シリーズ リフレッシュが必要な微量元素に関する常識

ここまで分かった亜鉛の免疫システムにおける役割

西 田 圭 吾

独立行政法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 恒常性ネットワーク研究チーム

New Knowledge from Past Decade: Role of Zinc in Immune System

Keigo NISHIDA

Laboratory for Homeostatic Network, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences (IMS-RCAI)

Abstract Zinc (Zn) is essential for normal cell structure and physiology. Its deficiency causes growth retardation, neuronal degeneration, and immunodeficiency. Zn homeostasis is tightly controlled through Zn transporters and metallothioneins, which regulate Zn concentration and Zn distribution in individual cells, and contributes to Zn-binding protein in cells. Although many molecules involved in these processes have Zn-binding motifs, the molecular mechanisms underlying the role of Zn in the immune system have not been clarified. Recently, we and other groups have demonstrated that Zn plays diverse and specific roles in vivo and in vitro, in studies on the genetic knockout of Zn transporter functions. In this review, we discuss the impact of Zn on mast cell-mediated allergy and T cell-mediated immune responses. We also describe Zn dysregulation as a leading health problem in allergy and immune responses.

Key words: zinc (亜鉛), immunity (免疫), mast cell (マスト細胞), T cell (T細胞), dendritic cell (樹状細胞), allergy (アレルギー), autoimmune disease (自己免疫疾患)

1. はじめに

亜鉛は微量必須元素の一つであり、亜鉛欠乏により、免疫系、神経系、内分泌系の異常を呈することが報告されている。これら亜鉛欠乏によって生じる様々な疾患は200種以上の酵素がその活性化に亜鉛を必要とされていることや、亜鉛フィンガーを有した多くの亜鉛結合性の転写因子やシグナル伝達分子が存在し、これら亜鉛要求性の蛋白質構造になんらかの異常をもたらすためではないかと考えられている。

一方、免疫システムはヒトが通常生活していくうえで必須な生体恒常性システムであり、様々な免疫担当細胞や免疫関連分子が複雑に相互作用することにより成り立っている。また、その破綻は自己免疫疾患・感染症・

アレルギー疾患などの免疫関連疾患を引き起こす。

先に述べたように、亜鉛欠乏により、多彩な病態が観察されるが、神経系や内分泌系と亜鉛に関する研究が先行して推進されてきた歴史があり、免疫系と亜鉛に関する研究は現象論の域を超えないままであった。しかし、最近の日本及び海外の免疫学者の研究の参画により、亜鉛欠乏による免疫異常も細胞・分子レベルで説明できるようになりつつある。

本稿では、あきらかになりつつある亜鉛と免疫担当細胞機能発現、特に、樹状細胞、マスト細胞、T細胞に関する分子レベルでの知見、さらにはこれらの細胞が関与している免疫関連疾患に関して、亜鉛がどのような役割を担っているのかについて最新の研究成果を踏まえて紹介したい。

2. 亜鉛欠乏と免疫システム

亜鉛欠乏により免疫システムの異常がヒトやマウスで多数報告されている(1–4)。亜鉛欠乏による免疫不全の特徴は胸腺の萎縮とそれに伴う細胞性免疫の機能低下で

受付 2013 年 5 月 31 日, 受理 2013 年 7 月 29 日
Reprint requests to: Keigo NISHIDA
Laboratory for Homeostatic Network, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences (IMS-RCAI), Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan
TEL: +81(45)503-7075, FAX: +81(45)503-9688
E-mail: nishida@rcai.riken.jp

ある。亜鉛欠乏は腸性肢端皮膚炎のような遺伝性欠乏症ばかりでなく、種々の栄養状態（低栄養、高カロリー輸液栄養時、血液透析時、薬物治療時など）、生理的状态（妊娠時、老年期）、疾病状態（慢性アルコール中毒、肺疾患、腸疾患、進行癌、鎌型赤血球症など）によっても誘発される。実験的に亜鉛欠乏餌で飼育したマウスにおいては CD4 CD8 ダブルポジティブ胸腺細胞の減少を伴った胸腺の萎縮 (5)、そして末梢血リンパ球数の低下が観察される (6)。さらにヘルパー T 細胞のサブセットに関しては Th1 細胞からの IL-2、IFN- γ などのサイトカイン産生の減少 (7)、これらの報告と一致して、低濃度の亜鉛で培養したナイーブ T 細胞及び Th1 細胞において、マイトジェン刺激によるサイトカイン転写活性が抑制されていた (8)。T 細胞だけではなく、ウイルス感染細胞や腫瘍細胞の除去に重要な役割を担っているナチュラルキラー細胞においても、亜鉛欠乏によって、細胞障害活性低下などが報告されている (9)。

一方、亜鉛製剤であるポラプレジック（商品名：プロマック）を潰瘍性大腸炎誘発マウスに投与すると、臨床症状が改善されることが報告されている (10, 11)。この結果と一致して亜鉛投与マウスでは炎症組織での好中球浸潤、炎症性サイトカインの産生が抑制されていた。これらの報告より亜鉛が免疫システムに作用して、炎症疾患を抑制することが示唆された。

このように免疫システムにおける亜鉛の重要性が指摘されていたにもかかわらず、どのようなメカニズムで、亜鉛が免疫システムを制御しているか十分には提示されていなかった。次項より、著者の研究グループが報告してきた研究成果を中心に、胸腺萎縮を含む細胞性免疫システムにおける亜鉛の役割については項目 3、アレルギー応答における亜鉛の役割については項目 4、自己免疫疾患と亜鉛の関連については項目 5 においてそれぞれ解説する。

3. 亜鉛による細胞性免疫システムの制御

3-1. 亜鉛欠乏による胸腺萎縮の分子機構

胸腺は二次リンパ器官の一つで、ナイーブ T 細胞が自己及び非自己の識別を獲得するための必須の組織である。先に述べたように、亜鉛欠乏によって、胸腺の萎縮が観察される。この萎縮には亜鉛欠乏によって、副腎皮質からの分泌が亢進される血中のグルコルチコイドが関わっている可能性が示唆されている。事実、グルコルチコイドの分泌亢進を抑制するために、副腎摘出手術を施したマウスでは亜鉛欠乏による胸腺萎縮が軽減された (12)。また、グルコルチコイドは胸腺のナイーブ T 細胞にアポトーシスを誘導する (5)。現時点で、亜鉛欠乏によって分泌亢進したグルコルチコイドによって胸腺のナイーブ T 細胞が減少することで、胸腺萎縮が観察された可能性が考えられた。

3-2. 亜鉛による T 細胞機能制御

亜鉛欠乏によって T 細胞の機能異常を呈することが知られている。T 細胞は抗原を認識する抗原受容体を発現しており、この抗原受容体の活性化には補助受容体と呼ばれる CD4 や CD8 と恒常的に会合しているチロシンキナーゼ lymphocyte-specific protein tyrosine kinase (Lck) の活性化が必要である。Kim らは補助受容体と Lck の会合に亜鉛が必須であることを構造解析により示した (13)。これらの報告より、亜鉛欠乏によって補助受容体と Lck の会合に影響を及ぼし、T 細胞機能異常を呈する可能性が考えられた。

3-3. 亜鉛による樹状細胞成熟化機構の制御

樹状細胞は病原体などの外来性抗原を取り込み、細胞内で分解を行った後、MHC クラス II 分子を介して、その外来性抗原ペプチドをナイーブ T 細胞に抗原提示する細胞性免疫において重要な役割を担う。また、樹状細胞は抗原を捕捉後、細菌の菌体成分である Lipopolysaccharide (LPS) の刺激を受け取って、細胞表面の MHC クラス II 分子の発現を高め、成熟樹状細胞に分化誘導される。

著者の研究グループにおいて、樹状細胞を LPS で刺激した後、亜鉛蛍光プローブを用いて細胞内の亜鉛濃度を観測したところ、亜鉛が樹状細胞の成熟に伴って減少し、同時に獲得免疫反応に重要な MHC クラス II の細胞表面における発現レベルが上昇していることを見出した (14)。続いて、樹状細胞成熟化における亜鉛濃度の影響を調べるために、亜鉛キレート剤である TPEN (*N,N,N',N'*-Tetrakis(2-pyridylmethyl)ethylenediamine) を用いて細胞内亜鉛をキレートしたところ、樹状細胞表面の MHC クラス II の発現増加が認められた。さらに詳細に樹状細胞内の MHC クラス II の局在を検討してみたところ、TPEN 処理した樹状細胞では LPS 処理した樹状細胞と同様に細胞膜に MHC クラス II の発現が認められるが、大部分の MHC クラス II はエンドソーム分画に残存していることがわかった。このことから、細胞内亜鉛のキレートによって観察された細胞膜での MHC クラス II の蓄積は、エンドソーム分画の MHC クラス II が積極的に細胞膜へ輸送されたのではなく、定常状態で活発に起こっている MHC クラス II のエンドサイトーシス、すなわち細胞膜からエンドソームへの移動を抑制している可能性が推察された。事実、無刺激、LPS 刺激、TPEN 処理した樹状細胞における細胞膜の MHC クラス II 発現レベルを追ったところ、TPEN 処理樹状細胞と LPS 刺激樹状細胞は、いずれも MHC クラス II のエンドサイトーシスが抑制されていた。これらの結果は LPS 刺激時のエンドサイトーシスの抑制に亜鉛要求性の機構が存在している可能性を示唆している。亜鉛イオノフォアを用いて亜鉛を細胞内に強制導入し、LPS 刺激を加えた場合には、細胞膜 MHC クラス II の発現レベルの増加が見られず、亜鉛キレーター処理と逆の効果が観察された。以上のことより、LPS 刺激による樹状細胞の成熟過程に、細胞内亜鉛濃度の低下

図 1 樹状細胞の成熟・活性化における亜鉛の役割。細菌の細胞壁成分である LPS によるシグナルが亜鉛トランスポーターの発現依存的に細胞内亜鉛濃度を低下させており、この細胞内亜鉛が低下することが細胞表面における MHC クラス II 発現などの樹状細胞の成熟・活性化に必須であることが明らかになった。このことは、亜鉛トランスポーターの転写依存的な細胞内亜鉛濃度のダイナミックな変化が、細胞成熟におけるシグナルとして機能していることを示唆している。

が必要であることが示唆された。

細胞内亜鉛レベルの制御には亜鉛トランスポーターが必要である。LPS 刺激した樹状細胞の亜鉛トランスポーターの mRNA 発現レベルのプロファイリングを行ったところ、図 1 に示した TRIF 経路依存的に亜鉛を細胞質内に取り込む亜鉛インポーター (ZIP6) が減少し、それとは対照的に亜鉛を細胞質から細胞外へ排出する亜鉛エクスポーター (ZnT1) が増加していることがわかった。したがって、LPS 刺激による細胞内亜鉛濃度の減少は、亜鉛トランスポーターの発現に起因するものと推察された。実際に細胞膜に発現し、細胞外から細胞内への亜鉛輸送を制御している ZIP6 (ZIP6 の詳細は本シリーズ「リフレッシュが必要な微量元素に関する常識」神戸氏の解説を参照 (15)) を強制発現させた樹状細胞を LPS で刺激すると、細胞膜の MHC クラス II 発現の増加は抑制された。樹状細胞の MHC クラス II は CD4 陽性 T 細胞の活性化に必須である。よって、樹状細胞と共培養した CD4 陽性 T 細胞活性化による IL-2 産生量の減弱を導いた。このことは亜鉛が樹状細胞において MHC クラス II の発現制御に関与し、T 細胞を介した免疫応答を調節していることを意味している。すなわち、亜鉛トランスポーターによる細胞内亜鉛レベルの減少が樹状細胞の成熟機序に関与しており、樹状細胞を介する細胞性免疫の制御に関与していることが明らかとなった。(図 1)。上述してきたように、亜鉛トランスポーターが細胞内亜鉛濃度を変化させることによって、細胞性免疫に重要な役割を担っている樹状細胞の分化に影響を及ぼしていることを示すこと

ができたが、MHC クラス II の細胞内のトラフィックに亜鉛濃度変化がどういった分子を介して制御を担っているかに関しては今後の課題である。

4. 亜鉛とマスト細胞及びアレルギー反応の制御

マスト細胞はアレルギー反応で役割を果たしている骨髄由来の顆粒細胞である (16–18)。マスト細胞は、ヒスタミンなどの化学伝達物質を貯蔵した顆粒を有しており、さらにその顆粒中には亜鉛が蓄積していることが明らかになっている (19, 20)。しかしながら、顆粒中の亜鉛の役割やマスト細胞の活性化における亜鉛の重要性については明らかになっていなかった。

筆者の研究グループでは、マスト細胞の活性化における亜鉛の役割を検討する目的で亜鉛のキレート剤 TPEN をマウスに投与した。その結果、血管透過性を指標とした局所性アナフィラキシー反応が TPEN の投与量依存的に抑制されることが確認された (21)。このときの耳の組織切片におけるマスト細胞の形態から、TPEN 投与を行った個体では脱顆粒反応が低下していることが明らかになった。また TPEN は全身性アナフィラキシー反応に対しても抑制効果を示すことが確認された。さらに骨髄由来のマスト細胞を用いてマスト細胞活性化に対する TPEN の阻害効果を検討した結果、TPEN 処理により脱顆粒反応、ロイコトリエン産生、および IL-6 と TNF α などのサイトカイン産生が低下していた。TPEN は亜鉛以外の銅、鉄、およびマンガンに対してもある程度のキレート効果があるが、銅、鉄、マンガンのキレート剤はマスト細胞の活性化を抑制しなかったことから、抗原刺激依存的なマスト細胞の活性化に亜鉛が関与していることが示唆された。TPEN は抗原受容体の下流の Syk, LAT, および PLC γ 2 のリン酸化やカルシウムシグナルに対する阻害効果を示さなかったが、脱顆粒反応に重要なプロセスである細胞内顆粒の細胞膜への移動 (顆粒移動) を抑制することが明らかになった。最近、マスト細胞の顆粒移動を調節する分子として低分子量 G タンパク質の一員である ARF1 (ADP-Ribosylation Factor1) の同定に成功した (22, 23)。さらに、この ARF1 の活性化は TPEN で阻害されることが判明し、TPEN 処理による脱顆粒反応抑制の標的分子として、ARF1 が考えられた。一方、マスト細胞を抗原刺激した際のサイトカイン産生に対する TPEN の阻害機構を検討した結果、IL-6 と TNF α の主要な転写調節因子である NF- κ B の抗原刺激依存的な核移行が TPEN 処理により大幅に抑制されており、その上流の I κ B のリン酸化とユビキチン化による分解、そして IKK の活性化が低下していることが判明した。さらに PKC β 1 の活性化に重要な細胞膜への移行が TPEN 処理により阻害されていたことから、PKC β 1-NF- κ B 経路を介した炎症性サイトカインの産生に亜鉛が関与していることが明らかになった。また、著者らの研究グループではマスト細胞で高発現していた細胞質からゴルジ体及び小胞

図2 マスト細胞における亜鉛／亜鉛トランスポーターの役割。マスト細胞の活性化に亜鉛が関与している。ヒスタミン遊離を伴う脱顆粒に関して、細胞質内のヒスタミン含有顆粒が細胞膜へ移行するステップが必要であることが示されている（顆粒移動）。亜鉛はこの顆粒移動の調節を担っている ARF1 分子の活性化を制御している。また、PKC 依存的なサイトカイン産生に関しては、PKC が亜鉛結合蛋白であり、PKC に亜鉛が供給されなくなると、活性化に重要なステップである PKC の膜移行が障害される。亜鉛トランスポーター ZnT5 は細胞質内のゴルジ体 (Golgi) や小胞体 (endoplasmic reticulum: ER) への亜鉛を供給する輸送体で、これらのオルガネラからの PKC への亜鉛供給が恒常的に存在しているものと考えている。

体への亜鉛輸送に関わっている亜鉛トランスポーター ZnT5 (ZnT5 の詳細は本シリーズ「リフレッシュが必要な微量元素に関する常識」神戸氏の解説を参照 (15)) に着目した。ZnT5 遺伝子欠損マウス由来のマスト細胞では抗原刺激依存的な PKCβ1 の膜移行及び、それにともなうサイトカイン産生が障害されていた (24)。マスト細胞活性化における亜鉛の作用点に関して図 2 に模式化した (25, 26)。脱顆粒に関しては ARF1 分子依存的な細胞内顆粒移動、サイトカイン産生に関しては PKC の膜移行のプロセスを抑制していると考えている (図 2)。

上述してきた一連の実験によって、亜鉛がマスト細胞の活性化に重要な役割を担っていることが示されたが、顆粒内に蓄積されている亜鉛の意義は未だ、十分に理解されていない。今後は顆粒亜鉛の免疫システムでの役割を明らかにする必要がある。

5. T 細胞依存性の自己免疫疾患における亜鉛の役割

亜鉛供給によって、マウスにおいて自己免疫疾患発症を抑える報告がなされている (10, 11)。自己免疫疾患の発症には T 細胞が重要な役割を担っていることから、亜鉛と T 細胞の活性化になんらかの関係があることが示唆されたが、これまで、T 細胞機能発現における亜鉛の役割に関しては十分には理解されていなかった。

CD4 陽性 T 細胞はそのサイトカイン産生パターンの違いから Th1, Th2, Th17 細胞サブセットに分類されており、それぞれの細胞の免疫反応における役割も示されて

いる。特に、IL-17 を産生する Th17 細胞は慢性炎症性疾患であるコラーゲン誘導性の関節炎 (collagen-induced arthritis: CIA) や実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis: EAE) の発症に寄与していることが IL-17 遺伝子欠損マウスの解析から明らかとなっている (27-29)。また、ナイーブ T 細胞から Th17 細胞への分化誘導にはサイトカインである TGF-β と IL-6 の刺激が必要である (30-32)。

北林らは亜鉛を飲料水に加えて、マウスに与えることによって亜鉛と自己免疫疾患の関係について調べた (33)。興味深いことに亜鉛を供給したマウスにおいて、コラーゲン誘導性の関節炎や実験的自己免疫性脳脊髄炎を誘導させても、通常水を摂取したマウスに比べ、病態の重症化が軽減されることが判明した。さらに、亜鉛水を摂取させたマウスに EAE を誘導後、Th17 細胞を調整し、正常マウスへ移植を実施し、病態の発症過程を観察したところ、コントロールマウス由来の Th17 細胞を同じ数だけ移植したマウスと同程度であったことから、Th17 細胞の機能発現に亜鉛が関与している可能性は否定された。

そこで、IL-6 による Th17 細胞の分化誘導に関して、in vitro の解析を行った結果、亜鉛処理によって、IL-6 誘導性の Th17 細胞への分化誘導が障害されることを見出した。さらに、亜鉛処理による Th17 細胞分化への分子機序を調べる目的で、IL-6 刺激で活性化されるシグナル分子、STAT3 の活性化について検討を行った。亜鉛添加によって、IL-6 刺激後の Th17 細胞における STAT3 のリン

図3 亜鉛はIL-6/STAT3シグナル伝達経路を抑制することにより炎症性疾患の発症を抑制している。亜鉛は転写因子STAT3に直接作用することにより、構造変化を引き起こす。その結果、IL-6の刺激を受けてもSTAT3はリン酸化されない。亜鉛による自己免疫疾患抑制機構として、これらIL-6依存性のTh17細胞への分化障害を明らかにした。

酸化レベルは減弱しており、このことにより亜鉛がTh17細胞への分化誘導を抑制することが、初めて明らかとなった。亜鉛によるSTAT3のリン酸化抑制は亜鉛が、STAT3に直接、結合することでSTAT3のリン酸化キナーゼJAKによるリン酸化を障害していることが推察された。この結果と一致して、亜鉛水を摂取させたマウスにおいて、リンパ節のTh17細胞数が低下していることが観察された(図3)。以上の結果より、従来から観察されていた亜鉛補充による慢性自己免疫疾患に対する抑制効果は、近年、炎症疾患発症に関与することが指摘されているサイトカインIL-17の産生細胞であるTh17細胞の分化抑制によるものである可能性が示唆された。今後は亜鉛がSTAT3に結合することで、どのようにしてSTAT3のリン酸化を抑制しているのか詳細を解析していく予定である。

6. 亜鉛シグナルと免疫反応

近年、細胞内金属イオンを可視化する蛍光プローブの開発に伴い、ごく微量の細胞内亜鉛イオンの存在が明らかになり、生体内総亜鉛量の恒常性に加えて、細胞応答における細胞内亜鉛イオンの重要性が明らかになってきた。神経細胞においては、シナプス小胞に貯蔵されている亜鉛が生理的刺激に反応して細胞外に放出され、この亜鉛がイオンチャネルの機能調節や細胞死誘導に関与しており、亜鉛自身が神経伝達物質として働くことが明らかになっている(34-36)。このことは、亜鉛が細胞間情報伝達を行うシグナル分子としての役割を果たしていることを示唆している。しかし、免疫担当細胞の活性化に伴って亜鉛イオンがどのような動態をしめすのか不明であった。

著者は、このアレルギー応答時に主要な役割を果たすマスト細胞において、抗原刺激後、2～3分程度で細胞内亜鉛の増加が検出でき、約15分後に亜鉛濃度がピークに到達する「亜鉛ウェーブ」の存在を明らかにした(37)。亜鉛ウェーブで見られる細胞内亜鉛イオンの一過的上昇は、細胞外から細胞質への亜鉛の流入ではなく核周辺の小胞体近傍から発生していることがわかった。マスト細胞は活性化に伴って即時型の脱顆粒反応と炎症性サイトカインの転写を介した遅延型の炎症反応を惹起することが知られており、この亜鉛ウェーブはサイトカイン産生に関わるシグナル伝達を増強させることが示された。このことは、カルシウムイオンと同様に亜鉛イオンが細胞内シグナル伝達を調節するセカンドメッセンジャーとして機能することを示唆している。また、この亜鉛ウェーブの制御にはSykやPLC γ を介したカルシウムシグナル伝達経路が関与しているが、イオノフォアを用いた一過的なカルシウム濃度の上昇だけでは亜鉛ウェーブは誘起されず、カルシウム濃度上昇と並行してMAPキナーゼの活性化も必要であることが見出された。最近、著者は、マスト細胞の小胞体において亜鉛透過性のL型カルシウムチャネル(LTCC)のサブユニット α_{1D} が発現しており、抗原刺激依存的な亜鉛ウェーブを制御していることを見出した(38)。LTCCのアンタゴニストであるベラパミル(Verapamil)でマスト細胞を処理すると、抗原刺激依存的な亜鉛ウェーブは抑制された。一方で、チャネルのアゴニストであるBayK8644の単独刺激が亜鉛の上昇を誘導し、この亜鉛の上昇はVerapamilの前処理により消失し、カルシウム非含有反応液中でも見られた。これらの結果は、LTCCが直接亜鉛ウェーブの制御に関与していることを示唆していた。事実、 α_{1D} サブユニットをノックダウンしたマスト細胞では、抗原刺

図 4 細胞内セカンドメッセンジャーとしての亜鉛。マスト細胞内遊離亜鉛が抗原刺激後に上昇していることが観察された。この現象を亜鉛ウェーブと呼ぶ。下段の写真；亜鉛検出プローブの Newport Green で細胞内亜鉛動態を蛍光顕微鏡にて観察。小胞体から亜鉛が亜鉛透過性イオンチャネル LTCC を介して、細胞内に放出されていることが示された。細胞内に発生した亜鉛ウェーブはサイトカイン転写に関与している NF-κB の活性化を制御することによって、マスト細胞におけるサイトカイン産生をポジティブに調節している。細胞外刺激依存的に細胞内遊離亜鉛濃度が上昇するしサイトカイン産生のシグナル伝達経路の調節を行っていることから、亜鉛は細胞内セカンドメッセンジャーとして働いていることが示唆された。

激依存的な亜鉛ウェーブが抑制され、Verapamil 処理細胞および α_{1D} ノックダウン細胞において抗原刺激依存的なサイトカイン産生の低下が確認できた。

さらに、著者は亜鉛ウェーブの標的分子の同定を試みた。NF-κB はサイトカイン産生の主要な転写調節因子であり、Verapamil を処理した細胞では NF-κB のターゲット DNA への結合能が減少しており、亜鉛を添加すると DNA 結合能およびサイトカイン産生能は回復した。また、マスト細胞依存的な炎症反応マウスモデルを用いて生体での亜鉛ウェーブの重要性を検討したところ、Verapamil を予め耳に塗布したマウスでは炎症反応が抑制されることが明らかになった。これらの結果から、マスト細胞において抗原刺激依存的な亜鉛ウェーブは、LTCC 依存的に起こり、小胞体から放出された亜鉛が NF-κB の DNA 結合能を増強させることによって炎症性サイトカインの産生調節の亜鉛シグナルとして機能していることが明らかになった (図 4)。

マスト細胞で見られた亜鉛ウェーブと同様の刺激依存的な細胞内亜鉛イオン濃度の上昇と亜鉛の細胞活性化における役割については、単球、好中球、T 細胞、B 細胞においても報告されている (39-42)。なお、T 細胞における刺激依存的な細胞内亜鉛イオンの上昇は、細胞膜に局在している ZIP6 を介した細胞外からの亜鉛イオンの流入が必要であり、この点はマスト細胞で見られる亜鉛ウェーブと異なっている (41)。今後、亜鉛シグナルにおける免疫システムの重要性がさらに明白になることが期待される。

7. おわりに

免疫システムにおいて、免疫担当細胞の分化・機能発現に亜鉛が深く関わっていることが示されつつある。これらの研究成果は亜鉛キレート剤や、細胞内の亜鉛恒常性維持を司っている亜鉛トランスポーターなどの亜鉛関連遺伝子の発現を人為的に操作することにより証明されている。我々が通常生活していくうえではこのような状況は起こりえない。しかしながら、冒頭で述べたように、生体内で合成できない微量必須元素の亜鉛は、栄養を摂取するための食事、または様々な病気を治療するための薬剤の服用といった我々の生活環境の変化のなかで、亜鉛欠乏状態に陥るケースが想像される。また、老化に伴って生体内の亜鉛量が減少していくことが報告されており (43, 44-46)、日本が抱える超高齢化社会を考慮して、今後も亜鉛欠乏と免疫システムの関係を追求していくことは重要な課題であると考えている。

一方、下痢症が小児の大きな死因の一つになっているアフリカを含む発展途上国では、小児において亜鉛補充療法が明らかな効果を示しており (47, 48)、下痢の期間や重症度を軽減することができ、WHO とユニセフにより推奨されている。亜鉛補充療法の腸管免疫システムへの影響に関しては今後の解析が必要であるが、これらの臨床的知見は亜鉛が感染症の治療・予防に効果的であるということを示している。

著者の研究グループでは栄養素としての亜鉛研究から、亜鉛ウェーブの研究成果で示したように、積極的に亜鉛が免疫系の恒常性維持に関わっていることを示しつ

つある (49–53)。環境の素因のひとつとして亜鉛に着目することによって、免疫システムの仕組みを理解するためのアプローチの糸口が見えてきた。

利益相反なし

文 献

- (1) Frost P, Chen JC, Rabbani I, Smith J, Prasad AS. The effect of zinc deficiency on the immune response. *Prog Clin Biol Res* 1977;14:143–153.
- (2) Fraker PJ, Jardieu P, Cook J. Zinc deficiency and immune function. *Arch Dermatol* 1987;123:1699–1701.
- (3) Keen CL, Gershwin ME. Zinc deficiency and immune function. *Annu Rev Nutr* 1990;10:415–431.
- (4) Prasad AS. Zinc in human health: effect of zinc on immune cells. *Mol Med* 2008;14:353–357.
- (5) King LE, Osati-Ashtiani F, Fraker PJ. Apoptosis plays a distinct role in the loss of precursor lymphocytes during zinc deficiency in mice. *J Nutr* 2002;132:974–979.
- (6) King LE, Frentzel JW, Mann JJ, Fraker PJ. Chronic zinc deficiency in mice disrupted T cell lymphopoiesis and erythropoiesis while B cell lymphopoiesis and myelopoiesis were maintained. *J Am Coll Nutr* 2005;24:494–502.
- (7) Prasad AS. Effects of zinc deficiency on Th1 and Th2 cytokine shifts. *J Infect Dis* 2000;182 Suppl 1:S62–68.
- (8) Bao B, Prasad AS, Beck FW, Godmere M. Zinc modulates mRNA levels of cytokines. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285:E1095–1102.
- (9) Allen JI, Perri RT, McClain CJ, Kay NE. Alterations in human natural killer cell activity and monocyte cytotoxicity induced by zinc deficiency. *J Lab Clin Med* 1983;102:577–589.
- (10) Ohkawara T, Takeda H, Kato K, Miyashita K, Kato M, Iwanaga T, Asaka M. Polaprezinc (N-(3-aminopropionyl)-L-histidinato zinc) ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Scand J Gastroenterol* 2005;40:1321–1327.
- (11) Tran CD, Ball JM, Sundar S, Coyle P, Howarth GS. The role of zinc and metallothionein in the dextran sulfate sodium-induced colitis mouse model. *Dig Dis Sci* 2007;52:2113–2121.
- (12) DePasquale-Jardieu P, Fraker PJ. Further characterization of the role of corticosterone in the loss of humoral immunity in zinc-deficient A/J mice as determined by adrenalectomy. *J Immunol* 1980;124:2650–2655.
- (13) Kim PW, Sun ZY, Blacklow SC, Wagner G, Eck MJ. A zinc clasp structure tethers Lck to T cell coreceptors CD4 and CD8. *Science* 2003;301:1725–1728.
- (14) Kitamura H, Morikawa H, Kamon H, Iguchi M, Hojyo S, Fukada T, Yamashita S, Kaisho T, Akira S, Murakami M, Hirano T. Toll-like receptor-mediated regulation of zinc homeostasis influences dendritic cell function. *Nat Immunol* 2006;7:971–977.
- (15) Kambe T. Overview of and update on the physiological functions of Mammalian zinc transporters. *Nihon Eiseigaku Zasshi* 2013;68:92–102.
- (16) Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM. The development of allergic inflammation. *Nature* 2008;454:445–454.
- (17) Kawakami T, Ando T, Kimura M, Wilson BS, Kawakami Y. Mast cells in atopic dermatitis. *Curr Opin Immunol* 2009;21:666–678.
- (18) Voehringer D. Protective and pathological roles of mast cells and basophils. *Nat Rev Immunol* 2013;13:362–375.
- (19) Gustafson GT. Heavy metals in rat mast cell granules. *Lab Invest* 1967;17:588–598.
- (20) Ho LH, Ruffin RE, Murgia C, Li L, Krilis SA, Zalewski PD. Labile zinc and zinc transporter ZnT4 in mast cell granules: role in regulation of caspase activation and NF-kappaB translocation. *J Immunol* 2004;172:7750–7760.
- (21) Kabu K, Yamasaki S, Kamimura D, Ito Y, Hasegawa A, Sato E, Kitamura H, Nishida K, Hirano T. Zinc is required for FcepsilonRI-mediated mast cell activation. *J Immunol* 2006;177:1296–1305.
- (22) Nishida K, Yamasaki S, Hasegawa A, Iwamatsu A, Koseki H, Hirano T. Gab2, via PI-3K, regulates ARF1 in FcepsilonRI-mediated granule translocation and mast cell degranulation. *J Immunol* 2011;187:932–941.
- (23) Nishida K. [Role of adaptor molecule Gab2 in mast cell-mediated allergy response]. *Yakugaku Zasshi* 2013;133:413–418.
- (24) Nishida K, Hasegawa A, Nakae S, Oboki K, Saito H, Yamasaki S, Hirano T. Zinc transporter Znt5/Slc30a5 is required for the mast cell-mediated delayed-type allergic reaction but not the immediate-type reaction. *J Exp Med* 2009;206:1351–1364.
- (25) Nishida K, Hirano T. [Role of zinc/zinc transporter in allergic response]. *Seikagaku* 2010;82:814–824.
- (26) Nishida K. [Role of zinc transporter in allergic reactions]. *Yakugaku Zasshi* 2011;131:85–92.
- (27) Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, Lord GM. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 2007;148:32–46.
- (28) Iwakura Y, Ishigame H. The IL-23/IL-17 axis in inflammation. *J Clin Invest* 2006;116:1218–1222.
- (29) Hirota K, Hashimoto M, Yoshitomi H, Tanaka S, Nomura T, Yamaguchi T, Iwakura Y, Sakaguchi N, Sakaguchi S. T cell self-reactivity forms a cytokine milieu for spontaneous development of IL-17+ Th cells that cause autoimmune arthritis. *J Exp Med* 2007;204:41–47.
- (30) Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. T(H)-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity. *Nat Immunol* 2007;8:345–350.
- (31) Nishihara M, Ogura H, Ueda N, Tsuruoka M, Kitabayashi C, Tsuji F, Aono H, Ishihara K, Huseby E, Betz UA, Murakami M, Hirano T. IL-6-gp130-STAT3 in T cells directs the development of IL-17+ Th with a minimum effect on that of Treg in the steady state. *Int Immunol* 2007;19:695–702.
- (32) Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-

- producing T cells. *Immunity* 2006;24:179–189.
- (33) Kitabayashi C, Fukada T, Kanamoto M, Ohashi W, Hojyo S, Atsumi T, Ueda N, Azuma I, Hirota H, Murakami M, Hirano T. Zinc suppresses Th17 development via inhibition of STAT3 activation. *Int Immunol* 2010.
- (34) Xie X, Smart TG. Modulation of long-term potentiation in rat hippocampal pyramidal neurons by zinc. *Pflugers Arch* 1994;427:481–486.
- (35) Li Y, Hough CJ, Suh SW, Sarvey JM, Frederickson CJ. Rapid translocation of Zn(2+) from presynaptic terminals into postsynaptic hippocampal neurons after physiological stimulation. *J Neurophysiol* 2001;86:2597–2604.
- (36) Colvin RA, Fontaine CP, Laskowski M, Thomas D. Zn2+ transporters and Zn2+ homeostasis in neurons. *Eur J Pharmacol* 2003;479:171–185.
- (37) Yamasaki S, Sakata-Sogawa K, Hasegawa A, Suzuki T, Kabu K, Sato E, Kurosaki T, Yamashita S, Tokunaga M, Nishida K, Hirano T. Zinc is a novel intracellular second messenger. *J Cell Biol* 2007;177:637–645.
- (38) Yamasaki S, Hasegawa A, Hojyo S, Ohashi W, Fukada T, Nishida K, Hirano T. A novel role of the L-type calcium channel $\alpha 1D$ subunit as a gatekeeper for intracellular zinc signaling: zinc wave. *PLoS One* 2012;7:e39654.
- (39) Haase H, Hebel S, Engelhardt G, Rink L. Flow cytometric measurement of labile zinc in peripheral blood mononuclear cells. *Anal Biochem* 2006;352:222–230.
- (40) Haase H, Ober-Blobaum JL, Engelhardt G, Hebel S, Heit A, Heine H, Rink L. Zinc signals are essential for lipopolysaccharide-induced signal transduction in monocytes. *J Immunol* 2008;181:6491–6502.
- (41) Yu M, Lee WW, Tomar D, Pryshchep S, Czesnikiewicz-Guzik M, Lamar DL, Li G, Singh K, Tian L, Weyand CM, Goronzy JJ. Regulation of T cell receptor signaling by activation-induced zinc influx. *J Exp Med* 2011;208:775–785.
- (42) Taniguchi M, Fukunaka A, Hagihara M, Watanabe K, Kamino S, Kambe T, Enomoto S, Hiromura M. Essential role of the zinc transporter ZIP9/SLC39A9 in regulating the activations of Akt and Erk in B-cell receptor signaling pathway in DT40 cells. *PLoS One* 2013;8:e58022.
- (43) Prasad AS, Fitzgerald JT, Hess JW, Kaplan J, Pelen F, Dardenne M. Zinc deficiency in elderly patients. *Nutrition* 1993;9:218–224.
- (44) Andriollo-Sanchez M, Hininger-Favier I, Meunier N, Toti E, Zaccaria M, Brandolini-Bunlon M, Polito A, O'Connor JM, Ferry M, Coudray C, Roussel AM. Zinc intake and status in middle-aged and older European subjects: the ZENITH study. *Eur J Clin Nutr* 2005;59 Suppl 2:S37–41.
- (45) Mocchegiani E, Burkle A, Fulop T. Zinc and ageing (ZINCAGE Project). *Exp Gerontol* 2008;43:361–362.
- (46) Kogirima M, Kurasawa R, Kubori S, Sarukura N, Nakamori M, Okada S, Kamioka H, Yamamoto S. Ratio of low serum zinc levels in elderly Japanese people living in the central part of Japan. *Eur J Clin Nutr* 2007;61:375–381.
- (47) Bhutta ZA, Black RE, Brown KH, Gardner JM, Gore S, Hidayat A, Khatun F, Martorell R, Ninh NX, Penny ME, Rosado JL, Roy SK, Ruel M, Sazawal S, Shankar A. Prevention of diarrhea and pneumonia by zinc supplementation in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. Zinc Investigators' Collaborative Group. *J Pediatr* 1999;135:689–697.
- (48) Bhutta ZA, Bird SM, Black RE, Brown KH, Gardner JM, Hidayat A, Khatun F, Martorell R, Ninh NX, Penny ME, Rosado JL, Roy SK, Ruel M, Sazawal S, Shankar A. Therapeutic effects of oral zinc in acute and persistent diarrhea in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2000;72:1516–1522.
- (49) Hirano T, Murakami M, Fukada T, Nishida K, Yamasaki S, Suzuki T. Roles of zinc and zinc signaling in immunity: Zinc as an intracellular signaling molecule. *Advances in Immunology*, Vol 97 2008;97:149–176.
- (50) Murakami M, Hirano T. Intracellular zinc homeostasis and zinc signaling. *Cancer Science* 2008;99:1515–1522.
- (51) Fukada T, Yamasaki S, Nishida K, Murakami M, Hirano T. Zinc homeostasis and signaling in health and diseases: Zinc signaling. *J Biol Inorg Chem* 2011;16:1123–1134.
- (52) Nishida K, Fukada T, Yamasaki S, Murakami M, Hirano T. Zinc in allergy, autoimmune, and hard and connective tissue diseases. In: Rink L ed. *Zinc in Human Health*. IOS Press, Amsterdam: 2011:268–282.
- (53) Fukada T, Kambe T. Molecular and genetic features of zinc transporters in physiology and pathogenesis. *Metallomics* 2011;3:662–674.