

令和 4 年 9 月 22 日現在

機関番号：14401

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2017～2021

課題番号：17H06303

研究課題名（和文）薬剤耐性の代謝アダプテーション

研究課題名（英文）Metabolic adaptation in drug resistance

研究代表者

松田 史生（Matsuda, Fumio）

大阪大学・情報科学研究科・教授

研究者番号：50462734

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 80,500,000円

研究成果の概要（和文）：抗がん剤などの薬剤が効かなくなる耐性獲得が問題となっている。耐性獲得へのエネルギー代謝の関与を明らかにするために、がん細胞中の代謝を計測した。その結果、ミトコンドリアでの呼吸と細胞質での好氣的解糖という2種類のエネルギー獲得経路のバランスが耐性獲得に重要であることを見出した。このバランスを崩すことで、耐性を回避する新たな方法の開発につながると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗がん剤などの薬剤は細胞内代謝を擾乱するが、細胞はその影響を打ち消す恒常性を維持することで、薬剤耐性を示すと考えられている。本研究では、代謝流束（フラックス）の測定によりエネルギー代謝の代謝恒常性維持機構の解明を試み、ATP再生経路の補完的な制御が耐性獲得に寄与することを見出した。さらに、代謝フラックスと他のオミクスデータを組み合わせて動的代謝数理モデルの機械学習を行う新たな代謝解析手法を開発した。

研究成果の概要（英文）：The development of resistance against anticancer and other drugs has become a problem. In this study, metabolic measurements of cancer cells were carried out to clarify the involvement of energy metabolism in the development of drug resistance. We found that the balance between two energy acquisition pathways - respiration in the mitochondria and aerobic glycolysis in the cytoplasm - is important for drug resistance. Disrupting this balance is expected to be a new approach to avoid the development of drug resistance.

研究分野：代謝工学

キーワード：代謝アダプテーション 代謝フラックス解析 薬剤耐性 好氣的解糖 酸化的リン酸化

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

代謝阻害剤、抗がん剤などの薬剤に対するヒト細胞の耐性獲得が課題となっている。近年代謝酵素を標的とした薬剤の開発が進んでいるが、代謝阻害を受けた細胞は、その影響を打ち消すような代謝アダプテーションを起こして薬剤耐性を示すと考えられている。この恒常性維持に関わる代謝アダプテーションの全容を解明できれば、耐性を打破する新たな分子標的の同定につながる。これまでも分子メカニズムの観点から、薬剤耐性獲得機構が解明されてきたが、エネルギー代謝レベルでの包括的な理解には至っていない。これまで我々は代謝アダプテーションを代謝流束(フラックス)レベルで測定する手法を開発し、細胞内のエネルギー状態変化として代謝アダプテーションを解析可能としてきた。代謝フラックスデータをメタボローム、プロテオーム、トランスクリプトームデータと統合するトランスオミクス解析を行うことで、薬剤耐性に関する代謝アダプテーションの全体像を明らかにできると期待される。また、階層をつないだデータ解析を行うことで、代謝恒常性に関わるトランスオミクスネットワークの同定が可能になると考えられる。代謝は生命共通のシステムであり、擾乱に対する代謝恒常性維持機構の解明からは、有用物質生産のため代謝設計原理も抽出できる。微生物、植物代謝工学などのグリーンイノベーション分野への応用も期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、代謝阻害剤、抗がん剤を処理した動物培養細胞株から、代謝フラックスを含むトランスオミクスデータを取得し、薬剤耐性に関する代謝アダプテーションの全体像を明らかにすることを目的とし、下記の4点について検討を加えた。1,2はトランスオミクスを測ることに主眼を置き、3,4はトランスオミクスをつなぐ新たな手法の開発を試みた。

タモキシフェン処理後の乳がん細胞株 MCF-7 の代謝応答解析

乳がん細胞の増殖を阻害するタモキシフェン (TAM) は電子伝達阻害など、中心炭素代謝の変化を引き起こし、その後の生死を左右することが示唆されているなど、多くの知見がある。しかし、薬剤処理後のメタボロームレベルでの代謝応答の詳細は明らかとなっていない。そこで本研究では、TAMの活性体である4ヒドロキシタモキシフェン (4-OHT) を用いて、薬剤処理後の代謝応答の解明を試みた。

がん培養細胞中心代謝の比較フラックス解析

これまでの解析から、電子伝達鎖を用いた酸化的リン酸化および、解糖系による基質レベルのリン酸化による ATP 再生の補完的關係が、さまざまな代謝アダプテーションの種を超える共通点として見出された。これは長年謎とされてきた、好氣的解糖の代謝的意義を示唆することから、¹³C 代謝フラックス解析をヒトがん培養細胞に適用することにした。がん細胞は活発な増殖を維持するために特異的な代謝状態を持つことが知られており、がん細胞を選択的に死滅させる創薬ターゲットとして注目されている。しかし、由来する臓器の異なるがん細胞間での代謝の普遍性および多様性の実態は明らかでない。そこで、細胞内代謝反応速度を計測できる ¹³C 代謝フラックス解析法を7種のヒトがん細胞株に適用し、代謝フラックスと遺伝子発現量や細胞の表現型との関係性を明らかにすることを目的とした。

質量分析データから代謝リプログラミング情報を可視化する方法の開発

代謝フラックス解析とは、がん、免疫細胞等でおきる代謝リプログラミング、代謝リワイアリングと呼ばれる代謝流量の変化を検出する手法である。安定同位体標識炭素源([1-¹³C]グルコース, [U-¹³C]グルタミン等)を含む培地中で細胞を培養し、抽出した細胞内代謝中間体の安定同位体標識パターンを質量分析法で測定する。標識パターンの変化を注意深く読み解くことで、代謝フラックス変化を推定する。本研究ではより詳細な代謝フラックス解析の実現に向け、安定同位体標識パターンを自動的に解析し、代謝リプログラミング情報を可視化する方法の開発を行った。

アンサンブルモデリングによるトランスオミクスデータ解析法の開発

シアノバクテリアの光合成能を利用して、二酸化炭素からバイオエタノール等の有用物質を直接生産するための代謝工学研究が進められている。さらなる生産性向上のターゲット反応を特定するには、代謝フラックスを各代謝酵素がコントロールする寄与の大きさを定量する代謝コントロール解析 (MCA) が有用である。しかし、酵素反応パラメーターの情報が少なく、MCAに必要な各反応速度式を記述した動的代謝モデルの構築が困難だった[1]。そこで本研究では、アンサンブルモデリング (EM) 法によるシアノバクテリア動的代謝モデルの構築と遺伝子改変株の設計を試みた。EM法では、ランダムに生成した酵素反応パラメーターを持つ動的代謝モデルを多数作成し、実測データを用いたスクリーニングにより予測精度の高いモデル集団を獲得する[2]。これを用いて、エタノール生産能向上に有効な代謝反応や、代謝調節機構に関わるアロステリックな制御の特定を目指した。

3. 研究の方法

ヒト乳がん由来細胞株 MCF-7 を 15 時間培養後、4-OHT を含む培地に交換した。その後 0、12、24、36、48 時間生細胞数測定、培地回収と細胞回収を行った。培地成分は HPLC 法で、水溶性代謝物含量は GC-MS と LC-MS/MS を用いたターゲットメタボロミクス法で、脂質含量は LC-QTOF/MS を用いたリポミクス法で測定した。

7 種のヒトがん細胞株は、トランスクリプトーム解析のデータセットから、中心代謝経路に關与する 96 遺伝子を抽出し、階層化クラスター解析を実施することで遺伝子プロファイルに多様性のある 7 種のヒトがん細胞株を選抜した。各細胞株を 10 cm プレートに播種し、 $[1-^{13}\text{C}]$ グルコース含有培地で培養した。代謝フラックス分布は専門ソフトウェア mfapy で推定した。乳がん細胞株としてサブタイプが Luminal の MCF-7、T47D、HER2 の SKBR3、MDA-MB-453、Triple negative の MDA-MB-231、MDA-MB-436 を用いた。培養した細胞株中の代謝物含量をターゲットメタボロミクス法で測定した。 $[1,2-^{13}\text{C}]$ グルコース含有培地で培養し、培地成分と細胞内代謝物の ^{13}C 標識割合の計測データから ^{13}C -代謝フラックス解析法で、代謝フラックス分布を推定した。

シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 を 100 mM の NaHCO_3 を含む BG11 培地に植菌し、34 °C、150 rpm、40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ sec}$ で培養した。OD730 = 1.0 付近の対数増殖中の細胞を回収し、代謝物濃度と酵素発現量分析用のサンプルとした。代謝物濃度は LC-MS/MS と GC-MS で各代謝物の非標識体と $[U-^{13}\text{C}]$ 標識体をそれぞれ別に測定し、そのピーク面積比から算出した。酵素発現量は nanoLC-MS/MS の MRM モードで定量し、代謝フラックス値は先行研究のものを利用した (Nakajima et al., 2017)。代謝モデルにはシアノバクテリアの中心代謝 33 反応及び、主要な光化学系反応 6 反応を反応速度式で記述したものをを用いた。酵素反応パラメーターをランダムに生成する際には、文献値が入手できたものはその 1/5 から 5 倍を範囲とした。その他のパラメーターに関しては 0.01 から 100 $\mu\text{mol}/\text{gDCW}$ の間でランダムに生成した。

4. 研究成果

タモキシフェン処理後の乳がん細胞株 MCF-7 の代謝応答解析

4-OHT 処理後の細胞増殖挙動を評価したところ、4-OHT 処理群では 12 時間まで増殖し、その後、アポトーシスがみられた。次に、4-OHT の代謝への影響を調べるために親水性、疎水性代謝物の合計 77 種類を計測し、主成分分析を行った結果、処理群では第一主成分軸に沿ってプロットが継時的に移動した。TCA 回路中間代謝物含量の慶事変化を調べたところ、処理群の細胞内クエン酸含量は 0 時間から 12 時間にかけて 0.5 倍に減少し、その後は、常に未処理群に対して有意に低いレベルを維持した。また、リンゴ酸、フマル酸含量が増加していた (図 1)。これらの結果からは、解糖系からクエン酸への流入が減少した、クエン酸からの流出が増えたという 2 つの可能性が示唆されたことから、クエン酸量減少の要因を調べるために、クエン酸合成、分解に関わる酵素遺伝子発現量を qPCR で調べた結果、クエン酸合成酵素の発現量減少と、ATP クエン酸リアーゼ (ACLY) とそれに続く脂質合成酵素の発現量の増加がみられた。ミトコンドリア膜電位を蛍光染色にて評価したところ、4-OHT 単独処理時には消失していた膜電位が、ACLY 阻害剤の併用により維持されることが分かった。4-OHT 処理とそれぞれの阻害剤を併用処理して増殖を評価したところ、脂肪酸合成阻害剤併用時にのみ、4-OHT による増殖阻害の緩和がみられた (未公表データ)。このように、4-OHT 処理後の MCF-7 のメタボロームレベルでの代謝応答の詳細を明らかにした。

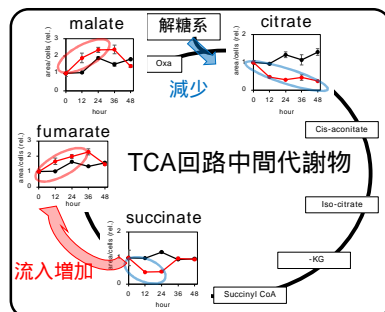


図 1 4-ヒドロキシタモキシフェン処理後の乳がん細胞株 MCF-7 の代謝応答のタイムコース。黒がコントロール、赤が 4-ヒドロキシタモキシフェン処理区を示す。

がん培養細胞中心代謝の比較フラックス解析

異なる組織に由来するがん細胞 7 種を 10 cm プレートを用いて培養し、比増殖速度、物質収支、細胞内代謝物の ^{13}C 標識割合の計測を行い、代謝フラックス分布を推定することに成功した。得られた代謝フラックス分布を比較すると、すべてのがん細胞において、培地から取り込まれたグルコースの 8 割以上は解糖系を経て乳酸として排出されており、ワールブルグ効果の代謝状

態が観察された(図3)。一方、代謝フラックスデータを用いた主成分分析を行った。その結果、肝臓由来の Huh-1 と腎臓由来の Caki-1 が他の株のクラスターと離れていたことから、他とは異なる代謝フラックス分布を持つと推測された。また、ATP 再生反応の代謝フラックスデータを用いて、ATP 総再生速度を算出したところ、25%~50%の ATP が酸化的リン酸化を通じて再生されていた。各がん細胞のミトコンドリア膜電位の蛍光観察を行ったところ、高膜電位を維持しているミトコンドリアが多数存在することが確認でき、酸化的リン酸化による ATP 再生が活性に起きていると推測された。これらの結果からワールブルグ効果に加え、酸化的リン酸化が従来考えられていたよりも ATP 再生に大きく寄与し、さらに酸化的リン酸化の寄与度ががん細胞間で異なることと考えられた(未公表データ)。この結果は ATP の再生のほとんどが解糖系 ATP 再生による、という従来のイメージとは異なっていた。

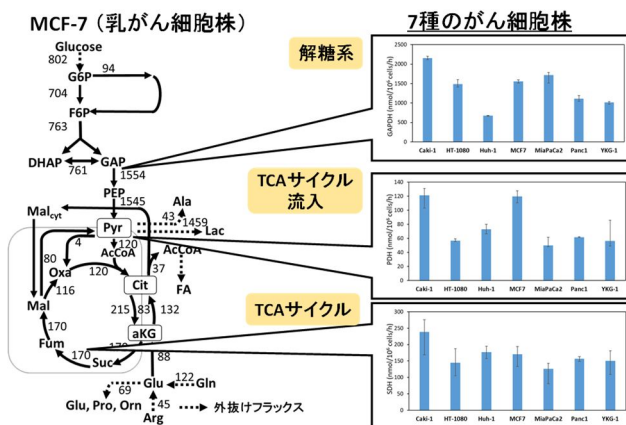


図3 ヒト乳がん細胞株 (MCF-7)の中心炭素代謝フラックス分布と、7種のがん細胞間比較

質量分析データから代謝リプログラミング情報を可視化する方法の開発

がん細胞の中心代謝経路は、様々な状態 (= 代謝フラックス分布) を取り得る。そこで本研究では、がん細胞中心代謝の化学量論モデルを用い、安定同位体標識パターンが観測された条件下での代謝フラックスの事後分布を、メトロポリス-ヘイスティングス法で推定し、2条件間の変化の大きさをコーエンの効果量で定量化する方法を開発した。すべての解析は Python3.4 および代謝フラックス解析用モジュールである mfapy を用いて行った[3]。

提案法を用いて、[U-¹³C]グルタミン含有培地で培養した MCF-7 細胞に、抗がん剤であるパクリタキセルを処理した時のクエン酸の安定同位体標識パターンを解析した。従来法では ¹³C で 5 つおよび 4 つ標識されたクエン酸の割合 ([Citm5]/[Citm4]) が 1.22 から 0.86 に減少していたことから、還元的グルタミン酸代謝の低下が起きていると示唆された。一方、同じデータを提案法で解析したところ、パクリタキセル処理は還元的グルタミン酸代謝の有意な変化を起こさず、むしろピルビン酸カルボキシラーゼ(補充経路)を有意に活性化するという、過去の知見と合致する結果を得ることに成功した[4]。

アンサンブルモデリングによるトランスオミクスデータ解析法の開発

EM 法による動的代謝モデル構築に必要な代謝物濃度、酵素発現量、代謝フラックス分布をシアノバクテリアの分析及び先行研究から取得した[5]。データはモデル構築用の独立栄養条件と、スクリーニング用の混合栄養条件の 2 条件について取得した。独立栄養条件の代謝物濃度、酵素発現量、代謝フラックス実測値を再現可能な反応速度パラメーターをランダムに生成し、1,000,000 個の動的代謝モデルを作成した。ついで、酵素発現量を混合栄養条件のものに変更し、混合栄養条件における代謝フラックスおよび代謝物濃度の予測を行った。予測精度を実測値との残差二乗和によって評価し、予測力の高いモデルを 100 個選抜した。このモデルアンサンブルを用いた代謝コントロール解析によって、エタノール生合成前駆体のピルビン酸を供給するピルビン酸キナーゼ (PYK) 反応のフラックスを正にコントロールしている酵素を特定することを試みた(図4)。得られた結果を見ると、PYKに加え、PGKとPRKの3反応が過剰発現の候補として特定された。実際に、エタノール生産株に、これらの酵素を追加で過剰発現した株を作成したところ、PGKの過剰発現株ではエタノール生産量が1.4倍に向上していた。この結果から、本研究で構築したモデルアンサンブルは合理的な代謝改変箇所特定に成功したことが分かった[6]。

エタノール生産株の細胞内で働いているアロステリック制御を特定することを目指し、野生株及びエタノール生産株の代謝物濃度、酵素発現量、代謝フラックス分布を取得した。光独立条件下における野生株の 100,000 個のアロステリック制御を全く含まない動的代謝モデルを作成した。ついで、エタノール生産株の代謝物濃度を予測し、予測力の高いモデルを 1,000 個選抜した。このモデルアンサンブルにアロステリック制御を 1 つ書き加え、エタノール生産株の代謝物濃度の予測精度がどの程度向上するかを確認した。これを阻害と活性化それぞれで、モデルに含まれる代謝反応と代謝物の全組み合わせのアロステリック制御 (1,089 通り) について計算した。その結果、PRK に対する IsoCit による阻害と GPM に対する aKG による阻害が中心代謝に

おける重要なアロステリック制御の候補として特定された。実際に、シアノバクテリアの酵素を精製し、酵素活性の測定を行ったところ、PRK は細胞内と同程度の IsoCit 存在下において活性が 50 %にまで低下することが分かった ($K_i = 1.45 \text{ mM}$)。シアノバクテリアは TCA サイクルの有機酸を合成することで炭素を貯蔵することが知られており[7]、貯蔵量が増加してくると PRK が抑制され、炭素固定速度が低下することが示唆された。本研究により、EM 法を用いることで、合理的な代謝設計に資する動的代謝モデルを構築することに成功した。また、動的な代謝制御に関わるアロステリック制御を発見できた[8]。今後は代謝モデルの拡張やスクリーニングデータの検討により、さらに汎用的な手法へと発展すると期待される。

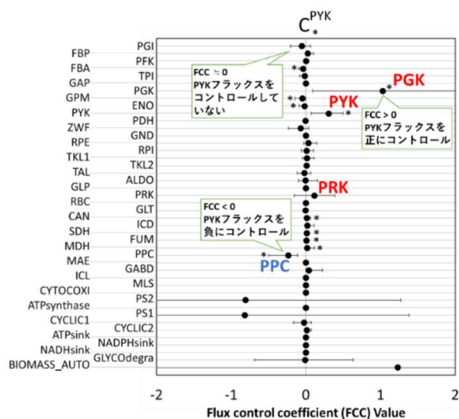


図4 PYK フラックスに対するコントロール係数

参考文献

1. Andreozzi S, Chakrabarti A, Soh KC, Burgard A, Yang TH, Van Dien S, Miskovic L, Hatzimanikatis V: **Identification of metabolic engineering targets for the enhancement of 1,4-butanediol production in recombinant *E. coli* using large-scale kinetic models.** *Metab Eng* 2016, **35**:148-159.
2. Tran LM, Rizk ML, Liao JC: **Ensemble modeling of metabolic networks.** *Biophys J* 2008, **95**(12):5606-5617.
3. Matsuda F, Maeda K, Taniguchi T, Kondo Y, Yatabe F, Okahashi N, Shimizu H: **mfapy: An open-source Python package for (13)C-based metabolic flux analysis.** *Metab Eng Commun* 2021, **13**:e00177.
4. Matsuda F, Maeda K, Okahashi N: **Computational data mining method for isotopomer analysis in the quantitative assessment of metabolic reprogramming.** *Sci Rep* 2020, **10**(1):286.
5. Nakajima T, Yoshikawa K, Toya Y, Matsuda F, Shimizu H: **Metabolic flux analysis of *Synechocystis* sp. PCC 6803 DnrtABCD mutant reveals a mechanism for metabolic adaptation to nitrogen-limited conditions.** *Plant Cell Physiol* 2017, **58**(3):537-545.
6. Nishiguchi H, Hiasa N, Uebayashi K, Liao J, Shimizu H, Matsuda F: **Transomics data-driven, ensemble kinetic modeling for system-level understanding and engineering of the cyanobacteria central metabolism.** *Metab Eng* 2019, **52**:273-283.
7. Osanai T, Kuwahara A, Iijima H, Toyooka K, Sato M, Tanaka K, Ikeuchi M, Saito K, Hirai MY: **Pleiotropic effect of sigE over-expression on cell morphology, photosynthesis and hydrogen production in *Synechocystis* sp. PCC 6803.** *The Plant journal : for cell and molecular biology* 2013, **76**(3):456-465.
8. Nishiguchi H, Liao J, Shimizu H, Matsuda F: **Novel allosteric inhibition of phosphoribulokinase identified by ensemble kinetic modeling of *Synechocystis* sp. PCC 6803 metabolism.** *Metab Eng Commun* 2020, **11**:e00153.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Nishiguchi Hiroki, Liao James, Shimizu Hiroshi, Matsuda Fumio	4. 巻 11
2. 論文標題 Novel allosteric inhibition of phosphoribulokinase identified by ensemble kinetic modeling of Synechocystis sp. PCC 6803 metabolism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Metabolic Engineering Communications	6. 最初と最後の頁 e00153-e00153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mec.2020.e00153	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 Siriwach Ratklao, Matsuda Fumio, Yano Kentaro, Hirai Masami Yokota	4. 巻 10
2. 論文標題 Drought Stress Responses in Context-Specific Genome-Scale Metabolic Models of Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 159-159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/metabo10040159	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 Matsuda Fumio, Maeda Kousuke, Okahashi Nobuyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Computational data mining method for isotopomer analysis in the quantitative assessment of metabolic reprogramming	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-57146-8	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 Izumi Yoshihiro, Matsuda Fumio, Hirayama Akiyoshi, Ikeda Kazutaka, Kita Yoshihiro, Horie Kanta, Saigusa Daisuke, Saito Kosuke, Sawada Yuji, Nakanishi Hiroki, Okahashi Nobuyuki, Takahashi Masatomo, Nakao Motonao, Hata Kosuke, Hoshi Yutaro, Morihara Motohiko, Tanabe Kazuhiro, Bamba Takeshi, Oda Yoshiya	4. 巻 9
2. 論文標題 Inter-Laboratory Comparison of Metabolite Measurements for Metabolomics Data Integration	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 257-257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/metabo9110257	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 Okahashi Nobuyuki, Kawana Shuichi, Iida Junko, Shimizu Hiroshi, Matsuda Fumio	4. 巻 8
2. 論文標題 Fragmentation of Dicarboxylic and Tricarboxylic Acids in the Krebs Cycle Using GC-EI-MS and GC-EI-MS/MS	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 A0073-A0073
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5702/massspectrometry.A0073	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 Maruyama Masaharu, Nishiguchi Hiroki, Toyoshima Masakazu, Okahashi Nobuyuki, Matsuda Fumio, Shimizu Hiroshi	4. 巻 128
2. 論文標題 Time-resolved analysis of short term metabolic adaptation at dark transition in Synechocystis sp. PCC 6803	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 424 ~ 428
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2019.03.016	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 Hiroki Nishiguchi, Natsuki Hiasa, Kiyoka Uebayashi, James Liao, Hiroshi Shimizu, and Fumio Matsuda	4. 巻 52
2. 論文標題 Transomics data-driven, ensemble kinetic modeling for system-level understanding and engineering of the cyanobacteria central metabolism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Metabolic Engineering	6. 最初と最後の頁 273-283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymben.2019.01.004	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 Nobuyuki Okahashi, Kousuke Maeda, Shuichi Kawana, Junko Iida, Hiroshi Shimizu, Fumio Matsuda	4. 巻 51
2. 論文標題 Sugar phosphate analysis with base line separation and soft ionization by gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry improves flux estimation of bidirectional reactions in cancer cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Metabolic Engineering	6. 最初と最後の頁 43-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymben.2018.08.011.	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 Kiyoka Uebayashi, Hiroshi Shimizu, Fumio Matsuda	4. 巻 102
2. 論文標題 Comparative analysis of fermentation and enzyme expression profiles among industrial <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strains	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Applied Microbiology and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 7071-7081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00253-018-9128-9.	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 Kenshi Hayakawa, Fumio Matsuda, Hiroshi Shimizu	4. 巻 17
2. 論文標題 13C-metabolic flux analysis of ethanol-assimilating <i>Saccharomyces cerevisiae</i> for S-adenosyl-L-methionine production	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microbial Cell Factories	6. 最初と最後の頁 82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12934-018-0935-6	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 Fumio Matsuda, Yoshihiro Toya and Hiroshi Shimizu	4. 巻 35
2. 論文標題 Learning from quantitative data to understand central carbon metabolism.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biotechnology Advances	6. 最初と最後の頁 971-980
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biotechadv.2017.09.006.	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 Nagai Hikaru, Masuda Ami, Toya Yoshihiro, Matsuda Fumio, Shimizu Hiroshi	4. 巻 47
2. 論文標題 Metabolic engineering of mevalonate-producing <i>Escherichia coli</i> strains based on thermodynamic analysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Metabolic Engineering	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymben.2018.02.012	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 Matsuda Fumio, Maeda Kousuke, Taniguchi Takeo, Kondo Yuya, Yatabe Futa, Okahashi Nobuyuki, Shimizu Hiroshi	4. 巻 13
2. 論文標題 mfapy: An open-source Python package for 13C-based metabolic flux analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Metabolic Engineering Communications	6. 最初と最後の頁 e00177 ~ e00177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mec.2021.e00177	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 Yatabe Futa, Okahashi Nobuyuki, Seike Taisuke, Matsuda Fumio	4. 巻 17
2. 論文標題 Comparative 13C metabolic flux analysis indicates elevation of ATP regeneration, carbon dioxide, and heat production in industrial <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strains	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biotechnology Journal	6. 最初と最後の頁 2000438 ~ 2000438
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/biot.202000438	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 Kanazawa Shinji, Noda Akira, Ito Arisa, Hashimoto Kyoko, Kunisawa Akihiro, Nakanishi Tsuyoshi, Kajihara Shigeki, Mukai Norio, Iida Junko, Fukusaki Eiichiro, Matsuda Fumio	4. 巻 131
2. 論文標題 Fake metabolomics chromatogram generation for facilitating deep learning of peak-picking neural networks	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 207 ~ 212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2020.09.013	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 -

〔学会発表〕 計33件(うち招待講演 5件/うち国際学会 11件)

1. 発表者名 谷田部 楓太, 岡橋 伸幸, 清家 泰介, 松田 史生
2. 発表標題 実用酵母株の代謝フラックス解析による発酵能力と代謝熱の関連の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西本和生 丸山正晴 岡橋伸幸 松田史生
2. 発表標題 Investigation of metabolic responses in MCF-7 after treatment with 4-hydroxytamoxifen using time-series metabolomics
3. 学会等名 Metabolomics2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fumio Matsuda, Kousuke Maeda, Nobuyuki Okahashi
2. 発表標題 Mining and visualization of isotopomer analysis data for the quantitative assessment of metabolic flux reprogramming
3. 学会等名 68th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nobuyuki Okahashi, Shuma Tsuji, Junko Iida, Tairo Ogura, Fumio Matsuda
2. 発表標題 Metabolic adaptation analysis of the inhibition of oxidative phosphorylation using time-series metabolomics and lipidomics
3. 学会等名 68th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西本和生 丸山正晴 岡橋伸幸 松田史生
2. 発表標題 時系列メタボローム解析を用いたがん細胞薬剤応答の解明
3. 学会等名 第68回質量分析総合討論会 (大阪)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 澤井茜 辻周真 岡橋伸幸 松田史生
2. 発表標題 呼吸鎖阻害剤を処理した乳がん細胞株MCF-7の時系列メタボローム解析
3. 学会等名 第68回質量分析総合討論会（大阪）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 近藤佑哉 島知輝 岡橋伸幸 松田史生
2. 発表標題 質量分析を用いた大腸がん細胞株の13C代謝フラックス解析
3. 学会等名 第68回質量分析総合討論会（大阪）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fumio Matsuda
2. 発表標題 Trans omics analysis of metabolic rewiring in inhibitor treated cancer cells by integrating 13C metabolic flux and metabolome analyses
3. 学会等名 The 29th Hot Spring Harbor International Symposium Cutting Edge of Technical Innovations in Trans Omics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Fumio Matsuda, Kazuki Yamazaki, Shunsuke Nishino, Hiroshi Shimizu
2. 発表標題 Trans-omic analysis of the central metabolism of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> by integration of metabolome, metabolic flux, and proteome data
3. 学会等名 International Conference of Systemes Biology 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Fumio Matsuda
2. 発表標題 How to use targeted proteomics in synthetic and systems biology
3. 学会等名 Asian Synthetic Biology Association 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 岡橋伸幸 辻周真 小倉泰郎 飯田順子 松田史生
2. 発表標題 乳がん細胞MCF-7の呼吸鎖阻害剤処理に対する代謝アダプテーションの解析
3. 学会等名 第13回メタボロームシンポジウム
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 山崎 一輝, 丸山 正晴, 西野 駿佑, 岡橋 伸幸, 清水 浩, 松田 史生
2. 発表標題 出芽酵母の代謝制御機構解明のための相関ネットワークの構築
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 松田史生
2. 発表標題 13C-代謝フラックス解析を用いた薬剤耐性代謝アダプテーション機構の解析
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 鳥 知輝・丸山 正晴・岡橋 伸幸・松田 史生
2. 発表標題 13C代謝フラックス解析を用いた非上皮系細胞株の定量的代謝比較
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 辻 周真, 丸山 正晴, 和泉 自泰, 馬場 健史, 岡橋 伸幸, 松田 史生
2. 発表標題 ロテノン処理に対するヒト乳がん細胞株MCF-7の代謝アダプテーション解析
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 山崎 一輝, 丸山 正晴, 西野 駿佑, 岡橋 伸幸, 清水 浩, 松田 史生
2. 発表標題 トランスオミクスによる出芽酵母の中心炭素代謝制御機構の解明
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 丸山正晴、荒木千絵、岡橋伸幸、松田史生
2. 発表標題 薬剤処理に対する動物培養細胞の動的代謝応答の解析
3. 学会等名 019年度生物学若手研究者の集い(若手会)夏のセミナー
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Chie Araki, Nobuyuki Okahashi, Kousuke Maeda, Hiroshi Shimizu, and Fumio Matsuda
2. 発表標題 13C-Metabolic flux analysis of inhibitor-induced metabolic redirection in the central metabolism of breast cancer cells
3. 学会等名 67th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 島知輝、丸山正晴、岡橋伸幸、松田史生
2. 発表標題 質量分析を用いたがん代謝の計測－非上皮性細胞由来がんの代謝フラックス解析
3. 学会等名 第67回質量分析総合討論会 (2019, つくば)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 丸山正晴、荒木千絵、岡橋伸幸、松田史生
2. 発表標題 代謝プロファイル時系列分によるがん薬剤耐性化機構の解明
3. 学会等名 第67回質量分析総合討論会 (2019, つくば)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 岡橋伸幸, 河野晋, 高橋智聡, 清水浩, 松田史生
2. 発表標題 13C代謝フラックス解析によるp53代謝リワイアリングの定量的解析
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 荒木千絵, 岡橋伸幸, 清水浩, 松田史生
2. 発表標題 13C代謝フラックス解析による動物培養細胞の代謝リワイアリングの定量
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fumio Matsuda
2. 発表標題 Transomics data-driven, ensemble kinetic modeling of the central metabolism
3. 学会等名 Asian Synthetic Biology Association 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 辻周真, 丸山正晴, 荒木 千絵, 岡橋伸幸, 松田史生
2. 発表標題 ロテノン処理に対する代謝アダプテーション
3. 学会等名 第12回メタボロームシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nobuyuki Okahashi, Kousuke Maeda, Shuichi Kawana, Hiroshi Shimizu, Junko Iida, and Fumio Matsuda
2. 発表標題 Baseline separation of intracellular sugar phosphates by GC-NCI-MS and its application to 13C-metabolic flux analysis of cancer cells
3. 学会等名 66th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fumio Matsuda, Shunsuke Nishino, Hiroshi Shimizu
2. 発表標題 Trans-omic analysis of the central metabolism of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> by integration of metabolome, metabolic flux, and proteome data
3. 学会等名 Metabolic Engineering 12 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 荒木 千絵、前田 昂亮、岡橋 伸幸、松田 史生、清水 浩
2. 発表標題 バクリタキセル処理に対するヒト乳がん由来細胞株MCF-7の代謝アダプテーション
3. 学会等名 メタボロームシンポジウム2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西口 大貴、永井 暉、松田 史生、清水 浩
2. 発表標題 代謝物絶対定量データを用いたシアノバクテリアの動的代謝モデル構築
3. 学会等名 メタボロームシンポジウム2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上原 ひかる、荒木 千絵、前田 昂亮、岡橋 伸幸、松田 史生、清水 浩
2. 発表標題 がん細胞株間の中央代謝フラックス比較
3. 学会等名 メタボロームシンポジウム2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松田 史生、前田 昂亮、荒木 千絵、上原 ひかる、岡橋 伸幸、清水 浩
2. 発表標題 代謝フラックスレベルでの動物培養細胞中心代謝の解析
3. 学会等名 メタボロームシンポジウム2017 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松田 史生
2. 発表標題 計測に基づく中心代謝調節機構の解析
3. 学会等名 JBA 発酵と代謝研究会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西口 大貴、永井 暉、松田 史生、清水 浩
2. 発表標題 代謝物濃度絶対定量値を用いたエタノール生産シアノバクテリア代謝律速点の解析
3. 学会等名 第69回日本生物工学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 荒木千絵、前田昂亮、岡橋伸幸、松田史生、清水浩
2. 発表標題 抗がん剤処理によるがん細胞代謝フラックス変動の解析
3. 学会等名 第5回がん代謝研究会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 馬場 健史、平山 明由、松田 史生、津川 裕司	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 334
3. 書名 メタボロミクス実践ガイド	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>大阪大学大学院情報科学研究科バイオ情報計測学講座 http://www-symbio.ist.osaka-u.ac.jp/research.html</p>
--

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
研究協力者	清水 浩 (Shimizu Hiroshi)		
研究協力者	戸谷 吉博 (Toya Yoshihiro)		
研究協力者	平井 優美 (Hirai Masami)		

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
研究協力者	岡橋 伸幸 (Okahashi Nobuyuki)		
研究協力者	清家 泰介 (Seike Taisuke)		

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		
その他の国・地域	中華民国 Academia Sinica		