

- B4 is required for transdifferentiation of somatic cells in vivo. *FASEB J.* **24**, 3462-3467 (2010).
12. 小寺義男, 朝長 毅: 血清・血漿バイオマーカー探索のための新しい前処理法の開発, 実験医学別冊「創薬・タンパク質研究のためのプロテオミクス解析」, pp97-103, 羊土社, 東京, 2010年.
 13. Imai, S., Nagano, K., Yoshida, Y., Okamura, T., Yamashita, T., Abe, Y., Yoshikawa, T., Yoshioka, Y., Kamada, H., Mukai, Y., Nakagawa, S., Tsutsumi, Y. & Tsunoda S. Development of an antibody proteomics system using a phage antibody library for efficient screening of tumor-related biomarker proteins. *Biomaterials* **32**, 162-169 (2011).
 14. Serada, S., Fujimoto, M., Ogata, A., Terabe, F., Hirano, T., Iijima, H., Shinzaki, S., Nishikawa, T., Ohkawara, T., Iwahori, K., Ohguro, N., Kishimoto, T. & Naka, T. iTRAQ-based proteomic identification of leucine-rich alpha-2 glycoprotein as a novel inflammatory biomarker in autoimmune diseases. *Ann. Rheum. Dis.* **69**, 770-774 (2010).
 15. Kim, A., Serada, S., Enomoto, T. & Naka, T. Targeting annexin A4 to counteract chemoresistance in clear cell carcinoma of the ovary. *Expert Opin. Ther. Targets* **14**, 963-971 (2010).
 16. Chan, C.H., Lee, S.W., Li, C.F., Wang, J., Yang, W.L., Wu, C.Y., Wu, J., Nakayama, K.I., Kang, H.Y., Huang, H.Y., Hung, M.C., Pandolfi, P.P. & Lin, H.K. Deciphering the transcriptional complex critical for RhoA gene expression and cancer metastasis. *Nature Cell Biol.* **12**, 457-467 (2010).
 17. Susaki, E., Kaneko-Oshikawa, C., Miyata, K., Tabata, M., Yamada, T., Oike, Y., Katagiri, H. & Nakayama, K.I. Increased E4 activity in mice leads to ubiquitin-containing aggregates and degeneration of hypothalamic neurons resulting in obesity. *J. Biol. Chem.* **285**, 15538-15547 (2010).
 18. Iwatsuki, M., Mimori, K., Ishii, H., Yokobori, T., Takatsuno, Y., Sato, T., Toh, H., Onoyama, I., Nakayama, K.I., Baba, H. & Mori, M. Loss of FBXW7, a cell cycle regulating gene, in colorectal cancer: clinical significance. *Int. J. Cancer* **126**, 1828-1837 (2010).
 19. Ohzono, C., Etoh, S., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Hirota, Y., Tanaka, Y. & Fujita, H. Nedd4-interacting protein 2, a short half-life membrane protein degraded in lysosomes, negatively controls down-regulation of connexin43. *Biol. Pharm. Bull.* **33**, 951-957 (2010).
 20. Hatano, A., Matsumoto, M., Higashinakagawa, T. & Nakayama, K.I. Phosphorylation of the chromodomain changes the binding specificity of Cbx2 for methylated histone H3. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **397**, 93-99 (2010).
 21. Mizokami, A., Tanaka, H., Ishibashi, H., Umebayashi, H., Fukami, K., Takenawa, T., Nakayama, K.I., Yokoyama, T., Nabekura, J., Kanematsu, T. & Hirata, M. GABA(A) receptor subunit alteration-dependent diazepam insensitivity in the cerebellum of phospholipase C-related inactive protein knockout mice. *J. Neurochem.* **114**, 302-310 (2010).
 22. Okumura, F., Matsunaga, Y., Katayama, Y., Nakayama, K.I. & Hatakeyama, S. TRIM8 modulates STAT3 activity through negative regulation of PIAS3. *J. Cell Sci.* **123**, 2238-2245 (2010).
 23. Ma, H., Yu, L., Byra, E.A., Hu, N., Kitagawa, K., Nakayama, K.I., Kawamoto, T. & Ren, J. Aldehyde dehydrogenase 2 knockout accentuates ethanol-induced cardiac depression: role of protein phosphatases. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **49**, 322-329 (2010).
 24. Benirschke, R.C., Thompson, J.R., Nomine, Y., Wasielewski, E., Juranic, N.,

- Macura, S., Hatakeyama, S., Nakayama, K.I., Botuyan, M.V. & Mer, G. Molecular basis for the association of human E4B U box ubiquitin ligase with E2-conjugating enzymes UbcH5c and Ubc4. *Structure* **18**, 955-965 (2010).
25. Tsukada, Y. & Nakayama, K.I. In vitro histone demethylase assay. *Cold Spring Harb. Protoc.* **2010**, pdb prot5512 (2010).
26. Takeda, H., Kawamura, Y., Miura, A., Mori, M., Wakamatsu, A., Yamamoto, J., Isogai, T., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Natsume, T., Nomura, N. & Goshima, N. Comparative analysis of human SRC-family kinase substrate specificity in vitro. *J. Proteome Res.* **9**, 5982-5993 (2010).
27. Hayakawa, H., Fujikane, A., Ito, R., Matsumoto, M., Nakayama, K.I. & Sekiguchi, M. Human proteins that specifically bind to 8-oxoguanine-containing RNA and their responses to oxidative stress. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **403**, 220-224 (2010).
28. Katagiri, K., Ueda, Y., Tomiyama, T., Yasuda, K., Toda, Y., Ikehara, S., Nakayama, K.I. & Kinashi, T. Deficiency of Rap1-binding protein RAPL causes lymphoproliferative disorders through mislocalization of p27kip1. *Immunity* **34**, 24-38 (2011).
29. Onoyama, I., Suzuki, A., Matsumoto, A., Tomita, K., Katagiri, H., Oike, Y., Nakayama, K. & Nakayama, K.I. Fbxw7 regulates lipid metabolism and cell fate decisions in the mouse liver. *J. Clin. Invest.* **121**, 342-354 (2011).
30. Lu, C., Huang, X., Zhang, X., Roensch, K., Cao, Q., Nakayama, K.I., Blazar, B.R., Zeng, Y. & Zhou, X. MiR-221 and miR-155 regulate human dendritic cell development, apoptosis and IL-12 production through targeting of p27kip1, KPC1 and SOCS-1. *Blood* **117**, 4293-4303 (2011).
31. Iriuchishima, H., Takubo, K., Matsuoka, S., Onoyama, I., Nakayama, K.I., Nojima, Y. & Suda, T. Ex vivo maintenance of hematopoietic stem cells by quiescence induction through Fbxw7 α ; overexpression. *Blood* **117**, 2373-2377 (2011).
32. Fotovati, A., Abu-Ali, S., Nakayama, K. & Nakayama, K.I. Impaired ovarian development and reduced fertility in female mice deficient in Skp2. *J. Anat.* **218**, 668-677 (2011).
33. Inoue, S.I., Matsushita, T., Tomokiyo, Y., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Kinoshita, T. & Shimazaki, K.I. Functional analyses of the activation loop of phototropin2 in Arabidopsis. *Plant Physiol.* **156**, 117-128 (2011).
34. Inuzuka, H., Shaik, S., Onoyama, I., Gao, D., Tseng, A., Maser, R.S., Zhai, B., Wan, L., Gutierrez, A., Lau, A.W., Xiao, Y., Christie, A.L., Aster, J., Settleman, J., Gygi, S.P., Kung, A.L., Look, T., Nakayama, K.I., DePinho, R.A. & Wei, W. SCF(FBW7) regulates cellular apoptosis by targeting MCL1 for ubiquitylation and destruction. *Nature* **471**, 104-109 (2011).
35. Wu, H., Pomeroy, S.L., Ferreira, M., Teider, N., Mariani, J., Nakayama, K.I., Hatakeyama, S., Tron, V.A., Saltibus, L.F., Spyropoulos, L. & Leng, R.P. UBE4B promotes Hdm2-mediated degradation of the tumor suppressor p53. *Nature Med.* **17**, 347-355 (2011).
36. Tachiyama, R., Ishikawa, D., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Yoshimori, T., Yokota, S., Himeno, M., Tanaka, Y. & Fujita, H. Proteome of ubiquitin/MVB pathway: possible involvement of iron-induced ubiquitylation of transferrin receptor in lysosomal degradation. *Genes Cells* **16**, 448-466 (2011).
37. Matsumoto, A., Tateishi, Y., Onoyama, I., Okita, Y., Nakayama, K. & Nakayama, K.I. Fbxw7 β resides in the endoplasmic

- reticulum membrane and protects cells from oxidative stress. *Cancer Sci.* **102**, 749-755 (2011).
38. Rodriguez, S., Wang, L., Mumaw, C., Srour, E.F., Celso, C.L., Nakayama, K.I. & Carlesso, N. The SKP2 E3 Ligase regulates basal homeostasis and stress-induced regeneration of hematopoietic stem cells. *Blood*, in press. (2011).
 39. Matsumoto, A., Onoyama, I., Sunabori, T., Kageyama, R., Okano, H. & Nakayama, K.I. Fbxw7-dependent degradation of Notch is required for control of stemness and neuronal-glia differentiation in neural stem cells. *J. Biol. Chem.*, in press. (2011).
 40. Sistrunk, h., Macias, E., Nakayama, K.I., Kim, Y. & Rodriguez-Puebla, M.L. Skp2 is necessary for Myc-induced keratinocyte proliferation but dispensable for Myc oncogenic activity in the oral epithelium. *Am. J. Pathol.*, in press. (2011).
 41. Akama, K., Horikoshi, T., Nakayama, T., Otsu, M., Imaizumi, N., Nakamura, M., Toda, T., Inuma, I., Hirano, H., Kondo, K., Suzuki, S. & Inoue, N. Proteomic identification of differentially expressed genes in neural stem cells and neurons differentiated from embryonic stem cells of cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) in vitro. *Biophys. Biochim. Acta* **1814**, 265-276 (2011).
 42. Kamita, M., Kimura, Y., Ino, Y., Kamp, R. M., Polavoda, B., Sherman, F. & Hirano, H. N^o-Acetylation of yeast ribosomal proteins : Identification by 2D-DIGE MS/MS and analysis of the effect on proteins synthesis. *J. Proteomics* **74**, 431-441 (2011).
 43. Kawashima, A., Tanigawa, K., Akama, T., Wu, H., Sue, M., Yoshihara, A., Ishido, Y., Kobiyama, K., Takeshita, F., Ishii, K. J., Hirano, H., Kimura, H., Sakai, T., Ishii, N. & Suzuki, K. Fragments of genomic DNA released by injured cells activate innate immunity 1 and suppress endocrine function in the thyroid. *Endocrinology* **152**, 1702-1712 (2011).
 44. Masuishi, Y., Arakawa, N. & Hirano, H. Wild-type p53 enhances Annexin IV gene expression in ovarian clear cell adenocarcinoma. *FEBS J.*, in press.
 45. Terasawa, Y., Takata, K., Hirano, H., Kato, K., Kawahara, T., Sasakuma, T. & Sasanuma, T. Genetic variation of high-molecular-weight glutenin subunit composition in Asian wheat. *Genet. Resour. Crop Evol.*, **58**, 283-289, 2011.
 46. Yoshizawa T., Hashimoto, H., Shimizu, T., Yamada, M., Shichijoa, N., Hanada, H., Hirano, H. & Sato, M. Purification, crystallization and initial X-ray diffraction study of basic 7S globulin from soybean. *Acta Crystallogr. Sect. F, Struct. Biol. Cryst. Commun.* **67**, 87-89, 2011.
 47. Cong, W., Hirose, T., Yamashita, A., Mizuno, K., Harita, Y., Hirano, H., Ohno, S. Apoptosis-stimulating protein of p53 (ASPP2) is involved in the PAR complex to regulate epithelial cell polarity. *Current Biol.* **20**, 1408-1414 (2010).
 48. Goto, E., Yamanaka, Y., Ishikawa, A., Aoki-Kawasumi, M., Mito-Yoshida, M., Ohmura-Hoshino, M., Matsuki, Y., Kajikawa, M., Hirano, H. & Ishido, S. Contribution of K11-linked ubiquitination to MIR2-mediated MHC class I internalization. *J. Biol. Chem.* **285**, 35311-35319 (2010).
 49. Izumi, N., Yamashita, A., Iwamatsu, A., Kurata, R., Nakamura, H., Saari, B., Hirano, H., Anderson, P. & Ohno, S. AAA+ proteins RUVBL1 and RUVBL2 coordinate PIKK family and function in nonsense-mediated mRNA decay. *Sci. Signal.* **3**, 1-13 (2010).
 50. Kato, Y., Kawasaki, H., Arakawa, N. & Hirano, H. Subcellular localization of the interaction of bipolar landmarks Bud8p and Bud9p with Rax2p in *Saccharomyces*

- cerevisiae* diploid cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **399**, 525-530 (2010).
51. Kikuchi, J., Iwafune, Y., Akiyama, T., Okayama, A., Nakamura, H., Arakawa, N., Kimura, Y. & Hirano, H. Co- and post-translational modifications of the 26S proteasome in yeast. *Proteomics* **10**, 2769-2779 (2010).
 52. Kimura, Y., Nagata, K., Suzuki, N., Yokoyama, R., Yamanaka, Y., Kitamura, H., Hirano, H. & Ohara, O. Characterization of multiple alternative forms of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K by phosphate-affinity electrophoresis. *Proteomics* **10**, 3884-3895 (2010).
 53. Matsubara, J., Ono, M., Honda, K., Negishi, A., Ueno, H., Okusaka, T., Furuse, J., Furuta, K., Sugiyama, E., Saito, Y., Kaniwa, N., Sawada, J., Shoji, A., Sakuma, T., Chiba, T., Saijo, N., Hirohashi, S. & Yamada, T. Survival prediction for pancreatic cancer patients receiving gemcitabine treatment. *Mol. Cell. Proteomics* **9**, 695-704 (2010).
 54. Satow, R., Shitashige, M., Jigami, T., Honda, K., Ono, M., Hirohashi, S. & Yamada, T. Traf2- and Nck-interacting kinase is essential for canonical Wnt signaling in *Xenopus* axis formation. *J. Biol. Chem.* **285**, 26289-26294 (2010).
 55. Shitashige, M., Satow, R., Jigami, T., Aoki, K., Honda, K., Shibata, T., Ono, M., Hirohashi, S. & Yamada, T. Traf2- and Nck-interacting kinase is essential for Wnt signaling and colorectal cancer growth. *Cancer Res.* **70**, 5024-5033 (2010).
 56. Matsubara, J., Honda, K., Ono, M., Tanaka, Y. N., Kobayashi, M., Jung, G., Yanagisawa, K., Sakuma, T., Nakamori, S., Sata, N., Nagai, H., Ioka, T., Okusaka, T., Kosuge, T., Tsuchida, A., Shimahara, M., Yasunami, Y., Chiba, T., Hirohashi, S. & Yamada, T. Reduced plasma level of CXCL12 chemokine ligand 7 in patients with pancreatic cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **20**, 160-171 (2011).
 57. Miyamoto, Y., Kitamura, N., Nakamura, Y., Futamura, M., Miyamoto, T., Yoshida, M., Ono, M., Ichinose, S. & Arakawa, H. Possible existence of lysosome-like organelle within mitochondria and its role in mitochondrial quality control. *PLoS ONE* **6**, e16054 (2011).
 58. Murakoshi, Y., Honda, K., Sasazuki, S., Ono, M., Negishi, A., Matsubara, J., Sakuma, T., Kuwabara, H., Nakamori, S., Sata, N., Nagai, H., Ioka, T., Okusaka, T., Kosuge, T., Shimahara, M., Yasunami, Y., Ino, Y., Tsuchida, A., Aoki, T., Tsugane, S. & Yamada, T. Plasma biomarker discovery and validation for colorectal cancer by quantitative shotgun mass spectrometry and protein microarray. *Cancer Sci.* **102**, 630-638 (2011).
 59. 尾野雅哉, 松原淳一, 本田一文, 山田哲司: 血漿・血清プロテオミクス解析による診断, 副作用, 予後マーカーの開発, 創薬・タンパク質研究のためのプロテオミクス解析 (小田吉哉, 長野光司編), pp 90-96, 羊土社, 東京, 2010.
 60. 尾野雅哉: 腫瘍マーカー温故知新, がん転移 臨床と研究の羅針盤 (丸義朗編), pp22-26, 学研メディカル秀潤社, 東京, 2010.
 61. Sasaki, K., Takahashi, N., Satoh, M., Yamasaki, M. & Minamino, N. A peptidomics strategy for discovering endogenous bioactive peptides. *J. Proteome Res.* **9**, 5047-5052 (2010).
 62. Osaki, T., Sasaki, K. & Minamino, N. Peptidomics-based discovery of an antimicrobial peptide derived from

- insulin-like growth factor-binding protein 5. *J. Proteome Res.* **10**, 1870-1880 (2011).
63. Uchino, S., Hirasawa, T., Tabata, H., Gonda, Y., Waga, C., Ondo, Y., Nakajima, K. & Kohsaka S. Inhibition of N-methyl-D-aspartate receptor activity resulted in aberrant neuronal migration caused by delayed morphological development in the mouse neocortex. *Neurosci.* **169**, 609-618 (2010).
64. Sanagi, T., Yuasa, S., Nakamura, Y., Suzuki, E., Aoki, M., Warita, H., Itoyama, Y., Uchino, S., Kohsaka, S. & Ohsawa, K. Appearance of phagocytic microglia adjacent to motoneurons in spinal cord tissue from a presymptomatic transgenic rat model of amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurosci. Res.* **88**, 2736-2746 (2010).
65. Yamamoto S, Nakajima K & Kohsaka S.: Macrophage-colony stimulating factor as an inducer of microglial proliferation in axotomized rat facial nucleus. *J. Neurochem.* **115**, 1057-1067 (2010).
66. Hatano, K., Miyamoto, Y., Nonomura, N. & Kaneda Y. GD1a and sialyl paragloboside, is regulated by NF- κ B-dependent transcriptional control of α 2,3-sialyltransferase I, II and VI in human castration-resistant prostate cancer cells. *Int. J. Cancer*, in press (2011).
67. Shida, K., Korekane, H., Misonou, Y., Noura, S., Ohue, M., Takahashi, H., Ohigashi, H., Ishikawa, O. & Miyamoto, Y. Novel ganglioside found in adenocarcinoma cells of Lewis-negative patients. *Glycobiology* **20**, 1594-1606 (2010).
68. Korekane, H., Matsumoto, A., Ota, F., Hasegawa, T., Misonou, Y., Shida, K., Miyamoto, Y. & Taniguchi, N. Involvement of ST6Gal I in the biosynthesis of a unique human colon cancer biomarker candidate, alpha2,6-sialylated blood group type 2H (ST2H) antigen. *J. Biochem.* **148**, 359-370 (2010).
69. Kuwamoto, K., Takeda, Y., Shirai, A., Nakagawa, T., Takeishi, S., Ihara, S., Miyamoto, Y., Shinzaki, S., Ko, J.H. & Miyoshi, E. Identification of various types of α 2-HS glycoprotein in sera of patients with pancreatic cancer: Possible implication in resistance to protease treatment. *Mol. Med., REPORTS* **3**, 651-656 (2010).
70. Nambu, T., Araki, N., Nakagawa, A., Kuniyasu, A., Kawaguchi, T., Hamada, A. & Saito, H. Contribution of BCR-ABL-independent activation of ERK1/2 to acquired imatinib resistance in K562 chronic myeloid leukemia cells. *Cancer Sci.* **101**, 137-142 (2010).
71. Silsirivanit, A., Araki, N., Wongkham, C., Pairojkul, C., Narimatsu, H., Kuwahara, K., Wongkham, S. and Sakaguchi, N. A novel serum carbohydrate marker for cholangio-carcinoma: values for diagnostic and prognostic indicators. *Cancer*, in press.
72. Esaki, K., Terashima, Y., Toda, E., Yoshinaga, S., Araki N., Matsushima, K. & Terasawa, H. Expression and purification of human FROUNT, a common cytosolic regulator of CCR2 and CCR5. *Protein Expr. Purif.* **77**, 86-91 (2011).
73. 荒木令江: 融合プロテオミクスによる病態メカニズムの解析, 『創薬・タンパク質研究のためのプロテオミクス解析』小田吉哉・長野光司編集, pp182-190, 羊土社, 東京, 2010.
74. Kuramitsu, Y., Baron, B., Yoshino, S., Zhang, X., Tanaka, T., Yashiro, M., Hirakawa, K., Oka, M. & Nakamura, K. Proteomic differential display analysis shows up-regulation of 14-3-3 protein

- sigma in human scirrhus-type gastric carcinoma cells. *Anticancer Res.* **30**, 4459-4465 (2010).
75. Kuramitsu, Y., Hayashi, E., Okada, F., Zhang, X., Tanaka, T., Ueyama, Y. & Nakamura, K. Staining with highly sensitive Coomassie Brilliant Blue SeePico™ stain after Flamingo™ fluorescent gel stain is useful for cancer proteomic analysis by means of two-dimensional gel electrophoresis. *Anticancer Res.* **30**, 4001-4005 (2010).
 76. Kuramitsu, Y., Taba, K., Ryozaawa, S., Yoshida, K., Tanaka, T., Zhang, X., Maehara, S., Maehara, Y., Sakaida, I. & Nakamura, K. Identification of up- and down-regulated proteins in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Anticancer Res.* **30**, 3367-3372 (2010).
 77. Taba, K., Kuramitsu, Y., Ryozaawa, S., Yoshida, K., Tanaka, T., Mori-Iwamoto, S., Maehara, S., Maehara, Y., Sakaida, I. & Nakamura, K. KNK437 down-regulates HSP27 of pancreatic cancer cells, and helps the cytotoxic effect of gemcitabine. *Chemotherapy* **57**, 12-16 (2011).
 78. Taba, K., Kuramitsu, Y., Ryozaawa, S., Yoshida, K., Tanaka, T., Maehara, S., Maehara, Y., Sakaida, I. & Nakamura, K. Heat-shock protein 27 is phosphorylated in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells. *Anticancer Res.* **30**, 2539-2543 (2010).
 79. Kuramitsu, Y., Hayashi, E., Okada, F., Tanaka, T., Zhang, X., Ueyama, Y. & Nakamura, K. Proteomic analysis for nuclear proteins related to tumour malignant progression: a comparative proteomic study between malignant progressive cells and regressive cells. *Anticancer Res.* **30**, 2093-2099 (2010).
 80. Kuramitsu, Y., Miyamoto, H., Tanaka, T., Zhang, X., Fujimoto, M., Ueda, K., Hamano, K. & Nakamura, K. Proteomic differential display analysis identified upregulated astrocytic phosphoprotein PEA-15 in human differential display analysis identified upregulated astrocytic phosphoprotein PEA-15 in human malignant pleural methothelioma cell lines. *Proteomics* **9**, 5078-5089 (2009).
 81. Hayashi, E., Kuramitsu, Y., Fujimoto, M., Zhang, X., Tanaka, T., Uchida, K., Fukuda, T., Furumoto, H., Ueyama, Y. & Nakamura, K. Proteomic profiling of differential display analysis for human oral squamous cell carcinoma: 14-3-3 oprotein is upregulated in human oral squamous cell carcinoma and dependent on the differential level. *Proteomics Clin. Appl.* **3**, 1338-1347 (2009).
 82. Tamesa, M.S., Kuramitsu, Y., Fujimoto, M., Maeda, N., Nagashima, Y., Tanaka, T., Yamamoto, S., Oka, M. & Nakamura, K. Detection of autoantibodies against cyclophilin A and triosephosphate isomerase in sera from breast cancer patients by proteomic analysis. *Electrophoresis* **30**, 2168-2181 (2009).
 83. Bell, A.W., Deutsch, E.W., Au, C.E., Kearney, R.E., Beavis, R., Sechi, S., Nilsson, T., Bergeron, J.J. and HUPO Test Sample Working Group (Nakamura, K. et al.): A HUPO test sample study reveals common problems in mass

spectrometry-based proteomics. *Nature Methods* 6, 423-430 (2009).

84. Mori-Iwamoto, S., Taba, K., Kuramitsu, Y., Ryozaawa, S., Tanaka, T., Maehara, Y., Okita, K., Nakamura, K. and Sakaida, I.: Interferon-gamma down-regulates heat shock protein 27 of pancreatic cancer cells and helps in the cytotoxic effect of gemcitabine. *Pancreas* 38, 224-226 (2009).

G-2. 学会発表

1. 朝長 毅: 国内のプロテオミクス研究拠点の動向, 日本ヒトプロテオーム機構第8回大会・第6回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010年7月.
2. 朝長 毅: 近年のプロテオミクス技術の進歩とそのがん研究への応用, 第69回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010年9月.
3. 朝長 毅: 最近のプロテオミクスの進歩 ~ターゲットプロテオミクス: 翻訳後修飾解析とSRMを用いた絶対定量~, 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
4. 久家貴寿: リン酸化プロテオーム解析による大腸癌バイオマーカー探索と検証, 第7回千葉疾患プロテオミクス研究会, 東京, 2010年11月.
5. 田上真次, 柳田寛太, 児玉高志, 佐野聖三, 朝長 毅, 武田雅俊, 大河内正康: アルツハイマー病の発症予期診断バイオマーカー開発を目的とした脳脊髄液中のペプチド解析 amyloid beta42 のサロゲートマーカー, APL1beta28 について, 日本ヒトプロテオーム機構第8回大会・第6回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010年7月.
6. 斎藤達也, 川島祐介, 肥後大輔, 山岸陽子, 曾川一幸, 朝長 毅, 前田忠計, 野村文夫, 小寺義男: SRM分析法を用いた血清中の診断マーカー候補タンパク質・ペプチドの定量分析, 日本ヒトプロテオーム機構第8回大会・第6回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010年7月.
7. 川島祐介, 福富俊之, 朝長 毅, 高橋広樹, 松井 崇, 野村文夫, 前田忠計, 小寺義男: 血清を

対象とした疾患ペプチドミクス, 日本ヒトプロテオーム機構第8回大会・第6回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010年7月.

8. 高木さやか, 尾路祐介, 中村三千代, 福田茉莉, 中塚伸一, 青柳さやか, 辰巳直也, 朝長 毅, 三好新一郎, 根津理一郎, 青笹克之, 杉山治夫: eEF21gG抗体は胃癌、大腸癌、乳癌、非小細胞肺癌の早期診断に有用なマーカーである, 第69回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010年月.
9. 松下一之, 朝長 毅, 梶原寿子, 北村淳史, 佐藤 守, 島田英昭, 伊藤昭博, 松原久裕, 吉田稔, 野村文夫: 新規抗癌剤スプライソスタチンAの細胞毒性にはc-myc転写抑制因子FIRのスプライシング阻害を伴うc-Myc発現増大がみられる, 第69回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010年9月.
10. 梶原寿子, 松下一之, 朝長 毅, 糸賀 栄, 佐藤 守, 島田英昭, 北村淳史, 松原久裕, 吉田 稔, 野村文夫: c-myc転写抑制因子FIRとスプライシング制御因子複合体U2 snRNPsとの相互作用メカニズムについて, 第69回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010年9月.
11. 北村淳史, 松下一之, 滝口裕一, 多田裕司, 山中満佳子, 廣島健三, 島田英昭, 田川雅俊, 松原久裕, 長谷川護, 朝長 毅, 巽 浩一郎, 野村文夫: 悪性胸膜中皮腫細胞移植マウスモデルを用いたc-myc転写抑制因子FIRセンダイウイルスベクターの治療効果, 第69回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010年9月.
12. 風見隆浩, 朝長 毅, 佐藤 守, 久家貴寿, 松下一之, 野村文夫: annexinA2の核内高発現は染色体不安定性に関与する, 第69回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010年9月.
13. 足立 淳, 松田知成: E3ユビキチンリガーゼである芳香族炭化水素受容体(AhR)の標的タンパク質の探索, 日本ヒトプロテオーム機構第8回大会・第6回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010年7月.
14. 足立 淳, 鳴海良平, 佐野聖三, 久家貴寿, 白水 崇, 松本雅記, 中山敬一, 茂木 章, 井倉毅, 高田 穰, 朝長 毅: DNA損傷応答ネットワークにおけるリン酸化・ユビキチン化修飾ダイナミクスのプロテオーム解析, 第33回日

- 本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010 年 12 月.
15. 松田 俊, 足立 淳, 井原 賢, 井倉正枝, 井倉毅, 松田知成: 芳香族炭化水素受容体 (AhR) 複合体のプロテオーム解析, 日本環境変異原学会第 39 回大会, 筑波, 2010 年 11 月.
 16. 久家貴寿, 鳴海良平, 松本雅記, 中山敬一, 松原久裕, 松下一之, 野村文夫, 朝長 毅: 大腸癌臨床検体を用いた定量的大規模リン酸化プロテオーム解析, 日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会・第 6 回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010 年 7 月.
 17. 久家貴寿, 松下一之, 野村文夫, 松原久裕, 中山敬一, 朝長 毅: 大腸癌の大規模リン酸化プロテオーム解析, 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010 年 9 月.
 18. 久家貴寿, 鳴海良平, 村岡 賢, 足立 淳, 松本雅記, 中山敬一, 松原久裕, 松下一之, 野村文夫, 長野一也, 角田慎一, 朝長 毅: 大規模リン酸化プロテオーム解析による大腸癌バイオマーカー探索, 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010 年 12 月.
 19. 盛永敬郎, 阿部紘平, 長谷川智津, 久家貴寿, 岡本 彩, 久保田 翔, 福本泰典, 中山祐治, 朝長 毅, 山口直人: Src 型チロシンキナーゼ Lyn 会合分子の探索. 第 54 回日本薬学会関東支部大会, 東京, 2010 年 10 月.
 20. 久保田 翔, 福本泰典, 盛永敬郎, 石橋賢一, 青山和正, 中山祐治, 久家貴寿, 朝長 毅, 山口直人: Src 型チロシンキナーゼ Lyn の核内基質の探索, 第 54 回日本薬学会関東支部大会, 東京, 2010 年 10 月.
 21. 盛永敬郎, 阿部紘平, 長谷川智津, 久家貴寿, 岡本 彩, 青山和正, 福本泰典, 中山祐治, 朝長 毅, 山口直人: Lyn の細胞内輸送に関わる会合分子の解析, 第 9 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフィオーラム 2010, 京都, 2010 年 10 月.
 22. 盛永敬郎, 阿部紘平, 長谷川智津, 久家貴寿, 久保田 翔, 久保田将一, 福本泰典, 中山祐治, 朝長 毅, 山口直人: 接着細胞の浮遊化における膜係留型 Lyn の細胞内局在変化, 第 32 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 富山, 2010 年 11 月.
 23. 盛永敬郎, 阿部紘平, 長谷川智津, 久家貴寿, 青山和正, 久保田 翔, 福本泰典, 中山祐治, 朝長 毅, 山口直人: 接着細胞の浮遊化における内臓局在化 Lyn のダイナミクス, 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010 年 12 月.
 24. 久保田翔, 福本泰典, 盛永敬郎, 石橋賢一, 青山和正, 中山祐治, 久家貴寿, 朝長 毅, 山口直人: Lyn のクロマチンにおけるチロシンリン酸化シグナリングの解析, 第 131 回日本薬学会年会, 静岡, 2011 年 3 月.
 25. 久米秀明, 鳴海良平, 石濱 泰, 松原久裕, 松下一之, 野村文夫, 朝長 毅: 大腸癌組織膜タンパク質のプロテオーム解析, 日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会・第 6 回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010 年 7 月.
 26. 久米秀明, 松原久裕, 松下一之, 野村文夫, 朝長 毅: 大腸癌組織膜タンパク質のプロテオーム解析, 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010 年 9 月.
 27. 久米秀明, 鳴海良平, 石濱 泰, 松原久裕, 松下一之, 野村文夫, 朝長 毅: 大腸癌の新たなバイオマーカーとなる膜タンパク質の探索, 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010 年 12 月.
 28. 原 康洋, 朝長 毅: 乳癌転移に関わる microRNA(miR-31)のターゲットタンパク質のプロテオーム解析, 日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会・第 6 回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010 年 7 月.
 29. 原 康洋, 朝長 毅: 乳癌転移に関わる microRNA(miR-31)のターゲットタンパク質のプロテオーム解析. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010 年 9 月.
 30. 鳴海良平, 久家貴寿, 松本雅記, 中山敬一, 石飛真人, 稲治英生, 宮本泰豪, 加藤菊也, 朝長 毅: 定量的リン酸化プロテオミクスによる乳癌の予後不良群と予後良好群の比較, 日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会・第 6 回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010 年 7 月.
 31. 鳴海良平, 久家貴寿, 松本雅記, 中山敬一, 石飛真人, 稲治英生, 宮本泰豪, 加藤菊也, 朝長 毅: 定量的リン酸化プロテオミクスによる乳癌組織の予後不良群と予後良好群の

- 比較, 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010 年 12 月.
32. 越中屋里香, 久家貴寿, 久米秀明, 鳴海良平, 足立 淳, 朝長 毅: 細胞核のプロテオーム解析による染色体不安定性関連タンパク質の探索, 日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会・第 6 回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010 年 7 月.
33. 越中屋里香, 久家貴寿, 久米秀明, 鳴海良平, 足立 淳, 朝長 毅: 大腸癌細胞の細胞核プロテオーム解析による染色体不安定性に関連するタンパク質の探索, 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010 年 12 月.
34. 佐野聖三, 田上真次, 大河内正康, 柳田寛太, 武田雅俊, 朝長 毅: MRM 法におけるアルツハイマー病サロゲートマーカー APL18 の定量法の検討, 日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会・第 6 回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010 年 7 月.
35. 金川章子, 尾野雅哉, 朝長 毅: 2DICAL 法を用いた腎癌血漿バイオマーカーの探索, 日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会・第 6 回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010 年 7 月.
36. Adachi, J. & Mann, M.: The human urinary proteome analysis and high-accuracy proteome database, MAPU., HUPO2010, Sydney, Australia, Sept., 2010.
37. 角田慎一: プロテオミクスとプロテインエンジニアリングを活用した新規バイオ医薬の開発, 彩都バイオサイエンスセミナー, 2010 年 10 月.
38. 角田慎一: Search for cancer drug targets by antibody proteomics technology, 第 69 回日本癌学会総会, 大阪, 2010 年 9 月.
39. 鎌田春彦: 抗体工学を駆使した創薬ターゲットの探索技術, 日本薬学会第 131 年会, 静岡, 2011 年 3 月.
40. 山下琢矢, 長野一也, 岡村賢孝, 渡邊貴信, 金崎聡一郎, 今井 直, 阿部康弘, 鎌田春彦, 角田慎二, 堤 康央: 転移の制御を目指した肺がん関連蛋白質の探索, 第 26 回日本 DDS 学会学術集会, 大阪, 2010 年 6 月.
41. 渡邊貴信, 長野一也, 山下琢矢, 岡村賢孝, 金崎聡一郎, 阿部康弘, 鎌田春彦, 角田慎一, 堤 康央: 新規乳がん分子標的治療法の開発を目指した Ephrin receptor A10 に対する scFv 抗体の創製, 第 26 回日本 DDS 学会学術集会, 大阪, 2010 年 6 月.
42. 金崎聡一郎, 長野一也, 山下琢矢, 岡村賢孝, 渡邊貴信, 阿部康弘, 鎌田春彦, 角田慎一, 堤 康央: Ephrin receptor A10 の新規乳がん創薬標的としての有用性評価, 第 26 回日本 DDS 学会学術集会, 大阪, 2010 年 6 月.
43. Nagano, K., Yamashita, T., Imai, S., Abe, Y., Yoshikawa, T., Yoshioka, Y., Kamada, H., Tsutsumi, Y. & Tsunoda S.: Identification and evaluation of novel breast cancer related biomarker proteins by antibody proteomics technology., 21st Meeting of the European Association for Cancer Research, Oslo (Norway), June, 2010.
44. Tsunoda, S., Nagano, K., Yamashita, T., Imai, S., Abe, Y., Yoshikawa, T., Yoshioka, Y., Kamada, H. & Tsutsumi Y.: Identification and evaluation of tumor lymphatic endothelial cell-specific proteins by antibody proteomics technology., 21st Meeting of the European Association for Cancer Research, Oslo (Norway), June, 2010.
45. Kamada, H., Hirose, K., Inoue, M., Abe, Y., Nagano, K., Tsutsumi, Y. & Tsunoda S.: Conformational and functional analysis for quality control of protein drugs using ion mobility mass spectrometry., HUPO2010 World Congress, Sydney (Australia), Sept., 2010.
46. Nagano, K., Yamashita, T., Watanabe, T., Kanasaki, S., Yoshikawa, T., Yoshioka, Y., Abe, Y., Kamada, H., Tsutsumi, Y. & Tsunoda S.: Identification of lymph node metastasis-related proteins in lung cancer by antibody proteomics technology., HUPO2010 World Congress, Sydney (Australia), Sept., 2010.
47. Yamashita, T., Nagano, K., Watanabe, T., Kanasaki, S., Yoshikawa, T., Yoshioka, Y.,

- Itoh, N., Abe, Y., Kamada, H., Tsutsumi, Y. & Tsunoda S.: Identification of lymph node metastasis-related proteins in lung cancer by antibody proteomics technology, HUPO2010 World Congress, Sydney (Australia), 19-23 September, 2010.
48. Watanabe, T., Yamashita, T., Nagano, K., Kanasaki, S., Yoshikawa, T., Yoshioka, Y., Itoh, N., Abe, Y., Kamada, H., Tsutsumi Y. & Tsunoda S.: Proteomics-based analysis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in mice., HUPO2010 World Congress, Sydney (Australia), Sept., 2010.
49. Matsuzaki, S., Serada, S. & Naka, T.: Expression of annexin A4 at endometrial cancer and relation to carboplatin sensitivity., 35th European Society for Medical Oncology (ESMO) Congress, Milan (Italy), Oct., 2010.
50. Matsuzaki, S., Serada, S., Kim, A., Yokoyama, T., Miyatake, T., Ueda, Y., Fujita, M., Enomoto, T., Kimura, T. & Naka, T.: Expression of annexin A4 at endometrial cancer and relation to carboplatin sensitivity., 第 69 回日本癌学会総会, 大阪, 2010 年 9 月.
51. Serada, S., Fujimoto, M., Terabe, F., Nishikawa, T., Kishimoto, T. & Naka, T.: Leucine rich alpha 2 glycoprotein (LRG) is a novel biomarker for monitoring disease activity during therapy in patients with inflammatory autoimmune disease. 第 14 回国際免疫会議, 神戸, 2010 年 8 月.
52. 世良田聡、藤本穰、寺部文隆、西川哲平、仲哲治: 自己免疫疾患の新規活動性マーカーとしての leucine rich alpha 2 glycoprotein: Proteomics-based identification of leucine rich alpha 2 glycoprotein (LRG) as a novel biomarker associated with disease activity of inflammatory autoimmune disorders., 第 8 回日本プロテオーム学会, 浦安, 2010 年 7 月.
53. Umegaki, N., Tamai, K., Nimura, K., Serada, S., Naka, T., Yamazaki, T., Nakano, H., Kaneda, Y. & Katayama, I.: Investigation of roles and molecular mechanisms of karyopherin alpha2 in keratinocyte proliferative disorders., European Society for Dermatological Research, Helsinki (Finland), Sept., 2010.
54. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学の新天地: もうウェスタンブロッティングは要らない?!, 第 74 回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム. (招待講演) 名古屋, 2010 年 5 月.
55. 中山敬一: ユビキチンシステムの網羅的解析基盤の創出. 戦略的創造研究推進事業 (CREST) 「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域・平成 22 年度公開シンポジウム(シンポジウム), 東京, 2010 年 6 月.
56. 中山敬一: プロテオミクスを用いた酵素-基質関係の網羅的解明: ターゲットプロテオミクスの現状と将来, 日本プロテオーム学会 2010 年会. (招待講演) 浦安, 2010 年 7 月.
57. Nakayama, K.I., Yumimoto, K. & Matsumoto, M.: Comprehensive elucidation of enzyme- substrate relationship by proteomics: Say good-bye to western blotting., 6th Global- COE International Symposium: New Horizons for Modern Science - Biology and Medicine at the Crossroads. (Invited speaker), Fukuoka. Aug., 2010.
58. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学の新天地: もうウェスタンブロッティングは要らない?!, Neuro 2010 (シンポジウム) 神戸, 2010 年 9 月.
59. 中山敬一: 次世代プロテオミクスの現状と将来: もうウェスタンブロッティングは要らない?!, 第 69 回日本癌学会学術総会 (モーニングレクチャー), 神戸, 2010 年 9 月.
60. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く新時代の医学生物学: もうウェスタンブロッティングは要らない?!, RNA フロンティアミーティング 2010 (特別講演), 裾野, 2010 年 9 月 9 日.
61. Nakayama, K.I.: Comprehensive elucidation of enzyme-substrate relationship in ubiquitylation by

- differential proteomics: Say good-bye to western blotting., MEXT Priority Research Project "Cell Proliferation Control" International Symposium "Cell Cycle and Cell Differentiation: From A to Z". (Invited speaker) Nagoya, Oct., 2010.
62. 諸石寿朗, 西山正章, 岩井一宏, 中山敬一: ディファレンシャル・プロテオミクス技術を用いた鉄代謝制御ユビキチンリガーゼ Fbx15 の網羅的基質探索と個体における機能解析, 第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸, 2010 年 12 月.
 63. 西山正章, 中山敬一: 発生過程におけるアポトーシスの新しい制御機構: クロマチンリモデリングによる p53 のエピジェネティックコントロール, 第 33 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ), 神戸, 2010 年 12 月.
 64. Shirane, M., Nakayama, K.I.: Protrudin regulates Rab11-dependent synaptic function via interaction with sphingolipid., 第 33 回日本分子生物学会年会 (一般口頭発表), 神戸, 2010 年 12 月.
 65. Hayakawa, H., Ito, R., Sekiguchi, M., Matsumoto, M., Nakayama, K.I.: Human Proteins Specifically Bound to 8-Oxoguanine-containing RNA and their Responses to Oxidative Stress., 第 33 回日本分子生物学会年会 (ワークショップ), 神戸, 2010 年 12 月.
 66. 蟹江共春, 小野山一郎, 松本有樹修, 立石悠基, 中山敬一: サイクリン D1 を抑制するユビキチンリガーゼの遺伝学的再検証, 第 33 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2010 年 12 月.
 67. 片山雄太, 西山正章, 中山敬一: クロマチンリモデリング因子 CHD8 の L 型アイソフォームはマウスの個体発生や細胞分化に必須である, 第 33 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2010 年 12 月.
 68. 松崎美美子, 白根道子, 松本雅記, 中山敬一: Protrudin は KIF5 のアダプタータンパク質として働き、神経機能を制御する. 第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/8 (2010).
 69. 松本有樹修, 洲崎悦生, 小野山一郎, 星野幹雄, 中山敬一: p57 は E2F 活性を調節することにより脳発生に必須の役割担う, 第 33 回日本分子生物学会年会 (一般口頭発表), 神戸, 2010 年 12 月.
 70. 村上裕輔, 岸 ちひろ, 松本雅記, 中山敬一, 塩見泰史, 西谷秀男: Cdt1 の M 期安定化分子機構の解析, 第 33 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2010 年 12 月.
 71. 押川清孝, 松本雅記, 中山敬一: ユビキチン化修飾部位を網羅的に同定する方法の開発と応用, 第 33 回日本分子生物学会年会 (ワークショップ), 神戸, 2010 年 12 月.
 72. Fujita, H., Iwabu, Y., Tokunaga, K., Sata, T., Fujimoto, K., Tachiyama, R., Ishikawa, D., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Tanaka, Y.: The endosomal vesicles carrying ubiquitylated cargos selectively localizes to the cleavage furrow during cytokinesis., 第 33 回日本分子生物学会年会 (一般口頭発表) 神戸, 2010 年 12 月.
 73. 松本雅記, 中山敬一, 五島直樹, 夏目 徹: 次世代プロテオミクスを用いたヒト総プロテオームの絶対定量, 第 33 回日本分子生物学会年会 (ワークショップ), 神戸, 2010 年 12 月 12 月.
 74. 宗岡哲也, 坪井智広, 弓本佳苗, 中山敬一: ユビキチンリガーゼ SCFFbx13 は基質 Cry1 の結合に依存して SCF 複合体を形成する, 第 33 回日本分子生物学会年会 (一般口頭発表) 神戸, 2010 年 12 月.
 75. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学の新天地: もうウェスタンブロットティングは要らない?! , 第 33 回日本分子生物学会年会 (パイオニアズレクチャー), 神戸, 2010 年 12 月.
 76. Okumura, F., Matsunaga, Y., Katayama, Y., Nakayama, K.I., Hatakeyama, S.: TRIM8 modulates STAT3 activity through negative regulation of PIAS3. 第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/9 (2010).
 77. Hatano, A., Matsumoto, M., Higashinakagawa, T., Nakayama, K.I.: Phosphorylation of the chromodomain changes the binding specificity of Cbx2 for

- methyated histone H3, 第 33 回日本分子生物学学会年会, 神戸, 2010 年 12 月.
78. 弓本佳苗, 松本雅記, 小山田浩二, 中山敬一: DiPIUS 法を用いたユビキチンリガーゼ基質の網羅的同定, 第 33 回日本分子生物学学会年会, 神戸, 2010 年 12 月.
 79. 中津海洋一, 松本雅記, 中山敬一: リン酸化プロテオミクスを用いた新規 mTOR 下流分子の網羅的探索と機能解析, 第 33 回日本分子生物学学会年会 (一般口頭発表), 神戸, 2010 年 12 月.
 80. Tateishi, Y., Matsumoto, A., Nakayama, K.I.: Generation and characterization of mice lacking all CIP/KIP CDK inhibitors. 7th Global-COE International Symposium: Cancer Stem Cells, Inflammation and Immunity, Singapore, Feb., 2011.
 81. Okita, Y., Matsumoto, A., Takeishi, S., Kanie, T., Susaki, E., Nakayama, K.I.: p57 is required for quiescence and maintenance of adult hematopoietic stem cells., 7th Global-COE International Symposium: Cancer Stem Cells, Inflammation and Immunity, Singapore, Feb., 2011.
 82. Muneoka, T., Tsuboi, T., Yumimoto, K., Nakayama, K.I.: Association with Cry1 is essential for Fbx13 to form SCF complex. 7th Global-COE International Symposium: Cancer Stem Cells, Inflammation and Immunity, Singapore, Feb., 2011.
 83. Matsuzaki, F., Shirane, M., Matsumoto, M., Nakayama, K.I.: Protrudin is a novel adaptor protein of KIF5 and regulates neuronal function., 7th Global-COE International Symposium: Cancer Stem Cells, Inflammation and Immunity (Oral), Singapore, Feb., 2011.
 84. Moroishi, T., Nishiyama, M., Yumimoto, K., Matsumoto, M., Iwai, K., Nakayama, K.I.: Loss of SCFFbx15 results in deregulation of iron metabolism in mice., 7th Global-COE International Symposium: Cancer Stem Cells, Inflammation and Immunity (Oral), Singapore, Feb., 2011.
 85. 荒川憲昭, 森田絵理奈, 宮城悦子, 平原史樹, 平野 久: 卵巣明細胞腺癌のセクレトーム解析, 東京ベイホテル, 千葉, 日本プロテオーム機構・日本臨床プロテオーム研究会連合大会, 2010 年 7 月.
 86. 荒川憲昭, 森田絵理奈, 武士田寛人, 宮城悦子, 平原史樹, 平野 久: 卵巣明細胞腺癌細胞株のセクレトーム解析による新規卵巣癌マーカーの探索, 第33回日本分子生物学学会年会, 第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
 87. Arakawa, N., Morita, E., Nomura, A., Miyagi, E., Hirahara, F., Kawasaki, H. & Hirano, H.: Secretome analysis of cell lines derived from ovarian clear cell adenocarcinoma, a highly malignant type of ovarian cancer., 9th Human Proteome Organisation World Congress, Sydney (Australia), Sept., 2010.
 88. 平間翔太, 古久保哲朗, 平野 久, 宮地寛登: Cre-lox systemを用いたタンパク質相互作用解析法の開発, 第33回日本分子生物学学会年会, 第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
 89. 平野 久: 育種対象としてみた塩基性 7S グロブリンの特徴, 日本育種学会, 京都, 2010 年 3 月.
 90. 平野 久: 蛋白質の翻訳後修飾と疾患, 第 8 回北里疾患プロテオーム研究会, 東京, 2010 年 9 月.
 91. 平野 久: 蛋白質ペプチドの質量分析“なにが見えるか”東北農業研究センターセミナー, 盛岡, 2010 年 11 月.
 92. Hirano, H., Arakawa, N., Masuishi, Y., Morita, E., Miyagi, E. & Hirahara, F.: Proteome analysis for the discovery of biomarkers and therapeutic targets., 5th AOHUPO Congress, 14th ADNAT Convention & 1st PSI Conference, Hyderabad (India), Feb., 2010.
 93. 平野 久, 荒川憲昭, 増石有佑, 飛田直哉, 森田絵理奈: プロテオームと質量分析, 第 10 回日本蛋白質科学学会年会, 札幌コンベンションセンター, 札幌, 2010 年 6 月.

94. 今泉紀明, 井沼道子, 平野 久, 中村 愛, 戸田年総, 肥後大輔, 赤間邦子: ブタ精子成熟過程におけるユビキチン化タンパク質, 第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
95. Ino, Y., Arakawa, N., Ishiguro, H., Uemura, H., Kubota, Y. & Hirano, H.: Proteomic analysis of androgen-independent prostate cancer cells., 第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
96. Ino, Y., Okayama, A., Arakawa, N. & Hirano, H.: A novel PVDF membrane for on-membrane identification of gel-resolved proteins by MALDI MS., The 17th Meeting of Methods in Protein Structure Analysis, Uppsala, Sweden, Aug., 2010.
97. 木村鮎子, 野村文子, 永田佳代子, 荒川憲昭, 平野 久: 比較リン酸化プロテオーム解析による腫瘍組織型特異的なリン酸化修飾異常蛋白質の探索, 第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
98. 木村弥生, 永田佳代子, 北村 浩, 平野 久, 小原 収: ヘテロ核リボヌクレオタンパク質のモディフィコミクス, 日本プロテオーム機構・日本臨床プロテオーム研究会連合大会, 東京ベイホテル東急, 千葉, 2010年7月.
99. 木村弥生, 永田佳代子, 菅原英俊, 井野洋子, 野村文子, 小原 収, 鶴殿平一郎, 平野 久: ヒト26Sプロテアソームのリン酸化による機能調節, 日本電気泳動学会, 札幌, 2010年9月.
100. 増石有佑, 荒川憲昭, 川崎博史, 宮城悦子, 平原史樹, 平野 久: アネキシンIV遺伝子のプロモーター解析から見えて卵巣明細胞腺癌の分子生物学的特徴, 日本プロテオーム機構・日本臨床プロテオーム研究会連合大会, 浦安, 2010年7月.
101. 増石有佑, 荒川憲昭, 川崎博史, 宮城悦子, 平原史樹, 平野 久: 卵巣明細胞腺癌におけるアネキシンIVは新規p53標的遺伝子であり抗癌剤抵抗性に関与する, 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
102. 永田佳代子, 木村弥生, 野村文子, 平野 久: 卵巣明細胞腺癌のチロシンリン酸化プロテオーム解析, 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
103. 野村文子, 荒川憲昭, 山中結子, 勝山真人, 平野 久: 血管型NADPHオキシダーゼによる標的タンパク質のレドックス制御機構の解明, 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
104. Satake, T., Hirano, H., Yamanaka, Y., Ohno, S. & Hirani, S.: Regulator mechanism of Kinesin-1 motor activity through JIP1., 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
105. Takahashi, E., Okamura, T., Hirano, H., Yasuda, K. & Kaburagi, Y. Proteomic analysis of serum proteins in diabetic LEA/SENDAI rats., 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
106. Yoshizawa, T., Hashimoto, H., Shimizu, T., Hirano, H. & Sato, M. Crystal structure of xyloglucan specific endo- β -1,4-glucanase from *Aspergillus aculeatus*. 第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月.
107. Minamino, N.: How to apply mass spectrometry to heart research. 20th World Congress of the International Society for Heart Research, Kyoto (Japan), May, 2010.
108. 佐々木一樹, 南野直人: ペプチドミクスで明らかにされる生理活性ペプチド分解のプロセス, 日本ヒトプロテオーム機構第8回大会・第6回日本臨床プロテオーム研究会, 千葉, 2010年7月.
109. Sasaki, K., Takahashi, N., Satoh, M., M. Yamasaki, M. & Minamino, N.: An approach to identifying endogenous functional peptides in a set of sequence

- information provided by mass spectrometry., The Fifth International Peptide Symposium, Kyoto (Japan), Dec., 2010.
110. Ohsawa, K., Sanagi, T., Irino, Y., Nakamura, Y., Suzuki, E., Inoue, K. & Kohsaka, S.: P2Y12 receptor-mediated integrin-β1 activation regulates microglial process extension induced by ATP., The 29th Naito Conference, Glia World? Dynamic Function of Glial Cells in the Brain, Kanagawa (Japan), Oct., 2010.
 111. 佐柳友規, 大澤圭子, 中村泰子, 鈴木恵里, 青木正志, 割田 仁, 糸山泰人, 内野茂夫, 高坂新一: 顔面神経軸索損傷負荷後の ALS モデルラットにおける運動ニューロン脆弱性に関するミクログリアの機能の解析, 第 33 回日本神経科学大会・第 53 回日本神経化学学会大会・第 20 回日本神経回路学会大会, 神戸, 2010 9 月.
 112. 難波隆志, 服部功太郎, 功刀 浩, 貝淵弘三, 内野茂夫, 高坂新一: NMDA 受容体シグナルは統合失調症脆弱性因子 DISC1 を介して成体海馬における新生ニューロンの移動を抑制する, 第 33 回日本神経科学大会・第 53 回日本神経化学学会大会・第 20 回日本神経回路学会大会, 神戸, 2010 9 月.
 113. 大澤圭子, 佐柳友規, 中村泰子, 鈴木恵里, 井上和秀, 高坂新一: アデノシンシグナルによるミクログリアの遊走と突起伸長調節, 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学大会合同年会, 神戸, 2010 年 12 月.
 114. Shida, K., Korekane, H. & Miyamoto, Y.: Identification of a Novel Carbohydrate Tumor Marker Candidate Appropriate for Lewis Negative Individual., 25th International Carbohydrate Symposium, Tokyo (Japan), Aug., 2010.
 115. 宮本泰豪, 信田京子, 能浦真吾, 大植雅之, 高橋秀典, 大東弘明, 石川 治: ルイス型陰性の人に適した新規糖鎖腫瘍マーカー候補の同定, 第 69 回日本癌学会総会, 大阪, 2010 年 10 月.
 116. 荒木 令江: 融合プロテオミクスによる神経系腫瘍の発症メカニズムの解析, 日本生理学会, 盛岡, 2010 年 5 月.
 117. Araki, N., Mizuguchi, S., Morikawa, T., Kobayashi D., Tsubota M., Midorikawa U., Niibori N., Wilson, A., Nakamura, H. & Kuratsu, J.: Analysis of cellular signals activated in the tumor tissue related to chemotherapy sensitivity by Integrated Proteomics., 日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会 JHUPO, 東京, 2010 年 7 月.
 118. 小林大樹, 平山未央, 森川 崇, 水口惣平, 長山 慈, ウィルソン森藤政代, 荒木令江: 統合プロテオミクスによる新規な神経系疾患関連分子群の同定と機能解析, 日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会 JHUPO, 東京, 2010 年 7 月.
 119. 水口惣平, 森川 崇, 坪田誠之, 緑川宇一, 小林大樹, 中村英夫, 倉津純一, 荒木令江: バイオインフォマティクスと統合プロテオミクスの手法を用いた病態組織細胞内の活性化分子ネットワークの解析, 日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会 JHUPO, 東京, 2010 年 7 月.
 120. 荒木 令江: 腫瘍医学教育における最先端基礎研究概念の導入の必要性と展望, 第 42 回日本医学教育学会大会, 東京, 2010 年 7 月.
 121. Araki N.: A quick cancer proteome validation system by a fully automated 2DE-western blotting device., HUPO2010 (Human Proteome World Congress Sydney 2010) Sydney, Australia, September 2010.
 122. Mizuguti, S., Morikawa, T., Tsubota, N., Midorikawa, U., Niibori, A., Kobayashi, D., Nakamura, H. & Kuratsu, J. & Araki, N.: Integrated proteomics of brain tumor cell signals related to chemotherapy sensitivity. , HUPO2010 (Human Proteome World Congress Sydney 2010) Sydney, Australia, September 2010.
 123. Kobayashi, D., Kumagai, J., Morikawa, T., Hirayama, M., Wilson, A., Wilson, M. & Araki, N.: A proteomic integrated approach for targeting and elucidating the functions of novel proteins involved in neuronal differentiation and disorders.,

- HUPO2010 (Human Proteome World Congress Sydney 2010) Sydney, Australia, September 2010.
124. 森藤政代, 水口惣平, 新堀晶子, 小林大樹, 森川 崇, 荒木令江: ヘテロな細胞集団における HIF シグナル伝達を介した転移性癌細胞の発育機構の解明, 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010 年 9 月.
 125. 荒木令江: 統合プロテオミクスによる腫瘍細胞内活性化シグナル分子群の解析と創薬への応用, 第 69 回日本癌学会学術総会ランチョンセミナー招待講演, 大阪, 2010 年 9 月.
 126. 荒木令江: 融合プロテオミクス解析による疾患原因タンパク質群の同定方法及び、薬剤効果検出方法, 平成 22 年度 JST 九州横断新技術講演会, 東京, 2010 年 12 月.
 127. 平山未央, 小林大樹, 森川 崇, 長山 慈, 緑川宇一, 水口惣平, 荒木令江: 融合プロテオミクスによる NF1 腫瘍抑制タンパク質の神経系細胞内発現抑制による異常シグナルの解析, 第 33 回日本分子生物学会大会・第 83 回日本生化学大会合同大会, 神戸, 2010 年 12 月.
 128. 緑川宇一, 新堀晶子, 水口惣平, 新森加納子, 丸尾祐二, 鶴沼 豊, 中村 眞, 荒木令江: プロテオミクスによるグリオーマ幹細胞分化に関する特異的分子群のプロファイリング解析, 第 33 回日本分子生物学会大会・第 83 回日本生化学大会合同大会, 神戸, 2010 年 12 月.
 129. Mizuguti, S., Morikawa, T., Tsubota, T., Midorikawa U., Niibori, T., Kobayashi, D., Nakamura, H., Kuratsu, J. & Araki, N.: Integrated proteomics of cancer cellular activation signals related to chemotherapy sensitivity., 第 33 回日本分子生物学会大会・第 83 回日本生化学大会合同大会, 神戸, 2010 年 12 月.
 130. Araki, N., Midorikawa, U., Mizuguti, S., Kinoshita, H., Tsubota, N., Morikawa, T., Kobayashi, D., Maruo, Y. & Nakamura, M.: Development of a fully automated 2DE-western blotting system for quick validation and profiling cancer specific proteomes., 第 33 回日本分子生物学会大会・第 83 回日本生化学大会合同大会, 神戸, 2010 年 12 月.
 131. Nakamura, K., Akada, J., Kuramitsu, Y., Furumoto, H., Tanaka, T., Sugihara K., Itoh M. & Oka M.: PROTEOMEX and Cys-tag-Protein Chip Technology for Cancer Biomarker Discovery. HUPO 9th Annual World Congress, Sydney, Australia, Sept., 2010.
 132. Zhang, X-L., Tanaka, T., Kuramitsu, Y., Fujimoto, M. & Nakamura, K.: Proteomic study of endoplasmic reticulum from Jurkat cells during heat stress., HUPO 8th Annual world Congress, Toronto, Canada, Sept., 2009.
 133. Peng, L., Kapp, E.A., Fenyo, D., Kwon, M.S., Jiang, P., Wu, S., Jiang, Y., Aguilar, M., Baker, M., Cai, Z., Chi, P.V., Chung, M., He, F., Nakamura, K., Nagi, S.M., Paik, Y.K., Pan, T.L., Poon, T., Salekdeh, G.H., Siddiqui, N.A., Sideshmukh, R., Srisomsap, C., Svasti, J., Tyan, Y.C., Dreyer, F., Klotz, D., McLauchlan, D, Rawson, P. & Jordan T.M.: Strategies for membrane proteomics. The AOHUPO Membrane Proteomics Initiative. HUPO 8th Annual world Congress, Toronto, Canada, Sept., 2009.
 134. Sugihara, K., Kuramitsu, Y., Tanaka, T., Fujimoto, M., Oka, M. & Nakamura, K.: Proteomic analysis of hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C virus., HUPO 8th Annual world Congress, Toronto, Canada, Sept., 2009.
 135. Sugihara, K., Kuramitsu, Y., Tanaka, T., Fujimoto, M., Oka, M. & Nakamura, K.: Proteomic analysis of hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C virus. HUPO 8th Annual world Congress, Toronto, Canada, Sept., 2009.
 136. Sugihara, K., Kuramitsu, Y., Tanaka, T., Fujimoto, M., Oka, M. & Nakamura, K.:

- Proteomic analysis of hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C virus., HUPO 8th Annual world Congress, Toronto, Canada, Sept, 2009.
137. Nakamura, K., Zhang, X., Kaku, C. & Fujimoto, M.: Invited Lecture, Proteomic profiling of ER fraction from Jurkat cells during heat stress response., 2009TPS International Proteomics Conference and 5th AOHUPO MPI Workshop, Taipei, Taiwan, June, 2009.
138. Sugihara, K., Kuramitsu, Y., Tanaka, T., Fujimoto, M., Oka, M. & Nakamura, K.: Proteomic analysis of hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C virus., HUPO 8th Annual World Congress, Toronto, Canada, Sep., 2009.
139. 藏満保宏, 岩本早耶香, 田場久美子, 藤本正憲, 坂井田功, 中村和行: シンポジウム, プロテオミクスの医学への応用 (抗癌剤 Gemcitabine 感受性関連蛋白のプロテオーム解析による同定), 第7回日本ヒトプロテオーム機構 (JHUPO)大会, 東京, 2009年6月.
140. 中村和行: 特別講演, 電気泳動法の過去・現在・未来, 第60回日本電気泳動学会総会, 松本, 2009年9月.
141. 杉原佳恵, 藏満保宏, 田中寿幸, 中村和行, 岡 正朗: C型肝炎に起因する肝細胞癌のプロテオーム解析, 第60回日本電気泳動学会総会, 松本, 2009年9月.
142. 田中寿幸, 藏満保宏, 張 秀蓮, 内藤誠二, 中村和行: 転移能の異なる腎細胞癌株のプロテオーム解析, 第82回日本生化学会大会, 神戸, 2009年10月.
143. 加藤元士, 木村有香, 長坂祐二, 田中寿幸, 張 秀蓮, 藏満保宏, 中村和行: 2型糖尿病モデル KK-Ay マウスの血漿プロテオーム解析, 第82回日本生化学会大会, 神戸, 2009年10月.
144. 杉原佳恵, 藏満保宏, 田中寿幸, 岡 正朗, 中村和行: C型肝炎に起因する肝細胞癌のプロテオーム解析, 第60回日本電気泳動学会, 松本, 2009年9月.

H. 知的財産権の出願・登録状況

H-1. 特許取得

1. 角田慎一

発明の名称: 抗体、乳がんの治療に用いられる医薬組成物、腫瘍検査方法、及び、腫瘍検査用試薬

出願番号: 特願 2011-57029 号

出願日: 2011年3月15日

出願人: 独立行政法人医薬基盤研究所

発明者: 角田慎一、長野一也、堤 康央

2. 仲 哲治

2-1.

発明の名称: 創傷治癒剤

出願番号: 特願 2010-151139 号

出願日: 2010年7月1日

出願人: 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者: 寿順久、世良田聡、仲 哲治

2-2.

発明の名称: 血管新生誘導分子

出願番号: 特願 2009-275254

出願日: 2009年12月3日

出願人: 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者: 仲 哲治、世良田聡

3. 荒木令江

3-1.

発明の名称: 胆管がん特異的糖鎖エピトープを認識するモノクローナル抗体

出願番号: 特願 2009-025607

出願人: 国立大学法人熊本大学、株式会社トランスジェニック

発明者: 阪口薫雄、荒木令江、他2名、

(国際特許 PCT/JP2010-000708、胆管がん特異的糖鎖エピトープを認識するモノクローナル抗体、出願人: 国立大学法人熊本大学、2010年2月5日出願)

3-2

発明の名称：融合プロテオミクス解析による疾患原因タンパク質群の同定方法および薬剤効果検出方法

出願番号：特願 2010-81524、

出願日：2010年3月31日

出願人：国立大学法人 熊本大学

発明者：荒木令江、他4人

(2011年国際特許出願予定)

3-3.

発明の名称：統合プロテオミクス解析用データ群の生成方法及び同生成方法にて生成した統合プロテオミクス解析用データ群を用いる統合プロテオミクス解析方法

出願番号：特願 2010-81525、

出願日：2010年3月31日

出願人：国立大学法人 熊本大学

発明者：荒木令江、他4人

(2011年国際特許出願予定)

3-4.

発明の名称：統合プロテオミクス解析用データ群の生成方法及び同生成方法にて生成した統合プロテオミクス解析用データ群を用いる統合プロテオミクス解析方法

出願番号：国際特許 PCT/JP2011/58366

出願日：2011年3月31日

出願人：国立大学法人 熊本大学

発明者：荒木令江、水口惣平、森川 崇、坪田 誠之、小林大樹、ウイルソン政代

3-5.

発明の名称：融合プロテオミクスによるNF1 特異的タンパク質の同定方法、NF1 特異的タンパク質発現抑制方法、およびNF1 特異的タンパク質の腫瘍マーカーとしての使用方法

出願番号：特願 2011-071110

出願日：2011年3月28日

出願人：国立大学法人 熊本大学

発明者：荒木令江、小林大樹、水口惣平、平山未央

4. 中村和行

発明の名称：自己抗体の検出方法

出願番号：特願 2010-188841

出願日：平成 22 年 8 月 25 日

出願人：国立大学法人 山口大学

発明者：中村和行 他

H-2. 実用新案登録

なし

H-3. その他

なし

I. 研究協力者

高尾 敏文 大阪大学蛋白質研究所
教授

山本 格 新潟大学大学院医歯学
総合研究科 教授

次世代プロテオミクス解析技術による大規模なバイオマーカーの探索と検証

研究分担者 朝長 毅 独立行政法人医薬基盤研究所 プロジェクトリーダー

研究要旨

疾患関連バイオマーカーの発見には疾患の根本的な原因であるタンパク質の異常を見つけることが必須であり、ヒトの血液、尿、組織などの臨床材料を用いた疾患プロテオミクス研究が重要である。本研究では、癌、生活習慣病、神経疾患等を対象とした疾患バイオマーカーの開発を目的とする。

昨年度はバイオマーカー探索に必要なプロテオミクスの基盤技術を確認し、ヒト臨床検体を用いた大規模なバイオマーカー候補タンパク質の探索を開始した。本年度は、バイオマーカー探索を継続するとともに、バイオインフォマティクスを駆使して、同定された多数のタンパク質の中からバイオマーカーとして有用なタンパク質の絞り込みを行った。さらに、バイオマーカーの実用化に必須である検証法、特に SRM/MRM 法を用いた臨床検体中のタンパク質・ペプチドの正確な定量法を確認した。その手法を用いて、大腸癌・乳癌組織のプロテオーム解析で同定されたバイオマーカー候補タンパク質の検証を行うとともに、血漿中に微量に存在するアルツハイマー病のバイオマーカー候補ペプチドである APL1 β の検出・定量に成功した。

A. 研究目的

国際的な新薬開発競争に際して、シーズとなる疾患関連バイオマーカーの発見、知的財産権の確保は、今後のわが国の医薬品産業の発展に不可欠である。そのためには、疾患の根本的な原因であるタンパク質の異常を見つけることが必須であり、その疾患関連タンパク質の発見にはヒトの血液、尿、組織などの臨床材料を用いた疾患プロテオミクス解析が重要である。これまでもそれらの材料を用いた疾患プロテオミクス解析は行われてきたが、その解析技術の未熟さから比較的量の多いタンパク質しか同定されず、新たなバイオマーカーとなるタンパク質は発見されていない。しかし近年の質量分析計をはじめとする飛躍的な技術革新に伴い、微量なタンパク質の検出・同定が可能となった。

本研究では、その最新のプロテオミクス技術を駆使して、がん・生活習慣病・神経疾患等の診断薬・治療薬の開発のために有用な新規バイオマーカータンパク質の探索およびその実用化を目的とする。特にキナーゼ阻害剤のターゲットとなるリン酸化タンパク質や抗体医薬のターゲットとなる膜タンパク質の網羅的探索に力を注ぐ。また、探索だけにとどまらず、得られたバイオマーカー

候補タンパク質の有用性を検証するための基盤技術、特に SRM/MRM 法を用いて、臨床検体を用いたハイスループットな大規模検証を目指している。以上の解析により、実用化の可能性のあるバイオマーカーを一つでも多く創出できると期待される。

B. 研究方法

1. 次世代プロテオミクス解析技術による大規模なバイオマーカー候補タンパク質の探索

(1) リン酸化タンパク質のプロテオーム解析

解析には進行度の異なるヒト癌臨床検体を用いた。また、検体の一部を SDS-PAGE した後にポリアクリルアミド中のリン酸化タンパク質を Pro-Q diamond により選択的に染色し、タンパク質のリン酸化状態が保持されているか確認した。ヒト癌組織からのタンパク質抽出には、難溶性画分のタンパク質も抽出するため、界面活性剤を用いた相間移動溶解法(Phase Transfer Surfactant : PTS 法)を用いた。抽出したペプチドは脱塩処理した後、Fe³⁺をとリン酸基との親和性を利用した Immobilized metal affinity chromatography (IMAC) 法によるリン酸化ペプチドの濃縮を行った。IMAC カラムにより精

製されたリン酸化ペプチドを iTRAQ 試薬により安定同位体標識し、陽イオン交換クロマトグラフィーと逆相カラムによる二次元分画を行った後、LTQ-Orbitrap Velos による質量分析によりリン酸化ペプチドを同定した。

(2) 膜タンパク質のプロテオーム解析

ヒト癌組織をホモジュナイザーで破碎し、低速遠心により核や未破碎の細胞を除いた後、超高速遠心で可溶性画分を除き、膜画分を調製した。膜画分は、デオキシコール酸やラウロイルサルコシン酸を含む溶液で可溶化し、トリプシン消化後、酢酸エチルを加え、酸性条件にすることで界面活性剤を除いた。脱塩精製後得られたペプチドサンプルは、iTRAQ 試薬で同位体標識ラベル後、カラム操作により分画し、液体クロマトグラフィー質量分析装置でタンパク質の同定と定量をおこない、グループ間で有意に発現量が変化するバイオマーカー候補タンパク質を検索した。得られたバイオマーカー候補タンパク質は、SRM 法（後述）、ウェスタンブロット法、免疫組織染色法を用いて検証した。

(3) バイオインフォマティクスによるバイオマーカータンパク質の絞り込み

質量分析により同定、定量された分子から、バイオインフォマティクスの手法によりバイオマーカー候補の絞り込みを行った。解析には、分子間相互作用情報データベース (STRING)、リン酸化コンセンサスモチーフ解析データベース (Phospho.EML, PhosphoSite plus) など複数のデータベースと、それらデータベースの統合解析ツールとして NetworKIN アルゴリズムを用い、定量的プロテオーム解析で有意な変動が見られた分子群と関連のあるシグナルパスウェイの予測を行った。さらに Ingenuity や Metacore によるジーンオントロジー解析を行いターゲット分子機能からの予測も行った。

2. 質量分析計によるタンパク質・ペプチド定量法 SRM/MRM 法の確立

(1) 組織中タンパク質の SRM/MRM 定量解析

6 種類の大腸癌由来株化細胞

(HCT116, RKO, DLD1, SW480, HT29, WiDr) をそれぞれ溶解バッファー (12mM Sodium Deoxycholate, 12mM Sodium N-Lauroyl-sarcosinate Hydrate, 50mM Ammonium bicarbonate, Roche Applied Science

phosSTOP) で溶かして混合し、細胞ライセートを調製した。100ug のタンパクに相当する細胞ライセートを還元アルキル化した後、トリプシン消化し、酢酸エチルと TFA を添加して混合し、二層分配法でペプチドを抽出した。この細胞ライセートの消化物に、34 種類の SI ペプチドを各 0.1ng ずつ添加した後、C18 マイクロカラム (StageTip) にかけて脱塩し、さらにリン酸化ペプチドを濃縮するため IMAC (immobilized metal affinity chromatography) マイクロカラムをかけた。

調製したサンプルを SRM で測定する為、まず 34 種類の SI ペプチド混合液 (各 1ng) をフーリエ変換・リニアイオントラップハイブリッド質量分析計 LTQ orbitrap XL で LC/MSMS 測定した。LTQ orbitrap XL で得られた MSMS スペクトルから、各ペプチドにつき、強度の大きなプロダクトイオンを 10 個選択した。さらにペプチドの開裂 (コリジョン) に使用されるコリジョンエネルギー (CE) を最適化する為、各プロダクトイオンにつき 7 点の CE を設定し、合計 70 個の transition を作成した。SI ペプチド混合液 (各 1ng) をトリプル四重極型質量分析計 TSQ Vantage により LC/SRM を測定し、測定に適した 3 個の transition を選択した。さらに SRM シグナルの感度、定量性を上げる為、ペプチドの溶出時間の ± 5 分間のみ測定 (Timed SRM) するよう設定した。これらの最適化の後、34 種類の SI ペプチドと細胞ライセート中の内在性ペプチドを LC/SRM 測定した。その際の LC は、溶媒 A に 2% ACN 0.1% FA、B 溶媒に 90% ACN 0.1% FA を使い、グラジエントは溶媒 B 5% でスタートし、45 分で B 25% まで上げ、5 分の B 95% の洗浄の後、15 分の B 5% の平衡化を行う計 60 分のメソッドを用いた。

(2) 血漿中 APL1 β ペプチドの SRM/MRM 定量解析

ヒト血漿 1ml に APL1 β 25、APL1 β 27、APL1 β 28 の安定同位体標識ペプチド (SI ペプチド) を添加し、それを buffer

(0.1% N-octylglucoside, 140mM NaCl, 10mM Tris, pH8.0, 1mM EDTA, SIGMA Protease Inhibitor mix) で 2 倍に希釈し 50k のフィルターで 4°C、80 分間遠心ろ過後、抗 APL1 β 抗体と Protein sepharose A ビーズを用いて免疫沈降を

を行い、20%ACN,0.1%FAでAPL1βペプチドを溶出した。得られたサンプルに対してSRMを行うために、トリプル九重極型質量分析計TSQ Vantageにおいて、それぞれ5つのtransitionを選択して最適化を行い、最も適した2つのtransitionを最終的な測定に用いた。そのtransitionを使って、APL1B安定同位体標準ペプチドのSRM測定により検量線を作成した。その際のLCは、溶媒Aに2%ACN 0.1%FA、B溶媒に90%ACN 0.1%FAを使い、グラジエントは溶媒B 5%でスタートし、20分でB 55%まで上げ、5分のB 95%の洗浄の後、15分のB 5%の平衡化を行う計40分のメソッドを用いた。

(倫理面への配慮)

今回の研究に用いたヒト由来試料は全て試料提供機関である国立大学法人千葉大学大学院医学研究院、大阪府立成人病センターの倫理審査委員会において承認を得た方法でインフォームドコンセントを取得したものであり、独立行政法人医基盤研究所プロテオームリサーチセンターにおける使用を同審査委員会および医基盤研究所プロテオームリサーチプロジェクト倫理審査委員会で承認されたものである。

C. 研究結果

1. 次世代プロテオミクス解析技術による大規模なバイオマーカー候補タンパク質の探索

(1) リン酸化タンパク質に着目した大腸癌・乳癌バイオマーカーの探索

進行度の異なるヒト大腸癌組織(非癌部、前癌病変(ポリープ)、癌部(転移なし、あり))の安定同位体標識による定量的リン酸化プロテオーム解析により、10,477種類のリン酸化ペプチド(3933種類のタンパク)を同定した。このうち、癌部(転移あり、なし)の群間比較で定量値に2倍以上の変動の見られた619種類のペプチドをバイオマーカー候補とした(図1)。さらに、NetworKINによるキナーゼ-基質予測解析およびジーンオントロジー解析により、大腸癌転移に関わる可能性のあるキナーゼパスウェイが予測された(図2, 3)。

同様に、mammaprintでローリスク、ハイリスク群に分類された乳癌患者組織のリン酸化タンパク質のプロテオミクス解析により、8952種

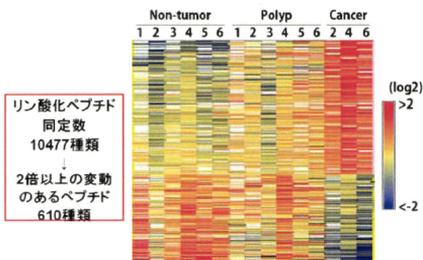


図1. 大腸癌組織のリン酸化プロテオーム解析

大腸癌組織の非癌部、癌部および前癌病変(ポリープ)からリン酸化タンパク質を抽出し、iTRAQ法を用いてリン酸化ペプチドの発現を比較した。リン酸化ペプチドは全部で10,477種類同定され、そのうち619種類が癌部で2倍以上の発現変動を示した。

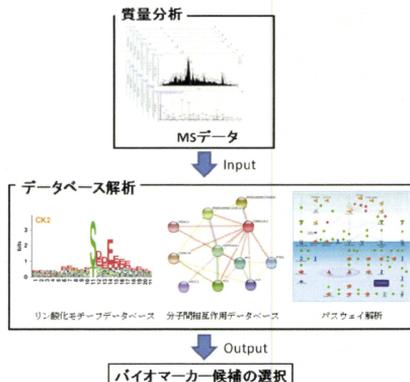


図2. バイオインフォマティクスによるバイオマーカータンパクの絞り込み

類のリン酸化ペプチドが同定され、そのうち113種類がハイリスク、ローリスク群間で2倍以上の発現変動が見られた(図4)。

(2) 膜タンパク質に着目した大腸癌・乳癌バイオマーカーの探索

ヒト大腸癌組織(非癌部、前癌病変(ポリープ)、癌部(転移なし、あり))の膜タンパク質のプロテオーム解析により、5,000を越えるタンパク質が同定され、同定タンパク質の約50%が膜に、約15%が表層膜に局在し、約30%が膜貫通ドメインを持つことが予測された(図5)。大腸癌の悪性化に伴い、有意に発現量が変化する膜タンパク質も多数得られ、その中には癌の進行との関与が既に報告されているインテグリン $\alpha 5$ なども含