

# 細胞内栄養素としての亜鉛 —細胞死における亜鉛シグナルの機序解明—

深 田 俊 幸

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 上級研究員  
(現 昭和大学歯学部口腔病態診断学講座口腔病理学部門 助教)

## 緒 言

亜鉛は生命維持に必須な栄養素であり、食物や飲料を介して常に補給する必要がある。成人は約2gの亜鉛を有し、その維持のために1日に10～15mgの亜鉛の摂取を必要とする<sup>1)</sup>。亜鉛摂取量の低下は、免疫不全、成長遅延、骨密度低下、皮膚炎、味覚異常、生殖障害等の異常を伴う亜鉛欠乏症の原因となる。生体の亜鉛量は概日リズムに応じて変動し、加齢とともに減少する傾向があり、体内時計や加齢に関連する疾患に影響を与えていると考えられている。また、偏ったダイエットによっても亜鉛恒常性が変動することが判明し、亜鉛への一般的な関心が高まっている。さらに、ヒトゲノムに存在する約10%もの遺伝子群がZinc fingerなどの亜鉛結合配列をコードすることが判明し、生命活動における亜鉛の重要性がコンピューター解析からも示されている<sup>1)</sup>。

亜鉛の細胞内外の恒常性は、亜鉛トランスポーターが制御している<sup>2)</sup>。申請者は亜鉛トランスポーターの研究過程で、亜鉛イオンがシグナル因子として機能すること、この亜鉛シグナルの異常が疾患の原因になることを見出した<sup>3,4)</sup>。これら一連の研究結果は、亜鉛シグナルによる情報伝達が亜鉛の必須栄養素としてのメカニズムの一端を示すものである。

一方で、亜鉛欠乏は免疫系に重篤な支障をもたらし、免疫不全や自己免疫疾患への関与が示されている。特に亜鉛の代謝異常はリンパ球の減少をもたらすことが知られているが、その分子メカニズムは明らかにされていない。本研究では、免疫組織に発現する亜鉛トランスポーターZIP10に焦点を当てて、その亜鉛シグナルの役割解明を目標とした。亜鉛トランスポーターZIP10はB細胞などの免疫系細胞に多く発現するが、生理的役割は明らかではない。ZIP10の役割を明らかにするために、遺伝子欠損マウスを作製して解析した。

## 結 果

### 1. 遺伝子欠損マウスの表現型解析

ZIP10のコンディショナル遺伝子欠損マウス(*Zip10<sup>fllox</sup>*マウス)を*Mb1-cre*トランスジェニックマウスと交配して、B細胞系列でZIP10を遺伝子欠損させたマウス(*Zip10<sup>Mb1</sup>*マウス)を作製した。このマウスのB細胞の表現型についてFACSを用いて詳細に解析した。その結果、当該マウスの外見に異常は見られないが、脾臓組織の顕著な萎縮(図1A)、抹消血中のB細胞の減少(図1B)および全ての抗体クラススの著明な減少(図1C)を認めた。

### 2. ZIP10のB細胞初期分化への影響

ZIP10はB細胞への分化誘導に細胞自律的に関与するのか確認するために、B細胞の初代培養系を用いて検証した。まず、*Zip10<sup>Mb1</sup>*マウス由来の造血幹細胞を用いてB細胞の分化誘導実験を行った。その結果、*Zip10<sup>Mb1</sup>*マウス由来の造血幹細胞を用いた場合はB細胞への分化誘導が認められず、ZIP10はB細胞への分化誘導に細胞自律的に関与することが示唆された。

### 3. ZIP10はB細胞初期発生段階において細胞死の抑制に必須である

ZIP10の機能を詳細に調べるために、タモキシフェン処理によって誘導的にZIP10を除去できるマウス(*Zip10<sup>Rosa26</sup>*マウス)を作製し、このマウスの骨髄からpro-B細胞を単離してB細胞の初代培養系を用いて検証した。その結果、タモキシフェン処理によって誘導的にZIP10を除去すると、細胞内亜鉛量の減少とCaspase-3の活性化を伴うアポトーシスが惹起された。同様の結果は、サイトカイン依存性骨髄由来細胞株BAF-B03からZIP10をsiRNAでノックダウンした場合や、細胞内亜鉛をTPENによって人工的に除去した場合でも認められ

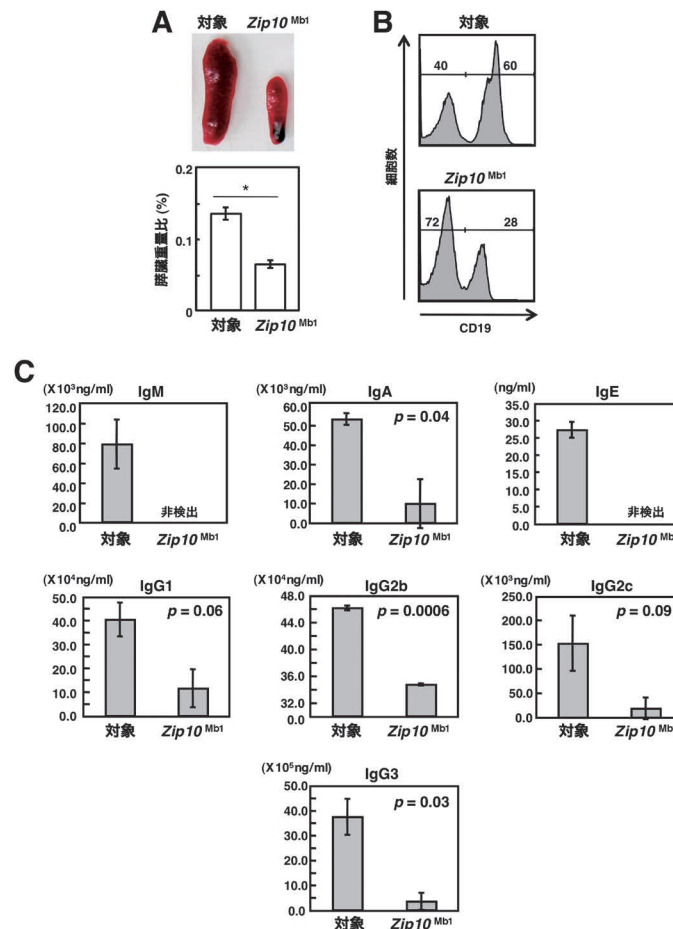


図1 Zip10<sup>Mbi</sup> マウスにおける脾臓萎縮 (A, ★:  $p < 0.05$ )、抹消血中のB細胞の減少 (B) と血清中免疫グロブリン値の低下

た。これらの結果から、ZIP10を介する亜鉛シグナルが caspase-3の活性化を介するアポトーシスの惹起に対して抑制的に機能していることが示唆された。

#### 4. ZIP10の発現はJAK-STATシグナル経路によって誘導される

サイトカインは、B細胞の初期発生時における細胞増殖と分化に重要に関わっている。サイトカインによるJAK-STATシグナル経路の活性化とZIP10の発現制御、および亜鉛シグナルとの関係を調べるために、BAF-B03細胞を用いてZIP10遺伝子の発現と細胞内亜鉛量を精査した。その結果、活性化したSTAT3やSTAT5はZIP10遺伝子のプロモーター領域に結合し、さらにSTAT3やSTAT5の活性化に依存してZIP10のmRNAとタンパク質の発現量と細胞内亜鉛量の上昇が認められた。また、ヒトリンパ腫においてZIP10と活性化STATの共局在が確認された。すなわち、B細胞におけるZIP10の発現制御にJAK-STATシグナル経路が関

与すること、その発現の制御破綻が病態形成に関与することが示唆された。

#### 考 察

本研究によって、ZIP10がB細胞の初期発生段階における細胞死抑制に必須であることが判明した<sup>5)</sup>。「どのようにしてZIP10が亜鉛イオンを介してCaspaseの活性化を抑制しているのか」については詳細な機序はまだ明らかではなく、ZIP10を含めた亜鉛トランスポーターや亜鉛シグナルの作用機序の解明は今後の重要な課題である。

近年になって、亜鉛の健康上の必要性に対する認識度が世界規模で高まりつつある。例えば2008年に国際亜鉛生物学会が発足し、様々な観点から議論して最新情報を共有している。世界規模で亜鉛への関心が高まりつつあるが、なぜ亜鉛が必須栄養素なのか、その分子機序は明示されていない。免疫細胞の細胞死における亜鉛シグナルの機序解明を研究テーマに設定した本研究は、個

体レベルと細胞レベルの両側面から追究することによって「なぜ正常な免疫機能に亜鉛が必要なのか」という根本的な疑問に一つの答えを示したと思われる。「亜鉛シグナル」は未開の領域であり、今後の研究展開によって日本が目指す健康長寿国の達成に貢献し、その成果を世界へ発信したい。

## 要 約

必須微量元素である亜鉛恒常性の破綻は、免疫不全、成長遅延や骨密度低下等の様々な異常をもたらす。亜鉛欠乏は免疫系に重篤な支障をもたらし、免疫不全や自己免疫疾患への関与が示されている。特に亜鉛の代謝異常はリンパ球の減少をもたらすことが知られているが、その分子メカニズムは明らかにされていない。本研究では免疫細胞に発現する亜鉛トランスポーター ZIP10に焦点を当てて、リンパ球の細胞死における亜鉛シグナルの役割を解析した。その結果、ZIP10はB細胞初期発生における細胞死抑制に必須であること、その発現がJAK-

STATシグナル経路の制御を受けること、さらにヒトリンパ腫に過剰発現することを見出した。これらの結果は、ZIP10の亜鉛シグナルが免疫発生に重要であり、その制御異常が疾患の原因となること、さらに治療標的になる可能性を示唆している。

## 謝 辞

本研究によって、亜鉛の恒常性異常がもたらす細胞死と免疫機能に関する貴重なデータと重要な研究指針を得ることができました。研究助成を頂きました公益財団法人三島海雲記念財団に深く感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) T. Fukada, et al.: *J. Biol. Inorg. Chem.*, **16**, 1123–1134, 2011.
- 2) T. Fukada, T. Kambe: *Metallomics*, **3**, 662–674, 2011.
- 3) T. Fukada, et al.: *PLoS ONE*, **3**, e3642, 2008.
- 4) S. Hojyo, et al.: *PLoS ONE*, **6**, e18059, 2011.
- 5) T. Miyai, et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **111**: 11780–11785, 2014.