

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

| | |
|------------|-----------------------------------|
| 研究課題名 | 細胞内 Mg^{2+} 制御の分子実体解明とがん悪性化シグナル |
| 研究機関・部局・職名 | 大阪大学・微生物病研究所・教授 |
| 氏名 | 三木 裕明 |

【研究目的】

Mg^{2+} は細胞内で K^+ に次いで量の多い陽イオンとして知られていながら、その濃度調節の仕組みはほとんど分かっていない。細胞内に Mg^{2+} を取り込むためのチャネル蛋白質などが知られている一方で、細胞膜電位による内向きの駆動力に逆らって能動的に Mg^{2+} を排出し、細胞内 Mg^{2+} 量を適切に維持する膜輸送体蛋白質の存在が想定されてきた。しかし、その分子実体は長らく不明のまま留まっていた。

補助事業者は、転移性がん細胞で特異的に高発現し転移に重要な分子 PRL の新規結合分子として膜蛋白質 MagEx を見つけた。この MagEx の分子機能を培養細胞を用いて解析したところ、MagEx が Na^+ 流入に共役させて Mg^{2+} を能動的に細胞外に排出し、またその機能が PRL の結合によって抑制される可能性を示唆する実験結果を得た。さらに MagEx の過剰発現によって、がん悪性化に重要な mTOR シグナル伝達系が抑制されることも見つけた。つまり、PRL は細胞内の Mg^{2+} 量を調節することで、がんの悪性化を引き起こしているのではないかという興味深い可能性が示唆された。さらに、マウスで MagEx の分布を調べたところ、腸絨毛を構成する上皮細胞の基底側に多く存在していた。腸管における Mg^{2+} 吸収において、腸上皮細胞が腸管内に面する頂端側から Mg^{2+} を取り込み、それを基底側から能動的に体腔内部へ送り出すことが知られている。MagEx はこの後者のプロセスに関連し、個々の細胞レベルだけでなく、個体レベルでの Mg^{2+} 制御にも関与している可能性が示唆された。

本研究ではこれらの予備的検討の成果に立脚して、下記の4つの研究課題に取り組む。

課題1：MagExによる Mg^{2+} 排出と PRLによる阻害の分子機構の解析

課題2：細胞内 Mg^{2+} が mTOR など細胞内シグナル伝達系に影響する分子機構の解析

課題3：PRL 高発現細胞が生体内で転移巣を形成する分子機構の解析

課題4：腸管での Mg^{2+} 吸収における MagEx の役割の解析

課題1では、MagEx が Mg^{2+} 排出を行う分子実体であることを示し、さらに PRL がどのような仕組みでそれを阻害しているのかについて、分子レベルで明らかにする。課題2では、がん悪性化に寄与すると考えられる mTOR シグナル伝達と Mg^{2+} の機能的関連について、その具体的な分子連関を明らかにする。課題3では、PRL の高発現がどのようにしてがん細胞の転移・悪性化を引き起こす原因となるのかについて、mTOR シグナル伝達との関わりなども含めて明らかにする。課題4では、個体レベルで重要な Mg^{2+} 制御の一つとして、腸管での Mg^{2+} 吸収における MagEx の役割をモデル生物での遺

伝学的解析により明らかにする。

これら4つの研究課題に取り組むことで、これまで未解明だった Mg^{2+} 制御の基本的な仕組みの理解、および、その異常に起因する疾患の原因を明らかにすることが本研究の目的である。

【総合評価】

| | |
|---|----------------|
| | 特に優れた成果が得られている |
| ○ | 優れた成果が得られている |
| | 一定の成果が得られている |
| | 十分な成果が得られていない |

【所見】

① 総合所見

これまで不明のまま残されていた細胞内 Mg^{2+} 量制御メカニズムを、MagEx 機能解析を通して解明すること、また、MagEx/PRL を足がかりとして分子から個体レベルまでの研究を展開しようとするものである。課題1では、MagEx が、 Mg^{2+} を細胞内から細胞外へと排出する、膜輸送タンパク質であることを、MagEx 発現細胞を用いた電気生理解析によって示し、課題2では、MagEx 活性上昇により細胞内 Mg^{2+} が低下することが、Akt/PI3K 活性の低下、そして mTOR の活性低下につながることを見出した。課題3では、PRL を外来性に過剰発現、或いは内在性 MagEx をノックダウンした B16メラノーマ細胞株を用いて、MagEx は転移に対して抑制的に、PRL は促進的に作用することを示した。また、大腸がんを自然発症する Apc 変異マウスと MagEx 欠損マウスとの交配によって腸ポリープの悪性化に MagEx が重要であることを明らかにした。さらに課題4では、MagEx 遺伝子を欠損するマウス系統の樹立に成功し、そのマウスにおいては、腸管からの Mg^{2+} 吸収が著しく低下しているとの、予想どおりの結果が得られた。また、マウスの歯のエナメル質形成に MagEx が関与しているという結果を得た。2013年以降、本プログラムの成果による論文が PLoS Genet や J Clin Invest に発表されており、研究は順調に進展したと判断できる。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

細胞内 Mg^{2+} 濃度調節機構研究を行い、自らが発見した MagEx が Mg^{2+} 細胞外排出に必要な鍵因子であることを明らかにした。MagEx 機能について、分子レベルの Mg^{2+} 輸送メカニズム解析、細胞レベルの細胞内シグナル伝達への作用機序解析、個体レベルでのがん悪性化・腸での Mg^{2+} 吸収過程の解析を平行して行い、いずれも一定の成果を出している。課題1「人工膜での Mg^{2+} 輸送再構成実験」に関しては、 Mg^{2+} 輸送における Mg^{2+} 認識の分子機序を明らかにしつつあると思われ、また課題3「自然発がんモデルを用いた実験」では、大腸がんを自然発症する Apc 変異マウスと MagEx 欠損マウスと

の交配・観察によって腸ポリープの悪性化に MagEx が重要であることを明らかにした。全体として、課題 1～4 に関して、ほぼ当初の目標は達成できているものと考えられる。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

もともと細胞内には多量に存在する Mg^{2+} がその微妙な濃度差を利用して細胞内のシグナル伝達を作動させること、また、 Mg^{2+} がそのシグナル伝達を介して細胞内エネルギー状態を制御すること、などを本事業の成果を通して示したことは特筆すべきである。もう 1 つの特筆すべき成果は、MagEx ファミリー遺伝子のヘテロ欠損マウスを用いて得られた、腎臓・尿細管上皮における Mg^{2+} 再吸収である。血圧調節に関与するかもしれないとの予備的結果は、もしそれが十分に検証されれば、関連の医学分野において極めて大きな影響があると予想する。腎臓・尿細管上皮での役割に加えて、マウスの歯のエナメル質形成における MagEx の役割の発見は当初は予想しなかったものであり、今後の発展が期待される。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

基礎的な方面では、シグナル伝達の領域。医科学の方面では、がん、高血圧・腎臓疾患、歯の形成の領域で、インパクトを与え得る。日常臨床のルーチン検査項目の 1 つに、血清 Mg 値があるのだが、本項目が何を意味するのか、科学的な裏付け・基礎からの理解が不十分なまま、検査が行われてきたのが実情である。本研究課題の成果が英文原著論文として公表されつつあり、啓発的意義は大きい。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

研究計画は予定どおり進んだと思われる。人工膜を用いた分子機能解析、線虫変異体解析など一部遅れが見られた研究もあったが、時間的制約のもとに成果を期待されるプロジェクト型研究として一定の成果を得たと思われる。論文発表は遅れている感があったが、2013 年以降、本プログラムの成果による論文が PLoS Genet や J Clin Invest に発表されたことから、研究は概ね順調に進展したと判断できる。