

シリーズ リフレッシュが必要な微量元素に関する常識

亜鉛代謝の必須分子として機能する亜鉛トランスポーター

神戸大 朋

京都大学大学院生命科学研究科

Overview of and Update on the Physiological Functions of Mammalian Zinc Transporters

Taiho KAMBE

Graduate School of Biostudies, Kyoto University

Abstract In recent years, a number of mammalian zinc transporters have been molecularly characterized. This has brought about major advances in our understanding of the tight regulation of cellular zinc homeostasis and the pivotal roles zinc transporters play in a variety of biological events. Mammalian zinc transporters are classified into two families: the ZRT, IRT-like protein (ZIP) family and the Zn transporter (ZnT) family. The ZIP family consists of 14 members and facilitates zinc influx into the cytosol from the extracellular and intracellular compartments. The ZnT family consists of 9 members and facilitates zinc efflux from the cytosol to the extracellular and intracellular compartments. Coordinated zinc mobilization across the cellular membrane by both transporter families is indispensable for diverse physiological functions. In this review, the features of the ZIP and ZnT families are briefly reviewed from the perspective of zinc physiology, with emphasis on recent progress.

Key words: zinc (亜鉛), zinc transporter (亜鉛トランスポーター), ZRT, IRT-like protein (ZIP), Zn transporter (ZnT), zinc metabolism (亜鉛代謝), zinc homeostasis (亜鉛ホメオスタシス)

はじめに

少し前の栄養学の本を読むと、亜鉛代謝ではメタロチオネインが中心的役割を果たすと解説されている。メタロチオネインは、確かに亜鉛代謝における重要分子の一つではあるが、近年の研究から、亜鉛トランスポーターの重要性がクローズアップされてきており、その多様な機能によって亜鉛の多彩な生理作用が説明できるため大きな注目を集めている。動物細胞において初めて亜鉛トランスポーターが発見されたのは90年代後半である(1)。従って、亜鉛トランスポーター研究は比較的新しい研究分野であるが、その後の進展は目覚ましく、現在も

新たな知見が相次いで報告されている。亜鉛代謝に不可欠な役割を担う亜鉛トランスポーターの機能喪失は、先天性疾患の発症に結びつき、さらに、亜鉛トランスポーターが、アルツハイマー病や糖尿病、がんといった現代社会が克服すべき疾患と密接に関連することも判明してきた(2)。本稿では、生体内に20種類以上発現する亜鉛トランスポーターを生理機能の面から概観し、その重要性について解説したい。

1. 亜鉛トランスポーター ZIP (SLC39A) と ZnT (SLC30A)

1-1. 細胞内の亜鉛代謝

細胞内に存在する亜鉛は、便宜上、大きく4つの状態に分けることができる(3)。ジンクフィンガーモチーフなどの形成に不可欠な構造因子として、また、DNA合成酵素など亜鉛要求性酵素の補因子としてタンパク質と非常に強く結合した状態(図1, A)、メタロチオネインと緩

受付 2013 年 2 月 23 日, 受理 2013 年 3 月 14 日
Reprint requests to: Taiho KAMBE
Graduate School of Biostudies, Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan
TEL: +81(75)753-6273, FAX: +81(75)753-6274
E-mail: kambe1@kais.kyoto-u.ac.jp

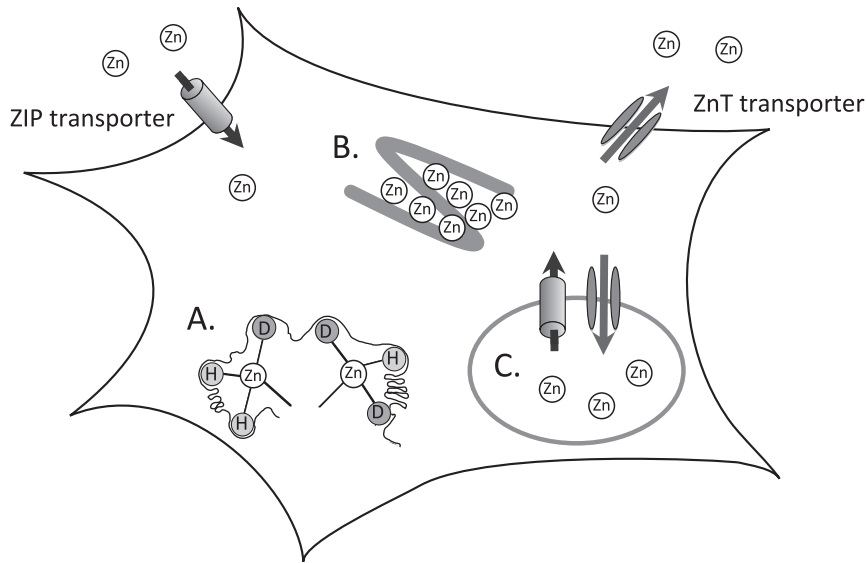


図1 細胞内亜鉛の分布。細胞内の亜鉛は、構造因子や補因子としてタンパク質と非常に強く結合した状態 (A)、メタロチオネインと緩く結合した状態 (B)、細胞内小器官内に貯蔵された状態 (C) として存在しており、細胞質には、遊離亜鉛イオンが極微量にしか存在しない。ZIPトランスポーターは、細胞外あるいは細胞内小器官の亜鉛を細胞質へと輸送し、一方、ZnTトランスポーターは、細胞質の亜鉛を細胞外あるいは細胞内小器官へと輸送する。

く結合した状態 (図1, B)、細胞内小器官内に貯蔵された状態 (図1, C) と、細胞質に極微量存在する遊離亜鉛イオンである。細胞内の遊離亜鉛イオンの濃度は、通常、ピコM (10^{-12} M) 以下の非常に低いレベルに保たれている (4, 5)。細胞内の亜鉛ホメオスタシスを厳密に制御するために重要な役割を果たすのが、亜鉛トランスポーターである (3, 6, 7)。

1-2. ZIP (SLC39A) と ZnT (SLC30A)

亜鉛トランスポーターは、アミノ酸配列の相同性と亜鉛輸送の方向性から、ZIP (SLC39A) と ZnT (SLC30A) に大別される (8-10)。両トランスポーターとも ATPase ドメインを持っておらず、ATPの加水分解エネルギーではなく、イオン勾配や膜内外の電位差をエネルギーとして輸送を行う SLC (Solute Carrier) family に分類される。ZIPトランスポーターは、細胞外あるいは細胞内小器官の亜鉛を細胞質へと輸送し、一方 ZnT トランスポーターは、細胞質の亜鉛を細胞外あるいは細胞内小器官へと輸送する (11, 12)。ZIP, ZnTトランスポーターともに二量体を形成して機能することが予想されており (13-15)、ZnTトランスポーターはプロトンと交換輸送の様式で亜鉛を輸送することも明らかにされている。一方、ZIPトランスポーターに関しては、重碳酸イオンと共輸送されるという報告もあるが、その詳細は明らかにされていない。ヒトでは、14種類のZIPトランスポーターと9種類のZnTトランスポーターが機能すると考えられており、これら多数のトランスポーターが、細胞や組織特異的に、あるいは分化・発生段階に応じて、厳密に発現制御されることが明らかにされている (10, 16)。また、様々な細胞外因子やホルモンによっても、その発現は制御される

(10, 16)。多くのZIPトランスポーターは細胞質膜に局在し、一方、ほとんどのZnTトランスポーターは細胞内小器官に局在する (図2)。これら細胞内局在の違いは、各トランスポーターの機能に大きく影響する。

2. ZIP トランスポーターの生理機能

ヒトで発現する14種類のZIPトランスポーターの機能について、その生理的役割を中心に簡単に紹介する。ZIPトランスポーターは、アミノ酸配列の相同性から、ZIPI, ZIPII, LIV-1, *gufA* という4つのサブファミリーに分類される (図3) (5, 8)。この中でもLIV-1サブファミリーに分類されるものが多数存在しており、様々な生理機能を担うことが明らかにされている。

ZIP1 (ZIPII サブファミリー)

細胞質膜に局在し、細胞外の亜鉛を細胞内に取り込む働きを担う。ユビキタスに発現するため、亜鉛代謝に重要な役割を果たすと考えられていたが、ノックアウトマウスに顕著な表現型は認められていない (17)。ただし、亜鉛制限食で飼育した母獣では、胎児の発育異常の割合が増加する (17)。ZIP1の発現は、前立腺がんでは低下することが知られる (18)。前立腺には、他の軟組織に比べ3~10倍もの亜鉛が存在するが、前立腺がんではこの亜鉛の量が激減しており (19)、ZIP1を含めた幾つかのZIPトランスポーターの発現低下との関連が疑われている。

ZIP2 (ZIPII サブファミリー)

ZIP1同様に、細胞質膜に局在し、細胞外の亜鉛を細胞内に取り込む役割を果たしている。ZIP1とは対照的にそ

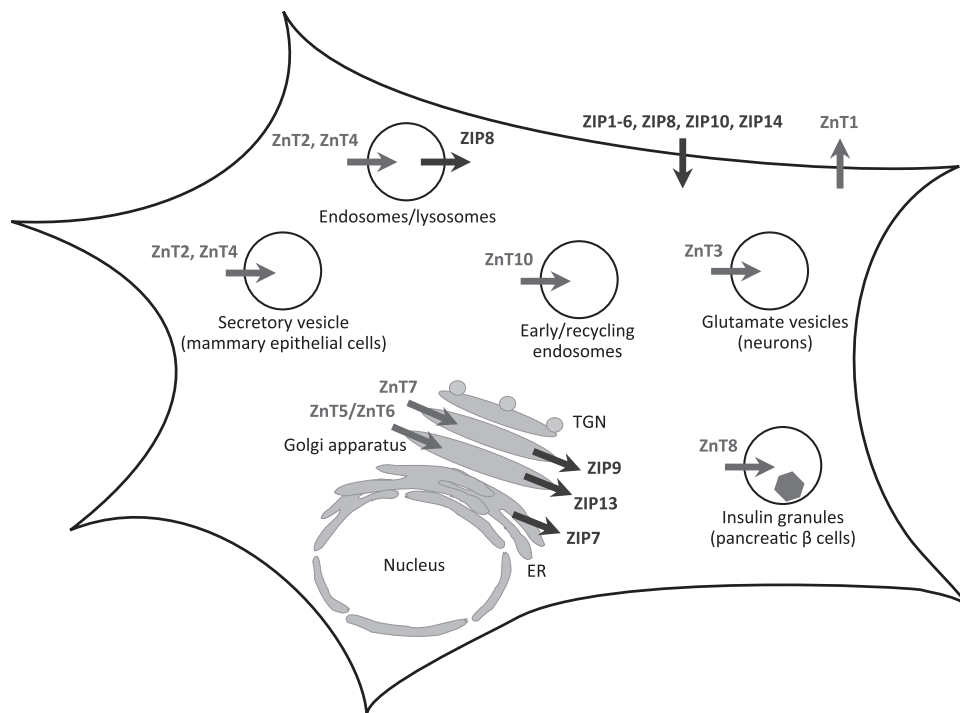


図 2 ZIP, ZnT トランスポーターの細胞内局在。これまで機能に明らかにされている ZIP, ZnT トランスポーターの細胞内局在部位。両トランスポーターの発現量や局在部位は、亜鉛濃度や様々な刺激に応じて大きく変化するため、本図には主要な局在部位のみを示している。

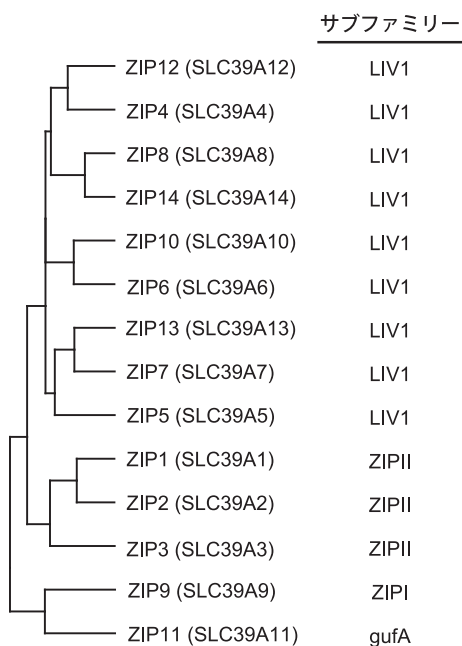


図 3 ZIP トランスポーターのアミノ酸相同性を表す樹形図とサブファミリーの分類

の発現は、子宮や前立腺といった生殖系器官や一部の免疫細胞に限局している。これら組織で何らかの役割を果たすと考えられているが、ノックアウトマウスにおいては顕著な表現型は観察されない。亜鉛制限食で飼育した母獣においては、胎児の発育異常が観察される (20)。

ZIP1 と同様に、前立腺がんでは ZIP2 の発現が低下することが報告されている (21)。

ZIP3 (ZIPII サブファミリー)

ZIP3 は精巣や脳などに比較的高いレベルで発現しており、ZIP1 と ZIP2 と異なる組織発現パターンを示すが、アミノ酸配列には高い相同性が認められ、細胞質膜に局在する性質も同じである。さらに、ノックアウトマウスが顕著な表現型を示さず、亜鉛制限食で飼育した場合に胎児の発育異常が観察される点や (22)、前立腺がんにおいて発現が低下する点も極めて類似している (21)。Zip1, Zip2 と Zip3 を全て欠失させたトリプルノックアウトマウスでは、亜鉛代謝に重篤な影響が現れることが予想されたが、それぞれの単独ノックアウトマウスの結果と同様に、亜鉛制限下で母獣を飼育した場合にのみ、胎児の発育異常が観察される (23)。ZIPII サブファミリーに分類されるこれら 3 つのトランスポーターは、亜鉛栄養条件が極めて悪化した時のバックアップシステムとして生体に備わっているのであろう。

ZIP4 (LIV-1 サブファミリー)

先天性の亜鉛欠乏症として、脱毛や下痢、重篤な皮膚炎を特徴とする腸性肢端皮膚炎 (Acrodermatitis Enteropathica; AE) が知られる (24, 25)。2002 年に、ZIP4 遺伝子の変異が AE を引き起こすとして同定され (表 1) (26, 27)、それまで未解明であった消化管からの亜鉛吸収経路が明らかとなった。ZIP4 は小腸 (十二指腸・空腸) 上皮

表 1 先天性疾患の原因遺伝子として同定された ZIP, ZnT トランスポーター

遺伝子	発現部位	疾患名
ZIP4	小腸上皮細胞	腸性肢端皮膚炎
ZIP13	骨や真皮, 目など	脊椎異形成型エーラスダンロス症候群
ZnT2	乳腺上皮細胞など	低亜鉛母乳症
ZnT8	膵臓ランゲルハンス島	2 型糖尿病, 1 型糖尿病
ZnT10	脳や肝臓など	パーキンソン病, ジストニア

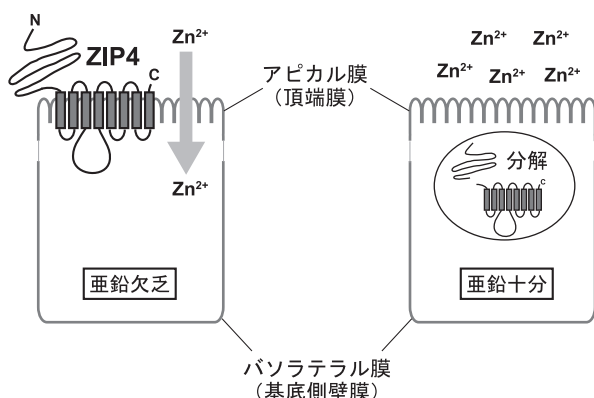


図 4 小腸上皮細胞に発現する ZIP4 の亜鉛レベルによる発現制御。ZIP4 の発現は、亜鉛欠乏に応じて小腸上皮細胞アピカル膜 (頂端膜) に蓄積するが (左図), 亜鉛十分時には、アピカル膜より速やかにエンドサイトーシスされ、分解を受けている (右図)。

細胞の管腔側 (頂端側) 膜に発現するトランスポーターで、食事由来の亜鉛を上皮細胞内に取り込む役割を果たす。ZIP4 の発現は、亜鉛により厳密に制御されており、亜鉛欠乏に応じて小腸上皮細胞アピカル膜 (頂端膜) に蓄積してくるが、一方、体内に亜鉛が十分に存在する時 (亜鉛十分時) には、アピカル膜より速やかにエンドサイトーシスされ、分解を受けている (図 4) (28, 29)。この事実、ZIP4 タンパク質分子がアピカル膜に留まることが、消化管からの亜鉛吸収に不可欠な制御となることを示している。また、ZIP4 は、重度の亜鉛欠乏が長期にわたり続くと細胞外の領域が切断されて除かれた (プロセッシングされた) 後、アピカル膜に蓄積する (30)。近年、増加傾向にある亜鉛欠乏の予防のために、プロセッシングを含む ZIP4 の発現制御機構が解明されることが期待されている。

一方、マウスでは、ZIP4 は初期発生においても不可欠な役割を果たしており、Zip4 のノックアウトマウスは個体形成される前に胎生致死 (E8.5 ~ E10.5) となる (31)。そのため、ヒト以外の哺乳類での亜鉛吸収における ZIP4 の必須性は明らかにされていなかったが、2012 年に消化管特異的に Zip4 を欠失させたコンディショナルノックアウトマウスが作成され、現在では、その必須性が極めて明快地証明されている (32)。

AE 患者に多量の亜鉛を経口投与すると、亜鉛欠乏症状に改善が見られ、また、AE 患者の中には ZIP4 遺伝子に

変異が見つからない患者がいる。これらの事実から、小腸には、ZIP4 とは異なる補助的な第二の亜鉛輸送機構の存在も示唆されるが、その詳細については明らかになっていない。

ZIP5 (LIV-1 サブファミリー)

小腸上皮細胞には、ZIP4 と比較的高い相同性を有する ZIP5 が発現する (33)。ZIP5 は、小腸上皮細胞以外にも腎臓などで発現しているが、特に膵臓外分泌細胞で強い発現を示すことが知られる。興味深いことに、ZIP5 は亜鉛レベルによって ZIP4 と全く逆の制御を受けており、亜鉛十分時には、小腸上皮細胞や膵臓外分泌細胞のバソラテラル膜 (基底側壁膜) に局在するが、亜鉛欠乏時には、その局在が速やかに消失する (29)。体内亜鉛の出納に重要な組織において、ZIP5 の発現や局在が、亜鉛濃度に応じて ZIP4 と全く逆の制御を受けることは、ZIP5 が生体の亜鉛ホメオスタシスを維持する上で重要な役割を果たすことを示唆している。

ZIP6 (LIV-1 サブファミリー)

細胞質膜に局在し、細胞外の亜鉛を細胞内に取り込む役割を果たしている。ZIP6 は、80 年代後半に乳がん細胞でエストロゲン依存的に発現が上昇する遺伝子として同定された LIV-1 と同一分子であり (34)、これが現在の LIV-1 サブファミリーの名の由来となっている。ZIP6 は、ゼブラフィッシュ胚において、上皮間葉転換 (がんの転移や傷口の修復過程に認められる現象と同じ) に不可欠な因子であることが示されており (35)、がんの増殖・浸潤・転移との関連についても注目が集まっている分子である。実際に ZIP6 の発現を抑制させたがん細胞では、その増殖能や上皮間葉転換が抑制されることも見出されている (36, 37)。がん細胞の中には、ZIP6 以外の他の ZIP トランスポーターの発現が増加している例がいくつも見出されており (38, 39)、がん細胞の増殖・浸潤・転移と ZIP トランスポーターに関しては、今後さらに研究を進める必要がある。

ZIP7 (LIV-1 サブファミリー)

小胞体やゴルジ体に局在し、これら細胞内小器官から細胞質への亜鉛の輸送に機能する (40)。最近、ZIP7 による亜鉛輸送が細胞内シグナル伝達経路の制御に重要であり (41)、さらに、細胞外刺激に応じて、ZIP7 の亜鉛輸送活性がプロテインキナーゼ CK2 (casein kinase 2) によるリン酸化を介して制御されることが明らかにされた (42)。亜鉛トランスポーターの亜鉛輸送活性が細胞内シグナルにより制御される分子メカニズムが初めて解明された報告として非常に注目を集めている。ある種の乳がん細胞においては、ZIP7 の発現亢進が認められるが、このような細胞では、ZIP7 が細胞内小器官から細胞質に輸送した亜鉛が、細胞内シグナルカスケードを活性化していることが報告されている (43)。

ZIP8 (LIV-1 サブファミリー)

BCGにより誘導される膜タンパク質として同定され、単球からマクロファージや樹状細胞への分化誘導時にもその発現が増加する(44)。これらの結果から、ZIP8が免疫機能と密接に関連することが予想されていたが、実際、2013年に、ZIP8が細胞内亜鉛代謝を制御することで、宿主自然免疫に極めて重要な役割を果たす分子であることが証明された(45)。また、ZIP8は、カドミウム精巣毒性の感受性の異なるマウス間のSNP比較から、その要因となる遺伝子としても同定されており(46)、非常に多様な生理機能を担う分子であることが判明している。ZIP8の細胞内局在に関しては、細胞質膜とリソソームという2つの結果が存在する。細胞質膜に局在するZIP8は、細胞外の亜鉛の他に、鉄やマンガンの輸送にも関与することが示されており(47, 48)、ZIP8は亜鉛以外の必須金属代謝においても重要な役割を果たすと考えられる。また、ZIP8は肺での発現レベルが高いため、タバコの煙に含まれるカドミウムの取り込み経路となり(47)、肺上皮のカドミウム毒性に関与する可能性が示されている(49)。最近、ZIP8の発現を劇的に減少させた変異マウス(ハイボモルフ変異体)が作成され、器官形成や赤血球造血に支障をきたし、貧血のため胎生致死となることが示されている(50)。一方、リソソームに局在するZIP8は、リソソームに蓄えられた亜鉛を細胞質に輸送する役割を担っており、T細胞によるインターフェロン γ の産生に重要な細胞内シグナルを制御していることが示されている(51)。

ZIP9 (ZIPI サブファミリー)

ヒトのZIPトランスポーターでは、ZIPIサブファミリーに分類される唯一の分子で、ゴルジ体に局在して分泌経路の機能調節に働くことが示されている(52)。最近、ZIP9を欠損させたニワトリBリンパ球細胞では、B細胞シグナルが障害されることが示された(53)。ZIP9は、ゴルジ体から細胞質への亜鉛輸送を調節することで、Bリンパ球の機能発現に重要な役割を果たすと考えられている。

ZIP10 (LIV-1 サブファミリー)

ZIP10は細胞質膜に局在し、細胞外の亜鉛を取り込む働きを担う。その発現は、亜鉛レベルの上昇に応じて転写段階で抑制されることが知られており(54)、亜鉛代謝におけるZIP10の重要性が示唆される。亜鉛は、腎近位尿細管から効率良く再吸収されるため、尿中への排出が微量であることが知られるが、この再吸収にZIP10が機能することが示唆されている(55)。また、ZIP10は神経系での発現が高いことも知られ、亜鉛による神経機能制御に何らかの役割を果たすことが考えられる。ZIP10は細胞外アミノ末端領域に、プリオンタンパク質(PrP)と構造的に類似した領域を持つという面白い特徴を有する(56)。ZIP10は、ZIP4と同様に亜鉛欠乏に反応してプロセッシングを受けることが明らかにされているが、ZIP10

のプロセッシングがプリオン感染マウスでも起こっていることが、最近、示された(57)。ZIPトランスポーターのプロセッシングによる制御には、重要な生理的意義が秘められているのかもしれない。ZIP6と同様に、ZIP10が乳がん細胞の浸潤性に関与することを示す結果も報告されている(58)。

ZIP11 (gufA サブファミリー)

gufAサブファミリーに分類される唯一の分子であるが、その機能は全く明らかにされていない。一般に、gufAサブファミリーに分類される分子の詳細については、他の生物種においてもほとんど明らかにされていない(8, 59)。

ZIP12 (LIV-1 サブファミリー)

ZIP12の生理機能に関する知見は、これまで報告されていないが、ZIP12は脳に非常に限局して発現することが知られている。近年、注目が高まっている亜鉛の脳・神経機能に何らかの役割を担うことが予想される(60)。

ZIP13 (LIV-1 サブファミリー)

ZIP13は、結合組織を形成するコラーゲン形成異常によって、皮膚の異常な伸展性や脆弱性の亢進、さらに骨の形成不全を特徴とする脊椎異形成型エーラスダンロス症候群(Spondylodysplastic Ehlers-Danlos syndrome)の原因遺伝子である(61, 62)。ZIP13は、ゴルジ体や分泌小胞などに局在し、その内腔から細胞質への亜鉛輸送に重要な役割を果たす(61, 63)。ZIP13の機能喪失が先天性疾患の原因となる事実は、細胞内外の亜鉛輸送のみならず、細胞内小器官内外の亜鉛輸送が生体調節において必須の役割を果たしていることを明快に示している。Zip13のノックアウトマウスは、エーラスダンロス症候群と類似した表現型を示し、骨・歯などの硬組織や結合組織の発達に障害をきたすことが報告されている(61)。

ZIP14 (LIV-1 サブファミリー)

炎症時には血清中の亜鉛が減少し(hypozincemia)、肝臓の亜鉛含量が増加する。ZIP14は、炎症に伴うインターロイキン6の産生に応じて発現上昇し、肝臓への亜鉛取り込みに機能するトランスポーターとして同定された(64)。ZIP8と同様に亜鉛以外に鉄やマンガンも輸送する可能性が示唆されており(47, 48)、必須微量元素代謝のクロストークを考える上でもZIP14の機能には興味を持たれる。Zip14のノックアウトマウスの解析から、ZIP14は、Gタンパク質共役型受容体を介した細胞内シグナル伝達経路の調節に重要であり、軟骨分化や成長ホルモン産生を制御することで、全身性成長をコントロールすることが明らかにされている(65)。また、肝再生時の肝細胞の増殖にもZIP14は重要であるため、ZIP14の亜鉛輸送活性を増強する試薬は、慢性肝疾患患者の肝再生を促進させる効果が期待できると考えられている(66)。

3. ZnT トランスポーターの生理機能

ヒトで発現する9種類のZnTトランスポーターの機能について、その生理的役割を中心に簡単に紹介する。多くのZnTトランスポーターは、細胞内小器官や小胞への亜鉛輸送に重要であり(図2)、高濃度の亜鉛を蓄えた小胞を有する膵臓ランゲルハンス島β細胞やニューロンなどには、特異的なZnTトランスポーターが機能している(ZnT8, ZnT3の欄参照)。なお、ZnT9に関しては、アミノ酸配列の相同性から、当初亜鉛トランスポーターとして命名されたが、現在では核内受容体のコアクチベーター・GAC63と同一分子であることが判明しており(67)、本稿でもZnTから除外している。

ZnT1

ヒトで初めて同定された亜鉛トランスポーターである(1)。ユビキタスに発現しており、ZnTトランスポーターの中で唯一細胞質膜に局在するため、細胞質の亜鉛を細胞の外に輸送する経路として極めて重要な役割を果たす。上皮細胞では、通常、バソラテラル膜に局在するため、小腸上皮細胞において門脈への亜鉛放出に機能する(68)。また、腎臓においては亜鉛の再吸収に重要な役割を果たすと考えられている(16)。一方、膵臓外分泌細胞ではアピカル膜にも局在しており、亜鉛の膵分泌に関与する(6)。ZnT1 mRNAの発現は、メタロチオネインと同様に、体内亜鉛レベルの上昇によって誘導されるため(69)、細胞内の亜鉛濃度が上昇した場合にはその解毒経路として重要であり、神経細胞など高濃度の亜鉛に曝される環境では、亜鉛毒性を低減させる働きが想定されている。ZnT1のノックアウトマウスは、極めて早期に胎生致死となることが示されており(70)、ZnT1は、胎児が母獣から亜鉛を獲得する経路としても不可欠な分子である。

ある型のパピローマウイルスの感染によって、疣贅状表皮発育異常症(epidermodysplasia verruciformis)が発症するが、この疾患の発症との関連が示されているEVERタンパク質とZnT1はヘテロ複合体を形成する(71)。このヘテロ複合体形成により、ケラチノサイトでのZnT1の細胞内局在は通常の細胞質膜から小胞体へと変化し、細胞内の亜鉛代謝も大きく変化する(71)。この知見からも、ZnT1が細胞内亜鉛代謝に極めて重要な分子であることを窺い知ることができる。

ZnT2

ZnT2は、細胞質からエンドソーム・リソソームへ亜鉛を輸送するトランスポーターとして同定された(72)。ZnT2の発現増強が、亜鉛毒性に対する耐性を付与することから、ZnT2には細胞質亜鉛を細胞内小器官内に輸送してプールさせる役割が考えられていたが(5)、ZnT2遺伝子の変異が母乳中の亜鉛の減少を引き起こすことが報告され(73, 74)、最近では、ZnT2は乳児の亜鉛栄養の面から注目を集めている。乳児の発育のために、母乳中の亜

鉛は特に初乳(授乳1~5日)において極めて高くなっており、その値は血清中の亜鉛濃度の5倍以上にも及ぶ(75)。この極めて多量の亜鉛を母乳中に輸送するために、ZnT2には何らかの特殊な制御機構が備わっていることが予想されるが、その詳細に関しては全く解明されていない。

ZnT3

海馬や大脳皮質のグルタミン酸作動性ニューロンのシナプス小胞膜に局在し、小胞内への亜鉛の輸送に不可欠なトランスポーターである(76, 77)。ZnT3によって小胞内に貯蔵された亜鉛は刺激に応じて放出され、グリシンやグルタミン酸など数多くの神経伝達物質の受容体や電位依存性カルシウムチャネルに存在する亜鉛結合部位に作用することで、各シグナルの増強や抑制に関与し、シナプス可塑性の発現に重要な役割を果たすことが考えられている(78)。このことから、ZnT3により輸送された亜鉛は、神経機能の調節に不可欠であることが予想されていたが、この予想に反して、当初のZnT3のノックアウトマウスの解析では、シナプス小胞内の亜鉛が枯渇しているにも関わらず、顕著な表現型が認められていなかった。最近、より詳細な解析が進んだ結果、ZnT3のノックアウトマウスに空間学習や記憶、恐怖記憶といった海馬依存的な機能に障害があることが認められ、ZnT3の高次脳機能における重要性が確認されてきている(79, 80)。アルツハイマー病患者の脳では対照群と比べZnT3の発現が低下しており、また健常人でも高齢化に伴いZnT3の発現レベルは低下する(81)。神経疾患との関連からも、ZnT3の生理機能に関する今後の研究の進展が待たれる。

ZnT4

マウスでは、母乳中に十分な亜鉛を供給できないために、その仔マウスが離乳前に死亡するというlethal milk変異マウスの存在が知られていた。ZnT4は、その原因遺伝子として1997年に同定された(82)。ZnT4は、ユビキタスに発現する遺伝子と考えられているが、脳や消化管において比較的高い発現を示す。ヒトにおいては、これまでZnT4遺伝子に低亜鉛母乳を引き起こす変異は見つかっておらず、母乳への亜鉛供給に機能する亜鉛トランスポーターが生物種によって異なっていることが示唆される(11)。ZnT4はエンドソームやトランスゴルジネットワークを中心に発現することから、細胞内小器官への亜鉛輸送に機能することが予想されているが、ZnT4の生理作用の詳細に関してはあまり解析が進んでいないのが現状である。

ZnT5

ユビキタスに発現し、細胞質からゴルジ体などの分泌経路に亜鉛を送り込む。培養細胞を用いたin vitro解析では、ZnT5の発現消失によって、亜鉛要求性酵素の一つであるアルカリフォスファターゼ(ALP)の活性が激減す

ることが示されている (83, 84)。分泌型の亜鉛要求性酵素には、ALP 以外にもマトリックスメタロプロテアーゼやアンジオテンシン転換酵素など重要な生理機能を果たす酵素が数多く存在するため、ZnT5 はこれら酵素の活性発現にも重要な役割を果たすと考えられている。ZnT5 のノックアウトマウスは、成長遅延や骨量・脂肪量の低下の他 (85)、マスト細胞からのサイトカイン産生の低下に起因する遅延型アレルギー応答の抑制など多様な表現型を示す (86)。亜鉛輸送活性を獲得するために、他の ZnT トランスポーターがホモ二量体を形成するのに対して、ZnT5 は ZnT6 とヘテロ二量体を形成するというユニークな特徴を持つ (13)。

ZnT6

ZnT5 と同様に分泌経路に局在し、ユビキタスに発現する。ZnT6 は、他の ZnT トランスポーターに類似した配列を持つが、ZnT 分子の亜鉛輸送活性に必須となる保存された極性アミノ酸残基が疎水性アミノ酸残基に置換されている (84)。そのため、ZnT6 自体には亜鉛輸送活性がなく、その活性発現には ZnT5 とヘテロ二量体を形成することが必要である (14)。

ZnT7

ZnT5 と ZnT6 同様にユビキタスに発現し、ゴルジ体などの分泌経路に局在する。ZnT7 も分泌経路の亜鉛要求性酵素の活性化に重要な役割を果たすことが示されており、分泌経路に局在する ZnT5 と ZnT6、ZnT7 全てを欠損させた三重欠損細胞株では、ALP の活性がほぼ完全に消失する。これら 3 つの ZnT は、分泌経路の恒常性維持に重要な役割を果たしており (87)、分泌経路はそのため複数の亜鉛供給経路を備えていると考えることができる。ZnT7 のノックアウトマウスには、食欲不振を伴う成長遅延の他、耐糖能障害などが観察されている (88)。

ZnT8

ZnT8 は、膵臓ランゲルハンス島 β 細胞で特異的に発現する ZnT トランスポーターとして同定された (89)。同定された直後から、インスリン分泌顆粒内のインスリン結晶 (インスリン:亜鉛=6:2) の形成に必要な多量の亜鉛を送り込むトランスポーターではないかと注目されていたが、最近、ノックアウトマウスの解析よりその事実が確認されている (90)。ZnT8 は糖尿病との関連によって、現在、最も注目されている亜鉛トランスポーターの一つである。ゲノムワイドな解析から、ZnT8 遺伝子の SNP (325 番目のアルギニン残基がトリプトファン残基に変換) が、2 型糖尿病疾患感受性遺伝子の 1 つであることが報告され (91)、また、ZnT8 に対する自己抗体は、1 型糖尿病の発症に密接に関与する (92)。日本人の 1 型糖尿病では、急性型の 50–60%、遅発性型の 20% に ZnT8 抗体が認められると報告されている (93)。ZnT8 のノックアウトマウスは、これまでに複数の研究グループによって

作成されており、それぞれの表現型には若干の相違が認められるものの、ZnT8 の糖代謝における重要性が確認されている (90, 94, 95)。

ZnT10

ZnT10 は、ゴルジ体やリサイクリングエンドソームに局在し、細胞内の亜鉛ホメオスタシスを調節することで、細胞老化に関連することが報告されていた (96)。しかしながら、2012 年に ZnT10 の変異が家族性の高マンガン血症と赤血球増加症、慢性肝疾患を伴うパーキンソン病とジストニアを引き起こすことが報告された (97, 98)。ZnT10 は肝臓や脳に高い発現を示し、その機能の消失は、両組織へのマンガン蓄積を促す。ZnT10 遺伝子の変異により高マンガン血症を示した患者の血清亜鉛濃度に大きな変動は認められていないため、当初の想定とは異なり、ZnT10 がマンガン代謝に特に重要な働きを示す ZnT トランスポーターである可能性が高い。

4. 亜鉛シグナルと亜鉛トランスポーター

ZIP、ZnT トランスポーターの生理機能を概観すると、両トランスポーターが様々な細胞内シグナル伝達の制御に関与していることに気づく。シグナル因子として細胞機能を制御する亜鉛の作用は、亜鉛シグナルと呼ばれ、近年、亜鉛の新しい機能として非常に注目を集めている (99)。亜鉛シグナルの発信には、細胞内で遊離の亜鉛イオン濃度が局所的に変化することが鍵となっており、この亜鉛イオンは、細胞外からのみならず、小胞体やゴルジ体などの細胞内小器官からも放出される。そのため、細胞質膜や各細胞内小器官に発現する ZIP・ZnT トランスポーターは (図 2)、亜鉛シグナルの制御に重要な役割を演じる (2)。亜鉛シグナルがどのようにして特異的に制御されているのか等、その全容解明は今後の課題であり、そのためにも各 ZIP・ZnT トランスポーターの分子機能の理解を深めることが不可欠となっている。

おわりに

近年、亜鉛の機能を表す際に、“The calcium of the twenty-first century” というフレーズがしばしば使用される (100)。亜鉛がシグナル因子として機能することを表すこのフレーズは、亜鉛の機能の拡がりを的確に表しているが、亜鉛が様々なタンパク質と相互作用し、その活性を制御している事実を考慮すると、亜鉛にはカルシウムにも増して多様な生理機能が秘められていたとしても全く不思議ではない。本稿では、現時点で明らかにされている ZIP・ZnT トランスポーターの生理作用を解説したが、亜鉛トランスポーターに関連する研究は劇的に進展している。今後も、亜鉛の生理機能とともに、亜鉛トランスポーターの生理機能を必要に応じてアップデートしていくことが重要となるであろう。

文 献

- (1) Palmiter RD, Findley SD. Cloning and functional characterization of a mammalian zinc transporter that confers resistance to zinc. *EMBO J* 1995;14:639–649.
- (2) Fukada T, Kambe T. Molecular and genetic features of zinc transporters in physiology and pathogenesis. *Metallo-mics* 2011;3:662–674.
- (3) Kambe T, Yamaguchi-Iwai Y, Sasaki R, Nagao M. Overview of mammalian zinc transporters. *Cell Mol Life Sci* 2004;61:49–68.
- (4) Sensi SL, Canzoniero LM, Yu SP, Ying HS, Koh JY, Kerchner GA, Choi DW. Measurement of intracellular free zinc in living cortical neurons: Routes of entry. *J Neurosci* 1997;17:9554–9564.
- (5) Outten CE, O'Halloran TV. Femtomolar sensitivity of metalloregulatory proteins controlling zinc homeostasis. *Science* 2001;292:2488–2492.
- (6) Cousins RJ, Liuzzi JP, Lichten LA. Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *J Biol Chem* 2006; 281:24085–24089.
- (7) Eide DJ. Zinc transporters and the cellular trafficking of zinc. *Biochim Biophys Acta* 2006;1763:711–722.
- (8) Gaither LA, Eide DJ. Eukaryotic zinc transporters and their regulation. *Biomaterials* 2001;14:251–270.
- (9) Kambe T, Weaver BP, Andrews GK. The genetics of essential metal homeostasis during development. *Genesis* 2008;46:214–228.
- (10) 神戸大朋. 亜鉛トランスポーターとその分泌系における役割. *細胞工学* 2008;27:231–236.
- (11) Kambe T. Molecular architecture and function of ZnT transporters. *Curr Top Membr* 2012;69:199–220.
- (12) Dempsey RE. The cation selectivity of the ZIP transporters. *Curr Top Membr* 2012;69:221–245.
- (13) Suzuki T, Ishihara K, Migaki H, Nagao M, Yamaguchi-Iwai Y, Kambe T. Two different zinc transport complexes of cation diffusion facilitator proteins localized in the secretory pathway operate to activate alkaline phosphatases in vertebrate cells. *J Biol Chem* 2005;280:30956–30962.
- (14) Fukunaka A, Suzuki T, Kurokawa Y, Yamazaki T, Fujiwara N, Ishihara K, Migaki H, Okumura K, Masuda S, Yamaguchi-Iwai Y, Nagao M, Kambe T. Demonstration and characterization of the heterodimerization of ZnT5 and ZnT6 in the early secretory pathway. *J Biol Chem* 2009;284:30798–30806.
- (15) Bin BH, Fukada T, Hosaka T, Yamasaki S, Ohashi W, Hojyo S, Miyai T, Nishida K, Yokoyama S, Hirano T. Biochemical characterization of human ZIP13 protein: A homo-dimerized zinc transporter involved in the spondylocheiro dysplastic ehlers-danlos syndrome. *J Biol Chem* 2011;286:40255–40265.
- (16) Lichten LA, Cousins RJ. Mammalian zinc transporters: Nutritional and physiologic regulation. *Annu Rev Nutr* 2009;29:153–176.
- (17) Dufner-Beattie J, Huang ZL, Geiser J, Xu W, Andrews GK. Mouse ZIP1 and ZIP3 genes together are essential for adaptation to dietary zinc deficiency during pregnancy. *Genesis* 2006;44:239–251.
- (18) Franklin RB, Feng P, Milon B, Desouki MM, Singh KK, Kajdacsy-Balla A, Bagasra O, Costello LC. hZIP1 zinc uptake transporter down regulation and zinc depletion in prostate cancer. *Mol Cancer* 2005;4:32.
- (19) Ghosh SK, Kim P, Zhang XA, Yun SH, Moore A, Lippard SJ, Medarova Z. A novel imaging approach for early detection of prostate cancer based on endogenous zinc sensing. *Cancer Res* 2010;70:6119–6127.
- (20) Peters JL, Dufner-Beattie J, Xu W, Geiser J, Lahner B, Salt DE, Andrews GK. Targeting of the mouse Slc39a2 (Zip2) gene reveals highly cell-specific patterns of expression, and unique functions in zinc, iron, and calcium homeostasis. *Genesis* 2007;45:339–352.
- (21) Desouki MM, Geradts J, Milon B, Franklin RB, Costello LC. hZip2 and hZip3 zinc transporters are down regulated in human prostate adenocarcinomatous glands. *Mol Cancer* 2007;6:37.
- (22) Dufner-Beattie J, Huang ZL, Geiser J, Xu W, Andrews GK. Generation and characterization of mice lacking the zinc uptake transporter ZIP3. *Mol Cell Biol* 2005;25: 5607–5615.
- (23) Kambe T, Geiser J, Lahner B, Salt DE, Andrews GK. Slc39a1 to 3 (subfamily II) zip genes in mice have unique cell-specific functions during adaptation to zinc deficiency. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;294: R1474–1481.
- (24) Moynahan EJ. Letter: Acrodermatitis enteropathica: A lethal inherited human zinc-deficiency disorder. *Lancet* 1974;2:399–400.
- (25) Van Wouwe JP. Clinical and laboratory diagnosis of acrodermatitis enteropathica. *Eur J Pediatr* 1989;149:2–8.
- (26) Wang K, Zhou B, Kuo YM, Zemansky J, Gitschier J. A novel member of a zinc transporter family is defective in acrodermatitis enteropathica. *Am J Hum Genet* 2002;71: 66–73.
- (27) Kury S, Dreno B, Bezieau S, Giraudet S, Kharfi M, Kamoun R, Moisan JP. Identification of SLC39A4, a gene involved in acrodermatitis enteropathica. *Nat Genet* 2002; 31:239–240.
- (28) Mao X, Kim BE, Wang F, Eide DJ, Petris MJ. A histidine-rich cluster mediates the ubiquitination and degradation of the human zinc transporter, hZIP4, and protects against zinc cytotoxicity. *J Biol Chem* 2007;282:6992–7000.
- (29) Weaver BP, Dufner-Beattie J, Kambe T, Andrews GK. Novel zinc-responsive post-transcriptional mechanisms reciprocally regulate expression of the mouse Slc39a4 and Slc39a5 zinc transporters (Zip4 and Zip5). *Biol Chem* 2007;388:1301–1312.
- (30) Kambe T, Andrews GK. Novel proteolytic processing of the ectodomain of the zinc transporter ZIP4 (SLC39A4) during zinc deficiency is inhibited by acrodermatitis enteropathica mutations. *Mol Cell Biol* 2009;29:129–139.
- (31) Dufner-Beattie J, Weaver BP, Geiser J, Bilgen M, Larson M, Xu W, Andrews GK. The mouse acrodermatitis enteropathica gene Slc39a4 (Zip4) is essential for early develop-

- ment and heterozygosity causes hypersensitivity to zinc deficiency. *Hum Mol Genet* 2007;16:1391–1399.
- (32) Geiser J, Venken KJ, De Lisle RC, Andrews GK. A mouse model of acrodermatitis enteropathica: Loss of intestine zinc transporter ZIP4 (Slc39a4) disrupts the stem cell niche and intestine integrity. *PLoS Genet* 2012;8:e1002766.
- (33) Dufner-Beattie J, Kuo YM, Gitschier J, Andrews GK. The adaptive response to dietary zinc in mice involves the differential cellular localization and zinc regulation of the zinc transporters ZIP4 and ZIP5. *J Biol Chem* 2004;279:49082–49090.
- (34) Taylor KM, Nicholson RI. The LZT proteins; the LIV-1 subfamily of zinc transporters. *Biochim Biophys Acta* 2003;1611:16–30.
- (35) Yamashita S, Miyagi C, Fukada T, Kagara N, Che YS, Hirano T. Zinc transporter LIV1 controls epithelial-mesenchymal transition in zebrafish gastrula organizer. *Nature* 2004;429:298–302.
- (36) Shen H, Qin H, Guo J. Concordant correlation of LIV-1 and E-cadherin expression in human breast cancer cell MCF-7. *Mol Biol Rep* 2009;36:653–659.
- (37) Lue HW, Yang X, Wang R, Qian W, Xu RZ, Lyles R, Osunkoya AO, Zhou BP, Vessella RL, Zayzafoon M, et al. LIV-1 promotes prostate cancer epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis through HB-EGF shedding and EGFR-mediated ERK signaling. *PLoS One* 2011;6:e27720.
- (38) Li M, Zhang Y, Liu Z, Bharadwaj U, Wang H, Wang X, Zhang S, Liuzzi JP, Chang SM, Cousins RJ, et al. Aberrant expression of zinc transporter ZIP4 (SLC39A4) significantly contributes to human pancreatic cancer pathogenesis and progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:18636–18641.
- (39) Taylor KM, Morgan HE, Smart K, Zahari NM, Pumford S, Ellis IO, Robertson JF, Nicholson RI. The emerging role of the LIV-1 subfamily of zinc transporters in breast cancer. *Mol Med* 2007;13:396–406.
- (40) Huang L, Kirschke CP, Zhang Y, Yu YY. The ZIP7 gene (Slc39a7) encodes a zinc transporter involved in zinc homeostasis of the Golgi apparatus. *J Biol Chem* 2005;280:15456–15463.
- (41) Hogstrand C, Kille P, Nicholson RI, Taylor KM. Zinc transporters and cancer: A potential role for ZIP7 as a hub for tyrosine kinase activation. *Trends Mol Med* 2009;15:101–111.
- (42) Taylor KM, Hiscox S, Nicholson RI, Hogstrand C, Kille P. Protein kinase CK2 triggers cytosolic zinc signaling pathways by phosphorylation of zinc channel ZIP7. *Sci Signal* 2012;5:ra11.
- (43) Taylor KM, Vichova P, Jordan N, Hiscox S, Hendley R, Nicholson RI. ZIP7-mediated intracellular zinc transport contributes to aberrant growth factor signaling in anti-hormone-resistant breast cancer cells. *Endocrinology* 2008;149:4912–4920.
- (44) Begum NA, Kobayashi M, Moriwaki Y, Matsumoto M, Toyoshima K, Seya T. *Mycobacterium bovis* BCG cell wall and lipopolysaccharide induce a novel gene, BIGM103, encoding a 7-TM protein: Identification of a new protein family having Zn-transporter and Zn-metalloprotease signatures. *Genomics* 2002;80:630–645.
- (45) Liu MJ, Bao S, Gálvez-Peralta M, Pyle CJ, Rudawsky AC, Pavlovicz RE, Killilea DW, Li C, Nebert DW, Wewers MD, Knoell DL. ZIP8 regulates host defense through zinc-mediated inhibition of NF-kappaB. *Cell Rep* 2013;3:386–400.
- (46) Dalton TP, He L, Wang B, Miller ML, Jin L, Stringer KF, Chang X, Baxter CS, Nebert DW. Identification of mouse SLC39A8 as the transporter responsible for cadmium-induced toxicity in the testis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:3401–3406.
- (47) Fujishiro H, Yano Y, Takada Y, Tanihara M, Himeno S. Roles of ZIP8, ZIP14, and DMT1 in transport of cadmium and manganese in mouse kidney proximal tubule cells. *Metallomics* 2012;4:700–708.
- (48) Jenkitkasemwong S, Wang CY, Mackenzie B, Knutson MD. Physiologic implications of metal-ion transport by ZIP14 and ZIP8. *Biometals* 2012;25:643–655.
- (49) Napolitano JR, Liu MJ, Bao S, Crawford M, Nana-Sinkam P, Cormet-Boyaka E, Knoell DL. Cadmium-mediated toxicity of lung epithelia is enhanced through NF-kappaB-mediated transcriptional activation of the human zinc transporter ZIP8. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2012;302:L909–918.
- (50) Galvez-Peralta M, He L, Jorge-Nebert LF, Wang B, Miller ML, Eppert BL, Afton S, Nebert DW. ZIP8 zinc transporter: Indispensable role for both multiple-organ organogenesis and hematopoiesis in utero. *PLoS One* 2012;7:e36055.
- (51) Aydemir TB, Liuzzi JP, McClellan S, Cousins RJ. Zinc transporter ZIP8 (SLC39A8) and zinc influence IFN-gamma expression in activated human T cells. *J Leukoc Biol* 2009;86:337–348.
- (52) Matsuura W, Yamazaki T, Yamaguchi-Iwai Y, Masuda S, Nagao M, Andrews GK, Kambe T. SLC39A9 (ZIP9) regulates zinc homeostasis in the secretory pathway: Characterization of the zip subfamily I protein in vertebrate cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2009;73:1142–1148.
- (53) 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.
- (54) Lichten LA, Ryu MS, Guo L, Embury J, Cousins RJ. MTF-1-mediated repression of the zinc transporter Zip10 is alleviated by zinc restriction. *PLoS One* 2011;6:e21526.
- (55) Kaler P, Prasad R. Molecular cloning and functional characterization of novel zinc transporter rZip10 (Slc39a10) involved in zinc uptake across rat renal brush-border membrane. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;292:F217–229.
- (56) Schmitt-Ulms G, Ehsani S, Watts JC, Westaway D, Wille H. Evolutionary descent of prion genes from the ZIP family of metal ion transporters. *PLoS One* 2009;4:e7208.
- (57) Ehsani S, Salehzadeh A, Huo H, Reginold W, Pocanschi CL, Ren H, Wang H, So K, Sato C, Mehrabian M, et al.

- LIV-1 ZIP ectodomain shedding in prion-infected mice resembles cellular response to transition metal starvation. *J Mol Biol* 2012;422:556–574.
- (58) Kagara N, Tanaka N, Noguchi S, Hirano T. Zinc and its transporter ZIP10 are involved in invasive behavior of breast cancer cells. *Cancer Sci* 2007;98:692–697.
- (59) Kambe T, Suzuki T, Nagao M, Yamaguchi-Iwai Y. Sequence similarity and functional relationship among eukaryotic ZIP and CDF transporters. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2006;4:1–9.
- (60) Lemaire K, Chimienti F, Schuit F. Zinc transporters and their role in the pancreatic β -cell. *J Diabetes Investig* 2012;3:202–211.
- (61) Fukada T, Civic N, Furuichi T, Shimoda S, Mishima K, Higashiyama H, Idaira Y, Asada Y, Kitamura H, Yamasaki S, et al. The zinc transporter SLC39A13/ZIP13 is required for connective tissue development; its involvement in BMP/TGF- β signaling pathways. *PLoS ONE* 2008;3:e3642.
- (62) Giunta C, Elcioglu NH, Albrecht B, Eich G, Chambaz C, Janecke AR, Yeowell H, Weis M, Eyre DR, Kraenzlin M, Steinmann B. Spondylocheiro dysplastic form of the ehlers-danlos syndrome—an autosomal-recessive entity caused by mutations in the zinc transporter gene SLC39A13. *Am J Hum Genet* 2008;82:1290–1305.
- (63) Jeong J, Walker JM, Wang F, Park JG, Palmer AE, Giunta C, Rohrbach M, Steinmann B, Eide DJ. Promotion of vesicular zinc efflux by ZIP13 and its implications for spondylocheiro dysplastic ehlers-danlos syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:E3530–3538.
- (64) Liuzzi JP, Lichten LA, Rivera S, Blanchard RK, Aydemir TB, Knutson MD, Ganz T, Cousins RJ. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:6843–6848.
- (65) Hojyo S, Fukada T, Shimoda S, Ohashi W, Bin BH, Koseki H, Hirano T. The zinc transporter SLC39A14/ZIP14 controls G-protein coupled receptor-mediated signaling required for systemic growth. *PLoS One* 2011;6:e18059.
- (66) Aydemir TB, Sitren HS, Cousins RJ. The zinc transporter Zip14 influences c-Met phosphorylation and hepatocyte proliferation during liver regeneration in mice. *Gastroenterology* 2012;142:1536–1546.e5.
- (67) Chen YH, Kim JH, Stallcup MR. GAC63, a GRIP1-dependent nuclear receptor coactivator. *Mol Cell Biol* 2005;25:5965–5972.
- (68) 橋本彩子, 辻 徳治, 逸村直也, 神戸大朋. 消化管における必須微量元素の吸収—トランスポーターによる制御機構—. *微量栄養素研究* 2011;28:89–94.
- (69) Langmade SJ, Ravindra R, Daniels PJ, Andrews GK. The transcription factor MTF-1 mediates metal regulation of the mouse ZnT1 gene. *J Biol Chem* 2000;275:34803–34809.
- (70) Andrews GK, Wang H, Dey SK, Palmiter RD. Mouse zinc transporter 1 gene provides an essential function during early embryonic development. *Genesis* 2004;40:74–81.
- (71) Lazarczyk M, Pons C, Mendoza JA, Cassonnet P, Jacob Y, Favre M. Regulation of cellular zinc balance as a potential mechanism of EVER-mediated protection against pathogenesis by cutaneous oncogenic human papillomaviruses. *J Exp Med* 2008;205:35–42.
- (72) Palmiter RD, Cole TB, Findley SD. ZnT-2, a mammalian protein that confers resistance to zinc by facilitating vesicular sequestration. *EMBO J* 1996;15:1784–1791.
- (73) Chowanadisai W, Lonnerdal B, Kelleher SL. Identification of a mutation in SLC30A2 (ZnT-2) in women with low milk zinc concentration that results in transient neonatal zinc deficiency. *J Biol Chem* 2006;281:39699–39707.
- (74) Lasry I, Seo YA, Ityel H, Shalva N, Pode-Shakked B, Glaser F, Berman B, Berezovsky I, Goncarenco A, Klar A, et al. A dominant negative heterozygous G87R mutation in the zinc transporter, ZnT-2 (SLC30A2), results in transient neonatal zinc deficiency. *J Biol Chem* 2012;287:29348–29361.
- (75) Lonnerdal B. Trace element transport in the mammary gland. *Annu Rev Nutr* 2007;27:165–177.
- (76) Palmiter RD, Cole TB, Quaipe CJ, Findley SD. ZnT-3, a putative transporter of zinc into synaptic vesicles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:14934–14939.
- (77) Cole TB, Wenzel HJ, Kafer KE, Schwartzkroin PA, Palmiter RD. Elimination of zinc from synaptic vesicles in the intact mouse brain by disruption of the ZnT3 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:1716–1721.
- (78) Sensi SL, Paoletti P, Bush AI, Sekler I. Zinc in the physiology and pathology of the CNS. *Nat Rev Neurosci* 2009;10:780–791.
- (79) Martel G, Hevi C, Friebely O, Baybutt T, Shumyatsky GP. Zinc transporter 3 is involved in learned fear and extinction, but not in innate fear. *Learn Mem* 2010;17:582–590.
- (80) Sindreu C, Palmiter RD, Storm DR. Zinc transporter ZnT-3 regulates presynaptic Erk1/2 signaling and hippocampus-dependent memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:3366–3370.
- (81) Adlard PA, Parncutt JM, Finkelstein DI, Bush AI. Cognitive loss in zinc transporter-3 knock-out mice: A phenocopy for the synaptic and memory deficits of alzheimer's disease? *J Neurosci* 2010;30:1631–1636.
- (82) Huang L, Gitschier J. A novel gene involved in zinc transport is deficient in the lethal milk mouse. *Nat Genet* 1997;17:292–297.
- (83) Suzuki T, Ishihara K, Migaki H, Matsuura W, Kohda A, Okumura K, Nagao M, Yamaguchi-Iwai Y, Kambe T. Zinc transporters, ZnT5 and ZnT7, are required for the activation of alkaline phosphatases, zinc-requiring enzymes that are glycosylphosphatidylinositol-anchored to the cytoplasmic membrane. *J Biol Chem* 2005;280:637–643.
- (84) Fukunaka A, Kurokawa Y, Teranishi F, Sekler I, Oda K, Ackland ML, Faundez V, Hiromura M, Masuda S, Nagao M, Enomoto S, Kambe T. Tissue nonspecific alkaline phosphatase is activated via a two-step mechanism by zinc transport complexes in the early secretory pathway. *J Biol Chem* 2011;286:16363–16373.

- (85) Inoue K, Matsuda K, Itoh M, Kawaguchi H, Tomoike H, Aoyagi T, Nagai R, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T. Osteopenia and male-specific sudden cardiac death in mice lacking a zinc transporter gene, *Znt5*. *Hum Mol Genet* 2002;11:1775–1784.
- (86) 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.
- (87) Ishihara K, Yamazaki T, Ishida Y, Suzuki T, Oda K, Nagao M, Yamaguchi-Iwai Y, Kambe T. Zinc transport complexes contribute to the homeostatic maintenance of secretory pathway function in vertebrate cells. *J Biol Chem* 2006;281:17743–17750.
- (88) Huang L, Kirschke CP, Lay YA, Levy LB, Lamirande DE, Zhang PH. *Znt7 (Slc30a7)*-deficient mice display reduced body zinc status and body fat accumulation. *J Biol Chem* 2012;287:33883–33896.
- (89) Chimienti F, Devergnas S, Favier A, Seve M. Identification and cloning of a beta-cell-specific zinc transporter, *ZnT-8*, localized into insulin secretory granules. *Diabetes* 2004;53:2330–2337.
- (90) Lemaire K, Ravier MA, Schraenen A, Creemers JW, Van de Plas R, Granvik M, Van Lommel L, Waelkens E, Chimienti F, Rutter GA, et al. Insulin crystallization depends on zinc transporter *ZnT8* expression, but is not required for normal glucose homeostasis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:14872–14877.
- (91) Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, Boutin P, Vincent D, Belisle A, Hadjadj, S, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* 2007;445:881–885.
- (92) Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P, Rewers M, Eisenbarth GS, Jensen J, Davidson HW, Hutton JC. The cation efflux transporter *ZnT8 (Slc30A8)* is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:17040–17045.
- (93) Kawasaki E. *ZnT8* and type 1 diabetes. *Endocr J* 2012; 59:531–537.
- (94) Pound LD, Sarkar SA, Benninger RK, Wang Y, Suwanichkul A, Shadoan MK, Printz RL, Oeser JK, Lee CE, Piston DW, et al. Deletion of the mouse *Slc30a8* gene encoding zinc transporter-8 results in impaired insulin secretion. *Biochem J* 2009;421:371–376.
- (95) Wijesekara N, Dai FF, Hardy AB, Giglou PR, Bhattacharjee A, Koshkin V, Chimienti F, Gaisano HY, Rutter GA, Wheeler MB. Beta cell-specific *Znt8* deletion in mice causes marked defects in insulin processing, crystallisation and secretion. *Diabetologia* 2010;53:1656–1668.
- (96) Patrushev N, Seidel-Rogol B, Salazar G. Angiotensin II requires zinc and downregulation of the zinc transporters *ZnT3* and *ZnT10* to induce senescence of vascular smooth muscle cells. *PLoS One* 2012;7:e33211.
- (97) Tuschl K, Clayton PT, Gospe SM Jr, Gulab S, Ibrahim S, Singhi P, Aulakh R, Ribeiro RT, Barsottini OG, Zaki MS, et al. Syndrome of hepatic cirrhosis, dystonia, polycythemia, and hypermanganesemia caused by mutations in *SLC30A10*, a manganese transporter in man. *Am J Hum Genet* 2012;90:457–466.
- (98) Quadri M, Federico A, Zhao T, Breedveld GJ, Battisti C, Delnooz C, Severijnen LA, Di Toro Mammarella L, Mignarri A, Monti L, et al. Mutations in *SLC30A10* cause parkinsonism and dystonia with hypermanganesemia, polycythemia, and chronic liver disease. *Am J Hum Genet* 2012;90:467–477.
- (99) 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.
- (100) Frederickson CJ, Koh JY, Bush AI. The neurobiology of zinc in health and disease. *Nat Rev Neurosci* 2005;6:449–462.