

全身透明化により「時間」の謎を解明する



Hiroki R. Ueda

●1975 年福岡市生まれ。東大医卒業。東大大学院医学研究科を経て03年、理研チームリーダーに。13年より現職。専門は生命の「時間」の研究。

生命の基本単位＝細胞

生命の基本単位である細胞は約350年前に発見されました。当時間発された顕微鏡でコルクを見ると、穴がたくさんあいていて、列車のコンパートメントに似ていたことから、セル(細胞)と名付けられました。

細胞は私たちの存在や環境の概念の基礎をなすものですが、私たちの体の細胞すべてを解説することはまだできていません。

マウスの脳の透明化に成功

マウスの脳の重さは約0.5グラムですが、約5億個の細胞があります。マウスの脳を奥まで見るためにいろいろな研究者が工夫を重ねてきました。

光がまっすぐに進むと透明になりますが、脳の組織の中ではまっすぐに進みません。脳内には水やたんぱく質や脂質が不均一に分布しています。光の屈折率が違う物質が混ざり合っているため、光の散乱が起きて不透明になっています。脂質や水を取り除いて屈折率を均一にすると、脳が透明になっていきます。

生きたままでは難しい技術ですが、死んだマウスの脳を透明にしようという試みが続けられてきました。日本はこの研究が非常に進んだ国です。既存の成果によって、マウス胎児の脳を透き通らせ、あ

る程度の深さまで見えるようになってきたのですが、成体マウスの脳を透き通らせるまでには至りませんでした。海外でも有機溶媒などを使う方法が発表されていますが、使いにくかったり、処理に手間がかかったりで、決定的な技術はありませんでした。私たちは脳の「時間」を研究するために成体の脳を簡便に見たいと考えました。

従来は脳一つにつき1個の透明化剤しか試すことができませんでしたが、我々の研究室にきた岸野さんが、一つの脳で何十種類もの物質を試すことができれば効率よく透明化試薬を探せるのではないかと考えました。彼は脳をすりつぶして固定化し、小分けにして化合物を加える方法を試したのです。固定化した懸濁液で透明度が高くなるものは、脳でも透明度が高くなることを見出しました。

研究室の洲崎さん、田井中さんがこの手法を用いて、アミノアルコールがたいへんよく透明度を上げることを発見しました。大人のマウスの脳をアミノアルコールを含む試薬に2週間ぐらいつけておくと透明になりました。

透明化に成功したこと、これまであまり使われていなかった種類の顕微鏡が役立つようになりました。横から光を当てて上から画像を撮るタイプのものです。

この顕微鏡が優れているのは面で撮影できる点です。三次元の脳を細胞1個までわかる「1細胞解



成体(左)と幼児(右)の透明マウス(なお、左右では縮尺が変わっている)。CUBICという透明化方法(2014年4月にCell誌に発表)を用いて不透明な生体組織を処理し、マウスの全身を透明化することに成功した(2014年11月にCell誌に発表)。全身透明化により、身体を構成する全ての細胞を解析することが可能になる。天文学においては、ティコ・ブラーエの膨大な惑星の観察記録をもとに、ケプラーが惑星の運動の法則を導き出し、その後のニュートンの万有引力の発見へとつながった。細胞が発見されてから350年あまりが経過したが、哺乳類や霊長類の全細胞解析はいまだ成功していない人類の夢の一つである。もし、全細胞解析が実現すれば、生命科学においても、ティコ・ブラーエ、ケプラー、ニュートンが現れるかもしれないと夢が膨らむ。

像度」で撮ろうとすると膨大な時間がかかりますが、この顕微鏡なら1時間で全脳を一細胞解像度で撮れます。5億個の細胞の一個一個が手にとるように見えてくるのです。

例えばマウスに光を当てたときと当てないときを比較すると、当てたときは、脳の後ろにある神経の活動が高まっていることがわかります。マウスが脳のどの場所で見えているのかが一目瞭然になるのです。こういう技術ができますと、情報科学や画像解析の専門家もこの分野に参入することができるようになります。

サルも脳も透明化

もつと大きな脳を透明にしようと考えました。マーマセトという猿の脳はマウスの十倍以上の大きさです。透明化試薬につけますと、これも透明になりました。

その次は当然、人の脳になります。お亡くなりになった方の献体の透明化ということになります。

未解明の脳の病気がいろいろあります。アルツハイマー病やパーキンソン病のような疾患を1細胞レベルで見えていくと、今まで見えてこなかった原因の解明ができるのではないかと思います。

そのためには大きな脳の中の小さな構造を見ていかなければいけません。神経細胞の軸索や突起まで見たいのです。やってみると、小さな構造も大きな対象の中から見分けられることがわかってきました。数億、数十億個の中から一個一個の細胞を見ていく技術を開発したことを2014年4月に科学雑誌「セル」に発表しました。

マウス丸ごと透明化に成功

透明化技術をほかの臓器に応用するのは簡単ではありません。全身の場合はいろいろな色素が邪魔をします。

例えば血液に色をつけているものは、ヘモグロビンというたんぱく質に含まれている「ヘム」という色素です。

表面の色素を失ったカエルがいます。内臓が少し見えています。透明ではありません。体内の色素が光を吸収してしまい、不透明になっていきます。光を吸収する色素を取り除けば、全身透明になるはずですが。

体の中で光を吸収している色素の一つが先ほどお話ししたヘムです。可視光をかなり吸収します。これも偶然の発見でした。普通は血を抜いた後に透明化処理をするのですが、ある学生さんが手順を間違えて血を抜かないマウスの肝臓を透明化液に入れたところ、周りの液がオリブ色に変わっていき、組織自体は透明になっていったのです。しかもオリブ色は抜けたヘムの色でしかもそれは先に発見したアミノアルコールの効果であることを研究室の田井中さんと久保田さんが発見しました。

これまで脱色するときは過酸化水素水で色素そのものを壊していました。でも、そうすると体内のたんぱく質もダメージを受けてしまいます。酸化ナトリウムを加えて強アルカリにし、強引にヘムを引きはがすやり方もあります。が、こういう研究にはなかなか使えません。アミノアルコールは、非常にマイルドな条件下でヘムを抜いていく効果がありました。

目以外の臓器は透明にすることができました。マウスを丸ごと透明にしたとつい先日、11月6日に「セル」誌に発表したところ、かなりの反響がありました。ワシントン・ポストやウォールストリート・ジャーナルなど海外メディアにも掲載されました。透明マウスは心臓の中も1細胞解像度で見えていくことができます。年を取ってくると心臓の血管が詰まりやすくなりますが、そのときにどんなことが起こっているのかを観察することも不可能ではないと思っています。

ミリ秒単位で活動を観察する

これまでの話は「空間」の話でしたが、この後は、数ミリ〜10ミリ秒の単位で個体の活動をどう見ていくかという「時間」の話です。

細胞一個一個をこの時間単位で見ることがまだできません。ただ、細胞活動の結果としての個体の行動を見ていくことでわかることがあります。

マウスの脳波と筋電図をとるには脳外科手術が必要です。マウスは痛みを感じますし、ダメージを受けます。そうすると「自然な眠り」は難しくなります。手術にも時間がかかりますし、術後10日ほど待つてからようやく測定開始です。研究にも時間がかかってしまいます。高度なスキルが必要で、動物実験の経験がない人には不可能です。

手術をせずにマウスが寝ているのか起きているのかを判定しようとする、人の目に頼らざるを得ません。しかしながら、人間の目で何週間もデータをとり続けるのは大変です。完全に自動化し、非侵襲的で、動物にも人にも優しい技術をつくり上げる必要があります。

マウスの息で睡眠を判定

解決策は息で眠りを判定することだと考えました。マウスの息の変化の測定を続け、睡眠、覚醒の判定を自動にできれば、簡便な実験になります。そこで私たちはマウスを大きなチャンバー（部屋）に入れて息を測る方法を開発することを試みました。

いま大きなホールに私達がついて、ホールの外側にセンサーがあつて、ホール内で少しだけ空調が流れている状況を想像してください。私たちが息をすると、体温は外気温に比べて高いので空気が膨らんで外側のセンサーの圧が少しだけ振れます。

大ホールで一人の息を測るのはたいへんです。マウスの場合も、これまでに開発されたチャンバーは小さなものでした。しかし、正常に生活しているマウスの時間を追うには、マウスが快適に生活できるくらい大きくしないと意味をなしません。

私たちはコンピューター内に仮想的なチャンバーをつくり、息を測るにはどこに工夫を施せばいいかをシミュレーションで試しました。これならできるという工夫に気づき、十分大きくて、正確に息を測れる装置をつくり上げました。

起きているときは筋肉が動いているので筋電図も動いています。寝ているときは筋電図が動かず、深く寝ているときはゆつくりとした非常に高振幅の脳波が出ます。

ります。起きているときは非常に速くて高振幅の息をしていて、寝ているときはゆつくりと規則的な息をしています。夢を見ているときはちよつと不規則な息になります。まずは息で覚醒と睡眠をしっかりと見分けられるかを調べてみました。息のパターンを周波数に直し、睡眠と覚醒を似た者同士でつなげる「クラスタリング」という方法で区別する工夫をしました。ここまでは人の手をかけず自動的にやることができます。新しい方法と古い方法が95%以上の精度で一致することがわかりました。

睡眠の解析からわかること

眠りや覚醒は、精神疾患の高感度センサーになっています。それを通じて、うつ病、統合失調症、神経変性疾患などに特異的な眠りのパターンが見えてくることが知られています。眠りのパターンが完全自動化で解析できるようになると、薬のターゲットを見つけたら、その病気の仕組みを理解したりすることができるようになると思っています。脳の眠りのパターンを見ていくことで、さまざまな精神疾患のパターンが見えてくるはずで、モデル動物の遺伝子を変化させることで、疾患を治すための重要な薬のターゲットを見つけることができるのではないかと考えています。私たちの1日は一個一個の細胞の活動で構成されています。時間を細胞単位の解像度で見えていくことができるようになります。その先に「時間の真髄」みたいなものが見えてくるのではないかと思います。（読売テクノ・フォーラム ゴールド・メダル賞創設二〇周年記念講演会記録より抜粋）