要　　約

報告番号	㊙甲 乙 第　　号	氏　名	大　村　光　代

主 論 文 題 名

Impacts of CD44 knockdown in cancer cells on tumor and host metabolic systems revealed by quantitative imaging mass spectrometry

（CD44ノックダウンがん細胞の異種移植モデルにおける腫瘍部と宿主組織の代謝システム変動：定量的質量分析イメージング法による解明）

（内 容 の 要 旨）

がん幹細胞表面マーカーであるCD44発現がん細胞は、シスチントランスポーター（xCT）の安定化を介して細胞外からシスチンを取り込み、酸化ストレス抑制に不可欠な還元型グルタチオン（GSH）を生成し細胞増殖と化学療法耐性に寄与すると言われているが、生体内におけるCD44発現細胞で形成される腫瘍とその周囲の宿主組織の代謝変動については未だ解明されていない。そこで、組織構造を崩さずに代謝物質の局在を非標識で可視化・定量化できる定量的質量分析イメージング法を用いて、ヒト大腸がんの肝転移モデルにおける担がん肝の代謝変動を解析し、CD44発現の有無による腫瘍部・宿主組織部の代謝システム変動の違いを比較検討した。

ヒト大腸がん細胞HCT116のCD44ノックダウン細胞とそのコントロール細胞を超免疫不全マウス（NOGマウス）の脾臓に移植して得られるがん肝転移モデルの肝組織を用い、その薄切切片の腫瘍部と宿主肝組織の代謝物局在を質量顕微鏡により検証し、隣接組織のホモジネートをメタボローム解析で測定した。腫瘍部・宿主組織の代謝物の空間的分布と見かけ上の含量を定量化することにより腫瘍細胞のCD44のノックダウンの効果を検討した。また、メチオニンやシスチン欠乏培養液で培養した細胞の代謝変動を各種メタボローム解析により検討した。

CD44をノックダウンした細胞は、*in vitro*ではコントロールと比較して増殖能に差はないが、異種移植モデルでの転移腫瘍の割合は有意に低下した。定量的質量イメージング法による検討から、CD44ノックダウン細胞の移植転移肝は対照群に比べて、エネルギーチャージ、還元型グルタチオン、メチオニンサルベージ回路の代謝物であるスペルミン、スペルミジンが腫瘍部・宿主組織で共に低下し、腫瘍部ではアデノシンが増加することが明らかとなった。また、CD44によりシステインと交換輸送されるグルタミン酸は、腫瘍内含量が増加し宿主組織では低下することから、CD44を介して腫瘍・宿主間で代謝物交換がなされることが実証された。培養細胞のメタボローム解析から、CD44ノックダウンによりシステインの上流にある代謝物の総和やシステイン過硫化物が優位に低下することに加え、シスチン非含有培地での代謝変動の解析結果から、システインより上流の代謝物質が補完すべく上昇するものの還元型グルタチオン生成能が低下して細胞障害性が増加することが明らかとなった。

CD44をノックダウンしたがん細胞では、代謝リモデリングを齎し、メチオニン関連代謝物の消費を増加させる一方、親電子物質の解毒系となる還元型グルタチオンやシステイン過硫化物を低下させることによって酸化ストレスを増強させることが示唆された。またこのような腫瘍細胞の代謝変動は宿主組織の代謝リモデリングにも寄与することが明らかにされた。