

## 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 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：32517

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500772

研究課題名（和文）微量元素による老化制御機構の解明－亜鉛ニュートリオミクスの新展開－

研究課題名（英文）An investigation on senescence regulation by trace elements: A trial of zinc nutriomics

研究代表者

横井 克彦（YOKOI KATSUHIKO）

聖徳大学・人間栄養学部・教授

研究者番号：10200883

研究成果の概要（和文）：

わが国は超高齢化社会に達しており、微量元素、特に亜鉛による老化制御の可能性を検討した。亜鉛欠乏ラットには、脱毛、体重の低下、脂肪の減少が見られ、超高齢者の老化に類似した表現型であった。亜鉛欠乏ラットは、自由摂取対照群やペアフェッド対照群とは明らかに異なった肝臓タンパク質の発現パターンを示した。わが国では亜鉛や鉄の摂取が不足しており、微量元素補給による老化制御について検討を続ける必要があるだろう。

研究成果の概要（英文）：

Since the Japanese society has already faced advanced population ageing, we investigated a possibility of senescence regulation by trace elements, especially zinc. Zinc-deficient rats revealed alopecia and a decreased body weight gain and retroperitoneal fat pad, resembling to the characteristics of advanced ageing. Zinc-deficient rats had a significantly different expression pattern of liver proteins than that in *ad libitum* fed control and pair-fed control. Because inadequate intakes of iron and zinc are prevalent in Japan, further investigation on this issue is necessary.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学、食生活学

キーワード：食と栄養、老化、微量元素、亜鉛

## 1. 研究開始当初の背景

わが国は、超高齢化社会を迎え、経済的にも苦境に立たされている。直ちに、少子化が解消されたとしても今後 30 年間は生産年齢

人口の減少が続く。活力ある社会を実現するためには、老化制御による健康寿命の延伸と生産年齢の延長が必要であるが、それには「老化の制御」という自然科学上の課題の克服が前提となる。

ヒト以外の生物では、遺伝子改変による老化制御が可能であるが、人には倫理的に許されない。一方、老化の特徴である皮膚の萎縮と脱毛、創傷治癒遅延、体力・免疫能・性腺機能・食欲・認知能等の低下は、すべて微量元素並びにビタミン欠乏症の徴候と一致しており、微量元素の欠乏は、「制御可能な」老化促進因子である可能性が高い。

2008年第19回日本微量元素学会では、シンポジウム2「老化促進要因としての微量元素欠乏症—微量元素はアンチエイジング効果をもたらすか—」が開催され、シンポジストとして「鉄欠乏と老化」について問題提起し (Yokoi K. Biomed Res Trace Elements 20:30, 2009)、微量元素研究推進による老化制御の実現を提唱した。また、同学会シンポジウム3「微量元素の摂取基準策定について」で、シンポジストとして、日本人は鉄・亜鉛を始めとして、老化が促進される栄養状態にあることを指摘した。

亜鉛および鉄の補充はヒトの認知能を向上し (Sandstead HH, Yokoi K, et al. J Trace Elem Exp Med 17:266, 2004; Yokoi K et al. FASEB J 19:A457, 2005)、攻撃性を低下させること (Sawada T & Yokoi K. Proc 3rd Asian Congr Health Psychol, 91, 2007) を報告し、老人の認知症発症に亜鉛や鉄の欠乏が関与している可能性を示した。

また、亜鉛の安定同位体を用いてヒトにおける亜鉛代謝機構を解明し (Yokoi K et al. Am J Physiol Endocrinol Metab 285:E1010, 2003; Br J Nutr 98:1214, 2007)、正常と欠乏を分かち血漿亜鉛濃度の臨界値を求め、日本微量元素学会による亜鉛欠乏症診断基準の策定に貢献した。

わが国において、亜鉛を始めとする微量元素の栄養状態が悪く、かつ、これらの微量元素の欠乏が老化促進因子であるならば、これらの微量元素の補充によって、老化を制御できると考えられる。本研究は、端緒として主に亜鉛欠乏について検討した。

## 2. 研究の目的

ラットをモデル動物として、微量元素欠乏、特に亜鉛欠乏によって生ずる生体の変化を後述するニュートリオミクスを用いて解析し、老化との関連を解明する。また、日本人における亜鉛および関連する栄養素である鉄の栄養状態に関するメタアナリシスを行なうことを研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

ニュートリオミクスは、栄養素の機能発現の総体であるニュートリオームすなわち、ゲノム、プロテオーム、メタボローム、フィジ

オームの系統的解析を目指した新規技法である。本研究では、ラットをAIN-93G標準飼料ならびに亜鉛欠乏飼料で飼育した。組織試料を採取し、各種指標を測定した。また、肝臓における遺伝子発現、タンパク質等を分析し、多変量解析等を用いてデータの全体像の解析を試みた。

日本人の亜鉛ならびに鉄栄養状態に関する文献並びに国民健康・栄養調査成績を解析し、日本人の亜鉛栄養状態に関して検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 亜鉛欠乏ラットの特徴

亜鉛欠乏群 (ZD) および食餌摂取量を同じくした Pair-fed 群 (PF) は、自由摂取対照群 (Control) に比べて同様に体重増加量が有意に低下していた (図1)。

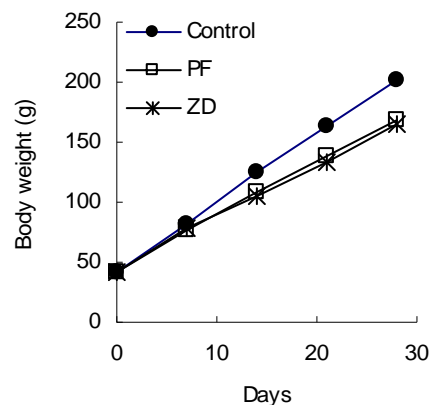


図1. ラットの成長曲線

しかし、脱毛や皮膚の炎症は、ZD群のみに見られた。また、左後腹膜脂肪の比体重の低下が、ZD群のみに見られた。脱毛、皮膚の炎症、体脂肪の喪失は、特に超高齢者において見られる徴候であり、亜鉛欠乏ラットは外見的に老化が進行した状態に類似していた (図2)。

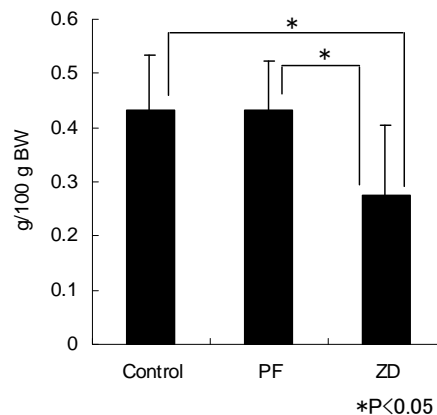


図2. 左後腹膜脂肪の比体重

## (2) 亜鉛欠乏ラットの肝臓中タンパク質の変動

亜鉛欠乏飼料で飼育したラットの肝臓中タンパク質の発現を把握するため、二次元電気泳動像における全スポット体積当たりの各タンパクのスポット体積 (normalized volume) をデータとして主成分分析を行なった。その結果、得られた第1主成分は実験群の間ですべて有意差があり、しかも ZD 群の値は、Control 群と PF 群の間であった (図 3)。

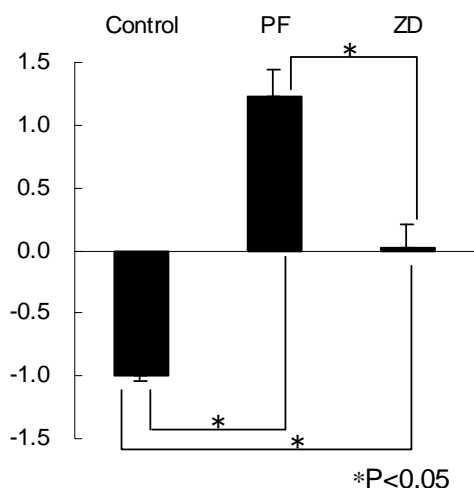


図 3. 肝臓タンパクの主成分分析:第 1 主成分

第 2 主成分は、Control 群と PF 群の値がほぼ等しく、ZD 群の値は、両群に比べ有意に低かった (図 4)。

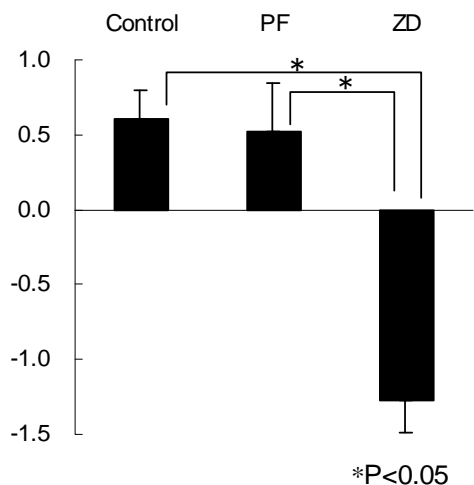


図 4. 肝臓タンパクの主成分分析:第 2 主成分

これらの成分に寄与するタンパク質の中には、抗酸化性を持つものやストレスへの耐

性に関与するものも認められた。

また、肝臓中の亜鉛結合タンパクであるメタロチオネインは、亜鉛欠乏によって著しく低下した。メタロチオネインは SH 基に富んでおり、亜鉛欠乏に伴うメタロチオネインの著しい低下は、抗酸化性の低下を招くと考えられる (図 5)。

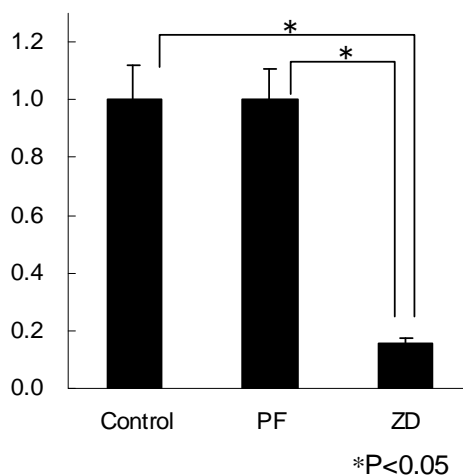


図 5. 肝臓中メタロチオネイン (相対値)

遺伝子発現を解析する上で、house keeping gene の選択が問題となる。House keeping gene としてよく用いられる Actb と Gapdh について検討した。Actb は、肝臓単位重量当たりの比でも、または、total RNA 当たりの比でも、群間に有意差はなかった。Gapdh は、肝臓単位重量当たりの比で表した場合と total RNA 当たりの比で表した場合の両方において、PF に比べて ZD が有意に低下した。亜鉛欠乏時の肝臓では、Actb の方が house keeping gene として適切であること、また、通常 house keeping gene とされる遺伝子であってもその発現量が亜鉛欠乏によって変動する場合があることが明らかとなった。ストレス耐性やエネルギー代謝に関与するタンパクの中には、その遺伝子発現が、亜鉛欠乏ないし摂取制限の影響を受けるものが見られた。

## (3) 日本人の亜鉛栄養状態

2003 年以降の国民・栄養調査成績によれば、30 から 49 歳の亜鉛摂取量の中央値は、男性では 9 mg から 8.4 mg、女性では 7.3 mg から 6.9 mg で、全国平均値 (男女) は 8.4 から 7.6 mg で、いずれも減少傾向があった (図 6)。

「食事による栄養摂取量の基準 (平成 22 年厚生労働省告示第 86 号)」および策定根拠である「2010 年版日本人の食事摂取基準」における亜鉛の推定平均必要量 (EAR) を下回る

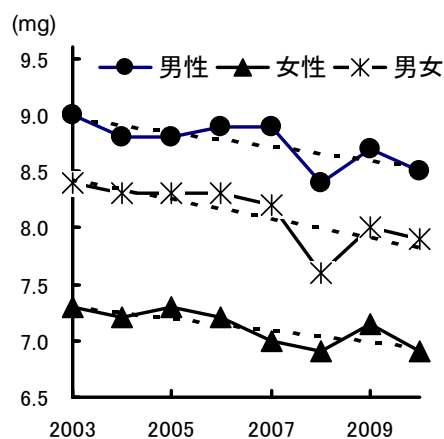


図 6. 国民健康栄養調査における亜鉛摂取量の中央値

者の比率、すなわち、亜鉛摂取不足の恐れがある者の比率を求めると、18 歳から 69 歳において男女ともに約 60%であった。また、日本微量元素学会の亜鉛欠乏診断基準を既存の調査データに適用して亜鉛欠乏の有病率を推定すると約 50%となり、国民・健康栄養調査の解析結果と一致した。

このように、日本人の亜鉛摂取は不足傾向にあり、亜鉛欠乏が老化促進因子であれば、その補充によって老化の制御が可能であることが示唆された。また、鉄についても摂取不足にあることが明らかであった。

#### 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 5 件)

- ① 横井克彦：摂取不足が問題になる必須微量元素—特に、亜鉛と鉄を中心に—Foods & Food Ingredients J. Jpn. 査読有, 218(1):5-11, 2013
- ② 澤田孝子, 許斐亜紀, 横井克彦：成年女子の“貧血のない鉄欠乏症”における亜鉛値の一考察. 微量元素研究 Trace Nutrients Research 査読有, 28:84-88, 2011
- ③ 横井克彦：連載・微量元素をめぐる動向 ⑦鉄：鉄の栄養特性と毒性、ならびに利用と規制 食品衛生研究, 査読有, 61(4):23-33, 2011
- ④ Yokoi K., Konomi A., Otagi M. Comparison of a modified hemoglobin regeneration efficiency method with a slope-ratio assay in measuring relative bioavailability of cocoa powder iron using rats. *Biol Trace Elem Res*, 査読有, 143(2):1103-1109, 2011. DOI:

10.1007/s12011-010-8953-1

- ⑤ 横井克彦：微量元素の摂取基準運用に関する留意点—法と科学に基づく業務の遂行— 日本栄養士会雑誌, 査読有, 53(10):4-15, 2010

[学会発表] (計 5 件)

- ① 横井克彦：数学的方法による鉄の必要量の推定と食事摂取基準との比較パネルディスカッション 1「栄養学的見地から見た微量元素の功罪」, 第 23 回日本微量元素学会大会、東京都 砂防会館シェーンパッサ・サポー、2012 年 7 月 5 日
- ② Katsuhiko Yokoi, Aki Konomi: Zinc deficiency and liver protein expression in rats. Minisymposium 2: Zinc and Selenium: International Society For Trace Element Research In Humans (ISTERH), Ninth International Conference, Oct. 16-21, 2011. Rixos Premium Hotel, Belek, Turkey. 2011 年 10 月 17 日
- ③ 横井 克彦, 許斐 亜紀：亜鉛欠乏および摂取制限が肝臓中タンパク質の発現に及ぼす影響. 第 22 回日本微量元素学会大会、京都市 京都テルサ/京都府民総合交流プラザ、2011 年 7 月 1 日
- ④ 澤田孝子, 許斐亜紀, 横井克彦：成年女子の“貧血のない鉄欠乏症”における亜鉛値の一考察. 第 28 回日本微量元素学会学術集会、京都市 京都リサーチパーク、2011 年 6 月 11 日
- ⑤ Yokoi K., Konomi A. Effect of zinc deficiency on hepatic protein expression patterns in rats. Minisymposium: Zinc presented at the Experimental Biology 2011, Washington Convention Center, Washington, DC, USA, 2011 年 4 月 11 日

[図書] (計 1 件)

- ① 横井克彦：鉄と亜鉛と銅, ビタミン・ミネラルの科学, 五十嵐脩、江指隆年監修、東京：朝倉書店, 123-129, 2011 年

#### 6. 研究組織

- (1)研究代表者  
横井 克彦 (YOKOI KATSUHIKO)  
聖徳大学・人間栄養学部・教授  
研究者番号：10200883
- (2)研究分担者  
許斐 亜紀 (KONOMI AKI)  
帝京平成大学・健康メディカル学部・講師  
研究者番号：40529658