

亜鉛シグナルによる炎症反応制御機構の解明

西田圭吾

鈴鹿医療科学大学薬学部 免疫制御学研究室

【研究の背景】

生体にとって亜鉛は必須の金属であり、その欠乏は、免疫不全、成長障害、神経系などの異常を誘導する。これらの異常には、亜鉛をその活性に必要としている300種以上の亜鉛要求性酵素が起因しているものと考えられている。また、亜鉛フィンガーを有した多くの亜鉛要求性の転写因子やシグナル伝達分子も存在しており、最近の研究報告により全蛋白質の約10%程度が亜鉛結合モチーフを有していることが示唆されている。このように、これまで亜鉛の重要性は主として必須栄養素の観点から考えられてきた。すなわち、亜鉛の生体での役割はこれら亜鉛要求性の重要な分子の基本構造の維持のためにあると考えられてきたので、その研究も生体内における亜鉛の栄養学的研究や恒常性維持機構の研究が主たるものであった。一方、神経系における研究において亜鉛が神経伝達物質として機能するユニークな報告がなされており、亜鉛が、ホルモンのように細胞外刺激に応じて放出され、シグナル伝達分子として機能する（亜鉛シグナル）という可能性が示されつつある¹⁻³⁾。しかしながら炎症反応や免疫応答といった炎症・免疫系における亜鉛シグナルの役割は十分には理解されていない。

【目的】

本研究では、マスト細胞内顆粒に亜鉛が豊富にたくわえられているという観察から、マスト細胞内の顆粒膜に発現する亜鉛トランスポーターを同定し、マスト細胞顆粒内亜鉛を特異的に欠損するマウスを樹立することにより、これら顆粒内亜鉛とマスト細胞依存性の創傷治癒における関係を明らかとすることを目的とする。1960年代に、マスト細胞顆粒内に亜鉛が豊富に存在することが観察されている。また、これら顆粒内に存在する亜鉛が細胞の活性化に伴い細胞外に放出されることも示されている。しかしながら、これらマスト細胞顆粒内亜鉛の役割や放出された亜鉛の生体での特に、創傷治癒に対する影響に関しては不明である。そこで、活性化されたマスト細胞から放出された亜鉛がサイトカインなどのように炎症性メディエーターとして機能し（亜鉛シグナル）、創傷治癒過程の炎症を制御する可能性を考えた。

【方法】

マスト細胞顆粒膜に発現している亜鉛トランスポーター、ZnT2 の同定に成功している。さらに、ZnT2 遺伝子ノックアウトマウスも樹立している。

- ① マスト細胞にはヒスタミンなどのケミカルメディエーターを含有する顆粒を有しており、顆粒中には亜鉛が豊富に含まれている。これらのことからマスト細胞の活性化に伴い、亜鉛が細胞外に放出される可能性を考えた。これらの仮説を実験的に証明するために、培養マスト細胞を調整し、マスト細胞で高発現している亜鉛トランスポーター、ZnT2 に対する抗体で免疫電子顕微鏡法を実施する。また、ZnT2 遺伝子ノックアウトマウスからマスト細胞を調整し、顆粒内亜鉛量を誘導結合プラズマ発光分析(ICP-AES)にて測定する。
- ② 亜鉛トランスポーター、ZnT2 の炎症反応における役割を明らかにする目的で、ZnT2 遺伝子ノックアウトマウスを用いて、炎症反応が深く関与している創傷治癒モデル実験を実施する。

【結 果】

- ① マスト細胞からの刺激依存的な亜鉛放出は亜鉛トランスポーター、ZnT2 が必要である：マスト細胞で高発現していた亜鉛トランスポーター、ZnT2 に対する抗体を用いて、免疫電子顕微鏡法を実施したところ、ZnT2 はマスト細胞内顆粒膜に発現していることが判明した。また、ZnT2 遺伝子ノックアウトマウス由来のマスト細胞では顆粒亜鉛が消失しており、刺激依存的な放出亜鉛も観察されなかった。以上のことから、亜鉛トランスポーター、ZnT2 がマスト細胞内顆粒亜鉛の蓄積と、活性化に伴う亜鉛放出に必須の分子であることが示された。
- ② 創傷治癒の過程に、亜鉛トランスポーター、ZnT2 が関与している：マスト細胞顆粒亜鉛蓄積に関与していることが示された ZnT2 遺伝子ノックアウトマウス用いて、創傷治癒モデルに関して検討を行った。その結果、ZnT2 が皮膚の治癒過程に関与している知見が得られた。さらに、マスト細胞欠損マウス (*Kit^{W_{sh}}/W_{sh}*) に ZnT2 遺伝子ノックアウト由来マスト細胞を移植することで、マスト細胞の顆粒亜鉛が、創傷治癒に関与しているかどうか調べたところ、ZnT2 遺伝子ノックアウト由来マスト細胞を移植した *Kit^{W_{sh}/W_{sh}}* マウスにおいて創傷治癒の遅延が観察された。以上のことから、マスト細胞顆粒膜に発現している亜鉛トランスポーター、ZnT2 が創傷治癒に必須な分子であることが示された。

【考 察】

本研究結果から、マスト細胞内顆粒亜鉛の蓄積と、活性化に伴う亜鉛放出には亜鉛トランスポーター、ZnT2 が必須の分子であり、また、マスト細胞から放出された亜鉛が、皮膚における創傷治癒の制御に深く関与している可能性が考えられた。以上は、マスト細胞から放出された亜鉛（亜鉛シグナル）が、炎症応答を制御している可能性を炎症・免疫系で初めて提示したものである。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

亜鉛補充療法が有効な疾患がいくつか知られている。例えば、アフリカの小児下痢症で施行されている亜鉛補充療法や、長期入院患者や在宅で介護を受けている老人においてしばしば観察される褥瘡などである。しかしながら、細菌感染や皮膚における炎症性疾患などで、亜鉛の作用機序に関しては十分に理解されていないのが現状である。今回の研究結果より、マスト細胞からの放出亜鉛が皮膚創傷治癒を制御している可能性を示した。更なる詳細な制御機構を解明していくことで、亜鉛を用いた効率の良い治療法の開発を経て、入院患者で問題となっている褥瘡の予防・治療に役立つ可能性が考えられた。

【参考・引用文献】

- 1) Ugajin T, Nishida K*, Yamasaki S, Suzuki J, Mita M, Kubo M, Yokozeki H, and Hirano T*. Zinc-binding metallothioneins are key modulators of IL-4 production by basophils. Molecular Immunology. 66:180-188, 2015. *, equal corresponding
- 2) Lee S, Hennigar SR, Alam S, Nishida K, Kelleher SL. Essential Role for Zinc Transporter 2 (ZnT2)-mediated Zinc transport in Mammary Gland Development and Function during Lactation. J Biol Chem. 290:13064-13078, 2015.
- 3) Ugajin T, Shibama S, Nishida K, and Yokozeki H. Metallothioneins are required for human basophil interleukin-4 gene induction via FcεRI stimulation. Allergology International. 65:466-468, 2016.