

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2007～2009
課題番号：19591885
研究課題名(和文) 腎移植におけるプロテオーム解析による急性・慢性拒絶反応の低侵襲診断技術の確立
研究課題名(英文) Proteomics approach to discover biomarker for kidney transplant rejection
研究代表者 吉田 一成 (YOSHIDA KAZUNARI) 北里大学・医学部・准教授 研究者番号：10174921

研究成果の概要(和文)：腎移植にとって拒絶反応は最大の障壁であるが、その診断を的確に診断する臨床的マーカーはない。本研究では、まず始めに尿検体取り扱い方法ならびに尿のプロテオーム解析法を確立した。次に、腎移植後に安定した経過をたどる腎移植後患者と腎移植後拒絶反応を示す患者尿を経時的に採取し、腎移植後拒絶反応を起こした患者尿において腎移植後1週間から3カ月経時的の尿を二次元電気泳動法で分析した。その結果、経時的に変動する8種類の蛋白質スポットを検出した。さらに、これらの蛋白質スポットを切り出して、ゲル内消化後、LC-MS/MS分析にて同定に成功した。

研究成果の概要(英文)：The rejection is the most serious problem in renal transplantation, but there is no clear clinical marker to diagnose at an early stage. In this study, we developed the effective pretreatment method of urine followed by proteomic analysis using agarose two-dimensional electrophoresis. With this method, we detected eight rejection-associated proteins and identified them by LC-MS/MS analysis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：腎移植、血中抗体、プロテオーム解析

1. 研究開始当初の背景

腎移植にとって拒絶反応は最大の障壁であるが、その診断を的確に診断する臨床的マーカーはないため、血清クレアチニン値などの血液検査で腎機能の悪化、尿中蛋白量の上昇、発熱、尿量減少、浮腫などの臨床症状やなどを目安としている。近年、免疫抑制剤の発達により、典型的な徴候が揃うような急性拒絶反応をみることは少なくなっており、拒絶反応が疑われる場合は侵襲的な移植腎生検

を行って診断を行っている。しかし、腎生検は、患者や移植腎にかかる負担も大きく、また、移植腎病理医が少ないため、診断までに時間を要することも多く、迅速な治療を困難にしている。そこで、いかなる移植医でも非侵襲的な手段で拒絶反応が、的確かつ早期に診断が可能で、不必要な生検を少なくする診断方法の開発が切望されている。さらに、急性拒絶反応がかなり、コントロールできるようになった現在でも、移植腎機能

廃絶の最大の原因である慢性拒絶反応の早期診断、あるいは予測方法については、ほとんど無い。

プロテオーム解析は、組織や細胞内のタンパク質を網羅的に解析する方法で、ポストゲノム研究の一研究領域として定着しつつある。中でも血清、尿を中心とした体液のプロテオーム解析は診断マーカーの確立において重要な位置を占めている。しかしながらこれらの体液を対象とした診断マーカーの探索は、含まれるタンパク質の多様性に加え、存在量のダイナミックレンジが非常に広いこと、組織・細胞を対象としたプロテオーム解析に比べて困難である。中でも尿は、3種類の高存在量タンパク質(アルブミン、IgG、Tamm-Horsfall タンパク質)の存在に加えて、含まれる総タンパク質の検体差が非常に大きいこと。また、一般的にタンパク濃度が薄く塩濃度が高いため、電気泳動、質量分析を行うためには脱塩、濃縮の過程が必要不可欠であること、さらには、マーカー探索を目的とした比較分析のためには、再現性の高い脱塩・濃縮・分析技術が要求されることなどの理由より、診断マーカーの探索は血清に比べて遅れている。

2. 研究の目的

尿を対象としたプロテオーム解析技術ならびに尿の採取、保存方法を確立し、これにより腎移植にともなう拒絶反応を判定する尿中マーカータンパク質を探索することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)尿の採取と保存

早朝第2尿を採取し、速やかに尿定性試験紙法(N-Multisticks SG-L: Bayer, Berlin, Germany)により尿タンパク量、潜血を確認した。尿は遠心処理を行うまでは、室温で放置し、タンパク質分解を防ぐため採取後できるだけ早くタンパク質分解酵素阻害剤(Complete mini: Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)を尿50mlに対し1Tabletを加え良く溶解させた。次に1000×g 10°Cで10分間遠心処理を行い、尿中の細胞成分と不溶成分を取り除き、その上清を12mlずつポリプロピレンチューブ(Corning: Corning, N Y, USA)に分注し、-80°Cに保存した。

(2)尿の脱塩・濃縮法

-80°Cに保存されていた尿は、室温で混濁がなくなるまでゆっくりと解凍した。尿の脱塩処理には、PD-10 カラム(GE Healthcare: Little Chalfont, UK)を使用した。このカラムをしようして、1本あたり2.5mlの尿を脱塩し、脱塩されたタンパク質をHEPESバッファー(pH6.5)3.5mlで回収した。10mlの尿を脱塩するのにカラムは4本必要であり、脱塩後の液量は14mlに増加した。脱塩後、回収された尿は限外濾過フィルター(Vivaspin 2: Vivascience, Hanover, Germany)を用いて濃縮を行った。1回の操作で2mlの溶液を濃縮することが可能である。この過程での蛋白質の損失を少なくするために2本の限外濾過フィルターを使用した。それぞれ2mlの尿を入れ、10000×g、4°Cで遠心処理を行い、

14mlすべてが濃縮されるまで繰り返し同じ2つのフィルターを使用した。限外濾過膜へタンパク質が付着し、濾過効率が低下するため、2回目以降の尿サンプルを加えた後、遠心処理前に5分間ボルテックスによってよく攪拌した。完全に濃縮処理が終了した後、タンパク抽出液(7M 尿素、2M チオ尿素、0.1M DTT、2.5% w/v Pharmalyte (pH3-10)、2% w/v CHAPS、Complete Mini EDTA-free(タンパク分解酵素阻害剤; Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) 1錠/10 ml)を10倍希釈した溶液を600μlずつ限外濾過フィルターに加え、5分間ボルテックスで攪拌することで限外濾過膜に付着したタンパク質を溶解させた。その後、30分間程度遠心処理を行い、限外濾過フィルター1本あたり20-50μlまで濃縮した。次にタンパク抽出液を限外濾過フィルター1本あたり100μlになるように加え、再度ボルテックスにてよく攪拌した。その後、100μlを損失なく回収するために、1000×g、4°C、2分間、リバーススピンをおこなって全ての溶液を回収した。最終的には尿12mlを脱塩・濃縮し、合計200μlのタンパク質溶液を得た。この脱塩、濃縮作業に要する時間は約2.5時間であった。

(3)アガロース2-DE

アガロース2-DEは大石らの方法に従って行った[1]。一次元目の(アガロースを担体とした等電点電気泳動)は長さ180mm、直径3.4mmのガラス管を用いて作成し、二次元目のSDS-PAGEは195×120×1.5mmの大きさのものを作成した。アガロース2-DEの特性を活かすために、われわれは2種類の濃度のSDS-PAGE gelを目的に応じて作成した。すなわち、分子量8万以下のタンパク質の分離を目的としたアクリルアミド濃度12%の均一ゲルと、高分子量(high molecular mass, HMM)タンパク質の分離を目的とした6-10%濃度勾配ゲルである。二次元目のSDS-PAGEはLaemmliの方法によって行った[5]。ゲルの染色は全てCoomassie Brilliant Blue (CBB)にて行った。

(4)タンパク質同定

2-DEゲルから切り出したタンパックスポットは50% v/vアセトニトリルで脱色した後に100%アセトニトリルで脱水、乾燥させた。0.5 ng/μlトリプシン(Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)、50 mM NH₄HCO₃ buffer (pH8.0)で37°C24時間タンパク質のゲル内消化を行った。この消化産物ペプチドを70%アセトニトリル/30% H₂O(5%蟻酸)溶液で溶出させた。ゲル内消化後のペプチド混合物を液体クロマトグラフィー質量分析計[液体クロマトグラフィー: Nanospace SI-2, (Shiseido Fine Chemicals, Tokyo, Japan)質量分析計: LCQ-DECA (Thermo Finnigan, San Jose,

CA, USA)]により分析した。

上記に記した質量分析計によって得られた各トリプシン消化ペプチドのMSスペクトルとタンデムMSスペクトル(MS/MSスペクトル)を質量分析計に装備されているタンパク質同定用プログラム(SEQUEST Search(Ver:2.0),<http://fields.scripps.edu/sequest/index.html>)を用いて、データベース検索を行った[6]。本研究では、同定Scoreが70以上のものを同定されたタンパク質とした。また、Scoreが70未満の場合は、信憑性の高いMS/MSスペクトルが2つ以上観測されていることを確認し、同定されていると判断した。

4. 研究成果

(1)尿のプロテオーム解析法の確立

アガロース 2-DE は、10-500 kDa におよぶ非常に広い分子量範囲でのタンパク質の分離が可能であり、またダイナミックレンジが広く、尿中の高濃度タンパク質と微量タンパク質を一枚のゲル上に展開することができる。今回開発した前処理法を用いて、健常者尿 10ml を処理し、アガロース 2-DE 法で分離し、CBB 染色した結果を図1A に示す。腎機能が正常にもかかわらず 80kDa を超える高分子量タンパク質が数多く観測されている。また、健常者の尿においてはタンパク量は血液などと比較し非常に少なく、そのほとんどをアルブミン(図中の Alb)と IgG が占めている。そこで、脱塩前に血清用の Albumin/IgG 除去カラム(ProteoExtract Albumin/IgG Removal Kit: Calbiochem, Darmstadt, Germany)を用いてアルブミン/IgG を除去し、分析する尿の量を 10ml から 30ml へと増やした(図1B)。これにより、微量なタンパク成分が明確に観測されていることに加えて、アルブミン、IgG に重なって観測されていなかったタンパク質が数多く観測された。次に図1A で観測されたスポット全てと、図1B で新たに確認されたスポット、さらに、高分子量タンパク質を分離検出するための高分子用 2-DE(data not shown)で観測された高分子スポットを切り出し、酵素消化後に LC-MS/MS 分析にて同定を行った。その結果、トータル 318 スポットを切り出して 268 スポットのタンパク質名を決定し、重複しているものを除いて約 150 種類のタンパク質の同定に成功した。この中で一般的な 2-DE 法では分析の困難な高分子量領域のタンパク質同定結果を表に示す。健常者尿においても 80kDa 以上の高分子量タンパク質が多く存在し、18 スポット、13 種類の高分子量タンパク質が同定された(表 1)。このうち 3 種類のタンパク質は、尿タンパク質のデータベース[2]にも載っておらず、尿中で初めて同定されたタンパク質と考えられる。今までに観測されていない理由としては試料調製時に沈殿して分析不可能となった可能性がある。その点では、今回確立した前処理法では途中で可溶性の高いタンパク抽出液を使っていることと、高分子量タンパク質も分析可能なアガロ

ース 2-DE 法を使用したことが理由であると考えられる。健常者尿中には 70kDa 以上のタンパク質はないと考えられているが、今回、検出・同定されたタンパク質は exocytosed vesicles から分泌されるタンパク質であり[3]、腎糸球体のタンパク漏出防止機構(size and/or charge selectivity)の影響を受けないものであった。

今回我々は高効率な尿の前処理法を確立し、低分子から高分子量まで広い範囲のタンパク質を検出することに成功した。このことは、新たな腫瘍マーカーや疾患関連タンパク質探索の出発点として有用であると考えられる。

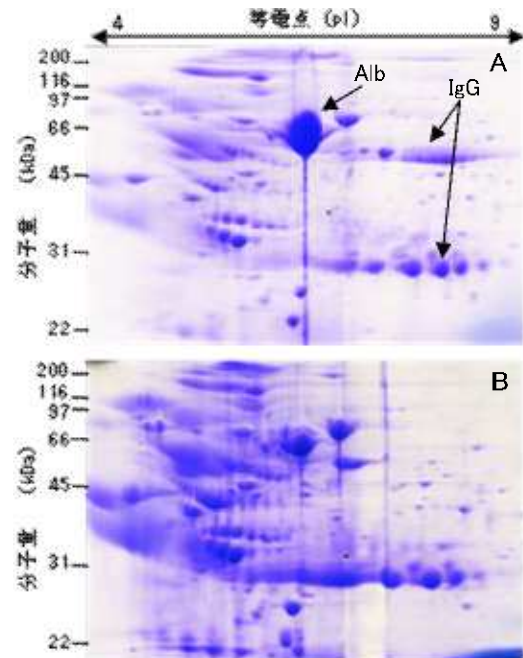


図 1. 尿中のタンパク質の二次元電気泳動分析結果。(アガロース二次元電気泳動法で分離後、クーマシー染色)

この研究を通して開発した尿のプロテオーム解析法を学会発表したところ、本年度の日本腎臓学会誌に掲載することとなった(5. 主な発表論文等[雑誌論文]①)。

タンパク名	分子量 ¹⁾	文献 [1] ²⁾
ceruloplasmin	115,472	1
collagen alpha 1(VI) chain precursor	108,640	1
Pro-epidermal growth factor [Precursor]	127,958	1
Lysosomal alpha-glucosidase [Precursor]	105,338	1
Alpha-N-acetylglucosaminidase	82,167	1
Iron-responsive element-binding protein 1	98,399	0
Programmed cell death 6-interacting protein	96,818	1
Complement C3 [Precursor]	187,148	1
10-formyltetrahydrofolate	98,700	0

dehydrogenase		
Amiloride-sensitive amine oxidase [Precursor]	85,342	1
Low-density lipoprotein receptor-related protein 2 [Precursor]	521,931	1
Maltase-glucoamylase, intestinal	209,853	1
Cubilin [Precursor]	384,285	0

表 1. 尿中の高分子量タンパク質

1)分子量はデータベース上の分子量を示す。
2)文献[1]で検出されているものには「1」を、観測されていないものには「0」を記載した。

(2)腎移植後の尿中タンパク質変動の分析

腎移植後に安定した経過をたどる腎移植後患者と腎移植後拒絶反応を示す患者尿を経時的に採取し、確立した前処理法を用いて脱塩・濃縮後に SDS-PAGE で比較解析した。その結果、両者において腎移植に伴い尿中の蛋白量ならびに蛋白組成が一時的に大きく変動するが、腎移植後約 1 週間で移植前の尿とほぼ同じ状態になることがわかった。そこで、腎移植後拒絶反応を起こした患者尿において腎移植後 1 週間から 3 カ月経時的の尿を二次元電気泳動法で分析した。その結果、経時的に変動する約 10 種類の蛋白質スポットを検出した。さらに、これらの蛋白質スポットを切り出して、ゲル内消化後、LC-MS/MS 分析にて同定した。現在、この中の 3 種類の蛋白質に関しては抗体を入手しウェスタンブロッティング法 (W.B.) による確認・評価の準備を行っている。(1)で確立した尿の脱塩・濃縮法で処理した尿を電気泳動して W.B.しているが、図に示した通りアルブミン、IgGが多い。このため、アルブミン、IgG 除去カラムを利用している。しかし、これにともなって、目的とするタンパク質も損失するため、定量分析が困難な部分もあり、現在、前処理法の工夫を行っている。ある程度の検体で腎不全との相関が確認できれば ELISA 系を構築する予定である。

[1] Oh-Ishi M, Satoh M, Maeda T, Preparative two-dimensional gel electrophoresis with agarose gels in the first dimension for high molecular mass proteins. *Electrophoresis* 2000; 21:1653-1669.

[2] Adachi J, Kumar C, Zhang Y, Olsen JV, Mann M. The human urinary proteome contains more than 1500 proteins, including a large proportion of membranes proteins. *Genome Biology* 2006; 7:R80:1-16.

[3] Pisitkun T, Shen RF, Knepper MA. Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:13368-73.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 38 件)

* 最近の 21 例を記載する

①小寺義男, 大草洋「尿のプロテオーム解析法

開発から診断マーカー獲得に向けて」, 日本腎臓学会誌 2010(in press)(査読無)

- ② Matsumoto K, Nishi M, Baba S. (7 名中 7 番目), Investigation of Molecular Proteins for Urothelial Carcinoma in the Urinary Bladder cancer: Etymology, Diagnosis, and Treatment Editor by Nilsson WE Nova Science Publishers, Inc 2010 (in press) (査読有)
- ③ Kawashima Y, Fukutomi F, Kodera Y (7 名中 7 番目), High-yield peptide-extraction method for the discovery of subnanomolar biomarkers from small serum samples. *J. Proteome Research*, 9: 1695-1705. 2010 (査読有)
- ④ Minami S, Sato Y, Kodera Y, Okayasu I. (10 名中 6 番目), Proteomic study of sera from patients with bladder cancer -Usefulness of S100A8 and S100A9 proteins, *Cancer Genomics Proteomics*, 2010 in press (査読有)
- ⑤ Sato K, Seimiya M, Kodera Y, Kitamura A, Nomura F., Application of Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy for simple and easy determination of chylomicron-triglyceride and very low density lipoprotein-triglyceride. *Clin Chim Acta*. **411**,285-290, 2010 (査読有)
- ⑥ Novara G, Matsumoto K, Baba S, Shariat SF, (17 名中 12 番目) Prognostic role of lymphovascular invasion in patients with urothelial carcinoma of the upper urinary tract: an international validation study *Eur Urol European Urology*, 57:1064-1071, 2010 (査読有)
- ⑦ Matsui T, Tanaka T, Endoh H, Maeda T, Kodera Y. (12 名中 12 番目), The RNA recognition mechanism of human immunodeficiency virus (HIV) type 2 NCp8 is different from that of HIV-1 NCp7. *Biochemistry* 48: 4311-4323, 2009 (査読有)
- ⑧ Kawashima Y, Fukuno T, Satoh M, Maeda T and Kodera Y. (7 名中 7 番目) A simple and highly reproducible method for discovering potential disease markers in low abundance serum proteins. *J Electrophoresis* 57: 13-18, 2009 (査読有)
- ⑨ Hattori N, Nomura F, Tomonaga T, Kodera Y, Hirasawa H. (13 名中 10 番目), YKL-40 identified by proteomic analysis as a biomarker of sepsis. *Shock* 32: 393-400, 2009 (査読有)
- ⑩ Sogawa K, Satoh M, Kodera Y, Nomura F. (6 名中 3 番目) A search for novel markers of alcohol abuse using magnetic beads and MALDI-TOF/TOF Mass spectrometry. *Proteomics Clin. Appl.* 3, 821-828, 2009 (査読有)
- ⑪ K Araki, Y Sato, Y Kodera, T Maeda and I Okayasu (9 名中 7 番目), High expression of HSP47 in ulcerative colitis-associated carcinomas: proteomic approach, *British Journal of Cancer* **101**, 492 - 497, 2009 (査読有)
- ⑫ Nagai T, Kodera Y, Maeda T and Yamada H, (7 名中 4 番目) Proteomic analysis of anti-inflammatory effects of a Kampo (Japanese herbal) medicine 'shoseiryuto (xiao-qing-long-tang)' on airway inflammation in a mouse model. *Evid, Based Complement. Alternat. Med.*, (eCAM Advance Access published October 27, 2009) (査読有)

- ⑬吉田一成、若井陽希、今後、腹膜透析において EPS は起こらないか？、腎不全外科 23-26, 2009 (査読無)
- ⑭Ishiyama H, Okusa H, Tabata K, Baba S (10 名中 7, 9 番目), Genitourinary toxicity after high-dose-rate (HDR) brachytherapy combined with hypofractionated external beam radiotherapy for localized prostate cancer: an analysis to determine the correlation between dose-volume histogram parameters in HDR brachytherapy and severity of toxicity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*:75, 23-8, 2009. (査読有)
- ⑮Satoh T, Okusa H, Baba S.(10 名中 5,10 番目), Single infusion of zoledronic acid to prevent androgen deprivation therapy-induced bone loss in men with hormone-naïve prostate carcinoma. *Cancer* 115: 3468-74, 2009 (査読有)
- ⑯松本和将、大草洋、吉田一成、馬場志郎.(10 名中 2, 9,10 番目) 北里大学病院における MVAC 耐性再発進行尿路上皮癌に対する gemcitabine/paclitaxel の有用性についての検討-第二報-, 北里医学: 39, 41-43, 2009. (査読有)
- ⑰兵藤透、大草洋、吉田一成、馬場志郎.(13 名中 8,12,13 番目), 血液透析患者の皮膚掻痒症に対するロラタジン (クラリチン錠) の有用性, *Progress in Medicine*: 29, 161-165, 2009. (査読無)
- ⑱Okusa H., Kodera Y., Oh-ishi M., Minamida M., Tsuchida M., Kavoussi N., Matsumoto K., Sato T., Iwamura M., Maeda T. and Baba S., (11 名中 1,2,3 番目) Searching for new biomarkers of bladder cancer based on proteomic analysis. *J. Electrophoresis* **52**, 19-24, 2008(査読有)
- ⑲Kazumasa Matsumoto, Hiroshi Okusa, Wataru Ishikawa, Kazuhito Matsushita, Tabata Kenichi, Takefumi Satoh, Masatsugu Iwamura, Shiro Baba. (8 名中 2 番目) Recent advances in molecular markers for bladder cancer. *Res Adv in Urol*, 1, 1-17, 2008(査読有)
- ⑳Sawada A., Ueno T., Kawashima Y., Haruta-Satoh E., Oh-Ishi M., Kodera Y. and Maeda T., (7 名中 5,6 番目) Protein Carbonyl Detection by Two-Dimensional Fluorescence Difference Gel Electrophoresis, *J. Electrophoresis*, **52**, 1-17, 2008(査読有).
- ㉑Oh-Ishi M, Kodera Y, Furudate S, Maeda T. (4 名中 1,2 番目) Disease proteomics of endocrine disorders revealed by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics Clin Appl* **2**: 327-337, 2008. (査読有)
- [学会発表] (計 113 件)
* 主な発表 20 件を記載する。
- ①吉田一成「タクロリムス徐放製剤(TAC-ER)での腎移植免疫導入の経験(臨床結果と TDM)」大阪腎移植病理組織研究会 (大阪), 2009.12.4
- ②小寺義男, 小規模研究室でもできるプロテオーム解析のコツ, シンポジウム 4S3p プロテオミクス秘伝の奥義一挙公開, 第 82 回日本生化学会大会 (神戸) 2009.10.24.
- ③大石正道, アガロース 2-DE 法と量子ドット技術を用いた翻訳後修飾のプロテオーム解析, シンポジウム 4S3p 「プロテオミクス秘伝の奥義一挙公開」第 82 回日本生化学会大会 (神戸) 2009.10.24.
- ④Oh-Ishi M. Invited Lecture: Disease Proteomics of High-Molecular-Mass Proteins by 2-DE with Agarose Gels in the First Dimension. Yonsei Proteome Research Center Seminar (延世大学プ

- ロテオーム研究センター・セミナー) (韓国ソウル市) 2009.8.26.
- ⑤Oh-Ishi M. Invited Lecture: Disease Proteomics of High-Molecular-Mass Proteins by 2-DE with Agarose Gels in the First Dimension. Korea Basic Science Institute (KBSI) Seminar (韓国基礎科学研究所・セミナー) (Daejeon, Korea: 韓国テジョン市) 2009.8.27.
- ⑥Oh-Ishi M, Kodera Y, Furudate S, Satoh M, Maeda T. Invited Lecture: Molecular Mechanisms of the *rdw/rdw* Rats with Hereditary Dwarfism and Hypothyroidism. 2009 Korea Association of Laboratory Animal Science (KALAS) Annual Meeting (韓国実験動物学会) (Chionan, Korea: 韓国天安市) 2009.8.28.
- ⑦小寺義男, 血中診断マーカー確立に向けた包括的なアプローチ, シンポジウム「プロテオミクスの医学への応用 (その 2) マーカー探索 (血液・尿)」日本ヒトプロテオーム機構(JHUPO)第 7 回大会 (東京) 2009.7.28
- ⑧大草 洋、松本和将、服部 学、南田 諭、岩村正嗣、大橋和也、川島祐介、小寺義男、大石正道、前田忠計、馬場志郎, プロテオミクスの手法による膀胱癌新規腫瘍マーカーの探索. 第 17 回北里腫瘍フォーラム(相模原)2009. 7. 17
- ⑨小寺義男、「質量分析計を用いた診断を目指して」第 11 回次世代医療システム産業化フォーラム 2008、2009.02.19、大阪商工会議所
- ⑩大草 洋、松本和将、南田 諭、馬場志郎、小寺義男、大石正道、前田忠計, Structural maintenance of chromosome 3 の膀胱癌新規腫瘍マーカーとしての有用性の検討. 第 18 回泌尿器科分子・細胞研究会 (鹿児島)2009. 2. 14
- ⑪大草 洋、松本和将、小寺義男、土田繭美、南田 諭、大石正道、前田忠計、馬場志郎アガロース二次元電気泳動法により発現された新規膀胱腫瘍マーカー第 67 回日本癌学会学術総会(名古屋)2008. 10. 29
- ⑫大草 洋、松本和将、小寺義男、南田 諭、土田繭美、大石正道、前田忠計 馬場志郎プロテオミクスの手法による膀胱癌新規腫瘍マーカーの探索. 第 73 回日本泌尿器科学会東部総会(東京)2008. 9. 20
- ⑬大草 洋、松本和将、小寺義男、土田繭美、南田 諭、大石正道、前田忠計 馬場志郎. プロテオミクスの手法による膀胱癌新規腫瘍マーカーの探索. 第 21 回バイオサイエンスフォーラム研究会. 2008. 8. 1
- ⑭小寺義男, 川島祐介, 福富俊之, 高橋広樹, 相野谷学, 丸橋正弘, 松井崇, 平賀啓介, 曾川一幸, 朝長毅, 野村文夫, 前田忠計 独自のペプチド分析法による大腸癌マーカーペプチドの探索と評価, 日本ヒトプロテオーム機構(JHUPO)第 6 回大会 (大阪府茨木市) 2008.7.30
- ⑮Kodera, Y., Maeda, T.(他 9 名), Development of the basic strategy for the comparative analysis of serum proteomes and its application in the discovery of hepatic injury biomarkers, 17th Meeting of Methods in Protein Structure Analysis (MPSA2008), Sapporo, 2008.7.26-29
- ⑯小寺義男、体液を対象とした診断システムの開発 第 58 回日本電気泳動学会シンポジウム (東京都港区) 2008.6.13
- ⑰Kodera, Y., Maeda, T.(他 6 名), Development of novel serum peptidomic strategy and its application

in the discovery of colon cancer tumor marker peptides, PepTalk2008, San-Diego, 2008.1.6-9

- ⑱Okusa H, Koderu Y, Kondo R, Matsumoto K, Iwamura M, Oh-Ishi M, Baba S, Maeda T Urinary proteomics of high-molecular-mass proteins by 2-DE with agarose gels in the first dimension (Agarose 2-DE) and LC-MS/MS Human Kidney & Urine Proteome Project HUPO 6th Annual World Congress (Seoul, Korea : 韓国, ソウル) 2007.10.6
- ⑲Oh-Ishi M, Koderu Y, Baba S, Maeda T (他4名) High molecular mass proteomics of human renal cell carcinoma by 2-DE using agarose gels for IEF (Agarose 2-DE) and HPLC/MS/MS HUPO 6th Annual World Congress 第6回国際ヒトプロテオーム機構年会 (Seoul, Korea : 韓国, ソウル) 2007.10.9
- ⑳小寺義男、「尿を対象としたプロテオミクスの最前線」日本臨床検査自動化学会 第39回大会、2007.9.26~28、横浜

〔図書〕 (計3件)

- ①吉田一成「腎移植の全て」, (株)メジカルビュー社, 121-124, 2009
- ②松本和将、岩村正嗣、馬場志郎、腎盂癌・尿管癌に対する内視鏡下手術 開放手術併用腎細胞癌および上部尿路癌の手術, Urologic Surgery: 3 MEDICAL VIEW, 167-173, 2009.
- ③松本和将、馬場志郎、経尿道的手術の際のランダム生検腎・泌尿器癌-基礎・臨床研究のアップデート-II. 膀胱癌 特論日本臨床 68: 353-356, 2010.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計3件)

①名称：大腸癌マーカーペプチド、及び大腸癌の診断

発明者：小寺義男、川島祐介、前田忠計、朝長毅、野村文夫

権利者：学校法人北里研究所

種類：国際出願

番号：PCT/JP2008/002217

出願年月日：2008年8月15日

国内外の別：国外

②名称：体液試料における、低分子量タンパク質及びペプチドの濃縮方法

発明者：小寺義男、川島裕介、前田忠計

権利者：学校法人北里研究所

種類：国際出願

番号：PCT/JP2008/002168

出願年月日：2008年8月8日

国内外の別：国外

③名称：膀胱癌の診断

発明者：松本和将、大草洋、馬場志郎、小寺義男、前田忠計

権利者：学校法人北里研究所

種類：特許願

番号：特願2008-066122

出願年月日：2008年3月14日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田一成 (YOSHIDA KAZUNARI)

北里大学・医学部・准教授

研究者番号：10174921

(2) 研究分担者

竹内 康雄 (TAKEUCHI YASUO)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：60286359

大石 正道 (OISHI MASAMICHI)

北里大学・理学部・講師

研究者番号：40233027

小寺 義男 (KODERA YOSHIO)

北里大学・理学部・准教授

研究者番号：60265733

馬場 志郎 (BABA SHIRO)

北里大学・医学部・教授

研究者番号：00051889

大草 洋 (OKUSA HIROSHI)

北里大学・医学部・助教

研究者番号：70337963

前田忠計 (MAEDA TADAKAZU)

北里大学・理学部・教授

研究者番号：90265728

H19. 20.

村本将俊 (MURAMOTO MASATOSHI)

北里大学・医学部・助教

研究者番号：50265633

H19.