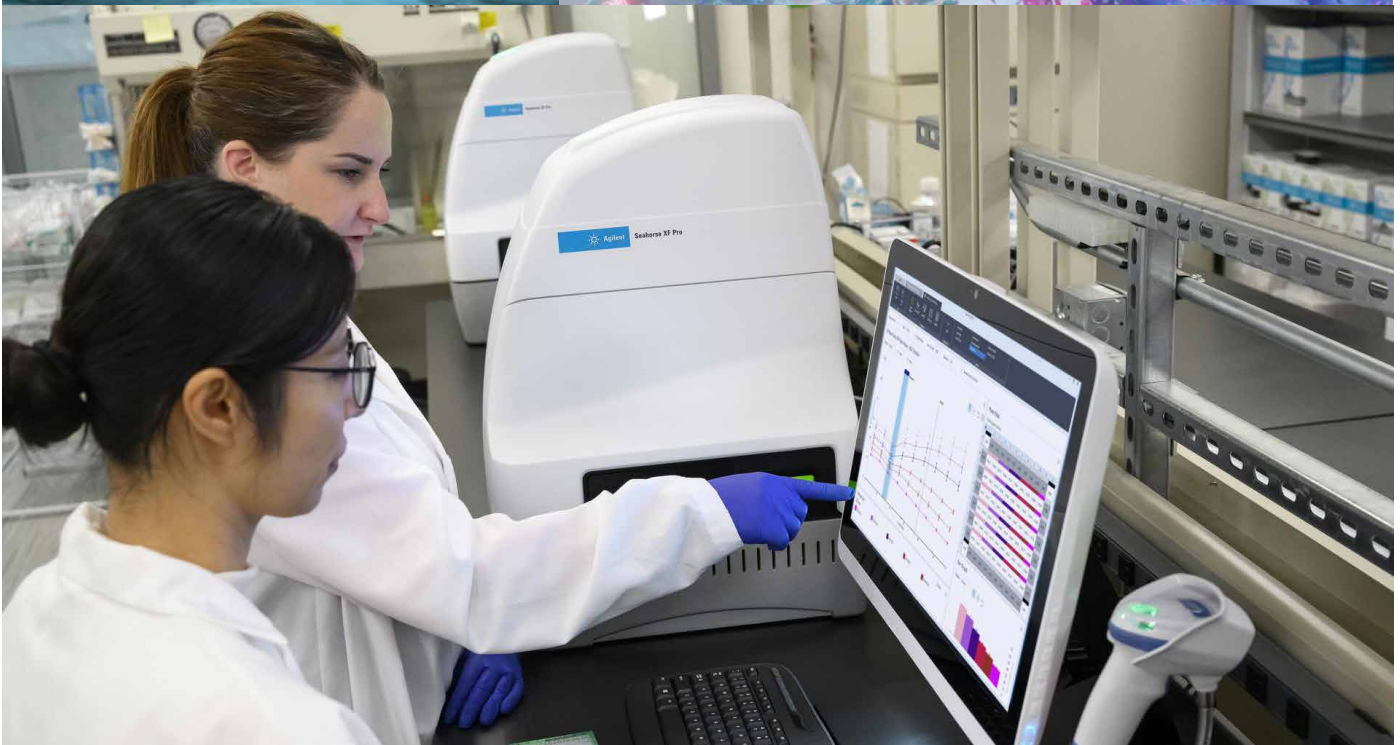
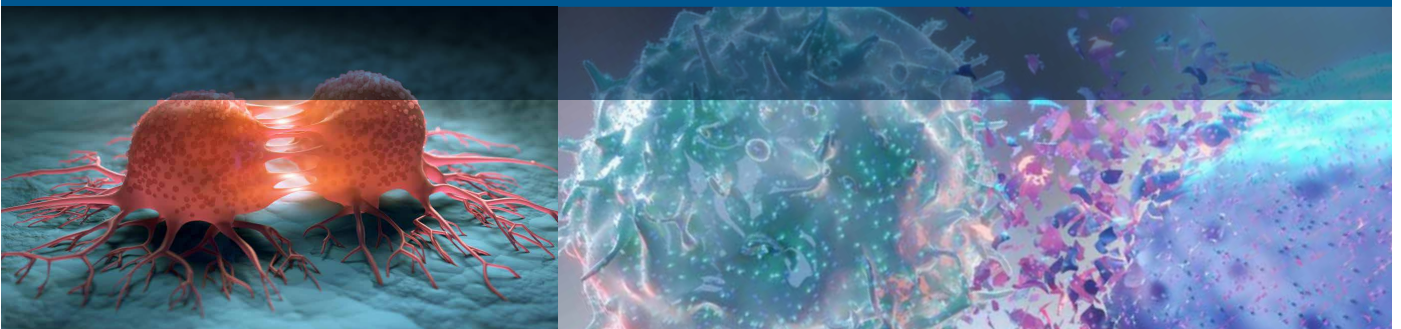


がん研究のための リアルタイム代謝解析

Agilent Seahorse XF テクノロジー



代謝リプログラミングはがんの特徴であり、その他すべての特徴の重要な促進因子です。

代謝の傾向性を利用した治療のターゲティング

がんは正常な細胞機能に影響を与える遺伝子変化に関連するさまざまな疾患の集合体であり、治療的介入の重要なターゲットとして代謝リプログラミングが注目されています。がん細胞は急速な増殖、生存、浸潤、転移などの多くの発がんプロセスに必要なエネルギーを生成するために代謝経路に大きく依存しており、代謝をリプログラミングしてこれらのプロセスをサポートします。

今日の研究者は、代謝解析ツールとその他の細胞ベースのアッセイを使用して、がん生物学の解明を進めています。リアルタイムな機能的測定を用いて、細胞代謝の動的性質と、がん細胞がどのように代謝をリプログラミングして適応、生存しているかを調べることで、代謝の傾向性を解明できます。また、このような代謝の傾向性を治療のターゲティングのために活用できます。

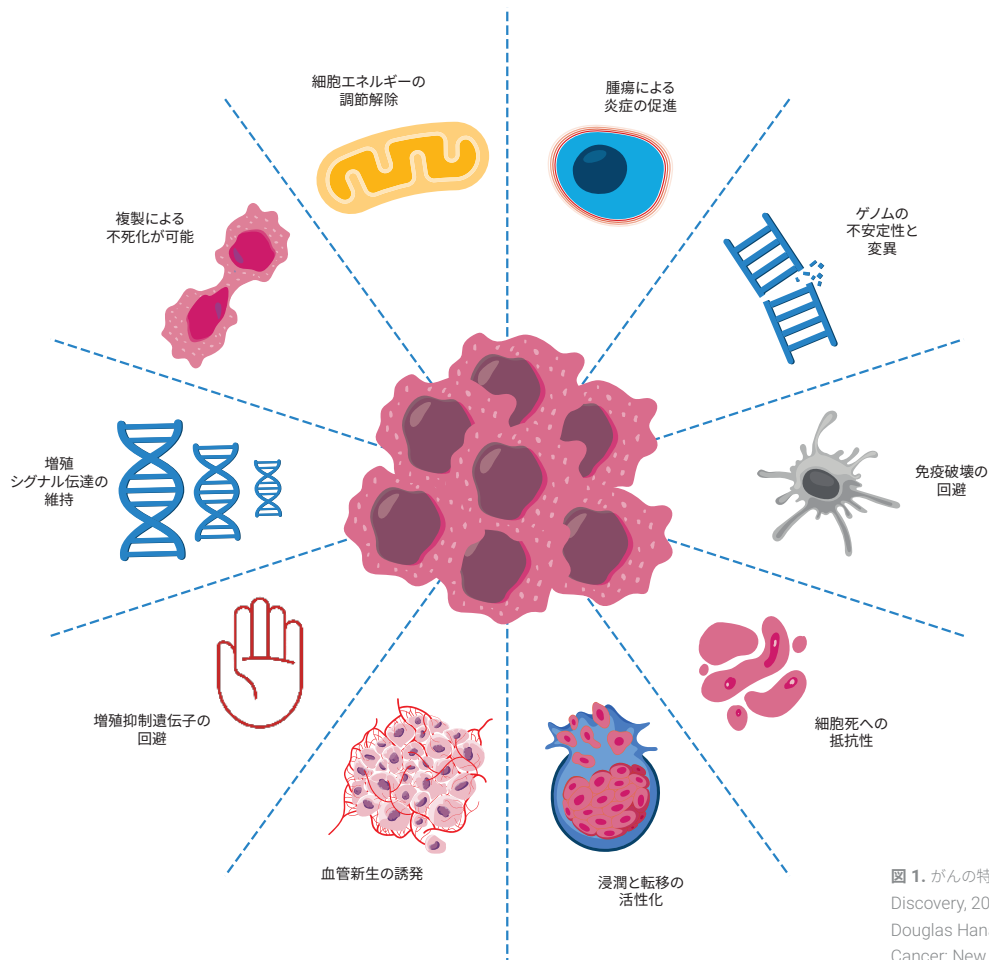


図 1. がんの特徴。出典：Cancer Discovery, 2022, 12(1), 31-46, Douglas Hanahan, 『Hallmarks of Cancer: New Dimensions (がんの特徴：新たな局面)』、AACR の許可を得て転載

がん研究用の Seahorse XF ソリューション

機能的測定値をリアルタイムに生成

Agilent Seahorse XF プラットフォームでは、2つの主要な代謝経路（解糖系および酸化的リン酸化）の機能的測定を生細胞からリアルタイムに実行できます。この技術により、さまざまな代謝基質や阻害剤に反応するがん細胞の表現型評価が可能になります。



最先端の
データ解析ツール

リアルタイムな
計算結果

バリデーション
済みの
キット、培地、試薬

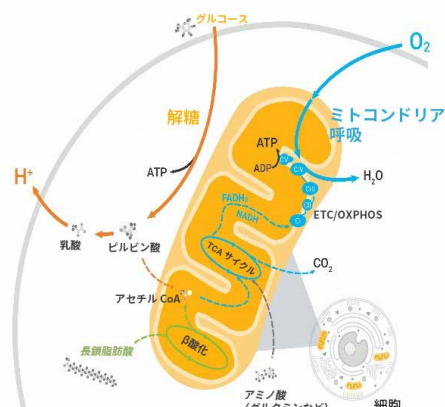
ラベルフリー
pH および O₂ センサカートリッジ

より関連性の高い
注入口によるリアルタイムなモジュレーション

生細胞解析
2D および 3D のプレートオプションを使用

がん研究者は、Seahorse XF 細胞解析技術を次のような研究に使用しています。

- 疾患モデルの代謝表現型解析
- 腫瘍微小環境（TME）におけるがん基質の依存性、可塑性、脆弱性
- シグナル伝達や経路の中間体、ターゲット同定/バリデーション、作用機序、チェックポイント阻害
- がん免疫療法および免疫細胞の適合性と疲弊の比較



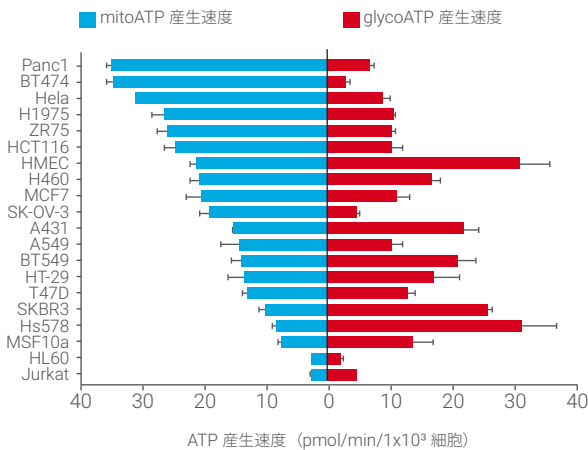
Agilent Seahorse XF Pro アナライザーの詳細については、[こちらをクリックしてください](#)。

がん細胞の依存性と適応戦略は解糖系を超越する

がんの脆弱性を促進する代謝表現型の多様性を定義する

がんは代謝性疾患であり、多くの場合アップレギュレートされた解糖を伴うワールブルク効果によって特徴づけられます。しかし、代謝表現型は多様であり、がんの増殖、脆弱性、治療に対する耐性の重要な予測因子となります。Seahorse XF 技術による細胞解析では、機能的生細胞代謝を直接測定し、がん細胞の進行と増殖を促進するがんの脆弱性を明らかにすることができます。

多種多様ながんの代謝表現型と脆弱性



がん細胞は、細胞エネルギー産生のためにさまざまな戦略を編み出しており、これが治療戦略の大きなヒントになります。Agilent Seahorse XF リアルタイム ATP Rate アッセイを用いて、20 種類のがん細胞株のパネルで ATP 産生速度を測定した結果、主に酸化的 (図 2、上) から主に解糖系 (図 2、下) まで、幅広いエネルギー表現型が明らかになりました。

図 2：出典：Romero et al. 『Bioenergetic profiling of cancer cell lines: quantifying the impact of glycolysis on cell proliferation (がん細胞株の生体エネルギープロファイリング：細胞増殖への解糖の影響の定量)』、アジレント・テクノロジーポスター、AACR、2018

エストロゲンレセプター陽性浸潤性乳がんの細胞は、より酸化的な代謝表現型によって特徴づけられる

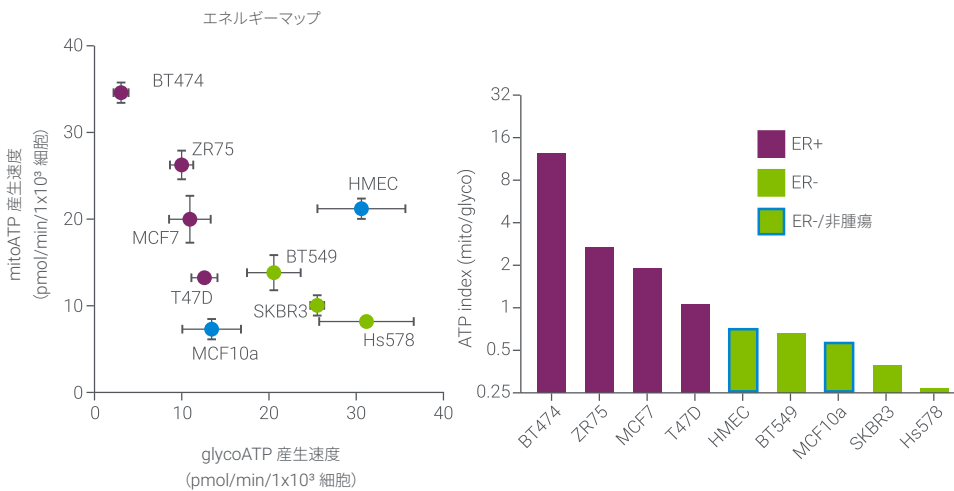


図 3。出典：Romero, N. et al. 『Bioenergetic profiling of cancer cell lines: quantifying the impact of glycolysis on cell proliferation (がん細胞株の生体エネルギープロファイリング：細胞増殖への解糖の影響の定量)』、アジレント・テクノロジーポスター、AACR、2018

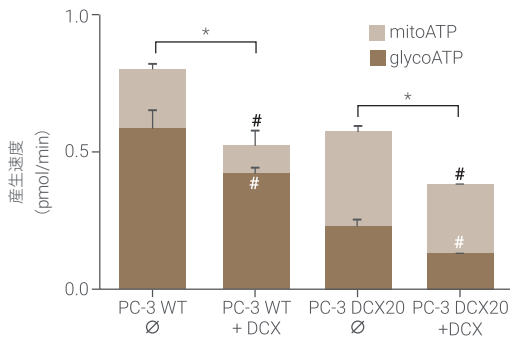
図 3 のエネルギーマップは、7 種類のがん細胞株と 2 種類の正常な乳房由来の細胞株について、mitoATP 産生速度と glycoATP 産生速度の分布を示したものです。代謝指標 (mitoATP 産生速度/glycoATP 産生速度) の解析によると、エストロゲンレセプター陽性 (ER+) 乳がんの細胞株は、代謝指標がより高くなっています。

がん細胞代謝における動的変化の測定

代謝の急速な変化は、化学療法耐性における重要な戦略となる

がんの増殖は、かなりの生化学エネルギーを必要とする急速で動的なプロセスです。この結果、がん細胞は、主要な代謝経路（解糖系または酸化的リン酸化）の一方または両方に依存する可能性がある代謝の変化を示します。一部のがん細胞が持つ経路を切り替える能力は、がん細胞の適応を促進する主要戦略です。Seahorse XF 技術により、生細胞中の 2 つの主要な代謝経路を、リアルタイムかつ同時に測定できます。

がん細胞は迅速に代謝を利用し、代謝可塑性により適応し生き残る



前立腺がん細胞 (PC-3) は、ATP 産生に主に解糖を使用します。ただし、Catapano 氏らの研究によると、長期間のドセタキセル (DCX) 療法から確立された薬剤耐性細胞系列である PC-3_DCX20 は、ATP 産生のために酸化的リン酸化への依存度が高くなり (図 4)、代謝可塑性を示しました。

図 4. 出典：Catapano, J., et al. (2022) 『Acquired drug resistance interferes with the susceptibility of prostate cancer cells to metabolic stress (獲得性薬剤耐性が、前立腺がん細胞の代謝ストレスに対する感受性を阻害)』 Cell Mol Biol Lett, 27(1), 100、クリエイティブ・コモンズ・ライセンス 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) に準拠

Seahorse XF 技術は、化学療法耐性があるがんの潜在的な治療ターゲットを解明する

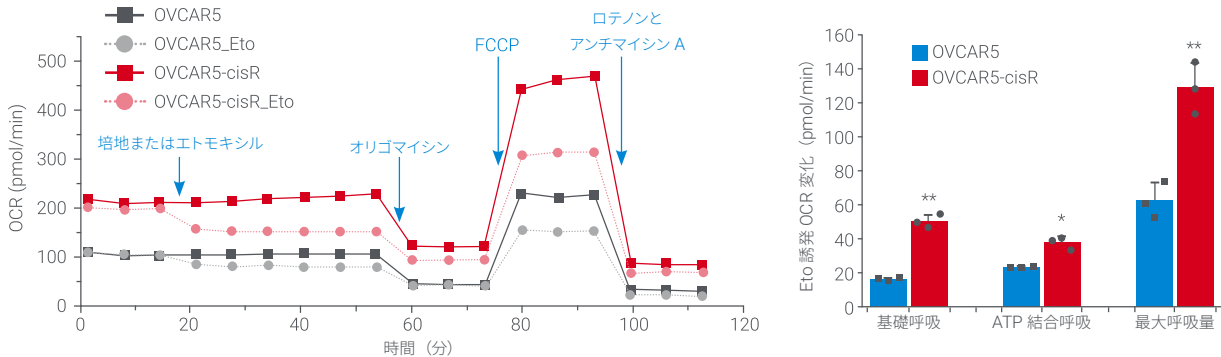


図 5. 出典：Tan, Y., et al. (2022) 『Metabolic reprogramming from glycolysis to fatty acid uptake and beta-oxidation in platinum-resistant cancer cells (プラチナ耐性がん細胞における解糖から脂肪酸の取り込みおよびβ酸化までの代謝リプログラミング)』 Nat Commun, 13 (4554)、クリエイティブ・コモンズ・ライセンス 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) に準拠

Tan 氏のチームは、シスプラチン耐性卵巣がん細胞における脂肪酸酸化 (FAO) 依存のエネルギー代謝に向けた安定代謝スイッチを特定しました (図 5)。Seahorse XF アッセイを使用した結果、シスプラチン耐性卵巣がん細胞では、非がん親細胞と比べて FAO が大幅に増加することがわかりました。この研究により、シスプラチン耐性がんに対する潜在的治療戦略として、FAO 経路のターゲット化という方向性を定めることができます。

併用療法によるがん細胞の基質依存性の活用

がん細胞は、腫瘍微小環境（TME）の栄養条件に適応するために、脂質やアミノ酸の代謝を変えたり、同化プロセスと異化プロセスの間のバランスをシフトさせたりすることがあります。これらのプロセスを、代謝測定によって直接解析できます。

アジレントの細胞解析技術と代謝表現型により、次の内容についての知見を得ることができます。

- 細胞の依存性（燃料や微小環境など）
- 創薬可能なターゲット同定の情報を提供する代謝脆弱性
- がん治療薬の開発と有効性

代謝脆弱性により、化学療法耐性を克服するための治療ターゲットを解明できる

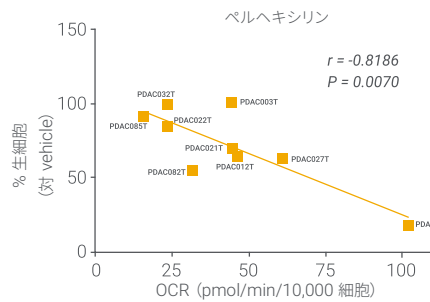
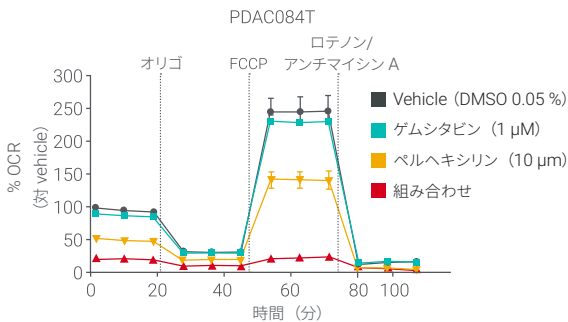


図 6. 出典：Reyes-Castellanos, G. et al.(2023) 『Combining the anti-angiogenic drug perhexiline with chemotherapy induces complete pancreatic cancer regression in vivo (抗狭心症薬ペルヘキシリンと化学療法を組み合わせた、in vivo での膵臓がんの完全退縮)』 iScience, 26, 106899

Reyes-Castellanos 氏のチームは、Seahorse XF アッセイを使用して、膵臓がん（PDAC）細胞におけるミトコンドリア呼吸が主に FAO に依存することを証明しました。これにより膵臓がんの潜在的な代謝脆弱性が明らかになりました（図 6）。また、基礎酸素消費速度（OCR）を、FAO 阻害剤であるペルヘキシリンに対する PDAC 細胞反応のバイオマーカーとして使用できることがわかりました。ペルヘキシリン治療と化学療法ゲムシタビンを組み合わせると、PDAC 細胞内でエネルギー危機が発生し、1 つの PDAC 異種移植片で膵臓がんの完全な退縮を誘導しました。

Agilent Seahorse XF 技術は、全細胞と単離ミトコンドリアにおける 2 種類の乳酸塩取り込み阻害剤と抗腫瘍薬のメカニズムを区別

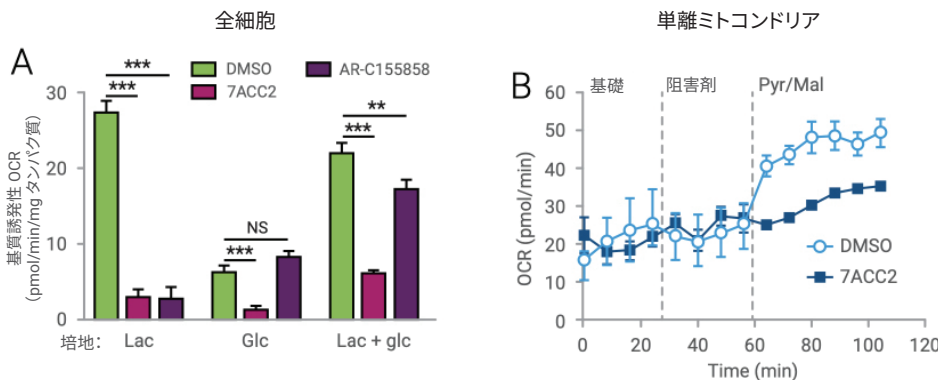


図 7A、7B：出典：Corbet, C., et al.(2018) 『Interruption of lactate uptake by inhibiting mitochondrial pyruvate transport unravels direct antitumor and radiosensitizing effects (ミトコンドリアピルビン酸輸送の阻害による乳酸取り込みの遮断が、直接的な抗腫瘍および放射線増感効果を明らかにする)』 Nat Commun, 9 (1): 1208、クリエイティブ・コモンズ・ライセンス 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) に準拠

Seahorse XF アナライザーはまず、化合物 7ACC2 が、乳酸阻害剤 AR-C155858 とは異なり、乳酸塩使用をブロックするタスクを実行し、同時にグルコースの酸化的代謝を阻害することを特定しました（図 7A、子宮頸がん全細胞）。さらに Seahorse XF アナライザーは単離ミトコンドリアを使用した場合、7ACC2 がミトコンドリアピルビン酸キャリアの阻害により、乳酸取り込みを阻害するように機能することを明らかにしました。これは新しいメカニズムです（図 7B、単離ミトコンドリア）。

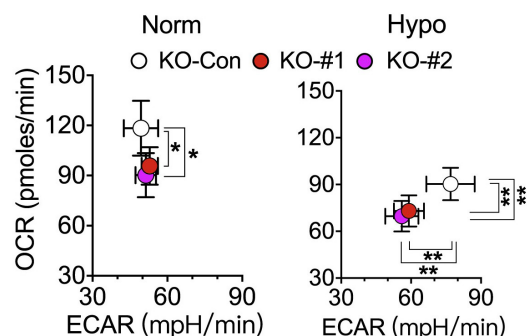
研究者による腫瘍微小環境のモデリング方法

腫瘍微小環境（TME）は、がんの進行を促進する可能性がある、特有の低酸素かつ酸性の環境です。研究者は TME のできるだけ多くの要素を検討することで、効果的な治療法を生み出す最大の機会を得ることができます。

Seahorse XF 技術を使用して、TME をモデリングできます。

- Agilent Seahorse XFe24 および XF Pro アナライザーは、低酸素の研究に対応
- Seahorse XF Pro アナライザーには、3D スフェロイドマイクロプレートオプションがある

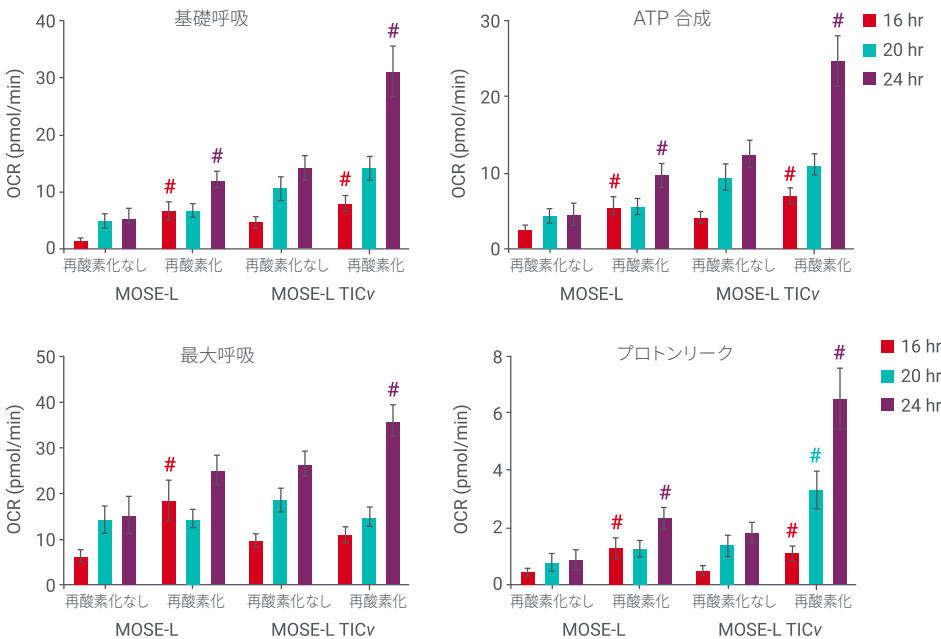
がん細胞の代謝の低酸素への適応方法についての知見を生み出す



Yang 氏のチームが発表した論文（図 8）では、Seahorse XF 技術を用いて、肝細胞がん（HCC）の細胞が低酸素に適応する際にミトコンドリア UQC3 が果たす役割についての知見を提供しています。この研究によると、UQC3 は低酸素 HCC 細胞内で活性酸素種により正のフィードバックループを形成します。これによりミトコンドリアの構造と機能が維持され、解糖を促進する HIF-1 α 発現が安定化します。

図 8. 出典：Yang, Y., et al.(2020) 『Mitochondrial UQC3 Modulates Hypoxia Adaptation by Orchestrating OXPHOS and Glycolysis in Hepatocellular Carcinoma (ミトコンドリア UQC3 が肝細胞がんの OXPHOS と解糖を調整することにより、低酸素適応を調節する)』 Cell Reports, 33 (5), 108340

培養条件の変化に対する腫瘍スフェロイドの代謝適応を解析する

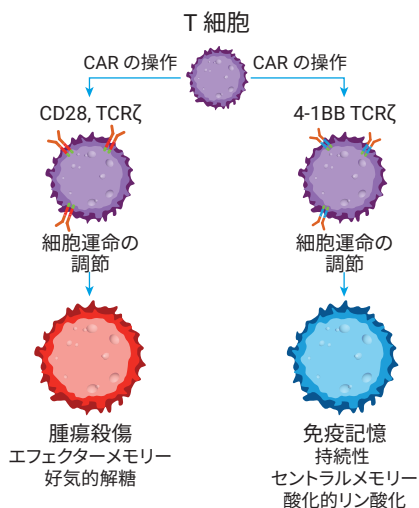


Greico 氏のチームは、Seahorse XF アッセイを使用して、卵巣がんスフェロイドでの接着時のミトコンドリア可塑性について調査しました（図 9）。この結果、接着によりミトコンドリアの断片化が逆行し、成長の遅い MOSE-L スフェロイドとより侵襲性の高い MOSE-LTICv スフェロイドの両方で、特に再酸素化後に OCR が大幅に増加することがわかりました。

図 9. 出典：Grieco, J.P., et al.(2023) 『Mitochondrial plasticity supports proliferative outgrowth and invasion of ovarian cancer spheroids during adhesion (ミトコンドリア可塑性が、卵巣がんスフェロイドの接着時の増殖と浸潤を支持する)』 Front.Oncol,12:1043670、クリエイティブ・コモンズ・ライセンス 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) に準拠

がん免疫療法における新たな治療の可能性を、代謝を活用して前進させる

経路の摂動により免疫細胞の応答を制御し、細胞療法の開発を進めるための戦略を見つける



免疫細胞ベースの治療法の目的は、免疫細胞を増やしたり改変したりすることで自然免疫細胞の性能を上げ、細胞機能が変わるように関連するシグナル伝達経路を変更することです。Seahorse XF 技術では、生細胞の重要な測定値をリアルタイムに提供し、モジュレーション戦略の機能的な帰結を明らかにすることができます。また、シグナル伝達、チェックポイント阻害、または経路の摂動を介した免疫細胞応答のモジュレーションが、代謝プログラミングの変化を通してどのような「機能をもたらす」のかを突き止めることができます。

CAR コンストラクトの設計は、代謝の調節により免疫細胞の適合性を強化できる

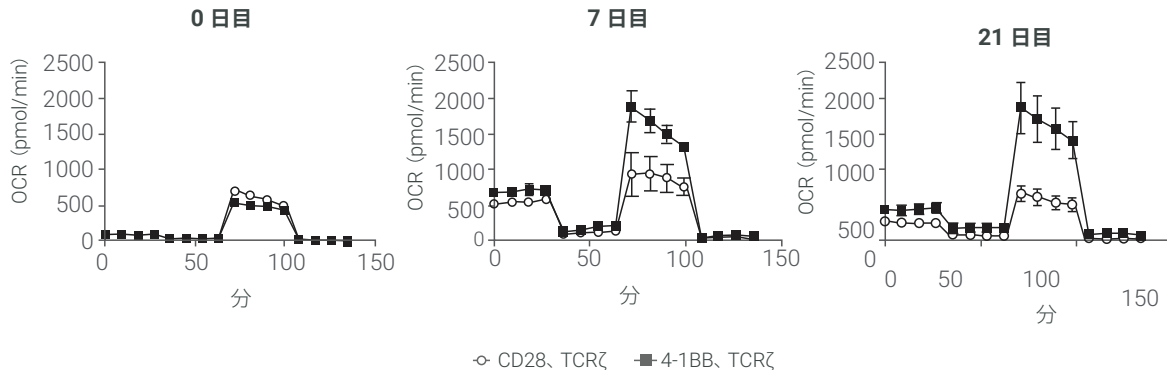


図 10. 出典：Kawalekar, O., et al.(2016) 『Distinct Signaling of Coreceptors Regulates Specific Metabolism Pathways and Impacts Memory Development in CAR T Cells (コレセプターの個別のシグナル伝達は特定の代謝経路を調節し CAR-T 細胞における記憶発達に影響を与える)』 Immunity, 44(2), 380-90

Kawalekar 氏のチームは、Seahorse XF アッセイを使用して、CAR シグナル伝達ドメインの選択が、CD8+ CAR-T 細胞の抗原刺激後の生体エネルギー表現型を決定することを示しました。4-1BB シグナル伝達共刺激ドメインを含む CAR-T 細胞は 21 日間にわたり OCR が増加し、この結果、CD28 シグナル伝達共刺激ドメインを含む CAR-T 細胞と比較して、in vitro での持続性が向上し、セントラルメモリーへの分化が進みました。

腫瘍細胞の代謝変化をモニタリングして、腫瘍微小環境の特徴づけを改善し、チェックポイント療法を活用する

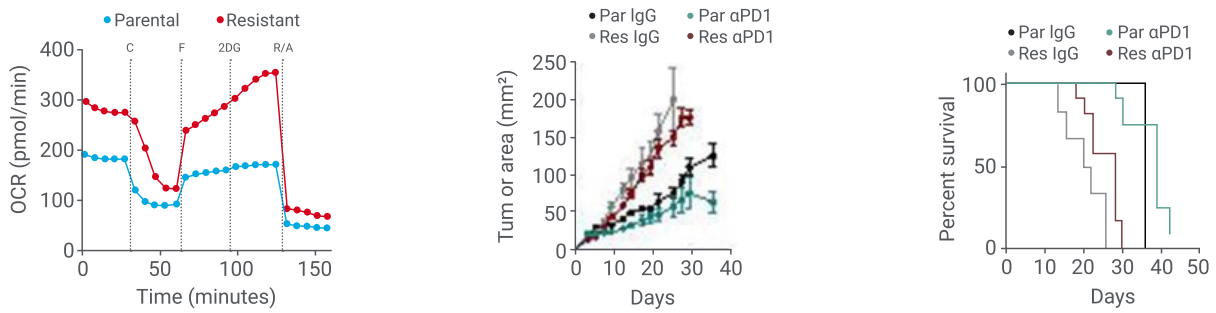


図 11. 出典：Zandberg, D. et al. 『Tumor hypoxia is associated with resistance to PD-1 blockade in squamous cell carcinoma of the head and neck (頭頸部の扁平上皮がんにおいて、腫瘍の低酸素は PD-1 阻害への耐性に関連する)』 J Immunother Cancer 2021, 9(5), e002088

Zandberg 氏のチームは、Seahorse XF アッセイを用いた研究により、腫瘍が抗 PD-1 阻害に耐性を持つと、酸化的代謝がアップレギュレートされることを示しました (図 11)。この結果、TME の代謝状態により、抗 PD-1 療法に対する腫瘍反応を予測できることがわかりました。

免疫細胞機能に対する代謝適合性の影響を評価する

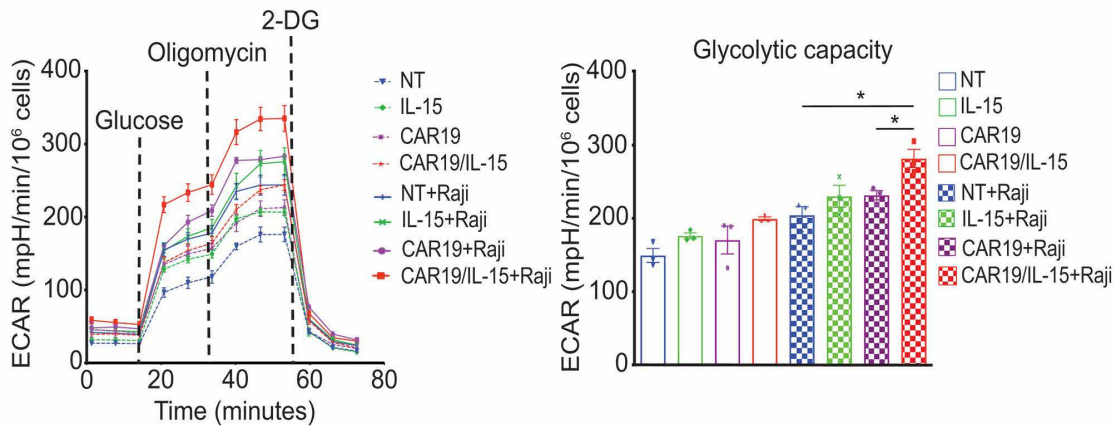


図 12. 出典：Li, L. et al. 『Loss of metabolic fitness drives tumor resistance after CAR-NK cell therapy and can be overcome by cytokine engineering (代謝適合性の喪失は CAR-NK 細胞療法後の腫瘍耐性を促進し、サイトカインの操作により克服できる)』 Science Advances 2023, 9, eadd6997

Li 氏のチームは、Seahorse XF アッセイを使用して、CAR19 NK 細胞を操作してインターロイキン 15 (IL-15) を発現することで、コントロールよりも解糖活性が改善され、代謝適合性が上がることを示しました (図 12)。この研究により、CAR NK 細胞の代謝適合性を高めることで、その抗腫瘍効果を改善できることがわかりました。

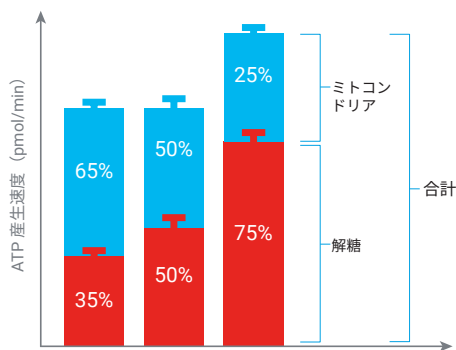


T 細胞集団と NK 細胞集団の解糖活性とミトコンドリア活性を確実に正確に測定するために、Agilent Seahorse XF T Cell 代謝プロファイリングキットを推奨します。詳細は [こちら](#) をご覧ください。

Seahorse XF アッセイによるがん代謝の測定

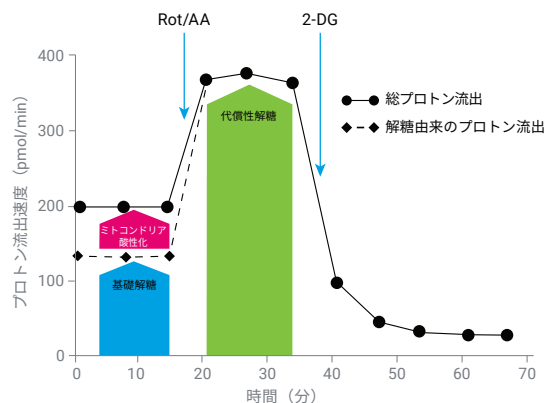
Agilent Seahorse XF リアルタイム ATP Rate アッセイキット

- Agilent Seahorse XF Pro および XFe アナライザー用：
部品番号 103592-100
- Agilent Seahorse XF HS Mini および XFp アナライザー用：
部品番号 103591-100



Agilent Seahorse XF Glycolytic Rate アッセイキット

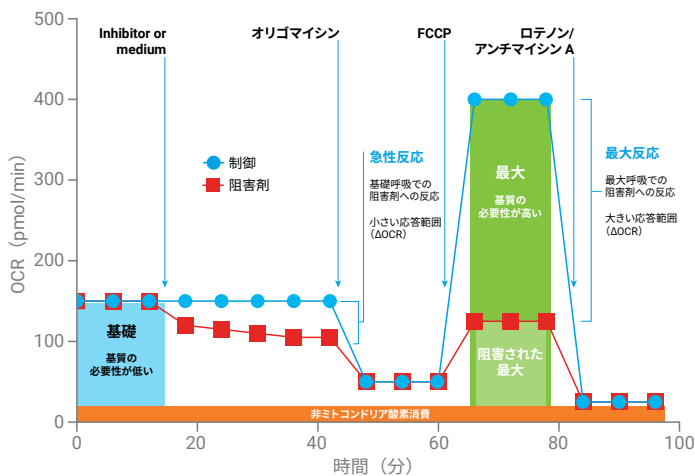
- Seahorse XF Pro および XFe アナライザー用：
部品番号 103344-100
- Seahorse XF HS Mini/XFp アナライザー用：
部品番号 103346-100



酸化的リン酸化と解糖の同時測定によるがんの脆弱性、可塑性、代謝表現型の発見により、細胞機能の促進因子に関する包括的な情報を得ることができます。Seahorse XF Glycolytic およびリアルタイム ATP Rate アッセイキットにより、定量的なデータを得ることができます。

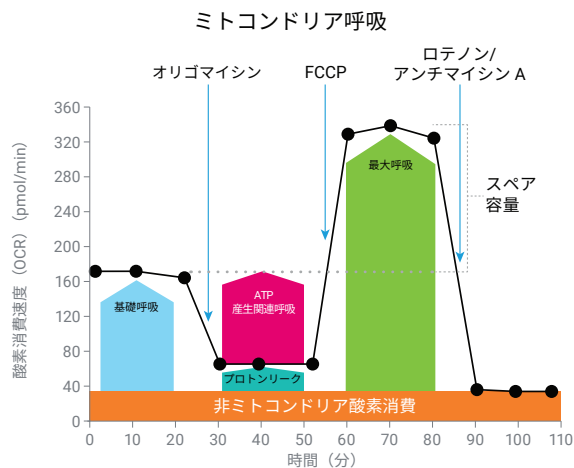
Agilent Seahorse XF 基質酸化ストレステストキット

- Seahorse XF 長鎖脂肪酸酸化ストレステストキット：部品番号 103672-100
- Seahorse XF グルコース/ピルビン酸塩酸化ストレステストキット：部品番号 103673-100
- Seahorse XF グルタミン酸化ストレステストキット：部品番号 103674-1



Agilent Seahorse XF ミトストレステストキット

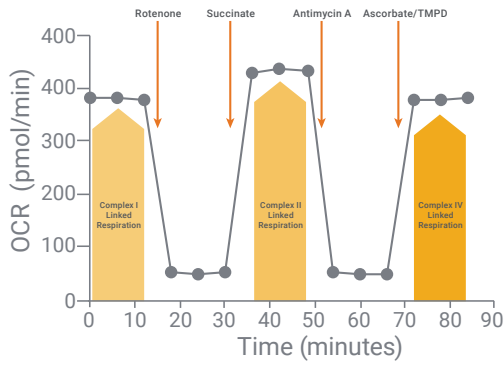
- Seahorse XF Pro および XFe アナライザー用：
部品番号 103015-100
- Seahorse XF HS Mini および XFp アナライザー用：
部品番号 103010-100



がん細胞がどのようにミトコンドリア基質の酸化を変化またはシフトさせて増殖を促進し、TME 内で生存あるいは、遺伝子的または薬剤による介入に反応するのかを調査することができます。

Agilent Seahorse XF 細胞膜透過処理試薬

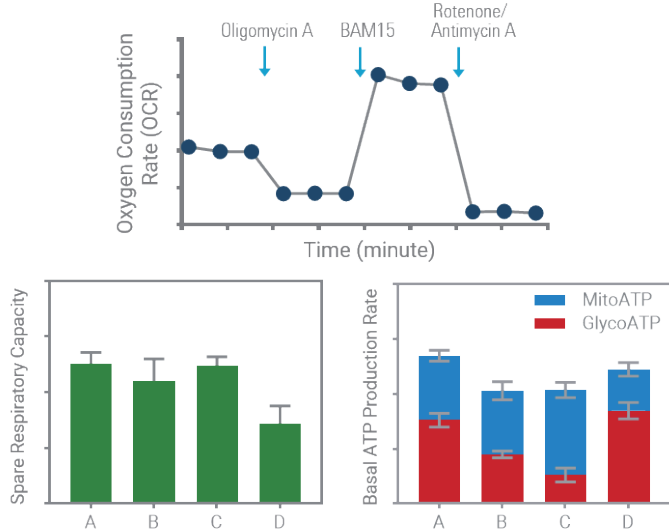
－ 部品番号：102504-100



単離ミトコンドリアで実行するのと同じアッセイを、ミトコンドリア単離することなく実行します。独自の試薬が、ミトコンドリア膜を傷つけずにインтактな培養細胞の細胞膜を透過処理します。これにより、ミトコンドリアへの基質の提供を実験的に制御し、ミトコンドリア機能における主要な構成要素（輸送体、酵素、電子伝達系の複合体など）を詳しく特性解析できます。

Agilent Seahorse XF T Cell 代謝プロファイリングキット：細胞治療薬の開発向けにカスタマイズされたアッセイ

これらのアッセイは、さまざまな T 細胞集団と NK 細胞集団向けに最適化された試薬により、抗腫瘍特性の重要特性（細胞の持続性と代謝適合性）に関連する堅牢な生体エネルギーパラメーターを提供します。



- － コンストラクト設計の評価、エンジニアリング戦略、材料選択の開始、in vitro での細胞拡大培養中の代謝コンディショニングに適しています。
- － T 細胞と NK 細胞が TME において代謝適合性を維持する能力を評価するために適用可能です。
- － BAM15 (T 細胞と NK 細胞のミトコンドリア機能の、より一貫した正確な測定のために改良された脱共役剤) を含んでいます。
- － T 細胞と NK 細胞の代謝を全体的に把握できます（解糖およびミトコンドリアの影響、活性、生体エネルギー容量的能力の同時定量など）。
- － T 細胞と NK 細胞の代謝プロファイリング用にバリデーション済みのアッセイです。

Agilent Seahorse XF アッセイキットについては[こちら](#)をご覧ください。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

RA45355.4045486111

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2024
Printed in Japan, March 27, 2024
5994-7275JAJP

販売店