

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	2020
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2019.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>質量分析技術の進歩により、代謝物測定技術が発達し、生体内の代謝特性を把握する事が容易になった。近年の研究から細胞内でのlocalな代謝制御が細胞機能に重要な作用を及ぼすことが多く示されている。しかしながら、細胞内における代謝物の空間分布を捕える事は現状困難であり、細胞内局所における代謝制御の包括的理解に至ってきたいのが問題点である。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制御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狙っている。</p> <p>本研究では乳がん細胞株をモデルに微小管重合阻害剤であるパクリタキセル (Ptx) 耐性株の作出をおこない、対照群との間で微小管修飾動態および解糖系酵素の修飾動態に差異があることを見出し、標識グルコースを用いたメタボロミクス解析により、対照群とPtx耐性株との間で代謝特性の違いを明らかにした。すなわち、Ptx耐性株では解糖系が亢進していると共に解糖系から分岐するセリンの生合成系が活性化されその炭素骨格が含硫アミノ酸代謝に利用されるという極めてユニークな特徴を持つことが明らかになった。</p> <p>最終年度である今年度は複数のtriple negative乳がん細胞株を用いて含硫代謝物の解析を行なった。細胞内硫化水素濃度に依存すると考えられるタンパク質のスルフヒドリル化 (-SSH) レベルについて調べてみたところ、各細胞種間において異なっており、なおかつPtx感受性と相関していることが明らかになった。さらにスルフヒドリル化修飾レベルに差異のあるタンパク質を複数同定し、この中には多くの解糖系酵素および含硫アミノ酸代謝酵素が含まれていた。これらの結果から、炭素源と硫黄源とのリンクが耐性獲得機構の一因であり、含硫アミノ酸代謝に介入することでPtx感受性を増強できることが明らかになった。</p> <p>Advances in metabolomics technology allowed us to understand the metabolic characteristics in various types of organs and cells. To date, many papers had shown that intracellular local metabolism played important roles in rapid growth, proliferation, and migration for cancer cells. 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>In our previous study, we established Paclitaxel-resistant cells in vivo. We observed that modification levels of glycolytic enzymes in resistant cells were higher than control cells. Furthermore, we compared metabolic characteristics between naïve and Paclitaxel-resistant cells using mass-labelled glucose. Using metabolome analyses, we demonstrated many metabolic phenotypes in Paclitaxel-resistant cells; activation of glycolysis, Serine synthetic pathway, and increasing in reducing metabolites such as glutathione and hypotaurine. In this year, we observed intracellular levels of protein thiol-sulfhydration (-SSH) among several breast cancer cell line. MDA-MB-468 cells, which is the most resistant cell line against Ptx, showed the highest -SSH thiol modification level. Decreased level of thiol sulfhydration with genetical tools augmented the sensitivity for Ptx. Our results demonstrated that sulfur-containing amino acid metabolism-involving protein thiol modification affected the Ptx sensitivity.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2019000007-20190299

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>質量分析技術の進歩により、代謝物測定技術が発達し、生体内の代謝特性を把握する事が容易になった。近年の研究から細胞内での local な代謝制御が細胞機能に重要な作用を及ぼすことが多く示されている。しかしながら、細胞内における代謝物の空間分布を捕える事は現状困難であり、細胞内局所における代謝制御の包括的理解に至っていないのが問題点である。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制御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している。</p> <p>本研究では乳がん細胞株をモデルに微小管重合阻害剤であるパクリタキセル (Ptx) 耐性株の作出をおこない、対照群との間で微小管修飾動態および解糖系酵素の修飾動態に差異があることを見出し、標識グルコースを用いたメタボロミクス解析により、対照群と Ptx 耐性株との間で代謝特性の違いを明らかにした。すなわち、Ptx 耐性株では解糖系が亢進していると共に解糖系から分岐するセリンの生合成系が活性化されその炭素骨格が含硫アミノ酸代謝に利用されるという極めてユニークな特徴を持つことが明らかになった。</p> <p>最終年度である今年度は複数の triple negative 乳がん細胞株を用いて含硫代謝物の解析を行なった。細胞内硫化水素濃度に依存すると考えられるタンパク質のスルフヒドリル化 (-SSH) レベルについて調べてみたところ、各細胞種間において異なっており、なおかつ Ptx 感受性と相関していることが明らかになった。さらにスルフヒドリル化修飾レベルに差異のあるタンパク質を複数同定し、この中には多くの解糖系酵素および含硫アミノ酸代謝酵素が含まれていた。これらの結果から、炭素源と硫黄源とのリンクが耐性獲得機構の要因であり、含硫アミノ酸代謝に介入することで Ptx 感受性を増強できることが明らかになった。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>Advances in metabolomics technology allowed us to understand the metabolic characteristics in various types of organs and cells. To date, many papers had shown that intracellular local metabolism played important roles in rapid growth, proliferation, and migration for cancer cells. 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>In our previous study, we established Paclitaxel-resistant cells in vivo. We observed that modification levels of glycolytic enzymes in resistant cells were higher than control cells. Furthermore, we compared metabolic characteristics between naïve and Paclitaxel-resistant cells using mass-labelled glucose. Using metabolome analyses, we demonstrated many metabolic phenotypes in Paclitaxel-resistant cells; activation of glycolysis, Serine synthetic pathway, and increasing in reducing metabolites such as glutathione and hypotaurine. In this year, we observed intracellular levels of protein thiol-sulfhydrylation (-SSH) among several breast cancer cell line. MDA-MB-468 cells, which is the most resistant cell line against Ptx, showed the highest -SSH thiol modification level. Decreased level of thiol sulfhydrylation with genetical tools augmented the sensitivity for Ptx. Our results demonstrated that sulfur-containing amino acid metabolism-involving protein thiol modification affected the Ptx sensitivity.</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)			
武井夏海、山本雄広、小谷友也	マウス卵母細胞における顆粒形成と消失を介した Emi2 mRNA の翻訳抑制機構: RNA 結合タンパク質の違いによる翻訳時期の制御	第 42 回日本分子生物学会年大会	2019 年 12 月			
山本雄広、折田 巧、伊藤真衣、末松 誠	極小発光タグ HiBIT システムを用いた中心代謝酵素の局在移行能アッセイ系の構築	第 42 回日本分子生物学会年大会	2019 年 12 月			
山本雄広	アルギニンメチル化が制御するがん細胞のエネルギー代謝	第 92 回日本生化学会年大会	2019 年 9 月			