

本田財団レポート No. 173

第 146 回 本田財団懇談会（2018 年 9 月 19 日）

「全身透明化の先に見えるもの」

東京大学大学院医学研究科 教授
理化学研究所 生命機能科学研究センター チームリーダー

上田 泰己

講師略歴

上田 泰己 (うへだ ひろき)

東京大学大学院医学研究科 教授
理化学研究所 生命機能科学研究センター
合成生物学研究チーム チームリーダー



《略 歴》

- 1997年～ 東京大学医学部在籍中よりソニーコンピューターサイエンス研究所、ERATO 北野プロジェクト、山之内製薬（株）にて研究アシスタント
- 2000年 東京大学医学部医学科卒業、山之内製薬（株） 研究員
- 2003年 理化学研究所 発生・生成科学総合研究センター チームリーダー
- 2004年 東京大学生産技術研究所 講師などを経て教授
- 2013年～ 東京大学大学院医学系研究科 機能生物学専攻 教授
- 2016年～ 東京大学大学院情報理工学研究科 システム情報学専攻 教授（兼任）
- 2017年～ 東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構 主任研究員（兼任）
- 2018年～ 理化学研究所 生命機能科学研究センター チームリーダー（兼任）

《主な受賞》

- 2004年 日本イノベーター大賞・優秀賞
- 2005年 東京テクノ・フォーラム21 ゴールド・メダル賞
- 2006年 文部科学大臣表彰若手科学者賞、Tomorrow's PI Award
- 2007年 第5回日本時間生物学会 学術奨励賞
- 2009年 第23回日本 IBM 科学賞（コンピューター・サイエンス分野）
- 2011年 日本学術振興会賞、Changemakers of the year 2011、永瀬賞
- 2012年 塚原伸晃記念賞
- 2015年 第15回山崎貞一賞（バイオサイエンス・バイオテクノロジー分野）
- 2017年 第4回イノベーター・オブ・ザ・イヤー
- 2018年 第50回市村学術賞功績賞

《主な会員等》

- 日本学術会議若手アカデミー会議代表（2015～2018）
- JST さきがけ研究領域総括（2012～2018）
- 日本時間生物学会 大会長（2012）
- 「細胞を創る」研究会 大会長（2009）

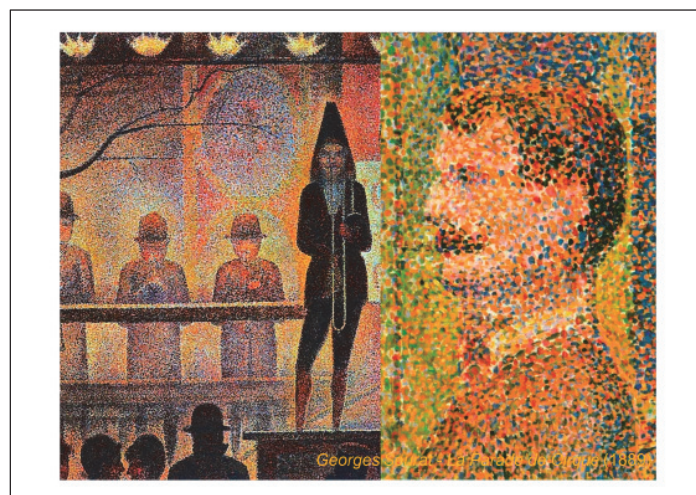
石田理事長はじめ本田財団の関係者の皆様、本日はこのような機会をお与えいただきましてありがとうございます。現在、東京大学と大阪にある理化学研究所の両方を兼任しておりまして、毎週1回行ったり来たりしている状況です。本日は、皆さんの体の中をどのようにのぞいていくか。こういうところから話を始めさせていただければと思っています。

■ はじめに



図－1

〈図－1〉ところで、この絵をご存じの方はどのぐらいいらっしゃいますか。これはシカゴにある非常に有名な絵で、画家の名前はスーラさんと言います。新印象派の画家で、ちょっと特別な技法を使われている方です。



図－2

〈図－2〉ちょっと分りにくいかもしれないので、別の絵をこちらに持ってきていますが、右側に紳士の絵が描かれているかと思います。拡大してみますと、遠くから見ると一見、滑らかな色調や連続的な曲線に見えるものも、近くに寄って実際に見てみると非常に色鮮やかな点で描かれているというわけです。この技法のことを点描画と言います。

なぜこの絵を最初にご紹介したいかという、実は私たちの体の中、私たちを構成するものも点、すなわち細胞と呼ばれる特別な生命の単位からなっているからです。実際に、細胞は350年ほど前に当時つくられた最新鋭の先端技術、顕微鏡によって発見されたと言われています。最初は植物を観察していたとき、例えばコルクを観察していたときに、そこに列車のコンパートメントのような構造があることが分かってきて、その後、私たちヒトを含めたさまざまな動物も同じような細胞でできていることが分かってきました。

それから350年たったわけですが、実は私たちを構成する細胞を、1つ残らずひとつひとつ丁寧に全て観察した人は誰もいないわけです。そこで、きょうはこの細胞を全部見るにはどうしたらいいのかというお話をしたいと思います。

■ 全細胞解析から生物の原理・原則を見出す

そもそも、なぜこんなことをしなくてはいけないのかと疑問に思われる方もいらっしゃるかもしれませんが、例えば物理の分野だと膨大なデータの観察、例えば惑星の軌道の観察をすることで、その背後に潜む原理・原則を見出し、そこから万有引力の法則につながったという非常に有名な例があります。生物も同じように、このような一見無駄にも見えるかもしれない観察から一般に通じるような原理・原則がもしかしたら導かれるかもしれないという意味で、全ての細胞を見ていくことはとても大切な素地になっていくのではないかと考えています。ただ、言うは易し、行うは難しでなかなか難しい。私たちの体は数十キロありますが、そこに含まれている全ての細胞を見るのはなかなか難しい。



図-3

〈図-3〉そこできょうは、まず最初の例として、手のひらに載るぐらいのサイズの体を持っている、だいたい30gのネズミ、マウスの全細胞解析について少しご議論させていただければと思っています。

30gの中に一体どのぐらいの細胞があるか、ご存じの方はいらっしゃいますか。本田財団の方によると、ここにお集まりの方々は有識者が多いということでしたので、ここでクイズを出させていただきます。このぐらいの数かなと思ったときに手を上げていただければと思います。

この30gの中に3000万個ぐらいかなと思われる方は手を上げていただけますか。3億ぐらいかな。30億ぐらいかな。300億ぐらいかな。3000億ぐらいかな。3兆ぐらいかな。分布がだいぶ広いですね。30兆ぐらいかな。300兆ぐらいかな。もっと行きますか。答えは、実は分かっておりません（笑）。

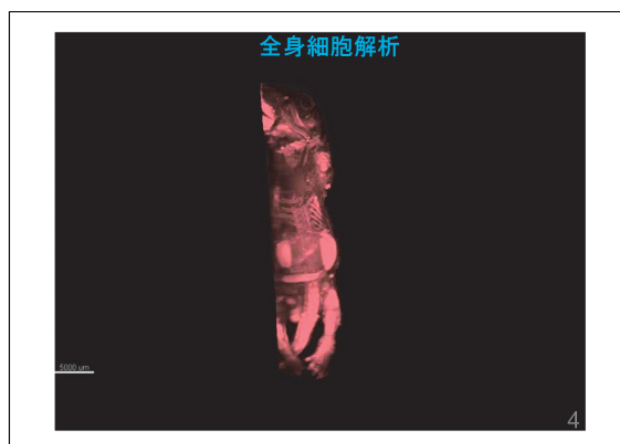
ただ予想はありまして、これは外挿になりますが、1gあたり300億個ぐらいの細胞が含まれているのではないかと推測されています。この300億というのはどのぐらいの数かというと、全地球の人口が七十数億と言われているので、宇宙から地表にいる全ての人を観察してその人の肌の色を当てるぐらい、この300億を見ることはなかなか難しい課題で、誰も実現していない課題だと考えられます。

■ 組織透明化技術「CUBIC」



図－4

〈図－4〉ただ、2014年にこの課題に関して、われわれを含めてブレークスルーが少しありました。透明化という方法を使って透明にしてしまう。私たちがつくり上げた化合物のカクテル、「CUBIC」というものを使って動物を透明にすることが世界で初めてできるようになってきました。



図－5

〈図－5〉透明にすると何も見えないのではないかとと思われる方もいらっしゃるかもしれませんが

が、一応、透明にした後に染めてあげることができます。動物の全ての細胞を、ある光を当てたときに別の光を返してくれる蛍光色素で染めてあげることができますので、1粒1粒を観察することがようやくできるようになってきました。こういうことが、2014年ぐらいにだいぶできるようになってきたというわけです。

■ 透明化の物理と 100 年以上の歴史

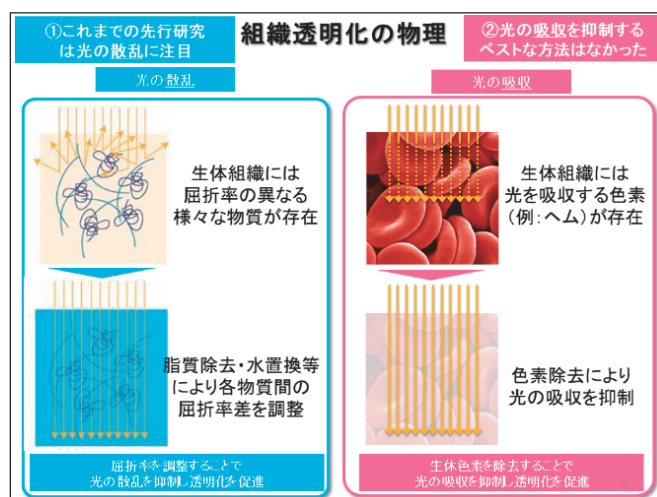


図-6

〈図-6〉ただ、実はこの透明化と呼ばれる分野の歴史はすごく長く知られていまして、一番最初は100年以上前の1911年ぐらいから、ドイツでその仕事が始まったと言われています。簡単に透明化の物理を少しだけお話しします。透明にならない理由は光が真っすぐ届かないことと、光が色素で吸われてしまうことが原因だと考えられていました。

では、光が真っすぐ届かないのはなぜかという、体の中には水もあればタンパク質もあれば、細胞をつくる膜がありますので脂分もある。そのときに、光は脂分の中をゆっくり進んでいきますし、タンパク質の中は中ぐらいのスピードで進み、水の中はより早く進んでいく。このようにスピードが違うので途中で曲がってしまうのが原因だということが知られています。

そこで、脂質を取り除いたり、水を少し入れ替えて光のスピードをゆっくりにしたりという工夫をすることによって光を真っすぐ届けたい。光が曲がってしまう散乱という現象を「抑える」という言い方をしています。これが指導原理になって、分野が100年以上少しずつ改善を重ねてきたというわけです。あと、もう1つ重要なこととして、光は体の中に含まれている血液の中の色素によって吸われてしまうという現象があります。これは解決がまだなかなか難しいとされていて、長い間決定的な方法は出ていないという状況でした。



図-7

〈図-7〉歴史上では、先ほどの光を真っすぐ届けるために、ドイツの解剖学者の Spalteholz さんという方が 1911 年にライプチヒで研究を開始したという状況です。彼は石油会社と共同研究を行って、油のような有機溶媒を使って組織を透明にすることを行ってきました。

ただ、有機溶媒は毒性もあってなかなか扱いづらいということで、その後、前世紀の終わりぐらいの 1995~96 年に、ロシアの物理学者の Tuchin さんが水溶性の、いわば水のような水溶性の溶媒を使ってヒトの組織を透明にすることを試みました。このような技術が歴史を牽引してきたのですが、全細胞を見るまでには至りませんでした。

■ 理化学研究所での研究の始まり

そこで私たちは 2010 年ぐらいから、ちょうどそのころ睡眠の研究を始めるに際して、脳の中を見してみる必要性を感じて技術開発を開始しました。着目したのは水溶性の溶媒で、安全性が高いものに着目していこうと考えました。ただ、水溶性の溶媒というのは有機溶媒に比べるとパフォーマンスが少し落ちるところが問題でした。そこで、これをなんとか克服しようという努力を続けてまいりました。



図-8

〈図-8〉当時、理化学研究所は神戸にございまして、そこにいた 3 人の研究者と共にこの仕事に

取り組みました。まず 1 人目は医学部出身の洲崎さん。彼は非常に直観に優れた方です。2 人目は田井中さん。彼は京都大学出身の化学者で、論理力に非常に優れた方です。3 人目はわれわれのところに海外からいらっしゃった研究者で、フランス人のディミトリーさん。国際チームでこれに取り組み、分野も三つの分野でさまざまなことから成る混合チームで取り組んだという形になります。

ディミトリーさんはものすごいハードワーカーで仕事も正確。言ったことがバチッと当たるという感じでした。田井中さんは先ほど申し上げたように理詰めで行く、Mr. 理論というような感じの方でした。洲崎さんは正反対で、直感に優れていました。洲崎さんと田井中さんの 2 人が非常に相性よく、ボケとツッコミの漫才のような感じで相性よく研究を牽引してくれました。

■ 我々の戦略：スクリーニング（セレンディピティ）



図－9

〈図－9〉ただ、歴史が非常に長く、始めた当時でもう 100 年ほどの歴史がありましたので、普通にやっても新しいことはなかなかできないだろうということで、そのとき私たちが何を考えたかと言うと、なるべく包括的にスクリーニングをしてみようと。さまざまな化合物を先入観なくテストすることで新しいものを見つけていこう。ノイズやランダムなことをなるべく積極的に試していこう。できることならば、その中にセレンディピティみたいなものが潜んでいてほしい。こういうことを願いながら進めていきました。

ただ、1 つの化合物を使って 1 つの組織。具体的には脳を試すことしかその当時はまだできなくて、なかなかたいへんだし、1 つの化合物ごとに動物の命がなくなっていくしますので、動物倫理的にも問題があるということで、決定的な方法を編み出せずにいました。

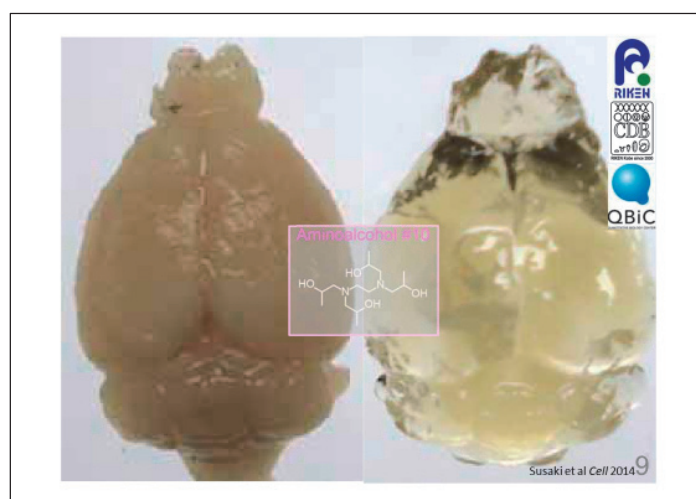
そうしたところ、当時、東京大学医学部の 5 年生だった岸野さんという方が神戸に 3 カ月ほどインターンで遊びに来てくれました。研究がしたいというので、さまざまな化合物を探す課題があるよということを彼に話したら、彼は簡単に「簡単じゃないですか。脳をすりつぶしてしまえばいいじゃないですか」みたいなことを言うわけです。

ただ、すりつぶしたらそれはもはや脳ではないし、解剖学は医学の基本だからそれが崩れて

しまうではないかということで、田井中さんも洲崎さんも 2 人とも最初は反対でした。ただ、いろいろ議論を重ねていくと、こういう新しいアッセイは誰もやったことがないということで、うまくいかないだろうけれども試しにやってみてもよいのではないかということになりました。やってみたところ、これが見事うまくいきました。まず脳をすりつぶして、普段と同じようにサンプルを固定します。脳のペーストを作って、それを小分けにしたものを使ったデータと脳そのものを使ったデータが見事に一致することが分かってきました。

それまでに洲崎さんと田井中さんとが協力していくつか良さそうなものは採れていたのですが、こういう系を、新しいシステムを使ったときにうまくいく実感が持てたことも非常に大きくて、その後、この新しい系を使ってさまざまな化合物、さまざまな条件をテストしていくことができるようになってきました。

■ アミノアルコールがブレークスルーの鍵



図－10

〈図－10〉 そうしたところ、アミノアルコールという、アルコールの中でもちょっと変わったアルコール、N という窒素が入ったちょっとアルカリ性のアルコールが非常に劇的な効果をもたらすことが分かってきて、それをネズミの脳に作用させたところ、これが見事に透明になるということで、『Cell』という生物学の中で非常に有名な雑誌に送ったところ好評で、すぐに採択になり、いよいよ発表しようという形になりました。それがちょうどいまから 4 年ほど前の 2014 年 3 月、4 月ぐらいになります。そのとき理化学研究所は神戸にありましたので、神戸の理化学研究所からそれを発表しようという形になりました。発表させていただいたところ、研究者コミュニティには非常に好評で、快く受け入れていただきました。

■ 全身透明化技術と光シート顕微鏡



図－11

〈図－11〉2014年4月は、私たちが東京大学での研究室を立ち上げてからちょうど半年ぐらいたったときでした。それで、当時は再現性が大事、しかも、その研究室だけではなくほかの研究室でも再現されることが大事だということで、実は発表前から私たちの研究隣の隣にある、私の恩師の飯野正光先生の研究室に透明化液を出していろいろ使ってもらおうということを行っていました。

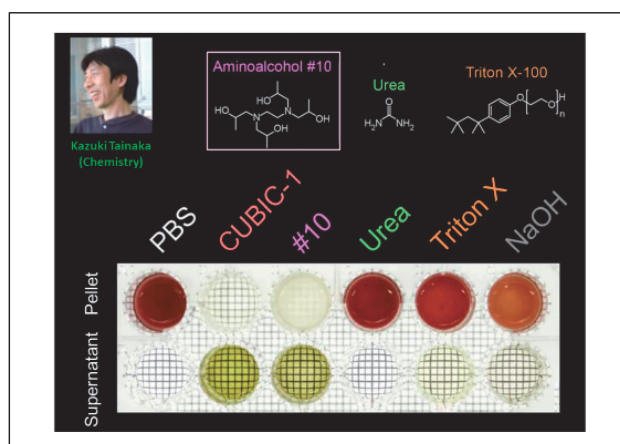
そうしたところ、ある晩、夜10時ぐらいたったかと思うのですが、私は男子トイレに行きまして、偶然、飯野先生のところの学生の鈴木さんと立ち話になりました。彼いわく、「先生、すごいですね。透明化液は何でも透明にするんですね。血液が残ったままの肝臓も透明になるんですね」みたいなことを言うわけです。たいへん驚きまして、実は血液は透明化を邪魔するので、私たちの研究室及び透明化研究、をやっている研究室では血液をかなり一生懸命抜いて透明にするということをやっていたのですが、彼らはそういうことを全く知らずにいろいろなものを透明液にチャポンチャポン入れていて、血が付いた肝臓をそのまま入れても透明になると言うわけです。

そこで慌てて、私と大学院生の久保田さんと田井中さんとで一緒に行ってみたところ、確かに肝臓が透明になっている。ただ、それだけではなくて、ちょっと違うことが見えてきました。どういふことかと言うと、無色透明なはずの透明化液がオリーブオイル色のように少し黄身がかっていることに気がしました。そこで、これは何だろうということで、化学者の田井中さんが、何が起きているか興味があるということでいろいろ分析したところ、偶然、ヘモグロビンという血液の色を作っているヘムが、実は先ほど違う活性で見つけてきたアミノアルコールによって非常にマイルドな条件できれいに抜けていくことが分かってきました。この2人が立役者になります。〈図－12〉



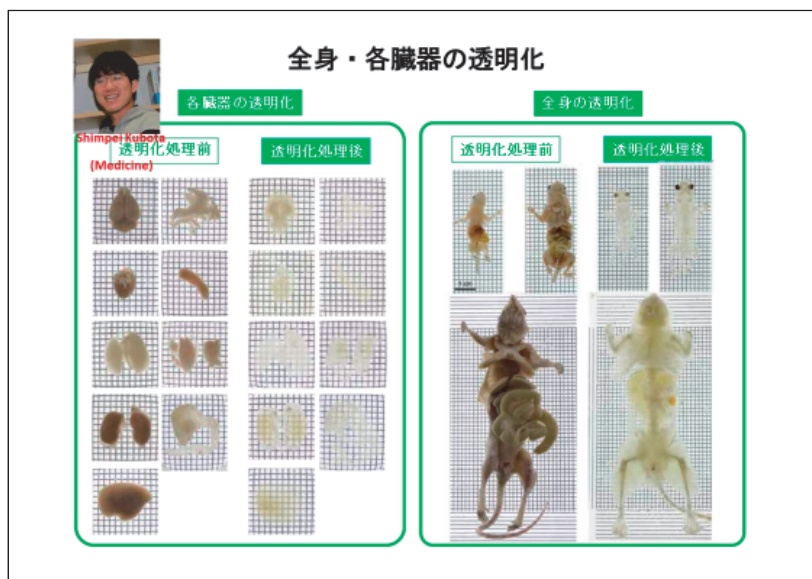
図－12

■ アミノアルコールによる脱色作用



図－13

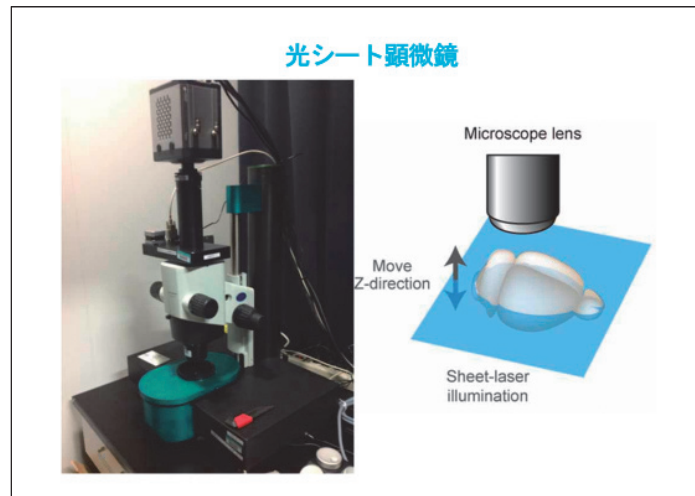
〈図－13〉実際にこれが肝の実験なのですが、血液が透明化液によって透明になる。その上澄みがオリーブオイル色になる。その原因はこのアミノアルコールだということが分かってきました。その後、私たちは1600個もの化合物を研究していろいろ探していったのですが、最終的に分かってきたのは、どうやらこのアミノアルコール及び脱色をするさまざまな化合物がヘモグロビンとタンパク質の間の相互作用というか、その間の結合を、ヘモグロビンのタンパク質側の構造をうまくまねて抜いていることが分かってきました。



図－14

〈図－14〉そこで、血液が脱色されるということで、最初は脳だけだと私たちは考えていたのですが、大学院生の久保田さんが「上田先生、それもいいですね。脳だけではなくて、血液がいっぱい含まれているさまざまな臓器にも応用してみましょうよ」ということを言い出しました。それで彼がやってみたところ、これはビフォーアフターで、きれいに透明になる。じゃあということで、産まれたばかりの1日目、あるいは7日目の赤ちゃんマウスに適用したところ、これも透明になる。じゃあということで、大人になったマウスに適用したところ、これもかなり透けていくことが分かってきて、これはすごいということで全身にも使える技術になってきました。

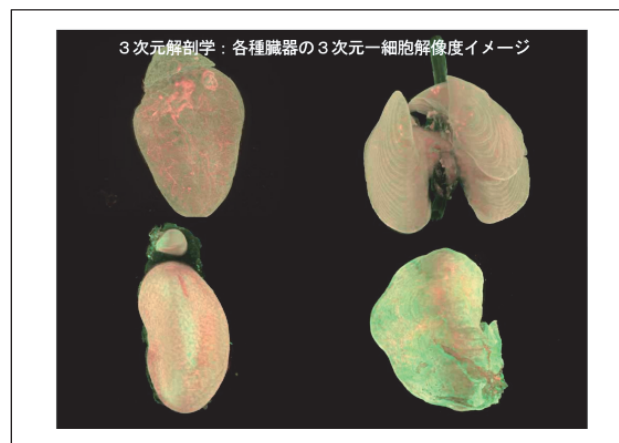
■ 古くて新しい顕微鏡



図－15

〈図－15〉 こういうふうに透明化になったというのはどういうことをするかと言いますと、実は古くて新しい顕微鏡が使えることが非常に良い点になります。どういう顕微鏡かというと、普通の顕微鏡は、光を照射してその跳ね返りを見るとか透過を見るという形で、光を当てる道と光を観察する道は同じで平行であることが多いです。ただ、この顕微鏡は光シート顕微鏡と言いますが一風変わっていきまして、横から光をシート状に当てて、上からパシャッと二次元画像を撮る。こういう顕微鏡になります。

当然、光は対象が透明でないと進んでいきませんので、見るものは透明でなければいけないという特別な制約がある。発明は古いのですが、近年ようやく盛んに使われ出した顕微鏡です。



図－16

〈図－16〉 こういうものを使って観察していくと、心臓や肺、腎臓、肝臓といった私たちの体を構成する非常に重要な臓器を構成する1粒1粒の細胞をしっかりと観察することができるようになってきました。

■ 国内外での反響



図-17



図-18

〈図-17、18〉 これを同じ年の11月に同じように「Cell」誌に発表させていただいたところ、反響が非常に多くございました。まず1つは、その年のImage of the yearの1つに科学界の中で選ばれたり、Method of the yearの1つに選ばれました。海外でも『THE WALL STREET JOURNAL』など、さまざまなところから取り上げていただきました。

研究者個人に対する反響も多く、まずフランス人のディミトリーさんがオーストラリアでめでたく独立した研究室を新たに立ち上げることができるようになりました。田井中さんは新潟大学で教授として新しく研究室を開始する形になりました。では、洲崎さんはどうだったかということ、現在売り出し中です(笑)。学長経験者の方もいらっしゃるということですので、どこかいいところがあったら、非常に優れた直感、及びこのコラボレーションで論理もだいぶ付いてきたという形で、若手のホープですのでご相談いただければと思っています。

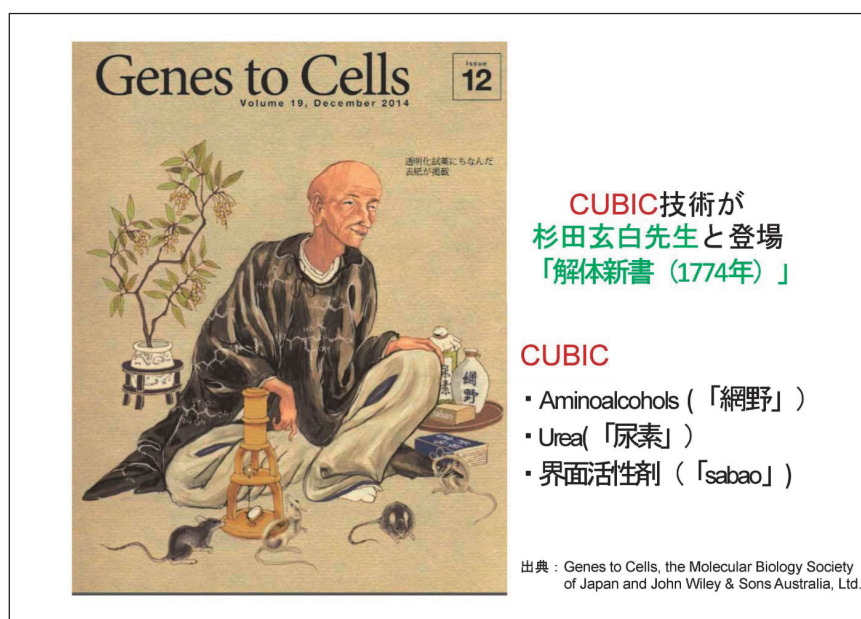


図-19

〈図-19〉 うれしかったのは、その年の終わりごろ、ちょうど12月に分子生物学会という生物学

の中で一番大きな学会があるのですが、その学会誌の表紙に私たちの透明化技術が登場することになりました。フィーチャーしてくれたんですね。どなたと登場したかという、杉田玄白先生という、歴史で習ったかもしれませんが、『解体新書』というオランダ語で書かれた解剖学の本を日本語に翻訳していった、いわば初めて日本で解剖学を始められた方と共に登場しています。

では、どこに透明化液があるかという、少し見えますか。透明化液の中身はアミノアルコールですが、ここに「網野」と書かれていまして、あと尿素と界面活性剤というのがここにあります。界面活性剤は石鹼ですね。ここに石鹼が書かれている。『解体新書』がここにありまして、ちょっとミスリーディングですが、透明になったマウスがいる。ミスリーディングと言った意味は、実は脂質を取り除いたりするので、マウスは決して生きていないため、ちょっと誇張が入っているのですが、透明なマウスと共に置いている。

あと、この元絵があるのですがけれども、ずいぶん前に著作権が切れておりまして、これを書いてくださったアーティストの方はやりたい放題やっています。どこにやりたい放題が見えるかというと、この Aminoalcohol とか Urea、界面活性剤が非常に高名な杉田玄白先生の袈裟の上にどんどん書かれています。

■ 3次元解剖学を医学へ応用する

当時の医学部生はこの解体新書等々を見ながら2次元で解剖学を学んで、頭の中で再構成するという行っていました。ただ、現在は透明になって3次元画像がそのまま撮れますので、バーチャル・リアリティという技術を使って、あたかも3次元を体感できるかのように学ぶことができる可能性ができてきた、というのが杉田玄白先生の時代からの発展になります。

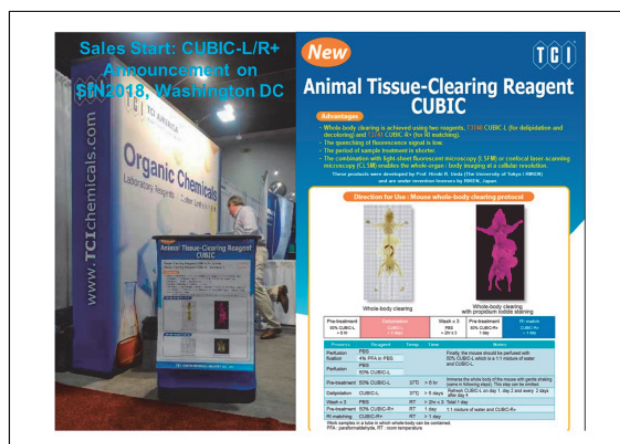
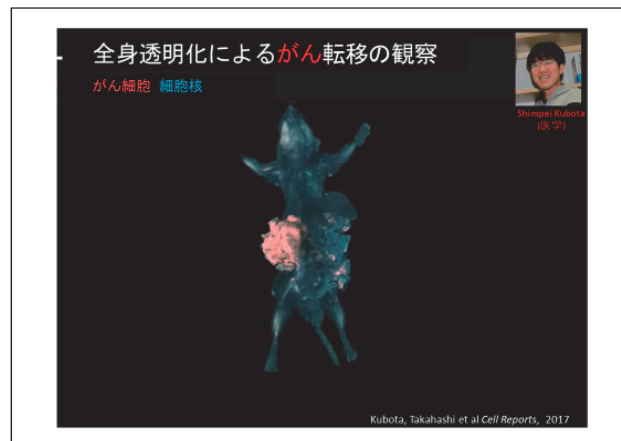


図-20

〈図-20〉その当時は限られた化合物のテストでしたが、さまざまな化合物をテストできますので、先ほど申し上げたように、その後、私たちは1600あまりの化合物を1つ1つ丹念に見つけていき、脂質を取り除くベストな化合物は何か、血液を取り除くベストな化合物は何か。こういったものを探索することができるようになりまして、昨年末にこの化合物を世界的に販売することができるようになりました。

■ 全身透明化によるがん転移の観察

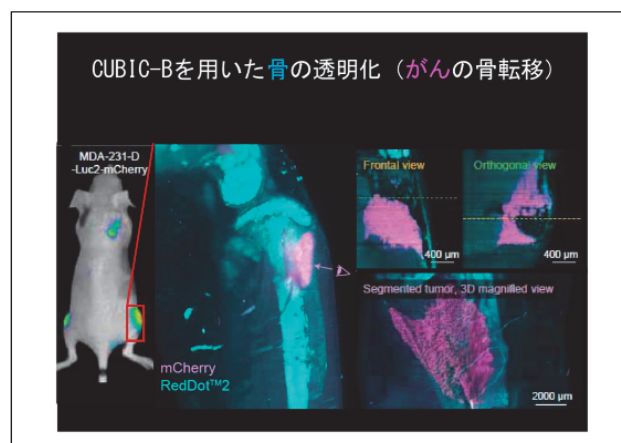


図－21

〈図－21〉 こういう技術をさまざまに医学応用していこうという試みも少しずつ始まっております。これは東京大学の宮園先生、高橋先生、江幡先生たちとの共同研究ですが、例えば動物にヒトのがんを植えて、それが一体全体どういうふうに転移していくのか。こういうことを見ていこうということもできるようになってきました。転移先のがんを1細胞1細胞、1つ残らず見るのが現実のものとなってきた。

あともう1つは、ここにはお出ししていませんが、抗がん剤を投与するとほとんどのがんが死滅していくわけですが、厄介なのは残っているがんです。この残っているがんも全細胞解析できますので、1細胞1細胞見ることができて、その性質を明らかにする研究がまさに始まろうとしています。

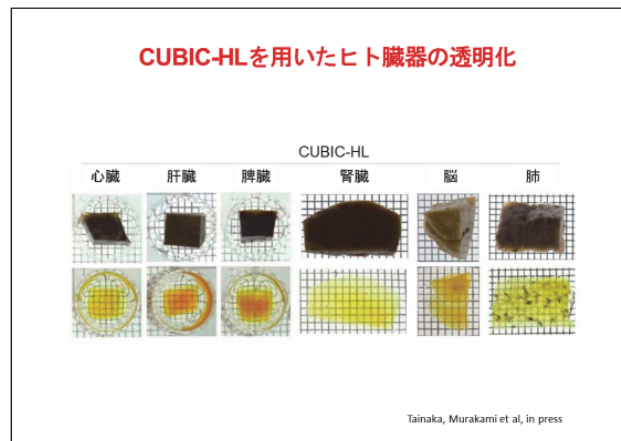
■ 進化を続ける透明化技術



図－22

〈図－22〉 先ほど、マウスが透明になりましたと申し上げたのですが、実はまだ透明になっていない重要な組織がございまして、これが骨です。今年の7月末から8月にかけて発表させていただいたことですが、骨も透明になりまして、骨に転移していくがんを直接観察したり、背骨の中の脊髄を直接観察したりということもできるようになっています。

■ CUBIC-HL を用いた人臓器の透明化

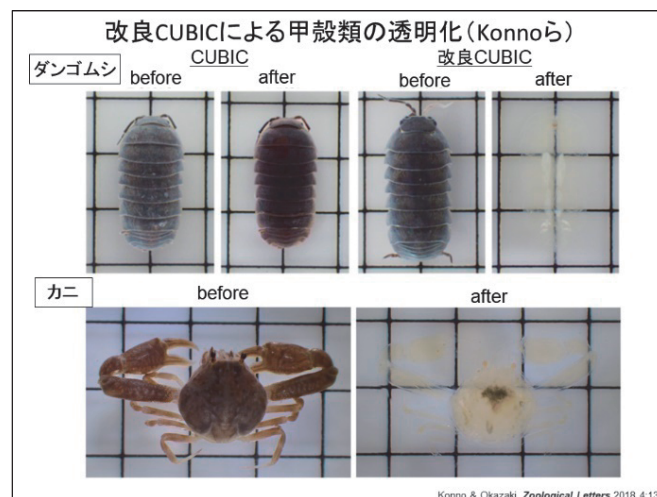


図－23

〈図－23〉あとは動物の研究だけではなくて、実は今年に入ってからヒトの臓器もしっかり透明にできるようになってきました。ここに心臓、肝臓、脾臓、腎臓、脳、肺とありますが、お亡くなりになられた方の病理サンプルをいただいて、それを透明にしたというものです。だいたい数センチの幅のものを透明にしていく形になります。

理想は、臓器丸ごと透明にすることももしかしたらできるかもしれません。ただ、こういうサンプルは集まりがなかなか悪くて、もし皆様の中でわれこそは透明になりたいという方がございましたらサンプルを大募集中です。懇親会でお声かけいただければと思っております（笑）。

実際にマウスだけではなくてサルも透明になりまして、新しい顕微鏡を作ってサルの全身観察もできるようになってきました。MRI、あるいはCTといった医学的に使われる機器でも非常に似たような画像が撮れるわけですが、それと異なるのは、まず細胞レベルのデータに簡単にズームインしてアクセスできるというのが優れた点になります。



図－24

〈図－24〉こういうことを発売して、論文も発表していると、私たちが予想もしなかった応用にもときどき出くわします。その1つをご紹介しますと、日本の研究者の紺野さんと岡崎さんという

方が、あろうことかダンゴムシにわれわれの透明化を少し変えたものを応用しました。これはダンゴムシ before ですが、皆さん、after は見えますか。透明ダンゴムシができてしまった。これは全て外骨格がありますので、それが透明になってしまった。あとは透明ガニというのができて、カニも透明になるという形になります。

私にはささやかな野望がございまして、昔、学研の付録というのがありましたが、学研の付録のような形で小学生が、不幸にして亡くなってしまった小さな小さなお気に入りの虫を例えば透明にして、そこに含まれている全ての細胞を観察できる。こういったものが気軽にできるところまで技術のハードルが下がっていくと本当の技術になったかなということを妄想しています。

■ 透明化の化学の確立



図-25

〈図-25〉あともう1つおもしろかったことは、この研究をやっている中で、実は脳、あるいは私たちの体そのものの性質もより深く知ることができるようになってきました。どういうことかというと、化合物にだいたい1週間程度漬けておくと、脳を10倍ぐらいに膨らませたり、また同じぐらいのサイズに戻したりというのが可逆的にできることも分かってきました。

組織の透明化は100年ぐらい前に開始された研究で、当初から透明化の「物理」はわかっていたのですが、透明化の「化学」は確立されていませんでした。いままさに、これまでなかなか実現できていなかった透明化の「化学」が脳の物性を基に、詳しくは申し上げませんが分かってつつある実感を持っています。透明化にはだいたい脂質を取り除く「脱脂」、色素を取り除く「脱色」、骨を取り除く「脱灰」、溶媒の屈折率を合わせる「屈折率調整」、組織の屈折率を下げる「膨潤」の5つぐらいの化学的なプロセスがどのように脳の物性や溶媒の物性に寄与し、透明化を実現しているかを統一的に理解できるようになってきました。また、各プロセスに重要な化学的な性質に関しても、大学院生の村上さんらが1600もの化合物を丹念に調べてくれたおかげで、それぞれの化学的な原理が分かり始めてきています。すなわち、透明化の化学をいままさに我々自身の手で確立できつつあるということを実感しております。

■ 世界初の全脳全細胞解析

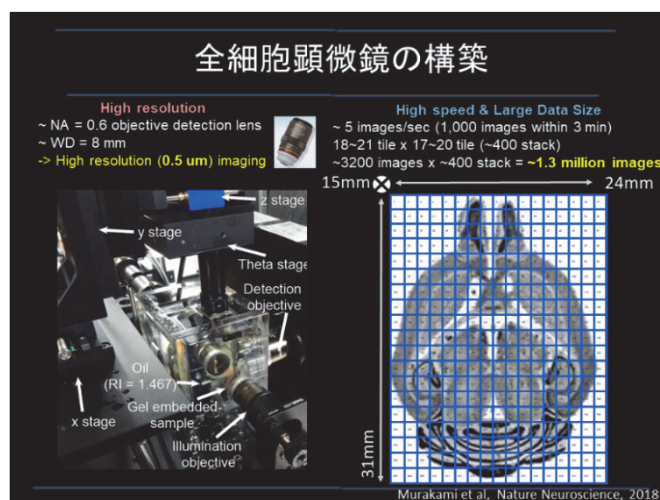


図-26

〈図-26〉実際にこのように膨らみ、膨らむと非常に微細構造が観察できますので、これを観察してみようということで、全細胞を観察できる可能性がある顕微鏡を、私たちの研究室に来てくれた東大の物理学科出身の博士課程の真野さんという方がつくってくれました。1つの顕微鏡の視野、つまりのぞける場所はこの一角になりますので、とても全脳をカバーできません。しかしながら、これを400回ぐらい繰り返すことで全脳をカバーして、全部で130万枚ぐらいのデータを取得しました。そうしたところ、全部で14TBぐらいのデータが1つの脳から得られる形になりました。

それをつなぎ合わせて作った画像がこちらになります。〈図-27〉

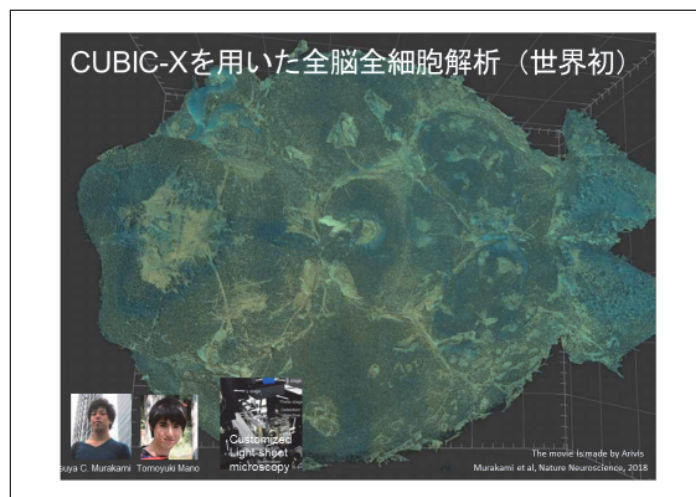


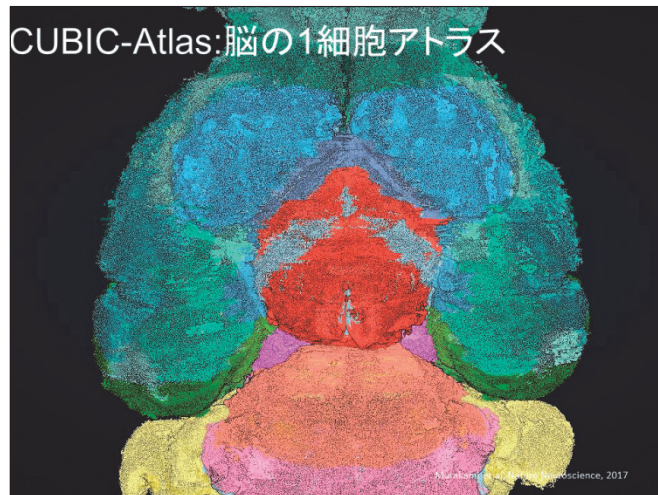
図-27

何を見ているかというと、細胞の中の核、つまりこの1個が細胞1つに相当するとお考えいただけと思うのですが、そういう1つ1つの細胞を見られるところまで来ました。それではということで、これを数えてみようということになりました。実際に、真野さんと、膨らませることに成功した村上さんがタッグを組んでこの全細胞解析を文字どおりやってみよう。

マウスの脳がどのぐらいの大きさかというと、だいたい皆さんの小指の半分ぐらいの大きさで、0.5gぐらいになります。数えてみると、なんと7223万9062個の細胞がまさに脳の中にあることが分かってきました。この数で、僕は最後の「2」というのになかなか自信が持てないのですけれ

ども（笑）。どのぐらいの数かというと、ドイツの人口が 8270 万人とされていますが、それよりもちょっと少ないぐらい。フランスよりも多くて、ドイツよりも少ないぐらい。いま日本の人口は 1 億数千万とされていますが、もしかしたら将来の日本の人口ぐらいの数が皆さんの小指の中に含まれているかもしれません。

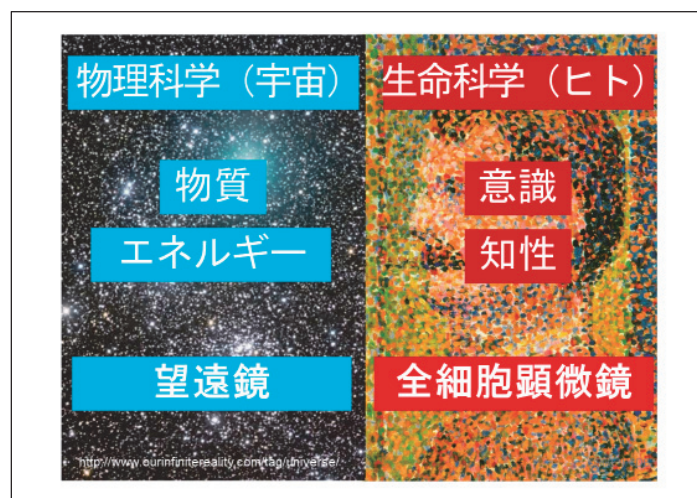
■ 生命の点描画



図－28

〈図－28〉 こういうものを基に点描画をつくってみようということで、この脳の細胞の 1 つ 1 つを点で表現したのがこちらになります。なぜ点描画をつくる必要があるかというと、脳には場所ごとに違った機能が、この場所は視覚、この場所は聴覚、この場所は触覚という形で違った場所には違った機能があるということが知られているのです。

その機能ごとに、つまり番地ごとに色を付けたのが上図になります。実際にこういう 1 点 1 点が点で表現されている形になります。いまはこの脳の点描画を使って、ここに脳の病気をマップしていこう、当てはめてどうことが起こっているのかを見てみようということがまさにできはじめている状況になります。



図－29

〈図－29〉 実際にそういう意味で、最初私たちはヒトの、あるいは動物の全身・全脳の細胞を見

ていこうという形でやっていきました。やっていると物理学にだいぶ近くなってきました、物理学では望遠鏡等を使って物質やエネルギーといったものを見て、あるいは考えていくわけですが、私たちの場合はヒト、あるいは動物、生物を対象にして、全細胞顕微鏡というものを使って、そこに含まれているさまざまな分かっていないこと、健康や意識、知性といったところに少しずつ迫ろうとしているという形になります。

面白いのは、この顕微鏡がだんだんだんだん望遠鏡に似てくるんですね。どういうことかという、透明になるものがどんどん大きくなってくると、最初は小さなものを見るために小さな顕微鏡でよかったのですが、だんだん大きくなってきて、レンズも少しずつ大きくなってきて、向かっている先はだんだん望遠鏡に近くなってくるということが見えてきています。

■ なぜ全細胞解析技術をつくろうと思ったのか

きょうは全細胞解析のお話を少ししましたが、なぜこんな技術をつくろうと思ったのか。また、この技術を使って私たちの内面というものをどのように理解していこうか。こういうところを最後にお話しさせていただいて終わりたいと思います。



図－30

〈図－30〉まず、どんなところから全細胞解析に行こうとしたのかということですが、私は大学の1年ごろに自分の内面を理解するということに興味を持ち始めました。ただ、それはなかなか難しい。そこでもう少しその基盤となっているような健康、あるいは生物学が前提としている生命というものを捉えてみたいなという思いが強くなりました。ただ、やはりそれもなかなか難しいということで、もう少しそれを分解していった、物理では最初に出てくるような概念である時間や空間といったところに興味を持ち始めました。生物にとっての時間とは何だろうというわけです。ただ、どのように迫っていったらいいかがなかなか見えない1、2年を過ごしておりました。

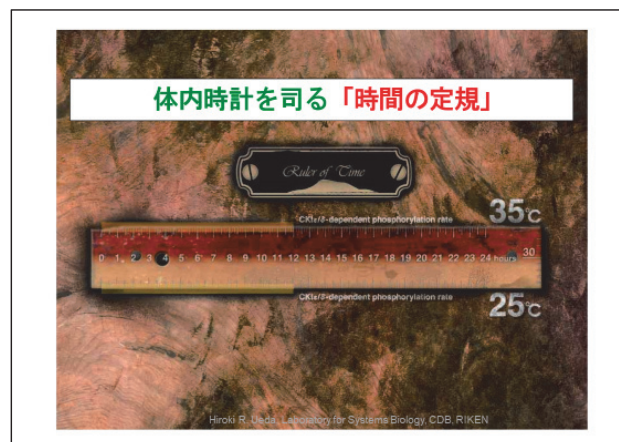


図－31

〈図－31〉ただ、大学3年生ぐらいのときに生物学の中で非常に大きなニュースが飛び込んでまいりました。私たちの遺伝子の総体、ゲノムが解けるというニュースが飛び込んできました。つまり、私たちはある種の部品でできていて、そういった部品の情報が、完全ではないけれども手に入る。つまり、有限のものとしてとらえられるということが見えてきた。そこで、いきなり健康とは何かとか生命とは何かというのは難しいので、少し身近だけれども難しすぎない問題。簡単すぎず難しすぎない問題として時間の問題に特化して、そこをしっかりとやり始めようと考え、大学4年生のころから、私たちの地球をいわば体の中に模している概日時計というものに着目した研究を始めました。

■ 概日時計

その当時、一番おもしろいと思っていたのは温度によって時間が変わらないという現象でした。これはなぜ重要かというと、地球は赤道上も北極上も24時間で一回りするので、温度によって一回りする時間が変わってはまずいわけです。ただ、生物の中でこれを実現しようとするとなかなかたいへんです。というのも、体の中では酵素反応が重要で、酵素反応は必ず温度に依存するのでこれは超難問だと、この分野では言われていました。



図－32

〈図－32〉幸運なことに、2009年に私たちは世界で初めて、私達の概日時計の中心的な酵素が実

は試験管に取り出してきて温度を 35℃にしても 25℃にしても、その酵素反応のスピードが全く変わらないということを発見しました。その後詳しく調べてみると 45℃ぐらいの高温から 15℃ぐらいまでの低温まで温度が高くて低くてもそのスピードが変化しない酵素が私達の概日時計の中心にあるということが見えてきました。ちょうど大学 4 年生ぐらいから 10 年以上取り組んできた課題でしたので、だいぶ解けてきたなと感じました。そこで細胞の中の時間というところから、体や脳の時間に着目していこうというのを 2010 年ぐらいに開始しました。

■ 脳の時間と睡眠研究

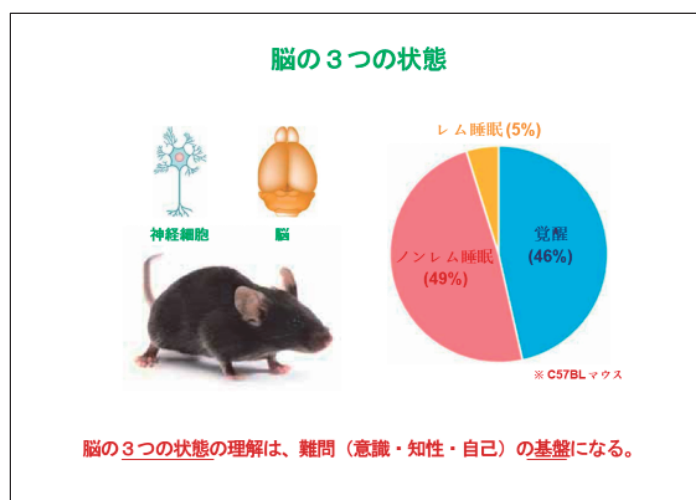


図-33

〈図-33〉脳の時間はどのようなになっているかというと、起きている時間がネズミの場合だと半分で、寝ている時間が半分になっている。この睡眠の時間の量や質がどのように決まっているのかを見ていこうということを考え、脳の時間として睡眠の研究をスタートさせました。

■ 睡眠研究の重要性

睡眠は非常にさまざまな病気にも関わるので、睡眠が理解できるとさまざまな病気も理解でき始めるということで医学的にも重要だと考えられています。

そこで、そこをしっかりと研究しようということで、まずはその当時、3つの目的を立てました。1つは簡便に睡眠を測れるようにしよう。もう1つは、簡便に新しい動物をつくれるようにしよう。最後がきょう前半にお話した、簡便に脳の中をのぞけるようにしよう。この3つがそろって初めて脳が寝ている、起きているということを腑に落ちる形でしっかり理解できるのではないか。こういうことを2010年に立てて、それぞれ開発していったという形になります。



図－34

〈図－34〉まず、簡便に睡眠を測ることを可能にする技術に関してですが、2010年当時は動物の睡眠を測るには脳外科のような手術をしなければいけませんでした。ダメージは大きいですし、時間もかかりますしいへん難しい手術です。これを解決しようとする、外科的な手術をしていたのでは全く駄目だと。これが外科的ではなくて非侵襲でできるようにならないと駄目だなというのが課題でした。

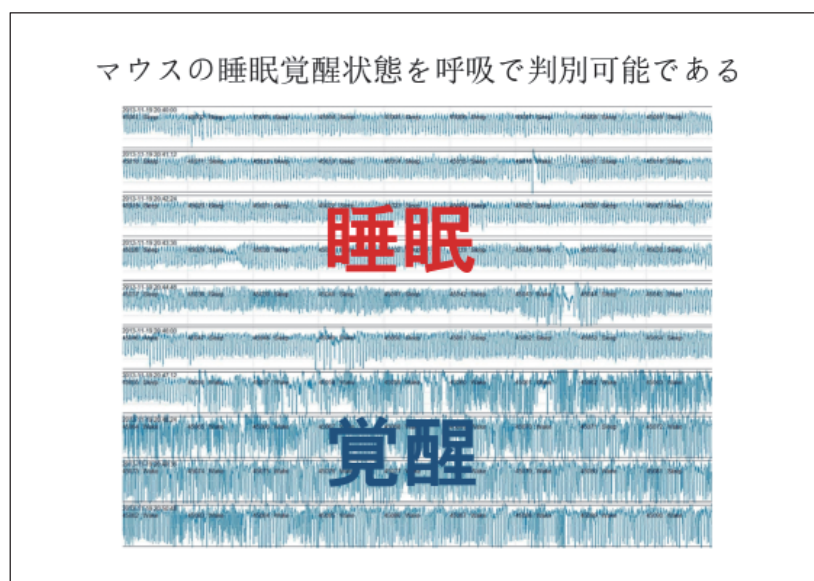


図－35

〈図－35〉あと、データを採ったあとに睡眠を目で見て判定するのですが、これはこの開発を担

当した砂川さんという研究員の方が、採ったデータを、寝ている、起きているというのを判定しているものになります。iPad でやっただいぶ効率化はされているのですが、非常に主観的で、かなり時間もかかります。そして、なにより退屈なんですね。研究は楽しくなければいけませんので、完全自動化しようと考えました。どのように考えたかというと寝息で睡眠を測れるようにしようということを工夫しました。

■ 解決策：呼吸



図－36

〈図－36〉動物を大きなチャンバーの中に入れて、動物が呼吸すると胸郭が動きますので圧変化が起こります。その圧変化をピエゾセンサーで測るという仕組みになっています。そのピエゾセンサーを砂川さんが偶然みつけた最適な位置に置くと、ノイズがほとんど消えて SN 比が解決されました。その結果、寝ているときと起きているときの寝息のパターンを正確に測定できることが分かってきました。



図－37



図－38

〈図－37、38〉そこでまず最適な睡眠チャンバーを私達自身で設計しました。その後、このチャ

ンバーを 6×6 で 36 個備えたラック、本棚みたいなものをつくりました。さらに、チャンバーを 36 個備えたラックを 26 個用意した施設を理化学研究所にお願いして大阪に建てていただきました。現在は 936 匹の動物の同時測定を大阪で行っています。東京大学では 200 匹ぐらいの動物を同時測定することが可能です。〈図-38〉は東大医学部の学生、医学部は 6 年ありますが、ちょうど 3 年生が実習に来てその日の内に睡眠を測っている写真です。非常にハードルが低くて、普通だったら 3~6 カ月ぐらい修行しなければいけないところが、もう来たその日から測れるというぐらい簡便化できるようになってきました。

■ ノンレム睡眠・レム睡眠に重要な遺伝子の発見



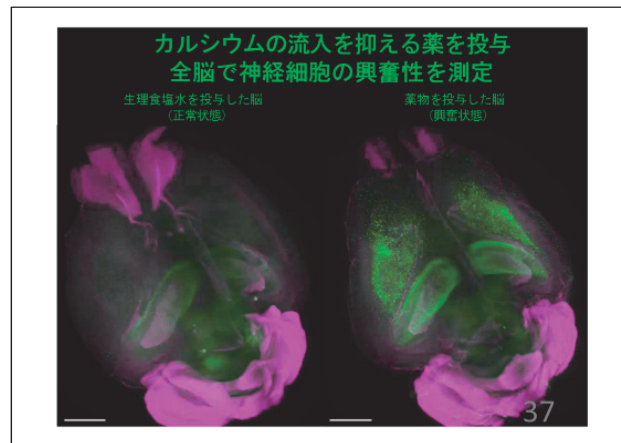
図-39

〈図-39〉きょうは詳しくはお話ししませんが、こういう技術を使って、ある遺伝子を失ったような動物を毎週つくれる技術を新たに 2016 年につくりました。その結果、私たちの睡眠の中で深い睡眠と言われているノンレム睡眠と、浅い睡眠と言われているレム睡眠に重要な遺伝子を 2016 年と 2018 年にそれぞれ発見することに成功しています。



図-40

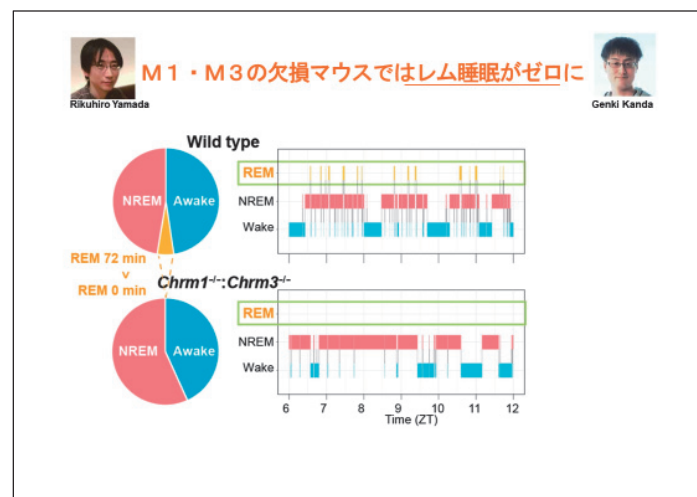
〈図-40〉どんなことが分かってきたかということ、これまではカルシウムという物質は脳を興奮させる、ある種のアクセルだと思われていたが、実はいろいろ調べてみるとアクセルではなくてブレーキだということが分かってきたということを 2016 年に発表しました。



図－41

〈図－41〉これはこれまでの常識とは違うのでしっかり調べようということで、先ほどご紹介した透明化実験を行って、脳を透明にしてカルシウムの入り口を止めたときに脳がどのようになっているのかということを見ました。右側の図がカルシウムを止めたときの脳の状態になります。それまで言われていた従来のカルシウムアクセル説によれば、もしカルシウムを止めるとおとなしくなって、緑色が落ちているというのが予想でした。一方で、私たちのカルシウムブレーキ説が正しいとすると、ブレーキを止めますので脳が興奮するはずで、緑色は細胞が興奮すると出てくるタンパクなのですが、カルシウムを止めるとやはり脳全体にわたって細胞が過度に興奮していることが分かってきて、カルシウムブレーキ説はどうやら正しいということを決定的に示すようなデータが新しい技術で採れてきたという形になります。

■ 全細胞解析技術が道を開く



図－42

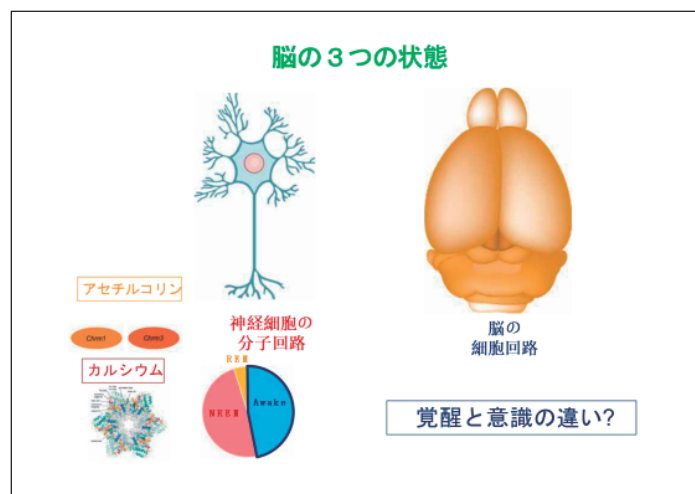
〈図－42〉私たちは今年 2018 年に、ちょうど 2 週間前ぐらいにわりと大きな発見をすることができました。偶然ですが、私たちはある 2 つの遺伝子を失った動物をつくったところ、夢をより多く見る睡眠、脳が活発に活動していると言われていたレム睡眠という状態が動物からほぼ全くなってしまう事を発見しました。普通は私たちも含めてレム睡眠があるのですが、それがほぼ 0 になってしまうことが世界で初めて分かってきました。すなわちレム睡眠を特徴づける必須遺伝子を初めて同定することができました。



図－43

〈図－43〉これを発表したところ、メディアを含めて非常に多くが取り上げてくださいました。『Newsweek』や世界的なところがいくつか取り上げてくださいました。おもしろかったのが、その中の1つの新聞社がどんなことを見出しに書いてくれたかということ、レム睡眠は夢に重要だと言われているので、「Japanese scientists disrupt dream」という感じで、「夢を壊した」という見出しで紹介してくれました。

ちょっと見出しはひどいなと思ったのですが、レム睡眠が悪さをすると考えられている病気がございます、例えばうつ病やPTSDと呼ばれる病気があります。PTSDの場合、例えば戦争に行ってそのあと心にいろいろな悩みを抱える。こういうときにはレム睡眠が悪さをするとされています。こういうレム睡眠に関わっているかもしれない遺伝子が分かってくるとその治療の道を開くことになります。近い将来そういったことができればと思っています。



図－44

〈図－44〉今回の全脳、あるいは全身の全細胞解析ということが分かってくると、寝ているだけではなくて、起きているときの状態。起きているだけではなくて、私たちは意識を持っていますが、そのような状態がどのような回路で担われているのか。こういったところも少しずつ分かってくる可能性があります。私にとっては大学生のころから思い描いていた自分の内面の研究に、時間の研究から少しずつ技術開発と共に近づいていけるのではないのかなと考えています。

■ 最後に

最後になりますが、今回の研究はさまざまな共同研究者の方との共同研究になります。この場を借りて御礼を申し上げたいと思います。ご清聴どうもありがとうございました。

Acknowledgements(CUBIC)

Ueda Lab @ RIKEN & UTokyo

















RIKEN QBIC

RIKEN RAP




RIKEN CMIS




RIKEN CDB




Lab. for Animal Resource and Genetic Engineering (H. Kiyonari and T. Abe)

Gifu University




RIKEN BSI



Atsushi Miyawaki

Acknowledgements (NREM Sleep)















41

REM Sleep

Contributors	Acknowledgements
Y. Niwa (general)	K. Asakawa (FISH imaging)
G.N. Kanda (general)	S. Fujino (SSS)
R.G. Yamada (general)	Y. Fujiwara (ES/CRISPR mice)
S. Shi (SSS)	K. Furuno (SSS)
G.A. Sunagawa (SSS)	J. Hara (animal experiments)
M. Ukai-Tadenuma (ES/CRISPR)	S. Hasegawa (housing mice)
H. Fujishima (CRISPR)	T. Haze (molecular construction)
N. Matsumoto (EEG/EMG)	N. Hori (CRISPR mice)
K-h. Masumoto (microarray)	R. Kageyama (BAC constructions)
M. Nagano (microarray)	A. Kishimoto (ES/CRISPR mice)
T. Kasukawa (microarray)	K. Kuwana (CRISPR mice)
J. Galloway (CUBIC)	N. Koide (ES mice)
D. Perrin (CUBIC)	C. Kominami (SSS)
Y. Shigeyoshi (microarray)	M. Kunimi (SSS)
H. Ukai (ES mice)	K. Masawaki (housing mice)
H. Kiyonari (Tg/ES mice)	E. Matsushita (housing mice)
K. Sumiyama (CRISPR mice)	T. Mikami (SSS)
H.R. Ueda (correspondence)	A. Millius (proofreading)
	S. Nakanishi (tetO-EGFP/TeNT mice)
	I. Nikaido (BrainStars admin)
	A. Nishiyama (ES/CRISPR mice)
	M. Nomura (CRISPR mice)
	Y. Sakakida (animal experiments)
	G. Sato (molecular construction)
	M. Shiokawa (ES/CRISPR mice)
	E.A. Susaki (FISH protocol)
	K. Tanaka (SSS)
	K. Toyoshima (FISH imaging)
	T. Tsuji (FISH imaging)
	K. Tsujino (animal experiments)
	Y. Uranyu (housing mice)
	M. Yamamoto (SSS)
	J. Yoshida-Garçon (ES/CRISPR mice)
	S. Yoshiura (critical comments)
	H. Yukinaga (animal experiments)
	Y. Wada (CRISPR mice)
	D.R. Weaver (Per1/2 DKO mice)
	LARGE, RIKEN BDR (housing mice)
	Cell Design Core, RIKEN BDR

42

【質疑応答】

司 会： 上田先生、どうもありがとうございました。では、ここから皆さまのご質問を受け付けたいと思います。先生へご質問の方は挙手でお知らせください。

参加者： たいへん興味あるお話をありがとうございました。1 つ質問なのですが、先ほど脳の点描の絵を見させていただいて、いろいろな場所で脳の機能が違うところを色を変えていましたが、あれは透明化することで機能によって違うところを見ることができたという形ですか。

上 田： 少し違います。先ほどの図は機能ではなく場所によって細胞に色をつけています。脳は解剖学的な位置によって場所ごとに名前が付けられていて色はその名前を表しています。実は、場所さえ分かれば、ある程度の機能がこれまで調べられた膨大な研究データからある程度推測できるのです。ただ、場所によってはさまざまな機能の細胞が近くに存在している場合があります。この場合はその細胞を1つ1つ丹念に染め分けることが重要になります。この染めるという技術も最近ようやく全脳レベルでできるようになってきているという状況です。

参加者： というのは、最後のところで脳のいろいろな機能のところが見られるようになったということで、染め方によって見えてくるというのがあるのかなと聞いていたのですが。

上 田： その通りです。今回は、例えば薬を投与したときに治るけれども副作用もある。このような主作用や副作用がどの脳部位に出ているのかななどを調べるのが可能です。あるいは動物が行動をしたときに脳のどこが活動していたのかを調べることも可能です。このような実験は、ある意味で、生前の記憶を動物の死後に見るという実験になります。というのもマウスは透明化の前にお亡くなりになって、脳を取り出してきて、マウスは脳のどの場所を使っていたのかなと後から推測する。ちょっと怖い話になりますが、そういうことが見えるようになってきたという状況です。

参加者： ありがとうございました。

司 会： ほかにご質問はございますか。

参加者： 最初にわれわれにご質問いただいた内容ですが、人間の細胞の数は一般的には60兆個と言われています。その辺、先生はどのようにお考えですか。

上 田： まず1kgあたり1兆という形で、60kgの方だとそのぐらいになろうかと思います。30gで300億なので、1gあたり10億というのが概算です。勘のいい方は少しお気づきになりましたかね。0.5gで7000万だと数が合わないじゃないか。0.5gだったら5億ぐらいあるんじゃないかと思われる方もいらっしゃるかもしれませんが、実は脳は密度が非常に薄くて10分の1ぐらいの薄さになっている。なぜ薄いかというと、脂質が非常に多くあるからです。細胞と細胞がつながるために脂質をかなり使っていて、そこに細胞の核が浮いているという状況になっていますので、脳は細胞の密度が10分の1ぐらいになっています。われわれは脳の全細胞解析ができて「やった」と思ったのですが、実は一番簡単な臓器だった。まだまだ道のりは長いなという状況です。

参加者： ありがとうございました。

司 会： それでは、これでご講演を終了とさせていただきます。
本日はどうもありがとうございました。

■ このレポートは平成 30 年 9 月 19 日コートヤード・マリオット銀座東武ホテルにおいて行われた、第 146 回本田財団懇談会の講演の要旨をまとめたものです。本田財団のホームページにも掲載されております。
講演録を私的以外に使用される場合は、事前に当財団の許可を得て下さい。

発 行 所 公益財団法人 **本田財団**
104-0028 東京都中央区八重洲2-6-20ホンダ八重洲ビル
Tel.03-3274-5125 Fax.03-3274-5103
<https://www.hondafoundation.jp>
発 行 者 山 本 雅 貴