（別紙様式２）

第８回　北陸銀行若手研究者助成金　研究実績報告書

氏名	所属・職名	助成金額
河野　晋	がん進展制御研究所・特任助教	850,000 円

研究課題名	RB による代謝リワイヤリングを介した悪性進展制御機構の解明
研究の概要	がん抑制遺伝子 RB の不活性化は、大多数の固形がんの悪性進展過程において高頻度に観察される。これまでに、p53 と RB の二重不活性化により、マウス甲状腺 C 細胞は高度な未分化性を獲得することや、p53 欠損マウス由来肉腫細胞では、RB の追加欠損により、がん幹細胞様の集団が出現することを明らかにした。本研究では、がん幹細胞様集団が低栄養条件下で培養した場合でも増殖できること着目し、高度な未分化性獲得に果たす代謝の役割を明らかにすることを試みた。さらに、がん幹細胞様集団の代謝を外部から操作することにより、このような細胞集団が制御できることを示す。
研究の成果	① 細胞内代謝物の定量解析の結果、モデルがん幹細胞集団では解糖系およびグルタミン代謝に特徴的な変化が認められた。さらに、^{13}C 安定同位体で標識したグルタミンを用いた解析により、モデルがん幹細胞集団では、低酸素条件下で培養した細胞と類似した代謝動態をもつことが明らかになった。 ② RNA シーケンス解析の結果、解糖系酵素 Pgam2 の特異的発現低下が RB 不活性化細胞において認められた。培地中の酸素分圧および pH の変化を指標に細胞内代謝を評価すると、RB 不活性化によりグルコース利用が低下していた。そこで、RB 不活性化細胞に Pgam２を再構成すると、細胞増殖速度に変化は認められなかったが、スフェア形成や腫瘍形成が抑制された。また、Pgam2 再構成により、ミトコンドリアを経由したグルコースの利用が回復していた。 ③ Pgam には恒常的に発現している１型アイソフォームと、筋肉組織特異的な発現を示す２型アイソフォームがある。筋分化のモデルとして汎用される筋芽細胞 C2C12 の遺伝子発現解析より、分化に伴い Pgam2 の発現が誘導され、Pgam2 をノックダウンすると分化が阻害された。また、Pgam2 の発現誘導は筋分化マスター因子 MyoD の非存在下でも認められるが、RB 非存在下では認められなかった。Pgam2 プロモーター領域の解析の結果、RB は分化調節因子 Mef2 と協調して Pgam2 発現を調節していた。さらに、RB 不活性化による Pgam2 の発現低下は、RB 結合タンパクの１つであるヒストン脱メチル化酵素の阻害により回復した。これらの結果から、RB 不活性化に伴う Pgam2 発現低下は、代謝リモデリングを引き起こし、未分化性の獲得維持に重要であることが示唆された。
研究成果発表状況	○学術論文・総説 ・Kohno S, Kitajima S, Sasaki N and Takahashi C. RB tumor suppressor functions shared by stem cell and cancer cell strategies. World J Stem Cells, 8:170-184, 2016. ・Salah M, Nishimoto Y, Kohno S, Kondoh A, Kitajima S, Muranaka H, Nishiuchi T, Ibrahim A, Yoshida A and Takahashi C. An in vitro system to characterize prostate cancer progression identified signaling required for self-renewal. Mol Carcinog, 55:1974-1989, 2016. ・河野晋、北嶋俊輔、佐々木信成、髙橋智聡. 生化学 『代謝変化とエピジェテックス制御』「RB がん抑制遺伝子産物による細胞未分化性制御」88 巻 3 号 p335-341, 2016. ○学会発表 ・Kohno S, Okahashi N, Kitajima S Suzuki S, Tanaka T, Matsuda F, Shimizu H and Takahashi C. Metabolic rewiring in Rb deficient cells during cancer progression. AACR Annual Meeting 2016 2016 年 4 月 上記の他、1 件の国際会議、1 件の国内学会報告。

経費の執行状況	区　　分	執行額（円）	備　　考
	実験用試薬	613,060	D-Glucose(1-13C)　外
	実験用消耗品	236,940	FluxPak-XF24　外