

Title	局所エネルギー代謝による微小管の時空間的修飾を介した化学治療抵抗性獲得機構の解明
Sub Title	Analyses of temporal and spatial regulation of energy metabolism in cellular microenvironment through the post-translational modification.
Author	山本, 雄広(Yamamoto, Takehiro)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>質量分析技術の隆盛により, 代謝物測定技術が発達し, 生体内の代謝特性を容易に把握することが可能になった。核内におけるメチル基ドナーやアセチル基ドナーに代表されるように細胞局所での微小環境の重要性が認識され始めたが, 現状では細胞内の代謝物分布を捉える事は難しく, どのように制御されるかという包括的な研究はなされてこなかった。本研究では, 解糖系酵素と微小管との相互作用という現象に着目し, 細胞局所におけるエネルギー代謝が及ぼす微小管ダイナミクスの変化ががん細胞の化学治療抵抗性獲得のメカニズムを明らかにすることを旨とする。</p> <p>研究計画1年目の本年度は, 主に解析ツールの作製に時間を割いた。微小管重合阻害剤であるパクリタキセル耐性株をin vivoにて作成するため以下の系を構築した。乳がん細胞株MDA-MB-231細胞をヌードマウスに接種し, 腫瘍の成長後にパクリタキセルを複数回投与, 一定期間後に腫瘍を摘出, 細胞を単離した。この操作を3回繰り返し, その都度投与するパクリタキセル濃度を上げることで, 耐性株を複数種樹立した。得られた耐性株と非耐性株を比較したところ, 耐性株では微小管の修飾動態が大きく異なる上に, 以前我々が報告した解糖系酵素のメチル化修飾が亢進していることが明らかになった。</p> <p>次に我々は, 解糖系酵素と微小管との相互作用をモニタリング可能にした発現ベクターの設計・構築を行なった。担体や蛍光プローブとの共有結合が可能なツールであるHaloタグをチューブリンのアミノ末端に連結することで, 微小管と解糖系酵素のアフィニティの変化およびその可視化を可能にした発現ベクターを作成した。次年度は今年度構築したツールを活用し, 修飾操作による細胞骨格ダイナミクス制御の検証実験を行ない, 人為的に局所でのエネルギー代謝を操作することを予定している。</p> <p>Advances in metabolomics technology allowed us to understand the characteristics in many types of organs and cells. Nowadays, it has been recognized that local metabolism in the nucleus affects gene regulation through posttranslational modification (PTM) of transcriptional factors. However, we haven't obtained the methodology to survey the spatial information for cellular metabolism in microenvironment yet. In this study, We focused the interactions between glycolytic enzymes and cytoskeleton to migrate for metastasis in cancer cells. The aim of this study is to be elucidated the mechanism which local energy metabolism affects the dynamics of cytoskeleton for the migration. We spent time to make several tools for the progression of this study in this academic year. Firstly, we established Paclitaxel-resistant cells in vivo. Paclitaxel is one of several cytoskeletal drugs that target tubulin and used as an anti-cancer drug against many types of cancer. We injected MDA-MB231 breast cancer cells into nude mice. After transplantation, we administrated the drug intraperitoneally three a week for a month. By repeating this step 3 times, we obtained several paclitaxel-resistant cell line. Our preliminary observation showed that modification levels of glycolytic enzymes in resistant cells were higher than control cells.</p> <p>Next, we designed and constructed dual expression vector for each of tubulin subunits (alpha and beta), which is easy to manipulate the protein tags. This tools allow us to analyze the spatial patterns and affinity between glycolytic enzymes and cytoskeleton in next year.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170280

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部基礎教室	職名	専任講師	補助額	500（特B）千円
	氏名	山本 雄広	氏名（英語）	Takehiro Yamamoto		
研究課題（日本語）						
局所エネルギー代謝による微小管の時空間的修飾を介した化学治療抵抗性獲得機構の解明						
研究課題（英訳）						
Analyses of temporal and spatial regulation of energy metabolism in cellular microenvironment through the post-translational modification.						
1. 研究成果実績の概要						
<p>質量分析技術の隆盛により、代謝物測定技術が発達し、生体内の代謝特性を容易に把握することが可能になった。核内におけるメチル基ドナーやアセチル基ドナーに代表されるように細胞局所での微小環境の重要性が認識され始めたが、現状では細胞内の代謝物分布を捉える事は難しく、どのように制御されるかという包括的な研究はなされてこなかった。本研究では、解糖系酵素と微小管との相互作用という現象に着目し、細胞局所におけるエネルギー代謝が及ぼす微小管ダイナミクスの変化ががん細胞の化学治療抵抗性獲得のメカニズムを明らかにすることを目指す。</p> <p>研究計画 1 年目の本年度は、主に解析ツールの作製に時間を割いた。微小管重合阻害剤であるパクリタキセル耐性株を in vivo にて作成するため以下の系を構築した。乳がん細胞株 MDA-MB-231 細胞をヌードマウスに接種し、腫瘍の成長後にパクリタキセルを複数回投与、一定期間後に腫瘍を摘出、細胞を単離した。この操作を 3 回繰り返し、その都度投与するパクリタキセル濃度を上げること、耐性株を複数種樹立した。得られた耐性株と非耐性株を比較したところ、耐性株では微小管の修飾動態が大きく異なる上に、以前我々が報告した解糖系酵素のメチル化修飾が亢進していることが明らかになった。</p> <p>次に我々は、解糖系酵素と微小管との相互作用をモニタリング可能にした発現ベクターの設計・構築を行なった。担体や蛍光プローブとの共有結合が可能なツールである Halo タグをチューブリンのアミノ末端に連結することで、微小管と解糖系酵素のアフィニティの変化およびその可視化を可能にした発現ベクターを作成した。次年度は今年度構築したツールを活用し、修飾操作による細胞骨格ダイナミクス制御の検証実験を行ない、人為的に局所でのエネルギー代謝を操作することを予定している。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>Advances in metabolomics technology allowed us to understand the characteristics in many types of organs and cells. Nowadays, it has been recognized that local metabolism in the nucleus affects gene regulation through posttranslational modification (PTM) of transcriptional factors. However, we haven't obtained the methodology to survey the spatial information for cellular metabolism in microenvironment yet. In this study, We focused the interactions between glycolytic enzymes and cytoskeleton to migrate for metastasis in cancer cells. The aim of this study is to be elucidated the mechanism which local energy metabolism affects the dynamics of cytoskeleton for the migration.</p> <p>We spent time to make several tools for the progression of this study in this academic year. Firstly, we established Paclitaxel-resistant cells in vivo. Paclitaxel is one of several cytoskeletal drugs that target tubulin and used as an anti-cancer drug against many types of cancer. We injected MDA-MB231 breast cancer cells into nude mice. After transplantation, we administrated the drug intraperitoneally three a week for a month. By repeating this step 3 times, we obtained several paclitaxel-resistant cell line. Our preliminary observation showed that modification levels of glycolytic enzymes in resistant cells were higher than control cells.</p> <p>Next, we designed and constructed dual expression vector for each of tubulin subunits (alpha and beta), which is easy to manipulate the protein tags. This tools allow us to analyze the spatial patterns and affinity between glycolytic enzymes and cytoskeleton in next year.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Shiota M, Naya M, Yamamoto T, Hishiki T, Tani T, Takahashi H, Kubo A, Koike D, Itoh M, Ohmura M, Kabe Y, Sugiura Y, Hiraoka N, Morikawa T, Takubo K, Suina K, Nagashima H, Sampetean O, Nagano O, Saya H, Yamazoe S, Watanabe H, Suematsu M.	Gold-nanofève surface-enhanced Raman spectroscopy visualizes hypotaurine as a robust anti-oxidant consumed in cancer survival.	Nature Communications	2018 年 (印刷中)			
Nurkanto A, Jeelani G, Yamamoto T, Naito Y, Hishiki T, Mori M, Suematsu M, Shiomi K, Hashimoto T, Nozaki T.	Characterization and validation of Entamoeba histolytica pantothenate kinase as a novel anti-amebic drug target.	International Journal of Parasitology: Drugs and Drug resistance.	2018 年 Vol.8, p125-136			
山本雄広、伊藤真衣、大津陽、末松 誠	メチオニン代謝 -がん細胞における制御機構とその役割	実験医学増刊号	2017 年 Vol.35 p52-59			