

独立行政法人科学技術振興機構
バイオインフォマティクス推進センター事業

創造的な生物・情報知識融合型の研究開発
平成19年度採択研究開発課題
(追跡調査報告書)

研究開発課題：
進化型計算と自己組織化による適応的画像分類法の開発
(平成19年10月～平成22年9月)

代表研究者氏名：馳澤 盛一郎
(東京大学大学院新領域創成科学研究科 教授)

目次

本編

1. 研究開発による成果.....	1
1.1. 研究開発課題の目標及び新規性・独創性	1
1.2. 研究開発開始時の課題を取り巻く研究・技術水準及び分野における 課題の位置づけ	1
1.3. 研究開発終了時の成果概要	2
1.4. 研究開発の達成度	3
2. 研究開発による成果の活用状況や発展状況.....	4
2.1. 構築されたデータベース・ソフトウェア等の活用状況.....	4
2.1.1. データベース・ソフトウェア等の継続状況や発展状況	4
2.1.2. 第三者によるデータベース・ソフトウェア等の活用事例	4
2.1.3. データベース・ソフトウェア等へのアクセス数／ダウンロード数、visit 数 .	5
2.2. 課題終了後の研究開発成果の継続状況や発展状況.....	5
2.2.1. BIRD 終了から現在まで、BIRD で取り組んだ課題に関連した研究開発成果の 継続状況や発展状況（国内外の研究者との共同研究へ発展した等）	5
2.2.2. BIRD 終了後に発表された論文リスト.....	6
2.2.3. 研究開発成果の現在の国際的な評価・位置づけ	9
2.3. 現在の科学技術研究における研究開発成果の活用状況、発展状況のまとめ.....	9
3. 研究開発による成果の科学技術的、社会的及び経済的な効果.....	10
3.1. バイオインフォマティクス分野及びライフサイエンス分野の研究への貢献.....	10
3.1.1. バイオインフォマティクス分野の研究への貢献	10
3.1.2. ライフサイエンス分野（バイオインフォマティクス以外）や その他、科学技術分野の研究への貢献	10
3.2. 人材育成の面から参加研究者の活動状況	11
3.2.1. 研究開発に参加した研究者のキャリアアップ	11
3.3. 社会的及び経済的な効果	11
3.3.1. 研究開発成果が大学や公的研究機関、企業等で、応用に向けて 継承または発展した例	11
3.3.2. その他、研究開発成果が社会的、経済的な効果・効用につながる兆し、 可能性	12

資料編

1. 論文リスト	13
2. 主要論文の被引用回数.....	20

3.	学会招待講演・基調講演.....	22
4.	新聞発表等	22
5.	特許出願・成立	22
6.	学会賞等の受賞	22
7.	グラントの獲得実績.....	23
8.	書籍等の執筆実績	23
9.	総説の執筆実績	24
10.	参加研究者の活動状況.....	24

本調査報告書は平成 26 年 4 月に作成
表紙の代表研究者所属は平成 25 年 10 月時点

1. 研究開発による成果

1.1. 研究開発課題の目標及び新規性・独創性

バイオメディカルイメージングの可視化技術や撮影法の発達にともない、生物試料画像・医用画像の多様化かつ高次元化が進み、きわめて膨大な画像データが生み出されつつある。一方で、従来の画像分類アルゴリズムによるアプローチは困難となっており、解析の効率化や自動化が阻まれていた。

本研究では、さまざまな画像と目的に適用できる汎用性を備えた新たな画像自動分類・評価法を提供し、人的負荷の抑制とユーザの目的に対する適応性を両立することを目標とした。各研究分野のエキスパートのもつ知識を対話的に獲得し、画像から測定される多種多様な特徴量の組み合わせ（特徴量セット）の中から入力画像群と解析目的に適した分類基準を探しだす方法を検討した。進化型計算と自己組織化写像を組み合わせた新たな半教師付き学習アルゴリズムに基づいた適応的画像分類ソフトウェアを開発した。

1.2. 研究開発開始時の課題を取り巻く研究・技術水準及び分野における課題の位置づけ

研究開発開始時に研究開発成果に代わるものや、類似のデータベース・ソフトウェアについては、少なくとも医療画像読影業務に関しては同等以上の能力を持ったものは存在していなかった。

本課題は研究開発の成果として半教師付き学習・バッチモードの能動学習に基づく画像分類ソフトウェアを作成しているが、現在でもこのような例は特に見当たらない。より広義な、生物画像を主な対象としてその分類を自動化あるいは支援するソフトウェアはいくつか公開されている（WND-CHARM; <http://code.google.com/p/wnd-charm/>、 iCluster; <http://icluster.imb.uq.edu.au/index.html>）。

また、基礎生物学研究所の真野博士らにより企画運営されている複数の研究者が多様な植物細胞の細胞内構造を対象として撮影した顕微鏡画像を収集するデータベース（Plant Organelle Database; <http://podb.nibb.ac.jp/Organellome/>）はアップデートが進められているが、後述する LIPS（Live Images of Plant Stomata Database ; <http://hasezawa.ib.k.u-tokyo.ac.jp/lips/index.html>）データベースのように撮影条件を画一化させた植物細胞の顕微鏡画像データベースは存在していなかった。

なお、医療画像診断においては、光画像診断等の臨床応用が進められているが、実際の検討はこれからであるものの、後述するカルタ（本課題終了後に発展的に開発されたソフトウェア）はそれに対応するだけの能力を有している。

1.3. 研究開発終了時の成果概要

①適応的画像分類法の開発及び植物細胞の構造評価システムの構築

バイオイメージング用途の画像解析ソフトウェアである ImageJ にプラグインパッケージ KBI ImageJ Plugins を実装・改良した。従来の分類法と比較して、繰り返しクラスタリングと組み合わせ最適化による半教師付き学習を組み合わせることが特徴的であり、画像の分類や評価を高効率かつ適応的に行なう枠組みを構築した。

このツールにて時系列画像の速度分布特徴抽出法を開発し、動きをともなう生命現象に広く利用可能な特徴抽出を効率的に評価・分類することが可能になった。さらに、これまで困難とされていた繊維構造の立体的な配向特徴の抽出を開発し、細胞骨格のような繊維状構造から立体的な配向についての特徴を抽出することが可能になった。また、境界可視化画像の領域を分割する方法を開発し、不定形の細胞が入り組んだ構成をとっている組織画像に対して、形状解析や分類を効率良く行う事が可能になった。時系列画像の分割と波形特徴の抽出法を開発することにより、神経組織の応答特性を領域の形状や平均波形といった形で定量的に解析することも実現した。

②動植物細胞活性評価システムの構築

蛍光顕微鏡システムで動植物細胞動態解析を実施して画像の収集・解析を行い、組織・器官における細胞まで適応可能な細胞活性評価システムを構築した。細胞核・染色体画像を用いた細胞周期自動判定による細胞活性評価システムでは、分類困難な DIC 画像（透過微分干渉像）を用いても細胞活性が評価できるシステムを構築した。動物細胞の細胞核動態画像を用いた細胞活性評価システムでは、有糸分裂の中心体の複製と二極性紡錘体の融合に関わる NPM (Nucleophosmin) をノックダウンした細胞の核動態を解析し、50%のノックダウン細胞で細胞核動態に異常が生じること、さらには 15%のノックダウン細胞で微小核が生じることが判明した。動物細胞の染色体動態画像を用いた細胞活性評価システムでは、画像イメージング分類によりノックダウン細胞の細胞分裂進行の定量解析を行い、客観的に細胞活性が評価できるようになった。植物細胞の細胞内小器官動態画像を用いた細胞活性評価システムでは、植物細胞の細胞活性を定量的に評価することにより、細胞活性の低下時期を特定することができた。植物器官を用いた細胞活性評価システムでは、染色体凝縮や染色体整列、細胞板形成などが明確に解析され、植物の根に置いて分裂活性をモニタリングすることに成功した。

③適応的画像分類法の開発及び病変部位自動診断システムの構築

①で開発した分類システムが、細胞よりも複雑な構造を有する生体を対象とした画像データの解析に応用できるかどうかの検討を進めた。その結果、生体内に投与された放射性核種から放出される放射線を利用して生体の機能的異常を診断する核医学検査と生体を磁場中に入れて生体内に存在する物質中の水素原子核スピンの変化信号を画像化する MRI 検

査から得られる生体画像データに関しても有用性が期待できた。

1.4. 研究開発の達成度

これまで存在しなかったメディカルバイオイメージング分野における高い汎用性と優れた分類精度を兼ね備えた適応的画像分類ソフトウェアの開発に成功した。開発した画像解析技術が実際のデータの解析に適用され、有用な生物学的知見が得られた。研究開発は計画どおり順調に進捗し、当初予定していた目標をほぼ達成した。

本研究の成果であるプログラムおよびデータベースは以下の通りであった。

(1) KBI ImageJ Plugins, revision 882b (for Scala 2.8)

ImageJ 上で動作する、画像の領域分割、特徴抽出（形状や速度の測定を含む）、画像クラスタリング、特徴点抽出、輪郭抽出等を行なうプラグイン群を収めたパッケージ。

(2) Modrec, revision 98

共焦点顕微鏡などによって焦点を少しずつ変えて得られる連続画像から細胞骨格をはじめとした繊維状構造の立体配向を抽出するソフトウェア。連続画像と点像分布関数を入力とし、デコンボリューションと繊維状構造の抽出を同時に行う。

(3) opencv_scala, revision 16

コンピュータビジョン用ライブラリ OpenCV (Open Source Computer Vision) を JVM 上から用いるためのインタフェイス (thin wrapper)。上記 KBI ImageJ Plugins をはじめ ImageJ 等の Java 環境から、C/C++で実装された高速な画像処理ルーチンの利用を可能とする。

(4) LIPS

高等植物のモデル生物であるシロイヌナズナの孔辺細胞を撮像対象とし、細胞核や微小管など 18 種類の細胞内構造に関して 50-60 細胞対の連続光学切片像をデータベースとした。

さらに、開発した画像解析技術が実際のデータの解析に適用され、動植物の細胞分裂に関する有用な生物学的知見が得られた。

また、脳神経組織に関する時系列画像の解析という新たな展開があり、神経組織の応答性などに関する新たな知見が得られ、神経科学研究における光学測定法の応用範囲を格段に広げることに成功した。

2. 研究開発による成果の活用状況や発展状況

2.1. 構築されたデータベース・ソフトウェア等の活用状況

2.1.1. データベース・ソフトウェア等の継続状況や発展状況

	ツール名	URL	公開状況	備考
(1)	KBI ImageJ Plugins	http://hasezawa.ib.k.u-tokyo.ac.jp/zp/Kbi/ImageJKbiPlugins	公開中（無料）	JST 先端計測等の支援のもと開発を続け、生物画像の解析を自動化・支援するプラグイン群を追加した。
(2)	Modrec	http://hasezawa.ib.k.u-tokyo.ac.jp/zp/Kbi/ModrecProj	公開中（無料）	
(3)	opencv_scala	http://hasezawa.ib.k.u-tokyo.ac.jp/zp/Kbi/OpencvScala	公開中（無料）	
(4)	LIPS	http://hasezawa.ib.k.u-tokyo.ac.jp/lips/index.html	公開中（無料）	

2.1.2. 第三者によるデータベース・ソフトウェア等の活用事例

(1) KBI ImageJ Plugins

以下のような活用事例があった。

- ・神経細胞の共焦点画像からの神経回路網の解析（私立大学）
- ・組織中の血球の流動パターンの解析（海外研究機関）
- ・糖尿病網膜症でみられる網膜の層構造変化の解析（国立大学法人）
- ・心臓 MR 画像からの心筋機能解析（民間企業）

(2) Modrec

- ・孔辺細胞アクチン繊維の立体再構築（国立大学法人）

(3) opencv_scala

上記(1)の KBI ImageJ Plugins の追加パッケージとして、プラグインの動作に必要な場合があるため、KBI ImageJ Plugins と同時に利用されている。

(4) LIPS

国内の植物科学研究者が孔辺細胞の成熟に異常を示す変異体の形質を精査する上で本データベースにより正常な細胞内構造の様相の確認として活用した事例を確認している。

2.1.3. データベース・ソフトウェア等へのアクセス数/ダウンロード数、visit 数

	ツール名	アクセス数、ダウンロード数、visit 数	集計期間	備考
(1)	KBI ImageJ Plugins	アクセス数：2827 件	2012 年 11 月 7 日～ 2013 年 11 月 6 日	
(2)	Modrec	アクセス数：378 件	2012 年 11 月 7 日～ 2013 年 11 月 6 日	
(3)	opencv_scala	アクセス数：558 件	2012 年 11 月 7 日～ 2013 年 11 月 6 日	
(4)	LIPS	アクセス数：平均およそ 40 件/月	—	

2.2. 課題終了後の研究開発成果の継続状況や発展状況

2.2.1. BIRD 終了から現在まで、BIRD で取り組んだ課題に関連した研究開発成果の継続状況や発展状況（国内外の研究者との共同研究へ発展した等）

①適応的画像分類法の開発及び植物細胞の構造評価システムの構築

課題終了後、現在に至るまで JST 先端計測分析技術・機器開発プログラム「生物画像のオーダーメイド分類ソフトウェアの開発」（以後「先端計測」と表記）にて研究開発を続けている。「先端計測」では、とくに画像分類法の性能に係る諸項目、すなわち、教師付き学習における精度（一定の画像枚数で学習後、未知の画像を自動分類した場合の正答率）、学習速度（一定の画像枚数の学習に要する計算時間）、能動学習における学習効率（一定の分類精度を達成するために必要なアノテーション画像枚数）、汎用性（対応する画像種別の広さ）の改善に取り組んでいる。この過程で国内外の複数の研究者と共同研究を進めており、成果の一部は学会発表・学術誌で報告済である。

②動植物細胞活性評価システムの構築

JST の「先端計測」に参加し、研究開発を続けた。国立がん研究センター東病院の機能診断開発分野とともに、BIRD 事業で開発した半教師付き学習アルゴリズムの改良と、その

高精度・高速化に取り組んだ。

2012年8月にはBIRDからの5年越しの開発の成果を、能動学習型ソフトウェア「CARTA (カルタ)」にまとめ、Nature Communications で発表した。カルタは、多種多様な生物医学画像を高速・高精度で自動分類することができ、さらには半教師付き学習アルゴリズムによって自律的に機能を向上させることができる。そのため、専門家のノウハウを吸収しながらも、目視よりも高精度・高速に画像の評価分類を可能とするとして注目を集め、雑誌やニュースサイトにカルタに関する記事が掲載された。

③適応的画像分類法の開発及び病変部位自動診断システムの構築

以下の研究課題名で日本学術振興会科学研究費・基盤 (C) を獲得して研究を進展させている。

「新規画像分類法「カルタ」を利用したがん分子標的治療の効果判定ソフトウェアの開発」研究課題番号：25461864、研究期間：2013-2015

2.2.2. BIRD 終了後に発表された論文リスト

Higaki T, Kurusu T, Hasezawa S, Kuchitsu K (2011) Dynamic intracellular reorganization of cytoskeletons and the vacuole in defense responses and hypersensitive cell death in plants. J Plant Res. 124:315-324.

Nomura T, Hasezawa S (2011) Regulation of gemma formation in the copper moss *Scopelophila cataractae* by environmental copper concentrations. J Plant Res. 124:631-638.

#Kutsuna N, Higaki T, Matsunaga S, Otsuki T, Yamaguchi M, Fujii H, Hasezawa S (2012) Active learning framework with iterative clustering for bioimage classification. Nat. Commun. 3:1032.

Yazawa K, Iwai H, Sugiyama H, Ito S, Hasezawa S, Satoh S (2012) Ectopic expression of the leucine-rich repeat-domain of cell wall extension gene NpLRX1 disturbs morphogenesis of leaf cells by its association with cell membranes in tobacco. Plant Biotechnology. 29:373-381

Sano T, Yoshihara T, Handa K, Sato MH, Nagata T, Hasezawa S (2012) Metal Ion Homeostasis Mediated by NRAMP Transporters in Plant Cells - Focused on Increased Resistance to Iron and Cadmium Ion. Crosstalk and Integration of Membrane Trafficking Pathway 213-228

Higaki T, Kutsuna N, Hasezawa S (2012) Probabilistic mapping and image clustering for quantitative assessment of fluorescent protein localizations in Arabidopsis guard cells. Protocol Exchange DOI: 10.1038/protex.2012.013.

Era A, Kutsuna N, Higaki T, Hasezawa S, Nakano A, Ueda T (2012) Microtubule stability affects the unique motility of F-actin in *Marchantia polymorpha*. *J Plant Res.* 126:113-119.

#Higaki T, Kutsuna N, Hosokawa Y, Akita K, Ebine K, Ueda T, Kondo N, Hasezawa S (2012) Statistical organelle dissection of *Arabidopsis* guard cells using image database LIPS. *Scientific Reports* 2:405

Higaki T, Higaki S, Hirota M, Akita K, Hasezawa S (2012) Radionuclide analysis on bamboos following the Fukushima nuclear accident. *PLoS ONE* 7(4): e34766.

Nishikawa, T., Moriyama, Y., Sato, M., Sano, T., Hasezawa, S., Ota, S., Kawano, S (2012) Isolation of mitochondrial and plastid *ftsZ* genes and analysis of the organelle targeting sequence in the diatom *Chaetoceros neogracile* (Diatoms, Bacillariophyceae) *Phycological Research*, 60 (2), pp. 123-136.

#Hashimoto-Sugimoto M, Higaki T, Yaeno T, Nagami N, Irie M, Fujimi M, Miyamoto M, Akita K, Negi J, Shirasu K, Hasezawa S, Iba K (2013) A Munc13-like protein in *Arabidopsis* mediates H⁺-ATPase translocation that is essential for stomatal responses. *Nat. Commun.* 4:2215.

#Murata T, Sano T, Sasabe M, Nonaka S, Higashiyama T, Hasezawa S, Machida Y, Hasebe M (2013) Mechanism of microtubule array expansion in the cytokinetic phragmoplast. *Nat. Commun.* 4:1967.

Sano T, Hayashi T, Kutsuna N, Nagata T, Hasezawa, S (2013) Role of actin microfilaments in phragmoplast guidance to the cortical division zone. *Cur. Topic. Plant Biol.* 13:87-94.

#Higaki T, Kutsuna N, Hasezawa S (2013) LIPS database with LIPService: a microscopic image database of intracellular structures in *Arabidopsis* guard cells. *BMC Plant Biol.* 13:81

#Akita K, Hasezawa S, Higaki T (2013) Breaking of the plant stomatal one-cell-spacing rule by sugar solution immersion. *PLoS ONE*, 8(9) :e72456. doi: 10.1371/journal.pone.0072456., 2013.

#Fujita S, Pytela J, Hotta T, Kato T, Hamada T, Akamatsu R, Ishida Y, Kutsuna N, Hasezawa S, Nomura Y, Nakagami H, Hashimoto T (2013) An atypical tubulin kinase mediates stress-induced microtubule depolymerization in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 23: 1969-1978.

#Kojo KH, Higaki T, Kutsuna N, Yoshida Y, Yasuhara H, Hasezawa S (2013) Roles of cortical actin microfilament patterning in division plane orientation in plants. *Plant Cell Physiol.* 54: 1491-1503.

Kariya K, Demiral T, Sasaki T, Tsuchiya Y, Turkan I, Sano T, Hasezawa S, Yamamoto, Y (2013) A novel mechanism of aluminium-induced cell death involving vacuolar

processing enzyme and vacuolar collapse in tobacco cell line BY-2. *J Inor. Biochem.*, 128, 196-201, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2013.07.001.

Kosetsu, K., Matsunaga, S., Nakagami, H., Colcombet, J., Sasabe, M., Soyano, T., Takahashi, Y., Hirt, H and Machida, Y. (2010) The MAP kinase MPK4 is required for cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 22, 3778-3790.

Ma, N.*, Matsunaga, S.*, Morimoto, A.*, Sakashita, G., Urano, T., Uchiyama, S. and Fukui, K. (2011) The nuclear scaffold protein SAF-A is required for kinetochore-microtubule attachment and contributes to the targeting of Aurora-A to mitotic spindles. *J. Cell Sci.*124, 394-404. *These authors equally contributed to this work.

Kurihara, D., Matsunaga, S., Omura, T., Higashiyama, T. and Fukui K. (2011) Identification and characterization of plant Haspin kinase as a histone H3 threonine kinase. *BMC Plant Biol.* 11, 73.

Adachi, S., Minamisawa, K., Okushima, Y., Inagaki, S., Yoshiyama, K., Kondou, Y., Kaminuma, E., Kawashima, M., Toyoda, T., Matsui, M., Kurihara, D., Matsunaga, S. and Umeda, M. (2011) Programmed induction of endoreduplication by DNA double-strand breaks in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 10004-10009.

Iwata, E., Ikeda, S., Matsunaga, S., Kurata, M., Yoshioka, Y., Criquid, M.-C., Genschik, P. and Ito, M. (2011) GIGAS CELL1, a novel negative regulator of APC/C, is required for proper mitotic progression and cell fate determination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 23, 4382-4393.

Kato, S., Imoto, Y., Ohnuma, M., Matsunaga, M.T., Kuroiwa, H., Kawano, S., Kuroiwa, T. and Matsunaga, S. (2011) Aurora kinase of a red alga *Cyanidioschyzon merolae* is related to both mitochondrial division and mitotic spindle formation. *Cytologia*, 76, 465-472.

Yoshida, Y., Fujiwara, T., Imoto, Y., Yoshida, M., Ohnuma, M., Hirooka, S., Misumi, O., Kuroiwa, H. Kato, S., Matsunaga, S. and Kuroiwa, T. (2013) The kinesin-like protein TOP promotes Aurora localisation and induces mitochondrial, chloroplast and nuclear division. *J. Cell Sci.*, 126, 2392-2400.

Hayashi, K., Hasegawa, J., Matsunaga, S. (2013) The boundary of the meristematic and elongation zones in roots: endoreduplication precedes rapid cell expansion. *Sci. Rep.*, 3, 2723.

Takahashi, N., Kajihara, T., Okamura, C., Kim, Y., Katagiri, Y., Okushima, Y., Matsunaga, S., Hwang, I., and Umeda, M. (2013) Cytokinins control endocycle onset by promoting the expression of an APC/C activator in *Arabidopsis* roots. *Curr. Biol.*, 23, 1812-1817.

: 研究代表者が主要な論文として指定したもの

2.2.3. 研究開発成果の現在の国際的な評価・位置づけ

①適応的画像分類法の開発及び植物細胞の構造評価システムの構築

課題終了後、「先端計測」で継続して研究開発を続けている適応的画像分類法を 2012 年に、国際誌 (Nature Communications) にて発表したところ、海外の製薬企業、研究機関、大学から問い合わせが寄せられた。このことから現在、我が国発の画像処理ソフトウェアとして研究開発成果の国際的な認知は高まっているものと考えられる。なお、本技術は基本特許を国内だけでなく米国・欧州に出願しており、このうち米国については特許登録済である。

②動植物細胞活性評価システムの構築

課題終了後に開発したカルタは、国産に限らず海外製のイメージング機器にも搭載可能である。顕微鏡や内視鏡に代表される医療機器など、日本の画像機器開発は世界トップレベルだが、画像分類においても国産技術であるカルタが世界標準となることも期待される。

Plant J に掲載の「Quantification and cluster analysis of actin cytoskeletal structures in plant cells role of actin bundling in stomatal movement during diurnal cycles in *Arabidopsis guard cells*」は、高等植物細胞におけるアクチン繊維の動態と役割の研究に関する論文であるが、国内での被引用件数 1 に対し、海外での被引用件数は 14 である。また、Proc.Natl. Acad. Sci. USA に掲載の「Myosin-dependent endoplasmic reticulum motility and F-actin organization in plant cells.」は、植物細胞におけるミオシン依存性の小胞体運動とアクチン繊維の構築の研究に関する論文であるが、国内での被引用件数 6 に対し、海外での被引用件数は 31 である。これらの論文の被引用件数からも、海外の研究者への影響の大きさが示唆された。

2.3. 現在の科学技術研究における研究開発成果の活用状況、発展状況のまとめ

JST 研究成果展開事業（先端計測分析技術・機器開発プログラム）の一環として、生物医学画像を自動分類するソフトウェア「カルタ」の開発に成功した。様々な撮像機器に搭載でき、専門家の意見を取り入れて学習を繰り返すことができる能動学習型ソフトウェアで、大量の画像データを短時間で分類・判定することを可能にした。

3. 研究開発による成果の科学技術的、社会的及び経済的な効果

3.1. バイオインフォマティクス分野及びライフサイエンス分野の研究への貢献

3.1.1. バイオインフォマティクス分野の研究への貢献

開発したツール群は様々な画像の解析に利用できる可能性があり、また、本研究により得られた生物学的知見は生命科学の進歩に貢献することが多いに期待できる。さらに、撮像装置と連携し産業化することにより、我が国のバイオメディカル産業の国際競争力を高める技術となり得る。

①適応的画像分類法の開発及び植物細胞の構造評価システムの構築

今後、膨大かつ多様な生物画像の解析が生命科学研究における要となるだろうという想定に基づくものであった。課題終了後、こうした情勢が正に到来しつつある。これに呼応し、「バイオイメージング」「画像解析」を結集軸として実験系の生命科学研究者や情報科学研究者が会する“バイオイメージインフォマティクス”ワークショップが催されるに至っている。私たちの研究グループは、このワークショップの開催に携わった他、本ワークショップをきっかけに画像分類法を用いる他の研究グループと技術交流や共同研究を進めるなど、バイオインフォマティクス分野に“バイオイメージインフォマティクス”という新たな領域を開拓しつつある。

②動植物細胞活性評価システムの構築

たんぱく質の細胞内局在解析や特定たんぱく質の発現を低下させた細胞表現型の評価、蛍光画像と明視野画像の細胞生死判定などについて、本研究開発課題で開発したカルタと従来法（1枚ずつ目視で判断した場合）を分類・判定精度について比較した。その結果、カルタを使用した場合の判定精度は、目視による従来法を上回り、判定速度についても2倍以上にスピードアップすることができた。

3.1.2. ライフサイエンス分野（バイオインフォマティクス以外）やその他、科学技術分野の研究への貢献

本来の生物学的画像データ解析ばかりでなく、脳神経組織の活動電位伝播を可視化した時系列画像のクラスタリングによる自動領域分割という新たな展開があり、神経科学研究における光学測定法の応用範囲を格段に広げることに成功した。また、要素技術と成りえるような汎用性の高い分類方法の開発にも成功している。

①適応的画像分類法の開発及び植物細胞の構造評価システムの構築

バイオインフォマティクス以外の分野への貢献として、植物科学分野への還元が最も大きな成果として挙げられる。とりわけ、細胞の分裂や生長、気孔の開閉における孔辺細胞の構造変化、病原菌に対する細胞応答といった細胞レベルの生命現象の解明で本課題の研究開発成果が役立っている。

植物科学以外では、医学（腫瘍組織切片像の自動分類など）、神経科学（脳組織切片像の領域抽出など）、動物科学（時系列サーモグラフからのマウスの行動解析など）、農学（水田におけるデジタルカメラ画像からの稲の生長解析など）、林学（木の根の太さと長さの解析など）、水路学（水路の流速解析）において、本課題の研究開発成果の適用や試用が行なわれている。

②動植物細胞活性評価システムの構築

本課題とその後の継続的な研究で開発した画像評価・分類ソフトウェア「CARTA」は、目視よりも高精度・高速での画像評価を可能とする技術であり、医療現場の省力化への貢献が期待されている。植物の生育状況のスクリーニングにも活用できることから、農業や環境分野でも役立つ可能性がある。さらに、イメージング機器への搭載により、画像の種類を問わず、細胞を用いたリード化合物探索や毒物評価にも応用できる。

③適応的画像分類法の開発及び病変部位自動診断システムの構築

研究が進み、現場での利用が始まれば医療画像診断業務の省力化への貢献が期待できる。

3.2. 人材育成の面から参加研究者の活動状況

3.2.1. 研究開発に参加した研究者のキャリアアップ

本研究開発課題に参加した者で、その後新たなポジションを得た者は4名いた。

3.3. 社会的及び経済的な効果

3.3.1. 研究開発成果が大学や公的研究機関、企業等で、応用に向けて継承または発展した例

研究開発成果を科学機器メーカーがライセンス契約し、製品開発を進めている。また、下記の大学および公的研究機関において、本課題の研究開発成果の応用に向けた共同研究が進行中である。

大学

- ・ 弘前大学：病理組織の切片画像からの診断支援

- ・ 岩手大学：植物細胞内の原形質流動に対する凍結ストレスの影響評価
- ・ 日本女子大学：透過型電子顕微鏡画像群の自動結合とオルガネラの自動認識
- ・ 東京学芸大学：根の伸長速度および形態の測定
- ・ 名古屋大学：花粉管先端の追跡による伸長速度の測定
- ・ 京都大学：植物細胞の小胞体の形態解析
- ・ 奈良先端科学技術大学院大学：植物細胞の表層微小管構造の配向解析
- ・ 香川大学：水田における稲の初期生長過程の定量評価
- ・ 九州大学：転写調節タンパク質の共局在解析
- ・ 熊本大学：動物培養細胞のアクチン繊維の配向解析

公的研究機関

- ・ 国立医薬品食品衛生研究所：脳組織の膜電位可視化像の解析
- ・ 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構：ブドウの罹病性の定量評価
- ・ 独立行政法人 理化学研究所：植物実生・植物培養細胞画像のスクリーニング
- ・ 公益財団法人 大阪バイオサイエンス研究所：サーモグラフ時系列画像の解析

企業での活動としては、本課題の研究開発成果及び関連特許が国内民間企業 1 社にライセンス済みであり、当該企業において製品化（新製品への組み込み）が進んでいるようである。

3.3.2. その他、研究開発成果が社会的、経済的な効果・効用につながる兆し、可能性

本課題終了後に世界に先駆けて開発に成功した生物医学画像の分類ソフトウェア「カルタ」は、高齢化社会の到来にともなう画像診断の急増に直面している日本の医療・臨床現場の省力化に大きく貢献するものと期待されている。さらに、この成果はあらゆる画像分類に利用可能であることから、基礎研究のほか、創薬や毒性検査、農業などの産業分野に加え、環境分野などにも応用が可能である。

また、カルタは国産に限らず海外製のイメージング機器にも搭載可能である。顕微鏡や内視鏡に代表される医療機器など、日本の画像機器開発は世界トップレベルであるが、画像分類においても国産技術であるカルタが世界標準となることも期待されている。

資料編

1. 論文リスト

1. Cartagena, J.A., Matsunaga, S., Seki, M., Kurihara, D., Yokoyama, M., Shinozaki, K., Fujimoto, S., Azumi, Y., Uchiyama, S. and Fukui, K. (2008) The Arabidopsis SDG4 contributes to the regulation of pollen tube growth by methylation of histone H3 lysines 4 and 36 in mature pollen. *Developmental Biology* 315
2. Inoue K, Fujii H, et al. (2008) Improvement of the diagnostic accuracy of lymph node metastases of colorectal cancer in 18F-FDG PET/CT by optimizing the iteration number for the image reconstruction. *Ann Nucl Med*
3. 朽名夏磨、桧垣匠 (2008) 「バイオイメージング 連続共焦点像からの立体再構築: 細胞内構造の解析のために」
4. Higaki T, Kutsuna N, Sano T and Hasezawa S (2008) Quantitative analysis of changes in actin microfilament contribution to cell plate development in plant cytokinesis. *BMC Plant Biol* 8: 80.
5. Ioki M, Takahashi S, Nakajima N, Fujikura K, Tamaoki M, Saji H, Kubo A, Aono M, Kanna M, Ogawa D, Fukazawa J, Oda Y, Yoshida S, Watanabe M, Hasezawa S and Kondo N (2008) An unidentified ultraviolet-B-specific photoreceptor mediates transcriptional activation of the cyclobutane pyrimidine dimer photolyase gene. *Planta* 229: 25-36.
6. Sano T, Kutsuna, N, Hasezawa S and Tanaka Y (2008) Membrane trafficking in the guard cells during stomatal movement: Application of image processing technique. *Plant Signal Behav* 3: 233-235.
7. Higaki T, Kadota Y, Goh T, Hayashi T, Kutsuna N, Sano T, Hasezawa S and Kuchitsu K (2008) Vacuolar and cytoskeletal dynamics during elicitor-induced programmed cell death in tobacco BY-2 cells. *Plant Signal Behav* 3: 700-703.
8. Sano T, Kutsuna N, Higaki T, Oda Y, Yoneda A, Kumagai-Sano F and Hasezawa S (2008) Cytoskeletal and vacuolar dynamics during plant cell division: Approaches using structure-visualized cells. *Plant Cell Monogr* 9, In *Cell division control in plants*. Eds. D.P.S. Verma and Z. Hong. 125-140.
9. Sano T, Tanaka Y, Higaki T, Kutsuna N and Hasezawa S (2008) Dynamics of cytoskeletons and vacuoles in guard cells during stomatal movement. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology (Global Science Books) Vol. 35: 329-333.*
10. Kurihara D, Matsunaga S, Uchiyama S and Fukui K (2008) Live cell imaging reveals plant Aurora kinase has dual roles during mitosis. *Plant Cell Physiol* 49:

1256-1291

11. Watanabe W, Matsunaga S, Higashi T, Fukui K and Itoh K (2008) In vivo manipulation of fluorescently-labelled organelles in living cells by multi-photon excitation. *J. Biomed. Opt* 13: 31213-31221
12. Amin MA, Matsunaga S, Uchiyama S and Fukui K (2008) Depletion of nucleophosmin leads to distortion of nucleolar and nuclear structures in HeLa cells. *Biochem. J* 415: 345-351
13. Amin MA, Matsunaga S, Uchiyama S and Fukui K (2008) Nucleophosmin is required for chromosome congression, proper mitotic spindle formation, and kinetochore-microtubule attachment in HeLa cells. *FEBS Lett* 582: 3839-3844
14. Inoue K, Sato T, Kitamura H, Ito M, Tsunoda Y, Hirayama A, Kurosawa H, Tanaka T, Fukushi M, Moriyama N and Fujii H (2008) Diagnosis supporting algorithm for lymph node metastases from colorectal carcinoma on (18)F-FDG PET/CT. *Ann Nucl Med* 22: 41-8.
15. Inoue K, Sato T, Kitamura H, Ito M, Tsunoda Y, Hirayama A, Kurosawa H, Tanaka T, Fukushi M, Moriyama N and Fujii H (2008) Improvement of the diagnostic accuracy of lymph node metastases of colorectal cancer in (18)F-FDG-PET/CT by optimizing the iteration number for the image reconstruction. *Ann Nucl Med* 22: 465-73.
16. Kunimatsu A, Yamaguchi M, Okamoto Y, Anno I, Fujii H, Nozaki A, Kabasawa H, and Minami M (2008) Validation of diffusion tensor imaging and tractography of the human peripheral nerve using small-diameter ex vivo phantoms. *Proc Intl Soc Mag reson Med* 16: 3304.
17. Suzuki C, Jacobsson H, Hatschek T, Torkzad M R, Boden K, Eriksson-Alm Y, Berg E, Fujii H, and Kubo A (2008) Blomqvist L: Radiologic measurements of tumor response to treatment: practical approaches and limitations. *Radiographics* 28: 329-44.
18. Sano T, Kutsuna N, Becker D, Hedrich R and Hasezawa S (2009) Outward rectifying K⁺ channel activities regulate cell elongation and cell division of tobacco BY-2 cells. *Plant J* 57: 55-64.
19. Okubo-Kurihara E, Sano T, Higaki T, Kutsuna N and Hasezawa S (2009) Acceleration of vacuolar regeneration and cell growth by overexpression of an aquaporin NtTIP1;1 in tobacco BY-2 cells. *Plant Cell Physiol* 50: 151-160.
20. Enami K, Ichikawa M, Uemura T, Kutsuna N, Hasezawa S, Nakagawa T, Nakano A and Sato MH (2009) Differential Expression Control and Polarized Distribution of Plasma Membrane-Resident SYP1 SNAREs in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* 50: 280-289.

21. Inoue K, Sato T, Kitamura H, Hirayama A, Kurosawa H, Tanaka T, Fukushi M, Moriyama N and Fujii H (2009) An anthropomorphic pelvis phantom for the optimization of the diagnosis of lymph node metastases in the pelvis. *Ann Nucl Med* 23: 245-255.
22. 梅田泉, 藤井博史: 小動物の生理機能を in vivo で観る. *ISOTOPE NEWS*, 2008. 562: 2-8.
23. 藤井博史, 梅田泉, 小島良紀: SPECT 技術を用いた小動物イメージング. *RADIOISOTOPES*, 2008. 57(3): 219-232.
24. 藤井博史, 梅田泉, 山口雅之: 癌分子診断のための手法. *日本臨床*, 2009. 67(Suppl. 1): 197-203.
25. 藤井博史: 分子イメージングと核医学機能診断. 駒澤大学医療健康科学部紀要 (印刷中)
26. Higaki T, Kojo KH, Hasezawa S (2010) Critical role of actin bundling in plant cell morphogenesis. *Plant Signaling and Behavior* 5(5)
27. Sano T, Kutsuna N, Hasezawa S (2010) Improved cytoplasmic pH measurements in SNARF-1 stained plant cells by image processing. *Plant Signaling and Behavior* 5(4): 406-408.
28. #Higaki T, Kutsuna N, Sano T, Kondo N, Hasezawa S (2010) Quantification and cluster analysis of actin cytoskeletal structures in plant cells: role of actin bundling in stomatal movement during diurnal cycles in *Arabidopsis* guard cells. *Plant J* 61: 156-165
29. #Nagano AJ, Maekawa A, Nakano RT, Miyahara M, Higaki T, Kutsuna N, Hasezawa S, Hara-Nishimura I (2009) Quantitative Analysis of ER Body Morphology in an *Arabidopsis* Mutant. *Plant Cell Physiol* 50: 2015-2022
30. Hamaji K, Nagira M, Yoshida K, Ohnishi M, Oda Y, Uemura T, Goh T, Sato MH, Terao-Morita M, Tasaka M, Hasezawa S, Nakano A, Hara-Nishimura I, Maeshima M, Fukaki H, Mimura T (2009) Dynamic Aspects of Ion Accumulation by Vesicle Traffic under Salt Stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* 50: 2023-2033
31. #Oda Y, Higaki T, Hasezawa S, Kutsuna N (2009) New insights into plant vacuolar structure and dynamics. *International Review of Cell and Molecular Biology* 277: 103-135
32. Oda Y, Hirata A, Sano T, Fujita T, Hiwatashi Y, Sato Y, Kadota A, Hasebe M, Hasezawa S (2009) Microtubules regulate dynamic organization of vacuoles in *Physcomitrella patens* *Plant Cell Physiol* 50: 855-868
33. Enami K, Ichikawa M, Uemura T, Kutsuna N, Hasezawa S, Nakagawa T, Nakano A, Sato MH (2009) Differential Expression Control and Polarized Distribution of Plasma Membrane-Resident SYP1 SNAREs in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*

Physiol 50: 280-289

34. Okubo-Kurihara E, Sano T, Higaki T, Kutsuna N, Hasezawa S (2009) Acceleration of vacuolar regeneration and cell growth by overexpression of an aquaporin NtTIP1;1 in tobacco BY-2 cells. *Plant Cell Physiol* 50: 151-160
35. Sano T, Kutsuna N, Becker D, Hedrich R, Hasezawa S (2009) Outward rectifying K⁺ channel activities regulate cell elongation and cell division of tobacco BY-2 cells. *Plant J* 57: 55-64
36. Gambe AE, Matsunaga S, Takata H, Ono-Maniwa R, Baba A, Uchiyama S, Fukui K. (2009) A nucleolar protein RRS1 contributes to chromosome congression. *FEBS Lett.* 583(12):1951-6.
37. Hayashihara K, Uchiyama S, Shimamoto S, Kobayashi S, Tomschik M, Wakamatsu H, No D, Sugahara H, Horii N, Noda M, Ohkubo T, Zlatanova J, Matsunaga S, Fukui K. (2010) The middle region of a HP1-binding protein, HP1-BP74, associates with linker DNA at the entry/exit site of nucleosomal DNA. *J Biol Chem.* 2009 Dec 30.
38. Inoue K, Sato T, Kitamura H, Hirayama A, Kurosawa H, Tanaka T, Fukushi M, Moriyama N, Fujii H, An anthropomorphic pelvis phantom for optimization of the diagnosis of lymph node metastases in the pelvis. *Ann Nucl Med*, 2009. 23(3): 245-55.
39. Sugiyama K, Yamaguchi M, Kuroda J, Takanashi M, Ishikawa Y, Fujii H, Ishii T, Esumi H, Improvement of radiation-induced healing delay by etanercept treatment in rat arteries. *Cancer Sci*, 2009. 100(8): 1550-5.
40. 藤井博史, 梅田泉, 山口雅之, 癌分子診断のための手法. *日本臨床*, 2009. 67(Suppl. 1): 197-203.
41. #Ueda, H., Yokota, E., Kutsuna, N., Shimada, T., Shimmen, T., Hasezawa, S., Dolja, V.V. and Hara-Nishimura, I.: Myosin- dependent endoplasmic reticulum motility and F-actin organization in plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 6894-6899 (2010)
42. Okubo-Kurihara, E., Higaki, T., Yukio Kurihara, Y., Kutsuna, N., Yamaguchi, J. and Hasezawa, S.: Sucrose transporter NtSUT4 from tobacco BY-2 involved in plant cell shape during miniprotoplast culture. *J. Plant Res.* 124:395-403, DOI: 10.1007/s10265-010-0377-7 (2011)
43. Yoneda, A., Ito, T., Higaki, T., Kutsuna, N., Saito, T., Takeshi Ishimizu, Osada, H., Hasezawa, S., Matsui M. and *Demura, T.: Cobtorin Target analysis reveals that pectin functions in deposition of cellulose microfibrils parallel to cortical microtubules in a manner dependent on the methylesterification ratio of pectin and its distribution. *Plant J.* 64:657-667

44. Higaki T, Kurusu T, Hasezawa S, Kuchitsu K (2011) Dynamic intracellular reorganization of cytoskeletons and the vacuole in defense responses and hypersensitive cell death in plants. *J Plant Res.* 124:315-324.
45. Nomura T, Hasezawa S (2011) Regulation of gemma formation in the copper moss *Scopelophila cataractae* by environmental copper concentrations. *J Plant Res.* 124:631-638.
46. #Kutsuna N, Higaki T, Matsunaga S, Otsuki T, Yamaguchi M, Fujii H, Hasezawa S (2012) Active learning framework with iterative clustering for bioimage classification. *Nat. Commun.* 3:1032.
47. Yazawa K, Iwai H, Sugiyama H, Ito S, Hasezawa S, Satoh S (2012) Ectopic expression of the leucine-rich repeat-domain of cell wall extension gene *NpLRX1* disturbs morphogenesis of leaf cells by its association with cell membranes in tobacco. *Plant Biotechnology.* 29:373-381
48. Sano T, Yoshihara T, Handa K, Sato MH, Nagata T, Hasezawa S (2012) Metal Ion Homeostasis Mediated by NRAMP Transporters in Plant Cells - Focused on Increased Resistance to Iron and Cadmium Ion. *Crosstalk and Integration of Membrane Trafficking Pathway* 213-228
49. Higaki T, Kutsuna N, Hasezawa S (2012) Probabilistic mapping and image clustering for quantitative assessment of fluorescent protein localizations in *Arabidopsis* guard cells. *Protocol Exchange* DOI: 10.1038/protex.2012.013.
50. Era A, Kutsuna N, Higaki T, Hasezawa S, Nakano A, Ueda T (2012) Microtubule stability affects the unique motility of F-actin in *Marchantia polymorpha*. *J Plant Res.* 126:113-119.
51. #Higaki T, Kutsuna N, Hosokawa Y, Akita K, Ebine K, Ueda T, Kondo N, Hasezawa S (2012) Statistical organelle dissection of *Arabidopsis* guard cells using image database LIPS. *Scientific Reports* 2:405
52. Higaki T, Higaki S, Hirota M, Akita K, Hasezawa S (2012) Radionuclide analysis on bamboos following the Fukushima nuclear accident. *PLoS ONE* 7(4): e34766.
53. Nishikawa, T., Moriyama, Y., Sato, M., Sano, T., Hasezawa, S., Ota, S., Kawano, S (2012) Isolation of mitochondrial and plastid *ftsZ* genes and analysis of the organelle targeting sequence in the diatom *Chaetoceros neogracile* (Diatoms, Bacillariophyceae) *Phycological Research*, 60 (2), pp. 123-136.
54. #Hashimoto-Sugimoto M, Higaki T, Yaeno T, Nagami N, Irie M, Fujimi M, Miyamoto M, Akita K, Negi J, Shirasu K, Hasezawa S, Iba K (2013) A Munc13-like protein in *Arabidopsis* mediates H⁺-ATPase translocation that is essential for stomatal responses. *Nat. Commun.* 4:2215.
55. #Murata T, Sano T, Sasabe M, Nonaka S, Higashiyama T, Hasezawa S, Machida Y,

- Hasebe M (2013) Mechanism of microtubule array expansion in the cytokinetic phragmoplast. *Nat. Commun.* 4:1967.
56. Sano T, Hayashi T, Kutsuna N, Nagata T, Hasezawa S (2013) Role of actin microfilaments in phragmoplast guidance to the cortical division zone. *Cur. Topic. Plant Biol.* 13:87-94.
 57. #Higaki T, Kustuna N, Hasezawa S (2013) LIPS database with LIPService: a microscopic image database of intracellular structures in Arabidopsis guard cells. *BMC Plant Biol.* 13:81
 58. #Akita K, Hasezawa S, Higaki T (2013) Breaking of the plant stomatal one-cell-spacing rule by sugar solution immersion. *PLoS ONE*, 8(9) :e72456. doi: 10.1371/journal.pone.0072456., 2013.
 59. #Fujita S, Pytela J, Hotta T, Kato T, Hamada T, Akamatsu R, Ishida Y, Kutsuna N, Hasezawa S, Nomura Y, Nakagami H, Hashimoto T (2013) An atypical tubulin kinase mediates stress-induced microtubule depolymerization in Arabidopsis. *Curr. Biol.* 23: 1969-1978.
 60. #Kojo KH, Higaki T, Kutsuna N, Yoshida Y, Yasuhara H, Hasezawa S (2013) Roles of cortical actin microfilament patterning in division plane orientation in plants. *Plant Cell Physiol.* 54: 1491-1503.
 61. Kariya K, Demiral T, Sasaki T, Tsuchiya Y, Turkan I, Sano T, Hasezawa S, Yamamoto, Y (2013) A novel mechanism of aluminium-induced cell death involving vacuolar processing enzyme and vacuolar collapse in tobacco cell line BY-2. *J Inor. Biochem.*, 128, 196-201, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2013.07.001.
 62. Kosetsu, K., Matsunaga, S., Nakagami, H., Colcombet, J., Sasabe, M., Soyano, T., Takahashi, Y., Hirt, H and Machida, Y. (2010) The MAP kinase MPK4 is required for cytokinesis in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell* 22, 3778-3790.
 63. Ma, N.*, Matsunaga, S.*, Morimoto, A.*, Sakashita, G., Urano, T., Uchiyama, S. and Fukui, K. (2011) The nuclear scaffold protein SAF-A is required for kinetochore-microtubule attachment and contributes to the targeting of Aurora-A to mitotic spindles. *J. Cell Sci.*124, 394-404. *These authors equally contributed to this work.
 64. Kurihara, D., Matsunaga, S., Omura, T., Higashiyama, T. and Fukui K. (2011) Identification and characterization of plant Haspin kinase as a histone H3 threonine kinase. *BMC Plant Biol.* 11, 73.
 65. Adachi, S., Minamisawa, K., Okushima, Y., Inagaki, S., Yoshiyama, K., Kondou, Y., Kaminuma, E., Kawashima, M., Toyoda, T., Matsui, M., Kurihara, D., Matsunaga, S. and Umeda, M. (2011) Programmed induction of endoreduplication by DNA double-strand breaks in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 10004-10009.

66. Iwata, E., Ikeda, S., Matsunaga, S., Kurata, M., Yoshioka, Y., Criquid, M.-C., Genschik, P. and Ito, M. (2011) GIGAS CELL1, a novel negative regulator of APC/C, is required for proper mitotic progression and cell fate determination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 23, 4382-4393.
67. Kato, S., Imoto, Y., Ohnuma, M., Matsunaga, M.T., Kuroiwa, H., Kawano, S., Kuroiwa, T. and Matsunaga, S. (2011) Aurora kinase of a red alga *Cyanidioschyzon merolae* is related to both mitochondrial division and mitotic spindle formation. *Cytologia*, 76, 465-472.
68. Yoshida, Y., Fujiwara, T., Imoto, Y., Yoshida, M., Ohnuma, M., Hirooka, S., Misumi, O., Kuroiwa, H., Kato, S., Matsunaga, S. and Kuroiwa, T. (2013) The kinesin-like protein TOP promotes Aurora localization and induces mitochondrial, chloroplast and nuclear division. *J. Cell Sci.*, 126, 2392-2400.
69. Hayashi, K., Hasegawa, J., Matsunaga, S. (2013) The boundary of the meristematic and elongation zones in roots: endoreduplication precedes rapid cell expansion. *Sci. Rep.*, 3, 2723.
70. Takahashi, N., Kajihara, T., Okamura, C., Kim, Y., Katagiri, Y., Okushima, Y., Matsunaga, S., Hwang, I., and Umeda, M. (2013) Cytokinins control endocycle onset by promoting the expression of an APC/C activator in *Arabidopsis* roots. *Curr. Biol.*, 23, 1812-1817.

: 今回の追跡調査において研究代表者が主要な論文として指定したもの (上限 30 報)

* : 研究開発期間終了後の終了報告書において研究代表者が主要な論文として指定したもの

2. 主要論文の被引用回数

論文	国内外別件数		分野別件数																				出版年別件数								
	国内件数	海外件数	農学	生物学・生化学	化学	臨床医学	コンピュータサイエンス	経済学・経営学	工学	環境・生態学	地球科学	免疫学	材料科学	数学	微生物学	分子生物学・遺伝学	複合領域	神経科学・行動科学	薬理学・毒物学	物理学	植物学・動物学	精神医学・心理学	社会科学・一般	宇宙科学	2006年	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年
14.# Inoue K, Sato T, Kitamura H, Ito M, Tsunoda Y, Hirayama A, Kurosawa H, Tanaka T, Fukushi M, Moriyama N and Fujii H (2008) Diagnosis supporting algorithm for lymph node metastases from colorectal carcinoma on (18)F-FDG PET/CT. Ann Nucl Med 22: 41-8.	0	4	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	2	0	1	1
28.#Higaki T, Kutsuna N, Sano T, Kondo N, Hasezawa S (2010) Quantification and cluster analysis of actin cytoskeletal structures in plant cells: role of actin bundling in stomatal movement during diurnal cycles in Arabidopsis guard cells. Plant J 61: 156-165	1	14	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	12	0	0	0	-	-	-	-	1	7	7
29.#Nagano AJ, Maekawa A, Nakano RT, Miyahara M, Higaki T, Kutsuna N, Hasezawa S, Hara-Nishimura I (2009) Quantitative Analysis of ER Body Morphology in an Arabidopsis Mutant. Plant Cell Physiol 50: 2015-2022	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	-	-	-	0	0	2	0
31.# Oda Y, Higaki T, Hasezawa S, Kutsuna N (2009) New insights into plant vacuolar structure and dynamics. International Review of Cell and Molecular Biology 277: 103-135	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	-	-	-	0	0	1	2
41.#Ueda, H., Yokota, E., Kutsuna, N., Shimada, T., Shimmen, T., Hasezawa, S., Dolja, V.V. and Hara-Nishimura, I.: Myosin- dependent endoplasmic reticulum motility and F-actin organization in plant cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107: 6894-6899 (2010)	6	31	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	0	0	0	0	0	28	0	0	0	-	-	-	-	7	19	11
46.# Kutsuna N, Higaki T, Matsunaga S, Otsuki T, Yamaguchi M, Fujii H, Hasezawa S (2012) Active learning framework with iterative clustering for bioimage classification. Nat. Commun. 3:1032.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	0
51.#Higaki T, Kutsuna N, Hosokawa Y, Akita K, Ebine K, Ueda T, Kondo N, Hasezawa S (2012) Statistical organelle dissection of Arabidopsis guard cells using image database LIPS. Scientific Reports 2:405	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	0

- ・本追跡調査において研究代表者が主要な論文として指定したもの (#) について、トムソン・ロイター社 Web of Science で調査した。調査対象は、2012年12月まで。被引用情報が取得できたもののみ記載した。
- ・論文番号は「資料編 1. 論文リスト」に対応している。
- ・[国内外別件数] は、被引用文献の国内外別件数。被引用文献の著者の所属国のうち JAPAN が一つでもあれば国内としている。国内外の合計が全被引用文献数となる。
- ・[分野別件数] は、被引用文献の分野別件数。被引用文献が論文の場合のみカウントしている。
- ・[出版年別件数] は、被引用文献の出版年別件数。「-」は、データなしを表す。

論文	Web of Science 国内外別件数(2012年12月まで)			Google Scholar	
	国内件数	海外件数	合計	~2014年4月24日	~2012年
14. Inoue K, Sato T, Kitamura H, Ito M, Tsunoda Y, Hirayama A, Kurosawa H, Tanaka T, Fukushi M, Moriyama N and Fujii H (2008) Diagnosis supporting algorithm for lymph node metastases from colorectal carcinoma on (18)F-FDG PET/CT. Ann Nucl Med 22: 41-8.	0	4	4	10	10
28. Higaki T, Kutsuna N, Sano T, Kondo N, Hasezawa S (2010) Quantification and cluster analysis of actin cytoskeletal structures in plant cells: role of actin bundling in stomatal movement during diurnal cycles in Arabidopsis guard cells. Plant J 61: 156-165	1	14	15	4	0

29. Nagano AJ, Maekawa A, Nakano RT, Miyahara M, Higaki T, Kutsuna N, Hasezawa S, Hara-Nishimura I (2009) Quantitative Analysis of ER Body Morphology in an Arabidopsis Mutant. <i>Plant Cell Physiol</i> 50: 2015–2022	2	0	2	7	5
31. Oda Y, Higaki T, Hasezawa S, Kutsuna N (2009) New insights into plant vacuolar structure and dynamics. <i>International Review of Cell and Molecular Biology</i> 277: 103–135	0	3	3	11	5
41. Ueda, H., Yokota, E., Kutsuna, N., Shimada, T., Shimmen, T., Hasezawa, S., Dolja, V.V. and Hara-Nishimura, I.: Myosin- dependent endoplasmic reticulum motility and F-actin organization in plant cells. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> 107: 6894–6899 (2010)	6	31	37	90	52
46. Kutsuna N, Higaki T, Matsunaga S, Otsuki T, Yamaguchi M, Fujii H, Hasezawa S (2012) Active learning framework with iterative clustering for bioimage classification. <i>Nat. Commun.</i> 3:1032.	0	0	0	4	0
51. Higaki T, Kutsuna N, Hosokawa Y, Akita K, Ebine K, Ueda T, Kondo N, Hasezawa S (2012) Statistical organelle dissection of Arabidopsis guard cells using image database LIPS. <i>Scientific Reports</i> 2:405	0	0	0	5	0
54. Hashimoto-Sugimoto M, Higaki T, Yaeno T, Nagami N, Irie M, Fujimi M, Miyamoto M, Akita K, Negi J, Shirasu K, Hasezawa S, Iba K (2013) A Munc13-like protein in Arabidopsis mediates H ⁺ -ATPase translocation that is essential for stomatal responses. <i>Nat. Commun.</i> 4:2215.	–	–	–	7	–
55. Murata T, Sano T, Sasabe M, Nonaka S, Higashiyama T, Hasezawa S, Machida Y, Hasebe M (2013) Mechanism of microtubule array expansion in the cytokinetic phragmoplast. <i>Nat. Commun.</i> 4:1967.	–	–	–	5	–
57. Higaki T, Kutsuna N, Hasezawa S (2013) LIPS database with LIPService: a microscopic image database of intracellular structures in Arabidopsis guard cells. <i>BMC Plant Biol.</i> 13:81	–	–	–	1	–
58. Akita K, Hasezawa S, Higaki T (2013) Breaking of the plant stomatal one-cell-spacing rule by sugar solution immersion. <i>PLoS ONE</i> , 8(9) :e72456. doi: 10.1371/journal.pone.0072456., 2013.	–	–	–	1	–
59. Fujita S, Pytela J, Hotta T, Kato T, Hamada T, Akamatsu R, Ishida Y, Kutsuna N, Hasezawa S, Nomura Y, Nakagami H, Hashimoto T (2013) An atypical tubulin kinase mediates stress-induced microtubule depolymerization in Arabidopsis. <i>Curr. Biol.</i> 23: 1969–1978.	–	–	–	2	1
60. Kojo KH, Higaki T, Kutsuna N, Yoshida Y, Yasuhara H, Hasezawa S (2013) Roles of cortical actin microfilament patterning in division plane orientation in plants. <i>Plant Cell Physiol.</i> 54: 1491–1503.	–	–	–	3	–

・情報科学・計算機科学分野における研究開発成果では、会議予稿集での発表に引用されることが多いため、Google Scholar での被引用件数を参考情報として添付した。

・Google での調査方法

対象論文のタイトルを検索し、当該論文を「引用元」とする件数を取得した。

最新の被引用件数と、それから 2013 年以降の被引用件数を引いたものを 2012 年までとした。ただし、年が明確でないものは引かれていないため、2012 年までの被引用件数が実際よりも多くなっている可能性がある。

・論文番号は「資料編 1. 論文リスト」に対応している。

・* : 研究開発期間終了後の終了報告書において研究代表者が主要な論文として指定したもの。

3. 学会招待講演・基調講演

1. Matsunaga, S. “Dynamics analyses of RBMX responsible for chromosome cohesion and bioimage classification by CARTA” 招待国際講演 4-th France-Japan Joint Seminar (RIKEN Harima Institute, Jan 6-11, 2013)
2. Matsunaga, S. “Subnuclear dynamics and cell dynamics in root morphogenesis” 招待国際講演 Workshop on Modeling Biomolecular Systems (Kyoto University, Oct 31- Nov 1, 2013)

4. 新聞発表等（著作権の関係により非公開）

5. 特許出願・成立

1. WO2008/129881、再表 2008/129881
「特徴量選択方法、特徴量選択装置、画像分類方法、画像分類装置、コンピュータプログラム、及び記録媒体」
発明者：馳澤盛一郎、朽名夏麿、桧垣匠、松永幸大、内山進、真庭理香、アーニエグナ ガンベ、福井希一
出願人：国立大学法人東京大学（米国を除く）、発明者と同じ（米国のみ）
2. 特開 2011-60227
「領域分割画像生成方法、領域分割画像生成装置及びコンピュータプログラム」
発明者：関野祐子、馳澤盛一郎、朽名夏麿
出願人：国立大学法人東京大学

6. 学会賞等の受賞

1. 「バイオ画像の高精度自動分類技術の事業化」松永幸大、朽名夏麿、馳澤盛一郎
第8回バイオビジネスコンペ JAPAN 審査委員特別賞（平成20年2月19日バイオビジネスコンペ JAPAN 実行委員会）

7. グラントの獲得実績

1. イメージング画像定量解析とシミュレーションによる植物細胞の分化形態形成機構の解明
馳澤 盛一郎 2013-2016 年 基盤研究 (B)
2. シダ植物における standard cell line の確立と細胞分裂機構の解析
馳澤 盛一郎 2013-2015 年 挑戦的萌芽研究
3. 細胞骨格の制御を介した細胞外情報処理機構の解明
馳澤 盛一郎 2012-2017 年 新学術領域研究 (研究領域提案型)
4. 高 CO₂ 環境下における気孔発生の空間配置制御機構の解明
馳澤 盛一郎 2012-2014 年 新学術領域研究 (研究領域提案型)
5. 植物メリステムにおける細胞分裂・分化制御機構のイメージング解析
馳澤 盛一郎 2011-2013 年 特定領域研究
6. イメージングと画像データベースによる陸上植物孔辺細胞の高 CO₂ 応答の細胞学的解析
馳澤 盛一郎 2010-2011 年 新学術領域研究 (研究領域提案型)
7. 植物メリステムにおける細胞分裂・分化制御機構のイメージング解析
馳澤 盛一郎 2009-2010 年 特定領域研究
8. メリステムのモデル系としての植物細胞分裂・分化制御機構のイメージング解析
馳澤 盛一郎 2008-2009 年 特定領域研究
9. 液胞と細胞骨格による植物の環境応答および細胞・オルガネラ分化の解析
馳澤 盛一郎 2007-2009 年 特定領域研究
10. 産学イノベーション加速事業・先端計測分析技術機器開発
馳澤盛一郎、松永幸大 平成 22～25 年度 科学技術振興機構

8. 書籍等の執筆実績

該当なし

9. 総説の執筆実績

1. Matsunaga, S., Katagiri, Y., Nagashima, Y., Sugiyama, T., Hasegawa, J., Hayashi, K. and Sakamoto, T. (2013) New insights into the dynamics of plant cell nuclei and chromosomes. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.*, 305, 253-301.
2. 松永幸大(2013) 「超イメージング技術による生物科学のフロンティア」 *Plant Morphology*, 25(1), 43-44.
3. 松永幸大・朽名夏磨・桧垣匠・馳澤盛一郎 (2013) 「バイオ画像の自動分類を可能にした能動学習型ソフトウェア CARTA」 *情報管理*, 56, 217-221.
4. 朽名夏磨・桧垣匠・馳澤盛一郎・松永幸大(2012) 「バイオ画像の自動分類のための能動的な学習技術・CARTA」 *細胞工学* 31, 1372-1373.
5. 朽名夏磨・桧垣匠・馳澤盛一郎 (2013) 「植物細胞から医用画像解析まで」、*臨床検査* 57(7) 702.

10. 参加研究者の活動状況（個人情報が含まれるため非公開）