

第7回 VIPROS 会議 2024年9月18日(水) 13:00~14:30 オンライン開催

参加者(敬称略) 上田昌文、松井毅、細野朗、アイカム:川村智子・武田純一郎・武田温・
中川仁子・高橋功、吉岡有文、瀬川嘉之、大和英之、佐藤主税、12名

上田: 今月末、東京理科大で日本バイオイメーキング学会が開かれるのですが、運営委員の梅澤さんに前回6月にVIPROSでも報告いただきました。そのほか日本のバイオイメーキングに取り組んでいる方の話が聞ける機会、特に初日の公開講座は無料で聞けるので、みんなで聞いてみようかと計画しています。そこで登壇する先生たちの話をネットで調べてみたら、新しい、読んでおいたら勉強になるかなという記事を見つけましたので、今日は私と、川村さん、松井先生で分担して報告し合いたいと思います。

その前に、アイカムの活動報告を川村さんからもらいたいと思います。

■活動報告など

川村: 第6回VIPROSが6月でしたので、それ以来のドーム上映会を報告します。アイカム主催の板橋区での上映会は、7月28日(日)と8月24日(土)でしたが、この暑さで人が集まらないため1日4回予定のうち2回実施。それでも、前にみた人にすごく熱心に勧められたという親子連れや70代の方がきて楽しんでくれました。

出張上映は、8月3日(土)に市民講座のかわさき市民アカデミー、「おもしろ実験クラブ」の招きで、川崎市生涯学習センターの大会議室で、1張で行いました。5回上映で40名ほどに見てもらいました。多くは市民講座に参加の熱心な年配の方々でした。

9月12日(土)には、出前授業どっとこむからの問い合わせで、江戸川区立平井小学校で行いました。この学校だけでなく近隣の区立数校から理科実験好きの5-6年生の部活みたいな集まりで、午前1回18名、午後1回15名、先生5名ほどが第1話と第2話を続けてみる形で見てくれました。子供たちの感想で、「いのちはいのちを食べて生きているんだ」と感動してくれた子もいて、やるたびに面白いなあと思います。

上田: 小学校では今後もやるようなつながりはありますか?

川村: 校長先生も見て感動したとおっしゃっていましたので、評判が良ければ、この学校自体への出前授業などの可能性もあるかもしれません。

上田: 「かわさき市民アカデミー」については、9月末から始まる予定がもうすでにあって、障害のこと、遺伝のこと、少子高齢化など「いのちを支える科学と社会を考える」のテーマで繋いで、松井先生には「陸上生物における皮膚の適応進化」を話していただきます。

私にとって面白いのは、VIPROSにも何回か参加された佐藤さんとの話から、せっかくいろんな講師に出てもらうので、お話の後、受講生とおしゃべりするような機会を設けたいと、私が全部の回に出席してコーディネートすることになりました。うまくいけば、冊子作成できるかもしれません。楽しみにしています。

それでは、本題に入りましょう。

■ 松井毅さん 担当 「画像処理で見えないものを見る」に関して

理化学研究所の画像情報処理研究チームの横田秀夫先生らのホームページから、

・ [理化学研究所 画像情報処理研究チームのホームページに掲載している研究紹介](#)

松井: 横田先生とは、理研でもよくお話をしたり聞いたりしたこともありますが、生物系から広く画像処理研究チームとして広範囲に活躍されていて、自ら実験する方ではなく、研究者が解析しやすい形でいかに手伝えるかという考えの方です。

●V-Catの開発・・・独自のアルゴリズムで画像解析を簡単にできるシステムの構築。

デザイン、シミュレーション、断面像からの立体化、表面だけとか一部だけ詳しく抽出など、すくにできるインフラを作る。パワーあるコンピュータでないと操作できないが、母体は横田先生のところにあり、クラウドで、それぞれの研究室では画面だけで見られ

るようにしている。

●クラウド型画像処理システム・・・高度な画像処理をクラウドでネットワークに繋いで、画像解析しよう。

●生体内部観測技術・・・断面標本から自動立体化する。

●工学系の金属、プラスチックを研磨しつつ自動的に写真撮影して、内部構造を三次元画像にする方法を、生物でも骨など硬組織に応用しよう。

●V-Cat の領域抽出技術を細胞生物学研究へ応用しよう。細胞内の一部、オルガネラなどを抽出できるよう、ゴルジ体、核、ミトコンドリアとかそれぞれに特化した解析のアルゴリズムを開発している。

上田: ゴルジ体ならゴルジ体だけを追跡する方法があるのですね。

松井: そうですね。たとえば、GFP(クラゲから抽出した発光物質、蛍光タンパク)に、核だけに向かうタンパク質をつけておくと、核だけが光る。それをたくさん集めて分析したら、核の動き、ゴルジ体の動きがわかる。変形や経過時間もわかってくる。

データを集積すれば、ノイズや薬剤による変化異常などもわかるようになる。研究者に

としては有用なソフトになる。

●最近、医学系でよく見かける深層学習

胃がん発見とか、皮膚科ならメラノーマの発見とか、眼科の緑内障の画像とか、医師の判断を蓄積して画像を学習させることで、AIで診断できるようにならないか。

●デジタル画像処理・ノイズ除去、低解像度の画質・解像度を上げる、など低倍のレ

ンズでも高画質にできれば、視野を大きく観察できる。今、盛んに行われている。

●OCT(optical coherent tomography)で捉えた網膜画像から、中立軸変換に基づく網膜厚み解析

●そのほか幾何学処理、形状のモデリング、いろんな計算法で三次元構築、断面構築。

それにより細胞内の物質輸送観察システム、ライブセルモデリング、などなど。

■ 川村担当 「透明化標本をみる顕微鏡のDIY構築」に関して

順天堂大学大学院医学研究科 大友康平准教授

・[透明化組織標本の簡易なデスクサイド 3D 観察へ](#)

川村: この「透明化標本の簡易な 3D 観察へ」ですが、透明化標本がある、それを見る方法技術の話ですが、私は光学的な解析は不得手ですので、そこは省いて、自分がよくわからないところを調べて見ました。この大友先生の共同研究者である須崎先生の解説がわかりやすい。

透明化組織標本は、皆さんもメダカの標本とか、見たことはあると思いますが、実はそれを構築している全部の細胞が見られる! というんです。信じられない気もしますが、それが見られると何が見えるかというと、例えば、マウスの脳全体から細胞レベルまで見える。もう一つはがんの移植モデルでがん細胞がどこに移動していくかが見られる。抗がん剤がどう働くか三次元で解析できるというので、なるほどそれは役立つだろうと思います。

まず、マウスの脳と出ていたので、こちらはヒトの脳で、脳から細胞レベルまでの距離感を、アイカムの昔の映像で見てください。丸ごとの脳の標本から、断面、切片にして、染色したり、組織標本を作る・・・どんどんズームアップしていくと、これを構築している神経細胞が見えてきます。神経のネットがあって、ここまで拡大すると、一個の神経細胞、核が見えます。一つ一つが樹状突起を伸ばしつながりあって生きている。

これが透明化すると、本当にここまで見えるのかい、という思いがありました。

まず、透明化するとはどういうことか。私は透明化標本とはどうやって作るのかもわ

からなかったのので、調べました。基本中の基本でしょうが、透明とは、「光がまっすぐ入って、まっすぐ抜ける」こと。逆に不透明とは、中で光がいろんな方向に散乱してしまうから。だから不透明なものを透明にするには、一つは中の光の散乱を極限まで抑えることだと、もう一つは、中で光を吸収してしまう物質を除かないといけない。そうしないと、入った光が出てこない。この二つが必要だ。

一つ目の、光の散乱の原因は、生体では脂肪、特に細胞膜のリン脂質を抜くこと。次に水、これも周りの生体物質と特性が違うので抜かなくてはならない。残るはタンパク質だが、タンパク質と光学特性が近いもので置き換える必要がある。これが原理。

もう一つの、光を吸収するのは、血液の赤血球のヘモグロビンを構成するヘムが、特定の波長の光をすごく吸収する物質なので、これも抜かなくてはならない。これも脱色すると綺麗に透明になる。

「抜く」というけど、どうやって抜くんだ(笑)。最初に、組織をアルカリで処理する、タンパク質は柔らかくする、グリセリンで水と置換していく。それもよくわかんないですが、透明化する方法はいろいろ研究されていて、例えば、富士フィルムが組織透明化試薬というのを出している。最初に考えられた3種類の試薬は、尿素とグリセリンと界面活性剤・・・これをもっと透明度を上げるために、グリセリンをアミノアルコールに代えるとか研究されてきたようで、研究者の方ならピンと来るのかもしれませんが。

しかし、いずれ、タンパク質や水を置き換えたら「生きているものを透明にはできな

い」難しいと思います。

さて、透明化標本をどうやって「見る」のか。これ自体は、もう 20 年も前に、蛍光イメージングなどと合わせて、組織透明化技術を研究開発され、シート状の光シート顕微鏡というのがあるそうです。ただ、これはかなり高度な光学知識・技術がないと扱えないそうで、市販されているけど 5 千万から 1 億円とお高い顕微鏡です。

それに対して、今回の話は、個人の研究者が DIY で、自分で作れるというもので、100 個くらいの部品をプラモデルのように組み立てて、数十センチ四方に収まる大きさ、単色なら 300 万円、HE 染色のような 4 色で 5、600 万で作れるというものです。

中身の方は、私の生半可な解説では役に立たないので、28 日の大友先生の本番をお聞きください。

上田: この先生の顕微鏡を使い始めているという実例はありましたか。

川村: それは資料にもいくつか紹介されていて、量子科学技術研究機構の佐原先生とか、電力中央研究所の大塚先生、東京医科歯科大学の大石先生などが使っている。マウスの全脳イメージングとか、ガン移植モデルと抗がん剤の三次元モデルとか、昔だったら、どこに薬が到達したか、とか、どの細胞がどうなっているかを知るには、何万枚も組織

標本、膨大な切片を切って重ねなかったらわからなかったことが、それを集めて 3D 構築するように、透明化すれば、特定のものだけ染めておけば、そこにいるぞ、あるぞと
いうのがわかるようなんです。

今まで、レントゲン、MRI、CT では細胞一個までは見えない。それがこの顕微鏡ではそこまで見える、というのだから、すごいといえば、すごい。

松井: 組織透明化は、1990 年代から少しずつ出てきました。今は何種類も試薬があり、実験にあったものを選べる。日本人の上田先生、宮脇先生もだいぶ貢献されています。

9 月 6 日の Science に、今までは固定した死んだ組織を高濃度のグリセロールで透明化する方法しかなかったのですが、タートラジンとかいう植物由来のものをマウスの腹部に塗って、生きたまま透明になるのが話題になっている状況です。

■上田さん担当 「ニコンソリューションズの<ライフサイエンス>のページから」

・ [ニコンソリューションズの「ライフサイエンス」のページの各項目](#)

上田: ニコンのページを概説するが、印象深いものを紹介したい。共焦点顕微鏡、多光子顕微鏡、超高解像度顕微鏡などいろんな顕微鏡が出てきている。ニコンはどれも手広

く開発している。画像取り込みや画像処理のソフトウェアも開発し、いろんな種類の顕微鏡を使って統合的に画像を扱えるように目指しているのが大きな特徴か。研究者が観察の対象や実験に最適なシステムを選ぶのは難しいので、このサイトが作られたようだ。

- ・顕微鏡イメージングにおけるディープラーニング ・創薬 ・電気生理学
- ・ハイスループットイメージング ・ライブセルイメージング ・マイクロインジェクション ・ナノイメージング ・オルガノイド/臓器チップイメージング
- ・再生医療 ・細胞培養 ・モデル生物/組織イメージング

まず、AIを使った画像解析がものすごく増えてきている。Deep Learning(深層学習)により、画像解析の速度アップ、最適なレーザー強度やゲインを自動的に決定、焦点の合っていない蛍光シグナルやノイズの自動除去、自動調整、領域分けするセグメンテーションなど。情報が揃えば、観察できなかった内部や裏側もAIで予測もできるらしい。

・蛍光観察では、透過する光がかなり強い必要があるが、光退色や光毒性を抑えるために、光量を抑えつつ、どう精細な画像を得るか光学セクショニングなどのAIを使った技術開発も進んでいる。

- ・創薬では、安全性など二次アッセイに、モデル生物による薬の吸収・分布・排泄を画

像で立体的に表すことができるらしい。また、セグメント化により、人間の手で神経突起をトレースしたものを取り込み、それを学習した AI が、自動的に突起をトレースするなどにも使える。

- ・電気生理学では、細胞の中で電気的な信号、イオンの動態を捉える。高解像度で深部を見られる近赤外光を使う。

- ・ハイスループットイメージングは、顕微鏡と一体化して、試料のトレイをピンポイントの光で一個ずつ読み取りつつ、大量高速に自動的に正確に定量計測していくシステムがすでに作られている。

- ・ライブセルイメージングでは、光の照射時間を瞬時にし、毒性を抑えつつ、解像度を上げルコとで、動きを伴う、生きている細胞を観察している。

最近、単離細胞を使う平面的な培養だけでなく、もともとの三次元の組織構築に近い細胞培養が試みられているが、それに対応した画像解析の方法も進んでいる。組織の血管新生などの現象も動画で立体的に捉えている。油浸対物レンズに代えて、シリコン浸の対物レンズで屈折率の問題をクリアし、高解像度を可能にしている。

再生医療で必要となる細胞の品質管理も顕微鏡で定期観察を行える。深部イメージングには、透明化標本観察用のレンズ開発などなど・・実例が豊富なサイトである。

松井: 研究室でもいくつかの技術は使っている。光学顕微鏡で撮影した画像からデコンボリューションとか、ボケ除去とかが、標準装備されている。定量はそれでやってはいけないが、見栄えはだいぶ良くなる。単に撮るより格段に美しくプレゼンできる。

ノイズ除去すれば、綺麗に見えるのだが、私たちが目指すのはノイズかどうか分からないところを人間は見分ける。それをしないと新しいことはわからない。

細野: 生体の中で、免疫系細胞がどういうふうに分化し、移動していくのか、そこでどう拘るのかなどは、こういうイメージング技術で見られたらと思う。私たちは、腸内環境を制御しながら評価できないのかなあと模索しつつ、使えるところはありそうだと思う。また、無菌生物ノートバイオロジー学会を開催するのだが、戸村先生にもテクニカルなお話をいただけるかなと思っている。

上田: 生物学の勉強とともに、光学的な勉強も独学されるのか、コラボしているのか。

細野: 学会などで必要な技術知識を持つ人々と相談し共同研究していくのが早道か。

松井: 今では本も何冊か出てきている。学生さんはそんな本を読んだりしているが、実際はある機械をどう使いこなすかがよほど大きい。

上田: 画像のイメージングの話も VIPROS で扱っていくとして、力点の置き方に意見はありますか? 今後の注目点とか。

川村: 研究者は自分がこういう研究をやりたいから、こういう手法が欲しくて、という発想だろうが、かなり先端ではすごく広がりすぎていて、試薬屋は試薬屋、機械屋は機械屋で、顕微鏡は顕微鏡で・・・とあって、どこに力点を置いて行ったらいいのか全然見当がつかない。見えなくなっている。

上田: アイカムがかつてトライしてきた中で、今ならこの技術を使ってやって見ただろうなということはあるですか。

川村: どうでしょう。その時々、一緒に指導監修する先生がどんな興味でどんな手法で見ているかによって、一緒にやるので、私たちがこの手法を使いたいと言って使えるものではないものですから。

■次回、第8回は、10月26日(土)15:00 から、佐藤主税先生にお話いただきます。

いろんな顕微鏡の開発に携わられているようで、水中の生体試料を見られるような顕微鏡

のお話、特に腸内フローラに関するテーマとのことでした。

上田: 多くの人が腸内フローラに興味・関心を持っているテーマだと思います。