

2.5 基礎基盤科学技術 分析・計測技術

2.5.1 構造解析

(1) 研究開発領域の定義

構造生物学は、生体分子の原子の空間的配置を決定することでそのかたちや機能を理解するための学問である。生体分子の立体構造情報は、生命の複雑な仕組みを理解するために重要なだけでなく、創薬など応用的な産業分野においても非常に有用な価値を持つ。また、生理的環境下における生体分子の振る舞いを理解する上では、in vitroでの静的な構造情報に加え、分子構造の動的性質や細胞内におけるin situでの構造の解析が重要である。これらの情報をより高分解能、かつよりハイスループットに取得するために、クライオ電子顕微鏡、X線結晶構造解析、溶液NMRといった構造解析技術の開発が進みつつある。

(2) キーワード

構造生命科学、創薬、生体高分子、立体構造、ダイナミクス（動態）、原子分解能、分子量、クライオ電子顕微鏡、X線結晶構造解析、溶液NMR、単粒子解析、クライオ電子線トモグラフィー（クライオET）、FIB-SEM、電子回折法（MicroED）、X線自由電子レーザー（XFEL）、時分割解析、in-cell NMR、高速AFM、深層学習、創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム事業（BINDS）

(3) 研究開発領域の概要

[本領域の意義]

生命機能のあらゆる仕組みは、タンパク質や核酸など生体分子の立体構造とその動態、つまり構成原子の立体配置とその変化にともなう分子間の情報・物質・エネルギーのやり取りで成り立っている。さらに、これら生体分子は、複雑な相互作用を形成しながら共同的に働くことで、細胞内の多種多様な機能を実現している。そのため、生命現象を理解する上で、生体分子の原子分解能レベルでの立体構造情報や、生体分子の相互作用の情報は非常に重要である。さらに、これらの情報は、医学・創薬の分野においても、基礎研究・応用研究の両面で極めて有用である。

立体構造情報を得る手法としては、従来、X線結晶構造解析や核磁気共鳴分光法（NMR）が主に用いられてきたが、単粒子解析に関連した技術開発の進展に伴いクライオ電子顕微鏡が主流となりつつある。立体構造のダイナミクスを解析する代表的な手法としては溶液NMRが用いられてきたが、最近ではX線自由電子レーザーを用いたX線結晶構造解析や単粒子解析の時分割解析、高速AFMも用いられるようになってきている。また、細胞内でのin situ構造解析技術としては、クライオ電子顕微鏡トモグラフィーやin-cell NMRといった手法の開発が進む。これらの手法はいずれも相補的なものであり、解析対象や目的に応じて使用できる環境を整えるのと同時に、各測定解析技術の開発を進めていくことが求められている。

生体分子の構造解析において、これまでX線結晶解析とNMRが広く用いられてきており、特にX線結晶構造解析は構造解析における中心的な技法として長年にわたって用いられてきた。一方で、クライオ電子顕微鏡による単粒子構造解析は、近年の技術進展によって分解能が大幅に向上したことで、構造解析の中心的な技法になりつつある。この手法では、X線結晶構造解析におけるボトルネックであった結晶化を必要とせず、また、わずか数十 μ gの水溶液試料からでも構造解析ができるという大きな利点を持つ。その結果として、こ

れまで結晶化できず、解析が困難か不可能とされていた真核生物の膜タンパク質や巨大な超分子複合体でも構造解析が可能となった。さらに、これまで単粒子構造解析では苦手であった小さい分子に関しても、位相板の使用などにより分子量10万以下のタンパク質の構造解析が報告されており、これまで以上に幅広い分子に適用可能であることが示された。こうした単粒子構造解析技術の進展が、ここ数年にわたって世界各国でクライオ電顕施設整備が急ピッチで進められた契機となっている。

生体分子の静的な立体構造情報を決定するこれらの手法に対して、溶液NMRは相補的な情報を与える手法である。溶液NMRによる解析は高分子量（おおよそ10万-20万以上）試料において困難さを伴うが、コンフォメーションのフレキシビリティや動的な平衡状態を含む生体高分子のダイナミクスを、様々な時間スケールで解析できるという大きなアドバンテージがあり、また生体高分子間の相互作用や低分子との相互作用の解析において、滴定実験が可能という長所も持つ。

細胞生物学において、クライオ電子顕微鏡は、光学顕微鏡で観察のできる細胞レベルのオーダー（数mm～数 μ m）からX線結晶構造解析で見える分子オーダー（1nm以下）の間を埋めるツールとして重要である。クライオ電子線トモグラフィーは、細胞内での立体構造をin vivoで解析する技術であり、Focused ion beam-scanning electron microscopy (FIB-SEM) と呼ばれる装置によって、生体分子が細胞内で実際に働く場所での構造解析を行うこともできる。また、生細胞中の分子クラウディング環境下での生体高分子動態を解析するin-cell NMRというアプローチも注目を集めている。

構造解析技術は、世界的なパンデミックとなっているCOVID-19への迅速な対策においても大きな力を発揮している。遺伝子の同定からわずかの期間で、SARS-CoV-2ウイルスの持つ重要なタンパク質（スパイクタンパク質、RNAポリメラーゼなど）や核酸のX線結晶構造解析、クライオ電子顕微鏡による構造が報告された¹⁻⁵⁾。また、クライオ電子顕微鏡でSARS-CoV-2ウイルスの粒子をそのまま撮影することで、細胞に感染するプロセスにおけるスパイクタンパク質の構造を解析した研究も報告される⁶⁾など、ワクチンの抗原設計、抗ウイルス剤のデザインなどに有用な情報を与えている。これらの事例は、クライオ電子顕微鏡の有用性とポテンシャルを示していると言えよう。

【研究開発の動向】

【クライオ電子顕微鏡】

クライオ電子顕微鏡法は、水溶液中の生体高分子を水和した状態のまま急速凍結し、非晶質の氷に包埋・固定したものを透過型電子顕微鏡で観察する手法である。手法としては1980年頃に開発されたものであるが、近年の爆発的な普及の契機となったのは、単粒子解析法の発展と、そのハイスループットな解析を可能とした電子線直接検出型のCMOSカメラ（Direct Electron Detector: DED）の登場である。単粒子解析法は、目的の生体高分子が均一に分散した凍結試料を撮像して、その中から様々な方向を向いた粒子の画像を抽出し、計算機中でそれぞれの粒子の角度を決めることで立体構造情報を再構成する方法である。写真フィルムで検出していた時代には、タンパク質の二次構造が辛うじて見える6-8 Å程度の分解能が限界であったが、高感度・高速フレームレート撮影可能なDEDの登場により、原子モデルの構築が可能な2-4 Åまで分解能が大幅に向上し、適用可能な分子量の下限も10万程度と小さな分子にまで拡張した。また、単粒子解析法による構造決定には数千枚から数万枚の電子顕微鏡像を必要とすることから、従来は構造解析に年単位の時間がかかっていたのに対し、DEDにより1か月以下までに短縮された。さらに、最新鋭のクライオ電子顕微鏡装置は自動試料交換装置、自動撮影機能などを搭載し、比較的簡単な操作でハイスループットかつ高分解能な解析が可能であり、研究者のすそ野を広げる大きな要因となっている。自動撮影装置と自動撮影ソフトを備

えたThermo Fisher Scientific社（以下TFS社、米国）の300kV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おり、全世界で200台近く導入されている。

国内では、2000年代までは藤吉、豊島、難波らにより、膜タンパク質の二次元結晶やらせん対称性を持つフィラメント構造についての先駆的な成果が多く報告され、国内の主要な大学・研究機関にある程度の数のクライオ電子顕微鏡が設置された。しかし、当時は単粒子解析を取り入れていた研究室が限られており、単粒子解析を行なうために必要な、DED搭載で自動試料測定が可能なハイエンドのクライオ電子顕微鏡の導入が遅れた。そのため、日本は近年の構造決定の世界的潮流に大きく乗り遅れることとなったが、2018年度以降になってAMED-BINDSなどの大型予算による支援によって、ハイエンドのクライオ電子顕微鏡が次々と設置されている。2020年10月の時点で、自動試料交換装置、DEDを兼ね備えた200-300kVのクライオ電子顕微鏡は東京大学に4台、高エネルギー加速器研究機構（KEK）に1台、理化学研究所・横浜に2台、東京医科歯科大学に1台、大阪大学に5台、理化学研究所・播磨（SPring-8）に2台、OISTに2台が設置され、現在も複数のプロジェクト予算によって増設が進んでいる。これらの装置の一部は共用施設として稼働しており、主に国内の研究者が試料を持ち込んで測定できるような環境が整ってきている。

クライオ電子顕微鏡法で、もう一つ注目されている技術は、クライオ電子線トモグラフィー（クライオET）と呼ばれる手法である。この方法では、急速凍結させた試料を一定の範囲で傾斜させて連続的な傾斜像を撮影することで、細胞骨格や細胞内小器官、あるいはウイルス粒子などのような構造体を観察することができる。単粒子構造解析法に比べると、多くの電子線照射が必要となるため、一般的に分解能はナノメートルスケールのオーダーに限られるが、DEDや位相板などの使用によって分解能も徐々に向上してきており、サブトモグラム平均化と呼ばれる手法によって、数多くのトモグラムから目的分子の密度を抽出して平均化を行うことで高分解能化を目指せるケースもある。その一方で、試料の厚みが1 μ mを超えると電子線が通らなくなるため、クライオETの観察のための試料調製は一般的に難しく、細胞観察のためには、集束イオンビーム（Focused ion beam：FIB）により電子線の透過観察が可能な200nm程度の厚さに掘削する方法が用いられている。クライオ観察向け専用のFIB-SEMとしてTFS社のAquilosが販売されており、世界では50台ほどが導入され、国内でも東京大学と大阪大学、理化学研究所・横浜、理化学研究所・播磨、OISTに設置されている。

【X線結晶構造解析】

国内ではX線結晶構造解析の分野は歴史的に強く、SPring-8、KEKなどの大型放射光施設を複数かかえており、国内外の研究者が広く利用できるようになってきている。特にSPring-8において高度に集光した高質のビームをもつマイクロフォーカスビームラインBL32XUでは自動測定システムの開発が行われ、国内から優れた成果を多く出す要因となった。現在では同様の自動測定システムがシンクロトロン標準として広く受け入れられるようになり、特別な技術を習得せずとも誰でもタンパク結晶からの回折測定ができるようになってきている。

また、放射光施設から発展した施設として、X線自由電子レーザー（X-ray Free Electron Laser：XFEL）施設が挙げられる。フェムト秒のパルス光を用いて測定を行うことで、時分割シリアルフェムト秒X線結晶構造解析（TR-SFX）による立体構造のダイナミクス解析が可能であり、X線損傷に敏感なタンパク質が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。さらに、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を行うことも可能である。米国のLCLSに次いで、日本のSACLAが運用を開始して、バクテリオロドプシンや光化学系II複合体などに関して優れた成果が継続的に出ている⁷⁻⁹⁾。現在では、韓国のPAL-XFEL、スイスのSwiss FEL、ドイツのEuropean XFELなどの運用が始まっている。

【溶液 NMR】

希薄溶液中の比較的低分子量の生体高分子の立体構造を解析する手法は概ね確立している。一般に①スペクトルピーク割り当て、②距離情報の取得と立体構造計算の2つのステップに分けられるが、前者はFLYAソフトウェア¹⁰⁾、後者はCYANA¹¹⁾、ARIA¹²⁾、Xplor-NIH¹³⁾などのソフトウェアにより大部分が自動化され、多くの場合比較的容易に高精度の立体構造を得ることができる。現在は、安定性や溶解度などに難があるいわゆる「解析困難な」試料や、生細胞中の試料についての解析についての技術開発が行われている。

マルチドメインタンパク質や天然変性タンパク質 (intrinsically disordered protein : IDP) のような比較的大きい分子の解析の際には、従来の立体構造解析で用いられてきた核オーバーハウザー効果 (nuclear overhauser effect : NOE) と呼ばれる約6Å以内の短距離の距離情報に加え、磁場配向材料を用いた残余双極子カップリング (residual dipolar coupling : RDC)、常磁性中心からの緩和促進効果 (paramagnetic relaxation enhancement : PRE) や擬コンタクトシフト (pseudocontact shift : PCS) といった、長距離 (~40 Å) で大域的な情報が解析に有用である。これに伴って、ランタノイド金属を利用した常磁性中心の導入法¹⁴⁾ や RDC/PRE/PCS を用いた立体構造計算法などの基盤技術の開発も急速に進んでいる。強い常磁性効果を利用することで検出できる、特定の構造状態の存在比が低い分子状態 (レアイベント) の解析も注目されている。

他の手法では得にくく、溶液 NMR 手法に期待される情報はダイナミクスの解析であり、特にマルチドメインタンパク質や IDPs の構造アンサンブルの確率分布の導出¹⁵⁻¹⁷⁾、液液相分離 (liquid-liquid phase separation : LLPS) 下での解析¹⁸⁾ などが注目されてきている。

In-cell NMR は 2001 年に大腸菌を用いて初めて提案された比較的新しい手法であるが¹⁹⁾、現在では様々な基盤技術開発によって、ヒト培養細胞をはじめとする各種真核細胞における解析が可能になっている。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、動的平衡への影響など) 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キストで理解しようとするものに大別される。

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 装置が必要となる。そういった施設は大規模であり一つの研究室で導入することは難しいため、効率よく維持・管理する中核施設が不可欠である。わが国では 21 世紀になって 800-950MHz の高磁場 NMR 施設が理研と大阪大学、横浜市立大学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・カナダや超高磁場 NMR への投資を再開した米国に加えて、最近急速に整備が進んでいる中国にも水をあげられつつある。

溶液 NMR 装置を開発・販売している企業としては Bruker 社 (ドイツ) と日本電子 (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。

(4) 注目動向

【新展開・技術トピックス】

【クライオ電子顕微鏡】

継続的な技術開発により、単粒子解析の分解能は X 線結晶構造解析に近づきつつある。2020 年には、干渉性の高い電子線を放射する冷陰極電界放射型電子銃 (Cold FEG)、試料で非弾性散乱した電子線を除去

するエネルギーフィルタ、ノイズ低減した最新のDED、高次収差の補正機能を持つ解析ソフトRELIONを用いた単粒子解析により、標準試料であるアポフェリチンにおいて1.22 Å という最高分解能が報告され、タンパク質に配位した水分子だけでなく、水素も見えるようになった^{20), 21)}。これまでクライオ電子顕微鏡による構造解析の結果は「近原子分解能」と表現されることが多かったが、標準試料とはいえついに「真の原子分解能」に到達したと言える。

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、Danev（開発当時所属マックスプランク研究所、現所属東京大学医学部）により開発されたボルタ位相板（Volta Phase Plate：VPP）である。VPPの使用により、2017年にヘモグロビン（分子量6.4万：分解能3.2 Å）、2019年にストレプトアビジン（同5.2万：2.6 Å）の構造解析に成功し²²⁻²⁴⁾、X線結晶構造解析の得意な分子量に肉薄している（現時点では、試料調製や解析処理で問題が多く、分解能も劣る傾向にあるため、X線結晶構造解析に比べてメリットは小さい）。ただし、VPPによって見た目のコントラストが改善する一方で高分解能の情報は失われ、さらに最近になってVPPを使用せずとも構造を解くことができることが示されたため、現在では単粒子解析へのVPPの使用は推奨されていない。一方で、クライオETにおいては高分解能成分より低分解能成分の重要性が高く、VPPの重要性は依然高い。VPP以外の位相板として、レーザーによって電子線の位相をシフトさせる「レーザー位相板」も実証のための試験装置が作られ²⁵⁾、2020年中に試験運用が始まる。この方法では高分解能情報の損失を防ぐことができるため、クライオETだけではなく単粒子解析においても優位性を示す可能性があるとして期待がされている。

単粒子解析では、複数の状態が混ざっていても計算機上でクラス分類を行うことでそれぞれの構造を明らかにすることができる。このため、タンパク質の動的な解析が可能である。後述の次世代凍結装置により凍結までの時間を制御することで、リガンドなどによる構造変化をミリ秒スケールで直接観察するような試みも行われるようになっており²⁶⁾、クライオ電子顕微鏡による時分割構造解析を比較的手軽に行うことができるようになってきている。

クライオETについては、最近では、細胞中での70Sリボソーム構造を5.6 Åという高分解能で明らかにしたり²⁷⁾、SARS-CoV-2のウイルス表面のスパイクタンパク質の構造多様性を明らかにしたりといった顕著な成果も目立つ^{6), 28), 29)}。このように、生体分子が働く「その場で (in situ)」の構造を高分解能で明らかにすることができるという大きなポテンシャルがある一方で、汎用性については課題がある。専用のFIB-SEM装置がTFS社から販売されているものの、誰もが簡単に使えるといったものではなく、国内外での人材、技術交流が必要な段階である。さらには大きな構造的特徴を持っていないような標的分子ではトモグラム像から抽出すること自体が困難であるといった課題もあり、現時点では適用対象が限られている。汎用技術の実現に向けて、世界中で装置、解析プログラムの開発が進められていることから、国内でもそのような世界的情勢に離されないようにすることが重要である。

また、クライオ電子顕微鏡を利用した電子回折法（Micro Electron Diffraction：MicroED）と呼ばれる方法では、電子線の散乱能の強さを生かして、X線結晶構造解析が難しいわずか100 nmから1 μm程度の結晶からも回折データ収集が可能であることから、ペプチドや小分子化合物のような分子の構造決定に用いられるようになってきている³⁰⁾。NMRでは構造決定が難しかった化合物に関しても比較的簡単に1 Åを下回る高分解能で原子座標を求めることができるようになっており、少量の試料から分子構造同定できる方法として、低分子医薬の立体構造解析を始め、化学・薬学分野での注目が高まっている。さらに、この手法をタンパク質微結晶にも拡張してX線に代わって電子線で構造解析を行う方法も徐々に用いられるようになってきているが³¹⁾、実用化のためにはさらなる技術開発が必要である。

現在、生物試料を扱うことのできるクライオ電子顕微鏡の販売、開発を行うのはTFS社、および国内企業であるJEOL社の二社に限られるが、単粒子解析向けのモデルをいち早く普及させたTFS社が世界的なシェアのほとんど(95%以上)を有し、実質的に一社独占の状態が続いている。それに対し、JEOLも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)を2017年に販売開始した。TFSの商用機が搭載していない冷陰極電界放出型電子銃により、2019年初めには当時の世界記録である1.53 Åの分解能を達成した³²⁾。そういった成果も背景に、国内では阪大、東京医科歯科大と理研SPring-8に、海外では米国NIH、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、オーストラリアのクィーンズランド大学などに計10数台導入されており、徐々にその納入台数を伸ばしている。一方、TFS社も電子銃のためのモノクロメーターあるいは冷陰極電界放出型電子銃、エネルギーフィルターの開発を行ない、2020年にはTFS社の実験機を用いて前述の通り原子分解能に到達したことから、これまで以上にTFS社の独占状態が加速することも予想される。また、TFS社はFIB-SEMなども含めた開発を行なっていることから、細胞を研究対象とした光電子相関顕微鏡法(CLEM)などにも対応した製品デザインとなっていることも、生命科学分野におけるTFS社の強みである。

【X線結晶構造解析】

最近ではX線源の高強度化と検出器の読み出し速度の向上に伴い、通常のシンクロトロンでも常温結晶を用いたシリアル結晶構造解析が行われるようになってきた。X線自由電子レーザーがピコ秒以下のスケールの反応が得意なのに対して、シンクロトロンはナノ秒より遅い反応を見るのに適していることから、シンクロトロンとX自由電子レーザーでは異なるタイムスケールでの時分割測定が行われるようになっており、相補的に時分割測定の開発が進められている。

時分割構造解析の観察対象は、これまではレチナールや光合成中心のような光感受性タンパク質が多く、測定タイミングをコントロールする方法としては、光照射によって直接的に化学反応を開始する光励起法が主に用いられてきたが、さらに幅広い反応を見るために新たな手法が開発されてきている。例えば、ケージド化合物を使用して光照射によって特定の化合物を遊離させる方法や、あるいは微小溶液管を使用して特定のリガンド溶液との混合から回折データ測定までの時間をコントロールする方法が開発されている³³⁾。これらの手法はシンクロトロンによる時分割構造解析に適したタイムスケールに有効であり、組み合わせることでこれまで以上にタンパク質の動的変化に対して迫るような研究が進むと期待される。

【溶液NMR】

近年得られた新しい医学・生物学的知見の中で顕著なものとしては、創薬ターゲットとして重要な膜タンパク質であるGPCRのダイナミクス解析、マルチドメインタンパク質の解析、LLPSの解析を含むIDPの解析、生きた真核細胞内のタンパク質の動態解析などが挙げられる。

GPCRについては、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^{34)、35)}。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。シャペロンをはじめとする生物学的に重要なマルチドメインタンパク質の溶液中での動態解析は大きなインパクトを与えつつある^{36)、37)}。LLPSは細胞内の分子動態をとらえる新しいパラダイムとして近年注目されているが、NMR解析によって明らかになった生体高分子間の弱い相互作用がLLPS形成の制御に関与しているという知見は非常に興味深い^{38)、39)}。IDPsは、アルツハイマー病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様々な疾

病の原因とされ、LLPS 形成においても重要な役割を果たしていることが明らかになり、近年注目されている。NMRに加えてX線小角散乱 (SAXS) やSingle-Molecule FRETの情報を取り入れてIDPsの構造アンサンブルを解析する試みが出てきており、非常に先駆的であると考えられる⁴⁰⁾。真核細胞を用いた研究としては、昆虫培養細胞内の蛋白質の詳細な立体構造解析により、細胞内クラウディング環境がタンパク質の立体構造に与える影響を原子分解能で初めて示した研究が挙げられる⁴¹⁾。また、真核細胞内の球状タンパク質やIDPの動態とタンパク質間相互作用の解析も、ゲノム編集や特異的阻害剤を用いて解析されるようになってきた^{42), 43)}。

先端的な溶液NMR解析を可能にする基盤技術の開発も進んでいる。特に、NMRシグナルの自動解析⁴⁴⁾やベイズ推定を用いた立体構造解析^{45), 46)}など、情報科学的手法の適用が急速に進みつつあるほか、常磁性NMR情報取得のためのケミカルバイオロジー的な様々な技術開発も盛んである。In-cell NMRにおいては、バイオリアクター⁴⁷⁾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。

上記の3つの技術に加えて、構造解析に用いられる技術として注目される技術の1つが高速AFM (原子間力顕微鏡) である。AFMは、試料表面を走査する針が先端に付いたカンチレバーの振動の情報から試料の表面形状をイメージングする手法であるが、金沢大学・安藤らにより液中で高速に走査できる高速AFMが開発され、最高15フレーム/秒での撮影が可能となった⁴⁸⁾。高速AFM単独では構造情報を決定できないものの生体分子の形状のダイナミクスを1分子で観察できることから、他の構造解析手法を補完する手法として、複数の安定状態を持つ分子の構造動態や二量体・三量体のような比較的単純な複合体のマクロな構造動態の観察に用いられる。また、針を介して力や剛性といった生体分子の物性を計測したり、逆に摂動を加えた時の構造変化を見たりといった、AFM特有の計測が可能である。近年ではIDPの動態観察⁴⁹⁾や力覚センシング分子の構造の力依存性の観察⁵⁰⁾といった事例が注目されている。微量の試料でも分子形状を直接可視化できるため、他の構造解析手法を適用する前のスクリーニング手法としての普及も期待されているが、計測に熟練を要し計測を行なえる人材に限られるという課題があった。2020年にAFM市場リーダーのBruker社より、価格が高いもののソフトウェアの使い勝手が良い高速AFMシステムが発売され、高速AFM利用のすそ野が広がる可能性がある。

さらに、計測を行なうことなく構造を予測する技術として、従来の分子動力学のような数値計算ベースの手法に加え人工知能が注目を集めている。DeepMind社が開発した深層学習モデルにより、アミノ酸配列からタンパク質立体構造を予測する精度がクライオ電子顕微鏡による解析の精度に近づいたことが報告されており⁵¹⁾、実験による構造解析の重要性がこれまでより低下する可能性があるため、動向を注視する必要がある。

[注目すべき国内外のプロジェクト]

国内における放射光施設(Spring-8、KEK)やハイエンドのクライオ電子顕微鏡をはじめとした装置の整備・維持については、AMEDによる創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS) 事業によって重点的に投資がされている。

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、ここ数年で国際的なファンディングは急速な増加を見せている。2016年に英国ロンドンに巨大研究所を設立したFrancis Crick InstituteがコアファシリティーにTitan Kriosなど最先端の装置を複数台そろえたように、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た。特に米国、中国、ドイツ、英国ではクライオ電子顕微鏡の導入が急ピッチで進み、

こういったトレンドは、他の欧州諸国や、シンガポール、台湾、韓国などでも同様である。米国、欧州の大型予算がまだ継続していることもあり、クライオ電子顕微鏡購入のための大型予算の動きは、この2年で以前に比べると落ち着いた感があるが、中国では2つの国家プロジェクトが進行しており、地域によってはまだその動きは活発である。また、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）に付設の共用施設として、クライオ電子顕微鏡が複数台設置されているのも特徴的である。国内でもここ2-3年で設置が進んでおり、2019年度には、AMED-BINDSにより東北大学に、文部科学省補正予算によりSpring-8に、新興感染症対策予算により京都大学にハイエンドのクライオ電子顕微鏡が導入され、BSL3施設内への導入も検討されている。

世界の主だった放射光施設では低エミッタンス化へのアップグレードが進められている。低エミッタンスの蓄積リングではより広がり少なく明るいX線の利用が可能であり、X線自由電子レーザー施設とは異なるタイムスケールでの時分割構造解析やサブミクロン結晶からの高分解能構造解析の効率化が見込まれる。Spring-8についても低エミッタンス化に向けたアップグレードの話し合いが進む一方で、アップグレードには施設の休止が必須であるため、国内での放射光施設冗長化が必要である。この一環として東北大学のSLIT-J計画では世界各地で安定運転の実績を誇る3 GeVリングを有する放射光施設が建設されつつある（タンパク結晶用のビームラインが利用可能かどうかは現段階では不明）。

現存する最高磁場の1.2GHz NMR装置は2020年に導入が開始された（欧州に3台）が、韓国も1.2GHz装置の導入を既に決定している。日本では理研を中心に1.3 GHz装置の開発が進められているが、いまだに実機の完成には至っていない。

その他、構造解析を用いた研究や構造解析の技術開発を行なうプロジェクトとして、以下のような事例が挙げられる。

- ・ JST-CREST「細胞内ダイナミクス」は、細胞内の高次構造体のダイナミクス解析による細胞システム理解やそのための基盤技術開発を目指すプロジェクトで、構造生物学全般に関わっている。
- ・ 新学術領域「高速分子動画」では、X線自由電子レーザーによる時分割構造解析の適用拡大のための技術開発を行なっている。
- ・ 生体高分子のNMR解析に関わる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・理化学研究所）のほか、新学術領域研究「生命金属科学」（代表：津本・東京大学）も溶液NMR解析や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）⁵²⁾ や、欧州のネットワーク型の統合構造生物学研究基盤（INSTRUCT）⁵³⁾ 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。
- ・ 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の「高温超電導線材接合技術の超高磁場NMRと鉄道電線への社会実装」が進行中で、1.3GHz NMR用のマグネット開発を行なっている。

(5) 科学技術的課題

【クライオ電子顕微鏡】

クライオ電子顕微鏡装置は高解像度化と撮影の自動化・高速化が進んだが、より汎用な計測解析技術とな

るためには、急速凍結による試料グリッド調製法の再現性の低さが技術的なボトルネックとなっている。観察試料の凍結には、グリッドと呼ばれる金属片の上に小孔の開いた、カーボン膜がコートされたホルダーを使うのが一般的である。観察試料を含む水溶液をこれらの上に滴下した後に、余計な水分を濾紙で吸い取ることで、薄い非晶質の氷の中に目的の分子が均一に分散した凍結試料を作製する。TFS社のVitrobot、あるいはLeica社のEM GPといった装置はこの過程を半自動で行うことができるが、氷薄膜を適切な薄さに制御することが難しく、試料凍結の際に気液界面でタンパク質や核酸が変性してしまうことも多いため、再現よく観察試料を調製することは難しい。変性を防ぐために薄層のグラフェン膜で気液界面を覆う方法も開発され、そのためのグリッドが市販されるようになってきている。さらに最近では、試料溶液の微小液滴を特殊なグリッドに噴霧して急速に凍結させることで凍結時間と試料の厚みを適切にコントロールしようという試みがされている。このような次世代型の試料凍結装置としてTTP Labtech社のChameleon、CryoSol社のVitroJetなどの商用機が販売されるようになったが、いずれも数千万円と非常に高価なことから、共用施設における設置が望まれる。現在の世界での導入実績は、Chameleonが10台ほど、VitroJetが2台ほどである。

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、技術の汎用化のための重要なポイントである。電子顕微鏡装置や検出器の技術進展により撮影効率が大幅に向上したのに対し、撮影に適した場所はいまだに人の目で決めて判断する必要があるため、良質のデータを取得するためには一定の熟練が必要である。AIなどを活用しグリッドのスクリーニングからデータ収集までの完全自動化を目指した開発が進められてはいるが、現状では実用化に至っていない。撮影したデータから単粒子解析を行なうプログラムには、RELION、CryoSPARC、cisTEM、SPHIREなど、教育機関であれば無償で使用できるものが多く出ている。いずれのプログラムも黎明期と比べると格段に使いやすくなっており、学生でも数日のトレーニングで一通りの操作ができるが、X線結晶構造解析のプログラムに比べると操作性などの面で改善の余地がある。また、効率よくデータ収集を行うためには、測定しながらon-the-fly処理によるデータ解析を行うことで測定中のデータの質を迅速に評価することが有効であるが、そのためには一定の人的、資金的リソースを整える必要がある。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ない。クライオ電子顕微鏡によって撮影された生の原画像データのパブリックデータベースEMPIARへの登録と開示が推進されており、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は課題であるが、蓄積されたデータと計算機科学により解析の妥当性の検証が進むと期待される。クライオ電子顕微鏡による構造解析支援の受託研究も盛んになっているため、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。

クライオ電子顕微鏡装置に関しては、近原子分解能の構造解析を可能にするハイエンド製品は海外メーカーであるTFS社の独占状態で、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、国内におけるサービス体制、メンテナンスコストの面でも大きな問題となる可能性がある。国内メーカーであるJEOL社が2017年にCRYO ARMを販売開始したものの、国内および欧州や中国によろやく10数台が導入されているばかりで、まだまだTFS社に追いつく体制を構築できないでいる。日本は地理的な不利なども目立ち、技術開発の面でやや置いて行かれている傾向にある。日本としては、世界の構造生物学の潮流に遅れないようTFS社の最新鋭機の導入を加速すると同時に、撮像・解析技術の一層の高度化や周辺技術の開発にもバランス良く投資することが望まれる。また、ハイエンド機の価格が高止まりしているのに対し、クライオ電子顕微鏡の利用のすそ野を広げる上で、試料スクリーニングを主な目的とした低加速電圧の廉価版クライオ電子顕微鏡の開発を望む声が挙がっており、そのような装置の実現性、発展性に関しても注視が必要である。

【X線結晶構造解析】

クライオ電子顕微鏡による単粒子解析あるいはMicroEDの登場によって相対的な重要度は下がってきているものの、分子量が小さいタンパク質などに関してはX線結晶構造解析がいまだに第一の選択肢となる。特にスルーポットの面ではX線結晶構造解析は圧倒的に優位性をもつため、fragment based drug discovery (FBDD) のような用途など、製薬企業などにおいては継続的な需要がある。また、次世代放射光源における低エミッタンス化のメリットは、主に極微結晶からの回折にあると考えられる。サブミクロン結晶からの高分解能構造解析の効率化が見込まれることで、薬剤ソーキングによるFBDDの高効率化、あるいは常温のシリリアル結晶測定による時分割結晶解析の飛躍的進歩が見込まれる。さらに、輝度の向上だけでなく、理想的特性をもつアンジュレータ放射を生かして、エネルギーの広がりを持ったピンクビームと呼ばれるX線の利用も見込まれる。

このように、シンクロトロンのような大型施設の持つ重要性はいまだに大きく、これまでと同様に共通施設としての基盤整備を行うことは国際的な競争力を保つためにも重要である。一方で、近年のクライオ電子顕微鏡の急速な普及と成果、解析対象の広がりを考えると、大きな投資が必要なシンクロトロンに対し、限られた予算をどこまで投入するかは日本に限らず難しい問題である。X線とMicroEDでそれぞれ得意とする対象を見出していくなど、シンクロトロンとクライオ電子顕微鏡の最適な組み合わせとバランスを考えていくことは重要であろう。また、COVID-19の影響でユーザー自身が放射光施設に訪れることなくリモートで測定することが増えたことで、人材的な停滞も課題として挙がりつつある。

【溶液NMR】

まず測定に関する技術として、ハードウェア面では、より高磁場のNMR磁石の開発や、高分子解析のための動的核偏極法 (dynamic nuclear polarization: DNP) の積極的な利用などが考えられる。ソフトウェア面としては、情報科学的なアプローチとの効率的な統合による迅速なNMR測定技術の開発が希求される。実際、最近の技術開発により、ソフトウェア面だけでこれまで実質3~5倍の感度上昇を達成しているが、まだ伸び代があり今後の進展が大いに期待される。

データ解析に関する課題としては、同様に情報科学的なアプローチを積極的に取り入れた開発研究が期待され、少ない情報から正確で精密な立体構造を算出する方法や、構造アンサンブルを統計的に取り扱うための手法の開発などが重要であると考えられる。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。

In-cell NMR解析を適用する標本については、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、疾病の背景を持つ細胞を用いた「もっとリアルなin situ解析」の必要性が唱えられ始めている。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、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や、疾病予測や毒性・薬効性の個別評価などが実現する可能性がある。

(6) その他の課題

クライオ電子顕微鏡の台頭によって、構造生物学における構図は大きな変化を見せているが、構造解析の技術はいずれもが相補的であり、何か一つだけに置き換えられるものではない。たとえば時分割構造解析を例に挙げても、X線自由電子レーザー、シンクロトロン、電子顕微鏡でそれぞれ得意とするところが異なる。したがって、国内の構造生物学全体のレベルを維持するためには、それぞれ異なる階層での支援が必要である。シンクロトロンのような大型施設と比較すると、クライオ電子顕微鏡は規模が小さく、各大学、研究所に設置

することができるが、導入のための費用は6-10億円、年間の維持費用だけでも数千万円かかるため、共通施設での運用が望ましい。そのような共通施設を長期的に効率よく運用するためには、長期間で安定した人的、資金的な投資が必要である。

シンクロトロン、電子顕微鏡、NMRなど高額装置の共用施設としての運用を考えるうえで、高度に専門的な知識と技術をもったスタッフの安定な雇用は非常に重要な要素である。海外ではそのような専門スタッフとしてのキャリアパスがある程度確立しているのに対して、国内ではそのような道筋を描くことは難しく、一時的な大型予算で高価な装置を購入してもそれを適切に管理できる人材がおらず、結果的に非効率な運用がされているケースが見受けられる。これは構造生物に限った話ではなく、他の分野も含めて日本固有の問題であり、大学や研究所において流動的な人件費捻出ができるような仕組みが必要である。特にクライオ電子顕微鏡の管理、運用業務を適切に行うことのできる人材は国際的にも限られており、世界的な奪い合いとなっている。海外の研究室でポスドクを経験して帰国する研究者は、最先端の技術を国内に還元するという非常に重要な役割を持つ一方で、日本は研究環境、給与待遇などの面で不利な面が多く、海外からの人材の流入はあまり期待できないことから、国内での人材育成に注力する必要がある。共用のクライオ電子顕微鏡施設の整備が進んだことで、国内からもNature、Science誌などを含む一流紙に掲載されるような成果が徐々に出るようになり、クライオ電子顕微鏡分野での研究者育成が進んできていることをうかがわせるが、好循環を回す上では継続的なサポートが重要である。特に、実際に管理業務を行うことになるポスドク、助教レベルの研究者に対する、キャリアパスも含めたサポートが必要となる。

また、日本は欧州に比べてネットワーク形成が遅れており、新しく開発した革新的な技術が速やかにコミュニティに広まりにくい構造になっている。例えばNMRでは、基礎研究と製薬企業とのネットワークは形成されつつあるが、真核細胞を用いたin-cell NMR研究に求められる、疾病に関連する各種ヒト細胞の取り扱いに実績のある医学系の研究機関やバイオバンクとの連携はまだ進んでおらず、今後鋭意推進していく必要がある。

COVID-19拡大期に導入された地域間移動の制限は、これまで地理的にカバーしきれていなかった地域を中心に、装置や技術へのアクセスを困難にしてしまった。このため、産学問わず研究基盤の地域格差を産み出しつつある。したがって、国内拠点の追加による地域の中核となる拠点の整備は急務となっている。さらに、「新常態」時代において研究を継続させるためには、遠隔利用や自動化技術の活用も重要な課題であり、これらに関する強化も望まれる。

(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	◎	→	<ul style="list-style-type: none"> 構造生物学全般で見ると、AMED-BINDS事業を始め継続的にファンディングが展開されており、日本の競争力は決して劣っておらず世界的にトップクラスの結果も発信されている。 クライオ電子顕微鏡に限ると、欧米と比較して数年の遅れがある。設備はある程度整ってきており、今後は人的投資が求められる。特にクライオETに関しては人材不足が目立つ。

2.5

俯瞰区分と研究開発領域
 基礎・計測技術
 基礎・計測技術

	応用研究・開発	○	→	<ul style="list-style-type: none"> ・ 技術の開発について、放射光施設に関しては高レベルの技術を有するが、他の領域では立ち遅れている。 ・ クライオ電子顕微鏡に関してはJEOLとの共同開発に期待がされるが、TFS社の圧倒的なシェアと競争力を前にして、やや苦しい状況にある。創薬への支援として、AMED-BINDSの産学に対する支援の他、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 (Structure-Based Drug Discovery) 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。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作用解析の主要なツールとしても位置づけられ、製薬会社 (中外など) においてin-cell NMR研究の実施を検討中。
米国	基礎研究	◎	→	<ul style="list-style-type: none"> ・ クライオ電子顕微鏡が大学や放射光施設に多く設置され、共同利用装置としての運営が功を奏して多くの成果が出ている。 ・ 米国・カナダに主要大学・研究機関に有力な生体系NMRの研究グループが存在し、長期にわたってこの領域を牽引している。特にIDPやマルチドメインタンパク質のアンサンプル解析やLLPS研究において、先駆的な成果が出ている。
	応用研究・開発	◎	↗	<ul style="list-style-type: none"> ・ APSやLCLSでは次世代放射光施設、X線自由電子レーザーなどの開発が行われている。 ・ レーザー位相板や、直接検出器 (Gatan社K3カメラ) の開発、あるいは解析プログラムの開発なども多く行われており、それに伴って実験手法的にも多くの新しい試みがなされている。 ・ 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中。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 (トロント大学のKRAS Initiative⁵⁴⁾ など)。
欧州	基礎研究	◎	↗	<ul style="list-style-type: none"> ・ 次世代放射光施設の先駆けとして、ESRFが2020年夏からの運用を開始した。 ・ クライオ電子顕微鏡に関しては、各国で独自に施設整備を行っている。英国では放射光施設Diamond Light Sourceにクライオ電子顕微鏡の共同利用拠点として、ウェットな実験を行う研究室も含んだeBICを設立。ドイツのMax Planck研究所では、クライオ電子顕微鏡だけでなく光学顕微鏡を含めた細胞イメージング研究の拠点としてのイメージングセンターの整備を進めている。 ・ 英国・ドイツ・スイスを中心に、主要大学・研究機関に有力な生体系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	○	↗	<ul style="list-style-type: none"> ・ オランダにクライオ電子顕微鏡の研究拠点を置くTFS社は、英国のLMB、ドイツのMaxPlanck研究所などと密接に連携しつつ多くの開発を進めている。また、これら二つの研究所は歴史的に電子顕微鏡分野に強く、独自の試料凍結グリッド、解析プログラムなどを含めて、ソフト、ハード両面の開発が行われている。 ・ 高磁場NMR装置の開発でBruker社が業界を牽引している。 ・ ケンブリッジ大学とAstraZeneca等5つの製薬会社がCambridge Pharmaceutical Cryo-EM Consortiumを設立。 ・ 欧州の製薬企業 (Roche、Novartis、GSK、Sanofi) はNMR活用に積極的で、大学・研究機関と積極的に共同研究を進めており、企業におけるNMRを用いた創薬研究と、アカデミアにおける創薬を志向したNMR方法論的研究の広がり結びついている。

中国	基礎研究	◎	↗	放射光施設が少なかったこともあり、クライオ電子顕微鏡が大量に国内に設置され、多くの成果を生んでいる。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、有力大学・国研の共同利用拠点だけでなく、各地方の主要大学にも複数台設置してあるところが多い。
	応用研究・開発	△	↗	現状、技術開発で顕著な成果は報告されていないが、クライオ電子顕微鏡関連の消耗品サプライヤーなども多く出てきており、大学では細胞を研究対象とした装置開発なども進められている。
韓国	基礎研究	△	→	世界的な情勢に応じた投資がされている。クライオ電子顕微鏡に関してはKBSIに設置された共用施設による成果が徐々に出てきている。
	応用研究・開発	△	→	際立った開発力はないが、PAL-XFELなど、世界の最先端の技術を追う姿勢を見せている。

(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

- ・バイオイメージング（ナノテク・材料分野 2.2.4）
- ・ナノ・オペランド計測（ナノテク・材料分野 2.6.3）

参考・引用文献

- 1) D. Wrapp et al., “Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation”, *Science* 367, no. 6483 (2020) : 1260-1263. doi : 10.1126/science.abb2507
- 2) J. Lan et al., “Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor”, *Nature* 581 (2020) : 215-220. doi : 10.1038/s41586-020-2180-5
- 3) J. Shang et al., “Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2”, *Nature* 581 (2020) : 221-224. doi : 10.1038/s41586-020-2179-y
- 4) A. C. Walls et al., “Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein”, *Cell* 181, no. 2 (2020) : 281-292.e6. doi : 10.1016/j.cell.2020.02.058
- 5) Y. Gao et al., “Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus”, *Science* 368, no. 6492 (2020) : 779-782. doi : 10.1126/science.abb7498
- 6) H. Yao et al., “Molecular Architecture of the SARS-CoV-2 Virus”, *Cell* 183, no. 3 (2020) : 730-738.e13. doi : 10.1016/j.cell.2020.09.018
- 7) E. Nango et al., “A three-dimensional movie of structural changes in bacteriorhodopsin”, *Science* 354, no. 6319 (2016) : 1552-1557. doi : 10.1126/science.aah3497
- 8) M. Suga et al., “Light-induced structural changes and the site of O=O bond formation in PSII

- caught by XFEL”, *Nature* 543, no. 7643 (2017) : 131-135. doi : 10.1038/nature21400
- 9) M. Suga et al., “An oxy/oxo mechanism for oxygen-oxygen coupling in PSII revealed by an x-ray free-electron laser”, *Science* 366, no. 6463 (2019) : 334-338. doi : 10.1126/science.aax6998
- 10) E. Schmidt and P. Güntert, “A new algorithm for reliable and general NMR resonance assignment”, *J Am Chem Soc* 134, no. 30 (2012) : 12817-12829. doi : 10.1021/ja305091n
- 11) P. Güntert and L. Buchner, “Combined automated NOE assignment and structure calculation with CYANA”, *J Biomol NMR* 62, no. 4 (2015) : 453-471. doi : 10.1007/s10858-015-9924-9
- 12) J. P. Linge, S. I. O'Donoghue and M. Nilges, “Automated assignment of ambiguous nuclear overhauser effects with ARIA”, *Methods Enzym* 339 (2001) : 71-90. doi : 10.1016/S0076-6879 (01) 39310-2
- 13) C. D. Schwieters et al., “The Xplor-NIH NMR molecular structure determination package”, *Magnet Resonance* 160, no. 1 (2003) : 65-73. doi : 10.1016/S1090-7807 (02) 00014-9
- 14) G. Otting, “Prospects for lanthanides in structural biology by NMR”, *J biomol NMR* 42, no. 1 (2008) : 1-9. doi : 10.1007/s10858-008-9256-0
- 15) J. A. Marsh et al., “Improved structural characterizations of the drkN SH3 domain unfolded state suggest a compact ensemble with native-like and non-native structure”, *J Mol Biol* 367, no. 5 (2007) : 1494-1510. doi : 10.1016/j.jmb.2007.01.038
- 16) L. Salmon et al., “NMR characterization of long-range order in intrinsically disordered proteins”, *J Am Chem Soc* 132, no. 24 (2010) : 8407-8418. doi : 10.1021/ja101645g
- 17) W. Liu et al., “A Method for Determining Structure Ensemble of Large Disordered Protein : Application to a Mechanosensing Protein”, *J Am Chem Soc* 140, no. 36 (2018) : 11276-11285. doi : 10.1021/jacs.8b04792
- 18) Y. Shin and C. P. Brangwynne, “Liquid phase condensation in cell physiology and disease”, *Science* 357, no. 6357 (2012) : eaaf4382. doi : 10.1126/science.aaf4382
- 19) Z. Serber et al., “High-resolution macromolecular NMR spectroscopy inside living cells”, *J Am Chem Soc* 123, no. 10 (2001) : 2446-2447. doi : 10.1021/ja0057528
- 20) T. Nakane et al., “Single-particle cryo-EM at atomic resolution”, *Nature* 587, no. 7832 (2020) : 152-156. doi : 10.1038/s41586-020-2829-0
- 21) K. M. Yip et al., “Atomic-resolution protein structure determination by cryo-EM”, *Nature* 587, no. 7832 (2020) : 157-161. doi : 10.1038/s41586-020-2833-4
- 22) M. Khoshouei et al., “Cryo-EM structure of haemoglobin at 3.2 Å determined with the Volta phase plate”, *Nat Commun* 8 (2017) : 16099. doi : 10.1038/ncomms16099
- 23) X. Fan et al., “Single particle cryo-EM reconstruction of 52 kDa streptavidin at 3.2 Angstrom resolution”, *Nat Commun* 10 (2017) : 2386. doi : 10.1038/s41467-019-10368-w
- 24) Y. Han et al., “High-yield monolayer graphene grids for near-atomic resolution cryoelectron microscopy”, *Proc Natl Acad Sci USA* 117, no. 2 (2020) : 1009-1014. doi : 10.1073/pnas.1919114117
- 25) O. Schwartz et al., “Laser phase plate for transmission electron microscopy”, *Nat Methods* 16, no. 19 (2019) : 1016-1020. doi : 10.1038/s41592-019-0552-2

- 26) V. P. Dandey et al., “Time-resolved cryo-EM using Spotiton”, *Nat Methods* 17 (2020) : 897-900. doi : 10.1038/s41592-020-0925-6
- 27) F. J. O’Reilly et al., “In-cell architecture of an actively transcribing-translating expressome”, *Science* 369, no. 6503 (2020) : 554-557. doi : 10.1126/science.abb3758
- 28) B. Turoňová et al., “In situ structural analysis of SARS-CoV-2 spike reveals flexibility mediated by three hinges”, *Science* 370, no. 6513 (2020) : 203-208. doi : 10.1126/science.abd5223
- 29) Z. Ke et al., “Structures and distributions of SARS-CoV-2 spike proteins on intact virions”, *Nature* 588, no. 7838 (2020) : 498-502. doi : 10.1038/s41586-020-2665-2
- 30) B. L. Nannenga et al., “High-resolution structure determination by continuous-rotation data collection in MicroED”, *Nat. Methods* 11, no. 9 (2014) : 927-930. doi : 10.1038/nmeth.3043
- 31) D. Shi et al., “Three-dimensional electron crystallography of protein microcrystals”, *elife* 2 (2013) : e01345. doi : 10.7554/elife.01345
- 32) T. Kato et al., “CryoTEM with a Cold Field Emission Gun That Moves Structural Biology into a New Stage”, *Microsc. Microanal.* 25 (S2) (2019) : 998-999. doi : 10.1017/S1431927619005725
- 33) T. Tosha et al., “Capturing an initial intermediate during the P450nor enzymatic reaction using time-resolved XFEL crystallography and caged-substrate”, *Nat. Commun.* 8, no. 1585 (2017) : 1-9. doi : 10.1038/s41467-017-01702-1
- 34) Y. Shiraishi et al., “Phosphorylation-induced conformation of β 2-adrenoceptor related to arrestin recruitment revealed by NMR”, *Nat Commun* 9, no. 1 (2018) : 194. doi : 10.1038/s41467-017-02632-8
- 35) S. Imai et al., “Structural equilibrium underlying ligand-dependent activation of β 2-adrenoreceptor”, *Nat Chem Biol* 16, no. 4 (2020) : 430-439. doi : 10.1038/s41589-019-0457-5
- 36) K. Weinhäupl et al., “Structural basis of membrane protein chaperoning through the mitochondrial intermembrane space”, *Cell* 175, no. 5 (2018) : 1365-1379.e25. doi : 10.1016/j.cell.2018.10.039
- 37) Y. Jiang, P. Rossi and C. G. Kalodimos, “Structural basis for client recognition and activity of Hsp40 chaperones”, *Science* 365, no. 6459 (2019) : 1313-1319. doi : 10.1126/science.aax1280
- 38) T. Yoshizawa et al., “Nuclear import receptor inhibits phase separation of FUS through binding to multiple sites”, *Cell* 173, no. 3 (2018) : 693-705.e22. doi : 10.1016/j.cell.2018.03.003
- 39) T. H. Kim et al., “Phospho-dependent phase separation of FMRP and CAPRIN1 recapitulates regulation of translation and deadenylation”, *Science* 365, no. 6455 (2019) : 825-829. doi : 10.1126/science.aax4240
- 40) G. -N. Gomes et al., “Conformational ensembles of an intrinsically disordered protein consistent with NMR, SAXS and single-molecule FRET”, *J Am Chem Soc* 142. no. 37 (2020) : 15697-15710. doi : 10.1021/jacs.0c02088

2.5

俯瞰区分と研究開発領域
 基礎・計測技術
 基礎・計測技術

- 41) T. Tanaka et al., “High - Resolution Protein 3D Structure Determination in Living Eukaryotic Cells”, *Angewandte Chemie International Edition* 58, no. 22 (2019) : 7284-7288. doi : 10.1002/anie.201900840
- 42) B. M. Burmann et al., “Regulation of α -synuclein by chaperones in mammalian cells”, *Nature* 577, no. 7788 (2020) : 127-132. doi : 10.1038/s41586-019-1808-9
- 43) Q. Zhao et al., “Real-Time In-Cell NMR Reveals the Intracellular Modulation of GTP-Bound Levels of RAS”, *Cell Rep* 32, no. 8 (2020) : 108074. doi : 10.1016/j.celrep.2020.108074
- 44) E. Schmidt and P. Güntert, “A new algorithm for reliable and general NMR resonance assignment”, *Journal of the American Chemical Society* 134, no. 30 (2012) : 12817-12829. doi : 10.1021/ja305091n
- 45) W. Rieping, M. Habeck and M. Nilges, “Inferential structure determination”, *Science* 309, no. 5732 (2005) : 303-306. doi : 10.1126/science.1110428
- 46) T. Ikeya et al., “Improved in-cell structure determination of proteins at near-physiological concentration”, *Sci Rep* 6 (2016) : 38312. doi : 10.1038/srep38312
- 47) S. Kubo et al., “A gel-encapsulated bioreactor system for NMR studies of protein-protein interactions in living mammalian cells”, *Angew Chem* 52, no. 4 (2013) : 1208-1211. doi : 10.1002/ange.201207243
- 48) 安藤敏夫「高速AFMの現状と将来展望」『顕微鏡』54巻2号 (2019) : 56-61. doi : 10.11410/kenbikyo.54.2_56
- 49) N. Kodera et al., “Structural and dynamics analysis of intrinsically disordered proteins by high-speed atomic force microscopy”, *Nat. Nanotechnol.* (2020) : in press. doi : 10.1038/s41565-020-00798-9
- 50) Y. -C. Lin et al., “Force-induced conformational changes in PIEZO1”, *Nature* 573, no. 7773 (2019) : 230-234. doi : 10.1038/s41586-019-1499-2
- 51) E. Callaway, “‘It will change everything’: DeepMind’s AI makes gigantic leap in solving protein structures” *Nature*, 2020, doi : 10.1038/d41586-020-03348-4
- 52) <https://www.ccpn.ac.uk/> (2021年2月1日アクセス)
- 53) <https://www.structuralbiology.eu> (2021年2月1日アクセス)
- 54) <https://www.cancer.gov/research/key-initiatives/ras> (2021年2月1日アクセス)

2.5.2 光学イメージング

(1) 研究開発領域の定義

細胞や動植物の組織の構造、細胞や動植物個体内で働く生体分子、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。生命科学・医学分野の基礎研究では、蛍光プローブを用いた蛍光顕微鏡が最も普及しているが、蛍光顕微鏡をベースに時空間分解能や深達度などを高めた手法や、非蛍光標識および非染色のイメージング手法の開発も盛んに行なわれている。また、新たなアプローチとして、計算科学・情報科学技術を活用したコンピューショナルイメージングも注目を集める。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が、本領域では主に、生命科学・医学の基礎・前臨床研究を対象とした手法を扱う。

なお、複数の時空間スケールを対象とするイメージング手法の動向については、「トランススケールイメージング」領域も参照のこと。

(2) キーワード

光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、超解像顕微鏡、光シート顕微鏡、ラマン/コヒーレントラマン散乱、赤外吸収、光音響イメージング、コンピューショナルイメージング、蛍光プローブ、発光プローブ、in vivo イメージング、ナノ材料、近赤外蛍光、アルキンタグ、コアファシリティ

(3) 研究開発領域の概要

[本領域の意義]

光学顕微鏡の登場が細胞の発見に繋がったことに代表されるように、光学イメージングは、生物・医学研究の発展にとって重要なツールである。特に、緑色蛍タンパク白質の発見に端を発して、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）で染色する手法が急速に発展したことにより、1990年代以降は、特定の分子や構造を特異的かつコントラスト良く可視化できる蛍光顕微鏡法が生物・医学研究の標準的な手法として広く普及している。

「Seeing is believing」の言葉が表すように、従来は生体構造・生命現象を可視化する手法として位置づけられていたが、分子生物学やシステムバイオロジーのアプローチが主流になってきて以降、生命の分子化学的理解のための分析手法としての重要性が増してきている。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課題である。生命科学におけるオミックスを始めとした分析技術の多くは、細胞を破碎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不可欠であることから、侵襲性が低く、生きた状態を高空間分解能かつリアルタイムで観察できる光学イメージングは、生命科学研究において重要な役割を果たしている。

近年、顕微鏡光学系、光源（レーザー）、検出器（CMOSなどの撮像装置）、画像解析技術の進展と、蛍光色素や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、蛍光顕微鏡をベースに生体の構造、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・定量化する様々な技術が

開発され、新たな生物・医学的発見をもたらしている。また、蛍光以外でも、ラマン散乱や光音響効果などの光・物質間相互作用を活用することで、蛍光では難しかった小分子の観察や、標識なしでの特定の分子・構造の観察を可能とする技術も開発されている。このように多岐にわたる光学イメージング技術は、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広く活用されており、光学イメージングは生命科学や基礎・臨床医学の発展の重要なドライバーであると言える。

なお、光学イメージングは、病理診断、内視鏡、眼底検査、手術用顕微鏡など、医療機器として臨床現場でも利用されているが、本稿では生命科学・医学の基礎・前臨床研究を対象とした、いわゆる光学顕微鏡の技術開発の動向を中心に論ずる。

【研究開発の動向】

下村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、Tsien によるカルシウム蛍光指示薬 Fura-2 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た。Fura-2 が開発された当初は培養細胞を対象とした蛍光イメージングが主流であったが、その後 GFP を活用した蛍光タンパク質が盛んに開発され、1990 年代からは線虫やゼブラフィッシュ、マウスなどのモデル生物を対象に、遺伝子導入によって蛍光タンパク質を発現させ蛍光イメージングが行なわれるようになった。こうした蛍光プローブの開発に合わせて、励起光と比較して非常に暗い蛍光をコントラスト良く観察できる顕微鏡光学系や、従来のフィルム観察に対して動画観察が可能となった撮像装置 (CCD カメラ) などが開発されたことが蛍光顕微鏡普及の要因となった。一方、後述する超解像顕微鏡は顕微鏡法・光学系の開発に端を発しているが、手法に対応した蛍光プローブの開発が普及に寄与している。このように、生命科学・医学分野における光学顕微鏡の開発では、ハードウェアや計測・解析手法のような顕微鏡技術に加えて、蛍光を中心としたプローブ技術が非常に重要であり、これらの技術開発が両輪となって光学顕微鏡は発展してきた。

本節では、顕微鏡技術の開発とプローブ開発、それぞれの動向についてまとめる。

【顕微鏡技術】

これまで様々な顕微鏡技術が開発されており、それぞれ、標識の要否、可視化できる分子種・構造・物理量、時間分解能、空間分解能、S/N・コントラスト、視野・深達度、侵襲性・光毒性 (生体標本活性に対する励起光の影響) といった面で異なる特徴を持つ。これらの指標はトレードオフの関係にあるが、プローブや光学系、光源、検出器、解析手法の開発、さらに近年は計算機技術や AI の活用により、このトレードオフを打破しようとするのが、研究開発の基本的な方向性である。

現在、生物・医学研究においては、蛍光顕微鏡が光学イメージングの標準的な手法である一方で課題も存在し、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、大きくは蛍光ベースの観察手法と非染色・非蛍光の標識による観察手法に分かれる。また、ハードウェアとしての光学系を用いて結像させる従来のアプローチに対し、光学系を計算科学・情報科学技術で代用・補完して像を形成するコンピュータシミュレーションイメージングと呼ばれるアプローチが、蛍光・非蛍光の観察手法共に取られるようになってきている。ハードウェアだけのアプローチでは実現が難しかった、全く新たな手法のトレードオフを破る手法の開発に繋がる可能性がある。

・蛍光ベースの観察手法

当初開発された蛍光顕微鏡は3次元観察が難しく、生細胞・生体観察には不向きであったが、1980年代に3次元での蛍光イメージングが可能な共焦点顕微鏡が市販化され、細胞生物学において標準的な手法となった。また、1990年にDenkとWebb（米・コーネル大）によって開発された2光子顕微鏡技術により、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、脳科学研究に大きく寄与した。両者とも、光源であるレーザーの汎用化とカルシウム指示薬を始めとしたプローブの性能向上が、普及の大きな鍵であった。

光の波動性（回折）から解決が難しいと考えられていた空間分解能の制限についても、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、蛍光の特性を利用することで回折限界を超えた分解能が得られる超解像顕微鏡法が開発された（ノーベル化学賞 2014 年）。大きく SMLM（単一分子局在化顕微鏡）、STED（誘導放出抑制顕微鏡）、SIM（構造照明顕微鏡）の3つに分類され、それぞれ Betzig（米・ジャーナリア研究所）、Hell（ドイツ・マックスプランク研究所）、Gustafsson（米・カリフォルニア大学）らにより考案、実証された。顕微鏡メーカーやアカデミアのスピンオフにより使い勝手の良い顕微鏡装置が市販化されたことで、生物・医学研究での利用が広がりつつある。

共焦点顕微鏡や2光子顕微鏡では3次元蛍光イメージングが可能だが、レーザーを3軸方向に走査して像を取得するため、時間分解能や光毒性に課題があった。それに対し、広範囲を照射可能なシート状のレーザーをカメラ結像光学系と垂直に当てることで、高速に3次元画像を得る光シート顕微鏡が2000年代に考案され、透明なゼブラフィッシュや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広がった。空間分解能が低い、光透過性の高い標本の観察に限られる、といった課題があったが、前者は Betzig らが開発した格子光シート顕微鏡、後者は宮脇（理研）らが開発した生体透明化手法との組み合わせにより克服されつつある。

・非染色・非蛍光の標識による観察手法

生体組織は散乱が強くそのままでは透過観察が出来ないことから、従来の顕微観察の対象は薄くスライスした組織切片や平面での培養細胞であった。一方、これらのサンプルは半透明（位相物体）でコントラストが弱く、透過観察時には固定・染色処理によりコントラストをつける必要があり、現在でも病理診断を中心に標準的に用いられる。一方、細胞や微生物などを生きたまま観察する方法として、専用の対物レンズや素子により光を干渉させて標本内の屈折率分布を可視化する手法である位相差顕微鏡（ノーベル物理学賞 1953 年）や微分干渉顕微鏡が用いられているが、レーザーの干渉により専用の光学素子なしで屈折率分布を定量化できる定量位相差顕微鏡法（QPI）が開発された。また、同じく干渉を利用して屈折率の異なる境界面を3次元イメージングする光干渉断層法（OCT）が、眼底検査装置など臨床を中心に利用されている¹⁾。

標識せずに特定の分子・構造を可視化するイメージングとして、蛍光以外の光・物質間相互作用を利用したラマン散乱顕微鏡、光音響顕微鏡や、励起光が不要な発光イメージングといった手法が注目を集めている。また、スペクトルが幅広いため多色化が困難であり、同時に計測を行なうことができる分子種の数に限りがあるという蛍光の欠点を補う標識手法として、これらの観察手法に対応したプローブも開発されている。

ラマン散乱は振動分光測定であるため分子の指紋を取得することができる。細胞内の生体分子でも、シトクロムcといった特徴的なラマン散乱を示す生体分子はラベルフリーで可視化できる²⁾。一方、ラマン散乱光は極めて低強度であり、イメージングへの利用は撮影に長時間を要するという課題があったが、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²⁾。さらに、（自

発) ラマン散乱と比較して強度が高いコヒーレントラマン散乱を用いた、CARS (Coherent Anti-Stokes Raman Scattering) やSRS (Stimulated Raman Scattering) といった高速ラマンイメージング手法が発展した。広帯域のスペクトルを高速に取得する技術の進展により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^{3), 4)}。2019年に国際シンポジウム Biomedical Raman Imaging 2019が大阪で行われるなど、世界でのラマンイメージングの研究者が増えてきている状況である。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は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発光に変換するため励起光を必要としないことから、蛍光イメージングと比較して高いS/Nを得ることができる。そのため、組織深部からのシグナルを検出するのに適しており、今や動物でのイメージングにおいて無くてはならない技術となっている。

光音響イメージングは、観察対象にパルス光を照射し、光を吸収した物質が放出する超音波を基に画像を構築するイメージング法である⁵⁾。光によって特定の吸収体を選択的に励起する光イメージングの利点と、生体深部のイメージングが可能な超音波イメージングの両方の利点を併せ持つイメージング手法であり、動物でのイメージングで新たに注目されている。

・コンピューショナルイメージング

光学理論によると、結像光学系を通して得られる像は、結像光学系の特性で決まる伝達関数によって被写体を符号化したもの、と捉えることができる。結像光学系全体もしくは一部を通常のレンズから変更し、検出されるパターンを計算機内で復号化することで被写体像を取得する、というアプローチを総称してコンピューショナルイメージングと呼んでいる。通常の画像処理と異なり、検出後の処理を前提とした結像光学系の変更を伴う点が特徴である。特に、半透明な細胞や強い散乱体である生体組織の非染色イメージングは通常の光学系では難しいことから、生物・医学分野におけるコンピューショナルイメージングの活用が注目されている。

こうしたアプローチを取る手法は、1960年代に発明されたX線CTを始め、複雑な光学系を使った結像が難しいX線や電子線のイメージングを中心に以前から少しずつ報告されていたが、独立した分野として形成されてきたのは2000年代になってからである。2010年代になって発展した、ベイズ推定・圧縮センシング・スパースコーディング、さらには機械学習などに代表される情報科学・計算科学を取り込むことにより、近年コンピューショナルイメージングのアプローチを取る手法が次々と開発されている。レンズを用いることなく像を取得するレンズレスイメージング⁶⁾が典型的な例であるが、コンピューショナルイメージングによって結像光学系が簡略化できるだけでなく、結像光学系を補完することでトレードオフを打破できる可能性がある。

そういった事例として、ライトフィールド顕微鏡および超解像顕微鏡技術のSIMが挙げられる。前者は、従来の顕微鏡がカメラを用いて取得した2次元画像を多数枚重ねることで3次元画像を再構築するのに対し、特殊なマイクロレンズ付きカメラにより光線の位置情報と確度分布を同時に記録することで3次元画像を一回の撮影で取得できるという手法で、線虫全身やマウス脳の複数領域における神経活動の蛍光による同時観察が報告されている^{7), 8)}。後者は、縞状などのパターンをもつ励起光を向きや位置をずらしながら撮影した複数枚の画像の演算により、単独の画像の2倍の分解能を持つ画像を取得する。

コンピューショナルイメージングは蛍光・非蛍光関わらず適用できるアプローチであり、こうしたアプローチにより発展を続ける情報科学・計算科学技術を活用することの重要性は、新たな手法の開発においてさらに増してくると考えられる。

【プローブ】

カルシウム蛍光指示薬 Fura-2 の開発 (1985 年) や緑蛍光タンパク質 GFP のイメージングへの応用 (1994 年) などの事例を皮切りに、蛍光イメージングは目覚ましい進歩をとげた。さらに 2000 年になると、1980 年代に無機材料化学で盛んに研究されていた蛍光性ナノ粒子が、量子ドットを筆頭として蛍光イメージングにも活用され始めることとなった。これら材料の改良や組み合わせにより、生体分子を特異的に認識し可視化するプローブが盛んに開発され現在に至っている。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別される⁹⁾。

波長の観点では、黎明期は可視域のプローブが専ら開発されていたが、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、小動物を用いた実験には制限があった。そこで、2000 年以降 650~900nm 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おり^{10), 11)}、さらに近年では更に高い組織透過性と低い自家蛍光から、1,000nm を超える光を用いた生体イメージングが注目されている¹²⁾。

また測定対象としては、特定分子を標識するだけでなく、カルシウム濃度を始めとしたマイクロ環境の計測用途のプローブも開発されている。温度プローブ¹³⁾ や膜電位プローブ¹⁴⁾ の開発は国内外で進められている他、タンパク質間相互作用や蛋白質の構造変化のモニタリングに蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) などが活用されている。さらに、蛍光プローブの開発と平行して、発光、ラマン散乱、光音響イメージングといった観察手法に対応したプローブの開発も進んでいる。

以下、材料の観点からプローブ開発の潮流と現在のトレンドについて概説する。

・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 1 波長型プローブ開発が盛んである。また、超解像イメージング用の蛍光プローブの開発も欧州を中心として盛んに行われており、特にタグタンパク質と有機小分子型プローブとを組み合わせた技術開発が盛んに行われている¹⁵⁾。その他、臨床検体への応用といった医学応用を目指した蛍光プローブの開発が行われ、実際に臨床現場への応用は大きなインパクトを与えている¹⁶⁾。新規蛍光プローブ開発においては、新たな分子骨格の設計と発蛍光原理の探索が重要な課題となっている。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は一つの研究分野となっており¹⁷⁾、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¹⁸⁾、標的タンパク質特異的なラベル化¹⁹⁾ などは、現在も精力的に研究が進められている。

発光プローブについては、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、一つは基質の色変化であり、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²⁰⁾。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²¹⁾。

ラマンイメージング向けのプローブは、蛍光プローブなどと比べて一般的にプローブの分子構造を小さくすることができる利点があり、標識した生体分子の機能への影響をより抑えられると考えられる。ラベルフリーでの細胞イメージングでは、時空間的に多種多様な分子が混在する細胞から特定の分子指紋を得ることは依然として難しいため、分子指紋領域外にスペクトル観測され、生体内には天然でほとんど存在しないアルキンを始めとしたタグによる標識技術に期待が集まっている。これまで、アルキン基を核酸や脂質などの生体小分

子に付加した分子を用い、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²²⁾。

光音響イメージングは、臨床向けでは赤血球などの内因性物質に基づくイメージング技術が開発されているのに対し、主に動物の観察において外部から導入するプローブも用いられる。コントラストの向上だけでなく、内因性物質に基づくイメージングでは観察できない生体分子を特異的にイメージングすることを可能にするため、標的分子の存在下で初めて光音響シグナルが発生する activatable 型光音響プローブの開発が盛んに行われている。

・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年には微生物由来の新たな 蛍光タンパク質が発見され、それ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 蛍光波長を示し、 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²³⁾。

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。このトリックとしては、 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)、 蛍光寿命イメージング (FLIM) などが用いられる。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²⁴⁾ 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²⁵⁾ など、目的指向型のプローブ開発が行われている。また近年では、 蛍光タンパク質と Scale や CUBIC などの組織透明化法を組み合わせることによって^{26), 27)}、これまでの光学イメージングではみることができなかった全脳規模の生体深部の可視化を可能にしている。

さらに、 発光イメージングにおいて、基質の開発と平行して長波長発光型ルシフェラーゼの開発も行われ高い注目を集めている²⁸⁾。また、新たなルシフェラーゼの開発を目指し、真菌やキノコなど新たな生物種からの単離が盛んに試みられている²⁹⁾。

・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、粒子サイズの設計により 蛍光波長を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年以降に應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。また、無機材料プローブは、 蛍光タンパク質や有機 蛍光分子と比較して光安定性が高く、かつ生体内で高い滞留性を示すため、生体内での長期 蛍光観察に適している。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³⁰⁾。

現在の潮流は、新しい機能性無機材料をイメージングに應用する研究にある。例えば、有機小分子型 蛍光

色素では難易度が高い1,000 nm以上の蛍光を発することができるナノ粒子の開発が盛んに行なわれ、より生体深部かつ高いS/Nの近赤外蛍光イメージングを可能にしている³¹⁾。また、従来の量子ドットは材料であるCd等有害金属による毒性が問題であったが、その毒性を克服するため、シリコンやダイヤモンドのナノ粒子をプローブとして用いる研究が進められている³²⁾。

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いる。

(4) 注目動向

[新展開・技術トピックス]

・超解像顕微鏡

引き続き、高時間・空間分解能化に向けた技術開発が進められているが、それに加え生物研究における利用の拡大を目指した動向が注目される。

顕微鏡法の開発としては、生細胞などの不均一な生物試料で安定的に高解像観察できるように、天体望遠鏡で開発が進んだ補償光学系や深層学習などを活用した手法の最適化が見られる^{33), 34)}。並行して超解像顕微鏡用のプローブ開発が盛んに行われており、蛍光タンパク質型プローブも精力的に開発されているが、有機小分子型プローブの方がより盛んである。独Max Plank研究所のKai Johnssonらは生細胞中のアクチンフィラメントやDNA、微小管を特異的かつ低バックグラウンドで蛍光検出できる、細胞透過性の有機分子型蛍光プローブの開発を行なっている³⁵⁾。

また、顕微鏡メーカーからもシステムが市販化されているが、大学・研究所からのスピノフとしてMax Plank研究所からAbberior社、Oxford大学からONI社などが立ち上がり、普及に寄与している。蛍光プローブでも、Max Plank研究所からSPIROCHROMEという会社が設立された。

・光シート顕微鏡

光シート顕微鏡は、励起と観察の光学系が垂直に配置されるという空間的制約から、観察対象のサイズによって装置構成が異なり、主に細胞や胚の動態観察を対象とする比較的小さいスケールと、組織・個体を対象とするマクロなスケールに分かれる。観察手法の技術面では成熟しつつあり、アプリケーションの拡大や市販化の動きが目立っている。

前者では、分解能が低いという欠点を克服した格子光シート顕微鏡をベースに、補償光学系を組み合わせることでオルガノイドなどの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した³⁶⁾。また、格子光シート顕微鏡が米3i社の他、Zeissや独EMBLのスピノフであるLuxendo(現Bruker)から市販された。

マクロスケールでは、透明化した組織・個体が主な観察対象であり、生体透明化手法を開発するErtürk(ドイツ・ヘルムホルツ研究所)らが協力して開発したMiltenyi(旧La Vision)社の装置が代表的な市販化装置である。マウス全身での病態と抗体結合を、撮影や解析を半自動化してハイスループットに観察した事例など、創薬の前臨床研究での活用が期待される。また、現在の生検サンプルの一部をスライスして観察するという病理診断は網羅性に課題があるのに対して、光シート顕微鏡が活用できると考えられており³⁷⁾、生検標本観察を意識した構成の装置開発が行われている^{38), 39)}。

・メゾスコープ

焦点距離が長く開口数が大きい大口径のレンズを用いて、生体試料の広い範囲を同時に観察する技術が注目を集めており、Microscope（顕微鏡）に対してMesoscopeと呼ばれている。蛍光顕微鏡をベースとした手法と、3次元における広範囲の観察向けの、二光子顕微鏡をベースとした手法が近年になって報告されている。詳細は、本報告書の別項「トランススケールイメージング」を参照のこと。

・ラマンイメージング

アルキンタグ分子をよりラマン散乱計測に最適化された分子構造に改良する試みが行われており、アルキン構造の共役化によるラマン信号強度増強などが提案されている。これらの改良により現在では核酸（DNA, RNA）、タンパク質、脂質、糖類などの生体分子や外部から添加された薬剤の代謝過程を追跡できることが示されている。また、蛍光プローブに対するラマンプローブの利点の1つは、ラマン信号のスペクトル幅が蛍光スペクトルに比べ1/100程度しかなく、測定が多色化が原理的には容易である点である。多色測定の実現には、ピーク波長が異なるタグ分子群の分子設計が鍵であり、共役アルキン構造の構造変異を系統的に行うことでピーク波長が細かに異なるタグ分子を20種類開発したことが報告され、同時多色観測にも成功した⁴⁰⁾。これらのラマンタグを生体小分子へ修飾する技術が確立されれば、細胞内の種々の分子の時空間的变化を解析する強力な手法になると期待される。

観察手法としては、コヒーレントラマン散乱を用いた手法の開発が進む。非線形ラマンの高次過程を利用した超解像イメージング⁴¹⁾や誘導ラマンと蛍光のハイブリッド観察手法⁴²⁾、量子光源を利用した高感度化といった開発⁴³⁾の他、アプリケーションとして、ラベルフリーでのフローサイトメトリー⁴⁴⁻⁴⁶⁾を実現した例も報告されている。また、臨床検体におけるラベルフリーでのイメージング⁴⁷⁾やSRSによる脳腫瘍の術中検査⁴⁸⁾など、臨床現場への応用も試みられている。さらに、大阪大学の河田らによってラマン顕微鏡を販売するナノフoton株式会社が設立されるなど、新たな産業も誕生している。

・光音響イメージング

3次元断層像でリアルタイムに測定でき市販化されているMSOTなど、光音響イメージング装置の開発が世界中で行われている。米国ワシントン大学のLihong Wangらが世界の最先端を走っており、日本では、京都大学とキャノンの共同研究をベースとして、Luxonus社が臨床向けの装置を開発する⁴⁹⁾。克服すべき課題としては、感度の低さとその低感度に由来する時間分解能の低さが挙げられる。

光音響プローブの開発では、標的とプローブの相互作用により光音響信号強度が変化するactivatable型のプローブ開発が活発であり、光音響イメージコントラストの大幅な向上に成功している。信号強度の変化には、標的分子との相互作用によるプローブの光吸収特性の変化を利用したものが多く、酵素、活性酸素、金属イオンなどの化学種検出のみならず、pH、温度、酸素濃度などの細胞環境を標的としたプローブが報告されている⁵⁰⁾。

・その他の非染色イメージング

ラマン散乱と同じく分子振動を用いた手法として、赤外吸収を用いた細胞イメージングの研究が進んでいる。赤外吸収は、自発ラマン散乱よりも感度が良いものの、波長の長い光を用いることから空間分解能が悪く、細胞イメージングには用いられてこなかったが、可視光イメージング手法と組み合わせることで分解能向上を目指した開発^{51), 52)}や、赤外吸収に適したプローブの開発⁵³⁾が行なわれている。特に、技術開発の進んだ

定量位相顕微鏡との組み合わせの発展が期待される⁵⁴⁻⁵⁶⁾。

定量位相イメージングは、非線形光学効果 (SHG) との組み合わせによるトモグラフィ手法⁵⁷⁾ やダイナミッククレンジ拡大手法⁵⁸⁾ といった技術開発も行われているが、技術的には成熟しつつありアプリケーション拡大に比重が移ってきており⁵⁹⁾、英 Phasefocus 社のような装置開発のスタートアップも出てきている。

また、これまで可視化できなかったパラメータを用いたイメージング手法として、非接触で機械特性 (粘弾性) が計測できるブリルアン散乱を用いたバイオイメージング⁶⁰⁻⁶²⁾ や、生体高分子 (主にタンパク質) の散乱パターンから質量イメージングを行なう干渉散乱顕微鏡 (Interferometric scattering microscopy : iSCAT)^{63), 64)} が注目され、特に前者はメカノバイオロジーでの活用が期待される。

・コンピューショナルイメージング

コンピューショナルイメージングは、計算機内での復号化を前提としており、また情報科学分野の進展を素早く取り込む分野でもあることから、散乱体越しのレンズレスイメージングの事例⁶⁵⁾ など、イメージング手法の中では機械学習の適用が早くから進んだ。従来の幾何光学や波動光学の理論をベースとした数値計算による復号化に対し、機械学習は学習データを用意する必要はあるものの、完成した学習モデルによる復号は高速に行なえるメリットがある。生命科学において注目される例としては、蛍光顕微鏡画像と非蛍光顕微鏡画像を機械学習により紐付け、計算機内で非蛍光画像から蛍光画像の変換を行う仮想染色技術が挙げられる^{66), 67)}。また、復号化前のシグナルは人が認識できる画像ではないものの被写体に関する情報は含まれることから、復号化前のシグナルを画像生成プロセスなしに直接機械学習にかけて解析を行なうことで、イメージングと解析を合わせたプロセス全体の負荷の軽減や高速化を図るという考え方が出てきており、こうしたアイデアに基づいた高速イメージングフローサイトメトリーが実証されスタートアップも立ち上がるなど^{68), 69)}、成果も出てきている。

また、生命科学以外の領域も含めてコンピューショナルイメージングで注目される技術としては、time-of-flight を利用した LiDAR (Light Detection and Ranging) が挙げられる。自動運転などで注目されるこの技術は、コンピューショナルイメージングにより超低侵襲 (低光毒性) 化を実現した研究⁷⁰⁾ を契機として、コンピューショナル分野で活発に研究が行なわれ LiDAR の高性能化に貢献している。

・超多重染色

蛍光はスペクトルが広く、単純な波長分離による多重染色の蛍光観察は限りがあったが、プローブや分光技術の開発と、大容量データを伝送・解析する技術の進歩に伴い、これまでは難しかった、多数種のプローブを用いた超多重染色による研究事例が相次いで出てきている。蛍光ベースの手法では、固定標本や透明化標本に対して、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⁷¹⁾。また、これまでは特異的な多重標識には抗体が標準的に用いられてきたが、プローブに DNA や RNA を用いることで、配列設計により結合の特異性を保ちつつ識別可能なプローブ種類を増やすことができることから、イメージングによるトランスクリプトームの空間分布解析技術などで注目を集めている^{72), 73)}。また、波長スペクトル幅の狭いラマンプローブや、蛍光波長に加えて蛍光寿命を計測する FLIM の利用も注目される。FLIM は、検出器の開発や後段の伝送系の高速化により、共焦点顕微鏡や専用カメラでのイメージングが汎用化しつつある。解析においては、多重染色観察の結果から、前提知識なしに細胞内構造をマッピングするといった結果も報告されており^{74), 75)}、AI や数理学の活用により新たな知識を見出すツールとなりうる。

・近赤外線免疫療法 (Near-infrared photoimmunotherapy : NIR-PIT)

近赤外線免疫療法は光免疫療法 (Photoimmunotherapy : PIT) と呼ばれ、近赤外蛍光色素である IR700 と結合した抗体を用いた治療法であり、IR700を結合した抗体が標的細胞に結合したのちに近赤外線を照射することで励起した IR700 が細胞膜を傷害し、標的細胞特異的に細胞死を誘導する技術である⁷⁶⁾。本治療法は現在、米国及び日本において臨床試験が行われており、今後、本治療薬の開発が競って行われると予想される。

[注目すべき国内外のプロジェクト]

研究拠点としては、米国のハワードヒューズ財団のジェ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。技術開発の面では、細胞全体の電子顕微鏡と超解像顕微鏡、光格子シート顕微鏡と透明化技術を活用したエキスパンション顕微鏡など、高度な技術を要するモダリティの組み合わせた事例は、ジェネリア研究所以外では開発が難しいと言えよう^{77), 78)}。脳アトラスや細胞アトラスの作成を進めるアレン研究所や、サンフランシスコ近郊の若手研究者への研究支援やヒト細胞アトラス (HCA) プロジェクト、米国内バイオイメーキング拠点への支援事業を行なうザッカーバーグ財団も注目される。また NIH においても、4Dヌクレオームや BRAIN イニシアチブなど、バイオイメーキ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。日本でも、科研費で先端バイオイメーキング支援プラットフォーム (ABiS) という支援事業が行われている。いずれも技術開発よりはユーザーのための支援事業の側面が強いが、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。

新学術領域「シンギュラリティ生物学」は、生物学的命題を掲げた上で、多くの企業が技術サポートとして参画し新たなイメージング技術を異分野融合で開発することを計画しており、今後の進展が注目される。プローブ開発に特化した政策課題やプロジェクトは、国内外を探してもほとんど無く、多くはバイオイメーキング技術開発の一翼に位置づけられている。コンピュータショナルイメージングにおいては、米国 DARPA の REVEAL (Revolutionary Enhancement of Visibility by Exploiting Active Light-fields) プロジェクト⁷⁹⁾ や、日本の学術変革領域の「散乱・揺らぎ場の包括的理解と透視の科学」領域などが注目される。

(5) 科学技術的課題

顕微鏡技術における第一の課題・開発目標は、分解能であったが、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。取得されるデータ量が膨大になることから、イメージング技術だけでなく画像解析技術も合わせて考える必要がある。また、イメージングを分析手法として用いるために、計測の定量性も重要な課題である。蛍光プローブを用いて定量情報を取得する手法として、カルシウム蛍光プローブを用いた二波長測光イメージングによる定量評価法は原理が確立されているが、この原理を他の生体分子に応用した例は必ずしも多くはなく、絶対量を測定することは未だ様々なハードルがある。画像解析技術に加え、顕微鏡システムを含めた試料の標準化を進めることが有効であると考えられる。

プローブ技術という観点からは、脂質や代謝産物の可視化が重要な課題と言える。有機小分子型蛍光プローブやタンパク質型プローブは、様々なイオンや標的タンパク質の可視化を実現してきた一方で、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、まだまだ発展途上にある。これらの分子を従来の分子プローブ設計で蛍光・発光により可視化を試みることは勿論のこと、ラマンプローブによる可視化も試みられている。

プローブ開発の予算に関して、有機小分子型蛍光プローブや蛍光タンパク質を基盤とした蛍光プローブの何れにおいても依然として可視化したい標的生体分子が多く存在することから、日本では新たなイメージング技術の開発に注力して予算が投資される傾向がある。一方、既存の蛍光イメージング技術は、依然としてその時空間分解能から最も生体イメージングに適した技術であり、依然として従来の蛍光イメージングに準じた技術開発は重要である。例えば、in vivoにおいて従来のカルシウムセンサーよりも正確な活動電位の記録が可能な膜電位センサーの開発が、米国グループによりScience誌に報告されるなど⁸⁰⁾、まだまだ行なうべき課題が多くある。

今後、イメージング技術革新のドライバーとなるのは、機械学習に代表される高度化された情報科学技術を活用したコンピューショナルイメージングのアプローチであろう。既に、超解像顕微鏡やライトフィールド顕微鏡など、情報科学技術を活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米国を中心に相次いでいる。それに対し、日本は既存の光学系イメージングに強みがあったこともありこうした動きは限られていたが、近年になって前述の高速イメージングフローサイトメトリーや、周波数分割多重化技術を活用した高速共焦点顕微鏡⁸¹⁾などの成果も生まれてきている。こうした流れを加速するには、日本が従来強みをもつ光学技術やプローブ技術に対して、計算科学・情報科学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求められる。

(6) その他の課題

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、これまで述べてきたように、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、計算科学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、光学イメージングの技術開発において、従来の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。日本でも学際研究や異分野融合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、ファンディング面などから複合的に打開する方策が必要である。また、研究環境も重要なファクターであり、例えばスタンフォード大学やハーバード大学などの米国トップの大学では、必ずしも研究室毎に部屋分けされるのではなく、共通スペースや研究室スペースが一部融合することで効率良く異分野融合ができる環境にある。

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ことから、共同利用施設(コアファシリティ)に機器や技術者を集めて効率的に運営するという動きが世界各国でますます顕著になってきている⁸²⁾。高度な計測を行なう上では、単純な機器のオペレーションだけでなくハード・ウェット・ドライのさまざまな知識と技術が必要であり、コアファシリティはそういった技術も集まる。また技術開発の面では、特に欧州において、ユーザーである生物・医学研究者と(アカデミアの)技術開発者、機器メーカーをつなぐハブとしての機能も無視できない。日本でも、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、スキルを持った技術者が不足しており、一般の生物・医学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ことが難しい状況になりつつあるため、日本でも技術者を配したコアファ

2.5

俯瞰区分と研究開発領域
 基礎・計測技術
 基礎・計測技術

シリティの整備を進める必要がある。

このような状況の中で、日本の技術開発の現状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、材料、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。これにより、最先端の技術成果を速やかに個別研究へ展開できるだけでなく、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、生物・医学研究の発展に寄与する実用的な技術開発を効率的に進めることができる。また、産学連携の拠点ともなりうることから、制度やファンディングに加え知財面でのサポートが重要となる。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、米国ハーワードヒューズ財団のジェネリア研究所であり、これを先行成功例として体制構築が望まれる。

また、異分野融合において、人材育成は重要なファクターである。異分野融合や新しい学問の構築を通して本当の意味での科学の進歩に貢献する研究に、若手研究者が取り組んでいくことが必要であると考えられるが、現状は博士進学者が減少しているのに加え、若手研究者の任期無しのポジションが減少して安易に成果が得られる研究に流れる傾向があることは否めない。若手研究者が挑戦できる研究環境づくりが不可欠であるとする。

イメージングデータに基づいたデータ駆動型生命科学を推進するためには、さまざまな研究者が取得したイメージングデータの蓄積、そしてそれらを統合的に解析する上で前提となるデータ形式や計測方法の標準化・規格化が重要となる。欧州Euro-Bioimagingでは、データ蓄積のための共用のストレージ、およびデータ形式の標準化の検討が行なわれており、特にデータ形式についてはこれまで各メーカーの独自形式で保存されてきたことから、産学での議論が行なわれている。基礎研究における光学イメージング手法や解析手法は非常に多岐に渡ることから、計測方法やデータの質に関する標準化の議論は必ずしも進んでいるとは言えないが、Human Cell Atlasのような大規模プロジェクト、またコアファシリティ間のコミュニティを通じて、標準化の議論が進展する可能性はある。産業および国家戦略としての標準・規格の重要性は議論を待たない一方、日本単独での標準の構築は不可能であるため、こういった状況を注視し、日本の産学も積極的に議論に参加していくことが必要だろう。

(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、コンピュータシヨナルイメージングなどで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。 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。タンパク質プローブは、近赤外ルシフェラーゼの開発など、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る。
	応用研究・開発	○	↘	既存メーカーの有する光学部品や検出器といった要素技術は世界トップレベルにあるが、イメージング技術開発における産学連携が活発とは言えず、新技術への対応はスピード感に欠ける。ラマン顕微鏡やイメージングサイトメトリーなど、アカデミア発のベンチャーが出てきつつあり、今後普及に至るかが注目される。 有機小分子型プローブ開発の代表的な応用研究は、浦野等が進めている癌診断のための蛍光プローブや、永井等が開発した高輝度の生物発光タンパク質などが挙げられる。プローブの生命科学研究への応用例も数多くある。
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、フォトンクスから計算・情報科学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。 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。
	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スか中小・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により欧米の大手研究機器企業から市販されるケースが増えつつある。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、様々な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、コンピュータシヨナルイメージングでは米国に見劣りする。 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。
	応用研究・開発	◎	↗	顕微鏡メーカーが継続的に新技術を製品化しているのと同時に、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。 独国Max PlankのHell等を中心に、超解像顕微鏡およびその蛍光プローブの開発が盛んであり、スタートアップも起ち上がっている。

2.5

俯瞰区分と研究開発領域
 分析・計測技術
 基礎・計測技術

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。後追いの研究も少なくないが、超広視野イメージング ⁸³⁾ などオリジナルな研究成果も出始めている。蛍光タンパク質プローブの開発はあまり精力的に行なわれていない一方、有機小分子プローブの開発が近年盛んになってきた。ただし依然として後発的なプローブが多い。Aggregation-induced emission (AIE) の研究は、2000 年以降中国で基礎・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、深圳周辺の高い技術力・製造能力を背景に、レーザーやカメラ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。今後も成長が予想される。プローブを用いた生物応用はあまり進んでいない。全体的に、早期に成果が得られる研究が多い印象。
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。Yong-Keun Park (KAIST) が定量位相顕微鏡の世界的な研究リーダーである。
	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 で市販化された事例もあるものの、全体として見劣りする。有機小分子型蛍光プローブに関しては、Young-Tae Chang (POSTEC) や Seung Bum Park (ソウル国立大) が中心となり、蛍光プローブを基盤とした研究を展開している。しかし、その他イメージングプローブの開発研究では目立った研究者がいない印象。

(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

- ・バイオイメージング (ナノテク・材料分野 2.2.4)
- ・ナノ・オペランド計測 (ナノテク・材料分野 2.6.3)

参考・引用文献

- 1) 25 Year Anniversary of Optical Coherence Tomography. https://www.osapublishing.org/boe/virtual_issue.cfm?vid=336 (2021年2月1日アクセス)
- 2) A. F. Palonpon et al., "Raman and SERS microscopy for molecular imaging of live cells", *Nat. Protocol* 8, no. 4 (2013) : 677-692. doi : 10.1038/nprot.2013.030
- 3) J. -X. Cheng and X. S. Xie, "Vibrational spectroscopic imaging of living systems : An emerging platform for biology and medicine", *Science* 350, no. 6264 (2015) : aaa8870. doi : 10.1126/science.aaa8870

- 4) D. Polli et al., “Broadband Coherent Raman Scattering Microscopy”, *Laser Photonics Rev.* 12, no. 9 (2018) : e1800020. doi : 10.1002/lpor.201800020
- 5) L. V. Wang and J. Yao, “A practical guide to photoacoustic tomography in the life sciences”, *Nat. Methods* 13 (2016) : 627-638. doi : 10.1038/nmeth.3925
- 6) S. O. Isikman et al., “Lens-free optical tomographic microscope with a large imaging volume on a chip”, *Proc Natl Acad Sci USA* 108, no. 18 (2011) : 7296-7301. doi : 10.1073/pnas.1015638108
- 7) R. Prevedel et al., “Simultaneous whole-animal 3D imaging of neuronal activity using light-field microscopy”, *Nat. Methods* 11 (2014) : 727-730. doi : 10.1038/nmeth.2964
- 8) O. Skocek et al., “High-speed volumetric imaging of neuronal activity in freely moving rodents”, *Nat. Methods* 15 (2018) : 429-432. doi : 10.1038/s41592-018-0008-0
- 9) Ozawa T, H. Yoshimura and S. B. Kim, “Advances in fluorescence and bioluminescence imaging”, *Anal. Chem.* 85, no. 2 (2013) : 590-609. doi : 10.1021/ac3031724
- 10) R. Weissleder and V. Ntziachristos, “Shedding light onto live molecular targets”, *Nat. Med.* 9 (2003) : 123-128. doi : 10.1038/nm0103-123
- 11) R. Weissleder, “A clearer vision for in vivo imaging”, *Nat. Biotechnol.* 19 (2001) : 316-317. doi : 10.1038/86684
- 12) A. M. Smith, M. C. Mancini and S. Nie, “Second window for in vivo imaging”, *Nat. Nanotechnol.* 4 (2009) : 710-711. doi : 10.1038/nnano.2009.326
- 13) K. Okabe et al., “Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy”, *Nat. Commun.* 3 (2012) : 705. doi : 10.1038/ncomms1714
- 14) H. Tsutsui et al., “Improved detection of electrical activity with a voltage probe based on a voltage-sensing phosphatase”, *J. Physiol.* 591, no. 18 (2013) : 4427-4437. doi : 10.1113/jphysiol.2013.257048
- 15) L. Wang et al., “Small-molecule fluorescent probes for live-cell super-resolution microscopy”, *J. Am. Chem. Soc.* 141, no. 7 (2019) : 2770-2781. doi : 10.1021/jacs.8b11134
- 16) H. Kobayashi et al., “New strategies for fluorescent probe design in medical diagnostic imaging”, *Chem. Rev.* 110, no. 5 (2010) : 2620-2640. doi : 10.1021/cr900263j
- 17) Y. Hong, J. W. Y. Lam and . Z. Tang, “Aggregation-induced emission”, *Chem. Soc. Rev.* 40 (2011) : 5361-5388. doi : 10.1039/C1CS15113D
- 18) T. Ikeno, T. Nagano and K. Hanaoka, “Silicon-substituted xanthene dyes and their unique photophysical properties for fluorescent probes”, *Chem. Asian. J.* 12, no. 13 (2017) : 1435-1446. doi : 10.1002/asia.201700385
- 19) K. Amaike, T. Tamura and I. Hamachi, “Recognition-driven chemical labeling of endogenous proteins in multi-molecular crowding in live cells”, *Chem. Commun.* 53, no. 88 (2017) : 11972-11983. doi : 10.1039/c7cc07177a
- 20) T. Kuchimaru et al., “A luciferin analogue generating near-infrared bioluminescence achieves highly sensitive deep-tissue imaging”, *Nat. Commun.* 5 (2012) : 11856. doi :

- 10.1038/ncomms11856
- 21) R. Kojima et al., “Development of a sensitive bioluminescence probe for imaging highly reactive oxygen species in living rats”, *Angew. Chem. Int. Ed.* 127, no. 49 (2015) : 14981-14984. doi : 10.1002/ange.201507530
 - 22) H. Yamakoshi et al., “Alkyne-tag Raman imaging for visualization of mobile small molecules in live cells”, *J. Am. Chem. Soc.* 134, 51 (2012) : 20681-20689. doi : 10.1021/ja308529n
 - 23) D. M. Shcherbakova et al., “Near-Infrared Fluorescent Proteins : Multiplexing and Optogenetics across Scales”, *Trends Biotechnol.* 36, no. 12 (2018) : 1230-1243. doi : 10.1016/j.tibtech.2018.06.011
 - 24) T. Patriarchi et al., “Ultrafast neuronal imaging of dopamine dynamics with designed genetically encoded sensors”, *Science* 360, no. 6396 (2018) : eaat4422. doi : 10.1126/science.aat4422
 - 25) B. F. Fosque et al., “Neural circuits. Labeling of active neural circuits in vivo with designed calcium integrators”, *Science* 347, no. 6223 (2015) : 755-760. doi : 10.1126/science.1260922
 - 26) H. Hama et al., “ScaleS : an optical clearing palette for biological imaging”, *Nat. Neurosci.* 18 (2015) : 1518-1529. doi : 10.1038/nn.4107
 - 27) K. Tainaka et al., “Chemical principles in tissue clearing and staining protocols for whole-body cell profiling”, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 32 (2016) : 713-741. doi : 10.1146/annurev-cellbio-111315-125001
 - 28) S. Iwano et al., “Single-cell bioluminescence imaging of deep tissue in freely moving animals”, *Science* 359, no. 6378 (2018) : 935-939. doi : 10.1126/science.aaq1067
 - 29) T. Mitiouchkina et al., “Plants with genetically encoded autoluminescence”, *Nat. Biotechnol.* 38 (2020) : 944-946. doi : 10.1038/s41587-020-0500-9
 - 30) D. Onoshima, H. Yukawa and Y. Baba, “Multifunctional quantum dots-based cancer diagnostics and stem cell therapeutics for regenerative medicine”, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 95 (2015) : 2-14. doi : 10.1016/j.addr.2015.08.004
 - 31) M. Kaimimura et al., “Ratiometric near-infrared fluorescence nanothermometry in the OTN-NIR (NIR II/III) biological window based on rare-earth doped β -NaYF₄ nanoparticles”, *J. Mater. Chem. B.* 5, no. 10 (2017) : 1917-1925. doi : 10.1039/C7TB00070G
 - 32) M. Montalti, A. Cantelli and G. Battistelli, “Nanodiamonds and silicon quantum dots : ultrastable and biocompatible luminescent nanoprobe for long-term bioimaging”, *Chem. Soc. Rev.* 44, no. 14 (2015) : 4853-4921. doi : 10.1039/c4cs00486h
 - 33) F. Xu et al., “Three-dimensional nanoscopy of whole cells and tissues with in situ point spread function retrieval”, *Nat. Methods* 17 (2020) : 531-540. doi : 10.1038/s41592-020-0816-x
 - 34) E. Nehme et al., “DeepSTORM3D : dense 3D localization microscopy and PSF design by deep learning”, *Nat. Methods* 17 (2020) : 734-740. doi : 10.1038/s41592-020-0853-5
 - 35) L. Wang et al., “Small-molecule fluorescent probes for live-cell super-resolution microscopy”,

- J. Am. Chem. Soc.* 141, no. 7 (2019) : 2770-2781. doi : 10.1021/jacs.8b11134
- 36) T. -L. Liu et al., "Observing the cell in its native state : Imaging subcellular dynamics in multicellular organisms", *Science* 360, no. 6386 (2018) : eaaq1392. doi : 10.1126/science.aaq1392
- 37) S. Nojima et al., "CUBIC pathology : three-dimensional imaging for pathological diagnosis", *Sci. Rep.* 7, no. 1 (2017) : 9269. doi : 10.1038/s41598-017-09117-0
- 38) A. Glaser et al., "Light-sheet microscopy for slide-free non-destructive pathology of large clinical specimens", *Nat. Biomed. Eng.* 1 (2017) : 0084. doi : 10.1038/s41551-017-0084
- 39) Lindsey A. Barner et al., "Multi-resolution open-top light-sheet microscopy to enable efficient 3D pathology workflows", *Biomed. Opt. Express* 11, no. 11 (2020) : 6605-6619. doi : 10.1364/BOE.408684
- 40) F. Hu et al., "Supermultiplexed optical imaging and barcoding with engineered polyynes", *Nat. Methods* 15 (2018) : 194-200. doi : 10.1038/nmeth.4578
- 41) L. Gong et al., "Higher-order coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy realized label-free super-resolution vibrational imaging", *Nat. Photonics* 14 (2020) : 115-122. doi : 10.1038/s41566-019-0535-y
- 42) H. Xiong et al., "Stimulated Raman excited fluorescence spectroscopy and imaging", *Nat. Photonics* 13, no. 6 (2019) : 412-417. doi : 10.1038/s41566-019-0396-4
- 43) R. B. Andrade et al., "Quantum-enhanced continuous-wave stimulated Raman scattering spectroscopy", *Optica* 7, no. 5 (2020) : 470-475. doi : 10.1364/optica.386584
- 44) C. Zhang et al., "Stimulated Raman scattering flow cytometry for label-free single-particle analysis", *Optica* 4, no. 1 (2017) : 103-109. doi : 10.1364/OPTICA.4.000103
- 45) K. Hiramatsu et al., "High-throughput label-free molecular fingerprinting flow cytometry", *Science Advances* 5, no. 1 (2019) : eaau0241. doi : 10.1126/sciadv.aau0241
- 46) Y. Suzuki et al., "Label-free chemical imaging flow cytometry by high-speed multicolor stimulated Raman scattering", *Proc Natl Acad Sci USA* 116, no. 32 (2019) : 15842-15848. doi : 10.1073/pnas.1902322116
- 47) M. Shiota et al., "Gold-nanofève surface-enhanced Raman spectroscopy visualizes hypotaurine as a robust anti-oxidant consumed in cancer survival", *Nat. Commun.* 9 (2018) : 1561. doi : 10.1038/s41467-018-03899-1
- 48) T. C. Hollon et al., "Near real-time intraoperative brain tumor diagnosis using stimulated Raman histology and deep neural networks", *Nat. Med.* 26 (2020) : 52-58. doi : 10.1038/s41591-019-0715-9
- 49) Y. Matsumoto et al., "Visualising peripheral arterioles and venules through high-resolution and large-area photoacoustic imaging", *Sci. Rep.* 8 (2018) : 14930. doi : 10.1038/s41598-018-33255-8
- 50) Q. Miao and K. Pu, "Emerging designs of activatable photoacoustic probes for molecular imaging", *Bioconjugate Chem.* 27, no. 12 (2016) : 2808-2823. doi : 10.1021/acs.bioconjchem.6b00641

- 51) D. Zhang et al, "Depth-resolved mid-infrared photothermal imaging of living cells and organisms with submicrometer spatial resolution", *Science adv* 2, no. 9 (2016) : e1600521. doi : 10.1126/sciadv.1600521
- 52) J. Shi et al, "High-resolution, high-contrast mid-infrared imaging of fresh biological samples with ultraviolet-localized photoacoustic microscopy", *Nat. Photonics* 13 (2019) : 609-615. doi : 10.1038/s41566-019-0441-3
- 53) L. Shi et al, "Mid-infrared metabolic imaging with vibrational probes", *Nat. Methods* 17, no. 8 (2020) : 844-851. doi : 10.1038/s41592-020-0883-z
- 54) K. Toda et al., "Molecular contrast on phase-contrast microscope", *Sci Rep* 9, no. 1 (2019) : 9957. doi : 10.1038/s41598-019-46383-6
- 55) D. Zhang et al, "Bond-selective transient phase imaging via sensing of the infrared photothermal effect", *Light: Science & Application* 8, no. 1 (2019) : 1-12. doi : 10.1038/s41377-019-0224-0
- 56) 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
- 57) C. Hu et al, "Harmonic optical tomography of nonlinear structures" *Nat. Photonics* 14, no. 9 (2020) : 1-6. doi : 10.1038/s41566-020-0638-5
- 58) K. Toda, M. Tamamitsu and T. Ideguchi, "Adaptive dynamic range shift (ADRIFT) quantitative phase imaging", *Light: Science & Applications* 10 (2021) : 1. doi : 10.1038/s41377-020-00435-z
- 59) Y. Park, C. Depeursinge and G. Popescu, "Quantitative phase imaging in biomedicine", *Nature Photon.* 12 (2018) : 578-589. doi : 10.1038/s41566-018-0253-x
- 60) R. Prevedel et al., "Brillouin microscopy : an emerging tool for mechanobiology", *Nature Methods* 16, no. 10 (2019) : 969-977. doi : 10.1038/s41592-019-0543-3
- 61) G. Antonacci et al., "Recent progress and current opinions in Brillouin microscopy for life science applications", *Biophys Rev* 12 (2020) : 615-624. doi : 10.1007/s12551-020-00701-9
- 62) I. Remer et al., "High-sensitivity and high-specificity biomechanical imaging by stimulated Brillouin scattering microscopy", *Nat Methods* 17, no. 8 (2020) : 913-916. doi : 10.1038/s41592-020-0882-0
- 63) G. Young et al, "Quantitative mass imaging of single biological macromolecules", *Science* 360, no. 6387 (2018) : 423-427. doi : 10.1126/science.aar5839
- 64) R. W. Taylor et al, "Interferometric scattering microscopy reveals microsecond nanoscopic protein motion on a live cell membrane", *Nat. Photonics* 13, no. 7 (2019) : 480-487. doi : 10.1038/s41566-019-0414-6
- 65) R. Horisaki, R. Takagi and J. Tanida, "Learning-based imaging through scattering media", *Optics Express* 24, no. 13 (2016) : 13738-13743. doi : 10.1364/OE.24.013738
- 66) E. M. Christiansen et al., "In Silico Labeling : Predicting Fluorescent Labels in Unlabeled Images", *Cell* 173, no. 3 (2018) : 792-803.e19. doi : 10.1016/j.cell.2018.03.040
- 67) C. Oukomol 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
- 68) S. Ota et al., “Ghost cytometry”, *Science* 360, no. 6394 (2018) : 1246-1251. doi : 10.1126/science.aan0096
- 69) http://thinkcyte.com/tc_wp/wp-content/uploads/2020/07/PR_Collaborative-Development-with-Hitachi_07012020.pdf (2021年2月1日アクセス)
- 70) A. Kirmani et al., “First-Photon Imaging”, *Science* 343, no. 6166 (2014) : 58-61. doi : 10.1126/science.1246775
- 71) E. Murray et al., “Simple, scalable proteomic imaging for high-dimensional profiling of intact systems”, *Cell* 163, no. 6 (2015) : 1500-1514. doi : 10.1016/j.cell.2015.11.025
- 72) J. R. Moffitt et al., “High-throughput single-cell gene-expression profiling with multiplexed error-robust fluorescence in situ hybridization”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113, no. 39 (2016) : 11046-11051. doi : 10.1073/pnas.1612826113
- 73) X. Zhuang, “Spatially resolved single-cell genomics and transcriptomics by imaging”, *Nat. Methods* 18 (2021) : 18-22. doi : 10.1038/s41592-020-01037-8
- 74) M. A. Bray et al., “Cell Painting, a high-content image-based assay for morphological profiling using multiplexed fluorescent dyes”, *Nat Protocols* 11, no. 9 (2016) : 1757-1774. doi : 10.1038/nprot.2016.105
- 75) G. Gut, M. D. Herrmann and L. Pelkmans, “Multiplexed protein maps link subcellular organization to cellular states”, *Science* 361, no. 6401 (2018) : eaar7042. doi : 10.1126/science.aar7042
- 76) M. Mitsunaga et al., “Cancer cell-selective in vivo near infrared photoimmunotherapy targeting specific membrane molecules”, *Nat. Med.* 17 (2011) : 1685-1691. doi : 10.1038/nm.2554
- 77) 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
- 78) R. Gao et al., “Cortical column and whole-brain imaging with molecular contrast and nanoscale resolution”, *Science* 363, no. 6424 (2019) : eaau8302. doi : 10.1126/science.aau8302
- 79) <https://www.darpa.mil/program/revolutionary-enhancement-of-visibility-by-exploiting-active-light-fields> (2021年2月1日アクセス)
- 80) A. S. Abdelfattah et al., “Bright and photostable chemigenetic indicators for extended in vivo voltage imaging”, *Science* 364, no. 6454 (2019) : 699-704. doi : 10.1126/science.aav6416
- 81) H. Mikami et al., “Ultrafast confocal fluorescence microscopy beyond the fluorescence lifetime limit”, *Optica* 5, no. 2 (2018) : 117-126. doi : 10.1364/OPTICA.5.000117
- 82) S. Ravindran, “Core curriculum : learning to manage a shared microscopy facility”, *Nature* 588, no. 7837 (2020) : 358-360. doi : 10.1038/d41586-020-03466-z
- 83) J. Fan et al., “Video-rate imaging of biological dynamics at centimetre scale and micrometre resolution”, *Nat Photonics* 13, no. 11 (2019) : 809-816. doi : 10.1038/s41566-019-0474-7

2.5.3 トランススケールイメージング

(1) 研究開発領域の定義

トランススケールイメージングは、生命科学・医学領域におけるイメージング手法において、分子から細胞レベル（マイクロ・スコピック）、多細胞・組織レベル（メゾ・スコピック）、そして個体・全身レベル（マクロ・スコピック）の計測を同一あるいは類似の対象で実施し、それらスケールの異なるイメージングを統合することで、多階層にわたる生命現象の時間的・空間的な振る舞いをスケール縦断的に同時に可視化する基盤技術である。手段として、高空間分解能かつ超広視野のイメージング技術を開発すると共に、単一あるいは複数のイメージング手法（モダリティ）を、それぞれの特性に応じて組み合わせて使用するマルチモーダルイメージングが行なわれる。生命の多階層システムに内包された秩序形成の原理の理解や、正常個体および疾患病態における生体の構造・機能・代謝の包括的な理解を目的としており、ミクロの情報から全身レベルで生じる現象や病態を説明すると共に、逆にマクロの情報からミクロの情報の推定・予測を目指す。

(2) キーワード

生命現象・病態の多階層性、時間的・空間的ダイナミクス、多要素計測、広視野・高分解能、プローブ、マルチモダリティ、AI、生体イメージング、磁気共鳴イメージング（MRI）、光学イメージング、メゾスコープ、質量顕微鏡（イメージング質量分析）

(3) 研究開発領域の概要

[本領域の意義]

生命システムは、nmサイズの様々な生体分子が複雑な相互作用ネットワークを形成し、階層的に自己集合・自己組織化することで、 μm サイズの細胞、mmサイズを超える組織・個体を形成する。各階層においては生命を特徴付ける様々な機能が発現している。分子から細胞のスケールにおいては遺伝情報の複製や発現、物質代謝、エネルギー代謝、情報伝達、増殖、運動など基盤的な機能が発現し、多細胞や個体のスケールにおいては発生・分化、免疫、脳情報処理などの高度な生命機能が発現する。生命の機能発現の仕組みやその破綻に伴う疾患病態を解明するには、多種多様な生体分子が複雑に絡み合って作る高次元のシステムの時間的・空間的ダイナミクスを、分子から細胞、個体に至るあらゆる階層（スケール）において定量的に把握するための、高次元・多階層な計測が必要である。

多種多様な生体分子の計測については、オミクス解析を始めとする分析手法の発展により破壊検査（スナップショット）を行なうことができるようになってきたが、そうした情報に対して多階層の時間的・空間的ダイナミクスの情報を与えるための計測手法については、まだ開発の余地が大きいと言わざるを得ない。生体分子と個体の間には $10^5 \sim 10^6$ 倍以上の空間スケールの違いがあり、そこで生じる現象の時間スケールにも同程度のオーダーの違いがあることから、個体全体中の1個1個の細胞を観察し、さらにその細胞内の分子1個1個の局在と構造変化、機能変化を網羅的に計測・解析するのは技術的にハードルが高い。今後こうした計測・解析技術を実現していくには、幅広い時空間スケールを同時にカバーするような「トランススケールイメージング」とも呼べる技術の開発が欠かせない。すなわち、高空間分解能かつ超広視野のイメージング技術、あるいは、高時間分解能かつ長時間のイメージング技術の開発である。

従来の生命科学・医学研究あるいは画像診断学では、複雑な生命現象や疾患病態の理解を得るために、複数の生体イメージングや各種分析・検査を実施し、それらの結果を自らの頭の中で統合し、病態や生理状

態の理解を試みてきた。その結果、「自己組織化」や「秩序の創発」といった、低次階層（例えば 生体分子）での要素間相互作用から高次階層（例えば 細胞・組織・臓器）での新しい機能が生み出される原理の理解は未だ進んでいない。それに対して、研究あるいは診断目的に応じて各種イメージング装置を選択し、最適な撮影手法やパラメーター、そしてプローブを活用し、それらの分子～全身のマルチスケール情報を統合することが可能となれば、対象の生体で生じている生理的あるいは病理的な事象を統合的に理解することができる。COVID-19において、1 μ mにも満たないSARS-CoV-2ウイルスがヒト細胞に感染し、呼吸器、感覚器などの組織・臓器で病態を示し、さらに免疫系や循環系との相互作用により全身の症状を引き起こすといった感染機序の全容解明には、まさしくトランススケールイメージング技術が求められる。生命現象や病態のマルチスケールでの理解を試みる新しい学術分野に貢献し、また「生体でのGoogle Map®」とも言える新しい診断ガイド技術となり、さらにAIの活用によって全身スケールの画像から分子・細胞スケールの事象を推定することで、疾患の発症や転帰の予測が可能になる未来の医学・医療に資する技術になり得る。

【研究開発の動向】

本領域の基盤となる先端的な生体イメージング技術としては、下記のような装置が存在し、それぞれ改良が重ねられている。(スケールは代表的なもの)

- ・分子・細胞レベル [マイクロ・スコピック]：光学顕微鏡（明視野・位相差・蛍光）、電子顕微鏡、in vivo 顕微鏡（多光子・共焦点）、超解像顕微鏡、光シート顕微鏡、SPM
- ・組織レベル [メゾ・スコピック]：MRI（基礎・前臨床）、X線マイクロCT、超音波、光音響、OCT（光干渉断層撮影）、MPI（磁性粒子イメージング）、質量分析イメージング（質量顕微鏡）、光シート顕微鏡（生体試料透明化と合わせて）
- ・全身レベル [マクロ・スコピック]：MRI（臨床・fMRI）、X線CT、PET、SPECT、in vivo 蛍光・発光イメージング、超音波

イメージング機器に加えて、その検出感度、信号雑音比、標的に対する特異性などを向上させるための各種プローブ（造影剤、染色剤）の開発が、化学・薬学・工学の分野で活発に進められ、分子、機能、代謝などをより高感度に検出する試みが続いている。また複数のイメージング手法（マルチモダリティ）に対応した複合プローブの開発は、異なる機器間を繋ぎ、重畳化させるために有効で、例えば、MRIと蛍光の両方を持つマルチプローブは、その両者を異なるスケールで比較検討するために重要な役割を持っている。加えて、反応性プローブ、賦活型プローブと呼ばれる、いわゆるセンサー型のプローブは、目的とする分子や標的組織の検出に極めて有効であるため、低分子～高分子、ナノ粒子などを活用した非常に高度な開発が相次いでおり、我が国の研究開発が国際的に高い評価を得ている分野である。

最近のイメージング手法の高度化により、①高い空間分解能で、②短時間での高速計測あるいはリアルタイムで、③多数の計測モードを、④三次元的かつ全身で取得することが可能になり、また計測法によっては、同一個体を⑤複数のモダリティの装置で取得できるようになってきた。それに伴って取得するデータは膨大になり、それらのイメージングデータは、人間の眼では実時間内に全てをチェックすることが困難になると共に、複数モードかつ複数モダリティのイメージングデータを正確に理解できる知識を万人が共有することも難しくなってきた。そのため、計測技術の高度化に加えて、大容量データを扱うための情報技術、膨大な画像を解析し生物医学的な解釈を加えるために必要なAI関連技術など、情報・数理技術との融合が求められ、各技術分野でその利用が加速している。

前述の通り、トランススケールイメージングは、①多階層の空間と②多階層の時間において③生体内の多

要素の計測を目指す技術である。単一の手法ではこれらを同時に満たすことは困難であることから、まずは①～③のうちいずれかをカバーする手法を開発し、カバーできない情報をマルチモーダル計測や解析技術で補完するという方向性で技術開発が進められている。例えば、多階層の空間をイメージングするための技術として、広域を走査して取得した大量の単一画像を貼り合わせることで高解像・広視野の画像を得る広域電子顕微鏡法やWhole slide Imaging¹⁾といった手法、生体透明化技術と組み合わせ個体中の分子や細胞の空間分布を網羅的に取得する光シート顕微鏡²⁾、細胞の構造とその場での分子構造を同時に解析するクライオ電子線トモグラフィーといった手法が確立しているが、これらの手法は固定・氷埋した生体試料が対象で時間的な情報を得ることができず、また計測できる要素も細胞・組織の構造や蛍光標識した分子などに限られる。空間イメージングに対して時間や多要素の情報を補完するためには、大量に撮影したスナップショットによるダイナミクスの推定や、光-電子相関顕微鏡のようにマルチモーダルな手法で得た多要素の情報を同一空間で重ね合わせる解析が行なわれる。また、Spatial Transcriptome^{3), 4)}のように、多要素の情報に対して空間情報を付与する技術の開発も盛んである。マルチモーダル計測を同一の装置上で行なうことができる複合機器も開発され、例えばPET+X線CT、in vivo 蛍光+X線CTなど組合せが標準化しつつある分野もあるが、性能やスループットが犠牲になる面もあるため、複合装置が広く普及しているとは言い難い面もある。

このようにトランススケールイメージングの対象分野は極めて広く、全ての手法を完全に網羅することが困難なため、以下では主に、非破壊・非侵襲で空間と時間を同時にカバーすることが可能なイメージング手法であるMRIと光学顕微鏡、および多要素を計測する手法である質量分析をベースとしたトランススケールイメージング技術についての研究開発を中心に記述する。なお、光学イメージング技術全般の研究開発については本俯瞰報告書、MRIと質量分析については俯瞰報告書2019の該当領域も参照のこと。

【MRI】

MRIは、磁場とFMラジオ周波数帯の電磁波を利用した無侵襲の生体断層イメージング法である。装置としては大きく、ヒトを対象とする臨床用装置と、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を対象とした前臨床装置に分かれるが、動作原理は同じである。MRIに関連する研究開発としては、装置開発・計測技術開発に加え、病態の理解、脳機能研究といった基礎生物医学研究、および診断技術の開発や医療・創薬における前臨床研究開発といった応用医学研究が行なわれている。MRI関連の研究開発分野は、年間4万報を超える論文出版が象徴する大規模なコミュニティを持ち、国内外で「MRI医学」「磁気共鳴医学」と呼称され、技術と生物医学研究との複合領域において持続的な拡大を続けている。とりわけ海外における研究開発は学際的に実施されており、装置に近い工学・物理学、プローブ（造影剤）開発を担当する化学・薬学、画像解析を担当する情報学、そして基礎の生物医学と医師が連携して研究開発を行っている例が多数ある。

トランススケールイメージングの基盤技術としては、メゾ～マクロの範囲をカバーする有望なイメージング手法である。臨床装置ではフェイズドアレイコイルによる多チャンネル送受信技術などの進展で「ヒト全身」を高い解像度（1 mm以下）での形態・機能計測が可能となっており、また高磁場装置では、冷却コイル等の低ノイズ化による技術革新により、実験動物で20 μ mの空間分解能での三次元的な計測が可能になっている。時空間において分子・細胞レベル（マイクロ・スコピック）までカバーするために、さらなる高分解能・高速化を目指した計測技術開発や高感度なプローブ開発、マイクロ・スコピックをカバーする各種顕微鏡の連続切片あるいは三次元的な計測手法との組み合わせが行われている。

・MRI装置・システム技術開発

臨床用装置は、国内では高い技術力と一定のシェアを持っていた東芝と日立から事業買収を行なったキヤノンと富士フイルム、海外では米国・GE社、ドイツ・Siemens社、オランダ・Philips社が主要なメーカーである。前臨床装置は、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。

高感度・高分解能計測を実現する高磁場マグネットに関しては、2017年Siemens社が7Tマグネットを搭載した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が、装置価格と設置重量が足かせとなって本格的な普及には移行していない。臨床向けの実験的な高磁場装置は、頭部用10.5Tが米国ミネソタ大で稼働、11.7Tが米国NIH (Siemens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) で稼働を開始し、主に脳機能研究や認知症の超早期診断に期待が集まっている。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。前臨床では16.4T装置の市販が始まり、数カ所で運用 (米Minnesota大、仏NeuroSpin、独Tübingen大)、試験的には20Tの開発報告もある (米MagLab)。16.4T装置を用いて生きたマウスで20 μm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。高磁場MRIには液体ヘリウム冷却の超電導磁石が使用される一方、PETやSPECT、CTとのマルチモーダル計測向けには、小型・軽量で導入・維持コストを抑えた永久磁石 (0.5T~2T) や電導冷却 (1.5T~7T) を活用したMRIが開発されている。

臨床向けを中心に、ソフトウェア・計測・解析法開発も盛んに行われている。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、異なる情報を生体から引き出すことが出来、トランススケールイメージングに、多変数・多モードという情報を付加する。より高解像度の3Dイメージングや定量的かつ多モードでのイメージングでは、計測時間の延長が大きな問題となるため、検査時間を現在の10分の1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。圧縮センシングやシンセティックMRI法、fingerprinting法など、計測法や画像処理に関連する開発が中心となるが、こうしたソフトウェア開発は、海外 (特に米国・ドイツ) では企業が優秀な大学と密な連携体制を構築し、産学連携が進んでいる。国内では、AMED等で小規模ながら取り組みがあるが、その重要性の理解が進まず、未だ医工連携や産学連携は限定的である。

・MRI用プローブ (造影剤) の研究開発

トランススケールイメージングにおいて、プローブ (造影剤) 開発は、その画質 (SNR) 改善だけでなく、目的とする組織や細胞に「目印」をつける、すなわち特異性を確保する重要な役割がある。

臨床用MRI造影剤としては、直鎖型の錯体を用いたGd (ガドリニウム) -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。しかし、体内への蓄積による副作用や環境汚染に対する懸念があることから、今後は、鉄 (Fe) やマンガン (Mn) など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。

一方、低分子の金属錯体とは異なる方向性として、高分子やナノ粒子を用いた造影剤開発が盛んである。メリットとして、①造影剤を粒子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性、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) に対して治療効果の予測が可能、などがある。トランススケールイメージングにおけるプローブ設計では、低分子の場合は複数のイメージング分子を搭載すると性質が大き

く変わってしまう可能性があるため、複数種の分子を搭載可能な高分子あるいはナノ粒子を土台とするプローブ・造影剤は汎用性を持つプラットフォームとなり得る。抗がん剤を担持したポリマーから構成されるミセルなどのナノ薬剤に対して、類似構造の造影剤を用いることで薬の送達性や副作用（病巣以外の集積）を事前にチェックできる「コンパニオン診断」が可能となるとの期待から、「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。

・MRI 生物医学研究

MRIを用いた生物医学研究は、水分子の拡散状態を画像化できる「拡散MRI」による急性期脳梗塞や腫瘍等の病変検出、ヒトやげっ歯類、霊長類を対象とした安静時機能的MRI（functional MRI：fMRI）による脳機能研究など、非常に多岐に渡る。

トランススケールイメージングの観点では、組織レベルの高磁場MRIと細胞レベルの顕微鏡といった時空間階層の異なる手法を直接的に重ね合わせることで統合的解析に及ぶことはまだ少ないが、多くの研究テーマにおいて、その考察としてトランススケールでの統合解釈が求められることは多い。一方、多要素計測の観点では、MRIによって計測・推定可能な、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（灌流量）、拡散係数、磁化率などの定量値から、形態・機能・代謝などの多様な情報を引き出すことができるMRIの特徴を生かして、同時期に取得した多変数のMRIデータから疾患の特徴を見出す研究開発が注目される。特に、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、多変量解析から診断精度の向上や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。このような試みは、ラジオミクス（Radiomics）という用語と文脈で説明される場合もある。また、前述の新規プローブ・造影剤開発が最近目立っており、前臨床MRI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等の研究が実施されている。さらに、光学顕微鏡、特にin vivo 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を用いた研究も盛んである。

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）の研究も進展しつつあり、MRIガイド下で腫瘍に集束超音波を照射する治療が、我が国では子宮筋腫を対象疾患として薬機法承認されている。トランススケールイメージングという観点では、治療前後の画像データと、術後の摘出やバイオプシーによる組織情報との照らし合わせは、病態を解釈する上で極めて重要である。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。

【光学イメージング（メゾスコープ）】

光学イメージングでは、従来、異なるスケールそれぞれに特化した装置（レンズ系、結像機構など）が開発され、それぞれに深掘りのイメージング計測・解析が行われてきた。光学顕微鏡（microscope）は、単一分子や細胞内小器官、細胞などの比較的小さいスケールの試料を対象とした高空間・高時間分解能の観察を得意とする一方で、広視野での組織・個体レベルの観察、特にダイナミクスの観察には制約があった。そのため、多細胞システム（組織、個体）などの比較的大きいスケールの試料は、広視野観察に対応した光学系・装置が開発されてきたが、空間分解能が犠牲となっていた。それに対して近年、英国 Strathclyde 大の G. McConnell らが Mesolens と称した大口径のカスタム対物レンズを用いて視野 6 x 6 mm・奥行き 3mm で 1μm を下回る

高分解能のイメージングを実現した⁵⁾のを皮切りに、ミリメートルからセンチメートルに渡る広い視野内を、細胞以下の空間分解能で観察することを目指す広視野高分解能イメージングの研究報告が相次いでいる。従来の顕微鏡 (microscope) に対して、このような技術は高次階層を観察可能であることから「メゾスコープ (Mesoscope)」と称されることがあり、顕微鏡光学のコミュニティでは広く認知されている。顕微鏡と同様に、メゾスコープはレーザーを走査しないワイドフィールド型とレーザー走査型に分類され、ワイドフィールド型は広視野の2次元平面における高速観察、レーザー走査型は3次元での広域観察に適している。広視野高分解能を実現する上で、ワイドフィールド型は多画素イメージセンサー技術に、レーザー走査型は高速スキャン技術に、それぞれ下支えされている。また、いずれの場合も、試料面から結像面 (検出器面) まで結像するためのレンズ系が顕微鏡と比較して非常に大型となり、設計・製造とも基盤技術開発が必要となる。そのため、各研究グループとも独自開発された唯一無二のカスタムレンズを用いて、イメージング装置を構成している。

こうしたトランススケール光学イメージング技術により、多細胞体全体における各要素 (細胞や細胞内分子) の動きを直接観察することが可能となり、生命システムの理解が飛躍的に進むことが期待されている。この技術は様々な応用が期待されており、脳神経科学と発生生物学が有力なターゲットと考えられる他、腫瘍細胞などの病変細胞の伝播や、ウイルス感染など、少数の細胞が多数の細胞集団に広がる過程の観察にも有力な技術である。また、臨床医学・創薬分野においても、病理検査の迅速化・ハイスループット化や、iPS細胞由来の人工組織の品質管理などでも効果的であると考えられる。今後、技術開発が進み多くの生命科学研究者に認知されることで、新たな応用が顕在化するだろう。

【質量顕微鏡 (イメージング質量分析)】

質量分析は、生命科学・医学分野においてプロテオームやメタボローム解析に広く用いられる手法である。質量分析の基本的な技術構成は、生体分子のイオン化、質量差による分離、イオンの検出の組み合わせから成り立っているが、イオン化の際に細胞・組織の破壊を伴うため、基本的には時空間に関する情報は取得できない。それに対し、質量顕微鏡は、観察対象の細胞、組織、個体に対して2次元的に質量分析を行うことにより、質量の違いによって分けられた物質の情報に対し、空間分布の情報を網羅的に付与することができる計測手法である。質量顕微鏡では、細胞や組織における各物質の空間分布を保持するため、イオン化は生体試料に対してレーザー光やイオンビームなどの一次ビームを照射する方法が主に用いられ、質量分離には飛行時間型の装置が広く利用されている。現在のところ一次ビーム照射によるイオン化の手法として生命科学分野で広く普及している方法は、一次ビームにレーザー光を用いたマトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI) である。位置情報を得るための方法の違いにより、イメージング質量分析には走査型と像投影型と呼ばれる二つの方式が現在よく使われている。走査型では、観察試料の各点に順次レーザー光を照射してイオン化し質量スペクトルを取得する。つまり、試料全面を1点ずつ走査することで、各点の位置情報に紐づけられた質量スペクトルを得て、その結果を合成することで2次元の質量分布が画像化される。一方、像投影型イメージング質量分析では、観察領域全面を同時にイオン化し、イオンの空間分布を保持したまま質量分離と検出を行う。現在市販されているイメージング質量分析装置として広く知られている装置は走査型であり、組織切片中のタンパク質分布⁶⁾や金属イオン分布の計測⁷⁾、生体に投与された薬物の動態計測⁸⁾などに用いられている。細胞内部～組織の多階層な空間におけるトランススケールなイメージング質量分析を実現する上では、走査型と像投影型それぞれに一長一短があり、両者に共通した課題もある。

走査型イメージング質量分析では一次ビームの照射範囲によって空間分解能が決定される。集束イオンビームを用いれば数nmの高い空間分解能も実現可能であるが、この手法では分子結合を破壊して断片化する

るために、生体分子のような有機高分子化合物を計測するには問題があることから、市販装置はレーザーを用いたMALDI法を採用している。しかしながら、この走査型手法は空間分解能がレーザーの集光径に依存するため、実用的には10~100 μm 程度となり、組織切片を広く計測することは可能であるが、組織中の個々の細胞内での物質分布を計測することは困難である。レーザーの集光径を1.4 μm 程度に絞った計測例も報告されているが、大きな組織サンプルへの適用例はない。また、走査型では多数の計測点を走査するため、大きな生体試料には長時間の計測が必要であり、空間分解能を上げるためにレーザー集光径を小さくした場合にはその課題はさらに顕著になる。トランススケールのイメージング質量分析を実現するには、空間分解能の向上と計測時間の短縮というトレードオフをうまく解決する革新的な技術開発が必要となるだろう。

像投影型イメージング質量分析では、イオン化のための一次ビームを観察領域全体に面状に照射するため、空間分解能は一次ビームの集光径に依存しない。一方で、像投影型では、生体分子の空間分布を保持したまま、イオン化、質量分離、検出を行う必要があり、この技術開発が困難であった。2000年以降にオランダFOMのHeerenらのグループにより先駆的な装置開発が行われたが⁹⁾、質量分離能が $m/\Delta m$ ~数百程度であったため、生体試料の実用的な計測を実現することは難しかった。その後2010年代に、大阪大学グループによって、質量分離を行なうイオン光学系を改良したマルチターン（多重周回軌道）飛行時間型質量分析計を用いた像投影型イメージング質量装置が開発され、質量分離能 $m/\Delta m > 10000$ を達成した¹⁰⁾。また、イオン光学系と共に、質量分離（飛行時間）と空間分布が同時に検出できる検出器の開発も重要である。更なる高空間分解能化の技術開発により、生体分子と個体の間にある 10^6 倍以上の空間スケールの違いを一気にカバーするようなトランススケールの質量イメージング技術の実現が近い将来に見込める。

一方、走査型・像投影型において共通の課題として、MALDI法で試料に塗布するマトリックスのサイズが空間分解能を制限する要因となっている点が挙げられる。現在、マトリックスの粒径を下げる技術開発として、マトリックスの代わりに金属ナノ粒子を用いたnanoparticle-assisted laser desorption/ionization (nano-PALDI) の開発が進められている¹¹⁻¹³⁾。

(4) 注目動向

[新展開・技術トピックス]

【MRI】

・進展する高速撮像法による定量・超高速・高解像・3Dイメージング

MRI撮像の高速化が急激に進歩し、検査時間の短縮化だけでなく、定量化・高解像化・3D化・多変数化など多くのメリットをもたらしている。高速化は、①装置の開発：高周波の並列受信とマルチバンド法等、②計測手法：圧縮センシング法などデータ数を減らし取得時間を短縮する方法、③計測と解析：シンセティックMRIやフィンガープリンティング法¹⁴⁾など、組織固有値を推定することで、複数条件での測定結果を逆算する手法などが注目され、10倍速を達成したとする報告もある。また、高速化による恩恵は医療でのスループット向上に留まらず、マルチコントラスト・解像度向上・定量的画像の取得を短時間で可能にし、多変量の複数画像から疾患特異的バイオマーカー探索を可能にする。例えば、前立腺がんの診断精度向上で研究が進められており、バイオプシー（生検）前の複数のMRI撮像による事前検査が提唱されている¹⁵⁾。臨床での応用に向けては、高速化に伴う画質・情報量の低下や変性が診断精度に与える影響や、条件や装置メーカー等によってバラツキが生じる定量精度の（標準化などによる）品質確保、といった観点での検討が必要であるが、今後、例えば認知症の早期診断のための「5分間MRI撮像による大規模健診」など、新たな保健・医療の形が開かれる可能性もある。

・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¹⁶⁾。また、pHや温度に応答して、2種の造影剤間の距離を変化させるポリマー、化学シフトを変化させる化合物など、環境の変化をMRI信号の変化に結び付ける試みも報告、組織の酸化還元状態を反映してMRI信号を変化させるニトロキシラジカル化合物もセンサー造影剤として期待される。

【光学イメージング (メゾスコープ)】

アカデミアを中心に、世界各国で広視野・高分解能でのダイナミクスイメージングを行なうための装置を開発した例が報告されつつある。

・RUSH (real-time, ultra-large-scale, high-resolution) 顕微鏡 (中国・清華大学)

ワイドフィールド型イメージング装置で、35個のCMOSイメージセンサーをアレイ化し、直径161mmのカスタム対物レンズによって10x12mmの視野を1.2 μ mの空間分解能、ビデオレートの時間分解能で観察できる。神経細胞群および心筋細胞群のカルシウム伝搬をビデオレートで蛍光イメージングすることに成功しており、技術的に世界をリードしている¹⁷⁾。

・AMATERAS (A Multi-scale/modal Analytical Tool for Every Rare Activity in Singularity) 顕微鏡 (日本・大阪大学など)

文部科学省新学術領域「シンギュラリティ生物学」において、広視野内でサブ細胞分解能での観察を可能とするワイドフィールド型イメージング装置が開発された。この領域では、多数の細胞集団内の稀少かつ重要な細胞がトリガーする集団全体の相転移を研究対象としている。実際に、AMATERASを用いた広視野観察により数十万の細胞集団を1細胞レベルで同時に観察・追跡し、細胞集団全体の運動を先導する稀少細胞を発見している¹⁸⁾。

・二光子メゾスコープ (米国・ジャネリア研究所、日本・理研など)

脳科学向けの新規イメージング手法の開発で世界をリードするジャネリア研究所において、Svobodaらにより走査型二光子顕微鏡をベースとしたメゾスコープ2p-RAM (2-photon random access mesoscope)が開発された¹⁹⁾。同時に取得できる領域は決して広くないが、 ϕ 5mm \times 1mm領域における任意の複数地点を高速でイメージングでき、脳の異なる部位における活動計測に適した手法である。同じくジャネリア研究所のJiらが開発した、光軸方向への集光点拡大による高速三次元イメージング手法と組み合わせ、シナプスが観察できる面内分解能で300 x 450 x 600 μ mの広域を3Hzで観察したことが報告された²⁰⁾。

日本では理研を中心として、一細胞レベルの空間分解能で3 x 3mmの広視野を7.5Hzで観察できる二光子顕微鏡FASHIO-2PM (FAst Scanning HIgh Optical invariant two-Photon Microscopy)が開発された²¹⁾。

【質量顕微鏡（イメージング質量分析）】

- ・ 像投影方式マルチターン飛行時間型イメージング質量分析計（MULTUM-IMG）

数cm程度の生物個体・組織を対象として、その中の各細胞内における生体分子の質量分布情報を世界最高性能となる1 μ mの空間分解能で計測する技術が実現しつつある。最近大阪大学で開発された装置では、計測の高速化・自動化により、数センチ程度の切片を1 μ mの空間分解能で10時間程度で計測できる。金属イオン、脂質、低分子代謝産物の空間分布計測や、個体に投与された薬物とその代謝物の動態計測が進められている。

- ・ 検出器の開発

像投影方式向けの検出器についてはヨーロッパで研究開発が進んでおり、オランダFOMがCERNと共同で開発した半導体検出器がベンチャー企業により市販化され、オックスフォード大学でも高速カメラを利用した検出システムの開発が行われている。日本においても大阪大学とKEKが共同して半導体検出器の開発を進めている。

【注目すべき国内外のプロジェクト】

- ・ 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であるENIGMA²²⁾が活発な展開を見せている。ENIGMAは2014年NIHのBig Data to Knowledge (BD2K) Initiative²³⁾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年からNIHが開始したThe BRAIN Initiative²⁴⁾の中のHuman Connectome Project²⁵⁾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マセットを対象としたAMED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（革新脳）」の立案にも大きな影響を与えたが、こうしたコホート脳研究は、その物量を中心に欧米および中国と比べて出遅れている。

革新脳プロジェクトでは、走査型電子顕微鏡から、2光子顕微鏡、MRIまでに至る多種のモダリティの情報を統合的に解析する取り組みが行われている。中核機関である理研のクラウドサーバーにデータを格納すると共に、リモートデスクトップを経由してサーバー上で行なう画像処理手順も保持されており、画像だけでなく画像処理手法も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。

- ・ 標準化

多要素・多変数の解析においては各計測値の定量精度の向上・安定性が重要であり、そのための標準化が進められている。特に、臨床応用（産業利用）に向けては、標準化の議論におけるプレゼンスは産業競争力の観点で重要である。

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あるQuantitative Imaging Biomarker Alliance (QIBA)が北米放射線学会(RSNA)の主導で始まり、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。光学イメージングでは、主にオープンデータ利活用の効率化を目的として、データフォーマット標準化の議論が欧州 Euro-Bioimaging などを中心に進められているが、マルチモーダル計測・解析の技術開発においても複数手法の計測データを接続する上で標準化は有効であり、動向を注視する必要があるだろう。

(5) 科学技術的課題

トランススケールイメージングは従来の計測と比較して、同時に計測する時空間スケールの幅を大きく、計測対象の要素数も増やす必要があり、これまでの計測のトレードオフを打破する必要がある。そのためには、計測手法や計測装置の開発と同時に、基盤となる部品・要素の進化が重要である。例えば、MRIにおいては高分解能化のために高磁場マグネット、光学イメージングでは広視野と高分解能を同時に追求するために長焦点距離・高開口数を有する大口径レンズの開発が不可欠で、設計・製造技術の向上も必要である。ワイドフィールド型メゾスコープや像投影方式質量顕微鏡では多画素の検出器（イメージセンサー）がカギとなるが、こちらも市販品をベースとした新規開発が求められる。例えば、一枚チップでのCMOS光センサーとしては、日本のキャノン、ソニー、及び韓国のVieworks社がマシビジョン用のセンサーとして1.2～1.5億画素のセンサーを販売しており、現状これらが市場で手に入る最大のセンサーであるが、これらは科学計測グレードではない。また、画像認識や三次元空間認識用途で近年の技術革新がめざましいTOFカメラの技術が、質量顕微鏡の検出器に応用できる可能性があるが、転用するための開発が必要である。こうした開発は高コストであるため通常の研究費で行なうのは困難が伴う。量産化検討は実験機開発以上にコストを要し、こうしたコストは普及に向けた障壁にもなり得る。トランススケールイメージングを開発しさらに普及させていく上では、こうした困難への対応が必要となるのと同時に、キーパーツの性能向上に依らない新たな手法の開発も求められる。

広視野・高解像イメージングのデータは、必然的にデータサイズが巨大になる。例えば1億画素の画像は諧調8bitでも一枚で100MBとなり、高フレームレートでの撮像には高速インターフェースの開発も必要である。また、経時観察や三次元観察によって総データサイズは容易にTBを越えるため、計測装置に加え、画像処理やデータ共有のための大容量コンピュータや大容量通信インフラの整備や、数理科学・AIを活用した解析が不可欠である。トランススケールイメージング技術に限らず、生体イメージング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。そういった状況の中、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が問題となっており、AI技術教育の普及が望まれる。

(6) その他の課題

トランススケールイメージング開発においては、ニーズ側となる生物学・医学、装置や計測手法、プローブの技術シーズとなる工学・物理学・化学、応用先となる工学・薬学・材料学、解析技術となる情報・数理科学など異分野の連携が求められる。また、臨床応用や普及を見据えた場合は医師（MD）とPhD、アカデミアと企業の連携も重要となる。こうした状況を大学の一研究室で担うことは困難なため、軸となる共同開発拠点を設けて開発体制（プラットフォーム）を構築することが望ましい。欧米には、MRI、顕微鏡など多数の開発の連携拠点が存在するが、我が国では幾つかの大学・国研に小規模な体制が散在しており、開発・維持予算および人材の連携・集積が不足している面が否めない。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。また、ファン

2.5

俯瞰区分と研究開発領域
 基礎・計測技術
 分析・計測技術

ディングの面でも、生物医学研究を縦系に、技術開発を横系に例えると、我が国の施策はそのどちらか単独で実施されることが多く、その結果、既存装置を購入して学術に利用する、あるいは利用先が見えない装置を開発する、といった状況となりやすい。技術開発者とその利用者である生物医学研究者の連携を促すようなファンディング構造が望ましい。

開発した計測機器・技術が生物医学研究に貢献するためには、開発だけではなく普及も重要である。MRI機器は臨床・前臨床とも大手企業が量産化しているのに対し、メゾスコープや像投影方式の質量顕微鏡は、鍵となる部品であるレンズや検出器、それらを用いた装置が量産化されていないため、高コストとなるのに加え、安定性や使い勝手がこなれておらず生物医学研究者がサポートなしで使うには困難である。キーパーツや装置、計測技術の量産化・市販化には産業側の参画が不可欠で、既存企業との連携やスタートアップの活用が重要である。機器の生物医学研究への活用については、MRIやX線CTを始めとした生体イメージング装置について、我が国は世界的に見ても極めて臨床装置の稼働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面がある一方、前臨床・研究機器については運営費交付金の削減により装置導入や維持が困難になりつつあり、稼働数が不足している状況である。また、欧米ではコアファシリティが技術スタッフを有し、研究機器の維持管理を行なうのが一般的であるのに対し、我が国では基本的には個別の研究室で機器を導入しており、管理されず使われないといったケースも散見される。異分野の利用者にワンストップで技術を提供できる拠点の形成、装置の導入維持に対する資金サポート等が実施され、加えて技術的な知識の普及活動が必要であると考えられる。さらに、新たに開発した機器の生物医学研究への活用に向けては、投資を伴う量産化に企業の参画を促す上でも、少なくとも導入期における普及に向けた官学のサポートは有効であると思われる。

これらの科学技術的課題・その他の課題は、トランススケールイメージング技術においてはより顕著に表れているものの、ライフサイエンス・臨床医学領域の計測・分析機器開発全般において共通するものも多い。最新の機器を開発し、それを活用して革新的な生物医学研究を実施、さらに新たな機器開発を促す、といった好循環を回すことができる仕組みの構築が重要である。

(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	◎	↗	各種イメージング法の基盤技術（光学、磁気共鳴、核医学、超音波など）は非常に高い水準を持っている。プローブ技術に関しても、国際的にも最高水準の技術を持ち、活発な研究成果を上げている。一方、大学の運営費削減により、イメージング機器の維持が困難になりつつある。文部科学省新学術領域「シンギュラリティ生物学」でAMATERASを開発中。大阪大学で多重周回型質量分析計を用いた投影型が開発された。
	応用研究・開発	○	↗	キヤノン、富士フイルムが東芝、日立からMRIの臨床装置を買収し、AI解析などとの融合を進めて、国際的な地位の向上を狙っている。医学応用研究、プローブの臨床実用化などについては、国際的に高い水準にあるが、単発や小規模な取り組みが多く、包括的な枠組み作りが望まれる。理化学研究所とFOV社がFASHIO-2PMを共同開発。顕微鏡メーカーから目立った動向はなし。大阪大学で開発された投影型質量イメージング装置を、生体試料へ適用する応用研究が進められている。

米国	基礎研究	○	↗	<p>各イメージング手法の基盤研究に関しては、NSF、DOE、NIHなど層の厚いファンディングと複数の開発体制があり活発である。</p> <p>MRIを用いた基礎・前臨床研究は、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。ジャネリア研究所における脳科学に特化したメゾスコープ開発事例以外では目立った取り組みはない。</p> <p>イメージング質量分析の研究は走査型による実用的な応用研究に集中。近年、南フロリダ大学で小型の投影型の開発が始まる。</p>
	応用研究・開発	◎	↗	<p>MRI臨床装置についてはGE社が牽引し、国内で多くの産学連携を形成している。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。</p> <p>ジャネリア研究所が開発した2光子メゾスコープは、Thorlabs社がライセンス契約し世界で販売展開。</p>
欧州	基礎研究	◎	↗	<p>基礎研究向けMRIに関しては、独Bruker社が支配力を持つ。フランスCEA NeuroSpinや英国でも装置開発が活発。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・前臨床研究も、米国に劣るものの、複数の大学や研究所から活発に生み出されている。</p> <p>オランダFOM・英国オックスフォード大学において質量イメージングに利用可能な検出器の開発研究が精力的に進められている。近年、オックスフォード大学においてreflectron型の質量分析光学系の研究が始まる。</p>
	応用研究・開発	◎	↗	<p>MRI臨床装置についてはSiemens社が世界最高水準で、先端的装置を実用化し開発をリード。Philips社も高水準。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、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。Siemens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。</p> <p>英国Strathclyde大学で開発された装置が事業化され、Mesolens Ltd.を設立。ドイツの二大顕微鏡メーカー(Zeiss, Leica)から、目立った動向は見受けられない。</p> <p>オランダFOMはもともと医学生物分野との連携が盛んで走査型質量イメージングでは多数の応用研究があるが、投影型への適用はまだ少ない。</p>
中国	基礎研究	○	↗	<p>MRIを用いた基礎・前臨床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、特に霊長類での研究が盛んである。</p> <p>清華大学を中心に、超広視野イメージング技術を基軸とした脳科学研究を推進。</p>
	応用研究・開発	○	↗	<p>MRI臨床装置として、「ユナイテッド・イメージング社」が急激に影響力を拡大し、国内にも装置が上陸。アジアに国際学会を開設し、国際的な影響力が強まっている。応用研究に対する関心が高く、研究の質としては劣るものの、発表数は日本の数倍に達している。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。</p>

2.5

俯瞰区分と研究開発領域
分析・計測技術
基礎・基盤科学技術

韓国	基礎研究	○	→	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っており、活発な研究が行われている。
	応用研究・開発	△	→	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。装置開発に関しては、サムスンメディスンが積極的であったが、最近では活動がやや減退している。

(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

- ・バイオイメージング (ナノテク・材料分野 2.2.4)
- ・ナノ・オペランド計測 ((ナノテク・材料分野 2.6.3)

参考・引用文献

- 1) N. Farahani, A. Parwani and L. Pantanowitz, "Whole slide imaging in pathology: advantages, limitations, and emerging perspectives", *Pathology and Laboratory Medicine International* 7 (2015) : 23-33. doi : 10.2147/PLMI.S59826
- 2) H. R. Ueda et al., "Tissue clearing and its applications in neuroscience", *Nature Reviews Neuroscience* 21 (2020) : 61-79. doi : 10.1038/s41583-019-0250-1
- 3) P. L. Ståhl et al., "Visualization and analysis of gene expression in tissue sections by spatial transcriptomics", *Science* 353, no. 6294 (2016) : 78-82. doi : 10.1126/science.aaf2403
- 4) K. H. Chen et al., "Spatially resolved, highly multiplexed RNA profiling in single cells", *Science* 348, no. 6233 (2015) : aaa6090. doi : 10.1126/science.aaa6090
- 5) G. Mcconnell and W. B. Amos, "McConnell G and Amos WB (2018) . Application of the Mesolens for subcellular resolution imaging of intact larval and whole adult Drosophila", *J. Microsc.* 270, no. 2 (2018) : 252-258. doi : 10.1111/jmi.12693
- 6) H. R. Ali et al., "Imaging mass cytometry and multiplatform genomics define the phenogenomic landscape of breast cancer", *Nat Cancer* 1 (2020) : 163-175. doi : 10.1038/s43018-020-0026-6
- 7) J. Aoki, S. Ikeda and M. Toyoda, "Observation of Accumulated Metal Cation Distribution in Fish by Novel Stigmatic Imaging Time-of-Flight Mass Spectrometer", *J. Phys. Soc. Jpn.* 83 (2014) : 023001. doi : 10.7566/JPSJ.83.023001
- 8) M. Kompauer, S. Heiles and B. Spengler, "Autofocusing MALDI mass spectrometry imaging

- of tissue sections and 3D chemical topography of nonflat surfaces”, *Nat Methods* 14 (2017) : 1156-1158. doi : 10.1038/nmeth.4433
- 9) S. L. Luxembourg et al., “High-Spatial Resolution Mass Spectrometric Imaging of Peptide and Protein Distributions on a Surface”, *Anal. Chem.* 76, no. 18 (2004) : 5339-5344. doi : 10.1021/ac049692q
- 10) 青木順, 豊田岐聡「投影方式飛行時間型イメージング質量分析装置の開発」, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.* 61, no. 3 (2013) : 23-33. doi : 10.5702/massspec.12-48
- 11) S. Taira et al., “Nanoparticle-Assisted Laser Desorption/Ionization Based Mass Imaging with Cellular Resolution”, *Anal. Chem.* 80, no. 12 (2008) : 4761-4766. doi : 10.1021/ac800081z
- 12) H. N. Abdelhamid, “Nanoparticle assisted laser desorption/ionization mass spectrometry for small molecule analytes”, *Microchimica. Acta.* 185 (2018) : 200. doi : 10.1007/s00604-018-2687-8
- 13) P. Pomastowski and B. Buszewski, “Complementarity of Matrix-and Nanostructure- Assisted Laser Desorption/Ionization Approaches”, *Nanomaterials* 9, no. 2 (2019) : 1-24. doi : 10.3390/nano9020260
- 14) D. Ma et al., “Magnetic resonance fingerprinting”, *Nature* 495, no. 7440 (2013) : 187-192. doi : 10.1038/nature11971
- 15) A. Stabile et al., “Multiparametric MRI for prostate cancer diagnosis : current status and future directions”, *Nat. Rev. Urol.* 17, no. 1 (2020) : 41-61. doi : 10.1038/s41585-019-0212-4
- 16) P. Mi et al., “A pH-activatable nanoparticle with signal-amplification capabilities for non-invasive imaging of tumour malignancy”, *Nat. Nanotechnol.* 11, no. 8 (2016) : 724-730. doi : 10.1038/nnano.2016.72
- 17) J. Fan et al., “Video-rate imaging of biological dynamics at centimetre scale and micrometre resolution”, *Nature Photonics* 13, no. 11 (2019) : 809-816. doi : 10.1038/s41566-019-0474-7
- 18) 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
- 19) N. J. Sofroniew et al., “A large field of view two-photon mesoscope with subcellular resolution for in vivo imaging”, *eLife* 5 (2014) : e14472. doi : 10.7554/elife.14472
- 20) R. Lu et al., “Rapid mesoscale volumetric imaging of neural activity with synaptic resolution”, *Nat. Methods* 17, no. 3 (2020) : 291-294. doi : 10.1038/s41592-020-0760-9
- 21) K. Ota et al., “Fast scanning high optical invariant two-photon microscopy for monitoring a large neural network activity with cellular resolution”, *bioRxiv* (2020) : 201699. doi : 10.1101/2020.07.14.201699
- 22) <http://enigma.usc.edu>. (2021年2月1日アクセス)
- 23) <https://datascience.nih.gov/bd2k>. (2021年2月1日アクセス)
- 24) <https://www.braininitiative.nih.gov>. (2021年2月1日アクセス)
- 25) <http://www.humanconnectomeproject.org>. (2021年2月1日アクセス)

2.5.4 計測×AI

(1) 研究開発領域の定義

生命科学・医学領域では、機械学習や深層学習を始めとしたAI技術は、まず現場からのニーズや比較的均質な画像データが存在する医用画像診断に適用され、生命科学研究でも画像解析やオミクス解析にAIを用いた研究例が増えている。また、解析だけではなくデータを生み出す計測手法の最適化にもAIが活用されつつある。さらに、AIが人を超える情報識別能力を有していることに着目し、AI活用を前提として生命科学を進歩させるために、既存のヒトの仮説検証ワークフローのみに捉われない形でAIに適したデータセット生成を行なうような、新しい計測を再定義しようとする動きも出てきている。

(2) キーワード

データ駆動型サイエンス、深層学習、機械学習、人工知能 (AI)、バイオインフォマティクス、データ共有、画像解析、AI自動診断技術、過学習 (overfitting)、マルチオミクス解析、生体計測、細胞計測、マルチモーダル計測、ラボラトリーオートメーション、AI戦略、GDPR、改正個人情報保護法、次世代医療基盤法

(3) 研究開発領域の概要

[本領域の意義]

人工知能 (AI) を実現するための一手法として研究されてきたニューラルネットワークは2000年以降に多層化を可能とする方法論のブレイクスルーが起り、2010年以降ディープラーニング (深層学習) として第3次人工知能ブームを起こすこととなった。また同時期に計算機能力の十分な発展、特にGPUの深層学習への転用が起こったことは重要である。深層学習がまず初めにその威力を発揮したのは画像認識であり、2015年にILSVRC (ImageNet Large Scale Visual Recognition Challenge) において人間の識別率を超えたことにより¹⁾、深層学習の大きな可能性は広く知られるところとなった。また強化学習の手法により、もっとも複雑なボードゲームで当分AIには無理と考えられていた囲碁において、2016年にDeepMind社が開発したAlphaGo²⁾が人間のチャンピオンに4勝1敗で圧勝したことも、人々のAIに対する意識を大きく変えた。AI技術への期待と関心が高まる中、米国や中国を筆頭に、世界各国が鎬を削ってAI開発を推進している状況となっている。日本でも、第5期科学技術基本計画のキーコンセプトであるSociety 5.0の推進においてAI技術は中核的基盤技術として捉えられていることもあり、2019年より国の戦略目標として「AI戦略」を掲げている。

生命に対する知識は計測を通じて得られるものが多く、生命医科学におけるAI活用は生命計測技術と密接に結びついている。新たな計測手法の開発や高速な情報処理系デバイスの進化により、光学/電子顕微鏡やシーケンサーを始めとした計測技術は高密度化し、手動では扱えない大量の生命医科学データが生成されるようになり、その解析にAI技術が導入されたのは必然的な流れであった。また、データ通信の高速化によってオンラインのストレージが整備され、ゲノムデータなどのパブリックデータベースが拡充したことが、バイオインフォマティクスの技術開発と合わせてAI技術の導入を促進したと言える。

こうしたAI技術と計測技術の発展および計算機能力の向上により、生物学・医学の領域も科学の第4のパラダイムであるデータ駆動型科学へとシフトしてきている。これまでの生物学・医学の領域では、生命システムの複雑さから第1および第3パラダイムである理論やシミュレーションを通じた理解が困難であり、第2パラダイムである実験に頼り切ってきた。また、生命計測の限界もありこれまでには仮説駆動型の実験科学が実践さ

れてきたが、複雑な生命現象を1つの情報システムとして捉えようとするシステムズバイオロジーにおいては、人知や仮説に基づいたシンプルなモデル化だけでは理解が進まないケースが多かった。そのため、人の仮説に頼り過ぎず、データから生まれてくる知見から生命原理を説明しようというデータ駆動科学の流れが興ってきた。データ駆動型科学を実践するには、仮説駆動型に極めて最適化が進んだ研究開発体制の再考から始める必要であると考えられる。データ駆動型科学は仮説駆動型科学と対立するものではなく、相互に補完し合うものである。これまで第2パラダイムや仮説駆動型の科学に強く依存せざるを得なかった生物学・医学領域にとって、科学を線から面に発展させる機会である。

昨今の第3次人工知能ブームでは、AI自体の社会実装が進んでいる点がこれまでと大きく異なる点であり、生物学・医学分野も例外ではない。現在は主に診断機器において社会実装が進んでおり、米国FDAでは既に60を超えるAIを搭載した医療機器（ソフトウェアも含む）が承認されており³⁾、日本でも大腸内視鏡検査や脳MRI検査などにおいて承認されている。研究開発を推進するだけでなく、AI技術の特性を理解したうえで、人類の健康と幸福の為にいかにAI技術を人間社会と共存させていくかというきちんとした道筋をしっかり考えるべき段階にはいっていると考えられる。

[研究開発の動向]

深層学習技術が画像解析に優れていることもあり、AIの応用は生物学・医学領域においても画像データが先鞭を付けた。学習に使用できる画像の多さ、および医療現場の効率化のニーズから、医用画像解析の分野で積極的にAI技術が導入されており、成果も出始めている。研究開発は胸部X線写真、CT・MRI画像や網膜画像などから着手され、米国では2018年4月にIDx社の糖尿病網膜症を診断するAIがFDAの承認を受けたのを皮切りに、多数の画像診断アルゴリズムが承認を受けている⁴⁾。また放射線検査以外でも、13万枚の皮膚の病変部の画像を学習し皮膚科専門医と同等の診断制度を達成したAIなどが報告されている⁵⁾。これらは主にアメリカでの例だが、医療コストの高いアメリカではAI導入によるコスト削減が強いインセンティブとなっている。また、発展途上国でも先進国の専門医の診断精度を提供するといった経済的・社会的動機から、最新の高額な医療機器の代わりにスマートフォンや旧型の装置で撮影した画質の劣る画像でも、AIを用いて同等の診断精度を出す、といったディスラプティブな結果が生み出されている。日本でも、専門医不足を補うための診断効率化を主な動機として、100を超える医療画像診断AIのプロジェクトが進行中である。医用画像診断へのAI適用における第1ステップは異常部位（病変）の検出であり、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、医用画像から抽出した多数の定量的特徴を解析することで情報を得ようとするもので、Radiomics⁶⁾とも呼ばれるアプローチである。特に、遺伝子変異を医用画像からの的確に判断できれば治療方針の決定・予後予測など臨床的にも大変意義があることから、Radiogenomicsという名称で世界中で研究が進められている。

生物学研究の分野でも、顕微鏡画像に対するセグメンテーションや特徴量の抽出など、画像解析が先行して深層学習の適応が行われて来た。その背景として、計測技術・装置や検出器の進化による、計測データ量の増大がある。計測のハイスループット化に留まらず、イメージングで取得可能なデータが従来は2次元(XY)だったのに対して3次元(XYZ)、4次元(XYZT)、さらに手法によっては波長や分子状態といった情報が付加されるなど、取得データが多次元化していることも大きな要因である。特に、脳神経分野におけるコネクトーム解析のような大量の画像を接続することによる3次元構造の再構成や、光-電子相関顕微鏡のような異なる計測モダリティによる画像の重ね合わせなどの解析を行う上で、AI技術は強力なツールである。市販の

光学顕微鏡画像解析、イメージングフローサイトメーター、シーケンサーなどに対しても、AI解析モジュールが導入されてきている。

オミクスデータへのAI適用については、一細胞解析技術の進展により測定単位が細胞集団から1細胞に切り替わったことが大きな契機となった。これまでの各種オミクス技術の進歩は1つのサンプルから数万にも及ぶ多数のパラメーター (P) を同時測定することを可能にしてきたが、1サンプル=細胞集団 (多数の細胞) では、そのパラメーター数に対してサンプル数 (N) が圧倒的に少なかった。一般に解析対象のパラメーターの種類が多い場合、同程度のスケールのサンプルサイズが必要とされるため、このNP不均衡なデータが深層学習を含む機械学習の適応を極めて限定的にしてきた。一細胞解析技術により1サンプル=1細胞の解析が可能となり、1回の実験でNが数千・数万のデータを取得することが容易になりつつある。これによりオミクスデータに機械学習を適用することが可能となったのである⁷⁾。

AIを最大限活かすには、単に既存の計測によって得られるデータに適用するだけでなく、計測の考え方も転換が求められている。生命計測の発達にも関わらず人類の有する生命の知識は未だ限られている。そのため、生命の正しい理解のためには生命データの識別におけるラベル (正解) づけや検証、メタデータの活用が重要であり、偏ったデータや検証による誤った解釈に基づいたAI活用は、特に医薬研究開発において予期せぬ結果に繋がるリスクがある。また、従来の生物学の文脈で説明することが容易でなく活用できていなかったデータ (赤外吸収、自家蛍光、ラマン分光、細胞の物理的特性など) を、計算機的アプローチやAIの活用を経て、様々な生物学的応用に活用することで、人間の知識や理解の限界によるバイアスの影響を低減できる可能性がある。そのため、計測にも、AIの価値を引き出すために適したデータを生成するという考え方が求められてきている。すなわち、AIを活かすための生命科学データとは何か、どのような構造であるべきか、そのようなデータを生むために求められる計測技術システムとは何かと言うことである。その中で重要と考えられている方向性の1つが、データに再現性・定量性・スケール (大量計測能) を与えるような、ハイスループット・自動・ロボット化された計測系であり、技術開発が進みつつある。また、複雑な生命を理解する上で、多次元データのような人間がこれまで扱うことが難しかったデータの解析をAIに行なわせることが有効であると考えられるが、その中で重要となるのが、同一の対象から多角的に複数データを計測するマルチモーダル計測である。AIそのものの技術開発だけではなく、AIに適した計測系が生み出すデータが独創性や競争的優位を有するAIを生み出すと期待され、従来の生物学・医学研究により得られた人知を大きく拡張できる可能性がある。

(4) 注目動向

[新展開・技術トピックス]

AIの分野では「研究者=アカデミア」という図式が完全に時代遅れになっている。例えば、AI領域で最高峰の学会NeurIPS 2019において、論文採択数が最大だったのはGoogleに所属する研究者による論文である。その数170本は2位のMITの86本の2倍以上であり、3位のStanford大学、4位Carnegie Mellon大の次はMicrosoft ResearchやFacebook AI Researchが続く。日本は理研の30位が最上位である。このように、AI分野の優秀な大学教員や大学院生は、Google Research, Facebook AI Researchなどの「研究所」で研究するのが当たり前になっている。なぜならそこに「データ」があるからに他ならない。

健康医療分野においても、データが測定される場面が圧倒的に病院やアカデミアの「外」にシフトしてきていることで、同様の状況になりつつある。現在、ヘルスケアデータを最も収集・保有しているのはApple Watchを有するAppleだと言っても過言ではない。それを証明するように、ライバルGoogleは2019年11

月にウェアラブル端末大手のFitbitを買収することを発表、同じく巨大プラットフォームAmazonは、2020年8月にウェアラブル端末Haloを発表した。また、ウェアラブル端末を販売するだけでなく、Googleは保険事業に参入、Amazonはクラウドのデータ管理サービスAWSを多くの医療機関に提供するなど、データが集まる仕組みの構築に注力している。

医用画像解析におけるAI適用の大きなトピックとして、米国IDx Technologies社が開発した、眼底画像から糖尿病性網膜症を検出する「IDx-DR」が、臨床医の解釈なしで検査結果を出すことができる自律型AI診断システムとして初めて米国FDAより承認を受けたことが挙げられる。この例を始めとして、米国においてはFDAが規制機関としてAI搭載の医療機器開発を積極的にサポートしており、米国での実装を加速する要因の1つとなっている。

主要な医用画像診断手法における研究開発動向は以下の通りである。

・内視鏡画像解析

内視鏡画像に関して重要な点として、日本の内視鏡医が世界各国で講演や実技指導を行なうなど日本の内視鏡技術は世界でもトップレベルということ、また、内視鏡分野において日系の医療機器メーカーが世界の市場をほぼ独占しているということである。そのため、AIを用いた内視鏡画像解析は、日本が世界をリードすることが大きく期待される分野であると考えられる。実際、国立がん研究センターにより開発された、AI技術を活用した大腸がん及び前がん病変発見のリアルタイム内視鏡診断サポートシステムでは、隆起型の病変で感度98%、特異度99%、正診率98.8%と世界でもトップレベルの精度を示している⁸⁾。また、2019年2月に、AIによる大腸内視鏡検査の診断補助として国内で始めて薬事承認を受けたAI内視鏡画像診断支援ソフトウェア「EndoBRAIN® (エンドブレイン)」が、オリンパス社により販売された。

・放射線画像解析

日本はOECD諸国の中で、CT及びMRIの人口あたりの保有台数は最も多く（OECD平均値の4.1倍、3.3倍、OECD Health Statistics 2015）、PETも第3位であることから、日本は世界でもトップクラスの放射線画像診断大国であると言える。一方、画像の読影、つまり画像を分析し、的確な診断を行なうことが可能な放射線診断専門医の不足が問題視されている。また近年、大学病院、検診センターなどで相次いで画像診断におけるがん見落としのニュースが報道され問題となっている。このような状況下、CTやMRIなどの放射線画像診断に対するAI診断支援の開発に期待が集まっている。

病院内の放射線画像をコンピュータによる解析、学習、推論の対象となるようなビッグデータへと掘り起こし、AI技術を用いたがん臨床支援システム構築を目指した研究が始まっている。例えば、転移性脳腫瘍に対する定位放射線治療後の局所制御率とMRI画像特徴量の関係を検証した研究成果が本邦で発表されている⁹⁾。治療計画用のステルス造影T1強調MRI画像の腫瘍領域から計566個の画像特徴量を抽出し、教師無しの階層的クラスタリングによって画像特徴量に応じた4つのclusterに症例を分類したところ、一つのclusterにおいて1年局所制御率が最も低く、クラス間で生存曲線に有意差があることが示された（ $P=0.012$ ）。すなわち、特定の画像特徴量が腫瘍の治療効果予測因子となり得る可能性が示唆された。また、腫瘍のsegmentationを実現する深層畳み込みニューラルネットワークの構築に取り組み、3D-Unetを用いて教師有り学習を行なわせたところ精度93.4%、Dice係数0.87という高い性能が示された⁹⁾。

また理研AIPでは、AIを用いた胎児心臓超音波スクリーニングシステムの開発を進めており、少量のデータや不完全なデータからでも的確な予測が可能な「ロバストな機械学習技術」を検討した¹⁰⁾。アノテーション

ン付きの超音波画像2,000枚を教師データとして、胎児の心臓および周辺臓器の各部位を検知する技術の学習を行なった。その技術を用いて、超音波検査の動画上に映るべき胎児心臓と周辺臓器の各部位が実際に映っているかを「確信度 (AI自身が予測に対して、どの程度確信を持っているかを示す値)」として高速で算出し、検査画面上にリアルタイムで表示する胎児心臓超音波スクリーニングシステムを構築した。

・病理画像解析

病理診断は病変の最終診断であることから、治療方針決定や治療効果判定にとって重要な役割を持つ。一方で、高い専門性が必要とされる病理医の数は不足しており、AI技術を用いた病理診断に関する研究開発は重要と考えられる。また、病理スライドガラス標本を高精細にデジタル画像化した「バーチャルスライド」をハイスループットで大量に取得する機器が臨床現場でも使われ始め、学習に用いるデータも蓄積されつつある。施設ごとに病理標本の作製法及び染色法が異なり、病理画像が標準化されていないといった課題はあるが、徐々に臨床現場でAI技術を用いた病理診断が進んでいくと思われる。

米国・ニューヨーク大学の研究グループは、肺組織切片のバーチャルスライド画像を深層学習アルゴリズムを用いて学習し、肺癌 (lung adenocarcinoma, squamous cell lung cancer) 及び正常肺の組織分類を行った。その結果、AUC 0.97と非常に高い精度で組織分類ができることが分かり、さらに病理画像からSTK11, EGFR, FAT1, SETBP1, KRAS及びTP53という6つの遺伝子変異を高精度に予測できることが示された (AUC : 0.733~0.856)¹¹⁾。また、日本医科大や理研AIPの研究グループは、前立腺がん検体の全体をまるごとバーチャルスライド化したものを対象にアノテーションなしで深層学習を行なったところ、専門医よりも高い精度で再発率を予測した。さらに、深層学習と専門医がそれぞれ異なる特徴に着目していることから、両者を組み合わせることでさらに精度を高めることが示した¹²⁾。

・皮膚画像解析

悪性黒色腫 (メラノーマ) は悪性度の高い皮膚がんであるが、ほくろとその形状が似ているため、ほくろ (良性) とメラノーマ (悪性) の識別は関心の高い課題である。米国・スタンフォード大学の研究グループは、深層学習アルゴリズムの一つであるconvolutional neural network (CNN) を用いて、約13万の画像とそれに対応する約2000種類の病気を対応付けたデータベースを基に、AIによる皮膚疾患の分類を試みた¹³⁾。その結果、AIによる診断による皮膚がん135例のAUCは0.96、メラノーマ130例のAUCは0.94と皮膚科専門医の診断とほぼ同等のレベルであった。また、国内においても国立がん研究センターにおいて、深層学習技術を用いて皮膚写真データ12万枚の学習を行なった結果、AIによる判定精度 (86.2%) は専門医 (79.3%) と比しても高い精度を示した¹⁴⁾。

・希少疾患診断 (眼科診断)

希少疾患について精通した臨床の医師や研究する研究者や企業は少数であることから、希少疾患の診断は見落としや遅れ、誤りが発生しやすい。そのためAIによる診断の質の向上が期待されるが、一方で教師データも少ないという難点もある。中国・中山大学のグループは、886件のアノテーション付けされた画像を教師データとしてCNNを用いた解析を行ない、構築したAIシステムが、300件の正常眼球画像と3件の先天性白内障眼球を併せた画像から全ての白内障症例に同定に成功したと報告している¹⁵⁾。

生物学研究においても画像解析とAIを組み合わせた事例は数多く報告されているが、注目されるのは、AI

技術を活用することにより計測手法自体を最適化する事例である。まずは、計算機を画像生成に用いるコンピュータシミュレーションにおいて、散乱体越しにレンズレスで取得したパターンから被写体を計算する逆問題の事例で先行的に行なわれてきたが¹⁶⁾、他の顕微鏡法においても、クライオ電子顕微鏡の単粒子解析における分子構造情報抽出の最適化¹⁷⁾や超解像顕微鏡の一種であるSMLMにおける光学系の最適化¹⁸⁾といった事例が報告されている。また、目覚ましい結果を出している技術としてAIによって低解像度イメージから高解像度イメージを生成する技術¹⁹⁾が挙げられ、トレーニングしたAIモデルを用いて通常の蛍光顕微鏡画像から超解像画像を生成することに成功し²⁰⁾、結果として画像取得の高速化や細胞への光毒性の低下につながるかと期待される。また、非染色標本から疑似蛍光画像を生成する手法が、GoogleやAllen Institute (Microsoft創業者が設立)の研究グループから発表されたことも注目に値する^{21), 22)}。

オミクスデータに対する機械学習の適用としては、現在は主にsingle-cell RNA-seqによる遺伝子発現データに教師なし学習を組み合わせて、亜集団の検出や細胞同士の類似度からの分化経路の推定などが行われているが、今後さらに高次元細胞間相互作用の推定などへ応用されることが期待されている²³⁾。また、オミクスデータを診療情報と合わせて、機械学習・深層学習技術で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う研究成果が発表され始めている²⁴⁾。

AI活用による計測の進化により、計測の適用場面が変化していることも注目に値する。その1つの要因はリアルタイム計測・解析が可能となったことである。術中視野内においてラマン顕微鏡によりがん細胞を判別して医師を助けるシステム²⁵⁾や、セルソーターにおいてマイクロ流路中で蛍光やラベルフリー画像情報に基づいて高速に細胞種を判別するシステム^{26), 27)}など、AI統合型のプロセスや装置が開発され実用化が進みつつある。また、深層学習の強いノイズ耐性もデータを収集する場面の拡張に寄与している。例えばApple Watchを用いた心房細動の検出は、実際の測定はII誘導のみの限定的なものでかつデータが極めてノイズであるが、深層学習と組み合わせることにより必要な情報を復元可能とし、FDAの承認を得られるだけの精度を達成している²⁸⁾。これにより、心電図は病院で測定するものから、24時間365日どこにいても測定できるものへと劇的に立ち位置が変わった。一方で、AIの進歩により計測がAIの予測に置き換わってしまうことも起こりうる。例えば、深層学習によってアミノ酸配列からタンパク質立体構造を予測する精度が向上していることから²⁹⁾、既存のX線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡による構造解析が不要で深層学習による予測で十分といったケースが増えるかもしれない。こうした「計測」の価値観を揺さぶるドラスティックな変化は、医学・生物学のいずれの分野でも続々と起こる可能性がある。

AIを活かして人知を拡張させる上で、生命計測において鍵となるのは、マルチモーダル計測と計測自動化である。マルチモーダル計測において進展が早いのが一細胞解析分野である。同分野では、各細胞から遺伝子発現情報をシーケンス技術により計測する技術のスケールアップが進んできていたが、空間的な位置と対応させて計測するSpatial Transcriptomics技術^{30), 31)}がここ数年で次々に現れている。すでに一細胞解析分野を牽引する10xGenomics社が、Spatial Transcriptomicsを扱うベンチャーを次々に買収する動きを見せている。また、細胞イメージングにおいても、機械学習に学ばせやすいよう多重染色を行ない、人の認知バイアスなしに細胞内構造をマッピングするといった結果も報告されている^{32), 33)}。

計測の自動化は、安定した大量のデータ生産のため、重要性がさらに高まっている。特に細胞を対象とした自動化装置において欧米企業が先行しており、米国Berkeley Lights社は、細胞をマイクロウェルに振り分けその機能測定に基づいて高機能な細胞を分取してくる自動装置beaconを開発し、10xGenomics社は、数多くの細胞から並列に遺伝子発現解析を可能とする簡便な仕組みと装置Chromiumを実用化した。ドイツMiltenyi Biotec社は、血中より目的の細胞を分離し、洗浄・濃縮を行い培養までを自動化する

CliniMACSProdigyを開発し、細胞治療分野における強力なプラットフォームとなっている。さらに、AIを組み込んで細胞培養とモニタリング、細胞状態や機能の判別といった一連のプロセスを自動化し、さらにプロセスの最適化もAIを活用して行なうといった、自律的な実験プロセス構築を目指す取り組みも進みつつある。Kingらにより英国で開発された先駆的なシステム³⁴⁾を皮切りに、米国や欧州を中心に化学や合成生物学の分野で進みつつあり、製薬企業でも創薬スクリーニングに自動化プロセスを導入する動きが見られる³⁵⁾。我が国においても、ロボット技術をはじめとした自動化技術を最適化してiPS細胞の培養や分化を進める試みや、多様なセンシングで得られたデータを基にバイオ生産における微生物培養手法を最適化するAIシステム構築、といった取り組みが行われている。

[注目すべき国内外のプロジェクト]

学習に用いるデータを大規模に収集するためのプロジェクトが、バイオバンクやコホートなども含め国内外でいくつも動いている。以下に一細胞計測に関連する3つのプロジェクトを挙げる。

- ・ HCA (Human Cell Atlas Project)³⁶⁾

米国、EU、日本などが傘下する国際プロジェクトでヒトの全細胞の状態を1細胞の単位で記述することを目標としている。現在進行中の第1期ではsingle-cell RNA-seqを中心にデータの収集が行われており、このプロジェクトの進展とともに莫大な量のヒト1細胞情報が蓄積されることが期待されている。また本プロジェクトのために細胞の位置情報を含めたspatial single-cell transcriptomicsの技術開発が急速に進められている。

- ・ HuBMAP (Human BioMolecular Atlas Program)³⁷⁾

アメリカNIHによるHCAに呼応したプロジェクト。健康なヒトの様々な1細胞情報のデータベース化が目的。

- ・ LifeTime FET Flagship³⁸⁾

EUによるHuBMAPに呼応したようなプロジェクト。病気のヒトの様々な1細胞情報を収集し、疾病に至る機序の解明を目指す。

また、健康医療分野において注目されるプロジェクトとして、Google傘下のVerily社を中心にDuke大学とStanford大学が参加するProject Baseline³⁹⁾が挙げられる。1万人の前向きコホートによりゲノム・マイクロバイオーム・通常の健康診断情報に加え、ウェアラブル端末による24時間365日の情報を5年間収集しつづける。

日本におけるプロジェクトとして、内閣府の官民研究開発投資拡大プログラムPRISMにおいて、創薬やスマート農業・育種といった領域におけるAI活用のためのデータプラットフォーム構築が進められている。前者については、「創薬ターゲットの枯渇問題」を克服すべく、動物からではなくヒトの情報(様々なオミクスデータ及び診療情報)から創薬ターゲット分子を探索するAIの開発実装を目的とする「新薬創出を加速化する人工知能の開発」プロジェクトが2018年から開始されている。自動化に向けたプロジェクトとしては、理研・高橋を中心とした産学共同のプロジェクト「ロボティックバイオロジーによる生命科学の加速」が、JST未来社会創造事業の本格研究として2020年末より開始した。

(5) 科学技術的課題

現在、医学生物学分野に適用されているAI（深層学習）は、人間と同等もしくはそれ以上の精度で検出や分類ができれば、そのアルゴリズム自体はブラックボックスで良いという要求水準のAIであり、第4のパラダイムであるデータ駆動型の中に閉じていると言える。しかし現象の背後にあるメカニズムを説明し、既存の科学とのクロストークを可能にするには、第1～3パラダイムの原理・仮説・シミュレーションを組み込み可能なAIへと発展させる必要がある。このような次の段階への移行については、臨床や健康医学の分野よりは、データの入手に制限がなく、介入実験による確認が可能な生物学研究が先陣を切ることが期待される。その中で計測に求められる点として、個々の計測技術の開発もさることながら、既存の計測技術・装置群をシステムチックに繋ぎこれらを計画的に使うことにより、メタデータリッチでラベルや検証（患者であれば長期追跡計測）も適正になされたデータセットを大量に構築していくことが重要となる。例えば、現在行なわれているマルチオミクス解析はそれぞれのモーダリティ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が必要であると考えている。さらに、生命現象・疾患を考える上では、時間的・空間的な相互作用を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、層別化されたオミクスデータの相互作用や時間的な経時変化をも加味したマルチオミクス解析は始まったばかりであり、今後取り組むべき重要な課題であろう。

AIを適用する上で計測データに起因する課題として、データ自体が元々保持しているバイアスに起因する精度の不安定性がある。たとえば画像解析の場合、画像を取得する機器のメーカーの違いや型式の違いなどによるバイアスはAIによる学習に影響を与える。この問題を解決する方策としては手法や機器の統一も考えられるが、特に生物学・医学分野では、既に各医療施設で確立された手法や各研究者がそれぞれの目的・サンプルにとって最適と判断した手法を変更することは難しく、また独占禁止法の観点から考えても現実的ではない。この問題の解決には、データの構造化やメタデータを加味したアルゴリズムの開発を含め、ロバスト性の高いシステムの開発が肝要になってくると考える。その前提として、計測データに付するラベルや検証、メタデータに対する基準の、最低限の明確化・標準化が求められる。さらに臨床分野においては、多施設のデータを解析する時に施設ごとのバイアスという課題に直面することも多い。例えば、病理画像解析で切片を染色する手法として一般的に使用されるHE染色は、施設ごとにその手技が微妙に異なっており、ホルマリンによる標本固定に関しても濃度や固定時間の差異が散見される。また、染色してから長期保存することにより、標本自体が退色するという問題もある。さらに、医療施設による患者の特性の違いによるバイアスといった懸念も挙がっている⁴⁰⁾。機械学習・深層学習技術は過学習（overfitting）を起こしやすいという性質も鑑み、こうしたバイアスの影響を除くには後述する転移学習の活用が有効と考えられる。また臨床応用に際しては、施設間を超えたロバスト性を担保するために、前向き研究が重要となってくる。

また、現場で研究を実践していく中でいくつか課題が見受けられる。AIを有効に活用するにはデータ収集が重要である一方、臨床現場において日常診療を一切妨害しないで、質の高い医用画像及び臨床情報の収集をいかに効率的に行なうか、という点は臨床研究において課題となる。また、大量のデータ収集と解析を実施するには、計算機や大規模ストレージといったインフラの準備、さらにそれらを扱う人的リソースが欠かせない。具体的には、スパコンなどの外部の計算機環境に高速でアクセスできるチャンネルを確保していること、内部の計算機環境において大規模データの前処理をできる計算機環境といったインフラとそれを支える人材の整備を、共同利用含め進めていく必要がある。一方で、AI技術の進化に伴い、機械学習の専門知識がなくても自前のデータから独自の機械学習モデル構築が可能なサービスや、学習モデルの探索まで自動化したソ

フトなどが出てきて、AIを研究に導入する技術的ハードルは下がりつつある。AI利用のすそ野が広がる反面、作り上げたモデルの評価が十分に行われず、必ずしもAIを適用する必要のない研究でも無為にAIが用いられてしまう、といったケースも増えると考えられるため、AIモデルの評価システムやAIを活用する上での倫理基準の構築が必要となる。

計測技術を開発する上で鍵となるマルチモーダル計測と計測自動化については、以下のような課題が挙げられる。

・マルチモーダル計測

人類の有する生命の知識は未だ限られており、人が生命データに与える解釈にバイアスが入ることは避けられない。そこで、同一の対象から多角的にデータを取ることができれば（メタデータを含む）、片方のデータを他方のデータのラベルづけに用いたり、検証に用いたり、統合的に用いたりすることができるようになる。この計測対象が、単一細胞レベルなのか、単一細胞集団レベルなのか、個体レベルなのか、そしてそれぞれのケースにおいてどのようなAIモデルやアプローチが適正であるか、検証が進むと考えられる。

また、マルチモーダル計測を行う際に、別々のタイミングや装置の間で、各対象のデータをいかに紐付けていくのかという課題が頻出してくる。従来のように、一つ一つの対象を逐次的に認識して扱っていくのではスケールと再現性から限界も存在する。装置間で測られる計測データを並列に紐づけられるようなシステムが求められる。

計測とAIを組み合わせることで人知を拡張しようとする際に大きなポテンシャルが期待されるのは、まだ人が使いこなせていないモダリティの活用である。吸収やラマンや位相など、人が未だ解釈する能力を十分に得ていない光学情報を活かせる可能性がある。同様に期待されるのは、次元の小さな情報から、次元の大きな情報を予測することである。例えば、前述の光学情報から分子情報を予測する、無数にある薬剤の組み合わせ効果を少ない実験データから計算機内で予測する、といったことが期待される。

・計算機とハードウェアの融合、自動化、ロボット化

AIの解釈に対して人がいかに介在するか、その必要性を再考することでシステム性能を向上し、より有効にデータを活かせる可能性がある。人の介在はバイアスを発生させるだけでなく、高速化や高精度化のボトルネックとなる可能性がある。光学分野においては、コンピュータシミュレーションと呼ばれる分野にいち早く適用し始めている。

定量性、再現性、大スケールは、有用なAIを開発するデータ生成のため、計測技術に欠かせない必要要件となる。しかしこのような装置へのアクセスは限られるため、装置やデータリソース共有化の推進、リモートでも実験・研究を推進できる枠組みの構築も並行して重要となる。自動化・ロボット化の利点の1つは、対象に対する撮動>計測>解析>撮動>…と反復したクローズドループの中で、プロセスを最適化していくようなことができる点である。計測だけでなく、プロセス全体でのトータルでの設計が重要となる。

(6) その他の課題

生物学・医学領域でデータ駆動型科学を実践する場合、これまでとは桁の違う量のデータへのアクセスが必須となる。そこにはいわゆるプラットフォームの覇権や個人情報保護などトレードオフの関係になる要素が複数存在するため、倫理、法律やアウトリーチなど広い視野をもった学際的議論を研究開発に含めバランスを取れる点を探る作業が同時進行で必要となる。

ヒト由来のデータ利用の自由度を規定する個人情報保護への感度は、長い歴史の上に立脚しており国ごとに大きく違う。ナチスによるジェノサイドや冷戦下での情報統制を経験したヨーロッパでは近年、GDPRと呼ばれる相対的に強い個人情報保護の方針を打ち出した。日本もどちらかといえばヨーロッパ寄りのスタンスであると考えられる。一方、米国では、GAF Aを始めとしたデータプラットフォーマー企業が、サービス提供の対価として消費者からデータを集めている。健康医療分野では、Apple, Google, Amazonが販売するウェアラブル端末はさまざまなアプリを提供するプラットフォームになっており、例えばフィットネスや疾病予防のアプリを通じて測定されたヘルスケアデータは、日本人であってもこれら企業の元集まるわけである。また、中国は、国策としてAI研究開発を進めるため、医療データを含んだ個人データを用いる上での厳しい規制を課していない。そのため、AIトレーニング用の教師データを作成するためのコストが比較的安く、例えばCOVID-19に対する画像診断補助AIの認可において、中国のデータを用いて中国で開発されたアルゴリズムを日本に輸入し、日本でも有効であることを臨床試験で確認するスキームのAI製品が出てくる⁴¹⁾など研究開発スピードの差が顕在化した事例も出てきている。

日本では、2017年5月の改正個人情報保護法の全面施行により、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り、医療データを用いた研究開発が停滞してしまうとの危惧が出た。それに対して2018年5月に、認定された事業者により匿名加工された医療情報の流通について定めた次世代医療基盤法が施行された。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、日本での研究開発が加速度的に発展していくことが期待される。一方で、個人情報保護に重点が置かれている日本では、情報活用を促進する前提としてサイバーセキュリティ技術の進展が大きな課題となる。欧州においても、「欧州データ戦略」^{42), 43)}の中で、医療データや科学研究データを含む公共利益の高いデータや産業競争力に資するデータの移転・流通を、「個人データの使用に関する主権は個人が有する」というGDPRの考えに則った形で促進する方向性を模索している。米中という2つの大国と競争する上で、米中とは異なる価値観をベースとする日本と欧州での連携は重要になると思われる。

個人情報保護が強い地域ではデータの管理単位が小さい(例:病院ごと)という特性があり、大量のデータを寄せ集めて汎用性の高いAIを1つ作るよりも、AIが各病院に出かけて行って、その病院に集まるデータの特性から学ぶ、という方法論の研究開発に注力することは、アメリカのプラットフォーマーと違う戦略を取るという意味でも極めて重要であろう。これは機械学習的には転移学習と呼ばれる領域であり、生物学 x 転移学習、医療データ x 転移学習、という専門分野を開拓し人材を育成することが急務である。この課題は病院ごとから国ごとへも拡張可能で、GDPRにより基本的に個人情報は国境を超えられないEUの各国との連携を強化するのにも重要であると考えられる。

また、AIを用いた研究開発の成果を医療分野で実装するためには、医療機器の認可のプロセスの進化も要求される。例えば、前述の転移学習についても、現在の認可体系では、認可後に医療機器がアルゴリズムを変化させる(=さらに学習する)ということは想定されておらず、転移学習は成立しない。米国FDAは法規制を定める機関として、新たな技術への法規制の対応について積極的であり、2017年7月にはデジタル技術を用いたイノベーションを適切に評価する体制を整えるための「Digital Health Innovation Action Plan」を、2019年4月には継続的に学習・変化し続けるAdaptive AIを含んだ医療機器を把握・規制するための新たな枠組みの検討を開始している⁴⁴⁾。また、これ以外にも、AI搭載医療機器による製造物責任、専門家責任、医療過誤、データプライバシーやデータ所有権問題など、今後明文化が必要とする課題も散見される。我が国でも、AIを活用した医療診断システム・医療機器などに適したルール作りが開始されている⁴⁵⁾のでその推移に着目したい。

データの価値や構造を考えた計測技術設計のためには、計測データを利用する生物学者やデータ科学者側から計測技術開発者へ、データ構造の価値を噛み砕いて伝えていくことが必要で、分野を超えた連携が不可欠である。そのための鍵となるのは、人材育成である。分野横断型のカリキュラムを用意して広い知識を植え付けるだけでなく、データ構造の構築・活用を中心に据えた思考体系を共有していく必要がある。自動化と大量計測を前提とし、データを理解して実験を計画・実行できる生物学者・医学者や、自動化させることを前提とし、価値のある生物学的データを理解して、計測系を設計・実現できる技術開発者の両輪を生み出すことが必要となる。また、収集したデータの有効活用のためにはデータサイエンティストとの連携も欠かせない。さらに、バイオ産業が自動化していくことになれば、産学連携や産学での人材流動の重要性も増してくるであろう。

以上のように、計測 x AI のデータ駆動型科学においては、そのポテンシャルの高さから、アカデミアと企業、生物学と医学、といった既存の区分が破壊されており、新しい価値観に適応した制度や人材育成を他国のコンペティターと同じ速度で進めていくことが極めて重要になると考えられる。

(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	○	↗	政府の「AI 戦略」の迅速な計画と実装により国際学会などで一定の存在感を打ち出している。長い間質の高い医学・生物学研究が行われてきた結果大量に保存された、質の高い医療データを活用した研究が、個人情報関連する法整備により今後加速的に発展していくことが期待される。計測分野では、ロボティックバイオロジーの提案と実践などに前進を見せけている。AI 融合のイメージセルソーターは日本が中心で開発が進んでいる。
	応用研究・開発	○	↗	20 世紀後半と比べ存在感が低下しているもののハードウェアやウェットにおいては未だ強みと高い品質を保っている。AI 戦略等に対応して高校生への数学教育などが迅速に展開されており今後 AI 人材が厚くなることから予測されるため、AI を始めとしたソフトウェアも合わせた発展が期待される。 顕微鏡や培養装置モニタリングなどにおいて、基本的な AI 画像解析を取り入れるなど、ベーシックな計測技術への導入は堅調に進んでいる。AI が駆動するイメージセルソーターの実装でも、世界をリードしつつある。自動化装置として、細胞医薬開発・製造などで価値を発揮できるかが今後の鍵となる。
米国	基礎研究	◎	↗	ビッグデータを生成し集めるプラットフォームは全て米国企業であり、そこに優秀な AI 研究者も集まっている。スタンフォード大学や UC バークレイなどの大学も AI 技術を活用したライフサイエンス・臨床医学分野分野に注力しており、世界的にみても圧倒的な研究力を有している。細胞解析技術を皮切りにマルチモーダルな解析技術も次々に発表されている。ボストンは基礎研究と応用が直結する環境となっており、AI や圧縮センシングなどの情報技術がバイオ計測にも積極的に用いられている。
	応用研究・開発	◎	↗	基礎研究と同様、GAFAM などの超巨大企業が、全米の一流大学と共同で AI 技術を活用したライフサイエンス・臨床医学分野分野を推進する。自動化・ロボット化をインダストリーが牽引し、周辺応用分野もこれを利用する循環が生まれている。一細胞解析や細胞製造分野で計測装置の開発をリードし、AI の計測分野導入も進めている。一細胞解析などで、マルチモーダル解析を抑えるために次々に買収を進める企業もある。

欧州	基礎研究	◎	→	AIの基礎理論ではアカデミアに厚い人材を有し、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きた。 計測分野においても、英国マンチェスター大学で生み出されたロボット実験装置 Adam、Eve や、スウェーデンで生み出された組織内の位置情報と細胞遺伝子解析をマルチモーダルに解析する技術（のちに米国 10x genomics 社が買収）など、顕著な成果が出ている。
	応用研究・開発	○	→	GDPR など個人情報保護が強く、米国の GAFAM に匹敵する超巨大企業も存在しないため、データが国ごとにサイロ化している。そのため、米国ほどのアクティビティが見られない。 計測では、英国のバイオテックインダストリーがアクティブである。
中国	基礎研究	◎	↗	政府が国策として AI 開発を進めているため、世界的に見てもトップクラスのアクティビティを保っている。米国で AI 研究を行なう人材層の還流と国内での育成により人材も分厚く、基礎研究力は極めて高い。 ゲノミクスやゲノム編集といった DNA や細胞に関する技術と情報科学・AI を融合させる研究への莫大な投資と進展が目覚ましい。
	応用研究・開発	◎	↗	GAFAM に対抗できる規模をもつプラットフォーマー（Alibaba, Baidu, iflytek, Tencent など）が、政府の強力なバックアップを得ながら一流大学と強固に連携しつつ研究を推進している。個人情報を始めとしたビッグデータに対するコストが極めて低い。 特にゲノミクスや Liquid Biopsy 分野への情報科学の応用に対する投資は非常に大きく、米国を始めとした他国企業を買収して技術を吸収しつつ、発展を続けており、米国に迫る。 ただし、国際展開には政治的障壁があり、未知数な点も多い。
韓国	基礎研究	○	↗	韓国においても重要研究課題と考えられているが、機械学習・深層学習技術の専門家の数が少ないこともあり、アクティビティは米中ほど高くない。 計測では、YongKeun Park (KAIST) がラベルフリー定量相イメージング技術の第一人者として知られ、AI 解析とイメージングの統合や、スピンオフした Tomocube 社顕微鏡の解析における AI 活用を探索している。
	応用研究・開発	△	↗	サムスン電子を中心に AI の応用研究が展開されているが、人材層が薄い。ウェアラブル装置などを用いたデジタルヘルス分野に積極的だが、計測・理化学技術開発は限定的。
インド	基礎研究	○	↗	数学・IT の優秀な人材を多くアメリカなどに輩出しており、今後国内でどのように発展するか注目である。
	応用研究・開発	○	↗	国内に抱える人口が圧倒的に多く、経済発展とインフラの普及により、次のビックデータ拠点となる可能性が高い。

(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

- ・ 知覚・運動系のAI技術 (システム・情報分野 2.1.1)
- ・ データに基づく問題解決 (システム・情報分野 2.1.6)

参考・引用文献

- 1) K. He et al., "Deep Residual Learning for Image Recognition", *2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)* (2016) : 770-778. doi : 10.1109/CVPR.2016.90
- 2) D. Silver et al., "Mastering the game of Go with deep neural networks and tree search", *Nature* 529, no. 7587 (2016) : 484-489. doi : 10.1038/nature16961
- 3) S. Benjamins, P. Dhunoo and B. Mesko, "The state of artificial intelligence-based FDA-approved medical devices and algorithms : an online database", *npj Digital Medicine* 3 (2020) : 118. doi : 10.1038/s41746-020-00324-0
- 4) E. J. Topol, "High-performance medicine : the convergence of human and artificial intelligence", *Nat. Med.* 25, no. 1 (2019) : 44-56. doi : 10.1038/s41591-018-0300-7
- 5) A. Esteva et al., "Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks", *Nature* 542, no. 7639 (2017) : 115-118. doi : 10.1038/nature21056
- 6) P. Lambin et al., "Radiomics : extracting more information from medical images using advanced feature analysis", *Eur. J. Cancer* 48, no. 4 (2012) : 441-446. doi : 10.1016/j.ejca.2011.11.036
- 7) P. Yu and W. Lin, "Single-cell Transcriptome Study as Big Data", *Genomics Proteomics Bioinformatics* 14, no. 1 (2016) : 21-30. doi : 10.1016/j.gpb.2016.01.005
- 8) M. Yamada et al., "Development of a real-time endoscopic image diagnosis support system using deep learning technology in colonoscopy", *Sci. Rep.* 9, no. 14465 (2019). doi : 10.1038/s41598-019-50567-5
- 9) 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 no. 9 (2018) : 875-878. doi : 10.14894/faruawpsj.54.9_875
- 10) S. Yasutomi, T. Arakaki and R. Hamamoto, "Shadow Detection for Ultrasound Images Using Unlabeled Data and Synthetic Shadows" *arXiv* (2019) : 1908.01439
- 11) N. Coudray et al., "Classification and mutation prediction from non-small cell lung cancer histopathology images using deep learning", *Nat. Med.* 24 (2018) : 1559-1567. doi : 10.1038/s41591-018-0177-5
- 12) Y. Yamamoto et al., "Automated acquisition of explainable knowledge from unannotated histopathology images", *Nat Commun* 10, no. 1 (2019) : 5642. doi : 10.1038/s41467-019-13647-8
- 13) A. Esteva et al., "Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks", *Nature* 542 (2017) : 115-118. doi : 10.1038/nature21056
- 14) S. Jinnai et al., "The Development of a Skin Cancer Classification System for Pigmented

- Skin Lesions Using Deep Learning”, *Biomolecules* 10, no. 8 (2020) : 1123. doi : 10.3390/biom10081123
- 15) E. Long et al., “An artificial intelligence platform for the multihospital collaborative management of congenital cataracts”, *Nat Biomed Eng* 1 (2017) : 0024. doi : 10.1038/s41551-016-0024
- 16) R. Hirasaki, R. Takagi and J. Tanida, “Learning-based imaging through scattering media”, *Optics Express* 24, no. 13 (2016) : 13738-13743. doi : 10.1364/OE.24.013738
- 17) S. R. M. V. Subramaniya, G. Terashi and D. Kihara, “Protein secondary structure detection in intermediate-resolution cryo-EM maps using deep learning”, *Nat Methods* 16 (2019) : 911-917. doi : 10.1038/s41592-019-0500-1
- 18) E. Nehme et al., “DeepSTORM3D : dense 3D localization microscopy and PSF design by deep learning”, *Nat Methods* 17 (2020) : 734-740. doi : 10.1038/s41592-020-0853-5
- 19) W. Yang et al., “Deep Learning for Single Image Super-Resolution : A Brief Review”, *IEEE Transaction on Multimedia* 21, no. 12 (2019) : 3106-3121. doi : 10.1109/TMM.2019.2919431
- 20) 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
- 21) E. M. Christiansen et al., “In Silico Labeling : Predicting Fluorescent”, *Labels in Unlabeled Images* 173, no. 3 (2018) : 792-803.e19. doi : 10.1016/j.cell.2018.03.040
- 22) C. Ounkomol et al., “Label-free prediction of three-dimensional fluorescence images from transmitted-light microscopy”, *Nature Methods* 15, no. 11 (2018) : 917-920. doi : 10.1038/s41592-018-0111-2
- 23) M. D. Luecken and F. J. Theis, “Current best practices in single-cell RNA-seq analysis : a tutorial”, *Mol. Syst. Biol.* 15, no. 6 (2019) : e8746. doi : 10.15252/msb.20188746
- 24) K. Asada et al., “Uncovering Prognosis-Related Genes and Pathways by Multi-Omics Analysis in Lung Cancer”, *Biomolecules* 10, no. 4 (2020) : 524. doi : 10.3390/biom10040524
- 25) T. C. Hollon et al., “Near real-time intraoperative brain tumor diagnosis using stimulated Raman histology and deep neural networks”, *Nat Medicine* 26 (2020) : 52-58. doi : 10.1038/s41591-019-0715-9
- 26) S. Ota et al., “Ghost cytometry”, *Science* 360, no. 6394 (2018) : 1246-1251. doi : 10.1126/science.aan0096
- 27) N. Nitta et al., “Intelligent Image-Activated Cell Sorting”, *Cell* 175, no. 1 (2018) : 266-276. e13. doi : 10.1016/j.cell.2018.08.028
- 28) ECG app and irregular heart rhythm notification available today on Apple Watch
<https://www.apple.com/newsroom/2018/12/ecg-app-and-irregular-heart-rhythm-notification-available-today-on-apple-watch/> (2021年2月1日アクセス)
- 29) E. Callaway, “‘It will change everything’ : DeepMind’s AI makes gigantic leap in solving protein structures”, *Nature* 588, no. 7837 (2020) : 203-204. doi : 10.1038/d41586-020-03348-4
- 30) P. L. Ståhl et al., “Visualization and analysis of gene expression in tissue sections by spatial

2.5

俯瞰区分と研究開発領域
 基礎・計測技術
 基礎・計測技術

- transcriptomics”, *Science* 353, no. 6294 (2016) : 78-82. doi : 10.1126/science.aaf2403
- 31) K.H. Chen et al., “Spatially resolved, highly multiplexed RNA profiling in single cells”, *Science* 348, no. 6233 (2015) : aaa6090. doi : 10.1126/science.aaa6090
- 32) M. -A. Bray et al., “Cell Painting, a high-content image-based assay for morphological profiling using multiplexed fluorescent dyes”, *Nat Protocols* 11, no. 9 (2016) : 1757-1774. doi : 10.1038/nprot.2016.105
- 33) G. Gut, M. D. Herrmann and L. Pelkmans, “Multiplexed protein maps link subcellular organization to cellular states”, *Science* 361, no. 6401 (2018) : eaar7042. doi : 10.1126/science.aar7042
- 34) <https://www.manchester.ac.uk/discover/news/robot-scientist-eve-could-boost-search-for-new-drugs/> (2021年2月1日アクセス)
- 35) https://www.youtube.com/watch?v=Ms5_npR0c34 (2021年2月1日アクセス)
- 36) <https://www.humancellatlas.org> (2021年2月1日アクセス)
- 37) <https://commonfund.nih.gov/hubmap> (2021年2月1日アクセス)
- 38) N. Rajewsky et al., “LifeTime and improving European healthcare through cell-based interceptive medicine”, *Nature* 587 (2020) : 377-386. doi : 10.1038/s41586-020-2715-9
- 39) <https://www.projectbaseline.com/> (2021年2月1日アクセス)
- 40) J. Futoma et al., “The myth of generalisability in clinical research and machine learning in health care”, *The Lancet Digital Health* 2, no. 9 (2020) : e489-e492. doi : 10.1016/S2589-7500 (20) 30186-2
- 41) エムスリーとアリババクラウド AI医療技術「COVID-19肺炎画像解析プログラム Ali-M3」医療機器製造販売の承認取得・提供開始 https://corporate.m3.com/press_release/2020/20200629_001616.html (2021年2月1日アクセス)
- 42) 総務省「データ流通環境等に関する消費者の意識に関する調査研究 報告書」(2020) https://www.soumu.go.jp/johotsusintokei/linkdata/r02_04_houkoku.pdf (2021年2月1日アクセス)
- 43) European Open Science Cloud <https://ec.europa.eu/research/openscience/index.cfm?pg=open-science-cloud> (2021年2月1日アクセス)
- 44) <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/statement-fda-commissioner-scott-gottlieb-md-steps-toward-new-tailored-review-framework-artificial> (2021年2月1日アクセス)
- 45) 厚生労働省 次世代医療機器評価指標の公表について https://www.mhlw.go.jp/web/t_doc?dataId=00tc4315&dataType=1&pageNo=1 (2021年2月1日アクセス)

2.5.5 BMI・BCI

(1) 研究開発領域の定義

Brain Machine Interface (BMI、あるいはBrain-Computer Interface : BCIはほぼ同義で使用される) は、計算機科学やロボティクスなどの発展に伴って2000年前後から急成長した脳科学・神経科学の新しい研究分野である。脳の情報を実タイムに読み取って、伝達したり何らかの変換を加えることを基盤とした研究であり、心身機能の補綴や改善といった応用を志向したものが多い。理工学、医学、数理統計学、心理学などの多分野の知見と技術を結集する融合型の分野であり、今後、人工知能やICT技術と結びつくことで新しい展開が期待される。教育・医療・経済等への応用にむけ、国内でも産業界を巻き込んだ研究開発体制が求められる。

(2) キーワード

脳情報通信、脳機能制御、人間拡張、サイバネティクス、ニューロインフォマティクス、可塑性、学習、ニューロリハビリテーション、ニューロマーケティング、人間理解

(3) 研究開発領域の概要

[本領域の意義]

人間の脳には、五感を通じて絶えず外界から様々な入力を与えられる。脳はここから意味のある情報を取り出して、自身の行動規範に照合したり、過去の記憶と照合したりする。その結果を基に、最終的には自分自身や外界を認知したり、行動をとったりする。このようなinput-outputモデルと別に、脳自体が内因的に多様なダイナミクスを創発していて、これが意識や気分や性向を生み出している要素もある。いずれにせよ、脳は多次元、非線形、時変なダイナミカル・システムである。こうした一連の過程をモデル化して、その表現の一部を計算機に肩代わりさせる仕組みをBrain-Machine Interface (BMI、あるいはBrain-Computer Interface : BCIはほぼ同義で使用される) と呼ぶ。複雑な脳内情報処理過程をモデル化する部分においては、データサイエンス (人工知能分野) の活用が大きな成功を納めている。

脳の運動情報処理に媒介してロボットアームやロボットレッグを円滑に操作するサイボーグ技術、マイクロフォンやカメラなどの機械センサを脳の聴覚系や視覚系にインプットする感覚補綴、脳内の情報処理過程に仲介してその演算を効率化させるニューロモジュレーション技術 (の一部)、失われた神経ネットワークを再建する人工神経接続技術など、生物器官の機能不全や欠損に対する工学的なソリューションとして、一部は既に革新的な医療機器としての実用化が進んでいる。医療だけでなく、福祉、ヘルスケア、スポーツ領域への応用が期待されており、スタートアップ業界でBrainTechは大きな流行を見せている。

こうしたアプローチは一部で、生物が本来持っているスペック以上の能力を引き出すエンハンスメントに応用されたり、生物が本来備えていない器官の機能を機械的に付与する人間拡張技術として研究されたりしており、倫理的、法的、社会的な議論を呼んでいる。このような研究開発にともなって、人間の脳が持っている「適応能力」の高さが明らかになったり、その適応能力を操作する方法が明らかになりつつある。このようにBMI技術は、「脳とは何か」「人間とは何か」を知るための、新しい科学的方法としても注目を集めている。

[研究開発の動向]

BMIを構成する個々の要素技術の開発状況について概説する。

【脳活動のセンシング技術】

BMIで用いられているセンサ技術には、頭皮脳波 (Electroencephalogram : EEG)、硬膜電極 (Electrocorticogram : ECoG)、微小電極アレイ (Microelectrode Array : MEA)、近赤外分光法 (Near Infrared Spectroscopy : NIRS)、脳磁図 (Magnetoencephalogram : MEG)、機能的磁気共鳴画像法 (functional Magnetic Resonance Imaging : fMRI) がある。このほかに、光ポンピング磁力センサ (Optically Pumped Magnetometer : OPM) が近年、新しいコンセプトによる高感度センサ技術として注目を集めている。MEGとMRIはノイズシールドが施された特殊な室内閉鎖環境でのみ利用が可能だが、OPMは通常環境で利用でき、頭蓋骨による信号減衰を受けない磁場信号を利用できるため、その応用可能性は高いと目されているが、装置は依然大型で、信号特性や他のセンサ技術との排他的優位性に関する評価はこれからである。測定方法上の改良や新提案に関しては頭皮脳波とMRIで精力的に進められており、頭皮脳波に関しては、1024極にのぼる高密度化、fMRI (機能的磁気共鳴画像法) との同時計測、脳磁気刺激との併用、スポーツなどの粗大運動中での安定計測などが実現した。MRIについてもMRS (磁気共鳴スペクトロスコピー) を利用し、可塑性を制御する因子と考えられているE/Iバランスの測定や、DTI (拡散テンソル画像法) による構造ネットワーク解析をはじめとして、脳の機能や構造に関する様々な情報を読み出すことが可能になってきた。身体に電極を埋め込むタイプのセンサについては、無線給電とワイヤレス通信機能を搭載し、適正なエネルギー消費を実現させたデバイス (Neural Dust¹⁾)、超細密に多極の電極を集積させた電極 (Neuropixels²⁾)、ステント状の電極を開頭手術せずに脳血管内に留置して脳情報を読み出すもの³⁾、埋植術式の標準化とユーザビリティ開発を進めた電極など、新しいコンセプトが誕生している。

【デコーディング技術】

脳情報の読み出し方のアプローチには、幾つかの異なる方式がある。1つめは古典的な生理学研究の積み上げによって明らかにされてきた知識に基づく信号分析方法である。科学的な裏付けは強固だが、実験室という特殊環境、人工的な実験課題、実験後に丁寧な解析パイプラインを適用した後のオフライン解析結果、均質でしかも人数が限られた被験者集団の集合データという限定的な条件の下で見出されたモデルであるため、BMIが要求する「自由環境で、個々人に適応し、オンラインでただちに脳情報を読み出す」という条件でも成立するかどうかは不透明であり、オンラインノイズ除去、適応フィルタなどの技術開発が進められている。また、読み出した脳情報のメディカルグレードでの検証も進められており、fMRIや経頭蓋磁気刺激法そのほかの電気生理学的手法によってその正しさが証明され始めている⁴⁻⁷⁾。

二つ目の方法は、データ駆動的に脳情報を読み出す方法である。大量の脳データを収集してこれを訓練データとし、データから脳情報を読み出すための計算式を機械学習によって組み立てるものである。大量のデータを、施設、技術者、装置などの差異 (サンプリングバイアス) なく統合して分析する必要があり、データの調和に必要な技術開発が進められている。これまでの生理学研究の積み上げではなし得えなかった発見の可能性を秘めている⁸⁾。

三つ目の方法は、前2者の混合方式である。生理学研究によって明らかにされた脳内情報処理プロセスを前提に置きつつも、大量の脳情報を収集、適用して、モデルパラメータの調節を施すものである。生理学的なモデルの信頼性が高い場合には、非常に効率良いデコーダが構築できる^{9), 10)}。

いずれのケースにしても、BMIによって実現しようとしているアプリケーションが、実用上問題ない程度にリアルタイムに動作したときに初めて、BMI内部に構築した脳情報デコーダのモデルの正しさが証明される。少なくともそのアプリケーションの範囲において、脳の情報処理過程をコンピュータで置き換えられたという

ことになる。その意味において、BMIは実証型の脳科学研究ツールといえる。

BMI・BCIについては、様々な分類がなされているが、ユーザーの視点から、active / reactive / passive という分類についてここでは言及しておく。Activeは、BMIのユーザーが、意図的に、脳活動をコントロールして、つなげられたデバイスを操作しようとするものである。例えば、右手の動きをイメージする、計算をイメージするといったことにより、ロボットアームや車椅子が、予め各脳活動パターンに（機械学習などで）対応づけられた方向に動く。Reactiveは、注意を向けている文字がフラッシュしたら脳が反応する、といったように、外部の刺激と連動して意図を汲み取るものであり、P300やSSVEPといった比較的安定的に検出される脳波の特徴を使用したBCIスペラーなどがその例である。Passiveは、脳の自然な活動を読み出すものであり、ユーザーが意図せずとも、その意図を脳活動から直接汲み取ることを目指す。これが理想的なBMIであり、これが実現できることはすなわち、脳の情報処理過程を正しく理解できていることを示すことでもある。

【刺激技術】

脳情報を解読した結果について、フィードバックする手法としては、視覚や聴覚、触覚といった人間が本来持つ感覚を介する方法もあるが、脳や神経を直接刺激する方法が考えられている。脳につながったロボットハンドの感じた触覚情報を、我々は直接知ることができないが、ロボットハンドに取り付けたセンサー情報に基づいて、感覚神経や脳の体性感覚野を刺激することで、感覚入力を代替することができる。これにより、出力と入力を繋いだクローズドループのBMIを構築することが可能になる。また、脳の状態に応じて脳を刺激するBrain-State Dependent Stimulationも、刺激による効果を促進する方法として注目を集めつつある。これらに使用される刺激技術についてもここ数年で大きく開発が進んでいる。

- ・皮質への電気刺激：皮質に刺入した針電極や、硬膜下に留置した電極などで、皮質を電気刺激する手法である。それにより直下の神経細胞を興奮させ、例えば一次感覚野の手の領域を刺激すれば、手を触られた感覚を誘発することができる。ECoGデータに基づいて刺激するといったclosed loopのECoG-BCIsも考案されつつある¹¹⁾。
- ・DBS（脳深部刺激）：視床や基底核などの脳の深部に電極を入れて刺激するもので、パーキンソン病や振戦の改善に使われてきた。外部から人が刺激のオンオフをしてきたが、筋電図などの神経信号を検出して刺激がオンオフされるようなオンデマンド型の開発が進んでおり、BMI/BCIといってもよい。
- ・TMS・rTMS（経頭蓋磁気刺激）：頭皮上に置いたコイルで磁場を発生させ、脳内に電流を誘導させ脳内のニューロンを刺激する非侵襲刺激方法である。ニューロンを一過的に興奮させる単発刺激に加え、反復して刺激することでその周辺のニューロンの興奮性を数十分から数時間の間変化させることができ、また、それが可塑性を誘導することが知られている。これまでは、事前に決めたタイミングで刺激する手法が主であったが、最近では、脳波など、脳活動を計測しながら脳波のタイミングや振幅に合わせてクローズドループで刺激する技術が開発され、より効率的に可塑性や行動変容を誘導できることが示されつつある¹²⁾。
- ・tES（経頭蓋電気刺激）：頭皮上に電極パッドを配置し、微弱な電流を流すことで、その間にある脳部位にモジュレーションを加える手法である。経頭蓋直流電気刺激に始まり、ランダム刺激、交流刺激、交流刺激をAM変調させた刺激など、様々なバリエーションが試されている。電気刺激はEEGのアーチファクトとなるが、最近ではアーチファクトに対処することでEEG-tACSのクローズドループ刺激も試みられつつある。

【BMIのアプリケーション】

次に、BMIのアプリケーション開発について概説する。

- ・ BMIを用いたリハビリ研究が進んでおり、手指の運動をアシストするロボティクスをBMIによって駆動する研究については、10報前後のランダム化比較試験（RCT, 患者例を介入群と対照群に無作為に配置して治療効果を検証する臨床研究）が世界で実施され、3報のメタアナリシスで、麻痺上肢の機能改善に対する有効性が示された。
- ・ 脊髄損傷後の歩行再建として、脳からのシグナルを脊髄への電気刺激に変換して送達する研究も進展しており¹³⁻¹⁵⁾、薬剤や細胞移植による組織復元との併用が視野に入っている。
- ・ BMIによってロボットハンドを操作し、ロボットハンド側のタッチセンサ信号を皮膚や大脳皮質感覚野への刺激としてフィードバックすることで、脳による精密なハンドのクローズドループ制御が可能にする研究が進められている¹⁶⁾。
- ・ 精神疾患治療：精神疾患や発達障害の治療には、1960年ごろから脳波によるニューロフィードバックが試みられており米国ではADHDの治療として承認されているが、効果に個人差がある、導入に時間と手間がかかるといった理由から、日本では一般的な治療法とはなっていなかった。しかし、最近、より空間解像度の高いfMRIとデコーディング技術を応用したdecoded neurofeedback (DecNef) によって、ASDやPTSD、強迫神経症などの精神疾患に効果があることが示されている。原理としては、脳がたまたま望ましい状態になった時に報酬を与えることでその脳の状態を取るように仕向けるという脳の強化学習のメカニズムを活用したもので、脳の状態を判別する点、それをフィードバックする点でクローズドのBCI的な手法とよいためだ。この技術は日本発であり、現在AMEDのサポートなどを受け積極的に開発が進められている。これらは、非侵襲的な計測方法と脳の学習メカニズムを利用するものであるが、デコーディングと脳深部刺激を利用する方法も検討されている。具体的には、前頭前野から感情状態 (affective state) を読み取って、辺縁系に埋め込んだ深部電極の刺激を制御することで、精神疾患でうまくいかなかった前頭前野の感情制御を補助しようという試みである (affective BCI / emotional prosthesis)¹⁷⁾。心の状態を正確に読み出し、それを様々な手段と組み合わせてクローズドループを形成することで、精神疾患の治療に新しい流れが産み出されるのは確実であろう。一方で、我が国では1975年に日本精神神経学会が「精神外科を否定する決議」を可決しており、約半世紀の時を経た現在の社会がこの研究潮流をどのように受容するか、慎重な倫理的検討が必要である。

これらの高度な技術や装置と並行して、簡便で低価格な脳波計やそれによるニューロフィードバックアプリが、マインドフルネス瞑想のブームにも影響され、市場に出回りつつある。しかし、プラセボ効果でないことが厳密に検証されているとは言い難いものが多い。

- ・ 疼痛治療：幻肢痛や慢性疼痛などの、脳に起因する痛みに対する治療への応用が試みられている。柳澤らは、MEGを使ったBCIによって、運動野の活動から幻肢をコントロールすることで幻肢痛が軽減されることを示した¹⁸⁾。また、慢性疼痛については、DecNefを用いた治療に向けての研究が進められている。
- ・ マーケティング：人が商品を選ぶ時、言葉で説明できるような気持ちより無意識な印象で決めていることが多い。このような無意識な過程を知るには脳から直接情報を取り出すしか方法がないため、BMI/BCIの技術が盛んに用いられるようになってきている。ニューロマーケティングには、コストの面から脳波を利用するケースが多いが、脳情報通信融合研究センター (CiNet) とNTTは共同でfMRIとデコーディング技術を利用しTVコマーシャル視聴時に感じている印象を読み取ることに成功している。
- ・ 意識状態の確認：運動出力ができない状態になってしまった意識障害者の意識状態について、植物状態

なのか、最小意識状態（部分的に自己または周囲を認識していると考えられる状態であり、そうでない植物状態より改善の可能性が高い）なのかを判別することは、その後の医療の方針を決めるのに重要である。しかし、その判断は難しく、間違ふことも多いと言われており、その一つの手段として、外部入力（音声入力など）に対する脳活動の変化の有無を検出する試みが始まっている。fMRIや脳波のBCIを利用することで、植物状態であると思われていた人が最小意識状態であることが確認され、yes-noの意思が伝達できたといった結果も報告されている。

- ・ BCIスペラー、スピーチ生成：ALSや筋ジストロフィーなどの疾患により運動出力が全くできなくなってしまった状態をLocked in（閉じ込め症候群）というが、BCIスペラーは、このような人々のコミュニケーションツールとしてBCI研究の当初から研究テーマの中心的存在であった。その精度とスピードを向上させるために、世界の研究者たちがしのぎを削ってきた。現在、BCIはスペラー以外にも様々な応用が進んでいるが、スペラーの臨床応用についても、継続的に進められている。BCIの当初からスペラーに関わってきたWolpawらは、Wadsworth BCIというシステムを構築し、ALS患者に18ヶ月、脳波のP300を利用したスペラーを自宅で使ってもらいその有効性を検証している¹⁹⁾。また、日本では理研のRutkowskiのグループが、様々な手法でスペラーの精度とスピードアップを試みている。BCIスペラーは、実用性から脳波を、また精度の良さからP300やSSVEPを使用するものが多い²⁰⁾。一方で、Changらのグループは、ニューラルネット（LSTM）を利用して運動性言語野のECoG記録からスピーチを再構成し、注目を集め²¹⁾、またFacebookはこのグループと共同で、高速スペラーの開発プロジェクトを発表している²¹⁾。インプラントでの臨床研究も、欧州（オランダ²²⁾）や米国（ピッツバーグ²³⁾）で進んでいる。とくにピッツバーグでは、埋め込み型の電極でロボットを操作したり、ロボットの触覚を電気刺激でフィードバックするなどの試みがLocked in患者を対象に試験的に実施されている。
- ・ BMIは欧州でBNCI（brain/neuronal computer interaction）と概念を若干拡張させて考えられている。すなわち、脳から発出されたシグナルを筋電図などで下流で検波したのも脳情報をふんだんに含んだものである（だから筋電制御タイプのデバイスも広義の意味でBMIである）、という捉え方である²⁴⁾。生体電気信号に応答して動作するロボティクスであるサイバーダイン社HALやメルティンの研究開発プロジェクトはその範疇であり、成長性や市場性が期待されている。海外では依然としてg.tec（オーストリア）とBrain Products（ドイツ）がアカデミア市場で一定のBMIマーケットを確保している。

(4) 注目動向

[新展開・技術トピックス]

- ・ BMIは、生物器官の機能不全や欠損に対する工学的なソリューションとして医療展開が進められているが、福祉（補装具）、ヘルスケア（脳状態のコンディショニング、トリートメント）、スポーツ領域（パフォーマンスが最大化される「ゾーン」状態への誘導や、状態を好調期に誘導する「ピーキング」）への応用が期待されている。これらのアプローチの一部では、生物が本来持っているスペック以上の能力を引き出すエンハンスメントに応用されたり、生物が本来備えていない器官の機能を機械的に付与する人間拡張技術としての展開が始まっている。このような研究開発にともなって、人間の脳が持っている「適応能力」の高さが明らかになったり、その適応能力を操作する方法が明らかになったりしつつある。脳は、容れ物である身体構造に拘束されて、本来持っている能力に制限がかかっている可能性がある。たとえば先天性奇形である6本指（多指症）を脳は滑らかに制御する例²⁵⁾、腕神経叢損傷に対する副神経や肋間神経移植（すなわち生物学的には不自然な神経再配線）では劇的な運動機能回復がもたらされる例²⁶⁾、

若年期にてんかん発作で脳を半分切除しても遜色ない脳機能を回復する例²⁷⁾ など、驚異的な脳の可塑性を示した事例は豊富に存在する。身体制約のみならず、脳そのものの配線特性も脳機能の特徴づけていることが知られており²⁸⁾、頭部外傷後に脳内の機能結合が変化して後天性のサヴァン症が発症する可能性があることを考えると、このような非定型機能結合が高い創造性を生んでいる可能性がある。このような視点から、BMIによる脳機能配線の改変と人間拡張は情報系 (human-computer interaction, HCI) を中心に関心が高まっている。HCIは、これまでは人と機械が接触する境界を対象とし、心理学や認知科学の応用という側面があり、分野を横断しながら相互発展してきた歴史がある。今後は、BMIも含めたHCI技術が脳にどのような作用をもたらすかに焦点があたるようになり、脳科学との相互発展という側面が期待される。

- ・最近では情報数理や情報幾何を取り入れ、脳の特徴である「多次元、非線形、時変」な性質を捉え、視覚化し、制御することができるようになってきた (Neural Manifold)。BMIの中の脳情報解読器 (デコーダ) の構成によって脳への影響が変わることが分かってきたため、その基本的な性質を理解しようという動きがある。こうした基盤研究は、脳の特性理解やBMIアプリケーションの設計原理の確立に貢献する。
- ・埋込み型電極を利用したBMIのヒトへの応用は、2006年に米国ブラウン大学のグループにより実現した²⁹⁾。その後も、感覚信号のフィードバックや発声内容の再構成など進展はあった。こうした潮流を受けて2019年、米国の起業家イーロン・マスクが率いるベンチャー企業、Neuralink社が、手術ロボットを用いて細い糸のような柔らかい電極を脳に埋め込み、外部のコンピュータとワイヤレスに接続する統合BMIシステムを公表し、注目を浴びた³⁰⁾。ウェアラブル型BMIの研究開発型ベンチャーとしては前述OPMやNIRSの事業化を目指す米国Kernel社や、EEGやECoGを使ったBMI研究機器の開発や世界展開を進めているオーストリアg.tec社などが目覚ましい成長を見せている。こうした民間企業の参入が相次ぎ、BMIの研究開発は近年新しいフェーズに入ったといえよう。

[注目すべき国内外のプロジェクト]

- ・「人工知能 (AI) 研究との連携によるニューロフィードバック等の技術開発とその応用等」 AMED戦略的国際脳科学研究推進プログラムは、AIとBMI技術による精神・神経疾患の治療を目指している。
- ・2019年にアナウンスされ、2020年に事業が開始したムーンショット型研究開発事業の目標1 (身体、脳、空間、時間の制約からの解放) は、BMI技術も視野にいれた技術開発プロジェクトである。
- ・Neural Engineering System Design (NESD) プログラム 米国DARPA³¹⁾
- ・イーロン・マスクが率いるNeuralinkが、多電極埋め込み技術を含む統合BMIシステムを公表し、ヒトでのテストを計画している³²⁾。
- ・The Next-Generation Nonsurgical Neurotechnology (N3) program これまで侵襲的な技術の開発を進めていたDARPAが、非侵襲脳技術の開発として6つの組織を認定し、支援している。

(5) 科学技術的課題

- ・EEGやNIRSを使った非侵襲的な脳活動計測は、その空間分解能を飛躍的に高めることができていない。EEGでは多チャンネル計測や電流源推定の研究が続けられているが、脳機能の小区画 (機能地図) が読み分けられるほどの空間分解能は実現できていない。また、脳深部にある領域の活動は読み出せない。
- ・加速度センサ、心拍センサなどを搭載したウェアラブルデバイスがヘルスケア市場を創生、牽引している

流れから考えると、非侵襲的な脳活動計測を使った一般向けヘルスケアサービスは今後、積極的な検討が進められるものと思われる。これら先行民生デバイスはこれまでに、装着容易性、計測安定性、被験者間一般性、生活動作由来のノイズ対策など、様々な工夫と開発によって一般市場を開拓し、浸透してきた。一方で現時点のウェアラブル型BMIは、これらの課題を解決できておらず、今後は本格的な民生化技術開発が必要である。

- ・埋め込み型デバイスの真の技術的課題は電池と通信である。電極素材自体は医療現場で数年オーダーの長期安定的な生体親和性電極が既に存在している（脳ペースメーカー、てんかんや疼痛治療電極）。その一方で、感染症リスクを低減するために装置全部の体内埋植が求められるものの、バッテリーの持続時間や安全性、通信帯域の確保などが課題になっている。効率よく脳情報を縮約して体外へ送信するための工学的な工夫としては、電極配置とスパースネスを考慮した情報復元を可能にする圧縮センシングなどのアプローチが有効かもしれない。
- ・適切な脳機能部位を同定する方法と、そこへ電極を正確にガイドする術式の確立も、BMIの応用には欠かせない。
- ・BMIによる脳機能の再構築は、再生医療との親和性が高い。細胞移植や薬剤介入によって復元された脳組織に対して、BMIが作用して機能成熟化を誘導する治療戦略は、「診断できても治療はできず」の各種神経疾患に対する集学的な根本治療の誕生を可能にするだろう。

(6) その他の課題

BMIは、これまでの他の技術ではアクセスが困難だった脳機能に対して直接介入する技術であり、新しい社会変革技術になりうる可能性を秘めている。またBMIの科学的な側面として、人間（脳）の理解の変革を促す性質を有しており、したがって市民一般に動揺をもたらす可能性がある。ELSIの着実な実施が必要である。

(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	△	→	<ul style="list-style-type: none"> ・ 文化的な特性から、非侵襲的なBMI技術の研究開発が主流である。BMIそのものというよりも、ニューロフィードバック、AIとの連携といった周辺技術との連携に重点がある。 ・ 脳機能を解明するツールとして活用されている。 ・ 理工系においては、AIブームに押されがちであり、若手の参画が望まれる。
	応用研究・開発	○	↗	<ul style="list-style-type: none"> ・ DecNefをはじめとした非侵襲デコーディング技術の医療応用（精神・神経疾患）が進展している。 ・ ウェアラブルロボット、神経筋電気刺激、脳刺激、VR/AR等と組み合わせ、神経原性運動障害に対するリハビリテーション応用が進められている。 ・ VRやAR、身体拡張などのIT技術と連携した応用が進められている。

2.5

俯瞰区分と研究開発領域
 基礎・計測技術
 基礎・計測技術

米国	基礎研究	○	↗	<ul style="list-style-type: none"> DARPAが、侵襲BMIの研究開発に多額の投資を行ってきたが、2019年より、非侵襲BMIに力点をうつし、6つの研究機関を認定している。これらの組織が今後の米国における非侵襲BMI研究開発の中心になると考えられる。 侵襲BMIについては、Neuralink、Facebookなどの企業が積極的に投資し、電極開発をはじめとした基礎研究も実施している。
	応用研究・開発	○	→	<ul style="list-style-type: none"> Locked in 患者を対象とした侵襲型BMIの臨床研究は、ピッツバーグ大学やブラウン大学で進められており、世界をリードしている。ただし、ブラウン大学発で事業化を目指していたBrainGate社はFDA承認取得を断念し、知財を大学へ譲渡するなど、数年前までの実用化トレンド通りには応用が進んでいない。 Neuralink、Kernel、IpsiHand、Iota Biosciencesなど、多くのベンチャー企業がコンピューターインターフェイスへの応用を目指して研究開発を進めている。
欧州	基礎研究	○	→	<ul style="list-style-type: none"> g.tecなどの企業が中心となって脳波を利用したBCI技術をリードしている。 Human Brain Projectをベースに、BNCI Horizon 2020として、筋電図などの末梢神経信号を利用したインターフェースも含んだプロジェクトを展開している。
	応用研究・開発	○	→	<ul style="list-style-type: none"> オランダでは、locked in を対象とした侵襲型BMIの臨床研究が進められている。また高精細な視覚再建BMIもオランダを中心に応用が進められている。 スイスEPFLを中心に、ロボットとの組み合わせも含めたりハビリや機能補綴を目指した応用研究が精力的に進められている。 フランスClinelecでは、硬膜電極型BMI (WIMAGINE) とウェアラブルロボットを使って脳卒中後の運動障害を治療する研究が精力的に勧められている。
中国	基礎研究	△	↗	<ul style="list-style-type: none"> 中国人民代表大会で承認されたChina Brain Projectが2016年から15年の予定で実施されており、BMIもその一環として研究が推進されている。 BCIスペアラーで世界一になるなど、精力的に研究を進めている。
	応用研究・開発	△	↗	<ul style="list-style-type: none"> Locked in を対象とした侵襲BMIにも積極的に取り組んでいる。
韓国	基礎研究	△	→	<ul style="list-style-type: none"> 2016年にKorea Brain Initiativeをアナウンスし、韓国脳科学研究所(KBRI)を中心に、脳研究に力を入れている。ただし、BMI・BCIについてはまだそれほどウェイトが置かれていないと思われる。
	応用研究・開発	△	↗	<ul style="list-style-type: none"> 応用研究は医療面、インターフェース面いずれについても現時点ではそれほど進んでいるわけではないが、サムスンが脳波でテレビをコントロールする技術を開発しているといった民間企業の参画が進んでいる。

(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

- ・ 計算脳科学 (システム・情報分野 2.1.7)
- ・ インタラクション (システム・情報分野 2.2.3)

参考・引用文献

- 1) R. M. Neely et al., "Recent advances in neural dust : towards a neural interface platform", *Curr. Opin. Neurobiol.* 50 (2018) : 64-71. doi : 10.1016/j.conb.2017.12.010
- 2) J. Putzeys et al., "Neuropixels Data-Acquisition System : A Scalable Platform for Parallel Recording of 10 000+ Electrophysiological Signals", *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.* 13, no. 6 (2019) : 1635-1644. doi : 10.1109/tbcas.2019.2943077
- 3) T. J. Oxley et al., "Motor neuroprosthesis implanted with neurointerventional surgery improves capacity for activities of daily living tasks in severe paralysis : first in-human experience", *J. Neurointerv. Surg.* 13, no. 2 (2020) : 102-108. doi : 10.1136/neurintsurg-2020-016862
- 4) R. Guggenberger, M. Heringhaus and A. Gharabaghi, "Brain-Machine Neurofeedback : Robotics or Electrical Stimulation?", *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8 (2020) : 639. doi : 10.3389/fbioe.2020.00639
- 5) D. Kraus et al., "Brain State-Dependent Transcranial Magnetic Closed-Loop Stimulation Controlled by Sensorimotor Desynchronization Induces Robust Increase of Corticospinal Excitability", *Brain Stimul.* 9, no. 3 (2016) : 415-424. doi : 10.1016/j.brs.2016.02.007
- 6) S. R. Soekadar et al., "Enhancing Hebbian Learning to Control Brain Oscillatory Activity", *Cereb. Cortex* 25, no. 9 (2015) : 2409-2415. doi : 10.1093/cercor/bhu043
- 7) M. Takemi et al., "Muscle-selective disinhibition of corticomotor representations using a motor imagery-based brain-computer interface", *Neuroimage* 183 (2018) : 597-605. doi : 10.1016/j.neuroimage.2018.08.070
- 8) K. Shibata et al., "Toward a comprehensive understanding of the neural mechanisms of decoded neurofeedback", *Neuroimage* 188 (2019) : 539-556. doi : 10.1016/j.neuroimage.2018.12.022
- 9) G. Shen et al., "Deep image reconstruction from human brain activity", *PLoS Comput. Biol.* 15 (2019) : e1006633. doi : 10.1371/journal.pcbi.1006633
- 10) S. Nishimoto and S. Nishida, "Lining Up Brains via a Common Representational Space", *Trends Cogn. Sci.* 20 (2016) : 565-567. doi : 10.1016/j.tics.2016.06.001
- 11) D. J. Caldwell, J. G. Ojemann and R. P. N. Rao, "Direct Electrical Stimulation in Electrocorticographic Brain-Computer Interfaces : Enabling Technologies for Input to Cortex", *Front. Neurosci.* 13 (2019) : 804. doi : 10.3389/fnins.2019.00804
- 12) T. O. Bergmann, "Brain State-Dependent Brain Stimulation", *Front. Psychol.* 9 (2018) : 2108. doi : 10.3389/fpsyg.2018.02108
- 13) A. P. Yadav, D. Li and M. A. L. Nicolelis, "A Brain to Spine Interface for Transferring Artificial

2.5

俯瞰区分と研究開発領域
 基礎・計測技術
 基礎・計測技術

- Sensory Information”, *Sci. Rep.* 10, no. 1 (2020) : 900. doi : 10.1038/s41598-020-57617-3
- 14) M. Bonizzato et al., “Brain-controlled modulation of spinal circuits improves recovery from spinal cord injury”, *Nat Communi* 9, no. 1 (2018) : 3015. doi : 10.1038/s41467-018-05282-6
- 15) K. Kato, M. Sawada and Y. Nishimura, “Bypassing stroke-damaged neural pathways via a neural interface induces targeted cortical adaptation”, *Nat Communi* 10, no. 1 (2019) : 4699. doi : 10.1038/s41467-019-12647-y
- 16) S. J. Bensmaia, D. J. Tyler and S. Micera, “Restoration of sensory information via bionic hands”, *Nat. Biomed. Eng.* (2020) : in print. doi : 10.1038/s41551-020-00630-8
- 17) A. S. Widge, D. D. Dougherty and C. T. Moritz, “Affective Brain-Computer Interfaces As Enabling Technology for Responsive Psychiatric Stimulation”, *Brain Comput. Interfaces (Abingdon)* 1, no. 2 (2014) : 126-136. doi : 10.1080/2326263x.2014.912885
- 18) T. Yanagisawa et al., “BCI training to move a virtual hand reduces phantom limb pain : A randomized crossover trial”, *Neurology* 95, no. 4 (2020) : e417-e426. doi : 10.1212/wnl.00000000000009858
- 19) J. R. Wolpaw et al., “Independent home use of a brain-computer interface by people with amyotrophic lateral sclerosis”, *Neurology* 91, no. 3 (2018) : e258-e267. doi : 10.1212/wnl.00000000000005812
- 20) <https://about.bci-lab.info/demos> (VISUAL MOTION ONSET BCIS (PROJECTS BY JAIR PEREIRA JUNIOR & CAIO TEIXEIRA)) (2021年2月1日アクセス)
- 21) C. K. Anumanchipalli, J. Chartier and E. F. Chang, “Speech synthesis from neural decoding of spoken sentences”, *Nature* 568, no. 7753 (2019) : 493-498. doi : 10.1038/s41586-019-1119-1
- 22) M. J. Vansteensel et al., “Fully Implanted Brain-Computer Interface in a Locked-In Patient with ALS”, *New Eng. J. Med.* 375, no. 21 (2016) : 2060-2066. doi : 10.1056/nejmoa1608085
- 23) <https://www.upmc.com/media/media-kit/bci> (Brain Computer Interface Media Kit) (2021年2月1日アクセス)
- 24) http://bnci-horizon-2020.eu/images/bncih2020/Roadmap_BNCI_Horizon_2020.pdf (Roadmap THE FUTURE IN BRAIN/NEURAL-COMPUTER INTERACTION : HORIZON 2020) (2021年2月1日アクセス)
- 25) C. Mehring et al., “Augmented manipulation ability in humans with six-fingered hands”, *Nat Communi* 10, no. 1 (2019) : 2401. doi : 10.1038/s41467-019-10306-w
- 26) M. Socolovsky et al., “Current concepts in plasticity and nerve transfers : relationship between surgical techniques and outcomes”, *Neurosurgical Focus* 42, no. 3 (2017) : E13. doi : 10.3171/2016.12.focus16431
- 27) D. Kliemann et al., “Intrinsic Functional Connectivity of the Brain in Adults with a Single Cerebral Hemisphere”, *Cell Rep.* 29, no. 8 (2019) : 2398-2407.e4. doi : 10.1016/j.celrep.2019.10.067
- 28) A. Riedel et al., “A case of co-occurring synesthesia, autism, prodigious talent and strong structural brain connectivity”, *BMC Psychiatry* 20 (2020) : 342. doi : 10.1186/s12888-020-

02722-w

- 29) L. R. Hochberg et al., “Neuronal ensemble control of prosthetic devices by a human with tetraplegia”, *Nature* 442, no. 7099 (2006) : 164-171. doi : 10.1038/nature04970
- 30) E. Musk and Neuralink, “An integrated brain-machine interface platform with thousands of channels”, *bioRxiv*, August 02, 2019, doi : 10.1101/703801.
- 31) <https://jp.techcrunch.com/2017/07/11/20170710darpa-nesd-grants-paradromics/> (DARPA が小型で並列性の高い双方向脳コンピューターインターフェイスの開発に6500万ドルの研究資金を提供) (2021年2月1日アクセス)
- 32) E. Musk and Neuralink, “An Integrated Brain-Machine Interface Platform With Thousands of Channels”, *J. Med. Internet Res.* 21, no. 10 (2019) : e16194. doi : 10.2196/16194

2.5

俯瞰区分と研究開発領域
 基礎基盤科学技術
 分析・計測技術