

領域略称名：ロジスティクス  
領域番号：3002

平成25年度科学研究費補助金「新学術領域研究  
(研究領域提案型)」に係る事後評価報告書

「細胞内ロジスティクス：  
病態の理解に向けた細胞内物流システムの融合研究」

(領域設定期間)

平成20年度～平成24年度

平成25年6月

領域代表者 (大阪大学・生命機能研究科・教授・吉森 保)

# 目 次

1. 研究領域の目的及び概要	3
2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	5
3. 研究領域の設定目的の達成度	7
4. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	10
5. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	11
6. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	12
7. 総括班評価者による評価	13
8. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	15
9. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	18
10. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	23

# 1. 研究領域の目的及び概要（2 ページ程度）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、これまでの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

## 学術的背景

真核細胞内部においては各種のオルガネラ間をタンパク質や脂質などが盛んに往来し、複合的な物流が形成されている。このとき物質は、膜構造のダイナミックな変化-分裂・伸縮・移動・融合等-を多数のタンパク質が巧妙にコントロールするメンブレントラフィックと呼ばれる仕組みによって移動する。ゴルジ体の発見から約100年を経て、驚くべき精緻さを持った物流システムによってオルガネラがネットワーク化され、幾多の重要な生命機能を遂行している様子が垣間見え始めている（図1）。

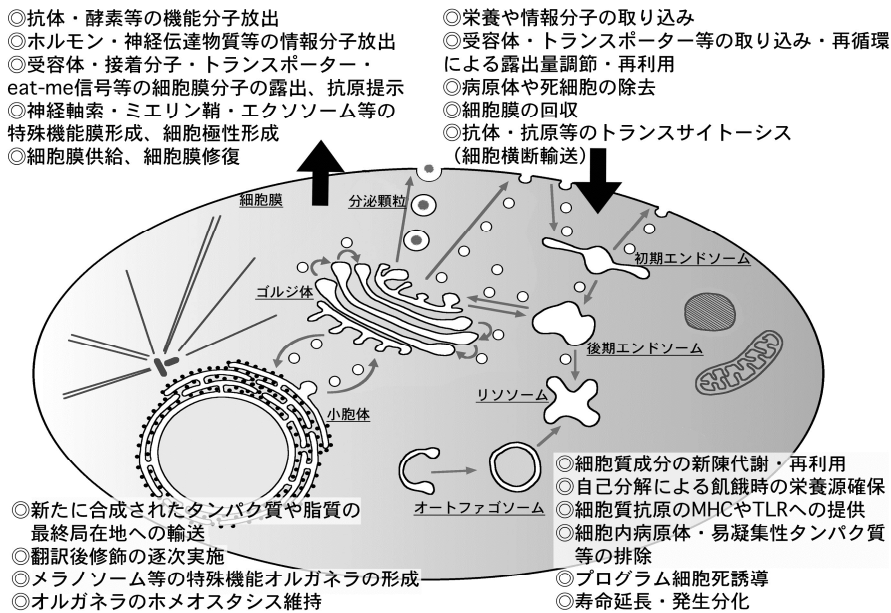


図1 細胞内物流システムが担う機能の例

最近の研究の進展とともに、この細胞内物流システムの実体が単なる A 地点から B 地点への物質運搬ではなく、細胞内で合成された分子や細胞内外から取り込まれた分子を、必要なとき必要な場所に必要だけ効率的に運ぶという複雑な制御を行っている事実が浮かび上がってきた。つまり膨大な量の分子往来に対し、細胞、ひいては組織や個体全体を見渡した統括的な物流管理がなされており、その様子はまさに経済用語のロジスティクス（Logistics）、すなわち「原材料の調達から製品消費までのものの流れの総合的なマネジメント」そのものである。人間がロジ

スティクスの必要性に気付く遙か以前から細胞はそれを実践していたと言えよう。

この物流システムは細胞膜とも接続し、外部からの物質や情報の取り込み、あるいは外部への物質放出や情報発信などにも直結する。すなわち細胞の対外活動において最前線となる細胞膜の後方支援機構（兵站＝Logistics の原意。ゆえに細胞内物流システムは2重の意味でこの語が当て嵌まる）として機能しており、個々の細胞の生存のみならず神経、内分泌、免疫系に代表される多数の細胞を統合する高次生体機能をも担っている。したがって、ヒトをはじめ高等多細胞生物では高度に発達・複雑化した細胞内ロジスティクスへの依存度が高く、その障害や破綻は疾患の原因となる。主要な物流経路である分泌経路、エンドサイトーシス経路、オートファジー経路は各々多岐に亘る機能を持ち、また各経路・オルガネラが細胞種に特化した機能を持つ場合も多く、その異常による疾患も非常に多彩である。また細胞内物流システムは病原体の分解除去に働く一方、それを攪乱・利用して細胞内侵入、寄生、増殖を果たす「進化した」細菌・ウイルス・原虫も数多く知られていることから、その分子機構の理解は感染症制圧に不可欠である。

このように多岐に亘る生理的病理的意義を持つことから、欧米ではこの物流システムの研究は細胞生物学の根幹となっている（例えば世界のトップレベルにある米国 Yale 大学細胞生物学部門のファカルティの大部分はメンブレントラフィック研究者である）。翻って我が国では、比較的研究者人口が少ないものの質的には優れた研究が積み重ねられており国際的コミュニティに一定の地位を持つに至っている。海外の大波に翻弄されずに確乎とした地歩を固める上で、この約10年間に2度に亘って実施された関連特定領域研究の貢献度は大きい。人口の少なさをカバーし効率的に全体の嵩上げを図ろうとするとときグループグラントは大きな威力を発

揮する。公募研究（倍率が高く関心の高さが窺える）による新規参入者や若手への支援を通して、国内コミュニティの育成にも寄与してきた。

### **本領域の目的**

過去の特定領域研究の成功によりいわば足場が組まれたので、本分野が更なる高みに達するために、これまでの蓄積を基に的を絞り先鋭化した強力なアプローチを行う先頭集団が分野を牽引する必要があると考えた。そこで本新学術領域研究では、病態の理解という他分野や社会への波及効果の大きい目標に特化し、既に疾患に関わる研究を展開しておりかつ優れた業績を持つ者を前特定領域研究から選抜した（うち複数名は、中間評価で特段の高評価を受けている）。さらに世界から一步抜ききんでるために、従来型研究手法に留まらず情報科学・工学（デジタル画像解析）及びケミカルバイオロジーとの融合研究を、単に計画研究に異分野研究者を加えただけではない真の連携により展開することを目指した。本融合研究の目標には、汎用性のあるテクノロジーの開発も含まれる。また総括班に研究協力企業を配置し、融合研究の側面からの支援を図った。

数多くの生理機能の後方支援（ロジスティクス）を行う細胞内物流システムは、広範な分野の横糸ないし地下水脈的存在であり、ある分野を縦に掘り下げていたところこのシステムに行き当たった例は枚挙にいとまがない。すなわち、潜在的な研究者人口は相当数に上ると考えられ、公募研究によってそのような中から重要な発見が期待される研究をピックアップし、我々が蓄積しているノウハウや情報の提供、あるいは共同研究により強力に支援することで、ここからもブレイクスルーが生まれるよう尽力することを目指した。また総括班の広報（ホームページ、ニュースレター）やシンポジウム開催などの諸活動を通して、細胞内物流システムに関わりが生じた本領域研究外の研究者に対してもソフト面（場合によってはハード面も）での支援を積極的に行うこととした。

本領域では、5年間の研究期間に次の各目標の達成を期した。1）各研究で扱う物流システムについて、免疫疾患・神経疾患・感染症・がん・内分泌代謝性疾患・リソソーム関連疾患等の病態に関わるメカニズムの核心部分に到達する。2）その目的達成に当たっては、融合研究を活用し新しいタイプのアプローチのモデルケースとする。3）分野内外で有用なテクノロジー（画像デジタル解析技術等）を開発・公開する。4）公募研究により次世代をリードする細胞内ロジスティクス研究者を見出し育てる。5）融合研究により、疾患の予防・治療に役立つ可能性のある化合物を最低3種同定する。6）細胞内ロジスティクス概念の啓蒙・普及に務め、他分野を巻き込んだ学問領域の確立を図る。

本領域は、公募要領にあげられた5つの研究対象のうち2, 3, 4番に該当すると考えた。まず、細胞生物学系研究者と情報科学・工学（デジタル画像解析）、ケミカルバイオロジーの専門家が共同研究を行う異分野連携である（対象2）。次に5名の細胞生物学系研究者も専門は、神経、免疫、内分泌、色素細胞、分解機構と多様で、細胞内ロジスティクスという新視点と異分野連携による新手法によって新たな展開を目指している（対象3）。多様で複雑な細胞内物流に対し、ロジスティクスという元来産業界で用いられる概念を持ち込むことで問題点の明確化、モデルの確立、新たな切り口の発見（例えば、異なる物流間のクロストークの可能性）等が容易になるであろう。そして多くの分野と関わる細胞機能であるため他の研究領域の発展に大きな波及効果をもたらすと考えられる（対象4）。

細胞内ロジスティクスは非常に多くの現象に密接にリンクしており、その理解の促進は生命科学のほぼ全域の水準向上につながる。細胞内物流システムは多様性を特徴とするが、細胞内ロジスティクスというより広範高次元な観点からの分野の確立と成熟は他分野の発展を促す大きな原動力となろう。またポストゲノム、ポストタンパク質構造、さらにはポストタンパク質間相互作用を考える上で、システムとしてより上位の階層にあって細胞の営みの根幹をなす細胞内ロジスティクスは生命科学における次の中心課題のひとつであると確信している。

## 2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ程度）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、どのように研究組織間の連携や計画研究と公募研究の調和を図ってきたか、図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

本領域では、参加する全研究者間の連携と融合研究を重視し、研究項目はひとつとした。本領域の目標である病態にかかわる細胞内物流システムの分子機構の解明に向け、主体となる生物学的解析とそれをサポートする2つの異分野融合研究をスムーズに実施するために、右図のような組織編成を行った。生物系の5つの計画研究及び約30の公募研究（2期目に半分以上が入れ替わった）と画像解析を専門とする情報科学・工学系計画研究代表者1名及びケミカルバイオロジーの専門家の計画研究代表者1名が、総括班の統轄下に連携し融合研究を展開した。公募研究は画像解析の枠も設け生物系とは別途審査を行い、2～3の情報系グループが参加し融合研究を行った。総括班は、生物系研究者間の共同研究促進や研究支援活動も実施した。その結果、期間内に発表された領域内の共同研究による成果は、14件に上る。（「8. 主な研究成果」参照）

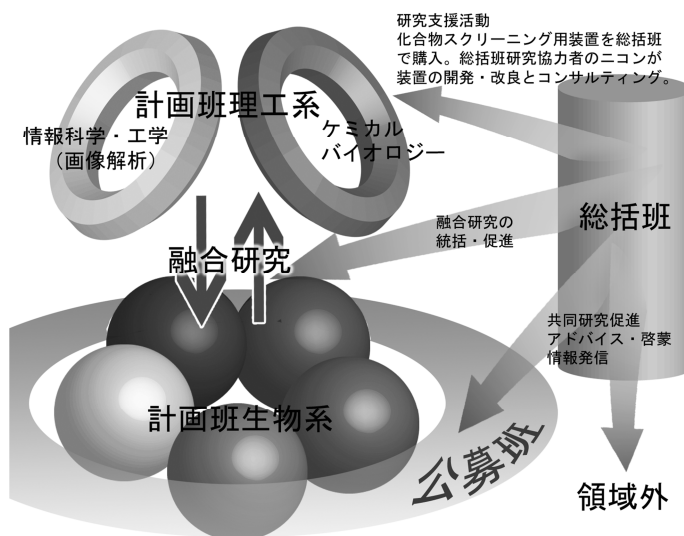
以下に融合研究の取り組みについて詳しく述べる。

### 1) ケミカルバイオロジー

目的は、研究や疾患治療に有用な細胞内ロジスティクスを制御する低分子化合物の同定である。領域内の生物系計画研究および公募研究グループの興味あるタンパク質と結合する化合物のスクリーニングを、ケミカルバイオロジーの専門家である計画研究代表者の清水が、独自に開発した化合物アレイで評価した（右図）。また、化合物溶液も準備し、各研究グループがオリジナルのアッセイ系を用いて表現型を阻害する化合物の探索を行った。班員一同が会する班会議の場や、個別の連絡のやり取りで共同研究（融合研究）を進めた。具体的な実績数は図に示すとおりである。これらのヒット化合物について、各グループがさらに解析を行い、研究あるいは臨床応用に適用可能なものを選別した。現時点で少なくとも3つのグループで有用な化合物が同定されており、今後さらに増えるものと思われる。

### 2) 画像解析

細胞内ロジスティクス研究に欠かせないイメージングは、顕微鏡やカメラなどの画像取得技術の目覚ましい進歩に比べ、得られた画像の解析技術が大きく立ち後れている。本領域では、笑顔認識など他分野で先進的な我が国のデジタル画像解析技術を導入し、細胞内物流システム観察画像を定量解析するための「細胞内画像処理」というまったく新しい分野を切り開くことを目指した。文字通りの異分野融合であり、情報科学・工学と生命科学研究者双方にとってチャレンジングな課題であったが最初の一步を踏み出すことに成功したと考えている。技術開発については項目3と8の牧野内（画像解析を専門とする計画研究代表者）の項及び「4. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況」に記載した。新学問分野の創造のためには領域内での連携だけでは不十分で、学会等における啓蒙活動を積極的に行い広く意義を知って貰うことが必要と考え、総括班を中心に下記のような活動を展開した。その結果、情報科学・工学分野においてそれまでほとんど知られていなかった細胞内イメージングの重要性をアピールすることができたと考える。



### 研究領域内共同研究実績

#### 化合物アレイ

依頼研究機関数:	合計12機関
依頼タンパク質数:	合計52種類 (脂質等含む)
ヒット化合物数:	合計570化合物

#### 化合物溶液

依頼研究機関数:	合計10機関
依頼アッセイ数:	合計10種類
配布化合物数:	合計3356化合物

アルゴリズムコンテスト：精密工学会主催の外観検査アルゴリズムコンテスト(<http://alcon.itlab.org>)と共催で、細胞内物流システム観察画像の処理をテーマに2010年～2012年まで3年連続でアルゴリズムコンテストを実施した。前年までの参加人数を3年連続で更新する盛況であった。毎年500名前後の参加者を集め、実用画像処理の研究・開発を多数発表している ViEW(<http://view.itlab.org>)と連携し、優秀者には細胞内ロジスティクス(大)賞として本領域総括班が表彰を行い、「細胞内観察画像の実処理」という新しい研究テーマの啓蒙とコミュニティ形成に寄与した。

第1回：2010年は東北大福田班提供のメラノソーム時系列観察画像に対して、メラノソームを自動追跡することをテーマにて実施し、143名のエントリーがあった。

<http://www.riken.jp/briect/Logistics/ViEWAlconResult10.html>

第2回：2011年は阪大吉森班提供のオートファゴソーム観察画像に対して、オートファゴソームの計数と所属する細胞の自動推定をテーマに実施し、159名のエントリーがあった。

<http://www.riken.jp/briect/Logistics/ViEWAlconResult11.html>

第3回：2012年は徳島大佐々木班提供の細胞集団の再生過程を観察した画像に対して、その細胞領域を時系列で抽出することをテーマに実施し、160名のエントリーがあった。

<http://www.riken.jp/briect/Logistics/ViEWAlconResult12.html>

研究会・ワークショップの開催：下記研究会を共催・オーガナイズし、細胞内物流システム観察画像の処理・分析技術に関して情報学・工学と分子細胞生物学の融合交流を行った。これまでは、情報学の学協会では、細胞内画像処理はまったくと言ってよいほど行われてなかったが、本領域の活動により新たな分野として認知され今後の発展が期待される。

- ① MIRU2010 サテライトワークショップ「細胞内画像処理」、釧路、2010年7月26日。
- ② 電子情報通信学会医用画像研究会、理化学研究所、2010年9月3日。
- ③ 日本機械学会第23回バイオエンジニアリング講演会 OS「イメージベースドモデリングの新展開」 熊本大学、2011年1月8日-9日。
- ④ Bioimage Informatics Workshop 2011、理化学研究所 横浜研究所、2011年1月28日-29日。
- ⑤ Biomedical Interface Workshop 2011、宮古島、2011年2月28日-3月1日。
- ⑥ RIKEN-Taiwan National Science Council Workshop on Biomedical Imaging and Image Processing、理化学研究所 神戸研究所、2011年11月18日。
- ⑦ Bioimage Informatics Workshop 2012、神戸理研、2012年11月1日-2日。
- ⑧ 画像処理と生物学の分野融合を目指したワークショップ、秋保温泉岩沼屋、2012年6月13日。

ソフトウェアの公開：牧野内班で開発したプログラム・ソフトウェアは、領域内外で公開している。特に、開発した画像処理プラットフォームは下記URLよりだれでもダウンロード可能である。

<http://logistics.riken.jp/vcat>

#### 総説の発表や講演

領域代表者の吉森が、「細胞生物学と情報科学の融合を」と題した総説を、電子情報通信学芸 96、124-127。(2013)に発表した。公募研究の内田が、映像情報メディア学会誌にて「バイオイメージインフォマティクス」の特集号を組み、自分も概説記事を執筆し画像情報学研究者への細胞内解析研究の重要性を啓蒙した。内田はビジョン技術の実利用ワークショップ(ViEW2011)において、「細胞内画像処理と大局的最適化」なる招待講演、基礎生物学研究所(2012)や北大(2013)での講演、「定量生物学の会」(2012)での画像認識チュートリアルを行った。



### 3. 研究領域の設定目的の達成度（3 ページ程度）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、どの程度達成できたか、また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしての達成度合いについて、具体的に記載してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目毎の状況も記述してください。

領域全体としては、病態にかかわる物流システムのメカニズムの解明という最重要目標に対し期間内に多くの発見があり（下記及び項目 8, 9 参照）、予想を上回る達成度であったと考える。中間評価における最高評価 A+ の後も停滞することなくさらなる発展があり、前半後半を通して著しい成功を収めたと言えよう。画像デジタル解析ソフトウェアの開発・公開も達成できた。また公募研究により、次世代をリードする細胞内ロジスティクス研究者を育てることができたと自負している（項目 5 参照）。3 個以上の有用化合物の同定も達成した。細胞内ロジスティクス概念の啓蒙・普及については、生物系学会に加え情報・工学系学会でも活発に活動した。画像解析技術開発とケミカルバイオロジーの 2 つの融合研究の詳細は、項目 2 で述べた。以下に各個別研究の状況を記す。

#### 【計画研究】

**吉森 保**：生体防御に働くオートファジーの作動・制御機構を明らかにし、感染症・タンパク質凝集病・がん等の病態理解促進を目指すという目標に対し、PI3 キナーゼ複合体によるオートファジー制御機構や病原体に対するオートファジーに特異的な機構を明らかにした。オートファゴソーム膜の起源解明については、生成場所の特定に成功し 40 年の論争に終止符を打つブレイクスルーを成し遂げた。エンドサイトーシス経路の新しい制御因子を同定し作用機序を明らかにした。予想を上回る成果が多数得られ、目標の多くは達成度 100% 超と言える。またオートファジーの促進剤・阻害剤を化合物スクリーニングにより同定し現在も解析を続けている。

**大野博司**：極性物流システムの破綻は、吸収障害や免疫系の破綻のみならず、発癌にもつながる可能性があるが、極性物流システムの個体レベルでの役割は明らかではない。そこで本研究では、①AP-1B 遺伝子欠損マウスの解析、ならびに②研究代表者が最近同定した腸管上皮細胞特異的な物流制御因子 GP-2 および M-sec の構造機能解析上皮細胞における極性物流システムについて明らかにすることを目的とした。その結果、AP-1B は上皮細胞の極性と増殖をリンクすること、これに関連して AP-1B の発現が上皮細胞の癌化に関与する可能性が示唆された。さらに、AP-1B を欠損するとサイトカイン受容体のミスソーティングの結果腸炎を自然発症することを明らかにすることができた。また、GP2 は細菌の取り込み受容体としてその後の細菌特異的粘膜免疫応答の誘導に重要なこと、M-Sec は遠隔細胞の細胞膜を物理的に連結する細胞ナノチューブの形成制御因子として重要なことを明らかにした。

**福田光則**：メラノソームの細胞内動態の分子機構の解明を目標に、メラノソームの形成・成熟・輸送に必須の役割を果たす新規因子の同定を行った。これまでに微小管上のメラノソーム輸送の分子機構等の解明に成功し、十分な成果を挙げる事が出来た。**泉 哲郎**：Rab27 エフェクター granophilin、exophilin7、exophilin8 の膵β細胞インスリン分泌における役割に関する知見を発表できた。ただ、他のエフェクターに関する遺伝子改変マウスや、膵β細胞以外の細胞における知見は未発表である。また、生きた膵β細胞でインスリンと開口放出を制御する分子を別々の蛍光で標識して、50-100 ms 単位の高速度で顆粒の動態と分子の関係を観察できる系を構築した。今後、この系を用いて顆粒の細胞膜ドッキング、プライミング、フュージョン（融合）の関係に関する新知見を発表予定である。論文発表に至っていない知見が多い点を考慮すると、達成度としては 70% くらいである。

**佐々木卓也**：本研究では、高次神経機能を支える細胞内物流システムとしてシナプス小胞輸送とシナプス形成に関わる分子輸送の制御機構を解析した。前者については、シナプス小胞輸送を制御する Rab3A の関連蛋白質 Rabconnectin-3 のノックアウトマウスが神経機能障害を示すことを見出した。後者については、Rab13 とその標的蛋白質 JRAB が、小胞輸送とともにアクチン細胞骨格の再編成を時空間制御することでシナプス形成に関与していることを明らかにした。**牧野内**：細胞内の多様な輸送経路の統括的理解を目的に、様々なイメージング技術の開発がなされ、撮影した画像情報からの定量解析技術の確立が求められている。本研究では、個人の判断基準によらない画像解析手法の開発を目的とし、細胞内物流システム解析に特化した画像処理アルゴリズムの研究開発と、細胞内物流システムの長時間観察システムの開発を実施した。これらの新規手法を元に、細胞生物学者に優しい画像処理計算ソフトウェアを開発し、無償公開を実施

した。また、細胞内画像処理という新たな学問分野の確立に向け、国内外で研究発表や研究会・シンポジウムの開催、学会と共催でのアルゴリズムコンテストなどの啓蒙活動を積極的に実施した。**清水史郎**：第一に我々が開発した、ガラス基板上へ低分子化合物を「官能基非依存的」に固定化する技術と、理化学研究所内で整備されている化合物バンクを利用して、計画班員および公募班員からの標的タンパク質に結合する低分子化合物を網羅的に探索・解析することを目的に研究を行った。結果としてオートファジー制御化合物を含む複数の候補タンパク質に対して、阻害剤を発見することができた。中には *in vivo* においても効果を発揮するものも同定された。また、第二に糖鎖によるがん細胞転移の機構解析もケミカルバイオロジーの手法と質量分析法により、詳細な検討をすることができた。具体的には MMP-9, cathepsin V, PDGF などが挙げられる。双方の結果より、応募時に設定した目的に対して概ね達成できたと思われる。

【公募研究】(公募研究は多数のため、一部のみ記載する。本項目に記載しなかった公募研究は、項目 8「主な研究成果」に記載する。)

**内田誠一**：バイオイメージの自動定量化課題、特に末梢神経細胞内の GFP 輝点群の追跡問題について、画像情報額の最新技術、特に大局的最適化に基づく技術を開発・適用し、目視による追跡結果と同程度の定量化を実現した。**堀田一弘**：細胞生物学の分野では手動による対象検出や追跡が行われており、大量のデータが得られないことやデータが主観的になるという問題があった。そこで、パターン認識法による高精度な対象検出および追跡の実現を目的とした。その結果、従来の ImageJ をはるかに上回る輝点の検出および追跡法を実現できた。**石井 優**：破骨細胞内のケモカイン受容体やプロトンポンプの細胞内局在制御機構を明らかにすることを目的としていたが、正と負のシグナルを伝える 2 種類のケモカイン受容体の時空間制御機構を解明し、これを論文発表した。さらに、プロトンポンプの細胞内局在変化を生体内で観察するリポーターマウスを作成し、2 光子励起イメージング系を改良することにより、生体内での細胞内分子局在を追跡する系を確立した(研究期間終了後に論文発表を行った)。**村田昌之**：ゴルジ体に中心を持つゴルジ体依存的微小管中心の機能とその制御機構の一端を明らかにした。機能としてはゴルジ体からの特定方向の小胞輸送の活性化であり、その制御機構としてゴルジ体に結合している GSK3 $\beta$  による微小管結合タンパク質・CLASP2 のリン酸化である。**鈴木利治**：APP と Alcadin は、キネシン-1 のカーゴであるが、APP は Alcadin より高速の順行輸送を受け、Alcadin はキネシン-1 を活性化できる。二種類のカーゴ分子がキネシン-1 の機能を修飾し、異なる能力を発揮させる分子機構の解明に取り組んだ。APP 高速輸送に関してはキネシン-1 モーターとの結合を介在するアダプタータンパク質 JIP1 の機能を明らかにした。また、Alcadin は細胞質ドメインの WD モチーフがキネシン-1 を活性化出来る事を示した。**白根道子**：われわれは神経機能制御における小胞膜輸送システムの分子機構の解明を目指してきた。具体的には protrudin 依存的な小胞膜輸送システムの複合体の全体像を明らかにし、その制御機構を明らかにし、神経疾患との関係を明らかにすることを目標としてきた。本領域での研究により、protrudin の神経系におけるタンパク質複合体の網羅的解析を行い、KIF モーター分子と結合し輸送促進に寄与していることを明らかにした。また遺伝性痙性対麻痺の発症機構として ER 膜微細構造調節機構を明らかにした。また protrudin 結合タンパク質の FKBP38 が、マイトファジー誘導時にミトコンドリアから ER に局在変化することにより細胞死抑制に働いていることを明らかにした。**藤本豊士**：細胞内ロジスティクスの分子メカニズムを膜脂質局在の観点から解明することを目指した。イノシトール 4,5-二リン酸のナノレベル局在を決定する方法を確立し、さらに他の膜脂質についても研究が大きく前進した。**中山 和久**：応募時には、ARF-COPI 輸送系を遮断した時に起こる脂肪滴形成の亢進の機構について明らかにしようとした。研究期間(H21-H22 年度)を過ぎてからはあるが、この脂肪滴形成の亢進が SREBP の活性化に起因することを明らかにした。**山口 英樹**：本研究では癌細胞の浸潤活性を担う浸潤突起における癌関連分子 CDCP1 の役割と細胞内ロジスティクスとの関連を明らかにすることを目的とした。その結果 CDCP1 が MT1-MMP の脂質ラフト及びカベオリン小胞を介した細胞内輸送に関与し、浸潤突起による細胞外基質分解を制御していることを明らかにし、概ね当初の研究目的を達成したと考えられる。**吉田秀郎**：ゴルジ体以降の小胞輸送能力を細胞の需要に応じて強化するゴルジ体ストレス応答の分子機構を解明することを目的として解析を行ったところ、ゴルジ体ストレス応答の中心的制御因子で



ある転写因子 TFE3 を単離し、TFE3 の活性が脱リン酸化による核移行によって制御されていることを明らかにした。センサー分子まで明らかにすることはできなかった。**天野敦雄**：ヒト宿主細胞内細菌感染に關与する細胞内ロジスティクス機構と、それに伴う遺伝子発現の分子機構の解明を目指した。その結果、細菌と宿主細胞のせめぎ合いの様子が明らかとなるとともに、がん抑制遺伝子の発現への關与も示され、予想以上の成果をあげた。**紺谷圈二**：リソソームや一次繊毛への物質輸送に介在すると考えられる ARL ファミリー低分子量 G タンパク質群の作動原理と機能的役割を明らかにすることを目的に、線虫を用いた遺伝学的・細胞生物学的手法による解析を行った。その結果、ARL8 が HOPS 複合体を介してリソソーム融合に促進的に機能していること、ARL13b がパルミトイル化修飾と RVxP モチーフの両者に依存して一次繊毛に輸送されることを明らかにし、当初の目的を 7~8 割程度達成できた。**山本 泰憲**：シナプス小胞の膜融合過程に着目して神経伝達物質の放出機構の解明に取り組み、以下を達成した。1) シナプス小胞の膜融合効率を調節する分子機構を明らかにした。2) シナプス小胞の膜融合を担う SNARE タンパク質の生合成機構を明らかにした。**山田雅巳**：滑脳症原因因子 LIS1 が細胞質ダイニンをアイドリング状態で微小管プラス端(神経終末)までリサイクル輸送した後の細胞質ダイニンの(再)活性化メカニズムを、蛍光分子イメージングにより解明することを目的とした。本研究課題期間中に *in situ* 蛍光相互相関分光法 (FCCS)、*in vitro* および *in situ* 蛍光 1 分子イメージングによる微小管上での物質輸送を直接的に観察あるいは計測できる実験系を確立し、活性型 GTPase Rab6a が、細胞質ダイニンに直接結合することで細胞質ダイニンを(再)活性化させるという新しい分子制御メカニズムを示すことができた。**原田彰宏**：研究期間内に、細胞内極性輸送に關与する既知分子 (Rab8a, Rab8b, syntaxin3, VAMP7, SNAP23, PKD1, 2 など) のノックアウトマウスの解析とその細胞極性に与える影響を見ること、を目的としたが、VAMP7 ノックアウトマウスについては既に論文として報告した。また PKD1, PKD2, SNAP23 ノックアウトマウス、Rab8a, b のダブルノックアウトマウスについても助成期間内に解析が終了し、現在投稿中である。このように概ね順調に達成できたと考えている。**齋藤 康太**：コラーゲンの分泌異常によって惹起される疾患の病態理解に向け、コラーゲン分泌の分子機構の解析を行なった。小胞体におけるコラーゲン受容体である cTAGE5/TANGO1 巨大複合体の構成因子を明らかにし、構成因子の結合意義を明らかにすることを研究計画とした。結果、複合体中に Sec12 が含まれること、Sec12 によって Sar1 が活性化されることが cTAGE5/TANGO1 によるコラーゲン輸送に必要な可能性を提示した。さらに、各因子の線維化疾患における役割について解析することを計画したが、肝線維化には cTAGE5/TANGO1 および TANGOL は關与しないこと、また一方で他の分泌關連因子が關与する可能性を新たに見いだした。以上のようにおおむね当初の達成目標を遂行できたと考える。**北村大介**：抗原受容体 (BCR) シグナル伝達因子 BLNK に結合する 4 回膜貫通蛋白ファミリー CMTM3 と CMTM7 は細胞膜・クラスリン被覆小胞等に共局在し、BCR と共にエンドサイトーシスされる。CMTM3 と CMTM7 はそれぞれエンドサイトーシスを正と負に制御するが、本研究ではその制御機構と BLNK を介したシグナル伝達との関係を解明しようと試みた。しかし、ノックアウトマウス作製の失敗もあり、到達度は約 50% 程度であった。**佐藤美由紀**：線虫生殖腺をモデルに、脂質の取り込みを制御するエンドサイトーシスの分子メカニズムとその活性調節機構の解明を目指した。その結果、細胞内への脂質の取り込み活性が発生の時期特異的な受容体のダウンレギュレーションにより調節される現象を見出し、さらにそこに関わる因子も同定した。また、この研究の過程で、受精卵においてオートファジーが誘導され、父性ミトコンドリアの分解に働くことを発見した。**鏑田武志**：抗原受容体 (BCR) シグナル伝達の際のリガンド及び受容体の細胞内輸送の制御機構とその意義を明らかにしようとし、BCR 架橋の際の受容体エンドサイトーシスの際に、通常のエンドサイトーシスとは異なり mixed endosome を形成し、長時間比較的高い pH を保持したまま細胞内で保持されてシグナル伝達を行なうことを明らかにした。また、B リンパ球の活性化にはエンドソームでのシグナル伝達が必要であることを示唆する知見が得られた。これらの結果から、当初の目的は十分に達成できたものと考えられる。

#### 4. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況（1ページ程度）

研究推進時に問題が生じた場合には、その問題点とそれを解決するために講じた対応策等について具体的に記述してください。また、組織変更を行った場合は、変更による効果についても記述してください。

生物系の個々の研究や共同研究、ケミカルバイオロジーの融合研究は、特に問題はなくスムーズに進んだ。一方画像解析は、隔たりがとても大きい情報科学・工学と生物学の文字通りの異分野融合であるため、まずお互いを理解するところから始めなければならなかった。すなわち、画像解析の専門家は細胞についての知識がほとんどなく生物学者が何をしようとしているのかを知らず、生物学者は画像解析技術の基本的枠組みや何が出来るのかを知らない。用語もお互い理解不能で、当初は異文化異言語の外国人同士の会話のようであった。

そこでまず画像解析を専門とする計画研究代表者・牧野内のグループが、電子メールのやり取りに加えて、他の各計画研究グループと下記に示すシンポジウム・研究打ち合わせを通して、地道な相互理解の努力を重ねた。特に、牧野内グループが全ての計画研究グループを訪問し、じっくりと話し合いを行ったことの効果が大きかった。このような努力の結果、生物系側は画像解析の有用性や限界を把握し、牧野内グループは、細胞内物流システムとは何か、何が求められているのか、個々の研究に共通するものは何かなどを理解することができた。これにより、輸送速度や幾何情報、位置の相関など、画像データから数値化できる要素を抽出するアルゴリズムの開発を実際にスタートすることができ、牧野内グループでは打ち合わせで得られた情報を、期間全体を通して活用した。

1. 班会議にて領域内の各計画研究班と打ち合わせ：2009年11月9日～12日(沖縄)、2010年6月28日～7月1日(札幌)、2011年6月1日～6月3日(鳥羽)、2012年6月13日～6月15日(仙台)。
2. シンポジウム：2008年12月10日～11日(神戸：分子生物学会にて全班)、2009年1月29日(新橋：メントラ・細胞内ロジスティクスシンポジウムにて全班)、2010年7月26日(釧路：MIRUにて吉森班)、2010年12月9日(横浜：ViEWにて福田班)、2011年9月21日(京都：生化学会にて吉森班)、2011年12月8日(横浜：ViEWにて吉森班)、2012年12月6日(横浜：ViEWにて佐々木班)。
3. 研究打ち合わせ：2009年1月28日(東京国際フォーラムにて全班)、2009年3月11日(阪大にて吉森班)、2009年3月12日(徳島大にて佐々木班)、2009年3月16日(横浜理研にて大野班)、2009年3月23日(東北大にて福田班)、2009年3月30日(群馬大にて泉班)、2010年6月3日(阪大にて吉森班)、2010年9月17日(阪大にて吉森班)、2011年10月29日(徳島大にて佐々木班)、2012年8月29日(徳島大にて佐々木班)。

## 5. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1ページ程度）

研究領域内での若手研究者育成の取組及び参画した若手研究者の研究終了後の動向等を記述してください。

若手研究者育成は本領域の重要な課題であり、班会議への各研究代表者のラボや班外からの若手研究者の参加を促し、活発な議論を通してモチベーションが高まるよう腐心した。班会議では実践的なノウハウの交換なども行われ、若手の研究を後押しできたと考えている。本領域の公募研究には若手研究者が比較的多く、その中から公募研究に採択され、資金援助を受けかつコミュニティの交流の輪に入ることができたことにより、物心両面でエンカレジされたとの声が複数寄せられている。

本領域参加後に昇進あるいはポジションを獲得した例は予想以上に多かった。領域に参加したことが後押ししたと考えたい。下記に具体例を列挙した（公募研究代表者以外については、漏れている情報があるかもしれない）。また、まだ終了後間無しであるので、今後成果の発表が進めばさらに活躍する若手が増加するものと思われる。昇進以外では、公募研究代表者1名が、女性科学者の会平成24年度奨励賞を受賞している。

- ・ 大阪バイオサイエンス研究所副部長から2013年大阪大学准教授に。
- ・ 神戸大学テニュアトラック助教から2009年同テニュアトラック特命准教授に。さらに2012年同准教授（テニュア）となり、2013年には京都大学教授。
- ・ 理化学研究所特別研究員から北海道大学助教に。
- ・ 学振特別研究員から金沢医科大学特任助教に。
- ・ 高エネルギー加速器研究機構准教授に。
- ・ 東京大学特任助教に。
- ・ 岡山大学助教から東京女子医科大学テニュアトラック准教授（PI）に。
- ・ 大阪大学テニュアトラック特任准教授から2013年同准教授（テニュア）に。
- ・ 1名が大学教授、2名が大学助教に。
- ・ 理化学研究所特別研究員から北海道大学助教に。
- ・ 名古屋大学任期付きポジションから広島大学准教授（テニュア）に。
- ・ 東京大学大学院博士課程の学生から同特任助教に。
- ・ 大阪大学独立准教授から同教授に。
- ・ 名古屋大学准教授から鹿児島大学教授に。
- ・ 京都大学准教授から兵庫県立大学教授に。
- ・ 群馬大学助教から同准教授（別研究室）に。
- ・ 大阪大学大学院博士課程から同助教に。
- ・ 理化学研究所専任研究員から2010年慶應義塾大学専任講師に。さらに2012年同准教授に。
- ・ 群馬大学博士研究員2名が同助教に。
- ・ 大阪大学テニュアトラック准教授から同准教授（テニュア）に。
- ・

## 6. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ程度）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

後述する細胞観察装置を総括班経費で購入し、領域内で共有した。総括班は、全体班会議を毎年、国際シンポジウムを隔年で開催した。画像解析ソフトウェアのコンテストを精密工学会と共に実施した。全体班会議では、3日間に亘り口演とポスター発表を行った。会議は公開とし、班外からのポスター発表もあった。総括班会議には、国内外の著名な関連分野研究者を外部評価委員として招聘し意見を聞いた。ウェブサイト運営及びニュースレター発行を通して情報発信を行った。また開発したソフトウェアの公開や、他学会での啓蒙活動を行った。

・**総括班会議** 第1回2009年1月東京、第2回2009年4月埼玉、第3回2009年11月沖縄、第4回2010年7月北海道、第5回2011年6月三重、第6回2012年6月宮城。

・**全体班会議** 第1回2009年11月沖縄県、第2回2010年6月北海道、第3回2011年6月三重、第4回2012年6月宮城県。

・**シンポジウム** 1) 国際シンポジウム「メンブレントラフィックとがん」2010年6月28～29日北海道。海外10名（総括班海外評価者2名を含む）国内10名の著名なメンブレントラフィック研究者による講演と一般からのポスター発表を行った。参加者約160名。極めて充実した内容で、このようなテーマの国際会議は初であると海外からの演者の評価も高かった。2)「オートファジーに関する国際シンポジウム」(6<sup>th</sup> ISA) 2012年10月28～11月1日沖縄。国外の著名な研究者24名を講演者として招いた。参加者は319名のうち自費参加の国外参加が27ヶ国187名という我が国では希な真の国際会議となり、大成功であった。

・**情報発信** 領域のウェブサイトを立ち上げ、<http://leib.rcai.riken.jp/logistics/home.htm> 成果の公表や報道状況などの情報発信を行った。また研究内容の解説や学会レポートなど種々の情報を掲載した領域のニュースレターを計6号発行し、全国の関係者に送付した。成果のマスメディアでの公表や、中高生あるいは市民向けの講演など、社会に対するアウトリーチ活動も各班員が活発に行った。

・**融合研究の促進** 1) ケミカルバイオロジーによる薬剤開発を領域内で促進するため、総括班で自動化細胞観察装置（Nikon, BioStation）を購入し班員が誰でも使用できるようにした。しかし残念ながら説明会も開催したが多くの班員が利用するには至らず、設置場所の吉森研のメンバーが使用したのみであった。これは本領域の反省すべき点である。計画研究代表者の清水が統括し、理研の化合物ライブラリーと化合物アレイを用いた化合物スクリーニングを各班員が実施した。有望な候補化合物が得られている。2) デジタル画像解析技術の開発のため、それを専門とする計画研究代表者の牧野内グループが他の計画研究代表者のラボをひとつずつ回り、needs などについて意見交換を行った。班外に細胞の画像解析の意義を広め、かつ有用なソフトウェアを開発するために、精密工学会が毎年開催する外観検査アルゴリズムコンテストで、2010～2012年の連続3回メンブレントラフィックをテーマとして貰った。情報工学系の学会等で講演し啓蒙活動を行った。また領域で開発されたソフトウェアをインターネットで広く公開し、成果の還元を行った。

## 7. 総括班評価者による評価（2ページ程度）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

本領域では、国内外の関連分野の著名な研究者（国内5名海外3名）に総括班評価者として参加頂いた。毎年の班会議に全て参加下さった方もいらっしゃる、海外の評価者にも国際シンポジウムに参加頂くなど形だけではない実質的な評価・アドバイスを頂き、領域の運営に役立てることができた。下記のコメントにあるように、グループ研究のメリットが活かされた点や、融合研究を推進した点で高い評価を頂いた。さらに、情報科学分野から参加頂いた輿水先生には、評価に留まらずコンテストの実施など種々の活動により融合研究の促進に尽力頂き実績を出すことができた。

### 東京大学／理化学研究所 中野明彦先生：

本新学術領域研究は、小胞輸送、メンブレントラフィックと続いてきた特定領域研究に引き続き、吉森領域代表のリーダーシップのもと、我が国の膜交通分野の主たる研究者を束ねるグループ研究として重要な役割を果たしてきた。華々しい成果が多数発表され、領域内での共同研究も数多く推進された。また、新学術の特徴として、情報科学、ケミカルバイオロジーという異分野の研究者も積極的に取り込んで、新しい研究の流れを作ったことは高く評価できる。とくに情報科学では、画像情報解析の専門家が積極的に参加し、細胞生物学に有効なソフトウェア開発も進められた。領域が終了した後も、これらの連携が続くことを強く念じている。

若手の研究者がこのグループ研究から育ちつつあることも大変喜ばしいことである。吉森班に続く新学術領域が、本領域の班員からまた生まれていくことを願い、我が国のこの分野がますます発展することを期待したい。

最後に、評価委員として本領域の総括班員に加えていただき、班会議でよい刺激を与えていただけたのは、私にとっても非常にありがたいことであった。吉森領域代表に改めてお礼を申し上げたい。

### 中京大学 輿水大和先生：

情報科学と画像技術に身を置く私にとって吉森先生の『細胞内ロジスティックス』研究の構想は、次の二つの意味で非常に刺激的でした。一つは、細胞内物質の挙動などの諸性質は物質科学ですが、これをロジスティックスという社会科学（ないし、情報科学）の舞台に載せられたことです。（大げさでなく）デカルト以降の物質科学還元哲学を超える学問の方法論構築という作業に手を触れられたのではないのでしょうか。

二つ目は、もちろん、画像センシング、画像処理、画像技術を研究構想の中におかれて、文字通り、interdisciplinary 研究を本気でお考えになられたことでした。そして実際、IAIP(精密工学会)という工学分野との繋がり、細胞内ロジ画像処理アルゴリズムコンテストを3回にわたって成功裏に実施したことは、(少し自画自賛ですが) 大きな実績でしたし今後への示唆に富むものでした。

### 東京工業大学 大隅良典先生：

新学術領域「細胞内ロジスティックス」に関する感想を以下に述べる。

沖縄、札幌、鳥羽、秋田で開催された班会議には評価委員として全て参加して、研究の展開を実感するとともに私自身も楽しく学ぶことができた。班会議はいずれも夜遅くまで熱気に包まれた雰囲気が多い交流の場として機能した。第1回目の計画班の研究計画の表明に始まり、2期の公募による班員の参加を得て話題も拡がり、ここでは個々の成果については触れないが、オリジナリティーに富む研究成果が挙げたと評価される。重点領域、特定領域、新学術領域として継承されたグループ研究のメリットがいかに発揮されたと思われる。

吉森代表の考案によるロジスティックスという魅力的で新奇性ある言葉で括られた日本のいわゆる膜輸送に関わる研究者を糾合した領域研究であった。新学術領域研究の初年度ということもあり、異分野融合に努力され画像解析領域の研究者に新風が送られる端緒となった点は評価できる。しかし新分野の創成のためには、いかにも研究期間が短すぎるので、何らかの継続を保証する制度設計が望まれる。本研究の「ロジスティックス」は確かに領域を括る言葉として優れており、今後は言葉選びに終始することなく、むしろ定着することを願いたい。細胞の最も基本的な機能である点で、話題性や新奇性に関わらず本研究領域をカバーする研究の継続が望まれる。

### Stanford University School of Medicine, Professor Suzanne R. Pfeffer:

Almost every human disease, including cancer, heart disease, diabetes, infectious disease and neurological disorders, involves the trafficking of receptors between the cell surface and intracellular compartments. For example, receptors remove excess cholesterol from the blood; if they fail to do this, heart disease ensues. Receptors sense hormones, like insulin, and signal when it is time for cells to remove excess glucose from the blood. Thus, membrane traffic is essential for human health. Professor Tamotsu Yoshimori has assembled a world-class group of researchers to learn more about

how these fundamental processes take place, as many unsolved mysteries remain in this important area of research. Collaborative projects have the significant benefit of a group of great minds, working together to analyze and interpret experimental findings. In addition to excellent cell biology and biochemistry, the present project includes computer-based simulation that can provide powerful and sometimes, unexpected information about how complex systems function. In addition, the development of new chemical tools can make it possible to probe and perturb cellular pathways and their regulatory networks, to better understand the design principles of biological systems, with the hope of applying this understanding to the development of novel therapeutic agents. "Intracellular Logistics: interdisciplinary approaches to pathophysiology of membrane traffic," represents cutting edge contributions to an important and central field of all of biology. I very much look forward to the exciting findings that we can expect from this outstanding, collaborative program.

**NIH, Dr Juan S. Bonifacino (NIH Distinguished Investigator, Program Head)**

I am pleased to congratulate the members of the network of laboratories headed by Dr. Tamotsu Yoshimori for receiving support for their project "Intracellular logistics: interdisciplinary approaches to pathophysiology of membrane traffic." Over the past few decades the once obscure topic of intracellular protein trafficking has emerged as a major field of cell biology. This is now hardly surprising, as the complex compartmental organization of eukaryotic cells necessitates accurate distribution of biomacromolecules to a wide array of intracellular organelles. Information coding for most proteins in the cell is initially contained in a single location: nuclear DNA. Through transcription, RNA processing and nuclear export this information channels to the cytoplasm in the form of messenger RNA. The process of translation then gives birth to tens of thousands of proteins that must be deployed to distinct locations within the cell. This deployment relies on specific sorting signals encoded within the proteins' structure and an elaborate system of signal recognition and transport molecules that allow the proteins to reach their intended destinations within the cell. So critical is this function that eukaryotes devote 1-2% of their genomes to the task of distributing proteins among different membrane-bound compartments. Understanding the mechanisms of intracellular protein trafficking is relevant to virtually all areas of biology and medicine. For example, many devastating illnesses result from genetic defects in components of the trafficking machinery. Intracellular viruses and bacteria exploit or subvert this machinery in order to replicate within cells. We have also learned to manipulate this machinery in order to deliver pharmacologic agents into cells or alter the movements of key molecules. Although much progress has been made in the unraveling of this machinery, the field is ripe for even more astounding discoveries and powerful new applications that transcend the realm of genetic and infectious diseases to address the most common ailments that afflict modern humans. The distinguished scientists that make up this network are uniquely positioned to be major players in this endeavor. I, for one, look forward to all the exciting new findings and useful applications that will result from their efforts.

**Beatson Institute for Cancer Research, Dr Jim C. Norman (Head of Group)**

Norman 博士は、総括班評価者ではないが国際シンポジウムに参加頂いた後に、領域についてコメントを下された。なお博士は、我々の国際シンポジウムに触発され、同じテーマ（癌とメンブレントラフィック）で後年英国にて国際シンポジウムを開催された。）

The work that is being undertaken by the consortium headed by Professor Yoshimori is aimed at answering key scientific questions to arrive at an integrated and comprehensive understanding of how membrane traffic functions in health and disease. Over the last few years enormous leaps have been made in our understanding of membrane reorganisation processes, such as autophagy, endocytosis, exocytosis; many of these owing to contributions by Prof. Yoshimori and his colleagues. The key challenge now is, not only to further these advances, but to do so in a way that allow an integrated view of how these processes intersect with one another. For instance, I am aware from the work of my own group at the Beatson Institute that complex interactions between the membrane trafficking of adhesion receptors and the signalling pathways controlling cell migration has profound consequences for the way in which cancer cells invade and metastasise. The network of laboratories headed by Prof. Yoshimori is well-placed to achieve an integrated view. Indeed, the Yoshimori group was the first to clearly outline the interrelationship between components of the autophagic system and the endocytic machinery. From the way that the individual labs of the 'Intracellular Logistics Program' are organised into a cogent whole, and the powerful synergy that exists between of the skills of its individual members, I anticipate that great leaps will be made in our understanding of how membrane transport processes contribute to cellular function in health and disease. Moreover, the integrated view taken by Prof. Yoshimori's consortium will enable the development of reagents to target human disease whilst minimising the debilitating side-effects that have hitherto been associated with many drugs. I wish the Intracellular Logistics Programme the very best of luck with their experiments, and I anticipate great things from this outstanding group of internationally respected cell biologists.



## 8. 主な研究成果（発明及び特許を含む）〔研究項目毎または計画研究毎に整理する〕

（3 ページ程度）

新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（発明及び特許を含む）について、図表などを用いて研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

・領域内の共同研究による成果は、14 件に上る。・特許件数（出願を含む）は 16 件。個々の内容は割愛する。

### 【計画研究】

**吉森 保**：PI3 キナーゼ複合体によるオートファジー制御機構 (*Nat Cell Biol* 2009a)や病原体に対するオートファジーに特異的な分子機構 (*PLoS Pathog* 2009; *Mol Biol Cell* 2011)を明らかにした。オートファゴソームの生成場所が小胞体膜のミトコンドリアとの接触部位であることを発見し、オートファゴソーム膜の起源に関する 40 年の論争に終止符を打つブレイクスルーを成し遂げた (*Nat Cell Biol* 2009b; *J Cell Biol* 2010 領域内共同研究; *Nature* 2013 領域内共同研究)。エンドサイトーシス経路の新しい制御因子を同定し作用機序を明らかにした (*Mol Biol Cell* 2010 領域内共同研究)。またオートファジーの促進剤・阻害剤を化合物スクリーニングにより同定した。**大野博司**：AP-1B 欠損マウスの解析から、AP-1B による上皮細胞の極性輸送が破綻すると、接着斑に局在すべき E-カドヘリンの細胞質への局在異常が起こり、本来 E-カドヘリンと結合するべき  $\beta$ -カテニンが細胞質に遊離しさらに核へと移行することで細胞の異常増殖が誘起される (*Gastroenteol* 2013)。また、AP-1B の発現低下ががん化や癌の悪性度と関連することが示唆された (*Int J Cancer* 2012)。さらに、AP-1B 欠損マウスでは腸炎を自然発症するが、これはサイトカイン受容体のミスソーティングの結果、上皮細胞からの抗菌ペプチドの分泌が障害されるなど正常な生体防御ができないことに起因することを明らかにした (*Gastroenteraol* 2011)。M 細胞に関しては、サルモネラや大腸菌のとり込み受容体 GP2 の機能解析に世界に先駆けて成功し (*Nature* 2009)、また M-Sec が細胞ナノチューブの形成制御因子として重要なことを明らかにした (*Nat Cell Biol* 2009)。さらに、転写因子 Sbi-B が M 細胞分化のマスターレギュレーターであることを見出した (*Nat Immunol* 2012)。**福田光則**：アクチン依存性メラノソーム輸送複合体の一部立体構造を明らかにすると共に、この複合体の構成因子に対する機能阻害剤や植物エキスを発見し、特許の出願を行った（化粧品にも既に配合）。また、これまで謎に包まれていた微小管上のメラノソーム輸送 (*J Cell Sci* 2012a; *J Cell Sci* 2012b) やメラノソームの成熟過程（特に、メラニン合成酵素の輸送） (*Mol Biol Cell* 2009; *J Biol Chem* 2011; *Mol Biol Cell* 2012) に関与する新規分子を同定し、その分子機構の解明に成功した。**泉 哲郎**：Rab27 エフェクター granuphilin が関わる分子間相互作用を見出し、分泌顆粒の細胞膜ドッキングの分子機構をマウス個体レベルで解明した (*J Biol Chem* 2011)。Rab27 エフェクター exophilin7 が細胞膜にドッキングしていない顆粒からの開口放出 (*Mol Biol Cell* 2013)、exophilin8 が顆粒の細胞深部から皮質部アクチン網への輸送 (*Mol Biol Cell* 2011) に、それぞれ関与していることを示した。**佐々木卓也**：Rab13 の標的蛋白質 JRAB が、Rab13 が制御する小胞輸送とアクチン細胞骨格の再編成をリンクさせながら神経突起形成に関与していること (*Mol Cell Biol* 2010)、さらには、その際に必要なアクチン細胞骨格の再編成を時空間制御することを明らかにした (*J Biol Cell* 2012)。**牧野内**：細胞内観察画像を対象とした新しい画像処理計算法とそのソフトウェアの研究・開発、観察システムの開発を実施した。1) 細胞内観察画像に対するノイズ除去、特徴抽出、領域抽出アルゴリズムの研究開発を実施した（領域内共同研究）。2) 1 で研究開発したアルゴリズムを細胞生物学者に優しい画像処理計算ソフトウェアとするため、画像処理統合プラットフォームを開発した(含む領域内共同研究)。(以上は 71 件の査読付き論文として報告した。雑誌名は割愛する。) 3) 近赤外光励起による細胞内観察画像の長時間観察システムを開発した。開発したシステムを利用した解析は、本領域内の生物学研究者と現在も共同研究を進めており、今後の成果が期待できる。また、学術的・技術的成果以外にも、「細胞内画像処理」という新分野を切り開くべく、国内外での啓蒙活動・研究発表や研究会・シンポジウムの開催、学会と共催でのアルゴリズムコンテスト実施などを実施した。これにより将来、本研究が細胞内物流システム研究の新しい潮流の礎になる事を確信している。**清水史郎**：化合物アレイを用いて世界初の Pirin 阻害剤である TPh A の発見に成功した。Pirin の細胞内での役割は不明であったが、TPh A を使用することで Pirin がメラノーマ細胞の遊走を制御していることが明らかになった (*Nat Chem Biol* 2010)。その機構として、Pirin が Bcl-3 と協調することで

Slug の遺伝子発現を促し、その結果としてメラノーマ細胞の遊走が亢進していることが分かった。領域内共同研究（融合研究）については、「2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況」で述べた。

【公募研究】(全ては記載できないので、「3. 研究領域の設定目的の達成度」に記載しなかった研究を記載する。)

**千原崇裕**：Meigo タンパク質が小胞体において Ephrin の糖修飾と細胞内分布を制御することで樹状突起の標的認識を制御していることを示した (*Nat neurosci* 2013)。神経形態・回路形成に異常を示すショウジョウバエ変異体 *dogi* の機能解析を行った。その結果、Dogi が初期エンドソームの成熟、リサイクリングエンドソームの細胞内分布を制御する事で神経軸索伸長を制御していることを見出し、更に mouse Dogi 蛋白質の進化的に保存された機能も明らかにした（領域内共同研究）。**岡本浩二**：マイトファジーには Atg8 の再利用が重要であり、マイトファジーの鍵タンパク質 Atg32 の発現制御とリン脂質合成は密接な関係にあることが示唆された。**名田茂之**：p18 によるリン酸化シグナルが後期エンドソームとリソソームの融合を調節する可能性を示した。また p18、p14/MP1 複合体に結合する RagC が mTORC1 を p18 へリクルートし、これら p18 複合体が mTORC1 の活性調節において重要な役割を担うことが示された (*Cell* 2010)。**申 恵媛**：ヒトの P4-ATPase の細胞内局在を世界で初めて決定し、この結果を基に P4-ATPase がメンブレントラフィックに関与することを見出した。また、これまでできなかった哺乳類の細胞における P4-ATPase の酵素活性測定のアッセイ系を確立した。これにより、P4-ATPase の基質特異性を基盤とするその分子機構の解明に大きく寄与すると考えている。**山下俊英**：軸索新生現象を発見し、それには dynein および dynactin や、STAT3 の活性化が必要であることを突き止めた。**田中芳彦**：DOCK2-Rac シグナルが pDC において TLR9 を介する I 型 IFN 産生に重要であることを見いだすと同時に、DOCK2 欠損 pDC では IKK- $\alpha$  のリン酸化と IRF-7 の核移行が障害されており、その結果として I 型 IFN 産生が選択的に障害されていることを明らかにした (*J Exp Med* 2010)。**川内健史**：大脳皮質形成における神経細胞の放射状突起に沿った移動には、細胞接着分子 N-カドヘリンのエンドサイトーシスとそれに続く細胞膜へのリサイクリングが必要であるのに対して、移動の最終段階では、リソソーム系分解経路の必要性が亢進し、細胞体における N-カドヘリンのタンパク質量が減少することを明らかにした (*Neuron* 2010)。**大森義裕**：杆体視細胞の繊毛内蛋白輸送には Kif3b が重要であり、錐体視細胞では Kif3b と Kif3c が機能重複した関係にあることが明らかとなった。また、意外なことに、線虫では繊毛輸送に重要な因子である Kif17 は、ゼブラフィッシュの視細胞では必須ではないことがわかった。脊椎動物の繊毛蛋白輸送には複数のキネシンが組織ごとに異なるサブセットを用いて機能していることが示された。**井垣達吏**：上皮にがん原性の極性崩壊細胞が生じると、周辺の正常組織はそれを積極的に認識・排除するための内在性がん抑制システムを発動する。研究代表者らは、ショウジョウバエ上皮をモデルとして用い、正常細胞群がエンドサイトーシス経路を介して JNK 依存的に細胞骨格系シグナルを活性化し、極性崩壊細胞群にエントーシス様の細胞死を誘導することを明らかにした (*Dev Cell* 2011)。**多賀谷光男**：神経変性疾患と小胞体構造の変形は極めて密接に関連している。小胞体膜と微小管を繋ぐことで小胞体構築に関与するタンパク質として syntaxin 5 long form を同定した。**花房洋**：LRRK1 の EGFR 細胞内トラフィックにおける機能を解析した結果、LRRK1 はスキャホールド蛋白質として ESCRT-0 複合体構成因子 STAM1 と EGFR の相互作用を促進し、EGFR のリソソーム分解経路への選別に機能していることを明らかにした（領域内共同研究）。また LRRK1 の活性化は EGFR によるリン酸化で制御され、この制御機構が破綻すると、EGFR を含むエンドソームの成熟が異常になることを明らかにした。**櫻井 隆**：逆行性輸送を担うダイニンの構造、細胞周期依存性の局在変化とその意義について明らかにした。**小林俊秀**：スフィンゴミエリンに富んだ形質膜外層の脂質ドメインは形質膜内層のホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸の分布を制御することで細胞分裂をコントロールしていることが明らかになった。膜脂質の非対称性はシグナル脂質の脂質二重層における分布を変化させることで細胞内シグナルをコントロールしていることが明らかになった。**高田慎治**：Wnt の分泌には小胞体に局在する Porcupine(Porc)というアシル基転移酵素による脂肪酸修飾が必要であると考えられているが、ゼブラフィッシュ胚を用いて脊椎動物の生体内における Porc の機能を検討したところ、Porc は特定のサブタイプの Wnt の脂肪酸修飾と分泌にのみ必要であることが明らかになると同時に、培養細胞の種類により Wnt サブタイプに対する選択性は異なることも確認され、Wnt の分泌機構が予想以上に複雑であることが明らかになった。**川崎政人**：Golgin タンパク質 GCC185 と相互作用

用する Rab2A について結晶構造解析に成功した。golgin と同様に膜のリモデリングに関与するタンパク質である MKLP1、Arfaptin-2 についてそれぞれ Arf6、Arl1 GTPase との複合体の結晶構造解析に成功した（領域内共同研究）。豊島文子：Plk1 は分裂期においてピメンチンのリン酸化を介して初期エンドゾームの融合を阻害すること、この融合阻害機構は細胞質分裂期におけるインテグリンの分裂溝への輸送に必要であることを明らかにした（投稿準備中 領域内共同研究）。田邊賢司：初期エンドゾームの膜ダイナミクスに関わる分子を複数同定した。リサイクリングエンドゾーム-TGN 間の輸送を制御する分子を同定した（領域内共同研究）。今泉美佳：4D 全反射蛍光(TIRF)顕微鏡システムを確立し、膵β細胞におけるインスリン顆粒の貯蔵から開口放出までの分泌顆粒動態を時間空間的にイメージング解析し、2相性インスリン開口放出における Gαo, PI3K, CDKAL1 の役割を明らかにした。また、セロトニンが妊娠期β細胞におけるインスリン開口放出を亢進するモデルを提唱した。橋本あり：癌浸潤に特化した GEP100-Arf6-AMAP1 経路が血管内皮細胞の透過性を担う VE-cadherin 細胞内輸送に関与していること、この経路を阻害する P4-TAT ペプチドが *in vivo* 病態モデルである脈絡膜血管新生を有意に阻害することなどから、GEP100-Arf6-AMAP1 経路が癌浸潤だけでなく、病的血管新生においても重要な役割を担う共通のシグナルであることを示した。三間穰治：出芽酵母エンドゾーム・液泡（リソソーム）膜系をモデルに、再構成 SNARE プロテオリポソーム膜融合の網羅的解析を行い、オルガネラ膜融合のコンパートメント特異性決定に Qabc-SNARE タンパク質複合体の適切な形成が重要であることを発見した。久万亜紀子：脱神経した骨格筋においてはプロテアソームおよび mTOR 依存的にオートファジーが抑制されることを見いだした。また、オートファジーはインスリンとアミノ酸によって組織ごとに異なる制御を受けることを明らかにした。駒田雅之：Wnt 受容体 Frizzled がユビキチン化によるリソソーム輸送/分解の制御を受けること、そしてそれが細胞の Wnt 応答性を調節する重要な機構であることを多細胞生物個体レベルで示した。またユビキチン化された増殖因子受容体を細胞膜において認識し、そのエンドサイトーシスを制御する新規ユビキチン結合タンパク質 Ankrd13 を同定した（領域内共同研究）。山田健志：小胞体から誘導される新規オルガネラ、ER ボディの形成には、ER ボディの成分である新規タンパク質、NAI2 とβグルコシダーゼである PYK10 が必要かつ十分であることが明らかとなった。さらに、二つの膜タンパク質、MEB1,MEB2 が ER ボディ特異的に蓄積していることが明らかとなり、植物の耐病性に関わる ER ボディ形成の分子機構が明らかとなった。堀内久徳：Rab27 のエフェクターとして同定した Munc13-4 が開口放出のカルシウムセンサーであることを証明し(JVB 2012)、さらに、Munc13-4 遺伝子欠損で生じる家族性血球貪食症候群 3 型の迅速診断法を確立した (Blood 2011)。また、RalGAP のサブユニットの低発現が膀胱癌悪性化を招き、その発現低下が予後の悪化に繋がることを明らかにした (Oncogene 2013)。石戸聡：MHC class II のユビキチンリガーゼである MARCH-I の欠損マウス、さらに、MHC class II のユビキチン化サイトが欠損することにより MHC class II のユビキチン化が阻害された MHC class II ノックインマウスを用いて、MHC class II のユビキチン化が樹状細胞の機能維持に重要である事を示した。佐藤明子：PIG 遺伝子群という GPI 生合成に必要な酵素群が、ロドプシンのトランスゴルジネットワークから光受容膜へ輸送されるために必須であること、さらに側底面に輸送されるべき Na+K+ATPase が誤って光受容膜に輸送されることを見出し、GPI アンカー型タンパク質がトランスゴルジネットワークにおける膜タンパク質の選別に関与する可能性を初めて示した (Development 2013)。新井洋由：evectin-2 タンパク質がリサイクリングエンドゾーム(REs)に局在して REs からゴルジ体への逆行性物質輸送を制御すること、evectin-2 の PH domain (リン脂質結合ドメイン) がホスファチジルセリン(PS)に選択的に結合すること、REs の細胞質側に PS が豊富に存在し、evectin-2 の REs 局在に必須であることを示した。これらの一連の成果によって、“物質のリサイクル”という機能しか知られていなかったリサイクリングエンドゾームが、“逆行性物質輸送を制御する”機能も有していることが明らかとなった。加えて、PS が豊富に細胞質側に露出しているという、リサイクリングエンドゾーム特有の性質も明らかにすることができた。

## 9. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5ページ程度）

新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。論文の場合、計画研究・公募研究毎に順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に\*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

1)論文 総論文数は671編。うち主要なもののみを下記に記載。

計画研究

1. Hamasaki M, Furuta N, Matsuda A, Nezu A, Yamamoto A, Fujita N, Oomori H, Noda T, Haraguchi T, Hiraoka Y, \*Amano A, \*Yoshimori T. Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites. *Nature*. 495, 389-393. (2013)
2. Kageyama S, Omori H, Saitoh T, Sone T, Guan JL, Akira S, Imamoto F, Noda T, \*Yoshimori T. The LC3 recruitment mechanism is separate from Atg9L1-dependent membrane formation in the autophagic response against Salmonella. *Mol Biol Cell*. 22, 2290-2300. (2011)
3. Matsunaga K, Morita E, Saitoh T, Akira S, Ktistakis NT, Izumi T, \*Noda T, \*Yoshimori T. Autophagy requires endoplasmic reticulum targeting of the PI3-kinase complex via Atg14L. *J Cell Biol*. 190, 511-521. (2010)
4. Yamaguchi H, Nakagawa I, Yamamoto A, Amano A, Noda T, \*Yoshimori T. An initial step of GAS-containing autophagosome-like vacuoles formation requires Rab7. *PLoS Pathog*. 5, e1000670. (2009)
5. Hayashi-Nishino M, Fujita N, Noda T, Yamaguchi A, \*Yoshimori T, \*Yamamoto A. A subdomain of the endoplasmic reticulum forms a cradle for autophagosome formation. *Nat Cell Biol*. 11, 1433-1437. (2009)
6. Matsunaga K, Saitoh T, Tabata K, Omori H, Satoh T, Kurotori N, Maejima I, Shirahama-Noda K, Ichimura I, Isobe T, Akira S, Noda T, \*Yoshimori T. Two Beclin-1 binding proteins, Atg14L and Rubicon, reciprocally regulate autophagy at different stages. *Nature Cell Biol*. 11, 385-396.(2009)
7. Kanaya T, Hase K, Takahashi D, Fukuda S, Hoshino K, Sasaki I, Hemmi H, Knoop KA, Kumar N, Sato M, Katsuno T, Yokosuka O, Toyooka K, Nakai K, Sakamoto A, Kitahara Y, Jinnohara T, McSorley SJ, \*Kaisho T, \*Williams IR, \*Ohno H. The Ets transcription factor Spi-B is essential for the differentiation of intestinal M cells. *Nat Immunol*. 13, 729-736.(2012)
8. Obata Y, Takahashi D, Ebisawa M, Kakiguchi K, Yonemura S, Jinnohara T, Kanaya T, Fujimura Y, Ohmae M, \*Hase K, Ohno H. Epithelial Cell-Intrinsic Notch Signaling Plays an Essential Role in the Maintenance of Gut Immune Homeostasis. *J Immunol*. 188, 2427-2436. (2012)
9. Fukuda S, Toh H, Hase K, Oshima K, Nakanishi Y, Yoshimura K, Tobe T, Clarke JM, Topping DL, Suzuki T, Taylor TD, Itoh K, Kikuchi J, Morita H, Hattori M, \*Ohno H. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature*. 469,543-547. (2011)
10. Hase K, Kimura S, Takatsu H, Ohmae M, Kawano S, Kitamura H, Ito M, Watarai H, Hazelet CC, Yeaman C, \*Ohno H. M-Sec promotes membrane nanotube formation by interacting with Ral and the exocyst complex. *Nature Cell Biol*. 11, 1427-1432. (2009)
11. Hase K, Kawano K, Nochi T, Pontes GS, Fukuda S, Ebisawa M, Kadokura K, Tobe T, Fujimura Y, Kawano S, Nakato G, Kimura S, Murakami T, Iimura M, Hamura K, Fukuoka SI, Lowe AW, Waguri S, Itoh K, Kiyono H, \*Ohno H. Uptake through Glycoprotein 2 of FimH<sup>+</sup> bacteria by M cells initiates mucosal immune response. *Nature*. 462, 226-230. (2009)
12. Sakane A, Abdallah AAM, Nakano K, Honda K, Ikeda W, Nishikawa Y, Matsumoto M, Matsushita N, Kitamura T, \*Sasaki T. Rab13 small G protein and Junctional Rab13-binding protein (JRAB) orchestrate actin cytoskeletal organization during epithelial junctional development. *J Biol Chem*. 287, 42455-42468. (2012)
13. Sakane A, Honda K, \*Sasaki T. Rab13 regulates neurite outgrowth in PC12 cells through its effector protein, JRAB/MICAL-L2. *Mol Cell Biol*. 30, 1077-1087. (2010)

14. Nakatsuji H, Nishimura N, Yamamura R, Kanayama H, \*Sasaki T. Involvement of actinin-4 in the recruitment of JRAB/MICAL-L2 to cell-cell junctions and the formation of functional tight junctions. *Mol Cell Biol.* 28, 3324-3335. (2008)
15. Yamamura R, Nishimura N, Nakatsuji H, Arase S, \*Sasaki T. The interaction of JRAB/MICAL-L2 with Rab8 and Rab13 coordinates the assembly of tight junctions and adherens junctions. *Mol Biol Cell.* 19, 971-983. (2008)
16. \*Ijiri T, Yoshizawa S, Sato Y, Ito M, Yokota H. Bilateral Hermite Radial Basis Functions for Contour-based Volume Segmentation. *Computer Graphics Forum.* 32(2), 123-132. (2013)
17. \*Yoshizawa S, Belyaev A, Yokota H. Shape and Image Interrogation with Curvature Extremalities. *Journal for Geometry and Graphics.* 16(1), 81-95. (2012)
18. \*Maeshima K, Iino H, Hihara S, Funakoshi T, Watanabe A, Nishimura M, Nakatomi R, Yahata K, Imamoto F, Hashikawa T, Yokota H, Imamoto N. Nuclear pore formation but not nuclear growth is governed by cyclin-dependent kinases (Cdks) during interphase. *Nat Struct Mole Biol.* 17, 1065–1071. (2010)
19. \*Yoshizawa S, Takemoto S, Takahashi M, Muroi M, Kazami S, Miyoshi H, Yokota H. Interactive Registration of Intracellular Volumes with Radial Basis Functions. *International Journal of Computational Intelligence and Applications.* 9(3), 207-224. (2010)
20. \*Takemoto S, Yokota H, Mishima T, Himeno R. Segmentation of Anatomical Structure by Using a Local Classifier Derived from Neighborhood Information. Advances in Soft Computing. *Human-Computer Systems Interaction.* 60, 171-180. (2009)
21. Wang H, Ishizaki R, Xu J, Kasai K, Kobayashi E, Gomi H, \*Izumi T. The Rab27a effector exophilin7 promotes fusion of secretory granules that have not been docked to the plasma membrane. *Mol Biol Cell.* 24, 319-330. (2013)
22. Mizuno K, Ramalho JS, \*Izumi T. Exophilin8 transiently clusters insulin granules at the actin-rich cell cortex prior to exocytosis. *Mol Biol Cell.* 22, 1716-1726. (2011)
23. Maeda-Mamiya R, \*Norii E, Isobe H, Nakanishi W, Okamoto K, Doi K, Sugaya T, Izumi T, Homma T, \*Nakamura E. *In vivo* gene delivery by cationic tetraamino fullerene *In vivo* gene delivery by cationic tetraamino fullerene. *Proc Nat Acad Sci U S A.* 107, 5339-5344. (2010)
24. Khan MGM, Simizu S, Suzuki T, Masuda A, Muroi M, Kawatani M, Dohmae N, \*Osada H. Protein disulfide isomerase-mediated disulfide bonds regulate the gelatinolytic activity and secretion of matrix metalloproteinase-9. *Exp Cell Res.* 318, 904-914. (2012)
25. Sasazawa Y, Kanagaki S, Tashiro E, Nogawa T, Muroi M, Kondoh Y, Osada H, \*Imoto M. Xanthohumol impairs autophagosome maturation through direct inhibition of valosin-containing protein. *ACS Chem Biol.* 18, 892-900. (2012)
26. Khan MGM, Simizu S, Lai NS, Kawatani M, Shimizu T, \*Osada H. Discovery of a small molecule PDI inhibitor that inhibits reduction of HIV-1 envelope glycoprotein gp120. *ACS Chem Biol.* 6, 245-251. (2011)
27. Miyazaki I, Simizu S, Okumura H, Takagi S, \*Osada H. A small-molecule inhibitor shows that pirin regulates migration of melanoma cells. *Nature Chem Biol.* 6, 667-673. (2010)
28. Takagi S, \*Simizu S, Osada H. RECK negatively regulates matrix metalloproteinase-9 transcription. *Cancer Res.* 69, 1502-1508. (2009)
29. Ishida M, Ohbayashi N, Maruta Y, Ebata Y, \*Fukuda M. Functional involvement of Rab1A in microtubule-dependent anterograde melanosome transport in melanocytes. *J Cell Sci.* 125, 5177–5187. (2012)
30. Ishibashi K, Fujita N, Kanno E, Omori H, Yoshimori T, Itoh T, \*Fukuda M. Atg16L2, a novel isoform of mammalian Atg16L that is not essential for canonical autophagy despite forming an Atg12–5-16L2 complex. *Autophagy.* 7, 1500–1513. (2011)

31. Itoh T, Kanno E, Uemura T, Waguri S, \*Fukuda M. OATL1, a novel autophagosome-resident Rab33B-GAP, regulates autophagosomal maturation. *J Cell Biol.* 192, 839–853. (2011)
32. Tamura K, Ohbayashi N, Maruta Y, Kanno E, Itoh T, \*Fukuda M. Varp is a novel Rab32/38-binding protein that regulates Tyrp1 trafficking in melanocytes. *Mol Biol Cell.* 20, 2900–2908. (2009)

公募研究

33. \*Uchida S. Image Processing and Recognition for Biological Images. *Development Growth and Differentiation.* 55(4), 523-549. doi: 10.1111/dgd.12054(2013)
34. 熊谷章平, \*堀田一弘. 識別器を用いた細胞内画像からの輝点計数. *電子情報通信学会論文誌 D.* J96-D, 904–908. (2013)
35. \*Ishii M, Kikuta J, Shimazu Y, Meier-Schellersheim M, Germain RN. Chemorepulsion by blood S1P regulates osteoclast precursor mobilization and bone remodeling in vivo. *J Exp Med.* 207, 2793-2798. (2010)
36. Adachi A, Kano F, Tsuboi T, Fujita M, Maeda Y, \*Murata M. Golgi-associated GSK3beta Regulates the Sorting Process of post-Golgi Membrane Trafficking. *J Cell Sci.* 123, 3215-3225. (2010)
37. Kawano T, Araseki M, Araki Y, Kinjo M, Yamamoto T, \*Suzuki T. A small peptide sequence is sufficient for initiating kinesin-1 activation through part of TPR region of KLC1. *Traffic.* 13, 834-848. (2012)
38. Matsuzaki F, Shirane M, Matsumoto M, \*Nakayama KI. Protrudin serves as an adaptor molecule that connects KIF5 and its cargoes in vesicular transport during process formation. *Mol Biol Cell.* 22, 4602-4620. (2011)
39. Fujita A, Cheng J, Fujimoto T. Quantitative electron microscopy for the nanoscale analysis of membrane lipid distribution. *Nature Protocols.* 5, 661-669. (2010)
40. Fujita A, Cheng J, Tauchi-Sato K, Takenawa T, Fujimoto T. A distinct pool of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate in caveolae revealed by a nanoscale labeling technique. *Proc Natl Acad Sci USA.* 106, 9256-9261. (2009)
41. \*Yamaguchi H, Yoshida S, Muroi E, Yoshida N, Kawamura M, Yoshida N, Kouchi Z, Nakamura Y, Sakai R, Fukami K. PI3-kinase signaling pathway mediated by p110  $\alpha$  regulates invadopodia formation. *J Cell Biol.* 193, 1275-1288. (2011)
42. Sasaki A, Nakae I, Nagasawa M, Hashimoto K, Abe F, Saito K, Fukuyama M, Gengyo-Ando A, Mitani S, Katada T, \*Kontani K. Arl8/ARL-8 functions in apoptotic cell removal by mediating phagolysosome formation in *C. elegans*. *Mol Biol Cell.* 24, 1584-1592. (2013)
43. Yamamoto Y, \*Sakisaka T. Molecular machinery for insertion of tail-anchored membrane proteins into the endoplasmic reticulum membrane in mammalian cells. *Mol Cell.* 48, 387–397. (2012)
44. Sato M, Yoshimura S, Hirai R, Goto A, Kunii M, Atik N, Sato T, Sato K, Harada R, Shimada J, Hatabu T, Yorifuji H, Harada A. The role of VAMP7/TI-VAMP in cell polarity and lysosomal exocytosis in vivo. *Traffic.* 12, 1383-1393. doi: 10.1111/j.1600-0854.2011.01247.x.(2011)
45. Saito K, Yamashiro K, Ichikawa Y, Erlmann P, Kontani K, Malhotra V, \*Katada T. cTAGE5 mediates collagen secretion through interaction with TANGO1 at endoplasmic reticulum. *Mol Biol Cell.* 22, 2301-2308. (2011)
46. Sato M, \*Sato K. Degradation of paternal mitochondria by fertilization-triggered autophagy in *C. elegans* embryos. *Science.* 334, 1141-1144. (2011)
47. Kishi Y, Higuchi T, Phoon S, Kamiya K, Riemekasten G, Akiyoshi K, Weigert M. \*Tsubata T. Apoptotic marginal zone deletion of anti-Sm/ribonucleoprotein B cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 109, 7811-7816. (2012)
48. Kondo-Okamoto N, Noda NN, Suzuki SW, Nakatogawa H, Takahashi I, Matsunami M, Hashimoto A, Inagaki F, Ohsumi Y, \*Okamoto K. Autophagy-related protein 32 acts as autophagic degron and directly initiates mitophagy. *J Biol Chem.* 287, 10631–10638. (2012)



49. Sancak Y, Bar-Peled L, Zoncu R, Markhard AL, Nada S, \*Sabatini DM. Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell*. 141, 290-303. (2010)
50. Nakai W, Kondo Y, Saitoh A, Naito T, Nakayama K, \*Shin HW. ARF1 and ARF4 regulate recycling endosomal morphology and retrograde transport from endosomes to the Golgi apparatus. *Mol Biol Cell*. In press. (2013)
51. Muramatsu R, Kubo T, Mori M, Nakamura Y, Fujita Y, Akutsu T, Okuno T, Taniguchi J, Kumanogoh A, Yoshida M, Mochizuki H, Kuwabara S, \*Yamashita T. RGMa modulates T cell responses and is involved in autoimmune encephalomyelitis. *Nat Medicine*. 17, 488–494. (2011)
52. Nishikimi A, Fukuhara H, Su W, Hongu T, Takasuga S, Mihara H, Cao Q, Sanematsu F, Kanai M, Hasegawa H, Tanaka Y, Shibasaki M, Kanaho Y, Sasaki T, Frohman MA, \*Fukui Y. Sequential regulation of DOCK2 dynamics by two phospholipids during neutrophil chemotaxis. *Science*. 324, 384-387. (2009)
53. \*Kawauchi T, Sekine K, Shikanai M, Chihama K, Tomita K, Kubo K, Nakajima K, Nabeshima YI, Hoshino M. Rab GTPases-dependent endocytic pathways regulate neuronal migration and maturation through N-Cadherin trafficking. *Neuron*. 67, 588-602. (2010)
54. Zhao C, Omori Y, Brodowska K, Kovach P, \*Malicki J. Kinesin-2 family in vertebrate ciliogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 109, 2388-2393. (2012)
55. Ohsawa S, Sugimura K, Takino K, Xu T, Miyawaki A, \*Igaki T. Elimination of oncogenic neighbors by JNK-mediated engulfment in *Drosophila*. *Dev Cell*. 20, 315-328. (2011)
56. Yonekawa S, Furuno A, Baba T, Fujiki Y, Ogasawara Y, Yamamoto A, Tagaya M, \*Tani K. Sec16B is involved in the endoplasmic reticulum export of the peroxisomal membrane biogenesis factor peroxin 16 (Pex16) in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 108, 12746-12751. (2011)
57. Hanafusa H, Ishikawa K, Kedashiro S, Saigo T, Iemura S, Natsume T, Komada M, Shibuya H, Nara A, \* Matsumoto K. Leucine-rich repeat kinase LRRK1 regulates endosomal trafficking of the EGF receptor. *Nat Commun*. 2, 158. (2011)
58. Kakizawa S, Yamazawa T, Chen Y, Ito A, Murayama T, Oyamada H, Kurebayashi N, Sato O, Watanabe M, Mori N, Oguchi K, Sakurai T, Takeshima H, Saito N, \*Iino M. Nitric oxide-induced calcium release via ryanodine receptors regulates neuronal function. *EMBO J*. 31, 417-428.(2012)
59. Ueda Y, Makino A, Murase-Tamada K, Sakai S, Inaba T, Hullin-Matsuda F, \*Kobayashi T. Sphingomyelin regulates the transbilayer movement of diacylglycerol in the plasma membrane of Madin-Darby canine kidney cells. *FASEB J*. in press. (2013)
60. Okubo T, Kawamura A, Takahashi J, Yagi H, Morishima M, Matsuoka R, \*Takada S. Ripply3, a Tbx1 repressor, is required for development of the pharyngeal apparatus and its derivatives in mice *Development*. 138, 339-348.(2011)
61. Makyio H, Ohgi M, Takei T, Takahashi S, Takatsu H, Katoh Y, Hanai A, Ueda T, Kanaho Y, Xie Y, Shin HW, Kamikubo H, Kataoka M, Kawasaki M, Kato R, Wakatsuki S, Nakayama K. Structural basis for Arf6-MKLP1 complex formation on the Flemming body responsible for cytokinesis. *EMBO J*. 31, 2590-2603. (2012)
62. Kon S, Minegishi N, Tanabe K, Watanabe T, Funaki T, Sakamoto D, Higuchi Y, Kiyonari H, Asano K, Iwakura Y, Fukumoto M, Sanada M, Ogawa S, Nakamura T, Satake M. SMAP1 deficiency perturbs receptor trafficking and predisposes mice to myelodysplasticity. *J Clin Invest*. 123, 1123-1137. (2013)
63. Quy PN, Kuma A, Pierre P, Mizushima N. Proteasome-dependent activation of mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) is essential for autophagy suppression and muscle remodeling following denervation. *J Biol Chem*. 288, 1125-1134. (2013)
64. Mukai A, Yamamoto-Hino M, Awano W, Watanabe W, \*Komada M, \*Goto S. (\*co-correspondence) Balanced ubiquitylation and deubiquitylation of Frizzled regulate cellular responsiveness to Wg/Wnt. *EMBO J*. 29, 2114-2125. (2010)

65. Sekine SU, Haraguchi S, Chao K, Kato T, Luo L, Miura M, \*Chihara T. Meigo governs dendrite targeting specificity by modulating Ephrin level and N-glycosylation. *Nat Neurosci.* 16, 683-691. (2013)
66. Ogasawara K, Yamada K, Christeller JT, Kondo M, Hatsugai N, Hara-Nishimura I, \* Nishimura M. Constitutive and inducible ER bodies of *Arabidopsis thaliana* accumulate distinct  $\beta$ -glucosidases. *Plant Cell Physiol.* 50, 480-488. (2009)
67. Boswell K, James D, Esquibel J, Bruinsma S, Shirakawa R, Horiuchi H, \*Martin T. Munc13-4 reconstitutes  $Ca^{2+}$ -dependent SNARE-mediated membrane fusion. *J Cell Biol.* 197, 301-312.(2012)
68. Walseng E, Furuta K, Bosch B, Weih KA, Matsuki Y, Bakke O, Ishido S, \*Roche PA. Ubiquitination Regulates MHC Class II-Peptide Complex Retention and Degradation in Dendritic Cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 107, 20465-20470. (2010)
69. Satoh T, Inagaki T, Liu J, Watanabe R, \*Satoh AK. GPI biosynthesis is essential for Rhodopsin sorting at the trans-Golgi network in Drosophila photoreceptors. *Development.* 140, 385-394. (2013)
70. \*Satoh AK, \*Xia H, Yan L, Huang J, Hardie RC, Ready DF. (\*: contribute equally) Arrestin translocation is stoichiometric to rhodopsin isomerization and accelerated by phototransduction in Drosophila photoreceptors. *Neuron.* 67, 997-1008. (2010)
71. Satoh AK, Li B, Hongai Xia \*Ready DF. Calcium-activated Myosin V closes the Drosophila pupil. *Current Biology.* 18, 951-955. (2008)
72. Uchida Y, Hasegawa J, Chinnapen D, Inoue T, Okazaki S, Kato R, Wakatsuki S, Misaki R, Koike M, Uchiyama Y, Iemura S, Natsume T, Kuwahara R, Nakagawa T, Nishikawa K, Mukai K, Miyoshi E, Taniguchi N, Sheff D, Lencer WI, \*Taguchi T, \*Arai H. Intracellular phosphatidylserine is essential for retrograde membrane traffic through endosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108, 15846-15851. (2011)

## 2) その他

a.書籍 55点。内容は割愛する。

b.ホームページ 領域ホームページを立ち上げ随時更新した。<http://leib.rcai.riken.jp/logistics/home.htm> また多くの研究代表者が各自のホームページを持ち、成果の発信などを行った。

c.主催シンポジウム 領域が主催した2つの国際シンポジウム「メンブレントラフィックとがん」2010年6月28～29日北海道と「オートファジーに関する国際シンポジウム」(6<sup>th</sup> ISA) 2012年10月28～11月1日沖縄以外に、各班員が主催したシンポジウムが23件あった。

d.アウトリーチ活動 全34件のうち主なものを列挙する。中学生サマースクールにおける講演「自分を食べる細胞生物学：オートファジーの謎」(吉森：大阪府下の中学生約130人が参加)、アカデミックッキングにて講演「困った時には自分を食べる？タコもびっくりオートファジー」(吉森：大阪大学と大阪ガスのコラボ企画。一般市民対象)、日本科学未来館友の会主催のリアルラボで講義及び実験体験指導「腸内細菌を見てみよう！！ヒトと細菌の未来」(大野：中学生以上の25名が参加)、東北大学生命科学研究科・市民講演会「未来へ続く生命科学」にて講演「メラニン輸送の仕組みとは？～美白や白髪予防研究への掛け橋。」(福田)、高大連携講義(吉田：兵庫県立大学附属高校1年生160名対象)、東大薬学部を訪問した高校生に研究内容を解説(紺谷：広島県修道高校の生徒60名対象)、東京大学オープンキャンパスにて研究室の案内と研究内容の説明(齊藤)、「まちなかキャンパス」にてインスリン分泌や糖尿病について講演(泉：公民館で一般市民が参加。毎年講演)、サイエンス・パートナーシッププロジェクト「科学おもしろ探検隊」の企画・制作及びつくばエキスポセンター「ムシテク展」の企画へ画像処理ソフトウェアで協力(牧野内)。

## 10. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1 ページ程度）

研究領域の研究成果が、当該学問分野や関連分野に与えたインパクトや波及効果などについて記述してください。

まず本領域では成果の項で述べた多数の発見があり、細胞生物学を始めとした生命科学諸領域の発展に貢献したと考える。個々の成果についてインパクトや波及効果を述べる紙面の余裕が無いが、トップジャーナルに掲載される、分野で世界的に注目を集める、マスコミで報道される等インパクトの大きい成果が数多くあり、領域全体として学術的貢献度は極めて高かったと総括した。

成果の多くは、様々な病態と関わっており医学分野への波及効果が期待される。例をあげる。「腸管免疫の仕組みの解明（大野）」「病原体に対するオートファジーの機構解明、大理石病発症機構の一端解明（吉森）」「癌浸潤における細胞内物質輸送の役割を解明、癌の治療標的分子として多くの製薬会社や研究者が注目する CDCP1 の機能解明（山口）」「ヒト滑脳症の原因遺伝子 *LIS1* の機能解明（山田）」「肝線維化に関わるコラーゲンの細胞内ロジスティクス解明（齊藤）」「免疫に重要な B リンパ球活性化に関わる細胞内ロジスティクス解明（北村、鏑田）」「神経系における再生医療の基盤を構築（山下）」「形質細胞様樹状細胞(pDC)の機能に関わる細胞内ロジスティクス研究から、感染症などの免疫系疾患の病態解明と治療法開発へ向けての分子基盤を切り拓いた（田中）」「脳疾患と関連が深い神経細胞移動をメカニズムとして理解することに大きく貢献した（川内）」「視細胞の繊毛内輸送機構を解明し、網膜色素変性症の発症メカニズムの解明、遺伝子診断をはじめとした診断法の確立にもつながることが予想される（大森）。」「まだ変異を蓄積していないがん原性細胞を組織が積極的に排除する内在性がん抑制システムの分子機構を初めて明らかにした（井垣）。」「細胞内輸送と関連したアミロイド産生の新たな調節系が明らかとなり、新規創薬標的として今後の展開が期待される（櫻井）。」「2 相性インスリン分泌の機構を明らかにしたので、2 型糖尿病および妊娠糖尿病の予防・治療法に反映できる（今泉）。」「新しい視点からの癌の病態理解と共に、異常な血管新生を伴うその他の疾患への病態の基礎的な理解へ繋がる知見を得た（橋本）。」「*Munc13-4* の遺伝的欠損が可及的早期の骨髄移植が必要な重篤な遺伝性免疫疾患を引き起こすが、我々はその迅速診断法を確立し、我が国の医療に貢献（堀内）。」「*MHC class II* のユビキチン化が新たな免疫制御機構であることを示した（石戸）。」「細胞内輸送とミトコンドリア品質管理との関わりについて機構の一部を明らかにし、パーキンソン病の発症機構解明に繋がる可能性を示した（白根）。」

また福田のメラノソームの細胞内動態に関する成果は、その人為的制御が美白の維持や白髪予防につながることから大きな社会的な反響があった。

本領域の特色である融合研究のインパクトについて以下に述べる。

ケミカルバイオロジー：同定された化合物は、研究での活用に留まらず創薬に結びつく可能性があり潜在的なインパクトと波及効果は計り知れない。ただし、実際に創薬に至るにはさらに時間を要する。しかし、同定され解析が進行中の化合物の中にはメラノーマ転移阻害、糖尿病治療、がん治療などに効果が期待できるものがあり、ある化合物は *in vivo* での効果が確認されており期待値は高い。また化合物の解析から細胞内ロジスティクスの分子機構の理解が進んだケースが複数あり、道具としての化合物探索に留まらないケミカルバイオロジーの有用性、すなわち細胞機能解明のアプローチ法のひとつとなることを示した点で生命科学全般に貢献した。

画像解析：牧野内らが領域内共同研究で開発したデジタル画像解析技術の一部は、既にネット上で公開され誰でもダウンロードできる。情報科学・工学系の内田と生物系の鈴木が開発した解析ソフトは、論文発表後にフリーツールとして公開する予定である。また既に述べているように啓蒙活動や研究発表、研究会やシンポジウムの開催、学会と共催でのアルゴリズムコンテストの実施を通して、新しい学問領域「細胞内画像解析」の確立に向けた運動を展開し一定の効果を得た。特に電子情報通信学会や精密工学会と協力して研究会等を実施してきたことにより、画像認識・画像処理に関わる研究者・技術者に対して「細胞内画像解析」を確実に周知することに成功し、新たに当該分野に参加する人を増やしてきた。この活動は本計画研究終了後も継続しており、例えば 1st International Workshop on BioImage Recognition(BIR'13)と Bioimage Informatics は本年度開催予定であり、細胞内画像処理に関連する研究も多く発表される事が期待される。着実に新分野が形成されつつある。