

## ERATO 関口細胞外環境プロジェクト 追跡評価報告書

### 総合所見

関口細胞外環境プロジェクトは、ヒトなど高等動物の臓器・組織の多様な細胞社会の構成及び体制維持において、適切な細胞外環境とはどのようなものかの実体を解明することを目標とした。細胞の増殖・分化制御および維持がなされる上で細胞間隙に存在する構造体、とりわけ基底膜がどのような細胞外マトリックスの成分からなるかについて網羅的に解析し、新規な物をふくめて、300以上に及ぶ細胞外マトリックス成分の構造と機能を解明する上での基盤を創製した。とりわけ、注目した基底膜においては、IV型コラーゲン、ラミニン、ニドゲン、ヘパラン硫酸プロテオグリカンなど、どの組織・臓器の基底膜にも共通する要素と、組織あるいは臓器毎に異なる成分とから構成されていることを具体的に明らかにした。すなわち、発生学的な視点を入れての生命科学に細胞外マトリックスが関与していることを具体的に研究する基盤データを構築した。ヒトの臓器再生が幹細胞と細胞外マトリックスとを用いて、現実化していくための潮流ができてきたと言える。この先に必要な科学技術は何であろうかと具体的に試行錯誤していく、応用開発研究が可能になった。

プロジェクトの成果を踏まえて、実際、関口らのその後の研究展開において、再生医療分野における、多能性幹細胞の増殖と分化を制御する細胞外環境の実体としてのマトリックスの創製が開発されつつあり、もっと広範囲の研究グループへと波及することが期待される。今後は本プロジェクトの成果をさらに生かすためにも、基底膜だけにとどまらず包括的マトリクソームの設計や、三次元マトリクソーム内における細胞の機能発現などの研究に発展することが望まれる。また、生体内での幹細胞環境(ニッチ)の実体についても、その端緒が見え始めている。すなわち iPS 細胞にとどまらず組織幹細胞と細胞外マトリックスを用いた、本格的な再生医療のプロジェクトが新たに創設され、推進することが一つの国家プロジェクトとして、企画されることが望まれる。以下は特筆すべき事項である。

細胞外環境を構成する分子基盤の総体を理解するため、マトリクソームという概念を導入したことは高く評価できる。新規基底膜構成蛋白質を発見するとともに、基底膜ボディマップ・データベースに示されるように、組織特異的あるいは細胞特異的な構成をもった多様な基底膜の存在を明らかにした。データベースの公開は、ヒトを含めた臓器の再生医学、健康維持など、今後期待される生命科学研究の進歩に資するという点できわめて重要である。短期間のうちに優れたデータベースを構築した総括責任者および研究者に今さらながら敬意を表したい。データベースの構築は必ずしも研究者の功績として評価されることが明らかでないという現実がある。むしろ、これらは科学・技術の発展の歴史における研究の評価系の確立が未熟であるのかもしれない。

一方、人工マトリクソームの再構成に当たっては、融合蛋白質を用いるなど遺伝子工学

的手法によっている。これらの方法はサイトカインなどの機能性蛋白質の局在を実現する手法としてスマートであるが、細胞機能ドメインを固相化する技術として必ずしも最良の選択肢とは言えない。繰り返しになるが、これからは本プロジェクトの成果をさらに生かすためにも、基底膜だけにとどまらず包括的マトリクソームの設計や、三次元マトリクソーム内における細胞の機能発現などの研究に発展することが望まれる。

近年になって、幹細胞の未分化性の維持、分化の制御にも細胞外マトリックスが非常に重要な役割を担っていることが報告されており、10年余り前に発足した本プロジェクトはやや時代に先駆け過ぎていた感がある。iPS細胞の創出や再生医療の実用化など、本プロジェクト終了後の再生医療、幹細胞関連の爆発的な進歩がもう少し前倒しで進んでいたならば、本プロジェクトの進捗や成果の活用はさらに大きなものとなったのではないかと推測される。その意味で反省点を唯一挙げるとすれば、せつかく世界に先駆けて構築したデータベースを、もっとスピーディに研究者に広め活用を促すとともに、この分野のわが国の貴重な研究資産として、終了後も維持更新を計画的に展開することをプロジェクト推進時からもっと考えておけば、幹細胞研究や再生医療の実用化への動きとの相乗作用は、さらに強まったのではないかと思われる。

## 1. 研究成果の発展状況や活用状況

基底膜について基盤的知見をまとめ上げたことは本プロジェクトの最大の成果の一つである。この成果により、胚性幹細胞（ES細胞）やiPS細胞などの増殖、そして、将来の再生医療の根幹を形作る細胞の分化誘導を制御する技術的基盤が揃った。細胞の分化といえばサイトカインなどの可溶性蛋白質による分化誘導であるが、本プロジェクトは、細胞外環境分野の方向性として、さまざまな機能を持つ基底膜を生体内あるいは人工組織などの細胞外環境で維持していくための構造的基盤にも目を向けていくよう問題提起した。細胞外マトリックスからなる細胞外環境と力学的に必要な強度を有する構造的な基盤にも目を向けていきつつある。

関口総括責任者らは、組換え体ヒト・ラミニンを細胞接着基質として用いることにより、ヒトES細胞を未分化性を維持したまま増殖させることができることを2008年の論文で示した。それまでの培養法ではフィーダーレーヤーを用いているので、マウス細胞成分が混入することが原理的に避けられない。将来、ヒトiPS細胞を再生医療に応用する際にきわめて重要な意味を有する可能性がある。また、この成果は、培養方法としての再現性に優れていることが期待され、2010年のトリグヴァソンらによるNature Biotechnologyの論文に2年先行した成果である。後発の研究成果が組換え体ヒト・ラミニンの製品化につながり世界的に使用されつつあることを考慮すると、優れた成果をどのように実用化するかと言う点で、今後サポート体制、評価推進の方法について、考えさせられる問題でもある。しかし、本プロジェクトで開発に成功した種々の組換え体ヒト基底膜蛋白質の製品化は技術的な面で最も優れた面があるので、今後はiPS細胞の創出と維持についての研究を飛躍

的に発展させるものと期待される。

本データベースは、細胞増殖・分化調節とその維持に関わる細胞外マトリックス成分の関係を明らかにする上での **reference** として、非常に重要な資料である。プロジェクト終了後の発展性という観点から見ると、NEDO などの新しい予算を獲得した新規プロジェクトは、本プロジェクトに比して応用への指向性をさらに強く意識しており、本プロジェクトで得られた成果の発展的継承として大変好ましい。実際、初期胚でのデータを追加したことが先にあげた ES 細胞の培養につながった。しかし、一般的にデータベースはプロジェクト終了後も拡充発展させることが追求されるべきであったと思われる。公開のためのソフトウェア等の整備を目的に、JST あるいは行政機関が予算措置を含めてなんらかの対策を講じるべきではないかとの考えも評価会の場で提起された。

なお、プロジェクト期間中に出願した 15 編の特許を実用化し産業化するにあたってはもう少し長期間のフォローアップが必要であり、ライフサイエンスにおける基礎研究の特許申請の意義については何らかの再検討が必要と思われる。

## 2. 研究成果から生み出された科学技術的、社会的及び経済的な効果・効用及び波及効果

### 2.1 科学技術の進歩への貢献

本プロジェクトは、基底膜という、上皮細胞の極性を決定しその分化に大きな影響を与える構造について、その構成要素を徹底的に網羅的に明らかにすることを目指し、その目的に向かってきわめて大きな進展を示した。このような網羅的解析のコンセプトを高いレベルの免疫染色学的解析と組み合わせるアイデアは高く評価できる。

本プロジェクトが作成した基底膜ボディマップのような画像データベースは、今までにない有用な情報を含んでいる。細胞外環境では、基底膜に代表されるように多くの成分が単独であるいは複合して不溶性の会合体を形成し機能を発現しており、同じ構成要素から成り立っていたとしても、個々の要素がどのような組み合わせや立体構造を維持するかによって機能が異なる。本プロジェクトが提唱したマトリクソームという概念とその一例としての基底膜ボディマップ・データベース構築により、細胞外環境の研究が活発になってきている。ある意味では、iPS 細胞の樹立およびその後の研究に余りにも先んじていたことが、本プロジェクトによる細胞外マトリックスについての研究成果の評価を低くした可能性があることから、研究プロジェクトの評価にもタイミングの問題があるとの考えも提起された。ERATO 制度の目的が、研究の新しい潮流をつくるということにあるとすれば、本プロジェクトは、その趣旨に十分沿ったものであったと思われる。評価のタイミングの難しさを考えさせられる一方で、「総合評価」の項で述べたように、研究者サイドとしても、プロジェクト終了後も維持更新を計画的に展開することを推進時からもっと考えておくべきではなかったか。結果的には、終了後の NEDO への参画で、発展的継承の意図はかなり果たせたように見受けられる。

さらに、本プロジェクトでは、I 型と IV 型コラーゲンの混成ゲルなど、異なる細胞外マ

トリックスを組み合わせた新規マトリックス成分の創成に努力している。その方向性はこれからのマトリクス設計に必要な技術的課題を提示している。専門的な見地からの注意としては、抗体を用いた研究にはフォールスポジティブなことやマスクされてネガティブになる場合もあることに鑑み、これらのリスクを警告するだけでなく、その理由を説明するようなフォローアップはどうしても必要である。

研究成果に関しては総じて、マウスからヒトへと、そのまま展開できる場合と、できない場合とがあり、特にヒトの再生医療に応用する上ではいくつかの難関がありえる。裏返して言うと、ヒトの臓器、組織を再生するにはどうしたらよいかを本気で考えて研究計画を立てる基盤ができたとも言える。そのような意味で、基礎研究分野と医薬・医療分野との提携に必要なものは何かを考えている、臨床家からのアドバイスあるいは協力を求めるための素地が生まれたと言える。

## 2.2 応用に向けての発展

応用面での可能性を挙げると、まず再生医療分野において、ES細胞やiPS細胞などのような多能性培養幹細胞を維持し、あるいはターゲット細胞に分化促進する機能性培養部材としての利用があげられる。本プロジェクトで明示されたように、カスタマイズした細胞外環境の作製と組織あるいは臓器の再構成のためには、こうした研究の方向性は今後ますます重要になってくるであろう。

また、プロジェクト終了後には、細胞外マトリックス分子の産生や安定化さらには複数の機能性ドメインを有した融合蛋白質の開発など実用化に向けた努力がなされている。今後はこれらの細胞外マトリックス分子の産生だけでなく、成分の会合構造体としての細胞外環境の再構成が重要課題となってくるであろう。

同様に、本プロジェクトが残した応用的側面の重要なものとして、ES細胞の維持にフィーダー細胞を用いない画期的な方法の開発が挙げられ、これによりES細胞研究は新たな局面に入ることが期待される。また、F9胚性腫瘍細胞を用いた、マトリックス蛋白質を大量生産する特許は、ただちに応用可能な技術であろう。

なお、本プロジェクトの研究チームには企業も参画していたが、再生医療分野での益々の展開を考慮すると、今後はよりいっそう医学・薬学を指向する企業の参画、提携も必要ではないかと考えられる。

## 2.3 参加研究者の活動状況

細胞外環境研究の成果や経験を直接生かせる研究の場は限られている。各研究員のさらなるキャリアアップのための道が用意されているわけではないのは本プロジェクトに限らない問題で、研究活動を開始して3,4年後のもっとも成果が上がりそうな時期に次の職のことに対する不安が生じている。細胞外環境の研究から遺伝子研究などの分野へ転向していく研究員が活躍できることもありえるし、さらに複合的な生命現象に関わって活躍できる

素地があるものの、研究プロジェクトの需要がどのくらいありえるかは一般に極めて困難な問題点である。それにも関わらず、本プロジェクトに参画した若い研究者が、現在海外の研究室においてプロジェクトの成果の一部を展開し、研究者としての評価が高いということは、本プロジェクトで得られた成果が表に顕れない研究者の自信という貴重な人材開発をもたらした可能性があると思われる。

このように、人材育成に関しては、書面からだけでは十分評価できない。プロジェクトOBの今後の活躍から総合的に判断すべきであろう。

### 3. その他特記すべき事項

細胞外環境プロジェクトの研究成果は、理化学研究所で得られたマウスのcDNAデータ(わが国が独自に有する)を基に計画され、かつ、細胞外に分泌され固相化されるマトリックス成分を網羅的に解析した稀有なものである。マウス基底膜ボディマップ・データベースなどの網羅的画像データの構築は、欧米においては到底不可能であった研究成果をものにした。

ところで、ERATO制度は研究資源(人材と資金など)の効率的活用に必要な制度であって、今後も維持される必要があるが、その運用には社会システムの一環であるとの認識が必要であり、JSTにおいては、将来の国民福祉にどのように関わってくるのかなど、巨視的な立場からの方向づけが望まれる。

このように制度全体の運営にかかわる問題は、研究分野別の利害関係もあって個々の評価を超え、分野横断的な広い教養を基盤とした調整機関により成果の評価・検証が必要である。その上で、本格的に一段上のレベル(応用、開発)あるいは複合的な組合せ(疾病の解明、治療方法、健康維持、予防などの研究)を企画するための準備が必要と思われる。

また、既にJSTでも一部、制度上の工夫が見られるが、できればERATOとして、少なくともいくつかのプロジェクトは終了後もなにがしかの発展を保証する制度、あるいはいくつかのプロジェクトを統合した形で継続させるといった柔軟な制度を考えてもいいのではないかと提案しておきたい。3.1項でも触れたが、ひとたび貴重な研究資源としてのデータベースが構築された場合、本プロジェクトのようにその維持更新が終了後も続く基盤研究型プロジェクトについては、その継続的サポートをどのように考えていくべきか、早期に戦略的な発想のもとに検討していく必要がある。