

検討した。

B. 研究方法

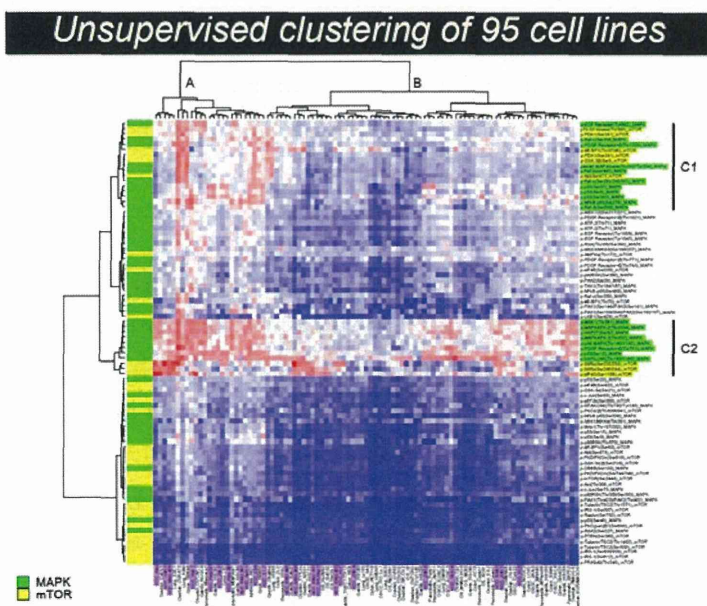
95 のがん細胞株（肝細胞がん 23 株、卵巣がん 16 株、胃がん 15 株、大腸がん 9 株、すい臓がん 9 株、肺がん 8 株、骨肉腫 8 株、口腔がん 7 株）を血清存在下と非存在下で培養し、細胞抽出液で高密度タンパクアレイを作製した。NCI-Nature のデータベースに登録されている 120 のシグナル経路に含まれる分子について 180 個のノードタンパク質のリン酸化に特異的抗体を用い、リン酸化タンパク質のプロファイリングをおこなった。

（倫理面への配慮）

本年度は培養細胞を用いた研究に限定しており、「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」等の対象外である。

C. 結果

95 種の細胞株で 180 種のリン酸化タンパク質の発現を解析する大規模なシグナル伝達プロファイリングを実施することが可能であった（下図）。



上記図で、黄色のカラムで示される mTOR シグナル伝達経路は比較的多くのがん種で共通に活性化していたのに対し、緑色で示される

MAPK シグナル伝達経路の活性化は一部の腫瘍細胞に限られることが分かった。

さらに、これら 2 のシグナル伝達経路のいずれか、あるいは両方が活性化しているのは統計学的に有意に肝細胞がん由来の細胞株で高頻度であった（下表）。

Strong Activation of MAPK and/or mTOR Signaling Unique to HCC

	A ^a	B ^b	p Value (Fisher's Exact Test)
HCC	11	12	0.011
Ovarian Cancer	3	12	0.753
Gastric Cancer	3	12	0.753
Colon Cancer	2	7	1.000
Pancreatic Cancer	2	7	1.000
Osteosarcoma	0	8	0.109
Lung Cancer	3	5	0.416
Oral Cancer	0	7	0.185

D. 考察

我々は昨年度までに RPPA 技術を用いて肝細胞がんにおけるソラフェニブのコンパニオン診断薬候補として 235 と 236 位のセリン残基がリン酸化した S6 リボゾームタンパク質を見出した。ソラフェニブ抵抗性細胞株では S6 リボゾームタンパク質のリン酸化レベルが高いことから、治療効果の期待できない患者を予測するコンパニオン診断薬となることが期待された。このように多くのリン酸化部位特異的な抗体ライブラリーと RPPA の組み合わせで網羅的なタンパク質リン酸化解析が可能であり、コンパニオン診断薬開発にも貢献するものと考えられる。

RPPA 法は、がん細胞や組織から抽出したごく微量の試料でシグナル伝達タンパク質のリン酸化を正確に効率良く把握できる方法であるのみならず、様々なシグナル伝達経路の活性化を網羅的にプロファイリングできる優れた解析法であることが、今年度の研究によって確認された。

特定のシグナル伝達分子に注目するのではなく、シグナル伝達経路全体の活性化を解析することで、新たな治療戦略が同定されるものと期待される。さらに、症例ごとに活

性化したシグナル伝達経路が明らかになれば、個別化されたがん治療に発展できる可能性がある。

E. 結論

95 種のがん細胞株で、180 種の代表的なシグナル伝達タンパク質のリン酸化を解析し、統計学的な解析で肝細胞がん特異的なシグナル伝達系の活性化を見出すことが可能であった。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

G-1. 論文発表

1. Miyanaga, A., Masuda, M., Tsuta, K., Kawasaki, K., Nakamura, Y., Sakuma, T., Hisao, H., Gemma, A. & Yamada, T. Hippo pathway gene mutations in malignant mesothelioma revealed by RNA and targeted exon sequencing. J. Thorac. Oncol., in press (2015).
2. Fukumoto, M., Kurisu, S., Yamada, T. & Takenawa, T. α -Actinin 4 enhances colorectal cancer cell invasion by suppressing focal adhesion maturation. Plos One., in press (2015).
3. Okamoto, N., Suzuki, H., Kawahara, K., Honda, K., Miura, N., Hirashima, T., Tamiya, M., Morishita, N., Shiroyama, T., Tanaka, A., Tani, E., Hamaguchi, M., Kitani, M., Yamada, T. & Kawase, I. The alternatively spliced actinin-4 variant as a prognostic marker for metastasis in small-cell lung cancer. Anticancer Res. 35, 1663-7 (2015).
4. Kamita, M., Mori, T., Sakai, Y., Ito, S., Gomi, M., Miyamoto, Y., Harada, A., Niida, S., Yamada, T., Watanabe, K. & Ono, M. Proteomic analysis of ligamentum flavum from patients with lumbar spinal stenosis. Proteomics, in press (2015).
5. Watanabe, T., Ueno, H., Watabe, Y., Hiraoka, N., Morizane, C., Itami, J., Okusaka, T., Miura, N., Kakizaki, T., Kakuya, T., Kamita, M., Tsuchida, A., Wilber, H., Yamada, T. & Honda, K. *ACTN4* copy number as a predictive biomarker for chemoradiotherapy of locally advanced pancreatic cancer. Br. J. Cancer 112, 704-13 (2015).
6. Masuda, M. & Yamada, T. Signaling pathway profiling by reverse-phase protein array for personalized cancer medicine. Biochim Biophys Acta. 1854, 651-657 (2015).
7. Tanaka, N., Yamashita, T., Yamamoto, S., Matsunobu, T., Tsuda, H., Honda, K., Yamada, T., Tamai, S. & Shiotani, A. Histological growth pattern of and α -actinin-4 expression in thyroid cancer. Anticancer Res. 34, 3157-63 (2014).
8. Watabe, Y., Mori, T., Yoshimoto, S., Nomura, T., Shibahara, T., Yamada, T. & Honda, K. Copy number increase of *ACTN4* is a prognostic indicator in salivary gland carcinoma. Cancer Med. 3, 613-22 (2014).
9. Masuda, M., Chen, WY., Miyanaga, A., Nakamura, Y., Kawasaki, K., Sakuma, T., Ono, M., Chen, CL., Honda, K. & Yamada, T. Alternative mammalian target of rapamycin (mTOR) signal activation in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cells revealed by array-based pathway profiling. Mol. Cell. Proteomics 13, 1429-38 (2014).
10. Yamada, T. Reverse phase protein array: a tool for signaling pathway profiling in the era of genome resequencing. Dig. Dis. Sci. 59, 895-6 (2014).
11. Matsukawa, S., Morita, K., Negishi, A.,

Harada, H., Nakajima, Y., Shimamoto, H., Tomioka, H., Tanaka, K., Ono, M., Yamada, T. & Omura, K. Galectin-7 as a potential predictive marker of chemo- and/or radio-therapy resistance in oral squamous cell carcinoma. Cancer Med. 3, 349-61 (2014).

G-2. 学会発表

1. Masuda, M. & Yamada, T.: Potential combination therapy with mTOR and MAPK inhibitors for HCC patients refractory to sorafenib. 4TH GLOBAL REVERSE PHASE PROTEIN ARRAY WHORKSHOP, Oct. 24-25, 2014, Paris, France.
2. Yamada T.: Predictive significance of ACTN4 in early-stage NSCLC. 2014 CHICAGO MULTIDISCIPLINARY SYMPOSIUM IN THORACIC ONCOLOGY, Oct. 30-Nov. 1, 2014 ,Chicago, IL.
3. Yamada T. & Masuda M.: Combinational Genome and Proteome Survey of Hepatocellular Carcinoma.26th EORTC-NCI-AACR SYMPOSIUM ON MOLECULAR TARGETS AND CANCER THERAPEUTICS, Nov. 18-21, 2014, Barcelona, Spain.
4. Yamada, T.: Cancer Biomarker Discovery by Antibody-based Proteomics. TPS2014, Nov. 18-21, 2014 ,Taipei, Taiwan.
5. Yamada, T.: Array-based Signaling Pathway Profiling for Cancer Therapy Personalization.JAPAN-US WORKSHOP FOR INNOVATIVE CANCER BIOMARKER DEVELOPMENT March. 24, 2014, Tokyo, Japan.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

発明の名称：「 α -アクチニン-4 遺伝子のコピー

数を指標とした卵巣癌の予後予測の補助方法及び予後判断のためのキット」

発明者：本田一文、山田哲司、洪橋説雄、稲沢譲治、井本逸勢、津田均、山本宗平、高野政志
出願日：2008 年 7 月 2 日

出願番号：特願 2013-128520

登録日：2015 年 2 月 20 日

特許番号：5696320 号

出願人：公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

Fbxw7 の発現低下はトリプルネガティブ乳がんの予後不良と相関し、プロパゲルマニウム治療に対するコンパニオン診断薬として有用である

研究分担者 中山 敬一 九州大学生体防御医学研究所 主幹教授

研究要旨

われわれのリン酸化プロテオミクス技術によって、有名ながん抑制遺伝子産物 Fbxw7 の標的基質として Notch が同定され、さらにその転写活性化標的としてケモカイン CCL2 が同定された。転移のメカニズムは未知の部分が多く残されているが、近年転移巣の周辺環境（転移ニッチ）が転移率や転移巣の増大に大きな役割を果たしているらしいことが突き止められている。われわれは Fbxw7 が転移ニッチで低下すると、ケモカイン CCL2 の分泌が上昇し、その結果として転移ニッチが活性化して、癌転移巣が増大するというものである。本研究では、種々のがんにおいてマウスでの肺転移率を計測したところ、骨髓由来細胞の中の Fbxw7 を欠損させると、顕著に転移率が亢進することを発見した。その効果は Fbxw7 欠損による Notch 蓄積と CCL2 の過剰分泌によることが判明した。そこで CCL2 阻害効果を有する既存薬プロパゲルマニウムをマウスに投与したところ、がん転移の促進は著明に抑制された。ヒト乳がん患者の血液中の Fbxw7 を計ったところ、予後との強い相関があることがわかった。つまりヒトがんにおいて、Fbxw7 が低い患者は予後不良群であり、その転移抑制にはプロパゲルマニウムが有効であること、そしてそのコンパニオン診断薬として Fbxw7 が利用できることが示唆された。

A. 研究目的

転移は悪性腫瘍のみが持つ大きな特徴であり、がん患者の生命予後に深刻な影響を与える性質である。従来、がん転移のメカニズムはがん細胞自身の特性として研究がおこなわれてきたが、近年、がん細胞を取り巻く微小環境（がんニッチ）ががんの進展に大きな影響を与えることが明らかになっている。特に骨髓由来細胞ががんの原発巣や転移巣に誘導され、その浸潤・転移・増殖に関わることが報告されている。

ユビキチンリガーゼ（E3）の一種である Fbxw7 をコードする遺伝子の変異は様々ながんで発見されており、有力ながん抑制遺伝子として注目を集めてきた。加えて、われわれは Fbxw7 ががん幹細胞の維持に寄与していることを報告した。このように Fbxw7 の研究は、そのほとんどががん細胞における役割に限られていたが本研究では、Fbxw7 が

んニッチにおいても重要な役割を果たし、またがんニッチの生育を妨げる薬物であるプロパゲルマニウム治療に対するコンパニオン診断薬として利用できることを報告する。

B. 研究方法

マウスメラノーマ細胞株 B16F10（高転移性）および B16F1（低転移性）、マウス肺がん細胞株 Lewis Lung Carcinoma（LLC）、マウス乳がん細胞株 E0771 を用いて、肺転移率を測定した。B16F10、B16F1、LLC は尾静脈から静注、E0771 は蛍光タンパク質 tdTomato をコードする遺伝子をトランスフェクションし、tdTomato 発現する株を樹立した後、乳腺に移植した。主要臓器（主に肺）における重量測定、肉眼的検査、顕微鏡的検査、免疫蛍光抗体法検査、等を行い、転移率や転移巣の大きさを評価し、宿主側の Fbxw7 の有無（特に骨髓由来細胞における Fbxw7

の有無)が転移率や転移巣の増大に影響するかどうかを検討した。

C. 研究結果

後述するように、骨髓由来細胞の Fbxw7 量の低下ががん患者の予後不良と相関することから、われわれはヒト病態を反映するようなマウスモデルを構築した。まず骨髓細胞特異的な Fbxw7 欠損マウスを作製し、尾静脈からメラノーマ細胞 (B16F10) を移植した。その結果、コントロールマウスと比べて Fbxw7 欠損マウスでは肺転移が亢進し、がん移植後早期に死亡した⁴⁾。Lewis 肺がん細胞や B16F1 メラノーマ細胞移植実験でも、Fbxw7 欠損マウスでは同様の転移亢進を示した。また E0771 乳がん細胞を乳腺周囲脂肪体へ同所性移植した実験では、原発巣の大きさには影響はなかったが、Fbxw7 欠損マウスで肺への転移が著明に亢進していた。このとき、転移が検出されるタイミングに変化はなかったが、肺転移数の上昇および転移巣でのがん細胞の増殖の亢進が共に観察された。このがん転移亢進が真に骨髓由来細胞中の Fbxw7 低下による影響であるかを調べるために、Fbxw7 欠損骨髓を移植したマウスに B16F10 メラノーマ細胞を移植してみたところ、骨髓移植マウスにおいてもがん細胞の肺転移亢進がみられた⁴⁾ (図 2B)。逆に、骨髓特異的 Fbxw7 欠損マウスに野生型マウスの骨髓を移植したマウスでは、がん転移の亢進は見られなかった。以上より、骨髓細胞内の Fbxw7 低下ががん転移亢進の原因であると結論付けた。

Fbxw7 はこれまで主にがん細胞の中での機能および変異が研究されてきたため、非細胞自律的な役割については何ら手がかりがなかった。そこでまず、転移巣にどのような骨髓細胞が集積しているかを調べるため、様々なマーカー抗体で転移初期における転移巣の免疫染色をおこなった。その結果、免疫抑制機能を持つことが知られる monocytic myeloid-derived suppressor cells (Mo-

MDSCs)が、がんニッチに特に多く集積していることを発見した。

また、がん移植前後でのマウス血中のサイトカインの変動を調べた結果、様々な液性因子の変動がみられたが、その中から単球・マクロファージの強力な遊走因子である CCL2 が Fbxw7 欠損マウスで増加していることに注目した。CCL2 は炎症性ケモカインの 1 つであり、以前から腫瘍随伴マクロファージのリクルートを介して、がんの増殖や血管新生を促進する機能が知られていた。近年では腫瘍または宿主から分泌される CCL2 ががん転移を促進することが報告され、にわかに注目を集めている。がん移植前の時点ですでに Fbxw7 欠損マウスの血中 CCL2 濃度はコントロールマウスのそれより高く、E0771 乳がん細胞を移植したマウスではさらに上昇することを見出した。ヒト患者においても、血中 Fbxw7 mRNA 量と CCL2 タンパク質量との間に負の相関があることがわかった。

上述の 2 つの結果から、Fbxw7 欠損マウスでは CCL2 の上昇を介したがんニッチへの Mo-MDSC のリクルートが転移を促進する可能性が考えられた。この仮説を検証するため、われわれはがん移植マウスに CCL2 レセプター (CCR2) のアンタゴニストであるプロパゲルマニウム⁵⁾の投与を試みた。その結果、Fbxw7 欠損マウスにおけるがん転移の亢進が著明に抑制され、また、がんニッチに集積する Mo-MDSCs の数も減少した。以上より、Fbxw7 の欠損による血中 CCL2 上昇が、Mo-MDSC の転移ニッチへのリクルートを促し、がん転移を促進させていることが明らかになった。

次に、がん転移を促進させる CCL2 の分泌源の特定を試みた。CCL2 を分泌する骨髓由来細胞として主に単球細胞と間葉系ストローマ細胞が知られているため、まず単球細胞を含む骨髓球系特異的なノックアウトマウスを作製したが、このマウスは末梢血中の CCL2 上昇もメラノーマ移植によるがん転移亢進も示さなかった。

一方、骨髄由来間葉系ストローマ細胞 (Bone-marrow derived mesenchymal stromal cells: BMSCs) を精製すると、Fbxw7 の欠損依存的に CCL2 の転写、分泌が上昇することが確認された。この細胞とメラノーマ細胞との共移植実験をおこなうと、野生型 BMSCs との共移植に比べ、Fbxw7 欠損 BMSCs との共移植によりメラノーマ細胞の肺転移が亢進した⁴⁾。この転移亢進は CCL2 ノックダウンにより野生型レベルまで抑制されたことから、Fbxw7 欠損 BMSCs は CCL2 依存的に転移を亢進させると結論付けた。

Fbxw7 は SCF 型ユビキチンリガーゼの構成因子であり、Fbxw7 の欠損により基質分子の蓄積が予想される。実際に、Fbxw7 欠損 BMSCs では、既知の基質である c-Myc や Notch1 の蓄積がみられた。このうち、Notch1 の過剰発現により CCL2 の転写亢進がみられた。実際に Notch1 のコファクターである Rbp-Jκ と Fbxw7 の二重欠損マウスでは、Fbxw7 単独欠損で見られたがん転移亢進がみられなくなり、血中の CCL2 濃度もコントロールレベルまで抑制された。一方、c-Myc と Fbxw7 の二重欠損マウスでは、このような変化は見られなかった。これらの結果から、BMSCs における Fbxw7 低下は Notch1 の分解異常を引き起こし、蓄積した Notch1 が CCL2 の転写、分泌を亢進させ、Mo-MDSCs の転移ニッチへのリクルートを上昇させた結果、がん転移が亢進するというモデルを提唱した。

乳がん患者 400 名の末梢血中の Fbxw7 mRNA 量を測定したところ、Fbxw7 mRNA 量は患者によって 10000 倍程度の差があり、予期せぬことに、末梢血中の Fbxw7 低値群は高値群よりも有意に予後不良であることを発見した。特にトリプルネガティブ (ER-PgR-HER2-) のがん患者において、この傾向が顕著に見られた。末梢血中にはごく微量のがん細胞が存在することが知られているが、本実験に使用した末梢血サンプル中のがん細胞の頻度は約 0.003% であり、この僅

かな細胞が全体の Fbxw7 mRNA 量に影響を与えているとは考えづらい。また Fbxw7 免疫染色により、末梢血 Fbxw7 量はがん細胞の Fbxw7 量よりもがんニッチ細胞 (その多くが骨髄由来細胞であることが知られている) の Fbxw7 量と強い相関がみられた。このことは骨髄由来細胞内の Fbxw7 量の高低ががんの予後を規定していることを示唆している。

以上のことをまとめると、乳がん患者 (特にトリプルネガティブ乳がん) において、Fbxw7 低値群は予後が悪いが、プロパゲルマニウム投与によって、それが改善することがマウス実験によって示された。一方で、Fbxw7 高値群は予後が良く、特にプロパゲルマニウム治療を要しないことが理論的に推察される。このように Fbxw7 の発現量は、プロパゲルマニウム治療に対するコンパニオン診断薬として実際に利用できることが示唆された。

D. 考察

プロパゲルマニウムは既に B 型肝炎治療薬として既に市販されている薬物であり (商品名: セロシオン)、約 20 年にわたってヒトに投与されてきた実績を有する。本研究の成果は、ドラッグリポジショニングとしてがん転移抑制剤としてのプロパゲルマニウムの有効性を示唆するものである。しかしプロパゲルマニウムは CCL2 の作用を抑制して転移を阻害するため、Fbxw7 低値群でしか有効性がないことが推察される。そこで患者の層別化のために Fbxw7 の発現量がコンパニオン診断薬として利用できることが予想される。今後は臨床応用を目指して、Fbxw7 測定系の開発を行っていくと共に、乳がん以外のがん種についても同じような結果が得られるかどうかを検討していく予定である。

E. 結論

ユビキチンリガーゼ Fbxw7 は、がんで高率に変異が見つかるがん抑制遺伝子産物であり、細胞増殖を促すタンパク質の分解を誘導

する。今までその研究はがん細胞自体における役割に限られていた。今回われわれは、Fbxw7 ががん周囲の骨髄由来細胞からの CCL2 分泌を抑制し、がん転移を抑制していることを突き止めた。さらに既存薬プロパゲルマニウムが CCL2 の作用を阻害することによってがん転移を抑制すること、そして Fbxw7 の発現量がそのコンパニオン診断として利用できることを実証した。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

G-1. 論文発表

1. Yumimoto, K., Akiyoshi, S., Ueo, H., Sagara, Y., Onoyama, I., Ueo, H., Ohno, S., Mori, M., Mimori, K. & Nakayama, K.I. F-box protein Fbxw7 inhibits cancer metastasis in a non-cell-autonomous manner. *J. Clin. Invest.* 125, 621-35 (2015).
2. Adachi, S., Homoto, M., Tanaka, R., Hioki, Y., Murakami, H., Suga, H., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Hatta, T., Iemura, S. & Natsume, T. ZFP36L1 and ZFP36L2 control LDLR mRNA stability via the ERK-RSK pathway. *Nucleic Acids Res.* 42, 10037-49 (2014).
3. Saita, S., Shirane, M., Ishitani, T., Shimizu, N. & Nakayama, K.I. Role of the ANKMY2-FKBP38 Axis in Regulation of the Sonic Hedgehog (Shh) Signaling Pathway. *J. Biol. Chem.* 289, 25639-54 (2014).
4. Yamauchi, T., Nishiyama, M., Moroishi, T., Yumimoto, K. & Nakayama, K.I. MDM2 mediates nonproteolytic polyubiquitylation of the DEAD-Box RNA helicase DDX24. *Mol. Cell. Biol.* 34, 3321-40 (2014).
5. Yugi, K., Kubota, H., Toyoshima, Y., Noguchi, R., Kawata, K., Komori, Y., Uda, S., Kunida, K., Tomizawa, Y., Funato, Y., Miki, H., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Kashikura, K., Endo, K., Ikeda, K., Soga, T. & Kuroda, S. Reconstruction of insulin signal flow from phosphoproteome and metabolome data. *Cell Rep.* 8, 1171-83 (2014).
6. Kitagawa, K., Shibata, K., Matsumoto, A., Matsumoto, M., Ohhata, T., Nakayama, K.I., Niida, H. & Kitagawa, M. Fbw7 targets GATA3 through cyclin-dependent kinase 2-dependent proteolysis and contributes to regulation of T-cell development. *Mol. Cell. Biol.* 34, 2732-44 (2014).
7. Kanatsu-Shinohara, M., Onoyama, I., Nakayama, K.I. & Shinohara, T. Skp1-Cullin-F-box (SCF)-type ubiquitin ligase FBXW7 negatively regulates spermatogonial stem cell self-renewal. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 111, 8826-31 (2014).
8. Moroishi, T., Yamauchi, T., Nishiyama, M. & Nakayama, K.I. HERC2 targets the iron regulator FBXL5 for degradation and modulates iron metabolism. *J. Biol. Chem.* 289, 16430-41 (2014).
9. Matsumoto, A., Takeishi, S. & Nakayama, K.I. p57 regulates T-cell development and prevents lymphomagenesis by balancing p53 activity and pre-TCR signaling. *Blood* 123, 3429-39 (2014).
10. Hashiguchi, T., Oyamada, A., Sakuraba, K., Shimoda, K., Nakayama, K.I., Iwamoto, Y., Yoshikai, Y. & Yamada, H. Tyk2-dependent bystander activation of conventional and nonconventional Th1 cell subsets contributes to innate host defense against *Listeria monocytogenes*

infection. J. Immunol. 192, 4739-47 (2014).

11. Hashimoto, Y., Shirane, M., Matsuzaki, F., Saita, S., Ohnishi, T. & Nakayama, K.I. Protrudin regulates endoplasmic reticulum morphology and function associated with the pathogenesis of hereditary spastic paraplegia. J. Biol. Chem. 289, 12946-61 (2014).

G-2. 学会発表

1. 中山敬一: がん幹細胞の撲滅による新しいがん治療法. 第12回日本免疫治療学研究会学術集会, 東京, 2/28, 2015.
2. 中山敬一: がんにおける二つの謎: がん幹細胞とワールブルグ効果. 第3回婦人科がんバイオマーカー研究会学術集会, 福岡, 2/21, 2015.
3. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学研究の新地平: 90年来のがんの謎を解く. 第13回群馬大学大学院医学系研究科・大学院生によるワークショップ「未来を切り拓く医学研究」, 前橋, 2/13, 2015.
4. 中山敬一: 次世代プロテオミクスを用いたがん特性の解明. 第45回ヒューマンサイエンス総合研究セミナー「がんの多様性に応じた研究・治療 — 創薬のパラダイムシフト —, 東京, 1/13, 2015.
5. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新地平: 90年来のがんの謎を解く. 第61回日本臨床検査医学会学術集会, 福岡, 11/23, 2014.
6. Nakayama, K.I.: Deep and absolute quantification of human proteome unveils a global landscape of cancer metabolism. The 4th Japan-France Cancer Workshop, Kyoto, 11/19, 2014.
7. 中山敬一: がんにおける二つの謎: がん幹細胞とワールブルグ効果. 第134回山口県医師会生涯研修セミナー, 山口, 11/9, 2014.
8. Nakatsumi, H., Matsumoto, M. and Nakayama, K.I.: Nutrition signal induces inflammation via the mTOR-FOXK1-CCL2 pathway. The 24rd Hot Spring Harbor Symposium: Recent Advances in Immunology and Inflammation 2014, Fukuoka, 11/8, 2014.
9. Muto, Y., Nishiyama, M., Moroishi, T. and Nakayama, K.I.: Role of the ubiquitin ligase FBXL5 controlling iron metabolism in hematopoietic stem cells. The 24rd Hot Spring Harbor Symposium: Recent Advances in Immunology and Inflammation 2014, Fukuoka, 11/7, 2014.
10. Takeishi, S., Matsumoto, A. and Nakayama, K.I.: Disruption of quiescence by p57 ablation confers oncogene addiction to leukemic stem cells through altered niche regulation. The 24rd Hot Spring Harbor Symposium: Recent Advances in Immunology and Inflammation 2014, Fukuoka, 11/7, 2014.
11. Nishiyama, M., Nita, A., Yumimoto, K. and Nakayama, K.I.: FBXL12-mediated degradation of ALDH3 is essential for the exit program from the stem cell state. The 24rd Hot Spring Harbor Symposium: Recent Advances in Immunology and Inflammation 2014, Fukuoka, 11/7, 2014.

12. 中山敬一：次世代プロテオミクスが拓く
医学生物学の新地平：90年来のがんの謎
を解く．第23回長崎障害者支援再生医療
研究会，長崎，11/4，2014.
13. 中山敬一：癌幹細胞の理解と制御：癌を
完治させる治療戦略．第73回日本癌学会
学術総会，横浜，9/26，2014
14. 中山敬一：次世代プロテオミクスと数理
科学の融合が解き明かすがんの秘密．第
73回日本癌学会学術総会，横浜，9/25，
2014.
15. 中山敬一：ユビキチンリガーゼFBXL5に
よる鉄代謝制御とその破綻．第38回鉄バ
イオサイエンス学会学術集会，仙台，9/6，
2014.
16. 中山敬一：次世代プロテオミクスが拓く
医学生物学の新地平：90年来のがんの謎
を解く．第8回レドックス・ライフイノベ
ーション第170委員会，宮崎，8/21，2014.
17. 中山敬一：がんの完治に向けた次世代型
アプローチ．第50回姫路市医師会夏期大
学，姫路，7/27，2014.
18. 中山敬一：医学研究に貢献する最先端分
析技術．九州プロサーチオープニングセ
ミナー，福岡，7/26，2014.
19. 中山敬一：次世代プロテオミクスが拓く
医学生物学の新地平：90年来のがんの秘
密を解き明かす．第7回KAITEKI Forum，
東京，7/8，2014.
20. 中山敬一：全タンパク質の絶対定量によ
るがん代謝シフトの解明．第14回日本蛋
白質科学会年会，横浜，6/25，2014.
21. 松本雅記，中津海洋一，中山敬一：リン
酸化定量プロテオミクスによるシグナル
伝達研究．第14回日本蛋白質科学会年会，
横浜，6/25，2014.
22. Takeishi, S., Matsumoto, A. and
Nakayama, K.I.: Disruption of
quiescence by p57 ablation confers
oncogene addiction on leukemia stem
cells through altered micro-
environmental regulation. The 12th
Stem Cell Research Symposium,
Fukuoka, 5/31, 2014.
23. Nakayama, K.I.: FBXL12 targets
ALDHs for degradation in trophoblast
stem cells to induce differentiation. The
12th Stem Cell Research Symposium,
Fukuoka, 5/31, 2014.
24. 中山敬一：次世代プロテオミクスと数理
科学の融合が解き明かすがんの秘密．生
命科学系3分野がん・ゲノム・脳支援活動
合同シンポジウム，東京，5/27，2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
発明の名称：「癌の処置のための方法」
発明者：中山敬一、三森功士
出願日：2014 年 12 月 26 日
出願番号：特願 2014-266001
出願人：国立大学法人九州大学
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
木村鮎子, 平野 久	9 章. 疾患研究における翻訳後修飾の解析	近藤 格	医学のあゆみ 251(10), 「臨床プロテオミクス」	医歯薬出版	東京	2014	965-969

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sato, M., Matsubara, T., Adachi, J., Hashimoto, Y., Kishida, M., Yang, Y., Wakefield, LM., <u>Tomonaga, T.</u>	Differential proteome analysis identifies TGF- β -related pro-metastatic proteins in a 4T1 murine breast cancer model.	PLoS One	In press		2015
Adachi, J., Kishida, M., Watanabe, S., Hashimoto, Y., Fukamizu, K., <u>Tomonaga, T.</u>	Proteome-wide discovery of unknown ATP-binding proteins and kinase inhibitor target proteins using an ATP Probe.	J. Proteome Res.	13	5461-70	2014
Kazami, T., Nie, H., Satoh, M., <u>Kuga, T.</u> , Matsushita, K., <u>Kawasaki, N.</u> , <u>Tomonaga, T.</u> , Nomura, F.	Nuclear accumulation of annexin A2 contributes to chromosomal instability by coilin-mediated centromere damage.	Oncogene	In press		2014
Kubota, S., Morii, M., Yuki, R., Yamaguchi, N., Yamaguchi, H., Aoyama, K., <u>Kuga, T.</u> , <u>Tomonaga, T.</u> , Yamaguchi, N.	Role for tyrosine phosphorylation of A-kinase anchoring protein 8 (AKAP8) in its dissociation from chromatin and the nuclear matrix., in press (2015).	J. Biol. Chem.	In press		2015

Kume, H., Muraoka, S., Kuga, T., Adachi, J., Narumi, R., Watanabe, S., Kuвано, M., Kodera, Y., Matsushita, K., Fukuoka, J., Masuda, T., Ishihama, Y., Matsubara, H., Nomura, F., <u>Tomonaga, T.</u>	Discovery of colorectal cancer biomarker candidates by membrane proteomic analysis and subsequent verification using selected reaction monitoring (SRM) and tissue microarray (TMA) analysis.	Mol. Cell. Proteomics	13	1471-84	2014
Sano, S., Tagami, S., Hashimoto, Y., Yoshizawa- Kumagaye, K., Tsunemi, M., Okochi, M., <u>Tomonaga, T.</u>	Absolute quantitation of low abundance plasma APL1 β peptides at sub-fmol/mL level by SRM/MRM without immunoaffinity enrichment.	J. Proteome Res.	13	1012-20	2014
Yamaguchi, S., Zhang, B., <u>Tomonaga, T.</u> , Seino, U., <u>Kanagawa, A.</u> , Segawa, M., Nagasaka, H., Suzuki, A., Miida, T., Yamada, S., Sasaguri, Y., Doi, T., Saku, K., Okazaki, M., Tochino, Y., Hirano, K.	Selective evaluation of high density lipoprotein from mouse small intestine by an in situ perfusion technique.	J. Lipid Res.	55	905-18	2014
Liu, Y., Sogawa, K., Sunaga, M., Umemura, H., Satoh, M., Kazami, T., Yoshikawa, M., <u>Tomonaga, T.</u> , Yokosuka, O., Nomura, F.	Increased concentrations of Apo A-I and Apo A-II fragments in the serum of patients with hepatocellular carcinoma by magnetic beads-assisted MALDI-TOF mass spectrometry.	Am. J. Clin. Pathol.	141	52-61	2014

Matsumoto, K., Ikeda, M., Matsumoto, T., Nagashio, R., Nishimori, T., <u>Tomonaga, T.</u> , Nomura, F., Sato, Y., Kitasato, H., Iwamura, M.	Serum periplakin as a potential biomarker for urothelial carcinoma of the urinary bladder.	Asian Pac. J. Cancer Prev.	15	9927-31	2014
Matsumoto, K., Ikeda, M., Sato, Y., Kuruma, H., Kamata, Y., Nishimori, T., <u>Tomonaga, T.</u> , Nomura, F., Egawa, S., Iwamura, M.	Loss of periplakin expression is associated with pathological stage and cancerspecific survival in patients with urothelial carcinoma of the urinary bladder.	Biomed. Res.	35	201-6	2014
Matsushita, K., Kitamura, K., Rahmutulla, B., Tanaka, N., Ishige, T., Satoh, M., Hoshino, T., Miyagi, S., Mori, T., Itoga, S., Shimada, H., <u>Tomonaga, T.</u> , Kito, M., Nakajima- Takagi, Y., Kubo, S., Nakaseko, C., Hatano, M., Miki, T., Matsuo, M., Fukuyo, M., Kaneda, A., Iwama, A., Nomura, F.	Haploinsufficiency of the c-myc transcriptional repressor FIR, as a dominant negative-alternative splicing model, promoted p53-dependent T-cell acute lymphoblastic leukemia progression by activating Notch1., in press (2015).	Oncotarget	In press		2015

Matsushita, K., Shimada, H., Ueda, Y., Inoue, M., Hasegawa, M., <u>Tomonaga, T.</u> , Matsubara, H., Nomura, F.	Non- transmissible Sendai virus vector encoding c-myc suppressor FBP- interacting repressor for cancer therapy.	World J. Gastroenterol.	20	4316-28	2014
Oji, Y., Tatsumi, N., Fukuda, M., Nakatsuka, S., Aoyagi, S., Hirata, E., Nanchi, I., Fujiki, F., Nakajima, H., Yamamoto, Y., Shibata, S., Nakamura, M., Hasegawa, K., Takagi, S., Fukuda, I., Hoshikawa, T., Murakami, Y., Mori, M., Inoue, M., Naka, T., <u>Tomonaga, T.</u> , Shimizu, Y., Nakagawa, M., Hasegawa, J., Nezu, R., Inohara, H., Izumoto, S., Nonomura, N., Yoshimine, T., Okumura, M., Morii, E., Maeda, H., Nishida, S., Hosen, N., Tsuboi, A., Oka, Y., Sugiyama, H.	The translation elongation factor eEF2 is a novel tumorassociated antigen overexpressed in various types of cancers.	Int. J. Oncol.	44	1461-9	2014

Tun, A.W., Chaiyarit, S., Kaewsutthi, S., Katanyoo, W., Chuenkongkaew, W., Kuвано, M., <u>Tomonaga, T.</u> , Peerapittayamongkol, C., Thongboonkerd, V., Lertrit, P.	Profiling the mitochondrial proteome of Leber's Hereditary Optic Neuropathy (LHON) in thailand: down-regulation of bioenergetics and mitochondrial protein quality control pathways in fibroblasts with the 11778G>A mutation.	PLoS One	9	e106779	2014
Kuga, T., Nie, H., Kazami, T., Satoh, M., Matsushita, K., Nomura, F., Maeshima, K., Nakayama, Y., <u>Tomonaga T.</u>	Lamin B2 prevents chromosome instability by ensuring proper mitotic chromosome segregation.	Oncogenesis	3	e94	2014
Furukawa, K., Kawamoto, K., Eguchi, H., Tanemura, M., Tomimaru, Y., Akita, H., Hama, N., Wada, H., Kobayashi, S., Nonaka, Y., Takamatsu, S., Shinzaki, S., Kumada, T., Satomura, S., Ito, T., Serada, S., <u>Naka, T.</u> , Mori, M., Doki, Y., Miyoshi, E., Nagano, H.	Clinico-pathological significance of leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 in sera of patients with pancreatic cancer.	Pancreas	44	93-98	2015

Yang, L., Fujimoto, M., Murota H., Serada, S., Fujimoto, M., Honda, H., Yamada, K., Suzuki, K., Nishikawa, A., Hosono, Y., Yoneda, Y., Takehara, K., Imura, Y., Mimori, T., Takeuchi, T., Katayama, I., <u>Naka, T.</u>	Proteomic identification of heterogeneous nuclear RNP-K as a novel cold-associated autoantigen in patients with secondary Raynaud's phenomenon.	Rheumatology (Oxford)	54	349-58	2015
Kawabata, A., Serada, S., <u>Naka, T.</u> , Mori, Y.	Human herpes- virus 6 gM/gN complex interacts with v-SNARE in infected cells.	J. Gen. Virol.	95	2769-77	2014
Azuma, K., Serada, S., Takamatsu, S., Terao, N., Takeishi, S., Kamada, Y., <u>Naka, T.</u> , Miyoshi, E.	Identification of sialylated glycoproteins in doxorubicin- treated hepatoma cells with glyco- proteomic analyses. 13, (2014).	J. Proteome Res.	13	4869-77	2014
Morimoto, A., Serada, S., Enomoto, T., Kim, A., Matsuzaki, S., Yokoyama, T., Takahashi, T., Ueda, Y., Yoshino, K., Fujita, M., Fujimoto, M., Kimura, T., <u>Naka, T.</u>	Annexin A4 induces platinum resistance in a chloride- and calcium- dependent manner.	Oncotarget	5	7776-87	2014

Kotobuki, Y., Yang, L., Serada, S., Tanemura, A., Yang, F., Nomura, S., Kudo, A., Izuhara, K., Murota, H., Fujimoto, M., Katayama, I., Naka, T.	Periostin accelerates human malignant melanoma progression by modifying the melanoma microenvironment.	Pigment Cell Melanoma Res.	27	630-9	2014
Oji, Y., Tatsumi, N., Fukuda, M., Nakatsuka, S., Aoyagi, S., Hirata, E., Nanchi, I., Fujiki, F., Nakajima, H., Yamamoto, Y., Shibata, S., Nakamura, M., Hasegawa, K., Takagi, S., Fukuda, I., Hoshikawa, T., Murakami, Y., Mori, M., Inoue, M., Naka, T., Tomonaga, T., Shimizu, Y., Nakagawa, M., Hasegawa, J., Nezu, R., Inohara, H., Izumoto, S., Nonomura, N., Yoshimine, T., Okumura, M., Morii, E., Maeda, H., Nishida, S., Hosen, N., Tsuboi, A., Oka, Y., Sugiyama, H.	The translation elongation factor eEF2 is a novel tumor- associated antigen overexpressed in various types of cancers.	Int. J. Oncol.	44	1461-9	2014

Yang, L., Murota, H., Serada, S., Fujimoto, M., Kudo, A., <u>Naka, T.</u> , Katayama, I.	Histamine contributes to tissue remodeling via periostin expression.,	J. Invest. Dermatol.	134	2105-13	2014
Matsuzaki, S., Enomoto, T., Serada, S., Yoshino, K., Nagamori, S., Morimoto, A., Yokoyama, T., Kim, A., Kimura, T., Ueda, Y., Fujita, M., Fujimoto, M., Kanai, Y., Kimura, T., <u>Naka, T.</u>	Annexin A4-conferred platinum resistance is mediated by the copper transporter ATP7A.	Int. J. Cancer	134	1796-809	2014
Sadaoka, T., Serada, S., Kato, J., Hayashi, M., Gomi, Y., <u>Naka, T.</u> , Yamanishi, K., Mori, Y.	Varicella-zoster virus ORF49 functions in the efficient production of progeny virus through its interaction with essential tegument protein ORF44.	J. Virol.	88	188-201	2014
Ota, M., Serada, S., <u>Naka, T.</u> , Mori, Y.	MHC class I molecules are incorporated into human herpesvirus-6 viral particles and released into the extracellular environment	Microbiol. Immunol.	58	119-25	2014
Nagano, K., Yamashita, T., Inoue, M., Higashisaka K., Yoshioka Y., Abe Y., Mukai Y., Kamada H., Tsutsumi Y., <u>Tsunoda, S.</u>	Eph receptor A10 has a potential as a target for a prostate cancer therapy.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	450	545-9	2014

Nagano, K., Maeda, Y., Kanasaki, S., Watanabe, T., Yamashita, T., Inoue, M., Higashisaka, K., Yoshioka, Y., Abe, Y., Mukai, Y., Kamada, H., Tsutsumi, Y., <u>Tsunoda, S.</u>	Ephrin receptor A10 is a promising drug target potentially useful for breast cancers including triple negative breast cancers.	J. Controlled Release	189	72-9	2014
Kamada, H., Taki, S., Nagano, K., Inoue, M., Ando, D., Mukai, Y., Higashisaka, K., Yoshioka, Y., Tsutsumi, Y., <u>Tsunoda, S.</u>	Generation and characterization of a bispecific Diabody targeting EPH receptor A10 and CD3.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	456	8-12	2015
Fujioka, Y., Suzuki, S.W., Yamamoto, H., Kondo-Kakuta, C., Kimura, Y., <u>Hirano, H.</u> , Akada, R., Inagaki, F., Ohsumi, Y., Noda, NN.	Structural basis of starvation- induced assembly of the autophagy initiation complex.	Nat. Struct. Mol. Biol.	21	513-21	2014
Imanishi, T., Ishihara, C., Badr Mel, S., Hashimoto-Tane, A., Kimura, Y., Kawai, T., Takeuchi, O., Ishii, K. J., Taniguchi, S., Noda, T., <u>Hirano, H.</u> , Brombacher, F., Barber, G. N., Akira, S., Saito, T.	Nucleic acid sensing by T cells initiates Th2 cell differentiation.	Nat. Commun.	5	3566	2014

Ino, Y., Ishikawa, A., Nomura, A., Kajiwara, H., Harada, K., <u>Hirano, H.</u>	Phosphoproteome analysis of <i>Lotus japonicus</i> seeds.	Proteomics	14	116-20	2014
Kimura, A., Arakawa, N., <u>Hirano, H.</u>	Mass spectrometric analysis of the phosphorylation levels of the SWI/SNF chromatin remodeling/tumor suppressor proteins ARID1A and Brg1 in ovarian clear cell adenocarcinoma cell lines.	J. Proteome Res.	13	4959-69	2014
Masaki, T., Matsunaga, S., Takahashi, H., Nakashima, K., Kimura, Y., Ito, M., Matsuda, M., Murayama, A., Kato, T., <u>Hirano, H.</u> , Endo, Y., Lemon, S.M., Wakita, T., Sawasaki, T., Suzuki, T.	Involvement of hepatitis C virus NS5A hyperphosphorylation mediated by casein kinase I- α in infectious virus production.	J. Virol.	88	7541-55	2014
Matsunaga, S., Kawakami, S., Matsuo, I., Okayama, A., Tsukagoshi, H., Kudoh, A., Matsushima, Y., Shimizu, H., Okabe, N., <u>Hirano, H.</u> , Yamamoto, N., Kimura, H., Ryo, A.	Wheat germ cell-free system- based production of hemagglutinin- neuraminidase glycoprotein of human parainfluenza virus type 3 for generation and characterization of monoclonal antibody.	Front Microbiol.	5	208	2014

Nagata, K., Kawakami, T., Kurata, Y., Kimura, Y., Sakuma, Y., Nagata, T., Miyagi, Y., <u>Hirano, H.</u>	Augmentation of multiple protein kinase activities associated with secondary imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors as revealed by quantitative phosphoproteome analysis.	J. Proteomics	115	132-42	2014
Okayama, A., Miyagi, Y., Oshita, F., Nishi, M., Nakamura, Y., Nagashima, Y., Akimoto, K., Ryo, A., <u>Hirano, H.</u>	Proteomic analysis of proteins related to prognosis of lung adenocarcinoma.	J. Proteome Res.	13	4686-94	2014
Suzuki, S. W., Yamamoto, H., Oikawa, Y., Kondo-Kakuta, C., Kimura, Y., <u>Hirano, H.</u> , Ohsumi, Y.	Atg13 HORMA domain recruits Atg9 vesicles during autophagosome formation.	Proc. Natl. Acad. Sci. USA	112	3350-5	2014
Miyanaga, A., Masuda, M., Tsuta, K., Kawasaki, K., Nakamura, Y., Sakuma, T., Hisao, H., Gemma, A. & <u>Yamada, T.</u>	Hippo pathway gene mutations in malignant mesothelioma revealed by RNA and targeted exon sequencing.,	J. Thorac. Oncol.	In press		2015