

細胞から見える世界

The World as Seen from Cells

笛木 学^{*1}

Manabu Fueki

山宮 広之^{*2}

Hiroyuki Sanguu

景 虹之^{*2, *3}

Takayuki Kei

横河電機がリアルタイムで細胞観察ができる高速共焦点レーザー顕微鏡の研究開発を始めたのは30年前である。以来、最初の製品CSU10を始め、生細胞による化合物のスクリーニングが可能な創薬支援装置CellVoyagerシリーズ、ALL IN ONEの共焦点顕微鏡ボックスCQ1、細胞の画像解析ソフトウェアCellPathfinderなど多くの製品を提供し、Live cell imaging分野を開拓し、創薬支援装置業界をリードしてきた。本稿では、この先も、世界的な生命科学に対する期待に応えるため、また、横河電機のライフサイエンス事業の更なる発展のため、取り組んでいくべき技術開発を展望する。

Thirty years ago, Yokogawa embarked on R&D of high-speed confocal microscopes for real-time imaging of living cells and developed its first product, the CSU10 confocal scanner unit. The company then released the CellVoyager high-throughput screening system, the CQ1 all-in-one image cytometer, the CellPathfinder cell image analysis software, and other advanced products. Yokogawa is a pioneer of live cell imaging technologies and drug discovery support systems. This paper describes the technologies Yokogawa is developing for satisfying expectations in the life science field and for growing its business further.

1. はじめに

生物というものを構成する最小単位は遺伝情報を持っているDNAであろう。しかし、同じDNAから様々な細胞が作られ、それらが臓器を構成している。また、同じDNAを持っている一卵性双生児は、顔がそっくりだが、それぞれの個体は異なる人生を歩む。このように、DNAには自分の情報がすべて盛り込まれているが、それが体の場所や時間によって異なる働きをし、環境によっても働きが異なる。DNAの次に小さい単位はタンパク質で、これも様々なタイプがあり、それらが相互作用を行い、折りたたみ方により機能を変え、細胞の部品にもなっている。さらに、その上の単位は細胞内小器官、細胞となる。

17世紀にロバート・フックは、レンズを組み合わせた顕微鏡によりコルクを観察し、細胞という小さな単位があることを発見した。当初の顕微鏡は、それまで知ることのなかった微小の世界を拡大するものではあったが、細胞の形を見分けるのがやっとであった。その後、光学顕微鏡も発展し、位相差顕微鏡、微分干渉顕微鏡と細胞の形をくっきりととらえる技術が発展してきた。その中

で、抗体を使って目的の細胞だけを蛍光色素で標識することができるようになり、蛍光顕微鏡ができた。さらに、細胞内の細かな現象を捉えるために共焦点顕微鏡が発明された。細胞自身に蛍光を発するたんぱく質を作らせることで、生きている細胞内のたんぱく質や微小器官の挙動を観察できるようになった。

光で見分けることができる距離を光学分解能というが、それは0.2 μm程度であり、細胞の大きさは種類によっても異なるが約10 μmなので、光学顕微鏡は細胞の活動を知るにはちょうどよい分解能を持っていた。光学系の研究もさらに進み、最近では光学限界を超えた、より小さなものを見分けることができる超解像顕微鏡というものも実用化されている。

2. 横河電機の細胞観察技術の歴史

2.1 共焦点スキャナユニットからのスタート

30年ほど前、当時の中央研究所において、それまでない高速な共焦点顕微鏡の開発を行うことを決めて、ニポウディスクとマイクロレンズアレイを組み合わせたデュアルディスクの共焦点光学系が研究された。その技術を基に、様々な顕微鏡に取り付けることで、共焦点画像を撮影することができる共焦点スキャナユニット(CSU: Confocal Scanner Unit)が開発された。

*1 計測事業本部 ライフサイエンスセンター 品証・CS部

*2 計測事業本部 新事業開発センター

*3 計測事業本部 ライフサイエンスセンター 開発部



図1 共焦点スキャナユニット CSU10 (1996年発売)

最初の製品であるCSU10(図1)は、高速に共焦点画像を取得できるという利点以外に、弱いレーザを何度も照射する方式で撮影するため、生きている細胞に優しいという特徴を備えており、これによりライブセル共焦点観察では強力なステータスを持つことになった。発売から10年ぐらいは、大手の顕微鏡会社が何とかCSUよりもよいものを作ろうと工夫を凝らしていた。

しかし、シンプルな構造でありながら素晴らしい性能を発揮するCSUを超えることができず、最近ではコラボレーションを積極的に行うようになってきている。その後、当社は各社の顕微鏡との接続性を改善し、電動化した後継機種CSU-X1(図2)を開発した。CSU-X1はベストセラーとなり、ライフサイエンスセンターの主力機種に成長した。



図2 共焦点スキャナユニット CSU-X1 (2007年発売)

20年ほど前に、High Content Screening (HCS)「ハイコンテンツスクリーニング」という手法が考案された。High Contentとは、個々の細胞の形状や大きさ、発現しているタンパク質の量、細胞集団の中でどのような細胞群が多いかなど、細胞画像情報から得られる多くの情報を用いて、細胞の状態を知る手法である。自動顕微鏡と画像解析技術を用いて前述の手法を高速に実行し、新薬の候補となる化合物のスクリーニングなどに用いられる。

High Content Analysis (HCA) という言葉もあり、この手法も顕微鏡画像から得られる多くの情報を用いて細胞を判別する技術だが、近年はHCSと同様の意味で用いられるようになってきている。横河電機では、共焦点光学系を用いた詳細な画像から情報を抽出していることを強調するため、特にHCAという用語を用いている。

2003年に共焦点スキャナユニットCSUの売り上げをさらに伸ばすために、生物・医学の基礎研究分野だけではなく、薬を開発する分野(創薬)で用いられる創薬支援装置にCSU技術を適用できないかを検討した。そのときに目指した市場がこのHCAであった。

顕微鏡は細胞を観察するものであり、そこに何があるのか、形が変わったかを見るだけである。しかし、測定機の場合は、何がどれだけの量があるのか、面積、体積、周長はいくらで、その値がどう変わったか、いつ値の変化があったのか、などの数値データを提供するものとなる。

Cytometer「サイトメーター」は細胞測定機という意味で、Cyto「細胞」とMeter「測定機」という二つの言葉を合わせたものである。特に画像撮影・画像解析を用いたCytometerをImage Cytometerと呼ぶ。また、HCA向けイメージング装置ということで、ハイコンテンツイメージング装置と呼ばれることもある。

2.2 創薬支援装置市場への参入

2004年に創薬市場の調査を開始したが、HCS(HCA)の概念が考案されてからまだ10年ほどの時期であり、市場でもHCAがどのように適用できるのかを試行錯誤している時代であった。しかし、欧米では一部の先進的な大学や製薬企業が、HCA向けのImage Cytometerを導入して、様々なアプリケーションの開発をしていた。横河電機は創薬装置市場の経験は全くなく、国内や海外の学会や展示会に行き、キーマンを探してはどのような特性が求められるのかなどのヒアリングを行い、ビジネスプランの構築を行っていた。

創薬における探索現場では、細胞から抽出したタンパク質との相互作用を見ることで、薬の候補化合物を見つけ出していくバインディングアッセイが主流であった。しかし、細胞に直接薬の化合物を作用させて、その時の細胞の挙動やタンパク質の発現状況を調べることによるセルベースドアッセイが注目を浴びようになってきていた。ただ、セルベースドアッセイの場合は、得られるデータの何を指標に化合物の特性を選定すればいいのか、についてまだ研究が進められている段階であった。その中で、共焦点を搭載した装置がどのような付加価値を提供できるのかは、全くの手探り状態であった。

そのような状況で、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の国家プロジェクト「細胞内ネットワークのダイナミズム解析技術開発」の継続研究でスクリーニング装置を作る機会が得られ、試作機を開発した。それ

が Bio Test System BTS1000 である。この試作機を大学に導入して運用過程で得られた知見を基に、さらに HCA 市場向けのスクリーニングに対応できるように改良を重ねた。これを機に、商品企画が本格的に動き出して、最初のハイスループット細胞機能探索システム CellVoyager CV6000 (図 3) が誕生し、創薬装置市場への参入が始まった。

CV6000 は共焦点光学系以外に、細胞を活かし続けるように、細胞培養環境を観察ステージ上に構築した。さらに、薬剤を滴下した直後の細胞の反応を計測することができるようにディスペンサを搭載し、数多くの機能を盛り込んだライブセルスクリーニング装置であった。



図 3 ハイスループット細胞機能探索システム CellVoyager CV6000 (2008 年発売)

2.3 仕様の多様化

CSU は、他社の顕微鏡システムに取り付けることで共焦点画像を得ることができるものであった。この生きている細胞観察が得意という特徴を活かすために、精密な温度コントロールを持った培養機能も付けた一体型の顕微鏡システムをつくることになった。それが、共焦点スキャナボックス CV1000 である。これは、創薬市場だけでなく、生物・医学基礎研究市場向けのオールインワン型の顕微鏡を目指した。

CV6000 は「ハイスループット」という名前が付いているように、高速に処理をすることを目的としていたが、世の中でも、より高速の装置を求める声も徐々に上がってきた。競合各社も高速化を目指した装置を開発してきたので、CV6000 の約 4 倍の速度を持つ装置 CellVoyager CV7000 の開発に着手した。これは、従来の共焦点スキャナユニット CSU の心臓部であるディスクの直径を約 2 倍にするものであり、取差などの光学設計だけでなく、振動対策やアライメント技術などを工夫して開発を行った。CV7000 は、競合機種に対してスループットの高さで優位に立ち、ヨーロッパを中心に広がっていった。CV7000 に続けて、広視野の共焦点スキャナユニット CSU-W1 (図 4) もこうしたニーズに応えるために誕生した。



図 4 広視野共焦点スキャナユニット CSU-W1 (2012 年発売)

次に目指したのは細胞計測技術で、Image Cytometer よりも長い歴史と実績のある Flow Cytometer の市場である。Flow Cytometer は、溶液中に浮遊する細胞を吸引した後、細い流路を通して噴出し、そこにレーザを照射して、通過する個々の細胞の明るさなどのデータを測定するものである。これを、細胞を培養した状態で個々の細胞のデータを計測する手法に置き換えると、まさに顕微鏡画像を画像処理する方法になる。Flow Cytometer は、計測した細胞のデータを、時々刻々グラフに描画することができるので、1 サンプルの実験が終わるとデータが全て数値データとなりグラフ化されている。それと同等の使い勝手を目指すために、細胞画像の撮影をしながら同時に画像解析を行い、数値データにしていく、On the Fly と呼ばれる方式を開発に盛り込んだ。そこで、パーソナルユースを目指し、小型で使いやすい装置として開発したのが、共焦点定量イメージサイトメーター CQ1 (図 5) である。



図 5 共焦点定量イメージサイトメーター CQ1 (2014 年発売)

そして 2017 年には、CSU の特徴である生きている細胞に優しいという特性を最大限に活かすために、細胞培養技術や試薬分注技術を向上させた世界最高性能のフラグシップモデル CellVoyager CV8000 (図 6) を完成させた。



図6 ハイスループット細胞機能探索システム
CellVoyager CV8000 (2017年発売)

2.4 画像解析技術

横河電機は、共焦点技術を生かした細胞の画像を取得する装置を開発しながら、画像解析技術の獲得も進めてきた。特に、近年注目されてきている、蛍光色素等を使用せずに光を当てただけの画像で細胞計測を行う、ラベルフリーという方法に注力してきた。しかし、ラベルフリーの画像解析は、蛍光画像の画像解析よりも難しく、苦勞をしていた。横河電機は、2015年にこの分野で実績のあった Chip Man Technology 社の技術を取得し、機械学習を使ったラベルフリー解析技術を獲得して、CellActivision という画像解析ソフトをリリースした。これは、位相差画像の解析に特化した優れたソフトウェアである。同じ頃、ライフサイエンスセンター内で独自にラベルフリー画像解析技術 DPC (Digital Phase Contrast) の研究を進め、それらを融合させた解析手法を開発した。その結果、横河電機は CV7000 や後継機 CV8000 と CQ1 の両方の装置で使うことができる共通のプラットフォーム解析ソフトである CellPathfinder (図7) を完成させた。

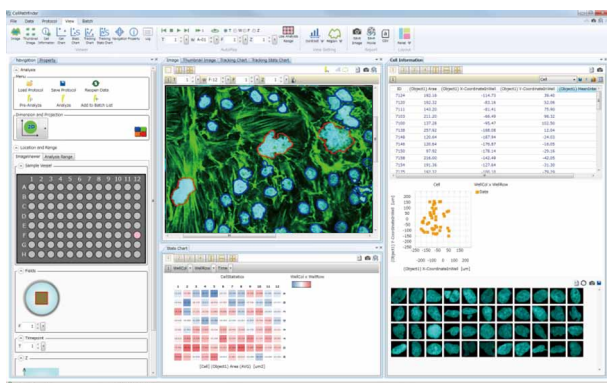


図7 ハイコンテンツ解析ソフトウェア CellPathfinder
(2017年発売)

薬を開発する過程では、従来は動物実験が用いられていたが、近年は動物愛護の観点から動物実験を禁止する動きにあり、ヨーロッパの化粧品開発では動物実験は実質禁止となっている。また、人と動物では遺伝子が異なるため、薬物に対する反応が異なり、動物実験が必ずしも人の薬効や毒性評価に適していないこともわかってきており、動物実験を少なくする動きを加速している。そのような中で、iPS細胞という人の体細胞から様々な種類の細胞を作ることができる技術が発見され、このiPS細胞を用いて、評価の早い段階で毒性の影響などを調べるのが可能になってきている。このような研究の場に横河電機の機器が活躍をしている。

ここまで述べてきた製品の変遷と、今後の目指す市場を図8に示す。コンポーネントからスタートし、システム、ソフトウェア製品を開発し、ライフサイエンスビジネスの基盤を開拓してきた歴史であり、同時に、技術の進化の過程でもあった。細胞を撮影して可視化する単純なイメージング技術をコアに、横河の計測、制御、情報技術を融合して、細胞ベースの創薬スクリーニングの技術を獲得してきた。将来に向かって、診断や再生医療分野をターゲットに細胞を扱うハンドリング技術、さらに細胞を生産するマニファクチャリング技術を開発して、ビジネスの拡大を目指していく。

3. 新規ビジネスの展望

この章では、横河電機が目指す今後の新規ビジネスに関する展望について述べる。

3.1 ビジネス領域の展開

■ 細胞観察ビジネス

我々は、細胞を観察して見えないものを可視化することがビジネスの発端であった。これからもこの技術がビジネスの原点であり、前述したCSUの分解能をより高めた共焦点顕微鏡CSU-SR(仮称)の提供を計画している。さらに、積層した組織のように、従来よりも深部を観察する技術も重要になると考えている。

従来は、シャーレに貼りつけた単層細胞の観察中心であったが、昨今では再生医療の研究が進むにつれ、細胞塊や人工的に積層した組織の観察ニーズが増えてきている。それに伴い、共焦点顕微鏡よりも深部観察が求められており、例えば、光CTや光音響などの技術に横河独自の工夫を重ねてソリューションを確立することを計画している。

細胞観察ビジネスの主たる市場は、当面は研究者(アカデミア)が中心となるが、現在の共焦点顕微鏡のように高価格でハイエンドな製品だけでなく、より幅広い研究者に使用していただけるような新しい企画製品も検討している。

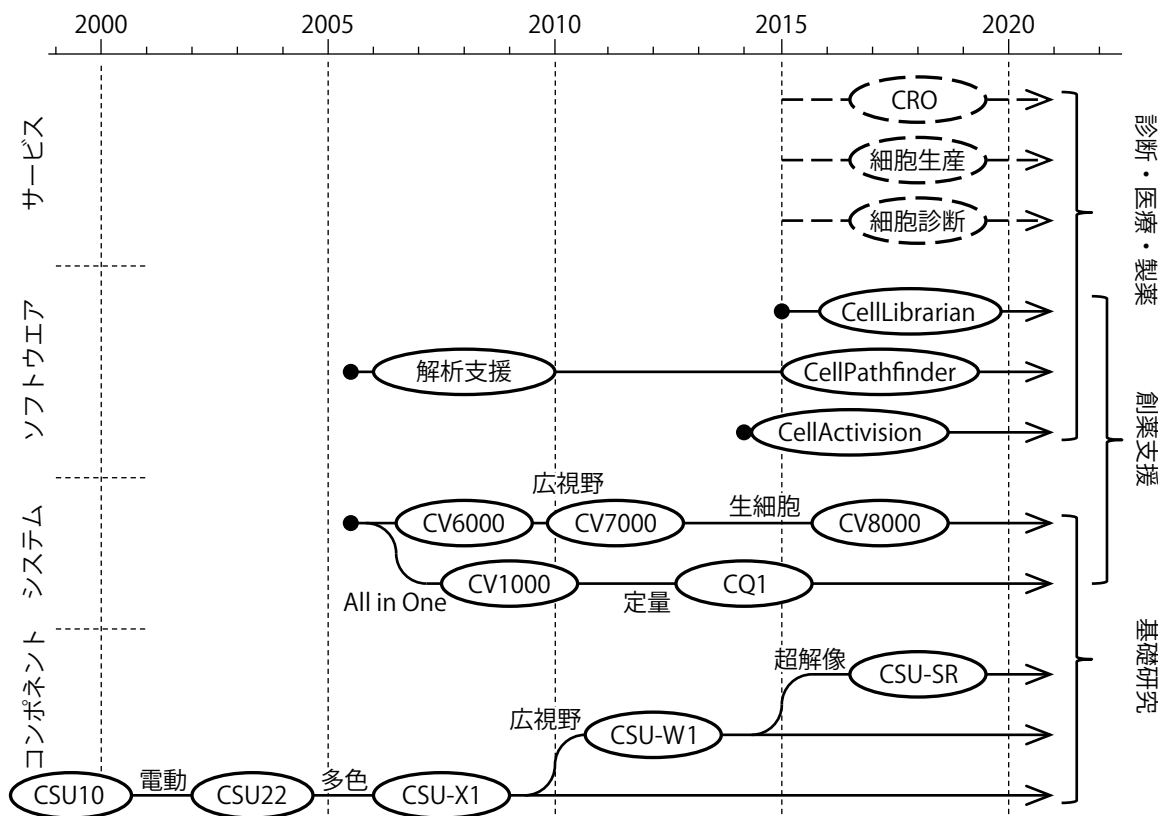


図8 ライフサイエンス機器、ビジネスロードマップ

■ 細胞計測・解析ビジネス

CellVoyager や CQ1 は、細胞の観察画像を取得して計測、解析する製品であり、創薬開発の分野で活用されている。創薬業界の動向の一つとして、動物実験の削減があげられる。現在では、iPS 細胞などのヒト由来の細胞が容易に入手できるようになり、これを用いた毒性試験が急速に広まるものと考えている。

このような動向に対応するため、東京大学薬学部が開設したヒト細胞創薬学寄附講座にいち早く参画し、新たな毒性試験方法の標準化も推し進めている。これらの毒性試験が標準化された際には、製品販売だけでなく受託試験サービスへとビジネスを広げることも検討している。

■ 細胞検査・診断ビジネス

細胞計測、解析のデータを積み重ね、その正確性が高まることにより、細胞を検査することが可能となる。今後大きく成長が見込まれる市場に再生医療があり、周辺産業まで含めた世界の市場規模は 2030 年には 10 兆円を超えると推測されている (図 9)。それに伴い、再生医療の分野で、細胞の良否や分化度の検査をするようなビジネスは急成長するものと期待している。

このような検査において、前述の機械学習を用いた非染色画像の解析技術等は大きな武器になると期待している。また、細胞内物質吸引技術を用いることによって、特定の細胞内部の物質の局在や代謝を知ることができる。

さらに、細胞内のメッセンジャー RNA (RiboNucleic Acid) を抽出し、これらを分析することで、細胞内部における遺伝子の発現や信号伝達の状況を診断することができる。この技術は、来るべき個別化医療において重要な役割を果たすものと考えている。

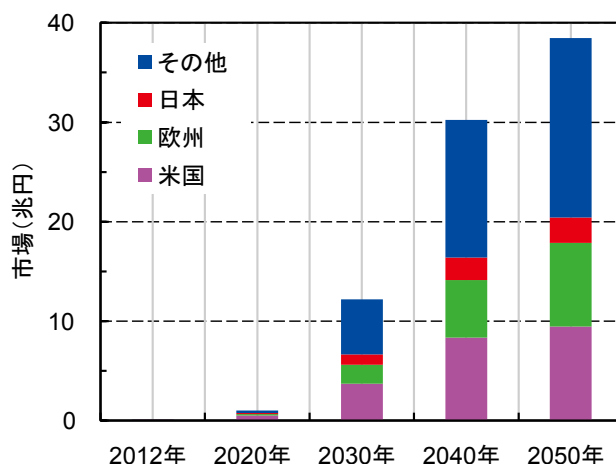


図9 再生医療の市場規模予想

(出典：平成 25 年 2 月、経済産業省「再生医療の実用化・産業化に関する報告書」)

■ 細胞制御ビジネス

本特集の中でも詳述されるバイオ抗体医薬生産技術は、細胞培養の状況を計測し、最適な培養条件を調節する技術である。これはすなわち細胞を制御する技術である。現在は、主にバイオ抗体医薬をターゲットとしているが、将来は細胞を用いた酵素やバイオマテリアルの生産においても活用されると見込んでいる。

3.2 ビジネスモデルの展開

現在の我々のビジネスは、製品販売が中心である。アカデミアの顧客には、自分たちの研究のために、複雑な機器を使いこなしていただいている。しかしながら、創薬の分野では別の大きな動きがある。

言うまでもないことだが、創薬の顧客は装置が欲しいのではなく、それらを用いた試験結果を必要としている。しかしながら、難解な機器の操作を理解し画像解析を行って、所望の結果を得ることは並大抵のことではない。さらに、昨今の製薬メーカーの状況は人員の最適配置を行い、試験などの業務は積極的に外部委託を進めている。

このようなニーズに対応するために、我々は製品ビジネスだけでなく、受託サービスビジネスへの参入も検討している（一般に、このような受託を行う企業を CRO (Contract Research Organization) という）。

このビジネスに参入するためには、顧客のプロセスに深く精通したサイエンティストが必要になるため、現在、最適な人材の補強と教育を行っている。

我々が目指すのは、単なる製薬企業からの下請け試験のアウトソーシングではなく、難易度が高いが付加価値も高い細胞試験の受託サービスである。前述のヒト細胞創薬学寄附講座を通して標準化された次世代の毒性試験において、横河電機が中心となって受託サービスを開始することを計画している。

また、個別化医療や再生医療の分野での受託サービスも考えられる。本特集の中でも紹介される細胞内物質吸引技術を用いることによって、患者由来の細胞の性質を精密かつ正確に調べるような受託ビジネスも可能になると思われる。さらに、再生医療の分野では、大量の細胞

の性質を検査し、安全性を確認することは必須となると考えるため、我々が保有する細胞解析技術を活用した受託検査サービスも可能となる。

そして、バイオ抗体医薬生産技術が確立できると、受託製造ビジネスも考えられる（このような受託生産を行う企業を CMO (Contract Manufacturing Organization) という）。我々が確固たる生産技術を確立した暁には、受託生産のみならず、プラントの提案も行うことができるようになり、IA ビジネスとのシナジーも見込まれる。

3.3 競争力を高めるために

上述のビジネスを推進するにあたって重要なことは、競争力の源泉となる強みである。CSU は先人たちの英知の結晶であり、これまで我々を牽引してきた。今後も他社が持ちえない強みをどのように築いていくかについても言及したい。

我々の強みとなるコア技術を自社開発するのは当然であるが、効率を求めて外部連携を行うことも検討している。幸いにも、我々の主たる顧客はアカデミアであり、密接な関係にある。また、これまでの共焦点顕微鏡の実績があるため、医学、薬学、工学などの優れたアカデミアと連携することは容易である。アカデミアが持つ基礎技術や知見をベースにして、我々はさらに技術的な工夫を重ねて、知的財産網を構築することが重要と考えている。

4. おわりに

我々のライフサイエンス分野事業領域は、パラダイムシフトを繰り返しながら大きな成長が見込まれる恵まれた事業環境にあると考える。しかしながら、大手電機メーカー、機械メーカーなどの積極的な参入も報じられており、競争は激化してきている。このような状況でも、自社の強みを強化しつつ、市場の動向に注視して戦略的に事業を進めることによって、明るい未来に繋がるものと確信している。

* CSU, CellVoyager は、横河電機株式会社の登録商標です。