

Delayed recovery of normal hematopoiesis in arsenic trioxide treatment of acute promyelocytic leukemia: a comparison to all-trans retinoic acid treatment.

Intern Med. 44:818, 2005.

Takeshita A, Maekawa M, et al.

Efficacy of gemtuzumab ozogamicin on ATRA- and arsenic-resistant acute promyelocytic leukemia (APL) cells.

Leukemia. 19:1306, 2005.

Nagaoka T, Maekawa M, et al.

Use of a three-dimensional microarray system for detection of levogloxacin resistance and the mecA gene in *Staphylococcus aureus*.

J Clin Microbiol. 43:5187, 2005

Takeshita A, Maekawa M, et al.

Two patients with all-trans-retinoic acid-resistant acute promyelocytic leukemia treated successfully with gemtuzumab ozogamicin as a single agent.

Int J Hematol. 82:445, 2005.

Shimizu F, Nakayama J, et al.

Usefulness of the real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay targeted to $\alpha 1,4$ -N-acetylglucosaminyltransferase for

the detection of gastric cancer.

Lab Invest. 83:187, 2003.

Kasai H, Nakayama J, et al.

Differential expression of ribosomal proteins in human normal and neoplastic clorectum.

J Histochem Cytochem. 51:567, 2003.

Nakajima K, Nakayama J, et al.

Expression of gastric gland mucous cell-type mucin in normal and neoplastic human tissues.

J Histochem Cytochem. 51:1689, 2003.

Nakayama J, et al.

Implantation-dependent expression of trophinin by maternal Fallopian tube epithelia during tubal pregnancies: Possible role of human chorionic gonadotrophin on ectopic pregnancy.

Am J Pathol. 163:2211, 2003.

Suzuki M, Nakayama J, et al.

Polysialic acid and mucin-type O-glycans on the neural cell adhesion molecule (NCAM) differentially regulate myoblast fusion.

J Biol Chem. 278:49459, 2003.

Tomatsu S, Nakayama J, et al.

Mouse model of N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase

deficiency (Galns^{-/-}) produced by targeted disruption of the gene defective in Morquio A disease.

Hum Mol Genet. 12:3349, 2003.

Kyoshima K, Nakayama J, et al.

Gross total surgical removal of malignant glioma from the medulla oblongata: report of two adult cases with reference to surgical anatomy.

J Clin Neurosci. 11:75, 2004.

Hiraoka N, Nakayama J, et al.

Core 2 branching

β1,6-N-acetylglucosaminyltransferase and high endothelial venule-restricted sulfotransferase collaboratively control lymphocyte homing.

J Biol Chem. 279:3058, 2004.

Nakane T, Nakayama J, et al.

Molecular cloning and expression of HRLRRP, a novel heart-restricted leucine-rich repeat protein.

Biochem Biophys Res Commun. 314:1086, 2004

Yoshizawa A, Nakayama J, et al.

Malignant granular cell tumor of the esophagus.

Virchows Arch. 444:304, 2004.

Kyoshima K, Nakayama J, et al.

Symmetric dumbbell ganglioneuromas of bilateral C2 and C3 roots with intradural extension associated with von Recklinghausen's disease: case report. *Surg Neurol.* 61:468, 2004.

Kobayashi M, Nakayama J, et al.

Pulmonary lymphoepithelioma-like carcinoma: predominant infiltration of tumor-associated cytotoxic T lymphocytes might represent the enhanced tumor immunity.

Intern Med. 43:323, 2004.

Kaneko T, Nakayama J, et al.

Degenerative thalamic hamartoma: CT and MR imaging features.

Am J Neuroradiol. 25:766, 2004.

Hatakeyama S, Nakayama J, et al.

Functional correlation of trophinin expression with the malignancy of testicular germ cell tumor.

Cancer Res. 64:4257, 2004.

Isawa M, Nakayama J, et al.

Polysialic acid and HNK-1 are expressed in the adult rat vestibular endorgans. *Neuroreport.* 15:1575, 2004.

Kawakubo M, Nakayama J, et al.

Natural antibiotic function of a human gastric mucin against *Helicobacter pylori*

infection.

Science. 305:1003, 2004.

Sakai K, Nakayama J, et al.

Inducible expression of p57KIP2 inhibits glioma cell motility and invasion.

J Neurooncol. 68:217, 2004.

Kobayashi M, Nakayama J, et al.

Induction of peripheral lymph node addressin in human gastric mucosa infected by *Helicobacter pylori*.

Proc Natl Acad Sci USA. 101:17807, 2004.

Suzuki F, Nakayama J, et al.

MCI-186 (edaravone), a free radical scavenger, attenuates hepatic warm ischemia-reperfusion injury in rats.

Transplant Int. 18:844, 2005.

Harada O, Nakayama J, et al.

Malignant myoepithelioma (myoepithelial carcinoma) of soft tissue.

Pathol Int. 55:510, 2005.

Ogawa S, Nakayama J, et al.

Crucial roles of mesodermal cell lineages in a murine embryonic stem cell-derived in vitro liver organogenesis system.

Stem Cells. 23:903, 2005.

Suzuki M, Nakayama J, et al.

Polysialic acid facilitates tumor invasion by glioma cells.

Glycobiology. 15:887, 2005.

Hagisawa S, Nakayama J, et al.

Expression of core 2 β 1,6-N-acetylglucosaminyltransferase facilitates prostate cancer progression.

Glycobiology. 15:1016, 2005.

Kawashima H, Nakayama J, et al.

N-Acetylglucosamine-6-O-sulfotransferase-1 and -2 cooperatively control lymphocyte homing through L-selectin ligand biosynthesis in high endothelial venules.

Nat Immunol. 6:1096, 2005.

Mita A, Nakayama J, et al.

Expression of Fas ligand by hepatic macrophages in patients with fulminant hepatic failure.

Am J Gastroenterol. 100:2551, 2005.

Nakatsuka A, Nakayama J, et al.

Arachidonic acid-induced COX-1 and COX-2-mediated vasodilation in rat gingival arterioles in vivo.

Jpn J Physiol. 55:293, 2005.

Suzuki C, Nakayama J, et al.

Efficacy of mycophenolic acid combined with KRP-203, a novel

immunomodulator, in a rat heart transplantation model.

J Heart Lung Transpl. 25:302, 2006.

Harada O, Nakayama J, et al.

Female adnexal tumor of probable wolffian origin: A morphological, immunohistochemical, and ultrastructural study with c-kit gene analysis.

Pathol Int. 56:95, 2006.

Ishizone S, Nakayama J, et al.

Clinical utility of quantitative RT-PCR targeted to a1,4-N-acetylglucosaminyltransferase mRNA for detection of pancreatic cancer.

Cancer Sci. 97:119, 2006.

Mori M, Nakayama J, et al.

Lanosterol synthase mutations cause cholesterol deficiency-associated cataracts in the Shumiya cataract rat. *J Clin Invest.* 116:395, 2006.

Ferreira B, Nakayama J, et al.

Terminal a1,4-linked N-acetylglucosamine in Helicobacter pylori associated intestinal metaplasia of the human stomach and gastric carcinoma cell lines.

J Histochem Cytochem. In press.

Omachi T, Nakayama J, et al.

Immunohistochemical demonstration of proliferating lymphatic vessels in colorectal carcinoma and its clinicopathological significance.

Cancer Lett. In press.

本田一文、山田哲司

難治がんの早期診断マーカーの探索
検査と技術 33:172, 2005.

山田哲司、他

国立がんセンター研究所 ー先端ラボ報告ー

疾患プロテオミクスの最前線 185, 2005.

山田哲司、他

大腸発がんの発現プロテオーム解析
疾患プロテオミクスの最前線 217, 2005.

本田一文、山田哲司

SELDI-TOF-MS 法

THE LUNG perspectives 13:419, 2005.

本田一文、山田哲司

腫瘍マーカーと包括的プロテオーム解析：ペプチドの包括的プロファイリングによる非侵襲的腫瘍マーカー開発法

分子呼吸器病学 10:133, 2005.

下重美紀、山田哲司

血液試料の適切な調整法と解析
バイオテクノロジージャーナル 1:148,
2006.

近藤 格

バイオインフォマティクスを用いた
疾患Omicによる疾患マーカーの開発
臨床検査 49:1524, 2005.

近藤 格

プロテオミクスによる癌の悪性形質
を裏付けるタンパク質群の同定
実験医学 1078, 2005.

近藤 格

疾患プロテオミクスのためのバイオ
インフォマティクス
疾患プロテオミクスの最前線 134,
2005.

近藤 格

レーザーマイクロダイセクションと
プロテオーム解析
疾患プロテオミクスの最前線 52,
2005.

近藤 格、他

癌のプロテオーム研究-二次元電気泳
動と質量分析を用いて
病理と臨床（臨時増刊号）22:9, 2004.

近藤 格

二次元電気泳動を用いた臨床マーカー
の開発 -必要とされる技術開発と
臨床研究への応用-
J Electrophoresis 48:89, 2004.

近藤 格

蛍光二次元電気泳動法を用いたプロ
テオーム解析
生化学 76:385, 2004.

近藤 格

腫瘍マーカー開発のためのプロテオ
ミクス
生体の科学、54:420, 2003.

佐々木一樹

膵癌マーカー
G.I. Research 13:35, 2005.

佐々木一樹、他

循環器病学におけるペプチドミクス
分子血管病 6:39, 2005.

佐々木一樹、他

ペプチドーム解析の現状と展望
実験医学増刊 23: 133, 2005.

川久保雅友、中山 淳、他

ヒト胃ムチンに本来備わっているヘ
リコバクター・ピロリ感染に対する抗
菌作用

実験医学 23:87, 2005.

川久保雅友, 中山 淳

ピロリ菌と糖鎖

遺伝子医学 MOOK 3:34, 2005.

中山 淳、他

ピロリ菌から胃粘膜を守る III 型粘液細胞 37:32, 2005.

中山 淳、他

Helicobacter pylori 感染胃粘膜における腺粘液の役割. -・1,4-N-アセチルグルコサミン転移酵素遺伝子を用いた機能解析-

Helicobacter Research、印刷中

川久保雅友, 中山 淳

ピロリ菌感染と胃粘液の糖鎖
糖鎖科学の新展開 181, 2005.

中山 淳

α 1,4-N-アセチルグルコサミン転移酵素

未来を拓く糖鎖科学 162, 2005.

中山 淳、他

1,4-ガラクトース転移酵素と α 1,4-N-アセチルグルコサミン転移酵素

未来を拓く糖鎖科学 163, 2005.

中山 淳

ピロリ菌感染における胃腺粘液の役割

未来を拓く糖鎖科学 277, 2005.

2. 学会発表

多数のため省略

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

公開特許 W02003/027138

「新規なスクリーニング法によるがんマーカーの探索」

特許出願 特願 2003-185696

「疾病検出方法」

特許出願 特許 2004-366206

「癌状態の判定方法及びその方法に用いる遺伝子産物検出試薬」

特許出願 特願 2005-157371

「リンパ系の細胞接着物質, リンパ系薬物輸送材およびそれを含有する薬剤」

特許出願 特願 2005-221635

「循環調節活性を有する新規ペプチド」

特許出願 特願 2005-70512

「膵がんの診断に有用な血液腫瘍マ

ーカー」

特許出願 特願 2005-177547

「液体クロマトグラフィーのデータ
補正方法」

U. S. patent (provisional)
60/546.600 「Molecule, functional
molecule and process for

manufacturing thereof, composition,
pharmaceutical, food, beverage,
milk, transgenic mammal, process
for inhibiting growth of bacteria,
process for treating and preventing
gastric ulcers, and method for
treating gastric cancer」

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
近藤 格	疾患プロテオミクスのためのバイオインフォマティクス	戸田年総、 荒木令江	疾患プロテオミクスの最前線	メディカル ドゥ	大阪	2005	134-139
近藤 格	レーザーマイクロダイセクションとプロテオーム解析	戸田年総、 荒木令江	疾患プロテオミクスの最前線	メディカル ドゥ	大阪	2005	52-57
山田哲司、 他	国立がんセンター研究所 一端ラボ報告	戸田年総、 荒木令江	疾患プロテオミクスの最前線	メディカル ドゥ	大阪	2005	185-7
山田哲司、 他	大腸発がんの発現プロテオーム解析	戸田年総、 荒木令江	疾患プロテオミクスの最前線	メディカル ドゥ	大阪	2005	217-22
川久保雅 友, 中山 淳, et al.	ピロリ菌感染と胃粘液の糖鎖	谷口直之, 伊藤幸成 監 修	糖鎖科学の新展 開	エヌ・ ティー・エ ス	東京	2005	181-187
川久保雅 友, 中山 淳, et al.	α 1,4-N-アセチルグルコサミン 転移酵素	永井克孝 監 修	未来を拓く糖鎖科 学	金芳堂	京都	2005	162
中山 淳, et al.	α 1,4-ガラクトース転移酵素と α 1,4-N-アセチルグルコサミン転 移酵素	永井克孝 監 修	未来を拓く糖鎖科 学	金芳堂	京都	2005	163
中山 淳	ピロリ菌感染における胃腺粘液 の役割	永井克孝 監 修	未来を拓く糖鎖科 学	金芳堂	京都	2005	277-278

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okano T, <u>Kondo T</u> , et al.	Plasma proteomics of lung cancer by a linkage of multi-dimensional liquid chromatography and two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE)	Proteomics			in press
Fujii K, <u>Kondo T</u> , et al.	Database of two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of proteins labeled with CyDye Fluor saturation dye.	Proteomics	6	1640-1653	2006
Mori Y, <u>Kondo T</u> , et al.	Two-dimensional electrophoresis database of fluorescence-labeled proteins of colon cancer cells.	J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.	823	82-97	2005
Seike M, <u>Kondo T</u> , <u>Yamada T</u> , et al.	Proteomic signatures for histological types of lung cancer.	Proteomics	5	2939-2948	2005
近藤 格	バイオインフォマティクスを用いた疾患 Omicsによる疾患マーカーの開発	臨床検査	49	1524-1526	2005
近藤 格	プロテオミクスによる癌の悪性形質を裏付けるタンパク質群の同定	実験医学		1078-1082	2005
近藤 格、廣橋 説雄	癌のプロテオーム研究-二次元電気泳動と質量分析を用いて	病理と臨床(臨時増刊号)	22	9-13	2004
近藤 格	二次元電気泳動を用いた臨床マーカーの開発 -必要とされる技術開発と臨床研究への応用-	J Electrophoresis	48	89-91	2004
近藤 格	蛍光二次元電気泳動法を用いたプロテオーム解析	生化学	76	385-390	2004
近藤 格	腫瘍マーカー開発のためのプロテオミクス	生体の科学	54	420-427	2003
佐々木一樹	膀胱癌マーカー	G.I.Research	vol.13, no.2	35-39	2005
佐々木一樹、南野直人	循環器病学におけるペプチドミクス	分子血管病	vol.6, no.6	39-46	2005
佐々木一樹、南野直人	ペプチドーム解析の現状と展望	実験医学増刊	23	133-140	2005
Miyakura Y, <u>Maekawa M</u> , et al.	Methylation profiles of the <i>MLH1</i> promoter region and its relationship to colorectal carcinogenesis.	Genes, Chromosomes & Cancer	35	17-25	2003
Li J, <u>Maekawa M</u> , et al.	A common truncated variant of lipoprotein lipase in the Japanese population is characterized by increased atherosclerotic risk.	Clin Chem Lab Med	41	1304-1308	2003
<u>Maekawa M</u> , et al.	Hypermethylation of the promoter for the <i>LDHB</i> gene in cancer causes silencing of lactate dehydrogenase isoenzymes 1 to 4.	Clin Chem	49	1518-1520	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ishikawa J, <u>Maekawa M</u> , et al.	Lactate dehydrogenase (LD) extra isoenzyme electrophoretic band between LD1 and LD2 caused by a complex with alpha1-lipoprotein. A case report.	Clin Chem Lab Med	42	102-104	2004
Miyakura Y, <u>Maekawa M</u> , et al.	Extensive but hemiallelic methylation of the hMLH1 promoter region in early-onset sporadic colon cancers with microsatellite instability.	Clin Gastroenterol Hepatol	2	147-156	2004
Takeshita A, <u>Maekawa M</u> , et al.	Impairment of heart rate variability control during arsenic trioxide treatment for acute promyelocytic leukemia.	Leukemia	18	647-648	2004
Sahara N, <u>Maekawa M</u> , et al.	Phenylarsine oxide (PAO) more intensely induces apoptosis in acute promyelocytic leukemia and As2O3-resistant APL cell lines than As2O3 by activating the mitochondrial pathway.	Leuk Lymphoma	45	987-995	2004
Takeshita A, <u>Maekawa M</u> , et al.	Deletion 6p23 and add(11)(p15) leading to NUP98 translocation in a case of therapy-related atypical chronic myelocytic leukemia transforming to acute myelocytic leukemia.	Cancer Genet Cytogenet	152	56-60	2004
<u>Maekawa M</u> , et al.	Three-dimensional microarray compared with PCR-single-strand conformation polymorphism analysis/DNA sequencing for mutation analysis of K-ras codons 12 and 13.	Clin Chem	50	1322-1327	2004
<u>Maekawa M</u> , et al.	Methylation of mitochondrial DNA is not a useful marker for cancer detection.	Clin Chem	50	1480-1481	2004
Ishikawa J, <u>Maekawa M</u> , et al.	High lactate dehydrogenase isoenzyme 1 in a patient with malignant germ cell tumor is attributable to aberrant methylation of the LDHA gene.	Clin Chem	50	1826-1828	2004
Shinmura K, <u>Maekawa M</u> , et al.	Inactivating mutations of the human base excision repair gene NEIL1 in gastric cancer.	Carcinogenesis	25	2311-2317	2004
<u>Maekawa M</u> , et al.	Problem with Detection of an Insertion-Type Mutation in the BCHE Gene in a Patient with Butyrylcholinesterase Deficiency.	Clin Chem	50	2410-2411	2004
<u>Maekawa M</u> , et al.	Pilot study of arbitrarily primed PCR-single stranded DNA conformation polymorphism analysis for screening genetic polymorphisms related to specific phenotypes.	Clin Chim Acta	355	181-184	2005
Ishikawa J, <u>Maekawa M</u> , et al.	Increased creatine kinase BB activity and CKB mRNA expression in patients with hematologic disorders: relation to methylation status of the CKB promoter.	Clin Chim Acta	361	135-140	2005

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Izumi M, <u>Maekawa M.</u> et al.	Increased serum alkaline phosphatase activity originating from neutrophilic leukocytes.	Clin Chem	51	1751-1752	2005
Shinjo K, <u>Maekawa M.</u> et al.	Delayed recovery of normal hematopoiesis in arsenic trioxide treatment of acute promyelocytic leukemia: a comparison to all-trans retinoic acid treatment.	Intern Med	44	818-824	2005
Takeshita A, <u>Maekawa M.</u> et al.	Efficacy of gemtuzumab ozogamicin on ATRA- and arsenic-resistant acute promyelocytic leukemia (APL) cells.	Leukemia	19	1306-1311	2005
Nagaoka T, <u>Maekawa M.</u> et al.	Use of a three-dimensional microarray system for detection of levogloxacin resistance and the mecA gene in Staphylococcus aureus.	J Clin Microbiol	43	5187-5194	2005
Takeshita A, <u>Maekawa M.</u> et al.	Two patients with all-trans-retinoic acid-resistant acute promyelocytic leukemia treated successfully with gemtuzumab ozogamicin as a single agent.	Int J Hematol	82	445-448	2005
Shimizu F, <u>Nakayama I.</u> et al.	Usefulness of the real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay targeted to $\alpha 1,4$ -N-acetylglucosaminyltransferase for the detection of gastric cancer.	Lab Invest	83	187-197	2003
Kasai H, <u>Nakayama I.</u> et al.	Differential expression of ribosomal proteins in human normal and neoplastic clorectum.	J Histochem Cytochem	51	567-573	2003
Nakajima K, <u>Nakayama I.</u> et al.	Expression of gastric gland mucous cell-type mucin in normal and neoplastic human tissues.	J Histochem Cytochem	51	1689-1698	2003
<u>Nakayama I.</u> et al.	Implantation-dependent expression of trophinin by maternal Fallopian tube epithelia during tubal pregnancies: Possible role of human chorionic gonadotrophin on ectopic pregnancy.	Am J Pathol	163	2211-2219	2003
Suzuki M, <u>Nakayama I.</u> et al.	Polysialic acid and mucin-type O-glycans on the neural cell adhesion molecule (NCAM) differentially regulate myoblast fusion.	J Biol Chem	278	49459-49468	2003
Tomatsu S, <u>Nakayama I.</u> et al.	Mouse model of N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase deficiency (Galns ^{-/-}) produced by targeted disruption of the gene defective in Morquio A disease.	Hum Mol Genet	12	3349-3358	2003
Kyoshima K, <u>Nakayama I.</u> et al.	Gross total surgical removal of malignant glioma from the medulla oblongata: report of two adult cases with reference to surgical anatomy.	J Clin Neurosci	11	75-80	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hiraoka N, <u>Nakayama I</u> , et al.	Core 2 branching b1,6-N-acetylglucosaminyltransferase and high endothelial venule-restricted sulfotransferase collaboratively control lymphocyte homing.	J Biol Chem	279	3058-3067	2004
Nakane T, <u>Nakayama I</u> , et al.	Molecular cloning and expression of HRLRRP, a novel heart-restricted leucine-rich repeat protein.	Biochem Biophys Res Commun	314	1086-1092	2004
Yoshizawa A, <u>Nakayama I</u> , et al.	Malignant granular cell tumor of the esophagus.	(letter) Virchows Arch	444	304-306	2004
Kyoshima K, <u>Nakayama I</u> , et al.	Symmetric dumbbell ganglioneuromas of bilateral C2 and C3 roots with intradural extension associated with von Recklinghausen's disease: case report.	Surg Neurol	61	468-473	2004
Kobayashi M, <u>Nakayama I</u> , et al.	Pulmonary lymphoepithelioma-like carcinoma: predominant infiltration of tumor-associated cytotoxic T lymphocytes might represent the enhanced tumor immunity.	Intern Med	43	323-326	2004
Kaneko T, <u>Nakayama I</u> , et al.	Degenerative thalamic hamartoma: CT and MR imaging features.	Am J Neuroradiol	25	766-768	2004
Hatakeyama S, <u>Nakayama I</u> , et al.	Functional correlation of trophinin expression with the malignancy of testicular germ cell tumor.	Cancer Res.	64	4257-4262	2004
Isawa M, <u>Nakayama I</u> , et al.	Polysialic acid and HNK-1 are expressed in the adult rat vestibular endorgans.	Neuroreport	15	1575-1578	2004
Kawakubo M, <u>Nakayama I</u> , et al.	Natural antibiotic function of a human gastric mucin against Helicobacter pylori infection.	Science	305	1003-1006	2004
Sakai K, <u>Nakayama I</u> , et al.	Inducible expression of p57KIP2 inhibits glioma cell motility and invasion.	J Neurooncol	68	217-223	2004
Kobayashi M, <u>Nakayama I</u> , et al.	Induction of peripheral lymph node addressin in human gastric mucosa infected by Helicobacter pylori.	Proc Natl Acad Sci USA	101	17807-17812	2004
Suzuki F, <u>Nakayama I</u> , et al.	MCI-186 (edaravone), a free radical scavenger, attenuates hepatic warm ischemia-reperfusion injury in rats.	Transplant Int	18	844-853	2005
Harada O, <u>Nakayama I</u> , et al.	Malignant myoepithelioma (myoepithelial carcinoma) of soft tissue.	Pathol Int	55	510-513	2005
Ogawa S, <u>Nakayama I</u> , et al.	Crucial roles of mesodermal cell lineages in a murine embryonic stem cell-derived in vitro liver organogenesis system.	Stem Cells	23	903-913	2005

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Suzuki M, <u>Nakayama J</u> , et al.	Polysialic acid facilitates tumor invasion by glioma cells.	Glycobiology	15	887-894	2005
Hagisawa S, <u>Nakayama J</u> , et al.	Expression of core 2 b1,6-N-acetylglucosaminyltransferase facilitates prostate cancer progression.	Glycobiology	15	1016-1024	2005
Kawashima H, <u>Nakayama J</u> , et al.	N-Acetylglucosamine-6-O-sulfotransferase-1 and -2 cooperatively control lymphocyte homing through L-selectin ligand biosynthesis in high endothelial venules.	Nat Immunol	6	1096-1104	2005
Mita A, <u>Nakayama J</u> , et al.	Expression of Fas ligand by hepatic macrophages in patients with fulminant hepatic failure.	Am J Gastroenterol	100	2551-2559	2005
Nakatsuka A, <u>Nakayama J</u> , et al.	Arachidonic acid-induced COX-1 and COX-2-mediated vasodilation in rat gingival arterioles in vivo.	Jpn J Physiol	55	293-302	2005
Suzuki C, <u>Nakayama J</u> , et al.	Efficacy of mycophenolic acid combined with KRP-203, a novel immunomodulator, in a rat heart transplantation model.	J Heart Lung Transpl	25	302-309	2006
Harada O, <u>Nakayama J</u> , et al.	Female adnexal tumor of probable wolffian origin: A morphological, immunohistochemical, and ultrastructural study with c-kit gene analysis.	Pathol Int	56	95-100	2006
Ishizone S, <u>Nakayama J</u> , et al.	Clinical utility of quantitative RT-PCR targeted to a1,4-N-acetylglucosaminyltransferase mRNA for detection of pancreatic cancer.	Cancer Sci	97	119-126	2006
Mori M, <u>Nakayama J</u> , et al.	Lanosterol synthase mutations cause cholesterol deficiency-associated cataracts in the Shumiya cataract rat.	J Clin Invest	116	395-404	2006
Ferreira B, <u>Nakayama J</u> , et al.	Terminal a1,4-linked N-acetylglucosamine in Helicobacter pylori associated intestinal metaplasia of the human stomach and gastric carcinoma cell lines.	J Histochem Cytochem			in press
Omachi T, <u>Nakayama J</u> , et al.	Immunohistochemical demonstration of proliferating lymphatic vessels in colorectal carcinoma and its clinicopathological significance.	Cancer Lett			in press
川久保雅友, <u>中山淳</u> et al.	ヒト胃ムチンに本来備わっているヘリコバクター・ピロリ感染に対する抗菌作用	実験医学	23	287-289	2005
川久保雅友, <u>中山淳</u> , et al.	ピロリ菌と糖鎖	遺伝子医学MOOK	3	234-238	2005

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
中山 淳, et al.	ピロリ菌から胃粘膜を守るIII型粘液	細胞	37	432-435	2005
中山 淳, et al.	Helicobacter pylori感染胃粘膜における腺粘液の役割. - α 1,4-N-アセチルグルコサミン転移酵素遺伝子を用いた機能解析-	Helicobacter Research			in press
Yasuda J, <u>Yamada T</u> , et al.	Nemo-like kinase suppresses a wide range of transcription factors, including nuclear factor- κ B.	Cancer Sci.	95(1)	52-57	2004
Kondo T, <u>Yamada T</u> , et al.	Application of sensitive fluorescent dyes in linkage of laser microdissection and two-dimensional gel electrophoresis as a cancer proteomic study tool.	Proteomics	3(9)	1758-1766	2003
Seike M, <u>Yamada T</u> , et al.	Proteomic analysis of intestinal epithelial cells expressing stabilized beta-catenin.	Cancer Res.	63(15)	4641-4647	2003
Yasuda J, <u>Yamada T</u> , et al.	Nemo-like kinase induces apoptosis in DLD-1 human colon cancer cells.	Biochem Biophys Res Commun.	308(2)	227-233	2003
Terasaki H, <u>Yamada T</u> , et al.	Lung adenocarcinoma with mixed bronchioloalveolar and invasive components: clinicopathological features, subclassification by extent of invasive foci, and immunohistochemical characterization.	Am J Surg Pathol.	27(7)	937-951	2003
Yoshimura A, <u>Yamada T</u> , et al.	Increased expression of the LGALS3 (galectin 3) gene in human non-small-cell lung cancer.	Genes Chromosomes Cancer	37(2)	159-164	2003
Nitori N, <u>Yamada T</u> , et al.	Prognostic significance of Tissue Factor in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma	Clinical Cancer Research			in press
Honda K, <u>Yamada T</u> , et al.	Actinin-4 increases cell motility and promotes lymph node metastasis of colorectal cancer.	Gastroenterology	Jan;128(1)	51-62	2005
Seike M, <u>Kondo T</u> , <u>Yamada T</u> , et al.	Proteomic signature of human cancer cells.	Proteomics	Sep;4(9)	2776-88	2004
Yokoo H, <u>Yamada T</u> , et al.	Proteomic signature corresponding to alpha fetoprotein expression in liver cancer cells.	Hepatology	Sep;40(3)	609-17	2004
Honda K, <u>Yamada T</u> , et al.	Alternative splice variant of actinin-4 in small cell lung cancer.	Oncogene	Jul 1;23(30)	5257-62	2004
Liu QY, <u>Yamada T</u> , et al.	Regulation of DNaseY activity by actinin- α 4 during apoptosis.	Cell Death Differ	Jun;11(6)	645-54	2004
<u>山田哲司</u>	プロテオミクスの現状と将来	Modern Media	50巻10号	227-232	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
山田哲司、他	MDR1は β -cateninとTCF4転写複合体の標的遺伝子である	分子消化器病	1巻4号	336-341	2004
本田一文、山田哲司	難治がんの早期診断マーカーの探索	検査と技術	33巻2号	172-174	2005
Ono M, <u>Yamada T</u> , et al.	Label-free quantitative proteomics using large peptide data sets generated by nano-flow liquid chromatography and mass spectrometry.	Mol Cell Proteomics			in press
Sato S, <u>Yamada T</u> , et al.	b-catenin interacts with the FUS proto-oncogene product and regulates pre-mRNA splicing.	Gastroenterology	Oct;129(4)	1225-36	2005
Honda K, <u>Yamada T</u> , et al.	Possible Detection of Pancreatic Cancer by Plasma Protein Profiling.	Cancer Res.	Nov 15;65(22)	10613-22	2005
Hayashida Y, <u>Yamada T</u> , et al.	Possible prediction of chemoradiosensitivity of esophageal cancer by serum protein profiling.	Clin Cancer Res.	Nov 15;11(22)	8042-7	2005
Fujii K, <u>Kondo T</u> , <u>Yamada T</u> , et al.	Protein expression pattern distinguishes different lymphoid neoplasms.	Proteomics	Nov;5(16)	4274-86	2005
Hayashida Y, <u>Yamada T</u> , et al.	E-Cadherin Regulates the Association between b-Catenin and Actinin-4.	Cancer Res.	Oct 1;65(19)	8836-45	2005
Hara T, <u>Yamada T</u> , et al.	Identification of 2 serum biomarkers of renal cell carcinoma by surface enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry.	J Urol.	Oct;174(4 Pt 1)	1213-7	2005
Shibata T, <u>Kondo T</u> , et al.	Genetic classification of lung adenocarcinoma based on array-based comparative genomic hybridization analysis: its association with clinicopathologic features.	Clin Cancer Res.	Sep 1;11(17)	6177-85	2005
Kato H, <u>Kondo T</u> , et al.	Genetic profile of hepatocellular carcinoma revealed by array-based comparative genomic hybridization: identification of genetic indicators to predict patient outcome.	J Hepatol.	Nov;43(5)	863-74	2005
Mori Y, <u>Kondo T</u> , <u>Yamada T</u> , et al.	Two-dimensional electrophoresis database of fluorescence-labeled proteins of colon cancer cells.	J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.	Sep 5;823(2)	82-97	2005
Seike M, <u>Kondo T</u> , <u>Yamada T</u> , et al.	Proteomic signatures for histological types of lung cancer.	Proteomics	Jul;5(11)	2939-48	2005
Idogawa M, <u>Yamada T</u> , et al.	Poly(ADP-ribose) polymerase-1 is a component of the oncogenic T-cell factor-4/b-catenin complex.	Gastroenterology	Jun;128(7)	1919-36	2005

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fujii K, <u>Kondo T</u> , <u>Yamada T</u> , et al.	Proteomic study of human hepatocellular carcinoma using two-dimensional difference gel electrophoresis with saturation cysteine dye.	Proteomics	Apr;5(5)	1411-22	2005
Naishiro Y, <u>Yamada T</u> , <u>Kondo T</u> , et al.	Morphological and transcriptional responses of untransformed intestinal epithelial cells to an oncogenic b-catenin protein.	Oncogene	Apr 28;24(19)	3141-53	2005
本田一文、 <u>山田哲司</u>	SELDI-TOF-MS法	THE LUNG perspectives	13(4)	419	2005
本田一文、 <u>山田哲司</u>	腫瘍マーカーと包括的プロテオーム解析:ペプチドの包括的プロファイリングによる非侵襲的腫瘍マーカー開発法	分子呼吸器病学	10(2):133		2005
下重美紀、 <u>山田哲司</u>	血液試料の適切な調整法と解析	バイオテクノロジージャーナル	1(3-4)	148	2006

プロテオミクスの現状と将来

—国立がんセンターにおける試み—

Strategy of the Cancer Proteomics Project in National Cancer Center

やま だ てっ し
山 田 哲 司
Tesshi YAMADA

プロテオミクスの現状と将来

—国立がんセンターにおける試み—

Strategy of the Cancer Proteomics Project in National Cancer Center

やま だ てっ し
山 田 哲 司
Tesshi YAMADA

はじめに

ヒトゲノム解読の完了が宣言され、完全にポストゲノム時代となった。ヒトゲノムの全情報が自由に誰でも机上のパーソナルコンピューターから取り出せる時代である。がんは点突然変異、遺伝子増幅、欠失などの塩基配列の変化（ジェネティックな変化）あるいは塩基配列の変化を伴わないメチル化などのエピジェネティックな変化によるいくつかのがん遺伝子あるいはがん抑制遺伝子の機能異常が蓄積することによって起こる疾患であることは、今日ほぼ間違いないと考えられている。事実1980年代後半から1990年代にかけて、遺伝子解析技術の急速な進歩に伴い、実際のがんで蓄積している遺伝子変化が多数同定されてきた。しかしヒトゲノムプロジェクトの終了によって、自動的にがんの発生、浸潤・転移、治療抵抗性などのメカニズムが明らかになり、治療法が開発されることにはならない。ヒトが持つ遺伝子のほぼすべての塩基配列が同定されたといっても、これはすべての単語を網羅した辞典を手に入れたに過ぎない。分厚い英和辞典があればシェークスピアが解読できるとは誰も思わない。

約3万弱あると推定されているヒトの遺伝子から alternative splicing によっておそらく数十万種の mRNA が作られる。mRNA からペプチド鎖が形成された後も特定のプロテアーゼによる切断、リン酸化、糖鎖付加などの翻訳後修飾、ユビキチン化や SUMO 化に伴い生じる分解にて多種多様に変化したタンパク質が生じ、量が変化する（図1）。さら

にタンパク質が実際に機能するためには、細胞内の特定の部位に局在し、複数のタンパク質が複合体を形成する必要がある（図1）。例えばがん遺伝子のひとつである β -catenin タンパク質は細胞接着分子 cadherin と結合し、その裏打ちタンパク質として働く場合と、転写因子 T-cell factor/Lymphoid enhancer factor と結合し、核内で転写活性化因子として働く場合で機能が異なる¹⁾。このように遺伝子の機能異常に伴いダイナミックに変化するさまざまなタンパク質の発現量、細胞内局在、翻訳後修飾、他のタンパク質との相互作用などが、がんの発生や浸潤・転移、治療抵抗性などの実際の病態を引き起こすものと考えられる。またこうしたタンパク質の特性が分子治療の標的となると考えられる。

プロテオーム (proteome) とはゲノム (genome) から派生した言葉であり²⁾、特定の細胞・組織・器官でゲノムに制御され、特定の条件下で発現されるタンパク質全体をさし、プロテオームを対象とする

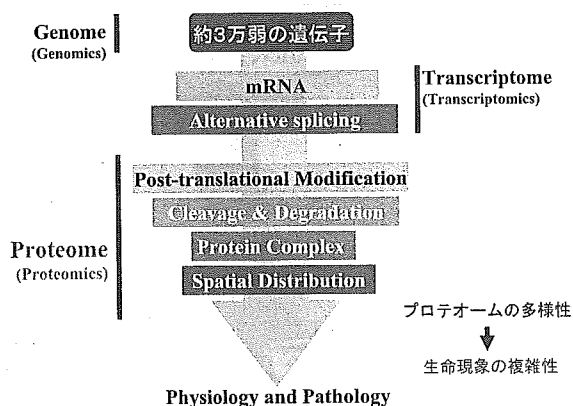


図1 プロテオームの複雑性

国立がんセンター研究所
化学療法部・腫瘍プロテオミクスプロジェクト
〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1

Chemotherapy Division and Cancer Proteomics Project,
National Cancer Center Research Institute
(5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo)

学問がプロテオミクス (proteomics) である。特にタンパク質の機能や疾病との関わりを明らかにするプロテオーム研究が注目を集めている。本稿では国立がんセンター研究所において行われている臨床応用を目指したプロテオーム研究について中心に紹介する。

I. 国立がんセンター研究所腫瘍プロテオミクスプロジェクトの開設

プロテオームを網羅的に解析する手段は cDNA マイクロアレイ技術にて画期的に進歩した遺伝子発現解析に比べれば、かなり不十分である。特に多数の遺伝子の変異が蓄積し、複雑なゲノム異常を来した進行がんのプロテオーム解析は非常に困難であることが予測される。そこで近年急速に進歩した質量分析などのプロテオーム解析技術を改良し、これまでがん克服新 10 年戦略などで蓄積されたがんのゲノムの異常に関する知見を分子創薬や診断法の開発に結びつけるため、国立がんセンター研究所では平成 13 年 4 月より厚生労働省が実施するメディカル・フロンティア戦略のうち、「タンパク質科学研究によるがん対策・創薬等推進事業」を担当し、医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構 (現・独立行政法人医薬品医療機器総合機構) と共同研究を行うこととなった。腫瘍プロテオミクス・プロジェクト (Cancer Proteomics Project) はこの事業の中心

として、同研究所の地下 1 階のフロアーのほぼ全体を改修して、新たに設けられた部署である。研究所の化学療法部や病理部と密接に連携して、Amersham Biosciences 社の 2D-DIGE (two-dimensional difference gel electrophoresis) 法による定量性の高い 2 次元電気泳動 (図 2)、Ciphergen 社のプロテインチップシステムを用いた低分子タンパク質とペプチドのプロファイリング (図 3)、免疫沈降法やピアコアを用いたタンパク質複合体の解明、免疫組織染色によるスクリーニングをロボット化した独自のモノクローナル抗体作製システムなどを用いて、がんの発生、浸潤・転移などの病態の分子機構解明、治療標的分子の同定、がんの早期診断・病態診断に有用な腫瘍マーカーの開発などを目的に研究を行っている (<http://www.ncc.go.jp/jp/nccri/divisions/p03prms/p03prms.html>)。

II. 2D-DIGE 法

検出波長の異なる蛍光色素 (Cy3 と Cy5) で標識した 2 種のタンパク質を混和し、2 次元ゲルで分離・定量するタンパク質発現解析法である。ダイナミックレンジが広く、高感度である蛍光色素の一般特性に加え、2D-DIGE 法では Cy3 で標識したタンパク質を内部コントロールに用いることで格段に 2 次元電気泳動の定量性と再現性が向上している。われわれはこの 2D-DIGE 法に改良を加え、統合的なプロ

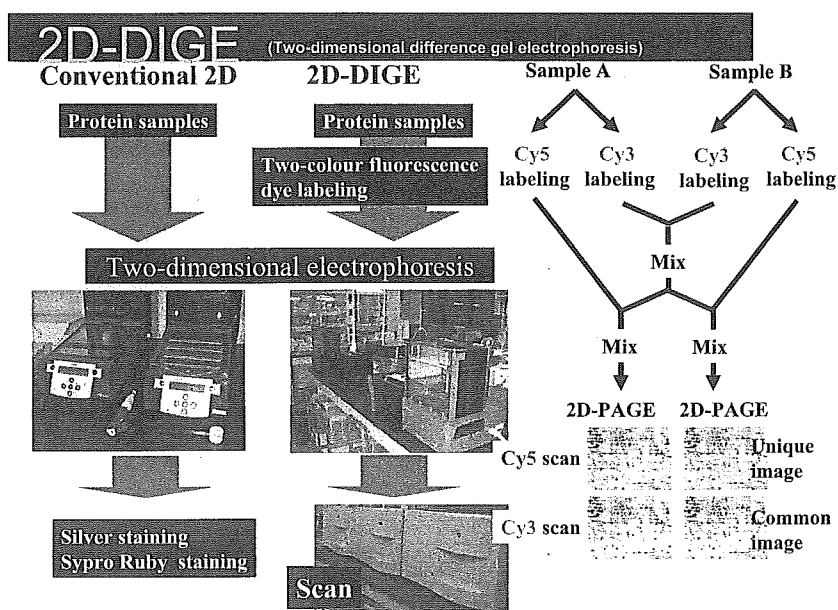


図 2 2D-DIGE 法による 2 次元電気泳動

テオーム発現解析システムを構築している。本システムの特徴は、1)上記の内部コントロールの使用により再現性と定量性に優れること、2)ゲル間の比較が半自動的に高速で行えること、3)1日24検体を処理でき、ハイスループット化に対応していることなどである。高感度な蛍光色素標識法を用いればレーザーマイクロダイセクションにて得られたような微量のタンパク質も2D-DIGEにて解析可能である³⁾。

2次元電気泳動では高分子・疎水性のタンパク質や発現量の低いタンパク質の発現解析は困難であるが(図4)、遺伝子発現解析では得られなかったような鳥瞰的な所見が得られることがあきらかになった⁴⁾。また高分子タンパク質の検出を向上させるために1次元目の泳動にアガロースゲルを使用した報告もある⁵⁾。2次元電気泳動で観察されるスポット



図3 CIPHERGEN社のプロテインチップシステムを用いた低分子タンパク質とペプチドのプロファイリング

に含まれるタンパク質の同定のためのゲルの切り出しはほぼ自動化している(図5)。ゲルからタンパク質そのままを抽出することは困難であるが、トリプシンなどの酵素を用いゲル内でタンパク質を断片化し、ペプチドとしてならゲルから容易に回収できる。得られた複数のペプチドの質量を主としてMALDI-TOF型の質量分析機(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry)にて測定し(図6)、ゲノム情報などに基いて作製されたタンパク質データベースと照合し、同定する方法をPMF(peptide mass fingerprinting)法と呼ぶ⁶⁾。

Ⅲ. 液体クロマトグラフィーと質量分析(liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS))によるプロテオーム

図4にあるような2次元電気泳動法の問題点のうち、特に従来解析が困難であった細胞膜受容体などの疎水性部分を持つタンパク質、高分子タンパク質を解析でき、またタンパク質の同定までの全過程をほぼ自動化できる技術がLC-MSである。今後のプロテオーム解析の中心技術になっていくものと思われる。この方法ではトリプシンなどの消化酵素で粗精製のタンパク質混合物を断片化し、生じたペプチドフラグメントを通常複数種類のカラムを用いた多次元のクロマトグラフィーで分離し、直接ESI型の質量分析機(electrospray ionization mass spectrometry)にて解析する。酵素消化にてさまざまなタン

2D-DIGEの問題点

実験の面では

1. 2Dで解析できない(適さない)タンパク質
 1. 等電点が極端にアルカリ側(>10)または酸性側(<3)のタンパク質
 2. 疎水性のタンパク質(膜タンパク質)
 3. 高分子タンパク質(>100kD) APC, BRCA1/2はだめ。
 4. 微量なタンパク質(転写因子など)
2. 極端に特定のタンパク質に偏っている検体
血清タンパク質(アルブミン)
3. スポットの同定
微量なタンパク質の場合、ゲルからの抽出効率はかなり悪い。

実用面では

1. 自動化ができない
→多検体を泳動するためにはかなり時間がかかる
専任オペレーターが必要
2. 解析ソフトの問題点
ランドマークの設定、解析結果のチェックなどに膨大な時間がかかる
3. 高額なランニングコスト
蛍光色素、人件費

図4 2D-DIGE法による2次元電気泳動の問題点