

総説

腸管機能における
亜鉛の重要性について石川県立大学 生物資源環境学部 食品科学科
東村泰希

要約

腸は摂取した食物が通過する管であり、食品由来の亜鉛を吸収する場である。しかしながら、腸は単なる消化・吸収器官に留まらず、バリア組織や内分泌器官、または内包する多彩な微生物叢が有する代謝系を駆使した発酵タンクとしての側面も有する。そのため、腸機能の異常は炎症性腸疾患に代表される腸に局限した疾患のみならず、全身性の代謝疾患や神経疾患など、実に多くの疾病発症に関与する。また、必須微量元素である亜鉛に関しては、従来からの酸化能や酵素活性制御に基づく機能に加え、亜鉛トランスポーターによって厳密に制御された亜鉛イオンが特定のタンパク質の機能を特異的に制御する様相（亜鉛シグナル）が明らかとなりつつあり、生命現象における亜鉛の重要性がますます注視されている。本稿では、上述のような多彩な腸機能に対する亜鉛の重要性について、特にバリア機能を担保する tight junctions 形成と、腸内細菌叢の形成に多大な影響を及ぼす Paneth 細胞の機能や発達に対する亜鉛の影響について、最近の知見を紹介する。

KEY WORDS 腸, タイトジャンクション, パネート細胞, 亜鉛シグナル

はじめに

亜鉛は生命活動に必要な必須微量元素であり、その多くは食品として摂取されている。従来、亜鉛欠乏は稀と考えられてきたが、食習慣の変化とともにその様相は変化し、2006年のKuboriらの報告によると、日本人口の約20%が潜在的亜鉛欠乏症(marginal zinc deficiency)を呈している¹⁾。また世界的には、発展途上国を中心とし、約25%が亜鉛欠乏症の危機に瀕している²⁾。近年、味覚障害に限らず多くの不定愁訴の原因に亜鉛欠乏が関与している可能性が指摘されている。生体における亜鉛の役割としては、皮膚代謝や成長・発達、ホルモン合成、また味覚をはじめとする感覚

機能などへの影響が挙げられる。亜鉛の多くは金属酵素として存在しており、生体の維持に欠かせない多くの酵素において、酵素タンパク質の活性中心に配位している。また、ヒトゲノムの解読により約1割の遺伝子が亜鉛結合ドメインをコードすることが明らかとなり、亜鉛の持つ普遍的な重要性が注目されている。さらに近年、細胞内の亜鉛イオンが亜鉛トランスポーターによって厳密に制御されている様相が解明されつつあり、これら亜鉛イオンが特定のタンパク質の機能を特異的に統御することで様々な生命現象を制御する亜鉛シグナルの概念が提唱されている³⁾。亜鉛トランスポーターは細胞内の亜鉛イオンレベルを上昇させるSLC39/ZIPファミリーと⁴⁾、減少させる

SLC30/ZnTファミリーから構成される⁵⁾。これら亜鉛トランスポーターの生理的意義については、ノックアウトマウスをはじめとする遺伝学的な研究手法の発達に伴い大きく解明が進んでいる。

腸は摂取した食物が通過する管であり、食品中の亜鉛はもちろん腸、特に小腸において吸収される。小腸からの亜鉛吸収を担うトランスポーターはSLC39/ZIPファミリーに属するZIP4であり、腸性肢端皮膚炎の原因遺伝子として知られる⁶⁾。ZIP4を腸管上皮特異的に欠損したマウスは著しい成長遅延が生じる⁷⁾。また腸は単なる消化・吸収器官に留まらず、外界(腸管腔)と内部(生体内)を隔てるバリア組織としての機能や、消化管ホルモンを産生する内分泌器官としての側面も有する。さらに管腔内に存在する多種多様な微生物叢は、独自の代謝系を駆使して宿主にとって有益な代謝物を提供しているという点から、腸は発酵タンクとして考えることもできる。この微生物叢の形成に多大な影響を及ぼす細胞集団が腸内には存在することも明らかとなりつつある。本稿では、上述のような多彩な腸機能に対する亜鉛の重要性について、最近の知見を紹介する。

1. tight junctions と亜鉛機能

腸はバリア組織としての機能を有する。腸の管腔表面は細胞同士が密接に集合・結合した上皮構造を形成しており、その多くは吸収上皮細胞から構成される。この上皮細胞間で形成される細胞間隙はtight junctionsとよばれ、腸管バリア機能の根幹を成す機構である。このバリア機能の低下は炎症性腸疾患や過敏性腸症候群、食物アレルギーなど多くの疾病発症に深く関与している。tight junctionsを介した腸管バリア機能に対して、亜鉛は保護的に作用することが知られている。実際に、炎症性腸疾患のひとつであるCrohn病の患者において散見される“leaky gut (バリア機能の低下した浸漏性の高い腸壁)”に対して亜鉛補充が奏功することが報告されているが⁸⁾、その詳細な分子機序に関しては不明であった。本項では、近年明らかとなりつつある腸管バリア機能に対す

る亜鉛の保護作用に関して、亜鉛感受性受容体であるGPR39を介した機構と、亜鉛トランスポーターであるZIP14を介した機構について紹介する。

a. 亜鉛感受性受容体 GPR39 を介した作用

生体内には約1,000種類ものGタンパク共役型受容体(GPR)が存在し、スーパーファミリーを形成している。それゆえ、GPRは生体における様々な機能制御に関与しており、それらシグナルを制御することが各種疾患の治療に繋がること示唆されている。GPRの一つであるGPR39は、グレリン受容体ファミリーに属しており、その発現部位やノックアウトマウスの表現型から、栄養吸収や糖・エネルギー代謝などへの関与が示唆されている。2007年のYasudaらの報告において、GPR39の内因性リガンドが亜鉛イオンであることが明らかとなり⁹⁾、亜鉛機能におけるGPR39の関与が注目されている。

腸管において、GPR39は上皮細胞に多く発現しており、Na⁺/H⁺交換輸送体の発現調節や上皮構造の修復を亜鉛依存的に執り行うことが報告されている^{10,11)}。腸管バリア機能、すなわちtight junctionsの形成に及ぼすGPR39の関与に関しては、2014年にCohenらが、tight junctions形成におけるモデル細胞として知られるCaco-2細胞(ヒト結腸がん細胞株)とノックアウトマウスを用いた研究により明らかにしている¹²⁾。Cohenらは、GPR39をノックダウンしたCaco-2細胞ではtight junctions形成タンパク質であるoccludinとZO-1の発現低下に起因した細胞間透過性の亢進(つまりバリア機能の低下)を見出しており、その作用機序として亜鉛依存的なAkt-mTORシグナル経路活性化の減弱が関与する可能性を示している。さらにCohenらは、GPR39ノックアウトマウスの大腸組織においても同様に、occludinとZO-1の発現低下が認められることを示しており、亜鉛とGPR39を介した腸管バリア機能の制御を*in vivo*において明らかにした(図1A)。さらに近年、Shaoらが亜鉛による腸管バリア機能制御に関する詳細な分子機序を報告した¹³⁾。ShaoらはCaco-2細胞を用いた実験において、硫酸

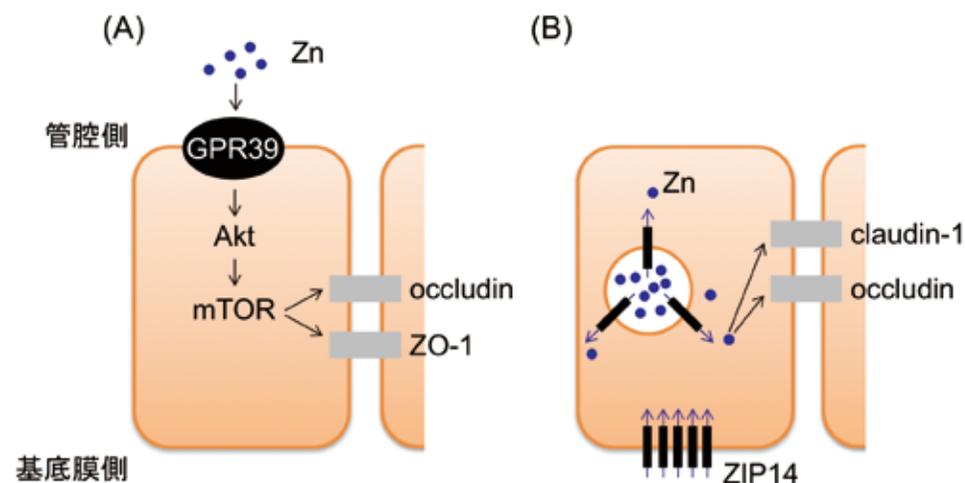


図1 tight junctions 形成と亜鉛機能について

- (A) GPR39 を起点とした亜鉛依存的な Akt-mTOR 経路の活性化は、occludin と ZO-1 の発現制御を介して tight junctions 形成に寄与する¹²⁾。
 (B) ZIP14 の制御下において細胞内に放出された亜鉛イオンは、occludin のリン酸化と claudin-1 の発現調節を介して tight junctions 形成に寄与する¹⁶⁾。

亜鉛を添加することで腸管透過性が維持されることを明らかにし、その背景には PI3K-Akt-mTOR 経路活性化に起因した Caco-2 細胞の増殖促進ならびに、tight junctions を形成する成熟細胞への分化促進が関与することを見出した。すなわち上記成果により、亜鉛が GPR39 を介して腸管バリア機能を増強することが *in vitro* ならびに *in vivo* において、その詳細な作用機序とともに明らかとなった。

b. 亜鉛トランスポーター ZIP14 を介した作用

上述したとおり、亜鉛トランスポーターにより制御された亜鉛イオンが特定のタンパク質の機能を特異的に制御する機構、すなわち亜鉛シグナルの概念が注目されている¹⁴⁾。亜鉛シグナルの伝達機序としては、近接してきた亜鉛結合性ドメインを有するタンパク質に亜鉛が授与される“associative mechanism”が提唱されており、亜鉛シグナルの特異性は近接する分子間の特異性に依存することが示唆されている。SLC39/ZIP ファミリーに属する ZIP14 は細胞膜表面とエンドソーム膜に局在する亜鉛トランスポーターであり、その発現は肝臓や腸管において多く認められる。肝

臓においては、肝細胞内における亜鉛イオンレベルを制御することで、protein tyrosine phosphatase 1B の活性制御と、それに続く c-Met のリン酸化を介して肝細胞の増殖調節を担っている¹⁵⁾。しかしながら、腸管における ZIP14 発現の意義に関しては不明であった。2015 年に Guthrie らは、腸管における ZIP14 発現は上皮細胞の基底膜側に局在しており、特に細胞内においてはエンドソーム膜に発現していることを見出した¹⁶⁾。その生理学的意義に関しては、基底膜側から上皮細胞内への亜鉛輸送に際して、ZIP14 はエンドソーム形成を介した亜鉛取り込みを制御するとともに、取り込まれたエンドソーム内から細胞質内へと亜鉛を輸送する、すなわち細胞内亜鉛イオンレベルの上昇に寄与する。ZIP14 の制御下において細胞内に放出された亜鉛イオンは PKC δ の活性制御と、それに続く occludin のリン酸化、claudin-1 の発現調節を介して、tight junctions の形成に寄与することを明らかにした(図 1 B)。

さらに近年、腸管上皮組織において上皮細胞内の亜鉛が tight junctions 形成を制御する様相が詳述されている¹⁷⁾。Miyoshi らは、細胞膜透過型の亜鉛キレーターにより細胞内の亜鉛をキレートす

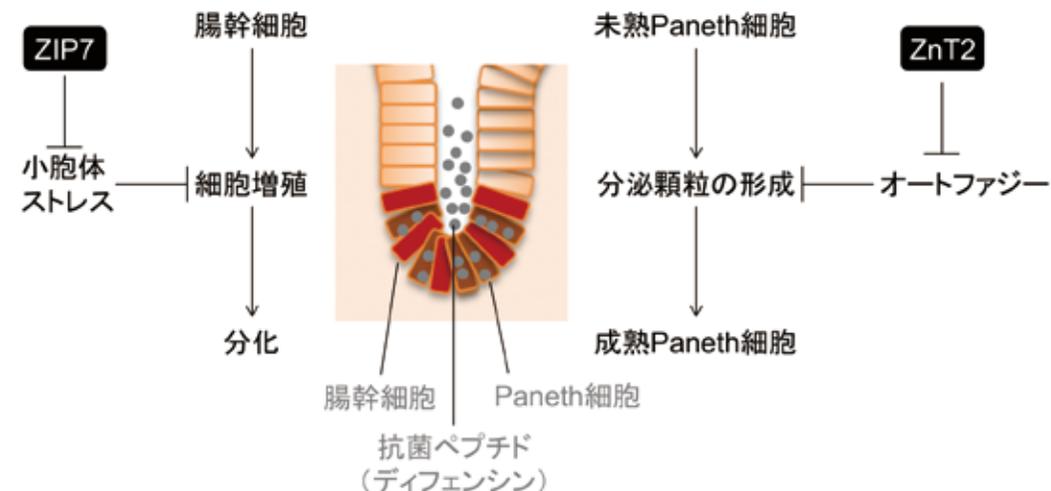


図2 Paneth 細胞の発達に及ぼす亜鉛トランスポーターの役割

- ZIP7 欠損マウスの腸幹細胞では小胞体ストレスの蓄積に伴うアポトーシスが進行し、Paneth 細胞の発達異常が生じる²¹⁾。また、ZnT2 欠損マウスの Paneth 細胞では、内部に亜鉛を含まない分泌顆粒が発生し、これら未成熟な分泌顆粒はオートファジーにより分解される。その結果、ZnT2 欠損マウスでは分泌顆粒に乏しい発達不全の Paneth 細胞が優位な状態となる²⁵⁾。

ることで tight junctions 形成が損なわれることを明らかにした。その詳細な作用機序としては、tight junctions 形成タンパク質である occludin と claudin-3 の発現低下に端を発する。occludin に関しては、カルシウム依存性の非リソソームシステインプロテアーゼである calpain を介したタンパク質分解が亜鉛欠乏細胞では活性化することで、occludin の発現低下をもたらす。また claudin-3 に関しては、転写因子である early growth response 1 を介した claudin-3 の転写制御が、亜鉛欠乏細胞では低下する。すなわち腸管上皮細胞内における亜鉛イオンは、tight junctions 形成タンパク質の発現レベルを翻訳後段階や転写段階など複合的に制御することで腸管バリア機能の維持に寄与していることが明らかとなった。

2. Paneth 細胞と亜鉛機能

腸の表面は襞状の構造をしており、谷底にあたる部分は腸陰窩とよばれる。腸陰窩の底部には Paneth 細胞とよばれる細胞集団がある。Paneth 細胞は多数の分泌顆粒を内包しており、ディフェンシンに代表される抗菌ペプチドを産生すること

で、腸内細菌叢の形成に寄与することが知られている¹⁸⁾。Paneth 細胞と亜鉛の関係については古くより知られており、まだ Paneth 細胞の機能が明らかでない 1993 年に、亜鉛結合タンパク質である zinc-binding protein of Paneth cells (ZBPP-1) が細胞質顆粒に局在することが、Sawada らによって報告されている¹⁹⁾。その後、アミノ酸配列の解析により ZBPP-1 が NAD⁺ 依存性の酸化還元酵素であるキサンチンデヒドロゲナーゼであることが明らかとなった²⁰⁾。

Paneth 細胞に関しては、亜鉛トランスポーターとの関連も明らかとなりつつある。SLC39/ZIP ファミリーに属する ZIP7 は小胞体に局在しており、小胞体内部から細胞質ゾルへの亜鉛輸送を制御している。2016 年に Ohashi らは、ZIP7 が腸陰窩に高発現することを見出し、ノックアウトマウスを用いた遺伝学的手法によりその生理学的意義を明らかにした²¹⁾。ZIP7 欠損マウスの腸陰窩では腸幹細胞が消失しており、その結果として Paneth 細胞の発達不全が生じることが明らかとなった。またその分子機序としては、ZIP7 欠損マウスの腸幹細胞では小胞体ストレスの蓄積に伴うアポトーシスが進行することが提唱されている(図 2)。

さらに、SLC30/ZnTファミリーに属するZnT2とPaneth細胞に関する知見も報告されている。乳腺や前立腺などの分泌上皮細胞に発現する亜鉛トランスポーターであるZnT2は²²⁾、細胞内においてはlysosomeなどの細胞内小器官に局在しており、細胞質ゾルから細胞内小器官への亜鉛輸送を制御している²³⁾。腸においても陰窩での発現が確認されているが²⁴⁾、その生理的な意義に関しては不明であった。Podanyらは、腸陰窩におけるZnT2の発現解析をおこない、Paneth細胞の分泌顆粒にZnT2が局在することを明らかにした²⁵⁾。またノックアウトマウスを用いた解析より、ZnT2欠損に伴いPaneth細胞分泌顆粒内の亜鉛が消失し、これら亜鉛を含有しない顆粒はオートファジーにより分解されることを見出した(図2)。すなわち、ZnT2欠損マウスの腸陰窩では、分泌顆粒に乏しい発達不全のPaneth細胞が優位な状態となることから、腸内細菌叢への影響が示唆される。そこでPodanyらは、野生型マウスとZnT2欠損マウスの腸内細菌叢を16Sメタゲノム解析により評価した。その結果、主成分分析を用いた全体的な菌叢バランスに関しては両者において明確な差異は認められなかったものの、ZnT2欠損マウスではBacteroidales S24-7の占有率が顕著に増加することが明らかとなった。Bacteroidales S24-7占有率

と大腸炎の発症には正の相関関係にあることがマウスを用いた実験に示唆されている²⁶⁾。

おわりに

本稿で紹介したように、亜鉛は細胞外および細胞内における複数の作用起点より、tight junctionsを介した腸管バリア機能を保護あるいは強固にすることが明らかとなっている。さらに、腸内細菌叢の形成に多大な影響を及ぼすPaneth細胞の機能や発達に関しても、亜鉛、特に亜鉛シグナルが重要な役割を果たすことが明確となってきた。冒頭で述べたように、腸は単なる消化・吸収器官ではなく、バリア組織や内分泌器官、発酵タンクなど様々な機能的側面を持つ。そのため、腸機能の異常は炎症性腸疾患に代表される腸に局限した疾患のみならず、肥満や糖尿病などの代謝性疾患、うつや多発性硬化症といった神経系疾患など、実に多くの疾病発症に関与する。言い換えれば、腸機能における亜鉛の重要性を明らかにすることは、多くの疾病に対する亜鉛補充治療の有効性を担保する一助となりうる。今後、亜鉛が標的とする分子やシグナル経路に関する詳細が明らかとなることで、疾病発症も含めたより多くの生命現象に対する亜鉛の生理的意義が解明されることを期待したい。

◆文献

- 1) Kubori S, et al : Differences in the serum zinc level of rural and urban residents in a city in the central part of Japan, examined at annual community-wide health examination. *Biomed Res Trace Elements* 17 : 335, 2006
- 2) Maret W, et al : Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *J Trace Elem Med Biol* 20 : 3, 2006
- 3) Maret W : Zinc biochemistry : from a single zinc enzyme to a key element of life. *Adv Nutr* 4 : 82, 2013
- 4) Jeong J, et al : The SLC39 family of zinc transporters. *Mol Aspects Med* 34 : 612, 2013
- 5) Huang L, et al : The SLC30 family of zinc transporters - a review of current understanding of their biological and pathophysiological roles. *Mol Aspects Med* 34 : 548, 2013
- 6) Kury S, et al : Identification of SLC39A4, a gene involved in acrodermatitis enteropathica. *Nat Genet* 31 : 239, 2002
- 7) Geiser J, et al : A mouse model of acrodermatitis enteropathica : loss of intestine zinc transporter ZIP4 (Slc39a4) disrupts the stem cell niche and intestine integrity. *PLoS Genet* 8 : e1002766, 2012
- 8) Sturniolo GC, et al : Zinc supplementation tightens "leaky gut" in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 7 : 94, 2001
- 9) Yasuda S, et al : Isolation of Zn²⁺ as an endogenous agonist of GPR39 from fetal bovine serum. *J Recept Signal Transduct Res* 27 : 235, 2007
- 10) Azriel-Tamir H, et al : Extracellular zinc triggers ERK-dependent activation of Na⁺/H⁺ exchange in colonocytes mediated by the zinc-sensing receptor. *J Biol Chem* 279 : 51804, 2004
- 11) Sharir H, et al : Zinc released from injured cells is acting via the Zn²⁺-sensing receptor, ZnR, to trigger signaling leading to epithelial repair. *J Biol Chem* 285 : 26097, 2010
- 12) Cohen L, et al : The zinc sensing receptor, ZnR/GPR39, controls proliferation and differentiation of colonocytes and thereby tight junction formation in the colon. *Cell Death Dis* 5 : e1307, 2014
- 13) Shao Y, et al : Zinc enhances intestinal epithelial barrier function through the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in Caco-2 cells. *J Nutr Biochem* 43 : 18, 2017
- 14) Fukada T, Yamasaki S, Nishida K, Murakami M, Hirano T. : Zinc homeostasis and signaling in health and diseases : Zinc signaling. *J Biol Inorg Chem* 16 : 1123-1134, 2011
- 15) Aydemir TB, et al : The zinc transporter Zip14 influences c-Met phosphorylation and hepatocyte proliferation during liver regeneration in mice. *Gastroenterology* 142 : 1536, 2012
- 16) Guthrie GJ, et al : Influence of ZIP14 (slc39A14) on intestinal zinc processing and barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 308 : G171, 2015
- 17) Miyoshi Y, et al : Cellular zinc is required for intestinal epithelial barrier maintenance via the regulation of claudin-3 and occludin expression. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 311 : G105, 2016
- 18) Ayabe T, et al : Secretion of microbicidal alpha-defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria. *Nat Immunol* 1 : 113, 2000
- 19) Sawada M, et al : A Paneth cell specific zinc-binding protein in the rat. Purification and immunohistochemical localization. *Lab Invest* 68 : 338, 1993
- 20) Morita Y, et al : Identification of xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase as a rat Paneth cell zinc-binding protein. *Biochim Biophys Acta* 1540 : 43, 2001
- 21) Ohashi W, et al : Zinc Transporter SLC39A7/ZIP7 Promotes Intestinal Epithelial Self-Renewal by Resolving ER Stress. *PLoS Genet* 12 : e1006349, 2016
- 22) Kelleher SL, et al : Zinc in specialized secretory tissues : roles in the pancreas, prostate, and mammary gland. *Adv Nutr* 2 : 101, 2011
- 23) Seo YA, et al : Functional analysis of two single nucleotide polymorphisms in SLC30A2 (ZnT2) : implications for mammary gland function and breast disease in women. *Physiol Genomics* 42A : 219, 2010
- 24) Liuzzi JP, et al : Differential regulation of zinc transporter 1, 2, and 4 mRNA expression by dietary zinc in rats. *J Nutr* 131 : 46, 2001
- 25) Podany AB, et al : ZnT2-mediated zinc import into paneth cell granules is necessary for



◆東村泰希略歴

2008年	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生命科学専攻博士前期課程修了
2009年	日本学術振興会 特別研究員 DC2
2011年	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生命科学専攻博士後期課程修了 大阪府立大学 21世紀科学研究機構 非常勤研究員
2012年	京都府立医科大学大学院医学研究科生体食品機能学講座 助教
2016年	石川県立大学生物資源環境学部食品科学科 助教

coordinated secretion and paneth cell function in mice. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2 : 369, 2016
26) Schwab C, et al : Longitudinal study of murine

microbiota activity and interactions with the host during acute inflammation and recovery. *ISME J* 8 : 1101, 2014

Essential roles of zinc on intestinal function

Yasuki Higashimura

Department of Food Science, Ishikawa Prefectural University

In addition to the digestive and absorption functions, intestinal tract also have diverse functions such as barrier function and hormone secretion. The intestinal tract also functions as a fermentation tank supported by a microbial flora with a unique metabolic system. Thus, abnormalities in intestinal function are involved in the development of numerous diseases including not only diseases localized to the intestine, such as inflammatory bowel disease but also systemic metabolic diseases and neurological diseases. Zinc is an essential trace element and its homeostasis is controlled tightly by zinc transporters of two types, Slc39/ZIP importers and Slc30/ZnT exporters. We introduce here the influence of zinc on the formation of tight junctions and the development of Paneth cells.

Keyword : intestine, tight junction, Paneth cell, zinc signal

Address for correspondence

Dr. Yasuki Higashimura

Department of Food Science, Ishikawa Prefectural University, Nonouchi, Ishikawa, 921-8836, Japan

Tel : +81-76-2277462

Fax : +81-76-2277410

E-mail address

yasuki@ishikawa-pu.ac.jp