

令和 2 年 7 月 11 日現在

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2016～2019

課題番号：16KT0116

研究課題名(和文)大規模経時採取血漿バンクの網羅的タンパク質変動解析による大腸癌再発予測因子の解明

研究課題名(英文)Development of a diagnostic model for a risk of colorectal cancer recurrence

研究代表者

植田 幸嗣 (Ueda, Koji)

公益財団法人がん研究会・がんプレジジョン医療研究センター がんオーダーメイド医療開発プロジェクト・プロジェクトリーダー

研究者番号：10509110

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文)：大腸がん手術後早期再発リスク診断を可能とする目的で早期再発症例、長期無再発症例由来手術切除組織と血漿サンプルの網羅的定量プロテオーム解析を実施した。その結果81組織タンパク質、37血漿タンパク質が早期再発例において有意な発現を示していた($p < 0.05$, Fold change 5倍以上)。これら分子の質量分析絶対定量法による検証試験結果とSupport vector machineを用いた検定により、早期再発群の予測に血漿タンパク質4種が必要十分であると求められ、最終的に4タンパク質の術前血中濃度を使用するロジスティック回帰式にて再発高危険度群の予測診断が可能なモデルを構築できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦において大腸がんは部位別がん罹患数で1位、死亡数で2位を占める。集学的治療法の発展に伴って予後の改善は見られているものの、臨床病期II期、III期の手術後再発例は予後が不良である。したがってこれら再発高リスク群を正確に特定し、術後補助化学療法など適切なコントロールを行うことができれば、有意な予後の改善が期待できる。本研究開発では最終的に治療前における4種の血漿中タンパク質濃度を用いれば極めて高精度な大腸がん術後再発高危険度群を予測できるモデルを構築できた。低侵襲な当血液診断によって低リスク群には不要な化学療法を回避し、高リスク群には積極的な加療を行うなど個別化医療に資する成果といえる。

研究成果の概要(英文)：To develop a novel diagnostic model for early recurrence of colorectal cancer, comprehensive proteomic analysis of tissue and plasma samples was performed. Comparative analysis between the early recurrence group and recurrence-free group identified 81 tissue proteins and 37 plasma proteins as the predictive biomarker candidates. Next, based on mass spectrometric absolute quantification analysis and the Error rate monitoring test, 4 plasma proteins were determined to be the least set for most effective classification of 2 groups. Finally, the logistic regression model using pre-operative levels of these 4 plasma proteins accurately predicted the high-risk group of colorectal cancer recurrence.

研究分野：腫瘍診断学

キーワード：バイオマーカー 大腸癌 プロテオミクス

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大腸癌は日本及び世界的にも罹患率、死亡率の高い悪性腫瘍である。日本人の大腸癌罹患数は年々上昇しており男性では1980年に肺癌を抜き胃癌に次いで2位となっている。女性でも1996年に胃癌を抜き乳癌に次いで2位である。死亡数は約50年でおおよそ10倍となっており、部位別がん死亡数では第3位、数年後には胃癌を抜いて第2位になると予想されている。

大腸癌に対する治療は特に化学療法を中心に目覚ましい発展を遂げており、再発進行大腸癌に対する全身化学療法では分子標的治療薬を併用すれば生存期間中央値が2年を超えるようになってきた。さらに、根治手術を行い得た臨床病期3期大腸癌の術後補助化学療法が再発予防に有用であることが示されている。この術後補助化学療法の有効性をさらに上げるためには、奏効率の高い新たな化学療法レジメンの開発も必要であるが、再発の時期やパターンを予測し、個々人の状況に合った化学療法を選択することも重要なアプローチである。一方、臨床病期2期大腸癌に対する術後補助化学療法の場合は、化学療法群の生存期間が良好な傾向があるものの有意差は証明されておらず、現時点では臨床病期2期大腸癌に一律に術後補助化学療法を適用することは推奨されていない。しかしながら、現実には臨床病期2期患者の約13%は再発をきたすことが知られている。したがって臨床病期2期の中で再発高リスク群を設定し、このような予後不良なサブグループに絞って術後補助化学療法を行うという戦略は有効である。American Society of Clinical Oncology (ASCO)ガイドラインでは再発高リスク要因として、郭清リンパ節個数12個未満、壁深達度T4症例、穿孔例、低分化腺癌・印環細胞癌・粘液癌症例と規定されているが、高レベルのエビデンスに基づいたものではなく、より信頼性の高い予測因子が求められている。

2. 研究の目的

上記のような背景から、本研究では大腸癌の治療成績を有意に向上させ、かつ患者に優しい個別化医療の実現を最終目的として大腸癌術後再発高リスク群予測因子の解明を目指す。とりわけ刻一刻と変化する動的な分子情報と臨床所見を個人差も十分に加味した上でリンクさせる本研究を実施するため、申請者は分担者と協力して5年間で大腸癌手術症例約3,200例から血漿を採取、保管し、その全症例で治療前後および3ヶ月おきの経時的採血を行ってきた。10ポイントを超える採血を実施した症例も多数あり、総検体数13,000検体超となった本大規模経時採取血漿バンクを用いれば、あらゆる再発関連事象(アウトプット)を細かく層別化し、それぞれに有意な影響を及ぼす多因子の特定、またそれらを複合的に用いた再発リスク診断が可能になると期待できる。

3. 研究の方法

大腸がん術後1年以内再発例(n=20)を早期再発群、5年以上無再発例(n=20)を無再発群と定義し、手術時における組織、血漿検体からタンパク質を抽出し(計80サンプル)、最先端の質量分析技術を駆使したプロテオーム解析に供した。

<血漿プロテオーム解析>

粗血漿には14種類だけで全タンパク質量の94%を占める、アルブミン、IgGなど多量タンパク質群が含まれている。ここには癌組織や癌微小環境に由来する微量なバイオマーカータンパク質は含まれないと考えられるので、これらをAgilent MARS-14カラムとHPLCシステムを用いて除去する。ここで、この14タンパク質に非特異的なタンパク質間相互作用によって微量タンパク質が結合してロスする危険性があるため、独自に調製した弱変性移動層を使用してHPLC精製を行う。さらに、粘性の高い血漿の多検体オペレーションでヒューマンエラーが起きないように、オーダーメイド分注&加圧フィルタロボットを使用してHPLC前後の処理を行う。この2つの工夫によりng/mlオーダーの既存腫瘍マーカータンパク質でもリカバリー率98%以上を達成しており、本MARS-14処理によりバイオマーカーが含まれる微量タンパク質画分を再現性よく濃縮することが可能である。

MARS-14処理で得られた質量比6%のタンパク質群の内訳もまた、極端に含有量の多いタンパク質(準多量タンパク質)と微量な成分に分かれている。このまま質量分析を行っても準多量タンパク質ばかりが同定され、タンパク質同定数は1,000に満たない。そのため特殊な炭素含有率と充填剤表面処理が施されたタンパク質逆相精製用カラムmRP-C18(Agilent社)を用いた2段階目のHPLC分画を行い、このクロマトグラムの特定部分のみをオートサンプラーで自動採取することにより選択的かつ再現性よく準多量タンパク質群も除去する。40マイクロリットルの血漿からこれら二段階の精製処理を行ったタンパク質サンプルを網羅的定量プロテオーム解析に供する。

<組織プロテオーム解析>

生体組織からの高効率で再現性の良いタンパク質抽出は大変難しく、超音波法やビーズ破砕法では発熱でタンパク質を損傷する他、特に細胞膜成分など難溶性の画分に関して回収率、および処理の再現性が非常に乏しい。そこで2,300気圧の高圧と常圧を繰り返すことで構造体を均一に破砕し、発熱もほとんど起きないパロサイクラーによるタンパク質抽出を使用した。本法は琥珀に含まれた微生物からのタンパク質抽出を可能にしたという報告があるほど組織破砕能力

に優れており、タンパク質温存・回収効率も従来法より良好であった。

しかしながら、依然として多数回膜貫通タンパク質など非常に難溶性の高いタンパク質群については収率が悪く、再現性も不十分であるため、SDS 並みのタンパク質強変性性能を持ちなおかつ酸性条件下での有機溶媒液抽出によって簡単に除去が可能な 2 種類の界面活性剤(デオキシコール酸ナトリウム、N-ライロイルサルコシン酸)を適切な濃度で配合し、あらゆる難溶性タンパク質を可溶化できる条件を整えた。

以上の前処理を行った血漿、組織タンパク質をトリプシンにより消化し、Orbitrap Fusion Lumos 質量分析計 (Thermo Scientific 社) を用いた LC/MS 分析に供した。得られた質量分析データはスイス Genedata 社と共同開発しているオミクスデータベースサーバー-Expressionist にて高速にタンパク質同定、相対定量化、統計処理を行うことが可能となっている。

以上の血漿、組織に対する定量プロテオーム解析データから統計学的に大腸がん早期再発に関わると示唆されたタンパク質群に対して、さらに経時採取血漿検体、組織マイクロアレイを用いた Targeted の検証試験を実施する。最終的に経時血中タンパク質変動プロファイルや組織中タンパク質発現プロファイルと臨床情報(年齢、性別、生化学検査値、腫瘍マーカー値、病理所見、治療歴、その他)を統合した多変量を用いて、早期再発リスク予測モデルの構築を行う。

4. 研究成果

大腸がん臨床病期 II 期、または III 期で手術後長期無再発(5年以上)であった症例群、および早期再発(1年以内)が認められた群、各 20 症例の手術時採取組織(新鮮凍結組織)を用いて、網羅的定量プロテオーム解析を実施した。

計 40 サンプルの組織から強変性溶媒にて抽出した総タンパク質をトリプシン消化後に LC/MS 分析に供し、Proteome Discoverer ソフトウェアによるタンパク質同定、ラベルフリー定量化処理を行った結果、重複を除く 6,135 タンパク質が同定有意水準(False discovery rate < 1%)を満たして相対定量化された。ここでは、各サンプルにおける全タンパク質相対定量値の総和がサンプル間で一定になるよう Normalization 処理を行った。これらに対して上記 2 群間で Student's t-test を実施したところ、 $p < 0.05$ かつ Fold change > 5.0 をもって 38 タンパク質が早期再発群大腸がん組織中で有意な発現上昇を示すタンパク質として同定された。また、 $p < 0.05$ かつ Fold change < 0.2 をもって 43 タンパク質が同群組織中において有意に発現が低かったことが明らかとなった(図 1A)。ここで得られた大腸がん組織中バイオマーカー候補分子、計 81 タンパク質の定量値を用いて主成分分析による評価を行ったところ、図 1B に示すように早期再発群と長期無再発群を明確に識別可能なタンパク質群であることが示された。

特に早期再発群において大腸がん組織で有意な発現亢進を示した 38 タンパク質のうち 6 種は、互いに協調的、または相補的に細胞の増殖や運動能を正に制御している重要なシグナル伝達経路構成因子であった。したがって、これら分子群の発現亢進は大腸がん再発リスクのバイオマーカーとなるだけでなく、同分子群を直接、または構成シグナル経路を標的とした術後補助化学療法(adjunct chemotherapy)のターゲットともなり得ることが期待される。

次に、上記大腸がん組織解析で用いた症例と同一の患者群から採取した EDTA 血漿中の網羅的定量プロテオーム解析を実施した。

40 μ l の血漿から、コンベンショナル HPLC と Multiple Affinity Removal System (MARS) Human-14 column を使用してタンパク質重量比で 96% を占める 14 種血漿多量タンパク質(albumin, IgG, antitrypsin, IgA, transferrin, haptoglobin, fibrinogen, alpha2-macroglobulin, alpha1-acid glycoprotein, IgM, apolipoprotein AI, apolipoprotein AII,

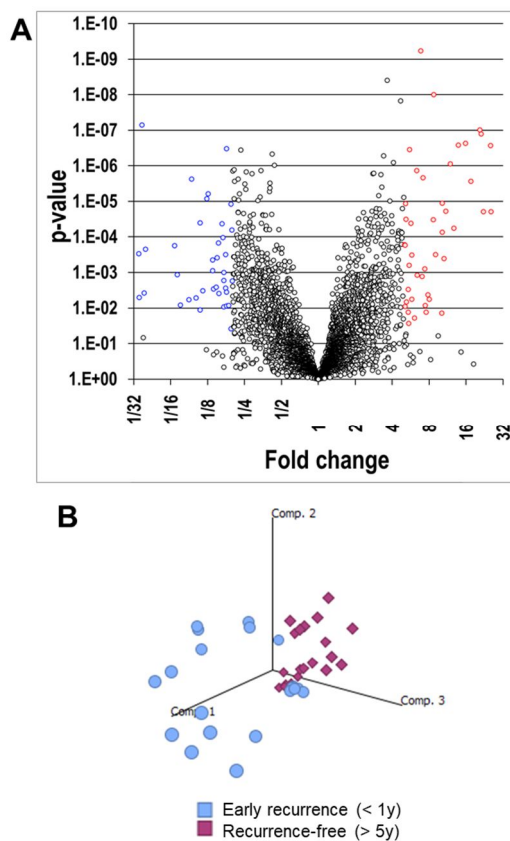


図 1 大腸がん組織タンパク質の網羅的定量プロテオーム解析

(A) 検出された 6,135 タンパク質に対して早期再発群と長期無再発群間で t 検定を実施した結果を Volcano plot で図示。 $p < 0.05$ かつ Fold change > 5.0 を示した 38 タンパク質を赤ドット、 $p < 0.05$ かつ Fold change < 0.2 を示した 43 タンパク質を青ドットで示す。(B) (A) で抽出した 81 タンパク質を用いた主成分分析の結果。

complement C3 and transthyretin)を除去し、さらにタンパク質用逆相高分離カラム (mRP-C18) によって再現性の高い分画精製を前処理として実施した。この血漿由来タンパク質をトリプシン消化後に LC/MS 分析に供し、タンパク質同定・定量解析を行った結果、重複を除く 4,012 タンパク質が同定有意水準 (False discovery rate < 1%) を満たして相対定量化された。血漿タンパク質は個々の構成タンパク質における濃度の個人差、幅が極めて大きく、中央値や相加平均を用いた Normalization を行うと想定外のバイアス加わる危険性があるため、ここでは使用血漿量を一定に設定し、データ上の Normalization は行わないこととした。これらに対して上記 2 群間で Student's t-test を実施したところ、 $p < 0.05$ かつ Fold change > 5.0 をもって 20 タンパク質が早期再発群大腸がん患者血漿中で有意な発現上昇を示すタンパク質として同定された。また、 $p < 0.05$ かつ Fold change < 0.2 をもって 17 タンパク質が同群血漿中において有意に濃度が低かったことが明らかとなった (図 2A)。ここで得られた大腸がん血中バイオマーカー候補分子、計 37 タンパク質の定量値を用いて主成分分析による評価を行ったところ、図 2B に示すように早期再発群と長期無再発群を明確に識別可能なタンパク質群であることが示された。

以上の解析から同定されたタンパク質バイオマーカー候補群に対して、それぞれ特異抗体を整備して個々にイムノアッセイを構築することはコスト、時間、実用化の面で現実的ではないと考えられるため、トリプル四重極型質量分析計を使用した高速絶対定量法である Multiple Reaction Monitoring (MRM)法 (図 3) を用いてマルチバイオマーカー検証試験を実施した。ここでは、標的タンパク質に特異的なトリプシン消化断片ペプチド配列に対して ^{13}C 、 ^{15}N の安定同位体を複数含む合成ペプチド (Heavy peptide) を内部標準 (図 4、Internal standard) として作製し、至適化した既知濃度を測定試料にスパイクしてから Heavy peptide と試料に含まれていた生理的な質量の同配列ペプチド (Light peptide) を質量の違いによって別々に測定することで Light peptide の絶対定量を可能とした。この MRM 測定は一回 30 分間の LC/MS 測定で数十~100 種類程度のタンパク質を同時定量でき、かつ何種類のタンパク質を定量してもスタンダードペプチド以外のコストは同一である点から、体外診断としての実用化も可能な利点がある。実際、大腸がん早期再発例において血中濃度が有意に亢進することが分かったタンパク質の部分ペプチドを MRM 定量に供した結果では、図 4 に示すとおり赤曲線で示す内部標準は全試料で同等に検出されている一方、青曲線で示す生体試料由来ペプチド

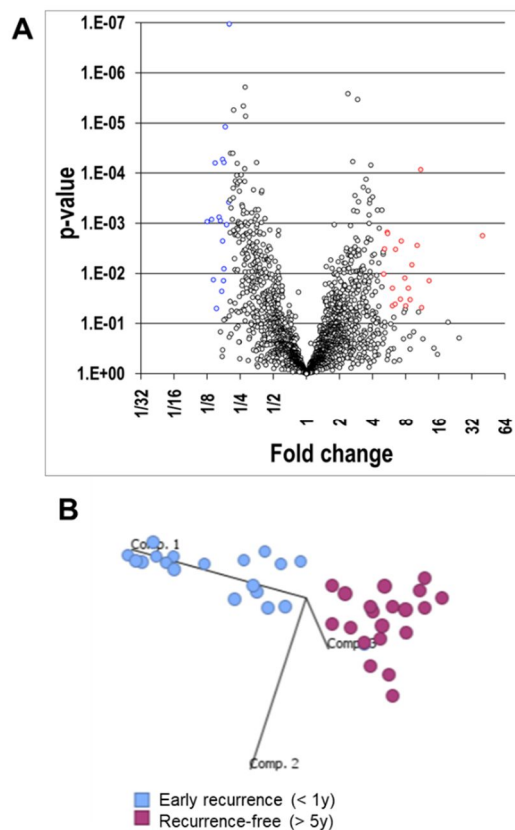


図 2 大腸がん患者血漿タンパク質の網羅的定量プロテオーム解析

(A) 検出された 4,012 タンパク質に対して早期再発群と長期無再発群間で t 検定を実施した結果を Volcano plot で図示。 $p < 0.05$ かつ Fold change > 5.0 を示した 20 タンパク質を赤ドット、 $p < 0.05$ かつ Fold change < 0.2 を示した 17 タンパク質を青ドットで示す。(B) (A) で抽出した 37 タンパク質を用いた主成分分析の結果。

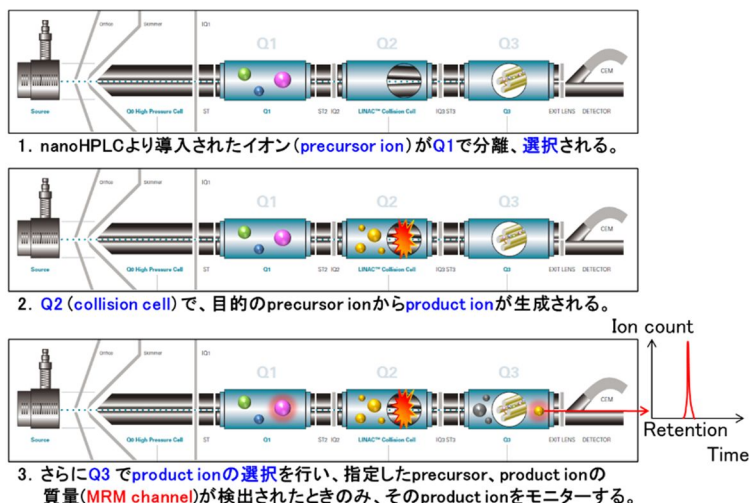


図 3 Multiple Reaction Monitoring (MRM)法の原理

タンパク質試料をトリプシン消化したペプチド混合物から、標的タンパク質を構成するペプチドの理論質量、およびそれを上記 2. で開裂させたときに生じるフラグメントイオンの理論質量を指定し、正確に元のタンパク質量を定量する。

は右 10 パネルの早期再発群で特異的に高値を示していることが確認できた。

MRM 法によって得られた組織 81 タンパク質、血漿 37 タンパク質の絶対定量結果をベースとして、線形分類器に Support vector machine (SVM)、Ranking method に Recursive Feature Elimination 法を用いた Error rate monitoring test を実施したところ、早期再発群と長期無再発群の二群を最も低い Error rate で識別可能な最小のバイオマーカー組み合わせは、いずれも血漿タンパク質由来で、早期再発群において高値を示す 4 タンパク質であると求めることができた。この結果に基づき、同 4 タンパク質量値を用いたロジスティック回帰分析を行い、上記二群を識別する ROC 曲線においてその曲線下面積 (AUC) が最も高くなる重み付けを行った診断モデル式を作製した。最終的に 4 タンパク質の術前血中濃度を使用するロジスティック回帰で求めた診断式にて、再発高危険度群 20 例と低危険度群 20 例の高精度な予測診断が可能となるモデルを構築することができた (図 5)。

これら 4 タンパク質はいずれも大腸がんに関するバイオマーカー分子としては初報告となるものであり、バイオマーカーとしての Proof of concept (POC) を取得する意味でも、大腸がんの再発、転移に関わる分子メカニズムについては詳細な分子生物学的機能解析が必要である。一方で質量分析を用いたマルチバイオマーカー診断法の臨床実用化については、機器操作、メンテナンスの著名な簡易化、測定コストの低下などが急速に進み、これらのデータを含むマルチモダリティ診断の上市も近いとされている現状である。したがって、本研究で同定された 4 タンパク質を低侵襲な少量の血液サンプルから測定し、大腸がん術後の再発リスク診断が可能になれば適切な術後コントロールを実施することによる予後の改善が期待される。

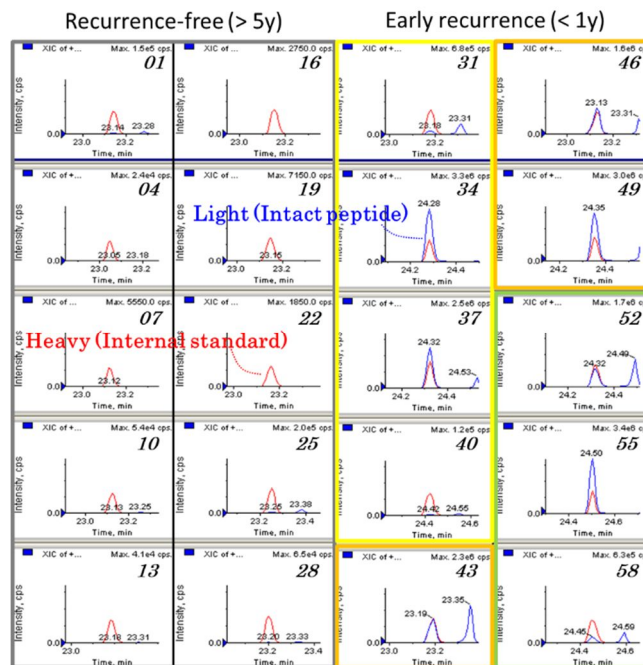


図 4 MRM 法による血漿タンパク質バイオマーカーの絶対定量測定

大腸がん早期再発症例の血漿中で有意に発現亢進が認められたタンパク質に対して MRM 測定を実施した結果の一例。青曲線は試料中に含まれていた標的タンパク質由来ペプチドの定量クロマトグラムを示す。赤曲線は既知濃度をスパイクした同配列の安定同位体標識合成ペプチドのクロマトグラムを示す。左 10 パネルは長期無再発群、右 10 パネルは早期再発群、それぞれ 10 症例ずつの代表例を示す。右側早期再発群において青曲線の高濃度なペプチド発現が見られる。

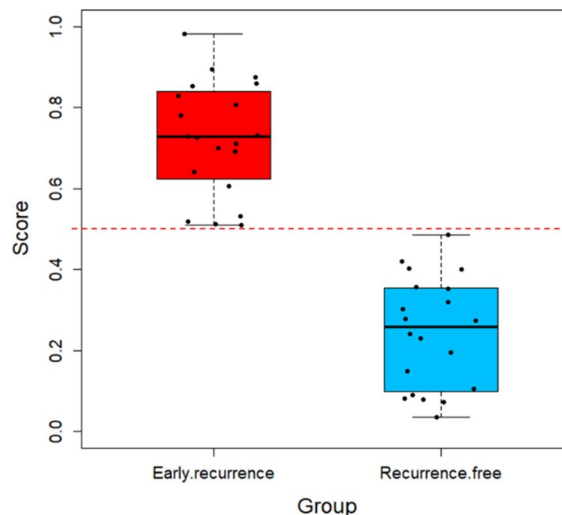


図 5 大腸がん早期再発予測診断モデルの評価

血漿中 4 タンパク質の発現量をもとに構築したロジスティック診断式を用いて早期再発群 (上図中左ボックス) と長期無再発群 (上図中右ボックス) 各 20 症例におけるスコアを算出。赤点線: Cut-off 値 = 0.5。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計26件（うち査読付論文 24件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Wu, A.Y., Ueda, K., and Lai, C.P.	4. 巻 19
2. 論文標題 Proteomic Analysis of Extracellular Vesicles for Cancer Diagnostics.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proteomics	6. 最初と最後の頁 e1800162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pmic.201800162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Okuma, Y., Morikawa, K., Tanaka, H., Yokoyama, T., Itani, H., Horiuchi, K., Nakagawa, H., Takahashi, N., Bessho, A., Soejima, K., Kishi, K., Togashi, A., Kanai, Y., Ueda, K., Horimoto, K., Matsutani, N., and Seki, N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Prospective exosome-focused translational research for afatinib study of non-small cell lung cancer patients expressing EGFR (EXTRA study).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Thorac Cancer	6. 最初と最後の頁 395-400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1759-7714.12923	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Liu, Y.Y., Tanikawa, C., Ueda, K., and Matsuda, K.	4. 巻 54
2. 論文標題 INKA2, a novel p53 target that interacts with the serine/threonine kinase PAK4.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International journal of oncology	6. 最初と最後の頁 1907-1920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2019.4786	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Jingushi, K., Uemura, M., Nakano, K., Hayashi, Y., Wang, C., Ishizuya, Y., Yamamoto, Y., Hayashi, T., Kinouchi, T., Matsuzaki, K., Kato, T., Kawashima, A., Ujike, T., Nagahara, A., Fujita, K., Ueda, K., Tsujikawa, K., and Nonomura, N.	4. 巻 41
2. 論文標題 Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1 promotes tumorigenesis in RCC	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncol Rep	6. 最初と最後の頁 1293-1303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2018.6875	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Haga, Y., Uemura, M., Baba, S., Inamura, K., Takeuchi, K., Nonomura, N., and Ueda, K.	4. 巻 91
2. 論文標題 Identification of Multisialylated LacdiNAc Structures as Highly Prostate Cancer Specific Glycan Signatures on PSA.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical chemistry	6. 最初と最後の頁 2247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.8b04829	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanikawa, C., Ueda, K., Suzuki, A., Iida, A., Nakamura, R., Atsuta, N., Tohnai, G., Sobue, G., Saichi, N., Momozawa, Y., Kamatani, Y., Kubo, M., Yamamoto, K., Nakamura, Y., and Matsuda, K.	4. 巻 22
2. 論文標題 Citrullination of RGG Motifs in FET Proteins by PAD4 Regulates Protein Aggregation and ALS Susceptibility.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 1473-1483
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.01.031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jingushi, K., Uemura, M., Ohnishi, N., Nakata, W., Fujita, K., Naito, T., Fujii, R., Saichi, N., Nonomura, N., Tsujikawa, K., and Ueda, K.	4. 巻 142
2. 論文標題 Extracellular vesicles isolated from human renal cell carcinoma tissues disrupt vascular endothelial cell morphology via azurocidin.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Cancer,	6. 最初と最後の頁 607-617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.31080	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Deng, B., Tarhan, Y.E., Ueda, K., Ren, L., Katagiri, T., Park, J.H., and Nakamura, Y.	4. 巻 20
2. 論文標題 Critical Role of Estrogen Receptor Alpha O-Glycosylation by N-Acetylgalactosaminyltransferase 6 (GALNT6) in Its Nuclear Localization in Breast Cancer Cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neoplasia	6. 最初と最後の頁 1038-1044
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neo.2018.08.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanikawa Chizu, Ueda Koji, Suzuki Akari, Iida Aritoshi, Nakamura Ryoichi, Atsuta Naoki, Tohnai Genki, Sobue Gen, Saichi Naomi, Momozawa Yukihide, Kamatani Yoichiro, Kubo Michiaki, Yamamoto Kazuhiko, Nakamura Yusuke, Matsuda Koichi	4. 巻 22
2. 論文標題 Citruillination of RGG Motifs in FET Proteins by PAD4 Regulates Protein Aggregation and ALS Susceptibility	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 1473 ~ 1483
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.01.031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jingushi Kentaro, Uemura Motohide, Ohnishi Naomi, Nakata Wataru, Fujita Kazutoshi, Naito Takuya, Fujii Risa, Saichi Naomi, Nonomura Norio, Tsujikawa Kazutake, Ueda Koji	4. 巻 142
2. 論文標題 Extracellular vesicles isolated from human renal cell carcinoma tissues disrupt vascular endothelial cell morphology via azurocidin	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 607 ~ 617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.31080	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuda Tatsuo, Kato Taigo, Kiyotani Kazuma, Tarhan Yunus Emre, Saloura Vassiliki, Chung Suyoun, Ueda Koji, Nakamura Yusuke, Park Jae-Hyun	4. 巻 8
2. 論文標題 p53-independent p21 induction by MELK inhibition	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 57938-57947
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.18488	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Yukie, Tanikawa Chizu, Miyamoto Takafumi, Hirata Makoto, Wang Guanxiong, Ueda Koji, Komatsu Tsunehiko, Matsuda Koichi	4. 巻 51
2. 論文標題 Regulation of tubular recycling endosome biogenesis by the p53-MICALL1 pathway	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 724 ~ 736
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2017.4060	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyamoto Takafumi, Lo Paulisally Hau Yi, Saichi Naomi, Ueda Koji, Hirata Makoto, Tanikawa Chizu, Matsuda Koichi	4. 巻 3
2. 論文標題 Argininosuccinate synthase 1 is an intrinsic Akt repressor transactivated by p53	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 e1603204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.1603204	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang Rui, Deng Xiaolan, Yoshioka Yuichiro, Vougiouklakis Theodore, Park Jae-Hyun, Suzuki Takehiro, Dohmae Naoshi, Ueda Koji, Hamamoto Ryuji, Nakamura Yusuke	4. 巻 108
2. 論文標題 Effects of SMYD2-mediated EML4-ALK methylation on the signaling pathway and growth in non-small-cell lung cancer cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1203 ~ 1209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13245	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuzaki Kyosuke, Fujita Kazutoshi, Jingushi Kentaro, Kawashima Atsunari, Ujike Takeshi, Nagahara Akira, Ueda Yuko, Tanigawa Go, Yoshioka Iwao, Ueda Koji, Hanayama Rikinari, Uemura Motohide, Miyagawa Yasushi, Tsujikawa Kazutake, Nonomura Norio	4. 巻 8
2. 論文標題 MiR-21-5p in urinary extracellular vesicles is a novel biomarker of urothelial carcinoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 24668-24678
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.14969	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mori Jinichi, Tanikawa Chizu, Ohnishi Naomi, Funauchi Yuki, Toyoshima Osamu, Ueda Koji, Matsuda Koichi	4. 巻 19
2. 論文標題 EPSIN 3, A Novel p53 Target, Regulates the Apoptotic Pathway and Gastric Carcinogenesis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neoplasia	6. 最初と最後の頁 185 ~ 195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neo.2016.12.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lin Jiaying, Chung Suyoun, Ueda Koji, Matsuda Koichi, Nakamura Yusuke, Park Jae-Hyun	4. 巻 19
2. 論文標題 GALNT6 Stabilizes GRP78 Protein by O-glycosylation and Enhances its Activity to Suppress Apoptosis Under Stress Condition	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neoplasia	6. 最初と最後の頁 43 ~ 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neo.2016.11.007	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang R, Deng X, Yoshioka Y, Vougiouklakis T, Park JH, Suzuki T, Dohmae N, Ueda K, Hamamoto R, Nakamura Y.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Effects of SMYD2-mediated EML4-ALK methylation on the signaling pathway and growth in non-small cell lung cancer cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13245	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsuzaki K, Fujita K, Jingushi K, Kawashima A, Ujike T, Nagahara A, Ueda Y, Tanigawa G, Yoshioka I, Ueda K, Hanayama R, Uemura M, Miyagawa Y, Tsujikawa K, Nonomura N.	4. 巻 8
2. 論文標題 MiR-21-5p in urinary extracellular vesicles is a novel biomarker of urothelial carcinoma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 24668-24678
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.14969	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mori J, Tanikawa C, Ohnishi N, Funauchi Y, Toyoshima O, Ueda K, Matsuda K.	4. 巻 19
2. 論文標題 EPSIN 3, A Novel p53 Target, Regulates the Apoptotic Pathway and Gastric Carcinogenesis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neoplasia	6. 最初と最後の頁 185-195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neo.2016.12.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lin J, Chung S, Ueda K, Matsuda K, Nakamura Y, Park JH.	4. 巻 19
2. 論文標題 GALNT6 Stabilizes GRP78 Protein by O-glycosylation and Enhances its Activity to Suppress Apoptosis Under Stress Condition.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neoplasia	6. 最初と最後の頁 43-53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neo.2016.11.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sakha S, Muramatsu T, Ueda K, Inazawa J.	4. 巻 6
2. 論文標題 Exosomal microRNA miR-1246 induces cell motility and invasion through the regulation of DENND2D in oral squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 38750
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep38750	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakakido M, Tamura K, Chung S, Ueda K, Fujii R, Kiyotani K, Nakamura Y.	4. 巻 49
2. 論文標題 Phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class X containing complex promotes cancer cell proliferation through suppression of EHD2 and ZIC1, putative tumor suppressors.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 868-876
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2016.3607	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tarhan YE, Kato T, Jang M, Haga Y, Ueda K, Nakamura Y, Park JH.	4. 巻 18
2. 論文標題 Morphological Changes, Cadherin Switching, and Growth Suppression in Pancreatic Cancer by GALNT6 Knockdown.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Neoplasia	6. 最初と最後の頁 265-272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neo.2016.03.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shimoda A, Ueda K, Nishiumi S, Murata-Kamiya N, Mukai SA, Sawada S, Azuma T, Hatakeyama M, Akiyoshi K.	4. 巻 6
2. 論文標題 Exosomes as nanocarriers for systemic delivery of the Helicobacter pylori virulence factor CagA.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18346
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep18346	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyamoto, T., Lo, PHY., Saichi, N., Ueda, K., Hirata, M., Tanikawa, C. Matsuda, K.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Argininosuccinate synthase 1 is an intrinsic Akt repressor transactivated by p53	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) in press	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件 (うち招待講演 16件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 植田幸嗣
2. 発表標題 Elucidation of a proteomic contexture of exosomes for development of cancer early detection diagnostics
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池田篤志、長山聡、植田幸嗣
2. 発表標題 Development of liquid biopsy diagnostics for colorectal cancer by proteomic profiling of cultured tissue-derived exosome
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小西惇、須磨崎真、長山聡、植田幸嗣
2. 発表標題 Identification of a novel diagnostic antigen on circulating exosomes, toward sensitive early detection of colon cancer
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 植田幸嗣
2. 発表標題 エクソソームを利用した大腸がんリキッドバイオプシーの開発
3. 学会等名 第56回日本癌治療学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 植田幸嗣
2. 発表標題 A Proteome-wide Catalog of Viable Tissue-derived Exosomes, Toward Development of Cancer Liquid Biopsy
3. 学会等名 11th AACR-JCA Joint Conference（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ueda, K.
2. 発表標題 Elucidation of tumor microenvironment networks by in-depth proteome analysis of extracellular vesicles
3. 学会等名 The 33rd Joint Annual Conference of Biomedical Science（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ueda, K.
2. 発表標題 Proteomic profiling of exosomes isolated from viable renal cell carcinoma tissues, toward development of cancer liquid biopsy diagnostics
3. 学会等名 US-Japan Workshop for Cancer Research ~Biomarker Discovery for Early Cancer Detection~ (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村岡寛, 大西なおみ, 池田篤志, 須磨崎真, 長山聡, 植田幸嗣
2. 発表標題 大腸癌切除組織と組織培養分泌エクソソームの網羅的プロテオーム比較分析による大腸癌リキッドバイオプシー診断法開発
3. 学会等名 日本細胞外小胞学会2017年年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 植田幸嗣
2. 発表標題 エクソソームの高深度プロテオミクス解析による癌微小環境ネットワークの解明
3. 学会等名 ConBio2017 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 植田幸嗣
2. 発表標題 エクソソームを標的とした新しい臨床検査
3. 学会等名 第68回日本電気泳動学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 植田幸嗣
2. 発表標題 エクソソーム表面抗原を標的とした腫瘍マーカー開発
3. 学会等名 第37回日本分子腫瘍マーカー研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 植田幸嗣
2. 発表標題 エクソソーム解析
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2017年年会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 植田幸嗣
2. 発表標題 バイオマーカー研究の最前線
3. 学会等名 第32回日本肺癌学会ワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ueda, K.
2. 発表標題 A proteome-wide catalog of extracellular vesicles, toward development of cancer liquid biopsy diagnostics
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1 . 発表者名 Ueda, K.
2 . 発表標題 Proteome-wide profiling of exosomes revealed exosome-driven intercellular communications in gastric cancer microenvironment and macroenvironment
3 . 学会等名 HUPO 2017 (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Ohnishi, N., Saichi, N., Fujii, R., Murakami, K., Matsubara, H., and Ueda, K.
2 . 発表標題 Comprehensive EV proteomics revealed EV-driven intercellular communications in gastric cancer microenvironment and macroenvironment
3 . 学会等名 The International Society For Extracellular Vesicles 6th Annual Meeting (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Muraoka, S., Nagayama, S., and Ueda, K.
2 . 発表標題 Proteome-wide profiling of viable tissue-derived extracellular vesicles for development of early diagnostic biomarkers for colorectal cancer
3 . 学会等名 The International Society For Extracellular Vesicles 6th Annual Meeting (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Koji Ueda
2 . 発表標題 Trans-OMICS analysis of immunopeptidome for development of personalized cancer immunotherapy
3 . 学会等名 日本プロテオーム学会2016年年会 (招待講演)
4 . 発表年 2016年

1. 発表者名 Koji Ueda
2. 発表標題 エクソソームを利用したがん早期診断法の開発
3. 学会等名 第23回JBICバイオ関連基盤技術研究会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Koji Ueda
2. 発表標題 Proteogenomic profiling of neoantigens for personalized cancer immunotherapy
3. 学会等名 Human Proteome Organization 2016（国際学会）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Koji Ueda
2. 発表標題 Development of personalized cancer immunotherapy by Trans-OMICS analysis
3. 学会等名 第89回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Koji Ueda
2. 発表標題 Microenvironmental communications within gastrointestinal cancer tissue illustrated by proteome analysis of exosomes
3. 学会等名 第75回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Koji Ueda
2. 発表標題 細胞外分泌小胞エクソソームによるがん診断
3. 学会等名 第17回関東ホルモンと癌研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Koji Ueda
2. 発表標題 Exosomal Liquid Biopsy for Early Detection of Kidney Cancer
3. 学会等名 The 4th Annual US Japan Workshop on Cancer Biomarkers（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 植田 幸嗣	4. 発行年 2017年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 141
3. 書名 実験医学 2017年6月号	

1. 著者名 植田 幸嗣	4. 発行年 2017年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 74
3. 書名 腎臓内科・泌尿器科 第6巻第6号	

1. 著者名 植田幸嗣	4. 発行年 2016年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 141
3. 書名 実験医学 2016年6月号 Vol.34 No.9	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	長山 聡 (Nagayama Satoshi) (70362499)	公益財団法人がん研究会・有明病院 消化器外科・医長 (72602)	