

ICORP「膜機構プロジェクト」 追跡評価報告書

総合所見

本プロジェクトの開始前・期間中・終了後を通じて、楠見研究総括は細胞膜の基本的な性質解明をさまざまな角度から進め、フェンス・ピケット・階層ドメインの膜モデルの新提案を行った。これらのモデルは世界的に評価され受け入れられた。これに伴い、本プロジェクト終了前後に楠見モデルが相次いで国際的な教科書に採用されたことは、大きな成果である。

本プロジェクトを追跡評価するにあたり、楠見らの研究の全体像を把握することは重要であるので、ここにまとめる。楠見は、一分子追跡法を用いて1993年にフェンスモデルを提案し、2002年には、ピケット効果を発見した。これらの研究は、まさに細胞膜の概念を一新するものであった。その後の約十年の研究は、主に、これらのフェンス・ピケットモデル概念が細胞に普遍的に当てはまること、膜の重要な機能とこれらの概念が密接に関係していることを証明するものであった。例えば、2006年のフェンスやピケット形成に本質的な役割を持つ細胞骨格のクライオ電子顕微鏡観察による研究成果は、現在でも被引用回数が高いことから分かるように、細胞研究の分野に大きなインパクトを与えている。2010年には、本プロジェクトで得られた研究結果の総まとめとして、新たな細胞膜の三層ドメインモデルを提案した。本プロジェクト終了後の2011年から2012年に、一分子研究を駆使して、G protein-coupled receptor (GPCR)のモノマー・ダイマーの動的平衡機構や接着斑におけるアセンブルタンパク質の解析を可能にした点は高く評価できる。応用面に関して、2013年に、ATP-binding cassette protein A (ABCA)トランスポーターのダイマー化によるHigh-density lipoprotein(HDL)形成を明らかにし、医療に結びつく可能性のある研究が展開されている。

総括すると、本プロジェクト推進の前後を問わず、一分子追跡法という生物物理的な技術を開発しつつ、細胞膜という生命の基本的な構造であり多くの生命現象の実践の場である構造の動態を、計測技術の限界に挑みながら分子レベルで明らかにしてきたことは、学術的に非常に大きな意義がある。

本プロジェクトの成果が、世界で最もよく読まれている細胞生物学の教科書である“Molecular Biology of the Cell”に3件、また“Essential Cell Biology”に1件が掲載されていることは、研究成果が世界的に認知されていることを示している点で、非常に高く評価できる。その他、研究成果は生化学の教科書“Principles of Biochemistry (Lehninger)”や膜の専門的教科書“Membrane Structural Biology”にも掲載されている。さらに、流動モザイクモデルを提案したNicolsonの最新の総説(2014年)に楠見らのモデルが取り入れられ、“モデル”から“事実”に変わりつつある。このように、世界的な教科書に複数の論文が引用されることは、非常にまれなことであり、本研究の質の高さと国内外への影響力の大きさを明確に示している。

楠見研究総括による本プロジェクトの知見は、細胞膜を細胞内外の仕切りとしての壁、あるいは、反応の場という概念から、細胞レベルでの生命現象の主要レベルにまで押し上げた。タンパク質や糖タンパク質を重要視しがちな関連分野の研究者にも、これまで取り扱ってきた生命現象の再考が促されると期待する。細胞膜は、細胞のセンサーや機能を調節する分子が多数埋まっているため、薬学や医学において治療のための研究対象となっている。将来、現代人にとって重篤な疾病のメカニズムの解明から、予防、治療等、医療・創薬分野への貢献を期待したい。

1. 研究成果の発展状況や活用状況

(1) プロジェクト終了後の研究の継続、発展

本プロジェクト終了後の特筆すべき成果の1つが、生細胞の細胞膜上における高速一分子の可視化技術の開発である。この成果は、コンパートメント化された細胞膜における膜構成成分（コレステロールを含む脂肪酸）の分布および動態のさらなる計測に利用された。これらの研究は、楠見モデル（フェンス・ピケット）の検証と、その生物学的な意味付けの理解へと発展した。新たな観点からの研究として、GPCRのモノマー・ダイマー平衡を一分子研究から明らかにし、アセンブルタンパク質の解析を可能にした点で高く評価できる。さらに2012年には、接着斑における分子集合体に対しての群島モデルの提案を行い、今後、膜上の集合体に適応されるかが試される。これまでの技術を用いたApolipoprotein A (ApoA)とABCAタンパク質との相互作用の解析は医療応用等に繋がる可能性を見いだした研究と考える。これらの研究を通じて、二次元の液体と考えられてきた細胞膜を、細胞骨格によるコンパートメント化、ダイナミックなミクロラフト形成、各種構成要素のダイナミックな構造形成と、階層（三層）構造によりモデル化し、シミュレーション技術も取り入れて、細胞膜の構造と機能の一般的な概念の確立に向かっている。

技術サイドから、蛍光タンパク質一分子のイメージング速度の改良がなされ、時間分解能に優れた顕微鏡 Photoactivated localization microscopy (PALM)の開発に応用された。この装置は今後細胞に広く使えるような改良が必要と考えるが、そのような発展を期待する。一分子イメージングには、新しい蛍光物質の開発が欠かせないが、楠見らは、赤色発光のシリコンナノ粒子は有機蛍光色素のような退色もなく、量子ドットのように毒性もブリンキングもないといった優れた蛍光色素であることを報告するとともに特許を申請中である。今後、この粒子を一分子イメージングへ応用する研究へと展開されることを期待する。

このように、本プロジェクトで培われた一分子技術や膜モデルを基盤として、本プロジェクト終了後にはこれらの基盤を巧みに利用した研究、そして、本プロジェクト期間中には見られなかった新しい研究も出始めている。このように、本プロジェクトの研究の継続と発展が着実に進んでいる。

(2) 相手国チームとの交流の効果

インド側の代表者である Mayer 研究総括との研究交流は、本プロジェクト期間中も盛んであったが、終了後も、京都大学再生医科学研究所及び物質-細胞統合システム拠点(iCeMS)とインド国立生命科学研究センター(NCBS)に双方のサテライトラボを設置して、楠見研究総括、Mayer 研究総括 (NCBS 所長) の他、准教授の鈴木健一を通じて行われている。本プロジェクト期間中、NCBS での共同合宿においては、双方の研究者や関係者ばかりでなく、一分子イメージング研究で著名なスタンフォード大の Spudich 教授とその大学院生に加え、カリフォルニア大学サンフランシスコ校の Vale 教授が参加していることは、両者の研究を世界に発信する点でも重要であるだけでなく、本プロジェクトの各グループリーダーや若い研究者にも大いに刺激になったと考える。

Mayer 研究総括の元で博士号を取得した Rahul Chadda 研究員は本プロジェクト終了後に楠見との共著論文をいくつか報告しているが、それらの中でも細胞膜の動的機構モデルの総説は被引用回数が高いことから、交流の効果・成果が見える形で表れている。

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

細胞膜は、外界と内部の物理的な障壁として存在し、内部環境を一定に保つために様々なチャネルタンパク質が埋め込まれ、細胞内のイオン環境や物質環境を一定に保つ働きを持つ。また、細胞膜は、外部の情報を感知して、細胞内の指令伝達のカスケードを駆動させるなどの細胞応答の入り口としての役割を担っている。物理化学的研究から、細胞膜は、二次元の液体である脂質二重層にタンパク質や糖タンパク質が浮かんだものである (Singer & Nicolson の流動モザイクモデル、1972 年) との単純な仮説が提唱された。この仮説に基づき、細胞膜は、二次元反応の場として化学物質を濃縮し、分子が出会う確率を高くすることで、反応の速度を上げるとの提案がなされた。

その後、長らく、多くの生物関連分野の研究者にとって、脂肪酸が集まって作る膜構造は、生命現象を語る際の細胞の単なる足場の材料に過ぎず、主役との認識はなかつただろう。ところが、1990 年代後半になると、Simons の提案したラフト仮説に刺激されるように、細胞膜の機構と動態に関して、細胞膜の構造と膜の物性的性質をより詳しく調べる研究室が出始めた。その先頭を走ったのが、一分子観察を武器にした楠見研究室であった。大型の研究費という後押しがあったことで、種々の技術革新を行い、一分子レベルでの各種生細胞中の膜タンパク質の働く仕組みや細胞膜に現れるマイクロドメイン構造のイメージング、細胞膜の裏打ち構造の可視化に成功した。その結果、細胞膜のダイナミクスを、生命現象の主役レベルに押し上げたことは特筆すべきことである。

このような研究を通して、生体膜の構造と機能に新たな知見、すなわち細胞膜コンパートメントとホップ拡散の発見、脂質ラフトを介したデジタル型シグナル伝達仮説の提唱、膜分子の会合の動的平衡の測定法の開発をもたらしたことは、学術的に価値が高く、細胞膜研究の新しいマイルストーンとなると期待される。

(2) 研究成果の応用に向けての発展

本プロジェクトの研究成果のいくつかは、生命科学分野で世界的に読まれている教科書にすでに記載されている。このことは、細胞膜の構造や機能に動的な機構の新概念を取り入れたこととその実証が進み、広く生命科学分野に影響を与える教科書に基本知識として加えるに値すると認められたことを意味する。

細胞膜の新しい概念と新知見によって、膜の動的機構が、生命現象の新しい役者に加わったわけである。我々は、新しい役者を考慮して、多くの細胞膜レベルでの生命現象の理解を見直す必要があるかもしれない。例えば、この知見の医療分野への応用に関しては、現代人にとって重篤な疾病である Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE)、エイズウイルスの感染やアルツハイマー病のメカニズムの解明が、予防、治療へと繋がるはずである。今後、可能性に終わらず楠見グループで実証を重ねて、実用化に向けた取り組みを期待したい。

本プロジェクト前後で開発された新規高速イメージングの手法は、シリコンナノ粒子の開発も含めて、今後、楠見グループが関連企業と協力して使いこなしていくことにより、細胞膜に限らず、生命科学分野への新しい手法としての拡大が期待できる。

(3) 参加研究者の活動状況

本プロジェクト進行中、若手研究者であった藤原敬宏研究員は、京都大学 iCeMS 講師としてだけでなく京都大学メゾバイオ分子イメージングセンター (CeMI) の副センター長として、楠見研の研究を発展させている。鈴木健一研究員は、JST のさきがけ研究や科研費の基盤研究費を取得し、本プロジェクト終了後も iCeMS と NCBS に所属し、両研究機関の交流にも努めている。その他、若手研究者の2名 (笠井倫志研究員、本田郁子研究員) が、京都大学再生医科学研究所、東京大学医科学研究科の助教の職を得ている。インド側からの参加者 Rahul Chadda 研究員は、Mayer 研究総括の指導により学位を取得し、現在は、IOWA 大学の Research Assistant Professor として、本プロジェクトの成果を発展させている。このように本プロジェクト期間中に若手であった研究者が研究職を得ているものの、キャリアアップは十分とは言えない。これは、昨今の研究職の就職難を反映しているのではないだろうか。現在職に就いた研究者が本プロジェクトの研究を発展させることを期待したい。

3. その他

本プロジェクトの中間評価報告書では、「現在進みつつある研究を形にすると共に、既に形となり始めている研究成果を質の高い論文に仕上げることを期待したい。」また、事後評価報告書では、「発表された論文の引用数は高いものがあるものの、論文の数がまだ十分とは言えない。」との記載があるが、本プロジェクト終了後に多くの質の高い論文が出版されており、これらの多くは、本プロジェクト期間中に研究が始まっていたことから、これらの報告書に書かれた意見が反映されたと考える。

本プロジェクト終了後、いくつかの技術開発がなされている。これらの技術を広めるためにも、関連企業へのアピールすることや人材も含めた形で研究交流を図ることで、企業と協力した社会への貢献を期待する。