

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：17102
研究種目：若手研究
研究期間：2020～2021
課題番号：20K16387
研究課題名（和文）蛍光X線分析による食道癌の銅の分布分析と銅輸送体がもたらすNAC抵抗性機序の解明
研究課題名（英文）Analysis of the chemotherapy resistance by copper transporters using X-ray Fluorescence to evaluate the copper distribution.
研究代表者
木庭 遼（Koba, Ryo）
九州大学・医学研究院・共同研究員
研究者番号：10866776
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的はCisplatin投与後の食道癌中の銅の分布分析を行うことで銅関連輸送体に関連した化学療法抵抗性獲得の機序を解明することである。まずどの細胞が主に銅輸送体関連遺伝子（CTR1/2）を発現しているかを評価するため、シングルセルデータを用いて網羅的解析を行ったところ、術前化学療法を施行した食道癌サンプル6例において、線維芽細胞などの間質細胞よりマクロファージでCTR1/2が高発現しており、術前化学療法奏効率においてPD群とSD/PR群で比較したところ、PD群のマクロファージのCTR2の発現が低い傾向がみられた。以上によりマクロファージが治療抵抗性に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は食道癌における白金錯体系抗腫瘍薬への抵抗性獲得の機序として銅輸送体に着目し、白金製剤投与後の銅輸送体の各細胞における発現度や銅の局所的な分布を評価することで化学療法治療抵抗性の機序を解明することを目的とした。シングルセル解析を行うことで、網羅的かつ単一細胞レベルでの詳細な発現解析が可能であった。従来、線維芽細胞などの間質細胞が白金製剤抵抗性に寄与していると考えられていたが、本研究によりマクロファージが関連していることが示唆され、今後治療抵抗性獲得機序の解明における一助となりうると考えられた。

研究成果の概要（英文）：This study was started to elucidate the mechanism of the chemotherapy resistance related to copper transporters by evaluating the copper distribution in esophageal cancer treated with Cisplatin. To assess which cells expressed the copper transport related genes (encoded by CTR1/2), we performed a comprehensive analysis using single-cell RNA sequence data, which were available in our laboratory. Analysis of 6 esophageal cancer samples treated with neoadjuvant chemotherapy revealed that macrophages expressed the CTR1/2 genes higher than stromal cells such as fibroblasts. Moreover, comparing PD groups with SD/PR groups, macrophages in PD groups downregulated CTR2 genes. In short, these data suggest that macrophages in esophageal cancer may relate to the chemotherapy resistance.

研究分野：医歯薬学

キーワード：食道癌 白金製剤 銅輸送体 蛍光X線分析 腫瘍微小環境

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Cisplatin は白金錯体系抗腫瘍薬であり、食道癌の術前化学療法の標準治療薬と位置付けられている。しかし、治療効果は十分ではなく、治療反応性を予測する確実な手段もないことから治療抵抗性の機序の解明が急務である。白金製剤の薬効発現のためには腫瘍細胞内への薬剤送達・蓄積が重要とされており、近年銅輸送体が白金製剤への治療抵抗性に関与しているという報告が散見されるがその詳細は不明である。今回、白金製剤の抵抗性獲得機序の解明のために銅輸送体に着目し白金製剤の治療効果の改善や治療反応性の予測を可能にする画期的な研究として開始された。

2. 研究の目的

実際のヒト食道癌組織中の銅輸送体発現の評価や蛍光 X 線分析などをもちいた Cisplatin 投与後の食道癌組織中の銅の局所的な分布を可視化することで Cisplatin における銅輸送体の役割を明らかにし、さらに Cisplatin の個々の治療反応性の予測・耐性獲得の機序を解明する。

3. 研究の方法

ヒト食道癌組織におけるシングルセル解析を用いた、腫瘍微小環境内における銅輸送体関連遺伝子の網羅的発現解析

まず腫瘍微小環境内でどの細胞種が銅輸送体関連遺伝子を発現しているのかをシングルセル解析を用いて評価する。当研究室でこれまで集積していた、術前化学療法を施行した 6 例の食道扁平上皮癌サンプルのシングルセル解析データを使用する。細胞集団をクラスタリングしたのちに銅輸送体関連遺伝子である CTR1/2 の発現を網羅的に評価する。

銅輸送体関連遺伝子の高発現細胞集団の再クラスタリング

で得られた発現データより、高発現する細胞集団を同定し、再クラスタリングを行う。

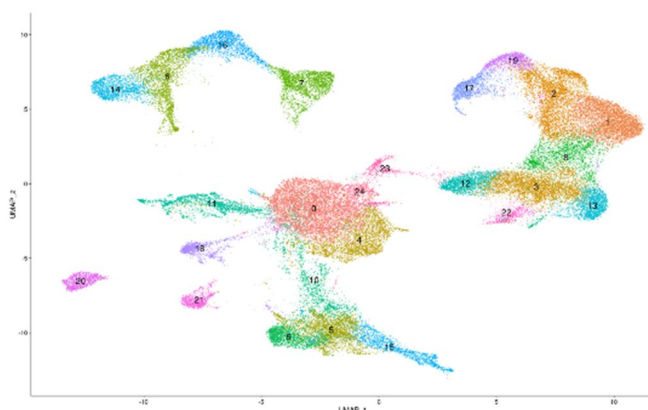
術前化学療法の奏効率での発現レベルの比較

の細胞集団について、術前化学療法の奏効率 (PD vs SD/PR) で CTR1/2 の発現レベルを比較する。

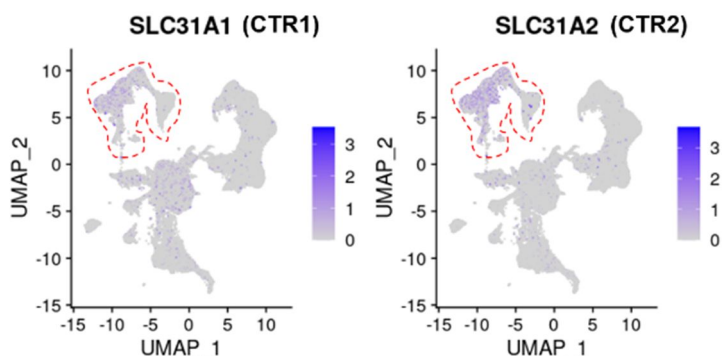
4. 研究成果

ヒト食道癌組織におけるシングルセル解析を用いた、腫瘍微小環境内における銅輸送体関連遺伝子の網羅的発現解析

対象の 6 症例のシーケンスデータを基にシングルセル解析を行った。各細胞集団の代表的な発現遺伝子に注目し初期クラスタリングを行い 25 個のクラスター集団に分類された (図 1)。さらに、銅輸送体関連遺伝子である CTR1/2 の発現解析を行ったところ、骨髄球系細胞集団に最も多く発現がみられた (図 2)。



(図1) 細胞集団のクラスタリング



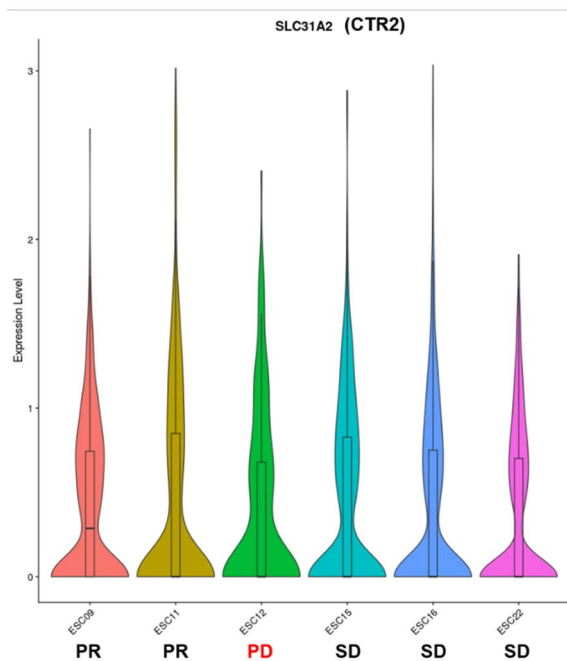
(図2) CTR1/2の発現解析

銅輸送体関連遺伝子の高発現細胞集団の再クラスタリング

で同定された CTR1/2 を高発現する細胞集団に対し再クラスタリングを行った。CD68 が高発現している細胞集団であり、マクロファージが主に CTR1/2 を発現していることがわかった。

術前化学療法の奏効率での発現レベルの比較

の細胞集団について、術前化学療法の奏効率 (PD vs SD/PR) で CTR1/2 の発現レベルを比較した。特に CTR2 に関して、PD 群で発現レベルが低い傾向にあった (図 3)。



(図3) 治療奏効率で比較

(まとめ)

腫瘍微小環境内で、銅輸送体関連遺伝子を最も強く発現していたのはマクロファージであった。また化学療法抵抗性を示した症例において銅輸送体関連遺伝子の低下がみられた。以上により白金製剤への抵抗性に関して、免疫細胞、特にマクロファージが関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村祥一、大内田研宙、奥田翔、大坪慶志輝、寅田信博、水内祐介、進藤幸治、仲田興平、森山大樹、中村雅史
2. 発表標題 シングルセル解析による食道癌内の腫瘍浸潤マクロファージの食作用の評価
3. 学会等名 第29回日本消化器関連学会週間（JDDW 2021）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中村祥一、大内田研宙、久野恭子、持田郁巳、奥田翔、大坪慶志輝、水内祐介、進藤幸治、仲田興平、森山大樹、永井俊太郎、中村雅史
2. 発表標題 シングルセル解析を用いた食道扁平上皮癌内の腫瘍浸潤Bリンパ球の評価
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久野恭子、大内田研宙、中村祥一、持田郁巳、奥田翔、大坪慶志輝、水内祐介、進藤幸治、仲田興平、森山大樹、永井俊太郎、中村雅史
2. 発表標題 Single cell RNA sequenceを用いた食道扁平上皮癌におけるcancer associated fibroblastのheterogeneityの解明
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

〔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
研究協力者	中村 祥一 (NAKAMURA Shoichi)		

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
---------	---------