

ERATO 「宮脇生命時空間情報」プロジェクト 追跡評価報告書

総合所見

生命科学の大きなチャレンジのひとつは生命現象をメカニズムとして説明するために、いままで観察できなかったもの（分子）を見えるように（可視化）することである。

そのチャレンジの一つとして、本研究プロジェクトは、(1) 生体分子シグナル（生命情報）を可視化し、時空間情報を明らかにするための蛍光プローブ開発および(2) 顕微鏡開発・観察標本の透明化による画像取得の改善という 2 つの面からバイオイメーjingの技術的革新を目指した。

今回の追跡評価では、事後評価時に想定された研究成果をはるかに超える画期的な研究展開がなされ、分子および分子間相互作用の可視化技術を駆使して、3次元バイオイメーjingの起点となるなど生命科学の一層の推進に貢献したと評価できる。特に、細胞周期、タンパク質分解、オートファジーなどの可視化プローブの開発、多光子励起によるマルチイメーjing、生体組織の透明化技術の開発、などで大きな研究成果をあげた。

本研究プロジェクトは、多くの試行を経てライブイメーjingにおいて高感度で分子を可視化できるプローブおよび透明化技術の開発に成功し、本研究プロジェクト終了後も継続的に改良を重ね、国内外の研究において幅広く展開されており、より多くの研究者が使いやすいプローブおよび技術へと進化させ続けた。また、それらの開発プローブや技術によって得られた発見は、その学術的価値が高いものが多く、国際的に見ても卓越した研究成果となっている。

一方、顕微鏡開発におけるハードウェアについてはいまだ普及するには至っていないが、生命情報の可視化技術という点では先駆的な研究成果を示している。

また、本研究プロジェクトの研究成果は、外部からも高く評価されており、研究総括は、藤原賞、島津賞、紫綬褒章などの賞を受賞している。共同研究者の若手人材のキャリアパスにも配慮しつつ研究が遂行されており、本研究プロジェクトの環境下で研究を行った若手研究者の多くは、教員ポストと同時に新たな研究費も獲得するなど、次のステージへと成長しており、同分野を一層活性化するものと期待される。小中学生および一般人に本イメーjing技術を平易に説明するようなアウトリーチ活動も重要な成果として評価したい。本研究プロジェクトが果たした一般社会や経済への波及効果も、創薬・医療研究などを通じてかなり期待することができる。

また、研究総括は、2015年より、領域代表者として文部科学省の研究プロジェクトである「Resonance Bio 共鳴誘導で革新するバイオイメーjing」の研究班を率いるなど、近年においてもなおバイオイメーjing分野の発展を強く牽引している。

以上の観点から、研究総括を始め、本研究プロジェクト参画研究者が生命情報の可視化技術を発展普及させることにより、より一層の科学技術の進歩において果たした貢献度（成

果の発展状況および活用状況)には特段の高評価を与えることができる。

1. 研究成果の発展状況や活用状況

本研究プロジェクトにおける重要な研究成果として、細胞周期可視化プローブ、オートファジー可視化プローブ、生体組織透明化技術、多光子励起によるマルチカラーイメージング、赤外光深部組織イメージングなどの開発などが挙げられるが、その後の継続研究においても、着実な進展がみられる。

細胞周期可視化プローブの応用展開として、G1期とG0期のマーカーとなる p27K-mVenus を作製し、また、G1・S・G2期を3色で識別できる Fucci (CA)を開発した。この結果、全細胞周期 (G1・S・G2・M期)を識別することが可能となり、哺乳動物の細胞周期を完全追跡できるようになったことは意義が大きい。

また、国内外の研究室と共同研究を行い、導入遺伝子の不活性化の克服、細胞分化や細胞骨格の制御との関連、記憶T細胞や骨芽細胞・破骨細胞の分化や増殖、心筋細胞や血管の発生、骨髄性白血病前駆細胞の特性など、生物学的に重要な課題について、次々と新たな知見を報告していることは、特筆すべき点である。

特に、レチノイン酸可視化プローブ GEPRA を新たに開発し、ゼブラフィッシュの胚において、レチノイン酸の濃度勾配が存在することを明確に示した。また、タンパク質間相互作用可視化プローブ Fluoppi、細胞内 cAMP を検出する Flamindo なども開発しており、これらは今後、様々な研究への応用が期待される。

研究総括らは、上記のように、研究期間中に得た研究成果をさらに発展させたことから、蛍光タンパク質それぞれが持つ特徴を応用したさまざまな検出・定量測定ツール開発に尽力する研究姿勢をうかがい知ることができる。

組織透明化を中心とする光学システム開発においては、生物試料を透明にする水溶性試薬 Scale を改良して、さらなる組織透明化技術を向上させ、マウス全脳の3次元イメージングを達成した。また、蛍光シグナルを高めるために ScaleS 試薬を開発し、さらに新たに作製した3次元組織染色技術である AbScale あるいは ChemScale と組み合わせることで、アルツハイマー病の組織病変を様々な空間解像度で定量的に解析し、アミロイド斑の炎症性の特徴を明らかにした。

これら組織透明化試薬の改良によりさらに深部の観察が可能になり、厚みのある脳組織、病理標本など、研究者が微細構造観察のために頼っていた従来の薄切試料の観察から解放され、膨大な画像情報を短時間で取得できるようになった。同試薬は、その効果が広く認識され、市販化されたばかりでなく、他研究者による同様な透明化試薬開発の引き金となり、現在では複数の透明化試薬が普及しつつある。光学系の工夫による顕微鏡開発と対極にある観察試料の前処理に着目し、画像取得効率を大幅に改善した貢献は特筆に値する。

その他として、本研究プロジェクトではプロジェクト期間中にニホンウナギの蛍光タンパク質 UnaG の発色リガンドがビリルビンであることを発見しているが、神戸大学と共同で、

UnaG によるビリルビン測定が新生児黄疸の診断に応用できることを示した。

赤外顕微鏡の開発については、現時点から見ると個々の要素技術が発展途上の段階において開発された技術である。革新的ではないが、バイオイメージングの中で必要不可欠の観点から進められた研究開発と考えられる。分子レベルから組織までを総合的に理解する研究に適用でき、本来は透明化技術と合わせる等、測定部位を明確化するための技術と推察され、未だ普及する状況には至っていないのは残念である。

以上の研究成果は、本研究プロジェクト終了後の 2013 年から 2017 年の約 5 年間で 30 報の論文発表数に及ぶ。それらのうち半数近くが、著名なジャーナルに掲載され、被引用回数も多く、生体イメージングの発展を支えたとともに、国際的に高い水準にあることは明らかである。

以上より、本研究プロジェクト終了後も研究は発展的に継続され、新たな画期的成果を生み出しており、研究成果の発展状況や活用状況は極めて高く評価できる。

2. 研究成果から生み出された科学技術や社会・経済への波及効果

(1) 研究成果の科学技術の進歩への貢献

本研究プロジェクトは、生物個体ライブイメージングのためのプローブ開発と光学システムの開発を目指したものであるが、「1. 研究成果の発展状況や活用状況」に示したように、当初の目的に合致した数々の画期的な成果を上げており、本研究プロジェクトにより新たな研究分野が切り開かれ、その結果、新たな潮流を創出したと言える。研究成果は国際的に極めて高い水準にあり、研究総括を中心とする本研究プロジェクトグループはこの分野の先駆者である。

本研究プロジェクト期間中に、細胞周期を可視化するプローブとして Fucci が作製され、本研究プロジェクト終了後には S 期と G2 期を区別する Fucci (CA) が開発された。これらのタンパク質プローブは、導入された細胞や個体の生理機能に影響を与えないこと、トランスジェニックマウスの寿命や生殖能力に影響を与えないことが確認されており、そのためバイオイメージングのプローブとしての汎用性が非常に高い。それ故に、細胞周期と種々の生命現象との関連を解明するために Fucci が用いられ、国内外の研究者により多くの成果が報告されている。がん細胞の細胞周期と薬剤感受性の関係、細胞の増殖や分化に関わる Extracellular Signal-regulated Kinase (ERK) の活性と細胞周期の関係、などのほか、がん化、DNA 損傷応答、幹細胞分化、増殖、概日時計、免疫に関する研究にも Fucci が活用されている。このように Fucci の開発により、様々な生命現象の研究に強力な手段が提供され、生命科学の発展に大きく貢献しており、学術的な波及効果は高い。

マイトファジー可視化プローブの mt-mKeima はパーキンソン病の研究に、レチノイン酸可視化プローブの GEPRA は神経シナプスの可塑性や再生医療分野の研究に、透明化技術の Scale および ScaleS はアルツハイマー病などの脳疾患のほかにもがん細胞の転移や浸潤、再生医学における細胞分化の追跡などに用いられており、医学研究にも大きく貢献してい

る。

これらの技術の汎用性とその応用展開を礎として、2015 年には研究総括を代表とする文部科学省・科研費・新学術領域研究「Resonance Bio 共鳴誘導で革新するバイオイメーキング」が開始され、より適用範囲の広い革新的なバイオイメーキング技術の実用化を目指している。また、脳科学研究を加速させるために 2014 年度に国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) が立ち上げた「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト (Brain/minds)」において、研究総括はプロジェクトリーダーとしてマーモセット脳の興奮現象を計測する技術開発を担当しており、脳科学研究におけるイメーキング技術の開発と研究成果が期待されている。

本研究プロジェクト期間中の論文数は 43 報であり、その累積被引用数は 3,000 件を超えているが、本研究プロジェクト終了後の約 5 年間でも 30 報発表しており、被引用数も 500 件を超えている。また、研究プロジェクト終了後の招待講演数は、国外 31 件、国内 77 件であり、国内外で大きく注目され、日本 DDS 学会 (The Japan Society of Drug Delivery System) などの創薬研究を含む多くの分野で本研究成果に関心が集まっていることから、国際的に高い水準にあることは明白である。

本研究プロジェクト全体としての研究成果は、3 次元ライブイメーキングの起点となっていることが特筆できる。また、応用展開では、様々な生命現象の解明を進展させることが急務となっていることを明確に示しており、それを前提とした継続的な研究が進められている。国際的に高い水準を維持しながら、バイオイメーキング技術の向上と顕微鏡観察技術の向上が相乗効果を発揮していると考えられるが、今後は、国内の科学技術の底上げのためにも、ハードウェアの高度化と、その普及を同時に進めていくことも大切である。

(2) 研究成果の応用に向けての発展状況

「観察に用いる各種蛍光プローブ開発」と「観察のための技術開発」は、いずれもバイオイメーキングにおいて研究者が抱える諸問題を改善する、あるいは克服することを目的とした研究であり、その研究成果は、いずれも研究者コミュニティの財産として共有され、生命科学全般に還元されている。それによって学術的価値が高い知見が得られたことに加え、細胞周期の可視化プローブ Fucci は、遺伝子導入動物を作出することで生きた生物個体における細胞周期のライブイメーキングを可能にした画期的成果であり、世界的に普及している。

本研究プロジェクトの研究成果である蛍光プローブの開発や、SCALEVIEW®として製品化され、社会実装されつつある透明化技術の進展と並行して、ハードウェアの進展が見込まれることによって、新奇なバイオイメーキングが創出されていくことが予想される。

現時点で経済的な波及効果を量ることはできないが、器官構築の全容を解明するアトラスの作成など、これらの技術、手法を用いて将来得られる研究成果が社会に及ぼす影響は大きいものと考えられる。また、こうした基盤的研究、リソース構築を推進することで、医学

応用・国民医療への貢献など社会に還元する応用研究へと発展することも大いに期待される。

また、本研究プロジェクトの研究成果は新薬開発など創薬研究に応用されることも期待でき、この点から一般社会への波及効果はかなり大きく、本研究が国民医療へ展開された暁には、必然的に極めて大きな経済的波及効果が生み出される事になるであろう。

なお、小中学生および一般人に本イメージング技術を平易に説明するアウトリーチ活動も積極的に行っており、これも社会への貢献の一環と言える。

本研究プロジェクト終了後の継続研究で開発した可視化プローブや透明化技術については、5件の特許申請を行っている。ニホンウナギ由来の緑色蛍光タンパク質 UnaG によるビリルビン計測が新生児黄疸の診断に簡便で有用であることを示し、医学健康分野での活用が期待される。また、開発された多くの蛍光プローブは、国内の試薬会社より販売されており、多くの研究者が利用できる状況にあり社会的・経済的に貢献している。

蛍光プローブの多くは、創薬への応用の点で製薬会社との共同研究が進行中であり、今後、さらなる科学技術イノベーションが期待される。

このように、本研究プロジェクト終了後に、本研究プロジェクト中に開発された技術や研究成果の実証や応用に向けた積極的な取り組みは、社会的・経済的にも波及効果を挙げていると評価できる。

(3) その他の特記すべき波及効果

本研究プロジェクトで得られた研究成果は、いずれも独創的であり、想定をはるかに超えている。当初から想定されているような研究成果ではなく、新たな展開が見られ、科学技術のイノベーションを生み出している。

本研究プロジェクト終了後も研究総括は我が国のバイオイメージング分野において先導的な役割を果たしており、文部科学省・科学研究費助成事業・新学術領域研究「Resonance Bio 共鳴誘導で革新するバイオイメージング」の領域代表者として2015年から5年間の研究プロジェクトを率いている。同領域には国内のバイオイメージングにおける主要な研究者が計画班員として参画しており、継続して我が国のバイオイメージング研究の発展に貢献している。

また、Resonance Bio 領域の公募班員の中には、情報科学者、物理学者が含まれており、領域内での学際的な共同研究を可能にしている。他方、同 Resonance Bio 領域は、我が国におけるバイオイメージングのネットワーク型支援事業「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」と密接な連携を保ち、シンポジウム、若手中心のミーティングを共催するなど他の領域との積極的な交流も進めている。

本研究プロジェクトの顕微鏡技術の進展については、例えば、波面制御デバイスである空間光変調器のような装置を付加することで、深部観察に有効となる球面収差補正や、波長分散特性を利用したパルス制御器の組み合わせによる多光子励起条件の最適化が期待され

る。さらに比較的低価格で、高安定動作が可能なファイバーレーザーを利用していくことにより、光学調整を必要とせず、高分解能を維持しながら生体観察が可能となり、「生物個体ライブイメージング」が広範囲に普及していくことが予想される。

本研究は、学際領域の学問であり、理学、工学、薬学、医学、タンパク質工学、分光学、分析化学など数多くの研究分野が融合して行われたものである。共同研究を通じて、ネットワークの形成も図られている。

本研究プロジェクトに参加した研究者のキャリア形成においては、3名の研究者がプロジェクト終了後、准教授、教授として採用されており、若手研究者の育成にも貢献したものと判断できる。

本研究プロジェクト終了後の研究において、海外研究室との共同研究が増加しており、それら共同研究の成果として2014年から2017年の間に5報の論文が発表されている。また、研究成果として記載されていないが、商品化の実績から日本の光学企業や試薬メーカーと多くの接点、良好な関係を保ち、ベンチマークテストなどでは研究総括が良きアドバイザーとして協力したものと推測され、産業界にも大きな貢献をしたと考えられる。

3. その他

本研究プロジェクトにおける蛍光プローブ開発、観察技術開発は、バイオイメージングにおけるさまざまな可能性を示し、我が国のバイオイメージング強化において先導的役割を果たした。また、生命科学、医療、創薬などの分野に基盤技術を提供する波及効果の高いものである。生命科学にとってバイオイメージングはもはや必須の技術であり、生命科学で我が国が欧米諸国の後塵を拝することのないよう、国全体のバイオイメージングの水準を高め、維持することが今後ますます必要になるだろう。

さらに、本研究プロジェクトが設定した目標は、いずれも極めて重要なものであり、それを研究者コミュニティで共有し、個人研究ではなく、国全体のプロジェクトとして取り組む体制へと発展させる、また、膨大な数の試料の自動計測技術や、莫大な量の計測データの処理技術など、より広い領域の研究者の力を結集させることも重要だと思われる。