

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19254

研究課題名(和文) 質量分析イメージングとESRイメージングを用いたがん治療抵抗性代謝因子の解明

研究課題名(英文) Analysis of radioresistance factors of tumors in radiotherapy by using MS imaging and ESR imaging techniques

研究代表者

稲波 修 (Inanami, Osamu)

北海道大学・獣医学研究院・教授

研究者番号：10193559

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的はがんの代謝とそれに対する新たな放射線応答について、新しい代謝解析法とイメージング技術を開発し、将来の治療開発に繋げることである。本研究ではミトコンドリア電子伝達系(ETC)、グルタミン代謝ならびに脂質代謝等に依存性があるがん細胞が見いだされ、がん細胞代謝系の多様性が確認された。新しい代謝評価系としてESRオキシメトリーを細胞レベルでETC活性の評価系を確立し放射線応答を明らかにした。また、グルタチオン代謝を反映する組織還元状態のESR高速イメージング法ならびに、糖代謝を反映する細胞外pH変化をpH感受性プローブを用いたインビボイメージング法を国際共同研究で確立することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で明らかとなったがんのエネルギー代謝の多様性は近年、国際的に注目を集めており、治療代謝標的分子を明確にする上で学術的意義が高い。また、細胞レベルでのミトコンドリアETC活性のESRオキシメトリー法や放射線応答、マウスのがん組織のGSH代謝を反映したESRレドックスイメージングや糖代謝を反映した組織の細胞外pHのインビボESRイメージング法は新技術という学術的意義が有るばかりではなく、今後、実験動物での実験的ながん治療研究に用いることが可能であり、将来的には代謝標的とする治療標的の同定や阻害する薬剤の開発等に用いることが可能であり、がん撲滅という観点からの社会的意義も高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to develop new metabolic analysis methods and imaging techniques for cancer metabolism and its novel radiation response, which will lead to the development of future therapies. In this study, we found cancer cells with dependence on mitochondrial electron transport chain (ETC), glutamine metabolism, and lipid metabolism, confirming the diversity of cancer cell metabolism. As a new cancer-specific metabolic evaluation system, ESR oximetry was established to evaluate mitochondrial ETC activity at the cellular level, and radiation response was clarified. In addition, we established a rapid ESR imaging method for tissue reduction state reflecting glutathione metabolism and an in vivo imaging method using pH-sensitive probes for extracellular pH changes reflecting glucose metabolism in an international collaboration.

研究分野：放射線生物学

キーワード：がん抵抗性因子 ワールブルグ効果 電子伝達系 グリコリシス グルタミンオリシス ESRイメージング

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

申請者らは放射線照射による DNA 損傷ががんの糖代謝からミトコンドリア電子伝達系 (ETC) へのスイッチングが起き、ルシフェラーゼ法で計測した時に ATP 産生が起きること (Yamamori *et al.*, *Free Radic. Biol. Med.* 3:260, 2012)、また、ETC を薬剤により阻害により、放射線増感を起こすことを示した。細胞レベルでミトコンドリア電子伝達系 (ETC) を阻害する薬剤 (M10T, M10, M10T-Me) は放射線増感を起こすことを見いだしている (Yasui *et al.*, *Cancer Letters* 390:160-167, 2017)。このことはミトコンドリア ETC が DNA 損傷による細胞死を防護的に働いていることを意味し、ミトコンドリアががん治療の標的となることを意味している。これらの研究はすべて培養細胞レベルでの研究であり、移植腫瘍や実際に獣医臨床や医療で応用に繋げる簡便な測定技術を用いた研究が必要である。そこで、本研究では、既存の代謝産物測定法を大入して放射線応答をあきらかにすると共に、近年注目されてきているエネルギー代謝関連物質を時空間的に計測可能な質量分析イメージングを始め、ETC 依存性の組織酸素分圧や解糖系依存性 pH の絶対値測定に秀でた高速 ESR イメージング法を開発し、担癌マウスでがんの放射線応答ならびに代謝修飾剤・阻害剤による新たな放射線治療の可能性を明らかにする。

2. 研究の目的

がんのエネルギー産生は 1950 年代からワールブルグ効果として酸素存在条件でも解糖系代謝が優位であり、ミトコンドリアの電子伝達系 (ETC) の機能は休止しているか、きわめて低下していると考えられてきた。しかし、最近になって、培養細胞レベルでの研究では糖代謝以外の代謝系もがんの分化と成長のためには必要であることが報告されてきている段階であり、移植腫瘍や臨床でのトライアルはまだ手つかずの状態である (Willem *et al.*, *Nature Rev.*, 11:325 2011)。本研究の目的はがんの特異的代謝とそれに対する新たな放射線応答を最新の機能イメージングを用いて明らかにすることで、がん特異的代謝を標的とした放射線治療法を開発する方法論を開発することである。以上の事から本研究では、具体的には、(1) 糖代謝以外のミトコンドリア電子伝達系 (ETC)、グルタミン代謝 (グルタミノリシス)、ならびに脂質代謝を明らかにする。(2) がん特異的な代謝として重要な NADH、AMP、ADP、ATP の測定系の HPLC 法での確立、過酸化脂質の HPLC-質量分析計法 (HPLC-MS/MS) による計測法も導入し、放射線応答をあきらかにする。(3) がん細胞の組織培養系でミトコンドリア ETC の新しい測定法として、酸素消費率 (OCR) に着目して、既に私達が確立した安定ラジカルとして Li ナフタロシアンニン (LiNc-BuO) を用いた ESR オキシメトリーと新たにミトコンドリア特異的阻害剤を組み合わせることで開発する。現在まで細胞レベルでゴールドスタンダードとなっているフラックスアナライザー (通称、市販機器名: Seahorse) が独占的に広く用いられているが、これと同等かそれ以上の優位性を持ち、高感度で、より簡便な新しい ETC 活性測定法を開発する。(4) がん組織ではエネルギー代謝の活性化に伴って、細胞内の還元物質の変化が知られている。特に還元物質として重要性が認知されている GSH に着目し、ESR により検出できるニトロオキシラジカルが GSH により還元される性質を利用して、ESR イメージング法を確立する。現在まで幾つか実験動物でイメージング技術が他で成功しているが、速い酸化還元の変化に対応すべく、本研究では高速イメージングを確立する。また、インビトロ培養系で確立した細胞外 pH のリアルタイムの動きを、ロシアとの国際共同研究によって、pH 変化によってニトロオキシラジカルの ^{15}N と電子スピンの核-スピン相互作用変化を起こし、結果として ESR 線幅の変化を起こすプローブを用い、担癌マウスで ESR/pH イメージング法を開発する。

3. 研究の方法

(1) がんの特異的代謝の評価とその多様性に関する実験

ヒト固形癌由来のがん細胞として、ヒト子宮頸部がん HeLa 細胞、ヒト肺腺がん A549 細胞、ヒト肝がん HepG2 細胞、ヒト結腸腺がん HT29 細胞、ヒト大腸腺がん SW480 細胞、正常組織由来細胞としてヒト網膜色素上皮 RPE-1 細胞とマウス 3T3 細胞を用いて、培養条件は 25mM グルコース添加、4mM グルタミンを含む通常の DMEM を用い、10% ウシ胎児血清を用いて培養し、37°C、5% CO₂ 条件で培養し、実験に供した。細胞毒性は 4 日間の通常培養でコンフルエントになるように一定の細胞数を 24 穴プレートに播種し、代謝阻害剤を含む DEM 培地、グルコース濃度やグルタミン濃度を段階的に調節した DMEM 培地で 4 日間培養し、細胞をクリスタルバイオレット染色し、写真を撮影して細胞増殖能を評価した。用いた代謝阻害剤はグルタミン代謝を評価するためにグルタミナーゼ阻害剤である Compound968 (0-15 μM) と CB-839 (0-20 μM) を用い、脂質代謝の評価のために脂肪酸合成の律速酵素であるアシル-CoA カルボキシラーゼ (acyl-CoA carboxylase: ACC) の修飾剤である TOFA (5-(Tetradecyloxy)-2-furoic acid) (0-100 μM) を用いた。

(2) がん細胞における代謝産物の測定と放射線応答の評価

細胞内の AMP、ADP、ATP、NAD⁺ならびに NADH の測定は HeLa 細胞に 10 Gy の X 線を

照射し、X線照射から12時間および24時間後の細胞をトリプシン処理によって回収した。PBSで洗浄し、細胞溶解液を作成し、TSKgel ODS-80Ts (4.6×150 mm, 5 μm 東ソー, Tokyo, Japan) を用いて分離した。細胞内 AMP、ADP、ATP、NAD⁺ならびに NADH の濃度はそれぞれの化合物ごとに検量線を作成し、1×10⁶個当たりの細胞数で定量した。

イソプロスタンは化学的に安定な脂質過酸化生成物であり、酸化ストレスによって多価不飽和脂肪酸から生成される。そのため、イソプロスタンは酸化ストレスの代謝産物として広く用いられている。そこで細胞のX線による酸化ストレス応答を調べるために、LC-MS/MSを用いてアラキドン酸の酸化物であるF2-イソプロスタン(8-iso PGF2αおよび5-iPF2α-VI)について測定した。具体的には、X線照射したHeLa細胞をトリプシン処理によって回収し、内部標準(8-iso PGF2α-d4および5-iPF2α-VI-d11)を添加した。細胞を超音波処理、加水分解処理した。脂質画分をイソプロスタンを抽出し、さらに固相抽出し、これをLC-MS/MS試料とした。

分析にはHPLC-ESI-MS/MSを用いた。Wakopak Ultra C18-3 (2.0×100 mm, 3 μm, Wako Pure Chemical Co.)を用い、エレクトロスプレーイオン化法 (electron spray ionization; ESI) ネガティブモードによるイオン化、多重反応モニタリング(multiple reaction monitoring; MRM)によってターゲットイオンの選択を行った。データ解析および収集には、島津製作所 (Kyoto, Japan) 製トリプル四重極型質量分析計LCMS-8040、システムコントローラCBM-20A、送液ポンプLC-20AD、オートサンプラーSIL-20A、カラムオープンCTO-20Aを用いた。

(3) がん細胞の組織培養系でミトコンドリアETCの新しいESRオキシメトリー測定法の確立

酸素分圧は、細胞浮遊液に安定ラジカルを酸素プローブとして添加し、その安定ラジカルとバイラジカルである試料中の酸素分子とのスピン-スピン相互作用によるプローブのラジカル緩和時間の変化をESRスペクトルの変化として評価した。酸素感受性プローブであるLiNc-Bu0はPandianらの方法 (Free Radic Biol Med, 35: 1138-1148, 2003) に従って合成した。10 GyのX線を照射してから24時間後、細胞を回収し、PBSで3回洗浄した。細胞は2 mg/mL LiNc-Bu0および2% dextranを含む無血清培地に懸濁させた。ミトコンドリア呼吸パラメーターを得るために、ミトコンドリアを標的とした種々の薬剤を処理した4種類の試料を測定した。1つ目は薬剤を処理していないコントロール細胞、2つ目はミトコンドリアETCのATP synthaseにおけるプロトンの流入を阻害する薬剤であるoligomycin (Wako Pure Chemical Co., Osaka, Japan) (1 μM)を処理した細胞、3つ目は1 μM oligomycinと脱共役剤である1 μM carbonyl cyanide m-chlorophenyl hydrazine (CCCP) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)を処理した細胞、4つ目は1 μM oligomycin、1 μM CCCPならびにミトコンドリアETC complex Iの阻害剤であるrotenone (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) (1 μM)およびcomplex IIIの阻害剤であるantimycin A (1 μM)を処理した細胞である。各薬剤を処理した7.5×10⁴個の細胞を含む30 μLの細胞懸濁液をガラスキャピラリーに封入し、両端を塞いだ。ESR測定についてはJEOL-RE X-band ESR装置 (JEOL, Tokyo, Japan)を使用し、温度コントローラ (ES-DVT3, JEOL)を用いて37°Cに維持して測定を行った。ESRパラメーターは、マイクロ波強度1 mW、磁場変調周波数100 kHz、磁場変調振幅6.3 μT、磁場掃引幅±0.5 mTとした。ESRスペクトルの線幅の解析はWin-Rad radical analyzer system (Radical Research, Tokyo, Japan)を用いて行った。酸素分圧に対する検量線の作成のために、0 mmHgはアルゴンガス中、38、76ならびに152 mmHgは混合比を換えた酸素とアルゴンの混合ガス中、159.6 mmHgは大気圧条件にてESRスペクトルを取得し、その線幅から検量線を作成した。各ミトコンドリア標的薬剤を処理することで、基礎呼吸、ATP依存呼吸、プロトンリーク、最大呼吸、予備呼吸能ならびにミトコンドリア非依存呼吸の6つのパラメーターが得られた。また、このESRオキシメトリーの結果は既存のフラックスアナライザーでの分析も行い、両者の方法論について比較検討した。

(4) 担癌マウスを用いたがん組織のESRレドックスイメージング法とESR/pHイメージング法の開発

ESRレドックスイメージング法: 担癌マウスはBALB/c-nu/nu雄マウスの足所部に膵臓胆管がん腺がんMIA PaCa-2細胞を10万個皮下に注射して作成した。GSH等の還元物質と反応してESRサイレントになるレドックスプローブとして¹⁵N-PDTを用い、担癌マウスに投与した。図1に示すように生体内還元物質によるシグナルの減衰は750MHzの平田研究室で既にハンドメイドで作成済みのCW-EPRスペクトロメーターを用いておこなった。画像の再構成は新しいフィルターバックプロジェクション法(FBS)、スパースモデリング/反復近接勾配法(FISTA)により三次元画像を得た、**ESR/pHイメージング法:** 担癌マウスは同様にマウス皮下に

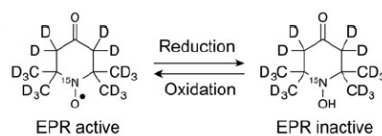


図1. ¹⁵N-PDTの還元物質との反応によりESRサイレントの化合物が生成する

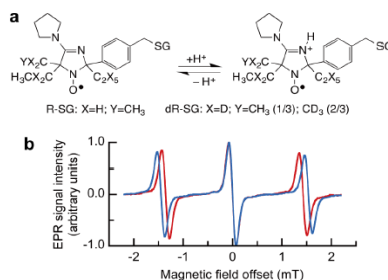


図2. (A) pHに依存したR-SGのプロトン化の化学式と(B) ¹⁵NによるESRスペクトルでのpH依存性的変化

SCCVII 細胞を足所部位に注射して作成した。pH 感受性プローブは図 2a の 2-(4-((2-(4-amino-4-carboxybutanamido)-3-(carboxymethylamino)-3-oxopropylthio)methyl)phenyl)-4-pyrrolidino-2,5,5-triethyl-2,5-dihydro-1H-imidazol-1-oxyl (R-SG) を用い、ESR の三本線の端と端の線幅を測定することで行った (図 2b)。画像の再構成は C 言語で書かれた ART アルゴリズムにより作成した MATLAB で三次元画像を得た。

4. 研究成果

1) 細胞増殖のためのエネルギー源の多様性

がんの細胞種によるエネルギー依存性の違いを明らかにする目的で、代謝阻害剤や培養液中のグルコースやグルタミンの濃度を変化させ、増殖能について評価した。図 3 には GLS 阻害剤と脂質代謝阻害剤の効果の一例、図 4 はグルコース欠乏培地、図 5 はグルタミン欠乏培地の効果についての一例を示した。グルタミンリシスについては、3T3 細胞では CONPOUND968, CB-839, TOFA で耐性を示したが、HeLa 細胞では CONPOUND968 で感受性を示すことが明らかとなった。一方では肺がん細胞 A549 細胞では CB-839 で感受性を示した (結果は示していない)。グルタミン欠乏培地での実験では、A549 細胞と HT29 細胞でグルタミン欠乏に対して高感受性であり、HeLa 細胞と SW480 細胞では中程度の感受性で、正常細胞の RPE-1 細胞と 3T3 細胞と同程度であった。また、HepG2 細胞では強い耐性を示した。これらの結果は概ねがん組織由来細胞ではグルタミン代謝依存性が高いことを示すものがあり、また HepG2 細胞のような例外も存在することが示された。また、図 4 に示した様にグルコース欠乏に対する感受性に関しては、グルタミン欠乏と同様の多様性を示すことが明らかとなった。脂質代謝については図 3 に示すように HeLa 細胞は阻害剤に対して高い感受性を示すのに対して、正常組織由来の 3T3 細胞では阻害効果が見られなかった。また、血清を培地から除いた条件の実験を行っているが、正常細胞では血清は必須であるが、HeLa 細胞ではこの DMEM 培地のみでの条件でも、増殖効果が観察された (結果は示していない)。以上の結果はグルタミン代謝、糖代謝、脂質代謝や未知の血清中の栄養因子に対する多様性が認められ、がんの由来や細胞種によって代謝標的を吟味する必要性がある事を示唆している。放射線照射による増感効果は A549 細胞と B-839 で観察されているが、HeLa 細胞での TOFA 処理では観察されなかった。これは阻害が増殖抑制に効果があるからと言って、癌治療に対して増感効果があるわけではないことを示している。

2) HeLa 細胞でのエネルギー代謝産物と脂質代謝産物の測定と放射線応答

細胞内 AMP、ADP、ATP、NAD⁺ ならびに NADH の放射線応答を HPLC により測定し、たところ、ATP の増加が観察されたが、全体のエネルギー充填率は放射線照射をしても生理学的レベルの範囲であり、放射線というストレスに対する適応応答であること示唆している。また、脂質過酸化についても多くの報告では簡便な測定で放射線や制

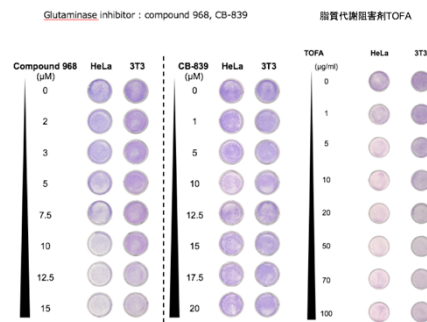


図 3. 子宮頸部がん由来株 HeLa 細胞と正常組織由来細胞 3T3 細胞のグルタミン酸合成酵素 (GLS) 阻害剤 Compound968 と CB839 ならびに脂質代謝阻害剤 TOFA の増殖能に及ぼす効果。阻害剤の濃度は図中に標示した。

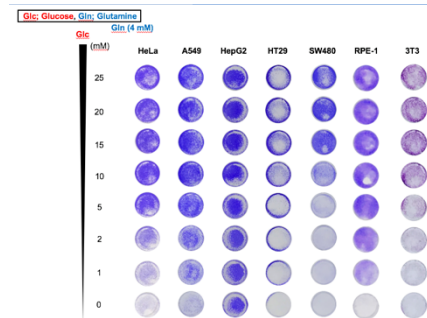


図 4. 5 種類のがん組織由来株細胞 (HeLa, A549, HepG2, HT29, SW480) と 2 種類の正常組織由来細胞 (RPE-1, 3T3) のグルコース欠乏の効果。25mM、20mM、15mM、2mM、1mM、0mM を含む DMEM 培地で培養したときの増殖能に及ぼす効果。培地中のグルタミンは全て 4mM 含有している。

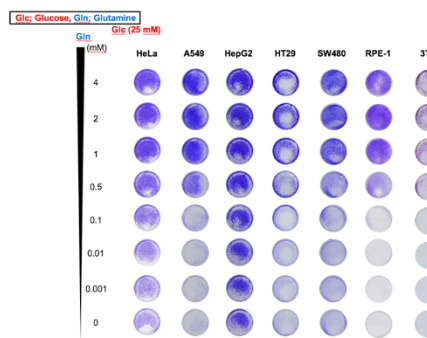


図 5. 5 種類のがん組織由来株細胞と 2 種類の正常組織由来細胞のグルタミン欠乏の効果。4mM、2mM、1mM、0.5mM、0.1mM、0.001mM、0mM を含む DMEM 培地で培養したときの増殖能に及ぼす効果。培地中のグルコースは全て 25mM 含有している。

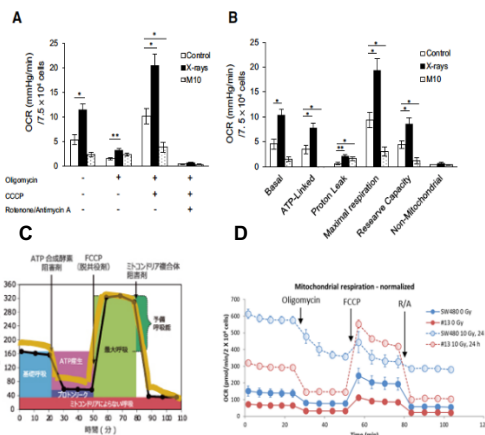


図 6. がん細胞のミトコンドリア活性の測定 (A) 非照射、10Gy 照射 24 時間後ならびにミトコンドリア阻害剤 M10 投与後 24 時間後の HeLa 細胞の LiNo-BuO のラジカルの ESR スペクトルの線幅から算出した酸素消費率と測定時のミトコンドリア阻害剤 (ATP 合成酵素阻害剤: オリゴマイシン、脱共益剤: CCOP、電子伝達系 Complex I/III 阻害剤: Rotenone/Antimycin) の効果。 (B) (A) の阻害剤の OCR の抑制の程度から見積もったミトコンドリアパラメーター。 (C) フラックスアナライザーでのミトコンドリア活性パラメーターの算出法。 (D) 大腸がん由来 SW480 細胞とその放射線抵抗性株 #13 の非照射と照射後 24 時間後のフラックスアナライザーのプロフィール。

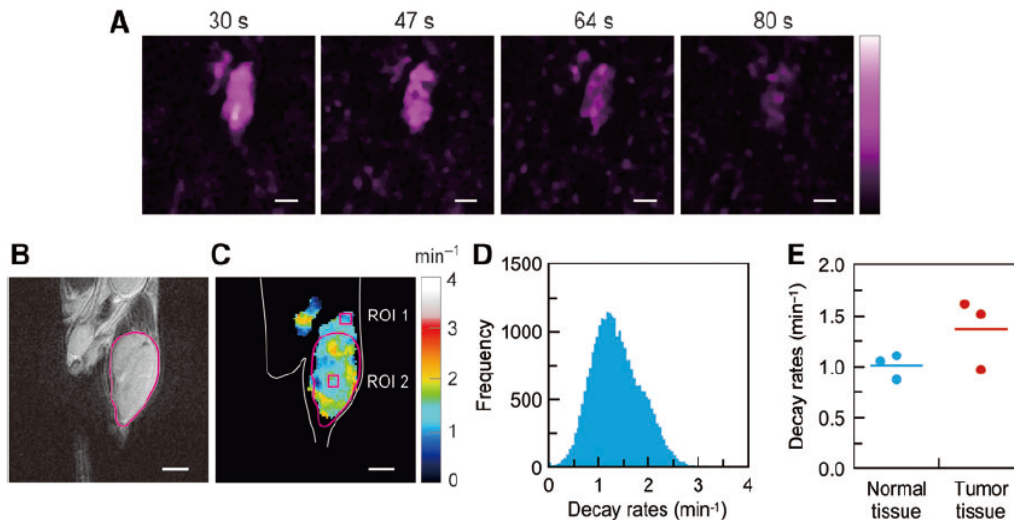


図 7. 15N-PDT プローブを用いたマウスの癌腫足の酸化還元マッピング。(A) CS で再構成した EPR 信号強度 CS で再構成した EPR 信号強度マップ (投影数 128)、(B) 1H-MR 解剖像、(C) 15N-PDT の減衰率マップ、(D) 減衰率のヒストグラム、(E) 正常組織の ROI 1 (5-5 ピクセル) と ROI 2 (5-5 ピクセル) の平均減衰率の比較 (E) 正常組織の ROI 1 (5-5 ピクセル) と腫瘍組織の ROI 2 (5-5 ピクセル) の平均減衰率の比較 (C) 3 つのマウス腫瘍モデルについて、(E) のバーは各グループの平均値を示す。グループの平均値を示す。MR 画像 (B) の FOV は 37.5mm-37.5mm、イメージマトリクスは 120-120 である。白いスケールバーは 5mm に相当する。腫瘍の輪郭は、MR 画像から得られた (赤線)、マウスの体と足の輪郭は、MR 画像上に手書きで描き、それを崩壊率マップにコピーした (C)。崩壊率マップは マウスの胴体と足の輪郭に合わせて視覚的に配置した。MR は magnetic resonance, ROI は region of interest (関心領域) を意味する。

がん剤処理で活性酸素の増加による脂質過酸化の増加が観察されたが、今回の質量分析計での測定では変化が見られず、がん治療処置後の酸化ストレスによる傷害は大きくはないことが示唆された。

3) ESR オキシメトリーを用いたミトコンドリア ETC 活性の測定と放射線応答 (Appl Magn Reson (2018) 49:837-851)

図 6 に示すように、今までの LiNc-BuO によるオキシメトリーを発展させ、ミトコンドリア阻害試薬を用いることにより、基礎呼吸、ATP 依存呼吸、プロトンリーク、最大呼吸、予備呼吸能ならびにミトコンドリア非依存呼吸の 6 つのパラメーターが得ることに成功し、既存のフラックスアナライザーと同等の感度を示し、放射線照射の応答では全てのミトコンドリア ETC 活性のパラメーターで増強するという、以前から提唱していたミトコンドリアの量増大がこの活性化の原因である事が改めて裏付けられた。また、この方法は旧来の方法では不可能であった、GFP 等の蛍光を発する細胞や浮遊細胞でも定量が可能であるという利点がある。

4) ESR レドックスイメージングと ESR/pH イメージング法の確立 (ANTIOXIDANTS & REDOX SIGNALIN, doi: 10.1089/ars.2021.0003 in press, Anal. Chem. 2018, 90, 13938-13945)

旧来の ESR レドックスイメージングは画像取得までの時間が数十分程度はかかり、短時間の変化には追いつくことが出来なかった。今回の研究では新アルゴリズムを開発することで数分の画像所得時間でレドックスマッピングを行う事が可能となった (図 7)。また、糖代謝と細胞内からの HCO_2^- 放出に依存する細胞外イメージングの試みは世界でも先駆けた研究であり、ロシアとの国際共同研究でロシアではプローブの合成、平田研で機器開発、稲波がモデル動物の作成で成功した新技術である (図 8)。

5. まとめ

今回の研究の中で、当初目的としていた質量分析計イメージングは研究期間終盤のコロナ禍の中で十分なマシンタイムと研究補助の学生を確保できなかった事と、試行はしてみたものの GSH 等の代謝産物の絶対値な比較が困難なため、十分な結果が出せなかった。これは今後の課題としたい。しかし ESR による癌細胞のミトコンドリア ETC 活性評価、がん組織の高速 ESR レドックスイメージングと pH イメージングは本研究で開発した新技術であり、がん細胞やがん組織の代謝に着目した基礎研究、治療法の基礎的開発のための方法としては今後、各方面で有用となると考えられる。

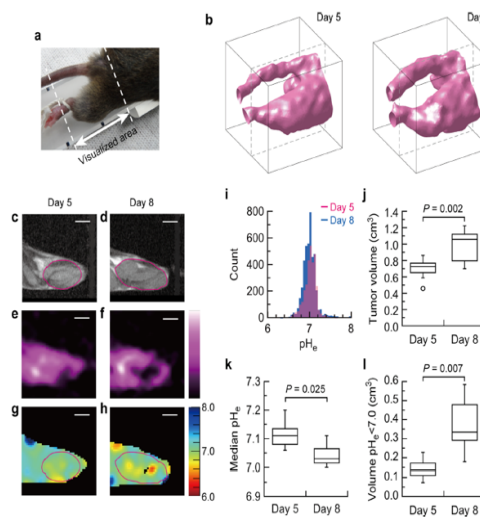


図 8. SCC VII 腫瘍を脚に移植したマウスの腫瘍成長中の酸性化の進行。a) プラスチックホルダーに固定されたマウスの脚部の写真、(b) 腫瘍移植後 5 日目と 8 日目に測定した EPR 信号の 3D 表面レンダリング画像。イメージマトリクスサイズは 48×48 、視野は $25.0\text{mm} \times 25.0\text{mm} \times 25.0\text{mm}$ である。(c, d) 5 日目と 8 日目にそれぞれ取得したマウス脚部の T2 強調プロトン MR 解剖学的画像を、EPR 画像に合わせて拡大・縮小したもの。(e, f) 3D データから再構成した EPR 信号強度の代表的なスライス画像と、(g, h) 対応する pH マップ。画像上の白いスケールバーは 5mm に対応している。(i) 1 匹のマウスの 5 日目 (赤) と 8 日目 (青) に測定したボクセルごとの pH データの代表的なヒストグラム。(j) 腫瘍体積、(k) pH の中央値、(l) 酸性腫瘍体積 ($\text{pH} < 7.0$) の箱ひげ図 ($n=7$ 匹のマウス)。(j) の円は異常値を示す。統計的有意性の判定には、両側ベータ検定を用いた。P は危険率を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 OTSUKA-YAMASAKI Yayoi、INANAMI Osamu、SHINO Haruka、SATO Reeko、YAMASAKI Masahiro	4. 巻 83
2. 論文標題 Characterization of a novel nicotinamide adenine dinucleotide-cytochrome b5 reductase mutation associated with canine hereditary methemoglobinemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 315 ~ 321
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.20-0390	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nagane Masaki、Yasui Hironobu、Kuppusamy Periannan、Yamashita Tadashi、Inanami Osamu	4. 巻 -
2. 論文標題 DNA damage response in vascular endothelial senescence: Implication for radiation-induced cardiovascular diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrab032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kimura Kota、Iguchi Nami、Nakano Hitomi、Yasui Hironobu、Matsumoto Shingo、Inanami Osamu、Hirata Hiroshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Redox-Sensitive Mapping of a Mouse Tumor Model Using Sparse Projection Sampling of Electron Paramagnetic Resonance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Antioxidants & Redox Signaling	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/ars.2021.0003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 出口 辰弥、細谷 謙次、安井 博宣、稲波 修、奥村 正裕	4. 巻 55(4)
2. 論文標題 獣医療におけるがん幹細胞を標的とした放射線治療に向けた基礎研究	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 放射線生物研究	6. 最初と最後の頁 342 - 354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 房 知輝, 山盛 徹, 安井 博宣, 稲波	4. 巻 55(4)
2. 論文標題 放射線照射後のミトコンドリア形態変化が感受性を調節する	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 放射線生物研究	6. 最初と最後の頁 355-369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujimoto Masaki, Bo Tomoki, Yamamoto Kumiko, Yasui Hironobu, Yamamori Tohru, Inanami Osamu	4. 巻 67
2. 論文標題 Radiation-induced abnormal centrosome amplification and mitotic catastrophe in human cervical tumor HeLa cells and murine mammary tumor EMT6 cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 240 ~ 247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcbr.19-80	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Bo Tomoki, Yamamori Tohru, Yamamoto Kumiko, Fujimoto Masaki, Yasui Hironobu, Inanami Osamu	4. 巻 522
2. 論文標題 Mitochondrial fission promotes radiation-induced increase in intracellular Ca ²⁺ level leading to mitotic catastrophe in mouse breast cancer EMT6 cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 144 ~ 150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.11.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasui Hironobu, Iizuka Daisuke, Hiraoka Wakako, Kuwabara Mikinori, Matsuda Akira, Inanami Osamu	4. 巻 39
2. 論文標題 Nucleoside analogs as a radiosensitizer modulating DNA repair, cell cycle checkpoints, and apoptosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 1 ~ 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15257770.2019.1670839	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoneshiro Takeshi, Shin Woongchul, Machida Ken, Fukano Keigo, Tsubota Ayumi, Chen Yong, Yasui Hironobu, Inanami Osamu, Okamatsu Ogura Yuko, Kimura Kazuhiro	4. 巻 33
2. 論文標題 Differentiation of bone marrow derived cells toward thermogenic adipocytes in white adipose tissue induced by the 3 adrenergic stimulation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 5196 ~ 5207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201801757RR	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hashimoto Mayuko, Saito Natsuko, Ohta Haru, Yamamoto Kumiko, Tashiro Asuka, Nakazawa Kosuke, Inanami Osamu, Kitamura Hiroshi	4. 巻 7
2. 論文標題 Inhibition of ubiquitin specific protease 2 causes accumulation of reactive oxygen species, mitochondria dysfunction, and intracellular ATP decrement in C2C12 myoblasts	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physiological Reports e14193	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14193	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Narayan Bhilwade Hari, Tatewaki Naoto, Konishi Tetsuya, Nishida Miyako, Eitsuka Takahiro, Yasui Hironobu, Inanami Osamu, Handa Osamu, Naito Yuji, Ikekawa Nobuo, Nishida Hiroshi	4. 巻 71
2. 論文標題 The Adjuvant Effect of Squalene, an Active Ingredient of Functional Foods, on Doxorubicin-Treated Allograft Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrition and Cancer	6. 最初と最後の頁 1153 ~ 1164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/01635581.2019.1597900	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 安井 博宣, 松元 慎吾, 稲波 修, Murali Cherukuri Krishna	4. 巻 40
2. 論文標題 腫瘍内低酸素変動の可視化と放射線生物学における意義	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学物理	6. 最初と最後の頁 13 ~ 18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11323/jjmp.40.1_13	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Komarov Denis A., Ichikawa Yuki, Yamamoto Kumiko, Stewart Neil J., Matsumoto Shingo, Yasui Hironobu, Kirilyuk Igor A., Khrantsov Valery V., Inanami Osamu, Hirata Hiroshi	4. 巻 90
2. 論文標題 In Vivo Extracellular pH Mapping of Tumors Using Electron Paramagnetic Resonance	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 13938 ~ 13945
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.8b03328	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yasui Hironobu, Kubota Nobuo, Nishizumi Junko, Sakai Yuri, Yamamori Tohru, Inanami Osamu	4. 巻 15
2. 論文標題 Preclinical study on hypoxic radiosensitizing effects of glycididazole in comparison with those of doranidazole in vitro and in vivo	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 1993-1998.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2017.7481	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shino H., Otsuka-Yamasaki Y., Sato T., Ooi K., Inanami O., Sato R., Yamasaki M.	4. 巻 32
2. 論文標題 Familial Congenital Methemoglobinemia in Pomeranian Dogs Caused by a Missense Variant in the NADH-Cytochrome B5 Reductase Gene	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 165 ~ 171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jvim.15031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計35件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 藤本政毅、山下晃矢、安井博宣、稲波 修
2. 発表標題 ヒト肺腺がん由来A549細胞におけるグルタミンノリシスが関与する細胞内レドックス調節と放射線感受性
3. 学会等名 第73回 日本酸化ストレス学会学術集会 (10月6日-7日、米子、米子コンベンションセンター [オンライン開催])
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下晃矢、房 知輝、藤本政毅、安井博宣、稲波 修
2. 発表標題 分割照射によって出現した放射線抵抗性大腸がんSW480RR株化細胞の抵抗性メカニズムの解析
3. 学会等名 第73回 日本酸化ストレス学会学術集会 (10月6日-7日、米子、米子コンベンションセンター [オンライン開催])
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 房 知輝、安井博宣、志賀 哲、柴田悠貴、藤本政毅、鈴木基史、東川圭、宮本直樹、稲波 修、久下裕司
2. 発表標題 18F-DiFA PET/CTイメージングを用いたエリブリンによる腫瘍内低酸素解除効果の解析と放射線増感作用の検討
3. 学会等名 日本放射線影響学会第62回大会 (10月15日-16日、福島、コラッセふくしま[オンライン開催])
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下晃矢、房 知輝、藤本政毅、安井博宣、稲波 修
2. 発表標題 分割照射によって出現した放射線抵抗性大腸がんSW480RR株化細胞の抵抗性メカニズムの解析
3. 学会等名 日本放射線影響学会第62回大会 (10月15日-16日、福島、コラッセふくしま[オンライン開催])
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤本政毅、房 知輝、安井博宣、山盛 徹、稲波 修
2. 発表標題 放射線誘発性分裂期崩壊における中心体過剰複製の役割
3. 学会等名 4. 発表年 日本放射線影響学会第63回大会 (福島、オンライン) (招待講演) 日本放射線影響学会第62回大会 (10月15日-16日、福島、コラッセふくしま[オンライン開催])
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 稲波 修、安井博宣、山盛 徹、長崎幸夫
2. 発表標題 金属ナノ粒子によるがん放射線増感のメカニズムについて：DNA鎖が金ナノゲル粒子による放射線増感作用の主要な標的か？
3. 学会等名 日本放射線影響学会第63回大会（福島、オンライン）（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 東山りつ子、安井博宣、房知輝、山本久美子、藤本政毅、稲波修
2. 発表標題 Glutamine代謝阻害がX線照射による早期細胞老化およびアポトーシスの誘導に与える影響の検討
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会（つくば 9/10-12）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤本政毅、房知輝、山本久美子、安井博宣、稲波修
2. 発表標題 ヒト肺腺がん由来A549細胞におけるグルタミノリシスを標的とする放射線増感効果
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会（つくば 9/10-12）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本久美子、安井博宣、藤本政毅、房知輝、稲波修
2. 発表標題 種々のがん細胞におけるミトコンドリア電子伝達系の放射線応答の解析
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会（つくば 9/10-12）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福島佑一郎, 安井博宜, 藤本政毅, 山本久美子, 房知輝, 稲波修
2. 発表標題 ヒト肺がん由来A549細胞における解糖系の放射線応答性に関する研究
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会 (つくば 9/10-12)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 房知輝, 山盛徹, 山本久美子, 藤本正毅, 安井博宜, 稲波修
2. 発表標題 ミトコンドリア分裂はCa ²⁺ 制御を通じて放射線による分裂期崩壊誘導に寄与する
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会 (つくば 9/10-12)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 太田葉瑠, 橋本茉由子, 齋藤菜津子, 山本久美子, 中澤康裕, 稲波修, 北村浩
2. 発表標題 筋芽細胞におけるUSP2によるミトコンドリア機能制御
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会 (つくば 9/10-12)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 房知輝, 平岡和佳子, 後藤悠人, 高倉栄男, 小川美香子, 山本久美子, 稲波修
2. 発表標題 次世代近赤外光免疫療法に用いられる水溶性フタロシアニン誘導体IR700のアニオンラジカルの形成機構
3. 学会等名 第58回電子スピンサイエンス学会年会 (川崎市 11/7 - 9)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本久美子, 安井博宣, 藤本政毅, 房知輝, Valery V. Khrantsov, 平田拓, 稲波修
2. 発表標題 ESR法を用いた培養細胞における細胞外 pH 評価法の開発
3. 学会等名 第58回電子スピンスイェンス学会年会 (川崎市 11/7 - 9)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤本政毅, 房知輝, 山本久美子, 安井博宣, 稲波修
2. 発表標題 ヒト肺腺がん由来 A549細胞においてグルタミンノリシス依存性のエネルギー代謝の阻害は放射線の効果を増強する
3. 学会等名 日本放射線影響学会 第62回大会 (京都市 11/14-16)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本久美子, 安井博宣, 藤本政毅, 福島佑一郎, 房知輝, 稲波修
2. 発表標題 固形腫瘍株化細胞におけるエネルギー代謝の放射線応答の解析
3. 学会等名 日本放射線影響学会 第62回大会 (京都市)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 房知輝, 山盛徹, 山本久美子, 藤本正毅, 安井博宣, 稲波修
2. 発表標題 ミトコンドリア分裂とその Ca ²⁺ 制御は照射後の分裂期崩壊に寄与する
3. 学会等名 日本放射線影響学会 第62回大会 (京都市 11/14-16)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福島佑一郎, 安井博宣, 藤本政毅, 山本久美子, 房知輝, 稲波修
2. 発表標題 ヒト肺がん由来 A549細胞における解糖系の放射線応答性に関する研究
3. 学会等名 日本放射線影響学会 第62回大会 (京都市 11/14-16)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲波修, 東山りつ子, 藤本正毅, 山本久美子, 房知輝, 安井博宣
2. 発表標題 ヒト肺腺がん A549細胞におけるグルタミンノリシス阻害は放射線誘導性細胞老化を増強する
3. 学会等名 日本放射線影響学会 第62回大会 (京都市 11/14-16)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本久美子, 安井博宣, 房知輝, 藤本政毅, 稲波修
2. 発表標題 ESR法によるがん細胞のミトコンドリア機能の放射線応答の解析
3. 学会等名 日本放射線影響学会 第62回大会 (京都市 11/14-16)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 房知輝, 山盛徹, 山本久美子, 藤本正毅, 安井博宣, 稲波修
2. 発表標題 放射線誘発細胞死に対するミトコンドリア分裂の寄与メカニズムの検討
3. 学会等名 第72回 日本酸化ストレス学会学術集会 (札幌市 6/27-28)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤本政毅, 房知輝, 山本久美子, 安井博宣, 稲波修
2. 発表標題 ヒト肺腺がん由来A549細胞のエネルギー代謝におけるグルタミンノリシス依存性とその放射線応答
3. 学会等名 第72回 日本酸化ストレス学会学術集会 (札幌市 6/27-28)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲波修, 東山りつ子, 藤本正毅, 山本久美子, 房知輝, 安井博宣
2. 発表標題 グルタミン代謝阻害はヒト肺腺がんA549細胞において放射線誘発の老化細胞死を増強する
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会 第57回生物部会学術大会 (弘前市 6/7-8)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 房知輝, 山盛徹, 山本久美子, 藤本正毅, 安井博宣, 稲波修
2. 発表標題 ミトコンドリア形態制御機構を標的とした放射線感受性変化の検討とそのメカニズムの解析
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会 第57回生物部会学術大会 (弘前市 6/7-8)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 房知輝, 山盛徹, 山本久美子, 藤本正毅, 安井博宣, 稲波修
2. 発表標題 Inhibition of mitochondrial fission reduces radiation-induced mitotic catastrophe via Ca ²⁺ regulation
3. 学会等名 The 16th International Congress of Radiation Research (ICRR2019) (マンチェスター 8/25-29) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本久美子, 安井博宣, 藤本政毅, 福島佑一郎, 房知輝, 稲波修
2. 発表標題 X-Irradiation enhances energy metabolism derived from mitochondrial electron transport chain and glycolysis in cancer cells
3. 学会等名 The 16th International Congress of Radiation Research (ICRR2019) (マンチェスター 8/25-29) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲波修
2. 発表標題 がん特異的代謝を標的とした新規がん放射線療法
3. 学会等名 第22回がん治療増感シンポジウム(奈良市 2/8-9) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 久美子, 安井 博宣, 房 知輝, 山盛 徹, 稲波 修
2. 発表標題 E S R法による新規ミトコンドリア機能評価法を用いたがんの放射線応答の解析
3. 学会等名 日本放射線影響学会第61回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 房 知輝, 山盛 徹, 山本 久美子, 稲波 修
2. 発表標題 放射線により引き起こされる分裂期崩壊に対するミトコンドリア分裂の寄与メカニズムの解析
3. 学会等名 日本放射線影響学会第61回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤本 正毅、山盛 徹、房 知輝、山本 久美子、稲波 修
2. 発表標題 Centrinonne-Bによる中心体複製阻害が放射線誘発分裂期崩壊に与える影響
3. 学会等名 日本放射線影響学会第61回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永根 大幹、安井 博宣、山盛 徹、稲波 修、山下 匡
2. 発表標題 DNA損傷応答は内皮型一酸化窒素合成酵素の活性化を介して血管内皮細胞を老化させる
3. 学会等名 日本放射線影響学会第61回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井 博宣、河合 辰哉、松元 真悟、斎藤圭太、C. Kevin、稲波 修、K. Murali
2. 発表標題 電子スピン共鳴酸素イメージングによる脳室内移植グリオーマの放射線感受性評価
3. 学会等名 日本放射線影響学会第61回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲波 修
2. 発表標題 がんのエネルギー代謝における放射線応答とそれを標的とした放射線増感作用
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第56回生物部会、第47回放射線による制癌シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 出口 伸弥、細谷 謙次、金 尚昊、山本 久美子、房 知輝、安井 博宣、稲波 修
2. 発表標題 メトフォルミンのイヌ骨肉腫細胞株由来のCancer stem-like cellsにおける放射線増感効果の解析
3. 学会等名 第21回菅原・大西記念癌治療増感研究シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤本 正毅、房 知輝、山本 久美子、安井 博宣、稲波 修
2. 発表標題 ヒト肺腺がん由来A549細胞のエネルギー代謝におけるグルタミンオリシス依存性とその放射線応答
3. 学会等名 第21回菅原・大西記念癌治療増感研究シンポジウム
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 稲波 修、安井 博宣	4. 発行年 2021年
2. 出版社 化学工業社 ISSN0451 - 2014	5. 総ページ数 6
3. 書名 3. 書名 化学工業(特集「ナノ粒子の医学利用」; ナノ粒子による腫瘍細胞における放射線増感機構)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	平田 拓 (Hirata Hiroshi) (60250958)	北海道大学・情報科学研究院・教授 (10101)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	安井 博宣 (Yasui Hironobu) (10570228)	北海道大学・獣医学研究院・准教授 (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ロシア連邦	Vorozhtsov Novosibirsk Institute			