

2.2.4 バイオイメージング

(1) 研究開発領域の定義

バイオイメージングとは、生命現象の理解を目的として生体内の情報を可視化することである。可視化の対象は、生体を構成する物質（生体組織、細胞、細胞内のオルガネラ、核酸・タンパク質・糖・脂質などの生体分子、イオン等）の形態や大きさ、数、分布、さらには生体内局所の温度やpHなど、空間と時間にまたがる多次元の情報に及ぶ。種々のイメージング手法、プローブ材料、観察装置、画像処理、機械学習によるデータ解析などを包括する研究開発領域であり、生命科学系に加え、材料、機械、計算科学など広い分野の連携が求められる。

(2) キーワード

蛍光、化学発光、ラマン散乱、近赤外光、量子ドット、透明化技術、ライトシート顕微鏡、超解像、生体深部イメージング、無標識イメージング、マルチモーダルイメージング、トランススケールイメージング、オプトジェネティクス、画像処理

(3) 研究開発領域の概要

[本領域の意義]

生体は、数多くの種類の分子をはじめ、さまざまな物質により構成され、それらの物理的・化学的な相互作用を介して生命活動を行っている。生体を構成する物質について、生体内での空間分布とその時間変化、物質間の相互作用などを観察するバイオイメージングは、生体の機能や生命現象の理解に貢献するだけでなく、疾患や病変の発生原理の理解や治療法の探究にも不可欠な技術となっている。ただし、現状のバイオイメージング技術は、分子などの生体構成物を観察するうえで十分な時間分解能、空間分解能、視野が達成されているとはいえず、また、これらの物質を生体内で全て識別することはできない。対象の複雑さを十分な情報量をもって撮像する技術も存在していない。生体を扱うという物理的な制約のなかで、目的に応じて機能の向上や技術の統合が行われている状況にあり、技術的ブレークスルーが望まれている。

本研究開発領域は、生体試料の調製、可視化に必要なプローブ、プローブからの信号を検出するハードウェア、検出された信号を生体の構造・機能と結びつけて分析し表示するためのソフトウェアなど多くの材料、技術、方法論が必要な融合領域である。また、プローブの送達と特異的相互作用が鍵を握るMRIや、蛍光イメージングなど、ナノテク・材料技術の貢献によって、さらなる発展の期待される領域といえる。

[研究開発の動向]

タンパク質、核酸、低分子といった物質や、それらの複合体の動態、相互作用、濃度変化、機能変化などのバイオイメージングでは、試料を色素や蛍光タンパク質等のプローブで標識することが一般的である。蛍光イメージングでは、蛍光プローブからのシグナルを検出し画像化する際に、光の波動性に起因した空間分解能の限界（回折限界）が技術的なボトルネックとなるが、回折限界を超えた空間分解能を達成するための原理が1990年代中頃から2000年代中頃にかけて提案・実証され、2010年頃には40～100 nmの空間分解能を有する超解像顕微鏡が市販された。STED (STimulated Emission Depletion) やPALM (PhotoActiavation Localization Microscopy) などの超解像計測法と、PALMの元になった1分子計測法（ローカリゼーション法）は2014年度にノーベル化学賞が授賞されている。現在はこれらの手法以外に

も超解像計測を行うさまざまな方法が提案されている。近年では、超解像広視野観察、フォトニック結晶チップによる構造化照明、生体内の3次元超解像計測、高次アンチストークスラマン散乱による超解像計測、高空間分解能化 (1~5 nm)、時間分解能の向上などの研究開発が行われている。超解像顕微鏡の大きな利点の1つは、試料を固定する必要がある電子顕微鏡と異なり、生きたまま回折限界を超えた計測が可能なことであるが、従来の超解像計測では非常に強い照明光が必要であり、生きた細胞・組織・生体に対して光毒性となることが問題になっていた。この問題を解決する生体適合性の高い超解像イメージング技術の開発も進められている。

蛍光色素や蛍光タンパク質等のプローブは光照射によって容易に褪色してしまい、生体の動的変化を連続的に観察する際に問題となる。近年、蛍光褪色が起こりにくい量子ドットがプローブとして用いられるようになってきたが、量子ドットを構成するカドミウムやセレンなどの毒性を抑えるため、また化学修飾を容易にするためにコーティングが施されており、量子ドットのプローブは蛍光色素などに比べサイズが1桁以上も大きくなってしまい、標識対象への立体障害などの影響が懸念される。量子ドットのコア自体はnmオーダーで十分小さいため、コーティング層を薄くするなど、サイズを抑えるための工夫が望まれる。また、グラフェンナノ構造を利用した低毒性で生体適合性の高い炭素量子ドットも蛍光量子収率の向上が図られ、生細胞や個体内でのイメージングに応用されており、今後のさらなる改善が期待される。最近ではNitrogen-Vacancy (N-V) ダイヤモンドがプローブとして用いられるようになり、蛍光褪色が無いことから注目されているが、大きさや供給、試料への導入などに課題があり、今後の改良が望まれる。

長時間計測における蛍光プローブの褪色の問題を解決する別の手法として、近年DNA-PAINTが普及してきている。これは、2本鎖形成の親和性が調節された一本鎖DNAで標識した抗体と蛍光標識した相補的DNAを用いて1分子局在顕微鏡法で超解像イメージングを行う手法である。この手法では、試料内のターゲットに結合した蛍光プローブが褪色しても、未褪色の蛍光プローブと随時入れ替わっているため、継続して超解像観察を行うことができる。また近年、UnaGやmiRFP、iLove等、ビリルビンやビリベルジン、フラビンなどの生体内低分子を発色団として利用する蛍光タンパク質が報告されている。これらのタンパク質は発色団が褪色によって損なわれた場合でも、逐次新たな生体内低分子が供給されることで発色団が更新されるため、蛍光強度を維持することができる。また、発色団の褪色と更新による蛍光の明滅を積極的に利用することで、超解像観察への応用も試みられている。

空間分解能の向上、時間分解能の向上、3次元観察、分光分析といった光学顕微鏡分野の基本的な観察能力を向上させるという流れから、目的に応じてこれらを統合させ、新しい応用分野を開拓していく方向性も生まれている。例えば、時間分解能の向上はフローサイトメトリーにおけるハイスループットスクリーニングと統合され、従来法では検出できなかった希少かつ重要な細胞を検出することを可能にしている。また、分光分析とも組み合わせることで、従来法では識別できなかった細胞内の分子構成を数値化し、それを利用して有益な機能をもつ細胞のスクリーニングが行われている。他のイメージング技術と統合することで、より情報量を高める手法というのも潮流の1つになっており、その代表的な例が電子顕微鏡と光学顕微鏡（特に超解像顕微鏡）とを統合させた光-電子相関顕微法 (Correlative Light-Electron Microscopy : CLEM) の開発である。複数の光学効果を組み合わせて撮像する、マルチモーダルイメージングについても基礎研究、応用研究・開発ともに活発である。

従来技術では可視化が不可能であった分子や現象を可視化する試みも増加している。特に、ラマン散乱顕微鏡の登場以降、同技術に利用できる分子標識技術としてラマンタグが提案され、それを活用した小分子イメージング、代謝イメージング、超多重イメージングなどの新しいイメージング技術が登場している。また、

2.2

俯瞰区分と研究開発領域
ライフ・ヘルスケア応用

試料をプローブ標識することなく様々な生体試料の情報を得る無標識イメージングについて、新しい手法が提案されており、赤外吸収を使った分子分析イメージング法、ブリルアン散乱を使った細胞の弾性分布のイメージングといった技術が登場し、それらの応用研究も徐々に報告されている。さらに、バイオイメージングによってコントラストとして得られる情報が、濃度などの示量変数から、分子の反応、温度、力などの示強変数へと広がりを見せており、バイオイメージングはより直接的に生体の状態、活性、機能を可視化していく方向にある。

バイオイメージングは日本人の得意とする精細な作り込み技術が活きる分野であり、日本が世界的に大きなシェアを持つ技術に内視鏡、顕微鏡がある。一方、蛍光プローブの開発においては、日本発の研究成果が多くみられるにもかかわらず、産業化は遅れている。海外をみると、米国では比較的速い市場展開を見込んで研究開発投資が行われるのに対し、欧州、特にドイツでは、息の長い技術開発によってニッチな技術を発展させ、独自性の高いイメージング技術を市場化していく傾向にある。アジア諸国は欧米に比べると多くの国で立ち遅れているが、中国は欧米で研究成果を上げた研究開発者の本国への呼び戻しにより急速により技術レベルを上げつつある。中国製のイメージング装置は今のところわが国では普及が進んでいないが、安価なデバイスである点が特徴的であり、今後の動向に注目する必要がある。また、シンガポールは独自の投資体制により近年急速にハイレベルなイメージングの研究成果を報告しており、ビジネス展開への意欲も高い。

(4) 注目動向

[新展開・技術トピックス]

超広視野顕微鏡、トランススケールイメージング

英国のMesolens、中国のRUSH、日本のAMATERASなど、高空間分解能と広視野を同時に実現し、分子レベルから個体レベルまでシームレスなイメージング・計測を行う顕微鏡が登場している。英国のMesolensはストラスクライド大学において、Medical Research Councilが行ったNext Generation Optical Microscopy Initiative等の研究助成によって開発されている。日本では新学術領域「シンギュラリティ生物学」において、超解像顕微鏡技術と超広視野顕微鏡を融合することで、1台の光学顕微鏡システムで分子スケールから個体スケールまでシームレスに、超解像分解能でのイメージングが可能なトランススケールイメージング技術の開発が進められている。最近、1億画素を超えるイメージセンサを搭載したトランススケールスコープ (AMATERAS) が開発され、数 μm の空間分解能で広視野に画像撮影を行うことで、数百万個の細胞からなる組織に対して、構成する個々の細胞領域を自在に拡大し解析することが可能になった。一方、個体に対しては生体深部での計測技術も必要であり、今後は既存のライトシート顕微鏡や2光子計測技術、さらには光音響イメージングといった手法と組み合わせることで、より高解像度・高時間分解能での観察が可能な装置の開発が期待される。さらに、膨大な量のデータを処理する必要があるため、ハード・ソフト両面での技術開発も必要となる。

透明化、全組織イメージング

生体内部の3次元イメージングを可能にする方法としてScaleSやCUBICに代表される組織透明化法の開発が進んでいる。ここ10年間で蛍光タンパク質の消光を起こさない透明化法の開発が進み、3次元イメージングを可能にするライトシート顕微鏡の実用化とともに、神経科学や発生学を中心に研究報告例が増加している。

一方、透明化を行わない通常の固定化組織を用いて、イメージングと試料の切断を繰り返すことにより、全組織を観察する連続切断顕微鏡イメージング技術も開発されている。連続切断法は撮影時間が長いものの、高精細な画像が得られるという利点があり、レンズの回折限界レベルの解像度での観察が可能である。組織

の前処理は一般的な固定化だけで済むことが多く、解剖学的な構造が良く保たれる点でも優れている。また、最近、透明化組織をライトシート顕微鏡で観察する場合と同程度に高速に撮影可能で、しかも空間分解能に優れた連続切断法FAST (block-face serial microscopy tomography) が日本で開発され、成体マーマーモセットの全脳やヒト死後脳組織の高精細イメージングを行い、透明化法では達成できない高いスケール拡張性が示されている。FASTにおいても前述のトランススケールイメージングを用いることで、1cm四方の全脳断面画像を一括で撮影した後、構成する各細胞の蛍光を区別して高精度に観察することに成功している。

近赤外光イメージング

蛍光イメージングでは一般的に可視光 (400~700 nm) が用いられるが、可視光は生体による吸収や散乱の影響を強く受けるため、深部を観察することが難しい。そこで近年、生体組織透過性の高い波長700nm以上の近赤外 (NIR) 光を利用した蛍光イメージング法が開発されている。さらに、生体組織内の光吸収・散乱がもっとも小さくなる1000nmを超える近赤外 (Over-Thousand Nanometer-Near InfraRed : OTN-NIR) 光を用いた生体内深部のイメージングが注目されている。波長700~900 nm付近の「第1の生体の窓」(NIR-I) を用いるNIR蛍光イメージングに対して、OTN-NIR波長域においては1100~1350 nmの波長域を「第2の生体の窓」(NIR-II)、1550 - 1800 nmの波長域を「第3の生体の窓」(NIR-III) と区別し、2010年頃より日本および米国の研究者を中心に希土類含有セラミックスナノ粒子、単層カーボンナノチューブ、量子ドットなどさまざまな蛍光プローブの開発と生体適合性の向上、イメージング応用が進められてきた。最近では、中国の研究グループから、有機色素プローブを中心に多数の研究が報告されている。また、ソニーが400~1700nmにわたる広帯域カメラの発売を予定するなど、撮像機器の入手が年々容易になってきており、これに対応した種々のプローブマテリアルの提供がナノテク・材料分野の課題となっている。

示強変数イメージング

生体内局所の温度やpHなど示強変数の計測が、バイオイメージング研究のトレンドになっている。例えば、温度は生命現象を支配するもっとも重要な物理量の1つであり、細胞内など生体の微小領域の温度分布の計測は、さまざまな生命現象の解明や、次世代の診断・治療技術につながる可能性があることから、蛍光プローブの蛍光強度や蛍光ピーク波長、蛍光寿命の温度依存的な変化を利用した蛍光ナノ温度イメージングの研究がさかんになっている。また、pHは生体内の正常組織と病変部位とで異なることが知られ、骨代謝やがん細胞の浸潤などさまざまな生命現象に関与していることから、pHの変化にตอบสนองして蛍光特性が変化するプローブの開発とイメージング応用が進められている。なお、生体内では蛍光プローブの拡散が起こることから、一定のプローブ濃度で蛍光観察をすることが困難であり、これを解決するためにレシオ型蛍光プローブや、タイムゲート型蛍光寿命測定プローブなどが開発されている。

メカノバイオロジーと力のイメージング

医療におけるメカノセラピー、生命科学におけるメカノバイオロジーは、ともに生体内分子、オルガネラ、細胞、組織に関わる「力」の作用を扱う学問分野として注目を浴びており、そのための「力」を可視化するイメージング技術の研究も積極的に進められている。この分野では、巨視的な力を蛍光でイメージングする高分子材料の開発が行われているほか、特に米国の研究者がリードしているFörster共鳴エネルギー移動 (FRET) プローブを用いて細胞と足場の間に発生する力の様子を観察する手法が急速に発達してきている。

生物（化学）発光

生物（化学）発光を利用したイメージングは、励起光を必要としないことから、光毒性や自家発光の影響を受けず、観察対象へのダメージが少ない。これまで発光強度の低さが課題であったが、2012年頃から開発されている生物（化学）発光タンパク質と蛍光タンパク質との融合タンパク質を利用することにより、従来の10～100倍まで発光強度が上昇している。生体組織の透過性に優れた600 nmを超える波長を呈する生物（化学）発光タンパク質の開発も急進している。

化学発光は基質を必要とし、基質は時間とともに代謝されるため、長時間のイメージングには持続的な基質の投与を必要とする。自ら発光基質を作り出す発光生物の発光基質生合成経路を解明し、観察対象の細胞や生体中において再構築することができれば、外部からの基質投与なしに自発的に発光させることが可能になると期待される。これまでに、発光バクテリアの基質生合成経路が解明され、これを応用した発光動物培養細胞や発光植物が開発されたが、その発光強度は顕微鏡観察できるほどには高くないため、バクテリア発光システムの高輝度化が求められている。また、発光キノコの基質生合成経路についてロシアのグループを中心に解明が進み、コーヒー酸を出発点とした基質生合成に必要な遺伝子群が同定され、これらをゲノムへ導入した自発光植物を同グループと米研究グループがほぼ同時に報告している。このキノコの自発光植物は、通常の顕微鏡イメージングで使用される高感度カメラなどを必要とせず、市販のデジタル一眼レフカメラでも長時間の撮影が可能である。今後は時間・空間分解能を向上させるために発光タンパク質の高輝度化や多色化が進むと予想される。

オプトジェネティクスと生物（化学）発光

光によってタンパク質機能を制御することが可能なオプトジェネティクスは、生体内の生理機能を低侵襲的に操作することができる技術として、特に脳科学の分野で積極的に利用されている。さまざまなオプトジェネティクスツールが開発され、刺激に用いられる光の波長域も青色から近赤外まで幅広い。光刺激によって引き起こされる細胞内環境変化は、個体の行動変化や、細胞内セカンドメッセンジャー濃度変化として観察することができるが、後者の場合、セカンドメッセンジャーを観察するための指示薬の多くは蛍光性であるため励起光を必要とし、オプトジェネティクスツールが励起光によって活性化され細胞内環境が乱れるという問題が生じる。そこで、光励起を必要とせず、基質との化学反応により光を発することが可能な生物（化学）発光プローブがオプトジェネティクスツールと併用されている。特に、最近是非常に明るい生物（化学）発光プローブが開発されてきており、蛍光観察と遜色ない観察が可能である。また、生物（化学）発光タンパク質から発せられる光をオプトジェネティクスの刺激光として応用する分野が進展している。この手法では生物（化学）発光タンパク質近傍のオプトジェネティクス分子だけを直接光刺激し、活性化することが可能であり、1細胞、1分子特異的なオプトジェネティクスが実現される。また、外部からの光の到達が難しい生体深部での光制御を行うために、オプトジェネティクスツールと生物（化学）発光タンパク質を融合させたluminopsinも開発されている。このように、生物（化学）発光はレポーターやマーカとしてだけでなく、機能ツールとしての可能性が広がりつつある。

ラマンイメージング

生体分子固有のラマン散乱スペクトルは多様な生理的な現象を反映して変化することが明らかになり、これを分析することにより無標識で、例えば胚性幹細胞（ES細胞）の分化に伴う細胞状態遷移を捉えられることが報告されている。ラマン散乱のスペクトルを活用した無標識イメージングにより、物質の細胞内取り込みや

排出過程のライブイメージング、生体試料内における分子間相互作用や、分子・材料の生分解の可視化が期待されている。

また、特異なラマン散乱を示すラマンタグを結合させ、ラマン散乱顕微鏡によりイメージングする方法が進展している。ラマンタグは蛍光観察に用いられるプローブに比べて小さく、塩基や脂質、薬剤の機能を大きく変化させることなく、これらを標識し可視化することができる。生体内での分子の代謝を可視化することも可能であり、例えばアミノ酸や水の水素を重水素に置換し、それを生体内に取り込ませることで、新たに生産される分子を特異的なラマン散乱によって観察し代謝活性の高い部分を可視化することができる。また、ラマンタグの発光スペクトルは蛍光発光に比べて数十分の1の幅しか無いため、数十のタグを同時に用いて、分光計測により簡単に識別できる。この超多重観察により、従来（5種程度）よりも多くの生体分子の同時観察が可能になることから、より複雑な生命現象の理解が進むと期待される。ラマンタグは検出感度の低さが課題であったが、表面増強ラマン散乱との組み合わせによる高感度化により、ラット脳組織内に導入した薬剤の検出にも成功している。

コンピューテーショナルイメージング

計算機科学の発展により、光学システムで計測されたデータを計算機処理することを前提としたイメージング法が多く登場している。用途も多岐にわたり、簡易3次元観察、微弱光観察、明視野像によるオルガネラ認識、超解像画像の構築などがある。これらはディープラーニングを基本とした手法が多く、物理的には計測ができない情報であっても周辺情報から判断を行い、計測画像として可視化する。多くの研究論文が発表されているが、これが一過性のものなのか、また計測技術として信頼に足る技術であるかは、用途別に慎重に見極める必要がある。

[注目すべき国内外のプロジェクト]

米国では、NIHのNational Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering (NIBIB) の下にバイオイメージング分野の研究促進事業を行っている Division of Applied Science & Technology (Bioimaging) が設置されているほか、Howard Hughes Medical InstituteのJanelia Research Campus等の研究所でバイオイメージングの最先端研究を行っている。また、NSFの支援の下、Next Generation Network for Neuroscience Program (NeuroNex) が発足し、バイオイメージング技術開発を行う研究プロジェクトを含む NeuroNex Technology Hubの研究事業が実施されている。DOEもバイオエネルギー研究の進展を目的に、バイオイメージングの研究開発に対して2019年より総額1350万ドルの研究助成事業を行っている。カリフォルニア大学バークレー校に2020年春に、バイオイメージング技術の基礎研究から実用化まで取り組むAdvanced Bioimaging Centerが設置され、新しいバイオイメージング技術の開発と応用研究にかかわる物理学者、化学者、生物学者が集まり融合的な研究を進めている。さらに、米国のChan Zuckerberg Initiativeはバイオイメージング施設で働く“Imaging Scientists”をサポートするための助成金支援事業を全世界の研究者を対象に行っている。

EU圏では、バイオイメージングを用いた生物学および生物医学研究のための画期的な研究基盤としてEuro-BioImaging (EuBI) がHorizon2020の資金援助により発足し、2016年5月に事業を暫定開始した。2019年10月にEuropean Research Infrastructure Consortium (ERIC) の正規事業として承認されたことにより、2019年12月からは完全な形で稼働している。EU内の8カ国21カ所のイメージング施設の利用公開、イメージング技術トレーニング、イメージングデータの相互利用と解析ツール提供を実施し、各地

のバイオイメージング施設との連携を図るとともに、EU内の研究者に各種バイオイメージング技術の提供を行っている。また、Horizon 2020プログラムにおいては数十万～数百万ユーロ規模のバイオイメージングの研究プロジェクトが多数発足している。また、EUでは脳のイメージングに特化したプロジェクト (IMAGEN Project) が長期にわたり進められている。

英国では、大規模な生物医学研究機関であるFrancis Crick Instituteがロンドンに2015年に発足した。この研究所では、医学生命科学と物理学、化学、数学、工学などの異分野融合の推進により、最先端バイオイメージングや数理モデリングを中心として、生物物理学的な側面を強調した新たな生命科学研究の開拓が中心的な目標とされている。さらに英国では近年、MRC (Medical Research Council)、BBSRC (Biotechnology and Biological Sciences Research Council)、Wellcome Trust、EPSRC (Engineering and Physical Sciences Research Council) がバイオイメージング分野への研究資金提供を強化しており、各大学のバイオイメージング施設の充実化、バイオイメージング研究の振興を図っている。

日本では平成30年度に新学術領域「シンギュラリティ生物学」(2018～2022年度)が発足し、トランススケールスコープの開発などが行われている。「シンギュラリティ生物学」は、極めて稀にしか起こらない少数要素のイベントが核となり、多要素システム全体の働きに不可逆で不連続な変化をもたらす生命現象について解明する新しい研究分野であり、稀なイベントを見逃さない、超広視野と高解像度、高速と長時間撮影を両立するイメージングプラットフォームと、それに対応する情報解析手法の構築を進めている。

(5) 科学技術的課題

これまでに開発された超解像顕微鏡では、光学顕微鏡による高解像度の観察が必要不可欠であったという新規の科学的発見は少なく、電子顕微鏡で見えていたものを光学顕微鏡で観察にしたに過ぎない報告例が多い。今後、生体物質の動態、細胞の生理機能、情報伝達等を積極的に捉える研究の取り組みが求められる。

超解像イメージング法のうち、構造化照明超解像顕微鏡、Super-resolution optical fluctuation imaging (SOFI)、SPoD-OnSPANなどでは、計測した画像データから画像再構成計算を経て超解像画像を得るが、画像再構成計算は計算量が多く、そのハイスループット化がしばしば課題になっている。画像再構成計算に深層学習を用いることで、構造化照明超解像顕微鏡では画像データ数を激減させることができ、SPoD-OnSPAN法では計算時間の飛躍的な短縮を実現した (SPoD-Net法)。今後、さまざまな超解像計測手法において、深層学習等の手法を応用することにより、画像再構成計算のさらなるハイスループット化が求められる。

超解像顕微鏡による広視野観察については、サブミリメートルスケールまでの超解像計測が報告されているが、この視野サイズは生体内の組織のごく一部分に過ぎない。分子レベルの計測データから組織・個体レベルの生命現象を解明するには、分子スケールの超解像計測データを組織全体や生物個体の範囲で収集する超解像トランススケールイメージング技術と、そこで得られるビッグデータを処理し解析する情報処理手法の開発が必要である。

超広視野顕微鏡技術は、今後の光学技術、エレクトロニクス技術の発展とともに、大きな進展が期待される。高解像度かつ高感度のカメラの開発も進み、これを活用した新技術が登場すると予想されるが、一方で、これらのカメラを十分に活用するレンズ、フィルタ等の光学素子については技術開発が進んでいない。トランススケールスコープは共通の技術基盤となりうる装置であり、十分な研究開発投資の下、世界に先駆けて高性能、高機能なシステムを構築することが望まれる。

バイオイメージングと分析技術、操作技術との融合が求められている。これまでのバイオイメージングでは、

物質の分布やその時間変化を捉えることに主眼が置かれていたが、ハイスループットスクリーニングの利用の増加にもみられるように、計測と同時に分析を行い、必要な対象を分別し、採取することが求められている。多量の試料をいかに高速に統合的に処理できるかが重要であり、分光分析や試料操作、試料チャンバー等におけるボトルネックを解消する技術の開発が求められている。大量のデータを取得分析するためのインフラの整備、ICT、IoT、AIを手軽に活用できる環境整備も重要である。

オルガノイドなどの3次元組織体を生体外で構築する技術が進展しており、その内部を観察可能な3次元イメージング技術が求められている。3次元組織体は主に薬効評価を目的として開発されているが、従来の2次元的な培養細胞を用いた評価系に対する優位性について、実際の生体に近いという漠然とした理由でなく、細胞接着の様式など詳細な解析から示していく必要がある。また、3次元組織体内部の細胞の生死や機能を確認することも必要である。

イメージング技術とAI・ビッグデータ解析などの情報科学技術との融合が重要になっている。最近では、高速で流れる大量の細胞をイメージングしてその特徴量をAIに深層学習させ、細胞の形状から高い精度で特定の細胞を自動的に分離する技術などが報告されている。しかしながら、解析結果を計測系にフィードバックし、計測自体を最適化・迅速化するという、計測と情報の双方向的な高度融合型の研究は実現されていない。機械が自律的に、特徴量集合の中から人間が設定した機能を表現する特徴量の組み合わせを選択し、必要に応じて計測する部位・領域を変更するというような、計測技術とAIの高度融合が期待される。また、イメージングの解像度が上がれば上がるほどデータ量は膨大になる。遺伝子発現データなどの異種データをどのように紐付けして統合的に管理し、迅速かつ容易に解析するか、また、データを圧縮したまま論理演算するという情報解析技術も重要である。

(6) その他の課題

バイオイメージングデータ、特に超解像データは膨大な量のビッグデータを含むため、研究室内のリソースはたちまち枯渇する。また、データ量がテラバイトを越えるうえに、イメージングデータ、遺伝子発現解析データなど異なる特徴を持つデータが蓄積してくる。そのため、それらの異なるデータを統合的に管理し、迅速かつ容易に可視化、解析できるシステムが重要となってくる。学術情報ネットワークSINET5は全国の研究機関を100Gbpsの高速ネットワークで有機的につないでいるが、各研究機関内の情報転送速度は今もって1Gbps程度である。SINET5を有効に利用するには各研究機関内における高速ネットワーク化が必須である。また、近未来の需要増に備え、現在、東京-大阪間にのみ敷設されている500Gbpsネットワークを全国に拡張することも今の段階から想定しておく必要があるといえる。

プローブ等を開発するナノテクノロジー・材料分野の研究者とイメージング技術のユーザーである生命科学者や医学者、さらに撮像装置や画像処理の開発者までが一体となった技術開発体制の構築が、国際競争に打ち勝つうえでも本領域では重要といえる。欧州にみられるような10年スパンの長期の組織体制が日本では整っていないが、安定した予算と人材、設備に支えられた研究体制の樹立が、競争力のある技術創出に向けて求められる。

2.2

俯瞰区分と研究開発領域 ライフ・ヘルスケア応用

(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	◎	→	超解像顕微鏡や各種プローブ、透明化試薬などの研究がさかんに行われている。また、新学術領域やAMED、CREST、さきがけなどで、バイオイメージング関連の領域が複数発足するなど、研究は活発に進められている。イメージングの対象も、細胞レベルから生体組織まで、幅広く展開されている。
	応用研究・開発	◎	→	各種顕微鏡や小動物イメージング装置など、大学・研究機関で開発された技術をベースに市販化されたものも多く、実用に結び付いている。蛍光プローブや透明化試薬についても、大手試薬メーカーから市販化されるケースが複数ある。
米国	基礎研究	◎	↗	NIHなどを中心に、多くの研究機関が潤沢な予算のもと、バイオイメージング研究を強力に推進している。超解像技術、光-電子相関顕微法、誘導ラマン散乱顕微法、ブリルアン散乱顕微法などの基礎技術の開発と、各種蛍光プローブ、ラマンタグなどの技術開発で世界に先行している。近年、スタンフォード大学が近赤外光イメージングで目覚ましい研究成果をあげている。
	応用研究・開発	◎	↗	HHMIのJanelia Research Campus、UC BerkeleyのABC等をはじめとする研究機関が組織的にバイオイメージングの応用研究をサポートしており、上手く機能している。特に、工学系研究者、各種プローブの開発者、生物学者を1カ所の研究施設に集め、基礎研究から応用研究までを非常に速いスピードで実施している。また、アカデミアの研究成果の実用化が、非常に速いスピードで推し進められている。米国だけでなく全世界のバイオイメージング研究者をサポートする助成金制度がある。
欧州	基礎研究	◎	→	光学顕微鏡技術はもとより、STEDのような超解像顕微鏡の発祥の地であり、ドイツ、英国、フランスを中心に依然として基礎研究がさかんに行われている。学会等での発表件数も多い。超解像顕微鏡、ラマン顕微鏡などの新技術開発を広く手がける。スペインのマドリッド自治大学が、蛍光温度イメージングの研究を世界に先駆けて強力に推し進めている。脳のイメージングの共同プロジェクトをEU全体で10年以上にわたり進めている。
	応用研究・開発	◎	→	歴史的にもCarl ZeissやLeicaなどの大手メーカーが存在し、現在も世界をリードする存在である。ドイツJenaのLeibniz-Institut für Photonische Technologien (IPHT)は術中診断用の非線形光学顕微鏡の実用化研究が進むなど成果が際立っている。
中国	基礎研究	◎	↗	各種光学イメージング技術について多くの成果がみられる。技術力が向上しており、著名な国際誌への掲載も多い。
	応用研究・開発	○	↗	ライトシート顕微鏡やイメージングセルソーターなどの製品も登場しており、従来から定評のあった光学素子に加え、先端光学機器への産業展開がみられる。今後急速な発展があると予想される。
韓国	基礎研究	○	→	計算機科学と光学撮像とを組み合わせたコンピュータショナルイメージングにおいて先進的な研究成果が見られる。研究者人口は多くはなく、国としての競争力は低い。
	応用研究・開発	△	→	特に目立った動きは見られない。

2.2 俯瞰区分と研究開発領域
ライフ・ヘルスケア応用

シンガポール	基礎研究	◎	↗	シンガポール科学技術研究庁(A*STAR)とシンガポール国立大学(NUS)を中心に、世界中から研究者を集め、Nature、Scienceなどの有力科学誌に多くの研究成果を発表している。バイオポリスやSingapore Bioimaging Consortium (SBIC)、NUSのMechanobiology Instituteなど、バイオイメージングを含むバイオ研究の環境としては世界最高レベルにある。特に、近年のバイオ研究で重要視されているメカノバイオロジーに関して、世界最大級の研究所を設立するなど、注力する研究分野の先見性も優れている。
	応用研究・開発	△	→	2000年以降、世界中の製薬会社やバイオ関連企業がR&D拠点をシンガポールに設立してきたが、近年は合理化を進め次々と撤退しているため、産業化という面では、バイオイメージングを含むバイオ研究は順風満帆という状況ではない。

(註1) フェーズ

基礎研究：大学・国研などでの基礎研究の範囲

応用研究・開発：技術開発（プロトタイプの開発含む）の範囲

(註2) 現状 ※日本の現状を基準にした評価ではなく、CRDSの調査・見解による評価

◎：特に顕著な活動・成果が見えている

○：顕著な活動・成果が見えている

△：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 ※ここ1～2年の研究開発水準の変化

↗：上昇傾向、→：現状維持、↘：下降傾向

関連する他の研究開発領域

- ・バイオ材料（ナノテク・材料分野 2.2.1）
- ・光学イメージング（ライフ・臨床医学分野 2.5.2）
- ・トランススケールイメージング（ライフ・臨床医学分野 2.5.3）

参考・引用文献

- 1) D. Mahecic et al., “Homogeneous multifocal excitation for high-throughput super-resolution imaging”, *Nat. Methods* 17, no. 7 (2020) : 726-733. doi : 10.1038/s41592-020-0859-z
- 2) K. C. Gwosch et al., “MINFLUX nanoscopy delivers 3D multicolor nanometer resolution in cells”, *Nat. Methods* 17 (2020) : 217–224. doi : 10.1038/s41592-019-0688-0
- 3) T. Wazawa, T. Washio and T. Nagai, “Highly biocompatible super-resolution imaging : SPoD-OnSPAN”, in *Single Molecule Microscopy in Neurobiology* (New York : Humana, 2020), 229-244, doi : 10.1007/978-1-0716-0532-5_11.
- 4) R. Zhang and Z. Ding, “Recent Advances in Graphene Quantum Dots as Bioimaging Probes”, *J. Anal. Test.* 2 (2018) : 45–60. doi : 10.1007/s41664-018-0047-7
- 5) J. Schnitzbauer et al., “Super-resolution microscopy with DNA-PAINT”, *Nat. Protoc.* 12 (2017) : 1198–1228. doi : 10.1038/nprot.2017.024
- 6) K. D. Piatkevich et al., “A robotic multidimensional directed evolution approach applied to fluorescent voltage reporters”, *Nat. Chem. Biol.* 14, no. 4 (2018) : 352-360. doi : 10.1038/s41589-018-0004-9

- 7) J. Kwon et al., “Bright ligand-activatable fluorescent protein for high-quality multicolor live-cell super-resolution microscopy”, *Nat. Commun.* 11, no. 1 (2020) : 273. doi : 10.1038/s41467-019-14067-4
- 8) Y. Suzuki et al., “Label-free chemical imaging flow cytometry by high-speed multicolor stimulated Raman scattering”, *PNAS* 116, no. 32 (2019) : 15842-15848. doi : 10.1073/pnas.1902322116
- 9) D. P. Hoffman et al., “Correlative three-dimensional super-resolution and block-face electron microscopy of whole vitreously frozen cells”, *Science* 367, no. 6475 (2020) : eaaz5357. doi : 10.1126/science.aaz5357
- 10) H. Yamakoshi et al., “A sensitive and specific Raman probe based on bisarylbutadiyne for live cell imaging of mitochondria”, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 25, no. 3 (2015) : 664-667. doi : 10.1016/j.bmcl.2014.11.080
- 11) L. Zhang et al., “Spectral tracing of deuterium for imaging glucose metabolism”, *Nat. Biomed. Eng.* 3 (2019) : 402-413. doi : 10.1038/s41551-019-0393-4
- 12) L. Wei et al., “Super-multiplex vibrational imaging”, *Nature* 544 (2017) : 465-470. doi : 10.1038/nature22051
- 13) M. Tamamitsu et al., “Label-free biochemical quantitative phase imaging with mid-infrared photothermal effect”, *Optica* 7, no. 4 (2020) : 359-366. doi : 10.1364/OPTICA.390186
- 14) R. Prevedel et al., “Brillouin microscopy : an emerging tool for mechanobiology”, *Nat. Methods* 16 (2019) : 969-977. doi : 10.1038/s41592-019-0543-3
- 15) J. Fan et al., “Video-rate imaging of biological dynamics at centimetre scale and micrometre resolution”, *Nat. Photon.* 13 (2019) : 809-816. doi : 10.1038/s41566-019-0474-7
- 16) T. Ichimura et al., “Trans-scale-scope to find rare cellular activity in sub-million cells”, *bioRxiv* (2020) : 179044. doi : 10.1101/2020.06.29.179044
- 17) T. Kakizuka et al., “Cellular logics bringing the symmetry breaking in spiral nucleation revealed by trans-scale imaging”, *bioRxiv* (2020) : 176891. doi : 10.1101/2020.06.29.176891
- 18) K. Matsumoto et al., “Advanced CUBIC tissue clearing for whole-organ cell profiling”, *Nat. Protoc.* 14, no. 12 (2019) : 3506-3537. doi : 10.1038/s41596-019-0240-9
- 19) M. Umezawa et al., “Rapid increase in transparency of biological organs by matching refractive index of medium to cell membrane using phosphoric acid”, *RSC Advances* 9, no. 27 (2019) : 15269-15276. doi : 10.1039/c9ra01445d
- 20) K. Seiriki et al., “High-speed and scalable whole-brain imaging in rodents and primates”, *Neuron* 94, no. 6 (2017) : 1085-1100. doi : 10.1016/j.neuron.2017.05.017
- 21) T. Chihara et al., “Biological Deep Temperature Imaging with Fluorescence Lifetime of Rare-Earth-Doped Ceramics Particles in the Second NIR Biological Window”, *Scientific Reports* 9, no. 1 (2019) : 12806. doi : 10.1038/s41598-019-49291-x
- 22) S. Sekiyama et al., “Temperature Sensing of Deep Abdominal Region in Mice by Using Over-1000 nm Near-Infrared Luminescence of Rare-Earth-Doped NaYF₄ Nanothermometer”, *Scientific Reports* 8, no. 1 (2018) : 16979. doi : 10.1038/s41598-018-35354-y

2.2

俯瞰区分と研究開発領域
ライフ・ヘルスケア応用

- 23) G. Yeroslavsky et al., “Energy Transfer Between Rare Earth-doped Ceramic Nanoparticles for Gauging Strain and Temperature in Elastic Polymers”, *Journal of Photopolymer Science and Technology* 33, no. 1 (2020) : 129-137. doi : 10.2494/photopolymer.33.129
- 24) J. M. Brockman et al., “Mapping the 3D orientation of piconewton integrin traction forces”, *Nat. Methods* 15, no. 2 (2018) : 115-118. doi : 10.1038/nmeth.4536
- 25) S. Inagaki et al., “Genetically encoded bioluminescent voltage indicator for multi-purpose use in wide range of bioimaging”, *Scientific Reports* 7 (2017) : 42398. doi : 10.1038/srep42398
- 26) T. Xu et al., “Expression of a humanized viral 2A-Mediated lux operon efficiently generates autonomous bioluminescence in human cells”, *PLoS One* 9 (2014). doi : 10.1371/journal.pone.0096347
- 27) T. Mitouchkina et al., “Plants with genetically encoded autoluminescence”, *Nat. Biotechnol.* 38 (2020) : 944-946. doi : 10.1038/s41587-020-0500-9
- 28) J. Deubner, P. Coulon and I. Diester, “Optogenetic approaches to study the mammalian brain”, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 57 (2019) : 157-163. doi : 10.1016/j.sbi.2019.04.003
- 29) K. Suzuki et al., “Five colour variants of bright luminescent protein for real-time multicolour bioimaging”, *Nat. Commun.* 7 (2016) : 13718. doi : 10.1038/ncomms13718
- 30) K. Berglund and R. E. Gross, “Opto-chemogenetics with luminopsins : A novel avenue for targeted control of neuronal activity” *J. Neurosci. Res.* 98, no. 3 (2020) : 407-409. doi : 10.1002/jnr.24473
- 31) M. Tanuma et al., “Direct visualization of an antidepressant analog using surface-enhanced Raman scattering in the brain”, *JCI Insight* 5 (2020) : 133348. doi : 10.1172/jci.insight.133348
- 32) Y. Wu et al., “Three-dimensional virtual refocusing of fluorescence microscopy images using deep learning”, *Nat. Methods* 16 (2019) : 1323-1331. doi : 10.1038/s41592-019-0622-5
- 33) M. Weigert et al., “Content-aware image restoration : pushing the limits of fluorescence microscopy”, *Nat. Methods* 15 (2018) : 1090-1097. doi : 10.1038/s41592-018-0216-7
- 34) C. Ounkomol et al., “Label-free prediction of three-dimensional fluorescence images from transmitted-light microscopy”, *Nat. Methods* 15 (2018) : 917-920. doi : 10.1038/s41592-018-0111-2
- 35) H. Wang et al., “Deep learning enables cross-modality super-resolution in fluorescence microscopy”, *Nat. Methods* 16 (2019) : 103-110. doi : 10.1038/s41592-018-0239-0
- 36) L. Jin et al., “Deep learning enables structured illumination microscopy with low light levels and enhanced speed”, *Nat. Commun.* 11, no. 1 (2020) : 1934. doi : 10.1038/s41467-020-15784-x
- 37) S. Hara et al., “SPoD-Net : Fast Recovery of Microscopic Images Using Learned ISTA”, *PMLR* 101 (2019) : 694-709.
- 38) H. Mikami et al., “Virtual-freezing fluorescence imaging flow cytometry”, *Nat. Commun.* 11 (2020) : 1162. doi : 10.1038/s41467-020-14929-2