

食道がんに対する抗がん剤の効果における
L-serine の影響に関する基礎的検討

西 海 信

Influence of L-serine on the Effects of Anticancer Drugs on Esophageal Cancer

NISHIUMI Shin

要 旨

食道がんが局所に進行する病変の場合には、術前化学放射線療法などでがんを縮小させてから手術を行うことが一般的である。これまでの研究で、術前化学放射線療法前の食道がん患者において、L-serine の血中濃度が高いと食道がんに対する術前化学放射線療法の治療効果が出にくく、その長期予後も悪い可能性が明らかになっている。そこで本研究では、ヒト食道扁平上皮がん細胞株を用いて、L-serine が食道がんに対して使用される抗がん剤である cisplatin と 5-fluorouracil の効果に及ぼす影響について検討した。その結果、cisplatin や 5-fluorouracil がヒト食道扁平上皮がん細胞株の細胞増殖を阻害することを確認できた。さらに、L-serine 自身がヒト食道扁平上皮がん細胞株の細胞増殖に影響を与えない濃度であっても、cisplatin や 5-fluorouracil の細胞増殖阻害効果を抑制できることを明らかにした。これらの結果は、L-serine の体内レベルが高い場合には、cisplatin や 5-fluorouracil による治療効果が抑制される可能性を示唆している。食道がんに対する化学放射線療法治療の際に L-serine の低減が、その治療効果の向上が期待できるかもしれない。

キーワード：食道がん、抗がん剤、細胞増殖、L-serine

Abstract

When esophageal cancer progresses locally, it is common to perform surgery after shrinking the cancer with preoperative chemoradiotherapy. Previous studies have shown the possibility that in the patients with esophageal cancer before preoperative chemoradiotherapy, if the blood concentration of L-serine is higher, the therapeutic effects of preoperative chemoradiotherapy against esophageal cancer is not better, and the long-term prognosis is also poor. In this study, we investigated the effects of L-serine on the effects of anticancer drugs cisplatin and 5-fluorouracil against esophageal cancer using human esophageal squamous cell carcinoma cell lines. As a result, we confirmed that cisplatin and 5-fluorouracil can inhibit cell proliferation of human esophageal squamous cell carcinoma cell lines. Furthermore, even at the concentrations where L-serine itself did not affect cell proliferation in human esophageal squamous cell carcinoma cell lines, it could suppress the inhibitory effects of cisplatin and 5-fluorouracil on cell proliferation. These results suggest the possibility that the higher levels of L-serine in the body may lead to suppression of the therapeutic effects of cisplatin and 5-fluorouracil, and reduction of L-serine may be expected to improve these therapeutic effects.

Keywords: esophageal cancer, anticancer drug, cell proliferation, L-serine

1 はじめに

食道がんは世界のがん死亡者数のうち、6番目に多いがん種である¹⁾。食道がんにおいて、局所に進行する病変の場合、通常では、術前化学放射線療法などでがんを縮小させてから手術を行う²⁻⁵⁾。しかし、術前化学放射線療法では十分な治療効果が得られない場合には、術前化学放射線治療なしですぐに外科的切除を行った方がその予後がよいことが知られている⁶⁻⁹⁾。このことから、術前化学放射線治療を行う前に、その治療効果を予測できれば、無益な術前化学放射線治療を回避することができ、その予後の改善が大いに期待される。そこで、筆者らは、メタボローム解析により、食道がん患者の術前化学放射線療法の治療効果を予測するバイオマーカー探索研究を実施した¹⁰⁾。メタボローム解析とは、DNA、RNA、タンパク質、低分子代謝物などの生体を構成する分子を網羅的に分析するオミクス解析の1つで、生体内の代謝物を網羅的に測定する技術である。代謝物は、遺伝子、または、タンパク質の発現によって影響を受けるので、実際の表現型と最も密接かつ直接的に関連していることが多い¹¹⁾。このことから、メタボローム解析は多くの疾患バイオマーカー研究¹²⁻¹⁴⁾に適用されている。筆者による代謝物バイオマーカー探索の結果、術前化学放射線療法を行った食道がんに対して、病理学的に完全な治療効果が見られなかった群よりも完全な治療効果が病理学的に確認できた群において、arabitol、glycine、L-serine、L-arginineの4種類の代謝物の血中濃度が統計学的に有意に低いことが明らかとなった。さらに、患者の追跡調査結果に基づいて、L-serineの血中濃度が予後因子になることやL-serineの血中濃度が高い場合は、その長期予後が悪い可能性も明らかにした。これらの結果は、arabitol、glycine、L-serine、L-arginineの血中濃度が高いと食道がんに対する術前化学放射線療法の治療効果が出にくい、また、L-serineの血中濃度が高ければ、食道がんが再発しやすいということを意味する。これらの先行研究に基づいて、筆者は、L-serineに着目し、L-serineが食道がん特性に関連し、そして、食道がんに対する化学放射線療法の治療効果に影響を与えるのではないかと考えた。L-serineは体内で合成できる非必須アミノ酸の1つであり、アミノ酸の基本構造の側鎖がヒドロキシメチル基となった構造を有する(図1)。L-serineはタンパク質の構成成分であるとともに、細胞膜構成成分の原料にもなり、生命活動において非常に重要な生体分子である。そこで本研究では、ヒト食道扁平上皮がん細胞株を用いて、L-serineが食道がんに対する抗がん剤の効果に及ぼす影響について検討した。なお、先行研究¹⁰⁾における術前化学放射線療法において、抗がん剤としてcisplatinと5-fluorouracilが使われたことから、本研究でも、この2つの抗がん剤を使用した。

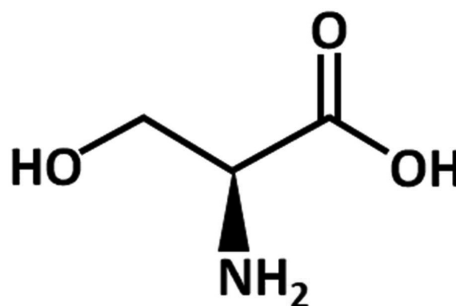


図1 L-serineの化学構造

2 実験方法

2-1 細胞株

本研究で使用したヒト食道扁平上皮がん細胞株 (TE1、TE4、TE5) は、理化学研究所バイオリソース研究センター細胞材料開発室 (茨城県つくば市) より購入し、非働化済みのウシ胎児血清 (FBS) を 10%、そして、100 units/mL ペニシリン G と 100 μ g/mL ストレプトマイシン硫酸塩を含有する RPMI-1640 培地を用いて培養した。

2-2 試薬

L-serine、cisplatin、5-fluorouracil は、富士フイルム和光純薬株式会社 (大阪府大阪市) より購入した。

2-3 細胞観察

ヒト食道扁平上皮がん細胞株 (TE4) を 60 mm dish に播種して 24 時間培養した。引き続き、cisplatin、あるいは、5-fluorouracil を TE4 細胞に処理した。cisplatin、あるいは、5-fluorouracil 処理後の細胞観察は、ニコン培養倒立顕微鏡「ECLIPSE TS100」を用いて実施した。

2-4 細胞増殖

細胞増殖は、Cell Counting Kit-8 (株式会社同仁化学研究所、熊本県上益城郡) を用いて評価した。ヒト食道扁平上皮がん細胞株を 96 穴プレートに播種して 24 時間培養した。引き続き、L-serine、cisplatin、あるいは、5-fluorouracil をヒト食道扁平上皮がん細胞株に処理し、さらに、24 時間培養した。その後、Cell Counting Kit-8 を用いて、ヒト食道扁平上皮がん細胞株の細胞増殖の程度を分析した。なお、L-serine をヒト食道扁平上皮がん細胞株に処理する場合には、L-serine を含まない RPMI-1640 培地を準備し、実験を実施した。

2-5 統計解析

群間比較は Student の t 検定により実施し、p 値が 0.05 未満の場合を統計学的に有意差ありとした。

3 結果・考察

3-1 ヒト食道扁平上皮がん細胞の増殖における L-serine の作用

はじめに、ヒト食道扁平上皮がん細胞の細胞増殖に対して、L-serine がどのような影響を与えるのか否かについて検討するため、ヒト食道扁平上皮がん細胞株 TE1、TE4、あるいは、TE5 に L-serine を作用させ、細胞増殖能について評価した (図 2)。なお、3 種類のヒト食道扁平上皮がん細胞株を培養する際は RPMI-1640 培地を使用した。この培地には、栄養源の 1 つとして L-serine が含有している。そこで、RPMI-1640 培地から L-serine を抜いた培地を準備し、L-serine を添加した培地と添加していない培地とを作製した。通常の RPMI-1640 培

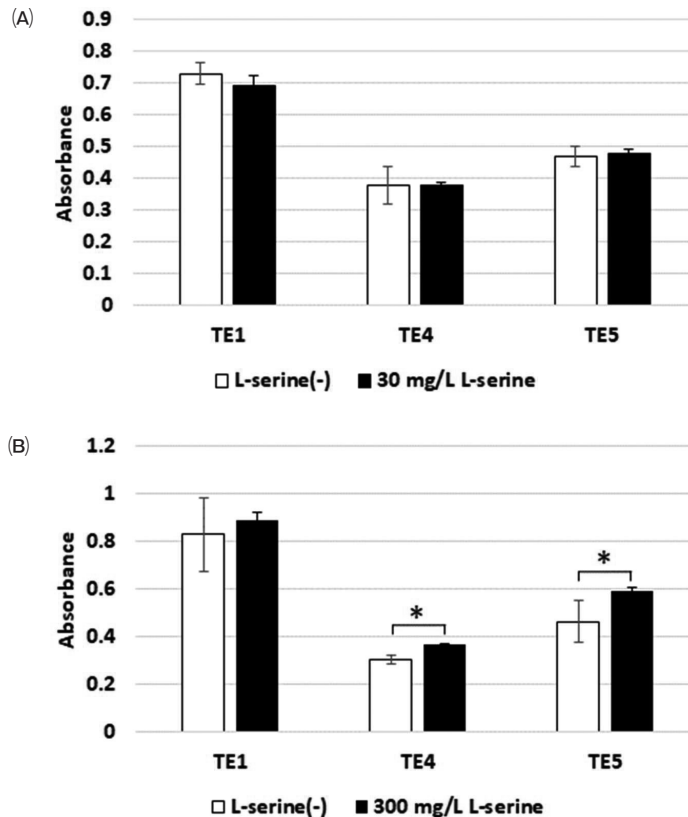


図2 ヒト食道扁平上皮がん細胞の細胞増殖に対する L-serine の効果

30 mg/L (A)、あるいは、300 mg/L (B) の L-serine を含む RPMI-1640 培地を用いて、ヒト食道扁平上皮がん細胞株である TE1、TE4、TE5 細胞に L-serine を 24 時間処理し、細胞増殖の程度を評価した (■)。また、陰性対照 (L-serine (-)) として、L-serine を含まない RPMI-1640 培地を使用し、同様に細胞増殖の程度を評価した (□)。表記データは平均値 ± 標準偏差の結果であり、アスタリスク (*) は、 p 値が 0.05 未満で統計的に有意差があることを示す。

地には L-serine が 30 mg/L の濃度で添加されていることから、ヒト食道扁平上皮がん細胞株への L-serine の処理濃度は 30 mg/L (283 μ M) に設定した。その結果、3 種類すべての細胞株において、30 mg/L の L-serine による細胞増殖能への影響は確認できなかった。続いて、300 mg/L L-serine (2,830 μ M) を 3 種類のヒト食道扁平上皮がん細胞株に処理した結果、TE4 細胞と TE5 細胞とで有意な細胞増殖能の増加が確認できた。これらの結果は、高濃度の L-serine はヒト食道扁平上皮がん細胞の細胞増殖を増加させることができることを示唆している。

3-2 ヒト食道扁平上皮がん細胞の増殖における cisplatin と 5-fluorouracil の作用

次に、抗がん剤である cisplatin と 5-fluorouracil のヒト食道扁平上皮がん細胞への作用を確認するため、ヒト食道扁平上皮がん細胞株 TE4 に cisplatin や 5-fluorouracil を作用させ、TE4 細胞の形態を観察した (図 3)。cisplatin と 5-fluorouracil の未処理の TE4 細胞では、細胞増殖が

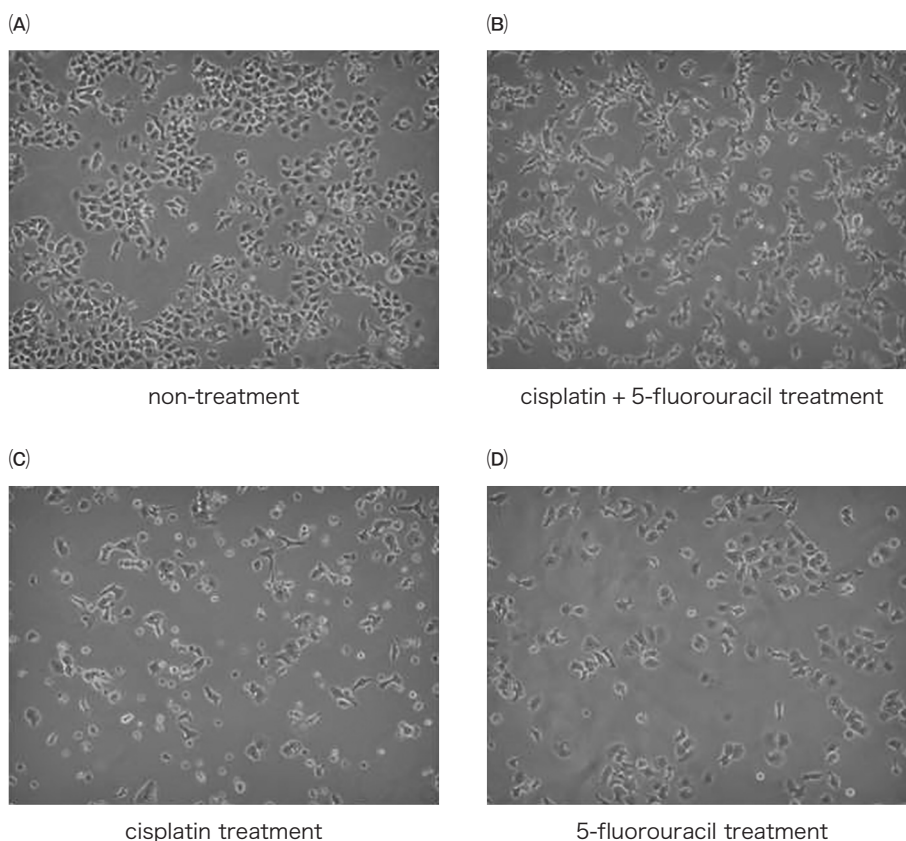


図3 cisplatin と 5-fluorouracil を処理したヒト食道扁平上皮がん細胞の顕微鏡観察

ヒト食道扁平上皮がん細胞株である TE4 細胞に、抗がん剤である cisplatin や 5-fluorouracil を処理し、抗がん剤処理後の細胞の形態を倒立顕微鏡により観察した。(A) は抗がん剤未処理の TE4 細胞、(B) は cisplatin と 5-fluorouracil とを処理した TE4 細胞、(C) は cisplatin を処理した TE4 細胞、(D) は 5-fluorouracil を処理した TE4 細胞の観察結果を示す。

活発であり、細胞が集合して生育している様子が観察された。その一方、cisplatin や 5-fluorouracil を処理した TE4 細胞では、細胞が集合して存在している割合が少なく、細胞が 1 つ 1 つの状態が存在している様子が確認された。また、cisplatin や 5-fluorouracil を処理していない TE4 細胞と比較して、細胞の形態が変化している細胞も観察された。これらの結果は、抗がん剤である cisplatin と 5-fluorouracil が TE4 細胞に作用することで細胞増殖が阻害されるとともに、細胞死も引き起こされている可能性を示している。

続いて、cisplatin と 5-fluorouracil が、ヒト食道扁平上皮がん細胞の増殖に影響を与えるのか否かについて検討した (表 1、2)。ヒト食道扁平上皮がん細胞株 TE1、TE4、あるいは、TE5 に、cisplatin 処理 (0.835、1.67、3.34、16.7 μM)、あるいは、5-fluorouracil 処理 (3.9、7.7、15.4、77 μM) を行った結果、そのほとんどで、その処理濃度依存的に細胞増殖が抑制されることが確認できた。この結果に基づき、ヒト食道扁平上皮がん細胞の増殖における cisplatin と 5-fluorouracil の作用に対する L-serine の影響を検討する実験での cisplatin と 5-fluorouracil の処

表1 ヒト食道扁平上皮がん細胞の細胞増殖における cisplatin の効果

cisplatin concentration	Absorbance		
	TE1	TE4	TE5
0 μ M	0.822	0.406	0.529
0.835 μ M	0.654*	0.393	0.478*
1.67 μ M	0.686*	0.365*	0.427*
3.34 μ M	0.710*	0.349*	0.392*
16.7 μ M	0.462*	0.203*	0.241*

L-serine を含まない RPMI-1640 培地に 0.835、1.67、3.34、16.7 μ M の濃度になるように cisplatin を添加することでヒト食道扁平上皮がん細胞株である TE1、TE4、TE5 細胞に cisplatin を処理し、24 時間後に細胞増殖の程度を評価した。また、陰性対照 (0 μ M) として L-serine を含まない RPMI-1640 培地に生理食塩水のみを添加して、同様に細胞増殖の程度を評価した。表記データは平均値の結果であり、アスタリスク (*) は、p 値が 0.05 未満で統計学的に有意差があることを示す。

表2 ヒト食道扁平上皮がん細胞の細胞増殖における 5-fluorouracil の効果

5-fluorouracil concentration	Absorbance		
	TE1	TE4	TE5
0 μ M	0.800	0.403	0.543
3.9 μ M	0.713*	0.351*	0.492*
7.7 μ M	0.683	0.265*	0.468*
15.4 μ M	0.590*	0.275*	0.403*
77 μ M	0.528*	0.265*	0.358*

L-serine を含まない RPMI-1640 培地に 3.9、7.7、15.4、77 μ M の濃度になるように 5-fluorouracil を添加することでヒト食道扁平上皮がん細胞株である TE1、TE4、TE5 細胞に 5-fluorouracil を処理し、24 時間後に細胞増殖の程度を評価した。また、陰性対照 (0 μ M) として L-serine を含まない RPMI-1640 培地に生理食塩水のみを添加して、同様に細胞増殖の程度を評価した。表記データは平均値の結果であり、アスタリスク (*) は、p 値が 0.05 未満で統計学的に有意差があることを示す。

理濃度を決定した。cisplatin の処理濃度については、ヒト食道扁平上皮がん細胞株の細胞増殖を約 50% 抑制する 16.7 μ M に設定した。5-fluorouracil の処理濃度についてもヒト食道扁平上皮がん細胞株の細胞増殖を約 50% 抑制する濃度を設定しようとしたが、高濃度の 5-fluorouracil の処理では、データのバラつきが大きい傾向があったため、データのバラつきが少ない濃度であった 77 μ M に設定した。なお、77 μ M の 5-fluorouracil では、ヒト食道扁平上皮がん細胞株の細胞増殖能は約 35% 抑制された。

3-3 ヒト食道扁平上皮がん細胞の増殖における cisplatin と 5-fluorouracil の作用に対する L-serine の影響

最後に、ヒト食道扁平上皮がん細胞の増殖における cisplatin と 5-fluorouracil の作用に対する L-serine の影響について検討した (図 4)。ヒト食道扁平上皮がん細胞株 TE1、TE4、あるいは、TE5 に、cisplatin 処理、または、5-fluorouracil 処理を実施する際には、L-serine を含まない

RPMI-1640 培地を使用し、L-serine 処理群と未処理群を設定することで、L-serine による影響を評価した。図 2 の結果からわかるように、30 mg/L の L-serine ではヒト食道扁平上皮がん細胞株の細胞増殖能に対する影響は確認できず、その 10 倍の濃度である 300 mg/L の L-serine では細胞増殖能の統計学的に有意な増加が確認できた。しかし、ヒトの血中 L-serine 濃度は数十から数百 μM であることから¹⁵⁾、抗がん剤を処理したヒト食道扁平上皮がん細胞株への L-serine の処理濃度は 30 mg/L (283 μM) とした。その結果、TE4 細胞において、cisplatin ならびに、5-fluorouracil による細胞増殖阻害を 30 mg/L L-serine が統計学的に有意に抑制できた。また、TE5 細胞で、30 mg/L L-serine が cisplatin による細胞増殖阻害を統計学的に有意に抑制できた。TE1 細胞、TE4 細胞、TE5 細胞はいずれにもヒト食道がん由来細胞株で扁平上皮が

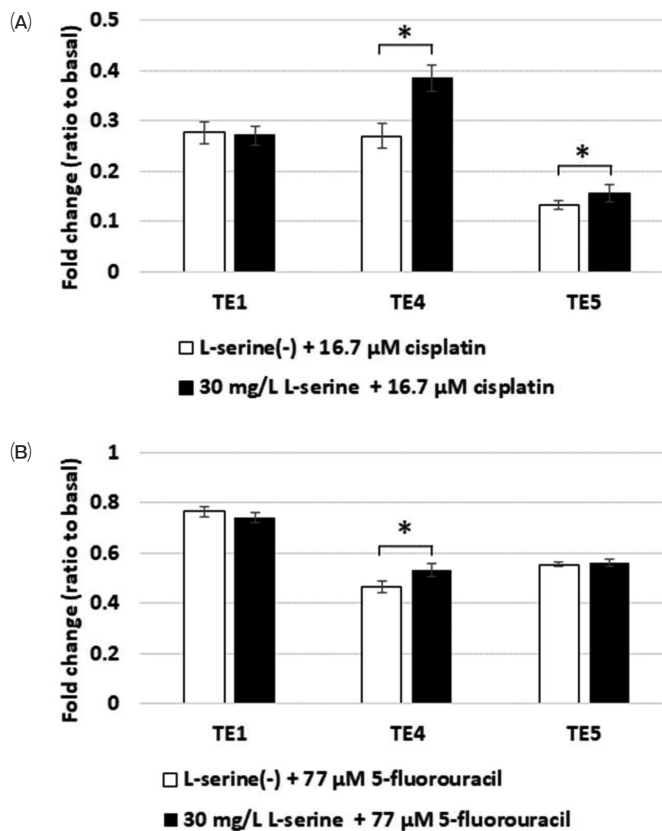


図 4 ヒト食道扁平上皮がん細胞の細胞増殖に対する cisplatin と 5-fluorouracil の効果における L-serine の影響

ヒト食道扁平上皮がん細胞株である TE1、TE4、TE5 細胞に、16.7 μM cisplatin (A)、あるいは、77 μM 5-fluorouracil (B) を処理した。cisplatin、あるいは、5-fluorouracil を処理する際、30 mg/L L-serine を含む RPMI-1640 培地 (■) と、その対照 (L-serine (-)) として L-serine を含まない RPMI-1640 培地 (□) を使用した。細胞への抗がん剤処理 24 時間後に、細胞増殖の程度を評価した。また、陰性対照として、L-serine を含まない RPMI-1640 培地に生理食塩水のみを添加して、同様に細胞増殖の程度を評価し、その分析結果を基準とした。表記データは、各細胞において陰性対照の結果を 1 とした場合の数値に対する平均値 \pm 標準偏差の結果でありアスタリスク (*) は、p 値が 0.05 未満で統計学的に有意差があることを示す。

ん由来であるが、そのタイプは異なり、例えば、TE4 細胞は高分化型扁平上皮がん由来である。今回の研究では、TE4 細胞において、特に、L-serine の効果が顕著に観察されたことから、食道がんのタイプによって L-serine の影響を受けやすいものとそうでないものがあるかもしれない。

また、先行研究において、L-serine は病理学的に完全な治療効果が見られなかった群よりも完全な治療効果が病理学的に確認できた群において、統計学的に有意に血中濃度が低いこと、さらに、L-serine の血中濃度が高い場合は、その長期予後が悪い可能性が明らかになっている¹⁰⁾。今回の研究結果において、L-serine が抗がん剤である cisplatin や 5-fluorouracil の効果を弱める可能性が明らかになったことから、次のようなことが考えられる。L-serine の血中濃度が高い食道がん患者は、食道のがん部への L-serine の供給割合も高くなり、その結果として、cisplatin や 5-fluorouracil の効果が弱まったことで、化学放射線療法の治療効果が悪くなる、長期予後が悪くなるということにつながったのかもしれない。がん細胞では、低酸素状態に適応するため、糖代謝において、酸化的リン酸化による ATP 産生より解糖系による ATP 産生が優位になる「Warburg 効果」が代謝異常として起こっている¹⁶⁾。また、アミノ酸代謝においても代謝異常が起こり、アミノ酸のうち、L-glutamine、L-serine、glycine、L-tryptophan の消費ががん細胞で高く、これががん細胞の生存、増殖、転移などにつながるとされている。例えば、L-glutamine は急速に増殖するがん細胞のエネルギー源として活用されることが知られている。L-serine に関しては、例えば、ヒト結腸がん細胞株において L-serine の消費が早く、L-serine 欠乏状態でヒト結腸がん細胞株を培養すると、細胞増殖が抑制されることが明らかになっている¹⁷⁾。今回の研究では、抗がん剤である cisplatin や 5-fluorouracil による細胞増殖の阻害に対して、30 mg/L L-serine がそれを抑制したものの、30 mg/L L-serine だけをヒト食道扁平上皮がん細胞株へ処理した場合には、細胞増殖への影響は確認できなかった。これまで、食道がん細胞に対する L-serine の影響に関する報告はなく、がん種の違いによる影響もあるかもしれないが、L-serine 自身が食道がん細胞の細胞増殖に影響を与えない濃度であっても、cisplatin や 5-fluorouracil の効果を抑制できるということは重要な発見である。

4 まとめ

本研究でのヒト食道扁平上皮がん細胞株を用いた基礎的検証において、L-serine が食道がんに対する抗がん剤の効果を阻害する可能性が明らかとなった。この研究成果は、食道がんに対する化学放射線療法に対して有益な情報になる可能性がある。例えば、食道がんに対する化学放射線治療の際に L-serine 低減食にすることなどで、体内 L-serine レベルを低く保つようにし、その結果として抗がん剤の治療効果の向上につながるかもしれない。更なる検証が必要ではあるが、食道がん患者の Quality of Life (QOL) 向上も期待でき、本研究成果は非常に意義高いものである。

謝 辞

本研究は、神戸女学院大学人間科学部教育研究助成金の助成を受けて実施された。

参考文献

- 1) Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-tieulent, J., Jemal, A. Global Cancer Statistics, 2012. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2015, 65(2), 87-108.
- 2) Kelsen, D. P., Winter, K. A., Gunderson, L. L., Mortimer, J., Estes, N. C., Haller, D. G., Ajani, J. A., Kocha, W., Minsky, B. D., Roth, J. A., Willett, C. G. Radiation Therapy Oncology Group; USA Intergroup. Long-term results of RTOG trial 8911 (USA intergroup 113): A random assignment trial comparison of chemotherapy followed by surgery compared with surgery alone for esophageal cancer. Journal of Clinical Oncology, 2007, 25(24), 3719-3725.
- 3) Allum, W. H., Stenning, S. P., Bancewicz, J., Clark, P. I., Langley, R. E. Long-term results of a randomized trial of surgery with or without preoperative chemotherapy in esophageal cancer. Journal of Clinical Oncology, 2009, 27(30), 5062-5067.
- 4) van, Hagen, P., Hulshof, M. C., van, Lanschot, J. J., Steyerberg, E. W., van, Berge, Henegouwen, M. I., Wijnhoven, B. P., Richel, D. J., Nieuwenhuijzen, G. A., Hossers, G. A., Bonenkamp, J. J., Cuesta, M. A., Blaisse, R. J., Busch, O. R., ten, Kate, F. J., Creemers, G. J., Punt, C. J., Plukker, J. T., Verheul, H. M., Spillenaar, Bilgen, E. J., van, Dekken, H., van, der, Sangen, M. J., Rozema, T., Biermann, K., Beukema, J. C., Piet, A. H., van, Rij, C. M., Reinders, J. G., Tilanus, H. W., van, der, Gaast, A.; CROSS Group. Preoperative Chemoradiotherapy for Esophageal or Junctional Cancer. The New England Journal of Medicine, 2012, 366(22), 2074-2084.
- 5) Shapiro, J., van Lanschot, J. J. B., Hulshof, M. C. C. M., van, Hagen, P., van, Berge, Henegouwen, M. I., Wijnhoven, B. P. L., van, Laarhoven, H. W. M., Nieuwenhuijzen, G. A. P., Hossers, G. A. P., Bonenkamp, J. J., Cuesta, M. A., Blaisse, R. J. B., Busch, O. R. C., Ten, Kate, F. J. W., Creemers, G. M., Punt, C. J. A., Plukker, J. T. M., Verheul, H. M. W., Bilgen, E. J. S., van, Dekken, H., van, der, Sangen, M. J. C., Rozema, T., Biermann, K., Beukema, J. C., Piet, A. H. M., van, Rij, C. M., Reinders, J. G., Tilanus, H. W., Steyerberg, E. W., van, der, Gaast, A.; CROSS study group. Neoadjuvant chemoradiotherapy plus surgery versus surgery alone for oesophageal or junctional cancer (CROSS): Long-term results of a randomised controlled trial. The Lancet Oncology, 2015, 16(9), 1090-1098.
- 6) Berger, A. C., Farma, J., Scott, W. J., Freedman, G., Weiner, L., Cheng, J. D., Wang, H., Goldberg, M. Complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy in esophageal carcinoma is associated with significantly improved survival. Journal of Clinical Oncology, 2005, 23(19), 4330-4337.
- 7) Kim, M. K., Kim, S. B., Ahn, J. H., Kim, Y. H., Kim, J. H., Jung, H. Y., Lee, G. H., Choi, K. D., Song, H. Y., Shin, J. H., Cho, K. J., Ryu, J. S., Park, S. I. Treatment outcome and recursive partitioning analysis-based prognostic factors in patients with esophageal squamous cell carcinoma receiving preoperative chemoradiotherapy. International Journal of Radiation Oncology-Biology-Physics, 2008, 71(3), 725-734.
- 8) Donahue, J. M., Nichols, F. C., Li, Z., Schomas, D. A., Allen, M. S., Cassivi, S. D., Jatoi, A., Miller, R. C., Wigle, D. A., Shen, K. R., Deschamps, C. Complete pathologic response after neoadjuvant chemoradiotherapy for esophageal cancer is associated with enhanced survival. The Annals of Thoracic Surgery, 2009, 87(2), 398-399.
- 9) Hsu, P. K., Chien, L. I., Huang, C. S., Hsieh, C. C., Wu, Y. C., Hsu, W. H., Chou, T. Y. Comparison of survival among neoadjuvant chemoradiation responders, non-responders and patients receiving primary resection for locally advanced oesophageal squamous cell carcinoma: Does neoadjuvant chemoradiation benefit all? Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery, 2013, 17(3), 460-466.
- 10) Fujigaki, S., Nishiumi, S., Kobayashi, T., Suzuki, M., Iemoto, T., Kojima, T., Ito, Y., Daiko, H., Kato, K., Shouji, H., Honda, K., Azuma, T., Yoshida, M. Identification of serum biomarkers of chemoradiosensitivity in esophageal cancer via the targeted metabolomics approach. Biomarkers in Medicine, 2018, 12(8), 827-840.
- 11) Griffin, J. L., Shockcor, J. P. Metabolic profiles of cancer cells. Nature Reviews Cancer, 2004, 4(7), 551-561.
- 12) Spratlin, J. L., Serkova, N. J., Eckhardt, S. G. Clinical applications of metabolomics in oncology: A review.

- Clinical Cancer Research, 2009, 15 (2), 431-440.
- 13) Zhang, A., Sun, H., Wang, X. Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for disease: A systematic review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 404(4), 1239-1245.
 - 14) Liesenfeld, D. B., Habermann, N., Owen, R. W., Scalbert, A., Ulrich, C. M. Review of mass spectrometry-based metabolomics in cancer research. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 2013, 22 (12), 2182-2201.
 - 15) <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000187>
 - 16) Warburg, O. On the origin of cancer cells. *Science*, 1956, 123, 309-314.
 - 17) Maddocks, O. D. K., Berkeres, C. R., Mason, S. M., Zheng, L., Blyth, K., Gottlieb, E., & Vousden, K. H. *Nature*, 2013, 493, 542-546.

(原稿受理日 2023年2月10日)