# 2．研究開発領域

## 2.1　基礎基盤科学技術―分子・細胞

### 2.1.1　遺伝子発現機構（エピゲノム、RNA）



#### (1) 研究開発領域の定義

遺伝情報の発現機構、つまり遺伝子の情報が細胞における構造および機能に変換される過程の作用機序と生理機能の解明は、次世代シークエンサー（NGS）等の技術進展を受け近年大きく解析が進んでいる。ここでは、ゲノム、RNA、エピゲノムの視点から、多種の医学・生物学現象の遺伝子的あるいはゲノム的基盤を明らかにすると同時に、プロセシング、修飾、翻訳といった分子レベルで構造・機能の相関や生理機能ネットワークを解明する領域である。

#### (2) キーワード

エピゲノム・エピジェネティクス、DNA メチル化、ヒストン修飾、バイサルファイト法、ChIP-seq、Hi-C 法、クロマチン、ヌクレオーム、一細胞オミクス、次世代シークエンサー、ノンコーディング RNA、RNA プロセシング、RNA 修飾、RNA- タンパク質複合体、液体相分離、核酸医薬

#### (3) 研究開発領域の概要

[本領域の意義]

ひとつの個体は、多様な種類・分化段階の体細胞と生殖細胞により構成されている。ヒトの場合はおよそ 200 種類、37 兆個の細胞が存在していると言われる。これらの細胞はすべて同じゲノムをもつ細胞に由来しているにも関わらず、多様な形・機能をもつ細胞に分化していることになり、言い換えれば、受精卵が増殖・分化して細胞、組織、器官、個体を形成する過程において、遺伝子発現パターンが異なる（使われる遺伝子が異なる）ようになり、それが安定的に継承されるということを意味している。遺伝情報は DNA 上からセントラルドグマ（DNA（転写）→ RNA（翻訳）→タンパク質）と呼ばれる一連のプロセスを経て伝達される。この過程では多様な因子が関与して、どのタイミングでどの遺伝子が発現するかを調整している。

エピゲノムは、遺伝子発現制御に関わるゲノムの修飾の態様といえ、DNA の塩基配列の変化を伴わずに、細胞世代を超えて安定的に表現形質を継承させるシステムといえる。このゲノム上の遺伝子を選択的に活性化あるいは不活性化する仕組みとして、ヒストンの修飾ではアセチル化による転写の活性化、メチル化による転写の活性化と抑制があり、DNA 自体の修飾ではメチル化による転写の抑制がある。これらは発生から老化・各種疾患にいたるまでの生命活動全般に幅広く関係する。

遺伝子の発現制御には、DNA に直接結合する転写因子が必須であるが、細胞核内でのゲノム高次構造なども重要な役割を果たすことがわかってきた。遺伝子発現の差異は、ゲノム DNA とその機能を司る核内タンパク質が相互作用する場であるクロマチン構造で生み出される。従って、個々の細胞におけるクロマチン構造上の遺伝子発現制御の解明が必要とされている。

近年では、ゲノム上でタンパク質をコードしないジャンク領域と従来見なされてきたゲノム領域から膨大な量の RNA が転写されていることが明らかとなった。またこれらの RNA 群が、RNA を始めとする多様な生体分子と相互作用し、様々な生命現象を特異的に制御していること、その機能の破綻ががん、神経疾患や感染症など、多様な疾患に深く関与していることが解明されつつある。

このように遺伝子の発現機構の全体像はまだ解明されていないことも多く、これらの作用機序と生理機能ネットワークを解明、把握することで、生命科学の深化のみならず、疾患の原因解明や治療法の確立などへの貢献が期待される。本領域は、これまで医学・生物学の特定の分野を指すものであったが、近年における次世代シークエンサーをはじめとする技術の急速な進歩により、方法論を中心とした医学・生物学全体の基盤となる領域に変貌している。

［研究開発の動向］

2000 年代前半に、国際 HapMap 計画によりヒトゲノム遺伝多型のカタログが作られた。2004 年頃より NIH が 1000 ドルゲノム（＝個人のヒトゲノム全配列の解読コストを 1,000 ドルにする試み）技術開発として投資してきたシークエンサー技術が実用化されている。2011 年に Pacific Biosciences 社（米国）が研究開発し市場化した第三世代シークエンサー PacBio RS II の性能が著しく高く、状況は大きく変化した。2013 年に同社が微生物のゲノム配列をギャップなく配列決定し、99.999% の塩基配列の精度を出すソフトウエアを発表した。例えば 2 倍体のヒトゲノムの場合、米国 Illumina 社のシークエンサーのデータと比較しながら、ソフトウエアによるデータ処理により精度を 99.9%（残り 0.1% は多型変異）にまで上げることができる。2014 年初頭に、Illumina 社が大型 NGS 機器である HiSeq X Ten シリーズを発表し、1,000 ドルゲノムを達成したと報告された。

近年、次世代シークエンサーを用いた解析技術（単一細胞シークエンシング）の発展により、個々の細胞におけるトランスクリプトーム、エピゲノムを解析することが可能になりつつある。中でも、単一細胞 RNA-seq 技術は 2009 年に登場して以来[1)]、多くの手法が開発、発表されており、現在最も汎用されている単一細胞シークエンシング法となっている[2)]。細胞の単離操作には、FACS による細胞ソーティング、あるいは細胞の単離に特化した Fluidigm 社の C1 システムが利用されている。一方、「細胞の単離」のステップを伴わない、ナノリッタースケールのドロップレットを利用する方法も開発されている（Drop-seq[3)]、inDrop[4)] 等）。オリゴ DNA ビーズと細胞懸濁液をマイクロ流路へ流し込み、形成したドロップレット内で単一細胞からの mRNA のビーズへのキャプチャーあるいは逆転写を行う。この方法では、単一細胞ごとにハンドリングする必要がなく、一度に数千〜数万細胞を処理することが可能である。また、転写産物の定量法としては分子バーコード（UMI）により各遺伝子の 3’末端のみをカウントする方法が現在の主流であるが、一方で単一細胞レベルにおいて全長の転写産物を解析できる方法 RamDA-seq が国内のグループにより報告された[5)]。これらに加え、翻訳中の RNA を測定する Ribo-seq、キャップ構造を持つ RNA のみを測定する TSS-seq、転写中の RNA を測定する NET-seq などがある。つまり、転写のみならず、スプライシング、翻訳までを含めたより定量的な RNA の測定技術が次々と報告されてきている。

【エピゲノム】

エピゲノム研究は、1980 年代にがんにおけるメチル化異常の報告がなされ、1990 年代前半にがんの抑制遺伝子のメチル化異常による不活化が発見されたことを契機としてがん分野でのエピゲノム研究が大きく進展した。2000 年代に入りヒストンコードの提唱に伴い、世界各国において研究が積極的に推進された。エピゲノム情報は多様である。まず DNA メチル化は微生物と脊椎動物では様式が大きく異なるが、ここでは脊椎動物に普遍的な CpG のシトシンメチル化の検出について述べる。ゲノム中の CpG サイトは非常に多く、ヒトゲノムの場合、全ゲノム配列の 1% 程度を占める（約 3000 万箇所）。シークエンサーの低コスト化により、すべての CpG サイトのシトシンメチル化状態を検出するバイサルファイト法（非メチル化シトシンをウラシルに変換することでメチル化シトシンとの違いを明確化する方法）を低コストで実施することが可能になった。この結果、例えば、世代ごとに CpG サイトのシトシンメチル化が変化する率は、塩基が変異する率よりも 3 桁近くも高く、生物が環境に適応する能力を高めていること、重要な発生関連遺伝子をコードするゲノム領域の多くは、低メチル化かつヒストン H3 の 27 番目のリジンがメチル化されることで初期胚における発現が抑えられており、細胞運命決定が進む過程で高メチル化へと変化し発生関連遺伝子が転写されるようになるという現象が発見されている。バイサルファイト処理を使う場合、シトシンメチル化判定にはパーソナルゲノム解読と同じぐらいのリード量（ゲノムを 30 倍程度被覆）が必要になり、バイサルファイト処理した DNA 断片を解読したリードはゲノム上に高速にアラインメントする必要がある。世界各国でエピゲノムに関する国家（間）プロジェクトが開始されており、米国（NIH によるロードマップ計画）、EU（BLUEPRINT3）の他、イタリアで 2011 年から、ドイツでは 2012 年から 2017 年の研究計画（DEEP）が公表されている。また、韓国においては KNIH による計画が 2012 年から開始されている。

エピゲノムや転写因子の局在を 1 次元のゲノム情報の上にマッピングすると、遺伝子の抑制と活性化に働く修飾が異なる場所に存在していることがわる。このすみ分けがうまくできていることにより、発現する遺伝子と発現しない遺伝子の分別と継承行われる。しかしながら、これらの標識は必ずしも安定に保持されるわけではなく、むしろダイナミックに変化しつつ定常状態として維持されることがわかってきた。実際の細胞核中では，1 次元的にはゲノム上の距離が離れているにもかかわらず、ループ構造を作ることで 2 つの領域が空間的に近接して存在したり、近傍にあるにもかかわらず空間的に離れて存在したりする場合がある。このような空間局在性は、転写因子間の結合や転写そのものに影響される場合もあるが、2 本の DNA をつなぎ留めるタンパク質も寄与すると考えられている。したがって、遺伝子発現の制御機構を理解するためには、転写因子やエピゲノム情報のみならず、細胞核内の高次構造を知ることやその制御機構を解明することが重要である。

細胞核内の遺伝子制御機構を解明するためには、ゲノム配列、転写因子、エピゲノム状態、空間配置と凝縮状態、さらには核内構造体の役割、分子動態等を統合的に理解する必要があるとの機運が高まり、細胞核の包括的な理解という意味で「ヌクレオーム（Nucleome）」という概念が形成された [6]。

エピゲノムに着目した創薬開発も進められており、骨髄異形成症候群の治療薬 [7] が米国で 2004 年に上市された（azacytidine、DNA メチル化阻害薬：米国 Celgene 社が開発；日本では日本新薬 [8] がライセンス生産し、2011 年に日本でも承認）。他にも皮膚 T 細胞リンパ腫

の治療薬 vorinostat、ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬：米国 Merck 社が開発し 2006 年に FDA 承認；日本では大鵬薬品が 2011 年 7 月に承認を取得）が上市されている。

エピゲノム構造の解析により、ヒトゲノムの非コード領域が個人の多様性を決定する上で極めて重要であることが明らかになってきた（SNPs の大部分は非コード領域に存在する）。このように、非コード領域の役割を理解するためにはエピゲノム解析は重要であり、ヒトの疾患、老化の本質的な理解とともに、治療戦略、創薬の上でも鍵となると認識されている。

エピゲノム解析を単一細胞レベルで行う技術の開発も進んでいる。クロマチンのアクセシビリティを検出する ATAC-seq[9,10]、クロマチン高次構造を検出する Hi-C[11,12]、ヌクレオソームの位置を検出する MNase-seq[13] も単一細胞解析への最適化が行われている。一方、ゲノムワイドなヒストン修飾状態や転写因子の結合の解析には ChIP-seq が広く用いられてきた。ChIP-seq の単一細胞解析への応用としてドロップレットを用いた手法が報告されている[14]。さらには免疫沈降を伴わない手法の開発が行われ、カルシウム依存性エンドヌクレアーゼ Micrococcal nuclease（MNase）を結合させた抗体により特定のゲノム領域を切断、回収する CUT&RUN[15]、抗体に結合させたオリゴ DNA を Tn5 トランスポザーゼにより近傍のゲノムへと挿入する ChIL-seq[16] が報告された。特に ChIL-seq は抗体による単一細胞エピゲノム解析を達成した唯一の国産の解析法である。現在、ヒストン修飾抗体の特異性に関する包括的データベースの作成[17] や、NIH のプログラムの一環として転写因子に対する免疫沈降グレードのモノクローナル抗体の大規模な樹立、バリデーションが行われる[18] 等、抗体の作成と選択を促す試みが進められており、多種多様なエピゲノム解析が発展する土壌形成が行われている。これらの技術開発は米国が圧倒的に主導している。本領域の応用研究はいずれも発展途上といえる。

【RNA】

RNA 研究は、古典的な RNA（mRNA、rRNA、tRNA、snRNA、snoRNA）に加え、近年ではタンパク質をコードしないとされる non-coding RNA（ncRNA）に関する研究が精力的に進められている。ncRNA は極めて多様性に富む生体分子群であるが、大別すると、① 20 ～ 30 塩基程度の鎖長の small RNA 、② 200 塩基を超える鎖長の long ncRNA の 2 つのグループに分けられる[19,20]。

① small RNA

small RNA 研究は 1998 年の RNA 干渉の発見に端を発する。small RNA のうち、二本鎖構造の small interfering RNA（siRNA）は mRNA の分解（RNA 干渉）を、一本鎖構造の microRNA（miRNA）は mRNA の翻訳阻害を引き起こすことが明らかとなり、RNA サイレンシングと総称される。これら small RNA による遺伝子発現抑制機構の分子メカニズムの理解は急速に進みつつある。これらは「アルゴノート」と呼ばれる共通タンパク質と共に RISC という作動装置を形成し、翻訳制御、mRNA の安定性制御、クロマチン制御を抑制する制御因子群であることが明らかにされた。現在では、RISC 構築機構全貌の理解、small RNA が関わる様々な生理現象や疾患メカニズムの理解に向けた研究が拡張を続けている。

医療応用研究も世界中で進められており、siRNA の糖鎖（GalNAc）修飾などの基盤技術が整えられつつあるが、依然として高効率な DDS や、生体内での高効率化のための化学修飾デザインなど複数の技術的ボトルネックが顕在化している。この他には生殖細胞のゲノムをトランスポゾンによる卵・精子形成異常から守る PIWI-interactingRNA（piRNA）に関しても我

が国の研究者による研究が積極的に積み重ねられている。

リキッドバイオプシーの一環として、体液に含まれるエクソソーム中の microRNA のプロファイリングをバイオマーカーに用いようとする試みも我が国で大規模に進められている。また、「原核生物における RNA 干渉」とも言える、CRISPR/Cas9 システムも RNA 生物学としては非常に大きなトピックである。

Small RNA 研究では、米国、欧州、韓国とともに我が国の研究者が先導的な成果を上げ、その発展に大きく貢献してきた[21]。

② long ncRNA

数百塩基を超える long ncRNA については、ヒトのゲノムから少なくとも 20000 種類を超える膨大な種類が転写されていると言われている。タンパク質をコードする遺伝子の種差はほとんど無いが、ncRNA は種差が大きく、進化における生物の複雑性や種特異的機能の獲得に重要な役割を果たしていると考えられている。また、近年の疾患シーケンスの結果から、様々な疾患において long ncRNA に特異的な変異が入っており、それに伴うエピゲノムの変化が異常な遺伝子発現制御の原因になっていることが示唆されている。がんをはじめとした多数の lncRNA の疾患への関与例が多数報告され、さらにはゲノム編集技術を用いて lncRNA の機能性が網羅的にスクリーニングされ、多数の lncRNA の細胞腫特異的な機能性が確認され、lncRNA の持つポテンシャルが再確認された。long ncRNA はすでに知られているエピゲノム制御や細胞内構造体形成のみならず、多彩な生命現象と関係しているものと予想される。

古典的 RNA 生物学と最新知見の融合分野研究が進められている。ncRNA についての最新の知見が蓄積していく中で、わが国が伝統的な強みを持つ翻訳やスプライシングといった古典的な RNA 生物学が再び大きな脚光を集めている。例えば、ncRNA の 1 つである microRNA は、標的 mRNA からの翻訳開始を阻害すると同時に、標的 mRNA の poly-A 鎖を分解しその安定性を下げるという 2 重の作用様式によって、標的 mRNA からのタンパク質合成を抑制することが知られている。このように、ncRNA の働きを解明するためには、翻訳をはじめとした古典的な RNA が関与する様々な過程を、最新の知見をふまえて正しく理解することが不可欠であると言える。また、コドンの新たな意味づけ（mRNA 安定化に関係）、リボソーム品質管理、RNA 修飾など、古典的な RNA が関与する様々な過程において新たな発見がなされており、リボソームプロファイリングといった革新的な解析技術は新旧 RNA 研究を大きく加速させている。なお、ncRNA と mRNA の境界は極めて曖昧である。例えば、long ncRNA として同定されていたものが、実は非常に短いペプチドをコードしており、そのペプチドが生理活性を有している例がいくつも報告されている[22,23]。一方、タンパク質をコードする mRNA 遺伝子のイントロン部分には、多数の microRNA が含まれていることもよく知られている。また、mRNA のスプライシング異常によって「ncRNA 化」した異常な mRNA は、リボソームの品質管理機構によって速やかに排除されるが、long ncRNA には品質管理機構による分解を免れているものも多い。さらに特殊なスプライシングを受けて環状化し安定化した long ncRNA が、microRNA を効率よくトラップする「スポンジ」として働いている例も知られている[24]。

したがって、mRNA か ncRNA か、あるいは small RNA か long ncRNA か、という様な画一的な区分けにとらわれず、それらの複雑で巧妙な関係を正しく理解することが重要である。

動物個体を用いた lncRNA 変異体の表現型解析が本格化しており、生理機能も徐々に明ら

かになっている[25]。現時点では、大多数の lncRNA は未だ手つかずの状態であり、上記最先端技術による今後の解析によって、「lncRNA ならでは」の作用機序や生理機能の理解が進み、ゲノムの広範な領域から生み出される lncRNA による新しい遺伝ルールの解明につながることが大いに期待される。

mRNA や lncRNA に多数の m6A 修飾が付加され、スプライシング、mRNA 安定性、mRNA 輸送、翻訳の制御に大きな役割を果していることが示された[26]。また lncRNA の機能にもこの修飾が必要であることが報告された。m6A 修飾を介した制御が、がんなどの疾患、性決定、生物時計などの重要な生理現象に関わっていることも報告されている。m6A 修飾制御は、メチル化と脱メチル化のバランスによって決定される動的なものであるというエピトランスクリプトミクス説と、一度付加されたメチル化は変動しにくいという説が相反した状態にある[26]。

RNA 制御には、共通して多数の RNA 結合タンパク質（RBP）が関与し、ヒトでは 1500 種類ほどが存在している。米国の ENCODE 関連プロジェクトでは、eCLIP、ゲノム編集、次世代シーケンスなどの先端技術を駆使して、各 RBP の結合 RNA 配列、細胞内局在、トランスクリプトームへの影響を網羅的に解析するプロジェクトが進行しており、RNA 研究の有用なリソースとなると考えられる[27]。しかし一方で、各 RBP の結合特異性は一見明瞭でない場合が多く、細胞内での特異性獲得の詳細な機構は未だ完全には理解されていない。さらに、制御因子としての RNA 結合タンパク質が誘発する液体相分離現象による RNA を起点とした局所的な細胞内環境の形成原理が注目されている。

RNA 生物学の応用研究も近年盛り上がりを見せている。スプライシングを人為的に改変すること[28]によって難病の神経筋疾患治療を可能にしたアンチセンス核酸、脊髄性筋萎縮症治療薬ヌシネルセンが米国 FDA で初めて認可され、RNA を標的とした核酸医学の扉を開いた。依然デリバリーと副作用の問題は残るが、今後これに続く治療法の開発が急速に進むと考えられる。一方で、スプライシング関連タンパク質を低分子化合物で機能制御し、スプライシング異常に起因した神経疾患を治療しようとする応用研究も我が国を含めて成果が上がりつつある。

米国、中国、韓国、欧州では政府機関直轄の RNA 研究拠点が設立され、特に重要な研究領域として強力に推進されている。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

- 単一細胞シークエンシング技術の急速な発展により、現在では単一細胞から 2 つ以上の情報を同時に取得する単一細胞マルチオミクス技術の報告が相次いでおり、今後しばらくの技術開発のトレンドとなることが予想される。例えば、CITE-seq[29]ではタンパク質情報の「核酸化」によりタンパク質とトランスクリプトームの同時定量が可能となった。この手法では、poly-A を含むオリゴ DNA を結合させた抗体を細胞に反応させ、単一細胞 RNA-seq のプラットフォームにおいて mRNA とともに抗体結合オリゴを定量する。scCOOL-seq[30]は、細胞内での DNA CpG のメチル化状態と GpC メチル化酵素によるオープンクロマチン領域のマーキングを bisulfite sequencing により同時解析する。sci-CAR[31]では、逆転写プライマーや Tn5 トランスポザーゼによる indexing と split-and-

pool PCR による indexing を組み合わせることにより、数千の同一細胞からの ATAC-seq と cDNA ライブラリーの同時構築を可能とした。この indexing の組み合わせによる multiplexing 法は他のマルチオミクス技術にも原理上応用可能であるため、今後の単一細胞解析のハイスループット化において重要な概念となると考えられる。

- 米国 10x Genomics 社の Chromium システムというドロップレットベースの単一細胞解析プラットフォームの開発が進んでいる。マイクロ流路装置から試薬類、解析ソフトウェアまでをパッケージ化しており、国内でもいくつかの研究機関において導入されている。また、Chromium システムをベースにした単一細胞 ATAC-seq キットの販売が既に開始されており、さらには米 BioLegend 社とともに「TotalSeq」という名称でオリゴ結合抗体等の CITE-seq 用キットの販売が予定されている。
- CRISPR/Cas9 はその操作性、簡便性、フレキシビリティーから、現在では遺伝子改変マウス作成等におけるゲノム編集ツールの第一選択になりつつある。さらには、DNA 切断活性を持たない dCas9 と DNA・ヒストン修飾酵素との結合によるエピゲノム編集 [32]、遺伝子の核内局在やクロマチン高次構造の編集 [33,34]、特定のゲノム領域の可視化への応用 [35]、cell barcoding による lineage tracing[36] など幅広いアプリケーションに応用されており、現在のゲノム、エピゲノム研究において欠くことのできないツールとなっている。
- クロマチン高次構造解析のスタンダードである、いわゆる 3C 系アッセイに代わる技術の報告が増えつつある。例として、核の凍結超薄切片を用いた GAM[37]、multiplexing 法に用いられる split-and-pool の概念を応用した SPRITE[38]、Tn5 トランスポザーゼを利用した TRAC-looping[39] 等がある。これらの新技術は、いずれも「in situ でのゲノムの制限酵素切断とライゲーション」という 3C 系アッセイの原則とは別の動作原理に基づいている。また、次世代シークエンサーをベースにした解析法とは別のアプローチとして、連続的 smFISH と超高解像度顕微鏡の組み合わせによりクロマチン高次構造を可視化する試みも報告されている [40]。多くの RBP が有する天然変性領域同士が、複雑な相互作用ネットワークを形成して相分離した液滴を形成する現象（LLPS）が挙げられる。この LLPS は、細胞内に存在する膜構造を持たない顆粒状構造体形成の原動力なっており、細胞内での特定因子の空間的隔離、またその内部での特定の化学反応の促進などの機能が提唱されており、新しい生体分子の局所化機構として注目を集めている [41]。特にこの LLPS では、RNA が重要な役割を果たしており、特定の RNA が合成されることによって、そこに RBP が集約されて LLPS が誘発され、一方で RNA の分解によってそれが解消される動的な制御環境形成が細胞内で局所的に起こっており、多彩な生理現象に関わっている可能性があり、今後の研究が大いに期待される。
- 一本鎖の RNA は柔軟に高次構造を形成し、その構造が相互作用因子によって認識され、作動装置としての RNA- タンパク質複合体が形成される。この RNA 高次構造を RNA の化学修飾あるいは架橋と次世代シーケンスを組み合わせてゲノムワイドにマッピングする手法（例：SHAPE, PARIS）が複数考案され、RNA 構造情報が収集され始めた。一方、RNA と相互作用するタンパク質の結合部位のマッピング法（eCLIP）が簡便化され、米国の ENCODE プロジェクトの一環として体系的に実施され、膨大な情報が蓄積しつつある [27]。この RNA 構造とタンパク質相互作用部位の情報を組み合わせることによって、細胞内 RNA の挙動とそれを規定する規則性の理解につながると考えられる。

● 2018年になって遺伝性ATTRアミロイドーシスのRNA干渉治療薬パティシランが初めてFDA認可され、RNA干渉創薬開発に弾みがつくことが期待される。またRNAと低分子化合物の直接相互作用の研究が盛んになり、RNA-タンパク質、RNA-RNA相互作用を低分子化合物で阻害する試みが試行されている。こうしたRNAモチーフは、バクテリアでリボスイッチとして盛んに研究されてきたが、最近でヒトのRNAに結合する化合物スクリーニングが産学双方で盛んに行われ、我が国でも神経疾患関連のリピート配列由来RNAに結合する化合物が得られており、低分子化合物とRNAの相互作用は今後の注目すべき創薬シーズとなることが期待される。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

● 2010年に1,000の標準エピゲノムの決定を目標とした国際ヒトゲノムコンソーシアム（International Human Epigenome Consortium（IHEC））が発足し、測定プロトコルの標準化、データベース構築とデータ公開が図られている。日本も2011年から当該コンソーシアムに参加し、データ提供などを実施している。本コンソーシアムには日本の他、米国、EU、韓国、ドイツ、カナダ、イタリアが参加している。
  - 米国では、NIH傘下の複数の疾患研究所での共通した取り組みとして2007年からエピゲノム研究（ロードマップ計画）を開始し、IHECの一環としての標準エピゲノムの決定に加え、技術開発、様々な疾患の本態解明と治療開発の研究[19]が行われており、エピゲノム分野でも世界をリードする状況にある。2008年から2013年までに1億9千万ドルの投資を行った。このプロジェクトでは、正常状態と疾患の状態のエピゲノムを比較検証してマップ化し、生命現象や疾患本態の解明に活用することを目的とした。
  - EU BLUEPRINT計画
    EUの研究により支援されIHECに参加する研究チーム。NIHロードマップと同様にヒトの疾患に関連したエピゲノムを扱うが、血液が関与する疾患（白血病や免疫応答など）を中心に血液細胞のエピゲノムマップ作成、この結果を応用してこれらの疾患に関連するバイオマーカーの特定・開発を目的としている。EU域内の41研究機関が参加するとともに企業も協力している。2011年に開始され、2016年4月までの計画。予算は約4千万ユーロ（うちEU負担分は3千万ユーロ）。
  - エピゲノムに関連する研究交流を促進するため、2006年12月に日本エピジェネティクス研究会が設立されている。CRESTの研究課題からIHECに参加している他、エピゲノムの制御基板の解明、疾患の本体解明と治療開発に向けた研究など幅広い分野での取り組みが見られる。
● 英国では、公的助成機関0 Medical Research Council（MRC）、Biotechnology and Biological Sciences Research Council（BBSRC）など）に加えて、Cancer Research UK、Wellcome TRUSTなど民間からの助成も英国のエピゲノム研究のおよそ10%を占めるなど積極的に支援が行われている。
● 4D nucleome project：2015年に米国NIHの「Common Fund」として予算化された。2018年予算だけで約2千万ドルという大型研究費である。「4D nucleome」とは、3次元空間＋時間で「4D」、核を意味する「Nucleus」に全てを意味する「-ome」を付加し「Nucleome」となっており、核内におけるゲノムの時空間的制御機構を包括的に理解し

ようという試みである。3C 系アッセイによるクロマチン高次構造解析、イメージング解析、ポリマーシミュレーション等の数理モデリングを含む多角的なアプローチによる解析、技術開発をサポートし、数多くの成果を挙げている。また、解析に用いるセルライン、データフォーマット、専門用語等の共通化、標準化を進める他、ポータルサイトでは承認された実験プロトコルを公開し、プログラムの支援を受けた論文に関しては学術誌への投稿前に bioRxiv などのプレプリントサーバーにアップロードする方針をとる等、透明性、オープン性を重視している。なお、欧州でも同様のプロジェクトとして 4DNucleome Initiative in Europe、LifeTime Initiative が存在している。

- 米国 ENCODE プロジェクトの中で、RBP に関する情報整備が精力的に行われている。すでに 250 種類もの RBP の特異的抗体が作成され、これを用いた各 RBP の結合部位のゲノムワイドマッピング、細胞内局在の解析、トランスクリプトームへの影響解析が、若手の気鋭研究者によって精力的に行われている。この基盤的リソース情報は、特異的な RBP によって制御されているスプライシング、RNA 安定性、翻訳などの制御機構、ncRNA 機能の理解に大きく貢献すると考えられる。
- 欧州の metaRNA ネットワーク：RNA と低分子代謝物との相互作用にフォーカスした中規模プロジェクトであり、欧州各国の 8 の先導的な RNA 研究グループが参加して、リボスイッチ、アプタマーのような機能性 RNA モチーフに注目し、一方で細胞内での代謝産物自体の研究を並行して行い、その接点としての RNA- 低分子化合物の相互作用を利用したセンサーなどの RNA デバイスの開発を目指している。RNA に直接相互作用する化合物のスクリーニングは、製薬会社を含めて今後のトレンドになりつつあり、本プロジェクトから画期的な成果が生み出されることが期待できる。
- 中国科学院（CAS）の Key Laboratory of RNA：CAS の生物物理分野の 1 つの重点領域として ncRNA が掲げられ、米国在住の著名な中国人研究者の指揮のもとで、12 名の気鋭 PI が重要な機能性 ncRNA のネットワーク解析、ncRNA と相互作用因子解析、ncRNA の生物学的機能を 3 点について多面的かつ集中的に研究する体制が組織され、論文が量産されている。
- 日本 FANTOM6 プロジェクト：理化学研究所が長年実施してきた FANTOM プロジェクトの 6 期目として、lncRNA に特化したプロジェクトが実施されている。特に各 lncRNA をアンチセンス核酸によって個別に機能阻害した結果、それによって影響を受ける遺伝子発現を理研オリジナルな CAGE-seq によって解析する研究を基軸にし、そのほかにも lncRNA とクロマチンとの相互作用を網羅的に解析する手法を開発し、エピジェネティック制御に関係する lncRNA 及び mRNA を網羅的に取得するなどの基盤的研究が大規模に展開している。FANTOM プロジェクトは発足時から、遺伝情報リソースとして国際的にも評価が高い成果を生み出してきた。
- ncRNA の機能と作動原理の理解を目指した新学術領域「非コード RNA 作用マシナリー」「ncRNA ネオタクソノミ」という領域が、一方 mRNA 制御についても「RNA 制御学」「新生鎖生物学」が 2 期に渡って継続してきており、いずれにおいても我が国オリジナルな国際的に注目される先駆的成果が数多く生み出されている。例えば、lncRNA の共通機能を指標にした機能分類を目指しており、新たな機能としての細胞内構造体の骨格機能をもつ lncRNA をオリジナルな分類群として提唱した [42]。ここでは国際連携推進事業として国際

交流が特に促進され、国内の優れた研究成果を海外に向けて発信するのに重要な役割を果たしている。またさらには、それがきっかけで海外会議に招聘される機会につながるなどの望ましい循環を生み出している。

### （5）科学技術的課題

現在のゲノム科学は、脆弱なゲノム概要配列の上になんとか立脚している。個人間のゲノムの差異、RNA-seq 技術を遺伝子発現量の定量化、エピゲノムデータの収集は、どれもゲノム配列に DNA 断片をアラインメントすることで成り立っている。しかし最も完成度の高いヒトゲノム配列でさえ解読されているのは 90% 程度である。欠けている情報としては、Alu,LINE, LTR などの繰り返し配列の分布、セントロメア、長いゲノム重複領域などある。理由は、繰り返し配列が存在するゲノム上の位置を、従来の短いシーケンシング技術では確定しにくいためである。ヒトゲノムには 10 万塩基を超えるような繰り返し配列領域が存在し、解明は当面困難であろう。典型的な例はセントロメアであり、2000 ～ 5000 塩基を単位とした配列が数千個繰り返していると考えられ、全長は数百万塩基に達する。他にも脳疾患関連の遺伝子をコードした数百万塩基の長さの領域がコピーされている場所も知られている。

単一細胞シークエンシングにおいて、1 遺伝子あたり数十～数千コピー存在する mRNA を解析する RNA-seq とは異なり、2 コピーしかないゲノムを対象とするエピゲノム解析では検出感度の向上が当面と課題と言える。例えば、最新の単一細胞 ATAC-seq 解析の報告においても 1 細胞あたり得られるリード数は数千～数万であり、ゲノムサイズを考慮するとそのカバー率は圧倒的に低い。

今後取組むべき研究テーマとして下記のようなものが挙げられる。

単一細胞解析において、位置情報取得への試みは行われているのに対し、時間情報に対するアプローチはほとんど行われていないのが現状である。一般に、単一細胞シークエンシング解析では細胞を溶解して DNA、RNA を抽出するため、時系列データを同一細胞から得ることはできない。ただし、トランスクリプトーム解析ではヌクレオチドアナログのパルスラベル等によるアプローチは可能である [43]。よって、時間解像度に優れる（ライブセル）イメージングとの連携など異なるアプローチが求められる。一方、情報科学的アプローチとしては、Monocle[44] に代表される、データの並べ替えにより擬似的に時間情報を作り出す pseudo-time reconstruction の手法、最近では RNA velocity[45] のようなスナップショットのトランスクリプトームデータから時間情報を抽出するような解析手法が提案されている。

ヌクレオーム研究の機軸となるのは、（1）顕微鏡解析、（2）ゲノム解析、（3）情報・数理解析であるが、その中でも情報科学・数理科学分野が要である。これまでも情報科学はハードとソフトの両面から顕微鏡画像解析やゲノム解析の発展を支えてきた。これからのヌクレオーム研究の鍵となるのもまさしく情報・数理科学であり、生物科学との融合研究が期待されている。

膨大な種類の long ncRNA による生体制御機構の全体像を理解し、医療応用への道筋をつけるためには、個々の long ncRNA 分子の機能を分子・細胞・個体レベルで丁寧に解析し、その特性に応じて分類・整理した上で、体系的に研究を推進するための戦略が必要である。

1. ncRNA 作用機構の全貌解明

大多数の lncRNA 中で、すでに解析の手がつけられたものはわずかであり、残りの手付かずの lncRNA の中には、これまで予想もしないような RNA 機能が隠されていることが期待される。また、すでに機能的知見が得られている small RNA も含めて ncRNA の作動装置の構造と作用機構のさらなる理解が重要である。また細胞・個体での ncRNA の機能探索を継続的に進めていくことによって、膨大な ncRNA 機能が複雑な生命現象の制御にどのように関与しているかの理解につながる。ncRNA の機能や作用ルールの解明は、これまで隠れていたゲノム機能とそれを支える新規な遺伝ルールいう生物学上の本質的な理解につながる。

2. RNA による細胞内制御環境形成の理解

ヒトのタンパク質全体の約 5% を占める RNA 結合タンパク質は、特異性を持って RNA に結合してその挙動を制御する役割を果たし、またその天然変性領域を介した多価的なタンパク質間相互作用によって、液体相転移によって空間的に隔離した局所的な制御環境を構築することがわかってきた。例えば、そうした環境形成によって動的に変化するクロマチンの 3D 構造に及ぼす lncRNA の役割の理解は、今後の重要な課題である。さらに液体相分離のような新しい原理に基づいた環境構築機構の理解とそれに依存した生化学的反応と生理学的機能を紐付けして、この現象の生物学的意義を理解することが、細胞内の新しい制御コンセプトの確立につながる。

3. タンパク質合成過程における RNA 制御の複雑性と精密性の理解

解析技術の進展に伴って明らかになってきた RNA プロセシング、輸送、翻訳の各段階の複雑性とそれを支える品質管理の機構を、さらに深部まで理解することによって、複雑な生命現象を支える RNA 制御の重要性の理解につながる。

### （6）その他の課題

- 基礎研究から応用技術開発への橋渡し体制の整備

最近 FDA によって認可されたアンチセンス核酸によるスプライシング改変を介した脊髄性筋萎縮症治療薬は、もともとスプライシング研究のパイオニアであった基礎研究者が、長年のノウハウを駆使して成し遂げた偉業である。また同じく FDA 認可までにこぎつけた RNA 干渉治療薬開発も、RNA 干渉現象の発見から 20 年かけて成し遂げられたものである。このように、基礎研究者が自ら発見・構築したオリジナルな知見や技術を重視し、それを実用化に向けて、長い時間をかけてシームレスにサポートする体制が必要である。応用研究者と基礎研究者の認識のギャップは常に存在するものなので、双方の重要性を理解しマッチングするような「目利き」の人材育成が我が国独自の医薬品開発を推進するために重要であろう。患者由来サンプルなどヒト検体の活用は、本領域の発展において不可欠である。一方で、倫理申請等の手続きが機関ごとに細分化されているため、許諾に時間がかかり、かつデータへのアクセスも容易ではなく、海外と比べても明らかに立ち遅れた状況にある。法的な整備も含めた国レベルでのシステムの整備は喫緊の課題である。

- オリジナル解析系とリソースとサポート体制の整備

次世代シーケンス、高感度質量分析、クライオ電子顕微鏡、光学イメージングなどは、生物学全体で共通の先端技術であるが、それぞれの技術を改変して、解析に特化して開発された基盤技術（CLIP, ChIRP など）が存在する。現在の単一細胞解析、そして今後の組織・

個体レベルでの生命活動の包括的理解に向けて、トランスクリプトームやエピゲノム情報に加え、メタボローム、プロテオーム情報等を統合した「トランスオミクス」の理解が求められる[46)]。そのためには、各種オミクスデータ量の爆発的増加への対応（インフラ含め）、研究グループ間の緊密な連携体制、分野横断的解析手法の確立が急務となる。

研究分野全体の推進のために、上記解析技術やバイオインフォマティクスのサポート、また抗体や遺伝子改変細胞株などのリソースを総合的にサポートする体制の構築が望まれる。欧米、中国、韓国では、最新鋭のサポート体制を効率化し、センター内外の研究推進に大きく貢献している。我が国でも同様の集中的研究機関の設立が望まれる。

ゲノムに限っては、東北メディカルメガバンク、理化学研究所バイオリソース研究センター、東京大学ヒトゲノム解析センター、国立遺伝学研究所など中規模の拠点の形成は行われている。しかし、今後見込まれるシークエンス量に対応できる規模はない。また、技術革新は早く、情報インフラなどは規模的にも不足することが予想される。大型研究機器（次世代シークエンサー、質量分析機など）は世代交代が早く、高価である上に、メンテナンスや運用、データ解析において高度な専門知識を要する。これらは単独のラボで対応可能なレベルを大きく越えており、機器およびデータ解析環境の双方における大規模集約化が必要となり、国策としての拠点集約化が重要である。

Monocle など 1 細胞解析データを理解するためのさまざまな手法が考案、実装されている。その主導を行っているのは従来のバイオインフォマティクス分野ではなく、統計・数理を専門とする“分野外”の研究者である。現在のところ、生物系オミクス情報データは 1 解析当たりのデータ量が多いのに対して、解析コストの制約から解析件数は限られており、deep learning 等人工知能が活躍する場は限られている。今後、海外と連携し、データベースの活用が進んだ際に国内の人工知能研究者等が参入しやすい状況を予め整備しておくことが肝要と考える。また臨床応用に当たって、ゲノム解析、特に情報分野の人材不足が深刻である。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | 分子生物学初期からRNA研究には伝統的な強みがあり、ncRNA研究についてもそこで培われた重厚な研究スタイルを生かした多くの独創的な研究が国際的に高く評価されている。特に文科省新学術領域の継続的サポートが、本分野推進の大きな原動力になっている。一方で米国に比べて研究層は薄く、また爆発的に発展しつつある中国の動向を考えると、すでに実績ある日本独自の研究を継続的にサポートし、次世代に向けて発展させていく体制作りと人材育成が重要な課題である。またFANTOMのような大型プロジェクトで構築されたリソースを国内研究者が有効利用して先駆的基礎研究に効率的に結びつける道筋の整備も重要であろう。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | NEDO/AMEDプロジェクトによって推進された血中エクソソーム内マイクロRNAによる癌診断法は先導的な成果である。また機能性アプタマー、核酸や化合物によるスプライシング病治療では、独創的な応用研究が成果に結びつきつつある。一方で日本独自の優れた基礎研究成果を応用に向けて有機的につなげて行く試み自体ほとんど存在しない。オリジナルな応用研究のシーズを探索する試みは、産官学連携の名目で実施されているが、基礎と応用の守備範囲のギャップを埋めることに成功していない。リスクの許容、優れたシーズを見極めるセンス、最終的な実用化までを想定した息の長い研究体制を整備するなど多くの課題が存在する。製薬企業では化合物と相互作用するRNAを模索するなど、基礎研究に根ざした新しいRNA創薬への展開を目指している動きもあり、今後の本格的な産学連携体制の整備が望まれる。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | 世界中から一流の研究者が集まり、依然としてRNA研究の先端をリードしている。研究者の層が厚く、先駆的知見の獲得にとどまらず、その知見を補完し拡張していく二次的な動きが迅速であり、新しい研究分野の構築に至らせる力強さと精密さを兼ね備えている。以前からマサチューセッツ大、カリフォルニア大、ニューヨーク大、ケースウェスタンリザーブ大などにRNAに特化した研究所が設立されており、RNA研究を多面的かつ集中的に行うことによって様々な先駆的な成果が生まれ、応用研究に向けた産学連携の拠点としても機能している。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | 基礎研究によって生み出された基盤的成果の中から様々な形での応用を想定したシーズを選定し、速やかにベンチャー企業等に委譲し、効率よく実用化を目指す枠組みがうまく機能している。基礎研究者はベンチャー企業のアドバイザーの役割を果たすことで互いに有益な関係性を確保し、大多数の若手研究者の受け皿としても機能している。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | → | 日本と同様、伝統的な強みを生かした新しい独創的な研究が進められている。日本の新学術領域程度の中規模のグループグラント（RNATRAIN, MetaRNAなど）で、RNA生物学のホットトピックスを選りすぐりの研究グループで集中的に研究する体制が組まれ、高い成果を上げている。またオーストリア科学院の元に設置されたIMBAなど、若手の優秀なRNA研究者を世界中から集め、高い成果を生み出すことに成功している。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | 米国ほどではないが、大手製薬企業による研究費のサポートなど、応用研究に向けた取り組みが高まっている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | 中国科学院（生物物理分野）の重点課題にノンコーディング RNA を挙げて、Key Laboratory を設置し、気鋭の研究者を結集させて研究費や研究環境を手厚くサポートし RNA 生物学を強力に推進している。一方で、米国在籍の指導的な中国人研究者のリーダーシップによる RNA 修飾分野に、多大な研究資金を投入し、世界をリードしている。また以前より、次世代シーケンサーやクライオ電子顕微鏡等などの最先端機器を多数整備し、豊富なマンパワーを投入するスタイルの大規模研究でも発展がめざましい。近年では、欧米の借り物ではない中国国内で生み出された独自の成果が、一流雑誌を占める数が明らかに増加しており、こうした研究体制が高い成果に結びついていると言える。一方で､成果全体を俯瞰すると未だ玉石混交であり、高いレベルにあるのは一部の卓越した機関に過ぎないと言える。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | RNA 分野に限ったことではないが、国家の研究費全体に締める応用研究費の割合は他の国に比べて極めて高い。その分、国内外で得られた多様な研究シーズを利用した応用研究に豊富な資金が投入されていると考えられ、こちらも未だ玉石混交の感は否めないが、近いうちに中国発の画期的応用技術に結びつき、その動きはさらに加速していくものと思われる。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | → | 国家プロジェクトとして基礎研究に特化した Institute for Basic Science という組織の一部門に Center for RNA Research が設立され、国際的に著名なリーダー研究者に牽引されて優れた RNA の基礎研究成果が生み出されている。こうした何人かのレベルの高い研究者によって独自の成果が生み出されている一方で、他国に比べると層が薄く分野にも偏りがある感が否めない。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | RNA 構造、機能の基盤的知見をナノテクノロジーと融合させた新規デバイスを開発する試みが盛んであり、今後独自の技術を用いた応用研究が進んでいくものと予想される。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1) Tang F, Barbacioru C, Wang Y, Nordman E, Lee C, Xu N, et al. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. Nat Methods. 2009;6（5）:377-82.
2) Svensson V, Vento-Tormo R, Teichmann SA. Exponential scaling of single-cell RNA-seq in the past decade. Nat Protoc. 2018;13（4）:599-604.
3) Macosko EZ, Basu A, Satija R, Nemesh J, Shekhar K, Goldman M, et al. Highly Parallel Genome-wide Expression Profiling of Individual Cells Using Nanoliter Droplets. Cell. 2015;161（5）:1202-14.
4) Klein AM, Mazutis L, Akartuna I, Tallapragada N, Veres A, Li V, et al. Droplet barcoding for single-cell transcriptomics applied to embryonic stem cells. Cell. 2015;161（5）:1187-201.
5) Hayashi T, Ozaki H, Sasagawa Y, Umeda M, Danno H, Nikaido I. Single-cell full-length total RNA sequencing uncovers dynamics of recursive splicing and enhancer RNAs. Nat Commun. 2018;9(1):619.
6) 木村 宏､佐藤 優子「ゲノム, エピゲノムからヌクレオームへ　遺伝情報発現制御機構の包括的理解に向けて」情報管理 . 2017, vol. 60, no. 8, p. 555-563.
7) 渡邉 愛、新たな創薬アプローチとして期待される「エピゲノム創薬」（大和総研レポート）http://www.dir.co.jp/consulting/insight/management/101013.html

8）日本新薬ホームページ 2011 年 1 月 21 日付けニュースリリース http://www.nippon-shinyaku.co.jp/topics/ns2011/2332
9）C 米 国 novich DA, Daza R, Adey A, Pliner HA, Christiansen L, Gunderson KL, et al. Multiplex single cell profiling of chromatin accessibility by combinatorial cellular indexing. Science. 2015;348（6237）:910-4.
10）Buenrostro JD, Wu B, Litzenburger UM, Ruff D, Gonzales ML, Snyder MP, et al. Single-cell chromatin accessibility reveals principles of regulatory variation. Nature. 2015;523（7561）:486-90.
11）Nagano T, Lubling Y, Stevens TJ, Schoenfelder S, Yaffe E, Dean W, et al. Single-cell Hi-C reveals cell-to-cell variability in chromosome structure. Nature. 2013;502（7469）:59-64.
12）Nagano T, Lubling Y, Varnai C, Dudley C, Leung W, Baran Y, et al. Cell-cycle dynamics of chromosomal organization at single-cell resolution. Nature. 2017;547（7661）:61-7.
13）Lai B, Gao W, Cui K, Xie W, Tang Q, Jin W, et al. Principles of nucleosome organization revealed by single-cell micrococcal nuclease sequencing. Nature. 2018;562（7726）:281-5.
14）Rotem A, Ram O, Shoresh N, Sperling RA, Goren A, Weitz DA, et al. Single-cell ChIP-seq reveals cell subpopulations defined by chromatin state. Nat Biotechnol. 2015;33（11）:1165-72.
15）Skene PJ, Henikoff S. An efficient targeted nuclease strategy for high-resolution mapping of DNA binding sites. Elife. 2017;6.
16）Harada A. A chromatin integration labeling method enables epigenomic profiling with lower input. Nat Cell Biol. 2018
17）Rothbart SB, Dickson BM, Raab JR, Grzybowski AT, Krajewski K, Guo AH, et al. An Interactive Database for the Assessment of Histone Antibody Specificity. Mol Cell. 2015;59（3）:502-11.
18）Venkataraman A, Yang K, Irizarry J, Mackiewicz M, Mita P, Kuang Z, et al. A toolbox of immunoprecipitation-grade monoclonal antibodies to human transcription factors. Nat Methods. 2018;15（5）:330-8.
19）廣瀬 哲郎 , 泊 幸秀『ノンコーディング RNA: RNA 分子の全体像を俯瞰する』（京都：化学同人 , 2016）
20）Hirose T., Mishima Y. & Tomari Y.“Elements and machinery of non-coding RNAs: toward their taxonomy.”EMBO Rep 15, 15, 489-507（2014）.
21）Iwasaki S, Sasaki HM, Sakaguchi Y, Suzuki T, Tadakuma H, Tomari Y. Defining fundamental steps in the assembly of the Drosophila RNAi enzyme complex. Nature. 521:533-536.（2015）doi: 10.1038/nature14254.
22）Kondo T. et al.“Small peptides switch the transcriptional activity of Shavenbaby during Drosophila embryogenesis.”Science 329, 5989, 336-339（2010）.
23）Hanyu-Nakamura K. et al.“Drosophila Pgc protein inhibits P-TEFb recruitment to chromatin in primordial germ cells.”Nature 451, 7179, 730-3（2008）.
24）Lasda E. & Parker R.“Circular RNAs: diversity of form and function.”RNA 20, 12, 1829-42（2014）.
25）Nakagawa S. Lessons from reverse-genetic studies of lncRNAs. Biochim Biophys Acta. 1859:177-83（2016）doi: 10.1016/j.bbagrm.2015.06.011.
26）Meyer KD, Jaffrey SR. Rethinking m6A Readers, Writers, and Erasers. Annu Rev Cell Dev Biol. 33:319-342（2017）doi: 10.1146/annurev-cellbio-100616-060758.
27）Dominguez D, Freese P, Alexis MS, Su A, Hochman M, Palden T, Bazile C, Lambert NJ, Van Nostrand EL, Pratt GA, Yeo GW, Graveley BR, Burge CB. Sequence, Structure, and Context Preferences of Human RNA Binding Proteins. Mol Cell. 70:854-867（2018）e9. doi: 10.1016/j.molcel.2018.05.001.

28）Hua Y, Sahashi K, Rigo F, Hung G, Horev G, Bennett CF, Krainer AR. Peripheral SMN restoration is essential for long-term rescue of a severe spinal muscular atrophy mouse model. Nature. 478:123-126（2011）doi: 10.1038/nature10485.

29）Stoeckius M, Hafemeister C, Stephenson W, Houck-Loomis B, Chattopadhyay PK, Swerdlow H, et al. Simultaneous epitope and transcriptome measurement in single cells. Nat Methods. 2017;14(9):865-8.

30）Li L, Guo F, Gao Y, Ren Y, Yuan P, Yan L, et al. Single-cell multi-omics sequencing of human early embryos. Nat Cell Biol. 2018;20（7）:847-58.

31）Cao J, C 米　国 novich DA, Ramani V, Aghamirzaie D, Pliner HA, Hill AJ, et al. Joint profiling of chromatin accessibility and gene expression in tho 米　国 nds of single cells. Science. 2018;361（6409）:1380-5.

32）Morita S, Noguchi H, Horii T, Nakabayashi K, Kimura M, Okamura K, et al. Targeted DNA demethylation in vivo using dCas9-peptide repeat and scFv-TET1 catalytic domain fusions. Nat Biotechnol. 2016;34（10）:1060-5.

33）Wang H, Xu X, Nguyen CM, Liu Y, Gao Y, Lin X, et al. CRISPR-Mediated Programmable 3D Genome Positioning and Nuclear Organization. Cell. 2018;175（5）:1405-17 e14.

34）Morgan SL, Mariano NC, Bermudez A, Arruda NL, Wu F, Luo Y, et al. Manipulation of nuclear architecture through CRISPR-mediated chromosomal looping. Nat Commun. 2017;8:15993.

35）Ma H, Tu LC, Naseri A, Chung YC, Grunwald D, Zhang S, et al. CRISPR-Sirius: RNA scaffolds for signal amplification in genome imaging. Nat Methods. 2018;15（11）:928-31.

36）Kebschull JM, Zador AM. Cellular barcoding: lineage tracing, screening and beyond. Nat Methods. 2018;15（11）:871-9.

37）Beagrie RA, Scialdone A, Schueler M, Kraemer DC, Chotalia M, Xie SQ, et al. Complex multi-enhancer contacts captured by genome architecture mapping. Nature. 2017;543（7646）:519-24.

38）Quinodoz SA, Ollikainen N, Tabak B, Palla A, Schmidt JM, Detmar E, et al. Higher-Order Inter-chromosomal Hubs Shape 3D Genome Organization in the Nucleus. Cell. 2018;174（3）:744-57 e24.

39）Lai B, Tang Q, Jin W, Hu G, Wangsa D, Cui K, et al. Trac-looping measures genome structure and chromatin accessibility. Nat Methods. 2018;15（9）:741-7.

40）Bintu B, Mateo LJ, Su JH, Sinnott-Armstrong NA, Parker M, Kinrot S, et al. Super-resolution chromatin tracing reveals domains and cooperative interactions in single cells. Science. 2018;362（6413）.

41）Shin Y, Brangwynne CP. Liquid phase condensation in cell physiology and disease. Science. 357 pii: eaaf4382（2017）doi: 10.1126/science.aaf4382.

42）Yamazaki T, Souquere S, Chujo T, Kobelke S, Chong YS, Fox AH, Bond CS, Nakagawa S, Pierron G, Hirose T. Functional Domains of NEAT1 Architectural lncRNA Induce Paraspeckle Assembly through Phase Separation. Mol Cell. 70:1038-1053（2018）e7. doi: 10.1016/j.molcel.2018.05.019.

43）Schofield JA, Duffy EE, Kiefer L, Sullivan MC, Simon MD. TimeLapse-seq: adding a temporal dimension to RNA sequencing through nucleoside recoding. Nat Methods. 2018;15（3）:221-5.

44）Trapnell C, Cacchiarelli D, Grimsby J, Pokharel P, Li S, Morse M, et al. The dynamics and regulators of cell fate decisions are revealed by pseudotemporal ordering of single cells. Nat Biotechnol. 2014;32（4）:381-6.

45）La Manno G, Soldatov R, Zeisel A, Braun E, Hochgerner H, Petukhov V, et al. RNA velocity of single cells. Nature. 2018;560（7719）:494-8.

46）Yugi K, Kubota H, Hatano A, Kuroda S. Trans-Omics: How To Reconstruct Biochemical Networks Across Multiple 'Omic' Layers. Trends Biotechnol. 2016;34（4）:276-90.

## ２．１．２　ゲノム編集

### (1) 研究開発領域の定義

ゲノム編集（Genome Editing）は、DNA 切断酵素（DNA ヌクレアーゼ）を用いて標的遺伝子へ塩基配列特異的に二本鎖 DNA 切断（DSB: Double Strand Break）を誘導し、その修復過程を利用して正確に遺伝子を改変する技術である。微生物、動物や植物など生物種を選ばないこと、様々な遺伝子改変が可能であることから次世代のバイオテクノロジーと位置づけられている。DNA の切断による編集のみならず、DNA 修飾タンパクなどの機能ドメイン結合による配列特異的な修飾など新たな発展技術の開発も進展しており、ゲノム編集は今後のライフサイエンス研究において不可欠な技術として注目されている。

### (2) キーワード

DNA 切断酵素、ZFN、TALEN、CRISPR/Cas9、遺伝子ノックアウト、遺伝子ノックイン、一塩基改変、バイオ燃料、品種改良、疾患モデル、遺伝子治療

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

ゲノムは個々の生物がその DNA 上に有する遺伝情報の総体である。このゲノムを自在に改変することが可能となれば、理論上では設計通りの遺伝情報を有する生物を得られることになる。ゲノム編集は、これまで一部のモデル生物に限られた標的遺伝子の改変を、原理的には全ての生物種を対象として可能にする技術である。簡便なゲノム編集ツールである CRISPR/Cas9 システム（Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat/CRISPR-associated protein 9）が開発された 2012 年以降は、様々な生物を対象として遺伝子改変研究を行うことが可能となった。ゲノム編集では、挿入・欠失変異導入により遺伝子機能を欠損させる遺伝子ノックアウト、外来 DNA を挿入する遺伝子ノックインや、染色体レベルの改変（大きな欠失、逆位や転座）も制御可能である。ゲノム編集を用いた遺伝子改変の成功例は微生物から動物、植物など様々な生物種を対象として世界中から報告されており、生命現象解明のような基礎研究から応用研究への展開が期待されている。特に応用研究では、高機能物質を効率的に産生する微生物（藻類など）の作出や農水畜産物の品種改良に有用である。また遺伝子ノックアウトでは、外来 DNA の挿入を伴わない、自然突然変異で起こりうる変異と判別できない変異の導入により遺伝子機能を破壊することも可能である。疾患研究では、iPS 細胞など再生医療に必要な細胞の改変や遺伝子治療への利用が視野に入っている。

この他にも、ゲノム編集の基盤となる DNA 塩基配列の特異的な認識・結合能を活用した派生技術の開発も盛んである。詳細は後述するが、例えば DNA 切断ドメインの代わりに様々な機能ドメインを連結した新たな人工因子の作製が進められており、狙った遺伝子座でのエピゲノム状態（DNA やヒストンのメチル化やアセチル化）の改変、DNA 標識など発展技術への利用が可能である。また、CRISPR/Cas sgRNA ライブラリーを用いた機能因子のスクリーニング法は、未知の因子の探索に利用される優れた技術であり、がん関連因子の同定や遺伝子の転写調節領域の探索などの分野で成果が挙げられている。

［研究開発の動向］

20 世紀中頃、DNA リガーゼ、制限酵素など遺伝子工学における重要な発見が相次いでなされ、遺伝子組換え技術は大きく発展した。しかし、その適用範囲は一部の生物に限られており、適用可能な DNA 配列、正確性に関しても制限があったことから、より簡便で汎用的な手法開発が長らく求められていた。そういった中で、DNA を特定の位置で切断可能な部位特異的人工ヌクレアーゼが開発され、ゲノム編集技術開発の端緒となった。代表的なものとして ZFN（Zinc finger nuclease）、TALEN（Transcription activator-like effector nuclease） がある。これらはそれぞれ DNA 結合ドメインとして、Zinc-finger タンパク質、Transcription activator-like effector タンパク質を用い、これに制限酵素 FokI の DNA 切断ドメインを連結させた人工ヌクレアーゼである。これらの開発により正確性の問題は大きく改善されたが、標的 DNA 配列ごとに対応するタンパク質を作製する必要があり、多くのノウハウ、時間や労力を要するといった課題が残った。その後 2012 年には新たに CRISPR/Cas9 システムが報告され世界中でゲノム編集技術が活用、改良されるきっかけとなった [1]。CRISPR は 1987 年、石野良純教授（九州大学）らによって、大腸菌の DNA にて見出された反復クラスター配列であり、細菌を攻撃してきたウイルスの情報を記憶する免疫獲得機構として機能していることが後に明らかとなった。CRISPR/Cas9 システムの特徴としては、前者 2 種が DNA 認識メカニズムとして DNA 結合タンパク質を用いていたのに対し、CRISPR/Cas9 システムでは RNA をガイドとして DNA 配列を認識することにある。RNA をガイドとして用いることで編集ツールの設計が容易に行えるようになり、その簡便さ・効率の高さから多くの研究者に衝撃を与え、その簡便性と効率性から、一般的なゲノム編集ツールとなった。一方、CRISPR/Cas9 システムでは標的配列に PAM（Protospacer adjacent motif）配列とよばれる認識配列が必要であり、これが標的配列を選択する制限となっていた。そのため国内外の研究者が、CRISPR 関連の立体構造情報を元にしたアミノ酸改変によって、PAM 配列の特異性を変化させた変異体や結合特異性を上昇させた Cas9 変異体の開発を競って進めている。また、新しい Cas タンパク質の探索が精力的に進められており、中でも Cpf1（Cas12a）は PAM の特異性が異なることに加え、分子量が小さいことから遺伝子治療用のベクターに容易に搭載できる DNA ヌクレアーゼとして注目されている [2]。Cas9 の PAM 特異性を定向進化によって作製した xCas9 の PAM は、これまでの SpCas9 の 5’-NGG-3’ から 5’-NG-3’ に改良され、標的配列の制限がほぼなくなったと言える [3]。国内においてもゲノム編集ツールの改良は進みつつあるが、全体的には海外に遅れをとっている。

また、派生技術として CRISPR/Cas9 システムで利用される DNA 切断酵素 Cas9 ヌクレアーゼのヌクレアーゼドメインに変異を導入し、DNA 切断活性を失活させた dead Cas9（dCas9）に様々な機能ドメインを融合させた新しい人工酵素が開発されている。米国では、デアミナーゼを連結させることによって、DSB を伴わないで特異的に標的配列の塩基置換を誘導する Base editor 技術が開発されている。さらに改良が加えられ、ヒトの疾患で見られる A → G 変異を作り出す技術として注目されている [4]。国内では、ヤツメウナギ由来の脱アミノ化酵素であるデアミナーゼを dCas9 に付加した Target-AID 技術が開発されている [5]。この技術を利用したイネやトマトでのゲノム編集が既に報告されている [6]。さらに、dCas9 に転写調節因子やエピゲノム修飾因子（ヒストンや DNA の修飾因子）を連結した人工因子を用いた標的遺伝子の効率的な発現制御が次々と報告されており、この分野の進展には目を見張るものがある。

さらに、転写活性化をより効果的にする方法として、複数の因子を集積するSAMシステムやSunTagシステムが開発され、人工因子を集積することによって数十倍から数百倍の効率化が実現している。

遺伝子ノックイン技術においては国内外において顕著な成果が近年報告されている。新規の国産遺伝子ノックイン技術としては、40塩基対程度のマイクロホモロジーアームを利用したPITCh法やssONA（singe-stranded oligodeoxynucleotide）を介して長鎖DNAを挿入する2H2OP法 , 一本鎖長鎖DNAを利用したEasi-CRISPR法が開発され、海外からも注目されている。海外では、NHEJ（non-homologous end joining）修復経路を利用した効率的かつ正確なHITI法が開発され注目されている[7)]。この手法は相同組換え活性が低い非分裂細胞においてノックインが困難であった点を克服すると共に、挿入する断片の方向を制御できる優れた方法である。さらに集積技術を利用して修復因子を効率的に作用させるLoADシステムによって、培養細胞での同時複数遺伝子座へのノックインが最近報告されている[8)]。

微生物では、モデル微生物でのゲノム編集技術確立に加えて、産業用微生物・細胞を用いた高機能物質生産、微細藻類の脂質生産量を向上によるバイオ燃料生産など応用分野を志向した研究開発が進められている。

農業における応用としては、米国では米国農務省がゲノム編集による外来遺伝子の挿入を伴わない遺伝子ノックアウトで作出された作物は遺伝子組換え体に相当しないとの見解を示しており、CRISPR/Casシステムにより褐色化の原因遺伝子に変異を導入、黒くならないマッシュルームなど複数の品種が既に作出されている。中国においてもゲノム編集を用いた育種が積極的に進められており、論文報告数も増加している。このような農作物に加えて、ブタやウシ、家禽に関しても、ゲノム編集技術による耐病性などを志向した育種が世界中で進められている。このようにゲノム編集を用いた遺伝子ノックアウトによって新しい品種を作出する動きが今後益々盛んになると予想されるが、国によってその規制レベルには違いが見られる。米国農務省は前述のようにゲノム編集によって遺伝子の機能を失わせただけの場合には遺伝子組み換え作物に相当せず、特に規制も必要ないとの見解を示した一方、EUにおいては、EU最高裁判所は通常の遺伝子組み換え作物と同じ規制で取り扱うべき、との判決を下している。

疾患モデル細胞を作製する技術としては、一塩基置換のため1本鎖オリゴデオキシヌクレオチド（ssODN）を利用する方法が利用されているが、効率の面から全ての細胞種に適用することは困難である。そのため、改変した標的配列近傍に相同組換えを介して薬剤耐性遺伝子をノックインしたiPS細胞を樹立し、そのクローンにおいて薬剤耐性遺伝子を削除すると共にMMEJ（microhomology-mediated end joining）によって原因変異を導入するMhAX法が報告された[9)]。iPS細胞を筆頭に様々な疾患を培養細胞で再現する研究が国内でも進みつつある。疾患モデル作製は、依然マウスを中心に進められているが、ラットでのゲノム編集研究が進むと共に、マーモセットでのゲノム編集が報告されている[10)]。国内では、これら哺乳類受精卵へエレクトロポレーションによって簡便かつ効率的にゲノム編集ツールを導入する方法の開発が活発に進められている。

CRISPRに関連した注目技術としてCRISPR/Cas sgRNAライブラリーを用いた機能因子のスクリーニングがあげられる。目的の生物の全遺伝子に網羅的に対応したsgRNAを発現するレンチウイルスベクターライブラリーを作製、培養細胞へ感染させることにより、遺伝子ノックアウト細胞ライブラリーを得ることが可能である。これをスクリーニングに用いることでが

ん化に関わる遺伝子を同定するといった利用が行われている。

疾患治療に向けた研究は、海外が中心となって進められている。様々な遺伝性疾患モデルに加えて、がんのモデルマウスの作製も進んでいる。これらのモデルマウスを用いた前臨床試験が欧米や中国で行われている。例えば高チロシン血症のモデルマウスを用いて、CRISPR システムと ssODN を静脈注射することによって原因遺伝子の一塩基変異を修正することが証明された。国内における疾患治療研究例としては、血友病 B モデルマウスにおいて AAV ベクターを用いて Cas9 を肝臓細胞で発現させるゲノム改変が可能であることが示されている[11]。

ゲノム編集を利用した遺伝子治療は、in vivo 治療と ex vivo 治療に分けられる。in vivo 治療は、体内に直接ゲノム編集ツールを導入する方法で血友病やムコ多糖症の臨床試験が進められている。一方、ex vivo 治療としては、HIV 感染における共受容体である CCR5 遺伝子を破壊した T 細胞を作製して、感染者へ移植する臨床試験や免疫チェックポイント因子を破壊した T 細胞を移植する臨床試験が、米国と中国でがん治療として実施中である。国内では疾患治療に向けたゲノム編集を用いた臨床研究に大きな進展は見られない。

ヒト受精卵でのゲノム編集の基礎研究は、中国と英国、米国で進められている。中国で 3 倍体の受精胚を用いた研究が行われ、その後、CRISPR/Cas9 を用いたヒト正常胚でのゲノム編集によって、ヒト初期発生に必要な遺伝子や受精などに関わる遺伝子の機能解析などが進行中である。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

● 新規ヌクレアーゼの探索、評価、開発

CRISPR/Cas システムにおいてヌクレアーゼとして現在広く使われているのは Cas9 であるが、PAM 配列の制限と特異性の面で問題点も指摘されている。そのため遺伝子治療などの安全性を重視する研究のために、PAM の改変と特異性を向上した新しい Cas ヌクレアーゼの開発が世界中で進行している。例えば、結合特異性を高めた変異体が、PAM を改変した xCas9[3] が米国や韓国の研究グループから報告されている。国内においても同様の新技術が報告[12]されており、国産技術として発展することが期待される。

● DNA を切断しない人工酵素を利用した塩基改変技術

DNA の塩基を脱アミノ化する酵素（デアミナーゼ）を利用したゲノム編集技術が、米国および日本から報告され、CRISPR/Cas9 のオフターゲット作用を回避する技術として注目されている。米国のグループは自在に標的の塩基を改変する Base Editor 技術を日本からは Target AID 技術が、目的遺伝子の塩基改変技術として報告され、培養細胞や生物個体での塩基改変が実証されている。今後、遺伝子治療等安全性を重視する研究においてこの技術が重要となることが予想される。

● 核酸検出技術

ゲノム編集技術を利用して微量の核酸を検出する技術が開発され、大きく注目されている。臨床現場で血液や尿、糞便から含まれるウイルスや細菌を高感度に検出する技術であり、特殊な装置を必要とせず、短時間に検出できるシステムである。米国の 2 つの研究グループで基礎技術が開発され、既にこの技術を利用したベンチャー企業が設立されている[13),14)]。

● CRISPR/Cas sgRNA ライブラリー技術

全遺伝子を対象とした sgRNA をもつレンチウイルスベクターを利用したシステムで、遺伝子改変を網羅的に行う技術である。CRISPR/Cas sgRNA ライブラリーによって遺伝子の網羅的機能解析、がん関連遺伝子の探索、遺伝子の転写調節領域の解析など基礎研究から応用分野での研究に急速に利用が広がっている。今後、この技術を利用した機能分子の探索がスタンダードになる可能性がある。現在は海外を中心とした研究が進むが、国内の研究においても利用開始されてきている。

● ゲノム編集による遺伝子治療

ゲノム編集治療では、in vivo 治療と ex vivo 治療が海外で進行中である。in vivo 治療では血友病に対する臨床試験が進行中であり、ムコ多糖症についても米国で開始された。一方、ex vivo 治療では、ZFN を用いたゲノム編集によって HIV 耐性細胞を作製し、これを用いた臨床試験が成功していると報告されている。さらに、ゲノム編集で作製した CAR-T 細胞や PD-1 を破壊した T 細胞を用いて、がん治療を目的としたゲノム編集の臨床研究が米国と中国で進められている。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

● 内閣府の戦略的イノベーション創造プロジェクト（SIP）

農水畜産物のゲノム編集基礎技術開発、標的遺伝子探索、有用品種作出、社会受容の検討を含めた府省連携の SIP の中で平成 26 年度から 5 年間のプロジェクトとして進められている。研究目標では新たな育種技術の改良・開発が盛り込まれており、神戸大学の Target-AID 技術などいくつかの技術が開発され、筑波大学におけるトマトなどでの実施例も示されている。

● NEDO スマートセルプロジェクト

スマートセルプロジェクトの中で国産ゲノム編集技術開発が平成 28 年度から 5 年間のプロジェクトとして進められている。核酸結合ドメインである PPR モチーフを利用したわが国発の核酸改変技術研究が九州大学と九大発ベンチャーによって進められ、産業分野での植物改変に使用可能な基礎技術の開発検討が行われている。ゲノム編集ツールの基本特許のほとんどが海外特許であるため、このプロジェクトでの成果に対する国内産業からの期待は大きい。

● AMED 革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業

プロジェクトの一環として、立体構造解析のデータを元に CRISPR/Cas9 システムで利用される Cas9 ヌクレアーゼのコンパクト化、高活性化や PAM 要求性の改変、効率的なデリバリーの達成などが目指されている。既にコンパクトな Cas ヌクレアーゼの作製に成功しており、ベンチャー企業も設立されている。

● JST 産学共創プラットフォーム共同研究推進プログラム（OPERA）プロジェクト

複数のゲノム編集の産学連携研究に関してコンソーシアムを形成し、非競争的領域において必要な技術開発を共同して実施している。平成 28 年度から 5 年間でプロジェクトが進行中であり、基礎技術開発、微生物での改変、動物や植物での改変などテーマを設定し、効率的な技術開発を目指すと共に、この技術の社会受容のための社会動向調査を実施している。

● 海外の動向

米国の CRISPR の基礎技術開発は、NIH などの公的資金に加えて、多額の寄付金によって行われている。また、大学や研究機関の成果を元にベンチャー企業が設立され、ベンチャーキャ

ピタルからの投資金を利用して開発が進められている。CRISPR 関連のクリスパー・セラピューティクス社、エディタス・メディシン社、インテリア・セラピューティクス社が設立され、それぞれ 10 億ドル以上の資金を調達し、疾患治療法の開発を中心とした研究を進めている。中国では、政府主導でゲノム編集研究を推進しており、医療や農業に力を注いでいる。韓国では、ゲノム編集は国家プロジェクトとして進められており、ゲノム編集研究分野での重要な成果があげられている。

### (5) 科学技術的課題

わが国においては国産ゲノム編集ツールの開発が課題である。この開発については、国内プロジェクトの成果から、ここ１～２年で新規のゲノム編集ツールの開発も見込まれている。また、コンパクト Cas9 についても国内から大きな成果が見込まれている。これらの状況から、ツール開発を継続的に進め、国産の改変技術（遺伝子ノックイン技術など）やデリバリー技術と融合することが、国産ゲノム編集技術を発展させる上で重要であると考えられる。

疾患モデル等の技術については、精密かつ効率的な改変技術が必要とされるが、効率の面で未だ十分とは言えない。特に、ゲノム情報の蓄積によって、疾患の原因 SNP が同定され、原因 SNP を改変した細胞のニーズは高まるものの、培養細胞等で複数の SNP を同時に改変することは現状では困難である。精密改変技術の開発は、海外においても報告が少なく、この技術を日本が開発できればこの分野での大きな成果となり日本の開発レベルをあげることにつながる。

マウスやラットではゲノム編集技術によって、高い効率で遺伝子ノックアウト個体の作製が可能となっている。遺伝子ノックインについても ssODN を用いた方法は効率的であり、長い DNA を挿入する方法も改良されつつある。一方、遺伝子ノックインの効率を上げるために開発された前述の技術（PITCh 法、2H2OP 法、HITI 法など）は、いずれも主に NHEJ 修復経路を利用する。NHEJ はエラーの起こりやすい修復であり、これらの技術では遺伝子挿入部位に変異（InDel）が生じやすい。相同組換えを介する遺伝子ノックインはエラーフリーであるものの効率が低いことから、高効率の相同組み換え手法の開発も依然として重要である。

神経疾患分野においてはサルでのモデルを作製することが重要である。サルでのゲノム編集については、マーモセットをモデルとしたゲノム編集動物作製について国内から成功例が報告されている。国外ではサルの改変が進められているものの、日本の改変技術は高く、この技術をさらに改良（効率化）し、高効率遺伝子ノックインなどを可能にする技術の開発を進めることが必要である。この他、細胞および個体での染色体レベルのゲノム編集技術は日本に高い技術があることから、この技術を利用したヒト化動物作成技術を開発することが重要である。

作物の品種改良においては、アグロバクテリウムを用いた遺伝子組換え技術を用いて、一旦ゲノム編集ツールの発現カセットをゲノム中に挿入するのが一般的である。そのため遺伝子組換え作物としてから、戻し交雑等で発現カセットを除くことが必要であるが、非常に煩雑である。そのため、Cas タンパク質と sgRNA の複合体であるリボヌクレオタンパク質（RNP）を調製、細胞壁を除いたプロトプラストへ導入する方法や、一過的に CRISPR/Cas9 を働かせる方法によって、遺伝子組み換え体を経ることなく新品種を作出する方法の開発が重要である。

標的遺伝子のエピゲノム状態の改変技術は、細胞の分化やがんを制御する重要な技術となる可能性を秘めている。dCas に様々な因子を連結させた人工因子の開発が進められているが、

ほとんどが海外の技術である。この状況を変えるためには、国産ゲノム編集ツールの DNA 結合ドメインと修飾因子ドメインを連結させた国産の人工修飾因子の開発が急務と考えられる。

### （6）その他の課題

産学連携においては、ゲノム編集の特許が大きな問題となる。特に、CRISPR/Cas9 の基本特許は係争中であり、企業がこの技術を利用するためには複数の特許権者へ使用料を支払う必要がある。そのため、大企業がこの技術を利用することを控える傾向にあり、国内での産業開発力の低下を招いている。この問題を解決する方法は、国産技術の開発であるが、ベンチャー企業が特許料を払いつつ、新しい技術を開発する後押し（国策）が必要となる。

ゲノム編集で作出された生物の取り扱いについては、現在環境省を中心として「カルタヘナ法におけるゲノム編集技術の検討委員会」で議論がなされている。ゲノム編集によって作製された遺伝子ノックアウトについては、安全性が確認されれば既存の突然変異育種と同様の規制によって使用できる可能性がある。

ヒト受精卵や受精胚でのゲノム編集は、基礎研究においてその目的に応じて利用可能かどうかの検討がなされている。ゲノム編集技術の社会受容ためには技術の安全性を示し、市民を交えて議論することが急務である。2016 年に設立された一般社団法人日本ゲノム編集学会を中心として、社会受容に向けた活動を活発にしていくことが必要と考えられる。

人材育成については、産業界からゲノム編集技術を使いこなせる人材の輩出を強く求められている。しかしながら、ゲノム編集に関する人材育成プログラムは、これまで国内では立ち上がっていない。そのため、早急にゲノム編集の人材育成プログラムを立ち上げ、産業利用に必要な技術を開発する人材、安全性評価をできる人材、ベンチャー企業家を育成することが必要である。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・立体構造解析データを元にしたコンパクトな Cas ヌクレアーゼの開発に成功している。<br>・脱アミノ化酵素（デアミナーゼ）と dCas9 を利用した DNA を切らない Target-AID 技術が開発され、培養細胞や動物・植物個体において塩基改変が可能であることが示された。本成果は、Science 誌で発表された。<br>・複数の遺伝子ノックインの新技術（PITCh 法など）が開発され、培養細胞や個体において成功例が報告された。<br>・PPR 技術など新規のゲノム編集ツール開発に成果が見られつつある。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・TALEN や CRISPR を用いた農水畜産物でのゲノム編集が着実に進展している（キノコ、ジャガイモ、ブタ、マダイなどでの遺伝子改変）。<br>・上述の Target-AID を利用することによって作物種（トマト）でのゲノム編集に成功している。本成果は Nat Biotech 誌で発表された。<br>・iPS 細胞での疾患モデル細胞作製と治療法開発に向けた研究が進展している。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・ゲノム編集ツールの開発、遺伝子改変技術の開発、核酸検出技術の開発など全ての基礎開発において世界トップの水準を維持し、技術レベルを向上させている。<br>・アミノ改変による Cas ヌクレアーゼ変異体作製が進み、PAM 配列の特異性を改変し、NG の配列特異性をもつ xCas9（Nature 誌に発表）など多くの変異体が報告された。<br>・デアミナーゼを連結した Base Editor が開発され、標的に自在に塩基改変を加えることを示した（Nature 誌に発表）。<br>・ゲノム編集を利用した新規の核酸検出技術（Sherlock 法および DETECTR 法）が開発された。これらの成果は Nature 誌と Science 誌に報告されている。<br>・ゲノム編集を用いて細胞系譜を追跡する複数の技術が開発されている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・微生物でのゲノム編集を用いた有用株作出技術、農水畜産物の品種改良、遺伝子治療における開発など、全て分野の開発で世界トップレベルであり、さらなる開発力の向上が見込まれる。<br>・デュポン・パイオニア社から CRISPR/Cas9 を用いたトウモロコシの初の製品の商品化が発表されている。<br>・モンサント社が遺伝子組換えの次の技術としてゲノム編集を位置づけ、飼料用から食料用まで生産しやすく付加価値の高い農作物の開発をめざすことを表明している。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | ↘ | ・英国ウェルカムトラストサンガー研究所では、CRISPR/Cas sgRNA ライブラリーを用いたスクリーニング技術開発において高い研究成果が見られる。<br>・ヒト受精卵でのゲノム編集によって、発生に関する遺伝子の機能解析を行った。<br>・CRISPR でのゲノム編集が p53 経路を活性化し、幹細胞のがん化を誘導するという論文や、p53 経路を制御することで正確なゲノム編集が可能であることを示す論文が発表された。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・CRISPR/Cas sgRNA ライブラリーを用いて遺伝子の転写調節領域や薬剤耐性のスクリーニング研究が進められている。<br>・TALEN を用いた HIV のゲノム編集で遺伝子治療に向けた研究が進展中である。<br>・TALEN の基本特許を有するセレクティス社が CAR-T 細胞作製など牽引している。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | → | ・CRISPR の研究論文数は増えているものの、全体の基礎技術レベルは高いとは言い難い。<br>・バクテリアおよびヒト細胞で Cas9 を阻害する新たな抗 -CRISPR タンパク質を同定した。<br>・NgAgo 技術のような未完成の技術を報告する状況から基礎研究レベルの向上は見られない。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・農作物の品種改良で研究成果が見られる。Chinese Academy of Sciences を中心として農作物（イネ、トウモロコシ、小麦など）研究が継続して進展している。<br>・ゲノム編集治療に向けた研究も活発である。CRISPR を利用した T 細胞での PD1 遺伝子破壊によるがん治療の臨床試験が複数進行中である。<br>・ゲノム編集技術を用いて筋細胞の増殖を抑制する遺伝子を破壊し、高い運動能力をもつ犬を作製した（また、クローン犬の開発に力を入れている）。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・ソウル国立大学の研究は世界トップレベルであり、高い質の論文を発表している。<br>・特異性を向上させた Cas ヌクレアーゼ（Sniper-Cas）の開発に成功した。<br>・CRISPR/Cas9 のオフターゲット作用の検出技術（Digenome Seq 法）を開発した。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・農水畜産物での品種改良技術開発に力を入れており成果が見られる。植物での CRISPR の RNP を利用した遺伝子組換えを介さないゲノム編集が Nat Biotech 誌が発表された。<br>・塩基改変技術を利用した植物ゲノムの改変に日本同様に成功している。<br>・新しいツール開発やオフターゲット作用の検出サービスなどを提供している。ToolGen 社がモンサントとライセンス契約を結んだ。ToolGen 社は 2018 年 4 月に時価総額が 1 兆ウォン（約 1000 億円）を突破した。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル
（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない
（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1) Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. “A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity.” *Science*. 337（6096）:816-821, 2012. doi: 10.1126/science.1225829.
2) Zetsche B, Gootenberg JS, Abudayyeh OO, et al. “Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a class 2 CRISPR-Cas system.” *Cell*. 163（3）:759-771, 2015. doi: 10.1016/j.cell.2015.09.038.
3) Hu JH, Miller SM, Geurts MH,et al. “Evolved Cas9 variants with broad PAM compatibility and high DNA specificity.” *Nature*. 556（7699）:57-63, 2018. doi: 10.1038/nature26155.
4) Gaudelli NM, Komor AC, Rees HA, et al. “Programmable base editing of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage.” *Nature*. 551（7681）:464-471, 2017. doi: 10.1038/nature24644.
5) Nishida K, Arazoe T, Yachie N, et al. “Targeted nucleotide editing using hybrid prokaryotic and vertebrate adaptive immune systems.” *Science*. 353（6305）, 2016. doi: 10.1126/science.aaf8729.
6) Shimatani Z, Kashojiya S, Takayama M, et al. “Targeted base editing in rice and tomato using a CRISPR-Cas9 cytidine deaminase fusion.” *Nat Biotechnol*. 35（5）:441-443, 2017. doi: 10.1038/nbt.3833.
7) Suzuki K, Tsunekawa Y, Hernandez-Benitez R, et al. “In vivo genome editing via CRISPR/Cas9 mediated homology-independent targeted integration.” *Nature*. 540（7631）:144-149, 2016. doi: 10.1038/nature20565.
8) Nakade S, Mochida K, Kunii A, et al. “Biased genome editing using the local accumulation of DSB repair molecules system.” *Nat Commun*. 9（1）:3270, 2018. doi: 10.1038/s41467-018-05773-6.
9) Kim SI, Matsumoto T, Kagawa H, et al. “Microhomology-assisted scarless genome editing in human iPSCs.” *Nat Commun*. 9（1）:939, 2018. doi: 10.1038/s41467-018-03044-y.
10) Sato K, Oiwa R, Kumita W, et al. “Generation of a Nonhuman Primate Model of Severe Combined Immunodeficiency Using Highly Efficient Genome Editing.” *Cell Stem Cell*. 19（1）:127-138, 2016. doi:

10.1016/j.stem.2016.06.003.

11）Tsukasa Ohmori, Yasumitsu Nagao, Hiroaki Mizukami, et al. ” CRISPR/Cas9-mediated genome editing via postnatal administration of AAV vector cures haemophilia B mice.” *Scientific Reports* 7: 4159（2017）doi:10.1038/s41598-017-04625-5

12）Nishimasu H, Shi X, Ishiguro S, et al. ” Engineered CRISPR-Cas9 nuclease with expanded targeting space.” *Science*. 361（6408）:1259-1262,2018. doi:10.1126/science.aas9129.

13）Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Kellner MJ, et al. “Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6.” *Science*. 360（6387）:439-444, 2018. doi: 10.1126/science.aaq0179.

14）Chen JS, Ma E, Harrington LB, et al. “CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity.” *Science*. 360（6387）:436-439, 2018. doi: 10.1126/science.aar6245.

## 2.1.3 ケミカルバイオロジー

### (1) 研究開発領域の定義

広義には有機化学を基礎とした生命科学研究であり、核酸やタンパク質などの生体高分子と特異的に作用する化合物（生理活性化合物）を開発し、生体高分子やリガンドの機能解明や制御を目指す領域。化合物の探索源には天然物と合成化合物がある。蛍光プローブ等の研究ツール、診断薬、センサー、疾患・感染症の予防薬、臨床治療薬・農薬など有用な化合物の開発につながる。

### (2) キーワード

低分子化合物、核酸、タンパク質、脂質、糖質、中分子化合物、天然物化学、生合成遺伝子、標的分子同定、ケミカルゲノミクス、ゲノムマイニング、イメージング、センサー、マシンラーニング、創薬、診断、農薬

### (3) 研究開発領域の概要

[本領域の意義]

化学を基盤として生命の謎を解き明かしていくケミカルバイオロジー研究が進展すれば、様々な生体分子の機能や相互作用についての理解が進み、化学と分子生物学や細胞生物学との融合が促進される。これにより、生命現象を（原子・）分子レベルの高い解像度で研究し、定量性のある分子論的な観点で解析・理解しすることが可能となり、さらに人工分子による時空間的な制御を実現する基盤技術の開発へと繋がっていく。

ケミカルバイオロジーを触媒として、化学・生物学・医学・工学が発展的に融合することで、①生命活動を分子レベルで追跡できるセンサー・検査薬・診断キット等の開発や②生命現象を合理的に制御できる医薬品・農薬の創製に直結し、新産業の創出や人類の健康と福祉の向上へ大きく貢献する重要な領域である。

[研究開発の動向]

特定の生命現象を制御する化合物が取得されたとき、最初のハードルの高い課題はその細胞内標的分子の同定である。興味深い表現型を示す化合物が手元にあった時、その標的分子を同定する手法としては、物理的相互作用に基づくものと、遺伝学的相互作用に基づくものがある。

いまだに第一選択手法となっているのが、化合物を化学的に修飾して単体に固定し、そこに夾雑系である細胞や組織抽出液を流し、そこに結合する標的タンパク質を精製・同定する方法である。1990 年前後に Stuart L. Schreiber（米・ハーバード大学）らが免疫抑制剤 FK506 やヒストンデアセチラーゼ阻害剤トラポキシンなどを樹脂に化学的に固定して標的タンパク質を同定したことはこの研究領域の金字塔である。以来、物理的相互作用を指標にした標的探索の手法は、タンパク質を基盤上に固定して作製したタンパク質アレイや、化合物を光反応性官能基によってランダムに樹脂に固定する方法なども開発され、化合物の標的同定における重要な手法となっている。この場合に、化学修飾を施しても化合物が標的タンパク質との結合活性を維持していることが重要である。ところが分子量が小さい場合には特に、この方法は困難なことがある。

そのような場合、遺伝学的相互作用に基づいた方法論が有効である。例えば、化合物に感受性を示す細胞に、標的タンパク質をコードする遺伝子を過剰発現させると、標的分子が増えることで化合物に対する耐性を獲得する。近年では、ゲノム情報に基づいた網羅的な変異株作製と次世代シーケンサーの組み合わせにより、非常に簡便に作用経路を推定できる。この場合のメリットとして、化合物を化学的に誘導体化する必要がない点も挙げられる。化合物の標識を必要としない標的分子の探索方法としては、タンパク質の熱安定性を指標にしたDARTS法も有効である。

近年はAIを用いた化学合成やメタゲノムの本格活用など、今後のブームになるであろう融合研究が登場している。

以下にいくつかの研究の潮流について記述する。

● 構造情報に基づいたリガンド開発

生体高分子受容体（主にタンパク質）の三次元構造（鍵穴）に適合する小分子リガンド（鍵）を創製し、医薬品候補化合物を開発する手法（Structure-Based Drug Design: SBDD）が着実な進展を遂げている。ポストゲノム後、構造生物学研究の進展により、多数のタンパク質の三次元構造がPDB（Protein Data Bank）に登録され､拡充されている。近年のコンピューター計算性能の著しい進展や非営利機関が無償提供する受容体-リガンドのドッキングシュミレーション支援サービス（AutoDock等）の普及とあいまって、in silicoスクリーニング・創薬がより重要で普遍的な技術となってきた。膨大な数の化合物ライブラリーからターゲットタンパク質に結合するかどうかを予測するバーチャルスクリーニング技術やタンパク質に対する結合親和性を精度良く見積もるインシリコシュミレーションが更に高速化・高精度化しながら、より一般性・信頼性の高い基盤技術として発展している。

● 化学合成の自動化

ペプチドや核酸については自動合成法が確立済であり、現在では所望の配列のペプチドや核酸を受託合成で簡便に入手できる。ペプチド・核酸に比べると糖鎖の自動合成は格段に困難であるが、単糖ユニットをモジュラー式に連結する手法（化学的／酵素的グリコシル化）が開発されている。一方、複雑で高度に官能化された天然物やそれらのアナログ分子の合成については、従来、高度な知識と豊富な経験を持つ有機合成化学者にしか取り組むことができない状況となっていた。化学合成の自動化を指向して我が国では、高橋ら（当時東工大、現横浜薬科大）が、制ガン剤タキソールを自動合成機で全合成した先駆的研究や、フロー・マイクロ合成法が大きな発展をみせている（京大　吉田潤一ら　新学術領域　反応集積化の合成化学）。

● 中分子化合物を活用したアプローチ

これまで創薬の王道であった低分子医薬品については、副作用の観点から開発の難易度が向上し、また、標的とする生体分子の枯渇などが指摘されている。一方、抗体を基盤としたバイオ医薬品が長足の進歩を遂げ、適用範囲を拡大している。低分子医薬は経口投与が可能で安価に製造できる利点があるが、オフターゲットへの特異性の低い相互作用に起因する副作用・細胞毒性が問題となることが多い。一方、抗体に代表されるバイオ医薬品は、標的分子と高い特異性で相互作用するので、副作用を大幅に低減できる。しかし、免疫毒性や製造コスト高騰、薬剤投与手法などに問題がある。また、生体高分子医薬は、一般に細胞膜を透過できないので、細胞表層の標的分子に限られる。

近年では、低分子と生体高分子の中間のサイズを持つ中分子（分子量500－5000程度）を

活用した細胞内機能制御法の開発がケミカルバイオロジーや創薬研究の重要な課題となっている。中分子は、①細胞膜を透過でき、②標的分子との多点相互作用による特異性の高い分子認識能力があり、③免疫毒性や副作用のリスクを大幅に軽減できるので、低分子と生体高分子の両者の長所を兼ね備えた革新的な機能性分子となることが期待されている。免疫抑制剤タクロリムス（藤沢薬品）、ハラヴェン（エーザイ）に代表されるように分子量 500 を優に超え、中分子化合物が革新的な医薬品として上市されている。既存の化合物ライブラリーとは、構造特性が大きく異なる多官能性の高次構造分子群を現実的なコストで人工的に創出する技術は、基礎・応用研究の両面で重要と考えられる。

● 化合物によるタンパク質の近接誘導

本来は生体内で適切な時空間制御を受けているタンパク質間相互作用であるが、化合物を用いて強制的に二種のタンパク質を相互作用させることで、細胞内におけるシグナル伝達や遺伝子発現、タンパク質輸送を制御することが出来る[1)]。この手法は元々、免疫抑制剤 FK506 やシクロスポリン、抗癌剤ラパマイシンが 2 種のタンパク質と三者複合体を形成することに着想を得ている。すなわち、タンパク質 A を FK506 の標的分子である FKBP との融合タンパク質として発現させ、タンパク質 B をシクロスポリンの標的分子であるシクロフィリン A との融合タンパク質として発現させた細胞を作製する。そこに FK506 とシクロスポリンのキメラ化合物を処理すると、タンパク質 A とタンパク質 B の複合体形成を誘導できるのである。

現在この手法を用いた治療薬の創出に期待がかかっている。融合タンパク質を発現させることなく、キメラ化合物により特定のタンパク質の分解を誘導できるようになったからである。Craig Crews 教授（米国イエール大学）らが先導する PROTACs（Proteolysis Targeting Chimeras）はその代表的なものである。すなわち、分解したい目的タンパク質に結合する化合物と E3 ユビキチンリガーゼの基質認識部位（VHL）に結合する化合物を、リンカーを通して融合したキメラ分子を用いる[2)]。このキメラ分子を投与すると、目的タンパクがユビキチンリガーゼにリクルートされ、ユビキチン化された後、プロテアソームによって選択的に分解される。サリドマイド[3)]やエーザイの開発しているスルホンアミド系抗癌化合物もそれぞれの標的タンパク質を介して E3 リガーゼによる特定のタンパク質のユビキチン・プロテアソーム経路による分解を誘導することが明らかになっており[4)]、VHL リガンドに加えてキメラ分子創出の際の化合物選択肢は増えつつある。また、この手法のもう一つのメリットは、既存の化合物を活用できる点（repurposing）にある。特異性の高いタンパク質・リガンドのペアがあれば、そのリガンドと VHL リガンドやサリドマイド、スルホンアミド系化合物とを融合したキメラ分子を合成すれば、それを細胞や生体に処理することで、標的タンパク質を迅速に分解してその機能を解析することが出来る。また、毒性や ADME が悪いため見放された化合物であっても、PROTACs に展開することで新たな創薬展開が期待できる。

● 微生物の生合成解析による天然物の拡充

天然物は、これまでに約 50 万の化合物が報告されているとされ、植物や海洋無脊椎動物とともに、重要なリソースの一つが微生物である[5)]。微生物は土壌や水圏から単離されてきたが、培養されている種は 1 パーセントに満たないといわれ、難培養性の微生物をいかにリソースにするかが大きな課題である。最近では、データベースにデポジットされている細菌のゲノム配列や、ヒト微生物叢から取得した DNA 配列情報から、数千～数万の二次代謝産物の生合成遺伝子クラスターを同定することが可能である[6,7)]。また、土壌のメタゲノムからは数百の微生

物ゲノムが再構築され、そこから 1,500 余りの生合成遺伝子クラスターが同定され、さらにこれまで研究されていなかった門のバクテリアからはユニークな生合成遺伝子クラスターが見出されている [8]。

国内でも理化学研究所や東京大学を中心に化合物バンクの整備が進められてきた。今後の天然物の拡充のためには、難培養性の生物資源の活用や、膨大に蓄積しているゲノム情報からの化合物のマイニング手法の整備が課題である。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

● 化合物リガンドと分子標的のペアを抽出する網羅的手法

ケミカルバイオロジーのボトルネックは、生理活性化合物の分子標的を同定することである。通常は、生理活性分子を発見し、その後に分子標的を決定する。米国スクリプス研究所の Cravatt らは、分子標的を先に網羅的に決定して、その後に生理活性化合物を発見する方法を報告している [9]。例えば、医薬品によく見られる小さなフラグメント構造に着目し、その構造に結合するタンパク質を全て同定する。そのタンパク質の中から疾病に関するものを選び、フラグメント構造を化学修飾することでより選択的な化合物を見つけ出す。

● 細胞サーマルシフト法（CETSA）

化合物と標的タンパク質の相互作用を簡便に検出する方法が開発され、多用され始めている [10]。この方法は今後ケミカルバイオロジーや医薬品開発で広く使われると予想される。細胞や組織に化合物を加え、温度を変えて、変性したタンパク質を遠心分離する。変性していないタンパク質を電気泳動し、ウエスタンブロットで検出する。化合物がタンパク質に結合すると、そのタンパク質は熱変性に対して抵抗性ができ、変性に必要な温度は上昇する。これにより、細胞内や組織内での化合物 - タンパク質結合を検出できる。

● 生体高分子の指向進化

本年度のノーベル化学賞でその重要性が広く浸透したファージディスプレイ法や核酸の SELEX 法を適用するアプローチには更に発展する可能性が高い。ペプチド、タンパク質、核酸（DNA/RNA）の構造を系統的に自在に改変した膨大な数のライブラリーを創製し、最善・最適の分子を選別する手法に期待が大きい。

● 化合物の標的分子の同定について

Charles Boone 博士（トロント大学、理研）らは出芽酵母を用いて遺伝子間相互作用と化合物・遺伝子間相互作用を解析しており、最近、13,000 余りの化合物について化合物・遺伝子間相互作用情報を取得し、情報解析により化合物の作用アノテーションを行うことに成功した [11]。この方法は、脂質や金属のようにゲノムに直接コードされていない分子を標的とする場合にも有効であると期待できる。

これまでケミカルゲノミクス解析による化合物の作用経路、標的分子の同定は酵母を用いたものが主流であった。この場合のネックは、ヒト疾患治療薬が酵母で表現型を出さなければ解析不能な点にある。近年の Crispr Cas9 技術の出現により、従来よりも簡便に大規模な遺伝子操作を行うことが可能になったことで、ヒトなどの酵母以外の生物を用いたケミカルゲノミクス解析が現実的なものになったと言える。

一方、天然物の場合にはその生合成遺伝子に着目することも標的分子の同定に有効である。

天然物を生合成する生物は自己耐性遺伝子を生合成遺伝子クラスターの近傍に有することがある。例えば高コレステロール血症の治療薬であるロバスタチンを産生する糸状菌では、生合成遺伝子クラスターの中にロバスタチンに耐性な HMG-CoA 還元酵素をコードすることで、自己耐性を獲得している。スクリプス海洋研究所の Bradley S. Moore 博士らが 86 の海洋放線菌のゲノムを探索したところ、ハウスキーピング遺伝子が生合成遺伝子クラスター中に位置する例が 900 余り見出されており [12]、効果的な標的分子同定に直結すると期待される。また、これを逆手に取ることで特定の標的分子に対する化合物の取得が可能である。既存の除草剤の標的タンパク質として分岐鎖アミノ酸の生合成酵素が挙げられるが、当該酵素を生合成遺伝子の近傍に持つ遺伝子クラスターを真菌ゲノムから探索することで、新しい阻害剤の取得が報告されている [13]。ターゲット・オリエンティッドな阻害剤探索の新しい潮流になりそうである。

● メタゲノム解析による創薬応用

ジェネンテック社（米国）は土壌メタゲノムからの創薬リード化合物の開発に 969 億ドルを Lodo Therapeutics 社（米国）に投資している [14]。

● コンビナトリアル生合成による機能性分子群の創製 [15]

次世代シーケンサーの普及により、植物や菌類の二次代謝を担う生合成酵素群の遺伝子同定が容易になった。放線菌や糸状菌に代表される菌類が生産する二次代謝産物については、当該酵素遺伝子を異種株で発現して人工的に生合成する技術が確立されてきた。生物種によっては遺伝子操作に依然困難があるものの、ゲノムにコードされている生合成マシナリーを人工的に再構築する技術は大きな発展を遂げている。二次代謝産物生合成関連遺伝子群を根こそぎ発掘・発現して、地球上に眠る未活用の分子資源を活用していく時代が到来すると期待される。更にゲノム編集技術等を活用して、酵素や生合成関連の機能性タンパク質（トランスポーター等）の機能を指向進化させるアプローチにより、遺伝子工学を駆使して、所望の機能を持つ高次構造天然物群を簡便に人工合成し、自在に改変できるようになる可能性が高い。また、生合成プロセスの基質や鍵中間体を再設計して、生合成プロセスを人工的に改変するアプローチからも生体機能性分子群が創製されることが期待される（新学術領域：生合成リデザイン）。

● 化学合成の自動化 [16]

近年、アミノ酸、単糖とは異なり、共通基盤性の高い非天然型の構築ブロックを順次連結して高次構造を持つ機能性分子群を自動合成する研究が本格化しつつある。主にアミド結合の連結やクロスカップリング反応で化合物ライブラリーを構築する従前のコンビナトリアル合成とは一線を画し、より複雑な構築ブロックを多段階の連続フロー合成で集積化し、中分子サイズの化合物群を機械で自動合成するプラットフォームが開発されるようになった。多種類の構築ブロックに対する多彩なカップリング反応から、官能基変換を並列／分岐型のマイクロフロープロセスで実施できる。このアプローチは、生体機能性分子群の探索資源を網羅的に低コストで供給する革新的な手法となりうる。ハード面では、ナノ加工技術、3D プリンタ、チップ技術の進展と呼応しており、ソフト面でも AI による自動制御・網羅的解析・最適化技術や最新のケモインフォマティックス技術と融合しながら大きく発展する可能性が期待される。

### （5）科学技術的課題

● 化合物群の構造特性

コンビナトリアル化学は、多種類の化合物群の供給を可能とした。しかし、sp2 炭素含有率

の高い平板なヘテロ芳香環同士のカップリング反応が多用されるので、三次元的な構造のバリエーションは限定的である。一方、複数の sp3 不斉炭素で構成される天然物や生体高分子は複雑な凹凸を持つ分子表面を提示し、多点相互作用による特異性の高い分子認識により生命現象を司る情報伝達を制御する。精緻な天然物群と従前の化合物ライブラリーとの構造特性のギャップを解消しつつ、複雑で高度に官能化された化合物群を低コストで網羅的に合成する手法の開発が重要である。

近年では、膨大な配列多様性を持つ環状中分子ペプチドライブラリーから、これまで困難とされてきた生体分子間相互作用を変調・制御できる技術が開発されている（東大、菅ら、ペプチドリーム）。本年度のノーベル賞に象徴されるように生物の進化を摸倣して、最善・最適の分子を創製していく研究の重要性がより顕在化していくことが考えられる。

● 標的とする生体高分子間相互作用

従前の創薬研究では、鍵と鍵穴形式で相互作用するリガンドと生体高分子の複合体（酵素や小分子リガンド受容体等）の機能制御に力点が置かれてきた。中・長期的には、タンパク質 - タンパク質間相互作用、タンパク質–核酸相互作用を制御する機能性分子群を設計・合成し、機能評価する研究が本格化していくと考えられる。これらの相互作用は核内で起こるので、細胞膜透過性の低いバイオ医薬品では制御困難であり、低／中分子医薬の独壇場となる可能性が高い。これらタンパク質 - タンパク質間／タンパク質–核酸相互作用は、転写、増殖、分化、細胞死等の生命現象を司るシグナル伝達を担っている。これらの相互作用を変調・制御できる機能性分子の開発は重要であり、生命科学研究・創薬研究を革新する可能性を秘めている。

タンパク質同士は、一般に比較的広く浅い形状の領域（1,500-3000 Å $^2$）で相互作用している。この相互作用を特異性に低濃度で制御する医薬品開発の成功例はほとんどない。タンパク質間の相互作用領域を標的とする低／中分子群を設計・合成し、そのリード化合物を創製していく研究は、基礎・応用の両面から非常に重要である。

● コンピューテーションとの融合

化合物の薬効や標的分子の予測へのコンピューテーションの導入は少しずつ展開されているが、化学反応の予測は容易ではないとされていた。しかしここ数年、機械学習とリアルタイム測定を組み合わせた有機合成ロボットを用いることで化学反応スペースを効果的に探索することができることが報告され、そこでは新しい化学反応が見出されている[17]。また、難しいとされていた反応収率や生理活性化合物の全合成ルートのコンピューターによる予測や提案の成功例が報告されている[18,19]。化合物の創製から標的分子の推測、副作用や主作用の予測まで、ケミカルバイオロジーとコンピューテーションの融合が今後ますます重要な研究課題になる。

### （6）その他の課題

化合物をさまざまな生命現象の解明に適用しようとするケミカルバイオロジーの分野では、分野連携が特に重要である。この事実はよく認識されていて、例えば新学術領域研究「天然物ケミカルバイオロジー」や「化学コミュニケーション」では化学合成、化合物探索、生物活性評価、情報科学の専門家が集まり、そこではコラボレーションが推奨されている。しかしそういった研究領域に参加していない研究者の方が大多数であり、オールジャパンでの情報交換と共同研究開発を推進しやすい場の設定が必要である。そこではアカデミアと企業の研究者が集まり、産業的なニーズと基礎技術の展開について状況をシェアするべきである。

アカデミアでは、“尖った”手法や分子にこだわりと熱意を持つ研究者が多い。天然物アナログや中分子を基盤としたケミカルバイオロジー・創薬研究を着実に進展させるためには、米国のようにアカデミア発の基礎研究をベンチャー企業で孵化させ、中・大規模企業へ橋渡ししていくシステムの構築が不可欠と考えられる。日本のケミカルバイオロジー研究に興味を持つ企業は大半が中規模企業であり、大学との共同研究を活性化する仕組み（A-STEP 等）は限定的と判断せざるを得ない。ベンチャー企業による活動を官民一体となってサポートし、優秀で若い人財がチャレンジングな課題に果敢に取り組める仕組み・体制の整備が鍵を握ると考えられる。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | → | ・天然物化学での伝統があり、有機化学分野も世界をリードしてきた。生物活性分子の探索・合成研究の実力・実績が国際的に評価されている。<br>・伝統的な化合物探索とユニークなアッセイ系の融合により、新しい作用機序を持つ抗生物質ライソシンなど、創薬シードとして有用なものが報告されている[20]。<br>・ケミカルツールを用いた可視化技術の進展は顕著で、例えば東京大学の浦野泰照らによる腫瘍の可視化プローブの開発は目覚ましいものがある[21]。また、京都大学の浜地格らの開発するプローブは夾雑系の生体内における特定のタンパク質機能の活性観測を可能にしている[22]。<br>・大型研究プロジェクトが複数推進されており、化合物の取得・創製、化合物を用いた細胞機能の解析手法の開発が盛んにおこなわれている。新学術領域研究（「生合成リデザイン」、「化学コミュニケーション」、「分子夾雑化学」）はその好例であり、常に新しい領域開拓が試みられている。研究者人口も多く、独創性の高い研究成果も継続的に生み出されている。一方で、有機化学と生命科学を融合する学際的な取り組みは少ない。<br>・大学院生・若手研究者育成策が現段階では十分に機能しておらず、博士課程進学率や国際一流誌への論文投稿数が低迷している。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・日本の主要製薬企業の大半は、国際的には中規模である。オープンイノベーション等も試行されているが、リスクの高いプロジェクトにチャレンジする余力は限定的である。<br>・中規模企業の数に比して、基礎研究を孵化させていく橋渡し役のベンチャー企業が圧倒的に少ない。また、革新的なアプローチを育てていける目利き人材も少ない。ペプチドリームのような成功モデルもあるので、革新的創薬のみならず、我が国の強みであるものづくり関連企業（精密計測・分析・診断・治療機器）との連携を進めて、予防医学、診断薬、センサー、次世代型治療等についても社会実装へ繋がる取り組みを強化する必要がある。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | ・ケミカルバイオロジー分野でも世界を牽引している。有機化学、医薬化学、生物学のいずれもトップの実力があり、革新的な研究が生まれ続ける仕組みが有効に機能している。<br>・質量分析計を基盤にした情報解析（Molecular networking）やメタゲノム情報を効果的に取り入れることで、新しい化学構造を持つ生理活性化合物が天然から取得されている。<br>・タンパク質をケミカルプローブで標識することでタンパク質の機能を解析する、ケミカルプロテオミクスが秀逸な研究者によって推進されている。UCSD の Mike Burkart らは天然物の生合成タンパク質[23]、スクリプス研究所の Benjamin Cravatt 博士らはヒト疾患タンパク質の解析に応用展開している[24]。<br>・感染症治療薬の創出にむけて、微生物が環境中から鉄を取り込むために用いる低分子化合物シデロフォアを利用した戦略が試みられている。MIT の Elizabeth M. Nolan らは、シデロフォアに抗生物質を結合させることで抗生物質を病原性細菌に選択的に効かせることを可能にしている[25]。<br>・伝統的な感染症治療薬アムフォテリシン B の改変体を高度な化学合成力で創製することで、イリノイ大学の Marty Burke らは低毒性の化合物創出に成功している[26,27]。<br>・分野横断的学際研究、産学共同研究等についても最もアクティビティーが高い。優秀で活力のある人材が豊富で流動性も高い。化学者が NIH から予算を獲得することができ、研究資金も世界トップレベル。 |
| 米国 | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・シリコンバレーに代表されるように世界屈指の大学の周辺にベンチャー企業・中・大規模規企業が産業クラスターを形成している。<br>・最先端技術産業やベンチャー企業がひしめき合いながら応用開発研究を他の追随を許さないスピード感とスケールで展開している。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | → | ・ドイツ、スイス、英国の三カ国を中心として、ケミカルバイオロジーや有機化学研究を牽引する実力がある。有機化学・基礎医学研究とも世界トップレベルである。スイスの ETH, ドイツのマックスプランク研究所、英国トップ校には、素晴らしい研究成果が継続的に発信されている。人工生合成の分野はドイツに強みがある。<br>・独・ミュンヘン工科大学のグループ（Stephan A. Sieber ら）は化学反応性の高い天然物に注目し、ケミカルプロテオミクス解析により生理活性化合物の細胞内標的を効率的に明らかにしている[28]。<br>・スイス ETH の研究グループ（Jörn Piel ら）は海洋生物内のメタゲノム情報の解析を得意とし、海綿に含まれる数々の生理活性物質が難培養性の共生微生物がコードする遺伝子クラスターにより産生されることを次々と示している[29]。鍵になる生合成酵素の生化学的検証も堅実に行っており、新しい生合成反応を見出している[30]。<br>・独 HKI の Christian Hertweck らは多くの天然物の生合成を明らかにしてきたが、ジャガイモや稲の病原菌の産生する化合物の生合成経路を明らかにするなど、農学的な応用も期待される[31]。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・スイスは国際的な製薬企業が多く、欧州をリードしている印象である。ドイツ、英国も新薬を創出できる実力を維持している。ベンチャー企業育成や新産業創出へ向けた取り組みは限定的か。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・ 研究のレベルが格段に向上した。海外で研鑽を積んだハイレベル人材招致国家プロジェクト（千人計画）等により、研究者の国際的な流動性が高い。米国や欧州から帰国した 30-40 代 PI の活躍により、独自性が高く、世界を先導するような研究が続々と発信されるようになってきた。博士取得→海外留学→帰国してキャリア形成というビジョンを持った学生の割合も増加している。母国に帰還して若手研究者への手厚いサポート、豊富な資金力に支えられ、基礎研究をアグレッシブかつ楽観的に推進できる環境が整備されている。短期的には産業に直結しない（天然物全合成研究等）基礎研究についても、中長期的で持続的な科学技術研究開発力の強化という観点から、しっかりと育成する方針を採用している点は特筆に値する。また、最近では、日本トップレベルの研究者を招聘して、基礎研究力の向上にも努めている。<br>・ 化合物探索を行う研究グループは非常に多く、アメリカ化学会の専門誌でも化合物報告の半数は中国のグループからのものである。また化学合成力の高い研究グループが散見され、化学のトップジャーナルにも複雑化合物の全合成の報告がしばしば掲載されている。<br>・ ウリ科植物中の苦み成分の生合成遺伝子を比較ゲノム解析から同定しており [32,33]、品質改良された遺伝子改変作物の創出も予想される。<br>・ 上海に中国科学院・国家化合物祥品庫があり、約 100 万個の化合物を保有。国内研究者に提供している。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・ 新薬開発製薬企業が少なく、歴史が浅い。国家主導の経済特区（深圳等）や主要都市では、基礎研究力の高い基幹大学と産業応用を試行した企業との連携を推進する試みがある。ケミカルバオロジー関連産業では、独自性の高い技術を社会実装した例は限定的と推定される。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | → | ・ 他国の研究を追従するアプローチが主流であるが、トップ大学では独自性の高い研究も展開されている。<br>・ 海外から帰国した研究者による化合物の標的分子同定の方法論構築や生理活性化合物を用いた生物学の展開がなされている。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・ 財閥関連産業が主流であり、ケミカルバイオロジー関連の企業が少ない。新薬を導出できる規模の製薬産業基盤が整っていない。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1) Stanton B.Z., Chory E.J. & Crabtree G.R. “Chemically induced proximity in biology and medicine.” Science 359, 1117 (2018) DOI: 10.1126/science.aao5902.

2) http://crewslab.yale.edu/research/induced-protein-degradation-protac/

3) Science

4) Uehara T, et al. “Selective degradation of splicing factor CAPER α by anticancer sulfonamides.” Nat Chem Biol. 13, 675-680 (2017) . DOI: 10.1038/nchembio.2363.

5) Bérdy, J. “Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading.” J. Antibiot. 65, 385–395 (2012) . DOI 10.1038/ja.2012.27.

6）Cimermancic P. et al. “Insights into secondary metabolism from a global analysis of prokaryotic biosynthetic gene clusters.” Cell 158, 412–421（2014）. DOI 10.1016/j.cell.2014.06.034.
7）Donia M.S. et al. “A Systematic analysis of biosynthetic gene clusters in the human microbiome reveals a common family of antibiotics.” Cell 158, 1402–1414,（2014）. DOI 10.1016/j.cell.2014.08.032.
8）Crits-Christoph A., Diamond S., Butterfield C.N., Thomas B.C. & Banfield J.F. “Novel soil bacteria possess diverse genes for secondary metabolite biosynthesis.” Nature 558,440-444（2018）. DOI 10.1038/s41586-018-0207-y.
9）Cell, 168, 527-541, 2017
10）Science, 341, 84-87, 2013
11）Piotrowski JS, et al. “Functional annotation of chemical libraries across diverse biological processes.” Nat Chem Biol. 13, 982-993（2017）. DOI: 10.1038/nchembio.2436.
12）Tang,X. et al. “Identification of thiotetronic acid antibiotic biosynthetic pathways by target-directed genome mining.” ACS Chem Biol.10, 2841－2849（2015）. DOI: 10.1021/acschembio.5b00658.
13）Yan, Y. et al. “Resistance-gene-directed discovery of a natural-product herbicide with a new mode of action.” Nature 559, 415-418（2018）. DOI: 10.1038/s41586-018-0319-4.
14）NEWS in Nat Biotechnol. 36, 674（2018）.
15）Ziemert, N.; Alanjary, M.; Weber, T. “The evolution of genome mining in microbes －a review” Nat. Prod. Rep. 2016, 33, 988-1005.
16）Trobe, M.; Burke, M.D.; "The molecular industrial revolution: automated synthesis of small molecules" Angew. Chem. Int. Ed. 2018, 57, 4192-4214.
17）Granda JM, Donina L, Dragone V, Long DL, Cronin L. “Controlling an organic synthesis robot with machine learning to search for new reactivity.” Nature 559, 377-381（2018）. DOI: 10.1038/s41586-018-0307-8.
18）Ahneman D.T., Estrada, J.G., Lin, S., Dreher, S.D. & Doyle A.G. “Predicting reaction performance in C-N cross-coupling using machine learning.” Science 360, 186-190（2018）. DOI: 10.1126/science.aar5169.
19）Klucznik, T. et al. “Efficient Syntheses of Diverse,Medicinally Relevant Targets Planned by Computer and Executed in the Laboratory.” Chem 4, 522–532（2018）.
20）Hamamoto, H, et al. “Lysocin E is a new antibiotic that targets menaquinone in the bacterial membrane.” Nat. Chem. Biol. 11, 127-133（2015）. DOI: 10.1038/nchembio.1710.
21）https://www.u-tokyo.ac.jp/focus/ja/articles/a_00504.html
22）http://www.sbchem.kyoto-u.ac.jp/hamachi-lab/
23）http://burkartlab.ucsd.edu/index.html
24）https://www.scripps.edu/cravatt/
25）Neumann, W., Sassone-Corsi, M., Raffatellu, M. & Nolan, E.M. “Esterase-catalyzed siderophore hydrolysis activates an enterobactin-ciprofloxacin conjugate and confers targeted antibacterial activity.” J. Am. Chem. Soc. 140, 5193-5201（2018）. DOI: 10.1021/jacs.8b01042.
26）Wilcock, B.C., Endo, M.M., Uno, B.E. & Burke, M.D. “C2'-OH of amphotericin B plays an important role in binding the primary sterol of human cells but not yeast cells.” J. Am. Chem. Soc. 135, 8488-8491（2013）. DOI: 10.1021/ja403255s.
27）http://faculty.scs.illinois.edu/burke/index.php?p=home
28）https://www.oc2.ch.tum.de/index.php?id=329&L=0

29）Wilson, M.C. et al. “An environmental bacterial taxon with a large and distinct metabolic repertoire.” Nature 506, 58-62（2014）. DOI: 10.1038/nature12959.
30）http://www.micro.biol.ethz.ch/research/piel.html
31）https://www.leibniz-hki.de/en/institut-staff-details.html?member=4
32）Shang, Y. et al. “Biosynthesis, regulation, and domestication of bitterness in cucumber.” Science 346, 1084-1088（2014）. DOI: 10.1126/science.1259215.
33）Zhou, Y. et al. “Convergence and divergence of bitterness biosynthesis and regulation in Cucurbitaceae.” Nat. Plants 2, 16183（2016）. DOI: 10.1038/nplants.2016.183.

## ２．１．４　構造解析技術

### (1) 研究開発領域の定義

構造生物科学とは、複雑な生命の仕組みに原子の空間的配置から迫る学問である。タンパク質などの生体分子の立体構造をX線結晶構造解析やNMR分光法、電子顕微鏡解析などによって決定し、原子分解能のレベルで解明する研究である。生体分子が細胞中では動的な性質（ダイナミクス）をもち、他のタンパク質や核酸などと多数の相互作用を持つことを考慮し、単一の実験手段ではなく、複数の構造解析技術や分子動力学（Molecular Dynamics, 以下MD）などの計算科学技術によるデータを統合することで、分子メカニズムを根本的に理解する研究へと発展している。創薬など応用的な産業分野に広く貢献する。

### (2) キーワード

X線結晶構造解析、NMR、クライオ電子顕微鏡、X線自由電子レーザー（XFEL）、SACLA、分子動力学（MD）、計算機シミュレーション、創薬

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

生命を物質としてとらえ、遺伝子情報をアミノ酸の空間情報へとつなぐ。生命を化学と物理のことばで記述するために情報を得る。得られる知見から実際に生体分子が機能する仕組みが説明可能となり、ひいてはそこで起きる化学反応から、信号が生まれ伝達される仕組み、形が生まれる仕組み、力が生まれる仕組み等々について原子レベルから説明が可能になる。対象とする分子は単独で機能するわけではなく、複雑でダイナミカルなネットワークを築き、互いの連関によって生命体の存続を担っている。

ヒトの一つの細胞は数十億個のタンパク質分子をもつと言われており、個々のタンパク質は、その平均相互作用距離が水分子数個分と推定されるような、非常に狭い空間に封じ込められている。このような細胞の中でタンパク質どうしの局在、移動、相互作用、機能調節は時間的空間的に厳密にコントロールされ、緊密なネットワークを作り、機能の統合、生命機能の実現がなされている。こうした遺伝子の産物、そしてそれらによって作られる分子の相関を２次元平面情報ではなく、３次元の座標として、さらに時間を加えた４次元として捉え、生きている姿に近づいて生命を理解するのが現代の構造生物科学である。

分子生物学は遺伝子（タンパク質）を記号化して生命システムの中での働きを理解することに威力を発揮したが、現実に生命を制御している精緻なしくみを探るには、生命反応を実行している主体であるタンパク質などの機能性生体分子の形（構造）を明らかにする必要がある。

構造生物科学で得られた知見の利用としては、創薬が代表的で、その中でも身近なものとしては抗インフルエンザ薬であろう。DANAからザナミビル（リレンザ）開発へ、そして、経口薬への転換としてオセルタミビル（タミフル）への開発と進んだのは、原子構造情報が存在し、そこから低分子薬をデザインするための計算機を使ったシミュレーションなどの技術があったからである。このような高い価値をもった成果が手に入るため、構造を得るための測定技術の開発には多くの労力が注がれ、長い年月が費やされている。

［研究開発の動向］

近年の本領域における世界最大規模のプロジェクトとして、米国における構造ゲノムプロジェクト「Protein Structure Initiative（PSI）(2000-2015)」があげられる。巨額の資金が投入され、５年区切りで３つの段階分けて実施された。第一段階は、構造決定のためのパイプラインの整備、技術の向上；第二段階は、第一段階で確立されたインフラを使った構造決定とパイプラインの整備、技術の向上；第三段階は、第一段階、第二段階で確立された事項を継承し、生物学を理解するための構造、生体機能に重要なタンパク質の構造を決定することを目的とした。当該大型プロジェクトは、決して単発終了型のものではなく、その後も個々の研究に関しては、米国国立衛生研究所（NIH）, 米国科学振興会（NSF）を通して継続遂行されている。特に基盤的設備である放射光施設、得られた生体分子の原子構造のデータベースであるProtein Data Bank（PDB）の運営については、政府がサポートを続けている。こうした背景が現在の米国における構造生物科学・構造解析技術の基盤になっている。

一方、欧州 FP7 では、30 の研究者からなる、EDICT（European Drug Initiative on Channels and Transporters）が形成され、15 M ユーロ（24 億５千万円）が拠出された(2008-2011)。このプロジェクトにより、創薬標的のトランスポーターや膜チャネルの構造機能解析が大幅に進んだ。PRIME-XS（2011-2015）のようなプロテオミクスのための基盤整備や、Biostruct-X（2011-2016）のように X 線結晶構造解析による統合された支援システムの構築と提供といった複数の大型プロジェクトが遂行された。次の Horizon2020 では、iNEXT（2015-2019）が実施されている。構造生物科学で得られた基礎的な知見を生物科学の応用へと移行を図ることを謳った事業である。X 線、NMR、電子顕微鏡といった代表的な構造解析技術を使用してデータ取得を行いたい研究者が iNEXT に申請し、専門家による審査を経て採択されると、共同研究を通じて施設での実験を行う仕組みとなっている。インフラ構築の面では、フェーズ 1 が 2010 年からスタートし、現在まで続いている EURO-BIOIMAGING（EuBI）がある。構造生物科学というだけではなく、光学顕微鏡などの生物学、医学におけるイメージングの技術とデータ管理を扱った大型プロジェクトである。このように大型施設を必要とする構造生物科学は、特に欧州において共同利用施設化による運営、その維持における継続した試みがみられる。

日本では、文部科学省大規模研究開発事業「タンパク 3000 プログラム」（平成 13 年～ 17 年）および「ターゲットタンパク研究プログラム」（平成 19 年～ 23 年）などの戦略的な研究推進により、我が国の構造生物学研究環境は、SPring-8 や KEK の放射光施設の高度化および構造解析用 NMR 装置の導入など大きな進展をみせ、同時に若手研究者の育成に成功した。

特定の構造解析技術に特化した大型プロジェクトとしては、米国スタンフォードの LCLS や我が国における理化学研究所播磨事業所における SACLA に代表される X 線自由電子レーザーの開発・運営があげられる。フェムト秒のパルス光を用いて測定を行うため、タンパク質結晶が X 線による損傷を受けていない状態の構造を明らかにすることができる。したがって光合成系など X 線損傷に敏感な膜タンパク質であってもその影響を受けていない状態の立体構造を明らかにできる。非凍結の結晶を用いるため、時間分解能をもった膜タンパク質の構造解析の可能性も開けてきている。欧州の XFEL がある DESY や、スイスのポール・シェラー、韓国の PAL-XFEL よりも早くからユーザー向けの稼働を行っている。中でも我が国の SACLA は国家基幹技術として推進され、実際に 2016 年に Science 誌に報告されたバクテリオロドプ

シンにおける構造変化の研究や[1]、2017 年に Nature 誌に報告された光化学系 II 複合体の反応中間体構造[2]、2018 年の Nature 誌報告のバクテリオロドプシンのレチナール異性化[3]など、世界でもトップの成果を継続的に排出し続けている。

構造解析技術で特に大きな進展をみせたのは、クライオ電子顕微鏡技術である。結晶を作製せずに生体分子の画像のみから原子モデルを構築する構造解析技術である。電子顕微鏡で得られた構造のデータベース（EM Data Bank または EMDB）において現在 9 割以上の登録データは、Thermo Fischer Scientific 社の電子顕微鏡によって得られたものである。高い品質の画像が得られるということは言うまでもないが、自動撮影機能や一旦観察した凍結試料を回収して再び観察可能な仕組みなど、ユーザーが非常に高い作業効率でデータ取得することを実現する機能が満載のクライオ電子顕微鏡を販売し、それがこれだけの世界的なデータ量産につながっているのは間違いない。同社のクライオ電子顕微鏡は、海外では米国が最も多く、100 台以上が導入され、ついでドイツが 30 台以上、3 位が中国で急激に導入数を増やしている。日本は、4 位の英国についで 5 番目である。我が国でも若い研究者が二次元結晶の解析を止めて、最新の単粒子解析法に切り替えることで、国産の日本電子製のクライオ電子顕微鏡を使って膜タンパク質の構造を得ることに成功している。モデリングが可能な分解能に到達したことで信頼性が一気に高まったといえよう。このような流れにおいて結晶が得られないターゲット分子が構造解析対象となり、多くの研究者が利用を希望するようになった。

一方でクライオ電子顕微鏡の高機能高性能化は価格を押し上げ、かつてのように一研究室が保有し維持することは大変困難であり、また望ましくない。そのため、クライオ電子顕微鏡の共同利用施設としての運営が世界的にも取り組みがなされ始め、そのこと自体が 2017 年には論文となって報告された[4]。それによると、米国の National Resource for Automated Molecular Microscopy（NRAMM）によってオーガナイズされたクライオ電子顕微鏡大規模施設のマネージメントに関するワークショップが 2017 年 2 月に New York Structural Biology Center で開かれた。米国だけでなく、EMBL や英国の eBIC、カナダのマギル大学などが参加した。逆にこれまで放射光施設のような組織だった共用施設としての運営がさほど行われていなかったことをうかがわせるものである。

我が国においても、ナノテクプラットフォームや科研費の枠組みで ABiS といった取り組みはあるものの、構造生物科学に焦点を合わせた大規模な運営といえば、2017 年度から始まった AMED の BINDS 事業であろう。東京大学と大阪大学タンパク質研究所にハイエンドのクライオ電子顕微鏡設備が整備され全国の支援希望者が利用を始めている。他には、沖縄科学技術大学院大学（OIST）のクライオ電子顕微鏡施設群が、国内ではずば抜けて充実しており、今後の共同利用の成果が期待される。国産の日本電子製でレベルの高い成果を出している施設としては、大阪大学の生命機能研究科と名古屋大学が管理する施設があげられる。これら全ての施設を合わせても先ほど述べたように世界的には少ない。

NMR については、過去数年間で動的構造解析やリアルタイム測定の観点から広範な応用展開が図られた。国内では Bruker 社の 950MHz と 800MHz の装置が大阪大学と横浜市立大学に設置され、理研の 900MHz や 800MHz の装置などを含めて広くアカデミアや企業に公開・使用され、NMR の使用に関するノウハウが浸透している。これらの大型装置は一機関で保持するには維持費や更新費などを含めて困難になってきているのでプラットフォーム化して公開することで応用展開が急速に進展した。高磁場装置やクライオプローブの使用などによる

NMR の高感度化は LC-NMR による代謝化合物のリアルタイムでの構造解析や細胞内の酸化還元状態のモニタリングなど適用範囲を急速に拡大している。また動的構造解析としては東大嶋田グループによる GPCR の動的構造解析や横浜市大西村グループによる天然変性タンパク質の構造解析がある。固体 NMR に関しても大阪大学藤原グループの DNP による高感度化や理研と日本電子や横浜市大と Bruker による高速回転 MAS による材料系の測定は顕著な成果が上がり、タンパク質への適用が急速に図られている。しかし、高磁場装置 NMR 装置の設置は国内ではまだ限られており、高度化の展開はまだ欧米に比して遅れていると言わざるを得ない。特に欧州で非常に成果が挙がっている生化学反応のリアルタイムモニタリングや巨大タンパク質の天然変性領域の解析や固体 NMR による原子レベルでの複合体構造解析など派手ではないが着実に専門雑誌に成果が報告されている。

また次世代 NMR 装置でも日本電子では超高磁場装置の開発を目指しているが、装置の高度化に見合った測定における高感度化や長時間安定性など、特にタンパク質などの高感度測定の点で Bruker に完全に遅れている。Bruker は欧州、特にドイツ、フランス、オランダ、イタリアに加えて最近は英国の支援も含めて着実にタンパク質の実際の測定に適用できる大型装置を開発している現状であり、ただ単に大きな装置一台開発すればよいという日本の現状の間には構造生物学 NMR として相当なギャップがある。超高磁場 NMR 装置として、日本は理研を中心に 1.3GHzNMR 装置一台の開発を 10 年計画で開始した。Bruker は 1.2GHz の販売を開始し 2018 年に 1 号機を導入予定で、既に欧州を中心に 10 台を受注し、アジアでは韓国が発注予定であり、日本は現時点では未発注で最短でも今のままでは 2024 年以降の導入にならざるを得ない危機的な状況である。

X 線結晶構造解析、X 線自由電子レーザー、クライオ電子顕微鏡単粒子解析、NMR の主要な構造解析技術で得られた結果全てと関連があるのが、生体分子シミュレーション技術である。ゲノム解析・遺伝子ネットワークとともに計算機科学分野における一つの主要な項目である。基本的に全原子分子動力学、粗子化分子動力学の２つに分かれる。前者のアプリケーションとしては、世界的に普及しているものが数多くあり、AMBER（米国）、CHARMM（米国）、DESMOND（米国）、GROMACS（蘭国）、LAMMPS（米国）、NAMD（米国）、TINKER（米国）などは全て海外で開発されたものである。国内で開発されたものとしては、MARBLE、MODYLAS、GENESIS がある。計算スピードとしては、その手法をハードウェアに組み込んだものが速いのが現状である。粗子化分子動力学法をとりいれたソフトウェアとしは我が国における CafeMol があげられる。構造変化の可視化ができるようになってきたクライオ電子顕微鏡単粒子解析の結果に対しては、本手法が多く用いられているようである。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

- クライオ電子顕微鏡では、2018 年 7 月に東大のグループが 1.62 Å という驚異的な分解能の解析に成功し、実際にこれまでにない高品質のデータであることがアナウンスされている。クライオ電子顕微鏡による単粒子解析は、近原子分解能の域を出ないと思われていたが、難結晶性の試料に対して X 線結晶解析を凌ぐデータ取得が可能な時代の到来である。この進化はしばらく続くものと思われる。
- クライオ電子顕微鏡による構造解析は日進月歩で進化しているため、構造の解像度も従来

とは比較にならないほど向上している。そのため、de novo 解析（既存の X 線構造を用いない）で立体構造が解かれている例が増えている。しかし、一方で原子解像度の X 線結晶構造を用いた flexible fitting によって構造精密化できる場合も多い。Flexible fitting においては、分子動力学などのシミュレーションを使って X 線結晶構造をフレキシブルに扱い、ターゲット構造へとつなげる。

- シミュレーションの長時間化にともない、分子力場（エネルギー関数）の信頼性の問題が顕在化している。指摘されている問題は、1）タンパク質間相互作用が強すぎる、2）天然変性タンパク質がよりコンパクトな状態として予測されている、3）タンパク質・脂質膜の相互作用も強すぎる、ことなどである。力場の改善は続くものの、ベイズ統計などビッグデータ解析の手法を取り入れることによって、シミュレーションで避けることのできないモデル依存性を減らした動的構造解析を行う可能性が見えてきた[5)]。
- 構造多形解析へのクライオ電子顕微鏡、AFM、X 線自由電子レーザーを使った取り組みは、世界的に大きな一つの流れとして始まっている。また、大きさ 68nm の非常に複雑な巨大分子フィコビリソームの構造がクライオ電子顕微鏡解析によって 2017 年に Nature に報告されたように従来は不可能と考えられていた複雑で明かに結晶化不能な分子についての解析の取り組みもなされている。
- 細胞や組織環境下での構造解析が次世代の構造解析技術として注目されており、それには、半導体など無機物の切削に使用していた Focused-Ion Beam（FIB）にクライオ技術を加えた装置の展開がみられる。国内でも、OIST に 1 台あり、新型が東大と阪大蛋白質研究所で 2018 年度から稼働している。
- X 線結晶構造解析、NMR についてはデータ取得から解析まで急ピッチで自動化が進んでいる。ピクセルディテクターなどの導入により放射光施設ではスピード自体もかつてとは比較にならないくらい進んでいる。クライオ電子顕微鏡は、自動化が遅れており、現在各地で開発の努力がなされている。特に凍結方法のロボット化についての開発が、海外を中心に話題になっている。
- 細胞内で生じる相分離（Phase Separation）が多くの生命現象と関係していることが分かってきた。細胞質のみならず染色体においても DNA、RNA と天然変性タンパク質との相互作用で相分離・相転移的に大きな変化が生じている。
- エクサフロップスの計算パワーによって、化合物ライブラリからのより早い結合定数計算が試みられている。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

- 英国の放射光施設 Diamond や、スタンフォードの SLAC、そして我が国のエネルギー加速器研究機構（KEK）には、ハイエンドのクライオ電子顕微鏡が導入され、運営が始まっている。特に放射光施設では、共同利用施設としての運営のノウハウが蓄積していることから、スムーズに導入と運営開始が進んでいる。これからこうした放射光施設とクライオ電子顕微鏡の物理的にも同一箇所での運営は益々進むものと思われる。
- AMED における BINDS 事業（平成 29 年度～）の中の構造解析ユニットは、ターゲット分子の発現・精製から X 線結晶構造解析、クライオ電子顕微鏡解析、NMR、計算機シミュレーションによる支援、データベースによる支援と、本領域における全てをカバーし、実

質的に日本における構造生物科学を牽引している。

- 自動化やクライオ電子顕微鏡の参入によって加速的に増えている構造生物科学の成果は、Protein Data Bank（PDB）によって人類の財産として整備管理されている。日本ではPDBjとして、他の米国（RCSB PDB）、欧州（PDBe）と連携して早くからこのPDBの管理に貢献し世界的にも大きな役割を果たしている。現在では、クライオ電子顕微鏡の大規模生データを登録するEMPIARが進められ、まだ十分ではないが、今後スタンダードになってくると思われる。このEMPIARにもPDBjは貢献している。それによって計算結果の妥当性の検証等が進むものと期待される。
- 電子顕微鏡技術、光学顕微鏡を組み合わせた相関構造解析がライカなどの企業がシステマティックな装置を開発していることで汎用性が広まる可能性がある。国内でも日本電子と日本光学が共同で開発を行っている。これも次は細胞・組織環境下での分子形状観察という流れである。
- NEDOにおいてクライオ電子顕微鏡の凍結装置に関する新型の開発が行われている。
- 日本電子によって、高性能の冷陰極電界放出型電子銃を備えたクライオ電子顕微鏡装置の開発がなされており、さらに高分解能化進むものと期待されている。

### （5）科学技術的課題

総じて、これからの技術展開のキーワードは、「細胞環境」、「相関解析」、「自動化」、「大規模データ処理」と考えられる。大きな流れとしては、特定の手法に依ることなく、生物学、医学の研究者が研究を展開できる環境が整備されていく必要がある。

- 非常に速い分子の動きについて、光応答するものについてはSACLAで解明が進んでいる。これを光ではなく、基質との結合など、より一般化していくことは課題である。結晶の中の分子すべてを同調させるのは難しい課題である。
- 結合の弱い相互作用をする分子同士の構造生物学的研究は、非常にチャレンジングなテーマで、様々な学会、研究者間の議論で頻繁に出てくる話題である。生体内では、多くはこうした相互作用であると考えられ、計算機シミュレーションとあわせて新しい解析方法のアイデアを創出することが先決である。
- 天然変性タンパク質の近年の報告を考えると、生理的な役割が大きく、新しいアプローチが期待される分野である。細胞環境の中で初めて機能を測定できるような構造について、構造解析は急務となっている。これまでも紐状天然変性領域の一部が標的タンパク質に結合してヘリックス等を取る場合や伸びた紐として結合する場合は溶液NMRやSAXS等で解析されている。しかし最近天然変性領域同士が非常に強く特異的にしかも動的に結合する例が報告されてきた。動的な挙動はNMRで解析され、その相互作用部位もNMRで同定できるようになってきたが、動的な複合体構造をどのように記述し表示するかに関してはまだ研究途上である。動的な複合体構造に関してはMD計算によるシミュレーションと一緒に表示する例が多いが天然変性領域のMD計算もまだ研究途上でありNMRとタイアップした解析が必要である。計算量だけでなく、天然構造と変性構造の両方を再現できる分子力場（エネルギー関数）の開発が必要である。
- エピゲノムの動的な構造解析（超分子タンパク質複合体、細胞内タンパク質、タンパク質と協同してネットワークを形成するRNA、タンパク質複合体等の構造とダイナミクス解

析）が急務である。エピゲノムはDNAのメチル化やヒストンの化学修飾などの分子生物学的解析が急速に進展し、発生、分化、老化に伴って変化する実態が分かって膨大なデータが蓄積されつつある。それに伴ってiPS細胞やES細胞更には各種のがん細胞で解析も進行している。しかしエピゲノムの構造的な理解はほとんど進行していない。ヒストンの化学修飾は殆どの場合ヒストンテイルの天然変性領域であり化学修飾によりヌクレオソームのコアの構造はほとんど変化しないので、結晶構造やクライオ電顕構造ではエピゲノムの実態に迫ることは非常に困難である。ヌクレオソームを溶液NMRで解析するとヒストンテイルのみが観測でき化学修飾による動的構造の変化を追跡できる。ここ数年間で溶液NMRによる研究が急速に進展しているのでNMRによる動的構造解析で老化やがん化によるクロマチン基本構造の変化の実態を解明できる可能性が高い。

- 大腸菌など原核生物の1細胞を、原子・分子解像度で再構築し、そのダイナミクスとともに分子機能とそのネットワークを理解する。原核細胞のみならず、真核細胞におけるオルガネラなどもターゲットになりうる。
- MAS高速回転固体プローブの高速での試料管の安定性や微量試料のハンドリングや更にはクライオプローブの開発は急務を要する。これらが解決すると極微量の巨大タンパク質で天然変性部位と構造をとっている部位を別々に観測でき結晶構造やクライオ電顕構造と比較することによって巨大タンパク質の全体の動的構造を解析できることになる。装置の大型化ではなく付属装置の高感度化や安定化の開発が急務であるが、それら付属装置だけでも数千万円になる現状では一機関で維持管理するのは困難であろう。
- In cell NMRは細胞内のタンパク質の挙動を観測するNMR手法である。細胞内ではタンパク質が限られた空間に存在し、通常のin vitroにおける環境と大きく異なる分子混雑環境を形成している。そのような条件下でのタンパク質の機能発現を解明することは、生命科学に大きく貢献すると同時に、医薬品候補化合物が、細胞内でどのように薬効を発揮するか、創薬開発研究においても重要な課題である。したがって、細胞内タンパク質のリガンド、エフェクター相互作用は興味のもたれる分野あるが、in cell NMRの感度的限界により、十分な解析が行われていない。今度、測定法、試料調整法などを改良することで、in cell NMRに高感度測定・解析法の確立が必要になる。

### （6）その他の課題

今後の日本の状況を考えた際、特に医学生物学研究者の計算機資源や計測機器へのアクセスやノウハウの取得を容易するための研究支援体制などのプラットフォーム整備が喫緊の課題である。京を利用することができるものの、与えられた計算資源は十分ではなく、また多くの待ち時間が発生するために真に挑戦的なシミュレーションを実行することが困難であり、この分野の計算に適した計算機センターや拠点の整備が必要である。

分野間連携では、生物学・医学研究者の積極的なプロジェクトへの参加と、X線、NMR、電子顕微鏡、中性子、1分子解析、計算科学、物理計測、ケミカルバイオロジーなどの研究者との密接な共同研究を促す仕組み作り。単に連携するだけでなく、複数の計測・シミュレーションの結果をいかに統合して動的な構造を得るかが最も重要である。

人材育成は、X線、NMR、電顕で大問題である。利用する人口、つまりユーザーは増えているが、装置の面倒や解析の本質を理解している専門家が逆に減っている。もともとそのよう

な縁の下の力持ちとしての専門家志望の人口が少ない上、一朝一夕に育たない人を雇用期限のために雇止めしなければならない。いくら施設に貢献しても、アカデミックポジションでは、今もって論文でしか判断されない。それならば、他人の仕事に貢献するより自分の成果のみに集中せざるをえないというのが現状である。このような歪な現場の切り盛りには、施設マネージャー自体も疲弊する。かつての技官とは違った、アクティブな現場を支える専門家の育成が必要である。

産学連携においては、共同開発等は良いが、企業から構造解析を依頼されるときに大きな矛盾した問題が上がっている。秘匿案件の扱いである。もしも、全く公開不可、成果占有となると、任期付研究員、任期付職員にはまったくキャリアパスに生かせない時間と労力の無駄な業務となってしまう。研究費をもらったところで、機械の維持費には使用できても、キャリアパスには全くつながらない。依頼者を教育して自分で測定・解析してもらうというのは、もっと負担である。よって、時間貸しというのは名目だけの運営になる。サービスを企業化することで、教育され、習熟した社員が請け負って、施設は大学のものを使用料を払って使用するというのが理想的だが、それは、OIST では実現しているものの、国立大学法人では教育機関として難しい。しかし、産業界の期待と利用を考えるとこうした仕組みの実現は急務と思われる。

### (7) 国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | → | ・SACLA によるバクテリオロドプシンのレチナールの構造変換や光化学系 II の反応中間体の構造解明など経時変化に相当する構造解析において世界をリードしている。<br>・X 線結晶構造解析では、東大濡木等が世界のトップレベルの成果をコンスタントに出し続けている。<br>・動的構造研究では東大嶋田、横市西村が成果をあげている。<br>・クライオ電子顕微鏡は、AMED による装置整備がなされるまで単粒子解析を国内で行う適切な装置がなかったため、完全に出遅れた。これまで二次元結晶を使った電子線結晶学で解析しようとしていたものを単粒子解析に切り替えたところ、レベルの高い成果が出た例が先行した。現在、整備された装置による成果が集まりつつある。<br>・拡張アンサンブル法の開発や粗視化分子モデル開発では世界の最先端を走ってきた。<br>・京に向けた超並列分子動力学のソフトウェア開発がなされ、細胞環境を考慮したシミュレーションやヌクレオソーム・クロマチンの計算が推進され、優れた研究成果を挙げた（GENESIS：RIKEN）。<br>・データベースとして PDBj が大きな役割を果たし続け、その品質を維持している。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↘ | ・NMR の高感度・高磁場の装置開発が遅れている。<br>・日本電子によるクライオ電子顕微鏡開発はほぼトップレベルに追いつきつつあるが、現在世界を占有している装置と比して特色ある機能に欠ける。<br>・創薬応用に向けた MD シミュレーションは京の利用などでようやく進んできたが、それまでは世界的なレベルから遅れていた。<br>・日本は、MD 専用計算機開発では元祖にあたる。現在は MDGRAPE-4 を開発中であるなど、継続的に世界トップレベルの開発が進められている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | ・メーカーによる電子直接検出器の開発。<br>・大量のハイエンドクライオ電子顕微鏡の導入による構造生物学の促進。<br>・UCSF の Yifan Chen や NIH の Sriram Subramaniam によるクライオ電顕原子分解能解析のパイオニア的業績と、その継続的な成果によるリーダーシップ。<br>・メジャーなターゲットの構造解析によるトップジャーナルへの継続的な成果。<br>・研究開発の歴史は長く、様々な分子力場関数（AMBER、CHARMM、OPLS）が開発されているだけでなく、分子動力学パッケージ（AMBER、CHARMM、OPLS、NAMD、DESMOND）や計算手法も次々に開発されている。近年では GPU を用いた高速化に成功している。<br>・Wet 実験と連携したプロジェクトや、数理・物理と連携したプロジェクトなどが推進されており、継続的な発展が見込まれる。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・LSI（スタンフォード）による XFEL の開発促進。<br>・クライオ電顕において最大のネックとなっている試料凍結操作において、新しい装置の開発を行い、注目を浴びている。<br>・NMRの開発に関しては世界トップ。<br>・基礎研究で開発された計算手法やモデルが商用パッケージに導入されるなど、応用研究に向けた開発も行われている。<br>・創薬応用に向けた研究も数多く行われている。<br>・D.E.Shaw research における先進的な MD 専用計算機の開発。数十台の Anton、Anton-2 による創薬応用の推進など、充実した研究環境が整備されている |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・クライオ電顕では、英国 MRC が世界を牽引。スプライソソームなどの非常に複雑な分子でも成果。その運営においても eBIC 施設など英国は世界をリード。<br>・分子動力学パッケージ Gromacs の開発に集中しており、その追加機能として粗視化分子モデル MARTINI や、Metadynamics を利用するためのモジュールとして Plumed などが開発されている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・現在のクライオ電子顕微鏡（サーモフィッシャーサインティフィック）の本体はオランダにて開発され、次世代に向けた改良も進行中。<br>・現在世界標準でなおかつ 2018 年に X 線結晶構造解析に匹敵する高分解能を達成した解析ソフトウェア RELION も英国 MRC にて継続開発中。<br>・シミュレーションだけでなく、タンパク質構造分類、構造比較に長い研究の歴史がある。その知見をいかした薬剤候補分子の結合予測などバイオインフォマティクスを中心とした創薬応用開発が多く行われている。 |
| 中国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・意図的にトップジャーナルを狙ったターゲット分子の構造解析（ほとんどクライオ電顕による）を近年量産している。フィコビリソームにように解析不能と思われていた分子においても成功。非常に成果が目立ってきている。<br>・クライオ電顕の近年の導入はアジアで日本を抜いてトップ。<br>・構造生物科学の学会等の運営もアジアをリード。<br>・近年、自前の専用コンピュータ・ソフトウェアを開発しようとする計画がある。大きな予算的措置がありうる。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・創薬応用の Dry 計算・Wet 実験の連携が増えている。クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析が盛んだが、データ解析は英国と共同で行っている場合が多い。 |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | → | ・KBSI にクライオ電顕を導入し、ポスドク経験者らによる解析が構造解析が進行中。<br>・タンパク質構造予測において近年優れた成果をあげており、CASP という構造予測コンテストでは上位の成績を占めている。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・MD シミュレーションを用いる研究者の数は多くない。<br>・創薬応用も増えつつあるが、目に見える成果を上げるにはまだ時間がかかるものと思われる。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## （8）参考文献

1）Nango, E., et al. A three-dimensional movie of structural changes in bacteriorhodopsin. Science 2016, 354, 1552-1557. doi: 10.1126/science.aah3497.

2）Suga, M., et al.Native structure of photosystem II at 1.95 Å resolution viewed by femtosecond X-ray pulses. *Nature* 2015, 517, 99-103. doi: 10.1038/nature13991.

3）Nogly, P., et al. Retinal isomerization in bacteriorhodopsin captured by a femtosecond x-ray laser. *Science* 2018, 361, pii: eaat0094. doi: 10.1126/science.aat0094

4）Alewijnse, B., et al. Best practices for managing large CryoEM facilities. *J. Struct. Biol.* 2017 Sep;199（3）:225-236. doi: 10.1016/j.jsb.2017.07.011.

5）MSMBuilder HP（マルコフ遷移モデルビルダー）、http://msmbuilder.org/（2017 年 2 月アクセス）

## ２．１．５　オミクス（プロテオミクス、メタボロミクス、多階層オミクス）

### (1) 研究開発領域の定義

生体内の各種分子を網羅的に解析し、生命現象を包括的に理解する手法をオミクス（オーム解析）と呼ぶ。近年、計測技術が急速に高度化し、ゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームなど、各階層におけるオミクスデータが大量に得られつつある。本研究開発領域は、これら個々の階層におけるオミクスのさらなる高度化およびデータ解析技術の開発を進め、さらには複数階層を同時に解析するマルチオミクス、階層横断的なネットワークを明らかにするトランスオミクスへとつなげて、分子メカニズムから生理学的現象まで、生命現象を全体的なシステムとして理解・制御し、医療・創薬などに応用することを目的とする。

### (2) キーワード

オミクス、ゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボローム、多階層オミクス、トランスオミクス、統合オミクス、質量分析、ビッグデータ

### (3) 研究開発領域の概要

#### [本領域の意義]

生命は、DNA、RNA、タンパク質、代謝物などから形成される多階層にわたる大規模な分子ネットワークから成り立っている。近年のライフサイエンスと、次世代シークエンサーや質量分析計などの計測技術の驚異的な進歩により、生物の遺伝子や酵素、代謝物等の相違や変化を包括的かつ網羅的に解析することが可能になってきたが、分子の相互作用まで含めたネットワークの全貌は明らかにされていない。また、創薬に目を移せば、薬の７～８割は十分な分子プロファイリング（薬理薬効機序を理解するための化合物標的とその表現型パスウェイ情報）が得られていないのが現状である。すべての生命現象や各種疾患は本来、分子等の相互作用を含んだ網羅的ネットワークシステムとして包括的にとらえるべきものであり、体系的な分子プロファイリング技術の基盤構築は、創薬全体の効率化を図る上でも最重要テーマである。これまで行われてきた、表現型を特定の遺伝子やタンパク質や代謝物でとらえそれらの機能解析をする、いわゆる一対一の関係の解析ではなく、生体反応全体を網羅的にあらゆる方向からとらえる多次元解析を行うことにより、これまで明らかにされていなかった相関関係を見出すことが近年着実に可能になりつつある。将来的には複数階層にまたがるマルチオミクス、トランスオミクスを実施することで、様々な分子の動的変化や個体差、生体ネットワークへの影響、薬剤応答などを予測する信頼性の高い方法を確立することが期待される。

#### [研究開発の動向]

個別の原因遺伝子や分子に病態を帰着させる従来の方法による理解はほぼ限界に達しており、多因子をシステム的に捉えることによる疾患・治療の理解が望まれている。網羅的な解析手法であるオミクス解析はこの課題を解決する重要な技術として注目されており、単独階層のオミクスデータについては、医療への応用が急速に普及している。ここからさらに生命を全体的システムとして捉えるために、背後にある多階層分子ネットワークを明らかにしようとする試みが、近年注目されている。

多階層オミクスを実現するためには、各階層におけるオミクス技術の深化が必須である。単独階層のオミクスについては遺伝子を対象としたゲノミクスが最初に発展し、2000 年代前半にはヒトゲノム遺伝多型のカタログが作られ、2014 年には 1000 ドルゲノム（個人のヒトゲノム全配列の解読コストを 1000 ドルにする試み）が達成された。ビッグデータを取り扱う数理・統計・情報学的手法の成熟にも後押しされ、ゲノム、メタボローム、プロテオーム、トランスクリプトーム、エピゲノム、マイクロバイオーム等、それぞれの階層に着目したプロジェクトが世界各国で実施されている。以下、近年の技術革新が著しく、今後の多階層統合オミクス実現の鍵となりうるプロテオミクスおよびメタボロミクスを中心に、取り上げたい。

【プロテオミクス】

プロテオミクスは、主に質量分析計を用いてタンパク質の発現、翻訳後修飾、局在、あるいは他の分子との相互作用を網羅的に計測する領域である。ここ 10 年ほどで一定の技術的成熟を果たし、基礎生物学から医学領域において重要な役割を担っているが、その一方で、装置の高感度化や測定原理、さらには新たな前処理法など技術開発的な研究も活発に行われており、そのアプリケーションの幅が広がっている。

プロテオーム解析は 2 次元電気泳動によるタンパク質ディスプレイと高感度な質量分析計によるタンパク質同定を組み合わせることで始まった。当初、質量分析計でタンパク質を同定するには、酵素消化によって得られる複数のペプチド断片質量の組み合わせをタンパク質配列データベースに照合するペプチドマスフィンガープリンティング（PMF）法が主流であり、目的タンパク質が単一成分まで精製されている必要があった。やがて、液体クロマトグラフィーと連結したタンデム質量分析計（LC-MS/MS）を用いた自動 MS/MS 解析（data-dependent acquisition: DDA）の実用化と、得られる MS/MS スペクトルを用いたペプチド配列同定アルゴリズムの開発によって、多数のタンパク質が含まれる試料をまとめて酵素消化することで得られたペプチド混合物を直接分析できるようになり、いわゆるショットガンプロテオミクスとして普及していった。その後、質量分析計の加速的な技術開発によって、高い質量精度や高分解能を持つ MS スペクトルを高速・高感度で取得可能になり、全細胞抽出物のような極めて複雑な試料であっても、DDA を用いたショットガンプロテオミクスによって数千のタンパク質を一度に同定することが可能となった [1)]。さらに、各種安定同位体標識法の開発による比較定量技術の確立によって、大規模な比較定量解析が可能となった。最近では、高分解能質量分析計の普及と液体クロマトグラフィーの再現性向上に伴い、未標識ペプチドの MS シグナル強度を独立した測定間で比較可能となりラベルフリー定量法として普及している。また、化学標識を用いた安定同位体標識法において多重標識法が開発され一度に 10 種類の検体を混合して計測が可能となり、コホート研究などへの適用が行われている。

DDA をベースとしたプロテオミクスの基礎技術開発の多くは欧米で行われているが、これはプロテオミクスで使われる質量分析計ベンダーの開発拠点が欧米を中心としていることが主な要因であると思われる。日本では、ショットガンプロテオミクスで必須である酵素消化における効率の向上や超高性能カラムによる高深度プロテオミクス解析技術の開発など前処理技術の開発が盛んである。

DDA を用いた網羅的なタンパク質同定の流れと並行して、特定のペプチドだけを正確に定量するターゲットプロテオミクスの技術基盤が確立された。これは、古くから低分子化合物の定量などに利用されていた multiple-reaction monitoring（MRM）/selected reaction

monitoring（SRM）をペプチドに適用したものである。また、最近では親イオンの選定を行わずに、試料中に含まれる全てのイオンに対して MS/MS スペクトルを継続的に取得する手法である data-independent acquisition（DIA）が開発され DDA の網羅性と MRM の定量性を兼ね備えた新たな定量プロテオミクス技術として注目されている[2)]。MRM と DIA は共に測定前あるいは測定後に解析対象となるペプチドの MS/MS スペクトル情報が必要であり、そのための情報集約のためのリポジトリやデータベース、さらには大規模リソース（合成ペプチドや組み換えタンパク質など）開発がここ数年盛んに行われている。合成ペプチドを用いた戦略は米国および欧州で盛んであるが[3,4)]、組み換えタンパク質を用いた手法は日本の貢献度が高い[5,6)]。

タンパク質発現解析に加えて、タンパク質の機能に直結した様々な情報取得もプロテオーム研究の重要な対象である。例えばタンパク質間で生じる相互作用の解析や、各タンパク質上で生じるリン酸化、アセチル化、ユビキチン化、さらには糖鎖付加などの各種翻訳後修飾の網羅的解析が盛んに行われている[1)]。特に、重要な翻訳後修飾であるリン酸化は極めて特異的なリン酸化ペプチド濃縮技術が開発され、プロテオーム解析で最も実用化が進み幅広い応用がなされている。また、アフィニティー精製を用いたタンパク質間相互作用解析（AP-MS）は、質量分析計によるタンパク質同定が実用化された時点から盛んに行われている。近年では質量分析計の高性能化に伴って、より高速に分析が可能になったことから、多数のベイト・タンパク質（相互作用を知りたい元タンパク質）を対象とした大規模化が進んでいる[7,8)]。これまでアフィニティー精製一辺倒であった相互作用解析にも様々な新規技術が開発され、より広い範囲の相互作用を解析可能になっている[9-11)]。また、タンパク質の活性や構造の変化を評価するための手法も開発されており、基礎生物学から創薬など様々な分野への応用が期待されている[12,13)]。機能プロテオミクスの基礎技術開発に関しては、欧米に限らず世界的に多種多様な技術が開発されている。その利用に関しては大規模あるいは網羅的な研究が欧米で盛んであるのに対し、日本やアジア諸国では比較的中小規模な解析が行われている傾向にある。

上述したように、プロテオーム解析の要素技術が揃ったことで、大規模にプロテオームの全体像を俯瞰する研究が可能となった。生体内のどの部位にどのようなタンパク質が発現しているかを網羅的に取得する、プロテオームのカタログ化プロジェクトが盛んに行われている。特に、ヒトに関してはヒトプロテオーム機構（HUPO）主導する国際連携研究であるヒトプロテオームプロジェクト（Human Proteome Project: HPP）が 2010 年より開始された。

【メタボロミクス】

1970 年代頃までに教科書に載るような代謝経路がほぼ解明し尽されて以来、「代謝」は概ね完成された分野だと思われていた。しかし近年、がん、免疫、幹細胞、エピジェネティクス等の分野で代謝が「再発見」され、“代謝ルネッサンス”の観を呈している。このような代謝分野の研究の再興隆はメタボロミクスに負うところが大きい。

メタボロミクスは、上流のプロテオームおよびゲノム情報の解析では解明できない生体反応を明らかにできるのではないか、との期待感から表現型解析の有望技術とみなされている。すなわち、メタボロミクスは、表現型としては現れにくい生体内の変化を代謝物の変化として表現できる、高解像度のフェノタイピングシステムといえる。また、遺伝子配列情報とは独立に運用可能であり、ゲノムプロジェクトが終了していない多くの生物にも適用が可能であることから、応用範囲の広がりに期待が高まっている。

メタボローム計測技術の高度化により特に発展しているのが、がん代謝の分野である。が

ん細胞の代謝については、酸素存在下（好気的環境）においても酸素を使わない解糖系（嫌気的代謝）が亢進する Warburg 効果が古くから知られていたが、メカニズムは長年明らかにされていなかった。好気的代謝が嫌気的代謝にシフトする仕組みについて近年メタボロミクスを生かした研究が活発に行われており、関連遺伝子や酵素が明らかにされつつある[14)]。また、発がん等に関与するがん代謝作物（oncometabolite）も複数発見されている[15,16)]。このような代謝状態のシフトはがんのみならず、免疫系細胞でも見つかっており[17)]、免疫代謝（immunometabolism）と呼ばれる分野が勃興しつつある。さらに、幹細胞の運命決定にも代謝が関わっていることが報告されている[18)]。

シグナル伝達や転写制御と異なり、代謝は全ての分子が相互に関連しており、その相互作用を背景とした動的挙動を示すことも特徴的である。たとえば、任意の分子の増加は必ずしも合成速度の増加によるものではなく、分解速度の減少による可能性もある。また、ある酵素の濃度の変化は必ずしも代謝フラックスの変化と比例していない。したがってパスウェイの制御をメカニスティックに議論するためには分子の量よりもそれを合成・分解する各反応の速度を知ることの方がより重要であり、近年メタボロミクスを含む各オミクス階層で速度を測定する技術が提案されている。炭素 13 や窒素 15 などで標識した代謝物質を細胞に取り込ませ、メタボローム測定をすることにより、パスウェイを流れる代謝物質の時間当たり流量（代謝フラックスまたは代謝流速）を求める手法「代謝フラックス解析（Metabolic Flux Analysis）」がスイス連邦工科大の Uwe Sauer によって近年確立された。炭素 13 標識メタボロームによる代謝フラックス解析は当初、定常状態にある微生物細胞を主たる対象としていたが、非定常状態の動物細胞についても代謝フラックスを求める試みがなされている[19,20)]。これらの試みにより、見かけ上減少している物質であっても、それを合成する反応の速度が増加（すなわち活性化）しているような酵素反応が珍しくないことが明らかとなった。

メタボロミクスにおいては、解析対象の代謝物が親水性から疎水性までの非常に幅広い性質を有し、またそれら多成分の一斉分析であるために、その技術は複雑なものとなっている。サンプル調製、機器分析、データ解析がメタボロミクスの重要行程であるが，それぞれの行程の個々の手法において特異的な技術を必要とするため、実際にメタボロミクスを実施するためには目的に応じて好適な技術を選択する必要がある。また、信頼性の高い解析を行うためには、それぞれの技術を良く理解し効率的に組み合わせたシステムを構成することが重要になる。そのため、メタボロミクスは必然的に多岐にわたる分野から構成される学際領域研究となるが、それぞれの技術を理解し総合的に運用することは容易ではない。これが、当初メタボロミクスが一般的な技術として定着しにくかった要因の一つである。この複雑さを乗り越えるべく様々な技術開発が行われているが、現状は試料調製、機器分析、データ解析における種々の実験誤差のために微少な差を捉えることが難しく、今後の課題となっている。企業（特に製薬業界）においてメタボロミクスが積極的に導入される段階へは、この課題を乗り越える必要がある。この現状を打開すべく、Metabolomics Society が主導してメタボロミクス技術の標準化やデータ統合を目指した取り組みを試みている。日本においても、有志のメタボロミクス研究者が、メタボロミクスデータ統合に向けた代謝物相対定量値の実験室間比較プロジェクト Japan Metabolome Technical Challenge Consortium を実施しており、その結果を第 11 回メタボロームシンポジウム，MSP2018 で報告した。

【多階層オミクス（マルチオミクス、トランスオミクス）】

環境または遺伝的ストレスに対する生命システムの応答の正確な全体像を得るためには、ゲノム情報の他に、転写情報、プロテオーム情報、メタボローム情報の測定が必要となる。多階層にわたるオミクス情報を接続して理解するためには、数理情報学的な手法が必須である。情報・数理・工学的手法を導入し、生命現象をシステムとして理解することを目的とした研究分野は Systems Biology と呼ばれ、2000 年代から急速に進展し、各国で解析のためのセンターが整備されてきた。数理モデルとしては、ヒト代謝系の定常状態モデル Human metabolism reconstruction[21,22] や、Covert らによるマイコプラズマモデル [23] など、全細胞規模（ゲノムスケール）のものが現実的に構築可能な段階にきている。また、モデルの記法として、システム生物学のコミュニティで Systems Biology Markup Language（SBML）が整備され広く用いられているほか、SBML で記述されたモデルのシミュレーションを行うためのライブラリとして慶大・舟橋らによって libSBMLsim が公開されるなど、基盤の整備も進んでいる。近年の生命科学においては、システム生物学を含むデータドリブンの解析はすでに世界的に用いられているアプローチであり、数々の発見にもつながっている。大規模オミクスデータが得られるようになり、ネットワークそのものの構造を評価するような解析や、機械学習を用いた解析など、新たな解析手法も野心的に開発されている。定量的な多階層オミクスデータを取得し、そのネットワークを再構築することで理解しようとする「トランスオミクス」の応用研究においては、日本が世界をリードしている [24-26]。数理情報学的手法によって再構築されたネットワークの整合性を評価する方法のひとつとして、シミュレーションを行い時系列データと比較する方法が近年実践されている。例えば、Link らは大腸菌から得られた時系列メタボロームデータを説明しうる未知アロステリック制御経路の仮説を実装した数千の数理モデルを用いてシミュレーションを行い、赤池情報量の意味で当該時系列メタボロームデータを良く説明するモデルに含まれる未知経路について、実際に存在することを立証した [27]。このように、生命システムについて未知の経路等の存在を予言できるモデルが構築可能となっており、今後の発展にも期待が持たれる。

一方、多階層オミクスデータを統合して解釈することは未だチャレンジングな領域であり、データ取得方法と情報数理的解析法とを合わせてさらなる技術開発が望まれる。データ取得については、スループット、定量性、再現性をさらに高める必要があり、これまで行われてこなかった地道で詳細な条件検証と、そのデータに基づいた技術開発を再度行うことが重要である。一部のオミクスデータについては、すでに関連付けや統合による成果が報告されはじめている。例えば、プロテオミクスではこれまで質量分析データを標準的なタンパク質配列に対して検索することが行われて来たが、近年、ゲノム情報から得られる様々な変異や読み枠を考慮した配列データベースに対して検索を実施するプロテオゲノミクスが試みられている。実際、がんにおけるゲノム変異の意義の理解や新規タンパク質の発見などの成果が米国を中心に挙がっており [28,29]、今後主流となるプロテオミクスの利用法となることが予測される。メタボロミクスを軸とした多階層オミクスとしては、慶應義塾大学の曽我らによるがん代謝の解析 [14]、スイスイタリア大学（Universita Svizzela Italiana）の Lanzavecchia らの免疫代謝研究 [17] などが報告されている。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

● 定量プロテオームのための基盤整備

ターゲットプロテオミクスやDIAによる定量プロテオーム解析を行うためには、ペプチドの開裂パターン（MS/MSスペクトル）や液体クロマトグラフィーでの溶出時間などの事前情報が必要である。これらの事前情報はリポジトリに集められたデータからある程度は収集できるが、発現量が低いタンパク質などは高質のMS/MSスペクトルが取得できないことも多い。このような状況を打破するために、ハイスループットなペプチド化学合成技術や、cDNAライブラリと試験管内タンパク質合成技術を用いた大規模組み換えタンパク質合成技術を利用することで、人工プロテオームを作製しこれを対象に理想的なMS/MSスペクトルを取得する試みが行われている。このようなアプローチによって、ゲノムがコードするあらゆるペプチド配列を評品として取得可能となり、さらにはターゲットメソッドの構築や最適化が可能となった。特に、2016年から2017年にかけて、ヒト人工プロテオームを用いた質量分析データの取得が複数報告されており[3,4,6]、今後は他の生物種への展開も予測される。

● プロテオミクスによるタンパク質構造特性の解析

タンパク質の構造や活性などに関する情報を網羅的に取得することもプロテオーム研究の大きな課題である。近年、タンパク質の構造状態をプロテアーゼ感受性や熱安定性などを指標に評価する手法が開発され、他のタンパク質や低分子化合物との相互作用の解析に利用する試みがなされている[13,30-33]。これらの手法は、タンパク質の構造に関する具体的な情報を得ることはできないが、多数のタンパク質の構造変化を一斉に検出することができるため、事前に目的タンパク質の精製を必要とする従来の構造生物学的手法を補完する技術であり、非常に注目されている。

● 代謝物質によるシグナル制御

従来代謝産物はシグナル伝達や遺伝子発現などの制御カスケードの下流の存在と見なされてきた。しかし近年、代謝物質がシグナル分子や転写因子などと相互作用することによりシグナルの受け手のみならず発信元としての役割を併せ持つことが明らかとなりつつあり[34]、代謝物質によるシグナル分子の制御に広い関心が集まっている。mTOR, AMPKなど代謝センサーとなるシグナル分子はそれぞれアミノ酸、AMPなど代謝物質の存在量によって活性が変わることが明らかにされている。また、代謝物質と転写因子との相互作用については、原核生物では一般的であったが、質量分析計を用いた技術により高等生物においても多数発見された[17]。たとえば腸ではAryl hydroxycarbon receptor（AhR）がキヌレニンと結合することで複数の遺伝子の発現を制御し、腫瘍形成メカニズムの一端を担っていることが見出されている[35]。代謝物質によるシグナル制御として、さらに、腸内微生物叢が分泌する代謝物質とホスト動物の細胞との相互作用にも注目が集まっている。例えば、ルクセンブルク大のThieleらは773菌種のパスウェイを統合し、ホストと代謝を介して相互作用するモデルを構築し[36-38]、微生物群と分泌代謝物質をメカニスティックにつなぐ重要な成果として注目されている。

● 多階層オミクス

プロテオームやメタボロームなど質量分析計を主要解析基盤とするオミクス計測技術の成熟を踏まえて、近年、複数のオミクス階層に対する計測を実施し、これらのオミクス階層間の関連性を明らかにすることが可能となった。先述の、がん領域におけるゲノミクスとプロテオミ

クス[28,29]、メタボロミクス[14]の統合や免疫細胞の制御に関わるメタボロームとプロテオームの解析[17]の他にも、mRNAとタンパク質[39]、ゲノム変異とタンパク質の発現やリン酸化、タンパク質のリン酸化と代謝物[40]などの異なる階層のオミクスデータを繋ぐことが盛んに行われている。システムズバイオロジーの方法論に基づいて遺伝子ネットワークを用いた創薬ターゲットの探索や抗がん剤の効果、疾患メカニズムの解明などの応用研究では成果がでており、多階層オミクスを統合したアプローチによりさらなる成果が期待される。

● シングルセルオミクス

NGSによる1細胞レベルでの核酸解析が実用化されたことを受けて、質量分析を用いたオミクス解析においても1細胞を目指した計測技術開発が盛んになりつつある。プロテオームでは、米Northeastern大のNikolai Slavovらが質量分析計を用いて1細胞プロテオーム測定を行うSCoPE-MS法を開発している[41]他、質量分析計を用いないアプローチとして、蛍光フィンガープリンティングや、トンネル電流、ナノメートルスケールの小孔などを用いた諸手法による1分子タンパク質のアミノ酸配列シーケンシング技術が出現しつつある[42]。特にトンネル電流を用いたアプローチでは大阪大学の谷口正輝らが1分子アミノ酸配列の読み取りおよび翻訳後修飾の検出で先駆的な業績を発表している[43]。メタボロームでは、慶應義塾大学・曽我研の平山らが高感度メタボローム測定手法であるシースレスCE-MS法[44]を開発し、これにより従来よりも少量サンプルでメタボローム解析が可能となり、応用が期待される。1細胞のメタボローム計測は理研・広島大の升島努[45]やスイス連邦工科大のRenato Zenobi[46]、オクラホマ大のBoris Wawrik[61]らがいずれも質量分析計を用いて先駆的な試みをしている（升島氏は惜しくも2017年に逝去された）。

[注目すべき国内外のプロジェクト]

● ヒトプロテオームプロジェクト

ヒトプロテオーム機構（HUPO）主導する国際連携研究であるヒトプロテオームプロジェクト（Human Proteome Project: HPP）が2010年より開始された。HPPは染色体毎に担当国を割り当て、対応するタンパク質の情報を取得するChromosome-centric HPP（C-HPP）が中心的に行われている。C-HPPでは特定の検体や方法の指定はなく、各国がそれぞれ独自の研究の一環として、割り当てられた染色体にコードされている未同定タンパク質を探すことが行われている。それらの結果は、年に1度Journal of Proteome Research誌に関連論文を募り、特集号として刊行されている。その一方で、2014年には二つの研究グループからヒトの組織や培養細胞から得られた質量分析データを統合してヒトプロテオームのドラフトマップが報告された[48,49]。しかしながら、これらの論文では多数の質量分析データを統合しているため、偽陽性ヒットが多数含まれるなどの問題が指摘されており、今後新たな評価法の確立による偽陽性ヒットの除去や再解析が待たれている。

● プロテオゲノミクス

米国のCancer Moonshot Initiativeにサポートされて発足したInternational Cancer Proteogenome Consortium（ICPC）には日本を含む12カ国が参画しており、国際的にプロテオゲノミクスを用いてがん研究を推し進める機運が高まっている。特に、米国では2011年にスタートしたClinical Proteomic Tumor Analysis Consortium（CPTAC）によってがん臨床検体におけるプロテオーム解析が先導されており、ICPCにおけるプロテオゲノミクス研究

も CPTAC チームが担当している。日本では国立がん研究センターが担当機関として共同研究を展開している。

● プロテオーム・データベース

大規模データの蓄積と共有は新たなアルゴリズムによる再解析やプロジェクトを跨いだ比較解析などを行うための重要な資産となることから、多くのジャーナルが論文投稿の際に、プロテオーム質量分析の生データを公開することを義務付けている。これまで、質量分析データの公開は個人的 Web サイトから外部からのデータを一元管理するリポジトリサイトまで様々なものが構築されてきたが、データ登録のルールが統一されていない、資金の不足でデータの維持管理が不可能になるなどの問題が生じていた。そこで、データフォーマットやメタデータの標準化を図るために ProteomeXchange Consortium（PXC）が設立された[50]。PXC は PRIDE（欧州）[51] および PESSEL/PeptideAtlas（米国）[52] によってスタートし、MassIVE（米国）が加入した。その後、アジアオセアニア地区初のリポジトリとして日本から jPOST[53] が、さらには iPRoX（中国）および Panorama（米国）[54] が参画し、2018 年 8 月現在計 6 つのリポジトリサイトで構成されている。ユーザーは PXC に参画しているどのリポジトリにデータを登録しても PXC から統一の ID が割り振られる仕組みとなっている。また、PXC の ProteomeCentral サイトからリポジトリを横断して検索が可能である。それぞれのリポジトリの開発を行っている研究チームは、リポジトリの運営に加えて、集約されたデータの再解析ワークフローの開発や、解析データ可視化技術の開発などを独自に実施しており、今後、蓄積した大規模な質量分析データを利用した様々な研究展開が期待される。

● メタボロミクスの標準化

メタボロミクス技術の理解を深めて課題を明らかにし、技術面、応用面での進展を促すべく、標準化やデータ統合を目指した取り組みが盛んに行われている。例えば 40 ヶ国以上に会員を有する Metabolomics Society では、6 つの scientific-task-groups（Data Quality Task Group，Data Standards Task Group，Metabolite Identification Task Group，Computational Mass Spectrometry Task Group，Model Organism Metabolomes Task Group，Precision Medicine and Pharmacometabolomics Task Group）を作って、メタボロミクス技術の標準化と共用データベースの構築、応用に取り組んでいる。日本においても、有志のメタボロミクス研究者によって、データ統合に向けた代謝物相対定量値の実験室間比較プロジェクト Japan Metabolome Technical Challenge Consortium が実施されている。

● 階層横断的研究

トランスオミクスについては、新学術領域「代謝アダプテーションのトランスオミクス解析」（2017 ～ 2021 年）が推進中である。メタボローム、エピゲノム、トランスクリプトーム、ゲノム等の解析に精通した研究者と、数理統計的手法に精通した研究者が集まり、各オミクス計測技術の定量化、精密化、および多階層オミクスのためのデータ解析技術を開発している。また、九州大学、東京医科歯科大学、熊本大学、徳島大学による「トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業」が第 22 期学術の大型研究計画（マスタープラン 2014）に選定され、2016 年に始動した。海外では、2014 年～ 2016 年に米国において iHMP（integrative Human Microbiome Project）Research Network Consortium（特定疾病リスク保持者のゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボローム、マイクロバイオームを網羅的に測定するコホート研究プロジェクト）が実施され、その成果の多くは公開されており、成果は新

規ベンチャー企業等にも活用されている。米国 Precision Medicine Initiative で推進されている All of US（100 万人規模）、英国の UK BioBank（50 万人規模）等、各国で投資と整備が進む大規模コホートプロジェクトも、今後の階層横断的研究の基盤として注目される。

### (5) 科学技術的課題

質量分析計の高性能化が続いている一方で、プロテオミクスについては最新の装置においても DDA を用いた解析が未だ主流である。DDA においては、取得された膨大な数の MS/MS スペクトルをデータベースに対して照合することでペプチド配列の同定が行われるが、一定の割合の偽陽性ヒットが含まれている。これを除去するために同定スコアや各種指標を用いたフィルタリングが行われる。フィルタリングの基準を厳しくすると偽陽性は極力抑えることができるが、その分、偽陰性として除去される配列が生じる。一方、基準をゆるくすると同定ペプチド数は増えるが多数の偽陽性ヒットが含まれる結果となる。この偽陽性ヒットの問題は、多数の解析結果を統合しようとする場合やプロテオゲノミクスのように検索対象のデータベースが巨大になる場合に特に深刻である。このような問題を解消するには、データ解析の手法の開発や、これまでリポジトリに集積された MS/MS スペクトルを精査／統合して得られるスペクトルライブラリを対象とした検索法などが提案されており、今後の動向に注目すべきである[55]。

試料中のタンパク質の濃度を決定することは、生化学反応の数理モデリングやタンパク質複合体の組成決定、さらには異なる研究機関や時期に取得されたデータの統合を可能にする。そのため、定量プロテオミクスにおいては、これまで主流であった比較定量から内部標準品を用いた絶対定量が普及していくと思われる。精密な絶対定量のためには、個々のペプチドに対して安定同位体標識品を用意する必要がある。これまで一般的であった安定同位体標識は、合成コストが極めて高く、一度に多数の標識ペプチド評品を得ることは非現実的であった。この問題を解消するためには、遺伝子合成技術で作製した任意の配列を含む人工タンパク質の作製[56] が有効であり、日本国内で盛んに開発や利用が行われている in vitro 翻訳系の利用によるハイスループットな組み換えタンパク質産生技術を組み合わせれば今後さらなる大規模化が期待される[57]。また、評品作製の材料である人工遺伝子を含むプラスミドは恒久的に維持することができるため分配が容易であり、今後これらの情報や物体を共有するための基盤整備が必要と思われる。また、組み換えタンパク質技術を用いて特定のアミノ酸に翻訳後修飾を入れることは技術的に困難であったため、翻訳後修飾部位ペプチドの同位体標識評品を得るには化学合成が唯一の手段であった。ごく最近、特定コドンにリン酸化セリンを割り振った大腸菌を用いて、任意のペプチドにリン酸化セリンを導入する技術が報告されており[58]、これを利用して安定同位体標識リン酸化ペプチドを安価に得ることができる可能性も高い。

メタボローム分析においては、親水性から疎水性までの幅広い性質の代謝物をカバーするために複数の分析系が必要であり、それぞれの分析系にあわせた試料調製、データ解析が必要である。しかし、クエンチング、抽出、前処理、誘導体化などの試料調製における条件の最適化は現時点で不十分であり、分析法の統一も難しく、個々のデータの互換性と再現性の確保が最重要課題となっている。また、検出器に質量分析計を用いる場合は定量値を取得することが容易ではなく、一般的にはピーク面積（高さ）の値を用いた相対比較解析であること、化合物名が同定できない Unknown 成分が多く存在することも現状における限界である。実用的なデータベースの構築のためにも、まずは、安定同位体標準品の整備を含めた定量データ取得のため

の手法の開発が重要である。また、これまで行われてこなかった詳細な条件検証を地道に行い、そのデータに基づいた技術開発を再度行うことが望まれる。さらに、各機関間でのデータ統合、大規模解析の実施を目指して、技術の平準化に向けた取り組み、プロトコル構築、ガイドラインの作成を行うことも必要であろう。地道な技術開発を行うことができる日本の研究者の強みを活かし力を結集することが、世界に先駆けて取り組むべき重要な課題であると考えられる。

また、現状のメタボロミクスは、ある時点での代謝物の量比を解析するいわゆるスナップショット解析が主流であり、代謝のダイナミクスをとらえることが容易ではない。このため、代謝フラックス解析のような動的側面を捉える手法のさらなる開発が望まれる。また、代謝物は遺伝子のように増幅することができないためシングルセルやオルガネラなどの局在解析における極微量成分分析のための技術開発も求められている。

マルチオミクス／トランスオミクスを実現するためには、それぞれの階層においてオミクスデータを取得して統合する形ではなく、統合を目的としたデータ取得方法の検討も必要である。例えば、他のオミクスデータをもとに重要タンパク質と代謝物に対象を絞りそれらの定量値の取得を主として統合解析を進めるとともに、並行して従来のノンターゲット（ワイドターゲット）での包括的な測定を行っておく。包括的な解析において重要分子と相関を示す分子が見つかった場合は、それらについて再度定量値を取得して、統合解析を行う、といったように、それぞれのオミクス計測技術のスループット、データの性質を考慮したデータ取得が統合オミクスの実施においては非常に重要となる。また、ゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームなどの階層間にわたる解析を、数学的／情報科学的な高度な手法をもって包括的に、人手や事前知識に頼らず、データ主導のバイアスの少ない方法で実行でき、そのためのアルゴリズム、ソフトウエアの開発を行い、さらにこれらを使いこなせる人材の育成が課題である。特に、階層内の組合せおよび階層間の組合せをいかに解析するかは極めてチャレンジングな課題である。

### (6) その他の課題

現状のオミクス研究、特にメタボローム・プロテオームは高額装置をその技術基盤としている。質量分析計の高性能化は未だ着実に進んでおり、２～３年で装置をアップデートしない限り、国際的な競争力を失ってしまう可能性が危惧されるが、大学等アカデミア研究機関での質量分析計への設備投資は停滞気味である。また、質量分析計によるオミクス解析はその原理から、一台の装置で並列計測ができないため、多検体のハイスループット計測を必要とする医学研究などにおいては、複数の装置を並列で運用することが必須となる。これらの装置の導入費用やその維持管理費の捻出が大きな課題であり、個別の研究室での対応は難しい。

また、統合オミクスを目指した研究開発を進めるためには、技術的な課題を解決することも重要であるが、その取り組み方、体制が非常に重要である。同一条件、同一サンプルにより得られたオミクスデータ群を用いた分析をすることが特に重要であるが、複数の異なるオミクスデータ計測とデータ解析を密接に行う必要があり、単独の研究室で実施可能なレベルを越えている。また、どのようにデータを取得し統合するかについて基本的な部分においても構築できていない現状で、それぞれのオミクスデータを別の拠点で取得する形では、状況を変えることは難しい。

これらの課題を解決するためには、国内に拠点を設置して重点的に投資し、国内の研究者が

利用できるようにすべきである。世代交代が早く、高価かつ保守点検に専門知識を要する質量分析計をはじめとした計測技術・機器の維持・運用・更新はそれに特化した拠点に一任できるよう、機器およびデータ解析環境の双方における大規模集約化が必要となり、国策としての集約化が重要である。研究開発についても、各研究機関で手分けして行うのではなく、必要な技術の開発、その最適化、さらにデータ取得に向けたプロトコル構築までの技術を一拠点に集約し実施することが望ましい。また、オミクスは大規模データの解析に立脚しており、分野の進展には情報科学の研究者と技術者が必須である。情報科学の研究者と医学・生命科学の実験系の研究者が研究デザインの段階から協力してプロジェクトを立案できる体制を整える必要がある。そのため、大学や研究機関での組織編成を抜本的に見直し、計測・解析は表裏一体となって組織運営を行うべきであり、国を挙げてデータ計測・解析のインフラ整備を行なうなど、戦略的な取り組みが必要である。それらインフラ整備によって、結果的に質の高い各種オミクス情報が集積され、将来の生命科学・医科学における重要な研究基盤になるものと考えられる。

また、インフォマティクスの人材育成が重要な課題となっている。現在、日本においてはゲノムやトランスクリプトームに関連したインフォマティクスの人材はある程度確保されているが、プロテオーム・メタボローム研究に関わる研究者は依然として少ない。海外との競争力を高めるためにはインフォマティクス研究者の育成が急務であると思われる。このような人材の課題についても、拠点化によって、ハイレベルの研究者のもと技術開発と同時にオンザジョブトレーニングを行い効率的な人材育成を実施することで解決に向かうと考えられる。海外におけるアンダーワンルーフ型の研究所の設立が注目される中、オミクス領域においては日本が世界に先駆けて国家戦略として課題解決に向けたプロジェクトを実施することによって、世界のオミクス研究の中心的な存在となることが期待される。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究（技術開発） | ○ | → | ・超高性能カラムを用いた高深度プロテオミクス技術開発やリン酸化や糖タンパク質の精製および解析技術開発が盛んに行われている。<br>・大規模なヒト組み換えタンパク質ライブラリを用いたターゲットプロテオミクス のためのリソースが公開された[6]。<br>・アジアオセアニア地区で初めてのプロテオーム関連質量分析データのリポジトリおよびデータベースが構築された[53]。<br>・メタボロミクスの技術レベルは高いが、特定の拠点とそれ以外でレベルの差が大きい。<br>・標準化に向けた動きが加速している。<br>・新学術「代謝統合オミクス」が立ち上がった。また、国内 4 拠点を結んだ「トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業」も始動した。<br>・統合オミクス解析を進める研究チームの核となる融合型人材（生命科学以外に情報・数理科学、計測技術など複数の分野に通じた人材）の登用および育成は不足している。 |
| | 応用研究 | ○ | → | ・がんを対象とするプロテオーム解析による診断マーカーの探索／開発が盛んに行われている[59]。<br>・ヒト cDNA ライブラリを用いた大規模なタンパク質相互作用解析を基盤とした創薬研究が展開されている。<br>・がん、免疫、幹細胞領域でメタボロミクス研究が盛んに行われている。<br>・代謝中心の統合オミクス解析は発酵産業からの関心が高く、従来の代謝工学の延長線上で今後産業応用につながる可能性がある。<br>・オミクス計測の機器開発は一部国内企業が質量分析計を開発して世界展開を図っているが、シーケンサーはほぼ外資に占められている。クオンタムバイオシステムズのように 1 分子塩基配列およびアミノ酸配列シーケンシング技術で市場参入を目指すスタートアップ企業も存在する。 |
| 米国 | 基礎研究（技術開発） | ◎ | → | ・定量プロテオーム解析のための標準化の推進など、疾患プロテオーム研究を意識した基礎研究が盛んである[60,61]。<br>・ターゲットプロテオミクスのための解析プラットフォームである Skyline の開発[62]。<br>・がん代謝、免疫代謝が猛烈な競争に突入している。哺乳類全身の代謝恒常性維持機構ではプリンストン大学の Joshua Rabinowit らが世界の先端を切り開いているほか、Duke 大学の Jason Locasale らがメタボロームとエピゲノムの相互連関で活発に成果を発表している。 |
| | 応用研究 | ◎ | ↗ | ・Cancer Moonshot プロジェクトの一環として潤沢な臨床検体などを対象としたプロテオゲノミクス研究が非常に活発に行われている。<br>・がん関連タンパク質の定量のための MRM アッセイがデータベース化されている[63]。<br>・薬剤応答を、オミクス技術を用いて定量的に解析するなどの応用研究も盛んである。<br>・オミクス計測の基盤を担うシーケンサー、質量分析計ともに技術開発でトップを走る。さらに、革新的アイディアを世に送り出すスタートアップ企業が次々に生まれている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究<br>（技術開発） | ◎ | ↗ | ・質量分析計における測定原理の開発やソフトウエアの開発などオミクス研究のための要素技術開発をリードしている。<br>・DDA データの解析プラットフォームである MaxQuant の開発、最大規模のプロテオームデータリポジトリである PRIDE の開発・運営[51]、合成ペプチドライブラリを用いた各種リソース整備等が盛んである[3,4]。<br>・ベルギーのコペンハーゲン大学に Center for Protein Research（Novo Nordisk foundation : ~100 million USD）が設立され、プロテオーム研究が展開されている。<br>・伝統的にメタボローム、フラクソームなど代謝系を中心としたオミクス解析が強く、世界をリードするレベルにある。<br>・スイス連邦工科大（ETH）には拠点が創設され、Uwe Sauer、Ruedi Aebersold、Paola Picotti らを中心に統合オミクス解析が本格的に行われている。このような拠点から成果も出始めており、特に ETH は世界の先端を走る。また、免疫代謝の Mihai Netea（蘭 Radboud University Nijmegen）や Erika Pearce（独 Max Planck, Freiburg）が分野を牽引する。 |
| | 応用研究 | ◎ | ↗ | ・質量分析計メーカーが多数あり、アカデミアと連携して、基礎研究で得られた成果を、迅速に実装している。<br>・構造プロテオミクスを薬剤の標的探索に応用する研究が行われている。<br>・定量プロテオミクスを中心とした受託研究を行う企業 BIOGNOSYS（スイス）、人工遺伝子を元に作製した組み換えタンパク質を用いた定量プロテオーム解析の受託を行う企業 POLYQUANT（英国）が設立。<br>・理論研究のレベルが伝統的に高く、世界中で用いられるようになった欧州発の解析手法は多数にのぼる。ソフトウエアやデータベースの開発力も高い。EBI（European Bioinformatics Institute）はその代表的機関で、最近は特に EBI GWAS Catalog などゲノム医療関連のツール開発に注力している。 |
| 中国 | 基礎研究<br>（技術開発） | △ | ↗ | ・他で開発された技術の導入が種であり、オリジナルの成果は多いとは言えないが、莫大な研究費が投入され、最新装置を複数台並べて大規模な研究が展開されている。<br>・特異的な DNA 配列を用いた転写因子の網羅的探索法を開発[64]。<br>・Beijing Proteome Research Center（BPRC）にて Phoenix Project が開始され 102.4 million USD が投資された[65]。<br>・ゲノム、トランスクリプトームなど核酸配列のオミクス研究では世界的な研究成果を出すところまで急速に発展している。しかし、プロテオームやメタボロームなどクラフトマンシップを要求するオミクス階層についてはそこまで発展していない。 |
| | 応用研究 | △ | ↗ | ・近年急速に増加しているが、独自技術を利用したものは見当たらない。<br>・20 台以上の質量分析計を用いたハイスループットなプロテオーム解析システムを構築し、がんなどの疾患を中心に解析を進行中。<br>・BGI（Beijing Genome Institute）などはシーケンサーに立脚した受託計測だけではなく質量分析にも進出しつつある。しかしメタボロームやプロテオーム測定の基盤となる質量分析の基礎技術開発ではまだ世界の最先端とは差がある。 |
| 韓国 | 基礎研究<br>（技術開発） | △ | → | ・他で開発された技術の導入が主であり、基礎技術開発研究などはあまり目立った動向はない。<br>・プロテオゲノミクスや HUPO のヒトプロテオームプロジェクトに関わる研究が盛んに行われている。<br>・KAIST の Sang Yup Lee が代謝工学では気を吐くが、統合オミクス解析に顕著な動きはない。 |
| | 応用研究 | △ | → | ・近年増加傾向<br>・複数の企業が受託業務を行っているが、独自の技術に基づくものは調査した限り見当たらない。<br>・オミクス計測、統合オミクス解析ともに目立った動きは見られない。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1) Aebersold, R. and Mann, M. Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function. Nature 537, 347-355, (2016).

2) Gillet, L. C. et al. Targeted data extraction of the MS/MS spectra generated by data- independent acquisition: a new concept for consistent and accurate proteome analysis. Mol Cell Proteomics 11, O111 016717, (2012).

3) Kusebauch, U. et al. Human SRMAtlas: A Resource of Targeted Assays to Quantify the Complete Human Proteome. Cell166 (3) 766-778 (2016).

4) Zolg, D. P. et al. Building ProteomeTools based on a complete synthetic human proteome. Nat. Methods 14 (3) : 259-262 (2017).

5) Narumi, R. et al. Mass spectrometry-based absolute quantification reveals rhythmic variation of mouse circadian clock proteins. Proc Natl Acad Sci U S A 113, E3461-3467 (2016).

6) Matsumoto, M. et al. A large-scale targeted proteomics assay resource based on an in vitro human proteome. Nat. Methods 14 (3) : 251-258 (2017).

7) Hein, M. Y. et al. A human interactome in three quantitative dimensions organized by stoichiometries and abundances. Cell 163, 712-723 (2015).

8) Huttlin, E. L. et al. Architecture of the human interactome defines protein communities and disease networks. Nature 545, 505-509 (2017).

9) Wan, C. et al. Panorama of ancient metazoan macromolecular complexes. Nature. 525 (7569) 339-344 (2015).

10) Larance, M. and Lamond, A. I. Multidimensional proteomics for cell biology. Nat Rev Mol Cell Biol 16, 269-280, (2015).

11) Li, P. P., et al. Proximity Labeling of Interacting Proteins: Application of BioID as a Discovery Tool. Proteomics 17, (2017).

12) Boersema, P. J., Kahraman, A. and Picotti, P. Proteomics beyond large-scale protein expression analysis. Curr Opin Biotechnol 34: 162-170 (2015).

13) Schopper, S. et al. Measuring protein structural changes on a proteome-wide scale using limited proteolysis-coupled mass spectrometry. Nat Protoc. 12 (11) 2391-2410 (2017).

14) Satoh, K. et al. Global metabolic reprogramming of colorectal cancer occurs at adenoma stage and is induced by MYC. Proceedings of the National Academy of Sciences 114, E7697-E7706, (2017).

15) Dang, L. et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. Nature 462, 739-744, (2009).

16) Dang, L. et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. Nature 465, 966, (2010).

17) Geiger, R. et al. L-Arginine Modulates T Cell Metabolism and Enhances Survival and Anti-tumor Activity. Cell 167, 829-842 e813, (2016).

18) Wei, P., Dove, K. K., Bensard, C., Schell, J. C. & Rutter, J. The Force Is Strong with This One:

Metabolism（Over）powers Stem Cell Fate. Trends Cell Biol 28, 551-559,（2018）.
19）Krycer, J. R. et al. Dynamic Metabolomics Reveals that Insulin Primes the Adipocyte for Glucose Metabolism. Cell Rep 21, 3536-3547,（2017）.
20）Sun, R. C. et al. Noninvasive liquid diet delivery of stable isotopes into mouse models for deep metabolic network tracing. Nat Commun 8, 1646（2017）.
21）Thiele, I. et al. A community-driven global reconstruction of human metabolism. Nat Biotechnol 31, 419-425（2013）.
22）Brunk, E. et al. Recon3D enables a three-dimensional view of gene variation in human metabolism. Nat Biotechnol 36, 272-281（2018）.
23）Karr, J. R. et al. A whole-cell computational model predicts phenotype from genotype. Cell 150, 389-401（2012）.
24）Krycer JR, et al., Dynamic Metabolomics Reveals that Insulin Primes the Adipocyte for Glucose Metabolism. Cell Rep.21（12）:3536-3547.（2017）
25）Kawata K., et al., Trans-omic Analysis Reveals Selective Responses to Induced and Basal Insulin across Signaling, Transcriptional, and Metabolic Networks. iScience. 7:212-229（2018）
26）Yugi K., Kubota H, Hatano A, Kuroda S., Trans-Omics: How To Reconstruct Biochemical Networks Across Multiple ‘Omic’ Layers. Trends Biotechnol. 34（4）:276-290（2016）
27）Link, H., Kochanowski, K. & Sauer, U. Systematic identification of allosteric protein-metabolite interactions that control enzyme activity in vivo. Nat Biotechnol 31, 357-361（2013）.
28）Zhang, B. et al. Proteogenomic characterization of human colon and rectal cancer. Nature 513（7158）: 382-387（2014）.
29）Mertins, P. et al., Proteogenomics connects somatic mutations to signalling in breast cancer. Nature, 534（7605）: 55-62（2016）.
30）Piazza, I. et al. A Map of Protein-Metabolite Interactions Reveals Principles of Chemical Communication. Cell 172, 358-372 e323（2018）.
31）Leuenberger, P. et al. Cell-wide analysis of protein thermal unfolding reveals determinants of thermostability. Science. 355（6327）eaai7825（2017）.
32）Becher, I. et al. Pervasive Protein Thermal Stability Variation during the Cell Cycle. Cell 173, 1495-1507 e1418（2018）.
33）Dai, L. Y. et al. Modulation of Protein-Interaction States through the Cell Cycle. Cell 173, 1481（2018）.
34）Yugi, K. & Kuroda, S. Metabolism as a signal generator across trans-omic networks at distinct time scales. Current Opinion in Systems Biology 8, 59-66,（2018）.
35）Opitz, C. A. et al. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. Nature 478, 197-203（2011）.
36）Magnusdottir, S. & Thiele, I. Modeling metabolism of the human gut microbiome. Curr Opin Biotechnol 51, 90-96（2018）.
37）Bauer, E., Zimmermann, J., Baldini, F., Thiele, I. & Kaleta, C. BacArena: Individual-based metabolic modeling of heterogeneous microbes in complex communities. PLoS Comput Biol 13, e1005544（2017）.
38）Magnusdottir, S. et al. Generation of genome-scale metabolic reconstructions for 773 members of the human gut microbiota. Nat Biotechnol 35, 81-89（2017）.
39）Schwanhausser, B. et al. Global quantification of mammalian gene expression control. Nature 473, 337-342（2011）.

40）Yugi, K. et al. Reconstruction of insulin signal flow from phosphoproteome and metabolome data. Cell Rep 8, 1171-1183（2014）.
41）B. Budnik, et al., SCoPE-MS: mass spectrometry of single mammalian cells quantifies proteome heterogeneity during cell differentiation. Genome Biology 19:161（2018）
42）Restrepo-Perez, L., Joo, C. & Dekker, C. Paving the way to single-molecule protein sequencing. Nat Nanotechnol 13, 786-796（2018）.
43）Ohshiro, T. et al. Detection of post-translational modifications in single peptides using electron tunnelling currents. Nat Nanotechnol 9, 835-84（2014）.
44）Hirayama, A., Tomita, M. & Soga, T. Sheathless capillary electrophoresis-mass spectrometry with a high-sensitivity porous sprayer for cationic metabolome analysis. Analyst 137, 5026-5033（2012）.
45）Emara, S. et al. Single-Cell Metabolomics. Adv Exp Med Biol 965, 323-343（2017）.
46）Ibanez, A. J. et al. Mass spectrometry-based metabolomics of single yeast cells. Proc Natl Acad Sci U S A 110, 8790-8794（2013）.
47）Sun, M., Yang, Z. & Wawrik, B. Metabolomic Fingerprints of Individual Algal Cells Using the Single-Probe Mass Spectrometry Technique. Front Plant Sci 9, 571（2018）.
48）Kim, M.-S. et al. A draft map of the human proteome. Nature 509（7502）：575-581（2014）.
49）Wilhelm, M. et al. Mass-spectrometry-based draft of the human proteome. Nature 509（7502）582-587（2014）.
50）Vizcaíno, J. A. et al. ProteomeXchange provides globally coordinated proteomics data submission and dissemination. Nature Biotechnology. 32（3）223-226（2014）.
51）Vizcaino, J. A. et al. 2016 update of the PRIDE database and its related tools. Nucleic Acids Res 44, 11033（2016）.
52）Farrah, T. et al. PASSEL: the PeptideAtlas SRMexperiment library. Proteomics 12, 1170-1175（2012）.
53）Okuda, S. et al. jPOSTrepo: an international standard data repository for proteomes. Nucleic Acids Research. 45（D1）D1107-D1111（2017）.
54）Sharma, V. et al. Panorama Public: A Public Repository for Quantitative Data Sets Processed in Skyline. Mol Cell Proteomics 17, 1239-1244（2018）.
55）Griss, J., et al., PRIDE Cluster: building a consensus of proteomics data. Nat Methods 10, 95-96（2013）.
56）Beynon, RJ, et al., Multiplexed absolute quantification in proteomics using artificial QCAT proteins of concatenated signature peptides. Nat Methods 2, 587-589（2005）.
57）Takemori, N. et al. MEERCAT: Multiplexed Efficient Cell Free Expression of Recombinant QconCATs For Large Scale Absolute Proteome Quantification. Mol Cell Proteomics 16, 2169-2183（2017）.
58）Barber, K. W. et al. Encoding human serine phosphopeptides in bacteria for proteome- wide identification of phosphorylation-dependent interactions. Nat Biotechnol 36, 638- 644（2018）.
59）朝長毅 . 定量プロテオミクスを用いたバイオマーカー探索とその医療への応用 . Proteome Letters 1, 1-10（2016）.
60）Addona, T. A. et al. Multi-site assessment of the precision and reproducibility of multiple reaction monitoring-based measurements of proteins in plasma. Nature Biotechnology. 27（7）：633-641（2009）.
61）Kennedy, J. J. et al. Demonstrating the feasibility of large-scale development of standardized assays to quantify human proteins. Nat. Methods. 11（2）：149-55（2014）.
62）MacLean, B. et al. Skyline: an open source document editor for creating and analyzing targeted proteomics experiments. Bioinformatics 26, 966-968（2010）.

63）Whiteaker, J. R. et al. CPTAC Assay Portal: a repository of targeted proteomic assays. Nat Methods 11, 703-704（2014）.
64）Ding, C. et al. Proteome-wide profiling of activated transcription factors with a concatenated tandem array of transcription factor response elements. Proc Natl Acad Sci U S A 110, 6771-6776（2013）.
65）Beck, S. et al. The Impact II, a Very High-Resolution Quadrupole Time-of-Flight Instrument（QTOF）for Deep Shotgun Proteomics. Mol. Cell Proteomics. 14（7）2014-2029（2015）.

## ２．１．６　一細胞オミクス解析技術、細胞系譜・地図技術

### (1) 研究開発領域の定義

一細胞ごとにゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームなどのオミクスを計測・解析する技術の総称を指す。またこのような技術や一細胞での蛍光タンパク質遺伝子、ないしDNAタグによる細胞標識・追跡技術との融合によって細胞分化の系譜を追跡し、オルガノイド系、胚発生系等の細胞社会、臓器を構成する一細胞の挙動を正確に理解し、究極的にはすべての細胞種のアトラスを構築するような研究が該当する。類似の領域に一細胞が持つ少数種類の分子や細胞のマクロな形態・機能を計測する一細胞解析がある。

### (2) キーワード

シングルセルゲノム、シングルセルトランスクリプトーム、シングルセルエピゲノム、シングルセルプロテオーム、シングルセルメタボローム、空間的解析、シングルセルオミックス連関、オミックス同時解析、細胞系譜追跡、Human Cell Atlas（ヒト細胞アトラス）、細胞地図、3次元全臓器イメージング、DNAシーケンサー、RNA-seq、イメージング、多光子顕微鏡、ライトシート顕微鏡、蛍光タンパク質、組織透明化、DNAバーコード法、バイオインフォマティクス

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

多細胞生物は、１個の受精卵が分裂を繰り返すことによってその機能を獲得する。細胞はどんどん個数を増やす一方で、適切な細胞に分化することで、骨や皮膚、筋肉などの分化した細胞に運命づけられ、新しい機能を獲得する。また、細胞は増殖と分化を繰り返しながら、適切な配置に移動し、臓器を形成する。正常な個体として発生する過程や成熟後に、がん化してしまう細胞が現れたり、機能不全になって、個体に影響を及ぼしてしまう細胞も出現する。このように細胞には個性と多様性がありながら、全体として秩序が保たれている。個と全体の両者を見られれば、病気を引き起こす仕組みなどがより精緻にわかると期待されている。

個体の生命システム、そしてその破綻である疾患発症のメカニズムを解明するためには、細胞レベルの分子の振る舞いを包括的に理解することが必要不可欠である。これまでも実験レベルにおいては、分子・細胞を標的として介入を行い、その効果を観察することが可能であった。しかし、このような介入が実際には細胞レベルで行われているにも関わらず、そのアウトプットの解析は臓器もしくはディッシュレベルで行われてきた。細胞集団に特異的なマーカー因子が同定されている場合には、そのマーカーを用いて細胞を選別する技術も存在するが、それにより標識された細胞も不均一な細胞集団である可能性がある。基礎研究だけでなく臨床検査の観点からも、生命システムの根幹を担う細胞のレベルで分子機構を包括的かつ定量的に解析する技術が待望されていた。

現在組織学的には哺乳類生体を構成する組織細胞は形態的に異なる少なくとも200種類以上の細胞が存在していると考えられているが、これまでは技術的限界から、受精卵が発生する過程における内・中・外胚葉分化とそれらに由来するそれぞれの臓器、組織細胞への分化に至る個々の細胞の挙動については限られた知識しかなかった。また各臓器、組織に存在する成体

幹細胞の組織維持・障害後再生過程についても一細胞レベルでの挙動についての知見は限られていた。

多細胞生物がもつ細胞は、基本的にはほぼ同一のゲノム配列をもつ。そのため、細胞の機能を知るには、どの遺伝子がどのぐらい機能しているかを調べる必要がある。そのため、ゲノム配列ではなく、タンパク質を生産するために必要な中間物質であるRNAや、RNA量を変化させるゲノム配列の修飾やクロマチン構造変化であるエピゲノム、タンパク質量、代謝産物量を一細胞で計測する必要がある。一方で、がんでは一細胞ごとにゲノム配列そのものに変異が入るため、その原因を知るには一細胞ごとにゲノム配列を決定しなければならない。

近年の技術的進展の結果、個々の細胞のマルチオミクスデータが得られたことで、例えば複数の表面マーカーを複合したフローサイトメトリーにて高度に純化した成体幹細胞集団であっても、個々の細胞には想像以上の不均一性が認められたこと、また細胞周期などの細胞の状態によっても変化することが確認された。こうしたオミクスデータに基づいて細胞集団のさらなる小集団への細分化、それら集団間関係性予測による分化系統譜解析などができるようになると考えられている。

3次元的に臓器全体を観察する技術が発展し、様々な細胞ラベリング技術と組み合わせて、細胞の位置情報に加えて細胞種・細胞状態の情報を全臓器・全身スケールで収集する技術開発が進められている。将来的にはこうした研究の結果、各臓器・組織に存在する細胞の細分化とそれらの受精卵からの正確な発生系譜が明らかとなり、全身に存在する全ての組織細胞アトラスが作成されることが期待される。

これらの情報は臨床医学において疾患細胞、医療用細胞等の研究や現実の治療に用いられる細胞の品質評価に活用でき、従来の集団細胞での情報に比べて、より精緻な性質を捉えることを可能とし、正確な品質評価基準を与える。その他にも、診断や予防医学では一細胞解析を用いた生検データと細胞知識を集積したヒト細胞データベースと比較することによって、より正確に疾患のステージを把握し、それに基づいた精度の高い診断を行って治療計画の立案に貢献することが可能になると期待される。

**［研究開発の動向］**

近年ゲノム科学・生化学・工学・バイオインフォマティクスなど様々な分野の発展および連携により、単一細胞レベルの解析技術が進歩し、生物学・医学研究において大きな改革が起きている。単一細胞レベルでの包括的かつ定量的な分子プロファイルの記述が可能となり（一細胞レベルのゲノム、トランスクリプトーム、エピゲノム、プロテオーム、メタボローム解析がすでに可能）、そのデータは生命現象の本質的な分子機構の解明に有用であるだけでなく、時空間的な分解能を持った細胞挙動の解析、臓器・個体レベルの機能と連動した解析へと応用されており、単一細胞解析は生命現象の解析ツールとして確固たる地位を確立している。一細胞オミクス技術は極めて解像度の高い包括的な分子顕微鏡と考えることもできる。

● 一細胞トランスクリプトーム解析技術

細胞は生体において、自らに内在する分子を組み合わせて、時間的かつ空間的に制御された機能を発揮している。一細胞トランスクリプトーム解析により、このような細胞の時間的・空間的・分子機序的な解析が同時に可能となる。またこれまでの臓器細胞集団としての解析では埋もれていた希少な細胞集団の存在を同定し、その細胞集団における特異的な遺伝子発現制御

機構を明らかにする研究へと発展させることができる。

2007年頃に登場した超並列型DNAシーケンサーの登場により一細胞レベルのRNAをシーケンスする技術の開発が進められており、2009-2013年頃には、現在利用されている3つの技術が、スウェーデン[1]（SMART-seq）、日本[2]（Quartz-Seq）、イスラエル[3]（CEL-seq）でそれぞれ開発され、一細胞RNAシーケンス法が確立した。一細胞RNAシーケンス法では一細胞を容器に取り分けて、分子生物学的反応を行う。細胞の採取方法には、主にマイクロ流体装置や液滴形成流路、FACSソーティング技術を利用する。マイクロ流体装置としては、マイクロチャンバー（ウェルプレート）に一細胞を捕捉し、細胞融解からcDNA増幅までを96細胞分並列して実施できるFluidigm社のC1が発売され、一細胞RNAシーケンスの普及に大きな貢献をした。2014年には1000細胞にも満たない細胞数しか解析できないことが課題であったが、2015年には、数千から数万の一細胞RNAシーケンスを行う装置が開発された[4,5]。これは、オイルと水を混合することで生成する液滴中に、細胞と細胞を標識するDNAバーコードや試薬を閉じ込める装置である。2018年に10x Genomics社が装置を市販化し、高出力型一細胞RNAシーケンスがさかんに実施されるようになりつつある。

例えばHulsmansらは、房室結節におけるマクロファージをFACSでソートしてsingle-cell RNA-seq解析をすることで、マクロファージを3種類の状態に分類した[6]。このように既存の細胞分類を超えた細胞不均一性を同定する上でシングルセルRNA-seq解析は必須のツールとなる。心筋特異的p53ノックアウトマウスの心筋一細胞RNA-seq解析により、心筋リモデリングにおけるp53の意義をシングルセルレベルで明らかにした[7]。あらゆる遺伝子や薬剤の意義をシングルセルレベルで評価できるため、組織全体を解析対象としていた以前の研究とは解像度の次元が大きく異なる。

● 一細胞トランスクリプトームによる時間軸の解像度を高めた解析

疾患発症過程において、細胞はある段階からある段階へ急激に状態を変えるわけではなく、徐々に状態が変化していく。このような細胞状態の変遷を解析するためには、時間的に解像度を高めた解析が必要である。

一細胞解析技術で得られるデータは、RNAやDNA、エピゲノムの変化するゲノム領域などの分子と観察した細胞数の次元の行列が得られる。このような一細胞オミクス行列から様々な生命機能を抽出・推定する技術が開発されている[8]。一細胞発現データから細胞の増殖や分化時間や方向性を予測する擬時間推定法や、複数の細胞種に分岐する場合に、それに貢献する遺伝子を予測する分岐解析、遺伝子ネットワーク解析法が開発されている。またこれまで蓄積されてきた遺伝子発現データベースに対して、一細胞発現データを検索することで、類似の細胞を同定する方法も開発されている。その他、一細胞データ特有の実験のばらつきなどを考慮した変動遺伝子の統計検定や、幹細胞同定、希少細胞同定などのアルゴリズムが開発さている。また数千から数万の一細胞データを閲覧するための可視化法の研究もされている。

それには、蛍光シグナルを使ったBrainbowシステムのような細胞追跡法[9]が有用であるが、ひとつひとつの細胞の包括的な分子プロファイルのダイナミックな変遷を追跡するのは容易でない。そこで一細胞トランスクリプトームを用いて、様々なアルゴリズムによって細胞系譜を再構築し、細胞挙動における分子機構のダイナミクスを解析しようという試みがなされている。それを達成するためには、まず個々の細胞の状態およびその違いを定義する必要がある。

全遺伝子発現情報を用いて個々の細胞の状態を定義する上で、発現量を様々な数理モデルに

あてはめて次元削減を行うことができる。このような解析手法として主成分分析（線形モデルにより全体を表現する少数の変数を合成する）やt-SNE（高次元空間のデータポイントの近さを確率分布で表す）、diffusion map（遷移確率行列を構築し、拡散距離を測定する）などがよく用いられる。これらにより、全遺伝子の発現量という20,000程度の変数から数個の変数へと変換し、それを二次元（三次元）空間に落とし込んで細胞の状態の違いを考察することができる。細胞の状態が時間的に変化する生命現象を解析する場合には、空間上に仮想的な時間軸を設定して、細胞の系譜を推測することが可能である。このような手法によって生み出される仮想的な時間軸が、実際の生物学的プロセスを極めてよく模倣していることが、あらゆる生命現象において証明されている。このような細胞の系譜を独自のアルゴリズムで推測するプログラムも複数報告されている。Monocleというプログラムは、網羅的な遺伝子発現情報を数個の次元に圧縮した後に、細胞系譜に沿った形で2次元空間上にpseudo-time courseという新たな架空の時間軸を作り出す[10]。骨格筋分化の系や神経細胞の発生過程にこのアルゴリズムを応用することにより、高い解像度で分化遺伝子の発現変動を捉えることが可能となり、複数の新規分化制御因子が同定された。東大の野村、津田らは、CellTreeというトピックモデル（機械学習アルゴリズム）を用いた一細胞系譜推測プログラムを共同開発している[11]。またOscopeというプログラムは、解析対象とする細胞の中で協調して振動する遺伝子群を抽出して細胞を並び替えることができ、これを用いてヒトES細胞において細胞周期関連遺伝子と協調して振動する新たな遺伝子グループが同定された[12]。

このような一細胞トランスクリプトーム情報から細胞の時間的系譜を推測する手法は疾患解析にも応用されている。特にがん領域では細胞進化の研究が盛んであり、悪性黒色腫[13]、神経膠芽腫[14]、乳がん[15]、希突起神経膠腫[16]、白血病[17]などの病態解明に応用されている。例えば、希突起神経膠腫の患者のがん組織の細胞を一細胞レベルで解析することで、がん化してからがん組織を形成するまでの細胞進化の系譜が明らかとなり、がん幹細胞と考えられる細胞集団における特徴的な遺伝子発現プロファイルを同定し、個々の患者ごとの細胞分布を解析することで、細胞系譜と治療応答性との関係性が明らかとなっている[18]。

● 一細胞トランスクリプトーム解析以外の細胞系譜解析法

多細胞生物は、1つの細胞が分裂と分化を重ねて、複雑な個体を形成する。細胞系譜と分化の関係を知ることができれば、多細胞生物の成り立ちや疾患になる仕組みが理解できる。蛍光タンパク質と蛍光イメージング技術の発展により、線虫の全細胞系譜の同定から始まり、様々な生物・組織で系譜解析が行われてきた。in vivoにて細胞（特に成体幹細胞）の運命を追跡する手法として、Cre-LoxPの組み換え技術により、任意の位置・時間に任意の蛍光タンパク質の組み合わせを発現させる技術や、CRISPR/Cas9を利用して、ゲノム配列中のバーコード領域に変異を入れることで、細胞を区別する方法[19]などが登場した。このランダムな人為的DNA配列の細胞への導入付加法（DNAバーコード法）の開発とその進化によって組織における注目一細胞の挙動を追跡できるようになりつつある。

Cre-loxpシステムを応用し、特異的遺伝子プロモータを使って興味対象細胞のみをLacZにて標識する技術は1999年Soriano[20]によって開発され、その後複数種類の蛍光タンパク質を用いた多色細胞系譜追跡法の開発[21]によって一細胞系譜追跡の可能性が開かれた。現状4色程度の多色細胞系譜追跡が一般的になっており、15色程度までの系譜追跡が可能となっているが、さらに多色の系譜追跡が開発されつつある。

個体の疾患発症の過程において、罹患臓器の細胞は分裂する度にゲノムに変異を蓄積していく。すなわち一細胞レベルのゲノム配列を解析することによって、高精度の細胞系譜追跡が可能である。例えば、脳の凍結組織から抽出した細胞核を用いて一細胞ごとの全ゲノム配列解析を行った報告があり、これによって詳細な細胞系譜追跡が可能になるとともに、変異が入りやすい部位は、神経細胞において特徴的な遺伝子の領域であることがわかった[22)]。

しかし一細胞ごとに全ゲノム配列解析をするには膨大なコストがかかる。そこで細胞に特異的なバーコード配列を組み込んでおき、その領域にCRISPR/Cas9をリクルートさせ、細胞分裂の度にそのバーコードの一部に突然変異を入れるシステムを作ることにより、このバーコードのみをシークエンスすれば細胞系譜を追求できる。これは培養細胞だけでなく、最近ゼブラフィッシュの発生においてCRISPR/Cas9によるrandom barcodingとトランスクリプトーム同時解析の報告があり[23)]、細胞のクローン追跡と細胞表現型（トランスクリプトーム）を同時に抽出できるようになり、組織再生における上皮間葉転換の分子機構が詳細に明らかとなった。モデル生物でも十分機能することが証明されている[19,24)]。さらにそのバーコード配列の読み出しを次世代シークエンスではなく1分子蛍光in situハイブリダイゼーション（smFISH）で行うことで、空間情報を保持したまま細胞系譜の追跡が可能となった[25)]。

上記の一細胞オミクス、一細胞イメージング技術、多色ないしDNAバーコードを用いた一細胞系譜解析はすでに成体幹細胞研究、発生研究に応用されつつある。

1つの流れはES細胞ないしiPS細胞のin vitro分化系を用い、一細胞トランスクリプトーム解析にて解析対象組織の発生系譜を解析する研究である。現状、in vitro分化技術の限界もあり、完全に正常発生を再現した形の結果は得られていない。

2つめの流れは、成体幹細胞のオルガノイド培養系を用い、成体幹細胞・ニッチ細胞の正常および障害後再生過程における細胞動態を解析するものである。

3つめの流れとして、受精卵ないし初期胚をもちいた発生系譜研究である。線虫、魚類については研究が先行し、哺乳類においても解析は進行中である。

● 一細胞トランスクリプトームと他の情報を統合した空間的（空間発現パターン）解析

臓器において種々の細胞が綿密な空間的構造を構築して恒常性を保っている。空間情報を保持したまま遺伝子発現解析をすることで、疾患発症の分子病態の空間的なダイナミクスを解析できる。このような空間的関係性を理解する上でシングルセルRNA-seq解析は大きな意義を持っている。核酸のシーケンスは、一細胞を単離し、破壊して計測する必要がある。そのため、一細胞の組織内の位置や、分子の細胞内局在などは計測できない。そこで、細胞や分子を「本来の場所で（in situ）」で計測する手法の開発が盛んである。1988年に、固定した組織に含まれるRNAを空間的な位置を保ったままcDNA合成をする技術が登場した。1996年には細胞の位置を記憶して細胞を採取し、cDNA増幅を行う実験がされている。2014年にはイメージ質量分析計や質量イオンビームイメージングなどが開発され、タンパク質の空間発現分布が観測できるようになった。

2015-2016年には、また空間構造を保持した細胞や組織切片中で直接RNAを逆転写あるいはプロービングし、1分子イメージングで配列をシーケンスするin situ sequencingと呼ばれるMARFISH[26)]やseqFISH[27)]が開発され、複数の遺伝子由来のRNAが計測できるようになった。

一細胞レベルまで分離することを要求しなければ、レーザーマイクロダイセクションなどによって空間情報を保持したまま細胞集団を抽出し、トランスクリプトームを得ることで十分解

析可能である。これまでにゼブラフッシュやマウスの胚発生[28]、心臓組織再生過程[29]における空間的トランスクリプトームデータが報告されている。

SpatialDE[30]やtrendsceek[31]というアルゴリズムを使うことで、シングルセルRNA-seqデータから空間的特徴を持つ遺伝子発現パターンを予測できる。

また解析対象遺伝子が限られるが、RNA in situ hybridizationによって空間情報を保持した遺伝子解析が可能である。このデータと一細胞RNA-seqデータを統合することで、特徴的なトラスクリプトームをもつ細胞の位置を概ね予想することができる[32]。

このような空間情報を維持した遺伝子発現解析もハイスループット化が急速に進展している。FISHの技術を多数のプローブを用いることで、同時に1つの細胞の数百の遺伝子の発現を解析する技術が構築されている[26]。またスライドガラスにRNAを補足するプライマーを約1000種類程度配置しておき、その上に組織切片を貼り付けて溶解することにより、個々の細胞から溶出したRNAをその位置において捕捉し、その位置でcDNA合成を行うことで位置情報を保持したままのcDNAライブラリを作り、個々の細胞の網羅的な遺伝子発現情報を取得することができる[33]。

● エピゲノム・遺伝子制御関係の解析への応用

ゲノム配列の修飾やクロマチン構造、クロマチンの開閉位置などエピゲノムは、遺伝子発現の制御に関わっており、細胞ごとに特異的なパターンを示すため、一細胞で計測できれば、細胞機能やその成り立ちの理解が深まる。

転写因子のような制御性タンパク質はDNAと相互作用することによって、多くの遺伝子群を同時に制御し、細胞特有の機能を生み出している。このように同時に制御されている遺伝子群を、一細胞ごとのトランスクリプトームから抽出することができる。例えば重み付き共発現ネットワーク解析によって、いくつかの細胞で共発現している遺伝子群を抽出することができる。神経細胞の一細胞解析に応用した結果、将来的に神経細胞やグリア細胞に分化する幹細胞集団に特徴的な遺伝子ネットワークが同定されている[34]。これをゲノムワイドに予測する上で、エピゲノム情報は極めて重要である[35]。

近年一細胞レベルでエピゲノム情報を抽出する技術が生み出されたことで、遺伝子発現レベルではなく、制御領域のレベルで細胞の状態を定義することができるようになってきた。2013年以降、トランスポゼースの挿入位置をシーケンスすることで、（オープンクロマチン領域で）ゲノムの開構造をシーケンスするATAC-seq[36,37]、DNase-seq[38]によって、ヒストン修飾（特定のタンパク質がゲノムのどこに結合するか）をChIP-seq[39]によって、DNAメチル化修飾をBisulfite-seq[40,41]、5hmC-seq[42]によって、クロマチン高次構造（クロマチンの接近位置を特定する）をHi-C[43]によって、一細胞レベルでゲノムワイドに抽出する手法が報告されている。これらの手法によって、エピゲノムレベルで細胞集団を分類し、細胞系譜を詳細に解析することができる。しかしいずれの手法も、実験精度の問題で、ゲノム全体を真にカバーしているとは言えず、今後の技術開発の発展が期待される。また解析対象であるゲノムDNAが一細胞あたり2コピーしか存在しないので、RNA解析とは異なり、偽陰性となる情報が多くなることを考慮した解析が必要となる。

最近になって、1つの細胞から遺伝子発現とエピゲノムを同時に抽出する技術も確立され、その関係性を解析することが可能になった。例えば、一細胞からエピゲノム（DNAメチル化）とトランスクリプトームを同時に抽出することにより[44,45]、発生過程において転写因子が

DNA に結合することにより誘導される DNA 脱メチル化の程度が大きい細胞ほど、その標的となる遺伝子発現が高いことがわかった。

また制御関係を明確に示すためには、エピゲノム情報を遺伝学的な機能改変実験と統合することも重要である。遺伝子改変モデル生物から単離した細胞を一細胞レベルでトランスクリプトーム解析することにより、その遺伝子の機能を詳細に解析することができる。しかし遺伝子の機能を個別に解析するのは、スループットが低く、遺伝子間の関係性も不明瞭となる。現在は細胞レベルの表現型を一細胞トランスクリプトームとして解析できるようになったため、これを利用して CRISPR/Cas9 による網羅的な機能抑制ライブラリを用いて個々の細胞に別々の遺伝子の機能欠失を誘導し、そのアウトプットを一細胞 RNA-seq で解析し、改変遺伝子と表現型（トランスクリプトーム）を連結する Perturb-seq[46]・CRISP-seq[47]・CROP-seq[48] といった手法が開発され、遺伝子改変の影響を網羅的に解析できるようになった [46-49]。このとき重要なのが、各々の細胞でどの遺伝子の機能抑制が働いたかの情報（すなわち Cas9 のガイド RNA の情報）をトランスクリプトームと同時に抽出することである。最近この技術を用いた報告が相次いでなされ、様々な生命現象において重要な遺伝子を網羅的に同定するだけでなく、各遺伝子がどのような遺伝子群を制御しているかまで一気に明らかにしており、今後の疾患解析研究に重要な役割を果たすと考えられる。

● 3 次元全臓器イメージング

もともと 3 次元的な構築を持つ生体組織を 3 次元的に観察するための技術として、100 年ほど前の解剖学者、Spalteholz によって開発された有機溶剤試薬に端を発する組織透明化技術が、2007 年のドイツの Dodt らの報告 [50] を皮切りに大型サンプルをセクショニングせずに 3 次元イメージングを行うのに極めて有効であることが次々に示され、近年の当該分野の発展へとつながっている。現在、組織透明化手法は大別して 1）有機溶剤を用いる方法（BABB 法、3DISCO 法とその派生プロトコル）[50-56]、2）水溶性化合物を使用する方法 [57-67]、3）組織をアクリルアミドゲルなどのハイドロゲルで固定し透明化する方法 [68,69] に分類される。

1）の有機溶剤を用いる方法は最も先行した研究開発だが、試薬の危険性、環境への影響（ジクロロメタンなど一部の試薬は、環境への廃棄が厳しく制限されている）や蛍光タンパク質の保持性の問題が指摘されていた。蛍光タンパク質の保持性については、2015 年にドイツの Giese らが FluoClearBABB 法を報告 [53]、Ertürk らが uDISCO/vDISCO 法 [54,56] を報告し、改善が進められているが、ユーザーからの反応を伺う限り未だ問題が多いようである。

2）の水溶性化合物を用いる方法は、皮膚等の生体組織を医療目的で透明化することを目指した開発が 2000 年代前後から進められ、アルコールや糖などがテストされていた。2011 年に日本の宮脇（理研 BSI・当時）らが、蛍光タンパク質を消退させる有機溶剤の欠点を克服するため、水溶性化合物を使った組織透明化試薬と蛍光イメージング技術の開発に取り組み、2011 年までに尿素を主要成分とする試薬（Sca*l*e）として発表した [57]。さらに後年、ソルビトールを加えて透明度を上げるとともに、微細な解剖学的構造の保持性を高めた ScaleS を発表した [58]。同様の試みはアメリカの Mason（コロンビア大）らのグループによるホルムアミドを主要成分とする ***Clear**$^T$* [59]、日本の今井（理研 CDB・当時）らによるフルクトースまたはイオヘキソールを主成分とする SeeDB / SeeDB2[60,61]、日本の上田ら（東京大学 / 理研 QBiC・当時）による、大規模化合物スクリーニングを元にアミノアルコールやアミド化合物を主要要素とした CUBIC 試薬 [62,67,70-72]、日本の根本ら（北海道大学）、小野寺ら（東京大学）、イタリア

の Pavone（フローレンス大学）らによる 2,2’- チオジエタノールを使用した透明化法[64,73,74]などが報告されている。これらの手法はそれぞれ目的とする主要なアプリケーションが異なっており、例えば CUBIC 試薬は脱脂・脱色を実施し全臓器や全身のまるごとイメージングを目指す手法であり、一方 ScaleS や SeeDB2 は電子顕微鏡や超解像イメージングとの組み合わせを目指している。

3）のハイドロゲル包埋を行う方法は、Deisseroth ら（アメリカ・スタンフォード大）によって報告された、組織をアクリルアミドゲル中に包埋してドデシル硫酸ナトリウム（SDS）と電気泳動による強力な脱脂によって透明化する手法（CLARITY）[68]に端を発する。CLARITY の派生プロトコルは多数報告があるが、手法な開発グループは、Chung（アメリカ・MIT）、Gradinaru（アメリカ・Caltech）らである。Gradinaru らは電気泳動を使用しない passive CLARITY 法（PACT 法）、全身透明化のための PARS 法などを開発している[69,75]。また Chung らは組織を強力に固定するという発想を活かして、アクリルアミドの代わりにグルタールアルデヒドを利用した SWITCH 法も開発している[76]。

また、組織透明化技術は従来神経科学分野での活用が先行していたが、脱脂・屈折率調整および脱色の要素をすべて伴った高効率な透明化手法の開発に伴い、マウス全身臓器やヒト臓器を含む霊長類を対象とした応用も可能となってきている。CLARITY の改良版である PACT/PARS 法、CUBIC 灌流法、3DISCO を改良した uDISCO 法では、成体マウス全身の透明化が報告されている[54,69-71,75]。また、クロロフィルの脱色と透明化が必要な植物に対して、名古屋大・東山らの ClearSee 法[63]、東京理科大・松永らの TOMEI 法[77]などが報告されている。近年ではリン酸カルシウムを EDTA で脱灰し透明化する骨透明化法（Pact-deCal, Bone-CLARITY, CUBIC-B など）の開発も進み[72,75,78]、さらにこれらのプロトコルをすべて組み込んで骨を含むマウス全身などの大型サンプルを効果的に透明化するプロトコル（vDISCO、PEGASOS）[56,79]も報告されている。これらの動きから、組織透明化手法のプロトコル開発はほぼ飽和期に入っていると考えて良い。

組織を 3 次元的に観察するには、細胞の適切なラベリング法との組み合わせが重要である。ウイルスベクターを用いた全脳回路観察[80,81]、高速（次世代）マウス遺伝学によるトランスジーンの新規導入と解析[62,71,82]など、遺伝学的手法によるラベリングは早期から適応が進んでいた。近年ではアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを改良し、末梢投与でほぼ全脳がラベル可能な改変 AAV ベクターも報告されている[83]。さらに、組織化学的な染色技術（低分子、核酸プローブ、抗体など）を利用する試みも相次いでいる。各種臓器や全身の低分子染色剤あるいは抗体による染色と 3 次元観察との組み合わせ例が報告され始めており、アルツハイマー病のアミロイド蓄積や神経活動の全脳可視化、ヒト胎児の 3 次元観察などの応用が進んでいる[52,58,62,71,84,85]。また、抗体の multiplex ラベリングや ***in situ*** hybridization の 3 次元化の試みが CLARITY の開発グループから報告されている[76,86]。

これらのサンプルから取得されるデータの解析について、特に臓器全体の 3 次元イメージを解析することを目的としたデータ解析パイプラインが、複数の研究グループから報告されている。上田らのグループは先んじて CUBIC 法における画像解析パイプラインを開発し、神経活動をラベルできるトランスジェニックマウスを用いたオミクス的な解析例を報告した[62,70,87]。続いて、アメリカ・内田らのグループ（ハーバード大）が狂犬病ウイルストレーサーを導入した脳の解析例を報告[80]、また同じくアメリカ・Tessier-Lavigne のグループが、cFos の全脳免

疫染色により神経活動をラベルした脳を解析するパイプライン「ClearMap」を報告[85]、アメリカ・Deisserothらのグループは神経活動によって遺伝学的に細胞をラベルできるマウス系統やアデノ随伴ウイルスツールを用いて、ある条件下で活動した神経とその軸索のプロジェクションを同時にラベルし、CLARITYによる透明化と3次元イメージングで観察・定量化するパイプライン「CAPTURE」を構築し報告している[88]。さらに近年では、全脳アトラスと細胞解像度のイメージデータを用いてインタラクティブに解析を行えるマウス全脳のコンピュータ解析フレームワークが、スウェーデンのカロリンスカ研究所を中心としたグループから報告されている[89]。また日本からも、マウス全脳からすべての細胞の位置を取得して「点描画」として描出し、各細胞の位置に解剖学的情報を付加した細胞解像度アトラス「CUBIC-atlas」が報告されている[90]。本アトラスでは各細胞位置の周囲にある種の確率分布をもたせることで、レジストレーションしたサンプルデータ中の細胞位置をアトラス中の最も近傍と考えられる細胞位置にアノテーションする手法が用いられている。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

- 多検体計測装置としての一細胞RNA-seq
  一細胞RNA-seqを大量サンプル計測法として捉えなおす動きがある。例えば、CRISPR/Cas9による遺伝子ノックアウトライブラリによって、一細胞ごとにランダムに遺伝子をひとつずつ破壊し、一細胞RNA-seqを実施することで、数千から数万の遺伝子破壊とその結果のトランスクリプトームを1度の実験で得られる[47,48]。また、表面タンパク質にDNAバーコードを付加し、一細胞RNA-seqによりトランスクリプトームと同時にDNAバーコードもシーケンスすることで、表面タンパク質の種類を同定する方法もある[91]。細胞が増殖・分化するまえに、一細胞ごとに異なる変異をゲノムに挿入し、増殖・分化後に、その変異をシーケンスすることで、細胞の系譜を同定することができる。
- in situ sequencing・細胞・組織中の遺伝子発現の直接大規模解析法
  一細胞レベルでゲノムの3次元構造をも把握するSPRITE法が報告され、これまでの理解に加えてゲノムは隣の染色体同士で遺伝子発現に影響しうることなどが明らかとなっている[92]。細胞の位置情報を保ったまま一細胞のトランスクリプトームデータを得る方法の開発（STARmap）[93]。本報告では培養細胞のみならず、150 $\mu$ m厚の3D in situ sequencingを成功させることに成功するなど今後の研究に風穴を開ける可能性がある。
  また、シーケンス以外の方法としてはJoakin Lunderbergら（KTH Royal Institute of Technology、スウェーデン）によるSpatial transcriptomics法が報告されており、同様に注目を集めている[33]。
- 多階層オミクスのシングルセルレベルでの統合
  近年シングルセルレベルのゲノム・エピゲノム解析研究も発展しており、単一細胞から複数階層のオミクス情報を同時に取得する解析が構築されつつある。例えばゲノムとトランスクリプトームを同時に取得する手法としてG&T-seq94）、SIDR95）など、トランスクリプトームとエピゲノムを同時に取得する手法としてscNMT-seq96）などが開発されている。オミクス同時解析により、単一のシングルセルオミクス解析で同定された制御状態が他オミクスとどのように関連するかを詳細に解析でき、細胞の分子制御構造の詳細な理

解に繋がる。

- 10x Genomics 社の Chromium システム
  2018 年 2 月の Advances in Genome Biology and Technology（AGBT 2018）にて、10x Genomics 社の Chromium システムを用いてシングルセルバーコード、シングルセルエピゲノム（ATAC-seq）、シングルセルコピー数多型解析（CNV 解析）が可能となることが報告され、今後これらの解析技術が身近なものになると期待される。
- Expansion Microscopy
  2014 年のノーベル賞受賞対象となった超解像顕微鏡は、特殊な顕微鏡セットアップや蛍光色素を必要とした。アメリカ・MIT の Ed Boyden らのグループおよび Kwanghun Chung らのグループは、通常の 1 光子顕微鏡で超解像レベルの撮像解像度を得ることを目指し、サンプルを大きく膨潤・透明化させる Expansion Microscopy あるいは magnified analysis of the proteome（MAP）と呼ばれる技術を開発した 97,98)。本技術では組織を吸水性ゲルに包埋し、組織の一部組成を処理した後にゲルの性質で組織を 4 倍から 25 倍程度まで膨潤させることができる 97,99)。東京大学・上田らは、マウス全脳の全細胞データを取得することを目指し、同様の発想でマウス全脳を膨潤させる新たな透明化手法「CUBIC-X」を開発した 90)。この手法では、人工ゲルを用いずに組織そのものの膨潤性質を増強させる化合物をスクリーニングで発見して利用している。
- データ解析パイプラインやソフトウェアの充実
  - シングルセル解析において実験間のバッチ差を取り除き生命現象の本質を浮き彫りにするアルゴリズムが開発されている [100)]。また低発現の遺伝子に対して発現量をリカバーする MAGIC[101)] や SAVER[102)] などのアルゴリズムが開発され、発現量の低い転写因子の標的予測などを効率的に行えるようになった。このようなシングルセル解析を系統的に行うプラットフォームとして、Seurat[103)] や Scanpy[104)] などが開発されている。さらにトランスクリプトームの次元削減手法として定番となってきた tSNE よりもさらに詳細な細胞分類が可能となる UMAP というアルゴリズムが開発された [105)]。
  - 一般的な画像データ解析のためのオープンソースソフトウェアとして、米国、欧州を中心として ImageJ、Fiji や Icy などが開発され広く利用されており、様々なプラグインの開発も進められている。また、大規模なサイズ（GB-TB サイズ）のデータへの適応も進んでおり、TeraStitche、BigStitcher、BigDataViewer などの解析ソフトの頒布が行われている。今後画像データ解析の需要はますます大きくなっていくと考えられており（BBSRC Strategic Review of Bioimaging 2018）、これらのプロジェクトの進展やファンディング状況は注視する必要がある。
  - 顕微鏡を使ったタイムラプス蛍光イメージングでは、オルガノイド系、受精卵から胚への発生系など、解析対象が複雑化すれば、視野内に存在する多数の細胞を、またそれらを標識するために用いる多くの蛍光色を自動識別し追尾する必要が高まる。現在慶應義塾大学、九州大学などを中心とし、AI を用いて多数の細胞を自動識別し、追尾するシステムが開発されつつある。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

- NIH Common Found, The Single Cell Analysis Program（SCAP）が 2012-2017 年に実

施された。2018年よりNIH Common Found The Human BioMolcular Atlas（HuBMAP）が、5.68M米ドルでスタートした。

- 2017年、ヒトの全細胞種類を同定するHuman Cell Atlas（HCA）がスタート。ヒトの体を構成する全主要組織での一細胞トランスクリプトームによる、細胞種、細胞3次元位置、地理的、人種的な違いを考慮したヒト細胞の細胞地図を構築することを目指している。応用としては、発生、細胞周期、細胞状態、分子ネットワーク、細胞相互作用、コホート研究を挙げている。これは下記のような考え方に基づいている。
  - 一細胞単位のデータ解析により細胞集団を構成する細胞の種類・状態・反応等における多様性を明らかにすること。
  - 組織内における3･4次元位置を個々の細胞に付加する技術（空間トランスクリプトーム）やこれを推定する解析手法を組み合わせることで元の組織を計算機内で再構築し、位置座標に基づいた細胞の地図を構築すること。
  - 胞間相互作用などのこれまでにその詳細が明らかになっていない細胞集団として高次の性質を示す細胞間ネットワークを明らかにし、組織内や組織間での細胞間の関係性を明らかにすること。

  また、これらを統合することで、受精卵から専門化された様々な細胞（分化細胞）が形成されていく発生過程を追跡した細胞系譜や、機能的な特徴に基づいた細胞間の関係を示す細胞連関地図を構築できる。

  HCAでは、研究開発テーマの一般公募を行っている。2017年10月には、38プロジェクト（脳/免疫/消化管（胃腸）/皮膚/組織サンプル調整技術/解析技術）の採択が発表され、2018年4月にはソフトウェアツールの85プロジェクトが選ばれた。2017年6月に発表されたData Coordination Centerが設立され、HCAで得られるデータの共有を目指す。HCAは国際プロジェクトであり、英国EMBL-EBI、米国Broad Institute、米国UCSC Genomics Institute、日本の理研などが参加している。各国のプロジェクト予算に基づいた国際連携の下、2018年3月の段階で44ヶ国、185プロジェクト、482名が参加している。
- 2016年に、10年間600M$以上の規模の「Chan Zuckerberg Initiative」が、スタンフォード大学やカルフォルニア大学などと連携しChan Zuckerberg BioHUB拠点を設立した。この研究拠点では、一細胞解析やHCAの研究開発を実施している。
- 欧州も、早期の段階から一細胞解析に着目しPlatform for Advanced Single Cell Manipulation and Analysis（PASCA）などのプロジェクトを展開した。英国を中心とする機関から組織される一細胞技術の開発や技術を用いた研究を行うSingle Cell Genomics Centre（SCGC）を発足させた[106]。ドイツ連邦教育研究省（BMBF）がSingle Cell Omics Germany[107]などの一細胞解析技術を応用した研究を支援している。
- EC Horizon 2020のPILOT ACTIONS TO BUILD THE FOUNDATIONS OF A HUMAN CELL ATLASにて、HCAの構築に協力する研究者に対してファンドすることを決定した。2年間3-5M EURが予定されている。
- 2018年にWellcome Trustが6つの研究グループに総額8億円相当を配分した。
- 2014年にJST CREST/さきがけ「統合一細胞解析のための革新的技術基盤」が立ち上がり、一細胞ChIP-seqやRNA-seq、系譜解析、プロテオーム、メタボローム、一細胞捕捉技術、イメージング技術などの開発が行われている。

- 2014 年より内閣府 IMPACT「セレンディピティの計画的創出」では一細胞を高速にイメージング・単離する周辺技術の開発を実施している。
- 2018 年度新学術領域研究「細胞ダイバーシティの統合的解明と制御」等、様々な研究領域でも一細胞遺伝子発現解析を中心技術に用いる場合も多く、組織発生や破綻の理解においても一細胞解析がもはやスタンダードな手法となっている。

### (5) 科学技術的課題

- 多彩な分子の一細胞オミクス計測

  普及しつつある一細胞 RNA-seq であるが、機能性の非ポリ A RNA や長鎖 RNA を捉えることができない。cDNA 合成法や PCR 増幅技術に限界があるためである。HCA で主に利用される高出力型一細胞 RNA-seq は、RNA の 3’端しか検出できないため、ヒト細胞のアトラスが完成しても、RNA 配列の全長が得られない問題がある。そのため HCA の成果は、RNA を標的とした核酸医薬、RNA 編集技術による創薬に貢献しにくい。現在は、これらの分子を一細胞で捉えられるのは日本発の技術である RamDA-seq のみである [108]。また、RNA は様々な修飾が知られているが、それらを一細胞でシーケンスした例はない [109]。今後は、エピトランスクリプトームの一細胞解析の開発が激化するだろう。

  また、細胞のなかで起きる様々なイベントを polyA RNA に変換することができれば、一細胞 RNA-seq を利用して、数千から数万サンプルでも計測できる。現在のシーケンサーでは捉えることが困難である細胞間相互作用、タンパク質量、分子局在、細胞間空間配置などを生体内で polyA RNA に変換し、シーケンスする手法を開発する、という方向性がある。現在、細胞分化系譜、表面タンパク質、ゲノム編集ノックインライブラリのゲノム挿入位置をポリ A の付加された DNA バーコードで記録し、トランスクリプトームと同時に計測する方法が提案されている。

- リアルタイム一細胞計測

  オミクスは基本的に細胞を破壊する計測であり、1 つの細胞を時系列で観測することは困難である。今後は、イメージングと分子プローブ技術により、シーケンスを用いないで、分子を網羅的に計測する技術の開発が望まれる。また、細胞内でのイベントを細胞内の核酸に逐次記録することで、破壊的なシーケンス技術を利用しても、擬似的にリアルタイムに計測したことと同義となる方法の開発方向も有り得る。特にイメージングでは捉えられない in vivo の深部で数ヶ月から数年に渡っておきる現象をゲノム DNA に記録し、シーケンスによって読み出す方法が日米で開発されている。

- DNA シーケンサーの開発

  一細胞オミクスは、細胞バーコード法や combinatorial indexing、マイクロ流体装置などの技術発展により、大量のサンプルを調製できるようになった。しかし、それらのデータをシーケンスするには、現在のコストやスループットでは足りなくなっている。少なくとも 2-3 桁のスループットを持つ DNA シーケンサーの開発が必須である。現在の Sequencing by synthesis や Nanopore ベースとしたシーケンサーではこの限界を越えるのは困難であり、シーケンスの基礎原理からの開発が必要である。

  Nanopore シーケンサーの登場で、長鎖 DNA 配列決定が可能となった。しかし、ポア数が少なく、DNA 分子数に対して決定できるシーケンス配列種の数も少ない。そのため、

一細胞由来の微量な核酸をシーケンスすることは困難である。DNA をシーケンスに変換する効率の向上が期待される。また、微量 DNA を長鎖 DNA シーケンサーで配列決定するには、今まで通り核酸の増幅が必要である。長鎖 DNA は切断されやすく、増幅も困難であるため、長鎖 DNA シーケンサー向けのシーケンスライブラリ作製技術の発展が望まれる。

固定された 3 次元組織内で DNA シーケンスできる技術が開発されつつある。これによって、RNA の局在や組織内での発現分布が得られる。現在は、決定できる RNA 種類が千程度であるが、細胞あたり数千の RNA が発現しているため、より決定できる種類数が増えることが期待される。

- 一細胞系譜追跡法の高度洗練化と AI による生物学的データ解析

1000 色までの超多色細胞系譜追跡法と DNA バーコーディング法の融合、1000 色までの超多色イメージングと 3 次元タイムラプスイメージング法と AI による個々の細胞識別とその追跡、あるいは上記超多色の自動識別技術の開発の組み合わせによって、オルガノイド、胚培養、ES/iPS 細胞分化系などによる興味対象一細胞（受精卵、生体幹細胞、単一 ES/iPS 細胞）の運命の追跡を可能とする研究開発が求められる。

SPRITE 法、STARmap 法など新しい技術の開発も行われ一細胞から得られる情報量はますます膨大となっている。さらに、一細胞の 3 次元タイムラプス解析（4 次元解析）による細胞の挙動、また複数細胞の相互作用（例えばニッチ細胞と幹細胞）などある組織の 1 場面に存在する数個から 1000 個単位の細胞の挙動を一定時間観察しそれらのオミクスデータ画像データを解析するとなると、情報が膨大すぎ、従来の解析手法では無理が生じることが予想される。そうした膨大なデータの中から意味のある生命現象を見出すためには、AI 等によるビッグデータ解析を取り入れ、進展させて行く必要があると考えられる。

- 日本人特有の細胞地図の構築

将来的に細胞系譜や細胞地図情報を臨床に応用することを目指した際、Human Cell Atlas 等の国際プロジェクトの報告を参照しつつ、日本人特有のリファレンスを作成することが重要になると考えられる。国際プロジェクトでは、人種間の細胞差を完全に考慮するのが困難であると予測されるため、日本人特有の細胞地図の構築は必須の課題となる。

- 個体全細胞解析による臓器連関解析

イソギンチャク [110] やマウス [111] の個体全体におけるシングルセル解析が行われ、個体レベル解析による新規の細胞同定やその制御機構の解明、臓器間の細胞連関解析などが可能になった。様々な疾患や生命現象において他臓器連関をオミックスで解析することが可能となっており、シングルセルレベルの他臓器連関解析に発展することが期待される。

- シングルセルオミックス解析の臨床応用

シングルセル解析は少量検体でも解析可能であるため、臨床検体との相性が良い。がんの組織検体においてシングルセルレベルでゲノム変異とトランスクリプトーム変化を統合解析する研究が進んでおり [112]、患者ごとにがんの細胞進化過程を詳細に明らかにしている。また臨床検体は容易に単一細胞に単離できないことが多く、保存可能な凍結組織から単離した細胞核を用いた single-nucleus RNA-seq 技術も確立されており [113]、これにより single-cell RNA-seq と同様に細胞種分類・細胞機能解析を行うことができる。

- 3 次元組織化学と臨床応用

3次元組織学はマルチチャンネルな情報を容易に取得できる強みがあり、この利点を活かした組織サイトメトリーなどの適応例が報告されている[66)]。また、病理診断などの臨床応用を目指した透明化・3次元染色技術の適応例がすでに複数報告されている[114,115)]。今後、組織染色のチャネル数、組織サイズ、染色スピードをさらに改善するとともに、応用範囲を広げる様々な試みが加速する可能性がある。

### （6）その他の課題

● 分野連携

従来よりもさらに生命医学研究におけるデータ解析、数理モデル解析、工学的デバイスの開発、低分子化合物の作成とスクリーニング等々、複数の分野の研究者の共同研究が重要になっている。一方で、我が国の研究者が育ってきた環境から、異分野は異なるキャンパスに存在していて学生、院生、ポスドク時代とそれぞれ物理的に分けられた状況で育ってきているという点も問題点として挙げられるだろう。現在、旧来の大学教育、大学院教育の枠組みのあり方、例えば理学部、工学部、薬学部、医学部といった古い枠組み自体がすでに時代の進歩においついていないのではないかという考え方もある。また、欧米ではそれらを複合し共同研究に主眼をおいた研究施設がすでに意味を持った形で機能し、成果を上げつつあるも我が国にはほとんどない。

一般にヒト細胞を使用するプロジェクトには検体から組織を採取することが必要である。従って、医療現場等との密接な連携が重要であり、ここで示している一細胞解析により細胞系譜、地図の構築を目指す研究領域も該当する。そこで、プロジェクト設立時にどの程度のサンプルを必要とし共有化できるか、また、人材、施設、費用の面での要求及び法整備に関して準備が重要である。国内プロジェクトとして組織体制を整理した結果、効率よく各プロジェクトが大学病院等と連携し、検体サンプルを得て臨床医学のテーマにも貢献できると考えられる。

● 人材育成

Human Cell Atlas では情報解析者の組織化に莫大な投資を行っている。既に、細胞種決定のための機械学習等を用いた手法などが多数報告されており、特にバイオインフォマティクスの重要性が高まっているにも関わらず、その人材が極度に欠如している。最大の原因は、日本では大規模なバイオインフォマティクス研究所が存在せず、旧来の実験研究所や情報科学研究所の一研究室で大部分の生命情報科学教育が行われていることである。また、両分野を習得するには膨大な時間がかかり、米国の様にダブルメジャーの体制が我が国では不十分であることも課題である。

またウェットとドライの両者をバランス良く理解した人材も今後多数輩出される必要がある。ENCODE や HCA などオミクスの国際プロジェクトは、バイオインフォマティクス研究者がオーガナイズしてきた。これは、オミクス技術の開発や利活用には、高度な情報処理が必須になっているためである。日本では、バイオインフォマティクス研究者がヘッドを務めるゲノム科学のラボや大型プロジェクトはほぼなく、国際競争力に乏しい。これまで、国をあげてバイオインフォマティクス「従事者」の育成プログラムが実施されてきたが、これは情報処理従事者に特化した人材の育成である。シーケンス技術の発展とともに我が国でも実験と情報科学の両方に明るい若手研究者が増えつつある。今後は、そのような人材に実験できる環境や予算配分を行い、研究室や大型プロジェクトをマネジメントできる人材を育成することが一細胞

オミクス分野の発展において必須である。また、そのような人材育成プログラムも必要であろう。

● コアファシリティと高度な研究開発チームの両立

一細胞解析における一細胞マルチオミクスが強力な解析手段になり、この 2-3 年の中でも各臓器、各種悪性腫瘍などで次々と新しい知見が見出されている現状は広く知られている。これらの解析は一般的にコストが高く、限られた研究施設でしか行うことができないために我が国では裾野が広がらない現状があり、欧米との同種研究との競合力の点で明らかな差が認められている。新しいオミクス解析の技術開発とともに既存技術のコストダウン、スピードアップ、より簡便な技術開発が極めて重要である。

膵臓は膜分解酵素等を含み、細胞を単離させると細胞融解するなど、ヒト組織の多くはそれぞれ専用の溶解液・技術が必要である。細胞の状態が得られる結果に強く影響するため、Human Cell Atlas では初期研究においては細胞処理の規格化を進めている。

日本では欧米との試薬・装置の価格差によって、中国や韓国、米国などの受託企業でシーケンスする方が安価になっている。そのため、国内のコアファシリティのシーケンサーはほぼ稼動しておらずシーケンサーを所有する意義が減少してきている。しかしながら、ライフラインであるシーケンシングを海外に完全に依存することは、国内のシーケンス技術レベルの低下やデータの流出、科学発展の独立性を担保できなくなる恐れがある。感染症の診断など、迅速性が求められる分野では、国内ですぐに利用できるコアファシリティが必須である。以上の理由で、受託による安価な実験と国内のコアファシリティの育成を両立させなければならない。シーケンス技術が低下すると、一細胞オミクス技術の開発力や運用力も向上せず、低下するであろう。

他国は、一細胞オミクス技術を開発しているトップラボでは、もはや共同研究や自身のデータプロダクションを実施していない。研究所内外のコアファシリティに技術移転を行い、自身は研究開発に集中しつつ、国内のユーザーがデータを得られるように工夫されている。日本では、技術の開発者が、開発から共同研究、支援、起業、試薬市販化、データ解析環境開発、他技術導入・評価などを 1 つの研究室で行うのが一般的である。そのため研究開発の生産性が著しく低下し、国際競争力も低下しつつある。コアファシリティを運営できる人材育成やその評価システム、長期的な予算配分とともに、各研究者の大型機器購入制限などが必要であろう。単に既存の技術を提供する作業だけでなく、最先端の技術に精通するための技術導入費用の確保も必須である。

イメージング、データ解析の標準化、および巨大データのストレージの問題は未だに大きな課題である。目的に応じた顕微鏡や解析パイプラインを一部の主要な研究者らが自力で構築している状況であり、開発を担当していないユーザーサイドからは、透明化が簡便化される一方でその後のイメージング、解析の部分が大きなボトルネックとして感じられ、参入が進んでいない部分も大きい。このような状況から、研究コミュニティ全体として本技術を活用していく体制がまだ整っていない。特にライトシート顕微鏡など、現時点では高額であるが 3 次元観察に適した顕微鏡の普及が必要である。データ解析については、ギガバイトからテラバイトのオーダーのデータを、知識や技術のないエンドユーザーが簡便に扱えるソフトウェア・ハードウェアの開発・普及が必要となっており、オープンソースソフトウェア（ImageJ 等）と組み合わせて使用できる plugin 等の開発がヨーロッパを中心に進められている。これらの標準化は基礎研究分野のみならず、臨床診断技術等への応用の点でも非常に重要な課題となると考えられる。

● 産学連携

一細胞解析や細胞系譜、細胞連関地図によって得られた結果を産業に提供し、活用するための枠組みを築くことが肝要である。解析プラットフォームを新規に構築しようとする企業とアカデミアによる共同研究や、商品化を目指す企業とアカデミアによる共同研究など、あらゆる面での産学連携が本研究領域で進む必要がある。英国、EU、米国を中心に、ライフサイエンスや製薬関連の企業との産学連携を目指す複数の学術会議を提供する Oxford global[116] が活動しており、一細胞解析に特化した学術会議も含まれる [117]。産業との結びつきが強い学術会議が存在することは、基礎研究に続く、応用研究・開発において重要である。

米国では一細胞オミックスを用いた創薬で大型のスタートアップが設立された。コファウンダーは HCA の代表者であり、一細胞オミックスの国際協力と並行して、産業界での競争がヒートアップしている。国内でも ICT 企業がヒトの遺伝子検査や健康診断データなどのヘルスケア情報の統合などに参入しており、アカデミアと産業界で人材流動性が非常に高まっている。日本においても、DNA シーケンスの利活用を基盤技術としたスタートアップが増加しているが、一細胞オミクスを産業応用しようとする例はほぼない。今後はより積極的な起業支援が必要であろう。例として、一細胞技術を用いたバイオプシー検査は予防医学の面で精度の高い診断を提供できるだけでなく、個人への医薬品の効果を分析するための情報源ともなり、精密医療につながる。そして、そのような医薬品に関する情報などが細胞連関地図に付加的な情報として付与されると、医薬品の品質を上げるような好循環を生み出す仕組みが産学連携により可能になると考えられる。

顕微鏡についてはドイツ・LaVision Biotec 社が、透明化した大型組織を対象としたマクロズーム型ライトシート顕微鏡を商品化し販売している。現行では、本顕微鏡が世界展開しているほぼ唯一の大型透明化臓器対応型のマクロズームシート照明顕微鏡である。オリンパス社が東京大学と連携し、LaVision 社と同等またはより高性能なマクロズーム型ライトシート顕微鏡の個注販売を小規模に開始しているが、現時点では国内向けに限られる。ドイツ・Zeiss 社が販売しているライトシート型顕微鏡は、より小型のサンプルを高倍率で見ることを目的としているが、小型の透明化サンプルへも適応可能ではある。

またオリンパス社は Scale 法や SeeDB 法で透明化した組織に最適化された多光子用対物レンズを理化学研究所と連携して開発・販売している。近年ではライトシート顕微鏡も様々な光路構築がテストされており、斜めから 2 軸で観察するアメリカ・ASI 社の diSPIM 型顕微鏡なども透明化組織の観察に適用できる。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | → | ・一細胞完全長 Total RNA-seq 法 RamDA-seq[108] や高出力・高感度を両立した一細胞 RNA-seq 法 Quartz-Seq2[118]、世界最速の一細胞検索エンジン開発 CellFishing.jl[119]、遺伝子制御ネットワーク予測 SCODE[120] などで世界をリードしている（理研）。<br>・生殖細胞（京大）やオルガノイド（横浜市大）の一細胞オミックス解析で世界をリード。再生医療、がん、免疫分野への応用で発展が見込まれる。臨床応用例などほぼない。<br>・生細胞での一細胞質量分析で、エレクトロスプレーイオン化法において世界をリードしている {Mizuno:2008hk}。<br>・理研・宮脇らの Scale 法[57,58]、理研・今井らの SeeDB 法[60,61]、東大 / 理研・上田らの CUBIC 法[62,67,70-72,90]、北大・根本ら、東大・小野寺らの 2,2'- チオジエタノールによる透明化法[64,74]、名古屋大・東山らの ClearSee 法[63]、東京理科大・松永らの TOMEI 法[77] など、動植物を対象とした多数の透明化法の開発・応用。Scale におけるアルツハイマー病組織の 3 次元観察[58]、SeeDB 法における超解像度と組み合わせ[61]、CUBIC 法における全細胞網羅的観察と解析パイプラインの整備、睡眠・覚醒の機能回路同定、がん細胞の全身転移観察、3D 病理学など[62,67,70,87,90,114]。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・横河電機が一細胞イメージング & 採取装置を開発しコンソーシアムを構築。Takara CloneTech 社が一細胞採取装置 iCELL8 を上市<br>・国内メーカーによる透明化試薬販売、ライトシート用 cMOS カメラ販売、最適化対物レンズ販売、ライトシート顕微鏡の個別受注開始等。<br>・日本には産業と結びつけるための企業を積極的に受け入れる意見交流の場がないことが課題である。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・シングルセル解析の技術・応用が飛躍的に進展<br>・マイクロ流体デバイスを利用した高出力な一細胞 RNA-seq 法 Drop-seq/inDrop RNA-seq で世界をリードしている（Harvard U.）。ゲノム編集ライブラリで網羅的な遺伝子ノックアウトを実施して一細胞 RNA-seq で捉える Perturb-seq（Broad Inst.）、トランスクリプトームと細胞表面タンパク質を同時に捉える CITE-seq（NYU）など一細胞 RNA-seq を利用した新技術開発が盛ん。<br>・一細胞トランスクリプトームの解析環境 Seurat がデファクトになりつつある（NYU）<br>・Human Cell Atlas プロジェクトの提案にも米国のブロード研究所が中核機関として参画している。<br>・ヒト / マウス一細胞発現アトラス（CZI BioHub）がある。CLARITY、SWITCH、iDISCO、$C_e$3D などの透明化・3 次元免疫染色手法の開発と応用例（ウイルスラベル脳、cFos ラベル脳など）[52,66,68,69,75,76,78,84-86,121]、ライトシート顕微鏡開発[122,123]、Expansion microscopy 法開発[97,98]、in situ sequencing 開発[26,124,125,121] |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・高出力型一細胞 RNA-seq 用の装置を開発・販売（10x Genomics, Inc）され、デファクトスタンダードになりつつある。HCA 代表者が一細胞オミクス技術を利用した創薬スタートアップ Celsius Therapeutic が 65M 米ドルを確保<br>・シングルセル解析の臨床応用も飛躍的に発展。例：Aviv Regev ラボなどが臨床検体を多数解析<br>・CLARITY 専用機の商品化<br>sCLARITY システム（Quorum Technologies Inc.　カナダ）<br>X-CLARITY システム（Logos Biosystems　アメリカ・韓国）<br>・iDISCO ベースの脳神経活動データベース化と起業化（Certerra アメリカ）<br>・米国では Human Cell Atlas などのプロジェクトに資金を企業が提供しており、産業に結びつきうる体制がある[126]。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・SMARTer 法による一細胞 RNA-seq の開発でリード。<br>・UK（sangar, EBI/EMBL）やスウェーデン（Karolinska institutet）が HCA で中心的な役割を果している。ヒト脳やヒト発生（胎児）由来の網羅的な一細胞発現アトラスを構築中。<br>・オランダ Hubrecht Institute は一細胞トランスクリプトームからの希少細胞同定、幹細胞予測ソフトウェア開発や消化器オルガノイドの解析でリード<br>・BABB 法によるマウス全脳イメージングの最初期の報告、3DISCO、uDISCO、vDISCO、FluoClearBABB 法の開発[50,51,53,54,56]、脊髄疾患モデルやウイルスラベル脳への応用例[51,53]、2,2’-チオジエタノールを使用した透明化法[73]、ヒト 3 次元病理開発[115]、ライトシート顕微鏡開発と透明化組織への応用[127]<br>・Spatial Transcriptomics による組織からの空間的遺伝子発現解析[33]<br>・画像解析ツールの開発（ilastik, Icy, TeraStitcher, BigStitcher, BigDataViewer, CARE 等） |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・スウェーデンでは、空間発現量を計測する手法や装置を開発している（Spatial Transcriptomics）<br>・顕微鏡メーカーによるライトシート顕微鏡の開発・販売（Zeiss 社ドイツ、LaVision Biotec 社　ドイツ） |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・発表論文は玉石混合だが、数的に急激に増加している。世界的に利用されている技術は少ない。シングルセル解析でも欧米に負けずに結果を出している。マウスの全臓器を対象とした一細胞トランスクリプトームを世界で初めて実現：Mapping the Mouse Cell Atlas by Microwell-Seq. Cell 2018. Center for Stem Cell and Regenerative Medicine, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China<br>・Scale/SeeDB/CUBIC 派生プロトコル（FLUIT 法、UbasM 法）の報告[65,128] |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・より低価格の一細胞 RNA-seq の試薬を 10x genomics と共同で開発（MGI/BGI）<br>・欧米、日本に比べて倫理的抑制が低く、ヒト臨床サンプルを用いた大胆な研究が行われている。 |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | → | ・総合家電・電子部品・製品メーカーの付属研究所より一細胞マルチオミックス法やがんの一細胞トランスクリプトームの論文が出ている（Samsung Medical Institute）<br>・CLARITY 派生プロトコル（ACT-PRESTO 法他）60 の報告。<br>・Human Cell Atlas に参画する上で、一細胞解析に関する 2019 年から 2020 年までの予算を National Research Foundation（NRF）に計上している[129]。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・安価にシーケンス受託する企業があり、アジアではシーケンス外注先になっている(Mircogen)。マイクロ流体装置の研究が盛んで、開発のポテンシャルがある。<br>・CLARITY 専用機の商品化<br>X-CLARITY システム（Logos Biosystems　アメリカ・韓国） |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1) Ramsköld D, Luo S, Wang Y-C, Li R, Deng Q, Faridani OR, et al. Full-length mRNA-Seq from single-cell levels of RNA and individual circulating tumor cells. Nature Biotechnology. Nature Publishing

Group; 2012 Aug;30（8）:777–82.

2）Sasagawa Y, NIKAIDO I, Hayashi T, Danno H, Uno KD, Imai T, et al. Quartz-Seq: a highly reproducible and sensitive single-cell RNA sequencing method, reveals non-genetic gene-expression heterogeneity. Genome Biol. BioMed Central; 2013 Apr 17;14（4）:R31.

3）Hashimshony T, Wagner F, Sher N, Yanai I. CEL-Seq: Single-Cell RNA-Seq by Multiplexed Linear Amplification. Cell Reports. Elsevier; 2012 Sep 27;2（3）:666–73.

4）Klein AM, Mazutis L, Akartuna I, Tallapragada N, Veres A, Li V, et al. Droplet Barcoding for Single-Cell Transcriptomics Applied to Embryonic Stem Cells. Cell. Elsevier; 2015 May 21;161（5）:1187–201.

5）Macosko EZ, Basu A, Satija R, Nemesh J, Shekhar K, Goldman M, et al. Highly Parallel Genome-wide Expression Profiling of Individual Cells Using Nanoliter Droplets. Cell. 2015 May;161（5）:1202–14.

6）Hulsmans M et al. Macrophages Facilitate Electrical Conduction in the Heart. Cell. 169, 510-522（2017）

7）Nomura, S. et al. Cardiomyocyte gene programs encoding morphological and functional signatures in cardiac hypertrophy and failure. Nat. Commun. in press

8）Zappia L, Phipson B, Oshlack A. Exploring the single-cell RNA-seq analysis landscape with the scRNA-tools database. Schneidman D, editor. PLoS Comput Biol. Public Library of Science; 2018 Jun;14（6）:e1006245.

9）Livet J, Weissman TA, Kang H, et al. Transgenic strategies for combinatorial expression of fluorescent proteins in the nervous system. Nature 2007; 450: 56.

10）Trapnell C, Cacchiarelli D, Grimsby J, et al. The dynamics and regulators of cell fate decisions are revealed by pseudotemporal ordering of single cells. Nat Biotechnol 2014; 32: 381

11）duVerle DA, Yotsukura S, Nomura S, et al. CellTree: an R/bioconductor package to infer the hierarchical structure of cell populations from single-cell RNA-seq data. BMC Bioinformatics 2016; 17: 363

12）Leng N, Chu LF, Barry C, et al. Oscope identifies oscillatory genes in unsynchronized single-cell RNA-seq experiments. Nat Methods 2015; 12: 947

13）Tirosh I, Izar B, Prakadan SM, et al. Dissecting the multicellular ecosystem of metastatic melanoma by single-cell RNA-seq. Science 2016; 352: 189

14）Patel AP, Tirosh I, Trombetta JJ, et al. Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma. Science 2014; 344: 1396

15）Gao R, Davis A, McDonald TO, et al. Punctuated copy number evolution and clonal stasis in triple-negative breast cancer. Nat Genet 2016; 48: 1119

16）Wang J, Cazzato E, Ladewig E, et al. Clonal evolution of glioblastoma under therapy. Nat Genet 2016; 48: 768

17）Li S, Garrett-Bakelman FE, Chung SS, et al. Distinct evolution and dynamics of epigenetic and genetic heterogeneity in acute myeloid leukemia. Nat Med 2016; 22: 792

18）Tirosh I, Venteicher AS, Hebert C, et al. Single-cell RNA-seq supports a developmental hierarchy in human oligodendroglioma. Nature 2016; 539: 309

19）McKenna A, Findlay GM, Gagnon JA, Horwitz MS, Schier AF, Shendure J. Whole organism lineage tracing by combinatorial and cumulative genome editing. Science. American Association for the Advancement of Science; 2016 May 26;:aaf7907.

20）Soriano P. Generalized lacZ expression with the ROSA26 Cre reporter strain. Nat Genet. 1999 Jan;21(1):70-1.

21）RedHorse K, Ueno H et al. Coronary arteries form by developmental reprogramming of venous cells. Nature. 2010 Mar 25;464(7288):549-53.
22）Lodato MA, Woodworth MB, Lee S, et al. Somatic mutation in single human neurons tracks developmental and transcriptional history. Science 2015; 350: 94
23）Alemany A et al. Whole-organism clone tracing using single-cell sequencing. Nature. 556, 108-112（2018）
24）Perli SD, Cui CH, Lu TK. Continuous genetic recording with self-targeting CRISPR-Cas in human cells. Science 2016; 353. pii: aag0511
25）Frieda KL, Linton JM, Hormoz S, et al. Synthetic recording and in situ readout of lineage information in single cells. Nature 2017; 541: 107
26）Chen KH, Boettiger AN, Moffitt JR, et al. RNA imaging. Spatially resolved, highly multiplexed RNA profiling in single cells. Science 2015; 348: aaa6090
27）Shah S, Lubeck E, Zhou W, Cai L. In Situ Transcription Profiling of Single Cells Reveals Spatial Organization of Cells in the Mouse Hippocampus. Neuron. 2016 19;92（2）:342–57.
28）Junker JP, Noël ES, Guryev V, et al. Genome-wide RNA Tomography in the zebrafish embryo. Cell 2014; 159: 662
29）Wu CC, Kruse F, Vasudevarao MD, et al. Spatially Resolved Genome-wide Transcriptional Profiling Identifies BMP Signaling as Essential Regulator of Zebrafish Cardiomyocyte Regeneration. Dev Cell 2016; 36: 36
30）Svensson V et al. SpatialDE: identification of spatially variable genes. Nat Methods. 15, 343-346（2018）
31）Edsgärd D et al. Identification of spatial expression trends in single-cell gene expression data. Nat Methods. 15, 339-342（2018）
32）Satija R, Farrell JA, Gennert D, et al. Spatial reconstruction of single-cell gene expression data. Nat Biotechnol 2015; 33: 495、Achim K, Pettit JB, Saraiva LR, et al. High-throughput spatial mapping of single-cell RNA-seq data to tissue of origin. Nat Biotechnol 2015; 33: 503
33）Ståhl PL, Salmén F, Vickovic S, et al. Visualization and analysis of gene expression in tissue sections by spatial transcriptomics. Science 2016; 353: 78
34）Luo Y, Coskun V, Liang A, et al. Single-cell transcriptome analyses reveal signals to activate dormant neural stem cells. Cell 2015; 161: 1175
35）Paul F, Arkin Y, Giladi A, et al. Transcriptional Heterogeneity and Lineage Commitment in Myeloid Progenitors. Cell 2015; 163: 1663
36）Buenrostro JD, Wu B, Litzenburger UM, et al. Single-cell chromatin accessibility reveals principles of regulatory variation. Nature 2015; 523: 486
37）Cusanovich DA, Daza R, Adey A, et al. Multiplex single cell profiling of chromatin accessibility by combinatorial cellular indexing. Science 2015; 348: 910
38）Jin W, Tang Q, Wan M, et al. Genome-wide detection of DNase I hypersensitive sites in single cells and FFPE tissue samples. Nature 2015; 528: 142
39）Rotem A, Ram O, Shoresh N, et al. Single-cell ChIP-seq reveals cell subpopulations defined by chromatin state. Nat Biotechnol 2015; 33: 1165
40）Smallwood SA, Lee HJ, Angermueller C, Krueger F, Saadeh H, Peat J, et al. Single-cell genome-wide bisulfite sequencing for assessing epigenetic heterogeneity. Nature Methods. 2014 Jul 20;11（8）:817–20.

41）Farlik M, Sheffield NC, Nuzzo A, et al. Single-cell DNA methylome sequencing and bioinformatic inference of epigenomic cell-state dynamics. Cell Rep 2015; 10: 1386
42）Mooijman D, Dey SS, Boisset JC, et al. Single-cell 5hmC sequencing reveals chromosome-wide cell-to-cell variability and enables lineage reconstruction. Nat Biotechnol 2016; 34: 852
43）Nagano T, Lubling Y, Yaffe E, et al. Single-cell Hi-C for genome-wide detection of chromatin interactions that occur simultaneously in a single cell. Nat Protoc 2015; 10: 1986
44）Angermueller C, Clark SJ, Lee HJ, et al. Parallel single-cell sequencing links transcriptional and epigenetic heterogeneity. Nat Methods 2016; 13: 229
45）Macaulay IC, Haerty W, Kumar P, et al. G&T-seq: parallel sequencing of single-cell genomes and transcriptomes. Nat Methods 2015; 12: 519
46）Dixit A, Parnas O, Li B, et al. Perturb-Seq: Dissecting Molecular Circuits with Scalable Single-Cell RNA Profiling of Pooled Genetic Screens. Cell 2016; 167: 1853
47）Jaitin DA, Weiner A, Yofe I, et al. Dissecting Immune Circuits by Linking CRISPR-Pooled Screens with Single-Cell RNA-Seq. Cell 2016; 167: 1883
48）Datlinger P, Rendeiro AF, Schmidl C, et al. Pooled CRISPR screening with single-cell transcriptome readout. Nat Methods 2017; 14: 297
49）Adamson B, Norman TM, Jost M, et al. A Multiplexed Single-Cell CRISPR Screening Platform Enables Systematic Dissection of the Unfolded Protein Response. Cell 2016; 167: 1867
50）Dodt, H.U. et al. Ultramicroscopy: three-dimensional visualization of neuronal networks in the whole mouse brain. Nat Methods 4, 331-336（2007）. DOI: 10.1038/nmeth1036
51）Ertürk, A. et al. Three-dimensional imaging of solvent-cleared organs using 3DISCO. Nat Protoc 7, 1983-1995（2012）. DOI: 10.1038/nprot.2012.119
52）Renier, N. et al. iDISCO: a simple, rapid method to immunolabel large tissue samples for volume imaging. Cell 159, 896-910（2014）. DOI: 10.1016/j.cell.2014.10.010
53）Schwarz, M.K. et al. Fluorescent-protein stabilization and high-resolution imaging of cleared, intact mouse brains. PLoS One 10, e0124650（2015）. DOI: 10.1371/journal.pone.0124650
54）Pan, C. et al. Shrinkage-mediated imaging of entire organs and organisms using uDISCO. Nat Methods 13, 859-867（2016）. DOI: 10.1038/nmeth.3964
55）Klingberg, A. et al. Fully Automated Evaluation of Total Glomerular Number and Capillary Tuft Size in Nephritic Kidneys Using Lightsheet Microscopy. J Am Soc Nephrol 28, 452-459（2017）. DOI: 10.1681/ASN.2016020232
56）Cai, R. et al. Panoptic vDISCO imaging reveals neuronal connectivity, remote trauma effects and meningeal vessels in intact transparent mice. bioRxiv（2018）. doi: https://doi.org/10.1101/374785
57）Hama, H. et al. Scale: a chemical approach for fluorescence imaging and reconstruction of transparent mouse brain. Nat Neurosci 14, 1481-1488（2011）. DOI: 10.1038/nn.2928
58）Hama, H. et al. ScaleS: an optical clearing palette for biological imaging. Nat Neurosci 18, 1518-1529（2015）. DOI: 10.1038/nn.4107
59）Kuwajima, T. et al. ClearT: a detergent- and solvent-free clearing method for neuronal and non-neuronal tissue. Development 140, 1364-1368（2013）. DOI: 10.1242/dev.091844
60）Ke, M.T., Fujimoto, S. & Imai, T. SeeDB: a simple and morphology-preserving optical clearing agent for neuronal circuit reconstruction. Nat Neurosci 16, 1154-1161（2013）. DOI: 10.1038/nn.3447
61）Ke, M.T. et al. Super-Resolution Mapping of Neuronal Circuitry With an Index-Optimized Clearing

Agent. Cell Rep 14, 2718-2732（2016）. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.02.057

62）Susaki, E.A. et al. Whole-brain imaging with single-cell resolution using chemical cocktails and computational analysis. Cell 157, 726-739（2014）. DOI: 10.1016/j.cell.2014.03.042

63）Kurihara, D., Mizuta, Y., Sato, Y. & Higashiyama, T. ClearSee: a rapid optical clearing reagent for whole-plant fluorescence imaging. Development 142, 4168-4179（2015）. DOI: 10.1242/dev.127613

64）Aoyagi, Y., Kawakami, R., Osanai, H., Hibi, T. & Nemoto, T. A rapid optical clearing protocol using 2,2'-thiodiethanol for microscopic observation of fixed mouse brain. PLoS One 10, e0116280（2015）. DOI: 10.1371/journal.pone.0116280

65）Chen, L. et al. UbasM: An effective balanced optical clearing method for intact biomedical imaging. Sci Rep 7, 12218（2017）. DOI: 10.1038/s41598-017-12484-3

66）Li, W., Germain, R.N. & Gerner, M.Y. Multiplex, quantitative cellular analysis in large tissue volumes with clearing-enhanced 3D microscopy（Ce3D）. Proc Natl Acad Sci U S A 114, E7321-E7330（2017）. DOI: 10.1073/pnas.1708981114

67）Kubota, S.I. et al. Whole-Body Profiling of Cancer Metastasis with Single-Cell Resolution. Cell Rep 20, 236-250（2017）. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.06.010

68）Chung, K. et al. Structural and molecular interrogation of intact biological systems. Nature 497, 332-337（2013）. DOI: 10.1038/nature12107

69）Yang, B. et al. Single-cell phenotyping within transparent intact tissue through whole-body clearing. Cell 158, 945-958（2014）. DOI: 10.1016/j.cell.2014.07.017

70）Susaki, E.A. et al. Advanced CUBIC protocols for whole-brain and whole-body clearing and imaging. Nat Protoc 10, 1709-1727（2015）. DOI: 10.1038/nprot.2015.085

71）Tainaka, K. et al. Whole-body imaging with single-cell resolution by tissue decolorization. Cell 159, 911-924（2014）. DOI: 10.1016/j.cell.2014.10.034

72）Tainaka, K. et al. Chemical Landscape for Tissue Clearing based on Hydrophilic Reagents. Cell Reports in press（2018）. 10.1016/j.celrep.2018.07.056

73）Costantini, I. et al. A versatile clearing agent for multi-modal brain imaging. Sci Rep 5, 9808（2015）. DOI: 10.1038/srep09808

74）Sekitani, T. et al. Ultraflexible organic amplifier with biocompatible gel electrodes. Nat Commun 7, 11425（2016）. DOI: 10.1038/ncomms11425

75）Treweek, J.B. et al. Whole-body tissue stabilization and selective extractions via tissue-hydrogel hybrids for high-resolution intact circuit mapping and phenotyping. Nat Protoc 10, 1860-1896（2015）. DOI: 10.1038/nprot.2015.122

76）Murray, E. et al. Simple, Scalable Proteomic Imaging for High-Dimensional Profiling of Intact Systems. Cell 163, 1500-1514（2015）. DOI: 10.1016/j.cell.2015.11.025

77）Hasegawa, J. et al. Three-Dimensional Imaging of Plant Organs Using a Simple and Rapid Transparency Technique. Plant Cell Physiol 57, 462-472（2016）. DOI: 10.1093/pcp/pcw027

78）Greenbaum, A. et al. Bone CLARITY: Clearing, imaging, and computational analysis of osteoprogenitors within intact bone marrow. Sci Transl Med 9（2017）. DOI: 10.1126/scitranslmed.aah6518

79）Jing, D. et al. Tissue clearing of both hard and soft tissue organs with the PEGASOS method. Cell Res 28, 803-818（2018）. DOI: 10.1038/s41422-018-0049-z

80）Menegas, W. et al. Dopamine neurons projecting to the posterior striatum form an anatomically

distinct subclass. Elife 4, e10032（2015）. DOI: 10.7554/eLife.10032

81）Wang, L. et al. The coding of valence and identity in the mammalian taste system. Nature 558, 127-131（2018）. DOI: 10.1038/s41586-018-0165-4

82）Susaki, E.A., Ukai, H. & Ueda, H.R. Next-generation mammalian genetics toward organism-level systems biology. npj Syst Biol Appl 3, 15（2017）. DOI: 10.1038/s41540-017-0015-2

83）Chan, K.Y. et al. Engineered AAVs for efficient noninvasive gene delivery to the central and peripheral nervous systems. Nat Neurosci 20, 1172-1179（2017）. DOI: 10.1038/nn.4593

84）Liebmann, T. et al. Three-Dimensional Study of Alzheimer's Disease Hallmarks Using the iDISCO Clearing Method. Cell Rep 16, 1138-1152（2016）. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.06.060

85）Renier, N. et al. Mapping of Brain Activity by Automated Volume Analysis of Immediate Early Genes. Cell 165, 1789-1802（2016）. DOI: 10.1016/j.cell.2016.05.007

86）Sylwestrak, E.L., Rajasethupathy, P., Wright, M.A., Jaffe, A. & Deisseroth, K. Multiplexed Intact-Tissue Transcriptional Analysis at Cellular Resolution. Cell 164, 792-804（2016）. DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.038

87）Tatsuki, F. et al. Involvement of Ca2+-Dependent Hyperpolarization in Sleep Duration in Mammals. Neuron 90, 70-85（2016）. DOI: 10.1016/j.neuron.2016.02.032

88）Ye, L. et al. Wiring and Molecular Features of Prefrontal Ensembles Representing Distinct Experiences. Cell 165, 1776-1788（2016）. DOI: 10.1016/j.cell.2016.05.010

89）Fürth, D. et al. An interactive framework for whole-brain maps at cellular resolution. Nat Neurosci 21, 139-149（2018）. DOI: 10.1038/s41593-017-0027-7

90）Murakami, T.C. et al. A three-dimensional single-cell-resolution whole-brain atlas using CUBIC-X expansion microscopy and tissue clearing. Nat Neurosci 21, 625-637（2018）. DOI: 10.1038/s41593-018-0109-1

91）Stoeckius M, Hafemeister C, Stephenson W, Houck-Loomis B, Chattopadhyay PK, Swerdlow H, et al. Simultaneous epitope and transcriptome measurement in single cells. Nature Methods. Nature Publishing Group; 2017 Sep;14（9）:865–8.

92）Sofia A. Q et al. Higher-Order Inter-chromosomal Hubs Shape 3D Genome Organization in the Nucleus. Cell VOLUME 174, ISSUE 3, P744-757.E24, JULY 26, 2018.

93）Wang et al. Three-dimensional intact-tissue sequencing of single-cell transcriptional states. Science 27 Jul 2018:Vol. 361.

94）Macaulay IC et al. Separation and parallel sequencing of the genomes and transcriptomes of single cells using G&T-seq. Nat Protoc. 11, 2081-103（2016）

95）Han KY et al. SIDR: simultaneous isolation and parallel sequencing of genomic DNA and total RNA from single cells. Genome Res. 28, 75-87（2018）

96）Clark SJ et al. scNMT-seq enables joint profiling of chromatin accessibility DNA methylation and transcription in single cells. Nat Commun. 9, 781（2018）

97）Chen, F., Tillberg, P.W. & Boyden, E.S. Optical imaging. Expansion microscopy. Science 347, 543-548（2015）. DOI: 10.1126/science.1260088

98）Ku, T. et al. Multiplexed and scalable super-resolution imaging of three-dimensional protein localization in size-adjustable tissues. Nat Biotechnol 34, 973-981（2016）. DOI: 10.1038/nbt.3641

99）Chang, J.B. et al. Iterative expansion microscopy. Nat Methods 14, 593-599（2017）. DOI: 10.1038/nmeth.4261

100）Haghverdi L et al. Batch effects in single-cell RNA-sequencing data are corrected by matching mutual nearest neighbors. Nat Biotechnol. 36, 421-427（2018）
101）van Dijk D et al. Recovering Gene Interactions from Single-Cell Data Using Data Diffusion. Cell. pii: S0092-8674（18）30724-4（2018）
102）Huang M et al. SAVER: gene expression recovery for single-cell RNA sequencing. Nat Methods. 15, 539-542（2018）
103）Butler A et al. Integrating single-cell transcriptomic data across different conditions, technologies, and species. Nat Biotechnol. 36, 411-420（2018）
104）Wolf FA et al. SCANPY: large-scale single-cell gene expression data analysis. Genome Biol. 19, 15（2018）
105）McInnes L & Healy J. UMAP: Uniform Manifold Approximation and Projection for Dimension Reduction. arXiv:1802.03426v1
106）https://www.ebi.ac.uk/about/news/press-releases/single-cell-centre
107）http://icb-scog.helmholtz-muenchen.de/
108）Hayashi T, Ozaki H, Sasagawa Y, Umeda M, Danno H, NIKAIDO I. Single-cell full-length total RNA sequencing uncovers dynamics of recursive splicing and enhancer RNAs. Nature Communications. Nature Publishing Group; 2018 Feb 12;9（1）:619.
109）Davalos V, Blanco S, Esteller M. SnapShot: Messenger RNA Modifications. Cell. 2018 Jul 12;174（2）:498–498.e1.
110）Sebé-Pedrós A et al. Cnidarian Cell Type Diversity and Regulation Revealed by Whole-Organism Single-Cell RNA-Seq. Cell. 173, 1520-1534（2018）
111）Han X et al. Mapping the Mouse Cell Atlas by Microwell-Seq. Cell. 172, 1091-1107（2018）
112）Kim C et al. Chemoresistance Evolution in Triple-Negative Breast Cancer Delineated by Single-Cell Sequencing. Cell. 173, 879-893（2018）
113）Lake BB et al. Neuronal subtypes and diversity revealed by single-nucleus RNA sequencing of the human brain. Science. 352, 1586-1590（2016）
114）Nojima, S. et al. CUBIC pathology: three-dimensional imaging for pathological diagnosis. Sci Rep 7, 9269（2017）. DOI: 10.1038/s41598-017-09117-0
115）Tanaka , N. et al. Whole-tissue biopsy phenotyping of three-dimensional tumours reveals patterns of cancer heterogeneity. Nature Biomedical Engineering 1, 796-806（2017）. DOI: 10.1038/s41551-017-0139-0
116）https://www.oxfordglobal.co.uk/
117）https://www.oxfordglobal.co.uk/singlecell-congress/
118）Sasagawa Y, Danno H, Takada H, Ebisawa M, Hayashi T, Kurisaki A, et al. Quartz-Seq2: a high-throughput single-cell RNA-sequencing method that effectively uses limited sequence reads. bioRxiv. Cold Spring Harbor Laboratory; 2017 Jul 21;:159384.
119）Sato K, Tsuyuzaki K, Shimizu K, Nikaido I. CellFishing.jl: an ultrafast and scalable cell search method for single-cell RNA-sequencing. bioRxiv. Cold Spring Harbor Laboratory; 2018 25;:374462.
120）Matsumoto H, Kiryu H, Furusawa C, Ko M, 2017. SCODE: An efficient regulatory network inference algorithm from single-cell RNA-Seq during differentiation. Academicoupcom
121）Wang, X. et al. Three-dimensional intact-tissue sequencing of single-cell transcriptional states. Science 361（2018）. DOI: 10.1126/science.aat5691

122）Tomer, R., Ye, L., Hsueh, B. & Deisseroth, K. Advanced CLARITY for rapid and high-resolution imaging of intact tissues. Nat Protoc 9, 1682-1697（2014）. DOI: 10.1038/nprot.2014.123

123）Bouchard, M.B. et al. Swept confocally-aligned planar excitation（SCAPE）microscopy for high speed volumetric imaging of behaving organisms. Nat Photonics 9, 113-119（2015）. DOI: 10.1038/nphoton.2014.323

124）Lubeck, E., Coskun, A.F., Zhiyentayev, T., Ahmad, M. & Cai, L. Single-cell in situ RNA profiling by sequential hybridization. Nat Methods 11, 360-361（2014）. DOI: 10.1038/nmeth.2892

125）Lee, J.H. et al. Highly multiplexed subcellular RNA sequencing in situ. Science 343, 1360-1363（2014）. DOI: 10.1126/science.1250212

126）https://www.chanzuckerberg.com/human-cell-atlas/comp-tools

127）Silvestri, L., Costantini, I., Sacconi, L. & Pavone, F.S. Clearing of fixed tissue: a review from a microscopist's perspective. J Biomed Opt 21, 081205（2016）. DOI: 10.1117/1.JBO.21.8.081205

128）Hou, B. et al. Scalable and DiI-compatible optical clearance of the mammalian brain. Front Neuroanat 9, 19（2015）. DOI: 10.3389/fnana.2015.00019

129）http://www.riken.jp/~/media/riken/pr/blog/2017/171220_1p.pdf

## 2.1.7　細胞外微粒子・エクソソーム

### (1) 研究開発領域の定義

生体内には、外部から侵入する（外因性）または細胞から生じる（内因性）さまざまな「細胞外微粒子」が存在している。外因性微粒子としては環境中の PM2.5 などが、内因性微粒子としては、エクソソームやメンブレンベシクル（MV）といったものが挙げられる。エクソソームはほぼ全ての種類の細胞が分泌する小型（直径 30 ～ 100 nm 程度）の膜小胞で、血液や尿・髄液・涙・唾液などの体液や細胞培養液中に数多く存在している。また、細菌も同様に細胞膜からなる細胞外微粒子、MV（直径 20 ～ 400 nm 程度）を産生していることが明らかになっている。どちらも共通して、内部に含有される分子（脂質・タンパク質・RNA など）が他の細胞に受け渡されることで、１細胞レベルを越えた様々な細胞間情報伝達を担うことが近年判明し、その機能が注目されている。細胞の状態や疾患の進展、細胞間コミュニケーションに影響、関連していると考えられており、医療、創薬、診断、微生物叢など多くの研究領域にて、その機能解析やバイオマーカー探索が進められている。

### (2) キーワード

エクソソーム、細胞外微粒子、mRNA ／ miRNA、がん微小環境、神経変性疾患、バイオマーカー、リキッドバイオプシー、ドラッグデリバリーシステム、ナノ粒子、PM2.5、細胞外小胞、オートファジー、メンブレンベシクル、細胞間相互作用

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

【外因性（PM2.5 など）】

近年、環境中の様々な微粒子（外因性微粒子）の生体内への影響が注目されておえり、具体例としては PM2.5 やカーボンナノチューブなどと疾患との関連性の研究が進められている。しかしながら、外因性微粒子については、定量分析、観察技術の制約から生体内への取り込み過程、分布や局在等の挙動などの多くが未解明のままとなっており、有害微粒子の対策が遅々として進んでいない。動態解析のための新技術開発により、微粒子が惹起する生命現象の本質を理解し、環境や生体に影響を及ぼす微粒子の機能解明を目的とした研究開発を推進することは環境や健康に関する各種課題解決に貢献し、きわめて重要である。

【内因性（エクソソーム）】

エクソソームの発見自体は古く、1970 年代には細胞内の不要物排出機構として存在が知られていた。しかし、2007 年に Lötvall らによって、エクソソーム内に分泌細胞由来の mRNA や miRNA が含まれ、それらが他細胞に受け渡されることによって、遺伝子発現情報の交換に関与することが発見された [1)]。その後、エクソソームは新たな細胞間情報伝達機構として注目され、新規機能解析やエクソソームを応用または標的とした創薬研究が世界中で活発に行われている。例えば、免疫系においては、免疫細胞間での抗原情報の交換や、免疫細胞の活性化／不活性化など、様々な免疫機能制御に関与する可能性が示されている [2)]。神経系では、細胞内での凝集により様々な神経変性疾患の原因となりうるタンパク質が、エクソソームによって細胞外へ放出され、周囲の細胞へと伝播される事が明らかとなり、神経変性の進展に関与する可

能性が示されている[3]。一方、がん細胞が放出するエクソソームには、血管新生や転移、免疫逃避に関連する分子が含まれることが示されており、がん細胞進展に適した微小環境構築に重要な役割を担うと考えられている[4]。更に、エクソソームに含まれる特定のタンパク質やRNAの発現様式が、細胞の状態や疾患の進展と関連し、細胞のバイオマーカーとして有用であることが示されており、様々な疾患の早期診断や治療効果の判定などへの応用が大きく期待されている。本研究領域の興隆に伴い、基礎生物学者のみならず、臨床研究、公衆衛生、ナノテクノロジー、検出技術開発、バイオインフォマティクスなど様々な分野の研究者が参入しており、分野横断的な融合研究が行われつつある。しかし、これらの研究の基盤となるエクソソームの解析技術や試料の調製法などは未熟であり、研究の進展に突破口となり得る新たな技術の開発が求められている。

【内因性（MVs）】

細菌は地球上で最も多様で広範囲な環境に生息する細胞性生物の一つであり、環境・健康・食料に渡って我々の生活に直接関わっている。そのほとんどの細菌は細胞外に細胞膜により構成される20-400nm程度の細胞外微小粒子を放出する[5,6]。細菌が形成する細胞外微小粒子はメンブレンベシクル（MVs）と呼ばれ、その種類と機能は多岐に渡っていることが分かってきた。例えば、MVsは細菌間での情報伝達（細菌間コミュニケーション）や遺伝子のやり取り（遺伝子水平伝播）などの「細胞間相互作用」、感染した動・植物細胞への毒素の運搬や抗生物質耐性などの「細菌の病原性」、ウイルスや宿主の免疫系から逃れるなどの、「防御機構」、さらには、細菌の栄養獲得や地球の「物質循環」にも寄与している[7,8]。細菌由来のMVsは広く環境中にも存在し、日常的に我々は暴露されているが、その影響については不明なままである[9]。MVsの機能や作用機序はまだ全容が解明されていないが、細菌の多様性を考慮し、古細菌や真菌も同様な膜小胞を放出することを考えると、MVs研究は微生物間、微生物‐動・植物間相互作用を包括する生命ネットワークの理解のための一つの大きな柱となると言える。加えて、MVsの応用研究は盛んに行われるようになっており、例えば、MVs表層に酵素を並べたナノ触媒としての利用や、宿主の免疫を誘導することから、ワクチンとして欧米ですでに認可されている。近年では、ガン細胞など特定の細胞をターゲットにした、薬物輸送システムの開発も行われている[10]。

**［研究開発の動向］**

【内因性（エクソソーム）】

近年、内因性の微粒子として、細胞が細胞外に放出する膜小胞、細胞外小胞（extracellular vesicles, EV）の役割に注目が集まっており、その中でもエクソソームに関する研究が加速度的に進展している。5年前には年間500報程の論文数であったが、2017年には2000報にも及ぶ論文が発表され、様々な生理機能や病態発症との関連が示唆されるとともに、その知見を診断や治療に利用する研究開発が進んでいる。

エクソソームに関する新知見として、脂肪組織が多量のエクソソームを放出しており、このエクソソームを介して種々の臓器の遺伝子発現を制御したり、インスリンに対する感受性を制御したりしていることが明らかとなっている[11,12]。また、脂肪から分泌される善玉ホルモンアディポネクチンの作用機序は長らく不明であったが、血管内皮細胞からのエクソソームの

産生を促進することで、その抗炎症機能を発揮することが示されている[13]。エクソソームは、RNA の細胞外排出のみならず、細胞内で傷害を受けた不要な DNA を細胞外へと排出することにより、細胞老化を防いでいる可能性が示されている[14]。更に、脳の視床下部に存在する幹細胞から髄液中に放出されるエクソソームが miRNA を介して老化の進展を抑制することが、マウスを用いた実験系で示唆されている[15]。

脳内のアストロサイト（グリア細胞）由来のエクソソームが、血液脳関門を通り抜け、末梢の臓器の機能や血中のリンパ球の応答を制御する可能性が示唆され、エクソソームを介した脳－全身臓器連関研究の発展が期待されている[16]。

応用利用に目を向けると、エクソソームは体液中で非常に安定であるとともに、小胞内に含まれるタンパク質や RNA はエクソソームの脂質二重膜に守られており分解されない。また、採取後長期間保存された体液中においてもエクソソームは比較的安定である為、エクソソームは臨床検査における新たな疾患バイオマーカーとして有望視されている。様々な疾患との相関が調べられているが、特に血中に放出されたがん細胞由来エクソソームの miRNA は、健常細胞由来エクソソームと構成の違いが注目されており、がんの早期診断のツールとして相関関係が調べられている[17]。これらのデータを元に、国立がん研究センターが NEDO（新エネルギー・産業技術総合開発機構）の支援の下、体液中マイクロ RNA 測定技術基盤開発事業を 2014 年度に東レ、東芝など 9 機関と共同で開始しており、血液 1 滴から 13 種類のがんの早期診断ができる次世代診断システムの開発を進めている。ステージ 0 期の超早期がんでも 98% 以上の確率で判別できる画期的な技術の確立を目指している。また、神経細胞由来エクソソームには、タウやα-シヌクレイン、TDP-43 など、神経細胞内で凝集することによりそれぞれ、アルツハイマー病やパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症の発症原因となるタンパク質が含まれており、各疾患の発症との関連性が注目されている。現在、脳由来のエクソソームを用いた研究や診断には、腰椎穿刺によって採取した脳脊髄液を用いられるが、脳由来エクソソームの一部が末梢血にも検出される可能性が示され、それらのマーカーとして NCAM1 や L1CAM などが報告されている[18]。さらに、尿中のエクソソームは腎臓や前立腺、膀胱疾患の新たな診断マーカーとして、髄液中のエクソソームは脳内の腫瘍や神経変性疾患マーカーとして、羊水中のエクソソームは胎児の状態を反映するマーカーとして期待されるなど、様々な体液を用いたバイオマーカーの開発が活発に行われている。

エクソソームの機能が明らかになるにつれ、近年ではその機能を応用した様々な治療法の開発が行われている。例えば、間葉系幹細胞由来のエクソソーム内には、血管新生促進性 miRNA や抗炎症性 miRNA、コラーゲン沈着促進性 miRNA などが含まれ、角化細胞の遊走と増殖、血管新生を促進することで、創傷治癒を促進する[19]。更に、心筋幹細胞から放出されるエクソソームは、心筋梗塞後の損傷部位の治癒を促進することがブタを用いた実験で確認されている[20]。同様に、ヒト神経幹細胞由来のエクソソームは、マウスにおいて脳梗塞後の損傷部位の治癒を促進することが示され[21]、米国の ArunA Biomedical 社が、2019 年までにヒトにおける効果の検証を行う予定である。

また、エクソソームを用いた制がん研究も数多く行われている。例えば、がん患者の樹状細胞から放出されたエクソソームには、様々ながん細胞由来のタンパク質が含まれており、がん細胞特異的な細胞傷害性 T 細胞の強い活性化を引き起こすことが知られている為、この機序を用いた抗腫瘍免疫療法の臨床試験が開始されている[22]。一方、がん細胞由来エクソソー

ムには血管新生や転移などがんの微小環境の構築や、免疫逃避に関与する種々の分子が含まれており、がんの進展を促進することが知られている。中でも最近、免疫チェックポイントに関与する PD-L1 ががん細胞由来エクソソームに発現しており、細胞傷害性 T 細胞の活性を抑制することで、オプジーボなどによる抗 PD-1 療法の効果に影響を与えることが報告されており[23]、エクソソーム上のこれらの分子を阻害することで、がん進展を抑制する試みが活発に行われている。

一方、エクソソームはリポソームなどの人工物とは異なる、天然のドラッグデリバリーシステム（DDS）としても期待されており、種々の siRNA や低分子化合物などを目的の細胞へと運ぶ試みがなされている。エクソソームの膜表面には様々な細胞接着分子や糖鎖が発現しており、その発現様式によって、エクソソームがどの細胞と親和性があるかが明らかになりつつある。更に、エクソソームの特性を改変・応用することによる新規 DDS の開発が行われている[24]。

EV 研究が世界的に注目されるにつれ、各国で大型研究プロジェクトが開始されている。既に米国では NIH による戦略的大型プロジェクト（Extracellular RNA Communication）が開始されており、Gordon Conference や Keystone Symposia といった国際的に権威のある会議においても 2016 年より分科会が発足している。欧州の医薬品研究開発官民パートナーシップ「革新的医薬品イニシアチブ（IMI）」の支援を受け進められている CANCER-ID プロジェクトでは、EV を含めた研究が既に実施されている。日本においても、2017 年の文部科学省の研究開発戦略目標としてエクソソーム研究を 1 つの柱とする「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創出」が選定され、JST による戦略的創造研究推進事業が発足した。

【内因性（MVs）】

1960 年頃より細菌外に細胞膜成分が放出されていることが報告され、MVs の存在が示唆されていた。その後、電子顕微鏡によって微細構造が確認され、様々な細菌でその生産が確認された。MVs の免疫原性や宿主への毒性が明らかになるにつれ、脚光を浴び始め、細菌の病原性との関わりが研究されるようになった。その結果、病原性細菌においては、MVs には特定の毒素が濃縮され、宿主細胞に運搬されることが明らかとなった[25]。2010 年頃からは、急速に発展してきたタンパク質の網羅的な解析が様々な細菌で行われるようになり、その解析結果から MVs の機能や形成機構を推定する研究が盛んに行われた。その結果、MVs と細胞膜は異なるタンパク質の組成を持つことが示唆され、MVs の膜組成の生化学的な解析と合わせて、MVs には特異的に物質が取り込まれることが議論されている。また、タンパク質の網羅的な解析により、同じ細菌の間でも増殖する環境によって MVs の中身が変わることが明らかとなり、環境に応じた MV の形成機構や役割があること考えられるようになった。2014 年には海洋などの環境中にも MV が豊富に存在することが明らかとなり、生態システムでの物質循環への寄与が注目されるようになった[8]。

MVs の中身として、DNA、RNA（mRNAs, rRNAs, tRNAs, small RNAs（sRNA））、たんぱく質、情報伝達物質、抗生物質などが報告されており、それらのほとんどは MV を受容した細胞で機能することが確認されている。例えば、DNA については、細菌はお互いに遺伝子のやりとりを種の壁を超えて行うことが可能であり、これは遺伝子の水平伝播と呼ばれている。遺伝子の水平伝播は生物の進化を考える上で、非常に重要なテーマである一方で、薬剤耐性遺伝子の伝播にも関わっていることから、医療分野においては問題視されている。遺伝子の水平

伝播がおこるメカニズムはいくつか知られていたが、MVs もそれを媒介する新たな機構として報告された[26]。さらに、MVs 自体も抗生物質を吸着、分解し、細菌が抗生物質から逃れるのに役立っていることが明らかとなっている。

RNA については、MVs に RNA が含まれることが長い間明らかになっていたが、RNA シーケンシング技術の急速な発展によって、その中身が解析されるようになった。さらに MV に含まれるいくつかの sRNA は宿主の mRNA に対して相補配列を持っており、タンパク質の発現を阻害することが報告されている[27]。従って、細菌の MVs は界を超えてタンパク質の発現制御に直接的に影響を与える可能性がある。

情報伝達物質については、2005 年には細菌間コミュニケーションで用いられるシグナル化合物が MVs によって運搬されていることが明らかになり、MVs を介した細菌間情報伝達機構が発表された[7]。その後、情報伝達物質が高濃度に MV に濃縮されていることも明らかとなり、細菌に様々な情報伝達の形式があることが分かってきた[28]。

上記のような MVs の普遍性と多様な機能が明らかになってくるにつれ、MV 形成機構の解明に力が注がれることとなった。細菌の構造は、グラム陰性菌とグラム陽性菌で大きく二分される。グラム陰性菌は内膜と外膜の二重膜を有し、外膜が外側に露出している。グラム陽性菌は細胞質膜のみを有し、細胞質膜は厚い細胞壁で覆われているため、MVs を形成しないと長らく思われ、MVs 形成機構はグラム陰性菌を中心に研究されてきた。グラム陰性菌において MVs 形成に影響を与える因子はいくつか同定されており、電子顕微鏡解析と生化学的解析により、細胞膜がたわんで、出芽するようにして MV が形成されると考えられた[5]。その後、超解像顕微鏡の開発によって MV の形成過程を細胞が生きたまま観察できるようになり、MV 形成過程が詳細に解析されるようになってきた。その結果、細胞外膜がたわむ機構に加えて、溶菌を介した MV 形成機構が存在することが明らかになった[29]。この溶菌機構には、細胞壁の分解酵素であるエンドリシンが関わっている。エンドリシンは、MV 形成因子としては最も広く細菌に保存されており、ファージ（細菌に感染するウイルス）が宿主細胞を壊して外に出て行く際に用いられる。2017 年には、グラム陽性菌の MV 形成にもエンドリシンが関わることが明らかとなり、グラム陽性菌の MV 形成機構がはじめて明らかとなった[30]。エンドリシンを介したグラム陰性菌とグラム陽性菌における MV 形成機構はいずれも集団の一部の細菌の細胞死を伴い、細菌における細胞死の新たな役割が明らかとなった。複数の MV 形成機構が明らかになるにつれ、それぞれの環境に応答して MV が形成され、その MV 形成機構によって MV の種類や機能が変わってくることが分かってきた。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

【外因性（PM2.5 など）】

● 外因性微粒子による免疫活性化機構の解明

外因性微粒子も、その成分は多種多様であり、生体に及ぼす影響を理解するためには、どの微粒子がどの細胞にどのような反応を起こさせているのかを正確に理解する必要がある。呼吸器粘膜での反応、血中に入ってからの反応など、いろいろな可能性を想定したモデル系が作られつつあり、とくに免疫活性化機構についての研究が進みつつある。ある種の外因性微粒子については、特異性の高い受容体が存在することもわかってきた。

【内因性（エクソソーム）】

● 研究ガイドライン整備

エクソソームはエンドソーム由来の細胞外小胞（EV）であるが、現在の技術においても、マイクロベシクルなど他の EV と厳密に分離することは困難であり、便宜的に 10,000 × g で沈降しない EV を small EV（主にエクソソーム）と呼ぶことが増えている[31]。エクソソームは、その検出・単離が難しく、更には種々の分類方法があるため、どのような方法により精製した EV をエクソソームと呼ぶのかが研究者間で統一されておらず、実験データの解釈や再現性の確認を困難にしている。その為、近年、国際細胞外小胞学会（ISEV）が設立され、世界的な研究者コミュニティーが形成されつつあり、国際基準の MISEV ガイドラインが提案されている[32,33]。また、このような混乱を回避する方法の 1 つとして、各論文における実験条件を記録する EV-TRACK というデータベースが公開されている[34]

● 細胞外小胞の新たな分離法・精製法の開発

エクソソームの膜表面に特異的に発現しているリン脂質ホスファチジルセリンと結合する分子を用いることで、超遠心法などの従来法と比較して、100 倍以上高純度にエクソソームを精製かつ高感度にエクソソームを検出する技術が開発され、富士フイルム和光純薬より、国産試薬として世界販売が開始されている[35]。既に国内外の公的研究機関や民間検査機関などで導入されている。また、この他にも微粒子の粒径、形状、電荷などの特性を利用して分離するさまざまな方法が模索されつつある。

● 研究対象生物の拡大

これまでのエクソソーム研究は主に哺乳類などの動物を対象とした研究が行われてきたが、近年、植物もエクソソーム様の EV を放出することが明らかとなった。このエクソソームを用いることで、植物にとって有害となる真菌の増殖や毒性を抑制し、自身の防御を担う可能性が示唆されている[36,37]。

【内因性（MVs）】

● 溶菌や細胞死を介した新奇 MV 形成機構の発見

前述のように、グラム陰性菌において MV は細胞が生きたまま細胞外膜がたわんで形成されると考えられており、グラム陽性菌においてはその形成機構はほとんど理解されていなかった。2016 年と 2017 年に超解像顕微鏡やクライオ電子線トモグラフィ法などの最先端のイメージング技術を利用して、それぞれグラム陰性菌とグラム陽性菌で溶菌あるいは細胞死を介した MV 形成機構が発表された[29,30]。この新奇 MV 形成機構の発見は当該分野に大きな影響を与えている。例えば、DNA や RNA などの細胞質成分がどのようにして MV に包括されるかは、外膜がたわむモデルでは説明できなかったが、溶菌モデルで説明できるようになった。また、細菌間で共通して、MV 形成に関わる遺伝子が見つかったことで、ゲノム情報から MV 形成を系統的に解析できるようになった。これによって、近年爆発的に増えているシーケンスデータが活用できるようになった。これまでに細胞死由来の膜成分は単純に細胞残渣として扱われていたが、それらが MV として機能することが明らかになり、細菌における細胞死を見直す動きに至っている。とりわけ、抗生物質処理によって MVs が生じることが明らかとなり、その MVs の細菌の病原性への関与について今後の解析する必要性が出てきた。MVs を利用したワクチン開発は急速に発展しており、MVs の大量調整に迫られているが、MV 形成機構の解明は MVs の大量調整に大きく貢献する。

● 1細胞ライブセルイメージングの発展

2014年にノーベル賞を受賞した超解像顕微鏡の開発や2017年にノーベル賞を受賞したクライオ電子顕微鏡の開発に代表されるような、生物学における革新的なイメージング技術が発展してきた。MVsの形成過程と挙動解析には、水溶液中でのMVsのイメージングが欠かせない。MV形成に関して、関わる分子の同定をもとにして様々なモデルが推察されているが、実際にそのモデルが正しいのかが可視化されているのはほんの数例のみである[29,30]。これらの新しいイメージング技術が取り入れられることで、これまで唱えられてきた仮説の検証が可能となる。さらには、1細胞ライブセルイメージング技術によって、これまでブラックボックスであった、MVが形成されてからその中身が受け渡されるまでの、一連の過程が可視化できるようになり、MVsの作用機序が理解できるようになる。こうしたイメージング技術は、MVの宿主への侵入経路、つまりはMVを介した細菌と動・植物の相互作用を解明するためにも重要な技術となる。

● 実環境中のMVsの解析

多くのMV研究は培養した細菌、とりわけ病原性細菌を中心に解析が進められてきた。しかしながら、細菌は環境中の至るところに存在し、MVsも同様に環境中に偏在していることが示唆される。2014年には海洋中のMVsについての解析が発表され、地球の物質循環への寄与が推定されている[8]。生態的な知見を取り入れることで、MVs研究の環境中における新たな役割の解明や動態解析が可能となると思われる。これに関連して、環境DNAの解析は生態システムを理解する一つの有力な方法であるにも関わらず、それらのDNAがどのような状態で環境中に存在するのかについて、きちんと議論されてこなかった。環境DNAの大半が細菌由来の細胞外DNAによって占められているとも言われており、MVが環境遺伝子プールになっている可能性も含め、環境DNAの形態を理解する必要である。

● MVsを利用した新しい療法開発

MVsは免疫を活性化させることが様々な細菌で確かめられている。その性質を利用して、髄膜炎菌では欧米、オーストラリアなどではワクチンが認可され、BEXSEROとして商品化されている。さらに2017年には大腸菌由来のMVsにガン抑制効果があることが分かり、新しい免疫療法が提示された[38]。そのメカニズムは分かっていないものの、MVsはがん細胞に蓄積しやすいことも知られており、特定の細胞を標的とした薬剤輸送システムのプラットホームとしてもMVsは注目を浴びている。

**［注目すべき国内外のプロジェクト］**

【海外】

● The International Society for Extracellular Vesicles（ISEV）
細胞外微粒子に関わる研究者の情報交換の場として、2012年にスウェーデンで発足した国際学会。

● Outer Membrane Vesicles（OMVs）from “Vaccinobacter”：A Synthetic Biology approach for effective vaccines against infectious diseases and cancer（2014年-2019年）
MVsを基盤としたワクチンやがんの免疫療法開発の大型プロジェクト。ERCによって2014年から5年計画でサポートされ、一部計画の延長も決まっている。

● Extracellular RNA Communication（2013年-）

米国 NIH common fund による研究プログラム。関連して Extracellular RNA Communication Consortium が発足している。細胞外 RNA の分泌、輸送、受容細胞に与える影響などに関する生物学的原理確立や臨床的有用性の評価を目的とする。

- American Society for Exosomes and Microvesicles
  米国にて 2012 年に発足したエクソソームやマイクロベシクルに関する学会。上述の Extracellular RNA Communication Consortium と連携。学会誌 Matters を出版。その他、欧州では、ドイツ、フランス、オーストリア、英国、ベルギー、オランダで、アジアでは、韓国、シンガポールで同様の学会が活動している。
- Intravacc（Institute for Translational Vaccinology）
  オランダ保健福祉スポーツ省によって設立。Intravacc を中心とした、MVs を利用したワクチンの研究開発を行なわれている。

【国内】

- 日本細胞外小胞学会が 2014 年に発足。日本 RNAi 研究会と年会を毎年広島にて共催。
- JST-ERATO「野村集団微生物制御プロジェクト」（2015 年度 -2020 年度）
  最先端の 1 細胞分析、イメージング、生化学的アプローチを駆使し、MVs を中心に微生物細胞間相互作用を解析することで、微生物集団の環境適応機構を明らかにすることを目指している。
- AMED「細菌由来メンブレンヴェシクルを利用した粘膜ワクチンの基盤的研究」（2016 年 -2018 年）
  MVs のワクチンとしての有効性を解析するために、AMED のプロジェクトが 2016 年にスタートした。
- JST-CREST/ さきがけ「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創出」（2017 年度 -2024 年度）
  エクソソーム、マイクロベシクルを始めとした内因性微粒子と PM2.5 などの外因性微粒子を研究対象とし、これらの細胞外微粒子に対する生体応答機序の解明や、その解明において必要な各種計測技術の開発、微粒子の体内動態制御による将来の医療や産業応用等に向けた基盤研究を推進する。また本領域の特色として、内因性微粒子と外因性微粒子の研究コミュニティーの融合を掲げ、生体応答に共通する原理発見や、相乗効果による生命現象の解明など、分野横断的なアプローチによる研究進展を目指している。
- 農林水産省「細胞外小胞を用いた農水包括的好循環サイクルの機能性強化のための革新的研究開発プラットフォーム」（2018 年 -）
  牛乳や発酵食品など動物由来のエクソソームに加え、野菜や果実などに含まれるエクソソームの機能解析によって、農作物の機能向上やヒトの健康長寿の実現を目指す。
- AMED「認知症研究開発事業」
  平成 30 年度の AMED 認知症研究開発事業として、「ヒト脳由来エクソソームを利用した認知症患者を層別化する手法の開発研究」、「ヒト脳由来等のエクソソームを利用した認知症の病態解析または創薬ターゲットの開発」として公募が開始されており、侵襲性の低い末梢血内に含まれる脳由来エクソソームを用いた、認知症の早期診断法、創薬ターゲット開発が行われている。

### (5) 科学技術的課題

【外因性（PM2.5 など）】

● 外因性微粒子の生体応答

外因性微粒子には PM2.5 や花粉・黄砂といった、無機物、有機物を問わない多種多様なものが含まれ、これらが生体にどのような影響を及ぼすのかは、ほとんど解明されていない。これらの微粒子に対する生体応答を担う主役は、マクロファージや好中球などの貪食細胞で共通しており、内因性・外因性微粒子に対する応答の相乗効果によって様々な炎症性疾患の発症が加速される可能性がある。エクソソームの生成を阻害することによって、その相乗効果を中和できれば、外因性微粒子に起因する喘息やアレルギーなどの治療法の開発に繋がる可能性がある。そのためには精製された微粒子と、生体試料による実験系確立が必要だが、この問題に取り組む研究者の数は必ずしも多くはない。微粒子研究者とライフサイエンス研究者との活発な共同研究が望まれる。

【内因性（エクソソーム）】

● 1 細胞 /1 粒子レベルでのエクソソーム解析技術

現在の技術で解析されるエクソソームは、様々な細胞が放出したエクソソームの総和であり、それらが平均化されたものしか解析することができない。例えば、末梢血からエクソソームを単離し、病的細胞由来エクソソームの解析を行う場合においても、圧倒的多数の健常細胞由来エクソソームの影響により、バイオマーカーの検出感度が低くなる。よって、検査対象とする臓器や細胞に特異的なマーカーを用いたエクソソームの選別法の確立が求められる。更に、1 細胞 / 1 粒子レベルでエクソソームを解析する技術は未だ不十分であり、これらの技術の確立により、より感度の高い診断法の開発につながることが期待される。また、現在の技術では、エクソソームを他の EV と厳密に区別することが困難であり、より高純度にエクソソームのみを解析することができれば、さらなる高感度化が期待できる。

● エクソソーム生成機構解明

エクソソーム研究の根本的課題として、エクソソームの生成（形成・放出・機能分子の内包化）機構の解明が重要である。これらの機構の解明によって、特定の細胞や臓器特異的にエクソソームを欠損させ、その生理機能を解明することが可能となる。加えて、エクソソームの生成を制御する薬剤を開発し、それらを用いた治療法の確立も今後大きく期待される。また、体内において、どのエクソソームがどこへ行くのかの生体内動態もほとんど解明されておらず、その動態を制御する分子機構の解明によって、より標的精度の高い DDS の開発に貢献する可能性を持っている。

● 特異的な除去方法の開発

病的細胞由来エクソソームを対象としたバイオマーカーの同定と、それらを用いた診断法の開発研究が盛んに行われている一方で、病的細胞由来エクソソームのみを特異的に除去する方法の開発はほとんど進展していない。病的細胞由来エクソソームに特異的な表面マーカーの同定により、正常細胞由来エクソソームに影響することのない除去法の開発が望まれる。また、エクソソームは脂質二重膜に囲まれている為、内容物に直接アプローチすることができない。今後の技術開発によって、内容物を操作する技術の確立が期待される。

【内因性（MVs）】

● MVs による DNA や RNA の運搬

sRNA が細菌の MVs に含まれており、それらの一部は宿主細胞のタンパク質発現を制御することが報告された[26]。また、植物が産生する細胞外微粒子によって伝達される sRNA が真菌の病原タンパク質の発現を抑えることが新たに見出されている[37]。DNA や RNA は生物が共通して用いている遺伝物質であり、生物の本質に関わる。ヒトに及ぼす影響も含め、細胞外微粒子によって伝播する遺伝物質が生物界全体に渡って、界を超えたクロストークに関わっている可能性があり、今後はその検証と、それらが生命ネットワークの中で果たしている役割を明らかにしていく必要がある。CRISPR-Cas の研究で著名な研究グループも細菌の MV による RNA 輸送の研究に乗り出しており、競争が過熱する可能性がある[39]。

● ファージ（バクテリアに感染するウイルス）と MV の関係の解明

MV 形成機構の一つにファージが関わっていることが明らかとなった[29,30]。以前から MVs はファージの宿主への感染を防除することが報告されていたが、MVs がファージの宿主域を広げるのに役立っていることも報告された[40]。さらには MVs によってファージが運搬されることも明らかとなり、その機能性が注目されている[30]。ファージは我々がこれまでに考えていた以上に宿主に対して多様な働きかけを行っていることが次々に報告されており、その存在意義を捉え直す潮流ができている。MVs 研究は新たなファージの位置付けを示す可能性がある。加えて、これまでの DNA 染色を指標に環境中のファージ量を推定する手法は、ファージと MV を区別できていなかったため、既知の知見・手法の見直しも必要となってきている[41]。

● MV による中身の受け渡し

MV によってその中身が他の細胞に受け渡されることは DNA,RNA, タンパク質や細胞間シグナル物質で解析されているものの、その詳細な受け渡しのメカニズムは、最重要課題の一つであるにも関わらず、何も分かっていない。MV は特異的に細胞に付着することも報告されており[28,42]、当該機構を明らかにするためにはライブセルイメージングを含めた、観察技術開発が必要である。MVs の積荷の受け渡し機構を明らかにすることは、MVs がどの範囲の生物にまで影響を及ぼすのか、そのインパクトの真の理解に繋がるだけでなく、MV による物質運搬制御の糸口が得られ、その成果は MV を模倣した人工微粒子の設計にも役立つ。

● 腸内における MVs の働きの解明

腸内細菌は MV を産生し、便からも MVs が回収されることから、腸内細菌の MVs が生体に影響を与えている可能性は高い。近年次々に腸内細菌の働きが明らかになっているなかで、MVs の機能はまだ注目されておらず、腸内細菌群と宿主の相互作用を解明するブレイクスルーが期待される。

● MVs の種類と機能の多様性の解明

単一細菌種によって産生された MV であっても、その大きさや中身は不均一である。これは、MV 形成経路が複数存在することに由来すると考えられる。これまでに、MVs は細菌が生きたままで放出すると考えられてきたが、細胞死を介す形成過程も存在することが明らかとなった。こうした異なる経路によって形成された MV はその性質や機能が異なる。現在、MVs は一緒くたにされて解析されているが、今後それぞれの MV の種類を分けて解析することで、MV の本当の機能が明らかになり、その基礎的知見に基づいたより効果的な応用利用が見込まれる。さらに、MVs の分類を行うことで、例えば、実環境から単離した MVs の働きを類推で

きるようになり、診断のマーカーにもなり得る。環境中から単離したMVに含まれるタンパク質やDNA、RNAを解析することはすでに可能であり、当該オミクス分野の発展とともに、環境MVsの解析が活発化すると考えられる。その情報解析基盤として、MVsの多様性とそれぞれの特徴、機能を明らかにする必要がある。さらに、1MV解析が可能になれば、上記の課題の多くに大きく貢献出来る。具体的には、1MVに含まれるDNA, RNA, タンパク，代謝産物の定量・定性である。我が国の分析器機分野は微量分析においても優れているので、その技術開発は他国をリード出来るはずである。そして、MVごとのDNA, RNA, タンパク，代謝産物のデータベース化を進め、1MVごとの機能と効果を検証することで、そのMVデータベースが財産となる。

● MVの人工合成

MVのワクチンや抗生物質の輸送体としての利用が世界で始まりつつある。しかし、まだまだ問題がある。それは、MVが不均一なものなので、社会実装にはより均一な製品にする必要がある。しかし、まだ世界の多くのMV（のワクチン応用も含めて）の研究者はそれに気付いていない。一方、我が国のMV研究者らは、MV生成機構の解明に成功して、その不均一性を証明し、その基礎的な重要性をいち早く世界に発信している[43]。よって、MVの不均一性の質の理解にはアドバンテージがあり、MVのワクチン利用についても、世界と十分競合出来ると考えられる。そのためには、分野融合によるMVの人工合成に取り組む必要性がある。具体的には、リポソームを使用したDDSに関わる様々な分野（の研究者）との連携が必要であろう。そして、任意のタンパク質、核酸、その他の物質などの封入・局在化の技術開発も必須となる。言い換えると、MVをミミックした新たな人工膜粒子（一重膜型また二重膜型）開発研究分野が必須となる。

● ナノチューブとMVsの関係の解明

MVsの他に細菌が細胞外に形成する膜構造体として、2011年にナノチューブと呼ばれる、幅が50-70nm、長さが数μmに及ぶチューブが報告された[44]。これらナノチューブは細胞間を架橋し、細胞質内の成分を交換できることが観察されている。その結果、抗生物質の分解に関わるようなタンパク質の交換も起き、受け取った細胞には一過性の表現型が現れる。同様の構造物は多くの細菌で観察されているにも関わらず、ナノチューブの実体の根本的な部分も含めて、どれほど細菌の生態に関わっているのかは分かっていない点が多い。ナノチューブとMVの関係について、お互いの形成に関わっていることも示唆されており[45]、今後両者の関係も含めて、基礎的な知見を蓄積する必要がある。

● イメージング技術の開発

数nm程度の構造物の動態解析にはイメージング技術の発達は欠かせない。これには、顕微鏡のみならず、サンプルの固定技術やマイクロ流体デバイスなど、サンプルを調整する側の技術の発展も伴う。

### （6）その他の課題

● 研究体制

エクソソーム研究は、世界中で加速度的な広がりを見せており、欧州の研究者を中心として国際細胞外小胞学会（ISEV）が設立された。その支部として日本細胞外小胞学会（JSEV）が近年設立され、毎年広島で総会が開催されている。このような取り組みにより、エクソソーム

を研究する日本人研究者は徐々に増えており、研究者コミュニティーの形成がなされつつある。今後、工学系など異分野の研究者が加わることによって、本研究分野の更なる活性化が期待される。特に、JST の戦略的創造研究推進事業の開始に伴い、多くの研究者が新たに参入しているが、一時的なブームで終わらせるのではなく、情報や技術を共有するなど有機的な連携を取ることによって、研究を支援する体制の構築が重要である。とくにさきがけでは若い気鋭の研究者達が挑戦的な課題に取り組んでいるが、基本的に個人研究であり、しかも３年半という短期間の資金しか保証されないため、終了後に本分野を牽引するだけの体力をつけられるかどうかという点が懸念される。優秀な人材への継続的なサポートが可能なシステムが求められる。

● コンセンサス形成

エクソソームの検出や単離の難しさ、さらには種々の分類方法があるため、どの細胞外小胞をエクソソームと呼ぶのかは、未だに世界中でコンセンサスが得られておらず混乱している。国際基準の MISEV ガイドラインに従った研究手法の共通化は有用であるが、それと同時に、このガイドラインに基づく新たな研究手法の開発も非常に重要である。特に、現在の主流である超遠心法や PEG 沈殿法を用いたエクソソームの単離法では、多くの夾雑物が混入している為、これらのエクソソームを用いた実験結果が、真にエクソソームの機能を反映しているとは厳密には言い難い。革新的なエクソソーム解析技術の確立と普及が早急に求められている。

● 制度整備

今後、ウシ・ブタなどの家畜や野菜・果物に含まれるエクソソームの人体への影響が解明されるに従い、それらを用いた予防法や治療法などの開発が行われる可能性がある。エクソソームの中には RNA や DNA が含まれており、これらの異種の遺伝子情報がヒトのゲノムに与える影響や継代的影響は明らかになっていない。遺伝子治療などに準じた法整備が必要になるのか否か、今後の検討が必要になるであろう。

● ワクチン開発

耐性菌の出現によって、抗生物質が効かなくなる時代に向かっていると言われているなかで、早急な対策が必要である。抗生物質に代わる治療方法としてワクチンの接種が挙げられており、有効なワクチンの開発が必要である。こうしたワクチンの利用は、「ワン・ヘルス」という考えのもと、耐性菌出現の温床となっている畜産や養殖産業においても有効性が検討されている。MVs はすでに欧米など海外ではワクチンとして認可されて、そのマーケットは広がって来ているが日本においては、まだ認可されていない。遺伝子組換え技術も合わせると、多様な MV ワクチンのデザインが可能であり、抗生物質の輸送体としての利用も検討されるなど、MVs は次世代の感染症治療技術のプラットホームとなっている。こうした分野の研究開発を加速させるための環境整備が必要である。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・2017 年に JST の戦略的創造研究推進事業が発足し、多くの有力研究者や若手研究者が参加して研究に取り組んでいる。<br>・日本は脂質、RNA、生体膜などの研究に伝統があり、国際的に優位な位置にいる。<br>・エクソソーム研究と関連の深いオートファジー研究において、大隅良典博士がノーベル賞を受賞し、研究の相乗効果が期待される。<br>・多くの臨床系研究室で、バイオマーカーとしてのエクソソーム研究が盛んに行われている。<br>・JST の CREST とさきがけ「細胞外微粒子」研究領域。日本細胞外小胞学会の活動。<br>・ERATO など、MVs の基礎的研究に関する大型プロジェクトも行われており、MV 形成に関する基礎研究の成果は世界をリードしている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・国立がんセンターにおいて、エクソソームを用いた 13 種類のがんの早期診断法の開発が行われており、その有用性の評価が注目されている。<br>・富士フイルム和光純薬が、高純度エクソソーム精製法、高感度エクソソーム検出法の開発に成功し、国内外の公的・民間臨床検査に使用され始めている。<br>・多くの製薬企業が、エクソソーム創薬の将来性を重要視しており、産学連携による研究が開始している。<br>・JST の CREST とさきがけ「細胞外微粒子」研究領域。日本細胞外小胞学会の活動。<br>・AMED など MVs をワクチンとして利用するための大型プロジェクトが行われており、今後はその成果を社会実装に結びつける段階になってくる。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・この数年で、数多くの研究者がエクソソーム研究に参入しており、様々な新規機能に関する論文が、トップジャーナルに多数掲載され始めている。<br>・Gordon や Keystone 会議など著名な学会において、エクソソームを主題とした会議が開催されている。<br>・NIH からがん・認知症・ウイルス感染などにおけるエクソソームの役割に関して大型の研究グラントがサポートされている。<br>・R.Schekman（2013 年ノーベル生理学医学賞受賞）などの有力な細胞生物学者の参入。<br>・2017 年の ASM 年会では、MVs についてのシンポジウムが開催されるなど、研究者同士の連携が取られはじめている。また、MVs の生態的な役割について、NSF の大型予算がついて基礎的研究が推進されている |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・エクソソーム創薬を目的とした臨床研究が多数行われており、その結果が近いうちに明らかになると期待されている。<br>・エクソソームを用いた診断や治療法の開発を目指したベンチャー会社が幾つか設立されている。<br>・NIH が Extracellular RNA Comminication に funding。<br>・細菌の MVs を利用したワクチン開発のベンチャー企業が設立され、実用に向けて準備がなされている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | → | ・エクソソーム研究の黎明期を支えてきた有力研究者がフランスやスウェーデンなどに在籍しており主導的位置にある。<br>・国際細胞外小胞学会などを中心として、解析技術法などのガイドラインの普及にも力を入れている。<br>・欧州の医薬品研究開発官民パートナーシップ「革新的医薬品イニシアチブ（IMI）」の支援を受けた研究が開始されている。<br>・Raposo, Théry など、本分野のパイオニアの存在。<br>・スウェーデンのウメオ大学のグループなどを中心にして MVs の病原性への関与について盛んに研究されてきた。こうした基礎的研究が現在のワクチン開発の流れに繋がっている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・米国に比べると顕著な活動は認められないが、臨床応用や創薬開発は着実に行われている。<br>・エクソソームの解析機器で有名な英 NanoSight 社が、同じく英国の大手企業 Malvern 社に吸収され、技術開発が加速すると期待されている。<br>・オランダ保健福祉スポーツ省によって設立された非営利団体が一つの拠点となり、MVs を利用した感染症に対するワクチン研究開発で世界をリードしている。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・多くの研究者がエクソソーム研究に参入している。論文数も日本の２倍以上あり、トップジャーナルにも掲載され始めている。エクソソームに関する特許申請も盛んに行われている。<br>・MVs の病原性への関与について研究がなされている。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・エクソソームを標的とした創薬、診断法の開発にも熱心であり、存在感を増しているが、独自技術による産業化はまだあまり認められない。<br>・臨床実験の規制が緩く、海外から優秀な研究者を迎え入れているため、MV ワクチン研究が活発になるにつれ、一気に研究開発が盛んになる可能性がある。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・研究者数はまだ比較的すくなく、バイオマーカーなど臨床研究が中心である。<br>・Korean Society for Extracellular Vesicles の存在。<br>・2008 年には Korean Society for Extracellular Vesicles、が設立されるなど、早い時期から細胞外微粒子に着目した研究を推進している。逸早く、タンパク質の網羅的解析技術を MVs 研究に導入した。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・がん細胞をターゲットにした免疫療法のプラットフォームの利用を視野に入れた MVs の研究を、浦項工科大学校のグループを中心に精力的に行っている。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## （8）参考文献

1）Valadi, H., et al. “Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells.” Nat Cell Biol 9（6）（2007）:654-9. doi: 10.1038/ncb1596.

2）Bobrie, A., M. Colombo, G. Raposo, and C. Thery. “Exosome secretion: molecular mechanisms and roles in immune responses.” Traffic 12（12）（2011）:1659-68. doi: 10.1111/j.1600-0854.2011.01225.x.

3）Kramer-Albers, E. M., and A. F. Hill. “Extracellular vesicles: interneural shuttles of complex messages.” Curr Opin Neurobiol 39（2016）:101-107. doi: 10.1016/j.conb.2016.04.016.

4）Tkach, M., and C. Thery. “Communication by Extracellular Vesicles: Where We Are and Where We

Need to Go.” Cell 164（6）（2016）:1226-32. doi: 10.1016/j.cell.2016.01.043.
5）Schwechheimer C, Kuehn MJ. 2015. Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: biogenesis and functions. Nat Rev Microbiol 13:605-619.
6）Brown L, et al. “Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi.” Nat Rev Microbiol 13（2015）:620-630.
7）Mashburn LM, Whiteley M. “Membrane vesicles traffic signals and facilitate group activities in a prokaryote.” Nature 437（2005）:422-425.
8）Biller SJ, et al. “Bacterial vesicles in marine ecosystems.” Science 343（2014）:183-186.
9）Toyofuku M, et al. “Bacterial membrane vesicles, an overlooked environmental colloid: Biology, environmental perspectives and applications.” Adv Colloid Interface Sci 226（2015）:65-77.
10）Gujrati V, et al. “Bioengineered bacterial outer membrane vesicles as cell-specific drug-delivery vehicles for cancer therapy.” ACS Nano 8（2014）:1525-1537.
11）Thomou, T, et al. “Adipose-derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues.” Nature 542（7642）（2017）:450-455. doi: 10.1038/nature21365.
12）Ying, W, et al. “Adipose Tissue Macrophage-Derived Exosomal miRNAs Can Modulate In Vivo and In Vitro Insulin Sensitivity.” Cell 171（2）（2017）:372-384 e12. doi: 10.1016/j.cell.2017.08.035.
13）Obata, Y, et al. “Adiponectin/T-cadherin system enhances exosome biogenesis and decreases cellular ceramides by exosomal release.” JCI Insight 3（8）（2018）. doi: 10.1172/jci.insight.99680.
14）Takahashi, A, et al. “Exosomes maintain cellular homeostasis by excreting harmful DNA from cells.” Nat Commun 8（2017）:15287. doi: 10.1038/ncomms15287.
15）Zhang, Y, et al. “Hypothalamic stem cells control ageing speed partly through exosomal miRNAs.” Nature 548（7665）（2017）:52-57. doi: 10.1038/nature23282.
16）Dickens, A. M, et al. “Astrocyte-shed extracellular vesicles regulate the peripheral leukocyte response to inflammatory brain lesions.” Sci Signal 10（473）（2017）. doi: 10.1126/scisignal.aai7696.
17）Thind, A., and C. Wilson. “Exosomal miRNAs as cancer biomarkers and therapeutic targets.” J Extracell Vesicles 5（2016）:31292. doi: 10.3402/jev.v5.31292.
18）Mustapic, M, et al. “Plasma Extracellular Vesicles Enriched for Neuronal Origin: A Potential Window into Brain Pathologic Processes.” Front Neurosci 11（2017）:278. doi: 10.3389/fnins.2017.00278.
19）Geiger, A., A. Walker, and E. Nissen. “Human fibrocyte-derived exosomes accelerate wound healing in genetically diabetic mice.” Biochem Biophys Res Commun 467（2）（2015）:303-9. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.09.166.
20）Gallet, R, et al. “Exosomes secreted by cardiosphere-derived cells reduce scarring, attenuate adverse remodelling, and improve function in acute and chronic porcine myocardial infarction.” Eur Heart J 38（3）（2017）:201-211. doi: 10.1093/eurheartj/ehw240.
21）Webb, R. L, et al. “Human Neural Stem Cell Extracellular Vesicles Improve Tissue and Functional Recovery in the Murine Thromboembolic Stroke Model.” Transl Stroke Res.（2017）doi: 10.1007/s12975-017-0599-2.
22）Bell, B. M, et al. “Designer exosomes as next-generation cancer immunotherapy.” Nanomedicine 12（1）（2016）:163-9. doi: 10.1016/j.nano.2015.09.011.
23）Chen, G, et al. “Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response.” Nature.（2018）doi: 10.1038/s41586-018-0392-8.
24）Armstrong, J. P. K., and M. M. Stevens. “Strategic design of extracellular vesicle drug delivery sys-

tems.” Adv Drug Deliv Rev.（2018）doi: 10.1016/j.addr.2018.06.017.

25）Wai SN, et al. “Vesicle-mediated export and assembly of pore-forming oligomers of the enterobacterial ClyA cytotoxin.” Cell 115（2003）:25-35.

26）Domingues S, Nielsen KM. “Membrane vesicles and horizontal gene transfer in prokaryotes.” Curr Opin Microbiol 38（2017）:16-21.

27）Koeppen K, et al. “A Novel Mechanism of Host-Pathogen Interaction through sRNA in Bacterial Outer Membrane Vesicles.” PLOS Pathogens 12.（2016）

28）Toyofuku M, et al. “Membrane vesicle-mediated bacterial communication.” ISME J 11（2017）:1504-1509.

29）Turnbull L, et al. “Explosive cell lysis as a mechanism for the biogenesis of bacterial membrane vesicles and biofilms.” Nat Commun 7（2016）:11220.

30）Toyofuku M, et al. “Prophage-triggered membrane vesicle formation through peptidoglycan damage in Bacillus subtilis.” Nat Commun 8（2017）:481.

31）Kowal, J, et al. “Proteomic comparison defines novel markers to characterize heterogeneous populations of extracellular vesicle subtypes.” Proc Natl Acad Sci U S A 113（8）（2016）:E968-77. doi: 10.1073/pnas.1521230113.

32）Witwer, K. W, et al. “Standardization of sample collection, isolation and analysis methods in extracellular vesicle research.” J Extracell Vesicles 2.（2013）doi: 10.3402/jev.v2i0.20360.

33）Lotvall, J, et al. “Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the International Society for Extracellular Vesicles.” J Extracell Vesicles 3（2014）:26913. doi: 10.3402/jev.v3.26913.

34）Consortium, et al. “EV-TRACK: transparent reporting and centralizing knowledge in extracellular vesicle research.” Nat Methods 14（3）（2017）:228-232. doi: 10.1038/nmeth.4185.

35）Nakai, W, et al. “A novel affinity-based method for the isolation of highly purified extracellular vesicles.” Sci Rep 6（2016）:33935. doi: 10.1038/srep33935.

36）Regente, M, et al. “Plant extracellular vesicles are incorporated by a fungal pathogen and inhibit its growth.” J Exp Bot 68（20）（2017）:5485-5495. doi: 10.1093/jxb/erx355.

37）Cai, Q, et al. “Plants send small RNAs in extracellular vesicles to fungal pathogen to silence virulence genes.” Science 360（6393）（2018）:1126-1129. doi: 10.1126/science.aar4142.

38）Kim OY, et al. “Bacterial outer membrane vesicles suppress tumor by interferon-gamma-mediated antitumor response.” Nat Commun 8（2017）:626.

39）Resch U, et al.” A Two-Component Regulatory System Impacts Extracellular Membrane-Derived Vesicle Production in Group A Streptococcus.” MBio 7（2016）.

40）Tzipilevich E, Habusha M, Ben-Yehuda S. “Acquisition of Phage Sensitivity by Bacteria through Exchange of Phage Receptors.” Cell 168（2017）:186-199 e12.

41）Soler N, Krupovic M, Marguet E, Forterre P. “Membrane vesicles in natural environments: a major challenge in viral ecology.” ISME J（2014）doi:10.1038/ismej.2014.184.

42）Tashiro Y, et al. “Interaction of Bacterial Membrane Vesicles with Specific Species and Their Potential for Delivery to Target Cells.” Front Microbiol 8（2017）:571.

43）Toyofuku M, Nomura N, Eberl L. in press. “Types and origins of bacterial membrane vesicles.” Nature Reviews Microbiology.

44）Dubey GP, Ben-Yehuda S. “Intercellular nanotubes mediate bacterial communication.” Cell 144

（2011）：590-600.
45) Dubey GP, et al. “Architecture and Characteristics of Bacterial Nanotubes.” Dev Cell 36（2016）：453-61.

## 2.2　基礎基盤科学技術―組織（生理・恒常性）

### 2.2.1　免疫科学

#### (1) 研究開発領域の定義

免疫は「ヒトが疫病（感染症）から免れる仕組み」としての理解に端を発し、長年に亘ってその詳細なメカニズムの研究、および医療応用が進められてきた領域である。現在では感染症や自己免疫疾患に加え、がん、神経疾患、代謝性疾患など、多様な疾患群の根底に免疫が深く関わっていることが見いだされており、生体の恒常性維持に不可欠の基盤的な生命システムであると言える。それら疾病のメカニズムの理解にとどまらず、免疫機構に着目した医療技術として、抗体医薬、人工免疫細胞医薬（CAR-T、TCR-T ほか）など、産業インパクトの大きなものが次々と登場している。

#### (2) キーワード

ヒト免疫学、慢性炎症、マクロファージ、抗腫瘍免疫、免疫チェックポイント、免疫ゲノム、神経免疫、免疫代謝、常在細菌、抗体医薬

#### (3) 研究開発領域の概要

[本領域の意義]

感染症を免れるため病原微生物を非自己として認識し排除する免疫システムは、がん細胞や移植片も非自己として認識するため、感染症のみならず、がん免疫、移植免疫の観点でも免疫系を理解することが必要である。さらには、免疫システムの制御の破綻により、自己免疫疾患、自己炎症疾患、アレルギー性疾患など多くの人々の QOL 低下と関係する様々な疾患が発症する。免疫系の理解と応用展開は、抗体医薬、人工免疫細胞医薬（CAR-T、TCR-T ほか）など、巨大な市場を形成、あるいは形成しつつあるイノベーティブな医療技術として結実している。本領域は、生命の理解の深化、および健康・医療技術の創出、の両面において極めて意義深いものであると言える。

[研究開発の動向]

免疫疾患および感染症、がん、移植などにおける免疫システムの理解が飛躍的に進んだことも相俟って、特に 21 世紀以降、がんおよび炎症性疾患を中心に目覚ましい治療効果を発揮する抗体医薬が開発され、昨今の医薬品市場を席巻し続けている（詳細は別項「抗体医薬」参照）。これは、長年に亘って取り組まれてきた免疫科学の基礎研究の成果の賜である。それら抗体医薬については、更なる高性能化、および低コスト化の両方向に向けた開発が今後加速するものと考えられる。また、腸内細菌や食物と様々な免疫系との関係も注目を集めており、常在菌と免疫系、あるいは常在菌と疾患群の関係が次々と解き明かされているところであり、細菌叢の制御により疾患を治療しようとする挑戦的な研究も進められている。（詳細は別項「マイクロバイオーム」参照）。

基礎研究段階ではあるが、多発性硬化症のような自己免疫疾患のみならず、アルツハイマー病、脳梗塞、自閉症などの精神・神経疾患と免疫系との関係が明らかにされつつある[1)]。また心筋梗塞や動脈硬化、肥満や糖尿病などの心血管系疾患、代謝性疾患においても免疫系の関与

が指摘されている。このような慢性炎症においては、マクロファージのサブセットやサイトカインを産生する自然リンパ球の関与にも関心が集まっている。

わが国で発見された制御性 T 細胞の研究は今も活発であり、その発生と安定化に重要なエピジェネティクス研究は特に盛んである[2)]。自己免疫疾患やアレルギー疾患の治療に制御性 T 細胞が根本的な解決法をもたらすと期待されている[3)]。体外で増幅した制御性 T 細胞を活用し臓器移植の拒絶反応の抑制を目指す臨床研究も行なわれている。抗腫瘍免疫を増強するために、制御性 T 細胞を消失、或いは性質を変える技術開発も進められている。

医療応用の観点から最も注目を集めているのが腫瘍免疫である。長年に亘って進められてきた、腫瘍細胞が抗原性を獲得するメカニズムの研究に加え、免疫チェックポイント阻害の研究から大きな成果が得られている。その結果として免疫チェックポイント阻害に作用する抗体が臨床現場で大きな注目を集めているが、それ以外にも、様々な抗腫瘍免疫賦活化薬の開発が進められている。一方、免疫チェックポイント阻害薬の効果が見られない患者群の存在も明らかになり、免疫チェックポイント阻害薬に対する抵抗性のメカニズムの解明、効果事前判定・予想のバイオマーカー探索および新たな免疫チェックポイント分子の研究も進められている。また CAR-T など人工的に免疫細胞を改変して治療に応用する試みも実用化に向けて進んでいる（詳細は別項「遺伝子治療・細胞医薬」参照）。わが国において腫瘍免疫研究は活性化しているが、世界的なレベルからはやや遠く、医療応用でもオプジーボ（抗 PD-1 抗体）およびモガムリズマブ（抗 CCR4 抗体）以外の開発は極めて遅れている。

またこのような免疫応答の基盤としてのゲノムの解析も急速に進展しつつある。次世代シークエンスの進歩により、遺伝子多型、トランスクリプトームさらにはリンパ球サブセットの関連が網羅的に明らかとなりつつある[4)]。また遺伝子多型情報とエピゲノム情報を統合して、免疫疾患の遺伝的リスクがどの免疫担当細胞サブセットに濃縮されているか評価するアプローチにより、ヒト免疫疾患の病態の理解が深まりつつある[5)]。

以上、世界的にも免疫研究は益々活性化しているが、医療技術創出の観点の強まりも相俟って、旧来よりマウス免疫学において蓄積されてきた知見を一気に止揚させ、いよいよ本格的にマウス免疫学にとどまらずヒト免疫学を推進しようとする潮流が年々強まっている。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］（抗体医薬、遺伝子治療・細胞医薬、マイクロバイオームに関する動向は別項参照）**

①腫瘍免疫分野において、T 細胞による免疫応答を負に制御する CTLA-4 や PD-1 の作用を抑制することで免疫応答のブレーキを解除するという概念（免疫チェックポイント阻害）により、抗 CTLA-4 抗体や抗 PD-1 抗体が臨床試験で著効を示している。現在では抗 CTLA4 抗体と抗 PD-1 抗体との併用療法や制御性 T 細胞の除去抗体、抗 CCR4 抗体との併用をはじめとした様々な抗体との併用あるいは他の抗がん薬との併用療法の効果が検討されている。「免疫応答の負の制御を解除」という観点では、制御性 T 細胞の除去も有効である事が動物実験で示され、種々の腫瘍への応用開発が進められている[6)]。また様々な抗がん薬や生理活性物質への干渉（例えば COX 阻害薬）との組み合せが調べられている[7)]。一方でチェックポイント阻害に抵抗性の腫瘍や抵抗性を示す患者群の存在も明らかになり、抵抗性の分子機構の解明と解除

方法の研究が盛んに進められている。さらに、免疫チェックポイント抗体を使用の際、致死的な副作用が発生するケースがあることが重大な問題となっており、その機序の解析に基づく阻害・防止方法の開発は喫緊の課題である。しかしマウスモデルでは限界があり、免疫ヒト化マウスなどを活用したヒト腫瘍とヒト免疫系を効率よく研究する手法の開発が求められている。さらにフォスファターゼや SOCS などの細胞内シグナル伝達阻害分子や制御性 T 細胞のマスター遺伝子である Foxp3 なども広義でのチェックポイント分子といえる。今後は細胞表面分子に加え、細胞内分子や転写因子もチェックポイント阻害の対象として研究が拡大すると思われる。

②肥満、糖尿病、癌、アルツハイマー病など、多様な疾患に「慢性炎症」が関与することが明らかにされてきている。しかし慢性炎症を実験的に研究するシステムが不足しており、この分野は必ずしも必要とされている程に進んでいない。マクロファージに様々なサブセットが存在することや新しいサイトカイン産生性自然リンパ球（innate-lymphoid cell; ILC）の発見は、線維化や組織修復に関する理解に新たな方向性を与えており、今後の展開に期待がもたれる研究が進みつつある [8]。

③神経系と免疫系の密接な相互関係の解明が進展している。多発性硬化症のような自己免疫疾患はもとより、ミクログリアを介した様々な自然免疫反応が疼痛、神経伝達やアルツハイマー病と関連することが報告されている。例えばアルツハイマー病のモデルマウスでは IL-23 を欠損させるとβアミロイドの沈着が減少することが報告されている [9]。また、脳内のインターフェロンγが社会行動を促進させることや、インフラマゾームの活性化が加齢による学習能力の低下と関連することなども報告されている [10]。これらの詳細なメカニズムの解明はこれからであるが、免疫系と神経系の相互作用に関する研究はますます発展すると考えられる。

④制御性 T 細胞（Treg）の分化や維持にエピジェネテックス制御が関係することが明らかにされた。Treg を自己免疫疾患や臓器移植の拒絶反応の緩和に応用しようという試みも盛んになされている。また逆に Treg が抗腫瘍免疫を弱めていることも明らかにされており Treg の除去を介したがん治療の可能性に注目が集まっている [11]。

⑤これまで行われてきた GWAS は多くの疾患と関連する遺伝子多型を同定し、さらに疾患関連遺伝子の同定も進んでいる [12]。すでに多くの国際的な共同研究の成果が発表されており、疾患関連多型はほぼ同定され尽くしてきたと思われる。その中で、統計学的有意差を有する疾患関連多型のみでは多因子疾患の遺伝率のごく一部しか説明し得ないという結果が報告され [13]、いわゆる missing heritability を説明する概念として、有意水準を満たさない無数の多型の集合が遺伝率を制御するという polygenic model[14] や、大きな effect size を有するレアバリアントが遺伝率に関与するというモデル [15] が提唱されている。さらに多因子疾患の予後予測についても、一定以上の頻度でみられる common SNP 情報のみでは、困難であることが認識されつつある [16]。このような背景から、現在では全ゲノム解析や希少な変異や多型の解析に向かっている。世界的には、希少な変異を手掛かりにした創薬は多くの実績があり、日本では AMED の未診断疾患イニシアチブ（IRUD）が進行しているが、この領域はさらに充実させていく必要がある。このようなゲノム解析と並行して、ヒト自己免疫疾患などで患者由来の末梢血などからリンパ球や骨髄系細胞のサブセットを分画して RNA-seq を行なうことで細胞種ごとの遺伝子発現パターンを研究する方法、全ゲノムレベルでの ChIP シークエンスによって細胞ごとのエピジェネティクスを比較する方法、あるいは 1 細胞などに分画して発現解析を行な

う手法も確立されつつある。またT細胞・B細胞レパトアは、MHC領域の関与と多彩な自己抗体の出現を特徴とする自己免疫疾患において以前から重要視され解析がなされて来たが、レパトアの多様性から全体像を把握する事が困難であった。近年RNA-seqを用いた網羅的解析によりその解像度は飛躍的に改善し、既に癌領域では抗原特異的なレパトアの同定が報告されており[17]、免疫領域においても理解の進展が期待出来る。これらの大規模データを処理して有意義な情報を引き出すためのバイオインフォマテックスの手法が次々に開発されている。しかし一方で、特にわが国では独自の大規模データセットやバイオインフォマテックスの専門家の不足が問題となっている。また免疫系は様々な分子や細胞サブセットのネットワークにより構築されており、個別の研究者による全体像の理解は困難であるが、人工知能（AI）による解析には適したデータ構造であることからAIの応用も推進することが望ましい。

⑥感染症や悪性腫瘍に対する免疫応答の理解を一層深化させ、その知見を抗体医薬品や細胞医薬品のシーズとして着実に育成し、臨床開発へのパイプラインを形成していくため、体内において、直接ウイルスやがん細胞を認識する抗原特異的レセプターの構造や動態を詳細に解析する新たなテクノロジーの開発が求められている。その観点から、現在、国際的に急速な展開を見せている次世代シーケンサーを用いた免疫グロブリン/B細胞レセプター（Ig/BCR）およびT細胞レセプター（TCR）のハイスループット解析法（免疫レパトア解析／免疫シーケンシング）は、今後のわが国における免疫細胞医薬創薬の根幹を形成する技術としてその発展と普及が強く期待されている。また、これらの技術は、がん免疫療法後のB細胞・T細胞クローンの追跡や、リンパ系造血器腫瘍の微小残存病変の追跡にも極めて有用であることが報告されており、特に定量性・再現性に優れたレパトア解析技術が社会実装されれば、異なった側面から“precision cancer medicine”の実現へのブレイクスルーをもたらすことが予測される。しかし、国内におけるこの領域の研究資源は人的にも物的にも十分とは言えず、海外と比較して大きく遅れをとっている現状がある。特にヒト検体を用いたIg/BCRやTCRのクロノタイプの1細胞解析技術は、免疫創薬に直結するため国産技術の開発を強力に推進していくことが必要と考えられる。海外技術に依存しない国内での研究成果はまだ希少であるが、先見性を持ったいくつかのグループによりマウスのレパトア解析によるシステム免疫学や、ウイルス抗原に対するTCRの機能的階層性などの研究が開始されている[18) 19) 20) 21)]。これら以外にも、免疫レパトア解析技術の応用範囲は広く、その発展により、自己免疫/炎症疾患・免疫不全症・移植/再生医療などきわめて広範囲の医学領域に多くの新知見をもたらすことが期待される。

⑦マクロファージは1世紀以上も前に発見された細胞であるが、免疫系の細胞の中では死細胞等のごみの貪食の役割程度しかしていないと考えられており、他の免疫細胞とは異なり殆ど注目されてこなかった。しかし最近の研究から、これまでのマクロファージは1種類しかないという概念が覆され、複数のサブタイプが存在していることが徐々に明らかとなり、現在では多くの研究者がマクロファージ研究を行っている。特に日本のマクロファージ研究のレベルは世界でもトップクラスと考えられ、今後更に注力すべき分野の1つである。また、この研究分野は産業界からも注目されている。それぞれのサブタイプが疾患ごとに存在しており、病態に特異的に関わることが示唆されてきていることから、国内だけでなく海外のメガファーマまでがマクロファージサブタイプ自身を標的とした創薬化、またその分化・活性化に関わるdruggableな分子の阻害剤の取得を開始しており、各マクロファージの疾患への特異性の高さから、著しく副作用の少ない薬の開発へと繋がると考えられる。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

欧米では、マウス免疫学およびヒト免疫学がバランス良く推進され、多様な病態の共通基盤原理としての免疫系の理解と制御、そして医療技術開発が比較的スムーズに展開している。一方で、わが国ではマウス免疫学の基礎研究を中心とした研究開発投資がなされてきた。例えば文科省の拠点整備事業の一環で 2007 年に設立された免疫研究拠点 IFReC が挙げられる（現在は、中外製薬の巨額の資金拠出の元で運営（2017 ～ 2027 年、総額 100 億円））。それらかつての基礎研究投資が花開き、様々な生命現象や疾患のカギを握る分子・細胞などが次々と明らかになったことから、AMED の 9 本の研究開発の柱のうち、「がん」「感染症」「難病」「脳」および「医薬品」など、複数の柱において免疫研究の関連するプログラムが数多く推進されており、ヒト免疫学も着実に拡大傾向にある。ただし、応用研究への注目が集まりすぎていることもあってか、基礎研究への投資が薄まっている現状があることは懸念すべきである。現在進行中の科研費の大型基礎免疫領域としては新学術領域「ネオ・セルフの生成・機能・構造」（2016 ～ 2020）が挙げられるのみである。

### （5）科学技術的課題

基礎研究面での課題としては、免疫記憶の解明、老化と免疫、炎症の収束と修復（再生）、全身の様々な臓器に於けるローカルな免疫機構（臓器との相互作用）、などの今後重要性が高まるであろう免疫機構を明らかにする研究手法の開発が挙げられる。またそのような免疫機構の基盤である、染色体制御を含めた細胞のバイオロジーの研究手法も重要である。多くの重要な細胞の機能にはスーパーエンハンサーが関与しており、スーパーエンハンサーの構造の理解が免疫機構の理解につながる。スーパーエンハンサーの構築には相分離（Phase separation）が重要であるが [22]、細胞機能の理解に重要な相分離の研究は日本では進んでおらず、これらの免疫周辺領域の研究との連携も必須である。

応用開発面の課題としては、自己免疫の抑制による抗腫瘍効果の引き出し方法、抗原性の低いがんへの対処方法、免疫チェックポイント阻害薬の低分子化、細胞内チェックポイント分子に対する阻害薬の開発、抗がん薬との組み合わせ、iPS 技術の応用やステムセルメモリー T 細胞（Tscm）の利用、CAR-T との組み合わせ、ゲノム・トランスクリプトーム情報からの診療と治療へのフィードバックなどが挙げられる。

マウス免疫学にとどまらずヒト免疫学の推進がわが国に於ける喫緊の課題であり、そのための方策の 1 つとして、ヒト免疫系を高精度に再現したモデル動物系が挙げられる。例えば、免疫関連遺伝子をヒト型に置換した免疫ヒト化マウスの作製および、その利用を多くの研究者へと解放する基盤整備が必要である。

### （6）その他の課題

免疫を含む広範囲の分野で基礎研究を志向する若者が著しく減っている。特に、多くの医学系大学で基礎系の分野が壊滅的な状況である。免疫学は臨床にも近い重要な基礎研究領域であるにもかかわらず、基礎免疫学を志向する医学部出身者は著減している。MD-PhD コースなどの充実とともに、免疫に特化した対策なども必要である。

ヒト免疫学を推進するためには、基礎研究者と臨床医学者との連携が必須であるが、その

ためのプラットフォームの整備が大幅に遅れている。ヒト免疫学の推進のため、例えば健常人の白血球を献血検体からルーチンで確保するシステムの構築や患者由来の様々なサンプルを全国から集め保存し、研究者が利用できるリソースセンターの整備も重要と思われる。また動物モデルを中心とする免疫学者とヒト臨床研究を行なう研究者を束ねる組織や枠組み（研究班など）の構築が必要である。また公的研究費のみでは予算規模が限られるため、産学連携を促進する枠組みも重要である。米国では 2014 年から NIH と 12 の製薬企業、13 の NPO が共同で Accelerating Medicines Partnership（AMP）を立ち上げ、免疫領域では約 40 億円の予算で治療標的の解明による創薬を目指している。

またヒト免疫学を推進する中で、個人情報に該当する遺伝情報を扱うことが増えている。2013 年に米国臨床遺伝・ゲノム学会が、遺伝子解析の被験者に開示すべき 59 遺伝子のリストを示した。日本のヒト研究現場では遺伝情報の扱いにコンセンサスが構築されておらず、この面の整備は急務と考えらえる。



### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | ↘ | ・基礎免疫学をめざす若手（特に MD）が著しく減少している。<br>・免疫の生化学的・分子生物学的メカニズム研究は強いが、免疫インフォマティクス（レパトア等）、免疫工学（CAR-T、TCR-T ほか）といった次世代の免疫基礎研究は遅れを取っている。萌芽的ではあるが国内でそれら研究分野が徐々に活性化しつつある。<br>・2016 年のトムソンロイターの調査[23]では免疫学は論文引用率で世界 5 位であり、これは日本の全生命科学領域で最も高く、材料科学や化学と同率である。免疫学の日本の科学における貢献度は依然として高いが、若者の免疫離れや研究資金の不足を考えるとトレンドとしては低下傾向にある。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・生物製剤市場の拡大により、炎症分野の創薬に新たな製薬企業が取り組みを開始したが、独自のシーズを有する企業は少なく、例えば ROR γ t 阻害薬など世界的に激しい競争では大半が撤退している。<br>・アクテムラ、ニボルマブに続く日本のシーズ由来の生物製剤がない。<br>・CAR-T、TCR-T といった新たなタイプの治療技術、現時点で国内オリジナルのシーズは極めて限定的であり、海外の技術が、徐々に日本でも導入され臨床試験が開始されている状況である。この状況を打破するためには、国内に於ける基礎研究の活性化が喫緊の課題である。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・長年にわたって世界の基礎免疫学研究をリードしており、ヒト免疫学の研究の重要性をいち早く提唱し研究を進めている。<br>・また、免疫インフォマティクス（レパトア等）、免疫工学（CAR-T、TCR-T ほか）といった次世代の免疫研究を次々と切り拓いており、今後も免疫分野において大きな存在感を発揮し続けるものと考えられる。<br>・基礎～応用までシームレスで研究開発が可能な環境がある。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・アプタマー製剤などベンチャー企業による新規創薬が活発である。<br>・世界的に強い影響力をもつ大企業が、生物製剤の開発を積極的に進めており、例えばイピリムマブ、アパタセプト、ニボルマブ（日本以外）など主要な生物製剤の世界的な販売権を掌握している。<br>・最先端の医療技術シーズの臨床開発・実装において中国に先を越される事例が徐々に出始めているが、それでも積極的な姿勢（および資金、開発環境など）は昔も今も変わらず、例えば免疫治療の最先端の現場では CAR-T の臨床試験が複数進められ、製品化も進んでいる。<br>・ゲノム研究と免疫応用研究の融合が加速している。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | → | ・伝統ある免疫学の基礎研究を着実に展開しており、研究成果の独創性、インパクトは高い。<br>・次世代シーケンサーを用いた免疫ゲノム解析技術においても世界を先導しており、免疫インフォマティクスの領域においても米国と比肩し得る基礎技術が開発されている。<br>・トレンドを追わずトレンドを創り出そうとする姿勢が顕著。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・疾患への応用研究に対し、欧州各国のみならず様々な企業が研究費をサポートし、開発研究が進められている。<br>・世界的に強い影響力をもつ大企業が、新規生物製剤の開発を積極的に進めている。<br>・臨床応用研究に必須のヒト検体を用いた免疫レパトア解析は独国を中心に展開されており、日本にも技術輸出を行っている。 |
| 中国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・米国から著名な中国出身免疫学者を好待遇（研究費、給与、ポスト）で呼び戻している。<br>・研究者人口が多く、論文の量も多いのみならず、従来問題であった論文の質も急速に向上している。<br>・ヒトのサンプルを用いた研究が多い点は注目に値する。<br>・優れたヒト化動物モデルの開発など、応用研究への橋渡しとなる領域も急速に活性化している。レパトア解析などの免疫インフォマティクスの領域においても、まだ独創技術は現れていないものの、新興企業や国内最大手のゲノム解析企業が米国で開発された既存技術を吸収し、国内研究者への提供を開始している。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・近年、最先端のチャレンジング（ある意味リスクの大きい）な医療技術の開発、導入を次々と進めている。従来、そのような医療技術は米国が先導し続けてきていたが、米国を上回るスピードでの開発事例もいくつか登場しており、今後の新規医療技術開発の世界地図の大きな変動を予感させる。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・Nature index 2016 年「Rising Star」の機関別ランキング[24]で 11 位の Institute for Basic Science（IBS）の免疫学部門では、米国から半独立の若手研究者を多数招聘している。<br>・従来、臨床研究が中心でり基礎研究者層は日欧米に比べると薄いが、近年論文の質が飛躍的に上昇している。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・欧米と比べると現時点の応用研究は弱いが、主要大学に大型予算が投じられ、世界的に著明な研究者が招聘し研究力を強化しており、今後加速するものと考えられる。<br>・大学内にベンチャー企業の研究室を設置する大学があるなど、応用展開に向けた活動が積極的になされている。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1) Filiano AJ, et al., “Unexpected role of interferon- γ in regulating neuronal connectivity and social behaviour.” Nature. 535, 7612, 425-9 (2016)
2) Morikawa H, Sakaguchi S. “Genetic and epigenetic basis of Treg cell development and function: from a FoxP3-centered view to an epigenome-defined view of natural Treg cells.” Immunol Rev. 259, 1, 192-205 (2014)
3) Miyara M, Ito Y, Sakaguchi S. “TREG-cell therapies for autoimmune rheumatic diseases.” Nat Rev

Rheumatol. 10, 9, 543-51（2014）
4）Roederer M, et al., “The genetic architecture of the human immune system: a bioresource for autoimmunity and disease pathogenesis.” Cell, 161, 387-403（2015）
5）Finucane HK, et al., “Heritability enrichment of specifically expressed genes identifies disease-relevant tissues and cell types.” Nat Genet, 50, 621-629（2018）
6）Yoshie O, Matsushima K. “CCR4 and its ligands: from bench to bedside. “ Int Immunol, 27, 1, 11-20（2015）
7）Zelenay S, et al., “Cyclooxygenase-Dependent Tumor Growth through Evasion of Immunity.” Cell, 162, 6, 1257-70（2015）
8）Ginhoux F, Guilliams M., “Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis.” Immunity. 44, 3, 439-49（2016）
9）Vom Berg J., “Inhibition of IL-12/IL-23 signaling reduces Alzheimer's disease-like pathology and cognitive decline.” Nat Med. 18, 12, 1812-9（2012）
10）Singhal G et al., “Inflammasomes in neuroinflammation and changes in brain function: a focused review.” Front Neurosci. 8, 315（2014）
11）Saito T, et al., “Two FOXP3（+）CD4（+）T cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers.” Nat Med. 22, 6, 679-84（2016）
12）Okada Y, et al., “Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery.” Nature. 506, 7488, 376-81（2014）
13）Teri A. Manolio, et al., “Finding the missing heritability of complex diseases” Nature, 461, 747（2009）
14）Yang J, et al., “Common SNPs explain a large proportion of the heritability for human height.” Nat Genet, 42, 565（2010）
15）David Holmes, “Unlocking the secrets of adult human height” Nature, 542, 186（2017）
16）Solveig K. Sieberts, et al., “Crowdsourced assessment of common genetic contribution to predicting anti-TNF treatment response in rheumatoid arthritis” Nat Commun, 7, 12460（2016）
17）Pradyot Dash, et al., “Quantifiable predictive features define epitope-specific T cell receptor repertoires” Nature, 547, 89（2017）
18）Ichinohe T, et al., “Next-generation immune repertoire sequencing as a clue to elucidate the landscape of immune modulation by host-gut microbiome interactions.” Front Immunol. 9, 668（2018）
19）Nitta T, et al., “Human thymoproteasome variations influence CD8 T cell selection.” Sci Immunol. 2, eaan5165（2017）
20）Hosoi A, et al., “Increased diversity with reduced “diversity evenness” of tumor infiltrating T cells for successful cancer immunotherapy.” Sci Rep. 8, 1, 1058（2018）
21）Miyama T, et al., “Highly functional T-cell receptor repertoires are abundant in stem memory T cells and highly shared among individuals.” Sci Rep. 7, 1, 3663（2017）
22）B. R. Sabari, et al., “Coactivator condensation at super-enhancers links phase separation and gene control.” Science 10, 1126（2018）
23）Clarivate Analytics プレリリース，「インパクトの高い論文数分析による日本の研究機関ランキングを発表」 http://ip-science.thomsonreuters.jp/press/release/2016/esi2016/（2018 年 11 月アクセス）
24）Nature INDEX，Nature Index 2016 Rising Stars tables ” Top 100 institutions”

## ２．２．２　時間科学（体内時計）

### (1) 研究開発領域の定義

生体のほとんどの生理現象は、24 時間周期で変動している。2017 年のノーベル医学・生理学賞は、時計遺伝子の発見者に贈られた[1)]。近年、時計遺伝子の作る古典的な転写クロックに加え、新たにメタボリッククロック（酸化還元、メチル化、cAMP、$Ca^{2+}$ などのリズム）の存在が明らかとなり、転写・翻訳後制御・タンパク質修飾のレベルで基本代謝を動的に管理し、生命の根幹にある時間秩序を構築する多重的な制御機構が明らかになりつつある。現在、時計と、睡眠、生活習慣病、栄養、老化、ストレスなどとの、分子レベルでの解明が急速に始まりつつある。

### (2) キーワード

生体リズム、時計遺伝子、睡眠科学、時間栄養学、時間薬理学、生活習慣病、行動リズム、ソーシャル・ジェットラグ

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

時計遺伝子は、細胞内で転写・翻訳のフィードバックループを形成し、細胞代謝に基本的な時間秩序を与えている。ところが、この時計遺伝子の自律的な発振機構だけでは、生理的に有効なリズムは形成されず、細胞外からのシグナルもリズム形成・維持に必須である[2)]。トランスクリプトーム解析の結果、転写レベルでのリズム制御は全遺伝子の 1 ～ 2%[3)]、RNA レベルで 5 ～ 10%、メタボライトで約 40%であることが判明した[4)]。転写によるリズム制御はほんの一部に過ぎず、大部分が非転写レベルでの制御であると言える。これにより、生体リズムは、細胞の活動、細胞間のシグナル伝達、さらに脳のリズム活動を介した行動科学にまで達する広い現象を、物質レベルで支える時間機構である事が明らかとなってきた。すなわち、生体リズムは生命の理解の本質に迫り、また睡眠覚醒、栄養、老化、薬剤応答、疾患、ストレスなどの生命現象を解き明かす上でカギとなる基盤的な研究領域として、重要性は大きく高まっていると言える。

**[研究開発の動向]**

本項では時間科学研究について、その共通基盤的な分子メカニズム研究の動向、疾患や健康状態の理解の進展状況、QOL 向上に直結しうる創薬・時間薬理・時間栄養研究の動向について述べたい。

生体リズムは地球に生息する生物のほぼすべてに存在する普遍的な現象である。その意味では、最も原始的な生物であるシアノバクテリアの時計機構が注目され、2005 年に転写クロックが無くとも 3 種類の時計タンパク“Kai”と ATP の混合だけで、試験管内で生物時計が再構成できることが明らかとなった[5)]。このメカニズムとして、KaiC の ATPase 活性が緩徐に進む様子が原子レベルで提示された[6)]。

哺乳類でも、転写以外の発振機構が注目され解明が進行し、特に RNA レベルの解明が急速に進行している。とりわけアデニンの N 部位にメチル化が付加される m6A メチル化によるリズム周期の変動現象は、従来 DNA の遺伝情報の運び屋に過ぎないと考えられてきた mRNA

が、化学的修飾により生物学的に役割を担うことを示す初の事例となった[7]。最近、RNA メチル化が、時計タンパク質 PER2 をリン酸化するキナーゼであるカゼインキナーゼ 1D の alternative splicing を制御し、拮抗的に作用する 2 種のキナーゼを生み出し、生体リズムの周期を調整するメカニズムが分子レベルで明らかとなった[8]。この発見は、家族性睡眠相前進症候群（FASPS）の病態を初めて解明したもので、睡眠リズムの研究に突破口を開いたものと期待される。その他にも、RNA 編集酵素 ADR2 が時計の制御を受け、多くの遺伝子発現を制御することが明らかとなった[9]。

環境シグナルの乱れによって、リズム破綻により疾患へとつながる機構も分子レベルで次々と明らかにされている。生体リズムにより生み出される時間は、明暗、温度、食餌等の環境シグナルの周期的変動にも同調する[10]。転写クロックとメタボリッククロックによって生み出される時間は、糖／脂質／核酸などの基本代謝を動的に管理し[11) 12)]、時間とともに動く動的細胞内ネットワークを形成し、細胞の増殖、分化、老化、ストレス応答などの基本的な生体機構に時間秩序を与えている。例えば、細胞は侵襲を受けたとき解糖系を主体とする代謝に切り替わるが、メタボリッククロックは同時に脂質やタンパク質の代謝も調節し、細胞の肥大や形質変化への切り替えを担う。また、ステロイド代謝の障害は食塩感受性高血圧の原因ともなる[13]。さらに、細胞の時計は、肝細胞では MAP キナーゼを介して、細胞質分裂を制御し、時計異常にて多倍体細胞化が増加することも解明された[14]。

ヒトの日常生活における時間の意義を解明しようとする研究も進展している。食事、睡眠などの日常行動は、健康な生活の基盤である。しかし、シフトワーク勤務の広がりや、スマートフォンの浸透によるソーシャル・ジェットラグ[15]とも言われる生体リズムの破綻が起こりやすい状況となり、ヒトの生体リズムを根本的に調査する動きが見られる。ヒトの活動リズムには個人差があり、活動ピークが朝にある「朝型」と、夜にある「夜型」というクロノタイプに分かれる。ごく最近、クロノタイプに関する 10 万人規模の GWAS 研究が相次いで発表され[16) 17)]、いずれも、G タンパク質制御物質として知られる RGS16 の遺伝子多型が朝型と非常に強い相関があると報告されている。RGS16 は、マウスの時計中枢である視床下部の視交叉上核（SCN）における cAMP のリズムを司る主要制御物質として既に単離されている[18]。このことから、cAMP というメタボリック制御機構が、ヒトでも時計発振機構を担っていることが明らかとなった。また、共通の分子が明らかになったことで、今後の、ヒト・マウスの双方向研究の加速が期待されている。

睡眠は、ストレスや加齢とともに変化し、精神・神経の状態を表す重要な指標である。時計遺伝子は、神経細胞や神経膠細胞に広く発現しているが、生体リズムの中枢である視交叉上核以外の脳部位での機能は長らく不明のままであった。最近、短期記憶の中枢である海馬での Per1 発現が、老化とともに減少し、これが海馬記憶の低下に結びつくことが明らかとなった[19]。さらに、今までほとんど解明されていなかったニューロンを支える星状膠細胞（アストログリア）にも独自の生物時計があって、脳機能に影響することが明らかとなった[20]。

これら時間科学研究の成果を人々の健康・疾患と結びつけようとする動きも始まっている。運動や睡眠などの行動パターンや、血圧や心拍数などの生理機能には概日リズムが存在し体内に内在する体内時計により調節されている。生理機能に概日リズムがあることに起因して、様々な疾患には好発時間帯があることが知られている。体内時計は本来環境により良く適応するために獲得されたものである。しかし、現代社会は概日リズムを撹乱する環境に満ちているため

に体内時計は乱れ、それに伴う睡眠障害が生活習慣病の発症、進展の要因となることが懸念されている。実際、疫学研究において、夜間シフトワーカーで虚血性心疾患や一部の癌のリスクが増加することが多数報告されている。また心不全や高血圧などの動物モデルで、24 時間周期の明暗の環境を撹乱すると疾患が増悪することも明らかにされている。さらに、時計遺伝子を変異させたマウスの解析により、時計遺伝子が糖代謝、脂質代謝、血圧や血管機能、腸管吸収、免疫機能など多彩な生体機能に関与していることが明らかになっている。このようにして生活習慣病の発症、進展における体内時計の意義が臨床面からも注目されている。例えば、副腎皮質ホルモンにより生じる ATP 放出の概日リズムと神経障害性疼痛の関係を明らかにした事例[21]、ALDH 活性の概日リズムを指標とする難治性乳がんの新規治療法を示唆する事例[22]、CKD において腎 - 肝 - 腎連関と時計遺伝子が関与していることを明らかにした事例[23]など、様々な萌芽的研究が進められている。

時間科学研究を通じて発見された分子を創薬へとつなげる開発も進められている。2015 年、覚醒物質として同定されたオレキシンに対する拮抗薬スボレキサントが、新規睡眠剤として上市された。さらに、新たなタイプの睡眠リズム調整薬として、時計の分子機構を元にした創薬も進展している。ヒト培養細胞が示す概日リズムを、ルシフェラーゼレポーターを用いてハイスループットで測定する系より、時計遺伝子であるカゼインキナーゼ I や CRY に結合する低分子化合物が同定された[24]。ただ、時計遺伝子は全身の細胞に存在するので、薬物として利用するには、その特異性が問題となる。この難点を解消する、生体リズムの中枢である SCN での特異的神経伝達に着目した創薬が期待される[25]。従来、老齢マウスを慢性時差環境下で飼育すると高率で死亡することが知られていたが、最近、SCN へのバソプレッシン阻害薬で防止されることが報告され[26]、時差治療薬としてのバソプレッシン拮抗剤が注目される。今後、SCN に存在する未だリガンドの同定されていないオーファン受容体は[27]、睡眠リズムの重要な創薬ターゲットになると期待される。

### （4）注目動向

［新展開・技術トピックス］

ヒトの健康改善および疾患予防などを、日常生活のリズムを最適化することで実現しようとする動きとして、大規模な時間データベースの構築が進んでいる。時計遺伝子の発見と時計の分子機構の解明により、生体の時間は客観的に把握可能になった。また、ウェアラブル生体センサーの開発が急速に進み、ヒトの日常生活における生体データの定量的な計測とデータベースへの自動収集が可能となった。また、収集したデータから新たな知を産み出すデータ処理・解析技術も急速に高度化している。このような時系列データの収集・解析は、睡眠・覚醒のような周期的な変動を繰り返す現象を解き明かすには極めて強力な方法論となる。例えば齧歯類と異なり、ヒトを含む霊長類がなぜ昼行性なのか、という基本的な疑問も未だ解決されていない。この命題に対しても、ヒトの生体データとフィールドの環境情報（位置・光・光波長・温度）の大規模な収集・解析が有効であろう。これらデータベース、およびそこからえられる新たな知見は、将来のヒトを対象とした環境・健康・医療技術の開発を大きく加速すると考えられる。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

米国では、NIH の複数の大型研究グループなどで概日リズム研究が強力に推進され、基礎

研究から臨床応用に至るまで、幅広い研究が進められている。わが国では、世界トップレベル研究拠点プログラム（WPI）の採択拠点の 1 つとして、筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構（IIIS）が平成 24 年度より支援対象となり、睡眠に力点を置いた研究が強力に推進されている。

### (5) 科学技術的課題

体内時計の分子機構の発見により、生体の時間データを客観的に記載可能となった。これに、最先端の安価なウェアラブルセンサーをにより時間データを経時的に収集し、得られたビッグデータを解析することで多くの知見の創出が期待され、戦略的な推進が課題である。

### (6) その他の課題

時間科学研究は、分子レベルの研究と、社会実装に直結する臓器・疾患研究、医薬・栄養研究とが近い関係にある。基礎～応用に至る一連の研究全体を包括的に推進する仕組みが特に重要な分野であると言える。また、ヒト社会行動の根源を表す霊長類研究を合わせて実施する環境整備も重要である。

### (7) 国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・哺乳類のリズムセンターである視交叉上核（SCN）の発見と分子機構、哺乳類時計遺伝子 Per の発見、時計タンパク質レベルでの 24 時間生成機構など、基礎研究では世界の最先端を走ってきた。RNA 自律的に 24 時間周期を形成する時計タンパク質の基礎研究分野でも世界をリードしている。<br>・時計蛋白 kai のタンパク質レベルの発振機構で原子レベルでの周期性研究は世界のトップである。<br>・睡眠研究において、睡眠・覚醒物質の探索・同定は世界トップレベルである。オレキシンの発見と神経機構の解明では、世界をリードする成果をあげている。<br>・霊長類を用いた昼行性動物の概日リズム観察施設が整いつつあり、世界をリードする可能性がある。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・光制御機器（照明）、生体情報センシング技術（脳波、血流など）は世界トップレベルで先行している。<br>・健康診断の仕組みが整備され、都道府県や企業の健康保険組合などは膨大なデータベースを有し、世界屈指である。さらに、ゲノムデータベースもすでに多く存在している。<br>・睡眠の臨床研究の歴史は長く、国際的にもレベルは高い。<br>・睡眠導入薬として脳内時計中枢に作用するメラトニン受容体作動薬が武田薬品により上市された。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・時計遺伝子の発見、哺乳類だけでなくショウジョウバエ、植物、の生体リズムの分子機構レベルでの解明で世界をリードしている。代謝リズムの研究で一歩リードする。<br>・光だけで無く、温度による時計のリセット機構の解明が始まっている。睡眠に関しても、分子レベルでの解明が、世界を先導している。人材も豊富で有り、あらゆる領域で最先端を牽引する。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・ヒトを対象にした、睡眠研究は、世界で並ぶものは無く、極めてアクティブである。<br>・不眠症治療薬としてオレキシン受容体拮抗薬がメルク社により上市するなど、大手製薬企業が新規製剤の開発を積極的に進めている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・時計遺伝子の初期研究は米国・日本に遅れを取ったが、その展開において、独創的かつレベルの高い成果をあげている。伝統ある睡眠研究も強く、独創的な研究が行なわれている。<br>・伝統あるメラトニン研究を元にしたリズム生理学を基盤として、EU のリズム研究を推進する組織が統合され、米国に次ぐ規模となり、世界のリズム研究を先導する一角となった。<br>・昼行性の齧歯類に特化した動物繁殖施設がある点はユニークだか、遺伝子操作は困難である。<br>・ヒトの行動リズムのフィールド研究の重要性についても、いち早く提唱し研究を進めている。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・疾患への応用研究に対し、欧州各国のみならず様々な大手製薬企業が研究費をサポートし、開発研究が進められている。世界的に強い影響力をもつ大手製薬企業が、睡眠リズムの治療法開発を積極的に進めている。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・主要大学内に睡眠やリズムに関する Key Laboratory を設置し、国家的規模で積極的に基礎研究への投資が行われている。<br>・睡眠やリズムに関する中国の研究を統合する学会が発足・展開されるようになっている。また、欧米で研鑽を積んだ優秀な研究者を、国家的な強力サポートのもと中国内に招へいし、彼らが帰国して、精力的に基礎研究が行われており、急速に研究レベルは上がっている。欧米の国際的組織のアジアのハブ組織を、国家戦略によって、積極的に獲得している。 |
| | 応用研究・開発 | × | ↗ | ・欧米と比して応用研究は進んでいないが、国家戦略で応用研究に対しても大型支援が行われており、今後加速していくものと考えられる。 |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | → | ・時間科学に関する基礎研究者の層はまだ日欧米に比べると薄いものの、欧米からの帰国研究者の中には、一流の研究成果を発表しているものもいる。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ・欧米と比して応用研究は進んでいないが、主要大学に大型予算が投じられており、今後加速するものと考えられる。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル
（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない
（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1) 岡村均 , “体内時計の分子メカニズム ～ 2017 年ノーベル生理学・医学賞によせて” , 医学のあゆみ , 263, 968-971 (2017)
2) Yamaguchi S, et al., “Synchronization of cellular clocks in the suprachiasmatic nucleus.” Science. 302, 5649, 1408-12 (2003)
3) IKoike N, et al., “Transcriptional architecture and chromatin landscape of the core circadian clock in mammals.” Science. 338, 6105, 349-54 (2012)
4) Eckel-Mahan KL, et al. “Coordination of the transcriptome and metabolome by the circadian clock.” Proc Natl Acad Sci USA. 109,14, 5541-6 (2012)

5）Nakajima M, et al., “Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC phosphorylation in vitro.” Science. 308, 414-415（2005）.
6）Abe J, et al., “Atomic-scale origins of slowness in the cyanobacterial circadian clock” Science. 349, 312-316（2015）.
7）Fustin JM, et al., “RNA-methylation-dependent RNA processing controls the speed of the circadian clock.” Cell. 155, 4, 793-806（2013）
8）Fustin JM, et al., “Two Ck1 δ transcripts regulated by m6A methylation code for two antagonistic kinases in the control of the circadian clock.” Proc Natl Acad Sci USA. 115, 5980-5985（2018）.
9）Terajima H, et al. “ADARB1 catalyzes circadian A-to-I editing and regulates RNA rhythm. “ Nat Gen, 49, 146-151（2017）.
10）Tataroglu O, et al., “Calcium and SOL Protease Mediate Temperature Resetting of Circadian Clocks.” Cell. 163, 5, 1214–24（2015）
11）Toledo M, et al. “Autophagy regulates the liver clock and glucose metabolism by degrading CRY1. “ Cell Metab, 28, 268-281（2018）.
12）Guan D, et al., “Diet-induced circadian enhancer remodeling synchronizes opposing hepatic lipid metabolic processes. “ Cell, 174, 831-842（2018）.
13）Doi M, et al. “Salt-sensitive hypertension in circadian clock-deficient Cry-null mice involves dysregulated adrenal Hsd3b6.” Nat Med. 16, 1, 67-74（2010）
14）Chao HM, et al., “Gpr176 is a Gz-linked orphan G-protein-coupled receptor that sets the pace of circadian behaviour.” Nat Commun. 8, 2238（2017）.
15）Roenneberg T. “Chronobiology: the human sleep project.” Nature. 498, 7455, 427-8（2013）
16）Hu Y, et al. “GWAS of 89,283 individuals identifies genetic variants associated with self-reporting of being a morning person.” Nat Commun. 7, 10448（2016）
17）Lane JM, et al., “Genome-wide association analysis identifies novel loci for chronotype in 100,420 individuals from the UK Biobank.” Nat Commun. 7, 10889（2016）
18）Doi M, et al., “Circadian regulation of intracellular G-protein signaling mediates intercellular synchrony and rhythmicity in the suprachiasmatic nucleus.” Nat Commun. 2, 327（2011）.
19）Kwapis JL, et al., “Epigenetic regulation of the circadian gene Per1 contributes to age-related changes in hippocampal memory.” Nat Com, 9, 3323（2018）.
20）Brancaccio M, et al., “Astrocytes control circadian timekeeping in the suprachiasmatic nucleus via glutamatergic signaling.” Neuron. 93, 1420-1435（2017）.
21）Koyanagi S, et al., “Glucocorticoid regulation of ATP release from spinal astrocytes underlies diurnal exacerbation of neuropathic mechanical allodynia.” Nature Commun, 7, 13102（2016）
22）Matsunaga N, et al., “Optimized dosing schedule based on circadian dynamics of mouse breast cancer stem cells improves the anti-tumor effects of aldehyde dehydrogenase.” Cancer Res 78（13）, 3698-3708（2018）
23）Matsunaga N, et al., “Inhibition of G0/G1 switch 2 ameliorates renal inflammation in chronic kidney disease.” EBioMedicine, 13, 262-273（2016）
24）Hirota T, et al., “Identification of small molecule activators of cryptochrome.” Science. 337, 6098, 1094-1097（2012）
25）Yamaguchi Y, et al., “Mice genetically deficient in vasopressin V1a and V1b receptors are resistant to jet lag.” Science. 342, 6154, 85-90（2013）

26）Yamaguchi Y and Okamura H. “Circadian clock regulates hepatic polyploidy by modulating Mkp1-Erk1/2 signaling pathway.” iScience, 5, 118–122（2018）.
27）Doi M, et al., “Gpr176 is a Gz-linked orphan G-protein-coupled receptor that sets the pace of circadian behaviour.” Nat Commun. 7, 10583（2016）

## 2.2.3 老化科学

### (1) 研究開発領域の定義

生物は成熟期以降、時間の経過とともに様々な生理機能が低下し、外界への適応力も低下していく。これらの細胞、臓器、個体レベルでの機能低下、およびその過程が「老化」である。厳密には、機能低下を伴わない経時変化は「加齢現象」として区別する場合もあるが、ここでは特に断らない限り、「老化」を包括的な用語として用いる。超高齢社会を迎えつつある現代社会において、老齢人口の増大に伴う医療費の急増、要介護に陥る原因となる老化関連疾患の増大は、社会に大きな経済的負担をもたらす原因となっており、老化・寿命のメカニズムの理解と制御は喫緊の課題である。本研究開発領域は老化・寿命の基本メカニズムおよび老化関連疾患の解明と制御を目指して、細胞レベルから個体レベルまでの研究開発を推進するものである。



### (2) キーワード

老化、抗加齢医学、健康寿命、老化関連疾患、臓器連関、細胞老化、ミトコンドリア機能障害、NAD（nicotinamide adenine dinucleotide）、senolytics

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

老化は高齢者の機能障害や疾病発症の最大のリスクファクターである。過去約 20 年にわたる老化・寿命研究の長足の進歩により、老化・寿命の制御に関わる重要なシグナル伝達系、制御因子が明らかにされ、これらのメカニズムが生活習慣（栄養等）や環境因子とどのように相互作用しているのかが理解されるようになった。こうした理解に基づいて、老化・寿命のプロセスを制御し、老化関連疾患を予防していこうという「抗加齢医学」が世界の主流となりつつある。少子高齢化はすでに、ヨーロッパの主要各国、日本・韓国・中国などのアジア圏各国において確実に進行している。また、平均寿命の延伸にともない、健康寿命との差が拡大することが大きな問題となっている。そこで、最新の老化・寿命研究に基づく厳密な科学的基盤に立脚し、国民、とりわけ高齢者が精神的にも肉体的にも健康を保持し、積極的に社会に参加し、社会と関わりを持ち続けることを可能とする「Productive Aging」を実現していくことが、21 世紀における日本、また世界の喫緊の課題となってきている。

世界的には、モデル生物において老化・寿命制御に関わるシグナル伝達系、因子が次々に解明されており、抗老化方法論をヒトへ応用していく研究も精力的に進められている。日本に於いては、老化・寿命のメカニズムに関する基礎的研究が遅れ気味であったが、2017 年より AMED において「老化メカニズムの解明・制御プロジェクト」がスタートした。生命システムとしての老化を体系的に捉え、その予防・遅延・克服に資する、先端的・包括的な研究の進展が期待されている。

**[研究開発の動向]**

【老化、寿命制御の基本メカニズムの研究】

● 老化制御の中枢、統合的な老化を担う機構の解析

老化は個体の統合的な現象であり、その統合的制御を担う機構の解明が世界的に重要な課題

となってきている。特に、各臓器・組織間のコミュニケーション、すなわち臓器連関による複雑なフィードバック制御系の解析が、老化・寿命制御の理解に欠かせないテーマとなりつつある。この点では、2013 年に Dongsheng Cai、Shin-ichiro Imai のグループが、哺乳類における老化・寿命の制御中枢が、脳、さらに言うならば視床下部に存在すると報告し、老化・寿命制御研究に新たな突破口を開いた[1,2]。その後、Cai のグループは、視床下部に存在する神経幹細胞と、そこから分泌されるエクソソームに含まれるマイクロ RNA が、老化・寿命の制御に重要であるとする続報を報告している[3]。一方、Imai のグループは、脂肪組織から分泌される extracellular NAMPT（nicotinamide phosphoribosyltransferase; eNAMPT）が、視床下部の NAD 合成および機能を支える上で重要な働きをしていることを明らかにし、視床下部と脂肪組織の新たな臓器連関を報告している[4]。以上のように、老化・寿命の制御に関わる視床下部と末梢臓器（例えば脂肪組織）との間のフィードバック制御、あるいはホルモンや分泌性因子の機能解析などの研究が飛躍的に進展しており、それらを制御するための方法論も検討されつつある現状である。

● 老化の共通素因としてのミトコンドリア機能障害および全身性の NAD の減少

様々なモデル生物での研究から、ミトコンドリアの機能障害が老化全般の共通素因として浮かび上がってきており、細胞老化、慢性炎症、幹細胞活性の低下などとの関連がこれまでに報告されている。幹細胞においては、非対称分裂の際に若いミトコンドリアをより多く含んだ方の娘細胞が幹様になることで、幹細胞から老化ミトコンドリアを排除する、という独自の老化回避機構の存在が培養細胞の実験から示唆されている[5]。また、ミトコンドリアにおける酸化的リン酸化に必要なタンパク質群の間で、核内 DNA とミトコンドリア DNA がコードするタンパク質の間の量的なバランスが変化すると（mitonuclear protein imbalance と呼ばれる）、mitochondrial unfolded protein response（mtUPR）と呼ばれる反応が惹起され、これが老化・寿命の制御に重要であることが、スイスの Johan Auwerx のグループから報告されている[6]。一方、Imai のグループは、全身の様々な臓器・組織で NAD が減少することを見出していた[7] が、近年、この NAD の減少が、慢性炎症によって生じると考えられる NAD 合成系の減退、およびゲノム障害による PARPs（poly-ADP-ribose polymerases）の活性化と CD38 の発現上昇による NAD 消費の増大の二つの要因によって起こり、老化に伴う様々な機能減退に寄与していることが明らかになってきた[8-10]。少なくとも線虫においては、NAD を上昇させることで、mitonuclear protein imbalance が誘導され、mtUPR が活性化することにより、寿命の延長が起こることが示されている[11]。

● 老化関連病態における細胞老化の重要性

細胞は一定の分裂増殖後、不可逆的に分裂を停止し、非常に多彩な機能変化を示す。この現象は「細胞老化」と呼ばれ、1960 年代から研究が続けられてきた。細胞老化の一つの原因としてテロメア長の短縮があることが明らかにされたものの、その後、細胞老化はテロメア長の短縮以外にも非常に多くの生理病理学的要因によって誘導されることが明らかにされ、発生過程での重要性も指摘されるとともに、老化細胞は老化の過程で色々な臓器で生じ体内に蓄積すること、さらに老化細胞は炎症性サイトカイン、ケモカイン、増殖因子などを積極的に分泌していることが明らかになった。この老化細胞の性質は Senescence-Associated Secretory Phenotype（SASP）と呼ばれている。老化の過程で様々な臓器に発生する老化細胞は、SASP 因子を介して周囲の細胞を傷害し、いくつもの老化関連疾患の病理に重要な役割を果たしてい

ることが、数々の報告によって示されてきている[12,13]。また老化細胞の代謝的な特徴も明らかになってきており、上記のNAD合成との関係も注目されている[14]。さらに最近、老化細胞を体内から除去することによって、様々な老化関連疾患の病態を改善し、寿命を延長させることができることが数々報告されている[15,16]。

● Microbiomeと老化の関係に関する新たな展開

最近、腸内細菌叢（microbiome）が老化・寿命制御に与える重要な影響が着目されている。2017年にMeng Wangのグループは、線虫において、腸内細菌が産生するpolysaccharideの一種であるcolanic acid（CA）が、ホストである線虫のmtUPR（上記2を参照）を活性化することによって寿命を延長することを見出した[17]。このCAの効果は、ショウジョウバエにおいても保存されていた。また、大谷直子、原英二のグループは、肥満が腸内細菌叢を変化させ、deoxycholic acid（DCA）の産生を上昇させることにより、肝臓のstellate cells（hepatic stellate cells; HSCs）の細胞老化を誘導し、肝癌の発生を上昇させることを示した[18]。また、Dario Valenzanoのグループは、新しい老化研究モデルであるAfrican Turquoise killifishを用いて、若年個体の腸内細菌叢が、生理学的機能を保ち、寿命を保つために重要であることを示した[19]。腸内細菌叢の老化・寿命制御における重要性については、まだ不明な点も多いが、これから様々なモデル生物を駆使して研究が行われていくものと思われる。

【老化を遅らせ、寿命をのばす創薬研究】

● Senolyticsの開発

上記の3に記載した最近の細胞老化研究の成果を受け、生体内から老化細胞を選択的に除去する薬剤（senolyticsと呼ばれる）の開発が行われるようになってきている。Jim Kirklandのグループが2015年に、Dasatinibとquercetinに老化細胞を選択的に細胞死へと誘導して除去する作用があることを報告し、これらの薬物をsenolyticsと名付けた[20]。その後も新たなsenolyticsが同定されるとともに、senolyticsによって老化細胞を除去することにより老化に伴う骨の喪失を防いだり[21]、老齢マウスの機能不全を改善し寿命を延ばすことができることが示されている[22]。

● NAD合成中間体の研究と応用

前述したように、全身性にNADの低下が起こってくることが、老化に伴う組織・臓器の機能低下をもたらすこと、また数多くの老化関連疾患の共通病態となっていることがコンセンサスとなり、全身性にNADレベルをあげることによって、老化および老化関連疾患を予防・治療しようという方法論が着目されるようになった。NAD合成を促進させる方法[8,9]と、異常なNAD消費を抑制する方法が検討されているが、NAD合成中間体を用いてNAD合成を促進させる方法については、少なくとも齧歯類のモデルにおいて、顕著な抗老化作用、また多くの老化関連疾患の改善・治療作用が得られることが報告され注目されている[10]。NAD合成で着目されている中間体は、nicotinamide mononucleotide（NMN）と、nicotinamide riboside（NR）であり、NRに関しては、すでに数報の臨床研究結果が発表されており、ヒトにおける安全性が確認されている（有効性に関してはまだ結論がでていない）。NMNに関しては、臨床研究が現在、少なくとも3ケ所で実施されている。我が国では、慶應義塾大学医学部、広島大学医学部（すでに終了）、また海外では、ワシントン大学（セントルイス）医学部である。NRは米国のChromaDexという会社が生産、販売しているが、NMNの生産は我が国がリードしており、オリエンタル酵母工業、新興和製薬の2社が生産している。

● Rapamycin、rapalog に関する研究

マウスなどの動物実験において様々な老化抑制作用を示し、寿命を延長させることが証明された rapamycin について、またその誘導体である rapalog について、開発・研究が促進されている。特に rapamycin については、シアトルのワシントン大学が主導する Dog Aging Project において、ペットとして飼われているイヌに rapamycin を長期投与し、老化と寿命への効果を検討するという大きなプロジェクトが進行中である。その結果の一部は既に発表されており、心機能の改善が認められている[23]。一方、rapalog の開発に関してはノバルティス社が先行しており、2014 年にはノバルティス社の Joan Mannick のグループが mTOR 阻害剤である RAD001 が免疫系の老化を改善することを示した[24]。2018 年には、BEZ235 と RAD001 の低用量の組み合わせが、選択的に mTOR complex 1（mTORC1）を阻害し、老齢の被験者においてウィルス感染の罹患率を低減させることを報告した[25]。2018 年より、ノバルティス社の rapalog の開発は、スピンオフカンパニーである resTORbio にライセンスされ、開発が続行している。

【その他の概況】

2017 年版俯瞰報告書において記載した、進化的に保存されている老化・寿命制御に関わる重要なシグナル伝達系、制御因子の探索は、現在一段落した感がある。インスリン / インスリン様成長因子シグナル伝達系、mTOR シグナル伝達系、そして NAD 依存性脱アセチル化 / アシル化酵素ファミリーであるサーチュインの重要性が確立され、現在はそれぞれのさらに詳細な研究が進んでいる。また食餌制限（カロリー制限）に関する研究も、依然として盛んに行われているものの、新しいパラダイムがそこから得られる兆候は今の所見受けられない。これらのシグナル伝達系、制御因子、食餌制限の効果に関係付ける形で、老化・寿命制御におけるオートファジーの重要性、さらにはタンパク質の安定性（proteostasis）に関わるシグナル伝達機構の研究は、盛んに行われている。こうした潮流の中で、epigenetics の制御と老化・寿命制御の結びつきが新たに着目されつつある。例えば、UCLA の Steve Horvath が示した DNA methylation clock は、現象論的には老化のバイオマーカーとして非常に有用であることが証明されてきており、それに基づいた“epigenetic clock theory of aging”が提唱されている[26]。また、iPS 細胞作製に使用された山中因子を生体内で発現させることにより、細胞の epigenetic remodeling によって老化形質の改善が認められたとする論文が 2016 年に発表され、大きな話題を呼んだ[27]。Methylation clock にしても、epigenetic reprogramming にしても、それが老化・寿命の制御ネットワークの中でどのような重要性を担っているのかを理解するには、さらなる研究が必要である。

我が国においては、2017 年より始まった AMED の「老化メカニズムの解明・制御プロジェクト」の意義は大きい。我が国におけるこれまでの老化研究は、老化現象、老化疾患に関する研究であり、特に酸化ストレス学説に偏る傾向にあった。しかし、この新しい AMED のプロジェクトにより、世界の潮流に伍する形で研究が開始され、今後の発展が大きく期待される。一方で、世界の抗老化医学の興隆を見ると、日本の状況はまだまだ改善の余地があると考えられ、特に厳密な科学的基盤に立脚した抗老化方法論の早期の応用と社会実装が強く望まれる。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

ここ最近の動向として特筆すべきなのは、老化を創薬標的として捉え、抗老化医学の成果を創薬に結びつける動きが加速してきたことである。ほんの数年前までは、老化を創薬標的として捉えることは意味をなさないという風潮が支配的であったが、近年、老化を治療することで加齢に伴ういくつもの慢性病の大きな原因を絶つことができる可能性が注目されており[28]、風向きが急速に変わってきた。これまでのような老化“予防”ではなく、老化“治療”研究が各国で推進されている点は重要である。米国では健康寿命延伸を目指した臨床研究について、専門家会議での議論が始まり、FDA でも関連予算を増加させる方向で話が進んでいる[29]。また、NIH も老化介入プログラムにおいて様々な薬剤のマウス寿命への効果を系統的に調べ始め、すでに 26 種類の薬剤候補を挙げている[30]。実際に人間での投与が進んでいる薬剤としては、免疫機能を標的とするラパマイシン[31]、糖代謝を標的とするアカルボース、メトフォルミン[32] などがあり、今後の動向が注目される。老化細胞除去を狙った senolytics 分野では、非特異的キナーゼ阻害剤 Dasanitib である程度の成果が出ており[20,22]、期待されている。Senolytics の開発・応用を目的としたバイオテックベンチャーは既に数社設立されており、UNITY Biotechnology、Oisin Biotechnologies、Antoxerene、Cleara Biotech などがそれにあたる。このような風潮を反映して、老化・寿命研究の国際シンポジウムなどにおいて、投資ファームの人々の参加が多数見受けられるようになった。この傾向は、特に欧米のシンポジウムで顕著である。バイオテクノロジーの領域に投資家が再び戻ってくる傾向が強まっているが、その際の重要な投資先として、老化・寿命研究の応用が見込まれている。先行的な動きとして、Google 社は 2013 年に老化研究に特化した Calico 社を設立し 13 億ドルもの資金を拠出している。またこうした世界的な動向とともに、個人の篤志家の中にも、老化・寿命研究を支援しようという動きが散見されるようになってきており、こうした支援の元に大規模な老化・寿命研究を行おうという試みも世界各地で始まりつつある。残念ながら、我が国ではこうした動きは未だ見られないが、おそらく今後同様の潮流が日本にも興隆してくることが予想される。

その他、近年以下のような動きがあった。

- 2017 年 5 月に横浜において、Keystone Symposium on Aging and Aging-Related Disease が、また 7 月にはスイスにおいて Gordon Research Conference on Biology of Aging が開催された。
- 2018 年 9 月にスペインにおいて、Cell Symposia“Aging and Metabolism”が開催された。また 10 月には、Cold Spring Harbor Laboratory において、“Molecular Mechanisms of Aging”が開催された。これらの国際学会で、老化そのものを創薬のターゲットとして研究開発を行っていくことの重要性が強調された。これは以前には見られなかった特徴であった。
- 我が国においても、老化・寿命研究関係のシンポジウムが多数開催されるようになった。例えば、2016 年に理化学研究所が主催した「老化シンポジウム～健康長寿をめざした老化研究の最前線～」、2017 年に長寿医療研究センターが主催した「老化研究の最前線～炎症、免疫そして認知機能の集積回路」、2018 年に理化学研究所多細胞システム形成研究センター（旧称）において開催された国際シンポジウム“Dynamic Homeostasis: from Development to Aging”などは、それらのシンポジウムの一部である。また民間におい

ても、老化・寿命研究の最前線を紹介する講演会が開催されるなど、啓蒙活動がさかんになってきている（例：新興和製薬主催「健康を考えるー老化・寿命研究の最前線からみたproductive agingの実現―」、2018年12月）。

- 2015年よりNature Springerと、日本抗加齢医学会の協力により、Nature Partner Journalシリーズの新しいジャーナルとして、Nature Partner Journal Aging and Mechanisms of Disease（npjAMD）が創刊された、現在成長を遂げつつある。
- 韓国でサムスンが大規模な老化研究所を設立。国立老化研究所の設立を予定している。
- 蘇州にCold Spring Harbor Conference Asiaが設立され、基礎研究のシンポジウム「Molecular Basis of Aging and Disease」が2013年9月に開催された。基礎老化シンポジウムが隔年開催の予定である。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

- 2017年よりAMEDの「老化メカニズムの解明・制御プロジェクト」が開始された。
- 帝人株式会社を代表機関とする、AMEDのCiCLEプロジェクト「フレイルの予防薬・治療薬の研究開発」の採択が決定し（2018年10月）、2019年よりプロジェクトが開始される。老化の重要な形質の一つであるフレイルを対象とした、大型の産官学共同研究プロジェクトである。
- 米国において、Targeting Aging with Metformin（TAME）trialと呼ばれる臨床研究が行われている[32)]。これは、糖尿病治療薬として60年以上使われてきているメトフォルミンを用いて、がん、心血管疾患、ならびにアルツハイマー病のような神経変性疾患などの老化関連疾患の発症を遅らせることができるかどうか、また、健康寿命を延伸させることができるかどうか、を調べるための研究である。この研究は、米国FDAに「老化制御」を新薬承認の指標のひとつとして考慮することを促し、老化を標的とした創薬研究を拡大する狙いもある。社会的にも大きな期待を集めている。
- 日本老年医学会が学会内にワーキンググループを結成し、2018年から「老年医学推進5カ年計画」を始動した。
  1. 老年医学・高齢者医療の普及・啓発
  2. フレイル予防・対策による健康長寿の達成
  3. 認知症への効果的な早期介入と社会的施策の推進
  4. 高齢者の定義に関する研究の推進と国民的議論の喚起
  5. 基礎老化研究の育成・支援。

の５つのテーマからなる計画で、老年医学センターの設置や、学部横断的な老年学研究所の設置を目指す。また、フレイル・サルコペニアの大規模コホートとレジストリの構築を計画している。

### （5）科学技術的課題

● 基礎老化研究の重点化

我が国においては、従来、酵母、線虫、ショウジョウバエなどの下等モデル生物を用いた老化研究は人間の老化を反映するものではないとして軽視されてきた。しかし、米国における老化研究の成功はこれらのモデル生物を用いた研究に端を発しており、その成果に立って、現在、

マウス、サル、ヒトなどを用いた研究に重点がシフトしつつある。我が国においては、これらの研究を総合的に進め、早急に研究基盤を確立し、世界の老化・寿命研究に太刀打ちできる体制を確立すべきである。日本は世界に冠たる長寿大国であるにもかかわらず、老化・寿命の基本メカニズムの解明にほとんど貢献していない。我が国が迎える超高齢化・少子化社会の問題を考えれば、老化・寿命研究を推進し、健康長寿社会を世界に先駆けて実現することは喫緊の課題であり、最先端の老化・寿命研究に立脚した抗老化方法論を開発しなければならない。また、高齢者を対象とする精神科学的・社会科学的アプローチも欠かせない。よって、特に、(a) 老化・寿命の基礎的研究の推進、(b) 加齢疾患の発症を抑え、あるいは遅延する先制医療研究、(c) 基礎研究の成果を新しい治療法開発に結び付ける橋渡し研究、併せて（d）老化生命科学研究と連携した高齢者の行動・社会心理科学的研究の推進を重点課題として設定すべきである。

● 抗加齢医学の成果を社会実装する臨床研究の加速

我が国はイタリアとともに、社会の超高齢化が最も深刻な国である。また同時に少子化も進んでいることから、社会の健全な構造を保つための労働力が不足する事態に直面しつつある。老人医療費の高騰も財政を逼迫させる要因となりつつある今、抗加齢医学の成果を一刻も早く社会実装し、“productive aging”を実現していく努力が、我が国においては焦眉の急となってきている。しかしながら、その一方で、特定臨床研究法の施行にも現れているように、基礎研究の成果をヒトにおいて検証していく手続きは、より厳格化・煩雑化する傾向にある。抗加齢医学の成果を早急に社会実装していくための臨床研究環境の整備、法の整備が強く望まれる。

### (6) その他の課題

● 次世代の老化・寿命研究者、リーダーの育成

我が国においては、老化・寿命研究の最先端において世界的なリーダーシップを取れる次世代研究者の育成が、何をおいても重要であり、直ちに取りかからねばならない。現在の日本では、「アンチエイジング」というキャッチフレーズのもとに一般の人々を惑わす言説あるいは出版が横行している。こうした状況を改善するには、世界的なリーダーシップを発揮でき、かつ科学者としての正しい倫理観をもった老化・寿命の研究者が、緻密な科学研究に基づいた正しい情報を社会に発信していくことが重要である。

● 老化研究の特徴を考慮したファンディングシステム、多施設共同研究体制の確立

世界は競って老化研究所を設立、重点化を加速している（下記、国際比較参照）。老化・寿命研究、老化疾患の研究は長期的解析、個体レベルの解析を必要とする。また、施設毎の実験環境の影響を受け易い。よって、これらを考慮した研究支援体制、すなわち、線虫、ショウジョウバエなどの短寿命モデルを用いた研究からマウス、サル、ヒトによる研究までを一貫して長期的、統合的に支援・推進する体制を確立しなければならない。その理由は次の通りである。

（ⅰ）サル、ヒトなどの老化研究には国家戦略による長期的、継続的サポートは不可欠
（ⅱ）NIA のサル、ヒトのカロリー制限研究のように複数の機関による同時解析が必須
（ⅲ）抗老化創薬には、シーズ開発を推進する多様な老化研究プロジェクトが必要であり、マウスなどの個体老化／加齢関連症状の長期的解析を可能とする研究支援が不可欠

上記１）、２）の目的を達成するには、内外の有為の人材を集めて一流の基礎老化・寿命研究を行うための研究拠点（研究所）を設けることが有効である。思い切った関連分野の研究者の登用と海外で活躍しているリーダー研究者の招聘によって、研究と若手研究者の育成を推

進することが重要であろう。また、世界の老化・寿命研究拠点との密接な提携、人材交流を活発化し、最先端の情報を常に共有する体制を築く必要がある。さらに、設立した研究拠点を中心に国際学会などを定期的に開催し、学生、大学院生、若手研究者が、世界最先端の老化・寿命研究にふれる機会を増やすことも必要がある。一方、超高齢化社会を目前にした我が国にとっては、設立した研究拠点に産官学の共同研究を推進する部門を設けて、科学的基盤に立脚した抗老化研究・開発を推進することも重要である。上記の AMED の老化研究プロジェクトと CiCLE プロジェクトは、以上のような問題点にある程度の解決策を与えるものとして計画、実施されているが、今後そうした試みをどのようにして継続していくのか、ということが大きな課題となると考えられる。わが国が、真の「長寿大国」として、世界の老化問題に解決策を提示できるモデル国家としての地位を築くことができるよう、老化・寿命研究の総合的な努力を継続していく計画を策定することが何よりも重要と考えられる。

### (7) 国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | → | ・老化研究を標榜する機関としては国立長寿医療研究センター、東京都健康長寿医療センター研究所、東北大学加齢医学研究所がある。疾患研究が中心であり、規模は十分でない。<br>・2017 年より AMED の「老化メカニズムの解明・制御プロジェクト」が開始され、今後の成果が期待される。<br>・老化の基礎研究において世界的成果を上げている研究者がいる一方で、次世代のリーダーとなるべき人材の育成が求められている。<br>・2012 年に東京で初めて老化・寿命研究に特化した Keystone Symposium が開催され、2017 年に 2 回目が横浜で開催された。<br>・2018 年に日本老年医学会が「老年医学推進 5 カ年計画」を発表、始動した。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・認知症関連の研究開発は高い社会ニーズ、政策対応の必要性から、複数の企業が国研、大学などと連携して研究を進めているが、その研究支援の不確実性を含め、米国、欧州と比較して十分な研究体制とは言えない。<br>・日本老年医学会は 2014 年に要介護となる原因の 1 位である虚弱状態をフレイルと表しその重要性の認知を進めているが、原因解明やその治療法開発研究は、途についたばかりで米国、欧州と比較して十分な研究体制にあるとは言い難い。<br>・「アンチエイジング」というキャッチフレーズのもとに、一個人の体験を敷衍しただけのような、科学的基盤に全く立脚していない方法論など、一般の人々を惑わす言質、出版が横行している。<br>・抗加齢医療に対する企業の動きは欧米と比較して圧倒的に少ない。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・NIA によって研究所内プログラム、所外プログラムに分けて研究費を配分するファンディング制度が確立している。研究予算は 900 億円程度。人件費も含まれており、単純比較はできないが、日本や欧州各国に比較して格段に大きい。基礎研究の重視、黎明期の研究を支える体制は注目に値する。<br>・Ellison Medical Foundation は多年にわたり、米国の主だった老化・寿命研究者を援助してきた。Glenn Foundation For Medical Research は老化・寿命研究へ資金援助、代表的な大学・研究機関に Paul F. GlennLaboratories を設置し集中的な支援を行っている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・NIA が 2004 年より研究者から提案された各種薬剤、化合物のマウスの寿命の延伸効果を解析する Interventions Testing Program を主導している。<br>・サル、ヒトにおけるカロリー制限研究が長期にわたり行なわれている。<br>・基礎研究から臨床応用研究への橋渡し研究が政策的に支援されている。関連する法律や規制の対応も、社会の理解、周知レベルの迅速化をもたらし、着実な成果を上げている。国として老化を医療の対象として捉え、そのための研究開発を FDA や NIH をはじめとする各方面から支援している。企業からの投資も増加している。<br>・抗老化創薬を目指したベンチャー企業が相次いで設立している。中でも Google が設立した Calico、Craig Venter らによって設立された HLI は注目すべきである。設立されて間がなく、研究・開発の方向性は明らかでない。しかし、Calico は老化・寿命のサイエンスにおける”Bell Laboratories”を実現することを目指しているとのことであり、今後注目度の高い会社になると思われる。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | → | ・英仏独には先進的な老化研究者が多い。ロンドン大学 Health Aging 研究所は David Gems を筆頭に極めて高水準の老化寿命研究を続けている。オランダのライデン大学の老化研究組織が高齢者の脳イメージングなど、多角的に老化脳研究を牽引。アムステルダムの自由大学では 1 万人を超す長期縦断研究を展開。イタリアのボローニャ大学の Prof. AntonelloLorenzini はサマースクール形式で欧州各国からの若手研究者への系統的な老化研究指導を始めている。<br>・有力専門誌 ; Aging Cell は英国解剖学会誌。古典的、伝統的な学会が老化研究を推進している。<br>・Max Planck Institute for Biology of Ageing が 2007 年設立され、国際的に評価が高い 3 名の研究者がディレクターとして就任し、基礎研究を牽引している。<br>・英国、ドイツ、イタリアにおけるミトコンドリア（エネルギー代謝）、認知症や免疫老化、細胞老化とがん抑制分野の研究は他の欧米諸国に比べても顕著であり、成果も高い。とりわけ基礎老化研究の根幹を支える細胞から個体レベルの研究水準が極めて高い。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・製薬企業､栄養関係の臨床応用開発は上昇傾向にある｡ネスレ食品、アボット関連の開発研究は規模も研究支援も巨大である。<br>・腸管免疫系（感染予防）、創傷治癒、サルコペニア予防などに対する栄養介入研究に特に秀でた活動があり、成果につながると期待される。<br>・国研、大学において基礎老化研究を中心に成果をあげた研究者の企業側の受け入れ態勢が充実している。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 中国 | 基礎研究 | △ | ↗ | ・全体のレベルは高くないが、Zhongjun Zhou の早老症研究、Jing-DongJackie Han のシステムバイオロジーなどの高いレベルの研究者がいる。<br>・蘇州に建設された Cold Spring Harbor Conference of Asia では、基礎研究のシンポジウム「Molecular Basis of Aging and Disease」が 2013 年 9 月に開催され、隔年開催の予定となっている。<br>・国を挙げて、欧米の優れた研究者を主要大学の「教授」として招聘し、インパクトを上げる戦略を進めており、アジアにおける基礎研究のイニシアチブを得ようとする意気込みはここ数年目立つ。基礎老化研究においても日本、韓国、さらには台湾も含めたコンソーシアムの中で自国の研究水準を高めようとしている。東京都健康長寿医療センターや長崎大学を中心に積極的な交流を図っている。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ・成果面から判断するのは困難。しかし、大学、研究所関連での積極的な海外人材登用の積極性からも上昇傾向であると考えるべき。<br>・中国企業から日本の研究者に対して、漢方薬成分の分析と臨床応用などの提案（研究費）があるが、実体が不明である。<br>・産業化に向けた企業の動きは、外資系企業の積極的誘致を含めた計画が進み始めたが、まだ成果に結びついていない。 |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | ↗ | ・1990 年代に老化学会が組織され、酸化ストレス、細胞老化などの研究が行なわれてきた。研究水準は活動・成果とも顕著とは言えない。しかし、学部や大学院を米国で過ごす若手が多く、成功した研究者が帰国し、独立しており、全体の底上げ感が強い。<br>・国立老化研究所を設立する計画が進んでおり、老化の基礎研究が進むと予測される。<br>・老年学会では社会科学系、基礎生物学系を組織し、国家重点研究領域に設定。<br>・2013 年、国際老年学会が開催され 4,000 名の参加者があった。開会式の来賓には大統領が参列、サムスン社が大きな支援をし、国を挙げて老化研究を推進している。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・研究開発面では美容面（皮膚、酸化ストレスなど）に偏った傾向がみられる。<br>・認知症を含め神経変性疾患についての研究も国際学会などで散見されるが、臨床応用への道は現在のところ、活発な活動としては見えてこない。<br>・サムスン老化研究所は IT-aging を掲げており、生物学的な老化研究に留まらず、サムスンの本業である IT 関連技術の活用を目指している。<br>・老化の基礎研究をシーズとした産業が国家レベルで進んでいる印象は乏しい。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考・引用文献

1) Zhang G., et al., "Hypothalamic programming of systemic ageing involving IKK- β , NF- κ B and GnRH". Nature. 497: 211-216. (2013)

2) Satoh A., et al., "Sirt1 extends life span and delays aging in mice through the regulation of Nk2 homeobox 1 in the DMH and LH". Cell Metab. 18: 416-30 (2013)

3) Zhang Y., et al., "Hypothalamic stem cells control ageing speed partly through exosomal miRNAs". Nature. 548: 52-57 (2017) .

4）Yoon M. J., et al., "SIRT1-Mediated eNAMPT Secretion from Adipose Tissue Regulates Hypothalamic NAD+ and Function in Mice". Cell Metab. 21: 706-717（2015）.
5）Katajisto P, et al., "Asymmetric apportioning of aged mitochondria between daughter cells is required for stemness" Science, 348: 340-343（2015）
6）Houtkooper R. G., et al., "Mitonuclear protein imbalance as a conserved longevity mechanism". Nature. 497: 451-457（2013）.
7）Yoshino J., et al., "Nicotinamide mononucleotide, a key NAD（+）intermediate, treats the pathophysiology of diet- and age-induced diabetes in mice". Cell Metab. 14:528-536（2011）.
8）Verdin E., "NAD $^+$ in aging, metabolism, and neurodegeneration". Science. 350: 1208-1213（2015）.
9）Rajman L., Chwalek K., Sinclair D. A., "Therapeutic Potential of NAD-Boosting Molecules: The In Vivo Evidence". Cell Metab. 27: 529-547（2018）.
10）Yoshino J., Baur J. A., Imai S., "NAD+ Intermediates: The Biology and Therapeutic Potential of NMN and NR". Cell Metab. 27: 513-528（2018）.
11）Mouchiroud L., et al., "The NAD（+）/Sirtuin Pathway Modulates Longevity through Activation of Mitochondrial UPR and FOXO Signaling". Cell. 154: 430-441（2013）.
12）Campisi J. and Robert L., "Cell senescence: role in aging and age-related diseases". Interdiscip. Top. Gerontol. 39: 45-61（2014）.
13）He S., and Sharpless N. E., "Senescence in Health and Disease". Cell. 169: 1000-1011（2017）..
14）Wiley C. D. and Campisi J., "From Ancient Pathways to Aging Cells-Connecting Metabolism and Cellular Senescence". Cell Metab. 32: 1013-1021（2016）.
15）Childs B. G., et al., "Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy". Nat. Med. 21: 1424-1435（2015）.
16）Kirkland J. L. and Tchkonia T., "Kirkland and Tchkonia, EBioMedicine 21: 21-28, 2017". EBioMedicine. 21: 21-28（2017）.
17）Han B., et al., "Microbial Genetic Composition Tunes Host Longevity". Cell. 169: 1249-1262（2017）.
18）Yoshimoto S., et al., "Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome". Nature. 499: 97-101（2013）.
19）Smith P., et al., "Regulation of life span by the gut microbiota in the short-lived African turquoise killifish". Elife 6. pii: e27014（2017）.
20）Zhu Y., et al., "The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs". Aging Cell. 14: 644-658（2015）.
21）Farr J. N., et al., "Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice". Nat. Med. 23: 1072-1079（2017）.
22）Xu M., et al., "Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age". Nat. Med. 24: 1246-1256（2018）.
23）Urfer S. R., et al., "A randomized controlled trial to establish effects of short-term rapamycin treatment in 24 middle-aged companion dogs". GeroScience. 39: 117-127（2017）.
24）Mannick J. B., et al., "mTOR inhibition improves immune function in the elderly". Sci. Transl. Med. 6: 268ra179（2014）.
25）Mannick J. B., et al., "TORC1 inhibition enhances immune function and reduces infections in the elderly". Sci. Transl. Med. 10: pii:eaaq1564（2018）.
26）Horvath S. and Raj K., "DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of

ageing". Nat. Rev. Genet. 19: 371-384（2018）.

27）Ocampo A., et al., "In Vivo Amelioration of Age-Associated Hallmarks by Partial Reprogramming". Cell. 167: 1719-1733（2016）.

28）Tchkonia T, and Kirkland JL. "Aging, Cell Senescence, and Chronic Disease : Emerging Therapeutic Strategies." JAMA 320（13）：1319-1320（2018）.

29）Olshansky SJ.” From Lifespan to Healthspan." JAMA. 320（13）:1323-1324.（2018）

30）Barzilai N, Cuervo AM, and Austad S. "Aging as a Biological Target for Prevention and Therapy." JAMA 320（13）：1321-1322（2018）.

31）Lamming DW, Ye L, Sabatini DM, and Baur JA. " Rapalogs and mTOR inhibitors as anti-aging therapeutics." J. Clin. Invest. 123:980–989（2013）

32）Barzilai N, et al.,“Metformin as a Tool to Target Aging.” Cell Metab. 23, 6, 1060-5（2016）.

## ２．２．４　微生物叢（マイクロバイオーム）

### (1) 研究開発領域の定義

常在細菌を中心に各組織に常在する微生物叢（マイクロバイオータ）とそれが持つ遺伝子を解析し、そのバランスの破綻がいかなる疾患・健康被害をもたらすかを理解することで、健康維持や疾患治療に応用する研究領域。常在微生物叢に含まれる有用微生物の可能性を探索するとともに、従来のプロバイオティクスや機能性食品の利用可能性の拡大も目指す。常在微生物叢の差異に着目することで、より精緻な疾患のサブグループ化、さらには医薬品や食品の有効性を見極める個別化医療・個別化栄養の実現も期待できる。

常在微生物叢は全身の体表面に存在するが、特に研究が進んでいるのが腸内の細菌叢である。これら腸内細菌叢は腸内フローラとも呼ばれ、通常ヒトでは約 1,000 種類の細菌種が含まれる。用語の定義として、マイクロバイオータや腸内フローラが、微生物の種類・名称を意識した言葉であるのに対し、マイクロバイオーム（microbiome）は、菌叢が全体として保有する「遺伝子」あるいは「機能」を意識して用いられる用語である。



### (2) キーワード

マイクロバイオーム、微生物叢、常在菌、腸内フローラ、感染症、免疫、食事、肥満、プロバイオティクス、メタゲノム、メタボローム、個別化医療、個別化栄養

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

腸内フローラはビタミンや必須アミノ酸の生成、難分解性多糖を始めとする食餌成分の代謝を介した有用代謝物質の産生、有害代謝物質の解毒、病原体に対する生物学的防御バリア、腸管の分化誘導など、宿主の生理や健康維持に対して非常に大きな役割を果たしていることが次々と明らかになっている。宿主は、腸内フローラの働きに大きく依存する形で進化してきたと考えられ、ノーベル賞受賞者である Joshua Lederberg は、宿主と腸内フローラは１つの超有機体（superorganism）であると提唱している [1)]。これらの研究を加速させる事で、生命の理解を大きく深化し、同時に健常状態の維持（栄養を通じた腸内フローラ改善や腸内フローラに応じた適切な栄養供給など）、革新的な医療技術の創出（有用菌群或いは抽出分子の製剤化、腸内フローラ機能に対応した薬物代謝・動態制御）など、社会にもたらすインパクトも極めて大きい研究領域であると言える。

また、わが国の社会動向の観点からも研究の重要性は高い。潰瘍性大腸炎や・クローン病などの炎症性腸疾患、多発性硬化症、肥満、糖尿病、高脂血症、喘息、アトピー性皮膚炎、はすべて右肩上がりで患者数が増加している疾患である。特に、潰瘍性大腸炎、クローン病、多発性硬化症は、厚生労働省の難病指定となっており、医療費助成の対象となっているが、今後このまま患者数が増加すれば、助成基準の厳密化や難病指定からの除外を考慮せざるを得ない状況も考えられ、社会問題となっている。これまでにこれら疾患の原因解明のために宿主のゲノムワイド関連解析（Genome Wide Association Study ; GWAS）が盛んに行われ、疾患に関連する多数の SNPs が明らかになっている。しかしこのような罹患者数の漸増が、遺伝的要因が増加したためとは考えにくく、外的要因、とくに腸内フローラの変化の関与が強く疑われ

ている。実際、海外の大規模メタゲノム解析によって、上記のいずれの疾患にも、構成菌種の「多様性の減少・単純化」「特定の細菌の定着・増加」「菌叢構成の不安定」などを特徴とするdysbiosisが見られることが報告されている。腸内フローラは、食生活の影響を大きく受けることが知られていることから、近年の生活習慣・食生活の変化によって日本人の腸内フローラが大きく変化し、疾患感受性に影響を与えている可能性が示唆されている。すなわち、わが国の疾患動態の変遷のカギを握るのが腸内フローラであるとも言え、その解析と解決策の提示は高い社会ニーズを有すると言える。

［研究開発の動向］

腸内フローラの研究は、1950年代、培養法を基盤とした研究から本格的に始まった。腸内細菌の培養、特に嫌気性培養技術の発展には、わが国の細菌学者の大きな貢献があった。しかし、腸内細菌の多くは培養が困難な「難培養性菌」である。また、菌の単離培養に基づく生化学的性状による分類だけでは、腸内フローラ全体を俯瞰するには至らず、その解析には限界があった。これに対して1980年代に、PCR法などの分子生物学的手法を用いた、培養に依存しない研究手法が導入された。すべての細菌は16Sリボソーム RNA遺伝子（16S rRNA遺伝子）というタンパク質合成に関わる必須遺伝子を持つ。16S rRNA遺伝子には、ほとんどの細菌がもつ共通配列領域が有り、この領域にプライマーを設計し、菌種によって多様な領域を挟む形でPCRを行い、増幅されたPCR産物を大腸菌にクローニングし、１つ１つのPCR産物の遺伝子配列をシークエンスすることで、どのような細菌がその環境に存在していたかがわかる。これをクローンライブラリー法と呼ぶ。第3の方法として1998年頃から提唱されたのが、「メタゲノム解析」である。メタゲノムとはサンプル中の全細菌集団からそのDNAプールを抽出・純化し、細菌叢に含まれるすべての細菌のゲノム塩基配列を直接読むものである。特に、上述した16S rRNA遺伝子のPCR増幅産物を網羅的に解析する手法を「16S rRNA遺伝子解析（16S解析）」と言い、今日最もよく用いられている細菌叢解析法である。しかし、当時のシークエンサーではあまりにも時間と費用を要したため、腸内フローラの細菌種の構成、個人差、年齢差、具体的な遺伝子数とその機能、などの基本的な疑問に答えることも困難であった。その後、次世代シークエンサーが相次いで開発され、シーケンシングコストの低下、long read解析が可能、解析スピードの圧倒的な向上などにより、メタゲノム解析研究は急速な広がりをみせた。

腸内フローラの構成や機能理解のため、2008年から米国で開始されたヒトマイクロバイオームプロジェクト（HMP）と、欧州中心のMetaHITプロジェクトは、特筆すべき成果をあげた。これらのプロジェクトでは、ヒト腸内フローラから細菌DNAを抽出し、腸内フローラに含まれるすべての細菌のゲノム塩基配列を次世代シークエンサーで直接解読する、いわゆる「ショットガンメタゲノム解析」が行われた。その結果、腸内フローラが保有する遺伝子数は、全体で数十万～数百万個とヒトの約２万個を遥かに超えることが明らかとなり、予想を大きく上回る多彩な機能をもつと想定された。

腸内フローラは一つの「臓器」として働いており、その不全は、様々な慢性疾患の原因・増悪因子となりうることがわかってきた。実際、メタゲノム解析から、腸内フローラの異常（菌の構成異常）が、慢性炎症性腸疾患（IBD）、慢性関節リウマチ、喘息、２型糖尿病、肥満、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、移植片対宿主病、肝硬変、自閉症など様々な全身性疾患において観察されている。また、ワシントン大学のJeffrey Gordonらが、肥満のヒトの便

を無菌マウスに投与し、肥満が腸内フローラによって伝搬することを報告している[2]など、dysbiosisと呼ばれる腸内フローラの異常が疾患と単に相関するだけではなく、原因となることも明らかにされてきた。それに対し、健常者の糞便投与（便移植）が、dysbiosisを起こしたフローラを改善し、難治性偽膜性腸炎が極めて効果的に改善・治癒したという無作為抽出試験が発表された[3]。この便移植の有効性は、「dysbiosisがある種の疾患の原因となる」ことを示すと同時に、「腸内フローラは操作可能である」と明確に示したproof of principleと言える。こうした事例から、ヒト腸内フローラに関する研究は大きな注目を集める生物学的研究分野へと急成長している。

食事は腸内フローラに大きく影響を与えていることが明らかになっている。例えば、高脂肪食や低繊維食、単一の食事は容易に腸内フローラを変化させ、多様性を減少させることが明らかになっている。また、アフリカ原住民とヨーロッパの子どもでは、食事の違い（繊維摂取量の違い）によって腸内フローラに大きな違いが見られ[4]、それによってアレルギーなどに対する感受性が異なることが示唆されている。別の研究では、高齢者のマイクロバイオームが解析され、特に施設に入所している高齢者においてdysbiosisが見られることが報告されている。dysbiosisは腸管バリア機能を低下させ、施設入所高齢者では感染症リスクが高まっていると考えられる。また、バングラデッシュやアフリカにおける飢餓・低栄養も、腸内フローラを大きく変化させ、この場合も腸管バリア機能を低下させ、感染症リスクが非常に高くなることが報告されている[5]。正しい食事・食糧支援が、単に栄養問題を解決するだけではなく、腸内フローラの正常化に繋がり、様々な意味で良い影響を与えることが再認識され、社会的・公衆衛生的にも非常に重要である。今後、どのような食品・食生活が腸内フローラの機能を向上させ、健康・長寿・疾患治癒に役立つのか、詳細な検討がなされていくものと考えられる。

現在の最も一般的なプロバイオティクスの定義は、「適正な量を摂取することにより宿主に有用な作用を発揮する生きた微生物」である[6][7]。「有用な作用」として、整腸作用（便秘や下痢の軽減など）、感染症、アレルギー、自己免疫疾患、あるいは様々な生活習慣病の予防や症状の軽減が期待されている。プロバイオティクスは主にこれを含有する食品やサプリメントとして広く世界の一般生活者に普及してきた。近年では腸内フローラと健康に関する世界的な関心の急激な高まりの中で、プロバイオティクス市場はさらに拡大を続けている[8]。多岐にわたるプロバイオティクスの作用やその作用メカニズムの多くは製品に用いられる菌株特異的に示されており、科学的証拠のレベルも異なる[9]。それゆえに、プロバイオティクスの有用性に関する統一的な見解を得ることを困難にしている。将来的に同様の作用メカニズムを有する複数のプロバイオティクス菌株のカテゴリー化も予想されるが、これを達成するための課題は多い[10]。

腸内フローラは、腸管局所だけでなく、全身臓器に影響を与えている。例えば、遠隔臓器におけるアレルギーや自己免疫疾患に対する感受性を変えることが知られている。喘息、アトピー性皮膚炎、関節リウマチ、多発性硬化症、2型糖尿病などにおけるdysbiosisも報告されている[11]。また乳幼児期の抗生物質の使用や食事が、成人してからの腸内フローラにも影響することで、免疫疾患に対する感受性を決定することが示唆されている[12]。免疫系以外にも、脂質代謝や耐糖能制御、精神・脳機能など、宿主の生理活動や健康維持において広く影響を与えていることが明らかになってきている。例えば自閉症と腸内フローラのバランス異常との関係が報告されている[13]。

このような腸内フローラの全身への影響は、多くの場合腸内フローラが生み出す代謝物質が重要な働きをする。腸内フローラによって生み出される生理活性を持つ代謝物質を明らかにする目的で、次世代シーケンサーによるメタゲノム解析と、質量分析によるメタボローム解析を組み合わせた、いわゆる統合オミクスアプローチによる腸内フローラ由来代謝物質の網羅的解析が用いられている。例えば、腸内フローラ dysbiosis は、腸以外の発がんにも影響を与えることが知られているが、原英二（大阪大学）は、高脂肪食とそれに伴う肥満が腸内フローラを変化させ、二次胆汁酸の一つであるデオキシコール酸の産生能の高い細菌種の増殖を促し、産生されたデオキシコール酸が肝臓における発がんを促進することを報告している[14]。また小川順（京大）や木村郁夫（東京農工大）は食用油に含まれるリノール酸の代謝物である 13-hydroxy-9（Z）,15（Z）-octadecadienoic acid が腸内細菌依存的に産生され、上皮細胞に発現する GPR40 を介して腸管バリアを増強し、炎症性腸疾患を改善することを示している。重要な点として、基質となるリノール酸は必須脂肪酸であることからその量は食事に依存しており、いくら代謝活性を持つ腸内細菌が存在しても本代謝物質の生産量は食事の内容により異なることになる。逆にいくらリノール酸を摂取しても代謝できる腸内細菌が存在しないとこの代謝物質は産生されない。現在、メタボローム解析に用いる分析機器の高性能化と優れたパイプラインによって、腸内フローラから産生される代謝物質カタログが増えつつあるが、今後はここに腸内フローラ由来の情報だけではなく、代謝物質の基質となる食品の情報や酵素活性の情報も付与することで、「食品－腸内フローラ間代謝による代謝物質の産生」を連動させた情報を収集していくことが重要になると思われる。

疾患と関連する腸内フローラ研究から、構成菌種の変化と同時に、特に相関して変動する菌種と遺伝子が明らかになっている。炎症性腸疾患では、健常者と比べて著しく多様性が減少する特徴があり、*Faecalibacterium prausnitzii* など炎症抑制に関わる菌種[15]や *Coprococcus comes* など酪酸産生遺伝子を持つ菌種の減少が見られる。つまり、単一菌が原因となるのではなく、全体の菌叢構造異常が関与すると考えられている[16]。2 型糖尿病では、菌種の多様性の減少はそれほど顕著ではないが、菌叢全体の遺伝子において機能的な dysbiosis が起きることが知られている[17]。肝硬変では、*Streptococcus* や *Veillonella* など通常口腔に定着する細菌種が腸管内で増加しており、膜輸送系の遺伝子やアンモニア産生に関わる遺伝子の増加が見られる[18]。慢性関節リウマチでは、*Prevotella copri* の増加が観察される[19]。この様に疾患と連動して増減する細菌種や遺伝子は疾患バイオマーカーとなるため、その同定とその応用に関する研究が、アカデミアはもちろんのこと企業単位でも精力的に進められている。また、疾患と関連する腸内フローラ研究は、当該コホートのサイズが大きいほど正確になるため、今後、ますます大規模化していくものと考えられる。

宿主に対して特定の機能を有するヒト常在菌種を探索し、疾患治療へと結びつけようとする研究も見られる。たとえばこれまでに、腸管粘膜に局在する制御性 T 細胞の分化誘導を促進するクロストリジア目菌群[20]や、腸管出血性大腸菌 O157 に由来する志賀毒素の上皮障害作用を抑制するビフィズス菌[21]など、宿主にとって有益と考えられる菌種が同定されている。一方で、大腸がん粘膜に特徴的に存在する *Fusobacterium nucleatum*[22]や *Bacteroides fragilis*[23]など、悪影響を及ぼす細菌種も同定されている。先の国内動向の項でも述べた様に、機能細菌の同定には、ノトバイオート技術と嫌気性菌培養技術を組み合わせた解析システムが極めて有効である。すなわち、メタゲノム解析などデータ駆動型のトップダウン的戦略に対して、個々の細菌

種を単離培養し、マウスへの投与によってその実験データを１つ１つ獲得するボトムアップ型の研究である。同定された機能的細菌種・その遺伝子・代謝物質は、疾患と細菌叢との関係や発症メカニズムの解明、さらには疾患の予防や治療法の開発につながると期待される。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

また最近の研究から、薬の効果も腸内フローラの影響を受けることが判明してきた。例えば、免疫チェックポイント阻害薬は新たな抗がん療法の１つとして期待されているが、薬価の高さに加え、有効性が個人により異なることが課題となっている。それに関し、最近の報告によると腸内フローラの構成によりその薬効が異なることが報告されている。また古くから漢方薬は腸内フローラによる代謝を受けることが薬効を示すことが知られているが、腸内フローラの違いにより薬効が異なることが予想される。また腸内フローラや発酵食品に使用されている微生物の一部は代表的な薬の代謝酵素であるシトクローム P450 を持つことが知られている。シトクローム P450 は多くのサブタイプと遺伝子多型が存在し、その違いにより薬効が異なることが知られているが、微生物もこれら酵素を有することを考えると各種薬品の示す薬効に腸内細菌が関与することは十分にあり得ると考えられる。また近年の研究から、これら腸内フローラや食品に含まれる微生物は、食品の代謝にも関わることが示されており、その実効代謝物質も同定されている。これらを勘案すると、摂取した食品がどのように代謝され、どのような効果を発揮するのかも、腸内フローラの影響を受けると考えられる。このような腸内フローラを介した薬効、食事の効果の個体差を考慮することは、個別化医療や個別化栄養の観点からも重要であると言える。

マイクロバイオームが主に細菌のゲノム解析を指すのに対して、バイローム（virome）は常在ウイルスに関するメタゲノム解析を指す。常在する細菌には、とくにバクテリオファージが多数感染しており、それらが有する遺伝子は細菌の 10 倍とも言われている。ファージの存在は、細菌叢の構造を変え、多様性を増加させると考えられる。米国ワシントン大学のグループが、双子の子どもとその母親の腸内細菌に寄生しているウイルスのメタゲノム解析を行い、バイロームは遺伝的なつながりに関わらず一人ひとりでユニークなパターンをとっており、環境によってもほとんど変化せず安定である事を報告している[24]。米サンディエゴ州立大学のグループは、12 人の被験者から提供された便サンプルに含まれる DNA を解析し、Bacteroides 属菌に寄生しているウイルスを発見し、「crAssphage（クラスファージ）」と名付けている[25]。また宿主細胞に潜伏感染するノロウイルスやロタウイルス、アデノウイルスやヘルペスウイルスなどが宿主の常在菌に対する応答性を変化させることも報告されており、今後、常在ウイルスと宿主の生理機能や疾患との関連についてさらに研究が進むものと考えられる。

“Developmental Origins of Health and Disease（DOHaD）”（胎芽期・胎生期から出生後の発達期における種々の環境因子が、成長後の健康や種々の疾病発症リスクに影響を及ぼすという概念）が提唱されている[26]。この「環境因子」としての腸内フローラの重要性が増している。例えば、胎盤や羊水における細菌叢の存在が報告されている[27]。また、腸内常在性のビフィズス菌が母子間で垂直伝播することも報告されている[28]。乳児における腸内フローラの形成は生後直後から始まり、いわゆる成人型に安定する 3 歳ころまで、急激な変化を遂げる[29][30]。生後直後の腸内フローラをよりよく制御することが、児のその後の健康な成長に重要であるこ

とは想像に難くない。特に、乳児期間の主たる栄養である母乳に含有される母乳オリゴ糖の種類の利用能によって腸内に生着するビフィズス菌の種類が遷移することもわかってきた[31]。プロバイオティクスの介入研究として、2001 年に Kalliomäki らが、アトピー性皮膚炎の家族歴を有する妊婦による周産期のプロバイオティクスの摂取により児のアトピーの発症率が有意に減じた、と報告[32]して以来、同様の多くの臨床研究が実施されている[33]。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

①海外

健常者あるいは疾患に関連する細菌叢をメタゲノム解析し比較するには、効率良く多数の被験者からサンプルを収集し、データ解析を行う必要がある。それには多施設共同の大規模共同研究が必要である。そこで、2004 年頃から世界で議論が開始され、米国においてヒトマイクロバイオームプロジェクト（HMP）が、そして欧州においては MetaHIT が、2008 年にそれぞれ開始された。

米国 HMP は、米国 NIH（National Institute of Health）主導で総額約 2 億ドル、8 カ年計画として 2008 年に立ち上がった。第一期 HMP（2008 年～ 2012 年）では、健常者成人の、気道、皮膚、口腔、消化器系および膣からサンプルを採取し、マイクロバイオームのゲノムリファレンスデータセットを収集し、最大級の「健康な遺伝子カタログ」作成を目標とした 16S 解析およびメタゲノム解析が進められた。HMP では単にシーケンス解析を行うだけではなく、パイプラインとよばれる計算機ツールの開発も進められた。このために、データ解析・調整センター（Data Analysis and Coordination Center : DACC）が設立され、解析ソフト／サンプリングプロトコル／リファレンスゲノムを HMP メンバーで共有し、配列解読／データ取り込み／統計解析を中央拠点化する体制が整えられた。また DACC はマイクロバイオームのデータをグループ共通の情報源とするため、倫理的・法的関連事項を整備し、得られた統合データセットを、即座に公共のデータベースに公開する方針をとっている。これまでに、健常者成人 300 名の 15（男性）あるいは 18（女性）の部位から採取されたサンプルのマイクロバイオーム解析が行われ、非常に大きなゲノムリソースが構築され、約 500 万個の遺伝子が「カタログ化」された[34]。この解析で明らかとなった 1 つの主要な結果は、構成細菌種は個人差が大きいが、フローラ全体としてもつ遺伝子の潜在的な代謝能力に個人差はあまりないということである。さらに第二期 HMP（2013 年～ 2016 年）では、クローン病、潰傷性大腸炎、小児炎症性腸症候群、新生児壊死性腸炎、食道腺がん、肥満、などの各疾患に関連づけられたマイクロバイオームの特性を評価するため、フローラと宿主の両方に関する生理学的特徴の「統合的データセット」作製を目指した研究が進められた。HMP の最終年度である 2016 年、米国ホワイトハウスは、National Microbiome Initiative（NMI）[35]と題して、約 120 億円を 2016 年と 2017 年の国費から支出し、さらに大学・企業に対して合計約 400 億円をマイクロバイオームに関する研究に支出するよう要請した。すなわち合計 500 億円以上がマイクロバイオーム研究に投入されることになり、まさに国家を挙げての体制がとられている。

欧州では MetaHIT（Metagenomics of Human Intestinal Tract）が 2008 年に発足し、4 年半で公的資金（European Commission）1,140 万ユーロを含む計 2,120 万ユーロ（28 億円）を投資し、比較的小規模な研究体制でありながら、多くの成果をあげている。このプロジェクトでは中国と欧州の協力体制のもと、8 カ国の 14 研究・産業機関からの 50 名以上の研

究者からなるコンソーシアムが形成され、特に腸内フローラに関するマイクロバイオーム解析が推進された。この結果、124名の欧州人からの糞便DNAサンプルをシークエンスし、アセンブルし、330万の遺伝子カタログを得ている[36]。また、定量的メタゲノム解析法を開発し、例えば、ヒト集団が腸内フローラ組成に基づいて3つのグループ（エンテロタイプと名付けた）に分類できることを報告している[37]。エンテロタイプは、*Bacteroides*タイプ、*Prevotella*タイプ、*Ruminococcus*タイプに分けられ、この3タイプは地域に依存せず存在することが示されている。またMetaHITでは、炎症性腸疾患、2型糖尿病、肥満、肝硬変などの疾患患者の便サンプルをメタゲノム解析し、遺伝子カタログを作成している。いずれの疾患においてもdysbiosisが観察され、全体として保有する遺伝子数が減少し、機能的に劣った菌の構成となっていることが示された。疾患それぞれにdysbiosisの特徴が有り、関連する細菌種と遺伝子が存在することが明らかとなり、それら遺伝子の将来的なバイオマーカーとしての活用が期待されている。現在、MetaHITはフランス政府によってサポートされるMetaGenoPoliSプログラムへ引き継がれ、健康と疾患に関連するマイクロバイオーム解析が継続して行われている。

国際協力の取り組みとしては、2008年にThe International Human Microbiome Consortium（IHMC）が設立された。これは、腸内細菌研究を各国で散発的に行うのではなく、一定の基準、条件の下でデータ取得を行い、共通データベースを構築することで、国際協力による研究の効率化を高めることを目的としている。わが国からは、服部正平（早大）が中心となって設立したHuman MetaGenome Consortium Japan（HMGJ）[38]が参加しており、さらに、服部、大野博司（理研）、Todd Taylor（理研）がIHMCのsteering committee memberとなっている。

これら世界的な大型プロジェクトの成果もあり、世界経済フォーラムが2014年の「新興技術トップ10」の1つに、「ヒトマイクロバオーム治療薬」を挙げている[39]。マイクロバイオーム研究は、健康・医療戦略の観点からも非常に注目されていると言える。腸内フローラ改善としては、乳酸菌やビフィズス菌と言ったいわゆるプロバイオティクスが古くから用いられてきた。しかしプロバイオティクスとして用いられている細菌種は、「単独」投与ではdysbiosisの特徴である多様性の減少・単純化を補うには至らず、臨床上の有効性が十分に確認されたものは少ない。こうした状況下で有望視されたのは、健康なヒトの便をそのまま投与する「便移植」である。難治性偽膜性腸炎のように、無作為抽出試験によって便移植の有効性が明らかになった疾患もあり[40]、便移植関連の学術論文数および登録臨床試験数はここ最近、急増している。2012年には、米国マサチューセッツ工科大学（MIT）の研究者らが非営利組織OpenBiomeを設立し、簡便に、安く、安全に、便移植を行えるよう糞便バンク構築を目指しており、現場での体制は整いつつある。dysbiosisの特徴が多様性の減少であるため、多様な菌が大量に含まれる便そのものを用いることは、ある意味理にかなっていると言える。しかし便移植は、病原体が含まれる危険性も有り、長期的には別の疾患（特に感染症）の発症を高めるかもしれないというリスクがある。このため米国食品医薬局（Food and Drug Administration：FDA）は、「便」は「New drug」と捉えるべきであり、便移植の実施には、新薬治験許可申請（Investigational New Drug Application：IND）が必要であると勧告している。FDAは、より好ましい方法として、便の中で中心的な役割を担っている有効な菌種、もしくはそれに由来する生理活性物質を同定し、便移植に代わるような治療法の開発を推奨している。

こうした状況を受けて、米国Seres社は、健常人糞便をエタノール処理したSER-109を開

発した。SER-109 は、第一相臨床試験において、*Clostridium difficile* 菌感染による腸炎に対して極めて高い治療効果を示し、FDA の「Break through therapy」として期待された。しかし SER-109 は、第二相試験において効果が見られず、その開発は現在中断されている。その原因は、SER-109 が結局は便移植と大きく変わらず、その中身を十分コントロール出来ない（ドナーとなる便の状況に大きく依存しており、それを確実にコントロールする方法がない）ことによると考えられる。

米国 Synlogic 社は、独自の技術を用いて、細菌が周囲のアンモニアやフェニルアラニン濃度を検出して遺伝子の発現が誘導される様に仕掛けをした細菌の作製に成功している。それらを高アンモニア血症や高フェニルアラニン血症治療に、臨床応用しようとしているが、それらはやはり遺伝子組換細菌と言うことから、ヒトへの応用にはハードルが高いと考えられる。

②国内

日本人の腸内フローラは、例えばビフィズス菌を多く保有する人の割合が多い、また海藻の多糖類を分解する酵素を保有する細菌種が存在するなど、独特の特徴があることが知られている。その為、マイクロバイオーム研究を医療や健康科学に応用する際、欧米のデータをそのまま利用できない事が予想され、海外プロジェクトとは一線を画した、わが国独自のマイクロバイオーム研究が必要である。しかしマイクロバイオーム領域において、特にメタゲノム解析において、わが国は欧米に大きく遅れを取っている。わが国でも 2005 年当時、黒川顕（東工大、現遺伝研）、服部、林哲也（宮崎大、現九大）らが中心となって Human Metagenome Consortium Japan（HMGJ）が立ち上がり、日本人 13 人の腸内マイクロバイオーム解析が行われ、その結果が 2007 年に報告されている [41]。その後、個々の研究者が個別にサンプル収集と解析を行っている状況が続いた。そのような中、2016 年 3 月に JST-CRDS から戦略プロポーザル「微生物叢（マイクロバイオーム）研究の統合的推進～生命、健康・医療の新展開」[42] が刊行され、わが国がトップダウンで推進すべき、マイクロバイオーム分野の研究開発戦略のあるべき姿が提言された。その後、2016 年 4 月に AMED の新規 CREST ／ PRIME ／ LEAP 領域「微生物叢と宿主の相互作用・共生の理解と、それに基づく疾患発症のメカニズム解明」（平成 28 ～ 34 年）が開始され、他にも大型のファンディングが官民ではじまっている。さらに、このような動きと協調する形で、2017 年 4 月に製薬企業を中心とした企業コンソーシアムが一般社団法人日本マイクロバイオームコンソーシアムとして設立され、解析の標準化および成果の応用展開における役割が期待されている。

わが国の「菌の単離培養技術」は世界的な定評がある。腸内フローラ研究の主体が「菌の単離培養に基づく生化学的性状による分類」であった時代より、光岡知足博士らによる先駆的培養法の確立など、わが国における腸内フローラ研究は世界をリードしていた。それら培養技術は、大学・研究所あるいは企業において、分散した比較的小さな研究コミュニティーとして受け継がれており、世界的にみると充実した単離菌株ストックライブラリが存在しているが、それでもまだ腸内フローラ全体のカバー率から考えると低い。また、1968 年に日本無菌生物ノトバイオロジー学会が発足しているように、わが国には無菌マウス、ノトバイオートマウス作成維持における長年の技術蓄積がある。理化学研究所・統合生命医科学研究センターには現在約 50 台のビニルアイソレーターが設置され、無菌マウスを用いた活発な研究が展開されている。海外でも大学や企業で無菌マウス飼育施設が配備されているが、微生物の混入事故がしば

しば起こるなど、無菌マウスの維持が容易でない。これに対し、わが国の施設では、そのような事故はほとんど見受けられず、高い技術水準にある。

微生物叢と宿主（ヒト）との「相関関係」解析からさらに踏み込んで、詳細な「因果関係」の理解を進め、微生物叢の制御・治療技術を開発する取り組みがみられる。これまでの研究から、微生物叢は多種多様であるが、例えば宿主（ヒト）相互作用において鍵となる微生物や生理活性物質はある程度絞られることがわかっている。このことから、ある表現型を指標として、関連性が強く示唆される微生物集団をノトバイオート技術によって絞り込み、その菌の培養へ挑戦する、というアプローチが非常に有効である。そして、わが国はこのアプローチにおいて、独自の手順を確立した世界トップレベルの技術を有するといえる。例えば、本田賢也（慶大）は、ノトバイオート技術を用いたスクリーニングにより、インターロイキン -17 を高産生する Th17 細胞を特異的に誘導するマウス腸内細菌としてセグメント細菌を同定した[43]。セグメント細菌は、世界でもわが国のヤクルト中央研究所とフランスのパスツール研究所だけが単離していた菌であった。また、同様の技術を用い、免疫系恒常性維持に重要な役割を果たしている制御性 T 細胞（Treg 細胞）を特異的に誘導する、クロストリジア属細菌種をマウスおよびヒトで同定することに成功している[44) 45)]。この Treg 細胞誘導性ヒト便由来クロストリジア属 17 菌株カクテル（VE202）に関する特許は、2015 年に Vedanta Bioscience 社を介して Janssen Biotech, Inc. へ総額 2 億 4100 万ドルで導出された。2018 年 11 月 27 日、Janssen Biotech によって、潰瘍性大腸炎に対して VE202 のフェーズ 1 試験の開始が発表された。当該臨床試験が成功した場合、特定の生理機能を指標として単離した菌株による初めての臨床応用例となり、上述の SER-109 よりも優れた Transformative medicine として世界的にも注目されている。一方、福田真嗣（慶大）や大野博司（理研）らは、同研究を発展させ、Treg 細胞誘導性クロストリジアが定着したマウスの腸内容物をメタボローム解析し、酪酸が大腸 Treg 細胞の分化を誘導する分子であることを報告している[46)]。また福田は、山田拓司（東工大）や石川大（順大）らと共に、2015 年に国内初のマイクロバイオーム創薬を目指したバイオベンチャーとして（株）メタジェンを設立した。2016 年に発足した AMED － CREST ／ PRIME ／ LEAP「微生物叢と宿主の相互作用・共生の理解と、それに基づく疾患発症のメカニズム解明」領域では、このようなわが国独自のマイクロバイオーム研究が多く推進され、世界をリードする研究成果の創出が強く期待される。

### (5) 科学技術的課題

個別の疾患研究（特定の疾患と常在菌の関係の解析）の際、健常人のデータベースとの比較参照が必須となることから、日本人の正常状態の常在微生物叢データが必要である。現在、日本人の正常状態の常在微生物叢の組成・機能情報を集積した標準データベースの作成が進められているが、各疾患の発症年齢の違いおよび菌叢が年齢に沿って変化すると言う常在菌叢の性質から乳幼児から超高齢者にいたる各年代別の、一定数の健常人試料を収集し、解析する必要がある。特に各地域で食生活や生活習慣が異なることから、日本人独自のマイクロバイオーム解析においても、特定の地域に限定せず、地域特性を加味したレファレンスデータベースの構築が必要である。その際の試料収集では施設ごとの差異を最小とし、高品質のデータベースを健康診断情報や食事などの生活習慣情報と共に蓄積することが重要である。

また、微生物の個別のレファレンスゲノムデータも重要となり、難培養性微生物の培養法の

確立、微生物バンクの整備も並行して行う必要がある。日本人由来の個別細菌株のゲノム情報はレファレンスゲノムデータ以外に、外国人由来の同一菌種との比較から水平伝播による日本人に特徴的な機能遺伝子を見つける上にも有効である。例えば、海苔やワカメの多糖類分解酵素の遺伝子は欧米人よりも日本人に多く保有されており、食文化が腸内細菌叢の機能獲得と維持に大きく関係することが示唆されている。この際、メタゲノム解析のみならず、一細胞リアルタイムシークエンサーを用いた長鎖 DNA 解析法の開発とそれによる個別の高精度・高品質の微生物ゲノム解析や細菌叢のメチローム解析、およびそれらのデータベース化も重要である。このような大規模な試料収集と解析、データベース化を個別研究において行うことは非現実的であり、拠点を整備して行うことが適当と考えられる。

常在の腸内フローラ構成菌群の主体は偏性嫌気性菌であり、従来の培養方法でこのすべてを単離培養することは困難である[47]。培養に当たっては腸内における多様な菌群の相互依存性（共生関係）などの要素も考慮しなければならない。現在、環境微生物学領域などでは、土壌や海洋などに生息する微生物群のシングルセルゲノム解析のための微生物単離法（マイクロマニピュレーション、マイクロ流路、セルソーターなどを使用）が開発されている[48]。腸内微生物においてすでに確立されている嫌気培養法にこのようなアイデアを融合させることで、難培養微生物の単離培養の実現が加速する。

世界的な大規模マイクロバイオーム研究が進められているにも関わらず、病態悪化の原因となる菌種や、逆に病態改善へとつながる causative な菌種を同定できた例は殆どなく、菌株として治療へ応用出来ている例は見当たらない。それは、細菌の単離・培養研究が進んでいないことに大きな要因があると考えられる。すなわち、メタゲノム解析によってマイクロバイオーム全体を俯瞰する大規模研究を、データ駆動型のトップダウン戦略とすれば、個々の細菌種を単離し、培養やマウスへの投与によってその実験データを一つ一つ獲得して行くボトムアップ戦略が不足していると考えられる。例えば、感染症で原因微生物を特定する際には、病巣から微生物を分離し、分離した微生物を動物に感染させて同じ病気を起こせるかどうかを検討するのが定石である。

腸内細菌叢研究は、メタゲノムなどのデータ収集が先行し、構成する菌種の多くは未分離未培養のまま取り残されており、それぞれの特徴付けがなされておらず、「Cause and Effect 関係」が明確ではない状況にある。しかも、わずか 1 種類の病原菌で発症する感染症とは異なり、腸内細菌叢の生理機能は複数の細菌種からなるコミュニティーとして発症されることが多い。それにも関わらず、どの細菌種の組み合わせが機能的コミュニティーとしての最小単位を構成しているのかは、いまだほとんどわかっていない。さらに、糞便中の菌群は容易に検体を採取できるため比較的解析が進んでいるが、小腸などの生体内部や粘膜表層のようにサンプル採取自体が難しい部位の菌叢はほとんど手付かずである。病態悪化の原因となる菌種や、逆に病態改善へとつながる鍵となる働きをする菌種を同定し、機能的腸内細菌菌株コミュニティーを理解して行けば、新たな疾病対策・治療開発に結びつく可能性が高いといえる。

内在性微生物の宿主に対する有効性を評価可能なバイオマーカー（宿主因子および微生物因子）の確立が重要である。例えば、既に盛んに取り組まれている腸内環境の改善、腸管運動の亢進、腸管バリアの維持、腸管免疫の調整、などに加え新規な有効性訴求ポイントが期待される。微生物因子においては、菌体の代謝のみならず、菌体構造や成分、さらにはこれに関連する遺伝的な要素の詳細な解析も必要となる（ゲノムとメタボロームの統合解析はこの意味で極

めて有望な研究領域である）。加えて、高分子化学の技術を用いた有効な菌体構造の再構築や成分合成なども発展性が高い。宿主因子として、特に発展の目覚しい免疫学的な因子（例えば自然免疫：自然免疫リンパ球系（ILC1 ～ 3）も注目される）の特定が肝心である。腸管神経系に及ぼす作用の的確なマーカー（例えば、有機酸レセプターなど[49) 50)]）も重要である。

臨床領域でのホットトピックである糞便微生物移植（FMT）の今後の方向性も重要である。最初に、*C. difficile* を病原とする反復性下痢症（CDAD）に対する顕著な有効性が報告[51)]されて以来、FMT は極めて短期間に世界中に広まった。CDAD にとどまらず、現在では腸内フローラの dysbiosis が関与すると考えられている様々な慢性疾患に対する FMT の有効性が検証されている。現状は症例ごとにドナーが異なるのが通例であるが、将来的には、個別の便（正しくは、便懸濁液上清）⇒共通便⇒共通する有効な菌群を含む精製画分⇒単離された多種の有効微生物のカクテル、といった方向で移植法が進化すると考えられる。最終段階で単離された有効微生物の安全性が確立されれば、新規なプロバイオティクスとして受け入れられる可能性がある。もっと先には、健常な状態でさまざまな疾病予防のための予防的な腸内フローラ制御法（腸内フローラワクチン）まで進めることが可能かもしれない。

### （6）その他の課題

マイクロバイオーム研究では、新型シーケンサーを用いた大量のメタゲノムデータとそのバイオインフォマティクス解析、各種の無菌化・ノトバイオート動物など、ライフサイエンス研究では一般的と言い難い特殊な技術、実験動物が不可欠である。また、メタボローム解析などの大型機器を必要とする実験も多い。解析データを共有し、着実に知見を積み重ねていくために、サンプル採取、その後のシーケンス解析やサンプル保存法などのプロトコルの統一、標準化が特に重要なテーマとなる。HMP の DACC と同様に、倫理的・法的関連事項も整備する必要もある。

これらをわが国で効果的・効率的に推進するためには、一連の技術・解析法やプロトコル等を全国バラバラに独自に取り組むのでは無く、拠点化し長期的な視点に立った支援・ファンディングを実施することが重要である。そして、微生物学、免疫学、ゲノム科学、バイオインフォマティクス、メタボロミクス、公衆衛生の研究者、ならびに医師、法律家などが集結し、先導的なマイクロバイオーム研究組織を立ち上げることが必要である。一方で、当領域研究で必要な設備を拠点化・整備することで、個別研究が飛躍的に加速され、様々な疾患に対する微生物叢に着目した新機軸の診断・予防・治療法の開発の加速につながると期待される。また本領域の注目度が高まるにつれ、すでに各機関で個別に取得しているデータが存在する。これらのデータを活用するためには標準化した手法で再度データの取得を取り直すことだけではなく、異なるプロトコルで取得した複数のデータの互換性をもたせるいわゆるブリッジング手法の開発も必要急務である。

さらに、このような拠点の整備と新規解析法の開発は、疾患研究の加速に留まらない。家畜微生物叢の解析は畜産領域、魚類や海水の微生物叢の解析は水産や環境領域、土壌や植物の微生物叢の解析は農業領域へとつながり、大きな波及効果が見込まれる。また、海洋環境、極限環境（海底の熱水、極地など）などの解析は貴重な知財を生み出す蓋然性も高い。このような理由から、微生物ゲノムの包括的・網羅的解析拠点ならびにデータベース拠点の整備事業はライフサイエンスの基盤となる事業であり、わが国が主導して進めるべき施策である。

レギュラトリーサイエンスの観点から、わが国では、保健機能食品（特定保健用食品、栄養

機能食品（ビタミン、ミネラル）、機能性表示食品（平成 27 年 4 月より施行）といった枠組みにおいて、食品の保健機能を個々の製品について謳うことが可能である。プロバイオティクスについても同様であり、さまざまなプロバイオティクス菌株を用いた食品やサプリメントが上市されている。一方、諸外国における食品の健康機能表示に関する行政の規制は異なる。EU では、食品の健康機能を謳うことは許可制とされており、欧州食品安全機関（EFSA）により個別の許可申請が審査される。プロバイオティクスについてもすでに多くの申請がなされているが、これまでに EFSA の審査をクリアしたものは 1 件もない[52]。EFSA の審査ガイドラインにおいて強調されている主な点は、適切に実施された複数のヒト臨床研究の証拠が明確に示されること、および臨床的な効果を説明する作用メカニズム（cause-effect-relationship）が明解に示されること、である[53]。より最近の改訂版では、いわゆる”disease risk factor reduction”の考え方が取り入れられている。例えば、疾患と因果関係の明確な risk factor（例えば、抗生物質誘導下痢症と *C. difficile*、細菌性膣症と病原菌 *Gardnerella* など）については、これが低減されることのみ（すなわち臨床症状の改善を必ずしも示さなくとも良い）での証拠の提示が受け入れられる、と記述されている[54]。また、米国では、食品の構造・機能に関する作用を標榜するためのヒト臨床試験実施の際にも、IND の申請が必要となっている（FDA のガイダンス：2013 年 9 月）[55]。このため、本来食品やサプリメントを意図して開発されるプロバイオティクスにおける臨床研究の実施を極めて困難にしている。これについても、最近の public opinion の調査を受けた改訂版では、一部食品についての IND 申請の必要性に関する記述が“STAY”（凍結）とされたが、プロバイオティクスがこの範囲に含まれるか明確に記載されていないところである[56]。

このように、国際的な法規制の状況はさまざまであるが、プロバイオティクスの食品としての有効性およびその作用メカニズムを適切に訴求するためのさらなる科学的証拠の蓄積は世界的に共通する今後の重要な課題である。プラセボ対照の二重盲検試験のような医療技術レベルの高度なエビデンス構築、多数の臨床研究結果のシステマティックレビューやメタアナリシスによる有効性の検証を進め、evidence-based medicine ならぬ evidence-based application of probiotics の実現が期待される。また医薬品開発と同様、製品の均一性や安全性などの規格についても従来の化学物質を対象としたものとは異なるガイドラインがあることが望ましい。現在、プロバイオティクスに関する多くの学術機関が設立されており[57]、これらの科学団体がより緊密な連携の下にグローバルな影響力を発揮することも重要である。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・マイクロバイオームと免疫系や発がんに関する研究において、特筆すべき成果が出ている。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・便移植の治験が開始されたが、乳酸菌やビフィズス菌などのプロバイオティクス研究から脱却できていない。<br>・企業は乳酸菌やビフィズス菌などのプロバイオティクスに依然として大きく依存している。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・便移植の治験が開始され潰瘍性大腸炎に対する一定の効果は得られているものの、全体としては乳酸菌やビフィズス菌などのプロバイオティクス研究から脱却できていない。<br>・企業は乳酸菌やビフィズス菌などのプロバイオティクスに依然として大きく依存している。<br>・腸内フローラの機能理解に向けたベンチャー企業がいくつか設立されているものの、創薬に向けた動きは少ない。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・機能性細菌種探索やバイオマーカー探索に関するベンチャー企業が多く立ち上がっている。Seres Health 社（2011 年設立）は重要な微生物群を選抜する独自アルゴリズム、難治性 C . difficile 感染・代謝疾患・炎症性疾患に向けた研究開発。Vedanta Biosciences 社（2010 年設立）は Johnson & Johnson 社と連携、本田らが同定した微生物カクテルの開発。Second Genome 社（2009 年設立）は、Pfizer 社や Johnson & Johnson 社と提携し、腸内細菌叢と肥満や代謝疾患の関係を検討[58) 59)]。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・MetaHIT プロジェクトの成功のあと、その後継プロジェクトとして MetaGenoPolis 計画がフランス政府によって支援されている（2012-2019）。MetaHIT の中心研究者 D. Ehrlich（INRA）による研究チームが、健康と疾患に関連するマイクロバイオーム遺伝子カタログ作製を進めている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・Enterome や Metabogen など、MetaHIT プロジェクトに貢献した研究者によって、機能性細菌種探索やバイオマーカー探索に関するベンチャー企業が多く立ち上がり、10 億ユーロ以上の資金が集まっている。<br>・Janssen 社や DANONE 社など、大企業がマイクロバイオーム研究に投資し、その成果を臨床応用する取り組みが進んでいる。 |
| 中国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・中国 BGI（Beijing Genomics Institute）は、欧州 MetaHIT プロジェクトに参画し、124 名の炎症性腸疾患を含む欧州人のマイクロバイオーム結果を報告している[60)]。また、Zhejiang University のグループは、IHMC の主要メンバーとして活動しており、最近、肝硬変に関するマイクロバイオーム研究を Nature に報告している[61)]。 |
| | 応用研究・開発 | - | - | ・特記事項なし |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・National Research Foundation による支援（2010 ～ 2015、約 2 億円）のもと、Gwang Pyo Ko（Seoul National University）を中心に、韓国双子コホートを利用した、韓国人の上皮に存在する健康と疾患に関連するマイクロバイオーム解析が行われている。 |
| | 応用研究・開発 | - | - | ・特記事項なし |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## （8）参考文献

1）Lederberg J., “Infectious history.” Science. 288. 5464. 287-93（2000）
2）Ridaura VK, et al., “Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice.” Science. 341, 6150, 1241214（2013）
3）van Nood E, et al., “Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile.” N Engl J

Med. 368, 5, 407-41（2013）
4）De Filippo C, et al., “Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa.” Proc Natl Acad Sci USA. 107, 33, 14691-6（2010）
5）Subramanian S, et al., “Persistent gut microbiota immaturity in malnourished Bangladeshi children.” Nature. 510, 7505, 417-21（2014）
6）Reid G, et al., “New scientific paradigms for probiotics and prebiotics.” J Clin Gastroenterol 37, 2, 105-118（2003）
7）Hill C, et al., “Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic.” Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 11, 8, 506-514（2014）
8）市場調査レポート, The Probiotics Market: Ingredients, Supplements, Foods（Wellesley, MA: BCC Research, 2016）
9）Dragana Skokovic-Sunjic, “Clinical Guide to Probiotic Supplements” Alliance for Education on Probiotics, http://www.probioticchart.ca/（2018年11月アクセス）
10）Hill C, et al., “Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic.” Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 11, 8, 506-514（2014）
11）Pfefferle PI, Renz H., “The mucosal microbiome in shaping health and disease.” F1000Prime Rep. 6, 11（2014）
12）Russell SL, et al., “Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma.” EMBO Rep. 13, 5, 440-7（2012）
13）Hsiao EY, et al., “Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders.” Cell. 155, 7, 1451-63（2013）
14）Yoshimoto S, et al., “Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome.” Nature. 499, 7456, 97-101（2013）
15）Sokol H, et al., “Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients.” Proc Natl Acad Sci USA. 105, 43, 16731-6（2008）
16）Qin J, et al., “A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing.” Nature 464, 7285, 59-65（2010）
17）Qin J, et al., “A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes.” Nature. 490, 7418, 55-60（2012）
18）Qin N, et al., “Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis.” Nature. 513, 7516, 59-64（2014）
19）Scher JU, et al., “Expansion of intestinal Prevotella copri correlates with enhanced susceptibility to arthritis.” Elife 2, e01202（2013）
20）Atarashi K, et al., “Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota.” Nature 500, 7461, 232-6（2013）
21）Fukuda S, et al., “Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate.” Nature. 469,7331, 543-7（2011）
22）Rubinstein MR, et al., “Fusobacterium nucleatum promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/〔β〕-catenin signaling via its FadA adhesin.” Cell Host Microbe. 14, 2, 195–206（2013）

23）Wu S, et al., “A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses.” Nat Med. 15, 9, 1016-22（2009）
24）Reyes A, et al., “Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers.” Nature. 466, 7304, 334-8（2010）
25）Dutilh BE, et al., “A highly abundant bacteriophage discovered in the unknown sequences of human faecal metagenomes.” Nat Commun. 5, 4498（2014）
26）Hanson M, Gluckman P, “Developmental origins of noncommunicable disease: population and public health implications.” Am J Clin Nutr. 94, 6 Suppl, 1754S-1758S（2011）
27）Collado MC, et al., “Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid.” Sci Rep. 6, 23129（2016）
28）Makino H, et al., “Transmission of Intestinal Bifidobacterium longum subsp. longum Strains from Mother to Infant, Determined by Multilocus Sequencing Typing and Amplified Fragment Length Polymorphism.” Appl Environ Microbiol. 77, 19, 6788–6793（2011）
29）野本康二 , 辻浩和 , 松田一乗「腸内フローラ解析システム YIF-SCAN ®」『腸内細菌学雑誌』29, 9 -18（2015）
30）Yatsunenko T, et al., “Human gut microbiome viewed across age and geography.” Nature. 486, 7402, 222-7（2012）
31）Matsuki, T. et al., “A key genetic factor for fucosyllactose utilization affects infant gut microbiota development.” Nature Commun. 7, 11939（2016）
32）Kalliomäki M, et al., “Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial.” Lancet 357,9262, 1076–1079（2001）
33）Zhang GQ. et al., “Probiotics for Prevention of Atopy and Food Hypersensitivity in Early Childhood: A PRISMA-Compliant Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials.” Medicine（Baltimore）. 95, 8, e2562（2016）
34）The Human Microbiome Project Consortium, “A framework for human microbiome research” Nature. 486, 7402, 215-221（2012）
35）Briefing Room“FACT SHEET: Announcing the National Microbiome Initiative”The White House,（May 13, 2016）https://www.whitehouse.gov/the-press-office/2016/05/12/fact-sheet-announcing-national-microbiome-initiative（2018 年 11 月アクセス）
36）Qin J, et al., “A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing.” Nature, 464, 7285, 59-65（2010）
37）Arumugam M, et al., “Enterotypes of the human gut microbiome.” Nature 473, 7346, 174-80（2011）
38）Nelson KE ed. Encyclopedia of Metagenomics, pp.221-224（Berlin: Springer 2015）
39）Noubar Afeyan, “Top 10 emerging technologies for 2014” World Economic Forum, https://www.weforum.org/agenda/2014/09/top-ten-emerging-technologies-2014/（2018 年 11 月アクセス）
40）van Nood E, et al., “Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile.” N Engl J Med. 368, 5, 407-15（2013）
41）Kurokawa K, et al., “Comparative metagenomics revealed commonly enriched gene sets in human gut microbiomes.” DNA Res. 14, 4, 169–181（2007）
42）JST-CRDS 戦略プロポーザル『微生物叢（マイクロバイオーム）研究の統合的推進 ～生命、健康・医療の新展開～』CRDS-FY2015-SP-05（2016 年 3 月）https://www.jst.go.jp/crds/report/report01/CRDS-FY2015-SP-05.html（2017 年 2 月アクセス）
43）Ivanov II, et al., “Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria.” Cell. 139, 3,

485-98（2009）
44）Atarashi K, et al.,“Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species.” Science. 331, 6015, 337-41（2011）
45）Atarashi K, et al.,“Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota” Nature, 500, 7461, 232-236（2013）
46）Furusawa Y, et al.,“Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells.” Nature, 504, 7480, 446-50（2013）
47）Browne HP, et al.,“Culturing of ‘unculturable’ human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation.” Nature, 533, 7604, 543–6（2016）
48）雪昌広、大熊盛也「シングルゲノム解析技術の現状と展望」『難培養微生物研究の最新技術Ⅲ－微生物の生き様に迫り課題解決へ』大熊盛也、野田悟子監修 , pp30-40（東京：シーエムシー出版　2015）
49）Kimura I, et al.,“Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41（GPR41）” Proc Natl Acad Sci U S A. 108, 19, 8030–5（2011）
50）Kimura I, et al.,“The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43” Nat Commun. 4, 1829（2013）
51）van Nood E, et al.,“Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile.” N Engl J Med. 368, 5, 407-15（2013）
52）Claudiode Simone,“The Unregulated Probiotic Market”, Clinical Gastroenterology and Hepatology, Available online 14 March 2018
53）EFSA, Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies“Guidance on the scientific requirements for health claims related to gut and immune function” EFSA Journal 2011;9（4）:1984 [12 pp.]., http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1984（2018 年 11 月アクセス）
54）EFSA, Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies（NDA）“Guidance on the scientific requirements for health claims related to the immune system, the gastrointestinal tract and defence against pathogenic microorganisms.” EFSA Journal 14, 1 2016 http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/4369.pdf（2018 年 11 月アクセス）
55）U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration“Guidance for Clinical Investigators, Sponsors, and IRBs: Investigational New Drug Applications（INDs） – Determining Whether Human Research Studies Can Be Conducted Without an IND.”（2013）http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/UCM229175.pdf （2018 年 11 月アクセス）
56）Food and Drug Administration“Investigational New Drug Applications-Determining Whether Human Research Studies Can Be Conducted Without an Investigational New Drug Application; Guidance for Clinical Investigators, Sponsors, and Institutional Review Boards; Partial Stay and Republication of Guidance” 80 Fed. Reg. 66907（Oct. 30, 2015）
57）International Scientific Association for Probiotics（ISAPP）HP, http://isappscience.org/（2018 年 11 月アクセス）
58）Reardon S.“Microbiome therapy gains market traction” Nature. 509, 7500, 269-70（2014）
59）Olle B.“Medicines from microbiota.” Nature biotechnol, 31, 4, 309-15（2013）
60）Qin J, et al.,“A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing.” Nature. 464, 7285, 59-65（2010）
61）Qin N, et al.,“Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis.” Nature. 513, 7516, 59-64（2014）

## ２．２．５　感覚器科学

### (1) 研究開発領域の定義

感覚器は、ヒトなどの個体が、外界と相互作用して各種の生理機能を生じさせるインターフェースとなる器官である。生物にとって感覚機能は、環境の情報を知り、必要に応じて生存のための適切な対応をとるために必須の機能である。本領域においては、いわゆる五感（視覚・聴覚・嗅覚・触覚・味覚）ならびに痛覚や痒覚など特異的感覚の生理的および病理的基礎研究を行う。さらに、感覚器障害による生活の質（QOL：Quality of Life）の低下を克服する研究や感覚の異常と様々な疾患との関連機構、そして、その原理の理解に基づく人工的感覚空間設計やそれを用いた医療デバイス開発の研究なども該当する。

### (2) キーワード

感覚神経、感覚受容体、順応、感覚障害、化学感覚統合、神経変性疾患、生活習慣病
光干渉断層計（OCT）、埋め込み感覚デバイス、オルガノイド、１細胞解析、

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

生物にとって感覚機能は、環境の情報を知り、必要に応じて生存のための適切な対応をとるために必須の機能である。外界の状況や、自分の身体の内部の状態を感覚器によって感知し、それに対して適切な行動を取らなければ、個体としても種としても生存していくことはできない。また、同種の個体間のコミュニケーションのために、鳴き声や発光などによる感覚情報伝達を発達させてきた。したがって、生物はより強くより効率的に生きていくために、複数の優れた感覚器を進化させてきた。

外界の様々な刺激は、感覚器を通じて受容され、感覚器によって電気信号に変換されて、脳や全身に情報が伝えられる。感覚の情報によって、「睡眠」、「代謝」、「循環」、「ホルモンレベル」など様々な生理機能の制御が影響を受ける。また感覚なしには、人の「知覚」「認知」「感情」「学習」を含む様々な高次精神神経機能も成立しないと考えられる。したがって、感覚は生物個体の生存にも、種としての集団行動にも、高次生理機能にも必須の機能である。感覚は、刺激が感覚器に受容され、その情報が脳の特定の領域に伝えられて生じるが、どの感覚が生じるかは感覚器の種類によって決定される。言い換えれば、感覚器が感覚の種類や強さを決定するのである。感覚器を研究することによって、感覚の成り立ちの分子機構を知ることができるだけでなく、感覚による入力が脳機能や全身生理機能に与える影響とそのメカニズムを理解することができ、それによって、感覚を用いて感情や知覚をはじめとする脳機能および全身生理機能の制御を行うことができる。さらに、感覚器の疾患による障害や疾病の克服を実現するとともに、感覚器以外の様々な臓器や組織の疾患に対しても、感覚器を通じた診断や治療を行う技術の開発が期待される。また、今後の日本における高齢化社会の加速により、加齢に伴う感覚機能の低下が全身機能に与える影響とその介入的改善の研究がより重要になる。したがって、感覚器研究は、「QOL の向上」のみならず、「医」による「健康寿命の延伸」にも大きく貢献すると期待される。

近年、人工知能（AI）、仮想現実（VR）、拡張現実（AR）など人の脳および感覚機能を拡大・

高度化する次世代テクノロジーが登場してきており、社会に大きなインパクトを与えている。人々がこれらの新世代技術を利用してより幸福な生活を送るためにも、感覚器研究の重要性がいっそう増していくと考えられる。

［研究開発の動向］

視覚、聴覚、嗅覚、触覚、味覚、ならびに痛覚のそれぞれの研究開発の動向について述べる。

＜視覚＞

外界の光情報を眼の後部で検知する網膜は、後に間脳になる脳領域が胎生期に膨出して形成される中枢神経系の組織であり、視覚の入り口となる組織である。網膜は、大きく 5 種類のニューロン（視細胞、双極細胞、神経節細胞、水平細胞、アマクリン細胞）と 1 種類のグリア細胞から成る。網膜は、双極細胞や水平細胞の働きによって明暗コントラストの検出を行い、アマクリン細胞では物体の運動方向を検出するなど、「明暗コントラスト」「動き」「色識別」といった重要な視覚情報の抽出と処理を行う。脳に比べて網膜は構造が比較的単純であり、光からの情報の流れが一方向で、生体レベルでの実験や観察が容易であることなどから、網膜は中枢神経系研究の良いモデルとして知られてきた。

網膜において機能的に正常な神経回路が形成され、視覚情報が適切に処理されるには、各細胞種が一定のバランスを保ち正確な回路を構成することが重要であると考えられている。実際に、一部の網膜神経細胞が欠失すると視覚機能が障害を受けることが知られている [1]。網膜の５種類のニューロンには神経化学的性質や形態学的特徴などの違いからサブタイプが存在することが知られている。マウス網膜には計 80 種類以上もの細胞サブタイプが存在する。80 種類すべてのサブタイプは共通の網膜前駆細胞から適切に分化し、各細胞は網膜内の一定の位置に移動してシナプスを形成し網膜組織を構築する。これら多数のサブタイプを含む網膜細胞が正確に発生していく機構と、発生した細胞が回路を形成する分子機構について盛んに研究が行われてきた。これらの基礎研究の知見に基づいて、緑内障、網膜変性症、加齢黄斑変性など様々な網膜疾患の治療を目指した創薬研究が行われるとともに、iPS 細胞やヒト ES 細胞を用いた再生医療や細胞移植治療などの臨床応用研究が行われている。

光情報の感受と電気信号への変換は網膜最外層に存在する視細胞が行う。特徴抽出は双極細胞以降の下流ニューロンの網膜内神経回路で行われる。視細胞には、明暗を感知する杆体視細胞と色覚を感知する錐体視細胞が存在する。2 次ニューロンである双極細胞には、明るくなるとより活動する ON 型双極細胞と暗くなるとより活動する OFF 型双極細胞が存在し、3 次ニューロンである神経節細胞も ON 型と OFF 型に分かれる。視覚においては ON・OFF 経路による並列情報処理がショウジョウバエからヒトに至るまで行われることが特徴である。しかしながら、視細胞が受けた「明暗コントラスト」「輪郭」「動き」「色」といった情報が、どのように ON 経路と OFF 経路に振り分けられ、情報処理されるかはほとんど不明である。こういった視覚情報処理についての神経生理学的な基礎研究が欧米を中心に行われてきた。近年、その知見を活かして、視覚障害者の視力回復のための人工網膜開発やオプトジェネティックス技術を用いた視覚再建術などの医工融合的な臨床開発研究が盛んに行われている。

＜聴覚＞

聴覚を担う末梢器官である内耳蝸牛は（以下、内耳と記載）、音の機械的な刺激を神経や脳

が認識可能な電気信号に変換する臓器である。その特殊な働きや、難治性難聴の主たる障害部位であることから、従来から内耳が聴覚器研究の中心となってきた。内耳では、①音入力により、有毛細胞や支持細胞から成る「感覚上皮」がナノスケールで振動する、②「有毛細胞」に細胞外から陽イオンが流入する、③結果として電気興奮した「有毛細胞」が、神経伝達物質の放出を介して神経線維を刺激する、という3つのプロセスが連なって働く。この中では、感覚上皮、とりわけ有毛細胞に研究が注力されてきた。現在でもその傾向は強い。

我が国の聴覚障害者は約10%と試算されており、これは糖尿病患者数に匹敵する。70歳を超えると半数以上が難聴となり、その割合は加齢と共に上昇する。そして、難聴は認知症を悪化させる[2]。以上より、この疾患は喫緊に対応すべきであることは明らかである。聴覚器は外耳・中耳・内耳から成る。その中で、内耳障害性疾患は患者数も多いが、有効な治療法は少なく難治である。内耳を軸として聴覚の病態生理のみならず正常の仕組みや働き、そして脳や全身との関連を、これまでにない正確なレベルで解明し、創薬や人工デバイス開発につなげていくことが、高齢者のQOLの改善のためにも、今まさに求められている。

＜嗅覚＞

嗅覚は化学感覚の一つである。外界に存在する多様なにおい分子は鼻腔上部の嗅粘膜の嗅神経細胞に発現する嗅覚受容体によって受容されるが、個々の嗅神経細胞はヒトで約400、マウスで1000強ある嗅覚受容体の中のただ1種類のみを発現している（1細胞－1受容体ルール）。嗅神経細胞は一次中継核である嗅球において僧房細胞や房飾細胞とシナプス接続を行い、糸球体という構造を形成するが、同じ種類の嗅覚受容体を発現している嗅神経細胞の軸索は特定の糸球体に収束する（1受容体－1糸球体ルール）。これらの非常に特徴ある嗅覚情報の受容・情報処理メカニズムの解明[3]は2004年にノーベル医学生理学賞を受賞し、以降本研究分野が急速に発展した。

嗅覚は野生動物においては餌の探索、敵の察知、生殖行動など生存に直結する感覚である。一方ヒトにおいて嗅覚は視覚、聴覚と比較すると社会生活におけるハンディキャップは小さいと考えられ一般に軽視されているが、嗅覚障害の患者には香りの賞味が出来ない、異臭や腐敗物の検知が出来ないなど健康で文化的な生活を送る上での問題が生じ、また調理師など嗅覚が重要な職業においては嗅覚障害により職が継続できないという重大な問題がおこる。さらに嗅覚は視覚や聴覚と違って扁桃体や海馬など記憶・情動の座にダイレクトに情報入力があることから、嗅覚障害は意欲の低下やうつ状態を引き起こすことが多い。嗅覚障害は加齢に伴って頻度が増加し[4]、とくに60歳以降で急速に増加する問題であることから、日本社会の急速な高齢化に伴って今後嗅覚障害が急増することが予想される。

近年国内外で嗅覚受容の分子機構、嗅球における情報処理、高次中枢による嗅覚情報の認知などの基礎的研究分野は大きな発展を見せているが、一方ヒトにおける嗅覚機能の検査法や嗅覚障害の病態生理の解明、嗅覚障害の治療に関する臨床的な分野は研究が遅れていており、患者の増加と相まって研究の強力な推進が求められている。また近年嗅覚障害はアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患の初期に出現することが明らかとなり[5]、早期診断のためのバイオマーカーとしての役割が期待されている。

嗅覚は生命科学、工学、農学、食品科学および産業に幅広いすそ野をもつ学際分野である。嗅覚の基礎的な受容機構の解明は大きな産業的価値も有しており、また食のおいしさやアロマ

テラピーなど生活を豊かにするための手段も提供する。

嗅覚受容・認知は他の感覚系と同様に階層構造に分かれる。すなわち末梢の受容体によるにおい分子の受容、嗅球におけるにおい情報の処理、そして嗅皮質における認知、他の感覚や記憶・情動との統合、そして嗅覚依存的行動のアウトプットである。これらのカテゴリーに沿って、基礎科学的には嗅神経細胞における 1 細胞－ 1 受容体ルールの制御機構、におい受容体による嗅素の受容機構、嗅神経細胞内情報伝達、嗅球における匂い情報の処理機構（1 嗅覚受容体－ 1 糸球体ルール）、高次中枢による嗅覚認知機構、嗅粘膜及び嗅球における神経の新生と神経回路の再形成機構、さらに嗅覚情報が情動や行動の変化など最終的なアウトプットを誘導する機構の研究など幅広い研究テーマが展開されている。また臨床医学分野では嗅覚障害の疫学調査と病態生理の解析、加齢性嗅覚障害の予防に関する研究、治療手法の開発などの研究が行われ、産業との関連ではおいしい食品の開発のためのフレーバー開発、匂いの質を定量するセンサーの開発、不快なにおいを低減する研究、嗅覚を使った害虫の駆除法の開発研究もおこなわれている。

＜味覚＞

味覚受容の謎は、1999 年に苦味受容体 T2R（Taste receptor type 2）が発見されてから、急速に解き明かされている。これまでに、甘味受容体（T1R2+T1R3）、うま味受容体（T1R1+T1R3）、苦味受容体（T2R ファミリー：ヒト 26 種類）、塩味受容体（ENaC、嗜好性）が同定された[6]。しかし未だ、酸味受容体や塩味受容体（忌避性）については、候補分子としてそれぞれ Otopetrin1（Otop1）[7] や TRPV1t などの報告はあるが統一した見解は得られていない。また、味細胞内の情報伝達系に関しては、G〔α〕-gustducin、Plc〔β〕2、TRPM5 など味覚特異的なタンパク質を介して神経伝達物質 ATP が放出されること[8]、またその放出に CALHM1/CALHM3 が関与することが明らかとなった[9]。近年では、この末梢機構から中枢への情報伝達経路、その情報処理機構から行動表出までの解析が始まっている。具体的には、味覚の一次中枢である大脳皮質味覚野では、5 基本味に応答する領域（Hot Spot）が味質毎に分かれていることが報告され[10]、さらに、Hot Spot に入力された“甘い”または“苦い”情報は、それぞれ扁桃体の異なる領域に投射され、“好き”または“嫌い”を表す飲水行動を引き起こすことがマウスを用いて明らかにされた[11]。これらのことから、感覚入力から情報処理そして行動表出までが味質特異的な神経経路（ラベルドライン）で制御されていることが明らかになってきた。

また、味覚は、「医食同源」の思想と関連する感覚であるが、近年実際に、味覚受容体が口腔以外の様々な臓器で異なる機能を発揮し、生活習慣病、炎症性疾患や癌発症とも関連していることが明らかになってきた。したがって、味覚の機能の維持・向上に関する研究は、医学的にも、健康寿命の延伸に重要である。

＜触覚・痛覚＞

触覚や痛覚を起こす外界からの刺激は、皮膚に存在するメカノセンサー細胞や一次求心性感覚神経の終末（末梢側）のセンサー分子で検知され、そのシグナルは介して脊髄後角神経へ入力し、さらに脳まで伝達されて初めてそれぞれの感覚として認識される。

触覚は生命活動を維持するために必要である。しかし、その障害により日常生活動作が困難

になり、また慢性疼痛では触刺激が耐え難い痛みとなる異痛症（アロディニア）などの治療困難な病態へ発展する。触覚メカニズムの解明は、病態生理の理解だけでなく、手術支援や優れた義手など生体工学の先端技術開発においても重要である。

痛みは傷や障害の有無を生体に認識させる重要な警告的感覚であるが、それが長期化した場合、QOL（Quality Of Life）とADL（Activities of Daily Living）は著しく低下する。我が国での慢性疼痛の有病率は約2割と推定され、国民の多くが慢性的な痛みを抱えて生活し、仕事や学業などに大きな支障が出ている。社会・経済的損失も極めて大きい。しかし、既存薬では十分な治療が難しいのが現状である。慢性疼痛は、平均・健康寿命ギャップの大きな要因である。痛覚研究の国家レベルの推進は、超高齢化社会を向かえる我が国においては待ったなしの重要課題といえる。

一次求心性感覚神経による外的刺激の感知システムの分子レベルの理解は、温度センサーとなるTRPチャネルの発見[12]により急速に進展し、さらに皮膚のメルケル細胞や一次求心性神経終末における触覚センサー分子は長らく未知であったが、近年、それがPiezo2であることが特定された[13,14]。また、一次求心性神経終末から放出される神経ペプチドが皮膚の免疫細胞応答に必須であることが報告され、生体防御における同神経の新しい役割が示された[15]。さらに、1細胞遺伝子解析等による一次求心性神経の分子的細分化が提唱されはじめている[16]。

脊髄後角においても数多く存在する介在神経のサブセットの分類とそれらの機能制御技術の開発が欧米を中心に進んでおり、感覚情報処理機構の仕組みが徐々に明らかにされている[16,17]。また、脊髄や脳のグリア細胞が慢性疼痛に重要な役割を担うことが明らかになり、ミクログリアを標的とした創薬も進行中である（日本が主導）[18]。近年、痒みに選択的な神経回路が発見され、その仕組みが少しずつ明らかになっている[19]。しかし、介在神経細胞が成す回路、感覚情報の処理機構、病態時の変化とその役割については未だ不明な点が多い。

### （4）注目動向

どの感覚器分野においても、感覚器疾患の治療に向けて、iPS細胞/ES細胞を用いた再生医療、遺伝子治療、オルガノイド、幹細胞技術開発などが盛んに研究されている。それとともに、人工感覚器や新たなセンサーの開発などを含め、光工学や電子情報工学との融合研究開発も注目されている。その中で登場した光干渉断層計（Optical Coherence Tomography: OCT）は感覚器の生体における観察・診断を可能にした先端技術であり、OCTを用いて様々な新しい学術的知見が得られつつあるだけでなく、近年登場したOCTアンギオグラフィによる眼底血管の観察から循環や代謝といった全身状態の把握を可能にするという画期的な進歩をもたらした。しかし同時に、ヒトの特徴である高次の感覚機能を治療・再建・制御するためには、その基礎となる学術的な知見の蓄積が極めて重要である。欧米では、感覚の基礎研究による学術的基盤整備の重要さが認識され、近年新たな感覚器研究センターが設立されるとともに、感覚器の構築と機能の全体像の解明を目指して、感覚器の細胞種ごとの一細胞トランスクリプトーム解析や組織内のすべての神経回路配線を解明するコネクトーム解析のようなビッグプロジェクトが感覚器を対象に行われている。

近年の神経生理学ならびにヒト脳機能画像化研究の進展によって、感覚系は、単純に、感覚器からの情報を受け取って、それを処理する「カメラとモニター」のような機構からなっているのではない事実が明らかにされた。最先端の感覚研究は、①感覚情報が、どのように、脳内

に分散したモジュールごとに処理されるのか、②それは、記憶や経験などの情報とどのように比較・照合されて生体にとって意味のある情報を生み出すのか、また、それをどのようにダイナミックに変化させるのか、③この意味のある情報が、どのように最適の行動を決定するのか、そのための基盤となる価値形成・情動形成・行動プログラムの書換えと実行はどのように行われるのか、そして、④このように形成された感覚依存的情動や価値判断は、翻って、どのように感覚情報受容プロセスを制御・変容させるのか、などの、感覚情報の生物学的意義とその最適化脳機構の理解を集中的に進めている。非臨床においては、米国などを中心に展開されている臨床応用を目指した光遺伝学や化学遺伝学などの脳活動へのダイナミックな介入法の開発研究、臨床においては、急性的な感覚刺激や慢性痛患者を用いた超高磁場機能的 MRI 研究（フランス・ニューロスピンなど）、感覚中枢刺激埋込デバイスに関する応用研究などが国際的に進められている。

**［新展開・技術トピックス］**

＜視覚＞

・再生医療の分野では、iPS 細胞から in vitro で誘導した組織を患者網膜に移植し治療を目指す移植技術の確立が進んでいる。理化学研究所のグループは他人の iPS ストックから誘導した網膜色素上皮細胞を加齢黄斑変性患者に移植する手術を 2017 年に実行している。今後は高効率な細胞の誘導方法を含めた治療効果の高い手法の開発などが必要と考えられる。また、加齢黄斑変性以外の網膜疾患への適用も期待される。

・グリア細胞の幹細胞化技術が注目されている。最近、網膜のグリア細胞に薬剤処理と遺伝子導入を併用することで、長年不可能とされてきた網膜神経細胞の再生が誘導されることが発見された[20]。マウス網膜に転写因子 Ascl1 をアデノ随伴ウイルスによって遺伝子導入し同時にエピジェネティック制御を行うヒストンジアセチル化阻害剤を投与することで網膜障害をきたしたマウスにおいてミューラーグリア細胞からの神経細胞新生を実現している。この手法をヒト網膜変性疾患に応用することができれば、これまでに治療法の全くなかった網膜色素変性症などの失明を伴う難治性疾患の治療法確立に道が開けると期待される。

・マウス網膜に二光子カルシウムイメージングを適用し、光刺激への応答を 11,000 個を超える膨大な数の細胞において観察したのち教師なしクラスタリングを行い、網膜の出力細胞である神経節細胞の生理学的な種類分けが行われた[21]。一方、網膜神経回路情報処理において双極細胞は神経節細胞の前段階に位置している。光刺激による軸索末端からのグルタミン酸放出を Intensity-based glutamate-sensing fluorescent reporter と呼ばれる方法を用いて 13,000 個以上の双極細胞から観察し、双極細胞の多様性の分子基盤の一端が明らかにされた[22]。

＜聴覚＞

・米国のグループは、マウスの ES 細胞や iPS 細胞を三次元培養して分化させることで、機能的な有毛細胞を含む内耳オルガノイドを作製した。この有毛細胞は、同じく幹細胞から分化した感覚神経細胞とシナプスを形成した[23]。徐々に実際の内耳の環境に近づいている。さらに近年では、ヒト iPS 細胞を用いた内耳オルガノイドも創出している[24]。

・我が国では、iPS 技術を用いてヒトで難聴を示す Pendred 症候群（陰イオン輸送体

SLC26A4 遺伝子の変異）の疾患モデル細胞が作製された。そして、この細胞は脆弱性が強いこと、それを防ぐために既存薬であるシロリムスの少量投与が有効であることが見出された[25]。現在、AMED の支援の元、この薬物を対象に医師主導治験が進行中である。これらの技術は、有毛細胞の分化・発達メカニズムの解明や、難聴に対する薬剤スクリーニング・細胞移植などの治療法開発に有用なツールとなることが期待される。

・遺伝性難聴マウスを対象に、アデノ随伴ウイルスや Cas9-RNA リボヌクレオペプチド複合体を活用した遺伝子治療が進められており、一定の難聴改善効果が得られている[26,27]。

＜嗅覚＞

・嗅覚基礎研究においては遺伝子導入による嗅覚伝導路の構成細胞の選択的可視化、及び生体機能イメージング技術を用いて嗅球及び高次嗅覚中枢における情報処理機構が明らかとなりつつある。またこれまで研究が困難であった嗅覚情報と記憶や情動の連関も遺伝子改変動物を用いて特定の嗅覚領域をノックアウトする技術により解析が進み、情動の少なくとも一部は遺伝的にプログラムされている現象であることが示唆された[28]。

・ヒトの嗅覚認知においても MEG や fMRI、PET、NIRS など脳機能イメージングの手法が導入され、嗅覚刺激の認知機構や記憶・情動との関連に新しい知見をもたらしている。またタリウムを用いた嗅神経のイメージング技術が金沢医科大学のグループによって開発され[29]、我が国が発信した技術として臨床研究が進んでいる。生体イメージングによる病変の可視化は癌の分野で研究が数多く行われているが、嗅粘膜は体表に露出している感覚器であり、技術的に親和性が高い。近未来の新しい臨床検査法として期待される。

・2015 年に米国科学財団は脳に関する全般的理解を深める嗅覚の学際的プロジェクト 3 件に総額1500万ドル（約16.6億円）超を助成することを決定した。プロジェクトの1つにはデューク大学の松波宏明博士が名を連ねている。

＜味覚＞

・舌にある味蕾（数十個の味細胞が玉葱様に集まった味器官）を形成する「味覚の幹細胞」が同定され、さらに試験管内で立体的な「人工味蕾を再生するオルガノイド培養法」が確立された[30]。成体マウスの味蕾上皮から単離した Lgr5（leucine-rich repeat-containing GPCR 5）陽性の細胞を試験管内で細胞外マトリックス・マトリジェルの中で種々の栄養因子とともに培養することで、生体様の分化した味細胞を含む味蕾の形成が可能となった。この培養法を応用することにより、味蕾形成の分子機構だけでなく、加齢や全身疾患に伴う機能変化（味覚障害や栄養吸収障害）等がより迅速かつ詳細に解明され、将来的には、疾病に対する創薬や味蕾移植などの再生医療への応用展開も期待される。

・味覚の大きな新展開としては、世界で初めて、味覚受容体（メダカ）の細胞外のセンサー領域が味物質と結合している状態のタンパク質の立体構造が原子レベルで解明された[31]。この構造生物学的知見から同様の受容体を持つヒトにおける味覚の理解が進み、新規の味物質の開発等への応用が期待される。

・次世代シークエンサを利用したトランスクリプトーム解析技術開発が進み、5 基本味それぞれの受容を担う味細胞および味神経における細胞特異的分子シグナリングの網羅的解析により次々と新たな味覚分子マーカーが発見されている[7,32]。

＜触覚・痛覚＞

・一次求心性感覚神経のシングルセルトランスクリプトーム解析等によって同神経の分子的細分化とその役割の研究が欧米や中国で進んでいる[16]。また、細菌感染による免疫・骨細胞応答に神経ペプチドを含む一次求心性感覚神経が必須であるという、同神経の新しい役割が明らかにされている[15,33]。さらに、皮膚のメルケル細胞や一次求心性神経終末における触覚センサー分子がPiezo2であることが特定され、触覚感知システムの分子メカニズムの解明が大きく進展しつつある[13,14]。また、利用者に力、振動、動きなどを与えることで皮膚感覚フィードバックを得るハプティクス技術も注目されている。

・脊髄後角介在神経サブセットの分類とそれらの機能制御技術の開発によって、脊髄後角での感覚情報処理機構の仕組みが徐々に明らかにされている[16,17]。また、脊髄や脳のグリア細胞が慢性疼痛に重要な役割を担うことが明らかになり[18]、慢性疼痛患者からのミクログリア様細胞を用いた解析[34]やミクログリアを標的とした創薬も進行中である（いずれも日本が主導）[18]。また、痒みに選択的な神経回路が発見され、その仕組みが少しずつ明らかになっている[19]。最近では老人性掻痒のメカニズムも報告された[35]。

・痛みや痒み、しびれなど患者や健常人のQOLに大きな影響を及ぼす「原始的感覚」の脳内処理機構、それらに伴う情動とそれに連関した記憶を形成する機構が、行動科学や光遺伝学、脳機能画像解析などの組み合わせによって徐々に解明されている[36 37]。さらに、長期的経過を辿る慢性痛患者の脳内で活性化している部位、脳部位間の結合の変化、そして、脳の構造的変化などに関する研究が世界的に進められ、脳機能画像に基づく「痛みのバイオマーカー」が明らかにされつつある[38-41]。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

＜視覚＞

・近年発達した電子顕微鏡技術とIT技術の進展により、電子顕微鏡イメージから3次元空間での再構成を行い、神経細胞の配線を網羅的に解析する「コネクトーム」技術が注目されている。最近、ドイツのマックスプランク研究所と米国衛生研究所（NIH）の共同プロジェクトによりその成果がウサギ網膜において報告された[42]。同様の研究がヒトやサルにおいて進むことで、網膜神経回路の全体像が明らかとなり、網膜変性疾患の発症機構解明や再生医療による治療法の確立や検証に役立つと期待される。

・視覚系において網膜からのすべての出力は神経節細胞によって担われており、各神経節細胞のタイプがそれぞれ固有の視覚情報を並列に脳へと伝達することが知られている。しかしながら、神経節細胞の生理学的機能に基づく分類はほとんど明らかになっていなかった。最近、ドイツのグループによる生理学的手法とバイオインフォマティクス的手法を組み合わせた大規模な解析により、神経節細胞はこれまで考えられてきたよりも多い30種類以上に分けられることが明らかになった[21]。

・フランスでは欧州の視覚研究の拠点となるパリ視覚研究所Institut de la Vision in Parisが2008年に設立され、発生生物学、遺伝学、視覚情報、治療、光情報の研究セクションを含めた基礎、臨床研究に力を入れている。また、米国国立衛生研究所（NIH）には国立眼研究所NEIが設置され23の研究主催者が所属しており国内の視覚科学研究を牽引している。

・網膜にはサブタイプも含めると数十種類の細胞が存在するがその全体像は未解明であった。近年発達したシングルセル遺伝子発現解析技術により、細胞 1 個の遺伝子発現を網羅的に解析することが可能である。この技術を網膜に適用し、網膜の全細胞種を遺伝子発現パターンからマッピングしようという試みである「網膜シングルセル・プロファイリング・プロジェクト」が米国ハーバード大学やコネチカット医科大学を中心としたグループにより進展している。これらの解析により、双極細胞や神経節細胞に新たな細胞サブタイプが複数発見された[43,44]。これらの情報をもとに網膜の神経回路の全体像解明に向けて情報が蓄積しつつある。

＜聴覚＞

・上述した米国のグループによる遺伝子治療の成果は、モデル動物を使った基礎研究段階ではあるが、技術革新としてトップジャーナルに掲載された[26,27]。さらに、アメリカでは、有毛細胞や感覚上皮の微小動作を解析するため先端光学手法が活用されており、それに基づき新たな生物物理学的知見がいくつか同定されている[45,46]。このような技術開発を伴った内耳研究は、創薬や医療機器の創出にも極めて重要であるが、我が国では支援体制も含めて遅れている。
・ヨーロッパでも聴覚研究は着々と育まれている。上述の EuroHear プロジェクトの第二期が予定され、フランスでは、Institut Pasteur が、様々な基礎研究部門を集めた聴覚専門の附属施設を 2018 年 4 月より開始した（Institut de l'Audition）。今後、The Université Pierre et Marie Curie や病院とも連携し、最新の難聴治療の提供が予定されている。
・広く普及してきた人工内耳であるが、雑音が苦手、音楽が楽しめないなどの問題点がある。これに対し、MEMS 圧電膜を駆使して感覚上皮そのものを模した人工デバイスが着目されている[47]。これは、外界からの音をスピーチプロセッサとインプラントを介して電位信号に変換して直接神経を刺激する従来の方法とは全く異なる。MEMS 人工感覚上皮は、機械工学研究者が、臨床の耳鼻咽喉科医や内耳の基礎医学研究者と AMED からの財政支援を介して共同研究を推進しており、企業も参入して改良と最適化が進められており、注目すべき動向である。

＜嗅覚＞

・国内における研究プロジェクトしては東京大学の東原らを中心に ERATO の研究プロジェクトが 2012 年から 6 年間行われ、嗅覚の受容機構や嗅覚受容体の進化[48]、ヒトにおけるにおい受容の官能評価など今後の基礎研究、産業創出につながる多彩な知見が報告されている。
・臨床嗅覚医学では嗅覚障害患者に対する嗅覚刺激法（Olfactory training）の研究がトレンドである。欧州ではドイツを核に国際共同で強力に研究が推進されており[49]、ここ数年で多数の学術論文が発表されている。日本では今のところ欧州の方法を踏襲しているが、匂いの文化的差異を考えると我が国独自の方法を早急に確立する必要があり、金沢医科大学の三輪教授を中心に日本方式の嗅覚刺激法の確立のためのワーキンググループが嗅素の検討を行っている。
・アルツハイマー病などの認知症の増加は高齢化先進国に共通の問題であり、米国では 2012 年に「国家アルツハイマープロジェクト法」が策定され NIH 経由で巨額の研究費が投入され研究が行われているが、そのなかで嗅覚障害がアルツハイマー病の早期診断のバイオマーカーとなりうるという研究結果が相次いでいる。本研究は多数の被験者の数年にわたる長期

的な追跡が必要であり、国策として取り組むべき課題である。

＜味覚＞

・味覚に関して、近年、味覚受容体が口腔のみならず、全身の様々な臓器で異なる機能を発揮していることが明らかになってきた。例えば、甘味受容体は、視床下部、消化管内分泌細胞、膵臓β細胞、胃および骨などに発現し、それぞれグルコース感知、糖吸収、インスリン分泌、グレリン分泌および骨吸収等に関与することが報告された[50]。また、苦味受容体は、鼻腔、気管や消化管上皮にも発現し、病原性微生物から放出される化学物質の検知、気管支拡張や免疫機能の増強等に関わっていることが明らかにされた[51,52]。これらのことから、味覚の異常は、口腔のみならず全身の臓器でも生じており、肥満や生活習慣病（高血圧・糖尿病・高脂血症）、さらに慢性炎症やそれに連関するガン等の発症原因となる可能性が示唆され始めている。以上のことから今後、味覚研究が他の様々な医学領域へと間口を広げながら展開し、新たな研究医療プロジェクト“超高齢化を支える味覚分子を応用した予防診断・治療戦略”が創成されていくことが期待される。

＜触覚・痛覚＞

・米国では、2018年8月、NIH HEAL（Helping to End Addiction Long-term）Initiativeプロジェクトが公示された（https://www.nih.gov/research-training/medical-research-initiatives/heal-initiative）。これは、麻薬性鎮痛薬の乱用による死亡例が急増しているいわゆる「オピオイド・クライシス」に対する緊急対応として迅速に開始されたプロジェクトであり、①オピオイドの乱用と依存に対処するための研究、と、②よりよい慢性の痛みのコントロール法の開発研究を柱としている。8億ドル（約888億円）が研究費に充てられており、特に、②の柱では非臨床基礎研究からヒト慢性痛バイオマーカー探索研究までの広範な痛み研究の課題が公募されている。
・我が国では、2014年度からAMEDにおいて「慢性の痛み解明研究事業」が推進されてきた。現在までに約15の課題が採択され研究が進められている（ただ、それぞれの研究費は数百万円程度）。しかし、対象分野が限られており、我が国の総力を集結したプロジェクトには至っていない。

### (5) 科学技術的課題

進化の過程で高度化した感覚器の形成、情報処理、維持（生存）の分子機構や動作原理を、最近の新しいイメージング技術や1細胞技術などを用いて詳細に解明していくことが可能になってきつつある。また、神経変性疾患や加齢による神経脱落の治療につながると期待される成体グリア細胞の幹細胞化技術の開発が注目されている。さらに感覚器の重要な特徴である環境への「順応」のメカニズムの解明、そして感覚と脳機能および全身生理機能との関連の解明とそれに基づいた脳・全身機能の感覚による制御技術の開発は、今そこにある危機と言える日本社会の超高齢化の克服に向けた緊喫の課題である。

＜視覚＞

網膜の神経細胞は数十種類の神経細胞がそれぞれ特異的な配線によりネットワークをつくり

精密な神経回路網を構成することで作り上げられている。網膜視細胞が光情報を電気信号に変換し、変換された視覚情報は2次神経細胞の双極細胞では大きくONとOFFの2経路に分けられ、情報処理されたものが、3次神経細胞である神経節細胞では少なくとも30種類以上の経路に分けられて、脳へと伝えられる。視覚のメカニズムを解明し理解するためには、網膜細胞の形成と維持（生存）機構の解明（再生医療や神経保護への応用に重要）および網膜―脳視覚野の神経回路の形成と情報処理の解明（人工網膜や視覚再建に重要）が1細胞レベルの精密さで求められている。

再生医療の分野では、これまでのように単に多能性幹細胞から目的の細胞を誘導するだけでなく、より生体に生着しやすく高度な機能を発揮できる技術の確立が求められている。このためには、基礎的な細胞外マトリクス材料の探索や網膜構造自体の研究も重要である。ヒトの視覚において、中心窩は高精度な視力に主要な役割を果たしているにもかかわらず、その形成メカニズムの理解は非常に遅れている。その大きな要因として、これまで歴史的に多くの研究者は遺伝学的な操作が比較的容易なモデル動物であるマウスやゼブラフィッシュを用いてきたが、これらの動物では中心窩が形成されず、解析が困難なことが挙げられる。次世代シークエンス技術やバイオインフォマティクス的手法によるゲノム情報解読やゲノム編集技術を用いた遺伝子改変動物作成により、中心窩が形成される動物を新たに研究対象とすることも可能になってきている。またヒトの網膜オルガノイドを用いた研究も徐々に盛んになっており、新たな展開が予想される。中心窩形成メカニズム解明は基礎科学的な興味に対する理解にとどまらず、加齢黄斑変性の予防法や治療法の開発へと発展することが期待される。

＜聴覚＞

再生医療や遺伝子治療は、今後とも注力していくべき分野である。内耳は管腔臓器であり、その働きに特殊な細胞の空間的配置が必須なため、再生医療はむしろ創薬に有用かもしれない。一方、成人の内耳性難聴では、遺伝性は少なく、圧倒的多数は後天性の原因不明の事象である。障害される周波数や症状の時間経過は多彩であり、聴力が変動するもの、急速に高度難聴になるものもある。内耳機能を司る主要素を振り返ってみると、有毛細胞を含む感覚上皮に加えて、体液を産生する上皮、神経系、そして血管系がある。それぞれの難聴（またはその初期）では、いずれかの要素が障害されていることが多いはずだが、その部位を特定する臨床検査法は確立していない。これには、患者から生検できないことも大きく関係している。しかし、十分な使用法の区別なく薬物が投与されている状態が続いている。創薬を効率化するのみならず、既存薬を十分に活かすためにも、難聴の分類はこれから重要であろう。ここでは、新たな検査機器の開発に加え、最新の知見に基づく既存の検査法の再解釈も必要である。そのためには正常および病態の基礎研究は重要であり、(1) ***in vivo*** の計測をより精密化し、(2) ***in vitro*** の実験結果と合わせて、(3) 感覚上皮、体液産生上皮、神経系、血管系を包括的に捉える必要がある。感覚上皮以外は、これまで比較的盲点であった。また、(1) ***in vivo*** の実験には、骨に囲まれ小さく信号が微小な内耳に特化した計測機器の開発と最適化が必要である。医工連携に加え、計算・情報科学的アプローチを合わせた融合研究、そして基礎的な成果を逸早く製品化へと還元していく方向性と仕組みが求められる。そして、このような理論的な病因の同定に基づき、創薬を進めるとともに、個々の患者に対して適切な薬物を選択する医療が理想である。

＜嗅覚＞

基礎研究分野は末梢から高次中枢まで各カテゴリーの研究成果が順調に生み出されていると考えるが、さらに産業面との関連ではヒトの個々の嗅覚受容体の特性およびその嗅素の受容に関するデータの蓄積が必要である。またヒトのにおい受容の多様性について、嗅覚受容体遺伝子の配列には多くの一塩基多型（SNP）が存在し、すでににおい受容の個人差に関わっていることが分かってきているが、こちらも多数例の登録によるビッグデータの解析が必須である。

一方臨床嗅覚医学分野は基礎研究の発展にも関わらず大きく立ち遅れている。まず第一に疾患分類が未成熟である。嗅覚障害は大きく気流の物理的遮断による気導性嗅覚障害と、感覚神経系の障害に起因する神経性嗅覚障害に大別されるが、後者は多くの異なる病態を含むと想像されるものの、今のところ明確なサブタイプには分類されていない。また神経性嗅覚障害に対して有効性が科学的に証明された薬物療法が存在しない。欧州でいくつかの薬物が 2 重盲検ランダム化比較試験で試されたが、いずれも有効性が実証されなかった。

これらの立ち遅れの大きな要因として、ヒトにおける嗅覚障害の病態生理の理解が十分でないことが挙げられる。疾患モデル動物による研究はもちろん重要であるが、やはり最終的にヒトの臨床検体を用いて研究を行う事が必要不可欠である。また他の医学領域では網羅的なゲノム解析、トランスクリプトーム解析、プロテオーム解析によって多くの治験が得られ、疾患の病態生理の解明に貢献しているが、嗅覚障害においてはまだそのような体制は整っていない。

さらに、臨床面においては他覚的な嗅覚検査法や蛍光分子プローブを用いたヒトの嗅粘膜生体イメージング技術などが求められており、これらの開発によって嗅覚障害をより詳細に分類し、対応する個別化医療が可能となる。

＜味覚＞

味覚に関する今後の課題としては、従来のマウス等を用いた解析に加えて、さらにヒトにおける機能解析がより重要になると思われる。具体的なテーマとしては、(1) 未だ不明の味覚関連分子の同定と全身における機能の解明（特に味覚受容体）、(2) 味覚感受性の変化と全身疾病（生活習慣病、免疫疾患）との関連解明 [ 味覚分子の遺伝要因（一塩基多型性 SNP : Single Nucleotide Polymorphisms）や環境要因（エピジェネティック変異）との関連 ]、(3) 味覚受容体のタンパク質立体構造の解明（創薬や食品開発の分子基盤の構築）、(4) 中枢における味覚情報処理機構の解明（認知、記憶、学習、忌避行動発現、情動発現、摂食調節、唾液分泌、消化管機能調節および咀嚼運動調節）、(5) 他の感覚との連合機構の解明（嗅覚、視覚、聴覚、体性感覚）、(6) 味覚感受性低下と中枢性疾患との関連解明（QOL、認知症および精神疾患への影響）、そして、(7) 味覚の再現（iPS 細胞由来人工味蕾移植法やウイルス遺伝子治療法の開発、工学的味覚 VR の社会実装）等が挙げられる。

＜触覚・痛覚＞

1 細胞解析技術の発展に伴い一次求心性神経の細分化研究が進んでいるが、まだ途上であり、特に痛みと痒みを感知して伝達する神経の分類等は未解決である。また、触覚刺激感知に関わるセンサー分子は Piezo のみしか明らかになっておらず、異なる触覚刺激を感知するメカノセンサー分子の特定やその活性制御機構（脊髄や脳も含めて）の同定が必要である。それにより

従来とは全く異なるアプローチで触覚性障害に対する治療薬や触覚情報を得られる手術支援や介護ロボットの設計あるいは高精度化への応用につながる。

脊髄後角介在神経サブセットの分類がなされる一方で、それらが成す神経回路、感覚情報（痛みや痒み、触覚など）の処理機構、病態時の変化とその役割については未だ不明な点が多い。そのため、新しい介在神経サブセットの特定、サブセット毎のトランスクリプトーム解析と機能制御技術開発が必要となる。さらに近年、グリア細胞にもセブセットの存在を示唆する報告例が出てきているため、感覚シグナルに大きな影響力を有するグリア細胞サブセットの特定とその役割の解明によって、感覚情報処理機構と慢性疼痛の仕組みの理解が格段に進むことが期待できる。

痛み脳科学研究における今後の課題は、（1）国際疾患分類の第 11 版（2018 年に 30 年ぶりに改訂）で新たに採り上げられた「一次性慢性痛」（器質的な異常が全くないにもかかわらず脳の活動によって生じる）の脳内機構を解明すること、（2）脳機能画像解析を用いた主観的な経験である痛みの客観的バイオマーカーの探索、ならびに、それを用いた痛みの類別化解析と個別化治療法の確立、（3）慢性痛の形成と固定に関与する脳内の新規生理活性物質と新規メカニズムの同定の 3 点である。



### （6）その他の課題

＜視覚＞

日本の視覚研究は、基礎研究者の層が比較的薄いこともあり、産学連携は主に医学部の眼科学教室で行われており、研究が病気の診断や治療に直結するような iPS 細胞を用いた再生医療など比較的短い期間に応用展開できる可能性の高い研究が中心である。日本の基礎研究で得られた新たな学術的基盤を長期的に活かす体制が整っておらず、日本オリジナルの基礎研究成果を活かすことができるような体制の構築が急務である。それに関連して、視覚の基礎研究の若手研究者を育成し、若手研究者が安心して研究に打ち込んで世界に冠たる成果をあげるために、米国 NEI（国立眼研究所）のように長期的な視野に基づいて視覚研究分野に継続的に研究をサポートするグラント、施設、体制の構築が必須である。NEI の予算は、2017 年で 7.3 億ドル（約 812 億円 / 年）、2018 年で前年比 5 %増の 7.7 億ドル（約 855 億円 / 年）にものぼり、アメリカ政府は継続的に視覚研究をサポートしてきている。

また、視覚の入力装置である網膜と出力装置である脳の高次視覚の研究は、現状では連携が薄く、総合的な連携によって視覚研究を進めて行くことも今後の重要な課題である。

＜聴覚＞

研究体制に関して、内耳と聴覚中枢の研究が乖離しているのは大きな課題である。聴覚と脳・全身機能との関連の理解は、今後の超高齢化社会で必至となる。我が国には、大脳聴覚野や脳幹が仲介する音源定位についての優れた研究者が少なくない。内耳や他の感覚の基礎研究者、臨床医と綿密に連携するプラットフォームを構築することで、我が国が世界でイニシアチブをとることのできる新規学術分野が創成される。

＜嗅覚＞

嗅覚は産業面での応用範囲が広いことから、産学連携は以前より推進されているが、研究

開発を促進する上ではより一層緊密な産学連携の組織構築が必要と考えられる。大学における研究を活性化するためには知的財産の保護・活用も重要な課題であり、特許化等のサポートはかなり整備されたと感じるが、大学における知的財産を企業に活用してもらうためのプラットフォームは不十分である。

ヒトの嗅粘膜組織は生検等によって得ることが困難な組織であるので、研究の推進においては剖検例などで得られる組織のバイオバンク化を推進し、国内の研究者が研究を推進できるための土台作りが必要と考えられる。さらに嗅覚の臨床研究は日本ではほとんどが医師、特に耳鼻咽喉科医の手によって行われており、研究者が非常に少ないことと時間的な制約もあり臨床検体を用いた詳細な解析は困難である。基礎研究者と臨床研究者を連携するプラットフォームの構築が急務である。さらに、現在のトピックスの一つである神経変性疾患の早期診断のためのバイオマーカーとしての嗅覚障害の研究は、上記の組織バンクの確立とともに多施設共同の全国調査が必須である。

＜味覚＞

国の施策である「健康日本 21（第二次 , 平成 25-34)」における基本方針として、①健康寿命の延伸、②生活習慣病の発症予防、③社会生活を営むための必要な機能維持、④健康を支える環境整備、⑤栄養・食生活、運動、休養、飲酒、歯・口腔の健康に関する生活習慣の改善の５つが示されている。「味覚機能の維持」は、これら 5 つの方針全てに多大に貢献できる可能性があるが、その重要性についての理解が不十分であるため活用が遅れている。また臨床的な観点では、超高齢化とともに急増している「味覚障害」（2003 年時点で 24 万人）は QOL を著しく低下させるが、その発症の分子機構が不明なため、診断・治療法が確立しておらず、服用薬剤の変更や亜鉛投与などの“対処療法”が主となっている。さらに、日本人の死亡原因第３位は肺炎であるが、その主な原因は咽頭部の感覚（含味覚）機能低下による誤嚥であることや、認知症の初期に嗅覚・味覚障害が見られることも報告されている。これらのことから、味覚機能（分子機構の解明）の理解に基づく新たな味覚検査・診断・治療法の開発は急務であり、味覚外来などの診療・報酬体系の整備や、味覚専門医の人材育成も政策として推進していく必要があると考えられる。

＜触覚・痛覚＞

痛覚・触覚を含む感覚研究を飛躍し世界で先行するためには、基礎研究での結果を先端技術開発へ容易にフィードバックできる分野間でのスムーズな連携体制を構築することが課題になる。触覚や痛覚が他の感覚と関連して生体応答に貢献していることは明白であり、感覚の科学として統合して研究することは重要と考える。

また、健康寿命の延伸を妨げている大きな要因は感覚系の異常であり、超高齢化社会を向かえる我が国だからこそ、世界をリードする最先端感覚研究とそれを基盤とした技術開発を国家レベルで推進すべき研究領域であると考える。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | → | （視覚）網膜の光受容の生理学と生化学研究に強みがあった。近年では、再生研究の基礎となる発生の研究も盛んになってきた。しかし、研究者の層は欧米に比べてかなり薄い。<br>（聴覚）内耳の基礎研究がAMEDのグラントから支援を受けるなど、その重要性の認知度は徐々に高まっている。<br>遺伝性難聴iPS細胞を用いた病態生理研究と薬物探索など、再生医療を活用した研究は着目されている[25]。<br>（嗅覚）嗅覚受容体による嗅素の受容機構や高次の嗅覚情報処理機構など、基礎研究における日本の貢献は大きく、米国、欧州と並ぶ一極を形成している。また学会の枠組みを通じて産学共同研究が円滑に進行している。ヒトの臨床検体を用いた基礎研究は米国に比べ立ち遅れが目立つ。<br>（味覚）味覚に関しては、論文数では米国に及ばないが、日本発祥のうま味研究（英語でもUMAMIと表記）や、*C.elegans*における味覚研究、遺伝子改変マウスと超微細技術を駆使した末梢の味覚解析、味覚受容体の結晶構造解析において世界をリードしている。<br>（触覚・痛覚）痛みに関わるセンサー分子の解析が進んでいる[54]。脊髄グリア細胞の慢性疼痛における研究では顕著な業績が多数出ているものの[18]、その世界的な基礎研究を支える財政サポートが非常に乏しく、この上り調子の研究レベルの維持が困難な状況にある。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | （視覚）iPS細胞を用いた網膜や角膜の再生研究や臨床応用は世界的に注目されている。人工網膜などの開発も進んでいる。<br>（聴覚）新たな人工聴覚デバイスなど、一部は企業とアカデミアが協働する動きは見られるが、全般的に産学連携は低調である。<br>難聴治療薬候補などの産学共同研究・委託研究は一定の数があるが、投資金額は他の分野に比べて極端に少ない。<br>（嗅覚）臨床医学分野では国際的にも珍しく耳鼻咽喉科の医師が主体的に研究活動に取り組んでいる。国内の嗅覚研究医師の情報交換も定期的なミーティングの実施、メーリングリスト等で活発に行われている。嗅神経イメージングなど本邦発信の技術開発もなされている。<br>今後の疾患研究においてはヒトの嗅覚に関連する遺伝子のデータベース化、嗅覚組織の組織バンク化の推進が必要であるが、これに関する取り組みは不十分である。<br>（味覚）味覚に関しては、日本味と匂学会を中心として基礎研究と産業界との連携が進んでいる。うま味物質（グルタミン酸ナトリウム）を含むアミノ酸の受容分子基盤は、KOKUMI物質の開発をはじめ様々な企業による健康食品や医薬品開発へと広く応用展開されている。<br>（触覚・痛覚）JST（日本科学技術振興機構）のACCELのプロジェクト「触原色に立脚した身体性メディア技術の基盤構築と応用展開」によって触覚情報の伝送手法を開発し社会的・経済的インパクトを与えるイノベーションの実現を目指している。P2X4受容体など複数の新たな鎮痛薬開発が進行中であるが[18]、センサー分子を標的とした薬剤開発は遅れている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | （視覚）NEI を中心として、解剖、発生、生理、再生など広い分野にわたる研究者層を擁しており、多施設間の共同研究による大規模解析プロジェクトなども盛んに行われている。NEI は政府から毎年予算が増額されており、2018 年で 7.7 億ドル（約 855 億円）。<br>（聴覚）業績面、資金面、施設面、いずれも他国を圧倒している。<br>（嗅覚）嗅覚研究によるノーベル医学生理学賞の輩出をはじめとして、依然として嗅覚研究の最先端を進んでいる。モネル化学感覚研究所をはじめとして化学感覚研究の拠点となる研究施設が存在し、異なる専門分野の研究者の共同研究により優れた成果が生み出されている。研究者がベンチャーを立ち上げることで基礎研究から臨床・産業化への橋渡しが効率的に行われている。<br>（味覚）味覚受容体の発見から味細胞内伝達や中枢情報処理機構の解明に至るほぼ全ての領域で、論文数と質の高い研究数において世界をリードし続けている。また、モネル化学感覚センター、コロラド大学ロッキーマウンテン味覚嗅覚センターなど様々な領域を体系的に結びつける研究拠点が形成されており、昆虫・マウス・ヒトを跨ぐような種横断的な基礎研究から、臨床への橋渡し的研究までが多次元的に展開されている。<br>（触覚・痛覚）痛みに関わるセンサー分子の解析、一次求心性神経の細分化研究が進んでいる。脳と比べて難易度が高い一次求心性神経や脊髄後角の生体イメージング技術の開発に成功している。<br>痒みの神経回路を世界で初めて発見し、その後も痒みの神経伝達機構に関する研究では世界をリードしている。オピオイド危機に対応し、単にオピオイド乱用・依存の解決を探るだけではなく、慢性痛そのものの機構解明と治療法の開発が必須であるとの認識のもと、迅速な研究費配分を進めている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | （視覚）ヒト ES 細胞を用いた再生医療や AAV（あでの随伴ウイルス）を用いた遺伝子治療などの臨床治験が行われている。基礎研究の知見を基にした神経変性疾患に対する神経保護を目指した創薬も盛んであり、基礎研究から臨床応用シームレスに展開されている。<br>（聴覚）再生医療に関しても、世界に先駆けオルガノイドを作成するなどして、領域をリードしている。<br>有力な研究施設は、大手製薬メーカーとの連携体制が組まれる傾向にあり、基礎研究の成果が難聴に対する創薬へと迅速に還元できるようになりつつある。<br>（嗅覚）嗅覚医学研究には医師の関与は少なく、主として PhD による研究が行われている。ヒト嗅覚に関するデータベース、ヒト組織バンク化の取り組みは我が国より進んでおり、ヒトの臨床検体を用いた研究成果は我が国を凌駕している。<br>（味覚）The Association for Chemoreception Sciences（AChemS）を中心として基礎研究と産業界との連携が進んでいる。味覚受容体とヒト疾病（肥満、ガン発症リスク、副鼻腔炎等）との連関が明らかにされ、味覚・嗅覚障害の治療法の開発に焦点を当てた新たな学術組織も立ち上がった（2018 年設立）。また、味覚受容体の分子基盤を応用した新規の味覚抑制物質・促進物質が発見されており、子供向けの苦味を抑えた薬の開発などが進んでいる。技術的には、味蕾の幹細胞の同定および人工味蕾オルガノイドが作成されたことにより、応用研究開発が加速的に進むことが予想される。<br>（触覚・痛覚）ベンチャー企業とのタイアップによるセンサー分子を標的とした薬剤開発が進んでいる。DARPA、「手の固有受容感覚とタッチインターフェイス（HAPTIX）」といった大きな研究支援が行われている。また、ヒト脳における慢性痛画像化研究と、動物モデル間でのトランスレーショナル研究が広く進められている。メガファーマを中心に鎮痛薬開発も盛んである。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | （視覚）伝統的にこの分野における解剖学に強いドイツ、生理学に強いスイス、幹細胞学に強いイギリスが分野を牽引している。<br>（聴覚）EU が出資する EuroHear に準ずるファンディングが設立されるとの情報もあり、聴覚・難聴の基礎研究を積極的に推進している。フランスを代表する研究施設である Institut Pasteur は、聴覚専門の附属研究施設を 2018 年 4 月より開始した。<br>（嗅覚）主としてドイツ、フランスを中心に研究が行われている。米国や日本と比較して一部の研究機関に集中的に研究費・人的資源が投資されているため拠点の数は少ないが、米国に匹敵するレベルの研究が効率的に生み出されている。特に嗅覚に関しては国際的な香料企業がフランスにあることもあり、レベルの高い研究が生み出されている。<br>（味覚）論文数はほぼ日本と同数である。食文化と関わりが深い味覚の基礎研究は盛んであり、特に苦味受容体の機能解析では世界をリードしている。また、ドイツ人類栄養学研究所やフランス国立科学研究センターなど各国に味覚と栄養・健康を統括的に研究する拠点があり、特にヒト肥満との関連解析が進んでいる。<br>（触覚・痛覚）痛みの研究は盛んであり、ストラスブール大学に設けられた欧州痛み専門家養成大学院など、痛みを新規研究領域と位置付けて人材育成をする積極的な取り組みがなされている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | （視覚）イギリスでは網膜の再生医学研究が盛んで、ロンドン大学やオックスフォード大学などが細胞移植研究において世界をリードしている。<br>（聴覚）オーストリアのメドエルは、残存聴力活用型人工内耳や人工中耳などの埋込型デバイスを相次いで発売しており、成功を収めている。<br>（嗅覚）ドイツを核として、欧州の嗅覚医学の研究医師がネットワークを組み国際研究が盛んに行われている。臨床研究の推進は迅速であるが、その裏付けとなる疾患病態の解析の研究は乏しい。・<br>（味覚）The European Chemoreception Research Organization（ECRO）を中心として基礎研究と産業界との連携が進んでいる。苦味の受容体の構造活性相関から中枢への神経投射さらに他臓器における機能解析まで多角的な展開が見られる。また、ヒト肥満との関連解析においては、特に子供の遺伝学的背景と食嗜好性や脂肪沈着との相関研究が多数見られることから、幼児期からの肥満対策や食育応用などへの注力傾向が認められる。<br>（触覚・痛覚）フランスの NeuroSpin のように、脳機能画像解析のための国家的大型プロジェクトが推進されており、そこでは、痛みのような脳全体が関与する現象の解析が全ヨーロッパ的に展開されている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | （視覚）目立った成果は見えていないが、当該分野の論文数は着実に増加してきている。<br>（聴覚）加齢性難聴におけるマイクロ RNA の関与など、興味深い基礎研究が進められている[55]。薬剤性難聴の患者数も多く、今後、研究気運が高まる可能性が強い。<br>（嗅覚）嗅覚分野についてはまだそれほどの存在感はない。しかし医学研究の質・量の急速な高まりから考えて、今後は国際的なプレゼンスが高まるものと思われる。<br>（味覚）味覚に関しては、論文数は近年急増しており、2018 年現在、日本とほぼ同数である。また、質の高い研究の数が増加しており、味覚を含む化学感覚関連の代表的な雑誌 Chemical Senses 誌の 2016 年の投稿数では、米国＞ドイツ＞中国＞日本であることが報告された。<br>（触覚・痛覚）センサー分子の解析は遅れているが、構造解析研究の最近の進展は著しい。欧米で著明な成果を上げた中国人若手研究者が次々と帰国し、PI となり自身のラボを立ち上げ、国際的な共同研究を展開している。さまざまな痛みの脳内機構に関する非臨床研究の層が厚く、研究者人口が増加している。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | （視覚）現在まで顕著な成果は出ていないが、再生医学にも力を入れており、今後は中国発の成果の増加が予想される。<br>（嗅覚）今のところ臨床嗅覚医学に関する取り組みは少ない、しかし拠点機関への患者の集中が我が国比べて進んでいるので、多数の臨床検体を収集する力は我が国と比べて格段に高く、臨床研究の推進は迅速である。有力な研究者に国家戦略として集中的に予算が投入され、近い将来に国際的な研究拠点になることが予想される。<br>（味覚）今後、豊富な資金が投入されると、基礎研究だけでなく、特にヒトにおける臨床研究（特に治療の臨床研究）が驚異的なスピードで進んでいくことが予想される。<br>（触覚・痛覚）まだ顕著な成果は出ていないが、大学やベンチャー企業を巻き込んだ応用研究の進展は著しい |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | → | （視覚）研究者数は多くないが、一部の研究者によって国際レベルの研究成果の報告がある。<br>（聴覚）新たな聴覚デバイスである人工感覚上皮の基礎研究では、日本を猛追している[56,57]<br>（嗅覚）研究者の層が薄く嗅覚研究の総量としてはまだ日本に比べて小さいが、一部の拠点機関からは国際レベルの研究成果の報告がある。<br>（味覚）論文数では米日欧中に及ばないが増加傾向である。特に、ショウジョウバエの味覚研究において数名の研究者が質の高い研究成果を精力的に発表している。<br>（触覚・痛覚）センサー分子研究はそれほど進んでいない |
| | 応用研究・開発 | △ | → | （視覚）国際レベルの貢献として目立ったものはほとんどない。<br>（聴覚）目立った成果は出ていない。<br>（嗅覚）アレルギー、副鼻腔炎など他の鼻科疾患と比べて嗅覚医学は重点が置かれていない。臨床研究はいくつかの拠点施設を中心に行われており、個々の施設の規模が大きいため臨床検体を用いた取り組みは日本より迅速に進んでいる。<br>（味覚）近年、Korean Society for Chemical Senses and Ingestive Behavior が設立され、日本味と匂学会との協働も始まっており、味覚研究が韓国からも東アジアに広く展開していくことが予想される。<br>（触覚・痛覚）創薬や臨床開発において目立った成果は出ていない。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## （8）参考文献

1. Ferda Percin, E. et al. Human microphthalmia associated with mutations in the retinal homeobox gene CHX10. *Nat Genet* 25, 397-401, doi:10.1038/78071（2000）.
2. Livingston, G. *et al.* Dementia prevention, intervention, and care. *Lancet* 390, 2673-2734, doi:10.1016/S0140-6736（17）31363-6（2017）.
3. Buck, L. & Axel, R. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 65, 175-187（1991）.
4. Gambrell, R. D., Jr. Hormones in the etiology and prevention of breast and endometrial cancer. *South Med J* 77, 1509-1515（1984）.
5. Devanand, D. P. *et al.* Olfactory deficits in patients with mild cognitive impairment predict Alzheimer's disease at follow-up. *Am J Psychiatry* 157, 1399-1405, doi:10.1176/appi.ajp.157.9.1399（2000）.
6. Yarmolinsky, D. A., Zuker, C. S. & Ryba, N. J. Common sense about taste: from mammals to insects. *Cell* 139, 234-244, doi:10.1016/j.cell.2009.10.001（2009）.
7. Tu, Y. H. *et al.* An evolutionarily conserved gene family encodes proton-selective ion channels. *Science* 359, 1047-1050, doi:10.1126/science.aao3264（2018）.
8. Shigemura, N. & Ninomiya, Y. Recent Advances in Molecular Mechanisms of Taste Signaling and Modifying. *Int Rev Cell Mol Biol* 323, 71-106, doi:10.1016/bs.ircmb.2015.12.004（2016）.
9. Ma, Z. *et al.* CALHM3 Is Essential for Rapid Ion Channel-Mediated Purinergic Neurotransmission of GPCR-Mediated Tastes. *Neuron* 98, 547-561 e510, doi:10.1016/j.neuron.2018.03.043（2018）.
10. Chen, X., Gabitto, M., Peng, Y., Ryba, N. J. & Zuker, C. S. A gustotopic map of taste qualities in the mammalian brain. *Science* 333, 1262-1266, doi:10.1126/science.1204076（2011）.
11. Wang, L. *et al.* The coding of valence and identity in the mammalian taste system. *Nature* 558, 127-131, doi:10.1038/s41586-018-0165-4（2018）.
12. Caterina, M. J., Rosen, T. A., Tominaga, M., Brake, A. J. & Julius, D. A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat. *Nature* 398, 436-441, doi:10.1038/18906（1999）.
13. Ikeda, R. *et al.* Merkel cells transduce and encode tactile stimuli to drive Abeta-afferent impulses. Cell 157, 664-675, doi:10.1016/j.cell.2014.02.026（2014）.
14. Ranade, S. S. *et al.* Piezo2 is the major transducer of mechanical forces for touch sensation in mice. Nature 516, 121-125, doi:10.1038/nature13980（2014）.
15. Baral, P., Mills, K., Pinho-Ribeiro, F. A. & Chiu, I. M. Pain and Itch: Beneficial or Harmful to Antimicrobial Defense? *Cell Host Microbe* 19, 755-759, doi:10.1016/j.chom.2016.05.010（2016）.
16. Peirs, C. & Seal, R. P. Neural circuits for pain: Recent advances and current views. *Science* 354, 578-584, doi:10.1126/science.aaf8933（2016）.
17. Haring, M. *et al.* Neuronal atlas of the dorsal horn defines its architecture and links sensory input to transcriptional cell types. *Nat Neurosci* 21, 869-880, doi:10.1038/s41593-018-0141-1（2018）.
18. Inoue, K. & Tsuda, M. Microglia in neuropathic pain: cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential. Nat Rev Neurosci 19, 138-152, doi:10.1038/nrn.2018.2（2018）.
19. Dong, X. & Dong, X. Peripheral and Central Mechanisms of Itch. *Neuron* 98, 482-494, doi:10.1016/j.neuron.2018.03.023（2018）.
20. Jorstad, N. L. *et al.* Stimulation of functional neuronal regeneration from Muller glia in adult mice. Nature 548, 103-107, doi:10.1038/nature23283（2017）.
21. Baden, T. *et al.* The functional diversity of retinal ganglion cells in the mouse. *Nature* 529, 345-350,

doi:10.1038/nature16468（2016）.

22. Franke, K. *et al.* Inhibition decorrelates visual feature representations in the inner retina. *Nature* 542, 439-444, doi:10.1038/nature21394（2017）.
23. Koehler, K. R., Mikosz, A. M., Molosh, A. I., Patel, D. & Hashino, E. Generation of inner ear sensory epithelia from pluripotent stem cells in 3D culture. *Nature* 500, 217-221, doi:10.1038/nature12298（2013）.
24. Koehler, K. R. *et al.* Generation of inner ear organoids containing functional hair cells from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 35, 583-589, doi:10.1038/nbt.3840（2017）.
25. Hosoya, M. *et al.* Cochlear Cell Modeling Using Disease-Specific iPSCs Unveils a Degenerative Phenotype and Suggests Treatments for Congenital Progressive Hearing Loss. *Cell Rep* 18, 68-81, doi:10.1016/j.celrep.2016.12.020（2017）.
26. Pan, B. *et al.* Gene therapy restores auditory and vestibular function in a mouse model of Usher syndrome type 1c. *Nat Biotechnol* 35, 264-272, doi:10.1038/nbt.3801（2017）.
27. Gao, X. *et al.* Treatment of autosomal dominant hearing loss by in vivo delivery of genome editing agents. *Nature* 553, 217-221, doi:10.1038/nature25164（2018）.
28. Kobayakawa, K. *et al.* Innate versus learned odour processing in the mouse olfactory bulb. *Nature* 450, 503-508, doi:10.1038/nature06281（2007）.
29. Shiga, H. *et al.* Assessment of olfactory nerve by SPECT-MRI image with nasal thallium-201 administration in patients with olfactory impairments in comparison to healthy volunteers. *PLoS One* 8, e57671, doi:10.1371/journal.pone.0057671（2013）.
30. Ren, W. *et al.* Single Lgr5- or Lgr6-expressing taste stem/progenitor cells generate taste bud cells ex vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, 16401-16406, doi:10.1073/pnas.1409064111（2014）.
31. Nuemket, N. *et al.* Structural basis for perception of diverse chemical substances by T1r taste receptors. *Nat Commun* 8, 15530, doi:10.1038/ncomms15530（2017）.
32. Dvoryanchikov, G. *et al.* Transcriptomes and neurotransmitter profiles of classes of gustatory and somatosensory neurons in the geniculate ganglion. *Nat Commun* 8, 760, doi:10.1038/s41467-017-01095-1（2017）.
33. Maruyama, K. *et al.* Nociceptors Boost the Resolution of Fungal Osteoinflammation via the TRP Channel-CGRP-Jdp2 Axis. *Cell Rep* 19, 2730-2742, doi:10.1016/j.celrep.2017.06.002（2017）.
34. Ohgidani, M. *et al.* Fibromyalgia and microglial TNF-alpha: Translational research using human blood induced microglia-like cells. *Sci Rep* 7, 11882, doi:10.1038/s41598-017-11506-4（2017）.
35. Feng, J. *et al.* Piezo2 channel-Merkel cell signaling modulates the conversion of touch to itch. *Science* 360, 530-533, doi:10.1126/science.aar5703（2018）.
36. Palmiter, R. D. The Parabrachial Nucleus: CGRP Neurons Function as a General Alarm. *Trends Neurosci* 41, 280-293, doi:10.1016/j.tins.2018.03.007（2018）.
37. Watabe, A. M. *et al.* Synaptic potentiation in the nociceptive amygdala following fear learning in mice. *Mol Brain* 6, 11, doi:10.1186/1756-6606-6-11（2013）.
38. Price, T. J. *et al.* Transition to chronic pain: opportunities for novel therapeutics. *Nat Rev Neurosci*, doi:10.1038/s41583-018-0012-5（2018）.
39. Denk, F., McMahon, S. B. & Tracey, I. Pain vulnerability: a neurobiological perspective. *Nat Neurosci* 17, 192-200, doi:10.1038/nn.3628（2014）.
40. Bushnell, M. C., Ceko, M. & Low, L. A. Cognitive and emotional control of pain and its disruption in

chronic pain. *Nat Rev Neurosci* 14, 502-511, doi:10.1038/nrn3516（2013）.

41. Vachon-Presseau, E. *et al.* The Emotional Brain as a Predictor and Amplifier of Chronic Pain. *J Dent Res* 95, 605-612, doi:10.1177/0022034516638027（2016）.
42. Ding, H., Smith, R. G., Poleg-Polsky, A., Diamond, J. S. & Briggman, K. L. Species-specific wiring for direction selectivity in the mammalian retina. *Nature* 535, 105-110, doi:10.1038/nature18609（2016）.
43. Rheaume, B. A. *et al.* Author Correction: Single cell transcriptome profiling of retinal ganglion cells identifies cellular subtypes. *Nat Commun* 9, 3203, doi:10.1038/s41467-018-05792-3（2018）.
44. Shekhar, K. *et al.* Comprehensive Classification of Retinal Bipolar Neurons by Single-Cell Transcriptomics. *Cell* 166, 1308-1323 e1330, doi:10.1016/j.cell.2016.07.054（2016）.
45. Azimzadeh, J. B., Fabella, B. A., Kastan, N. R. & Hudspeth, A. J. Thermal Excitation of the Mechanotransduction Apparatus of Hair Cells. *Neuron* 97, 586-595 e584, doi:10.1016/j.neuron.2018.01.013（2018）.
46. Cooper, N. P., Vavakou, A. & van der Heijden, M. Vibration hotspots reveal longitudinal funneling of sound-evoked motion in the mammalian cochlea. *Nat Commun* 9, 3054, doi:10.1038/s41467-018-05483-z（2018）.
47. Inaoka, T. *et al.* Piezoelectric materials mimic the function of the cochlear sensory epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 18390-18395, doi:10.1073/pnas.1110036108（2011）.
48. Niimura, Y., Matsui, A. & Touhara, K. Extreme expansion of the olfactory receptor gene repertoire in African elephants and evolutionary dynamics of orthologous gene groups in 13 placental mammals. *Genome Res* 24, 1485-1496, doi:10.1101/gr.169532.113（2014）.
49. Damm, M. *et al.* Olfactory training is helpful in postinfectious olfactory loss: a randomized, controlled, multicenter study. *Laryngoscope* 124, 826-831, doi:10.1002/lary.24340（2014）.
50. Rother, K. I., Conway, E. M. & Sylvetsky, A. C. How Non-nutritive Sweeteners Influence Hormones and Health. *Trends Endocrinol Metab* 29, 455-467, doi:10.1016/j.tem.2018.04.010（2018）.
51. Shaik, F. A. *et al.* Bitter taste receptors: Extraoral roles in pathophysiology. *Int J Biochem Cell Biol* 77, 197-204, doi:10.1016/j.biocel.2016.03.011（2016）.
52. Howitt, M. R. *et al.* Tuft cells, taste-chemosensory cells, orchestrate parasite type 2 immunity in the gut. *Science* 351, 1329-1333, doi:10.1126/science.aaf1648（2016）.
53. Yao, K. *et al.* Restoration of vision after de novo genesis of rod photoreceptors in mammalian retinas. *Nature* 560, 484-488, doi:10.1038/s41586-018-0425-3（2018）.
54. Takayama, Y., Uta, D., Furue, H. & Tominaga, M. Pain-enhancing mechanism through interaction between TRPV1 and anoctamin 1 in sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112, 5213-5218, doi:10.1073/pnas.1421507112（2015）.
55. Xiong, H. *et al.* Activation of miR-34a/SIRT1/p53 signaling contributes to cochlear hair cell apoptosis: implications for age-related hearing loss. *Neurobiol Aging* 36, 1692-1701, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.12.034（2015）.
56. Jang, J. *et al.* A microelectromechanical system artificial basilar membrane based on a piezoelectric cantilever array and its characterization using an animal model. *Sci Rep* 5, 12447, doi:10.1038/srep12447（2015）.
57. Kwak, J.-H., Jung, Y., Song, K. & Hur, S. Fabrication of Si3N4-Based Artificial Basilar Membrane with ZnO Nanopillar Using MEMS Process. *Journal of Sensors* 2017, 1308217, doi:10.1155/2017/1308217（2017）.

## ２．２．６　脳・神経科学

### (1) 研究開発領域の定義

脳科学は基礎生命科学の一分野であるとともに、精神・神経疾患を対象とする医学、さらに心理学・教育学・経済学・倫理学等の人文社会科学、そして人工知能を扱う数理科学等、多彩な学問をカバーする巨大な学際領域である。研究対象のスケールも分子レベルから個体や社会レベルに至る多階層性をもつ。このために、個々の分野での技術革新とともに、学際性・多階層性に対応した研究システムの整備が必須である。

### (2) キーワード

チャネル、受容体、シナプス、神経回路、認知機能、行動実験、光遺伝学、膜電位プローブ、カルシウムプローブ、ウイルスベクター、可塑性、記憶、学習、意思決定

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

脳の働きを解明することは、ヒトがヒトたる所以に挑むという意味において、人類にとって最も根源的な生命科学の一分野である。ヒトの脳の基盤は 1000 億個に及ぶ神経細胞が 1000 兆個に達するシナプスによって相互に接続することにより形成される神経回路網にある。機能素子としての神経細胞の基盤は、電気信号を作り出すためのさまざまなイオンチャネルとその活性調節機構である。一方、神経回路の基盤となるのはシナプスによる神経細胞間の正確な配線とともに、学習や環境によってシナプス接続強度を変化させる機構にある。最終的な個体レベルとしての脳機能は、神経回路ユニットがさまざまな脳領域において情報を処理することによって発揮されると考えられる。このように観測する構造や現象のレンジがイオンチャネル分子レベル（$10^{-10}$m）から個体レベル（m）まで多階層にわたることが脳科学の最大の特徴の一つである。このために、それぞれのレベルでの研究を進展させるのみではなく、階層を越えるための技術革新が必要である。例えば神経回路レベルでは 100 個前後の個々の神経細胞の活動を計測することが可能であるが、個体レベルでは脳波（10 万個）や機能的核磁気共鳴画像法（fMRI; 8 万個）の神経活動の平均値しか記録できず大きなギャップが未だに存在する。また脳機能をさまざまなヒトの行動レベルの研究と結び付け、心理学・教育学・経済学・倫理学等の人文社会科学との学際領域を発展させていくためには、階層を越えるための新しい技術開発や研究体制が必要となっている。現代社会の喫緊の課題である高齢社会での認知症、社会的ストレスとうつ、ギャンブルやネット依存症の増加など、脳科学を基盤とした精神神経疾患の克服に向けて脳科学の成果を活用するためにも、学際性・多階層性に対応した技術開発と研究システムが必要となっている。

**[研究開発の動向]**

以下では、まず（３－１）分子細胞神経科学、（３－２）神経回路研究、（３－３）システム神経科学（モデル動物）、（３－４）回路モデル・理論神経科学という四つの階層に分けて現在の研究状況を記載する。（３－５）に、近年の光遺伝学や回路解析技術の技術革新を踏まえて、後者３つの階層を統合するために日本、米国、EU において 2013 ～ 2014 年に開始された大

規模プロジェクトについて記述する。トランスレーショナルリサーチについては「２．３５精神神経疾患」の項に記載する。

### （3-1）分子細胞神経科学

全遺伝子配列が決定され、機能素子としての中枢神経細胞を構成する主要なイオンチャネルをコードする遺伝子もほぼ判明した。末梢神経における主要な感覚受容性イオンチャネルの実体も味覚（酸味）やコルチ器の機械受容器などを除けばほぼ同定された。しかし、味覚・嗅覚系受容体ではGタンパク質共役型受容体（GPCR）が多く使われているが、ヒトでは未だに100個ほどのGPCRは内因性リガンドが不明な孤児受容体である。例えば痛覚神経突起に発現するGPCRは、脊髄の後索でグリア細胞が放出する脂質LysoPtdGlcを認識することにより正しい位置に投射できることが近年報告された[1)]。現在使用されている薬剤の約40%がGPCRを標的としていることからも、未知の機能を有する受容体の同定はまだまだ残された重要な分野である。

一方、機能素子としての神経細胞の研究の舞台は原子レベルでの構造解析に大きくシフトしつつある。この背景には、結晶化しないまま分子の構造解析を可能とするクライオ電顕（2017年ノーベル化学賞）の技術革新がある。イオンチャネル構造の解明は、イオンチャネルの遺伝子変異によって引き起こされる自閉スペクトラム症やてんかんなどのチャネロパシーの病態解明に貢献している。中枢神経系において興奮性・抑制性伝達を担う主要な受容体であるグルタミン酸受容体[2,3)]やGABA受容体[4,5)]の構造や作動機序の解析も進み、構造に基づいた薬剤開発への道が開けつつある。しかし、これらの受容体は脳部位や神経回路に応じて異なったサブユニット構成と機能をもつことから、まだその構造と機能の全貌解明には至っていない。またアルツハイマー病で蓄積するタウタンパク質の構造[6)]など、神経変性疾患における蓄積タンパク質の構造解析も進み、新しい診断・治療法開発に繋がることが期待されている。後述するシナプス形成分子についての構造解析も活発に研究が進展している[7)]。

神経細胞の発生・分化過程についても解明が進んだ。この分野はトランスレーショナルリサーチとして、iPS細胞から各種神経細胞に分化させたり、オーガノイドを作る技術開発と連動して更に研究が進むことが期待される[8)]。発生・分化過程におけるエピジェネティクス制御についても、さまざまなエピゲノム解析技術の進歩とともに解明が進んでいる。一方、神経細胞の老化機構については今後の重要な課題として残されている。また、記憶成熟後に海馬で維持される成体神経幹細胞の存在とその意義についてはまだ議論が続いている[9)]。近年、単一細胞におけるRNA解析技術（scRNA-seq）の進展によって、神経細胞のさらなる多様性が明らかとなった。例えば従来は形態や一部のマーカータンパク質によって数種類に分類されていた抑制性神経細胞は、海馬だけでも47種類以上のサブタイプに分類されることがわかってきた[10)]。脳の各部位に存在する神経細胞のサブタイプとその機能や分化機構の解析も残された重要な課題である。

神経細胞が神経回路を正しく形成するためには、まず特定の神経細胞の軸索を特定の脳領域に投射させることが必須である。限られた数の遺伝子（ヒトは$2 \times 10^4$個強）によって$10^{15}$に達する神経細胞間の配線を成し遂げる軸索ガイダンス機構については、線虫、ショウジョウバエ、小型魚類などのモデル動物を用いた研究によって基本的な概念の解明が進んだ。ただし、種によって特異的な軸索ガイダンス機構が存在することから哺乳類モデルでの解明は必須であ

る。特に軸索の伸展を阻害する機構の解明は、脊髄損傷後の治療法に繋がるトランスレーショナルリサーチの観点からも注目されている。

神経回路形成の最重要なステップは、軸索投射先において正しい神経細胞間にシナプスを形成する過程である。シナプス形成・維持・除去を制御する分子群はシナプスオーガナイザーと呼ばれ、細胞接着分子・分泌分子・細胞外足場分子に大別される[11,12]。シナプスは遺伝子コードによって形成されるのみではなく、神経活動に応じて動的にリモデリングされることが、二光子顕微鏡による生きた動物個体内での観察によって明らかとなってきた。多くの精神・神経疾患や発達障害患者では、脳領域間の接続状態に異常があることが近年の脳画像研究により分かっている。実際に、これらの疾患においてシナプスオーガナイザー遺伝子変異も多く報告されている。シナプスオーガナイザーについてもモデル動物を用いた研究によって基本的な概念の解明が進んだ。しかし、哺乳類にしか発現しないシナプスオーガナイザーも多く[12]、シナプス数の飛躍的な増大と、神経活動による制御機構に対応したシナプスオーガナイザー機能解析については哺乳類モデルにおいてとりわけ進展させる必要がある。近年、光学的な空間分解能を越えたSTED、PALM/STORM、SIMなどの超解像度顕微鏡技術が開発され（2014年ノーベル化学賞）、シナプス構成分子が神経活動に応じてシナプス内で一定サイズの塊（ナノカラム）単位で増減することが判明し、神経活動に応じたシナプス増大機構の一端が明らかとなってきた[13]。しかし、個々のシナプスを構成するタンパク質を解析する技術[14]や、シナプス分子の局在解析のためのラベリング技術[15]が限られていることが律速段階となっており、哺乳類でのシナプスオーガナイザーの機能解析は今後の喫緊の課題である。

軸索維持[16]やシナプスリモデリング[17]において、グリア細胞が大きな役割を果たすことが明らかとなった。グリア細胞の機能障害はアルツハイマー病[18]やうつ病[19]などの精神・神経疾患の病態においても重要な役割を果たすことが明らかになりつつある。

神経系・免疫系・代謝系を連動させるシグナリング機構も大きく注目を集めている分野である。腸内細菌による血液脳関門や脳機能の制御[20]は精神神経疾患や発達障害との関連が指摘されている。脂肪細胞が分泌するアディポカインは脳において摂食のみでなく認知機能にも影響する[21]。自律神経系は免疫細胞に存在する神経伝達物質受容体を介して免疫系の機能を制御する[22]。

### （3-2）神経回路研究

マウス、ラット、マーモセットなどの小動物への遺伝子導入技術と脳活動計測技術を組み合わせた神経回路研究が急速に発展している。特に、脳機能（感覚、運動、記憶学習、意思決定など）に関与する大域的な情報伝達を解明する研究手法の重要性は高まっている。

まず遺伝子導入に関連しては、逆行性ウイルス・トレーサーを利用した特定の投射経路やプレシナプス細胞への遺伝子導入技術が、日欧米の研究室で開発が進み普及しつつある[23]。更に、CRISPR-Cas9によるゲノム編集でのモデル動物の作製が普及し、個体の遺伝子改変技術は安価かつ短期間ですむものとなった。

次にイメージング関連技術として、まず脳の透明化技術では日本が健闘している[24]。一方で、電子顕微鏡の自動撮像技術は、米国ではATUMtomeとMulti SEMによるコネクトーム研究が進み[25]、ドイツではSBEMとMulti SEMによるマウス全脳の再構築が試みられている[26]。これらの装置は日本にも導入されており（東京大学、慶応大学、生理学研究所、OIST）、今後

の活用推進が必要である。

個体レベルでの顕微鏡イメージングでは、米国やスイスで数～ 10 ミリ四方の広範囲や離れた 2 視野を同時に観察できる二光子レーザー顕微鏡が開発され[27]、日本でも同様の試みがなされている。ハンガリーや米国では音響光学素子を使った 3 次元二光子レーザー顕微鏡などの技術開発が続けられている[28]。米国の Inscopix 社からは、自由行動下の小動物の脳深部からのイメージングが可能な超小型の内視鏡システムが販売されている[29]。$Ca^{2+}$ 感受性タンパクは日本でも改良が進んでいるが、米国の GENIE 計画（Janelia 研究キャンパス）は組織的開発として注目に値する[30]。また、膜電位感受性タンパク質は時間分解能が活動電位を捉えられる速さに達し、***in vivo*** 実験が開始されつつある[31]。

光を用いた神経活動の操作を可能とする光遺伝学技術については、米国（スタンフォード大学など）を中心として、さまざまな波長、興奮抑制、機序、応答性を示す分子が次々に開発されている[32]。光遺伝学的な G タンパク共役型分子（ドイツ）や $Ca^{2+}$ チャンネル（日本、韓国）も報告されている。霊長類では化学遺伝学的な DREADD 法が選択されることが多い。このような回路遺伝学ツールでは神経活動の興奮性を主にターゲットとする。しかし神経活動に応じた神経細胞間のシナプス伝達強度の可塑的調節機構こそが長期抑圧（LTD）や長期増強（LTP）として記憶・学習を担うとされている。このような観点から光照射によって LTP や LTD[33] そのものを制御する技術の開発が必要である。

多点電極による多細胞記録、ホールセル記録、傍細胞記録などの電気生理学的技術は、スパイクを検出する時間分解能では断然優位であるものの、技術革新が滞っていることは否めない。ただ、米国 Intan 社の安価で良質な多チャンネル増幅チップが出現し[34]、スパイクデータの解析リソースも規格統一され[35]、多細胞記録が普及しやすい環境が整ってきた。

光と電極以外の脳機能読み出し技術としては、MRI・PET の高度化が求められる。小動物の MRI に関しては、米国では 15 ～ 21 テスラの超高磁場 MRI を利用した多核種（$^{13}C$, $^{17}O$, $^{23}Na$, $^{31}P$）の脳代謝イメージング[36]、ドーパミンなどの神経伝達物質イメージング[37]、超時空間分解能（50 ms、50 μm）の脳機能イメージング[38]、神経トレーシング[39] など、高精度に脳活動や神経結合を可視化する新技術が出現している。欧州も超高磁場 MRI を有し、フランスでは神経活動の直接的な計測法[40]、ドイツでは毛細血管レベルでの脳機能イメージングの開発を進めている[41]。日本でも小動物用に沖縄科学技術大学院大学（OIST）の 11 テスラ装置、霊長類用に理研 BSI の 9.4 テスラ装置などが導入され、高精度脳機能イメージングが開始されつつある[42]。中国では超高磁場装置の研究例は少ないが、香港大学では 7 テスラ装置を使った研究が活発である[43]。韓国では最先端の超高磁場装置を有する研究所が設立された[44]。

一方、小動物の PET については、米国では空間分解能の理論的限界（0.6 mm）に近づき[45]、アルツハイマー病や脱髄疾患などの診断を目指したプローブの開発が進んでいる[46]。ドイツでは MRI と PET の同時計測装置が開発されている[47]。日本でも理化学研究所など複数の研究機関で、マウス・ラットやマーモセットを使用し、精神神経疾患の診断に向けた分子プローブを開発する PET 研究が進んでいる[48]。中国では高エネルギー物理研究所が PET 装置を開発し、中国の 10 以上の大学に設置されている[49]。韓国も MRI と PET の融合装置の開発を進めている[50]。

### （3-3）システム神経科学（モデル動物）

システム神経科学研究は、各脳部位の情報表現様式を明らかにしようとする主にマカクザルを用いた電気生理学的研究と、その情報表現と動物の行動との因果関係を解明しようとする神経活動の介入・操作研究によって発展してきた。近年、この因果関係を調べるための光遺伝学や化学遺伝学の手法がげっ歯類を中心に開発されてきた。

【げっ歯類】

遺伝子改変技術を駆使して研究目的に合致したモデルマウスを作成して研究を行うことが世界標準になってきている。特に光遺伝学技術の開発によって特定の細胞腫、特定の回路・経路の機能をミリ秒オーダーで操作することが可能になり、これらの細胞・回路・経路の機能を因果論的に立証できることが研究パラダイムの飛躍的進展をもたらした。そこに疾患遺伝子をもつモデル動物の開発、さらにゲノム編集技術の開発が進展を後押しをしている。その中で従来はマウスでは調べられてこなかったような「脳機能」をマウスで調べようとする傾向が顕著にみられる。従来、マウスはその生態学的特徴から、空間記憶やヒゲの触覚やロコモーションなどの生得的な行動が主に研究されてきたが、最近は頭部固定下で従来サルを対象として用いられてきたような行動課題を訓練し、上肢の随意的運動、視覚認知、意思決定に関連する研究が、多チャネル神経活動記録や２光子レーザー顕微鏡や光遺伝学的操作が組み合わせて行われるようになってきた。それによって、従来マウスでは困難であったような高次脳機能やその障害としての精神神経疾患研究が進展しつつある。一方で行き過ぎを懸念する声もある。基本的にマウスとヒトでは種々の機能のどこまでを大脳皮質に依存し、どこから皮質下構造が分担しているかが異なっているので、マウスだけで高次脳機能を理解しようとすると結局ヒトに外挿する際に間違いを犯す可能性がある。その点で霊長類の研究とうまく組み合わせて進めることが重要である。

上述した光遺伝学・化学遺伝学的手法を用いた研究のほとんどは、げっ歯類を対象に行われてきた。近年は、ヒトと同じ霊長類であるマカクザルでもこれらの手法の開発が進んでおり、光遺伝学による細胞種特異的[51]・神経路特異的[52]な活動操作が可能になりつつある。現在のところ、これらの手法の適用は眼球運動系や視覚系に限られているが、今後、霊長類で特に発達した前頭前野や大脳基底核が担う高次脳機能（意思決定や作業記憶など）をターゲットにした神経回路活動操作研究が進むものと推測される。

脳の情報表現を明らかにしようとする電気生理学的研究でも新しい展開が見られる。ここ数年来、報酬価値や意思決定に関わる脳内情報表現についての研究が多く行なわれているが、近年、霊長類が持つ“社会性”をターゲットにした研究が注目されている。これらの研究では、他個体と共に社会的行動を行なっているマカクザルの脳から神経活動を記録し、社会性に関わる脳内情報表現の理解が進みつつある[7,53,54]。

【霊長類】

ヒトに近い脳の構造と機能を有する非ヒト科霊長類は、高次脳機能を直接侵襲的手法を用いて分析的に研究することができる対象として長年用いられてきたが、ヒトに近い故の困難さもかかえてきた。今後の研究動向の鍵となるのが、遺伝子改変技術の応用による疾患などのモデル動物作製と光遺伝学をはじめとする回路操作技術の導入の成否であろう。現在、マウスを対

象として盛んに行われている研究パラダイムが必ずしもサルに用いることができていないのが問題である。前者については、時間がかかるも問題であるが、精子を早く成熟させる手法の確立が重要である。後者についてはウイルスベクターと光照射技術の改良が鍵である。

一方、先進諸国の Brain Project が開始され、それらの間の連携体制を構築する動きがある。その中で技術開発が共同で行われて加速することが望ましいが一方で、実験指針の共通化などが今後課題となってくる可能性がある。

以下、非ヒト科霊長類研究の各地域ごとの現況について概説する。

● 北米

非ヒト科霊長類を対象とする実験は長年動物実験に反対する団体のターゲットとされてきたが、基本的には多くの基幹的な大学や研究所において、各研究機関の規則に基づいて研究は着実に進められている。研究課題も高次認知機能から感覚運動機能、また疾患モデルや脳・脊髄損傷モデルまで多様である。手法も電気生理学から脳機能イメージング、光遺伝学、行動実験まで多岐にわたる。その中でブレイン・マシーン・インターフェースの開発にかかわる研究において複数の研究室が世界をリードしている。一方、コモンマーモセットを対象とする研究が遺伝子改変動物の作成も含めて増加してきている。

● 欧州

国ごとの違いが大きいが全体として困難を伴っている。先進国の中でもスイスや北欧は一部の例外を除いて研究は行われていない。イタリアも近年困難に直面している。英国、ドイツ、フランス、オランダ、ベルギーなどでは、少数の基幹的研究機関において集中的に研究が行われている。それらの研究機関では、十分に広い飼育環境において多頭飼育を行うなどサルの福祉に高いレベルでの配慮が行われることを条件とするなど、環境は良いが種々の制約がある。近年独マックスプランク研究所の研究者が、動物実験反対団体により研究室に侵入し撮影されネットに公開されたビデオによって反対運動の直接の標的となり、霊長類研究を断念することになった事件が多くの研究者に衝撃を与えた。一方、コモンマーモセットを対象とする研究が増加しつつある。

● 日本

歴史的にも多くの大学や研究所などで主にニホンザルを対象とする脳機能研究が行われてきた。動物実験に反対する団体の直接的な活動があまり活発でないこと、またナショナルバイオリソースプロジェクトによってサルが比較的低価格で入手可能であることから、ウィルスベクターによる遺伝子導入法の開発や解剖学的な研究など、頭数を要する基盤的な研究も多く行われている。マーモセットの遺伝子改変動物の作製に成功し、「革新脳」プロジェクトが開始され、これまでげっ歯類を用いてきた研究者とマカクザルを用いてきた研究者の両方の層からマーモセット研究に参入してきている。

● 中国

欧米では困難だが重要な研究領域として、国策としてサルの研究を推進し始めている。欧米から多くの研究者がリクルートされており、急激に研究者層が厚みを増している。特に以前からあった研究用マカクザル輸出のための大規模飼育施設と繁殖体制を基盤として、遺伝子改変マカクザルの研究を展開し、この分野での国際的優位性を確立しつつある。

【ヒト】

ヒトを対象にしたイメージング研究では、従来から行なわれている脳機能局在や情報表現についての研究とは異なり、安静時脳活動計測やグレンジャー因果解析等を用いて、非侵襲的にヒトの神経回路機能を理解しようと試みられている[55]。米国の Human Connectome Project では、ヒトの構造 MRI、安静時・課題時 fMRI、および、拡散 MRI を 1000 人規模で取得し、データを公開している[56]。このデータを用いて、安静時脳活動結合パターンのバイオマーカとしての活用や脳部位のパーセレーション（区域分け）の研究が進んだ。一方、脳イメージングの解析に、機械学習の手法が幅広く用いられるようになり、脳情報の読み出し（ブレイン・デコーディング）技術が飛躍的に進歩した。ブレイン・デコーディングは、日本が世界に先駆けて切り拓いた分野であり、夢の内容や想起内容の可視化も実現している[57]。

### （3-4）回路モデル、理論神経科学

脳科学は実験的研究と理論的研究の両者が車の両輪の様にして発展してきた。Barlow は、感覚系の情報処理の目標を、外界からの入力の冗長性を減らし独立な活動として表現することとみなし、「効率的符号化仮説」を提唱した。これを発展させたスパース符号化モデルにより、視覚一次野の受容野形状を計算機上で再現できることが明らかになった。一方、Helmholtz 以来、感覚系の重要な機能として、感覚入力から外界の状態を推論する仕組みが研究されてきた。近年、将来の感覚入力のより良い予測を実現させるように脳が構造化されるとする「予測符号化」の枠組みに発展し、階層ベイズ推定と組み合わせたモデルが提唱されている。Friston は、感覚系の静的なモデルを拡張し、能動的なアクションにより予測誤差を減らす推論機構をもつモデルを提案した。また、これらの統合的な枠組みとして、自由エネルギー最小化を原理とする認識と学習の統一理論を提唱している[58]。

ニューラルネットワークモデルは、日本で甘利、福島らによって開始された学習理論が重要な基礎となっているが、近年、これを階層化した巨大なモデル（深層ニューラルネットワーク）をビッグデータで学習させるアプローチに発展した。現在、Google 等の巨大企業が猛烈なスピードで実用に結びつく研究開発を進めている。Google DeepMind の創始者であり、Alpha Go などの開発で知られる Hassabis は、神経科学のさまざまな知見や概念が、近年の人工知能の発展にインスピレーションを与えたこと、また、今後も神経科学とのコラボレーションが重要であることを指摘している[59]。また最近、大規模自然画像データで学習した深層ニューラルネットワークの情報表現がヒトやサルの脳の情報表現と類似することが報告されており[60]、「インスピレーション」を超えた神経科学と人工知能の融合が期待される。一方、深層ニューラルネットワークの学習はブラックボックス化されており、学習がなぜうまくいくのかについての理論的解明はあまり進展していない。また、脳のように、わずかな経験からフレキシブルに学習する人工知能も実現していない。次代の人工知能の開発のためにも理論神経科学の成果は期待されている。

### （3-5）脳機能の全容解明を目指した大規模プロジェクト

2013-2014 年より、米国においては The Brain Research through Advancing Innovative Neurotechnologies（BRAIN）Initiative[61]、EU においては Human Brain Project（HBP）[62]、日本においては Brain Mapping by Integrated Neurotechnologies for Disease Studies

（Brain/MINDS）[42,63] と呼ばれる脳科学研究の大型プロジェクトが相次いで開始された。これらのプロジェクトの共通する特徴は、（ｉ）脳情報の読み出しや制御に関係する革新的な技術の開発を目指すこと、（ii）脳全体の構造や機能のマップを作成することで、全脳レベルでの脳機能の解明を目指すこと、（iii）脳の理論や計算機科学を活用した融合型研究を目指すこと、（iv）得られた脳に関するデータを公開し、精神・神経疾患の克服に活用すること、といった点にある。個々の研究者のボトムアップ的な努力のみでは脳という複雑な臓器全体の機能解明は難しく、ヒトゲノムプロジェクトの発想に近い、トップダウン型で国際連携にも重点を置いたプロジェクトを実施することが、脳の理解を飛躍的に進めるためには不可欠である、という共通の認識に基づいている。米国の BRAIN Initiative は技術開発、EU の HBP は計算論に基づいた脳のモデル化、日本の Brain /MINDS は霊長類モデルを活用したマップ作成[64,65]、というそれぞれの特色を生かしつつ、これらのプロジェクトが緊密な国際連携を行うことが、このような大型研究の成功には不可欠であり、現在そのような努力が行われている。



### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

- グリア細胞、血管、末梢神経系、脂肪細胞、腸内細菌などを含む生体環境という観点から捉えた神経系・免疫系・代謝系など多くの系を繋ぐ脳と他臓器の相互作用の研究は多くの研究者の注目を集め、新規の学際領域として発展しつつある。
- クライオ電顕は日本において藤吉博士（名古屋大学）により開発が進められた技術である。当時はタンパク質の二次元結晶が必要であったが、その後カメラや計算アルゴリズムの飛躍的進歩によって結晶化が不要な単粒子解析法として革命的進化を遂げた。シナプス分子の構造機能連関解明のみでなく、神経変性疾患の蓄積タンパク質などにも応用できる画期的な技術であり、日本は激しい国際競争の中で戦略的に投資する必要性がある。
- 神経細胞の多様性は単一細胞 RNA 配列読み出し（scRNAseq）技術革新によって解明が進んだ。しかし比較的多い細胞数のものに限られており今後はより少ない細胞や、局所神経回路を構成する神経細胞の個性決定に応用されることが予想される。
- シナプス個性を明らかにするために、シナプス単位でのタンパク質解析（シナプトミクス）技術が開発されつつある。また同定されたシナプス分子のシナプスレベルでの局在を解析するためのラベリング技術も開発されつつある。この分野での技術開発はまだまだ必要性が高く、今後戦略的に投資する必要がある。
- 超解像度顕微鏡の開発は、個々のシナプスにおいて神経活動に応じたシナプス分子の変化を可視化することを可能とした。しかし超解像度顕微鏡（数 10 ～ 100 nm）と電子顕微鏡（サブ nm）との階層を繋ぐための相関顕微鏡の必要性が高まっている。国産光学顕微鏡や電子顕微鏡メーカーと戦略的にタイアップした学際的研究が必要である。
- 個体深部イメージング、超解像顕微鏡技術の開発、更に計測範囲の広域化・多領域化、計測装置の小型化など、脳の構造と機能のイメージングに関連した技術開発が活発に行われ、注目を集めている。
- $Ca^{2+}$・膜電位プローブ、光遺伝学、ゲノム編集、ウイルスベクターなどの分子生物学的ツールの開発は、今後も急速に発展する見込みである。国際競争は極めて熾烈であり、裾野への普及も早い。

- シナプス可塑性（LTD）そのものを光制御できるツールが開発され、シナプス単位の可塑性と個体レベルでの記憶・学習との直接の因果関係が証明された。今後もLTPなど他の可塑性を直接に制御可能な光遺伝学ツールの開発が必要である。
- 小動物用のMRIやPETのイメージング技術は欧米アジアともに政策的な支援のもとで多様な新技術が開発されている。
- 光遺伝学技術によるマウスの海馬や周辺領域の神経回路活動操作により、記憶の神経メカニズムについての理解が大きく進展し、記憶を担う神経細胞集団（エングラム）の存在が示された[66,67,68,69]。
- ヒトと同じ霊長類であるマカクザルを対象にした光遺伝学・化学遺伝学技術の開発が進展しつつあり[51,52,70]、霊長類が持つ高次脳機能の神経回路基盤についての理解が進むものと期待される。
- 他個体と共に社会的行動を行なっているマカクザルから神経活動を記録し、霊長類が持つ社会性の神経基盤を明らかにしようとする試みが進んでいる[71,72,73])。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

- Human Connectome Projectにより、大規模ヒト脳イメージングデータのデータベース化・共有化が進んだ。
- 深層ニューラルネットワークモデルにもとづく人工知能研究がブームとなり、Googleなどの巨大企業が人材を集め、実用を目指した開発競争が激しくなっている。一方で、深層ニューラルネットワークと脳の相同性が明らかになり、神経科学との融合研究が今後発展するものと期待される。
- 主要先進国で脳機能の全容解明を目指した大型の脳研究プロジェクトが次々と立ち上がり、更にこのような国家プロジェクト間の連携を強化することも提唱されつつある。

### (5) 科学技術的課題

- 脳とそれを含む個体の内部環境の相互作用を解析する研究の重要性は認識されているが、このような研究を可能にする計測技術はまだ発展段階にある。光音響技術などの新しい計測モダリティーが必要とされる。
- 神経回路の構造と機能を調べる計測技術は日進月歩の進化を遂げているが、肝心の小動物の行動実験系の開発が世界的に遅れている状況である。小動物の行動課題は厳密性に欠ける例が少なくない。神経科学と動物心理学や動物行動学との学際的協働が必要であろう。
- 日本が得意とし、神経科学の主流にあった電気生理学は停滞気味である。しかし潜在的な研究者数は保たれており、各機関に実験設備や環境が十分に整備されている。生理学のビッグデータ化と人工知能（深層学習）が組み合わさると、脳情報の解読技術にブレイクスルーが生じる可能性がある。
- マカクザルを含む霊長類動物モデルにおいても光遺伝学・化学遺伝学技術の開発が進展しつつある。しかし、げっ歯類に比べて利用可能なツールは極めて少なく、霊長類が持つ高次脳機能の神経回路基盤についての理解は遅れている。霊長類動物モデルにおける神経回路活動操作技術の早急な開発が望まれる。
- うつや統合失調症などの精神疾患モデル動物がげっ歯類を中心に作成されているが、ヒト

に近縁な霊長類動物モデルの作成は大きく遅れている。精神疾患の霊長類動物モデルを作成し、基礎研究から臨床研究への橋渡しをおこなう拠点の整備が望まれる。

・ 脳機能の全容解明を実現するには大規模なデータを蓄積し、その効率的な利用を行うためのデータハンドリングの技術が必要とされるが、まだ要素技術の開発の段階にある。

### （6）その他の課題

・ 神経科学は学際的研究の成否がカギとなるため、実験生物学者を中心として心理学研究者と理論系研究者が対等に参加する共同研究を実現することが望ましい。そのためには、同一研究機関や同一研究室に異分野の研究者が共存し、学際的な人材育成が可能な研究制度の整備が理想的である。

・ 実験機器の大型・高額化により個々の研究室が研究設備を整備する従来のスタイルは立ち行かなくなっている。大型機器や運用人材を整備したコアファシリティを施設内あるいは施設間で運営する方式に切り替えていく必要性が広く認識され、その実現のための予算配分方式の改革が必要と考えられている。

・ 近年、人工知能研究が急速に進展し、自動車の自動運転技術など、我々の生活を大きく変える新たな技術の開発が進んでいる。その中で、ヒトが持つ“知能”を生み出す脳を対象にした神経科学研究は、たとえば視覚皮質階層構造のディープラーニングへの応用など、人工知能研究に大きな刺激を与えてきた。人工知能研究と神経科学研究の融合を更に進め、大きなイノベーションを生み出すためにも、新たなファンディング制度や産官学連携の枠組みの確立が待たれる。

・ 情報系では、Google などの巨大企業やベンチャーが高待遇により人材を集めており、理論・計算神経科学のバックグラウンドをもつ研究者や脳に関心を持つ情報系学生の流出が進んでいる。

・ 脳機能の全容解明を実現するには大規模データの保管、処理、公開を行うためのインフラが必要とされる。我が国では多くの大規模プロジェクトが 5 年程度の時限付きのものであり、恒久的なデータの蓄積、処理、公開を行うための仕組みが存在しない点は大きな問題となっている [74]。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | → | ・大学と研究機関に人材と研究リソースがバランスよく配置され、他国では維持しにくい脳科学研究に必須の生理学的解析技術などが高い水準にある。これに比例して、脳機能生理学的研究は世界をリードしている。<br>・融合的研究の展開に必要な研究グループの形成が日本独自の班研究制度（特定領域研究、新学術領域研究）によって培われてきた。<br>・脳の重要な機能分子のノックアウト動物に関する多面的な解析によって、顕著な業績が多数出ている。<br>・脳の全容解明プロジェクトが立ち上がり、霊長類の脳神経回路に重点を置いた研究プロジェクトとして国際的に認知されている。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・脳の基礎研究を基にした精神・神経疾患の診断や治療の新規手法開発には、脳機能の理解がまだ不十分である。日本に限らず基礎と臨床の間の「死の谷」を埋めるための戦略が不十分である。<br>・一方で国内の製薬企業は脳関連の創薬に対して欧米の企業よりも積極的であり、産官学の連携を強化することで今後の展開が期待できる。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | ・分子細胞レベルからシステムレベルの研究まで層の厚い研究が実施されており、新技術の開発とそれを活用した研究の展開をきわめて効率よく実現する体制が整備されている。<br>・米国防高等研究計画局による研究プログラム（SyNAPSE）ではニューロシナプティック半導体チップを組み合わせて 100 兆個のシナプスで接続された 100 億個の電子ニューロンを含むデジタル版の脳の作成を目指し、研究を推進。<br>・動物用超高磁場 MRI 装置や、最新鋭の PET 装置などを用いて精力的な可視化研究を推進。<br>・BRAIN Initiative は、10 年間で 45 億ドルの予算で、脳のネットワークの全体像解明を目指す研究を進めている。<br>・公的な研究資金に加えて、財団等からの多額の出資によって作られた脳研究に特化した研究所（Allen Institute, Janelia Farm など）が、技術開発やデータベース作成のハブ機関として機能している。<br>・ワシントン大学やミネソタ大学を中心とする Human Connectome Project で、1000 人超規模のヒト脳イメージングデータのデータベース化・共有化が進んでいる。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・製薬会社自体が持つ研究所が大規模かつ能力が高く、基礎研究からその応用までの過程が円滑に進むシステムが整備されている。<br>・研究環境が整備されている一方で、脳関連の創薬は成功する確率が低く、中枢神経系の創薬を企業の研究開発の項目に入れることが企業の投資家からの評価を下げる傾向にある。このような市場からの圧力を受けやすい点は脳関連の創薬を推進する上で負の効果を与えている。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | → | ・神経系の研究については伝統ある研究室が多く、高い研究レベルが維持されている。<br>・Human Brain Project は、スーパーコンピューター上に、ジュネーブ近郊にある欧州合同原子核研究機構と同程度の計算能力を有する完全なるヒトの脳モデル作成を目指しており、EU が 16 億ドルの予算で立ち上げた。<br>・IMAGEN プロジェクトは、欧州各国がコンソーシアム型の領域融合型で研究を推進し、脳の機能的ネットワーク上で発現する遺伝子の同定などに成功している [75]。<br>・ドイツでは研究の主力が大学から研究所に移ってしまっており、国際的な研究を行うことと若手を育成することの間に乖離が生じている。<br>・社会的な要因から霊長類を用いた脳研究を行うことが困難になりつつある。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・世界的に大きな影響力を持つ製薬企業が存在し、脳関連の創薬についても実績を持つ。一方でアメリカと同様に脳関連の創薬については市場からのネガティブな評価が存在する。 |
| 中国 | 基礎研究 | △ | ↗ | ・基礎脳研究については大型の投資が行われ、上海などに脳研究のハブとなる研究所を設置、米国などから優れた研究者の引き入れを積極的に行っている。その結果、インパクトの大きな研究成果が発信される例が急増している。<br>・霊長類の遺伝子組み換え技術を活用して、ヒトの精神・神経疾患のモデルを霊長類で作成する試みが積極的に行われており、成果も出つつある。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ・人口の多さを活用して、精神・神経疾患のゲノム研究においては圧倒的な強みを発揮している。臨床研究や治験においても同様に臨床データを効率良く短期間で集める試みが開始されており、今後の急速な発展が予想される。 |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | ↗ | ・脳の基礎研究は特定の分野で世界的な成果を挙げているが限定的であり、研究者の層は比較的薄い。<br>・大型の脳研究プロジェクト（総額約 340 億円）の立ち上げが 2016 年 5 月に発表された。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ・精神・神経疾患の診断治療法への展開を目指した研究開発は積極的に行われ、国からの支援も得られている。研究者の層が薄いために、全体としての生産性は高いとは言えない。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1) Guy AT, Nagatsuka Y, Ooashi N, et al. (2015) Glycerophospholipid regulation of modality-specific sensory axon guidance in the spinal cord. Science 349:974–977

2) Song X, Jensen MØ, Jogini V, et al. (2018) Mechanism of NMDA receptor channel block by MK-801 and memantine. Nature 556:515–519

3) Meyerson JR, Kumar J, Chittori S, et al. (2014) Structural mechanism of glutamate receptor activation and desensitization. Nature 514:328–334

4) Miller PS, Aricescu AR (2014) Crystal structure of a human GABAA receptor. Nature 512:270–275

5) Zhu S, Noviello CM, Teng J, et al. (2018) Structure of a human synaptic GABAA receptor. Nature 559:67–72

6) Fitzpatrick AWP, Falcon B, He S, et al. (2017) Cryo-EM structures of tau filaments from Alzheimer's disease. Nature 547:185–190

7) Elegheert J, Kakegawa W, Clay JE, et al. (2016) Structural basis for integration of GluD receptors within synaptic organizer complexes. Science 353:295–299

8) Mungenast AE, Siegert S, Tsai L-H (2016) Modeling Alzheimer's disease with human induced pluripotent stem (iPS) cells. Mol Cell Neurosci 73:13–31

9) Sorrells SF, Paredes MF, Cebrian-Silla A, et al. (2018) Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults. Nature 555:377–381

10) Zeisel A, Muñoz-Manchado AB, Codeluppi S, et al. (2015) Brain structure. Cell types in the mouse cortex and hippocampus revealed by single-cell RNA-seq. Science 347:1138–1142

11) Yuzaki M (2018) Two Classes of Secreted Synaptic Organizers in the Central Nervous System. Annu Rev Physiol 80:243–262

12) Südhof TC (2017) Synaptic Neurexin Complexes: A Molecular Code for the Logic of Neural Circuits. Cell 171:745–769

13) Tang A-H, Chen H, Li TP, et al. (2016) A trans-synaptic nanocolumn aligns neurotransmitter release to receptors. Nature 536:210–214

14) Uezu A, Kanak DJ, Bradshaw TWA, et al. (2016) Identification of an elaborate complex mediating postsynaptic inhibition. Science 353:1123–1129

15) Wakayama S, Kiyonaka S, Arai I, et al. (2017) Chemical labelling for visualizing native AMPA receptors in live neurons. Nat Commun 8:14850

16) Ueno M, Fujita Y, Tanaka T, et al. (2013) Layer V cortical neurons require microglial support for survival during postnatal development. Nat Neurosci 16:543–551

17) Wu Y, Dissing-Olesen L, MacVicar BA, et al. (2015) Microglia: Dynamic Mediators of Synapse Development and Plasticity. Trends Immunol 36:605–613

18) Hong S, Beja-Glasser VF, Nfonoyim BM, et al. (2016) Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models. Science 352:712–716

19）Cui Y, Yang Y, Ni Z, et al.（2018）Astroglial Kir4.1 in the lateral habenula drives neuronal bursts in depression. Nature 554:323–327
20）Schroeder BO, Bäckhed F（2016）Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease. Nat Med 22:1079–1089
21）Arnoldussen IAC, Kiliaan AJ, Gustafson DR（2014）Obesity and dementia: adipokines interact with the brain. Eur Neuropsychopharmacol 24:1982–1999
22）Kenney MJ, Ganta CK（2014）Autonomic nervous system and immune system interactions. Compr Physiol 4:1177–1200
23）https://www.salk.edu/scientist/edward-callaway/（E. Callaway lab, Salk Institute）
24）http://cfds.brain.riken.jp/（A. Miyawaki lab, RIKEN BSI）
25）http://lichtmanlab.fas.harvard.edu（J. Lichtman lab, Harvard University）
26）http://www.neuro.mpg.de/denk（W. Denk lab, Max Planck Institute）
27）http://physics.ucsd.edu/neurophysics/index.php（D. Kleinfeld lab, UC San Diego）
28）Katona G, Szalay G, Maák P, et al.（2012）Fast two-photon in vivo imaging with three-dimensional random-access scanning in large tissue volumes. Nat Methods 9:201–208
29）https://www.inscopix.com/（Inscopix, Inc.）
30）Janelia Reserch Campus（Janelia Reserch Campus）
31）Gong Y, Huang C, Li JZ, et al.（2015）High-speed recording of neural spikes in awake mice and flies with a fluorescent voltage sensor. Science 350:1361–1366
32）Emiliani V, Cohen AE, Deisseroth K, et al.（2015）All-Optical Interrogation of Neural Circuits. J Neurosci 35:13917–13926
33）Kakegawa W, Katoh A, Narumi S, et al.（2018）Optogenetic Control of Synaptic AMPA Receptor Endocytosis Reveals Roles of LTD in Motor Learning. Neuron 99:985-998.
34）http://intantech.com/（Intan Technologies）
35）http://www.open-ephys.org/（Open Ephys）
36）https://nationalmaglab.org/user-facilities/nmr-mri/nmr-instruments/
37）http://web.mit.edu/jasanofflab/（A. Jasanoff lab, MIT）
38）https://neuroscience.nih.gov/ninds/Faculty/Profile/alan-koretsky1.aspx（A. Koretsky lab, NIH）
39）https://neuroscience.nih.gov/Faculty/Profile/leslie-ungerleider.aspx（L. Ungerleider lab, NIH）
40）http://i2bm.cea.fr/drf/i2bm/Pages/NeuroSpin.aspx（NeuroSpin）
41）http://www.kyb.tuebingen.mpg.de/research/dep/ks/brain-imaging-facilites.html（Max Planck Institute）
42）Okano H, Miyawaki A, Kasai K（2015）Brain/MINDS: brain-mapping project in Japan. Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci 370
43）http://www4.hku.hk/bisplab/（University of Hong Kong）
44）http://cnir.ibs.re.kr/html/cnir_en/（IBS Center For Neuroscience Imaging Research）
45）http://bme.ucdavis.edu/cherrylab/（S. Cherry lab, UC Davis）
46）Chien DT, Szardenings AK, Bahri S, et al.（2014）Early clinical PET imaging results with the novel PHF-tau radioligand [F18]-T808. J Alzheimers Dis 38:171–184
47）Wehrl HF, Hossain M, Lankes K, et al.（2013）Simultaneous PET-MRI reveals brain function in activated and resting state on metabolic, hemodynamic and multiple temporal scales. Nat Med 19:1184–1189

48）Maruyama M, Shimada H, Suhara T, et al.（2013）Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls. Neuron 79:1094–1108
49）http://www.spc.jst.go.jp/hottopics/1012fusion/r1012_shan.html
50）http://nri.gachon.ac.kr/d_03_e.html（Gachon University）
51）Klein C, Evrard HC, Shapcott KA, et al.（2016）Cell-Targeted Optogenetics and Electrical Microstimulation Reveal the Primate Koniocellular Projection to Supra-granular Visual Cortex. Neuron 90:143–151
52）Inoue K, Takada M, Matsumoto M（2015）Neuronal and behavioural modulations by pathway-selective optogenetic stimulation of the primate oculomotor system. Nat Commun 6:8378
53）Zovkic IB, Paulukaitis BS, Day JJ, et al.（2014）Histone H2A.Z subunit exchange controls consolidation of recent and remote memory. Nature 515:582–586
54）Ahrens MB, Engert F（2015）Large-scale imaging in small brains. Curr Opin Neurobiol 32:78–86
55）Allen EA, Damaraju E, Plis SM, et al.（2014）Tracking whole-brain connectivity dynamics in the resting state. Cereb Cortex 24:663–676
56）Van Essen DC, Smith SM, Barch DM, et al.（2013）The WU-Minn Human Connectome Project: an overview. Neuroimage 80:62–79
57）Horikawa T, Tamaki M, Miyawaki Y, et al.（2013）Neural decoding of visual imagery during sleep. Science 340:639–642
58）Friston K（2010）The free-energy principle: a unified brain theory? Nat Rev Neurosci 11:127–138
59）Hassabis D, Kumaran D, Summerfield C, et al.（2017）Neuroscience-Inspired Artificial Intelligence. Neuron 95:245–258
60）Yamins DLK, DiCarlo JJ（2016）Using goal-driven deep learning models to understand sensory cortex. Nat Neurosci 19:356–365
61）http://www.braininitiative.nih.gov/
62）https://www.humanbrainproject.eu/
63）http://brainminds.jp/
64）Cyranoski D（2014）Marmosets are stars of Japan’s ambitious brain project. Nature 514:151–152
65）Huang ZJ, Luo L（2015bm）It takes the world to understand the brain. Science 350:42–44
66）Ryan TJ, Roy DS, Pignatelli M, et al.（2015）Memory. Engram cells retain memory under retrograde amnesia. Science 348:1007–1013
67）Rajasethupathy P, Sankaran S, Marshel JH, et al.（2015）Projections from neocortex mediate top-down control of memory retrieval. Nature 526:653–659
68）Ramirez S, Liu X, MacDonald CJ, et al.（2015）Activating positive memory engrams suppresses depression-like behaviour. Nature 522:335–339
69）Roy DS, Arons A, Mitchell TI, et al.（2016）Memory retrieval by activating engram cells in mouse models of early Alzheimer’s disease. Nature 531:508–512
70）Eldridge MAG, Lerchner W, Saunders RC, et al.（2016）Chemogenetic disconnection of monkey orbitofrontal and rhinal cortex reversibly disrupts reward value. Nat Neurosci 19:37–39
71）Chang SWC, Fagan NA, Toda K, et al.（2015）Neural mechanisms of social decision-making in the primate amygdala. Proc Natl Acad Sci USA 112:16012–16017
72）Báez-Mendoza R, van Coeverden CR, Schultz W（2016）A neuronal reward inequity signal in primate striatum. J Neurophysiol 115:68–79

73）Yoshida K, Saito N, Iriki A, et al.（2012）Social error monitoring in macaque frontal cortex. Nat Neurosci 15:1307–1312
74）生命科学における研究資金のあり方 . 日本学術会議 .
75）https://imagen-europe.com/

## 2.3　基礎基盤科学技術―分析・計測技術（医療機器）

### 2.3.1　電子顕微鏡

#### (1) 研究開発領域の定義

ここでは生体分子の立体構造を原子レベルに近い高分解能解析を可能にするなど近年目覚ましく進展したクライオ電子顕微鏡、高分解能の微細構造データを広範囲の生物組織から高速に取得し、高効率の画像解析と立体再構築技術を併用することで、生命現象の裏付けを担う生体構造を細胞小器官～組織レベルで解明するための手法の確立を目指す走査電子顕微鏡による３次元解析法（3 次元イメージング）、さらには数千枚から数万枚規模の画像データを取得し、画像スティッチング技術を用いたタイリング処理によって巨大な組織超微形態画像（広域電子顕微鏡画像）を作製する広域電子顕微鏡法、および特定分子を標的とした観察と、電子顕微鏡を用いた組織の超微形態画像の観察を同一組織で実現する光－電子相関顕微鏡技術を扱う。

#### (2) キーワード

広域電子顕微鏡、光－電子相関顕微鏡、走査型電子顕微鏡、Serial block-face scanning electron microscopy（SBF-SEM）、Focused ion beam-scanning electron microscopy（FIB-SEM）、クライオ電子顕微鏡、電子線直接検知型カメラ、単粒子像解析、構造ゲノミクス、トモグラフィー、神経回路、コネクトミクス

#### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

タンパク質を始めとする生体分子の原子分解能レベルでの立体構造情報は、医学・創薬・生命科学のあらゆる分野における基礎研究・応用研究に極めて有用となる基盤情報である。生体分子の立体構造解析の基盤技術としてこれまで主に使われてきたのはＸ線結晶解析法とＮＭＲ分光法であるが、前者には試料の結晶化という困難なプロセスが必要で、後者には解析対象の分子量に約 5 万という上限があり、構造解析の対象に大きな制限をかけている。クライオ電子顕微鏡による単粒子像解析法では、わずか数十マイクログラムの水溶液試料で解析できるという手軽さが特徴であり、対象がこれまで解析が困難か不可能と思われていた膜タンパク質や巨大な超分子へ大幅に広がるとして、国内外で大きな期待と注目を集めている。また、生体を構成する分子、細胞内小器官、細胞および組織などの多階層にわたる構造の空間的分布は、医学や基礎生命科学における病態生理や生命現象の深い理解に不可欠な、基礎となる情報である。蛍光などにより標識された分子や構造の観察が主体の光学顕微鏡観察と異なり、電子顕微鏡観察では分子～組織レベルの多階層の構造の包括的な観察できるため、光学顕微鏡では得難い構造情報を得ることができる。従来の電子顕微鏡観察では非常に薄い切片や試料の表面のみを観察するため、非常に限られた範囲の構造データしか取得できなかった。しかし走査型電子顕微鏡（SEM）観察技術の発展に伴って、連続電子顕微鏡画像の取得が簡便かつ高速になり、様々な細胞や組織の大容量超微構造情報の 3 次元再構築や広い範囲の超微細形態観察を容易に行うことが可能になってきた[1),2)]になってきた。広域電子顕微鏡では広い範囲の超微形態画像を取得することで、中枢神経組織における神経連絡など、一定以上の大きさのある構造においても、単一シナプスレベルの高分解能や、臓器の小葉構造全体の微細構造観察、ズームイン、ズー

ムアウト観察などが可能となり既知の構造のオミックス化を可能にし、画像の定量評価を促進するだけでなく、今後、生体でのレアイベントや未知生命現象の発見、超早期毒性試験などにも大きく貢献するものと期待されている。近年では電子顕微鏡画像と光学顕微鏡画像を同一組織、同一切片において観察し、分子の局在と微細構造観察を可能とする光－電子相関顕微鏡技術の開発も進められている。

［研究開発の動向］

【クライオ電子顕微鏡法】

クライオ電子顕微鏡法については、国内では藤吉好則、豊島近、難波啓一らによる先駆的な研究により、膜タンパク質の二次元結晶やらせん対称性を持つチューブ状あるいは繊維状構造体について原子分解能での構造決定が他国に先行してなされてきた。画像検出器が写真フィルムであった 2000 年代半ばまでの時代である。その後、電子線を光に変換して画像を検出する CCD による高画質画像収集が効率化され、構造解析に要する期間は複数年から数週間のオーダーにまで短縮されたが、2013 年頃に実用化された電子線直接検出型 CMOS カメラ（Direct Electron Detector: DED）は、その高感度と高速フレームレートを活かした動画モードでの高画質電顕画像の取得を可能にし、それが大きなブレークスルーとなった。この DED により、試料の結晶化も対称性も必要としない単粒子像解析による構造解析法で、原子レベルに近い高分解能を 1 ヶ月程度の短期間に達成できる方法が確立されたのである。これにより、膜タンパク質を含む生体分子複合体で原子モデルの構築が可能となる分解能での構造決定成功例が爆発的に増え続けている。

生物試料用の「通常の」クライオ電子顕微鏡は、数千万円～1 億円以上の高額機器ではあるが、国内の主要な大学・研究機関にはある程度の数が設置されており、必ずしも放射光施設や高磁場 NMR の様な拠点を必要としない。国内メーカーの日本電子や日立製作所の製品が多く導入されている。ただ、これらの電子顕微鏡では凍結試料グリッドの装填が手動で時間がかかるため、生体分子を凍結包埋した氷薄膜ができるだけ薄くて電子顕微鏡像コントラストが高い試料グリッドを探索するスクリーニングの効率が悪く、また自動撮影による高速画像データ収集も困難で、個々の生体分子試料の構造解析に数百枚から数千枚の電子顕微鏡像を必要とする単粒子像解析では、効率的な成果の産出を期待できる装置ではない。商品化されている DED は、現状では Gatan 社製 K2 シリーズ、FEI 社製 Falcon シリーズ、Direct Electron 社製 DE シリーズのみで、これらを搭載したクライオ電子顕微鏡は国内でも理化学研究所や東大、名大、阪大を含めまだ 15 台ほどしか導入されておらず、その半数近くが 2017 年以降の導入である。このため、日本は近年の原子分解能構造決定の潮流に大きく乗り遅れている。

前述のとおり、生体分子の原子立体配置を可視化する立体構造決定には DED による高画質画像データが数百枚から数千枚必要なため、その効率的な収集を可能にする自動撮影装置と自動撮影ソフトを備えた FEI の 300 kV クライオ電子顕微鏡 Titan KRIOS が事実上世界のスタンダードとなっている。しかし、国内で同機を導入した機関は大阪大学（3 台）、東大（1 台）、沖縄科学技術大学院大学（1 台）のみである。世界では同機がすでに 150 台以上導入されている現状を考えると、わが国の状況と遅れは深刻である。ただ、2010 年頃より日本電子と大阪大学が共同開発を進めた、凍結試料グリッドの自動装填と自動撮影が可能なクライオ電子顕微鏡 CRYO ARM シリーズ（200 kV、300 kV）が 2017 年に完成し、FEI が保有しない

要素技術である冷陰極電界放射型電子銃（Cold FEG）の発生する干渉性の高い電子線により、Titan KRIOS を陵駕する高分解能を達成できる可能性が期待されている。国内では名大と理研 SPring-8 に、海外では英国グラスゴー大学とベルギーのブリュッセル自由大学に導入されており、各機関から数多くの成果が続々と発信されるのが待たれるところである。

クライオ電子顕微鏡像の単粒子像解析による生体分子の原子分解能構造決定に寄与しているもう一つの大きなファクターは、画像解析プログラム RELION である。2017 年のノーベル化学賞を受賞した３名の研究者は、クライオ電子顕微鏡分野のパイオニアで、スイス・ローザンヌ大学のジャック・デュボシェは生体試料の急速凍結法を開発、英国 MRC 分子生物学研究所のリチャード・ヘンダーソンは膜タンパク質２次元結晶で近原子分解能の解析を成し遂げ、米国コロンビア大学のヨッキム・フランクは単粒子像解析プログラム SPIDER を開発した。RELION は SPIDER のアルゴリズムを基盤として、英国 MRC 分子生物学研究所の Sjors Scheres によって開発された極めて使い勝手のよい解析ソフトで、学部生レベルでも短期間の習熟で高分解能の解析が可能になる。RELION のもうひとつの大きな特徴は、単一条件で作成した凍結試料グリッドで収集した電子顕微鏡像から複数の構造状態を解析できることである。生体分子の立体構造はその機能発現のために柔軟で、熱ゆらぎで大きく変化する。結晶化した場合はその最も安定な構造が結晶格子の中に固定されるが、そもそもの柔軟さや動的な構造のために結晶化が困難になる場合が多い。水溶液中ではそのような制限がないため機能発現に関わる複数の構造状態が混在しており、それらを同時に観察できるのがクライオ電子顕微鏡の特徴である。RELION は電子顕微鏡像に混在する複数の構造状態の生体分子像を構造毎に分けて解析できるため、混在する複数の立体構造を同時に解析可能である。RELION は無料のパブリックドメインソフトとして広く公開されており、これによって膨大な数の電子顕微鏡像データからの立体構造解析が飛躍的に加速した。2016 年には汎用 GPU プロセッサーでの利用に対応したことでさらに高速化され、計算機の導入に必要な予算も大幅に軽減された。

クライオ電子顕微鏡で対称性の低い分子量 100 万以下の生体分子の構造解析を原子分解能で到達したのは、UCSF の Yifan Cheng が 2013 年に膜タンパク質 TRPV1 の構造解析で 3.3 Å で解析したのが最初である [3)]。以降、すでに 3000 以上の構造が報告されている。2016 年には酵素複合体グルタミン酸脱水素酵素で 1.8 Å という最高分解能が報告され、タンパク質に配位したリガンドやイオンや水分子も見えるようになった [4)]。プロテインデータバンクに登録されたＸ線結晶構造の分解能中央値が 2.0 Å で、これを超える分解能として注目を集めた。一般に電子顕微鏡による構造解析は巨大な分子ほど有利で、分子量 10 万が最小限界と推測されていたが、後述のとおりこれについても記録を破る例が出つつある。

【３次元イメージング】

３次元微細構造解析は古くから連続超薄切片の透過型電子顕微鏡観察により行われてきたが、高度な技術と多大な労力が必要であり、その応用と解析対象の大容量化は大きく制限されていた。しかし、2004 年の SEM の内部で試料の切削と観察を行う SBF-SEM をはじめとして [5)]、2008 年前後の FIB-SEM の生命科学分野への本格的な応用 [6)]、そして 2010 年前後の ATUM の導入などを通して [7)]、走査型電子顕微鏡を使った簡便・高速な連続画像データの取得が普及したことで、広く世界中で用いられるようになってきている。また、基板上に回収した連続切片を走査型電子顕微鏡で観察する Array tomography と呼ばれる手法は特別な機器を必要としないことから、従来の連続切片観察に代わる安価かつ比較的容易な方法として用いられている [8)]。

近年は米国の BRAIN initiative、欧州の Human brain project など、脳の構造と機能を理解するための大規模プロジェクトが世界中で進行しており、その中でコネクトミクスと呼ばれる脳の神経細胞の結合様式を明らかにする目的で、走査型電子顕微鏡による 3 次元再構築が広範囲の微細構造解析に用いられており、技術革新をもたらす原動力となっている。ここ数年の傾向として、こうした脳科学分野におけるデータ取得と解析の大容量化の傾向に加えて、他分野における様々な解析対象に対する応用研究において、方向性の異なる技術開発の動向がみられている。

SEM による 3 次元観察技術の普及には、試料作製、観察、データ解析などの各段階における技術革新が大きく貢献している。特に米国 Mark Ellisman らの染色法を端緒とした、十分な重金属の沈着による高い画像コントラストを可能にする試料作製方法の普及は、データの革命的な改善をもたらした[9)]。また、走査型電子顕微鏡による生物試料のイメージングでは低い導電性のためのチャージングの問題が大きいが、こうした問題に対して包埋剤の物理的特性を変化させ、導電性の向上や電子線ダメージの低減を実現させる試みが行われた[10),11)]。さらに 2015 年頃よりコネクトミクス分野を中心として、脳全体にも及ぶ巨大な組織に対し均一かつ高品質の染色を行う技術や、試料の分割・観察・再統合による効率的な大容量観察を実現するための技術の開発が進められ、大容量データの取得に向けた試料作製方法の改良が行われた[12),13)]。

観察に用いる顕微鏡の進歩も大きい。チャージングを低減し、様々な試料から高品質なデータの取得を行うために、走査型電子顕微鏡内で金属コーティングや局所ガス噴射などの処理を可能にする付属装置の開発が進められている。一方で、コネクトミクス領域における 61 ないし 91 本の電子ビームでサンプルの広範囲から同時に画像を取得する Multi-beam SEM の登場は、観察速度の大きな向上を実現した。解像度が固定されており、多様な目的での観察には不向きだが、コネクトミクスの脳組織イメージングのような、特定の用途のための大容量データの取得には、極めて高いスループットを発揮する。機器の開発によるデータ取得の汎用性の向上と高速化は、今後も続くことが予想される。

得られた大容量データの取り扱いと解析法の開発は喫緊の課題である。ここ数年、特に特定の構造を抽出するセグメンテーションでは、ゲーム化によって一般人の参画を促す試みや、企業参入による有料事業化など、多くの取り組みが行われた。その中でも人工知能を用いた自動解析の開発は精度が著しく向上してきており、必要であった人的コストの大幅な削減が実現しつつある。また、大容量データの保存と転送は企業の参入により、クラウドを使用したデータの取り扱いが、データ損失の可能性を低減し、また多くの研究者によるデータ解析の効率化のため、利用されつつある。

線虫のコネクトーム研究の動向からも明らかなように、今後は脳科学分野においても、また他分野においても、他のイメージング技術との統合がより一層進むものと考えられ、特にアカデミア、企業が連携して、光学 - 電子顕微鏡法のためのプローブ開発、観察法の研究が進められている。様々なモダリティの情報を統合するためのワークフローとアルゴリズムの確立に向けた取り組みは、今後も進められていくと予想される。

【広域電子顕微鏡法】

広域電子顕微鏡では主に走査型電子顕微鏡が使用されることが多く、組織上の局所の高倍率画像を２次元方向に連続撮像し、取得した数千枚から数万枚の画像を画像スティッチング技術

によるタイリング処理によって大量の画像情報を含む広範囲の超微形態画像を作製する。そのため、電子顕微鏡画像の撮像時間がかなりの長時間におよぶため（撮像範囲の広さ、倍率に依存）、各電子顕微鏡メーカーによってオートフォーカス機能を含めた自動撮像技術の開発が進められている。加えて、スキャンスピードを向上させたり、電子ビームを分割するなど、撮像時間を短縮させるための技術開発も進められている。一方で、撮像時間を短縮するための、透過型電子顕微鏡による広域撮像への応用も見直され始めている。光ー電子相関顕微鏡システムについても、各メーカーが新機器の開発・販売を展開している。また、いくつかのメーカーはこうした技術の開発促進と普及、情報交換を目的に、研究センターを開設するなど、機器の開発にとどまらず、技術サポートやコミュニティーの形成にも努めている。

一方、昨今急速に進展した情報科学技術は、大量のデータを取得することで深層学習（ディープラーニング）による人工知能解析等を実現し、画像のような非言語情報の解析も可能にした。こうした技術は、さまざまなイメージングモダリティーの中でも最も豊富な組織画像情報を含む電子顕微鏡画像において、組織・細胞・細胞小器官等の特徴を自動抽出し、定量評価することを可能にしつつある。特に、広域電子顕微鏡画像には数百、数千以上の細胞が含まれるなど、情報量が爆発的に大きくなってきており、人の手による解析が困難になりつつある。今後、広域電子顕微鏡技術を駆使して生命現象を網羅的に画像情報として取得し、取得した画像ビッグデータを解析する技術の進展が加速することは疑いようがない。



### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

【クライオ電子顕微鏡法】

分子量 10 万以下の低分子量ターゲットの構造解析を推進するために注目される技術が FEI のボルタ位相板である。入射電子線だけを通す微小ホールを持ったゼルニケ位相板による位相差観察で小さな生体分子を観察する技術開発は生理学研究所の永山国昭らにより行われ、この技術開発に従事したラドスチン・ダネフがドイツのマックスプランク研究所（バウマイスター研）において、FEI の開発した微小ホールを持たないボルタ位相板の活用法を工夫し、ボルタ位相差コントラスト（VPC）法により分子量 6 万程度のヘモグロビン 4 量体の原子構造決定に成功した[14]。その後、創薬ターゲットの中心的存在でもある膜タンパク質複合体の G タンパク質共役受容体膜の構造もこの VPC 法で解析されており[31]、今後様々な生体分子に応用が広がると期待されている。日本電子も同様の技術を保有し、ホールフリー位相版という名で販売しており、CRYO ARM などのクライオ電子顕微鏡に装備することが可能である。

クライオ電子顕微鏡法におけるもう一つの注目技術は、クライオ電子線トモグラフィー（クライオ ET）法である。単粒子像解析法では、対象となる生体分子がすべてほぼ同じ構造を取っていることが必須条件であるが、クライオ ET 法は、細胞やインフルエンザウイルスのようなエンベロープを持つウィルス等、個々の粒子の形が不定形でも立体構造を解析できる技術である。細胞やウィルス粒子の急速凍結氷包埋試料を± 60° ないし± 70° の範囲で傾斜させて数十枚の傾斜像を撮影し、個々の細胞や粒子の立体構造を決定する。個々の対象に対して数十枚の傾斜像を撮影するため、電子線照射総量は 100 ～ 150 e-/Å$^2$ と、単粒子像解析のおよそ 30 e-/Å$^2$ に比べてかなり多くなることは避けられず、電子線照による試料損傷は大きく、個々のトモグラムでは 100 Å 程度の低分解能しか得られない手法であったが、DED による画像分解

能の向上や、サブトモグラム平均とよばれる画像解析法の工夫により、数多くのトモグラムから抽出した数百数千の生体分子立体像を平均することで分解能を向上させ、HIV ウィルス粒子の表面にびっしりと並ぶ CA-SP1 タンパク質では近原子分解能に迫る結果が出されている[15)]。この技術は、究極的には細胞や組織の中に存在する分子のその場（in situ）での構造解析を可能にするものとして期待されているが、細胞では急速凍結試料の厚さが 1 μm を超えると電子線を通さなくなるため、集束イオンビーム（FIB）により 200nm 程度の適度な厚さの凍結切片を作成してクライオ ET 観察する方法も開発されている[16)]。商用機としては FEI の Aquilos が販売されており、国内でも東京大学と大阪大学に設置済みである。

医学・生命科学や創薬分野におけるクライオ電子顕微鏡法の重要性は世界各国の政府に強く認識され、各国のファンディングは急速な増加を見せており、特に米国、独国、英国、中国ではクライオ電子顕微鏡の導入が急ピッチで進んでいる。FEI のクライオ電子顕微鏡 Titan Krios（300 kV）や Talos Arctica（200 kV）は、この 2 ～ 3 年で 150 ～ 200 台がこれらの国および地域に導入された。

【3 次元イメージング】

SEM による 3 次元解析では、X 線顕微鏡による 3 次元イメージングとの併用が注目されている。X 線顕微鏡では解像度が細胞レベルにとどまるために大きく制限されているものの、非破壊で広範囲から構造情報を取得できるため、SBF-SEM や FIB-SEM による観察の前にサンプル内の細胞や血管の分布の概略を捉えることで、全体の構造との対応や、ラベルされた細胞の分布の把握を行うことが可能である。新たな材料の開発と応用は、走査型電子顕微鏡によるイメージングの撮影の安定性と画質の向上につながるという知見が得られている。カーボンフィラーによる導電性樹脂の作製や、カーボンナノチューブテープの使用など、観察試料の導電性の大きな向上をもたらす材料開発が今後企業との共同で進められると考えられる[17)]。

また、得られたデータの解析における人工知能の活用は、従来のボトルネックであった解析にかかる膨大な人的コストを革命的に低減させる可能性が高い。最近、Google から発表された Flood filling network をはじめとして[18)]、いくつかのグループのアルゴリズムは人間と遜色ないセグメンテーションの正確性が達成できる可能性を示唆しており、今後の汎用性および頑強性のさらなる向上が期待される。

【広域電子顕微鏡法】

近年、小動物の全脳の神経回路網を広域電子顕微鏡で観察する方法が報告された[19),20)]。これらの研究は主にニューロインフォマティクス研究を目的としたものであり、観察対象は主に中枢神経における神経連絡とシナプス接続である。

一方、脳神経系以外の臓器・組織も対象とした広域電子顕微鏡の研究はオランダとわが国で進められている。特に、オランダでは「Nanotomy」と称する広域電子顕微鏡画像のデータセットが公開されている[21),22)]。微生物や哺乳類など、研究者がそれぞれの研究分野の対象組織を撮像しており、ヒトの組織も含まれている[23)]。

また、ユーザーフレンドリーなビューアシステムの構築や、取得画像を遠隔地から観察できるシステムも独自に開発されており、電子顕微鏡の専門でない医学・生命科学領域の研究者・医師が容易に電子顕微鏡画像情報を利用できる工夫がなされている。最近では、広域電子顕微鏡技術を用いたヒト疾患診断のための研究も進められ始めている。

光－電子相関顕微鏡技術については、同一組織における目的の分子（主にタンパク質）を蛍

光標識して観察し、さらに電子顕微鏡画像と重ねる技術がさまざま開発されている。こうした開発過程において、良好な電子顕微鏡観察を実現するための化学固定が、一般的な光学顕微鏡観察用の組織化学法や蛍光プローブに適さないことが一つの障壁となっていた。しかし、近年、新たな高機能蛍光プローブの開発やイメージング操作技術開発が進み、さらに電子顕微鏡用の組織固定や樹脂包埋技術の改良、組織の位置合わせ技術等の開発が進んだことで、同一組織、同一切片において目的分子の光学顕微鏡観察と、電子顕微鏡観察を合わせて行うことができるようになってきた[24),25),26)]。また人工ペルオキシダーゼを用いたラベル分子の検出は、プロテオミクス解析や構造間の相互作用の検出にも応用されている[27)]。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

【クライオ電子顕微鏡法】

ポスト構造ゲノミクス研究プログラムとしては、文部科学省によるターゲットタンパク研究プログラム（平成 19 年～ 23 年）および創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業の創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業（平成 24 年～ 28 年、ただし平成 27 年からは日本医療研究開発機構（AMED）に移管）があり、後者においては放射光施設（SPring-8、Photon Factory）、NMR（横浜市大、名古屋大、阪大蛋白研）、クライオ電子顕微鏡（阪大蛋白研）などの拠点を整備し、創薬研究を始め生命科学・医学分野の構造解析研究で国内の研究者を支援してきた。平成 29 年からはその後継事業として AMED による創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム（BINDS）事業がスタートし、優れたライフサイエンス研究の成果を医薬品等の実用化につなげることを目的として、放射光施設（SPring-8、Photon Factory）、クライオ電子顕微鏡、化合物ライブラリー、次世代シーケンサーなどの大型施設や装置を整備・維持し、積極的な外部開放による共用を実施する体制を構築している。この事業では、東大医学部、Photon Factory、阪大蛋白研に DED を装備した FEI のクライオ電子顕微鏡が導入設置された。

また、日本学術振興会新学術領域・学術研究支援基盤形成「先端バイオイメージングプラットフォーム」（平成 28 年～ 33 年）でも、生理学研究所と基礎生物学研究所を中核機関として数多くの国内連携機関が光学顕微鏡、電子顕微鏡、磁気共鳴装置等の導入を行い、先端バイオイメージングにおける研究支援を行っている。

英国では、ロンドンに Francis Crick Institute と名付けられた大規模なバイオメディカル研究所が 1,000 億円規模の予算で活動を開始したことで、クライオ電子顕微鏡施設も Titan Krios など最先端の装置を複数台そろえて充実したものになっている。2016 年には、英国のグラクソ・スミスクライン社やアストラゼネカ社など世界大手の製薬企業 5 社と米国電子顕微鏡メーカー FEI 社が、英国ケンブリッジの MRC 分子生物学研究所（MRC-LMB）及びケンブリッジ大学ナノサイエンスセンターとともに、クライオ電子顕微鏡による構造生物学を基盤とする創薬を目指した世界初となる共同研究を目的とした The Cambridge-Pharmaceutical Cryo-EM Consortium を設立した。また、MRC や BBSRC などの政府機関や Wellcome Trust 財団の支援により、10 を超える大学や研究機関に FEI の Titan Krios などのクライオ電子顕微鏡が導入されつつある。日本電子の CRYO ARM はグラスゴー大学にされた。その成果や到達分解能によっては導入数が増える可能性も期待される。こういったトレンドは、米国、欧州、中国、シンガポール、台湾、韓国などでも同様で、各国の医学・生命科学分野で中核的な役割を果たす大学や研究機関には、最先端クライオ電子顕微鏡の導入が積極的に進められており、米国、

独国、英国、中国ではその導入数の多さが特に顕著で、今後の医学・生命科学にとってのクライオ電子顕微鏡の重要性に対する政府機関の認識度の高さと深さが伺える。もうひとつのトレンドは、各国の放射光施設（英国 Diamond Light Source、米国 SLAC National Accelerator Laboratory、欧州 European Synchrotron Radiation Facility）に、共用施設としてクライオ電子顕微鏡を複数台設置した施設が付設されていることである。

【3 次元イメージング】

BRAIN initiative、Human brain project に追随する形で開始された日本の革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト（Brain MINDS）は、日本が強みを持つ霊長類のモデル動物であるマーモセットに注目し、その高次脳機能を担う神経回路の全容の解明を目標として、モデル動物の作出、解析技術の創出、およびそれらによる精神神経疾患の克服と情報処理技術の高度化への貢献を目指している。慶応大学を中心に ATUM を用いた大規模神経ネットワーク解析が行われており、その成果が期待される。

世界中での脳神経科学の大規模プロジェクトが進行する中で、米国 IARPA（Intelligence Advanced Research Projects Activity、情報高等研究開発活動）の主導する MICrONS（MachineIntelligence from Cortical Networks、大脳皮質ネットワークに基づく機械知能）が巨額の研究予算を配分し、コネクトミクス研究を推進している。100 $\mu m^3$の脳領域の完全なセグメンテーションデータの取得を完了し、次の段階である 1 $mm^3$の脳領域の解析が始まっている。既に高度な正確性を持つ自動解析技術などが創出されており、今後、他の分野への波及効果が期待される。

近年、アジア各国でも China brain project、Korea brain initiative といった脳神経科学を推進する大規模プロジェクトが開始されている。こうしたプログラムの中には走査型電子顕微鏡による大規模イメージング、コネクトミクス研究の推進が含まれていることから、今後はこれらの国々からも新技術の報告が行われる可能性が高い。

【広域電子顕微鏡法】

欧州を中心にバイオイメージングに関するコンソーシアム（Euro-BioImaging）が活動しており、さまざまなモダリティのイメージング技術の提供、技術的教育などが進められている[28]。その中で、広域電子顕微鏡技術や光－電子相関顕微鏡技術の提供も行われている。また、オランダでは「Nanotomy」と称する広域電子顕微鏡画像のデータセットが公開されている[21),22),23)]。

わが国では文部科学省科学研究費助成事業・新学術領域研究・学術研究支援基盤形成「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」（平成 28 年度 - 平成 33 年度）の中で、先端的な電子顕微鏡技術の支援が展開されている[29]。また、理化学研究所では動物（一部ヒトを含む）の各臓器の広域電子顕微鏡画像が取得され、データベース（RIKEN Microstructural Imaging Metadatabase）にて共有されている[30),31)]。また、主に植物を対象に光－電子相関顕微鏡システムの研究がメーカーと進められている。

一方、Google なども既に脳神経接続の網羅的解析（コネクトミクス）研究に乗り出しており、こうした世界の動きは、本基盤技術の開発が今世紀の医学・生命科学研究のみならず、社会・経済的インパクトの大きな注目分野であることを物語っている。

### (5) 科学技術的課題

【クライオ電子顕微鏡法】

クライオ電子顕微鏡システムの高解像度化と撮影の自動化が進んだ現在に至っても、この技術による構造解析はまだ一部のエキスパートに頼らざるを得ない状況にある。より汎用で一般的な計測解析技術となるためのボトルネックとなっている最大の課題は、急速凍結による試料グリッド調製法の再現性がよくないことである。原子分解能の構造解析に必要な数十万におよぶ生体分子画像をできるだけ短時間に収集するための急速凍結試料グリッドの作成で重要なのは、生体分子をできるだけ薄い氷薄膜に包埋して、カーボン薄膜に無数に開いたミクロンサイズの各ホールにできる限り多くの生体分子を均一に分散した状態で氷包埋することである。氷が厚いと電子線が透過せず、生体分子像のコントラストも解像度も低くなり、単粒子像解析による立体構造の分解能が低く留まるからである。FEI の Vitrobot や Leica の EM GP など、試料グリッドの急速凍結条件を PC 制御し再現できる装置は存在するが、それでも試料生体分子が水溶性か膜タンパク質かなど、試料分子の性質や水溶液条件の違いによって氷薄膜を適切な薄さに制御することは難しい。また、急速凍結のためにカーボン薄膜ホール内に試料水溶液の薄膜を形成させる際、生体分子が気液界面に吸い寄せられ、その強い疎水性によって分子の天然構造が変性することも効率的なデータ収集を妨げる原因となっている。よって、クライオ電子顕微鏡法を一般化するためには、試料グリッド急速凍結法の簡易化と高い再現性を持たせること、そして気液界面における変性を抑えることが必須で、現在でも様々な工夫が試みられている。例えば、グリッド上に敷いた孔あきカーボン薄膜の片面にグラフェンシートを敷いておき、試料水溶液を載せて生体分子をグラフェン表面に吸着させることにより、気液界面への接触を減らすとともに氷薄膜の厚さ制御を容易にするなどの工夫で、まだ成功例は少ないが、再現性の高い技術となるように確立を目指して開発すべき技術である。理想的には水溶液薄膜の両面をグラフェンシートで覆うことが望ましく、そのためのグラフェンサンドイッチ法の技術開発も重要で、この方法に適した試料グリッドの開発も必要である。

クライオ電子顕微鏡の動作を駆動する自動撮影ソフトの高度化や簡易化も、技術の汎用化と一般化の重要なポイントである。現状ではグリッド上の撮影すべき領域は人の目による判断に任されているが、AI などを活用した自動判断機能を可能にすれば完全自動撮影も夢ではない。現在ではまだ数日かけて数千枚の電子顕微鏡像を撮影した後に画像解析し、２次元クラス平均像や立体構造を得てからデータを評価するのが一般的である。この方法は非効率であるため、最近は撮影後すぐに画像解析専用コンピュータにデータを送り画像解析を並行して進めるパイプラインソフトが開発されつつあり、ここでも AI を活用して画像解析結果の自動評価を行うシステムの構築が望まれる。

また、DED によるクライオ電子顕微鏡像撮影では各視野を動画モードで毎秒数十フレーム撮影するため、一視野の撮影画像データは１ギガバイト以上にも達し、１セットの解析用データが数テラバイトを超えるため、このような大量のデジタルデータを転送・処理・保存する技術開発がハード・ソフトともに必要である。さらに、クライオ電子顕微鏡により決定された立体構造を適正に評価する手法もまだ確立されているとは言えず、指数関数的に増加する膨大な原画像データの経済的なアーカイブ法の構築とともに、計算機科学の果たすべき役割は大きい。今後、クライオ電子顕微鏡においても生の原画像データの開示や委託研究が盛んになると予想される。そのため撮影したデータを直接クラウド上に保存し、そのまま遠隔で解析できるサー

ビスの展開も予想される。

上述したクライオ ET 法による in situ 構造解析で原子分解能を達成する技術についても、汎用技術になれば生体組織中の各分子の構造や振る舞い、分子間の相互作用が見えるようになって、医学・生命科学分野でのインパクトは計り知れないが、現時点ではまだ特異な対象でのみ実現可能で、この実現に向けた様々な研究開発が重要である。

【3 次元イメージング】

SEM による 3 次元解析は高い有用性が見込まれるが、より広い分野への応用の中で特に課題となるのは、データ解析技術の向上であると考えられる。データ解析技術の研究開発は大規模プロジェクトの多い脳神経科学分野に偏っている傾向があり、現状では多くの場合、自動解析アルゴリズムは脳神経系に最適化されている。イメージングデータ毎の最適化も必要となる場合も多いことから、今後は汎用性・頑強性の高いアルゴリズムの構築が待たれる。また、機械学習や深層学習の応用においても、取得できるデータ量の増大にともなって、解析に必要な機械的資源（マシンリソース）は増大する。例えばスーパーコンピューターの活用は可能なのかなど、どのようにこうした資源の確保するのか、解決策の検討が必要である。また、アルゴリズム自体の改善によっても問題の解消は図れる可能性もあり、上記のような問題の解決のためには、生命科学、情報科学など他分野の研究者のさらなる連携を促す枠組みは必要である。

また、こうした自動解析の円滑な実施のためにも、良質なデータの取得を促進することが重要である。そのためにもイメージングに使用可能な新規導電性素材・染色法の開発や、チャージングなどのアーチファクトの抑制のための機器開発を、産学連携を通して推進する必要がある。

【広域電子顕微鏡法】

電子顕微鏡によって取得される生体組織の超微形態画像情報は、組織や細胞のフェノタイプ情報の中で圧倒的に大きな情報量を占め、きわめて有用性の高い画像ビッグデータを形成する。これまで、諸外国では中枢神経系におけるコネクトミクス研究は精力的に進められてきたが、全身臓器の系統的な超微形態画像情報の取得は遅れており、今後の多分野への波及効果も鑑み、わが国が特に注力すべき方向の一つである。特に、こうした組織画像のビッグデータ取得技術は、正常組織だけでなく、加齢や未病、さまざまな疾患における病態解明にも応用されるべきである。さらに、広域電子顕微鏡が実現する超微形態画像ビッグデータと他のオミクス情報との統合解析が可能になれば、医学・生命科学の爆発的進歩がもたらされることは信じるに難くなく、わが国がアジアや世界を牽引すべき領域であろう。

一方、こうした分野の研究を加速させるには、今後もさらに電子顕微鏡での撮像範囲の拡大と撮像時間の短縮が強く望まれる。また、画像ビッグデータ内の細胞、細胞小器官などの自動セグメンテーションなど、画像解析技術のさらなる開発も必須であり、わが国の他分野の研究者とメーカー企業、ベンチャー企業などが協力して進めるべき領域である。

### （6）その他の課題

【クライオ電子顕微鏡法】

クライオ電子顕微鏡法により、これまで結晶化できずに構造解析をあきらめていた無数の生体分子で構造解析が可能になり、構造解析の手法として今後益々ポピュラーになっていくに違いない。プロテインデータバンクに登録される構造数がＸ線結晶解析と肩を並べる日も近いだろう。そのような状況下において、国内では DED を搭載したクライオ電子顕微鏡の導入台数

が圧倒的に不足している現状を早急に解消する必要がある。同時にクライオ電子顕微鏡を操作、保守でき、構造解析まで行える研究者と技術者の育成を早急に行う必要がある。原子分解能の構造解析を可能にするクライオ電子顕微鏡製品は、世界的にも海外メーカー（FEI）の独占状態で、健全な技術開発競争による今後一層の技術進歩が停滞するだけでなく、サービス体制、メンテナンスコストの面でも極めて大きな問題である。かつては日本のお家芸であった電子顕微鏡解析分野であるが、生物学応用については 1990 年代以降の光学顕微鏡と蛍光プローブ技術の圧倒的な進歩により、蛍光ラベルした細胞の動態観察法が電子顕微鏡による生体組織の微細構造観察を押しのけ、生物学分野の電子顕微鏡市場は大きく縮小し、材料研究分野に比べて圧倒的に採算性が悪化したという経緯もある。新たなクライオ電子顕微鏡の開発では、大阪大学の難波グループが唯一、2010 年頃より日本電子と協力して自動撮影装置付きクライオ電子顕微 CRYO ARM の開発を進めているものの、昨年より販売を開始した CRYO ARM がようやく数台、国内および欧州や中国に導入され始めたばかりで、日本電子もまだまだ FEI に追いつく体制を構築できないでいる。よって、短期的には世界の潮流に遅れないよう FEI の最新鋭機の導入を加速するが必要であるが、長期的には国産の生物用クライオ電子顕微鏡の技術開発やその周辺技術の開発に大きく投資することが望まれる。また、

【3 次元顕微鏡法】

走査型電子顕微鏡による 3 次元解析は高いニーズにもかかわらず、利用可能な施設が限られている。幅広い活用の視点からは、企業との連携による、機器の低価格化、およびランニングコストの低減が必要である。

【広域電子顕微鏡法】

広域電子顕微鏡や光－電子相関顕微鏡などの新規技術の開発には、機器そのものの開発、改良も必須であり、産学連携など、メーカー側の役割も大きい。さらに、画像ビッグデータ解析などの分野では、ベンチャー企業などの参入にも期待したい。

また、電子顕微鏡領域に共通の課題は人材育成である。わが国では大学や研究機関で電子顕微鏡技術にたずさわる技師の数は減少傾向にある。国内の大学において、既に設置されている電子顕微鏡が老朽化しても最新の機器への買い替えを進めない、あるいは、技師を継続して雇用しないもあり、電子顕微鏡用の試料作製、撮像、画像評価ができる人材が不足している。電子顕微鏡機器は大きく発展し、扱いやすくなってきたが、実際の試料作製プロセスについては、未だ個人の知識と技能に頼るところが大きい。したがって、新しい電子顕微鏡技術の利用を希望する研究者のニーズに対応できるよう、研究者・技術者の育成、ユーザーへの講習などが活発化することに期待したい。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | → | AMED による創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム（BINDS）事業によるクライオ電子顕微鏡の施設整備と構造解析支援を開始。<br>Brain MINDS が開始された。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | 大阪大学蛋白質研究所と製薬会社 16 社による創薬産業構造解析コンソーシアムが活動開始<br>光 - 電子相関顕微鏡の進展。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | SLAC-Stanford、New York Structural Biology Center、Oregon Health & Science University にクライオ電子顕微鏡の共同利用拠点設立。<br>Brain Intiative、コネクトミクス研究進展。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ファイザー、Genentech 他製薬会社数社がクライオ電子顕微鏡を導入し製薬開発に利用開始。<br>ATUM の開発。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | Diamond Light Source にクライオ電子顕微鏡の共同利用拠点 eBIC 設立。<br>Human brain project による研究の進展。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | Cambridge university とアストラゼネカ等 5 つの製薬会社が “Cambridge Pharmaceutical Cryo-EM Consortium” を設立 |
| 中国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | クライオ電子顕微鏡では、清華大学、生物物理学研究所、上海国立蛋白質科学センター等にてクライオ電子顕微鏡の共同利用拠点稼働。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | 際立った情報なし |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | → | クライオ電子顕微鏡では目立った情報はないが、3 次元イメージングでは Koria Brain Intiative が開始、今後の動向に注目。 |
| | 応用研究・開発 | × | → | 際立った情報なし |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル
（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない
（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1) Briggman, K. L., and Bock, D. D.（2012）. Volume electron microscopy for neuronal circuit reconstruction. Curr. Opin. Neurobiol. 22, 154–161.
2) Ohno, N., Katoh, M., Saitoh, Y., Saitoh, S., and Ohno, S.（2015）. Three-dimensional volume imaging with electron microscopy toward connectome. Microsc. 64, 17–26.
3) Liao M1, Cao E, Julius D and Cheng Y. “Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy.” Nature 504,（2013）:107-12. doi: 10.1038/nature12822.
4) Merk A, Bartesaghi A, Banerjee S, Falconieri V, Rao P, Davis MI, Pragani R, Boxer MB, Earl LA, Milne JLS and Subramaniam S. “Breaking Cryo-EM Resolution Barriers to Facilitate Drug Discovery.” Cell 165（2016）:1698-1707. doi: 10.1016/j.cell.2016.05.040.
5) Denk, W., and Horstmann, H.（2004）. Serial block-face scanning electron microscopy to reconstruct three-dimensional tissue nanostructure. PLoS Biol. 2, e329.
6) Knott, G., Marchman, H., Wall, D., and Lich, B.（2008）. Serial section scanning electron microscopy of adult brain tissue using focused ion beam milling. J. Neurosci. 28, 2959–2964.
7) Hayworth, K. J., Morgan, J. L., Schalek, R., Berger, D. R., Hildebrand, D. G., and Lichtman, J. W.（2014）. Imaging ATUM ultrathin section libraries with WaferMapper: a multi-scale approach to EM reconstruction of neural circuits. Front Neural Circuits 8, 68.

8）Micheva, K. D., and Smith, S. J.（2007）. Array tomography: a new tool for imaging the molecular architecture and ultrastructure of neural circuits. Neuron 55, 25–36.
9）Deerinck, T. J., Bushong, E. A., Lev-Ram, V., Shu, X., Tsien, R. Y., and Ellisman, M. H.（2010）. Enhancing serial block-face scanning electron microscopy to enable high resolution 3-D nanohistology of cells and tissues. Microsc. Microanal. 16, 1138–1139.
10）Kizilyaprak, C., Longo, G., Daraspe, J., and Humbel, B. M.（2015）. Investigation of resins suitable for the preparation of biological sample for 3-D electron microscopy. J. Struct. Biol. 189, 135–146.
11）Nguyen, H. B., Thai, T. Q., Saitoh, S., Wu, B., Saitoh, Y., Shimo, S., et al.（2016）. Conductive resins improve charging and resolution of acquired images in electron microscopic volume imaging. Sci. Rep. 6, 23721.
12）Mikula, S., and Denk, W.（2015）. High-resolution whole-brain staining for electron microscopic circuit reconstruction. Nat. Methods 12, 541–546.
13）Hayworth K. J., Xu C. S., Lu Z., Knott G. W., Fetter R. D., Tapia J. C., Lichtman J. W., Hess H. F.（2015）Ultrastructurally smooth thick partitioning and volume stitching for large-scale connectomics. Nat. Methods 12: 319–322.
14）Khoshouei M, Radjainia M, Baumeister W and Danev R. “Cryo-EM structure of haemoglobin at 3.2 Å determined with the Volta phase plate.” Nature Commun. 8（2017）:16099. doi: 10.1038/ncomms16099.
15）Schur FK, Obr M, Hagen WJ, Wan W, Jakobi AJ, Kirkpatrick JM, Sachse C, Kräusslich HG and Briggs JA. “An atomic model of HIV-1 capsid-SP1 reveals structures regulating assembly and maturation.” Science 353（2016）506-508. doi: 10.1126/science.aaf9620.
16）Marko M, Hsieh C, Schalek R, Frank J and Mannella C. “Focused-ion-beam thinning of frozen-hydrated biological specimens for cryo-electron microscopy.” Nature Methods, 4（2007）:215-217.
17）Shu X., Lev-Ram V., Deerinck T. J., Qi Y., Ramko E. B., DavidsonM. W., Jin Y., Ellisman M. H., Tsien R. Y.（2011）A genetically encoded tag for correlated light and electron microscopy of intact cells, tissues, and organisms. PLoS Biol. 9: e1001041.
18）Januszewski M., Kornfeld J., Li P. H., Pope A., Blakely T., Lindsey L., Maitin-Shepard J., Tyka M., Denk W., Jain V.（2018）High-precision automated reconstruction of neurons with flood-filling networks. Nat. Methods 15, 605-610.
19）Hildebrand, D. G. C., et al.,（2017）“Whole-brain serial-section electron microscopy in larval zebrafish” Nature 545, no. 7654: 345-349. doi: 10.1038/nature22356
20）Zheng Z., et al.,（2018）“A Complete Electron Microscopy Volume of the Brain of Adult Drosophila melanogaster. “ Cell, 174, no. 3: 730–743. doi: 10.1016/j.cell.2018.06.019
21）Nanotomy: Large-scale electron microscopy. http://www.nanotomy.org/
22）Ravelli, R. B. G., et al.（2013）“Destruction of tissue, cells and organelles in type 1 diabetic rats presented at macromolecular resolution.” Scientific Reports 3: Article No. 1804. doi: 10.1038/srep01804
23）Sokol E et al.,（2015）“Large-scale electron microscopy maps of patient skin and mucosa provide insight into pathogenesis of blistering diseases.” Journal of Investigative Dermatology 135: 1763-1770. doi: https://doi.org/10.1038/jid.2015.109
24）Shu, X.,（2011）“A genetically encoded tag for correlated light and electron microscopy of intact cells, tissues, and organisms.” PLOS Biology 9, no. 4: e1001041 doi:10.1371/journal.pbio.1001041

25）Blazquez-Llorca, L., et al.,（2015）“Correlation of two-photon in vivo imaging and FIB/SEM microscopy.” Journal of Microscopy 259: no. 2: 129-136. doi: 10.1111/jmi.12231
26）豊岡公徳（2016）「光-電子相関顕微鏡法:蛍光タンパク質標識した細胞小器官を走査電子顕微鏡で捉える」Plant Morphology 28: 15-21.
27）Lam S. S., Martell J. D., Kamer K. J., Deerinck T. J., Ellisman M. H., Mootha V. K., Ting A. Y.（2015）Directed evolution of APEX2 for electron microscopy and proximity labeling. Nat. Methods 12, 51-4.
28）Euro-Bioimaging http://www.eibir.org/projects/fp7-projects/euro-bioimaging/
29）先端バイオイメージング支援プラットフォーム　http://www.nibb.ac.jp/abis/
30）RIKEN Microstructural Imaging Metadatabase http://clst.multimodal.riken.jp/CLST_ManageData/RikenImageDB/
31）Kume S., Masuya H., Maeda M., Suga M., Kataoka Y., Kobayashi N.（2017）“Development of Semantic Web-Based Imaging Database for Biological Morphome.” In: Wang Z., Turhan AY., Wang K., Zhang X.（eds）Semantic Technology. JIST 2017. Lecture Notes in Computer Science, vol 10675. Springer, Cham
32）Liang YL, Khoshouei M, Radjainia M, Zhang Y, Glukhova A, Tarrasch J, Thal DM, Furness SGB, Christopoulos G, Coudrat T, Danev R, Baumeister W, Miller LJ, Christopoulos A, Kobilka BK, Wootten D, Skiniotis G and Sexton PM. “Phase-plate cryo-EM structure of a class B GPCR-G-protein complex.” Nature 546（2017）:118-123. doi: 10.1038/nature22327.

## 2.3.2 光学イメージング

### (1) 研究開発領域の定義

細胞や動植物個体内ではたらくイオン、DNA、RNA、タンパク質、脂質、代謝産物などの生体分子、および細胞内・細胞間シグナルの根幹をなす生体分子の相互作用や化学修飾を、時間的・空間的に可視化する基盤技術の開発を目的とした研究開発領域である。対象を生かしたまま計測出来る非侵襲性が特徴であり、代謝物、シグナル伝達物質、膜電位、血流などの計測により生理状態・機能状態の計測も可能となる。その反面、光の波長により分解能が制限されること（回折限界）と生体が不透明であるために深部観察が制約されることが課題であったが、近年の技術開発により急速に改善が進められている。基礎生命科学研究のみならず、創薬や医療などに貢献する技術となることが期待される。

### (2) キーワード

光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、超解像顕微鏡、蛍光プローブ、3 次元観察、ライブイメージング、深部イメージング、in vivo イメージング、in toto イメージング、蛍光プローブ、発光プローブ、アルキンタグ、イメージング、アップコンバージョン、ナノ材料

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

生命の分子化学的理解は、生命現象に対する我々の知的欲求を満たすとともに、医療・診断技術の開発や疾患の原因解明に直結する、現代社会における極めて重要な課題である。これまでの分析技術の多くは、細胞を破砕して目的生体物質を検出する“破壊分析”法である。破壊分析法は、網羅的な情報を獲得する利点がある一方、時間的・空間的な情報を得ることが容易ではない。生体分子の“真の生理機能”を理解するためには、生物個体が生きた状態で“非破壊的”に、かつ“定量的に”生体分子を時空間解析する技術が必要である。そのため、侵襲性が低く、生きた状態をリアルタイムで観察できる光学イメージングが中心的な役割を果たしている。近年、顕微鏡、光源（レーザー）、撮像素子（CCD、CMOS）、画像解析技術の進展と、蛍光色素および蛍光タンパク質などの蛍光プローブ技術の発展によって、蛍光顕微鏡を用いて生体の構造、構成物質の空間的時間的分布、機能状態などを高い時間空間分解能で可視化・計測・定量化する技術が急速に発展・普及している。さらには、蛍光イメージングでは可視化が困難であった小さな生体分子や薬剤等を同位体・アルキン等を用いて生体分子を標識することで、ラマン散乱により可視化できるなど、光学イメージングで計測できる領域は拡がりをみせている。このため、生命科学分野の基礎研究だけでなく、疾患メカニズムの解明、診断、創薬、治療効果の確認など臨床も含めた医学分野においても不可欠な技術領域となっている。

**[研究開発の動向]**

下村脩による緑色蛍光タンパク質（GFP、ノーベル化学賞 2008 年）の発見以降、R. Tsien によるカルシウム蛍光指示薬 Fura-2（2008 年ノーベル化学賞）の開発など生体を構成する物質および機能・生理状態を蛍光プローブ（蛍光色素および蛍光タンパク質）で標識する手法が急速に発展し、1990 年代以降、標準的な手法として広く普及した。Fura-2 が開発された当初

は1細胞レベルの蛍光イメージングが主流であったが、その後GFPを活用した蛍光プローブが盛んに開発され、1990年代からは線虫やゼブラフィッシュやマウスなどのモデル生物を対象とした蛍光イメージングが盛んになった。しかし、可視領域の光を用いる励起・蛍光波長は組織透過性が悪く、マウスやラットを用いた実験には制限があった。そこで、2000年以降は600 nm以上の長波長赤色発光を示す蛍光プローブの開発が、また近年では700～800 nmの近赤外発光を示す蛍光プローブの開発が盛んに進められている[1-3]。平行して、マウス・ラットの深部の組織からのシグナルを検出するために、ルシフェラーゼなどの生物発光を利用するイメージングが1990年代に台頭した。ルシフェラーゼは、化学反応エネルギーを光に情報変換するため、励起光を必要としない大きな利点がある。またイメージングのための無機ナノ粒子は、CdSeなどの重金属を利用した蛍光性粒子や高分子ポリマーに蛍光分子を内包した粒子が盛んに用いられてきたが、近年新たにランタニド粒子をドープしたアップコンバージョン粒子（UCNP）が脚光を集めている[4]。UCNPは、近赤外光の光を吸収すると紫外光を放出する非線形光学特性を有している。励起光は組織透過性に優れ、一方発光は紫外から可視領域にあるため、新たなセンサー材料として期待されている。さらに2000年になると、蛍光性ナノ粒子が、蛍光イメージングにも活用され始めることとなった。これらの材料そのものを改良し、組み合わせることで、生体分子を特異的に認識し光に情報変換する、いわゆる“プローブ”が盛んに開発され現在に至っている。

【プローブ】

イメージング用プローブは材料の観点から、①有機小分子型プローブ、②タンパク質型プローブ、③無機材料型プローブに大きく大別される[5]。

①有機小分子型プローブ

蛍光プローブはFura-2をはじめ、イオンや分子の定量評価を目的とした2波長測光型のレシオメトリックイメージングが主流であったが、近年は生物個体でのイメージングを目的とした発蛍光型プローブ開発が盛んである。特にタンパク質のラベル化を目的とした発蛍光型プローブや、酵素反応により発光する蛍光プローブなど、新たなプローブを開発し生物学や臨床応用に実践応用することで大きなインパクトを与えている[6,7]。凝集有機発光（Aggregation-induced Emission; AIE）原理に基づく生体分子のイメージングもその一つであり[8,9]、中国ではAIE分子開発と細胞応用が非常に盛んである。平行して、近赤外発光や光安定性の向上[10]、標的タンパク質特異的なラベル化[11]などは、現在も精力的に研究が進められている。測定対象としては特定分子のみならず温度プローブ[12]や膜電位プローブ[13]の開発は国内外で進められているが、膜の張力も新たなターゲットとして注目されている。

ルシフェラーゼ発光は酵素−基質反応であり、基質の誘導体をプローブとすることは2000年頃から開発が進められている。基質誘導体開発の潮流としては大きく2つの流れがあり、一つは基質の色改変であり、特に動物個体イメージングのための近赤外発光基質の開発は重要な課題である。もう一つは可視化したい酵素に対する基質誘導体を作製し、酵素活性を発光シグナルとして検出するためのプローブ開発である。ルシフェラーゼを用いたイメージング技術が世界的に浸透し始めており、プローブ開発への期待値は大きい。

②タンパク質型プローブ

GFPとその誘導体の研究が進み、さらに外部光によりその発光特性を制御する第二世代の蛍光タンパク質の開発が、この20年間精力的に研究が進められてきた。特に第二世代の蛍光

タンパク質は、超解像蛍光顕微鏡の開発に貢献しており、今も盛んに活用されている。また、長波長発光型の蛍光タンパク質の開発が進展している。2009 年に海洋生物由来蛍光タンパク質とは異なるファミリーに属する、微生物由来の新たな蛍光タンパク質が発見された。以来、こうした微生物由来の蛍光タンパク質の改良が著しく進んでいる。特に微生物由来蛍光タンパク質は深赤色から近赤外領域の蛍光を発するため、より短波長側に蛍光を示す海洋生物由来蛍光タンパク質と併用が可能で、また高い生体透過性が期待できる。近年の改良により、700nm 以上の波長を示し、蛍光強度も発見当初のものより数倍以上改善された蛍光タンパク質が報告されている [14]。

細胞内シグナルを検出するプローブ開発では、特定の分子認識やタンパク質間相互作用や翻訳後修飾などを、光シグナルに変換するトリックが必要である。このトリックは、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、発光共鳴エネルギー移動（BRET）、タンパク質再構成法（PCAs）、蛍光相関分光法（FCS）、蛍光ライフタイムイメージングなどが挙げられる。その基本原理はかなり出尽くしており、現在はこのような基本原理を活用して「見える」観察対象から「見たい」観察対象を、必要な時空間分解能でイメージングするためのプローブ開発が行われている。円順列変位型 GFP を用いてドーパミンに極めて迅速に応答するプローブ dLightoz[15] や、光コンバージョン蛍光タンパク質 mEos の円順列変位型を用いてカルシウムシグナルに不可逆的に応答し神経活動履歴を長期的に記録するプローブ CaMPARIoz[16] など、目的指向型のプローブ開発が行われている。

③無機材料型プローブ

CdSe の量子ドットは、蛍光の褪色がほとんど無く、粒子サイズに依存した蛍光波長は、紫外から近赤外まで選択できるため、イメージングの材料として 2000 年以降に応用が展開されてきた。粒子の表面はポリマーなどでコートすることにより、粒子そのものに機能を付与することも可能である。細胞を特異的にラベルして、動物個体内の細胞動態を追跡したり、個体内の生体分子単体の動きを捉えたりする技術は、量子ドットの特性を利用した典型例といえる [17]。現在の潮流は、新しい機能性無機材料をイメージングに応用する研究にある。アップコンバージョンナノ粒子（UCNP）はその代表例であり、組織透過性が最も低い 800 ～ 900 nm の光を吸収すると、300 ～ 500 nm の発光を示す非線形光学応答性材料である。粒径も近赤外発光の量子ドットより小さく、20 nm 程度であり、形態も球形で揃えることが可能である [4]。

【顕微鏡技術】

蛍光プローブの観察装置である蛍光顕微鏡については、1990 年代に 2 光子顕微鏡技術が実用化され、生きたままのマウスの脳の機能イメージングなど生体内（in vivo）イメージングが実現した。19 世紀末からの課題であった分解能についても、1990 年代に我が国で開発された蛍光 1 分子イメージング技術をベースとして、光の波動性（回折）の影響を受けない超解像顕微鏡法の開発が進められている（ノーベル化学賞 2014 年）。このように、2010 年代までに蛍光を用いた光学イメージングおよび関連技術は大きな進展を見た。同時に、現在の蛍光イメージングの課題も鮮明化し、その解決を目指した研究開発が進められている。様々なアプローチがみられるが、大きく 3 つの潮流に整理できる。すなわち、① 3 次元・深部観察、②非標識観察、③非結像イメージングである。これまでの蛍光顕微鏡技術の延長にある①に比べて、②、③は、まだ萌芽的な段階であり、実用に至るまで発展するかは不明であるが、現在の技術の単純な延長ではなく、破壊的イノベーションとしてゲームチェンジャーとなる可能性を秘めている。

① 3次元・深部観察

生体は3次元の立体的な構造物であるが、光源・試料・カメラが一直線（光軸）上に並ぶ従来の顕微鏡光学系は立体観察に適していない。これに対し、光源からの照明の方向と、カメラからの観察の方向を90度ずらしたのがライトシート顕微鏡で、光毒性の影響を強く受ける初期胚の観察を中心に利用が拡がっている。従来の顕微鏡に比べて分解能が低いことが課題となっていたが、超解像顕微鏡技術との組合せが進められ、高分解能3次元観察が可能になりつつある。その基盤技術として、すばる望遠鏡などで開発された補償光学系が注目されている。ライトシート顕微鏡を含め、従来の顕微鏡ではカメラを用いて2次元画像を多数枚取得して3次元画像を再構築する。これに対し、光線の方向の分布を記録するライトフィールドカメラを用いることで3次元画像を一回で撮影するというライトフィールド顕微鏡が報告され、注目を集めている。

② 非標識観察・非蛍光標識

蛍光プローブは、目的とする分子を特異的に標識することが出来るという大きなメリットがある反面、標識が必須であるため、臨床試料などへの応用には限界がある。また、蛍光スペクトルが幅広いため、多色化が困難であり同時に多数種の計測を行うことが出来ない。これに対し、蛍光染色を行わない非染色イメージングとして、ラマン散乱顕微鏡などの散乱イメージングや定量位相差顕微鏡法などが注目を集めている。また、スペクトルの広さなど蛍光の欠点を補う標識手法として、アルキンタグやマンハッタン色素などのラマン散乱観察用の標識やSHG色素、CyTOFなどの手法も開発されている。個体レベルへの応用については、光音響顕微鏡など、光と他のモダリティを組み合わせた手法も期待されている。

④ 非結像イメージング

2010年代の技術革新の背景には、ベイズ推定・圧縮センシング・スパースコーディング・機械学習などに代表される情報科学・コンピュータ科学の発展がある。光学イメージング分野でも、単に画像取得後の画像処理・分類（アノテーション）だけでなく、超解像顕微鏡への応用などで、画像取得および再構成においても有効であることが示されている。

これを更に発展させて、画像として撮影されたデータを入力として計算するのではなく、画像情報を反映する計測結果を入力データとして情報処理技術を駆使して画像を復元するという発想が生まれている。これにより、従来の結像光学系に基づく顕微鏡とは全く異なるイメージング技術が誕生する可能性があり、その動向には特に注意する必要がある。

光学イメージング分野、特に顕微鏡開発においては日米欧が長らく主要なプレーヤーであったが、中国が第4のプレーヤーとして急速に成長している。欧米から帰国した研究者を核として複数の研究拠点が戦略的に整備され、中国人研究者が育成され独自の業績が出始めている。すでに本分野の国際学会（SPIE BIOSなど）では、日本以上のプレゼンスを示しており、注目に値する。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

●補償光学光格子顕微鏡

3次元ライブイメージングのための顕微鏡技術として、ライトシート顕微鏡が注目されているが、分解能が低いという欠点があった。これに対し、ベッセルビームを用いたライトシート

顕微鏡型の構造化照明（光格子顕微鏡）と補償光学系を組み合わせることで、オルガノイドやゼブラフィッシュ胚など生体深部での高分解能 3 次元ライブイメージングが実現され[18]、注目を集めている。

●ライトフィールド顕微鏡・ホログラフィー顕微鏡

光線の方向の分布、あるいは光の波面の分布を記録するライトフィールドカメラやホログラフィー技術を用い、3 次元情報を一回で記録する技術。圧縮センシング / スパースコーディング技術を用いることで、市販の顕微鏡用カメラを用いて、1 細胞分解能で、活動中のマウス脳やゼブラフィッシュ脳全体の高速 3 次元 in vivo イメージングが実現された[19),20)]。

●透明化技術・エクスパンション顕微鏡

生体試料の光透過性を改善する手法として、透明化の技術が注目され、日米を中心に開発が進められている。また、透明化した組織を膨潤させて大きくするという試料レベルでの拡大操作を行うことで、顕微鏡の光学的な分解能以上の分解能を実質的に達成するエクスパンション顕微鏡という新しいアプリケーションへと発展している。

●メゾ顕微鏡

生体試料の広い範囲を同時に観察する技術への注目が高まっている。高分解能（高開口数）かつ広視野の対物レンズとして、大口径低倍率レンズが作成され[21)]、特に広視野 in vivo イメージングや透明化試料観察用として市販化が進められている。補償光学系を用いて収差補正を行うというアプローチ[22)]も、実用的なメゾ顕微鏡実装法として注目に値する。

●ラマンイメージング

レーザー技術や光学系の工夫によってラマンイメージングが数分オーダーの短時間で行えるようになった[23)]。さらに、コヒーレントラマン効果を用いた高速ラマンイメージング手法が発展し、数秒オーダーでのイメージングが可能になったことから、ラマンイメージングの応用が広がりつつある[24)]。近年では染色や標識では得られない生体情報をラマンイメージングで取得する新たな展開を見せている。例えば、脂質は蛍光染色が可能であるが、ラマンイメージングを用いることで、脂質分子に含まれる二重結合（不飽和度）の違いなど、蛍光染色では識別できない情報が得られる。また、代謝物の可視化により細胞の分化状態をラマンで解析する試み[26)]や複雑なラマン散乱スペクトルの解析に機械学習を利用することで、遺伝子発現を推定する成功例も報告されている[27)]。装置としては、小型で実用性の高いパルスレーザー光源の開発や、内視鏡への応用などの研究が活発に進められている。

●非結像イメージング

従来の顕微鏡では、結像光学系を用いて像をカメラに投影して撮影することで画像を取得する。これに対して、試料による回折光を記録して計算で画像を回復するデジタルホログラフィーやレンズレスイメージング、タイコグラフィーなどの手法や、ランダムドット画像の投影によって得られる信号から画像を回復するゴーストイメージング、光学的分散を利用して周波数領域に空間画像情報をコードする全く新しい顕微鏡画像取得法などが提案され、超光速イメージングサイトメーターなどの成果が得られている[28),29)]。

●超多重染色

固定標本に対して、蛍光染色、観察、脱染色の操作を繰り返すことで超多重染色と同等の効果を得る方法が開発されている。数百種類の mRNA 発現検出を行った報告がなされ、イメージングによるトランスクリプトーム解析技術として注目を集めている[30)]。免疫染色の超多重

染色技術としては、蛍光標識抗体ではなく金属原子標識抗体を用い、染色後の試料を質量分析イメージングすることで超多重抗体染色画像を得るという CyTOF 法が注目されている。またラマンプローブの項で詳述するが、過渡吸収ラマン散乱を利用した超多重染色法が開発されている。

●蛍光プローブ開発

蛍光タンパク質については、in vivo イメージングに適した赤～近赤外域での開発が日本、米国、オランダで進められている。また、超解像顕微鏡に必要な光スイッチング蛍光タンパク質の開発では、日本[31]に加えて中国[32]が存在感を増している。また、主に超解像顕微鏡への応用という観点から、有機系の蛍光色素の開発が日本、米国、ドイツ、スイスなどで活発化しており、超耐光性[33]や発蛍光性[34]、自発スイッチング[35]などの高機能化が達成されている。蛍光性ナノ粒子については、従来の量子ドットやダイヤモンド NV 中心に加えて、希土類ナノ粒子がアップコンバージョン、超耐光性、ブリンキング耐性などの特徴から注目されている。

●ラマンプローブ

これまで、生体小分子に付加（アルキンタグ）した分子を用い、アルキンが発する特異的なラマン信号を検出することで標的とした核酸や脂質分子局在の可視化が可能であることが示されている[36]。また、ラマンプローブの利点として、測定の多色化が原理的には容易である点が挙げられる。共役アルキン（ポリイン）構造に安定同位体置換などの構造変異を系統的に加えることでピーク波長が細かに異なるタグ分子が 20 種類開発された[48]。今後、生体小分子へこれらのラマンタグを修飾する技術が確立すれば、細胞内の種々の分子の時空間変化の相関解析を推進する強力な手法になると期待される。

●発光プローブ

発光タンパク質は励起光が不要であることから、生物個体深部のイメージングを可能にする。一方で発光強度が弱いことや、生体組織透過性の高い近赤外領域発光を示す発光タンパク質に乏しいことが、生物個体イメージング実験に適用するための課題であった。永井らはルシフェラーゼと蛍光タンパク質との共鳴エネルギー移動（BRET）を利用して、強い発光を示すプローブ Nano Lantern を開発した。高い発光強度により自由運動するマウス内での Nano Lantern 発現細胞の発光可視化検出にも成功している。また、2016 年には 5 色の異なる発光波長を示す Nano Lantern 群が開発されている[38]。宮脇らは、既存のホタル由来ルシフェラーゼ（FLuc）に変異を導入し、人工蛍光基質 Akalumine に対し高い反応性を示す発光タンパク質 Akaluc を報告した 25。Akalumine と AlaLuc を用いた発光イメージング（AkaBLI）により、マーモセットの脳内にある数 10 細胞のリアルタイム発光可視化検出に成功している。

●アップコンバージョンナノ粒子を用いたプローブ

UCNP は、光子補足性をもつイオン（i.e.、$Yb^{3+}$）と活性化イオン（i.e.、$Tm^{3+}$、$Er^{3+}$）を混合してエネルギー遷移ネットワークを構築した発光性ナノ粒子である。UCNP に近赤外光が照射されると、エネルギー遷移によりエネルギーの高い可視 - 紫外光へと変換された光が放出される。UCNP の特徴として、生体透過性がよい近赤外の励起光により発光すること、また励起光よりも短波長側に蛍光を発することから生細胞の観察の際に問題となる自家蛍光の影響を受けにくいことが挙げられる[41]。生体分子の動態への応用として Drees らは UCNP から別の蛍光分子（アクセプター）にエネルギー遷移させることでタンパク質間相互作用の可視化に成功している[29]。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

研究拠点としては、米国ではハワードヒューズのジャネリア研究所がプローブ開発および顕微鏡開発の拠点として機能している。ハワードヒューズ財団からの研究支援の一環としてイメージング支援事業にも力を入れており、ユーザーのニーズを開発者にフィードバックする仕組みとしても有効に機能している。主要大学・研究施設におけるバイオイメージング拠点の設置・整備も進められている。特に注目すべきは、アレン研究所とザッカーバーグ財団である。アレン研究所は、アレン脳アトラスに続いて細胞アトラスの作成を進めている。ザッカーバーグ財団は、バイオイメージング研究者を多く含むサンフランシスコ近郊（ベイエリア）の若手研究者への研究支援、ヒト細胞アトラス（HCA）プロジェクトに加えて、米国内バイオイメージング拠点への支援事業の募集を開始した。NIH においても、4D ヌクレオームプロジェクトや BRAIN イニシアチブなどバイオイメージングを技術的な核（の一つ）とした大型プロジェクトが進められている。

欧州では、EMBL が中心となってイメージング技術の標準化と普及を目的とした Euro-Bioimaging 事業が進められている。シンガポールでは、Singapore Bioimaging Consortium（SBIC）が 10 年程前に設置され、小さな国土を有効に活用して、大学と企業との連携を上手く図っている。日本でも、科研費（新学術領域）で、先端バイオイメージング支援プラットフォームという支援事業が行われている。欧州、日本いずれも、ユーザーのための支援事業の側面が強く、開発拠点の整備や、ユーザーから開発者へのフィードバックという機能は明確ではない。ここで、Euro-Bioimaging においては、標準化が強く意識されていることは注意すべきである。

### （5）科学技術的課題

イメージング技術における第一の課題・開発目標は、分解能であった。より細かい構造を見る（空間分解能）。より短い時間で見る（時間分解能）。より深いところを見る（深達性）。より広い範囲を見る（広視野）。より多くの色（プローブ）を見分ける（波長分解能）。いずれもが重要であり、空間分解能は顕微鏡としての基本性能であるが、特に生体イメージングへの応用という観点からは、高速・3 次元・深部・in toto（全体）の 4 つが、現在の中心的な開発課題である。プローブ技術という観点からは以下の開発が重要な課題となる。

- 脂質や代謝産物の可視化：脂質やその代謝物、また神経伝達物質やエネルギー産生に関与するような代謝産物の可視化は、発展途上にあり、これらの代謝物や神経伝達物質の可視化、特に動物個体内での代謝の定量は今後の重要な課題である。
- オプトジェネティクスとの融合：光操作のための励起光とイメージング観察の励起光や蛍光との重なりにより、既存の蛍光プローブが活用できない場合も多い。そこで重なりのない発光プローブによる観察やラマンイメージングを用いたオプトジェネティクスとの融合技術の開発が期待されている。
- 蛍光・発光の光安定性：蛍光分子の褪色は今も大きな解決すべき課題である。また、ルシフェラーゼ発光は、基質濃度が一定であっても、多くのルシフェラーゼは数時間にわたり発光を安定的に持続させることは難しい。イメージングから定量的データを取得する上でも、蛍光・発光の光安定性の向上やロバストネスは重要な課題である。
- 新たな分子骨格の設計と発蛍光原理の探索：計算化学により分子軌道エネルギーを求め、蛍光波長などの物理的パラメータを予測するような、プローブの合理的な設計指針を確立

することは今後の重要な課題である。

顕微鏡開発においては以下のような課題がある。

- マルチモーダルイメージングのためのシステムおよびプローブの開発：同一の光学系では細胞から個体に及ぶ数桁に及ぶ広いダイナミックレンジに対応できないため、複数の装置をオールインワンにしたマルチモーダルなイメージング装置が開発されている。また、蛍光イメージング、特に超解像蛍光顕微鏡画像と電子顕微鏡画像の融合も現在国内外で盛んに研究が進められている。生体組織や個体レベルとミクロ・ナノ空間をシームレスに観察できるマルチモーダルプローブの開発が必要である。医療応用を視野にいれると、遺伝子などオミックス解析との対応づけや、CT/MRI/ エコーなどの個体レベルのイメージングモダリティとの相関が求められる。
- 定量情報の取得（標準化）：イメージングにより変化の程度を計測することは可能であるが、絶対量の測定は難しいことが多い。特に、RNA のような絶対量が少ない分子の計測や、リン酸化のような妨害となる分子が多く存在するようなターゲットは、イメージングデータからの定量は極めて難しい。再現性ある定量評価技術を開発には、顕微鏡システムを含めた試料の標準化法を確立する必要がある。
- 機械学習に代表される高度化された情報処理技術との融合

  顕微鏡開発は、歴史的に周辺技術の発展を契機に非連続的な発展を遂げてきた。例えば、共焦点顕微鏡や 2 光子顕微鏡はレーザー技術の進展によって実現し、蛍光タンパク質の開発で蛍光生体イメージングが実用化された。超解像顕微鏡法には、デジタル技術（CMOS カメラと計算機の処理能力）とナノ加工技術が必須であった。次にイメージング技術革新の基盤となるのは、機械学習に代表される高度化された情報処理技術であろう。既に、超解像顕微鏡やライトフィールド顕微鏡、ゴーストイメージングなどベイズ推定・圧縮センシング・符号化理論・機械学習を利用することで従来の技術限界を超える性能を達成した例の報告が相次いでいる。このような状況下では、従来のような単一ディシプリンをコアとした技術開発には限界があり、これからは光学技術、プローブ技術、情報処理技術など様々な技術を柔軟に取り入れることが可能なマルチディシプリナリな開発体制が必須である。

### （6）その他の課題

学際研究、異分野融合、産学連携などが謳われて久しいが、分野間・組織間の壁は高く、未だ有効に機能しているとは言いがたい。このような状況を制度面、ファンディング面そして知財面などから複合的に打開する方策が必要である。最終的な実用化イメージを共有し、問題解決を目指した技術パッケージを生み出すための枠組構築が望まれる。

日本は、光学イメージング・顕微鏡の技術開発において、世界に伍する地位を占めてきた。しかし、光学イメージングの開発は近年急速に分野横断的な性質を強め、無機・有機化学、タンパク質科学、光学、オプトエレクトロニクス、コンピューターサイエンスなど様々な分野をカバーする学際的アプローチの重要性が高まっており、光学イメージング技術において、“光学技術”の占める役割は相対的に減少している。本分野の動向に対応した研究開発体制を構築しなければ、日本の相対的地位の低下は免れない。すなわち、光学イメージングのビッグサイエンス化に対応した、研究・開発・利用・データ蓄積を一貫して実施する生体イメージング統合プラットフォームの構築が喫緊の課題である。

最先端の光学イメージング装置は、高度に複雑化されたシステムとなっている。価格と運用のいずれの面からも、各研究室で個別に所有・維持・利用することは困難かつ非効率になっている。共同利用施設として登録されている一部の大学や研究機関では最先端のイメージング機器の導入が進められているが、熟練したオペレータ人材が不足しており、一般の研究者が最先端イメージング技術を駆使して研究を実施するには至っていないため、基礎的な研究が進みにくくなる状況が生じつつある。

このような状況を打破する方策として、医学、工学、薬学、分子生物学、物理学、化学、ナノサイエンス、情報科学等の諸関連分野の研究者が、分野を超えて連携し研究開発を行う学際的なイメージング研究開発プラットフォームを構築することが考えられる。その場合、このプラットフォームで開発された最先端イメージング装置を一般の研究者の利用のために開放し、共同利用する体制を予め設計しておくことが極めて重要である。その意義は、最先端の技術成果を速やかに個別研究へ展開するに留まらない。開発現場に利用者からのニーズが速やかにフィードバックされる体制を整備することが、実用性の高い技術開発を効率的に進めるために必須である。大規模な研究開発および利用支援のプラットフォームを構築することで、データ収集の拠点化と標準化も可能となる。データサイエンティストを戦略的に配置することで、これからの発展が予想されるデータ駆動型生命科学を支える拠点として、また標準化・規格化の国際競争におけるプレゼンスの確保という観点からも重要な役割が期待できる。

研究開発と利用を統合したプラットフォームとして特筆すべき事例は、米国ハワードヒューズ財団のジャネリア研究所である。化学から光学、情報科学までさまざまな光学イメージング研究者を集めたイメージング研究開発部門と、そのプライマリユーザーである脳科学研究部門が一つ屋根の下に集う研究所である。さらに、第 3 の部門として利用支援部門があり、最新の研究開発成果である機器類を専門スタッフの支援の下でグラント受給者に開放している。これを先行成功例として、データサイエンスの拠点としての機能を追加し、企業とアカデミアの連携も含めたオールジャパンの体制構築が望まれる。産学を連携して研究開発、利用支援、市販化、人材育成を一貫して行う拠点を戦略的に整備することが、アカデミアだけでなく日本企業についても、国際競争にキャッチアップし世界をリードする地位を維持するために有効であろう。

人材育成においては、光学など物理・工学系、プローブ技術など化学系、対象である生物医学系、そして今後重要性がますます高まる情報科学系と多岐にわたる分野への習熟が求められる。このような学際的人材の育成においては、ダブル・ディグリーなど複数の専門分野で学ぶあるいは、専攻分野を変えて異分野に参入することが求められる。また、メーカーとアカデミアの間の人材交流も有効であろう。そのような人事の流動性を高めるようなグラント等の支援策を講じることが望まれる。

さらに産業と国家戦略という観点からは、光学イメージングデータの標準化に対する戦略も重要である。これまで、光学イメージングのデータは、各企業の独自形式で保存されてきたが、欧州 Euro-Bioimaging などを中心に、データフォーマットの標準化が進められている。現在はデータファイルのフォーマットの標準化が主な話題であるが、Human Cell Atlas などの大規模プロジェクトを通じてデータの内容・質の標準化へと発展することが予想される。産業および国家戦略として、GMP あるいは ISO のような標準・規格を握ることの重要性は議論を待たない。欧米に対抗して標準化・規格化の議論におけるプレゼンスを高めるためにも、我が国におけるこの分野の研究基盤および産業競争力を高める施策が望まれる。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | ↘ | これまでの顕微鏡技術をベースにした研究開発に加えて、ゴーストサイトメーターや機械学習を用いたラマン顕微鏡など、従来技術の枠を超える成果もあがっているが、人材の層が薄く研究発表件数は減少の一途。<br>有機小分子型プローブ開発は、有機合成化学の伝統的な強みを下支えとして、世界的を先導した研究を展開している[6),7),10),11),12)]。<br>タンパク質プローブは、近赤外ルシフェラーゼの開発 46）など、先駆的な研究が進められている。一方、無機材料を利用するイメージングはやや後発的であり、海外で開発されたマテリアルの利用が中心である。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↘ | 大手メーカーの新技術への対応はスピード感に欠け、海外メーカーの後追いに留まるものが多い。アカデミア発のベンチャーも少なく、基礎研究成果と製品化・市販化の間の死の谷は深い。<br>有機小分子型プローブ開発の代表的な応用研究は、浦野博士等が進めている癌診断のための蛍光プローブが挙げられる。産学連携が上手く進められた典型と言えるであろう。タンパク質プローブの基本原理は、宮脇博士が提唱した蛍光タンパク質 FRET や小澤が開発した再構成法、また金城博士（北海道大学）の蛍光相関分光法など国内発の基盤技術をもとに、様々なプローブ開発が進められている。プローブの生命科学研究への応用例は枚挙に暇無く、世界をリードする立ち位置にあることは日本の強みと言えるであろう。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | これまでの顕微鏡技術の研究グループだけでなく、フォトニクスからコンピューターサイエンスまで様々な人材が流入し、イノベーションの種となるような新しい成果が継続的に生まれている。<br>新しい蛍光・発光・ラマンプローブはアメリカ発が多くを占めている。特に有機合成化学、タンパク質化学ともに、戦略的かつ体系的に研究を進めており、世界をリードする研究が進められている。世界的なリーダーとなるイメージング研究者を挙げれば枚挙に暇無い。特筆すべきは、新しいマルチモーダルイメージングの開発が進んでおり、そのためのプローブ開発が精力的である[47)]。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | 大手顕微鏡メーカーを国内に持たないこともあり、研究成果の製品化・市販化は日本あるいは欧州メーカーへのライセンシングか中小・ベンチャーからのニッチ的製品に留まるものが多かった。近年、後者が M&A により大手企業から国際的に市販されるケースが増えつつある。<br>プローブ開発のシーズと生命科学研究者とのニーズが協働して世界を先導する成果が発信されている。特に蛍光だけでなく、マルチモーダルなイメージングに関して、世界のトレンドを米国が牽引している印象を持っている。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | → | 従来の顕微鏡技術における分厚い蓄積をベースに最先端の研究まで手広く展開されているが、機械学習など情報処理技術の応用では見劣りする。<br>蛍光・発光プローブに関しては、化学小分子は精力的であるものの、タンパク質プローブ開発は後発的である。一方、ナノダイアモンドのような新しい材料を用いたイメージング技術などが新興しており、基礎研究に根ざした新領域開拓には強みがある。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | 研究者自身がスピンアウトして最先端の研究成果を市販化するなど、大手メーカー、中小・ベンチャーがバランスよく展開している。<br>動物実験の規制が厳しくなっており、大学や研究機関で簡単な実験でも承認に１年以上もかかるようである。従って、イメージングの一つのトレンドである動物個体のイメージングは、論文が激減していると思われる。一方、超解像顕微鏡のようなナノスケールのイメージングは盛んであり、そのためのプローブ開発は先駆的といえるであろう。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | 欧米から帰国した研究者が核となって中国各地に研究拠点が形成されている。そこで育った研究者からの研究発表が始まっている。学会発表件数では日欧を凌駕し米国に迫る勢いである。欧米後追いの研究も少なくないが、オリジナルな研究成果も出始めている。<br>蛍光タンパク質プローブや、有機小分子プローブの開発が精力的に行われるようになった。特に 2000 年以降、aggregation-induced emission（AIE）の応用研究は中国で基礎・応用ともに爆発的に研究が展開されている。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | 光学技術では見劣りするものの、レーザーなどの周辺機器では国際的な性能・品質のものが登場している。深圳の高い技術力を背景に世界最高感度の顕微鏡用カメラの市販化で欧米を 1 年以上先行するなどの事例も出ており、今後の成長が予想される。<br>プローブを用いた生物応用はあまり進んでいない印象を受ける。動物を用いる応用実験は成果を得るまでに時間がかかることが大きな原因であろう。（短期的に成果が得られる研究に集中しがちである。） |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | → | 欧米から帰国した研究者も少なくないが、研究拠点としての支援が弱く、第 2 世代の育成やオリジナルな成果には至っていない。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ベンチャー企業によるニッチな製品もみられ、米国企業による M&A で国際的に市販化された事例もみられるものの、全体として見劣りする。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考・引用文献

1) Liu T, Yan QL, Feng L, Ma XC, Tian XG, Yu ZL, Ning J, Huo XK, Sun CP, Wang C, Cui JN. Isolation of γ -Glutamyl-Transferase Rich-Bacteria from Mouse Gut by a Near-Infrared Fluorescent Probe with Large Stokes Shift. Anal Chem. 2018 Aug 1. doi: 10.1021/acs.analchem.8b02118.

2) Wu B, Lin Y, Li B, Zhan C, Zeng F, Wu S. Oligo（ethylene glycol）-Functionalized Squaraine Fluorophore as a Near-Infrared-Fluorescent Probe for the In Vivo Detection of Diagnostic Enzymes. Anal Chem. 2018 Aug 7;90（15）:9359-9365. doi: 10.1021/acs.analchem.8b01968.

3) Zhou K, Li Y, Peng Y, Cui X, Dai J, Cui M. Structure-Property Relationships of Polyethylene Glycol Modified Fluorophore as Near-Infrared A β Imaging Probes. Anal Chem. 2018 Jul 17;90（14）:8576-8582. doi: 10.1021/acs.analchem.8b01712.

4) Gu B, Zhang Q. Recent Advances on Functionalized Upconversion Nanoparticles for Detection of Small Molecules and Ions in Biosystems. Adv Sci（Weinh）. 2018 9;5（3）:1700609. doi: 10.1002/advs.201700609.

5) Ozawa T, Yoshimura H, Kim SB. Advances in fluorescence and bioluminescence imaging. Anal Chem. 2013 Jan 15;85（2）:590-609. doi: 10.1021/ac3031724.

6) Umezawa K, Yoshida M, Kamiya M, Yamasoba T, Urano Y. Rational design of reversible fluorescent probes for live-cell imaging and quantification of fast glutathione dynamics. Nat Chem. 2017 Mar;9（3）:279-286. doi: 10.1038/nchem.2648.

7) Hirayama S, Hori Y, Benedek Z, Suzuki T, Kikuchi K. Fluorogenic probes reveal a role of GLUT4

N-glycosylation in intracellular trafficking. Nat Chem Biol. 2016 ;12（10）:853-9. doi: 10.1038/nchembio.2156.

8）Hu F, Xu S, Liu B. Photosensitizers with Aggregation-Induced Emission: Materials and Biomedical Applications. Adv Mater. 2018 31:e1801350. doi: 10.1002/adma.201801350.

9）Wang YF, Zhang T, Liang XJ. Aggregation-Induced Emission: Lighting up Cells, Revealing Life! Small. 2016 ;12（47）:6451-6477. doi: 10.1002/smll.201601468.

10）Grzybowski M, Taki M, Senda K, Sato Y, Ariyoshi T, Okada Y, Kawakami R, Imamura T, Yamaguchi S. A Highly Photostable Near-Infrared Labeling Agent Based on a Phospha-rhodamine for Long-Term and Deep Imaging. Angew Chem Int Ed Engl. 2018. doi: 10.1002/anie.201804731.

11）Amaike K, Tamura T, Hamachi I. Recognition-driven chemical labeling of endogenous proteins in multi-molecular crowding in live cells. Chem Commun（Camb）. 2017 14;53（88）:11972-11983. doi: 10.1039/c7cc07177a.

12）Okabe K, Inada N, Gota C, Harada Y, Funatsu T, Uchiyama S. Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy. Nat Commun. 2012 28;3:705. doi: 10.1038/ncomms1714.

13）Tsutsui H, Jinno Y, Tomita A, Niino Y, Yamada Y, Mikoshiba K, Miyawaki A, Okamura Y. Improved detection of electrical activity with a voltage probe based on a voltage-sensing phosphatase. J Physiol. 2013 15;591（18）:4427-37. doi: 10.1113/jphysiol.2013.257048.

14）Shcherbakova DM, Stepanenko OV, Turoverov KK, Verkhusha VV. Near-Infrared Fluorescent Proteins: Multiplexing and Optogenetics across Scales. Trends Biotechnol. 2018 21. pii: S0167-7799（18）30187-2. doi: 10.1016/j.tibtech.2018.06.011.

15）Patriarchi T, Cho JR, Merten K, Howe MW, Marley A, Xiong WH, Folk RW, Broussard GJ, Liang R, Jang MJ, Zhong H, Dombeck D, von Zastrow M, Nimmerjahn A, Gradinaru V, Williams JT, Tian L. Ultrafast neuronal imaging of dopamine dynamics with designed genetically encoded sensors. Science. 2018 29;360（6396）. pii: eaat4422. doi: 10.1126/science.aat4422.

16）Fosque BF, Sun Y, Dana H, Yang CT, Ohyama T, Tadross MR, Patel R, Zlatic M, Kim DS, Ahrens MB, Jayaraman V, Looger LL, Schreiter ER. Neural circuits. Labeling of active neural circuits in vivo with designed calcium integrators. Science. 2015 13;347（6223）:755-60. doi: 10.1126/science.1260922.

17）Onoshima D, Yukawa H, Baba Y. Multifunctional quantum dots-based cancer diagnostics and stem cell therapeutics for regenerative medicine. Adv Drug Deliv Rev. 2015 1;95:2-14. doi: 10.1016/j.addr.2015.08.004.

18）Liu,T.-L., Upadhyayula,S., Milkie,D.E., Singh,V., et al.（2018）Observing the cell in its native state: Imaging subcellular dynamics in multicellular organisms. Science, 360, eaaq1392. doi.org/10.1126/science.aaq1392.

19）Skocek,O., Nöbauer,T., Weilguny,L., Martínez Traub,F., et al.（2018）High-speed volumetric imaging of neuronal activity in freely moving rodents. Nat. Methods, 15, 429–432. doi.org/10.1038/s41592-018-0008-0.

20）Prevedel,R., Yoon,Y.-G., Hoffmann,M., Pak,N., et al.（2014）Simultaneous whole-animal 3D imaging of neuronal activity using light-field microscopy. Nat. Methods, 11, 727–730. doi.org/10.1038/nmeth.2964.

21）Sofroniew,N.J., Flickinger,D., King,J. and Svoboda,K.（2016）A large field of view two-photon mesoscope with subcellular resolution for in vivo imaging. Elife, 5. doi.org/10.7554/eLife.14472.

22）Choi,C., Song,K.-D., Kang,S., Park,J.-S., et al.（2018）Optical imaging featuring both long working distance and high spatial resolution by correcting the aberration of a large aperture lens. Sci. Rep., 8, 9165. doi.org/10.1038/s41598-018-27289-1.

23）A. F Palonpon, J. Ando, H. Yamakoshi, K. Dodo, M. Sodeoka, S. Kawata and K. Fujita, “Raman and SERS microscopy for molecular imaging of live cells,” Nat. Protocol. 8, 677（2013）.

24）J. -X. Cheng and X. S. Xie, “Vibrational spectroscopic imaging of living systems: An emerging platform for biology and medicine,” Science 350, aaa8870（2015）.

25）Y. Ozeki, T. Asai, J. Shou, and H. Yoshimi, "Multicolor stimulated Raman scattering microscopy with fast wavelength-tunable Yb fiber laser," IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron. 25, 7100211（2018）.

26）T. Ichimura, L.-d. Chiu, K. Fujita, H. Machiyama, S. Kawata, T. M. Watanabe, and H. Fujita, “Visualizing the appearance and disappearance of the attractor of differentiation using Raman spectral imaging,” Sci. Rep. 5, 11358（2015）.

27）Germond,A., Ichimura,T., Horinouchi,T., Fujita,H., et al.（2018）Raman spectral signature reflects transcriptomic features of antibiotic resistance in Escherichia coli. Commun. Biol., 1, 85. doi.org/10.1038/s42003-018-0093-8.

28）Ota,S., Horisaki,R., Kawamura,Y., Ugawa,M., et al.（2018）Ghost cytometry. Science, 360, 1246–1251. doi.org/10.1126/science.aan0096.

29）Nitta,N., Sugimura,T., Isozaki,A., Mikami,H., et al.（2018）Intelligent Image-Activated Cell Sorting. Cell, 175, 1–11. doi.org/10.1016/j.cell.2018.08.028.

30）Moffitt,J.R., Hao,J., Wang,G., Chen,K.H., et al.（2016）High-throughput single-cell gene-expression profiling with multiplexed error-robust fluorescence in situ hybridization. Proc. Natl. Acad. Sci., 113, 11046–11051. doi.org/10.1073/pnas.1612826113.

31）Tiwari,D.K., Arai,Y., Yamanaka,M., Matsuda,T., et al.（2015）A fast- and positively photoswitchable fluorescent protein for ultralow-laser-power RESOLFT nanoscopy. Nat. Methods, 12, 515–518. doi.org/10.1038/nmeth.3362.

32）Zhang,X., Zhang,M., Li,D., He,W., et al.（2016）Highly photostable, reversibly photoswitchable fluorescent protein with high contrast ratio for live-cell superresolution microscopy. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 113, 10364–9. doi.org/10.1073/pnas.1611038113.

33）Grzybowski,M., Taki,M., Senda,K., Sato,Y., et al.（2018）A Highly Photostable Near-Infrared Labeling Agent Based on a Phospha-rhodamine for Long-Term and Deep Imaging. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 57, 10137–10141. doi.org/10.1002/anie.201804731.

34）Lukinavičius,G., Umezawa,K., Olivier,N., Honigmann,A., et al.（2013）A near-infrared fluorophore for live-cell super-resolution microscopy of cellular proteins. Nat. Chem., 5, 132–139. doi.org/10.1038/nchem.1546.

35）Uno,S.-N., Kamiya,M., Yoshihara,T., Sugawara,K., et al.（2014）A spontaneously blinking fluorophore based on intramolecular spirocyclization for live-cell super-resolution imaging. Nat. Chem., 6. doi.org/10.1038/nchem.2002.

36）Yamaguchi S, Matsushita T, Izuta S, Katada S, Ura M, Ikeda T, Hayashi G, Suzuki Y, Kobayashi K, Tokunaga K, Ozeki Y, Okamoto A. Chemically-activatable alkyne-tagged probe for imaging microdomains in lipid bilayer membranes. Sci Rep. 2017 ;7:41007. doi: 10.1038/srep41007.

37）J. Li and J. –X. Cheng, “Direct visualization of de novo lipogenesis in single living cells,” Sci. Rep. 4, 6807（2014）.

38）Suzuki K, Kimura T, Shinoda H, Bai G, Daniels MJ, Arai Y, Nakano M, Nagai T. Five colour variants of bright luminescent protein for real-time multicolour bioimaging. Nat Commun. 2016 Dec 14;7:13718. doi: 10.1038/ncomms13718.

39）Nishihara R, Hoshino E, Kakudate Y, Kishigami S, Iwasawa N, Sasaki SI, Nakajima T, Sato M, Nishiyama S, Citterio D, Suzuki K, Kim SB. Azide- and Dye-Conjugated Coelenterazine Analogues for a Multiplex Molecular Imaging Platform. Bioconjug Chem. 2018 ;29（6）:1922-1931. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.8b00188.

40）Zeng L, Ma G, Lin J, Huang P. Photoacoustic Probes for Molecular Detection: Recent Advances and Perspectives. Small. 2018 :e1800782. doi: 10.1002/smll.201800782.

41）Jin D, Xi P, Wang B, Zhang L, Enderlein J, van Oijen AM. Nanoparticles for super-resolution microscopy and single-molecule tracking. Nat Methods. 2018 ;15（6）:415-423. doi: 10.1038/s41592-018-0012-4.

42）Nam SH, Bae YM, Park YI, Kim JH, Kim HM, Choi JS, Lee KT, Hyeon T, Suh YD. Long-term real-time tracking of lanthanide ion doped upconverting nanoparticles in living cells. Angew Chem Int Ed Engl. 2011 27;50（27）:6093-7. doi: 10.1002/anie.201007979.

43）Chen S, Weitemier AZ, Zeng X, He L, Wang X, Tao Y, Huang AJY, Hashimotodani Y, Kano M, Iwasaki H, Parajuli LK, Okabe S, Teh DBL, All AH, Tsutsui-Kimura I, Tanaka KF, Liu X, McHugh TJ. Near-infrared deep brain stimulation via upconversion nanoparticle-mediated optogenetics. Science. 2018 9;359（6376）:679-684. doi: 10.1126/science.aaq1144.

44）Montalti M, Cantelli A, Battistelli G. Nanodiamonds and silicon quantum dots: ultrastable and biocompatible luminescent nanoprobes for long-term bioimaging. Chem Soc Rev. 2015 21;44(14):4853-921. doi: 10.1039/c4cs00486h.

45）Chen G, Zhang Y, Li C, Huang D, Wang Q, Wang Q. Recent Advances in Tracking the Transplanted Stem Cells Using Near-Infrared Fluorescent Nanoprobes: Turning from the First to the Second Near-Infrared Window. Adv Healthc Mater. 2018 :e1800497. doi: 10.1002/adhm.201800497.

46）Iwano S, Sugiyama M, Hama H, Watakabe A, Hasegawa N, Kuchimaru T, Tanaka KZ, Takahashi M, Ishida Y, Hata J, Shimozono S, Namiki K, Fukano T, Kiyama M, Okano H, Kizaka-Kondoh S, McHugh TJ, Yamamori T, Hioki H, Maki S, Miyawaki A. Single-cell bioluminescence imaging of deep tissue in freely moving animals. Science. 2018 ;359（6378）:935-939. doi: 10.1126/science.aaq1067.

47）Zhao J, Chen J, Ma S, Liu Q, Huang L, Chen X, Lou K, Wang W. Recent developments in multimodality fluorescence imaging probes. Acta Pharm Sin B. 2018 ;8（3）:320-338. doi: 10.1016/j.apsb.2018.03.010

48）Hu F, Zeng C, Long R, Miao Y, Wei L, Xu Q, Min W. Supermultiplexed optical imaging and barcoding with engineered polyynes. Nat Methods. 2018 Mar;15（3）:194-200. doi: 10.1038/nmeth.4578.

49）Drees C, Raj AN, Kurre R, Busch KB, Haase M, Piehler J. Engineered Upconversion Nanoparticles for Resolving Protein Interactions inside Living Cells. Angew Chem Int Ed Engl. 2016 12;55（38）:11668-72. doi: 10.1002/anie.201603028.

## ２．３．３　生体イメージング（MRI、PET/SPECT、NMR）

### (1) 研究開発領域の定義

ヒトを含む生体の構造や生命機能・病態に関わる事象を生きたまま非侵襲的に可視化する技術の確立を目的とした研究開発領域。臨床画像診断や創薬を含む広範囲のライフサイエンス研究・医療で利用される。ここでは、非密封放射性同位元素で標識した薬剤をイメージングする PET/SPECT（positron emission tomography/ Single photon emission computed tomography）核磁気共鳴法を用いた生体イメージングである MRI（Maginetic Resonance Imaging）、核磁気共鳴により物質の分子構造や生理的環境下の詳細な立体構造と様々な時間領域のダイナミクスの解析技術である NMR（Nuclear Magnetic Resonance）を扱う。

### (2) キーワード

陽電子放出断層撮影（PET）、単一光子放射断層撮影（SPECT））核医学、画像診断、分子イメージング、セラノスティクス、薬物動態、個別化医療、磁気共鳴画像法（MRI）、脳機能 MRI（fMRI）、マルチコントラスト・定量 MRI、超高磁場 MRI、超電導磁石、センサー造影剤、生体高分子、立体構造、ダイナミクス、分子クラウディング環境、NMR（in-cell NMR）、

### (3) 研究開発領域の概要

**［本領域の意義］**

PET/SPECT および MRI がもたらす学術的および社会的アウトカムは極めて広く、生体を対象とした生物医学全般に寄与している。基礎研究では特に神経機能回路の分析を始めとする神経科学、腫瘍内の不均一性ならびに代謝異常を解析する腫瘍学、循環器や移植再生医学における定量評価手法、創薬における前臨床試験の迅速化、特に脳神経関連医薬の創出に寄与している。医療では精密医療を実現する診断法（各種脳神経疾患・精神神経疾患・がん・心血管疾患・肝臓や生殖器などの大半の臓器の疾患、代謝異常）や治療法の高精度化に寄与し、特に精神神経疾患や認知症の早期客観的診断の実現が期待される。

また NMR による生体高分子の立体構造や、制御因子との相互作用部位および生物活性中心のダイナミクスは、様々な疾病メカニズムの合理的な理解や、立体構造を基にした創薬（SBDD、Structure Based Drug Design）に対して大きな波及的効果を与える技術である。

**［研究開発の動向］**

**【PET/SPECT】**

PET/SPECT は、生体イメージングを目的に放射線にかかわる非常に多岐にわたる学問分野の技術（放射線検出のための材料工学や電子工学、検出信号を画像データに変換する数学的なプロセッシング、核物理学に基づく放射性核種生産、分子プローブ合成のための放射化学など）が関連した技術である。医学・薬学・生物学において臨床・研究面での実用が進められ、それが要素技術の高度化を促し、また新たな応用の可能性が生み出される循環にある。

核医学イメージングは、1950 年前後のシンチレーションカメラの開発に始まり、これを回転させたり、リング状に配置したりすることで断層画像を得る X 線 CT の画像再構成アルゴリズム（filtered back projection）ができた。それを応用し、まず、１リング機器ではあったが、

1960年代後半にPETが開発された。PETの商業機開発に続き、SPECTも1980年頃には商品化された。SPECTはPETに比べて感度が低いが、比較的長い物理学的半減期の核種を使用するため放射性薬剤の開発・供給がしやすいこと、サイクロトロンを使わずジェネレータから得られる$^{99m}$Tcが普及したことなどから、1990年前後以降、骨・心筋・脳血流シンチグラフィなど、臨床における画像診断ツールとしての確固たる地位を築いた。ただ、使用される単光子放出核種が$^{99m}$Tc、$^{111}$In、$^{123}$I、$^{201}$Tlなどに制限されるため、1990年代後半以降の分子イメージングの潮流のもと、現在の核医学イメージング研究・開発ではPETが優位になっている。

PETでは、ポジトロン放出核種の崩壊により生じた陽電子が、通常の陰電子と引きつけ合って衝突しその消滅エネルギーから発せられる約180度反対方向に一対の光子（ガンマ線）を6 nsecという非常に短い時間のタイムウインドウで同時計数し、何百万本にもなる同時計数線の画像再構成（三次元等高線）を行う。画像再構成にかかるデータプロセッシング技術の速度向上などにより装置としては実用レベルに達した。黎明期のPETプローブ開発では、$^{18}$F標識したグルコースの誘導体（fluorodeoxyglucose、FDG）が生み出され、医療用小型サイクロトロンの開発と相まって、1990年代後半には、がんの核医学診断などで重要な位置を占めるようになった。このFDGの集積はエネルギー代謝活性を反映すると考えられることから、“機能”のイメージングということが強く意識されるようになり、糖・アミノ酸・核酸誘導体など代謝イメージング用PETプローブの開発が精力的に行われるようになった。さらに、PETは生体分子や医薬品の多くに含まれる炭素やフッ素の同位体11Cや18Fを標識に利用できることが大きな特長であるが、放射化学・標識化学の発展により、自在な標識化合物の合成が可能になってきている。ゲノム解読やバイオテクノロジーの発展などに伴い、ライフサイエンス研究を分子レベルで進めようという気運の高まりと相まって、PETは2000年頃以降生体分子イメージング研究の中心的技術として使用されており、がん・認知症・精神疾患・感染症などが現在の重点対象である。それぞれの疾患の基礎研究の成果をもとに、生体機能や病態のイメージングバイオマーカーとなる非常に多彩なPETプローブの実証研究が国内外で進んでいる。研究成果の社会実装に向けては、創薬と同様に、人的・物的資源の持続的な注入が必要であり、世界的にプローブの開発・標準化に関する様々な国家規模のプロジェクトが推進されている。

また、PETは超高感度であるため、分子数としてごく微量のプローブ投与（マイクロドーズ）で、その体内分布を時空間分解能よく画像化できる。この特長から、欧米を中心に、創薬の早期に、フェーズゼロ試験としてPETを活用した新規医薬品候補化合物の動態評価が行われるようになっている。レギュラトリーサイエンスの考えのもと、日米欧を中心に議論がなされ、各国でマイクロドーズ臨床試験などの実施に関する規制が整備された。

【MRI】

MRI（磁気共鳴画像法）は医療用のMRIと、生物医学の基礎から応用研究に用いられる前臨床MRIの2種類がある。

医療においては、高い空間分解能とコントラスト、広い普及性を持ち国内6000台前後が稼動し、断層画像検査が必要となる場合は、CTに次いで利用頻度の高い基本的な検査法として定着し、年間1000万件を超える臨床検査が実施されている。CTでの医療被ばくの懸念が高まる中、「疑似CT法」の開発もあり、その存在意義が増している。MRIの特徴として、新しいプログラム（パルスシーケンス）や造影剤を開発することで、多様な用途、例えば、温度計

や流速計、pH 計測など、あたかも PC がアプリケーション・ソフトを変更するように、多様な「道具」に変貌し活用される拡張性・将来性を持っている点があげられる。

●臨床用 MRI 装置・システム技術開発の動向

・ マグネット・装置開発：　超電導磁石の材質は従来型・低価格のニオブチタンが中心であり、国内企業としては三菱電機が高水準な製品を供給している。最近の動向としては、3T 以下のマグネット開発は世界的にも一定の水準に達し横並びとなりつつある。日立製作所が独自性と一定のシェアを持つ「オープン型 MRI」は安定した状態にある。海外の動向として、GE 社が頭部専用の小型超電導磁石を市場に投入、今後、低コストや省スペースなどで有用性を発揮する可能性がある。7T 高磁場マグネットに関しては、2017 年ドイツ・シーメンス社が頭部専用装置を米国 FDA が承認し、臨床応用の道が開かれた。

・ 実験的な高磁場装置：　ヒト頭部用 10.5 T が米国ミネソタ大で稼動、11.7 T が米国 NIH（シーメンス社）で開発中、全身用が仏・NeuroSpin 研究所（核融合技術を転用した独自仕様）で間もなく稼動予定である。7T 以上の高磁場 MRI 装置の実用化には小型化が必須であり、高温超電導技術の必要性が増すが、医療が求める磁場品質とコストを達成する開発は極めて困難で、世界的に持続的な取り組みが行われている。磁石以外にも傾斜磁場・高周波送受信技術では、並列多チャンネル送受信など多くの取り組みが見られるが割愛する。

・ ソフトウェア・計測・解析法開発：　MRI はパルスシーケンスと呼ばれる高周波と傾斜磁場の制御プログラムによって、全く異なる情報を生体から引き出すことが出来、計測法の多様性を生み出す原動力である。最近の取り組みとしては、検査時間を現在の半分以下に短縮し得る高速化・並列化に関する研究開発が進められている。計測データを間引きすることで高速化する圧縮センシング、定量値計測を元に複数の画像コントラストを事後的に再合成できるシンセティック MRI、そして DB 参照によるフィンガープリンティング法 32）等は劇的な高速化に寄与し、診断精度への影響を考慮しながら開発が進められている。高速化に加え、最近では、CT とほぼ同じコントラストを取得する「疑似 CT 画像」が開発され、被ばくゼロでの計測や PET/MRI での補正に使用されている。

●ヒトを対象とした MRI 生物医学研究の動向

MRI を用いた生物医学研究は非常に多岐に渡り、本稿では全てを網羅できないため、近年、特に注目される内容に限定して言及する。

・ 脳の分子輸送イメージング：　脳にはリンパ管が存在しないため、神経老廃物の排出機構は長い間不明であったが 2012 年頃より血管周囲腔に血流と逆行性の CSF 流が細胞外液との交通が発見され、アルツハイマー性認知症に関与するβアミロイドを含む老廃物排出への関与が示唆された（Glymphatic system 仮説）。この動態を MRI で観測する研究が進められ、Gd 造影剤の透過性や代謝物の蓄積、流れや拡散などの計測から分子輸送の解析が活発に進む。形態情報（ボリュームメトリー）と併せてアルツハイマー性認知症等の早期バイオマーカーになることが期待されている。

・ 拡散 MRI と拡散テンソル：　MRI では水分子の拡散状態を画像化できる「拡散 MRI」は急性期脳梗塞で生じる脳浮腫を検出する唯一の診断法として定着し、さらに腫瘍の検出においても有用性が示唆される。また、水分子拡散の方向性（異方性）を検出する撮像法の開発により、神経軸索の構造的連携や白質病変の検出に活用され、例えば認知症に伴う線維連絡の減少を非侵襲的に検出できる手法として報告がある。新たなシーケンス開発が報

告され、より精度を高め、初期の神経疾患で生じる細胞レベルに近い変性（軸索径）や軸索内での微細な線維走行の推定、あるいは、がん細胞の直径分布の推定や細胞内器官を含むミクロンレベルでの水分子拡散の解析など研究がすすめられている。

- マルチコントラストMRI（多変数MRI）、定量的MRIと標準化：　多数の形態・機能・代謝を取得可能なMRIの特徴を生かし、高速撮像法を利用して同時期に取得し、多変数の解析から疾患の特徴を見いだし診断精度を上げようとする試みが進められ、がん診断を中心に特定疾患の診断精度の向上を目指している。また、ビッグデータ解析や疾患自動判別に関する開発が進む中で、データに定量性を持たせ、その精度を高める試みの重要性が増している。MRIで計測あるいは推定可能な定量値は、T1・T2・T2*などの組織の緩和時間（時定数）、体積や長さ、血管内流速、循環量（還流量）、拡散係数、磁化率など数多い。近年の高速撮像技術により短時間で複数の定量画像取得が可能となり、多変量解析から疾患特異的バイオマーカーの探索が可能になりつつある。また、各定量精度は条件や装置メーカー等によってバラツキが生じるため、今後、標準化や定量精度の品質確保が求められる。
- 安静時機能的MRI（functional MRI：fMRI）：　fMRIは日本人研究者・小川誠二の世界的な発見から始まり[1)]、当初は脳機能に関する基礎研究での利用に留まっていたが、安静時でのfMRI解析[2)]は、脳領域間に認められる同調性パターン（コネクティビティ）の解析や、機械学習（人工知能）技術の援用により、精神神経疾患や認知症の自動判別を目指す技術へと急速に進展した。医療での本格的利用が目前であり、予測的・先制医療への応用が本格化する直前の段階にある。
- 治療との融合（セラノスティクス、インターベンショナルMRI）：　MRIガイド下で腫瘍に集束超音波を照射する治療は、治療・モニタ技術の最も有効な組み合わせで、日本では子宮筋腫が対象疾患として薬機法承認されている。今後、正確な照射領域の制御、温度モニタ精度向上、高速かつ高解像MRI計測などの技術開発に伴って、パーキンソン病、癲癇、骨転移、乳がんなど多くの疾患に対する応用が期待される。

●前臨床MRI装置・システム技術開発の動向

前臨床MRIとは、マウス、ラット等のげっ歯類、マーモセットやマカクサル等の小型～中型の霊長類等の実験動物における基礎生物医学研究、医療や創薬の前臨床研究開発を目的とした装置で、臨床用MRI装置と同じ原理で動作し、核磁気共鳴装置（NMR）にも近い装置群から構成される。

- マグネット技術：　信号対雑音比は磁場強度とほぼ比例するため、より高磁場のMRI開発が進展し、最近では11.7T装置が市販され、16.4T装置も数カ所で運用（Minnesota, NeuroSpin, Tübingen）、試験的には20Tの開発報告もある（MagLab）。16.4T装置を用いて生きたマウスで20μm以下の平面内空間分解能を達成するなど、徐々に光学顕微鏡の解像度に近付きつつある。超高磁場マグネットの製造技術は国内の神戸製鋼/JASTEC社を含めた世界でも数社が保有しているが、それに対応したMRIシステムで完成度の高いものは独・Bruker Biospin社が独占的な影響力を持ち、次いで英・MRソリューションズ社が追っている。我が国には筑波大学と九州大学からのスピンアウト・ベンチャーが2社存在し、独自の製品を開発している。
- マルチモーダル対応MRI：　より簡便に利用でき、また導入と維持コストを抑えた新しい前臨床MRI装置が登場し、永久磁石を利用した卓上サイズのMRI（0.5T ～ 2T）、あ

るいは液体ヘリウムを使用せず、電導冷却による軽量 MRI が開発され（1.5T ～ 7T）、普及が始まっている。これらの小型装置には、PET や SPECT などの核医学や CT 等と同時計測あるいは同じベッド上でマルチモーダル計測が可能な装置が複数提案されている。

●動物を対象とした MRI 医学研究の動向

前臨床 MRI を用いた基礎～応用研究は、①特定の学術領域における問題を解決するために MRI を活用する、②新たな技術開発の結果が学術的な発展を促す、という２つの方向性が、相互に牽引しながら発展している。

・ 脳研究： fMRI または安静時 fMRI による脳機能研究が盛んで、げっ歯類や霊長類（マカクサルやマーモセット）を中心に、遺伝子改変モデルを含む各種疾患モデル動物での研究、ヒトでは実施出来ない投薬後の脳機能や代謝評価、電気生理や光遺伝学による疾患モデルとの併用など、基礎研究から創薬における薬効評価までの広い分野での応用が行われている。米国との違いとして、我が国の神経科学プロジェクトでは挑戦的な工学的開発が伴っていないことが多く、結果として、既存の計測手法で得られることしか扱えず、成果が生物領域に限定的となる傾向がある。また、MRI で得られた信号や定量値は直接生物的な変性を示していないため、誤った議論や解釈が生じる危険性があり、物理工学と生物系が密な議論を実施する必要性がある。

・ がん研究： 腫瘍に対する研究開発としては、伝統的に実施されている MRS による代謝研究に加えて、後述の新規造影剤開発、あるいは治療との融合研究が最近目立っている。特に、マイクロイメージングによる腫瘍内不均一性の解析、炎症評価や免疫細胞の追跡、多変量 MRI などによる疾患特異的バイオマーカー検出の研究が実施されている。また、蛍光・発光イメージングとの重ね合わせによる腫瘍への多角的評価の研究が盛んとなりつつある。

● MRI 造影剤の研究開発の動向

臨床用 MRI 造影剤は、Gd-DTPA 製剤が 1988 年に承認されて以来、イオン化リスクの少ないマクロ環型錯体（DOTA など）に改良され、現在の主流となっているが、最近、これらの造影剤の特許切れが相次ぎ変革期を迎えている。副作用に関しては、かつては一部の腎障害患者に対し Gd 錯体造影剤を投与すると排出が遅れ、死亡を含む深刻な病状（nephrogenic systemic fibrosis: 腎性全身性線維症）を引き起こす問題が生じたが、禁忌情報を徹底することで事実上落ち着きを見ている。また、Gd 造影剤が、頻回の投与によって脳の一部に長期間蓄積しているとの知見が報告され、世界的に検討が進み 2017 年に FDA から直鎖型錯体を持つ Gd 造影剤の使用を中止する勧告が出された。また、患者に投与した Gd 錯体造影剤が下水に流入することで、都市部の沿岸部の環境汚染を引き起こしているとの報告があり、生物濃縮を含めた将来的な懸念が示されている。こうした Gd そのものに対する懸念から、今後は代替造影剤を含めたより安全性や環境への影響が少ない造影剤の研究開発が盛んになると考えられる。

・ ナノ粒子造影剤: 高分子やナノ粒子を用いた造影剤開発が盛んになっており、そのメリットとして、①造影剤を粒子上に多数配置することによる感度上昇（解像度上昇）、②薬剤送達による標的性の付与と局所集積、③体内動態を維持したまま多機能化（反応性・治療効果付与・マルチモダリティ対応）が可能、④ナノ粒子を用いた治療薬（ナノ薬剤）に対するコンパニオン診断が可能、などがある。抗がん剤を搭載した高分子ポリマーから構成されるナノミセルは、現在、数種類が臨床試験中であり、ナノ薬剤と似た構造の MRI 造

影剤によって、その送達性や副作用（病巣以外の集積）を事前にチェックしてから治療を開始する事が可能である。そういった「コンパニオン診断造影剤」とも言うべき新しいカテゴリーの造影剤が、ナノ薬剤の登場に伴って注目されている。その他、Gd 代替となるナノ造影剤、センサーのように信号を変える反応性 MRI 造影剤、治療薬の搭載や光・超音波等に応答して治療効果を発揮するセラノスティクス（診断治療融合）型造影剤など、論文数が増加している。

・ マルチ分子イメージングと CEST（Chemical Exchange Saturation Transfer）: MRI では観測周波数を変えることで、1H だけでなく、13C、31P など他の核種の分布や代謝物を観測することが可能で、分子特異的なマッピングを実施する方法は各種存在したが低感度や長い計測時間のため臨床で広く普及するに至らなかった。しかし、超偏極技術に加えて、既存装置のみで実施できる化学交換飽和移動法（CEST）が注目され、脳腫瘍の細胞密度や pH 評価、パーキンソン病の診断など臨床での研究が国内外で始まっている。また、特定分子を同時に複数マッピングできる CEST 造影剤は、今後、幾つかの課題（励起の空間的不均一性と温度上昇、信号強度の上昇など）を解決することで、臨床診断での「マルチ分子イメージング」として期待される。

【NMR】

●希薄溶液中の生体高分子の NMR 解析

希薄溶液中の生体高分子の NMR 解析については、既に手法的には成熟してきていると考えられる。現在は、生物学的に興味深い試料についていわゆる構造生物学的な研究が鋭意行われている段階にある。溶液 NMR 手法に期待される情報としては、立体構造情報もさることながら、他の手法では得にくいダイナミクスの解析が注目されてきている。

解析対象として国内外の動向を俯瞰すると、膜蛋白質（特に GPCR）、マルチドメイン蛋白質、天然変性蛋白質（intrinsically disordered proteins、IDPs）への適用が特に注目されている。膜タンパク質は言うまでもなく創薬のターゲットとして重要であり、分子認識に関わる動的な性質について興味深い知見が得られている。マルチドメインタンパク質は高等真核生物特有の複雑な活性制御を担っていると考えられ、かつドメイン間の柔らかく一時的な相互作用が活性発現に重要と考えられている。IDPs は、アルツハイマーなど蛋白質のフォールディング異常に起因すると考えられる疾病の原因とされている。マルチドメインタンパク質や IDPs の構造情報は、静的な構造解析手法である X 線結晶解析やクライオ電子顕微鏡では得にくいため、溶液 NMR の寄与が大きく期待されている。

●生細胞中の NMR 解析

In-cell NMR は 2001 年に大腸菌を用いて初めて提案された手法[3]である。その後、ホストとなる細胞は、アフリカツメガエル卵母細胞、酵母、昆虫培養細胞、ヒト培養細胞へと拡大し、標的生体高分子（特にタンパク質）の細胞内での構造変化、翻訳後修飾、相互作用の解析が可能な手法へと発展した。特筆すべきことは、in-cell NMR 研究に対する日本の研究者の寄与が大きいことである。いずれも世界初となる、ヒト培養細胞内での in-cell NMR 観測[3]、生細胞中のタンパク質の立体構造決定[4),5]、ヒト培養細胞の生理的な測定条件維持のためのバイオリアクターの開発[6),7]等が日本から発信されている。

In-cell NMR 研究は、要素技術の開発と応用の両面で研究が進んでいる状況にある。世界的

に見て、in-cell NMR 研究の対象としては、（1）細胞内の分子クラウディング環境下での分子の動態（排除体積効果や非特異的相互作用がコンフォメーションやフォールディング安定性や、動的平衡に及ぼす影響など）の解析を目指した物理化学的な興味に基づくものと、（2）個別の生命現象を細胞内環境のコンテクストで理解しようとするものに大別されるであろう。いずれのアプローチについてもいくつかの興味深い結果が日本のグループから報告されている、

In-cell NMR の創薬研究への展開は、この手法の草創期から議論されてきた[8),9)]が、要素技術が成熟してきた現在、より具体的な計画が議論されるようになってきている。

NMR シグナルの感度は磁場強度の 3/2 乗に比例するため、溶解度や安定性の問題から解析が困難な試料の測定には、より高磁場の NMR 装置とそれを効率よく維持・管理する中核施設が必要となる。日本においては 21 世紀になって大規模な高磁場 NMR 施設が理研と大阪大学蛋白研などで整備されたが、その後は設備整備が停滞しており、継続して整備を進めている欧州や、最近急速に整備が進んでいる中国に水をあけられつつある。最近になって韓国が 2019 年に導入が開始される予定の最高磁場の装置（1.2GHz）の導入を決定したことが伝えられた。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

【PET/SPECT】

●コンパニオン診断としての核医学、ラジオセラノスティクス

分子標的医薬やバイオ医薬が主流となる中、個別化医療・医療経済の観点から、薬効の最大化・副作用の低減・無駄な投薬の抑制のための患者の適切な選別が求められている。こうしたコンパニオン診断は、医薬品有効性評価のための臨床試験において患者集団を適切に設定する際にも有効であることから、欧米の製薬会社を中心に、創薬プロセスの中でコンパニオン診断薬開発にかなり重きが置かれるようになっている。体外診断の感度の向上により、血液バイオマーカーの開発も期待されているが、あくまでスクリーニング検査向きであり、直接体内の標的分子の定量・分布評価が可能な PET/SPECT 用分子プローブ開発に軸が置かれている。

また、患者個人の病態を正確に把握し、適切な治療を選択することを一連の医療行為としてとらえる考え方が個別化医療の潮流の中で強調され、セラノスティクスとして提唱されている。特に、RI 内用療法と核医学診断である PET/SPECT を併せた医療はラジオセラノスティクスと呼ばれている。近年、特にがん領域で、アルファ線放出核種を利用した治療法の模索が始まっており、特にその抗体コンジュゲートは、抗体医薬や抗体薬物複合体の技術を応用した、新しいがん治療薬となる可能性が高く、核医学イメージングとの組み合わせは自然な流れである。今後 10 ～ 15 年程度、この分野の研究開発の軸の一つになるものと予想される。その他、診断と治療の融合による革新が様々な角度から模索されており、画像下治療（Interventional Radiology, IVR）やピンポイント放射線治療などはその例である。

●次世代生体イメージング装置・マルチモーダルイメージング装置の開発

従来の PET/SPECT の検出器はシンチレータと光電子増倍管の組み合わせで構成されてきたが、この光電子増倍管を半導体検出器に置き換えることで、時空間分解能・感度・定量性を向上した装置の開発が進み、GE や Philips などが販売を開始した。さらに、対消滅放射線の飛行時間差（Time of Flight, TOF）情報を利用した画質改善技術や、解像度と感度の両立が可能な三次元放射線位置（depth-of-interaction, DOI）検出器の PET 実用機への搭載も進ん

でいる。コンプトンカメラを用いた医療用ガンマ線イメージング機器の開発も進んでおり、ガンマ線エネルギーの識別による複数核種の同時イメージングの実証研究も行われている。また、PET/MRI 一体型装置の臨床への導入が進み始めている。PET/CT と比べて造影剤を使わずに軟部組織の位置情報を得られる利点はあるものの、同時データ収集でなければならないアプリケーションはまだ明確に提案されていない。さらに、これまでの PET の体軸視野は 20 ㎝程度であり、がん診断などの場合ベッドを少しずつずらしながら全身画像を撮像して来たが、UC Davis のグループは、世界初の Total-body PET scanner を作製、中国メーカーから販売されている[10),11)]。これは、全身の体内分布の経時変化を得たい創薬における薬物動態評価などで力を発揮するものと考えられる。

機器開発の面では、宇宙観測用に開発されて来たコンプトンカメラを用いた医療用ガンマ線イメージング機器の開発が進んでいる。従来のシンチレーションカメラと異なり、高感度化・小型化が可能であり、理研が開発した GREI（Gamma Ray Emission Imaging）[12)] や Polychrome PET[13)] のように複数分子を同時に追跡する技術が世界的に注目されている。

【MRI】

●反応性造影剤とナノ粒子を利用したセラノスティクス

生体内の環境の変化に応答して信号が変化する「センサー型の反応性造影剤」、あるいは生体内あるいは外部からのトリガーに応答して治療薬を放出するなど治療効果を併せ持つ「セラノスティック造影剤」の報告が相次ぎ、化学・材料学・薬学・医学など異分野の研究者が参入し、世界各国の大学や研究所において研究開発が実施されている。反応性造影剤は、例えば、pH や温度、Ca イオン濃度などに応答して錯体形状を変化させ、造影剤と水との間の交換を変化させる造影剤の開発が報告されている[14)]。

●超偏極技術と超偏極造影剤

超偏極とは、生体外の装置を使って特定の物質を高度に励起（偏極）して、一時的に検出感度を数万～ 10 万倍に増幅する技術である。核スピンの励起数を最大化する本技術は先端的な量子技術とも言え、この技術が有効に利用されると、PET など放射性物質を投与する核医学的手法に近い感度にまで迫ることが期待される。最近では GE 社が GMP 基準に準拠した臨床用製造装置を開発し、すでに世界各国で数十台が臨床研究に製造された（現時点で、日本はゼロ）。また、ピルビン酸の $^{13}C$ を超偏極することで、グルコース代謝を指標とするがん診断法として、米国で臨床試験が開始されている。超偏極技術の問題点としては、偏極状態を維持できる時間が短いことであり（数秒～数分の半減期）、最近になって長い緩和時間を持つ化合物が開発されるなど、実用化に向けた取り組みが進んでいる。今後、超偏極技術を活用した化合物が、DDS 技術等を取り込みながら、より偏極時間を延長させることで、放射線被ばくがゼロで、代謝や薬物動態を高感度かつ高解像度に取得できる、未来型の医療の実現に繋がることが期待される。

●人工知能（機械学習・deep learning）の活用

解析技術について、最近、人工知能（AI）を使用した研究開発の報告が世界的に急増している。例えば画像再構成時のノイズ除去についてキヤノンメディカル社が独自の国産技術として実用化に向かっており、計測エラーやアーティファクトの補正、装置の性能補完など応用範囲が広い。また、自動診断支援システムは、各国の開発競争が激化しているが、MRI は他の装置よ

りもコントラストが複雑かつ多数の計測法がありAIにとって難問である。AIに正解を与えるためには、多数の正常および患者画像データの集積が必須であるが、我が国は規制の厳しさから米国・EU・中国と比較して集積に遅れを取っている。この点は医療分野では改善する見込みが少ないため、むしろ高精度の少数データでの解析（スモールデータ）の研究開発が有望と考えられる。現在医療で使用される形態情報に加えて、安静状態の機能的MRIデータに人工知能技術を適用することで、精神・神経疾患の自動判別が可能になり[15]、認知症など多くの疾患鑑別に利用される可能性が高い。今後はシーケンスなどの計測技術と人工知能を基盤とする解析技術を融合させる事で、高精度自動疾患判別などの「診断ソリューション」の創出が臨床MRIにおける研究開発の中核になるものと予想される。

【NMR】

近年のトピックスとしては、GPCRのダイナミクス解析[16),17)]、神経細胞に存在しアルツハイマー病にも関連するTauの研究成果[28),29)]、生きた真核細胞内のタンパク質の動態解析などがある。

GPCRについては、GPCRは2状態の平衡にあり、そのダイナミクスが活性発現に重要であるという重要な知見が得られている。タンパク質の細胞内動態については、パーキンソン病をはじめとする神経変性疾患の原因物質と考えられるa-シヌクレインの細胞内動態が初めて明らかにされた他[18)]、真核細胞中のタンパク質の詳細な立体構造解析などが達成された。これらの解析を可能にする要素技術の開発も進んであり、特に、NMRシグナルの自動解析や[19)]ベイズ推定を用いた立体構造解析[5),20)]など、情報科学的手法の適用が急速に進みつつあるほか、バイオリアクターなどの生理的条件でのNMR解析を可能にする手法も確立しつつある。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

【PET/SPECT】

日本では、2003年から分子イメージング研究検討会が開催され、2005年から10年間、文部科学省の元で、分子イメージング研究プログラム、分子イメージング研究戦略推進プログラムがそれぞれ5年間行われた。幅広いライフサイエンス研究開発でPETの利用が増加しており、分子イメージングの概念とPETの使い道に対する理解が定着し、深まってきている。

米国は、NIHに生物医学イメージング分野全般をカバーする研究拠点としてNational Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering（NIBIB）を設置しており、グラントの配分も担っている。20年近く継続的に大型予算を投入しており、2018年度の予算は$377.6 million（約400億円）である。その内80%は米国中の大学や病院に研究や教育を目的に配分されている。現在の日本のがんや認知症といった単位（応用・ユーザー単位）ではなく、生物医学イメージングに対して（技術単位）の予算措置である点が特徴であり、各イメージング技術固有の技術的・施設環境的課題に柔軟な予算配分がしやすい体制である。欧州ではEuropean Molecular Imaging Laboratories（EMIL）として各国に研究拠点が整備され、教育体制が整えられた後、The European Research Infrastructure for Imaging Technologies in Biological and Biomedical Sciences（Euro-BioImaging, EuBI or EuBI ERIC）を設置し、産業界と協調しながら、グローバルにプロジェクトを推進しようとしている。その他、中国で分子イメージング関連の国家プロジェクト“CHINA National Center for Multimode Trans-

Scale Biomedical Imaging”が2018年にスタートし、300億円の初期設備投資、毎年30億円のランニング予算が投入されている[21)]。

その他、スウェーデンのカロリンスカ研究所では、研究開発機能に臨床試験機能も併せ持つ医学イメージングセンターが2017年に新病院に設置され、これまでのPETセンターがネットワーク化されて拡大した。また、欧米を中心に、生物医学イメージングを用いた臨床試験・研究を支援する公的機関のセンターやベンチャー企業がimaging core facilitiesなどとして相次いで設立されている。

【MRI】

●大容量データ・大規模データと人工知能の利用

米国では、MRIを中心とする脳イメージングと遺伝子解析から脳の構造・機能と疾患とを大規模な患者群を対象に、その解析データを共有するという国際枠組ENIGMA計画が活発な展開を見せている。2016年半ばの時点で35ヶ国から、総スキャン数としては53,000もの脳の解析データを集めている。ENIGMA計画（ENIGMA）は、2014年NIHの「ビッグデータを知識に計画」（Big Data to Knowledge（BD2K）Initiative）（BD2K）からスタートし、BD2Kは2014～2017年度のI期で210億円がデータサイエンスとデータ駆動型の研究に投じられ、その成功から2018～2021年度のII期が開始された。

また、2013からNIHが開始したブレイン・イニシアティブ（The BRAIN Initiative）は、2014年に50億円、2015年に90億円が脳研究に支出され、中でも「ヒト・コネクトーム（Human Connectome）計画」（Human Connectome Project）では、脳機能MRI、拡散テンソル、脳の分割化などを高度化し、小動物からヒトまでの脳をミクロからマクロまで異なった尺度で網羅解析しようという計画であり、脳研究と工学的開発をリンクさせ、新開発の手法で新たな脳研究を遂行するという意図が読み取れる。この流れは、我が国におけるマーモセットを対象とした「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト（革新脳）」の立案にも大きな影響を与えた。

●定量的MRIと脳疾患鑑別

大規模な定量MRI研究の先駆けは、2006年から2010年に米国NIHとFDAが中心となったアルツハイマー病神経イメージング計画（ADNI）であり、ADNI-2を経て後継プロジェクトADNI3が現在も継続中である。ADNIは神経科学に限定される枠組ではなく、MRI、情報学、遺伝学、PET、バイオマーカーなど複数のテーマに分かれて、それぞれの見地から技術開発を含めて疾患判別を検討している。Quantitative Imaging Biomarker Alliance（QIBA）は、北米放射線学会（RSNA）の主導で始まったMRIを含む画像診断装置の計測方法の標準化を進める活動で、装置や計測方法の差異を低減するような標準化を推進、世界的に活動が展開しつつある。国内においても、日本磁気共鳴医学会と日本医学放射線学会がRSNAと連携してMRIの定量化に関する標準化活動を開始している。

【NMR】

生体高分子のNMR解析に関わる現在進行中の国内のプロジェクトとしては、膜タンパク質のin situ機能解明を目指した特別推進研究（代表：嶋田一夫・東京大学教授）、真核細胞のin-cell NMR解析法の確立を目指したCREST研究（代表：伊藤　隆・首都大学東京教授）

などが挙げられる。また、新学術領域研究「動的構造生命」（代表：神田大輔・九州大学教授）も in-cell NMR 解析を重要なトピックの一つとして掲げている。国際的には生体高分子の NMR 解析データの統合と革新を目指した英国の CCPN（common computational project for NMR）（https://www.ccpn.ac.uk/）や、ネットワーク型の統合構造生物学研究基盤（INSTRUCT）（https://www.structuralbiology.eu）を始めとするいくつかの比較的大規模なプロジェクトが進行しているが、in-cell NMR に関する大規模な研究プロジェクトは今のところ開始されていない模様である。NMR 装置開発としては、JST 未来社会創造事業 大規模プロジェクト型として、「高温超電導線材接合技術の超高磁場 NMR と鉄道き電線への社会実装」が進行中である。溶液 NMR 装置を開発・販売している企業としては、Bruker（欧州）と JEOL（日本）が精力的に開発研究を行っているが、特に生体高分子の解析については、高磁場 NMR の開発（1.2GHz）や cryogenic probehead の開発を行った Bruker が優位なシェアを誇っている。

### （5）科学技術的課題

【PET/SPECT】

● PET プローブライブラリーの構築・利用促進・標準化

PET プローブの多くは短半減期核種で標識されるため、施設間での提供が容易ではない。また、多くの PET 施設に導入されている標識合成装置が FDG 専用機であり、多目的標識合成装置も構成がバラエティに富んでいることが、新規に開発された PET プローブを多施設で利用し、標準化を図る上で大きな障害となっている。そこで、国内で開発された PET プローブについて、開発者の権利を守った上で、標識合成法や実用例をデータベースにデポジットし、標識前駆体の提供体制を確保することで、多施設での実験動物研究用・臨床用としての利用を促し、速やかな標準化や用途の拡大を図るシステムの構築が有効である。さらに、多様なプローブの合成に対応可能な標識合成装置の統一規格の作成や、地域ごとに PET プローブの合成・提供に特化した施設を整備し、サイクロトロンや標識合成装置を持たない所謂リバリー施設での PET 研究を支援する体制の整備を進めるのも有益な試みである。

●革新的な検出器を搭載した PET/SPECT 実用機の開発と商業化の促進

PET/SPECT の感度・空間分解能については原理的な限界までまだまだ改善の余地がある。ガンマ線検出器については、大学の研究室や公的研究機関を中心に世界最先端の技術開発が行われているが、資金的に十分とは言えず、また実用機としてのパッケージングの視点に乏しいケースが多い。プロセッシング技術やソフトウェア開発、さらに、産業化において最も重要な新しい応用の提案などのマーケティングの視点も含めて、早期に国内メーカーと有機的なつながりを持ち、二人三脚で実用化・商業化を行う仕組みが求められる。

【MRI】

●マグネット開発における技術課題

臨床 MRI 装置の世界 5 大メーカーのうち 2 社が日本に存在し（キヤノンメディカル、日立ヘルスケア）、超電導マグネットに関しては三菱電機、東芝、神戸製鋼などが高い技術力を持つ。高磁場マグネットと高磁場化に関しては、シーメンスによる頭部専用 7T 装置の臨床認可が近いと考えられる。しかし、臨床での普及に関しては、装置の高磁場化・小型軽量化が必須であり、その解決に対して高温超電導材料への期待が高いが、コスト・接合技術等の課題が克

服できていない。こうした超電導において日本企業は世界的に高い技術力を持つが、具体的な開発例が少ないため実用化において欧米から若干の遅れをとっている。例えば、実験用超高磁場 MRI 装置開発など多数の関連企業や大学などが参加できる施策を政府が主導することが課題解決に繋がると考えられる。

● MRI のソフトウェアと計測技術開発における技術課題

最近の傾向としては、MRI 装置開発の中心はソフトウェア・計測・解析手法における競争、とりわけ AI の活用が急速に浮上している。その上で、我が国の情報学やデータサイエンスにおける若手研究人材の不足は、極めて大きな問題であり、公募を出しても日本人の応募者が皆無という状況もある。

● MRI の生物医学への応用研究での技術課題

基礎～前臨床における応用研究における技術的課題は、我が国の前臨床実験用 MRI の稼働台数が十分でなく装置が慢性的に混雑し、多くの利用者が容易にアクセス出来ないこと、そして初期参入における技術習得、MRI の基本技能の習得などに一定の困難が生じることである。また、臨床装置における技術的課題として、我が国は世界的に見て極めて MRI 装置稼動台数が多い国として知られるが、大半が医療のみに使用され、研究に上手く活用されていない点がある。医療用装置を研究に使用すると、故障リスクなどが生じるため、かなりのインセンティブがないと現場管理者の同意が得られない。大学病院等を中心に、臨床装置を積極的に臨床研究や基礎研究に活用できる施策を立案し実施されると、我が国の潜在力を活用でき研究成果の大きな向上に繋がると考えられる。

【NMR】

希薄溶液中の生体高分子の NMR 解析については、疾病メカニズムの構造基盤の解析や創薬科学への応用を志向した研究が加速していくものと思われる。クライオ電子顕微鏡や X 線結晶解析から得られるスナップショット的立体構造情報に、NMR 解析から得られるダイナミクス情報を加味した複合的な解析が、生体高分子の機能発現に対する我々の理解を深めていくことが期待される。

生細胞中（特に真核細胞中）の NMR 解析については、「細胞が生きていれば良い」という初期の過渡的な段階から、「第 2 世代」と考えられる、「細胞の至適条件下での解析」が可能な段階に成熟している。今後の展望としては、より生物学的に意味のある解析を達成するために、幹細胞や初代培養細胞を用いた「第 3 世代」の解析の必要性が唱えられ始めている。このような方向性は、in-cell NMR 解析の社会実装を考えた場合どうしても必要であり、今後の展開が大いに注目される。ヒト由来の様々な細胞を用いた in-cell NMR 解析が実現すれば、個体差や民族差や国家・地域差と疾病発症メカニズムの関係を解明する手法が確立して、遺伝的要因や環境要因の寄与の解析、ひいては疾病予測や毒性・薬効性の個別評価が可能となる可能性がある。また、ヒト培養細胞を用いた in-cell NMR による「薬剤スクリーニング」が可能になれば、「標的タンパク質の狙った位置に結合するか？」などの付加価値のついた情報を創薬研究に対して提供できるため、効率的な医薬品の開発が可能になる。

これまで述べた将来注目される研究において、（物理化学的解析に適したモデル試料ではなく）実在の試料を扱う必要があるため、国際的な競争力を維持するために、解析の迅速化や高度化を目指した要素技術開発も継続される必要がある。その際にはベイズ推定などの情報科学

的なアプローチとの効率的な統合や、スーパーコンピューターを用いたシミュレーション研究との緊密な連携が必須となるであろう。

### （6）その他の課題

PET/SPECT 領域は非密封放射性同位元素の使用を伴うため、施設整備と専門家・技術者の養成が特に重要であるが、現在の日本の状況はどちらも最適化されているとは言い難い。文部科学省「分子イメージング研究プログラム（平成 17 ～ 21 年度）」「分子イメージング研究戦略推進プログラム（平成 22 ～ 26 年度）」において、理化学研究所と放射線医学総合研究所に研究拠点が整備された。しかし、各機関内での組織改編を経て、現在では必ずしも核医学イメージングを中心に据えた研究開発体制は取り得ず、また現在の予算規模を考えると世界的に見れば中～小規模施設にとどまっている。また、幾つかの大学に小動物用 PET の最新機器が導入されるなど設備面での予算投入が断続的に行われているが、その多くの施設は PET プローブ合成技術者の確保や維持のための経費捻出に苦しむなど、新規性の高い研究開発を行うことがきわめて難しい状況にある。人的・資金的研究資源を集約し、生体イメージングに焦点を絞った限られた数の研究開発拠点（組織）を再整備することが望まれる。

従来、PET 施設では医療用サイクロトロンが必須であったが、各施設で維持するには経費が掛かり過ぎ、研究用に高度なプローブ合成を担う能力のある技術者の確保も難しい。

そこで、地域ごとに標識合成の設備や技術者を集約した“PET プローブ合成コアラボ”を設置し、サイクロトロンや合成装置を持たないデリバリー施設において PET 研究開発の推進を支援する仕組みが望まれる。また、医学・生物学の他領域の研究者が、非密封放射性同位元素を取り扱う PET/SPECT 研究に直接従事するのは、ハードルが高く効率も悪い。海外では PET/SPECT 研究支援ベンチャーが誕生しているが、日本ではこのような産業形態が自発的に出て来ることは難しいと考えられ、公的資金により“PET/SPECT 研究支援ファシリティ”を設け、PET/SPECT に関わる共同研究・支援の実施を後押し、何れ独立採算体制へ移行するのが望ましい。

SPECT の主力核種 99mTc の親核種である 99Mo は、現在、カナダや欧州などからの 100% 輸入に頼っているが、各国の原子炉が老朽化し稼働終了が近付いていることから、安定供給体制の構築が喫緊の課題となっている。日本原子力研究開発機構の試験炉や加速器中性子を用いた国内での生産・供給体制の検討が進められている [22),23)]。

国内外で MRI 研究開発における成功事例の多くは、異分野融合により複数分野の研究者集団の形成が行われた場合であり、臨床 MRI においては医師と PhD、そして企業の参加が重要で、前臨床 MRI では物理工学、化学、ナノ工学、薬学、生物医学など複数分野の参入が必要である。こうした状況を大学の一研究室で担うことは困難が大きいため、全国に何カ所かの共同開発拠点を設け、産学連携を含めた開発体制（プラットフォーム）が構築されることが求められる。例えば、飛躍的な展開が期待される技術として、感度を数千倍から数万倍に向上させる超偏極が注目されるが、一研究室で開発費用・維持費を負担することは困難であり、その結果、欧米では多数の研究拠点が存在するにもかかわらず我が国では持続的に稼動する拠点が存在しない。米国であれば、NIH（NINDS/NIH）、ミネソタ大（Minnesota）、フロリダ（MagLab）、MIT、ハーバードと MGH、カリフォルニア周辺など、独では複数の MaxPlanck（チュービンゲン、ケルン、ライプチヒなど）がある。また、仏では NeuroSpin（NeuroSpin）という

大規模な研究所を立ち上げ、MRI と神経科学の領域で大きな成果を上げている。我が国には、幾つかの大学・国研に小規模な体制が散在している。拠点形成は研究者のコスト負担を減らし、共同利用、共同開発、教育、学位取得後の研究者の活躍の場などとなり、産学連携の場ともなることから、全国に複数の拠点設置が望ましい。

### (7) 国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | ↘ | 【PET】<br>・認知症の原因物質の一つであるタウタンパクの蓄積、がんの質、動脈硬化、膵機能のなどを評価するための新規の PET プローブ開発が、大学や公的機関を中心に積極的に行われている。<br>・理研・東大を中心に、薬物トランスポーター研究や薬物間相互作用研究に PET を活用する先駆的な研究が行われている [24)]。<br>・日本の得意とする有機反応開発研究者の参入が、PET プローブ標識合成技術の革新に寄与している。<br>・ガンマ線検出器開発などで高い競争力を持つ大学や公的研究機関の研究グループがある。<br>・文部科学省「分子イメージング研究プログラム（平成 17 ～ 21 年度）」「分子イメージング研究戦略推進プログラム（平成 22 ～ 26 年度）」の終了後、生物医学イメージングの切り口での資金投入が大きく減少しており、競争力の低下が懸念される。<br>・日本の核物理学の強みを活かそうと、特にアルファ線内用療法と PET 診断を組み合わせたラジオセラノスティクスの研究が増加している。<br>【MRI】<br>・基礎の装置開発に関しては、材料や超電導磁石などの基盤技術は高く、NEDO での支援も続くが、製品化が後手に。基礎の生物医学研究は、fMRI 原理を始め日本人の功績は大きく、シーケンスや造影剤など先導的な研究が出ているが、欧米より規模が小さく単発的である<br>【NMR】<br>・生体高分子の NMR 解析を主な対象とした特別推進研究や新学術領域研究、JST のさきがけ研究などが長期間にわたって継続的に展開されており、世界的にトップクラスの結果が発信されている。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | 【PET】<br>・PET/SPECT 研究開発支援体制が不十分であり、日本の製薬企業がマイクロドーズ臨床試験を海外で実施するケースが目立つ。<br>・PET/SPECT 装置は、構成部品は日本製品が用いられていながら、臨床機・実験動物研究用機共に国内企業のシェアは非常に低く、大半を輸入に頼っている状況にある。NEDO のプロジェクトの成果を基にした島津の乳房専用 PET 装置の商業化などの例があるが、非常に限られている。<br>【MRI】<br>・臨床装置開発については国内 2 社が開発し、若干欧米よりも遅れるが、高い技術力を持っている。生物医学研究に関しては、大きなコミュニティを持ち高い水準で成果を出しているが、全体としては臨床業務に沿った報告が多く、研究シーズを欧米に依存する点が残る。また、産学連携研究が脆弱である。<br>【NMR】<br>・産総研のバイオメディシナル情報研究センターをはじめとする、SBDD を志向した大小のプロジェクトが長期間にわたって展開されている。また NMR 解析は「中分子創薬」における構造解析、（細胞内を含めた）蛋白質間相互者王解析の主要なツールとしても位置づけられている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | 【PET】<br>・NIH に生物医学イメージング分野全般をカバーする研究拠点 National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering（NIBIB）が設置され、20 年近くにわたり継続的に大型予算を投入している。<br>・UC Davis のグループが、世界初の full-body PET scanner を作製するなど、野心的な機器開発にも資金が投入されている [10]。<br>・Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital, Gordon Center for Medical Imaging では生物医学研究における PET 試験を一貫して支援する体制が整備されている。<br>・シーメンス・GE・フィリップスの大手 3 社や製薬企業が大学に共同研究経費を出資しており、大学は基礎研究に専念し、優れたアイディアを企業が実用化していく、良い循環が出来上がっている。このような環境は、人材の育成・優秀な人材の確保にも繋がっている。<br>【MRI】<br>・基礎の装置開発に関しては、NSF、DOE、NIH など層の厚いファンディングと国立高磁場研究所（MagLab）など複数の開発体制があり活発である。基礎の生物医学研究は、多数の大規模拠点から生み出される優れた研究成果、技術開発など質・量共に群を抜いている。<br>【NMR】<br>・北米には、主要大学・研究期間に有力な生体系 NMR の研究グループが存在しており、長期にわたってこの領域を牽引している。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | 【PET】<br>・First-in-human study やマイクロドーズ臨床試験を行う体制整備が進んでおり、製薬企業が創薬に PET を積極的に利用している。医薬品開発と並行して、コンパニオン診断薬としての PET プローブ開発が標準的に行われている。<br>・PET/SPECT 研究・臨床開発支援ベンチャーが多く誕生している。<br>・89Zr など放射性同位元素の供給体制が整備されている。<br>【MRI】<br>・臨床装置開発については GE 社が牽引。一時期は開発力が低減したが、開発が再び活性化している。生物医学での研究開発に関しても、独創的研究、大規模研究、知財など極めて活発かつ世界最高水準の成果を出している。NIH ファンドがよく機能し（ADNI , BD2K , ENIGMA , Human Connectome Project , The BRAIN Initiative）、産学連携も活発。<br>【NMR】<br>・1996 年に Abott 社が現在の Fragment-based drug discovery（FBDD）に当たる手法を発表して以来、NMR を主要なツールとして創薬に利用する研究が産学双方で展開されている。また、疾患メカニズムの解明から NMR を用いた創薬を志向したプロジェクトも進められている（例：トロント大学の KRAS Initiative, https://www.cancer.gov/research/key-initiatives/ras）。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | → | 【PET】<br>・The European Research Infrastructure for Imaging Technologies in Biological and Biomedical Sciences（Euro-BioImaging, EuBI or EuBI ERIC）を設置し、PET 機器メーカーや製薬会社と協調しながら、グローバルにプロジェクトを推進しようとしている。<br>【MRI】<br>・基礎の装置開発に関しては、独 Bruker 社が独占的な支配力を持ち、英国も活発。仏 NeuroSpin では超高磁場装置が立ち上がるなど、極めて活発。EU を中心としたファンディング体制があり、多数の企業体から成る産学連携枠組を活用。基礎の生物医学研究は、米国に劣るものの、独・仏・英・蘭など複数の大学や研究所から活発に生み出されている。<br>【NMR】<br>・イギリス、ドイツ、スイスを中心に、主要大学・研究期間に有力な生体系 NMR の研究グループが存在しており、北米に並んで長期にわたってこの領域を牽引している。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | 【PET】<br>・スウェーデンのカロリンスカ研究所では、研究開発機能に臨床試験機能も併せ持つ医学イメージングセンターが 2017 年に新病院に設置され、これまでの PET センターがネットワーク化されて拡大した。製薬会社とタイアップした薬物動態評価やコンパニオン診断薬開発が盛んにおこなわれている。<br>・米国と同様に PET/SPECT 研究支援ベンチャーが多く誕生している。<br>・米国と同様に 89Zr などの放射性同位元素の供給体制が整備されている。<br>・デンマークは、人口当たりの PET 機器台数が世界トップである[25)]。国内に戦略的に施設を配置しており、多様な疾患に対して PET 検査を中心に据えた医療体制を構築している。<br>【MRI】<br>・臨床装置開発については独シーメンス社が世界最高水準で、蘭フィリップス社も高水準。シーメンスは 7T-MRI 装置など先端的装置を実用化し開発をリード。生物医学での研究開発は、物量としては米国に及ばないものの、独・英・仏・蘭を中心に多数の研究拠点が存在し（NeuroSpin, Max Planck Tübingen）、長期的視野で独創的研究を生み出す。独シーメンス社が大規模なデータ収集と自社内での標準化を始め、ビッグデータと自動診断分野へ参入。各国の資金と EU によるファンドが併せて機能している。<br>【NMR】<br>・企業における活発な NMR を用いた創薬研究に加えて、大学・研究期間において創薬を志向した NMR 方法論的研究も広く行われている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | 【PET】<br>・分子イメージングの大型国家プロジェクト“CHINA National Center for Multimode Trans-Scale Biomedical Imaging” が2018年にスタートした[21]。<br>【MRI】<br>・基礎の装置開発の報告は無い。研究の質としては欧米に劣るものの、欧米からの帰国者が研究室を各地で立ち上げ、香港大学・北京大学・科学技術アカデミーなど高水準な機関も増加している。米国を中心に多数の研究者を送り込んで、研究成果を急激に増やしている。分子イメージングを中心に大規模な政府ファンドが10年計画で開始された。規制が緩やかであるため、特に霊長類での脳MRI研究が盛んである。<br>【NMR】<br>・一定数のアクティブなNMR研究グループが存在している。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | 【PET】<br>・浙江大学のグループなどがiPS細胞を用いた再生医療の治療効果判定にPETを用いる国家プロジェクトを進めている。<br>・複数の画像診断装置メーカーがあり、Shanghai United Imaging Healthcare社は、UC Davisのグループが開発したTotal-body PET-CTを販売している[11]。<br>・中国のOEMがPETの生産に向けた検討を進めていることが報告されている[27]。<br>【MRI】<br>・装置としては、水準は高くないものの国内企業が1.5T-MRIの自社開発に成功している。研究の質としては欧米に劣るものの、基礎研究と同様に帰国者を中心に水準を上げている。MRIの国際学会の会員数は、日本と同数かやや上回る程度に増加。発表数は数倍に達しており応用研究に対する関心が高く、物量としては日本を凌ぐ。医療機関の規模が大きく規制が少ないため、臨床研究に関しては先行する部分もある。<br>【NMR】<br>・中国では今のところ、NMRを用いた顕著な応用研究の報告はない。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | → | 【PET】<br>・米国UCLAのMichael E Phelpsの研究室などに留学していたメンバーが多く、つながりが強い。ソウル国立大学などを中心にPET/SPECT関連の研究が行われており、PET/MRI一体型装置に関する基礎研究は特に先駆的であった。<br>【MRI】<br>・基礎の装置開発の報告は無い。欧米留学の帰国者を中心に、非常に高い水準の研究拠点を形成している（IBSなど）。いくつかの財閥企業（サムスン医療センター等）が大学と連携した大規模研究拠点を持っており、活発な研究が行われている。<br>【NMR】<br>・一定数のアクティブなNMR研究グループが存在している。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | 【PET】<br>・PET医薬品の認可に関して米国などと似た枠組みの法規制の整備が進められている[26]。<br>・医薬品ベンチャーもあり、認知症やがんに加え、民間療法の治療効果判定にもPETを用いている。<br>・韓国のPETメーカーはまだない。GEやaspect imagingなどとのコラボレーションがある。<br>【MRI】<br>・実験的ながら7T-MRIの開発実績があり、10Tを超す超高磁場のMRIの開発計画がある。欧米や日本に比べて研究者数は少ないが、放射線科を中心に活発な研究が行われている。<br>【NMR】<br>・韓国では今のところ、NMRを用いた顕著な応用研究の報告はない。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない
（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1) Ogawa, S., T. M. Lee, A. R. Kay, and D. W. Tank. 1990. "Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation." Proc Natl Acad Sci U S A 87（24）:9868-72.
2) Biswal, B., F. Z. Yetkin, V. M. Haughton, and J. S. Hyde. 1995. "Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI." Magn Reson Med 34（4）:537-41.
3) Serber Z, Keatinge-Clay AT, Ledwidge R, Kelly AE, Miller SM, Dötsch V. High-resolution macromolecular NMR spectroscopy inside living cells. Journal of the American Chemical Society. 2001;123（10）:2446-7.
4) Sakakibara D, Sasaki A, Ikeya T, Hamatsu J, Hanashima T, Mishima M, et al. Protein structure determination in living cells by in-cell NMR spectroscopy. Nature. 2009;458（7234）:102-5.
5) Ikeya T, Hanashima T, Hosoya S, Shimazaki M, Ikeda S, Mishima M, et al. Improved in-cell structure determination of proteins at near-physiological concentration. Scientific reports. 2016;6:38312.
6) Kubo S, Nishida N, Udagawa Y, Takarada O, Ogino S, Shimada I. A gel-encapsulated bioreactor system for NMR studies of protein-protein interactions in living mammalian cells. Angewandte Chemie. 2013;52（4）:1208-11.
7) Inomata K, Kamoshida H, Ikari M, Ito Y, Kigawa T. Impact of cellular health conditions on the protein folding state in mammalian cells. Chem Commun（Camb）. 2017;53（81）:11245-8.
8) Burz DS, Dutta K, Cowburn D, Shekhtman A. In-cell NMR for protein-protein interactions（STINT-NMR）. Nature Protocols. 2006;1（1）:146-52.
9) Xie J, Thapa R, Reverdatto S, Burz DS, Shekhtman A. Screening of small molecule interactor library by using in-cell NMR spectroscopy（SMILI-NMR）. J Med Chem. 2009;52（11）:3516-22.
10) Cherry SR, Jones T, Karp JS, Qi J, Moses WW, Badawi RD. Total-Body PET: Maximizing Sensitivity to Create New Opportunities for Clinical Research and Patient Care. J Nucl Med 59（1）:3-12, 2018. doi: 10.2967/jnumed.116.184028.
11) http://www.united-imaging.com/en/news/2017/total-body-pet-ct-makes-its-debut-as-uih-unveils-9-new-products-at-cmef/
12) Shinji Motomura, Yousuke Kanayama, Hiromitsu Haba, Yasuyoshi Watanabe and Shuichi Enomoto. Multiple molecular simultaneous imaging in a live mouse using semiconductor Compton camera. J Anal At Spectrom 23:1089-1092 2008. doi: 10.1039/B802964D
13) Tomonori Fukuchi, Takashi Okauchi, Mika Shigeta, Seiichi Yamamoto, Yasuyoshi Watanabe, Shuichi Enomoto. Positron emission tomography with additional $\gamma$ -ray detectors for multiple-tracer imaging. Medical Physics 44:2257-2266, 2017. doi: 10.1002/mp.12149
14) Mi, P., D. Kokuryo, H. Cabral, H. Wu, Y. Terada, T. Saga, I. Aoki, N. Nishiyama, and K. Kataoka. 2016. "A pH-activatable nanoparticle with signal-amplification capabilities for non-invasive imaging of tumour malignancy." Nat Nanotechnol 11（8）:724-30. doi: 10.1038/nnano.2016.72.
15) Yahata, N., J. Morimoto, R. Hashimoto, G. Lisi, K. Shibata, Y. Kawakubo, H. Kuwabara, M. Kuroda, T. Yamada, F. Megumi, H. Imamizu, J. E. Nanez, Sr., H. Takahashi, Y. Okamoto, K. Kasai, N. Kato, Y.

Sasaki, T. Watanabe, and M. Kawato. 2016. "A small number of abnormal brain connections predicts adult autism spectrum disorder." Nat Commun 7:11254. doi: 10.1038/ncomms11254.

16）Isogai S, Deupi X, Opitz C, Heydenreich FM, Tsai CJ, Brueckner F, et al. Backbone NMR reveals allosteric signal transduction networks in the beta1-adrenergic receptor. Nature. 2016;530（7589）:237-41.

17）Shiraishi Y, Natsume M, Kofuku Y, Imai S, Nakata K, Mizukoshi T, et al. Phosphorylation-induced conformation of β 2-adrenoceptor related to arrestin recruitment revealed by NMR. Nature communications. 2018;9（1）:194.

18）Theillet FX, Binolfi A, Bekei B, Martorana A, Rose HM, Stuiver M, et al. Structural disorder of monomeric alpha-synuclein persists in mammalian cells. Nature. 2016;530（7588）:45-50.

19）Schmidt E, Guntert P. A new algorithm for reliable and general NMR resonance assignment. Journal of the American Chemical Society. 2012;134（30）:12817-29.

20）Rieping W, Habeck M, Nilges M. Inferential structure determination. Science. 2005;309（5732）:303-6.

21）http://newsen.pku.edu.cn/news_events/news/focus/7120.htm

22）福光延吉他 . 研究用原子炉により $^{99}$Mo/$^{99m}$Tc 国産化を目指した $^{99}$Mo/$^{99m}$Tc ジェネレータ開発 Isotope News 742:20-24, 2016.

23）https://www.jaea.go.jp/02/press2015/p15062601/index.html

24）Tadayuki Takashima, Satoshi Kitamura, Yasuhiro Wada, Masaaki Tanaka, Yoshihito Shigihara, Hideki Ishii, Ryosuke Ijuin, Susumu Shiomi, Takahiro Nakae, Yumiko Watanabe, Yilong Cui, Hisashi Doi, Masaaki Suzuki, Kazuya Maeda, Hiroyuki Kusuhara, Yuichi Sugiyama and Yasuyoshi Watanabe. PET Imaging Based Evaluation of Hepatobiliary Transport in Humans with（15R）-C-11-TIC-Me. J Nucl Med 53:741-748, 2012. doi: 10.2967/jnumed.111.098681

25）https://labcoat.jp/world-ranking-for-ct-mri-pet/

26）栗原千絵子 , 井上登美夫 . 韓国における PET 医薬品の承認制度枠組に関する調査報告 . 核医学 52（4）:341-352, 2015.

27）https://www.prnewswire.com/news-releases/chinese-oem-successfully-assembles-first-positron-emission-tomography-medical-scanner-and-orders-lfs-scintillation-crystals-for-second-unit-588587901.html

28）Karagöz GE, Duarte AM, Akoury E, Ippel H, Biernat J, Luengo TM, et al. Hsp90-Tau complex reveals molecular basis for specificity in chaperone action. Cell. 2014;156（5）:963-74.

29）Fontela YC, Kadavath H, Biernat J, Riedel D, Mandelkow E, Zweckstetter M. Multivalent cross-linking of actin filaments and microtubules through the microtubule-associated protein Tau. Nature communications. 2017;8（1）:1981.

30）Suleman Surti and Joel S. Karp. Advances in time-of-flight PET. Phys Med 32（1）：12–22, 2016. doi: 10.1016/j.ejmp.2015.12.007

31）山谷泰賀 . PET 装置の最新技術と将来展望 . 医学物理 35:16-23, 2015.

32）Ma, D., V. Gulani, N. Seiberlich, K. Liu, J. L. Sunshine, J. L. Duerk, and M. A. Griswold. 2013. "Magnetic resonance fingerprinting." Nature 495（7440）:187-92. doi: 10.1038/nature11971.

## ２．３．４　生体分子計測技術

### (1) 研究開発領域の定義

ここでは、生体分子を計測する技術のうち、電子顕微鏡法、光学イメージング、核磁気イメージング等と比べると、比較的近年に開発された「イメージングマススペクトロメトリー」、「原子間力顕微鏡（AFM）」および「一細胞、一分子計測技術」について記載する。

イメージングマススペクトロメトリーは、質量分析によって分子を検出する分析手法である質量分析を二次元的に行い位置情報を基に再構成して表示するイメージング法である。原子間力顕微鏡は、走査型プローブ顕微鏡（SPM）の一種であり、カンチレバー（探針、プローブ）で試料表面をなぞることでÅレベルの分解能で試料の凹凸を測定、あるいは可視化する技術である。生体分子への応用が試みられ、生理条件下で一分子の高分解能観察や分子間相互作用観察、あるいは生体分子の水溶液中での“動き”の可視化が可能になっている。一分子、一細胞計測技術により、従来バルクで解析していたため細胞それぞれの“個性”の解析が難しかった生体分子計測において、細胞等の不均一性を解析できるようになった。

### (2) キーワード

MALDI, DESI, SIMS, in situ, AI, Machine Learning, データベース、マスイメージングセンター周波数変調原子間力顕微鏡（FM-AFM）、振幅変調原子間力顕微鏡（AM-AFM）、３次元フォースマッピング法、認識力イメージング、フォースカーブ AFM（FD-AFM: Force-distance curve-based AFM）、ピークフォースタッピング法（Peak force tapping mode）

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

質量分析法は、試料から精製した分子を様々なイオン化法によりイオン化し、質量数と数を測定することにより、無標識で分子の同定や定量を行う方法であるが、一方で試料中の分子の位置情報（空間情報）は失われている。細胞や組織では分子の位置情報は機能を考える上で重要な情報であることから、位置情報を合わせて取得する技術としてイメージングマススペクトロメトリーの研究開発が行われた。本方法では、対象とする組織や細胞に対して２次元的に質量分析を行うことで、生体分子を標識することなく、組織、細胞に分布する脂質、タンパク質、薬物等の分子の位置情報と構造情報を取得でき、可視化することが可能である。薬物動態解析ではラジオアイソトープを使用せずに解析可能であることから標識を必要としない薬物動態解析方法として期待されている。また、生体分子は柔軟な構造を有しており、溶液中でそのコンフォメーションを変えることで、生命現象に関わる生体分子間のさまざまな特異的結合を効率的に促進している。したがって、生体分子本来の姿を捉えるには、生理環境下での観察が望ましい。原子間力顕微鏡（AFM）は、観察可能な試料や測定環境に原理的な制約が存在しないことから、生理環境下における生体試料”*in vivo*”高分解能観察などナノバイオ科学へ向けた応用が急速に進展しつつある[1)－4)]。近年、腫瘍等これまでクローナルで均一であると考えられてきた組織でも遺伝子変異解析の結果、不均一であることがわかってきたため、細胞毎に解析する必要性が増している。そのため、一分子、一細胞解析の研究開発や商業化が盛んに行われている。

［研究開発の動向］

【イメージングマススペクトロメトリー】

2015年ころから、従来法に比べてより簡便な熱イオン化法、PESI（Probe Electro Spray Ionization、（探針エレクトロンスプレーイオン化法））、ICP-MS（誘導結合プラズマ質量分析）法、などの様々なイオン化手法によるイメージングマススペクトロメトリー法が開発報告されるようになっており[5]、従来の分類では捉えきれなくなってきているのが研究開発の大きな新しい動向である。これらのイオン化法は従来のDESI（（Desorption Electrospray Ionization（脱離エレクトロンスプレーイオン化）やMALDI（Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization（マトリックス支援レーザー脱離イオン化法）等に比べて分子の同定能力に劣り、抗体プローブラベルが必要であったりするが、抗体などすでに存在する別の手法で医学生物学的な意味と紐づけられたツールを使うことを特徴としている方法である。近年、質量分析のデータをコンピュータグラフィックスとして可視化するという技術としての進化はほぼ行き着き、もう一度その膨大な質量分析データから人間が理解できる“意味”や“自然言語”に落とし込むことに向き合わざるを得なくなっている。そのために2つの大きな方向性があり、実はどれも一旦イメージングを離れて通常の質量分析に回帰する方向にある。一つは、他の研究の方法によってすでに意味づけられている抗体や薬剤などのプローブを見ることで意味の世界と紐づけていくことである。この方法は製薬の現場など現実社会との接続性が良いが、網羅性やノンターゲットは一旦捨てることになる。もう一つは大量のデータをハイスループットで、できれば時系列で取ってビッグデータ解析に落とし込むことで、この方法は医療現場など実社会での網羅性が高くなる。

【原子間力顕微鏡】

現状の液中AFM観察においては、カンチレバーを共振周波数付近で振動させた状態で、探針が試料表面に僅かでも接触するとその振動振幅が変化することを利用して、試料の表面形状を測定する手法、タッピングモードAFM（振幅変調AFM = AM-AFMとも呼ばれる）が、比較的観察操作が容易なことから広く用いられている[1),6),7)]。しかしながら、最近、より高分解能・高感度での観察が可能な周波数変調AFM（FM-AFM）が広く使用されつつある。FM-AFMでは、探針が試料表面に接近すると、試料と探針の間にはたらくvan der Waals力や化学力などの微弱な相互作用力によって、カンチレバーの共振周波数がシフトすることを利用しており、この高感度に応答する周波数シフト信号により非破壊での高分解能観察が可能となった[8),9)]。既に、膜タンパク質内のサブユニット構造やDNA二重らせん構造など多くの生体分子試料の高分解能直接観察が行われている[10)－12)]。

一方、リガンド－受容体や抗原–抗体など、生体分子間の特異結合における生化学的メカニズム解明に向けた計測が急速に進展しつつあり、生体分子の機能可視化として展開しつつある。生体分子間相互作用の直接計測は、AFMの生物分野への応用が始まった初期の段階より行われており、リガンドで表面修飾されたAFM探針を用いて、これに相補的な受容体系を表面に有する試料との間に働く力をフォースカーブ測定によって定量的に調べる、いわゆるフォース分光法（Force Spectroscopy: FS）が確立され[13)]、さらには動的フォース分光法（Dynamic FS: DFS）へと発展した[14)]。これらの手法では、主に相互作用力解析に重点が置かれたところから、その空間分解能は犠牲にされたが、その後、AFM探針をPEGなどのリンカーを介して分子修飾し、試料からリンカー長さ程度離れた領域において探針－試料分子の特異結合が検

出されるようにすることで、標的とする分子をマッピングする、高い空間分解能をもつ認識力イメージング（Recognition force imaging）が開発されたされた[15]。一方、この手法では定量的計測を同時に実現することが困難であったが、定量化可能な（３次元）フォースマップ法による相互作用力解析（あるいは FD-AFM：Force-distance curve-based AFM）へと発展した[16]。また最近では、高感度 FM-AFM をベースとする３次元フォースマップ法の相互作用力計測にも大きな期待がもたれている。

【一細胞・分子解析】

一般的に一細胞解析は細胞の分取、細胞の前処理、シーケンサーによる配列計測、配列の解析の工程に分けることができる。現状ではこれらの工程はそれぞれの工程に特化した独立装置で行い、それぞれの工程を用途に応じて組み合わせることで一細胞解析が実現されている。例えば一細胞の分取においては、米国で開発された FACS（Fluorescence Activated Cell Sorter）によって細胞膜上に発現している抗原をマーカーとして高速に細胞を分取することが標準化されている。しかし、この手法では抗体の蛍光強度を指標としているため、細胞内の分子の発現の局在や細胞の形状などから分取することは不可能である。近年日本国内で開発された Intelligent IACS（Image Activated Cell Sorter）は画像レベルで分取を可能にした装置であり、FACS に代わる新しい世界標準となる可能性を秘めている。

また、米国 Berkeley Lights 社は光選択技術を用い、細胞を一つひとつの単位で自動的に培養、評価、選別することで、通常では数週間から数カ月かかる細胞株の開発を数日に短縮することができる「Beacon」装置の市販を開始した。すでに米国内外において数十台以上の販売実績がある。販売価格はおよそ 3 億円であり、かなり高価であるため限定された機関でしか購入することができない状況にある。日本国内では細胞の表現系を一細胞ごとにリアルタイムに測定する顕微鏡技術や、特定の細胞を回収、培養、評価する技術は高い技術レベルを保持しており、安価な「Beacon」装置同様の 1 細胞装置の開発が望まれている。

一細胞解析の前処理工程に関しては、米国での研究成果をもとに起業された Fluidigm 社が、全自動一細胞単離・核酸調製機を上市するなど、専門外の研究者でも扱える装置の市販が始まっている。全自動で一細胞から DNA シーケンサーで読むことのできるサンプルの前処理を高効率かつ並列で行うことが可能である。一方、日本国内では細胞の核と細胞質を物理的にフローセル内で分離し、それぞれ別々に前処理を行う手法が開発された[17]。このようなユニークな前処理技術の装置化、市販を目指すことが望まれる。

DNA シーケンサーによる DNA 配列読み取りに必須であるのがシーケンサーの開発であり、様々なシーケンサー開発が世界中で激化している。特に、2014 年までの 10 年間に渡って NIH が主導した 1000 ドルゲノムプロジェクトは、大学とベンチャー企業における一分子 DNA シーケンサーの研究開発を強力に後押しし、一分子検出を原理に持つ第 3 世代 DNA シーケンサーの実用化を実現した。さらに、この数年間の間に、一分子を検出するナノポア型の第 4 世代 DNA シーケンサーの動作原理が実証され、一分子解析技術を基盤とする診断デバイスの研究開発が加速されている。従来の一分子 DNA シーケンサーは DNA ポリメラーゼを用いた酵素反応と蛍光検出を基盤としている。しかし、ナノポア型は酵素反応も蛍光検出も用いずに全く異なる検出原理を用いていることが世界中の投資家を魅了している。また、網羅的解析だけでなく、生体分子の定量解析を目的とする一分子解析デバイスの開発も進んでいる。これは分子や細胞ごとにひとつずつ計測することが出来るので分子や細胞カウンティングが可能と

なり、絶対的な定量へとつながる。代表的な一分子定量解析デバイスにはデジタル PCR 法やデジタル ELISA 法がある。

これらの技術によって圧倒的に存在数が少ないがん幹細胞などを測定することが可能となり、これを測定することで診断や創薬へ応用しようと世界中で競争が激化している。

核酸配列の解析についてはシーケンサーのアウトプットで産出された配列がどのような生物学的および医学的意味を持つのかなどを解析することが重要である。例えば RNA を網羅的に配列解析するトランスクリプトーム解析ではゲノム配列にその配列をマッピングし、ゲノム上のどの配列がどれくらい転写されたかを解析する。その後、アノテーション（注釈付け）を行う。現在はこのような解析を行う様々なプログラムが開発、公開されており、様々な研究者が利用することができる。

これらの各工程が別々の装置で行うのではなく、全ての工程が導入された全自動統合一細胞解析システムの構築が可能になれば世界標準の一細胞解析装置となる可能性が非常に高い。

さらにシーケンス時に大きな問題となるのが、増幅バイアスである。シーケンサーで読み取る際の試料は十分に読み取れる精度を担保するために一定の分子数まで増やす必要がある。増幅する際に問題になるのがプライマーやオリジナルの分子数、および核酸の配列などによって増え方が異なる点である。これを解消するために、バーコードと呼ばれるランダムな配列を導入し、同時に配列を読み取ることによってバーコード領域の分子数から増幅バイアスを補正する手法が開発されている。

しかし、オリジナルの分子数が少ない場合はそもそも増幅されないため、完全な手法とはいえない。完全にロスのない一分子カウントシーケンサーが完成されれば、絶対定量が可能となるため、これらの問題が解決される。これによって一細胞に含まれる RNA の真の定量配列解析が可能となる。



### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

【イメージングマススペクトロメトリー】

●質量分析の高感度化、高分解能化について

質量分析部の感度はシステム全体の感度に直結すると同時に、現在主流となっている多段階のマスフィルターをかけることが出来る装置においてはそのフィルターの選択性の高さとダイナミックレンジの広さが定量性の高さにも繋がる。

質量分析技術による先端的な計測は大きな勢いで進展しており、高感度化、高分解能化、小型化、高速化が主に企業主体で進んでいる。例えば同じ価格帯の装置の感度はこの 10 年で 2 桁ほど向上した。一方、測定対象をイオン化する部分の効率はまだ 2 桁ほど改善の余地があると考えられている。生成したイオンを分離するイオン光学系の部分でも 3 桁ほど改善の余地があるとされる。検出器は一部すでに一分子の感度に到達しているがダイナミックレンジや処理速度で改善が進んでいる。これらを合わせると特別に原理的なブレークスルーが無くても既存の技術の延長線上の改善改良でまだ 5 桁ほど良くなってゆくと期待されている。その他、飛行時間型（Time-of-Flight：TOF）の螺旋多重周回、オービトラップ型、磁場フーリエ型等の新たな質量分析法が実用化されている。これらのうち、螺旋多重周回が最も高速である。オービトラップ型は原理的に廉価化小型化が可能であり汎用性が高い。磁場フーリエ型の装置は格段

に分解能が高い。

●フラグメンテーション技術によるさらなる分離分析

イオンをさらに分割する技術としては希ガスをぶつける他にレーザーや電子線や紫外線をあてるなどでフラグメント化する技術がある。これに関する基本的な応用物理学的知見は 20 世紀中盤に得られていたが、最近になって実際のニーズが高分子化学や医学生物学に頻出するようになってきている。多様な分子構造のそれぞれに特徴的なフラグメンテーションを予め割り出し、それを生体分子の分析に用いて逆演算するという新技法の発表が、欧米の化学系の研究室から相次いでいる。さらにそうしたフラグメンテーションを多段階に行う多重反応モニタリング（MRM）の手法も一般的になってきている。

●イオンモビリティによるさらなる分離分析

イオンモビリティも組み込んでさらに分離を良くしたイメージングマススペクトロメトリー技術は 2008 年ころから出てきている。LC などに比較して前処理の分離が十分行えないイメージングマススペクトロメトリーではイオンモビリティなどのイオン化後の分離手法の有効性は高い。

●前処理とデータ解析について

重要な新しいトレンドは、手術中や内視鏡下や環境測定など in situ での測定技術である。SIMS や MALDI や ICP などは向いていないが、DESI や PESI などでは可能である。イメージングマススペクトロメトリーそのものでイメージングすることを捨て、光学イメージングをガイドに数点を質量分析してイメージングと合わせた機械学習によって癌のマージン判別等の意思決定を行う手法が複数出てきている。

この方向性の研究開発の根源的な問題は、おそらく近い将来に光学的な手法とビッグデータ解析による機械学習のみでマージン判定が可能になり質量スペクトルデータを必要としなくなるであろう点である。遠い将来に最終的な意思決定アルゴリズムの出力すべき評価関数、つまり術者の行動等の選択枝が切る切らないの二値ではなく、たとえば使うべき手術器具の選択であるなどもっと複雑になってくれば質量スペクトルなどの情報も必要になるかもしれない。

【原子間力顕微鏡】

●多周波数 AFM

ダイナミックモード AFM では、通常、カンチレバーの共振モードにおける一つの周波数が AFM 測定に利用されるが（通常最低次の共振周波数）、多周波数 AFM では２つ以上の周波数（複数の共振モードや高調波）を使用する。例えば２つの共振モードを用いる場合、１つを形状計測に、もう１つを相互作用力あるいは局所弾性力などの計測に割り当てる。多モードの構成法や検出法にはさまざまな手法があり、また、各モードには振動振幅、測定力、測定時間などの多くの測定パラメータがあり、これらの特徴を活かした多周波数 AFM 法の開発に向けて新たな展開を期待したい。

●３次元フォースマッピング（FM-AFM）

近年の FM-AFM の大幅な性能向上により、現在、観察領域全面におけるフォースカーブ（相互作用力の探針 – 試料間距離依存性）を高い空間分解能で取得する３次元フォースマッピング法が実現している [18)]。微弱な力検出が可能なことから、生体試料周囲の水和構造計測が可能であり、この水和構造が影響する生体分子間の特異的相互作用や種々の生化学プロセスの解析に役立つと考えられる。また、この手法によって界面電気二重層による力（電気二重層力）が

測定でき、生体試料上の局所電荷密度分布も計測可能であることが報告されており[19),20)]、局所電荷由来の生体分子間相互作用の計測に発展することが期待される。本手法は、国内の研究グループ（京都大学、金沢大学）が中心となって進められている。

● 3次元フォースマッピング（非共振モード）

上述のフォースマッピング法ではFM-AFMによるフォースカーブ測定が基本となるが、本手法では、通常のカンチレバーのDC的な曲がりによるフォースカーブ測定によるマッピング法であり、Peak-Force Tapping法とかFD-AFMとも呼ばれる。以前にはForce-Volume法と呼ばれていた手法と基本的に同じであるが、測定が著しく高速化されている。DC検出のため、ダイナミック法に比べると感度的にはやや不利であり、主に探針－試料の接触領域における相互作用力分布が計測対象となるが、特異結合力分布やタンパク質ドメインの硬さ分布など定量的な機能可視化法としての応用が広がりつつある。本手法は、欧州の研究グループ（ETH、EPFL、Linz大）が中心となって進められている[21),22)]。

金沢大学では2017年にWPIに採択され、ナノ生命科学研究所を設立した。本研究所は生命現象の仕組みを原子・分子レベル（≒ナノレベル）で理解することを目標としており、その中核技術としてAFMを用いている。

### (5) 科学技術的課題

イメージングマススペクトロメトリーなどの直接質量分析においては質量数はわかるが分子内構造がわからない物質が大量に（数万種類以上）発見されている。食事由来のもの、腸内細菌など共生生物由来のもの、環境由来のものなど多種多様にあり、しかもそれらから重要因子が次々に発見されるようになっており個体の生存や病態において共生している細菌や食事由来の物質も無視できないことが明らかになってきている。それらをスループットよく同定する手法の開発が科学的技術的な重要課題である。おそらく質量分析以外の別の分析計測との接続が必要である。

AFMにおいては、3次元フォースマッピング法では、FM-AFM計測を基本とする場合、水和構造、局所電荷密度の分布計測、非共振法を基本とする場合、特異結合力や局所表面硬さの分布計測に応用されつつあり、どちらの手法においても今後のさらなる発展が期待される。高分解能の3次元測定のためには、各点での測定の高速化が必要となるが、そのためには検出信号雑音比の改善が必須となるため、AFM計測装置のさらなる低雑音化・高感度化も求められる。

現在、超高真空・低温FM-AFMでは、単一有機分子内のC-C結合を直接可視化できる程の分解能が達成されている。一方、液中AFMにおいては、タンパク質分子内ドメインの可視化は可能であるものの、ドメイン内部構造や特定の官能基を可視化することは必ずしも容易ではない。これは、タンパク質分子の熱的揺らぎがその主な原因であると思われるが、揺らぎ下であってもその平均位置は十分局在化していると考えられ、分子揺らぎを見かけ上低減化するなど、さらなる高分解能化に向けた可視化法を開発していくことが望まれる。

一方、生体分子の機能イメージングを推進するためには、単一分子レベルの特異結合力の計測がなお一層重要となる。特異結合力の検出は、生化学修飾探針を用いて行われ、結合確率を上げるために、修飾分子は探針に通常PEG鎖を介して固定されるが、このPEG鎖が探針の実効先端径を増加させるため、分解能の低下を招くことになる。このため、結合確率および検出分解能を低下させない新たな生化学修飾探針の開発が求められる。また、多周波AFMなど

を用いることにより、形状計測と相互作用力計測を分離し、形状計測時には分解能低下を回避するなど、新たなイメージング法の開発も求められる。

一細胞解析技術の課題は細胞分取、細胞前処理、細胞計測（シーケンス計測を含む）、細胞解析の技術が独立しており、標準化された統合システム化ができていないことが最大の課題である。すなわち各ユーザーが測定に適した技術を選択しているため、それぞれの技術の特徴に差が出るため、比較検討が難しい。例えば Illumina 社のシーケンサーを使用するには決められた細胞の前処理が必須であるが、Nanopore によるシーケンサーを使う場合は異なる前処理が必要となる。また、データの後処理解析も異なるため、標準化することが必須となる。そのためにはなるべくひとつの装置でそれぞれの処理を全自動かつ一括して行う必要がある。

### （6）その他の課題

質量分析においては、主となる MALDI,DESI,SIMS は一台数億円、それぞれに複数の特徴を持つ複数の装置で比較解析することが望ましく、前処理や解析のノウハウの集約と標準化の観点からも集約化が効率がよい。そのため、EU ではオランダに、米国ではバンダービルトに 30 から 100 台を擁するセンターが出来ており、数十億円から 100 億円ほどの国費の投資が行われている。日本にも 2016 年から浜松医大に国際マスイメージングセンターが国立のセンターとして設立され、AMEDCREST や JST の共用プラットフォーム事業等の支援を受けて 3 台の MALDI、DESI が稼働しており、人材や技術の供給機関になっているが、欧米のセンターに比して規模が一桁小さく、欧米の潮流に乗り遅れかねない。

またデータベースの整備も課題である。データベースに載っているということは公知であるということであるため、データベースに載っているもので特許を取得することは出来ない。よって公開データベースや誰でも買える市販のデータベースに商業的に価値が高いデータが載っていることはありえない。製薬会社のやり方としては、公開データベース検索により既知分子を捨てて、載っていないものに絞り込むのに使う。逆にアカデミアでは、先行研究により既に名前のついているもの、機能が明らかにされているもの、重要と指摘のあるものだけに対象を絞り込んで一定の結論・議論を構成する方が、研究が楽で論文が通りやすい。そのためにカバレージが拡大せず、既知の分子に関する情報ばかりが集まることがメタ解析からわかっている。人工知能を用いた解析でも同様の自己言及によるポジティブフィードバックが加速する可能性が懸念される（一種のエコー効果）。このようにデータベースは産学どちらにおいても整備公開するインセンティブが起きにくい状況にあるため、官によって政策的に利害を調整するべき余地が大きい。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | △ | ↘ | 大学で基礎研究を手掛けていた本分野の理学系研究室の多くが、ベンチャー企業の創設や企業とのタイアップによる短期的な応用研究によって資金獲得を行うようになり、基礎研究から離れている。 |
| | 応用研究 | ○ | → | 国際マスイメージングセンターが設置され医学生物学を中心に活発に活動を継続している。そこから輩出された人材が日本中の大学で医学、工学、農学、産業界等様々な分野で応用研究を行っている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↘ | 海外からの侵略を比較的受けにくいとされる中部に軍需産業都市が比較的多く、周囲の国研や州立大学でも最先端の計測技術の基礎研究の基盤が厚い。バンダービルトに巨大なマスイメージングのナショナルセンターがある。 |
| | 応用研究 | ◎ | ↗ | ボストンやMITを中心とした東海岸、シリコンバレーを中心とした西海岸で応用・産学両面で華やかである。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ドイツと英国において産学連携による基礎研究が盛んである。オランダに巨大なEUのイメージングマススペクトロメトリーのセンターが出来、SIMSを中心に基礎研究が活発化している。 |
| | 応用研究 | ◎ | ↗ | スウェーデンの大学やスイスの製薬会社の研究所を中心に医学生物学での応用が盛んである。ロンドンがDESIの医学応用で世界をリードしている。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | この数年で北京の科学院を中心に非常に盛んになっている。 |
| | 応用研究 | ○ | ↗ | 市場としては爆発的な勢いで成長し米国に迫る勢いである。応用論文の質も向上著しいが、世界をリードしているとまではまだ言えない。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | → | 産業が牽引する形で国研を中心に基礎研究が存在する。 |
| | 応用研究 | ○ | ↗ | サムソン等中心にその周辺大学で半導体分野や鉄鋼のSIMSは実績がある。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1）C. Möller, M. Allen, V. Elings, A. Engel and D. J. Müller, Biophys. J. 77, 1050–1058（1999）.
2）A. Engel and D. J. Müller, Nature Structural Biology 7, No. 9, 715-718（2000）.
3）P. Hinterdorfer and Y. F. Dufrêne, Nature Methods 3, 347-355（2006）.
4）N. Kodera, D. Yamamoto, R. Ishikawa, and T. Ando, Nature 468, 72-76（2010）.
Anal Chem. 2018 Jan 2;90（1）:240-265. doi: 10.1021/acs.analchem.7b04733. Epub 2017 Dec 13.
5）Buchberger AR, DeLaney K, Johnson J, Li L, Anal Chem. 90（1）:240-265. doi: 10.1021/acs.analchem.7b04733.（2018）
6）Q. Zhong, D. Inniss, K. Kjoller, V. B. Elings, Surf. Sci. 290, L688-L692（1993）.
7）A. San Paulo, R. Garcia, Biophys. J. 78, 3, 1599-1605（2000）.
8）T. R. Albrecht, P. Grütter, D. Horne and D. Rugar, J. Appl. Phys. 69, 668-673（1991）.
9）F. J. Giessibl, Rev. Mod. Phys. 75, 949-983（2003）.
10）H. Yamada, K. Kobayashi, T. Fukuma, Y. Hirata, T. Kajita, K. Matsushige, Appl. Phys. Express 2, 095007（2009）.
11）S. Ido, K. Kimura, N. Oyabu, K. Kobayashi, M. Tsukada, K. Matsushige, H. Yamada, ACS Nano 7, 1817-1822（2013）.
12）S. Ido, H. Kimiya, K. Kobayashi, H. Kominami, K. Matsushige and H. Yamada, Nature Materials 13, 264-270（2014）.

13）E.-L. Florin, V. T. Moy, H. E. Gaub, Science 264, 5157（1994）.
14）R. Merkel, P. Nassoy, A. Leung, K. Ritchie, E. Evans, Nature 397, 50-53（1999）.
15）C. Stroh, H. Wang, R. Bash, B. Ashcroft, J. Nelson, H. Gruber, D. Lohr, S. M. Lindsay, P. Hinterdorfer, Proc. Natl. Acad. Sci. 101, 12503-12507（2004）.
16）Y. F. Dufrêne, D. M. -Martín, I. Medalsy, D. Alsteens, D. J. Müller, Nature Methods 10 847-854（2013）.
17）Abdelmoez MN, Iida K, Oguchi Y, Nishikii H., Yokokawa R, Kotera H, Uemura S, Santiago JG, Shintaku H. Genome Biol. 2018 19（1）:66 doi: 10.1186/s13059-018-1446-9.（2018）
18）K. Kobayashi, N. Oyabu, K. Kimura, S. Ido, K. Suzuki, T. Imai, K. Tagami, M. Tsukada, and H. Yamada, J. Chem. Phys. 138, 184704（2013）.
19）K. Suzuki, K. Kobayashi, N. Oyabu, K. Matsushige, and H. Yamada, J. Chem. Phys. 140 054704（2014）.
20）K. Umeda, K. Kobayashi, N. Oyabu, K. Matsushige and H. Yamada, Nanotechnology 26, 285103（2015）.
21）Y. F. Dufrêne, T. Ando, R. Garcia, D. Alsteens, D. M. -Martin, A. Engel, C. Gerber & D. J. Müller, Nature Nanotechnology 12, 295–307（2017）.
22）A. P. Nievergelt, N. Banterle, S. H. Andany, P. Gönczy and G. E. Fantner, Nature Nanotechnology 13, 696–701（2018）.

## ２．３．５　ヘルスケア IoT（バイオ計測、センサー、ウエアラブル）

### (1) 研究開発領域の定義

社会の高齢化そして医療費の増大に伴い日本の医療が大きな転換期を迎えており、予防医療・先制医療を可能とする早期診断、病態（健康）モニタリングのためのバイオデバイス及び診断技術が不可欠である。情報化技術が急速に進展し、心拍や心電、呼吸等を評価する物理デバイスによるウエアラブル機器および IoT & AI でのリアルタイム情報化が急速に進んでおり、バイオ計測でも血糖値のリアルタイム評価の有効性が世界的に急速に認知され新たな市場を形成している。人の介入なしに、通信機能を内蔵したデバイスと医療情報 ICT システムをオンラインのコンピューターネットワークを通じて繋ぐという新しい概念である IoMT（Internet of Medical Things）には利便性の高いデバイス開発が必須であり、様々な生体情報を正確に、かつ迅速に取得し、ネットワークを介して情報を共有する技術の確立と、そこで得られた生体情報を利活用することで新たな知識を創出することが目標である。

### (2) キーワード

Internet of Things（IoT）、センサー、ワイヤレス、モバイルヘルス（mHealth）、リモートモニタリング、AI、ウエアラブルデバイス、バイオ計測、リアルタイム計測、非侵襲計測、医療支援デバイス、安全性、セキュリティ、スマートフォン

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

Internet of Thinigs（IoT）はこの数年は最も発展が期待される技術の一つであり、医療や福祉の領域はこの IoT の進化によって多大な恩恵を受ける領域である。医療や福祉領域における IoT、つまり IoMT によって、医療の利便性の向上、効率化が期待され、それに向けた新たなサービスの創出も期待されている。バイオ計測・診断デバイスを含む世界の医療 IoMT 市場は、米国の市場調査企業 Grand View Research 社によると 2014 年の 584 億ドルから 2022 年には 4100 億ドルへと急激に拡大することが予測されている。健常者の健康・フィットネスモニタリングへの需要の増加、糖尿病や肥満と関わりのある生活習慣病の予防、健康維持を考えた未病医療などへの取り組みなどにより、様々なデバイスやデバイスで得られる情報を活用した医療ソリューションの開発が進められている。また高齢化社会における健康寿命の延伸、感染症や癌などの疾患予防のため、「非侵襲」かつ「連続的」に生体情報を取得できるバイオセンサーが求められている。

健常者・患者の生体情報を自動的に収集・分析する医療デバイス /IoMT 機器は、医療の質の向上や早期診断による先制医療に繋がり、人為的な医療ミスの低減や上昇し続ける医療費の抑制も実現できると考えられる。加えて、医療現場おける医師・看護師などの人手不足や長時間労働の解消のため、医療デバイスを活用した医療従事者の負担軽減、病院のコスト削減、医療サービスの質の向上が期待される。

既存医療を支える予防医療・先制医療が急速に拡大するなか、日常で利用できる簡便な診断デバイス、そしてリアルタイム性と即時性を備えた連続センシングデバイスが情報技術と共に急速に進展し、新しい市場を形成する可能性があることから、当該領域の研究開発を早期に展

開する必要がある。

［研究開発の動向］

IoMT では多種多様、大量の情報が集積、分析され、その結果に基づいたフィードバックが実施できることから、モノは単なるモノではなく、知能を備えたモノになる。IoMT によって様々なモノが繋がるようになると、①異なるタイプのセンサーや医療デバイスから得られたデータが収集・蓄積され、②ネットワークに接続された通信機能搭載のセンサーや測定器、コントローラなどのノード（node）による自動的・自発的な対応が可能になり、③様々なノードが持つ機能を連動させ、その結果、情報連携と膨大な情報を解析した結果をアルゴリズム化して、より高度で精緻なフィードバックが実現する。欧米を中心とした諸外国では IoMT によって実現される新しい世界を見据えて多くの研究機関や企業が研究活動やビジネスを展開しており、新規のデバイス開発、コンピューティング技術の向上、セキュリティやプライバシーへの対応が進められている。Cisco Systems によると 2021 年には IoT によって 847 ZB のデータが生み出されると推定されており、2016 年には 218 ZB であったことから、５年間で４倍も増加することが見込まれている。こうした流れの中、各国では、特許性のあるデバイスの開発に注力している。更に、医療産業が IoT をベースにしたソリューションの提供を迅速に進めており、世界でも IoMT は大きな経済的なインパクトを持つと考えられている。

【IoT から IoMT、IoWT へ】

IoT はデバイスやセンサー、アクチュエータをインターネットに繋げる。医学的応用の観点からは IoT は IoMT と呼ばれ、その将来性と発展性から医療界のみならず、産業界からも注目されている。IoT や IoMT で用いられるデバイスやセンサーには高い利便性が求められており、Sumsung Gear や Apple watch といった小型で装着可能なウエアラブルデバイスを用いた IoWT（Internet of Wearable Things）が最終的なゴールとも言える。アメリカを中心に、各国で、様々な生体信号を、非侵襲的に精度良くモニタリングする技術の開発と製品化が進められている。今のところ、429 機種のウエアラブルデバイスが流通しており、その価格は平均 $326 ドルとされ、殆どがヘルスケアに用いられており、僅か 87 機が医療機器として認定されている。

【ウエアラブルデバイス開発の潮流】

IoMT によって新規のデバイスやセンサー等の機器開発が今後より一層進めば、機器によって行われるモニタリングと情報収集、機器連携やネットワークによる迅速な情報共有、コンピューティングによる情報の解析、アルゴリズム化、AI 化が達成され、個人の状況把握と早期診断、その後の最善の治療の選択に至るまでがシームレスに行われるようになると考えられる。すでに超高齢社会に突入し、生活習慣病の増大と重症化を抑制したい日本では、日常生活で利用できる医療機器（特に検査、診断、センシング）が必要であり、その主役を担うパーソナルデバイスとしてウエアラブル機器が挙げられる。ウエアラブルデバイスは何を感知するかによって、機械的センサー（加速度計、ジャイロセンサー、圧センサーなど）、生理学的センサー（心拍、血圧、体温モニターなど）、生化学的センサー（持続血糖モニター、アルコールセンサーなど）に分けられ、その用途や完成度によって、医療用、ヘルスケア用、研究用に分けられる。また、その利用環境も様々であり、病院やクリニックなどの医療機関もしくは家庭、都市部もしくは遠隔地、医療資源が豊富か限られているのか、によってもセンサーの果たす役

割、センサーがもたらす可能性や発展性は異なる。日常生活での活動量（バイタル）を評価する物理情報デバイスでは、心拍数、動作（歩数、活動量モニタ）、呼吸数、体温などが中心で、ECG、酸素飽和度、生体電位などの応用も始まっているが、今後、バイオ / 化学情報のリアルタイム計測への展開が期待されている。Abbott 社の血糖値モニタリング用バイオデバイスである「Free Style リブレ」は継続的な血糖評価が行えるバイオデバイスとして、日本でも糖尿病患者に急速に普及し、I 型糖尿病の若年者を含む患者より「リブレが手放せない」、「これまでの自己測定器（SMBG）はほとんど使わなくなった」との意見が多く聞かれている。そして世界的な市場形成に伴い、血糖評価はリアルタイム計測が主流となり、今後は更に「非侵襲」でのリアルタイム計測技術が求められるようになる。このデバイス技術を中心として IoT & AI 技術を連携し、血糖以外でも生体化学情報を連続的に計測するバイオデバイスの研究開発が急速に拡大し、予防医療や生活習慣病モニタリングなどの日常医療、そしてスポーツ領域にも広がるものと考えられる。

【IoMT とビッグデータ、アルゴリズム化】

前述のように、ウエアラブルデバイスには様々な利用環境が考えられるが、医療やヘルスケアにウエアラブル技術を用いるにあたっての課題は、センサによるモニタリングによって得られた膨大な情報から、有効な意義あるデータを抽出することにある。これについては、データを自動的に加工、処理して、解釈するアルゴリズムの構築が、エビデンスも蓄積しながら進められている。例えば、アルゴリズムによって体内での炎症反応を検出したり、活動の習慣に基づき心血管代謝系の健康状態を予測したりすることができることが示されている。さらに、医療機関で電子カルテ（HER, electronic health record ウェア）として保有されている診療情報と、ウエアラブルデバイスからの情報も含めて、患者自身が自らの医療・健康情報を収集し一元的に保存する健康関連情報（PHR, personal health record）が統合され、それらがデータベースとして利用されるようになると、この医療ビッグデータに関連したコスト、政策、技術面での課題への対応が必要になってくる。

【IoMT とモバイル医療】

ウエアラブルセンサー開発が進めば、同時にアルゴリズム化も進み、医療を取り巻く状況は大きな変貌を遂げると予想される。健康に関連した何らかのイベントが起こった際も、自動的にそれを検出し、モバイルアプリケーションを用いたモバイル型介入（mobile intervention）が実現する。IoMT を支えるモバイル技術も医療のあり方に大きな変革をもたらすと考えられる。ワイヤレス技術と医療デバイスを統合したモバイル技術と ICT の医療応用をモバイル医療と言い、海外では eHealth（イーヘルス）、mHealth（エムヘルス）、telemedicine（テレメディシン）、telehealth（テレヘルス）とも呼ばれている。従来は医療機関で医療従事者や患者が対面して行われていた医療を、各種デバイスと通信技術、コンピューティング技術を用いて、信頼性、安全性は確保しつつ場所や時間、対面の制約を受けずに行うことが目指されており、より質の高い医療の提供、コストの抑制に繋がると考えられている。米国では、現在進められている診断デバイスを活用した IoMT は、患者の簡易的な生体情報（血圧、心拍数、血糖値などのバイタル数値）をモニタリングするデバイスを装着し、スマートフォンなどを介して医師が患者の診察を行う mHealth を高度に発展させ、診療や医療への展開を加速させている。

IoMT では、将来的には、アルゴリズム化や AI 化が担うデジテルヘルスアドバイザー（digital health advisor）と医療従事者が協力して行うユビキタス医療が実現すると期待されている。

学術的にはWearable sensors, eHealth, Body area network, Telemedicine, Biomedical circuit and system, Energy harvesting, Mobile diagnosisなど医療とそれを支えるエレクトロニクス関連の技術を中心に、多くの国際会議・国際見本市が開催され研究開発・商品化が活性化している。

欧州では、生体ガス計測が英国を中心に盛んであり、GC/MSによる分析や、シリコンナノワイヤ、カーボンナノチューブ、金属微粒子などのナノ材料や金属酸化物、分光法を用いたガスセンサーなどが主に用いられている。欧州委員会が主導する「Framework Programme 7（FP7）」の助成により行われた研究では、５ヵ国で1404人を対象に呼気中の13種のVOCを計測し、その結果を人工知能（AI）にてパターン解析し、癌やアルツハイマー病などの診断への応用と実用化検討を積極的に進めている。

【IoMTと政策】

IoMTは高騰する医療費を抑制し、より広範に、継続的に患者をモニタリングし随時フィードバックできることから、医療の質を高めると考えられているので、各国で推進されている。超高齢社会に突入した本邦は、社会保障費の増大や生産年齢人口の減少等、様々な課題に直面しており、医療費・介護費の増大や医療資源の偏在といった現状の課題を解決し、健康寿命の延伸や医療製品・サービスの強化に向けて、（1）医療・介護・健康分野のネットワーク化、情報化の推進や、（2）医療・介護・健康分野における先導的なICT利活用の推進、（3）医療情報システムの安全管理に関するガイドラインの整備や、情報システム間で情報連携を円滑に行うための医療情報の標準化、広域な医療情報連携に資する政策が進められている。

### （4）注目動向

［新展開・技術トピックス］

ヘルスケアから医学的応用まで様々なレベルのデバイスが開発されている。ここでは、新たな潮流を生むと現在注目されているウエアラブルデバイスを取り上げる。

【スマートウォッチ】

消費者にも人気があり、ヘルスケア分野で最も知られているのは運動量を計測するFitbitである。医療従事者の間ではデータの精度に問題があると懸念されているが、2018年初頭にGoogleと連携することによってデバイスから得られたデータを医療従事者と共有しやすい環境を整えており、Fitbitはヘルスケア市場への参入を目指している。Googleが提供するGoogle Cloud（グーグルクラウド）のAPIを採用してより安全性の高いデータ共有を実施している。医療的により信頼性の高いスマートウォッチとしては、FDAの承認を得ているEmpatica社のEmbraceがある。このAIを駆使したデバイスは高度な機械学習を用いててんかんの大発作や全般発作である強直間代発作を感知し、介護者に即座に警告を発信する機能を備えている。

【グルコースモニター】

頻回に血糖値を確認する必要がある糖尿病患者にとって、指先で血糖測定を行わずに簡便に随時、血糖値が分かる持続血糖モニター（CGM, continuous glucose monitor）は極めて有用である。多くのCGMは指先の血糖測定による１日２回の校正が必要であったが、Dexcom G6はその調整も不要であり、スマホのアプリと連携して測定結果が数分置きに表示され、血糖値の調整が必要な場合は警告が送られる。米国Abbott社の糖尿病患者向けのグルコースモ

ニタリングシステム「FreeStyle リブレ」（血糖値変動モニタリング用ウエアラブルデバイスと携帯端末）が日本でも 2017 年 9 月より保険適用となり、世界的に急速に普及している。最長 14 日間までグルコース値を測定可能で、血糖値の連続評価が可能となり、既存の血糖自己測定器（SMBG）を凌駕し、低血糖を危惧する糖尿病患者を含め、新たな市場を構築するものと考えられる。

【診断用ウエアラブルセンサー】

オーストラリア国立大学の研究者らが開発した光学センサーはウエアラブルデバイスにも取り入れることができ、リアルタイムに体内の微量代謝産物を測定することで糖尿病などの様々な疾患を判別できる。また、イギリスのニューキャッスル大学の研究者らは低価格の装着式のセンサーによって歩行を評価すれば早期にアルツハイマー病を検出し、その進行具合も評価できることをパイロットスタディで示している。今後、慢性疾患の早期診断を目指したデバイスの開発が進むと考えられる。

また、「癌患者の呼気を識別する犬」「尿中成分を認識する線虫」等の報告により、疾病・代謝に基づく生体情報を得る方法として、生体ガス等の揮発性バイオマーカーを非接触測定する研究開発が欧米と日本で盛んになっている。将来の健康・予防医学関連機器の重要なコンテンツと目されており、呼気ガスや皮膚ガスを利用した代謝評価や疾患由来の成分を測定する機器の開発も盛んに行われている。特に日本では、揮発性化学物質を対象とし、代謝酵素（東京医科歯科大学）、嗅覚レセプター（東京大学）、抗体（九州大学）を利用したバイオデバイスの開発が進んでおり、世界を先導している。小型化が可能な半導体式ガスセンサーも、モバイルデバイスなどと一体化しガスセンサーの計測を実現している。英国 Owlstone Medical 社は、呼気 VOC を対象とする「診断デバイス（Lonestar VOC Analyzer）」および「診断キット（Breath Biopsy Kits）」を開発し、複数の企業へ提供している。対象とする疾患として乳がん、喘息がある。呼気分析の受託サービスなど、呼気分析の新しい市場を開拓している（https://www.owlstonemedical.com）。

【心臓モニター】

心拍測定の為に、スマートウォッチやアームバンドなど様々な形態のウエアラブルデバイスが多数開発されてきたが、データの精度の観点からは胸部のパッチ型のセンサーが最も良いと考えられている。iRhythm Technologies 社が提供する Zio patch は世界最大の心拍データベースを装備して高精度な心拍計測を行なっている。パッチ型ではあるが、患者の生活を妨げず、利用しやすい為、コンプライアンスも高いとされている。競争の激しい領域であり、Medtronic 社は 2014 年から提供していたウエアラブルの SEEQ Mobile Cardiac Telemetry（MCT）System の製造を中止し、埋め込み式のデバイスに専念すると 2018 年 3 月に発表した。

【ウエアラブルイメージング】

ウエアラブルデバイスを用いてより簡便に画像解析を行う技術の開発が進められている。これらは研究段階であり、医療応用されるには更なる開発と改良が必要とされるものの、注目度の高い分野である。

ウェルカムトラスト財団（英国）の支援を受けて研究開発された新世代のヘルメット式脳スキャナは、スキャン中も自由に動くことができる。従来型脳磁計（MEG）に比べて、スキャン中に安静を保つことができない小児や神経変性疾患の患者を対象とした研究や治療に役立つと期待されている。また、ニューヨーク大学医学部の研究者らによって開発されたウエアラブ

ル MRI グローブは、関節の動きを鮮明にイメージングでき、反復性損傷の診断への可能性を示唆している。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

ウエアラブルデバイスによって、在宅などの様々な環境下で急性や慢性の健康状態の変化をモニタリングし、そこから得られた情報を利活用すれば、様々な医療応用が可能である。長期間のモニタリングで得られたデータを使って、身体に変化が起こってから対応する医療から、変化を見越した事前対応の医療への変化を模索する幾つかのプロジェクトが進行中である。

【国内】

● NTT ドコモによる、生体情報を用いたセルフ健康管理に向けた研究開発を進めている。生体ガスからは、採血のような痛みを伴うことなく、個人差が反映された生体情報を数多く得ることができるため、多項目計測によるセルフ健康管理への応用が可能である。

●日本 IDDM ネットワーク（1 型糖尿病の組織）では佐賀県と共同で「ガバメント（政府自治体系）クラウドファウンディング」として「ふるさと納税」の仕組みを利用し、1 型糖尿病に関する大学等での研究を独自し支援するする仕組みを構築し、東京医科歯科大学、京都府立大学、明治大学等への研究支援を実施している。

【米国】

● Precision Medicine Endeavor

米国の National Institute of Health と複数の研究機関が共同で取り組む長期的な研究プロジェクトである。All of Us Research Program では、少なくとも 100 万人以上のボランティアから遺伝子データ、生体サンプル、ウエアラブルデバイスのデータ等の健康関連情報の提供を受けて、遺伝子、環境、生活習慣が様々な疾病の予防や治療にどのように影響するかを明らかにするのが目的である。All of Us Research Program は米国史上、最大規模の長期スタディであり、全国的なデータベースの構築と精密医療（precision medicine）の実現を目指す。

● Google Baseline Project

Verily Life Sciences（2015 年に Google からスピンオフし、親会社の Alphabet 傘下となったライフサイエンス事業）と、米デューク大学医学部、スタンフォード大学医学部の共同研究プロジェクトとして 2017 年に開始された。5 年間のプロジェクトで、スマートウォッチを介して各種センサーから得られた心拍数、皮膚電位、運動習慣などのデータを収集し、1 万人を目標に成人してから老齢に至るまでに人の健康状態がどんな過程をたどるのか記録することを目指す。機械学習を駆使して疾患発症につながる要因を突き止め、人々が長く健康でいられるようにその要因を改善できないか探るのが目的である。

● MyHeartCounts

Verily Life Sciences と米スタンフォード大学、英オックスフォード大学が中心となって進めている研究プロジェクトで 2015 年 3 月から 10 月までにスマホアプリの MyHeartCount をダウンロードして研究への参加を同意した約 5 万名が研究対象である。スマホアプリを用いた心血管疾患に関する研究の妥当性を示した初の大規模スタディである。スマホアプリを用いて身体活動、フィットネス、睡眠等を迅速に大規模に評価できることを示した。

● Stanford Azumio Activity Inequality study

米スタンフォード大学が中心となって実施した研究プロジェクトである。スマホに内蔵され

た活動量計から得られた、111 カ国の約 70 万人を対象とした延 6,800 万日のデータセットを解析し、身体活動量を増やし健康を改善するための環境作りの重要性と、政策や都市設計が身体活動に影響することを示した。

● Health ePeople study

米カリフォルニア大学サンフランシスコ校が実施している研究プロジェクトである。mHealth の研究であり、元々は Health eHeart Study として 2 万人を対象とした心血管疾患の研究として始まったが、より多くの疾患を対象とする研究へと発展している。モバイル技術とデジタル技術を駆使してセンサー等からデータを収集し、データベースの利活用、データ連携を行いやすい基盤を整えている。最終的には 100 万人のボランティアによる研究参加を目指している。

● Warfighter Analytics using Smartphones for Health（WASH）

米国の国防高等研究計画局（DARPA）は、スマートフォンとセンサーを活用した兵士の健康状態、身体障害の状況、疾患などリアルタイムでセンシングを行う大型プロジェクトを展開している。将来的には一般向けの早期診断デバイスとしての活用も考えられている。

【欧州】

● Health, demographic change and wellbeing

欧州委員会による「Horizon2020」の直近（2018–2020 年）のプログラム。個別医療を社会のヘルスケアシステムへ組み込むことを目指しており、簡便な生体ガス計測はますます注目を集めると期待される。

### (5) 科学技術的課題

ウエアラブルデバイスにおいて、今後取り組むべき研究開発は、モニタリングと介入の機能を強化した、多様な因子を測定できる統合プラットフォームを備えたウエアラブルデバイスの開発である。既に、スタンフォード大と米カリフォルニア大学バークレー校の研究者らが共同開発したウエアラブルデバイスは、自由に曲げられるセンサーとマイクロプロセッサで構成されており、皮膚に貼り付いて汗腺を刺激してさまざまな種類の分子やイオンの存在を検出し、嚢胞性線維症や糖尿病などの病気の診断と治療を改善できる可能性があることを示唆している。

研究開発の方向性としては、データの収集、解析による診断に留まらず、それらの結果を基にした医学的介入、治療までの一連の操作を、単一のプラットフォーム上で統合的に行うデバイスの開発である。その一つの例は、1 型糖尿病患者を対象とした人工膵臓、つまりクローズドループ・インスリン送達システム（closed loop insulin delivery system）である。人工膵臓は患者の血糖値をモニタリングし、血糖値に応じてポンプから注入するインスリン量を調整する。刺激に誘発されて薬物を注入するデバイスの開発が試みられており、各国の研究者らはより精密で高度な機能を備えたデバイスの開発に凌ぎを削っている。デバイスの精度を高めるには、センシング技術は勿論のこと、それに付随したハードウェアおよびソフトウェアの開発も重要である。バッテリー寿命やワイヤレス通信の進歩によって利便性が高まった結果、長期間のモニタリングが可能になり、より多くの人がデバイスを利用できるようになった。ハードウェアの面では、利便性を高めるためにデバイスのデザインを工夫する必要がある。装着し易さ、デバイス自体や付随するバッテリーのサイズは利用状況にも大きく影響する。また、ソフトウェアの面ではデータの利活用の観点からも、デバイスから得られたデータを基に効果的な介入を

行うため、機械学習を駆使して高度なアルゴリズムの開発が進められると予想される。

ウエアラブルデバイスに用いセンサーにおいては次のような課題がある。生体ガス計測においては、呼気によるガス計測では得られない経時的な変化が計測可能な皮膚ガスを計測するためのセンサーの高感度化高感度化（ppt 一兆分率 ,ppq 千兆分率レベル）とともに、多様な揮発性成分を含む生体ガスを計測できる選択性の高いセンサーの開発が必要であるとともにウエアラブルに適した小型化も重要な課題である。また、バッテリーの長寿命化も課題である。

### （6）その他の課題

ウエアラブル技術を医療応用する際には幾つかの課題がある。まずは、デバイスの購入コストである。デバイスが高額であるため、誰でも利用できるとは限らず、デバイスを購入できる経済力がある人のみが恩恵を受けると懸念される。IoMT の研究開発を推進する上では、セキュリティを確保し、利用者のプライバシーを守りながら、デバイスから得られたデータを最大限に利活用できる環境の整備が求められている。例えば、Bluetooth は AES（Advanced Encryption Standard）の 128 bit 鍵長をサポートしているが、より多くのでデバイスが市場に流通しワイヤレス通信を行うにあたり、Bluetooth を始め、通信技術のセキュリティのアップデートは喫緊の課題である。次に、デバイスの互換性およびデータの標準化に関する課題がある。多くのデバイスはプラットフォーム間で互換性がなく、デバイスから得られるデータは標準化されていないことから、広範なデータの利用やデータの普遍性には限界がある。

また、デバイスの利便性にも様々な制約がある。昨今は類似のデバイスが流通しており、自分に最適なデバイスを選ぶことが簡単ではない。デバイスを利用するに当たり、適切にセットアップする必要があり、使い方を間違えたり、充電し忘れたりすると機能せず、デジタル技術に不慣れなユーザーにとっては使いにくいデバイスも多い。デジタル技術の利用状況は世代や所得によっても影響されると考えられ、健康格差の原因ともなりえる。

従来は、デバイスで取得されたデータはクラウドに送信・保管され解析されるクラウドコンピューティング（cloud computing）が一般的であったが、最近はエッジコンピューティング（edge computing）やフォッグコンピューティング（fog computing）に移行しつつあり、出来るだけデバイスに近いネットワーク上でデータ解析を行うのが主流になりつつある。多くのデバイスから膨大なデータが通信されるようになると、通信速度も落ち、クラウドコンピューティングではデータ解析と結果のフィードバックにも時間がかかり過ぎてしまうため、医学的な対応としては不十分である。例えば、血糖値等のようにリアルタイム性を要するデータをクラウドコンピューティングで扱うのは、現状のクラウドコンピューティングの処理能力では現実的ではない。従って、効率よく迅速にデータを解析するためには、データ通信は最小限に留め、デバイス上やデバイスに近いネットワーク上での処理が望ましい。さらに、データ通信を最小限に留めることで、広範なデータ通信を必要とするクラウドコンピューティングに比べて、エッジコンピューティングではセキュリティやプライバシーも確保されやすい。ビッグデータや AI が注目される時代の潮流にあっては、データ連携を重視するのか、或いは、データ解析に基づく迅速なフィードバックを重視するのかの見極めが求められており、様々な領域の専門家が連携して解決していく体制が必要である。

従来の相当の時間を要する医療機器や新薬の開発とは異なり、開発スピードの速い IoMT は、それに準じた法規制やガイドライン策定が求められる。現在、米国の FDA が諸外国をリード

しており、FDA は基本的には医療用モバイルアプリ（mobile medical apps）については医学的効果、ユーザーインターフェース、流通経路を含めて検証できる体制を整えるべきとの立場である。また、医療用モバイルアプリに関する規制は、それぞれのアプリの利点と危険性に応じて個別に設けられるべきというスタンスである。ウエアラブルデバイスの開発にあたってはエレクトロニクス、高分子、医療 / 健康 / 福祉、バイオテクノロジー、通信、ロボティクス、システム化などの複合的な要素技術が不可欠で、異業種との連携が必須である。ウエアラブルデバイスについても、モバイルアプリについても、開発速度が速く、十分なエビデンスが無いまま、流通しているものも多い。産学連携によって、開発から効果の検証までを行う研究開発体制の構築が望まれる。また、ウエアラブルデバイスを社会に普及させるためには、病院や医師・看護師・検査技師などの医療従事者と装置開発を行う研究者が協力し合い、実用化を目指す研究開発の枠組みが必要である。ヘルスケアのみならず、医学的応用が期待されるデバイスやアプリも増えており、新薬開発と同様にランダム化比較試験による医学的効果、利便性、副作用、コンプライアンスの評価体制の樹立が必要である。また、今後は、IoMT のコスト負担を誰が担うのか、どこまで保険診療として認めるのか、についても議論を深めていく必要がある。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | → | 生体サンプルとして細胞間質液を利用した低侵襲の診断デバイスの開発や非侵襲の生体ガスを利用したバイオデバイスの開発などが大学および企業にて行われている。<br>大学・公的研究期間を中心に、世界をリードする医療計測を目的としたデバイス・材料・計測技術の研究開発が進んでいる<br>ウエアラブル機器用の電源、センサー、材料開発は大学企業を中心に積極的に研究が進められている。<br>新たな「非侵襲サンプル計測」や「リアルタイムなバイオ計測」を先導する国家的なプロジェクトがなく、総合的なシステム化についても、世界を先導する研究が十分でない。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | 国内の大手、中堅の会社による医療向けの診断デバイスの発表があるなど注目は高く、参入を検討する会社も多い。<br>日本医療研究開発機構（AMED）による大学・病院・企業などの連携による医療機器開発プロジェクトが進められている。<br>NTT と東レが開発したウエアラブル心電計「hitoe」について、藤田医科大学にて（リハビリテーション分野）で初の実証実験を開始したオムロンの Heart Guide が国際的に認知されている |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ウエアラブルデバイスの研究開発、ウエアラブルデバイスの大規模臨床試験が NIH、スタンフォード大学、デューク大学、カリフォルニア大学等の複数の研究機関で行われており、IoMT の領域では世界をリード。<br>医療用センサデバイスと AI を活用した基礎研究も盛んである。<br>生体装着用の柔軟性デバイスについて、イリノイ大、MIT、ハーバード大、NASA、UC バークレー校等の大学・研究機関で研究されている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | Abbott、Dexcom、Empatica、Medtronic、Zoll 等が FDA の承認を得たウエアラブルデバイスを提供している<br>医療診断、医療 Iot 機器の臨床応用研究・開発が大学、病院、ベンチャー企業、大手企業で積極的に行われている。<br>Northwestern Univ の Rogers のグループによる医療用ウエアラブルデバイス、IBM 社の Watoson API ホームモニタリングソリューションによる医療診断応用として、デバイスと AI を活用した応用研究も進められている。<br>複数大学にて、多数のベンチャーがクラウドファンディングを活用し、応用研究を展開している。<br>多数のウエアラブル機器開発の新興企業が生まれ、記憶力向上のための無線 IC チップなど、インプラントデバイスの開発も展開されている。<br>fitbit と iWatch が製品化および改良を精力的に進め、リストバンド型ウエアラブル市場を確立した。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | → | 欧州として重点研究機関（大学・研究所）へ研究費を集中することで、高い研究レベルを維持している。（ドイツ、イタリア、フランス、スペイン、英国などを中心）英国を中心に呼気ガス分析に関する研究が精力的に行われている。<br>ウエアラブルな医療機器に必要不可欠な、新規のフレキシブルな電極材料、長期間使用の薄い新規のバッテリーの開発が盛んである。<br>ウエアラブル機器用の柔軟デバイスについて、ケンブリッジ大学、プロバンス・マイクロ・エレクトロニクスセンター、欧州プロジェクト、IMEC、Philips 社、NOKIA 社が基礎研究を進めている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | フィンランドの Oura Ring が唯一国際的にも認知されているウェアラブデバイスであるが、telemedicine や AI については社会実装が進んでいる。<br>ウエアラブルデバイスを用いた臨床試験は活発に行われている。AI やアルゴリズムに関する研究も活発である。<br>欧州委員会による企業を巻き込んだ大型予算が多数あり、SIEMENS（ドイツ）や Philips（オランダ）などの大企業から、中・小規模企業と大学・研究所との連携が促進される環境が整っている。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | AI やアルゴリズムに関する研究は活発である。<br>海外へ留学していた若手研究者により、基礎研究レベルの向上が目覚ましく、研究レベルの向上、論文数の増加が顕著。<br>中国科学院、清華大、北京大、上海交通大など有力大学をはじめ、中堅の大学においても優れた設備、人材が研究に携わっており、更なる発展が見込まれる。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | 多数のウエアラブルデバイスを開発しているが、国際的にも認知されているウェアラブデバイスはない。<br>応用研究においても中国経済の下支えにより、バイオデバイス、医療デバイスの応用研究に対し、莫大な投資、ベンチャー企業による臨床応用が進められている。<br>他国と比較すると開発力は劣るが、コスト面の強みがある。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ウエアラブルデバイスを用いた臨床試験は比較的実施されている。<br>mHealth、AI やアルゴリズムに関する研究は活発。<br>ソウル大学、KAIST などの大学、研究所において、Point of care testing（POCT）のデバイス開発が盛ん。<br>半導体の設備や技術を活用してモバイルデバイスによる診断装置の研究やそれに係わる基礎研究も活発に行われている。<br>基礎研究、デバイス分野において学会、論文とも発表数は非常に多い。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | サムスン電子や LG 社が医療関連研究への投資、装置開発を進めており SK Telecom 社なども医療機器とモバイル技術を融合した新たな市場を目指し、ウエアラブル端末の商品開発を進めているが、国際的に認知されているウェアラブデバイスはない。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル
（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない
（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1) Duarte Dias, João Paulo Silva Cunha. Wearable Health Devices–Vital Sign Monitoring, Systems and Technologies. Sensors（Basel）2018 Aug; 18（8）: 2414.
2) effrey Shuren, Bakul Patel, Scott Gottlieb. FDA Regulation of Mobile Medical Apps. JAMA. 2018;320（4）:337-338.
3) Duarte Dias, João Paulo Silva Cunha. Wearable Health Devices–Vital Sign Monitoring, Systems and Technologies. Sensors（Basel）2018 Aug; 18（8）: 2414.
4) Fayez Qureshi, Sridhar Krish. Wearable Hardware Design for the Internet of Medical Things（IoMT）. Sensors 2018, 18（11）, 3812.
5) Patricia AH Williams, Andrew J Woodward. Cybersecurity vulnerabilities in medical devices: a complex environment and multifaceted problem. Med Devices（Auckl）. 2015; 8: 305–316.
6) David Klonoff. Smart Sensors for Maintaining Physiologic Homeostasis. J Diabetes Sci Technol. 2011 May; 5（3）: 470–475.
7) Dimitrov DV. Medical Internet of Things and Big Data in Healthcare. Healthc Inform Res. 2016 Jul;22（3）:156-63.
8) David Kerr, David Klonoff. Digital Diabetes Data and Artificial Intelligence: A Time for Humility Not Hubris. J Diabetes Sci Technol. 2018 Sep 5
9) Zhao J, Freeman B, Li M. Can Mobile Phone Apps Influence People's Health Behavior Change? An Evidence Review. J Med Internet Res. 2016 Oct 31;18（11）:e287.
10) Birchley G, Huxtable R, Murtagh M, Ter Meulen R, Flach P, Gooberman-Hill R. Smart homes, private homes? An empirical study of technology researchers' perceptions of ethical issues in developing smart-home health technologies. BMC Med Ethics. 2017 Apr 4;18（1）:23.
11) Passive Detection of Atrial Fibrillation Using a Commercially Available Smartwatch. Tison GH, Sanchez JM, Ballinger B, Singh A, Olgin JE, Pletcher MJ, Vittinghoff E, Lee ES, Fan SM, Gladstone RA, Mikell C, Sohoni N, Hsieh J, Marcus GM. JAMA Cardiol. 2018 May 1;3（5）:409-416.
12) Shilaih M, Clerck V, Falco L, Kübler F, Leeners B. Pulse Rate Measurement During Sleep Using Wearable Sensors, and its Correlation with the Menstrual Cycle Phases, A Prospective Observational Study. Sci Rep. 2017 May 2;7（1）:1294.
13) Li X, Dunn J, Salins D, Zhou G, Zhou W, Schüssler-Fiorenza Rose SM, Perelman D, Colbert E, Runge R, Rego S, Sonecha R, Datta S, McLaughlin T, Snyder MP. Digital Health: Tracking Physiomes and Activity Using Wearable Biosensors Reveals Useful Health-Related Information. PLoS Biol. 2017 Jan 12;15（1）:e2001402.
14) Bonafide CP, Jamison DT, Foglia EE. The Emerging Market of Smartphone-Integrated Infant

Physiologic Monitors. JAMA. 2017 Jan 24;317（4）:353-354.

15）Sankar PL, Parker LS. The Precision Medicine Initiative's All of Us Research Program: an agenda for research on its ethical, legal, and social issues. Genet Med. 2017 Jul;19（7）:743-750.

16）McConnell MV, Shcherbina A, Pavlovic A, Homburger JR, Goldfeder RL, Waggot D, Cho MK, Rosenberger ME, Haskell WL, Myers J, Champagne MA, Mignot E, Landray M, Tarassenko L, Harrington RA, Yeung AC, Ashley EA. Feasibility of Obtaining Measures of Lifestyle From a Smartphone App: The MyHeart Counts Cardiovascular Health Study. JAMA Cardiol. 2017 Jan 1;2（1）:67-76.

17）Emaminejad S, Gao W, Wu E, Davies ZA, Yin Yin Nyein H, Challa S, Ryan SP, Fahad HM, Chen K, Shahpar Z, Talebi S, Milla C, Javey A, Davis RW. Autonomous sweat extraction and analysis applied to cystic fibrosis and glucose monitoring using a fully integrated wearable platform. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 May 2;114（18）:4625-4630.

18）Pereira J, Porto-Figueira P, Cavaco C, Taunk K, Rapole S, Dhakne R, et al. Breath analysis as a potential and non-invasive frontier in disease diagnosis: An overview. Metabolites 2015;5:3–55. doi:10.3390/metabo5010003.

19）Shehada N, Cancilla JC, Torrecilla JS, Pariente ES, Brönstrup G, Christiansen S, et al. Silicon Nanowire Sensors Enable Diagnosis of Patients via Exhaled Breath. ACS Nano 2016;10:7047–57. doi:10.1021/acsnano.6b03127.

20）Nag S, Sachan A, Castro M, Choudhary V, Feller JF. Spray layer-by-layer assembly of POSS functionalized CNT quantum chemo-resistive sensors with tuneable selectivity and ppm resolution to VOC biomarkers. Sensors Actuators, B Chem 2016;222:362–73. doi:10.1016/j.snb.2015.08.038.

21）Karmaoui M, Leonardi SG, Latino M, Tobaldi DM, Donato N, Pullar RC, et al. Pt-decorated In2O3nanoparticles and their ability as a highly sensitive（<10 ppb）acetone sensor for biomedical applications. Sensors Actuators, B Chem 2016;230:697–705. doi:10.1016/j.snb.2016.02.100.

22）Henderson B, Khodabakhsh A, Metsälä M, Ventrillard I, Schmidt FM, Romanini D, et al. Laser spectroscopy for breath analysis: towards clinical implementation. Appl Phys B 2018;124:161. doi:10.1007/s00340-018-7030-x.

23）Nakhleh MK, Amal H, Jeries R, Broza YY, Aboud M, Gharra A, et al. Diagnosis and Classification of 17 Diseases from 1404 Subjects via Pattern Analysis of Exhaled Molecules. ACS Nano 2017;11:112–25. doi:10.1021/acsnano.6b04930.

24）只野壽太郎、世界の医療関連展示会から見えて来るもの、モダンメディア　59 巻 11 号 2013, 291-295

25）Shirasu M, Touhara K., The scent of disease: volatile organic compounds of the human body related to disease and disorder., Journal of Biochemistry, 150, 3, 257-266, 2011. DOI: 10.1093/jb/mvr090

26）Gary W Hunter, Raed A Dweik, Applied breath analysis: an overview of the challenges and opportunities in developing and testing sensor technology for human health monitoring in aerospace and clinical applications, J. Breath Res., 2（3）, 037020, 2008.

27）Sun, X., Shao, K. & Wang, T. Detection of volatile organic compounds（VOCs）from exhaled breath as noninvasive methods for cancer diagnosis. Analytical and bioanalytical chemistry 408, 2759–2780, https://doi.org/10.1007/s00216-015-9200-6（2016）.

28）Subhash Mohan Agarwal, Mansi Sharmaa, Shehnaz Fatimaa, VOCC: a database of volatile organic compounds in cancer, RSC Adv., 2016,6, 114783-114789, DOI:10.1039/C6RA24414A

29）Po-Jen Chien,Takuma Suzuki,Masato Tsujii,Ming Ye,Isao Minami,Kanako Toda,gHiromi

Otsuka,Kohji Toma,Takahiro Arakawa,Kouji Araki,Yasuhiko Iwasaki,Kayoko Shinada,Yoshihiro Ogawa, Kohji Mitsubayashi, Biochemical Gas Sensors（Biosniffers）Using Forward and ReverseReactions of Secondary Alcohol Dehydrogenase for BreathIsopropanol and Acetone as Potential Volatile Biomarkers ofDiabetes Mellitus, Anal. Chem. 2017, 89, 12261-12268, DOI:10.1021/acs.analchem.7b03191

30）Kenta Iitani,Toshiyuki Sato,Munire Naisierding,Yuuki Hayakawa,Koji Toma, ‡ Takahiro Arakawa, Kohji Mitsubayash, Fluorometric Sniff-Cam（Gas-Imaging System）Utilizing AlcoholDehydrogenase for Imaging Concentration Distribution ofAcetaldehyde in Breath and Transdermal Vapor after Drinking, Anal.Chem.2018, 90, 2678 − 2685, DOI:10.1021/acs.analchem.7b04474

31）Naoto Shirasu, Takeshi Onodera, Kazutaka Nagatomo, Yasuyuki Shimohigashi, Kiyoshi Toko, Kiyoshi Matsumoto, Noncompetitive Immunodetection of Benzaldehyde by Open Sandwich ELISA, ANALYTICAL SCIENCES ,25（9）,1095-1100（2009）

（https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/medical-devices.html accessed on November 24, 2018）

32）Terutsuki D, Mitsuno H, Sakurai T, Okamoto Y, Tixier-Mita A, Toshiyoshi H,Mita, Y, Kanzaki, R（2018）Increasing cell–device adherence using cultured insect cells for receptor-based biosensors. Royal Society Open Science, 5:172366.

## ２．３．６　計測データ解析（AI）

### (1) 研究開発領域の定義

複雑な生命現象の理解のためには、時空間的な計測情報を解析・分析することが必要である。空間情報を得るために必須となるのがイメージング技術であるが、イメージングにより得られる情報は高度に多次元で、人が目で見て解析できる範囲を超えており、これらを解析するための画像処理技術が求められている。その解析には、古典的画像処理に加えて深層学習、機械学習を用いた手法が急速に伸展しており、今後ライフサイエンス・臨床医学分野全般にAI技術を効率的かつ効果的に導入することは必須である。また、これらの解析には数多くの画像が必要であり、情報処理の研究者が使えるオープンデータ、データベースが必要とされている。

### (2) キーワード

機械学習、深層学習、人工知能（AI）、画像解析、規格化、ビッグデータ、データベース、マルチモダリティイメージング、相関解析、マルチオミックス解析、データシェアリング、改正個人情報保護法、次世代医療基盤法　、サイバーセキュリティ

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

我が国においては世界でもトップレベルの質の高い、ライフサイエンス・臨床医学研究が長い間継続的に行われてきており、蓄積されたデータは膨大な量になる。これまでは蓄積された膨大なデータを統合的に解析する手段が無かったが、近年のAI技術の発展により、ビッグデータの解析が可能な時代となっている。この様に人間の能力をも凌駕することが示されてきているAI技術を、積極的にライフサイエンス・臨床医学研究に導入していくのは必須事項である。一方、同時に近年の第3次人工知能ブームでAIに過剰な期待が寄せられている現状、また医学分野には個人情報保護などの特有な問題も存在する為、AIに何ができて何ができないかということを明らかにし、効率的かつ効果的に当該分野にAI技術を導入していく必要性もある。以上、大きなpotentialはあるものの未だ研究の端緒に着いたに過ぎない、AI技術を活用したライフサイエンス・臨床医学研究を今後どのように進めていくかは、重要な国家戦略の一つであると考えられる。

基礎研究領域では、3次元の空間と時間の変化を有する生命現象を解析するために、個別の物質の平均的な計測から、オルガネラや細胞、組織の場を考慮した計測に進化させるためはイメージング技術が必須であるが、イメージングにより得られる情報は大容量化すると共に多次元化しており、人が計測情報を目で見て判断できる限界を超えている。この問題を解決する方法として画像処理があり、生命現象を定量解析することが進められている。さらに、生命現象は複雑であり、単一のモダリティによる計測だけでは不十分であり、異なる撮影法を組み合わせた手法が必要である。詳細な生命現象の解明のための計測法は多岐マルチモダリティの情報を解析するためには、より、多次元、多種情報に対応した新しい画像解析技術が求められている。

**[研究開発の動向]**

ライフサイエンスにおける画像処理研究では、画像処理アルゴリズムの研究開発に加えて、医学生物系の研究者に利用されるように、NIH により無償公開されている ImageJ（Fiji）、CellProfiler や Icy など様々な画像解析システムが提案されている[1)]。また、有償のソフトウェアとして、3 次元や時間変化を伴う 4 次元の画像処理システムが開発されてきた。さらに、特定の目的に向けて開発された医用・生物画像処理システムも開発されている[2-3)]。近年、機械学習による情報処理研究が急速に伸展し、特に深層学習による画像処理による画像の特定領域の抽出（イメージセグメンテーション）では、従来の情報処理研究者がアルゴリズムを考案して実装するスタイルでは成しえなかった処理が可能となってきた。一方、これらの深層学習による画像処理では、学習に用いる画像の質と量がその判別機の性能を左右する。学習データには、対象とする画像と正解の領域を必要とすることから、画像データの管理と正解画像の作出のツールが必要である。生物医学画像では、対象や実験方法、撮影条件等により画像の質が大きく異なることから、実験条件などのメタ情報を画像データと合わせて統一的に管理・可視化・再利用する目的で PSLID[4)]、BisQue[5)]、OMERO[6)] や理研 ICP（y7）などの画像管理システムが提案されている。さらに、格納した画像の管理と画像解析を連携する取り組みとして、BisQue と CellProfiler、Fiji と OMERO 等のシステムが公開されている。最近の開発動向としては、高次元画像処理、処理履歴の管理、外部解析ソフトウェアや ImageJ プラグインとの連携、機械学習機能、API 化（Application Programming Interface: パッケージ化された機能をプログラムから利用するための仕組み）などが挙げられる[8)]。 OMERO は 2018 年現在も開発と公開版の更新が継続して行われており[9-10)]、開発者・利用者向けのワークショップなども定期的に実施するなど、積極的にコミュニティーを形成している。細胞生物学の論文で使用された画像のデータベースである SSBD[11)] や IDR[12)] も利用されている。しかしながらこれらのシステムにおいても対象とするモダリティは単一であり、複合計測情報の相関解析には至っていない。医療画像の分野ならびに脳機能解析、分子イメージングの分野においては、PET-CT や MRI-CT 等の市販装置が開発され、SPM8[13)] などの解析ソフトウェアが公開されている。一方、電子顕微鏡と光学顕微鏡を組み合わせた解析手法として、CLEM（Correlative light and electron microscopy）が日立ハイテック、日本電子、ZEISS などより販売されている。これらの方法は光顕と電顕の対象情報やスケールを統合する試みである。しかしながら、これらのシステムは、同じ空間で情報を取得することにとどまっており、多種の計測手法からの情報の相関解析を大規模に行うまでに至っていない。

プロジェクト研究においては異種計測情報の統合解析が進められている。AMED 革新脳プロジェクトにおいて、走査型電子顕微鏡から、2 光子顕微鏡、MRI までに多種のモダリティの情報を統一して解析する取り組みが行われている。これに対して、中核機関である理研はクラウド上のサーバーにデータを格納すると共に、画像処理サーバー上で VCAT5 を利用し、その操作をリモートデスクトップの一般的な Web ブラウザーで行うＩＣＰを研究開発し、公開利用を実施している。このシステムでは、以前に成功した処理や条件を異なる対象画像に適用する事により、より良い画像処理手法をシェアするオープンサイエンスの仕組みを保有している。さらに複数の研究者や研究成果に紐付けされた画像・メタ情報・処理方法を統一的に管理することで研究・開発の効率化と標準化が期待できる。このシステムは、4D 細胞（2013-2017: fourd.riken.jp）や AMED 革新脳（2014-2023: brainminds.jp）、SIP Materials Integration などの研究プロジェクトで継続して開発されている。

バイオイメージプロセッシングの分野に限らず、画像処理は機械学習により進展が著しい分野である。画像処理の研究分野では、研究成果を論文として出版すると共に、査読付きの国際会議で発表することも評価される。画像処理の大きな会議としてICIP（IEEE International Conference on Image Processing.[14]）がある。講演要旨6ページ、査読者3名以上、採択率40%程度と審査が厳しく、情報処理の分野で認められている学会である。2018年10月に開催されたICIP2018の発表情報を表1にまとめた。

表 2.24.1　ICIP2018における発表数と機械学習の利用状況

| セッション名 | 演題数 | 機械学習の使用演題数 | 機械学習の利用率（%） |
|---|---|---|---|
| **画像処理一般** | 700 | 261 | 37.3 |
| **生物系セッション** | 129 | 69 | 53.5 |
| 顔認識 | 21 | 11 | 52.4 |
| バイオメトリック | 19 | 6 | 31.6 |
| メディカルイメージプロセッシング | 13 | 7 | 53.8 |
| バイオイメージプロセッシング | 13 | 9 | 69.2 |
| 疾患の検出・診断 | 13 | 7 | 53.8 |
| 画像法医学 | 11 | 6 | 54.5 |
| 大腸画像処理 | 8 | 5 | 62.5 |
| バイオメディカルセグメンテーション | 8 | 5 | 62.5 |
| 人体検出 | 8 | 4 | 50.0 |
| 感情認識 | 8 | 4 | 50.0 |
| 細胞画像処理 | 7 | 5 | 71.4 |

セッション数157、発表件数829件の国際会議である。画像処理の一般セッションでは、画像処理の基礎となる応用数学から応用までの幅広いセッション、発表があった。IEEE（The Institute of Electrical and Electronics Engineers：世界最大の電気工学・電子工学技術の学会）の情報処理の国際会議において、生物系セッションは15件、発表数129件15%を占めており、画像処理の研究者からも高い注目を集めている。画像処理の分野では機械学習、特に深層学習の利用が進んでおり、本学会においては、全体では40%の発表が機械学習を使用していた。画像処理一般のセッションでは、機械学習の利用は37%であることに比べて、生物系セッションでは54%と高い使用率であった。これは、対象の特徴が不明で、個体差、変動が大きな生物医学画像に対して、機械学習が有効であることを示唆している。なお、医学生物学の発表では、中国の組織に加えて、欧米諸国に在籍する中国系の講演者の発表が非常に多い事が印象的である。

医用画像解析の分野では積極的にAI技術が導入されており、成果も出始めている。国立がん研究センターのグループは、深層学習技術を活用した大腸がん及び前がん病変発見の為のリアルタイム内視鏡診断サポートシステムの開発に取り組み、隆起型の病変に関して、感度98%・特異度99%・正診率98.8%の精度を示すシステムの開発に成功した[15]。内視鏡画像解析と同様、放射画像解析もAI技術の活用が積極的に進められている研究分野である[16),17)]。

MRI、CT、X線、超音波など様々なモダリティにおいて研究が進められているが、他の医用画像解析と同様、いくつかのステップを踏んで発展させていく必要がある。第1ステップは異常部位（病変）の検出であり、本件に関しては、世界的に精度は高くなってきていると考えられ、今後はいかに臨床応用（社会実装）していくかという点が大きな課題である。第2ステップは質的診断であり、特にゲノム医療時代においては、遺伝子変異を医用画像から的確に判断する事により、治療方針の決定・予後予測など臨床的にも大変意義がある為、Radiomics・Radiogenomicsという名称で、世界中で現在研究が進められている。この様に質的診断を志向した、医用画像とゲノム情報など他のモダリティの統合解析は放射線画像分野で活発に研究されているが、他の医用画像解析でも研究は始まっており、実際病理組織切片から、非小細胞肺がんの組織分類及び遺伝子変異を高精度に予測できたという論文が米国ニューヨーク大学から発表されている[18)]。今後はこの様な医用画像データと他のモダリティのデータを統合させ、マルチモーダルに解析を行う上でAI技術はその力を発揮していくことが期待される。

医用画像解析分野以外の医療、医学分野においても、機械学習・深層学習技術を導入した研究は進められており、遺伝子変異情報・エピゲノム情報・トランスクリプトーム情報・臨床情報などのオミックスデータを機械学習・深層学習技術で解析、もしくは統合してマルチモーダルに解析し、病態の分類、がんの予後予測や抗がん剤の感受性予測などを行った成果が発表され始めている[19)-24)]。ただし現在行われているマルチオミックス解析はそれぞれのモダリティーデータの特性が充分考慮されておらず、特に遺伝子変異の意義付けが行われることなくデジタルデータに変換されており、今後は個々のデータの特性を充分反映させるシステムの構築を行うことが急務であると考えられている。また、生命現象・疾患を考えるうえにおいて、時間的・空間的な相互作用を遺漏なく解析に取り入れることが本態解明に繋がると考えられるが、層別化されたオミックスデータの総合作用及び経時変化をも加味したマルチオミックス解析は始まったばかりであり、今後本邦においても叡智を集結させて取り組むべき重要な課題である。



### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

【深層学習による画像認識】

深層学習を用いた画像処理では、Googleの猫に代表されるように、人が陽的に指示をせずとも対象を認識する判別モデルを構築するに至っている。

現在、この技術を元にして医療分野への展開の検討が進められている。2016年にGoogleは米国とインドの医師と共同研究により12万枚のカラー眼底写真の収集と教師データを作成し、深層学習により糖尿病網膜症を97.5%の精度で検出することに成功した[25)]。さらに、GoogleとVerily Life Sciencesは2018年に眼底画像の血管情報から、心疾患リスク要因を予測した[26)]。この研究では、28万枚の非侵襲な眼底画像による深層学習により、血液検査無しに循環器疾患の検出を実現した。眼底撮影により循環器疾患を見いだすといった、人が想像し、判断し得なかった現象を解明できたことが高く評価されている。

【眼底写真に対する機械学習による自動診断に対するＦＤＡ承認】

米国ＩＤｘ社は、網膜カメラ「Topcon NW400」で撮影した画像をソフトウェアで解析し、医師なしで87.4%の精度で網膜症を発見する自動判断ソフトウェアIDx-DRを開発した。FDAは、世界で初めて疾患を自動診断する自律型ＡＩ診断システムとして2018年4月11日

に認証し、販売が開始された。初期診断（プライマリケア）において、専門医並みの診断が行えることから、疾患の早期発見、早期治療に期待されている。また、ＦＤＡが自動診断システムの認証をしたことから、眼底写真以外の画像診断の道を切り開く出来事であり、世界中の研究者、医師、装置メーカーらによる自動診断に関する研究が加速している。日本においても、厚生労働省やＰＭＤＡによる自動診断システムに対する対応が開始された。

【機械学習による画像以外の情報との相関解析】

深層学習による解析の対象は画像にとどまらず、メタ情報として記述された状態や数値情報との相関解析が可能である。生命現象の解明においても、画像とメタ情報の解析が開始されている。医療の分野においても、電子カルテに記載された患者の既往歴、血圧、血液検査項目と画像情報を用いた疾患の検出が進められている。１例として、東北大学と理化学研究所の共同研究として、眼底画像、網膜のＯＣＴ（光干渉断面画像：Optical Coherence Tomography）画像、血流画像に加えて、電子カルテに記載された患者情報から得られる 91 種の情報から緑内障の自動検出を実施すると共に、緑内障の主な病因を表現するニコレラ分類を実現した[26)]。この分類は、緑内障の疾患の機序を分別するもので、その分類により有効な治療法が異なることから、患者の予後を左右する重要な診断である。画像と様々なメタ情報との相関解析により患者個別に最適な治療法を提示することが可能となってきた。現在、実際の診療の場においてその有効性を検証している。この手法は医療画像に特化したものではなく、バイオイメージングにおいても、現象を理解するために有効な手法であると言える。

【マルチモダリティ画像の解析】

単一の計測手法では、取得できる情報に制限がある。そのために、非破壊の計測法を組み合わせて、同一の試料から複数の情報を取得することが始まっている。バイオイメージングの分野での CLEM、ライブセルイメージングの分野での白色光観察と蛍光観察、メディカルイメージングの分野における PET-CT,MRI-CT などである。現時点では、組み合わせ可能な計測技術が限定され、観察者の技量に依存した計測法となっている。これらを統合するための試料ホルダによる観察の座標の統一、計測装置の開発や解析手法の開発が進められている。また、より多くの種類の撮影モダリティを扱う手法、画像解析ソフトウェアの開発が待たれている。

### [注目すべき国内外のプロジェクト]

【米国】

● HCA（Human Cell Atlas）

ヒトの全細胞の種類、状態、系統を記述しカタログ化する国際プロジェクトであり、イメージング情報とオミックス情報を網羅的に格納する。

● HuBMAP（The Human BioMolecular Atlas）

細胞を最小単位として人体全身を機能マッピングする NIH のプロジェクト。

データの収集のみならず、解析ツールの開発、データプラットフォームの構築など技術基盤の開発とシステム構築を含むプロジェクトである。

【国内】

● NEDO「省エネ製品開発の加速化に向けた複合計測分析システム研究開発事業」

複数の計測分析機器データを統合的に解析する為のシステムを開発する事業。主に産業界（計測装置メーカー）の産業界と国研からなるプロジェクトで、試料計測のための共通治具の開発

やデータの標準化を推進している。

● SIP「革新的構造材料」「マテリアルズインテグレーション」の構築

材料開発の分野では、材料の元素や組織の形態を解析し、材料特性に貢献する結晶粒の形態等の支配因子を探索し、シミュレーションによる再現を実現することにより、求める材料特性を実現する組織を設計するマテリアルゲノムイニシアチブ（MGI）が米国で提唱された[18]。日本においても、材料開発の強みを生かして、MGIに対抗するプロジェクトとして、内閣府SIP「革新的構造材料」「マテリアルズインテグレーション」が2014年より開始された[19]。このプロジェクトでは、鉄鋼材料の3次元情報を計測し、画像処理により組織の構造を数値化するシステムの開発が進められ、商用クラウドシステム上でアカデミアと企業の利用が実施されている。上記プロジェクトで研究している、「試料の構造計測、材料創成工程のシミュレーション、最適設計」の取り組みは、「生命現象の計測、理解、数理モデルの構築」と同じ思想である。現象の理解が進んでいる材料科学の研究手法や取り組み、解析技術の利用や研究者間の交流が今後の生命科学に有効であると考える。

### (5) 科学技術的課題

機械学習による生命現象の画像解析においては、対象となるデータの量と質が解析結果を左右する。米国、中国においては、資金、人員、法規制の制約等の点で日本より研究開発の環境が整っている。これらの理由により、自動車産業や情報処理の分野の日本の企業が、機械学習やAIの研究所を米国や中国に開設している。日本国内においては、すでにいくつかの大学においてデータサイエンスの授業が必修化されるなど、データ解析の素養を持つ人材は増加すると考えられる。しかしながら、バイオ、医学のデータは公開されておらず、その情報に触れる機会が少ない事が課題である。一方、バイオインフォマティクスの分野においては、ゲノムやトランスクリプトームのデータは公開されており、公開情報のみで大学の研究室の研究が成立している。この状況では、多数の学生が情報に触れる機会があり、情報学の研究者はそれぞれの解析手法の優劣を競うように研究が進展している。一方、生物画像情報においては、その対象となる画像情報の公開が少なく、情報処理の研究者が研究に利用できる情報が限られている。また、医療画像処理の分野においては、日本の医療画像処理の研究者のレベルが高い。しかしながら、日本においては、医療情報の利用に関する法規制が強く、多くの研究者は海外の公開されている医療画像を対象に研究を行っている。そのため、日本人の医療画像に適応した画像処理技術の開発や日本人特有の疾患の画像解析研究が遅れている。

これらの問題点を解決する方法は、税金により支援されている科研費や国プロの研究費により実施される研究画像情報を国有財産としてとらえ、データを取得した研究者に一定の優先期間を設け、その後はオープンデータとして再利用できる仕組みの確立が有効であると考える。また、そのためには、実験データを集める仕組みや、撮影者以外が再利用するための撮影方法の記述法の統一、撮影装置間の画像の品質の統一化が必要である。さらに、様々な装置の性能を最大限に引き出し最良の画像を取得するための、撮影条件の最適化の取り組みも必要である。

なお、これらの取り組みにおいて、情報の規格を海外に設定されることは国益に反する。国際協調を基盤とするが、日本の持つ優位性を確保するための情報規格を日本が先導して提案することが必要である。

### （6）その他の課題

データ解析に関わる人材は世界的に逼迫しており、Google や Yahoo、バイドゥ等では初任給 1000 万を超える状況であり、優れた人材を集めるために世界的な競争が繰り広げられている。また、上記企業では、自己資金により、法規制の少ない国で自ら大規模データを収集し、そのデータに対して深層学習による研究を実施している。その成果は、自動車の自動運転や医療分野における自動診断として実用化しつつある。

一方、日本が強みを持つ工学、特に材料開発の分野においては、データや解析ソフトウェアを公開するのではなく、クラウドシステムにデータをアップロードして解析結果を利用者に返す仕組みが多く採用されている。その結果、利用者のデータや解析手法を収集することが可能となっている。OpenScience の思想の下、データの公開の方法が取りざたされているが、利用者が喜んでデータを提供する取り組みが有効と考える。

画像認識の機械学習で Google が世界トップの地位を維持している要因として、Google の検索サービスの存在が大きいと考えられている。Google は画像管理ソフトウェアを開発していた Picasa を 2004 年に買収し、画像データを預かると共に検索するサービスを無料で開始した。スマートフォンの販売の時期と重なり、膨大化する画像データを無償で預かり再利用できるシステムはユーザーに受け入れられ、Google のサーバーには大量のデータが無償で格納された。この収集された画像を元に機械学習の研究が行われ、さらに、検索結果をユーザーに提示することにより誤検索をユーザーに修正させ、さらに学習成績を向上させるシステムを確立させている。このように、ユーザーが自らデータを提供し、その検索結果を評価することをユーザーが負担に思わずに Google に協力するエコシステムを構築している。現在も上記サービスは Google フォトとして動画サービスなどに展開すると共に、ユーザー、データ量共に急速に増加している。

バイオメディカルの分野においても、上記思想によるエコシステムを構築すれば、日本の生命科学研究を底上げする研究基盤になると考える。

本邦において AI 技術を活用したライフサイエンス・臨床医学分野を発展させる上で重要な課題は個人情報の取り扱いであると考えられる。平成 29 年 5 月 30 日に改正個人情報保護法が全面施行され、全ての医療情報は要配慮個人情報として取り扱われるようになった。一方、米国にはこのような厳しい個人情報保護に関する法律はなく、中国も国策として AI 研究開発を進めている為、日本の様に医療データを用いる上での厳しい規制はない。いかにこのような状況下で、医療情報科学を使用した AI 研究を効率的に発展させるかという方策は、研究者や医師のみではなく、法律家や生命倫理の専門家など様々な分野の専門家の叡智を集結させて考えるべき問題である。一方、平成 30 年 5 月 11 日に次世代医療基盤法が施行され、認定匿名加工医療情報作成事業者が設けられた。この法律に基づき、匿名加工医療情報が AI 研究に積極的に活用され、本邦において当該分野が加速度的に発展していくことが期待される。また個人情報保護に重点が置かれている本邦においては、サイバーセキュリティ技術の進展も今後大きな課題である。

### (7) 国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | → | 画像処理の基礎研究、特に製造業、医用画像処理の能力活動は活発である。しかしながら、扱うデータの制約や参加研究者の絶対数などが圧倒的に不足している。理研 AIP などの取り組みにより、基礎的な研究の進展が期待される |
| | 応用研究・開発 | △ | ↘ | 産業界において経営判断として機械学習、画像処理に対するリソース設定の優先順位が低い。一部の企業は研究拠点を海外に設置している。内閣府の方針として、この分野への投資を示唆しており、この今後の展開に期待したい。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | アカデミアにおける画像処理、機械学習を世界を先導している。これらの基礎的な情報処理と生命科学の研究者との連携が進んでいる。また、HuBMAP において、人組織、細胞のデータ収集に加えて、データの規格化、データベース、解析ソフトウェアの整備も進められている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | 企業が主導する形で基礎研究から応用を見据えた研究を世界中の研究者を集めて進めている。投資家によるファンディングも活発で、データ収集、アノテーション、データクリーニングをシステム化すると共に集中して進む体制を整えている。上記画像処理研究者と創薬企業との連携により創薬の効率化を目指した取り組み、システムの構築が進められている。また、計測装置についても Thermofisher に集約化が進み複数のモダリティーデータを統一して解析する取り組みが進行している。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | ↗ | 顕微鏡画像データの統一規格や解析ソフトウェアの連携など、研究者が利用するツールの囲い込みを国際協調の元で進めている。<br>英国のロンドン大学などを中心に、質の高い基礎研究が行われている。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | イメージング装置として ZEISS に各種モダリティが集中しており、複数の計測モダリティの統合が進んでいる。また、解析ソフトウェアにより、相関解析も可能となっている。 |
| 中国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | 次世代 AI 発展計画が推進されており、アカデミアにおける人材育成や研究費の重点配布が進んでいる。国際会議においても、中国の大学、企業の発表、海外に留学している中国人の発表など非常にアクティブに活動している。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | 医療分野においては、テンセントが AI 医療画像製品の開発を進めている。人員、投下資金、医療情報の取り扱いなどの優位性から、応用研究開発の進展が著しい。 |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | → | 医学生物学画像に対する研究は、一部大学にて進められている。基礎的な領域においては研究者数、成果共に顕著ではない。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | 再生医療 , 創薬などの応用開発につながるイメージング、画像解析について、Samsung グループ等の企業を中心とした研究開発がなされている。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

### (8) 参考文献

1）森田 正彦ら：Med. Imag. Tech., 33（3）：112-117, 2015.

2）R. Deserno: Biomedical Image Processing, Springer, 2011.

3）K. Eliceiri et al.: Nature Methods, 9（7）：697–710, 2012.
4）R. Murphy: Biochem. Soc. Trans. 33:535-538, 2005.
5）K. Kvilekval, D. Fedorov, B. Obara, A. Singh, and B. Manjunath: Bioinformatics, 26（4）：544-552, 2010.
6）C. Allan et al.: Nature Methods, 9: 245–253, 2012.
7）M. Morita et al.: Int. J. Networking and Computing, 4（2）：369-391, 2014.
8）実験医学増刊 Vol.36 No.20, 生きてるものは全部観る！　イメージングの選び方・使い方 100 ＋
9）D. Fedorov, B. Manjunath, C. Lang, and K. Kvilekval: APL in Signal Processing, 6: Chap. 9, 2017.
10）E. Williams et al.: Nature Methods, 14（8）：775-781, 2017.
11）Y. Tohsato, K. Ho, K. Kyoda, and S. Onami: Bioinformatics, 32（22）：3471-3479, 2016.
12）E. Williams et al.: Nature Methods, 14（8）：775-781, 2017.
13）https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8/
14）https://2018.ieeeicip.org/
15）山田真善 , 浜本隆二 , 上條憲一 , 今岡仁 , 斎藤豊 ."AI による内視鏡画像からの病変部位の検知技術の開発 ." 最先端医療機器の病院への普及展望と今後の製品開発（技術情報協会）.（2018）
16）脇田明尚 , 小林和馬 , 浜本隆二 , 伊丹純 ." 深層学習の放射線治療への応用 ."Isotope News. 758, 12-5（2018）
17）小林和馬 , 浜本隆二 ." 人工知能技術によって変革される放射線医学 ." ファルマシア .54, 875-8（2018）
18）Coudray N, Ocampo PS, Sakellaropoulos T, Narula N, Snuderl M, Fenyo D, et al. "Classification and mutation prediction from non-small cell lung cancer histopathology images using deep learning. "Nat Med. 24, 1559-67（2018）10.1038/s41591-018-0177-5
19）Zhu B, Song N, Shen R, Arora A, Machiela MJ, Song L, et al. "Integrating Clinical and Multiple Omics Data for Prognostic Assessment across Human Cancers. "Sci Rep. 7, 16954（2017）10.1038/s41598-017-17031-8
20）Chaudhary K, Poirion OB, Lu L, Garmire LX. "Deep Learning-Based Multi-Omics Integration Robustly Predicts Survival in Liver Cancer. "Clinical cancer research：an official journal of the American Association for Cancer Research. 24, 1248-59（2018）10.1158/1078-0432.CCR-17-0853
21）Li J, Pan C, Zhang S, Spin JM, Deng A, Leung LLK, et al. "Decoding the Genomics of Abdominal Aortic Aneurysm. "Cell. 174, 1361-72 e10（2018）10.1016/j.cell.2018.07.021
22）Lee SI, Celik S, Logsdon BA, Lundberg SM, Martins TJ, Oehler VG, et al. "A machine learning approach to integrate big data for precision medicine in acute myeloid leukemia. "Nature communications. 9, 42（2018）10.1038/s41467-017-02465-5
23）Sundaram L, Gao H, Padigepati SR, McRae JF, Li Y, Kosmicki JA, et al. "Predicting the clinical impact of human mutation with deep neural networks. "Nature genetics. 50, 1161-70（2018）10.1038/s41588-018-0167-z
24）Capper D, Jones DTW, Sill M, Hovestadt V, Schrimpf D, Sturm D, et al. "DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. "Nature. 555, 469-74（2018）10.1038/nature26000
25）V. Gulshan et al.:,JAMA. 316（22）;2402-2410,2016. doi: 10.1001/jama.2016.17216.
26）R. Poplin et. Al. :Nature Biomedical Engineering, 2,158–164,2018
27）G. An et. Al.: Journal of Healthcare Engineering, Vol. 2018, Article ID 6874765, 2018.

# 2.4　食料・農水産業、生物生産

## 2.4.1　環境微生物学・合成生物学

### (1) 研究開発領域の定義

【環境微生物学】海洋、河川、森林土壌、湿地等の自然環境、ヒト、植物、昆虫等の宿主との共生環境、水田、畑土壌、廃水処理プロセス等の人工環境といった、幅広い環境に生息する微生物の生理生態を、遺伝子や酵素等の生体分子、単一細胞、群集等、様々なスケールで解析し、後述の合成生物学的手法も用いることで、地球上における物質循環の根幹や、生命・代謝機能の進化を理解することを目的とする。

【合成生物学】要素構成的なアプローチで分子～細胞～個体レベルの生命現象を理解、利用する研究領域。近年、特に微生物を用いた研究が盛んであるためまとめて記載する。その対象は多岐にわたり、核酸やタンパク質などの生体分子、遺伝子制御回路・代謝経路などの生命システムの人工的な設計、改変、（再）構築、評価解析などを通じた理解、利用を目的とする。

### (2) キーワード

環境微生物学、進化、共生、系統分類学、マイクロバイオーム、バイオインフォマティクス、合成（構成）生物学、ゲノム編集、ゲノム合成、オミクス解析、代謝工学、人工細胞、進化工学

### (3) 研究開発領域の概要

[本領域の意義]

本領域の意義として、国内外での取り組みが積極的に推し進められている Bioeconomy やスマートセルインダストリーの実現、およびエネルギー基本計画や水素基本戦略の達成に向けた基礎研究および応用技術開発への貢献等が挙げられる。

微生物は、地球上に存在する無機化合物、有機化合物、光エネルギー等を原資として、多様な代謝機能を運用、生命活動を維持している。その多様な代謝機能は食品分野ではアミノ酸、味噌、醤油、酒類や、医療創薬分野では必要不可欠な抗生物質の発酵生産に利用されている。また、下水処理施設から排出される余剰汚泥や工業プロセスから排出される高濃度有機性廃水は、酸素呼吸を行わない嫌気性微生物群の働きを利用したメタン発酵プロセスによりメタンガスに分解処理され、生じたメタンは再生可能エネルギーとして発電等に利用されている。このように、人間と微生物の繋がりは現代社会において益々強固なものとなりつつある。

その一方で、これまでに純粋分離されている微生物は地球上に存在している微生物の数 % に過ぎないと言われており、95% を超える未培養微生物が有する代謝機能や遺伝子資源の探索と有効活用に向けた研究開発の必要性が高まっている。環境微生物学は、様々な環境に生息する微生物の代謝機能や生態学的役割を、微生物学、生化学、分子生物学、オミクス解析等の見地から多角的に解明することで、地球規模の物質循環や生命の進化、未知有用酵素や新規代謝経路といった学術的な新発見に寄与している。

これらの発見に加え、生物関連ビッグデータといった知識蓄積、次世代シーケンサーやゲノム編集技術に代表されるゲノム関連技術、さらには近年の情報処理・機械学習（人工知能）技術の非連続的な進展により、生命現象の理解、再現、設計、制御といった各プロセスの合成生物学的アプローチの技術的コスト・参入障壁は格段に低下した。このような状況を受け、合成

生物学は前述の SDGs などの社会ニーズ解決にマッチした育種、応用技術・シーズ開発の推進源として世界的に認識が高まっている。その出口としては、生命現象の理解はもちろんのこと、医薬品や化成品、燃料といった有用物質やエネルギーの低環境負荷生産、無細胞翻訳系に代表されるような新たな生物的ツールの開発、汚染物質の分解や有用資源の回収など、食品、医療、製造業、環境資源といった現在生物が利用されているほぼすべての領域がターゲットである。これらの既存領域革新に加え、新規領域開拓をも通じた学術、産業両面の発展への貢献が期待される。

［研究開発の動向］

【環境微生物学】微生物は原核生物であるバクテリアおよびアーキア、真核生物である藻類、菌類、酵母、原生生物等を含み、単体では肉眼での観察が難しい生物の総称である。微生物は表層土壌だけでなく、陸域地下圏、海洋、海底下など、植物が生息し得ない環境にまでその分布を拡げている[1-3]。また、ヒト[4, 5]、植物[6, 7]、昆虫[8-10]といった宿主生物との共生関係を構築し、宿主生物の栄養獲得や病理等に深く関与することも知られている。さらに廃水処理プロセスでは、微生物を利用した有機物や化学物質の分解除去が行われている[11-13]。

1900 年代中頃には PCR 法や遺伝子クローニング技術が導入され、純粋分離を経ることなく環境中に生息する微生物の種多様性を解析できるようになった。特に、リボソームを構成する RNA 分子である小サブユニットリボソーマル RNA（SSU rRNA）をバイオマーカーとして用いる新たな系統分類の概念がウーズらによって提唱され[14]、クローンライブラリ法や DGGE 法といった微生物群集構造解析技術が普及した。その結果、これまでに純粋分離されてきた微生物は地球上に存在する微生物の数 % に過ぎないことが明らかとなり、残る大多数は近縁に純粋分離株が存在しない未知・未培養な微生物であることが示された[15]。

2000 年代に入り、次世代シーケンシング（Next Generation Sequencing, NGS）技術と計算機科学が急激に発展したことで、高解像度で大規模な微生物群集構造解析や、微生物のゲノム全体を標的とするメタゲノム解析が米国を中心に精力的に推し進められた。そのプロジェクトの一つが 2010 年から開始された Earth Microbiome Project（EMP）であり、2017 年時点で 43 カ国から収集した 2 万点以上のサンプルの微生物群集構造解析を実施し、地球規模での微生物多様性のカタログ化に成功している。また、得られるデータの品質を統一化する Microbiome Quality Control（MBQC）プロジェクトも派生的に進行している。EMP の開始とほぼ時を同じくして、米国エネルギー省（DOE）の Joint Genome Institute（JGI）と、ドイツの微生物株保存機関 DSMZ との共同研究で、Genomic Encyclopedia of Bacteria and Archaea（GEBA）プロジェクトがスタートした。本プロジェクトは、約 11,000 種にも及ぶバクテリアおよびアーキアの標準株のうち、全ゲノム配列が決定されていない標準株のゲノムを解読して微生物ゲノムの百科事典を編纂し、微生物の進化や新規代謝機能の発見に繋がる情報基盤整備を目的としている。当初、分離培養株のゲノムのみを対象としていた GEBA プロジェクトは、未培養微生物のメタゲノム情報をも対象とする GEBA-MDM（Microbial Dark Matter）プロジェクトに発展した。本プロジェクトではメタゲノムやシングルセルゲノム解析を駆使することで、9 つの環境から 29 の未培養微生物群のドラフトゲノム情報を獲得し、それらの未培養微生物が有する基礎代謝機能を明らかにすることに成功した[16]。その後も、GEBA-MDM プロジェクトに関連してメタン発酵プロセスにおけるメタゲノム解析が進めら

れている[17-21]。このようなDOE-JGIの研究プロジェクトの一部には、日本から海洋研究開発機構（JAMSTEC）や産業技術総合研究所（AIST）等の研究グループも参画し、国際共同研究を遂行している。欧州では、欧州分子生物学研究所（EMBL）が中心となり海洋環境における物質循環の全貌解明を目指すTara Oceans scienceプロジェクトが進行、海洋微生物のマイクロバイーム解析が進められている。なお、本プロジェクトには日本から京都大学の研究グループが参画している。

メタゲノム情報の蓄積により微生物の系統分類もより高解像度なものになっており、2016年、米国カリフォルニア大学バークレー校を中心とする研究グループは、多数の未培養微生物群を含む、バクテリア92門およびアーキア26門からなる新しい系統樹を発表した[22]。その後、2017年にはオーストラリアのクイーンズランド大学の研究グループが、約1,500個のショットガンメタゲノムデータから約8,000個の微生物ゲノムを再構築し、カリフォルニア大学のグループとは異なる形状の系統樹を発表した[23]。これらの研究報告は、微生物が有する代謝機能の多様性と進化を紐解く重要な知見と認識されている。

米国を中心に進展する環境微生物のゲノム・メタゲノム解析と対をなす形で、日本や欧州では新規な代謝機能を有する微生物の発見とその分離培養に関する成果が目立っている。京都工芸繊維大学と慶應義塾大学の研究グループは、ペットボトルの原料となるポリエチレンテレフタレート（PET）を分解資化する微生物を純粋分離し、PET分解酵素を特定することに成功した[24]。自然環境へのマイクロプラスチックの流出と蓄積が懸念される中、PET分解菌の存在が証明されたことは科学的に大きな意義のある発見であり、PET分解菌、PET分解関連酵素群を利用したバイオプロセスへの展開も期待されている。

地球上の窒素循環において、アンモニアから亜硝酸を生じるアンモニア酸化菌と、亜硝酸から硝酸を生じる亜硝酸酸化菌が果たす役割は大きい。永らく、アンモニア酸化反応と亜硝酸酸化反応は、異なる系統群に属する微生物により個別に進行すると信じられてきたが、2015年にウィーン大学の研究グループによってアンモニア酸化と亜硝酸酸化の両方の代謝機能を有する「コマモックス（complete ammonia oxidizer, comammox）」と呼ばれる微生物 ***Nitrospira inopinata*** が発見され大きな話題となった[25]。

また、メタン発酵プロセスのような嫌気環境においては、メタン生成アーキアが酢酸、水素、メチル化合物という限られた種類の基質を利用してメタンを生成することが知られているが、産業技術総合研究所の研究グループは石炭成分であるメトキシ化合物を利用してメタンを生成する ***Methermicoccus shengliensis*** AmaM株を分離培養し、地球上における第4のメタン生成経路の存在を証明することに成功している[26]。これらの例が示すように、未培養微生物の分離培養技術に関してはわが国にも強みがあり、欧米等の諸外国に引けを取らない研究報告が多数なされている。

【合成生物学】生物学の実験手法は当初、非常に限られたものしか存在しなかったが、分子生物学の勃興後、20世紀中頃から制限酵素、DNAリガーゼの発見、形質転換法、PCR法などの画期的な手法が相次いで開発された。これにより遺伝子工学分野が大きく発展し、細胞融合技術などの細胞工学と合わせて適したモデルを作製して生命を理解することが可能となり、生命システムの構成要素、機能、関係性に関する知見が集積された。その一方で、生命を構成する要素を個別に調べる分子生物学的手法だけでは生命システムを理解できないということもま

た広く認識されるようになった。生命システムの振る舞いについて理解するための試みとして、システムズバイオロジーと呼ばれる生物学領域が 20 世紀の終わり頃から提唱された。これら生物学における知見を利用し、より人工的な設計指針、構築プロセスを用いて要素構成的に生物を理解、制御しようとするのが合成生物学である。さらに 21 世紀に入り、NGS 開発、DNA 合成ローコスト化、CRISPR-Cas9 に代表されるゲノム編集技術など、関連技術が大きく発達し人工ゲノムデザインを考える土壌が形成された。

合成生物学にも大きく分けて 2 通りのアプローチが存在し、既存の細胞、生命システムの改変によるトップダウン型のアプローチと、DNA やタンパク質といった要素を集めて再構成するボトムアップ型のアプローチが存在する。欧米では前者に加えて遺伝子部品の組合せによる遺伝子回路・代謝経路構築といった研究開発、日本においては無細胞翻訳系などに代表される後者に強みを有する傾向がある [27-29]。

米国においては防衛戦略上の関心からか、公的研究では燃料、有用物質生産のような応用志向が強く、DOE、DARPA、NSF といった省庁主導による研究プログラムが積極的に進められている。FY2019 予算請求において DOE では引き続きバイオエネルギーに関するプログラムでの合成生物学研究が、DARPA においては引き続き Living Foundries プログラムが盛り込まれている [30]。NSF においては Strategic Plan FY2018-2022 に New Enabling Technologies として合成生物学が言及されており、2018 年度からは Understanding the Rules of Life（URoL）プログラムによる合成生物学研究がスタートしている。また、民間の動きも活発であり、DARPA やゲイツ財団の支援を受けて抗マラリア薬、アルテミシニンの生産プロセスを確立し、大きな脚光を浴びた Amyris に代表されるバイオベンチャーが多数設立されており、SynBioBeta といったイノベーション創出に向けた学際的コミュニティも形成されている。この他にも John Craig Venter のグループが進める人工生命、最小ゲノム研究や、Jef Boeke らが進める酵母の染色体を全て人工合成染色体で置き換える試みである Sc2.0、GP-write など世界的に注目度の高い取り組みが行われている。

欧州では枠組み作りを先行、2015 年には官庁主導で EU 全体でのリスクアセスメントをまとめるなど倫理面で他地域に先駆けた取り組みが進んでいる。Horizon2020 の研究プログラムでは EU 内で研究費調達時点から研究分担例が見られ国際色豊かである。国別では、英国が積極的に取り組みを進めており、Biotechnology and Biological Sciences Research Council（BBSRC）、Engineering and Physical Sciences Research Council（EPSRC）の両機関が主導する。現在 7 つの大学が研究拠点とされている他、5 つの DNA 合成拠点、国立のビジネスインキュベーター、SynbiCITE が設けられている [31,32]。また UK Synthetic Biology Strategic Plan 2016 では専門労働力創出や産業、商業化の加速が推奨され、応用に注力している。この他、2017 年にドイツにおいて The German Association for Synthetic Biology（GASB）が、オランダにおいて人工細胞創出を目的とした Building a Synthetic Cell（BaSyC）が設立され、アカデミアではボトムアップ型の取り組みが目立つ。

中国においても、合成生物学の研究拠点が天津や深圳といった都市におかれ、海外トップラボの誘致や留学帰還者の積極的な登用により急速なキャッチアップを進めている [33]。上述の GP-write、Sc2.0 にも積極的に関わっており、米国に次ぐ中心的な役割を果たしているなど、ボトムアップ研究に対しても力を入れている。

いずれの国も共通して、合成生物学の推進にあたり NGS や質量分析装置、実験ロボット、

情報処理施設などが高度に集約された研究拠点を設立しており、もはや単独のラボレベルではカバーしきれない学際的領域であることが際立っている。近年では合成生物学を駆動するプロセスとして、Design、Build、Test、Learn からなる DBTL サイクルが提唱されており、Design 分野では情報処理技術・シミュレーションを活用した分子・システム設計が、Build・Test 分野では実験ロボットを活用したルーチンワークの省力化、各種オミクス解析などのデータ収集の効率化や自動化が行われている。Learn 分野では得られたデータ解析・機械学習結果をもとに、さらなる設計精度の向上に繋げるとされており、データ駆動型サイエンスとしての側面が非常に強くなっている[34]。実際に、Amyris、Ginkgo Bioworks、Zymergen といった米国ベンチャー企業においては、Build・Test 分野のハイスループット化と自動化に向けた IoT 技術の導入、ロボット化によるビッグデータ構築に関する技術開発の進展が著しい。また Design・Learn 分野においても、得られたビッグデータに対するデータ処理・機械学習（人工知能）技術の開発に注力している状況である[35]。

一方、わが国においては、この観点で大きく後塵を拝する状況である。以前より Build・Test 分野の個別の技術開発が注力され、DBTL サイクルを単独で機能できる拠点に乏しく、情報処理技術の活用という点でも後れを取っている。こういった状況を受け、日本でも NEDO プロジェクト「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」が 2016 年度にスタートした。本プロジェクトでは、情報処理技術開発も重点領域の一つとして、物質生産に資する細胞・微生物の開発期間短縮やコスト削減を目指しており、Build・Test 分野では、長鎖 DNA 合成・オミクスデータ測定を中心にハイスループット化と自動化を目指した技術開発が進められている。Design･Learn 分野においても、情報処理技術を利用した代謝経路設計、代謝モデル開発、遺伝子配列設計、遺伝子制御ネットワーク推定技術、文献情報等からの知識抽出によるデータ整理・人工知能（AI）技術基盤の開発が進められている。

しかし、他国と比較すると依然として予算規模は小さく、また関連したベンチャー企業も研究の一部を受託するサービスのものが多い。今後、日本がこの分野での競争力を維持するためには、前述のデータ構築、情報処理技術活用や、機材設備といった研究基盤の集約・効率化、産業の肥大化の両面に関する戦略が求められている。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

【環境微生物学】

- 微生物間相互作用の新たな展開として、電気共生（electric syntrophy）の概念が広まっている。2000 年代から盛んに行われている *Geobacter* 属や *Shewanella* 属細菌等の細胞間電子伝達機構に関する研究[36, 37]が進展する中、国内の研究グループによってヘマタイトやマグネタイトといった酸化鉄の添加で嫌気性微生物群による有機物の分解が促進されることが発見された[38-40]。この原理を利用した微生物燃料電池やメタン発酵プロセスの高効率化研究が国内外において数多くなされている[41]。
- 微生物の代謝機能を利用して低炭素なエネルギー・物質生産を目指す「光エネルギーから水素へ（solar-to-hydrogen）」、および「光エネルギーから有用物質へ（solar-to-chemical）」の概念が広まりつつある。例えば、光感受性半導体分子である硫化カドミウム（CdS）を細胞表面に沈着させることで光エネルギーからプロトンを人為的に生じさせ、微生物特有

のヒドロゲナーゼや酢酸合成代謝経路を経ることで光エネルギーからの水素[42]や酢酸[43]の生産に成功したという報告は注目に値する。

- 主に米国が主導してきた大規模シーケンシングが生み出した微生物群集構造、ゲノム、メタゲノム情報の蓄積は飽和状態を迎えつつあり、これらのデータを活用した次なる展開が期待されている。例えば米国では、遺伝子レベルの植物微生物間相互作用や[44]、牛ルーメンとヒト腸内マイクロバイオームとの比較解析[45]が行われており、農業やヘルスケア分野への展開が進みつつある。
- 新たなアプローチとして、微生物群集構造、ゲノム、メタゲノム情報の利活用に向けた機械学習・AIプログラム開発に関する報告が近年目立っている[46]。例えば、遺伝子の機能推定[47, 48]、マイクロバイオームデータと環境メタデータとの相関解析[49]、抗生物質耐性遺伝子のマイニング[50]等への適用が試みられている。

【合成生物学】

- 米国が主導するようなトップダウン型で物質生産を志向する合成生物学は既存の科学技術の集約と選択段階にあり、それぞれの個別技術要素の開発自体には目新しいものは少ない。ゲノム編集、ゲノム合成技術や、培養サンプルの各種オミクス解析、酵素活性評価などの各技術のハイスループット化、自動化、高精度化については未だ検討の余地があるが、米バイオベンチャー、Ginkgo Bioworksの担当者はもはやBuild、Test領域は律速ではない、とコメントしている。
- その一方で、課題となるDesign領域研究へのビッグデータ活用に向けて、実験ロボットやIoTを積極導入、ルーチンワークの合理化及び省力化と、高品質データ収集の自動化が欧米諸国で先行して行われた。近年ではデータ取得技術というよりは、得られたビッグデータ解析にシフトしており、ディープラーニング技術の応用等を含めた解析技術開発が進められている。米バイオベンチャー、Zymergenは、変異育種工程ロボット化によるビッグデータ構築と情報処理・機械学習技術開発に特化した生産プロセスの開発を推進、ソフトバンクよりファンディングを受けている。
- 物質生産のターゲットはテルペノイド、フラボノイド、アルカロイドなどの高付加価値化合物に移行しつつあり、オピオイド系アルカロイド生産は酵母、大腸菌双方で成功例がある[51,52]。近年では遺伝子発現の調整、植物に限らない様々な種の酵素利用、既存の変異体利用、化学的知識に基づく迂回反応路の構築などによる最適化が盛んである[51-55]。
- ボトムアップ型の研究開発では、米国ベンター研究所による合成ゲノムマイコプラズマの作製とゲノム移植[56-58]、その後のミニマム細菌の作製[59]、合成ゲノム酵母Yeast2.0[60, 61]などを発端として、長鎖DNA合成や、そのハンドリング（精製、細胞への導入など）技術、人工細胞系構築技術の開発が進められている。加えて慶応大学のグループが、光合成細菌ゲノムを丸ごと枯草菌に入れたシアノバチルスの作製[62]を報告しており、国内からの研究成果も顕著である。
- 本来生物が持たない非天然の核酸、アミノ酸、遺伝暗号などを利用する生物や生物学的装置の構築を目指す非天然生物学に顕著な研究例が目立つ。*in vivo*研究では、生物を非天然アミノ酸に依存型に改変することで生物学的封じ込めを目指す試みが新たな潮流として見られてきている[63-66]。さらに、分子進化によって非天然アミノ酸をtRNAに結合させる酵素の活性を17日で45倍に向上させるなど、既存の酵素の改良手法も精力的に研究さ

れている[67,68]。*in vitro* 研究においても、試験管内で転写した tRNA によってほとんどの tRNA を置き換えた無細胞蛋白質合成系[69]、この系にフレキシザイムを組み合わせ、一本のポリペプチド中への複数（5 種の）非天然アミノ酸導入系[70]、RF1 欠損株由来の非天然アミノ酸導入効率の良い無細胞蛋白質合成系などの研究報告例がある[71]。非天然核酸研究では NaM–TPT3 という非天然塩基対を大腸菌中に保持させ、さらにこの塩基対を転写、翻訳させ蛋白質合成や非天然アミノ酸導入成功事例が報告された[72]。

● 部品（パーツ）となるゲノム・遺伝子配列の同定、機能アノテーション、設計といった観点から、情報処理・機械学習技術を活用した情報学的解析も進められており、データベースとしては NCBI（米国）、EMBL（英国）、DDBJ・KEGG（日本）といった生物データ（ゲノム配列、遺伝子アノテーション、代謝パスウェイ情報等）を網羅的に集積したデータベースが活用されている。一方、これらには合成生物学に必要とされるデータ・知識が必ずしも網羅されておらず、合成生物学に特化したデータ形式・フォーマットでないなどの理由で、SBOL（The Synthetic Biology Open Language）を中心に合成生物学のための標準言語策定も進められている[73]。また、合成生物に特化した知識抽出手法として、IBM Watson に代表される自然言語処理による文献データ等からの知識抽出も開始されている。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

【環境微生物関連】

＜海外＞

● DOE-JGI「Genomic Encyclopedia of Bacteria and Archaea（GEBA）」（2009 年度 -）

純粋分離培養されている標準微生物株のゲノムや、環境微生物のメタゲノム情報をカタログ化し、生命の進化や生物多様性の解明を目指すプロジェクト。

● The John Templeton Foundation 等「Earth Microbiome Project」（2010 年度 -）

世界各地の様々な環境から収集した 2 万点以上のサンプルの微生物群集構造を網羅的に解析し、他のメタデータと統合することで地球規模の物質循環の理解を目指すプロジェクト。

＜国内＞

● JST-ALCA「共生微生物を活用した水生バイオマスの効率生産」（2011-2019 年度）

水生植物表層微生物叢と宿主植物の生物間共生作用を解明することで、高効率な二酸化炭素固定、栄養素吸収、バイオマス生産を可能にする遺伝子組換え技術フリーな高機能植生ユニットの創成を目指している。

● 科研費新学術領域「冥王代生命学の創成」（2014 年度 -2018 年度）

原始生命の誕生に必須であった地球惑星科学的、生命科学的および有機化学的な条件を特性し、メタゲノム解析や半人工生命実験系を用い、原始的生命体機能の推定に向けた検討が行われている。

● JST-ERATO「野村集団微生物制御プロジェクト」（2015-2020 年度）

多種多様な微生物からなる集団におけるひとつの微生物細胞の挙動や微生物間の相互作用や、ある微生物集団と周辺環境の変化や他の生物との相互作用を、最先端の 1 細胞分析、イメージング、生化学的アプローチを駆使して解析することで、微生物集団の環境適応機構を明らかにすることを目指している。

【合成生物学】

＜海外＞

● DARPA「Living Foundries」（2011 年度 -）

DBTL サイクルを迅速に回すための基盤技術（設計ツール開発、標準シャーシ株作製、評価）を開発し、ゲノム編集、機械学習などの技術も取り込み、化成品・医薬品など有用な 1000 の分子の生物生産法の開発を目指している。

● NSF「Understanding the Rules of Life（URoL）」（2018 年度 -）

遺伝子型から表現型の予測など、数学物理、コンピューターサイエンスを活用し、普遍的な生命のルールの解明を目的とする。NSF が掲げる、「未来に向けて投資すべき１０大アイディア」の一つ。

● Sc2.0

ボトムアップで酵母の染色体を化学合成 DNA で置き換えていくことを目的とした米国、中国、英国が参画する国際プロジェクト。

● GP-write

2016 年に発足した、ヒトゲノム全体のデザインとアセンブルを目的とした国際コンソーシアム。10 年以内にゲノム合成にかかるコストを 1/1000 にすることなどを掲げている。

＜国内＞

● 内閣府 ImPACT「超高機能構造タンパク質による素材革命」（2014-2018 年度）

重さあたりの強靭性が鋼鉄の 340 倍にもなるクモ糸をさらに超える「超高機能構造タンパク質」をつくる遺伝子を微生物に組込み、人工的に量産できるようにする。異次元の性能を起こすメカニズムを解明し、新素材設計と加工技術基盤を確立し、素材産業革命を起こす。

● 内閣府 ImPACT「豊かで安全な社会と新しいバイオものづくりを実現する人工細胞リアクタ（2015-2018 年度）

新しいバイオものづくりを実現する人工細胞リアクタによる非連続イノベーションを目指すプロジェクト。分子集積度と目的に応じた 3 段階（はかる、つくる、ふやす）で開発を進め、小型・超高感度バイオセンシング装置、高速にバイオマスを処理するスーパー酵素、自己複製が可能な人工細胞によるバイオ技術を創出して社会実装する。

● NEDO「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」（2016 年度 -2020 年度）

遺伝子設計に必要となる精緻で大規模な生物情報を高速に取得するシステム、細胞内プロセスの設計、ゲノム編集等の技術等を利用して、植物・微生物等の生物細胞内に物質生産プロセスを内含する「スマートセル」を構築し、省エネルギー・低コストな高機能品生産技術の確立を目指す。

● SIP 第 2 期「スマートバイオ産業・農業基盤技術」（2018 年度開始）

４つの研究項目「健康寿命の延伸を図る「食」を通じた新たな健康システムの確立」「多様なデータの利活用による農林水産業・食品産業の生産性革命・競争力の強化」「生物機能を活用したものづくり」による持続可能な成長社会の実現」「バイオ・デジタル融合イノベーションを創出する研究開発基盤の構築」を遂行することで、食による健康増進社会の実現、農林水産業・食品産業の革新、持続可能な成長社会の実現、ひいては日本における Bioeconomy の拡大を目指す。

● JST-CREST/ さきがけ「ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出」

（2018 年度発足）
これまではゲノムを読んで生命現象を理解する研究が主流であったが、ゲノムを書くことで研究を加速・発展させるという視点から発足されたプロジェクト。「ゲノムの構造と機能の解明」、「ゲノム設計のための基盤技術」、「ゲノムスケールの DNA 合成技術」、「人工細胞の構築」の 4 つの課題を推進し、ゲノムの複雑な機能と構造に関する知見の創出とゲノム合成や人工細胞に関する新たな技術の構築を目指す。

### (5) 科学技術的課題

【環境微生物学】

メタゲノム情報の蓄積により、未培養微生物の遺伝子情報が蓄積され、その利活用に向けたバイオインフォマティクス的研究が盛んに行われており、効率的なプラットフォーム構築、共有が重要である。その一方で、分離培養の重要性も再認識されており、ハイスループットな培養技術、原位置培養技術、微生物の生息環境を模擬する培養技術、生物間相互作用を利用した培養技術等、これまでにない培養技術の開発が求められている。これらの技術開発には時間を要することも多く、長期的展望に基づく基盤研究計画が求められる。

また、合成生物学的アプローチの導入も本分野の課題である。ミニマムゲノム細菌が作成されたが、その 3 割の遺伝子は機能未知であり、「生命がどうやって生きているのか人類は理解できていない」ことが示された[59]。これらの遺伝子の機能解析は、さらなる生物学の発展や、物質生産に用いるシャーシ細胞作り等の応用研究においても必須である。難培養性微生物や増殖が極めて遅い微生物が有する多様かつユニークな代謝や機能の研究には、このようなシャーシ細胞、微生物を用いてのアプローチが特に有用であると期待される

【合成生物学】

Design 領域の課題は機能性分子、生命システムの設計指針に乏しいことである。成功例もほぼ全てが既存の分子、システムの流用、改変の域を脱していない。タンパク質分野では米国 David Baker 研にて in silico 設計の萌芽的研究が報告され始めているが、酵素などの機能性分子をゼロから設計するのは未だに極めて困難である。こうした設計には十分な知識・データの情報処理、機械学習などの援用が必須であり、機能性分子や生命システムの設計に向けた体系的なビッグデータ構築が課題である。Roberta は、1. 多くの要素がはっきりと定義されていないこと、2. 予測不可能性、3. 複雑性が扱いにくさを生じること、4. 多くの要素が両立不可能であること、5. 細胞の変動性がシステムの信頼性を下げることを課題としてあげている[74]。

Build 領域においては、～ 100kb 程度の長鎖 DNA の合成は可能になってきているが[62,75]、そのハンドリング（精製、細胞への導入など）技術が課題である。また前述のように望みの機能を有する遺伝子選択、遺伝子配列設計指針が確立されておらず、長鎖 DNA を安定的に機能発現させる方策も乏しい。現時点でデザインされた長鎖 DNA を宿主導入しても、機能発現しない、もしくは宿主の増殖が著しく低下する、などの課題もある。

Test 領域では、現況は既存技術の自動化、ハイスループット化といった点に注力しているが、計測技術のライフサイクルを考慮すると、次世代の計測技術（非破壊計測やマイクロ流体等）を活用した少量サンプルで高感度に計測可能な技術の開発が望まれる。また IoT 技術とビッグデータ構築技術など情報処理技術との継続的な連携が必要である。

Learn 領域では、公共データベースをもとに設計、学習を実施しているが、予測・推定をも

とにした設計を行うには十分な体系的データが供給されていない。解決には合成生物学に特化したデータが必要だが、現存のデータベースは一般生物情報・データの域を出ず、改めて文献等からの知識抽出や計測データの補完が必要である。IBM Watson などの既存技術は自然言語処理をもとに医療・創薬に特化したサービスを提供しているが、これを本分野でそのまま利用することは困難である。また近年ディープラーニングの活用が顕著だが、あらゆる問題に適用可能という訳ではなく、現状は見極めの段階であり、平行して次世代アルゴリズム開発も必要である。スマートセル設計システムの場合でも、代謝設計・モデル構築・遺伝子配列選択、設計・遺伝子制御相関解析など多様な問題があり、様々な統計解析・機械学習技術との併用や新しいアルゴリズム開発が求められている。

各領域に共通した問題として、各場面で先端技術を利活用する一方で、技術のライフサイクルもまた早いことから、適切な問題設定とデータ・計測技術・解析技術・情報処理技術を適時選択することが望まれる。特にデータ構築については、安直にオミクスデータに依拠しても意味のあるデータが得られないケースが多々あり、大いに検討の余地がある。

### （6）その他の課題

合成生物学は非常に学際的な領域であり、その性質上ライフサイエンス全般に関する知見の統合、体系化に向けた多様な人材の参画や様々な実験、解析設備を要する。そのため、効率的な研究にはこれらを集約、高度に連携するための技術開発、体制づくりが喫緊の課題となっている。この点でわが国は後塵を拝しており、微生物育種・代謝経路実装・酵素探索などの技術領域においては、国内企業の、先行する諸外国ベンチャー企業への依存、投資の傾向が見られ、研究費や知識の国外流出を防ぐという点でも重要である。

機材や設備などハード面からみると、個々の技術自体は成熟段階にあるものが多いが、実際に組み合わせて利用すると精度不足、技術同士がかみ合わないといったことが生じるため、要素技術のブラッシュアップ、すり合わせ、標準化を意識した技術開発が重要である。そのためには少量のサンプルでの検討を可能にする微細加工技術や、工程の高速、高精度、自動化に向けた制御工学の分野との連携が必要不可欠だが、全く不十分である。

また、本領域は得られた高品質なデータを蓄積、次の手を模索するデータ駆動型科学としての側面も強い分野であることから、ハード面だけでなくソフト面でも集約が求められる。しかし必要不可欠である情報科学分野の人材の参画もわが国は後れを取っており、バイオインフォマティクス人材不足、情報処理技術活用の遅れは深刻な問題である。徐々にではあるが遺伝子やタンパク質の情報を取り扱うバイオインフォマティクス関連の学科が設立されているにも関わらず、その修了者が定着するための土壌は整っているとは言い難い。バイオインフォマティクスの研究者が、ゲノム解析のデータ処理やシステムバイオロジーに留まっており、他分野との共同研究が進まないことも問題である。バイオとデジタルの融合として、米国 Synbiobeta、国内でも Life Intelligence Consortium:LINC で見られるような、オープンイノベーションの取り組みを本領域でも加速させる必要がある。

加えて、合成生物学の目標の一つとして生命システムの改変、創造が挙げられるため、常に ELSI、デュアルユースといった問題に向き合う必要がある。科学技術の視点のみならず、社会に与えるインパクトを考慮しながら研究開発を進めることが求められているが、わが国において関連した法規制整備は遅れている。

（7）国際比較：

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | ↗ | 【環境微生物】<br>・PET 分解菌や、石炭からメタンを生じる新規微生物分離培養などで顕著な成果が見られる[19, 26]。<br>・JST 等の国プロにより、微生物 - 微生物、植物 - 微生物間相互作用の新たな展開に向けた基盤研究が進展している[39, 40]。<br>【合成生物学】<br>・各種計測・DNA 合成技術や情報処理技術に関する要素技術レベルは高いものもある。発酵・微生物育種分野や情報解析関連研究者の参入も増え、基礎研究レベルの底上げ、技術統合も各種プロジェクトで実現されつつあるが、海外研究機関や研究者との協力は他国に比べ乏しい。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | 【合成生物学】<br>・要素技術の統合をベースとした実用化、事業化は、米国には後れをとっているもののキャッチアップしつつある。<br>・伝統的に強みをもつ発酵技術を背景に培養のスケールアップや発酵生産システムの開発に強みをもつ一方、情報処理技術の連携には課題も多い。<br>・近年ゲノムサイズの DNA 合成やゲノム編集に関するベンチャー企業が設立された。<br>・経済産業省が平成 24–28 年に遺伝子組換え微生物による有用物質生産プロジェクトを実施した（総額 18 億円）。<br>・国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構が「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」に総額 86 億円を出している。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | 【環境微生物】<br>・EMP や GEBA 等のプロジェクトにより、微生物ゲノムや様々な環境のマイクロバイオーム情報等、環境微生物学に関連するデータベースが充実している。<br>・微生物の代謝機能と光エネルギーを利用した物質生産に関する基礎研究が進行している[43]。<br>【合成生物学】<br>・計測技術、育種技術、情報処理技術などの先端技術や技術統合、データベース開発、標準化に向けた取り組みなど、世界をリードしている。<br>・NSF、DOE、NIH、DARPA により国内各地に合成生物学拠点を設置されている[76]。 加えて、iGEM, BIOMOD などの国際学生コンテスト主催、また GP-write、Syn3.0, Build-A-Cell などの主要推進国を担い、積極的に自国の研究基盤構築や他国との共同研究を推進する地盤ができている[77,78]。合成生物学の次世代を担う地盤を固めている[79-81]。合成生物学国際学会（Synbiobeta, International meeting on Synthetic Biology, Build-A-Cell workshop）の主要開催国である[82]<br>・ボストン周辺には遺伝子回路構築の主要研究室が集積し、世界を牽引する研究を行っている[83]。<br>・タンパク質の ***in silico*** 設計研究において世界を牽引する研究室が米国に籍を置く[84]。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | 【環境微生物】<br>・上記データベースの利活用に向けた農業・ヘルスケア分野への応用研究が進展しつつある[44, 45]。<br>【合成生物学】<br>・大手化学企業がバイオ合成品に注力するとともに、Amyris 社、Ginkgo Bioworks 社、Zymergen 社といった米国ベンチャー企業を代表として実用化研究が進んでいる。また合成生物学ベンチャー企業のトップ 50 に連なる企業の内、31 社が米国に籍を置く[85]。<br>・Biobricks、SynBioBeta、SBOL などのコミュニティを形成、世界スタンダードを目指すとともに、バイオ・デジタル関連企業の連携など知のインキュベーションも進む。<br>・DARPA が Gene Drive 技術による危険生物撲滅プロジェクトを支援、同技術の世界最大の支援者になった。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | ↗ | 【環境微生物】<br>・新規抗生物質生産菌の分離培養に成功している[86]。<br>・Tara Oceans science プロジェクトによる海洋環境における物質循環解明に向けた取り組みが目立つ。<br>・EU における合成生物学を発展させるためのネットワーク ERASynBio が構築されている。<br>【合成生物学】<br>・英国を中心に、ドイツ・フランス・スイスなどでも合成生物分野の研究者の層が厚い。情報処理技術に関しても、EMBL を中心としたデータベース開発から合成生物関連の画期的なアルゴリズムなどが開発されている。<br>・Horizon2020 に基づく合成生物学関連の研究プロジェクトとして 286 件の研究が進行中である。<br>・2015 年に EU が Opinion Ⅲ として合成生物学に関する最終意見書をまとめ、実際の研究に先行・主導する形で倫理指針がまとまっている[87]。2015 年にドイツでも関連する法規をまとめ、また、各関連機関での立場を意見という形で明確にしている[88]。<br>・BASF（独）、DSM（蘭）などの大手化学企業が積極的な基礎研究を進め、学会においても中心的な役割を果たしている。<br>・英国では 7 つの大学において合成生物学センターが、5 つの大学・研究所に DNA 合成研究拠点が設けられ、各センター間で注力する分野を分担している[89]。<br>・2017 年にドイツで合成生物学専門の新しい協会（GASB）が設立された。<br>・オランダでも人工細胞とその周辺技術創出のための研究プログラムがスタート[90,91] した。共に官庁主導。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | 【環境微生物】<br>・廃水処理技術の応用開発として、高温条件下で稼働する新規な窒素除去リアクターが開発された[92]。<br>【合成生物学】<br>・BASF や DSM などの有力企業に加えて、EVOLVA（瑞）といったベンチャー企業ではステビアのバイオ合成、育種の委託事業などに特化した事業化を行っている。<br>・欧州よりも欧米という枠組みでの応用化の風潮が見られ、ベンチャー企業のスタートアップも大型化している[93]。大学からスピンアウトしたベンチャーでは大学が大型出資に参画している例が散見される。<br>・欧州委員会の "Towards a European Strategy in Synthetic Biology" プロジェクト最終報告書で示されたロードマップ通り、応用面では橋渡し資金調達が、技術面では合成生物学に立脚した合成化学系の技術が達成されつつある。また、倫理規定などに関しても達成されている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | 【環境微生物学】<br>・微生物の代謝機能と光エネルギーを利用したエネルギー（水素）生産に関する基礎研究が進行している[42)]。<br>【合成生物学】<br>・基礎研究、国際共同研究の推進を背景に、研究論文の量の拡大、質の向上が進んでいるが、後追い研究もまだ多い。<br>・Cold Spring Harbor Asia Conference の 2016 年大会において Synthetic biology がテーマとして挙げられた。<br>・酵母ゲノムの人工合成を目指した Synthetic Yeast 2.0（Sc2.0）プロジェクトでは米国に次ぐ中心的な存在。<br>・中国の合成生物学関連の学術論文数は 2012 年に日本を越え、2015 年にはドイツ、英国と同等まで成長[94)]。<br>・学生合成生物大会 iGEM では、2017 年参加チーム数が中国が欧米を抑え第一位となった。<br>・2018 年 8 月、酵母の染色体を 1 本までまとめる、先駆的研究が報告された[95)]。<br>・清華大学を始めとし、合成生物学研究室ラボが増えている。特に Yuan Lu が率いるラボは Cell Free を用いて人工生命の創出を目指した研究を行っており、2017 年、2018 年に 11 本の論文を発表している。<br>・科学技術省のガイドラインによると、中国科学院の研究室を 2020 年に現在の 3 倍近くにするとされており、優先的に支援を受ける分野として合成生物学が上がっている。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | 【合成生物学】<br>・米国追従ではあるが、豊富な資金をバックに、キャッチアップのスピードが極めて速い。情報処理分野の技術についても、人的な優位性もあり、合成生物分野に関連の様々な応用研究が進められている。<br>・合成生物学に関連するベンチャー企業として、Health Guard Biotech 社（組み換えタンパク創薬）、Ascletis 社（人工 siRNA 創薬）、sangon biothch 社（DNA 合成サービス）などがあるが、軌道に乗っているとはまだ言い難い。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | → | 【合成生物学】<br>・特定の研究者レベルでは質の高い研究が見受けられるとともに、合成生物関連分野の研究者も増えてきている。<br>・シアノバクテリア合成生物学のためのプラットフォームとして SyneBrick Vector を開発[96)] |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | 【合成生物学】<br>・10 年間、4 億 4,200 万ドルで、100 以上の新薬候補の発見を目指す”Bio-Economy Initiative 2025”の一環として、3,800 万ドルで Korea Bio Grand Challenge 2018 がスタート。ゲノム編集、合成生物学、有用微生物の各分野から 3 プロジェクトの計 9 プロジェクトが採択された[97)]。 |
| シンガポール | 基礎研究 | ◎ | ↗ | 【合成生物学】<br>・合成生物学研究に 2018 年から 5 年間で 1,900 万ドルの予算をつけることを決定。2016 年度から 4,500 万ドル相当の予算がすでに投資されている[98)]。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | 【合成生物学】<br>・AI を利用した創薬ベンチャー Engine Biosciences が 1,000 万ドルではじまる。拠点はカリフォルニア[98,99)]。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## （8）参考文献

1）Bar-On et al.” The biomass distribution on Earth.” *Proc Natl Acad Sci U S A*115,25（2018）:6506-6511doi: 10.1073/pnas.1711842115.

2）Kallmeyer, J et al.” Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment.” *Proc Natl Acad Sci U S A* 109,40（2012）:16213-6. doi: 10.1073/pnas.1203849109.

3）Nelson, M. B.et al.” Global biogeography of microbial nitrogen-cycling traits in soil.” *Proc Natl Acad Sci U S A* 113,29（2016）:8033-40. doi: 10.1073/pnas.1601070113.

4）Baumler, A. J. & Sperandio, V. “Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut.” *Nature* 535,7610（2016）:85-93. doi: 10.1038/nature18849.

5）Sonnenburg, J. L. & Backhed, F. “Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism.” *Nature* 535,7610（2016）:56-64. doi: 10.1038/nature18846.

6）Finkel, O. M.et al. “Understanding and exploiting plant beneficial microbes.” *Curr Opin Plant Biol* 38（2017）:155-163. doi: 10.1016/j.pbi.2017.04.018.

7）Baltrus, D. A. “Adaptation, specialization, and coevolution within phytobiomes.” *Curr Opin Plant Biol* 38（2017）:109-116. doi: 10.1016/j.pbi.2017.04.023.

8）Itoh, H.et al. “Detoxifying symbiosis: microbe-mediated detoxification of phytotoxins and pesticides in insects.” *Nat Prod Rep* 35,5（2018）:434-454. doi: 10.1039/c7np00051k.

9）Van Arnam, E. B., Currie, C. R. & Clardy, J. “Defense contracts: molecular protection in insect-microbe symbioses.” *Chem Soc Rev* 47,5（2018）:1638-1651. doi: 10.1039/c7cs00340d.

10）Ankrah, N. Y. D. & Douglas, A. E. “Nutrient factories: metabolic function of beneficial microorganisms associated with insects.” *Environ Microbiol*.（2018）doi: 10.1111/1462-2920.14097.

11）Chen, Y., et al. “A review: Driving factors and regulation strategies of microbial community structure and dynamics in wastewater treatment systems.” *Chemosphere*174（2017）:173-182.doi:10.1016/j.chemosphere.2017.01.129

12）Ferrera, I. & Sanchez, O. “Insights into microbial diversity in wastewater treatment systems: How far have we come?” *Biotechnol Adv* 34,5（2016）:790-802. doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.04.003.

13）Narihiro, T. & Sekiguchi, Y. “Microbial communities in anaerobic digestion processes for waste and wastewater treatment: a microbiological update.” *Current Opinion in Biotechnology* 18,3（2007）:273-278.

14）Woese, C. R., Kandler, O. & Wheelis, M. L. “Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya.” *Proc Natl Acad Sci U S A* 87 ,12（1990）:4576-9.

15）Amann, R. I., Ludwig, W. & Schleifer, K. H. “Phylogenetic identification and in-situ detection of individual microbial-cells without cultivation.” *Microbiological Reviews* 59,1（1995.）:143-169.

16）Rinke, C., et al. “Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter.” *Nature* 499 ,7459（2013）:431-437. doi: Doi 10.1038/Nature12352.

17）Hawley, A. K., et al. “Diverse Marinimicrobia bacteria may mediate coupled biogeochemical cycles along eco-thermodynamic gradients.” *Nat Commun* 8,1（2017）:1507. doi: 10.1038/s41467-017-01376-9.

18）Nobu, M. K., et al. “Phylogeny and physiology of candidate phylum ‘Atribacteria’（OP9/JS1）inferred from cultivation-independent genomics.” *ISME J* 10,2（2016）:273-86. doi: 10.1038/ismej.2015.97.

19）Nobu, M. K., et al. “Microbial dark matter ecogenomics reveals complex synergistic networks in a methanogenic bioreactor.” *ISME J* 9,8（2015）:1710-1722. doi: 10.1038/ismej.2014.256.

20）Pachiadaki, M. G., et al. “Major role of nitrite-oxidizing bacteria in dark ocean carbon fixation.” *Science* 358,6366（2017）:1046-1051. doi: 10.1126/science.aan8260.

21）Sunagawa, S., et al. “Ocean plankton. Structure and function of the global ocean microbiome.” *Science* 348 ,6237（2015）:1261359. doi: 10.1126/science.1261359.

22）Hug, L. A., et al. “A new view of the tree of life.” *Nat Microbiol* 1:16048.（2016）doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.48.

23）Parks, D. H., et al. “Recovery of nearly 8,000 metagenome-assembled genomes substantially expands the tree of life.” *Nat Microbiol* 2,11（2017）:1533-1542. doi: 10.1038/s41564-017-0012-7.

24）Yoshida, S., et al. “A bacterium that degrades and assimilates poly（ethylene terephthalate）.” *Science* 351 ,6278（2016）:1196-9. doi: 10.1126/science.aad6359.

25）Daims, H., et al. “Complete nitrification by Nitrospira bacteria.” *Nature* 528,7583（2015）:504-509. doi: 10.1038/nature16461.

26）Mayumi, D., et al. “Methane production from coal by a single methanogen.” *Science* 354,6309（2016）:222-225. doi: 10.1126/science.aaf8821.

27）Khalil, Ahmad S., and James J. Collins. “Synthetic Biology: Applications Come of Age.” *Nature Reviews Genetics* 11, no. 5（2010）: 367–79. https://doi.org/10.1038/nrg2775.

28）Agapakis, Christina M., and Pamela A. Silver. “Synthetic Biology: Exploring and Exploiting Genetic Modularity through the Design of Novel Biological Networks.” *Molecular BioSystems* 5, no. 7（2009）: 704–13. https://doi.org/10.1039/B901484E.

29）Endy, Drew. “Foundations for Engineering Biology.” *Nature* 438, no. 7067（2005）: 449–53. https://doi.org/10.1038/nature04342.

30）Pennisi, Elizabeth. “DARPA Offers $30 Million to Jump-Start Cellular Factories.” *Science* 333, no. 6039（2011）: 147–147. https://doi.org/10.1126/science.333.6039.147.

31）Chambers, Stephen, Richard Kitney, and Paul Freemont. “The Foundry: The DNA Synthesis and Construction Foundry at Imperial College.” *Biochemical Society Transactions* 44, no. 3（2016）: 687–88. https://doi.org/10.1042/BST20160007.

32）Medema,et al. “Computational Tools for the Synthetic Design of Biochemical Pathways.” *Nature Reviews. Microbiology* 10, no. 3（2012）: 191–202. https://doi.org/10.1038/nrmicro2717.

33）Schindler,et al. “Synthetic Genomics: A New Venture to Dissect Genome Fundamentals and Engineer New Functions.” *Curr Opin Chem Biol* 46（2018）: 56–62. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.04.002.

34）Campbell, Kate, Jianye Xia, and Jens Nielsen. “The Impact of Systems Biology on Bioprocessing.” *Trends in Biotechnology* 35, no. 12（2017）: 1156–68. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.08.011.

35）Check Hayden, Erika. “Synthetic Biologists Seek Standards for Nascent Field.” *Nature News* 520, no. 7546（2015）: 141. https://doi.org/10.1038/520141a.

36）Nealson, K. H. “Bioelectricity（electromicrobiology）and sustainability.” *Microb Biotechnol* 10, 5（2017）:1114-1119. doi: 10.1111/1751-7915.12834.

37）Lovley, D. R. “Electromicrobiology.” *Annu Rev Microbiol* 66（2012）:391-409. doi: 10.1146/annurev-micro-092611-150104.

38）Kato, S., Hashimoto, K. & Watanabe, K. “Methanogenesis facilitated by electric syntrophy via（semi）conductive iron-oxide minerals.” *Environmental Microbiology* 14,7（2012）:1646-1654. doi: doi 10.1111/J.1462-2920.2011.02611.X.

39）Kato, S. “Biotechnological aspects of microbial extracellular electron transfer.” *Microbes Environ* 30,2（2015）:133-9. doi: 10.1264/jsme2.ME15028.

40）Kato, S. & Igarashi, K.” Enhancement of methanogenesis by electric syntrophy with biogenic

iron-sulfide minerals.” *Microbiologyopen*:e00647（2018）. doi: 10.1002/mbo3.647.

41）Kouzuma, A., Ishii, S. & Watanabe, K. “Metagenomic insights into the ecology and physiology of microbes in bioelectrochemical systems.” *Bioresour Technol* 255:302-307.（2018）doi: 10.1016/j.biortech.2018.01.125.

42）Wei, W., et al. “A surface-display biohybrid approach to light-driven hydrogen production in air.” *Sci Adv* 4 ,2（2018）:eaap9253. doi: 10.1126/sciadv.aap9253.

43）Sakimoto, K. K., Wong, A. B. & Yang, P. “Self-photosensitization of nonphotosynthetic bacteria for solar-to-chemical production.” *Science* 351,6268（2016）:74-7. doi: 10.1126/science.aad3317.

44）Levy, A., et al. “Genomic features of bacterial adaptation to plants.” *Nat Genet* 50,1（2018）:138-150. doi: 10.1038/s41588-017-0012-9.

45）Seshadri, R., et al. “Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the Hungate1000 Collection.” *Nat Biotechnol* 36,4（2018）:359-367. doi: 10.1038/nbt.4110.

46）Camacho, D. M.et al.” Next-Generation Machine Learning for Biological Networks.” *Cell* 173,7（2018）:1581-1592. doi: 10.1016/j.cell.2018.05.015.

47）Vidulin, V. et al. “The evolutionary signal in metagenome phyletic profiles predicts many gene functions.” *Microbiome* 6,1（2018）:129. doi: 10.1186/s40168-018-0506-4.

48）Vervier, et al. “Large-scale machine learning for metagenomics sequence classification.” *Bioinformatics* 32,7（2016）:1023-32. doi: 10.1093/bioinformatics/btv683.

49）Zakrzewski, M., et al. “Calypso: a user-friendly web-server for mining and visualizing microbiome-environment interactions.” *Bioinformatics* 33,5（2017）:782-783. doi: 10.1093/bioinformatics/btw725.

50）Arango-Argoty, G., et al. “DeepARG: a deep learning approach for predicting antibiotic resistance genes from metagenomic data.” *Microbiome* 6,1（2018）:23. doi: 10.1186/s40168-018-0401-z.

51）Galanie, Stephanie et al.”Complete biosynthesis of opioids in yeast.” Science（New York, N.Y.）34,6252（2015）（irailak 5）：1095–100. doi:10.1126/science.aac9373.

52）Nakagawa, Akira et al. “Total biosynthesis of opiates by stepwise fermentation using engineered Escherichia coli.” *Nature communications* 7（2016）：10390. doi:10.1038/ncomms10390.

53）Paddon, C J et al. “High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin.” Nature 496（7446）（apirilak 4）（2013）：528–32. doi:10.1038/nature12051.

54）Li, Yanran et al. “Complete biosynthesis of noscapine and halogenated alkaloids in yeast.” Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 115（17）（2018）：E3922–E3931. doi:10.1073/pnas.1721469115.

55）Furubayashi, Maiko et al. ” A highly selective biosynthetic pathway to non-natural C50 carotenoids assembled from moderately selective enzymes.” Nature communications 6（2015）：7534. doi:10.1038/ncomms8534.

56）Gibson, D. G., et al. “Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalium* genome.” Science 319（5867）（2008）:1215-20.

57）Lartigue, C., et al. “Creating bacterial strains from genomes that have been cloned and engineered in yeast.” *Science* 325（5948）（2009）:1693-6.

58）Gibson, D. G., et al. “Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome.” *Science* 329（5987）（2010）:52-6. doi: 10.1126/science.1190719.

59）Hutchison, C. A., 3rd, et al. “Design and synthesis of a minimal bacterial genome.” *Science* 351（6280）（2016）:aad6253. doi: 10.1126/science.aad6253.

60）Annaluru, N., et al. “Total synthesis of a functional designer eukaryotic chromosome.” *Science* 344（6179）（2014）:55-8. doi: 10.1126/science.1249252.

61）Pretorius, I. S. & Boeke, J. D. “Yeast 2.0-connecting the dots in the construction of the world’s first functional synthetic eukaryotic genome.” FEMS Yeast Res 18（4）（2018）. doi: 10.1093/femsyr/foy032.

62）Itaya, M., Tsuge, K., Koizumi, M. & Fujita, K. “Combining two genomes in one cell: stable cloning of the Synechocystis PCC6803 genome in the Bacillus subtilis 168 genome.” Proc Natl Acad Sci U S A 102（44）（2005）:15971-6.

63）Rovner, Alexis J et al. “Recoded organisms engineered to depend on synthetic amino acids.” Nature 518（7537）（otsailak 4）（2015）：89–93. doi:10.1038/nature14095.

64）Mandell, Daniel J et al. “Biocontainment of genetically modified organisms by synthetic protein design.” Nature 518（7537）（2015）：55–60. doi:10.1038/nature14121.

65）Tack, Drew S et al. “Addicting diverse bacteria to a noncanonical amino acid.” Nature chemical biology 12（3）（martxoak 2）（2016）：138–40. doi:10.1038/nchembio.2002.

66）Xuan, W & in Schultz - PG. “A New Strategy for Creating Noncanonical Amino Acid Dependent Organisms”. *Angew Chem Int Ed Engl*.（2017）doi:10.1002/anie.201703553.

67）Bryson, David I et al. “Continuous directed evolution of aminoacyl-tRNA synthetases.” Nature chemical biology 13（12）（abenduak 5）（2017）：1253–1260. doi:10.1038/nchembio.2474.

68）Amiram, Miriam et al. “Evolution of translation machinery in recoded bacteria enables multi-site incorporation of nonstandard amino acids.” Nat biotech 33（12）（2015）：1272–1279. doi:10.1038/nbt.3372.

69）Cui, Zhenling et al. “Semisynthetic tRNA complement mediates in vitro protein synthesis.” Journal of the American Chemical Society 137（13）（2015）：4404–13. doi:10.1021/ja5131963.

70）Iwane, Yoshihiko et al. “Expanding the amino acid repertoire of ribosomal polypeptide synthesis via the artificial division of codon boxes.” Nat chem 8（4）（2016）：317–25. doi:10.1038/nchem.2446.

71）Martin, Rey W et al. “Cell-free protein synthesis from genomically recoded bacteria enables multisite incorporation of noncanonical amino acids.” Nat commun 9（1）（2018）：1203. doi:10.1038/s41467-018-03469-5.

72）Zhang, Yorke et al. “A semi-synthetic organism that stores and retrieves increased genetic information.” Nature 551（7682）（2017）：644–647. doi:10.1038/nature24659.

73）Galdzicki, et al. “The Synthetic Biology Open Language（SBOL）Provides a Community Standard for Communicating Designs in Synthetic Biology.” Nature Biotechnology 32, no. 6（2014）：545–50. https://doi.org/10.1038/nbt.2891.

74）Roberta Kwok.” Five hard truths for synthetic biology” Nature 463（2010）:288-290 doi:10.1038/463288a

75）Merryman, Chuck, and Daniel G. Gibson. “Methods and Applications for Assembling Large DNA Constructs.” Metabolic Engineering, Synthetic Biology: New Methodologies and Applications for Metabolic Engineering, 14, no. 3（2012）：196–204. https://doi.org/10.1016/j.ymben.2012.02.005.

76）Si, Tong & Zhao, Huimin. “A brief overview of synthetic biology research programs and roadmap studies in the United States.” Synthetic and systems biotechnology 1（4）（2016）：258–264. doi:10.1016/j.synbio.2016.08.003

77）http://igem.org/Main_Page（2018 年 12 月 28 日アクセス）

78）http://biomod.net/（2018 年 12 月 28 日アクセス）
79）http://engineeringbiologycenter.org/（2018 年 12 月 28 日アクセス）
80）Sleator, Roy D. “JCVI-syn3.0 - A synthetic genome stripped bare!” Bioengineered 7（2）（2016）：53–6. doi:10.1080/21655979.2016.1175847.
81）http://buildacell.io/（2018 年 12 月 28 日アクセス）
82）https://synbiobeta.com/（2018 年 12 月 28 日アクセス）
83）http://synbio.mit.edu/（2018 年 12 月 28 日アクセス）
84）Huang, Po-Ssu S; Boyken, Scott E & Baker, David. “The coming of age of de novo protein design.” Nature 537（7620）（2016）：320–7. doi:10.1038/nature19946.
85）https://synbiobeta.com/fifty-synthetic-biology-companies-raised-1-7b-2017/（2018 年 12 月 28 日アクセス）
86）Ling, L. L., et al. “A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance.” Nature 517（7535）（2015）:455-9. doi: 10.1038/nature14098.
87）European Committees “Final Opinion on Synthetic Biology III: Risks to the environment and biodiversity related to synthetic biology and research priorities in the field of synthetic biology” https://www.researchgate.net/publication/303941256_Final_Opinion_on_Synthetic_Biology_III_Risks_to_the_environment_and_biodiversity_related_to_synthetic_biology_and_research_priorities_in_the_field_of_synthetic_biology（2018 年 12 月 28 日アクセス）
88）“State of discussion regarding synthetic biology in Germany” http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/ev_20151210_co09_en.pdf（2018 年 12 月 28 日アクセス）
89）Clarke, LJ & Kitney RI. “Synthetic biology in the UK–An outline of plans and progress”. Synthetic and systems biotechnology. 1(4): 243-257（2016）doi: 10.1016/j.synbio.2016.09.003.
90）https://www.synthetischebiologie.org/about/（2018 年 12 月 28 日アクセス）
91）http://www.basyc.nl/about-basyc/（2018 年 12 月 28 日アクセス）
92）Courtens, E. N., et al. “A robust nitrifying community in a bioreactor at 50 degrees C opens up the path for thermophilic nitrogen removal.” ISME J 10（9）（2016）:2293-303. doi: 10.1038/ismej.2016.8.
93）https://cordis.europa.eu/search/result_en?q=%27synthetic%27%20AND%20%27biology%27%20AND%20programme/code%3D%27H2020%27&p=2&num=10&srt=Relevance:decreasing（2018 年 12 月 28 日アクセス）
94）Shapira, Philip; Kwon, Seokbeom & Youtie, Jan. “Tracking the emergence of synthetic biology.” Scientometrics 112（3）（2017）：1439–1469. doi:10.1007/s11192-017-2452-5.
95）Shao, Yangyang et al. “Creating a functional single-chromosome yeast.” Nature 560（7718）（2018）：331–335. doi:10.1038/s41586-018-0382-x.
96）Wook Jin Kim, Sun-Mi Lee, Youngsoon Um, Sang Jun Sim and Han Min Woo. “Development of SyneBrick Vectors As a Synthetic Biology Platform for Gene Expression in Synechococcus elongatus PCC 7942.” Frontiers in Plant Science.（2017）doi.org/10.3389/fpls.2017.00293
97）http://m.koreabiomed.com/news/articleView.html?idxno=2305（2018 年 12 月 28 日アクセス）
98）https://www.nature.com/articles/d41586-018-04123-2（2018 年 12 月 28 日アクセス）
99）https://www.enginebio.com/（2018 年 12 月 28 日アクセス）

## 2.4.2 植物・農業

### (1) 研究開発領域の定義

植物は地球上に豊富な光エネルギーを用いて、大気中の二酸化炭素を有機物として固定し、その生命活動に必要なすべての物質を自ら作りだすことができる、究極の物質生産系を有している。この生産物は食料として有用なだけでなく、バイオマスエネルギーや医薬品といった次世代の重要資源の供給源でもある。ここでは、将来予測される気候変動下でも持続的な食料生産を可能にする農業と、バイオエコノミーにおける植物の重要性を念頭に置き、昨今の植物、農業研究の成果について、【1 圃場の物質循環モデルの開発】、【2 作物の収量決定に関わる生態生理学的な過程の解析】、【3 植物の代謝・メタボローム】、【4 トランスクリプトームを軸としたモデル開発】の 4 つの視点から概説する。

### (2) キーワード

作物生育シミュレーションモデル、気候変動、生物地球化学的プロセスモデル、温室効果ガス抑制、温暖化適応・緩和技術、持続可能型農業、微気象（フラックス）計測、開放系環境操作実験、オミクス解析、環境ストレス、気候変動、ゲノミックセレクション、ゲノム編集、ゲノムワイド関連解析（GWAS）、光合成、個体群構造、転流、倒伏抵抗性、量的形質遺伝子座（QTL）、オミクス、質量分析計、多変量解析、気候変動、環境ストレス、食糧・資源の増産、エコメタボロミクス、フラクソミクス、光合成、二酸化炭素吸収、実環境、環境応答、トランスクリプトーム、気象、モデル化、遺伝学的設計、化学的介入

### (3) 研究開発領域の概要

[本分野の意義]

【1 圃場の物質循環モデルの開発】

農業では作物（植物）を密集させて栽培するため、圃場の植物は互いに隣の植物の陰になったり、養分や水分を奪い合ったり、蒸散による微気象の変化の影響を受けたりするため、鉢植え個体とはかなり異なる生育を示す。密集して生育する植物群を群落と呼ぶが、群落は土壌から水分や窒素、リン、その他のミネラル成分などを吸収し、光合成によって大気中の（二酸化）炭素を体内に固定し、人間がその固定された炭素化合物を、食糧や燃料源、繊維や飼料など、様々な形で利用する。農業では人間が利用しなかった農業残渣（例えば稲藁など）を土壌に戻すことが多いため、光合成によって固定された炭素化合物や、土壌から吸収した窒素、リンなどは、ある程度土壌中に戻ることになる。農業残渣などの有機物は土壌中の微生物層によって分解され、有機物として地中に残ったり、二酸化炭素やメタンとして大気中に放出されたりする。また、土壌中の微生物の中には、植物に窒素やリンを供給するものがあることが知られている。このとき、植物は微生物に見返りとして炭素化合物を与える。このように、人間は作物（植物）を栽培することで、光合成産物である炭素を収穫しているように見えるが、実は圃場では、窒素、リン、炭素化合物、水分などの様々な物質が、土壌、作物、大気中といった圃場環境を循環しているのである。植物の生育を含む、こうした物質循環は、温度や湿度といった気象条件に大きく左右されるが、植物群落そのものが圃場の気象にも影響を与えることが知られている。例えば、植物の蒸散活動によって葉面温度が大きく変わり、また蒸散活動は土壌からの吸水速度

にも影響を与える。このように植物自身の活動が圃場の微気象に影響を与え、収穫量だけでなく、圃場の物質循環全体に影響を及ぼす。この圃場の物質循環を理解することは、より効率よく高収量を得るためだけでなく、農業の環境負荷を低減し、持続可能な農業へと転換するためのカギとなる。

これまで、土壌の物質循環や作物の生育過程を数学的に表すモデルは数多く開発されてきたが、それらは十分に統合されておらず、また、気候変動下の農業生産に役立てるには、土壌―作物過程の環境応答を精緻に測定した良質なデータが不足している。したがって、圃場の物質循環に関わるあらゆる分野の科学、すなわち、農学（作物学、遺伝学、農業気象学、土壌肥料学）、生態学、生物地球化学分野の連携により、精緻な環境操作実験によって、気候変動が作物の生産、および土壌―作物系における物質循環に及ぼす影響についてメカニズムを解明し、それらを定量的に表す包括的モデルを開発することが必要である。

【2 作物の収量決定に関わる生態生理学的な過程の解析】

農作物の収量は、圃場での作物（植物）の様々な生理学的な反応に左右される。作物の生態生理学分野では、作物の代謝や養水分吸収、環境ストレスに対する応答などを個体群のレベルから遺伝子のレベルまで幅広く解析し、得られた知見を、多様な圃場環境下における作物の収量増加・品質向上に繋げることを目標としている。近年、気候変動、化学肥料の過剰使用による土壌・水質汚染など、作物生産には多くの課題がある。気候変動に適応し、より環境負荷の低い作物品種の育成や栽培技術の確立が、作物の生態生理学に課された使命である。

1950 ～ 70 年代には、作物の環境や栄養条件への個体レベルの応答が盛んに解析され、その結果は、施肥法の改良などを通じて大幅な収量増加に貢献した。その後、分子生物学の発展に伴い、タンパク・遺伝子レベルでの解析が進み、作物の環境応答や遺伝的差異に関する分子機構の解明が進んだ。一方、これら分子生物学研究は人為的にコントロールされた実験室環境で行われることが多く、得られた研究成果が実際の圃場環境下での増収に結びついていない、との指摘がある。近年、スループットの高い表現型評価法や次世代シーケンス解析・オミクス解析などの技術が発展し、圃場環境下においても多量の精緻なデータを得ることが可能になってきた。作物の生態生理学はこれら新技術の活用によって圃場環境下での作物現象を解明し、収量性と持続可能性の高い新規作物品種の育成や栽培技術の開発に貢献する。

【3 植物の代謝・メタボローム】

植物の代謝・メタボローム研究は、ゲノム研究の発展に伴う網羅的研究の発展に伴い、トランスクリプトーム、プロテオーム等とともに注目を集めるオミクスの一領域である。植物代謝・メタボローム研究は、食糧・資源としての主要要素を構成する一次代謝研究と、植物特異的な有用物質を含む二次代謝物研究に大別できる。一次代謝研究では、気候変動や環境ストレスに耐性を示す品種の改良、食糧・資源の維持と増産が主要な研究開発目標となる。二次代謝物研究では、香料、染料や医薬成分など植物特異的代謝物を有効利用し、増産するための代謝工学的研究が含まれる。

メタボローム研究では、様々な質量分析計を駆使して、生物の代謝系を体系的に定量・解析し、物質の変換過程を定量的に可視化できる。例えば、多変量解析によって、遺伝子レベルの変異が代謝系に及ぼす影響を網羅的に可視化できる。逆に、ターゲットとする代謝物と一緒に

増減する代謝物を同定することにより、その有用代謝物を増産するためのターゲット遺伝子を絞り込むこともできる。本領域の歴史は比較的新しく、近年発展したオミクス解析の一つとして、研究手法の成熟とともに、得られたデータのデータベース化とその利用、応用に向けた技術整備が必要な分野でもある。

ゲノム解析により、遺伝子数がある程度確定され、核酸という一種類の物質を検出対象とするトランスクリプトーム解析などと比べ、代謝物はそれぞれの性質が千差万別であるため、現在では 100 万種以上と見積もられている植物の代謝産物すべて網羅し定量・解析することは、現在の技術では不可能である。物質を正しく検出・定量するためには、個々の物質に適したシステムを選択する必要があり、それがメタボローム研究を困難にする原因となっている。メタボロミクスでは、「ターゲット解析」として特定の解析対象物の定量を行う場合と、「ノンターゲット解析」として、料間の差異を特徴付ける代謝物を探索する方法がある。

ゲノムや遺伝子の変化（ゲノミクス）、それが引き起こす遺伝子発現変化（トランスクリプトーム）、タンパク質の変化（プロテオミクス）を経て、最終的な生物の状態を直接反映する指標がメタボロミクスである。提示された多大な生データの中から、物質と物質、物質と遺伝子、物質と現象を結びつけるための解析手法が鍵となるが、メタボロミクスを用いることで、作物の成長や収量、ストレス耐性といった表現型と直結するバイオマーカーを探索することができる。気候変動や環境ストレスに耐性を示す品種の改良、食糧・資源の維持と増産のために、メタボロミクスは今後さらに重要性を増すと考えられる。本稿では、「メタボロミクスに使用される分析システム」、「植物メタボロミクスとその医薬分野での展開」について、以下に解説する。

●メタボロミクスに使用される分析システム

代謝産物は分子種により様々な性質を持つため、ターゲット物質に適した手法で分画した後、質量分析を行うことが多い。2018 年現在、単一のシステムですべての代謝物を一斉測定することはできない。メタボロミクスに使用される分析システムとその特徴は以下の通りである。

・ガスクロマトグラフィー質量分析（GC-MS）：アミノ酸、有機酸、アミン、アミノ酸代謝中間体、キノン、脂肪酸などを検出。揮発性の低分子の検出に優れる。質量分析前に、サンプルを誘導体化する必要がある。

・液体クロマトグラフィ質量分析（LC-MS）：タンパク質、脂質、炭化水素、ステロイド、糖、脂肪酸、ペプチド、リン脂質などを検出。高感度、高分解能、容易な前処理で測定でき、中性物質の分離に適している。

・キャピラリー電気泳動質量分析（CE-MS）：アミノ酸、有機酸、アミン、糖リン酸、ヌクレオチド等、水溶性分子の検出に優れる。1 次代謝系（光合成、TCA 回路、解糖系、ペントースリン酸経路、アミノ酸代謝）の一斉定量に適している。

生体機能維持に必須な代謝中間体の多くはイオン性の水溶性物質であるため、光合成、解糖系、呼吸といった主要一次代謝の変化を検出するためには、CE-MS を用いたメタボロミクスが有効である [24]。分離分画システムと連結する質量分析計としては、飛行時間型質量分析計（TOFMS）が広く使用される。

●植物メタボロミクスとその医薬分野での展開

植物メタボロミクスのうち、光合成、呼吸、光呼吸などを解析する一次代謝研究は、気候変

動や環境ストレスに耐性を示す品種の改良、食糧・資源の維持と増産を主要な研究開発目標としている。近年、気候変動に適応する為の新たな育種に向けた動向として、「エコメタボロミクス」、「フラクソミクス」といった新たなオミクス分野も現れた（後述）。これらの分野では、環境データ、植物の生育や遺伝子発現、といったデータと、代謝変化を網羅的に計測・評価する技術の発展が著しい。また、前項にも記載があるように、FACE 実験施設を用いた野外生育植物個体のメタボロミクスや、ドローン等を用いたモニタリング、画像解析技術の開発が進められている。また二次代謝研究では、前述の薬用成分に加え、藻類を用いたバイオマスエネルギー生産などの代謝物合成と利用を目的とした物質生産科学分野が進行中である。植物メタボロミクスの医薬分野での応用展開としては、植物特異的な薬用成分の生産を目的とした代謝科学分野での研究が進行しており、薬用成分の高生産細胞の開発など、機能性代謝物をターゲットとした研究（ファイトケミカルゲノミクス研究）が行われている。

【4 トランスクリプトームを軸としたモデル開発】

これまで述べてきたように、実環境（野外）を対象とする分野と実験室を対象とする分野のそれぞれで、大きな知見の蓄積がなされてきた。しかし、現状ではそれぞれの分野を統合する試みは手つかずの状態で、各分野で得られた成果を統合して、現実の課題に取り組むことは困難な状況にある。そこで、これら各分野の知見を統合し、相互に利用可能とする基盤的方法論を確立することは、今後、食糧問題や気候変動まで様々な地球規模の現実的課題を解決するために極めて重要と考えられる。

先に述べた作物モデルや、いもち病発生予測モデルなどの、野外ベースの現象論的モデルと、実験室における分子レベルの環境応答メカニズムに関する研究とを統合し、各分野における知見を相互に活用するための有力な方法が、野外における大規模トランスクリプトームデータの取得と気象データとの統合解析である。トランスクリプトームは野外のサンプルからも比較的測定しやすく、高い網羅性と定量性を持つ。そのためトランスクリプトームは、野外における環境応答を観測・理解する際の測定対象として適している [32]。

［研究開発の動向］

【1 圃場の物質循環モデルの開発】

作物収量の予測に用いられる手法は大別すると二つある。一つは、回帰分析などを駆使した統計モデルで、実際の収量（実収量）を標準的条件で得られる平均収量とその変動要因との和で表すという考え方である。統計モデルは、過去の収量変動と気象条件との関係の解析に有用で、頻繁に利用されてきた [1]。しかし、統計モデルでは、過去のデータ範囲を超えるような中長期的な予測には、十分な根拠を持たない。もう一つは、収量を生育に伴う作物体の重量増加、収穫器官への分配といった生育プロセスの結果として表す、プロセスモデルと呼ばれるものである。これは、実収量を、潜在収量（養水分の過不足、病害虫、倒伏などの生育阻害がない条件で、気候のみからみた達成可能収量）が、種々の生育阻害によって制限された結果とみるもので、気候変動による影響を考慮した将来のシミュレーション収量予測では頻繁に利用される。一般に、プロセスモデルは統計的モデルに比べて複雑で、多くのパラメータを要するが、収量成立の道筋を捉えやすいといった利点がある。

こうしたモデルは 1960 年代から開発され始め、現在は様々な作物に適用されている。1980

年代からは作物生産に影響する土壌の養水分の動態を含むシミュレーションモデルも開発されるようになった。さらに、1990 年代には、土壌からの温室効果ガスを含む微量ガスの放出を予測する生物地球化学モデルも開発されるようになった。これは、気候変動に関する政府間パネルの第一次報告書（IPCC 1990）が温暖化への警鐘を鳴らし始めた時期に相当する。その後、生物地球化学モデルは、圃場レベルの予測から地域の温室効果ガスの放出の推定にも用いられるようになった[2)]。こうしたシミュレーションモデルの開発は、主に欧米（米国、オランダ、英国など）が先行的に実施してきたが、イネや水田土壌のモデル化においては、日本の研究が大きく貢献してきた。たとえば、1987 年、京都大学の堀江は、気象からみた潜在的な収量の予測について、シンプルでかつ主要な要素を取り入れた動的モデルを開発[3)]し、このモデルは気候変動の影響評価に利用された[4)]。近年は、国際的なコメモデル水田土壌では、欧米で開発されたモデルを水田に適用するための改良を施したものが広く使われている[5),6)]。

これまでに開発されたモデルは、現在農業モデルの相互比較と改良のための国際プロジェクト[7)]（Agricultural Model Intercomparison and Improvement: AgMIP）の枠組みにおいて、不確実性要因の解析と予測精度の改良が進められている。例えば、世界で用いられている 13 のイネのプロセスモデルを比較検討したところ、13 モデルの平均予測収量は、低緯度では温度上昇に伴って減収する傾向にあるのに対し、寒冷地では、3℃上昇程度までは減収は認められず、それ以上で減収する傾向にあった。これは、気候変動に関する政府間パネルが第 5 次報告書[8)]で取りまとめた傾向と類似しているが、13 のモデルの予測値に極めて大きな幅があったことから、温度に対する収量応答の予測における不確実性は大きく、その要因解明が必要であることがわかった。

モデルの評価および改良のためには、人工的に環境条件を変更して作物や土壌プロセルの反応を調べる環境操作実験が不可欠である。モデル開発と環境操作実験は、まさに将来の気候変動影響を予測する上での車の両輪であるが、後者の不足が研究推進上最大のボトルネックになっている。

環境操作実験は、主に閉鎖環境で温度や $CO_2$ 濃度を制御するものであったが、1990 年以降は屋外の開放系の群落条件で将来の高 $CO_2$ 環境を実現する開放系大気 $CO_2$ 増加（Free-Air $CO_2$ Enrichment：FACE）実験などが世界各地で実施されるようになった。日本ではイネを対象とした FACE 実験が 1998 年に岩手県雫石町で開始し、2010 年からは茨城県つくばみらい市に場所を移し 2017 年まで実験が行われた[9)]。大気 $CO_2$ 濃度を高めた場合、一般に光合成は促進され、乾物生産ひいては収量も増加する。実際、岩手県雫石町で 7 年、茨城県つくばみらい市で 4 年実施した FACE 実験においても、両地点で共通して用いた品種「あきたこまち」の収量は、高 $CO_2$（外気よりも 200ppm 高い）によっておおむね増加したが、その程度は年次によって大幅に変動し、冷害年には増収が認められず、増収の程度は高温になるとともに低下した[10)]。さらに、つくばみらい FACE の実験からは、高 $CO_2$ 濃度処理は、高温で頻発する白未熟粒の発生をさらに助長することがわかった[11)]。以上の結果は、$CO_2$ 濃度と高温が複合的に作物の収量・品質に影響することを示す実例である。FACE 実験の結果を、国際的な作物モデル精度比較に用いて、モデル改良に役立てる試みも開始しているが、今後環境要因や栽培管理、品種などの相互作用を検証できる実験データが強く望まれる。

高 $CO_2$ 濃度が高温障害を助長するメカニズムとしては、高 $CO_2$ 濃度では葉の気孔が閉じる傾向にあり、その結果、葉からの蒸散が抑制されて（放出される気化熱が減るため）葉面温度

が上昇することが挙げられる。つまり、高 CO2 濃度になると、外気温より葉面温度が高くなるため、植物はさらなる高音障害を受けるのである。実際、低湿度、強風、多日射といった、植物の蒸散が極めて大きくなるような条件のオーストラリアでは、気温が 40℃を超える厳しい高温が頻発しても、稲の高温障害の発生は報告されていない。こうした気象条件の下では、蒸散冷却によって群落表面温度は気温よりも 7℃近く低い[12)]。一方、多湿で風が弱い中国長江中流域では、気温が 32 ～ 3℃であっても、高温に伴う稔実低下が観察され、このときの穂の温度は、気温よりも 3℃程度も高かった[13)]。これらの結果は、気候変化の影響を的確に評価し、それを回避するための技術を開発するには、群落の物理環境の精密計測が不可欠である。

【2 作物の収量決定に関わる生態生理学的な過程の解析】

●収量ポテンシャルの向上

環境ストレスが小さく、病害虫がほぼ無いような理想的な環境での作物の最大収量を収量ポテンシャルと呼ぶ。緑の革命によるイネやコムギの飛躍的な収量増加は、短稈化による耐倒伏性の向上や収穫指数の増加による収量ポテンシャルの増加と、施肥方法の改良が加わって達成された。しかし更なる短稈化や収穫指数改良の余地は小さく、化学肥料の多投入にも問題があるため、新たな考え方に基づく収量ポテンシャルの増加が必要である。Stephan Long らは、さらなる増収のためには、植物体全体の太陽光の受容効率の向上に加え、葉一枚あたりの光合成能力の向上が重要であると指摘している[15)]。特に葉の光合成能力は作物育種の過程で改良されておらず、今後の収量ポテンシャル増加の鍵であると考えられる。

太陽光の受容効率改良のための研究手法は、従来は成長解析や層別刈り取りといった手作業が主流であった。近年はプラントキャノピーアナライザー、3 次元個体群画像解析、ドローンを用いたスペクトル解析、衛星画像の利用など、網羅的かつ迅速な評価を可能にする新たな測定システムやアルゴリズムが提案されている[16)]。

葉の光合成能力の向上には、（ｉ）遺伝子組換えによる光合成システムの改変、（ii）高い光合成能力を持つ系統の選抜育種、（iii）C4 光合成システムの C3 作物への導入の 3 つの方法が試みられている。（ｉ）については、光化学系、炭酸固定系の電子輸送担体や関連酵素について、高次構造や酵素特性の解析、遺伝子発現の制御や他種生物からの遺伝子導入を通じて光合成能力の改良が試みられている。近年では光呼吸の抑制経路の導入、炭酸固定系酵素の含量増加、過剰光エネルギー除去システムの最適化、気孔開度の最適化などが生産性向上のために有望視されている[17)]。（ii）では、多様な測定指標を用いて種内や種間における光合成能力の変異が評価されている。具体的には葉の $CO_2$ ガス交換速度の直接測定に加え、ポロメーター、クロロフィル蛍光、熱画像解析、スペクトルメーターなどの間接手法を活用して非破壊かつ多検体の評価が行われ[18)]、光合成能力の高い種や系統が特定されている。（iii）トウモロコシやソルガム、サトウキビは C4 植物と呼ばれ、イネ、コムギなどの C3 植物とは異なる独自の光合成システムにより、高効率な光合成ができる。長年多くの研究者がイネへの C4 光合成機構の導入を目指して多角的な研究を展開しており、C3 から C4 への進化メカニズムについても解析が進んでいる[19)]。C4 イネの育成にはまだ多くの課題があるが、実現すれば現在のイネ収量ポテンシャルを 50% 以上引き上げると期待されている。

●環境ストレスや気候変動への対応

深刻な干ばつの頻発や、塩害土壌など、多くの地域で環境ストレスによる収量低下が問題と

なっている。この問題を解決するため、作物の生態生理学では、植物の環境ストレス応答について、生理学的、分子生物学的な解析を続けてきた。干ばつ耐性・回避性、耐塩性、窒素やリンなどの栄養欠乏耐性、重金属耐性、冠水耐性、耐冷性などに関わる遺伝子群が明らかになり、それらを導入した作物系統が育成され、普及が進められている。また環境ストレス応答に関与するシグナリング機構、エピジェネティックのレベルでの制御機構なども次々と解明されている。

現実の農業における最も困難な壁は、実際の圃場条件で発生する環境ストレスが地域ごとに大きく異なり、かつ複数のストレスが同時に発生することである。そのため単一の遺伝子導入のみで環境ストレスによる減収を解決することは難しく、遺伝子型（G）×環境（E）との相互作用について十分に理解する必要がある。また、近年では施肥、水管理などの作物管理（M）を加えたG × E × Mの最適化が多収実現のために重要であるとの考え方が広まりつつある[20]。

●他分野との融合

作物の生態生理学の知見を生かした新品種育成のための研究（Physiological breeding）が進められている[21]。具体的には、生理生態学的な形質をターゲットにした量的形質遺伝子座（QTL）解析により生産性向上に関わる重要な生理形質の遺伝子座を特定し、DNAマーカー選抜を通じて既存品種に導入する方法である。高精度なQTL解析を可能にする戻し交雑自殖系統や染色体断片置換系統などの実験集団も整備され、種子が配布されている。最近では次世代シーケンス技術に基づくQTL-seq解析やゲノムワイド関連解析などの新たな遺伝解析手法も取り入れられ、育種学との連携は強まっている。またゲノム情報に基づいて優れた作物を選抜するゲノミックセレクションによって、高収量・環境適応型品種の開発も進められる。表現型のハイスループット解析のため、工学や情報科学の研究者と共同で新たな計測技術の開発が盛んに行われ、作物の草型、根系などの形態的形質のみならず、光合成、ストレス応答など複雑な生理形質に対しても遺伝解析が行われるようになっている。病害虫抵抗性については、イネのいもち病、縞葉枯病、ダイズの茎疫病やシストセンチュウなど多数の抵抗性関連DNAマーカーが作物ごとに作成され、品種育成に利用されている。またゲノム編集技術を用いて作物収量を向上するための研究も行われている。

圃場における作物の環境応答を理解するための手法としてオミクス解析（メタボローム、トランスクリプトーム、プロテオーム）の利用が進められているが、これについては次項で詳説する。こうした試みを通じて、圃場での表現型と実験室環境で得られた分子メカニズムやオミクス情報とが融合し、圃場における理想的な作物デザインも可能になると期待される。

【4 トランスクリプトームを軸としたモデル開発】

実験室環境はシンプルな環境条件であるが、野外環境では温度や光が刻々と変化し、病害虫などの侵入もある、極めて複雑な環境である。この複雑な環境条件のせいで、実験室で見られる植物システムの応答は必ずしも野外環境では再現されない[33]。現実に解決が望まれる問題は、野外環境で起きているため、野外における植物システムの振る舞いを包括的に観測、理解し、それを利用した予測、設計、制御を実現するための技術開発が望まれている。野外における植物を主たる研究対象としている作物学、生物気象学、生態学などの分野では、実用上の要請から、現象論的モデルがこれまでも数多く作られている。【1】でも紹介したように、農業分野においては、収量や生育、病虫害などの予測に対応した様々なモデルが開発されてきた。国内では、モデルによるイネの生育・収量予測、いもち病発生予測などの結果が実際に活用されてい

る。国外では、オーストラリアの CSIRO を中心に開発が進められてきた、統合シミュレーション環境である Agricultural Production Systems sIMulator（APSIM）などがあり、基礎研究から実用レベルまで広く用いられている[34]。これらの現象論的モデルは、対象の予測に主眼があるため、分子的なメカニズムに必ずしも依拠せず、分子生物学などで明らかにされてきた知見をこうしたモデルに統合するのは容易ではない。

こうした野外ベースの現象論的モデルと、実験室における分子レベルの環境応答メカニズムに関する研究とを統合し、各分野における知見を相互に活用するための有力な方法が、野外における大規模トランスクリプトームデータの取得と気象データとの統合解析である。トランスクリプトームは野外のサンプルからも比較的測定しやすく、高い網羅性と定量性を持つ。そのためトランスクリプトームは、野外における環境応答を観測・理解する際の測定対象として適している[32]。

野外におけるトランスクリプトームの測定と気象データとの関係の解析は、2000 年代末ごろから各国で散発的に行われ始め、ポプラやトウモロコシ、イネ、シロイヌナズナなどで小規模なプロジェクトの結果が報告された。その後、日本の農水省・新農業展開ゲノムプロジェクトにおいて、農業生物資源研究所のグループを中心として、当時としては世界最大規模となる生育期間全体を通じた数百サンプル分の野外トランスクリプトームデータの取得が行われた。そのデータと気象データをもとに、環境応答・体内時計・日齢を取り入れた統計モデリングを行うことで、トランスクリプトーム変動の多くの部分を予測可能なモデルが得られた[35]。この研究は、野外環境のような複雑な環境においても、現実的な学習データ量からトランスクリプトーム変動の予測を行うモデルが作成可能であることを示した点で画期的であった。前述のイネの研究を発展させる形で、後続の農水省・次世代ゲノム基盤プロジェクトでは、トランスクリプトーム予測の精度・汎用性向上を目指し、また、トランスクリプトームから植物の形質を推定、予測する方法の検討も行われた。イネの野外トランスクリプトームに量的遺伝学を組み合わせた解析手法の開発や、野生植物（ハクサンハタザオ）の自然個体群を用いて、2 年間にわたる長期の野外トランスクリプトーム動態の調査も行われた。これらに加え、コムギ、オオムギの野外トランスクリプトーム研究を含むプロジェクトも進行中である。国外ではこれらに相当する規模の野外トランスクリプトーム研究のプロジェクトは現在見られない。実験室データをベースとした研究では、英国・エジンバラ大学で、環境からの入力と概日時計遺伝子など鍵になる遺伝子情報を盛り込んだシロイヌナズナの生育モデルが作成され、継続的に開発が進められている。

これまでにも実験室環境でのトランスクリプトームデータは多数取得されてきたが、それらのデータは、特定の仮説検証のための実験デザインにより取得された、大きな偏りのあるデータの集合であり、野外環境との統合的な理解を得るための、汎用的かつロバストな予測を可能とするための学習データとしては適していない。実験室環境と野外環境の統合的な理解のために必要と考えられるのが、より偏りの少ないデータの取得である。そのためには、実験室内で多数の環境におけるデータを取得する技術が重要となる。近年急速に拡大している personal fabrication、IoT 関連技術を用いて、安価で、プログラマブル、かつスケーラブルな並列環境制御装置の作成が可能となってきており、今後の活用が期待される。

（4）注目動向

【1 圃場の物質循環モデルの開発】

2018 年 10 月、IPCC は「1.5℃特別報告書」を発表した (IPCC 2018)。同報告書から重要なトピックスを拾ってリストにすると以下のようになる。

・現在までに放出された温室効果ガスの影響は、今後も長期的な温暖化に寄与する。
・温室効果ガスの放出を 0 に抑えることで今後の温暖化を鈍化させることはできるが大気中の $CO_2$ を吸収したり、$CO_2$ 以外の温室効果ガスの放出を抑制しない限り、温暖化の抑制は困難である。
・気温が産業革命以前に比べて 1.5℃以上上昇すると、主要穀類の減収リスクは高まり、適応は困難になる。
・土地面積当たりの作物の生産性を上げることは、食料供給と温暖化緩和の両立に貢献しうる。
・農業からのメタンや一酸化二窒素の放出の削減は、温暖化抑制に貢献する。。

以上からも明らかなように、農耕地における作物・土壌の適切な管理は、将来の食料確保と地球温暖化抑制において極めて重要である。気候変動および農耕地管理が、作物生産や耕地の物質循環に及ぼす影響について、包括的かつ定量的に評価する手法は、管理技術の効果を測り、削減目標への貢献度を明確にするためにも必要不可欠である。　IPCC は 2019 年には『気候変動と土地』に関する特別報告書を刊行予定で、ここでも農業における適応と緩和の両立が取り上げられる予定である。

前述したように、米国においては、農業分野で利用される予測モデルの不確実性を評価し、改良するためのプロジェクト AgMIP が 2010 年に立ち上げられた。AgMIP では国際的に統一したデータによって作物モデルの比較を行い、精度の検証や改良を行うとともに、モデルの改良を行い経済モデルなどと融合して包括的な温暖化影響予測を行うことを目的にしている。米国主導で開始したプロジェクトであるが、現在は日本を含む世界各国のモデル研究グループが参画している。

欧州では、Modelling European Agriculture with Climate Change for Food Security（MACSUR）が FACCE-JPI（Joint Programming Initiative for Agriculture, Climate Change, and Food Security）と呼ばれる共同研究の中で立ち上がり、18 か国 70 機関のグループが、モデルと各国のデータベースを活用したモデル評価が行われた。対象は、作物だけではなく、家畜や草地も含まれ、これらを横断して評価するような試みも行われた。MACSUR と AgMIP 間では MOU が締結され、データやモデルの有効活用が図られている。

【2 作物の収量決定に関わる生態生理学的な過程の解析】

・光合成において $CO_2$ 固定を行う中核酵素である RuBisCO の、$CO_2$ への親和性が低いため、C3 光合成システムでは、$CO_2$ 濃度が低いと RuBisCO が $CO_2$ だけでなく $O_2$ とも反応してしまう、光呼吸と呼ばれる現象が起こる。光呼吸によって 20 ～ 50%の収量ロスが起きていると考えられている。2019 年 1 月、イリノイ大学のグループは、この光呼吸の経路に合成生物学的な手法でバイパスを設置することで、バイオマスを 25%増加させることに成功した[23)]。この研究グループは、メリンダ＆ビル・ゲイツ財団が助成する、光合成効率増大に特化して研究を進めるグループ RIPE の一員である。

・圃場における光合成関連形質を網羅的に評価するための計測機器の開発が急ピッチで進んでいる。David Kramer のグループはクロロフィル蛍光パラメータなどを簡易に評価可能できる低価格光合成測定システム PhotosynQ を開発し、世界的に普及している。またオーストラリア CSIRO の John Evans のグループはハイパースペクトルカメラを用いて葉の光合成に関わる生化学的性質を予測するモデルを開発した。日本では葉のガス交換速度を 15 秒程度で測定可能である迅速光合成測定装置 MIC-100 が 2018 年より市販されている。NDVI や群落温度を測定するスペクトルカメラや熱画像カメラ、その解析プログラム等は広く普及しており、トラクタやドローンなどに搭載するなど様々な方法が試みられている。
・発展途上国での貧栄養、干ばつ、塩害などの環境に適応した新たな品種と栽培技術の開発には継続して研究費が投入されている。これを主導するのは 15 の国際研究機関を束ねる国際農業研究協議グループ（CGAIR）であり、我が国でも JST・AMED・JICA が主導する地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム（SATREPS）が重要な役割を担っている。最近 Africa Rice Center が研究成果に基づいて農家の肥培管理を支援するモバイル・アプリケーションを開発し、その普及が進められている。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

・ 国際イネ研究所（IRRI）が中心となり、C3 作物へ C4 光合成機構の導入を目的とした“C4 Rice project”が 1995 年から現在にかけて行われている。最近ではイネを C3 から C4 への進化の初期段階である Proto-Kranz 状態に改変することに成功した[23]が、ファンディングは近年縮小傾向にある。
・ 2014 年に開始された内閣府 SIP（第一期）「次世代農林水産業」ではゲノム編集技術を用いて多収が見込まれる遺伝子ノックアウトイネの圃場実験が実施されている。
・ JST CREST・さきがけ「$CO_2$ 資源化領域」、ならびにさきがけ「フィールド植物制御」において光合成、呼吸、変動光応答などが研究対象として取り上げられている。
・ 2016 年より文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究「新光合成　光エネルギー変換システムの再最適化」が開始された。ここでは光合成の光エネルギー利用効率と過剰光からの防御バランスを制御する仕組みを解明することを目指している。
・ 2018 年より農林水産省戦略的プロジェクト研究推進事業「民間事業者等の種苗開発を支える「スマート育種システム」の開発」が開始された。1. 育種ビッグデータの整備および情報解析技術を活用した高度育種システムの開発、2. 民間事業者、地方公設試等の種苗開発を支える育種基盤技術の開発、の 2 課題を柱とし、ゲノム・作物形質のビッグデータデータベースの構築および育種の加速化・効率化技術の開発を目的とする。
・ 豪州では作物光合成改良を目的とするプロジェクト“ARC center of Excellence for Translational Photosynthesis”が行われ、Australian Research Council から 22M 豪ドル /7 年の資金を受けている。（ⅰ）$CO_2$ 同化効率の向上、（ⅱ）光受容効率の向上、（ⅲ）自然変異の利用、（ⅳ）圃場生産性の検証をテーマに掲げ、遺伝子操作による植物改変や、ハイスループット計測技術の開発などを進めている。
・ 欧州では植物のフェノタイピングに関わる国際コンソーシアム“European Plant Phenotyping Network”が組織されている。全 22 の研究機関が参加し、圃場環境や植物形質のハイスループットフェノタイピング技術の開発やその活用方法について研究が行わ

れている。同様のフェノタイピングプロジェクトは加、米、中、豪でも実施されている。

【3 植物の代謝・メタボローム】

●エコメタボロミクス（ecometabolomics）

多様な環境要因が生物の代謝プロファイルに及ぼす影響を解明する分野であり、Eco ＋ Metabolomics の造語である。生化学・生理学の要素と、地理・気象といった生態学的要素を結ぶ、学際的な研究領域とも言える。予測される地球規模の気候変動に対処する為に十分な能力のある作物の開発を目指した研究が推進されている[25]。国内では、イネの高濃度 $CO_2$ への応答を解析する「つくばみらい FACE（2009 ～ 2018）」により、イネの高 $CO_2$ 環境下における、生態生理学的、分子生物学的な知見が蓄積されつつある。この FACE 実験の中で、イネの高 CO2 応答の分子メカニズムを解明するために、CE-MS を用いたメタボロミクス研究が行われた[26]。また、ラベンダーの芳香成分の地域特性と植物代謝に関するメタボロミクスを用いた研究が行われ、二次代謝物の変化は主として緯度に依存し、高度には依存しないことが解明された[27]。環境要因と植物代謝の関係を明らかにするエコメタボロミクスの好例と言える。

●フラクソミクス（fluxomics）

合理的な物質生産系の構築のためには、植物体内の代謝物の分配を理解し、最適化することが重要である。異なる品種間や環境条件における代謝の流れを比較解析する研究方法は、オミクス科学の一つとしてフラクソミクスと呼ばれている。初期の研究例では、細菌の細胞内代謝フラックスを解析するため、$^{13}$C 標識した基質を与えて代謝物をラベルし、GC-MS や NMR を用いて $^{13}$C ラベルされた代謝物の動きを解析し、シミュレーションにより、$^{13}$C の分配を説明しうる代謝フラックスを導出した[28]。この方法は植物にも応用され、シロイヌナズナやオウレンの培養細胞を $^{15}$N を用いてラベルし、代謝産物を CE-MS により検出し、アミノ酸等の含窒素代謝物に注目したフラックス解析が行われている[29]。計算により求められた物質代謝が、実際の代謝フラックスを完全に説明し、植物の成長制御と収量予測を実行するためには、未知の代謝系の存在や、細胞内のコンパートメンテーションの問題をどうクリアするかが課題となっている。

● NBT（New plant Breeding Techniques）

収量性や環境ストレス耐性に優れた植物の育種には、遺伝的変異や、遺伝子組換えに基づく植物個体の作出が不可欠である。近年、ゲノム編集に代表される新規育種技術（NBT）の進歩が著しい。メタボロミクスとゲノム編集技術を組み合せ、実用化を意識した有用新植物が誕生している。一例として、筑波大学ではゲノム編集により、トマトの代謝改変を行い、血圧をおさえる効果があると言われているアミノ酸の一種である、GABA を多く含むトマトを開発した。他にも、単為結果や日持ち性の向上、糖度の改善などを目指し、メタボロミクスによってターゲットとなる代謝系を捕捉し、NBT によって代謝改変を行い、新品種を作出する研究が進められている。リンゴやイチゴ等、これまで遺伝子組換えが困難であった実用作物でもゲノム編集が可能になってきており、実用化を見据えた遺伝子改変技術としてメタボロミクス研究との融合が進んでいる。

● NMR メタボロミクス

NMR メタボロミクスによりエンドウマメの変異系統における代謝物の比較を行い、変化し

ている代謝経路の同定から変異の原因となるゲノム領域の同定を行った。メタボローム研究を用いた遺伝子分析、および種子の品質に基づく成分育種につながる研究である[30]（英国）。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

植物細胞や微細藻類を用いた有用物質生産系の確立を目指した、出口を求める代謝研究分野への予算措置が続いている。基礎研究は比較的個人ベースで行われている。

- 理化学研究所ではフラッグシッププロジェクトとして「代謝ゲノムエンジニアリング」が設定されており、抗がん成分カンプトテシンの生産、キノリチジンアルカロイドの生合成ななどの物質生産を出口とした研究が進められている。
- CREST・さきがけ（JST）「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」（H23 ～ H28）では、藻類・水圏微生物の持つ高い脂質・糖類蓄積能力や多様な炭化水素の産生能力、高い増殖能力に着目し、バイオエネルギー創成を目指した研究課題が多く採択された。多くの課題で植物代謝・メタボロミクス分野の技術を用いた研究開発が行われた。
- CREST（JST）「環境変動に対する植物の頑健性の解明と応用に向けた基盤技術の創出」では、気候変動時代の食料安定確保を実現する環境適応型植物設計システムの構築を戦略目標として H27 より進行中である。植物メタボロミクスをテーマの主軸に添えた課題はないが、植物メタボロミクスの手法が使われている課題がいくつかある。
- ALCA 先端的低炭素化技術開発（JST）の実用技術化プロジェクトの中で、生物資源の制御によるバイオマス・有用成分の増産（E7）において、植物バイオマスの有効利用を目指した応用志向の研究が行われている。
- NEDO プロジェクト「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」（H28 より）において、ゲノム編集技術の開発と合わせて代謝系遺伝子発現制御技術、など実用性を重視したプロジェクトが進行している。
- 内閣府 SIP（第一期）「次世代農林水産業創造技術」の中で、「収量、糖分等の制御技術の開発」が目標として掲げられて開発研究が進められている。
- The Metabolomics Society。代謝・メタボロミクス研究の国際学術団体として、2004 年に医学分野を中心として設立され、現在では 40 以上の国から微生物、植物、動物の研究分野を含む 1000 人以上の研究者が参加している[31]。日本からは理化学研究所の斉藤和季博士が International committee として参画している。

【4 トランスクリプトームを軸としたモデル開発】

大規模トランスクリプトームデータから、そのデータ構造の統計的性質が研究されている。その結果、数万遺伝子からなるトランスクリプトームであっても、概ね 100 ～ 1000 次元程度に圧縮が可能な構造を持つことが明らかになってきている[36]。それをもとに、各種の次元削減手法の適用や、それによるノイズ除去、遺伝子間の制御関係の効率的な抽出が試みられている。また、逆に数百遺伝子程度の発現量の測定値からトランスクリプトーム全体の変動を精度よく推定できることもわかっている。NIH の CMap 計画では、狙った数百遺伝子の発現をより低コストで精度良く定量する手法の開発と、それを用いて 130 万サンプルをこえる超多サンプルの準トランスクリプトームデータの取得が行われた[36]。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

- CREST「植物頑健性（2015-2022）」領域で、イネ、コムギ、オオムギなどの大規模野外トランスクリプトームが行われている他、さきがけ「フィールド植物制御（2015-2020）」領域の一課題では、野外における大規模な虫害調査とトランスクリプトーム解析とGWASを組み合わせた研究がおこなわれている。また、さきがけ「情報協働栽培（2015-2020）」領域では、様々な野外データに対して多様な情報学的・統計学的なアプローチが試みられており、今後の発展が期待される。そのほか、JST CREST「ビッグデータ応用（2013-2018）」領域、さきがけ「ビッグデータ」領域などにおいても、圃場での大規模なセンサー・画像データ取得、レガシーデータの活用などを行う研究が進められている。
- 農水省委託事業としては、新農業展開ゲノムプロジェクト（2008-2012）、次世代ゲノム基盤プロジェクト（2013-2017）でイネの野外トランスクリプトーム研究が行われたが、現在では、直接対応するような後継プロジェクトは行われていない。
- 米国ではNew York UniversityのMichael D. Purugganan らのグループが、フィリピンのIRRI（International Rice Research Institute）と共同でイネの野外トランスクリプトーム研究を行っている[37]。サンプル数はそれほど多くないものの、熱ストレスや乾燥ストレスをかけたサンプルのデータと合わせた解析などに特徴がある。
- モンサント傘下のClimate Corporationは高分解能の気象観測とシミュレーションをもとに農家向けに栽培管理支援から保険商品の提供まで統一的に行っている。

### （5）科学技術的課題

【1 圃場の物質循環モデルの開発】

土壌、作物、そして群落の微気象モデルを融合して、環境と耕地管理との交互作用を定量的に評価する手法を開発し、圃場の物質循環をコントロールすることは、温暖化への適応、および環境負荷低減農業の実現のために不可欠である。しかし複合的な気象条件を取り扱い、土壌や作物の生態生理学的な特性を反映した包括的なモデルを構築して運用し、モデルの問題点を洗い出して、改良を進めていくには、十分なデータがない[14]。

気候変動の研究に取り入れるには、組織的あるいは協調的な仕組みが必要である。

ようやくFACEなどの環境操作実験を利用して、作物モデル精度比較と改良を行う試みが始まったが、これまでの環境操作実験では、$CO_2$濃度、温度、水といった単独の環境要因を扱うことが多かった。先にも述べたように現実の気候変動下では様々な環境要因が複合的に変化するので、それらを複合的に取り扱うことができる新規の環境操作実験プラットフォームを構築し、そこから精度の高いデータを取得して、モデル研究で問題となった新たな課題（仮説）に取り組む必要がある。

まずは、農耕地における作物生理や物質循環における環境と相互作用を研究する拠点を構築し、農学、生態学の研究者で連携しながらモデル化研究を進めることで、モデル開発に有益なデータを得ると同時に、物理的・数学的センスで複雑現象の解明に取り組む人材も育成することが重要である。

【2 作物の収量決定に関わる生態生理学的な過程の解析】

- 光合成速度は、光強度、気温、湿度などの外部環境要因と、植物の生育段階や栄養条件といっ

た植物体内の内部要因によって大きく変化する。作物の成長や生産を正確に予測するためには、これらの変化しやすい両方の要因を踏まえて、圃場における光合成の制御メカニズムを明らかにし、これまで作成されてきた定常環境下における光合成モデルに加え、環境や植物特性を加味した精度の高い予測モデルを開発する必要がある。

- C4 光合成機構の C3 作物への導入は将来の生産性向上のために必須であり、継続した取り組みが求められる。C4 光合成機構については形態的・生化学的な知見が多く蓄積されており、今後それらを最適に組み合わせるための技術開発が求められる。なかでも、C4 進化のマスターレギュレーターの発見が重要である。
- 多数の植物体をハイスループットに評価するためのフェノタイピング技術開発については海外が先行している。特に野外環境における高精度な測定法の開発は、ゲノムワイド関連解析やゲノミックセレクションの実施に欠かせない。
- 環境負荷を下げるために養水分投入は抑制されねばならず、水利用効率・肥料利用効率の向上の重要性が今後一層高まる。新たな遺伝要素の解明に加え、これまで特定された収量性や環境ストレス耐性に関わる遺伝子や育成系統を用い、遺伝子型（G）×環境（E）との相互作用の解析研究が加速される必要がある。あわせて、地球温暖化による圃場環境の変化の予測と、それに適応した作物の育成研究の強化が求められる。
- 転流や登熟など収量に直結するが解析が難しい生理学的性質について、その評価を容易にする手法の開発が求められる。また作物のシンク・ソース・転流のバランスの最適化が今後の課題となる。
- 高温多湿な日本の気候に適した栽培品種や栽培技術が十分に確立されていないため、日本のコムギ・ダイズの収量水準は、海外に比べて著しく低い。食糧自給率向上のためにも、日本の気候に適した品種と栽培技術の確立を早急に確立する必要がある。

【3 植物の代謝・メタボローム】

- オミクス統合の必要性：近年、メタボロミクス領域の中に、エコメタボロミクス、フラクソミクスといった新たな研究分野が定義されつつあり、学問領域とし進捗が著しい。現在のところ、植物メタボロミクス研究は、質量分析機器を所有する研究組織で、個々に行われる傾向があり、オミクス科学としての統合が不完全である。ゲノミクス、トランスクリプトミクス、フェノーム等とメタボロミクスを統合し、植物システム全体の理解を目指すシステム生物学との融合が必要である。さらにその成果をゲノム編集技術等を通して実用作物へ応用し、次世代型の環境適応・高バイオマス植物の分子育種へとつなげるスキームの構築が必要である。
- イメージングメタボロミクスによるコンパートメンテーションの克服：メタボロミクス研究の中で大きな課題として認識されているのが、組織や細胞といったコンパートメンテーションの問題である。既存の手法では、対象物から代謝物を抽出して分析するため、サンプル内の代謝物の局在性や、細胞内局在を論じることができない。特に、高等植物の生育や物質生産を理解するためには、光合成器官である葉緑体の代謝を議論する必要があるが、現時点では葉緑体内の代謝だけをインタクトに検出する技術がなく、細胞全体の総和としての代謝物変動を捉える事しかできない。近年、注目されているフラックス解析も、現時点では基本的に細胞内区画がシンプルな細菌類を対象としたものがほとんどである。医学

分野では、近年、疾病のバイオマーカーの分布や特別な脂質の分布を切片上で捉えることができるイメージングメタボロミクスが重要なツールとなっている。例えば、脳の断面像上でヌクレオチド、糖、アミノ酸、脂質、などの代謝物のイメージングが可能となっており、植物分野でも使用され始めているが、細胞小器官までを捉える解像度に至っていない。また、シングルセルメタボロミクスの技術開発も進められている。解像度、対象代謝物の拡大等が今後、必要である。

【4 トランスクリプトームを軸としたモデル開発】

あらゆる状況下におけるデータを取得することは不可能であるため、効率的に広い範囲の状況のデータを取得するための戦略的アプローチも重要と考えられる。ベイズ最適化などの統計的、情報科学的枠組みの積極的取り込みが必要である。

今後、予測に関しては作物モデルや生物気象学的モデル、温暖化をはじめとする気候変動影響予測に関するモデルなど、周辺の多様なモデルとの連携を進めることが望まれる。また、遺伝学的設計の実現のためには、量的遺伝学（QTL など）、ゲノミックセレクションとの融合や、さらにはゲノム編集による精密なゲノムデザイン技術の応用が必要である。さらに、制御を実現するためには化学的介入が重要になると考えられる。

植物システムの包括的理解と予測を実現するための課題の一つとして、環境、ゲノムからのトランスクリプトーム予測の精度、汎用性の向上がある。例えば、根や茎頂などこれまで対象とされていない組織からの大規模データの取得や、病虫害や各種ストレス時におけるデータなどの収集が必要と考えられる。あわせて、気象データおよび種々の解像度の物理環境推定のための微気象物理モデルの整備、圃場における作物形質の調査など、生物気象学、作物モデリングでこれまでに進められてきた研究を着実に積み重ねることが重要である。また、野外環境を模した現実的な設定における実験室での分子生理学的研究も拡大が期待される。人工的に野外環境を完全に再現することは現実的ではないため、どの環境要因をどれだけ再現すると、植物システムの応答のどの部分がどの程度再現できるのかを、トランスクリプトームなどから評価しながら研究を進めることが重要となる。そのうえで、実験室で研究を行う生物学者が広く条件を共有して研究を行う体制づくりが望まれる。これは、野外での研究のみではそれぞれの研究者の結果の再現性の検証が難しくなりがちなためであり、効率的に知識を積み上げるために共有可能な条件を設定することは重要である。

植物システムの設計と制御のために今後特に取り組むべき課題として、NIH が主導するヒト Connectivity Map (CMap) を参考にした、植物版 Plant CMap の整備がある。Plant CMap では、遺伝子のノックアウトや過剰発現、温度や光など物理環境、化合物処理など様々な摂動を植物システムに与えた場合の応答を（準）トランスクリプトームデータとして網羅的に測定する必要がある。NIH の CMap はヒトの培養細胞について、遺伝子のノックダウン、過剰発現、化合物処理のタイムコース実験を網羅的に行った 130 万サンプル分の準トランスクリプトームデータからなる。このデータから、効果既知の薬剤とのトランスクリプトームの類似性から、未知化合物の薬効や作用点を推定したり、化合物の副作用を予測する、など様々なことが可能となった。Plant CMap では培養細胞ではなく個体または組織レベルでのデータ収集が現実的と考えられる。Plant CMap は植物システムの設計と制御のために広範なインパクトをもたらす。例えば、個々の遺伝子の改変がトランスクリプトームにどのような影響を及ぼすかの情報

が網羅的にあれば、植物システムの設計において重要な基盤データとなる。また、システムを化学的介入などで制御するためには、システムの状態を測定し、その結果に応じた入力を行う。その際、入力によってシステムがどう応答するか、言い換えれば化学的介入によってトランスクリプトームがどう変化するかの定量的データが必要となる。Plant CMap として、多数の化合物処理時のトランスクリプトームデータを得ることは、制御のための基盤データとして重要である。また、そのデータによって化合物のデジタルスクリーニングや、ドラッグリポジショニングの効率化が可能になる。さらに、トランスクリプトームで評価しながら化合物のデザインを進めることで、特定のサブシステムのみを抑制・活性化する類縁体・誘導体を効率的に得ることも可能となる。このような化合物側からのアプローチに加えて、より積極的な植物システムへの入力手段として、合成生物学的手法による植物への入力方法の組み込みも今後、重要な技術となる可能性がある。

### （6）その他の課題

【1 圃場の物質循環モデルの開発】

大規模な環境操作実験や作物―土壌モデルの国際的な連携を行うにあたり、サンプルやデータのやりとりに時間および労力を要する。多国間、多機関との MOU を締結するか、コンソーシアムのような包括的な枠組みが必要で、これらをサポートする体制が必要である。また、外国との機関で予算の配分を行う場合の事務的な手続きも混乱が予想される。効率的な研究運営のためには、これらの要素についての研究サポートの充実が不可欠である。

【2 作物の収量決定に関わる生態生理学的な過程の解析】

- 収量ポテンシャルや環境ストレス耐性の高い作物育成のためには、作物、気象、遺伝、生理、分子、土壌、モデル、情報、育種などの分野横断的な連携が欠かせない。しかし現状ではこうした分野融合を支える仕組みが少なく、基礎研究で得られた知見を実際の圃場の作物に適用することが容易ではない。また遺伝子組換え作物の圃場試験サイトが少なく、かつ試験実施承認のハードルが高いことも要因の一つである。
- 人材育成については、植物の分子機構の解明から圃場への応用までの幅広い研究課題を包含する学際的な研究チームを率いることのできるリーダーが求められる。同時に実験室や圃場における Wet な研究とゲノム解析、モデル解析、画像解析、情報処理などの Dry 研究の両方に対応できる人材が求められている。
- 大学へ配分される運営費の削減によって研究農場の維持管理が困難になっている。特に農場技術員の人数削減や、肥料農薬など恒常的に必要となる資材費の不足、農業機械の修理や更新のための予算が不足し、農場維持のために販売作物の栽培に注力せざるを得ないなど、研究の継続が危ぶまれる状況にある。

【3 植物の代謝・メタボローム】

● 研究に必須な分析装置が極めて高額であることの弊害

前述したように、様々な代謝物を測定するには、多様な検出機器を取りそろえる必要があるが、あらゆる質量分析計とその全処理に使う分画システムが極めて高額であるため、一つの研究室ですべてのタイプの計測機器を取りそろえるのは、予算の都合上、不可能である。そのた

め、各研究室が研究対象とする代謝物は、それぞれが所有している機器のタイプに大きく左右されることになる。その結果、メタボロミクス全体を俯瞰した研究を展開できる研究者はほとんどいない。すべての代謝経路は最終的には互いに連結しているため、代謝系の効率的な改変には、全体の俯瞰が必須である。あらゆる代謝物の動きを捕捉し、メタボロミクス全体を俯瞰するような研究を展開するには、コンソーシアムを組織したり、研究機関がメタボロミクス研究グループを組織化するなどして、大型予算措置がなければ不可能である。現在、国内の大型プロジェクトは出口を求める傾向が強く、基礎研究は基本的に個々の研究者ベースで科研費等によって行われることとなり、高額な分析器を必要とするメタボロミクス分野の発展の妨げになっている。

【4 トランスクリプトームを軸としたモデル開発】

本領域の対象は植物科学やゲノミクスのみにとどまらず、作物学や農業気象学など圃場環境を対象とする諸分野や、情報科学、統計学、IoT など多岐にわたる。そのため、推進には複数の分野に通じた人材が必要となる。しかしながら、これらの分野の複数に通じた人材は現時点では極めて少なく、育成が急務である。

分野横断的な研究成果をもとめる声が強い一方で、そのような研究を行う研究者は安定的に研究を行えるポジションの獲得に苦労する傾向にある。これは、大学を中心とする多くのポジションで従来の分野の枠組みで公募が行われることや、分野横断的な研究成果を正当に評価するには評価する側にも広い分野への理解が必要となるため評価が難しいことなどが原因となっていると考えられる。

情報科学、統計学、IoT などの分野では世界的なニーズの急激な高まりから人材が不足していることは、改めて指摘するまでもない。一方で、農業気象学や生理生態学などの分野では、生物を対象としながら物理の知識や考え方が重要となるため学生に敬遠される傾向があり、その重要性にもかかわらず十分な人材が確保されているとはいいがたい。

Plant CMap の整備を行うにあたっては、大きな人的、経済的リソースが必要となるため、中長期的な視点で推進するべきである。合成生物学的手法による植物への入力方法の組み込みを行い、化学的介入の精度、汎用性を高めることは、植物システムの制御を目指すうえでは有望な方向性である。既存薬剤を用いることが可能となるため安全性評価のコストを低減できる一方で、植物体は遺伝子組み換え体となるため、社会的受容が問題となる。社会的な理解向上のための継続的な情報発信が重要である。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | → | 野外トランスクリプトーム研究は他国と比べて大きく先行している[35]。光化学系の分子機構の解析が盛んで研究レベルが高い[14]。<br>乾燥などの環境ストレスに対する植物応答の生理・分子機構の解析は世界トップレベルである[38]。イネに関しては、遺伝学的材料や作物モデル、水田微気象モデル研究などの蓄積もあり、一定の優位性が認められるものの、他国との差は縮小している。CREST、ALCA、NEDOを始めとする研究資金の投入により、有用化合物生産、新規バイオ素材の開発など、代謝工学研究を中心に進められている。出口を求める研究予算が多くなっており、純粋な基礎研究としての植物代謝・メタボロミクス研究は停滞気味。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | 植物成分とその生産に注目したファイトケミカルゲノミクスが推進されており、薬用資源植物への展開が著しい。産学共創プラットフォーム共同研究推進プログラムOPERA「ゲノム編集による革新的な有用細胞・生物作成技術の創出」では、企業が参画する形でゲノム編集技術の開発と、これを使ったバイオ生産技術の創出が進められている。圃場における効率的なフェノタイピング技術の開発は遅れている。コメの収量モデルの相互比較では世界をリードしている。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | 実験室、圃場を問わず、植物科学全般において、基礎研究のレベルが高い。近年ではシロイヌナズナを扱っていた研究者が実用植物に対象を広げたり、移したりする例が目立つ。<br>トウモロコシなどを対象として、圃場における大規模フェノタイピングとGWAS、ゲノミックセレクションが継続的に行われている。<br>地球温暖化による作物収量予測のためのモデリングや生理解析、大規模FACE実験が行われている[39]。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | Seed centralなど、大学・公的研究機関と産業界の協働を促す場づくりが成功している。また、大学・公的研究機関からベンチャーとしてスピンオフする流れも定着している。<br>モンサントがトランスクリプトームからの形質予測の報告を行っている[40]。近年では、大規模なデータ収集とシミュレーション、機械学習などを研究開発に積極的に活用し成果を上げている。また、大規模データ収集から、解析、製品・サービスの提供までを見据えて合理的な研究開発が行われている印象。<br>遺伝子組換え作物への規制が緩いことに加え、2018年5月にはゲノム編集により作られた作物に対しても特段の規制をかけないことを発表したことにより、一層、農業分野への進出が進むと考えられる。植物フェノタイピング技術の開発が企業を中心に行われている[41]。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | → | 英国、ドイツ、スイスなどでは、植物科学全般において、基礎研究のレベルが高いく、光合成に関わる代謝・生理解析やオミクス解析が盛んに行われている[42]。光合成モデルや生産予測モデルの開発が盛んである[43]。ベルギーでは複数の大学が共同で設立したFlanders Interuniversity Institute for Biotechnology（VIB）を中心としてメタボロミクス研究が推進されている。代謝物プロファイリングサービスをアカデミックのみならず、産業界にも提供している。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | Bioeconomy拡大への対応策として、関連する諸分野への研究開発投資が拡大される動きが見られる。コムギゲノムの解読が完了したことから、今後は遺伝子機能の同定、応用に関する研究が急激に拡大すると思われる。光合成関連遺伝子の形質転換による作物多収技術開発が行われている[44]。フェノタイピング技術開発を目的とした国際プロジェクト（European plant phenotyping network）が組織されている |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 中国 | 基礎研究 | △ | ↗ | 3000 を超えるイネ品種のゲノム解読とデータベース構築が進められている [45]。野菜や果樹のゲノム解読においても中心的な役割を果たしている。豊富な研究資金で、各地で高温や高 $CO_2$ などの環境操作実験が展開されている。現在のところ、それらの研究の連携は強くないように見受けられる。中国科学院南京土壌研究所は、イネ―コムギ FACE 実験で顕著な成果を挙げている。日中 FACE による連携も継続中。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ゲノムワイド関連解析やゲノミックセレクションを加速化する MAGIC などの実験材料の開発が進んでいる。遺伝子組換えやゲノム編集による多収作物開発研究が推進されている。超多収ハイブリッドライスの育成が進められている。2017 年 Metabolon 社（米国）と上海ダイアン社が契約を結び、医薬および農業分野の拡大を目指している。2018 年には上海に共同でメタボロミクス研究所を設立した。遺伝子組換え作物の規制状況などから、今後、応用分野での伸びが見込まれる。情報分野に多くの予算と人材が集まっている。中国科学院、南京農業大学などで圃場・地域・グローバルケースの作物モデル研究が展開されている。 |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | → | Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology の中に、Plant Systems Engineering Research Center が設置されており、地球規模の気候変動、食糧不足、エネルギー問題に対する解決を課題として研究が進められており、環境ストレス耐性植物や植物の効率的生産に関するオミックス研究が進められている。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | イネでは収量性より品質や病害抵抗性を高めるためのマーカー育種に注力 [27]。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1）David B Lobell et al., Climate trends and global crop production since 1980. *Science* 333（2011）：616.
2）Sarah L Gilhespy et al., First 20 years of DNDC（DeNitrification DeComposition）：Model evolution. *Ecol Model* 292（2014）：51.
3）Takeshi Horie, A model for evaluating climatic productivity and water balance of irrigated rice and its application to southeast Asia. *Southeast Asian Studies* 25（1987）：62.
4）Takeshi Horie, Predicting the effects of climatic variation and elevated $co_2$ on rice yield in Japan. *Journal of Agricultural Meteorology* 48（1993）：567.
5）Tamon Fumoto et al., Revising a process-based biogeochemistry model（DNDC）to simulate methane emission from rice paddy fields under various residue management and fertilizer regimes. Glob *Chang Biol* 14（2007）：382.
6）Tamon Fumoto et al., Application of a process-based biogeochemistry model, DNDC-Rice, to a rice field under free-air $co_2$ enrichment（FACE）. *Journal of Agricultural Meteorology* 69（2013）：173.
7）Cynthia Rosenzweig et al., The agricultural model intercomparison and improvement project（AgMIP）：Protocols and pilot studies.” *Agric For Meteorol* 170（2013）：166.
8）Andrew J Challinor et al., A meta-analysis of crop yield under climate change andadaptation. *Nature Climate Change* 4（2014）：287.

9）臼井靖浩他、FACE 実験による水田生態系の気候変動応答研究。*化学と生物* 51（2013）：628.
10）Toshihiro Hasegawa et al., Rice free-air carbon dioxide enrichment studies to improve assessment of climate change effects on rice agriculture. In Improving *Modelling Tools to Assess Climate Change Effects on Crop Response*,（American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America,（2016）45–68.
11）Yasuhiro Usui et al, 2016. Rice grain yield and quality responses to free-air CO2 enrichment combined with soil and water warming." *Glob Chang Biol* 22（2016）：1256.
12）Tsutomu Matsui et al., Lower-than-expected floret sterility of rice under extremely hot conditions in a flood-irrigated field in New South Wales, Australia." *Plant Prod Science* 17（2014）：245.
13）Xiaohai Tian et al., Heat-induced floret sterility of hybrid rice（Oryza Sativa L.）cultivars under humid and low wind conditions in the field of Jianghan Basin, China." *Plant Prod Sci* 13（2010）：243.
14）Reimund P Rötter et al., Linking modelling and experimentation to better capture crop impacts of agroclimatic extremes–A review." *Field Crops Res* 221（2018）：142.
15）Stephan P Long et al., Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant Cell Env* 29（2006）：315.
16）Lei Li et al., A Review of Imaging Techniques for Plant Phenotyping. *Sensors* 14（2014）：20078.
17）Wataru Yamori et al., Strategies for optimizing photosynthesis with biotechnology to improve crop yield. Handbook of Photosynthesis, *Third Edition, ed. Mohammad Pessarakli*（CRC Press, 2016）：741-759.
18）Matthew Reynolds et al., Physiological breeding I: *interdisciplinary approaches to improve crop adaptation*.（Texcoco: CIMMYT, 2012）.
19）Susanne von Caemmerer et al., The development of C4 rice: Current progress and future challenges. *Science* 336（2012）：1671.
20）Jerry L. Hatfield and Charles L. Walthall, Meeting global food needs: realizing the potential via genetics × environment × management interactions. *Agron J* 107（2015）：1215.
21）Matthew Reynolds and Peter Langridge, Physiological breeding. *Curr Opin Plant Biol* 31（2016）：162.
22）Paul F South et al., Synthetic glycolate metabolism pathways stimulate crop growth and productivity in the field. *Science* 363（2019）：eaat9077.
23）Wang, P. et al. Re-creation of a key step in the evolutionary switch from C3 to C4 leaf anatomy. *Curr Biol* 27（2017）：3278.
24）Kentaro Takahara et al., Metabolome and photochemical analysis of rice over-expressing Arabidopsis NAD kinase gene. *Plant Physiol* 152（2010）：1863.
25）Kristian Peters et al., Current challenges in plant eco-metabolomics. *Int J Mol Sci* 19（2018）：1385.
26）Ko Noguchi et al., Effects of elevated atmospheric $CO_2$ on respiratory rates in mature leaves of two rice cultivars grown at a free-air $CO_2$ enrichment site and analyses of the underlying mechanisms. *Plant Cell Physiol* 59（2018）：637.
27）Sonia Demasi et al., Latitude and altitude influence secondary metabolite production in peripheral alpine populations of the Mediterranean species *Lavandula angustifolia Mill. Front Plant Sci* 9（2018）：983.
28）Tomokazu Shirai et al., Precise metabolic flux analysis of coryneform bacteria by gas chromatography-mass spectrometry and verification by nuclear magnetic resonance. *J Biosci Bioeng* 102（2006）：413.

29）清水浩他、メタボロームデータを用いた代謝フラックス解析。*メタボロミクスの先端技術と応用*、東京、シーエムシー出版、（2013）。
30）Noel Ellis et al., NMR metabolomics defining genetic variation in pea seed metabolites. ***Front Plant Sci*** 9（2018）:1022.
31）Metabolomics Society Home Page, http://metabolomicssociety.org/
32）永野惇 , 工藤洋 . 野外の環境における生物の環境応答の理解にむけて：トランスクリプトームデータと気象データの統合 Integration of transcriptomics and meteorology. *領域融合レビュー* . 2014;3（e009）:1.
33）Hendrik Poorter et al., Pampered inside, pestered outside? Differences and similarities between plants growing in controlled conditions and in the field. ***New Phytol*** 212（2016）：838.
34）Dean P Holzworth et al., APSIM – Evolution towards a new generation of agricultural systems simulation. Environ ***Model Softw*** 62（2014）：327.
35）Atsushi J Nagano et al., Deciphering and prediction of transcriptome dynamics under fluctuating field conditions. ***Cell*** 151（2012）：1358.
36）Aravind Subramanian et al., A next generation connectivity map: L1000 platform and the first 1,000,000 profiles. ***Cell*** 171（2017）：1437.
37）Anne Plessis et al., Multiple abiotic stimuli are integrated in the regulation of rice gene expression under field conditions. ***Elife*** 4（2015）：e08411.
38）篠崎和子 他、【特集】環境ストレス耐性作物の開発に向けて。*月刊バイオインダストリー* 32（2015）.
39）Jindong Sun et al., FACE-ing the global change: Opportunities for improvement in photosynthetic radiation use efficiency and crop yield. ***Plant Sci*** 177（2009）：511.
40）Xiaofeng S Yang et al., Gene expression biomarkers provide sensitive indicators of in planta nitrogen status in maize. ***Plant Physiol*** 157（2011）：1841.
41）Sebastian Kuhlgert et al., MultispeQ Beta: a tool for large-scale plant phenotyping connected to the open PhotosynQ network. ***Royal Society Open Sci*** 3（2016）：160592.
42）Mark Stitt et al., Arabidopsis and primary photosynthetic metabolism - more than the icing on the cake. ***Plant J*** 61（2010）：1067.
43）Xinyou Yin and Paul C Struik, Can increased leaf photosynthesis be converted into higher crop mass production? A simulation study for rice using the crop model GECROS. ***J Exp Bot*** 68（2017）：2345.
44）Andrew J Simkinet al., Overexpression of the RieskeFeS protein increases electron transport rates and biomass yield. ***Plant Phys*** 175（2017）：134.
45）Yan Li et al., Rice Functional genomics research: Past decade and future. ***Mol Plant*** 11, 359-380（2018）.

## ２．４．３　水産

### (1) 研究開発領域の定義

天然水産資源の保全と維持、また、持続可能な食料生産の重要性から、漁獲から養殖へのシフトは世界的な大きな潮流である。従って、本項では、効率的で持続可能な養殖生産技術の確立において重要な研究開発領域として、品種改良、養魚飼料開発および寄生虫・魚病対策を中心にその現状と課題、将来展望を概説する。

### (2) キーワード

選抜育種、ゲノム育種、ゲノム編集、ニュートリゲノミクス、飼餌料代替材料、寄生虫ワクチン、魚病対策、多面不飽和脂肪酸、代理親魚、不妊魚

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

近年、水産物消費量は全世界的に急速に増加しており、水産物が世界の動物性タンパク質源の16%を担うに至っている。全世界での一人当たりの水産物消費量は過去半世紀で2倍になり、特に新興国での伸びが極めて大きい。このような一人当たりの消費増加と人口の増加が相まって、世界全体の水産物消費量は過去半世紀で5倍に上昇した。一方、我が国では、水産物は動物性タンパク質の40%を担っているうえ、嗜好品としても極めて重要な食材である。

世界の天然水産資源のうち、31%はすでに過剰に利用されており、58%は利用可能枠の上限まで漁獲されていることが明らかになっている。すなわち、両者の合計である89%に相当する水産資源はこれ以上利用できないばかりか、現状の漁獲強度を維持した場合、当該水産資源が崩壊することも危惧されている[1)]。このような状況下において、漁獲から養殖へのシフトは世界的な大きな潮流である。実際に、世界の養殖生産量は過去30年で急増しており、2015年には、ついに水産物の全生産量の53%にまで達した。一方、我が国の養殖生産量は年間約110万トンと世界の養殖生産量の1%程度に過ぎないうえ、国内の沿岸における養殖適地はすでに飽和しており、少なくとも大きな技術革新がない限り、沖合域での養殖の試みもあるものの、今後大幅に養殖面積が拡大することは期待できない。このような現状下で、日本が養殖生産量、生産額を増加させていくためには、従来の経験ベースの養殖業のノウハウに加え、サイエンスベースの新たな技術開発が不可欠である。また、既存の養殖業では、排泄物に由来するN,Pの放出量も多いうえ、養殖魚の逃亡による天然魚の遺伝的攪乱といった問題も危惧されており、持続的養殖を展開していくうえでも新たなテクノロジーの開発は重要である。

**[研究開発の動向]**

養殖生産技術に関係する研究には様々なものがあり、全ての分野の開発動向を述べることは困難であるため、特に重要であると考えられる3つのテーマ、すなわち、【1.　育種】、【2. 飼餌料・代替飼料】、【3.　寄生虫・魚病対策】にしぼって述べる。

【1.　育種】

●　古典的な選抜育種

品種改良は、養殖生産効率を高めるために特に重要である。養殖生産に用いる稚魚（以下、種苗）には、天然種苗と人工種苗があり、海水魚養殖においては、ブリ、カンパチ、クロマグロなどの養殖では主に天然種苗を用いている。天然種苗を用いた養殖では、ブリのように比較的種苗の漁獲が安定している魚種を除いては、クロマグロのように種苗供給が不安定であったり、天然資源の減少が問題となったりする。一方、マダイ、ギンザケ、シマアジ、トラフグ、ヒラメなどの完全養殖技術に基づく人工種苗を用いた養殖では、安定供給や天然資源に影響しないという利点の他に、品種改良が可能となるという大きなメリットがある。近畿大学では1960年代の前半からマダイの選抜育種（集団選抜）に取り組み、成長の速い養殖用品種を作出している[2)]。この品種では商品サイズの1 kgにまで成長するのに必要な養殖期間が天然種苗では約3年かかるのに対して、1年半と約半分の期間に短縮されている。海外ではノルウェー[3)]やカナダ[4)]が国家プロジェクトとして大西洋サケの品種改良に取り組み、大西洋サケでは家系選抜という方法で成長速度が約2倍、飼料効率を約2割向上させることに成功している。養殖大西洋サケの生産量は、ノルウェーのみでも100万トンに達している（この値はわが国の全養殖生産量に匹敵する）。これらの選抜育種には長い時間がかかっているが、その効果が高いのでいずれも産業化されて実用品種として利用されている。

●　ゲノム情報を利用する育種

選抜育種に要する期間を短縮するための方法として、近年急速に大きく発展した次世代シーケンサーを用いたゲノム解析情報に基づく育種が注目されるようになった[5)]。次世代シーケンサーを用いたゲノム解析情報の利用が可能になるまでは、マイクロサテライト配列と呼ばれるCACACAといった2-4塩基などの繰返し配列の反復回数の多形性に基づいて連鎖地図作成が行われてきた。ゲノムデータベースが公表されている魚種では比較的容易にマイクロサテライトマーカーを得ることができるが、それができない魚種ではマーカーセットの取得から行わなければならず、多型性は高いマーカーではあるものの時間とコストがかかるものであった。

一方、畜産分野で広く用いられてきたBest Linear Unbiased Prediction（BLUP）法も2000年前後から水産物の育種にも応用されるようになってきたが、この方法には家系記録が必要であるため、バナメイエビ等、その応用は限定的である。

有用魚介類では、2002年に、比較ゲノミクス研究のために、ゲノムサイズが小さいトラフグのゲノムが全ゲノムショットガン法によって解読された[6)]。その後、大西洋ダラ、ニジマス、大西洋サケ、カラアカシタビラメ、ティラピア、ヨーロッパスズキのゲノムが解読され公開されている[5)]。これらの研究はすべて海外で行われたものである。わが国ではクロマグロゲノムが水産総合研究センターを中心とするグループによって解読された[5)]。現在も、新たなゲノムプロジェクトが各国で進められており、近い将来ゲノム情報はさらに充実すると予想される。言うまでもなくこれらの情報は水産生物学、水産学のあらゆる領域でその利用が開始されており、今後の養殖産業への利用が期待される。

次世代シーケンサーの登場で複数個体のゲノム配列が利用できるようになり、一塩基多型（SNP）マーカーがマイクロサテライトよりもより迅速で正確な遺伝子型判別が可能なものとして、魚類でも利用されるようになった。生物種集団のゲノム中に1塩基の変異が認められ、

その頻度が 1%を越えるときにその祖先型と変異型を SNP という。この SNP の遺伝子型判定のコストは、解析対象となる遺伝子座が 3000 個程度に増えるとマイクロサテライトよりも安くなる。ゲノム育種を実施するためには、ゲノム全体に幅広く、しかもまんべんなく高精度に存在するマーカーを得ることが望ましく、数万から数十万以上のマーカーを得るのが望ましいとされている。近年では、SNP 情報を駆使し全ゲノム関連解析（GWAS）も水産分野で利用されるようになってきた。大西洋サケにおいて本法を駆使することで成熟年齢に関わる遺伝子が同定されている[7]。また、ブリでは百万以上の SNP マーカーが得られている。

ゲノム育種（ゲノミックセレクション）では、SNP マーカーセットが得られると、連鎖地図の作成、対象となる表現型（形質）と関連する SNP の同定を経て、SNP 遺伝子型データを用いた個体の育種価の予測を行う。その予測に基づいて親個体を選抜すれば、より短期間で効率的な品種改良が可能となる。これら一連のゲノムベースの育種はノルウェーにおける大西洋サケに関する研究が主導してきた感が強いが、最近、我が国においてもギンザケの成長に関するゲノミックセレクションの成功例が報告されている[8]。

● ゲノム編集

遺伝子組換え食品の社会的受容が進まない中で、ゲノム編集という画期的な技術が登場した。ゲノム編集そのものについては、ここでは詳細は省略し、その養殖魚への応用について述べる。2012 年に最初に報告されたより簡単でより低コストなゲノム編集技術である CRISPR/Cas9 システムの魚類における利用は、モデル生物であるゼブラフィッシュ[9]やメダカ[10]でいち早く報告されたが、その後、大西洋サケ、マダイ、トラフグ、クロマグロなどの養殖対象魚においてもすぐにその応用に関する研究が開始され、2014 年には大西洋サケでの利用が報告された[11]。また、ミオスタチン遺伝子の機能を完全に欠損し、筋肉量（可食部量）が大きく増大したマダイが得られている[12]。このマダイは 2018 年 8 月現在、第 3 世代が得られており、量産化が可能な段階まで進んでいる。ゲノム編集は基本的に種を選ばない技法であるため、トラフグやクロマグロでも同様の結果が得られると考えられる。海外ではミオスタチンをターゲットにしたゲノム編集が、中国でコイ[13]、アメリカとエジプトの共同研究でアメリカナマズ[14]を用いて行われている。また、dead end 遺伝子のノックアウトによる不妊化がニジマスで報告されている。ゲノム編集は従来の技術と比較して極めて効率の良い品種改良の手法であるが、今後、わが国においてこの技術を実用化するためには、成長評価や飼料効率などの養殖魚としての特性評価だけでなく、安全性に関する情報の収集や、環境への影響調査、法整備など様々なステップが必要である。

## 【2. 飼餌料・代替飼料】

養殖においては、飼餌料の開発・改良は重要な課題である。魚類は炭水化物の要求が極めて低いことがよく知られており、栄養要求としては、ミネラルに加え、アミノ酸と脂肪酸要求が重要となる。従来、養殖魚を対象とした栄養飼料学は実験魚に異なる組成の飼餌料を与え、その生残率や成長を評価することで、栄養要求を明らかにするという手法が長年用いられ、現在も主流である。しかし、近年各種アミノ酸と脂肪酸、さらには一部のミネラル類の代謝系が明らかにされつつあり、ゲノム情報の充実と相まって、上述の飼育試験を行わなくても新規の養殖対象魚種の栄養要求をある程度予測することが可能になっている。最近では、塩分濃度や水

温、さらには給餌履歴に応じて各種代謝酵素の発現が変化することも明らかになっており、飼育環境ごとに最適な飼餌料の開発もより効率的に進めることが可能になりつつある。また、各種飼餌料を給餌した際に個体の遺伝子発現にどのような変化が生じるかを知るニュートリゲノミクスが進展しており、ここから得られた基盤データは将来的にはより高性能な飼餌料の開発には欠かせないものになると期待される。

● 魚粉、魚油の代替材料

魚粉は、タンパク質含量が高く、必須アミノ酸も量的および質的に魚類の要求を充たすとともに、不消化成分が少なく、抗栄養因子の問題もないことから、特に肉食性の強い養殖魚種が多いわが国の海水魚養殖においては、配合飼料の主要な原料として使用されてきた[15]。魚粉の生産および供給は、原料魚の資源量の変動や漁獲量に左右され、また近年の世界的な魚粉需要拡大による価格の高騰が、わが国の養殖経営を圧迫する大きな要因となっている。そこで、高品質な養魚飼料の安定供給を図る対策として、魚粉に代わるタンパク質源の探索が、世界各国で行われてきた。わが国の海水魚養殖では、かつては安価で大量に漁獲されていたマイワシなどの生餌が用いられていたために配合飼料の開発や普及が遅れていたが、1990 年以降に二軸エクストルーダーを利用した配合飼料の製造方法が大きく進歩して、配合飼料の普及が進むとともに、魚粉代替源の探索に関する研究も盛んになった。例えば、わが国では特に海水養殖魚のタンパク質要求が高いことなどから、大豆粕はほとんどの飼料に配合されるようになってはいるものの、その利用は限定的である。

代替材料探索の一連の研究開発の結果、多くの肉食性海産魚においてもその飼料原料の少なくとも一部のアミノ酸源は植物性に、同様に一部の魚油は植物油に代替することが可能になっている[16,17]。また飼料設計の際に律速になる栄養素が明らかな場合（ブリにおけるタウリンのような）、植物性原料に不足分の栄養素を添加することでコスト面の問題も解決されている。さらに、近年はアミノ酸源として昆虫のミールを用いる研究も各国で行われている[18]。昆虫ミールはアミノ酸源としては優秀であるが、供給量、コスト的に魚粉の代替になりうるかが今後の課題であろう。いずれにせよ、原料の確保という観点から考えると、その多様化は望ましい方向性であり、フェザーミール等の畜産副産物の有効利用も含め、多様な原材料の利用は重要な研究課題である。

一方、脂肪酸源としては、多くの養殖対象海産魚は長鎖多価不飽和脂肪酸を必須脂肪酸として要求するため、脂肪酸源の一部を植物性原料に代替することは可能であるが、程度の差こそあれ、いずれの魚種においてもある程度の魚油の使用は必須である。そこで、近年、遺伝子組み換え植物を用いることで、従来は不可能であった植物に長鎖多価不飽和脂肪酸を生産させるという研究も盛んになっている。これらの長鎖多価不飽和脂肪酸生産はそのコストが魚油よりも安くなければ産業応用は困難であると考えられ、その適切なホストの探索が行われてきた。近年になって、遺伝子組み換えカメリナ（和名：アマナズナ、アブラナの近縁種）は高レベルで DHA の生産が可能であることが報告されている[19]。カメリナ油の生産は方法論的にも既存の植物油生産のシステムをそのまま利用できるため、コストの障壁（DHA 高生産が期待されている多くの微細藻類は、生産コスト的に飼餌料利用が可能なコストに至っていない）も乗り越えられることが期待される。

【3.　魚病・寄生虫対策】

●　ウィルス・細菌性疾病への対策

1990 年代からマイクロサテライトマーカーを用いた遺伝的地図の作製が進み、量的形質遺伝子座（QTL）解析により、ニジマスの伝染性膵臓壊死症の耐病性遺伝子座の同定がなされて以降、前述の大西洋サケ、ニジマス、ヒラメなどで各種ウィルス病の耐性遺伝子座が同定されている。特にヒラメのリンホシスティス病耐性系統はマーカー選抜育種（MAS）によって作出され、現在その種苗が市販されるに至っている[20)]。

魚類の個別の免疫学、比較免疫学に関しては、極めて速い速度で研究が進展している。ゲノム情報の利用が進み、例えば大西洋ダラの研究では CD4、MHCclass2 が存在せず、魚類の免疫系は哺乳動物とは異なることが証明された[21)]。2010 年には新規のイムノグロブリンとして IgT が魚類から同定され、この分子が腸管や体表での粘液における免疫に重要な役割を果たしていることが示唆されている[22)]。従来、魚類ではワクチン投与後に血中の抗体価が上昇しないにもかかわらず、その免疫効果が認められる現象が多く知られてきたが、このような魚類特有の現象を理解し、効果的なワクチンを生産していくうえでも、基礎的な免疫学的知見は重要である。

一方、養殖業への応用を前提とした技術開発に関しては、新規の疾病の同定やその治療法の構築、さらにはワクチン開発が中心である。わが国の養殖においてはその対象種が多岐にわたるうえ、感染症の種類も膨大である。そのため、個別の感染症に対応するとなるとワクチンの開発コスト（水産用医薬品としての承認を得るためのコストも含め）がかかりすぎ、利益が得られないため市販化にたどり着けないという問題があった。このような場合、研究レベルでは有効なワクチンが開発されていても、実際に市販には至らないというケースが多く存在した。この問題を克服するために、DNA ワクチンを実用化していこうという動きもみられる[23)]。本ワクチンはその生産コストが安いうえ、多価ワクチンの生産も容易であるというメリットを兼ね備えている。本技法は 1990 年代から研究はされていたものの、産業利用された事例はカナダにおけるサケ科魚類の感染性造血器壊死症のみである。近年になってサケのアルファウイルス（SAV）の DNA ワクチンが EU に承認されたが、現時点ではその商業利用には至っていない。農水省は DNA ワクチンの接種動物はカルタヘナ法の規制の対象とはならないと判断しており、今後はこの観点からも DNA ワクチンの産業利用が進むものと予想される。

●　寄生虫症対策

古くから現在まで長きにわたり、寄生虫による魚病被害は大きな問題である[24)]。例えば、単生虫病のハダムシ症は、ブリの小割式網イケス養殖が始まってから現在まで、ブリ養殖において最も大きな被害をもたらしている寄生虫病である[25)]。当初はブリ属のブリ、カンパチおよびヒラマサにのみ寄生するものであったが、1990 年代に入るとブリ属の他にヒラメ、トラフグ、マダイなどにも寄生する別種が出現し、ハダムシ症はほとんどの海水養殖魚が罹病して大きな被害をもたらす疾病となった。魚体に寄生したハダムシは淡水浴あるいは過酸化水素製剤浴によって駆除、死滅させることが可能であるが、イケス内の全ての魚を処理するためには大きな労力が必要である。さらに、魚体の表面に寄生したハダムシの成虫は数分毎に産卵し、その虫卵はフィラメント状の付属物によってイケス網に絡まり、やがて孵化して幼生が魚に寄生する。このようにハダムシの生活史がイケス内で完結して異常な速度で増殖することから、淡水浴等

による駆除に加えて、イケス網の交換も必要となり、海水魚養殖において大きな給餌不足の原因や大きな作業負担となっている。経口投与によってハダムシを駆除する薬剤は市販されているものの、その薬剤を混合した飼料を魚は嫌う傾向があり、効果的な対策とはなっていない。

粘液胞子虫の寄生による疾病も長年に亘って大きな問題となっている。海水魚の体側筋に寄生して無数のシストを形成したり筋肉融解を引き起こしたりするものや、ブリ属に寄生して脊椎骨の側弯症を引き起こすものの他に、筋肉に粘液胞子虫 Kudoa septempunctata が寄生したヒラメを生食することによってヒトが食中毒を起こすことが報告され[26]、その影響は魚だけでなく人間にも広がっている。微胞子虫の寄生によるべこ病は、以前からブリ属やマダイで知られていたが、かつては稚魚期のみの寄生で成魚では消失して被害がないものと考えられていたが、近年成魚でもそのシストが残存している場合があり、商品価値を著しく低下させるために問題となっている。これらの他にも白点病やエラムシなど寄生虫症の被害は古くから現在まで継続している。寄生虫は有効な薬剤が少ないことや、ワクチンによる予防が困難であることなど、その対策が難しい。生活史の解明に関する研究が進められているが、それらを予防に結びつける新しい発想の研究が必要である。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

● 世代交代の加速

マダイなど多くの海水養殖魚では、成熟するまでに 2 年以上の期間を要するため、品種改良の効果が得られるまでに時間がかかるという問題があったが、早期成熟が実現すればその問題の解決策の一つとなりうる。メダカにおいて、*foxl3* が生殖細胞において精子を形成するか卵を形成するかを決めており、*foxl3* 遺伝子をノックアウトすることにより、雌個体の卵巣において通常の成熟時期よりも早い発育段階で機能的な精子を作ることが明らかにされた[27]。この現象をマダイやトラフグで早期成熟に利用しようとする研究が進められている。このように特定の遺伝子のユニークな機能が明らかになると、その機能をゲノム編集技術により品種改良へと応用する展開が増えることが予想される。

世代交代を加速させる技術としては、代理親魚を利用する方法がある。これは、比較的大型の目的種の卵や精子を、より短期間で成熟する小型の代理親魚に生産させる技術で、最初にニジマスの卵や精子を生産するヤマメが作出された[28]。その後本法を用いてトラフグ、ブリ、ニベ、ティラピアなどの配偶子生産が可能になっている。また、類似の技術はゼブラフィッシュやペヘレイでも開発されている。実際に本技法を利用することでトラフグの卵や精子の生産期間を本来の成熟期間の半分程度にまで短縮することに成功した例もある[29]。

●不妊魚の作出　－品種の権利－

種苗法は植物の品種にしか適用されないため、魚類で優良品種の作出に成功した場合品種の権利を保護することが難しい。この点は海外へと優良種苗を輸出する際には大きな障害になりうるため、優良形質を備えた種苗は、販売前に不妊化処理を施す戦略が重要である。実際、ニジマスを始めとするサケ科魚類では三倍体処理は有効な不妊化法であり、米国で市販されているニジマス種苗のほとんどは不妊化を期待して三倍体化処理されているが、その不妊化率は 100％には至らないことが多い。さらに、他の魚類ではその生残率や三倍体化率が低い

ことが知られており、より確実な不妊化法が求められている。2015 年に in vivo morpholino oligonucleotides 溶液への受精卵の浸漬により、dead end（生殖細胞の特徴維持に必須の遺伝子）をノックダウンすると、効率的に不妊魚が作成できることがゼブラフィッシュで報告された[30]。従来検討されてきたトランスジーンを用いる方法や化学薬品を用いる方法に比べ、その処理の容易さや効率の点、さらに GM とはならない点から注目を集めている。しかし現在のところ、他種への応用はサケ科魚類での部分的な成功にとどまっている。一方、我が国では前述の代理親魚を利用した不妊魚の大量生産法が考案され、その効果がメダカで立証されている[31]。本法ではまず生殖腺刺激ホルモンの受容体（生殖腺の体細胞で機能する）をノックアウトすることで不妊魚を作成する。この遺伝的な不妊魚は次世代生産が不可能であるが、これらの個体の生殖細胞は正常に発生するため、この生殖細胞を単離し、正常な生殖腺刺激ホルモン受容体を保持する代理親魚に移植すると、親魚の雌雄を交配するだけで、次世代には不妊魚のみが大量生産できる。この方法は一旦代理親魚を作成すれば、これらの個体が寿命を迎えるまでの期間、不妊魚を繰り返し大量生産できるというメリットがある。将来的にはゲノム情報を駆使した育種法と世代の短い代理親魚を組み合わせて優良品種を短期間で構築し、これを不妊化してから出荷する、というシステムが理想的な種苗の生産形態になる可能性がある。

● 寄生虫対策

マイクロサテライトマーカーを用いた解析によって、寄生虫耐性に関与する遺伝子マーカーは過去に同定済みであったが、最近、上述のようにゲノム解析情報を用いた詳細な連鎖地図作成および関連するマーカー探索が行われた結果、寄生虫耐性に関与する遺伝子が同定された。これによって寄生虫の寄生とそれを魚が防御する機構が明らかとなり、根本的な寄生防除技術の開発へと展開する可能性がある。このような事例は今後増加すると考えられ、新たな疾病対策の開発が進むと考えられる。また、最近、寄生虫（スクーチカ）の培養に成功し、ワクチンが開発されつつある（特許 5598820）。これは長年の問題であった寄生虫対策の新しい展開であり、今後の技術開発が期待される。

● ニュートリショナルプログラミングと代替飼料

ニュートリゲノミクス研究の活発化は上記のとおりであるが、近年、ニュートリショナルプラグラミングと呼ばれる研究が注目されている。これは稚魚期に特定の栄養素を欠乏した飼料で飼育すると（プログラミング）、その後に正常な飼料に戻して飼育を継続した場合でも、稚魚期に不足していた特定の栄養素の合成系が活性化され続けるという現象である。例えば DHA 欠乏飼料で飼育をしたサケでは、DHA 合成にかかわる各種遺伝子群の発現が成魚になった段階でも活性化されており、植物油のみを添加した状態であっても DHA 合成能が通常の個体より高まることが報告されている[32]。このような性質を養殖業に利用するには、そもそも DHA 合成能を保持している魚種でないとその効果を期待できないが、この例にあるようなサケ科魚類の養殖では魚油の使用量を低減させることが可能になると期待されており、今後の展開が注目される。

また、品種改良によって低魚粉飼料でも良く育つ魚品種を作出する研究が行われており[22]、今後は上述のゲノム育種の応用による低魚粉飼料の利用性の改善や、微生物による飼料原料の生産など、魚粉不足の問題の根本的な解決に向けたブレイクスルーが期待される。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

- 近畿大学水産研究所が「21 世紀 COE プログラム」で「クロマグロ等の魚類養殖産業支援型研究拠点」に選定され、2003 ～ 2007 年までプログラムが実施された。また、引き続き、「グローバル COE」の拠点に選ばれ、「クロマグロなどの養殖科学の国際教育研究拠点」プログラムが 2009 ～ 2013 年まで実施された。
- 水産研究・教育機構の中央水産研究所が主体となって、クロマグロの全ゲノム解読を行った（論文発表 2013 年）。
- 文科省の国家基幹研究開発推進事業として「海洋生物資源確保技術高度化」プログラムが平成 23 年度より開始され、年間約 1 億円の予算がついている。代理親魚などの世代交代加速研究はこのプログラムによって支援されている。
- ノルウェーでは「大規模水圏養殖研究プログラム（HAVBRUK2）」が 2016 年～ 2025 年の予定で実施されており、年額約 15 億円を予定している。プログラムは基礎研究から産業での応用、社会的課題までを一括して含む大規模なものとなっている。前身の HAVBRUK プログラムは 2006 ～ 2015 年にわたって実施され、この時は年額 20 億円が投入された。
- 中国で、ゲノミクスベースの研究を国家主導で集約的に進めるプロジェクトが進行中である（Aquatic 10-100-1,000 Genomics Program）。このプロジェクトでは 10 種類の養殖魚をゲノム育種し、100 種類の魚種で全ゲノムを解読し、1,000 種類の魚種でトランスクリプトームデータを取得することを目指している。

### （5）科学技術的課題

- ゲノム編集

ゲノム編集された魚の扱いに関しては現在検討されているところであるが、遺伝子組換え生物であるとして扱うことになれば、現行の「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（カルタヘナ法）」に従い、適切な拡散防止措置のもとで飼育する必要がある。この場合には、養殖生産規模としては限定的となるが、配偶子を含めて拡散を防止するルールに従うため、現在の飼育技術および施設での対応となる。遺伝子組換え生物として扱わないことになれば、その飼育施設や方法については新たなルール作りが行われることが予想される。ゲノム編集等の遺伝子操作された魚が、子孫を残せないようにする技術が確立すれば、その規制を最小限にできる可能性がある。

- 世代交代の加速

育種を加速するためには、世代時間の短縮は極めて重要な課題である。すでに代理親魚を用いた世代進行の加速は概説済みであるが、今後はこの代理親魚の成熟までに要する期間をさらに縮めることも望まれる。代理親魚そのものは、あくまでも食用魚の卵、精子生産のために特化した個体であり、この個体そのものは食用には使用しない。したがって、これらの個体の成熟誘導のために外来遺伝子を導入したり、外因性のホルモン等を積極的に投与することで成熟を制御していくことも今後の重要な課題であろう。また、近年哺乳動物の研究分野では in vitro で卵や精子を生産するという試みに成功しており [33]、このような戦略も世代の加速のためには有効な策になりうる。

● ニュートリショナルプログラミング

前述のニュートリショナルプログラミングは基礎栄養学的にも、養殖学的にも極めて興味深い研究分野であるが、プログラミングを稚魚、幼魚に対してではなく、親魚に対して施し、その効果が次世代で得られるのであれば、その応用性は飛躍的に高まると期待できる。すなわち、親世代にプログラミングされたエピジェネティックな修飾が次世代へと伝達することで、新たな養殖技術の開発も可能になると期待される。

● 新規養殖魚種

新規養殖魚種の開発も古くて新しい課題である。わが国の食文化は極めて保守的であるために、食習慣のない魚種は、たとえその肉質が良くても高値で取引されることは少ない。このような魚種の多くは供給が不安定なうえ、その時期的制約が多いことが常である。しかし、養殖魚は周年にわたり安定供給が可能であることから、従来の食習慣にとらわれることなく新たな養殖魚種の開発も重要な研究課題である。今後、人工種苗を用いた養殖を進めていくにあたり、従来の固定概念にとらわれず、より高付加価値が期待される代替魚種への転換を図ること、さらにはそのための生物学的基盤研究や養殖応用を目指した技術開発を進めていくことも重要である。

● 寄生虫対策

寄生虫対策では、上述の通り耐性遺伝子の同定や、寄生虫の培養からのワクチン開発といった研究が進んでおり、それらのさらなる発展が期待される。しかし、寄生メカニズムや寄生虫そのものの生活環が不明である寄生虫が多く、そのような寄生虫の培養や飼育は非常に難しい。新しい技術を利用した対策の検討をすすめながら、生活環の解明などの地道な研究の重要性も認識すべきである。

### (6) その他の課題

ゲノム編集のような新しい遺伝子操作技術の場合、国内でも海外でも、その扱いに関する法整備が、科学の現場の実情に追い付いていない。研究段階から実用化されて食卓へのぼることまでを考えると、文部科学省、環境省、農林水産省（水産庁）、厚生労働省など複数の省庁での審議と法整備が必要であり、国際競争力の低下につながらないよう、複数の省庁で同時に審議を進めることが重要である。

次世代シーケンサーの登場で比較的容易に膨大なゲノム解析データを得られるようになった。魚類の遺伝子解析に関わる研究者の多くは生物学あるいは化学をベースにしており、膨大なデータを処理するバイオインフォマティクスを得意とする研究者は少ない。生物系の研究者でデータ処理にも通じた研究者の育成が急務である。それに加えて魚類の飼育と遺伝子操作、さらに遺伝子解析の全てをできる研究者を育成することは極めて困難であり、生物や化学だけでなく、物理や数学といった異分野の研究者の連携が望まれる。

近年、研究者と実際の現場とが解離しているように感じられる。研究者は研究資金獲得においても論文を書くためにも「新奇性」が求められるが、養殖対象となる種を用いた論文はモデル生物で行われた実験の追認とみなされることが多く、新奇性が低いと判断されがちである。そのため、より多くの研究者が、産業用の養殖魚種ではなく、モデル生物を用いる研究へとシ

フトしていく傾向があると考えられる。論文数や競争的資金の獲得だけでなく、産業への貢献度についても、十分な重要性をもって評価できるような体制作りが必要である。また、新たな養殖技術をサイエンスベースで開発してくために、今最も必要とされているものは基礎と応用の両者を理解し、橋渡しとなる人材であろう。この 20 ～ 30 年の間に養殖学研究は極めて細分化し、研究者の分子生物学志向が大きく進んだ。その結果、現場の課題を抽出、解決できる研究者がアカデミアから減少している。本分野で我が国が世界をリードしていくためには、最新の分子、細胞生物学・生化学と現場の養殖学を高次元で統合できる人材を教育、輩出していくことが不可欠である。これを実現するためには産官学が連携した長期的な人材養成システムが必要であろう。本報告書でも繰り返し述べてきたように養殖対象魚種はその世代期間が長いため、従来の競争的資金の枠組みでは、魚類の世代をまたぐような研究にはなかなか着手できないという問題があった。今後は競争的資金の研究期間を弾力的に、必要に応じて長期化することも実用化を目指すうえでは重要である。

また、我が国で養殖業を営むためには区画漁業権が必要である。これが大資本の企業が本領域へと進出しづらかった原因でもある。大規模経営やある程度の資本力を持った企業が養殖業に参入することの重要性は、ノルウェーで 1980 年ころから養殖場の大規模化、自動化が飛躍的に進んだ事例を見れば明らかであろう。

最近、漁業の不振が続いている。温暖化による水温上昇や下水処理の高度化にともなう栄養塩量の変化など様々な要因が考えられるが、漁獲規制などの資源管理が適切に行われていないのもその要因の一つであると考えられる。漁業資源の適切な管理は、魚粉の確保にもつながる養殖業にとっても重要な課題である。この問題に対する学会・研究者からのアプローチが不足している。積極的な発言と行動が期待される。

（7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | → | ・水産研究・教育機構がニホンウナギ種苗生産技術の開発を精力的に進めており、この分野では独走状態である。しかし、量産体制が整う状況には至っておらず、いまだ基礎研究段階にある。<br>・ゲノミックセレクションによる育種を成功した事例は多くはなく、我が国では東大の水産実験所のグループのみである。本法は、莫大なコストと飼育スペースが必要なため、今後の展開は、公的機関の支援方針に大きく依存するだろう。<br>・代理親魚を用いた種々の研究は海洋大、北大水のグループが先駆的な研究を進めている。基盤技術を水産上有用種へと応用する試みも進んでいるほか、上述のように不妊魚生産や、世代の加速等、新たな応用事例が報告されている。<br>・寄生虫の基礎研究では日本は世界のトップレベルと言える。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・ゲノム編集では、マダイ、トラフグで応用に向けた取り組みが進んでいる。養殖の歴史が長いので、飼育技術が高く、応用研究に有利である。<br>・近大水産実験所のグループがクロマグロの人工種苗生産技術では世界的にも独走状態にある。種苗の質的改善も進んでおり、民間養殖場への導入も進んでいる。水産研究・教育機構も、陸上でのクロマグロ受精卵の供給体制の構築を目指しているが、莫大なランニングコストが必要であり、費用対効果が本システムの持続性のカギとなる。<br>・海産魚の種苗生産技術に関しては、前述の近大水産実験所、各都道府県の水産試験場、水産研究・教育機構（特に旧日本栽培漁業協会）、民間の養殖関連企業による技術開発は世界的にも突出している。ただし、いずれも飼育担当者の技術に大きく依存したシステムであり、マニュアル化できる類の技術として構築されている魚種はその一部のみである。<br>・海洋大のグループが東南アジア、中南米のエビ類養殖で大きな問題になっている EMS（early mortality syndrome）の検出、診断法を世界に先駆けて構築し、今では国際獣免疫事務局（OIE）のマニュアルとして利用されている。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | ・モデル生物であるゼブラフィッシュを用いた基礎研究が進んでいる。<br>・太平洋サケ属魚類の増殖を目指した遺伝学、保全生物学に関しては、古くから先駆的な研究が進められている（ワシントン大、オレゴン州立大、NOAA 等）。<br>・前述のように不妊養殖魚の作出の研究がメリーランド大学で進められている。本技術に関しては特許も抑えられており、本グループが国際的に優位な状況にあるが、養殖対象種では、この方法でも不妊率が 50-80％程度であり、応用までには大きな技術的改良が必要であろう。<br>・サケゲノムプロジェクトは国際共同研究ではあったが、代表はカナダのサイモンフレーザー大学とビクトリア大学であった。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・成長ホルモン遺伝子を導入した遺伝子組換えサーモンが FDA に認可されるなど、進展しているが、海面の養殖はないことなどから応用はそれほど進んでいない。<br>・サケの資源管理、増殖事業に関しての生物学的基盤情報を利用した資源管理、放流方策が検討されている（各州の Game & Wildlife Dept 等）。<br>・新魚種開発も行われているが、その実用化例はバナメイエビ（ホワイトシュリンプ）が筆頭である。本種はハワイ太平洋大学の海洋研究所が BLUP 法を用いた育種により高品質種苗を生産し、かつ SPF の状態で世界中のエビ養殖場に種苗を出荷している。各国で養殖されるバナメイエビのほとんどは本海洋研究所産である。<br>・カナダでは IHN（感染性造血器壊死症）に対する DNA ワクチンが実用化し、市販に至っている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・ゼブラフィッシュを用いた基礎研究がドイツなどで進んでいる。<br>・ノルウェーは大西洋サケを用いた基礎研究では他国を圧倒している。<br>・英国のスターリング大学を中心に欧州各国で　ニュートリショナルプログラミングの研究が始まっている。大西洋サケについては成魚での DHA 要求や各種脂肪酸代謝系遺伝子群の発現制御結果が報告されている。<br>・大西洋クロマグロの人工種苗生産に関する EU のプロジェクトが SELFDOT･TRANSDOTT と 2 期続いたが、現在その後継プロジェクトは稼働していない模様。<br>・養魚飼料の低魚粉化に関する技術が大きく進歩している。<br>・スペインなどで寄生虫研究が盛んである。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・基礎研究同様、ノルウェーのサーモン養殖技術の開発はすべての分野で先駆的である。特に養殖用の資材や、システム開発は他の追随を許さない状況にあり、養殖システムそのものを輸出している。<br>・ノルウェーにおける大西洋タラの人工種苗生産～養殖技術は極めてシステマティックにその生産系が組まれており、技術者養成を重視してきた我が国の養殖技術とは異質である。<br>・魚粉の代替として植物性原料を用いた飼料の開発が、各飼料メーカーを中心に進められている（ノルウェー・Skretting 等）。<br>・ノルウェーでの寄生虫対策に関する技術開発も進んでいる。特に、寄生虫食の魚種を用いた寄生虫の駆除は注目に値する。<br>・地中海のヨーロッパヘダイおよびヨーロピアンシーバス養殖が大きく発展しており、巨大な飼料メーカーが高い技術で養魚飼料を供給している。<br>・スペインなどで寄生虫研究が盛んである。また、大西洋サケの体表に寄生する寄生虫を水中レーザーで駆除する技術が開発されている。<br>・上述のように EU では SAV に対する DNA ワクチンをすでに承認しており、今後各国での個別審査如何では、産業レベルでの利用が始まるものと期待される。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・国家主導でゲノミクスベースの研究プロジェクト（Aquatic 10-100-1,000 Genomics Program）が進行中である [34]。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ・最近の中国の養殖生産量は急増している。多くは国内消費中心と考えられる、コイ科魚類の養殖であるが、今後は海産魚の養殖量も増加すると考えられる。<br>・コイのゲノム編集に関する報告があるが、どこまで応用されているか未知である。 |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | ↗ | ・水産技術院主導で 100 種程度の魚介類の全ゲノム解析が始まっている。<br>・寄生虫に関する基礎研究も進んでいる。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・海水魚ではヒラメ養殖が盛んであり、品種改良も進んでいると考えられる。ヒラメの MAS 育種も進んでいる。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1）水産白書　平成 30 年版　水産白書 （東京　農林統計協会、2018）.

2）Oamu Murata al., Selective breeding for growth in red sea bream. *Fish. Sci*., 62（1996）845

3）Hans Magnus Gjøenet al., Past, present, and future genetic improvement in salmon aquaculture. *ICES J Mar Sci* 54（1997）:1009

4）Friars GW et al., Applications of selection for multiple traits in cage-reared Atlantic salmon（Salmo salar）. *Aquaculture* 137（1995）：213.
5）菊池 潔「水産育種におけるゲノム情報の利用」『水産遺伝育種学』中嶋正道、荒井克俊、岡本信明、谷口順彦編、（仙台 , 東北大学出版会 2017）pp. 187-211.
6）Samuel Aparicio et al., Whole-genome shotgun assembly and analysis of the genome of *Fugu rubripes*. *Science* 297（2002）:1301.
7）Fernando Ayllon et al., The *vgll3* locus controls age at maturity in wild and domesticated atlantic salmon（*Salmo salar* L.）Males. *PLoS Genet* 11（2015）:e1005628.
8）Sho Hosoya et al., Assessment of genetic diversity in Coho salmon（Oncorhynchus kisutch）populations with no family records using ddRAD-seq. *BMC Res Notes* 11（2018）:548.
9）Woong Y Hwang et al., Efficient genome editing in zebrafish using a CRISPR-Cas system. *Nat Biotechnol*. 31（2013）：227.
10）Satoshi Ansai and Masato Kinoshita, Targeted mutagenesis using CRISPR/Cas system in medaka. *Biology Open* 3（2014）：362.
11）Rolf Brudvik Edvardsen et al., Targeted mutagenesis in Atlantic salmon（*Salmo salar* L.）using the CRISPR/Cas9 system induces complete knockout individuals in the F0 generation. *PLoS One 9*（2014）e108622.
12）Kenta Kishimoto et al., Production of a breed of red sea bream *Pagrus major* with an increase of skeletal muscle mass and reduced body length by genome editing with CRISPR/Cas9. *Aquaculture* 495（2018）：415.
13）Zhaomin Zhong et al., Targeted disruption of sp7 and myostatin with CRISPR-Cas9 results in severe bone defects and more muscular cells in common carp. *Sci Rep* 6（2016）：22953.
14）Karim Khalil et al., Generation of myostatin gene-edited channel catfish（Ictalurus punctatus）via zygote injection of CRISPR/Cas9 system. *Sci Rep* 7,（2017）：7301.
15）青木秀夫「代替原料の有効利用」『改訂 魚類の栄養と飼料』渡邉 武編、（東京、恒星社厚生閣 2009）pp. 358-381。
16）Ana Sanz et al., Protein nutrition in fish: protein/energy ratio and alternative protein sources to fish meal. *J Physiol Biochem 56*（2000）:275.
17）GeorginaLenihan-Geels et al., Alternative sources of omega-3 fats: can we find a sustainable substitute for fish? *nutrients* 5（2013）5:1301.
18）Arnold van Huis A. Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Ann Rev Entomol* 58（2013）:563.
19）Monica B Betancor et al., An oil containing EPA and DHA from transgenic Camelina sativa to replace marine fish oil in feeds for Atlantic salmon（*Salmo salar* L.）：Effects on intestinal transcriptome, histology, tissue fatty acid profiles and plasma biochemistry. *PLoS One* 12（2017）:e0175415.
20）坂本 崇 連鎖解析とマーカーアシスト選抜 水産遺伝育種学中嶋正道 他編、（仙台、東北大学出版会、2016）pp.119-133.
21）Bastiaan Star et al., The genome sequence of Atlantic cod reveals a unique immune system. nature 477（2011）:207.
22）Yong-An Zhang et al., IgT, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity. *Nat Immunol* 11（2010）:827.
23）中西 照幸 , 松浦 雄太 . 魚類疾病の現状と課題 . 日獣会誌 69（2016）：27.

24）Kazuo Ogawa Diseases of cultured marine fishes caused by Platyhelminthes（Monogenea, Digenea, Cestoda）. *Parasitology* 142（2015）：178.

25）小川和夫「単生虫病」『魚介類の感染症・寄生虫病』江草周三監修、（東京、恒星社厚生閣、2004）pp. 353-379。

26）Takao Kawai et al., Identification of *Kudoa septempunctata* as the causative agent of novel food poisoning outbreaks in Japan by consumption of *Paralichthys olivaceus* in raw fish. Clin Infect Dis 54（2012）：1046.

27）Toshiya Nishimura et al., foxl3 is a germ cell-intrinsic factor involved in sperm-egg fate decision in medaka. *Science* 349（2015）：328.

28) Tomoyuki Okutsu et al., Production of trout offspring from triploid salmon parents. *Science* 317 (2007)：1517.

29）Goro Yoshizaki and Seungki Lee Production of live fish derived from frozen germ cells via germ cell transplantation. *Stem Cell Res*29（2018）：103.

30）Ten-Tsao Wong and Yonathan Zohar Production of reproductively sterile fish by a non-transgenic gene silencing technology. *Sci Rep* 5（2015）:15822.

31）Kazue Nagasawa et al., Novel method for mass producing genetically sterile fish from surrogate broodstock via spermatogonial transplantation. Biol Reprod 100（2019）：535.

32）Michael Clarkson et al., Early nutritional intervention can improve utilisation of vegetable-based diets in diploid and triploid Atlantic salmon（*Salmo salar* L.）. *Br J Nutr* 118（2017）：17.

33）Takeshi Yamamoto et al., Amago salmon Oncorhynchus masou ishikawae juveniles selectively bred for growth on a low fishmeal diet exhibit a good response to the low fishmeal diet due largely to an increased feed intake with a particular preference for the diet. *Aquaculture* 465（2016）：380.

34）Yingjie Liu et al., China is initiating the Aquatic 10-100-1,000 Genomics Program. *Sci China Life Sci*60:（2017）：329

## ２．４．４　畜産

### (1) 研究開発領域の定義

高品質で効率的な畜産物の生産は、育種と生産技術の向上によって支えられてきた。そこで、本項目では、育種技術とその基盤となる生殖工学技術、および生産の持続性や環境負荷低減など新たな価値観に基づく生産技術開発を中心に取り上げる。

### (2) キーワード

生殖工学、SNP 解析、ゲノム編集、成熟卵子産生、飼養学、代謝プログラミング、牛肉生産、SDGs、ESG 投資

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

高品質で効率的な畜産物の生産には、育種による品種改良が欠かせない。優良形質を持つ品種の作出は、我が国の畜産分野においても 19 世紀の昔から行われてきた形跡があるが、科学技術の発展に伴って、現代においてはゲノム情報を利用したより高効率な育種が進められている。牛などの大動物では、計画に従った交配を行うためには、人工授精、精液の凍結保存、性判別、体外受精、胚培養、胚移植などの生殖工学技術が不可欠であり、実際に、我が国では、乳牛や肉牛の 98% 以上は人工授精や胚移植により生産されている [1)]。こうした技術は、畜産領域の発展に寄与するばかりでなく、医学領域へと応用されている重要な技術領域である。また、モデル動物を利用した研究からは、最先端の生殖工学の知見が日々蓄積している。実際の畜産の現場では、必ずしも全ての技術があらゆる動物種で実用段階にあるわけではなく、地道な応用研究が必要である。

生産技術の分野では、主として、動物の 2 次性徴以降の飼料の質や量の工夫による、成長の促進や肉質の改善が行われてきた。その結果、アメリカを中心として、日本でも草食動物に対して高カロリーの穀物飼料を大量に与えることで成長を加速化し、また、筋内脂肪割合が高められた。この生産方法により、現状では、世界の穀物の約 3 割、トウモロコシの 7 割が家畜飼料として消費されている。日本では、輸入穀物飼料に過度に依存しており、また、家畜に付着した無駄な脂肪を、例えば肉牛では 1 頭から 200kg 以上の脂肪を捨てている（出荷時の肉牛の体重は 720kg 前後）。こうした現状は国際的な目標である SDGs に合致しているとは言い難く、ESG 投資というビジネスの視点からも望ましい状況にない。ウシは本来、草食動物であり、そのポテンシャルを牧草などの粗飼料で引き出す革新的な技術が確立されれば、穀物飼料の量を減らすことができ、SDGs にも貢献できると考えられる。この問題を解決する糸口として、近年、ヒトの疫学調査から得られた知見である、代謝プログラミングという概念を基盤する、牧草などの粗飼料を有効活用する肉牛の新しい生産技術が開発されつつある。我が国の農業・畜産分野が国内外で優位性を築く為には、超エリート家畜の効率的な育種、従来の生殖工学技術で生じている諸問題を解決する中長期的な対策、さらに、畜産分野を切り拓く最先端の生殖工学技術の創出、および SDGs や ESG 投資といった新しい価値観に基づく生産技術開発が必要である。

［研究開発の動向］

【育種】

家畜育種の流れは、乳用牛、肉用牛、豚、卵用鶏、および肉用鶏を主な対象とし、後代検定と量的形質遺伝子座（Quantitative Trait Locus; QTL）解析が併用されてきた。QTL 解析は 1990 年代後半からさかんに行われてきた方法で、連鎖解析のため親世代の遺伝子の交雑で F1 を産出し、F1 の雄とさらに別の雌の遺伝子の交雑により F2 世代を産生する。F2 世代で親の優れた形質を受け継いだ家畜と受け継がなかった家畜の DNA 配列を解析し、どの DNA 配列がどの量的形質（優良形質）と関係しているかを解析していくものである。QTL は当初、責任遺伝子の絞り込みが困難であったことから、マイクロサテライトマーカーの多型などを利用して数十〜数 Mb の解像度で量的形質との関係が評価されていた（7）ため、精度はさほど高くなかった。しかし、最近では、次世代シークエンサーの普及で高速なゲノム解析が可能となり、1 塩基解像度で全 DNA 配列の情報が得られるようになった。同時に、量的形質に関連する遺伝子の機能や 1 塩基多型（Single Nucleotide Polymorphism; SNP）の情報も蓄積されてきたため、連鎖解析を行わずに量的形質を評価することができるようになってきた。また、SNP チップの開発により、より簡便に QTL 解析ができるようになった。SNP チップは QTL 解析ツールとして確立されつつあるが、今後は、信頼性の高い SNP やさらに優れた形質が表れる SNP など SNP の評価を進めて行く必要がある。

【生殖工学】

より高品質で均質なウシを生産する上で、精液の凍結、人工授精および受精卵移植などの技術はもはや不可欠な技術となっている。乳用牛や肉用牛では 50 年前から人工授精が普及し、近年では、X 染色体を持つ X 精子と Y 染色体をもつ Y 精子を選別・分取した精液も凍結・販売され既に実用化されている [1)]。育種や人工授精、その他の技術が普及した結果、例えば、乳牛 1 頭あたりが 1 年間で生産する平均乳量は、1963 年当時 4,840 kg であったのに対し、30 年後の 1993 年には 9,276 kg とほぼ倍増している。特に精液の凍結保存はヒト不妊への応用もあり、既に十分確立した技術であるかの様に錯覚するが、実は豚では国内外を通じて長らく実用化できなかった。日本の大規模養豚場では人工授精が普及しているものの、凍結精液を用いると受胎率が低いことから、凍結精液ではなく希釈精液が利用されてきた。従来法では冷蔵保存精液の保存可能期間が短く、1 回受胎させる為に精液の注入を複数回行うなど、多大な労力が必要であったが、近年、これまでより簡便でかつ 80% の高受胎率を可能にし、一度の分娩で 10 頭以上誕生させることが可能な、精液の凍結・融解・保存方法が我が国の研究者によって開発された [2)]。今後は、牛凍結精液と同様に X 精子や Y 精子を選別・分取する技術の確立も期待される。このように、ある種の動物や家畜で既に確立している技術であっても、他の種で万能に利用できるわけではないので、必要に応じて動物種個々の生殖技術を確立することも実は革新的である。

【肉用和牛の生産】

日本で 1 年間に消費される牛肉約 85 万トンのうち、約 32 万トン（約 38%）が国産である。いわゆる和牛の生産量はそのうち 14 万トンであり（2016 年、農畜産業振興機構のデータより）、和牛の約 80%を占めるのが日本固有の品種である黒毛和種である。神戸牛や松坂牛といった

有名ブランド牛はこの中に含まれる。黒毛和種の名称は1944年に制定されたが、第二次世界大戦後、耕作などの役用牛としての利用が廃れたため、1950年代以降、肉用牛としての品種改良が進められた。黒毛和種から生産される牛肉は、世界に類を見ない高い脂肪交雑度（いわゆる霜降り肉）を誇り、高級牛肉として世界に認知されている（2016年輸出量は2055トン）。一方、近年では、繁殖基盤の弱体化に伴って肉用子牛の出荷頭数が減少し、肉用子牛の販売価格が高騰している。また、2006年以降は飼料用トウモロコシがバイオエタノール生産に利用されるようになって、配合飼料が高騰しており、日本における牛肉生産は苦境に立たされている。こうした背景で、肥育農家の収入を少しでも改善するため、農水省が中心となって、肉用牛の肥育期間を短縮することにより、生産コスト低下の試みが進められている。2014年までは、黒毛和種の平均出荷月齢は29ヵ月程度であったが、現在これは短縮傾向にあり、技術的には24か月でも出荷が可能であるとする論文もある[3)]。早期出荷を目指す各種の試みの中で、子牛や肥育前期の飼養管理の重要性が指摘されつつある[4)]前述。

【医療用家畜の生産】

畜産物の利用以外で生産される家畜に医療用家畜がある。これまで、ヒトの疾患の発症機序解明や治療法開発などには、主に疾患モデルマウスや疾患モデルラットが利用されてきたが、マウスやラットで得られたデータはそのままではヒトには応用しえないことが多い。ブタは生理学的、解剖学的にマウスやラットよりもヒトに近いため、近年、基礎医学実験にブタが用いられるようになってきた。我が国では、2009年にトランスジェニック技術で糖尿病モデルブタが作製され[5)]、現在までに様々な研究で利用されるようになった。疾患モデルマウスを作成するには、胚性幹（Embryonic Stem; ES）細胞を利用するが、家畜ではキメラ形成能を有するES細胞株が存在せず、キメラ家畜から遺伝子改変家畜を誕生させるまでに膨大な時間と労力が必要である。そこで、遺伝子改変家畜を作成するのには体細胞クローン技術が活用されている。遺伝子組換えやゲノム編集などにより、体細胞で標的遺伝子の機能を喪失させ、この体細胞核を受精卵に核移植することにより、遺伝子改変ブタを産生することができる。直近では、遺伝子改変と体細胞クローン技術により筋ジストロフィー症モデルブタなどが作製されている[6)]。一方、ヒト人工多能性幹（Induced Pluripotent Stem; iPS）細胞から分化した細胞や組織の機能を評価するため、あるいはヒトの臓器を育てるために、ヒト細胞が拒絶されない免疫疾患ブタが作製されている[7)]。さらに、臓器移植のドナーが慢性的に不足するなか、臓器移植を必要とする疾患に対して、国外では既に、ブタの臓器がヒトに移植された例もある。ブタ臓器をヒトに移植するには、移植臓器がヒトの免疫システムに拒絶されないこと、ブタが感染症に罹患していないこと、ブタゲノム内に存在するレトロトランスポゾンがヒトの体内で活性化されないこと、などが必要である。そのため、近年は遺伝子組換えやゲノム編集により、ヒトの体内で拒絶反応が起きにくいブタ、ブタゲノム内に多く潜在するレトロトランスポゾンを失活させたブタなどの開発が進められている[8, 9)]。臓器移植用に、ヒトの補体反応を抑える目的で、１～３遺伝子を改変したブタは1990年後半から報告されている[9)]。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

【SNP チップ】

牛では 53,714 と 640,000 の SNP が搭載されたチップ、豚では 62,163 の SNP が搭載されたチップ、鶏で 1,800,000 の SNP が搭載されたチップがいずれも米国の Affymetrix 社から販売されている。こうしたチップを使って、日本国内でも農家に向けた委託解析サービスが提供されている。また、最近では、これまで遺伝率が低いとされてきた飼料効率、繁殖性（早期成熟、繁殖サイクルの短期化）各種疾病の罹患リスクなどに関する SNP 解析が注目されており、家畜の生産過程の効率化に主眼がおかれている。

【医療用ブタの生産】

2015 年に米国のハーバード大学の研究チームが、ブタの培養細胞を用いて 62 コピー存在する内在性レトロトランスポゾンをゲノム編集により不活性化させることに成功し[10]、2017 年にはこの細胞から体細胞クローン技術を用いてブタを生産したと報告した[11]。今後は、ブタ臓器がヒトに移植された際、免疫反応や血液凝固を引き起こす原因となる遺伝子群の改変が期待される。この研究が注目されたのは、臓器移植用のブタの生産が現実的になりつつあるだけでなく、62 コピーものレトロトランスポゾンにゲノム編集で変異を生じさせたことにある。こうした研究は米国が世界をリードしているが、我が国でも研究機関、大学、ベンチャー企業あるいは民間企業を含め精力的に医療用家畜の開発と生産を行っている。

【ゲノム編集技術の応用】

上記の医療用ブタ以外でもゲノム編集技術が家畜に応用され始めている。ブタの呼吸・繁殖障害症候群は致死性が高く、ウイルス感染によって発症する。このウイルスの受容体はブタの細胞表面で発現するが、2017 年、イギリスのロスリン研究所で、この受容体遺伝子の一部を欠損する受精卵がゲノム編集で作出された。この技術で誕生したブタは呼吸・繁殖障害症候群ウイルスに抵抗性を示す[12]。イギリスではこのゲノム編集ブタを繁殖し、食肉として市場に流通させることが検討されている。我が国でも、ゲノム編集技術と体細胞クローン技術を併用して、牛の黒毛和種で発症するイソロイシル tRNA 合成酵素 IARS 異常症の原因遺伝子の修復に成功している[13]。

ゲノム編集技術は日々進化しており、標的遺伝子の 1~ 数塩基の欠失あるいは挿入を引き起こすことで、標的遺伝子の機能を破壊するだけでなく、標的遺伝子座に相同組換えを利用して緑色蛍光タンパク質をコードする遺伝子（Green Fluorescent Protein; GFP）など数キロ程度までならば遺伝子を効率良く挿入することが可能である。さらに、ゲノム編集により、特定遺伝子座に DAN メチル化などのエピジェネティック修飾を付加することも可能になった。いずれもマウスでの研究結果ではあるが、ゲノム編集技術はマウス以外の動物への技術移行が比較的容易であることから、今後は家畜への応用も可能であろう。

【成熟卵子の体外産生】

家畜の育種・繁殖では、「雄」が遺伝資源の基盤となっている。これは、雄の生殖細胞である精子が、長期間にわたって大量に産生され続けるのに対し、雌が成熟卵子を産生できるのは

ごく短期間で、その数も極めて少ないことに起因している。しかし、当然ながら雄の遺伝的背景だけでなく、雌の遺伝的背景も子畜の優良形質に重大な影響を及ぼす。実際、同じ精液を用いて生産された牛の枝肉のランクは母親のランクに依存して上下する[14]。そのため、優良な遺伝資源を有する雌の成熟卵子を量産することが可能になれば、超エリート家畜の増産につながると考えられる。雌では卵巣内に未成長の卵母細胞が数十万も潜在している。さらに胎子期の始原生殖細胞（Primordial Germ Cell; PGC）は増殖能があり、雌の遺伝資源として有効利用できる可能性がある。そこで、これらの未成長卵母細胞やPGCから、体外培養で成熟卵子を産生する研究が行われている。マウスでは、卵母細胞が分化する以前のPGCから成熟卵子の産生が可能であり[15]、またES細胞やiPS細胞からPGC様細胞を分化させ、これらから成熟卵子を産生することに成功している[16]。卵母細胞の成長培養技術、多能性幹細胞からPGC様細胞や成熟卵子を産生する培養技術は、いずれも日本人研究者が世界に先駆けてここ数年の間に確立しており、他国の追随を許していない。

【人工知能を活用した胚移植成績向上に向けた研究開発】

牛では、30年前と比較して10%程度受胎率が低下している。家畜では受精卵移植後に妊娠が不成立であったり流産を招いたりすると、その経済的損失は大きい。この問題を解決するため、全農とソニーの共同研究は、人工知能（Artificial Intelligence: AI）により、優良な胚を選抜することで胚移植成績の向上を目指す、「牛受精卵AI解析システム」を開発している。一方、AIによって識別された受精前後のマウス卵の品質の差異を物質的に理解しようとする研究も始まっている。

【代謝プログラミングを活用した環境負荷の低い肉牛肥育技術の開発】

ヒトの疫学調査から、胎児期や生後の初期成長期に受けた栄養刺激により、その後の動物体の代謝システム、生理および形態、種々の器官の構造形成に多大な影響を及ぼすことが明らかになりつつある[17]。この概念は代謝プログラミングと呼ばれ、医学分野では「成長過程の栄養状態や環境因子の作用に起因する疾患の発生（Developmental Origins of Health and Disease: DOHaD）」として、エピジェネティクス研究分野と密接に関連しながら、実験動物を用いた基礎研究が進んでいる。反芻動物においても、妊娠期の栄養環境は、胎仔の筋形成、脂肪形成および結合組織等形成に影響することが報告されている[18]。しかし、妊娠期の栄養が仔畜に与える効果は、胎盤構造の差異などの影響により、反芻動物でも動物種によって異なる[16]。また、代謝プログラミングは、胎児だけでなく、新生仔期も感受性の高い時期であり、プログラミング効果が認められる。例えば、雌仔牛にとって初乳の摂取は、将来の乳生産の量に影響することが報告されている。初乳を4L与えた雌個体は、2L与えた雌個体と比較すると、成熟後に生産する第1期と第2期の乳生産量が10－15%多くなった。このことは初乳に含まれているある種のホルモンが、仔牛の消化管の形成と発達、消化酵素の生産レベル、栄養吸収レベルを調節に関連していることを示唆した。また、生後1.5～2か月齢までの、全乳は、代用乳を与えられた仔牛と比較して、その仔牛が将来生産する乳量を増加させることも報告されている。こうした知見を活用し、鹿児島大学と九州大学、家畜改良センターの共同研究チームは、現在、輸入濃厚飼料に過度に依存した黒毛和種の飼養システムから、本来の草食獣の飼養形態を基盤とする、牧草等の植物資源（粗飼料）を基盤とした肥育システムへのシフトを目指して、

精力的な研究を展開している。脂肪蓄積能力の高い黒毛和種においても、濃厚飼料を使用せず、粗飼料のみで飼育すると、生産される牛肉の量および質は、かなり低くなるため、この質と量の低下の解決が、粗飼料による肥育システムを成功させるためのカギとなる。育成期における代謝プログラミング効果を見るべく、黒毛和種を生後2ヶ月間通常哺乳し、3～10ヶ月の体重が3倍以上発育する、成長著しい育成期のみ濃厚飼料を給与し、その後は、粗飼料のみで26カ月齢まで肥育すると、体重は470㎏前後、筋内脂肪は10%前後になった。育成期に濃厚飼料を与えず、全期間を粗飼料で飼育した黒毛和種を26ヵ月齢まで育成すると、体重は360㎏前後、筋内脂肪は6%前後になった。ホルスタイン種でも同様かそれ以上の結果が得られた[20),21)]。さらに、哺乳期も考慮し、3ヵ月まで高タンパクおよび高脂肪の代用乳で強化哺育し、育成期には高栄養飼料を給与し、粗飼料でその後31カ月齢まで肥育したところ、体重は600㎏前後、筋内脂肪は13～14%に達した。この値は、和牛として十分に市場で通用する値であり、また、枝肉として3等級を獲得できた個体もあった。3ヶ月の通常哺乳後に粗飼料のみで飼育した群では、体重は530㎏前後、筋内脂肪は9%程度であった。この結果は、市場で通用する牛を粗飼料で飼養するという視点から、哺乳期から育成期までの高栄養飼料の給与が高い代謝プログラミング効果を持つ可能性があることを示した[20),21)]。粗飼料で肥育した牛群（代謝プログラミング牛群および対照区牛群）と一般肥育牛群のロース芯の肉質を比較すると、粗タンパク、多価不飽和脂肪酸、総遊離アミノ酸量、核酸関連物質総量、イノシン酸量、うまみ系アミノ酸、甘味系アミノ酸、苦味系アミノ酸において、粗飼料で肥育した牛群の方が一般肥育牛群よりも有意に多かった。また、プロのシェフの調理による試食試験では、育成期に高栄養飼料で代謝プログラミング処理をした後に、粗飼料で肥育された牛群のローストビーフは、45%の方が「十分に食べることができる」、50%の方から「非常においしい」という評価を得た（アグリバイオの[22)]。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

- SNPチップが民間会社から販売され、家畜のSNPそのものの解析を支援する研究助成は減り、QTLとしての各SNPの評価や予測の研究が助成の対象になってきている。
- 医療用ブタの生産に関する研究は、主に研究者自身が関与するベンチャー企業から出資されている。また、米国国立衛生研究所（National Institute of Health; NIH）の研究助成で異種間移植に関する課題が、単年度あたり数百万ドル規模の予算で複数採択されている。一方、我が国でも、米国ほどの予算は配当されていないが、臓器移植用のブタや疾患モデルブタが[5-7、23)]、農学・畜産学領域の研究者と医学領域の研究者の連携、民間企業のタイアップにより開発されている[5)、6)]。これらの研究には、厚生労働省、文部科学省、農林水産省の研究助成金や寄付金なども充当されている。
- どの国でもブタの呼吸・繁殖障害症候群の予防対策に莫大な支出を強いられている。
- 2018年度から文科省の科学研究費の新学術領域研究で「配偶子インテグリティの構築」が採択され、生殖細胞系列の受精能力や発生能力を体外培養で再構築することを目指す研究が進められている。
- 2013～2017年に文科省の科学研究費の新学術領域研究で「動物における配偶子産生システムの制御」プロジェクト。このプロジェクトでは、「動物種を越えてPGCやGSC中で機能する細胞自律的な共通メカニズムに注目し、in vivoの解析とともにin vitroで配

偶子産生過程を再現することを目指した。

- 科学技術振興機構の ERATO「齋藤全能性エピゲノムプロジェクト」が 2011 ～ 2018 年まで行われ、生殖細胞のもつエピゲノム制御機構を、解明・再構成し、全能性獲得に至るゲノム制御基盤を明らかにすることを目指した。
- 2011-2012、総務省の戦略的情報通信研究開発推進制度（SCOPE）の支援により、九州大学と富士通の共同研究、「ＩＴ技術を活用した高度放牧管理システム」が実施され、肉牛の放牧を遠隔管理する IT システムの構築の研究が行われた。この ICT を活用した放牧管理システムは農林水産省の「革新的技術開発事業・緊急展開事業」からも助成を受けた。
- 2011 ～ 2013、学術振興会の「頭脳循環を加速する若手研究者戦略的海外派遣プログラム」で、九州大学の「若手研究者による革新的家畜生産学術領域の構築と戦略的国際研究ネットワークの形成」が採択され、牛の代謝プログラミングについて、ドイツ、アメリカと共同研究が行われた。
- 肉牛の代謝プログラミングに関する研究は、科研費による助成と農林水産省の「革新的技術開発・緊急展開事業」及び「食品産業科学技術研究推進事業」などによって助成された。

### （5）科学技術的課題

【家畜の多能性幹細胞とその応用】

家畜ではこれまでキメラ形成能および生殖細胞への分化能の両者を有する多能性幹細胞が樹立されてこなかったが、2015 年にこれらの能力を持つウシ iPS 細胞が日本人研究者によって樹立された[24]。研究は 30 年以上に及んでおり、マウスの研究結果を他の動物で実現させるのがいかに困難であるかを物語っている。本研究には、文部科学省科学研究費が助成されていた。生殖細胞への分化能を有する幹細胞には ES 細胞、iPS 細胞の他に、雄では生殖幹（Germline Stem; GS）細胞が存在する。マウスおよびヒトではでは、ES 細胞および iPS 細胞から体外で始原生殖細胞（Primordial Germ Cell; PGC）様細胞に分化させることに成功しており[25]、GS 細胞は生殖細胞を欠損したマウスの精巣へ移植すること受性能を有する精子を分化させることに成功している[26]。生殖資源の量産に向けて、家畜の多能性幹細胞を樹立するための研究を中長期的に継続して行く必要がある。

### （6）その他の課題

【家畜における基盤技術の強化】

種々の先端研究も、基盤技術が整備されなければ普及しない。牛の受精卵移植技術は現在では 40~50% の率で子牛を誕生させることに成功し、十分に経済的利益を生み出している。しかし、先にも述べた通り、30 年前と比較して受胎率は 10% 程度低下している[27]。AI による胚の判定は新規技術を取り入れたものであるが、繁殖生理学的な解析により根本的な原因究明やそれを克服する手法も重要な課題と言える。一方、ブタでは、体外受精時の正常受精率が低く、その後の発生率、移植後の出生率も牛と比較して低い[28]。従来から行われている基盤技術の強化のための研究には研究費が支出されにくく、研究者人口も減少傾向にある点は憂慮すべきである。

我が国では畜産家が長年かけて育種してきた優良家畜が多数現存し、今後も育成されていくであろう。しかし、和牛が海外から輸入されるという残念な事態が起きている。これらの遺伝

資源の海外流出を食い止める施策（国際的なパテントとその遵守の強化）も重要となってくる。また、国内で肥育される肉牛は黒毛和種が圧倒的多数を占めるが、日本固有種である褐毛和種などは良質な赤身肉を特徴としており、これらの育種や繁殖にも注目すべきである。一方、一戸あたりの家畜飼養頭数は増えているものの、畜産農家の戸数は減少の一途をたどっている。特に酪農家は就労時間が他の畜産農家より大幅に長く、作業の省力化、新規就労者の拡大も大きな課題と言える。

革新的技術によって、鳥インフルエンザウイルスに感染しない鶏をゲノム編集で作製する、経済的な形質に寄与する遺伝子をゲノム編集で改変するなどのアイディアは容易に予想できる。しかし、これらは遺伝子改変動物と同じ扱いになるのか、安全であることが保証されるのか、消費者に受け入れられるのかなど大きな問題も生じうる。かつて、クローン牛について国の食品安全委員会では安全と結論されたが、消費者には全く受け入れられなかった経緯がある。安全性に対して慎重を期すことは重要であるが、研究に過度なブレーキがかからぬよう、どのような目的のためであればどこまでの革新的技術の利用が許容されるのか、研究成果のみならず、畜産研究を発展させる為の国の指針や方策などを国民に発信し、国民の理解を得ることは重要だと考えられる。

牛肉ビジネスは、多額の資金が動くグローバルなビッグビジネスであり今後、ウシを用いた研究成果の社会的要求は高まると思われる。一方でウシの研究では個体の価格が高く、また最終的な産肉量や肉質まで検討しようとした場合、3 ～ 4 年の時間を要する。またウシを維持するための飼料費用や管理するための人件費が高いなどの難点のため、多くの畜産研究者は、ハンドリングが楽でライフサイクルの短いニワトリ、マウス、ラット等のような実験動物研究に流れており、ウシのような大家畜を本格的に扱う人材は著しく減少している。

農場や牧場を所有している大学も全国にあるが、大学の牧場は主として実習という教育目的のために使われている。大学牧場を研究に活用するためには、施設整備の遅れなど、改善の余地があると思われる。また、各地方公共団体における公設の畜産試験場の設備等は充実しているが、そこで働く研究員は数年おきに異動することが多く、ライフサイクルの長いウシについて、長期的な戦略をたてて研究を行うには困難な環境である。大学と公設の畜産試験場が連携する、大家畜のための研究機関等の設置等も今後考慮する必要があるかもしれない。

### (7) 国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | 生殖細胞の基礎研究は質・量ともに世界をリードしている。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | 粗飼料による肉牛飼養研究が展開されている。疾患モデルブタの研究も盛んである。牛受精卵 AI 解析システムがほぼ実用段階に入っている。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | 実験動物を用いた代謝プログラミングの研究が盛んであり、多くの成果が出ている。生殖工学の論文数では群を抜いている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | 医療用家畜の応用研究が盛んである。家畜 SNP チップが開発され、販売されている。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | → | ミュンヘン大学医学部が主催する Early nutrition project が欧州の代謝プログラミング研究をまとめている。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | Early nutrition project で得られた成果が活用されている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 英国 | 基礎研究 | ○ | → | 生殖工学の分野で欧州をけん引している。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ゲノム編集ブタの研究で大きな成果が出ている。酪農の効率化について応用研究が進んでいる。 |
| 中国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | 生殖工学の論文数では米国に次いで 2 位につけている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | 米国、欧州を抜いて世界一の畜産物生産国となっている。効率的な生産管理や環境汚染防止対策に関して積極的な研究が進められている。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | → | 生殖工学研究では存在感があまりない。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | 「韓牛」と呼ばれる良質な霜降り肉を生産する肉牛について、筋内脂肪を高めるための肥育法が研究されてきた。国立畜産科学院を中心に、ブタの育種も盛んである。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル
（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない
（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1）戸田昌平　牛の雌雄生み分け技術　*畜産の情報*、2017 年 6 月号
2）Tetsuji Okazaki, and Masayuki Shimada New strategies of boar sperm cryopreservation: development of novel freezing and thawing methods with a focus on the roles of seminal plasma. *Anim Sci J* 83（2012）: 623.
3）宮部亜津子　他、黒毛和種去勢牛 24 ヵ月出荷体系における肥育前期のバイパスタンパク質飼料補給が肥育成績に及ぼす影響。日本畜産学会報 89（2018）：329.
4）畜産経営対策部　肉用牛肥育経営課、肉用牛肥育経営課肥育期間短縮に取り組む黒毛和種肥育経営。*畜産の情報*、2016 年 12 月号
5）Kazuhiro Umeyama et al., Dominant-negative mutant hepatocyte nuclear factor 1alpha induces diabetes in transgenic-cloned pigs. *Transgenic Res* 18（2009）：697.
6）Hitomi Matsunari et al., Modeling lethal X-linked genetic disorders in pigs with ensured fertility. *Proc Natl Acad Sci* 115（2018）：708.
7）Shunichi Suzuki et al., IL2rg gene-targeted severe combined immunodeficiency pigs. *Cell Stem Cell* 10（2012）：753.
8）Sara Reardon, Gene-editing record smashed in pigs. *Nature News* Sep, 2015（doi:10.1038/nature.2015.18525）
9）Heiner Niemann and Bjoern Petersen, The production of multi-transgenic pigs: update and perspectives for xenotransplantation. *Transgenic Res* 25（2016）：361.
10）Luhan Yang et al., Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses（PERVs）. *Science* 350（2015）：1101.
11）Dong Niu et al., Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. *Science* 357（2017）：1303.
12）Christine Burkard et al., Precision engineering for PRRSV resistance in pigs: Macrophages from

genome edited pigs lacking CD163 SRCR5 domain are fully resistant to both PRRSV genotypes while maintaining biological function. *PLoS Pathog* 13（2017）：e1006206.

13）Mitsui Ikeda et al., Correction of a disease mutation using CRISPR/Cas9-assisted genome editing in Japanese black cattle. *Sci Rep* 7（2017）：17827.

14）島田浩明 肉質等級「4」以上の肥育牛卵子を使って生産する子牛の肉質は優れる 2010「関東東海北陸農業」研究成果情報 26.

15）Kanako Morohaku et al., Complete in vitro generation of fertile oocytes from mouse primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci* 113（2016）：9021.

16）Orie Hikabe et al., Reconstitution in vitro of the entire cycle of the mouse female germ line. *Nature* 539（2016）：299.

17）Peter Gluckman et al., Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. Am J Hum Biol 19（2007）：1.

18）Min Du et al., Fetal muscle development, mesenchymal multipotent cell differentiation, and associated signaling pathways. *J Anim Sci* 89（2011）：583.

19）Kimberly A Vonnahme, How the maternal environment impacts fetal and placental development: implications for livestock production. *Anim Reprod* 9（2012）：789.

20）Takafumi Goto, Potential of the application of epigenetics in animal production. Anim Prod Sci 55（2015）:145.

21）後藤貴文、エピゲノムの食糧生産への活用：代謝プログラミングのウシ産肉制御機構のメカニズム解明と応用。Bio Clinica 31（2016）：100.

22）Khounsaknalath Sithyphone et al., Comparison of feeding systems: Feed cost, palatability and environmental impact among hay-fattened beef, consistent grass-only-fed beef and conventional marbled beef in Wagyu（Japanese Black cattle）. Anim Sci J 82（2011）:352.

23）Yoshiki Shimatsu et al., Production of cloned NIBS（Nippon Institute for Biological Science）and α-1、3-galactosyltransferase knockout MGH miniature pigs by somatic cell nuclear transfer using the NIBS breed as surrogates. Xenotransplantation 20（2013）：157.

24）Takamasa Kawaguchi et al., Generation of naïve bovine induced pluripotent stem cells using piggybac transposition of doxycycline-inducible transcription factors. *PLoS One* 10（2015）：e0135403.

25）Mitinori Saitou and Hidetaka Miyauchi, Gametogenesis from Pluripotent Stem *Cells. Cell Stem Cell* 18（2016）：721.

26）Masanori Takehashi et al., Generation of genetically modified animals using spermatogonial stem cells. *Dev Growth Differ* 52（2010）：303.

27）家畜改良事業団 26 年間の年次別・種類別の受胎成績の比較。
http://liaj.or.jp/giken/hanshoku/jyutai.html

28）Maria A Gil, et al., Advances in swine in vitro embryo production technologies. *Reprod Domest Anim* 45 s2（2010）：40.

## ２．４．５　機能性物質・食品

### (1) 研究開発の定義

本項目では医薬品ではないが、ヒトの身体に様々な影響を及ぼす生物活性物質である、「機能性物質」に着目し、前半では嗅覚を通じてヒトの生活に深い影響を与える「香り」の受容とその利用についての研究開発、後半では機能性成分を含む「食品」をめぐる研究開発について概観する。

環境中を漂う化学物質、「香り」には、動植物が外界の状況を察知したり、他の生物とのコミュニケーションをとる手段として用いられたりする。ヒトにおいては、香りは生活のあらゆる局面で人の心に作用し、生活の質を自然に高めるポテンシャルを持つ。香り、あるいは嗅覚の研究では、ヒトを含む、動植物における香りの受容、意味づけ、香りへの反応の各段階において、そのメカニズムを解明し、利用するための技術開発が行われている。具体的には、ヒトの嗅覚の仕組みに基づいた香りを設計、制御する技術、香りがヒトに及ぼす影響を科学的に評価する技術、ヒューマンインターフェースとして香りを再現する技術などがある。

また農林水産物や食品には各種機能性成分が含まれており、機能性成分のヒトへの効果を事業者自らが検証して機能性表示食品として販売することが 2015 年より可能となった。本研究開発領域は、産業の高まりと連動した新たな機能性の評価法の確立や機能性農林水産物の科学的根拠獲得に関する研究開発を通して、「食」を通じた人々の健康維持・増進に寄与することを目指す技術の確立を目指すものである。

### (2) キーワード

香り、フェロモン、アレロパシー、嗅覚、嗅覚受容体、遺伝子多型、脳機能計測、嗅覚ディスプレイ、嗅覚センサー、機能性表示食品、特定保健用食品、栄養表示食品、機能性（関与）成分、機能性農林水産物、栄養健康機能性、健康・軽度不調評価

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

【機能性物質】

香りは生活のあらゆる局面で人の心に作用し、生活の質を自然に高めるポテンシャルを持つ。ヒトでは約 400 種類もの嗅覚受容体がある上、各々が多数の香り物質を受容する。さらに嗅覚受容体遺伝子には多型があり、遺伝型により香りへの応答性が異なる。また香りは経験や文化、体調などの影響を受けて感じ方や嗜好が変わりやすい。その個人差を客観的に評価する技術が未熟であることから、香りの機能のエビデンスレベルが低く、香りを利用する上でボトルネックとなっている。

従って、「香り」を利用して生活の質を高めるサービスや産業創出のためには、香りの感じ方や個人差の客観的評価技術を開発することが重要である。具体的には、嗅覚受容体遺伝型や脳活動・生理反応計測の情報から、個人の香りの感じ方を客観評価／予測する技術を開発し、香りの機能のエビデンスレベルを高めることが必須だと考えられる。この技術をもとに、心の健康が高まるサービスを提供できる技術基盤開発、民族の遺伝的背景を考慮したテイラーメイド的な香りサービスの世界展開、おいしく健康的で楽しい食事が世界中で可能となる、といっ

たような技術開発が可能になると考えられる。

一方で、生活環境中の様々な香りを検出する香りセンサーの開発や、香りの記録、バーチャルリアリティーや拡張現実（VR や AR）における香りの再現のための研究開発など、香りをめぐる研究開発においては日本が世界に先駆けてきた部分が多くある。

【機能性食品】

機能性表示食品市場は 2015 年 4 月に制度が施行されてから右肩上がりの成長を続け、2018 年度は 1975 億円に達する見込みとされている。特に、脂肪・糖の吸収抑制、血圧正常化、整腸、肌の潤い、アイケア、ストレス対策、歩行機能の改善、認知機能改善などがヘルスクレームとしては多い。しかし、機能性農林水産物についてみると、生活習慣病対策食品は特定保健用食品（トクホ）との差別化が難しいこと、農林水産物は複合食品であって明確な機能性効果が期待できないこと、対照群（プラセボ）が設計しにくいことなどから、臨床試験において境界領域の被験者を厳しく選択するなどしないと肯定的な結果を得にくい特徴がある。そこで、機能性評価の方法については、農林水産物はサプリメントなどとは異なることを意識して , 農林水産物に適した評価を考えていく必要がある。特に、疾病に至る前の段階である未病領域や健康に近い軽度不調領域における機能性評価手法を確立して、健康の維持増進を農林水産物・食品や食生活の選択によって実施していく新たな「食」による健康維持増進システムの開発が急務である。

［研究開発の動向］

【機能性物質】

● 香りを感知する嗅覚受容体とその多型に着目した研究開発

特定の香りを感じさせる香り物質を探索する際、従来はヒトの鼻で香りを評価する必要があり、スクリーニングできる物質の数が限られていた。一方近年、約 400 個のヒト嗅覚受容体の培養細胞系での機能的発現報告例が増えてきており、ハイスループットで香り物質をスクリーニングすることが可能となってきた。これにより、望ましい香りの質を持ちながら、より安全、安価で、環境負荷の低い香料を開発する道が開けてきた。

各々の嗅覚受容体がコードしている香りの質がわかりつつあり、例えば食品開発で甘い香りを演出したいとき、甘い質感をコードする受容体に着目して効率的に香りを選抜できるようになることが期待される。さらに嗅覚受容体の多型が香りの感じ方の個人差に及ぼす影響が解明されつつあり、遺伝型の影響を受けにくいユニバーサルに甘い香りや、特定の消費者の遺伝型に最適な甘い香りをデザインすることも可能となるだろう。

嗅覚受容体の情報は、悪臭の制御にも利用され始めている。従来の悪臭制御は、中和反応を利用した化学消臭、悪臭を多孔質表面に吸着させる物理消臭、別の香り物質を付加する感覚消臭（マスキング）が主軸であった。しかし近年嗅覚受容体のリガンドが明らかになるにつれ、問題となる悪臭を認識する嗅覚受容体が同定できるようになり、その活性化を阻害するアンタゴニストを利用した消臭技術が実用化されるようになった。今後、応用範囲が広がり、QOL の向上に繋がることが期待される。

嗅覚受容体の多型情報は産業利用の期待がかかっている。1000 ドル程度で個人の全ゲノム配列が決定できるようになった現在、医療の分野では、患者のゲノム情報に合わせて治療法を

カスタマイズする「プレシジョン・メディスン」が推進されている。香りの利用においても、個々人の感性・ニーズにあわせた「プレシジョン・フレーバー」をデザインすることが、世界的な潮流になると予想される。遺伝型の多型を加味した香り制御は、個人差の大きい悪臭の制御にも、新規な対策方法を提供できる可能性がある。

● 匂いセンサーの開発

ヒトの官能試験に頼らない、様々な匂いの客観的な検出を目的として、「匂いセンサー」の開発が進んでいる。大別すると、香り物質の物理化学的な性質を検出し、その濃度を計測するガスセンサータイプと、生物の嗅覚受容体を利用したバイオセンサータイプに大別される。

やや古典的なガスセンサーとしてよく知られているものに、水晶振動子（QCM）を利用したガスセンサーがある。これは、センサーに付着した分子の質量に比例した信号を検出でき、比較的安価で加工しやすいことから様々な香り分子の検出の研究に用いられている。応答特性が異なるQCMセンサアレイを用いることで、洋酒や香水の香り、バラの品種などを識別することができ、また、毒性物質の検出に使われることもある[1)]。QCMセンサアレイから得られた信号パターンの特徴検出や、元の香りの種類を識別するには、様々な統計学的手法に加えて、ニューラルネットワークや学習ベクトル量子化法（LVQ）などを用いることがある[2)]。また、近年、膜型表面応力センサー（Membrane-type Surface Stress Sensor: MSS）を用いた、「人工嗅覚システム」の開発競争が繰り広げられている[3)]。

【機能性食品】

日本において機能性農産物・食品では、1991年から制度が始まったトクホを中心に研究開発が進められてきた。この制度では個別審査型のため、機能性成分の同定、作用機作の解明、安全性の担保、ヒト介入試験（無作為割付並行群間比較試験；RCT）による機能性の検証などが行われ、それぞれの食品、成分について審査され表示が許可されてきた。2001年からは栄養機能食品制度が施行され、ビタミン6種、ミネラル13種、n-3系脂肪酸については、含量を決められた範囲内に収めることができれば、生鮮食品でも決められた機能の表示を届出等なしに容器包装に記述することができる。2015年に制度が施行された機能性表示食品では、主観的なスコアを使用してRCTを実施することや身体の部位表現も可能となったため、機能性の表示範囲が特定保健用食品より広がった。しかし、機能性農林水産物の評価は、プラセボを設計しにくい、複合食品であり機能性関与成分含量が少ないためマイルドな効果なので、群間比較では効果（有意差）が出にくい、という点で難しい。

今までの機能性評価は、生活習慣病を中心として内臓脂肪軽減、血圧正常化、血糖上昇抑制、中性脂肪上昇抑制、コレステロール改善、腸内フローラ改善、目の焦点調節改善、膝関節違和感緩和、疲労感軽減、睡眠改善、ハウスダストによる目や鼻の不快感軽減、骨の健康維持、認知機能改善、末梢体温維持、肌保湿・うるおい維持、健康な肝臓機能維持、筋肉維持、歩行能力維持、脚のむくみ軽減などについて実施されてきた。

また、農林水産物の機能性は、機能性をもつ農林水産物・食品開発プロジェクト[15)]（農林水産省補正予算、2012-2015年度、総額20億円）において、RCTにより検証されてきた。このプロジェクトの目的は、国立・公立研究機関、大学、民間企業等が連携して、健康上のリスク低減等に効果が期待される農産物やその加工品の開発及びそれらの生産・流通技術の確立を行うとともに、医療機関との連携により、農産物やその加工品について、疾病リスク低減への影

響をヒト介入試験にて評価し、栄養・機能性、安全性、特性情報等を盛り込んだ農林水産物データベース[16]を構築して、個人の健康状態に応じたテーラーメイドな提供システム・栄養指導システムの開発を行うことである。本プロジェクトでは、急激な血糖値上昇を抑制する高アミロース米、高β-グルカン大麦、小麦全粒粉、玄米、高テルペノイドゴーヤ、脂質代謝を改善する高リコピン人参、高タンパク大豆、高ルチンダッタンそば、高メチル化カテキン緑茶、肝機能を改善する高β-クリプトキサンチンカンキツ、認知機能を改善する高ケルセチンたまねぎ、睡眠機能を改善する亜鉛・アスタキサンチン高含有牡蠣・鮭の検証が行われた[15]。生活習慣病に関する評価が多く、プラセボは機能性成分を含んでいないか少量である同じ品目の農産物を供試し、1群50人、12週間摂取後の群間差を検証した。例えば、大麦の試験では、β-グルカンを多く含むもち麦「キラリモチ」をアクティブとし、遺伝資源から探索したβ-グルカンを含まない大麦系統bglをプラセボとして使用し白米に50%混合したパックご飯を被験食とした[17]。大豆の試験では、β-コングリシニンを多く含む「ななほまれ」をアクティブ、β-コングリシニン含量が「ななほまれ」の約1/6の「なごみまる」をプラセボとした。農林水産物の場合は毎日同じものを多量に摂取し続けることが困難なため、乾燥フレーク、豆乳、蒸し大豆と喫食形態を変えて、1週間の中で、フレーク　7パック、豆乳　3パック、蒸し大豆　4パックを適宜選択してもらうことで機能性関与成分含量を担保するようにした。また、機能性農林水産物を組み合わせた機能性弁当のRCTも実施された[1) 9)]。比較対照は、機能性農林水産物を使用しない「おかず」（レシピは20種類設計）、「茶」（麦茶）及び「米飯」（白米）の対照食品（プラセボ）、被験食品は、機能性農産物を使用した「おかず」、「茶」（カテキン高含有「べにふうき」緑茶）及び「米飯」（50%大麦「キラリモチ」および玄米）であり、4群に無作為に割り付け、3ヶ月間平日の昼食時のみ喫食した。全ての弁当のエネルギーは約700kcal、タンパク質は約28g、脂質は19g、炭水化物は約100g、塩分2.2gであった。3ヶ月後、内蔵脂肪面積は被験米飯摂取で減少し女性で有意差が認められ、食生活全体の変化と機能性農産物を使用した機能性弁当の連続摂取により、内臓脂肪面積の低減効果等が期待された。

オランダ応用科学研究機構（TNO）ではThe International Life Sciences Institute（ILSI）のサポートを受け、2012年から、Phenotypic Flexibility（PhenFlex）Project　(2015-2017)；食事性のストレスを与えた時に生じる代謝産物を網羅的に解析することで、ホメオスタシスに関連する、バイオマーカーを明らかにするプロジェクトを実施した。食品摂取後数時間で変化する160個の既知・新規のバイオマーカーをすでに明らかにしている。また、欧米ではパーソナライズドニュートリションのためのヘルスケアセンシングデバイス（生体成分を汗から計測するセンサー、涙から血糖値を測定するコンタクトレンズ、心拍等を光学的に測定するバンド等）やアプリ開発も積極的に行われていて、疾病に至る前の段階である未病領域や健康に近い軽度不調領域における機能性評価手法を確立して、健康の維持増進に貢献する食品や食生活を明らかにしようとする研究開発が活発になってきている。日本においても、農林水産物のような複合食品で機能性を評価する手法の開発が必要である。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

【機能性物質】

● 嗅覚受容体を利用した香料開発

2004 年に Duke 大学のグループが、嗅覚受容体の機能的発現を向上させるシャペロン分子を発見したことにより、香りと受容体の対応付けが劇的に進んだ[4]。また、培養細胞系を用いた嗅覚受容体機能解析についても改善がされて、ハイスループットのスクリーニングが可能になっている[5]。例えば、この技術で得られたムスク受容体は、産業的に重要なムスク香料のスクリーニングに有用となっている[6]。また、嗅覚受容体のアンタゴニストを利用した消臭技術の実用化の例が出てきている。ジャーゲンズナチュラルグローは基材の不快臭の抑制にこの技術を利用している。また、花王株式会社による嗅覚受容体の応答パターンを利用した消臭技術の開発（悪臭抑制剤、特許 5646255。匂い抑制物質の選択方法、特許 WO2016/194788A1 など）。

● 嗅覚受容体の多型情報の産業利用

最近、多数の香り物質に対する官能評価のデータを収集し、香り物質の化学的特性から香りの知覚を予測するアルゴリズムが発表された[7]。同チームを含むいくつかの研究グループでは、嗅覚に関わる遺伝型と香りの知覚の個人差との関係についての大規模なデータ収集も始めている（米国モネル化学感覚研究所 Mainland 博士、米国ロックフェラー大学 Vosshall 博士・Keller 博士）。米国の VINOME 社は、顧客の遺伝型を分析し、遺伝型に合うワインを推薦するビジネスを展開している[8]。詳細は公開されておらず科学的な信憑性は不明であるが、ゲノム情報を利用した、新しい香りビジネス形態の先駆けといえる。

● 香りに対するヒトの脳活動や生理反応を活用した研究開発

ヒトが香りから感じる「香りの質」の基礎となるのは、嗅覚受容体の応答パターンである。しかし、ヒトが香りから感じる印象は、その人の経験や体調、香り源の見た目など様々な要因の影響を受けて変化することが知られている。現在、そのようなトータルな意味での香りの印象は、官能評価（評価者に香りを嗅いでもらって、質問に回答してもらう方法）を用いて計測されている。しかし、質感の官能評価は難易度が高いため、客観的な評価方法が求められている。近年、ヒトの脳の活動を測る脳機能イメージングの解析手法が発達し、脳の活動からその人の思考を解読する、脳情報の解読が可能となってきた。今後、脳活動データからその人の香りの感じ方を可視化する技術を開発することにより、より良い香りサービスが実現できると期待される。脳情報の解読については、視覚の研究分野では、機能的核磁気画像共鳴法（fMRI）で取得した脳活動データから、その人が見ていた映像を解読できるまでに技術が進んでいる[9]。この技術は、視聴者が知覚している印象を定量的に捉えるサービス「NeM sweets DONUTs」として実用化されている。香りについては、まだ基礎研究の段階にあるが、fMRI によって計測した脳活動データから、感じている香りの質感を解読した研究が報告されはじめている[10]。また、脳波計測において、嗅覚事象関連電位を詳細に見ることによって、嗅いでいる香りに対する注意度を測れるし、香りの意味記憶の一致度を 300-400 msec にでる N400 という信号の大きさによって測ることができるようになっている[11]。

● 生物の嗅覚受容体を利用した嗅覚センサーの開発

生物の嗅覚受容体を利用した嗅覚センサーは、近年、目覚ましく開発が進んでいる分野である。ヒトの嗅覚受容体は約 400 種類しかないのに、ヒトは数万の香りをかぎ分けられるとされ

ている。これは、構造が似た異なる香り分子を一つの受容体が異なる強度で認識し、また、複数の嗅覚受容体が協調することによって生み出されたパターン認識により、多くの香り分子をかぎ分けているのではないかと考えられている。大阪大学の黒田俊一教授らのグループは、特定の香り分子に応答する嗅覚受容体群を特定すれば、このパターン認識機構を解明できると考え、マウスの嗅覚神経細胞のセルアレイを開発した。このセルアレイは、マウスの嗅覚神経細胞群を 1 細胞ずつ保持することができ、嗅覚受容体が香り分子と反応する際に生じる、細胞内 Ca 濃度変化をリアルタイムで蛍光として計測することで、特定の香り分子に反応する嗅覚受容体群を特定することができた[12)]。この技術は、任意の香り分子だけを高度に検出するバイオセンサーへの応用が期待されている。

一方、遺伝子工学を駆使して、嗅覚受容体を本来とは異なる細胞で強制的に発現させても、十分な活性を発揮しないことから、生物の嗅覚受容体を用いた嗅覚センサーの開発は難しいものと考えられてきた。しかし、2010 年、東京大学の竹内昌治教授が率いる研究グループは、昆虫の触覚に存在するフェロモン受容体を発現させた細胞をチップデバイスに搭載し、細胞がフェロモン刺激に応答する際に生じる微弱電流を計測することで、香りを選択的に高感度で検出することができるようになった[13)]。現在では、ヒトの嗅覚受容体を搭載した嗅覚センサーの開発も行われている。

【機能性食品】

ASEAN を含めたアジア諸国（台湾、韓国、タイ、ベトナム、インドネシア、シンガポール等）では、日本で実施されている機能性表示食品制度に非常に注目している。アジア諸国では、非感染性疾患（がん、生活習慣病など）が急増しており、その予防対策の１つとして機能性食品が使えるのではないかということで研究開発が進んできている。機能性表示食品制度は、生鮮食品の機能性や安全性について事業者自らが責任を持って届出を行って、容器包装に機能性を表示できる制度ということで、各国で栽培されている農林水産物やハーブに新たな付加価値を付与することができるのではないか、また、国民の健康維持・増進に寄与するのではないかという期待が大きい。



［注目すべき国内外のプロジェクト］

【機能性物質】

- 東京大学の東原が率いる「ERATO 東原化学感覚シグナルプロジェクト（2013-2017）」では「匂い」「味」「フェロモン」といった化学感覚シグナルが情動や行動を引き起こすまでの生体内のメカニズムを、モデル生物として主にマウスを用いた研究が展開された。特筆すべきは、動物だけでなく、嗅覚がないかとも思われる植物の「嗅覚受容体」にせまった研究も展開された。昆虫に食べられた植物は、揮発性の危険情報シグナル物質を発して近隣の植物に危険信号を伝達する（アレロパシー）と言われてきた。植物体内で、揮発性の匂い物質と結合して遺伝子発現制御に関わる転写制御因子を特定し、植物では転写制御因子が匂い物質を感知する「匂い受容体」として機能している可能性を初めて示唆する結果となった[14)]。
- 内閣府が主導する「革新的研究開発推進プログラム（ImPACT:2014 ～ 2018）」において、九州大学の都甲潔教授が率いる「人工嗅覚システム」の研究が展開された。

- NEDOの「新産業創出新技術先導研究プログラム」にて、東京大学と高砂香料工業株式会社の共同研究による、ヒト嗅覚受容体を利用した「匂いセンサー」の開発が進められている（2018年度採択、1年間の予定）。
- 東京大学の竹内が率いるERATO竹内バイオ融合プロジェクト（2010～2015）では、昆虫の嗅覚受容体を利用した匂いセンサーの開発が行われた。
- JST未来社会創造事業の、「ヒューメインなサービスインダストリーの創出」で、東京工業大学中本高道教授が率いるグループが「ヒューマン嗅覚インターフェースによる香りの再現とその応用」という課題で嗅覚ディスプレイの開発を行っている。本課題では、いくつかの要素臭を作成し、それらの組み合わせで様々な香りをVRのヘッドセットなどで「再現」する研究開発事業である。同じ枠組みで、東京大学の東原和成教授が率いるグループが「香りの機能拡張によるヒューメインな社会の実現」という課題で、嗅覚の仕組みに基づいて香りを設計・制御する技術、香りがヒトに及ぼす影響を評価する技術を用いて、香りの新たな機能・効能を引き出すサービスの創出に取り組んでいる。
- 米国ではNIHの一部門であるNational Institute on Deafness and Other Communication Disorders (NIDCD) がTaste and Smellセクションを持っていて、基礎から応用までの幅広い香りの研究をサポートしている。
- 米国国立科学財団（NSF）は2015～2019年の5年間で嗅覚研究に1500万ドル（約16.6億円）の助成を行うことを決めた。主な研究テーマは、自然環境下での嗅覚による探知行動のメカニズム、昆虫の嗅覚神経回路の解析、哺乳類の嗅覚の認知と意味づけの仕組みの3つで、17人のPIが参加している。この研究助成は米国の「ブレイン・イニシアティブ」の一環として実施される。
- EUのHorizon2020では、NANOSMELLと題する嗅覚研究プログラムに対し、2015～2019年の5年間で約400万ユーロ（約5億円）の助成が行われている。5研究室が参加し、脳での嗅覚認知からDNAナノロボットを用いた合成香料を用いたディスプレイといった応用研究までをカバーしている。
- スウェーデン国立人文・社会科学基金により、嗅覚の意味づけ、記憶、増強、認知症との関係といった心理学的な7つの課題に対し、2600万クローナ（約3000万円）が助成されている。

【機能性食品】

機能性農産物や食品に関する研究では、国の委託プロジェクト等において生活習慣病予防食品開発を中心に多数実施されてきた。以前は、細胞試験や動物試験が散見されたが、近年はRCTを実施して効果を明らかにすることが多くなった。

内閣府のバイオ戦略検討ワーキンググループでは、食のヘルスケア産業創出による健康増進社会の実現（高機能食品、安心安全な食品、健康寿命の延伸、農林水産物の輸出拡大）に言及し、今後の方向性としては、日本人・日本食を対象に大規模コホート研究を推進することが議論された。具体的には、食品の健康維持・増進効果に関する科学的エビデンスや食品中の含有成分データの取得・解析等による、画期的な機能性作物（食品）の開発 、日本人（アジア人）に特化した健康、軽度不調センシングシステムの開発、農林水産物（生鮮食品）の特性に応じた健康維持・増進効果評価手法の確立、健康、軽度不調センシングシステムと健康維持・増進

効果を持つ食品・日本食を組み合わせた食生活プロトコル（セルフ・フードプランニングシステム）の構築とモデル地域での実証、研究の進展に伴い蓄積される科学的根拠の保健機能食品制度への反映、機能性成分分析法や健康維持・増進効果評価手法の規格化・国際標準化、などを挙げ、戦略的イノベーション創造プログラム（SIP）やPRISMで取り組むべきとしている。第2期SIPでは、「スマートバイオ産業・農業基盤技術」の中の（A）「健康寿命の「食」を通じた新たな健康システムの確立」（①健康状態の指標化と「軽度不調評価システム」の開発、②農林水産物・食品の健康維持・増進効果に関する科学的エビデンスの獲得、③腸内マイクロバイオームデータの整備と機能性食品のプロトタイプによる検証、④農林水産物・食品健康情報統合データベースの開発）の課題が公募され、2018年冬から実施されている。

またJSTの未来創造社会事業「世界一の安心・安全社会に実現」領域で、健康寿命延伸のためのヘルスセンシング技術開発に関する研究が進められている。

### （5）科学技術的課題

【機能性物質】

嗅覚受容体遺伝型の情報から香りの感じ方の個人差を予測する要素技術の開発において、最も困難が予想されるのは、嗅覚受容体のリガンド同定である。ヒトの嗅覚受容体396種類のうち、受容する香り物質（リガンド）が同定されている受容体は、現在のところ数割程度にとどまっている。その原因の一つは、全受容体を対象としたスクリーニングシステムの構築・運用に技術力と労力を要することである。もう一つの問題は、一部の受容体の培養細胞系での機能的発現の困難さにある。

香りの感じ方を客観的に評価する脳活動計測および解析技術は、視覚に比べて大幅に遅れている。その原因の一つは、計測に適した香りの呈示が技術的に難しい点にある。また、香りを表現する言語の種類が乏しいこと、香りの感じ方は人によって異なるだけでなく、文脈依存的にも変化することにある。一方、産業応用に向けては、より鋭敏で高度な解析方法を適用する必要があり、この点についても困難となっている。脳活動解読技術と人工知能の技術を融合させた、視覚的印象解読システムの実用化に習って開発を進める必要がある。

ヒトの嗜好や食欲、摂食行動と香りの関係については学際的な知見が蓄積している。また、アロマセラピーに代表されるように、経験的な香りの効果の知見は豊富に存在する。しかし、香りの影響や効果を、客観的・定量的に評価し、エビデンスを得る過程が困難である。その理由は、香りの生理影響や知覚を客観的に評価する技術が未熟である点と、香りの影響には個人差が大きく、再現性のある知見を得るのが難しい点にある。

【機能性食品】

ヒトはそれぞれ健康―軽度の不調―未病―疾病のような状態にあると考える。日本人の健康寿命、労働活動寿命を延伸するためには、疾病になる前の、特に、軽度の不調を早期に検出し、早期に介入して健康状態に戻すようなシステムを開発する必要がある。軽度の不調である一過性の精神的なストレスについて考えると、12歳以上でストレスを抱える日本人は48%（2016年調査による）おり、自律神経の乱れがストレス関連疾患（うつ、高血圧、冠動脈疾患、腰痛、潰瘍、糖尿病、肥満症、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、眼精疲労、ミニエール病、筋収縮性頭痛、顎関節症）を引き起こすとされる。そのため、心拍計や脈波計により自律神経の乱れを

計測してリアルタイムでストレス状態を可視化することが必要である。また、簡易脳波センサー等により睡眠中の脳波変化を計測し、睡眠の質（深さ、リズム）を判定することも必要である。

健康維持・増進のためには、健康状態を高精度・簡易・非侵襲・リアルタイム・経時的なセンシングを行って軽度体調変化判定システムを構築し、軽度不調を改善する農林水産物、食品を開発する必要がある。このような個人の軽度不調を評価するシステムを作るためには、1万人程度の観察研究（血糖、脂質、終末糖化産物、バイタル、生活習慣、食生活、健康状態、ゲノム情報、代謝マップ、腸・口腔・皮膚等のマイクロバイオームデータなどのデータ蓄積）が必要ではないかと考えている。また、時期によって状態も変化するため、四季のデータ取得も必要である。今後は、このような今までの評価とは全く異なる機能性評価手法の開発を積極的に行って、機能性表示評価手法を活用して新たな機能性農林水産物・食品を開発し、これらを活用した食生活を提案し、健康寿命の延伸をはかることが重要である。

このようなシステムが開発できれば、ウエアラブルの計測機器とスマートホンを利用して個人の日々の健康状態を計測し、健康維持・増進に貢献する機能性食品や食事を摂取して毎日の健康管理を行うことが可能となる。

### （6）その他の課題

【機能性物質】

日本には嗅覚を含む五感の基礎研究をサポートするプログラムは今まで存在しない。五感の研究に関して現在までにサポートするプログラムが走っていない理由として、AMED、JSPS、JST のどこかに 100% マッチするものではなく、縦断する複合領域であることが挙げられる。ヒトの QOL および健康は外界の状況に応じて変化するものであるので、そのインプットである五感に関する研究は、健康寿命や未病が着目されている現在、重要かつ急務を要する研究領域であると言える。現在、日本では、嗅覚ディスプレイや各種嗅覚センサーの開発など、大規模な応用研究が進められているが、香りの感じ方の客観評価や、香りの意味付けの理解が進まなければ、応用研究の展開も、限定的なものとなってしまう。米国や欧州での嗅覚研究への投資は、基礎研究と応用研究がセットになっていることからもわかるように、応用研究推進のためには基礎研究のさらなる深化は必須である。また、香りの研究は、基礎研究から応用研究までを見渡すと、化学感覚、神経科学、脳科学、人文・社会科学、工学、AI や機械学習といった情報科学など、極めて多分野に渡る研究者が同一のプログラムに参加できるような、分野横断的な取り組みも必要である。

【機能性食品】

日本では、機能性食品に関しては、２つの制度が関わっている。それは、機能性を表示する機能性表示制度及び機能性関与成分の分析法の規格化に関する制度である。それぞれ、各国で異なった表示制度があり、各国の戦略で分析法の規格化が進められている。特に、日本の機能性表示食品制度は世界で唯一、農林水産物（生鮮食品を含む）を届出により機能性表示することが認められている制度であり、ASEAN 諸国を中心に大きな注目を集めている。

今後、本研究開発をグローバルに推進するためには、機能性食品表示制度を ASEAN 中心にハーモナイズすることや機能性成分の標準化分析法を国際基準化（JAS 規格を含む）していく必要がある。

日本国内の機能性表示制度に関しては、前述したように、農林水産物（生鮮食品を含む）独自の機能性評価手法を定めるとともに、今後は個人の健康状態のリアルタイム・経時的計測が広がっていくことを考えると、現行の RCT で基準となっているプラセボとの群間差より個人の摂取前後の群内差についても重要性を討議していく必要がある。さらに、個人の健康情報などのやりとりが頻繁に行われるようになるため、パーソナルヘルスレコードのシステムなどについての基準も定めていく必要がある。

### (7) 国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | → | 【機能性物質】<br>・嗅覚受容体とそのリガンドの特定、香りの意味づけ、嗅覚受容体アンタゴニズムの発見など、嗅覚の基礎となる分子メカニズムの解明において世界をけん引する研究が展開されている。<br>【機能性食品】<br>・高機能作物の機能性成分データベース開発が国研で実施され、国研、都道府県では独自の機能性農産物の探索が行われている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | 【機能性物質】<br>・ImPACT や ERATO など、大規模な研究プロジェクトで嗅覚センサーや嗅覚ディスプレイの開発などが行われており、その研究開発競争においては、米国と 1，2 位を争う位置につけている。<br>【機能性食品】<br>・2015 年 4 月施行機能性表示制度により、機能性生鮮食品への関心が、自治体、企業、JA 等で高まり、県独自の機能性食品開発支援事業が多くの県で立ち上がり、農林水産省食料産業局の支援事業も多く進行中である。企業による新たな機能性成分の探索も積極的に行われている。<br>・既存のシステマティックレビューを用いて、機能性表示の届出を行うため、機能性成分の安定化を図るための技術開発研究が、大学、国研、公設試で積極的に行われている。 |
| 米国 | 基礎研究 | ○ | → | 【機能性物質】<br>・モネル研究所など、味覚・嗅覚といった化学感覚研究の基礎研究が充実している。基礎と応用をセットにした一体型の研究開発が行われている。<br>【機能性食品】<br>・デザイナーズフーズ計画（NCI）ではがん予防に効果的な抗酸化性の高い約 40 種のデザイナーズフーズピラミッド（農作物のリスト）を作成した。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | 【機能性物質】<br>・嗅覚ディスプレイ、嗅覚センサ、ともに激しい研究開発競争が展開されている。自閉症やアルツハイマー病と嗅覚の関係についても研究が展開している。<br>【機能性食品】<br>・機能性食品（体の調子を整える栄養成分を強化した食品）では、ヨーグルト、食物繊維含有シリアル（消化管の健康、心臓病予防）、栄養成分添加ジュースなどが開発上位にある。<br>・ブロッコリスプラウト（スルホラファン）等機能性野菜開発も実施。<br>・AOAC では様々な機能性成分の分析法が規格化されている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | → | 【機能性物質】<br>・Horizon2020 での大規模研究プログラムもあるが、ドイツの大学で、神経科学からアプローチする嗅覚研究が盛んで、米国に次ぐ論文数を誇る。<br>【機能性食品】<br>・ポリフェノール（ファイトケミカル）に関する研究が盛んで、ブドウ、ベリー類、にんにくなどが研究対象。<br>・疫学研究が多数実施されており、特に地中海食（オリーブ油、ナッツ、トマト等野菜、全粒粉パン、魚介類）と疾患との関連性を解明。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | 【機能性物質】<br>・ハンチントン病やアルツハイマー病など、様々な疾病と嗅覚センシングの関係について旺盛な研究が展開されている。<br>【機能性食品】<br>・健康の新たなマーカー探索、健康に寄与する栄養・健康機能性成分探索、機能性食品開発が EU 全体（大学、企業、国の機関の連携）でプロジェクトとして実施されている。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | － | 【機能性物質】<br>・発表論文数も少なく、存在感がない。<br>【機能性食品】<br>・漢方薬的動植物やその抽出物の機能性研究、生理作用の解明に基づく機能物質の探索を実施（トウモロコシペプチド等タンパク質、ペプチド、食物繊維、藻類等） |
| | 応用研究・開発 | ○ | － | 【機能性物質】<br>・Scopus の論文数検索によると、e-nose と呼ばれる嗅覚センサ（生物受容体を搭載しないもの）の開発は良く進んでいる。<br>【機能性食品】<br>・保健食品、普通健康食品とも急速に開発が進み（CFDA によると 2014 年は 2010 年の 3 倍の消費額で 3000 億元）、免疫力強化、疲労回復、栄養補助の順で上市が多い。<br>・機能性農産物として、Se、Zn、Ca を強化した農産物（コメ、茶、野菜）の開発を推進。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | － | 【機能性物質】<br>・発表論文数も少なく、存在感がない。<br>【機能性食品】<br>・機能性食品素材として、告示型原料 67 種（栄養素（ビタミン、ミネラル、食物繊維））と 28 種（人参、クロレラ、緑茶抽出物））、個別認定型原料 243 種（食品医薬品安全処長 MFDS が個別に認めたもので、キキョウエキス、トウキの根エキスなど）が使用可能である。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | 【機能性物質】<br>・目立った動きはない。<br>【機能性食品】<br>・キムチ等韓国伝統食の健康への寄与について乳酸菌、野菜、香辛料について研究応用がなされている。<br>・FOODPOLIS を中心に機能性食品開発が実施されている。特に、2018 年に全州に農業振興庁や韓国食品研究所の機能性研究部門が集約され、一体的に研究が進められるようになる。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## （8）参考文献

1）高野光雄ら、水晶振動子型においセンサを用いたバラの香りの測定。*におい・かおり環境学会誌* 36 巻 6 号、（2005）：345。
2）Nitikarn Nimsuk and Takamichi Nakamoto, Improvement of robustness of odor classification in dynamically changing concentration against environmental change. *Trans IEEJ* 128（2008）：214-218.
3）Kota Shiba et al., Functional nanoparticles-coated nanomechanical sensor arrays for machine learning-based quantitative odor analysis. *ACS Sens* 3（2018）：1592.
4）Harumi Saito et al., RTP Family Members Induce Functional Expression of Mammalian Odorant Receptors. *Cell* 119（2004）：679.
5）Sayako Katada et al., structural basis for a broad but selective ligand spectrum of a mouse olfactory receptor: mapping the odorant-binding site. *J Neurosci* 25（2005）：1806.
6）Narumi Sato-Akuhara et al., Ligand specificity and evolution of mammalian musk odor receptors: effect of single receptor deletion on odor detection. *J Neurosci* 36（2016）：4482.
7）Andreas Keller et al., Predicting human olfactory perception from chemical features of odor molecules. *Science* 355（2017）：820.
8）https://www.vinome.com
9）Alexander G. Huth et al., Decoding the semantic content of natural movies from human brain activity. *Front Syst Neurosci* 10（2016）article 81.
10）James D Howard et al., Odor quality coding and categorization in human posterior piriform *cortex. Nat Neurosci* 12（2009）：932.
11）Jonas K Olofsson et al., A designated odor–language integration system in the human brain. *J Neurosci* 34（2014）：14864.
12）Msato Suzuki et. al., Deciphering the receptor repertoire rncoding specific odorants by time-lapse single-cell array cytometry. *Sci Rep* 6（2016）：19934.
13）Nobuo Misawa et. Al., A Highly Sensitive and Selective Odorant Sensor using Living Cells Expressing Insect Olfactory Receptors. *Proc Natl Acad Sci* 107（2010）：15340.
14）Ayumi Nagashima et al., Transcriptional regulators involved in responses to volatile organic compounds in plants. *J Biol Chem*（2019）in press.
15）http://www.naro.affrc.go.jp/project/f_foodpro/files/results_collection.pdf
16）http://www.naro.affrc.go.jp/nfri-neo/contens/ffdb/index.html
17）青江誠一郎ら、内臓脂肪蓄積に対する高ベータグルカン大麦ご飯の影響：プラセボ対照二重盲検比較試験。*肥満研究* 21 suppl.（2015）：191。
18）Mie Nishimura et al., Improvement of triglyceride levels through the intake of enriched- β -conglycinin soybean（nanahomare）revealed in a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutrients* 8（2016）：491.
19）山本（前田）万里ら　機能性農産物を使用した弁当のメタボリックシンドロームへの影響を検証するヒト介入ランダム化プラセボ対照比較試験。*日本食品化学工学会誌* 64 巻 1 号（2017）：23。

## 2.5 健康・医療

### 2.5.1 中分子医薬

#### (1) 研究開発領域の定義

中分子医薬品の明確な定義は定められていないが、本稿では低分子医薬品と高分子医薬品の中間程度の分子量（500 ～ 3,000）の医薬品を中分子医薬品として扱う。研究開発対象の化合物はペプチド、核酸や天然物（マクロライドなど）が中心であり、低分子医薬品の特長である細胞内移行性と、高分子医薬品の特長である標的への高い結合能や選択性を併せ持つ中分子医薬品の創出に期待が寄せられている。

#### (2) キーワード

中分子化合物、Macrocycles、タンパク質間相互作用（PPI）、PPI 創薬、天然物創薬、生合成遺伝子改変技術

#### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

1990 年代までは低分子化合物（分子量 500 以下が中心）が医薬品の大多数を占め、大手製薬企業を中心として数百万種もの低分子化合物が収集され、そのライブラリー化が進められてきた。このライブラリーからロボットを用いた High-Throughput Screening（HTS）技術により絨毯爆撃の手法で候補化合物を見出すことでこれまでいくつもの有用な医薬品の開発に成功してきた。しかし近年では有望な創薬標的の枯渇により低分子化合物を用いた創薬は壁にぶつかっていると言われている。その中で、細胞内外で情報伝達に関与する“タンパク質間相互作用”が標的候補として有望視されるようになった。実際に、細胞外のタンパク質間相互作用に対して非常に強い阻害作用を示す抗体医薬（分子量数万程度）が、がんやリウマチを中心に次々と開発され成功をおさめており、近年では医薬品売上上位 10 品目の半分以上を抗体医薬が占めるまでに至っている。しかしながら抗体にも解決すべき問題点は多く、高価格、免疫原性のリスク、細胞内標的に対する展開が難しい、経口剤にならないといった点が課題である。一方、低分子化合物は細胞内移行性が高いものの、その分子量の制限から表面積の大きなタンパク質間相互作用部位を阻害する有望な化合物の発見は難しいと言われている。

このような背景を受け、近年では分子量を大きくした中分子化合物（分子量 500 ～ 3,000）を駆使した創薬に注目が集まっており、低分子医薬、抗体などの高分子医薬双方の問題点を解決し、新たなターゲットへのアプローチを目指す動きが始まっている。

また、中分子化合物ライブラリーの表現型スクリーニングへの活用も期待される。David C. Swinney 等は、First-in-class drugs（画期的医薬品）が、標的ベースのスクリーニングよりも表現型スクリーニングでより多く発見されていること、逆に follower drugs（改良型医薬品）に関しては標的ベースのスクリーニングで多く発見されていることを報告している[1)]。この論文を契機に、表現型スクリーニングおよび三次元培養技術に特化した学会、シンポジウムも開催されるようになり、Novartis をはじめ多くの欧米のメガファーマが積極的に発表を行っている。標的ベースのスクリーニングはハイスループットにスクリーニングが可能であるが、得られたヒット化合物が細胞を用いるような高次の評価系で活性を示さない例も多く見られ、創

薬の成功率が低いことが判明して来ており、表現型スクリーニングが創薬開発において再注目されている。中分子化合物の標的はタンパク質間相互作用に限定されず、人工ペプチドや天然物などの多様な構造の中分子から成るライブラリーは疾患 iPS 細胞や臨床分離試料を用いた最新の表現型スクリーニングにおいても有用なスクリーニングソースになりうることが期待される。

［研究開発の動向］

中分子化合物を議論する場合、①分子量 500 ～ 1,000 の範囲の化合物で、細胞内への移行性を重視した経口剤の開発を前提としている例と②分子量 1,000 ～ 3,000 の天然物、環状ペプチドさらには Macrocycle を中心とするアプローチに分けて議論することが必要である。①の場合、分子量を大きくする上で、標的（比較的大きなポケット）に親和性の高い化合物をどの様にデザインして行くかがポイントとなる。このアプローチの成功例としては、前回俯瞰報告書（2016 年版）で取り上げた C 型肝炎ウイルスの NS3/4A プロテアーゼ阻害剤（例：Simeprevir 分子量 750）が有名であるが、今回は、2016 年 4 月に承認された慢性リンパ性白血病治療薬である Bcl-2 阻害剤（venetoclax 分子量 868.5）を例として説明する。この化合物の開発は、中分子化合物の開発の中で Fragment-based Drug Discovery の手法を用いた最初の成功例として挙げられている [1)]。最初は、Fragment と呼ばれる分子量の小さい化合物ライブラリー約 10,000 化合物をスクリーニングして Bcl-XL（Bcl-2 を含むタンパク質ファミリーの代表）に対して 300 μ M と 6000 μ M の 2 つのフラグメントを見出したところから始まる。この 2 つのフラグメントをリンカーと呼ばれる構造でつないだが、当初二重結合をもったリンカーが活性を示したが、活性の大きな向上は得られなかった。この点に関して検討を進めスルホンアミドと呼ばれるリンカーを導入することで活性が向上し、最終的に ABT-263 を得て臨床試験に進むことができた。しかしながら副作用の点から、選択的な Bcl-2 阻害剤を見出すことが必要になったため、X 線構造解析を駆使して Bcl-2 に対してより選択的な ABT-199 をデザインし選抜したと発表されている [2)]。現在では、経口剤を目指したタンパク質間阻害剤を設計する技術として Fragment-based Drug Discovery と X 線構造解析を組み合わせる手法は、有効な手法として考えられている。しかしながら、この例は大きな製薬企業が多大な資源を使うことで実現したものであり、ABT-199 の成功以降、Fragment-based Drug Discovery からは目立った成功例が出ていない。そのため Fragment-based Drug Discovery の手法でタンパク質間相互作用を標的とした化合物を得ることは依然として難易度の高い領域として認識されている。

一方②で示した分子量 1,000 を越える化合物の開発に関連して、Macrocycle と呼ばれる欧米で盛んに研究されている大環状化合物群について述べる。Macrocycle の定義としては、1 つ以上の環状構造を有し、環状骨格の中に 12 以上の原子が含まれるものとされている。世界的には Macrocycle を用いた創薬は拡大しており、この中には日本における最も成功した創薬ベンチャーとして有名なペプチドリーム社も含まれる。2000 年代初頭では Macrocycle に特化した企業は 2 社（例えば Polyphor 社）しか存在しなかったが、近年では 30 社を越える企業が設立されている。これら企業では、ペプチドリームのような環状ペプチドを用いるケースが多いが、中には合成の環状構造を用いた例もある。しかし、開発が成功した例としては、全体的に分子量は 1,000 以下が多い。

Astra Zeneca の Jan Kihlberg らは、環状化合物の長所が、適度な rigidity と flexibility

を併せ持つことであることを、2014 年に J. Med. Chem. に発表し、ansamycin 系化合物の rifampicin、免疫抑制剤 tacrolimus、rapamycin（rapamycin は抗がん剤としても承認されている）および抗菌剤である erythromycin のようなマクロライド系化合物等について、分子量、分配係数、極性表面、水素結合供与基などについて議論している[3]。さらに、環状ペプチド系天然化合物誘導体についても解析を行い、合成環状抗菌剤および合成環状抗がん剤についても紹介している。彼らは、現在スウェーデン Uppsala University へ異動し、リピンスキールール（Lipinski’s rule of 5）を超える中分子化合物の膜透過性に関する研究を行っている[4]。また、中分子医薬の代表例であり経口剤として使われている大環状化合物シクロスポリン（分子量 1,203）をもとにした膜透過性の研究がこれまでになされており、その結論は rigid な環構造は標的タンパク質に対する親和性を上げるが、その rigid な性質が膜透過性（細胞内への移行や経口剤としての性質）を下げる結果となり、両刃の剣として良い解決策が見つからないというものなっている。またコンピューターを用いた大環状化合物デザインも構造の多様性から妥当な構造発生が難しく、仮想スクリーニングを用いた化合物デザインなどの手法の適応が難しいのが現状である。これらの克服を目的として、AnalytiCon 社や Asinex 社では実際に大環状化合物のライブラリーを作成し、化合物スクリーニングを行う技術をベースとした創薬ビジネスが展開されている。しかしながら、合成、化合物デザインの難しさから、骨格の数も少なく有効なライブラリーとは考えられておらず、その利用は限定的であるのが現状である。

Macrocycle での成功例として海外でリストアップされる化合物としては、前稿で論じた C 型肝炎ウイルスの阻害剤である grazoprevir, paritaprevir, simeprevir、vaniprevir, ALK/ROS1 tyrosine kinase 阻害剤の lorlatinib、dual JAK2 and FLT3 阻害剤である pacritinib などが挙げられるがこれらの分子量は全て 1,000 以下である。このように、現在分子量 1,000 を越える化合物の開発成功例は、環状ペプチドにほぼ限られている。しかしながら、ほとんどの環状ペプチドは注射剤として開発されており、製薬企業が目指す経口剤としての開発は進んでいない。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

● 大環状化合物ライブラリーの作製

上記の現状の中で目立った展開として、Ensenble 社による、DNA でコードされた Macrocyclic ライブラリーの作成が挙げられる。この技術は、1 つ 1 つの Macrocycle を合成するのではなく、DNA 上で 3 つのフラグメントを結合させることで大環状化合物群を数百万種オーダーで作製し、標的との結合により選抜された化合物の DNA タグを解析することで活性体の構造を同定するシステムである。既に複数の大手製薬企業と提携して研究展開が始まっている。大環状化合物を見出す手法としては現時点で最も可能性のある技術と評価されていると言える。Ensemble 社以外にも X-CHEM 社や DiCE Molecule 社など複数の企業が設立されており、今後の成果が期待される。

● 天然物骨格をベースとしたアプローチ

歴史的に中分子領域での成功例は、天然物由来の化合物が中心である。しかし、天然物は、合成が難しいものが多く周辺化合物のライブラリー化が難しく展開が進んでいない。Macrocycle の例でも述べたように天然物をスタートにした検討は進んでいない。その中で大

分大学が中心となって進めている天然物骨格を用いた標的タンパクの模倣化合物アプローチは、合成の容易性を重視した天然物骨格を用いたアプローチとして注目されている[5]。タンパク質間相互作用は、２つのタンパク質の結合であり、一方の３次元構造を模倣することで相手の結合ポケットに結合する化合物を標的に天然物骨格を用いて中分子化合物をデザイン・合成を行う技術である。最近この技術を展開して化合物ライブラリーを作成しており結果が期待される。

この他にも、国内の有力ベンチャーであるペプチドリームは、研究開発の中心である舛屋氏が「取得したペプチドを基に標的の構造を解析して低分子創薬に展開する」アプローチに言及しており、中分子を含む化合物への展開を検討していると推定され、今後の結果に注目が集まる。

● 抗体医薬の低分子化

今後の中分子医薬を考える上で、タンパク質の低分子化は中分子医薬の重要なアプローチの１つといえる。この点から、前回報告した PD-1 抗体の低分子化の続報をまとめる。インドの Aurigene 社は PD-1 抗体と同じような作用を示す低分子化合物 CA-170（推定分子量 300 ～ 500）を見出し、Curis 社と共同で臨床試験（Phase I）を開始したことを報告した。その後、Aurigene 社以外にも、PD-1 抗体の低分子化を目指した低分子化合物（中分子を含む）が続々報告されている。主なプレイヤーは、BMS 社、ハーバード大学、Incyte 社である。これらグループで開発されている化合物は、すべて前臨床レベルと推定され、未だ臨床試験は開始されていない模様である[6]。発表された化合物は、PD-L1 へ結合する化合物がほとんどで、最近化合物が標的タンパク質に結合している３次元構造が公開[7]されたことから今後も誘導体開発が展開され、大きなタンパク質に結合するタンパク質間相互作用の阻害剤の有力な手法の一つに結び付いて行く可能性がある。

● 遺伝子改変技術による天然物の構造変換技術

天然化合物は、多様な生物活性と人類の叡智を超えた構造からなり、医薬品開発の優れたリソースとして用いられている。近年、欧米では薬剤耐性菌が大きな社会問題になっており、新しい骨格を持った抗菌剤の開発が切望されている。この問題を解決する手段として、天然物ライブラリーを用いた抗菌剤スクリーニングが盛んに行われるようになってきており、Nature や Cell 誌にも発表されている[8),9)]。しかしながら、その構造の複雑さが故に、活性増強、薬物代謝改善あるいは副作用軽減を目的とした誘導体展開が、今までの技術ではほぼ不可能であった。このことが、天然物創薬開発の大きなボトルネックであり、天然物創薬の衰退の主な原因となっている。この課題を克服することを目的に、天然物生産菌の生合成遺伝子の一部を改変、もしくは新たに人工合成した遺伝子を導入して、天然物の構造変換を行う技術が、産業技術総合研究所の新家一男グループ長を中心に、次世代天然物化学技術研究組合にて開発されている。これにより今まで困難であった天然物の構造変換や同系統の化合物構造のライブラリー化が可能になり、天然物創薬の可能性を広げる技術といえる。中分子天然化合物は、広範囲の結合界面を持つことから、様々な生物活性を発現するが、erythromycin のように抗菌活性と蠕動運動促進活性という、全く異なる生物活性を示すこともある。この多様性により、オフターゲットに作用することで副作用を発現することもある。天然物の構造変換が容易になれば、多様な生物活性の分離が可能になる可能性があり、副作用軽減効果なども期待できる[10)]。

有機合成による中分子化合物合成は、低分子化合物と異なり明確な合成指針が無いため、天然化合物を模倣した合成が現在のところ考えられる最も有用な手法と考えられる。文科省新学

術領域の「反応集積化が導く中分子戦略：高次生物機能分子の創製」においても、天然化合物の部分骨格を scaffold とし、種々の scaffold の結合により中分子化合物の創出を目指している。また、がん治療において、抗体と薬剤を結合することで、がん細胞特異的に薬剤を作用するようにした、抗体－薬物複合体（ADC、Antiboby – Drug Conjugate）が精力的に開発されており、強力な細胞毒性活性を示す天然化合物が望まれている。このように、中分子化合物ライブラリー創出において、天然化合物は重要な役割を担っており、多種多様な骨格を持つ天然化合物の創出法の開発は、医薬品開発に大きく貢献することが期待される。

● ゲノムマイニングによる未利用生合成遺伝子の応用

米国では、Sanofi は、Harvard 大のベンチャーである Warp Drive Bio に 1 億 2 千 5 百万ドル初期出資し（2012 年）、大規模な微生物ゲノム解読を行い、未利用二次代謝産物生合成遺伝子を探索し、新規天然化合物の創出を行っている。ヨーロッパでは、同じく Sanofi と Fraunhofer とが共同で、Natural Product Center of Excellence を創立し（2014 年）、抗生物質の探索を行っている。いずれも、未利用生合成遺伝子をゲノムマイニングにより見出すことを行っているが、遺伝子保有微生物の培養により化合物を生産する従来の醗酵生産技術の応用である。

[注目すべき国内のプロジェクト]

わが国における中分子医薬品の開発を進める上で注目される政府主導のプロジェクトとして、国立研究開発法人　日本医療研究開発機構（AMED）の実施する創薬基盤推進研究事業「次世代創薬シーズライブラリー構築プロジェクト」（2015 ～ 2019 年度）が挙げられる。これは、タンパク質間相互作用を標的とした医薬品のシーズを見いだすために、多数の中分子化合物（分子量 500 以上という定義）を合成し、種々の生物活性評価系に供することができる、わが国ではこれまでに無かったライブラリーの構築を目指している。このライブラリーは AMED が進める創薬ブースターで利用可能であり、今後の成果が期待される。この他に注目すべきプロジェクトとしては、新学術領域研究「反応集積化が導く中分子戦略」（2015 ～ 2019 年度）がある。中分子化合物に焦点を当て 3 つの班で研究が進められており、1 班では高次機能中分子の創製、2 班では主に生物機能中分子の高効率合成、3 班ではマイクロフロー合成や連続反応プロセスを通じた実用的反応のデザイン、反応集積化の高次化を目指した研究がそれぞれ進められている。

天然物に関しては、次世代天然物化学技術研究組合が、経産省「次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発（天然化合物及びＩＴを活用した革新的医薬品創出技術）」プログラム（後に AMED プロジェクトへ移行）において、「次世代型有用天然化合物の生産技術開発」プロジェクト（2013 ～ 2017 年度）を展開しており、生合成遺伝子を用いた異種発現生産技術により、これまで困難であったマクロライド系化合物および環状ペプチド系化合物を代表とする中分子天然化合物の効率的な生産技術法の開発を行った。本プロジェクトは、AMED 事業である、「中分子製造技術の開発」プロジェクトとして展開されている。

### (5) 科学技術的課題

中分子創薬が主に標的とするタンパク質間相互作用における創薬のステップを以下に示す。これらの各ステップを高レベルで実現する技術の確立が課題となっている。

①標的となるタンパク質の発見：阻害する対象となるタンパク質とその相手のタンパク質の組み合わせを明らかにする。（中分子の優位性を生かすためには、細胞内の標的が望ましい。）
②化合物の活性評価系の構築：作用する化合物を見いだすためには、標的とするタンパク質間相互作用の選択的な阻害を検出できる活性評価系のみならず、選択性を明らかにするための対照評価系、薬理作用を表現系とした評価系など複数が必要となる。さらに、多数の化合物を一度に評価できるシステムと体制があれば、飛躍的に活性化合物の発見の確率が上がる。
③タンパク質間相互作用の阻害を目指した化合物の合成：天然物を利用した化合物やペプチド模倣化合物など多様な化合物を揃え、ヒット化合物取得を目指す。
④ヒット化合物と標的タンパク質の結合状態の解析：医薬品に適するリード化合物をデザインするため、ヒット化合物やその周辺化合物と標的タンパク質の結合状態を明らかにする。X 線構造解析、NMR など、最近ではクライオ電顕なども用いることが出来るようになってきている。
⑤代謝毒性などを考慮した化合物合成と評価：医薬品として適した形にデザインし、仕上げるために重要なプロセスと言える。

### （6）その他の課題

上記ステップでアカデミア創薬を実現するには、多彩な化合物を合成する化学分野チームと、疾患に関係のあるタンパク質間相互作用を研究している生物学分野チームの連携が必要である。しかし実現には検討すべき課題がある。アカデミックの生物学分野の研究者は、見いだした新規タンパク質の機能を制御できる化合物を常に求めているものの、容易には得ることができずにいる。一方で、アカデミアの合成研究者は、医薬品へのアプローチを研究する機会が少なく、特定のタンパク質の構造に焦点を絞った化合物を研究する例は非常に少ない。また、製薬企業では、合成と生物の両グループが企業の方針に則り、車の両輪として連携を模索しているが、日本においては、創薬標的としては、成功確率の高いタンパク質（皆が注目しているという意味）を中心に研究を進めているのが現状である。つまり、アカデミアで発見されるユニークなタンパク質に対する医薬品の探索研究は、うまく進んでいないのが現状である。

この現状に対し、2015 年度、AMED が製薬企業から約 20 万化合物を集めた、創薬総合支援事業の産学協働スクリーニングコンソーシアム（DISC）が発足した。これにより、アカデミアの持つシーズ（標的タンパク）と製薬企業からの化合物を結びつける試みが既に始まっているが展開は限定的であり、多くのアカデミア由来のシーズが化合物ツールを見出せない状況が続いている。それに対し、アカデミアの合成分野の研究者は、新学術領域研究「反応集積化が導く中分子戦略」で世界トップレベルの天然物合成の技術を活かした、新たな局面の中分子化合物の合成を進めているが、生物分野の研究者とのコミュニケーションは進んでいない。やはり成果をまとめてアピールしないと全体が進まないのが現状であり、生物学分野の研究者には届かない状況が今でも続いている。これは、一概にコミュケーションの不足にのみ起因するとは言えず、創薬スクリーニングと基礎研究間には大きな隔たりがあることが、強く認識されることが必須である。一例を挙げると、創薬シーズを提供する研究者がスクリーニングヒット化合物に関して、動物試験に先立つ高次評価系の重要性を理解すること、また合成化学者に関しては生物活性試験結果を正当に評価する能力を向上させること等が重要である。今後は有望

な結果をもとに、二つの技術分野同士がお互い厳しく評価し合い、また相互理解向上を進めることで、新たな生理活性物質の発見から医薬品開発への流れが加速し、日本発世界初の創薬がアカデミア中心に実現できることが期待される。この流れは、日本発のユニークな創薬シーズに、世界でトップと言える日本の合成技術を組み合わせるものであり、世界をリードする可能性を秘めている。世界的にMacrocycleで先行する技術に対して、日本発で対抗できる技術であり、アカデミア中心に連携がスムーズに進み公的資金のサポートがあれば、技術として開花する可能性が高い。日本全体で検討する価値のある方向性と言える。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・AMEDを中心に中分子医薬に焦点をあてたプロジェクトが進んでおり、今後の成果が期待される。<br>・アカデミアにおける化合物合成者と生理活性物質を必要としている生物学分野の研究者との連携がスムーズに進めば、日本のアカデミア発の創薬で世界をリードすることも可能である。<br>・天然物のリソースの蓄積は、日本が世界をリードできる状況にある。異種発現生産による中分子天然化合物創製技術に関しては世界トップと考えられる。<br>フェノタイプスクリーニングとターゲット同定技術に関するアカデミアの研究も進んでいる。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・製薬企業の中分子化合物への展開は、欧米には遅れているものの、研究は開始されている。<br>・ペプチドリーム社の環状ペプチドは、多くの成果を挙げており、世界をリードしている。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | ・Macrocycleの基礎研究は大きく先行しており、バイオベンチャーも設立され、Ensemble社を始めとして製薬企業との提携も続いている。<br>・環状ペプチドの研究では先端を走っているが、目立った成果は、日本のペプチドリーム社の方が優れている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・中分子領域において比較的小さい分子量（900以下）の化合物の開発において先端を走っている。<br>・大手製薬企業も常に先端技術をフォローし、幅広い中分子化合物（環状ペプチド、Macrocycleなど）を対象に研究を進めている。<br>・世界をリードする成果をもとにした臨床試験は、まず米国で実施され世界で最初に医薬品となる。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | → | ・Macrocycleの研究では、多くのアプローチが発表されている。<br>・天然化合物に関しては、ゲノムマイニングによる未利用生合成遺伝子の探索、およびそれらを保有する菌株の発酵法による新規化合物生産検討が行われている |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・大手製薬企業を中心に、常に先端をフォローしており、特に分子量1,000以下の領域では成果を挙げている。<br>・GLP-1（ペプチド：分子量4,114）の開発では、製剤の技術を駆使して経口化に成功している。製剤技術は日本より数段進んでいる。<br>・大手製薬企業による積極的な天然物、マクロライド化合物ライブラリーの収集の情報があり、天然物やマクロライドを基にした創薬に関しても積極的である。 |
| 中国 | 基礎研究 | × | → | ・明確な動きはない。 |
| | 応用研究・開発 | × | → | ・明確な動きはない。 |
| 韓国 | 基礎研究 | × | → | ・明確な動きはない。 |
| | 応用研究・開発 | × | → | ・明確な動きはない。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## （8）参考文献・情報

1）David C. Swinney and Jason Anthony.” How were new medicines discovered?” *Nat. Rev. Drug Discov.* 10,（2011）:507-519. doi.org/10.1038/nrd3480

2）William Garland et al. Medicinal Chemistry *Review Chapter* 5, 2015

3）Fabrizio Giordanetto and Jan Kihlberg. “Macrocyclic Drugs and Clinical Candidates: What Can Medicinal Chemists Learn from Their Properties? *J. Med. Chem*.57,（2014）:278－295

4）Matteo Rossi Sebastiano et al. “Impact of Dynamically Exposed Polarity on Permeability and Solubility of Chameleonic Drugs Beyond the Rule of 5.” *J. Med. Chem*.61,（2018）:4189－4202

5）小路弘行　講演　第 34 回創薬セミナー　2018

6）Kui Li et al. “Development of small-molecule immune checkpoint inhibitors of PD-1/PD-L1 as a new therapeutic strategy for tumour immunotherapy.” *Journal of Drug Targeting*（2018）doi.org/10.1080/1061186X.2018.1440400

7）Katarzyna Guzik et al., “Small-Molecule Inhibitors of the Programmed Cell Death-1/Programmed Death-Ligand 1（PD-1/PD-L1）Interaction via Transiently Induced Protein States and Dimerization of PD-L1.” *J. Med. Chem*. 60,13（2017）:5857－5867
doi:10.1021/acs.jmedchem.7b00293

8）Smith, P. A. et al., “Optimized arylomycins are a new class of Gram-negative antibiotics.” *Nature*, 2018, 561（7722）:189-194. doi.org/10.1038/s41586-018-0483-6

9）Maffioli, S. I. et al., “Antibacterial Nucleoside-Analog Inhibitor of Bacterial RNA Polymerase.” *Cell,* 2017, 169（7）:1240-1248. doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.042

10）『化学と生物』Vol. 52, No. 9, 日本農芸化学会　2014

## ２.５.２　高分子医薬（抗体、核酸）

### (1) 研究開発領域の定義

遺伝子組換え技術などのバイオテクノロジーを利用し、微生物や動植物細胞を用いて生物的に生産・調製される医薬品をバイオ医薬品という。高分子医薬品は、バイオ医薬品の中でも分子量が数千以上の分子群を有効成分とするものを指し、主にタンパク質、核酸、多糖やそれらの複合体、混合物からなる。従来の低分子医薬品では困難な標的への高い結合能や選択性を発揮するものが多く、新しい創薬モダリティとして難治性疾患治療などへの応用が期待される。研究開発領域としては分子の安定性や活性の向上、低分子化、人工分子開発、DDS、製造法開発などが含まれる。本項では特に抗体医薬、核酸医薬を中心に取り上げる。

### (2) キーワード

バイオ医薬品、ADC（Antibody-Drug Conjugation）、バイスペシフィック抗体、CMO、ドラッグデリバリーシステム（DDS）、ペプチド医薬品、タンパク質工学、X 線結晶解析、クライオ電子顕微鏡、構造モデリング、アンチセンス核酸、人工核酸、遺伝子治療、ウイルスベクター、siRNA、miRNA、デコイ核酸、核酸アプタマー、CpG オリゴ

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

【抗体医薬】

抗体は、特定の抗原分子のみを極めて特異的に選択して結合し免疫機能を発揮するタンパク質分子である。この抗体の特性と、原理的に任意の分子に対して親和性が高い抗体を作れることから、ヒトへの医薬品としての利用が行われるようになってきた。特に、がん、関節リウマチなど既存の治療法や薬剤で満たされない医療ニーズ、いわゆるアンメットメディカルニーズが高い疾患領域での創薬に高い有効性を発揮したこともあり、積極的な開発が世界中で進められている。実際、ニボルマブ（商品名オプジーボ）は、免疫チェックポイント・シグナル PD-1 に結合する抗体であり、極めて有効な医薬品として活用されている。また、がん抗原である glypican-3 や T 細胞抗原である CD3 epsilon など細胞表面の糖鎖やタンパク質を特異的に認識する抗体と、低分子医薬品とを融合させがん細胞や T 細胞等に特異的に医薬品を運搬できる DDS とするなど、その応用利用も盛んである。

近年、適応拡大による対象疾患患者の爆発的拡大、小児用等新容量設定による対象患者の拡大、エンドユーザーの利便性の向上に資する剤形追加[1)]、凍結乾燥から溶液製剤、さらにはプレフィルドシリンジを可能にする高濃度製剤に関する技術開発が進展したことなどの寄与により市場規模は大きく拡大している。現在では抗体医薬品を中心とした第二世代バイオ医薬品は本邦で 9,000 億円程度、全世界で 9 兆 7000 億円（891 億ドル）程度の市場規模となり（2016 年）、バイオ医薬品全体では、2016 年にわが国で 1 兆 4219 億円、全世界で 22 兆円（2012 億ドル）の市場となっている[1)]。2022 年には、35 兆円（3249 億米国ドル）市場という予測もある（EvaluatePharma 社）。抗体医薬品としての承認品目数が 2017 年現在で、米国で 63、欧州で 54、本邦でも 43 品目まで増大している。

【核酸医薬】

核酸医薬品とは、鎖状に連なった十数から数十塩基の核酸分子あるいはその化学修飾体を用いた医薬品の総称である。創薬の中心的な役割を担ってきた低分子医薬や、現在活発に研究開発が進められている抗体医薬に加えて、疾病の原因となる遺伝子の発現を制御し、その治療や予防を実現しようとする核酸医薬品に近年大きな注目が集まっている。核酸医薬品はその作用機序や有効成分となる核酸の構造の違い（RNA/DNA、一本鎖／二本鎖など）から様々なタイプに分類されているが、その多くは、標的とする遺伝子の発現を配列特異的に制御できるという特徴を持つ。近年の医薬品開発においては、創薬ターゲットの枯渇が大きな問題となっているが、その一方で、miRNA に代表される各種 ncRNA の発見など、最近のバイオロジーの進展に伴い、核酸医薬品のターゲットとなる分子はむしろ増加している。特に、有効な治療法が見出されていない多くの難治性疾患に対しても、原因遺伝子（mRNA や miRNA など）同定から核酸医薬品を利用した新たな治療法開発に繋げることが大いに期待される。

核酸医薬品を目的の臓器や細胞へ効率よく送達させるデリバリー技術や核酸医薬品の最適な配列探索手法の確立、また核酸医薬品が潜在的にもつリスクの評価など、今後解決しなくてはいけない課題は残されているものの、一度その原理が確立したのちは、創薬ターゲット遺伝子特定から医薬候補品創出までの研究開発スピードは早い。今後の新薬開発の加速に向けて、核酸医薬品及びその関連技術に関する研究開発の意義は極めて大きいと言える。

［研究開発の動向］

バイオ医薬品はもともと生体内に微量しか存在しないサイトカイン、ホルモン、酵素などタンパク質関連分子を、遺伝子組換え技術により微生物や動物細胞で大量に生産・調製し、医薬品として開発されたものであり、これらは第一世代バイオ医薬品とも呼ばれる。わが国では、インシュリンなどのホルモンに加え、エリスロポエチン製剤、G-CSF 製剤、血液凝固因子製剤が上市され、3,000 億円程度の市場規模となった。第一世代バイオ医薬品は 80 年代に大きな盛り上がりを見せたが、その後 10 年程度、表面上は新たな展開に乏しかった。そのような中、第二世代バイオ医薬品として、1998 年に二つの抗体医薬品が米国バイオベンチャーから上市された。抗体の医薬品応用自体は、1975 年のモノクローナル抗体作製技術の完成を受け、80 年代にはミサイル療法への展開などが期待されていた。しかし、マウス抗体であるため HAMA（anti-Human-Antibody Mouse Antibody）反応が起きることが課題であった。解決のためにはマウス - ヒトキメラ抗体構築、あるいはマウス抗体のヒト型化技術が必要であり、これらも 90 年代初頭にはコンセプトが提案されていたものの、実際に医薬品として上市されたのは上述の 1998 年と、上市までに様々な試行錯誤を要した [2)]。

その後は、ヒトゲノム解読をきっかけとしたゲノム、タンパク質に関する情報の蓄積や、タンパク質工学、進化工学などの生命科学の著しい発展を受けた研究開発が進展している。近年では第二世代型の抗体周辺に関する特許の有効期限切れを受けて、バイオ後続品（バイオシミラー）、抗体と低分子薬剤をリンカーを介して結合させた Antibody-Drug Conjugate（ADC）、2 つの抗原に対する結合特異性を持つ Bispecific 抗体、あるいは核酸医薬品や DDS 技術と連携した革新的次世代バイオ医薬品（第三世代バイオ医薬品）開発が進められている。この他にも従来のバイオ医薬品よりも高い効果をもたらす改良品であるバイオベター開発も盛んである。抗体の改良に重要なデータベースとして、配列に関しては Kabat データベースが、立

体構造解析に基づく分子構造に関してはPDB（Protein Data Bank）がある。PDB派生のデータベースとしては、米国Oxford大学のグループによるSAbDab（Structural Antibody Database）、英国UCLのグループによるAbDb（Antibody Structure Database、さらに配列と構造を統合したものとして同じくUCLよりabYsisが公開されている。また抗体および抗原との複合体の立体構造情報を基にした設計による新たな抗原結合能を持つCDRや、抗原結合能や選択性の増強検討もなされている。2011年と2013年には主に企業研究者によって行われたブラインドコンテストAMA（Antibody Modeling Assessment）が開催され、この結果に基づき、抗体のアミノ酸配列を入力するだけで自動的にその立体構造を予測して出力するwebサービスKotai Antibody Builderが開発され公開されている。一方、抗原との複合体構造のモデリングについては、より一般的なタンパク質間相互作用予測を行うブラインドコンテストであるCAPRI（Critical Assessment of Prediction of Interactions、Modelingが2001年から開始され、現在までに46ラウンド、159の複合体を対象に行われきた。このように分子立体構造データベースや計算科学などコンピュータを活用することで、抗体の弱点克服に向けた熱安定性の増強、可溶性向上、抗原結合能と選択性の増強、低分子化といった観点からの改良が行われてきている。

さらに抗体は、その特徴的な分子認識能を活かした研究開発用ツールとしても広く利用されている。代表的な例としては、その良好な結晶性から抗体を他のタンパク質の結晶化補助因子として用い、抗体の結合によって分子を安定化させたり、種々の活性化状態や非活性化状態を抗体の結合によって安定化することにより、ダイナミックに変化するタンパク質分子の静止状態の構造情報を得るという手法がある[3,4]。

その一方で、標的はヒトゲノム解析完了以前に報告された分子群がほとんどであり、ゲノム解析から明らかになった新しい標的分子への展開が強く期待される。臨床サンプルや、患者由来細胞を移植したPDX（patient–derived xenograft）マウスなどを駆使した網羅的解析からバイオテクノロジー等諸要素技術を結集して新薬を開発する新たな研究体制の構築が喫緊の課題である

また、生産システムも重要な研究開発領域である。第一世代では大腸菌が発現宿主として最もよく用いられてきたが、第二世代では実績に加え、Fc領域への糖鎖付加を考慮しCHO細胞を使用することが多くなっている。最近では、第三世代の低分子化抗体（Fcや糖鎖修飾を含まない）で再び大腸菌等微生物が利用され始めている。生産システムに関しては、微生物など複数の細胞種の検討も含めた細胞構築、低コスト化に向けた製造技術改良、さらには連続生産のような培養、精製工程等生産プロセス改良[1]、製造方法特許化も重要な視点である。

海外動向としては、欧州、中国、韓国は、第二世代バイオ医薬品開発時においては遅れをとったもののバイオシミラー開発に精力的である[5,6]。バイオシミラー開発は従来のジェネリック低分子医薬品と異なり、製品が先発品と品質上きわめて類似していることを前提に、非臨床、臨床試験において同等な薬物動態（PK: pharmcokinetics）、薬力学（PD: pharamcodynamics）、有効性、安全性などを示す必要があり、開発承認のガイドラインの整備が重要である[7]。欧州では、2005～2006年にバイオシミラー開発ガイドラインが整備され[8]、2006年のヒト成長ホルモンに始まり、これまでに11品目に対する31製品のバイオシミラー製品が承認されている。また、抗体医薬品に関しても2012年に発効し、2013年にレミケードのバイオシミラーが承認されている[9]。一方、韓国では2010年に策定した「バイオシミラー

グローバル輸出産業化戦略」において、2020年にバイオシミラー分野でのトップシェアを目指すことが盛り込まれ、研究開発、人材育成、公的な生産設備の整備、政府振興策に基づく企業の積極的な投資と周辺産業の活性化という好循環が生まれている[5]。バイオシミラーに積極的でなかったとされていた米国でも、バイオシミラーに関するガイダンスの策定[10]等環境が整備されつつあり、9種類13品目が承認されている[1]。現時点でバイオ医薬品市場において大きな位置づけにある米国の動向は注視すべきである。わが国では2009年にガイドラインが出され[11]、バイオシミラーの6種類、10品目が承認されている。特に、2017年6月に出された「経済財政運営と改革の基本方針2017」[12]において、2020年度末までにバイオシミラーの品目数倍増を目指すとされている。種々の問題を包含しつつも、産学官が一体となり積極的に取り組む体制への期待は高い。

【核酸医薬】

核酸医薬品の研究開発の流れを俯瞰すると、その種類による“流行”がはっきりとみられる。当初はアンチセンス核酸中心であった研究開発も、siRNAの発見以降はその切れ味の鋭さからsiRNAの開発に大きく舵が切られた。しかし、米国においてVEGF（血管内皮細胞増殖因子）に対する天然型siRNA（Bevasiranib）の臨床試験がフェーズ3開始前の2009年に、プライマリーエンドポイントの達成困難並びに自然免疫活性化に伴う安全性懸念により中断されて以降、siRNAのみならず遺伝子発現制御型の核酸医薬品の開発自体が進みにくい状況となった。安全性を重要視しなければ開発成功はあり得ないという多くの教訓から、各社は有効性の追求に加え、安全性を重視した化学修飾の創出、核酸医薬品が届きやすい疾患臓器の選定、核酸医薬品が得意とする疾患の絞り込みといった実用化へのアプローチを続けた。その結果、2013年には生体内安定性を高める修飾核酸技術を用い、核酸医薬品が到達しやすい肝臓で有効性を示すホモ接合型家族性高コレステロール血症に対するアンチセンス医薬Kynamroが米国で承認された。2016年には毒性の懸念が低いとされるモルフォリノ核酸を用いたスプライススイッチ型（エキソンスキッピング）アンチセンス医薬Exondys51が米国でデュシェンヌ型筋ジストロフィー治療薬として承認された。また同年及び翌2017年には、髄腔内投与によりデリバリー問題を回避した脊髄性筋萎縮症に対するスプライススイッチ型（エキソンインクルージョン）アンチセンス医薬Spinrazaが日米欧で承認された。2018年にはトランスサイレチン型家族性アミロイドポリニューロパチーを対象疾患とする2つの治療薬が相次いで登場した。一つは遺伝子抑制型アンチセンス医薬Tegsediで7月に欧州で承認された。もう一つは世界初のsiRNA医薬となるOnpattroであり、8月に米国にて承認された。siRNAは2本鎖RNAで、細胞内でmRNAを分解、疾患原因タンパク質そのものをなくす作用を持つ。siRNA医薬の市場登場インパクトは大きく、アンチセンス医薬とは異なる遺伝子抑制型核酸医薬品として注目されており、DDSの課題を克服できれば先行参入しているアンチセンス医薬と“双璧”をなす可能性もある。

核酸医薬品は現在、アンチセンス医薬やsiRNA等で年2-3件の承認ペースが続いており、臨床後期段階にある核酸医薬品も多く存在することから[13]、核酸医薬品の研究開発はいよいよ実用化フェーズに入ったと言える。呼応する形で、開発段階でのディール拡大や複合技術の取り込みも活性化しており、2018年にはIonis社がBiogen社と広範囲な神経疾患治療薬の開発を目指した戦略的コラボレーション契約を拡大締結した。これにより神経疾患領域に関してIonis社がシーズ創出を進めBiogen社が開発するというフローが確立しつつある。複合技術

の取り込み例としては、架橋型修飾核酸 LNA の技術基盤を持つ Santaris 社を買収し、独自に核酸医薬品開発を進めてきた Roche 社が、2018 年にアンチセンス医薬の経口投与技術の開発で PureTech Health 社と大型の共同研究契約を締結した。これにより、これまで実現できなかった経口投与可能な核酸医薬品の開発という新たな挑戦が始まった。

初期創薬の段階では、mRNA、miRNA や lncRNA に対する配列依存的翻訳調節に関して新たな取り組みが進みつつある。例えば、近年機構が明らかになってきた RNA の転写後調節の一つである RNA 編集 [14] は、内在性の A-to-I RNA 編集酵素 ADAR の配列特異的な編集機構に着目した点変異修復技術であるが、国内外の研究者が創薬技術の一つとして着目している。海外ではオランダの ProQR Therapeutics 社において複数の動物実験段階の開発プログラムが大型資金調達と共に進行している。

欧米以外の動きも活発である。中国では以前は核酸医薬品の原料モノマーの世界最大級供給拠点となった Hongene 社など複数のサプライヤーが市場での存在感を示してきたが、新規のプラットフォーム技術についても勢いづいている。2017 年、江蘇省政府主催の起業家賞に 2 本鎖 RNA を用いた RNA activation 技術 [15] による創薬を目指す Ractigen 社が選出された。開発段階においても Sirnaomics 社が 2018 年に胆管がんの siRNA 治療薬の臨床入りを発表するなど創薬を主体的に進める動きが強まっている。モノづくりにおいても 2018 年、世界有数の CRO である Wuxi Apptec のグループ会社 WuXi STA 社と米国 miRNA 医薬開発の Regulus 社が製造に関する業務提携を発表、単なる原料サプライヤー国ではなくなり核酸医薬品開発でのプレゼンスを高めてきている。韓国も中国と同様に原料サプライヤーの側面が強かったが、2018 年には OliX Pharmaceuticals 社が抗瘢痕 RNAi 治療薬 OLX10010 の P1 試験を英国で開始するなど、創薬へのアプローチも強まっている。

また国内に目を向けると、2018 年に入り製薬・創薬ベンチャーの開発進展が顕在化してきている。最も先行しているものの 1 つとして、日東電工社の NASH（nonalcoholic steatohepatitis）肝硬変に対する治療薬であるビタミン A 搭載型 LNP-siRNA があげられる。これは Phase2 完了後 Bristol-Myers Squibb 社にライセンスアウトされ、現在は特発性肺線維症（IPF）に対しての開発が進んでいる。DMD（Duchenne muscular dystrophy）治療薬としては、日本新薬社がジストロフィン 遺伝子の exon 53 を対象としたエキソンスキッピング型アンチセンス医薬の Phase2 を日米において実施し、有意なジストロフィンタンパク質の産生が確認されている。第一三共社と産業革新機構が出資している Orphan Disease Treatment Institute 社は、ジストロフィン遺伝子の exon 45 を対象としたエキソンスキッピング型アンチセンス医薬の Phase1/2 を国内で進めている。これら大手製薬企業の開発だけではなく、2018 年には、アンジェス社が腰痛治療薬として NF-κB デコイ核酸の Phase1 試験をオーストラリアで開始したほか、東レ社はボナック社の IPF 治療 TGF-β1 吸入型 Pnk-RNA の Phase1 試験を米国で開始している。また、リボミック社は加齢黄斑変性症に対する FGF2 アプタマーの Phase1 試験を米国で進めている。NapaJen 社は、造血幹細胞移植治療後の急性 GvHD に対する CD40 SPG 複合型 siRNA の Phase 1 試験をオーストラリアで開始予定など、国内発の核酸医薬品が続々と臨床試験段階に入ってきている。これらベンチャー各社の臨床開発はいずれも海外において先行実施されており、今後はベンチャーが国内で臨床開発ができる支援体制が必要であろう。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

【抗体医薬】

2018年、がん免疫療法における顕著な成果が高く評価され、本庶教授がノーベル医学・生理学賞を受賞したほか、抗体の進化工学・ヒト化などに大きく関わるバイオテクノロジーにおける顕著な成果がノーベル化学賞の対象となった。そのような中、高分子医薬品開発は第二世代から第三世代に完全に移行する段階に入っており、研究開発が顕著な成果を収めつつある。また、ヒトゲノムプロジェクトの成果が具体化されるべく、臨床サンプルに基づく新規標的分子の探索や個別化医療・精密医療の新展開がAI・臨床ビッグデータ関連研究と強力に結びつき始めている。具体例を以下に挙げる。

ADCについては、80を超える品目が開発され、結合薬物の多様化が顕著である[1,16]。第一三共、エーザイで開発されているADCの高い奏効率に国内外からも注目が集まっており、副作用等の理由から開発中止となっている低分子薬剤をADCとして再開発し成功する例も出てきている[16]。鹿児島大学の伊東らのFc領域結合ペプチドを用いた抗体の次世代化に関する期待も大きい。光工学を用いた光免疫療法への関心も高まりつつあり、放射性標識抗体の開発（5品目）、毒素結合抗体の開発等、ミサイル療法として長く期待されてきたモノクローナル抗体が、DDSに大きく貢献するモダリティ分子として応用されつつある。

Bispecific抗体については、T細胞表面抗原CD3とがん細胞表面抗原（例えばCD19）を標的とし細胞架橋からがん細胞殺傷効果を狙う方式（BiTE）と、血友病治療薬として血液凝固関連因子の架橋を図る方式フォーマットで医薬品として承認され、開発分子も増加している。細胞の近接あるいは架橋、または二つの標的分子の近接あるいは架橋を狙う分子の開発が主であり、種々の試みがなされている。最近では、同一抗原の異なるエピトープを狙い細胞表面分子を集積させる方式（バイパラトピック抗体）の開発も行われており、今後の発展を大きく期待させる。

Fc領域の糖鎖修飾の改変による活性向上（ポテリジェント技術）から、次世代化のみならずバイオシミラーにおいても糖鎖制御に関する技術開発に関心が集まっている。改変Fcγ受容体をはこのFc領域の糖鎖修飾の状態を分別して結合する能力があり、この改変Fcγ受容体を充填したカラムを用いるクロマトグラフィーによって、今後糖鎖制御への具体的技術開発が加速されると考えられる[17]。投与量との関連から期待されている動態改善型（リサイクリング、スイーピング）抗体の開発も、今後の抗体医薬品開発において特筆すべき成果である。

標的分子、対象疾患の拡大にゲノム創薬から進展した方向性として、抗PCSK9抗体[18]がある。アルツハイマー治療薬としてのAducanumab[19]は対象疾患の拡大例として重要である。CasMab法[20]による糖鎖構造を含む標的タンパク質に対する新規抗体の創出も糖鎖修飾抗原への適用拡大を期待させる。さらに、PDXマウスを用いた標的分子の探索、臨床サンプルを用いた新規標的の提案等、新たな有望標的抗原探索へ期待も高い。

また、抗体の改良に関連した技術トピックスとして以下のようなものが挙げられる。

●安定化（熱安定性の増強）

抗体分子はタンパク質としては比較的安定な分子ではあるが、バイオ医薬品としての長期保存性を考慮すると、なるべく構造的に安定なものが望ましい。変異導入による抗体の熱安定性向上手法は成熟しており[21]、熱安定化の可能性が高い部位を立体構造を基に特定、アミノ

酸変異を導入する手法が試みられており成功例も多い。具体的には、① CDR（相補性決定領域：Complementarity Determining Region）ループへの変異導入[22]、② S-S 結合の導入[23]、③重鎖と軽鎖のインターフェースのパッキングの構造的最適化[24]といった手法がある。

●安定化（可溶性の増強）

バイオ医薬品として保存される場合には凝集しにくい特性が望ましい。これについては、①抗体の立体構造上表面部位に存在する疎水性パッチ部分への親水性アミノ酸残基の導入、②抗原認識に関わらない CDR への負電荷を持つ残基の導入[25]、③糖鎖（グリカン）修飾されるアミノ酸（N、S、T）への変異導入[26]などの手法がある。

●抗原結合能と選択性の増強

抗体および抗原との複合体の立体構造情報を基にした設計により、新たな抗原結合能を持つ CDR や、抗原結合能や選択性の増強がなされている。近年の PDB への複合体構造の登録増加に伴い、立体構造やタンパク質間相互作用の予測精度は向上しているが、フレキシブルな構造への対処や結合能の定量的予測は未だ解決されていない[27]。ただし、複合体構造予測精度そのものは上がっているため、それを基により最適化された相互作用を設計して可能性が高い複数の変異を抗体側に導入し、より選択能や結合能を上げる試みがあり成功例も報告されている[28,29]。結合能の予測については、分子シミュレーションに基づいてフレキシブルなタンパク質と低分子リガンド間の結合自由エネルギーを算出する試みが広く行われており[30]、今後の計算機パワーの増大に伴い、ペプチド等中分子リガンドの受容体への結合やタンパク質間相互作用の定量化は早晩具体化されるものと考えられる。

●低分子化

抗体（IgG）は重鎖と軽鎖の 2 つのペプチド鎖からなる分子量約 150 kDa の複合体であり、バイオ医薬品として扱い易くするための低分子化の試みが広く行われている。重鎖と軽鎖の 2 つの可変領域をフレキシブルなリンカーペプチドで繋いだ分子量 25 ～ 30kDa ほどの人工タンパク質として、scFv（single-chain variable fragmented antibody）が開発された[31]が、全長抗体に比べて安定性と分子認識能に劣る事が多く指摘されている。この他にはラクダやアルパカ、サメから見いだされた重鎖単一の抗体を基にその可変領域のみを nanobody として利用するものもあり[32]、その場合の分子量は約 15 kDa ほどにすぎない。さらに、抗原との複合体の詳細な立体構造に基づき抗体の CDR を模倣したペプチド性の中分子を設計、中分子医薬品としての創出に成功している例も報告されている[33]。

また抗体工学のさらに先端的なものとして、CDR を他のフレームに付け替えたフラグメント抗体として日本で Fv-clasp が発明されている[34]。S-S 結合導入により、高い熱安定性と良い結晶性を持ち、VH と VL 鎖の相互配置の柔軟性のために抗原認識能も保たれている。また抗体のフレーム構造を用いず、他の小さなタンパク質分子に基質認識能を持たせる小型タンパク質の足場が提案されている[35]。最近の応用例では、英国において phage display を利用して抗体 Fcγ 受容体に強い選択性を持って結合する Affimer タンパク質を創成した報告がある[36]。

一方、研究開発用ツールとしての新たな抗体利用方法も開発されており、nanobody のように低分子化された抗体用分子を分子タグを用いて蛍光色素、PET や SPECT で観測するための放射性物質でラベルすることによって、細胞内あるいは生体中での分子の分布を直接観測する技術開発が進んでいる[37,38]。また、抗原ペプチドとそれに対し強い選択性と結合性を有する

モノクローナル抗体 NZ-1 を利用したタンパク質の精製技術[39]は、日本国内で開発され製品化もされている。このタグは、クライオ電子顕微鏡による単粒子解析のための補助因子としても活用されており[40]、今後とも様々な応用が考えられる。

【核酸医薬】

●スプライススイッチ型アンチセンス医薬の実用化

核酸医薬品の中には、疾病原因遺伝子の発現を抑制するものもあれば、逆に機能喪失遺伝子の発現を上昇、あるいは機能を回復させるものも知られている。後者の代表例が、スプライススイッチ型アンチセンス医薬である[41]。これは、pre-mRNA から mRNA へのスプライシング過程を制御するもので、ある特定のエキソンを mRNA から除いたり（エキソンスキッピング）、望まないスプライシングで除かれてしまうエキソンを mRNA に留める（エキソンインクルージョン）ことが可能となる。前者としては筋ジストロフィー治療薬である Exondys51 が 2016 年に、後者としては脊髄性筋萎縮症治療薬の Spinraza が 2016-2017 年に承認された。これらは従来の創薬手法では非常に困難であった遺伝子の機能回復を実現し、難病治療に新たな道筋を開くものである。特に Spinraza は商業的に成功した最初のアンチセンス薬であり、2018 年四半期の売上は Q1 で 3 億 6400 万ドル、Q2 で 4 億 2300 万ドルと大幅な伸びを示している。Spinraza では髄腔内投与という極めて侵襲性が高い投与方法が用いられているが、適切な投薬管理と啓蒙や対象患者の選択により確実に治療実績を上げている。

● siRNA の医薬品承認

2006 年に Fire と Mello が RNA 干渉に関する功績でノーベル賞を受賞してから 10 年以上の年月が過ぎたが、この間、siRNA 技術に基づいた創薬開発が精力的に進められてきた。現在、臨床試験が進められている siRNA は国内外で数十件にのぼるが、その中でも、Alnylam 社が開発を進めてきた siRNA 治験薬 Onpattro（標的はトランスサイレチン（TTR）の mRNA）は、トランスサイレチン型家族性アミロイドポリニューロパチーの治療薬として、2018 年 8 月に米国にて承認された。この Onpattro は、世界初の siRNA 医薬であり今後の動向に大きな注目が集まっている。また、Onpattro では脂質ナノ粒子（LNP）によるデリバリー技術が用いられており、こうしたデリバリー技術を併用した核酸医薬品としても初の例となる。

● GalNAc コンジュゲート技術

核酸医薬品のデリバリー技術はここ数年大きく進歩しつつあるが、その中でも肝臓へのデリバリー技術の進歩は目覚ましい。GalNAc と呼ばれる糖誘導体は、肝臓に多く発現が見られるアシアロ糖タンパク質受容体の良いリガンドとなるため、適切なリンカーを介して核酸医薬品に共有結合させることで、核酸医薬品の肝臓への移行量ならびに活性を数倍から数十倍程度向上させる[42]。ここ数年で、搭載する GalNAc の数や位置、リンカー構造の最適化が進み[43,44]、siRNA やアンチセンスの肝臓へのデリバリー効率が飛躍的に高まったことから、GalNAc 搭載型核酸医薬品の臨床試験は増加傾向にある。一方、この GalNAc コンジュゲートの成功を受けて、GalNAc 以外の適切なリガンド分子を探索することができれば、肝臓以外の臓器へ核酸医薬品を送達させることも可能ではないかと期待されている。

●規制科学の議論の活発化

欧米では Oligonucleotide Safety Working Group（OSWG）が中心となり、核酸医薬の品質や安全性評価に関するホワイトペーパーを継続して発表している。一方、日本でも規制科学の側面からの議論が活発化している。厚労省の革新的医薬品・医療機器・再生医療製品等実用

化促進事業（大阪大学）での成果が報告書として取りまとめられている他、ICH-S6 対応研究班（国立衛研）でも核酸医薬品の安全性評価に関して活発な議論が繰り広げられており、その成果の一部は総説論文として公表されている[45,46]。また、今年度には核酸医薬品の品質・安全性評価に関するウェット研究を行う研究班（国立衛研）が立ち上がり、科学的エビデンスに基づくガイダンス案策定に向けた取り組みが本格化した。こうした規制面での議論の活発化は、核酸医薬品の研究開発を一層加速するものと期待される。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

医薬品産業に関する政策に関しても、バイオ医薬品開発、特に革新的バイオ医薬品やバイオシミラーに関連する内容が多くみられる。

● 厚生労働省「医薬品産業強化総合戦略」

2017 年 12 月における改訂では、「バイオ医薬品においても有効性・安全性に優れ、競争力がある低コストで効果的な創薬を実現できる環境を整備していく」、「バイオシミラーで医薬品への基盤を整備した上、それらの技術基盤を活用して開発することが期待される我が国初の革新的バイオ医薬品を市場へ投入」と明記されている。さらに、「イノベーションの適正な評価」、「製薬企業等との連携の促進や上場後も含めた資金調達環境の改善などを通して、バイオベンチャーのエコシステムを確立すること」の必要性も議論されている[47]。

● 文部科学省 /AMED「革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業」（2014 ～ 2019）

バイオ医薬品の基盤技術創出から実用化を繋ぐことを目指したプログラムである。抗体医薬、核酸医薬品に関連するプロジェクトも複数採択された。既にいくつかのベンチャーが創出された他、アカデミアから企業への技術導出も進むなど、本事業からは数多くの成果が生み出された。2018 年度で終了となるが、今後も同様の事業が立ち上がることで成果の実用化が加速されるものと期待される。

● 経済産業省 /AMED「次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業」（2014 ～）

次世代治療・診断を実現するための課題を解決し、先制医療、個別化医療といった次世代治療・診断の実現を推進し、患者の QOL 向上と医療費増加の抑制を目指した事業。体液中マイクロ RNA 測定技術基盤、糖鎖利用による革新的創薬技術開発事業、革新的中分子創薬技術の開発などに加え、バイオ医薬品の高度製造技術の開発（2018~2020）が盛り込まれており、バイオシミラーの国内生産、CMC 産業の基盤充実をさらに加速させ、低価格化、次世代化への貢献が期待される。

● 「先端的バイオ創薬等基盤技術開発事業」（2019 ～ 2024：2018 年 12 月現在概算要求中）

前述の「革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業」の成果の発展及び、モダリティや要素技術の多様化に対応する技術領域を対象。対象分野としては A: 遺伝子導入技術等、B: ゲノム編集等、C: バイオ医薬品の高機能化低分子抗体、糖鎖修飾、標的タンパク質分解等の基盤技術に関する研究、D: 医薬周辺技術（DDS、効果・安全性評価、イメージング等）、E: 複合技術（A ～ D）の基盤技術（要素技術）組合せ最適化、などが盛り込まれている。

● 文部科学省「地域イノベーション・エコシステム形成プログラム」（2017 ～ 2022）

事業の一つとして、東京工業大学 / 川崎市提案プロジェクト「中分子 IT 創薬研究推進体」が進行中。中分子創薬として関心が高まっているペプチド医薬品と核酸医薬品に関して、東工大が有する IT 創薬の技術や化学合成技術などを組み合わせて中分子創薬の事業フローを創出

することを目指している。核酸医薬品については、有機合成化学手法により糖部2’位を改変した機能性分子の開発を行い新規物性の獲得を狙っている点がポイントとなる。

● AMED「医薬品等規制調和・評価研究事業」（2018 ～ 2020）

厚労省の革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業の一環として核酸、ペプチド医薬品の品質評価・非臨床安全性評価における“考慮事項”をさらに発展させるために、ウェット研究に基づく科学的エビデンスを構築、考慮事項に反映させガイダンス案作成に繋げる。医薬品の規制科学として重要なプロジェクトである。「アンチセンス医薬品の品質及び安全性評価に関する研究」ではアンチセンス医薬にフォーカスし、ガイダンスの根拠となる実験的データを取得する。国立衛研が中心となり、医薬品医療機器総合機構、日本製薬工業協会の医薬品評価委員会基礎研究部会、核酸医薬品質評価タスクフォース、日本核酸医薬学会とも連携を図る横断的なプロジェクトとして注目される。

### （5）科学技術的課題

【抗体医薬】

免疫療法が大きな成果を収めつつある中、ゲノム・臨床ビッグデータやAIを用いた個別化・精密医療への期待がますます高まっており、これは医療経済性の観点からも重要である。また、抗体自体の改良という点でもデータ活用は重要であり、分子動力学などの理論と、AIや統計解析を組み合わせて設計、合成し、それを評価するサイクルを回すことで抗体工学の成熟を目指すことが必要である。関連して、望みの機能と高い生体適合性を併せ持つ材料を創製し、医療や健康におけるニーズに応えるような、いわゆる「バイオ材料工学」関連研究領域も、高分子医薬品の先鋭化にも必須かつ喫緊である[48]。また、欧州・アジアにおける国家戦略に基づくバイオシミラー産業の急激な伸長や、これまでの開発経緯をみるに、先鋭化された製造・品質管理に関する技術開発が重要である。これは国内において医薬品製造開発受託産業（CMO、CDMO）とその周辺産業をさらに充実させるためにも必須である。

上記を踏まえ、抗体医薬品開発における科学技術的課題としては、①新規標的探索、②分子設計・解析、③高機能化、④DDS化、⑤生産・製造、⑥機能・安全性評価などが挙げられる。医療経済も考慮し、各要素技術やプロセス研究開発を加速、高度化しつつ、それらをパッケージ化・融合化し、次世代バイオ医薬品開発力を高めていくことが必要である[49]。期待される技術開発項目例を以下に挙げる。

①新規標的探索領域：創薬標的の解明と拡大、疾患に特異的な治療モダリティの選択
- 疾患特異的遺伝子の同定技術、エピトープ解析技術
- AIと臨床ビッグデータを用いた新規パスウェー解析技術
- 適切な動物モデルの開発技術

②分子設計・解析領域：新規標的をターゲットとした創薬の開発
- AIや分子動力学を駆使したインシリコ分子設計
- 特異性・親和性解析（物理化学）
- 抗体設計技術（ファージディスプレイ、低分子化）
- 抗体以外の分子骨格を用いた中分子医薬品の設計
- 抗体 - 抗原データベース（ネガティブデータ含む）の高度化
- クライオ電顕による単粒子解析技術の高度化（結晶化を経ないHTPな立体構造解析）

③高機能化領域：高機能化、高活性化創薬の開発
・抗体改変技術（改変、改良、多重特異性、安定性や可溶性の向上）
・糖鎖制御技術（*in vivo* と *in vitro*）
・化学修飾法（toxin-conjugation、部位特異的技術など）
・ウイルスベクター技術（遺伝子治療、CAR-T、抗がんウイルス）
④ DDS 化領域：組織、細胞内、核内送達技術の開発
・細胞内・部位特異的送達技術（ペプチド付与、高分子ミセル、生体分子付与）
⑤生産・製造領域：低コスト生産系の開発
・抗体製造技術（生産技術、製剤、精製リガンドの開発とプロセス設計など）
・少量多品種製造技術（single use device 型細胞培養パッケージ、品質管理技術）
⑥機能・安全性評価領域
・安全性評価技術：安全性予測システム、新規機能評価・安全性評価技術の開発
・先端技術安全性評価技術（会合凝集体、免疫原性予測など）
・マイクロチップを活用したシングルセル HTP スクリーニング。

【核酸医薬】
①人工核酸技術
核酸医薬品の研究開発に欠かせないものとして、人工核酸技術があげられる[50,51]。現在、上市されている核酸医薬品は全て何らかの人工核酸（化学修飾）を含んでいるが、それらはいずれも一世代前の技術である。医薬品の開発には１０年以上の年月を要するため、現在用いられている核酸医薬品の課題を的確に評価し、今後の核酸医薬品に必要な特性（優れた有効性と高い安全性など）を備えた人工核酸の開発が求められる。そのためには長期的視野に立ち、基盤となる核酸化学研究の底上げを継続実施していくことが必要である。
② DDS 技術
核酸医薬品を目的の臓器に送達させる技術の開発も非常に重要である。これにより核酸医薬品が対象とする臓器や疾患が広がり、核酸医薬品の利用価値は飛躍的に高まる。これまでの研究開発によって肝臓へのデリバリーには一定の成果が認められ、また Spinraza で用いられる髄腔内投与などのように、投与方法の工夫で標的となる臓器や疾患の幅も広がりつつある。今後は、脂質ナノ粒子やミセル、リガンドとのコンジュゲートなど多角的な研究開発を通じ、肝臓以外の臓器への核酸医薬品の効率的な送達の実現が必須である。
③安全性
当初、核酸医薬品はその標的特異性の高さから副作用の少ない医薬品とも考えられていたが、実際には他の医薬品と同じく一定の割合で有害事象は確認されており、安全性の懸念から開発中止になった候補品も存在することから安全性への配慮は極めて重要である。核酸医薬品の副作用発現機構を明らかにするための取り組みは喫緊の課題であり、規制科学とも協調しながら毒性発現機構の解明につながる基礎研究の推進の重要性が高まっている。
④設計技術
核酸医薬品はその種類によって配列設計手法がそれぞれ異なり、アンチセンス医薬では適切なアルゴリズム（mRNA の二次構造予測など）に従って複数（数本～数百本以上）の候補配列を選定、*in vitro* で活性スクリーニングを実施し、候補を絞り込んでいくのが一般的であり、

*in silico* で全てを決定できる状況ではない。しかし、最近の AI 技術の発展に伴い、高精度、確度の配列設計自動化も可能になろうとしている。研究開発の成否を大きく左右するため、優れた配列設計アルゴリズム並びに自動化手法の開発は重要である。

⑤製造技術

核酸医薬品の研究開発段階に応じて、求められる製造技術は大きく二つに大別される。初期の研究段階においては *in vitro* スクリーニングに用いる少量多種の核酸合成が求められるが、研究開発の中盤から後半においては、少数の配列を大量に合成することが必要となる。前者に関しては、固相自動合成をスケールダウンし少量の核酸を迅速に同時並行的に合成するという従来からの方向性に加えて、インクジェットプリンター技術を用いマイクロアレイ上で多種類の核酸を同時合成する技術なども開発されている。また、後者については、国内で開発が進められている液相合成技術に期待したいが、それ以外にも連続合成などの新たな手法の開発が求められる。いずれにしても、安価で迅速かつ確実な核酸製造法の確立は、核酸医薬品の研究開発を加速する鍵である。

### （6）その他の課題

わが国がバイオ医薬品領域において劣勢であった要因として、基礎研究のポテンシャル活用するための産学 ·分野間連携体制、制度整備、人材育成などに関する国家レベルの戦略立案に遅れをとったことが挙げられる。例えば英国は、MRC における抗体研究のポテンシャルを最大限活用し、Celltech 社、Cambridge Antibody Technology 社、Domantis 社といった 1 兆円規模の売り上げをもつ企業を MRC からスピンアウトさせるなど、特筆すべき成果を挙げてきた。わが国における課題として、以下を挙げる

【産学連携・ベンチャー】

医薬品の研究開発は、医薬品創出という明確な出口を見据えたものであり、産学連携の必要性・重要性については論を俟たない。しかし「学」がカバーする研究領域と「産」のニーズとの間には大きな隔たりがあり、わが国においては世界レベルにあるアカデミアと、競争力を有する製薬企業との間の本質的な協同体制が有効に組まれてこなかった。これは医薬に限らず、わが国におけるこれまでの研究開発の構造上の問題であると言えよう。その解決の一つの鍵となるのは、両者をつなぐ技術開発型のベンチャー企業であろう。医薬品の研究開発に関わるベンチャー企業の数はここ数年で増加傾向にある。「学」の技術を「産」のニーズを満たすレベルに仕上げ、医薬品創出を目指すベンチャー企業の役割は大きい。挑戦的な技術であっても欧米のベンチャーが研究を加速できる理由としては、アーリーフェーズのベンチャーに対する大型グラントがあり、萌芽的技術への評価が得やすく資金調達が比較的容易であること、製薬会社、大学、ベンチャーを循環する流動性の高い人材環境が挙げられる。わが国は特にこの点で後塵を拝し、ベンチャーや大学側に製薬会社の現役創薬研究者や開発経験者が集まりにくく医薬品開発の視点が不足する傾向にある。人材流動性の活性化を後押しする適切な施策に加え、アカデミアとの共同研究を含めた創薬ベンチャーを対象とするプロジェクトで萌芽的技術への研究開発支援体制を構築することが重要である。

【分野連携】

分野連携も医薬品の研究開発加速には欠かせない。「学」での研究はその性質上、一点集中型となる傾向があるが、医薬品の研究開発においては、化学、生物学、薬学、工学、情報科学、

臨床、規制科学など幅広い分野の研究者が協働することが必要となる。医薬品自体が従来の抗体、核酸医薬の枠を越え複雑化していることに加え、近年発展著しいAI技術、スクリーニングや合成の自動化に向けたナノテクノロジーや機械工学などの連携・融合の重要性が認識されている。現状、分野融合の場として学会や研究会がその機能を果たしているが、さらに踏み込んで分野横断的な連携を支援、促進するプロジェクトが求められている。

【制度整備】

わが国では新技術に対する承認ルール整備が課題である。米国におけるFDA主導のレギュラトリーサイエンスの取り組みを参考にすべきである。近年、先駆け審査指定制度が創設され改善されたものの、新規モダリティを用いた革新的医薬品開発のためには、原薬製造に対する製造設備や臨床試験に対する巨額投資を判断する必要があり、製薬企業が参入に足踏みをする要因となるため、この点も国からの継続的なサポートが必要である。

また革新的バイオ医薬品（第三世代）開発においてはADCあるいはBispecific抗体、人工核酸、人工ペプチドなど、わが国が技術面の優位性を有するものも一定程度存在する。これらの要素技術を武器に、当該分野でのプレゼンスをより一層高めるためには、技術を活用した市場の創出、技術を活かしたビジネスモデルの確立が不可欠といえる。そのためには、シーズから臨床までの一気通貫のサポートが求められ、その過程で培われるノウハウ、特許、知財は当該領域の産業振興に大きく貢献するものと思われる[12,52]。以上については官が引き続き先導すべき方向性を多く含み、対応する戦略構築が急務であるといえる。

加えて、医薬品開発においては最先端の研究開発とともに規制面での議論も合わせて行うことが非常に重要である。平成24年度～28年度に実施された、革新的医薬品・医療機器・再生医薬品実用化促進事業（厚労省）などはその好例である。この他にも、産官学の連携によるコンソーシアム型研究開発なども今後必要な取り組みの一つである。

【人材育成】

現在、わが国におけるバイオ・高分子医薬品の研究開発は産業界を中心に非常に活発化している。今後もこの勢いを維持しさらに発展させていくためには、当該研究分野で活躍する若手人材の育成は必要不可欠である。わが国は高分子医薬品に関連する人材育成で遅れが見られていたが、2017年8月にわが国初となるバイオ医薬品の開発・製造にかかわる人材育成拠点を目指すべく、一般社団法人バイオロジクス研究・トレーニングセンター（BCRET）が設立された。CMO、CDMO産業を強力に推進する上で重要な拠点であり、今後の充実と発展が期待される。また人材育成は異なる業種からの参入が刺激となることから、前述のように機械工学や情報工学分野からの人材も参画するプロジェクトによりOn-the-Job的に経験を積んでいく形での人材育成が効率的と考えられ、産学官が連携した若手育成のプログラムや、大学などにおけるリカレント教育などの充実が期待される。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | → | ・第４期科学技術基本計画では、ライフイノベーションの推進、第５次基本計画では、新たな価値創出のコアとなる強みを有する技術の一つとしてバイオテクノロジーが掲げられている。これらの重点的な研究推進、科学技術研究開発への積極的な投資から、バイオ医薬品に関連する領域として、化学、生命科学研究などにおいて国際的レベルに到達しつつある。<br>・革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業等により多くの成果が得られた。核酸化学を中心に基礎研究のレベルは高い。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・医療イノベーションについては、内閣官房に健康・医療戦略室を設置、2015 年に日本医療研究開発機構（AMED）を発足。COI（centre of innovation）や ImPACT、CiCLE、橋渡し研究など、基礎研究を発展させ技術移転、産業展開を政府主導で推進している。<br>・欧米の後塵を拝してきた抗体医薬品開発研究で複数の新薬承認があり、日本企業の競争力が急速に高まっている。「抗体医薬」の開発活発化を受け、CMO、CMDO 産業が活発になりつつあり、有力企業の投資意欲がさらに高まっている。<br>・ボナック、リボミック、NapaJen など複数のベンチャーの候補医薬品が臨床試験入り。日本新薬が DMD 治療薬で良好な臨床成績を発表。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | ・すべての研究分野で世界のトップレベルを維持している。NIH への研究開発予算、民間企業からの資金も潤沢に研究機関に流れている。<br>・肝臓を超えた核酸医薬品デリバリーの技術開発が顕在化[52]。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・基礎研究から医薬品開発への橋渡し研究を推進する国立先進トランスレーショナル科学センター（NCATS）が稼働している。基礎研究を製品に持ち込むまで、迅速な治験も含め、精力的な展開が図られている。<br>・長期にわたる国家戦略に基づいた成果から、世界のバイオ医薬品産業を引き続きリードしている。多数のバイオテクベンチャーが精力的に活動を展開している。バイオシミラー戦略でガイドライン作成など従前の方針を転換しつつある。<br>・Biogen-Ionis 社のスピンラザが商業的成功へ。Alnylam 社は初の siRNA 薬である Onpattro で承認取得。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | → | ・欧州：「ライフサイエンス＆バイオテクノロジーの欧州戦略 2010」（2002 年）、「健康への新しい戦略的アプローチ」（2007 年）、「欧州市民とバイオテクノロジー 2010」（2010 年）などがある。FP7 の一部である Cooperation プログラムにおいて「健康」への研究に 61 億ユーロが配分されている。同様に「食料・農業・バイオテクノロジー」に 19.3 億ユーロが配分されている。Horizon 2020 において、バイオテクノロジーがキー技術の一つとされ、社会的課題への対応としてバイオ医薬品が挙げられている[54]。<br>・アンチセンスオリゴヌクレオチドの経口投与技術の開発が活発化。エキソンスキッピングに関する研究も引き続き進展。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・英国：強みをもつライフサイエンスのより一層の強化のため、2009 年にライフサイエンス局（Officefor Life Science）を設立、研究会議横断型研究プログラム 6 分野の一つ「高齢化：生涯の健康と幸福」に対して 2011 ～ 2014 年の 4 年間で 1 億 9,600 万ポンドを配分。また、同じく「世界の食料安全保障」に対して同 4 年間で 44 億 4,000 万ポンドを配分（科学・研究資金配分計画）。<br>・ドイツ：BMBF は「国家研究戦略バイオエコノミー 2030」（2010 年）、「健康研究基本計画」（2010 年）などを制定。医薬品開発計画「ファーマ・イニシアティブ」を 2008 年 10 月にスタートさせ、その中核となる「バイオ製薬コンテスト」に 3 つの研究コンソーシアムを選定し、5 年間に総額 1 億ユーロを投入している。<br>・「アンメットメディカルニーズに対して革新的な治療を提供」するために『プライオリティー・メディシンズ』制度を創設。臨床データを示すことが望ましいが、非臨床成績のみに基づく応募も可。アカデミアによる応募も可。各種助言、専門担当官の任命、相談窓口の設置などで優遇される。<br>・オランダ ProQR Therapeutics が RNA 編集技術の実用化を推進。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 中国 | 基礎研究 | ○ | → | ・政策動向としては、2016 年 11 月に「第 13 次五カ年国家戦略的新興産業発展計画」第四章で「バイオ産業の創出を促進し、バイオ経済を国民経済の原動力に」をテーマとし、バイオ製薬産業の育成、バイオ医学の応用技術の加速、バイオによる大規模製造技術の開発などの重点分野を示している[54]。中長期計画として「タンパク質複合体と生命過程の制御」、「合成生物学」を掲げる。<br>・RNA activation による創薬を目指した研究が進展中。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・海外の模倣あるいは類似研究が多いものの、国策を背景に蘇州、上海中心に数千ある大小の企業が製品開発あるいはその周辺産業の発展に精力的に取り組んでいる。<br>・「中国製造 2025」における 10 課題の新製造産業振興策の一つとしてバイオ医薬をはじめとするバイオ医療を掲げている[54]。<br>・世界有数の CRO である Wuxi Apptec のグループ会社 WuXi STA 社と米国 miRNA 医薬開発の Regulus 社が製造に関する業務提携。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | → | ・ソウル大学、韓国科学技術院を初めとする有力大学で、バイオ医薬品開発に関連した研究が確実に進められ、国際的雑誌への掲載も見られる。<br>・siRNA とアプタマーを中心に基礎研究が展開されている。先行技術の応用研究が中心。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・2017 年 9 月、科学技術情報通信部は、2026 年までの「第 3 次生命工学育成基本計画（バイオ経済革新戦略 2025）」を議決、バイオ技術への社会的ニーズが高まり、新しいバイオ経済の時代が予想される中、国家レベルで戦略的に育成し、グローバル大国に飛躍するための計画としており、バイオ産業の育成に向けた今後 10 年間の青写真を提示し、本領域にも密接に関連している[54]。<br>・バイオ医薬品のグローバルリーダーを目指す韓国政府のバイオシミラー産業育成政策に基づき、セルトリオン、LG 生命科学、ハンファケミカル、サムスンバイオロジックスなど主要企業、バイオシミラーおよびバイオベターのグローバル事業化を活発に行っている。<br>・OliX Pharmaceuticals 社が抗瘢痕 RNAi 治療薬 OLX10010 の P1 試験を英国で開始。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1）赤羽宏友「バイオ医薬産業の課題とさらなる発展に向けた提言」『リサーチペーパーシリーズ』医薬産業政策研究所，No.71（2018）

2）「第 1 編バイオ医薬品開発の現状と展望、第 1 章タンパク質性バイオ医薬品開発の現状とこれから」『次世代バイオ医薬品の製剤設計と開発戦略』森下真莉子 監修，（東京：シーエムシー出版，2011）

3）Griffin L., Lawson A., “Antibody fragments as tools in crystallography.” Clin. Exp. Immunol. 165（2011）：285–91. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04427.x

4）Hino T, et al. “G-protein-coupled receptor inactivation by an allosteric inverse-agonist antibody.” Nature 482（2012）：237-40. doi: 10.1038/nature10750

5）日本貿易振興機構ソウル・センター「韓国バイオ産業及びバイオクラスターの現状」（2010）https://www.jetro.go.jp/ext_images/jfile/report/07000295/korea_bio.pdf（2018 年 12 月 28 日アクセス）

6）酒向浩二「2025 年の製造強国入りを目指す中国の新製造業振興策：2015 年度中国商務部国際貿易経済

合作研究院への委託調査」『みずほリポート』みずほ総合研究所（2016），http://www.mizuho-ri.co.jp/publication/research/pdf/report/report16-0627.pdf（2018 年 12 月 28 日アクセス）

7）青木謙治「バイオ医薬品分野の動向と我が国を取り巻く環境：医療分野で次世代の成長産業を創出するために求められること」『Mizuho Industry Focus』156（2014）

8）EMA「バイオシミラーに関する各種ガイドライン」https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/scientific-guidelines/multidisciplinary/multidisciplinary-biosimilar#Overarching%20biosimilar%20guidelines（2018 年 12 月 28 日アクセス）

9）赤羽宏友「バイオ医薬品（抗体医薬品）の研究開発動向調査:適用疾患と標的分子の広がり」『政策研ニュース』医薬産業政策研究所，No. 46，P.6-10（2015）

10）FDA「バイオシミラーに関する各種ガイドライン」https://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm290967.htm（2018 年 12 月 28 日アクセス）

11）PMDA「バイオ後続品の品質・安全性・有効性確保のための指針」平成 21 年 3 月 4 日 https://www.pmda.go.jp/files/000206248.pdf（2018 年 12 月 28 日アクセス）

12）内閣府　経済財政諮問会議 「経済財政運営と改革の基本方針 2017」（2017）https://www5.cao.go.jp/keizai-shimon/kaigi/cabinet/2017/2017_basicpolicies_ja.pdf（2018 年 12 月 28 日アクセス）

13）Crooke, S. T., Witztum, J. L., Bennett C. F., Baker B. F. “RNA-targeted Therapeutics.” Cell Metab. 27,（2017）：714-739. doi: 10.1016/j.cmet.2018.03.004.

14）Nishikura, K. “Functions and Regulation of RNA Editing by ADAR Deaminases.” *Annu. Rev. Biochem*. 79,（2010）：321-349. doi:10.1146/annurev-biochem-060208-105251.

15）3）Li, L.-C., et al. “Small dsRNAs Induce Transcriptional Activation in Human Cells.” . *Proc. Natl. Acad. Sci*.103,（2006）：17337-17342. doi:10.1073/pnas.0607015103.

16）Beck A et al, “Strategies and challenges for the next generation of antibody–drug conjugates” Nat Rev Drug Discov. 16（2017）:315–337

17）Kiyoshi M et al. “Assessing the Heterogeneity of the Fc-Glycan of a Therapeutic Antibody Using an engineered Fc γ Receptor IIIa-Immobilized Column.” Sci Rep.8（1）（2018）：3955

18）SabatineMS, GiuglianoRP, KeechAC et al. “Evolocumab and Clinical Outcomes in Patientswith Cardiovascular Disease.” N Engl J Med 376（2017）:1713-1722

19）Sevigny J et al. “The antibody aducanumab reduces Abeta plaques in Alzheimer’s diseases.” Nature 537（2016）, 50-56.

20）Kato Y et al. “A cancer-specific monoclonal antibody recognizes the aberrantly glycosylated podoplanin.” Sci. Rep. 4（2014）, 5924-5932

21）油谷・中村「蛋白質工学」朝倉書店（1991）

22）Zabetakis D., Anderson G.P., Bayya N., Goldman E.R., “Contributions of the complementarity determining regions to the thermal stability of a single-domain antibody.” PLOS ONE 8（2013）：e77678. doi: 10.1371/journal.pone.0077678

23）Saerens, D., Conrath K., Govaert J., Muyldermans S., “Disulfide Bond Introduction for General Stabilization of Immunoglobulin Heavy-Chain Variable Domains.” J. Mol. Biol. 377（2008）：478-88. doi: 10.1016/j.jmb.2008.01.022

24）Wang N.,et al. “Conserved amino acid networks involved in antibody variable domain interactions.” Proteins 76（2009）：99-114. doi: 10.1002/prot.22319.

25）Dudgeona K.,et al., “General strategy for the generation of human antibody variable domains with increased aggregation resistance.” Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109（2012）：10879-884. doi: 10.1073/

pnas.1202866109

26）Pepinsky R.B., et al., “Improving the solubility of anti-LINGO-1 monoclonal antibody Li33 by isotype switching and targeted mutagenesis.” Protein Sci. 19（2010）：954-66. doi: 10.1002/pro.372

27）Lensink M.F., Velankar S., Wodak S.J. “Modeling protein–protein and protein–peptide complexes: CAPRI 6th edition.” Proteins 85（2017）：359-377. doi: 10.1002/prot.25215

28）Fischman S. Ofran Y., “Computational Design of Antibodies.” Curr. Opin. Str. Biol. 51（2018）：156-62.

29）Baran D.,et al., “Principles for computational design of binding antibodies.” Proc Natl Acad Sci USA 114（2017）：10900-905. doi: 10.1073/pnas.1707171114

30）Bekker G., et al., “Accurate prediction of complex structure and affinity for a flexible protein receptor and its inhibitor.” J. Chem. Theory Comput. 13（2017）：2389-2399. doi: 10.1021/acs.jctc.6b01127

31）Holliger P., Hudson P.J., “Engineered antibody fragments and the rise of single domains.” Nat. Biotechnol. 23（2005）：1126–1136. doi: 10.1038/nbt1142

32）Huang L., Muyldermans S., Saerens D., “Nanobodies®: proficient tools in diagnostics.” Expert Review of Molecular Diagnostics 10（2014）：777-85. doi: 10.1586/erm.10.62

33）Kadam R.U., et al., “Potent peptidic fusion inhibitors of influenza virus.” Science 358（2017）：496–502. doi: 10.1126/science.aan0516

34）Arimori T.,et al., “Fv-clasp: An Artificially Designed Small Antibody Fragment with Improved Production Compatibility, Stability, and Crystallizability.” Structure 25（2017）：1611-1622. doi: 10.1016/j.str.2017.08.011

35）Tiede C., et al., “Adhiron: a stable and versatile peptide display scaffold for molecular recognition applications.” Protein Engineering, Design & Selection 27（2014）：145–55. doi:10.1093/protein/gzu007

36）Robinson J.I.,et al., “Affimer proteins inhibit immune complex binding to Fc γ RIIIa with high specificity through competitive and allosteric modes of action.” Proc Natl Acad Sci USA 115（2018）：E72-E81. doi: 10.1073/pnas.1707856115

37）Audenhove I.V., Gettemans J., “Nanobodies as Versatile Tools to Understand, Diagnose, Visualize and Treat Cancer” EBioMedicine 8（2016）：40–48. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.04.028

38）Beghein E., Gettemans J., “Nanobody Technology: A versatile Toolkit for Microscopic imaging, Protein–Protein interaction Analysis, and Protein Function exploration.” Front. Immunol. 8（2017）：771. doi: 10.3389/fimmu.2017.00771

39）Fujiia Y., et al., “PA tag: A versatile protein tagging system using a super high affinity antibody against a dodecapeptide derived from human podoplanin.” , Protein Expr. Purif . 95（2014）：240-47. doi:10.1016/j.pep.2014.01.009

40）Wang H., Han W., Takagi J., Cong Y., “Yeast Inner-Subunit PA–NZ-1 Labeling Strategy for Accurate Subunit Identification in a Macromolecular Complex through Cryo-EM Analysis.” J. Mol. Biol. 430（2018）：1417-25, doi: 10.1016/j.jmb.2018.03.026

41）Havens, M. A., Hastings, M. L. “Splice-switching Antisense Oligonucleotides as Therapeutic Drugs.” Nucleic Acids Res. 44, no. 14（2016）：6549-6563. doi: 10.1093/nar/gkw533

42）5）Prakash, et al. “Targeted Delivery of Antisense Oligonucleotides to Hepatocytes Using Triantennary N-Acetyl Galactosamine Improves Potency 10-Fold in Mice.” Nucleic Acids Res. 42, no. 13（2014）：8796-807. doi: 10.1093/nar/gku531.

43）6）Matsuda, et al. “siRNA Conjugates Carrying Sequentially Assembled Trivalent N-Acetylgalactosamine Linked Through Nucleosides Elicit Robust Gene Silencing in vivo in Hepatocytes.” ACS Chem. Biol. 10, no. 5（2015）：1181-1187. doi: 10.1021/cb501028c.

44）7）Yamamoto, et al. “Serial Incorporation of A Monovalent GalNAc Phosphoramidite Unit into Hepatocyte-targeting Antisense Oligonucleotides.” Bioorg. Med. Chem. 24, no. 1（2016）：26-32. doi: 10.1016/j.bmc.2015.11.036.

45）ICH S6 対応研究班 ,「SERIES 核酸医薬の非臨床安全性を考える」医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 46 no. 5（2015）：286-289; 46 no. 6（2015）：374-379; 46 no. 8（2015）：523-527; 46 no. 10（2015）：681-686; 46 no. 12（2015）：846-851; 47 no. 2（2016）：101-104; 47 no. 4（2016）：250-253; 47 no. 8（2016）：568-574; 47 no. 10（2016）：724-729.

46）木下 潔，他「核酸医薬品の安全性評価に関する考え方 ―仮想核酸医薬品をモデルとして―」医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 49, no. 2（2018）：105-111; 49, no. 3（2018）：157-163; 49, no. 4（2018）：207-214.

47）厚生労働省　医薬品産業強化総合戦略～グローバル展開を見据えた創薬～　平成 27 年 9 月 4 日策定，平成 29 年 12 月 22 日一部改訂

48）JST-CRDS 科学技術未来戦略ワークショップ報告書「生体との相互作用を自在制御するバイオ材料工学」CRDS-FY2018-WR-04（2018）

49）Ito, K.R., Obika, S. “Recent Advances in Medicinal Chemistry of Antisense Oligonucleotides,” in Comprehensive Medicinal Chemistry III, vol. 6（Elsevier, 2017）, 216-232. doi: 10.1016/B978-0-12-409547-2.12420-5.

50）Morihiro, K., Kasahara, Y., Obika, S. “Biological Applications of Xeno Nucleic Acids.” Mol. BioSyst. 13, no. 2,（2017）：235-245. doi: 10.1039/c6mb00538a.

51）平成２９年度　バイオ医薬品分野における知的財産戦略及び活用の最適化に関する調査研究報告書　平成３０年３月　一般財団法人 知的財産研究教育財団　知的財産研究所

52）Nikan, M., et al. “Synthesis and Evaluation of Parenchymal Retention and Efficacy of a Metabolically Stable O-Phosphocholine-N-docosahexaenoyl-l-serine siRNA Conjugate in Mouse Brain.” Bioconjug. Chem. 28, no. 6（2017）：1758-1766. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.7b00226.

53）JST-CRDS 研究開発の俯瞰報告書『主要国の研究開発戦略（2018 年）』CRDS-FY2017-FR-01（2018）

## ２．５．３　AI 創薬・創薬インフォマティクス・インシリコ創薬

### (1) 研究開発領域の定義

創薬の研究開発において、コンピュータを用いて医薬品開発を支援する領域。シミュレーションと AI（ビッグデータ解析・機械学習）を活用し、プロセスの自動・高速化、コストダウン、および大量情報処理による知識の抽出を経て創薬へと貢献する。理論ベースの量子シミュレーションと、データから学習させる機械学習の二つの方法が存在する。量子シミュレーションでは、正確性は担保されるが膨大な計算コストが必要である一方、機械学習は、比較的計算コストが低いが精度に難がある。両者は目的に応じて使い分けられている。本稿での対象領域は、創薬ターゲットを推論する最上流過程から、リード化合物最適化、前臨床試験までとする。

### (2) キーワード

インシリコ創薬、バーチャルスクリーニング、リード最適化、ADMET・薬物動態、ドラッグリポジショニング、人工知能、機械学習、Deep Learning、ビッグデータ解析、バイオインフォマティクス、ケモインフォマティクス、シミュレーション、計算化学、量子化学計算（QM）、分子動力学計算（MD）

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

医薬品の開発工程は、薬剤の標的タンパク質の探索からリード化合物の探索を経て、臨床段階へと至る多岐に渡る専門領域が連結した工程であり、創薬現場では、この工程に沿って試行錯誤やフィードバックを繰り返しながら医薬品開発がなされている。医薬品の候補となる化合物を探索、絞り込む際の要素技術は、化合物の収集・管理、アッセイ系の構築・実施、評価データの利用である。昨今の創薬においては、例えば「がん患者の幹細胞の mRNA 変異の分子生物学的解析から見つかった分子標的に対して、調製した標的タンパク質を用いて生化学者がアッセイ系を構築し、化学合成した化合物の活性を測定する。活性の最適化の為には標的タンパク質と化合物の共結晶の X 線構造解析を用いて結合様式を見出し、計算科学によって更なる活性及び選択性の向上を図る」といったことが行われている。さらには試験管内や培養細胞において生物活性や選択性がいかに優れていようとも、生体内での薬効や安全性が確認されなければ医薬品に不適であるので、薬物代謝の考察から生体内での安定性を最適化し、薬理学的に薬効を確認する必要がある。

しかし、これらの薬の７～８割ですら十分な分子プロファイリング（薬理薬効機序を理解するための化合物標的とその表現型パスウェイ情報）が得られていない。患者ヘルスレコードの電子化や、ゲノムをはじめとするオミクス情報の拡充などにより、医療ビックデータは急速に拡大している。その結果、医薬品の研究開発は標的分子主導型からデータ主導型に大きく転換しつつある。さらに、Precision Medicine への流れにより、予防や患者への適切な医療の提供が要求されている。

近年、製薬産業を取り巻く状況が大きく変化している。低分子を中心とした創薬ターゲットが枯渇しているといわれており、既存の研究手法の延長線上では新薬創出の成功確率が低下していることは大きな課題である。開発コストも年々上昇し、製薬産業のコスト体質を悪化させ

ている。さらに先進国では、高騰する薬剤費・社会保障費を背景に薬価抑制圧力が強く、日本では、イノベーティブな新薬として登場した抗がん剤「オプジーボ」の薬価が 50% 引き下げられる等、製薬会社は従来のビジネスモデルを再考せざるをえない状況である。

近年、深層学習によって飛躍的な進歩を遂げた AI は近年あらゆる分野で目覚ましい成果を上げている。今年 4 月に米国食品医薬品局（FDA）が眼底画像から糖尿病性網膜症の発症を、医師の手を借りることなく AI のみで診断する装置を認可した[1)]。その他にも、強化学習・自然言語解析等の AI におけるあらゆる研究分野が製薬産業の研究開発プロセスに適用可能であることから、AI 基盤技術である機械学習の手法を創薬に応用しようという試みがある。これまでにも、サポートベクターマシンに代表されるカーネル法、lasso などのスパースモデリング、ランダムフォレスト、ディープラーニングなどの機械学習の手法は既に創薬工程の様々な問題（化合物の活性予測、化合物の標的予測、化合物の薬理作用・副作用予測など）で提案されてきている。また、この機を受けて IT 企業が AI 技術を用いて創薬事業へ参入する動きもあり、創薬産業全体に大きな波が押し寄せている。

**［研究開発の動向］**

<u>創薬ターゲットの同定</u>

創薬ターゲット探索は、疾患を引き起こす原因に関連する遺伝子を特定することから始まる。1980 年代から急速に発展した遺伝子配列解析技術は、創薬の可能性を大きく広げた。1985 年のポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法の確立[2,3)]、1987 年の世界初の自動 DNA シークエンサーの発売、その後の膨大な遺伝子データの蓄積は、生命科学の発展だけでなく、疾患の原因遺伝子の特定などにも貢献した。その後、ショットガンゲノムシークエンシング技術の開発により急速にゲノム解析が進み、2000 年にはヒトゲノムのドラフトが発表され、2001 年にはセレラ・ジェノミクス社が Science 誌に[4)]、ヒトゲノムプロジェクト（HGP）が Nature 誌[5)] にヒトゲノムの全体像を発表したことは、創薬研究の競争の加速を促した。網羅的に遺伝子情報が得られるようになると、ゲノム中の 1 塩基多型情報 SNP（Single Nucleotide Polymorphism）と疾患の関連を調べることが可能になり、GWAS（Genome Wide Association Study）など疾患関連遺伝子の探索技術が発展してきた[6)]。一例として PCSK9（Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9）が挙げられる。フランスで高コレステロール血症を持つ家系の遺伝子を解析した結果、PCSK9 が原因遺伝子の一つとして同定された[7)]。その後 PCSK9 を創薬ターゲットとした家族性高コレステロール血症治療薬の開発が進められ、アリロクマブ、エボロクマブ（PCSK9 阻害薬）の創出につながった。創薬ターゲットを明らかにすることは、医薬品を開発していく上での第一ステップであり、特にヒトゲノム配列が解明されて以降、各製薬企業は創薬ターゲット探索に巨額の投資を行ってきた。

近年の創薬の方向性は、プレシジョンメディシンであるといわれている。創薬ターゲットが枯渇しつつあるといわれているにも関わらず、いまだに全ての疾患を治療する手段が提供できていないというのが現状の大きな課題である。このような状況の中、疾患にも個別の特性があり、同じ疾患でもそれぞれの特性に合った治療を行うべきであるという考え方は、創薬の在り方を少しずつ変化させてきた。疾患を分類するためには、個々の患者から、疾患と関わりのある情報（遺伝子など）を網羅的に解析し、分類する方法が考えられる。近年、遺伝子解析の低コスト化、高速化が進み、個人の遺伝子情報の取得が容易になってきたことから、個々人の疾

患の特性と遺伝子情報の関連を調べることが現実的になってきた。国立がんセンターが進めているSCRUM-Japanでは、製薬企業18社が参画し、癌患者の遺伝子情報をもとにした創薬に取り組んでいる[8)]。また、米国では23andMeといった民間企業による遺伝子解析サービスが実現し、民間企業で集積された大規模な遺伝子情報をもとに創薬を進める動きも活発化している[9)]。また疾患の表現型により近いと考えられる、代謝物、タンパク質、さらにはmiRNAを含むncRNA（non-coding RNA）等のオミクス情報は、プレシジョンメディシンを実現するためには必要不可欠である。現状の課題としては、このような複雑な情報をどのように分析し、データを解析するのかという点であり、様々な手法が開発されている。武田薬品、アステラス、第一三共は、3社共同で、バイオマーカー基盤構築[10)]、遺伝子データ解析研究[11)]を実施するなど、国内製薬企業間で非競争領域における連携も始まっている。最近では、AIを用いた手法を提供するバイオベンチャーが多数出現しており、創薬オミクス解析の主流になりつつある。

リード化合物の発見

リード化合物探索は、創薬ターゲットを特定したのち、想定される疾患メカニズムをもとにin vitroスクリーニング系を構築し、膨大な化合物ライブラリーを用いて、目的の機能を持つ化合物のスクリーニングが行われる（HTS：High-throughput screening）。リード化合物探索の段階では、いかにして薬の元になる基礎骨格見出すかが重要である。そのため、化合物ライブラリーによるスクリーニングでは、まず類似の構造を持つ複数の化合物群（ケモタイプ）に分類する。最終的に数種類のケモタイプを見出し、リード化合物の最適化を行う。リード化合物探索は、低分子創薬のスタートラインに立つための最も重要なプロセスである。しかし、膨大な化合物ライブラリーを無制限に評価することは事実上困難であるため、インシリコでリード化合物を予測するためのアルゴリズム開発も進んできた。

インシリコによるリード化合物探索を実施する上で必要なタンパク質の立体構造情報は、Protein Data Bank（PDB）[12)]などのデータベースに蓄積され、精度の高い3次元構造の蓄積も技術発展に貢献してきた。2000年ごろには、Fragment-Based Drug Discovery（FBDD）と呼ばれる手法により、比較的小さな分子（Fragment）とタンパク質の3次元構造を解析することで、リード化合物の元となる化合物骨格を見出す手法が主流であった。FBDDから創出された医薬品の例として、ベムラフェニブ（B-Raf阻害薬）、ベネトクラックス（BCL-2阻害薬）が挙げられる。

一方で、創薬の現場ではより精度の高いリード化合物探索が必要とされ、スパコンを用いた高精度のシミュレーションを元にしたバーチャルスクリーニング技術が同時に発展してきた。現在、バーチャルスクリーニングのソフトウェアは、有償、無償のものを含め非常に多くのものが存在し、創薬現場でも特別な技術ではなくなっている。バーチャルスクリーニングには、創薬のスピードアップ、精度の高い化合物デザイン、de novoドラッグデザインなどの成果が期待されている。技術的な観点から、ケモインフォマティクス（情報化学）に基づく方法と計算化学に基づく方法の2系統に大きく分類される。2つの方法の特徴（相違点）としては、既知のリガンドや活性化合物の情報を有する場合はケモインフォマティクス（情報化学）に基づく方法が適用可能であり、標的タンパク質の立体構造情報を有する場合は計算化学に基づく方法が適用できる点できる。

前者には様々な手法が提案されているが、Ligand-based drug design（LBDD）の枠組みで

定式化できる。ある標的タンパク質（もしくは複数の標的タンパク質）の既知リガンドや活性化合物の化学構造から活性の有無（もしくは活性の強さ）を学習した分類器（もしくは回帰式）を機械学習で構築し、新しい化合物の活性を予測する方法である。例えば、化合物の化学構造の記述子（フィンガープリントなど）を機械学習の特徴情報とする。立体構造が未知のタンパク質にも適用可能であるが、予測精度は学習データ内の既知リガンドや活性化合物の数に大きく依存し、数が少ないと精度が悪くなる。一方、計算化学に基づく方法は、タンパク質と薬剤候補化合物の結合自由エネルギーを、MD シミュレーションを用いて予測する、いわゆるドッキング計算ソフトと呼ばれるものであり、代表的なソフトウェアとしては CHARMM、AMBER、NAMD、GROMOS、GROMACS、DESMOND などが挙げられる。GROMOS と GROMACS は欧州で開発されているがそれ以外は全て米国の大学や研究機関で開発されている。様々なアルゴリズムが提案されているが、Structure-based drug design（SBDD）の枠組みで定式化できる。リガンド情報が未知のタンパク質に対しても解析可能であるが、立体構造が分かっているタンパク質にしか適用できないという弱点もある。スーパーコンピュータ「京」（2007 年～）、ポスト「京」（2014 年～）を用いた戦略分野の一つに創薬応用を掲げており、「京」の利用に向けて様々なソフトウェア（GENESIS、Modylas など）が開発され、利用が始まっている。

インシリコ創薬の課題の一つは、標的タンパク質構造情報の限界が挙げられる。タンパク質の３次元構造解析には、長年 X 線結晶構造解析と NMR（核磁気共鳴）法が用いられてきたが、生体内の構造を完全に再現できていないなどの課題があった。近年、クライオ電子顕微鏡を用いた原子レベルのタンパク質構造解析技術が実現してきたことから、従来の課題であった生体内の環境を反映した精緻なタンパク質構造を得ることができるようになった。特に、従来結晶を得ることが難しかった膜タンパク質、タンパク質複合体などの構造解析、また生体内のダイナミックな構造変化などをとらえることが可能になったことは、インシリコ創薬の発展に大きく貢献すると期待される。2017 年には、企業 16 社が参画する「創薬産業構造解析コンソーシアム」により、クライオ電子顕微鏡を活用した創薬の加速にむけた活動が始まっている [13]。

リード化合物の最適化

リード化合物をもとに、官能基の変換・付加等による構造変換と ***in vitro/in vivo*** アッセイによる活性の定量化を繰り返すことで、より活性の高い分子を見出す。このプロセスにおいても、分子シミュレーションによる化合物デザイン（SBDD : Structure-Based Drug Design）が大きな役割を果たしてきた。特に、キナーゼのような複数種類のタンパク質で活性中心の構造が似ている場合に、ターゲットとなるタンパク質に特異的な構造を設計する上で重要な示唆が得られる。リトナビル（HIV プロテアーゼ阻害薬）、イマチニブ（Bcl-Abl キナーゼ阻害薬）、ゲフィチニブ（EGFR 阻害薬）、オセルタミビル（ノイラミニダーゼ阻害薬）などは、SBDD により見いだされた薬の代表格である。

計算化学に基づく結合親和性予測法は、量子化学的手法と分子動力学計算的手法の２つのアプローチで開発されている。量子化学的手法では、米国カープラスら（当時ハーバード大学）が開発した QM/MM 法（2013 年のノーベル化学賞）やわが国の北浦ら（現・神戸大学）が開発した FMO 法などがあり、分子動力学計算的手法では、藤谷ら（現・東京大学）が考案した MP-CAFEE 法や米国コールマンら（当時カリフォルニア大学）が開発した MM-PBSA 法な

どがある。

SBDD による化合物最適化プロセスは、前述のクライオ電子顕微鏡を用いたタンパク質構造の精密化により、精度の高い化合物デザインが可能になっている。

前臨床薬効試験

非臨床薬効試験では、疾患モデル動物による化合物の効果が評価される。この段階においても、化合物の最適化が行われ、より臨床で効果を示す可能性の高い化合物が選択される。このとき、薬物動態（PK：Pharmacokinetics）と薬効（PD：Pharmacodynamics）の関連を解析すること（PK/PD 解析）で、最適な化合物選択と臨床での薬効予測を行い、臨床試験に進む化合物の選択が行われる。

薬物動態（生体内での化合物の吸収、分布、代謝、排泄）の評価では、薬効発現に必要な体内分布になっているか、適切に代謝・排泄されているかなど、薬効発現に必要な化合物の選択が行われる。薬物動態を知ることは薬効評価の前段階としても非常に重要である。そのため非臨床モデル動物での実測値だけでなく、薬物動態に影響を与える化合物の特性（化合物のタンパク質結合率、膜透過性、薬物トランスポーターとの親和性、血液脳関門透過性、薬物代謝酵素の阻害・誘導活性など）を測定し、これらのパラメータから非臨床・臨床の体内動態のシミュレーションを行う技術も研究されており、候補化合物の選択に貢献している。2015 年から医薬基盤・健康・栄養研究所が中心となり開始されたインシリコ創薬支援プロジェクトでは、薬物動態、安全性の予測システム開発が進められている [14)]。

既存薬の新しい適応可能疾患を予測するドラッグリポジショニング技術

疾患感受性遺伝子の情報を、遺伝統計解析を通じて多彩な生物学・医学データベースと分野横断的に統合することにより、新たな疾患病態や組織特異性の解明、疾患バイオマーカーの同定、疾患疫学上の謎の解明などに貢献できることが明らかとなりつつある。ファイザー製薬が資金提供をし、米国 BROAD Institute が上市薬を中心とした 1,309 種類の低分子化合物に対する遺伝子群の発現パターン（signature）変動解析を実施し、遺伝子発現データベースおよび解析用ソフトウエ Connectivity Map（C-Map）として公開した。この結果は BROAD Institute の Web 上でフリーにアクセス可能である。用いた細胞種は限られているが、上市薬を統一的な方法で網羅的にリプロファイリングしたという意味では先駆的な研究である。興味ある化合物の分子 signature を実験で取得し、C-Map 上のデータと比較することにより、類似した signature を有する上市薬を見つけることが可能である。その結果、その上市薬に付加している情報からリポジショニング、あるいは薬効パスウェイと副作用予測などの情報を得ることが出来る。例えば，炎症性大腸炎，前立腺がん，大腸がんに対して潜在的な効能がある既存薬や医薬品候補化合物の発見が多く報告されている．実際に、我が国においても、C-Map を活用し治療抵抗性の前立腺ガンに有効な化合物を C-Map 上から見いだし、医師主導型の臨床研究としてスタートしている。

解析している薬物の処理前後のオミクスデータを活用し、パスウェイを推定・絞り込みが可能である。これまで最も利用されているオミクスデータは発現頻度解析（トランスクリプトーム）であるが、質量分析によるタンパク質発現量絶対定量解析、あるいはリン酸化定量解析などの翻訳後修飾の網羅的な解析から、低分子化合物の生物活性を説明するパスウェイを効率的

かつ体系的に抽出可能となってきた。日本でもトキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクトにより、Project-Genomics Assisted Toxicity Evaluation system（TG-GATE）が開発され，約 150 個の薬物をラット個体およびラット・ヒト肝細胞への曝露時の遺伝子発現データが保存されている。

しかしながら、C-Map や TG-GATEs は化合物の数や細胞種の数が限られていた。C-Map における細胞種は主に 3 種類だけであった。近年、米国 BROAD Institute において、C-Map の後継プロジェクトとして Library of Integrated Network-based Cellular Signatures（LINCS）データベースが開発された。LINCS では，約 2 万個の薬物（既承認薬以外の化合物が大半）と 77 種類のヒト細胞株に対する遺伝子発現データが保存されている。化合物添加に対する遺伝子発現プロファイルだけでなく、タンパク質の遺伝子をノックダウンまたは過剰発現に対する応答を表す遺伝子発現プロファイルなども利用可能である。これによって、多様な細胞種における膨大な数の化合物のトランスクリプトーム情報を解析できるようになり、このリソースの創薬応用が大いに期待されている。化合物が標的タンパク質を阻害するか活性化するかによって薬理効果は全く異なるものになる。そこで、化合物応答遺伝子発現プロファイルと遺伝子ノックダウン応答遺伝子発現プロファイルあるいは遺伝子過剰発現応答遺伝子発現プロファイルと比較して、化合物の標的タンパク質を阻害と活性化を区別して予測する手法なども提案されている。しかしながら，同じ薬物の遺伝子発現プロファイルであっても、細胞間、濃度、測定時点、プラットフォームの違いによって変動する点には注意する必要がある。また細胞種によってはデータがほとんど取られていないものもあり、それらの欠損データの補完が課題である。

ドラッグリポジショニングは、薬物と疾患の効能という意味での関係性の有無を予測する問題として定式化できるが、機械学習における教師付き学習の枠組みで、薬物・疾患ネットワークを予測する手法が開発されている。薬物の特徴プロファイル（薬の副作用や作用点など）と疾患の分子的機序プロファイル（病因遺伝子，環境因子，疾患パスウェイなど）を融合解析し，薬物・疾患ペアを「効能あり」のクラスか、「効能なし」のクラスに分類する機械学習アルゴリズムが開発されている。教師無し学習の枠組みでは、薬物の遺伝子発現プロファイルと疾患患者の遺伝子発現プロファイルを比較し、逆相関の組み合わせを見つけることで、疾患病態特異的な遺伝子発現パターンを打ち消すような薬物を選ぶ手法が提案されており、そのための様々なスコアリング手法が提案されている。

薬の分子は本来目標とした標的タンパク質だけではなく、それ以外の複数のタンパク質（オフターゲット）に結合することで予想外の薬理作用を起こすものがあり、期待する薬効だけではなく様々な副作用を引き起こす。単一の標的タンパク質だけでなく全ての標的タンパク質（プロテオーム全体）を考慮するポリファーマコロジー（polypharmacology）の概念に基づき、polypharmacology プロファイルを入力とし、疾患情報と関連付けることによって、薬物の適応可能疾患を機械学習で予測する手法が提案されている。また複数の薬の組み合わせによって効能を増強させる研究や、逆に複数の薬の組み合わせによる重篤副作用を予測する研究なども近年行われてきており、機械学習の技術も利用されている。複雑系薬剤の典型例である漢方薬や生薬の作用機序をポリファーマコロジーの観点から情報科学的に解剖する研究や、漢方薬や生薬のリポジショニングの研究も近年報告され始めている。

### （4）注目動向

［新展開・技術トピックス］

- 目標の特性（薬効など）を持つ化合物を、大量の化合物のスクリーニングから見つけるのではなく、目標の特性を持つ化学構造を新しく予測する逆構造活性相関解析（通常の構造活性相関解析とは逆方向のアプローチ）も最近研究が進められている。化合物の構造をSimplified Molecular Input Line Entry System（SMILES）という文字列で表記し、確率的言語モデルを用いて文字列のパターンを学習する研究が、創薬やマテリアルインフォマティクスの分野で出現している。N-gramという言語モデルや変分自己符号器や再帰的ニューラルネットワークなどディープラーニングによる言語認識・生成を用いた分子設計手法が開発されている。他にもGraph convolution networkを用いて画像処理を応用して最適化問題に落とし込む方法がある。大きな動きとしては、スタンフォード大学や米国シュレーディンガー社が中心となり、オープンソースの計算ライブラリーを提供するDeepChem[15]と、Preferred networksが公開するChainer Chemistry[16]が挙げられる。しかしながら、提案される化学構造が実際に合成可能なものかどうかは保証が無いのが現状である。
- 深層学習は大量の演算を必要とし、その計算コストが大きな課題となっていたが、GPU（画像処理プロセッサ）を応用することで、CPUに頼る従来の演算システムに比べて数倍から数十倍の高速化が可能になった。このGPUに強みを持つ米国の半導体メーカー・NVIDIAはGPUの創薬への活用を推進しており、分子動力学シミュレーションや、量子化学シミュレーション等での活躍が期待されている。
- AI創薬においては、米国IBMが開発したWatson for drug discoveryが先行している。ベイラー医科大学の研究グループは、本システムを用いてp53に関する約7万件の論文から、p53を活性化するリン酸化酵素を新たに7つ同定した[17]。また、東京大学医科学研究所は2016年にWatsonを用いて、専門家でも診断が難しい特殊な白血病をわずか10分で突き止め、60代の女性患者の命が救われたと発表した[18]。Watsonは数千万件に上る文献・薬の特許情報を学習し、患者の遺伝情報と照らし合わせた結果、当初診断された急性骨髄性白血病とは異なる特殊な白血病であると判断し、抗がん剤の変更を提案した[19]。この成果に代表されるように、自然言語処理の技術発展は目覚ましく、新規ターゲット分子の発見・ドラッグリポジショニング等様々な用途に使われている。
- Googleは加齢及び神経変性疾患や癌などの加齢に伴う疾患に焦点を充てた子会社Calico社を創設し、アッヴィ社と業務提携を締結している[20]。日本でも、NECやDeNA等複数のIT企業が創薬分野へ参入している。実際にNECは、山口大学、高知大学と共同で発見したがん治療用ペプチドを使ったワクチンの開発・実用化を進める新会社「サイトリミック株式会社」を設立した[21]。
- 電子カルテや入院記録など電子健康記録（EHR）を解析して、患者の家族歴と疾患表現型の関連性を推定した研究が近年Cell誌で発表された。EHRの緊急連絡先に記載されている患者の両親や兄弟、子供などの血縁関係者の情報を基に、患者の家系図を構築した。その家系図データを基に、約500種の疾患に関する遺伝情報と臨床情報の相関関係を推定している。大規模な臨床データを疾患研究や医療応用に活用する一つのアプローチとして注目される。

- Merck Molecular Activity Challenge と呼ばれる世界的な化合物活性予測コンテストで、様々な機械学習の手法が比較および検討された。その結果、1 位はディープラーニングだったが、２位のサポートベクターマシンとほとんど差は無かった。ディープラーニングは常に万能ではなく、特徴データの形式、学習データの質・量、解くべき問題に大きく依存すると思われる。生命医科学や創薬科学の関連データは欠損値が大部分で、バイアスが大きく、サンプル数も少ないので、そのあたりの独特の難しさが障壁となる。
- ディープラーニング等を活用した AI は予測プロセスがブラックボックスになるという問題点がある。製薬業界・医療業界など、不良品の発生や診断ミスが致命的な損害に直結する産業では特に大きな問題であり対策が求められている。近年、このブラックボックス問題の解決策を模索する研究が活発であり、画像認識・自然言語処理等において Attention を使用して、推論結果の根拠を可視化する研究が行われている。
- 疾患の病態は基本的に疾患特異的と考えられるが、特徴的な分子機序は疾患間でも共通し、創薬標的やバイオマーカーが共通する場合がある。それゆえ、疾患間の共通性の理解は、医薬品の探索や最適な治療法の選択に直結する。例えば相関がある疾患として、癌とリウマチ、糖尿病とアルツハイマー病、喘息とアトピー性皮膚炎などの関係が知られている。疾患感受性遺伝子と疾患治療薬の標的遺伝子の分子ネットワーク上（タンパク質間相互作用や代謝パスウェイ）での近さやトポロジーによる疾患関係性の研究や、疾患患者の遺伝子発現プロファイルの類似性による疾患関係性の研究、電子カルテデータによる疾患関係性の研究などが報告されている。
- 既存の低分子化合物は単一の標的分子に対して設計されたものがほとんどである。一方、近年、一つの化合物で複数の標的分子を設計する Polypharmacology が発展しつつある。複数の分子を標的にすることにより、化合物の探索・最適化プロセスは複雑化するが、AI を駆使することで化合物を効率的に絞りこむことが可能になった [19]。この分野で著名な英国ベンチャー・Exscientia は複数の製薬会社との共同研究を行っている [22]。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

- 行政・アカデミア・企業がデータセットを開示し、世界中の統計家やデータ分析家が最適なモデルを競い合う取り組みがみられている。2012 年に独メルクが Kaggle に化合物のデータセットを公開したこと [23] を契機に、今まで社内に閉ざされていたデータが外部へ公開される機運が出てきた。直近では、スウェーデンの研究グループが主導する The Human Protein Atlas が細胞内タンパク質の局在データ [24] を、FDA は臨床データ・プロテオミクスデータ・RNA-seq データを含むマルチオミクスのデータセットを公開し [25]、外部の知見を最大限活用し、自身の抱える課題解決を試みている。
- マサチューセッツ工科大学が中心となり、医薬品発見と合成のための機械学習コンソーシアム（Machine Learning for Pharmaceutical Discovery and Synthesis Consortium）が 2018 年に立ち上がり、大手製薬会社も参画している。同コンソーシアムは、低分子の発見と合成に役立つソフトウェアのデザイン促進を目的としている [26]。
- 国・行政やアカデミアが主体となり、東北メディカル・メガバンク [27] に代表される、ゲノム情報を中心としたバイオバンクや、クリニカル・イノベーション・ネットワーク（CIN）[28] 等の各種疾患レジストリが構築されている。AMED で実施されている産学官共同創薬

研究（GAPFREE）などは、産学連携のコンソーシアム形式による新しい取り組みである。また、京都大学では同意取得、検体の品質管理から診療情報までを組み合わせた、一貫した研究体制の整備を推進しており、クリニカルバイオバンク研究会の参加大学（北大、千葉大、岡山大など）と共に産学連携の仕組み構築に積極的である。これらと既存の研究・治験データのデータベースと組み合わせたターゲット探索及び臨床開発への活用が期待されている。

- 製薬・ヘルスケア関連のライフサイエンス分野のためのAI・ビッグデータ技術開発をpre-competitive領域で開発し、産業競争力を高めるコンソーシアムであるLINC（Life Intelligence Consortium）が京都大学／理化学研究所・奥野を中心に立ち上がった。現在、大学・製薬会社・IT企業など100以上の機関が参画し、研究から開発・マーケティングまで広い範囲を対象に技術開発を行い、2020年までに創薬の効率化を目指している[29)]。
- 内閣府の官民研究開発投資拡大プログラムPRISM（Public/Private R&D Investment Strategic Expansion PrograM）創薬分野では、「新薬創出を加速する人工知能の開発」を目指した省庁連携研究プロジェクトが開始された。本研究プロジェクトでは、新規創薬標的を発見することを目的とし、実臨床情報と文献等の既存知識のデータベースの構築やそれらを利用して創薬標的を推定する人工知能を研究開発する。本研究プロジェクトは、医薬基盤・健康・栄養研究所、理化学研究所、科学技術振興機構が中心となり、国立がん研究センター、産業技術総合研究所、東京大学、京都大学、大阪大学、九州工業大学など、計15の産学官の研究機関が連携・協力している。
- 経済産業省で、毒性関連ビッグデータを用いた人工知能による次世代型安全性予測を目指したAI-SHIPS（AI-based Substances Hazardous Integrated Prediction System）プロジェクトが実施されている。基本的には、一般化合物の毒性が予測対象となっており、動態的アプローチ、代謝的アプローチ、AI的アプローチ、トキシコゲノミクス的アプローチを組み合わせ、統合的予測システムの構築を目指している。同じ手法は医薬品開発における毒性研究にも利用可能なので、創薬応用の視点からも研究成果が期待されている。

### (5) 科学技術的課題

- ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオームだけでなく、エピゲノム、メタボローム、臨床情報など多階層のオミックス情報の連結による、創薬標的分子の探索が期待されている。内閣府PRISMプロジェクト（創薬分野）においても、多階層オミックスアプローチによる新しい創薬標的の同定が計画されている。しかしながら、同一患者に対して多階層のオミックス情報や臨床情報を測定することはコストが非常に大きくなる。多階層のオミックス情報を連結する情報技術は確立されておらず、その開発は急務である。
- 医薬品候補化合物取得の方法に予め標的を定めないフェノタイプベースのハイスループットスクリーニング（PHTS）があるが、目的とするフェノタイプに合致した化合物をヒット化合物として得るための重要な方法である。一方で、PHTSで見出された化合物は標的分子や作用機序が未知で、標的分子の同定に大きな労力を必要とするため、標的未知化合物の標的予測法が切望されている。化合物の化学構造、人体に対する副作用パターン、化合物応答遺伝子発現情報などを基に機械学習の技術を駆使した標的分子予測法が提案されてきている。しかしながら、リガンド情報が未知なタンパク質に対する予測（学習データ

が無い場合の予測）は困難なのが現状である。
- 薬の標的として単一のタンパク質だけでなく全てのタンパク質（プロテオーム全体）を考慮するポリファーマコロジー（polypharmacology）の研究
- 複数の薬の組み合わせによる効能増強、交互作用、重篤副作用の研究
- 多様な疾患間の分子機序の相関を明らかにする研究
- ヒト―動物間のブリッジング研究：モデル動物を用いた薬効薬理試験は臨床予測性が不十分であり、医薬品の研究開発の成功率が向上しない大きな原因の一つになっている。
- 臓器チップ等のよりヒトの生体を反映できるモデルと計算科学の融合
- 疾患によって得られるゲノムデータやオミックスデータの質や量の差が大きく異なる。患者数の多い疾患はデータが豊富に得られるのに対し、希少疾患に対するデータは非常に少ない。同様に、薬に関しても、利用できるオミックスデータの質や量の差が大きく異なる。
- 抗体医薬・中分子医薬などの分子デザインに関する計算技術
- リアルワールドデータを活かした創薬
- アルゴリズムの計算結果を基にデータを再習得し、アルゴリズムをさらに改善させるアクティブラーニング
- 量子コンピューティングの創薬への応用

### （6）その他の課題
- 薬物投与時の臨床情報は有用なリソースとなるが、日本では大規模な臨床データが手に入りにくい。
- AI 開発にあたり、学習データセットの選択とその構築方法は大きな課題である。AI は一般的に学習データセットの規模が大きくなるほど性能が高くなる傾向にあるが、一方で製薬会社が個々に新規でデータセットを確立することは非効率的であり、国内でいくつも似たようなデータセットが同時多発的に構築されることは望ましくない。また、AI は発展途上の技術であるため、目的に対しての学習データセット構築方法が確立されておらず手探りの状況が続くため、コンソーシアム的な取り組みでも利害関係者が多すぎる場合、かじ取りが困難である。
- AI は学習データに応じて性能が向上するだけでなく、悪化する可能性があるため、品質の担保が課題である。現在は、正しくバリデーションされた時点で推論専用のモデルとして品質を担保することで一定の解決策となっているが、人工知能の継続的な学習能力を活かした形で品質が担保できる仕組みが整備されることが望ましい。
- 医療データを創薬へ活かすための大きな課題に、医療現場のデータが整備されていないことが挙げられる。各病院の電子カルテのデータはフォーマットが統一されておらず、自然文で記述されることが多い。解決方法としては、①共通のテンプレートを用意する方法と、②自然言語処理技術を応用する方法の大きく二通りが存在し研究が進められている。
- データの標準フォーマットやオントロジーの整備が課題である。遺伝子名、化合物名、疾患名、症状、フェノタイプ、副作用の定義、データフォーマットなどがデータベース間や研究者コミュニティによって異なるため、多様なリソースのデータを統合解析する際には、情報解析可能にするためのデータクリーニングに膨大な時間を費やす。
- ドラッグリポジショニングは必要な薬を患者に迅速に届けるための有効な手法であるが、

古い薬は薬価が低く抑えられ、物質特許を取ることが困難であるため、製薬会社にとっては再開発に成功したとしても必ずしも独占的な利益を生み出すものになるとは限らない。薬価の決定法など行政レベルでの対策が必要である。

・ 創薬インフォマティクス研究は、医学薬学の高度な知識と計算科学の専門性が要求されるため、専門人材が産業界で枯渇している。また、学際領域の教育システムが定着しにくいわが国においては、総合的な創薬の教育体制を整備している大学は皆無にひとしい。そもそも日本の大学において創薬インフォマティクスを専門にする教員のポストはほとんど無い。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・国立がん研究センターが主導する SCRUM-Japan[8] が創薬への応用を目指し、がん患者のゲノム収集を開始している。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・IT 企業の創薬分野への進出及び、AI 創薬でのベンチャーも増加傾向にある。<br>・国内の製薬会社・IT 企業・京都大学を中心としたライフサイエンスでの AI 開発コンソーシアムが立ち上がった[29]。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | ・2017 年にグラクソスミスクラインは国立がん研究所等と ATOM（Accelerating Therapeutics for Opportunities in Medicine） コンソーシアムを立ち上げた[30]。最新の IT テクノロジーを用いて、創薬の劇的な効率化を目指す。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・アカデミアの成果を基に、本分野でのベンチャーが数多く立ち上がっている。<br>・Atomwise はエボラ出血熱に有効な候補薬をわずか 1 日で発見した[31]。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | → | ・英国民保健サービス（NHS）は Google 傘下の DeepMind と提携し、医療分野での AI 活用を推進している[32]。既に眼底検査の AI を適用した論文[33]、CT 画像の AI によるセグメンテーションの論文等[34]、著明な成果が出ている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・英国発ベンチャーの Benevolent.ai は深層学習を使った逆合成経路提案 AI の開発等[35]、著明な成果をあげ、ユニコーンに成長している。 |
| 中国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・北京大学・中国科学院上海药物研究所などが中心となり、創薬応用に向けた研究が数多く行われている[36]。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・2015 年から医薬品産業の発展戦略を国家戦略として打ち出し、医薬品・医療機器の審査・承認制度改革が進められおり、新薬創出国に猛追している。AI 創薬に関する国家プロジェクトが幾つかスタートしている。Baidu, Tencent 等の中国テックジャイアントも AI 創薬ベンチャーへ投資し、創薬産業への進出を目論んでいる。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | → | ・韓国科学技術院 KAIST は薬物と薬物、また人間と薬物の相互作用を正確に予測する「DeepDDI」というシステムを開発[37] |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・政府の戦略的な支援のもと、米国やアジア諸国の研究者と連携した国際的な産業化の取り組みが行われている。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## （8）参考文献

1）“FDA permits marketing of artificial intelligence-based device to detect certain diabetes-related eye problems” https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm604357.htm
2）Saiki RK et al., “Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia.” Science. 1985 Dec 20;230（4732）:1350-4.
3）Mullis KB et al., “Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction.” Methods Enzymol. 1987;155:335-50.
4）Venter JC et al., “The sequence of the human genome.” Science. 2001 Feb 16;291（5507）:1304-51.
5）Lander ES et al, “Initial sequencing and analysis of the human genome.” Nature. 2001 Feb 15;409（6822）:860-921.
6）Ozaki K. et al., “Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction.” Nature Genetics. 2002 Dec;32（4）:650-4. Epub 2002 Nov 11.
7）Abifadel M et al., “Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia.” Nature Genetics. 2003 Jun;34（2）:154-6.
8）SCRUM-Japan HP, http://www.scrum-japan.ncc.go.jp/
9）グラクソスミスクライン社プレスリリース（2018/7/25）, https://www.gsk.com/en-gb/media/press-releases/gsk-and-23andme-sign-agreement-to-leverage-genetic-insights-for-the-development-of-novel-medicines/
10）武田薬品工業株式会社プレスリース（2016/5/23）, https://www.takeda.com/jp/newsroom/newsreleases/2016/20160523_7414/
11）ジーンクエスト社プレスリリース（2018/9/10）, https://genequest.jp/topics/news/0/285
12）Protein Data Bank, https://www.rcsb.org/
13）創薬産業構造解析コンソーシアム , http://pcstructure.jp/
14）インシリコ創薬支援プロジェクト , http://www.nibiohn.go.jp/cddr/research/project05.html
15）DeepChem HP, https://deepchem.io/
16）Chainer Chemistry HP, https://github.com/pfnet-research/chainer-chemistry
17）Scott Spangler, et al., “Automated Hypothesis Generation Based on Mining Scientific Literature” Proceedings of the 20th ACM SIGKDD international conference on Knowledge discovery and data mining. Pages 1877-1886 10.1145/2623330.2623667
18）宮野悟「AI 活用でゲノム医療・精密医療の実現へ」Nature ダイジェスト Vol. 13 No. 12 | doi：10.1038/ndigest.2016.161220
19）Besnard, Jérémy et al. “Automated Design of Ligands to Polypharmacological Profiles.” Nature. 492.7428（2012）：10.1038/nature11691.
20）AbbVie Inc. HP, https://news.abbvie.com/news/ Calico LLC. HP, https://www.calicolabs.com/
21）日本電気株式会社 HP, https://jpn.nec.com/press/201612/20161219_02.html
22）Exscientia Ltd. HP, https://www.exscientia.co.uk/portfolio/
23）kaggle Merck Molecular Activity Challenge HP, https://www.kaggle.com/c/MerckActivity
24）kaggle Human Protein Atlas Image Classification HP, https://www.kaggle.com/c/human-protein-atlas-image-classification
25）PrecisionFDA HP, https://precision.fda.gov/challenges
26）Machine Learning for Pharmaceutical Discovery and Synthesis Consortium HP, http://mlpds.mit.edu/
27）東北メディカル・メガバンク機構 HP https://www.megabank.tohoku.ac.jp/

28）AMED HP, https://www.amed.go.jp/program/list/05/01/015.html
29）理化学研究所　健康生き活き羅針盤リサーチコンプレックス HP, https://rc.riken.jp/life-intelligence-consortium/
30）ATOM HP, https://atomscience.org/
31）Atomwise Inc. HP, https://www.atomwise.com/2015/03/24/new-ebola-treatment-using-artificial-intelligence/
32）DeepMind Ltd. HP, https://deepmind.com/applied/deepmind-health/
33）De Fauw, et al., “Clinically applicable deep learning for diagnosis and referral in retinal disease” Nat. Med. 24, 1342–1350（2018）doi: 10.1038/s41591-018-0107-6.
34）Nikolov et al., “Deep learning to achieve clinically applicable segmentation of head and neck anatomy for radiotherapy” arXiv:1809.04430
35）Segler et al., “Planning chemical syntheses with deep neural networks and symbolic AI” Nature, 555. 604–610（2018）doi: 10.1038/nature25978
36）Ling Wang “Drug discovery in China: challenges and opportunities” National Science Review 5.5.768-773（2018）doi: 10.1093/nsr/nwy085
37）Jae Yong Ryu, Hyun Uk Kim, Sang Yup Lee “Deep learning improves prediction of drug–drug and drug–food interactions” Proc Natl Acad Sci U S A. 115（18）E4304–E4311（2018）doi: 10.1073/pnas.1803294115

## ２．５．４　遺伝子治療・細胞治療

### (1) 研究開発領域の定義

治療用遺伝子、或いは遺伝子を導入した治療用細胞を生体内に投与することで疾患を治療しようとする医療技術である。いずれもここ数年、圧倒的な治療効果を示す事例が登場し、またゲノム編集技術の改良によって、さらに効果的な医療応用が可能なレベルに到達したこともあり、遺伝子治療・細胞医薬のいずれについても開発競争が激化している。対象疾患の多くはがんや先天性の遺伝性疾患である。

### (2) キーワード

遺伝子治療、CAR-T、TCR-T、細胞医薬、ベクター、幹細胞、免疫細胞、ゲノム編集、ゲノム修復、免疫レパトア解析

### (3) 研究開発領域の概要

#### [本領域の意義]

遺伝子治療は、従来型の医薬品（低分子医薬、高分子医薬など）では治療困難な疾患に対し、１回の治療で根本的な治療法を提供するために開発が進められてきた医療技術である。その背景には、遺伝子組み換え技術および遺伝子導入ベクター技術の登場、そして 2010 年代以降のゲノム編集技術の登場、という技術的なブレイクスルーがある。細胞医薬は、遺伝子治療に続いて開発が進められている新たな医薬品の形態であり、位置づけとしては遺伝子治療に近い医療技術である。これらは、圧倒的な治療効果を示すものもあることから今後の展開が期待されるが、同時に極めて高額な治療コスト（およそ 5,000 万円～１億円）が、多くの人々へ医療提供を進めていく上で、克服すべき課題であると考えられる。

#### [研究開発の動向]

遺伝子治療は大きく分け、体外に取り出した患者細胞に目的遺伝子を発現させ、体内に戻す手法と、ベクターの全身投与によって標的臓器に遺伝子を直接発現させる手法に分けられる。遺伝子治療の最初の成功例は、2000 年に報告された X-SCID（X-linked severe combined immunodeficiency）に対する造血幹細胞遺伝子治療である。自己造血幹細胞を採取し、レトロウイルスベクターを用いて欠損遺伝子を導入し、自己造血幹細胞移植をした。治療は劇的な効果を示したものの、治療を受けた児が 2 ～ 3 年後に急性Ｔリンパ球性白血病を次々と発症し、大問題となった（5 例中、1 例死亡）。いずれの場合も、レトロウイルスベクターのゲノムが *LMO2*（LIM domain only-2）遺伝子に挿入され、ウイルスベクターの LTR（long terminal repeat）のプロモーター活性が当該遺伝子を人為的に活性化したことが白血病のトリガーとなった。この深刻な副作用を契機に、遺伝子治療の開発は停滞期に入った。

その後、この問題を解決するために、LTR の自己不活性化や、転写開始点に挿入され難いレンチウイルスベクターが用いられるようになった。結果として、ベクターの安全性は改善し、現在では様々な遺伝性疾患に対する臨床試験が行われている。同様の造血幹細胞を標的とした遺伝子治療の対象疾患としては、X-SCID 以外に、ADA 欠損症[1)]、Wiscott-Aldrich 症候群[2)]、β - サラセミアなどで治療効果が認められている。その他、X 連鎖副腎白質ジストロフィー

（ALD）[3] や異染性白質ジストロフィー（MLD）[4] といった中枢神経症状を呈する疾患でも、造血幹細胞遺伝子治療によって症状の進行が抑えられることが報告されている。ADA 欠損症に対する造血幹細胞遺伝子治療製剤は、2016 年に Strimvelis® として欧州医薬品庁（EMA）の承認を受けた。

ここ数年、遺伝子治療が世界的に注目を集めている背景には、造血幹細胞の遺伝子治療に加えて、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを用いた遺伝子治療の臨床試験で成功例が出てきていることが挙げられる。AAV ベクターは、直接投与によって神経細胞、肝細胞、筋細胞などの終末分化した非分裂細胞をターゲットとするのに適しており、それらの細胞では遺伝子発現が長期間（年単位）持続する。AAV は非病原性ウイルス由来であり、アデノウイルスベクターよりも免疫原性が少ないことから、安全性にも優れている。また、AAV ベクターには臓器指向性が異なる複数の血清型があり、標的細胞に応じて最適な型を使い分けることが可能である。臨床効果が得られている対象疾患として、レーバー先天性黒内障[5]、コロイデレミア（網脈絡膜変性疾患）[6]、パーキンソン病、AADC 欠損症[7]、血友病 B[8] [9]、血友病 A[10]、Spinal Muscular Atrophy（SMA）[11]、LPL 欠損症[12] などが挙げられる。2017 年に RPE65 変異を認めるレーバー先天性黒内障に対する AAV ベクターが LUXTURNA® として米食品医薬品局（FDA）で承認された。

また、遺伝子治療の延長線上にあるとも言える、「細胞医薬」とも呼ぶべき新規医療技術の登場も世界的に大きく注目を集めている。主にがん細胞に対し、細胞傷害性 T リンパ球の活性を人工的に強化することで治療効果を発揮しようとするものである。T 細胞をがんの治療に使うという戦略自体は古く、例えば 1980 年代から米国 NIH の Rosenberg らによって腫瘍に浸潤している T 細胞（TIL）を体外で活性化・増幅して投与する方法などを進めてきた。TIL を用いた養子免疫療法は様々な改良が加えられ、最近ではこの方法で転移性メラノーマの患者の 4 割が長期生存できたなどの成果が報告されているが、まだ標準治療には至っていない[13]。一方で、近年、患者の T 細胞に遺伝子改変を加えるという戦略により、大きな効果が得られるようになった。現時点では大きく 2 つの方向性があり、①特定の細胞表面抗原（CD19 抗原など）を認識するキメラ抗原受容体（CAR）を T リンパ球に発現させる方法、② MHC クラス I 分子の提示するペプチドを認識する T 細胞受容体（TCR）をクローニングし T リンパ球に発現させる方法、である。CD19 抗原を発現させた CAR-T 治療では、再発・難治性急性リンパ性白血病の 70 ～ 90%で完全寛解が得られるという驚異的な治療成績が報告された[14] [15]。2017 年、上記①の FDA 承認が 2 件なされた（急性リンパ性白血病に対する KYMRIAHR®、悪性リンパ腫に対する Yescarta®）。また、上記②についても、特定のがん種に対し一定の効果が報告されている[16] [17] [18]。

以上のように遺伝子治療・細胞医薬の高い有効性が実証された結果、世界の製薬企業・ベンチャーが大きな関心を示している。造血幹細胞遺伝子治療については欧州を中心にコンソーシアムが設立され臨床開発が進められている。AAV ベクターを用いた遺伝子治療や CAR-T 治療については、新規ベンチャー企業が次々と設立され、開発競争が激化している。ビジネスとして成立しやすいものについては、米国において特に加速している。2018 年 1 月には Celgene 社が CART 療法の開発を行ってきた Juno Therapeutics 社を 1 兆円で買収した。わが国においても 2014 年の薬機法改正により再生医療等製品の規定が新設され、臨床開発をしやすい環境が整ってきたことから、徐々に研究開発が活性化している。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

注目すべき技術的ブレイクスルーとして、ゲノム編集技術の医療応用が挙げられる。2012年のCRISPR/Cas9登場以降、ゲノム編集技術が基礎生命科学研究広く浸透し、絶え間ない技術改良・高度化の結果、医療応用も可能な技術となり、有効性が実証された事例も次々と報告されている。例えば、HIV患者のリンパ球を取り出してCCR5遺伝子をゲノム編集により破壊し、患者体内に戻すと、ウイルス量の減少とリンパ球の増加が認められた事例が報告されている[19]（CCR5を欠損している人は、エイズウイルスに抵抗性であるという臨床的観察に基づいた治療法）。

CRISPR/Cas9を搭載したAAVベクターの直接投与によるゲノム編集治療も報告されはじめている。マウス疾患モデルでは、Duchenne型筋ジストロフィー[20]、血友病B[21]での報告がある。米Sangamo社は、ムコ多糖症2型に対し、ZFNを搭載したAAVベクター投与によるゲノム編集治療を行ったことを2017年に発表している。

細胞医薬の強化にもゲノム編集技術が用いられている。例えば、CAR-T治療で、投与するCAR-TのPD-1遺伝子をゲノム編集で破壊することで免疫チェックポイント阻害薬を使用せずすむため、免疫チェックポイント阻害薬で懸念される全身性の副作用を回避可能となる。この方法は、米国および中国で臨床試験の準備が進められている。CAR-T療法は全般的に見れば日本は欧米に遅れをとっているが、独自の先進的な方法も開発されている。例えば玉田耕治（山口大）らによってCAR-T細胞にIL-7とCCL19を発現させて強化する方法が最近報告された[22]。CAR-T細胞は現時点では主に「キラーT細胞にCARを導入してがん細胞を殺傷する」という戦略で用いられている。一方で、制御性T細胞にCARを導入して、免疫を抑制するという研究が始まっている。例えば、マウスにヒトの皮膚を移植するモデルで、HLA抗体を用いたCARを発現させた制御性T細胞が拒絶を抑制するという結果が示されている[23]。今後、臓器移植、GVHD、自己免疫疾患などへの応用が期待されており、大きな領域に発展すると考えられる。

これら細胞医薬は、患者由来のT細胞を用いることによるコストと質の面から問題が大きいため、他家T細胞製剤の開発が進められている。例えば、CAR-T治療への応用で、Tリンパ球のTCRをゲノム編集で破壊し移植片宿主反応を防ぎ、同種Tリンパ球を用いることを可能にした方法（ユニバーサルCAR-T治療）[24]で、臨床試験が始まっている。この臨床試験では、投与細胞の拒絶を防ぐためにCD52抗体の投与で患者の免疫系細胞を殺傷し、投与細胞は殺傷されないようにCD52遺伝子を破壊しておくという方法がとられている。日本でも、池田裕明（長崎大）は、T細胞のTCRをタカラバイオ社が開発したsiRNA技術で抑制し、導入したTCRだけを発現させる技術を用い、さらにHLAをゲノム編集で欠失させるという方法を組み合わせる事により、他人のT細胞を用いたT細胞療法の臨床試験に向けての準備を進めている。NY-ESO1抗原特異的TCRを用い、成人T細胞性白血病を対象疾患としている。

腫瘍溶解性ウイルス療法の臨床開発も注目すべき動向である。がん細胞特異的に増殖し、正常細胞では増殖しない性質を持つ制限増殖型ウイルスを用いるのが基本コンセプトであるが、それだけでは当該遺伝子改変ウイルスを注入した局所病変に効果が限定されてしまう。最近の考え方では、局所のがん病変を破壊することによってがんに対する全身性の免疫反応を誘導し、転移巣に対しても効果を発揮することが強調されている。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

欧米のメガファーマ、およびベンチャーが次々に巨額の資金を投入・獲得し、遺伝子治療・細胞医薬の開発に参入している（各社ホームページのパイプライン情報参照）。わが国では、遺伝子治療の基盤整備を目的とし、平成 30 年に AMED「遺伝子・細胞治療研究開発基盤事業」が公募されており、「1）遺伝子・細胞治療用ベクター新規大量製造技術開発：0-1 課題、約 700 百万円／年、平成 30 ～ 35 年度」「2）遺伝子・細胞先端的技術研究開発：0-3 課題、約 80 百万円／年、平成 30 ～ 35 年度」「3）先端的な遺伝子・細胞治療技術開発（若手枠）：約 12 百万円／年、平成 30 ～ 32 年度」の 3 つの柱となっており、平成 30 年 9 月 19 日に採択課題が公開された。また、文部科学省よりバイオ創薬全般（細胞医薬、遺伝子治療含む）の技術開発に主眼を置いた「先端的バイオ創薬等基盤技術開発事業（仮称）」が平成 31 年度の新規予算要求事項として挙げられ、議論が進められている。

### （5）科学技術的課題

造血幹細胞への遺伝子導入効率が十分でないため、遺伝子導入細胞の体内における増殖優位性や生存優位性が見られる疾患でないと効果が出にくく、対象疾患はまだ限定されている。例えば、正常遺伝子を入れた造血幹細胞～好中球系細胞の優位性が認められない慢性肉芽腫症では、十分な治療効果が得られていない。静止期にある真の造血幹細胞への高効率な遺伝子導入技術の確立が期待される（例えば、非分裂細胞にも遺伝子導入可能なレンチウイルスベクターを用いたチャレンジなど）。遺伝性疾患を対象とした造血幹細胞のゲノム編集は、基礎研究が行われているが、臨床応用を行うには、ヒト造血幹細胞の体外培養法、或いは体内増幅技術の開発が期待される。

AAV ベクターの遺伝子治療では、標的細胞に最適な血清型の AAV ベクターの利用が望ましいが、最適な血清型がマウスなどの実験動物とヒトで必ずしも一致しないことが問題となっている [25]。血清型の人工改変研究も進められている。また、AAV ベクターの血中投与では、中和抗体の存在が問題となるため、それを克服する方法の開発が必要である [26]。AAV ベクターの全身投与では、AAV ベクター感染細胞が、CD8 陽性 T 細胞により排除されることが知られている [27]。そのため、AAV ベクター投与後の免疫反応が生じた場合に、一時的な副腎皮質ステロイド薬投与により、これをコントロールする必要がある。また、AAV ベクターはエピゾームに主に存在し、染色体 DNA に組み込まれないため安全性が高いと考えられている。一方、細胞増殖に伴い AAV ベクターが希釈されるため、増殖が盛んな細胞においては治療効果が減弱する。よって、肝臓に遺伝子導入を行う場合は小児が適応にならない。ゲノム編集治療の応用は、この点を克服する上で重要な鍵になると考えられる。

CAR-T 治療では、on target 毒性も大きな問題となるため、回避する技術開発が必要である。また、固形がんなど、腫瘍塊を形成している場合は、このような免疫遺伝子治療の効果が出にくいため、さらなる工夫が必要である。また、治療に必要な量の T 細胞確保も大きな課題となっている。

日本は自家 T 細胞を用いた CAR-T 療法に関しては大きな遅れをとったが、CAR-T 以外の T 細胞療法の開発競争はこれからで、日本にも勝機がある。特に重要なのは「T 細胞製剤の汎用化」で、広く他家移植に使える細胞製剤を製造する事により細胞医薬の市場を制することができると期待される。T 細胞製剤の大量生産・汎用化に向けては、今後は ES/iPS 細胞から T 細

胞を作製するという戦略が主流となると考えられる。多能幹細胞を用いるが再生医療という枠組みよりも細胞製剤の作製法として捉えるべきと考え、再生医療ではなく細胞医薬の項目で扱う事にする。例えばCAR-TをiPS細胞から作製するという戦略はMemorial Sloan Kettering HospitalのMichel SadelainらとFate Therapeutics社が進めている[28]。一方で、キラーT細胞そのものやTCR遺伝子導入キラーT細胞の再生に関しては、河本宏（京大）らの研究により日本が技術的にも知財面でも欧米に先行しており[29][30]、今後の発展によってT細胞医薬で世界をリードできる可能性がある。

なお、ES/iPS細胞を細胞医薬の材料として用いる戦略の中で、汎用化に関しては、ES/iPS細胞の段階でHLA遺伝子を欠失させる事により拒絶されにくい細胞を作製するという方法の開発がいくつかのグループによって進められている。その1つであるUniversal Cells社は、2018年2月にアステラスに100億円で買収された。移植細胞のHLAを欠失させると、レシピエントのNK細胞に攻撃されてしまうが、同社はHLA-Eを強制発現させてNK細胞による攻撃を回避するという戦略をとっている[31]。ただし、NK細胞による攻撃を回避するにはHLA-Cが必要という報告もあり[32]、またHLAを欠失させると細胞が感染した時に免疫系による排除が起こらなくなるなどの懸念もある。汎用性細胞は将来的には細胞医薬の主役になると期待されるが、解決すべき課題は多い。そういう観点からは、汎用性細胞医薬の免疫学的拒絶を防ぐ方法や投与細胞に感染が起こった時の対処法の開発が重要になってくる。今後、細胞医薬の開発と免疫学を組み合わせた研究が細胞医薬開発競争の鍵を握ると考えられる。

### （6）その他の課題

CAR-T治療の圧倒的な有効性を背景に、B細胞性白血病・リンパ腫以外の造血器腫瘍や固形がんに対する新しいCAR-T治療の臨床開発の進展が期待される。ただし、遺伝子治療と同様に、治療費は極めて高額であるため、技術改良によるコストの低減に加え、成功報酬型の支払制度のほか、持続可能な医療財政と優れた医療技術の幅広い提供を両立させるための様々な取り組みが必要である。

国の研究費がiPS細胞などを利用した再生医療に大きくシフトし、遺伝子治療領域の研究費が激減しているため、次世代の研究者が育っていないことが問題となっている。最近、漸く遺伝子治療関連研究費が増加傾向にあるが、多くは臨床応用を目的とするものであり、基盤研究が十分にカバーされていない。そのような中、ゲノム編集に関する研究は取り上げられるようになったが、もっと幅広い技術開発の強化推進が必要である。例えば、野生型AAVベクターの特許切れが間近であることから、日本独自のベクター技術開発も重要となる。

その他、遺伝子治療の開発に取り組む国内企業が諸外国に比べて少ないため、日本では臨床開発が難しい状況が続いている。企業の取り組みが進まない理由としては、一つには遺伝子治療に関するビジネスモデルが確立していないことが挙げられる。色々な取り組みが進むにつれ、遺伝子治療にかかるコストは劇的に下がっていくと期待されるが、今しばらくは企業にとって採算が取れない時期が続く。単一の製品ではなく、診断薬なども含めた複数の製品群としての採算を考えるような工夫が必要であるが、例えばフランスのGENETHONや、イタリアのTIGETなどのように、慈善基金によるファンディングで、採算がとりづらい段階の遺伝子治療を積極的に加速していくような仕組みは、わが国においても参考となりうる。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | △ | ↗ | ・次世代を担う基礎研究者が欧米中などと比較し大きく不足している。<br>・遺伝子治療について国を挙げて取り組もうとする機運は着実に高まっており、細胞医薬についても議論が開始されている。<br>・重要性が飛躍的に高まるであろう医療応用を前提としたゲノム編集技術（ゲノム修復ほか）は、わが国に優れた技術シーズが複数存在している。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ・遺伝子治療、細胞医薬とも臨床研究・臨床試験が進められているが、欧米の後塵を拝しており、更には躍進する中国にも後れを取りつつある。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・近年、遺伝子治療に再度スポットライトが浴びるようになり、米国遺伝子細胞治療学会学術集会への参加者も増加している。<br>・遺伝子治療・細胞医薬に関する様々な切り口からの基礎研究が活性化している。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・画期的ながん治療薬として、CAR-T 治療の臨床開発が激化している。<br>・遺伝性疾患について、AAV ベクターを用いた遺伝子治療の臨床開発が加速している。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・英・仏・伊などを中心に基礎研究が着実に推進されている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・造血幹細胞遺伝子治療で大きな成果を上げている。<br>・希少疾患が対象となるため、コンソーシアム体制を組むことで協力体制を強化している。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・驚くべきスピードで研究開発が加速しており、優れた成果を着実に上げている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・CAR-T 治療について、米国との開発競争が激化している。<br>・難易度の高い固形がんに対する CAR-T 治療開発も勢力適に推進している。 |
| 韓国 | 基礎研究 | × | → | ・基礎研究はあまり活発でないが、ToolGen 社がゲノム編集に関する優れた成果を発表しており、さらに臨床応用も予定している。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ・五松（オソン）地域に、バイオ産業の拠点として先端医療複合団地を形成し、規制当局をはじめとした国の機関が集まり、遺伝子治療などの開発研究の中核となっている。今後、研究開発が進んでいくものと思われる。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

### （8）参考文献

1）Cicalese MP, et al., “Update on the safety and efficacy of retroviral gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency.” *Blood*, 128, 45-54 (2016)

2）Aiuti A, et al., “Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy in patients with Wiskott-Aldrich syndrome.” *Science*, 341, 1233151 (2013)

3）Cartier N, et al., “Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy.” *Science*, 326, 818-23 (2009)

4）Biffi A, et al., “Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy benefits metachromatic

leukodystrophy." *Science*, 341, 1233158（2013）
5）Bainbridge JWB, et al., "Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis." *N Eng J Med,* 372, 1887-97（2015）
6）MacLaren RE, et al., "Retinal gene therapy in patients with choroideremia: initial findings from a phase 1/2 clinical trial." *Lancet*, 383, 1129–37（2014）
7）Hwu WL, et al., "Gene therapy for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency." *Sci Transl Med*, 4, 134ra61（2012）
8）Nathwani AC, et al., "Long-term safety and efficacy of factor IX gene therapy in hemophilia B." *N Eng J Med*, 371, 1994-2004（2014）
9）Lindsey A. George, et al., "Hemophilia B Gene Therapy with a High-Specific-Activity Factor IX Variant" *N Engl J Med*, 377, 2215-2227（2017）
10）Savita Rangarajan, et al., "AAV5–Factor VIII Gene Transfer in Severe Hemophilia A" *N Engl J Med,* 377, 2519-2530（2017）
11）J.R. Mendell, et al., "Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy" *N Engl J Med*, 377, 1713-22（2017）
12）Gaudet D, et al., "Long-Term Retrospective Analysis of Gene Therapy with Alipogene Tiparvovec and Its Effect on Lipoprotein Lipase Deficiency-Induced Pancreatitis." *Hum Gene Ther*, 27, 916-25（2016）
13）Rosenberg SA., "Cell transfer immunotherapy for metastatic solid cancer--what clinicians need to know." *Nat Rev Clin Oncol*, 2, 577-85（2011）
14）Davila ML, et al., "Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia." *Sci Transl Med,* 6, 224ra25（2014）
15）Maude SL, et al., "Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia." *N Engl J Med*, 371, 1507-17（2014）
16）Morgan RA, et al., "Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes." *Science* 314（5796）：126-9 （2006）
17）Robbins PF, et al., "Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1." *J Clin Oncol*, 29, 917-24（2011）
18）Rapoport AP, et al., "NY-ESO-1-specific TCR-engineered T cells mediate sustained antigen-specific antitumor effects in myeloma." *Nat Med*, 21, 914（2015）
19）Tebas P, et al., "Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV." *N Engl J Med*, 370, 901-10（2014）
20）Christopher E. Nelson, et al., "In vivo genome editing improves muscle function in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy" *Science*, 351, 403-407（2016）
21）Ohmori T, et al., "CRISPR/Cas9-mediated genome editing via postnatal administration of AAV vector cures haemophilia B mice." *Sci Rep,* 7, 4159（2017）
22）Adachi K, et al., "IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor." *Nat Biotechnol,* 36, 346-351（2018）
23）Boardman DA, et al., "Expression of a Chimeric Antigen Receptor Specific for Donor HLA Class I Enhances the Potency of Human Regulatory T Cells in Preventing Human Skin Transplant Rejection." *Am J Transplant,* 17, 931（2017）
24）Couzin-Frankel J., "CANCER IMMUNOTHERAPY. Baby's leukemia recedes after novel cell

therapy.” *Science,* 350, 731（2015）

25）Lisowski L, et al., “Selection and evaluation of clinically relevant AAV variants in a xenograft liver model.” *Nature*, 506, 382-6（2014）

26）Mimuro J, et al., “Minimizing the inhibitory effect of neutralizing antibody for efficient gene expression in the liver with adeno-associated virus 8 vectors.” *Mol Ther*, 21, 318-23（2013）

27）Manno CS, et al., “Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IX and limitations imposed by the host immune response.” *Nat Med,* 12, 342（2016）

28）Themeli M, et al., “Generation of tumor-targeted human T lymphocytes from induced pluripotent stem cells for cancer therapy.” *Nat Biotechnol,* 31, 928-33（2013）

29）Vizcardo R, et al., “Regeneration of human tumor antigen-specific T cells from iPSCs derived from mature CD8（+）T cells.” *Cell Stem Cell,* 12, 31-36 （2013）

30）Maeda T, et al., “Regeneration of CD8 $\alpha\beta$ T Cells from T-cell-Derived iPSC Imparts Potent Tumor Antigen-Specific Cytotoxicity.” *Cancer Res,* 76, 6839-6850（2016）

31）Gornalusse GG, et al., “HLA-E-expressing pluripotent stem cells escape allogeneic responses and lysis by NK cells.” *Nat Biotech,* 35, 765（2017）

32）Hiroshi I, et al., “NK Cell Alloreactivity against KIR-Ligand-Mismatched HLA-Haploidentical Tissue Derived from HLA Haplotype-Homozygous iPSCs” *Stem Cell Rep*, 9, 853-867（2017）

## ２．５．５　再生医療

### (1) 研究開発領域の定義

病気や怪我、加齢などによって、生体に本来備わっている修復機能で自然には回復できないほどに組織や臓器が損傷・変性し生体機能が失われた時に、細胞や組織・臓器の移植等の手段によって当該組織や臓器を再生し、機能を回復することを目指した医療の総称が「再生医療」である。本研究開発領域では、移植対象物である細胞や組織、再生促進因子や足場、あるいは臓器そのものの、基礎生物学的性質の解明からこれらの操作方法、大量製造法、移植・投与手法、評価・検証法の開発までを複合的に行う。また、その過程で得られた細胞や組織の知見および操作技術を、生物学的基礎研究や、病態・疾患メカニズムの解明、創薬研究等のツールとしても展開する。

### (2) キーワード

再生、修復、臓器移植、体性幹細胞、多能性幹細胞、間葉系幹細胞（mesenchymal stem cell ; MSC)、ES 細胞（Embryonic stem cell)、iPS 細胞（induced pluripotent stem cell)、オルガノイド、ダイレクトリプログラミング、創薬スクリーニング、

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

損傷したり失われたりした人体の様々な細胞や組織・臓器の機能を補填または回復するために、20 世紀後半より臓器移植医療や人工臓器の開発が行われてきた。臓器移植は臓器不全症に対する有効な治療法であるが、深刻なドナー臓器の不足、免疫拒絶を始め、多くの医学的、社会的、倫理的問題を抱えている。また、人工臓器はまだ開発途上で、多様な疾患に対応できる状況にはない。そこで 21 世紀に入り注目されてきたのが「再生医療」である。ヒト細胞の大量培養技術が確立されると、体外で作製した正常な細胞を損傷部位に導入することで組織や臓器の機能が回復できることが実証され、細胞を用いた再生医療が現実的なものとなった。現在までに多くの基礎研究が行われ、その知見に基づいた様々な細胞操作方法が開発されており、近年急速に臨床応用が進んでいる。特に、iPS 細胞作製技術の登場によって自家細胞を用いた治療が実現可能となり、再生医療の幅が大きく広がった。成体幹細胞や成体細胞を用いた再生医療にはすでに実用化されているものもある。また、適切な転写因子や足場で誘導することによって生体に本来備わっている自己修復能力を高め、組織再生を促す方法についても研究開発が行われている。さらに、近年のゲノム編集技術や一細胞技術の発展によって、新しい細胞操作・編集手法も登場し注目が集まっている。このように再生医療の包含しうる範囲は近年拡大しており、様々なアプローチによって世界中で臨床研究・治験が進められている。再生医療という新たな医療が確立されれば、これまで回復の可能性の見いだせていなかった幅広い疾患領域に大きな恩恵があることは間違いない。

さらに、再生医療研究で得られた知見や技術は、基礎研究のツールとして、あるいは創薬や個別化医療のツールとして利用できる可能性がある。特に患者から樹立された iPS 細胞や臓器オルガノイドによる創薬スクリーニング、個別化医療、発生学的基礎研究等に大きな期待が寄せられている。

［研究開発の動向］

発生・再生科学の歴史は古く、古代ギリシャ時代より発生原理についての科学論争が続けられており、最も歴史のある学問分野の 1 つであると言える。ライフサイエンス・臨床医学関連のテクノロジーが加速度的に高度化し始めた 20 世紀後半に入り、現在の再生医療のコンセプトのきっかけともいえる成果が次々と登場している。

初期の再生医療は、骨髄移植による血液疾患の治療法が確立された 1957 年に遡る。このころ、カエルの卵における体細胞核移植による胚発生や、マウスの精巣テラトーマから多能性が見いだされるなど萌芽的な発見があった。現在の再生医療につながる技術革新は、ハーバード大学のハワード・グリーンが 1975 年に世界で初めてヒト表皮角化細胞の大量培養に成功したことに始まる。1980 年にグリーンらはこの技術をもとに自家培養表皮を用いた重度熱傷治療を行った。1980 年代中ごろより、組織工学（tissue engineering）と呼ばれる新しい学問領域が誕生し、組織幹細胞研究が活性化すると、1990 年代には組織工学と幹細胞生物学を両輪とする再生医療が台頭してきた。1998 年にはウィスコンシン大学のジェームズ・トムソンによって初めてヒト ES 細胞株の樹立が報告され、2007 年には理研の笹井芳樹が ES 細胞の大量培養法の開発に成功したことで、ES 細胞による再生医療の実現への期待が大きく高まった。また、2007 年には、京都大学の山中伸弥らによるヒト iPS 細胞樹立が報告され、ヒト iPS 細胞研究が新たな幹細胞生物学ツールとして世界中へ広がった（山中らは 2012 年にノーベル医学・生理学賞を受賞）。さらに、2013 年、2014 年には相次いでヒトクローン胚からの ES 細胞樹立の報告があった [1-2]。現在、世界的規模で幹細胞を中心とした細胞生物学研究は深く広がりをもって進展しており、関連する再生医療研究も着実に活性化している。

当初、再生医療は、移植した細胞や組織が患者の体内に定着し失われた機能を代償する治療が想定されていた。しかし、患者の体内で十分に機能する 3 次元構造を持った臓器の構築は技術的に極めて高いハードルがあり、細胞や組織の移植においても狙った箇所に定着させ機能を発揮させることはチャレンジングであった。研究開発の進展に伴って、移植した細胞・組織そのものによる機能代償ではなく、それらが産生する栄養因子・増殖因子等の間接的効果（パラクライン効果）による機能再生の報告が相次いだため、技術的ハードルの比較的低いこれらのメカニズムに着目した臨床応用が先行して進んでいるのが現状である。

現在、移植用細胞としては、体性幹細胞の一つである間葉系幹細胞（MSC）が国内外ですでに広く実用化されており、ClinicalTrial.govデータベースにおいてキーワード「mesenchymal stem cells」にて検索すると、2019 年 2 月時点で 900 件近くの臨床試験が国際的に行われていることがわかる（http://www.clinicaltrial.gov）。MSC は骨髄や、骨格筋、皮膚、さらには脂肪組織、歯髄、臍帯、胎盤など医療廃棄物からも採取できる。主に骨、軟骨、脂肪、骨格筋への分化能を持つが、外胚葉や内胚葉由来の組織細胞へも分化しうることが報告されている。また、サイトカイン、ケモカイン、増殖因子などの様々な因子を産生し、抗炎症、免疫制御、血管新生など多様な効果が報告されている。低抗原性で他家細胞でも免疫抑制剤なしに投与できること、簡便な培養法が確立されていることがメリットである。MSC を用いた治療戦略は、多分化能を活かして障害組織への定着を狙う方法と、種々の液性因子によるパラクライン効果を利用した方法があるが、現在応用展開されているもののほとんどは後者である。また、免疫原性が低いことを利用した同種他家移植が主となっている。例えば、骨髄移植を受けた患者における移植片対宿主病（GVHD）の治療に MSC が用いられ、特に重度のステロイド抵抗性

の患者で有効性が示されており[3-5]。我が国においてもJCR社から他家由来MSCによる急性GVHD治療用製品として「テムセル®HS注」が製造販売承認されている。最近では、MSCとマクロファージを混合投与することで、相乗効果によりマウス肝臓の線維化が改善することが報告される[6]など、新たな可能性を探る研究開発も盛んにおこなわれている。そもそもMSCの定義が明確になっていない状況であること、治療効果の明確なメカニズムが明らかになっていないことなどが課題であり、今後の研究が待たれる。

多能性幹細胞を用いた再生医療は、技術的なハードルが高いものの期待は大きく、各国においても巨額の投資がなされており、研究開発競争は激しい。我が国では、京都大学再生医科学研究所が2017年3月に医療用ヒトES細胞の樹立計画を国に申請し2018年7月から配布を開始した。2017年9月には国立成育医療研究センターの医療用ES細胞樹立計画が承認され、樹立が開始された。これによって、国内で臨床用ES細胞の樹立機関が2か所整備された。ES細胞はヒト胚を用いる点で倫理的ハードルが指摘されており、各国でガイドラインや法によって樹立や使用についての規制が行われている。一方で、すでに海外では応用開発が進んでいることも事実で、2010年に米国Geron社によって脊髄損傷に対するヒトES細胞由来オリゴデンドロサイト移植が実施され、同じく米国のACT社は黄斑ジストロフィー、萎縮型加齢黄斑変性症に対する移植を実施している。2014年には米国ViaCyte社によってヒトES細胞由来膵β細胞を免疫保護カプセルに包埋して移植する臨床試験が開始された。わが国では2018年3月に先天性代謝異常症である尿素サイクル異常症児に対する移植が国に申請され、医師主導治験の開始が予定されている。iPS細胞の登場によりES細胞の有用性は下がると見る向きが当初あったが、現在でもES細胞はヒトの発生初期や分化誘導の研究ツールとして利用価値は高く、またiPS細胞とは異なる特性を有するため得意とする分野を棲み分けて共存している。

移植細胞の定着という点では自家細胞の移植に勝るものはない。iPS細胞は自家移植の可能性を開いたという点で画期的であり、基礎研究、応用研究ともに注目されている。iPS細胞を用いた再生医療の臨床研究は2014年に加齢性黄斑変性を対象として初めて実施されたが、2018年には国内で新たに臨床研究・治験が3件承認された。iPS細胞の実用化には大きな期待が寄せられているが、一方で、iPS細胞特有のゲノム不安定性が、安全性確保の上での懸念点として指摘されている。実際、2015年に計画されていた2回目の臨床研究では、移植予定であったiPS細胞由来の網膜シートにゲノム変異が見つかったため、中止となっている。安全性に関するこの課題を克服するために、近年多くの研究が実施されている。NGSの登場により全ゲノムシークエンシングが可能となったことでゲノム不安定性の起源についての解析が進み、発がん性遺伝子のコピー数が細胞継代中に増加する事や、iPS細胞の元となる体細胞のゲノム変異に由来する変異があることなどが明らかにされてきた。iPS細胞を作製するのに適した細胞種の探索、安全なリプログラミング方法、分化方法等について検討が続けられている。ゲノム変異とリスクの関係を明らかにするためには、iPS細胞バンクのゲノムデータベースと臨床転帰を紐づけて検討することが重要であることも指摘されている[7,8]。山中らが最初に報告したiPS細胞樹立法は、レトロウィルス・ベクターが用いられたが、その後はゲノムへの組み込みが少ない方法としてエピゾーマル・ベクター法が本格的に採用され、現在に至った。しかし、同ベクターは知財面の問題があるため、代替手法として、センダイウィルス（RNAウィルスでゲノムへの組み込みは殆どないとされる）によるiPS樹立の検討も進められている。ま

た、高品質化のためにはよりナイーブ（未分化）な状態の iPS 細胞、ES 細胞を実現するための基礎研究も非常に重要である。

iPS 細胞の最大の利点は自家細胞移植が可能であり、したがって移植時に免疫抑制の必要がないことであるが、近年は同種他家移植が積極的に検討されている[9)]。これは、患者由来の iPS 細胞の作製には現時点では膨大な時間とコストがかかり、現場で医療として提供することはまだ現実的とは言えないためである。国内では京都大学 iPS 細胞研究所（CiRA）が 2013 年から、他家移植の臨床応用を想定した iPS 細胞ストックプロジェクトを実施している。他家 iPS 細胞移植を目指して HLA 拘束性に依存しないユニバーサル iPS 細胞を樹立する試みも数多くなされている。既に多数の HLA 改変特許（WO091/001140、WO92/009668、WO2012/145384 等）が海外で成立しており、国際的にも極めて厳しい競争が展開している。一方、iPS 細胞のリプログラミング、分化、成熟を効率的かつ高い安全性で行う手法についても引き続き基礎的な研究開発が続けられている。将来「my iPS」による再生医療が本当の意味で実現するためには、幅広く重厚な基礎研究を中長期的に継続する必要がある。

これらと少し異なる方向性として、特定の遺伝子や化合物等を導入することで体細胞から多能性幹細胞を経ずに直接特定の分化細胞へ誘導する「ダイレクトリプログラミング」の研究が近年徐々に活性化しており、成果を挙げつつある[10-13)]。いずれは再生医療分野の新たなアプローチとして重要性を増すものと考えられる。当該アプローチは、多能性幹細胞を培養・導入する現行の再生医療コンセプトと比較して大幅なコストダウンが期待される。化合物・タンパク質などの分子で実現可能となれば、遺伝子導入によるリスクが回避されることから安全面でのインパクトも大きい。また、初期化の過程を経ないことで、より成熟した細胞を得ることができる点にも注目されている。

さらに別の方向性としては、生体に本来備わっている自己修復機構を利用して組織再生を促す方法が提案されている。例えば、壊死細胞から放出される核内クロマチン結合タンパク HMGB1（high mobility group box1）は骨髄内 PDGFRα 陽性細胞（多能性間葉系細胞）を壊死組織周囲に誘導し、組織幹細胞の補充を促進することで修復に寄与していることが見いだされており[14)]、2018 年 1 月から日本において表皮水泡症患者を対象とした HMGB1 ペプチド投与の第Ⅱ相医師主導治験（UMIN0000229962）が開始されている。生体本来の修復機構を促進するこのような方法は効き方がマイルドである可能性があるが、コスト面では従来の細胞投与より有利である可能性が高く、パラクライン効果による細胞治療の競合的技術としても注目される。

先に述べたように、幹細胞から立体的な構造を持つ 3 次元臓器を試験管内で作り出し、生体本来の臓器を代替することは技術的ハードルが極めて高い。そのため世界中の多くの研究者の研究対象は ES 細胞や iPS 細胞から機能細胞を試験管内で誘導し、細胞移植という形で治療することに集中している。一方で、2011 年の笹井芳樹らによる ES 細胞を用いた 3 次元網膜組織の構築成功を境に、試験管内で複数の幹細胞を培養することにより小さな臓器様構造物を作成する技術が開発され、オルガノイド（擬似臓器）と名付けられた。現在、腸管、肝臓、腎臓、脳などのオルガノイド作製技術が急速に進展し、病態解明や創薬シーズ探索・検証・評価、さらには個別化医療のツールとしての活用も進められている。オルガノイド作製技術は、体外で構築された 3 次元的な臓器またはその一部を移植する方法による再生医療を将来実現するための基礎的な取り組みとして、また、発生・再生に関する基礎的研究のツールとしても注目され

ている。臓器様の構造物を構築する技術としては3Dプリンタを用いて細胞とバイオリアクターを機能的に組み上げる3Dバイオプリンティング技術も実用化に向けて研究開発が進んでいる。

臓器そのものの移植としては、ヒトの代わりに動物、特に臓器の大きさからブタの臓器をドナー臓器として使用するというアイディアがあり、長年研究されてきた。分子生物学の発達により抗原性を持つα-1-3-galactose産生酵素などをノックアウトしたブタが作られるようになり、免疫抑制剤と組み合わせることによりブタの腎臓を移植されたヒヒが8ヶ月以上生存するという結果が報告されている[15]。また、ミュンヘン大学のグループから、急性の免疫拒絶を克服すべく糖鎖抗原関連遺伝子をノックアウトしたブタの心臓を、慎重に検討されたプロトコルでサルに移植したところ、少なくとも195日間、良好な健康状態を保てたとの報告もあった[16]。一方で、ブタの臓器を移植するのではなく、遺伝子改変により特定の臓器を欠損するブタの個体内にヒト多能性幹細胞を移植して、キメラブタ体内でヒトの臓器を「再生」するという、これまでとは全く逆のアプローチも近年考案され、研究が進められている。複雑な臓器や広範囲にわたる組織の再生医療の実現にはまだ時間がかかることと、移植しか選択肢のない状況においてドナーが不足している現状を鑑みれば、臓器そのものに着目した研究の重要性も見逃せない。一方で移植用の動物を作製し、さらに動物とヒトのキメラを作製することについては、慎重な倫理的議論も必須である。

すでに実用化されている再生医療製品として、これまでは皮膚や軟骨、血管が中心であったが、2016年にテルモ社から細胞シートを用いて心不全治療を行う再生医療等製品「ハートシート」が発売され話題となった。一方、「ハートシート」を含め現時点で製品化されているものは、移植した細胞や組織・臓器そのものが機能を代替するのではなく、それら移植したものが産生する栄養因子・増殖因子による間接的効果で機能再生効果を得ているものがほとんどである。そのような中、理研・高橋らが2013年に自己iPS細胞由来網膜色素上皮細胞シートを用いた臨床研究を開始した。移植細胞・組織が患者体内に定着することを狙った再生医療において、長期的な安全性と有効性が確認できるかどうか、注目が集まっている。再生医療の実用化が徐々に進んできたことで、ガイドラインの作成や安全性評価法の標準化、細胞バンク整備やレジストリ標準化の機運も高まり、各国および国際的な機関において検討が進められている。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

● 高度に初期化されたヒト多能性幹細胞の樹立：

ヒトES細胞やiPS細胞は奇形腫を作り試験管内で無限に増やせるといった点ではマウスの多能性幹細胞と同じであるが、発生学的にはマウスの多能性幹細胞よりも一段分化段階が進んだEpiblast stageの幹細胞である。そのため胚盤胞に注入してもキメラを形成できないと考えられる。より未分化なヒトES細胞やiPS細胞の樹立培養技術の確立は、将来的にヒト多能性幹細胞の標準化や品質の向上に不可欠である。そこで多くの幹細胞研究者がマウスと同等なヒトES細胞iPS細胞の樹立法の研究を行なっている。初期化因子として、卵細胞の細胞質に大量に含まれるリンカーヒストンH1fooを用いて従来の方法より高品質なiPS細胞を高効率に樹立する方法を慶應大・福田教授らが報告した[17]。また、最近、順天堂大と慶応大のグループからマウスiPS細胞の分化成熟能力を高める技術が報告されているが、ここでも、より分化成熟能力が高い細胞はより未成熟な状態である2細胞期のマーカーを多く発現していることが示

されている[18]。

● オルガノイド

2007年、オランダのHub研究所のHans Clevers教授、佐藤俊之慶大准教授らのグループは腸幹細胞をWntシグナル、EGFシグナル等のアゴニストを用いて培養する事により、腸オルガノイドを作成することに成功した。腸オルガノイド内には上皮細胞、ゴブレット細胞、パネート細胞、分泌細胞など腸上皮に存在する様々な細胞が存在し、機能的な組織の原器を形成していることが示された。2008年に理化学研究所笹井芳樹グループリーダー（当時）らはマウスES細胞から無血清浮遊培地内で4層の大脳皮質構造を分化誘導することに成功した。笹井らは更に網膜の原器に類似した構造を作り出した。この技術は、立体培養、自己組織化と呼ばれ、その後、肝、腸、胃、腎臓など様々な臓器においても同様の培養方法が開発され医療応用も検討されている。近年、最も分化誘導が難しいとされていた腎臓（糸球体、尿細管）の自己組織化も可能となり、急速に技術開発が進んでいる。いずれも二次元培養では困難であった機能的な高次構造をもった組織を作ることを可能としており、移植ソースとしても高い治療効果と生着率が期待されている。今後、大量培養技術、規格化、品質管理など本格製造に求められる技術検討が始まっている。移植治療目的以外にも、オルガノイド技術によって可能となったヒトの組織・器官の構造や機能を指標として、創薬のスクリーニング、毒性評価、iPS細胞を用いる事で薬剤感受性の個体差の検出など様々な応用が期待されている。

● ダイレクトリプログラミング

細胞移植治療において、理想的には、患者自身の細胞を用いて腫瘍化リスクの低い細胞が短期間に作製されることが望ましい。2010年にGladstone研究所のSrivastavaらは、3つの転写因子がマウス心臓内の線維芽細胞を直接心筋細胞へと誘導することを報告した[19]。また、同年、スタンフォード大学のVierbuchenらが、マウス胎児繊維芽細胞に3つの神経細胞特異的転写因子を共発現させることによって、神経細胞へ直接誘導することに成功した[20]。その後、多くのグループがマウスだけでなくヒトにおいても体細胞から多能性幹細胞を経ずに直接特定の分化細胞へ誘導する方法について報告し、これらは「ダイレクトリプログラミング」と呼ばれている。わが国からも、九州大の鈴木らが2017年にマウスの皮膚やヒトの血管細胞に4つの転写因子を導入することで腸前駆細胞を誘導することに成功した[10]。また、2018年には筑波大の家田らが1つの遺伝子（Tbx6）を導入するだけで繊維芽細胞から直接心筋細胞を誘導できることを発見し、また同遺伝子を用いてマウスES細胞やヒトiPS細胞から液性因子を用いずに効率よく、増殖可能な心臓中胚葉細胞を作成し、さらに心筋細胞や血管細胞を誘導することに成功している[11]。外来遺伝子の導入は腫瘍化リスクが指摘されているが、これを避ける目的で、低分子によるダイレクトリプログラミングも盛んに研究されている。例えば、京都府立大・載らは5種の低分子化合物を用いてヒト繊維芽細胞から褐色脂肪細胞を誘導[12]、国立がん研究所の落谷分野長らは3つの低分子化合物を用いてラットの成熟肝細胞から肝前駆細胞を誘導・安定培養し肝炎モデルマウスへ移植して病態を改善[13]することにそれぞれ成功している。ダイレクトリプログラミングはin situ organ/tissue regenerationとして未来の再生医療の一つの方向性として期待されており、また、体外における細胞分化・成熟手法の低コスト化、高効率化という点でも注目されている。

● 異種キメラを利用した臓器再生法

発生工学的な手法を利用し、試験管内ではなく、動物の体内で多能性幹細胞由来の臓器を作出

する手法が開発された。これは遺伝子改変により特定の臓器を欠損する動物胚に同種あるいは異種の多能性幹細胞を移植してキメラ個体中に多能性幹細胞由来の臓器を作成するというものである。マウスとラットのように進化的に近い種間では機能的に完璧な臓器が作られていて、免疫抑制無しに移植により根治的治療が可能であることが東京大学の中内らによってすでに示されている[21,22]。この方法は臓器発生の機構を理解するための新たな方法論を提供するとともに、将来的に異種動物個体内でヒトiPS細胞由来の臓器を再生するといった、全く新しい再生医療技術の開発に貢献するものと期待されている。ヒトと動物のキメラ胚（動物性集合胚）を作ることは倫理的ハードルが高く、我が国においては現時点で禁止されているが、中内らは米国においてヒトと羊のキメラ作製等を実施している。最も成功の可能性が高いのは中国の研究者達で、規制による縛りも少なく、サルのクローンを作るなど技術的にも高い水準をもっており、豊富な研究資金と人材、設備を用いて積極的に研究を進めていると推定される。

● 実用化への移行

多能性幹細胞の臨床研究・治験に向けた動きが2018年に国内で急速に加速した。以下はその具体例である。

- 大阪大学の澤芳樹らによるiPS細胞由来心筋シートの移植が2018年5月16日に厚生労働省再生医療等評価部会で条件付承認（目標症例数3例）
- 京都大学CiRA江藤浩之らの自家iPS細胞由来血小板の移植が2018年9月21日に同部会で承認（症例数1例）。
- 京都大学CiRAが武田薬品工業と進めていたT-CiRAの活動の一環として、CiRAが作成した再生医療用iPS細胞ストックからマスターセルバンクを共同で作製することを発表（2018年9月13日）。
- 富士フィルムはGVHD（急性移植片対宿主病）の治療にiPS細胞由来T細胞を移植する治験を開始すると発表（2018年9月23日）
- 京都大学CiRA高橋淳らのiPS細胞由来ドーパミン神経の移植が大日本住友製薬との医師主導治験が開始、2018年11月に1例目が実施（目標症例数7例）

● 法整備

2016年（平成26年）11月に施行された再生医療等安全性確保法、医薬品医療機器等法によって、我が国で初めて法律的に再生医療が明示され、海外に先駆けて「条件付き期限付き承認制度」が稼働し始めた。米国では2017年に「再生医療先端治療指定（Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation、RMAT指定）」制度が開始され、一定の条件を満たせば開発や審査に関しFDAと早期に緊密な連携が取れるようになった。現在、世界中で行われている再生医療の臨床試験をNIHのデータベースClinicalTrialsで調べてみると、iPS細胞を用いた臨床試験に関しては日本の存在感が高く、一方、間葉系幹細胞を用いた試験は海外において先行していることが指摘される。これらの状況は、我が国の研究費の内訳にも大きく影響していると考えられる。

● 患者由来のiPS細胞の創薬利用

iPS細胞の医療応用の点から注目されるものが、様々な患者から取得した体細胞をiPS細胞化し、病態解明、創薬シーズの探索・検証・評価などの用途へ活用しようとする方向性である。希少難病や脳神経疾患など、通常患者由来のサンプルが取得しにくい疾患においては、疾患iPSの利用は特に有用である。すでに慶応大・岡野らが筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者の細

胞から樹立したiPS細胞から病態を有する神経細胞を再現し、既存薬をスクリーニングすることで有効な薬剤を突き止める23）など、治験につながる成果が上がっており、製薬企業からも注目されている。日米欧の各国で、大規模な疾患iPS細胞のバンキングプロジェクトも推進されている。

● 境界分野の拡大と融合

再生医療は当初、失われた臓器や組織を新たな細胞や組織、臓器で置き換えることが想定されていた。しかし現状の再生医療は液性因子等による間接的効果を利用するものが主流となっている。また、生体適合材料や、無細胞化された組織等も再生を促す足場として実用化が進んでおり、再生因子を徐放する機能的足場や、これらの足場と細胞を組み合わせて構造化した製品も多数提案されている。さらに近年では、細胞を移植せずに再生に必要な因子のみを直接投与する方法や、遺伝子治療など周辺分野との融合技術も登場し、「再生医療」の境界は次第に拡大していると言える。

**［注目すべき国内外のプロジェクト］**

● 日本医療研究開発機構（AMED）再生医療実現化ハイウェイ構想

AMEDが2015年に発足して、文部科学省、厚生労働省、経済産業省のライフサイエンス系の予算がワンストップサービスとして一本化された。再生医療に関しては、再生医療実現化ハイウェイ構想が2013年より10年計画、1100億円規模で推進されている。AMED再生医療実現拠点ネットワーク事業では京都大学iPS細胞研究所（CiRA）を中核拠点として選定し、日本人に頻度の高いHLA型のiPS細胞ストックプロジェクトを実施している。2017年にはCiRA3期棟の整備とともに臨床用の細胞調整施設（Facility for iPS Therapy; FiT）の第二弾FiT2が完成し、2018年には再生医療等安全性確保法に基づく細胞製造施設としての許可を取得した。ストックは現在日本人のHLA型の約40%をカバーしており、2020年度末までに50%カバーを目指すとしている。これらiPS細胞ストックは加齢黄斑変性（理研・高橋；5例の手術終了）、重症虚血性心筋症（大阪大・澤教授；条件付き承認）、パーキンソン病（CiRA・高橋ら；1例目の移植手術実施）の臨床研究・治験において使用されている。CiRAの山中研究所長はiPSストック事業について「国家プロジェクトとしての公益性は保持しつつ自己収益も確保し、国産のiPS細胞を提供し続けるためにFiTの公益法人化を目指したい」との意向を示している。

● 再生医療製品の評価

再生医療に用いられる細胞やその加工物の実用化にあたっては、品質評価や安全性評価が欠かせない。近年の急速な再生医療製品実用化の中で、どのような項目をどのような手法で評価すべきか、具体的な議論が益々重要となってきている。ISSCR（International Society for Stem Cell Research）、ISCF（International Stem Cell Forum）、NCMC（National Cell Manufacturing Consortium）、GAiT（Global Alliance for iPS Therapy）等、国際的な基準やガイドラインの検討を推進している組織が存在し、アカデミア、政府組織、開発企業等のステークホルダーが一堂に会して議論を続けている。これらの組織は米国や英国が事務局となっているものが多く、米国を中心に産学連携が活発化しており、産業化に向けた標準化の点では今後民間企業の参加が流れを大きく左右する可能性がある。国主導の基準作りにおいては、日本はすでに政府からいくつかの文書を発行しており、世界をリードしていると言える。現時点

で世界標準と呼べる基準はないが、安全性に関しては「患者にとってリスクを上回る健康上のベネフィットが期待される場合は許容する」とする考え方が一般的になっていると思われる。

● Cell and Gene Therapy Catapult（CGT Catapult）

英国は 2012 年に再生医療戦略（A Strategy for UK Regenerative Medicine; UKRM）を発表して依頼、この分野へ大型の投資を続けている。UKRM のもと設立された細胞治療カタパルト（Cell Therapy Catapult）はロンドン中心部のガイ病院内に拠点を構え、英国全体の細胞治療商業化推進のハブとして重要な存在となっている。2018 年には 7200 ㎡の GMP 製造センターをオープンし、このために政府から合計 90 億円規模の投資がなされている。2016 年からは現在の名称である Cell and Gene Catapult へと変更し、遺伝子治療も視野に活動していることや、2017 年に開始された先端治療への患者アクセスを向上させるためのネットワーク事業「Advanced Therapy Treatment Centers（ATTC）」でも CGT カタパルトがその中心を担っていることからも、英国における再生医療への商業化へ向けた戦略的投資と、CGT カタパルトの果たす役割の重要性が伺える。再生医療の製品市場をみると現在英国が特別な存在感を示しているわけではないが、2018 年から再生医療の研究開発を促進する省庁横断型イニシアチブ「UK Regenerative Medicine Platform（UKRMP）」のフェーズ 2 が開始されており、今後の動向が注目される。

● 網羅的シングルセル解析の大型プロジェクト

近年の急速な技術の進歩により、個別の細胞ひとつひとつの詳細なプロファイルを解析するシングルセル解析が実現している。この技術を利用し、ヒトの全細胞について、種類・状態・系統などを分類し、カタログ化することを目的とした大型プロジェクト「Human Cell Atlas（HCA）」が米国主導で全世界的に進行しており、日本からは理化学研究所が参加している。また、EU において 10 年間 10 億ユーロ規模の大型研究である Flagship プロジェクト次期テーマの候補 6 つのうちの 1 つとして、「The Life Time Initiative」が残っており、この中でシングルセルマルチオミクスによる細胞の時空間的プロファイリングが計画されている。これらの大規模研究から得られる細胞系譜やその周辺に関する知見は再生医療の基礎的データとして重要なものになると思われる。

### （5）科学技術的課題

個体は一個の受精卵から遺伝情報に基づいて発生し形成されるのであるから、理屈上は個体や臓器の発生を再現できる情報はゲノム解析により入手できているはずである。しかし、遺伝子発現制御をはじめとして我々が現在持っている情報は極めて僅か、そして不完全であり、機能的な成熟細胞を ES 細胞から分化させることすら満足にできていない。再生医療の本格的な実現にはまだまだ時間がかかると思われ、幹細胞生物学、細胞生物学、発生生物学、免疫学等の基礎研究の進展が必要であることは間違いない。近年の技術としては single cell biology（single cell RNAseq analysis, single cell ATACseq, single cell proteomeics 等）の進歩が注目される。AI や Bioinformatics の重要性はいうまでもない。これら新しい技術が基礎的研究の進展を加速させ、その成果が再生医療へと展開することが期待される。

特に、細胞系譜をより詳細に明らかにすることは必須である。例えば、骨髄由来 MSC は多様なマーカーを発現するヘテロな細胞集団であることが推察されており、これらを区別しようとする試みから、間葉系前駆細胞、adventitial reticular cells（ARC）、CXCL12-abundant

reticular cells（CAR 細胞）、血管周皮細胞（ペリサイト）といった様々な細胞の名称が提案されている。国際細胞治療学会は MSC を定義するための最低基準を提案している 24）が、上記の細胞集団が異なる存在であるのか、あるいは微小環境に応答して表現型を選択しているだけなのか、いまだ明らかにされていない。各細胞の発生学的起源や分化経路、細胞挙動の解析、明確な細胞同定方法の開発が望まれる。

治療用細胞の純化には複数回の継代が必要とされ、数ヶ月間の長期にわたって培養・継代を行い、細胞の品質管理を実施する事が多い。培養が長期間に渡る場合、細胞の機能が劣化し、化学合成による医薬品と比較してロットごとの機能が安定しないなどの問題点が指摘されている。これは製造のプロセスにおいて重要な課題である。製造ラインの自動化、多様な疾患・細胞腫に対応するモジュール化、安定供給のための輸送方法、凍結・解凍のプロトコルの標準化など、商業化までの道筋を明確にした研究開発も必要である。

### （6）その他の課題

臨床試験の国際的スタンダードはランダム化二重盲検試験であるが、再生医療分野の臨床研究や治験においては、希少疾患や症状が重篤な疾患を対象とすることも多く、時間的な制約からも、倫理的にも、この方法をとることが難しい場合がある。2018 年に札幌医大から条件付き承認申請された再生医療等製品は、脊髄損傷患者の骨髄から MSC を抽出し静脈へ注射してするものであり、世界に先駆けて治験が行われた。この治験について、Nature から疑義を呈する趣旨のインタビュー記事が出された [26)]。当該治験はもちろん慎重に検討された方法で推進されており、また二重盲検が難しい場合にも有効な医療を安全かつ速やかに患者へ届けるために工夫された精度が条件付き承認制度である。一方で、このような方法論への批判に耐えるには、少数患者を対象としながらも圧倒的な有効性があることを示すか、あるいは、従来のゴールデンスタンダードとは違う形によるエビデンス立証の方法論そのものの議論を深め、発信してゆくことも必要であると考えられる。

再生医療は従来の医療と比較して高コストになりがちである。最先端の医療は得てして高額となるため再生医療に限った話ではないが、わが国の保険制度とその現状を考えれば、医療経済的観点からの議論は必須である。価格に見合った有効性が得られるか、より低コストな方法で同様の効果が期待できるものはないか等の検討を、研究開発と並行して行っていくことが重要である。また、研究開発においても、真に再生医療でないと解決できない疾患領域は何か、ということは常に問われるべきであると思われる。一方で、再生医療は近年臨床応用が始まったばかりであり、メカニズム等が不明な部分も多数残されている。基礎的知見の積み重ねと試行錯誤が、将来の再生医療の確立に必要不可欠であることは間違いない。基礎研究から医療応用まで見据えて、中長期的な視野で全体のバランスを戦略的に検討することが重要であると考えられる。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | → | ・ヒトiPS細胞の樹立や、ES細胞の大量培養、オルガノイドの構築等、世界をリードする重要な研究成果がこれまでに多数報告されている。<br>・2013年より10年間で再生医療の研究開発に1100億円を投資する計画となっており、AMEDでiPS細胞研究を中心に多くの事業が展開されている。計画は折り返しにさしかかっており、今後の展開が重要となる。<br>・iPS細胞研究への集中投資によって、周辺分野の研究者層が薄くなっているとの指摘がある。一方で、集中投資したからこそこの分野で世界のトップを走れているとの評もある。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・AMED再生医療事業の中で多くの臨床研究が推進されている。近年、臨床研究・治験への展開が加速している。<br>・世界に先駆けて、迅速承認制度を導入した。<br>・多能性幹細胞を用いた臨床試験の数は米国に次いで多い。世界に先駆けて自家iPS細胞の移植による臨床研究を実施するなど、iPS細胞の応用で世界をリードしている。一方、その他の細胞腫や細胞治療によらない再生医療等については出遅れているところもある。<br>・商業化、製造に関しては大きな動きが見られない。<br>・臨床グレードのiPS細胞バンクと疾患iPS細胞バンクが整備されている。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・ES細胞に加えてiPS細胞の利用も本格的になってきており、iPS細胞研究も日本の牙城とは言えない。<br>・予算、人材、科学戦略、企業活動等、すべての面で圧倒的。政府からの予算の他に各州政府からのバックアップも大きい。<br>・Human Cell Atlasによる基礎研究のさらなる加速が見込まれる。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・多くのスタートアップとそれをバックアップする資金、人材、システムがあり、innovationを構造的に支えている。<br>・CIRMは臨床研究への投資を加速させている。<br>・カリフォルニア州やニューヨーク州を中心に、いくつかのバンクが存在する。<br>・有効性試験や疾患モデルのために幹細胞と工学的手法を合わせたOrgan-on-a-Chip開発を精力的に行っている |
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・英国はClick研究所をロンドンの真ん中に設置し、資金と人材を集中させている。ドイツ、スイスも豊富な資金をもとに人材を集めている。<br>・英国は国策で再生医療をバックアップしており、20012年頃から現在に至るまで投資を続けている。<br>・EUのHorizon2020のWork Programmeでは、2018年から再生医療・遺伝子治療分野について基礎的フェーズと新規アプローチを重点的に公募している。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・欧州全体の再生医療等製品は米国に匹敵するか凌ぐ勢いで販売承認されている。<br>・欧州全体で一元管理される大規模ヒト多能性幹細胞バンク（EBiSC）とレジストリ（hPSCreg）、疾患iPSバンク（Stem BANCC）を有する<br>・EUと欧州制約団体連合会（EFPIA）が半分ずつ資金を出し合う官民パートナーシップによ医薬品開発イニシアチブ（IMI）が存在し、再生医療に関するプロジェクトも推進されている。<br>・英国CGT Catapultは英国再生医療の商業化のハブとして重要な役割を担っている。<br>・EUでは”Hospital Exemption”として条件を満たした先端医療医薬品（ATMP）は中央審査の対象外となっている |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・量はもちろんのこと、質に関しても著しく向上している。一流誌に発表される論文数も増加し、学会等でのプレゼンスも格段に上がっている。<br>・米国の大学に留学している学生、研究者の数も圧倒的で、中国本土の科学技術の向上に貢献している。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・中国の論文数、質の向上は臨床研究においても認められる。多能性幹細胞を用いた臨床試験も開始されている。<br>・欧米や日本に比して人権や動物愛護に対する規制が厳しくなく、応用研究を推進しやすい環境であるとも言える。<br>・政府がメディカルツーリズムの推進をうたっており北京・上海・海南島に拠点を構えている。2018年海南島博鰲（ボアオ）に大型幹細胞専門病院が開業し、今後研究から臨床までを行う計画である。海南島では中国国内で未承認の治療も特別に許可され、応用研究開発を加速させる可能性がある。 |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | ↗ | ・再生医療領域において目立った成果は見られない<br>・中国ほどではないが論文の質量ともに近年向上している。米国等への留学生も増加していて今後、韓国の基礎研究のレベルアップに貢献することが予想される。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・美容関連製品を中心に再生医療製品を多数製造販売している。<br>・多能性幹細胞の臨床試験も開始されている。<br>・FDAに多くの人材を留学させて制度を学ぶなど、国を挙げての努力がこれから成果を生み出す可能性がある。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

参考文献

1）Tachibana M, et al., Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell*, 153: 1228-1238（2013）

2）Yamada M, et al., Human oocytes reprogram adult somatic nuclei of a type 1 diabetic to diploid pluripotent stem cells. *Nature,* 510：533-536（2014）

3）Kebriaei P, et al. Adult human mesenchymal stem cells added to corticosteroid therapy for the treatment of acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant,* 15: 804–811（2009）

4）Wu KH, et al. Effective treatment of severe steroid-resistant acute graft-versus-host disease with umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. *Transplantation*, 91: 1412–1416.（2011）

5）Le Blanc K, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graftversus-host disease: a phase II study. *Lancet*, 371:1579–1586（2008）

6）Watanabe Y, et al., Mesenchymal Stem Cells and Induced Bone Marrow-Derived Macrophages Synergistically Improve Liver Fibrosis in Mice. *Stem Cells Transl Med* 8（2018）:271

7）de Rham C, and Villard J. Potential and limitation of HLA-based banking of human pluripotent stem cells for cell thrapies. *J Immunol Res*, 2014:518135（2014）

8）Solomon S, Pitossi F, and Rao MS. Banking on iPSC - is it doable and is it worthwhile. *Stem Cell Reviews* 11；1-10.（2015）

9）Blair NF, and Barker RA. Making it personal: the prospects for autologous pluripotent stem cell-

derived therapies. *Regen Med.* 11; 423-425（2016）
10）Miura S, and Suauki A. Generation of Mouse and Human Organoid-Forming Intestinal Progenitor Cells by Direct Lineage Reprogramming. *Cell Stem Cell* 21：456-471（2017）
11）Sadahiro T., et al., Tbx6 Induces Nascent Mesoderm from Pluripotent Stem Cells and Temporally Controls Cardiac versus Somite Lineage Diversification. *Cell Stem Cell*. 23：382-395（2018）
12）Takeda Y, et al., Direct conversion of human fibroblasts to brown adipocytes by small chemical compounds. *Sci Rep* 18: 624-635（2017）
13）Katsuda T, et al., Conversion of terminally committed hepatocytes to culturable bipotent progenitor cells with regenerative capacity. *Cell Stem Cell* 20：20-55（2017）
14）Tamai K, et al., PDGFR α -positive cells in bone marrow are mobilized by high mobility group box 1（HMGB1）to regenerate injured epithelia. *Proc Natl Acad Sci* 108; 6609-6614（2011）
15）Iwase Hayato, et al., Immunological and physiological observations in baboons with life-supporting genetically engineered pig kidney grafts. Xenotransplantation. 24 :e12293（2017）
16）Längin M, et al., Consistent success in life-supporting porcine cardiac xenotransplantation. *Nature* 564: 430-433（2018）
17）Kunitomi A., et al., H1foo Has a Pivotal Role in Qualifying Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Rep*. 6:825-833（2016）
18）Nishihara K., et al., Induced Pluripotent Stem Cells Reprogrammed with Three Inhibitors Show Accelerated Differentiation Potentials with High Levels of 2-Cell Stage Marker Expression. *Stem Cell Rep* 12 :305-318（2019）
19）Ieda M, et al., Direct Reprogramming of Fibroblasts into Functional Cardiomyocytes by Defined Factors. *Cell.* 142 ;375-386（2010）
20）Vierbuchen T., et al., Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature* 463: 1035-1041（2010）
21）Yamaguchi, T. et al. Interspecies organogenesis generates autologous functional islets. *Nature* 542, 191–196（2017）.
22）Goto T, et al., Generation of pluripotent stem cell-derived mouse kidneys in Sall1-targeted anephric rats. *Nat Commun* 10 :451（2019）
23）Tabata Y, et al., T-type calcium channels determine the vulnerability of dopaminergic neurons to mitochondrial stress in familial Parkinson’s disease. *Stem Cell Rep* 11：1171-1184（2018）
24）Wu KH, et al. Effective treatment of severe steroid-resistant acute graft-versus-host disease with umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. *Transplantation*, 91: 1412–1416（2011）
25）Cyranosky D. Japan’s approval of stem-cell treatment for spinal-cord injury concerns scientists. Chief among their worries is insufficient evidence that the therapy works. *Nature* 565, 544-545（2019）

## ２.５.６　オルガノイド・臓器チップ

### (1) 研究開発領域の定義

試験管内で作られる臓器を模した三次元組織「オルガノイド」の構築技術やマイクロ流体デバイス技術の進歩に伴い、高い生理学性を持つ培養系である臓器チップ（Organ-on-a-chip）や、それらを生理学的な順序で連結灌流する人体チップ（Body/Multi-organ/Organs-on-a-chip）の開発が進んでいる。これらは創薬や化粧品開発プロセス等における動物実験を代替する技術として期待され、最近では、その学術・産業上の意義を明確に示すために、Micro-Physiological System（MPS、微小生理組織の培養計測システム）と呼ばれる事が多い。またオルガノイドを利用した、発生・再生、がん化、感染症、免疫などの生体機能および疾患の解明研究が期待される。

### (2) キーワード

MPS（微小生理組織の培養計測システム）、Body-on-a-chip（BOC）、Multi-organ-on-a-chip（MOC）、Tissue Chip（組織チップ）、スフェロイド、３Ｄバイオプリント、細胞アッセイ、三次元培養、マイクロ流体デバイス、人工多能性幹細胞（iPSC、iPS 細胞、induced pluripotent stem cells）、創薬スクリーニング、腫瘍、ウイルス、発生・再生

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

臨床疾患の大部分は分子遺伝学的な因子に規定される遺伝子機能の変化と組織環境因子との短期的または長期的な相互作用による表現系の異常と概言することができる。近年の次世代シーケンサーの進歩により、個体の遺伝学的な変化を精確に記載することが可能になった一方で、分子遺伝学的変化と表現系（形態変化、発生生物学的変化、生体機能異常など）の相関関係、つまり Genotype-Phenotype 連関の全容の解明が課題となっている。単一遺伝子疾患に対しては、遺伝子改変動物の利用により、多くの遺伝性疾患における Genotype-Phenotype 連関が明らかにされてきた。一方で、臨床疾患の大部分は複雑な遺伝子機能変化の総和により規定されることが多く、その分子遺伝学的な再構築は困難である。また、複雑かつ多様な環境因子や個体内の臓器間および神経・内分泌・免疫系との相互作用による修飾が疾患理解を困難にしている。

また近年、医薬品開発コストの指数関数的増大[1)]と臨床試験の成功率の低下[2)]が顕著となっており、その原因のひとつとして、動物実験結果のヒト外挿性の低さが挙げられる。ヒト個体での毒性発現機序を部分的にでも再現可能なヒト培養細胞試験の重要性が以前にも増して強くなっている。

化粧品や産業用化学物質の開発では、欧州を中心に実験動物の使用が困難となりつつある[3)]。近年、幹細胞の分化誘導技術の発達を背景に、ヒトの様々な正常臓器細胞だけでなく、さらには疾患細胞をも用いることが可能となりつつある。オルガノイドを用いた疾患研究や臓器チップ等の研究開発により疾患理解とともに創薬の加速化が期待される。

［研究開発の動向］

【オルガノイド】

発生・再生あるいは疾患理解を目的とし、iPS 細胞や成体臓器上皮などのヒト組織を利用した機能解析系の開発が期待されている。オルガノイド培養の概念は 1980 年代より確立されたが、2009 年のマウス小腸組織幹細胞培養[4]や 2011 年のマウス ES 細胞由来の眼杯誘導[5]の成功を基に、後述のように様々な組織と疾患への応用研究が展開されつつある。

● オルガノイドの発生・再生医学への展開

この数年、腸管、胃、内耳、脳、腎臓など、マウス ES およびヒト iPS 細胞由来のオルガノイド作製の報告が相次いでいる[6),7),8),9),10)]。外来因子が染色体に残らない iPS 細胞樹立法の採用により発がんリスクが低下した上、iPS 細胞はその多能性のため、理論上あらゆる組織の再構築が可能である。近年の技術改良によって、より高次構造を有するオルガノイドの作製が可能になってきたものの[11]臨床応用にはまだ時間を要する。入手が困難なヒト胎児組織を試験管内で作製できることは、ヒト発生学の発展に大きく寄与すると期待されるが、その多くは胎生初–中期程度の成熟度であることが多く、どの程度生体胎児に類似するかの判定が難しく、また疾患再現の対象としても、胎児期に発症するものに限られる。

成体組織由来のオルガノイドは採取組織そのものを利用するため、成熟度が高く、また成体組織由来のオルガノイド培養技術は細胞リプログラミングを経ないため、発がんのリスクが少なく、培養期間における変異獲得リスクが低いことが報告されている[12)]。成体組織由来のオルガノイド研究としては、東京医科歯科大学・慶應義塾大学のチームが腸管上皮オルガノイドを用いた応用研究を、また海外においては、オランダの研究チームが肝臓オルガノイドの応用研究している。東京医科歯科大学は炎症性腸疾患を対象とした臨床応用を開始している。

● オルガノイドのがん研究への応用

患者由来がん組織のオルガノイド樹立技術が進歩し、大腸がん[13)]、胃がん[14)]、膵がん[15),16)]、前立腺がん[17)]、乳がん[18)]、膀胱がん[19)]などの固形腫瘍からのがんオルガノイドのバイオバンクの開発や、バイオバンクを用いた薬剤スクリーニング系が開発され[20)]、創薬や新規開発治療薬の効果検証などにおいて、製薬業界での利用が期待されている。

遺伝学的変化を基にした個別化医療が米国を中心に臨床応用されつつあるが、分子標的治療薬などのゲノム異常に基づいた治療薬を除き、大部分の化学療法治療薬の効果の予測は確立されていない。このような中、オルガノイドを用いた生体機能に基づいた、個別化医療応用方法が報告された[21)]。米国政府は個別化医療推進に 250 億円を投資し、また全米がん学会を中心とした Stand Up Cancer Project ではオルガノイドを用いた個別化医療推進に 8 億円の投資が行われている。

● オルガノイドの感染症研究への応用

感染症の原因となる多くの病原性細菌は抗生剤開発により制御可能となってきた。一方で、腸内細菌叢は培養が困難であり、近年のシーケンス技術の進歩によって始めてその包括的な理解が進む一方で、培養が困難な新興ウイルス感染症も存在し、その治療法・予防法の開発の足枷となっている。近年、細菌・ウイルスの培養技術の進歩と並行し、宿主細胞の培養系の確立が病原体の体外培養成功につながる報告が相次いでいる。腸管上皮オルガノイド培養を利用した宿主細胞の培養技術により、これまで培養が困難であった病原体である、ノロウイルスやロタウイルスの体外増殖の成功し[22)]、また成人由来胃オルガノイドへのピロリ菌感染[24)]が確認

された．さらに，ヒト iPS 細胞由来の脳オルガノイドやヒト成人由来肺オルガノイドへのジカウイルスやインフルエンザウィルス感染の確認[24),25)]、詳細なライフサイクルが不明であり、腸管上皮を宿主とする寄生虫であるクリプトスポリジウムを小腸および肺オルガノイドに感染させる系の確立が報告されるなど、オルガノイドの感染症研究応用は国内外で重点課題として行われることが期待される。

● その他

欧州では嚢胞性線維症の診断・治療薬に腸管上皮オルガノイドを用いる研究が行われている。嚢胞性線維症患者由来のオルガノイドはフォルスコリン添加により特徴的な嚢胞形成を示すため、簡便に診断することができる。さらに、嚢胞性線維症に対する治療薬の選択にオルガノイドを用いた個別化治療が応用され、in vitro における薬剤効果から治療での効果を予測可能であることが示された[26)]。

【臓器チップ】

ヒト個体での毒性発現機序を部分的にでも再現可能なヒト培養細胞試験を実現するために、単層培養を基本とする従来の細胞培養法ではなく、三次元培養や共培養・液流や力学的刺激を実現する高い生理学特性を持った培養系（細胞アッセイ系）の開発と利用が急速に進められている。これを可能としたのは、様々な三次元培養技術やマイクロ流体デバイス技術である[27),28)]。特に、マイクロ流体デバイス技術を利用して、生理学的な三次元環境を再現した新たな微小細胞培養系＝臓器チップという概念がここ数年の間に急速に浸透し、特に創薬目的の研究が世界的に広く展開されつつある[29),30)]。また、複数の異なる臓器チップを、血液循環を模したマイクロ流路などで生理学的順序にて接続・灌流する人体チップという概念が提唱され、大きな注目を集めている[31),32)]。これは、in vitro 系でありながらも in vivo と同等のシステム階層を有することから、ヒト個体での薬物動態と応答の再現を可能とする全く新たな概念である。創薬目的のみならず、多臓器連関を基礎とする人体のシステム応答の理解のための、全く新たな実験系としての利用も期待される。

● 生理学的三次元組織構築技術

生体内で臓器細胞（実質細胞）は他種の臓器構成細胞（非実質細胞）とマイクロスケールで規則正しい三次元構造を形成し、細胞間接触・細胞外マトリックス・局所的な液性因子のやり取りといった相互作用を通して、臓器特異的機能を発現・維持している。従って、従来の二次元平面上での単層培養での生理学特性は著しく低いことは自明である。この課題を解決するために、三次元細胞凝集塊（スフェロイド）の研究が行われてきており、徐々に応用面での理解も得られつつある。近年、3D プリンティングや細胞積層法といった新たな三次元化の技術が開発されている[33)]。また、再生医療目的ではあるが、非実質細胞を含めた三次元化の有効性も示されており[34)]、疾患の再現に有用であり、これらの三次元化技術の一部は、マイクロプレートで用いることができるため、多数の被検物質を対象とした早期のアッセイには有効である。

● チップ化による臓器機能発現

一定程度以上の細胞の三次元化を行うと、拡散による物質供給・除去では不十分であり、血管様の構造を介した流れの導入や詳細な微細構造の付与や流れ・物理的刺激の付加が重要となる。これらの課題解決のために、マイクロ流体デバイス技術を用いた臓器チップ化技術が重要な開発項目となっている[29),30)]。米国ハーバード大学 Wyss Institute の Ingber らはシリコー

ン樹脂の薄膜の両面にそれぞれ肺胞上皮細胞と血管内皮細胞を培養した肺モデルを構築し、シリコーン樹脂の柔らかさを利用して呼吸時の肺胞の伸縮を模倣することで、肺へのバクテリア感染と生体の免疫応答を精度良く観測できることを示した[35]。また、同様のチップで腸の組織を作製し、蠕動運動を模倣により、モデル腸管細胞の柔突起様の三次元構造の自発的な形成が見られることを報告している[36]。マイクロ流体デバイスを用いて血液の流れからかかる生理的な剪断応力を負荷することで、血液脳関門のバリア能向上[37]、腎尿細管のグルコースの再吸収機能の発現[38]や胎盤の微絨毛形成促進[39]なども報告されている。

● 多臓器連結システムによる個体機能発現

複数の臓器を連結・灌流する Body/Organs-on-a-chip は、マイクロ流体デバイス技術をフルに活用するもので、近年急速に注目を集めている。Body-on-a-chip の創始者ともいえる米国コーネル大学の Shuler らは、肝臓・癌・間質細胞より構成される 3 種類の臓器モデルを配管接続してペリスタポンプで培養液を循環することで、肝臓によって代謝されて抗癌効果を示すプロドラッグの in vitro 評価系を構築している[40]。ドイツのベルリン工科大学の Marx らのグループはオンチップペリスタポンプ機構を備えたマイクロ流体デバイスにより、複数の臓器を連結して培養できるシステムを開発しており、最近の論文では皮膚・腸・肝臓・腎臓の 4 臓器を搭載したシステムを報告している。そして、TissUse 社というベンチャー企業を立ち上げ、EU プロジェクトにより大規模に Body-on-a-chip 研究を展開している[41]。前述の Wyss Institute の Donald E. Ingber らもプレスリリースのみの段階だが、複数の Organ-on-a-chip を連結して Body-on-a-chip として使用できる機器を開発しており、Emulate 社というベンチャー企業による実用化を進めている[42]。MIT の Linda Griffith 氏と CNBio 社が連携した PhysioMimetics プロジェクトでは、組織工学、チップ・デバイス加工とシステムファーマコロジーを組み合わせ、前臨床試験として医薬品候補化合物の薬効・毒性・薬物動態を予測するプラットフォームを提唱している[43]。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

● オルガノイド技術が様々な組織に応用されており，成体組織由来，iPS 細胞由来を合わせ，ほぼ全ての組織に応用される勢いである．今後，疾患モデルへの応用がさらに加速されていくであろう。

● オルガノイドを用いた薬剤スクリーニングによる薬剤感受性を臨床治験に取り入れる Co-clinical trial が報告され，今後の国内外から同様な成果が期待される[22]。

● CRISPR-Cas9 や single cell RNAseq の技術開発と相乗的にオルガノイドを用いた組織の多様性や細胞系譜の解析技術が進歩している[44],[45]。

● 同一患者からのがんオルガノイドと T 細胞の共培養によって，腫瘍特異的な T 細胞の腫瘍殺傷能を解析することが可能になり，オルガノイド技術の腫瘍免疫への応用が期待される[65]。

#### ［注目すべき国内外のプロジェクト］

【国内】

東京医科歯科大学が潰瘍性大腸炎を対象とした，オルガノイド自家移植による再生医療応用を発表した。2014 年から開始された「未来医療を実現する医療機器・システム研究開発事業」

では３次元精密細胞配置法の開発や生体組織製造をバイオ３Ｄプリンターで行う試みが進められている[46]。2015 年より実施されている「再生医療実現拠点ネットワークプログラム」[47]では iPS 細胞を用いた代替臓器やオルガノイドの作製が試みられている。例えば、横浜市立大学の谷口、武部らは、同プログラムの助成を受けて、iPS 細胞から肝臓、腸オルガノイド作製に成功している。2017 年より「再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業（再生医療技術を応用した創薬支援基盤技術の開発）」[48]が開始された。本事業では、iPS・ES 細胞等から分化誘導される各種臓器細胞をチップ等のデバイス上に搭載することによって、医薬品候補化合物の安全性や薬物動態等を評価可能な新たな基盤技術を確立する事を目的としており、オルガノイド等を活用した臓器チップモデルの開発が期待されている。研究領域提案型の新学術領域では、「超高速バイオアセンブラ」事業が 2015 年に発足し、対外で３次元細胞組織を構築し、その機能解明を行うため、オルガノイドや臓器組織の構築とその検出技術の開発がすすめられた[49]。

【米国】

現状の創薬開発において、動物実験モデルが必ずしもヒトの応答を反映しないにも関わらず、これに基づき候補医薬品の毒性と有効性を判断せざるを得ない。実際、動物実験モデルにおいて有望とされた候補医薬品の約 30%が臨床治験で脱落している[50]。臨床治験での候補薬剤の脱落を抑制するため、in vitro 細胞・組織モデルを用いた MPS モデルが役立つと期待し、FDA/NIH（国立衛生研究所）/DARPA（国防総省・国防高等研究計画局）等が連携し、創薬開発プロセスのパラダイムシフトを指向し、取り組んでいる[51]。

● 第１期 MPS 大型プロジェクト”Tissue Chip Development”（2012-2017 年）[52]

国防総省の研究機関である DARPA 及び NIH/FDA により策定[21]された。

DARPA グラント[53]は、ハーバード大学 Wyss Institute、マサチューセッツ工科大学（MIT）の２研究グループに５年総額 6400 万 US ドルの集中的なグラント配分。10 以上の組織を統合した複合チッププラットフォーム（Body-on-a-chip）の開発を目指す。薬剤の安全性予測、創薬開発、新規感染症対策のみならず、アメリカ人に対する化学・バイオ・放射線・核兵器対策として本技術開発を推進。バンダービルド大学との大学間連携、ベンチャー企業との連携、CFD Research Corp 社・チャールズスタークドレイバー研究所等の軍事関連の企業・研究所による共同研究などが行われている。

NIH/FDA グラントは、ドラッグスクリーニングや薬効評価のための「ヒト組織模倣チップ」の作成をテーマとし、多数の研究機関に分配配分（7600 万 US ドル /5 年）する事で、技術開発の底上げを目指す。FDA は、前臨床試験としての医薬品の安全性試験に臓器チップがどのように役立つかを調査し規制のフレームワーク構築を行うため参画、また IQ Consortium（米国創薬業界団体）とも技術移転のために強固な連携を取ったことが特徴で、23 社中日本企業も４社参画[54]。プロジェクト後期（2015-17）では、11 研究機関が各臓器モデルを複合化した Organs on a chip モデルの開発に取り組んでいる。

● 第２期 MPS 大型プロジェクト”Tissue Chips for Disease Modeling and Efficacy Testing”（2017 年～）[66]

病理モデルと薬効評価を行うための組織チップ開発を進めるため、13 機関に２年のグラントを配分した（1500 万 US ドル / 年）。病態理解をより正確に行い、又、薬剤に対する人体の

応答を現状のモデルと比較してより正確に予想できるようなプラットフォームとしての組織チップを開発する事を目的として開始。(1) 初代細胞または iPSC から誘導した細胞を臓器チッププラットフォームに導入し、in vitro 病理モデルを開発する研究を対象として、(2) 疾病と開発モデルの外挿性の検証、(3) 候補薬剤の効果の検証を進める。対象は、循環系、内分泌系、胃腸系、免疫系、歯科系、口腔および頭蓋顔面、皮膚、筋骨格系、神経系、感覚系、生殖系、呼吸器系および尿路系に影響を及ぼす疾患モデルなどの疾病モデル構築を重視。また、幹細胞から腎臓オルガノイドを作製するロボットによる自動プロセスに関する研究が発表[31]されるなど、第 1 期の目的だった「組織の複合化」には拘らず、現状モデルに対する優位性・外挿性を重視した体制となっている。

● 組織チップ試験センター設立（2016 年～）[55]

3 拠点にグラント配分（600 万 US ドル / 年）されスタート。MIT とテキサス A & M 大学の研究者は組織チッププラットフォームの独立検証を行う。ピッツバーグ大学は各機関プラットフォーム用の Microphysiology Systems Database（組織チップデータベース）を設置[56]。MPS で取得された ELISA、Transcriptomics、Metabolomics、Viability、バリア機能、膜透過性、細胞機能、評価薬物などが網羅的に収納されている。

登録者はデータベースの編集が可能で、ゲストも部分閲覧が可能である事から、情報集約、ニーズの吸上げが目的と考えられる。

● 組織チップの宇宙活用（2017 年～）[57]

NCATS（国立衛生研究所・先端トランスフェクショナル科学センター）は、ISS-NL（国際宇宙ステーション内研究所）の生物医学研究用ティッシュチップ技術の精密化に協力するため CASIS（宇宙科学振興センター）と提携。NCAT と CASIS がそれぞれ 300 万 US ドル、750 万 US ドルを拠出し、人体への微小重力環境の影響（老化加速、筋肉劣化、骨粗鬆症、心肺機能低下、免疫不全など）を研究する。

● 3D 組織バイオプリントプログラム（2016 年～）[58]

3D バイオプリンティングを用いた 3D 細胞構造（スフェロイド）や組織モデル（オルガノイド）の構築技術の開発を行う。現在、生体組織の 3 次元バイオプリントが可能となり、iPS 細胞または初代培養細胞から作成した細胞と足場材料を組み合わせた複雑な 3D 機能組織をマイクロプレート上にプリントする事が可能。NCATS が中心となって、卵巣癌転移を対象とした大網や心血管疾患研究のための血管壁のバイオプリント、3D 組織観察用の光干渉断層撮影装置（OCT）の開発などが進められている。

● 米国関連ベンチャー（スタートアップカンパニー）動向（臓器チップ）

ハーバード大学 Wyss Institute の Ingber のプロジェクトに Emulate 社（技術移転ベンチャー）・CFD Research 社（コンピューター、軍事、サイバー関係）が参画、また、MIT の Linda Griffith と連携する MatTek 社・CNBio 社（技術移転ベンチャー）、Michael L. Shuler（コーネル大学）と連携する HμREL Corp 社や Hesperos 社、MIT 発のベンチャー Hepregen 社など多数。また、オランダベンチャーで Paul Vulto らが創業した Mimetas 社は米国プロジェクトにも参画。

● Cincinnati 病院が中心に CuSTOM と呼ばれる共同研究組織を結成し，オルガノイドの基礎研究と応用研究に取り組む.

● 腸管上皮オルガノイド技術や iPS 細胞由来腎臓組織誘導に関して遅れをとったため、

NIH は米国の研究者を集めたコンソーシアム“Intestinal Stem Cell Consortium”や“ReBuilding a kidney”に予算を投下し、巻き返しを図っている。

【欧州】

大学や研究機関発のベンチャーが臓器チップ分野を牽引している。Mimetas 社、ベルリン工科大学の Uwe Marx 氏が創業した TissUse 社、チューリッヒ工科大学の Bio Engineering Lab のスピンオフベンチャーの Insphero 社、モスクワ大学の卒業生が設立した BioClinicum 社などが米国の大型プロジェクト等との連携も行いながら、開発を遂行。EU 内の公的な大型プロジェクトによるファンディングは限定的だが、EU（欧州委員会）の Horizon 2020（ホライズン 2020）や同枠内の FETs（未来の新技術開発）プログラム、同じく European Research Council（ERC：欧州研究会議）による研究助成が行われている。

● ホライズン 2020（Horizon 2020）研究プロジェクト（2014 ～ 2020 年）[59]

FP7 の後継プログラムとして、総額 770 億ユーロで行われる EU 域の研究助成。オルガノイド・臓器チップの研究領域にのみフォーカスした助成ではないが、イギリスのシェフィールド大学では、同助成を獲得し、生体模倣複合チップによる薬剤 HTS に関する基礎研究（MIMIC）が Mimetas 社や Galapagos BV 社と進められている[60]。

● FET（Future and Emerging Technologies：未来の新技術開発）プログラム[61]

ホライズン 2020 の枠内で行われている「先端研究」に割り当てられる研究助成。InSphero 社は、2012 年より 3 年で 1.4 M ユーロの助成を受け、複数の組織との共同研究による Body on a chip の開発プロジェクト（臓器モデル（InSphero、スイス）、流路系の構築（Prof. Andreas Hierlemann、ETHZ、スイス）、エンドユーザーにおける評価（アストラゼネカ、イギリス）、毒性評価、バイオ評価（IFADO：ライプチヒリサーチセンター、ドイツ）、アニマルモデル、神経、微小代謝プロファイリング（ルーヴェン・カトリック大学、ベルギー））を実施した[62),63)]。

● European Research Council（ERC：欧州研究会議）による研究助成

ERC による研究助成により、「複合組織チップを用いた糖尿病解析（プロジェクトコード：DAMOC）」、「複合流路プラットフォームを用いた細胞組織チップ開発（CELLO）」、「分化幹細胞を用いた血管チップの開発（VESCEL）」、「Organs on chip による上皮バリアの連続モニタリング（BioREAD）」など少なくとも 4 件のプロジェクトが 2015-2021 年にかけて実施されている。

● NCI（米国）、Cancer Research UK（英国）、Wellcome Trust Sanger Institute（英国）、Hubrecht Institute（オランダ）により Human Cancer Models Initiative（HCMI）が組織され、3 年間で 1,000 例のがんオルガノイドモデルを作成することが発表された。また，the Amecrican Type Culture Colletion（ATCC）を通してオルガノイドの販売が予定されている[64)]。

### （5）科学技術的課題

組織幹細胞由来オルガノイドは上皮細胞を中心に開発されてきた。今後、非上皮細胞由来のオルガノイドや上皮オルガノイドと非上皮細胞との共培養系などの開発が課題である。

● ヒト iPS 細胞由来オルガノイドの誘導の目標値として、ヒト胎児の様々なステージにおける個々の細胞系譜の遺伝子発現プロファイルの同定が必須であり、海外の一部機関では研

究が始まっている。

- iPS 細胞由来のオルガノイドおよび腸管上皮以外の成体組織由来オルガノイドの再生医学応用には、更なる成熟化に関する技術的革新が必要である。
- オルガノイドによる疾患組織機能解析は生体内の機能の擬似が期待できる。マウスのみならず、ヒトにおいてどの程度の擬似化が可能かさらなる研究開発が必要である。また、そのような観点から、より擬似化能の高い培養技術の開発が望まれる。
- 従来の創薬スクリーニングは生体内の擬似性の低さから、ヒット化合物の多くが臨床開発フェーズに至らない。ヒト疾患組織オルガノイドを用いた創薬スクリーニング系の開発と応用研究は、今後の産業化基盤技術として推進されることが期待される。
- 生体内擬似化と並行し、３次元ならびに動的な形態形成機構、数理モデルなどとの融合が期待される。そのためには、精緻なイメージング技術によるデータ取得基盤が必要である。
- Micro-Physiological System ができたとしても、人体の完全な縮小版とはならない。人体応答の再現のためには、何らかの補完もしくは補正・外挿（QIVIVE）が必須であり、各階層を対象としたオミックス計測・数理モデル（システム生物学から薬物動態学）との融合が必須である [43]。
- 複数臓器を培養する Boy/Organs-on-a-chip では細胞アッセイに適用できる簡便性と信頼性やある程度の並列化などを備えたシステムの構築。

### （6）その他の課題

- 組織幹細胞由来・iPS 細胞由来のオルガノイド研究は国際的にもわが国はリードしている分野である。レベルの高い人材を活用し、適切なファンディング制度や若手育成を通して、本邦の独自性の強化が望まれる。
- 臓器チップ技術を開発し、動物実験を代替する創薬ツールとして上市するには、1）細胞・組織・臓器リソースの開発、2）マイクロチップデバイスの開発、3）オンチップ検出技術、4）医療機器レギュレーションの整備、の 4 種の異なる分野融合が成立する必要があり、極めてハードルが高い。本領域の推進のためには、チップ設計や加工に関する工学の知識と培養工学・細胞生物学・医学薬学の知識を兼ね備えた人材の育成が必要である。
- 欧米では疾患組織オルガノイドのバンキングが推進されており、シークエンス解析と薬剤感受性などの包括的な解析が遂行されている。しかしながら、培養技術を含めた包括的な解析はコストがかかるため、今後の研究支援体制が政策的課題となる。特に，ゲノム解析プロジェクトと試料を共有することにより，コストの削減と情報量の深化が期待できる．また、バンキングシステムの確立は製薬企業にとっても有用性が高く、産官学連携した取り組みが見込まれる。
- オルガノイド技術はヒト疾患組織の機能解析ができるため、基礎医学・臨床医学双方での研究基盤となりうるが、そのためのプラットフォームが整備が課題となっている。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | 〔オルガノイド〕<br>がんオルガノイド研究や腎臓オルガノイド技術開発において，先駆的な業績を報告している。<br>〔臓器チップ〕<br>臓器チップに搭載する細胞ソースとなる、iPS 細胞、幹細胞および分化誘導細胞について世界的に優位な技術水準を有する[47]。<br>AMED、科学研究費補助金で大型プロジェクトが積極的に計画され、研究が推進されている[46)-48)]。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | 〔オルガノイド〕<br>潰瘍性大腸炎へのオルガノイドを用いたヒト再生医療研究が開始された。<br>〔臓器チップ〕<br>AMED の研究事業では、同技術を採用したいと考える製薬企業が積極的に関与し、製造企業と連携を行う技術組合設立を行い、臓器チップデバイスの開発が進められている。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | 〔オルガノイド〕<br>Cincinnati 大学が CUSTOM を設立し，オルガノイド研究を推進している．また，HCMI, ISSC や ReBuild a Kidney などのコンソーシアムが戦略的に基礎研究を進めている。<br>〔臓器チップ〕<br>当初の Organ/ Body-on-a-chip から、実用に即した MPS（微小生理組織の培養計測システム）研究にシフト。概念提唱でリード。<br>圧倒的な研究予算規模の大型プロジェクトが 2010 年より進められている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | 〔オルガノイド〕<br>がんオルガノイドを用いた Co-clinical trial 研究など，がん関連の応用研究開発が進んでいる。<br>〔臓器チップ〕<br>プロジェクト関連のスタートアップ企業が多数設立。<br>DARPA などの圧倒的な軍事系予算の活用。<br>IQ Consortium（米国創薬業界団体）との連携 54） |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | 〔オルガノイド〕<br>成体組織由来オルガノイドと脳オルガノイドをオランダ，オーストリアがそれぞれ精力的に取り組んでいる。イギリスでもがんオルガノイドを中心とし，研究者が集まっている。<br>〔臓器チップ〕<br>製造業が強いドイツ、スイスが中心となって精力的な研究活動が行われている。<br>EU が主導するホライズン 2020 の助成により複数の研究プロジェクトが遂行されている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | 〔オルガノイド〕<br>嚢胞性線維症に対する創薬スクリーニング臨床応用において良好な成果が得られつつある．短腸症候群に対してコンソーシアム（INTENS）を作り，臨床応用を図っている。<br>〔臓器チップ〕<br>EU における化粧品開発の動物実験禁止を受け、化成品の安全性試験を意識した企業の活動が見られる。<br>企業主導のプロジェクトへの助成[35]や米国プロジェクトへ欧州企業が参画するなど積極的な製品開発指向の動きがある。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 中国 | 基礎研究 | △ | ↗ | 〔オルガノイド〕<br>欧米でオルガノイド研究に従事した研究者が帰国し，基礎研究を開始している。<br>〔臓器チップ〕<br>一部の研究者が同分野を牽引。当該領域での関連論文数が増加している。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | 〔オルガノイド〕<br>基礎研究が開始されたところであり，応用研究には時間を要すると思われる。<br>〔臓器チップ〕<br>産業化を目指した開発は顕在化していないが、国家的な戦略プロジェクトによる応用研究の推進が予想される。 |
| 韓国 | 基礎研究 | △ | ↗ | 〔オルガノイド〕<br>ヨンセイ大学がオルガノイドの国際会議を開催するなど，精力的に取り組む姿勢がある。<br>〔臓器チップ〕<br>大型の研究プロジェクトの実施は見当たらないが、個別の研究開発が進んでいる。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | 〔オルガノイド〕<br>基礎研究が開始されたところであり，応用研究には時間を要すると思われる。<br>〔臓器チップ〕<br>バイオセンシング技術の開発が盛んである事から、今後、臓器チップ上のセンサー開発などの研究開発が活発化すると予想される。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考・引用文献

1) Scannell J. W, et al., “Diagnosing the decline in pharmaceutical R&D efficiency.” Nat RevDrug Discov. 11, 3, 191-200 (2012)
2) Pammolli F, Magazzini L, Riccaboni M、“The productivity crisis in pharmaceutical R&D.” Nat Rev Drug Discov 10, 6, 428-438 (2011)
3) European Commission, “Ban on Animal Testing”
4) Sato T., et al., “Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche.”, Nature 459, 262-265 (2009).
5) Eiraku M., et al., “Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture.” Nature 472, 51-56 (2011).
6) Spence J. R., et al. “Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissues in vitro.” Nature 470, 105-109 (2010).
7) McCracken K. W., et al., “Modeling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids.” Nature 516, 400-404 (2014).
8) Koehler K. R., et al., “Generation of inner ear sensory epithelia from pluripotent stem cells in 3D culture.” Nature 500: 217-221 (2013).
9) Lancaster M. A., et al., “Cerebral organoids model human development and microcephaly.” Nature

19, 373-379（2013）.
10）Takasato M., et al.,“Kidney organoids from human iPS cells contain multiple lineages and model human nephrogenesis.” Nature 526, 564-568（2015）.
11）Taguchi A, Nishinakamura R.,“Higher-Order Kidney Organogenesis from Pluripotent Stem Cells.” Cell Stem Cell. 21（6）:730-746.e6. doi: 10.1016/j.stem.2017.10.011.（2017）
12）Huch M., et al.,“Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver.” Cell 160, 299-312（2015）.
13）Sato T., et al.,“Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium.” Gastroenterology 141, 1762-1772（2011）.
14）Nanki K, et al.,“Divergent Routes toward Wnt and R-spondin Niche Independency during Human Gastric Carcinogenesis.” Cell. Aug 9;174（4）:856-869.e17.（2018）
15）Boj S. F., et al.,“Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer.” Cell 160, 324-338（2015）.
16）Seino T., et al.,“Human Pancreatic Tumor Organoids Reveal Loss of Stem Cell Niche Factor Dependence during Disease Progression.” Cell Stem Cell. Mar 1;22（3）: 454-467.e6.（2018）
17）Karthaus W. R., et al.,“Identification of multipotent luminal progenitor cells in human prostate organoid cultures.” Cell 159, 163-175（2014）.
18）Sachs N, et al.,“A Living Biobank of Breast Cancer Organoids Captures Disease Heterogeneity.” Cell. Jan 11;172（1-2）:373-386.e10.（2018）
19）Lee SH et al.,“Tumor Evolution and Drug Response in Patient-Derived Organoid Models of Bladder Cancer.”, Cell. Apr 5;173（2）:515-528.e17.（2018）
20）van de Wetering M,“Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients.” Cell. 161（4）:933-45.（2015）, doi: 10.1016/j.cell.2015.03.053.
21）Vlachogiannis G,“Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers.” Science., 59（6378）:920-926. doi: 10.1126/ science.aao2774.（2018）
22）Ettayebi K., et al.,“Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids.” Science（2016）.
23）Bartfeld S, Clevers H.,“Organoids as Model for Infectious Diseases: Culture of Human and Murine Stomach Organoids and Microinjection of Helicobacter Pylori.” J Vis Exp., Nov 12;（105）. doi: 10.3791/53359（2015）
24）Garcez P.P., et al.“Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids.” Science 352, 816-818（2016）.
25）Qian X., et al.,“Brain-Region-Specific Organoids Using Mini-bioreactors for Modeling ZIKV Exposure.” Cell. 165（5）:1238-1254. doi: 10.1016/j.cell.2016.04.032.（2016）
26）Dekkers, J.F., et al.,“Characterizing responses to CFTR-modulating drugs using rectal organoids derived from subjects with cystic fibrosis.” Sci Transl Med 8, 344ra384（2016）
26）http://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/animal-testing/（2018年8月アクセス）
27）van Midwoud P. M, Verpoorte E, Groothuis GM,“Microfluidic devices for in vitro studies on liver drug metabolism and toxicity.“Integr Biol（Camb）3, 5, 509-21（2012）
28）Ghaemmaghami A. M, et al.,“Biomimetic tissues on a chip for drug discovery.” Drug DiscovToday 17, 3-4, 173-181（2012）
29）Bhatia S. N, Ingber DE,“Microfluidic organs-on-chips.” Nat Biotechnol., 32, 8, 760-772（2014）

30）Baker M、“Tissue models: a living system on a chip.” Nature 471, 7340, 661-5（2011）
31）Esch M. B, King T. L, Shuler M. L, “The role of body-on-a-chip devices in drug and toxicity studies.” Annu Rev Biomed Eng. 13, 55-72（2011）
32）Sung J. H, et al., “Microfabricated mammalian organ systems and their integration into models of whole animals and humans,” Lab Chip. 13, 7, 1201-12（2013）
33）Matsusaki M, Case C. P, Akashi M, “Three-dimensional cell culture technique and pathophysiology.” Adv Drug Deliv Rev. 74, 95-103（2014）
34）Takebe T., et al., “Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant.” Nature 499, 7459, 481–4（2013）
35）Huh D, et al., “Reconstituting organ-level lung functions on a chip.” Science. 328, 5986, 1662-8（2010）
36）Kim H. J, et al., “Human gut-on-a-chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis-like motions and flow.” Lab Chip. 12, 12, 2165-74（2012）
37）Booth R, Kim H、“Characterization of a microfluidic in vitro model of the blood-brain barrier（ μBBB）.” Lab Chip. 12, 10, 1784-92（2012）
38）Jang K. J, et al., “Human kidney proximal tubule-on-a-chip for drug transport and nephrotoxicity assessment.” Integr Biol（Camb）5, 9, 1119-29（2013）
39）Miura S, et al., “Fluid shear triggers microvilli formation via mechanosensitive activation of TRPV6.” Nat Commun. 6, 8871（2015）
40）Sung J. H, Shuler M. L., “A micro cell culture analog（microCCA）with 3-D hydrogel culture of multiple cell lines to assess metabolism-dependent cytotoxicity of anti-cancer drugs.” Lab Chip 9, 10, 1385-94（2009）
41）Maschmeyer I, et al., “A four-organ-chip for interconnected long-term co-culture of human intestine, liver, skin and kidney equivalents.” Lab Chip. 15, 12, 2688-99（2015）
42）Emulate, Inc. HP、http://www.emulatebio.com（2018 年 8 月アクセス）
43）Linda G. Griffith, “PhysioMimetics”, http://physiomimetics.mit.edu（2018 年 8 月アクセス）
44）Shimokawa M, et al., “Visualization and targeting of LGR5+ human colon cancer stem cells.” Nature., May 11;545（7653）:187-192. doi: 10.1038/nature22081.（2017）
45）Camp JG., et al., “Human cerebral organoids recapitulate gene expression programs of fetal neocortex development.”, Proc Natl Acad Sci U S A., 112（51）:15672-7. doi: 10.1073/pnas.1520760112.（2015）,
46）国立研究開発法人日本医療研究開発機構“未来医療を実現する医療機器・システム研究開発事業”https://www.amed.go.jp/program/list/02/01/004.html
47）国立研究開発法人日本医療研究開発機構“再生医療実現拠点ネットワークプログラム”https://www.amed.go.jp/program/list/01/02/001.html
48）国立研究開発法人日本医療研究開発機構“再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業（再生医療技術を応用した創薬支援基盤技術の開発）”https://www.amed.go.jp/program/list/01/02/007.html（2018 年 8 月アクセス）
49）科学研究費助成事業データベース KAKEN”研究課題をさがす” https://kaken.nii.ac.jp/ja/index/（2018 年 8 月アクセス）
49）文部科学省”超高速バイオアセンブラ（新井健生）”http://www.mext.go.jp/a_menu/shinkou/hojyo/chukan-jigohyouka/1340463.htm（2018 年 8 月アクセス）
50）National Center for Advancing Translational Sciences “About Tissue Chip” https://ncats.nih.gov/bioprinting/about（2018 年 8 月アクセス）

51）National Center for Advancing Translational Sciences “Tissue Chip for Drug Screening” http://www.ncats.nih.gov/tissuechip（2018 年 8 月アクセス）
52）National Center for Advancing Translational Sciences “Tissue Chip Development” https://ncats.nih.gov/tissuechip/projects/development（2018 年 8 月アクセス）
53）Defense Advanced Research Project Agency “Microphysiological Systems” https://www.darpa.mil/program/microphysiological-systems（2018 年 8 月アクセス）
54）National Center for Advancing Translational Sciences “How the Tissue Chip Program Works” http://www.ncats.nih.gov/tissuechip/about/operations（2018 年 8 月アクセス）
55）National Center for Advancing Translational Sciences “Tissue Chip Testing Centers” https://ncats.nih.gov/tissuechip/projects/centers（2018 年 8 月アクセス）
56）University of Pittsburgh Drug Discovery Institute “MPS Database” https://mps.csb.pitt.edu/（2018 年 8 月アクセス）
57）National Center for Advancing Translational Sciences “Tissue Chips in Space” https://ncats.nih.gov/tissuechip/projects/space（2018 年 8 月アクセス）
58）National Center for Advancing Translational Sciences “3-D Tissue Bioprinting Operational Model” https://ncats.nih.gov/bioprinting/about/operations（2018 年 8 月アクセス）
59）European Commission ” Community Research and Development Information Service” https://cordis.europa.eu/project/rcn/197368_en.html（2018 年 8 月アクセス）
60）The University of Sheffield “ITN-MIMIC” https://www.sheffield.ac.uk/itn-mimic/about
61）European Commission “Future and Emerging Technologies” http://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en/h2020-section/future-and-emerging-technologies（2018 年 8 月アクセス）
62）InSphero “Microphysiological Systems Body-on-a-Chip Project” http://www.insphero.com/company/eu-project-the-body-on-a-chip（2018 年 8 月アクセス）
63）European Commission “The Body-on-a-Chip（BoC）”、
64）Tachibana CY. Et al., “Stem-cell culture moves to the third dimension.” Nature. 558（7709）:329-331. doi: 10.1038/d41586-018-05380-x.（2018）
65）Dijkstra KK et al., “Generation of Tumor-Reactive T Cells by Co-culture of Peripheral Blood Lymphocytes and Tumor Organoids.” Cell., 174（6）:1586-1598.e12. doi: 10.1016/j.cell.2018.07.009. Epub（2018）
66）National Center for Advancing Translational Sciences “Tissue Chips for Disease Modeling and Efficacy Testing” https://ncats.nih.gov/tissuechip/projects/modeling（2018 年 8 月アクセス）

## 2.5.7　診断薬・バイオマーカー（リキッドバイオプシー）

### (1) 研究開発領域の定義

集団の中から病気の可能性のある人を発見する、疾患を特定する、病気の進行度・ステージを把握する、治療中や治療後の経過観察をする、予後を予測する、最適な治療を決定する、等の目的に応じた様々な診断を下すために客観的に測定・評価される指標、すなわちバイオマーカーの精度と利便性を向上し、また、新たな診断が可能となるような新規バイオマーカーを開発することを目指した研究開発領域。本項では特に、侵襲性の高い診断方法である組織生検の代替手段として近年注目されている「リキッドバイオプシー」と、網羅的解析から得られるバイオマーカーによって進む精密医療（個別化医療）、患者層別化を中心に、その動向を俯瞰する。

### (2) キーワード

診断、バイオマーカー、リキッドバイオプシー、疾患オミクス、CTC（Circulating Tumor Cells：血中循環腫瘍細胞、末梢血循環腫瘍細胞）、ctDNA（circulating tumor DNA：血中腫瘍 DNA）、miRNA（microRNA）、エクソソーム、cfDNA（cell free DNA）、次世代シーケンサー（NGS: New Generation Sequencer）、精密医療、個別化医療、患者層別化

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

個々人に最適で効率的な医療を実践する上で、診断バイオマーカーの開発は不可欠である。最近の技術進歩によって、疾患由来の微量な物質の変化を詳細に、あるいは網羅的に捉えることが可能になり、リキッドバイオプシーや疾患オミクスといった新たな診断法が実用化のフェーズに達しつつある。

世界保健機関（WHO）によると、がんは過去 10 年間で世界の死亡原因第 2 位であり、世界中で毎年約 880 万人が死亡している。我が国では、1981 年以降死因の第 1 位を「がん」が占め、生涯のうち約 2 人に 1 人が「がん」に罹患すると推計される。組織生検は、1 世紀以上にわたりがん診断のゴールドスタンダードとして不動の位置を占めてきた。組織生検の限界は繰り返しの採取であり、例えば転移性病変から新しい病変組織を採取することは容易ではない。そこで近年、血液等の体液をサンプルとして用いる「リキッドバイオプシー」が注目されている。簡便で実施しやすいこの診断法は、低侵襲で繰り返し検体採取可能であることが最大の利点であり、患者の体への負担を軽減できるとともに、多様化する治療法の適切な選択や早期発見に有用で、医療費の削減にも貢献すると期待されている。血中バイオマーカーは微量なため、長らく感度の高い検出方法の開発が大きな課題であったが、近年の技術の進展により全世界で実用化が加速している。米国国立がん研究所はリキッドバイオプシーを「血液試料に対して行われる検査で、血中のがん細胞またはがん細胞由来の DNA 断片を調べるもの」と定義しているが、実は世界で初めてリキッドバイオプシーを診断用に実用化した検査は新型出生前診断（NIPT）である。このように、がん以外の領域においても高精度で低侵襲の検査が求められている。

がん診断や NIPT には、疾患に関わるゲノム情報が利用されている。ゲノミクスをはじめとする近年のオミクス技術の発展は、分子情報の網羅的取得と統計的解析によって、患者を特定の疾患に罹患しやすい集団もしくはリスクの高い集団に層別化することにより、精密医療や予

防・先制的医療の可能性を開いた。遺伝だけでなく、生活環境やライフスタイルにおける個々人の違いを考慮した医療を提供するためには、ゲノム情報の他に、プロテオーム、メタボローム等のフェノーム情報も網羅的に解析し統合することが重要であり、今後の更なる研究開発が望まれる。また疾患オミクスの発展によって、新たな疾患メカニズムが解明されることも期待されている。

［研究開発の動向］

NGS の登場により、2000 年代にはゲノミクスの分野が飛躍的に発展した。質量分析器やバイオインフォマティクスの高度化はオミクスをさらに発展させ、ゲノムのみならず、プロテオーム、メタボローム等様々な階層で疾患に関連するオミクスデータが蓄積されてきた。これらの情報を統合して検討することにより、遺伝的影響のみならず、環境的影響についても評価することが可能となってきた。環境因子への応答を記憶する遺伝子素因としてエピジェネティクスが注目され、栄養素や代謝産物によるエピゲノムの修飾は生活習慣病の新たな分子基盤として今後の展開が期待されている。近年では、多くの新規バイオマーカー探索にオミクス技術が用いられている。また、個々人のオミクス情報を取得することにより、治療介入後の反応を予測するコンパニオン診断や治療後の予後予測が可能となり、精密医療・個別化医療が実践可能な段階となった。さらに、網羅的データの統計的解析から得られたいくつかの特徴的バイオマーカーを組み合わせることによって、疾患リスクの高い人を効果的に選別し、早期診断よりもさらに早い未病状態の段階で介入する先制医療・予防医療が実現に向かっている。

このように莫大なデータを網羅的・体系的に扱い解析するためには、システムズバイオロジーやバイオインフォマティクスと、得られた情報を整理・蓄積・公開するためのデータベースの開発が重要となる。また、複数の専門家が協力する体制を構築することも必要で、欧米を中心に体勢作りが急速に行われている。米国では官民パートナーシップとして The Biomarkers Consortium が 2006 年に組織され、成果を上げている。また、ゲノム医療計画として Genomic Medicine Program が 2007 年から開始され、複数拠点においてゲノムコホート研究を進めており、既存のゲノムコホートを有機的に連携させ、ネットワークを形成している。英国では precision medicine は国策として推進されており、ゲノム医療を実践・導入するために National Health System が Genomics England を設立し、2013 年から癌や希少疾患を対象に 10 万人規模でゲノム情報の解析研究が行われている。この Genomics England では、全ゲノム情報の解析から統合ゲノム情報の集積までを一つのセンターにて実施しており、拠点として整備されている。日本では、2012 年より、国立循環器病研究センターが循環器の領域に特化したバイオバンクを国内で初めて発足させ、様々な医療情報や生体試料を利用して多面的な研究が行われるようになってきている。また、東日本大震災の被災地の地域医療再建と健康支援に取り組みながら、医療情報とゲノム情報を統合させたバイオバンクを構築するために、東北メディカル・メガバンク計画が実践され、人材育成、産官学連携の促進を目指している。さらに、2013 年には、国立がん研究センター東病院をはじめ、全国の約 200 以上の病院と約 15 社の製薬会社による“SCRUM-Japan”という日本初の産学連携プロジェクトが発足された。進行がんを中心に、希少頻度の遺伝子異常を持つ患者を発見し、がん細胞の遺伝子変異の分析結果をバイオマーカーとして最適な効果が期待できる薬物を投与することを目的としている。患者 1 万人を目標に登録が進められており、がんゲノム疫学データの構築、臨

床・ゲノムデータの共有化を目指している。中国においてはゲノム解析の分野においてその実践が急速に発展している。特に世界最大規模のゲノム研究所を擁する中国企業 BGI（Beijing Genome Institute）社の成長が著しく、米国のシーケンサー大手 Illumina 社を凌ぐ勢いであり、さらに次々世代シーケンサーの開発を進めることが公表されている。また国家重点研究計画・precision medicine 重点プロジェクトが 2018 年 1 月に公表され、10 万人の中国人のゲノムとマルチオミクス参照データベース・分析システムを構築することが目的とされている。

以上のように、遺伝子、分子、細胞レベルのビッグデータ分析と疾病要因遺伝子情報をはじめとしたリファレンスデータベースに基づいた診断を実施し、特定の集団ごとに特殊化された治療法や予防法を行う医療は、今後さらに普及してゆくと予想される。

このような動きの中で世界規模のがんゲノム情報が蓄積されていることと、極微量なサンプルから正確な解析を行う技術が発展してきたことを背景として、新規の診断法として近年注目され、世界中で熾烈な開発競争が行われているのがリキッドバイオプシーである。リキッドバイオプシーは MIT 技術レビューで「2015 年のトップテン」とされ、フォーブス誌では「医療業界における次世代のブレークスルー技術 5 つのうちの 1 つ」として紹介されるなど社会的な期待も大きく、組織生検の欠点を補う画期的な診断法として実用化が急速に進んでいる。リキッドバイオプシーが対象とする主なバイオマーカーは、① CTC、② ctDNA、③ miRNA・エクソソーム、④ cfDNA である。これらは既に臨床現場で使用され始めているが、高感度のアッセイ法が必要であり、さらに、検査の成否はサンプルの質・量に大きく依存するため、前処理標準化、血液等検体の品質保証も重要となる。以下、個別の動向を概観する。

① CTC

CTC は、腫瘍組織から遊離し血中へ浸潤したがん細胞であり、がん転移の形成過程に深く関与すると考えられている。Ashworth が 1869 年に CTC の存在を証明したが [1]、その価値は 1990 年代まで見過ごされていた [2]。CTC は血液から精製することができ、その物理化学的特性の違いによって正常な血中細胞と分離することができる [3] ものの、患者血液の $1 \times 10^8$ 個の血球成分中に数個程度しか存在しないため、同定し単離することは難しい。解析するためには、血液中から CTC を効率的に回収する技術が必要であり、CTC を選択的に捕捉するための新しいアプローチが次々に試みられている。米国 Veridex 社（現、Menarini-Silicon Biosystems 社）の開発した CellSearch® システムは、現在、乳がん、前立腺がん、大腸がん領域でアメリカ食品医薬品局（FDA）の承認を受けた唯一の検出系である。また、EU から製造販売承認されている GILUPI 社の CellCollector® は血管内に医療用ワイヤーを静置することで、CellSearch® と同様の原理ながら高感度化に成功している（ただし、侵襲性が高まっている）。しかしこれらの方法は抗体をラベルとして利用しており、検出原理上、上皮接着分子（EpCAM）を発現していない CTC は捉えることができない。一方 CTC は循環血液中で様々な環境に適応する多様な表現系を有し、特に上皮間葉転換を起こすと EpCAM を発現しなくなるが、この転換とがんの浸潤能との関連が指摘されており、EpCAM によらない検出法の検討は重要である。次世代の検出技術として、マイクロ流体およびチップ技術に基づく CTC チップ、マイクロホール検出器、および CTC-iChip（慣性集束強化マイクロ流体 CTC 捕捉プラットフォーム）を含む、いくつかのマイクロ流体デバイスが CTC 捕捉のために開発されている。臨床的に信頼性の高い検出法の開発を目指して、今後も競争が続くものと思われる。

CTC の臨床的意義については多くの報告がなされている。例えば、肺がんにおける予後予

測因子や進展度のマーカー[4,5]、乳がんの再発リスクの層別化マーカー[6]としての可能性などが報告されている。一方で、乳がんにおける化学療法後の治療効果判定の意義を検証した試験においての結果は、CT 画像より好成績であったという報告が過去にあったが[7]、最近になって、CTC カウントに基づいて治療を変更しても無増悪生存期間および全生存期間の改善は認められなかったとするネガティブな結果も報告されており（SWOG S0500 試験）[8]、臨床的価値についても引き続き慎重な検討が必要である。CTC 診断のメリットは、後述の ctDNA やエクソソーム等と異なり、直接がん細胞を見ることでタンパク質や遺伝子発現などの単細胞プロファイリングができる点であるが、現在報告されているものは CTC カウント数をベースとして解析しているものが多い。現在、HER2 陰性乳がんにおいては、CTC 陽性かつ CTC における HER2 陽性の患者に対する化学療法と化学療法＋抗 HER2 療法の有効性を比較するランダム化試験が実施中であり（DETECT Ⅲ試験）結果が待たれる。今後、一細胞解析技術を用いた CTC プロファイリングをベースに、さらに高精度の診断法が開発されることも期待される。

② ctDNA

ctDNA は、がん患者血液中に含まれている腫瘍細胞由来の DNA 断片である。血漿 ctDNA は 60 年以上前に認識されている[9]。1977 年、Leon らは、ラジオイムノアッセイを用いてリンパ腫、肺、卵巣、子宮および子宮頸部の腫瘍を有する患者の血液中で cfDNA の濃度が増加することを報告した[10]。その後、2010 年頃の NGS の登場により一気に研究が進んだ。2018 年には米国の TCGA（The Cancer Genome Atlas）から Pan Cancer Atlas が公開されるなど、各国の大型がんゲノムプロジェクトから次々に成果が公開されており、当該分野の追い風となっている。

ctDNA が腫瘍組織から血中に放出されるメカニズムは分泌、壊死、アポトーシスによるものと考えられており、血中に低濃度にしか存在しない。したがって、感度の高い検出方法が必要であるが、近年のデジタル PCR（dPCR）の実用化に伴ってアッセイの最小検出感度は飛躍的に向上し、臨床応用への展開が加速された。dPCR は定量性にも優れているが、一方で、ターゲットした特定の変異にしか適用できず、遺伝子内に多様な変異が観察される場合に使えないという弱点もある。近年、より広いターゲットの遺伝子パネルを探索対象として、NGS を用いて検出する高感度技術も開発されている。

ctDNA は、がん診断における重要なバイオマーカーと考えられ、がんの各段階で ctDNA の定性的および定量的変化を検出することにより、早期発見、治療法選択、病態進行や術後残存病変のモニタリング、薬剤効果判定、再発のための診断ツールとなりうる。近年、臨床応用が進んでおり、各社が次々とキットを開発している。例えば、治療法選択のために非小細胞性肺がんの遺伝子変異を検出するスイス Roche 社コバス ® EGFR 変異検出キット v2.0 は、コンパニオン診断薬として FDA から承認されており、日本でも承認され保険適用となっている。他にも、大腸がんを対象とした独 Sysmex Inostics 社 OncoBEAMTM RAS CRC kit、米国 Biocartis 社 IdyllaTM KRAS、NRAS+BRAF ctDNA などがすでに発売されている。この分野は研究も盛んに行われており、2017 年の ASCO では、肺がん EGFR-TKI 治療開始から 6 週間以内の血漿 EGFR 突然変異の有無がオシメルチニブ治療後の獲得耐性を予測するために使用できる、という内容が発表された。また、乳がんでは ctDNA 中の PIK3CA 動態による palbociclib+ fulvestrant 治療効果が予測できること[11]、大腸がん（CRIKET 試験、FIRE-4 試験）では、RAS 遺伝子変異の動態が抗 EGFR 抗体薬治療による薬剤耐性や、その耐性の低下によ

る再使用など、治療薬変更の指標として活用できることも報告されている[12]。がんではしばしば治療中の突然変異によって薬剤抵抗性が生じることが問題となるが、ctDNA を対象としたリキッドバイオプシーによって、繰り返し、ほぼリアルタイムに、変異の状態を確認できるようになることが期待されている。

早期ステージでのモニタリング用途として注目すべきものに、米国 Natera 社の Signatera ctDNA 技術がある。この技術は、患者の腫瘍サンプルを Whole-exome sequencing し、存在が確認された 16 個以下の突然変異“tumor signatures”に焦点を当てているという点で個別化されており、高い感度と特異性での ctDNA 検出とモニタリングが可能になる。2017 年に Nature 誌に発表された研究では、最初の 100 人の TRACERx（Tracking Non-Small-Cell Lung Cancer Evolution Through Therapy（Rx）; NSCLC の進行に対して治療を通じて追跡する（Rx））研究参加者の ctDNA をプロファイリングする腫瘍特異的系統発生アプローチのためにこの技術が用いられた[13]。他にも Tie、Gibbs、Vogelstein により、ステージⅡ大腸がんの術後に微小残存病変（MRD ; minimal residual disease）の ctDNA を検出することで再発リスクの高い患者が同定できること[14]、転移性大腸がん患者の化学療法中に ctDNA 中の変化を測定することで、画像診断よりも早期に治療効果応答を確認できること[15]、が報告されている。

分子レベルでは血液中 ctDNA の存在が十分に確立されているものの、臓器特異性が低く、ctDNA を早期がんスクリーニングのための独立型バイオマーカーとするには信頼性が低いと考えられている。そこで、ctDNA 解析とタンパク質マーカーとを組み合わせてスクリーニング系を構築する試みが始まっている。米国 Johns Hopkins 大学のチームが 2018 年に報告した CancerSEEK 検査は、PCR ベースのシーケンシングアッセイで、16 の遺伝子と 8 のタンパク質をマーカーとしてパネルを設計しており、33 ～ 98%の感度（がん種に依存、良好な結果であった卵巣、肝臓、胃、膵臓、食道においては感度 69 ～ 98%）および 99%の特異度を達成している[16]。早期スクリーニング用途を想定して、パネル設計はコストダウンを狙いつつ、健康な人での擬陽性確立が極めて低くなるように設計されており、陽性の場合はさらに機械学習のアルゴリズムによってがん部位を予測することも狙っている。また、2018 年に、AI ゲノミクス企業である米国 Freenome 社は、早期がんスクリーニングの実現に向けて最先端のプロテオミクスツールを提供できる Biognosys 社と共同で開発を進めることを発表した。今後、血漿全ゲノム解析（WGS）とタンパク質の技術を融合した高精度なスクリーニングの開発が期待される。

③　miRNA・エクソソーム

エクソソームは細胞外小胞体（extracellular vesicles : EVs）の亜分類で、EVs は大きさや産生経路、機能により、アポトーシス小体、マイクロベシクル、エクソソームの 3 つに分類される。エクソソームは直径 100nm 前後の脂質二重膜で囲まれており、あらゆる細胞で分泌されると考えられている。2007 年、スウェーデン Göteborg 大学の Lötvall らによってエクソソーム中にマイクロ RNA が存在することが初めて報告された[17]。さらにエクソソームがマイクロ RNA を使った細胞情報伝達手段となりうる、という概念が提唱され、エクソソームの研究が活発化した。がんの転移に関しては、乳がんのエクソソームと脳転移の関連について、乳がん細胞が放出するエクソソーム内の miR-181c が脳血液関門を緩めて脳転移を促進させることが報告されている[26]。このようにがん細胞はエクソソームを体液中に放出し、自己に有利

な環境を整えることが明らかになってきている。このことから疾患部位に由来するエクソソームや血中 miRNA を検出してがんの診断に応用する研究が進んでいるものの、疾患特異性についての評価はいまだ不十分である。血中 miRNA 診断の技術的課題としては、回収方法が標準化されておらず測定方法によって定量性が一定でないという点が挙げられる。現在、エクソソームを簡単・迅速に定量分析できる方法として、ExoScreen、ExoTEST、μ NMR（micro nuclear magnetic resonance）、PLEX（nano-plasmonic exosome）、FACS などが開発されている。例えば、ExoScreen 法では、ビーズ付抗体試薬を用いており、エクソソームの精製・濃縮が不要で、超遠心機を用いずに 1.5 時間程度で解析が可能である [6]。96 ウェルプレートを使用するためスループットが良いことも特徴である。さらに、エクソソームの技術プラットフォームとしては、光ディスクとナノビーズの技術を融合させて体液中の抗原特異的なエクソソームを 1 つずつ検出し、デジタルカウントできる日 JVC ケンウッド社 ExoCounter や尿中の細胞外小胞体捕捉デバイスである酸化亜鉛ナノワイヤ、エクソソーム特異的タンパク質分析システムである米国 Exosome Diagnostics 社の Shahky などが挙げられる。

NEDO（新エネルギー・産業技術総合開発機構）が 2014 年度から、国立がん研究センター（NCC）や東レ㈱、など 9 機関と共同で開始した産学官連携「体液中マイクロ RNA 測定技術基盤開発プロジェクト」は、現在、AMED により引き継がれ、血清 miRNA による 13 種類の悪性腫瘍（胃がん、食道がん、肺がん、肝臓がん、胆道がん、膵臓がん、大腸がん、卵巣がん、前立腺がん、膀胱がん、乳がん、肉腫、神経膠腫）と認知症の早期診断マーカーの実用化を目指している。本プロジェクトでは、NCC に蓄積された膨大な臨床情報とバイオバンクの検体、miRNA 腫瘍マーカーについての研究成果を基盤として、体液中のマイクロ RNA の発現状態についてのデータベースを構築し、網羅的に解析することで新たな治療標的を同定することを目標としている。また、腫瘍以外の疾患では、脳由来エクソソーム解析によりアルツハイマー型認知症・神経疾患の予防・診断・治療への応用が研究されている。保存された乳がん患者の血清サンプルを合計 1280 例使用し、さらに、非がんコントロールから 2,836 例の血清サンプルを得て乳がんと非乳がんの患者の miRNA 発現を比較した結果、5 つの miRNA をバイオマーカーとして試験コホートにおいて 97.3%の感度、82.9%の特異性および 89.7%の正確性で診断でき、さらに、この組み合わせは、早期乳がんに対して 98.0%の感度で検出することができたとの報告があった [27]。

また、ctDNA は血液以外の体液にも含まれていることが知られており、尿、唾液等のサンプルからの検出も検討されている。特に脳腫瘍については血液脳関門があるため、血中 ctDNA での診断は難しいと考えられており [19,20]、脳脊髄液からの検出が有望とされ期待されている [21-23]。

④　cfDNA

健常人の cfDNA は、大半が骨髄に由来するということが報告され [24]、急性外傷、脳梗塞、移植、感染症、手術などにより濃度が上昇することが知られている [25]。1997 年、母体血漿中に胎児由来の cfDNA が循環していることが報告された [26]。cfDNA の性質から、がん以外の分野においても有用なバイオマーカーとして期待され、応用が進んでいる。

2008 年に NGS を用いた cfDNA 胎児染色体検査が報告され [27]、2011 年 10 月に米国で無侵襲出生前遺伝学的検査（Non-Invasive Prenatal Genetic Testing: NIPT）として臨床応用された。近年の高齢妊娠の増加に伴って胎児の染色体疾患検査の需要が高まっており、2013 年

4月に日本でも臨床研究として開始されている。NIPTは、21トリソミーおよび他の常染色体トリソミーの出生前スクリーニングに非常に有効な方法である。現在、主要なNIPTベンダーとしては、米国Illumina社（Verifi®）、Natera社（Panorama®）、Sequenom Laboratories社（LabCorp）（MaterniT21® PLUS）、Ariosa Diagnostics社（Roche）（HarmonyTM）、中国BGI Diagnosis社（NIFTYTM）などが挙げられ、2025年までに全世界で25億ドル以上の市場に成長すると予測される。アジア太平洋地域については、“Asia Pacific NIPT Market Outlook 2018”によると2億人以上の潜在的なニーズ（高リスク年齢層）が存在し、NIPT市場規模は今後10億ドルに達するとの見込である。

他の分野では、1998年、移植レシピエントの血液中を循環するドナー由来のcfDNA（donor-derived cfDNA; dd-cfDNA）の存在が、性別不一致の移植レシピエントにおけるY染色体遺伝子のPCR増幅で最初に検出された[28]。dd-cfDNAを測定することの主な利点は、移植片組織の状態を直接測ることができるため、細胞媒介性あるいは抗体媒介性の拒絶反応を早期段階で検出できるという点にある。このアプローチを使って早期段階で治療介入を行えば、重度の急性拒絶反応の予防にもつながる。現在、dd-cfDNAを検出することで移植レピシエントの腎臓移植拒絶反応を検出する検査が米国CareDx社AlloSureとして実用化されており、Natera社も米国UCSFと共同開発している同様の検査を2019年に開始予定である。

### （4）注目動向

#### ［新展開・技術トピックス］

● ctDNA検出技術の高感度化

ctDNAはリキッドバイオプシーにおいて最も広く実用化されている。近年、検出技術が高度化・高感度化し、応用が進んでいる。検出技術としては、蛍光標識プローブによるdPCRやNGSが用いられている。dPCRはサンプルを微小区画に分割した上で、各微小区画のPCR産物を検出し、統計解析を行ってDNAを定量する方法である。BEAMing（Beads, Emulsion, Amplification, Magnetics）法は、各DNA分子を液滴に分画して1分子ずつ増幅させ、その増幅産物の蛍光シグナルを読み取ることで、S/N比を大幅に改善し、微量な変異型DNAでも精度よく計数することが可能となっている。また、NGSの測定技術としては、Safe-SeqS（Safe-Sequencing System）、TAm-Seq（Tagged-Amplicon deep Sequencing）、CAPP-Seq（Cancer Personalized Profiling by deep Sequencing）法が開発されている。これら3つの方法 は、増幅対象の遺伝子にタグを付けることで、遺伝子変異と読み取りエラーとを識別し、微量の遺伝子変異を正確に検出することができる。

● がん免疫療法とリキッドバイオプシー

近年のがん薬物治療におけるトピックとして、Programmed death-1（PD-1）/PD-1 ligand（PD-L1）といった免疫寛容に関与する分子に対する阻害剤、免疫チェックポイント阻害剤の承認が挙げられ、CTCを用いたPD-L1検出については、既にいくつかの報告がある。MazelらはCellSearch®システムを用いてホルモンレセプター陽性かつHER2陰性の乳がん患者でPD-L1陽性CTCを検出したとして、CTCにおけるPD-L1発現が効果予測マーカーとなりうる可能性を報告[29]している。Guibertらは非小細胞肺がんにおいて組織とCTCでのPD-L1発現を比較し、CTCは組織よりも発現が高くPD-1阻害剤での治療効果と関連が見られたことからCTCにおけるPD-L1発現の評価が実現可能であると報告[30]している。ctDNAを用

いたリキッドバイオプシーでは、遺伝子変異量（Tumour Mutation Burden; TMB）検出による免疫チェックポイント阻害剤の効果予測が可能な製品としては、米国 Guardant Health 社の Guardant360、米国 Foundation Medicine 社の FoundationACT がすでに販売されている。FoundationACT では NSCLC 患者血漿中の TMB の測定が可能であり、カットオフ値が 16 以上であれば、抗 PD-L1 ヒト化モノクローナル抗体アテゾリズマブ（テセントリク）による PFS（無増悪生存期間）の増加が得られた患者を同定できるということが報告されている [18]。がん免疫療法が注目される中、リキッドバイオプシーで治療効果予測が可能となるか、今後の研究成果に注目が集まっている。

● リキッドバイオプシーのがん以外への展開

リキッドバイオプシーの技術を応用して、がん以外の疾患の診断に持医いる可能性について、検討されている。母体血漿中の胎児由来 cfDNA を検出することによる出生前診断はすでに臨床応用されており、今後もニーズは拡大するものと考えられている [32]。また、臓器移植後の拒絶反応の早期発見やモニタリングに、ドナー由来の cfDNA を利用することが検討されており [33]、すでに CareDx 社から AlloSure という製品が販売されている。また、Natera 社も UCSF と共同開発している同様の検査を 2019 年に開始予定である。血中循環細胞をバイオマーカーとする試みは、繊維化を主病態とする多くの病態で期待されている。例えば、急性心筋梗塞において、血中循環内皮細胞を検出することでプラーク破裂を予測できる可能性が指摘されており [34]、特発性肺線維症の診断においては経気管支肺生検の代わりに血中循環繊維細胞による診断方法が検討されている [35]。最近ではエクソソームの膜脂質とアミロイドβの結合がアルツハイマー病の進行と関連しているとの報告があり [36]、バイオマーカーとしての応用が期待されている。

● その他のリキッドバイオプシー

ctDNA や CTC、エクソソーム以外にもリキッドバイオプシーとして利用可能なバイオマーカーが検討されている。例えば、味の素株式会社からは、約 5mL の採決でアミノ酸バランスを解析し、がんリスクと糖尿病リスクを評価する「アミノインデックス」検査が実用化されており、国内 950 以上の医療機関で当該検査を受けることができる。ユニークな検出法として、HIROTSU バイオサイエンスからは、線虫の嗅覚を利用したがん検査「N-NOSE」が開発中で、2020 年の実用化を目指している。千葉県がんセンターと株式会社レナテックはがん血中微量元素（Zn, Cu, Fe, Se, P, Mg, Rb, Mo など）ががん罹患時に変化することに着目した検査法を開発し、2017 年 4 月より臨床研究を推進している。さらに、新たなバイオマーカーとして最近 TEPs（Tumor-educated blood platelets）を用いたリキッドバイオプシーの可能性についていくつか報告がなされている。血小板の RNA は分化・成熟・循環の過程で周囲の環境と相互作用するが、この RNA を解析することでがん患者と健常者を識別できることが報告されている [37]。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

● All of Us 計画（米国）

米国では、より効果的ながん治療法開発のため、NIH が 100 万人規模のボランティアからなる All of Us program の計画が進められている。研究コホートを創設し、参加者の遺伝子や生活習慣など各種情報をデータベース化するなど、Precision Medicine を基準とした取り組み

が行われ、国策として推進している。この研究コホートの構築やがん遺伝学研究に必要なインフラ整備のために、既存の研究コホート、患者団体、および民間部門との強力なパートナーシップを築いている。運営には医療研究機関、研究者、財団、プライバシーの専門家、医療倫理学者、および企業人材を招集おり、ビッグデータを扱う上で人工知能やディープラーニングのスケールアップの必要性を提言している。この動きは、製薬会社や医療機関以外の周辺産業（IT関連企業・医療機器メーカー・民間保険会社など）も含め、新たな経済効果をもたらすものと予想される。

● フェノーム解析

従来のゲノム解析では、複雑な環境が健康状態にどのように作用し、心疾患、癌、糖尿病、アルツハイマー病といった疾患にどのように影響を与えるのかを明らかにするにはまだ不十分であり、それを補完する重要な役割をフェノミクス研究が担っていると考えられている。英国では、そのフェノーム研究の重要性を世界でもいち早く認識し、NIHR と MRC からそれぞれ 500 万ポンド出資され、インペリアル・カレッジ・ロンドン内に MRC-NIHR Phenome Centre が 2013 年に設立された。健常者と患者の大規模な代謝物のフェノタイピングが行われ、代謝物質の物理化学的研究の探索や、マイクロバイオームを中心とした precision medicine への応用の可能性を研究している。International Phenome Centre Network は MRC-NIHR Phenome Centre によって 2016 年に発足され、英国、米国、中国、カナダ、カナダ、オーストラリア、日本、シンガポール、台湾で地域的・複数機関的ハブを備えた 10 以上の国際的パートナーが含まれている。遺伝子、環境因子、腸内細菌叢、食物、ライフスタイル間のダイナミックな相互作用を分析することで癌、糖尿病、認知症など今日の世界的な健康問題の中での課題に取り組み、世界的にヘルスケアを広げ、疾病を予防・治療する目的としている。

● 企業による情報リソース

ゲノム解析により得られた遺伝情報を元に疾病の発症リスクを個人で早期にスクリーニングできる消費者直送型テストキットのサービス“Personal Genome Servis（PGS）”を提供するベンチャー企業である米 23andMe に製薬企業である GSK が共同で創薬の発展のために協力体制をとることが 2018 年 7 月に発表された。23andMe の消費者は 500 万人にも及び、その遺伝子プロファイルや特徴的な利用者情報のデータベースは世界最大規模のゲノムおよびフェノームのリソースとなり、そのビッグデータから新たな治療開発が期待される。

● LC-SCRUM Japan

希少フラクション肺がんである RET 融合遺伝子陽性非小細胞肺がんをスクリーニングするため、国立がん研究センター東病院により 2013 年 2 月に Lung Cancer Genomic Screening Project for Individualized Medicine in Japan（LC-SCRUM-Japan）が発足した。2015 年 3 月までに全国の医療機関 194 施設が参加して 1,536 例が登録され、RT-PCR および FISH 法により RET、ROS1、ALK の融合遺伝子解析を行うことで、希少フラクションの治療開発に対して全国規模のゲノムスクリーニングの有効性を初めて証明した。また、患者負担を軽減しながら、短時間で的確に遺伝子変化の状態を把握し、治療薬の選択に活用できるような遺伝子解析法の開発に向けて、2017 年 12 月より肺がん患者の血液を対象として Guardant Health 社血液を用いて 73 種類のがんに関連する遺伝子異常を一度に測定可能にできる新技術「Guardant360® アッセイ」を用いた遺伝子解析が開始されている。

● SCRUM Japan GI-SCREEN

消化器がん領域では、国立がん研究センター東病院消化管内科を中心に大腸がんにおける希少フラクションの治療開発のため、多施設共同でドライバー遺伝子のホットスポット変異をスクリーニングするGI-SCREEN研究が進められた。2015年2月よりSCRUM-Japanに組み込まれ、大腸がんだけでなく胃がんや食道がんといった消化器がん全体にその範囲を広げた。さらに、次世代シーケンサー技術を応用したマルチプレックス診断薬が導入されている。

また、SCRUM-Japan GI-SCREENは新しいプロジェクトとして2018年2月よりリキッドバイオプシー研究を開始し、Guardant360®アッセイを使用している。これまでがん組織検体を用いた遺伝子解析を行ってきたが、本試験では消化器がん患者由来血液（20ml程度）を用いて遺伝子解析を行っている。

● CANCER-ID

CANCER-IDは、血液ベースのバイオマーカーの標準プロトコルの確立と臨床的検証を目指して、13カ国から36のパートナーを迎え、新しく形成された欧州のコンソーシアムである。学術的および臨床的研究、革新的な中小企業（SME）、診断薬業界および製薬業界などの専門家を集め、リキッドバイオプシーの臨床的有用性確立をめざしている。また、本プロジェクトを主導するProf. Klaus Pantelは、原発性根治的前立腺切除術または放射線療法で治療された高リスク前立腺がん（PCA）患者の再発の予後マーカーとして患者の血液から単離されたCTCの数を検証することを目的とした、“CTC-SCAN”にも取り組んでいる。

### （5）科学技術的課題

リキッドバイオプシーにおけるバイオマーカーであるctDNA、cfDNA、CTC、miRNA、エクソソームのいずれも、放出メカニズムや血中からのクリアランスメカニズム、半減期、がん種による違い、非腫瘍性メカニズムによるものとの区別など、基本的なバイオロジーの部分で未解明な部分がある。このような基本的性質の解明が、検出法の高感度化や効率化、検出のタイミングや回数等のプロトコル最適化へとつながってゆくことが期待される、着実な基礎研究が今後も必要と考えられる。

また、リキッドバイオプシーの臨床的有用性に関する知見は、現時点では十分ではないことが指摘されている。現時点での最大の問題は再現性の低さである。2018年には米国臨床腫瘍学会（ASCO）と米国病理学会（CAP）が、ctDNA解析の信頼性について77の論文をレビューしメタアナリシス解析結果を発表したが、進行がんにおける臨床エビデンスは不十分、早期がん、治療モニタリング、残存がん検出の臨床エビデンスは殆ど無い、臨床試験以外のがんスクリーニング用途に有用な臨床エビデンスは無い、というのが結論であった[19)]。また、同じく2018年にJAMA Oncologyからは、ctDNAを用いた上市済みの検査キット2件（Guardant360、PlasmaSELECT）は一致率がとても低く、明確ながん（転移性前立腺がん）患者を用いたテストでも患者40人中3人でしか一致しなかった、という厳しい報告がなされている[38)]。臨床研究が進んでおりヒトを対象とした研究が多い分野であるからこそ、結果のばらつきが大きいととらえることもできるが、診断としての精度を高めるためには解析プラットフォーム間の変動幅を減らし、再現性を向上させることは必須である。リキッドバイオプシーの標的分子は体液中にごく微量のため、解析するには高い検出感度が必要であり、標的分子のがん特異性、安定性、試料の採取方法や前処理・保存方法なども技術的な課題として挙げられる。前臨床処理やサンプル測定の標準プロトコル、データの補正に用いるグローバルなクオリティコ

ントロール（QC）サンプルが必要であり、サンプルの安定性など品質に影響しうる要因を洗い出す作業も重要であろう。近年みられる具体的な取り組みとしては、米国において Cancer Moonshot 構想を受け、液体生検アッセイの開発と検証を加速しがん患者の結果を改善するためのがんコンソーシアム BloodPAC（Blood Profiling Atlas in Cancer）が 2016 年 10 月に発足して、ctDNA 標準化プロジェクトが開始[39]された。また、CTC 測定検体の保存については、現在は CellSave tube（Janssen Diagnostics LLC）で最大 96 時間の室温での安定性が保証され、分析のために遠隔地からサンプルを輸送することが可能だが、予後予測や治療効果予測の目的での開発に有用な後ろ向き解析が可能な CTC 保存方法の開発も望まれている。リキッドバイオプシーへの期待が高まり、競争が激化している現状であるからこそ、今後このような取り組みが益々重要になると考えられる。

### （6）その他の課題

生体試料を収集・管理するバイオバンクは、その重要性から世界各国で設立されており、現在、国内では 3 大ゲノムバンクとして、バイオバンク・ジャパン（BBJ）、東北メディカル・メガバンク（ToMMo）、ナショナルセンター・バイオバンクネットワーク（NCBN）で整備事業が進められている。収集試料は DNA、血液（血清、血漿等）、その他体液（髄液、尿等）、分泌液（尿、唾液、母乳）、組織など多種類に及ぶ。アプリケーション開発を効率化するためには、前向き臨床研究ばかりではなく、臨床データが紐付いて後ろ向き解析の可能な血液検体のバイオバンク整備が必要である。

また、高感度測定が求められるリキッドバイオプシーにおいては、アルゴリズムにてバックグランドノイズをキャンセリングすることが必要となるが、人工知能（AI）の活用が有効であり、AI 人材やバイオインフォマティシャン育成は急務の課題と考えられる。NGS データを解析できるバイオインフォマティシャンが不足している現状を解決するためにも、国を挙げて大学等での養成システムを構築し、人材確保を推進することが求められる。

リキッドバイオプシーが期待される分野は診断であり医療への貢献であることから体外診断薬として認めてもらうことが大切である。診断薬の規制としてアメリカは Quality System Regulation（QSR）、EU と日本は ISO13485 に基づいて実施されている（ただし ERU は今後大幅に変わる可能性あり；国際比較表参照）。両者の要求事項の間には違いもあるが共通点も多い。しかし両品質システムの査察の厳しさは著しく異なり、QSR の査察は ISO に比べてかなり厳しい。日本とは承認審査基準が大きく異なるため、国内の診断薬メーカーがアメリカの新規診断薬である Premarket Approval（PMA）承認を得た成功例はイメージング分野で富士フィルムが数件あるのみである。従って国内診断薬メーカーにとって、リキッドバイオプシーという新しい分野において FDA から PMA 承認を得るためには相当な努力が必要不可欠である。

また、日本の大きな課題として、リキッドバイオプシーにて主に生検を省くことによる 150 万円程度の医療費低減効果が見込まれるにもかかわらず、現在の標準法である組織遺伝子検査と同等以下の保険償還しか得られていないことが挙げられる。現在、米国では肺がんでの複数遺伝子を対象とした 2 種類の ctDNA 検査が、公的医療保険制度 Medicare による保険償還のためにドラフトレビューされており、その動向が注目されている。すでに米国 Exact Sciences 社が提供する、便中がん由来 DNA の遺伝子変異検出検査である Cologuard® は、2014 年に Medicare からの保険償還が開始されている。今後はリキッドバイオプシーが治療選択の標準

法になっていく状況も想定され、また、モニタリングのようなCT/PET画像診断に替わる検査としての実用化が期待される。リキッドバイオプシーの臨床価値と、わが国の健康保険システムに見合った保険償還の考え方が採用され、新技術の創出が推進されることを期待したい。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・疾患オミクスの基盤となるナショナルバイオバンクプロジェクトが進行中である。大学においても臨床研究推進のため、独自のバイオバンク事業を立ち上げる動きがある。<br>・リキッドバイオプシーは診断領域で期待されているので、培養細胞や動物モデルではなくヒトで研究する必要があるが実績が不十分である。他国と比べて出遅れている。<br>・肺がんdriver mutation同定のための研究、および大腸がん獲得耐性変異検出のための研究が推進中。（SCRUM-Japan） |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・バイオバンクにて収集した臨床情報およびゲノム情報を活用して、創薬ターゲットを探索するためにアカデミアと企業の産学連携による共同研究を行う動きが出てきている。<br>・国立がん研究センターが主導する、AMED研究開発プロジェクト「体液中マイクロRNA測定技術基盤開発」で一定の成果が得られている。<br>・新薬については世界でトップ5に入る成功例があるが、新規診断薬については審査基準が欧米とは大きく異なっていて成功例があまりなく、国内だけでは市場が小さいことも課題。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | ・NIH、NPO法人、健康保険組合が連携し、78000人分の遺伝情報と医療情報が全世界の研究者に公開され、基礎データとして貢献している。<br>・疾患オミクス、リキッドバイオプシー領域への期待は大きく、基礎研究も盛んである。また、研究の規模、質、予算ともに世界トップクラスと言える。世界をリードしている大学も多い。<br>・オバマ政権によるPrecision Medicineイニシアチブが、基礎・応用ともにこの分野を後押ししている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・バイオベンチャー企業を中心に活発な投資が続き、世界市場の6割を占めている。新しい技術が絶え間なく登場してきている。<br>・産官学連携モデルとして、Accelerating Medicines Partnership（AMP）が2014から開始。多因子疾患のゲノム研究により、有望な治療標的を同定して創薬へと繋げる目的。<br>・Grail社、Guardant Health社、Freenome社、RareCyte社などリキッドバイオプシー分野の会社が数億ドル規模の巨額資金調達に成功している。<br>・ASCO2018にてEpicscience社がOncotype DX® AR-V7 Nucleus Detect ™ testの臨床的有用性について報告。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | → | ・CANCER-ID プロジェクトは Private-Partnership であり 13 か国 36 団体が加わって 16.7 百万ユーロの予算がついている。The Marie Skłodowska-Curie actions（MSCA）もリキッドバイオプシーに予算を出している。The European Liquid Biopsy Academy（ELBA）という教育訓練のためのプログラムもある。<br>・UK BioBank はすでに 50 万人の医療情報、ゲノム DNA を収集し、2014 年末までに 15 万人分のゲノムデータを公開する予定である。ドイツ・フランスにおいてはゲノム医療計画は公表されていないが、ゲノム研究事業は行われている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・Precision medicine の実現を将来の Health research において最も革新的な領域の 1 つと位置づけている。<br>・UK 政府は 3 億ポンドを投じて、総計 10 万人におよぶがん患者あるいは希少疾患患者の全ゲノム配列情報を取得し、国民保険サービス（National Health Service）において将来的にゲノム情報を使用する予定である。<br>・2017 年 4 月 5 日に欧州議会で承認され、欧州連合（EU）に発表された新しい体外診断医療機器規制（In Vitro Medical Device Regulation（EU）2017/745）: IVDR）が注目される。これまでの CE マークに比べて相当厳しい要件が追加されている。審査基準が FDA に近づくことで欧米間の距離が近づき市場が活発になる可能性もある。。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・法律でゲノム試料の国外持ち出しを禁止し、疾患ゲノム解析研究を進めている。<br>・学会や論文発表において量も質も急速に伸びている。ASCO2018 では、リキッドバイオプシー分野において中国からの発表が約 20%を占める。なかでも北京大学と香港中文大学が最も活発に発表している様子。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・2015 年に中国の科学技術省は精密医療の開発に対して 2030 年までに合計 6 兆 6000 億円を投資する戦略を発表した。<br>・BGI（Beijing Genome Institute）に代表される研究支援のためのシーケンスサービスなどではすでに事業を開始しており、中国の安価な労働力、価格競争力を背景に全世界から受注をうけている。<br>・BGI ジェノミクスの成功に続くべく、数多くの企業が設立されてきている。またリキッドバイオプシー診断も政府から認められた製品が登場してきている。<br>・2014 年だけで新たにリキッドバイオプシー技術を開発している 14 の振興中国バイオテクノロジー企業が誕生している。<br>・AmoyDiagnostics 社の EGFR ctDNA 検査が CFDA 承認された。 |
| 韓国 | 基礎研究 | ○ | → | ・ビッグデータ収集と活用の一環としてサムスンなど IT 企業からの資金流入もあり、基礎研究も活発に行われている。<br>・バイオバンクプロジェクトを全国的に展開しており、約 60 万人分の試料を収集している。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・2014 年から開始された 8 年間にわたる省庁横断的なプログラムの一分野として、Precision medicine のための診断法、治療法の開発が挙げられている。2014 年予算は 1000 万ドル。<br>・グローバルで通用するかは不確かではあるが、リキッドバイオプシーを手掛ける企業が出てきている。例えば、Panagene 社は 2017 年 11 月 08 日の記者会見で、リキッドバイオプシーキットである PANAMutyper ™ R を世界市場に参入する計画を発表した。この製品は、韓国で最初に発売されたリキッドバイオプシー診断キットである。この製品は 4mL の血液を必要とし、99%の精度で 0.1%の突然変異遺伝子を検出することができる。。 |

（註１）フェーズ

基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル

応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル

（註２）現状

※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。

◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、

△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註３） トレンド

↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## （8）参考・引用文献

1）Ashworth, TR. et al., “A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death.” Aust Med J. 14: 146–7.（1869.）
2）Heitzer E. et al., “Circulating tumor cells and DNA as liquid biopsies.” Genome Medicine 5: 73-83.（2013）DOI: 10.1186/gm477
3）Alix-Panabières, Catherine., and Pantel, Klaus., “Challenges in circulating tumour cell research.” Nat Rev Cancer 14: 623-31.（2013）DOI: 10.1038/nrc3820
4）Tanaka, Fumihiro. et al., “Circulating Tumor Cell as a Diagnostic Marker in Primary Lung Cancer.” Clin Cancer Res. 15, 22: 6980-6.（2009）DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1095.
5）Naito, Tateaki. et al., “Prognostic Impact of Circulating Tumor Cells in Patients with Small Cell Lung Cancer.” J Thorac Oncol. 7, 3: 512-9.（2012）DOI: 10.1097/JTO.0b013e31823f125d.
6）Joseph Sparano, et al., "Association of Circulating Tumor Cells With Late Recurrence of Estrogen Receptor–Positive Breast Cancer" JAMA Oncol. 4（12）:1700-1706.（2018）
7）GT Budd, et al., "Circulating Tumor Cells versus Imaging–Predicting Overall Survival in Metastatic Breast Cancer." Clinical Cancer Research. 12（21）;6403-6409.（2006）
8）Smerage, Jeffrey, B. et al., “Circulating tumor cells and response to chemotherapy in metastatic breast cancer: SWOG S0500.” J Clin Oncol. 32, 31: 3483-9.（2014）DOI 10.1200/JCO.2014.56.2561.
9）Mandel, Paul. and Metais, P. “Les acides nucleiques du plasma sanguine chez l’ homme.” CR Acad Sci Paris 142, 3-4: 241–3.（1948）
10）Leon SA, et al., “Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy.” Cancer Res. 37: 646–50.（1977）
11）O'Leary, Ben. et al., “Early circulating tumor DNA dynamics and clonal selection with palbociclib and fulvestrant for breast cancer.” Nat Commun. 9, 1: 896.（2018）DOI: 10.1038/s41467-018-03215-x
12）Goldberg, Richard, M. et al., “Optimising the use of cetuximab in the continuum of care for patients with metastatic colorectal cancer.” ESMO Open. 3, 4: e000353.（2018）DOI: 10.1136/esmoopen-2018-000353.
13）Abbosh, Christopher. et al., “Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution. “ Nature 545, 7655: 446-451.（2017）DOI: 10.1038/nature22364.
14）Tie, Jeanne. et al., “Circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer.” Sci Transl Med. 8, 346: 346ra92.（2016）DOI:10.1126/scitranslmed.aaf6219.
15）Tie, Jeanne. et al., “Circulating tumor DNA as an early marker of therapeutic response in patients with metastatic colorectal cancer.” Ann Oncol. 26, 8: 1715-22.（2015）DOI: 10.1093/annonc/mdv177.
16）Joshua D. Cohen et al. ” Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test.” Science 23; 926-930（2018）
17）Valadi, Hadi. et al., “Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells.” Nat Cell Biol. 9, 6: 654-9.（2007）
18）Tomonaga, Naoomi. et al., ” Brain metastatic cancer cells release microRNA-181c-containing extracellular vesicles capable of destructing blood-brain barrier.” Nat Commun. 6: 6716.（2015）DOI: 10.1038/ncomms7716.
19）Merker, J. D. et al. "Circulating tumor DNA analysis in patients with cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists joint review." J. Clin. Oncol. 36, 1631–1641

（2018）.
20）Bettegowda, C. et al. "Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies." Sci. Transl. Med. 6, 224ra24（2014）.
21）Pentsova, E. I. et al. "Evaluating cancer of the central nervous system through next-generation sequencing of cerebrospinal fluid." J. Clin. Oncol. 34, 2404–2415（2016）.
22）Wang, Y. et al. "Detection of tumor-derived DNA in cerebrospinal fluid of patients with primary tumors of the brain and spinal cord." Proc. Natl Acad. Sci. USA 112, 9704–9709（2015）.
23）Miler AM, et al., "Tracking tumour evolution in glioma through liquid biopsies of cerebrospinal fluid." Nature 565; 654-658（2019）
24）Sun, Kun. et al.,“Plasma DNA tissue mapping by genome-wide methylation sequencing for noninvasive prenatal, cancer, and transplantation assessments.” Proc Natl Acad Sci U S A 112, 40: E5503–12.（2015）
25）Lui, Yanni, Yan. Ni.“Predominant hematopoietic origin of cell-free DNA in plasma and serum after sex-mismatched bone marrow transplantation.” Clin Chem. 48, 3: 421-7.（2002.）
26）Lo, Dennis, Y. M. et al.,“Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum.” Lancet 350: 485-487（1997）
27）Finning, Kirstin. et al.,“Effect of high throughput RHD typing of fetal DNA in maternal plasma on use of anti-RhD immunoglobulin in RhD negative pregnant women: prospective feasibility study.” BMJ. 336, 7648: 816-8.（2008）DOI: 10.1136/bmj.39518.463206.25.
28）Lo, Dennis, Y. M. et al.,“Presence of donor-specific DNA in plasma of kidney and livertransplant recipients.” Lancet 351, 9112: 1329-30.（1998）
29）Mazel, Martine. et al.,“Frequent expression of PD-L1 on circulating breast cancer cells.” Mol Oncol. 9, 9: 1773-82.（2015）DOI: 10.1016/j.molonc.2015.05.009.
30）Guibert, Nicolas. et al.,“PD-L1 expression in circulating tumor cells of advanced non-small cell lung cancer patients treated with nivolumab.” Lung Cancer 120: 108-112.（2018）DOI: 10.1016/j.lungcan.2018.04.001.
31）Gandara, R. David. et al.,“Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer patients treated with atezolizumab.” Nat Med. 24（9）:1441-1448.（2018）DOI: 10.1038/s41591-018-0134-3.
32）DW Bianchi and Chiu RWK. "Sequencing of Circulating Cell-free DNA during Pregnancy." N Engl J Med 379（5）:464-473.（2018）
33）Beck J, et al., "Donor-Derived Cell-Free DNA Is a Novel Universal Biomarker for Allograft Rejection in Solid Organ Transplantation." Transplant Proc. 47（8）;2400-2403.（2015）
34）Damani S et al. "Characterization of circulating endothelial cells in acute myocardial infarction." Sci Transl Med. 4（126）:126ra33.（2012）
35）Moeller A et al. ” Circulating fibrocytes are an indicator of poor prognosis in idiopathic pulmonary fibrosis.” J Respir Crit Care Med. 179（7）:588-94.（2009）
36）Yuyama K., and Igarashi Y. "Exosomes as Carriers of Alzheimer's Amyloid-ß." Frontiers in Neuroscience.11:229（2017）
37）MG. Best, et al., ” RNA-Seq of Tumor-Educated Platelets Enables Blood-Based Pan-Cancer, Multiclass, and Molecular Pathway Cancer Diagnostics.” Cancer Cell.28（5）:666-676.（2015）
38）Torga G, Pienta KJ. "Patient-Paired Sample Congruence Between 2 Commercial Liquid Biopsy Tests."

JAMA Oncol 4（6）：868-870（2018）

39）Grossman, L. Robert. et al.,“Collaborating to Compete: Blood Profiling Atlas in Cancer（BloodPAC）Consortium.” Clin Pharmacol Ther. 101, 5: 589-592.（2017）DOI: 10.1002/cpt.666.

## 2.5.8 ゲノム医療

### (1) 研究開発領域の定義

「ゲノム医療」とは、個人のゲノム情報をはじめとした各種オミクス検査情報を元にして、患者の体質や病状に適した医療を提供することを指す。具体的には、質と信頼性の担保されたゲノム検査結果等をはじめとした種々の医療情報を用いて診断を行い、最も有効と期待される予防、治療および発症予測を行うことを言う[1)]。

そのうち、特に“がん”に特化したものを「がんゲノム医療」と呼ぶ。非がん領域におけるゲノム医療が一般的に先天的な遺伝子異常（生殖細胞系列変異）を調べるのに対し、がんゲノム医療においては後天的に発生した遺伝子異常（体細胞系列変異）調べるため、その方法論や解釈、また医療現場における患者対応において、大きな差異が存在する。

### (2) キーワード

precision medicine、個別化医療、分子標的薬、ヒトゲノム、次世代シーケンサー、バイオインフォマティクス、遺伝統計学、バイオバンク、ビッグデータ、クラウドコンピューティング、シングルセル解析、人工知能

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

疾患罹患性や治療への反応性等は遺伝要因と環境要因とが程度の違いはあれ、複雑に絡まり合って生じてくるものであり、生活習慣病を含むさまざまな病態において遺伝要因を無視できない。ゲノム情報は一部の遺伝性希少疾患を除いて、これまで診療情報としてはほとんど捉えられていなかった。

近年、次世代シーケンサー技術の発達により、がん、希少疾患・難病の原因遺伝子の探索・検証やファーマコゲノミクス等の疾患ゲノム研究などが推進されてきた。このような基礎的研究のみならず、現在では、ゲノム解析は、未診断疾患の診断や遺伝子異常に即した治療法の選択等の臨床応用が進んでいる。新たな診断ツールとして考えられるもののひとつが、ゲノム情報に基づくバイオマーカー（ゲノムバイオマーカー）である。

そして、人工知能等を含めた情報解析技術を用いて、ゲノム情報を含めた医学生物学ビッグデータを効率的に活用することにより、ゲノム異常に基づいた様々な疾患の治療戦略の改善に手が届くところまで来ている[2)]。国際的に多くの症例データを漏らさず集め解析することで、症例の多い一般的ながんですでに知られているような化学療法への感受性データなどに関するサブタイプ分類に基づき、より効果的な治療が可能になることである。

「がんゲノム医療」においては、分子標的薬がまさにゲノム異常を標的として開発されてきたことから、そのゲノム情報が治療選択に直結するため、研究的位置づけから一気に臨床的位置づけへとシフトした。多数の臨床サンプルを解析することで、遺伝病の原因遺伝子の発見やがんのもつ体細胞変異のカタログが作成され、それらを応用して、遺伝病の出生時遺伝子診断やがんの分子標的医薬の適用例の選別などが試みられている。しかし、大部分の疾患においては、ゲノム解析はあくまで、その原因特定や診断的意義は大きいものの、具体的な治療にはつながらないため、その臨床的な応用はなかなか進んでいない。今後は、遺伝病やがんだけでな

く、ほとんどすべての疾患について、臨床サンプルを使った広義のゲノム解析が医学分野の研究の主要な手段になるものと考えられる。

このような流れの中で、世界に先駆けた新たな診断法や治療法を開発していくためには、個々の患者のゲノム情報や、診断・治療法・予後などの臨床情報を、より多くの患者を対象とし、より信頼性のある情報として集約し、研究・診療に利活用できる制度的対応や環境整備が必要である。さらに、臨床医が容易にアクセス可能な知識データベースの整備やゲノム医療の出口となるべき未承認薬・適応外薬の優先的な開発などの臨床的な課題のみならず、がん免疫療法へのゲノム医学への応用や進展著しいシングルセル解析などの新規オミクス解析手法の導入、さらには、集約されたビッグデータ解析を可能とする最先端のバイオインフォマティクス技術の開発やクラウドコンピューティングを含めたインフラの整備など、ゲノム医療の実現およびその成果を最大化するためには多岐に渡る重要な課題が山積みである。これらを包括的かつ段階的に解決を図ることに本領域の意義がある。

癌では、対象患者は年間 100 万人に上る可能性があり（一年間の国内新規悪性腫瘍発症者数）、その検査市場や製薬の市場においては大きな医療経済的発展を生むものと期待されている。

［研究開発の動向］

2000 年代半ば以降に次世代シーケンサーが登場して、大量のゲノムデータを高速で解析するバイオインフォマティクス技術の進歩に基づく技術革新以降、短時間かつ低コストで DNA/RNA を解読することが可能となった。さらに、タンパク質や代謝物の計測技術も高度化し、網羅的なデータが大量に生み出されてきており、そのビッグデータを解析し、意味付けする技術も大きく進展している。そのような技術を背景として、様々な疾患のゲノム研究に応用されることにより、希少疾患・難病における原因遺伝子の発見や多因子疾患における疾患感受性の同定などに繋がってきただけでなく、様々な疾患において分子病態の解明や、治療効果予測のバイオマーカーの同定、ゲノム創薬など医療の発展に資することが明らかとなってきた。

中でも、疾患ゲノム研究において、最大の成果を挙げてきたのは International Cancer Genome Consortium（ICGC）や The Cancer Genome Atlas（TCGA）などの様々な大規模プロジェクトが進行した「がん」である。特に顕著な成果を挙げた TCGA は、米国 National Cancer Institute（NCI）と National Human Genome Research Institute（NHGRI）の共同で開始されたがんゲノムプロジェクトであるが、合計 33 種類のがん腫、11,000 例を超える患者検体の統合的遺伝子解析が実施され、各がん腫において包括的に遺伝子異常の全体像が解明されただけでなく、それらの分子分類が提唱された [3]。さらに、2018 年には、その成果をまとめて、細胞起源、共通のがん化プロセス、がん腫ごとの異常パスウェイの違いなどのテーマごとに Pan-Cancer Atlas として発表されている [4]。NCI はこの経験を元に、Cancer Target Discovery and Development Network（CTD2）や Therapeutically Applicable Research to Generate Effective Treatments（TARGET）などの様々ながんゲノムプロジェクトが進められている [5]。

医療という観点においては、2015 年 1 月 30 日、一般教書演説のなかで当時アメリカ大統領だったオバマ氏が発表した「プレシジョン・メディシン・イニシアティブ（Precision Medicine Initiative）」は、瞬く間に一世を風靡し、次世代の医療のあるべき姿と考えられるようになった。プレシジョン・メディシン（精密医療）とは、これまで平均的な患者向けに

デザインされていた治療を、遺伝子、環境、ライフスタイルに関する個々人の違いを考慮して、最適な疾病の予防や治療法を確立することを意味する。オバマ政権が 2016 年 1 月に発表し、バイデン前副大統領を全権責任者として推進した「がん克服の月面着陸計画」（Cancer Moonshot）では、多額の予算を主として次の二つの戦略へ集中投入することで、これまでの研究開発に欠けていた新しい切り口からがん治療のブレイクスルーを狙っている。一つは免疫チェックポイント療法の可能性を広範な固形がんの治療に臨床応用することであり、もう一つは、全米の主要ながん専門病院のデータベースをネットワーク化して情報を共有することで、有用性を大幅に強化することである。

このようなゲノム解析プロジェクトでは、多数の生体試料を用いた横断的、縦断的解析を通して、遺伝子－疾患の因果関係の解明が試みられている。この目的のために、がん領域における上記のプロジェクトを始めとして、世界中で複数の巨大バイオバンクが構築されている。例えば、米国では、複数の拠点で一般的な疾患から稀な疾患に至るまで多角的にゲノムコホート研究が推進されており、その最大のものである All of Us Research Program（Precision Medicine Initiative）では、全米に存在する既存のゲノムコホートを有機的に連携し、100 万人以上の研究コホートの構築を目標としている。一方で、英国においては、保健省により設立された Genomics England により、多くの機能を Sanger Institute に集中させて、希少疾患およびがん患者からの 10 万の全ゲノム解析を行う 100,000 Genomes プロジェクトが進められている。これら以外にも多数の大規模ゲノムプロジェクトが各国で進行しているが、これらのプロジェクト間のやり取りを可能とするために 500 以上の組織が協力して Global Alliance for Genomics and Health（GA4GH）が設立され、特に中心となる 15 の Driver Project が選定されて、さらに大きなフレームワークが形成されている。

このようなプロジェクトにおいては、疾患単位でゲノム解析を行うだけでなく、各種オミクス情報の臨床的な解釈に資するエビデンスの蓄積と利用を可能にすることを目指して、インフラの整備、ゲノム情報等のデータシェアリングの取組みおよび研究基盤の構築が推進されている。例えば、TCGA のデータは Genomics Data Commons（GDC）を通して公開されており、一か所でのデータ保存、共通パイプラインによるデータの統合、NIH ポリシーの遵守を通して、データシェアリングの促進が試みられている [6]。また、前述の GA4GH では、2022 年までに上記の臨床グレードのゲノムデータの責任あるシェアリングを可能にするための基準およびフレームワークの策定に取り組んでいる。

我が国では、2015 年に健康・医療戦略推進会議の下に、「ゲノム医療推進協議会」が設置され、ゲノム医療の実現に向けた取組の推進に向けた検討が行われ、AMED の「疾病克服に向けたゲノム医療実現プロジェクト」の下、「東北メディカル・メガバンク計画」、「オーダーメイド医療の実現プログラム」、「ゲノム医療実現推進プラットフォーム事業」などにおいて、健常人および患者バイオバンクの構築が進んでいる [1]。これらのプロジェクトにおいても、「ゲノム医療実現のためのデータシェアリングポリシー」に基づいて、原則としてデータシェアリングが義務付けられている。さらに、がん領域では「ジャパン・キャンサーリサーチ・プロジェクト」の下、「次世代がん医療創生研究事業（P-CREATE）」、「革新的がん医療実用化研究事業」でもがんゲノム解析が広く行われ、特に日本に多いがん腫において成果を挙げている [7-10]。

ゲノム研究の医療への応用について、がん領域では、海外において実際に実践されつつある。米国では、固形がんに関連する網羅的遺伝子プロファイリングを行い、多様な分子標

的抗腫瘍薬の効果予測する検査として、Oncomine Dx Target Test、MSK-IMPACT および FoundationOne CDx という 3 種類の遺伝子解析パネルが FDA 承認され、メディケア・メディケイドサービスセンターによる保険適用も検討されている。

具体的には、Foundation Medicine 社が開発した FoundationOne という 314 遺伝子を解析する遺伝子パネル検査を 5 年前から受託型臨床検査として導入しており、これまでに 10 万人以上の解析結果を有する[11]。また、Memorial Sloan Kettering Cancer Center は、独自に開発した MSK-IMPACT という 468 遺伝子を解析するシステムを 4 年前に導入し、院内検査として既に 1 万人以上の患者の検査を実施している[12,13]。米国 FDA は、Stage 3 以上のがん患者が、初回化学療法を行う前に遺伝子パネル検査を受けることを推奨している。

さらに、2015 年 8 月に開始された NCI-MATCH（Molecular Analysis for Therapy Choice）試験に代表されるような、様々ながん腫の患者を登録して、遺伝子解析パネル検査を用いて遺伝子異常ごとに選別し、それぞれに有効と考えられる分子標的薬を投与するバスケット試験なども進められている[14]。対象は固形腫瘍とリンパ腫で、標準的治療では効果がなかった患者を合計で約 3,000 名エントリーする。がん組織の DNA を対象に 143 種類のがん関連遺伝子をシークエンスして、治療薬のターゲットとなる 'actionable mutation' を探索し、同定された mutation に対応する抗癌剤を投与して効果をみるものである。これまでの治験と大きく異なるのは、投与される抗癌剤が現状の適用癌種によらず、ゲノム情報を基にしている点であり画期的である。参加希望者が多すぎてエントリーを一時中断したほど、国民からの関心は高い。中長期的には 100 万人を超える米国人ボランティアからなるコホートの創設を目指している。

また、英国（Genomics England）、仏国（Genomic Medicine France）など欧州だけでなく、中国（China Precision Medicine Initiative）や豪州（Australian Genomics）でも国家規模でゲノム医療の推進が試みられている。

我が国においては、5 年前から国立がん研究センターを中心として、TOP-GEAR プロジェクト（初の国産パネルとなる NCC オンコパネルを開発）[15] や SCRUM-Japan プロジェクトなど臨床研究として遺伝子パネル検査が始まり、3 年前から、一部の大学病院では自由診療として取り入れられている[16]。さらに、がんゲノム医療推進コンソーシアムの下、2018 年にがんゲノム医療中核拠点病院が指定、先進医療が開始され、2019 年を目途とした保険診療が目指されている[17]。

上記のような多数の大規模プロジェクトの進展を反映して、本分野では多くの新規技術が導入されている。具体的には、Novaseq などの新規の次世代シーケンス機器や 10x Genomics 社や Fluidigm 社のシングル解析機器などの実験機器の導入から、人工知能を応用したバイオインフォマティクス技術やクラウドコンピューティングを用いたビッグデータ解析方法の開発に至るまで幅広い技術の開拓が図られている。さらに、近年脚光を浴びているがん免疫療法においても、がんゲノム解析は主要な役割を果たしており、NCI Cancer MoonShot でも重点項目となっている。

がんゲノム解析においては、使用する組織検体にはがん細胞以外に様々な正常細胞が混入するために、Pure ながん細胞サンプルというのは存在せず、場合によってはがん細胞含有率が 20-30% という組織での解析も余儀なくされる。さらに、がん細胞における遺伝子異常の Heterogeneity は以前から指摘されており、こうした複雑なゲノム状況を正確に判定するには遺伝子パネル検査におけるシーケンスの読み込み深度（Depth）を 1000 以上に設定する

（通常の血液細胞での全エクソン解析ではDepth30-60）ことがほとんどである。そうすると、$1000ゲノム、と言われる状況においても、実際にはその30倍のコストがかかるため、患者が支払う費用や解析にかかる時間、またその有用性の観点から、全エクソン解析や全ゲノム解析をがんゲノムの臨床検査として実施するのは非現実的、あるいはオーバースペックと考えられてきた。そのため、世界的に見ても、研究としてがん組織を用いた全エクソン、全ゲノム解析は多数行われているものの、臨床検査として実施されているものは存在しない。しかし、NovaSeqの登場により、全エクソン解析レベルであれば、1回に25検体をまとめることで、1症例のシーケンスコストはDepth 300としても20万円を切る金額となってきており、いよいよ全エクソン、全ゲノム解析のがんゲノム医療への臨床応用が見えてきた。また、前述のように、免疫チェックポイント阻害剤の有効性にかかわる指標として、ゲノム不安定性の正確な判断が求められ、また後述するPharmacogenomicsの必要性が謳われつつあるため、少なくとも全エクソン解析の臨床的ニーズが明確となりつつあると考えられる。そのため、この1年以内には、がんゲノム医療に対する受託臨床検査として実施する全エクソン解析が実装されるものと考えられる。ただし、全ゲノム解析については、やはりデータ量が多いためにコスト以上にバイオインフォマティクス解析にかかる時間とデータストレージにかかる費用の問題がネックとなり、2-3年は臨床的な利用については行われないものと推測される。しかし、プロセッサの処理速度の向上やAIによるスクリーニング等、システム型のイノベーションが起こると、臨床応用の現実味が出てくる可能性がある。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

● NovaSeqシステム

米国Illumina社は2000年代後半より継続して新規の次世代シーケンサーの開発を行ってきたが、2017年初頭に最新の100ドルゲノムの実現を予見させる新構造を備えたNovaseqシリーズの次世代シーケンサーを公開した。本機器により、予算的制約の低減が実現し、これまでにないスケールの疾患ゲノム研究を可能にすることを通して、ゲノム医療の進歩を加速すると考えられる。

●クラウドコンピューティング

これまでのゲノム解析では、個々の研究者がデータを作成あるいはダウンロードし、各自のコンピュータで解析してきた。しかし、次世代シーケンスにより大量の生物医学データが生み出されている現状では、持続不可能なモデルである。そのため、データレポジトリを形成し、安全なデータアクセスを提供するApplication Programming Interface（API）を通した解析を可能とするクラウドコンピューティングを用いた方法の開発が進められている。Google Cloud、Amazon Web Services、Microsoft Azureなどの大手クラウドサービス会社はゲノム解析用のプラットフォームを提供している。NCI Cancer Genomics Cloud Pilotsでは、Broad Institute、Seven Bridges Genomicsなどでのクラウド技術開発を支援しており、Genomic Data Commonにおいてもクラウドを用いた解析インフラが準備されている[6)]。

●シングルセル解析

組織を細胞レベルで理解することは依然として困難なものであるが、従来のマルチウェルプレートに細胞分離を行う方法に加えて、10x Genomics社やFluidigm社により新規のシング

ルセル解析技術が開発されてきた結果、将来の展望が見えて来ている。特に、細胞系譜や残存病変の検出が重要課題であるがん研究が、その推進力となっている。国際的には、2016 年に発足した国際共同プロジェクトである Human Cell Atlas（HCA）により、ヒトの体を構成する約 37 兆個の細胞全ての分類とマッピングが目指されている [18]。この成果はヒトの健康および疾患の診断・治療の両者のための基盤となり得ると目されている。

● Pharmacogenomics・ゲノム創薬

臨床応用については、ヒトゲノム配列の個人差（遺伝子多型）とヒト形質（疾患・臨床検査値・ファーマコゲノミクス）との関わりについて、世界中の研究者が注目し、国内外で活発な研究が進められている。SNP マイクロアレイを用いたゲノムワイド関連解析（GWAS）など、ゲノム配列解読技術の急激な進展と商用化によって大規模疾患ゲノム解析の実施が可能となったことが挙げられる。そして、多数の疾患感受性遺伝子の同定へとつながっている。

一方で、GWAS で同定された疾患感受性 SNP を組み合わせても、疾患発症における遺伝的リスクの一部分しか説明できない事実も判明し、「missing heritability」として知られてきた。全ゲノム領域に分布する多数のコモンバリアントが小さいリスクを有するというポリジェニック（polygenic）仮説や、リスク遺伝子変異の非相加的や遺伝子間相互作用が missing heritability を説明するという仮説が提唱されている。Missing heritability を説明するためにはより多くのサンプルを用いた大規模 GWAS を、次世代シークエンサーによるレアバリアント解析と効率的に組み合わせて進めることが必要というコンセンサスが得られつつあり、疾患ゲノム解析のより一層の大規模化、多国籍化、集約化が加速している。

Genotype imputation の適用範囲が、SNP などの一般的な遺伝子多型に加えて、ゲノム配列構造が複雑で従来は適用範囲外だった遺伝子多型に対しても広がっている。ファーマコゲノミクスや免疫疾患の個別化医療に重要な HLA 遺伝子についても HLA imputation 法として実装され、多数のバイオマーカー HLA 遺伝子型が報告されている。

●新たな医学統計的手法の開発

がんの成因は単一の遺伝子異常ではなく、複数の遺伝子異常の組み合わせによるものであるため、標的選択制の高い分子標的治療薬の単剤投与では十分な治療効果が得られない、と考えられている。さらには、仮に同じドライバー遺伝子を有する患者群においても、併存する遺伝子異常は個々に全員異なっていることも考えられ、適切なコンビネーションによる薬剤併用が必要になる。したがって、従来の臨床試験による患者層別化によって患者間での有効性を比較する方法では当然判定ができないため、今後は新たな医学統計的手法の開発が必要と考えられている。その一つとして、PFS（Progression free survival）ratio という方法が提案された（Rodon J et al, ASCO2018）。これは、個々の患者における過去の治療と、実施された Genotype-Matched treatment の効果を比較するものであり、遺伝子レベルでの背景が異なる患者を比較しないため、より正確に新規治療の有効性を評価できる点が優れている。今後は、こうした新たな指標を用いた臨床試験の展開が必要である。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

●がんゲノム医療推進コンソーシアム

2017 年に厚生労働省により「がんゲノム医療推進コンソーシアム懇談会」が開催され、我が国におけるゲノム医療について、世界最先端の医療の提供のみならず、革新的治療法の開発

や日本人集団での知見の集積、得られた基盤の共有化などを目指すことを取りまとめ、がんゲノム医療を提供する医療機関やがんゲノム医療情報の集約・保管・利活用推進機関等の機能や役割についての方向性が示された[17]。それを段階的に具現化するために、2018年に全国に11か所の「がんゲノム医療中核拠点病院」が指定、先進医療が開始され、2019年度を目途とした保険診療としてのがんゲノム医療の提供が目指されている。さらに、この方針に基づき、これらの拠点病院と、その下に最終的に400の連携病院を配置して緊密なネットワークを作り、我が国のがんゲノム医療の情報を集約・保管するとともに、その情報を保険診療の質の向上と新たな医療の創出に利活用するために、国立がん研究センターに「がんゲノム情報管理センター（C-CAT）」が設置され、がんゲノム医療・研究のマスターデータベースである「がんゲノム情報レポジトリー」および知識データベース（CKDB: Cancer Knowledge DataBase）の構築が進んでいる。既存のコンパニオン診断だけでなく、広く治療に係る医学的判断に資する「遺伝子パネル検査」の開発が推奨されている。

● International Cancer Genome Consortium（ICGC）

米欧亜の主要国が参加して2007年に発足したゲノム学および情報学の専門家からなる世界最大のがんゲノム研究共同体である[19]。最初の25Kプロジェクトでは、様々ながん腫からなる25,000検体の未治療がん検体の解析を行った。2013年から始まったPCAWGプロジェクトでは、～3,000検体の高品質の全ゲノム解析を行い、がん腫ごとの類似・相違点を解明した。さらに、がんゲノム学の臨床的重要性を鑑みて、2015年にICGCmed白書を発表し、現在は、臨床における新規治療の発見を加速させるためのマルチオミクスデータ基盤の構築を目指したARGOプロジェクトが進んでいる。

● The Variant Interpretation for Cancer Consortium（VICC）

個別化医療の実現のために、これまでにCIVICやPMKB、OncoKBなどのプロジェクトにおいて、病因や治療選択のエビデンスがあるがんゲノム変異の知識データベースが作成されてきた[20,21]。異なる基準で行われてきたこれらのプロジェクトを標準化・統一化する試みが進んでいる。

●米国ゲノム研究所（NHGRI）

特に、治療応答性に関わるゲノム情報（バイオマーカー）開発が臨床治験と並行して行われる必要があり、ヒト試料のゲノム解析情報がますます求められている。米国ゲノム研究所（NHGRI）についても、ゲノムの構造やゲノム生物学の理解を深めるような研究から、よりよい医療を目指して得られた知見を活用していくトランスレーショナルリサーチに重点を移すような組織改変が検討されている。このような動きに合わせ、がん分野における分子標的医薬の使用にゲノム情報を活用する動き、出生以前診断や新生児の出生後の遺伝病のスクリーニングなどに次世代シークエンサーを応用しようという動きが始まっている。

### （5）科学技術的課題

●固形がん以外のがん腫に対するゲノム医療（小児がん、原発不明がん、血液がん）

ゲノム医療の進展が最も顕著であるのはがん領域であるが、現在のがんゲノム医療の対象は固形がんにとどまっている。それ以外の領域（小児がん、原発不明がん、血液がん等）においても疾患ゲノム研究では同等の成果が得られており、海外ではゲノム医療への展開も図られている。そのため、今後、ゲノム医療の進展が最も期待される領域であると考えられる。2016

年に成立した改正がん対策基本法においても、希少がんや小児がんに関する研究と対策の推進が盛り込まれていることを考慮しても、今後の制度的対応や環境整備においても積極的な配慮が必要な領域であると考えられる。

● Cancer immunogenomics

がんは、自己の細胞に様々な種類の遺伝子異常が生じることによって発生したものであるが、宿主の免疫機構により認識されて、排除されていると考えられている（がんの免疫監視機構説）[22]。この仕組みは、遺伝子変異によりアミノ酸配列が変化した結果として生じるネオアンチゲンが「非自己」としてT細胞から認識されるためである[23]。このネオアンチゲンに関する研究も、新規のシーケンス技術や高度なバイオインフォマティクス解析、HLA結合予測法などの開発により大きく発展してきた。これらの結果得られる情報は、腫瘍のネオアンチゲンのみならず、浸潤免疫細胞やB/T細胞レパトアの解析に有用であるのみならず、ネオアンチゲンを標的とした新規免疫療法のデザインなどに繋がると考えられる[24]。

● Phase 0 Drug screening system

その薬剤が本当に有効かどうか、理想的には投薬前に何かしらの方法で有効性を判定するDrug screening systemの開発が求められる。その一つの方法として期待されているのが、オルガノイドを用いたPhase 0 systemである。がん患者の摘出検体から得られた癌細胞を速やかに処理して3次元培養することで、がん細胞の固有の性格を維持したまま、しばらくの間、培養・増殖させるオルガノイド培養法が徐々に確立しつつある。もし、数種類の薬剤の効果を判定するのに十分な細胞量を確保できれば、事前に取得した遺伝子プロファイルから有効性が期待できる候補薬剤を選定し、約2週間でオルガノイド培養、その後の2週間で薬効判定を行えば、術後のAdjuvant therapyの段階から、有効性が証明された薬剤を投与することが可能となる。Phase 0としてEx vivoシステムによって証明された薬剤使用の可否を問うことになるため、薬剤承認・投薬プロセスのパラダイムシフトとなりうる。ただし、技術的課題やコスト、施設整備など、現実的に解決しなければならない課題は山積しており、10年以上の開発期間が必要となる。

● Liquid biopsyによる早期診断システムの実用化

がんゲノム医療におけるLiquid biopsy（血液・尿などの体液由来の核酸を用いて検査を行うこと）の開発・実装が求められている。これは、がん細胞が細胞死と増殖のサイクルが通常細胞より多いことから、正常時に比して10～100倍程度の遊離核酸（cfDNA; cell free DNA）が血液中に放出されていること、及び、細胞間のシグナル伝達手段としてExosome内に含まれるmiRNAによる遺伝子発現制御機構が解明されてきたことにより、cfDNA, miRNAを的確にとらえることで、がん細胞の遺伝子プロファイルを取得し、これに基づくGenotype-Matched Treatmentを行う、という考えに基づく。米国のGuardant Heath社は、cfDNAを独自に開発したアルゴリズムに寄って取捨選択することで、がん細胞由来のcfDNA断片を検出し、実際の治療薬選定が可能となったとして、Guardant 360という受託型検査を開始した。国内においても、東京医科歯科大学や京都大学において導入が終わっている。しかし、実際には、cfDNAの量は少なく、また、必ずしもすべてのがん細胞由来異常DNAが放出されているわけではないため、検出感度の問題や、通常の固定組織からのSolid biopsyとのConcordanceが取れないケースが報告されるなど、検査の感度・特異度において、まだまだ解決・確認すべき事象が多い。特に、検出感度は、一般的ながん遺伝子検査のDepthが1000前後なのに対し、

Liquid biopsy では 10000 以上が必要とされるため、シーケンスコストが通常の 10 倍かかる。今後は、より高感度なシーケンスを行うために、効率的な cfDNA の濃縮、解析アルゴルズムの開発、大型シーケンサーの効率的な導入といった技術面での発展が求められる。

●マルチオミックス解析

今後は発現情報解析、メタボローム解析等の多階層に亘る複合的解析による、より精度の高いバイオマーカー群の同定から予測アルゴリズムの開発へとフェーズが移行すると考えられる。それには同一人から多階層データを取得する必要があるが、例えばゲノム DNA、血清、病理試料の 3 種類を同一患者から取得し、その後の臨床情報と合わせて統合的な解析を行うことも可能となる。これらを臨床検査として実施するためには、検体採取・処理・保管を適切に行うことが肝要である。そのためには、そうしたオミックス解析を実施するような先進医療実施医療機関においては、前述の診療施設併設型バイオバンク（クリニカルバイオバンク）の整備が必要となる。

●人工知能

畳み込みニューラルネットワークなどの深層学習手法の出現により、ゲノム医療においても、人工知能がゲノム検査の結果に基づいて患者の症状や特性に合わせた治療法に関わる論文を探索し、診断や治療法選択に関わる医師の判断を支援できる可能性が示唆されている。また、疾患ゲノム研究においても深層学習を応用したバイオインフォマティクス手法の開発・利用が進んでおり [25,26]、大きな可能性を秘めた技術であると考えられる。

### （6）その他の課題

●遺伝子パネル検査、パイプライン構築と日本人がんゲノムデータベースの構築

現在、日本で実装されている遺伝子パネル検査は、コンパニオン診断として診断確定、薬剤選定を同時に行う目的であるため、精度管理上、高コスト（50-100 万円）であり、また報告までに必要な日数も長い（3-5 週間）。しかも、こうした遺伝子パネル検査を実施しても、日本の医療制度において最終的に遺伝子プロファイルに適合した治療（Genotype-Matched Treatment）を受けられる患者の割合は、10% 程度 [27] であり、高額な検査料に見合う実績は得られないことも判明している。また、世界で実施されているプレシジョンメディシンは、発症初期の段階から遺伝子プロファイルに基づく治療戦略を立てて個別に Genotype-matched treatment を行うことである。その目的からすれば、より簡便で迅速、低コストの遺伝子パネル検査をクリニカルシーケンスとして全てのがんの症例に対して治療初期に実施することが求められる。その一つの方法は、病理検査において免疫染色を実施するのと同等に数十～数百の遺伝子を調べて、病理診断時に遺伝子プロファイルを病理報告書内に記載し、組織学的検査の結果と合わせて臨床医が総合的な判断に基づいて治療法を選定することである。現在、慶應義塾大学病院では 2018 年 6 月より臨床研究「統合的病理・遺伝子診断システムの開発」として低コストで 160 遺伝子を調べるクリニカルシーケンスを開始し、システムの有用性を検証中である。こうした検査が日常的に多数の医療機関で実施出来るようになれば、日本における「がんゲノム医療」は飛躍的に発展するものと期待される。

2018 年 4 月には、国立がん研究センターが中心となって開発してきた、NCC オンコパネルが先進医療 B として開始され、2018 年度中に 350 症例の解析が行われる。この NCC オンコパネルは、既に TOP-GEAR プロジェクトとして 150 症例の解析実績を持っており、国内

で最初の保険収載を目指し、厚労省のさきがけ承認制度の認定を受けている。114 遺伝子の SNV, CNV と、17 遺伝子の融合遺伝子の検出が可能であるが、現行のクライテリアでは希少癌、原発不明癌が主たるターゲットであり、対象患者はすべての癌患者の約 1-2% 程度に限定されると考えられている。これ以外にも、いくつかの遺伝子パネル検査が国内導入され、それぞれ、特徴が異なっている（表 1）。また、自費診療の検査では患者の費用負担が大きいことから受診者数はせいぜい年間 1000 人程度と考えられ、保険収載予定の NCC オンコパネルでも対象患者はいわゆる Major cancer 以外で最大 1 万人程度（年間）と言われており、例えば FoundationOne が 4 年間で 8 万症例のデータを公開した状況を考えると、データベースの規模としても欧米には及ばない。

さらに、解析プラットフォームのことなる遺伝子解析結果を集約してデータベースを構築し、また必要な臨床情報として異なるベンダーの電子カルテのシステムのデータを共有するには、新たな技術開発と必要に応じて再解析とデータ登録が必要となり、その開発と実施に掛かる費用負担の問題も大きく、日本人がんゲノムデータベースの構築は容易ではないと考えられる。

●データシェアリングとバイオバンク

得られた大規模ゲノムデータを効果的に活用するためには、多くのゲノム研究者、特に遺伝統計学やバイオインフォマティクス分野の研究者が、これらのデータにアクセスできる環境の確保が重要である。ゲノムデータの効率的なシェア・再分配システムの構築が必要であるが、我が国においては十分でないと考えられる。

そうした状況を改変できる一つの可能性が、バイオバンクとの連動である。すなわち、バイオバンクに集められた臨床検体を網羅的に解析してゲノムデータとしてバンキングすることである。前述の欧米におけるデータベース事業は、そのほとんどがバイオバンク事業との連動である。特に北欧諸国においては国策として国民のバイオバンク登録と医療レコードの一括管理が進んでおり、デンマークでは約 500 万人の国民のほぼ全てが生下時にナショナルバイオバンクに速やかに登録され、その家系のゲノム情報から判明した疾患リスクについて開示が行われ、幼少の未発症時から予防対策が行われている 28)。我が国においては、バイオバンク・ジャパン事業として、次世代シークエンサーでの解析に適した臨床サンプルと臨床情報の収集が行われてきた。また新たに開始された東北メディカルメガバンク事業は、わが国初の健常者ゲノムコホートだが規模は一万人程度と、欧米に比して小さい。また、6 つの国立研究所が行っている NCBN 事業においては、それぞれの研究所の分野に合わせた疾患関連検体が採取・保管されており、大変貴重な研究資源となっている。しかし、これらの 3 つの国策レベルで実施されてきたバイオバンク検体は、そのほとんどが利用されておらず、収益性もないため、持続可能性が大きな問題となっており、今後の新たな検体の取得・管理は厳しい状況に追い込まれている。

こうした取り組みとは異なるバイオバンクの取り組みとして、クリニカルバイオバンクという新たなコンセプトのバンキングがある。一般社団法人クリニカルバイオバンク学会が主導している、診療施設併設型バイオバンクにおけるオンデマンド型バンキング、と呼ばれるものである。通常のコホート型バイオバンクが、利用目的を限定せずに網羅的に対象疾患の検体を収集するのに対し、オンデマンド型バンキングでは、検体の分譲希望者からのリクエストに応じて検体採取を行うものであり、その採取にかかる費用を最初から分譲先に請求することで、無駄なバンキング行わないこと、サンプリング後速やかに迅速なゲノム解析を行うことで、分譲

先にゲノムデータを提供することで付加価値が高くなること同時に、その解析データを提供患者に還元して臨床応用も可能となるというシステムである。現在、AMED のバイオバンク支援事業において、こうした診療施設併設型バイオバンクのネットワーク化が始まっており、こうしたシステムが横展開できれば、日本におけるゲノムデータバンクの実用化が進むことが期待される。

●検査の品質・精度管理

現在、国内におけるゲノム検査の品質・精度管理に関する法的な規制はない。2018 年 12 月、医療法及び臨検法を一部改正し、衛生検査所における外注検査のみならず、医療機関内で実施される検査における精度管理基準が設定される。特に、これまで微生物学的検査等 6 項目に分類されている検体検査に、新たな検査項目として遺伝子関連検査が設定された。遺伝子関連検査においては、体細胞検査と生殖細胞検査では、対象疾患や使用する検体の種類、方法論も大きくことなるため、これらをすべてまとめることに対しても、いろいろと問題を孕んでいることも事実であり、これまでの概念の踏襲ではまとめきれない可能性も指摘されている。しかし、遺伝子関連検査を実施する医療機関や衛生検査所において、管理責任者を配置すること、外部承認と同等レベルの施設管理基準と、内部精度管理の実施を求めるなど、踏み込んだ改定を行ったことは評価できる。また、こうした施設基準をクリアすることで、いわゆる自家調整検査法 LDT（Laboratory Developmental Test）の実施が可能になると解釈できるが、その点については明確な言及はなく、遺伝子関連検査の施設基準の設定も含め、今後、改めて制度の設定が必要になると考えられる。

●ドラッグラグと薬剤承認

ゲノム医療により患者が受ける最大の恩恵は、遺伝子検査により治療標的が同定されて、それに即した分子標的薬等の新規治療が受けられることである。しかし、現状では、欧米に比較して新規薬剤の承認が遅いだけでなく、国内で進行している新規薬剤の早期臨床試験の数も十分ではない。ゲノム医療の効果を最大化するためには、ドラッグラグの解消および早期臨床試験の促進は必須の課題である。

現在の保険診療で認められている薬剤は、いわゆる Evidence based medicine の考えに基づき、薬剤承認の最後のステップである Phase 3 において「ランダム化比較試験」と呼ばれる方法で実施された治験の結果をもとに承認される。しかし、ゲノム医療においては、個々の患者の遺伝子プロファイルに基づいて細分化された治療法（アーム）に振り分けをする必要があり、当然一つのアームの人数はかなり少なくなるため、統計的有意差を得るためには、相当な数の母集団を用意する必要がある。従って、遺伝子プロファイルごとに細分化されたバスケット型の治験を Phase 3 として実施するには、莫大な費用がかかり、既存薬剤の Drug repositioning として適応拡大（例えば、肺癌に適応が通っている分子標的治療薬を、同じ対象遺伝子変異を持つ乳癌に対する適応を取得する）を目指すような治験は費用対効果の面から現実的に製薬企業は実施できない。

米国では、そうした状況を打破して、少しでも迅速に有効な薬剤の承認が出来るよう、Phase 2 レベルでバスケット型試験を実施し、一つのアームで高い奏効率が認められたら、その段階で承認することが検討されている。また、2017 年に米国 FDA が、3 つの癌腫を対象に Phase II として実施された治験の奏効率を元に、免疫チェックポイント阻害剤「キートルーダ」を、Microsatellite Instability の高いすべての癌腫において承認したことは衝撃的であった。

これは、遺伝子プロファイルが共通であれば、発症臓器に関係なく有効性が期待できる、というかなり積極的な解釈に基づくものであり、今後の我が国における薬事承認プロセスに対しても一石を投じるものになるであろう。

●バイオメディカルインフォマティクス人材

疾患ゲノム研究およびその応用であるゲノム医療においてバイオインフォマティクスが重要な役割を果たすことは明らかであり、data-driven の研究へのシフトが必要であることは十分に認識されている。しかし、データが大量かつ多様であるため、それらのデータの整備や解析は十分に行われておらず、活用されていない。この問題の最大の原因は、研究データの整備や解析に携わる、情報科学と医学生物学の両者に精通したバイオインフォマティクス分野の人材不足にある。科学技術イノベーション総合戦略や健康・医療戦略においてもバイオインフォマティクス人材の育成は重点的課題として挙げられているが、未だ不十分である。本邦におけるゲノム医療の広がりを見ても、バイオインフォマティクス人材不足は喫緊の課題であり、更なる対策が期待される。また、学会認定の資格制度の設定と同時に、ゲノム医療人材のキャリアパスの整備も重要であり、例えば遺伝子診断報告書の作成に於いて欠かせないバイオインフォマティクス専門家が国内において圧倒的に不足していることから医療者の資格を持たないバイオインフォマティクス専門家が医療機関で働く際の職位の設定にも配慮が必要である。

● Ethical, Legal, and Social Implications: ELSI

ゲノム情報は機微性の高い情報であるため、個人情報保護の観点から、その取扱いには慎重さが求められる。また、遺伝情報という性質上、心理的な影響も大きい。そのため、一般診療の枠を超えた倫理的、法的、社会的側面を考慮する必要がある。また、遺伝カウンセリングの整備や人材育成も重要である。

### (7) 国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | △ | → | ・欧米のように大規模ゲノムプロジェクトからの十分な成果が得られておらず、GA4GH など国際コンソーシアムへの積極的な関与も少ない。<br>・がんゲノム解析研究においては、特に日本に多い腫瘍（胃がん、肝臓がん、成人 T 細胞白血病リンパ腫など）において、顕著な成果が認められている。<br>・バイオインフォマティクス人材が乏しく、データシェアリングも十分でない。<br>・次世代シーケンスや関連分野における基幹技術の開発は、米国に遅れている。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ・TOP-GEAR プロジェクトで開発された「NCC オンコパネル」が先進医療に承認されるなど、欧米より遅れているが、国産の遺伝子解析パネルの開発が進んでいる。<br>・欧米中より数年遅れているが、がんゲノム医療推進コンソーシアムが形成され、ゲノム医療提供体制の整備が進んでいる。<br>・ドラッグラグが顕著であり、ゲノム検査を行っても、使用できる分子標的薬が米国よりもはるかに少ない。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・NIH を中心に TCGA、All of Us Research Program など多数の大規模プロジェクトが進行し、世界をリードする成果が報告されている。<br>・シングルセル解析などの実験技術や、クラウドコンピューティング・人工知能などを含めた情報解析技術などほとんどの新規技術について、最先端の開発が行われている。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・米国で開発された次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析パネル検査が 3 種類 FDA 承認され、保険適用も受ける予定である。<br>・NCI-MATCH 試験などのバスケット試験が行われるなど、新規薬剤の積極的な早期導入が図られている。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・Genomics England の 100,000 Genomes プロジェクトなど有望な大規模ゲノムプロジェクトが進行しており、ICGC などの国際コンソーシアムでも主要な役割を果たしている。<br>・Sanger 研究所や EMBL-EBI を中心に、最先端のバイオインフォマティクス技術を有している。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・米国と比較して十分ではないが、英国や仏国では、国家主導でゲノム医療が推進されている。<br>・北欧諸国と英国でバイオバンクへの患者（住民登録）が進み、データベース化とそれに基づく健康管理体制が構築されている。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・疾患ゲノム研究では、ゲノムデータの質や解析手法への懸念が存在していたが、豊富な研究資金を背景とした多数サンプルの解析が実施されるようになり、懸念が払拭されつつある。<br>・China Precision Medicine Initiative では、数十億ドル以上の研究費が投じられる予定であり、米国を超える世界最大のプロジェクトが進行している。<br>・Beijing Genome Institute（BGI）や iCarbonX などの世界有数のゲノム解析施設・企業が設立されており、独自に次々世代シーケンサーの開発にも取り組んでいる。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ・米国と比較して十分ではないが、国家主導でゲノム医療が推進されている。医療器具として BGI 製シーケンサーを承認し、臨床ゲノム検査を進めるなど、独自の路線で進んでおり、評価が難しい。<br>・国内での分子標的治療薬の入手が困難であり、治療に応用ができない状況から、臨床での利用が進まないと思われる |
| 韓国 | 基礎研究 | × | ↗ | ・特記すべき研究成果は認められない。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ・Cancer Diagnosis & Treatment Enterprise（K-Master） や Precision-Hospital Information System Enterprise（P-HIS）などのプロジェクトにより、国家主導でゲノム医療が推進されており、一部では日本より先行しているが、十分とは言えない。<br>・既に保険診療にて、2 段階の網羅的遺伝子検査が実施可能。こうした検査は、必要な遺伝子数だけが決められており、あとは承認を受けた病院の検査室の自由裁量で、LDT として実施されている。使用しているプローブや NGS は米国産。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル
（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない
（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考文献

1）国立研究開発法人日本医療研究開発機構ゲノム医療研究推進ワーキンググループ , ゲノム医療研究推進ワーキンググループ報告書 . 2016.
2）Collins, F.S. and H. Varmus, A new initiative on precision medicine. N Engl J Med, 2015. 372（9）: p.

793-5.

3）Cancer Genome Atlas Research, N., et al., The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis project. Nat Genet, 2013. 45（10）：p. 1113-20.

4）Hutter, C. and J.C. Zenklusen, The Cancer Genome Atlas: Creating Lasting Value beyond Its Data. Cell, 2018. 173（2）：p. 283-285.

5）Ma, X., et al., Pan-cancer genome and transcriptome analyses of 1,699 paediatric leukaemias and solid tumours. Nature, 2018. 555（7696）：p. 371-376.

6）Grossman, R.L., et al., Toward a Shared Vision for Cancer Genomic Data. N Engl J Med, 2016. 375(12)：p. 1109-12.

7）Kataoka, K., et al., Integrated molecular analysis of adult T cell leukemia/lymphoma. Nat Genet, 2015. 47（11）：p. 1304-15.

8）Kataoka, K., et al., Aberrant PD-L1 expression through 3'-UTR disruption in multiple cancers. Nature, 2016. 534（7607）：p. 402-6.

9）Nakamura, H., et al., Genomic spectra of biliary tract cancer. Nat Genet, 2015. 47（9）：p. 1003-10.

10）Fujimoto, A., et al., Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer. Nat Genet, 2016. 48（5）：p. 500-9.

11）Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden Genome Med. 2017; 9: 34.

12）Mutational Landscape of Metastatic Cancer Revealed from Prospective Clinical Sequencing of 10,000 Patients　Nat Med. 2017 Jun; 23（6）：703–713.

13）Comprehensive detection of germline variants by MSK-IMPACT, a clinical diagnostic platform for solid tumor molecular oncology and concurrent cancer predisposition testing　BMC Med Genomics. 2017; 10: 33.

14）Redig, A.J. and P.A. Janne, Basket trials and the evolution of clinical trial design in an era of genomic medicine. J Clin Oncol, 2015. 33（9）：p. 975-7.

15）Tanabe, Y., et al., Comprehensive screening of target molecules by next-generation sequencing in patients with malignant solid tumors: guiding entry into phase I clinical trials. Mol Cancer, 2016. 15（1）：p. 73.

16）Kou, T., et al., Clinical sequencing using a next-generation sequencing-based multiplex gene assay in patients with advanced solid tumors. Cancer Sci, 2017. 108（7）：p. 1440-1446.

17）がんゲノム医療推進コンソーシアム懇談会 , がんゲノム医療推進コンソーシアム懇談会 . 2017.

18）Rozenblatt-Rosen, O., et al., The Human Cell Atlas: from vision to reality. Nature, 2017. 550（7677）：p. 451-453.

19）International Cancer Genome, C., et al., International network of cancer genome projects. Nature, 2010. 464（7291）：p. 993-8.

20）Chakravarty, D., et al., OncoKB: A Precision Oncology Knowledge Base. JCO Precis Oncol, 2017. 2017.

21）Griffith, M., et al., CIViC is a community knowledgebase for expert crowdsourcing the clinical interpretation of variants in cancer. Nat Genet, 2017. 49（2）：p. 170-174.

22）Schreiber, R.D., L.J. Old, and M.J. Smyth, Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. Science, 2011. 331（6024）：p. 1565-70.

23）Schumacher, T.N. and R.D. Schreiber, Neoantigens in cancer immunotherapy. Science, 2015. 348

（6230）：p. 69-74.

24）Liu, X.S. and E.R. Mardis, Applications of Immunogenomics to Cancer. Cell, 2017. 168（4）：p. 600-612.

25）Sundaram, L., et al., Predicting the clinical impact of human mutation with deep neural networks. Nat Genet, 2018.

26）Zhou, J., et al., Deep learning sequence-based ab initio prediction of variant effects on expression and disease risk. Nat Genet, 2018.

27）Comprehensive screening of target molecules by next - generation sequencing in patients with malignant solid tumors: guiding entry into phase I clinical trials. Mol Cancer. 2016;15:73.

28）The Danish Biomarker Network（Internet site）
https://www.regioner.dk/services/in-english （バイオバンクサイト）
http://www.qlifepro.com/news/20160108/denmark-has-built-the-worlds-largest-medical-big-data.html

## ２．５．９　生活習慣病

### (1) 研究開発領域の定義

多くの疾患は、遺伝素因と長年にわたる環境要因（生活習慣など）の影響によって、生体恒常性システムが破綻し、発症に至ることが知られている。わが国ではそのような疾患群を「生活習慣病」とし、様々な基礎研究、医療技術開発を推進している。本項では、生活習慣との強い関連が指摘されているものの、未だに十分な医療技術が確立しておらず研究開発へのニーズが高いと考えられる疾患として、「慢性腎疾患（Chronic Kidney Disease; CKD）」、「慢性閉塞性肺疾患（Chronic Obstructive Pulmonary Disease; COPD）」、「非アルコール性脂肪肝炎（Non-Alcoholic SteatoHepatitis; NASH）」の３つを取り上げたい。以下、各疾患の概略を示す。

- CKD：糖尿病、高血圧等の生活習慣病や慢性炎症などを背景として発症する慢性に経過する腎臓病であり、初期は無自覚であることが多い。悪化すれば透析治療が必要となる。
- COPD：タバコ煙を主とする有害物質を長期に吸入曝露することなどにより生ずる肺疾患であり、呼吸機能検査で気流閉塞を示す[1, 2]。気流閉塞は末梢気道病変と気腫性病変が複合的に関与し発生し、労作時の呼吸困難や慢性の咳・痰を示す。
- NASH：飲酒歴がなく、肥満・糖尿病・脂質異常症などを背景としてアルコール性肝障害に類似した脂肪性肝障害を呈する疾患群を非アルコール性脂肪性肝疾患（non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD）と言う[3]。NAFLD のうち肝実質細胞の壊死・炎症所見を伴う進行性の慢性疾患が NASH である。

### (2) キーワード

慢性腎疾患（CKD）、急性腎障害（acute kidney injury: AKI）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、繊維化、炎症、恒常性破綻、適応と修復、生活習慣病

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

CKD、COPD、NASH はいずれも多数の患者を抱えており、かつ患者数が増加傾向にあるにも関わらず、未だ十分な医療技術が確立していない疾患である。しかし近年、病態や制御機構の理解が進み、早期発見、予後改善および発症予防への可能性が一部見えてきた。日本のみならず全世界的に健康の脅威となっているこれら疾患に対して、新たな診断法・治療法を開発することで、人類の健康に大きく貢献することが期待される。

**【CKD】**

CKD は重症化するまで自覚症状がほぼない。透析治療は患者の QOL を大きく低下させるが、人口あたりの透析患者数は日本が世界で一番多く、心筋梗塞、脳卒中と言った心臓血管病の発症リスクがきわめて高いことも知られている。早期に発見されれば腎機能の改善も見込めるため、早い段階での発見・介入が強く望まれる。これまで腎臓病学研究を進める上では、腎臓の構造の複雑性や病態の多様性が障害となっていた。近年、種々の腎臓病に共通する「上皮障害」、「炎症」、「低酸素」、「再生」、「線維化」といった素過程が認識され、メカニズムの理解が進んでいる。また、その制御機構に関する知見も蓄積しつつあり、新たな診断法・治療法への可能

性が見えてきた。

【COPD】

2016 年の WHO の死因調査では、COPD は前年度の第 4 位からの死因第 3 位と上昇し[4]、人類の健康上、喫急に解決する必要がある課題となっている。加えて COPD は、労作時息切れによる身体活動性低下等により、心疾患、代謝性疾患、筋骨格系疾患等、様々な全身併存症を併発する点からも、呼吸器疾患という枠を超えて極めて重要な疾患である[1, 2, 5]。COPD 病態に関しては、炎症、酸化ストレス、細胞老化に加え、肺の発育障害といった新しい病因も含め、近年の生理学・細胞生物学・分子生物学・臨床疫学などによる統合的な解析により、発症メカニズムに関する理解が進んでいる。一方、COPD に対する薬剤開発および臨床治験については巨額の費用が必要であるため、わが国は多国籍大手製薬企業を持つ欧米諸国の後塵を拝している状況である。

【NASH】

NAFLD の頻度は世界的にも増加傾向にあり、わが国では健康成人の 20-30%であるとされている[6]。NASH に移行すると 15 年の経過のうちでおよそ 10%が肝硬変を発症し、そのうち毎年 1% 程度が肝細胞癌を発症する。NASH 診断目的のバイオマーカーは様々報告されているが、いずれも診断能には限界があり、非侵襲的かつ診断能力に優れた方法は確立されていない。このため現時点でも確定診断には肝生検による組織診断が必要であるが、侵襲的であるため検査適応の判断は容易ではない。また、NASH に対して現時点で十分なエビデンスを有する薬物治療は存在しない。近年のメタボリックシンドロームあるいは糖尿病などの生活習慣病の増加に伴って、今後、NASH を基礎とした肝細胞癌が飛躍的に増加すると考えられ[7]、NASH の発症・進展機構の解明と予防戦略、診断・治療法の開発は喫緊の課題である。

［研究開発の動向］

【CKD】

わが国における維持透析患者数はおよそ 33 万人に達し、さらに増加を続けている。透析医療に要する医療費は年間 1 兆 5000 億円を超えており、透析導入平均年齢が 68 歳と高齢化しているのもわが国の特徴である。このように腎臓病は社会的にも医療経済的にもインパクトが大きく、根本的な治療薬の開発が急務だが、腎臓の構造の複雑性や病態の多様性が障害になっていた。そこで、腎臓病領域においては、個々の疾患の病態解明をめざすアプローチとともに、多様な疾患に共通した最終経路（Final common pathway）があると想定し、その素過程（上皮障害と炎症、低酸素、再生、線維化など）を理解することで、種々の疾患に共通した制御メカニズムの解明をめざすアプローチがとられている。それら研究の概観は次に示す通りである。

● 上皮障害と再生

ポドサイト（糸球体上皮細胞）： 特殊な形態を維持することで糸球体のバリア機構を担っている。ポドサイトは障害されると再生しないことから、障害緩和やアポトーシス抑制を目指した創薬が試みられている。巣状分節性糸球体硬化症（Focal segmental glomerulosclerosis: 以後 FSGS）は、難治性のネフローゼを呈し CKD へ移行する例が多く、遺伝子の変異による FSGS は 20% 程度という報告がある[8]。FSGS ではポドサイトの TRPC5 が活性化しており、TRPC5 阻害薬が治療的意義を持つことが報告された[9]。また、障害を受け尿中に落下したポドサイトはバイオマーカーとしての利用も試みられている。

尿細管：　尿細管間質障害が CKD の予後と相関すること、AKI で尿細管が中心的に障害されることから近年注目を集めている。尿細管修復には、障害後に生き残った尿細管上皮自身が増殖・再生するとされていたが、近年その一部に前駆細胞が存在する可能性が示唆されている[10)]。さらに、近位尿細管障害によって線維化が惹起されることが複数グループから報告され[11,12)]、AKI to CKD の一因としても注目されている。

● 炎症、免疫応答

近年、ネフローゼ症候群を中心に種々の自己抗体が発見されるなど、腎臓を標的とした免疫応答異常として捉えられるいくつかの病態が明らかになってきた。さらに、腎臓における慢性炎症や自然免疫が障害の遷延と修復遅延にかかわるメカニズムが明らかになってきた。

● 低酸素、酸化ストレス

低酸素は前述の Final common pathway の素過程として重要だが[13)]、転写因子 hypoxia inducible factor（HIF）によって転写誘導される一群の遺伝子は、生体の低酸素防御として働くことが多く、HIF 活性化薬は腎臓病治療薬としての可能性がある。特に HIF の分解抑制薬は腎性貧血治療薬として第 3 相臨床試験が複数実施され、一部は製造販売承認申請に至っている。一方で、酸化ストレスも腎臓病の進展に重要な役割を持つことが報告されている。転写因子 NF-E2-related factor2（Nrf2）によって転写誘導される一群の遺伝子は酸化ストレスに対する防御作用を持つことが知られており、Nrf2 活性化化合物も腎臓の治療薬として本年より第 3 相臨床試験に入っている。

● 線維化と腎性貧血

慢性腎臓病が進行してネフロンが障害されると、それに伴って線維化が起こり、線維化とともにネフロンの回復や再生は困難となる。線維化を担う myofibroblast の起源には諸説あったが、2010 年以降、腎臓の線維芽細胞／ pericyte が主たる起源であること、これらは EPO 産生細胞を含むことから、その形質転換が線維化と腎性貧血の原因であること、薬剤投与で可塑性を持つことが明らかになった[14-16)]。

● AKI

急性腎障害（AKI）は、重症度次第で慢性腎臓病（CKD）に移行する（AKI to CKD）のみならず、67 歳以上の透析導入の大多数に関与するという報告もあり[17)]、致死率が高いこと、臓器連関を介して多臓器不全を来すことからも注目を集めている[18)]。AKI では主として近位尿細管が障害されるが、同部位のミトコンドリア異常に注目した研究は創薬標的としても有望である[19,20)]。AKI では臓器連関が強いことが知られているが、実験モデルでも臓器連関が証明され、発展が期待できる[21)]。臨床では、AKI 発症の早期バイオマーカーとして、Ngal、Kim-1、L-FABP などが同定された他、アメリカでは尿中 TIMP2・IGFBP7（NephroCheck）が承認されている。

● 糖尿病性腎臓病（diabetic kidney disease; DKD）

近年、「腎症の発症・進展に糖尿病または高血糖による何らかの代謝性変化が関与する病態」として新たに糖尿病性腎臓病（以下 DKD）の概念が提唱されている[22)]。DKD については、これまで内皮障害[23)]、ポドサイト障害、尿細管障害と糸球体のクロストーク[24)]、酸化ストレス、オートファジー[25)]、代謝異常など様々な観点から解析が行われてきた。前述の Nrf2 活性化化合物は最も臨床応用に近い研究成果の 1 つである。また近年海外での臨床試験で、Sodium-Glucose Cotransporter 2（SGLT2）阻害薬が 2 型糖尿病患者の腎イベントを抑制するこ

とが明らかとなり注目を浴びている[26,27]。

● IgA 腎症

IgA 腎症に関しては、粘膜免疫、糖鎖異常 IgA 産生機構、それに対する自己抗体の産生、免疫複合体沈着機構からメサンギウム細胞増殖機構まで、IgA の振る舞いを中心に研究が進展している[28]。また GWAS によって粘膜免疫に関連する遺伝子を含む疾患感受性遺伝子候補が同定されている[29,30]。

● 再生領域、他

iPS 細胞から腎臓を誘導する試みが複数グループより報告されている。三次元構造の形成や、腎前駆細胞の in vitro での増殖など、その進歩はめまぐるしい[31-34]。スケールアップ、血管系の誘導が次の目標と想定される。間葉系幹細胞を用いたアプローチもあり、期待できる[35]。その他、食塩感受性高血圧の分子機構に関する研究[36]、慢性腎不全に伴うカルシウム、リン代謝異常[37]に関連した研究も重要である。

【COPD】

COPD における気流閉塞は気道病変と気腫性病変（肺胞壁の破壊）が複合的に作用して生じる。この病態形成に、炎症、酸化ストレス、細胞老化や肺の発育障害といった病因が複合的に関与していると考えられている。よって、COPD の病因病態を解明する基礎研究はこれらの因子を解析し、病態制御の解明を目指す方針がとられてきた。以下、項目別に概観する。

● 炎症

吸入されたタバコ煙などの有害粒子がマクロファージなどの炎症細胞や気道上皮などの肺構築細胞を刺激、傷害することにより、これらの細胞は炎症性サイトカインやケモカインを放出し、さらに炎症細胞の遊走・集簇を招き、炎症反応を増強させる。COPD 患者肺では有害物質に対する炎症反応が、増強、慢性化していると考えられている[38]。一方で、COPD の炎症反応はステロイド抵抗性であり、その機序としてヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）2 失活化の関与[39]などが報告されている。一方、炎症性サイトカインやケモカインをターゲットとする臨床治験が実施されたが、明らかな効果を示したものはいまだなく、単一因子の制御では困難な病態が推測される[40]。

● 酸化ストレス、レッドクス制御

最大の危険因子であるタバコ煙中にオキシダントが大量に含まれている等、酸化ストレスは COPD の病因に深く関与していると考えられている[41,42]。オキシダントはタバコ煙の他、活性化された炎症細胞からも放出されることから COPD では産生過多となる。一方、COPD 患者ではさまざまなアンチオキシダントが減少・消費されており、ストレスの形成に至る。これまでの研究により、酸化ストレスによる HDAC2 活性の低下やエピジェネティクス変化は、炎症性遺伝子の発現増強やステロイド抵抗性に関連しており、さらにアンチプロテアーゼの不活化、粘液分泌や血管透過性の亢進などを引き起こすことが報告されている[43]。さらにオキシダントと一酸化窒素が反応して生成される活性窒素腫によるニトロ化ストレスも気道壁線維化など COPD 病態に関与していることが示唆されている[43-45]。よって、アンチオキシダントの投与など、レッドクス制御による COPD 治療が期待されるが、臨床応用には至っていない。

● 老化の加速

COPD 患者肺では老化細胞が増加していることが示されており、ストレス誘導性老化が

COPD 病態に関与していると考えられている[46]。上述した酸化ストレスは、細胞老化の重要な原因であることが明らかになっている。また、最近、COPD 患者では抗老化因子が低下していることも明らかとなり、病的老化に関与していることが示唆されている[47,48]。さらに、酸化ストレスによりミトコンドリア傷害が惹起されるが、COPD 肺では傷害ミトコンドリアを除去する機構、マイトファジーが抑制されており、細胞老化が亢進している可能性が指摘されている[46]。病的老化機構のさらなる解明により、細胞老化を標的にした治療的応用が期待される。

● 肺の発育障害

気管支喘息など、幼少期の持続的な気道炎症・傷害は、肺の低発育の原因となることが明らかになっている。最近、肺の発育障害は、COPD 発症の危険を増加させることが報告された[49]。つまり、炎症が主因の COPD と発育障害が病因となる COPD といった異なる疾患群の存在が示唆され、それぞれの群の病態解明に加え、バイオマーカーや適切な治療介入の確立が望まれる。

● 応用研究

治療薬開発＆治験といった応用研究の分野では、上記の病因論に基づく治療薬に先行して、気流閉塞という臨床病態を改善する薬剤、すなわち気管支拡張薬の開発が顕著に進んでいる。長時間作用性ムスカリン受容体拮抗薬（LAMA）、長時間作用性β 2 刺激薬（LABA）及びその配合剤（LABA/LAMA）について多国籍大手製薬企業による治験・開発、販売後の臨床研究が実施され、COPD 患者の症状や検査所見だけでなく予後まで改善することが立証されており、現在の COPD 治療の中心を成すに至った[50-53]。今後は、より病因に即した治療薬の開発が期待されるものの、後述する課題にもあるように解決すべき問題も多い。

【NASH】

NASH の病像は均一ではなく、炎症性変化を伴わない非アルコール性脂肪肝（NAFL）も時間とともに線維化を伴って NASH に変化することもある[54]。従来、NAFLD/NASH の発症・進展機構として、肥満・過食・運動不足などの 1st hit により肝脂肪化が生じ、肝細胞傷害を誘導する酸化ストレスや炎症などが 2nd hit として加わって脂肪性肝炎が発症するという「two hit hypothesis」が提唱されてきたが、最近では、インスリン抵抗性・アディポサイトカイン・酸化ストレス・炎症要因・腸内細菌・遺伝的素因などの多因子が並行して関与する「multiple parallel hits hypothesis」が提唱されている。NAFLD/NASH の成因は単一ではなく、多因子の相互作用により病態が形成されるため、病態解明に向けて各々の観点からアプローチされている。

● 肝脂肪化とインスリン抵抗性

肝実質細胞の脂肪蓄積とインスリン抵抗性は NAFLD における特徴的な変化である。NAFLD の肝臓では新規脂肪酸合成は亢進し、脂肪酸酸化と脂質放出の低下が生じて肝の中性脂肪蓄積が生じている。また、インスリン抵抗性が存在すると、脂肪組織における中性脂肪の蓄積が障害され、肝臓に流入する脂肪酸が増大して肝脂肪化を生じる。インスリン抵抗性は肝脂肪化を促進するため、NAFLD をさらに増悪させることが明らかにされている[55]。

● アディポサイトカイン

脂肪細胞からはレプチン、アディポネクチン、TNF α、IL-6、MCP-1、PAI-1 などのアディ

ポサイトカインが分泌される。余剰のエネルギーは脂肪組織に中性脂肪として蓄積され、アディポサイトカインの産生調節の破綻をもたらし、脂肪組織における炎症細胞浸潤・脂肪蓄積機能の破綻とインスリン抵抗性を誘導し、肝実質細胞に対するインスリン作用の低下と脂肪蓄積の原因となっていることが報告されており[56]、アディポサイトカイン制御による治療が期待される。

● 酸化ストレス

肝実質細胞に脂肪酸が過剰に蓄積されるとミトコンドリアやペルオキシソームでの脂肪酸酸化が亢進するが、許容量を越えた場合には活性酸素種（ROS）の産生と酸化ストレスが生じる。過剰なROSは脂質の過酸化反応を促進して、更なるROSの産生と炎症性サイトカインの誘導や肝実質細胞のアポトーシスあるいは線維化を亢進する。脂肪蓄積は細胞毒性のみならずオートファジーの抑制により、ERストレスあるいは酸化ストレスの増大をもたらす[57]。酸化ストレスはDNA障害によりNASH肝癌の発症にも関与すると考えられている。近年、NASHの肝臓では、ERストレスとそれに対するストレス応答あるいは肝実質細胞におけるインフラマソームの活性化により、更なる肝脂肪化や炎症反応が惹起されていることが報告されている[58]。

● 炎症要因

NASHの肝臓においては、酸化ストレス応答やインフラマソーム活性化による炎症性サイトカイン産生亢進によりマクロファージや好中球の遊走が生じるとともに、腸内細菌由来のエンドトキシンが肝類洞中に存在する常在性マクロファージであるクッパー細胞を活性化し、種々のサイトカインとROSの産生亢進をもたらし、類洞内皮細胞や肝実質細胞を傷害して病態進展に影響することがこれまでに明らかにされてきた。障害細胞から放出された細胞内成分はDAMPsとしてナチュラルキラー細胞、ナチュラルキラーT細胞あるいはマクロファージの活性化をもたらし、慢性炎症による肝障害進展の一因となることが知られている[59]。

● 腸内細菌

肥満と高脂肪食が腸内細菌叢の変化をきたすことが知られているが、NASH患者においても腸内細菌異常増殖とエンドトキシン血症が生じていることが報告されている。肥満と高脂肪食は腸管透過性を亢進させ、腸内細菌由来成分が門脈系血行路を介して肝臓へ流入する割合を増加させる。又、細菌由来のエンドトキシンであるLPSはインスリン抵抗性と炎症性サイトカインの産生を誘導し、NASHの病態を進展させる。このように腸内細菌と宿主の相互作用は、NASHの病態理解とプロバイオティクス投与等による治療の可能性の両面から研究が進められている。

● 遺伝的要因

NASH有病率は人種ごとに異なっており、病態の進展にも個人差があるため、発症・進展に遺伝的素因が関与すると想定されている。GWAS解析の結果、PNPLA3の一塩基多型がNAFLDの疾患感受性遺伝子として同定された[60]。しかしながら、PNPLA3遺伝子がコードする分子の機能には不明な点が多く、今後の検討課題である。また、PNPLA3に加えてLYPLAL1・NCAN・GCKRなどの遺伝子も組織学的に診断されたNAFLDと関連する遺伝子として報告されている[61]。日本人ではβ 3アドレナリン受容体の変異やMTTPのプロモータ領域の遺伝子多型は高率に認められるため、PNPLA3以外の遺伝子がNAFLDの発症と病態の進展に関与する可能性もある。

● 動物モデル

NAFLD/NASH の動物モデルはヒトの病態とは大きく異なっており、適切な動物モデルがないことが発症・進展の分子機構の理解に大きな障壁となっていた[62]。近年、中枢性食欲調節に関与する melanocortin receptor 4（MC4R）を欠損するマウスが、高脂肪食負荷により肥満・インスリン抵抗性を背景として脂肪肝からヒトの組織像に酷似した NASH を経て肝癌を発症することが報告されており、ヒトの病態を再現するモデル動物として開発と解析が期待されている[63]。

● 診断

NAFL と NASH の鑑別には肝生検での組織診断が必須であるが、NAFL と NASH は連続的な病態であるため、しばしば両者は移行し、境界的な病理所見を呈して診断に苦慮する症例も多い。肝実質細胞の脂肪化は病態の進行に従って消失し、肝硬変に進展すると病因の特定が困難になることも多い（Burn-out NASH）。NAFLD のスクリーニングや NASH 診断のバイオマーカー候補としてはフェリチン、肝線維化マーカー、アディポサイトカイン、サイトケラチン 18（CK18）断片などが報告されている。いずれも単独では特異性が低く診断は困難であるため、複数のバイオマーカーを併用することになる。非侵襲的な画像診断として超音波エラストグラフィーや MRI エラストグラフィーによる肝線維化の評価が試みられているが、線維化進展症例の評価は可能であるものの NAFL と NASH の鑑別は困難であり、装置も特殊なため、簡便で有効な非侵襲的診断法とはなっていない。

● 治療

NAFLD 治療の基本は食事・運動療法であるが、不十分な場合には薬物療法が行われる。しかし、現時点で十分なエビデンスを有する NASH の薬物治療は確立されていない。NAFLD/NASH に対してケモカイン阻害剤、PPAR リガンド、FXR アゴニスト、ASK1 阻害剤など多くの薬剤の臨床治験が進められており、今後の臨床応用が期待される[63]。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

CKD、COPD、NASH の発症、進展には種々の階層やサブタイプがあり、病因・病態の統合的理解が極めて重要だが、それを可能にする新技術として「ライブイメージング」と「シングルセル解析」、「Organ-on-a-chip」等が注目を集めている。

● ライブイメージング

多光子顕微鏡を用いることで、種々の細胞のふるまいを可視化できるようになり、従来の単離細胞や固定組織を用いた観察では明らかにできなかった、生きた個体内での細胞の形態変化やふるまい、細胞間相互作用の解析が可能となった。さらに近年は、細胞内のシグナル伝達や細胞増殖など「機能の可視化」が可能になり、疾患の素過程における時間空間分解能をもった細胞機能の理解が急激に進んでいる。

● シングルセル解析

ヒト臓器は多種多様な細胞から成り立ち、さらに周辺状況に応じて相互変化している可能性が示唆されている。この為、これまでの臓器全体または系統細胞群の解析では、病態における個々の細胞の変化を解析することは困難であった。最近の技術の進歩により、単一細胞のトランスクリプトーム解析、プロテオーム解析が可能となり、発生や病態における細胞変化の詳細

な解析が報告されつつある。例えば、健常なマウス腎臓では本手法を用いて新たな腎実質細胞が同定された[64]。呼吸器の分野でも、気道系細胞の新しい前駆細胞の発見[65]やiPS細胞からの肺胞Ⅱ型上皮の分化誘導法の開発に応用されている[66]。今後本技術を用いて疾患に寄与する様々な細胞のより詳細な解析が進むと考えられる。

● Organ-on-a-Chip

半導体開発にて培われた微細加工技術を駆使して、チップ上に微細な流路を構成し、臓器細胞を配置・培養し、臓器機能をシミュレートすることを目的としたマイクロリアクターが開発されている。例えば、Lung-on-a-Chipは、血液と空気の流れを上皮細胞と内皮細胞にて仕切り、横方向から加えるストレスを一定の周期で逆転し呼吸運動をシミュレートした上で細胞と血液の解析をリアルタイムに観察することが可能となっている[67-69]。完全にヒト肺を模倣するには至っていないが、病態解明、治療薬開発のツールとして期待されている。また、Kidney-on-a-Chipは流路を組み込んだマイクロ流体デバイス中に尿細管と毛細血管を培養することで、それぞれに溶質を還流した状態での細胞間相互作用や物質輸送などの再現を可能にしたものである[77]。同様に、肝臓、心臓、膵臓などを再現したシステム系の構築も報告されており、さらにこれらを連結し”Human-on-a-Chip”を形成することで、臓器間相互作用の研究に供する試みもなされている。

上記技術に加え、多階層オミクス解析やiPS細胞由来オルガノイドを用いた解析にも注目が集まっている。以下では、さらに疾患別の注目動向を概観する。

【CKD】

● 代謝

腎臓は糸球体で濾過された原尿中の糖やアミノ酸、脂肪酸などを再吸収することから、近年、代謝臓器として見直されている。メタボローム技術の向上に伴って、腎臓病における代謝異常に関する理解が急激に進んでいる。腎不全における尿毒症物質の同定、腸内細菌と腎臓病の関連[71]なども新しい知見が増えている領域である。さらに代謝要素の可視化を可能にする質量顕微鏡、ミトコンドリア機能や代謝物のライブイメージングなどもこの領域をさらに発展させると期待できる。

● 老化

老化に伴い腎機能は低下し障害からの回復も困難になるが、その原因は不明である。近年、老化研究が大きく進展し細胞老化と個体老化の関連が明らかになり、老化細胞の除去によって健康寿命が延長するのみならず腎機能が改善することが報告された[72]。さらに高齢マウスに若年マウス骨髄を投与すると加齢に伴う腎障害が回復することや[73]、加齢によるオートファジーの保護的役割も報告されている[74]。可塑性低下に関しては、高齢マウスの障害後に三次リンパ組織が形成し、炎症が遷延することで回復が遅延するといった報告もある[75]。

● Onconephrology

がん患者ではAKIを高頻度に合併し、それに伴って生命予後が著しく悪化する。また種々の分子標的がん治療薬の登場に伴い、特殊な腎障害が発生している。一方で、腎機能低下患者では一般集団に比してがんの発生率が高いが、抗がん剤やその代謝物の腎クリアランスの低下により安全な治療域を保つことは困難となる。腎機能に応じた抗がん薬の用量調節法の標準化は安全性と有効性の面で急務である。このような「悪性腫瘍学（oncology）」と「腎臓病学（nephrology）」の密接な関係は、新たな集学的医療分野「Onconephrology」として世界的に

注目されており、欧米の学会で相次いで Onconephrology 委員会が結成されている[76-78]。

● 医療ビッグデータ

腎臓はその機能が Cr 値で数値化できるという特性から Electric Health Record（EHR）や人工知能との相性が良い。海外では腎機能悪化警告システムの開発が進んでおり、イギリスではすでに実用化されている（AKI Algorithm）。さらに、日本腎臓学会では、標準化ストレージ環境を活用し全国の拠点病院のネットワークを形成し、100 万人規模の CDK のデータベース（J-CKD-DB）を構築中である。他領域 DB、レセプト DB などとの連結を進め、CKD 実態把握、医療経済分析への活用が構想されている。

【COPD】

● 新規活性イオウ分子種

活性イオウ分子種（reactive sulfur species: RSS）は、GSSH、GSSSH や CysSSH に代表される新規抗酸化分子で GSH や CysSH に比して 10-100 倍以上の極めて高い抗酸化活性を有する。RSS が血清などの生体内にも存在することが判明し、レドックス制御の新たな分子種として注目されている[79-80]。最近の研究により、ヒト肺においても RSS の存在が明らかとなった[81]。さらに、RSS 産生量は COPD 群で有意に低下していることが判明し、肺の酸化還元不均衡を介して COPD の病態に関与している可能性が示唆されている[81]。今後 RSS ドナーによる COPD 治療開発など応用研究が期待される分野である。

● マイクロバイオーム解析

次世代シーケンサーなどの検査手法の進歩により、下気道に対してもマイクロバイオーム解析が可能となり、COPD を含めた呼吸器疾患との関係が精力的に進められている。これまでの解析の結果、COPD 病態における微生物排除機構の低下は気道マイクロバイオームの変容につながり、COPD 増悪、病態の進行に寄与している可能性が示唆されている[82-84]。今後の研究により、COPD 病態におけるマイクロバイオームの役割を明確にするとともに、マイクロバイオーム調整による COPD 増悪の予防など治療法開発につながる成果が期待される。

【NASH】

● 臓器連関

NAFLD 肝における過剰な脂質貯留は、食事由来や新規合成された中性脂肪のみならず、肥大した脂肪組織から肝に流入した脂肪酸にも由来する。そのため、メタボリックシンドロームに影響された全身の臓器連関の役割は重要である。臓器連関は神経系・液性因子などが関与すると考えられている。神経系としては中枢神経系による代謝調節機構が重要であり、中でも特に視床下部・自律神経系を介した肝臓での糖質・脂質代謝制御について注目されている。液性因子はアディポサイトカインや腸内細菌叢の変化と、これに伴うエンドトキシンや腸内細菌生成物の NASH の病態形成に対する影響が注目されている。NASH 進展に伴って続発するサルコペニアや、骨格筋より放出されるマイオカインも病態生理的意義が注目されている。神経系・液性因子による NASH の病態進展機構は相互に関連する可能性が高く、統合的解析が不可欠である。

● 発癌因子の探索

NASH の病態が持続した場合、肝線維化進展と共に一部の症例では肝細胞癌を発症する。NASH 肝癌の発症において、他のウイルス性肝細胞癌と同様に炎症の持続が発生母地となることは明らかであるが、特徴的な遺伝子変異や遺伝子調節機構などは十分に解明されておらず、

発癌に関与する因子の探索が進められている。

［注目すべき国内外のプロジェクト］

- 文部科学省が平成 30 年度研究開発目標として「生体組織の適応・修復機構の時空間的理解に基づく生命現象の探求と医療技術シーズの創出」を打ち出しており、日本医療研究開発機構（AMED）において対応するプロジェクトが開始された。
- ゲノム医療の実現を目指して「AMED ゲノム医療実現推進プラットフォーム事業」が平成 27 年度に開始された。当該事業のもと推進されている「先端ゲノム研究開発」ではゲノム多型に基づく健常人の層別化によって、各層における多因子疾患の相対危険度の推定とその情報を活用した個別化予防の社会実装を目的とする。個別課題のひとつとして「多因子疾患の個別化予防・医療を実現するための公開・統合ゲノム情報基盤構築」では、東北メディカルメガバンク計画 15 万人の前向きゲノムコホートデータを収集し、ゲノム多型情報と生物学的アノテーション情報を駆使し、多次元クラスタリングを実施、各グループについての数年間の観察によるリスク評価を実施する。COPD は喫煙というはっきりした環境因子が関わっている一方で遺伝的素因も重要と考えられており、本事業のモデル疾患として選択されている。今後、SNP アレイによる GWAS 解析を中心としたゲノミクス解析の他、酸化ストレスマーカーを対象とした血漿オミクス解析も行い、COPD 発症リスクの層別解析を実施する予定となっている。
- 米国において、NIH が主導して Kidney Precision Medicine Project（KPMP）が立ち上がり、AKI や CKD 患者の臨床情報と腎生検組織の大規模集積を開始し、患者層別化による最適医療の提供を目指している。
- SPIROMICS（SubPopulations and InteRmediate Outcome Measures In COPD Study SPIROMICS）は米国で実施されている、COPD 患者を対象とした前向きコホート研究であり、NIH と COPD Foundation の支援の下、全米 12 の施設が参加している。その目的の第一は、COPD 患者の中で特徴を持ったサブグループを弁別することにある。第二の目的は、COPD 患者の病状進行を弁別する新しい指標（バイオマーカー）を確立することにある。これは新規治療法をより簡便に、短期に評価する方法を確立し、治療法開発を促進する狙いがある。対象者には肺機能など臨床的な検査の他、血液、尿、肺生検組織、喀痰、肺胞洗浄液などの生体サンプルより、遺伝子解析やマイクロバイオーム解析など種々の解析が実施され、フェノタイプとバイオマーカーの関連などが報告されている [85-89]。2013 年より始まった本コホート研究のリクルートメントは既に終了し、現在、新たな課題も加え（SPIROMICS II）、追跡調査＆解析が実施されており、COPD の分子病態型（エンドタイプ）が明らかとなることが期待される。
- Organ-on-a-Chip（生体機能チップ）は Harvard University の Wyss Institute を中心に、米国 NIH 等による公的資金を受け、研究開発が進んでいる。本技術は薬剤スクリーニングにも応用できることから、製薬業界にも注目されている。日本でも、AMED の事業として、iPS・ES 細胞等から分化誘導される各種臓器細胞をチップ等のデバイス上に搭載し、医薬品候補化合物の安全性や薬物動態等を評価可能にする基盤技術の確立を目的とした事業が採択されており、成果が注目される。

### （5）科学技術的課題

● 実験モデルの確立

基礎研究にはマウスなどのげっ歯類が用いられているが、実際のヒトの病態とは相違点も多い。例えば、COPD 研究ではエラスターゼ肺気腫モデルや喫煙暴露モデルが用いられているが、モデルマウスによる知見が臨床応用段階で当てはまらないことが経験されている。また、NASH については、肥満・インスリン抵抗性、肝脂肪化、炎症細胞浸潤、肝線維化などのヒトの病態や経時変化を再現できるものはほとんどなく、現状の動物モデルでは肝実質細胞自体に栄養障害に伴う著しい代謝異常や化学的修飾・遺伝子改変が加えられているため、ヒトの病態とは大きく乖離している。ヒト病態をより正確に反映したモデルの確立が望まれると同時に、従来の動物モデルの改良だけでなく、霊長類実験動物のモデル開発や、Organ-on-a-chip（生体機能チップ）技術を利用した病態モデル解析法の確立も重要である。

● 細胞間相互作用アトラスの必要性

腎臓、肺、肝臓などは多種類の細胞種から構成されている複雑な臓器である。これまでの病態解明の研究手法は、ある特定の分子と疾患との関連を追及していくものや、単一細胞種に限ったオミクス解析が主なものであった。しかし、多くの難治性疾患では多様な細胞群が複合的に相互作用し病態を形成するため、単一細胞種について解析しても病態の全体像は把握できない。そこで、細胞種特異的分子基盤を明らかにした上でそれらを統合すること、つまり「ヒト細胞間相互作用アトラス」を作成することが必要であると考えられる。この手法として、個々の細胞種をセルソーターにより高純度に分離、解析する技術の他、近年注目されている 1 細胞解析技術を応用することが重要と考えられる。本解析により複合的な病態の詳細な理解が進み、新規創薬ターゲットの発見など臨床応用に発展する可能性が十分にあり、今後重要な研究開発手法となることは間違いない。

● 病態型の分類

CKD、COPD、NASH 等は均一な疾患ではなく、発症には様々な因子が関与しており、それぞれの病因がより強く影響しているサブタイプ（エンドタイプ）に分類される可能性が示唆されている。これまでの治療薬開発では患者全体を対象とした治験が実施されているが、主となる病因が異なるサブタイプごとに薬剤の効果が異なる可能性は十分に想像できる。この問題を解決するためには、大規模なレジストリと生体サンプルを解析し、既知あるいは新規のバイオマーカーによってサブタイプを分類する手法を確立する必要がある。

### （6）その他の課題

● バンク・レジストリの拡充

基礎研究の治験をヒトで検証し応用するためには、ヒトバイオバンクの整備が必須である。特に、病態をよく模倣した動物モデルの確立が十分でない現状では、ヒト組織から得られる情報は病因・病態の解明のためにも大変重要であり、生検や手術から入手された検体をバンク化し、他施設からも使用可能な状況を構築することは極めて意義が大きい。そのためには、一組織でなく、国家全体のリソースセンターとして整備する必要がある。ヒトバイオバンクについては、産業界からのニーズも多く、産官学で連携して整備することも可能である。またバイオバンクに臨床情報を付加することで、その活用価値が飛躍的に増大することから、医療 IT、DB の活用も望まれる。臨床研究・治験を進める上でも、これまで研究施設ごとに行われてい

る患者レジストリを全国的な組織で行う必要がある。近年、欧米諸国にて、レセプトデータを利用し、大規模な臨床研究・解析を実施し、実臨床における薬剤の効果・有害事象の確認をおこなった研究が発表されている。日本でも、レセプトデータを利用した臨床研究が実施されつつあるが、今後さらに大規模な解析を実施していくためには、データの標準化、匿名化、公的資源化など、法規制やIT体制整備など、科学技術分野以外の調整が必要である。レセプトデータの標準化は、上記の患者レジストリにも応用できる可能性があり、関係省庁・組織の早急な連携が望まれる。

● バイオインフォマティクス人材の育成と拠点の整備

1細胞解析やオミクスデータ解析が盛んになるとともにバイオインフォマティシャンの重要性は増す一方だが、人材は十分ではない。早急なバイオインフォマティシャンの育成および拠点整備が必要である。

● 分野融合と拠点整備

CKD、COPD、NASHなどの複雑多彩な病態の解明のためには、神経科学・内分泌代謝学・免疫学などの統合的な研究推進が不可欠であり、膨大なオミクスデータの解析に対して生物物理や数理モデルの専門家との連携が求められる。これらが一体となった融合領域を支援する制度と、包括的な予算整備が望まれる。同時に、RNA-seq、ChIPシークエンスあるいはトランスクリプトミクス、メタボロミクスなどのオミクス解析の拠点化と、多数の研究者が安価に利用・アクセス可能な解析環境の整備が必要である。

● 公衆衛生活動

生活習慣病は、その名のとおり、生活習慣の改善によってある程度の予防や進行の抑制が可能である。例えばCOPDはタバコ煙を主とする有害物質を長期に吸入曝露することなどにより生ずる肺疾患であり、予防・疾患の進行抑制には禁煙が重要である。一方、CKD、COPD、NASHは疾患が進行しても自覚症状に乏しい患者もいることから、患者を早期発見するためには疾患の認知度を上げることが重要であり、公衆衛生活動の充実が望まれる。早期の受診の増加は、患者レジストリの促進にもつながると考えられる。

### (7) 国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | → | ・腎疾患研究において、低酸素、腎性貧血、腎エピジェネティクス、線維化、IgA腎症、再生研究などの分野で世界をリードする顕著な成果をあげている。<br>・伝統のある呼吸生理学的解析も含め、COPDに対する病因病態解析は、炎症、酸化ストレスなど背景となる日本の基礎的研究成果を応用し、欧米諸国に匹敵する成果をあげてきている。<br>・NASHの病態解明につながる基礎研究において肝脂肪化とインスリン抵抗性・液性因子・酸化ストレスなど多くの分野で顕著な成果をあげている。<br>・臓器連関や遺伝素因に関しても我が国独自の業績が得られている。<br>・大規模なバイオバンク、ゲノムコホート解析は欧米諸国の後塵を拝している。ヒト検体を用いた研究は個々の研究者の努力に依存しており、ヒト研究を推進する上でのボトルネックとなっている。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↘ | ・肝臓での代謝改善などに関与する薬剤開発では一定の成果はあるものの、応用開発分野全般としては強大な資金力を持つ、多国籍大手製薬企業を中心に進められているのが現状である。<br>・優れた基礎的研究成果を、臨床治験、実際の応用へと進めるのに多額の資金が必要となり、国内単独での開発は難しい状況である。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | ・疾患概念の確立から現在の基礎研究まで長年、本領域をリードしており、世界に先駆けて多数の研究が推進されている。豊富な人材と多くの施設・研究所を有し、新技術を常に導入して、あらゆる領域で世界に先駆けた研究を牽引している。<br>・出口志向が強いことを背景に、近年、基礎研究者が腎臓病領域に参入しており、基礎研究が強化されている。<br>・NIH などの公的資金だけでなく、Cystic Fibrosis Foundation（嚢胞性肺線維症財団）などの民間財団、企業支援による強大な資金力を背景に、COPD をはじめとする呼吸器学研究をリードしている。<br>・病因・病態研究に MD 研究者だけでなく、多くの PhD 研究者が参加しており、豊富な米国の基礎的研究成果とシーズを基に、成果をあげ続けている。<br>・大規模なバイオバンクが充実しており、大規模遺伝子解析や基礎的研究成果の実患者における確認が行われている。データシェアも進んでいる。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・臓器連関に着目した応用研究・開発として、腸内細菌と脳・膵β細胞をつなぐ機序や、薬剤の作用機序などが報告（カナダにおける研究）されるなど、優れた成果を次々とあげており、今後もさらなる発展が見込まれる。<br>・疾患への応用に対して多くの企業によるサポートが存在し、その結果得られた知見を基に、世界的な大手製薬企業が多くのベンチャーと連携しながら積極的な新薬開発が進められている。強大な資金力によって、世界的規模の臨床治験も実施されている。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | → | ・伝統的に多くの基礎研究が推進され、重厚な基礎研究成果を持ち、高い研究レベルが維持されている。米国での公的研究費の縮減により欧州へ向けての人材の流動性も見られる。<br>・欧州統合により、競争的公的資金も欧州研究会議（ERC）などから優秀な研究者＆団体に配分されている。<br>・欧州全体のバイオバンクの設立など、大規模な遺伝子、マイクロバイオームなどの生命科学解析を行う体制が整っている。<br>・今後、英国が EU より離脱する可能性があることは、不安要素のひとつである。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・米国と同様、強大な資金力と影響力を持つ、多国籍大手製薬企業を有し、世界的規模の臨床治験を実施し、新薬の開発、全世界での承認・販売を推し進めている。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・国家的規模で積極的に基礎研究への投資が行われ、多数の報告や特許申請がなされている。<br>・中核病院に患者が集中する状況を背景に、充実したバイオバンクを設立し、多量のヒト生体試料を研究に活用可能な環境が整備されつつある。特にゲノム研究は充実している。<br>・喫煙率の高い中国では、COPD 罹患率は高く[90]、患者数も多い。この為、国家的戦略として COPD に対する研究が行われており、基礎的な病因・病態研究も盛んに行われ始めている。<br>・欧米にて研鑽を積んだ研究者が帰国し、彼らを中心に基礎研究が進んでおり、欧米の研究成果の模倣だけでなく、独自の成果も報告され始めている。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | ↗ | ・臨床研究に関しても、国家戦略として、COPD 患者の登録、およびそれを基にした臨床治験、臨床研究が進んでおり、実際に一流雑誌への研究発表[90]がされている。<br>・総人口が多いことから、患者数も多く、また国家統制による患者登録も進んでいることから、日本に比し、大規模臨床研究が実施しやすい素地がある。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 韓国 | 基礎研究 | △ | → | ・一部の領域では優れた研究がなされているが限定的である。臨床研究に主眼が置かれていたため、研究者の層はあまり厚くないのが現状である。<br>・韓国腎臓学会では国際化が強く意識されており、多数の欧米の研究者を招聘している。<br>・COPD に関する病因、病態に関する基礎研究は他国・地域に比し、限定的と考える。欧米にて研鑽を積んだ研究者が帰国後、基礎研究を実施、啓蒙している。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・全体としての成果は高くないが、国家戦略として応用研究の推進および産業化の動きがあり、今後応用研究分野でも進展が見られる可能性がある。<br>・腎不全医療に力をいれており、臨床研究の背景が強いことからも今後の進展が予想される。<br>・COPD 患者において国家的なレジストリがすすめられており、臨床研究も発表されている。しかしながら、実際に新規製剤の開発までに至るような応用成果は認められていない。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル
（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない
（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## (8) 参考・引用文献

1) 日本呼吸器学会 COPD ガイドライン第 5 版作成委員会 . COPD（慢性閉塞性肺疾患）診断と治療のためのガイドライン 第 5 版 . 東京都：一般社団法人 日本呼吸器学会（2018）.
2) Vogelmeier CF, et al., “Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease 2017 Report. GOLD Executive Summary.” Am J Respir Crit Care Med 195（5）:557-582（2017）. doi: 10.1164/rccm.201701-0218PP.
3) Schaffner F, et al., “Nonalcoholic fatty liver disease”. Prog Liver Dis 8:283-298（1986）.
4) World Health Organization. 2018. “The top 10 causes of death.”（http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death ／2018 年 3 月 24 日アクセス）.
5) Divo M, et al., “Comorbidities and risk of mortality in patients with chronic obstructive pulmonary disease.” Am J Respir Crit Care Med 186（2）:155-61（2012）. doi: 10.1164/rccm.201201-0034OC.
6) Wong VW, et al., “Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH - current progress and future promise”. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 15（8）:461-478（2018）. doi: 10.1038/s41575-018-0014-9
7) Eguchi Y, et al., “Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study”. J Gastroenterol 47（5）:586-95（2012）.
8) Trautmann A, et al., “Spectrum of steroid-resistant and congenital nephrotic syndrome in children: the PodoNet registry cohort.” Clin J Am Soc Nephrol 10, 592-600（2015）.
9) Zhou Y, et al., “A small-molecule inhibitor of TRPC5 ion channels suppresses progressive kidney disease in animal models” Science 358, 1332-6（2017）.
10) Kumar S, et al., “Sox9 Activation Highlights a Cellular Pathway of Renal Repair in the Acutely Injured Mammalian Kidney.” Cell Rep. 12, 8, 1325-38（2015）.

11）Takaori K, et al., “Severity and Frequency of Proximal Tubule Injury Determines Renal Prognosis.” J Am Soc Nephrol. 27, 8, 2393-406（2015）.
12）Grgic I, et al., “Targeted proximal tubule injury triggers interstitial fibrosis and glomerulosclerosis.” Kidney Int. 82, 2, 172-83（2012）.
13）Mimura I and Nangaku M, “The suffocating kidney: tubulointerstitial hypoxia in end-stage renal disease.” Nat Rev Nephrol. 6, 11, 667-78（2010）.
14）Asada N, et al., “Dysfunction of fibroblasts of extrarenal origin underlies renal fibrosis and renal anemia in mice.” J Clin Invest. 121, 10, 3981-90（2011）.
15）Souma T, et al., “Plasticity of renal erythropoietin-producing cells governs fibrosis.” J Am Soc Nephrol. 24, 10, 1599-616（2013）.
16）Souma T, Suzuki N, Yamamoto M, “Renal erythropoietin-producing cells in health and disease.” Front Physiol. 6, 167（2015）.
17）Ishani A, et al., “Acute kidney injury increases risk of ESRD among elderly.” J Am SocNephrol. 20, 1, 223-8（2009）.
18）Doi K and Rabb H, “Impact of acute kidney injury on distant organ function: recent findings and potential therapeutic targets.” Kidney Int. 89, 3, 555-64（2016）.
19）Tran MT, et al., “PGC1 α drives NAD biosynthesis linking oxidative metabolism to renal protection.” Nature. 531, 7595, 528-32（2016）.
20）Suzuki T, et al., “Mitochonic Acid 5 Binds Mitochondria and Ameliorates Renal Tubular and Cardiac Myocyte Damage.” J Am Soc Nephrol. 27, 7, 1925-32（2016）.
21）Sumida M, et al., “Regulation of Mitochondrial Dynamics by Dynamin-Related Protein-1 in Acute Cardiorenal Syndrome.” J Am Soc Nephrol. 26, 10, 2378-87（2015）.
22）Thomas MC, et al. “Diabetic kidney disease”. Nat Rev Dis Primers. 30; 1:15018（2015）
23）Kidokoro K, et al., “Maintenance of endothelial guanosine triphosphate cyclohydrolase I ameliorates diabetic nephropathy.” J Am Soc Nephrol. 24, 7, 1139-50（2013）.
24）Hasegawa K, et al., “Renal tubular Sirt1 attenuates diabetic albuminuria by epigenetically suppressing Claudin-1 overexpression in podocytes.” Nat Med. 19, 11, 1496-504（2013）.
25）Yasuda-Yamahara M, et al., “Emerging role of podocyte autophagy in the progression of diabetic nephropathy.” Autophagy. 11, 12, 2385-6（2015）.
26）Wanner C, et al., “Empagliflozin and Progression of Kidney Disease in Type 2 Diabetes.” N Engl J Med. 375, 323-34（2016）
27）Neal B, et al., “Canagliflozin and Cardiovascular and Renal Events in Type 2 Diabetes.” N Engl J Med. 377, 644-57（2017）
28）Suzuki Y, et al., “Paradigm shift in activity assessment of IgA nephropathy - optimizing the next generation of diagnostic and therapeutic maneuvers via glycan targeting.” Expert Opin Biol Ther. 15, 4, 583-93（2015）.
29）Kiryluk K, et al., “Discovery of new risk loci for IgA nephropathy implicates genes involved in immunity against intestinal pathogens.” Nat Genet. 46, 11, 1187-96（2014）.
30）Saka S, et al., “Genome-wide association study of IgA nephropathy using 23 465 microsatellite markers in a Japanese population.” J Hum Genet. 60, 10, 573-80（2015）.
31）Taguchi A, et al., “Redefining the in vivo origin of metanephric nephron progenitors enables generation of complex kidney structures from pluripotent stem cells.” Cell Stem Cell. 14, 1, 53-67（2014）.

32）Takasato M., et al., “Kidney organoids from human iPS cells contain multiple lineages and model human nephrogenesis.” Nature 526, 564-568（2015）
33）Tanigawa S, et al., “Selective In Vitro Propagation of Nephron Progenitors Derived from Embryos and Pluripotent Stem Cells.” Cell Rep. 15, 801-13（2016）.
34）Mae S, et al., “Monitoring and robust induction of nephrogenic intermediate mesoderm from human pluripotent stem cells.” Nat Commun. 4, 1367（2013）.
35）Yokote S, et al., “Urine excretion strategy for stem cell-generated embryonic kidneys.” Proc Natl Acad Sci U S A. 112, 42, 12980-5（2015）.
36）Susa K, et al., “Impaired degradation of WNK1 and WNK4 kinases causes PHAII in mutant KLHL3 knock-in mice.” Hum Mol Genet. 23, 19, 5052-60（2014）.
37）Hu MC, et al., “Klotho and phosphate are modulators of pathologic uremic cardiac remodeling.” J Am Soc Nephrol. 26, 6, 1290-302（2015）.
38）Barnes PJ., “New anti-inflammatory targets for chronic obstructive pulmonary disease.” Nature Reviews Drug Discovery 12（7）:543-559（2013）. doi: 10.1038/nrd4025.
39）Ito K., et al., “Decreased histone deacetylase activity in chronic obstructive pulmonary disease.” N Engl J Med 352（19）:1967-76（2005）. doi: 10.1056/NEJMoa041892.
40）Barnes PJ., “Targeting cytokines to treat asthma and chronic obstructive pulmonary disease.” Nat Rev Immunol 18（7）:454-466（2018）. doi: 10.1038/s41577-018-0006-6.
41）Kirkham PA and PJ Barnes, “Oxidative stress in COPD.” Chest 144（1）:266-273（2013）. doi: 10.1378/chest.12-2664.
42）Rahman I and IM Adcock, “Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD.” Eur Respir J 28（1）:219-42（2006）. doi: 10.1183/09031936.06.00053805.
43）Barnes PJ., et al., “Chronic obstructive pulmonary disease.” Nat Rev Dis Primers 1:15076（2015）. doi: 10.1038/nrdp.2015.76.
44）Ichinose, M., H. Sugiura, S. Yamagata, A. Koarai, and K. Shirato. “Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways.” Am J Respir Crit Care Med 162（2 Pt 1）:701-6（2000）. doi: 10.1164/ajrccm.162.2.9908132.
45）Sugiura, H., and M. Ichinose. “Nitrative stress in inflammatory lung diseases.” Nitric Oxide 25（2）:138-44（2011）. doi: 10.1016/j.niox.2011.03.079.
46）Barnes PJ. “Senescence in COPD and Its Comorbidities.” Annu Rev Physiol 79:517-539（2017）. doi: 10.1146/annurev-physiol-022516-034314.
47）Onodera K., et al., “Decrease in an anti-ageing factor, growth differentiation factor 11, in chronic obstructive pulmonary disease.” Thorax 72（10）:893-904（2017）. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-209352.
48）Yanagisawa S., et al., “Decreased Serum Sirtuin-1 in COPD.” Chest 152（2）:343-352（2017）. doi: 10.1016/j.chest.2017.05.004.
49）Lange P., et al., “Lung-Function Trajectories Leading to Chronic Obstructive Pulmonary Disease.” N Engl J Med 373（2）:111-22（2015）. doi: 10.1056/NEJMoa1411532.
50）Tashkin, DP, et al., “A 4-year trial of tiotropium in chronic obstructive pulmonary disease.” N Engl J Med 359（15）:1543-54（2008）. doi: 10.1056/NEJMoa0805800.
51）Karner, C., J. Chong, and P. Poole. “Tiotropium versus placebo for chronic obstructive pulmonary disease.” Cochrane Database Syst Rev（7）:CD009285（2014）. doi: 10.1002/14651858.CD009285.pub3.
52）Wedzicha, J. A., et al., “Indacaterol-Glycopyrronium versus Salmeterol-Fluticasone for COPD.” N

Engl J Med 374（23）:2222-34（2016）. doi: 10.1056/NEJMoa1516385.

53）Hohlfeld JM, et al., “Effect of lung deflation with indacaterol plus glycopyrronium on ventricular filling in patients with hyperinflation and COPD（CLAIM）: a double-blind, randomised, crossover, placebo-controlled, single-centre trial.” Lancet Respir Med 6（5）:368-378（2018）. doi: 10.1016/S2213-2600（18）30054-7.

54）McPherson S, et al., “Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: Implications for prognosis and clinical management”. J Hepatol 62（5）:1147-1155,（2015）.

55）Tilg H, et al., “Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease.” Trends Endocrinol Metab 19（10）: 371-379,（2008）.

56）Kamada Y, et al., Adipocytokines and liver disease. J Gastroenterol 43（11）: 811-822,（2008）.

57）Rolo AP, et al., “Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis”. Free Radic Biol Med 52（1）: 59-69,（2012）.

58）Zhang J. et al., “ER Stress-iduced Inflammasome Activation Contributes to Hepatic Inflammation and Steatosis”. J Clin Cell Immunol 7（5）: 457（2016）

59）Tilg H, et al., “Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: multiple parallel hits hypothesis”. Hepatology 52（5）: 1836-1846,（2010）.

60）Romeo S, et al., “Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease”. Nat Genetics 40（12）: 1461-1465,（2008）.

61）Speliotes EK, et al., “Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits”. PLos Genet 7（3）: 1-14,（2011）.

62）Friedman SL, et al., “Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies”. Nat Med 24（7）: 908-992,（2018）.

63）Itoh M, et al., “Melanocortin 4 receptor-deficient mice as a novel mouse model of nonalcoholic steatohepatitis”. Am J Pathol 179（5）: 2454-2467,（2011）.

64）Park J et al., “Single-cell transcriptomics of the mouse kidney reveals potential cellular targets of kidney disease.” Science. 360（6390）:758-763（2018）.

65）Montoro, D. T., et al., “A revised airway epithelial hierarchy includes CFTR-expressing ionocytes.” Nature 560（7718）:319-324（2018）. doi: 10.1038/s41586-018-0393-7.

66）Yamamoto, Y., et al., “Long-term expansion of alveolar stem cells derived from human iPS cells in organoids.” Nat Methods 14（11）:1097-1106（2017）. doi: 10.1038/nmeth.4448.

67）Huh, D., et al., “Reconstituting organ-level lung functions on a chip.” Science 328（5986）:1662-8（2010）. doi: 10.1126/science.1188302.

68）Huh DD. “A human breathing lung-on-a-chip.” Ann Am Thorac Soc 12 Suppl 1: S42-4（2015）. doi: 10.1513/AnnalsATS.201410-442MG.

69）Weis, J. M., S. A. Staicu, and K. S. Chase. “Lung-on-a-chip microdevice, right ventricular dysfunction as a predictor of survival, and lung ultrasound in community-acquired pneumonia.” Am J Respir Crit Care Med 188（8）:1028-9（2013）. doi: 10.1164/rccm.201303-0469RR.

70）Ligresti G, et al. “A Novel Three-Dimensional Human Peritubular Microvascular System.” J Am Soc Nephrol. 27, 8, 2370-81（2016）.

71）Mishima E, et al., “Alteration of the Intestinal Environment by Lubiprostone Is Associated with Amelioration of Adenine-Induced CKD.” J Am Soc Nephrol. 26, 8, 1787-94（2015）.

72）Baker DJ , et al., “Naturally occurring p16（Ink4a）-positive cells shorten healthy lifespan.” Nature. 530, 7589, 184-9（2016）.
73）Yang HC, et al., “Cells derived from young bone marrow alleviate renal aging.” J Am Soc Nephrol. 22, 11, 2028-36（2011）.
74）Yamamoto T, et al., “Time-dependent dysregulation of autophagy: Implications in aging and mitochondrial homeostasis in the kidney proximal tubule.” Autophagy. 12, 5, 801-13（2016）.
75）Sato Y, et al., “Heterogeneous fibroblasts underlie age-dependent tertiary lymphoid tissues in the kidney.” JCI Insight. 1, 11, e87680（2016）.
76）Salahudeen AK and Bonventre JV., “Onconephrology: the latest frontier in the war against kidney disease.” J Am Soc Nephrol. 24, 1, 26-30（2013）.
77）Kitai Y, Matsubara T, Yanagita M., “Onco-nephrology: current concepts and future perspectives.” Jpn J Clin Oncol. 45, 7, 617-28（2015）.
78）Izzedine H, Perazella MA. “Onco-nephrology: an appraisal of the cancer and chronic kidney disease links.” Nephrol Dial Transplant. 30, 12, 1979-88（2015）.
79）Ida, T., et al., “Reactive cysteine persulfides and S-polythiolation regulate oxidative stress and redox signaling.” Proc Natl Acad Sci U S A 111（21）:7606-11（2014）. doi: 10.1073/pnas.1321232111.
80）Akaike, T., et al., “Cysteinyl-tRNA synthetase governs cysteine polysulfidation and mitochondrial bioenergetics.” Nat Commun 8（1）:1177（2017）. doi: 10.1038/s41467-017-01311-y.
81）Numakura, T., et al., “Production of reactive persulfide species in chronic obstructive pulmonary disease.” Thorax 72（12）:1074-1083（2017）. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-209359.
82）Sze, M. A., et al., “The lung tissue microbiome in chronic obstructive pulmonary disease.” Am J Respir Crit Care Med 185（10）:1073-80（2012）. doi: 10.1164/rccm.201111-2075OC.
83）Sze, M. A., et al., “Host Response to the Lung Microbiome in Chronic Obstructive Pulmonary Disease.” Am J Respir Crit Care Med 192（4）:438-45（2015）. doi: 10.1164/rccm.201502-0223OC.
84）Faner, R., et al., “The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives.” Eur Respir J 49（4）. pii: 1602086.（2017）doi: 10.1183/13993003.02086-2016.
85）Hobbs, B. D., et al., “Genetic loci associated with chronic obstructive pulmonary disease overlap with loci for lung function and pulmonary fibrosis.” Nat Genet 49（3）:426-432（2017）. doi: 10.1038/ng.3752.
86）Woodruff, P. G., et al., “Clinical Significance of Symptoms in Smokers with Preserved Pulmonary Function.” N Engl J Med 374（19）:1811-21（2016）. doi: 10.1056/NEJMoa1505971.
87）Kesimer, M., et al., “Airway Mucin Concentration as a Marker of Chronic Bronchitis.” N Engl J Med 377（10）:911-922（2017）. doi: 10.1056/NEJMoa1701632.
88）Hastie, A. T., et al., “Association of sputum and blood eosinophil concentrations with clinical measures of COPD severity: an analysis of the SPIROMICS cohort.” Lancet Respir Med 5（12）:956-967（2017）.
89）Han, M. K., et al., “Frequency of exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease: an analysis of the SPIROMICS cohort.” Lancet Respir Med 5（8）:619-626（2017）.
90）Fang, L., P. Gao, H. Bao, X. Tang, B. Wang, Y. Feng, S. Cong, J. Juan, J. Fan, K. Lu, N. Wang, Y. Hu, and L. Wang. 2018. “Chronic obstructive pulmonary disease in China: a nationwide prevalence study.” Lancet Respir Med 6（6）:421-430. doi: 10.1016/S2213-2600（18）30103-6

## ２.５.１０　精神、神経疾患

### (1) 研究開発領域の定義

脳神経系の先天的および後天的な変性ならびに機能障害によって発症する疾患領域であり、精神・神経疾患の病因・病態・発症機序の解明と革新的な診断・治療・予防法の開発のため、分子・細胞・システムレベルの異常に関する統合的理解と制御が様々なアプローチから世界的に取組まれている領域である。

### (2) キーワード

精神疾患、神経変性疾患、シナプス伝達、ゲノム解析、全ゲノム配列、次世代シーケンサー、脳画像解析、MRI、PET、死後脳、ブレインバンク、疾患モデル動物、トランスクリプトーム、プロテオーム、マイクロバイオーム non-coding RNA、non-coding DNA、先制医療、A β、タウ、画像診断、早期診断、バイオマーカー、アルツハイマー病、パーキンソン病、タンパク質の伝播、RNA 代謝、ウェルビーイング、社会実装、iPS 細胞、再生医療、遺伝子治療、ゲノム編集、マルチ・オミックス解析、オルガノイド技術、光遺伝学

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

うつ病、統合失調症、神経発達症を初めとする精神疾患は、我が国だけで患者数がおよそ 300 万人余りにも上る（認知症を除く）。しかし、現行の薬物及び心理社会的治療では十分な効果が得られない難治のため社会復帰が果たせない例も多く、患者・家族および社会に甚大な損失をもたらしている。我が国において統合失調症による経済損失は毎年 2 兆 8 千億円[1)]、うつ病は毎年 2 兆円[2)]、また欧州では精神・神経疾患による社会的コストは約 80 兆円と推計された[3)]。しかし、精神疾患の脳病態は未同定であり、生理・生化学的診断検査法も確立していないのが現状である。そのため、革新的な診断・治療・予防法の開発のため病因・病態の解明が急務となっている。現在までに、いくつかの精神疾患に関しては、その治療薬や症状を誘発させる薬剤の作用機序が明らかになった結果、シナプス伝達レベルでの障害の分子薬理学的解析が進展し、創薬に応用されている。また頻度は稀だが発症に強く影響するゲノム変異も同定されつつある。しかし発症に関与するゲノム・環境要因の全貌、さらにゲノム変異から発症に至る分子及び神経回路病態に関しては、未だその詳細が不明であり、臨床的或いは社会的な課題解決のゴールは見えていない。

また、アルツハイマー病、パーキンソン病、運動ニューロン疾患などをはじめとする神経変性疾患も、超高齢化社会において急激に増加しており、その治療法開発は喫緊の課題である。現在の研究の流れの中心は、神経変性の病態解明とそれに基づく超早期診断と病態修飾治療（disease-modifying therapy; DMT）開発である。神経変性疾患は、家族性神経変性疾患の原因遺伝子が同定され、分子病態を標的とした DMT が開発され、その一部は保険診療で使用可能となっている。特に、筋萎縮性側索硬化症（ALS）や球脊髄性筋萎縮症（SBMA）に対する DMT が、我が国で行なわれた治験成績に基づいて世界に先駆けて薬事承認されたことは画期的である。しかし、多くの神経疾患には DMT が存在しない。また、神経変性の病態は発症前よりも 10 ～ 20 年前から始まっていることが明らかになってきており、発症前の先制治療に

向けた研究が盛んに行われるようになってきている。しかしまだ実質的な成功が見られておらず、今後の治療研究のパラダイムシフトが必要であると考えられている。

［研究開発の動向］

（A） 精神疾患

精神疾患の病因・病態の解明を企図して、従来から蓄積されてきた知見は、様々な方法上の問題点と、これらを基盤として新たな戦略を創出する必要性を提起している。本項では、ゲノム、疫学研究、脳画像解析、decoding 技術を含む情報科学、物質代謝の各研究領域の動向について述べる。

（ｉ）ゲノム・エピゲノム

血液や唾液を用いた大規模ゲノム DNA サンプルによる精神疾患とゲノムの関連研究は、米欧のコンソーシアムがリードし、日本、韓国、中国などもより小規模ながら行っている。全ゲノムを対象として頻度の高い一塩基多型（SNPs）を用いた Genome-Wide Association Study（GWAS）の結果、自閉スペクトラム症、統合失調症、双極性障害およびうつ病について、関連するゲノム領域が見出されている[4)]。また、次世代シーケンサを用いたエクソーム解析、マイクロアレイなどの導入により、頻度は低いが（１％未満）疾患との関連が強い、稀な変異として、Copy Number Variation（CNV ）および一塩基変異（SNV）が同定されている。この中には発症の 50 倍以上のリスク変異として、統合失調症では CNV である 22q11.2 欠失や自閉スペクトラム症では SNV である MeCP2 変異も同定され、新たに難病指定された 22q11.2 欠失症候群やレット症候群の診断確定にも変異が活用されているが、これらの変異から発症に至るメカニズムは明らかではない。また体細胞における、SNV、CNV などの変異や、レトロトランスポゾンの挿入による変異の解析が精神疾患患者の死後脳を用いて進められるようになった[5)]。しかし、ゲノム解析結果による診断体系の根本的な再編には至っていない。

我が国では 2017 年に、脳プロによるゲノム大規模ゲノム解析研究により、双極性障害約 3000 名の GWAS 解析[6)]、統合失調症約 1700 名の CNV 解析[7)]、自閉スペクトラム症約 300 家系の全エクソーム解析によるデノボ変異の同定[8)] など、国際的にもレベルの高い研究成果が得られた。双極性障害において見出された脂質代謝に関わる FADS1/2 遺伝子との関連は、双極性障害における栄養学的な予防法・治療法の可能性を示唆した。また、統合失調症研究では関連が確立された CNV（22q11.2 欠失、3q29 欠失など）を含む病的 CNV が患者の 9% に同定され、in silico 解析からゲノム不安定性や酸化ストレス応答異常等の関与が示唆され、分子病態解明、診断法・治療法の開発が進められている。

エピゲノムの変化の解析も国内外で広く行われており、各精神疾患に関連する DNA メチル化パターンの報告があるが、再現性が得られない例もあり、薬物の影響を受ける可能性やパターンの臓器特異性が指摘されていることから、サンプルおよび解析の条件を慎重に検討した上での評価が望まれる。

（ⅱ）疫学研究

従来日本では大規模な精神保健コホート研究が低調であったが、近年、東京ティーンコホートや東北メガバンクの三世代コホートなどが立ち上がっているが、今後は収集された試料・情

報が幅広い研究に活用できるようになることが期待される。また、福岡県の久山町研究という大規模地域コホート研究では、死後に脳組織を収集することを 80% という高い水準で達成している。ある時期に出生した者全員を長期的に観察していく、出生コホート研究は精神疾患について詳しく評価した大規模なものはない。より短期的なコホート研究としては、現在、妊産婦に対するコホート研究が開始されている。妊産婦のうつ病は、母の生活の質（QOL）低下、自殺リスク上昇に加え、児の養育環境に悪影響を与え、時に児童虐待に発展する可能性もあるため、妊産婦のうつ病に対する治療的介入の指針の立案が期待される。また現在、全国 8 か所の地域拠点による認知症大規模コホート研究やいくつかの認知症レジストリ研究が実施されている。さらに、ゲノム変異、特に精神障害の強いリスク因子となるゲノム変異（22q11.2 欠失、MECP2 変異など）を有する方々を、継続的に精神医学的な表現型を収集する、Genotype First Approach による前向きコホート研究についても、倫理的枠組みを含めて検討が進められている。

（iii）ニューロモデュレーション

電気けいれん療法（electroconvulsive therapy: ECT）や経頭蓋磁気刺激（transcranial magnetic stimulation: TMS）は脳神経の機能を直接修飾する治療法で、ニューロモデュレーションと呼ばれている。近年、反復刺激を用いた反復経頭蓋磁気刺激（rTMS）が様々な神経疾患とともに精神疾患（うつ病、不安障害、強迫性障害、統合失調症、嗜癖、転換性障害など）を対象とした臨床試験も多く行われ、左背外側前頭前皮質に対する高頻度刺激を用いた rTMS のうつ病に対する有効性に関するエビデンスレベルは高い [9,10]。様々な刺激方法が試されているが、どの刺激方法が最も効果的かについては、結論は得られていない。今後、治療機序の解明とともに、より効果的な刺激方法の開発に向けた研究が求められている。日本でも 2017 年に既存の薬物療法に反応しないうつ病の治療装置として薬事承認され、近々保険収載される見込みである。また、気分障害に対する高照度光療法や覚醒（断眠）療法などの時間生物学的治療の研究も行われている [11]、今後さらなる作用機序の解明と有効性の検証が望まれる。

（iv）治療薬研究

抗うつ効果の即効性において画期的なケタミンは、精神病症状等の副作用や依存の懸念があったが、副作用が少ないと期待される光学異性体である R- ケタミン有効性が動物実験で示され [12]、臨床試験の結果が大きく期待されている。対人関係性の障害など中核症状に対する治療法のない自閉スペクトラム症に対してオキシトシンを用いた、精神科領域においては医師主導としては初めての大規模な二重盲検比較試験が行われた [13]。

（v）ブレインバンク

米国ではスタンレーブレインバンクをはじめ 100 以上のブレインバンクが活動しており、欧州やオーストラリアにも、大規模なブレインバンクがある。我が国でも、2017 年、脳プロ（AMED）により「日本ブレインバンクネットの構築」課題が開始され、詳細な臨床情報も具備した精神疾患患者脳組織を蓄積・解析するシステムが構築されつつある。

（vi）代謝

精神疾患患者の脳組織、脳脊髄液（CSF）、血液などにおいてトランスクリプトーム解析やプロテオーム解析が行われており、最近では ncRNA（non-coding RNA）の精神疾患への関与が示唆されている。最近は、脳－腸相関が注目され、自閉スペクトラム症を中心として腸内のマイクロバイオーム解析が行われている[14]。精神機能およびその病態における脳－腸相関の意義は、自閉スペクトラム症では消化管障害併存の頻度が高く 14)、さらに母動物の高脂肪食が誘導した仔動物の社会性行動やシナプス活動の異常が腸内細菌叢の変化によって改善したとの報告[15]もあり、研究者の関心を集めている。

**(B) 神経変性疾患**

① 病態解明研究

（ｉ）ゲノム医学・エピゲノム

GWAS が広く行われた結果、疾患感受性遺伝子の影響度は小さく、影響度の大きい遺伝子変化（variation）は、実は低頻度のものである（rare variant）と考えられるようになった。次世代シーケンサーによって全ゲノム配列の解析が可能になり、多因子疾患である孤発性神経変性疾患において発症ならびに疾患の進展に関わる分子病態機序は、パーキンソン病における glucocerebrosidase、多系統萎縮症における coenzyme Q2 などの発見が示すように従来考えられていたより多様であることがわかってきた。特に疾患の進行や病型や予後などに影響を与えるいわゆる修飾遺伝子が見つかってきている。個々の病態ごとの治療法の確立ならびに予防医療の提供（precision medicine）が注目されており、悪性腫瘍（がん）とならんで神経難病を含む希少疾患において活発化している。また環境要因については、ヒストンアセチル化、DNA メチル化などのエピゲノム修飾の異常や体細胞変異を含めた遺伝子発現変化の解析が有用と考えられ、次世代シークエンサーによる解析が期待されている。また、エピゲノムの異常に介入する治療薬の開発研究が進められている。

（ⅱ）RNA 代謝異常

神経変性疾患では RNA 代謝が注目されている。特にマイクロサテライトの異常延長に起因する病態の研究を通じて、変異 RNA の細胞内封入体形成による毒性や、センス鎖だけでなくアンチセンス鎖からの異常 RNA の転写、開始コドンを介在しない複数の読み枠からのホモポリマーの翻訳、さらに snRNP や RNA 結合タンパク質機能喪失による RNA 代謝異常が報告されている[16]。miRNA 生合成や機能破綻、疾患特有 miRNA のほか、異常 siRNA の産生、エピジェネティックなサイレンシングなども示されており[17]、様々なレベルでの神経細胞毒性の複雑な病態が明らかになっている。

（ⅲ）タンパク質老化、毒性の発現・伝播

神経変性疾患全般にタンパク質の凝集体が病態に係わると考えられているが、とりわけβアミロイド、αシヌクレイン、タウについて、その毒性発現機序とともに神経細胞から別の神経細胞へとプリオンの様に伝播するという伝播の考え方が世界的に注目されている[18,19]。実際に凝集タンパク質やオリゴマーなどをモデル動物の脳内の局所に注入しその伝播過程を調べる試みが数多くなされており、病態解明の大きな手がかりとなっている。わが国でもタウの伝播に

ついて多くのエビデンスが出されており、この分野をリードしている。またαシヌクレインについてもモデル動物の開発と解析を精力的に進めており、この分野はわが国の研究者が世界的にもリードする形で活躍しており、神経変性疾患の病態理解や治療法開発の観点からも極めて重要と考えられている。

② 治療法開発研究（抗体治療、核酸医薬、遺伝子治療）

神経変性疾患はニューロン、グリア細胞内外にタンパク質凝集体が蓄積する共通の病理学的特徴を有する。これが主に機能獲得型の毒性を発揮し、さらにこのタンパク質病理がプリオン様に伝播するというパラダイムが唱えられており、この凝集蛋白質（Aβ、タウ、α-シヌクレイン）に対する抗体治療が特にアルツハイマー病を中心に進められているが、いまだ臨床症状の改善につながる成功例は知られていない。

原因遺伝子産物の直接的な標的治療としてアンチセンス核酸（ASO）を筆頭として、抗体、siRNA などのツールを用いて、RNA レベルからタンパク質の発現を制御する病態抑止療法の開発が進んでいる[20]。脊髄性筋萎縮症（SMA）に対する ASO は日米欧の規制当局で承認され使用されている。家族性アミロイドポリニューロパチーの siRNA/ASO 治療の臨床試験も最終段階まで来ている。さらに、Duchenne 型筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィー、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病などでも、ASO やモルフォリノなどの人工核酸を用いた臨床治験が開始されている。

また、遺伝子 DNA を供給・発現させることで不足する遺伝子産物を補充する、狭義の遺伝子治療はウイルスベクターであるアデノ随伴ウイルス（AAV）を中心に実用化の段階に入った。AveXis 社 / ノバルティス社による 1 型 SMA の AAV ベクターを用いた臨床試験は良好な結果が得られていて[21]、米国では画期的治療薬、欧州では PRIME、日本では先駆け審査指定制度の対象に指定され、2019 年には米国で治療の開始が見込まれている。また、わが国ではパーキンソン病の Aromatic l-amino acid decarboxylase（AADC）遺伝子を用いた臨床試験が開始され、筋萎縮性側索硬化症や遺伝性脊髄小脳変性症に対する遺伝子治療の臨床応用が計画されている。

### (C) 脳画像解析・デコーディング

① MRI

MRI は、従来の機能局在から、機能統合という観点からの脳の理解、即ち領域間や空間的に離れた領域の関係性から脳を理解するためのツールとして、また神経回路などのシステムとしての病態を検討するために、神経回路解析の可視化技術が国内外において急激に進んでおり、国内外の大型脳科学プロジェクトにおいても中心的な課題の一つになっている。近年、MRI において拡散尖度画像（DKI）[22]、位相差強調画像化法（PADRE）[23] などが実用化され、神経線維・白質、神経核などの解析能力が格段に向上し、BOLD（Blood Oxygenation Level Dependent）技術、ASL（arterial spin labeling）解析などを使って安静時の脳機能状態を脳部位間の相互関係を合わせて評価することが可能になった（安静時脳機能領域間結合解析、デフォルトモードネットワーク）。これらは、in vivo での精神機能とその病態の解析を大きく発展させることが期待されている。2016 年には、多数例の自閉スペクトラム症者の安静時結合 fMRI から、自閉スペクトラム症に特徴的な神経結合を見出した[24]。双極性障害・うつ病・統

合失調症でも、脳プロ等により、大規模 MRI コンソーシアムが実現し次々と成果が上がっている。また、革新脳においては、脳画像研究において大規模多施設共同研究により、統合失調症における基底核体積変化が発見されるなどの成果が出ている[25]。

神経回路の破綻は症候の発現と密接に関連しており、認知症をはじめとする神経変性疾患の超早期診断方法の１つになると期待されている。神経変性疾患の脳画像は、高磁場～超高磁場 MRI を用いて、軽微な脳萎縮、脳内神経回路（解剖学的および機能的神経回路）、脳代謝（MR スペクトロスコピー）の可視化が進んでいる。組織学的な脳の構造や線維連絡の解析には、通常使われている 3 テスラ MRI 機を遥かにしのぐ解像度を発揮する 7 テスラ MRI 機の応用が期待されている。現在、世界では 50 台以上の 7 テスラ機が稼働しているが、日本で稼働している 7 テスラ機は数台である。さらに、9.4 テスラになると、$^{13}$C、$^{15}$N、17O、$^{23}$Na など、脳内の安定同位元素を画像化することができるので、これまで PET でしかできないと考えられていた脳内物質を被爆することなく、画像化することが可能になる。

② PET

生前のヒト脳で分子イメージングを可能にする PET 技術も大きく進んでいる。神経変性疾患において脳内で蓄積するタンパク質の可視化は非常に有用で、特にタウタンパク質の可視化技術開発はわが国が世界をリードしている[26]。タウの可視化プローブはより特異性の高い第２世代のものが実用化されつつあり、さらに発展が期待される。さらに、TDP-43 やα‐シヌクレインなど、前頭側頭葉変性症（FTLD）やパーキンソン病・レビー小体型認知症にかかわる重要なタンパク質の可視化へ向けた薬剤開発も急ピッチで進んでいる。また、向精神薬と脳内標的分子の結合を実際の患者から得られるようになり、新薬開発の段階で、新薬の脳内標的分子への結合や脳内動態を PET で確認するようになってきている。さらに、PET-MRI では脳代謝と脳形態を同時に撮像できる。ドイツのユーリッヒ研究所では 9.4 テスラ以上の MRI と PET の組み合わせで脳内代謝を PET と MRI の両方で観察している。

③ デコーディング

Brain Decoding とは、脳活動を測定し、脳内にある心的機能に関する信号化された情報を解読（decoding）する技術を指し、Brain machine interface（BMI）は、脳細胞の活動を読み取り、脳と機械の情報伝達を仲介する機器やプログラムを指す。BMI には、人工内耳や人工網膜などの感覚機能の補綴を行う感覚型 BMI のほか、脳活動から脳内の意図を解読し、周辺機器への情報伝達をバイパスすることによって運動・コミュニケーション能力の補綴を行う運動制御型 BMI があり、脳内埋込型電極を用いた動物実験では複数の自由度を持つロボットアームの操作なども可能となっている。fMRI や表面電極留置などによるデコーディング技術と BMI の技術進歩は著しく、神経難病への応用研究も進んでいる。また、生体電位信号から人間の意思を読み取り、人間の思い通りに動く随意的制御システムと、人間のような動作を実現することができるロボット的な自律的制御システムから構成される日本発のパワードスーツである Hybrid Assistive Limb（HAL）の臨床応用も進んでいる。

近年、Brain Decoding として、fMRI における脳血流パターンを解析し、健常者よりも神経精神疾患に特徴的な機能的結合様式を見出し、多施設で診断出来ることが我が国から報告された 24)。こうした技術を応用して、機能的結合の低下している部分を強化して治療を試みる研

究が出てきている。また、筋萎縮性側索硬化症や筋ジストロフィーの患者脳の表面に電極シートを埋め込むことで、考えるだけでロボットアームや意思伝達を行うことに成功した研究も我が国から報告されている。最近では、この脳情報解読技術を用いて脳内の機能異常を視覚・聴覚などの感覚刺激として提示し、被験者が随意的に脳内の機能異常を矯正する「デコーディッドニューロフィードバック」法が我が国で提唱されている。fMRI や NIRS などの非侵襲的脳機能画像を用いた手法による脳卒中後片麻痺後の機能回復促進効果などが明らかになっており、より安全で安価な補完的治療法としての臨床応用が期待されている。

BMI 研究は、医療工学分野における今後の成長分野のひとつとして注目されており、世界的にも開発競争が激化している。今後わが国において BMI 研究を推進させ、できるだけ早く臨床応用へとつなげていくために、実際に患者に接している神経内科医と、基礎研究に携わる神経科学研究者、さらには医療工学分野の技術者を含めた横断的な協力体制を構築し、オールジャパン体制で研究推進を進める必要がある。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

**（A）脳科学技術・トランスレーショナル・リサーチ**

① 次世代シーケンサ

高速化、低価格化が進み、遺伝子解析が加速された。

② iPS 細胞・脳オルガノイド

iPS 細胞研究では、疾患発症の強いリスクであることが立証されているゲノム変異を持つ精神・神経変性疾患症例を対象として、iPS 細胞の作製が進められている。当該 iPS 細胞は、リスクゲノム変異を有する患者の遺伝的性質を反映する解析ツールと考えられ、神経細胞、グリア細胞に分化誘導させて分子病態が解析され、シナプス病態、マイクロ RNA の変化など、ゲノム変異を模したモデル動物や患者死後脳所見と一致するような成果も得られつつある。患者 iPS 細胞由来の疾患モデル組織（脳オルガノイド）の作製が始まっており、分子病態解明の手がかりが得られつつあり、創薬の実現やバイオマーカー研究で見出した分子の病態における意義の検証が期待される。

（ｉ）iPS 細胞技術を用いた ALS 治療候補薬の探索

ALS 患者由来の iPS 細胞から作製した運動ニューロンを用いた病態解析と創薬スクリーニングが行われている。Harvard Stem Cell Institute の研究グループは、カリウムチャンネルの阻害剤 Retigabine が ALS 運動ニューロンの興奮性の亢進と運動ニューロン死を抑制する作用があることを見出した[27]。Retigabine は、欧米ですでに抗てんかん薬として承認されている薬剤であり（日本では未承認）、ドラッグ・リポジショニングとして ALS に対する第 2 相介入試験が米国で 2015 年から開始されており、2018 年にはその結果が報告される。また、慶應義塾大学の研究グループは ALS 患者由来運動ニューロンを用いて、既存薬ライブラリーから ALS 関連の表現型を抑制する化合物をスクリーニングし、新しい ALS 治療薬候補としてロピニロール（ROPI）を見出した[28]。同剤はパーキンソン病の治療薬として世界中で広く使用され（本邦でも保険適用）、安全性が高く、現在、ROPI を用いた ALS に対する医師主導治験

が計画されている。

（ⅱ）iPS 細胞由来ドーパミンニューロンを用いたパーキンソン病の治験

京都大学のグループは 2018 年より「iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞を用いたパーキンソン病治療に関する医師主導治験」を開始した。同大学 iPS 細胞研究所から提供された iPS 細胞をドパミン神経前駆細胞へ分化させ、ドパミン神経前駆細胞をパーキンソン病患者の被験者の脳に移植（他家移植）する計画である。

③　核酸医薬

特定の遺伝子の発現を抑制（ヘテロ核酸）、または促進（遺伝子スイッチ）する新たな技術が創出され、これら核酸医薬の脳移行技術の開発も進んでいる。多種の脳内分子の特異的制御が可能になりつつあり、それらは創薬標的としての期待も大きく、精神・神経変性疾患の治療・予防法の開発が飛躍的に進展することが期待される。

④　脳組織を対象とする in vivo ゲノム編集法の開発

ゲノム編集技術は、神経科学領域でも非常に注目されているが、ニューロンのような非分裂細胞では、極めて効率が悪かった。米国 Salk 研究所のグループは相同性を利用しない方法（homology-independent targeted integration（HITI）strategy）を開発し、非分裂細胞においても効率よくノックインを行うことが可能となった。この方法でラットの網膜色素変性症の実験的治療に成功している [29]。

⑤　オプトジェネティクス（光遺伝学）

特定の神経細胞に、光に反応して神経細胞が興奮するような蛋白質などを発現させて、神経細胞の活動を人為的に操作する手法。観察するだけではわからない神経回路の動態と行動の間の因果関係を解明できる新たな技術として注目されている。

**（B）精神疾患**

①　心理社会的治療法研究

医療において、科学的根拠に基づく治療（evidence-based medicine: EBM）とともに「物語りと対話」あるいは「価値」に基づく医療の重要性が再認識され、それにともない医師や研究者が決めたアウトカムでなく、患者が報告するアウトカム（patient-reported outcome : PRO）を重視する動きがある。精神疾患においては、単なる症状の改善ではなくて、主観的ウェルビーイング（subjective well-being : 主観的に、精神的、身体的、社会的に良好な状態）や人生の主導権を自分に取戻すという人としての回復（personal recovery）が重要なアウトカムと認識されつつある。心理社会的療法の開発においても、ウェルビーイング、回復といったアウトカムが取り入れられていくものと思われる。海外におけるエビデンスが明確となっており、メタ解析や治療ガイドラインによって実施が推奨されている心理社会的治療として、統合失調症の「家族心理教育」、就労を支援する「援助付き雇用」、生活支援を生活の場で行う「包括的地域生活支援（ACT）」、認知機能の改善を図る「認知機能リハビリテーション」、社会的スキルの獲得により自立した地域生活を支援する「社会生活技能訓練（SST）」、精神疾患の知識を高め治療アドヒアランスを向上させるための「心理教育（服薬教室など）」などがあげられ、

我が国での検証が課題とされている。また、心理社会的療法が脳機能に及ぼす影響についても関心が寄せられており[30]、臨床面での有効性との関連が示唆されている。

② 高齢化が世界で最も急速に進んだ日本で顕現してきた認知症患者の精神症状のケアにおいて患者の主観を考慮した医療（ウェルビーイング）が求められている。日本の動向がこれから高齢化の進む各国から注目されている。

**(C) 神経変性疾患**

（ⅰ）ニューロ・リハビリテーション

リハビリテーションは脳卒中だけでなく神経変性疾患の治療にも有効であるというエビデンスが揃いつつある。様々な神経科学的知見・工夫を加味したニューロ・リハビリテーションを行うことで、効果を増強することが可能となって来ている。例えば、神経内科主導でおこなったボツリヌス毒素による脳卒中後の下肢痙縮に対する臨床試験で、世界で初めて、その安全性・有効性を証明し、世界に先駆けて、本薬剤の下肢痙縮に対する認可を得た。これは、米国から見学者が来るなどの「逆ドラッグラグ」が生じている。また、特殊なリハビリテーションと併用することにより、寝たきりの脳卒中後遺症患者を歩行可能にすることにも成功している。さらに、我が国の先端医療技術開発特区で開発され、極めて安全性・有効性の高い新世代ボツリヌス毒素製剤（A2NTX）などの先進バイオテクノロジーを用いた治療薬の開発、あるいは上述の HAL などパワードスーツ（ロボットスーツ）をリハビリテーションに応用する技術開発などが進んでいる。

（ⅱ）孤発性神経変性疾患の発症前・前駆期指標（バイオマーカー）の開発

孤発性神経変性疾患の病態抑止治療開発には早期神経変性過程を見出すことが重要である。これまでアルツハイマー病において研究が進んできたが、近年パーキンソン病においても大きな進展が見られている。複数の疫学研究を基に、研究用に前駆期における診断基準が提唱された。特にレム睡眠行動障害は高効率にパーキンソン病やレビー小体型認知症を発症することが明らかとなり、臨床的な前駆状態として欧米および日本においてコホート研究が行われている。また、中心的背景病理であるリン酸化αシヌクレインを皮膚や腸管の生検で見いだせることが明らかとなっており、早期診断へ向けた重要なツールとして精力的な研究が進められている。

パーキンソン病において、非運動症状やドパミントランスポーターシンチを用いて、運動症状が出現する前の診断が試みられつつある。単一遺伝子病の発症前診断は患者の次世代血縁者を遺伝子診断することで比較的容易に可能であり、ハンチントン病などに対して発症前治療が計画されつつある。

様々な神経変性疾患において発症前のバイオマーカーの開発が盛んである。この中で特にタウ沈着の PET 画像化は重要である。第 1 世代のタウプローブはタウ以外の分子への結合性が見られたが、これを改善した第 2 世代のプローブが実用化されてきており今後の展開が期待される。また、血液中や髄液中のエクソソームが、それぞれの疾患の病態関連タンパク質と関連して変化することを示す報告が急速に蓄積されつつある[34]。タンパク質自体に比して、細胞外小胞は測定が容易というメリットがある。これが発症前のマーカーになりうるかどうかは更に検討が必要である。アルツハイマー病においては、疾患修飾薬のターゲットが疾患治療から

発症前予防へとシフトしてきており、さまざまなバイオマーカーを活用しながら、前臨床段階やMCIからの進展を予防していく戦略の実現可能性が高まってきている[35]。

（iii）腸内細菌叢と神経変性疾患

末梢における炎症がマイクログリアを介した神経変性疾患の発症に係わる可能性が指摘されており[36]、その中で腸内細菌叢の変化が、認知機能低下やパーキンソン病の臨床病型などに関与することが報告されつつある。

**[注目すべき国内外のプロジェクト]**

● 神経変性疾患レジストリー

疾患レジストリーを治療法開発に利用する取り組みは、がんや循環器疾患などの領域で先行しているが、神経疾患領域でも多くの疾患について国際的な大規模コンソーシアムが構築されつつある。病態関連分子、特に神経変性疾患の治療標的分子の開発について、モデル動物探索により得られた機能分子のヒトにおける病態的意義を、大規模患者レジストリのゲノムデータなどから同定する試みが盛んに行われるようになってきている。日本、中国、韓国でのレジストリーは単施設ベースであるが、症例数は既に大規模である。今後は欧米のようにアジア共同でのコンソーシアム構築が望まれる。

例えば神経変性疾患であるALSについては、米国において2008年にALS Registry Actが Public Lawとして制定[34]され、ALS患者の悉皆的登録が行われている。これは疫学的研究に加え、臨床試験リクルートにも活用されている。また、北米では大規模な臨床試験実施施設のコンソーシアムが結成されており、代表格のNEALS（Northeast ALS）には120以上の施設が参加し、40以上の臨床研究を実施してきている。ヨーロッパにおいては各国の主要なALS診療施設37か所が参加してENCALS（European Network for the Cure of ALS）が構成され、臨床観察研究および臨床試験が実施されている。中国、韓国、日本では2,000例規模のALSレジストリーが構築されている[32,33]。特に我が国のJaCALSでは、ゲノム、不死化細胞などとともに経時的な臨床情報を詳細に採取しており、ALSの創薬開発に貢献している。

● 未診断rare diseaseの登録・診断

米国ではThe NIH Undiagnosed Diseases Program（UDP）が2008年に組織され、2012年にThe Undiagnosed Diseases Network（UDN）として全米の拠点に発展拡大された。網羅的ゲノム解析、遺伝子機能解析、メタボロミクス、モデル生物解析を行う拠点が整備されている。また、日本ではAMEDにより「未診断疾患イニシアチブ（IRUD）」が2015年に開始された。

**(5) 科学技術的課題**

**(A) 精神疾患**

① 改善すべき研究方法の問題点

（ｉ）診断法開発研究

精神疾患において信頼性・妥当性の高い診断基準の確立の努力が続けられてきた。臨床・研究ともに、DSM-5（精神障害の診断と統計マニュアル、世界的に用いられている米国精神医

学会が作成した診断基準で、2013 年発表の DSM-5 が最新）が、臨床現場では ICD-11（国際疾病分類、世界的に用いられている WHO が作成した診断基準で、2018 年発表の ICD-11 が最新）が主要な診断基準として用いられている。DSM-5 も ICD-11 もともに、基本的に精神症状に基づく（病因・病態によらない）操作的診断基準（各臨床症状に対して症状の有無が判断され、ある一定の症状の基準を満たすかどうかで各精神疾患の診断カテゴリーに分類される方法）であり、同一診断カテゴリーに含まれる集団は生物学的異種性を伴い、また異なる診断カテゴリー間の境界線も曖昧で臨床ならびに生物学的特徴において重複が存在する。そのため、DSM-5 や ICD-11 に基づく精神疾患の病態研究は困難なものとなり、対象患者の異種性は治療薬開発の成功率の低さの原因のひとつである。この克服のためには、画像研究やバイオマーカー研究を含む生物学的研究ならびに心理社会的研究の導入の必要がある。また、DSM-5 や ICD-11 の操作的診断分類は病因・病態に基づいていないため、病因・病態に基づく治療法開発に繋がらない。一つの診断名の中に、異なる病因・病態が混在しており、認知機能障害や気分症状のように程度の差こそあれ複数の疾患にまたがって認められる症状も多い。このようにカテゴリカルな操作的診断分類の限界に対し、米国 NIH が主導する Research Domain Criteria（RDoC）[37] は、ディメンショナルな観点（神経回路を基盤とした各症状に対して連続的な重症度を用いて行われる評価）に基づいた新しい疾患へのアプローチ法であり、注目されているものの、その意義には議論もある。特定の診断ではなく特定の機能障害に着目した研究を推奨しており、診断横断的な臨床評価、心理社会的評価ならびに生物学的解析（ゲノム、画像、バイオマーカーなど）が精神疾患の病態研究に必要と考えられている。

（ⅱ）心理的課題中の脳活動の変化に関する機能的脳画像を用いた研究における再現性と対照群

論文に発表されたデータの再現性が低いこと（30%台）が Science 誌に取り上げられた。インパクトファクターが高い雑誌に掲載された論文でも、対照群の設定が不適切で、結果から著者が主張する結論を導くのが困難な例が多く見受けられ、我が国でも早急に対策を講じる必要がある。

（ⅲ）服薬の影響

精神疾患の患者を対象とする研究では、得られた結果が服薬の影響でないことを慎重に検討することが不可欠である。しかし、未服薬の段階でのデータサンプリングは困難であり、薬物による変化であったことが明らかになる例が多い。未服薬の状態では、症状が重度で、(a) 研究への協力の同意能力がない、(b) 同意が得られても諸検査に対応できない、などが障害となる。このため、薬物の影響を動物実験などで調べ、ヒトと対比するなどの解決策を工夫しなければならない。

（ⅳ）血液におけるバイオマーカーの検索

血液中物質は末梢臓器、食餌、運動などの影響を受け易く、従来の研究結果から見ても、そのまま測定するだけでは、脳における変化を血液中で反映するマーカーを検索することは困難である。このため、状態依存性の state-marker ではなく、状態非依存性の trait-marker を捉える方法を考案する必要がある。

（ｖ）脳画像計測指標（機能的バイオマーカー）

多施設共同研究によるデータ集積と解析技術の進歩に伴い、精神疾患ごとに特徴的な所見が報告されるようになった。脳画像法を駆使して、仮説検証型の研究を行うと共に、データを蓄積してデータベース化しモデルフリーの AI 解析等により新たな精神疾患の分類が議論されている。精神疾患においては、モデル動物のヒト疾患への外挿可能性を行動の類似性のみで評価するのは困難であり、モデル動物とヒトで共通に利用でき、創薬研究や臨床試験にも応用可能な脳画像計測指標（トランスレータブル脳指標）の開発が必要になっている。脳 MRI の形態や機能指標のほか、生理的指標であるミスマッチ陰性電位、ガンマオシレーション、眼球運動などが候補として挙げられる。

② 研究戦略の見直し

（ｉ）ゲノム解析研究

精神疾患は、双生児研究などの成果から、発症に遺伝的要因と環境要因が関与することが明らかになっており、近年は特に、発症に強く関わる稀なゲノム変異（例えば、22q11.2 欠失や MeCP2 変異）が同定されている。しかし、これらゲノム変異から精神疾患発症に至る 、分子メカニズムや回路病態が未だ同定されるに到っていない。その背景には、神経疾患（神経変性疾患）とは異なり、脳内の神経病理学的所見（アミロイドによる老人斑や、αシヌクレインによるレビー小体なｄ）が同定されていない点があげられる。また精神疾患の症状が、対人関係性など、げっ歯類モデルでは脳の構造レベル（対人関係性に関与する前頭葉 Granular zone がげっ歯類にはかけている）からも再現が困難である点もあげられる。この点を克服するには、より多数例での解析が必要と考えられるほか、霊長類モデル動物や、ゲノム変異を有する患者由来 iPS 細胞から分化させた神経系細胞・組織を活用することが重要と推察される。

（ⅱ）精神機能に関与する脳の情報処理

現在は、「運動や知覚」を制御する情報処理システムの解析方法に準拠して、「意思決定、感情（快・不快を含む）、思考などの精神機能」の基盤となる情報処理過程やその異常を脳画像などで検討している。しかし、既に蓄積されてきたデータや、異分野の研究状況を見ると、両者の違いを認識し、情報科学領域などと連携して後者を研究する新たな戦略の創出に向けた準備を開始する段階にあると考えられる。

**（B）神経変性疾患**

① 治療法が存在する脳血管疾患や神経免疫疾患などについては、precision medicine による治療の最適化に加え、機能再生のための BMI や再生医療の開発が必要である。

② 神経機能「再生」治療の実現

神経変性疾患は発症後の進行抑制治療介入では失われた神経細胞の補完はされず、症状は回復しないので、失われた神経細胞を補完する再生医療研究の進展が期待される。各種幹細胞、iPS・ES 細胞を活用した、細胞・組織移植再生治療は神経変性疾患の治療法として大きな期待がかかる。パーキンソン病ではすでにヒトにおいて胎児神経組織などの移植治療の経験があり、軽・中等度症例を対象として臨床研究・治験が開始されるものと考えられ、将来の臨床応

用は十分期待される。また、栄養因子・抗炎症作用を有するグリア細胞移植も可能性がある。さらに、脊髄小脳変性症、筋萎縮性側索硬化症、脳梗塞など多くの神経疾患を対象として、特定の神経回路・ネットワークの再構築方法の確立が必要である。複雑かつ精緻な脳組織の再生は一見不可能のように思えるが、自己組織化技術を用いた試験管内での眼球や下垂体あるいは脳オルガノイドなどの神経組織誘導の成功は、その可能性を示している。

③　神経変性疾患の治療開発における問題点

神経疾患の研究において解決されていない重要課題の一つは、神経変性疾患などにおける病態過程そのものを抑止しようとする治療法の開発である。従来の神経変性疾患の治療薬のほとんどは神経伝達物質などの補充を目的としたものであり、こうした治療法は神経症状の緩和には役立つものの、疾患の本質そのものには介入できないという欠点がある。近年様々な神経疾患の分子病態が明らかとなり、それをターゲットとした治療薬の開発が急速に進められており、根本的治療として大きな期待を寄せられている。しかし、動物モデルを用いた治療研究から臨床応用へと展開するトランスレーショナル・リサーチは多くが成功しておらず、開発の方法論が見直しが迫られている。例えば、アルツハイマー病については、異常集積するアミロイドβ蛋白質を標的とした抗体療法やワクチンなどが動物モデルにおいて認知機能を改善することが示された。実際、その一部は患者脳においてもアミロイドβ蛋白質の集積を抑えることが示された。しかし、臨床的効果を示すことが出来なかった。同様の状況は他の神経変性疾患にも共通している。この原因としては、症状の定量的評価、薬効評価方法が確立されていないこと、患者数が少ないことや経過が極緩徐・長期にわたることなどがあり、このことが基礎研究と臨床試験の結果の乖離の原因となっている。このギャップを乗り越えるには、霊長類などよりヒトに近いモデル動物の開発や、患者由来 iPS 細胞を用いた病態解明と創薬、有効性評価の指標となるバイオマーカーの開発など革新的な手法・概念を導入した研究が必要である。

④　病態解明の方法論

神経変性の病態に関わる因子は、タンパク質の凝集、リン酸化などの修飾、RNA 代謝変化、DNA の non-coding 部位の構造変異やメチル化などのエピゲノム変化など、多くの要因が複合的に絡んでいるのではないかということが徐々に明らかになってきている。一方では、これらの個々の要因を網羅的に解析する方法が発展してきている。しかし、これらのビッグデータを解析し病態解明に結びつける方法論の開発は今後の重要な課題である。

⑤　神経変性のバイオマーカーの開発

神経変性は発症より 20 年も前からその病態が進行していることが明らかになってきている。このため、(3) 注目動向で述べた発症前治療（先制治療）の重要性が言われているが、それを明確に検出するバイオマーカーが不足している。有効なバイオマーカーの開発が急務であり、今後の研究の大きな領域である。

**(C) モデル動物**

遺伝子改変技術、ウイルスベクターによる遺伝子導入技術や CRISPR/Cas9 システムによるゲノム編集技術をコモン・マーモセットに用いた疾患・治療研究が革新脳を主体として進行し

つつあり精神活動・高次機能の解明が期待されている。解析方法も生化学・病理学的手法に加えて、行動・心理学的評価法の確立、MRI や PET などの画像解析、fMRI やオプトジェネティックスによる神経活動の光学的解析など非侵襲的計測技術の新規技術開発、高性能化が急速に進んでいる。これら技術を標準化し集学的に適用するための実験動物開発・維持・供給研究拠点および貴重な高等動物の組織バンク等の整備が推進されるべきである。ポストゲノム解析、エピゲノム修飾、メタボローム、プロテオーム解析などにより動物モデルの網羅的解析を行うこと、神経回路・活動の変化・異常を前述したような非侵襲的計測技術を用いて解析することが、ますます疾患研究において重要となりつつある。

精神疾患は、ゲノムと環境因子の相互作用により発症する。精神疾患に関連した頻度の高い多型、あるいは頻度は低いが発症に強く関わる変異などのゲノム要因が次々と明らかにされてきたことに加え、ゲノム編集技術やウイルスベクター等の進展も加わり、げっ歯類や霊長類を用いたモデル動物の作製が可能になりつつある。特に、霊長類を用いると社会行動の障害をより詳細に捉え、その神経回路病態や分子病態を検討することも可能[38]となる。また PET および超高磁場 MRI などによるヒトとの直接的な比較により、種を超えたトランスレータブル脳・行動指標を用いた神経回路病態解析が可能となりつつある。22q11.2 欠失や MeCP2 変異等、ゲノム研究から得られた発症に強く関わるゲノム変異情報と疫学研究から得られた遺伝環境相互作用をモデルに組み込んだモデル動物研究が望まれる。

### (D) トランスレーショナル・リサーチ

① 疾患 iPS 細胞を用いた表現型の解析においては、single cell RNA seq をはじめとした少量のサンプルを用いたマルチ・オミックス解析を迅速に行うことが可能性になる技術開発が進めば、疾患の表現型解析や創薬研究のスピードアップが可能性になると思われる。

② *In vivo* 条件に近い３次元培養（ブレイン・オルガノイド）に注目が集められているが、オルガノイドごとの実験結果のばらつきが大きな問題となっており、均一かつ再現性の高いオルガノイドの形成技術の開発が必要であろう。

③ 遺伝子治療技術は、特に AAV ベクターの開発が最近急速に進み、実用化も進んでいるが、神経系について言えば、成人の血液脳関門を通過できる技術の開発が課題である。

④ 今後取組むべき研究テーマとして、a）光遺伝学あるいは化学遺伝学などの神経回路操作技術の臨床応用、b）*in vivo* ゲノム編集の進化・効率化、c）*in vivo* 状況を反映するブレイン・オルガノイドの本格化　が挙げられる。

## (6) その他の課題

### (A) 精神疾患

精神疾患では、現在までの研究成果を分析すると、神経疾患で成功した戦略だけでは病因・病態の解明が難しいことが明らかになりつつある。科学技術的課題で述べた通り、疾患研究データの意義の再検証および新規利用法の創出と、新しい戦略の開拓が求められる。従って、国内においては、次のような研究および研究支援制度の整備が急がれる。

● 包括的治療プログラム開発・普及研究

精神疾患においては、治療を行ったすべての患者の 30-50％しか、効果が得られないということが指摘されており、新たな診断法・治療法の開発が不可欠であることは言うまでもないが

[39]、一方で30-50%の患者には治療の効果が得られているので、現在ある治療法を均てん化し普及することも重要な課題である。そのために必要な、標準的な手法で作成された各精神疾患診断治療のガイドラインは十分備わっていない。ガイドラインを作成し普及させ、更に検証を行い、ガイドラインの改訂と普及方法の向上を進めていくプロセスが必要と考えられる。この分野の研究は、地味ではあるが目の前の精神疾患患者に一番早く届く研究であると言える。既存診断における客観的診断法の開発や層別化、既存治療法の改良研究も、現在ある診断と治療の普及と均てん化に直結する研究であり、新規診断法・治療法の開発で見出された様々なバイオタイプなどを、臨床実装していくものである。臨床実装への道筋は、例えばあるバイオタイプについて、一施設における再現性の検討、多施設における再現性の検討を経て、認可を受け診療報酬が認められるようになるという過程を経る必要がある。また、例えば診断法開発においては、簡単に扱える機器の開発、検査の短時間化、費用なども課題になる。

多くの生物学的治療や心理社会的療法の開発は、単独の効果を評価する研究によって進められている。一方、臨床現場ではそうした治療法を組み合わせることで、最大効果を挙げるよう工夫している。しかし、適正な治療法の組み合わせに関する研究は少ない[40,41]。今後、様々な生物学的治療や心理社会的療法を組み合わせた包括的治療法の開発、検証を社会実装研究として推進する必要がある。これらの診断法・治療法の均てん化と普及研究や社会実装研究は、比較的新しい分野であるため、医学研究者にはなじみが薄く、取り組む研究者は少なく、日本の臨床研究の弱さとして問題となっている。基盤的な下支えを行う研究施設が中心となり、キャリア形成も含めた人材育成システムを構築する必要がある。

さらに上述のディメンショナルな観点も踏まえた、より洗練され、生物学的に妥当な精神疾患の診断分類体系と診断法の構築を目指し、全国規模の研究組織を立ち上げる。そして、精神疾患患者について、1）標準化または互換性のある脳画像および神経生理学的（眼球運動、事象関連電位ほか）検査、2）全ゲノム（血液）シーケンス解析、3）標準化した精神症状評価、4）服薬などの治療状況の評価、5）患者特性のリスト、6）死後脳のゲノムおよび遺伝子・タンパク質発現解析などを行う。精神疾患モデル動物の画像解析、脳の遺伝子・タンパク質発現解析を合わせて実施し、データベース化する。これらを、種々の研究に活用し、既存の診断分類によらない、疾患の特徴およびデータに基づいた類型化を行う。

● 研究体制の変革

精神医学は患者を対象とした臨床研究と、病態メカニズム解明に必要なモデル動物・細胞モデルとを有機的に連携させた、臨床・基礎融合研究が必要であるが、診療・教育で多忙な臨床教室において、高度な先端的実験研究を行うことは容易ではなく、先端的実験研究を行っている基礎研究者が臨床研究を行うことは不可能である。そのため、臨床研究者と基礎研究者が一体となって研究できる体制の整備が急務である。1つの講座・研究室等の中で、臨床を軸としたPI（教授等の主任研究者）が、基礎を軸としたPIと共に、研究員、心理職、技術職、バイオインフォーマティシャンなど、多様なスタッフのチームを統率し、基礎研究から臨床研究まで、トランスレーショナルな視点を持ち基礎・臨床を統合させた研究を展開することが目標となる。

### (B) 神経変性疾患

● 疾患レジストリー

神経変性疾患の治療法開発について、いくつかの大きな問題が残されている。発症前および病態進行前での先制介入のためにはバイオマーカーの開発が大きなポイントではある。しかし、治験の実効性の観点から、希少性による症例確保、病態経過や病型の多様性、経過が緩徐で半年や1年の治験では科学的な確証が得づらい、などの問題がある。また、神経変性疾患では、臨床症状の発症前から生化学的・病理学的変化が進行していると考えられるようになっており、今後は発症早期および発症前も視野に入れた臨床研究を進めていく必要がある。疾患の進行を推し量るためには、経時的な追跡が重要であるが、患者数や観察期間などが限られる治験・臨床試験のみで得られるエビデンスは限定的である可能性がある。また、ロボットリハビリや呼吸、栄養への介入など、ランダム化比較試験が困難な介入の検証も求められる。これらを解決する方策の1つとしてすでに動いている疾患レジストリー構築をさらに加速して日本全体、あるいは国際的に進めることが重要である。さらに、疾患レジストリーを有効な形で構築するには長期に渡る継続的な事業にする必要性が高い。事実、欧米ではハンチントン病や遺伝性アルツハイマー病、遺伝性脊髄小脳変性症などの保因者の大規模レジストリを用いたコホート研究が進んでおり、それに基づいて発症前の先制医療の臨床試験が行なわれている。遺伝性疾患の発症前（保因者）を研究で扱うには、遺伝子診断やカウンセリングなど倫理的に配慮すべき点が多く、我が国は遅れている。しかし、今後の治療法開発にとっては必要不可欠な分野であり、産官学による体制の整備が急務である。わが国では、がんなどで法制化されていることもあり、悉皆性を持った疾患レジストリー、コホートが比較的よく構築されている。この背景を活かして、今後の国あるいは国際的な施策としていくことが重要である。

● バイオバンクの確立

脳神経疾患の克服には、臨床情報に紐付けられた生体試料（血液、細胞（iPS 細胞を含む）、ゲノム、髄液）や死後脳を含むバイオリソースの系統的かつ統合的な集積は不可欠である。欧米では国家戦略としてバイオリソースの構築が推進され、英国では UK Brain Bank Network という統合データベースにより 7,000 症例の脳組織が利用可能となっている。一方、わが国では、幾つかの神経内科学ならびに神経病理学教室の自助努力で、バイオリソースの蓄積が行われてきた。これらのリソースは、臨床情報に信頼性がある、画像情報が充実している、病理情報が確実である、iPS 細胞樹立可能である等の国際的優位性を持つ。しかし、収集情報の基準が統合されていない。今後統一された基準で収集されたバイオリソースネットワークの確立が急務である。これは、今後の疫学研究、介入研究の成否に直結する。収集する情報、検体、収集方法、診断方法、保存方法などを共通化し、データベースを構築し、産学連携も含めた公平で幅広いリソース活用を推進することが強く望まれる。

● 疫学研究

神経疾患の有病率や実態把握と共に、診断法の確立とバイオマーカー開発、発症や進行に関連する危険因子の解明や治療法の開発、さらに、予防・ケア・介護の展開に向けて、疫学研究・臨床研究は不可欠である。我が国においては、認知症、脳卒中などの比較的頻度の多い神経疾患に関しては縦断的疫学データベースの構築が行われいるが、頻度の低い神経難病に関しては欧米に比較して高精度の縦断的疫学研究が少ない。縦断的研究により、初めて神経疾患の進行や予後に関する危険因子の解明、予防・治療法の開発やその評価や効果の検証などの実施が期

待される。

● データ解析技術

技術的革新に伴い得られるデータが巨大化しており、それらを扱う、神経疾患に精通した情報工学者、また臨床研究を推進できる生物統計学者、さらにそれらの研究基盤を支える支援スタッフの育成が急務である。また、昨年公布された「医療分野の研究開発に資するための匿名加工医療情報に関する法律（次世代医療基盤法）」により、カルテ情報を含む医療情報を利活用した研究を円滑に行う環境が整備されつつあり、これを生かした神経疾患研究を今後推進していく必要がある。

● GCP 基準のもとに行う治験・臨床研究推進体制の整備

発症機構が分子レベルで解明され、治療の標的分子が同定され、開発候補薬物（シーズ）が発見された後の研究もきわめて重要である。神経疾患には稀少疾患が多いが、最近は稀少疾患に対する治療薬開発に対する優遇制度も整備され、企業の関心は高まってきている。これには稀少疾患の病態がコモンな疾患と共通している場合がしばしばあり、希少疾患の治療法開発から、より広範な疾患の治療開発に応用可能なブレークスルーが得られる期待があるためである。しかし「死の谷」と言われるように、実用化に至らない創薬研究が多く存在する。よって、膨大な数のシーズを創薬開発につなぐ仕組みを構築する必要がある。臨床試験・治験等の臨床研究の推進については、わが国でも ARO（academic research organization）など治験の実施体制の強化が進められてきており、かなり改善してきている。しかし、企業主導の治験の実施に比べて、医師主導の治験の場合はやはり医療現場の負担が大きすぎるのが実情であり、神経疾患や認知症性疾患に特化した支援体制のさらなる充実が望まれる。また、従来わが国の「臨床試験」の多くは GCP 基準の位置づけではなく実施されてきた。しかし、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に加え「臨床研究法」が施行され、法規制のもとに特定臨床研究として厳密に遂行することが求められている。アカデミア発の研究を臨床応用するためには、この基準に対応しうる体制を ARO とも連携して整備していく必要がある。また、再生医療については、規制緩和や迅速審査については我が国で法的整備が整って来ているが、再生医療製品以外にも一般的な薬剤にも適応されるべきである。

### (C) ゲノム研究

精神・神経疾患の遺伝的素因や表現型を明らかにするためには、全世界レベルでの大規模な患者集団を対象とした全ゲノム配列の解析が必要であり、まさにこのような巨大プロジェクトが米国の Broad Institute を中心に進められている。このプロジェクトには、患者のコンソーシアムの形成、個人情報保護、研究者間のデータシェア、情報処理など、日本にないシステムが多く、非常に学ぶところが多い。研究を効率的に進めるという立場で、規制やサポート体制を再検討すべきかと考えられる。また、次世代シーケンサーによる解析費用は膨大であり、大型研究として位置づけ、次の点を推進する必要がある。①全国規模で大規模な症例・対照の臨床情報、ゲノムリソースの収集、ゲノムデータの共有、②大規模ゲノム解析が可能な研究拠点の整備、③国際共同研究が必須となる。

### （7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・基礎神経科学では、世界に先駆け、マイルストーンになる研究が行われてきており、精神疾患研究の潮流に影響を与えている。<br>・fMRI の技術を開発し脳機能研究に広く応用されている。<br>・ゲノムレベルでの遺伝的均質性が比較的高いことから、欧米人よりも少ない人数によるゲノム研究で、より確実な所見を得ることが期待できることも有利である。<br>・種々の脳内分子に対する PET リガンドの開発が進んでいる。<br>・齧歯類に加え霊長類（マーモセット）の遺伝子改変技術を確立し、疾患モデル作製技術で優位性を有する。<br>・革新脳研究では、世界に先駆けてマーモセットの神経回路可視化を進めている。<br>・革新脳や融合脳において、神経変性過程で重要なタンパク質の可視化に向けた基礎研究が進んでいる。<br>・革新脳では、ヒトと非ヒト霊長類で共通の系で計測できるトランスレータブル脳指標の開発が進んでいる。<br>・革新脳では、ヒトと非ヒト霊長類で共通の系で計測できるトランスレータブル脳指標の開発が進んでいる。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・iPS 細胞を用いた病態解明と、パーキンソン病をはじめとする神経難病への治療応用が進んでいる。<br>・神経変性疾患に治療におけるニューロ・リハビリテーションの開発が積極的に行われている。<br>・運動ニューロンを障害する神経変性疾患である筋萎縮性側索硬化症（ALS）と球脊髄性筋萎縮症に対する疾患修飾療法（DMT）が、我が国の基礎研究と治験成績に基づいて、世界に先駆けて薬事承認された。<br>・BMI 技術を基盤として我が国で開発されたロボットスーツ HAL が、医療機器として承認され、普及した。」<br>・アンチセンス核酸やモルフォリノを用いた、筋ジストロフィーなどの難病に対する遺伝子治療の開発が進んでいる。<br>・パーキンソン病や多系統萎縮症などの難病に関するゲノム解析により、孤発例を含めた遺伝的要因を同定し、それを応用した治療法開発が進んでいる。」<br>・我が国は、MRI の設置台数が世界一であり 、PET や脳磁図計（MEG）の設置台数も多く、医学研究を行うための資源においても世界トップ水準である。<br>・製薬産業は、我が国の主要基幹産業の 1 つである。グローバルな製薬企業が中枢神経系創薬から撤退する中でも、国内の主要製薬企業は精神疾患治療薬の開発を継続している。また、医療機器開発でも、ウェアラブルデバイス（身体に装着できる端末）としても期待される近赤外線スペクトロスコピーの開発などで健闘している。<br>・精神疾患では、海外の大手製薬メーカーがこの領域から撤退を宣言する中、国内複数の製薬メーカーで治療薬の独自の開発が行われている。<br>・運動系、知覚系における decoding 技術と BMI への応用では米国に迫る進歩が見られる。<br>・大規模な多施設共同研究により、MRI 構造画像や安静時機能的 MRI 画像から精神疾患の有力なバイオマーカーが見出され、国際的に高い先駆性をもつ。<br>・大規模な多施設共同研究により、MRI 構造画像や安静時機能的 MRI 画像から精神疾患の有力なバイオマーカーが見出され、国際的に高い先駆性をもつ。<br>・タウのイメージングでは、タウへの特異的結合を高めた第 2 世代のプローブが開発されており、実用化に向けて進展している。<br>・諸外国に比して、基礎や応用研究の成果を社会応用するための方策に乏しい。開発した薬剤が海外製薬会社（例、General Electric Company）などに流れている。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | ↗ | ・世界の脳科学研究全般をリードしている状況が続いている。<br>・大規模サンプルにおける精神疾患の分子遺伝学的解析をリード。<br>・MRI による脳の構造や機能の解析方法の開発をリード。<br>・薬物依存の研究では突出した水準を保っている。<br>・光遺伝学を用い記憶想起によるうつ病モデル動物の新しい改善方法を開発した[42]。<br>・全ゲノム解析データを基に統合失調症や自閉スペクトラム症の発症に強く関与する稀なゲノム変異を見出している。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | ↗ | ・多くの大手製薬メーカーがこの領域から撤退を宣言しているが、少数のメーカーが精神疾患の治療薬開発と臨床試験を継続している。<br>・ケタミンの難治性うつ状態の速効性改善効果を見出し、創薬に繋がる研究成果を上げている［3］。<br>・従来の疾患分類に基づく研究から診断横断的に機能ドメイン（感情価、認知、対人機能、睡眠・覚醒）に基づいて脳病態を研究する方向性を NIMH が主導（RDoC INITIATIVE）[37]。<br>・認知機能障害が診断横断的に患者の社会機能に大きな影響を及ぼすことから、世界に先駆けて、国家的な産官学連携プロジェクトを立ち上げ、統合失調症の認知機能障害治療薬や心理社会的治療法の開発に取り組んでいる。<br>・Human Connectome Project では、1,200 人の健康成人（比較的若い）の詳細な脳画像と遺伝子配列、行動的特徴を集めてデータベースとすることを目指す研究が、NIH と関連大学の共同で進んでいる。<br>・PET プローブが商業ベースに乗るなど、各分野において応用研究から産業化への道がスムーズに動いている。 |
| 欧州 | 基礎研究 | ◎ | → | ・統合失調症治療薬（抗精神病薬）、抗うつ薬、抗不安薬の発祥の地である。<br>・多くの大手製薬メーカーがこの領域から撤退を宣言しているが、少数のメーカーが精神疾患の治療薬開発と臨床試験を継続している。<br>・全ゲノム解析データを基に統合失調症や自閉スペクトラム症の発症に強く関与する稀なゲノム変異を見出している。<br>・英国では UK Brain Bank Network という統合データベースにより 7,000 症例の脳組織が利用可能となっている。<br>・PET、MRI 等を使った脳機能解析法の解析をリードしている。<br>・Human Brain Project は、スーパーコンピューター上に、ジュネーブ近郊にある欧州合同原子核研究機構と同程度の計算能力を有する完全なるヒトの脳モデル作成を目指しており、EU が 16 億ドルの予算で立ち上げた。<br>・IMAGEN プロジェクトは、欧州各国がコンソーシアム型の領域融合型で研究を推進し、脳の機能的ネットワーク上で発現する遺伝子の同定などに成功している[43]。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・統合失調症、うつ病、自閉症などへの早期介入研究が行われ成果をあげている。<br>・うつ病に対する薬物療法と認知行動療法の臨床比較研究をリードしている。<br>・最近世界で初めて GLYT1 グリシン輸送体阻害薬の開発に成功した。統合失調症の難治性症状に対する効果は見られなかったが、他の精神疾患への応用が試みられている。<br>・大規模ヒトイメージングコホートが構築されており、その結果も幅広く利用可能となっている。<br>・企業と大学との連携がスムーズに進んでいる。 |
| 中国 | 基礎研究 | ○ | ↗ | ・脳科学領域では世界的な影響をもつ独創的な成果は得られていない。<br>・疾患研究を含む脳科学の大型プロジェクト Brainnetome が立ち上がった[44]。<br>・米国で経験のある脳科学者がレベルの高い研究を行っており、霊長類も活用し易い研究環境であることから、今後の発展が注目される。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・診断・治療法に関する独自の研究成果や創薬は未だ見られないが、基礎研究の発展に伴い成果が予想される。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 韓国 | 基礎研究 | △ | ↗ | ・脳科学領域では世界的な影響をもつ独創的な成果は得られていない。<br>・米国で経験のある脳科学者がレベルの高い研究を行っており、疾患研究を含む脳科学の核となる研究所や大型プロジェクトCFCが立ち上がり、今後の発展が注目される。 |
| | 応用研究・開発 | △ | → | ・独自の治療薬開発は未だ行われていないが、基礎研究の発展に伴い期待される。<br>・治療薬の臨床試験体制は充実してきている。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル
（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない
（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

## （8）参考文献

本稿は、日本精神神経学会「精神疾患の克服と障害支援にむけた研究推進の提言」(http://www.brainscience-union.jp/wp/wp-content/uploads/2018/05/43ae11a6527b8d48c5293972294d509a.pdf)、 および日本神経学会「神経疾患克服に向けた研究推進の提言 2018」(http://www.brainscience-union.jp/wp/wp-content/uploads/2018/05/3007fd36f07356e4d8544d987aef4f1a.pdf) を基にした。

1）Sado M, Inagaki A, Koreki A, et al.（2013）The cost of schizophrenia in Japan. Neuropsychiatr Dis Treat 9:787–798
2）Sado M, Yamauchi K, Kawakami N, et al.（2011）Cost of depression among adults in Japan in 2005. Psychiatry Clin Neurosci 65:442–450
3）Smith K（2011）Trillion-dollar brain drain. Nature 478:15–15
4）http://www.med.unc.edu/pgc/results-and-downloads（Psychiatric Genomics Consortium）
5）西岡将基 , 文東美紀 , 笠井清登 , et al.（2016）次世代シークエンサーを用いた脳ゲノム解析 . 分子精神医学 16:180–185
6）Ikeda M, Takahashi A, Kamatani Y, et al.（2018）A genome-wide association study identifies two novel susceptibility loci and trans population polygenicity associated with bipolar disorder. Mol Psychiatry 23:639–647
7）Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, et al.（2017）High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. Mol Psychiatry 22:430–440
8）Takata A, Miyake N, Tsurusaki Y, et al.（2018）Integrative Analyses of De Novo Mutations Provide Deeper Biological Insights into Autism Spectrum Disorder. Cell Rep 22:734–747
9）Lefaucheur J-P, André-Obadia N, Antal A, et al.（2014）Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation（rTMS）. Clin Neurophysiol 125:2150–2206
10）Brunoni AR, Chaimani A, Moffa AH, et al.（2017）Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation for the Acute Treatment of Major Depressive Episodes: A Systematic Review With Network Meta-analysis. JAMA Psychiatry 74:143–152
11）Dallaspezia S, Suzuki M, Benedetti F（2015）Chronobiological Therapy for Mood Disorders. Curr Psychiatry Rep 17:95

12）Zhang J-C, Li S-X, Hashimoto K（2014）R（－）-ketamine shows greater potency and longer lasting antidepressant effects than S（＋）-ketamine. Pharmacol Biochem Behav 116:137–141
13）Yamasue H, Okada T, Munesue T, et al.（2018）Effect of intranasal oxytocin on the core social symptoms of autism spectrum disorder: a randomized clinical trial. Mol Psychiatry
14）Luna RA, Savidge TC, Williams KC（2016）The Brain-Gut-Microbiome Axis: What Role Does It Play in Autism Spectrum Disorder? Curr Dev Disord Rep 3:75–81
15）Buffington SA, Di Prisco GV, Auchtung TA, et al.（2016）Microbial Reconstitution Reverses Maternal Diet-Induced Social and Synaptic Deficits in Offspring. Cell 165:1762–1775
16）Mohan A, Goodwin M, Swanson MS（2014）RNA-protein interactions in unstable microsatellite diseases. Brain Res 1584:3–14
17）Abe M, Bonini NM（2013）MicroRNAs and neurodegeneration: role and impact. Trends Cell Biol 23:30–36
18）Goedert M, Masuda-Suzukake M, Falcon B（2017）Like prions: the propagation of aggregated tau and α-synuclein in neurodegeneration. Brain 140:266–278
19）Guo JL, Lee VMY（2014）Cell-to-cell transmission of pathogenic proteins in neurodegenerative diseases. Nat Med 20:130–138
20）Keiser MS, Kordasiewicz HB, McBride JL（2016）Gene suppression strategies for dominantly inherited neurodegenerative diseases: lessons from Huntington’s disease and spinocerebellar ataxia. Hum Mol Genet 25:R53-64
21）Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, et al.（2017）Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. N Engl J Med 377:1713–1722
22）Billiet T, Vandenbulcke M, Mädler B, et al.（2015）Age-related microstructural differences quantified using myelin water imaging and advanced diffusion MRI. Neurobiol Aging 36:2107–2121
23）Kakeda S, Korogi Y, Yoneda T, et al.（2011）A novel tract imaging technique of the brainstem using phase difference enhanced imaging: normal anatomy and initial experience in multiple system atrophy. Eur Radiol 21:2202–2210
24）Yahata N, Morimoto J, Hashimoto R, et al.（2016）A small number of abnormal brain connections predicts adult autism spectrum disorder. Nat Commun 7:11254
25）Okada N, Fukunaga M, Yamashita F, et al.（2016）Abnormal asymmetries in subcortical brain volume in schizophrenia. Mol Psychiatry 21:1460–1466
26）Maruyama M, Shimada H, Suhara T, et al.（2013）Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls. Neuron 79:1094–1108
27）Wainger BJ, Kiskinis E, Mellin C, et al.（2014）Intrinsic membrane hyperexcitability of amyotrophic lateral sclerosis patient-derived motor neurons. Cell Rep 7:1–11
28）Fujimori K, Ishikawa M, Otomo A, et al.（2018）Modeling sporadic ALS in iPSC-derived motor neurons identifies a potential therapeutic agent. Nat Med 24:1579–1589
29）Suzuki K, Izpisua Belmonte JC（2018）In vivo genome editing via the HITI method as a tool for gene therapy. J Hum Genet 63:157–164
30）Pu S, Nakagome K, Yamada T, et al.（2014）A pilot study on the effects of cognitive remediation on hemodynamic responses in the prefrontal cortices of patients with schizophrenia: a multi-channel near-infrared spectroscopy study. Schizophr Res 153:87–95
31）https://wwwn.cdc.gov/ALS/Download/ALS%20Registry%20Act%20（Public%20Law%20110-373）.pdf

（Agency for Toxic Substances & Disease Registry ホームページより）
32）Chen L, Zhang B, Chen R, et al.（2015）Natural history and clinical features of sporadic amyotrophic lateral sclerosis in China. J Neurol Neurosurg Psychiatry 86:1075–1081
33）Oh K-W, Moon C, Kim HY, et al.（2015）Phase I trial of repeated intrathecal autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in amyotrophic lateral sclerosis. Stem Cells Transl Med 4:590–597
34）Thompson AG, Gray E, Heman-Ackah SM, et al.（2016）Extracellular vesicles in neurodegenerative disease - pathogenesis to biomarkers. Nat Rev Neurol 12:346–357
35）Beheshti I, Maikusa N, Daneshmand M, et al.（2017）Classification of Alzheimer’s Disease and Prediction of Mild Cognitive Impairment Conversion Using Histogram-Based Analysis of Patient-Specific Anatomical Brain Connectivity Networks. J Alzheimers Dis 60:295–304
36）Perry VH, Holmes C（2014）Microglial priming in neurodegenerative disease. Nat Rev Neurol 10:217–224
37）https://www.nimh.nih.gov/research-priorities/rdoc/index.shtml
38）Yoshida K, Go Y, Kushima I, et al.（2016）Single-neuron and genetic correlates of autistic behavior in macaque. Sci Adv 2:e1600558
39）Wong EHF, Yocca F, Smith MA, et al.（2010）Challenges and opportunities for drug discovery in psychiatric disorders: the drug hunters’ perspective. Int J Neuropsychopharmacol 13:1269–1284
40）Matsuda Y, Sato S, Iwata K, et al.（2014）Effects of risperidone and aripiprazole on neurocognitive rehabilitation for schizophrenia. Psychiatry Clin Neurosci 68:425–431
41）Sato S, Iwata K, Furukawa S-I, et al.（2013）The effects of the combination of cognitive training and supported employment on improving clinical and working outcomes for people with schizophrenia in Japan. Clin Pract Epidemiol Ment Health 10:18–27
42）Ramirez S, Liu X, MacDonald CJ, et al.（2015）Activating positive memory engrams suppresses depression-like behaviour. Nature 522:335–339
43）https://imagen-europe.com/
44）http://www.brainnetome.org/en/

## ２．５．１１　感染症（ワクチン・アジュバント・抗菌薬・抗ウイルス薬など）

### (1) 研究開発領域の定義

人類の健康を脅かす様々な感染症（ウイルス、細菌、真菌、薬剤耐性、人獣共通感染ほか）を克服するために必要な、感染／発症／拡大のメカニズム研究、新規診断・治療技術（抗ウイルス薬、抗菌薬、ファージ治療など）、次世代ワクチン・アジュバントの開発、生産・製造技術確立などの感染症に関する基礎研究から臨床応用研究を包含する領域である。

### (2) キーワード

ウイルス、細菌、真菌、原虫、新興・再興感染症、薬剤耐性、分子疫学、ワクチン、抗原、アジュバント、自然免疫、レギュラトリーサイエンス、AMR、BSL-4、NTDs

### (3) 研究開発領域の概要

**[本領域の意義]**

有史以来、最も多くの人類を死に至らしめた疾患は感染症である。公衆衛生・栄養状態の大幅な改善、様々な治療・予防技術の確立により、感染症による健康被害はある程度コントロール可能となった。しかし、海外でエボラ出血熱、ジカ熱などの新興感染症が猛威を振るったのは記憶に新しい。また、わが国では結核が再燃し患者数を増やすなど、再興感染症も大きな問題である。新たなタイプの感染症として、多剤耐性菌が世界中で問題となっている。感染症は決して過去の疾患ではなく、今も甚大な健康被害をもたらし続ける深刻な疾患である。現在問題となっている感染症、および将来的に登場するであろう未知の感染症の両方への対策は喫緊の課題である。本研究開発領域は、わが国を含む地球上の人類全ての福祉に直結する 、重要性の高いものである。

**[研究開発の動向]**

①治療技術開発（抗菌薬、抗ウイルス薬など）

1970 年代初頭には、様々な感染症に対するワクチンや抗菌剤の登場により、感染症は過去のものになると思われた時期があった。しかしながら現実には、その後多くの新興感染症が出現するにとどまらず、先進諸国では過去の感染症として忘れられかけたものが再興感染症として新たな脅威となり現在に至る。グローバル化の加速により、顧みられない熱帯病（NTDs）への対応も国際社会に求められている。加えて、古くから環境や生体内に存在しながら、宿主生体防御機構が正常に働く限り重篤な感染は起こさない弱毒菌や平素無害菌とよばれる病原体が、医療の進歩に伴う生体防御能の低下した易感染性宿主（compromised host）の増加や、高齢化に伴うハイリスク者の増加、介護施設への集中化によって、いわゆる日和見感染や院内感染を引き起こしている。有効な治療薬剤さえ存在すれば何れのタイプの感染症も治療は可能であり、それによって伝染拡大を防ぐことは可能である。しかし、1950 ～ 1980 年にかけて多種多様な抗菌剤が上市され、やや過剰に使用されたこともあって、本来は有効なはずの抗菌剤で治療できない薬剤耐性菌（antimicrobial resistance, AMR）が急速に増加してきた。過去には、薬剤耐性を克服する新たな作用を示す新規抗生物質や合成抗菌剤が次々と開発され、耐性菌感染を凌ぐことが可能であったが、微生物側の変異能や遺伝子獲得能の高さによって、対

応困難な新規耐性菌や多剤耐性菌の増加に歯止めがかからない状況に至っている。このような現状で、新たな治療薬剤の開発は急務であり、それなしには感染症の脅威を抑制することはできないと危惧される。一方で AMR の根本的解決を促すための新たな試み、たとえばヒトのみならず、家畜、家禽、養殖魚などへの抗生物質の総量を規制し、環境への放出を減らすといった対策から、腸内細菌などの常在菌叢の制御による感染予防、感染防御能力の向上や耐性菌に対するワクチン開発なども考えられている。

戦後急速に新規登録が減少し、抑圧に成功したかに見えた結核でも、世界的に多剤耐性結核（MDR-TB）が増加し、さらに MDR-TB のうち実に 30%が超多剤耐性結核（XDR-TB）となっている[1)]。わが国では、性菌や原虫に対する抗菌薬であるメトロニダゾール類似の新規抗結核薬デラマニドが開発され、2015 年に WHO の必須医薬品リストに掲載されるなど画期的な抗菌薬となっている（デラマニドは既存の抗結核薬と作用機序が異なるため（メトロニダゾールはプロドラッグで低酸素でしか活性化しないが、デラマニドは結核菌内で活性化され殺菌効果を示す）、潜在結核にも効く可能性がある抗結核薬である）。

このような画期的な抗菌薬の開発は今後とも重要であるが、抗菌薬の開発スピードは大きく低下しているのが現状である。今後深刻さを増すであろう AMR へ対応するには、コンセプトの異なる新たな治療法の確立が期待される。その切り札として近年ますます注目されているものがバクテリオファージ（ファージ）である。ファージは細菌に感染するウイルスで、細菌の表面構造や鞭毛などを認識して自身の DNA を宿主細胞に注入すると細菌の代謝の仕組みを利用して増殖する。最終的に溶菌酵素によって細菌を溶解させて娘ファージを放出する。この溶菌システムを利用して、細菌感染症の抗菌治療を行うのがファージ療法（ファージセラピー）である。ヒトに対するファージ療法は長年、ロシア、グルジア、ポーランドでのみ行われていた。しかし米国でも 2016 年に、多剤耐性菌アシネトバクターの感染で昏睡状態にあった症例にファージ療法が施され、最終的に回復に至った。これは永らく抗菌薬に頼ってきた米国において、多剤耐性菌感染症を初めてファージの全身投与で抗菌治療に成功した例として大きな反響を呼んだ[2)]。同じく米国では、2017 年 7 月に FDA と NIAID 共催のワークショップ「ファージセラピー：科学的および行政上の課題」が開催され、ファージの薬事承認が中心的な話題であった。フランス、ベルギー、スイスでは、熱傷患者に対するファージ療法のフェーズⅡが 2015 ～ 17 年にかけて行われ、良好な効果を示したと報告されている。その後も、急性呼吸器感染症や関節炎に対するファージ療法の臨床治験が相次いでスタートしている。わが国では以前からファージの基礎研究は行われているものの、これらの成果を生かした臨床応用例はない。

既存の抗菌薬と比較し、ファージにはさまざまな利点がある。ファージは細菌に特異的に感染し、ヒトや動物細胞には感染しないため副作用が少ない。実際これまで、治療や臨床治験でファージ粒子による副作用は報告されていない。また、菌種特異性も高いことから、対象以外の細菌に影響を及ぼさず、常在細菌叢が保護される。他にも、殺菌機序が既存の抗菌薬と異なるため、薬剤耐性菌にも効果を示すこと、さらなる特徴として、ファージは化学物質と異なり遺伝子改変が可能である事が挙げられる。実際、遺伝子改変によりファージの殺菌活性や安定性を上げる事や、宿主感染域を変更する事ができる。また、遺伝子改変が可能であるということは、ファージに対する耐性菌が出てもその都度ファージの構造を容易に再構築させることで、耐性菌対策ができる。2014 年には、ゲノム編集システムで用いられる CRISPR-Cas9 とファージを組み合わせて、遺伝子配列特異的な抗菌製剤を作製した報告も相次いだ。最近、国内では

CRISPR-Cas システムとファージを組み合わせて、狙った細菌を選択的に殺菌する新しい抗菌製剤を開発する動きもある。　このような耐性遺伝子や毒素遺伝子を保有する菌を選択的に殺菌する抗菌製剤は、既存の化学物質主体の抗菌薬では不可能なことであり、今後この技術はポスト抗菌薬時代の抗菌治療を担う有望な分野として発展して行く可能性がある。

ファージは地球上に $10^{31}$ 個も存在すると言われ、謎の多かった生物ではあるが、昨今の高速シーケンサー技術や遺伝子編集技術の開発により、その全貌が明らかになりつつあり、遺伝子改変も容易になってきた。今や試験管内で自由にファージを合成できる時代にもなりつつある。これらの技術はわが国でも十分に培われているため、ファージ療法の実現を含むファージ研究開発のさらなる発展を推進する地盤は確保されている。基礎生物系の学会として最も規模の大きい日本分子生物学会の前身がファージ研究会だったように、わが国も元々ファージ研究が盛んであった土壌もある。近年、さまざまな分野の研究者がファージ研究に流入し、わが国ではファージ研究の再興の兆しが見える。なお、2006 年からは分子生物学会に置き換わったファージ研究会も別の組織として復活し、近年のファージ療法への注目も相まって会員数を着実に伸ばしている。

FDA が 2006 年に食品にファージを添加することを認めた経緯もあり、ファージを主体としたベンチャー企業は米国や欧州に数多く存在する。しかし、わが国ではファージを扱うベンチャー起業はごく少数（RePargen 社など）である。基礎研究から臨床応用までを促進できるシステムと迅速な審査体制の確立もさることながら、企業の後押しや産業界との連携を推進する必要がある。実際、ファージは医学だけではなく、畜産業や農業、環境保全、食品製造などさまざまな細菌制御領域に使用可能である。ファージ研究開発の推進は、医療分野だけでなく他の分野も総合的に活性化するという点でも重要であり、分野横断的な研究開発体制の構築と研究費の投入が効果的である。

抗ウイルス薬の観点から、新興感染症の中でも最も重大視された HIV 感染／ AIDS は、長らく致命的感染症であったが、HAART 療法の開発によりコントロール可能な疾患へと変貌してきた。その背景には、膨大な研究費と研究者が投入され、レトロウイルスの感染機構や病態の詳細が明らかにされたことが大きい。すなわち、十分な基礎研究の蓄積が新たな治療薬や治療法の開発には不可欠であり、それを基盤としての薬剤開発の連携連動がなされることが肝要である。ウイルス性肝炎は恒常的に存在する重大なウイルス疾患である。C 型肝炎ウイルスに関しては、薬剤開発が進み、2015 年 9 月 1 日、抗ウイルス薬レジパスビル / ソホスブビル（商品名ハーボニー配合錠）が発売された。一錠 8 万円と高価であるが、持続的ウイルス陰性化（SVR）率 100 %と根治を望める状況になりつつある。今後は薬価などの医療経済効果の検証と肝がんへの移行の監視が重要となると考えられる。一方、慢性化すると薬剤での治療が困難な B 型肝炎ウイルスに関しては、近年、ジェノタイプ A（性感染が多く慢性化しやすい）の B 型肝炎ウイルス感染が日本でも拡大しており、注意が必要である [3) 4)]。ウイルスは種類によってゲノム構造、複製の機構も多様であり、スペクトルの広い抗菌薬開発に比べると、抗ウイルス薬の開発は容易ではない。しかし、エイズウイルス、インフルエンザウイルス、ヘルペスウイルスに対する抗ウイルス薬の開発は、これら主要ウイルスの十分な基礎研究成果を基に一定の成果を収め、他のウイルス性疾患に対する薬剤開発の機運も高まっていると判断される。西アフリカでの異常なエボラウイルス病のアウトブレイクでは、ヒト型モノクローナル抗体薬（ZMapp）が急遽使用され、一定の効果をあげた可能性が示唆されている 5)。さらにわが国で

インフルエンザ薬として開発されたAviganがエボラウイルス病の治療に奏功する可能性がでてきた[6]。このほか、わが国でも抗エイズ薬、抗インフルエンザ薬などの開発も進んでいる[7][8][9][10]。新薬開発の潜在力は存在しており、臨床応用を促進させられるシステムと迅速な審査体制（先駆け審査指定制度など）の更なる拡充が重要となる。同時に、アカデミア主体の基礎研究成果から生まれるシーズや、ベンチャーでの小規模開発をバックアップしていくこともますます必要となると考えられる。

②予防技術開発（ワクチンなど）

ワクチンは現存する医療技術の中でもその起源が最も古く、かつ、有効なもののひとつである。ジェンナーやパスツールに始まるワクチンは、天然痘の撲滅や世界の大部分の地域におけるポリオ根絶宣言に見られるように、公衆衛生としての感染症対策に大きな役割を果たしてきた。現在ではおよそ15種類の病原体に対するワクチンが世界で広く用いられており、疾病の流行防止や疾病の発症抑制および軽症化を目的として接種されている。このようなワクチンの効果が見られる病気はvaccine preventable disease（VPDs）と総称されている。しかし、3大感染症として対策が求められているエイズ、結核、マラリアをはじめ、数多くの感染症がいまだに世界の多くの人々を苦しめており、先進国中心の従来の枠組みをこえたグローバルなワクチン開発が求められている[11]。また、頻度は少ないながらもワクチン接種によって引き起こされる様々な程度の副反応や健康被害も、大きな医学的・社会的問題となる可能性を秘めている。これらの課題を解決し、またそれぞれの病態に適した免疫応答を誘導できる有効性と安全性を兼ね備えた次世代のワクチン開発には、現代免疫学の知見に基づいた科学的なアプローチが不可欠である。2011年にワクチン開発に直結する成果の多い自然免疫の研究、樹状細胞の研究の先駆者にノーベル生理学・医学賞が与えられたことからも窺えるように、過去十数年の間にワクチン、アジュバントの分子レベルの作用機序解明が急速に進展してきた。抗原探索技術も進み、近年、高速シークエンサーによる未知のウイルスの同定が可能になり、構造生物学のアプローチを用いた多くの病原体株に中和活性をもつ抗体エピトープの解析技術、そして遺伝子組み換え技術を用いたDNAやRNA、ウイルスを用いた次世代ワクチン、またそれらの迅速な作成技術、ウイルスやタンパク質などの大量生産技術など革新が続いている。すなわち、新規ワクチン開発を可能とする技術的基盤は大きく進展した状況にあると言える。

わが国の予防接種政策と海外との格差は「ワクチンギャップ」と呼ばれ議論の対象となっていた。しかし、2012年の経口ポリオワクチン（OPV）から不活化ポリオワクチン（IPVおよびDPT-IPV）への切り替え、2013年からインフルエンザ菌b型（Hib）、肺炎球菌（PCV7、現在はPCV13）、ヒトパピローマウイルス（HPV）に対するワクチンが定期接種化され、さらに水痘ワクチンも2014年10月に定期接種化された。2016年10月にはB型肝炎ワクチンの定期接種化が開始されている。接種可能なワクチンの種類および費用面でのワクチンギャップはほぼ解消に向かっていると言える。また、比較的近年になって開発されたH1N1新型インフルエンザワクチン（日本は特例承認）やHPVワクチンには免疫効果を高める為にAS04、MF59、AS03といった新しいアジュバントが使用されている特徴がある。

国外では十数年前より、国内でも数年前より、各国政府や国際機関が感染症対策の一環としてワクチン開発やその周辺技術革新に多額の研究費を投入してきた。特に米国、欧州、シンガポール、韓国などでは、バイオインフォマティクスを駆使した防御抗原検索や有効性指標の探

索、自然免疫制御能力に応じた各種アジュバント開発研究、ワクチンの効果的なデリバリーに重要なドラッグデリバリーシステム（DDS）やベクターの開発研究とその生体イメージング技術の応用などがその投資対象である。逆にわが国では、免疫学や微生物学、細胞生物学、生体工学といった基礎研究は高いレベルにあったものの、ワクチン開発に特化した技術開発、応用研究には目立った国の予算がつかず、過去 20 年間、新規のワクチン開発が停滞してきた。これに対して、疫学を中心とした海外感染症研究拠点形成や、緊急ワクチン輸入やワクチン製造施設建設などに国家予算が費やされた。その理由として、前臨床試験から臨床現場まで、利用される動物の数、ボランテイアの数、関与が求められる研究者の数、費用、年月のすべてが膨大になっていること、さらには、世論などによるワクチンの安全性に対する厳しい監視の目が考えられる。

しかしながら、ここ数年、ワクチン開発には消極的だった日本の産業界でもインフルエンザをはじめ多くの感染症をターゲットとしたワクチン開発研究に大手製薬企業やベンチャー企業が参入を表明するなど、ワクチンとその周辺技術をとりまく R&D は急激に活発になっている[12)]。このような時流をとらえ、「創薬支援ネットワーク」や「開発特区」「薬事法、医師法を含むワクチン開発の法制度改正と規制緩和」を最大限活用し、ワクチン開発の「ニーズ」と「シーズ」を効率よく、かつ上市を目標とした現実的な開発を行うべきである。日本の「高品質」すなわち「安全、安心」というブランドが日本のワクチンにも存在することをアピールする最大の武器になることも考慮し、韓国、中国、インドなどのアジア諸国と連携しつつも日本がリードする形で規格を作っていくような戦略も有効だと考えられる。その他、アジュバントはワクチンが効果的に効くためには必須のものだが、実験的には自己免疫疾患や自己炎症性疾患を誘導するリスクをも負っている。そのため、アジュバント開発は、有効性だけでなく安全性も向上させる研究、すなわち、その分子レベルでの作用機序解明といった地道な努力が必要になると考えられる。特に最近導入された HPV ワクチン接種後に見られる長期体調不良例の報告や、主に北欧諸国で報告が相次いだ AS03 が添加された H1N1 新型インフルエンザワクチン（日本は特例承認）接種後の明らかなナルコレプシー発症の増加など、新しいアジュバントの使用に対して冷静にかつ科学的に検討すべき課題も指摘されている。安全性の向上を目指し、これらの副作用の科学的検証を疫学的、生物学的見地から行う必要が高まっている。一方で、日本を除くほとんどの諸外国で、がん予防はがん治療（特に進行がん治療）に比べて圧倒的に費用対効果が優れていることから、がん予防に資するワクチン研究も推進されており、昨今導入され注目されている免疫チェックポイント薬などと併用する複合療法の臨床試験も活発になってきている。世界のがん免疫療法の潮流と競争における日本のワクチン開発研究能力、ワクチン審査行政の今後の動きが注目される。

### （4）注目動向

**［新展開・技術トピックス］**

ヒト免疫不全ウイルス（エイズウイルス）感染者と非感染者のカップルにおいて、抗ウイルス薬 使用により、感染が 94%減少可能であるという報告[13)] がサイエンス誌において 2011 年の 10 大ニュースのトップに選出された[14)]。

ヒト免疫不全ウイルス感染症に対する感染予防薬（抗ウイルス薬を含むゼリーや徐放性の薬剤を含むリングなど）の開発に注目が集まっている[15)]。

インド、パキスタンにおいて広域βーラクタム薬を分解する酵素「ニューデリー・メタロ - β - ラクタマーゼ 1（NDM-1）」を産生する、新型の多剤耐性菌の感染・増加が報告されている[16]。ほとんどの抗菌薬に高度耐性を示す NDM-1 を保有する菌として大腸菌や肺炎桿菌の割合が高いこともあり、今後注意を要する。

新興ウイルスの出現は続いており、医療のみならず、社会問題に発展するケースが相次いでいる。2011 年、中国で血小板減少を起こす SFTS ウイルス（ブニアウイルス科フレボウイルス属）が新たに報告された[17]。また、2012 年のカンボジアにおける小児の原因不明発熱性疾患死亡事例へのエンテロウイルス 71 の関与[18]なども挙げられる。同 2012 年には中東地域を発端とし発生したラクダなどの動物から媒介され、重度の肺炎などを引き起こす MERS コロナウイルス、2013 年 1 月に国内の患者が初めて確認されたマダニ媒介性の重症熱性血小板減少症候群（SFTS）、2014 年には日本では東京の中心部で発生し、70 年ぶりの流行となったデング熱、同年にはアフリカ諸国でエボラ出血熱が大流行し多くの死者が出た。2015 年以降ブラジルでジカ熱ウイルスが流行し、それが原因と思われる感染妊婦から小頭症児の出生が問題になっている。

ピロリ菌による発がん機構に関しては、日本人研究者によって、CagA が責任分子である証明と詳細な分子機構の解明が進んでいる[19]。感染と発がんの間にある大きなギャップ（ピロリ菌感染者の多くは胃がんを発症しない）は不明なままであったが、宿主ゲノムの多型が関連することが予想され、大規模シークエンス技術の発展により、その同定が可能になってくると考えられる。

ウイルス遺伝子断片のゲノムへの組み込みが報告され、ウイルス感染への抵抗性などとの関連が予想されている[20]。進化の中で動物とウイルスにゲノムの置換が起こり、固定されたものと考えられており、今後の研究進展が注目される。

ワクチンは感染症だけでなく、アルツハイマー病やてんかん、高血圧、禁煙、肥満などに開発の対象が拡大している他、高価な抗体医療の代替として生体内で抗体を産生させるようなワクチン、自己免疫疾患に対する免疫寛容誘導ワクチンも開発の試みが始まっている[21]。感染症に限定しない広義のワクチン療法の体系的な推進が求められる。

昨今の新興、再興感染症やバイオテロに対する対策研究として未知の病原体感染体や付随する病態に対する正確な早期診断法、病原体同定法の研究と、それに必要な基礎研究が重要視され始め、迅速な病原体遺伝子同定技術や、遺伝子ワクチンの作成技術、自然免疫アジュバントなどによる免疫獲得の時間短縮といった萌芽的成果がみられる[22]。

細菌感染症の抗菌治療分野で、バクテリオファージ（ファージ）が新たな抗菌製剤として注目されている。ファージ療法はロシア・グルジア・ポーランドで永らく行われていた治療法であるが、近年、米国や欧州で相次いで薬剤耐性菌に対するファージ療法の成功例が報告されている。ファージは、既存の抗菌薬とは異なる殺菌メカニズムを持つため薬剤耐性菌にも効果を発揮する。また、ファージは自在に設計・合成できるため、今後は人工合成ファージによる狙った細菌を選択的に殺菌する抗菌治療法の進展が注目される。



### [注目すべき国内外のプロジェクト]

海外では、主に米国 NIAID および CDC が地球規模の感染症研究を強力に推進している。欧州では、仏国のパスツール研究所が大きな存在感を示している。わが国も、多くの研究者に

よる精力的な活動により、米仏に並ぶ国際的な感染症ネットワークを構築し、また感染症研究においても大きな存在感を発揮している。文部科学省「感染症研究の今後の在り方に関する検討会」報告書（平成 28 年 7 月）の提言を踏まえて、平成 29 年度より AMED「感染症研究革新イニシアティブ（J-PRIDE）」事業が開始された。同事業はわが国における感染症研究機能の強化を目指すもので 2 つのタイプの研究が推進中である。1 点目は、BSL4 施設を中核とした感染症研究拠点の形成について、事業主体としての長崎大学に対し、エボラウイルス感染症等の病原性の高い感染症に係る研究開発に必要な支援が行われている。2 点目は、創薬シーズ探索につながる感染症基礎研究の推進についての公募型研究が行われている。採択課題のカテゴリとして、「1. ヒトに対し極めて高い致死性を示すウイルス感染症に関する研究」「2. 病原体－宿主因子の相互作用及び感染制御機構等に関する研究」「3. ワンヘルスの概念に基づいた病原体の生態に関する研究」が掲げられており、分野融合、Dry-Wet 融合が強く意識されている。

### (5) 科学技術的課題

ワクチンの迅速開発に向けたゲノムを中心としたオミクス技術を駆使した病原性因子研究から、網羅的ワクチン抗原探索、そして分子疫学との融合、抗原の製造、最適化、動物モデルを含む評価法の確立が課題である。また、感染流行地域におけるヒトサンプルの大量採取、解析を国際間で進めるためのサポート体制作りも必要である。

粘膜へのワクチン投与（鼻咽頭、気道、肺、腸管）や皮膚などへの投与法（正確性、抗原の安定性なども含む）の確立も課題となっている。

薬剤デリバリー（DDS も含む）技術の効果、安全性の検証手法の確立のほか、ワクチン製剤の GMP ロットの可能性については費用対効果の検証も含め、化学、薬学、工学系などの異分野間の共同研究促進が必要である。

エボラウイルスなど極めて致死性が高い病原体による新興感染症が次々に出現している。これらの感染症に対するワクチン・治療薬を開発するために BSL-4 病原体を取り扱うことができる BSL-4 施設の設置・稼働が必須である。国内 BSL-4 施設としては、国立感染症研究所村山庁舎 BSL-4 施設（2015 年 8 月より稼働）のみであり、長崎大学では 2020 年の稼働を目指した活動がなされている。

細胞性免疫を必要とする疾患（ウイルス、細胞内寄生菌、原虫）はそのワクチン効果を判定する方法が未確立である。簡便かつ安価な効果判定系の開発、関連試薬の開発、研究者にとって利用しやすい大型動物実験施設の設立などが望まれる。

小動物実験では非常に効果の高いワクチン候補もヒトの臨床治験では効果が低く承認されない例が多く、原因の究明、対策のための免疫学的研究や、ヒト型マウスの作成、さらにはヒトの免疫細胞や iPS 細胞由来の細胞、組織を用いた前臨床試験方法の新規開発などが望まれる。

ワクチン接種によって起こる副作用、とくにまれに起こるものへの対策も重要性は高い。ヒトのサンプルを用いた臨床研究によるバイオマーカー探索、たとえば血清のプロテオーム、メタボローム、マイクロ RNA の解析への期待は大きい。

既存のファージ療法において、治療効果が高く、純度の高い高品質なファージの量産と精製手法の確立は必須である。また、遺伝子改変や人工合成ファージの開発において、特に CRISPR-Cas 融合ファージなどでは、遺伝子標的の特異性を確保しつつ、その殺菌力、安定性、感染宿主域の拡大などの強化が必要である。そのためには、簡便で汎用性の高いファージ合成

手法やアイデアが求められている。また、ファージの用途は医療に限らず畜産業や農業、環境保全、食品製造など多様であるため、これらの領域への応用技術も必要である。これらを達成するためには、自然界に $10^{31}$ 個も存在すると言われるバクテリオファージの生物学的理解をミクロ・マクロ的視点から深めることも重要である。

### （6）その他の課題

感染により惹起するがん（ピロリ菌胃がん、ウイルス性肝がん、パピローマウイルス性子宮頚がん、HTLV による成人 T 細胞白血病など）はヒト全がん死亡の 20%を占める。原因となる微生物の感染阻止、駆逐により、ほぼ完全に防止できる点を再認識した上で、感染予防ワクチンの開発を重視する施策が求められる。

欧米や韓国のように、日本でもワクチン開発（候補の選択、ワクチン製剤に向けたデザインや生産技術の一体化開発）を効率よく迅速に行える総合研究施設（ワクチンセンター）が必要である。また、疫学統計の専門家の絶対数が不足しており、人材育成が喫緊の課題である。

ファージの臨床応用について、法的整備や規制緩和が求められる。米国では FDA がファージを eIND（emergency Investigational New Drug）として使用することを認可したため、ファージ療法が成立した。eIND とは、緊急時の場合は未承認の薬剤であっても実験室のデータを基に使用可能とするシステムである。欧州ではすでにファージ療法の臨床治験が始まっている。わが国ではさまざまなバックグラウンドを持つ研究者がファージ研究に参入し始めており、今後の発展が期待される。

大学、研究機関でのシーズと製薬企業を結ぶ仕組みの充実（例えばスクリーニングに加えて生物学的活性研究グループと合成専門グループの連携を図る仕組みの構築、ワクチン開発研究における「防御抗原」、「自然免疫アジュバント」、「生体内デリバリーシステム」の研究連携）は引き続き課題である。

（7）国際比較

| 国・地域 | フェーズ | 現状 | トレンド | 各国の状況、評価の際に参考にした根拠など |
|---|---|---|---|---|
| 日本 | 基礎研究 | ○ | → | ・インフルエンザウイルス、麻疹ウイルス、ピロリ菌、ヒトT細胞白血病ウイルス1型研究の病原性研究、単純ヘルペスウイルスの受容体の同定など基礎研究の分野では着実に成果が生み出されている。特にウイルスなどの病原体に対する自然免疫の研究では世界をリードしている。<br>・免疫学、微生物学、細胞生物学、生体工学といった関連分野が他国と比較して強い。<br>・ファージの基礎研究では結晶構造解析や溶原化機構の解明、特に遺伝子改変、人工合成などのファージ専門の領域で研究が進んでいる。今後、強みである微生物学、免疫学、遺伝子工学と連携することで世界をリードできる領域である。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・多剤耐性結核は、通常の結核と比べて死亡率が高く、従来とは異なる革新的な作用メカニズムをもつ治療薬の開発が急務であるが、大塚製薬が開発したデラマニドが、2014年に欧州、日本で承認され、日本初のMDR−TB治療薬として発売されている(商品名:デルティバ)。<br>・富山化学工業が独自に開発した新規抗インフルエンザ薬ファビピラビル（ウイルスRNAポリメラーゼ阻害薬、商品名：アビガン）が国内で条件付き製造販売を承認された。ファビピラビルは細胞内でウイルスの遺伝子複製酵素を阻害し増殖を阻止する新規な作用機序であり、幅広い抗ウイルス作用が期待される。ギニア政府はエボラ出血熱の標準治療薬に採用。<br>・国内で開発された抗HIV薬はアメリカで臨床開発され、欧米の製薬会社へ導出されており、着実に産業化にも実績を上げている。<br>・日本タバコ産業で開発されたインテグラーゼ阻害剤は米国Gilead社に導出され、Quadという4種類の薬剤の合剤として開発され、2012年8月27日にFDAに承認された。<br>・HIV治療薬としてインテグラーゼ阻害作用を有する抗HIV薬ドルテグラビルがGSKと塩野義製薬により共同開発された。<br>・ワクチン開発に関しては、シーズは少なくないものの、ヒト化研究や前臨床試験、治験体制の整備が立ち遅れている。<br>・国内の研究用BSL-4施設は、現時点で国立感染症研究所村山庁舎BSL-4施設しか稼働しておらず、高病原性ウイルスに対するワクチン・治療薬開発環境が大きく遅れている。<br>・大手製薬企業がワクチン開発に参入する上で、審査行政、ワクチン行政がボトルネックとなっている感が否めない。<br>・ファージ療法の臨床治験は行われていないが、マウス、馬、牛などの動物を用いたファージ投与実験では治療効果が確認されている。法的規制緩和が進めば、医療への応用も期待される。 |
| 米国 | 基礎研究 | ◎ | → | ・多くの分野で着実に優れた成果を上げている。ワクチン関連分野に加え、ゲノム、疫学、レギュラトリーサイエンスが強い。<br>・微生物の病原性発現機構や感染の免疫応答に関して、息の長い純粋基礎研究が高いレベルで継続されており、その成果は結果的に応用へも確実に反映されている。<br>・ファージ関連分野である合成生物学や遺伝子工学は世界をリードしているが、ファージの基礎研究はそこまで進んでいない。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・慢性C型肝炎に対する複数の新薬（プロテアーゼ阻害剤、ポリメラーゼ阻害剤、NS5A阻害剤）の臨床試験成績が報告され、今後はIFN、リバビリン、リトナビルなどとの併用療法にて、さらなる治療成績の改善が期待されている。<br>・B型インフルエンザウイルス株を二種配合できる四価インフルエンザ生ワクチン（FluMist）が上市している。<br>・クロストリジウム・ディフィシル感染下痢症に対する新薬（フィダキソマイシン）が開発された。<br>・応用研究から開発に向かう際の競争的資金、サポート体制が強い。<br>・メガファーマを中心に精力的に開発が進められている。日本などで開発された薬剤も欧米のメガファーマに導出されるケースが多く、臨床治験も米国を中心に進められている。<br>・ファージの食品添加がすでにFDAから認められている。2006年に初めてファージ療法に成功した。<br>・医療、食品、農業、遺伝子改変ファージを含んださまざまなファージ関連企業が存在する。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 欧州 | 基礎研究 | ○ | → | ・EU では特にドイツ、フランスを中心として、米国に匹敵するレベルの研究が行われているが、感染を対象とする基礎研究が拡大しているとは言い難い。<br>・古典的な微生物学を基にしたファージの基礎研究が盛んである。 |
| | 応用研究・開発 | ◎ | → | ・年間 2 億人が発症するマラリアに関し、GSK が開発したマラリアワクチン Mosquirix（RTS,S）の有効性が接種直後では認められるが、時間経過とともに効果は減少すると報告されている。<br>・Janssen R&D Ireland（旧 Tibotec）は逆転写酵素阻害剤である Dapivirine の vaginal gel、vaginal ring を HIV 感染予防薬として開発し、International Partnership for Microbicides（IPM）によるフェーズⅢで有効性を確認した。<br>・HIV 治療薬としてインテグラーゼ阻害作用を有する抗 HIV 薬ドルテグラビルが GSK と塩野義製薬により共同開発された。<br>・感染症ワクチン開発においては、総じて米国に準ずるが、霊長類など動物実験倫理が厳しいことが他国との比較で不利になることもある。<br>・欧州でもメガファーマを中心として薬剤、ワクチンなど開発が活発に進められており、審査行政も迅速である。新規結核ワクチンの開発トライアルはオランダなどで積極的に実施されている。<br>・フランスを中心にファージ療法の臨床治験である PhagoBurn（大腸菌と緑膿菌による熱傷。2013-2017）、PneumoPhage（急性呼吸器感染症。2015-）、PHOSA（細菌性関節炎。2015-）が立ち上がっている。<br>・医療、食品、農業、遺伝子改変ファージを含んださまざまなファージ関連企業が存在する。 |
| 中国 | 基礎研究 | △ | ↗ | ・Recruitment Program of Global Experts（1000 Talent Plan）をスタートさせた科学者のリクルートを行っているが、さらに“Recruitment Program for Young Professional”と“Recruitment Program of Foreign Experts”という 2 つのプログラムを追加している。前者は 40 歳以下の中国人研究者を海外から呼び戻し、中国で研究を行うプログラムである。後者は海外からの研究者（中国人以外）を 3 年以上雇用するプログラムである。<br>・2010 年に Chinese academy of sciences は Center for Infection and Immunity を設立した [23]。<br>・ウイルス学分野、特にインフルエンザの基礎研究には優れたものがみられる。海外で育った優れた中国人研究者の任用と予算の集中化により、過去数年で学術論文は著増し、内容も世界的レベルに到達しつつある。 |
| | 応用研究・開発 | △ | ↗ | ・E 型肝炎ウイルスに対するワクチンが開発され、有効性が報告されている 24)。このワクチンは厦門大学の関連会社である Xiamen Innovax Biotech（INNOVAX）が開発している。<br>・Tu Youyou 博士が抗マラリア薬 artemisinin の発見により、2011 年にラスカー・ドゥベーキー臨床医学研究賞を、2015 年にノーベル生理学・医学賞を受賞した。<br>・前臨床、治験ともに日本と比較すると非常に敷居が低いが、逆に安全性、信頼度に大きな懸念が持たれる。<br>・多くのベンチャーが設立され、産業化を進めているが、現時点では大きな成果は上がっていない。しかし、国策として強力に推進されていることは日本と対照的である。<br>・ワクチン市場は中国で急速に成長している分野の一つであり、GSK やノバルティスの活動を通じて臨床開発力、産業技術力をつけつつある。 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 韓国 | 基礎研究 | △ | → | ・他の研究分野に比較すると感染症研究には、それほど重点が置かれていない。しかし、過去数年の間に韓国から公表される微生物学関連論文の質は、格段に上昇してきている。<br>・日米欧に比較すると見劣りするが、国際ワクチン研究所の疫学研究は注目すべきレベルを示している。 |
| | 応用研究・開発 | ○ | → | ・韓国生命工学研究院を設立し、バイオサイエンスの推進、バイオベンチャーの育成を行っているが、薬剤開発に向けた感染症研究の比重は高くない。<br>・ワクチン開発については国を挙げて治験などのサポート体制を向上させている。<br>・薬剤研究については、特に注目すべき実用化研究は認められないが、韓国生命工学研究院は塩野義製薬と創薬シーズに関する共同研究を行っている。<br>・東亜製薬が創薬したオキサゾリジノン系 tedizolid は、導出先の米国 Trius 社（現 Merck 社）から Bayer 社に導出され、上市された。<br>・ワクチンについては、韓国 FDA の審査行政、ワクチン産業ともに日本はやや先を越されている。 |

（註１）フェーズ
基礎研究フェーズ：大学・国研などでの基礎研究レベル
応用研究・開発フェーズ：技術開発（プロトタイプの開発含む）・量産技術のレベル
（註２）現状
※我が国の現状を基準にした相対評価ではなく、絶対評価である。
◎：他国に比べて顕著な活動・成果が見えている、 ○：ある程度の活動・成果が見えている、
△：他国に比べて顕著な活動・成果が見えていない、 ×：特筆すべき活動・成果が見えていない
（註３） トレンド
↗：上昇傾向、 →：現状維持、 ↘：下降傾向

なお、ロシア・グルジア・ポーランドではファージ療法が日常的に行われている。しかし、ファージ精製技術は高くなく、ファージの品質が担保されていない。自然界のファージを用いた臨床応用は盛んであるが、合成ファージは用いられておらず、基礎研究はあまり進んでいない。

## (8) 参考文献

1）露口一成、大野秀明,「第 84 回総会ミニシンポジウム : V. 日本における多剤耐性結核」, 日本結核病学会 , 結核 85, 2, 125-137（2010）.
2）Schooley RT, et al., “Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails to Treat a Patient with a Disseminated Resistant Acinetobacter baumannii Infection.” Antimicrob Agents Chemother, 22;61（10）（2017）
3）Matsuura K, et al., “Distribution of hepatitis B virus genotypes among patients with chronic infection in Japan shifting toward an increase of genotype A.” J Clin Microbiol, 47（5）:1476-83（2009）.
4）国立国際医療研究センター , 肝炎情報センター ,「B 型肝炎」, http://www.kanen.ncgm.go.jp/cont/010/b_gata.html（2018 年 11 月アクセス）
5）Olinger JJ, et al., “Delayed treatment of Ebola virus infection with plant-derived monoclonal antibodies provides protection in rhesus macaques.” Proc Natl Acad Sci USA, 109, 44, 18030-5（2012）.
6）Reuters, “Fujifilm says test results on Avigan as Ebola drug by end-2014.” , Health News, Nov 11, 2014, http://www.reuters.com/article/us-fujifilm-ebola-idUSKCN0IV0EJ20141111（2018 年 11 月アクセス）
7）Marchand C, “The elvitegravir Quad pill: the first once-daily dual-target anti-HIV tablet.” Expert Opin Investig Drugs, 21, 7, 901-4（2012）.
8）Katlama C, Murphy R. “Dolutegravir for the treatment of HIV.” Expert Opin Investig Drugs, 21, 4,

523-30（2012）.
9）Business Wire News, “Merck Signs Two Deals for Novel HIV Drug Candidates and Initiates Phase II Clinical Trial of MK-1439 for HIV”, July 24, 2012, http://www.businesswire.com/news/home/20120724005352/en/Merck-Signs-Deals-HIV-Drug-Candidates-Initiates（2018 年 11 月アクセス）
10）製薬協 HP「開発中の新薬（富山化学工業株式会社）」, http://www.jpma.or.jp/medicine/shinyaku/development/com0500.html（2018 年 11 月アクセス）
11）Rappuoli R, et al., “Vaccines for the twenty-first century society.” Nat Rev Immunol. 11, 12, 865-72（2011）.
12）財団法人ヒューマンサイエンス振興財団 , “規制動向調査報告書:ワクチン（感染症、がん、アルツハイマー病など）の開発の現状と規制動向、予防医療と疾病治療の新たな展開に向けて” HS レポート No. 66（2018 年 11 月アクセス）
13）Cohen MS, et al., “Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy.” N Engl J Med, 365, 6, 493-505（2011）.
14）Alberts B. “Science breakthroughs.” Science, 334, 6063, 1604（2011）.
15）AVAC: Global Advocacy for HIV Prevention, http://www.avac.org/（2018 年 11 月アクセス）
16）Nordmann P, et al., “The emerging NDM carbapenemases.” Trends Microbiol, 19, 12,588-95（2011）.
17）Yu XJ, et al., “Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China.” N Engl J Med, 364, 16, 1523-32（2011）.
18）WHO, “Severe complications of hand, foot and mouth disease（HFMD）caused by EV-71 in Cambodia conclusion of the joint investigation”, http://www.who.int/csr/don/2012_07_13/en/index.html（2018 年 11 月アクセス）
19）Hatakeyama M., “Linking epithelial polarity and carcinogenesis by multitasking Helicobacter pylori virulence factor CagA.” Oncogene, 27, 55, 7047-54（2008）.
20）Feschotte C, Gilbert C., “Endogenous viruses: insights into viral evolution and impact on host biology.” Nat Rev Genet, 13, 4, 283-96（2012）.
21）鉄谷耕平ほか ,「新たなアジュバントの臨床応用へ向けて」, Pharma Medica 29, 4, 9 -16（2011）.
22）石井 健、堀井俊宏「 日本の新規ワクチン開発戦略 」『感染炎症免疫』39, 2, 2-11（2009）.
23）Guangzhou Institutes of Biomedicine and Health, Chinese Academy of Sciences, “Center for Infection and Immunity”, http://english.gibh.cas.cn/cfi/overview/（2018 年 11 月アクセス）
24）Zhu FC, et al., “Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults: a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial.” Lancet. 376, 9744, 895-902（2010）.