

前立腺癌では、昨年度報告した、シアル酸 (Neu5Ac)付加遊離糖鎖が、膵臓癌と同様に多量に蓄積していた。これらはすべて complex-type の N 型の遊離糖鎖であり、NeuAc α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-3Man β 1-4GlcNAc β 1 が最も多く、ついで NeuAc α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-6Man β 1-4GlcNAc β 1 が多かった。興味深いことに、前立腺癌ではこれら Neu5Ac 付加された N 型の遊離糖鎖の他に、哺乳類ではその存在比率は極めて低いと考えられている

deaminoneuraminic acid (KDN)が付加された N 型の遊離糖鎖が、解析症例 5 症例中 4 症例に蓄積していた。中でも、骨転移を伴った 1 症例では、転移巣、原発巣ともに、KDN 付加された糖鎖が糖脂質の量を超える量が蓄積していた。Neu5Ac 付加された糖鎖と同様に、KDN が α 2-6 結合で付加された糖鎖が主で、最も多いものの構造は

KDN α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-3Man β 1-4GlcNAc β 1 で、次に、

KDN α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-6Man β 1-4GlcNAc β 1 が多く認められた。

ST1H は、DU-PAN-2 と同様に、Lewis 陰性の人に適した腫瘍マーカーとなる可能性がある。ST1H の腫瘍マーカーとしての臨床応用の可能性を検討するために、ST1H を認識する単クローン抗体を作成し、その特異性などを検討した。昨年度に作成された 11 種類のクローンは、合成された糖脂質を用いた ELISA では、ST1H に対して極めて高い特異性を有している。しかし、免疫組織学法や組織を使った ELISA では、陽性反応が得られなかった。以上のことは、得られた抗体の実用性が乏しい可能性を示唆する。今後は、免疫源の変更も含めた、抗体作成、スクリーニング法の変更を検討する必要がある。前立腺癌では、今まで報告されていなかった KDN 付加された N 型の遊離糖鎖が多量に蓄積していた。今後はマーカーとしての有効性を検討する必要がある。

2. 血液中腫瘍由来 DNA 解析

検出限界は exon 10 deletion と L858R が 0.01%以下、L861Q が 0.01%、T790M が 0.05%であった。後ろ向き検体 155 症例 (内血漿 145 症例) を解析したところ、肺生検で exon 19 del が検出された症例 72 症例中 44 症例 (61.6%)、L858R が検出された 44 症例中 32 症例 (57.1%)、L861Q が検出された 6 症例中 3 症例に検出された。Exon 19 del と L858R の重複変異は 14 例、生検結果と異なっていた症例は 3 例のみであった。T790M は 26 例に認められた。

血漿中 EGFR 変異に関しては、BEAMing を用いた研究結果よりも若干検出率が落ちるが (BEAMing では 72~73%)、患者集団のちがいによる範囲内である。すでに前向き試験での検証に進んでも良い結果と考えられ、多施設施設による前向き検証試験を開始している。

C, D-10. 血清・血漿の前処理法に関する微量タンパク質解析技術の研究、血清・血漿を用いたプロテオーム解析の臨床検査応用：野村文夫

1. プロテオーム解析により見出された原発性肝細胞癌組織高発現蛋白質に対する血中自己抗体の診断的意義

健常人、慢性肝炎、肝硬変に比し HCC において Ku86 抗体は明らかに高値を示した。また、従来から HCC の腫瘍マーカーとして測定されている AFP、PIVKA-II と Ku86 抗体の陽性率を比較すると Stage I、Stage II いずれにおいても Ku86 抗体の陽性率が最も高かった。ROC 曲線においても Ku86 抗体の優位性を確認することができた。

本研究の結果、血清 Ku86 抗体は HCC の比較的早期に陽性となることが示された。その陽性率は HCC の既存の腫瘍マーカーの AFP、PIVKA-II を上回っていた。今回の検討は C 型肝炎ウイルスに起因する HCC に限っているため、今後その他の要因、すなわち B 型肝炎ウイルス、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) 関連 HCC における検討が必要であ

り、多施設共同研究による確認を行うべきと考える。そのためには自己抗体の安定した測定系の確立が急務である。また、腫瘍組織中の蛋白質が抗原性を発揮する機序として過剰発現に加えて体細胞変異、翻訳後修飾などが考えられるが、早期の HCC において Ku86 抗体が陽性となる理由については今後の検討が必要である。

2. 歯肉溝滲出液のプロテオーム解析による歯周疾患マーカーの探索

GCF をプロテオーム解析に用いるのに適した採取方法およびタンパク質抽出法の検討を行った。GCF を解析対象とした研究における一般的なタンパク質抽出法はリン酸緩衝液である PBS buffer が用いられ、GCF に PBS buffer を加えボルテックスおよび遠心後、回収する。本研究では SDS-PAGE にて歯科基礎研究で一般的に用いられる PBS buffer と今回確立した Urea buffer と限外濾過装置を併用した抽出法を比較した。今回確立した Urea buffer と限外濾過装置の併用法は PBS buffer より抽出濃度が高く、更にタンパクバンド数も PBS buffer より 1.6 倍多いタンパクバンドが得られた。この結果は Urea buffer の強力なタンパク質変性作用と併用した限外濾過装置のフィルター処理がペーパーポイント中に残存している微量なタンパク質の回収率を確実に向上させ、抽出効率が PBS buffer よりも向上したと思われる。従って、従来の方法よりも抽出効率が向上した方法を確立した。

健常人 5 名より得られた GCF と歯肉辺縁唾液をアガロース 二次元電気泳法で比較した。GCF に高発現している 8 つのスポットを検出した。続いてこのスポットのタンパク質同定をおこなった。これらのスポットからは ApoA-I、酸化ストレスに関与するタンパク質 SOD1 および抗菌ペプチド DCD が同定された。

健常人 GCF のショットガン法による網羅的解析を行ったところ、327 のタンパク質が同定された。また、同定された GCF 中のタ

ンパク質の機能を Gene Ontology により解析した。GCF 中には歯肉線維芽細胞と比較すると刺激応答の機能を司るタンパク質や免疫応答に関与するタンパク質が歯肉線維芽細胞より多数含まれていることが明らかになった。このことから GCF には歯周疾患に関与するタンパク質が数多く存在する事が示唆された。同定された 327 のタンパク質には歯周組織破壊に関与していると思われるタンパク質、細胞骨格系タンパク質、免疫係に関与するタンパク質等が含まれていた。更には歯周疾患との関連性が未知なものも確認された。

二次元電気泳動法とショットガン法の二つの解析法で ApoA-I, SOD1, DCD が共通に同定された。Western Blotting による発現量の比較において健常人と比較して重度歯周疾患群にて SOD1 と DCD の有意な発現の上昇が認められた ($p < 0.05$)。しかし、ApoA-I は健常群と疾患群に差は認められなかった。

マクロファージでは歯周病原性細菌のエンドトキシン (LPS、リポポリサッカライド) などにより活性化され活性酸素が産生される。この活性酸素に対応すべく抗酸化タンパクである SOD1 が歯周疾患進行に伴って局所的に増加傾向を示すのかもしれない。SOD1 の GCF 中での作用メカニズムを探ることは歯周疾患における酸化ストレスに対する新たな抗酸化治療につながるかもしれない。歯肉上皮細胞の抗菌ペプチド産生は、歯周病原性細菌、サイトカイン、細胞表層のレセプター、あるいは細胞内伝達経路に依存して制御されているという報告があり、歯肉上皮細胞によって産生される抗菌ペプチドが歯周疾患発症の際の生体防御反応において重要な役割を果たしていると考えられている。DCD も同様に歯周病菌に対する抗菌作用を示すものと思われる。

C, D-11. 脳神経系腫瘍に関連する微量タンパク質解析システムの開発、統合プロテオミクスによる悪性グリオーマ幹細胞分化ニッチの治療標的分子群の解析：荒木令江

1. 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

Glioma 患者の腫瘍組織から、特殊培養条件にて、神経幹細胞に特徴的な Sphere を形成する幹細胞様クローンを分離した。既知の神経系幹細胞、およびグリオーマ細胞マーカー分子群の発現変動を解析するとともに、マウス頭蓋内への同所性移植によって、腫瘍形成能を評価した。5人の患者脳腫瘍(4つのGBMと1つAOA)からグリオーマ幹細胞

(GIC) を分離し、8つのGICクローンの樹立に成功した。樹立したGICは成長因子を含む神経幹細胞用培地にて、単離後10日以内に直径100 μ m以上のSphereを形成する。

GIC03A、-03U、-06A、-06U、-07U、-08U、-09A、-09Uは現在まで2年以上継続的に継代培養できることを確認している。今回は、その中で特に長期にわたって培養可能で、マウス頭蓋内移植により1ヶ月以内に悪性グリオーマを発症する3クローン

GIC03A,03U,07Uを解析に用いた。血清添加によって分化誘導後、タンパク質とmRNAを抽出し、2D-DIGE法、iTRAQ法、DNA Microarrayにより発現解析を行い、解析データは、iPEACH (integrated Protein Expression Analysis Chart) を用いて整理・統合し、GO解析、クラスター解析、パスウェイ解析によって、特異的変動分子群を抽出した。分化誘導におけるGICの分子の発現変動を解析するために、GIC03AとGIC03U両細胞をSphereあるいは血清によって分化させ、培養2日目と7日目のmRNAとタンパク質を回収し、DNA microarrayによってmRNA 21,857分子、iTRAQ法によってタンパク質 8,471分子を同定した。DNA microarray データは the National Center for Biotechnology Information's Gene Expression Omnibus に登録した(GEO series accession number: GSE43762)。

同定したそれぞれの分子群のリストにiPEACHソフトウェアによってEntrez Gene IDを付加し、Entrez Gene IDを用い

て両データを紐付けた。この統合プロテオミクスによる21,857分子のリストを用いて、GICの分化・増殖に関わる分子の網羅的同定と発現・機能プロファイリングを行った。分化誘導において発現変動が認められたmRNAは、発現増加を示したのが3,200分子、発現低下を示したのが1,612分子であった。また、分化誘導において発現変動が認められたタンパク質は、発現増加を示したのが791分子、発現低下を示したのが951分子であった。これらを統合すると発現増加を示したのが3,864分子、発現低下を示したのが2,513分子となった。このリストを用いてGene Ontology解析を行い、GICの分化における特徴的な分子群の特定を行った。

GSCの分化誘導で発現亢進した分子のGene Ontology Categoryはメンブレン(27%)、細胞外基質(ECM)(18%)、接着/細胞間コミュニケーション(6%)に関連し、発現抑制した分子のGene Ontology Categoryは亢進群が細胞外/膜分子群(50%)に対して、細胞内分子群(70%)、結合(13%)、細胞周期関連(6%)などに関連していることが明らかになった。分化誘導によって、発現変動が特徴的であったクラスター解析から、発現抑制される分子群が2クラスター抽出され、ErbB2、c-Myc、RBE2F関連分子等を含む細胞周期促進因子群、翻訳制御、細胞内輸送、タンパク合成関連分子群が、また、分化誘導によって発現亢進する分子群は、GFAP、CD44、TGF- β ファミリー蛋白質、そのレセプター群、SMADファミリー蛋白質群を含む、神経発生・分化制御、細胞死抑制、細胞運動関連分子であることが判明した。分化誘導によって発現亢進した分子のうち、インテグリンファミリーとコラーゲンファミリー、ラミニン、およびフィブロネクチンなどのECMの細胞接着分子に焦点を合わせた。

2. ECMとインテグリンファミリー分子のGICの分化誘導促進の検証

GIC分化におけるECMの効果を検討するため、ECM(コラーゲンIV; COL4、ラミニ

ン; LAM、およびフィブロネクチン; FN)がコーティングされた環境において、血清による GIC 分化を解析した。GIC Sphere の血清刺激による接着と遊走は、コーティングの無い培養皿上で培養した細胞の接着・分化の始動が 24 時間程度であることに比べて、ECM 上では分化誘導後、数時間以内に接着・分化が始動し、顕著な促進が見られた。また、分化誘導 48 時間後のタンパク質を回収して、ウエスタンブロッティングを行った結果、GIC は分化誘導によって、COL4、LAM、FN 上ではアストロサイト分化マーカーの GFAP の発現が分化誘導後で顕著に増大したのに対して、コーティングの無い、あるいはポリエリジン(PLL)コーティングでは、GFAP の発現は低い状態だった。従って、血清刺激による分化誘導を ECM が促進することが分かった。

統合プロテオミクスで有意に上昇する分子として同定されたインテグリン $\alpha 2$ と αV が、ECM と相互作用することによって GIC の接着/遊走を引き起こしているかどうかを確認するため、これらのインテグリン阻害剤の検討を行った。血清非存在下の条件で、インテグリン抗体と ECM の持つインテグリン結合部位のアミノ酸配列の RGD または DGEA ペプチドを処理した。インテグリン $\alpha 2$ 抗体は COL4 に対する GIC の接着を抑制したが、インテグリン $\alpha 2$ に対するリガンドのアミノ酸配列である DEGA ペプチド阻害剤では COL4 も他の ECM 上でも GIC の接着は抑制されなかった。一方、インテグリン αV 抗体は FN に対する GIC の接着を抑制し、インテグリン αV に対するリガンドのアミノ酸配列である RGD ペプチドの阻害剤でも FN に対する GIC の接着を抑制した。これらの結果から、COL4 と FN がインテグリン $\alpha 2$ と αV を介して GIC の接着/遊走を引き起こすことが判明した。しかし、GIC の分化マーカーである GFAP は、血清因子と ECM の両方が GIC 分化促進に必須であることを示唆して、血清無しの条件下では上昇しなかった。

インテグリン阻害剤の分化抑制効果を評価するため、ECM のコーティングの無い培養皿にて血清による分化誘導条件下でインテグリン阻害剤の添加を行った。インテグリン $\alpha 2$ 抗体および DEGA ペプチドは分化抑制効果を示さなかったが、インテグリン αV 抗体と RGD ペプチドは GIC の接着/遊走を抑制した。また、分化誘導 48 時間後のタンパク質を回収して、ウエスタンブロッティングを行った結果、GIC は分化誘導によって、分化マーカーである GFAP の発現は、インテグリン $\alpha 2$ 抗体および DEGA ペプチドではコントロールと同様に発現レベルであったのに対して、インテグリン αV 抗体と RGD ペプチドを処理したものでは、発現抑制が見られた。この結果から、インテグリン αV が RGD 配列を介して GIC の分化を制御していることが示唆された。また、FN と結合すると報告されているインテグリン $\alpha 5$ 、 $\alpha 6$ 、および $\beta 1$ に対する抗体でも同様の実験を行った結果、それらの抗体による GIC の分化抑制効果は見られなかった。従って、インテグリン αV と FN の相互作用が GIC の分化に重要であることが明らかとなった。

インテグリンや ECM が GIC と実際に同所移植によって形成された腫瘍で発現しているかを確認するため、免疫細胞染色と免疫組織染色を行った。免疫細胞染色の結果、COL4、FN、およびインテグリン $\alpha 2$ 、 αV は、統合プロテオミクスの結果と同様に分化誘導で発現されていることが確認できた。また、組織染色の結果によって、マウス脳異種移植片で同様に COL4、FN、およびインテグリン $\alpha 2$ 、 αV が発現していることが確認できた。これらの結果からインテグリンと ECM は分化誘導によって発現し、インテグリンと ECM の相互作用によって、GIC の分化と神経膠腫形成を促進していることが示唆された。特に、インテグリン αV と FN については、上記の RGD を介した結合とその阻害効果も確認できたことから、本研究で樹立した GIC で腫瘍形成能も確認できた GIC03A,03U,07U につ

いて、DAPIによる核染色と共に免疫細胞染色も行い、GICクローンすべてにおいて、インテグリン αV とFNの発現を確認した。

3. GICの分化ニッチを標的とした治療への考案

GRGESP、GRGDTP、およびDGEAのペプチドをGICと処置し、それらの細胞増殖への効果を分析した。GIC Sphereではペプチドのすべてが細胞増殖に影響を示さなかったが、一方、血清刺激に分化誘導したGICでは、RGDペプチドによってGIC Sphereとほとんど同じレベルまで増殖が抑制された。

GRGESPまたはDGEAペプチドでは、増殖抑制効果は見られなかった。このことから、RGDペプチドが効果的にGIC分化における細胞増殖を抑制することが判明した。

次に分化の早い段階におけるGICの抗癌剤による増殖抑制効果、および抗癌剤とRGDの組み合わせ処理による増殖抑制効果を分析した。抗癌剤には神経膠腫の治療におけるアルキル化試薬として広く使われているTMZを用いた。GIC Sphereでは、RGD、TMZ、RGDのTMZの組み合わせのいずれも増殖抑制効果は小さいが、血清刺激に分化誘導したGICでは、RGDのTMZの組み合わせによって高いGICの増殖抑制が確認された。

RGDとTMZによる増殖抑制効果がアポトーシスによって起こされたかどうかを決定するために、GICはアポトーシスアッセイを行った。GIC SphereではTMZ、RGDペプチド、または両方の組み合わせ処理は細胞の表現型への影響は小さかったが、分化誘導したGICでは、アポトーシス細胞の数が増大したことによって、TMZとRGDペプチドの両方で効果的に細胞障害を引き起こした。また、血清によるGICの早い分化段階に、TMZとRGDペプチドの併用処理は、効果的に、GICの抗癌剤感受性を増大させ、TMZとコントロールペプチドの処理に比べて1.7倍のアポトーシス効果があった。この結果より、血清刺激後、GICのインテグリン αV の阻害による分化と増殖抑制が抗癌剤感受性を増大させ、

神経膠腫形成を抑制できることが示唆された。

生体内でRGDとTMZのGICに対する増殖抑制効果を確認するために、マウス頭蓋内にGICを異種移植したモデル実験を行い、150日までのマウスの生存曲線からRGDとTMZの治療効果を分析した。移植後のマウスの Kaplan-Meier 生存曲線は、コントロールの10% DMSO (median survival = 53 days) に比べて、cRGDのみ投与 (median survival = 44 days) では生存に効果的でなかったが、TMZとのcRGDの組み合わせ (median survival = 100 days) では、TMZのみの投与 (median survival = 77 days) に比べて、マウス生存は延長された。TMZとのcRGDの組み合わせることで、GBMの発生を抑制し、マウスの延命させることが判明した。

本研究の結果から、GICはECM存在下で接着因子群を介した足場依存的な分化様形態を示し、血清存在下では、分化は促進され、血清非存在下では、ECM存在下でも分化は誘導されないことが分かった。また、インテグリン αV 抗体やRGDペプチドは血清によるGICの接着と分化を抑制し、血清因子とインテグリン αV と結合するECMの両方がGICの分化に重要であることが示唆された。従って、GICはECMを自ら発現・分泌してRGD配列を認識するインテグリン αV を介して分化を制御していると考えられる。また、分泌されたECMによってGICは接着・分化のための足場環境を形成することが示唆される。この環境を“分化ニッチ”と命名した。

C, D-12. 難治性がん早期診断技術の開発と治療標的分子候補バイオマーカーの探索研究：中村和行

1. HSP70を固定化したプロテインチップによる自己抗体価計測技術の開発

(1) PROTEOMEX法を用いて自己抗体に反応するHCV-HCCバイオマーカー候補タンパク質の絞り込み：HCV-HCCのがん部組織に特異的に増減するタンパク質群の中から

がん患者血清中の自己抗体に特異的に反応するタンパク質として HSP70 と MnSOD および peroxiredoxin (PRDX) が同定された。

(2) プロテインチップによる HCV-HCC 患者血清中の自己抗体の検出: GFP と融合させた HSP70 の C-末端領域を固定化した DLC チップを熱処理して HCV-HCC 患者血清や正常人血清等を反応させ、Cy3 で標識した抗 GFP 抗体を内部標準として Cy5 で標識した抗体ヒト IgG 抗体を用いてチップ上の HSP70C 特異自己抗体量を Cy3/Cy5 蛍光比で数値化することによって、患者血清中自己抗体の定量性の向上と再現性の高い検出が可能になった。

(3) プロテインチップによる HCV-HCC 患者血清中の自己抗体の検出: これまで作成したチップでは、HCC 患者血清の中の一部に GFP スポットに対する非特異検出が高かった。この問題を解決するために、蛋白質のチップ固定化時間、検出時の血清濃度、抗体濃度などの条件を検討した。結果として、同血清での GFP スポットに対する非特異検出が低減したが、なくなることはなかった。一方健常者では全く認められないことから、肝細胞癌患者血清は、非特異検出が高くなる傾向があると考えられた。

(4) 蛋白質・ペプチド固定化に対する Cys 数の検討: FLAG 抗体を用いて各ペプチドスポットを検出し、蛍光検出量をマウス IgG 検出が 1 とした相対値として示した。末端の Cys タグがないペプチドは全く蛍光が認められず、タグの Cys 数が増えるに従い検出量は増加した。2 種類の並びで FLAG タグと 6XHis タグを融合したペプチドの並び方により少し違いがあるが、Cys 数は 3 つ以上で良好なペプチドの固定化が可能であった。

今回、自己抗体を用いたがん組織特異タンパク質バイオマーカーの高感度検出技術の改良を行い、HCV-HCC を中心とする難治性がんの新規バイオマーカー探索を試み、さらに、自己抗体を用いたプロテインチップ技術の改良を行い HCV-HCC において HSP70 の C 末

端部および PRDX が有望なバイオマーカーとなり得ることを明らかにした。HSP70 の C 末端部をチップ表面に固定化して患者血清中の自己抗体を検出すれば、特異的かつ効率的に HCV-HCC の大規模解析が容易となる。特に自己抗体を活用することにより、血清中に含まれる高濃度のタンパク質や混合物を除去する必要がなく、簡便な検診ツールとして有望であると考えられる。

2. 抗がん剤ゲムシタビンに薬剤耐性を獲得する膀胱癌細胞のバイオマーカー候補蛋白 Hsp27 の同定と hsp27 遺伝子発現抑制による薬剤耐性解除の研究

(1) ゲムシタビン耐性 PC 細胞株に特異的に増加するタンパク質の同定: ゲムシタビンに対して薬剤耐性を示す PC 細胞株 PK45p と PK59 ならびに薬剤耐性を獲得した KLM1-R に特異的に増加するタンパク質スポットは nano-LC/MS/MS により HSP27 とそのアイソフォームと同定された。

(2) HSP27 に特異な抗体を用いてイムノプロット解析するとゲムシタビンに対して薬剤耐性を示す PC 細胞株 PK45p と PK59 ならびに薬剤耐性を獲得した KLM1-R に感受性株に比較して著しく増加しており、HSP27 に特異な siRNA を用いて KLM1-R の HSP27 の増加を抑制するとゲムシタビン耐性が解除された。

(3) さらに、hsp27 遺伝子の発現抑制小分子化合物である KNK437 を用いたゲムシタビンに薬剤耐性を獲得した PC 細胞株 KLM1-R 中の HSP27 の量的解析を行ったところ、HSP27 の特異的な減少とゲムシタビンに対する薬剤耐性の解除が認められた。

抗がん剤のゲムシタビンに対して感受性の異なる PC 細胞株の比較プロテオーム解析により、ゲムシタビンに対して耐性を示す細胞株および耐性を獲得とした細胞株に特異的に増加するタンパク質として HSP27 アイソフォームが同定され、siRNA を用いた HSP27 発現抑制実験から HSP27 がゲムシタビン耐性獲得に重要な役割を果たしていることが明

らかになり、さらに HSP27 遺伝子発現抑制剤の KNK437 が PC 細胞株の薬剤耐性を解除することが示唆され、今後 HSP27 蛋白の機能の制御分子を探索することにより薬剤耐性を示す難治性膵癌の分子標的治療法の開発の緒が見つかりと期待される。

E. 結論

E-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の探索と検証：朝長毅

本年度は、SRM/MRM 法を用いて、大腸癌バイオマーカー候補タンパク質の大規模検証、および血漿中のアルツハイマー病バイオマーカー超微量ペプチド APL1 β を高感度に定量することに成功した。また FAM83H の機能解析を行い、FAM83H と CK-1 α の相互作用阻害薬が大腸癌の新規治療法となる可能性があることを見出した。

E-2. 疾患関連蛋白質の解析基盤の研究：角田慎一

抗体プロテオミクス技術を駆使することによって同定した新規乳がん関連蛋白質 EphA10 の各種ヒト組織での発現プロファイルを解析した結果、EphA10 は、乳がんのリンパ節陽性症例、進行したステージの症例において発現割合・発現量が有意に高いことが分かった。また、EphA10 は、乳がんの既存薬である抗 Her2 抗体や抗ホルモン剤の標的となる Her2、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体の発現と無関係に発現し、これら全ての発現が陰性のために有効な治療法のないトリプルネガティブ乳がん症例にも発現が認められた。さらに、EphA10 の生体分布は、今回検討した組織の中では、精巣のみで発現が認められた。

E-3. プロテオミクス手法による悪性黒色腫治療標的分子探索：仲 哲治

悪性黒色腫と正常皮膚組織の手術検体を用いて iTRAQ 法による網羅的なタンパク質発掘も行なわれ、今後、微量タンパク質の解析がさらに進んでいくものと考えられる。

現定量解析を行った結果、悪性黒色腫に高発現するタンパク質として Periostin を同定した。Periostin は悪性黒色腫の増殖に関与することが *in vitro*, *in vivo* の実験結果より示された。悪性黒色腫に対して Periostin が創薬標的分子となり得る可能性が示唆された。

E-4. ターゲットプロテオミクスを用いた網羅的タンパク質解析技術の開発とバイオマーカー探索への応用：中山敬一

より信頼性の高い MRM method ライブラリーの構築によって容易に多検体での MRM 解析が可能となり、精密なタンパク質発現絶対量の計測が実施できた。また、SWATH 法を導入することでより網羅的な絶対定量法の構築の目処がたった。さらに SWATH 法のリン酸化定量解析への応用の可能性も示すことができた。

E-5. 創薬バイオマーカー探索研究基盤の確立とその活用：平野 久

卵巣漿液性腺癌、粘液性腺癌および明細胞腺癌由来の細胞株が、細胞培養液に分泌するタンパク質をショットガン解析により比較し、明細胞腺癌細胞株群に特異的に分泌（放出）されるタンパク質を同定した。これらのタンパク質の中に卵巣明細胞腺癌の診断マーカーとして優れた特徴を持つものを見出すことができた。培養細胞から培地に分泌される疾患関連タンパク質を解析すれば、効率的に血清中の診断マーカー候補タンパク質を検出することができると考えられた。

E-6. 2DICAL による微量たんぱく質解析技術の研究：尾野雅哉

2DICAL を用いた血漿バイオマーカーの探索、および、多数検体での検証に成功し、本事業での研究成果を上げることができた。本事業のなかで組織からのバイオマーカーの探索法を新しく開発することができ、また、微量タンパク質であるリン酸化ペプチドを用いたバイオマーカー探索も可能にすることができた。その過程で、2DICAL のバージョンアップ

E-7. 循環器疾患に関連する微量たんぱく質解析技術の研究：寒川賢治、南野直人

マウス心筋症モデルの左心組織のプロテオーム解析より、解糖系、 β 酸化系などのエネルギー代謝系酵素群の顕著な減少が明確となった。

心不全の発症、進行に伴い ANP や BNP 発現量が増加し、それと並行してハイマンノース型 N-glycan、シアル酸などの減少、O-glycan 合成酵素系の発現増加など、糖鎖構造の変化と合成、付加酵素の変動が確認された。

ペプチドーム解析において、新しい ETD 法などの開裂法の導入、14 価までの多価イオン解析などにより、高分子量ペプチドや低分子量たんぱく質の同定効率を大きく向上をさせることができた。その結果、最大で分子量 15,000Da までのペプチドが同定可能となり、かつ複数のリン酸化やヒドロキシル化等の修飾ペプチドについても、その修飾構造と修飾部位を高い確率で決定可能となった。

E-8. 精神・神経疾患に関連する微量タンパク質解析技術の研究：高坂新一

髄液を用いた微量タンパク質の測定法を確立した。特に、初期髄液量をタンパク量として 0.6mg にすること、前処理に抗体カラム IgY に加えて GBC カラム処理を行うことで、QSTAR ではコンスタントに 350 近くのタンパクを自動同定できるようになり、さらに ABSsciX5600 を用いると 1,000 近くのタンパク質を自動で同定できるように改良できた。

E-9. 新規糖鎖腫瘍マーカーおよび血液中腫瘍由来 DNA の研究：加藤菊也、宮本泰豪

ST1H を認識する単クローン抗体の作成方法を再検討する必要がある。KDN 付加された N 型の遊離糖鎖の検出方法を確立し、マーカーとしての有用性の検討が必要である。

血漿中腫瘍由来 DNA 解析は前向き検証試験での検証段階に到達している。

E-10. 血清・血漿の前処理法に関する微量タンパク質解析技術の研究、血清・血漿を用いたプロテオーム解析の臨床検査応用：野村文

リオーマの再発・転移を早期に阻害する新規な治療法の考案につながることを期待され

夫

原発性肝細胞癌 (HCC) の新しい腫瘍マーカーとして血中 Ku86 自己抗体を同定し、血清 Ku86 抗体レベルが従来の HCC マーカーである AFP, PIVKA-II に比べて、HCC の診断に有用であることを確認した。

二次元電気泳動法およびショットガン法により、歯肉溝滲出液を用いたプロテオーム解析を行い、歯周病のバイオマーカー候補タンパク質を同定した。

E-11. 脳神経系腫瘍に関連する微量タンパク質解析システムの開発、統合プロテオミクスによる悪性グリオーマ幹細胞分化ニッチの治療標的分子群の解析：荒木令江

マウス脳への異種移植で悪性神経膠腫を発症する GIC クローンを樹立し、血清よる分化誘導モデルを確立した。GIC の分化誘導において特異的に発現変動している分子群を同定するため、統合プロテオミクス解析を行い、GIC 分化誘導において発現亢進された分子リストを得た。さらに GO 解析を行い、GIC の分化を制御していると考えられる ECM、接着/細胞間コミュニケーション、および細胞膜などに関連する分子群を抽出した。この分子群に含まれる細胞接着に関するインテグリンファミリーと COL4、LAM、および FN などの ECM に注目し、インテグリン α V と FN の発現と相互作用が GIC の分化を促進していることを明らかにした。また、GIC の分化阻害実験から、インテグリン α V 抗体と RGD ペプチドの阻害剤が GIC の分化抑制に有用であることを示した。これはインテグリン α V と FN が GIC の分化における主要因子であることを証明するものである。これらのことから、GIC は FN をコアとした ECM を自ら発現・分泌し、インテグリン α V を介して分化を制御する微小環境“分化ニッチ”を形成することを提唱した。インテグリン α V や RGD 認識部位をターゲットとすることで GIC の接着、遊走、分化を抑制することが可能であり、グ

E-12. 難治性がん早期診断技術の開発と治

療標的分子候補バイオマーカーの探索研究：中村和行

患者血清中の自己抗体を活用したプロテインチップ技術の改良を行い、HSP70のC末端領域がHCV-HCCの特異バイオマーカー候補として有望であることを明らかにした。さらに、プロテインチップの熱処理操作と二重抗体ラベル法の導入によりC型肝炎関連肝細胞がんの診断技術として患者血清中のがん特異自己抗体を活用したバイオマーカー探索とさらなる高感度診断技術への改良を試みた。

さらに、抗がん剤による膵臓癌の治療効果を評価するバイオマーカータンパク質候補としてとしてHSP27が同定され、siRNAを用いたHSP27の機能評価においてもHSP27がゲムシタビンに対する薬剤感受性に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文発表

1. Shiromizu, T., Adachi, J., Watanabe, S., Murakami, T., Kuga, T., Muraoka, S. & Tomonaga, T. Identification of Missing Proteins in the neXtProt Database and Unregistered Phosphopeptides in the PhosphoSitePlus Database As Part of the Chromosome-Centric Human Proteome Project. *J. Proteome Res.*, in press (2013).
2. Muraoka, S., Kume, H., Adachi, J., Shiromizu, T., Watanabe, S., Masuda, T., Ishihama, Y. & Tomonaga, T. In-depth Membrane Proteomic Study of Breast Cancer Tissues for the Generation of a Chromosome-based Protein List. *J. Proteome Res.* **12**, 208-13 (2013).
3. Sogawa, K., Noda, K., Umemura, H., Seimiya, M., Kuga, T., Tomonaga, T., Nishimura, M., Kanai, F., Imazeki, F., Takizawa, H., Yoneda, M., Nakajima, A., Tsutsumi, M., Yokosuka, O. & Nomura, F. Serum fibrinogen alpha C-chain 5.9 kDa fragment (FIC 5.9) as a biomarker for early detection of hepatic fibrosis related to hepatitis C virus. *Proteomics Clin. Appl.*, in press (2013).
4. Yamamoto, T., Nakayama, K., Hirano, H., Tomonaga, T., Ishihama, Y., Yamada, T., Kondo, T., Kodera, Y., Sato, Y., Araki, N., Mamitsuka, H. & Goshima, N. Integrated View of the Human Chromosome X-centric Proteome Project. *J. Proteome Res.* **12**, 58-61 (2013).
5. Narumi, R., Murakami, T., Kuga, T., Adachi, J., Shiromizu, T., Muraoka, S., Kume, H., Kodera, Y., Matsumoto, M., Nakayama, K., Miyamoto, Y., Ishitobi, M., Inaji, H., Kato, K. & Tomonaga, T. A Strategy for Large-Scale Phosphoproteomics and SRM-Based Validation of Human Breast Cancer Tissue Samples. *J. Proteome Res.* **11**, 5311-22 (2012).
6. Muraoka, S., Kume, H., Watanabe, S., Adachi, J., Kuwano, M., Sato, M., Kawasaki, N., Kodera, Y., Ishitobi, M., Inaji, H., Miyamoto, Y., Kato, K., Tomonaga, T. A strategy for SRM-based verification of biomarker candidates discovered by iTRAQ method in limited breast cancer tissue samples. *J. Proteome Res.* **11**, 4201-10 (2012).
7. Katada, K., Tomonaga, T., Satoh, M., Matsushita, K., Tonoike, Y., Kodera, Y., Hanazawa, T., Nomura, F. & Okamoto, Y. Plectin promotes migration and invasion of cancer cells and is a novel prognostic marker for head and neck squamous cell carcinoma. *J. Proteomics* **75**, 1803-15 (2012).

8. Yoshida, Y., Nameta, M., Kuwano, M., Zhang, Y., Bo, X., Magdeldin, S., Cui, Z., Fujinaka, H., Yaoita, E., Tomonaga, T. & Yamamoto, T. Proteomic approach to human kidney glomerulus prepared by laser microdissection from frozen biopsy specimens: exploration of proteome after removal of blood-derived proteins. *Proteomics Clin. Appl.* **6**, 412-7 (2012).
9. Uebi, T., Itoh, Y., Hatano, O., Kumagai, A., Sanosaka, M., Sasaki, T., Sasagawa, S., Doi, J., Tatsumi, K., Mitamura, K., Morii, E., Aozasa, K., Kawamura, T., Okumura, M., Nakae, J., Takikawa, H., Fukusato, T., Koura, M., Nish, M., Hamsten, A., Silveira, A., Bertorello, AM., Kitagawa, K., Nagaoka, Y., Kawahara, H., Tomonaga, T., Naka, T., Ikegawa, S., Tsumaki, N., Matsuda, J. & Takemori, H. Involvement of SIK3 in Glucose and Lipid Homeostasis in Mice. *PLoS One* **7**, e37803 (2012).
10. Nomura, F., Sogawa, K., Noda, K., Seimiya, M., Matsushita, K., Miura, T., Tomonaga, T., Yoshitomi, H., Imazeki, F., Takizawa, H., Mogushi, K., Miyazaki, M. & Yokosuka, O. Serum anti-Ku86 is a potential biomarker for early detection of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **421**, 837-43 (2012).
11. Matsushita, K., Kajiwara, T., Tamura, M., Satoh, M., Tanaka, N., Tomonaga, T., Matsubara, H., Shimada, H., Yoshimoto, R., Ito, A., Kubo, S., Natsume, T., Levens, D., Yoshida, M. & Nomura, F. SAP155-Mediated Splicing of FUSE-Binding Protein-Interacting Repressor Serves as a Molecular Switch for c-myc Gene Expression. *Mol. Cancer Res.* **10**, 787-99 (2012).
12. Kimura, K., Ojima, H., Kubota, D., Sakumoto, M., Nakamura, Y., Tomonaga, T., Kosuge, T. & Kondo, T. Proteomic identification of the macrophage-capping protein as a protein contributing to the malignant features of hepatocellular carcinoma. *J. Proteomics* **78**, 362-73 (2012).
13. Kimura, A., Sogawa, K., Satoh, M., Kodera, Y., Yokosuka, O., Tomonaga, T. & Nomura, F. The application of a three-step serum proteome analysis for the discovery and identification of novel biomarkers of hepatocellular carcinoma. *Int. J. Proteomics*, Article ID623190 (2012).
14. Kikkawa, S., Sogawa, K., Satoh, M., Umemura, H., Kodera, Y., Matsushita, K., Tomonaga, T., Miyazaki, M., Yokosuka, O. & Nomura F. Identification of a Novel Biomarker for Biliary Tract Cancer Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Int. J. Proteomics*, Article ID108609 (2012).
15. Kajiwara, T., Matsushita, K., Itoga, S., Tamura, M., Tanaka, N., Tomonaga, T., Matsubara, H., Shimada, H., Habara, Y., Matsuo, M. & Nomura, F. SAP155-mediated c-myc suppressor FBP-interacting repressor splicing variants are activated in colon cancer tissues. *Cancer Sci.* **104**, 149-56 (2012).
16. Hosako, M., Muto, T., Nakamura, Y., Tsuta, K., Tochigi, N., Tsuda, H., Asamura, H., Tomonaga, T., Kawai, A. & Kondo, T. Proteomic study of malignant pleural mesothelioma by laser microdissection and two-dimensional difference gel electrophoresis identified cathepsin D as

- a novel candidate for a differential diagnosis biomarker. *J. Proteomics* **75**, 833-44 (2012).
17. Guo, F., Hiroshima, K., Wu, D., Satoh, M., Abulazi, M., Yoshino, I., Tomonaga, T., Nomura, F. & Nakatani, Y. Prohibitin in squamous cell carcinoma of the lung: its expression and possible clinical significance. *Hum. Pathol.* **43**, 1282-8 (2012).
 18. Yamada, M., Satoh, M., Seimiya, M., Sogawa, K., Itoga, S., Tomonaga, T. & Nomura, F. Combined Proteomic Analysis of Liver Tissue and Serum in Chronically Alcohol-Fed Rats. *Alcohol Clin. Exp. Res.* **37**, Suppl 1, E79-87 (2012).
 19. Sugihara, Y., Taniguchi, H., Kushima, R., Tsuda, H., Kubota, D., Ichikawa, H., Sakamoto, K., Nakamura, Y., Tomonaga, T., Fujita, S. & Kondo, T. Proteomic-based identification of the APC-binding protein EB1 as a candidate of novel tissue biomarker and therapeutic target for colorectal cancer. *J. Proteomics.* **75**, 5342-55 (2012).
 20. Yamashita, T., Okamura, T., Nagano, K., Imai, S., Abe, Y., Nabeshi, H., Yoshikawa, T., Yoshioka, Y., Kamada, H., Tsutsumi, Y. & Tsunoda, S. Rho GDP-dissociation inhibitor alpha is associated with cancer metastasis in colon and prostate cancer., *Pharmazie*, **67**(3), 253-5 (2012).
 21. Yamashita, T., Nagano, K., Kanasaki, S., Maeda, Y., Furuya, T., Inoue, M., Nabeshi, H., Yoshikawa, T., Yoshioka, Y., Itoh, N., Abe, Y., Kamada, H., Tsutsumi, Y. & Tsunoda, S. Annexin A4 is a possible biomarker for cisplatin susceptibility of malignant mesothelioma cells., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **421**(1), 140-4 (2012).
 22. Takano, M., Yamashita, T., Nagano, K., Otani, M., Maekura, K., Kamada, H., Tsunoda, S., Tsutsumi, Y., Tomiyama, T., Mori, H., Matsuura, K. & Matsuyama, S. Proteomic analysis of the hippocampus in Alzheimer's disease model mice by using two-dimensional fluorescence difference in gel electrophoresis., *Neurosci. Lett.* **534**, 85-9 (2013).
 23. 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, *薬学雑誌*, **132**(4), 473-7 (2012).
 24. Nishioka, C., Ikezoe, T., Furihata, M., Yang, J., Serada, S., Naka, T., Nobumoto, A., Kataoka, S., Tsuda, M., Udaka, K. & Yokoyama, A. CD34(+)/CD38(-) acute myelogenous leukemia cells aberrantly express CD82 which regulates adhesion and survival of leukemia stem cells. *Int J Cancer*. In Press (2012).
 25. Yokoyama, T., Enomoto, T., Serada, S., Morimoto, A., Matsuzaki, S., Ueda, Y., Yoshino, K., Fujita, M., Kyo, S., Iwahori, K., Fujimoto, M., Kimura, T. & Naka, T. Plasma membrane proteomics identifies bone marrow stromal antigen 2 as a potential therapeutic target in endometrial cancer. *Int. J. Cancer* **132**(2), 472-84 (2013)
 26. Yang, L., Serada, S., Fujimoto, M., Terao, M., Kotobuki, Y., Kitaba, S., Matsui, S., Kudo, A., Naka, T., Murota, H. & Katayama, I. Periostin facilitates skin sclerosis via PI3K/Akt dependent mechanism in a mouse model of scleroderma *PLoS One* **7**(7), e41994 (2012).
 27. Kotobuki, Y., Tanemura, A., Yang, L., Itoi, S., Wataya-Kaneda, M., Murota, H.,

- Fujimoto, M., Serada, S., Naka, T. & Katayama, I. Dysregulation of melanocyte function by Th17-related cytokines: significance of Th17 cell infiltration in autoimmune vitiligo vulgaris. *Pigment Cell Melanoma Res.* **25**(2), 219-30 (2012).
28. Otsuka, K., Kotobuki, Y., Shiraishi, H., Serada, S., Ohta, S., Tanemura, A., Yang, L., Fujimoto, M., Arima, K., Suzuki, S., Murota, H., Toda, S., Kudo, A., Conway, S J., Narisawa, Y., Katayama, I., Izuhara, K. & Naka, T. Periostin, a matricellular protein, accelerates cutaneous wound repair by activating dermal fibroblasts. *Exp. Dermatol.* **21**(5), 331-6 (2012).
29. Serada, S., Fujimoto, M., Terabe, F., Iijima, H., Shinzaki, S., Matsuzaki, S., Ohkawara, T., Nezu, R., Nakajima, S., Kobayashi, T., Plevy, S E., Takehara, T. & Naka, T. Serum leucine-rich alpha-2 glycoprotein is a disease activity biomarker in ulcerative colitis. *Inflamm. Bowel Dis.* **18**(11), 2169-79.(2012).
30. Iwahori, K., Suzuki, H., Kishi, Y., Fujii, Y., Uehara, R., Okamoto, N., Kobayashi, M., Hirashima, T., Kawase, I. & Naka, T. Serum HE4 as a diagnostic and prognostic marker for lung cancer. *Tumour Biol.* **33**(4), 1141-9 (2012).
31. 世良田聡、藤本 穰、仲 哲治. Serum leucine-rich alpha-2 glycoprotein is a disease activity biomarker in ulcerative colitis. 潰瘍性大腸炎の疾患活動性マーカーとしての血清ロイシンリッチアルファ2グリコプロテイン *Intestine* **17**(1), 107-9(2013).
32. Chow, C., Wong, N., Pagano, M., Lun, S.W., Nakayama, K.I. & Nakayama, K., Lo, K.W. Regulation of APC/CCdc20 activity by RASSF1A-APC/CCdc20 circuitry. *Oncogene* **31**, 1975-87 (2012).
33. Yumimoto, K., Matsumoto, M., Oyamada, K., Moroishi, T. & Nakayama, K.I. Comprehensive identification of substrates for F-box proteins by differential proteomics analysis. *J. Proteome Res.* **11**, 3175–85 (2012).
34. Suzuki, S., Fukasawa, H., Misaki, T., Togawa, A., Ohashi, N., Kitagawa, K., Kotake, Y., Liu, N., Niida, H., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Yamamoto, T. & Kitagawa, M. The amelioration of renal damage in Skp2-deficient mice canceled by p27 Kip1 deficiency in Skp2^{-/-} p27^{-/-} mice. *PLoS One* **7**, e36249 (2012).
35. Liu, N., Matsumoto, M., Kitagawa, K., Kotake, Y., Suzuki, S., Shirasawa, S., Nakayama, K.I., Nakanishi, M., Niida, H. & Kitagawa, M. Chk1 phosphorylates the tumour suppressor Mig-6, regulating the activation of EGF signalling. *EMBO J.* **31**, 2365-77 (2012).
36. Chan, C.H., Li, C.F., Yang, W.L., Gao, Y., Lee, S.W., Feng, Z., Huang, H.Y., Tsai, K.K., Flores, L.G., Shao, Y., Hazle, J.D., Yu, D., Wei, W., Sarbassov, D., Hung, M.C., Nakayama, K.I. & Lin, H.K. The Skp2-SCF E3 ligase regulates Akt ubiquitination, glycolysis, herceptin sensitivity, and tumorigenesis. *Cell* **149**, 1098-111 (2012).
37. Fukushima, H., Matsumoto, A., Inuzuka, H., Zhai, B., Lau, A.W., Wan, L., Gao, D., Shaik, S., Yuan, M., Gygi, S.P., Jimi, E., Asara, J.M., Nakayama, K., Nakayama, K.I. & Wei, W. SCF(Fbw7) modulates the NFkappaB signaling pathway by targeting NFkappaB2 for ubiquitination and destruction. *Cell Rep.* **1**, 434-43 (2012).

38. Ellman, M.B., Kim, J.S., An, H.S., Kroin, J.S., Li, X., Chen, D., Yan, D., Buechter, D.D., Nakayama, K., Liu, B., Morgan, S. & Im, H.J. The pathophysiologic role of the protein kinase Cdelta pathway in the intervertebral discs of rabbits and mice: in vitro, ex vivo, and in vivo studies. *Arthritis Rheum.* **64**, 1950-59 (2012).
39. Grim, J.E., Knoblaugh, S.E., Guthrie, K.A., Hagar, A., Swanger, J., Hespelt, J., Delrow, J.J., Small, T., Grady, W.M., Nakayama, K.I. & Clurman, B.E. Fbw7 and p53 cooperatively suppress advanced and chromosomally unstable intestinal cancer. *Mol. Cell. Biol.* **32**, 2160-67 (2012).
40. Ishikawa, Y., Hosogane, M., Okuyama, R., Aoyama, S., Onoyama, I., Nakayama, K.I. & Nakayama, K. Opposing functions of Fbxw7 in keratinocyte growth, differentiation and skin tumorigenesis mediated through negative regulation of c-Myc and Notch. *Oncogene* **32**, 1921-32 (2012).
41. Yokobori, T., Mimori, K., Iwatsuki, M., Ishii, H., Tanaka, F., Sato, T., Toh, H., Sudo, T., Iwaya, T., Tanaka, Y., Onoyama, I., Kuwano, H., Nakayama, K.I. & Mori, M. Copy number loss of FBXW7 is related to gene expression and poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Int. J. Oncol.* **41**, 253-9 (2012).
42. Kita, Y., Nishiyama, M. & Nakayama, K.I. Identification of CHD7(S) as a novel splicing variant of CHD7 with functions similar and antagonistic to those of the full-length CHD7(L). *Genes Cells* **17**, 536-47 (2012).
43. Hoshi, H., Hao, W., Fujita, Y., Funayama, A., Miyauchi, Y., Hashimoto, K., Miyamoto, K., Iwasaki, R., Sato, Y., Kobayashi, T., Miyamoto, H., Yoshida, S., Mori, T., Kanagawa, H., Katsuyama, E., Fujie, A., Kitagawa, K., Nakayama, K.I., Kawamoto, T., Sano, M., Fukuda, K., Ohsawa, I., Ohta, S., Morioka, H., Matsumoto, M., Chiba, K., Toyama, Y. & Miyamoto, T. Aldehyde-stress resulting from Aldh2 mutation promotes osteoporosis due to impaired osteoblastogenesis. *J. Bone Miner. Res.* **27**, 2015-23 (2012).
44. Okita, Y., Matsumoto, A., Yumimoto, K., Isoshita, R. & Nakayama, K.I. Increased efficiency in the generation of induced pluripotent stem cells by Fbxw7 ablation. *Genes Cells* **17**, 768-77 (2012).
45. Tateishi, Y., Matsumoto, A., Kanie, T., Hara, E., Nakayama, K. & Nakayama, K.I. Development of mice without Cip/Kip CDK inhibitors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **427**, 285-92 (2012).
46. Cremasco, V., Decker, C.E., Stumpo, D., Blackshear, P.J., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Lupu, T.S., Graham, D.B., Novack, D.V. & Faccio, R. Protein kinase C-delta deficiency perturbs bone homeostasis by selective uncoupling of cathepsin K secretion and ruffled border formation in osteoclasts. *J. Bone Miner. Res.* **27**, 2452-63 (2012).
47. Saita, S., Shirane, M. & Nakayama, K.I. Selective escape of proteins from the mitochondria during mitophagy. *Nature Commun.* **4**, 1410 (2013).
48. Hirano, A., Yumimoto, K., Tsunematsu, R., Matsumoto, M., Oyama, M., Kozuka-Hata, H., Nakagawa, T., Lanjakornsiripan, D., Nakayama, K.I. & Fukada, Y. FBXL21 regulates oscillation of the circadian clock through

- ubiquitination and stabilization of cryptochromes. *Cell* **152**, 1106-18 (2013).
49. Takeishi, S., Matsumoto, A., Onoyama, I., Naka, K., Hirao, A. & Nakayama, K.I. Ablation of fbw7 eliminates leukemia-initiating cells by preventing quiescence. *Cancer Cell* **23**, 347-61 (2013).
 50. Reavie, L., Buckley, S.M., Loizou, E., Takeishi, S., Aranda-Orgilles, B., Ndiaye-Lobry, D., Abdel-Wahab, O., Ibrahim, S., Nakayama, K.I. & Aifantis, I. Regulation of c-Myc ubiquitination controls chronic myelogenous leukemia initiation and progression. *Cancer Cell* **23**, 362-75 (2013).
 51. Furutachi, S., Matsumoto, A., Nakayama, K.I. & Gotoh, Y. p57 controls adult neural stem cell quiescence and modulates the pace of lifelong neurogenesis. *EMBO J.* **32**, 970-81 (2013).
 52. Kohda, K., Kakegawa, W., Matsuda, S., Yamamoto, T., Hirano, H. & Yuzaki, M. Gating of LTD by $\delta 2$ glutamate receptors—a new mechanism by coordinated interaction between two AMPA receptor phosphorylation sites. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, E948-57 (2013).
 53. Satake, T., Otsuki, K., Banba, Y., Suenaga, J., Hirano, H., Yamanaka, Y., Ohno, S. & Hirai, S. –I. The interaction of Kinesin-1 with its adaptor protein JIP1 can be regulated via proteins binding to the JIP1-PTB domain. *BMC Cell Biol.* **14**, 12 (2013).
 54. Takahashi, E., Okumura, A., Unoki-Kubota, H., Hirano, H., Kasuga, M. & Kaburagi, Y. Differential proteome analysis of serum proteins associated with the development of type 2 diabetes mellitus in the KK-A^y mouse model using the iTRAQ technique. *J. Proteomics*, in press.
 55. Endoh, K., Nishi, M., Ishiguro, H., Uemura, H., Miyagi, Y., Aoki, I., Hirano, H., Kubota, Y. & Ryo, A. Identification of phosphorylated proteins involved in the oncogenesis of prostate cancer via Pin1-proteomic analysis. *Prostate* **72**, 626-37 (2012).
 56. Izumi, N., Yamashita, A., Hirano, H. & Ohno, S. Heat shock protein 90 regulates phosphatidylinositol 3-kinase-related protein kinase family proteins together with the RUVBL1/2 and Tel2-containing co-factor complex. *Cancer Sci.* **103**, 50-7 (2012).
 57. Kimura, A., Kato, Y. & Hirano, H. N-Myristoylation of the Rpt2 subunit regulates intracellular localization of the yeast 26S proteasome. *Biochemistry* **51**, 8856-66 (2012).
 58. Kurata, Y., Kimura, Y., Yamanaka, Y., Ishikawa, A., Okamoto, H., Masaoka, T., Nagoya, H., Araki, K., Moriyama, S., Hirano, H. & Mori, T. Effects of growth hormone on the salmon pituitary proteome. *J. Proteomics* **75**, 1718-31 (2012).
 59. Yoshizawa, T., Shimizu, T., Hirano, H., Sato, M. & Hashimoto H. Structural basis for inhibition of xyloglucan-specific endo- β -1,4-glucanase (XEG) by XEG-protein inhibitor. *J. Biol. Chem.* **287**, 18710-16 (2012).
 60. 平野 久 プロテオミクス, 高山光男, 早川滋雄, 瀧浪欣彦, 和田芳直編, 現代質量分析学, 化学同人, 京都, p. 293-304, 2012.
 61. Ino, Y., Kazamaki, R. & Hirano, H. On-membrane identification of

- gel-resolved proteins by matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry (MALDI-MS). In: *Modern Methods in Protein Chemistry* (Tschesche, H. ed.) Walter De Gruyter, Berlin, p. 113-126, 2012.
62. 木村弥生, 平野 久. LC/MS/MS による疾患プロテオーム解析, 試料分析講座 タンパク質分析(日本分析化学会編), 丸善出版, 2012.
 63. 木村弥生, 野村文子, 井野洋子, 小原 收, 平野 久. Phos-tag アガロースおよび質量分析装置を用いたリン酸化ペプチドのショットガン分析. *生物物理化学* 56; s25-28, 2012.
 64. 木村弥生, 永田佳代子, 平野 久, 小原 收. 二次元 Phos-tag 親和性電気泳動. *生物物理化学*. 56; s21-24, 2012.
 65. Stephani-Kosin, K., Hirano, H. & Kamp, R. M. Proteomic analysis of Duchenne muscular dystrophy (DMD). In: *Modern Methods in Protein Chemistry* (Tschesche, H. ed.) Walter De Gruyter, Berlin, p. 235-248, 2012.
 66. Yokomizo, A., Takakura, M., Kanai, Y., Sakuma, T., Matsubara, J., Honda, K., Naito, S., Yamada, T. & Ono, M. Use of quantitative shotgun proteomics to identify fibronectin 1 as a potential plasma biomarker for clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Biomark.* 10, 175-83 (2012).
 67. Miyamoto, T., Kitamura, N., Ono, M., Nakamura, Y., Yoshida, M., Kamino, H., Murai, R., Yamada, T. & Arakawa, H. Identification of 14-3-3 gamma as a Miep-interacting protein and its role in mitochondrial quality control. *Sci. Rep.* 2, 379 (2012).
 68. Ono, M., Kamita, M., Murakoshi, Y., Matsubara, J., Honda, K., Miho, B., Sakuma, T., Yamada, T. Biomarker Discovery of Pancreatic and Gastrointestinal Cancer by 2DICAL: 2-Dimensional Image-Converted Analysis of Liquid Chromatography and Mass Spectrometry. *Int. J. Proteomics* 2012, Article ID 897412 (2012).
 69. 尾野雅哉, 紙田正博, 松原淳一, 村越雄介, 山田哲司. プロテオミクス解析システム 2DICAL を用いたがんバイオマーカー開発. *細胞* 44, 46-9 (2012).
 70. Fukawa, T., Ono, M., Matsuo, T., Uehara, H., Miki, T., Nakamura, Y., Kanayama, H. & Katagiri, T. DDX31 regulates the p53-HDM2 pathway and rRNA gene transcription through its interaction with NPM1 in renal cell carcinomas. *Cancer Res.* 72, 5867-77 (2012).
 71. Takakura, M., Yokomizo, A., Tanaka, Y., Kobayashi, M., Jung, G., Banno, M., Sakuma, T., Imada, K., Oda, Y., Kamita, M., Honda, K., Yamada, T., Naito, S. & Ono, M. Carbonic anhydrase I as a new plasma biomarker for prostate cancer. *ISRN Oncol.* 2012, Article ID 768190 (2012).
 72. 尾野雅哉, 紙田正博, 松原淳一, 山田哲司. プロテオーム解析によるがん診断と治療への道. *分子消化器病* 9, 71-6 (2012).
 73. Nakano, T., Matsushima-Hibiya, Y., Yamamoto, M., Takahashi-Nakaguchi, A., Fukuda, H., Ono, M., Takamura-Enya, T., Kinashi, H. & Totsuka, Y. ADP-ribosylation of guanosine by SCO5461 protein secreted from *Streptomyces coelicolor*. *Toxicon.* 63, 55-63 (2013).
 74. Honda, K., Ono, M., Shitashige, M., Masuda, M., Kamita, M., Miura, N. & Yamada, T. Proteomic Approaches to the Discovery of Cancer Biomarkers for Early Detection and Personalized

- Medicine Jpn. J. Clin. Oncol. **43**, 103-9 (2013).
75. Yoneyama, T., Ohtsuki, S., Ono M., Ohmine, K., Uchida, Y., Yamada, T., Tachikawa, M. & Terasaki, T. Quantitative targeted absolute proteomics-based large-scale quantification of proline-hydroxylated alpha-fibrinogen in plasma for pancreatic cancer diagnosis. *J. Proteome Res.* **12**, 753-62 (2013).
 76. 尾野雅哉、松原淳一、山田哲司: 血漿を用いた膵癌早期マーカー探索, 中村和行, 西尾和人, 西村俊秀編、臨床プロテオミクス バイオマーカー探索から個別化医療へ、東京, 金原出版, pp338-340, 2012
 77. Sasaki, K., Osaki, T. & Minamino, N. Large-scale identification of endogenous secretory peptides using electron transfer dissociation mass spectrometry. *Mol. Cell. Proteomics*, **12**, 700-9 (2013).
 78. Nishikimi, T., Okamoto, H., Nakamura, M., Ogawa, N., Horii, K., Nagata, K., Nakagawa, Y., Kinoshita, H., Yamada, C., Nakao, K., Minami, T. Kuwabara, Y., Kuwahara, K., Kangawa, K. Minamino, N. & Nakao, K. Direct immunochemi-luminescent assay for proBNP and total BNP in human plasma: proBNP and total BNP levels in healthy individuals and heart failure patients. *Plos One* **8**, e53233 (2013).
 79. Katayama, T., Kobayashi, H., Okamura, T., Yamasaki-Katayama, Y., Kibayashi, T., Kimura, H., Ohsawa, K., Kohsaka, S. & Minami, M. Accumulating Microglia Phagocytose Injured Neurons in Hippocampal Slice Cultures: Involvement of p38 MAP kinase. *PLoS One* **7** (7), e40813 (2012).
 80. Gonda, Y., Andrews, W. D., Tabata, H., Namba, T., Parnavelas, J. G., Nakajima, K., Kohsaka, S., Hanashima, C. & Uchino, S. Robo1 Regulates the Migration and Laminar Distribution of Upper-Layer Pyramidal Neurons of the Cerebral Cortex. *Cerebral Cortex*, **23**(6), 1495-1508.
 81. Ichimiya, T., Yamamoto, S., Honda, Y., Kikuchi, R., Kohsaka, S. & Nakajima, K. Functional down-regulation of axotomized rat facial motoneurons. *Brain Res.* **1507**: 35-44 (2013).
 82. Koizumi, S., Ohsawa, K., Inoue, K. & Kohsaka, S. Purinergic receptors in microglia: Functional modal shifts of microglia mediated by P2 and P1 receptors. *Glia* **61**(1): 47-54 (2013).
 83. Yabu, M., Korekane, H., Takahashi, H., Ohigashi, H., Ishikawa, O. & Miyamoto, Y. Accumulation of free Neu5Ac-containing complex-type N-glycans in human pancreatic cancers. *Glycoconj. J.* **30**(3), 247-56 (2013).
 84. Yabu, M., Korekane, H., Hatano, K., Kaneda, Y., Nonomura, N., Sato, C., Kitajima, K. & Miyamoto, Y. Occurrence of free deaminoneuraminic acid (KDN)-containing complex-type N-glycans in human prostate cancers. *Glycobiology* **23**(6), 634-42 (2013).
 85. Nomura, M., Shimbo, T., Miyamoto, Y., Fukuzawa, M. & Kaneda, Y. 13-Cis retinoic acid can enhance the antitumor activity of non-replicating Sendai virus particle against neuroblastoma. *Cancer Sci.* **104**(2), 238-44 (2013).
 86. Nakagawa, T., Moriwaki, K., Terao, N., Miyamoto, Y., Kamada, Y. & Miyoshi, E. Analysis of polarized secretion of fucosylated alpha-fetoprotein in HepG2 cells. *J. Proteome Res.* **11**(5), 2798-806 (2012).

87. Hatano, K., Miyamoto, Y., Mori, M., Nimura, K., Nakai, Y., Nonomura, N. & Kaneda, Y. Androgen-regulated transcriptional control of sialyltransferases in prostate cancer cells. *PLoS One* 7(2), e31234 (2012).
88. Tsuchida, S., Satoh, M., Umemura, H., Sogawa, K., Kawashima, Y., Kado, S., Sawai, S., Nishimura, M., Kodera, Y., Matsushita, K. & Nomura, F. Proteomic analysis of gingival crevicular fluid for discovery of novel periodontal disease markers. *Proteomics* 12(13), 2190-202 (2012).
89. Hirayama, M., Kobayashi, D., Mizuguchi, S., Morikawa, T., Nagayama, M., Yoshizawa, A., Kawano, S. & Araki, N. Integrated proteomics identified a novel activation signaling of dynein IC2-GR- COX-1 in NF1 disease model cells. *Mol. Cell. Proteomics*, in press (2013).
90. Nambu, NA., Midorikawa U, Mizuguchi S, Hide T, Nagai M, Komohara Y, Nagayama M, Hirayama M, Kobayashi D, Tsubota N, Takezaki T, Makino K, Nakamura H, Takeya M, Kuratsu J & Araki, N. Glioma initiating cells form a differentiation niche via the induction of extracellular matrices and integrin α V. *PLOS ONE*, in press (2013).
91. Nitta, H., Wada, Y., Kawano, Y., Murakami, Y., Irie, A., Taniguchi, K., Kikuchi, K., Yamada, G., Suzuki, K., Honda, J., Wilson-Morifuji, M., Araki, N., Eto, M., Baba, H. & Imamura, T. Enhancement of human cancer cell motility and invasiveness by anaphylatoxin C5a via aberrantly expressed C5a-receptor (CD88). *Clin. Cancer Res.* 19(8), 2004-13 (2013).
92. Sawanyawisuth, K., Wongkham, C., Riggins GJ., Wongkham, S., Araki, N. Possible involvement of Cyclophilin A processing in fumagillin-induced suppression of cholangiocarcinoma cell proliferation. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 13, Suppl: 137-41(2012).
93. Irie, A., Harada, K., Araki, N. & Nishimura, Y. Phosphorylation by PKD2 at Ser171 of SET reduced its inhibitory effect on PP2A phosphatase in T cells. *PLoS One* 7(12):e51242. doi: 10.1371 (2012).
94. Khaenam, P., Niibori, NM., Okada, S., Jearanaikoon, P. & Araki, N. & Limpai boon, T. Contribution of RIZ1 in proliferation and migration of liver fluke-related cholangiocarcinoma cell line. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 13, 4007-11 (2012).
95. Shimada, H., Nambu-Niibori, A., Wilson-Morifuji, M., Mizuguchi, S., Araki, N., Mezaki, Y., Senoo, H., Ishikawa, K., Okamoto, O. & Fujiwara, S. Epiplakin modifies the motility of the HeLa cells and accumulates at the outer surfaces of three-dimensional cell clusters. *J. Dermatol.* 40(4), 249-58 (2013).
96. Sawanyawisuth, K., Wongkham, C., Araki, N., Zhao, Q., Riggins, GJ. & Wongkham, S. Serial Analysis of Gene Expression Reveals Promising Therapeutic Targets for Liver Fluke-associated Cholangiocarcinoma. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 13, Suppl: 89-93 (2012).
97. Takenawa, T., Kuramitsu, Y., Wang, Y., Okada, F., Tokuda, K., Kitagawa, T., Ueyama, Y. & Nakamura, K. Proteomic analysis showed down-regulation of nucleophosmin in progressive tumor

- cells compared to regressive tumor cells. *Anticancer Res.* **33**, 153-60 (2013).
98. Wang, Y., Kuramitsu, Y., Ueno, T., Suzuki, N., Yoshino, S., Iizuka, N., Zhang, X., Akada, J., Oka, M. & Nakamura, K. Proteomic differential display identifies upregulated vinculin as a possible biomarker of pancreatic cancer. *Oncol. Rep.* **28**, 1845-50 (2012).
 99. Wang, Y., Kuramitsu, Y., Ueno, T., Suzuki, N., Yoshino, S., Iizuka, N., Akada, J., Kitagawa, T., Oka, M. & Nakamura, K. Glyoxalase I (GLO1) is up-regulated in pancreatic cancerous tissues compared with related non-cancerous tissues. *Anticancer Res.* **32**, 3219-22 (2012).
 100. Kuramitsu, Y., Wang, Y., Taba, K., Suenaga, S., Ryozaawa, S., Kaino, S., Sakaida, I. & Nakamura, K. Heat-shockprotein 27 plays the key role in gemcitabine-resistance of pancreatic cancer cells. *Anticancer Res.* **32**, 2295-99 (2012).
 101. Wang, Y., Kuramitsu, Y., Takashima, M., Yokoyama, Y., Iizuka, N., Tamesa, T., Sakaida, I., Oka, M. & Nakamura, K. Identification of four isoforms of aldolase B down-regulated in hepatocellular carcinoma tissues by means of two-dimensional Western blotting. *In Vivo.* **25**, 881-6 (2011).
 102. Kuramitsu, Y., Takashima, M., Yokoyama, Y., Iizuka, N., Tamesa, T., Akada, JK., Wang, Y., Toda, T., Sakaida, I., Okita, K., Oka, M. & Nakamura, K. Up-regulation of 42 kDa tubulin alpha-6 chain fragment in well-differentiated hepatocellular carcinoma tissues from patients infected with hepatitis C virus. *Anticancer Res.* **31**, 3331-6 (2011).
 103. Wang, Y., Kuramitsu, Y., Ueno, T., Suzuki, N., Yoshino, S., Iizuka, N., Zhang, X, Oka, M. & Nakamura, K. Differential expression of up-regulated cofilin-1 and down-regulated cofilin-2 characteristic of pancreatic cancer tissues. *Oncol. Rep.* **26**, 1595-9 (2011).
 104. Yoshida, K., Kuramitsu, Y., Murakami, K., Ryozaawa, S., Taba, K., Kaino, S., Zhang, X., Sakaida, I. & Nakamura, K. Proteomic differential display analysis for TS-1-resistant and -sensitive pancreatic cancer cells using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Anticancer Res.* **31**, 2103-8 (2011).
 105. Kuramitsu, Y., Zhang, X., Wang, Y., Nakamura, K. Identification of differentially expressed proteins in tumor necrosis factor-alpha-resistant and -sensitive rat hepatoma cells. *Anticancer Res.* **31**, 2059-63 (2011).
 106. Wang, Y., Kuramitsu, Y., Yoshino, S., Takashima, M., Zhang, X., Ueno, T., Suzuki, N., Oka, M. & Nakamura, K. Screening for serological biomarkers of pancreatic cancer by two-dimensional electrophoresis and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Oncol. Rep.* **26**, 287-92, (2011).
 107. Kuramitsu, Y., Hayashi, E., Okada, F., Zhang, X., Ueyama, Y. & Nakamura, K. Two-dimensional gel electrophoresis using immobilized pH gradient strips and Flamingo TM fluorescent gel stain identified non-nuclear proteins possibly related to malignant tumor progression. *Anticancer Res.* **31**, 1259-63 (2011).
 108. Taba, K. Kuramitsu, Y., Ryozaawa, S., Yoshida, K., Tanaka, T., Mori-Iwamoto,

S., Maehara, S., Maehara, Y., Sakaida, I. & Nakamura, K. KNK437 down regulates heat shock protein 27 of pancreatic cancer cells and enhances the cytotoxic effect of gemcitabine. *Chemotherapy*. 57, 12-6 (2011).

G-2. 学会発表

1. 朝長 毅: 最近のプロテオミクス技術の進歩とがん研究への応用. 第 112 回日本外科学会定期学術集会, 千葉, 2012 年 4 月 14 日
2. 朝長 毅: 真のバイオマーカーの発見を目指して. 第 10 回日本プロテオーム学会 2012 年会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日.
3. 朝長 毅: 疾患プロテオミクスの基礎と Human Proteome Project. 第 19 回日本遺伝子診療学会, 千葉, 2012 年 7 月 26-28 日.
4. 朝長 毅: プロテオミクスを用いた新規腫瘍マーカーの探索と実用化. 第 32 回日本分子腫瘍マーカー研究会, 札幌, 2012 年 9 月 18 日.
5. 朝長 毅, 佐野聖三, 渡邊史生, 田上真次, 大河内正康, 武田雅俊, 熊谷久美子, 常見雅彦: アルツハイマー病サロゲートマーカーの定量系の確立と診断への応用. 第 31 回 日本認知症学会, つくば, 2012 年 10 月 26-28 日.
6. 足立 淳, 久家貴寿, 白水 崇, 橋口一成, 松本雅記, 中山敬一, 井倉正枝, 井倉 毅, 高田 穰, 朝長 毅: リン酸化プロテオミクスを用いた新規 DNA 損傷初期応答キナーゼの探索. 日本放射線影響学会第 55 回大会, 仙台, 2012 年 9 月 6-9 日
7. 久家貴寿: 新規大腸癌関連タンパク質の予後予測マーカー応用を目指した取り組み. 第 9 回千葉疾患プロテオミクス研究会, 東京, 2012 年 11 月 24 日
8. 久米秀明, 渡邊史生, 村岡 賢, 石濱 泰, 小寺義男, 松下一之, 松原久裕, 朝長 毅: 大腸癌組織膜タンパク質の大規模プロテオーム解析によるバイオマーカー探索とその検証. 第 10 回日本プロテオーム学会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日
9. 原 康洋, 宮本泰豪, 加藤菊也, 福岡順也, 朝長 毅: 細気管支肺胞上皮癌のプロテオーム解析によるバイオマーカー探索. 日本ヒトプロテオーム機構第 10 回大会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日
10. 村岡 賢, 久米秀明, 渡邊史生, 桑野晶喜, 足立 淳, 佐藤三佐子, 川崎 直子, 石濱 泰, 石飛真人, 稲治英生, 小寺義男, 宮本泰豪, 加藤菊也, 朝長 毅: 乳癌膜タンパク質の大規模 iTRAQ-shotgun と SRM 解析によるバイオマーカータンパク質の検証 日本プロテオーム学会 2012 年大会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日
11. 久家貴寿, 久米秀明, 川崎直子, 足立 淳, 星野 敢, 松原久裕, 朝長 毅: 大腸癌手術標本の発現解析とインタラクトーム解析による新規癌関連タンパク質の同定. 日本プロテオーム学会 2012 年会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日
12. 足立 淳, 久家貴寿, 白水 崇, 久米秀明, 村岡賢, 橋口一成, 鳴海良平, 渡邊史夫, 桑野晶喜, 松本雅記, 中山敬一, 井倉正枝, 井倉 毅, 高田 穰, 朝長 毅: リン酸化プロテオミクスを用いた新規 DNA 損傷初期応答キナーゼの探索. 日本プロテオーム学会 2012 年会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日
13. 村上達夫, 久家貴寿, 足立 淳, 白水 崇, 宮本泰豪, 加藤菊也, 石飛真人, 稲治英生, 小寺義男, 朝長 毅: 大規模リン酸化プロテオーム解析と SRM/MRM によるヒト乳癌組織の検証法. 日本プロテオーム学会 2012 年会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日
14. 佐野聖三, 田上信次, 大河内正康, 渡邊史生, 熊谷久美子, 常見雅彦, 朝長 毅: Immuno-SRM/MRM 法を用いた血漿中のアルツハイマー病サロゲートマーカーペプチド APL1 β 定量のための前処理法の検討. 第 10 回日本プロテオーム学会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日

15. 白水 崇, 足立 淳, 朝長 毅: 同所性移植モデルによる大腸癌転移性株の定量的プロテオーム解析. 日本プロテオーム学会 2012 年大会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日
16. 川崎直子, 平野賢一, 原 康洋, 足立 淳, 渡邊史生, 朝長 毅: プロテオミクス、トランスクリプトミクスを用いた中性脂肪蓄積心筋血管症のバイオマーカー探索. 日本プロテオーム学会 2012 年大会, 東京, 2012 年 7 月 26 日-27 日
17. 小寺義男, 川島祐介, 斉藤達也, 佐藤 守, 曾川一幸, 朝長 毅, 前田忠計, 野村文夫: 血中診断マーカーペプチド獲得を目指した包括的なアプローチ. 日本プロテオーム学会 2012 年大会, 東京, 2012 年 7 月 26 日-27 日
18. 足立 淳, 久家貴寿, 白水 崇, 久米秀明, 村岡 賢, 橋口一成, 鳴海良平, 渡邊史生, 桑野晶喜, 松本雅記, 中山敬一, 井倉正枝, 井倉毅, 高田 穰, 朝長 毅: DNA 損傷初期応答シグナル解析から創薬標的の探索へ. 第 10 回北里疾患プロテオーム研究会, 神奈川, 2012 年 8 月 23 日
19. 久米秀明, 村岡 賢, 小寺義男, 松下一之, 松原久裕, 朝長 毅: 大規模プロテオーム解析による大腸癌バイオマーカーの探索とその検証. 第 71 回日本癌学会, 札幌, 2012 年 9 月 19-21 日
20. 村岡 賢, 久米秀明, 足立 淳, 宮本泰豪, 加藤菊也, 小寺義男, 朝長 毅: A strategy for validation of biomarker candidates combining iTRAQ and SRM/MRM assay in breast cancer tissue samples 第 71 回日本癌学会学術総会、札幌、2012 年 9 月 19-21 日
21. 久家貴寿, 久米秀明, 足立 淳, 星野 敢, 松原久裕, 朝長 毅: オミックス技術を駆使した新規大腸癌関連タンパク質の同定. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19-21 日
22. 足立 淳, 久家貴寿, 白水 崇, 久米秀明, 村岡 賢, 中山敬一, 井倉 毅, 高田穰, 朝長 毅: リン酸化プロテオミクスを用いた新規 DNA 損傷初期応答キナーゼの探索. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19-21 日
23. 村上達夫, 久家貴寿, 足立 淳, 白水 崇, 中山敬一, 宮本泰豪, 加藤菊也, 小寺義男, 朝長毅: ヒト乳がん組織の大規模リン酸化プロテオーム解析と SRM をベースにした検証法. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19-21 日
24. 白水 崇, 足立 淳, 朝長 毅: Proteomic analysis of highly metastatic colorectal cancer cells established from orthotopic metastatic mouse model.” 第 71 回日本癌学会学術総会, 北海道, 2012 年 9 月 19-21 日
25. 原 康洋, 宮本泰豪, 加藤菊也, 福岡順也, 朝長 毅: 細気管支肺胞上皮癌のプロテオーム解析によるバイオマーカー探索. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19-21 日
26. 松下一之, 石塚久子, 佐藤 守, 松原久裕, 島田英昭, 朝長 毅, 久保秀司, 吉田 稔, 野村文夫: c-myc 遺伝子転写抑制因子 FIR とスプライシング因子 SAP155 の結合による新規がん化メカニズムについて. 第 71 回日本癌学会学術総会, 北海道, 2012 年 9 月 19-21 日
27. 橋口一成, 足立 淳, 渡邊史生, 朝長 毅: Quantitative proteome and phosphoproteome analyses of chromatin proteins upon oxidative base damage. 第 36 回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012 年 12 月 11-14 日
28. 渡部亮介, 足立 淳, 朝長 毅: Global quantitative phospho-proteomic analysis on the mTOR-mediated signaling pathway. 第 35 回日本分子生物学会、福岡 2012 年 12 月 11-14 日
29. 原 康洋, 宮本泰豪, 加藤菊也, 福岡順也, 朝長 毅: 細気管支肺胞上皮癌のプロテオ