

領域略称名：修飾シグナル病
領域番号：3208

平成27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

「翻訳後修飾によるシグナル伝達制御の分子基盤と
疾患発症におけるその破綻」

(領域設定期間)

平成22年度～平成26年度

平成27年6月

領域代表者 (東京大学・医科学研究所・教授・井上 純一郎)

目 次

1. 研究領域の目的及び概要	10
2. 研究領域の設定目的の達成度	12
3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	15
4. 審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況	16
5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	18
6. 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）	23
7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	30
8. 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）	32
9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	36
10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	37
11. 総括班評価者による評価	38

研究組織

研究項目	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成員数
X00	22117001 翻訳後修飾によるシグナル伝達制御の分子基盤と疾患発症におけるその破綻	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	井上 純一郎	東京大学・医科学研究所・教授	8
A01 計	22117002 翻訳後修飾によるNF- κ B活性化シグナルの制御機構と疾患発症との関連	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	井上 純一郎	東京大学・医科学研究所・教授	4
A01 計	22117003 SUMO化及びO-GlcNAc化によるMAPキナーゼ経路の活性制御機構と疾患	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	武川 睦寛	東京大学・医科学研究所・教授	2
A01 計	22117004 持続的NF- κ B活性化メカニズムの解明と疾患	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	山岡 昇司	東京医科歯科大学・医歯薬・教授	2
A01 計	22117005 Aktキナーゼによるアクチン結合蛋白Girdinのリン酸化修飾と疾患	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	高橋 雅英	名古屋大学・医学系研・教授	3
A01 計	22117006 直鎖状ポリユビキチン化修飾による新たなNF- κ B活性化機構と病態との関連	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	徳永 文稔	群馬大学・生体調節研究所・教授	1
A02 計	22117007 蛋白質の翻訳後修飾と細胞内シグナル伝達に関連した因子の構造基盤	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	石谷 隆一郎	東京大学・理学系・准教授	7

A03 計	22117008 翻訳後修飾によるシグナル伝達制御とその破綻に起因する疾患の数理モデル	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	市川 一寿	東京大学・医科学研究所・特任教授	1
計画研究 計 8 件					
A01 公	23117501 ユビキチン様分子 I S G 1 5 依存性タンパク質翻訳制御と自然免疫応答の関連性の解析	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	奥村 文彦	名古屋大学大学院理学研究科・生命理学専攻分子修飾制御学グループ・助教	2
A01 公	23117502 D J - 1 の酸化修飾によるシグナル変動とパーキンソン病、細胞癌化	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	有賀 早苗	北海道大学・連合農学・教授	1
A01 公	23117503 K e a p 1 - N r f 2 システムと A k t シグナルの相互作用と肝疾患	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	田口 恵子	東北大学大学院・医学系研究科・助教	1
A01 公	23117505 慢性炎症病態を制御するシグナル依存性エピゲノム制御メカニズムの解析	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	沢津橋 俊	群馬大学生体調節研究所・核内情報制御分野・助教	1
A01 公	23117506 I G F - 1 シグナリングによる筋原線維形成の制御とその破綻による筋疾患	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	遠藤 剛	千葉大学・大学院理学研究科・教授	2
A01 公	23117507 増殖因子および受容体の蛋白質プロセッシングによる制御システムの解析	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	越川 直彦	東京大学・医科学研究所・准教授	1
A01 公	23117508 T R I Mファミリーによる基質蛋白修飾を介した癌と感染症での発症制御システムの解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	浦野 友彦	東京大学・医学部附属病院・講師	2

A01 公	23117509 病態モデル細胞を用いたシグナル伝達破綻メカニズムの解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	加納 ふみ	東京大学・大学院総合文化研究科・助教	1
A01 公	23117510 ミトコンドリアを介したストレス応答におけるタンパク質切断とリン酸化の役割	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	武田 弘資	長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授	1
A01 公	23117511 アダプター分子の翻訳後修飾とその異常による疾患の解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	山梨 裕司	東京大学・医科学研究所・教授	3
A01 公	23117512 蛋白質分解制御による新たなシグナル伝達機構の解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	大竹 史明	東京大学・分生研・助教	1
A01 公	23117513 体内時計因子の翻訳後修飾シグナルに基づく行動リズム制御とその異常	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	深田 吉孝	東京大学・理学系・教授	2
A01 公	23117515 プライミングリン酸化反応の制御機構とその破綻による病態解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	吉田 清嗣	東京慈恵会医科大学・医学部・教授	1
A01 公	23117516 炎症シグナルによる E r b B チロシンキナーゼの S e r / T h r リン酸化とがん悪性化	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	櫻井 宏明	富山大学・大学院医学薬学研究部(薬学)・教授	1
A01 公	23117517 ポリグルタミン酸化修飾イメージングの基盤技術開発	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	池上 浩司	浜松医科大学・解剖学講座細胞生物学分野・准教授	1
A01 公	23117518 α クロトーが認識する糖鎖の構造決定とシグナル様式の解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	伊村 明浩	先端医療センター・医薬品開発研究グループ・主任研究員	1

A01 公	23117519 細胞外ドメインシェディングによるシグナル伝達制御の病態における意義	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	西 英一郎	京都大学医学部附属病院・内科（循環器内科）・特定准教授	1
A01 公	23117521 COP9シグナルソームを介した脱Nedd8化によるシグナル伝達と発がんの理解	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	加藤 順也	奈良先端科技大・バイオ研・教授	1
A01 公	23117522 蛋白質リン酸化修飾イメージングの超高感度化とオミクス技術への展開	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	木下 英司	広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・准教授	1
A01 公	23117523 プロリン異性化酵素Pin1, PAR14標的蛋白の網羅的同定と病態への関与	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	浅野 知一郎	広島大学・医歯薬・教授	1
A01 公	23117524 無細胞蛋白質アレイを基盤とした細胞がん化E3リガーゼの網羅的同定と解析	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	澤崎 達也	愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター・無細胞生命科学部門・教授	4
A01 公	23117525 翻訳後修飾による転写因子Tcf/Lefの活性制御の分子基盤と組織の維持・破綻	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	石谷 太	九州大学・生体防御医学研究所・准教授	1
A01 公	23117526 Pin1プロテオミクスを用いた疾患特異的リン酸化タンパク質の網羅的探索	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	梁 明秀	横浜市立大学・医学系研・教授	1
A01 公	23117527 ポリ（ADP-リボシル）化による細胞の分裂と運動の制御	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	清宮 啓之	公益財団法人がん研究会・がん化学療法センター分子生物治療研究部・部長	1

A01 公	22117528 ユビキチン化による膜タンパク質輸送シグナルの解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	石戸 聡	昭和薬科大学・薬学部・教授	1
A01 公	23117529 ユビキチンホメオスタシスの制御機構	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	木村 洋子	(公財) 東京都医学総合研究所・蛋白質代謝研究室・主任研究員	1
A01 公	23117530 チェックポイントキナーゼ 1 (Chk1) を介したシグナル伝達機構と疾患	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	後藤 英仁	愛知県がんセンター (研究所)・発がん制御研究部・室長	1
A01 公	25117701 パルミトイル化によるタンパク質機能調節と病態の分子機構	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	木原 章雄	北海道大学・薬学研究院・教授	3
A01 公	25117703 肝疾患における転写因子 Nr f 2 の機能変化	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	田口 恵子	東北大学・加齢医学研究所・助教	1
A01 公	25117704 イノシトールリン脂質代謝酵素の翻訳後修飾による活性変化と生理機能	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	佐々木 純子	秋田大学大学院医学系研究科・病理病態医学講座・微生物学講座・准教授	2
A01 公	25117705 翻訳後修飾による N o t c h シグナル活性調節機構の解明	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	伊藤 素行	千葉大学大学院・薬学研究院・教授	3
A01 公	25117706 筋原線維形成のシグナル伝達機構の包括的解明とその破綻による筋疾患・心筋症	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	遠藤 剛	千葉大学・大学院理学研究科・教授	2
A01 公	25117707 転写振動を駆動する時計タンパク質の修飾シグナルとその破綻による行動リズム異常	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	深田 吉孝	東京大学大学院・理学系研究科・教授	4

A01 公	25117708 翻訳後修飾によるL r p 4シグナル制御機構 とその破綻	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	山梨 裕司	東京大学・医科学研究所・教授	3
A01 公	25117713 概日リズムの外環境へ の応答における時計蛋 白質の翻訳後修飾の役 割	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	平山 順	東京医科歯科大学難治疾患研究所・ 発生再生生物学分野・准教授	2
A01 公	25117714 ミトコンドリアオート ファジー制御機構とそ の破綻による病態解明	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	神吉 智丈	新潟大学・大学院医歯学総合研究 科・テニユアトラック教授	1
A01 公	25117715 E R K経路の多細胞動 態と細胞増殖制御の解 明	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	青木 一洋	京都大学・大学院医学研究科・特定 准教授	1
A01 公	25117716 リソソームの制御にお けるm T O R C 1の機 能解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	岡田 雅人	大阪大学・微生物病研究所・教授	1
A01 公	25117717 リソソーム障害により 誘導される自然免疫の 制御における翻訳後修 飾系の役割	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	齊藤 達哉	大阪大学・微生物病研究所・准教授	1
A01 公	25117718 トップダウンリン酸化 プロテオミクスを指向 したアフィニティー磁 気ビーズの創出	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	木下 英司	広島大学・大学院医歯薬保健学研究 院・准教授	1
A01 公	25117719 無細胞蛋白質アレイに よるポリユビキチン鎖 依存シグナル伝達経路 の網羅的同定と解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	澤崎 達也	愛媛大学プロテオサイエンスセンタ ー・無細胞生命科学部門・教授	4
A01 公	25117720 組織の維持・破綻にお けるW n tシグナルの状 況依存的な翻訳後修飾 制御	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度 (26.6 迄)	石谷 太	九州大学・生体防御医学研究所・准 教授	1

A01 公	25117721 慢性腎臓病における p 53 の翻訳後修飾の関 与	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	甲斐 広文	熊本大学大学院・生命科学研究部・ 教授	2
A01 公	22117726 G P I 修飾の新規メカ ニズムとその破綻によ るシグナル伝達異常の 解明	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	後藤 聡	立教大学・理学部・生命理学科、教 授	1
A02 公	23117504 O G F O D 1 による翻 訳開始因子キナーゼの 水酸化	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	五十嵐 城太郎	福島県立医科大学・医学部自然科学 講座（生物学）・准教授	1
A02 公	23117514 C Y L D による K 6 3 結合型および直鎖型ポ リユビキチン鎖選択的 切断の構造的基盤	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	佐藤 裕介	東京大学・放射光連携研究機構・助 教	1
A02 公	25117710 新規質量イメージング を用いた N-アセチル グルコサミン修飾タン パク質の時空間的解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	山本 一夫	東京大学・新領域研・教授	1
A02 公	25117711 C Y L D による K 6 3 結合型および直鎖型ポ リユビキチン鎖選択的 切断機構の詳細な解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	佐藤 裕介	東京大学・放射光連携研究機構・助 教	1
A02 公	25117722 T R A F 6 複合体によ るシグナル伝達の構造 学的解明	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	中村 照也	熊本大学・大学院生命科学研究部（薬 学系）・助教	2
A02 公	25117723 チューブリンチロシン リガーゼとチューブリ ン複合体の構造解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	三島 正規	首都大学東京・理工学研究科・准教 授	2
A03 公	23117520 シミュレーションを援 用したシグナル伝達系 による動的細胞形態制 御の解析技術の開発	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	行縄 直人	国立大学法人京都大学・大学院情報 学研究科・特定研究員	4

A03 公	25117712 数理モデルを用いた入力刺激パターンからの修飾シグナル病の理解	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	久保田 浩行	九州大学・生体防御医学研究所・トランスオミクス医学研究センター・統合オミクス分野・教授	1
A03 公	25117727 薬剤投与により変化する細胞内ダイナミクスの解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	野村 真樹	京都大学・iPS細胞研究所・特定研究員	1
公募研究 計 53 件					

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、応募時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。

タンパク質の翻訳後修飾は、タンパク質の機能や寿命及びタンパク質間相互作用（またはタンパク質と核酸、脂質等との相互作用）に基づく複合体形成を制御し、細胞内シグナル伝達ネットワークの制御に本質的な役割を果たしている。しかも近年、従来からシグナル伝達制御における普遍的な翻訳後修飾として知られているリン酸化に加えて、ユビキチン化、SUMO化、グリコシル化、メチル化、アセチル化、シトルリン化、ヒドロキシル化など、多彩な翻訳後修飾が同定され、その時空間的にダイナミックな変化が、細胞内シグナル伝達と細胞機能の制御に極めて重要であることが明らかにされてきた。一方で、このような翻訳後修飾の制御破綻が、癌、心血管疾患、神経変性疾患、感染症、自己免疫疾患などの病因・病態にも深く関与することが明らかになりつつある（図1）。しかしながら、シグナル伝達の制御に関わる既知の翻訳後修飾でさえ、その分子機構の詳細は未だ不明であり、その解明には、従来の分子生物学的解析に加えて、タンパク質の構造学的解析や、シグナル伝達を計算式として捉え、その動的反応のモデル化を図る数理科学・生物物理学的解析など、近年特に進歩の著しい異分野からの視点を導入する必要がある。この様な学際的解析によって初めてシグナル伝達の時空間的理解が可能となると考えられる。また、シグナル伝達経路には、多くの未発見の翻訳後修飾制御が存在することが想像され、これらの解明にはタンパク質解析に関する新たな技術導入が必須である。

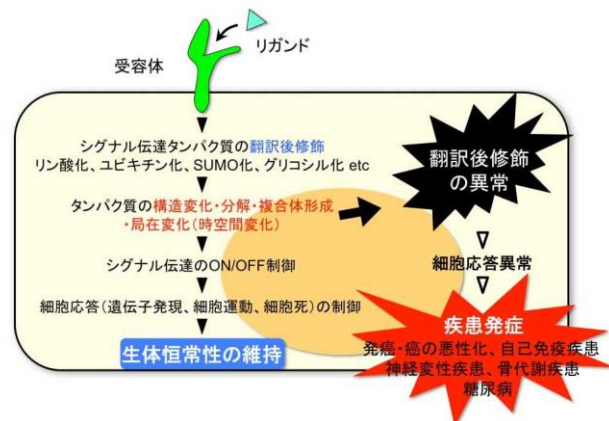


図1 翻訳後修飾による細胞内シグナル伝達の制御と疾患発症

さらにこの様な試験管内や培養細胞を用いた研究によって得られた分子レベルでの成果を、翻訳後修飾の機能解明を目的とした遺伝子改変マウス等を作成して個体レベルでも検証することにより、ヒトの疾患との関連が解き明かされ、新規治療法開発に貢献することが可能となる。

本学術領域では、分子細胞生物学を含む医科学（井上、武川、山岡、高橋、徳永）、構造生物学（石谷）、生物物理学・数理生物学（市川）の研究者の有機的な連携により、翻訳後修飾を基盤としたシグナル伝達の時空間的な制御を明らかにする。また領域代表が施設長を務める東京大学医科学研究所・疾患プロテオミクスラボラトリーが稼働する次世代型質量分析計（従来の10～100倍の解析精度を持つ）を駆使し、プロテオミクス解析を専門とする研究者（尾山）による詳細な解析データから、翻訳後修飾に基づく新たなシグナル伝達機構の予想およびその実証を革新的に推進する。さらに翻訳後修飾異常によるシグナル制御の破綻と疾患発症との関連を、遺伝子改変マウスを作成して明らかにする。この様な学問分野を超えた共同研究は、「異なる学問分野の研究者が連携して行う共同研究等の推進により、当該研究領域の発展を目指すもの」という公募の主旨に合致するものであり、細胞内シグナル伝達の制御機構の基本原則とその異常がもたらす疾患を、タンパク質翻訳後修飾の観点から分子レベルで解き明かす新学術領域「修飾シグナル病」を創出し、翻訳後修飾研究の新機軸を形成するものである。さらにこの様な研究によって得られる成果は、疾患治療のための創薬シーズを提供すると考えられ、国民の福祉に大きく貢献することが期待される。

細胞内シグナル伝達は、形態形成の根幹を成すものであり、あらゆる細胞の増殖分化の時空間的制御を担っているため、その経路数は膨大であり数人の研究者がすべての経路を対象とすることは到底不可能である。そこで本領域計画研究では、特に転写因子 NF- κ B 活性化シグナル（井上、山岡、徳永）、タンパク

質リン酸化酵素 MAP キナーゼ活性化シグナル（武川）および Akt 活性化シグナル（高橋）に的を絞る。これらのシグナル伝達システムは、高次生命現象や疾患発症への関連が既に明らかであり、かつ計画研究者自身がその翻訳後修飾による活性制御機構や疾患発症との関連に関する研究の発展に大きく貢献しており、国際的優位性を保持している。石谷は、翻訳後修飾によるシグナル制御を構造生物学的に解明するため、翻訳後修飾制御分子、シグナル伝達分子やその複合体の結晶構造解析を推進する。尾山/井上は次世代型質量分析計等を駆使し、上記3シグナル伝達経路における既知翻訳後修飾の新たな機能や調節機構を解析するのみならず、関連するシグナル伝達経路における未知の翻訳後修飾を探索する。市川は、上記の3シグナルについて時空間的な視点を導入した数理モデルを提唱し、各研究者にフィードバックする。フィードバックされたモデルを他のメンバーが綿密な連携をとりながら実証し、さらに疾患との関連を明らかにする。

NF-κB 活性化シグナルは、井上、山岡、徳永らの研究から、その制御異常が発癌、癌の悪性化、自己免疫疾患、骨代謝疾患や皮膚付属器（毛包や汗腺等）の発生異常を伴う疾患発症に関わることが明らかになっている。さらに、この3名は、リン酸化によるタンパク質の機能制御と複合体形成という従来型のシグナル伝達メカニズムの解明に留まらず、ユビキチン化による新たなシグナル伝達制御機構の存在を明らかにした。即ち、シグナル伝達分子が刺激依存的に Lys63 型ポリユビキチン化や直鎖状ポリユビキチン化（これらは従来の Lys48 型ユビキチン化とは異なり、蛋白質分解を誘導しない）されることで、ユビキチン鎖結合タンパク質との複合体形成を促し、シグナルを媒介するという新たなモデルの提唱に大きく貢献した。また武川は、MAPK 経路の翻訳後修飾を含む活性化制御機構を明らかにするとともに、MAPK 経路の制御異常が発癌や癌細胞の抗癌剤抵抗性に関与することを明らかにしている。さらに高橋は、Akt が翻訳後修飾を介してアクチンの再構成を誘導し、癌細胞の運動亢進に寄与することを明らかにした。本申請は、これら高水準の研究成果を基に、タンパク質構造解析に多数の実績を持つ石谷の高度な構造解析技術、独自に構築したタンパク質分子の離散的・確率論的シミュレーションの理論とアルゴリズムを駆使した市川の数理モデル構築力、及び尾山/井上の高い質量分析技術を駆使して遂行するものであり、本新学術領域「修飾シグナル病」が大きな成果を挙げることが期待される。

研究を効率よく遂行するために

A01 分子細胞生物学及び医学を基盤とするシグナル研究

A02 構造生物学を基盤とするシグナル研究

A03 数理科学を基盤とするシグナル研究

の3つの研究項目を設定し、さらに次世代型高感度高精度質量分析システムによるタンパク質解析部門を総括班に設けることにより、公募研究班も含めた班員間での有機的な異分野連携を推進し、1) 翻訳後修飾解析のための技術基盤の確立、2) 翻訳後修飾によるシグナル伝達制御機構の解明、3) 疾患における翻訳後修飾異常の解明を目的として翻訳後修飾を基盤としたシグナル伝達の時空間的な制御を明らかにする（図2）。

上述のように計画研究では、NF-κB 活性化シグナル、MAP キナーゼ活性化シグナルおよび Akt 活性化シグナルに的を絞るが、公募研究では、上記シグナルに限定せず多様なシグナル伝達経路とその制御に関わる翻訳後修飾研究を対象とし、分子イメージング法など、新たな基盤技術開発に関する研究も含まれる。

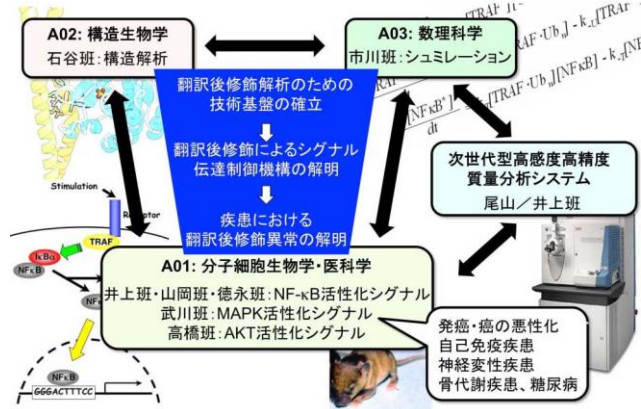


図2 「修飾シグナル病」領域での異分野連携

2. 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ごとの状況も記述してください。

【設定目標と達成度】

以下の研究内容を各研究項目に属する研究者の綿密な連携により推進した。有機的な連携を図るための具体的な方法については、「7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況」を参照。

以下、各設定目標ごとにその達成に関わる成果を記載する。

大目標 1) シグナル伝達経路における翻訳後修飾解析のための技術基盤の確立

目標 1: 質量分析計を用いた翻訳後修飾解析法の確立と被修飾シグナル伝達因子の同定 (A01 井上/尾山)

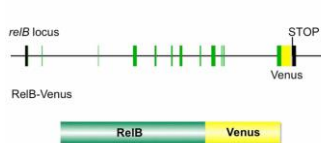
リン酸化に関してはチタニアビーズによる微量リン酸化ペプチドの濃縮技術を確認し、膠芽腫患者由来細胞を用いた解析において 6000 種類を超えるリン酸化ペプチドを同定した (*PLoS ONE* 2012)。また、ユビキチン化部位の包括的解析に関しては被修飾部位をトリプシン処理した後に生成されるジグリシン修飾リジンを標的とするモノクローナル抗体を用いた精製法、糖鎖修飾 (O-GlcNAc 化) に関しては OGT (O-GlcNAc Transferase) を用いた *in vitro* 修飾反応による基質被修飾部位の同定系を確立した。これらの確立した基盤技術を用いて、本領域内でのシグナル伝達経路及び分子群に関する翻訳後修飾解析を行った。

目標 2: 生体内もしくは生細胞内で翻訳後修飾を可視化する基盤技術の創出 (A01/A03)

1) NF- κ B 活性化シグナルを生細胞内で可視化するプローブの開発 (井上/市川)

NF- κ B ファミリーの中でリンパ器官形成に必要なメンバーである RelB の活性化を可視化するため蛍光タンパク質 Venus と RelB の融合タンパク質 RelB-Venus を内在性 *Relb* 遺伝子座から発現するマウスを作成した。RelB の活性化は核移行で成立するため核内濃度を測定することで活性化を単一細胞で可視化することに成功した。この基盤システムを用いて RelB が重要な役割を果たす樹状細胞の分化と RelB の発現・活性化との関係を解析したところ樹状細胞の新たな分化段階を見出すことに成功した (*J. Biochem.* 2015)。現在このシステムを NF- κ B の転写制御機構を解明するために用いている (論文準備中)。

RelB の核移行を検出するシステムの開発



リンホトキシン刺激後の RelB の活性化はオシレーション (振動) する。

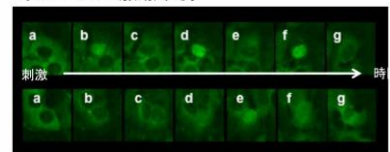
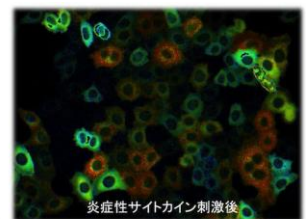
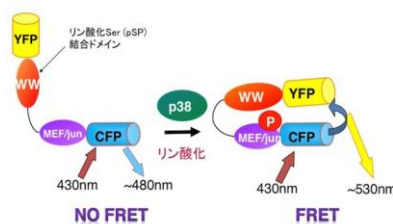


図 3 NF- κ B シグナル可視化プローブ

2) MAPK シグナルを生細胞内で可視化する FRET プローブの開発 (武川)

代表的な 3 つの MAPK 経路 (ERK, p38, JNK) の活性化を生細胞内においてリアルタイムで可視化する 3 種類の FRET プローブを開発する事に成功した (*Sci. Signal.* 2012)。また、このプローブを用いて、炎症と免疫応答の制御に中心的な役割を担う p38 の活性化を単一細胞レベルで連続的に可視化する実験系を確立し、炎症性サイトカインによる p38 活性化動態を解析した。その結果、サイトカインによる

p38 の活性化を検出する FRET プローブの開発



サイトカインによる p38 の活性化は大きく振動 (オシレーション) する

図 4 MAPK シグナル可視化プローブ

p38 の活性化は、大きく振動 (オシレーション) しており、活性化と不活性化が周期的に繰り返されていることを新たに見いだした。さらにこの分子機構を解析したところ、p38 活性に依存して発現誘導される脱リン酸化酵素 MKP-1 が p38 に対してネガティブフィードバックループを形成するで、振動が生じていることが明らかとなった。また、この p38 活性の振動現象が、炎症サイトカインの産生と免疫応答に重要であることを見出した (論文リバイス中)。

目標 3: シグナル伝達経路の数理モデル構築のためのソフトウェア開発 (A03 市川)

修飾シグナル病におけるより多くの実験研究班に対応したシミュレーションの実施を念頭に置き、離散的・確率論的シミュレーションの理論とアルゴリズムを発展させて、微小管やアクチン繊維上の 1 次元の

物質輸送に対するアルゴリズム構築を行った。これに基づいてプログラムの改良を行い、正しく動作することを確認した。これによって、3次元拡散によるタンパク質間の反応だけでなく、より広範なシグナル伝達メカニズムに対応した離散的・確率論的シミュレーションが可能となった。

<公募研究の関与>

澤崎(A01)は、20,000種のタンパク質からなるプロテインアレイの確立に成功し、タンパク質間相互作用を網羅的にスクリーニングすることを可能にした。木下(A01)は、Phos-tag電気泳動によりリン酸化タンパク質を感度よく同定するシステムの確立に成功した。両システムともに領域内の研究者が頻りに利用し、連携の促進に大きく貢献した。「7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況」の項参照。

大目標2) 翻訳後修飾によるシグナル伝達制御機構の解明

目標4: シグナル伝達因子の翻訳後修飾がシグナルおよび細胞機能に与える影響の解明(A01)

- 1) ユビキチン編集酵素 A20 の非古典的 NF- κ B 経路での役割解明 (井上/尾山)
ユビキチン編集酵素 A20 がユビキチン連結酵素である cIAP に結合することで cIAP の活性を抑制し非古典的 NF- κ B 経路の活性化を誘導することを見出した(*Sci. Rep.* 2013)。
- 2) 発癌タンパク質 Tax による NF- κ B 活性化機構の解明 (井上/尾山)
成人 T 細胞白血病ウイルスの Tax が Lys63 型ユビキチン化を誘導することで NF- κ B 活性化を誘導し白血病発症に関与することを見出した(*J. Biochem.* 2011, 論文準備中)。
- 3) ユビキチン編集酵素 A20 の古典的 NF- κ B 経路での役割解明 (徳永/石谷)
A20 が 7 番目の Zinc フィンガーを介して直鎖状ユビキチン鎖に結合することで TNF α による NF- κ B の活性化を抑制することを明らかにした(*EMBO J.* 2012)。
- 4) 癌細胞での恒常的 NF- κ B 活性化における NIK の役割解明 (山岡)
卵巣癌の悪性化に NIK の高発現による NF- κ B の恒常的活性化が関与していることを見出した(*PLoS ONE* 2015)。
- 5) MEK の SUMO 化によるシグナル制御の解明 (武川)
ERK 経路は MEK の SUMO 化により抑制されることを示し、さらに癌遺伝子 Ras が Raf を活性化すると同時に MEK の SUMO 化を抑制することで ERK 経路を過剰に活性化させることを見出した(*Nat. Cell Biol.* 2011)。
- 6) Akt の基質 Girdin の細胞極性における役割解明 (高橋)
Girdin が細胞極性の決定に関与する Par-3 と結合し、遊走細胞における極性を維持していることを見出した(*PLoS ONE* 2012)。
- 7) リン酸化 Girdin の腫瘍微小環境における役割解明 (高橋)
癌関連線維芽細胞における Akt による Girdin のリン酸化が腫瘍の進展に関与していることを見出した(*Cancer Res.* 2015)。

目標5: 翻訳後修飾酵素と制御因子の同定、およびその機能制御機構の解明(A01)

- 1) ポリユビキチン鎖に結合して NF- κ B 活性化を負に制御する p47 の同定 (井上/尾山)
刺激依存的にポリユビキチン化 NEMO のユビキチン鎖に結合することで NEMO のリゾソームでの分解を誘導し NF- κ B を負に制御する p47 を質量分析の尾山と連携して発見した(*Nat. Commun.* 2012)。
- 2) 直鎖状ユビキチン鎖連結酵素の構成因子の同定 (徳永)
直鎖状ユビキチン鎖連結酵素複合体の新たな構成因子 SHARPIN を同定した(*Nature* 2011)。
- 3) ERK によるリン酸化の EMT における役割解明 (武川)
ERK の新たな基質として MCRIP1 を同定し、さらにリン酸化 MCRIP1 が E-カドヘリンの発現を抑制することで細胞に EMT を誘導することを見出した(*Mol. Cell* 2015)。

<公募研究の関与>

田口(A01)は、ユビキチン化で制御される Nrf によるがん細胞の悪性化機構を解明。深田(A01)は、体内時計を調節する二つのユビキチンリガーゼの拮抗的な役割を解明。斎藤(A01)は、ユビキチン化やリン酸化が制御するシグナル経路の研究から痛風治療薬による炎症抑制機構を解明した。「5. 主な研究成果」の項参照。

目標 6: 翻訳後修飾によるシグナル伝達分子の構造変化の解明 (A02/A01)

1) ユビキチン編集酵素 A20 と直鎖状ユビキチン鎖の結合機構の解明 (石谷/徳永)

A20 の 7 番目の Zinc フィンガーと直鎖状ユビキチン鎖複合体の結晶構造解析に成功し A20 による NF- κ B 抑制機構を解明した(*EMBO J.* 2012)。

2) 細胞質 DNA センサー cGAS の DNA 認識機構の解明 (石谷/徳永)

cGAS と DNA 複合体の結晶構造解析に成功し、cGAS による DNA 認識の分子機構、DNA 結合による cGAS の活性化機構を解明した(*PLoS ONE* 2013, *Structure* 2015)。

<公募研究の関与>

佐藤(A02)は、癌抑制遺伝子産物 CYLD による直鎖状および Lys63 結合型ユビキチン鎖特異的切断メカニズムを CYLD/ユビキチン鎖複合体の結晶構造解析により解明した。「5. 主な研究成果」の項参照。

目標 7: 翻訳後修飾がシグナル伝達制御に与える影響の数理モデルの構築 (A03/A01)

1) NF- κ B 振動の数理シミュレーション (市川/井上)

NF- κ B 振動の 4D 時空間シミュレーションに初めて成功し、NF- κ B 振動と転写活性を規定する重要な空間パラメーターを明らかにした(*PLoS ONE* 2012, 2014, 2015)。

2) ストレス顆粒形成の数理シミュレーション (市川/武川)

ストレス顆粒形成の確率論的シミュレーションに成功し、粒子形成や粒子サイズの時間的変化の分子モデルを提唱した(*PLoS Comput. Biol.* 2015)。

<公募研究の関与>

青木(A01)は、FRET バイオセンサーを用いて ERK 活性を可視化することで ERK 活性の強度 (振幅) ではなく、時間変動 (周波数) が細胞増殖に寄与していることを見出した。久保田(A03)はリン酸化プロテオームとメタボロームのデータを取得・統合することで、インスリンシグナルにおいて 13 個のシグナル経路の酵素と 198 個の代謝酵素によって 44 個の代謝物に変動するネットワークを同定することに成功した。「5. 主な研究成果」の項参照。

大目標 3) 疾患における翻訳後修飾異常

目標 8: 翻訳後修飾に異常を持つ遺伝子改変マウスを用いた疾患研究

1) p47 knock-out マウス (井上)

目標 5-1)参照: シグナルの異常を解析中。(論文準備中で未発表)

2) RelB-Venus knock-in マウス (井上)

目標 2-1)参照: RelB の発現と活性化を指標に樹状細胞の新たな分化段階を同定した。

3) Cpdm マウス (徳永)

目標 5-2)参照: SHARPIN 欠損、即ち直鎖状ユビキチン鎖の合成抑制により重篤な皮膚慢性炎を呈する。

4) MCRIP1 knock-out マウス (武川)

目標 5-3)参照: シグナルの異常を解析中。(論文準備中で未発表)

5) Girdin-SA knock-in マウス (高橋)

目標 4-7)参照: Girdin のリン酸化は癌細胞の組織浸潤を促進する。

<公募研究の関与>

公募研究には該当するマウスの研究報告はない。

ここまでは、研究内容の設定目標の関する達成度について主に記載した。もう一方で領域として目指していたものは、研究期間内に成果に至ったかどうかは別として、班員に可能な限り連携研究をしていただくことである。なぜならそのような異分野連携の意識を研究者に植えつけることで領域終了後においても本領域の機能を継続させ、それが画期的な研究成果の発表につながる可能性があると考えたからである。そのような意味において合計 73 件にものぼる連携研究が動いたことは、総括班が目指していたレベルの達成度が得られたと考えている(「7. 研究組織 (公募研究を含む) と各研究項目の連携状況」を参照)。

3. 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。

研究推進時に特に問題は生じておらず、また組織変更もないが、更なる領域の推進を目指し、中間評価の時点で領域代表として新たな目標を設定したのでその達成状況について説明する。

1) 異分野連携の更なる推進

異分野連携については、領域ホームページ内に班員専用ページを設け班員間の異分野連携について積極的に推進して来た。その結果、分子細胞生物学者とプロテオーム研究者との連携、分子細胞生物学者と構造生物学者との連携については活発に連携研究が展開していたが、分子細胞生物学者と数理科学者との連携については、限定的であった。そこで数理モデル研究を増やすために以下の2点の方策を実施した。

① 若手研究者に数理モデル化の手順を具体的に体験していただく。

具体的には若手ワークショップ（合宿形式）において市川による3次元シミュレーションの演習を含めた講習会を開催した。

② A03 数理科学を基盤とするシグナル研究の公募班を増やす。

公募班を増やすためには、多くの研究課題を応募していただく他に方法無い。平成23年度は6件程度採択する予定であったが審査の結果1課題のみの採択であった。周知不足が原因と考え平成25年度公募では広報活動を行った。その結果、2課題採択された。

（達成状況）：A03 数理科学を基盤とするシグナル研究の公募班の人数は、ある程度増やすことに成功したものの依然として十分ではない。しかしながら数理シミュレーションが関与する連携研究は申告されたものだけでも6件あり、領域推進会議での情報ではそれ以外にも動きだしている連携が複数あると聞いている。これらが論文して形になることでこの領域に重要な使命の一部は達成できたと考えている。

2) シグナルの可視化および定量化を可能にする基盤技術開発

数理シミュレーションを実施する場合に、シグナルの可視化および定量化が必要である。そのためには、シグナルのイメージングを可能にする基盤技術の研究をより一層推進する必要があると考え、平成25年度公募でのイメージング研究者の採択に向かって広報活動に力を入れた。その結果、イメージングを研究の手法として取り入れている研究者が増加した。

（達成状況）：イメージングを取り入れている研究者は多いもののそのほとんどは定性的な解析に止まっているのが現状である。定量的解析からさらに数理シミュレーションへと舵をとるのは挑戦的であるが本領域の研究者がその方向性に挑んでその成果が形になってきていることは本領域が目標とするところに達成しつつあることを示している。

3) 「国民との科学・技術対話」の工夫

積極的に高校生や一般の方々にお話する機会を設けて来たが、中間評価までのアンケートに書かれていた講演に対するコメントを参考に、より分かり易い講演を提供する努力をした。具体的には専門用語の使用を極力避けることで説明用パワーポイントを平易にしその印刷物や用語解説を配布した。

（達成状況）：アウトリーチ活動を通して多くの一般の方に本領域の重要性を説明し理解していただいた。熱心に質問する中高校生を見ていると将来が楽しみになって来る。我々の工夫が実ったと考えている。

4. 審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況（2ページ程度）

審査結果の所見及び中間評価において指摘を受けた事項があった場合には、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

<審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況>

指摘1. 多様なシグナル伝達経路を対象とした研究課題の必要性について

<対応策>NF- κ B, MAPK, Aktの3つのシグナル経路に偏ることなくとより多様なシグナル経路を対象とすることの必要性をご指摘いただいた。我々も、その必要性については認識してはいたものの、領域自体が異分野連携を特徴としており、計画班の中で実のある連携をする必要があったため、機能的に相互作用のあるこの3つのシグナルを扱うのが適当であるとの考えの基に、申請に至った。多様な経路の必要性についてはヒアリングの際にもご指摘を受け、公募研究ではより広範なシグナル経路を研究対象とするようヒアリング及び審査所見においてご指示をいただいた。そこで公募研究募集の際の領域説明にその旨記載した。結果的に多様なシグナル経路に関する研究課題が申請され、採択に至った課題においても「研究組織」の公募班一覧にあるように多様なシグナルに関する研究課題が採択された。

指摘2. 個々の研究の連携の明確化について

<対応策>申請時に提出した領域計画調書に記載した計画班間の連携をより具体的に必要性をご指摘いただいた。そこで計画班間で実際に連携する研究課題を具体化し、さらに総括班で調整して「7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況」に記載した25件の計画班同士の連携研究を実施した。

指摘3. 数理モデルの必要性、有用性の明確化について

<対応策>数理モデル化の意義について具体化することの重要性についてご指摘いただいた。細胞は3次元空間であり、しかもその中に種々のオルガネラが非均一に存在する。そのような空間をシグナルが伝達されるのであるから、単にシグナル伝達をタンパク質とそれを結ぶ矢印とで描くことは明らかに事実と異なっていると思われる。従って、細胞生物学をこれまで以上に理解する方法の一つとしてシグナル伝達を数式で表す数理モデル化は、チャレンジングであるが、取り組むべき課題であろう。そして、この課題は数理科学者が単独で考えるのではなく生物学者とともに考えて行くものであると考えられる。同様の考え方は、戦略的創造研究推進事業（CREST）で沖縄科学技術大学院大学の山本雅研究統括を担当されている「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」の研究戦略の中にも記載されており、今後多くの生命現象の数理モデル化が検討されるものと考えている。そこで領域代表井上が3件（NF- κ B 関連）、副代表武川が1件（MAPK 関連）、高橋が1件（Akt 関連）、数理シミュレーション担当の市川と連携を具体化した。

<中間評価で指摘を受けた事項への対応状況>

評価結果： A （研究領域の設定目的に照らして、期待どおりの進展が認められる）

指摘1. 総合所見「今後はさらに、これまでのシグナル研究に先んじたさらなる成果や、疾患発症メカニズムの解明に繋がる成果を得られるような方策をとることを期待したい。」

<対応策>新たなシグナル制御機構や疾患発症との関連の解明を重点的に推進するため、A01の各計画班員は次の3点を目標とした研究計画を推進した。

1. 翻訳後修飾による新たなシグナル制御機構解明
2. 未知のシグナル伝達分子や翻訳後修飾の同定を念頭においた実験系及び基盤技術（プロテオミクス解析、細胞イメージングなど）の導入や開発
3. 遺伝子改変マウス等を用いた疾患との関連を解明する研究計画

指摘2. 研究組織「連携については、中心メンバーの意識は高いが、若手研究者の意識の向上も必要である。」

<対応策>中間評価ヒアリング後に2泊3日の合宿形式で若手ワークショップを開催し、その中でシグナル伝達の数理解析に必要な基礎知識に関する集中講義を行った。さらに講義のみならず、計画班員の市川が

開発した数理シミュレーション・ソフトウェア「A-Cell」を参加者全員に配布し、若手研究者が自分のコンピューターを用いて酵素反応の数理シミュレーションを行うという実践的演習を2時間に渡って実施した。また、他の新学術領域研究「構造細胞生物学」の領域代表の箱嶋敏雄先生をお招きし、構造生物学と分子生物学研究を融合した先端的研究の実際について特別講演をして頂いた。これらの施策により若手の異分野連携の意識が著しく向上した。同様の若手ワークショップをこの後2回開催したが、いずれも若手の異分野連携意識の向上に大きな効果があった。また、領域ホームページの論文紹介・評論サイトでは、それまで主に若手が情報や意見交換を活発に行って来た。そこで、このサイトで数理シミュレーション論文を平易な解説文を添えて紹介し、その際他の論文と区別するためマークを付けて目立つようにした。さらに、過去の数理モデルを分類して解説するサイト「細胞内シグナル伝達の A-Cell | モデル構築ガイド」(<http://shushoku-signal.com/info/a-cell/index.html>)を新たに領域ホームページに設けた。

指摘 3. 研究組織「構造生物学分野や数理学分野から分子生物学分野へのアプローチが弱いのではないかという意見もあった。」

<対応策>構造生物学分野から分子生物学へのアプローチについては既に一部成功しているが、数理を起点としたアプローチも含めてこの方向性を強化するには、まず異分野連携の件数を増やすことが重要である。そのために若手ワークショップを開催しその中で構造生物学や数理シミュレーションに関する講習会を設けた。また、上記「指摘 2.研究組織」に記載した領域ホームページの新たな活用方法を実施するとともに異分野連携の相談に対して旅費を総括班から援助した。一方、A02 構造生物学の石谷班員および A03 数理科学の市川班員は、各々の研究成果を基に A01 分子細胞生物学・医科学の班員との連携を意識した研究計画を推進した。

指摘 4. 今後の研究領域の推進方策「異分野連携の更なる進展、若手研究者の育成と「修飾シグナル病」領域の将来に向けた発展のための交流会やシンポジウムの開催、国民との科学技術対話の工夫などの取組については高く評価でき、引き続き推進することが期待される。」

<対応策>異分野連携や若手研究者の活性化については指摘 1.および指摘 2.に記載した対応策を中心に推進した。国民との科学技術対話についても、それまでに開催した市民公開講座や、高校での出張授業の際に行ったアンケートで得られたコメントを参考にし、対話方法についてさらに工夫を加え、積極的に推進した。

5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する]

(3 ページ程度)

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・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。

A01 分子細胞生物学及び医科学を基盤とするシグナル研究

計画研究 1：恒常的 NF-κB 活性化による悪性乳癌幹細胞の維持における新規分子機構（井上、図 5）

Yamamoto, M. et al *Nat. Commun.* 4, 2299 (2013).

悪性度の極めて高いトリプルネガティブ (TN) 型乳癌の癌幹細胞の維持における NF-κB 活性化の役割を解析した。その結果 TN 型乳癌の中の Basal 型乳癌では癌幹細胞の割合が NF-κB によって制御されていることを見出し、癌幹細胞自体の NF-κB 活性化が重要なのではなく、周囲の非幹癌細胞の NF-κB 活性化が重要であることが明らかとなった。さらに解析を進め Notch シグナルのリガンドの 1 つである JAG1 が NF-κB 活性化により非癌幹細胞で発現誘導され、癌幹細胞の Notch を刺激することで癌幹細胞の自己複製が促進されていることを見出した。

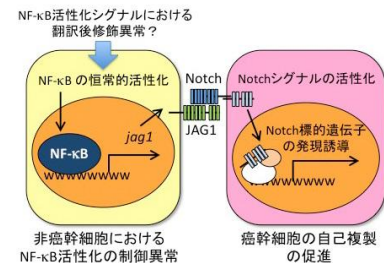


図 5 NF-κB による癌幹細胞維持機構

計画研究 2：ポリユビキチン鎖を介して NF-κB を負に制御する p47 の同定（井上/尾山、図 6）

Shibata Y. et al. *Nat. Commun.* 3, 1061 (2012).

NF-κB の詳細な制御機構の解明のため、質量分析を担当する A01 尾山との連携で、活性化 IκB キナーゼ (IKK) 複合体に結合するタンパク質として p47 を同定した。p47 は UBA ドメインを介して Lys63 型や直鎖状ユビキチン鎖に結合する性質を持ち、刺激依存的にユビキチン化 NEMO (IKK 複合体の構成因子) に結合した。p47 に結合した NEMO はリソゾームで分解され、NF-κB の活性化が負に制御されることが明らかとなった。従来の負の制御因子が活性化の持続時間を抑制するのに対して p47 は活性化のレベルを抑制する新たな制御機構を担う因子と考えられた。

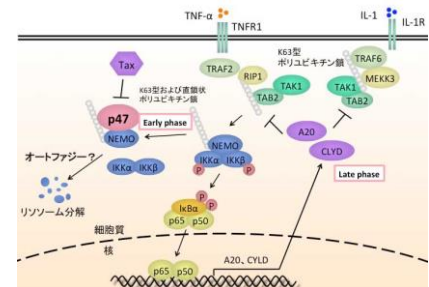


図 6 p47 による NF-κB の抑制機構

計画研究 3：新規 ERK 基質分子 MCRIP1 による上皮間葉転換 (EMT) の制御（武川、図 7）

Ichikawa, K. et al. *Mol. Cell* 58, 35-46 (2015).

ERK 基質分子の網羅的スクリーニング法を開発して、新規遺伝子 MCRIP1 を同定した。さらに、MCRIP1 が CtBP と直接結合することで、CtBP の転写抑制作用を解除する作用を持つこと、またその結果、CtBP の標的遺伝子である E-カドヘリン (上皮マーカー分子) の発現が保持されて上皮細胞としての性質が保たれることを見出した。一方、ERK によって MCRIP1 がリン酸化されると、CtBP が MCRIP1 から解離してプロモーター上に結合出来る様になり、周囲のヒストン修飾を変化させて、E-カドヘリンの発現抑制と EMT を惹起することを明らかにした。また

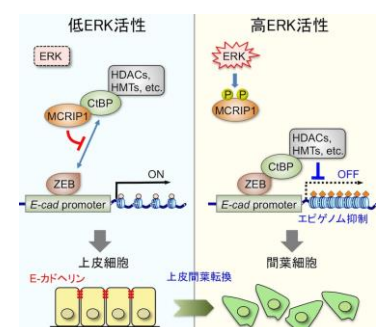


図 7 ERK による EMT 制御

ERK 経路が異常に活性化している多くの癌細胞において、MCRIP1 が恒常的にリン酸化されており、その結果 MCRIP1 が CtBP と結合する能力を失って EMT が起こり易い状態になっていることを示した。

計画研究 4 : 卵巣癌の悪性化における NF- κ B inducing kinase (NIK) の関与 (山岡、図 8)

Uno, M. et al. *PLoS One*, 9(2):e88347 (2014).

卵巣癌における NIK の発現を調べたところ正常卵巣組織 5 検体に比して卵巣癌組織 12 検体では NIK mRNA 量が著しく増加しており、細胞増殖、浸潤性に関わる遺伝子発現が増大していた。卵巣癌細胞株で shRNA 発現により NIK 発現を抑制すると NF- κ B 依存性転写活性、細胞増殖と足場依存性増殖が低下し、ヌードマウスで形成される腫瘍の容積、重量ともに減少した。以上の結果は、NIK は卵巣癌細胞において恒常的 NF- κ B 活性化と悪性形質発現に重要な役割を果たしていることが示しており、NIK が卵巣癌の有望な治療標的分子となりうることが示唆された。

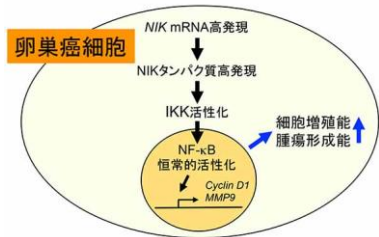


図 8 NIK による卵巣癌の悪性化

計画研究 5 : Akt による Girdin リン酸化の腫瘍微小環境における役割 (高橋、図 9)

Yamamura, Y. et al. *Cancer Res.* 75, 813-823 (2015).

腫瘍微小環境における Girdin リン酸化の意義を検討するため、がん細胞を野生型と SA マウス (リン酸化されない Girdin を発現するマウス) に皮下移植した。SA マウスにおいて、腫瘍の増大が有意に抑制されており、腫瘍組織に存在するがん関連線維芽細胞数も有意に少なかった。腫瘍血管量は有意差が見られなかったことより、血管内皮細胞ではなく、がん関連線維芽細胞内における Akt-Girdin シグナルが腫瘍の進展に寄与していることが明らかになった。

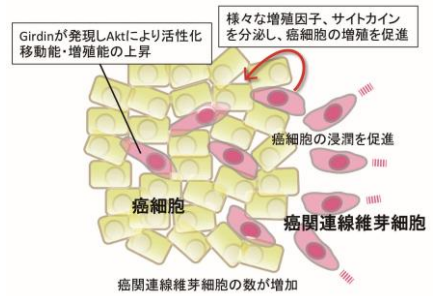


図 9 Akt/Girdin による腫瘍進展

計画研究 6 : NF- κ B 活性化に関わる直鎖状ユビキチン鎖連結酵素複合体の構成因子の解明 (徳永、図 10)

Tokunaga, F. et al. *Nature*, 471, 633-636 (2011).

ポリユビキチン鎖形成では、連結する際のユビキチンの Lys 残基の位置がその機能を規定する。NF- κ B 活性化ではこれまで Lys63 型ユビキチン鎖が重要であると考えられて来たが、直鎖状ユビキチン鎖を特異的に形成するユビキチンリガーゼ複合体(LUBAC)を同定し、LUBAC が NF- κ B 活性化に必須であることを見いだして来た。本研究では、LUBAC の構成因子として新たに SHARPIN を同定し、SHARPIN 欠損 cpdm マウスでみられる慢性皮膚炎などの炎症の原因が LUBAC 欠損による NF- κ B 活性制御不全に起因することを明らかにした。

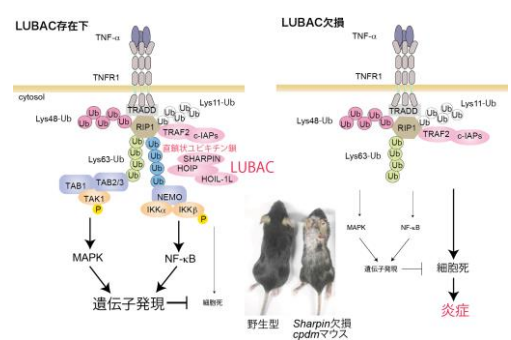


図 10 直鎖状 Ub 鎖による NF- κ B 制御

公募研究 1 : がん細胞の悪性化をもたらす代謝制御メカニズムの解明 (田口、図 11)

Mitsuishi, Y. et al. *Cancer Cell*, 22, 66-79 (2012).

がん細胞は多量の栄養を消費して同化反応を維持している。正常細胞の中で酸化ストレス応答を担う制御タンパク質 Nrf2 が、がん細胞の中では糖やアミノ酸の代謝を変化させることにより、がん細胞の増殖を促進しがんの悪性化に寄与することを明らかにした。特に増殖シグナルである PI3K-Akt 経路が活性化すると、Nrf2 の活性が増強してグルコースやグルタミンを同化反応に利用する方向に代謝が傾くことが分かった。

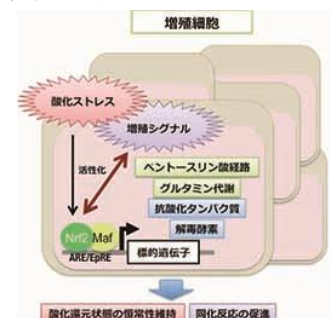


図 11 Nrf による癌悪性化

公募研究 2 : 体内時計を調節する二つのユビキチンリガーゼの拮抗的な役割 (深田/A01 尾山、図 12)

Hirano, A. et al. *Cell*, 152, 1106-1118 (2013).

マウス概日時計においてリプレッサータンパク質 CRY の量的変動が時計発振に重要な役割を果たす。CRY は F-box 型 E3 リガーゼ FBXL3 によってユビキチン化されてプロテアソーム系分解に導かれるが、本研究では、質量分析を担当する尾山との連携でFBXL3と良く似たFBXL21がCRYを分解攻撃から守って安定化することを発見した。昼には細胞質でFBXL21がCRYを安定化し、夜には核内でFBXL3がCRYの分解を促す、という新たな作動原理を提唱した。

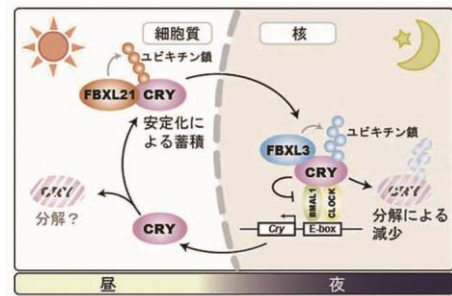


図 12 E3 拮抗による体内時計制御

公募研究 3 : ERK 分子の活性化の頻度による細胞の増殖速度の調節機構 (青木、図 13)

Aoki, K. et al. *Mol. Cell* 52, 529-40 (2013).

ERK は細胞の増殖分化、癌化に深く関与することが知られているが、ERK 活性のどのような時間変化がこういった表現型を引き起こすのかについては不明であった。FRET バイオセンサーを用いて ERK 活性を生きた細胞で可視化したところ、ERK 活性が確率的に活性化すること、また ERK 活性が隣の細胞に伝播することを見出した。興味深いことに ERK 活性の強度 (振幅) ではなく、時間変動 (周波数) が細胞増殖に寄与していることを見出した。すなわち、細胞は ERK 活性の周波数変調 (FM) システムを用いて増殖を制御していることを明らかにした。

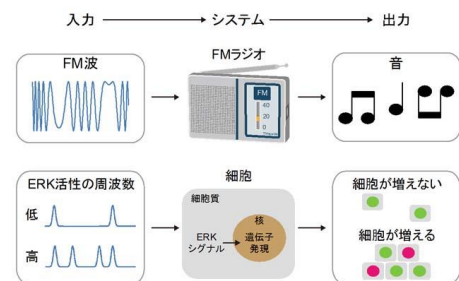


図 13 ERK 活性の FM と細胞増殖制御

公募研究 4 : 痛風治療薬による炎症抑制機構の解明 (斎藤、図 14)

Misawa, T. et al. *Nat. Immunol.* 14, 454-460 (2013).

自然免疫関連受容体であるNLRP3は、ASCと共にNLRP3インフラソームを形成する。活性化NLRP3は、プロテアーゼCaspase-1によるIL-1βの成熟と放出を促進し、炎症を惹起する。本研究ではダイニンによる微小管に沿ったミトコンドリアの細胞内輸送がNLRP3インフラソームの形成に必要であることを見出し、痛風治療薬であるチューブリン重合阻害剤コルヒチンが尿酸塩結晶によるNLRP3インフラソームの活性化を抑制する機構を解明した。

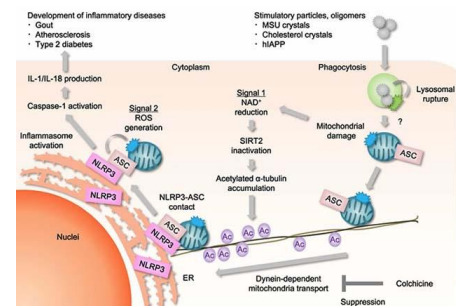


図 14 微小管による炎症制御

A02 構造生物学を基盤とするシグナル研究

計画研究 1 : 細胞質 DNA センサーcGAS の構造機能解析 (石谷/A01 徳永、図 15)

Kato, K. et al. *PLoS ONE* 8, e76983 (2013).

cGAS はウイルス由来の DNA を認識することで cyclic GMP-AMP を産生し、STING を活性化して I 型インターフェロンの産生を促す。cGAS がウイルス感染初期に宿主免疫系を活

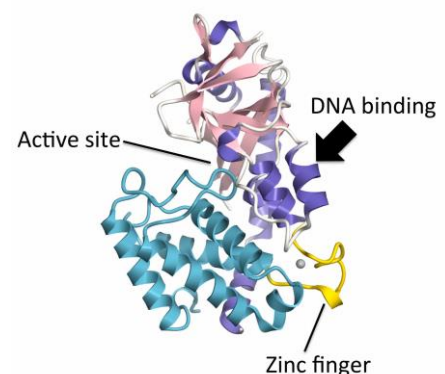


図 15 DNA センサーcGAS の結晶構造

活性化する重要な酵素であるにも関わらず、cGAS による DNA 認識機構については不明であった。本研究では X 線結晶構造解析により cGAS による DNA 認識機構を原子分解能レベルで解明した。さらに、解明した構造に基づいた生化学的、細胞生物学的解析を徳永と連携して行うことで、cGAS が Zn フィンガーおよび正電荷溝を介してウイルス DNA を認識することが明らかとなった。

計画研究 2 : ユビキチン編集酵素 A20/直鎖状ユビキチン複合体の構造機能解析 (石谷/A01 徳永、図 16)
Tokunaga, F. et al. *EMBO J.* 31, 3856-3870 (2012).

徳永と連携した分子細胞生物学的解析から、脱ユビキチン化酵素 A20 が C 末端の zinc finger 7 (ZF7) を介して直鎖状ポリユビキチンに結合することで NF- κ B 活性化を抑制することを明らかにした。そこで A20 ZF7-直鎖状ユビキチン複合体の X 線結晶構造を決定し、直鎖状ユビキチン認識機構を明らかにした。さらに A20 が ZF7 を介して直鎖状ポリユビキチンと結合し TNF 受容体へと集積することで NF- κ B 経路を制御するという新たな分子機構を明らかにした。

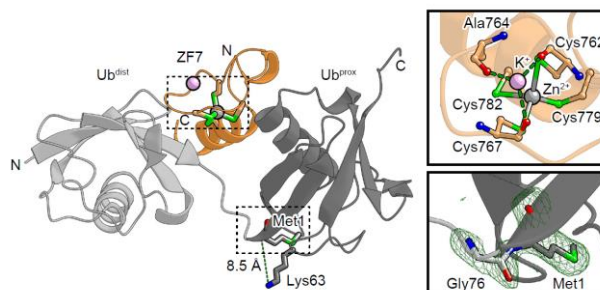


図 16 A20/M1-Ub 複合体の結晶構造

公募研究 1 : CYLD による Met1 および Lys63 結合型ユビキチン鎖特異的切断メカニズムの解明
(佐藤/計画 A01 井上/武川/徳永、図 17)

Sato, Y. et al. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 22, 222-229 (2015).
炎症性サイトカイン刺激により細胞内には Met1 および Lys63 型ユビキチン鎖が合成され、JNK や NF- κ B が活性化される。家族性円柱腫症の原因遺伝子である CYLD は、Met1 および Lys63 型 Ub 鎖を切断することでシグナルの過剰な活性化を阻害し、腫瘍や癌を抑制する。本研究では CYLD の USP ドメインと Met1 型 Ub2 量体、および USP ドメインと Lys63 型 Ub2 量体の結晶構造を決定することで、CYLD が 2 種類のポリユビキチン鎖に対応してわずかに構造を変化させて、

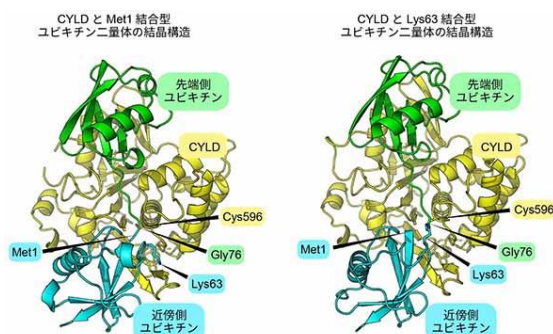


図 17 CYLD による Ub 鎖認識機構

ポリユビキチン鎖を切断するメカニズムを明らかにした。また構造情報に基づいて井上、武川、徳永と連携して機能解析を行い CYLD によるシグナル制御のモデルを提唱した。

A03 数理科学を基盤とするシグナル研究

Ohshima, D. et al. *PLoS Comput. Biol.* (2015) in press.

計画研究 1 : ストレス顆粒形成のダイナミクス (市川/A01 武川、図 18)

確率論的シミュレーションの理論を用い、武川の実験データから得られたパラメータを使ってストレス顆粒 (SG) 形成のモデル構築とシミュレーションを行った。その結果、形成される SG 個数、サイズの時間経過、SG の空間分布についてシミュレーションが実験を良く再現し、SG

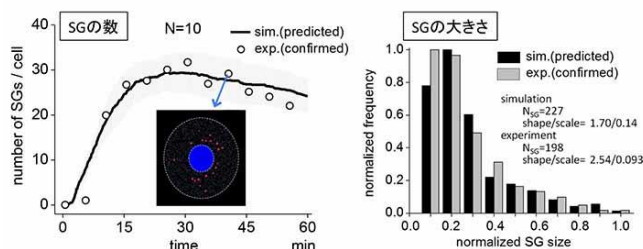


図 18 ストレス顆粒形成のダイナミクス

個数が 30 分近辺をピークとして減少するのは SG

の融合によるものであること及び SG の空間分布を決定つけるのは微小管上の SG 輸送であることを明らかにした。さらに SG サイズが γ 分布であること、 γ 分布のメカニズムが SG の融合であることを発見した。

計画研究 2 : NF- κ B 振動のダイナミクス (市川/A01 井上、図 19)

Ohshima, D. et al., *PLoS ONE* 2012, 2014, 2015.

NF- κ B の細胞質-核間振動のパターンの違いが遺伝子発現プロファイルの違いを生むことから、その制御因子の同定が重要である。本研究では空間パラメータの NF- κ B 振動パターンへの影響を 4D 時空間シミュレーションによって調べた。その結果、1) 拡散定数、核膜輸送、I κ B の転写と翻訳は振動継続性を、I κ B の核内移行は振動周波数を制御すること、2) 振動の継続に核内 NF- κ B のリセットが必要なこと、3) 核から離れた細胞質空間が「溜池」として働き NF- κ B によって発現誘導された I κ B の一時的貯留量が拡散定数で制御されること、5) I κ B mRNA の核内貯留量が I κ B mRNA の核膜輸送によって制御されることを明らかにした。

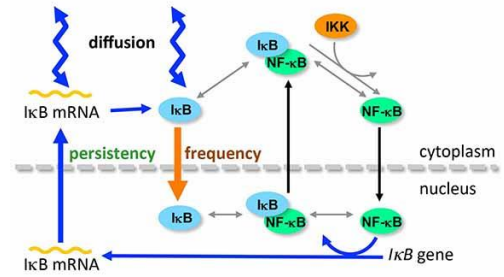


図 19 NF- κ B 振動のダイナミクス

公募研究 1 : インスリン作用のトランスオミクス解析 (久保田、図 20)

Yugi, K. et al. *Cell Rep.* 8, 1171-1183 (2014).

インスリンはリン酸化を中心としたシグナル伝達によって代謝を制御しているが、その全体像は不明である。本研究ではインスリン刺激を行った Fao 細胞を用いて、リン酸化プロテオームとメタボロームのデータを取得・統合することで、13 個のシグナル経路の酵素と 198 個の代謝酵素によって 44 個の代謝物が変動するネットワークを同定することに成功した。このネットワークには新規経路も複数含まれており、F6P を F1,6BP に変換する代謝反応では、代謝酵素 PFKL の S775 のリン酸化が重要であることを検証実験により確認した。

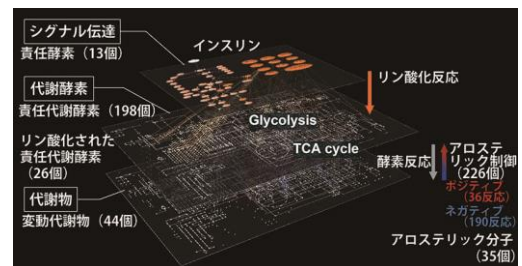


図 20 インスリン経路のオミクス解析

発明・特許

公募研究A01 浅野知一郎

発明の名称 : Pin1阻害薬を用いた炎症性腸疾患の治療または予防法 (特願2014-220655 PCT出願中)

公募研究A01 越川直彦

発明の名称 : 「がんの検査方法及び検査用キット」 (特願2013-26026 PCT出願中)

6. 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）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（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、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、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。また、別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。

(1) 主な論文等一覧

①原著論文（領域全体：482報，計画研究：177報，公募研究：305報）

A01 計画研究

1. Ito-Kureha, T., Koshikawa, N., Yamamoto, M., Semba, K., Yamaguchi, N., Yamamoto, T., Seiki, M. and *Inoue, J. Tropomodulin 1 expression driven by NF- κ B enhances breast cancer growth. *Cancer Res.* 75, 62–72 (2015). 査読有
2. ◎Sato, Y., Goto, E., Shibata, Y., Kubota, Y., Yamagata, A., Goto-Ito, S., Kubota, K., Inoue, J., Takekawa, M., Tokunaga, F. and *Fukai, S. Structures of CYLD USP with Met1- or Lys63-linked diubiquitin reveal mechanisms for dual specificity. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 22, 222–229 (2015). 査読有
3. Yamaguchi, N., Oyama, M., Kozuka-Hata, H. and Inoue, J. Involvement of A20 in the molecular switch that activates the non-canonical NF- κ B pathway. *Sci. Rep.* 3:2568 (2013). 査読有
4. Yamamoto, M., Taguchi, Y., Ito-Kureha, T., Semba, K., Yamaguchi, N. and *Inoue, J. NF- κ B non-cell-autonomously regulates cancer stem cell populations in the basal-like breast cancer subtype. *Nat. Commun.* 4: 2299 (2013). 査読有
5. ◎Oshima, D., Inoue, J. and *Ichikawa, K. Roles of spatial parameters on the oscillation of nuclear NF- κ B: computer simulations of a 3D spherical cell. *PLoS ONE* 7:e46911 (2012). 査読有
6. Shibata, Y., Oyama, M., Kozuka-Hata, H., Han, X., Tanaka, Y., Gohda, J. and *Inoue, J. p47 negatively regulates IKK activation by inducing the lysosomal degradation of polyubiquitinated NEMO. *Nat. Commun.* 3:1061 (2012). 査読有
7. ◎Ichikawa, K., Kubota, Y., Nakamura, T., Weng, J.S., Tomida, T., Saito, H. and *Takekawa, M. MCRIP1, an ERK substrate, mediates ERK-induced gene silencing during epithelial-mesenchymal transition by regulating the co-repressor CtBP. *Mol. Cell* 58, 35–46 (2015). 査読有
8. ◎Ohshima, D., Arimoto, K., Tomida, T., Takekawa, M. and *Ichikawa, K. Spatio-temporal dynamics and mechanisms of stress granule assembly. *PLoS Comput. Biol* in press (2015). 査読有
9. Nakamura, T., Saito, H. and *Takekawa, M. SAPK pathways and p53 cooperatively regulate PLK4 activity and centrosome integrity under stress. *Nat. Commun.* 4:1775 (2013). 査読有
10. Tomida, T., Oda, S., Takekawa, M., Iino, Y. and *Saito, H. The temporal pattern of stimulation determines the extent and duration of MAPK activation in a *Caenorhabditis elegans* sensory neuron. *Sci. Sig.* 5, ra76 (2012). 査読有
11. Kubota, Y., O’Grady, P., Saito, H. and *Takekawa, M. Oncogenic Ras abrogates MEK SUMOylation that suppresses the ERK pathway and cell transformation. *Nat. Cell Biol.* 13, 282–291 (2011). 査読有
12. Uno, M., Saitoh, Y., Mochida, K., Tsuruyama, E., Kiyono, T., Imoto, I., Inazawa, J., Yuasa, Y., Kubota, T. and *Yamaoka, S. NF- κ B Inducing Kinase, a Central Signaling Component of the Non-Canonical Pathway of NF- κ B, Contributes to Ovarian Cancer Progression. *PLoS One*, 9:e88347 (2014). 査読有
13. Saitoh, T., Komano, J., Saitoh, Y., Misawa, T., Takahama, M., Kozaki, T., Uehata, T., Iwasaki, H., Omori, H., Yamaoka, S., Yamamoto, N. and *Akira, S.: Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1. *Cell Host Microbe*. 12, 109–116 (2012). 査読有
14. Saitoh, Y., Martínez Bruyn, V.J., Uota, S., Hasegawa, A., Yamamoto, N., Imoto, I., Inazawa, J. and *Yamaoka, S. Overexpression of NF- κ B Inducing Kinase Underlies Constitutive NF- κ B Activation in Lung Cancer Cells. *Lung Cancer* 70, 263–270 (2010). 査読有
15. Yamamura, Y., Asai, N., Enomoto, A., Kato, T., Mii, S., Kondo, Y., Ushida, K., Niimi, K., Tsunoda, N., Nagino, M., Ichihara, S., Furukawa, K., Maeda, K., Murohara, T. and *Takahashi, M. Akt-Girdin signaling in cancer-associated fibroblasts contributes to tumor progression. *Cancer Res.* 75, 813–823 (2015). 査読有
16. Weng, L., Enomoto, A., Miyoshi, H., Takahashi, K., Asai, N., Morone, N., Jiang, P., An, J., Kato, T., Kuroda, K., Watanabe, T., Asai, M., Ishida-Takagishi, M., Murakumo, Y., Nakashima, H., Kaibuchi, K. and *Takahashi, M. Regulation of cargo-selective endocytosis by dynamin 2 GTPase-activating protein girdin. *EMBO J.* 33, 2098–2112 (2014). 査読有
17. Ishida-Takagishi, M., Enomoto, A., Asai, N., Ushida, K., Watanabe, T., Hashimoto, T., Kato, T., Weng, L., Matsumoto, S., Asai, M., Murakumo, y., Kaibuchi, K., Kikuchi, A. and *Takahashi, M. The Dishevelled-associating protein Daple controls the non-canonical Wnt/Rac pathway and cell motility. *Nat. Commun.* 3:859 (2012). 査読有

18. *[Tokunaga, F.](#), Nishimasu, H., Ishitani, R., Goto, E., Noguchi, T., Mio, K., Kamei, K., Ma, A., Iwai, K., and *Nureki, O. Specific recognition of linear polyubiquitin by A20 zinc finger 7 is involved in NF- κ B regulation. *EMBO J.* 31, 3856-3870 (2012). 査読有
19. Ikeda, F., Deribe, Y.L., Skånland, S.S., Stieglitz, B., Grabbe C., van Wijk, S., Franz-Wachtel, M., Goswami, P., Nagy, V., Terzic, J., [Tokunaga, F.](#), Androulidaki, A., Nakagawa, T., Pasparakis, M., Iwai, K., Sundberg, J.P., Schaefer, L., Macek, B., Rittinger, K. and *Dikic, I. SHARPIN forms a linear ubiquitin ligase complex regulating NF- κ B activity and apoptosis. *Nature*, 471, 637-641 (2011). 査読有
20. [Tokunaga, F.](#), Nakagawa, T., Nakahara, M., Saeki, Y., Taniguchi, M., Sakata, S.-i., Tanaka, K., Nakano, H. and *Iwai, K. SHARPIN is a component of the NF- κ B activating linear ubiquitin assembly complex. *Nature*, 471, 633-636 (2011). 査読有

A01 公募研究

1. [Okumura, F.](#), Okumura, A. J., Uematsu, K., Hatakeyama, S., Zhang, D. E., and *Kamura, T. Activation of double-stranded RNA-activated protein kinase (PKR) by interferon-stimulated gene 15 (ISG15) modification down-regulates protein translation. *J Biol Chem* 288, 2839-2847 (2013). 査読有
2. Miyazawa, M., Tashiro, E., Kitaura, H., Maita, H., Suto, H., [Iguchi-Ariga, S.M.M.](#) and *Ariga, H. Prefoldin subunits are protected from ubiquitin-proteasome system-mediated degradation by forming complex with other constituent subunits. *J. Biol. Chem.* 286, 19191-19203 (2011). 査読有
3. Mitsuishi, Y., [Taguchi, K.](#), Kawatani, Y., Shibata, T., Nukiwa, T., Aburatani, H., *Yamamoto, M. and *Motohashi, H. Nrf2 redirects glucose and glutamine into anabolic pathways in metabolic reprogramming, *Cancer Cell* 22, 66-79 (2012). 査読有
4. [Taguchi, K.](#), Fujikawa, N., Komatsu, M., Ishii, T., Unno, M., Akaike, T., Motohashi, H. and *Yamamoto, M. Keap1 degradation by autophagy for the maintenance of redox homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 13561-13566 (2012). 査読有
5. Ito, S., Fujiyama-Nakamura, S., Kimura, S., Lim, J., Kamoshida, Y., Shiozaki-Sato, Y., [Sawatsubashi, S.](#), Suzuki, E., Tanabe, M., Ueda, T., Murata, T., Kato, H., Ohtake, F., Fujiki, R., Miki, T., Kouzmenko, A., Takeyama, K. and *Kato, S. Epigenetic silencing of core histone genes by HERS in Drosophila. *Mol. Cell* 45, 494-504 (2012). 査読有
6. Koizumi, K., Takano, K., Kaneyasu, A., Watanabe-Takano, H., Tokuda, E., Abe, T., Watanabe, N., Takenawa, T., and *[Endo, T.](#) RhoD activated by fibroblast growth factor induces cytoneme-like cellular protrusions through mDia3C. *Mol. Biol. Cell* 23, 4647-4661 (2012). 査読有
7. Hoshino, D., [Koshikawa, N.](#), Suzuki, T., Quaranta, V., Weaver, A.M., *Seiki, M. and Ichikawa, K. Establishment and validation of computational model for MT1-MMP dependent ECM degradation and intervention strategies. *PLoS Comput. Biol.* 8(4):e1002479. (2012). 査読有
8. [Urano, T.](#), Shiraki, M., Yagi, H., Ito, M., Sasaki, N., Sato, M., Ouchi, Y. and *Inoue, S. GPR98/Gpr98 gene is involved in the regulation of human and mouse bone mineral density. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97, E565-E574 (2012). 査読有
9. [Kano, F.](#), Nakatsu, D., Noguchi, Y., Yamamoto, A. and *Murata, M. A Resealed-Cell System for Analyzing Pathogenic Intracellular Events: Perturbation of Endocytic Pathways under Diabetic Conditions. *PLoS ONE*. 7(8):e44127. (2012) 査読有
10. Ishida, Y., Sekine, Y., Oguchi, H., Chihara, T., Miura, M., Ichijo, H. and *[Takeda, K.](#) Prevention of apoptosis by mitochondrial phosphatase PGAM5 in the mushroom body is crucial for heat shock resistance in Drosophila melanogaster. *PLoS ONE* 7, e30265 (2012). 査読有
11. Kawamata A, Inoue A, Miyajima D, Hemmi H, Mashima R, Hayata T, Ezura Y, Amagasa T, *[Yamanashi, Y.](#), and *Noda M. Dok-1 and Dok-2 deficiency induces osteopenia via activation of osteoclasts. *J. Cell. Physiol.* 226, 3087-3093 (2011). 査読有
12. Fujiki, R., Hashiba, W., Sekine, H., Yokoyama, A., Chikanishi, T., Ito, S., Imai, Y., Kim, J., He, H.H., Igarashi, K., Kanno, J., [Ohtake, F.](#), Kitagawa, H., Roeder, R.G., Brown, M. and *Kato S. GlcNAcylation of histone H2B facilitates its monoubiquitination. *Nature* 480, 557-60 (2011). 査読有
13. Yoshitane, H., Honma, S., Imamura, K., Nakajima, H., Nishide, S., Ono, D., Kiyota, H., Shinozaki, N., Matsuki, H., Wada, N., Doi, H., Hamada, T., Honma, K. and *[Fukada, Y.](#) JNK regulates the photic response of the mammalian circadian clock. *EMBO Rep.* 13, 455-461 (2012). 査読有
14. Taira, N., Mimoto, R., Kurata, M., Yamaguchi, T., Kitagawa, M., Miki, Y. and *[Yoshida, K.](#) DYRK2 priming phosphorylation of c-Jun and c-Myc modulates cell cycle progression in human cancer cells. *J Clin. Invest.* 122, 859-872 (2012). 査読有
15. Refaat, A., Zhou, Y., Suzuki, S., Takasaki, I., Koizumi, K., Yamaoka, S., Tabuchi, Y., Saiki, I., and *[Sakurai, H.](#) Distinct roles of transforming growth factor- β -activated kinase 1 (TAK1)-c-Rel and interferon regulatory factor 4 (IRF4) pathways in human T cell lymphotropic virus 1-transformed T helper 17 cells producing interleukin-9. *J. Biol. Chem.* 286, 21092-21099 (2011). 査読有
16. Berezniuk, I., Vu, H.T., Lyons, P.J., Sironi, J.J., Xiao, H., Burd, B., Setou, M., Angeletti, R.H., *[Ikegami, K.](#), and *Fricker, L.D. Cytosolic carboxypeptidase 1 is involved in processing α - and β -tubulin. *J. Biol. Chem.* 287, 6503-6517 (2012). 査読有

17. Yokoyama, K., Imura, A., Ohkido, I., Maruyama, Y., Yamazaki, Y., Hasegawa, H., Urae, J., Sekino, H., Nabeshima, Y.I. and *Hosoya, T. Serum soluble alpha-Klotho in hemodialysis patients. *Clin. Nephrol.* 77, 347-51 (2012). 査読有
18. Kanda, K., Komekado, H., Sawabu, T., Ishizu, S., Nakanishi, Y., Nakatsuji, M., Akitake-Kawano, R., Ohno, M., Hiraoka, Y., Kawada, M., Kawada, K., Sakai, Y., Matsumoto, K., Kunichika, M., Kimura, T., *Seno, H., *Nishi, E. and Chiba, T. Nardilysin and ADAM proteases promote gastric cancer cell growth by activating intrinsic cytokine signaling via enhanced ectodomain shedding of TNF- α . *EMBO Mol. Med.* 4, 396-411 (2012). 査読有
19. Tsujimoto, I., Yoshida, A., Yoneda-Kato, N., and *Kato, J.Y. Depletion of CSN5 inhibits Ras-mediated tumorigenesis by inducing premature senescence in p53-null cells. *FEBS Lett.* 586, 4326-31 (2012). 査読有
20. *Kinoshita, E., Kinoshita-Kikuta, E., and Koike, T. Phos-tag SDS-PAGE systems for phosphorylation profiling of proteins with a wide range of molecular masses under neutral pH conditions. *Proteomics* 12, 192-202 (2012). 査読有
21. Nakatsu, Y., Sakoda, H., Kushiya, A., Zhang, J., Ono, H., Fujishiro, M., Kikuchi, T., Fukushima, T., Yoneda, M., Ohno, H., Horike, N., Kanna, M., Tsuchiya, Y., Kamata, H., Nishimura, F., Isobe, T., Ogihara, T., Katagiri, H., Oka, Y., Takahashi, S., Kurihara, H., Uchida, T., and *Asano, T. Peptidyl-prolyl Cis/Trans Isomerase NIMA-interacting 1 Associates with Insulin Receptor Substrate-1 and Enhances Insulin Actions and Adipogenesis. *J. Biol. Chem.* 286, 20812-22 (2011). 査読有
22. Takahashi, H., Ozawa, A., Nemoto, K., Nozawa, A., Seki, M., Shinozaki, K., Takeda, H., Endo, Y. and *Sawasaki, T. Genome-wide biochemical analysis of Arabidopsis protein phosphatase using a wheat cell-free system. *FEBS Lett.* 586, 3134-3141 (2012). 査読有
23. Ota, S., Ishitani, S., Shimizu, N., Matsumoto, K., Itoh, M. and *Ishitani, T. NLK positively regulates Wnt/ β -catenin signalling by phosphorylating LEF1 in neural progenitor cells. *EMBO J.* 31, 1904-1915 (2012). 査読有
24. Nishi, M., Akutsu, H., Masui, S., Kondo, A., Nagashima, Y., Kimura, H., Perrem, K., Shigeri, Y., Toyoda, M., Okayama, A., Hirano, H., Umezawa, A., Yamamoto, N., Lee, SW. and *Ryo, A. A distinct role for Pin1 in the induction and maintenance of pluripotency. *J. Biol. Chem.* 286, 11593-603 (2011). 査読有
25. Mashima, T., Okabe, S. and *Seimiya, H. Molecular pharmacological approach reveals potential new strategies to suppress androgen receptor signaling in prostate cancer. *Mol Cell Pharmacol.* 3, 7-12 (2011). 査読有
26. Kajikawa, M., Li P.C., Goto, E., Miyashita, N., Aoki-Kawasumi, M., Mito-Yoshida, M., Ikegaya, M., Sugita, Y. and *Ishido, S. The inter-transmembrane region of KSHV MIR2 contributes to B7-2 downregulation. *J. Virol.* 86, 5288-5296 (2012).
27. Kimura, Y., Fukushi, J., Hori, S., Matsuda, N., Okatsu, K., Kakiyama, Y., Kawawaki, J., Kakizuka, A. and *Tanaka K. Different dynamic movements of wild-type and pathogenic VCPs and their cofactors to damaged mitochondria in a Parkin-mediated mitochondrial quality control system. *Genes Cells* 18, 1131-1143 (2013). 査読有
28. Kasahara, K., Goto, H., Izawa, I., Kiyono, T., Watanabe, N., Elowe, S., Nigg, E.A. and Inagaki, M. PI 3-kinase-dependent phosphorylation of Plk1-Ser99 promotes association with 14-3-3 γ and is required for metaphase-anaphase transition. *Nat. Commun.* 4:1882 (2013). 査読有
29. Kondo, N., Ohno, Y., Yamagata, M., Obara, T., Seki, N., Kitamura, T., Naganuma, T. and *Kihara, A. Identification of the phytosphingosine metabolic pathway leading to odd-numbered fatty acids. *Nat. Commun.* 5:5338 (2014). 査読有
30. Taguchi, K., Hirano, I., Itoh, T., Tanaka, M., Miyajima, A., Suzuki, A., Motohashi, H., and *Yamamoto, M. Nrf2 enhances cholangiocyte expansion in Pten-deficient livers. *Mol. Cell Biol.* 34, 900-913 (2014). 査読有
31. Fujioka, Y., Tsuda, M., Nanbo, A., Hattori, T., Sasaki, J., Sasaki, T., Miyazaki, T., and *Ohba, Y. A Ca(2+)-dependent signaling circuit regulates influenza A virus internalization and infection. *Nat. Commun.* 4, 2763-2768 (2013). 査読有
32. Okigawa, S., Mizoguchi, T., Okano, M., Tanaka, H., Isoda, M., Jiang, Y.J., Suster M., Higashijima, S., Kawakami, K. and *Itoh, M. Different combinations of Notch ligands and receptors regulate V2 interneuron progenitor proliferation and V2a/V2b cell fate determination. *Dev Biol.* 391, 196-206 (2014). 査読有
33. Watanabe-Takano, H., Takano, K., Sakamoto, A., Matsumoto, K., Tokuhisa, T., *Endo, T. and *Hatano, M. DA-Raf-dependent inhibition of the Ras-ERK signaling pathway in type 2 alveolar epithelial cells controls alveolar formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 2291-2300 (2014). 査読有
34. ©Hirano, A., Yumimoto, K., Tsunematsu, R., Matsumoto, M., Oyama, M., Kozuka-Hata, H., Lanjakornsiripan, D., *Nakayama, K.I. and *Fukada, Y. FBXL21 regulates oscillation of the circadian clock through ubiquitination and stabilization of cryptochromes. *Cell*, 152, 1106-1118 (2013). 査読有
35. Kon, N., Yoshikawa, T., Honma, S., Yamagata, Y., Yoshitane, H., Shimizu, K., Sugiyama, Y., Hara, C., Kameshita, I., Honma, K. and *Fukada, Y. CaMKII is essential for cellular clock and coupling between morning and evening behavioral rhythms. *Genes Dev.* 28, 1101-1110 (2014). 査読有

36. Arimura, S., Okada, T., Tezuka, T., Chiyo, T., Kasahara, Y., Yoshimura, T., Motomura, M., Yoshida, N., Beeson, D., Takeda, S. and *Yamanashi, Y. DOK7 gene therapy benefits mouse models of diseases characterized by defects in the neuromuscular junction. *Science* 345, 1505-1508 (2014). 査読有
37. Tezuka, T., Inoue, A., Hoshi, T., Weatherbee, SD., Burgess, RW., Ueta, R. and *Yamanashi, Y. The MuSK-activator agrin has a separate role essential for postnatal maintenance of neuromuscular synapses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 16556-16561 (2014). 査読有
38. Shimomura, T., Miyamura, N., Hata, S., Miura, R., *Hirayama, J. and *Nishina, H. The PDZ-binding motif of Yes-associated protein is required for its co-activation of TEAD-mediated CTGF transcription and oncogenic cell transforming activity *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 376, 206-210 (2014). 査読有
39. Hirota, Y., Yamashita, SI., Kurihara, Y., Jin, X., Aihara, M., Saigusa, T., Kang, D. and *Kanki, T. Mitophagy is primarily due to alternative autophagy and requires the MAPK1 and MAPK14 signaling pathways. *Autophagy* 11, 332-343 (2015). 査読有
40. ©*Aoki, K., Kumagai, Y., Sakurai, A., Komatsu, N., Fujita, Y., Shionyu, C. and Matsuda, M. Stochastic ERK activation induced by noise and cell-cell propagation regulates cell density-dependent proliferation. *Mol. Cell* 52, 529-40 (2013). 査読有
41. *Oneyama, C., Yoshikawa, Y., Ninomiya, Y., Iino, T., Tsukita, S. and Okada, M.: Fer tyrosine kinase oligomer mediates and amplifies Src-induced tumor progression. *Oncogene* in press (2015). 査読有
42. Lee, H., Komano, J., Saitoh, Y., Yamaoka, S., Kozaki, T., Misawa, T., Takahama, M., Satoh, T., Takeuchi, O., Yamamoto, N., Matsuura, Y., *Saitoh, T. and *Akira S. Zinc-finger antiviral protein mediates retinoic acid inducible gene I-like receptor-independent antiviral response to murine leukemia virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 12379-12384 (2013). 査読有
43. Misawa, T., Takahama, M., Kozaki, T., Lee, H., Zou, J., *Saitoh, T. and *Akira, S. Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria promotes activation of the NLRP3 inflammasome. *Nat. Immunol.* 14, 454-460 (2013). 査読有
44. *Kinoshita, E., Kinoshita-Kikuta, E., and Koike, T. Sandwich assay for phosphorylation of protein multiplexes by using antibodies and Phos-tag. *Anal. Biochem.* 438, 104-106 (2013). 査読有
45. Nemoto, K., Takemori, N., Seki, M., Shinozaki, K. and *Sawasaki, T. Members of the plant CRK-superfamily are capable of trans-/auto-phosphorylation of tyrosine residues. *J Biol Chem.* in press (2015). 査読有
46. Shimizu, N., Ishitani, S., Sato, A., Shibuya, H. and *Ishitani, T. Hipk2 and PP1c cooperate to maintain Dvl protein levels required for Wnt signal transduction. *Cell Rep.* 8, 1391-1404 (2014). 査読有
47. Fukuda, R., Suico, MA., Kai, Y., Omachi, K., Motomura, K., Koga, T., Komohara, Y., Koyama, K., Yokota, T., Taura, M., Shuto, T., and *Kai, Y. Podocyte p53 limits the severity of experimental alport syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* pii: ASN.2014111109 (2015). 査読有
48. Yamamoto-Hino, M., Muraoka, M., Kondo, S., Ueda, R., Okano, H. and *Goto, S. Dynamic regulation of innate immune responses in Drosophila by Senju-mediated glycosylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112, 5809-5814 (2015) 査読有

A02 計画研究

1. Kato, K., Ishii, R., Hirano, S., Ishitani, R. and *Nureki, O. Structural Basis for the Catalytic Mechanism of DncV, Bacterial Homolog of Cyclic GMP-AMP Synthase. *Structure* 23, 843-850 (2015). 査読有
2. ©Kato, K., Ishii, R., Goto, E., Ishitani, R., *Tokunaga, F. and *Nureki, O. Structural and functional analyses of DNA-sensing and immune activation by human cGAS. *PLoS One* 8:e76983 (2013). 査読有
3. Ishii, R., Isogaya, K., Seto, A., Koinuma, D., Watanabe, Y., Arisaka, F., Yaguchi, SI., Ikushima, H., Dohmae, N., Miyazono, K., Miyazawa, K., *Ishitani, R. and *Nureki, O. Structure of a dominant-negative helix-loop-helix transcriptional regulator suggests mechanisms of autoinhibition. *EMBO J.* 31, 2541-2552 (2012). 査読有
4. *Tokunaga, F., Nishimasu, H., Ishitani, R., Goto, E., Noguchi, T., Mio, K., Kamei, K., Ma, A., Iwai, K. and *Nureki, O. Specific recognition of linear polyubiquitin by A20 zinc finger 7 is involved in NF-κB regulation. *EMBO J.* 31, 3856-3870 (2012). 査読有

A02 公募研究

1. *Igarashi, J., Sasaki, T., Kobayashi, N., Yoshioka, S., Matsushita, M. and Shimizu, T. Autophosphorylation of heme-regulated eukaryotic initiation factor 2α kinase, HRI, and the role of the modification in catalysis *FEBS J.* 278, 918-928 (2011). 査読有
2. Sato, Y., Fujita, H., Yoshikawa, A., Yamashita, M., Yamagata, A., Kaiser, S.E., Iwai, K. and *Fukai, S. Specific Recognition of Linear Ubiquitin Chains by the HOIL-1L NZF domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 20520-20525 (2011). 査読有
3. Soga, K., Teruya, F., Tateno, H., Hirabayashi, J. and *Yamamoto, K. Terminal N-acetylgalactosamine-specific leguminous lectin from Wisteria japonica as a probe for human lung squamous cell carcinoma. *PLoS ONE* 8(12):e83886 (2013). 査読有

4. ©Sato, Y., Yamagata, A., Goto-Ito, S., Kubota, K., Miyamoto, R., Nakada, S. and *Fukai, S. Structures of CYLD USP with Met1- or Lys63-linked diubiquitin reveal mechanisms for dual specificity. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 22, 222-229 (2015). 査読有
5. Maesaki, R., Satoh, R., Taoka, M., Kanaba, T., Fujita, C., Fujiwara, T., Ito, Y., Isobe, T., Hakoshima, T., Maenaka, K. and *Mishima, M. Efficient and cost effective production of active-form human PKB using silkworm larvae. *Sci. Rep.* 4:6016 (2014) 査読有

A03 計画研究

1. Hoshino, D., Koshikawa, N., Suzuki, T., Quaranta, V., Weaver, A.M., *Seiki, M. and Ichikawa, K. Establishment and validation of computational model for MT1-MMP dependent ECM degradation and intervention strategies. *PLoS Comput. Biol.* 8:e1002479 (2012). 査読有
2. Ohshima, D., Inoue, J. and *Ichikawa, K. Roles of Spatial Parameters on the Oscillation of Nuclear NF-κB: Computer Simulations of a 3D Spherical Cell. *PLoS ONE* 7:e46911 (2012). 査読有
3. ©Ohshima, D. and *Ichikawa, K. Regulation of nuclear NF-κB oscillation by a diffusion coefficient and its biological implications. *PLoS ONE* 9:109895 (2014). 査読有
4. ©Ohshima, D., Arimoto-Matsuzaki, K., Tomida, T., Takekawa, M., and *Ichikawa, K. Spatio-temporal dynamics and mechanisms of stress granule assembly. *PLoS Comput. Biol.* in press (2015). 査読有
5. ©Ohshima, D. and *Ichikawa, K. Regulation of nuclear NF-κB oscillation by nuclear transport: mechanisms determining persistency and frequency. *PLoS ONE* in press (2015). 査読有

A03 公募研究

1. ©Yugi, K., Kubota, H. (first two authors are equally contributed), Yu Toyoshima, Y., Noguchi, R., Kawata, K., Komori, Y., Uda, S., Kunida, K., Tomizawa, Y., Funato, Y., Miki, H., Matsumoto, M., Nakayama, K., Kashikura, K., Endo, K., Ikeda, K., Soga, T. and *Kuroda, S. Reconstruction of global signal flow of insulin from phosphoproteome and metabolome data. *Cell Rep.* 8, 1171-1183 (2014). 査読有
2. Kaji, T., Furukawa, K., Ishige, A., Toyokura, I., Nomura, M., Okada, M., Takahashi, Y., Shimoda, M. and *Takemori, T. Both mutated and unmutated memory B cells accumulate mutations in the course of the secondary response and develop a new antibody repertoire optimally adapted to the secondary stimulus. *Int. Immunol.* 25, 683-695 (2013). 査読有

②総説（領域全体:50報, 計画研究:20報, 公募研究:30報）

計画研究

1. Kozuka-Hata H, Tasaki S, and *Oyama M. Phosphoproteomics-based systems analysis of signal transduction networks. *Front Physiol.* 2:113 (2011). 査読有
2. Weng, L., Enomoto, A., Ishida-Takagishi, M., Aşai, N. and *Takahashi, M. Girding for migratory cues: Role of the Akt substrate Girdin in cancer progression and angiogenesis. *Cancer Sci.* 101, 836-842 (2010).
3. Tokunaga, F. and *Iwai, K. LUBAC, a novel ubiquitin ligase for linear ubiquitination, is crucial for inflammation and immune responses. *Microbes Infect.*, 14, 563-572 (2012). 査読有
4. *Tokunaga, F. Linear ubiquitination-mediated NF-κB regulation and its related disorders. *J. Biochem.* 154, 313-323 (2013). 査読有

公募研究

1. *Endo, T. Molecular mechanisms of skeletal muscle development, regeneration, and osteogenic conversion. *Bone*, in press (2015). 査読有
2. *Eiji Kinoshita, Kinoshita-Kikuta, E. and Koike, T. The cutting edge of affinity electrophoresis technology. *Proteomes* 3, 42-55 (2015) 査読有
3. *Ishitani, T. Context-dependent dual and opposite roles of nemo-like kinase in the Wnt/β-catenin signaling. *Cell Cycle* 11, 1743-1745 (2012) 査読有
4. Taguchi, K., Motohashi, H, and *Yamamoto, M. Molecular mechanisms of the Keap1-Nrf2 pathway in stress response and cancer evolution. *Genes Cells* 16, 123-140 (2011). 査読有

③英文著書（領域全体:42報, 計画研究:14報, 公募研究:28報）

計画研究

1. ©“*Protein Modifications in Pathogenic Dysregulation of Signaling*” (Springer, Editors: Inoue, J. & Takekawa, M.), (2015) in press 査読有
2. Akiyama, Y., Qin, J., Ohshima, D. and Inoue, J. Identification of transcription factors activated in thymic epithelial cells during embryonic thymus development. In “*Transcription factor regulatory net works*” Springer, Editors Yanagawa, H. and Miyamoto-Sato, E. ed. Springer (2014). 査読有

公募研究

1. Yamamoto-Hino, M. and *Goto, S. Localization of glycosyl enzymes and nucleotide-sugar transporters in the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus. In “*Glycoscience: Biology and Medicine*” Taniguchi, N. et al. ed. Springer Reference, Heidelberg (2014). 査読有

2. Kassai, H. and *Fukada, Y. Farnesylation versus geranylgeranylation in G-protein-mediated light signaling. The Enzymes Vol. 29: Protein Prenylation Part A (eds. Tamanoi, F., Hrycyna, C., Bergo, M.) pp.125-145, Elsevier (2011). 査読有

④邦文著書（領域全体:114 報, 計画研究:20 報, 公募研究:94 報）

計画研究

1. 井上純一郎、武川睦寛、徳永文稔、今井浩三（編集）実験医学増刊「シグナル伝達研究最前線 2012」
辛土社 2012.
2. 徳永文稔 直鎖状ユビキチン化を介した NF- κ B 制御機構と疾患 生化学 85, 414-422 (2013).

公募研究

1. 田口恵子 : Keap1-Nrf2システムと毒物の解毒・排泄、「毒性の科学—分子・細胞から人間集団まで」東
京大学出版会 28-33 (2014). 査読有
2. 遠藤 剛 : IGF-1 シグナリングによる筋形成とその破綻による筋疾患. 実験医学 30, 808-816 (2012)

(2) ホームページ

本新学術領域では、「修飾シグナル病」領域ホームページ (<http://shushoku-signal.com/>) を平成 22 年 9 月に立ち上げ、領域概要、研究組織と各班員の研究内容、領域主催シンポジウムや関連学会等の情報提供（ミーティングレポートを含む）、研究成果に関する情報を掲載し、幅広い分野の研究者に向けて積極的に情報公開を行ってきた。さらに「一般向け」ページも作成して、領域で実施したアウトリーチ活動の内容やその様子を紹介すると共に、領域の重要な研究成果を平易に解説する紹介文を掲載し、広く国民に情報を提供すべく配慮してきた。公開から現在までの総アクセス数（訪問数）は 164,000 回（週平均 700 アクセス）を越えており、またユニークユーザー数も 34,572 名であり、実際に多数の方が複数回閲覧されている。また領域ホームページ内に、「班員専用ページ」および「論文紹介・評論サイト」を設置して、班員および班員の研究室に所属する研究員や学生が、分野・世代・地域の壁を越えて恒常的に交流し、議論する場として活用してきた。

① 班員専用ページ

異分野連携推進を目的として設置。「共同研究に役立つ基本事項の解説」欄を設けて、1) 数理シミュレーション、2) 蛋白質結晶構造解析、3) 質量分析・プロテオミクス解析、の実際（概要および具体的試料調整法など）を、異分野の研究者にも理解し易い平易な内容で記述した。さらに、各分野の窓口担当者（総括班員）を設置すると共に、研究相談専用メールアドレス（consult@shushoku-signal.com）を設けて共同研究を促した。また、班員が開発した新規技術や実験材料などの情報を掲載して、領域内で広く共有できる様にした。

② 論文紹介・評論サイト

若手を含む多様な研究者が、日常的に学術的議論や意見交換を行うオープンな場として設置。「修飾シグナル病」に関連した最近の重要論文を紹介すると共に、論評やコメントを加えて、相互に情報交換や議論が出来るようにした。また、各班員が発表した論文を著者の目線で紹介することで、迅速な情報の共有を計っている。

(3) 公開発表

①学会等でのワークショップ・シンポジウム開催（10 回開催、参加者 100 名～300 名程度）

第 33 回日本分子生物学会・第 83 回日本生化学会合同大会ワークショップ

「翻訳後修飾によるシグナル伝達制御と疾患」

第 70 回日本癌学会シンポジウム「Posttranslational modifications in cancer biology and therapeutics」

第 34 回日本分子生物学会ワークショップ

「Dynamics and molecular basis of post-translational modifications and cell signaling networks」

日本応用数理学会 2012 年度年会 「数理医学セッション」

第 65 回日本細胞生物学会大会シンポジウム

「翻訳後修飾による細胞内シグナル伝達ネットワークと細胞機能の制御」

第 86 回日本生化学会シンポジウム「次世代シグナル伝達研究への展開」

日本薬学会第 134 年会シンポジウム「翻訳後修飾に着目したシグナル伝達研究と創薬の最前線」

第 73 回日本癌学会学術総会シンポジウム「シグナル伝達破綻による発癌スパイラルの加速」

第 87 回日本生化学会シンポジウム「炎症応答制御の分子基盤解明と創薬への挑戦」

第 37 回日本分子生物学会年会ワークショップ「ケミストリーを戦略としたシグナル伝達研究」

②公開シンポジウム開催（東大医科研講堂にて開催 各回参加者 100 名以上）

第 1 回公開シンポジウム「修飾シグナル病」学術領域の創出（H23. 1. 29）

第 2 回公開シンポジウム「修飾シグナル病」学術領域の新展開（H24. 1. 28）

第 3 回公開シンポジウム「シグナル伝達解析技術と数理モデルの最先端」（H26. 1. 25）

第 1 回国際シンポジウム「Protein modifications in pathogenic dysregulation of signaling」（H25. 2. 1～2）

第 2 回国際シンポジウム

「2nd International Symposium on Protein Modifications in Pathogenic Dysregulation of Signaling」

（H27. 1. 23～24）

③ニュースレターの発行（年 1 回、合計 5 巻発行、各巻班員及び関連研究者約 1400 名に郵送）

修飾シグナル病 Newsletter Vol.1 H22 年 12 月発行、Vol.2 H24 年 1 月発行、Vol.3 H25 年 1 月発行、
Vol.4 H26 年 1 月発行、Vol.5 H27 年 1 月発行

④書籍の発行

編集：井上純一郎、武川睦寛、徳永文稔、今井浩三 執筆：総括班全員及び公募班員 6 名が執筆を担当
実験医学増刊「シグナル伝達研究最前線 2012」羊土社 (2010 年)

編集：井上純一郎、武川睦寛 本領域の成果を世界的に公開するため計画班員と一部の公募班員が執筆
「Protein Modifications in Pathogenic Dysregulation of Signaling」が Springer から間もなく発行される。

⑤招待講演 (領域全体:260講演、計画研究:84講演、公募研究:176講演)

計画研究

1. Ichikawa, K. Synergistic effect of blocking cancer cell invasion revealed by computer simulations” 2014 NIMS Hot Topics Workshops, Daejeon, Korea, May 12-15 (2014).
2. Takekawa, M. MCRIP1, a novel substrate of ERK, mediates ERK-induced gene silencing during epithelial-to-mesenchymal transition. The 20th East Asia Symposium. Tokyo Japan, Nov. 6-8, (2013).
3. Tokunaga, F. Down-regulation mechanism for LUBAC-induced NF- κ B pathway, The 35th Naito Conference: The ubiquitin-proteasome system: From basic mechanisms to pathophysiological roles, Sapporo, July 11 (2013)
4. Inoue, J. p47 negatively regulates IKK activation by inducing the lysosomal degradation of polyubiquitinated NEMO. 2nd Japanese-French Cancer Workshop. Tokushima Japan, Nov 29-30 (2012).

公募研究

1. Fukada, Y. Roles of CAMKII in the mouse circadian clock. 16th International Congress on Photobiology. Córdoba, Argentina. Sept.10 (2014).
2. Yamanashi, Y. Dok-7, MuSK and the Development of Neuromuscular Junction. 12th International Conference on Myasthenia Gravis and Related Disorders, New York, USA, May 21-23 (2012).

⑥マスメディア発信

武川：日本科学新聞 H23. 4. 15

Kubota Yet al. *Nat. Cell Biol.* 13, 282-291 (2011)

高橋：中日新聞朝刊 H24. 5. 30、読売新聞朝刊 H24. 5. 31

Ishida-Takagishi, M. et al. *Nat. Commun.* 3, 859 (2012).

高橋：中日新聞朝刊 H26. 7. 25

Weng, L. et al. *EMBO J.* 33, 2098-2112 (2014).

高橋：中日新聞朝刊 H26. 11. 11、科学新聞 H26. 12. 5

Nakai, T. et al. *J. Neurosci.* 34, 14995-15008 (2014).

高橋：中日新聞朝刊 H27. 3. 3、科学新聞 H27. 3. 27

Yamamura, Y. et al. *Cancer Res.* 75, 813-823 (2015).

徳永：上毛新聞 H24. 9. 6、日本経済新聞 H24. 9. 13、読売新聞 H24. 9. 30

*Tokunaga, F. et al. *EMBO J.* 31, 3856-3870 (2012).

(4)アウトリーチ活動 (領域全体:63件、計画研究:32件、公募研究:31件)

計画研究

サイエンスカフェ札幌 special「ドリーム・チームが挑む“がん研究”最前線」H23. 11. 5 50名

名古屋大学環境医学研究所 市民公開講座 2011「癌の新たな治療戦略」H23. 10. 15 143名

市民フォーラム医学講座「がんとウイルス」めぐろパーシモンホール H25. 6. 8 50名

NHK 名古屋文化センター大河講座「ひとの大学」での講演 H23. 11. 9、11. 30 50名

市民講座：前橋まちなかキャンパスでの講演 H24. 2. 2 29名

公募研究

サイエンスワークショップ「科学と分化」 H24. 6. 8 37名

青少年・市民公開講座 ～いま知っておきたい「がん」のこと (福島県立医科大学)

計画、公募ともにこの他に中学、高校、大学等での出前授業、研究室見学等が実施されている。

7. 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、組織図や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、計画研究、公募研究ともに A01（分子細胞生物学及び医科学を基盤とするシグナル研究、質量分析によるタンパク質解析部門を含む）、A02（構造生物学を基盤とするシグナル研究）、A03（数理科学を基盤とするシグナル研究）のいずれかに所属し、これらの項目間で図 21 に示すような異分野連携に基づく研究を推進することを班員に強く推奨している。異分野連携の推進にあたっては総括班として具体的に以下の仕組みを企画し実施した。

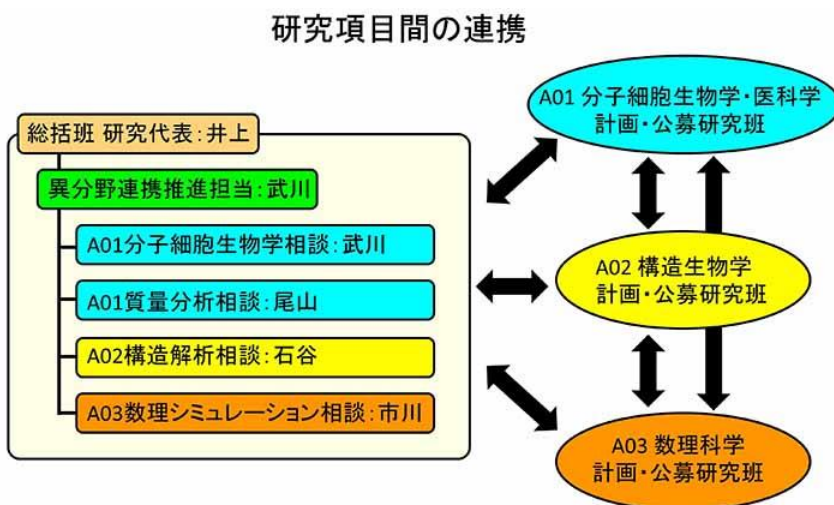


図 21 「修飾シグナル病」総括班と計画・公募班との連携体制

- 1) 武川班員が「異分野連携推進担当」となり領域内の異分野連携を俯瞰的に把握して効率良く推進させた。
- 2) 領域内の多様な分野の研究者が、専門領域の垣根を越えて円滑に共同研究を進められる様、班員同士の研究相談用アドレスを設けた。異分野連携、研究相談用アドレス：consult@shushoku-signal.com
- 3) 各研究項目ごとに連携相談窓口担当を以下のように設け上記相談用アドレス等による班員からの相談に迅速に対応した。
 - ・異分野連携促進全般（A01分子細胞生物学を含む）相談：武川
 - ・A02構造解析相談：石谷
 - ・A03数理モデル・シミュレーション相談：市川
 - ・A01 質量分析相談：尾山
- 4) 領域ホームページに異分野研究を実施する際の手順ガイドを以下のとおり項目別に掲載した。
 - ・A01 質量分析計を用いたプロテオミクス解析 <http://shushoku-signal.com/member/consult3.html>
 - ・A02 タンパク質の結晶構造解析 <http://shushoku-signal.com/member/consult1.html>
 - ・A03 細胞シミュレーションの基礎 <http://shushoku-signal.com/member/consult2.html>
 - ・A03 細胞内シグナル伝達の A-Cell モデル構築ガイド <http://shushoku-signal.com/info/a-cell/index.html>
- 4) 若手ワークショップで A01（分子細胞生物学・医科学）、A01（質量分析によるプロテオーム）、A02（構造生物学）、A03（数理シミュレーション）に関する講習会や演習を実施した。
- 5) 領域推進会議や領域主催シンポジウムの際には、本会議に引き続いて、必ず「研究交流若手ポスター発表会」（若手班員、または班員の研究室に所属する若手研究者や学生による発表）を実施して、異分野の多様な若手研究者が face to face で交流し合い、連携する場を提供した。
- 6) 領域代表の井上と異分野連携推進担当の武川とで個々の公募班員の研究の進捗状況を把握した上で総括班の方から連携研究を個別に推奨した。特に二期連続で公募班員であった愛媛大学の澤崎達也先生と広島大学の木下英司先生は、連携研究のハブとして活躍いただいた。澤崎先生は小麦胚無細胞翻訳システムを用いてプロテインアレイを作製し、タンパク質間相互作用の網羅的スクリーニングやリン酸化およびユビキチン化の基質探索を可能とする系を確立した。木下先生は Phos-tag ゲルを開発シタ

ンパク質のリン酸化を感度良く同定する実験系を確立した。

以上のような連携研究の推進策を実施した結果、5年間に以下に示すように73件の連携研究が実施され、その中から論文発表を含む質の高い成果が発表された。

<計画班間の連携：25件>

計画 A01 (質量分析によるプロテオーム)尾山 と 計画 A01 班員：17件

計画 A02 (構造生物学)石谷 と 計画 A01 班員：3件

計画 A03 (数理シミュレーション)市川 と 計画 A01 班員：3件

計画 A01 班員 と 計画 A01 の班員：2件

<計画班と公募班の連携：27件>

計画 A01 班員 と 公募 A01 班員：8件

計画 A01 (質量分析によるプロテオーム)尾山と 公募 A01 班員：13件

計画 A02 (構造生物学)石谷と 公募 A01 班員：2件

計画 A03 (数理シミュレーション)市川 と 公募 A01 班員：3件

計画 A01 班員 と 公募 A01(プロテインアレイ)澤崎班員：2件

計画 A01 班員 と 公募 A01(Phostag-ゲル)木下班員：2件

<公募班間の連携：21件>

公募 A01 (プロテインアレイ)澤崎班員 と 他の公募 A01 班員：11件

公募 A01 (Phostag-ゲル)木下班員 と 他の公募 A01 班員：3件

公募 A01 班員 と 公募 A01 の班員：10件

8. 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。

1) 領域内で共有する設備・装置の購入とその有効活用

班員の連携を促進するため研究項目 A01（分子細胞生物学・医科学）、A01（質量分析によるプロテオーム）、A02（構造生物学）、A03（数理シミュレーション）で以下のように装置を購入し総括班の運営方針に沿って有効活用した。

- ・ A01 分子細胞生物学・医科学：共焦点レーザー走査型顕微鏡 FV1000-Type SI（東京大学：井上）、タンパク質精製システム ACTApurifier（東京大学：武川）、オールインワン顕微鏡システム BZ-9000（群馬大学：徳永）シグナル活性化の可視化、翻訳後修飾された蛋白質の精製と生化学的特性解析に活用した。
- ・ A01 質量分析によるプロテオーム：ナノ HPLC オートインジェクター 2D システム DiNa2AST、タンパク質・ペプチド分画装置 G3100AA（東京大学：尾山）高感度プロテオーム解析を行うためのペプチド分離・濃縮に活用した。
- ・ A02 構造生物学：高感度 UV マイクロスコープ UVEX、蛍光マルチラベルリーダー ARVOX3、スタックブルインキュベーター 44R、データストレージ Supremacy IIRAIID（東京大学：石谷）タンパク質の大量調整、結晶構造解析の効率化、大量データの保存と解析に活用した。
- ・ A03 数理シミュレーション：12 コア及び 48 コアを有する高速コンピューター（東京大学：市川）3D シミュレーションにおける並列計算に活用した。

2) 総括班における研究費の効果的使用

- ・ 情報交換のための活用：総括班員で領域運営に関して審議するため総括班会議を 7 回開催した。また、公募班員を含めた全班員で研究内容等を討論する領域推進会議を 4 回開催し、会議の後に必ず若手ポスター発表会を開催し若手育成に務めた。
- ・ 若手研究者の育成のための活用：2泊3日合宿形式の若手ワークショップを 3 回開催した。班員研究室の若手全員が口頭で発表し議論を交わし、数理モデル、構造生物学、プロテオミクスの講習会や著名研究者の特別講演会も実施した。企画運営は総括班員研究室の若手研究者が担当した。
- ・ 班員の連携促進のための活用：領域ホームページを公開し、組織、研究内容を含む領域の概要を掲載した。さらに班員専用ページを立ち上げ、タンパク質結晶構造解析、細胞シミュレーションの基礎、質量分析計を用いたプロテオミクス解析の 3 項目を設け異分野連携を促進するための情報を掲載した。また、有用な実験プロトコルや抗体等の試料の情報も共有した。H23 年度より論文紹介・評論サイトを開設し班員間の情報交換・意見交換を促進させた。ついで「細胞内シグナル伝達の A-Cell モデル構築ガイド」を掲載し、数理モデルの基本から応用までも解説した。3 年目からはさらに連携を促進するため公募班員が異分野連携のための相談を総括班員とする場合に交通費を支給した。
- ・ 成果公表のための活用：領域内の研究を領域外の研究者に広く周知するため、国内演者による公開シンポジウムを 3 回開催した。また、海外の研究者にも本領域の活動を周知するため国際シンポジウムを 2 回開催した。いずれも 100 名を超える聴衆が参加し活発な質疑応答が行われた。また、「修飾シグナル病」ニュースレター第 1 号から第 5 号まで発行し、毎号約 1400 名の領域外関連研究者に配布するとともに PDF を領域ホームページにダウンロード可能な形式で掲載した（図 22）。



図 22 修飾シグナル病 Newsletter

・研究費の使用状況

(1) 主要な物品明細 (計画研究において購入した主要な物品 (設備・備品等。実績報告書の「主要な物品明細書」欄に記載したもの。) について、金額の大きい順に、枠内に収まる範囲で記載してください。)

年度	品名	仕様・性能等	数量	単価 (円)	金額 (円)	設置(使用)研究機関
2 2	共焦点レーザー走査型顕微鏡	オリンパス FV1000 タイプ S I	1	31,080,000	31,080,000	東京大学
	KYA ナノ HPLC オートインジェクター2D システム	DiNa2AST	1	16,254,000	16,254,000	東京大学
	JANSi UVEX UV マイクロスコープ	JANScientific 社 製	1	8,977,500	8,977,500	東京大学
	ImageQuant LAS4000 システム	GE ヘルスケアジャ パン (株)	1	6,709,500	6,709,500	大阪大学
	近赤外蛍光ケミルミイメーリアライザー	LI-COR 社 Odyssey Fc	1	4,982,250	4,982,250	東京医科歯科大学
2 3	ハイエンド電動顕微鏡	AxioObserver. ZI イメージングシステム (カールツア イス社製)	1	9,975,000	9,975,000	名古屋大学
	HS オールインワン蛍光顕微鏡	(株)キーエンス社 製 BZ-9000	1	8,350,000	8,350,000	群馬大学
	マルチモードブレードリーダー	パーキンエルマー 社製	1	6,798,750	6,798,750	名古屋大学
2 4	倒立顕微鏡 蛍光微分干渉システム	ニコン社製 TiE セ ット	1	7,504,350	7,504,350	東京大学
	共焦点レーザー顕微鏡	LSM7000 カール ツアイス社製	1	11,989,950	11,989,950 (7,193,970)	名古屋大学
	BIORAD 画像撮影解析装置	ChemiDocMP システ ム 1708280J1	1	3,832,500	3,832,500	東京大学
2 5	リアルタイム PCR システム	ライフテクノロジー 社 StepOnePlus-01CP	1	3,465,000	3,465,000	東京医科歯科大学
	マイクロ冷却遠心機	Kubota 3780	1	1,800,000	1,800,000	東京大学
	顕微鏡デジタルカメラ	DP73 型 (オリンパ ス社製)	1	1,516,725	1,516,725	名古屋大学
2 6	超低温槽	日本フリーザー社 CLN-52UW	1	1,644,192	1,644,192	東京医科歯科大学
	CO2 インキュベーター	アステック社 SCA-165DS	2	753,840	1,507,680	東京医科歯科大学

(2) 計画研究における支出のうち、旅費、人件費・謝金、その他の主要なものについて、年度ごと、費目別に、金額の大きい順に使途、金額、研究上必要な理由等を具体的に記述してください。

【平成 22 年度】

・旅費

米国 Keystone Symposium 参加 827,904 円 (井上) 研究成果の発表、意見交換および情報収集
米国 AACR 参加 597,300 円 (市川) がん分野における数理モデルについての情報収集
フランス 研究打合せ (2 名) 542,058 円 (山岡) 研究遂行のため共同研究者との打合せ

・人件費・謝金

特任研究員 3,377,610 円 (井上) 研究推進のため研究員の雇用
技術補佐員 919,752 円 (山岡) 研究推進のため実験補助者の雇用
研究補助員 442,270 円 (市川) 研究データの整理のための雇用

・その他

A-Cell Java 版開発 3,000,000 円 細胞シミュレーションソフトウェア A-Cell の開発 (市川)
ホームページ作成 315,000 円、研究の発信 (市川)
A-Cell Java 版用暗号化モジュール開発 210,000 円、A-Cell Java 版に必要なモジュール開発 (市川)

【平成 23 年度】

・旅費

フランス リヨンフォーラム「Systems Biology & Genomic Medicine」参加 684,780 円 (井上)
研究成果の発表、意見交換および情報収集
米国 AACR 米国がん学会 参加 637,770 円 (市川) 研究成果発表と情報収集
カナダ Keystone Symposium 参加 (井上) 575,510 円 研究成果の発表、意見交換および情報収集

・人件費・謝金

特任研究員 5,399,312 円 (井上) 研究推進のため研究員の雇用
特任助教 4,984,000 円 (石谷) 研究推進のため特任教員の雇用
特任研究員 4,031,056 円 (井上) 研究推進のため研究員の雇用

・その他

実験動物研究施設利用受益者負担金 2,336,489 円 (井上) 遺伝子改変マウスの作成と解析
変異マウス作製委託費、1,739,850 円、(山岡) ノックアウトマウス作製委託費
A-Cell Java 版追加開発、769,095 円、(市川) A-Cell Java 版の機能追加
FACS Calibur 修理費 645,750 円 (山岡) 導入遺伝子の発現確認等に必要の実験使用機器の修理

【平成 24 年度】

・旅費

チリ XXIV tRNA Conference 参加 1,305,360 円 (石谷) 研究発表、意見交換および情報収集
米国 Inder Verma シンポジウム参加 913,960 円 (井上) 意見交換および情報収集
イギリス Dundee 大学訪問 859,890 円、(市川) NF- κ B 数理モデルの数学的解析の共同研究打ち合わせ
スイス Gordon Research Conference on Membrane Transport Proteins 参加 803,330 円 (石谷)
研究発表、意見交換および情報収集
スイス Novartis Oharna AG SLS 訪問 713,390 円 (石谷) 放射光実験、意見交換および情報収集

・人件費・謝金

特任助教 6,095,549 円 (石谷) 研究推進のため特任教員の雇用
特任研究員 5,408,112 円 (井上) 研究推進のため研究員の雇用
研究補佐員 3,364,905 円 (徳永) 分子細胞生物学実験補佐

・その他

実験動物研究施設利用受益者負担金 4,048,826 円 (井上) 遺伝子改変マウスの作成と解析
動物飼育管理料、2,532,990 円、(山岡) ノックアウトマウス作製時のマウス飼育管理
研究支援センター利用料、766,600 円、(山岡) 遺伝子配列解析委託費および RI センター利用

【平成 25 年度】

・旅費

米国 Keystone Symposium 参加 798,175 円 (井上) 研究成果の発表、意見交換および情報収集
英国 Oxford 大学/Diamond Light Source 訪問 798,090 円 (石谷) Newstead 博士とのディスカッション及び解析実験
英国 MRC Laboratory/Diamond Light Source 訪問 737,607 円 (石谷・濡木) 研究成果の発表、意見交換および情報収集

・人件費・謝金

特任助教 6,225,554 円 (石谷) 研究推進のため特任教員の雇用
特任研究員、3,621,299 円、(市川) NF-κB とストレス顆粒の数理モデル研究の推進
研究補佐員、3,213,703 円、(徳永) 分子細胞生物学実験補佐

・その他

実験動物研究施設利用受益者負担金 4,739,727 円 (井上) 遺伝子改変マウスの作成と解析
動物飼育管理料、1,662,625 円 (山岡) ノックアウトマウス作製時のマウス飼育管理
リアルタイム PCR 修理 861,000 円 (井上) 遺伝子発現解析
カスタム遺伝子合成サービスの発注 716,104 円 (石谷) タンパク質発現
遺伝子発現解析の発注 619,500 円 (武川) 遺伝子発現解析

【平成 26 年度】

・旅費

スペイン Universidad Nacional de Cordoba 16TH International Congress on Photobiology に参加
1,177,403 円 (石谷) 研究発表、意見交換、情報収集
スイス Swiss Light Source at the Paul Scherrer Institut 訪問 990,080 円 (石谷) 解析実験と意見交換
米国 骨代謝学会 参加 867,102 円 (井上) 研究成果発表と情報収集

・人件費・謝金

特任助教 6,304,540 円 (石谷) 遺伝子改変マウスの作成と解析
特任研究員 3,681,891 円 (市川) NF-κB とストレス顆粒の数理モデル研究の推進
学術支援職員 3,472,343 円 (井上) 分子細胞生物学実験補佐

・その他

実験動物研究施設利用受益者負担金 5,010,826 円 (井上) 遺伝子改変マウスの作成と解析
群馬大学ゲノムセンター利用料 1,006,622 円 (徳永) 遺伝子配列解析
論文リプリント 542,865 円 (井上) 成果公表
プロテオミクス解析 500,000 円 (井上) タンパク質複合体の同定
シーケンス解析 448,147 円 (井上) 遺伝子配列解析
動物飼育管理料 403,200 円 (山岡) ノックアウトマウス作製時のマウス飼育管理

(3) 最終年度(平成26年度)の研究費の繰越しを行った計画研究がある場合は、その内容を記述してください。

課題番号：22117002

研究代表者：井上純一郎

研究課題名：翻訳後修飾による NF-κB 活性化シグナルの制御機構と疾患発症との関連

繰越額：直接経費 3,000,000 円

繰越事由が発生した経緯：

当初、平成26年10月までに Tax と働く E3 酵素を検討し平成27年3月までにその実験結果を解析し、研究成果を取りまとめる予定であった。しかし、平成26年10月本研究と同様に Tax が TRAF6 を E3 として用いることを示す論文が他の研究グループより発表されたため、当該研究を成果発表するにあたり、この研究グループの成果を検証した上でその成果を追加することで Tax による白血病発症のモデルを再構築する必要が生じた。

平成27年度の研究計画：

前年度から継続して TRAF6 の E3 酵素としての機能を評価し、Tax と働く E3 酵素としての検討を実施する。平成27年10月ごろまでに実験結果の解析を完了し、研究成果を取りまとめる。

9. 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。

本領域では、分子生物学・医科学、構造生物学、数理シミュレーション、およびプロテオミクスの研究者が連携して、細胞内シグナル伝達制御の基本原則とその異常がもたらす疾患発症機構に関する研究にブレークスルーをもたらすことを目指してきた。総括班が企画した異分野連携を促進する仕組み（「7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況」を参照）が効率良く働き計画班だけでなく公募班も含めて多数の連携研究が遂行された。その結果、計画班間の連携研究 25 件、計画班と公募班の連携研究 27 件、公募班間の連携研究 21 件、合計 5 年間で 73 件もの連携研究が動いた。

特にチャレンジングでありその発展が期待された A03 数理シミュレーションと他研究項目との連携は総数 6 件と全体の 10% 以下であるが、その内の半数の 3 件は領域活動期間の 5 年間に論文発表（*PLoS Comput. Biol.* 2 報、*PLoS ONE* 3 報）に至っており、A03 の計画研究班員が市川 1 名であることを考えると我々のチャレンジは成功したと考えている。市川の国際学会で 7 件、国内学会で 5 件の招待講演数を考えるとこの数理シミュレーションと分子生物学との異分野連携に関する一連の成果が国内外の当該学問分野や関連分野で高く評価されていると思われる。本領域の活動に時期を同じくするように数学と生物学の融合、生命現象の数理シミュレーションといった分野が CREST や科研費のなかに応募枠が設けられ、海外でのシンポジウムでも関連するセッションは増えている。生命現象を数式で表し、生命をシステムと捉える方向性の重要さは多因子性の疾患の発症原因の解明や治療開発に必須であり、そのことを全世界の多くの研究者が認める時代になっている。

一方他の研究項目においても 5 年間の活動期間を通して、計画班員、公募班員ともに研究は順調に進捗した（「5. 主な研究成果」及び「6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況」参照）。徳永による直鎖状ユビキチン鎖連結酵素 LUBAC とその NF- κ B 活性化への関与の発見は関連領域を震撼させるインパクトの極めて大きな成果であった。井上も質量分析の尾山と連携することで p47 による NF- κ B の新しい負の制御メカニズムやユビキチン編集酵素 A20 の NF- κ B 活性化における予想外の機能を見出した。山岡も卵巣癌の悪性化の原因である NF- κ B の恒常的活性化の分子機構の一端を明らかに関連分野の進展に大きく貢献した。また武川は、がん遺伝子 Ras による MEK の不活性化阻害が誘導する新しい ERK 経路活性化機構の発見、ERK による MCRIP1 のリン酸化とその上皮間葉転換における機能解明、ストレス応答 MAPK 経路による中心体複製制御の発見など、多くの画期的な研究成果を発表した。Akt 経路に関しては、高橋により Akt による Girdin のリン酸化が細胞運動やエンドサイトーシスの制御に関与するなど重要な新知見が得られている。また、シグナル分子の構造生物学的解析の面でも成果が挙がっており、石谷により脱ユビキチン化酵素 A20 や細胞質 DNA センサー cGAS の基質特異性決定機構や活性調節機構が原子レベルで明らかになると共に、構造-機能関連の解析から、疾患発症メカニズムの理解にも繋がる研究成果が次々と得られた。これらの成果は多数の論文となって既に公開されているが、計画班からの論文に絞っても *Nature* 9 報、*Nature* 姉妹誌 9 報、*Science* 2 報、*Science* 姉妹誌 1 報、*Cell* 1 報、*Cell* 姉妹誌 6 報、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 4 報、*Cancer Res.* 3 報、*EMBO J.* 2 報、*Genes Dev.* 1 報、*J Clin. Invest.* 1 報となっており国内外の当該学問分野や関連分野に与えたインパクトは極めて大きいと考えられる。また、計画班員の招待講演数は国際学会が 22 件、国内学会が 50 件にのぼり本領域班員の活躍が関連分野で高い評価を得ていることを示している。

10. 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。

<若手研究者育成の取組>

若手研究者の育成は、当該領域に関連する研究分野の将来的な発展に非常に重要である。したがって若手の育成には領域として特に力を入れてきた。総括班は以下に示す若手育成の取組を実施し、若手研究者が自分の意見やアイデアを表現する機会や異分野を平易に理解する機会を可能な限り増やした。

1. 領域推進会議や公開シンポジウム等班員が集結するイベントの際は、同時にポスター発表による若手研究交流会を開催した。
2. 総括班に属する研究室の若手研究者が中心となり企画した2泊3日の合宿形式の若手ワークショップを3回開催した。合宿では若手研究者全員が口頭で発表し質疑応答も若手研究者に限定した。また構造生物学、プロテオーム、数理シミュレーション等の異分野に関する講習会や演習を実施した。さらに、多様な分野から著名研究者を毎回2名招聘し特別講演をしていただき、その成功体験を語っていただいた。合宿での最優秀発表賞や最優秀討論賞を若手自身の投票で決め、優秀者には賞状、賞品を授与するとともにその後に開催した領域主催の国際シンポジウムで英語にて研究発表する機会を与えた。これらの一連の取組を経験することで研究に対するモチベーションを高めることを目指した。
3. 領域ホームページに「論文紹介・評論サイト」設け、若手研究者に自分が読んだ論文の内容に関する簡単な説明と、その論文に対するコメントを自由に掲載させた。掲載数の多い個人や研究室を全研究代表者が参加する領域推進会議で発表し表彰した。
4. 領域ホームページに異分野研究を実施する際の手順ガイドを容易に理解できるように平易な文面で掲載した。
5. 国際シンポジウム等海外研究者が参加するイベントにおいて若手研究者に一定の役割を依頼し、英語環境での交流を促した。

<若手研究者に研究終了後の動向>

表1 若手研究者の研究終了後の職位等

領域参加時の職位等	研究終了後の職位（H27.5.29時点）と人数
修士課程大学院生	博士課程 3名（うち学振 DC2 1名）
博士課程大学院生	助教 1名
	技術職員 1名
	特任研究員 5名（うち学振 PD 2名）
	製薬研究職 3名
特任研究員	海外留学 3名
	助教 7名（うち法人研究所の研究員 1名）
特任助教	海外留学 2名
	助教 2名
	製薬企業研究員 1名
助教	海外留学 1名
	特任講師 1名
	海外留学 1名

領域参加時と研究終了後の職位は表 X に示すような状況になっているが、研究代表者からの報告によると本領域の若手育成の取組が、いろいろな形で功を奏しているようである。例えば、出産育児による研究中断後の若手研究者の現場復帰を支援する学振 RPD に採択されていた若手女性研究者が本領域の若手ワークショップに参加したことで研究を継続する

決断をしたこと、助教の研究者が他班の同年代の研究者と領域を介して情報交換する中で触発され学会賞や大学から表彰を受け科研費の獲得に成功したこと等が報告されている。

11. 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、領域推進会議、領域主催シンポジウム、合宿形式の若手ワークショップ、関連学会（シンポジウム・ワークショップ）など、領域主催の各種会議に、可能な限りアドバイザーの先生方の参加を求め、領域運営について貴重な御助言を得ることが出来た。今回の事後評価に際しては、本領域の活動について、以下のコメントが寄せられた。

田中 啓二アドバイザー（東京都医学総合研究所・所長・生化学）

本領域では、生命機能制御の根幹を成すタンパク質の翻訳後修飾に着目して、細胞内シグナル伝達の調節機構を解明すると共に、その破綻がもたらす疾患発症機構を明らかにすることを目標に研究を推進してきた。また、これらの研究活動を通して、新たな学術的概念「修飾シグナル病」の確立を目指した。この目標達成のため、領域代表の強力なリーダーシップの下、分子生物学・医科学のみならず数理学や構造生物学など、多彩な学術領域の研究者が連携して、学問の垣根を超えた数多くの共同研究が実施された。これまでの5年間の研究活動を通して、NF- κ B シグナリングの活性制御機構はじめとして多くの画期的な成果が得られており、研究は順調に進展したと考えられる。特に直鎖状ユビキチン化による NF- κ B 活性化機構や、SUMO 化による MAPK 経路の活性阻害機構と癌細胞におけるその破綻の解明など、翻訳後修飾による細胞内シグナル伝達と生命現象の制御機構に関して、新たな知見が数多く得られた。また、異分野間の学術的連携を通じて得られた成果としては、脱ユビキチン化酵素 A20 とユビキチン鎖との共結晶構造解析から、A20 の点変異が B 細胞リンパ腫の原因となることを解明した成果や、数値シミュレーションと細胞生物学実験の融合から、ストレス顆粒形成機構を解明した成果などが挙げられる。この他にも、班員間で多彩な共同研究が実施されており、学際的な新領域の開拓を目指す新学術領域研究として相応しい研究活動が展開された。

また、領域運営の面でも、領域班会議や国内・国際シンポジウムを毎年定期的で開催すると共に、班員間の日常的なコミュニケーションの場として、領域 Web サイト内に班員専用ページを設けて効果的に活用し、実験材料・技術や学術情報を共有して研究者間の交流および共同研究を推進してきた。これらの施策により、実際に数多くの優れた学術論文が発表され、世界を先導する成果が得られている。さらに、班会議に合わせて若手中心の発表会を別個に行ったり、合宿形式の若手ワークショップを開催して、数理学、構造生物学、プロテオミクスなど異分野の研究を実践的に学ぶ機会を提供するなど、若手研究者の育成にも積極的に取り組んできた点は、特に高く評価される。本領域の活動を通して醸成された異分野研究者間の相互理解や共同研究により、「修飾シグナル病」領域の学術的な発展が十分に成されたものと評価する。

村松 喬アドバイザー（名古屋大学名誉教授・生化学）

本領域では、従来の分子生物学的研究に、近年特に発展の著しいタンパク質解析技術（質量分析技術、結晶構造解析技術、分子イメージング）や数理学・シミュレーション解析技術を融合して、新たな学術領域「修飾シグナル病」を創出することを目標として研究が実施された。この様な学際的な研究活動を通して、細胞内情報伝達の制御機構とその破綻がもたらす疾患発症機構の解明を目指しており、異分野連携を通じて新たな学術領域の創出を図る新学術領域研究の趣旨に沿う、質の高い研究活動が展開された。5年間の研究を通して、この目標に合致した多数の重要な成果が得られており、研究は極めて順調に進展したと評価される。本領域では、計画班員が主に NF- κ B、MAPK、および AKT 経路を中心に、癌や免疫疾患に関する学際的な研究を推進する一方で、公募班は、より多彩なシグナル伝達経路や疾患を対象として研究を展開する戦略が取られた。また、異分野間の共同研究を促進するため、総括班に相談窓口を設けると共に、次世代質量分析装置や、結晶構造解析技術、さらには班員自身が開発したシグナル伝達の数値シミ

ユレーション解析プログラムを領域内で共有するなど、充実した研究支援体制を構築してきた。領域運営に関するこの様な努力の結果として共同研究が活発に行われ、多様な分野の研究者が連携を深化させることで、広汎な学問分野において影響力の高い成果が多数得られた点は特筆に値する。ポリユビキチン鎖を介して NF- κ B を負に制御する新たな因子が見いだされたのは、その一例である。さらに、若手中心の研究発表会や合宿形式の若手ワークショップを継続的に開催すると共に、高校生や一般を対象としたアウトリーチ活動にも積極的に取り組んでおり、人材育成や情報公開の観点からも高く評価出来る。国際シンポジウムにおいても若い研究者たちが活発な討論を展開していたことが印象深い。本領域では5年間の活動期間全般に渡って、「修飾シグナル病」領域全体の学術水準の向上に向けた、様々な取り組みが継続的になされており、異分野間の共同研究と相互理解が大きく進展した。領域代表の指導の下、領域運営が順調に機能した好例であると思われる。この点を高く評価したい。

吉田 光昭アドバイザー（東京大学名誉教授・分子生物学）

本領域では、分子生物学、構造生物学、数理生物学、およびプロテオミクスの研究者が連携し、細胞内シグナル伝達制御の基本原則とその異常がもたらす疾患発症機構を、シグナル分子の翻訳後修飾の観点から解明することを目標に研究が行われてきた。領域全体として「修飾シグナル病」と名付け、従来注目されてきた遺伝子の転写による細胞内シグナル制御に加え、転写・翻訳後のシグナル分子の活性化・分解による制御の基本原則に注目した新たな学問体系の創出を目指しており、新学術領域研究に相応しい研究が展開された。5年間の活動期間を通して、計画班員および公募班員の研究は順調に進捗し成果を挙げるとともに、若手研究者の活性化と育成に貢献したと評価される。

主な研究成果として、

- 1) 細胞内シグナル分子として重要な NF- κ B については、p47 による新しい負の制御メカニズムや LUBAC による重要な制御機能の解明
- 2) MAPK 経路に関しては、MEK の不活性化を阻害するがん遺伝子 Ras の新しい機能の発見、ERK の新規基質分子 MCRIP1 の発見と上皮間葉転換における機能の解明、ストレス応答 MAPK 経路による中心体複製制御の発見
- 3) AKT 経路に関しては、AKT 基質分子 Girdin による細胞運動やエンドサイトーシスの制御における重要な新知見
- 4) シグナル分子の構造解析の面では、脱ユビキチン化酵素 (A20 や CYLD) の基質特異性決定機構や活性調節機構の原子レベルでの解明、これら構造-機能連関の解析による疾患発症メカニズムの理解に繋がる研究成果
- 5) 数理科学的な取組みにおいては、従来の「各分子の状態と機能によるシグナルの理解」を超えた「分子状態の振動パターンによるシグナル伝達と細胞機能の制御」という新たな概念の提示

等が挙げられる。これらの学術的成果は、本領域終了後も継続的な発展が大いに期待されるものであり、シグナル伝達と疾患研究の基盤となる多くの卓越した成果が得られた点を評価したい。

領域運営に関しては、総括班に共同研究相談窓口を設置すると共に、領域班会議やシンポジウムに合わせて若手研究者中心の研究交流会を毎回開催するなど、異分野研究者間の相互理解が深化するように十分な配慮がなされた。これらの取り組みにより、実際にいくつもの共同研究が行われ効果的に成果につながったことは注目に値する。特に、若手ワークショップは活発であり、本領域における若手研究者を刺激し育成につながったと思われる。本領域での活動を通して学際的な共同研究が順調に進展し、異分野を融合した「修飾シグナル病」の新学術体系が提起されたことを高く評価したい。