亜鉛吸収を向上させる食品因子の探索

亜鉛栄養研究の現状と今後の展望を含めて

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	橋本,彩子 神戸,大朋
発行元	日本醸造協会
巻/号	107巻11号
巻号補足	
掲載ページ	p. 836-841
発行年月	2012年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

AgriKnowledge

亜鉛吸収を向上させる食品因子の探索

－亜鉛栄養研究の現状と今後の展望を含めて－

日本人の食生活については，献立の欧米化，インスタント食品化が進み，最近では伝統的日本食の価値が見直されている。現代日本人の食事では，タンパク質，脂質の摂取が十二分となっているが，金属元素等の微量成分が不足しがちであることが明らかになってきた。本解説の著者らは，人体における亜鉛（Zn）の重要性に着目し，Znの栄養研究を実施してこられた。その中で，味噌等の発酵食品の成分がZn吸収促進効果を持つことを示された。ここでは，亜鉛栄養研究の現状を概観していただき，発酵食品の成分への期待を含めて，今後の研究の展望をわかりやすく解説していただいた。

橋本彩子・神戸大朋

1. はじめに

亜鉛は肉類やレバー，豆類，木の実などに比較的多く，なかでも牡蠣に特に多く含まれる必須ミネラルである。亜鉛は食物より摂取されて利用され，成人では体内に約2g存在し，その量は生体微量元素としては鉄に次いで多い。その大部分は骨格筋と骨に含まれており，残りは肝臓や腎臓，膵臓，脳，皮膚など様々な臓器に広く分布する。生体内での亜鉛の機能は主に3つに分類され，タンパク質の構造維持や，種々の酵素反応の他，シグナル伝達過程に必須の因子として多様な役割を果たす。従って亜鉛欠乏状態に陥ると，これらの機能の低下から多岐にわたる症状がもたらされる。厚生労働省が策定する食事摂取基準において，亜鉛は一日あたり成人男性で12mg，成人女性で9mgが推奨量として設定されている。また，妊娠期には需要量が増大するため推奨量に加えて付加量も設定されている[1]。しかしながら，平成22年の国民健康・栄養調査の結果では，成人において，亜鉛は推奨量の7～8割程度しか日々の食事から摂取されていないという驚くべき事実も示されている[2]。これに付随するように，近年，我が国で実施された種々の疫学調査においても，女性や高齢者を中心に亜鉛欠乏者が増えつつあることが示されており，日本人の約2～3割が潜在的な亜鉛欠乏状態にあるとして警鐘が鳴らされてきている[3]。この亜鉛欠乏の傾向は，日本のみならず他の先進国においても認められる。言うまでもなく，貧困や飢餓により栄養状態の良くない途上国では，亜鉛欠乏は極めて深刻であり，最近の研究報告によれば，途上国を中心に世界人口の約25%が亜鉛欠乏にあると試算されている[4,5]。亜鉛欠乏は世界規模で危惧すべき栄養問題となっている。

亜鉛栄養の改善には亜鉛の吸収量を増やすことが重要であることはいうまでもないが，亜鉛の腸管での吸収率はカルシウムと同様に低い。従って，摂取量を増やすことだけで亜鉛吸収効率を高めることはそれほど容易ではない。近年，消化管での亜鉛吸収過程で関与する分子が同定され，その分子機構が解明されてきている。このような新たな知見は，亜鉛吸収改善の方法を模索する手がかりとして極めて有効である。本稿では，亜鉛栄養研究の現状について，亜鉛の諸機能の他，消化管における亜鉛の吸収機構を鉄や銅のそれと対比

Searching for Food Factors Enhancing Zinc Absorption: Current Status and Future Direction for Zinc Nutrition Research

Ayako HASHIMOTO, Taiho KAMBE (*Division of Integrated Life Science, Graduate School of Biostudies, Kyoto University*)

させつつ概説し，さらに，亜鉛吸収に機能するトランスポーター ZIP4 を標的とした亜鉛吸収効率を高める食品因子の探索から期待される今後の展望について考察する。

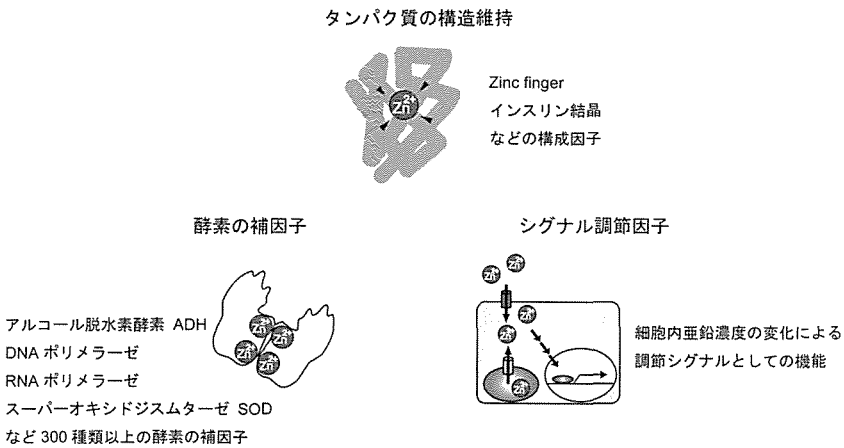
2. 亜鉛の生理機能

亜鉛は生体内で生命活動に重要な機能を果たしており，上述のようにその生理機能は，タンパク質の構造維持（構造機能），種々の酵素の補因子（触媒機能），シグナル調節（調節機能）と大きく 3 つに分けることが出来る（第 1 図）。例えば，亜鉛は転写因子で頻繁に認められる Zinc finger モチーフやインスリン結晶など種々のタンパク質の構造維持に機能する。最近のバイオインフォマティクス解析によると，ヒトゲノムには約 3000 種類の亜鉛結合タンパク質がコードされていると推定され，その数は全タンパク質の約 10% にのぼる[6,7]。また，生体内での多様な代謝反応は，種々の酵素の働きで円滑に行われているが，亜鉛はその代謝調節作用に関与する酵素の補因子として働く。アルコール代謝に関与するアルコール脱水素酵素 ADH や核酸の合成に働くポリメラーゼ，酸化ストレスを軽減させるスーパーオキシドジスムターゼ SOD などはその代表例である。さらに，亜鉛の調節機能に関する研究は近年目覚ましい進展をとげており，刺激に応じて細胞内外の遊離亜鉛濃度を変化させることによりシグナル伝達が調節されることが判明してきた[8]。このような亜鉛の生理機能からも，亜鉛が生命活動に必須であることをうかがい知ることができる。

3. 亜鉛欠乏と疾患

亜鉛は鉄や銅など他の金属元素に比べて極めて毒性の低い元素であり，過剰症がおこることは稀である。一方で，亜鉛欠乏は日常的に陥る可能性が示されており，低亜鉛食や妊娠時の需要増大，亜鉛非添加の経管栄養施行時，疾患に起因する亜鉛吸収不良や過剰喪失など数多くの事例が報告されている。また，高齢者は食事摂取量が少ないことや，消化管機能低下により亜鉛吸収率も低下するため[9]，特に亜鉛欠乏に陥りやすい。亜鉛が欠乏すると食欲不振をもたらし，さらに食事の摂取量低下へつながるという悪循環を生むことも予測される。亜鉛欠乏状態の高齢者に亜鉛を補充することにより，食欲不振の改善や，重度の褥瘡の治癒が認められたという多数の症例報告からも亜鉛を充足させる意義の大きさを知らされる[3]。

亜鉛欠乏の症状は多岐にわたっており，味覚障害，成長障害，皮膚障害，下痢，脱毛，免疫機能低下，性腺機能低下，神経機能低下，創傷治癒力低下などがよく知られる。さらに，肝疾患や慢性腎疾患，冠動脈疾患，糖尿病，溶血性貧血などの疾病時にも，亜鉛欠乏が認められる[10,11]。遺伝子疾患による亜鉛欠乏症も存



第 1 図　生体内での亜鉛の生理機能
亜鉛の生理機能は，タンパク質の構造維持(構造機能)，酵素の補因子(触媒機能)，シグナル調節因子(調節機能)の 3 つの主要な役割に分類される。

在し，腸管での亜鉛吸収不全のため重篤な皮膚炎を発症する腸性肢端皮膚炎はその代表例である。この疾患の原因が，腸管での亜鉛吸収に必須の輸送タンパク質*ZIP4*遺伝子の変異であることは2002年に明らかにされたところである[12,13]。

亜鉛欠乏が様々な疾患と関連することから，亜鉛欠乏を早期に検出することは重要である。現在，亜鉛状態の診断には血清亜鉛濃度が広く用いられているが，血清中の亜鉛は生体内総亜鉛量の約0.1%程度であるため，血清中の亜鉛が全身の亜鉛状態を反映しない例も多数報告されている[3]。従って，血清亜鉛値以外に，体内亜鉛状態を正確に反映する有効なパラメーターが見いだされることが強く望まれている。

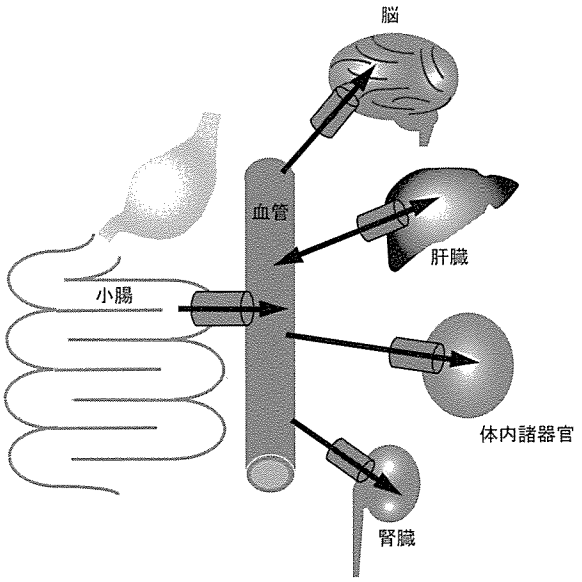
4. トランスポーターによる鉄，銅，亜鉛の吸収調節機構

食事から摂取した栄養素は主に小腸から吸収される。その吸収過程では細胞膜に存在するトランスポーターの働きが重要であり，消化管から小腸上皮細胞内への取り込み過程と，その後の血中への放出に必要である（第2図）。ここでは，亜鉛の吸収過程を鉄や銅と対比させて概説し，特にトランスポーターを介した調節機構の観点から亜鉛の吸収機構の特徴について述べたい（第3図）。

食物に含まれる鉄には，肉や魚などの動物性食品にFe^{2+}で含まれるヘム鉄と，主に野菜や豆類など植物性食品にFe^{3+}で含まれる非ヘム鉄がある。一般的にヘム鉄の吸収率が非ヘム鉄に比べて良いとされているが，ヘム鉄の吸収に働くトランスポーターやその機構は，詳細には明らかにされていない。消化管での非ヘム鉄の吸収には，二価の金属イオントランスポーターであるDMT1とferroportinが働いている。DMT1は二価の鉄イオンを輸送するので，Fe^{3+}はDMT1によって輸送される前にFe^{2+}へと還元される必要がある。このFe^{3+}の還元には，小腸上皮細胞の頂端膜に発現する鉄還元酵素Dcytbが機能すると考えられており，還元された二価の鉄イオンFe^{2+}がDMT1によって小腸上皮細胞内へと取り込まれる。細胞内へ取り込まれたFe^{2+}は基底膜に局在するferroportinにより門脈へと輸送され，銅を構成因子とした鉄酸化酵素hephaestinによってFe^{3+}へと酸化された後，鉄輸送タンパク質transferrinに結合して末梢組織へと送られる[14,15]。銅が欠乏すると貧血に陥るのは，このhephaestinが銅要求性酵素であるためである。

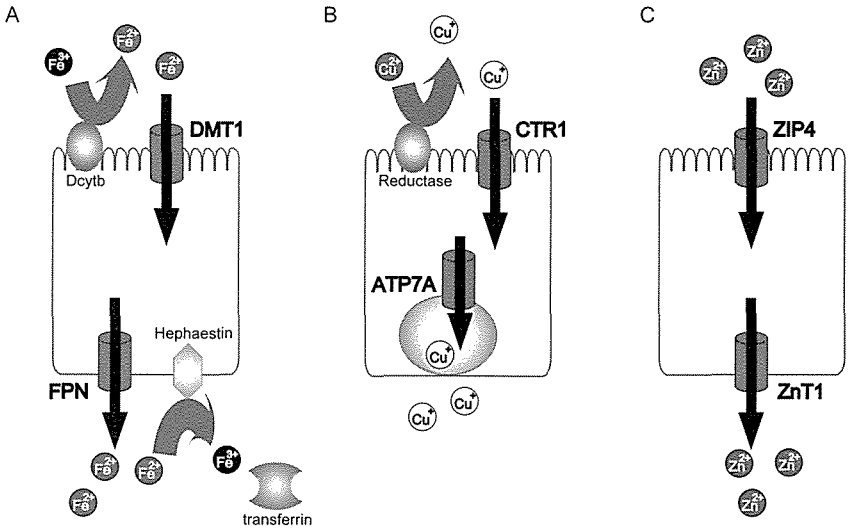
銅の消化管での吸収には，CTR1とATP7Aが中心的な役割を果たす。CTR1は一価のCu^{+}を輸送するトランスポーターであるため，食物中のCu^{2+}は還元酵素によりCu^{+}に還元された後，CTR1によって小腸上皮細胞内に取り込まれる[16]。この時に働く還元酵素は明らかにされてはいないが，鉄の場合と同様，DcytbやSteap等の酵素が想定されている[17]。細胞内に取り込まれたCu^{+}はATP7Aにより門脈へ送られる。ATP7Aは基底膜近傍の小胞に発現が確認されており[17]，ATP7Aはその小胞へ銅を送り込むことで，銅を門脈へと輸送すると考えられるが詳細は明らかではない。銅の吸収機構については，今後の解析により新たな知見が得られることが期待される。

食物由来の亜鉛の体内吸収においては，亜鉛トランスポーターZIP4とZnT1が中心的な役割を担っている。小腸管腔側の頂端膜に発現するZIP4が小腸上皮細胞内に亜鉛を取り込み，基底膜に発現するZnT1が



第2図　トランスポーターを介した栄養素の吸収，体内動態

亜鉛を含むミネラルは，膜タンパク質であるトランスポーターを介して輸送されることで，細胞膜を通過することができる。トランスポーターは糖，アミノ酸，ビタミン，ミネラルなど親水性の栄養素の吸収，代謝の過程で必須である。



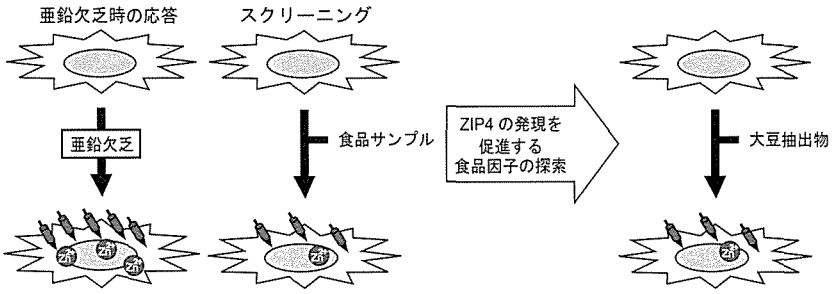
第3図 鉄，銅，亜鉛の消化管における吸収機構
A. 鉄 B. 銅 C. 亜鉛の消化管における吸収に機能するトランスポーターを示した。亜鉛は鉄と銅とは異なり，酸化還元による価数変化がない特徴がある。

門脈血中に亜鉛を輸送する。亜鉛は血液中ではアルブミンやα2-マクログロブリンと結合した状態で全身へ送られる。ZIP4は上述した先天性亜鉛欠乏症の腸性肢端皮膚炎の原因分子であるため，亜鉛吸収において必要不可欠な役割を果たす。ZIP4については未解明な点が多いが，その発現は細胞内の亜鉛濃度により厳密に制御されることが示されている[18]。亜鉛十分時，ZIP4は小腸上皮細胞の頂端膜上からエンドサイトーシスされ，速やかに分解を受けることで過剰の亜鉛の取り込みを防いでいる[19]。一方，亜鉛欠乏時には，*ZIP*4mRNAの安定化に伴いZIP4タンパク質が増加し，同時に分解は抑制される。その結果，増加したZIP4タンパク質が小腸上皮細胞内への亜鉛の取り込みに機能する。また，ZnT1は細胞内亜鉛が増加すると発現量が増大するため，結果，門脈側への亜鉛輸送が促進される。このように，消化管における亜鉛吸収は，亜鉛濃度により発現制御されるZIP4とZnT1が絶妙なバランスで協調することで，厳密に制御されている。亜鉛は二価の陽イオンで安定なため，鉄や銅のようにトランスポーターによる輸送の前に還元過程を経る必要はない。従って，消化管からの亜鉛吸収機構は，鉄や銅と比較するとシンプルであり，吸収の担い手であるZIP4の発現量に強く依存すると考えられる。このことを前提にして，我々は下記に記す亜鉛吸収を促進させる食品因子の探索を行っている。

5. 亜鉛吸収効率改善に向けた食品因子の探索

食物から摂取した亜鉛の消化管における吸収率は，摂取量や年齢により増減はあるが，前述の通り約30%程度と高くない[20]。これは食物にはフィチン酸や食物繊維，食品添加物のポリリン酸塩など亜鉛の吸収を阻害する因子や，排泄を促進する因子など様々な因子が含まれているためである[21]。従って，亜鉛の体内への吸収量を増加させるためには食事中の亜鉛含量を増やすだけでなく腸管での吸収効率を高めることが極めて重要になる。そこで，我々は，腸管での亜鉛吸収に必須の働きを担うZIP4の発現量を増加させる食品因子を探索し，亜鉛栄養を改善することを試みている。実際，ZIP4を過剰発現させた培養細胞では，ZIP4の発現増加に伴い細胞内の亜鉛量が増大するため[22,23]，ZIP4の発現量を増加させる効果を有する食品因子は，亜鉛吸収促進効果が十分に期待できる。

探索を実施するためZIP4を特異的に認識するモノクローナル抗体を作製し，小腸上皮細胞と同様に細胞内亜鉛量に応答してZIP4の発現が変動する性質を有した培養細胞株を見出して*in vitro*スクリーニング系を構築した（第4図）。これまでに味噌や卵など，400種類を超える種々の食品や食材についてスクリーニン



第4図 ZIP4の発現量を増加させる食品因子のスクリーニング
小腸上皮細胞と同様に亜鉛欠乏時にZIP4の発現を増加させる性質を有する細胞株を用いて，ZIP4の発現量を増加させる食品因子の探索を行った(左図)。スクリーニングの結果，大豆抽出物にZIP4発現量を増加させる効果ならびに細胞内亜鉛量を増加させる効果を認めた。

グを実施したところ，複数の味噌にZIP4の発現量を増加させる効果が認められた。さらに味噌の主原料である大豆に由来する種々の抽出物について同様のスクリーニングを行った結果，添加濃度に伴い細胞膜上のZIP4の発現量を増加させる抽出物を見出した。細胞内亜鉛量をモニターするレポーターを用いた解析において，この抽出物が細胞内の亜鉛量を増加させていることを強く示唆する結果も得られた。従って，スクリーニングで見出した大豆抽出物には，細胞膜上のZIP4を増加させ，細胞内への亜鉛取り込みを促進する因子が含まれることが判明した（第4図)。本因子には消化管からの亜鉛吸収を高める効果が期待されるため，現在，活性因子同定のため単離精製を試みている。活性因子同定の後，詳細な作用機序や他の金属元素の吸収に及ぼす影響を解析していく予定である。さらに精製した因子の亜鉛欠乏症状改善効果についても*in vivo*実験において検討したいと考えている。

6. ZIP4の発現を促進する食品因子がもたらす可能性

大豆抽出物は，亜鉛トランスポーターZIP4を標的にして，亜鉛吸収を促進する機能を有することが予想される。したがって，亜鉛を付加した亜鉛強化食とは異なる亜鉛栄養改善の実現が期待される。今回見出したようなZIP4の発現を増加させる活性を有する因子の存在は，これまで全く知られていない。従って，我々が確立したスクリーニング系を用いれば，様々な食材や食品から同様の効果を有する新たな食品因子が見出される可能性は十分あるといえる。多様な生理機能を有する食品やこれまでに有効活用されていなかった食材を中心に，今後もスクリーニングを継続して実施する予定である。また，活性因子同定後は，構造活性相関解析によって，さらに強力な効果を有する食品因子を探索することも可能となる。本研究は，複数の味噌において活性を検出したことを出発点としており，本解析により見出した因子が味噌の生成過程において構造変化し，活性が増強された可能性も考えられる。構造活性相関解析から，この点についての答えも得られることが期待される。

亜鉛トランスポーターは，ほ乳類において20種類以上が同定されており[24,25]。中でもZIP5は，ZIP4と同様に小腸上皮細胞に発現し，ZIP4と約30%の相同性を有する亜鉛トランスポーターである[26,27]。しかしながら，非常に興味深いことに，亜鉛濃度に応じた発現調節や細胞内での局在部位はZIP4と全く逆の制御を受けている。すなわち，ZIP5は亜鉛十分時には小腸上皮細胞の基底膜側に局在するが，亜鉛欠乏時には速やかに消失する[28]。亜鉛吸収過程において何らかの役割があることが推察されるが，ZIP5に関してはまだ明らかにされていないことが多い。ZIP4発現調節に影響を与える本大豆抽出物がZIP5の発現にどのような変化を与えるのか，もしくは影響しないのか興味を惹かれる。このような解析からZIP5に関する制御機構の解明につながる新しい知見も得られるかもしれない。

7. おわりに

亜鉛は様々な食品中に含まれるため，推奨量の亜鉛を日常の食事で補うことは工夫次第で十分可能である。しかしながら，亜鉛含量の少ないインスタント食品の過剰摂取，諸疾患による摂食不良や吸収障害，あるいは高齢者など亜鉛を不足しやすい状況では，亜鉛の充足は容易ではない。我が国の現行の制度では，亜鉛の食品添加物（硫酸亜鉛，グルコン酸亜鉛）としての利用はごく一部に限られており，「栄養機能食品」や「母乳代替食品」以外の食品での使用は認可されていない。従って，「ZIP4の発現量を増加させる食品因子の探索」により我々が見出した因子が亜鉛栄養改善のひとつの手段となり得ることを期待している。さらに亜鉛欠乏改善や亜鉛欠乏予防に加えて，見出した因子のZIP4に対する作用機構の解析から，未だ完全に解明されていない消化管における亜鉛吸収過程の分子機序の解明に何らかのヒントが得られるのではないかと考えている。

最後に本研究を実施するにあたりご援助賜りました（社）中央味噌研究所に御礼申し上げます。

〈京都大学大学院生命科学研究科〉

参考文献

1) 厚生労働省健康局，日本人の食事摂取基準（2010年版）
2) 厚生労働省総務課生活習慣病対策室，平成22年国民健康・栄養調査の概要（2012）
3) 倉澤隆平ほか：亜鉛欠乏症について．長野県国民健康保険団体連合会，長野県国保直診医師会＜亜鉛欠乏に関する研究会＞（2006）
4) Wuehler, S. E., Peerson, J. M., and Brown, K. H. *Public Health Nutr* **8**, 812-819（2005）
5) Maret, W., and Sandstead, H. H. *J Trace Elem Med Biol* **20**, 3-18（2006）
6) Andreini, C., Banci, L., Bertini, I., and Rosato, A. *J Proteome Res* **5**, 196-201（2006）
7) Maret, W., and Li, Y. *Chem Rev* **109**, 4682-4707（2009）
8) Fukada T, Yamasaki S, Nishida K, Murakami M, Hirano T. *J Biol Inorg Chem* **16**, 1123-34（2011）
9) D, Janghorbani M, Young VR. *Am J Clin Nutr* **50**, 1457-63（1989）
10) Prasad AS. *J Trace Elem Med Biol* **26**, 66-9（2012）
11) Chasapis CT, Loutsidou AC, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME. *Arch Toxicol* **86**, 521-34.（2012）
12) Kury, S., Dreno, B., Bezieau, S., Giraudet, S., Kharfi, M., Kamoun, R., and Moisan, J. P. *Nat Genet* **31**, 239-240（2002）
13) Wang, K., Zhou, B., Kuo, Y. M., Zemansky, J., and Gitschier, J. *Am J Hum Genet* **71**, 66-73（2002）
14) De Domenico I, McVey Ward D, Kaplan J. *Nat Rev Mol Cell Biol* **9**, 72-81（2008）
15) Fuqua BK, Vulpe CD, Anderson GJ. *J Trace Elem Med Biol* **26**, 115-9（2012）
16) Kim BE, Nevitt T, Thiele DJ. *Nat Chem Biol* **4**, 176-185（2008）
17) Wang Y, Hodgkinson V, Zhu S, Weisman GA, Petris MJ. *Adv Nutr* **2**, 129-137（2011）
18) Dufner-Beattie J, Wang F, Kuo YM, Gitschier J, Eide D, Andrews GK. *J Biol Chem* **278**, 33474-33481（2003）
19) Mao X, Kim BE, Wang F, Eide DJ, Petris MJ. *J Biol Chem* **282**, 6992-7000（2007）
20) Gallaher, D. D., Johnson, P. E., Hunt, J. R., Lykken, G. I., and Marchello, M. J. *Am J Clin Nutr* **48**, 350-354（1988）
21) Lonnerdal, B., Mendoza, C., Brown, K. H., Rutger, J. N., and Raboy, V. *J Agric Food Chem* **59**, 4755-4762（2011）
22) Kambe, T., and Andrews, G. K. *Mol Cell Biol* **29**, 129-139（2009）
23) Kim, B. E., Wang, F., Dufner-Beattie, J., Andrews, G. K., Eide, D. J., and Petris, M. J. *J Biol Chem* **279**, 4523-4530（2004）
24) Fukada, T., and Kambe, T. *Metallomics* **3**, 662-674（2011）
25) 神戸大朋，化学と生物 **47**, 545-552（2009）
26) Dufner-Beattie J, Kuo YM, Gitschier J, Andrews GK. *J Biol Chem* **279**, 49082-90（2004）
27) Wang F, Kim BE, Petris MJ, Eide DJ. *J Biol Chem* **279**, 51433-41（2004）
28) Weaver BP, Dufner-Beattie J, Kambe T, Andrews GK. *J Biol Chem* **388**, 1301-12（2007）