

Title	In vitroモデル細胞を用いた代謝フラックス変化とがん細胞の増殖や生存との関係に関する研究
Author(s)	野口, 真悟
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/82298
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (野口真悟)

論文題名

*In vitro*モデル細胞を用いた代謝フラックス変化とがん細胞の増殖や生存との関係に関する研究

論文内容の要旨

がんは遺伝子変異を原因とし、生体内で腫瘍微小環境を形成して進行すると考えられている。代謝は細胞増殖や細胞生存にとって必須の細胞内プロセスであるため、がん細胞に特徴的な代謝を標的としたがん治療は有望な戦略になると考えられる。がん細胞において亢進あるいは抑制される代謝経路を明らかにすることができ、細胞の増殖や生存との関係を検証することができれば、治療標的代謝反応の選定が可能になると期待される。¹³C代謝フラックス解析は *in silico*代謝モデルと¹³C標識実験データを用いて代謝フラックスを算出する技術であり、細胞内代謝の定量的評価が可能となる。そのため、がん細胞での特徴的な代謝状態の理解に有用な技術であると期待されるが、¹³C代謝フラックス解析のがん創薬研究への適用事例は少ない。そこで本研究では、がん創薬研究における¹³C代謝フラックス解析法の適用可能性を検討することを目的とした。方策として、*in vitro*モデル細胞を用いて遺伝子変異や腫瘍微小環境形成による代謝フラックス変化を明らかにし、細胞の増殖や生存との関係の推察および検証を実施した。本学位論文は以下の4章で構成される。1章では研究の背景および目的を述べた。2章では、がんの発症と関連が報告されているfumarase (FH) 遺伝子変異に着目し、FH酵素活性低下細胞株を構築して、¹³C代謝フラックス解析を適用した。FH活性低下により、TCAサイクルフラックスの減少、glutamate由来のproline合成の減少およびarginine由来のproline合成の増加を同定した。さらにFH活性低下によるTCAサイクルフラックスの減少により、細胞内エネルギー産生における解糖系依存性の増加を明らかにし、oligomycin感受性が低下することを示した。3章では、がんの進展に寄与する低酸素腫瘍微小環境に着目し、3次元培養下での大腸がん由来細胞株HCT116細胞に¹³C代謝フラックス解析を適用した。3次元培養では、pyruvate carboxylaseフラックスの増加やglutamine代謝フラックスの減少といった、通常酸素および低酸素下での2次元培養とは異なる代謝状態を有することを明らかにした。さらに、得られた代謝フラックス変化より、3次元培養下でのglutamine代謝への依存性の低下が推察され、glutaminase阻害剤の感受性が低下することを示した。4章では本研究で得られたがん創薬研究の進展に寄与する知見をまとめ、今後のがん創薬研究における¹³C代謝フラックス解析技術の適用に関する展望を述べた。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (野口真悟)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授 清水 浩
	副 査	教授 松田 秀雄
	副 査	教授 松田 史生
	副 査	准教授 岡橋 伸幸
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>がんは、遺伝子の変異によって引き起こされ、生体内で腫瘍微小環境を形成して進行すると考えられている。細胞は、代謝反応を利用して生命活動を営んでおり、細胞増殖や細胞生存にとって必須のプロセスである。そのため、がん細胞に特徴的な代謝が見いだされれば、その代謝を標的としたがん治療は有望な戦略になると考えられる。^{13}C代謝フラックス解析は、^{13}C同位体標識実験のデータと <i>in silico</i>代謝モデルを用いて代謝反応の大きさ（フラックス）を推定する技術であり、細胞内代謝の活性化状態の定量的評価が可能となると期待される。</p> <p>本研究は、がん創薬研究の発展に向けて、^{13}C代謝フラックス解析法の適用可能性を検討することを目的としている。<i>In vitro</i>実験系において、モデル細胞を用いて遺伝子変異や腫瘍微小環境形成による代謝フラックス変化を明らかにし、細胞の増殖や生存との関係の推察および検証を実施している。</p> <p>本学位論文は以下の4章で構成されている。</p> <p>1章は、研究の背景および目的を述べ、^{13}C代謝フラックス解析法のがん創薬研究における意義と本論文の目的、構成について述べている。</p> <p>2章は、がんの発症と関連が報告されているフマラーゼ遺伝子の変異と代謝の関わりに注目している。フマラーゼ酵素活性低下を引き起こす細胞株を構築して、^{13}C代謝フラックス解析を適用している。フマラーゼ酵素活性低下により、TCAサイクルのフラックスの減少、グルタミン酸由来のプロリン合成の減少およびアルギニン由来のプロリン合成の増加を同定している。さらに、TCAサイクルフラックスの減少にともなって、細胞内エネルギー産生における解糖系依存性の増加を明らかにし、細胞のオリゴマイシン感受性が低下することを示している。</p> <p>3章では、がんの進展に寄与する低酸素腫瘍微小環境に着目し、3次元培養下での大腸がん由来細胞株に^{13}C代謝フラックス解析を適用している。3次元培養では、ピルビン酸カルボキシラーゼ反応のフラックスの増加やグルタミン代謝フラックスの減少といった通常酸素および低酸素下での2次元培養とは異なる代謝状態を有することを明らかにしている。さらに、得られた代謝フラックス変化より3次元培養下でのグルタミン代謝への依存性の低下を推察し、グルタミンナーゼ阻害剤の感受性が低下することを示している。</p> <p>4章では、本研究で得られたがん創薬研究の進展に寄与する知見をまとめ、今後のがん創薬研究における^{13}C代謝フラックス解析技術の適用に関する展望を述べている。</p> <p>以上のように、本研究では、がん創薬開発に向けて^{13}C代謝フラックス解析法は、遺伝子の変異や微小環境形成における細胞の代謝状態を捉える方法として適用可能であり、代謝フラックス変化と細胞増殖や生存との関係について明らかにしており、工学的、情報科学的に価値ある成果が得られている。よって、本論文は、博士（情報科学）の学位論文として価値あるものと認める。</p>		