

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 28 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21590715

研究課題名（和文）：潜在的国民病－亜鉛欠乏症の老化促進機構の解明

研究課題名（英文）：Potential mechanisms responsible for aging promotion derived from the latent national disease, Zn-deficiency

研究代表者：

柳澤 裕之（YANAGISAWA HIROYUKI）

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：10200536

研究成果の概要（和文）：

亜鉛は約 300 余種の酵素の活性中心元素として働いている必須微量元素である。現在、亜鉛の必要量に対する一日摂取量は不足していることが報告されている。近年、必須微量元素欠乏、特に亜鉛欠乏は、老化や生活習慣病に深く関係していることが明らかにされつつある。そこで本研究では、老化によって促進される発癌や高血圧の増悪が、亜鉛欠乏でも促進されることを証明し、亜鉛欠乏は老化促進の主要な要因であることを指摘した。

研究成果の概要（英文）：

It has been recently indicated that essential trace elements, particularly zinc deficiency is associated with aging. There are an increase in free radicals, an increase in blood pressure, a reduction in glucose tolerance, the disorder of lipid metabolism and a rise in carcinogenesis in the pathophysiological background of aging. Similar pathophysiology was also observed in zinc deficiency. Thus, the present study indicated that the latent national disease, Zn-deficiency was one of the aging-promoting factors.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学・健康科学

キーワード：保健栄養

## 1. 研究開始当初の背景

亜鉛は、生体内に存在する約300余種の酵素の活性中心元素として働いている必須微量元素である。現在、亜鉛の必要量に対する一日摂取量は不足していることが報告され、日本を含む欧米諸国では全国民の20~30%が亜鉛の亜欠乏から欠乏状態にあると推定されている。実際、2003年から2005年に長野県下の約4000人の住民を対象に血清亜鉛濃度が調査されたNAGANO Studyでは、住民の約20%が欠乏状態にあり、約10%が亜欠乏状態にあった。

近年、基礎的、臨床的研究が進み、生活習慣病や老化に必須微量元素の欠乏が深く関わっていることがわかってきた。最近、特に注目を集めているのが老化と亜鉛欠乏症との関係である。老化の臨床徴候には、体力・活力の低下、皮膚の萎縮と脱毛、創傷治癒の遅延、性腺機能の低下、食欲低下、味覚異常、白内障の増加、免疫能低下による易感染性、うつ状態、認知症、虚血性心疾患の増加、自己免疫性疾患の増加、発癌の増加、耐糖能の低下などがある。亜鉛欠乏症でも老化と全く同様な臨床徴候が観察される。現在、亜鉛欠乏症は老化を進展させる一要因であると考えられている。

老化の病態的背景には、フリーラジカルの増加、免疫能低下、血圧上昇、脂質代謝異常、耐糖能異常、発癌がある。特に、フリーラジカルの増加は、老化の促進要因として主要な因子である。亜鉛を活性中心に持つ酵素の中で、フリーラジカル特に活性酸素を消去するスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)は代表的な亜鉛酵素であり、亜鉛欠乏状態ではこのSOD活性が低下し、活性酸素の消去能が減弱するため活性酸素の作用が増強する。

現在までに、当研究室は、血管拡張物質NOと活性酸素 $O_2^-$ が非酵素的に瞬時に結合し、パーオキシナイトライト $ONOO^-$ を形成する結果、血管拡張物質NOが消費され、酸化ストレスによる血管収縮が起こることを見つけてきた。この血管収縮により血圧の上昇が観察されることが示唆される。また活性酸素はDNA損傷の重要な因子であり、このDNA損傷により発癌のイニシエーションが引き起こされることが推察される。

従って、亜鉛欠乏症が老化(特に血圧上昇や発癌)を促進する機構として、SOD活性の低下に起因する活性酸素の作用増強(酸化ストレス)が一因していることが強く示唆される。

## 2. 研究の目的

欧米と同様に、我国においても、亜鉛欠乏症は潜在的国民病である。近年、亜鉛欠乏症

は老化促進要因として注目されているが、その機序については未だ解明されていない。本研究では、酸化ストレスの観点から亜鉛欠乏症の老化促進機構の機序を解明する。具体的には、亜鉛欠乏モデルを作成し、骨髄細胞の小核誘発頻度と骨髄細胞中の8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OHdG)の濃度を測定することにより亜鉛欠乏症の発癌リスクを評価する。また、大腿動脈で血圧を測定し、亜鉛欠乏症の血圧に及ぼす影響を観察する。活性酸素の消去剤であるテンポールを投与し、酸化ストレスが関与しているのかどうかを評価する。

## 3. 研究の方法

### 1. 発癌リスクの上昇を予測する検査手法の開発と発癌リスクアセスメント

標準食と亜鉛無添加食を等量づつ4-6週間ラットに与え、標準食ラット・亜鉛無添加食ラットを作製する。各群のラットの大腿骨から骨髄細胞を抽出し、骨髄細胞の小核誘発頻度を測定する。同時に、別の酸化的DNA損傷の指標である骨髄細胞中の8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OHdG)の濃度を測定し、観察される小核頻度の妥当性を評価する。また、外因性の活性酸素消去剤を食事療法後半の10日間腹腔内投与し、亜鉛欠乏モデルで観察される小核頻度と8-OHdGの濃度が活性酸素の消去によりコントロールレベルまで復帰するのかどうかを観察する。

### 2. 酸化ストレスによる血圧上昇の機序の解明

上記と同様なプロトコルを用いて、標準食ラット・亜鉛無添加食ラットを作製する。食事療法開始前、食事療法開始2週間後、4週間後、6週間後にPE-50ポリエチレンカテーテルを右大腿動脈に挿入/留置し、収縮期血圧・拡張期血圧・平均動脈圧を測定する。食事療法終了時、NO合成酵素阻害剤であるL-NAMEと活性酸素消去剤であるTempolをPE-50ポリエチレンカテーテルから投与し、亜鉛欠乏ラットの血圧上昇が活性酸素による血管拡張物質NOの消費に起因するのかどうかを観察する。

## 4. 研究成果

亜鉛は約300余種の酵素の活性中心元素として働いている必須微量元素である。現在、亜鉛の必要量に対する一日摂取量は不足していることが報告されている。近年、必須微量元素欠乏、特に亜鉛欠乏は、老化や生活習慣病に深く関係していることが明らかにさ

れつつある。そこで、本研究では、老化によって促進される発癌や高血圧の増悪が、亜鉛欠乏でも促進されるのかどうか究明した。

(平成 21~22 年度) 標準食あるいは亜鉛無添加食をラットに等量ずつ 6 週間与え、標準食ラットモデルあるいは亜鉛無添加食ラットモデルを作製し、骨髄の小核誘発頻度を測定した。標準食ラットに比し、亜鉛無添加食ラットでは、時間依存的に小核誘発頻度が上昇した。亜鉛無添加食ラットに 4 週間亜鉛を添加すると、上昇した小核誘発頻度は標準食ラットレベルまで低下した。また、亜鉛無添加食ラットに活性酸素消去剤であるテンポールを食事療法の終了前に 10 日間投与すると、亜鉛無添加食ラットで観察された小核誘発頻度の上昇は、亜鉛添加と同様に標準食ラットレベルまで復帰した。さらに、酸化 DNA 損傷のマーカーである骨髄中 8-OHdG 濃度も標準食ラットに比し、亜鉛無添加食ラットで有意に上昇していたが、亜鉛添加及びテンポールの投与で標準食ラットレベルまで低下した。以上の結果から、亜鉛欠乏は小核誘発の亢進及び 8-OHdG 濃度の上昇を引き起こすが、その機序は亜鉛欠乏の結果増加した活性酸素に起因することが示唆される。従って、亜鉛欠乏は、酸化ストレスを介して発癌リスクを上昇させる病態であると考えられる。

(平成 22~23 年度) 標準食あるいは亜鉛無添加食を高血圧自然発症ラットに等量ずつ 4 週間与え、標準食モデルあるいは亜鉛無添加食モデルを作製した。食事療法開始前、食事療法開始 2 週間後、4 週間後に PE-50 ポリエチレンカテーテルを右大腿動脈に挿入/留置し、収縮期血圧・拡張期血圧・平均動脈圧を測定した。標準食モデルでは血圧に変化は認められなかったが、亜鉛無添加食モデルでは、時間依存的に血圧が上昇した。食事療法終了時(4 週間後)、血管拡張物質 NO の合成酵素阻害剤である L-NAME を PE-50 ポリエチレンカテーテルから投与すると両群の血圧は同レベルまで上昇した。同様に、活性酸素消去剤である Tempol を投与すると両群の血圧は同レベルまで低下した。これらの結果は、血管拡張物質 NO と活性酸素は血圧の調節に関与することを指摘する。近年、NO と活性酸素が非酵素的に瞬時に反応 (peroxynitrite 形成) し、NO が消費され血圧が上昇することが知られている。今回の結果から、亜鉛欠乏は、活性酸素の産生を亢進させ、血管拡張物質 NO を消費することによって高血圧を悪化させることが示唆される。以上、本研究結果から、亜鉛欠乏は老化促進要因であることが示唆される。

##### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文] (計 22 件)

1. R.Takagi, Y.Suzuki, Y.Seki, M.Ikehata, C.Kajiwara, H.Shimizu, H.Yanagisawa, Indium chloride-induced micronuclei in vivo and in vitro experiment systems. *J. Occup. Health*, 査読有, 53(2), 2011,102-109.
2. M.Suka, Y.Miwa, Y.Ono, H.Yanagisawa: BMI, waist circumference, and clustering of cardiovascular risk factors in Japanese adults. *Environ. Health Prev. Med.*, 査読有, 16, 2011,90-96. DOI:10.1007/s12199-010-0169-7
3. 宮越雄一、小岩井利一、柳澤裕之、自然災害後の災害対応業務者における健康影響. *産業医学ジャーナル*, 査読有、34 (5)、2011、99-103
4. 柳澤裕之、平成 22 年度 化学物質による健康影響・疾病に関する調査研究報告書. 中央労働災害防止協会 労働衛生調査分析センター編、査読無、2011、1-110
5. T.Takao, T.Ikeda, H.Yanagisawa, M.Kikuchi, S.Kawazu, Y.Matsuyama, The effect of fasting plasma glucose variability on the risk of retinopathy in type 2 diabetic patients: Retrospective long-term follow-up. *Diabetes Res. Clin. Pr.*, 査読有, 89, 2010,296-302. DOI:10.1016/j.diabres.2010.10.009
6. T.Miyazaki, T.Takenaka, T.Inoue, M.Sato, M.Hanyu, Y.Eiki, M.Nodera, H.Yanagisawa, Y.Ohno, S. Shibasaki, H. Suzuki, Klotho expression is induced by calorie restriction in adult male rats. *Trace Nutrients Res.*, 査読有, 27, 2010,92-96.
7. 柳澤裕之、亜鉛 (Zn). *日本臨床 68 巻増刊号 1、広範囲血液・尿化学検査免疫学的検査*、第 7 版、査読無、2010、309-313
8. 柳澤裕之、微量元素 - 生命との関わり -. *臨床と研究*、査読無、87 (2)、2010、43-46
9. 柳澤裕之、老化促進要因としての亜鉛欠乏. *Global Pharmacists*、査読無、4 (6)、2010、11
10. 鈴木勇司、柳澤裕之、中間周波数磁場の健康影響. *産業医学ジャーナル*、査読無、33 (3)、2010、65-68
11. 須貝威、柳澤裕之、多価フェノール性部分構造を分子内に持ち、抗酸化活性が期待される化合物の合成研究とその化合物の抗酸化作用に基づいた DNA 障害抑制効果の検定に関する研究. 平成

- 17~21 年度「私立大学学術研究高度化推進事業」(学術フロンティア推進事業・戦略的研究基盤形成支援事業)、査読無、2010、30-33
12. 高橋周矢、神岡洋、柳澤裕之、鍋田純一、宮越雄一、奥山則子、荒木均、加瀬智明、東京慈恵会医科大学疫学研究会による茨城県常陸太田市に於ける健康調査と生活習慣改善の取り組み(第3報). 東京慈恵会医科大学雑誌、査読無、125(6)、2010、225-226
  13. 梶原千絵子、伊藤克人、縣俊彦、須賀万智、柳澤裕之、職場のメンタルヘルス. 東京慈恵会医科大学雑誌、査読無、125(6)、2010、226-227
  14. H. Yanagisawa, Y. Miyakoshi, K. Kobayashi, K. Sakae, I. Kawasaki, Y. Suzuki, J. Tamura: Long-term intake of a high zinc diet causes iron deficiency anemia accompanied by reticulocytosis and extra-medullary erythropoiesis. *Toxicol. Lett.*, 査読有, 191, 2009, 15-19. DOI:10.1016/j.toxlet.2009.07.024
  15. 池田知純、望月徹、小林浩、柳澤裕之、職業潜水の安全性に関するアンケート調査. 日本高気圧環境・潜水医学会雑誌、査読有、44(2)、2009、51-60
  16. 池田知純、望月徹、小林浩、柳澤裕之、産業構造から見た職業潜水の安全性に関する一考察. 日本高気圧環境・潜水医学会雑誌、査読有、44(2)、2009、71-75
  17. 高尾淑子、岡安みね子、柳澤裕之、菊池方利、糖尿病患者における網膜症発症への血糖変動と年齢の影響 - 30年以上の長期通院患者での研究 -. 日本老年医学会雑誌、査読有、46(6)、2009、528-536
  18. 柳澤裕之、山内 博、老化促進要因としての微量元素欠乏症 - 微量元素の補充はアンチエイジング効果をもたらすか -. *Biomed. Res. Trace Elements*、査読有、20(1)、2009、1-2
  19. 柳澤裕之、知られざる国民病-亜鉛欠乏症- 老化促進要因としての亜鉛欠乏症 -. 日本臨床内科医会雑誌、査読有、24(1)、2009、91-95
  20. 柳澤裕之、老化促進要因としての亜鉛欠乏. 治療別冊、査読無、91、2009、30-33
  21. 柳澤裕之、クロムと糖・脂質代謝. 日本機能性食品医学会誌 (J・JSMUFF: Journal of Japanese Society for Medical Use of Functional Foods)、査読有、5(6)、2009、427-431
  22. 柳澤裕之、生命と微量元素-亜鉛は生命になぜ必要なのか? -. プライマリ・ケア、査読有、32(4)、2009、303
- [学会発表] (計 40 件)
1. 柳澤裕之、微量元素はなぜ生命に必要なのか - 亜鉛を中心として -、相模女子大学大学院微量元素研究会、2011 年 12 月 22 日、神奈川
  2. 柳澤裕之、必須微量元素-亜鉛の基礎と臨床; サプリメントフォーラム、第 33 回日本臨床栄養学会総会 第 32 回日本臨床栄養協会 第 9 回大連合大会、2011 年 10 月 9 日、東京
  3. 柳澤裕之、原田大輔、中山満雄、TNP ネフローゼ症候群の発症機序に関する研究、第 22 回日本微量元素学会、2011 年 7 月 4 日、京都
  4. 柳澤裕之、口腔/消化器疾患を含めた生活習慣病の予防と対策 ~ 必須微量元素の役割 ~、産業歯科保健研究会 第 31 回研修会、2011 年 1 月 15 日、東京
  5. 柳澤裕之、亜鉛欠乏症と疾病 - 亜鉛はなぜからだに必要なのか? -、第 69 回日本公衆衛生学会総会、2010 年 10 月 19 日、東京
  6. 柳澤裕之: 「微量元素と健康」- 亜鉛はなぜ健康に必要なのか -、平成 22 年度秋季全道栄養士研修大会、2010、10 月 2 日、札幌
  7. 柳澤裕之、老化と必須微量元素-亜鉛、第 6 回アンチエイジング静岡カンファレンス、2010 年 6 月 1 日、静岡
  8. 柳澤裕之、微量元素、特に亜鉛と口腔/消化器疾患、第 83 回日本産業衛生学会、2010 年 5 月 18 日、福井
  9. 柳澤裕之、働くヒトの栄養学 - 潜在的国民病 - 亜鉛欠乏症は老化促進要因である -、桐生医師会学術研究会、2009 年 12 月 1 日、桐生
  10. 柳澤裕之、微量元素はなぜ生命に必要なのか - 亜鉛を中心として -、野村病院学術研究会、2009 年 11 月 10 日、東京
  11. 柳澤裕之、なぜ生体に微量元素は必要なのか、第 31 回日本臨床栄養学会総会・第 30 回日本臨床栄養協会総会 第 7 回大連合大会、2009 年 9 月 3 日、神戸
  12. Y. Suzuki, M. Ikehata, H. Yanagisawa, Effect of static magnetic fields on the induction of micronuclei in mice -A possible mechanism-. 10<sup>th</sup> International Conference on Environmental Mutagens., 2009, August 26, Firenze, Italy,
  13. 柳澤裕之、生命と微量元素 - 亜鉛は生命になぜ必要なのか? -、2009 年プライマリ・ケア関連学会連合学術会議、2009 年 8 月 19 日、京都
  14. 柳澤裕之、生活習慣病/老化促進要因としての亜鉛欠乏症、第 6 回多摩プライマ

リー医療研究会、2009年7月28日、東京

15. 柳澤裕之、老化促進要因としての亜鉛欠乏症、第24回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議会、2009年7月6日、松本
16. 柳澤裕之、メタボリックシンドロームと微量元素；オーバービュー&糖・脂質代謝とクロム、第20回日本微量元素学会、2009年7月4日、東京
17. 柳澤裕之、生命と微量元素、第9回日本抗加齢医学会総会、2009年5月16日、東京
18. 柳澤裕之、エイジングと微量元素、第11回東海メタロチオネイン研究会、2009、4月15日、岐阜

〔図書〕(計9件)

1. 柳澤裕之、他、朝倉書店、ビタミン・ミネラルの科学、2011、210
2. 柳澤裕之、他、医学評論社、みるみる 公衆衛生、2012、2011、342
3. 柳澤裕之、他、朝倉書店、からだと温度の事典、2010、648
4. 柳澤裕之、他、建帛社、医科栄養学、2010、882
5. 柳澤裕之、他、法研、六訂版 家庭医学 天全科、2010、3229
6. 柳澤裕之、他、医学書院、医学大辞典 第二版、2009、3538
7. 柳澤裕之、他、医学書院、：水銀中毒. 新臨床内科学 第9版、2009、1882
8. 柳澤裕之、他、医学書院、標準公衆衛生・社会医学 第2版、2009、423
9. 柳澤裕之、他、医学評論社、みるみる 公衆衛生 2010、2009、305

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柳澤 裕之 (YSANAGISAWA HIROYUKI)  
東京慈恵会医科大学・医学部・教授  
研究者番号：10200536

(2) 研究分担者

宮越 雄一 (MIYAKOSHI YUICHI)  
東京慈恵会医科大学・医学部・講師  
研究者番号：00343533

小林 浩 (KOBAYASHI KOH)  
東京慈恵会医科大学・医学部・講師  
研究者番号：20118631

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：