、亜鉛を経口投与した群 (Z-PO) では、腹腔内投与した群 (Z-IP) に比べて、多くの代謝物が大きく変動した。亜鉛経口投与群 (Z-PO) ではシチジン、ピオチン、 $\beta$ -アラニン (3-Aminopropanoic acid) などの代謝物と共に、神経伝達物質や生体アミンであるドーパミン、オクトパミン、ヒポタウリン、トリプタミン、GABA (4-aminobutanoic acid) など有意に上昇した。今回は、亜鉛経口投与群において変動代謝物一覧の表に載せたすべての代謝物でパスウェイ解析を行ったので次に紹介する。

## 5. パスウェイ解析

表1で示した経口投与群の変動代謝物について、下記の方法を用いて新たに詳細なパスウェイ解析を行ったので報告する。マギル大学の Jianguo Xia 氏が開発したフリーの代謝物解析用ソフトウェア MetaboAnalyst (<https://www.metaboanalyst.ca/faces/home.xhtml>) を用いて、Functional enrichment analysis を行った (表1でグレーで示した代謝物は今回のデータベースで認識されなかったものを示している)。まず

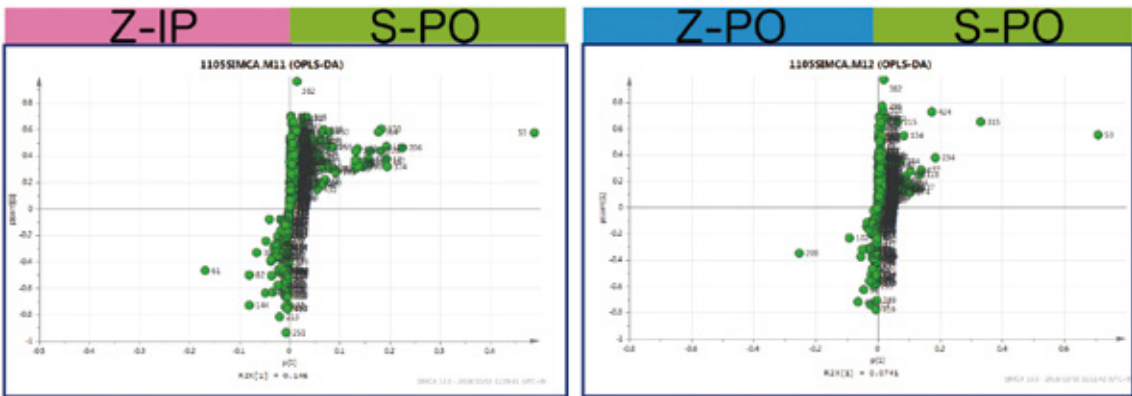


図6 亜鉛投与群と生食群との代謝物の比較 (S-plot)

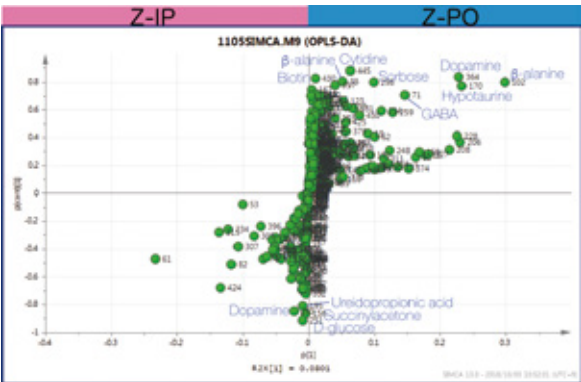


図7 亜鉛投与群の投与ルートの違いによる代謝物の比較 (S-plot)

表1 亜鉛投与群の投与ルート比較で変動した代謝物一覧

Z-IP	p(corr)[1]	Z-PO	p(corr)[1]
2-Deoxy-glucose	-0.917139	Cytidine	0.879860
Succinylacetone	-0.865848	Dopamine	0.836879
Dopamine	-0.846739	Biotin	0.826578
Ureidopropionic acid	-0.809843	3-Aminopropanoic acid	0.801198
Urocanic acid	-0.724927	3-Aminopropanoic acid	0.798292
N-Acetylaspartic acid	-0.702282	Sorbose	0.798217
Dopa	-0.692283	Octopamine	0.775087
Metoprolol	-0.691026	Hypotaurine	0.770698
Docosahexaenoic acid	-0.686056	3-Hydroxyphenylacetic acid	0.742548
3-Methylcrotonylglycine	-0.684791	Fucose	0.711274
Inositol phosphate	-0.679711	Xylitol	0.704859
Glucuronic acid	-0.674209	Tryptamine	0.703800
4-Aminobenzoic acid	-0.655633	4-Aminobutyric acid	0.702220
		Uric acid	0.697695
		O-Phospho-Serine	0.684015
		Homovanillic acid	0.675104
		Pyridoxamine	0.663149
		Dihydrouracil	0.661241
		5-Methoxytryptamine	0.638834
		Aconitic acid	0.637075
		Gluconic acid	0.632894
		N-Acetyl-Ornithine	0.632119
		O-Phosphoethanolamine	0.621337
		2-Ketoglutaric acid	0.617998
		Methionine	0.605538
		2-Aminopimelic acid	0.588305
		Citric acid	0.578208

表2 MetaboAnalyst による Pathway 解析

	Total	Hits	Raw p	-LOG(p)	Impact
beta-Alanine metabolism	19	3	0.003152	5.7598	0.57407
Citrate cycle (TCA cycle)	20	3	0.003658	5.608	0.15963
Pantothenate and CoA biosynthesis	15	2	0.02375	3.7402	0.04082
Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	16	2	0.026874	3.6166	0.44445
Pyrimidine metabolism	41	3	0.027387	3.5977	0.03038
Butanoate metabolism	20	2	0.040894	3.1968	0.02899
Alanine, aspartate and glutamate metabolism	24	2	0.057098	2.863	0.17721
D-Glutamine and D-glutamate metabolism	5	1	0.079488	2.5322	0
Biotin metabolism	5	1	0.079488	2.5322	0.16667
Taurine and hypotaurine metabolism	8	1	0.12424	2.0855	0.28571
Vitamin B6 metabolism	9	1	0.13869	1.9755	0.07843
Tyrosine metabolism	42	2	0.14931	1.9017	0.13866
Pentose and glucuronate interconversions	14	1	0.20758	1.5722	0
Fructose and mannose metabolism	19	1	0.27118	1.305	0
Propanoate metabolism	20	1	0.28331	1.2612	0
Sphingolipid metabolism	21	1	0.29523	1.22	0.01504
Cysteine and methionine metabolism	28	1	0.37357	0.98466	0.09464
Glycerophospholipid metabolism	30	1	0.39437	0.93047	0.00093
Amino sugar and nucleotide sugar metabolism	37	1	0.4621	0.77197	0
Tryptophan metabolism	41	1	0.49749	0.69818	0.0423
Arginine and proline metabolism	44	1	0.52256	0.64902	0.01198
Aminoacyl-tRNA biosynthesis	67	1	0.67872	0.38755	0
Purine metabolism	68	1	0.68425	0.37943	0.02077

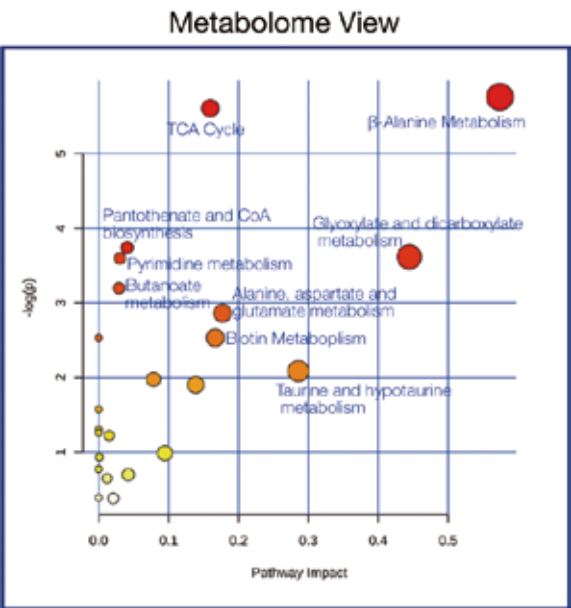


図8 表2のグラフ

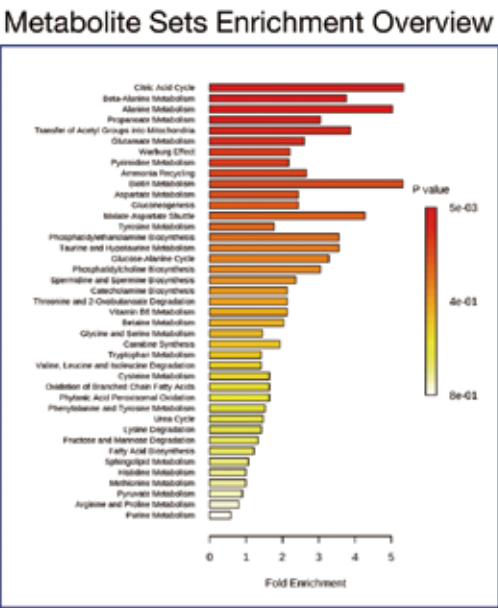


図9 MetaboAnalyst MSEAPathway 解析

MetPA (metabolic pathway analysis) でおおまかなパスウェイ解析を行った (表2 および図8)。次に MSEA (metabolite set enrichment analysis) を行った (図9)。MSEA では抽出された有意差のある代謝物の中に、特定の代謝経路の代謝物が多く含まれるとき、その代謝経路を有意と判定した。

MetPA および MSEA の両者で有意な代謝経路として、TCA 回路、 $\beta$ -アラニン代謝、ピリミジン代謝がデータベース中よりピックアップされた。これらの代謝経路を SMPDB (Small Molecule Pathway Database, <http://www.smpdb.ca/>) で検索し、パスウェイごとに有意であった代謝物を標識した。SMPDB は 350 以上のヒトなどの低分子パスウェイを含む視覚的なデータベースであり、このパスウェイ数は他のデータベースでは見られない。SMPDB は、メタボロミクスや他のオミクスにおいて、パスウェイ解明や発見をサポートするために構築されている。全てのパスウェイには、詳細な解説や文献情報、化学構造、タンパク質補助因子 (これが大事!), タンパク質や代謝物の局在、その他種々のデータベースにあるナ

レッジが含まれており、本研究のように、亜鉛を鍵物質として網羅的に解析しようとする際には、化合物を結ぶ酵素情報が豊富で、亜鉛や代謝物が補因子となっているタンパク質が一目瞭然とわかり、非常に有効な手段である。ヒトやマウス、ラット、大腸菌まで種が選択できる。一例として、SMPDB の  $\beta$ -アラニン代謝パスウェイの一部を表示する (図10)。

ピリミジン代謝および  $\beta$ -アラニン代謝

変動代謝物としてシチジン、ジヒドロウラシル、 $\beta$ -アラニンが属し、ピリミジン代謝経路のシチジンを出発代謝物として、 $\beta$ -アラニン代謝経路のジヒドロウラシルを経由して、2段階で  $\beta$ -アラニンが合成される。ここで注目すべきは、シチジンからウリジンへする際の酵素グアニンデアミナーゼ、そしてジヒドロウラシルから  $\beta$ -アラニンが合成される2段階で使われる2つの酵素ジヒドロピリミジナーゼ、 $\beta$ -ウレイドプロピオナーゼの3つの酵素が亜鉛の結合を必要とする (予測される) 亜鉛酵素であることだ。さらに  $\beta$ -アラニン代謝経路で、 $\beta$ -アラニンを合成するもう一

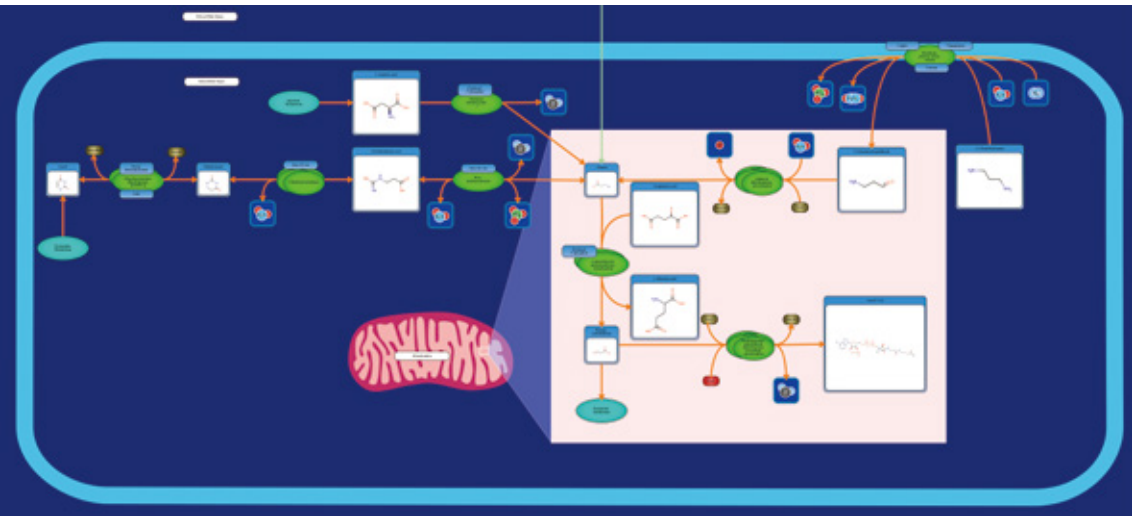


図10 SMPDB の  $\beta$ -アラニン代謝パスウェイの一部

つのルート、カルノシンとアンセリンのジペプチドの分解経路においても、必要とされる酵素  $\beta$ -Ala-His-ジペプチダーゼは亜鉛酵素であった。

TCA 回路

TCA 回路中ではクエン酸、cis-アコニット酸、 $\alpha$ -ケトグルタル酸のサイクルの右側の代謝物が有意に検出されていた。また、量は少ないが、ピ



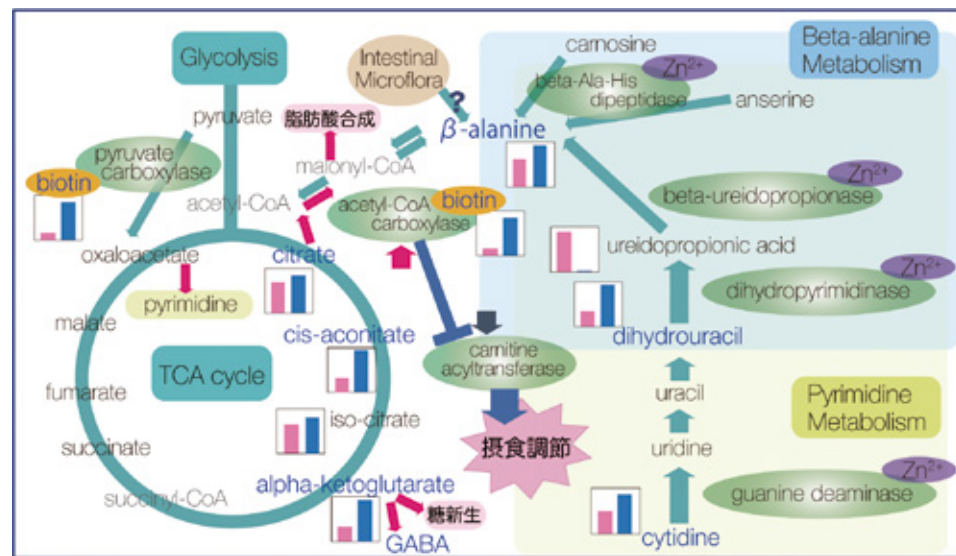


図 11 亜鉛経口投与群で起こった代謝のまとめ

今回検出された代謝物のうち、変動した代謝物は青字、検出されなかった代謝物は黒字、測定用データベースに元々ないものはグレー字で示した。

オチンが高い有意差で、経口投与群で検出されたが、ビオチンは TCA 回路中でピルビン酸をオキサロ酢酸に変換する酵素のピルビン酸カルボキシラーゼに結合し、活性化に関与する。またビオチンはクエン酸からアセチル CoA を合成し、脂肪酸合成とステロール合成の調節因子であるアセチル CoA カルボキシラーゼと結合する。

これらの代謝経路を合わせ、組み合わせたパスウェイ図を作成し、網羅的に代謝の流れを確認した (図 11)。

## 6. 考察

まず、本実験で用いた GC-MS/MS によるメタボローム解析では、低分子化合物で機器付属のデータベースに登録されている 469 化合物についてのみ帰属が可能である。したがって、摂食調節を行っていると言われるペプチドホルモンは検出できない (これは GC に限らず他の分離手段でも今のところ網羅的にはできてない)。さらに、TCA サイクルにおける CoA 類も検出できない。しかしながら、解糖系から TCA サイクル中の他のほ

とんどの化合物は検出可能であり、中心代謝の流れはカバーできている。さらにアミノ酸や神経伝達物質についてはほとんど網羅されている。

以上から、今回有意にヒットした代謝経路を複数合わせ、代謝物を繋いで、まとめた代謝図が図 11 である。結果でも述べたように、ピリミジン代謝経路中のシチジンが亜鉛酵素によってウリジンとなり、ジヒドロウラシルとなって  $\beta$ -アラニン代謝経路にはいり、ここでも亜鉛酵素の働きで  $\beta$ -アラニンを合成したと考えられる。またカルノシン、アンセリンの分解でも亜鉛酵素が働き、 $\beta$ -アラニンの合成が進み、結果的に量も多く、有意差も高くなった。さらに  $\beta$ -アラニンはマロニル CoA からアセチル CoA、そして TCA 回路に組み込まれる。

TCA 回路ではクエン酸から  $\alpha$ -ケトグルタル酸まで進み、この先の TCA 回路では代謝物は検出されなかった。つまり、 $\alpha$ -ケトグルタル酸から糖新生や GABA の産生に向けた可能性がある。GABA は変動代謝物として多く検出され、神経伝達物質として、摂食調節に機能していることが推察される。

また、ビオチンが量は少ないものの高い有意差を持って検出されたが、動物体内では合成されない。腹腔内投与群に比較して増えたということは、経口投与で腸管を経由したことで腸内細菌が刺激され、産出を始めた可能性がある。このビオチンは各種カルボキシラーゼの機能に必須で、TCA 回路ではピルビン酸からオキサロ酢酸へ代謝を行うピルビン酸カルボキシラーゼを活性化し、ピリミジン産生に繋がったと考えられる。このピリミジンは前に述べたピリミジン代謝経路へとはいり、また  $\beta$ -アラニン産生へと向かう。さらにビオチンはアセチル CoA のアセチル基に  $\text{CO}_2$  を結合させてマロニル CoA を合成する酵素のアセチル CoA カルボキシラーゼの補酵素として働き、脂肪酸合成の律速している。また TCA 回路中オキサロ酢酸は続いてクエン酸へと変換され、クエン酸の量も増えていることから、ここからもアセチル CoA を作る方向に動くと思われる。 $\beta$ -アラニンは補酵素 (CoA) を構成するパントテン酸の一部であり、CoA 合成に重要な分子であるが、 $\beta$ -アラニンもまた、腸内細菌が産生したものを吸収している可能性がある。

一方で、代謝経路には属していないが、表 1 で、亜鉛投与群で変動した代謝物一覧には、ドーパミン、オクトパミン、ヒポタウリン、トリプタミン、GABA などの神経伝達物質や生体アミンが多く見られた。オクトパミンは昆虫では飢餓シグナル因子として摂食を亢進させることがわかっている<sup>7)</sup>。このオクトパミンが検出されたことから、この生体アミン、もしくは今回検出された他の神経伝達物質が、直接摂食のシグナル伝達に関与している可能性が示唆される。

## おわりに

以上、亜鉛を経口で投与した場合の代謝を詳細に検討した。今回、いくつかの亜鉛酵素が働いて代謝経路を動かしたことがわかった。脳内の亜鉛量は厳密に維持されており、経口投与群でも腹腔内投与群でも大きな差はないと思われる。しかしながら亜鉛投与後 3 時間での代謝を切り取って測定しているため、例えば神経伝達物質による直接のシグナル伝達の他に腸管から素早く運ばれた可能性もあるのではないかと。亜鉛を鍵物質として、亜鉛の機能を網羅的に解析しようという「Zincome」の観点から、今回のようにオミクスデータをより情報量の多いデータベースを用いて解析することで、単なる代謝解析にとどまらず、今まで気づけなかったような知見をも与えてくれる。現在は基礎研究においては材料であったり、手法であったり、限られた範疇での解析となっていることが多い。また臨床の場合は、マクロな現象から一つ一つ解きほぐす必要があるが、今回のようなメタボロミクスのアプローチを試みることで、DNA やタンパク質よりも生体に近い情報を得ることができ、また、より表現型に近い観点から DNA まで一気に迫ることができる。さらに現在は特にヒトのデータベースが充実してきており、臨床応用に特に利点があると思われる。

代謝物と亜鉛の関係をパスウェイマップから解明できることは、新たな代謝の見方ができ、また、亜鉛の新たな機能の発見にも繋がる可能性がある。今後は亜鉛シグナルのスタートがいつで、どこでどの役者が引き金を引くのか、網羅的な観察から検証してみたい。

## ◆文 献

- 1) Andreini, C., Bertini, I., & Rosato, A. et al : Count- ing the zinc-proteins encoded in the human genome. J. Proteome Res., 5 : 196-201, 2006
- 2) Andreini, C. & Bertini, I : A bioinformatics view of zinc enzymes. J. Inorg. Biochem., : 111, 150-156, 2012
- 3) Ohinata K, Shirakawa H, Komai M et al : Orally administered zinc increases food intake via vagal stimulation in rats. J. Nutr., 139(3) : 611-6, 2009
- 4) 西内美香, 大谷昌道, 紺野亜衣 他 : 周術期の血清亜鉛濃度と栄養補助食品の有用性について. ヒューマンニュートリション No.31, : 71, 2014
- 5) 酒井久美子 : 肥満研究におけるメタボロミクス解析の今 - GC-MS/MSのターゲットメタボロミクスは組織間の代謝の違いを簡単に明らかにする - 「肥満研究」 Vol23, No2 : 149-155, 2017
- 6) Mika Nishiuchi, Kumiko Sakai, Michio Komai et al : Orexigenic action of oral zinc: metabolomic analysis in the rat hypothalamus. Biosci. Biotech & Biochem. 82(12) : 2168-2175, 2018
- 7) Suo, S., Culotti, J. G. and Van Tol, H. H. M. : Dopamine counteracts octopamine signalling in a neural circuit mediating food response in *C. elegans*. EMBO J. 28(16) : 2437-48, 2009

## Metabolomics reveals orexigenic mechanisms of oral zinc in the rat hypothalamus from the viewpoint of “zinc-ome”

Kumiko Sakai<sup>1)</sup>, Mika Nishiuchi<sup>2,3)</sup>, Hitoshi Shirakawa<sup>3)</sup>, Michio Komai<sup>3)</sup>

- 1) Institute for Research Promotion, Faculty of Medicine, Oita University
- 2) Department of Human Health and Nutrition, Shokei Gakuin University
- 3) Laboratory of Nutrition, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University

During perioperative period in patients who underwent surgery, serum zinc concentration decreases and food intake is suppressed. We here investigated the mechanism of the orexigenic action of zinc using GC-MS/MS-targeted metabolomic analysis in the rat hypothalamus. Four-week-old SD rats were used, and zinc solution were administered to each rat either orally or intraperitoneally. Three hours after administration, the rats were sacrificed and the hypothalamus were excised and analyzed. We found that the oral administration group showed increased concentrations of more metabolites than that of the intraperitoneal administration group. These differential metabolites were used for pathway analysis and several pathways were enriched significantly. Some of these pathways consisted of the beta-alanine metabolism, the TCA cycle, pyrimidine metabolism and biotin metabolism. In these pathways beta-alanine and biotin were key metabolites and some zinc proteins were found. With the availability of metabolomics techniques, attractive progress has been made in understanding zinc signaling networks called “zinc-ome”.

Keyword : zinc nutrition, orexigenic action, metabolome, pathway analysis, zinc protein

Address for correspondence  
Kumiko Sakai

Phone : 0975866226  
Fax : 0975866202

E-mail address  
kumi@oita-u.ac.jp



## ◆酒井久美子略歴

1977 年	日本女子大学理学部化学科卒業
	三菱化成生命科学研究所 研究助手
1990 年	大分医科大学医学部教務員, 医学博士取得
2002 年	大分大学医学部全学研究推進機構, 助教