

研究区分		一般共同研究
研究課題		がん幹細胞モデルにおける細胞内温度分布の可視化
研究代表者	所属・職名・氏名	東京大学大学院薬学系研究科・助教・岡部弘基
研究分担者	所属・職名・氏名	東京大学大学院薬学系研究科・助教・内山聖一
	所属・職名・氏名	金沢大学がん進展制御研究所・特任助教・北嶋俊輔
	所属・職名・氏名	金沢大学大学院医薬保健学総合研究科・大学院生・村中勇人
受入担当教員	職名・氏名	教授・高橋智聡
【研究目的】	<p>熱（温度）は細胞内におけるあらゆる化学反応を支配する物理量であり、化学反応の一種である代謝にも重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、これまでは、その測定技術の欠如により、細胞における熱と代謝の関係は一切不明であった。我々は、この問題を克服すべく、細胞内局所の温度変化を追跡可能な細胞内温度イメージング法を開発した。本研究では、この革新的技術を用いて、正常細胞、がん細胞およびがん幹細胞における細胞内温度分布の違いを検証することにより、がん特異的な代謝と温度の関係を明らかにし、生物学における新たなアプリケーションとしての細胞内温度イメージング法の応用性や発展性を探ることとした。</p>	
【研究内容・成果】	<p><b>【研究内容】</b> 高橋研究室において細胞内温度測定に用いる細胞を調整し、我々の研究室に搬入後、温度感受性プローブをマイクロインジェクションにより細胞に導入、落射型照明蛍光顕微鏡・画像解析システムにより細胞内蛍光強度の定量的解析を行った。</p> <p><b>【研究成果】</b> まず、細胞間の温度差を厳密に検討するため、細胞内温度比較法の開発を行った。温度感受性プローブは温度に依存的な蛍光変化を示すが、マイクロインジェクションでは細胞に導入するプローブ濃度を一定にすることが出来ないため、単純な蛍光強度の比較では細胞間の温度差を評価できない点が難点である。そこで、温度感受性プローブと共にプローブ濃度補正用の蛍光色素（Alexa647 標識デキストラン）を導入し、両者の蛍光強度比から細胞の自発的温度を比較するという手法を考案した。COS7 細胞等の複数の細胞においてその有用性が確認できたため、この方法を採用することにした。</p> <p>次に、がん細胞は正常細胞と比較して高温であることが報告されているが、これまでその実態は一切不明であったため、上記の手法を用いて、正常細胞およびがん細胞における細胞内温度を測定・比較した。複数の細胞株における細胞内温度を測定した結果、正常細胞と比較してがん細胞の細胞内温度が高い可能性を示唆する結果が得られた。</p> <p>さらに、がん細胞とがん幹細胞様の細胞における細胞内温度の差異を明らかにするため、高橋教授らの研究グループが確立したがん幹細胞モデルを用いて細胞内温度を比較することにした。彼らは、p53 ノックアウトマウス由来の低悪性度肉腫細胞において Rb を追加的にノックダウンすることにより、がん幹細胞様の細胞群（高い造腫瘍能および抗がん剤への抵抗性を示す亜集団）が誘導されることを見出し、この細胞集団を特異的に濃縮かつ形質を維持したまま培養するシステムを確立し、様々な代謝解析を行っている。このモデルにおいてもものがん細胞とがん幹細胞様の細胞の細胞内温度を測定・比較したところ、がん幹細胞の細胞内温度が顕著に低いという結果が得られた。そこで、彼らがこれまでに行った代謝解析の結果（トランスクリプトーム解析、マイクロアレイ解析、メタボローム解析、細胞外フラックス解析、代謝物トレーサー解析等）と照合したところ、がん幹細胞における細胞内温度の低下は、ミトコンドリア活性の指標である酸素消費速度（oxygen consumption rate, OCR）の低下と相関することが明らかになった。</p> <p>これらの結果から、がん細胞が正常細胞と比較して細胞内温度が高く、一方で、がん幹細胞では細胞内温度が低い可能性が示唆された。また、これらの細胞内温度の差異はミトコンドリアの活性の差異に起因している可能性が示唆された。</p>	
【成果等】	【主な論文発表】	なし
	【学会発表】	なし
	【その他特筆事項】	なし