

## 研究

2型糖尿病における  
亜鉛の役割

群馬大学生体調節研究所分子糖代謝制御分野 福中彩子

## 要約

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報告されている。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 ZnT8 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トランスポーターやそれに関わるシグナル経路に注目が集まっている。我々の研究により、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することがわかってきた。

KEY WORDS 糖尿病, 膵β細胞, 亜鉛, 亜鉛トランスポーター, ZnT8

## はじめに

生命はその活動を維持するために、食餌から炭水化物・脂質・タンパク質などの栄養を摂取し、生命の機能に必要な物質やエネルギーを産出している。この 3 大栄養素に加えてビタミン、ミネラルを含んだものは 5 大栄養素と呼ばれる。亜鉛はミネラルの一つであり、タンパク質の構成因子や機能調節因子として重要な役割を果たす。

膵β細胞は生体内で高い亜鉛含有を示す。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 ZnT8 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や亜鉛トランスポーターに注目が集まっている。本章では糖尿病における亜鉛が果たす役割について、我々の知見と共に紹介する。

## 1. 糖尿病における亜鉛の関与

## a. ヒトにおける亜鉛摂取と糖尿病

糖尿病患者における血清亜鉛濃度の低下は比較的軽微なことが多く、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、アメリカにおける前向きコホート試験で 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 群に分けた場合、亜鉛摂取が最も低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くなることが示されている<sup>1)</sup>。加えて、肥満ブラジル人を対象とした研究では 30mg/1 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<sup>2)</sup>、横断研究におい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<sup>3)</sup>。

さらに、最近 14 のランダム化比較試験を対象としたメタアナリシスにおいては、糖尿病患者における亜鉛補充は軽度ではあるが、有意な空腹時血糖値の低下と HbA1c の低下をもたらすことが示された<sup>4)</sup>。

## b. 膵β細胞と亜鉛

亜鉛は膵臓に豊富に存在し、特に膵β細胞のインスリン分泌顆粒内に濃縮され、その濃度は約 20mM にもなることが知られている。膵β細胞におけるインスリンの合成、貯蔵、分泌の量は、正確に調節されており、亜鉛がこれらの過程の異なる段階において重要な役割を担っていることがいくつかの研究により明らかにされている<sup>5)</sup>。

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下において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で観察すると、中心にある内容物がオスミウム酸で黒く染まり、その周りに白く抜けたハローをもつので dense-core granule と表現される。膵β細胞内で生合成され、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 量体形成には B 鎖のいくつかのアミノ酸が関与する。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。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-ペプチドへの切り出しが効率的に行われると考えられている。このように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化で結晶化される。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、亜鉛の存在や酸性条件化であることなど、インスリン顆粒内特有の条件が必要である。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活性のあるインスリン単量体と亜鉛イオンに融解され、共分泌される<sup>6)</sup>。分泌された亜鉛は、隣り合

う細胞（例えばα細胞）にパラクライン的に作用することや、もしくはβ細胞から放出されるインスリンの分泌を抑制するとの報告もある<sup>7)</sup>。一方で、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、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、亜鉛欠乏がインスリン分泌や生合成に影響を与えることが示されている<sup>8)</sup>。

亜鉛はアポトーシスによる細胞死の調節にも働いていることが知られており、MIN6 細胞やヒトβ細胞を亜鉛欠乏状態にすると細胞死を誘発することも報告されている<sup>9)</sup>。亜鉛は、膵β細胞に比較的高濃度で存在する抗酸化酵素であるカタラーゼやペルオキシダーゼ、スーパーオキシドジスムターゼなどの多くの酵素のコファクターとして重要である。このように、亜鉛は抗酸化作用を持つことにより、糖尿病の発症原因となる膵β細胞内の酸化ストレスを軽減していると考えられている。

## 2. 膵β細胞における亜鉛トランスポーターの発現と機能

亜鉛の恒常性は亜鉛トランスポーターによって担われており、亜鉛トランスポーターは、その亜鉛の輸送の方向性から 2 つに分類される。細胞質から細胞外もしくは細胞内小器官内の亜鉛を輸送する ZnT (Zn transporter, SLC30A ファミリー) と、細胞外や細胞内小器官から細胞質に亜鉛を輸送する ZIP (Zrt-, Irt-like protein, SLC39A ファミリー) に大別される。哺乳類において ZnT は 9 種類、Zip は 14 種類存在し、それぞれが協調して、もしくは組織特異的に機能することが知られている。

ZnT8 は細胞質からインスリン分泌顆粒内に亜鉛イオンを輸送する亜鉛トランスポーターであり、インスリン顆粒内への高濃度の亜鉛輸送に関与する。ZnT8 をコードする SLC30A8 遺伝子は GWAS (Genome-wide association study) 解析により 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子の 1 つとして報告された<sup>10)</sup>。この SNP (rs13266634) はコーディング領域内の 1 塩

基置換 (T→C) であり, アミノ酸配列では 325 番目のトリプトファン(W)がアルギニン(R)に置換する. 325 番目のアルギニン残基はホモロジーモデリング解析などの結果から, 2量体形成や亜鉛輸送に重要な ZnT8 の細胞質側に面したカルボキシル末端側に位置している. 当初 325 番目がアルギニン残基(リスクアレル型)をインスリノーマ INS-1 細胞に過剰発現するとインスリン顆粒内への亜鉛輸送が減少すると報告されたが<sup>11)</sup>, 最近の研究で hZnT8 精製タンパク質を用いたリポソーム解析によって再検討された結果, リスク型の方が, 亜鉛輸送能が高いと結論づけられた<sup>12)</sup>. これはヒトの ZnT8 の機能消失(loss of function)変異を持つ患者で 2 型糖尿病のリスクが減少するという報告とも一致している興味深い<sup>13)</sup>.

膵β細胞では ZnT8 以外にもいくつかの亜鉛トランスポートの発現が高く, グルコースやサイトカインの刺激により亜鉛トランスポートの発現調節が行われることも知られている. マウスの膵β細胞で 16.7mM のグルコースに 24 時間培養すると ZnT8 の発現に変化は見られないが,

Zip6, Zip7, Zip8 の発現が上昇し, 同じ条件では MT1 や MT2 の発現は減少することが観察されている. 高血糖に曝されると, 膵β細胞は細胞質内の亜鉛量を増加させ, 酸化ストレスへ対応しているのかもしれない. 炎症性サイトカイン(IL1β, TNFα)は ZnT8 の発現を低下させることから, 膵炎を伴う糖尿病では ZnT8 の発現が減少することが予想される. また膵β細胞特異的転写因子 MafA 欠損マウスでは ZnT8 の発現が見られないことから, ZnT8 の発現は直接的, あるいは間接的に MafA の制御を受けている可能性がある. MafA は糖尿病などの高血糖に曝された状態では, その発現あるいは活性が低下することがわかっており, 2 型糖尿病モデルマウスではその病初期から膵β細胞における ZnT8 の発現が減少する<sup>14)</sup>. このように ZnT8 の発現は, 2 型糖尿病時の高血糖や炎症により減少する.

我々の研究グループでは, 膵β細胞特異的 Slc30a8 欠損マウス(ZnT8-KO マウス)を作製し解析したところ, 肝臓におけるインスリン分解を制御することを見出した(図参照).

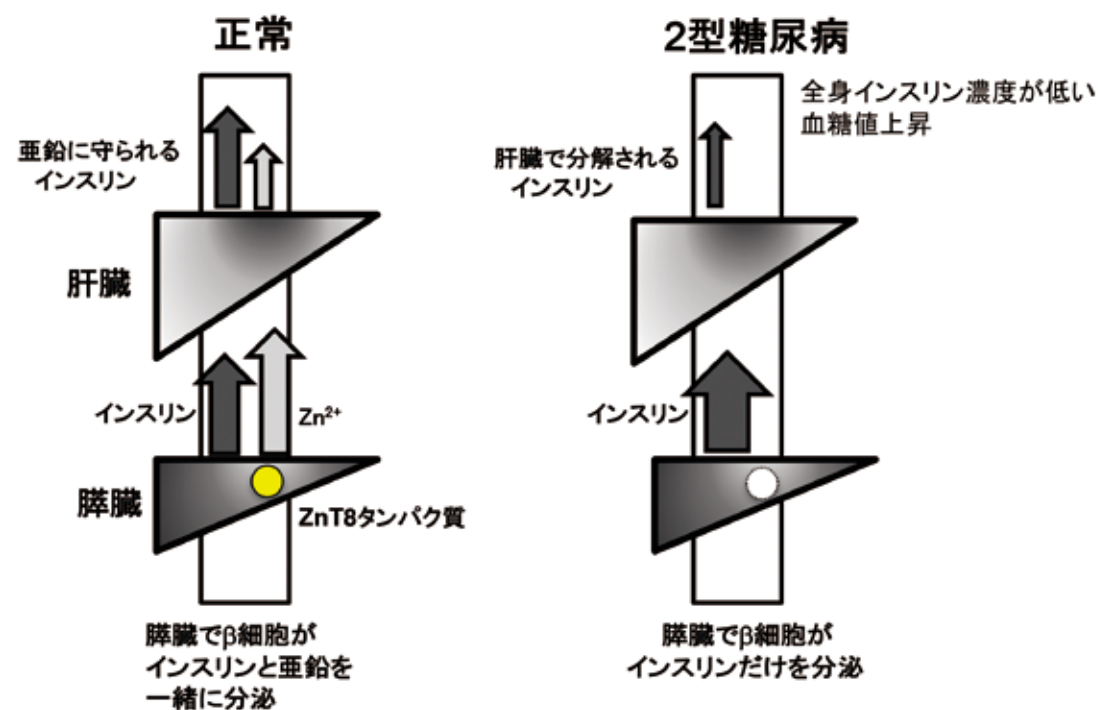
ZnT8-KO マウスは膵β細胞からのインスリン分泌が亢進しているにもかかわらず, 糖負荷後の末梢血中のインスリン濃度は低値を示し, 耐糖能の悪化を示した. その理由を明らかにすべく, 膵灌流実験の結果と, 膵-肝同時灌流実験の結果を比較したところ, ZnT8-KO マウスでは過剰分泌されたインスリンの相当量が肝臓を通る間に分解されることが判明した. ZnT8-KO マウス及び SLC30A8 の主要リスクアレルである rs13266634 を保有するヒトでは, C ペプチド/インスリン比で評価したインスリン分解率が亢進していた<sup>15)</sup>. 本研究結果は, 膵β細胞に発現する SLC30A8 が肝臓においてインスリン分解を制御しており, このシステムの調節不全が 2 型糖尿病の発症リスクの上昇に関与している可能性を示唆している.

既報と我々の研究結果を考え合わせると, ヒトの ZnT8 の loss of function では糖尿病リスクが低い一方で, マウスでは ZnT8 を欠損すると糖尿

病リスクが高くなるという正反対の結果が得られている. 進化の過程でマウスとヒトでは ZnT8 の役割が逆転したのか, それともこの現象を説明できるまだわかっていない他の要因があるのか, 今後の解析が待たれる.

## おわりに

日本をはじめとする先進国では, 2 型糖尿病患者数は増加の一途をたどっており, 病態の解明と, 新規治療薬の開発は急務である. 我々の研究から, 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. この知見はインスリン顆粒内の亜鉛濃度調節異常が疾患の原因となっていることを示唆するものである. 今後このような組織内の亜鉛濃度調節に起因する病態や疾患が明らかになることを期待したい.



ZnT8 の肝インスリンクリアランスにおける役割

## ◆福中彩子略歴

- |        |   |
|--------|---|
| 2010 年 | 京都大学大学院生命科学研究科 博士課程修了<br>理化学研究所分子イメージング研究センター 研究員 |
| 2012 年 | 順天堂大学大学院医学研究科 代謝内分泌内科学 研究員                        |
| 2016 年 | 群馬大学生体調節研究所 分子糖代謝制御分野 助教                          |

## ◆文 献

- 1) Sun Q, et al : Prospective study of zinc intake and risk of type 2 diabetes in woman. *Diabetes Care* 32 : 629-634, 2009
- 2) Marriero DN, et al : Effect of zinc supplementation on serum leptin levels and insulin resistance of obese woman. *Biol Trace Elem Res* 112 : 109-118, 2006
- 3) Singh RB, et al : 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* 17 : 564-570, 1998
- 4) Capdor J, et al : Zinc and glycemic control, a meta-analysis of randomized placebo controlled supplementation trails in humans. *J Trace Elem Med Biol* 27 : 137-142, 2013
- 5) Dodson G, Steiner D : The role of assembly in insulin's biosynthesis. *Current opinion in structural biology* 8 : 189-194, 1998
- 6) Hutton JC : The insulin secretory granule. *Diabetologia* 32 : 271-281, 1989
- 7) Ghafghazi T, McDaniel ML, Lacy PE : Zinc-induced inhibition of insulin secretion from isolated rat islets of Langerhans. *Diabetes* 30 : 341-345, 1981
- 8) Huber AM, Gershoff SN : Effect of zinc deficiency in rats on insulin release from the pancreas. *The Journal of nutrition* 103 : 1739-1744, 1973
- 9) Truong-Tran AQ, et al : The role of zinc in caspase activation and apoptotic cell death. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine* 14 : 315-330, 2001
- 10) Sladek R, et al : A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* 445 : 881-885, 2007
- 11) Nicolson TJ, et al : Insulin storage and glucose homeostasis in mice null for the granule zinc transporter ZnT8 and studies of the type 2 diabetes-associated variants. *Diabetes* 58 : 2070-2083, 2009
- 12) Merriman C, et al : Lipid-tuned zinc transport activity of human ZnT8 protein correlated with risk for type-2-diabetes. *J Biol Chem* 291 : 26950-26957, 2016
- 13) Flannick J, et al : Loss-of-function mutations in SLC30A8 protect against type 2 diabetes. *Nat Genet* 46 : 357-363, 2014
- 14) Tamaki M, et al : Downregulation of ZnT8 expression in pancreatic beta-cells of diabetic mice. *Islets* 1 : 124-128, 2009
- 15) Tamaki M, et al : The diabetes susceptible gene SLC30A8/ZnT8 regulates hepatic insulin clearance. *J Clin Invest* 123 : 4513-4524, 2013

## Role of Zinc and Zinc Transporter in Type 2 Diabetes

Ayako Fukunaka

Lab of Developmental Biology & Metabolism  
 Institute for Molecular & Cellular Regulation  
 Gunma University

Pancreatic beta cells contain the highest amount of zinc among cells within the human body, and hence, the relationship between zinc and diabetes has been a topic of great interest. While many studies demonstrating possible involvement of zinc deficiency in diabetes have been reported, precise mechanism how zinc regulates glucose metabolism are still far from understood. 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 diabetes particularly focusing on the emerging role of zinc transporters in diabetes.

Keyword : Zinc, Type 2 diabetes, Zinc transporter, ZnT8

Present address : 3-39-15 Showa-machi, Maebashi, Gunma, 371-8512, Japan  
 E-mail : fukunaka@gunma-u.ac.jp