日衛誌（Jpn. J. Hyg.），69，15–23（2014）
© 日本衛生学会

総　説

シリーズ　リフレッシュが必要な微量元素に関する常識

亜鉛と糖尿病

田蒔　基行，藤谷与士夫

順天堂大学大学院医学研究科代謝内分泌内科学

Role of Zinc in Type 2 Diabetes

Motoyuki TAMAKI and Yoshio FUJITANI

Department of Metabolism & Endocrinology, Juntendo University Graduate School of Medicine

Abstract　Pancreatic β cells contain the highest amount of zinc among cells within the human body, and hence, the relationship between zinc and diabetes has been of great interest. To date, many studies of zinc and diabetes have been reported, including studies demonstrating that diabetic patients and mice have a decreased amount of zinc in the pancreas. Zinc may counteract the deleterious effects of oxidative stress, which contributes to reduced insulin resistance, and may also protect pancreatic β cells from glucolipotoxicity. Recently, we have shown that *SLC30A8*/zinc transporter 8, which is a transporter expressed on the surface of insulin granules, plays a key role in zinc transport into insulin granules and in the regulation of hepatic insulin clearance. Here, we review the role of zinc in whole-body maintenance and the latest information on the relationship between zinc and diabetes.

Key words: zinc（亜鉛）, type 2 diabetes（2 型糖尿病）, zinc transporter（亜鉛輸送担体）, insulin（インスリン）, insulin clearance（インスリン分解）

はじめに

生体にて唯一の血糖降下作用を示すホルモンであるインスリンは，膵β細胞から分泌される。膵β細胞は生体内でもっとも高い亜鉛含有量を示すため，亜鉛と糖尿病の関係は以前から関心が集まっている。亜鉛は膵β細胞において，インスリンの結晶構造形成に必要であることや，酸化ストレスに対して抗酸化作用を示すこと，さらに糖尿病患者や糖尿病モデルマウスでは膵臓での亜鉛の減少が認められることから，古くから糖尿病の発症や進行に亜鉛代謝異常が関与することが知られている。近年，ゲノムワイド関連解析により，膵β細胞のインスリン顆粒膜上に局在する亜鉛トランスポーター 8（ZnT8: zinc transporter 8）をコードする *SLC30A8* 遺伝子が 2 型糖尿病の疾患感受性遺伝子の 1 つであると同定され，糖尿病における亜鉛の役割に注目が集まっている。本稿では亜鉛と糖尿病についての最新の知見を紹介する。

受付 2013 年 8 月 6 日，受理 2013 年 10 月 2 日
Reprint requests to: Yoshio FUJITANI
Department of Metabolism & Endocrinology, Juntendo University Graduate School of Medicine, 2-1-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8421, Japan
FAX: +81(3)3813-5996
E-mail: fujitani@juntendo.ac.jp

亜鉛の生体内の役割と亜鉛を用いた最新技術

亜鉛の生体内における役割

亜鉛は必須微量元素の 1 つであり，微量元素の中では鉄についで生体内に 2 番目に多く，ヒトにおいて約 2 g 程度存在しているとされる（1）。亜鉛の生体内における作用は，きわめて多彩である。生命情報工学によるタンパク質の構造解析では，理論上全タンパク質の約 10% は亜鉛と結合しうるとされ，タンパク質の構造形成に重要である（2）。亜鉛は亜鉛結合配列とよばれる His-Glu-X-X-His（HEXXH）や His-Glu-X-Pro-Glu-X-Gly-Asp（HEXPEXGD）などの特定のアミノ酸配列と結合し，多数のタンパク質内に配置され，タンパク質の三次元構造

の構築や酵素触媒として作用する。たとえば亜鉛メタロプロテアーゼは HEXXH の配列を有し，2 つの His 残基が亜鉛と結合し Glu（E）残基がプロテアーゼの活性残基となる。また，亜鉛は転写因子が特定の DNA 配列に結合する際に重要な zinc finger motif の構成に必須である。zinc finger motif では Cys2His2 などの構造をとることにより，指状の三次構造を形成する。zinc finger motif を有するタンパク質群はこの指状の構造により，特定の DNA 配列に結合するため，転写因子など DNA に結合するタンパク質群において重要な役割を果たしている。

亜鉛を用いた最新技術

近年はこの zinc finger motif を利用して人工的に遺伝子結合配列を作成し，遺伝子改変が行える zinc finger nuclease の技術に注目が集まっている。zinc finger nuclease は，zinc finger motif を用いることで，特定の DNA 配列の改変を行うことが可能である。zinc finger nuclease を利用した方法ではウィルスを用いずに，遺伝子組み換えが行える。以前に先天的な免疫不全のために，通常 2 歳未満で死亡する難病 SCID（severe combined immunodifficiency）の遺伝子治療が行われたが，2 名の児が治療後にリンパ球性白血病を発症した。その原因として，遺伝子治療に用いられたレトロウイルスがゲノム内に刷り込まれた際に，ガン遺伝子 LMO2 が活性化されたことが挙げられている（3）。これはいわゆる “retroviral insertional mutagenesis” と呼ばれ，レトロウィルスを用いて遺伝子組み換えを行った際にしばしば生じる問題とされる。zinc finger nuclease を用いた治療法ではこの問題点を解決しうるため，基礎研究における遺伝子改変技術のみならず，血液疾患などを対象とした遺伝子治療の手段として実用化にむけた取り組みが進行している（4, 5）。このように亜鉛は生体にとって重要であり，亜鉛の性質を利用したさらなる医療技術の発展に寄与している。

亜鉛の体内動態

次に亜鉛の体内動態を示す（6）。まず，亜鉛の吸収は腸管吸収のレベルから調節されている。腸管上皮に発現した亜鉛輸送担体は適切な量の亜鉛を吸収し，亜鉛の過剰吸収を抑制している。吸収後，血中においては亜鉛はアルブミンやトランスフェリン，HRG（Histidine-rich-globlin）などと結合して輸送される。細胞内の亜鉛の輸出入は主に *SLC39A*（タンパク質名：Zip）ファミリーと *SLC30A*（タンパク質名：ZnT）ファミリーにより行われている。Zip ファミリーは細胞質の亜鉛濃度を上昇させるように，ZnT ファミリーは細胞質の亜鉛濃度を低下させるようにはたらく。これらの亜鉛輸送担体は，細胞質と細胞外あるいは細胞内小器官（オルガネラ）の間で亜鉛の輸送を行っている（図 1）（7）。冒頭で最も高い亜鉛含有量を示すのは膵 β 細胞であると述べた。しかしながら，先に述べたように亜鉛はさまざまなタンパク質と結合してしまうために，過剰な亜鉛は細胞にとって有害であると考えられる。膵 β 細胞が最も高い亜鉛含有量を示しても, 細胞に障害が生じないのは, ZnT ファミリーのひとつ「ZnT8」のはたらきによってインスリン顆粒内に非常に高濃度の亜鉛が存在する一方で，細胞質の亜鉛濃度はそれほど高くないことが，われわれの検討でも明らかとなっている（8）。このように亜鉛輸送担体は細胞内やオルガネラ内の亜鉛濃度を高度に調節しているのである。現在までに Zip ファミリーは 14 種類, ZnT ファミリーは 9 種類存在することが知られており，それぞれ発現部位が異なる（図 2）（9）。亜鉛は細胞内においては主にメタロチオネインと結合している。メタロチオネイン（MT）は 1 から 4 のアイソフォームが存在し，それぞれ CXXC あるいは CXC の亜鉛結合配列を有し，1 分子で多数の亜鉛イオンと結合できる。MT は他にもカドミウムや銅などの微量元素とも結合する。組織ごとに亜鉛含有量が異なるのは亜鉛トランスポーターの分布の違いに加えて，MT の発現量にも依存している。

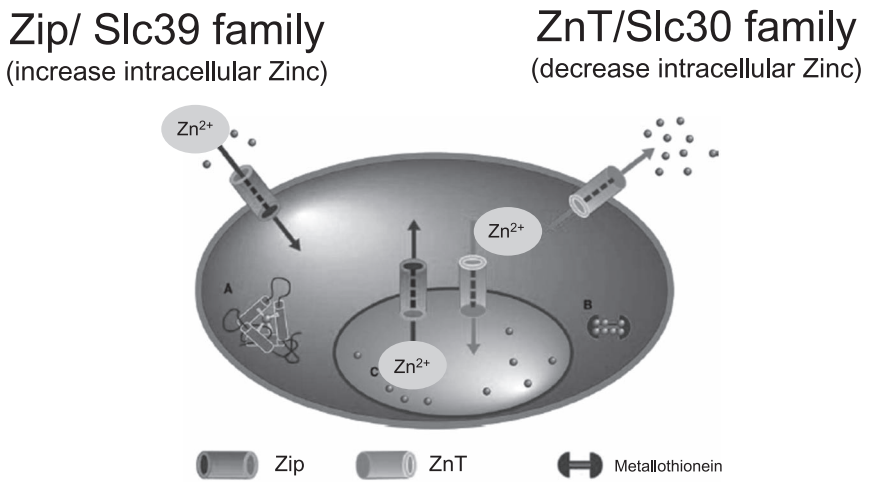

図 1　細胞内亜鉛濃度の調節。Zip ファミリーは細胞外やオルガネラから細胞質への亜鉛の流入，ZnT ファミリーは細胞外やオルガネラから細胞質への亜鉛の流出を調節している。文献（7）より改変引用。

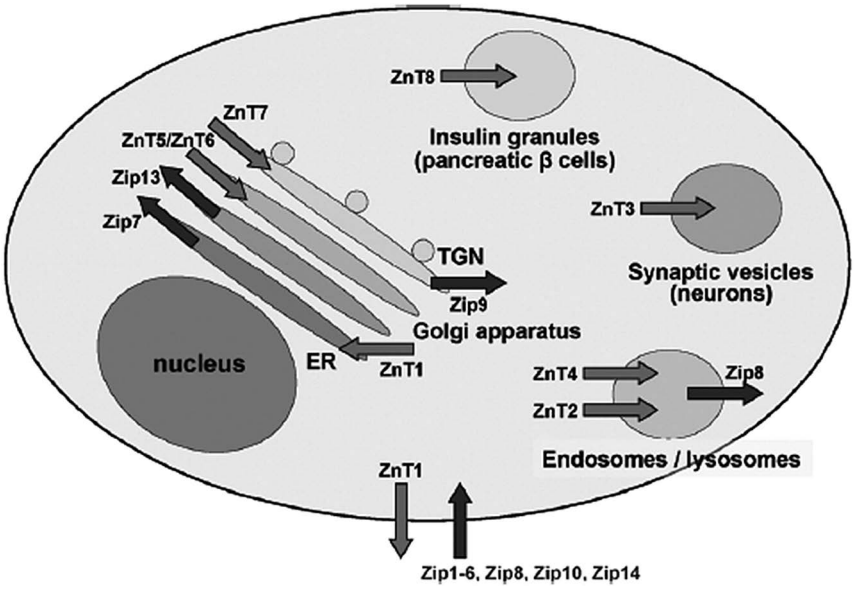

図 2　Zip ファミリー，ZnT ファミリーの発現部位。Zip や ZnT は臓器や細胞内において，それぞれ発現部位が異なり，細胞内の亜鉛濃度を高度に調節している。文献（9）より改変引用。

亜鉛欠乏がヒトに与える影響

古典的亜鉛欠乏症

亜鉛のヒトに対する重要性は，摂取不足あるいは吸収障害の研究によって知られている。亜鉛摂取の不足は“adolescent nutritional dwarfism（若年栄養性小人症）”のリスク因子となり，このことからヒトの成長に重要であることが古くから知られている（10）。その他にも亜鉛欠乏症では，下痢，易感染性，中枢神経機能低下，胎児発育障害などの症状を呈することが知られている（11）。他に常染色体劣性遺伝疾患“acrodermatitis enteropathica”は亜鉛の吸収障害を主体とし，慢性的な下痢，口腔や陰部の皮膚炎や毛髪の欠如などの多彩な症状を呈し，亜鉛の補給を行わなければ重症例では児童期に死亡する疾患である（12）。本症は亜鉛欠乏により生じるさまざまな症状を示現するため，ヒトにおける亜鉛欠乏時の症状を知ることができる。

組織特異的な亜鉛欠乏

このように亜鉛欠乏では生体は多彩な症状を呈する。一方で亜鉛輸送担体の遺伝的な変異が特定の疾患の原因となることが知られている。先に紹介した acrodermatitis enteropathia は Zip4 の変異により起こることが，2002 年に明らかにされた（13）。また近年，深田らは *SLC38A13*（Zip13）欠損マウスの解析中に，本マウスのフェノタイプがコラーゲン線維の異常を本態とし，日本に 2 万人程度存在する難治性疾患“エーラスダンロス症候群”に酷似していることを見出し，エーラスダンロス症候群の一部は Zip13 の異常が関与していることを示した（14）。また，深田らは Zip14 の異常が G タンパク質共役受容体シグナルの異常をきたし，骨格の異常を主体とする成長障害をきたすことを明らかにした（15）。このように全身の亜鉛不足のみならず，亜鉛輸送担体の遺伝的な異常に起因する特定の組織内の亜鉛欠乏に起因する疾患は実は多いことが推定され，今後のさらなる研究が必要であると考えられる。

わが国における亜鉛摂取状況とサプリメントの効果

国民健康栄養調査によると，わが国における成人の亜鉛の摂取量は男性がおよそ 8 mg，女性がおよそ 7 mg であり，厚生労働省が発表している「日本人の食事摂取基準」の推定平均必要量男性 10 mg，女性 8 mg，あるいは推奨量である男性 12 mg，女性 9 mg をやや下回っている（図 3）。しかしながら，これらの数字は欧米のデー

年齢	亜鉛（mg/日）							
	男性				女性			
	推定平均必要量	推奨量	目安量	耐容上限量	推定平均必要量	推奨量	目安量	耐容上限量
0～5（月）	—	—	2	—	—	—	2	—
6～11（月）	—	—	3	—	—	—	3	—
1～2（歳）	4	5	—	—	4	5	—	—
3～5（歳）	5	6	—	—	5	6	—	—
6～7（歳）	6	7	—	—	6	7	—	—
8～9（歳）	7	8	—	—	7	8	—	—
10～11（歳）	8	10	—	—	8	10	—	—
12～14（歳）	9	11	—	—	8	9	—	—
15～17（歳）	11	13	—	—	7	9	—	—
18～29（歳）	10	12	—	40	7	9	—	35
30～49（歳）	10	12	—	45	8	9	—	35
50～59（歳）	10	12	—	45	8	9	—	35
70 以上（歳）	9	11	—	40	7	9	—	30
妊　婦（付加量）					＋1	＋2	—	—
授乳婦（付加量）					＋3	＋3	—	—

図 3　日本人の食事摂取量基準 2010

タから日本人の必要量を推定したものであり，偏食などの問題がない限り，わが国においては通常の生活の中で明らかな亜鉛欠乏症を呈する頻度は低い。先進国では，経静脈栄養や経管栄養中への亜鉛添加不足による医原性亜鉛欠乏症が最も頻度が高い。一方，食事からの亜鉛摂取不足は発展途上国などでは依然として頻度が高く，無視できない問題である。亜鉛のサプリメント投与についてはこういった国々では，感染症減少効果などが示されている（16）。

このように亜鉛摂取不足地域での亜鉛のサプリメント効果は認められているが，過剰摂取は問題となる。多量の亜鉛を継続的に摂取することで銅の吸収阻害による銅欠乏が起こり，さまざまな健康障害が引き起こされる。そのため，厚生労働省は亜鉛の耐容上限量を設けており（図 3），サプリメントの用法用量の表記についても指導を行っている。

亜鉛と糖尿病

膵 β 細胞と亜鉛

ここから本稿の主題である亜鉛と糖尿病の関係について示す。1930 年代に亜鉛がインスリン結晶の形成に重要であることが示され（17），その数年後に糖尿病患者では膵臓の亜鉛量が 50% 減少することが報告された（18）。これらの知見は亜鉛と糖尿病の深い関係を連想させるものであり，以降，亜鉛と糖尿病の関係は注目を集め続けている。

インスリンは膵 β 細胞内において，2 つの亜鉛分子と 6 つのインスリン分子からなる 6 量体として存在し，さらにこの 6 量体はインスリン顆粒内の特殊な環境の下に結晶化して存在している。このインスリン結晶は電子顕微鏡にて dense core とよばれる構造としてインスリン顆粒内に確認される。膵 β 細胞内にて生合成され，小胞体で修飾されたプロインスリンはインスリン顆粒内でまず 2 量体を形成する。2 量体の形成には B 鎖のアミノ酸 B8，B9，B12，B13，B16，B23–B28 が関与するとされる（19）。2 量体を形成したプロインスリンは B 鎖 10 位のヒスチジンと亜鉛が結合することにより，プロインスリンの 6 量体を形成する（20）。プロインスリンはインスリンを内側に配置した形で 6 量体を形成するため，インスリンと C- ペプチドに切り出しが効率的に行えると考えられている（図 4）。こうして形成されたインスリン 6 量体はさらにインスリン顆粒内の特殊な条件下に結晶化される。インスリン 6 量体の結晶化にはインスリンが高濃度で存在していることに加えて，亜鉛の存在，酸性条件下であることなど，インスリン顆粒内特有の条件が必要である（21，22）。インスリン顆粒が膵 β 細胞から開口分泌された際には，外部環境が劇的に変化するため，インスリン結晶はすみやかに血中に融解すると考えられている。

亜鉛と糖尿病の検討では主にマウスモデルにて検討されている。たとえば，亜鉛欠乏状態では膵 β 細胞のインスリン顆粒が減少していることや（23），グルコース応答性のインスリン分泌が減少することなどが報告され（24），亜鉛欠乏がインスリン分泌に影響を与えることが示された。その他，膵 β 細胞は活発に ATP 合成を行っており，フリーラジカルが蓄積しやすく，酸化ストレスに曝されやすい細胞であるため，亜鉛が酸化ストレスの除去に関与しているという報告も多数存在する。亜鉛は細胞にとって有害なフリーラジカルの除去を行っている SOD（Superoxide dismutase）との関係も深い。たとえばほぼすべての真核生物の細胞質に存在する CuZnSOD は構造中心に亜鉛と銅分子を有する。亜鉛はフリーラジカルの除去を介して，膵 β 細胞を保護しているとも考えられている。

亜鉛の膵外作用

亜鉛欠乏はインスリン分泌のみならず，インスリン抵抗性に関しても影響を与えるとされる。肥満 2 型糖尿病モデルマウス db/db マウスや ob/ob マウスへの亜鉛の補

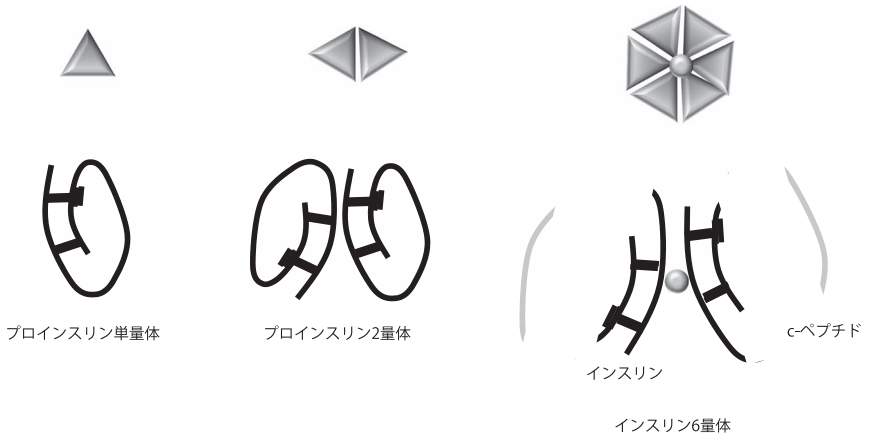

図 4　インスリン 6 量体の形成。プロインスリンはまず 2 量体を形成し，その後に六量体を形成する。プロインスリン 6 量体ではインスリン部分が内側に配置し，C- ペプチドが切り出される。インスリン 6 量体はインスリン顆粒内の特殊な条件下で結晶化する。

充では，減少していた膵臓内の亜鉛含有量が増加し，インスリン抵抗性が改善することが示されている（25, 26）。インスリン結晶の形成に重要な亜鉛が，インスリン抵抗性に影響を与えるメカニズムとしては，亜鉛のチロシンホスファターゼの活性阻害が指摘されている（27）。インスリン受容体のチロシンのリン酸化により，その後のインスリンシグナルが伝達されてゆくことが知られている。亜鉛は PTP1B（protein tyrosine phosphatase 1B）などのチロシンホスファターゼの活性を阻害し，インスリンレセプターのチロシン残基の脱リン酸化を阻害することで，インスリン受容体シグナルを増強し，血糖降下効果を示す。その他の亜鉛が糖尿病を改善するメカニズムとしては，MT を介した機序が指摘されている。膵 β 細胞を破壊する薬物，ストレプトゾトシン（STZ）を投与して作製した，やせ型糖尿病モデルラットに亜鉛を腹腔内投与すると，MT が膵臓や肝臓において誘導され血糖値が低下することが報告されている（28）。このように亜鉛は膵 β 細胞のみならず，肝臓や末梢組織においても糖尿病改善効果を示す可能性が示されている。

ヒトにおける亜鉛摂取と糖尿病

一方で，糖尿病患者における血清亜鉛濃度の低下は軽微なことが多く，亜鉛欠乏が糖尿病と直結することを示す報告は少ない。しかしながら，米国における前向きコホート試験にて 82,000 人の対象者の栄養摂取状況を調査し，亜鉛摂取に応じて対象者を 5 分位に分け分けた場合，亜鉛摂取が最も少ない群では最も多い群と比較して，約 17% 糖尿病発症リスクが高かったことが示されており，亜鉛摂取不足がヒトにおいても糖尿病発症リスクになりうることが示されている（29）。くわえて，肥満ブラジル人を対象とした研究では 30 mg/ 日の亜鉛サプリメント内服によってインスリン抵抗性の改善を認めることや（30），横断研究にて亜鉛摂取が糖尿病やメタボリックシンドロームを減少させることが報告されている（31）。しかしながら，介入（亜鉛摂取）による糖尿病発症予防効果を検討した研究はなく，亜鉛サプリメントの摂取が真に糖尿病発症を予防するかを評価しうるのに十分な臨床研究はいまだになされていない。

SLC30A8（タンパク質名：zinc transporter 8）と糖尿病

2 型糖尿病疾患感受性遺伝子 *SLC30A8*

ヒトゲノム計画の完了により，当初は多数の疾患の原因遺伝子が同定されることが期待された。しかし，ヒトゲノム計画は，疾患原因遺伝子の発見という観点からは当初期待されていたよりもはるかに少ない成果しか上げることができなかった。これは単一あるいは数個の遺伝子異常のみで説明のつく疾患はわずかで，大半の疾患は多因子遺伝の形式をとっており，単にゲノム情報を解明するだけでは原因遺伝子を同定することは困難であったためである。逆に言えば，多くの疾患では複数の「疾患感受性遺伝子」が重複することで疾患発症リスクが上昇することが判明したのである。2 型糖尿病も多因子遺伝形式を示し，複数の疾患感受性遺伝子が重複することが糖尿病発症のリスクを上昇させることがわかってきている。

一方でヒトゲノム計画により一塩基多型（SNP: single nucleotide polymorphism）の探索や，特定の領域の高精度な解析が可能になった。SNP は集団の 1% 以上に存在し，ゲノム上の 1 塩基だけが置換されている多型と定義され，2 型糖尿病の疾患感受性遺伝子 SNP は 2 型糖尿病の発症リスクを上昇させる。しかしながら SNP は全ゲノム上に膨大な数があるために，リスク SNP の同定はいままで困難であった。近年の技術革新によりゲノムワイドに疾患感受性遺伝子を洗い出せる GWAS（Genome-wide association study）が実施可能となり（32），多数の 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子が同定された。個々の疾患感受性遺伝子の糖尿病発症リスクは，高いものでも糖尿病発症リスクを 1.4 倍程度上昇させる程度にとどまるが，複数のリスク SNP を有すると糖尿病発症リスクは有意に上昇してくることがわかっており，将来的な 2 型糖尿病発症リスクの推定やオーダーメイド医療への寄与が期待される（図 5）（33）。

そのなかの 1 つ *SLC30A8* は zinc transporter 8（ZnT8）タンパク質をコードする遺伝子である。この SNP rs13266634 は coding lesion 内の 1 塩基の T（チミン）→ C（シトシン）置換であり，アミノ酸配列が R325W 置換（325 番目のトリプトファンがアルギニンに置換）することで，機能低下を示す。rs13266634 は複数の GWAS 解析にてヒトの約 50% が保有し，4 人に 1 人がリスクアリルをホモで有しており，糖尿病発症リスクを約 1.2 倍上昇させることがわかっており，その傾向は日本人においてもほぼ同様であることがわかっている（34）。

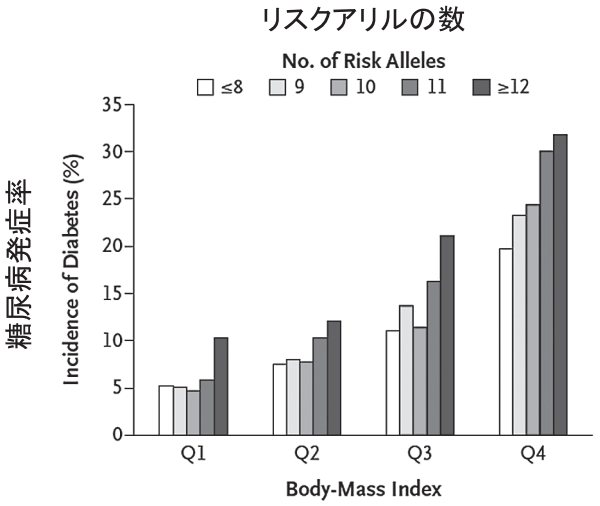

図 5　リスクアリル数別の糖尿病発症リスク。BMI（body mass index）別に 4 分位に分けると，保有するリスクアリル数に応じて糖尿病発症リスクが上昇する。（文献 33 より）

ZnT8 の耐糖能保持における役割

SLC30A8/ZnT8 は膵臓においては，内分泌細胞であるβ細胞，α細胞，PP 細胞に発現し，他に甲状腺や副腎などの内分泌細胞の一部に発現していることが知られている（35, 36）。膵β細胞においては分泌顆粒膜上に存在し，インスリン顆粒内に亜鉛を流入させている。ZnT8 を欠損させた膵β細胞株においては，インスリン顆粒内に亜鉛が流入しないためにインスリン結晶が形成されないことが指摘されていたが，なぜそれが糖尿病発症に関与するのはしばらく不明であった。そこで，われわれは ZnT8 の糖代謝恒常性における役割を解明するために，膵β細胞特異的に ZnT8 発現を消失させた，*RIP*-Cre:*Slc30a8*$^{flox/flox}$ マウス（ZnT8KO マウス）を作製し，ZnT8 の機能解析を行った。

膵β細胞特異的 Slc30a8 欠損マウスの特徴

まず ZnT8KO マウスでは膵β細胞の ZnT8 発現は想定どおり消失しており，亜鉛の存在にて膵β細胞が赤く染色される dithizone 染色では，ZnT8KO マウスの膵島（膵ランゲルハンス島）が染色されなかった。また電子顕微鏡像にて膵β細胞に特徴的なインスリン顆粒内のインスリン結晶も消失していた（図 6）。マウスへのブドウ糖負荷試験にて ZnT8KO マウスは軽度の耐糖能障害を認めたために，当初，インスリン結晶形成不全に伴い，インスリン分泌が障害されていることが予想された。実際にブドウ糖負荷試験後の末梢血のインスリン濃度は ZnT8KO マウスで低下していた（図 7A）。しかしながら，マウスの膵島を単離し，ブドウ糖応答性のインスリン分泌を評価したところ，予想に反してインスリン分泌は ZnT8KO マウスでむしろ亢進していた（図 7B）。膵島単離は，全身の影響を排除して膵β細胞からのインスリン分泌を評価できる方法である。

通常，膵島からのインスリン分泌が亢進していれば，ブドウ糖負荷後の末梢血のインスリン濃度は上昇しているはずである。しかしながら，ZnT8KO マウスでは膵島からのインスリン分泌亢進と末梢血のインスリン濃度低下という，通常と全く逆の結果を認めた。われわれはこの逆転現象の理由を解明するために，さらに膵潅流実験を行った。膵潅流実験は腹腔動脈から潅流液を導き，膵臓を潅流したのち潅流液を門脈から回収することで，膵臓からのインスリン分泌を評価する方法である（図 7C–D）。本法では単離膵島での検討よりもさらに生理的な膵臓からのインスリン分泌動態を評価することができる。すると単離膵島の検討と同様，膵臓からのインスリン分泌は ZnT8KO マウスにて上昇していた。そこでわれわれは，つぎに膵肝潅流を行った。これは腹腔動脈に潅流液を導き，潅流液を門脈から肝臓へ流入させ，下大静脈から肝臓を通過した潅流液を回収する方法である（図 7E–F）。その結果，下大静脈内においては ZnT8KO マウスとコントロールマウスのインスリン濃度には違いが消失していた。つまり，ZnT8KO マウスでは膵臓からのインスリン分泌が亢進しているにもかかわらず，肝臓にてその大部分がクリアランスされていることが明らかとなった。

ZnT8KO マウスでのインスリンクリアランスの調節障害

ZnT8 の有無でインスリンクリアランスが変化するという事実は非常に興味深い。なぜなら，インスリンクリアランスは食前と食後で大きく変化することが以前から知られているが，その切り替えのシグナルはいままで不明であったためだ。空腹時には過剰なインスリンは低血糖や肥満の誘因となるために，肝臓では積極的にインスリン分解が行われ，空腹時のインスリンの約 50% は肝臓にて分解されている（37）。しかし，食後においてはブドウ糖を効率的に吸収するために，肝臓におけるインスリン分解の比率は約 20% にまで抑制され，末梢血中のインスリン濃度は高く保持される（38）。

われわれは ZnT8KO マウスではインスリン顆粒内に

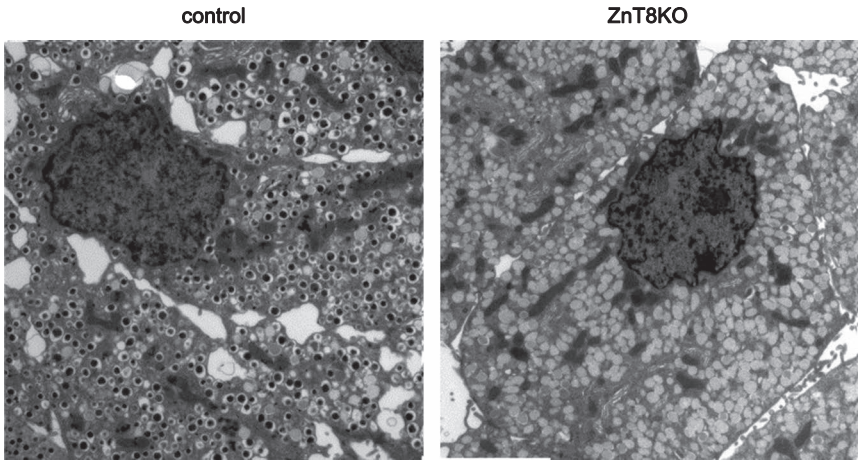

図 6　ZnT8KO マウスの膵β細胞の電子顕微鏡像。ZnT8 の発現消失に伴い，膵β細胞のインスリン顆粒内のインスリン結晶の消失が確認できる。

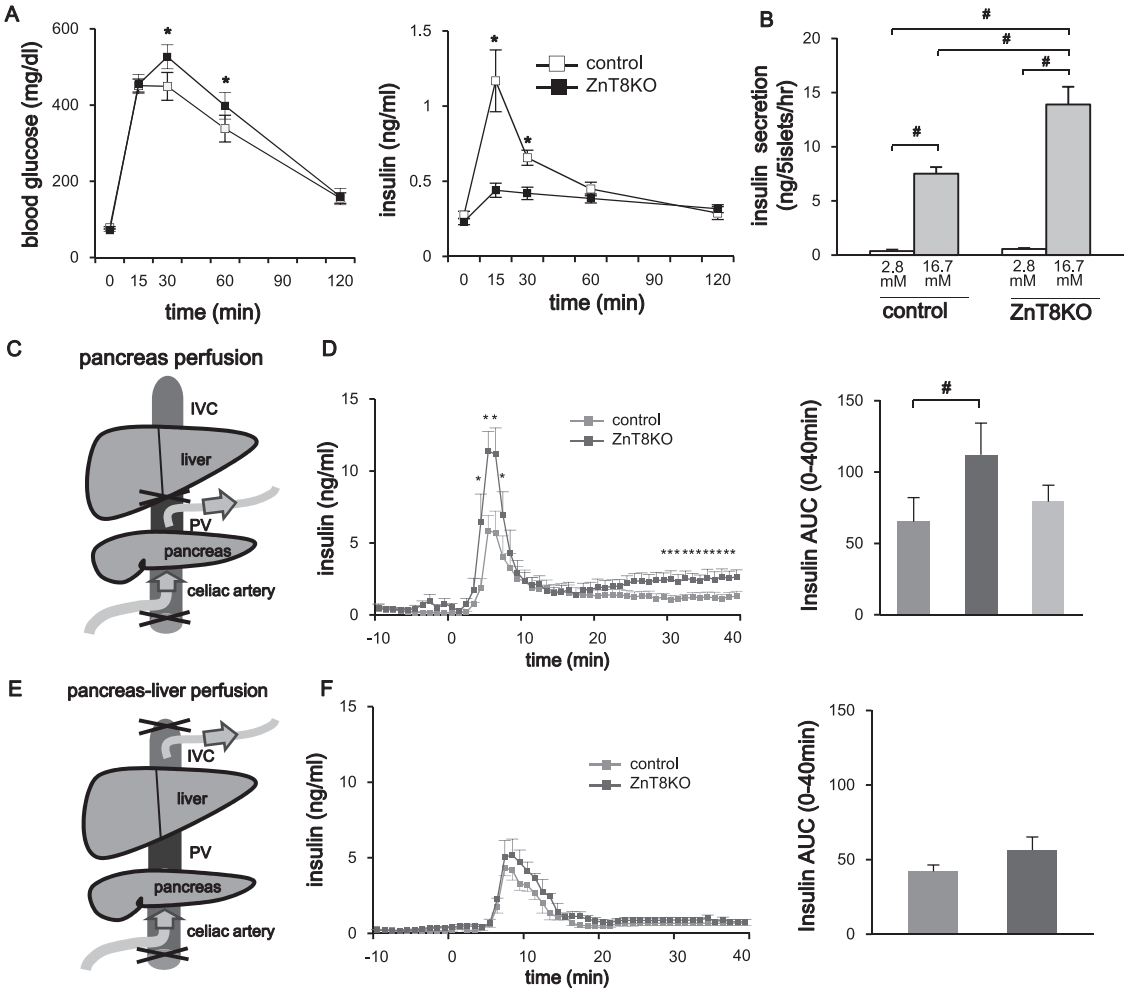

図 7　ZnT8KO マウスのインスリン動態。A.　マウスへのブドウ糖負荷試験（左：血糖値，右：末梢血インスリン濃度），B.　ブドウ糖負荷後の単離膵島からのインスリン分泌，C–D.　膵潅流試験，E–F.　膵肝潅流試験

亜鉛が含まれていないために，インスリンと協調的に分泌されるはずの亜鉛分泌が消失していることに注目した。そこで ZnT8KO マウスの膵臓からの亜鉛分泌の消失が肝臓でのインスリンクリアランスを変化させている可能性を考えた。我々は様々な解析を駆使して，正常の膵 β 細胞はインスリンと亜鉛を協調的に分泌させ，肝細胞表面において，亜鉛が肝細胞へのインスリンの取り込みを抑制すること，それにより肝インスリンクリアランスを抑制する仕組みがあることをつきとめた。この仕組みのおかげで，食後に肝臓でインスリンを無駄に消費することなく，末梢血中のインスリン濃度を高く維持することで，耐糖能を保つことが可能となる（図 8）。

ヒト *SLC30A8*/ リスクアリル保有者のインスリンクリアランス

以上のように正常マウスにおいては，*Slc30a8*/ZnT8 は食後のインスリンクリアランスを抑制することで，膵 β 細胞からの過剰なインスリン分泌の必要性を回避し，また分泌されたインスリンを肝臓と末梢組織に適切に分配して，全身で効率よくインスリンを使っていることが明らかとなった。

次にわれわれはヒトにおいても同様の機序で，*SLC30A8* がインスリンクリアランスの調節を介して，耐糖能の保持に関与しているのかを検討した。肝臓にて代謝されない C-ペプチドは膵 β 細胞からのインスリン分泌を反映する一方で，インスリンは肝臓にて代謝をうける。そのため C-ペプチド / インスリン比は末梢血においてインスリンクリアランスを評価できる簡便なマーカーとして用いることができる。そこでわれわれはヒトの健常者のボランティアを募集し，ブドウ糖負荷試験を実施し，C- ペプチド / インスリン比を評価した。その結果，*SLC30A8* のリスクアリル rs13266634 のホモ保有者は ZnT8KO マウスと同様にインスリンクリアランスの食後の抑制不全を認めることが明らかとなった（8）。リスクアリル群とノンリスクアリル群は，耐糖能はどちらも正常で差を認めず，食後の末梢血インスリン濃度にも差を認めなかった。ところが，リスクアリル群の食後の C-ペプチド値は有意に高値を示し，食後の末梢血中のイン

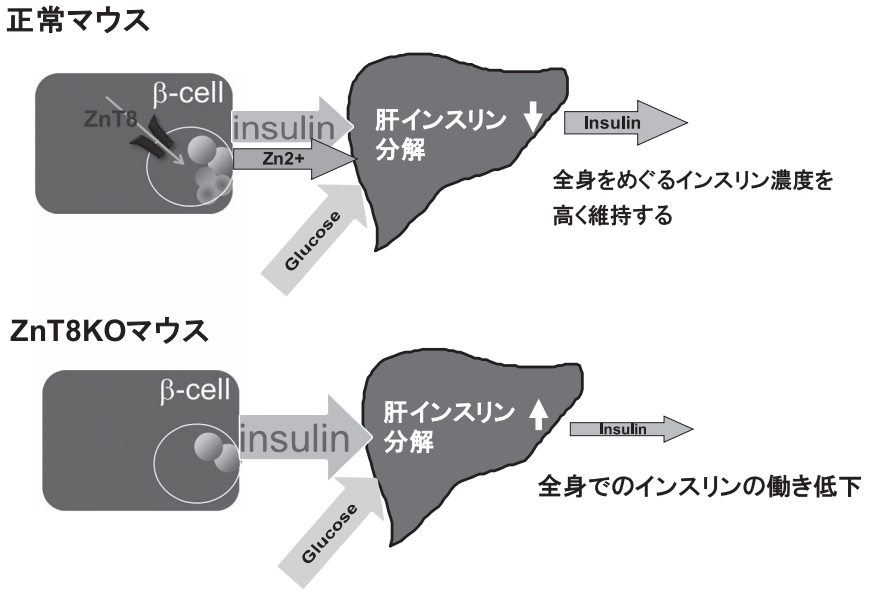

図 8　ZnT8 の耐糖能保持における役割

スリン濃度をノンリスクアリル群と同程度に保つためには，リスクアリル群は肝臓で分解が亢進している分，余計にインスリンを分泌する必要があることが示された。

SLC30A8 のリスクアリル rs13266634 は，糖尿病発症リスクを増大させることがこれまで繰り返し報告されてきたが，そのメカニズムについては不明であった。われわれはマウスモデルでの解析を行い，*SLC30A8* がインスリンクリアランスの調節に重要であること，さらにヒトにおいてもその機序が保たれていることを明らかにした。これは既知の糖尿病と亜鉛の関係と全く異なる新規の機序であるとともに，インスリンクリアランスの調節不全という新たな糖尿病発症メカニズムを提言することとなった。

ま と め

亜鉛は生体内で他にも多彩な作用を有することは古くからよく知られている。亜鉛と疾患の関係はいままで主に単純な亜鉛摂取不足によるものととらえられてきた。しかし，近年の研究ではエーラスダンロス症候群の病因の 1 つに Zip13 異常を介した亜鉛代謝異常が関与していることや，糖尿病の病因の 1 つに ZnT8 を介した膵 β 細胞内の亜鉛代謝異常が存在していることがわかってきた。これらの知見は細胞内，オルガネラ内の亜鉛濃度調節異常がさまざまな疾患の病因となっていることを示唆するものである。組織内の亜鉛濃度調節に起因する疾患はまだほとんど同定されておらず，今後のさらなる研究が期待される。

利益相反なし

文　　献

（1）Lee IM, Skerrett PJ. Physical activity and all-cause mortality: what is the dose-response relation? Med Sci Sports Exerc 2001;33:S459–471; discussion S493–494.
（2）Andreini C, Banci L, Bertini I, Rosato A. Counting the zinc-proteins encoded in the human genome. J Proteome Res 2006;5:196–201.
（3）McCormack MP, Rabbitts TH. Activation of the T-cell oncogene LMO2 after gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. N Engl J Med 2004;350:913–922.
（4）Urnov FD, Rebar EJ, Holmes MC, Zhang HS, Gregory PD. Genome editing with engineered zinc finger nucleases. Nat Rev Genet 2010;11:636–646.
（5）Geurts AM, Cost GJ, Freyvert Y, Zeitler B, Miller JC, Choi VM, Jenkins SS, Wood A, Cui X, Meng X, et al. Knockout rats via embryo microinjection of zinc-finger nucleases. Science 2009;325:433.
（6）Wastney ME, House WA, Barnes RM, Subramanian KN. Kinetics of zinc metabolism: variation with diet, genetics and disease. J Nutr 2000;130:1355S–1359S.
（7）Kambe T, Yamaguchi-Iwai Y, Sasaki R, Nagao M. Overview of mammalian zinc transporters. Cell Mol Life Sci 2004;61:49–68.
（8）Tamaki M, Fujitani Y, Hara A, Uchida T, Tamura Y, Takeno K, Kawaguchi M, Watanabe T, Ogihara T, Fukunaka A, Shimizu T, Mita T, Kanazawa A, Imaizumi MO, Abe T, Kiyonari H, Hojyo S, Fukada T, Kawauchi T, Nagamatsu S, Hirano T, Kawamori R, Watada H. The diabetes-susceptible gene SLC30A8/ZnT8 regulates hepatic insulin clearance. J Clin Invest. 2013;123:4513–4524.
（9）Fukada T, Kambe T. Molecular and genetic features of zinc transporters in physiology and pathogenesis. Metallomics

2011;3:662–674.
（10）Prasad AS, Halsted JA, Nadimi M. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. Am J Med 1961;31:532–546.
（11）Hambidge M. Human zinc deficiency. J Nutr 2000;130: 1344S–1349S.
（12）Moynahan EJ. Letter: Acrodermatitis enteropathica: a lethal inherited human zinc-deficiency disorder. Lancet 1974;2:399–400.
（13）Kury S, Dreno B, Bezieau S, Giraudet S, Kharfi M, Kamoun R, Moisan JP. Identification of SLC39A4, a gene involved in acrodermatitis enteropathica. Nat Genet 2002; 31:239–240.
（14）Bin BH, Fukada T, Hosaka T, Yamasaki S, Ohashi W, Hojyo S, Miyai T, Nishida K, Yokoyama S, Hirano T. Biochemical characterization of human ZIP13 protein: a homo-dimerized zinc transporter involved in the spondylocheiro dysplastic Ehlers-Danlos syndrome. J Biol Chem 2011;286:40255–40265.
（15）Hojyo S, Fukada T, Shimoda S, Ohashi W, Bin BH, Koseki H, Hirano T. The zinc transporter SLC39A14/ZIP14 controls G-protein coupled receptor-mediated signaling required for systemic growth. PLoS One 2011;6:e18059.
（16）Brown KH. Effect of infections on plasma zinc concentration and implications for zinc status assessment in low-income countries. Am J Clin Nutr 1998;68:425S–429S.
（17）Scott DA. Crystalline insulin. Biochem J 1934;28:1592–1602.1.
（18）Scott DA, Fisher AM. The insulin and the zinc content of normal and diabetic pancreas. J Clin Invest 1938;17:725–728.
（19）Vinther TN, Norrman M, Strauss HM, Huus K, Schlein M, Pedersen TA, Kjeldsen T, Jensen KJ, Hubalek F. Novel covalently linked insulin dimer engineered to investigate the function of insulin dimerization. PLoS One 2012;7:e30882.
（20）Blundell TL, Cutfield JF, Cutfield SM, Dodson EJ, Dodson GG, Hodgkin DC, Mercola DA. Three-dimensional atomic structure of insulin and its relationship to activity. Diabetes 1972;21:492–505.
（21）Emdin SO, Dodson GG, Cutfield JM, Cutfield SM. Role of zinc in insulin biosynthesis. Some possible zinc-insulin interactions in the pancreatic B-cell. Diabetologia 1980;19: 174–182.
（22）Hutton JC. The insulin secretory granule. Diabetologia 1989;32:271–281.
（23）Boquist L, Lernmark A. Effects on the endocrine pancreas in Chinese hamsters fed zinc deficient diets. Acta Pathol Microbiol Scand 1969;76:215–228.
（24）Huber AM, Gershoff SN. Effect of zinc deficiency in rats on insulin release from the pancreas. J Nutr 1973;103: 1739–1744.
（25）Simon SF, Taylor CG. Dietary zinc supplementation attenuates hyperglycemia in db/db mice. Exp Biol Med (Maywood) 2001;226:43–51.
（26）Begin-Heick N, Dalpe-Scott M, Rowe J, Heick HM. Zinc supplementation attenuates insulin secretory activity in pancreatic islets of the ob/ob mouse. Diabetes 1985;34: 179–184.
（27）Haase H, Maret W. Protein tyrosine phosphatases as targets of the combined insulinomimetic effects of zinc and oxidants. Biometals 2005;18:333–338.
（28）Yang J, Cherian MG. Protective effects of metallothionein on streptozotocin-induced diabetes in rats. Life Sci 1994; 55:43–51.
（29）Sun Q, van Dam RM, Willett WC, Hu FB. Prospective study of zinc intake and risk of type 2 diabetes in women. Diabetes Care 2009;32:629–634.
（30）Marreiro DN, Geloneze B, Tambascia MA, Lerario AC, Halpern A, Cozzolino SM. Effect of zinc supplementation on serum leptin levels and insulin resistance of obese women. Biol Trace Elem Res 2006;112:109–118.
（31）Singh RB, Niaz MA, Rastogi SS, Bajaj S, Gaoli Z, Shoumin Z. Current zinc intake and risk of diabetes and coronary artery disease and factors associated with insulin resistance in rural and urban populations of North India. J Am Coll Nutr 1998;17:564–570.
（32）Frayling TM. Genome-wide association studies provide new insights into type 2 diabetes aetiology. Nat Rev Genet 2007;8:657–662.
（33）Lyssenko V, Jonsson A, Almgren P, Pulizzi N, Isomaa B, Tuomi T, Berglund G, Altshuler D, Nilsson P, Groop L. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. N Engl J Med 2008;359:2220–2232.
（34）Takeuchi F, Serizawa M, Yamamoto K, Fujisawa T, Nakashima E, Ohnaka K, Ikegami H, Sugiyama T, Katsuya T, Miyagishi M, et al. Confirmation of multiple risk Loci and genetic impacts by a genome-wide association study of type 2 diabetes in the Japanese population. Diabetes 2009;58:1690–1699.
（35）Tamaki M, Fujitani Y, Uchida T, Hirose T, Kawamori R, Watada H. Downregulation of ZnT8 expression in pancreatic beta-cells of diabetic mice. Islets 2009;1:124–128.
（36）Murgia C, Devirgiliis C, Mancini E, Donadel G, Zalewski P, Perozzi G. Diabetes-linked zinc transporter ZnT8 is a homodimeric protein expressed by distinct rodent endocrine cell types in the pancreas and other glands. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2009;19:431–439.
（37）Eaton RP, Allen RC, Schade DS. Hepatic removal of insulin in normal man: dose response to endogenous insulin secretion. J Clin Endocrinol Metab 1983;56:1294–1300.
（38）Caumo A, Florea I, Luzi L. Effect of a variable hepatic insulin clearance on the postprandial insulin profile: insights from a model simulation study. Acta Diabetol 2007;44:23–29.