

平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究
研究課題		がん幹細胞特異的代謝フラックスの解明
研究代表者	所属・職名・氏名	大阪大学・教授・清水浩
研究分担者	所属・職名・氏名	大阪大学・准教授・松田史生
	所属・職名・氏名	大阪大学・博士後期課程学生・岡橋伸幸
受入担当教員	職名・氏名	教授・高橋智聡
【研究目的】	<p>診断・治療技術が格段に進歩した今日においてもがん死が減少しないのは、がんの再発・転移や薬剤抵抗性の制御が十分に実現されていないためである。最近、このようながん悪性形質の獲得機序とがん細胞が獲得し得る「未分化性」、すなわち、がん幹細胞の関連が注目されている。本研究では、培養細胞に適用可能な ^{13}C 代謝フラックス解析法を開発し、がん細胞において、解糖系、TCA 回路、ペントースリン酸(PPP)経路、グルタミン経路などの中心炭素代謝の動態を明らかにし、がん細胞の代謝経路の流れが様々なコンテキストにおいてどのように変化するかを解明することを目的とした。</p>	
【研究内容・成果】	<p>平成 26 年度は、従来、微生物培養の代謝フラックス解析に適用されてきた手法を培養細胞に展開するために解析系のフィッティングを行った。</p> <p>マウスの解糖経路、ペントースリン酸経路、TCA サイクル、グルタミン代謝経路を含む炭素中心代謝において、化学反応の原子マッピングや量論に関する情報を収集し、^{13}C 標識濃縮度から代謝フラックスを定量的に解析することを可能とする代謝モデルを構築した。また、^{13}C 標識グルコースやグルタミンを細胞に取り込ませた後、細胞代謝をクエンチして代謝物質を抽出する方法、各代謝物質の濃度プロファイルおよび、^{13}C 標識濃縮度を GC-MS、LC-MS/MS で測定する方法などを細胞培養に適用するための検討を行った。培地中からのグルコース、グルタミンをはじめとするアミノ酸の取り込みおよび排出、乳酸の排出などを観測する方法も確立した。モデル構築と代謝解析には我々が独自に開発したソフトウェア OpenMebius を用いた。</p> <p>高橋らが作成した <i>p53</i> ノックアウトマウス軟部腫瘍由来細胞株細胞の代謝フラックスを解析するために上記の方法の適用可能性を検証し、解析可能であることが確認された。</p> <p>^{13}C 標識グルコースや ^{13}C 標識グルタミンを用いた培養結果から、炭素中心代謝のフラックスを解析し、代謝物中の ^{13}C 標識濃縮度および OpenMebius によるシミュレーション結果より、取り込まれたグルコースの大部分が乳酸へ流れていることが明らかとなり、また、グルタミンの還元的代謝の存在が強く示唆された。</p>	
【成果等】	<p>【主な論文発表】</p> <p>S. Kajihata, C. Furusawa, F. Matsuda, H. Shimizu, OpenMebius: An open source software for isotopically nonstationary ^{13}C-based metabolic flux analysis, <i>BioMed Research International</i>, Article Number 627014 (2014)</p>	
	<p>【学会発表】</p> <p>松田史生、岡橋伸幸、梶嶋秀一、清水 浩、^{13}C 代謝フラックス解析ソフトウェア OpenMebius の開発、第 2 回がん代謝研究会、東京理科大学（東京）、7 月 10 日-11 日(2014) (ポスター賞銅賞受賞)</p> <p>他、国内学会 4 件、国際学会 1 件の発表を行った。</p>	
	<p>【その他特筆事項】</p> <p>なし</p>	