

ERATO 関口細胞外環境プロジェクト事後評価報告書

総括責任者：

関口 清俊【大阪大学蛋白質研究所／教授】

研究グループ：

マトリックス工学グループ（愛知医科大学）

マトリックス応答遺伝子グループ（愛知医科大学）

マトリックス機能情報グループ（愛知医科大学）

評価委員：

赤池 敏宏【東京工業大学大学院生命理工学研究科／教授】

永田 和宏【京都大学再生医学研究所／教授】

西田 輝夫【山口大学医学部／教授】

○林 利彦【帝京平成大学／教授、東京大学名誉教授】

（○は主査）

総合評価：秀（Excellent）

評価の概要：

細胞外マトリックスは、多数の細胞の接着あるいは細胞の足場となっているだけではない。多細胞からなる器官の形成・維持においては、細胞増殖・細胞分化を制御する細胞外環境因子として働いている。関口プロジェクトは、異なる機能を有する細胞が器官特異的な構造を形成する上で、細胞外マトリックスの分子レベルでの実体を明らかにすることを研究目標として定めた。多数の細胞の協調的な連携により器官の機能が発揮され維持されるには、細胞外マトリックスを主体とする細胞外環境の整備が欠かせないという捉え方であるので、どこまで明らかにすれば目標が達成されたかということ而言及するのはなかなか難しい。そもそも、ヒト生命体の解明、特に疾患の治療、器官の再生、予防など、人類が期待する課題に挑戦するという目標設定がピンポイントになされる状況にはないのが、現代の生命科学である。その中でも取り分け、重要な問題の基礎を作るための仕事は、華やかではないし、素人受けされるわけでもないし、ましてや企業化が容易に見込めるわけでもない。しかしながら、誰かが基礎を築くことを行うことは、その後の発展が測り知れないのは言を待たない。そういう状況下で関口プロジェクトでは、細胞外マトリックスの中で上皮細胞の増殖・機能に直接的に関係することが想

定されている基底膜に特に焦点を絞り、新規な成分も念頭に入れて根本的なことから解明しようとした。この意欲は、ERATO の期待している今後の研究の源流となる目標設定であると高く評価する。

このような目標を設定して研究を遂行するには、幅広い方法論を駆使することが必要で、大学や研究所あるいは講座や研究室単位の研究グループでは、規模的（研究員、技術員、事務員の配置を含め、場所、設備、共同研究の遂行などを含め）にもほとんど不可能であり、既存の研究組織から独立した形での研究チームを持つことによって初めて可能になると考えられる。本プロジェクトでの研究成果は、関口総括責任者（以下、総括と略す）を含めたプロジェクト研究員全員が目標の重要性を自負し、根気良く努力をしたことに起因しており、ERATO のような研究体制により初めて可能であった。その意味で、関口プロジェクトの目標は、ERATO として最もふさわしいものの一つであったと考える。

評価の詳細：

1. 研究テーマ：新規細胞外マトリックス蛋白質の網羅的スクリーニングとマトリオームデータベース

関口プロジェクトは、発足以前の関口総括の先行する研究内容とは異なった観点から（ほぼゼロの状態から）スタートし、生命科学の発展のブレークスルーとなる可能性を求めて展開されたものであるが、得られた研究成果は、今後のライフサイエンスや医療の分野で重要となる基盤をつくったという点で、高く評価したい。特に、細胞外マトリックスについてのデータベースの構築は、今後様々な分野で様々なレベル（病態解析、再生医療、臨床応用）で、ライフサイエンス特にヒト生物学、医学に関連する研究を推進するための基盤と統合的な情報を提供するものである。

マウスの cDNA ライブラリーから細胞外マトリックス成分をスクリーニングし、細胞外マトリックス成分が細胞外に分泌され固相に存在して、生物学的機能を発揮することに着目し、タンパク質成分として、抗体を用いて時空間的分布を求めた。研究の結果は大変分かりやすく、他の研究の推進にも役立つデータベースとなりそうであることは、中間評価（2004年5月）の段階から高く評価されていた。

中間評価では、今回の事後評価委員の他に、Kenneth M. Yamada 博士（NIH）が評価委員を務めていた。その中間評価委員会では、マトリオームの「データベースの構築」が強く求められた。これに対し本事後評価委員会は、関口総括はじめプロジェクトの方々が、全精力を投入し、予想していた以上に見事に、「データベースの構築」を成し遂げた、と絶賛したい。なみなみならぬ、研究員の努力と総括の責任感の表れと評価す

る。研究手法を含め研究の達成状況は、プロジェクトチームの独創性が遺憾なく発揮された結果である。萌芽的かつチャレンジングな取り組みがここまで結実したことは、まさに ERATO の意図するところで、科学振興政策としてとりあげていくべき基盤を確立したと言える。

上述のように本成果は、マトリックスの分布から解剖学を微細に見ていくというチャレンジングな試みであり、「今後の科学技術の流れを積極的に生み出す」という、ERATO の趣旨にかなったものであると非常に高く評価できる。事後評価会が開催された時点（2005年12月26日）では、胎生後16.5日（E16.5）のサンプルのみの空間的プロファイルがデータベースとして公表されているが、現在解析中のその他のサンプル（E12.5, 14.5, Adult）に関しても追加されれば、空間的に加え時間的な情報が増え、このテーマのさらなる重要性が確立される。但しこれらの解析量が膨大である上、今後様々な形でのデータベースのアップデートが求められるだろう。また現在はマウスのデータのみであるが、さらにこの成果を基に、将来的にヒトについての知見へと発展されていくことにより、当該分野の研究展開の新たな流れに繋がっていくことを期待したい。

実際に得られた成果のうち、Web 上で公開されているマトリオームデータベース（<http://www.matriome.com/bm/>）は、発生、器官形成、創傷治癒などの観点から、あるいは上皮・表皮系細胞の分化及び上皮-間葉系細胞相互作用の観点から、多くの示唆を得ることができる見込みはすぐに実感できる。これだけのデータベースの基盤を構築するためには、多大なエネルギーが必要であったものと推察される。ヒト生命科学を理解する上で、新規の基盤を構築したという点で大いに評価されるべきである。将来的には、現在胎生後16.5日で構成されているマトリオームデータベースを、様々な発生の段階でのデータベースあるいは成体や遺伝疾患マウスでのデータベースへと発展させていき、さらにはヒトへと発展させられる見込みがつくことは容易に想定でき、このことは科学界のみならず、医療の向上に貢献する可能性も高く、社会全体へのインパクトがあるものと推察できる。再生医療を中心とした実益的学問領域において、関口プロジェクトが、組織学とタンパク質化学とを包括的、網羅的、かつ時空間的に結びつけた業績は、実用的な研究にもはずみとなるだろう。

細胞外マトリックスは、作っている細胞と周囲の細胞の活動に影響を与える。細胞の外から細胞の機能がどこまで制御されているか、あるいは制御しうるか—細胞外マトリックスに乱れがあることが疾病と関わる可能性があるならば、細胞外マトリックスの構築を整えるということで、細胞外から制御しうることを意味する。具体的な時空間の物質制御による細胞外マトリックス調整が可能になるならば、薬剤を含め、治療の方法論の開発の上でも重要である。

またこのデータベースは、他の研究者が研究を遂行し、論文を書く上で、非常に重要な情報源となりえ、利用価値が高い情報を備えている。印象としては、「Pub Med」にあたるようなデータベースと言って良いだろう。現在のライフサイエンスでは、「Pub

Med なしで論文を書け」と言われれば無理なことは明らかであるが、それに匹敵するクオリティを有するデータベースが、日本発でもたらされたと評価して良いだろう。加えて述べると、ERATO プロジェクトの設定目標は既に達成点を越え、もはや国家プロジェクトに展開する必要があるような様相を呈している（一研究グループでは全てをカバー出来ないほどの成熟さを示しており、それでいて大変重要な要素が多くあるという意味である）。従ってこの次の戦略構築には、十分考慮を要するだろう。ERATO の中で、世界に先駆けて発信された優れた研究成果であるゆえ、「さらに上を目指した・理想の高い」方向性を考えて欲しい。その一つとしては、このデータベースのアップデートや利用が恒久的に行われるような体制を築くことが挙げられる。本研究プロジェクトが終了した後にいかにして今回構築したデータベースを維持し、公開し、新たなデータを追加していくための恒久的な組織を作ることこそが、関口プロジェクトの5年間の努力を社会として有効に活用し、我が国の独創性やユニークさを世界の科学に位置づける意味からも考えるべき重要な課題の一つであると考えている。

2. 研究テーマ：器官形成時に発現する新規細胞外マトリックス蛋白質の探索とその機能解析

新しく見いだした細胞外マトリックスタンパク質の実際の機能を、腎臓、小腸、歯牙、毛嚢などの組織や器官の形成の過程の理解に展開してきたことも大いに評価できる。これで Ex Vivo での組織再生などが現実味を帯びてきたとも言える。現在再生医療の研究は多く行われているものの、実際の医療の現場で応用できる研究成果はいまだ少なく、今後の再生医療研究の基盤を提供したものと評価できる。

腎臓と小腸では、領域特異的な発現を示す基底膜成分があることが明白に示された。小腸も腎臓も体外とのインターフェースと言う意味で、成体と胎児では、役割が大きく異なってもおかしくない。成体ではそれぞれターンオーバーがはげしいと予想される。特定の領域に成体で特に存在する成分がそのような機能の違いと関係しうるとするならば、成体での疾患の解明、治癒の解明にもつながりうる。

ADANTSL-4 分子の同定と、軟骨 II 型コラーゲン線維の沈着との関係についての研究成果は、セレンディピティ的な発見ではないかとの感を抱いた。ADANTSL-4 の強制発現により II 型コラーゲンからなる線維の蓄積が減少していることに対し、II 型プロコラーゲンのプロセシング酵素 ADAMTS との拮抗ではないかとの仮説を提示しているが、これは大変合理的な仮説であり、今後の進展に注目したい。しかし、II 型コラーゲン線維の沈着については、さまざまな過程が入り組んでいるとも想定される。例えば、XI 型コラーゲンの蓄積との関係である。TS(トロンボスポンジン)が V 型コラーゲン(したがって、おそらく V 型コラーゲンと近縁な XI 型コラーゲンでも)と特異的な相互作用

をすることを考慮する場合である。ADAMTSL は酵素活性を有するドメインは欠けているとのことであるが、いわゆるマトリセルラー成分 (SPARC、TS、Hevin など) の仲間ではないであろうかと推察する。

方法論的な開発についても、有用な研究成果がプロジェクトから示されている。例えば基底膜成分のうち、細胞機能制御に関わっていることがもっとも具体的に研究されているラミニンについて、100 万にも及ぶ分子量を有するため、ものとして調製することは実質上不可能と考えられ、誰も挑戦しなかった。しかし関口プロジェクトの研究から、EHS 腫瘍からは得られないラミニンのアイソフォームを供給あるいは産生することが、原理的に可能であることを見出した。ヒトの疾患の治療、器官の再生には幹細胞だけでは無理である。細胞外マトリックス成分として基底膜としての機能を表すことが最も良く研究されているラミニンアイソフォームを、モノとして調製できるようになったことは今後計り知れない展開が待っているのではないか。ラミニン大量生産系の確立は、ラミニンアイソフォームを培養細胞系の基質として用いることによる研究などを介して、再生医学に新しい試みの可能性を与える。従って、企業化する道が開かれるなど、インパクトがあるものとして評価して良い。

ES 細胞 (胚性幹細胞) の分化と基底膜の関係についての研究成果は、上皮から間充織への転換 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) に、基底膜構造が抑制的に働いていることを証明した素晴らしい成果である。ES 細胞分化における基底膜の役割、上皮組織の形成とくに中胚葉への分化を抑制する上で、基底膜構造が中心的な役割を果たしていることが証明された。基底膜が破壊されることが上皮細胞の浸潤、間充織への移行を許容することになるとの証明は、胚性幹細胞の維持や分化に留まらず、体性幹細胞においてもありえることを考えさせる。Univ. of Hawaii, Honolulu の Frederic Mercier 博士は、幹細胞のニッチ細胞外マトリックス環境のことを FRACTONE と名付けて、特に脳での幹細胞の研究を推進しているが、彼の仮説と関口プロジェクトでの成果を結びつけるとすると、どのような細胞外マトリックス成分 (基底膜成分を中心に) が、どのような会合体を形成しているとニッチになり、どのようなきっかけ (細胞外マトリックスの分解、フィブロネクチンなど間葉組織成分や、TGF β ファミリーなど細胞機能制御因子などの影響によるニッチ環境の変化) で幹細胞の増殖あるいは分化が影響を受け始めていくのか、という大変重要な課題への解明に弾みをつける成果であると評価できる。

またプロジェクトでは、QBRICK, Fras1, Frem2 がどのようなメカニズムで相互の安定化を達成しているのかを蛋白質レベルで明らかにしようとする取り組みがある。世界的に見ても独創性のある論文として表せる内容であり、この点を高く評価したい。今後、QBRICK, Fras1, Frem2 の間で蛋白-蛋白相互作用に関わるドメインが存在するか、等が明らかになれば、非常に興味深くかつ重要な成果といえるようになるだろう。

このように、新規基底膜成分の役割について、皮膚組織を用いて、分子生物学的なアプローチを行い、方法論としても、興味深い成果が得られている。ジグソーパズルの

ピースの関係を解いていくような研究である。一般にタンパク質の構造と機能の解明にはこのような手法が用いられているが、このように、すっきりとした成果が細胞外の成分について提示されたことの意義は大きい。細胞外では細胞の遺伝子発現を介さない制御機構があることが重要な場合があるのは、ヘモグロビンの酸素との結合親和性の変化が器官への酸素の運搬に影響する、という面で古くより知られているが、それに類する制御機構があるに違いないという科学的好奇心を掻き立てる成果である。一方で、本研究の成果の広がりや更なる発展を考慮する際、成体の基底膜が IV 型コラーゲンのうち、 $\alpha 1$ 鎖と $\alpha 2$ 鎖からなるものが主成分であることに鑑みると、「基底膜の普遍的な作用」と「器官の特定領域に特異的な成分による作用」とを車の両輪として解明していく必要があるのかなというのが、評価者としての率直な意見でもある。

3. プロジェクトの運営に対する評価

細胞外マトリックス成分を網羅的に cDNA ライブラリーから取り出す上で、細胞外に分泌され、細胞膜貫通ドメインを持たないものという原理を用いているので、実際に細胞外で働いているものを逃す危険性があった。しかし結果的には、多数の新しい分子が発見された。一つ一つの成分の役割を理解する方向もありえたが、むしろ、プロジェクトの限定された期間内での成果として最も有用なものを意識して、大変有用なデータベースを作成した。タンパク質と組織の局在を巨視的レベルから微視的レベルまで、連続して見ることができた。これは、組織学の教科書にも掲載されることになるような画期的な成果である。成功の理由は、おそらく個々のデータもさることながら、研究目標が得られた場合の科学的な価値について、関口総括以下、研究員が正しく理解し、評価していたことであつたらうと推察する。総括の長期的視野に立った科学的態度が運営に反映されたものと思われる。

先行研究ではほとんどの場合、特定の器官一つについて研究が遂行されていた（研究が臓器別になっていることが多い）。本プロジェクトの優れている部分は、器官の中のさらに特定の領域についての特異性を具体的な成分の局在により明らかにしたことであり、これらは「臓器別というよりは器官の中での特定の領域での細胞等の役割を考えて、解明していくべきだ」、との新しい研究視座を具体的に提示している。個々の臓器に焦点をあてるのではなく、個体全体を視野に入れることによって、臓器による比較が可能なデータベースを構築した。特に、毛胞、乳腺など生理的に消長のある、すなわち、動的な変化のある器官を意識して、器官形成と維持のダイナミズムを捉えようとした。細胞外マトリックス成分はほとんど器官に共通な成分からなっていることから、個体全体との関係で細胞外マトリックスや基底膜を網羅的にとらえようとした研究の運営は他には全く例をみないもので、高く評価できる。このような優れた先見性が研究員全体

に行き渡っていたからこそ、具体的なデータベース作りに膨大なエネルギーを積極的に投入することが半ば自主的になされたわけで、この点は結果的に若い研究者の育成にもつながった、と言う意味でも高く評価できる。

「評価の概要」でも触れたように、このような研究目標を立て、成果をこのようなところまでまとめることは、大学などの研究室単位のグループでは遂行不可能であり、既存の研究組織から独立した形での研究チームを持つことによって初めて可能になると考えられる。従って、本プロジェクトの運営について、ERATO の趣旨に沿った適切な予算規模や人員構成があったからこそ、これまでの大きな成果を挙げられたことが、事後評価会でのプレゼンテーション（データベースのデモンストレーション等）によって、はっきりと印象付けられた。

これらの成果を得るにあたってのプロジェクト運営は特筆に値し、一言で言えば「良く思い切った」と評価したい。確かに現状での学術論文数は物足りない。しかしながら、その「論文数にこだわらない」と思い切ったところが、今回の成功につながったことは間違いない。もしプロジェクトの評価を発表論文数に拘っていたら、今回の成果にはつながらなかったと断言できる。質の高いデータベースの構築が、今後の莫大な波及性につながることは容易に想像でき、この点を ERATO プロジェクトとして、十分評価すべきである。またこのデータベースは、中間評価時から非常に大きな進歩を遂げており、研究員も関口総括の運営方針に呼応して、よくも戦略的転進をはかることができたと思うし、柔軟性があったと思う。これらの観点からすると、「データベースの構築」を強く主張した中間評価にも意味があったとも言える。

他の研究グループとの協力関係についても、研究員の派遣を積極的におこなったようだし、林崎良英博士（理化学研究所）の FANTOM プロジェクトと掛け合わせて、非常に優れた運営がなされたと言える。関口プロジェクトの「データベースの構築」は、こうした協力関係を柔軟にかつ臨機応変に用いたことにも起因すると思われる。一方人員の配置については、おそらく、関口総括の最も苦慮した点であると想定される。研究目標の重要性に鑑み、このプロジェクト内でコアになる成果をもとに、細胞外マトリックスの重要性を認識している研究分野、研究者にとっても役に立つ研究成果は何であるかを視野にいれて、テーマを展開した。特に組織、器官の部位に特異的な細胞外マトリックス成分の発現については、今後組織学の教科書に掲載されるような基盤をつくった大きな成果であり、今後さらに時間軸での展開、疾患の状態ともに変化することを追跡する意味があるとの期待を抱かせる。すなわち、分子病理の道具立てとなることは間違いない。

以上の点から、関口総括のリーダーシップを含めたプロジェクトの運営については、最高の評価を与えたい。

リーダーの役目として重要なこととは何か。細胞外マトリックスが多細胞生物の疾患の解明、治療、再生に結びつくとの信念をもとに、現段階の研究動向で手をつけられてい

ない基礎を作るべきであるとした点は、近い将来に十分な評価がなされないとしても、長期的には必ず貴重な情報としてみなされると評価者は信じる。ともかく本プロジェクトは、企業の研究所や試験所、さらには通常の大学の研究室等では、なかなか手が出せないようなものであった。まさに ERATO の枠組みでこそ可能であり、実際見事に成果を得るまでに至った。関口総括をはじめプロジェクトに参画した研究員は、今後の生命科学において何が必要な情報であるかを長期的観点から捉え、大きな成功をおさめたと評価したい。フィンランドを除くと、日本も含め世界中のどこでも、細胞外マトリックスの役割についての研究をする場が大変限られている中で、本プロジェクトは、関口総括の掲げたテーマを信じていた研究員により力強く運営されてきた。得られた成果の学会発表、論文、及びセミナーなどを通して、それぞれの研究者は今後の生命科学の発展の礎を築いたことを、以後もっと強く実感するだろう。研究科学者としての人材を育成するという、研究発展においても最も重要な側面でも、本プロジェクトは大きな成果をもたらしたと評価したい。

以上