



### 臨床の現場と研究をつなぐ「疑問」を持ち続けて

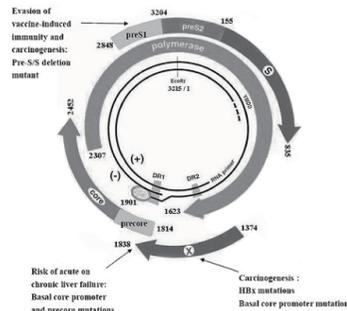
— 山下先生は臨床医でありつつ、ウイルス性肝炎や肝臓がんについて研究なさっていますが、なぜ肝臓がんの研究を始められたのでしょうか。

私が医師としてスタートしたのは阪神淡路大震災や地下鉄サリン事件のあった1995年でした。研修医として内科にいた時、若い肝臓がんの患者さんがおられ、まだお子さんたちが小さいのに余命半年を告げられる時には胸が痛みました。現在では分子標的薬が多く使われるようになりましたが、その当時、肝臓がん治療に使われていたのは抗がん剤で、期待した効果を得ることができないケースも多かった。ところが、あるひとりの

若い患者さんが抗がん剤によってがんが完全に消滅したのを目の当たりにしたのです。まったく同じ抗がん剤でも、効く人とそうでない人がいる。その違いは何なのか、どんな理由があるのかと思ったことが研究のきっかけになりました。

— 肝臓がんは今でも予後がよくない、難しいがんですね。

肝臓がんは膵臓がんについて5年生存率が低い予後不良ながんです。B型肝炎は専門ではなかったのですが、肝臓がんに大きく関わることもあり、その発生機序を知りたいという気持ちがあって最近研究に取り組みました。



**World prevalence of hepatitis B carriers**  
 HBs Ag carriers prevalence  
 ● <2%  
 ● <2-7%  
 ● >8%  
 ○ Poorly documented

C.-L. Lin, J.-H. Kuo / Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 31 (2017) 249–255

Journal of Viral Hepatitis, 2004, 11, 97–107

肝臓がんに大きく関わると言われるB型肝炎ウイルス。今でも世界に脅威を与えるウイルスの一つだ。

### 強大な敵に立ち向かう武器としての最先端技術

これらの強大な敵と戦う時に重要な武器の一つが最先端技術です。私は1995年に論文発表されたマイクロアレイ解析、SAGE解析に98年頃に出会いました。それまで一つひとつ調べなければならなかった遺伝子の発現が何千何万という単位で一度に解析できるようになったのです。当時はまだヒトのゲノム解析の最中で、最先端技術による新しい研究の幕開けというエキサイティングな時代でした。私は東京大学の松島綱治先生(現東京理科大学 生命科学研究所)の研究室へ国内留学し、最先端技術を使う研究の世界に大いに感銘を受けました。そして、当時の指導教官であった金子周一先生とともに、「肝臓の遺伝子発現を全て見てやる」という目標を立てたのです。その5年後にはヒトのゲノム解析が完了しましたから、科学技術の大きな変化の中で研究を始められたという体験は、臨床と共に研究を続けるという大きな動機になっています。

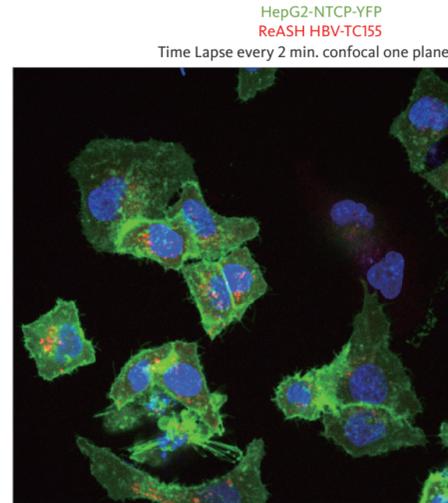
— 戦う武器として、最先端技術をいかに早く取り入れて使いこなすかが重要なですね。

私は「最新の技術を早く使いこなしたい」性格です。新しい技術を応用することでどんな結果が出るのかというのは、本当に興味深いものです。細胞や核の内部での病的な状態や変化などの情報が見えることによってどんどん突き詰めることができ、それらの情報をもとにがんや感染症などが発病機序も含めて、より正確にわかるようになることが期待できます。そして解像度が上がり見える情報が増えれば分子の情報は増えていくでしょうし、今まで当たり前だと思われていたことがひっくり返されるようなデータも出るかもしれません。そういった確実なエビデンスに基づいた新しい薬や治療法ができる可能性があります。

### HBV研究中に「研究用1分子蛍光顕微鏡 HM-1000」と出会う

— B型肝炎ウイルス(HBV)の研究中にシスメックス社の「研究用1分子蛍光顕微鏡 HM-1000」を導入されましたが、どういった経緯だったのでしょうか。

HBV研究の中で、ウイルスを蛍光色素で光らせ、細胞膜を通り抜ける状態を見ようとしていました。HBVのエントリーはRab5 (early endosome)、Rab7(late endosome)、Rab7+lamp1 (Endolysosome)を経由してコア蛋白とHBV-DNAが宿主の核へと侵入していくとの報告がありますが、その過程は目撃されたわけではありません。私は受容体とウイルスをそれぞれ別の蛍光色素で光らせ、くっつく瞬間をこの目で見たかったのです。しかし従来の顕微鏡では、よくわからないうちに大量のウイルスが細胞の中に入ってしまった状態までしか見えなかったのです。ウイルスは数十nmのもので、それまでの蛍光顕微鏡は200nmが限界でしたから原理的に不可能です。悩んでいたところに、超解像度の蛍光顕微鏡が医学研究にも使われつつあることを知りました。これは2014年ノーベル化学賞を受賞した最先端技術です(「細胞内の生命現象を見る超高解像度の蛍光顕微鏡の開発」でベッツィヒ、ヘル、モーナーの3氏に授与)。そして、あるメーカーの超解像顕微鏡を使ってウイルスの動きをライブで観察することはできたのですが、多色で観察すると解像度が落ちることなどから、動きの中で何が起きているのかまでは、はっきり見ることはできませんでした。



共焦点(コンフォーカル)顕微鏡では自身の観察対象の解析に限界を感じた

さらに他の超解像顕微鏡を使ってみようと思いましたが、非常に高額ですし、大規模なシステムや暗室を用意しなければならぬので、気軽に導入したり使うのはとても難しいです。そんな時に参加した癌学会でふと「超解像顕微鏡デモンストラーション」という文字が目に入ったのです。それがシスメックスさんのブースでした。

カタログダウンロードはこちら



[http://sysmex-fcm.jp/wp-content/uploads/2020/06/HM-1000\\_JPweb.pdf](http://sysmex-fcm.jp/wp-content/uploads/2020/06/HM-1000_JPweb.pdf)

イメージギャラリーはこちら



<https://cellimagegallery.wixsite.com/website>

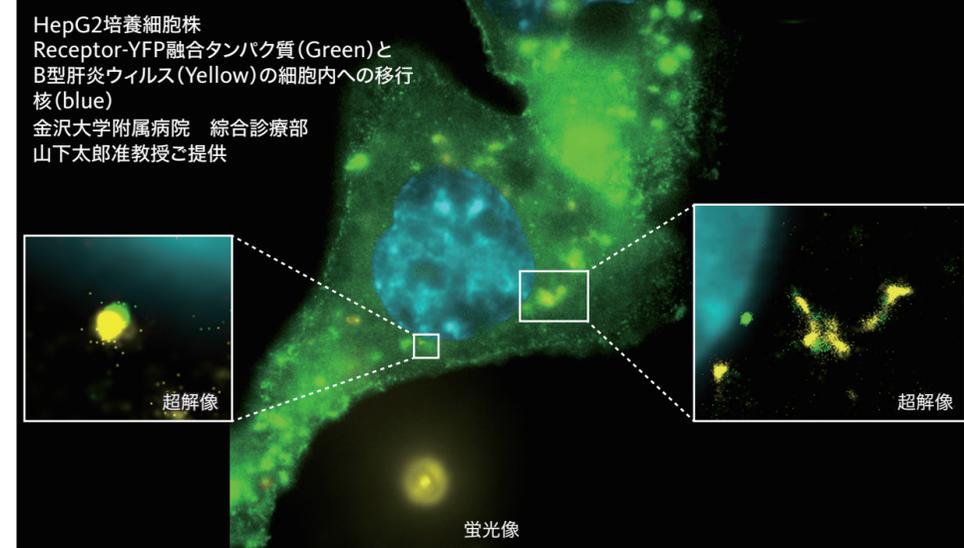
### さまざま導入できた「研究用1分子蛍光顕微鏡 HM-1000」

— HM-1000のどのような点が導入につながったのでしょうか。

私の勤めている金沢大学には大規模な超解像顕微鏡もあります。それは20~60倍と複数の対物レンズをはじめ、さまざまな機能を備えているのですが、調整や操作に時間がかかります。HM-1000は単独の倍率で調整も必要なくすぐに使えて、とてもクリアな画像が得られました。しかも暗室や専用のスペースを準備する必要がなくてとてもコンパクトですし、価格の面でも非常に導入しやすいのが大きかったですね。また、臨床研究では細かな設定をしたりカスタマイズする時間が惜しいので、装置を立ち上げたらすぐに使えるというのは非常にありがたい。HM-1000では超解像リアルタイム動画の撮像ができないので、現在タイムポイントでのデータ観察を行っ



HM-1000はボックスタイプで簡便に使えてかつ壊れにくいことを重要視している。



### 超解像で見た先にある新しい創薬・治療の可能性

— 現在、がんゲノム医療などプレジジョン・メディスンや個別化医療が進みつつあります。その現場で超解像はどのように役立つでしょうか。

ゲノム医療・創薬は広がりつつありますが、実際には遺伝子情報がわかっていても対応できる薬が少ないという現実があります。ある特定の薬剤がDNA損傷やアポトーシスを起こす特定のシグナルを阻害するイベントの仕組みは、薬によって違います。そういった作用機序を超解像によって如実に見ることができるのではないのでしょうか。細胞障害性の薬をより詳しく突き詰めることで、効果がさらに明らかになると思います。また、抗がん剤や分子標的薬による副作用は、原因も症状も十人十色で患者さんの治療や未来に大きな影響があります。副作用が生活習慣によるものなのか、遺伝情報によるのかというようなことが解明できれば、患者さんの負担を軽減できる可能性があります。

— 「研究用1分子蛍光顕微鏡 HM-1000」を医療現場で使うことも考えられるでしょうか。

ミトコンドリアやライソソーム由来の病気など細胞内オルガネラの異常に関わる病気や、オートファジーに関わるものは、現場で病理診断に使える可能性があると思います。また、抗がん剤や分子標的薬も分子の発現によって効果に差が出ると考えられるので、切除

した腫瘍を超解像で解析することで、既存薬の新たな選択法や組み合わせを見出すことが可能になるのではないのでしょうか。

— 今後の研究において、HM-1000にどのようなことを期待されていますか。

がん化が起こる過程で核内のタンパクがどのようになっているのかに興味があります。従来の顕微鏡では、核の中での病的な変化はHE染色で見えますが、イベントとして実際に何が起きているかまでは見えない。それをHM-1000の超解像が明らかにできるようになり、がんのメカニズムや治療への理解が深まるだろうと考えています。将来的には明滅型方式の超解像顕微鏡で、リアルタイムで細胞や核の内部を見られたらと思います。生きた状態で観察する、介入することができるになれば、さらに高いレベルの成果につながるでしょう。

また、現在はリアルタイム動画(ライブセル)で見られないのでタイムラプスで観察していますが、その操作が自動化できたら、限られた時間を有効に使えるだろうと思います。データ量が膨大になっていくので、圧縮や処理についても合わせて開発されればと期待しています。