

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590184

研究課題名（和文） 未分化細胞と癌細胞に特有の栄養素輸送体の同定と医学的応用

研究課題名（英文） Identification of nutrient transporters unique to undifferentiated cells and cancer cells and their application to medicine

研究代表者

岩永 敏彦（IWANAGA TOSHIHIKO）

北海道大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：10160128

研究成果の概要（和文）：細胞のエネルギー源としてのモノカルボン酸の重要性を明らかにするために、特異的な輸送体である MCT の発現を未分化増殖細胞と癌細胞で解析した。未分化増殖細胞がつねに存在する皮膚、消化管、骨髄では、いずれも増殖中および未分化細胞が MCT1 を強く発現しており、代表的なグルコース輸送体である GLUT1 の発現は低レベルであった。また、生殖器と癌組織も MCT1 を優位に発現しており、これらの細胞は解糖系が亢進しているために、乳酸の放出や利用をさかんにおこなっていることが想像された。モノカルボン酸輸送体の抑制が癌の治療にむすびつくと思われる。

研究成果の概要（英文）：

The present study is aimed to analyze the expression of monocarboxylate transporter (MCT) in the undifferentiated cells and cancer cells, in order to evaluate the monocarboxylates (lactate, acetic acids, pyruvate, and so on) as important nutrients. In the skin, intestine, and bone marrow where cells are renewing consistently, dividing and undifferentiated cells expressed MCT1, whereas the expression of glucose transporters was low in level. Furthermore, genital cells in the ovary and testis and cancer cells expressed MCT1 to handle lactate which is produced by activated glycolysis. This information may help us to develop anti-cancer drugs of new strategy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学、解剖学一般（含組織学・発生学）

キーワード：モノカルボン酸、乳酸、輸送体、MCT、未分化細胞

1. 研究開始当初の背景

細胞のエネルギー源としてはグルコースを思いうかべるが、多くの細胞はグルコース以外に、モノカルボン酸（カルボキシル基をひとつもつ短鎖の有機酸）を利用している。モノカルボン酸は解糖系ですばやく産生できる上に、クエン酸回路ですぐ使える位置にある。また、脂肪分解により動員できるので（ケトン体）、枯渇しがちなグルコースよりも安定的なエネルギー供給が可能である。生命体はモノカルボン酸とグルコース利用系の2つをときに応じて使い分けて飢餓に耐え、進化してきたふしがある。モノカルボン酸がより原始的な、かつ基本的な栄養素であるとおもわれるが、この考えが我々の研究の起点である。

細胞が栄養素をとりこむには、細胞膜に発現する特異的のトランスポーターが必要である。乳酸やケトン体などのモノカルボン酸の場合は **monocarboxylate transporter (MCT)** が担当する。グルコースは **GLUT** ファミリーが特異的の輸送体である。細胞レベルでの栄養素の利用実態を把握するには栄養素そのものの動態とともに、これらのトランスポーターの発現を解析するのが重要である。

我々は、これまでに消化管、末梢神経系、乳腺などで、**MCT** と **GLUT** の発現解析を組織化学的におこなってきた。その過程で、幹細胞や未分化細胞、癌細胞が **MCT** をより強く発現している事実をつかんだ。未分化細胞や癌細胞では酸素が不足する傾向にあり、解糖系が亢進していることがその理由のひとつであると思われた。こういった経緯から、申請者はエネルギー輸送体の解析を通して、未分化細胞と癌細胞の栄養学的特性を明らかにし、医学に応用したいと考えた。

2. 研究の目的

申請者はこれまで、トランスポーターの組織化学的な発現解析から、さまざまな組織や細胞においてモノカルボン酸（乳酸、ピルビン酸、酢酸、ケトン体など）がグルコースに匹敵する栄養素になっていることを明らかにしてきた。本研究では、始原細胞である精子と卵子、未分化幹細胞および癌細胞が特殊なエネルギー系を利用していることを、栄養素の輸送体（**monocarboxylate transporter** と **glucose transporter**）の解析を通して明らかにする。研究目的は、「細胞の栄養学」の観点から細胞の分化と癌化を特色づけ、再生医療や癌の診断・治療に結びつけることである。具体的には、

(1) 栄養素トランスポーターの解析から細胞分化と癌化を特色づける (**in situ** 実験系)。未分化細胞や先祖返りした癌細胞において「細胞の栄養学」を確立したい。

(2) 細胞の分化・増殖に及ぼすモノカルボン酸の作用を検証する (**in vitro** の実験系)。

(3) 癌組織でのモノカルボン酸の取り込みを可視化する (**in vivo** 実験系)。アイソトープで標識した乳酸や酢酸を正常および担癌動物（マウス）に投与し、オートラジオグラフと **PET**（ポジトロン断層撮影法）でモノカルボン酸の取り込みを可視化する。

3. 研究の方法

(1) **In situ hybridization** 法と免疫組織化学による **MCT** と **GLUT** ファミリーの発現解析

生殖細胞と胎児の栄養源がなにかを明らかにするために、**MCT** と **GLUT** のすべてのサブタイプを対象に精巣と卵巣、および胎盤での発現を組織化学的に解析する。

(2) 未分化幹細胞での **MCT** の発現

生殖腺以外で、細胞分裂がさかんな骨髄、皮膚、腸管における **MCT** の発現解析をおこなう。

(3) 癌細胞での **MCT** と **GLUT** の発現

まず癌細胞由来の細胞株で **MCT** と **GLUT** の発現様式を調べる。ついで、人体病理組織での免疫組織化学的解析を進める。

4. 研究成果

(1) 雌の生殖器では、卵母細胞の細胞膜以外に卵母細胞をとりかこむ顆粒層細胞および卵管上皮の線毛細胞が **MCT1** を強く発現していた。**GLUT** は卵管上皮でも発現していたが、その強さと分布域は **MCT** にくらべると弱く局所的であった。卵管の **MCT1** 含有繊毛細胞に隣接してアルドラーゼ活性の強い無繊毛細胞が多いことから、局所での乳酸シャトルの成立が考えられた。卵母細胞、受精卵および初期胚はグルコースよりもピルビン酸や乳酸をおもな栄養源にしている事実とよく符合した染色結果であった。

(2) 精子は独立したマイクロマシンであり、激しい運動をすること、細胞小器官の種類が少なく単純であることを特徴とする。精巣内の未熟精子では、鞭毛の主部に選択的に **MCT2** が発現・存在するが、精巣上体内の成熟精子では **MCT2** の発現が中節に完全に移動していた。乳酸はメスの膣や卵管内に豊富に含まれるので、**MCT2** の発現が精子の運動には都合がよい。雄の生殖器では始原細胞である精祖細胞が **MCT1** を強く発現しているが、グルコース輸送体は発現していなかった。これらがグルコースよりも乳酸などのモノカルボン酸を栄養源にしていることが強く示唆された。

(3) 未分化増殖細胞がつねに存在する皮膚、消化管、骨髄での検討を加えた。皮膚では、

表皮や毛の成長点と目される毛包隆起に限局して MCT1 の強い免疫反応が見られた。小腸では、上皮細胞の増殖部位である陰か上部の未分化細胞群が MCT1 を強く発現するが、絨毛へ向かうにつれその反応は弱くなった。骨髄中の造血細胞は MCT1 を発現するが、より未分化（前段階）の造血細胞が存在するとされる海綿骨の領域ではさらに強い免疫反応が得られた。こういった増殖部位ではグルコース輸送体の発現は、ほとんどみられなかった。原始的な細胞および未分化細胞は、低酸素の状態におかれており、グルコースを効率よく利用することはできない。低酸素状態でも産生されるモノカルボン酸を輸送する MCT が強く発現していることから、こういった細胞ではグルコースの代替エネルギーとして、モノカルボン酸が重要であることを示唆している。

(4) 癌組織のうち肺癌組織で MCT1 と GLUT1 の発現を比較検討したところ、MCT1 の方がより強く、かつ普遍的に発現していることが明らかになった。また、株化された細胞は通常癌組織に由来するが、調べた範囲ではいずれの細胞株も MCT1 を強く発現していた。癌では解糖系が優位であり、それにともない乳酸などのモノカルボン酸を産生していること、モノカルボン酸の利用系である MCT を阻害すれば癌の治療に結びつくことが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① Yoneshiro T, Ogawa T, Okamoto N, Matsushita M, Aita S, Kameya T, Kawai Y, Iwanaga T, Saito M: Impact of UCPI and beta2AR gene polymorphisms on age-related changes in brown adipose tissue and adiposity. *Int. J. Obes.* 2013 (DOI: 10.1038/ijo.2012.161) (査読有)
- ② Takahashi-Iwanaga H, Iwanaga T: Accumulated caveolae constitute subcellular compartments for glial calcium signaling in lanceolate sensory endings innervating rat vibrissae. *J. Comp. Neurol.* 520:2053-2066, 2012 (DOI: 10.1002/cne.23028) (査読有)
- ③ Nio-Kobayashi J, Iwanaga T: Galectin-1 and galectin-3 in the corpus luteum of mice are differently regulated by prolactin and prostaglandin F2alpha. *Reproduction* 144:617-624, 2012 (DOI: 10.1530/REP-11-0495) (査読有)
- ④ Yoneshiro T, Aita S, Kawai Y, Iwanaga T, Saito M: Nonpungent capsaicin analogos

(capsinoids) increase energy expenditure through the activation of brown adipose tissue in human. *Am. J. Clin. Nutr.* 95:845-850, 2012 (DOI: 10.3945/ajcn.111.018606) (査読有)

- ⑤ Takebe K, Takahashi-Iwanaga H, Iwanaga T: Intensified expression of a monocarboxylate transporter in consistently renewing tissues of the mouse. *Biomed. Res.* 32:293-301, 2011 (<https://www.jstage.jst.go.jp>) (査読有)
- ⑥ Kuchiiwa T, Nio-Kobayashi J, Takahashi-Iwanaga H, Yajima T, Iwanaga T: Cellular expression of monocarboxylate transporters in the female reproductive organ of mice: implications for genital lactate shuttle. *Histochem. Cell Biol.* 135:351-360, 2011 (DOI: 10.1007/s00418-011-0794-2) (査読有)
- ⑦ Yoshikawa T, Inoue R, Matsumoto M, Yajima T, Ushida K, Iwanaga T: Comparative expression of hexose transporters throughout the mouse gastrointestinal tract. *Histochem. Cell Biol.* 135:183-194, 2011 (DOI: 10.1007/s00418-011-0779-1) (査読有)
- ⑧ Iwanaga T, Hozumi Y, Takahashi-Iwanaga H: Immunohistochemical demonstration of dopamine receptor D2R in the primary cilia of the mouse pituitary gland. *Biomed. Res.* 32:2225-235, 2011 (<https://www.jstage.jst.go.jp>) (査読有)
- ⑨ Iwanaga T, Miki T, Takahashi-Iwanaga H: Restricted expression of somatostatin receptor 3 to primary cilia in the pancreatic islets and adenohypophysis. *Biomed. Res.* 32:73-81, 2011 (<https://www.jstage.jst.go.jp>) (査読有)
- ⑩ Teramae H, Yoshikawa T, Inoue R, Ushida K, Takebe K, Nio-Kobayashi J, Iwanaga T: The cellular expression of SMCT2 and its comparison with other transporters for monocarboxylates in the mouse digestive tract. *Biomed Res* 31:239-249, 2010 (<https://www.jstage.jst.go.jp>) (査読有)

[学会発表] (計 3 件)

- ①高橋理程、岩永敏彦：精巣でのグルコース輸送体とモノカルボン酸輸送体の発現解析。日本解剖学会第 5 8 回東北・北海道連合支部学術集会。2012. 9. 22 山形大学 (山形市)
- ②岩永敏彦：下垂体のドパミン受容体 D2R は一次線毛に局在している。日本解剖学会第 5 7 回東北・北海道連合支部学術集会。2011. 9. 10 岩手大学 (盛岡市)。
- ③岩永敏彦：雌性生殖器における乳酸シャトルの分子基盤。日本解剖学会第 5 6 回東北・

北海道連合支部学術集会。2010.9.25 旭川医科大学（旭川市）。

6. 研究組織

(1) 研究代表者 岩永 敏彦

(IWANAGA TOSHIHIKO)

北海道大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：10160128

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：