

200809009A

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

難治がんの創薬バイオマーカー探索研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山田哲司

平成21(2009)年 4月

別添 1

厚生労働科学研究費補助金
創薬基盤推進研究事業

難治がんの創薬バイオマーカー探索研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山田哲司

平成21(2009)年 4月

別添 2

I. 総括研究報告

- 難治がんの創薬バイオマーカー探索研究・・・・・・・・・・ 1
山田哲司

II. 分担研究報告

1. 難治がんの創薬バイオマーカー探索研究・・・・・・・・・・ 4
金井弥栄
2. 難治がんの創薬バイオマーカー探索研究・・・・・・・・・・ 8
山田哲司・佐藤礼子
3. 難治がんの創薬バイオマーカー探索研究・・・・・・・・・・ 18
近藤格
4. 難治がんの創薬バイオマーカー探索研究・・・・・・・・・・ 22
中山敬一

III. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・ 32

IV. 研究成果の刊行物・別刷・・・・・・・・・・ 33

厚生労働科学補助金（創薬基盤推進研究事業）総括研究報告

「疾患関連創薬バイオマーカー探索研究」

氏名	所属	職名
研究代表者 山田哲司	国立がんセンター研究所化学療法部	部長

研究要旨

本研究では、難治がんの外科切除標本を用い、質量分析・蛍光二次元電気泳動・エクソソームなどのゲノム・プロテオームの手法で大規模な定量発現解析と機能解析を行い、がん細胞の生存・増殖に必須な膜タンパク質・酵素・シグナル伝達経路などを同定し、これらの分子（分子経路）の機能を阻害する化合物・抗体医薬を開発することを目的としている。このような大規模オーム解析の実施においては質と量を備え、疾患や病態の多様性に応じて十分数が確保され、説明と同意に基づく倫理性が担保され、精度の高い臨床情報が付随した試料を用いることが必須である。本年度は、肝細胞がん75症例のがん部ならびに非がん部より150検体を収集し、その内43症例（86検体）より全RNAとタンパク質を抽出した。濃度測定と品質検定にて多くの検体で良好な結果を得た。

研究分担者

金井弥栄

国立がんセンター研究所病理部・部長

浅村尚生

国立がんセンター中央病院第一領域
外来部・医長

中山敬一

九州大学生体防御医学研究所・教授

小菅智男

国立がんセンター中央病院・副院長

近藤 格

国立がんセンター研究所プロテオーム
バイオインフォマティクスプロ
ジェクト・リーダー

工藤雅文

アステラス製薬株式会社創薬研究本
部・薬理研究所癌研究室・室長

柴田龍弘

国立がんセンター研究所ゲノム構造
解析プロジェクト・リーダー

竹内雅博

アステラス製薬株式会社創薬研究本
部・薬理研究所癌研究室・主任研究員

A. 研究目的

肝細胞がん、肺がん、胃スキルスがん、膵がんなどの難治がんの外科切除標本を用い、質量分析・蛍光二次元電気泳動・エクソンアレイなどのゲノム・プロテオームの手法で大規模な定量発現解析と機能解析を行い、がん細胞の生存・増殖に必須な膜タンパク質・酵素・シグナル伝達経路などを同定し、これらの分子（分子経路）の機能を阻害する化合物・抗体医薬を開発する。

B. 研究方法

組織検体を液体窒素の存在下で破砕した。RNA抽出にはキアゲン社のRNeasy Plus Mini Kitを用い、濃度測定を行った。RNAの品質測定はアジレント社のバイオアナライザを用いて行った。

タンパク質の抽出には高濃度のウレアを含むタンパク質可溶化液を使って粉末状になった組織検体からタンパク質を抽出した。濃度測定にはブラッドフォード法を用いた。タンパク質サンプルの品質検定にはSDS-PAGE法を用いた。

リン酸化ペプチドの精製の検討にはHeLa細胞抽出物にbovine caseinおよびchick ovalbuminを添加し、トリプシン消化し、脱塩後、IMACによるリン酸化ペプチドの精製を行った。iTRAQ試薬で標識し、QSTAR eliteにて分析した。

(倫理面への配慮)

平成19年8月16日改正文部科学省・厚生労働省「疫学研究に関する倫理指針」などに従い、国立がんセンター倫理委員会に研究の承認を得、倫理面に充分配慮して研究を進めた。手術材料の残余の組織等の研究利用につき文書で同意を得ている。検体は連結可能匿名化し、患者の個人情報保護に充分配慮して進めた。

C. 研究結果

濃度測定と品質測定の結果、エクソンアレイを行うのに必要な量と質(RIN値7以上)のRNAが34症例分(腫瘍組織34検体、非腫瘍組織34検体)より回収できていることが確認された。

タンパク質に関しては合計84検体より十分な量を得ることができた。SDS-PAGEで確認できるような著しい血清タンパク質のコンタミはなく、蛍光二次元電気泳動法に適すると考えられた。

混合物に含まれる量比が異なるリン酸化タンパク質においても、消化やIMAC精製、さらにはiTRAQ標識のプロセスを経ても定量的に回収され、その存在比をiTRAQ法にてほぼ正確に定量可能であることが判明した。

D. 考察

液体窒素に凍結されていた肝細胞癌腫瘍組織および背景肝組織より十分な量と質のRNAおよびタンパク質

サンプルを得ることができた。また、タンパク質のリン酸化を大規模に多点定量するための方法論の確立ができた。

E. 結論

平成21年度より質量分析・蛍光二次元電気泳動・エクソンアレイなどの手法で肝細胞がんの大規模なプロテオーム・ゲノム解析を開始できる準備が整った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

分担研究報告書に記載

H. 知的財産権の出願・登録状況

分担研究報告書に記載

厚生労働科学補助金（創薬基盤推進研究事業）分担研究報告

「難治がんの創薬バイオマーカー探索研究」

	氏名	所属	職名
分担研究者	金井弥栄	国立がんセンター研究所病理部	部長

研究要旨

本研究では、がん細胞の生存・増殖に必須な膜タンパク質・酵素・シグナル伝達経路を同定して分子標的治療薬を開発するために、難治がんの外科切除標本において、国立がんセンターで開発したショットガンプロテオミクス手法である 2DICAL 法等を実施する。本研究には、大規模オーム解析に耐える質と量を備え、疾患や病態の多様性に応じて十分数が確保され、説明と同意に基づく倫理性が担保され、質の高い臨床情報が付随した臨床試料を用いることが必須である。国立がんセンター病理部において日常的に外科病理診断に従事する分担研究者は、外科切除標本のうち病理診断に支障を来さない診療後の残余組織を、個人情報保護と蛋白の保持に留意しつつ収集・保管し、厳密に匿名化して本研究のプロテオーム解析に提供する。さらに、外科切除標本の病理組織学的解析を行い、バイオインフォマティクス処理でプロテオーム解析結果を意義付けするための、詳細な病理情報を提供する。本年度は、慢性肝炎ならびに肝硬変症あるいは B 型ならびに C 型肝炎ウイルス感染を背景とし、分化度・門脈侵襲・多中心性発生・肝内転移の有無等に関して多彩な臨床病理学的特徴を有する、肝細胞がん 75 症例のがん部ならびに非がん部より 150 検体を収集した。これらの検体は、平成 21 年度のプロテオーム解析のために供与する予定である。

A. 研究目的

肝細胞がん、肺がん、胃スキルスがん、膵がんなどの難治がんの外科切除標本を用い、質量分析・蛍光二次元電気泳動・エクソンアレイなどのゲノム・プロテオームの手法で大規模な定量発現解析と機能解析を行い、がん細胞の生存・増殖に必須な膜タンパク質・酵素・シグナル伝達経路などを同定し、これらの分子（分

子経路）の機能を阻害する化合物・抗体医薬を開発する。

B. 研究方法

1. 診療後の残余の組織の研究利用について、文書にて同意の得られている肝細胞がん症例の、外科切除標本が病理部に提出された場合、分担研究者等は直ちに肉眼診断・写真撮影・術中迅速診断等を行い、この間に病理組織診断のための永

久標本作製に支障を来さない部位より研究用組織検体を採取する。採取した組織は、直ちに液体窒素中で急速凍結し、蛋白・核酸の変性・分解を防いで適切に保管する。

2. 永久標本作製後に、顕微鏡的観察・免疫組織化学により個々の症例の臨床病理学的解析を行う。

3. 国立がんセンター研究所において連結可能匿名化業務に従事する「連携研究支援プロジェクト」において、連結可能匿名化したのち、組織検体ならびに病理情報を本研究のオーム解析のために供与する。

(倫理面への配慮)

平成 19 年 8 月 16 日改正文部科学省・厚生労働省「疫学研究に関する倫理指針」に従い、国立がんセンター倫理委員会に研究の承認を得、倫理面に充分配慮して研究を進めた。手術材料の残余の組織等の研究利用につき、患者に対してあらかじめ説明し、文書で同意を得ている。試料の採取に当たっては、患者の治療方針決定のための病理組織標本を迅速に作製して残余の組織を採取することにより、患者への不利益を生じさせなかった。全ての分子病理学的解析は、連結可能匿名化し、患者の個人情報保護に充分配慮して進めた。すなわち、個人識別番号と匿名化番号の対応表は、研究所内におかれた匿名管理者によって終始厳重に管理され、診療情報と同時に閲覧されることはなかった。実験室においては、終始患者個人を特定することなく研究を進めた。

C、研究結果

慢性肝炎ならびに肝硬変症あるいは B 型ならびに C 型肝炎ウイルス感染を背景とし、分化度・門脈侵襲・多中心性発生・肝内転移の有無等について多彩な臨床病理学的特徴を有する、肝細胞がん 75 症例の、がん部ならびに非がん部より、150 検体を収集した。

D、考察ならびに結論

収集した試料は、オーム解析に耐える質と量を備え、多彩な臨床病理学的特徴を有し、説明と同意に基づく倫理性が担保され、詳細な病理情報が付随している。よって、これらの試料を 2DICAL 法等に供することにより、治療標的候補分子を効率的に同定しようと期待される。

F、健康危険情報

特になし

G、研究発表

1、論文発表

1. Arai, E., Ushijima, S., Fujimoto, H., Hosoda, F., Shibata, T., Kondo, T., Yokoi, S., Imoto, I., Inazawa, J., Hirohashi, S., Kanai, Y. Genome-wide DNA methylation profiles in both precancerous conditions and clear cell renal cell carcinomas are correlated with malignant potential and patient outcome. *Carcinogenesis*, 30: 214-221, 2009.
2. Ojima, H., Kanai, Y., Iwasaki, M., Hiraoka, N., Shimada, K., Sano, T., Sakamoto, Y., Esaki, M., Kosuge, T., Sakamoto, M., Hirohashi, S. Intraductal carcinoma

- component as a favorable prognostic factor in biliary tract carcinoma. *Cancer Sci.*, 100: 62-70, 2009.
3. Sekine, S., Ogawa, R., Ito, R., Hiraoka, N., McManus, M.T., Kanai, Y., Hebrok M. Disruption of Dicer1 induces dysregulated fetal gene expression and promotes hepatocarcinogenesis. *Gastroenterology*, in press, 2009.
 4. Sekine, S., Nakanishi, Y., Ogawa, R., Kouda, S. Kanai, Y. Esophageal melanomas harbor frequent NRAS mutations unlike melanomas of other mucosal sites. *Virchows Archiv*, in press, 2009.
 5. Kanai, Y. Overexpression of HDACs: a prognostic marker for gastric cancer identified by tissue microarray. *Lancet Oncol.*, 9: 91-93, 2008.
 6. Kanai, Y. Alterations of DNA methylation and clinicopathological diversity of human cancers. *Pathol. Int.*, 58: 544-558, 2008.
 7. Arai, E., Ushijima, S., Tsuda, H., Fujimoto, H., Hosoda, F., Shibata, T., Kondo, T., Imoto, I., Inazawa, J., Hirohashi, S., Kanai, Y. Genetic clustering of clear cell renal cell carcinoma based on array-comparative genomic hybridization: its association with DNA methylation alteration and patient outcome. *Clin. Cancer Res.*, 14: 5531-5539, 2008.
 8. Nara, S., Shimada, K., Kosuge, T., Kanai, Y., Hiraoka, N. Minimally invasive intraductal papillary-mucinous carcinoma of the pancreas: clinicopathologic study of 104 intraductal papillary-mucinous neoplasms. *Am. J. Surg. Pathol.*, 32: 243-255, 2008.
 9. Kikuchi, R., Tsuda, H., Kozaki, K., Kanai, Y., Kasamatsu, T., Sengoku, K., Hirohashi, S., Inazawa, J., Imoto, I. Frequent inactivation of a putative tumor suppressor, angiopoietin-like protein 2, in ovarian cancer. *Cancer Res.*, 68: 5067-5075, 2008.
 10. Ochiai, H., Nakanishi, Y., Fukasawa, Y., Sato, Y., Yoshimura, K., Moriya, Y., Kanai, Y., Watanabe, M., Hasegawa, H., Kitagawa, Y., Kitajima, M., Hirohashi, S. A new formula for predicting liver metastasis in patients with colorectal cancer: immunohistochemical analysis of a large series of 439 surgically resected cases. *Oncology*, 75: 32-41, 2008.
- ## 2、学会発表
1. Kanai Y. Genome-wide DNA methylation profiles in precancerous conditions and cancers: Carcinogenetic risk estimation and prognostication based on DNA methylation status. Japan-Denmark Joint Workshop on "Molecular Cancer Research", Tokyo, January 2009.
 2. Kanai Y. Carcinogenetic risk estimation and prognostication based on genome-wide analysis of DNA methylation status. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Nagoya, October 2008.
 3. Kanai Y. Genome-wide DNA methylation profiles in precancerous conditions are inherited by cancers: Carcinogenetic risk

estimation and prognostication based on DNA methylation status. Northeast Asian Symposium 2008 "Cancer Epigenetics", Jeju, Korea, November 2008.

4. Arai E, Ushijima S, Tsuda H, Fujimoto H, Hosoda F, Shibata T, Kondo T, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S, Kanai Y. Regional DNA hypermethylation and copy number alterations during renal carcinogenesis. American Association for Cancer Research Special Conference "Cancer Epigenetics", Boston, May 2008.
5. 新井恵吏, 牛島抄織, 藤元博行, 細田文恵, 柴田龍弘, 近藤裕, 横井佐奈, 井本逸勢, 稲澤譲治, 広橋説雄, 金井弥栄. 前がん状態における DNA メチル化プロファイルは通常型腎細胞がん継承されてその悪性度ならびに予後と相関する 第2回日本エピジェネティクス研究会 年会 2008年5月

H, 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

発明の名称: 「BACクローンを用いる腎細胞癌の予後予測方法」

発明者: 金井弥栄、新井恵吏、廣橋説雄、稲澤譲治

出願日: 平成20年9月11日

出願番号: 特願2008-233491

出願人: 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団、国立大学法人東京医科歯科大学

発明の名称: 「BACクローンを用いる肝細胞癌の発生リスク評価方法及び予後予測方法」

発明者: 金井弥栄、新井恵吏、稲澤譲治

出願日: 平成20年12月25日

出願番号: 特願2008-329872

出願人: 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団、国立大学法人東京医科歯科大学

発明の名称: 「BACクローンを用いる尿路上皮癌の細胞癌の発生リスク評価方法及び予後予測方法」

発明者: 金井弥栄、新井恵吏、西山直隆、稲澤譲治

出願日: 平成21年3月11日

出願番号: 特願2009-58156

出願人: 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団、国立大学法人東京医科歯科大学

2、実用新案登録

なし

3、その他

なし

厚生労働科学補助金（創薬基盤推進研究事業）分担研究報告

「難治がんの創薬バイオマーカー探索研究」

	氏名	所属	職名
研究代表者	山田哲司	国立がんセンター研究所化学療法部	部長
研究協力者	佐藤礼子	国立がんセンター研究所化学療法部	研究員

研究要旨

創薬バイオマーカー探索のために、エクソンアレイを用いて肝細胞癌症例における腫瘍組織と非腫瘍組織の間で発現差のある遺伝子産物を同定するための試料調整を行った。国立がんセンター中央病院で手術を受けた肝細胞癌の43症例から得られた86検体（腫瘍組織43検体、非腫瘍組織43検体）よりRNAを抽出し、濃度測定とパイオアナライザによる品質測定を行った。濃度測定と品質測定の結果、エクソンアレイを行うのに必要な量と質のRNAが34症例分（腫瘍組織34検体、非腫瘍組織34検体）より回収できていることが確認された。これらについてはエクソンアレイ解析を阻害するような激しいRNAの分解はパイオアナライザにて確認できなかった。量および品質の点から、回収されたRNAサンプルを用いたエクソンアレイ解析を行うことが可能であることが分かった。

A. 研究目的

肝細胞癌は本邦では悪性腫瘍死の第4位を占める。肝細胞癌の5年生存率は40%程度と不良である。治療成績の向上を目指した診断法と治療法の開発が行われている。

肝細胞癌症例において腫瘍組織と非腫瘍組織の間で発現差を示す遺伝子は診断のためのバイオマーカー候補であると同時に、創薬のための分子標的とみなすことができる。そのような遺伝子を探索する試みは過去に盛んに行われており、多数の論文が発表されている。しかしながら、エクソンレ

ベルでの解析は未だ行われていないため、肝細胞癌特異的なスプライシングバリエントやトランスジーンの見解に至っていない。

本研究では国立がんセンターで手術を受けた肝細胞癌症例の手術検体を用いてエクソンアレイ解析を行い、診断技術や創薬に有用な新たな遺伝子産物の同定を行うことを目的とする。

B. 研究方法

国立がんセンター中央病院にて手術を受けた肝細胞癌84症例を対象とし、切除され保管されていた手術検体

を使用した。

RNA抽出の目的で組織検体を液体窒素の存在下で破碎した。次にキアゲン社のRNeasy Plus Mini Kitを用いて組織検体からRNAを抽出し、濃度測定を行った。RNAの品質測定はアジレント社のバイオアナライザを用いて行った。

(倫理面への配慮)

国立がんセンターの倫理委員会による審査で承認された方法で採取保管され、検体の個人情報が出漏ることがないように匿名化が厳重に行われるように配慮したがん患者の手術検体を用いた。

C、研究結果

合計43症例(腫瘍組織43検体、非腫瘍組織43検体)よりRNAを抽出し、濃度測定とバイオアナライザによる品質測定を行った。濃度測定と品質測定の結果、エクソアレイを行うのに必要な量と質(RIN値7以上)のRNAが34症例分(腫瘍組織34検体、非腫瘍組織34検体)より回収できていることが確認された(表1)。

D、考察

合計34症例分(腫瘍組織34検体、非腫瘍組織34検体)より十分な量のRNAサンプルを得ることができた。品質についてはバイオアナライザで確認できるような激しいRNAの分解がなかったことから、これを用いてエクソアレイ用のプローブ合成を

開始することを計画している。

E、結論

計画している肝細胞癌のエクソアレイ解析のための試料調整を行うことができた。今回の実験で得られたRNAサンプルを使って平成21年度はエクソアレイ解析を行う。

F、健康危険情報

特になし

G、研究発表

1、論文発表

1: **Matsubara J, Ono M, Negishi A, Ueno H, Okusaka T, Furuse J, Furuta K, Sugiyama E, Saito Y, Kaniwa N, Sawada J, Honda K, Sakuma T, Chiba T, Saijo N, Hirohashi S, Yamada T.**

Identification of a predictive biomarker for hematological toxicities of gemcitabine.

J Clin Oncol. In press.

2: **Negishi A, Ono M, Handa Y, Kato H, Yamashita K, Honda K, Shitashige M, Satow R, Sakuma T, Kuwabara H, Omura K, Hirohashi S, Yamada T.**

Large-scale quantitative clinical proteomics by label-free liquid chromatography and mass spectrometry.

Cancer Sci. In press.

3: **Shitashige M, Satow R, Honda K, Ono M, Hirohashi S, Yamada T.**

Regulation of Wnt signaling by the

nuclear pore complex.

Gastroenterology. 2008
Jun;134(7):1961-71.

4: Yamaguchi U, Nakayama R, Honda K, Ichikawa H, Hasegawa T, Shitashige M, Ono M, Shoji A, Sakuma T, Kuwabara H, Shimada Y, Sasako M, Shimoda T, Kawai A, Hirohashi S, Yamada T.

Distinct gene-expression-defined classes of gastrointestinal stromal tumor.

J Clin Oncol. 2008 Sep 1;26(25):4100-8.

5: Kikuchi S, Honda K, Tsuda H, Hiraoka N, Imoto I, Kosuge T, Umaki T, Onozato K, Shitashige K, Yamaguchi U, Ono M, Tsuchida A, Aoki T, Inazawa J, Hirohashi S, Yamada T.

Expression and gene amplification of actinin-4 in invasive ductal carcinoma of the pancreas.

Clin Cancer Res. 2008 Sep 1;14(17):5348-56.

6: Shitashige M, Hirohashi S, Yamada T.

Wnt signaling inside the nucleus.

Cancer Sci. 2008 Apr;99(4):631-7.

7: 尾野雅哉、佐藤礼子、下重美紀、本田一文、山田哲司

癌診断治療のバイオマーカー

Cancer Frontier 2008 10:14-20.

8: 佐藤礼子、下重美紀、本田一文、山田哲司

プロテオミクスによる治療標的分子の探索

鶴尾隆[編] がんの分子標的治療
南山堂 2008.

2、学会発表

9th European Congress of Neuropathology,

Athens, Greece, 8-10 May 2008

Clinicopathologic significance of dysadherin and E-cadherin expression in meningiomas: immunohistochemical analysis of 61 cases

E. Chikui, Y. Nakanishi, Y. Narita, Y. Miyakita, S. Shibui, A. Maeshima, T. Yamada, Y. Kanail, N. Saito and S. Hirohashi

The joint 4th Asia-Oceania Human Proteome Organization (4th AOHUPO)/2nd Pacific-Rim International Conference on Protein Science (2nd PRICPS) symposium

Cairns Convention Center, June 22-26, 2008

Tesshi Yamada

Cancer Proteomics for the Identification of Biomarkers and Therapy Targets

German-Japanese Workshop in Basic Cancer Research

DKFZ, Conference Center, Heidelberg,

Germany, July 10-11, 2008

Tesshi Yamada

From Cancer Genetics to Functional
Proteomics

**36th Congress of the International
Society of Oncology & BioMarkers
(ISOBM2008)**

October 5-9, 2008 Inter Continental
TOKYO BAY (Tokyo)

Tesshi Yamada

Proteomic Approaches to Biomarker and
Therapy Target Discovery for Colorectal
Cancer

**2008 Taiwan-Japan Proteomics
Symposium**

December 3-5, 2008

International Conference Hall, Academia
Sinica, Taipei, Taiwan

Tesshi Yamada

Biomarkers of Pancreatic Cancer
Identified by Large-scale Proteomics

第4回日本臨床プロテオーム研究会

平成20年(2008年)5月10日

大阪国際交流センター

根岸 綾子、尾野 雅哉、小村健、山田
哲司

ホルマリン固定パラフィン包埋組織
を用いた舌扁平上皮癌のバイオマー
カーの探索

尾野 雅哉、根岸 綾子、松原淳一、村
越雄介、本田一文、下重美紀、山田哲
司

2DICAL による修飾タンパク質バイオ
マーカーの発見

本田 一文、尾野 雅哉、山田哲司
膵がん血漿診断マーカーの多施設共
同検証

工藤翔二教授退官記念ならびに弦間
昭彦教授就任祝賀会記念講演会

平成20年(2008年)5月24日(土)

特別講演 山田哲司

ゲノム・プロテオーム研究から臨床応
用へ

第60回日本細胞生物学会大会

平成20年(2008年)6月

「がん浸潤・転移に対するアクチン結合
たんぱく質アクチニン-4の生物学的
機能」

本田 一文、山田 哲司

日本ヒトプロテオーム機構第6回大会

平成20年(2008年)7月29-30日

血漿早期膵がんマーカーの多施設共
同検証

本田一文、尾野雅哉、山田哲司

切除不能膵がんに対するゲムシタピ
ン単剤療法の副作用・効果・予後の各
予測マーカーの開発

松原淳一、尾野雅哉、古瀬純司、上野
秀樹、奥坂拓志、古田 耕、杉山永見
子、斎藤嘉朗、鹿庭なほ子、澤田純一、
千葉 勉、西條長宏、広橋説雄、山田
哲司

2008年(平成20年)8月26日
「プロテオミクスの最新技術」に関する
プレカンファレンスワークショップ

招待講演 山田哲司
バイオマーカー開発を目的とした大規模臨床プロテオーム解析

2008年(平成20年)8月28日
第19回日本消化器癌発生学会総会
教育講演
山田哲司
大腸発がん機構のプロテオーム解析

2008年(平成20年)9月3日聖
マリアンナ医科大学 外科グランド
ラウンド
山田哲司
ゲノム・プロテオームによる癌の診断
と治療法の開発

2008年(平成20年)10月4日
北海道大学腫瘍病理学セミナー
山田哲司
大規模プロテオーム解析とその臨床
応用

2008年(平成20年)10月18
日
平成20年度厚生労働省がん研究助
成金によるシンポジウムと市民公開
講座
山田哲司
プロテオミクス解析に基づく個別化

2008年(平成20年)10月27
日

第28回日本分子腫瘍マーカー研究
会

山口洋、本田一文、山田哲司
胃原発消化管間質腫瘍の予後予測マ
ーカーの有用性検討

2008年(平成20年)10月27
日

第67回日本癌学会学術総会

Kazufumi Honda, Satoru Kikuchi,
Hitoshi Tsuda, Nobuyoshi Hiraoka,
Issei Imoto, Johji Inazawa, Setsuo
Hirohashi, Tesshi Yamada
「Expression and gene amplification
of actinin-4 in invasive ductal
carcinoma of the pancreas」

Miki Shitashige, Reiko Satow,
Takafumi Jigami, Kazufumi Honda,
Setsuo Hirohashi, Tesshi Yamada
「Regulation of Wnt Signaling by the
Nuclear Pore Complex」

Ayako Negishi, Masaya Ono, Setsuo
Hirohashi, Ken Omura, and Tesshi
Yamada 「Quantitative proteomics
using formalin-fixed
paraffin-embedded (FFPE) tissue of
squamous cell carcinoma of the
tongue」

Junichi Matsubara, Masaya Ono,
Junji Furuse, Hideki Ueno, Takuji
Okusaka, Nahoko Kaniwa, Junichi

Sawada, Tsutomu Chiba, Teruhiko Yoshida, Nagahiro Saijo, Setsuo Hirohashi, and Tesshi Yamada
「Identification of a biomarker that predicts hematological adverse events associated with gemcitabine treatment」

Tesshi Yamada 「Combined functional genomics and proteomics toward the identification of therapeutic targets for colorectal cancer」

Umio Yamaguchi, Robert Nakayama, Kazufumi Honda, Hitoshi Ichikawa, Tadashi Hasegawa, Yasuhiro Shimada, Mitsuru Sasako, Tadakazu Shimoda, Akira Kawai, Setsuo Hirohashi, and Tesshi Yamada 「Distinct Gene-expression-defined Classes of Gastrointestinal Stromal Tumor」

Sohei Yamamoto, Hitoshi Tsuda, Kazuhumi Honda, Masashi Takano, Tesshi Yamada, Osamu Matsubara 「The actinin-4 may be an oncogene in 19q13 region in human ovarian cancers」

Murakoshi Y, Ono M, Sasazuki S, Negishi A, Honda K, Tsuchida A, Tsugane S, Hirohashi S, Yamada T.
「Large-scale plasma proteomics of colorectal cancer」

Reiko Satow, Miki Shitashige,

Kazufumi Honda, Setsuo Hirohashi, Tesshi Yamada 「Combined functional genomic survey of therapeutic targets for hepatocellular carcinoma」

H, 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

発明の名称：「 α -アクチニン-4 遺伝子のコピー数または発現レベルを指標とした癌の診断法」

発明者：本田一文、山田哲司、廣橋説雄、稲澤譲治、井本逸勢、津田均、山本宗平、高野政志

出願日：2008年7月2日

出願番号：特願2008-173469（国内出願）

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明の名称：「ゲムシタピン治療による副作用の出現リスク検定方法」

発明者：山田哲司、尾野雅哉、松原淳一、上野秀樹、西條長宏、廣橋説雄

出願日：2008年10月17日

出願番号：特願特願2008-268592（国内出願）

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明の名称：「水酸化プロリン α -フィブリノーゲンタンパク質に対する高親和性モノクローナル抗体」

発明者：能勢博、橋口朋代、尾野雅哉、山田哲司、廣橋説雄

出願日：2008年10月14日（実施例
追加12月25日）

出願番号：特願2008-264742（国内出
願）特願2008-330745（実施例追加）

出願人：株式会社トランスジェニック、
国立がんセンター総長

発明の名称：「膵臓癌の検出法」

発明者：本田一文、山田哲司、廣橋説
雄

出願日：2009年1月30日

出願番号：特願特願2009-019920（国
内出願）

出願人：財団法人ヒューマンサイエン
ス振興財団

2、実用新案登録

なし

3、その他

なし

表 1

sample name	Starting Material Quality					
	Total RNA conc (ng/ul)	vol (ul)	Total (ug)	OD260/280(Total RNA)	Ribosomal 28S/18S	RNA Integrity Number(RIN)
1.1N	1466.30	30	44.0	1.87	0.4	6.6
2.1T	1279.90	30	38.4	1.88	1.1	9.1
3.2N	417.10	30	12.5	1.77	0.8	7.8
4.2T	402.70	30	12.1	1.88	1.1	8.5
5.3N	901.20	30	27.0	1.92	0.7	7.4
6.3T	934.80	30	28.0	1.94	1.2	9.0
7.4N	966.00	30	29.0	1.91	0.9	7.6
8.4T	840.70	30	25.2	1.88	1.6	9.2
9.5N	1348.00	30	40.4	1.91	1.2	8.7
10.5T	1591.50	30	47.7	1.94	1.3	9.0
11.6N	1168.20	30	35.0	1.86	1.1	8.0
12.6T	895.90	30	26.9	1.95	1.7	9.2
13.7N	1027.10	30	30.8	1.89	1.0	7.6
14.7T	1196.40	30	35.9	1.87	1.7	9.2
15.10N	1279.20	30	38.4	1.93	1.0	8.4
16.10T	1177.30	30	35.3	1.92	1.1	9.1
17.11N	607.70	30	18.2	1.87	0.8	7.5
18.11T	1555.30	30	46.7	1.92	1.5	8.6
19.12N	1016.60	30	30.5	1.87	1.0	7.9
20.12T	1914.80	30	57.4	1.92	0.9	8.2
21.13N	893.80	30	26.8	1.88	1.3	8.3
22.13T	1862.00	30	55.9	1.91	1.4	8.1
23.14N	1577.20	30	47.3	1.93	1.2	8.4
24.14T	1410.00	30	42.3	1.96	0.4	7.4
25.15N	1009.70	30	30.3	1.90	1.1	6.8
26.15T	2124.10	30	63.7	1.96	1.7	9.5
27.16N	1636.90	30	49.1	1.92	1.1	8.3
28.16T	1841.30	30	55.2	1.95	1.4	6.8
29.18N	1284.30	30	38.5	1.92	1.1	8.4
30.18T	1580.10	30	47.4	1.91	1.0	9.3

31.19N	713.50	30	21.4	1.85	1.2	8.4
32.19T	2193.50	30	65.8	1.93	1.6	9.3
33.21N	1538.20	30	46.1	1.91	1.2	7.8
34.21T	3110.80	30	93.3	1.97	1.5	9.3
35.22N	1143.90	30	34.3	1.88	1.4	8.7
36.22T	2064.90	30	61.9	1.90	1.2	9.0
37.24N	2347.70	30	70.4	1.92	1.0	7.7
38.24T	1853.00	30	55.6	1.98	1.5	9.3
39.25N	1382.00	30	41.5	1.92	1.3	8.4
40.25T	2607.60	30	78.2	1.91	1.8	9.4
41.27N	1995.00	30	59.9	1.90	1.3	8.4
42.27T	2031.70	30	61.0	1.92	1.3	8.2
43.29N	1871.00	30	56.1	1.94	1.5	8.7
44.29T	1536.30	30	46.1	1.94	2.1	9.1
45.30N	1758.00	30	52.7	1.93	1.4	8.7
46.30T	3250.00	30	97.5	1.94	1.8	9.5
47.32N	1895.20	30	56.9	1.96	1.2	8.5
48.32T	1875.00	30	56.3	1.91	1.5	9.1
49.33N	2709.60	30	81.3	1.91	0.8	8.1
50.33T	4610.00	30	138.3	1.92	1.2	8.2
51.35N	2313.60	30	69.4	1.92	1.0	7.0
52.35T	2430.30	30	72.9	1.91	1.5	9.1
53.37N	2745.20	30	82.4	1.92	1.3	7.6
54.37T	2304.30	30	69.1	1.93	1.4	8.2
55.38N	1941.30	30	58.2	1.95	0.8	6.4
56.38T	2346.70	30	70.4	1.92	1.0	8.2
57.39N	1548.80	30	46.5	1.89	1.2	8.5
58.39T	4152.40	30	124.6	1.93	1.4	9.0
59.41N	1342.10	30	40.3	1.91	1.3	8.7
60.41T	3008.50	30	90.3	1.92	1.7	9.4
61.42N	1481.80	30	44.5	1.90	1.2	8.1
62.42T	3133.80	30	94.0	1.92	1.2	8.2
63.43N	2514.50	30	75.4	1.90	0.8	7.7
64.43T	1355.20	30	40.7	1.92	1.0	8.5
65.47N	965.60	30	29.0	1.96	1.0	5.4

66.47T	1774.00	30	53.2	1.97	1.3	8.0
67.49N	1247.80	30	37.4	1.91	1.0	7.9
68.49T	1400.60	30	42.0	1.94	1.5	9.1
69.50N	2282.60	30	68.5	1.93	1.1	7.4
70.50T	2857.00	30	85.7	1.98	1.4	7.8
71.51N	1727.00	30	51.8	1.92	0.9	6.7
72.51T	1246.10	30	37.4	2.01	1.8	9.1
73.52N	1349.40	30	40.5	1.92	0.7	7.0
74.52T	1610.10	30	48.3	1.87	1.1	8.0
75.54N	856.60	30	25.7	1.97	0.7	6.9
76.54T	999.00	30	30.0	1.93	1.8	9.8
77.55N	72.50	30	2.2	2.15	0.7	7.6
78.55T	2254.30	30	67.6	1.90	1.3	8.3
79.56N	1184.10	30	35.5	1.93	1.2	5.9
80.56T	1563.80	30	46.9	1.94	1.8	9.0
81.57N	1268.30	30	38.0	1.95	1.3	8.6
82.57T	1193.30	30	35.8	1.87	1.6	9.1
83.58N	1353.20	30	40.6	1.97	0.7	8.3
84.58T	1195.10	30	35.9	1.89	1.6	9.3
85.60N	882.20	30	26.5	1.97	1.0	7.6
86.60T	365.60	30	11.0	1.91	1.7	8.4