

第5回 透明化の先にみえるもの その1

(1) 点描と細胞

美術の教科書にジョルジュ・スーラの点描画が載っていたと思います（例：グランド・ジャット島の日曜日の午後 * 1）。スーラの描いた鮮やかな色彩の人物あるいは動物に、例えば紳士の絵に近づいて見ると、連続した色面でみえていた洋服も原色の互いに少し離れた細かな色の点で描かれています。実は私たち自身もこういう離散的な（互いに離れた）粒々でできています。私たちの体は細胞という基本単位からできています。「細胞」は、350年くらい前に顕微鏡が発達してきたときに発見されました。ロバート・フックは顕微鏡を使ってコルクの切片を観察し、そこに修道院の小部屋が並んでいるような構造をみつけて Cell（細胞）と名付けました。その後、植物だけではなく動物も、もちろん私たち人間も細胞からできていることが分かったのは、皆さん御存知のとおりです。細胞が自然発生しないことを示したルイ・パスツールの有名な実験があります。それまで、栄養がたっぷり入ったスープを置いておけば勝手に生物が湧いてでる（自然発生する）と思われていました。パスツールは、スープを高温で煮沸した後、外界から空気のやり取りはあっても菌は入らないような形の変ったフラスコ（瓶）を作らずずっと放っておきました。しかし、どんなに待っても菌はでてこない（新しく細胞は生まれてこない）という結果から、細胞は細胞からしか生まれられないという概念が作られていきました。私たちヒトを含めた生命の基本単位、細胞が発見されてからだいぶ時間が経つのですが、未だかつて私たちの全細胞を見た人はいません。

ここで、身体の中に細胞が何個あるかが問題になってきます。ヒトだとサイズが少し大きいので、ヒトと同じ体の仕組みを持ち、サイズがもう少し小さなマウスを例にとります。マウスの体重はだいたい 30 グラム ぐらいで、手のひらに乗るぐらいのサイズです。一体何個ぐらいの細胞でできていると思われるでしょうか。実は答えはよくわかっていません。ただ、大体 1 グラムあたり 10 億個ぐらいの細胞があるだろうと考えられており、30 グラムの体内の中に 300 億もの細胞があるだろうと予測されています。地球の人口（70 数億）の約 4 倍の数字ですね。宇宙から地表の人間を見て判別するのが難しいのと同様、もしくはそれ以上に、小さなマウスの全細胞を見ていくことは難しいプロジェクトなのです。

* 1. <https://www.artic.edu/artworks/27992/a-sunday-on-la-grande-jatte-1884>

(2) 透明化技術

2014 年に、私たちはマウスの全身を透明にすることに成功しました。マウスをある化合物の混合液に 2 週間ぐらいつけておきます。そうすると、もちろん死体ではあるのですが、動物の体がだんだんと透き通っていった光が通るようになります。もしかしたら身体が透き通っていると何も見えなくなるのではないかと思われるかもしれませんが。しかしある波長（色）の光を当てると別の波長の光を帰してくれる蛍光物質というものを使って、様々な細胞をマークすることができれば、光を当てて深部の細胞を観察することができるようになります。私たちの体の様々な臓器現実的にできるようになってきたのがここ 10 年ぐらい

の話です。

実は透明化に関する技術はずいぶん古くからあり、有名なものとしてドイツの解剖学者ヴェルナー・シュバルテホルツ博士の研究があります。彼は 1914 年に「化学物質を使って人間の様々な臓器を透明にすることに成功した」と報告しています。シュバルテホルツ博士はドイツのライプチヒに学び、その石油会社と共同研究をして様々な化学物質（水に溶けない化学物質で油の親戚のようなもの、有機溶媒）をいくつも使ってヒトの組織の透明化を実現しました。実はシュバルテホルツ博士は本の中で「見つけた物質は安全だ」と書いているのですが、いま読んでみるといくつか安全性に問題があるような物質が含まれていて、生物試料に優しい形で透明化を行うのは難しいものでした。その約 80 年後、ロシアのヴァレリー・ツーチン博士が親水性の化合物を使って目の角膜などの透明化に成功します。彼は「生体で透明化をしてみたい」というモチベーションで実験位に取り組み、様々な親水性の物質を試して透明化に成功しました。

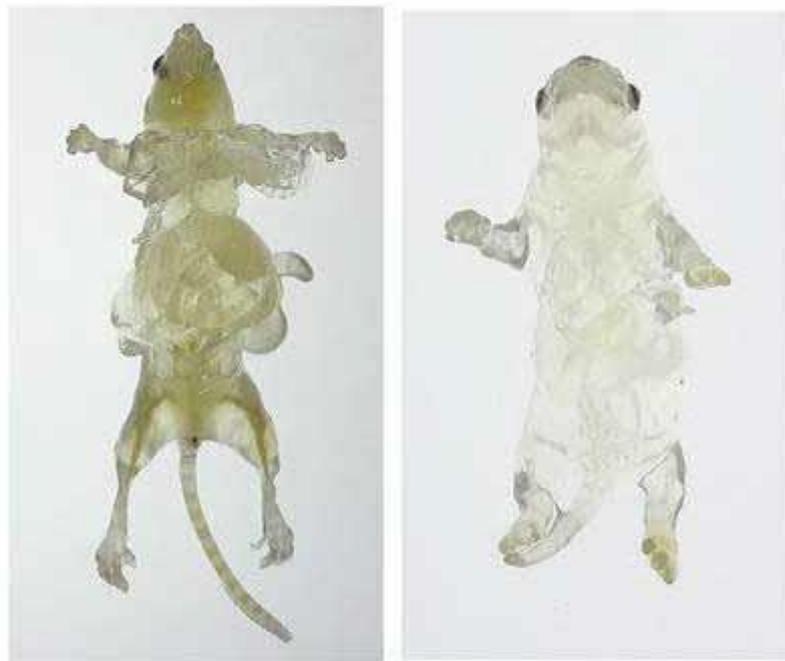


図1. マウス全身の透明化。私たちの研究室では、CUBIC 試薬を開発してマウスの全身の透明化を実現した(Tainaka et al., Cell, 2014)。

(3) 透明化の原理

「なぜ透明になるか」という原理について、今から 100 年以上前にシュバルテホルツが提唱しています。光がどのように物の中を通っていくかという性質から見たときに、私たちの体が透明になるとどんなことが起こるのか、こういうことを考察・提唱しています。現在も正しいと考えられることを説明していきます。まず、ものが透明にならないのは色が付いているからです。私たちの体の中には髪の毛に含まれるメラニンや血の色のもとであるヘ

モグロビンのような光を吸収してしまう物質があります。こういった色素をうまく壊す、あるいは取り除くことができれば、光が吸収されずに体の奥まで届きます。ですから、透明化のためには光を吸収する色素を取り除けば良いということになります。光が吸収されなければ透明になるかと言うとそうではなくて、例えば牛乳は、光は吸収されないのに白色で不透明です。なぜかと言えば、光が牛乳の中で様々に散乱してしまう、つまり光の進む方向が曲がってしまうためです。光が散乱するのは、水だとか脂質だとか、牛乳の中の様々な物質の屈折率が違う（物質を通る時の光のスピードが違う、曲がってしまう）ためです。シュバルツホルツは、このスピード（屈折率）を一定にしようと、様々な物質を使って試したということになります。ここでポイントは、どんな物質を通る時に光は最も速く進むのか、ということですが。次のどれが正しいと思いますか？

- ① 体はタンパク質できており、光がタンパク質を進むときに最も速く進む
- ② 細胞は脂質の膜で覆われており、光が脂質膜を作る脂質を進む時に最も速く進む
- ③ 生命は海から生まれたので水を多く持っており、光が水を進むときに最も速く進む

答えは③の水です。この3つの中で水は最もシンプルな分子です。光と干渉するものが最も少ないのが水なので、光は水中が最も速く進みます（屈折率が低い）。2番目が脂質、最も遅い（屈折率が大きい）のがタンパク質です。光の進むスピードがどのように定義されるかと言うと、真空の中で進む光のスピードに対してどのくらい遅いかで表現され、水中では大体1.3倍、脂質では1.4倍、タンパク質中では1.5倍くらいだと言われています。それよりも遅く進むものが何かと言うと骨です。骨は1.6以上だと言われていて一番光が相互作用しやすいことが知られています。

透明化技術は、タンパク質あるいはタンパク質と似たような光の性質をもつ遺伝子（核酸）を見る技術としてこの100年の間、育ってきました。光の進む速度の遅い（屈折率の高い）物質をいろんな方法で取り除き、スピードの速い（屈折率の低い）水は入れ替えたり様々な物質を溶け込ませてスピードを遅くして（屈折率を調整して）タンパク質や核酸を進むスピードと同じにしたり、そういう調節をして光をまっすぐ進ませる工夫をしています。

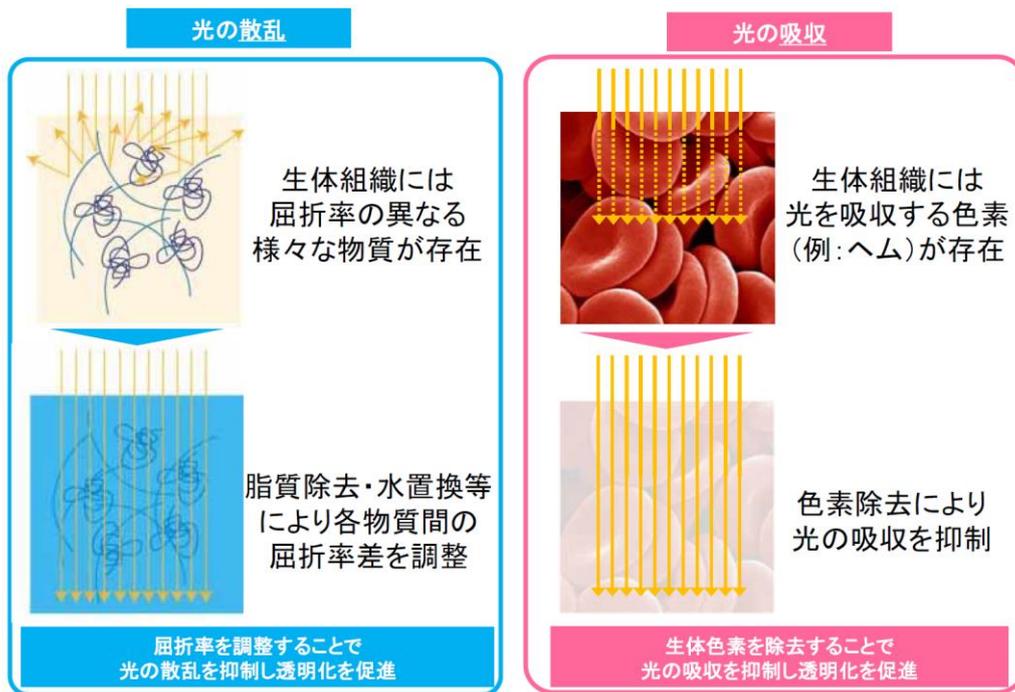


図2. 透明化の物理学。組織の透明化は、①光の産卵を調整し、②光の吸収を抑えることで達成される。従来、光の吸収を抑える最適な方法は存在しなかった。

(4) 透明化技術の開発

私たちが「細胞のカタログ」を作ろうと思った時に、従来の透明化手法を試そうとしたのですが、まだ「細胞のカタログ」を作るのに適した手法ではありませんでした。そこで私たちは自分たちで開発しようと思いました。ただ 100 年の歴史がありますので、普通にやっただけではなかなか到達できないだろうと考えて、現代ならではのやり方をしようと思いました。まず化学の発達によって様々な物質が手に入るようになっていて、それを一つ一つ試せば、これまで達成でき無かった優れた透明化の手法が作れるだろうと考えました。一つの物質を 1 匹のマウスで試すとすると、たくさんのマウスを使うことになり、倫理的にも問題になりそうです。そこで、研究室の学生が、組織をペースト状にして小分けにして使えばたくさんの数の化合物を効率的にテストできるのではないかと考えて試したところ、組織を小分けにしてペーストにした物を使った結果と、組織まるごとで行った結果がきれいに相関することが分かりました。

いろいろな物質を試していったところ、2014 年にアミノアルコールを使った場合に高度な透明化が可能であることを発見することができ、動物の脳を透明にすることに成功したという論文を発表することができました (Susaki et al., Cell, 2014)。実は予想していなかったことなのですが、その数ヶ月後に同じアミノアルコールが、血液の色も (生体組織に) 優しい条件で抜くことを偶然見つけ、これも同じ雑誌に投稿したところすぐに採択されまし

た (Tainaka et al., Cell, 2014)。血の色を透明にできるとなると、脳だけでなく血が多く含まれている肝臓や心臓、脾臓などの様々な臓器にも透明化技術が応用できるようになります。大学院生 (当時) の久保田晋平さんは個体全身の透明化に挑戦し、世界で初めてこれを実現しました。

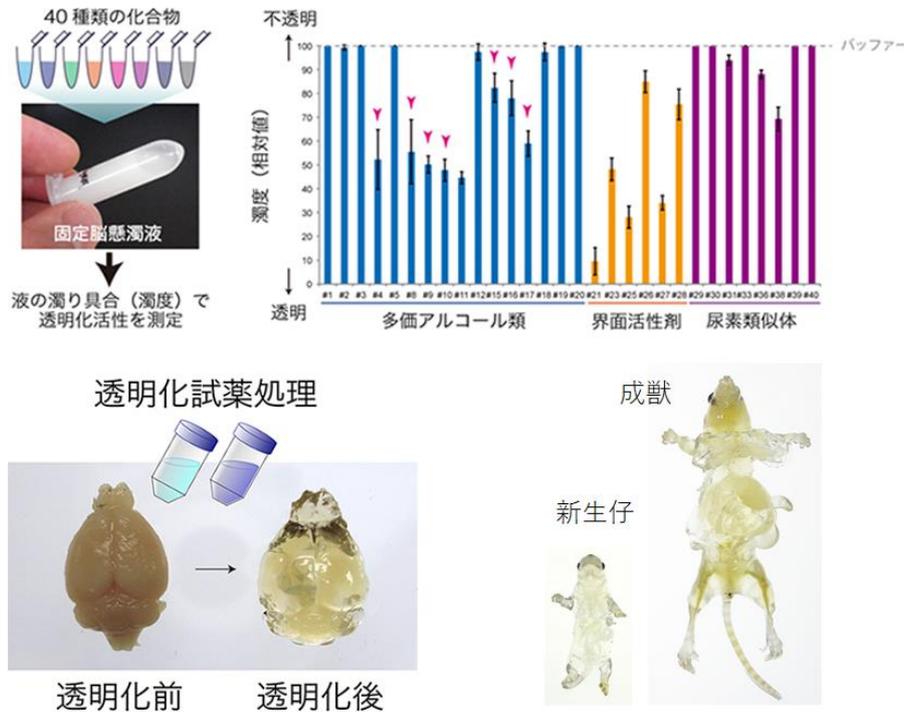


図3. CUBIC 法の開発。組織懸濁液を透明にする化合物を探す中でアミノアルコールを発見し (上)、全脳の透明化を達成した (下左) (*2)。続いて全身の透明化にも成功した (下右) (*3)。

* 2 https://www.riken.jp/press/2014/20140418_1/

* 3 https://www.riken.jp/press/2014/20141107_1/

臓器レベル、個体レベルの透明化とその観察において、透明化と同じように古い歴史を持ち現代に至るまで生命科学ではあまり使われてこなかった「光シート顕微鏡」を利用できることは大変嬉しい点でした。光シート顕微鏡は一風変わった顕微鏡です。普通の顕微鏡で観察する時には、光を照射してその跳ね返りを見たり、透過光を見たりしています。つまり、光を照射する軸と観察する軸が平行になっています。しかしこのシート顕微鏡は、横から光を当てて上から観察します。これは例えばコロイドがブラウン運動する現象を観察するために考案された顕微鏡なのですが、生物の観察に用いようとした場合には、横から光をあてて中身を観察しようとしても対象が透き通ってないといけなかったので、利用できなかったわけです。透明化した組織にたいしてこの顕微鏡を使えば、横から光を出して観察することができ、これを少しずつずらしていけば高速に三次元画像を再構築できるようになりました。

た。例えば心臓や肺、腎臓といった様々な臓器を1細胞の解像度で（細胞1つ1つを見分けられるレベルで）、高速に観察できるようになったのです。この結果、今までスライドガラスの上の組織の観察では二次元で見えていたものが、透明化した臓器1つをみることで三次元の観察ができるようになったというわけです。

日本に解剖学が入ってきたのは、1774年、杉田玄白先生らが「ターヘル・アナトミア 解体新書」をオランダ語から翻訳したときだといわれています。私たちが作り上げた透明化技術（CUBIC キュービック）が、2014年に日本分子生物学会の発刊する国際誌で、杉田玄白先生と一緒に表紙をかざりました（Genes to Cells, 19(12), 2014 *4）。非常に嬉しいことでしたが、この表紙、杉田玄白先生の隣にツボが幾つか並べて描いてあって、そのうちの1つに私たちが発見したアミノアルコールという物質を指す「網野」と書いてありました。杉田玄白先生の着ている袈裟の上にもアミノアルコールや他の物質の化学物質の構造式が書いていたりして、医学に関わるものの端くれとしては恐れ多く感じました。

*4 https://www.mbsj.jp/gtc/TOC/19_12.html

（5）透明化技術でできるようになったこと

透明化技術で何が出来るようになってきたのでしょうか。例えばガンは全身に転移しますが、転移をうまく制御できないかということで、研究がさかんに行われています。しかし、体のどこかにガン細胞は転移していても、全身の細胞の中から探し出すのが難しいという問題があります。通常は組織を採取して、切片を作り、とそのなかに転移した癌細胞が見つかるか調べますが、切断面にガン細胞が含まれるかどうかは偶然によりますし、全身を対象として転移の研究をやるのはなかなか難しいのです。しかし、透明化の技術を使えば、全身を対象に、ガンの転移を細胞1つ1つの解像度で調べることができそうです。CUBICを開発して3年後の2017年、私たちの研究室の久保田さんは高名なガン研究者である宮園浩平先生（東京大学）との共同研究で、全身レベルでガンの転移をプロファイルすることに成功しました（Kubota et al., Cell Rep, 2017）。

精神科の領域であつかう病気に、統合失調症があります。どういう病気かという、あるはずがないものが見えたり（幻視）、聞こえるはずがない音や声が聞こえたり（幻聴）、場合によってはうつ病のように引きこもりがちになってしまいます。幻視や幻聴のような症状を統合失調症の陽性症状、引きこもりがちになるような症状を陰性症状と言います。これらの症状をうまく抑えられれば統合失調症の方もスムーズに社会復帰できると考えられているのですが、今の薬ではいくつかの症状は抑えられていません。この数十年、新しいタイプの薬（新しい発想に基づく薬）が登場していないという、医学の道にいるものとしては少し歯がゆい思いを感じる病気であり、脳内で何が起きているのか分かれば、新しい薬の開発が進むだろうと期待されています。透明化技術はこうした統合失調症のような疾患患者の脳で何が起きているのか、その原理を探求するためにも使われ始めています。これまでに、ヒトの統合失調症を模したモデル動物とそうではない動物の脳を透明にして、統合失調症

の時にどの細胞が活動しているのか、観察できるようになってきました。ヒトで統合失調症様の症状を示すことが知られている薬物を動物に投与した時には脳全体が高度に興奮していました。薬物を投与した動物がヒトのようにあるはずのないものを見ていたか、聞こえるはずのない音を聞いていたかは分からないのですが、透明化した脳を丁寧に見ていくと、ものを見るために重要な視覚野と呼ばれる領域や、音を聞くために重要な聴覚野という領域が活性化していたことが分かりました。こういった観察を積み重ねていけば、統合失調症モデルの動物の状態を推量できるようになり、こうした症状を一部でも治すことが知られる薬を与えた場合にどこが治っていてどこが治っていないのかが分かっていくでしょう。そうすれば、残っている症状を治療するためにどういう薬を作ればいいのかといったことが分かってくるだろうと考えられます。