

## 特约综述

## 锌转运蛋白家族 SLC39A/ZIP 和 SLC30A/ZnT 的研究进展

于 昱 王福倬 \*

(中国科学院上海生命科学研究院营养科学研究所, 上海 200031)

**摘要** 必需微量元素锌通过催化和结构作用参与机体多种酶和蛋白功能, 与机体发育、脑功能、骨骼生长、生殖健康及免疫功能等密切相关。补充锌可以一定程度防治儿童腹泻、慢性丙型肝炎、急性下呼吸道感染以及感冒等疾病, 然而过多的锌具有毒性。因此, 机体存在复杂的锌离子稳态体系维持锌离子的吸收、储存和丢失的平衡过程。已发现哺乳动物中 SLC39A 和 SLC30A 两个转运蛋白家族直接参与细胞内锌离子的稳态代谢。SLC39A 家族又称 ZIP 家族, 共有 14 个成员, 该家族多个成员已被证明可促进细胞外或细胞器内的锌离子转运到细胞质; SLC30A 家族又称 ZnT 家族, 共有 10 个成员, 与 SLC39A 家族功能相反, 多个家族成员可协助锌离子从细胞质内流出到细胞外或流进到细胞器内。研究提示 ZnT1、ZIP4 和 ZIP5 参与小肠锌离子吸收过程, ZIP10 和 ZnT1 参与肾脏锌离子再吸收过程, ZIP5、ZnT2 和 ZnT1 参与胰腺锌离子分泌丢失过程。另有证据证明 SLC39A 和 SLC30A 两个家族的蛋白还可能参与许多疾病包括肿瘤及糖尿病的发生和发展。本文将对哺乳动物 SLC39A 和 SLC30A 两个锌转运蛋白家族的最新研究进展进行综述。

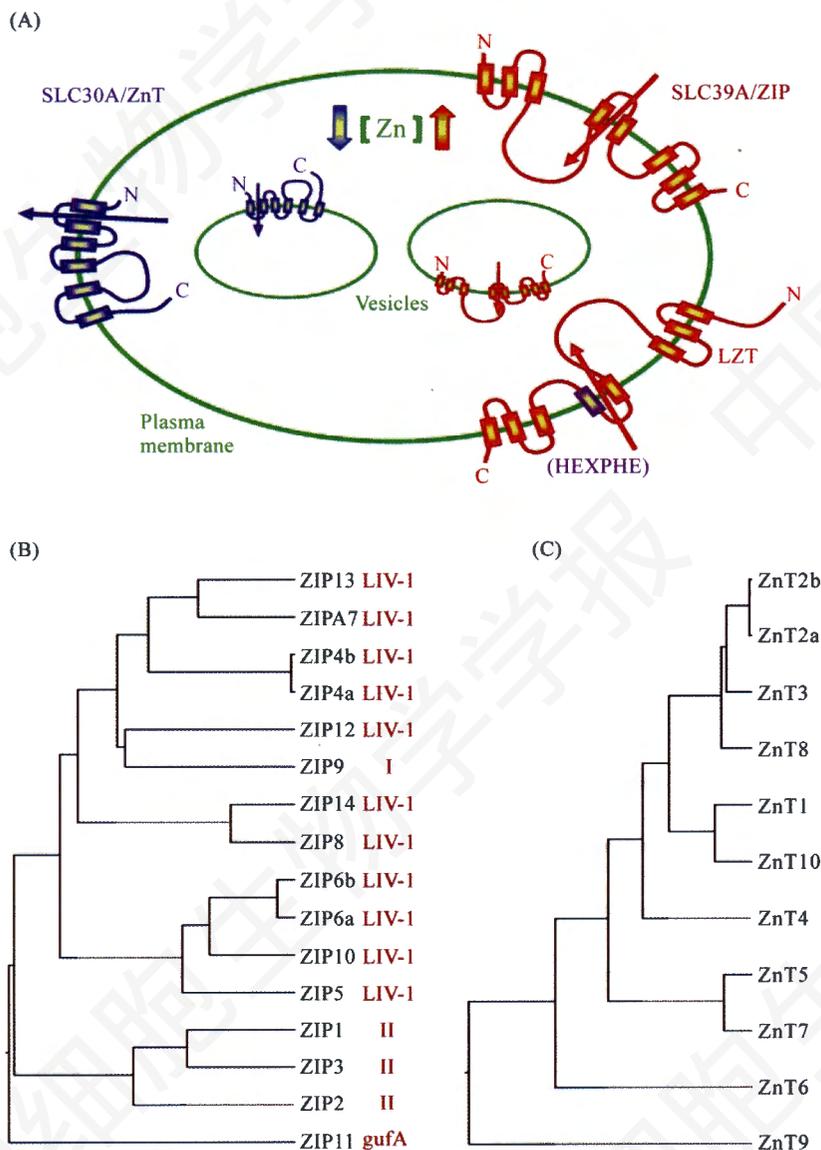
**关键词** 锌; 锌转运蛋白; SLC39A/ZIP 家族; SLC30A/ZnT 家族; 稳态代谢

必需微量元素锌是机体多种酶的必需组分或激活因子, 与机体发育、骨骼生长、免疫功能、内分泌调节、蛋白质和核酸代谢等一系列生理活动密切相关<sup>[1,2]</sup>。锌缺乏可以造成多系统的损害, 例如胚胎期小鼠锌缺乏损伤神经干细胞, 并造成学习记忆的不可逆下降<sup>[3]</sup>。机体锌离子过多也会对健康造成危害。因此, 锌离子代谢的稳态(homeostasis)平衡对维持机体正常生理功能至关重要<sup>[4-6]</sup>。随着分子生物学技术的不断发展, 近年来已发现哺乳动物中存在两个重要锌转运蛋白家族直接参与细胞内锌离子的稳态代谢, 即 SLC39A (solute-linked carrier 39A, SLC39A) 和 SLC30A (solute-linked carrier 30A, SLC30A) 两大家族。SLC39A 基因家族最先被美国威斯康星大学 Eide 博士命名为 ZIP (ZRT, IRT-like protein, ZIP) 家族。2000 年 Eide 博士实验室首先通过比对真菌和植物中的 ZRT 和 IRT 离子转运蛋白而发现了人类第一个可特异摄取(uptake)锌离子的转运蛋白 hZIP2, 随后又确定了 hZIP1 具有锌离子吸收摄取功能<sup>[7,8]</sup>。而 SLC30A 基因家族又被称为阳离子扩散辅助蛋白(cation diffusion facilitator, CDF)家族<sup>[9]</sup>, 1995 年美国

华盛顿大学 Palmiter 博士通过筛选大鼠肾脏 cDNA 表达文库发现一个具有释放(efflux)锌离子功能的新基因并将其命名为 ZnT1 (zinc transporter 1, ZnT1), 为 SLC30A 基因家族中第一个被发现的锌转运蛋白。SLC39A 和 SLC30A 两个转运蛋白家族分别参与了锌离子转进(influx)和转出(efflux)细胞的运输过程(图 1A)<sup>[10,11]</sup>。两大家族锌转运蛋白在各种亚细胞器、细胞及器官中的分布是不同的。例如, ZIP4、ZIP5、ZIP6、ZIP10、ZIP14 及 ZnT1 主要分布在细胞膜上, 而其它众多的锌转运蛋白主要分布在不同的细胞器膜上; 在组织器官分布方面, 锌转运蛋白也表现出特殊规律, 例如 ZIP4、ZIP5、ZnT1 及 ZnT5 分布在小肠上皮细胞, ZIP10 和 ZnT1 分布在肾脏上皮细胞, ZIP10、ZIP14 及 ZnT1 分布在肝细胞, ZIP5、ZnT1 及 ZnT2 分布在胰腺腺细胞(acinar cell), ZIP8、ZIP10

中国科学院百人计划项目(No.KSCX2-YW-R-141)、国家自然科学基金(No.30901193; 10979071; 30970665)和国家重点基础研究发展计划(No.2009CB941400)资助项目

\* 通讯作者。Tel: 021-54920949, Fax: 021-54920291, E-mail: wangfd@sibs.ac.cn



**Fig.1 Zinc transporter protein SLC39A/ZIP and SLC30A/ZnT families**

(A) The representative cell shows generalized representations of the ZnT/SLC30A and ZIP/SLC39A transporter protein members. Dendrograms showing the sequence similarity among human ZIP members (B) and ZnT members (C).

及 ZnT1 分布在血细胞等。上述结果提示这些锌转运蛋白具有不同的生理功能和调控规律。越来越多的证据表明 SLC39A 和 SLC30A 两大家族不仅直接参与了细胞的锌离子稳态代谢, 同时还通过复杂的机制影响着肿瘤和糖尿病等疾病的发生和发展, 它们逐渐成为锌营养和代谢疾病的研究热点。本文将对 SLC39A/ZIP 和 SLC30A/ZnT 家族锌转运蛋白的最新研究进展进行综述。两大家族锌转运蛋白的功能、组织分布、基因表达及与疾病关系汇总见表 1 [12]。

## 1 SLC39A/ZIP 蛋白家族

根据基因序列同源性分析, 人类和小鼠均存在 14 个 ZIP 家族成员, 即 ZIP1~ZIP14, 人类 ZIP 基因简称 *hZIP* (human ZIP, *hZIP*), 小鼠 ZIP 基因简称 *mZIP* (mouse ZIP, *mZIP*)。根据蛋白结构特点, 哺乳动物 ZIP 蛋白被分成 4 个亚家族, 即亚家族 I、II、LIV-1 和 *gufA*, 其家族进化树如图 1B 所示。大多数 ZIP 蛋白存在 8 个跨膜域, 其氨基和羧基末端均位于细胞外或囊泡内, 第 3 和 4 跨膜域间存在富含组氨酸的结构域, 该区域可能具有结合锌离子的功能。SLC39A 家族转运蛋白的详细特性见表 1。

### 1.1 SLC39A1/ZIP1

**Table1 Properties of the human and mouse SLC39A and SLC30A family zinc transporters**

Protein name	Sub-family	Chromosome Location	Gene expression	Related disease	Phenotype of KO mice	Subcellular localization	Molecular function
Zip1	II	H: 1q21 M: 3 F1	Widespread	Reduced expression in prostate cancer	No phenotype	Plasma membrane	Zinc uptake
Zip2	II	H: 14q11.2 M: 14 C2	Prostate, uterus, cervical epithelium, optic nerve, monocytes	Reduced expression in prostate cancer	No phenotype	Plasma membrane	Zinc uptake
Zip3	II	H: 19p13.3 M: 10 C1	Widespread	Reduced expression in prostate cancer	No phenotype	Plasma membrane	Zinc uptake
Zip4	LIV-1	H: 8q24.3 M: 15 D3	Small intestine, stomach, colon, cecum, kidney	Acrodermatitis enteropathica	Embryonically lethal; Zn-deficient phenotype	Apical membrane	Zinc uptake
Zip5	LIV-1	H: 12q13.3 M: 10 D3	Kidney, liver, spleen, colon, stomach, pancreas	Unknown	No KO mice	Basolateral membrane of polarized cells	Zinc uptake
Zip6	LIV-1	H: 18q12.2 M: 18 A2	Widespread	Breast cancer, migration, gastrulation	No KO mice	Plasma membrane	Zinc uptake
Zip7	LIV-1	H: 6p21.3 M: 17 18.48 cM	Widespread	Tamoxifen-resistant, breast cancer	No KO mice	Endoplasmic reticulum, Golgi	Zinc into cytosol
Zip8	LIV-1	H: 4q22-q24 M: 3 66.0 cM	Widespread	Cd testicular susceptibility locus	No KO mice	Vesicles, plasma membrane, mitochondria	Zn/Cd/Mn uptake
Zip9	I	H: 14q24.1 M: 12 D2	Unknown	Unknown	No KO mice	Unknown	Unknown
Zip10	LIV-1	H: 2q32.3 M: 1 C1.1	Widespread	Breast cancer	No KO mice	Plasma membrane	Zinc uptake
Zip11	GufA	H:17q24.3-q25.1 M: 11 E2	Unknown	Unknown	No KO mice	Unknown	Unknown
Zip12	LIV-1	H: 10p12.33 M: 2 A2	Unknown	Asthma, SNP linked to schizophrenia	No KO mice	Unknown	Unknown
Zip13	LIV-1	H: 11p11.2 M: 2 E1	Widespread	Ehlers-Danlos syndrome	Ehlers-Danlos syndrome like	Golgi	Zinc into cytosol
Zip14	LIV-1	H: 8p21.3 M: 14 D2	Widespread	Asthma, IL-6-mediated inflammation	No KO mice	Plasma membrane	Zinc and non-transferrin bound iron uptake
ZnT1	II	H: 1q32-q41 M: 1 106 cM	Widespread	Alzheimer's disease, lung tumors	Embryonically lethal	Plasma membrane	Cytoplasmic zinc removal
ZnT2	III	H: 1p35.3 M: 4 D3	Small intestine, kidney, pancreas, testis, seminal vesicles, mammary gland, epithelial cells	-/- cells lower zinc tolerance	No KO mice	Lysosomes, vesicles	Zinc transport into vesicles and lysosomes
ZnT3	III	H: 2p23.3 M: 5 18.0 cM	Brain, testis	Alzheimer's disease, responsible for ZEN in CA1	Prone to seizure elicited by kainic acid treatment	Synaptic vesicles	Zinc transport into synaptic vesicles
ZnT4	III	H: 15q21.1 M: 2 69 cM	Mammary gland, brain, small intestine, mast cells, placenta, epithelial cells	Alzheimer's disease, lung tumors	Lethal milk syndrome	Endosomes, Golgi	Zinc transport into milk and mast cell vesicles
ZnT5	II	H: 5q12.1 M: 13 D1	Pancreatic $\beta$ -cells, intestine, heart, brain, liver, etc	Activates tissue specific alkaline phosphatase	Heart failure and bone abnormalities	Golgi, insulin granules	Zinc transport into Golgi and vesicles
ZnT6	III	H: 2p22.3 M: 17 E2	Intestine, brain, liver, blood, adipose tissue	Alzheimer's disease	No KO mice	Golgi	Zinc transport into Golgi and vesicles
ZnT7	II	H: 1p21.2 M: 3 G2	Intestine, liver, retina, spleen, blood, epithelial cells	Activates tissue specific alkaline phosphatase	Zn-deficient phenotype, poor growth	Golgi	Zinc transport into Golgi
ZnT8	III	H: 8q24.11 M: 15 C	Pancreatic $\beta$ -cells	Diabetes mellitus	No KO mice	Insulin granules	Zinc transport
ZnT9	I	H: 4p13-p12 M: 5 C3.1	Unknown	Unknown	No KO mice	Unknown	Unknown
ZnT10	II	H: 1q41 M: 1 H5	Unknown	Unknown	No KO mice	Unknown	Unknown

SLC39A1/ZIP1在许多组织和细胞中均有较高表达,缺乏组织特异性。将人或小鼠 SLC39A1/ZIP1 表达质粒转染到悬浮生长的 K562 细胞或贴壁生长的 HEK293 细胞,发现 hZIP1 和 mZIP1 蛋白均能通过非能量依赖的方式特异性转运锌离子<sup>[8,13]</sup>。通过饲喂锌缺乏饲料制备的缺锌小鼠模型,其组织中的 ZIP1 mRNA 表达没有变化,提示 ZIP1 转录水平不受锌离子调控<sup>[13]</sup>。ZIP1 蛋白的亚细胞定位主要分布在细胞器(具体位置不明确)及细胞膜,其亚细胞内定位明显受到锌离子调控:当细胞培养液中锌含量充足时,ZIP1 蛋白主要分布在细胞内的各细胞器中;而当培养液中锌缺乏时,ZIP1 蛋白就会从胞内转运并驻留在细胞膜上,说明锌离子对 ZIP1 蛋白调控存在翻译后(post-translational)调控机制<sup>[14]</sup>。这种蛋白在胞膜和胞质间转运的翻译后调控机制在其它 SLC39A 成员如 ZIP3 和 ZIP4 蛋白中也存在<sup>[14]</sup>。虽然 ZIP1 在小鼠组织中广泛表达,但当基因敲除小鼠饲喂正常饲料时并不显示任何可见表型;而对 ZIP1 基因敲除小鼠进行低锌饲料喂养,其妊娠期胚胎存活率明显低于野生型小鼠,这在一定程度上也提示 ZIP1 参与了锌离子的稳态代谢<sup>[15]</sup>。

### 1.2 SLC39A2/ZIP2

人类 ZIP2 是首先被报道的哺乳动物 SLC39A 家族成员。与 hZIP1 不同, hZIP2 组织表达较低且局限,仅在前列腺、子宫、子宫颈上皮、视神经及单核细胞中表达。同样, mZIP2 表达也非常低,仅在皮肤、肝脏、卵巢及卵黄囊中有少量表达。hZIP2 和 mZIP2 转染 K562 和 HEK293 细胞实验结果表明, ZIP2 蛋白可以帮助细胞特异地摄取锌离子<sup>[7,13]</sup>。尽管 hZIP2 和 mZIP2 蛋白之间有 78% 的序列同源性,但其转录是否受锌离子调控表现出不同规律。在缺锌小鼠主要摄取锌离子的组织如小肠及卵黄囊中, mZIP2 基因 mRNA 表达与正常饲料组小鼠没有明显区别,提示锌离子不能调控 mZIP2 转录<sup>[13]</sup>;而用锌螯合剂 TPEN 处理人 THP-1 单核细胞系或人外周血单核细胞造成缺锌细胞模型,发现其 hZIP2 mRNA 表达明显增加,提示人 hZIP2 转录表达受锌离子调控<sup>[16]</sup>。人和小鼠 ZIP2 转录调控不同的机制目前还不清楚。敲除 ZIP2 小鼠在饲喂正常饲料情况下未见异常表型,但妊娠期饲喂锌缺乏饲料可明显增加胚胎的畸形率<sup>[17]</sup>。

### 1.3 SLC39A3/ZIP3

SLC39A3/ZIP3 虽在多组织有表达,但表达量较低,睾丸表达相对最高。当将 ZIP3 转染进 HEK293 细胞中,其可促进锌在细胞内的吸收<sup>[13]</sup>。另外的细

胞转染实验结果表明,当培养基中锌含量充足时, ZIP3 主要位于细胞内各细胞器中;而当培养基中锌缺乏时, ZIP3 从胞内汇集到细胞膜上,其对锌的反应与 ZIP1 表现非常相似。另外,小鼠小肠、内脏内胚层等与营养吸收相关组织中 ZIP3 mRNA 表达水平不受饲料中锌离子水平调控。尽管哺乳动物上皮细胞需要 ZIP3 调节锌的转运<sup>[18]</sup>,但敲除 ZIP3 的小鼠在饲喂正常生长期饲料时没有发现异常表型,仅对锌缺乏饲料轻度敏感。进一步将 ZIP1 和 ZIP3 两个基因双敲除或 ZIP1、ZIP2 和 ZIP3 三基因同时敲除,小鼠均未见明显异常表型,仅在饲喂锌缺乏饲料后胚胎畸形率增加<sup>[19]</sup>。

### 1.4 SLC39A4/ZIP4

hZIP4 和 mZIP4 蛋白有 76% 的序列同源性。hZIP4 属于 LIV-1 亚家族,它有两种异构体,这两种异构体仅在蛋白的氨基端有所不同,分别为 647 和 622 氨基酸长度。hZIP4 mRNA 主要在十二指肠、空肠、结肠、胃和肾脏中表达,其检测大多用小肠微绒毛中的成熟肠粘膜细胞进行, hZIP4 蛋白主要存在于小肠粘膜细胞顶膜表面<sup>[20]</sup>。mZIP4 的存在部位与 hZIP4 类似,并与锌离子具有高亲和力,  $K_m$  值为 1.6  $\mu\text{mol/L}$ 。转染 mZIP4 基因的 HEK293 细胞对  $^{65}\text{Zn}$  的吸收明显增强<sup>[21]</sup>;且与正常锌状态比较,锌缺乏状态下的转染 mZIP4 基因的 HEK293 细胞对  $^{65}\text{Zn}$  的吸收明显增强<sup>[22]</sup>。上述两实验结果为 ZIP4 参与细胞锌离子吸收提供了直接实验证据。肠病性肢端皮炎(acrodermatitis enteropathica, AE)患者症状表现为外周皮炎、间歇性腹泻、婴幼儿早期生长受阻等,是肠道锌吸收受阻所导致的人类遗传疾病。研究发现 AE 患者 hZIP4 基因发生多位点突变,并发现突变的 ZIP4 蛋白锌离子的吸收能力明显减弱,因此 ZIP4 被认为不仅是肠道锌离子吸收最重要的基因,也是肠病性肢端皮炎的致病基因<sup>[20,23]</sup>。有资料表明, mZIP4 基因表达受锌含量调节。Dufner-Beattie 等<sup>[21,24]</sup>研究发现,日粮锌缺乏(50  $\mu\text{g/g}$  至 1  $\mu\text{g/g}$ , 14 天)可明显促进 mZIP4 mRNA 及蛋白在小肠内的表达,而注射锌或日粮增加锌水平,则小肠内 mZIP4 mRNA 含量明显降低。其后来的研究发现,日粮锌缺乏可促进 mZIP4 mRNA 及蛋白在小鼠母体小肠及胚的卵黄囊中表达。Cragg 等<sup>[25]</sup>研究报道,补充锌可使人回肠粘膜中 hZIP4 蛋白含量降低到无法检测的程度,而对 hZIP4 mRNA 含量没有影响。该实验还表明,当细胞培养液中锌浓度为 200  $\mu\text{mol/L}$  时, Caco-2 细胞中的 ZIP4 mRNA 和蛋白含量都要低于锌浓度为 100

$\mu\text{mol/L}$  时的含量。通过使用 RNA 及蛋白合成抑制剂后进行转录分析,发现锌缺乏增加 ZIP4 蛋白表达与 ZIP4 mRNA 稳定性有关,与转录效率无关<sup>[26]</sup>。另外,最近的研究表明,库派转录因子 4 (krüppel-like factors 4, KLF4) 参与锌缺乏导致 ZIP4 转录表达增加的调控过程。而且,饲料锌缺乏可影响蛋白的剪切过程,导致胞外的氨基末端被剪切,剩余 37 kDa 为 ZIP4 初始蛋白形式。患有 AE 的病人,这种剪切过程被抑制,进一步说明蛋白剪切对调节 ZIP4 蛋白表达很重要<sup>[27]</sup>。有趣的是,患有 AE 的病人,虽然其肠道锌吸收受阻导致机体锌需要不能满足,但也能吸收食物中部分锌离子,这提示其它锌转运蛋白或转运体系在肠粘膜细胞顶膜吸收锌过程中起作用。与其它 ZIP 成员相似, ZIP4 蛋白也存在翻译后调控机制,锌缺乏可以增加 ZIP4 蛋白在细胞膜的驻留,细胞培养液中补充锌离子,细胞膜上的 ZIP4 蛋白在极短的时间内吞进入细胞,并且这种对锌离子的反应速度明显快于 ZIP1 和 ZIP3 的转运速度<sup>[14,22]</sup>。锌转运蛋白膜质间的转运 (trafficking) 是维持细胞锌稳态的重要机制。另外,还发现在高锌环境下 ZIP4 蛋白可以通过泛素化降解机制来减少细胞的锌离子摄取,从而起到保护细胞的作用<sup>[28]</sup>。近来 ZIP4 与肿瘤的研究也有重大突破, Li 等<sup>[29]</sup>通过组织芯片技术发现在胰腺癌病灶 ZIP4 的 mRNA 水平明显升高,并进一步通过细胞和荷瘤裸鼠模型证明 ZIP4 上调可导致或加速胰腺癌的发生。

### 1.5 SLC39A5/ZIP5

人类 ZIP5 和 ZIP4 蛋白有 31% 的序列同源性, hZIP5 蛋白与小鼠 mZIP5 有 84% 的序列同源性。hZIP5 mRNA 主要在肝脏、肾脏、胰腺、小肠各部分及盲肠中表达。瞬时转染 mZIP5-HA 的 HEK293 细胞比转染空载体的对照组细胞锌离子摄取增高 6 倍;同样,用 TPEN 处理转染 mZIP5-HA 和空载体的 HEK293 细胞 2 天后,转染 mZIP5-HA 的细胞比转染空载体的细胞存活率高,提示 ZIP5 可以增加细胞对锌缺乏的抵御能力,这些实验充分证明 ZIP5 是一个特异的锌离子转运蛋白<sup>[30]</sup>。ZIP5 蛋白亚细胞定位在细胞膜以及极性细胞的基底膜。虽然 ZIP5 的蛋白表达量不随膳食锌而改变,但蛋白亚细胞定位随胞外锌含量变化而发生改变。锌充足时, ZIP5 蛋白位于细胞基底膜;锌缺乏时,该蛋白位于细胞内,说明 ZIP5 在锌的跨细胞转运过程中起作用<sup>[24]</sup>。另外的研究表明, ZIP5 mRNA 表达和翻译不受锌的调控,但其翻译后修饰受锌调控。锌缺乏时,肠细胞、腺体细胞及内胚层细胞中 ZIP5 mRNA 与多核糖体紧密结合不受

影响,但其蛋白发生降解<sup>[26]</sup>。对于小肠上皮细胞, ZIP4 蛋白分布在细胞顶膜,而 ZIP5 蛋白分布在基底膜,由于细胞亚定位不同, ZIP5 主要作为小肠上皮细胞基底膜上由浆膜层到粘膜层转运锌并感知机体锌营养状态的传感器而发挥作用, ZIP5-ZIP4 共同构成肠道锌吸收重要体系<sup>[30]</sup>。

### 1.6 SLC39A6/ZIP6

SLC39A6/ZIP6 又被称为 LIV-1, 是 LIV-1 亚家族成员之一,存在 755 氨基酸和 433 氨基酸两种长度的异构体,其表达较为广泛,在胎盘、乳腺及前列腺中表达最为丰富。ZIP6 蛋白主要定位在细胞膜上,且可以将锌离子由胞外转运至胞浆,或将细胞器内的锌转运至胞浆。炎症刺激因子 LPS 处理小鼠可使 ZIP6 表达下降,同时使细胞内锌含量降低,增加 MHC class-II 的表达,最终促进脾脏 CD11c<sup>+</sup> 树突细胞的成熟分化;而锌离子螯合剂 TPEN 处理可增加树突细胞中 MHC class-II 表达。这些研究结果提示 ZIP6 可通过调节锌离子稳态代谢而在机体免疫反应中发挥重要作用<sup>[31]</sup>。HeLa 细胞、肺癌细胞系及具有转移能力的乳腺癌细胞中 ZIP6 表达均很丰富,说明该蛋白在癌症发生过程可能有重要作用<sup>[32]</sup>。在乳腺癌人群样本中的研究进一步表明, ZIP6 可作为雌激素受体激发的癌症判定标准,并可作为临床腔体 A 型乳腺癌的常规诊断指标<sup>[33]</sup>。另外,转录因子 STAT3 可以激活 ZIP6,也说明该蛋白在癌症的发展过程中起作用。定位在细胞核的转录因子 Snail 基因可降低与细胞粘附有关的基因的表达,从而在上皮细胞转化为间质细胞的过程发挥重要作用,该基因表达依赖于 ZIP6 的表达,说明 ZIP6 在细胞分化过程中起作用<sup>[34]</sup>。ZIP6 在癌症发生、发展以及转移中的作用及分子机制还有待深入研究。

### 1.7 SLC39A7/ZIP7

SLC39A7/ZIP7 通常又被称为 KE4,其表达较为广泛,亚细胞定位主要分布在高尔基体。Huang 等<sup>[35]</sup>用 zrt3 缺失的酵母突变株进行 ZIP7 功能实验,补锌后 ZIP7 缺失酵母空泡中累积的锌明显减少,而过表达 ZIP7 的酵母突变株细胞核及胞浆内的游离锌明显增加,提示 ZIP7 具有摄取锌离子功能。缺锌或加锌并不影响 ZIP7 的 mRNA 表达和蛋白在细胞内的定位,但补锌可降低 ZIP7 的蛋白表达量<sup>[35]</sup>。ZIP7 蛋白可增加细胞内锌含量,并激活表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、Src 激酶及胰岛素样生长因子 I 受体 (insulin-like growth factor 1 receptor, IGF-1R) 信号分子,从而促进人类乳

腺癌细胞系 MCF-7 的生长及侵蚀能力, 这项研究将 ZIP7 与乳腺癌紧密的联系起来<sup>[36]</sup>。Hogstrand 等<sup>[12]</sup>认为 ZIP7 可促进锌从内质网释放, 从而激活酪氨酸激酶信号通路, 可通过阻断该信号通路作为某些疾病如癌症的治疗靶点。

### 1.8 SLC39A8/ZIP8

SLC39A8/ZIP8, 还被称为 BIGM103, 是在研究重金属镉毒性耐受基因时被发现的。该基因在肺、肾脏、睾丸、肝脏、脑、小肠及成熟红细胞膜上表达较高。锌缺乏时 ZIP8 定位在 MDCK 细胞膜上, 锌充足时主要定位在细胞内, 与 ZIP1、ZIP3 和 ZIP4 的翻译后细胞膜质转运机制相似。ZIP8 除了可转运锌外, 在 MFF 细胞中 ZIP8 还可转运其它二价金属离子如镉和锰等<sup>[37]</sup>。电生理实验表明, ZIP8 调节锌和镉的跨膜转运是通过一个锌离子或一个镉离子与二个碳酸氢根的离子交换完成的<sup>[38]</sup>。另外, ZIP8 与炎症免疫关系密切。Liuzzi 等<sup>[39]</sup>研究表明, LPS 处理小鼠 24 h 后, 其肝脏中 ZIP8 mRNA 水平显著下降。而 TNF- $\alpha$  可刺激人原代培养肺上皮细胞中 ZIP8 的表达, 且可促进 ZIP8 的糖基化, 糖基化 ZIP8 定位在细胞膜和线粒体上, 导致胞内锌含量增加, 从而增加细胞存活率; 而 ZIP8 表达下降可降低胞内锌含量, 损害线粒体功能, 从而引起细胞大量死亡。另外, ZIP8 在人类 T 细胞中表达较高, 当有外界刺激时, T 细胞中 ZIP8 表达明显升高, 该蛋白可通过调控锌在溶酶体内的转运从而调控 T 细胞  $\gamma$ -干扰素的表达<sup>[40]</sup>。Ryu 等<sup>[41]</sup>发现 ZIP8 以及 ZIP10 和 ZnT1 表达分布在血细胞膜, 锌缺乏时血细胞膜的 ZIP10 蛋白上调、ZnT1 蛋白下调, 但是成熟红细胞膜上 ZIP8 定位及蛋白量均没有明显影响, ZIP8 及 ZIP10 和 ZnT1 组成的锌转运网络可能是血细胞调控锌稳态的重要机制。

### 1.9 SLC39A9/ZIP9

SLC39A9/ZIP9 是亚家族 I 中的唯一蛋白, 关于其功能、分布等方面的研究报道很少, 目前仅在瞬转 *hZIP9* 基因的 HeLa 细胞中, ZIP9 主要定位在顺式高尔基网状系统中, 且其定位不受锌状态影响<sup>[42]</sup>。ZIP9 在锌稳态代谢中所起作用及其可能机制还需深入研究。

### 1.10 SLC39A10/ZIP10

金属反应元件结合转录因子(metal response element binding transcription factor-1, MTF-1)是一个锌指蛋白, 可结合金属反应元件序列(metal response elements, MRE), 该序列位于表达受金属调控的基因的启动子区, 因此, 金属离子可通过调节 MTF-1 与基因启动子区的 MRE 序列结合, 从而调节某些基因的

表达。MTF-1 肝脏特异性条件敲除小鼠使人们发现一个新的受 MTF-1 调节的基因 ZIP10。与其它锌转运蛋白如 ZnT1 的表达受 MTF-1 的正调控不同, MTF-1 可抑制 ZIP10 表达。这是 ZIP 家族中第一个被发现的表达受 MTF-1 调控的基因, 也是第一个表达受 MTF-1 抑制的基因<sup>[43]</sup>。Kitamura 等<sup>[31]</sup>研究发现 LPS 处理树突细胞 6 h 后可降低 ZIP10 的 mRNA 水平, 说明 ZIP10 可能与炎症免疫密切相关。另外, 甲状腺激素还可刺激 ZIP10 mRNA 上调表达<sup>[44]</sup>。血细胞膜上 ZIP10 的 mRNA 和蛋白表达均受到锌离子状态的灵敏调控, 提示 ZIP10 可能是维持血细胞锌稳态的关键转运蛋白<sup>[41]</sup>。而且, ZIP10 mRNA 在浸润性和转移性乳腺癌细胞系中表达很高。RNA 干扰降低 ZIP10 表达后, 细胞内锌含量降低, 同时转移性乳腺癌细胞的转移能力受到明显抑制。该研究结果说明, 锌和 ZIP10 在转移性乳腺癌细胞的转移能力方面起重要作用, ZIP10 可以作为乳腺癌诊断的指标及新的药物治疗的靶点<sup>[45]</sup>。ZIP7 和 ZIP10 两个 SLC39A 基因均有较为可信的证据证明其参与了乳腺癌的发生和转移, 但两者在乳腺癌中相互影响的作用机制目前还不清楚。

### 1.11 SLC39A11/ZIP11

SLC39A11/ZIP11 是 *gufA* 亚家族中的唯一成员, 目前还未见其功能的研究报道。

### 1.12 SLC39A12/ZIP12

目前只有一篇关于 SLC39A12/ZIP12 的研究报道: ZIP12 第二外显子纯合突变容易引起人患精神分裂症, 还证实 ZIP12 在人的大脑及眼睛中表达较多<sup>[46]</sup>。但是该论文缺乏直接的证据证明 ZIP12 与精神分裂症有关联。SLC39A12/ZIP12 是否参与锌稳态代谢及其生物学功能还有待研究。

### 1.13 SLC39A13/ZIP13

SLC39A13/ZIP13 编码的蛋白属于 LIV-1 亚家族成员, ZIP13 亚细胞定位在高尔基体和内质网膜, ZIP13 与 ZIP7 具有很高的同源性。SLC39A13/ZIP13 与人类遗传病艾唐综合征(Ehlers-Danlos syndrome, EDS)有关。Ehlers-Danlos 综合征主要表现为渐进式脊柱后凸侧弯、关节过度活动综合征、皮肤超弹性伴有骨骼肌张力严重减退等。Giunta 等<sup>[47]</sup>对两个家系 6 例 Ehlers-Danlos 综合征患者及其家庭成员进行了全基因组 SNP 扫描和基因测序分析, 发现 Ehlers-Danlos 患者中 ZIP13 的第四外显子均发生 9 个碱基的缺失, 造成 162~164 (Phe-Leu-Ala) 三个氨基酸丢失, 提示 ZIP13 突变是 Ehlers-Danlos 综合征的病因。该研

究推测 ZIP13 突变导致内质网内的锌离子蓄积,从而影响了内质网中以铁离子为主要辅助因子的赖氨酰和脯氨酰羟基化反应障碍,最终导致胶原合成异常。但目前细胞模型中尚未见 SLC39A13/ZIP13 直接参与锌离子转运的实验证据。同样, ZIP13 基因敲除小鼠也表现出 Ehlers-Danlos 综合征的相似表型,主要表现为成骨减少,软骨成骨发育不正常,牙质及齿槽骨质减少,颅面缺陷及真皮、角膜的基质胶原减少等症状。ZIP13 在与结缔组织细胞形成有关的 BMP/TGF- $\beta$  信号通路和 Smad 蛋白核转移过程中发挥重要作用。ZIP13 缺失导致 BMP/TGF- $\beta$  调节的某些基因的表达不受调控,这些基因包括 *Runx2* 和 *Msx2* 等在骨、牙齿及颅面发育过程中起作用的基因。Smad 蛋白是 BMP/TGF- $\beta$  受体磷酸化下游,每个 Smad 蛋白都包含一个锌结合元件。但 SLC39A13/ZIP13 影响这些信号通路的分子机制还不清楚<sup>[48]</sup>。

#### 1.14 SLC39A14/ZIP14

小鼠 ZIP14 存在 A 和 B 两种转录形式,都编码 489 个氨基酸,唯一不同的是第 4 外显子(170 bp)被同等长度的另外一个外显子替代,这两个外显子所编码的 57 个氨基酸完全不同。ZIP14A 在肝脏、十二指肠、肾脏及睾丸中表达; ZIP14B 在肝脏、十二指肠、脑及睾丸中表达。此两种转录形式均定位在 MDCK 细胞的顶膜,且可糖基化,在用反转录病毒稳定感染的 MFJ 及顺转 MDCK 极化上皮细胞中均可转运锌离子<sup>[49]</sup>。尽管 ZIP14A 和 B 对离子的转运功能及细胞定位都很相似,二者功能的差异还需进一步研究。与 ZIP 家族其它成员相比,人类 ZIP14 跨膜域 V 序列非常特殊。尽管跨膜域 V 序列处的组氨酸残基对其余锌转运蛋白转运锌至关重要,但 ZIP14 跨膜域 V 序列处组氨酸残基变为谷氨酸残基并不影响 ZIP14 对锌的转运<sup>[50]</sup>。ZIP14 在小鼠成纤维细胞系 3T3-L1(脂肪细胞增殖细胞系)中表达,仅限于脂肪形成及细胞分化阶段。虽然 ZIP4 是 ZIP 家族中对生长发育至关重要的基因, ZIP14 也极可能在此过程起重要作用<sup>[51]</sup>。另外, ZIP14 与炎症免疫相关, Liuzzi 等<sup>[52]</sup>研究表明 LPS 处理小鼠 24 h 后,其肝脏 ZIP14 mRNA 表达显著升高。而急性炎症反应期间,容易发生低血锌症和低血铁症,宿主可通过降低血清锌和铁含量,从而降低病原微生物可利用的锌和铁含量,最终杀死致病菌。在松节油感染的野生型和 *IL-6*<sup>-/-</sup> 小鼠肝脏中用基因芯片技术分析 ZnT 和 ZIP 家族所有已知基因的转录,发现 ZIP14 是炎症应激基因。内源性 ZIP14 定位在肝细胞的细胞膜上,其 mRNA 表达随 IL-6 刺激而增

加。因此,炎症或感染因子通过对 IL-6 调节从而调节 ZIP14 表达,致使锌代谢失衡,最终造成低血锌症。IL-6 可促进肝脏 Hhepcidin 合成从而降低 Ferroportin-1 最终在炎症引发的低血铁症中起作用,由于 IL-6 对血锌和铁影响类似, ZIP14 可能在铁转运方面发挥一定作用。Liuzzi 等<sup>[52]</sup>研究表明, ZIP14 可调节锌和非转铁蛋白结合铁在肝细胞的吸收。另外, HepG2 细胞中遗传性血色素基因(hereditary hemochromatosis gene, HFE)表达可通过转录后调控机制降低 ZIP14 mRNA 水平,而 ZIP14 被干扰后 HFE 表达不影响铁吸收,说明 HFE 通过 ZIP14 而影响铁转运。即 ZIP14 可参与 HFE 诱导的非转铁蛋白结合铁吸收降低过程的调节。除 ZIP14 在肝细胞表达外, ZIP10 和 ZnT1 也在肝细胞有较高的表达,提示这些转运蛋白在维持肝脏锌稳态方面具有重要作用。

## 2 SLC30A/ZnT 家族蛋白

根据结构和功能的不同, SLC30A 家族又可被分成三个亚家族:亚家族 I、II 和 III,亚家族 I 成员主要存在于原核细胞中, II 和 III 成员广泛存在于原核细胞及真核生物中。迄今为止,在哺乳动物中已发现 10 个 SLC30A 家族成员, ZnT1-10, 见图 1C。大多数 SLC30A 蛋白有 6 个跨膜域,氨基与羧基末端位于细胞质内,在跨膜域 IV 和 V 之间存在一富含组氨酸的长环,为锌离子的结合位点。SLC30A 家族转运蛋白可协助锌离子从细胞质内流出到细胞外或转运到细胞器内,见图 1A<sup>[10,11]</sup>。SLC30A 家族转运蛋白的详细特性见表 1。

### 2.1 SLC30A1/ZnT1

SLC30A1/ZnT1 是哺乳动物中第一个被发现的 SLC30A 家族成员。ZnT1 组织分布广泛,其 mRNA 主要分布在小肠、肾脏及胎盘等组织,其蛋白在十二指肠、空肠的肠粘膜细胞基底膜处含量最丰富,主要作用为将锌从细胞内穿过基底膜转运到周围血液中,参与锌离子在小肠的循环,在肾脏的重吸收及分泌,并参与锌在母体与胎儿之间的转运<sup>[9,53,54]</sup>。小鼠 *ZnT1*<sup>-/-</sup> 纯合基因敲除是胚胎致死的,说明 ZnT1 在母体及胚胎间锌转运代谢中起着重要作用<sup>[55]</sup>。ZnT1 蛋白可将锌从胞内转运至胞外,因此,具有使细胞能够抵挡外周环境中高锌的毒性作用的功能。Palmiter 等<sup>[9]</sup>将小鼠 BHK 细胞转染 *ZnT1* cDNA 后,发现 ZnT1 过度表达的 BHK 细胞<sup>65</sup>Zn 外流量明显增加,细胞内锌浓度降低,并且这种影响是不依赖 Na<sup>+</sup>,不需要能量的。Kim 等<sup>[56]</sup>研究报道,给 PC12 细胞转染大鼠 *ZnT1*

cDNA 后,可明显增加这些细胞内的锌的外流量。上述两个研究证明了 ZnT1 转运蛋白可直接将锌转运到细胞外。另外,有很多研究表明, *ZnT1* 的基因表达受锌水平的调节。McMahon 等<sup>[57]</sup>通过饲粮添加以及口服两种方式研究了锌对大鼠小肠和肝脏 *ZnT1* 的调节作用。结果表明,饲粮中添加锌后,小肠中 *ZnT1* mRNA 和蛋白大约分别提高了 50% 和 10%,但是对肝脏中 *ZnT1* 没有影响。口服锌后,小肠中 *ZnT1* mRNA 水平提高了 8 倍,但 ZnT1 蛋白没有相应的增加,与之相反,口服锌没有影响肝脏中 *ZnT1* mRNA 的水平,但肝脏 ZnT1 蛋白增加了 5 倍,这说明锌对 ZnT1 的影响在一定程度上依赖于锌的添加方式,且其它因素可能也参与了对 ZnT1 转运蛋白稳定状态水平的调节。Liuzzi 等<sup>[58]</sup>的研究也证明, *ZnT1* 的表达受饲粮锌的调节并具有一定的组织特异性。饲喂大鼠添加锌的饲粮 1 或 2 周后,增加了小肠和肾中 *ZnT1* mRNA 的水平,但对肝脏没有影响;口服锌后,小肠、肾以及肝脏中 *ZnT1* mRNA 的水平都显著提高。Devergnas 等<sup>[59]</sup>研究报道,在 HeLa 细胞培养液中添加 100  $\mu\text{mol/L}$  的锌,1 h 或 3 h 后 ZnT1 转录水平为对照组的 3 倍,6 h 后 *ZnT1* 转录水平下降,12 h 后其水平降到最初水平,说明锌对 ZnT1 表达有影响,且随时间变化而变化。Cragg 等<sup>[25]</sup>研究表明,补锌可使人回肠粘膜中 *ZnT1* mRNA 降低 1.4 倍,蛋白降低 1.8 倍。当细胞培养液锌浓度从 100  $\mu\text{mol/L}$  增加到 200  $\mu\text{mol/L}$  时, Caco-2 细胞中 ZnT1 mRNA 及蛋白含量均有所降低,这种在大鼠和人上补锌后对 *ZnT1* 基因表达的影响不同的具体原因还不清楚,有待进一步研究。而锌对 *ZnT1* 基因表达的调节是通过 *MTF-1* 与 *ZnT1* 基因启动子上的 MRE 的相互作用来实现的<sup>[54]</sup>。*ZnT1* 启动子包含两个 MRE 序列(离转录起始位点相对位置分别为 -87 bp 及 -116 bp), *MTF-1* 与这两个位置均可结合,从而激活 ZnT1 基因转录。以 *MTF-1*<sup>-/-</sup> 小鼠胚胎成纤维细胞为模型研究发现, *MTF-1* 对于锌调节 *ZnT1* 基因表达是必需的。而 *ZnT1* mRNA 水平在 *MTF-1*<sup>-/-</sup> 小鼠卵黄囊中是下调的,说明 *MTF-1* 确实参与锌对 *ZnT1* 基因表达的调节。另外,McMahon 等<sup>[53]</sup>发现, ZnT1 蛋白有糖基化、磷酸化等翻译后修饰位点,因此,锌也有可能通过翻译后修饰途径调节 ZnT1 蛋白水平。

## 2.2 SLC30A2/ZnT2

hZnT2 与 mZnT2 蛋白有 67% 同源性。 *ZnT2* mRNA 在啮齿类动物小肠、肾脏、胰腺、睾丸、胎盘、精囊腺及乳腺中均有表达,其蛋白多集中于靠近小肠微绒毛顶膜侧及乳腺组织边缘处的囊泡上<sup>[60]</sup>。

Palmiter 等<sup>[61]</sup>研究表明,用 *ZnT2* cDNA 转染细胞,使其 *ZnT2* 过度表达,高锌时可使锌易被细胞内各种微粒如核内体储存。 *ZnT2* 定位在胰脏腺细胞的囊泡中且其表达与胞内高锌含量相关,这是由于 *ZnT2* 除了可以将锌转运到细胞内囊泡中,便于锌的贮存外,还可通过控制锌结合进胰腺分泌蛋白,减少胞吐作用从而减少内源锌损失。最近的研究发现, *ZnT2* 通过糖皮质激素受体与 STAT5 调控的糖皮质激素通路而参与胰腺酶原分泌颗粒锌的摄入,在肠、胰腺锌转运过程中起作用<sup>[62]</sup>。另有研究表明, *ZnT2* 在乳腺中表达且表达量随乳中锌含量增加而下降,说明 *ZnT2* 在乳腺锌代谢过程中起重要作用。有趣的是,泌乳时乳腺基底膜 *ZnT2* 的丰度保持不变而顶膜的表达下降,该结果与高锌时为贮存过多的锌 *ZnT2* 多定位在乳腺上皮细胞是一致的<sup>[63]</sup>。Chowanadisai 等<sup>[64]</sup>研究发现,母亲 *ZnT2* 第 59 个氨基酸残基由组氨酸突变为精氨酸时,导致乳中锌含量下降,从而最终导致母乳喂养的婴幼儿出现缺锌症状,进一步说明该基因与锌代谢密切相关。另外, *ZnT2* 的基因表达受锌水平的调节。Liuzzi 等<sup>[58]</sup>研究表明,大鼠小肠和肾中 *ZnT2* 的表达对锌具有高的反应性。锌缺乏时, *ZnT2* mRNA 降低到几乎检测不到的水平,与之相反,添加锌(饲粮或口服添加 2 周)后, *ZnT2* mRNA 的水平显著增加,且小肠中 *ZnT2* 的表达与 MT 表达密切相关 ( $r=0.93$ )。其后来的研究发现,在妊娠末期,泌乳初期的母鼠及胎儿小肠中 *ZnT2* mRNA 相对丰度随饲粮锌浓度增加而增加<sup>[60]</sup>;采用定量 PCR 技术研究饲喂缺锌饲粮 (< 1 mg/kg) 及补锌饲粮 (150 mg/kg) 小鼠小肠 *ZnT2* mRNA 含量变化,发现缺锌导致小鼠小肠 *ZnT2* mRNA 相对丰度明显降低,与前面的试验结果一致<sup>[65]</sup>。尽管目前还不知 *ZnT2* 蛋白是否有同样的变化趋势,但已有证据表明, *ZnT2* 蛋白与 *ZnT2* mRNA 之间有密切的关联<sup>[63]</sup>。

## 2.3 SLC30A3/ZnT3

SLC30A3/ZnT3 有 6 个跨膜结构域,其氨基酸序列与 *ZnT2* 有 52% 同源性。 *ZnT3* mRNA 在啮齿类动物大脑、睾丸,人类乳腺上皮细胞及小鼠胸腺中表达,但其蛋白仅在小鼠海马区、大脑皮层及脊髓室腔膜等锌含量较高的组织中被明显检测到。大量的研究报道主要集中在对 *ZnT3* 与神经细胞内锌稳态以及神经退行性疾病如阿尔茨海默氏症 (Alzheimer's disease, AD) 的关系研究上,且研究结果充分肯定了 *ZnT3* 与神经细胞功能的关系,如患有 AD 的患者脑组织中 *ZnT3* mRNA 表达显著降低等<sup>[66-68]</sup>。哺乳动物

脑组织中锌含量很丰富,且有5%~15%的锌集中分布在突触囊泡中。*ZnT3* 敲除的纯合小鼠脑组织中可检测的锌的含量明显下降,说明突触囊泡中的锌的转运与位于囊泡膜上的 *ZnT3* 有关,但突触囊泡中 *ZnT3* 对锌的转运主要发生在囊泡成熟过程中。另外,尽管 *ZnT3*<sup>-/-</sup> 小鼠海马和大脑皮层囊泡锌几乎消失,但此小鼠表型未见明显异常<sup>[69]</sup>。Smidt 等<sup>[70]</sup>研究  $\beta$  细胞 *ZnT3* 沉默后胰岛素分泌及 *ZnT3* 基因敲除小鼠在链脲霉素诱导的  $\beta$  细胞应激中糖代谢情况,发现 *ZnT3* 表达随葡萄糖浓度升高而呈浓度依赖式上调,*ZnT3* 敲除后  $\beta$  细胞中胰岛素表达和分泌降低,同时小鼠体内葡萄糖代谢受影响。该结果说明 *ZnT3* 蛋白除了与神经系统功能相关外,在糖代谢中也发挥一定作用。

## 2.4 SLC30A4/ZnT4

SLC30A4/ZnT4 在各组织中广泛表达,但在乳腺及乳腺来源的细胞系中表达最为丰富,在小肠上皮细胞中表达也较多。其蛋白除在乳腺及小肠上皮细胞的囊泡中表达外,在大鼠 NRK 细胞高尔基体中也可检测到内源 *ZnT4* 蛋白表达,而且,将 *ZnT4*-myc-tag 转染进 Caco-2 细胞后发现 *ZnT4* 在内涵体中也有表达<sup>[71]</sup>。SLC30A4/ZnT4 是作为突变可引发致死乳(lethal milk, *lm*)的基因而被发现的,将其命名为 *lm* 基因,是由于其突变导致乳中锌含量缺乏,从而使哺乳幼鼠在断奶前死亡。在纯合 *lm/lm* 母鼠乳中锌含量比野生型鼠乳少 34%,如果给 *lm/lm* 母鼠或其幼鼠补锌,母乳缺锌或幼鼠致死症状会减轻。*lm* 突变是 *ZnT4* 密码子第 297 位精氨酸碱基突变导致其翻译提前终止,即产生一个缩短的 *ZnT4* 蛋白<sup>[71]</sup>。饲料补锌不影响小肠、肝脏及肾脏中 *ZnT4* mRNA 表达,用锌处理乳腺上皮细胞对 *ZnT4* mRNA 表达也无影响,而饲喂缺锌饲料(1 mg Zn/kg)不影响或轻微降低小肠、肝脏、肾脏、睾丸及脑中 *ZnT4* mRNA 表达,提示在正常生理状态下 *ZnT4* 表达不受锌离子状况的调控。但泌乳期间饲喂轻微缺锌饲料(10 mg Zn/kg)可增加乳腺中 *ZnT4* mRNA 和蛋白的表达,这是由于 *ZnT4* 能够将锌从乳腺分泌至乳中<sup>[60]</sup>。另外的研究表明,在 NRK 细胞中增加胞外锌浓度可使 *ZnT4* 从高尔基体转移至胞浆囊泡中,说明虽然 *ZnT4* mRNA 和蛋白表达不受锌调节,但蛋白在细胞中的亚细胞定位(或转运)受到锌离子的调控<sup>[72]</sup>。

## 2.5 SLC30A5/ZnT5

SLC30A5/ZnT5 属于 II 亚家族,因其可能含有 15 个跨膜结构域而比较特殊。*ZnT5* mRNA 在各组织中广泛表达,但在胰腺、前列腺、卵巢、睾丸等

组织含量最丰富。免疫荧光分析表明, *ZnT5* 蛋白在胰腺中分泌胰岛素的  $\beta$  细胞中表达量很高。Cragg 等<sup>[73]</sup>采用转染及免疫组化研究发现, *ZnT5* 可在 Caco-2 细胞顶膜表达, <sup>65</sup>Zn 的吸收速率显著高于未转染 *ZnT5* 的空白对照组,证实了 *ZnT5* 可协助细胞摄取锌离子。随后的实验证实 *ZnT5* 存在于 Caco-2 细胞及人的肠粘膜细胞和结肠粘膜细胞的顶膜<sup>[25]</sup>。因此, *ZnT5* 是调节肠道锌吸收的另一个锌转运蛋白。Kambe 等<sup>[74]</sup>将 *ZnT5* 转染到人子宫颈癌细胞中, *ZnT5* 蛋白在高尔基体中表达,并可增加高尔基体对 <sup>65</sup>Zn 的吸收,说明 *ZnT5* 可转运锌进入高尔基体,可以调节细胞器锌吸收。另外,锌可以调节 *ZnT5* 基因表达。Phillips 等<sup>[75]</sup>研究发现,当 Caco-2 细胞培养液中锌浓度从 3  $\mu\text{mol/L}$  增加到 100  $\mu\text{mol/L}$  时, *ZnT5* mRNA 含量也随之增加。Cragg 等<sup>[25]</sup>认为摄食后肠腔锌浓度即为 100  $\mu\text{mol/L}$ ,因此,前人的实验不能反映摄食后随肠腔锌浓度增加肠粘膜细胞中锌转运载体含量变化,该实验观察了培养液锌浓度从 100  $\mu\text{mol/L}$  增加到 200  $\mu\text{mol/L}$  对 Caco-2 细胞 *ZnT5* mRNA 及蛋白水平的影响,结果表明, *ZnT5* mRNA 及蛋白水平随锌浓度增加而下降。该研究还发现,每日补锌 25 mg,补 14 天对人回肠粘膜中 *ZnT5* mRNA 含量无影响,但使其蛋白含量降低 3.7 倍。Devergnas 等<sup>[59]</sup>采用实时荧光定量 PCR 技术研究补锌或缺锌对 HeLa 细胞 *ZnT5* mRNA 含量的影响,发现补锌对其含量无影响,但缺锌可使 *ZnT5* mRNA 含量增加 8 倍。Helston 等<sup>[76]</sup>研究表明,饲喂锌缺乏和充足饲料后小鼠胎盘中 *ZnT5* 的表达均下降。上述研究表明, *ZnT5* 表达对锌的反应不一致。这可能是由于 *ZnT5* 存在两种转录形式,从同一个启动子转录而来,但最终剪切形式不同。*ZnT5A* 主要存在于高尔基体, *ZnT5B* 多存在于细胞膜上。定位不同决定二者功能可能不同。因此, *ZnT5* 既可将锌从胞外转运至胞内,也可促进锌从胞内分泌至胞外,是锌的双向转运蛋白。而锌最终可通过转录抑制和增加 mRNA 稳定性来调控 *ZnT5* mRNA 表达,该调控与 *MTF-1* 及 *ZnT5* 基因启动子上的 MRE 序列无关<sup>[77]</sup>。*ZnT5*<sup>-/-</sup> 小鼠表现为生长受阻、骨发育不正常、体重下降及雄性特异性心律失常,也从另外的角度说明 *ZnT5* 在锌稳态代谢中起重要作用<sup>[77]</sup>。另外,最近有研究认为 *ZnT5* 与 *ZnT6* 都定位在高尔基体,且表达组织非常相似,二者可结合形成异寡聚物,从而激活组织非特异性碱性磷酸酶,在锌转运至分泌途径起重要作用<sup>[78]</sup>。

## 2.6 SLC30A6/ZnT6

人们根据EST数据库小鼠ZnT4蛋白序列同源性发现并命名了锌转运蛋白ZnT6, 其与ZnT家族其它蛋白的区别是, ZnT6蛋白序列中不包括富含组氨酸的环, 而是丝氨酸环。ZnT6 mRNA在肝脏、脑、肾脏及小肠中表达量较多, 但蛋白仅在脑和肺中表达, 说明ZnT6蛋白这种组织表达特异性受转录后调控机制调控。ZnT6可以转运胞浆锌进入高尔基体和其它细胞器。在野生型酵母及胞浆缺锌的酵母突变株中过表达ZnT6, 可引起生长受阻, 但在胞浆锌含量较高的酵母突变株中这种生长受阻可被恢复, 进一步说明ZnT6可将胞浆锌转运出去<sup>[79]</sup>。另有研究表明, 高锌情况下ZnT6从高尔基体转移至细胞膜上, 这种细胞定位的变化更有利于其转运锌的功能的发挥<sup>[11]</sup>。锌对ZnT6基因表达的调节具有细胞特异性。Liuzzi等<sup>[11]</sup>研究报道, 添加200 μmol/L锌对NRK细胞中ZnT6表达无影响, 而在THP1细胞中, 短时间内高锌可降低ZnT6 mRNA表达。

## 2.7 SLC30A7/ZnT7

人类ZnT7蛋白由376个氨基酸组成, 与鼠ZnT7蛋白有95%的同源性。Kirschke等<sup>[80]</sup>研究表明, ZnT7 mRNA在小鼠多种组织如肝脏、肾脏、脾脏、心脏、脑、肺及小肠中均有表达, 肝脏、小肠及脾脏中表达最高, 但其蛋白仅在小肠尤其小肠近端和肺被检测到, ZnT7蛋白在十二指肠、空肠含量高间接提示ZnT7可能在小肠锌吸收中起作用。该研究还发现, ZnT7蛋白过表达的CHO细胞, 其囊泡前核区积累大量锌, 说明ZnT7可将胞质锌转运到囊泡中。在WI-38及瞬时转染ZnT7的NRK细胞中ZnT7定位不同于ZnT2、ZnT3、ZnT4、ZnT5及ZnT6, 主要定位在囊泡中, 也说明ZnT7在将锌转运至囊泡过程中起重要作用。mRNA表达、免疫印迹、免疫荧光及免疫电镜研究发现, ZnT7参与维持脑的锌稳态代谢。另外, ZnT7的基因表达受锌水平的调节。Devergnas等<sup>[59]</sup>研究报道, 给HeLa细胞补充0~100 μmol/L不同浓度的锌, 对ZnT7 mRNA含量无影响, 而当细胞缺锌时, 可显著增加ZnT7 mRNA表达。目前, 尚未见到关于锌对ZnT7蛋白表达的报道。ZnT7敲除小鼠具有缺锌表型, 且补锌后表型无法恢复。同时, 小鼠生长受阻, 体脂肪降低, 说明ZnT7在维持锌稳态代谢及调节体组织组成成分方面起重要作用<sup>[81]</sup>。

## 2.8 SLC30A8/ZnT8

ZnT8蛋白包含369个氨基酸, 以二聚体形式定位于胰腺分泌胰岛素的β细胞囊泡膜<sup>[82]</sup>。蛋白C和N端均位于胞浆中, C端由两个α螺旋, 三个β折叠

构成, 其中前两个β折叠构成发卡结构。C端325位多态性氨基酸位于膜远侧, 充分暴露在胞浆中。ZnT8可通过囊泡膜上质子泵造成的氢离子浓度差, 每转运出2个氢离子, 同时转入1个锌离子, 使锌离子在囊泡内积聚<sup>[83]</sup>。而每六个胰岛素单体可结合两个锌离子构成六聚体储存在分泌囊泡内, 锌在胰岛素分泌过程起重要作用<sup>[84]</sup>。因此, ZnT8可通过维持β细胞囊泡和胞浆中的锌离子代谢平衡, 从而发挥其对胰岛素成熟、储存和分泌的调节作用, 最终在β细胞功能损伤及其导致的糖尿病的发生发展过程中起作用。最近的研究表明, ZnT8与I型和II型糖尿病(T1DM和T2DM)关系密切。采用基因芯片技术和放射性免疫沉淀技术分析人类和啮齿类动物胰腺组织及T1DM发病初期患者血清, 发现ZnT8是T1DM的自身抗原, 可作为诊断T1DM发生发展的指标<sup>[85]</sup>。ZnT8基因rs13266634(R325W)单核苷酸多态性与白种人T1DM易感性无关, 但与T1DM抗原抗体特异性密切相关<sup>[86]</sup>。另外, Sladek等<sup>[87]</sup>首次报道ZnT8基因rs13266634(R325W)单核苷酸多态性可能与欧美人T2DM发病风险增加有关。Nicolson等<sup>[88]</sup>以ZnT8敲除小鼠为模型, 发现ZnT8是T2DM的易感基因。五个独立的人类基因组关联研究也认为ZnT8基因多态性与T2DM相关<sup>[89,90]</sup>。ZnT8导致β细胞功能异常, 作为T1DM的自身抗原及T2DM的易感基因最终诱发T1DM和T2DM的机制有待于进一步研究。

## 2.9 SLC30A9/ZnT9

ZnT9基因最初是在人胚胎肺细胞中发现的, 其569个氨基酸序列包括一个假设的离子转运元件, 一个DNA剪切修复元件及一个核受体互作序列。尽管根据结构预测可知该蛋白包含6个跨膜结构域, 但该蛋白可能在细胞质及细胞核而不是细胞膜中所起作用更为重要。该基因为ZnT家族的新基因, 关于其结构、功能、组织分布、细胞定位及表达是否受锌调控等方面的研究在国内外还未见报道, 有待于进一步研究。

## 2.10 SLC30A10/ZnT10

根据EST序列分析结果, ZnT10在胎儿肝脏和脑中有较高表达水平, 推断ZnT10可能在胎儿发育的锌稳态代谢中起重要作用, 但目前尚未见任何研究报道。

## 3 小结与展望

锌是人和动物必需的营养素, 通过作为机体多种酶的必需组分或激活因子而广泛参与体内的一系列代谢活动, 与机体发育、骨骼生长、免疫机能、内

分泌调节、蛋白质和核酸代谢等密切相关。锌缺乏会引发机体发育迟缓、厌食、皮肤损坏、骨骼畸形、免疫力及繁殖力低下等症状,但锌离子浓度过高也会产生极大的细胞毒性。因此,为保证机体健康就必须维持机体锌代谢的稳态调节。SLC39A/ZIP和SLC30A/ZnT家族蛋白在锌稳态代谢中起重要作用,如ZnT1、ZIP4和ZIP5在小肠锌吸收中起作用,ZIP10和ZnT1参与肾脏锌重吸收的调节,ZIP5、ZnT1和ZnT2在胰腺内源锌分泌过程发挥重要作用等。另外,ZnT2和ZnT4在乳汁锌代谢,ZnT8在胰岛素分泌及糖尿病中,ZIP4在AE,ZIP6、ZIP8、ZIP10及ZIP14在炎症免疫,ZIP6、ZIP7和ZIP10在转移性乳腺癌及ZIP13在Ehlers-Danlos综合征均发挥重要作用,说明锌转运蛋白与各种疾病的发生发展存在密切关联。虽然人们对于两大家族锌转运蛋白功能等方面进行了广泛研究,但仍存在许多问题需要深入研究。如ZIP8转运镉离子,ZIP14转运非转铁蛋白结合铁的机制;锌转运蛋白基因多态性在锌代谢及疾病中的作用;铁在机体十二指肠、红细胞、肝脏及巨噬细胞的循环代谢过程研究的较为清楚,转进或转出的与铁代谢相关的基因功能均有阐述,而锌在机体各组织器官的循环代谢,其中发挥作用的锌转运蛋白,是否能形成完整的吸收、贮存、分泌、重吸收等代谢体系还有待于进一步研究。相信对各锌转运蛋白功能有透彻了解,可对某些疾病的防治提供新的思路或靶点。

### 参考文献(References)

- Prasad AS. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009; 12(6):646-52.
- Sensi SL, Paoletti P, Bush AI, Sekler I. Zinc in the physiology and pathology of the CNS. *Nat Rev Neurosci* 2009; 10(11):780-91.
- Wang F, Bian W, Kong L, Zhao F, Guo J, Jing N. Maternal zinc deficiency impairs brain nestin expression in prenatal and Post-natal Mice. *Cell Res* 2001; 11(2): 135-41.
- Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ. *Modern Nutrition in Health and Disease*, 10th ed, Lippincott Williams Wilkins, 2005, 271-85.
- Lichten LA, Cousins JA. Mammalian zinc transporters: nutritional and physiologic regulation. *Annu Rev Nutr* 2009; 29: 153-76.
- Cousins RJ, Liuzzi JP, Lichten LA. Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *J Biol Chem* 2006; 281(34): 24085-9.
- Gaither LA, Eide DJ. Functional expression of the human hZIP2 zinc transporter. *J Biol Chem* 2000; 275(8): 5560-4.
- Gaither LA, Eide DJ. The human ZIP1 transporter mediates zinc uptake in human K562 erythroleukemia cells. *J Biol Chem* 2001; 276(25): 22258-64.
- Palmiter RD, Findley SD. Cloning and functional characterization of a mammalian zinc transporter that confers resistance to zinc. *EMBO J* 1995; 14(4): 639-49.
- Gaither LA, Eide DJ. Eukaryotic zinc transporters and their regulation. *Biometals* 2001; 14(3-4): 251-70.
- Liuzzi JP, Cousins RJ. Mammalian zinc transporters. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 151-72.
- 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(3): 101-11.
- Dufner-Beattie J, Langmade SJ, Wang F, Eide D, Andrews GK. Structure, function, and regulation of a subfamily of mouse zinc transporter genes. *J Biol Chem* 2003; 278(50): 50142-50.
- Wang F, Dufner-Beattie J, Kim BE, Petris MJ, Andrews G, Eide DJ. Zinc-stimulated endocytosis controls activity of the mouse ZIP1 and ZIP3 zinc uptake transporters. *J Biol Chem* 2004; 279(23): 24631-9.
- 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(5): 239-51.
- Cao J, Bobo JA, Liuzzi JP, Cousins RJ. Effects of intracellular zinc depletion on metallothionein and ZIP2 transporter expression and apoptosis. *J Leukoc Biol* 2001; 70(4):559-66.
- Peters JL, Dufner-Beattie J, Xu W, Geiser J, Lahner B, Salt DE, et al. 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(6): 339-52.
- Kelleher SL, Lönnerdal B. Zip3 plays a major role in zinc uptake into mammary epithelial cells and is regulated by prolactin. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288(5): C1042-7.
- 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(5): R1474-81.
- 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(1): 66-73.
- Dufner-Beattie J, Wang F, Kuo YM, Gitschier J, Eide D, Andrews GK. The acrodermatitis enteropathica gene ZIP4 encodes a tissue-specific, zinc-regulated zinc transporter in mice. *J Biol Chem* 2003; 278 (35): 33474-81.
- Kim BE, Wang F, Dufner-Beattie J, Andrews GK, Eide DJ, Petris MJ. Zn<sup>2+</sup>-stimulated endocytosis of the mZIP4 zinc transporter regulates its location at the plasma membrane. *J Biol Chem* 2004; 279 (6): 4523-30.
- Kury S, Dreno B, Bezieau S, Giraudet S, Kharfi M, Kamoun R, et al. Identification of SLC39A4, a gene involved in acrodermatitis enteropathica. *Nat Genet* 2002; 31:239-40.
- 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 (47): 49082-90.
- Cragg RA, Phillips SR, Piper JM, Varma JS, Campbell FC, Mathers JC, et al. Homeostatic regulation of zinc transporters in the human small intestine by dietary zinc supplementation. *Gut* 2005; 54(4): 469-78.
- 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(12): 1301-12.
- 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(1): 129-39.
- 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(10): 6992-7000.
- Li M, Zhang Y, Liu Z, Bharadwaj U, Wang H, Wang X, 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(47): 18636-41.
- Wang F, Kim BE, Petris MJ, Eide DJ. The mammalian Zip5 protein

- is a zinc transporter that localizes to the basolateral surface of polarized cells. *J Biol Chem* 2004; 279(49): 51433-41.
- 31 Kitamura H, Morikawa H, Kamon H, Iguchi M, Hojyo S, Fukada T, *et al.* Toll-like receptor-mediated regulation of zinc homeostasis influences dendritic cell function. *Nat Immunol* 2006; 7(9): 971-7.
- 32 Taylor KM, Nicholson RI. The LZT proteins; the LIV-1 subfamily of zinc transporters. *Biochem Biophys Acta Biomembr* 2003; 1611(1-2): 16-30.
- 33 Taylor KM. A distinct role in breast cancer for two LIV-1 family zinc transporters. *Biochem Soc Trans* 2008; 36(6): 1247-51.
- 34 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(6989): 298-302.
- 35 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(15): 15456-63.
- 36 Taylor KM, Vichova P, Jordan N, Hiscox S, Hendley R, Nicholson RI. ZIP7-mediated intracellular zinc transport contributes to aberrant growth factor signaling in antihormone-resistant breast cancer cells. *Endocrinology* 2008; 149(10):4912-20.
- 37 He L, Girijashanker K, Dalton TP, Reed J, Li H, Soleimani M, *et al.* ZIP8, member of the solute-carrier-39 (SLC39) metal-transporter family: characterization of transporter properties. *Mol Pharmacol* 2006; 70(1): 171-80.
- 38 Liu Z, Li H, Soleimani M, Girijashanker K, Reed JM, He L, *et al.* Cd<sup>2+</sup> versus Zn<sup>2+</sup> uptake by the ZIP8 HCO<sub>3</sub>-dependent symporter: kinetics, electrogenicity and trafficking. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 365(4): 814-20.
- 39 Liuzzi JP, Lichten LA, Rivera S, Blanchard RK, Aydemir TB, Knutson MD, *et al.* Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(19): 6843-8.
- 40 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(2): 337-48.
- 41 Ryu MS, Lichten LA, Liuzzi JP, Cousins RJ. Zinc transporters ZnT1 (Slc30a1), Zip8 (Slc39a8), and Zip10 (Slc39a10) in mouse red blood cells are differentially regulated during erythroid development and by dietary zinc deficiency. *J Nutr* 2008; 138(11): 2076-83.
- 42 Matsuura W, Yamazaki T, Yamaguchi-Iwai Y, Masuda S, Nagao M, Andrews GK, *et al.* SLC39A9 (ZIP9) regulates zinc homeostasis in the secretory pathway: characterization of the ZIP subfamily I protein in vertebrate cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2009; 73(5): 1142-8.
- 43 Wimmer U, Wang Y, Georgiev O, Schaffner W. Two major branches of anticadmium defense in the mouse: MTF-1/metallothioneins and glutathione. *Nucleic Acids Res* 2005; 33(18): 5715-27.
- 44 Pawan K, Neeraj S, Sandeep K, Kanta Ratho R, Rajendra P. Upregulation of Slc39a10 gene expression in response to thyroid hormones in intestine and kidney. *Biochem Biophys Acta* 2007; 1769(2): 117-23.
- 45 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(5): 692-97.
- 46 Bly M. Examination of the zinc transporter gene, SLC39A12. *Schizophr Res* 2006; 81(2-3): 321-2.
- 47 Giunta C, Elciogluo NH, Albrecht B, Eich G, Chambaz C, Janecke AR, *et al.* 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(6): 1290-305.
- 48 Fukada T, Civic N, Furuichi T, Shimoda S, Mishima K, Higashiyama H, *et al.* The zinc transporter SLC39A13/ZIP13 is required for connective tissue development: its involvement in BMP/TGF-beta signaling pathways. *PLoS One* 2008; 3(11): e3642.
- 49 Girijashanker K, He L, Soleimani M, Reed JM, Li H, Liu Z, *et al.* Slc39a14 gene encodes ZIP14, a metal/bicarbonate symporter: similarities to the ZIP8 transporter. *Mol Pharmacol* 2008; 73(5): 1413-23.
- 50 Taylor KM, Morgan HE, Johnson A, Nicholson RI. Structure-function analysis of a novel member of the LIV-1 subfamily of zinc transporters, ZIP14. *FEBS Lett* 2005; 579(2): 427-32.
- 51 Tominaga K, Kagata T, Johmura Y, Hishida T, Nishizuka M, Imagawa M. SLC39A14, a LZT protein, is induced in adipogenesis and transports zinc. *FEBS J* 2005; 272(7): 1590-9.
- 52 Liuzzi JP, Aydemir F, Nam H, Knutson MD, Cousins RJ. Zip14 (Slc39a14) mediates nontransferrin-bound iron uptake into cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(37): 13612-7.
- 53 McMahon RJ, Cousins RJ. Mammalian zinc transporters. *J Nutr* 1998; 128(4): 667-70.
- 54 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(44):34803-9.
- 55 Andrews GK, Wang H, Dey SK, Palmiter RD. Mouse zinc transporter 1 gene provides an essential function during early embryonic development. *Genesis* 2004; 40(2):74-81.
- 56 Kim AH, Sheline CT, Tian M, Higashi T, McMahon RJ, Cousins RJ, *et al.* L-type Ca<sup>2+</sup> channel-mediated Zn<sup>2+</sup> toxicity and modulation by ZnT-1 in PC12 cells. *Brain Res* 2000; 886(1-2): 99-107.
- 57 McMahon RJ, Cousins RJ. Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(9): 4841-6.
- 58 Liuzzi JP, Blanchard RK, Cousins RJ. Differential regulation of zinc transporter1, 2, and 4 mRNA expression by dietary zinc in rats. *J Nutr* 2001; 131(1): 46-52.
- 59 Devergnas S, Chimienti F, Naud N, Pennequin A, Coquerel Y, Chantegrel J, *et al.* Differential regulation of zinc efflux transporters ZnT-1, ZnT-5 and ZnT-7 gene expression by zinc levels: a real-time RT-PCR study. *Biochem Pharmacol* 2004; 68(4): 699-709.
- 60 Liuzzi JP, Bobo JA, Cui L, McMahon RJ, Cousins RJ. Zinc transporters 1, 2 and 4 are differentially expressed and localized in rats during pregnancy and lactation. *J Nutr* 2003; 133: (2)342-51.
- 61 Palmiter RD, Cole TB, Findley SB. ZnT-2, a mammalian protein that confers resistance to zinc by facilitating vesicular sequestration. *EMBO J* 1996; 15(8): 1784-91.
- 62 Guo L, Lichten LA, Ryu MS, Liuzzi JP, Wang F, Cousins RJ. STAT5-glucocorticoid receptor interaction and MTF-1 regulate the expression of ZnT2 (Slc30a2) in pancreatic acinar cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(7): 2818-23.
- 63 Kelleher SL, Lönnnerdal B. Zinc transporters in the rat mammary gland respond to marginal zinc and vitaminA intakes during lactation. *J Nutr* 2002; 132(11): 3280-5.
- 64 Chowanadisai W, Lönnnerdal 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(51): 39699-707.
- 65 Liuzzi JP, Bobo JA, Lichten LA, Samuelson DA, Cousins RJ. Responsive transporter genes within the murine intestinal-pancreatic axis form a basis of zinc homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(40): 14355-60.
- 66 Adlard PA, Parncutt JM, Finkelstein DI, Bush AL. 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(5): 1631-6.
- 67 Beyer N, Coulson DT, Heggarty S, Ravid R, Irvine GB, Hellemans J, *et al.* ZnT3 mRNA levels are reduced in Alzheimer's disease post-mortem brain. *Mol Neurodegener* 2009; 4: 53.
- 68 Zheng W, Wang T, Yu D, Feng WY, Nie YX, Stoltenberg M, *et al.* Elevation of zinc transporter ZnT3 protein in the cerebellar cortex of the AbetaPP/PS1 transgenic mouse. *J Alzheimers Dis* 2010; 20(1): 323-31.
- 69 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 USA* 1999; 96(4): 1716-21.
- 70 Smidt K, Jessen N, Petersen AB, Larsen A, Magnusson N, Jeppesen JB, *et al.* SLC30A3 responds to glucose- and zinc variations in beta-cells and is critical for insulin production and *in vivo* glucose-metabolism during beta-cell stress. *PLoS One* 2009; 4(5): e5684.
- 71 Huang L, Gitschier J. A novel gene involved in zinc transport is

- deficient in the lethal milk mouse. *Nat Genet* 1997; 17(3): 292-7.
- 72 Murgia C, Vespignani I, Cerase J, Nobili F, Perozzi G. Cloning, expression and vesicular localization of zinc transporter Dri27/ZnT4 in intestinal tissue and cells. *Am J Physiol* 1999; 277(6 Pt 1): G1231-9.
- 73 Cragg RA, Christie GR, Phillips SR. A novel zinc-regulated human zinc transporter SLC30A5, is localized to the enterocyte apical membrane. *J Biol Chem* 2002; 277: 22789-97.
- 74 Kambe T, Narita H, Yamaguchi-Iwai Y. Cloning and characterization of a novel mammalian zinc transporter, zinc transporter 5, abundantly expressed in pancreatic beta cells. *J Biol Chem* 2002; 277(21): 19049-55.
- 75 Phillips SR, Russi RM, Cragg RA. The effect of zinc on expression in human intestinal and placental cell lines of zinc transporter mRNA. *Proc Nutr Soc* 2002; 61: 46A.
- 76 Helston RM, Phillips SR, McKay JA, Jackson KA, Mathers JC, Ford D. Zinc transporters in the mouse placenta show a coordinated regulatory response to changes in dietary zinc intake. *Placenta* 2006; 28(5-6): 437-44.
- 77 Jackson KA, Helston RM, McKay JA, O'Neill ED, Mathers JC, Ford D. Splice variants of the human zinc transporter ZnT5 (SLC30A5) are differentially localized and regulated by zinc through transcription and mRNA stability. *J Biol Chem* 2007; 282(14): 10423-31.
- 78 Suzuki T, Ishihara K, Migaki H, Ishihara K, Nagao M, Yamaguchi-Iwai Y. 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(35): 30956-62.
- 79 Huang L, Kirschke CP, Gitschier J. Functional characterization of a novel mammalian zinc transporter, ZnT6. *J Biol Chem* 2002; 277(29): 26389-95.
- 80 Kirschke CP, Huang L. ZnT7, a novel mammalian zinc transporter, accumulates zinc in the Golgi apparatus. *J Biol Chem* 2003; 278(6): 4096-102.
- 81 Huang L, Yu YY, Kirschke CP, Gertz ER, Lloyd KK. ZnT7 (Slc30a7)-deficient mice display reduced body zinc status and body fat accumulation. *J Biol Chem* 2007; 282(51): 37053-63.
- 82 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(9): 2330-7.
- 83 Janet M, Wenzlau, John C. New antigenic targets in type 1 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008; 15(4): 315-20.
- 84 Emdin SO, Dodson GG, Cutfield JM, Cutfield SM. Role of zinc in insulin biosynthesis: some possible zinc-insulin interactions in the pancreatic B-cell. *Diabetologia* 1980; 19(3): 174-82.
- 85 Wenzlau JM, Liu Y, Yu L, Moua O, Fowler KT, Rangasamy S, *et al.* A common nonsynonymous single nucleotide polymorphism in the SLC30A8 gene determines ZnT8 autoantibody specificity in type 1 diabetes. *Diabetes* 2008; 57(10): 2693-7.
- 86 Dimitry A, Chistiakov, Natalia V. Zn-transporter-8: a dual role in diabetes. *Biofactors* 2009; 35(4): 356-63.
- 87 Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, *et al.* A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* 2007; 445(7130): 828-30.
- 88 Nicolson TJ, Bellomo EA, Wijesekara N, Loder MK, Baldwin JM, Gyulkhandanyan AV, *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* 2009; 58(9): 2070-83.
- 89 Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, Willer CJ, Li Y, Duren WL, *et al.* A genome-wide association study of type 2 diabetes in finns detects multiple susceptibility variants. *Science* 2007; 316(5829): 1341-5.
- 90 Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, Frayling TM, Elliott KS, Lango H, *et al.* Replication of genome-wide association signals in U.K. samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science* 2007; 316(5829): 1336-41.

## Zinc Transporters: Critical Regulators of Zinc Homeostasis

Yu Yu, Fu-Di Wang\*

(Institute for Nutritional Sciences, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

**Abstract** Zinc, as a catalytic and structural cofactor for many enzymes and proteins, plays important roles in development, brain function, bone health, fertility and immunity. Beneficial therapeutic effects of zinc supplementation has been observed in children's diarrhea, chronic hepatitis C, acute lower respiratory tract infection, common cold, and many others. However, excessive zinc is potentially toxic. Indeed zinc deficiency or excessive has been linked to multiple diseases including cancer, diabetes and stroke. Therefore, maintenance of zinc homeostasis is critical for every aspect of cell physiology. In last decade, much progress has been made to uncover how organisms maintain zinc homeostasis, especially the discovery of two zinc transporter families SLC39A/ZIP and SLC30A/ZnT. It is still poorly understood how to maintain zinc homeostasis given the complexity of the process. In this review, we will focus on functions and molecular mechanisms of these two critical zinc transporter families in regulation of cellular zinc homeostasis.

**Key words** zinc; zinc transporters; SLC39A/ZIP; SLC30A/ZnT; homeostasis

This work was supported by the Chinese Academy of Sciences Hundred Project (No.KSCX2-YW-R-141), the National Natural Science Foundation of China (No.30901193, No.10979071, No.30970665) and National Key Basic Research Program (No.2009CB941400)

\*Corresponding author. Tel: 86-21-54920949, Fax: 86-21-54920291, E-mail: wangfd@sibs.ac.cn