

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究(B)
研究期間：2007～2009
課題番号：19390382
研究課題名(和文) 神経線維腫症原因遺伝子群を介した細胞内腫瘍抑制シグナルの解明と分子治療標的の開発
研究課題名(英文) Analysis of cellular signal transduction via Neurofibromatosis tumor suppressor gene products and development of their clinical targets
研究代表者
荒木 令江 (ARAKI NORIE)
熊本大学・大学院生命科学研究部・准教授
研究者番号：80253722

研究成果の概要(和文)：

本研究では、NF1 及び NF2 の病態発症メカニズム解明と治療ターゲットの開発を目的として、それぞれの原因遺伝子産物；NF1 蛋白(Neurofibromin), 及び NF2 蛋白(Merlin)の細胞内機能に関連する特異的なシグナル分子群を融合プロテオミクスおよび細胞生物学的手法を用いて詳細に解析した。モデル細胞として用いた PC12 細胞において、siRNA による NF 遺伝子発現の抑制は、NGF による神経突起伸長を経時的に阻害し、細胞骨格系の制御異常、運動能の亢進および腫瘍塊様の形態変化を誘導した。プロテオミクスによる定量的発現変動解析の結果、約 1600 種の PC12 細胞内発現蛋白質を同定し、さらに 72 種の神経系細胞分化と細胞死抑制に関わる新規機能分子群の同定に成功した。また、neurofibromin、および Merlin の神経系細胞内結合蛋白質の解析を行い、neurofibromin においては 58 種類の、Merlin においては 68 種類の、ニューロン分化制御因子群、リン酸化酵素制御因子群、細胞骨格系制御等に関わる分子群を同定した。特に NF 結合蛋白質群は、RAS-Rho-RhoK-CRMP2 および RAS-MAPK-CDK5-GSK3-b-CRMP2 シグナルの制御を行うことによって神経系細胞の分化制御に関わっていることを明らかにした。これらの責任分子群を介するシグナル調節が NF において障害された神経系細胞の機能改善に有用である可能性を提唱した。

研究成果の概要(英文)：

Neurofibromatosis (NF) tumor suppressor gene products, neurofibromin:NF1 and merlin:NF2, are thought to be important regulators of cellular growth, differentiation, and apoptosis, and implicated in the neural abnormality of NF patients. However, the precise cellular function of NF proteins has yet to be clarified. In this study, we utilized proteomic strategies, functional annotation with a proprietary gene ontology (MANGO), and standard biochemical methods to identify proteins related to neuronal differentiation in PC12 cells, which serve as a representative model system for studying NF related neuronal biological processes. Of 1,600 non-redundant proteins quantitatively identified, 72 were novel nerve growth factor-responsive PC12 proteins mostly related to the biological processes of cell morphogenesis, apoptosis/survival, and cell differentiation. Using these proteomic strategies and database, we identified a set of NF-associating cellular proteins, including axon regulator CRMP-2. These associations were crucial for the axon formation in neuron and were regulated by a series of kinase activations by CDK5, GSK-3b, and Rho kinase being controlled by neurofibromin. Our study demonstrates that the functional association of NF proteins and their associating proteins are essential for neuronal cell differentiation and that lack of expression or abnormal regulation of NF proteins can result in impaired function of neural cells, which is likely a factor in NF-related pathogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2008年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2009年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：医歯薬学，腫瘍生化学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：脳腫瘍学，プロテオミクス，NF1, NF2, 神経系腫瘍，細胞分化

1. 研究開始当初の背景

神経線維腫(neurofibromatosis:NF)は、全身の皮膚に多発性結節と色素斑を伴う遺伝性疾患として最初に報告された1型(NF1)、及び1型と類似した皮膚症状に加え中枢神経系腫瘍を高頻度に伴うことで特徴づけられる2型(NF2)の2つのタイプに分けられる。NF1、及びNF2に関連した病態は、これらの原因遺伝子NF1, NF2の変異・欠失による細胞機能異常によってもたらされるものと考えられているが、これらの原因遺伝子の変異・欠失によってもたらされる如何なる細胞機能の変化が、NF1及びNF2に特徴的な病態を惹起するのかは、ほとんど明かにされていない。

両NF原因遺伝子がそれぞれ1990年代初頭に同定され、本疾患群の発症メカニズムの解明や、治療や予防法が開発されるものと期待されたが、遺伝子構造から予想される産物(蛋白質)の機能と疾患の表現型との間にはなお大きな距離がある。具体的な治療法として、リスクを伴う腫瘍の外科的摘出術による一時的な対処療法以外には、その他の治療法・予防法・予後予測法など、全く開発されていないのが現状である。NF1は3000-4000人に1人という頻度の高さから、又NF2に関しては、その病態の深刻さから、これらの発病メカニズムの解明とその治療法・治療薬の開発が大きく望まれている。

2. 研究の目的

本研究では、NF1及びNF2の病態発症メカニズム解明と治療ターゲットの開発を目的として、それぞれの原因遺伝子産物；NF1蛋白(Neurofibromin)、及びNF2蛋白(Merlin)の細胞内機能に関連する特異的なシグナル分子群を、独自に開発したプロテオーム/トランスクリプトーム統合解析システム(病態プロテオミクス解析コアシステム)

にて詳細に解析した。さらに、分子情報統合データマイニング法を新規に確立することによって、最も重要な特異的分子シグナルの抽出を行い、これらのNFの病態関連重要ターゲットシグナルとしての絞り込みと検証を、網羅的mRNA干渉法(SiRNA)および各種阻害剤を用いて細胞生物学的/生化学的に検討した。これによって、NF遺伝子異常や欠失による両NF蛋白質の機能破綻が導く細胞の異常と病態に最も関連する細胞内シグナル分子群の確定、および病態発症メカニズムの推定を試みた。又、これらの解析から得られた新規病態関連機能分子シグナルの治療ターゲット・指標としての有用性の検討を行うことを目指した。

3. 研究の方法

1) モデル細胞を用いた融合プロテオミクス法の検討
NF発現抑制細胞およびコントロール細胞より蛋白質を抽出し、トリプシン分解により得られたペプチドをiTRAQ試薬で修飾し、LC-MALDI-TOF-TOFおよびLC-ESI-QqTOFを用いてiTRAQ修飾ペプチドの同定と定量解析を行った。さらに発現変動した蛋白質の機能を、siRNAを用い、細胞生物学的および生化学的解析により行った。
2) NF1蛋白質(neurofibromin)に関して、特にそのRas-GAP活性と細胞内RASシグナルの制御機構に注目し、SiRNAによるNF1蛋白質のノックダウン法の確立を行い、NF1蛋白質の欠失による細胞内シグナル・細胞骨格・運動能の変化を生化学・形態学的に解析した。又、神経系細胞PC12とラット胎児海馬神経細胞における神経突起伸長伸展現象の調節におけるNF1蛋白質の役割に関して詳細に解析した。さらに、NF1蛋白質の細胞内調節因子とシグナルを解析するため、Neurofibrominの結合蛋白質のiTRAQ法を

用いたプロテオミクスによる解析を行い、同定蛋白質群との相互制御に関する解析を行った。プロテオミクスによる解析に関しては、熊本大学医学総合研究棟における病態プロテオミクス解析コアシステムを有効に活用し、主に、ITRAQ 法、2D DIGE 法を用いた最新のプロテオミクス解析法にて定量的に関連蛋白質の同定を行うことが可能となった。

3) NF2 蛋白質(Merlin)に関して、NF1 と同様に、SiRNA による NF2 蛋白質のノックダウン法の確立を行い、NF1 蛋白質の欠失による細胞内シグナル・細胞骨格・運動能の変化を生化学・形態学的に解析した。又、Merlin と会合する細胞内蛋白質の Proteomic affinity cellular mapping 法 (iTRAQ)および細胞内タグベクター発現システムを用いたプロテオミクスによる解析を行い、同定蛋白質群と Merlin の細胞内シグナル、および細胞内局在の変化、核内活性変化を解析した。

4. 研究成果

1) ニューロフィブロミンの SiRNA による発現抑制と、培養細胞への影響、及び関連シグナル分子群の同定

NF1 蛋白質の急激な発現抑制に伴う形態学的影響を観察するため、siRNA の細胞内導入後、経時的にアクチン染色を行い細胞骨格に着目し比較解析した。HeLa 細胞内導入 12 時間頃より、NF1 タンパク発現抑制細胞では過剰なアクチンストレスファイバーおよびフォーカルアドヒージョンの形成を伴った細胞の扁平化が見られるようになり、その後 24 ~ 48 時間後には一部の細胞で過剰なアクチンストレスファイバーが消失する傾向にあったが細胞の扁平化はなお維持された。一方で、コントロール siRNA 導入細胞では、このような形態変化は誘導されなかった。また、他の培養細胞 (HT1080 細胞) においても HeLa 細胞と同様のダイナミックな経時的な細胞形態変化が誘導された。細胞外マトリクス内での細胞の運動は、アクチン細胞骨格の再構築を伴ったダイナミックな細胞形態変化を必要とする。マトリゲル上での NF1 タンパク発現抑制細胞の成長能・細胞形態および運動能に着目し観察したところ、コントロール細胞では、球状の小さな細胞塊を形成したのに対し、NF1 タンパク発現抑制細胞では、紡錘状の形態を示し、大きな不整形の細胞塊を形成した。興味深いことに、NF1 タンパク発現抑制細胞はコントロール細胞と比較して、約 2 倍の速さで増殖したにもかかわらず、マトリゲル内に形成されたコロニーの数は明らかに少なかった。以上の結果から、ニューロフィブロミンはアクチン細胞骨格の制御に関与していると考えられた。

そこで、アクチンフィラメントの切断・脱重合に関わる Cofilin/ADF タンパクに注目し、コフィリンのリン酸化状態をウエスタンブロットングにて検討したところ、NF1 siRNA の導入と共に経時的にコフィリンのリン酸化が上昇していくのが確認された。また、NF1 siRNA により誘導された形態変化は、コフィリンの恒常的活性化変異体の導入により、抑制できることが判明した。以上から、NF1 siRNA によって生じた細胞形態変化は、コフィリンの不活性化によるものではないかと示唆された。更に、コフィリンの活性は Rho-ROCK-LIMK2 pathway により負に制御されることが知られていることから、LIMK2 siRNA, ROCK inhibitor, Rho dominant negative mutant により、Rho-ROCK-LIMK2 シグナル経路をそれぞれ遮断したところ、NF1 siRNA により誘導されたコフィリンのリン酸化も過剰なアクチンストレスファイバーの形成も抑制することができた。これらの結果より、NF1 siRNA による一連の効果は Rho-ROCK-LIMK2 pathway を通じて制御されているのではないかと考えられた。

2) NF1 GAP 依存的 Rho シグナルと Ras シグナル経路の関連性

ニューロフィブロミンは、RasGAP 機能を有することから、NF1 siRNA により誘導された一連の効果は、Ras の活性に依存しているかどうか明らかにすることは重要と考えられる。Ras のドミナントネガティブ変異体 DN-Ras (S17N) を NF1 siRNA と共に細胞内導入し、NF1 siRNA により誘導されるコフィリンのリン酸化および過剰なアクチンストレスファイバーを抑制できるか検討したところ、部分的にはあるが抑制効果を示した。このことより、NF1 siRNA により誘導された形態変化には、Ras の活性が関与しているということが示唆された。そこで、Ras の下流のいかなるシグナルの関与があるかを調べるために、MEK, PI3K 阻害剤および Ral siRNA を用い検討したが、いずれの処置も形態学的変化を抑制することが出来なかった。このことから、NF1 siRNA により誘導された HeLa 細胞における一連の効果に対して、Ras の活性は部分的に必要なが、Ras-MAPK, PI3K および RalGEF シグナル経路以外の未知のシグナル経路を通じて関与している可能性が示唆された。

NF1 siRNA により誘導された効果に対して、NF1-RasGAP 機能喪失の関与を明らかにするため、NF1-GRD (GTPase activating protein-related domain) の導入により、NF1 siRNA による効果が抑制できるか検討した。NF1-GRD には、NF1-GRD type1 と GRD の中央部に 21 アミノ酸残基をコードする 63bp の塩基配列の挿入 (exon23a) を含む alternative splicing form である NF1-GRD type2 が存在

し、NF1-GRD type1 は、type2 と比較して高い Ras-GAP 活性を有することが知られている。このスプライス変異体である NF1-GRD type2 を細胞内導入したところ、NF1 siRNA により誘導されたコフィリンのリン酸化および形態変化は完全に抑制されたが、NF1-GRD type1 の導入は、効果は認められなかった。これらの所見より、NF1 依存的 Rho シグナル経路の制御には、NF1-RasGAP 機能に加えて他に未知の NF1-GRD type2 に由来する機能が必要と考えられた。これらの結果から、NF1-GRD がアクチン細胞骨格変化を通じた細胞運動の制御に必要であることが示唆された。

3) Neurofibromin による神経系細胞の神経突起伸長伸張現象の調節

特に神経系細胞の NF1-GAP 活性は非神経系細胞と比較して高値を示すことが以前の我々の研究から明らかとなっている。NF1 活性は神経分化・神経突起伸長・伸張に際してどのような調節が行われているかを検討するため、PC12 細胞を用いて NGF 刺激後の GAP 活性を測定した。NGF 刺激後、NF1-GAP 活性は経時的に上昇し、この活性上昇は NGF 刺激後の経時的な NF1 TypeII から TypeI への alternative splicing 変化、及び細胞の神経様突起伸長現象の変化と高く相関していた。NF1-GRD-TypeI は TypeII に比較して 10 倍以上の GAP 活性を有していたことより、neurofibromin は神経系細胞内において Ras-GAP 活性を alternative splicing により上昇させ分化誘導のシグナルに関わっている可能性が示唆された。又、神経系細胞内在性 Neurofibromin の GAP 活性を特異的に抑制する NF1-GAP dominant negative 体や NF1SiRNA を構築し、これらの影響を調べたところ、NGF 刺激 PC12 細胞、及び海馬神経培養細胞において、アクソンの突起伸長の遅延とブランチ形成の減少、デンドライトの数と伸長遅延現象が観察された。以上のことから、細胞内 Neurofibromin は神経系細胞の正常なアクソン、及びデンドライトの伸長進展に必要不可欠な調節因子であることが証明された。

4) Neurofibromin の細胞内結合タンパク質の同定と機能制御解析

NF1 結合蛋白質群中で特にニューロンのアクソン形成に関わる collapsin response mediator protein 2(CRMP2)と tubulin との interaction に注目したところ、これらの分子は NF1 蛋白質を介してリン酸化を相互制御することによってアクソンの形成と伸張に関わっていることが判明した。これらの分子の細胞内相互作用を免疫沈降-western blotting にて確認したところ、CRMP2 分子の非リン酸化フォームのみに特異的に 3 者が結合し、リン酸化によってこれらの結合が制御されていることが判明した。又、NGF 刺激

PC12 細胞の neurite、およびラット胎児海馬ニューロンのアクソンにおいてこれらの分子すべての局在が一致することが免疫染色によって観察された。2D-DIGE 法と proQ Diamondを用いた phospho-differential 解析にて NF1 ノックダウン細胞とコントロール細胞の発現プロファイルを比較したところ、多くのリン酸化蛋白スポットの変化が観察されたが、特に 7 種類の CRMP2 リン酸化スポットが NF1-siRNA 処理によって大きく発現されることがわかった。各種キナーゼ阻害剤、および 2D-western を用いてこれらのリン酸化部位の同定を行ったところ、Rho Kinase(Ser555), CDK5(S522), GSK-3b(Ser518, Thr514, Thr509) による CRMP2 の特異的リン酸化が NF1 ノックダウン細胞内にて亢進していることが判明した。外因性 NF1-GRD の NF1 ノックダウン細胞内への導入は、NF1 siRNA に起因した phenotype を回復したことから、neurofibromin による RAS 経路の制御と CRMP2 活性制御が相互リンクしていることが判明した。以上のことから、neurofibromin は神経系細胞内において、RAS-Rho-RhoK-CRMP2 および RAS-MAPK-CDK5-GSK3-b-CRMP2 シグナルの制御、及び CRMP2-tubulin との相互作用を行うことによって、CRMP2 のリン酸化を相互制御し、アクソンの形成と伸張に関わっていることが判明した。NF1 患者における病態は neurofibromin の欠失による神経細胞分化異常に関与している可能性が考えられた。

5) 融合プロテオミクスによる NF1 病態関連分子群の同定

融合的なプロテオミクスを iTRAQ 法を主に行い、約 1600 種の PC12 細胞内発現蛋白質を定量的に同定した。その内、NGF 刺激によって特異的な発現差異を示す 72 種の蛋白質に注目した。これらには既知の NGF 誘導分子のみならず、新規の機能分子群が含まれており、これらの機能解析と細胞生物学的検証を行うことによって、神経系細胞分化と細胞死抑制に関わる新規機能分子群であることが判明した (Kobayashi et al. Mol. Cell. Proteomics 2009)。さらに NF1 の発現抑制により、NGF で刺激した PC12 内で特異的に発現が変動する 38 種の蛋白質を確認した。発現上昇を示した蛋白質には、mTOR 経路の調節因子である Translationally controlled tumor protein (TCTP) が含まれており、TCTP の発現上昇を Western Blotting により確認した。次に NF1 siRNA で処理し、NGF で刺激した PC12 細胞を、さらに TCTP siRNA で処理し、その表現形を観察した。Cy3 でラベルされた NF1 siRNA を処理した Cy3-positive 細胞において、神経突起伸長が阻害されていることが確認されたが、おもしろいことに、さらにその細胞に TCTP siRNA 処理すると、神

経突起を特異的に伸長した NF1 欠損 PC12 細胞が観察された。この結果から、NF1 のノックダウンにより阻害されていた神経突起伸長および進展維持機構が、NF1 発現抑制により増加した TCTP を抑制することによって正常化(回復)したのではないかと考えられた。

6) ヒト培養細胞における Merlin の発現抑制と過剰発現の影響

Merlin はその N 末端側に細胞膜裏打ち蛋白質である ERM family との高い相同性を有している。そこで、ERM family 蛋白質の発現には影響しないが、Merlin のみの発現を阻害する SiRNA を構築し、それによる細胞の形態変化を観察した。ヒトグリオーマ細胞、および HeLa 細胞を用いて NF2 siRNA による Merlin ノックダウン細胞の経時的な形態変化を観察したところ、Merlin の発現は SiRNA 導入後 24 時間で減少し、48 時間で完璧に消失した。Neurofibromin と同様、Merlin ノックダウンにおいても、細胞運動能、細胞接着能、骨格系の異常が認められ、細胞間の凝集抑制とスパーズな細胞の拡散が観察された。特徴として多数の filopodia を有する fibroblast 様形状に変化し、細胞の接着性が減少している所見が得られた。この細胞の可溶化蛋白質と NF2 SiRNA 非導入細胞のその蛋白質プロファイルを比較するため、2次元電気泳動による proteomic differential display 解析したところ、多数の細胞骨格系を含む分子群の変化が認められた。またこれと平行して、GFP-NF1 プラスミドの導入を行い、その細胞内局在と形態変化を観察したところ、グリオーマ細胞において細胞の接着性が上昇していることが観察された。また、Merlin の核外輸送シグナルの阻害剤(LMB)を導入したところ、グリオーマ細胞においても HeLa 細胞においても、Merlin 分子の核内蓄積が確認された。通常、Merlin は細胞膜、および細胞質に発現が認められるが LMB の作用によって、核内に蓄積すると同時に、細胞膜の接着性が減少することが判明し、この現象は NF2 ノックダウン細胞がスパーズな拡散現象を示す事と関連性があると考えられた。このことから、Merlin は細胞膜直下にて細胞骨格系の制御をおこなうことによって、細胞の接着性と運動能を制御していることが考えられた。

7) Merlin の細胞内結合タンパク質の同定と相互作用の解析

Neurofibromin と同様なプロテオミクスによる定量的同定法(iTRAQ 法)を用いて、NF2 結合性の細胞内タンパク質群をマウス、ラット、及び脳神経系培養細胞の可溶化タンパク質から網羅的 LC-ショットガン解析し、DNA 修復分子群、アポトーシス関連分子群、細胞骨格系・細胞接着系制御分子群、Neuron Regulators、細胞周期関連分子群を含む約 60 種類の NF2 結合蛋白質群を同定した。これ

らの相互作用点のほとんどが Merlin 分子の高変異部位である N-末端側であった。これらの結合タンパク質の各抗体を用いた免疫沈降実験によって、これらは細胞内でクラスターを形成しながら相互作用していることが判明した。DNA 傷害を誘起した種々の培養細胞において、同定した結合性蛋白質 poly ADP-ribose polymerase(PARP), DNA-PK subunit Ku70, Ku80 は顕著に活性化し、特に PARP は Merlin の N 末端側に poly (ADP) ribosyl 化を誘導した。一方、NF2 蛋白質結合分子である PARP-/-MEF 細胞では merlin の poly (ADP) ribosyl 化は認められなかった。MEF にて過剰発現した Merlin は、核内へ一端移行した直後、その N 末端側上の核外輸送シグナル配列(NES)を介して核外へ輸送され、細胞質内及び細胞質辺縁・突起部に局在したが、細胞に Bleomycin 処理などの DNA 傷害を誘起することによって Merlin の細胞内局在が細胞質から核近傍へ移行した。核外移行阻害剤である Leptomycin B 共存化においてはこの現象は顕著であった。一方、PARP 遺伝子欠損 MEF においてはこの現象が遅延し、顕著な細胞死が観察されたが、PARP 遺伝子導入によってこれらの現象が有意に相補された。Ku70, Ku80 は細胞質及び核内に分散して存在しているが、PARP はほとんどが核内に蓄積しており、DNA 傷害によって DNA-PKs (Ku70, Ku80)と PARP は細胞内で強く相互作用している所見が得られたことから、Ku, PARP, Merlin はそれぞれをお互いの scaffold として結合し、それぞれの細胞内局在に關与して、DNA 修復、細胞死に關わっている可能性が示唆された。その他の NF2 蛋白質結合分子群についての相互制御に關しては、特に NF1 蛋白質結合蛋白質と共通の分子として同定されたものについて、特に焦点をあてて解析を進めている。

8) まとめ

現在までに NF1, NF2 の病態に有効な治療薬や予防薬はほとんどないが、我々のこれまでの結果は、例えば NF1 に關して、FTI や PI3 キナーゼ阻害剤などの Ras の活性化阻害剤や、又今回の結果から Rho, Rock の調節に關する薬剤や、CDK5 や GSK-3b などのリン酸化酵素阻害剤など、又、NF2 に關して Merlin 結合蛋白質を介した細胞内シグナルを回復させるような薬剤や、NF2 の活性を失活させるような翻訳後修飾の阻害剤や転写調節薬などが、腫瘍や種々の病態の抑制や再発の防止などの治療目的に応用できる可能性を示唆している。今後、NF の原因遺伝子産物 Neurofibromin および Merlin の細胞内における機能をさらに詳細に明らかにすることによって、神経線維腫症の病態の治療と発症予防薬等の開発に繋げることのできる基礎的な解析を押し進めていくことが重要である

と考えられる。

4. 主な発表論文等

〔原著論文〕(計 74 件)

*は責任著者を示す、論文は全て国際学術雑誌に発表された査読有りのものである

1. Nambu T, Araki N*, Nakagawa A, Kuniyasu A, Kawaguchi T, Hamada A, Saito H. The Contribution of BCR-ABL-independent Activation of ERK1/2 to Acquired Imatinib Resistance in K562 Chronic Myeloid Leukemia Cells. **Cancer Science**. 2010, 101(1):137-42
2. Kobayashi D, Kumagai J, Morikawa T, Wilson M M, Wilson A, Irie A, and Araki N*. An integrated approach of differential Mass Spectrometry and gene ontology analysis identified novel proteins regulating neuronal differentiation and survival. **Mol. Cell. Proteomics**. 2009, 8(10):2350-67
3. Wongkham S, Junking M, Wongkham C, Sripa B, Chur-in S, and Araki N*. Suppression of galectin-3 expression enhances apoptosis and chemosensitivity in liver fluke associated cholangiocarcinoma. **Cancer Science**. 2009, 38(3):249-61
4. Patrakitkomjorn S, Kobayashi D, Morikawa T, Wilson MM, Tsubota N, Irie A, Ozawa T, Aoki M, Arimura N, Kaibuchi K, Saya H, and Araki N*. Neurofibromatosis Type I tumor suppressor, neurofibromin, regulates the neurite outgrowth of PC12 cells via its associating protein, CRMP-2. **J. Biol. Chem**. 2008, 283(14):9399-413

〔学会発表〕(計 67 件)

- 1) プロテオミクス手法による神経系細胞分化に関わるNF1 腫瘍抑制遺伝子関連タンパク質の同定とその役割 小林大樹*, 平山未央, ウィルソン森藤政代, 水口惣平, 長山慈, 森川崇, 新堀晶子, 坪田誠之, 緑川宇一, 荒木令江 第82回日本生化学会(神戸)2009年10月21日~24日
- 2) 神経線維腫症1の分子病態
Molecular mechanisms related to cellular abnormality in Neurofibromatosis 1 (ワークショップ「神経皮膚症候群研究の進歩」招待講演) 荒木令江 第51回日本小児神経学会総会(米子市)2009年5月28~30日
- 3) A standard framework of sequential proteomics for cancer research(Keynote Lecture) Norie Araki
The 2nd BMB Conference: Biochemistry and Molecular Biology for Regional Sustainable Development (Khon Kaen, Thailand) May 7-8th, 2009
- 4) Assembled Proteomics on Brain Tumors (シンポジウム招待講演) 荒木令江
日台シンポジウム(台湾台北市)2008年12月3日~6日

〔図書〕(計 2 件)

1. 荒木令江* 融合プロテオミクスによる病態メカニズムの解析 『創薬のためのタンパ

ク質・プロテオミクス解析』小田吉哉・長野光司編集, 羊土社, 2010年(印刷中)
2. 荒木令江* 2次元電気泳動プロテインチップによる病態解析 『マイクロアレイ・バイオチップの最新技術』伊藤嘉浩監修, CMC 出版, 全 305 頁 pp206-217, 2007年12月14日

〔産業財産権〕

出願状況(計 3 件)

- 1) 名称: 統合プロテオミクス解析用データ群の生成方法及び同生成方法にて生成した統合プロテオミクス解析用データ群を用いる統合プロテオミクス解析方法
発明者: 荒木令江、水口惣平、森川崇、坪田誠之、小林大樹 権利者: 熊本大学
種類: 特願 番号: 2010-81525
出願: 2010年3月31日, 国内
- 2) 名称: 融合プロテオミクス解析による疾患原因タンパク質群の同定方法および薬剤効果検出方法 発明者: 荒木令江、水口惣平、森川崇、坪田誠之、小林大樹、倉津純一
権利者: 熊本大学 種類: 特願
番号: 2010-81524 出願: 2010年3月31日 国内外の別: 国内
- 3) 名称: 胆管がん特異的糖鎖エピトープを認識するモノクローナル抗体
発明者: 荒木令江他3名 権利者: 国立大学法人熊本大学、株式会社トランスジェニック
種類: 特願 番号: 2009-025607
出願年月日: 2009年2月6日出願 国内

〔その他〕

ホームページ <http://srv02.medic.kumamoto-u.ac.jp/dept/tumor/index.html>

5. 研究組織

(1) 研究代表者

荒木 令江 (ARAKI NORIE)
熊本大学・大学院生命科学研究部
准教授
研究者番号: 80253722

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

佐谷 秀行 (SAYA HIDEYUKI)
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号: 80264282
中村 英夫 (NAKAMURA HIDEO)
熊本大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 30359963
小林 大樹 (KOBAYASHI DAIKI)
熊本大学・大学院生命科学研究部
研究員
研究者番号: 20448517