慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	腫瘍微小環境における細胞老化を介した食道癌に対する集学的治療抵抗性機序の解明
Sub Title	Exploring the drug resistance mechanism through cellular senescence in the tumor microenvironment in esophageal cancer
Author	松田, 諭(Matsuda, Satoru)
Publisher	
Publication year	2021
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	食道癌に対する化学療法前検体を用いたRNAシーケンスの結果、化学療法不応群には、有意に間葉系細胞に特徴的な遺伝子の発現が亢進していることが示唆された。その検証を目的として、食道癌細胞株を用いて化学療法耐性株を樹立した。今後、新規治療開発を目指し、既存の薬剤ライブラリーを用いたスクリーニングを行っていく。 腫瘍微小環境における細胞老化のメカニズムに関しては、腫瘍微小環境においてTGFβが強い細胞老化を惹起することを確認することができた。現在そのメカニズムの解明と、免疫担当細胞までを含めたSenescence細胞の役割について検討を続けている。 Using clinical samples of esophageal cancer from biopsy, we conducted RNA sequence and compared the gene expression profile between responder and non-responders. As results, the mesenchymal gene signatures were upregulated in non-responders. For validation, the drug resistant esophageal squamous cell carcinoma cell lines were developed. Aiming to identify the new drug target, the high throughput drug screening will be conducted. In terms of the role of cellular senescence in the drug resistance mechanism, TGFβ was found to induce senescence in the tumor microenvironment.
Notes	研究種目：研究活動スタート支援 研究期間：2019～2020 課題番号：19K23924 研究分野：食道癌
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_19K23924seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　３ 年　 ５ 月 ２６ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：研究活動スタート支援
研究期間：2019～2020
課題番号：１９Ｋ２３９２４

研究課題名（和文）腫瘍微小環境における細胞老化を介した食道癌に対する集学的治療抵抗性機序の解明

研究課題名（英文）Exploring the drug resistance mechanism through cellular senescence in the tumor microenvironment in esophageal cancer

研究代表者
松田　論（MATSUDA, Satoru）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：３０５９４７２５

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　2,200,000円

研究成果の概要（和文）：食道癌に対する化学療法前検体を用いたRNAシーケンスの結果、化学療法不応群には、有意に間葉系細胞に特徴的な遺伝子の発現が亢進していることが示唆された。その検証を目的として、食道癌細胞株を用いて化学療法耐性株を樹立した。今後、新規治療開発を目指し、既存の薬剤ライブラリーを用いたスクリーニングを行っていく。
腫瘍微小環境における細胞老化のメカニズムに関しては、腫瘍微小環境においてTGFβが強い細胞老化を惹起することを確認することができた。現在そのメカニズムの解明と、免疫担当細胞までを含めたSenescence細胞の役割について検討を続けている。

研究成果の学術的意義や社会的意義
食道扁平上皮癌に対しては、手術、化学療法、放射線治療を組わせた集学的治療の効果向上が求められている中、化学療法の効果向上の糸口を捉えることができた。臨床検体の網羅的解析と、細胞株における薬剤スクリーニングを組み合わせることで、臨床現象とメカニズムをリンクさせることができたのは意義深い。
本結果を踏まえ、既存の薬物療法と併用することで効果向上を実現できる新規治療開発が進むことが期待される。

研究成果の概要（英文）：Using clinical samples of esophageal cancer from biopsy, we conducted RNA sequence and compared the gene expression profile between responder and non-responders. As results, the mesenchymal gene signatures were upregulated in non-responders. For validation, the drug resistant esophageal squamous cell carcinoma cell lines were developed. Aiming to identify the new drug target, the high throughput drug screening will be conducted.
In terms of the role of cellular senescence in the drug resistance mechanism, TGFβ was found to induce senescence in the tumor microenvironment.

研究分野：食道癌

キーワード：食道癌　集学的治療　薬剤耐性

※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。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

食道癌に対しては、術前化学療法[シスプラチン+5FU(CF 療法)]と手術を併用した集学的治療の開発が進み治療成績は向上している。しかし、術前化学療法不応例の予後は不良であり、術前化学療法の成績向上が求められている。近年、CF 治療にドセタキセルを追加した 3 剤併用療法(DCF 療法)の有用性が報告され、申請者を含む慶應義塾大学外科が所属する Japan Clinical Oncology group 食道癌グループは、その有効性を示すための多施設共同ランダム化比較試験を行っている。(2018 年に患者登録終了) 2021 年の最終解析の結果により、標準治療となる可能性が示唆されているが、依然として同治療に抵抗性を有する患者は存在する。食道癌術前化学療法に対する治療耐性は重要課題であるが、過去の報告は少ない。

申請者はこれまで、食道癌患者の炎症・凝固マーカーに着目し、術前治療の奏効ならびに予後予測因子の有用性を報告してきた。 さらに、Senescence、TGFβ、に関する研究を通して、TGFβによって癌細胞にひきおこされる Senescence が薬剤耐性を誘導すること確認している。Senescence は、細胞増殖が長期的に停止した細胞であり、細胞周期依存性に効果を発揮する既存の薬物は効果が乏しい。さらに我々は、癌に Senescence が生じた場合、そこから離脱し、増殖を再開する細胞があることも報告しており、薬物療法耐性の誘因となり得ると考えている。

本研究課題における「問い」は、「TGFβ等を有する腫瘍微小環境はどのように食道癌治療抵抗性を引き起こすのか」である。薬剤耐性のメカニズムを明らかにすることにより治療成績を向上することに加え、治療奏効群においては将来的に手術を回避することも可能となる可能性がある。

２．研究の目的

本研究は、「腫瘍微小環境における細胞老化を介した食道癌に対する治療抵抗性機序の解明」を目的とする。申請者は現在進行中の大規模ランダム化比較試験に主体的にかかわっていることに加え、薬物療法耐性に中心的な役割を果たしうる Senescence、TGFβに関する研究に従事しており、臨床現象と発生機序を連結させた研究遂行が可能である。さらには、薬剤耐性株に対して約 1200 の既存薬剤を用いた High throughput drug screening により新規有効薬剤を選別することを予定しており、学術的独自性、創造性の高い研究となることを見込んでいる。また、申請者が所属する慶應義塾大学医学部においては、2018 年より全固形癌患者を対象として遺伝子パネル検査を行っており、化学療法の奏効と治療前の遺伝子変異データを統合解析することも独自に可能である。

また、治療法耐性の獲得機序に関して「TGFβが Senescence を介して治療耐性を誘導している」という仮説を想定しており、すでに食道癌細胞株において TGFβによって Senescence が誘導され、薬剤耐性を獲得することを確認している。Senescence と薬剤耐性に関する報告は過去にも大変少なく、創造性が高いものであると考える。

３．研究の方法

（１）術前化学療法前後の臨床検体、ならびに治療耐性株を用いた網羅的解析および High throughput drug screening システムを用いた新規治療薬剤の同定

食道癌に対する術前化学療法前後の臨床検体に対する RNA sequence を用いて発現遺伝子の変化を捉える。Gene set enrichment analysis によって発現が変化した Gene set を特定し、メカニズムを同定する。あわせて、食道癌細胞株を用いて CF、DCF 療法耐性株を樹立し、耐性獲得前後における遺伝子変化を臨床検体と比較する。すべての食道癌患者に対して詳細な治療効果・予

後を含む詳細な臨床データならびに遺伝子パネル検査を用いた遺伝子変異データが使用可能であり、臨床・ゲノムデータとの関連も検討する。

さらに、耐性株に対するあらたな有効薬剤の直接的な同定手段として、DCF 療法耐性株に対して High throughput drug screening system[2] を用いて、抵抗株への新規治療薬剤を同定する。

（２）「TGFβによって誘導された Senescence が治療抵抗性を惹起している」という仮説にもとづいた薬剤抵抗性メカニズムの解明

申請者はすでに in vitro において、TGFβが食道癌細胞株に細胞老化を惹起し、薬物療法抵抗性を獲得させること確認している。この結果を食道癌患者検体で証明するために、術前化学療法前後の患者検体を用いて、治療の奏効と Senescence の指標(βガラクトシダーゼ、CDKN2A、P16)を TGFβシグナル(リン酸化 SMAD2/3)と併せて評価することで関連を明らかにする。さらには、治療前後検体の RNA sequence を行うことで発現遺伝子の変化を捉え、細胞周期、DNA 修復等の Senescence 関連遺伝子発現の変化を検証する。患者由来の Cancer associated fibroblast 株を樹立することで、癌微小環境を再現し、Senescence が引き起こされることを確認する。

４．研究成果

食道癌に対する化学療法前検体を用いた RNA シーケンスの結果、化学療法不応群には、有意に間葉系細胞に特徴的な遺伝子の発現が亢進していることが示唆された。その検証を目的として、食道癌細胞株を用いて化学療法耐性株を樹立した。今後、新規治療開発を目指し、既存の薬剤ライブラリーを用いたスクリーニングを行っていく。

腫瘍微小環境における細胞老化のメカニズムに関しては、腫瘍微小環境において TGFβが強い細胞老化を惹起することを確認することができた。現在そのメカニズムの解明と、免疫担当細胞までを含めた Senescence 細胞の役割について検討を続けている。

食道扁平上皮癌に対しては、手術、化学療法、放射線治療を組わせた集学的治療の効果向上が求められている中、化学療法の効果向上の糸口を捉えることができた。臨床検体の網羅的解析と、細胞株における薬剤スクリーニングを組み合わせることで、臨床現象とメカニズムをリンクさせることができたのは意義深い。本結果を踏まえ、既存の薬物療法と併用することで効果向上を実現できる新規治療開発が進むことが期待される。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計0件

〔学会発表〕　計0件

〔図書〕　計0件

〔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

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