



## 研究室紹介

神戸大学大学院医学研究科外科学講座  
食道胃腸外科学分野

教授 掛地 吉弘 特命准教授 山下 公大



神戸大学医学部附属病院は、海と山に挟まれた港街・神戸を象徴するポートタワーの程近くに位置しています。地下鉄大倉山駅を下車してすぐに、鬱蒼とした緑に囲まれた大倉山公園を抜けた先に病院が現れます。その外観は、近代的でスタイリッシュなデザインで、清潔感があります。周囲の自然環境に恵まれており、聳え立つ六甲山系や摩耶山などの山々と海外からのタンカーや大型客船も出入りする神戸港が美しいコントラストをなし、四季折々の景色を楽しむことができます。この広大な自然に囲まれた恵まれた環境の下で、患者さんやスタッフがリラックスしながら治療に取り組めるように工夫されています。

2012年に掛地が九州大学より赴任して以来、既に10年以上の月日が経ちました。その間、時代は大きな変革を迎え、われわれの領域においても、ロボット手術の導入と普及、免疫チェックポイント阻害剤の台頭、ゲノム医療の発展など、医療は猛烈な加速度と共に進歩しています。これらから、新しい知見や治療研究のシーズを見出すことが私たちの研究動機です。外科医が基礎的研究から離れる時代の中、食道胃腸外科癌免疫研究室は、臨床から基礎に至る縦断的研究の重要性を捉え、次世代の臨床医学につながる成果を目指して、日夜研究に取り組んでいます。これまでの分子生物学・細胞学的な視

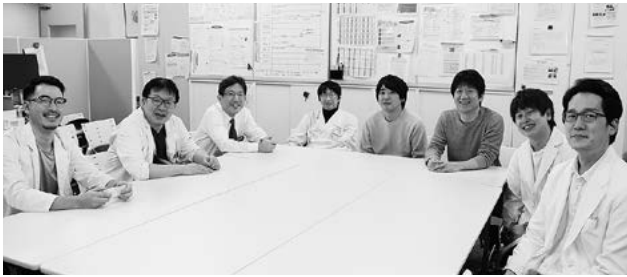
点にとどまらず、AIを用いた解析やビッグデータやバイオデータベースへもアクセスし、古き良き時代より継承される不屈の研究魂<sup>リサーチマインド</sup>を堅守しつつ、新時代の外科医学研究を目指して、大量のデータや難解なアルゴリズムと格闘しています。現在の私たちの研究について紹介します。

### 研究内容

#### 1) 直腸癌術前化学放射線療法に腫瘍微小環境解析

当研究では、直腸癌術前化学放射線療法後の手術標本を用いて、腫瘍免疫微小環境の研究を行い、腫瘍浸潤腫瘍 CD8+T 細胞の増加を見いだしました。興味深いことに、その浸潤の程度は組織学的効果や無再発生存に相関していました。これらの環境の変化は、免疫チェックポイントの併用に有利な微小環境を形成していると考えています。今後、直腸癌術前化学放射線療法に免疫チェックポイント阻害剤を併用する際に、どのような症例に治療を行うことが適切なかを検討しています。この解析を進めるために、われわれは二つの解析ツールを駆使して研究を進めています。

まず、大腸癌放射線治療のマウスモデルの作成です。これにより、放射線治療後の腫瘍 CD8+T 細胞の動態研究が可能となります。放



食道胃腸外科癌免疫研究室



AI イメージングサイトメトリー

放射線治療による腫瘍 CD8+T 細胞の増加および疲弊に伴うエフェクター機能の発揮は、照射量依存的に認められます。特にこの腫瘍効果については、放射線前より腫瘍内に存在した CD8+T 細胞がそのまま滞在し、エフェクター機能、抗腫瘍効果の大部分を担うことを見だしました。これらの絶対数の増加と機能獲得のメカニズムについて検討を行っています。

次に、AI-イメージングサイトメトリーの導入です。これまで手術切除標本の解析は、免疫組織学的染色を行い、顕微鏡で手計算により評価していました。これに AI 技術を導入して、機械学習アルゴリズムを組織学的データ（細胞や組織などの顕微鏡画像など）に適用し、データから特徴を抽出することで組織の細胞識別や定量を行い、従来法と比較してより客観的で再現性の高い結果を得ることができます。また、通常は人間が単独で行うことが困難な細胞間距離の測定と解析、特定の構造物の定量も可能となり、がん細胞と免疫細胞等の各細胞間相互作用ががんの進行や治療にどのように関連しているか、かつ、免疫チェックポイント阻害剤をはじめとする新規薬剤の Precision Oncology の実現のために、一役買ってくれるものと信じております。今後は、特定コホートや大規模な臨床試験データの取得、マルチプレックス免疫染色へのステップアップを検討しています。さらに、直腸癌術前治療に関連する腸内細菌叢解析も進めており、成果が期待されます。このように、複雑な生体情報を網羅的に解析する研究に積極的に取り組んでいます。

## 2) 食道癌術前化学療法に関する腫瘍免疫微小環境の解析とバイオマーカー検索

食道癌の術前化学療法において、治療前や手術後標本を用いたがん幹細胞マーカーが、治療効果予測に有用であることが示唆されました。また、術前化学療法により腫瘍内 CD8+T 細胞の増加が促進し、組織学的効果が高い症例では CD8+T 細胞の浸潤が予後良好となる一方、効果が低い症例では CD8+T 細胞の浸潤があっても、予後には貢献しないことを報告しました。治療効果が低い食道癌症例には、強力な免疫抑制機構が存在することが示唆されます。この免疫抑制機構には骨髄由来免疫抑制性細胞 (MDSC)、腫瘍関連マクロファージ (TAM) や癌関連線維芽細胞 (CAF) が大きく関与していると考えられます。食道癌腫瘍微小環境の解析については、国内有数の研究を行っている病理学教室・横崎教授の下へ数多くの大学院生が門を叩き、これらの病態に関する数多くの興味深い知見が得られています。CAF 様細胞の解析では、メタロチオネイン2A (MT2A) が高発現し、インスリン様成長因子結合タンパク質2 (IGFBP2) の発現により、NF $\kappa$ B、Akt および Erk シグナル伝達経路を介して食道癌細胞の浸潤能を促進すること、同時に腫瘍組織での MT2A 高発現は、食道癌患者の予後不良と相関していることを報告しており、これを治療標的とした薬剤開発を目指しています。

また、当科がシスメックス株式会社と共同開発を行った、末梢血 T 細胞の免疫シナプス形成能について、生理的意義を検討しています。

イメージングフローサイトメトリーを用いて、T細胞の免疫シナプス形成に参与するCD3やCD28の表面分子の集簇の程度を評価するシステムを開発しました。消化器癌の術前化学療法前後の末梢血中T細胞の免疫シナプス形成機能を測定しています。免疫シナプス形成能と治療効果が相関する可能性があるようです。消化器癌における術前治療に関する腫瘍微小環境変化は、その治療効果判定を手術切除標本より取得される組織学的情報から行える独特の治療体系であるのと同時に、患者に大きなメリットをもたらす治療法として、研究と開発に情熱を注いでいます。

### 3) 腫瘍抗原情報を導入したNKT細胞活性化ワクチンベクターの開発

以前より取り組んできた癌ワクチンのプロジェクトで、腫瘍特異抗原のワクチンベクターの開発を行ってきました。卵白アルブミン(ovalbumin: OVA)全長タンパク質を腫瘍抗原と見立て、マウス骨髄由来樹状細胞(bone marrow derived- dendritic cell: BM-DC)に電気穿孔(electroporation: EP)法で導入し、NKT細胞の特異的エピトープである $\alpha$ ガラクトシルセラミド( $\alpha$ -GalCer)を付加したNKT細胞活性化ワクチン(OVA-EP-galDC)システムを構築し、OVA-EP-galDCを摂取した個体は、接種後、腫瘍を完全に拒絶することを示しました。また、各臓器に抗原特異的CD8+T細胞を誘導・維持されること、そして、腫瘍細胞を投与したマウス皮膚には多量の組織滞在型メモリーCD8+T細胞が誘導され、腫瘍拒絶に貢献することを示し、腫瘍の予防的ワクチンとしての有効性を証明しました。現在は、腫瘍抗原由来のmRNAワクチンのベクターとして有効に機能するか否か、検証しています。将来のがん免疫療法の一つとして大きな期待を集める研究です。

### 4) 肥満の消化器癌腫瘍免疫微小環境への影響

食事の欧米化とともに、肥満は食道癌や大腸癌発症のリスクとなり、その予後にも関連して

いることが明らかになっています。欧米型肥満を反映するとされる食餌性肥満マウスモデルにおいて、大腸癌の腫瘍進展が増悪する原因がCD4+T細胞の異常であることを見いだしています。肥満で末梢血CD4+T細胞が減少しますが、大腸癌モデルでは、さらに腫瘍内CD4+T細胞の著明な減少とPD-1発現亢進やサイトカイン産生能の低下を招き、その疲弊を促進することを明らかにし、現在のところ、抗腫瘍効果を低下させる一因となると考えています。免疫チェックポイント阻害剤の効果が高いことなども注目されており、肥満といまだ不明な点が多いのが現状です。この病態解明究明に取り組み、実際のがん治療へ活かしたいと考えています。

### まとめ

現在、神戸市は「神戸医療産業都市構想」に取り組んでおり、医療機関や製薬企業、医療機器メーカーなどを誘致し、医療・介護・健康産業の集積を促進することを目指しています。この構想により、神戸市は世界的な医療の中心地としての地位を確立することを目指しており、同時に地域経済の活性化にもつながると期待されています。神戸大学医学部附属病院もこの構想に参画しており、医療技術の発展に貢献すると共に、地域医療の充実にも取り組んでいます。私たちの研究室もこの計画に支持されながら、研究を進めています。個人の能力や力だけで研究を行う時代は終焉を迎え、チーム間での協力、他の施設や企業などとの共同研究が求められる時代に突入しました。WEB、SNSやクラウドなどのデジタルコミュニケーションツールを駆使しつつ、人と人のつながりを大切に、研究の人的ネットワークを広げていきたいと考えています。外科医という職務にこだわり、同時に外科という領域にとどまらないという信念の下、研究成果を結実させ、癌に苦しむ患者さんの治療に少しでも還元したいと考えています。