



平成 29 年 9 月 6 日

報道機関 各位

東北大学大学院歯学研究科

がん細胞の代謝をリアルタイムに測定できる手法を確立

- がん代謝研究の新展開に期待 -

【発表のポイント】

がん細胞は特徴的な代謝機構を持ち、その代謝活性により、がん細胞の悪性化や異常増殖がもたらされることが示唆されています。今回、その代謝をリアルタイムに測定できる新手法を確立しました。

【概要】

東北大学大学院歯学研究科口腔生化学分野の高橋信博教授、鷺尾純平講師および同研究科顎顔面口腔外科学分野の森島浩允歯科医師らの研究グループは、がん細胞の代謝活性を測定する新たな手法を確立し、環境因子の変動などによる代謝の変化をリアルタイムにモニターする手法の確立に成功しました。

がん細胞は、がん細胞に特徴的な代謝を持ち、グルコースから酸を産生し、がん組織の周辺環境を酸性にすることが知られています。しかしこれまで、がん細胞の代謝をリアルタイムにモニターする方法は確立されておらず、また、がん細胞代謝に対する環境 pH の影響については不明な点が多くありました。今回、口腔扁平上皮癌細胞を用いてグルコースなどの代謝に伴い、産生された酸を継時的に測定することで、その代謝活性をリアルタイムにモニターできるシステムの構築に成功しました。また、本手法を用いて、環境 pH の変動に伴い、本細胞の代謝活性が変化することも明らかにしました。

本手法は、がん細胞はもちろんのこと種々の細胞の代謝研究に応用しうるとともに、抗がん剤の評価にも応用することが可能であり、新規抗がん剤の開発や、より効果的な抗がん剤の使用法の確立などに寄与することが期待されます。

本研究成果は、平成 29 年 8 月 30 日付で *Scientific Reports* 誌に掲載されました。

【研究の背景】

がん細胞の特徴である無限の増殖能を支えるエネルギーは、がん細胞の代謝に由来しており、がん細胞の代謝を解明することは、がんを理解する重要な方法と考えられています。これまでの研究から、がん細胞には、特徴的な代謝が存在することが報告されており、好気条件下でも解糖が亢進し乳酸が産生する「ワールブルグ効果」や、アミノ酸、特にグルタミン代謝が亢進する「グルタミノリシス」という現象が明らかになっています。このような特異的代謝は、広くがん細胞に共有されており、口腔扁平上皮癌においても同様の代謝が生じていることが我々のこれまでの研究から示されています。

(これまでの状況)

がん細胞は特徴的な代謝を持つ

- ✓ ワールブルグ効果
(解糖亢進による乳酸産生)
- ✓ グルタミノリシス
(グルタミン代謝の亢進)



リアルタイムに細胞代謝を
モニターする方法がない

さらに、これらの特異的代謝の結果、最終代謝産物である乳酸などの酸の蓄積により、がん組織を取り巻く pH 環境が正常組織とは異なり、酸性に傾いていることが示唆されています。環境因子とがん細胞との関係は、多くの研究者に着目されており、酸性環境や低酸素などの環境因子が、**hypoxia-inducible Factor-1** を介して解糖系に関連する遺伝子の発現に関わることなどが明らかになっています。また、酸性環境によりマウスにおけるがんの転移が増加することや、高い乳酸値を示すヒト頭頸部癌においては転移の割合が増加することも報告されていますが、このような環境因子の変化により、実際にがん細胞の代謝活性がどのような影響を受けるのか、その詳細は明らかになっていません。

細胞の代謝活性の評価は、これまで主に、代謝関連酵素の発現の検討、細胞の増殖能および増殖過程における代謝産物の増減の検討などから行われてきました。しかし、遺伝子や代謝酵素の発現から実際の代謝の様相を知ることは難しく、また、増殖過程における代謝産物量は、増殖に伴う細胞数の増加の影響を受け、かつ、長時間にわたる変化の蓄積であるため、急速で短時間の化学反応の連続である代謝活性の詳細を知ることはできませんでした。より直接的な生物活性としての代謝活性をリアルタイムでモニタリングすることは、がん細胞の持つ様々なメカニズムの解明に極めて重要であるにもかかわらず、未踏未達の課題でした。

そこで本研究では、がん細胞の代表的な代謝基質であるグルコース、グルタミン、グルタミン酸の代謝活性を、リアルタイムにモニタリングするシステムを構築し、さらに環境 pH による代謝活性への影響の評価を試みました。

【方法】

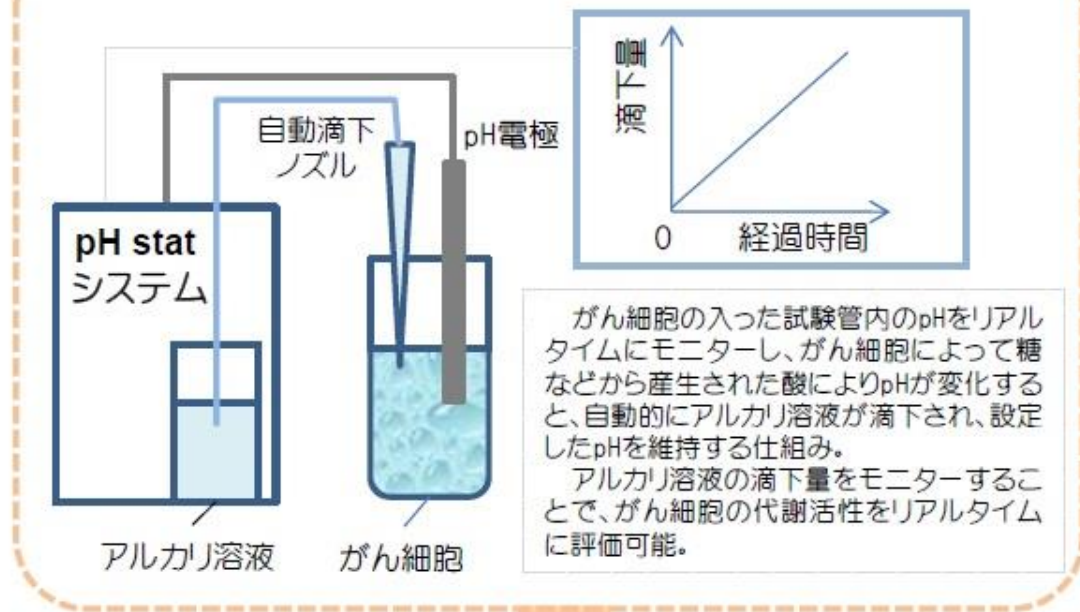
本研究では、口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-2 (RCB1945) および HSC-3 (RCB1975) と、正常細胞株としてヒト表皮角化細胞株である HaCaT を使用しました。通法に従って培養した各細胞は、対数増殖期に回収し、 1.0×10^6 cells/ml となるように生理食塩水で再懸濁したものを実験に供与しました。

細胞懸濁液に代謝基質（グルコース、グルタミン、グルタミン酸）を添加した後、pH stat システムを用いて各条件下での代謝活性（酸産生活性）をモニターしました。pH stat システムは、細胞による酸産生に伴い pH が低下しようとする反応液中に、自動的にアルカリ溶液を注入し、設定した pH に維持しようとする機器であり、アルカリ溶液の注入量をモニターすることで細胞の酸産生量の継時的測定、すなわち酸産生活性のモニターが可能となります。本研究では、pH を 6.5、7.0、7.5、8.0 の 4 種類に設定することで、各環境 pH での代謝活性をモニターしました。また、グルタミンおよびグルタミン酸については、代謝に伴うアンモニア産生の測定も合わせて行いました。

【結果】

口腔扁平上皮癌細胞および正常細胞の全ての細胞がグルコース、グルタミン、グルタミン酸を代謝基質として利用し酸を産生していること、そして酸の産生を pH stat システムで測定することで、代謝活性をリアルタイムにモニターできることが明らかになりました。3 種の基質の中では、全ての細胞においてグルコースからの酸産生活性が最も高く、pH 低下に伴い酸産生活性の低下がみられました。さらに、いずれの細胞もグルタミンからアンモニアの産生が確認されました。

新たなリアルタイム代謝測定法



様々な代謝基質、環境、薬剤共存での代謝をリアルタイムで測定することが可能

がん代謝研究への新しい視点
がん治療への新しい視点

【考察・結論・研究の意義】

本研究によって、pH stat を用いたがん細胞の代謝活性のリアルタイム測定法を確立しました。また、本手法は、一般の細胞代謝研究にも応用できる上、環境 pH を自在に一定に保持できることから、代謝に対する pH の影響の検討にも応用可能です。

本研究で確立した手法は、がん細胞代謝研究とともに、細胞代謝研究に新しい視点を与えることのみならず、がん治療の発展に寄与する可能性を持ちます。これまでがん細胞の代謝酵素を標的とした多くの阻害薬が抗がん剤として研究されてきましたが、その効果は増殖能などで評価することが多くありました。本研究で確立したシステムによって、薬剤の持つ代謝抑制能を直接的に評価しうるものと考えられ、新規薬剤の開発や、既存の抗がん剤のより効果的な使用方法の確立など、がん治療の発展にも寄与することが期待されます。

【論文題目】

Title : Real-time monitoring system for evaluating the acid-producing activity of oral squamous cell carcinoma cells at different environmental pH

Authors : Hiromitsu Morishima, Jumpei Washio, Jun Kitamura, Yuta Shinohara, Tetsu Takahashi, Nobuhiro Takahashi

Scientific Reports

Aug 30, 2017

<http://www.nature.com/articles/s41598-017-10893-y>

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院歯学研究科

口腔生化学分野

教授 高橋 信博 (たかはし のぶひろ)

講師 鷺尾 純平 (わしお じゅんぺい)

電話 : 022-717-8294 / 8295

E-mail : OEB@dent.tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学大学院歯学研究科

総務係 堀田 さつき (ほりた さつき)

電話 : 022-717-8244

E-mail : den-syom@grp.tohoku.ac.jp