

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 31日現在

機関番号：84420

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390354

研究課題名（和文）独自のプロテオーム解析を用いた癌組織由来の微量血中腫瘍マーカーの同定と定量評価

研究課題名（英文）Identification and quantitation of low abundant tumor marker candidates in plasma derived from cancer tissue using recent proteomic technologies

研究代表者

朝長毅（TOMONAGA TAKESHI）

独立行政法人医薬基盤研究所・プロテオームリサーチプロジェクト・プロジェクトリーダー

研究者番号：80227644

研究成果の概要（和文）：

近年、プロテオーム解析を用いた血中の癌の早期診断マーカー探索が数多くなされているがいまだに臨床応用に至った例はない。本研究では、癌組織に特異的に発現するタンパク質を探索し、それらのうち血中に分泌あるいは漏出する微量なタンパク質の検出を目的とした。ヒト大腸癌・乳癌組織の膜タンパク質画分を用いた大規模なバイオマーカー探索によってそれぞれ約 5000 個のタンパク質が同定され、そのうち大腸癌では約 100 個、乳癌では約 20 個のバイオマーカー候補タンパク質を SRM/MRM 法で検証した。それらのうちいくつかは、血清中での検出に成功した。

研究成果の概要（英文）：

Recent advance of proteomic technology have contributed to identify biomarkers for various disease, however, only a few proteins have been used in practical application. This study was aimed to identify and quantitate low abundant tumor marker candidates in plasma derived from cancer tissue using recent proteomic technologies. About 5000 membrane proteins from colorectal and breast cancer tissues were identified respectively. Among them, about 100 colorectal and 20 breast cancer biomarker candidate proteins were verified by SRM/MRM method. Some of the candidate proteins were detected in human serum.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	9,400,000	2,820,000	12,220,000
2010年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：プロテオーム、ペプチド、癌、腫瘍マーカー、診断

1. 研究開始当初の背景

癌の早期発見や病態の把握に有用な血中や尿中に存在する新しい腫瘍マーカーを見つけるには、遺伝子の最終産物であるタンパク質を調べるのが必須である。従来の早期癌

のスクリーニング検査として、いくつかの血清腫瘍マーカーが用いられているが、これらのマーカーはいずれも進行癌では陽性率が高いものの、早期癌の検出率は非常に低い。したがって、新しい腫瘍マーカーの開発は急

務であり、そこで威力を発揮するのが血液、尿、組織などの臨床検体中のタンパク質を網羅的に調べるプロテオーム解析である。

近年、国内外でプロテオーム解析を用いた癌の診断法に関する報告が数多くみられるようになったが、そのきっかけとなったのは、卵巣癌患者血清を用いてほぼ 100%の感度特異度で卵巣癌の診断が可能という報告 (Petricoin EF et al. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. Lancet 2002)である。その後、血液や組織を用いたプロテオーム解析研究が国内外から相次いで報告されており、国内でも 3, 4年前までは、癌学会でのプロテオームの発表は我々のグループを含めて 2, 3施設だけであったが、近年の癌学会では多くの施設から臨床検体を用いたプロテオーム解析の報告がなされている。しかし、世界的にみても、これまでのプロテオーム研究はいずれもマーカー探索の段階で止まっており、その解析から見出されたマーカー候補タンパク質が臨床応用された例は皆無である。この主な原因として、これまでマーカー候補として見つかったタンパク質はみな血中に比較的豊富に存在しているもので、真の腫瘍マーカーとは言えないものであるからである。真の腫瘍マーカーとなるものとして、血中に存在する癌細胞由来もしくは癌細胞から分泌されるタンパク質などが第一にあげられるが、それらのマーカー候補タンパク質がたとえ血液や尿中に存在しているとしても非常に微量であり、これまでの測定法では検出できないと考えられる。何故なら血清中のタンパク質ならびにペプチドの存在量のダイナミックレンジは 10¹⁰~10¹¹ であり、これは血清中に最も存在量の多いアルブミンの濃度が 50mg/ml に対して、最も微量なペプチドが数 pg/ml であることを意味しており、そのため、量の多いタンパク質に邪魔されて微量なタンパク質が見えてこない。我々はこれまでそれらの血中の abundant なタンパク質を除去することにより微量なタンパク質やペプチドを効率よく検出する方法を開発してきた。その手法を癌組織のプロテオーム解析と組み合わせることにより、癌組織由来の微量なタンパク質・ペプチドを検出することが本研究の目的である。

2. 研究の目的

我々は、血中の微量タンパク質・ペプチドを検出する独自の方法を用いて、癌組織に特異的に発現し、血中に分泌あるいは漏出する微量な腫瘍マーカー候補タンパク質・ペプチドを発見することを目標としている。さらなる特色として、安定同位体標識と質量分析計を組み合わせたペプチドマーカー定量法を開発し、臨床応用を目指す。

3. 研究の方法

1. 独自のペプチド抽出法と HPLC を用いた血中の微量なマーカー候補ペプチドの探索

血中には疾患マーカーとなる可能性のある低分子量ペプチドが多数存在するが、アルブミンやグロブリンなどの高分子量キャリアタンパク質が大部分を占めるために、これまでの手法ではそれらのタンパク質が邪魔になって量の少ないペプチドの検出が困難であった。これらのキャリアタンパク質を除去するキットはあるものの、その最も大きな問題点は、高分子量タンパク質の除去に伴いペプチド成分も大きく損失する点である。我々は、血中の低分子量ペプチドを損失することなく高分子量メジャータンパク質を効率よく除去する方法を確立した。この方法と HPLC を組み合わせることで癌患者血中に存在する癌特異的ペプチドを単離、同定を行う。

2. 種々の消化器癌組織の細胞膜タンパク質のプロテオーム解析による新規腫瘍マーカー候補タンパク質の探索

細胞膜タンパク質は、膜上から切断され、もしくは exosome として血中に放出されて、血中で検出される可能性が高い。本研究では、連携研究者の石濱らによって開発された細胞膜タンパク質の高効率可溶化法を用い、種々の消化器癌の癌部、非癌部組織から細胞膜タンパク質を抽出し、定量ショットガンプロテオミクスにより比較検討する。具体的には、組織サンプルをホモジュナイザーで破碎し、低速遠心により核や未破碎の細胞を除いた後、超高速遠心で可溶性画分を除き、膜画分を調製する。膜画分は、デオキシコール酸ナトリウムやラウロイルサルコシン酸を含む溶液で可溶化し、トリプシン消化後、酢酸エチルを加え、酸性条件にすることで界面活性剤を除く。脱塩精製後得られたペプチドサンプルは、iTRAQ 試薬を用いて、サンプルごとに異なった同位体標識することで区別できる。同位体標識されたサンプルを、カラム操作により分画し、液体クロマトグラフィー質量分析装置でタンパク質の同定と定量を行う。これまでに培養細胞を用いて行った基礎的な検討の結果、PTS 法を用いて調製した膜画分には、高い割合 (同定されたタンパク質の中で 40-50%) で膜タンパク質が含まれていたことから、ヒトの癌組織サンプルでも同様に膜タンパク質を多く含むサンプルが調製できることが予想される。

3. 新規腫瘍マーカー候補タンパク質の検証と絞込み

上記の探索で見つかったバイオマーカー候補タンパク質の検証を行う。そのタンパク質に対する抗体があるものに対しては、ウェスタンブロットや組織免疫染色を用いた検証を行うが、最近、抗体を用いずに、質量分析計を用いた検証法 (SRM/MRM 法) が開発さ

れ、抗体がないタンパク質に対しても検証が可能になった。特に抗体作製が難しい膜タンパク質の発現解析に威力を発揮するため、抗体の有無にかかわらず、SRM/MRM 法による検証を行う。

SRM/MRM 法は、特定の質量の親イオンを選択的に破壊し、生成した娘イオンの中のさらに特定イオンのみを検出するため、複雑なサンプル内から標的とするタンパク質由来のペプチドを高感度に検出することができる。SRM/MRM 法の最大の強みは抗体でしばしばみられる非特異的応答を回避できることである。さらに、SRM/MRM 法は抗体と異なり、どんなタンパク質・ペプチドでも定量が可能で、ウエスタンブロットに比べてハイスループットである。

4. 消化器癌腫瘍マーカー候補細胞膜タンパク質の血中での検出・定量

上記の組織検体を用いて検証・絞込みを行ったバイオマーカー候補タンパク質の血清・血漿での検出、定量を試みる。血清・血漿中タンパク質の濃度差は最大と最小で1011 (数十 mg/ml~pg/ml) もあると言われており、これまでのプロテオーム解析ではせいぜい数十 $\mu\text{g/ml}$ レベルまでしか検出できなかった。しかし、SRM/MRM 法の開発により、それが ng/ml レベルまで検出・定量が可能になった。さらに我々は、抗体を用いた免疫沈降法と SRM/MRM 法を組み合わせることによって (IP-SRM/MRM 法)、血中で pg/ml レベルしか存在しないアルツハイマー病のバイオマーカー候補ペプチド APL1 β を検出定量することに成功した。これらの技術を用いることにより、血中に超微量に存在する消化器癌腫瘍マーカーも検出・定量することができると考えられる。

4. 研究成果

1. 次世代プロテオミクス解析技術によるバイオマーカータンパク質の探索と検証

理想的なバイオマーカーとは、なるべく侵襲の少ない検体を用いて、迅速にかつ正確に病態を診断できるものである。そのためには、血液、尿、唾液などの体液を用いて診断することが望ましく、これまでそれらの検体を用いた多くの研究がなされてきたが、実用化まで至った例はごくわずかである。その理由として、体液中には非常に多くのタンパク質が存在するのに対し、目的とするバイオマーカータンパク質は希釈されることにより非常に低濃度に存在しており、現在の解析技術ではそのような藁の中から針を探すことは非常に困難だからである。そこで我々は、バイオマーカーが濃縮されて存在すると思われる患部組織や患部近傍の体液、例えば脳神経疾患の髄液などの検体を用いて探索を行い、その解析で見つかったバイオマーカー候

補タンパク質について、近年のプロテオミクスの革新技術である SRM/MRM 法を用いて大規模検証を行い、最終的にそれらのタンパク質を血中で検出・定量を試みるという戦略を取ることとした (図 1)。

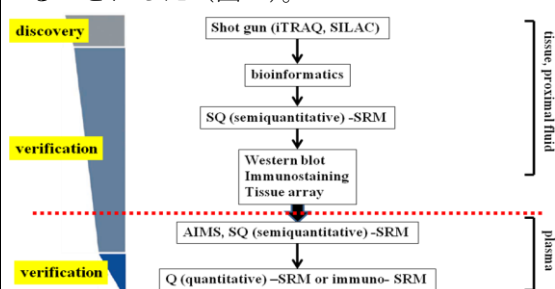


図 1 : バイオマーカー探索の戦略

(1) 膜タンパク質に着目した大腸癌バイオマーカーの探索と検証

良性腫瘍と大腸癌組織 (転移なしと転移あり)、それぞれ 6 検体ずつ合計 18 検体の大腸癌組織の膜タンパク質画分の iTRAQ-shotgun プロテオーム解析の結果、5566 個のタンパク質が同定され、その中の 1567 個のタンパク質は膜貫通ドメインを持つことが推定された (表 1)。また、Gene Ontology 解析の結果、

Total identified proteins		5566			
	number	%			
Number of proteins with transmembrane domains	1567	28.2%			
GO-annotated	5287	100			
Membrane	3087	58.4			
Cell surface	209	4.0			
Extracellular	652	12.3			
Number of proteins with significant difference in expression					
ratio	p-value	C / P	Cm / C		
		TM + mem	Extra	TM + mem	Extra
> 2.0	< 0.1	108	25	21	5
< 0.5	< 0.1	51	14	11	7
total		169	39	32	12

表 1 : 大腸癌組織膜タンパク質バイオマーカー候補タンパク質 5287 個のタンパク質が注釈付けされ、その中の 3087 個 (58.4%) は膜タンパク質であることが推定された (表 1)。同定タンパク質の中から、ポリープに比べて転移のない癌組織、または転移のない癌組織に比べて転移のある癌組織で発現量の変化する (2.0 倍または 0.5 倍以下、p 値 0.1 以下) バイオマーカー候補タンパク質となる 201 個の膜タンパク質または 51 個の細胞外タンパク質を見出した (表 1)。本研究では、そうしたバイオマーカー候補タンパク質の中の 38 個に着目し、SRM 法を用いた検証をおこなった。SRM 測定は、38 個の候補タンパク質に特異的な配列を持つ 2 つのペプチドを測定対象としておこなった。その結果、25 個の候補タンパク質が、癌の進行に伴って有意に発現変化することが確認された。

有意な発現変化のみられた 25 個のタンパク質の中で、15 個は、ポリープに比べて、転移のない癌組織での発現上昇がみられ(例: 図 2A)、4 個は、転移のない癌組織に比べて、

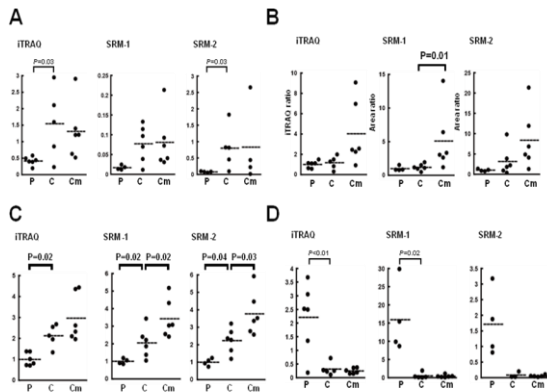


図 2: 大腸癌組織膜タンパク質バイオマーカー候補タンパク質の検証
 A: ポリープに比べて、転移のない癌組織での発現上昇がみられたタンパク質
 B: 転移のない癌組織に比べて、転移のある癌組織での高発現が見られたタンパク質
 C: ポリープから転移のない癌組織、さらに転移のある癌組織と段階的に発現上昇がみられたタンパク質
 D: ポリープに比べて転移のない癌組織での発現の低下が示されたタンパク質

転移のある癌組織での高発現が見られた(例: 図 2B)。また、1 個は、ポリープよりも転移のない癌組織、さらに転移のない癌組織よりも転移のある癌組織と悪性度が高い癌組織でより高発現していることが示された(図 2C)。一方、5 個のタンパク質は、ポリープに比べて転移のない癌組織での発現の低下が示された(図 2D)。これらのタンパク質の中で、9 タンパク質については大腸癌または他の癌での発現変化を示唆する報告がなく、大腸癌以外の癌も含めて、癌の進行に伴って発現変化する可能性が、本研究により新たに示された。

新たに見出されたバイオマーカー候補タンパク質のうち、X と Y についてはさらに検討を進めた。X は、N 端部分にシグナル配列または膜貫通ドメインと予想される配列を持つ機能未知のタンパク質で、SRM の検証結果から、癌の悪性化に伴う発現上昇が示された(図 3A)。抗 X 抗体を用いたウェスタンブロットでも癌組織での発現の上昇が確認され

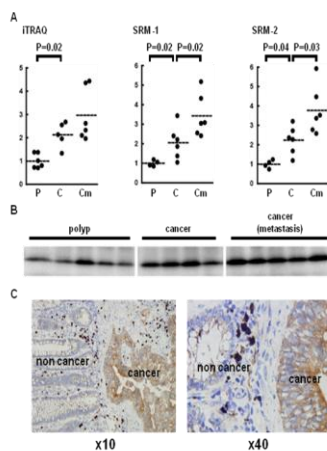


図 3: 大腸癌組織膜タンパク質バイオマーカー候補タンパク質 X の検証
 A: SRM/MRM での検証 B: ウェスタンブロットでの検証 C: 免疫染色での検証 (左図 x10, 右図 x40)

(図 3B)、大腸癌組織の免疫組織染色では、X は正常細胞や間質での発現がほとんど認められず、癌細胞で高発現していることが示された(図 3C)。

また、Y は、RR ファミリータンパク質の一つで、その一次構造から 2 回膜貫通型の膜タンパク質と予想される。RR ファミリータンパク質は、細胞内受容体に結合し、その受容体の plasma membrane への移行を促進する機能を持つことが報告され、Y も細胞内膜のトラフィックへの関与が示唆されている。また、Y は、プロアポトーシス活性を持ち、その polymorphism (遺伝子多型) と大腸癌発症との関連性も示唆されている。SRM やウェスタンブロットの結果から、Y は、転移のない癌組織に比べて転移のある癌組織で発現が増加していることが示された(図 4A、4B)。また、免疫組織染色の結果から、Y は癌細胞に高発現していることが示された(図 4C)。

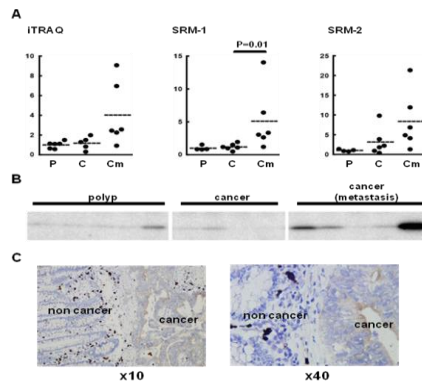


図 4: 大腸癌組織膜タンパク質バイオマーカー候補タンパク質 Y の検証
 A: SRM/MRM での検証 B: ウェスタンブロットでの検証 C: 免疫染色での検証 (左図 x10, 右図 x40)

さらに、14 種類の癌組織それぞれ 50 または 100 検体分含む癌組織アレイ (TMA1150) の解析により、大腸癌における X の高発現が多検体で確認されただけでなく、肝臓癌や乳癌でも X の発現が増加していることが示された(図 5A)。また、Y は大腸癌だけでなく、前立腺癌、乳癌でも高発現していることも示された(図 5B)。

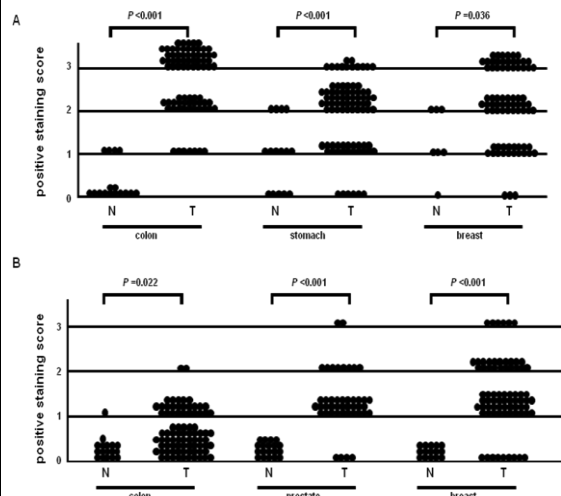


図 5: 大腸癌組織膜タンパク質バイオマーカー候補タンパク質 X と Y の組織アレイを用いた検証
 免疫染色強度で 4 段階に分類 A: X タンパク質、B: Y タンパク質

(2) 膜タンパク質に着目した乳癌バイオマーカーの探索と検証

MammaPrintによりハイリスク群 (9 検体) とローリスク群 (9 検体) に分類された乳癌患者 18 症例の乳癌組織の膜画分を用いた iTRAQ-shotgun プロテオーム解析により 829 の膜タンパク質、340 の細胞外タンパク質を含む 5122 種類のタンパク質の同定に成功した (表 2)。その中でハイリスク群とローリスク群を比較して 2 倍以上の発現の差が見られた 61 種類の膜、細胞外タンパク質をバイオマーカーの候補タンパク質とした。

Location	Numbers	%
total	5122	
Plasma membrane	829	16.2
Extracellular Space	340	6.6

表 2: 乳癌組織膜タンパク質プロテオミクス解析同定数

61 種類の候補タンパク質から SRM/MRM を行える条件を満たした 49 種類のタンパク質において相対定量比較を個々の検体を用いて SRM/MRM により行った。SRM/MRM の定量値は、添加した安定同位体標識ペプチドに対する内在性ペプチドの比により算出し、その定量値をもとにハイリスク群、ローリスク群の有意差検定により比較を行った。その結果、23 種類のタンパク質でハイリスク群とローリスク群で有意差のある発現変動を示した (図 6)。その中で、10 個のタンパク質は現在のところ乳癌での論文報告はない。

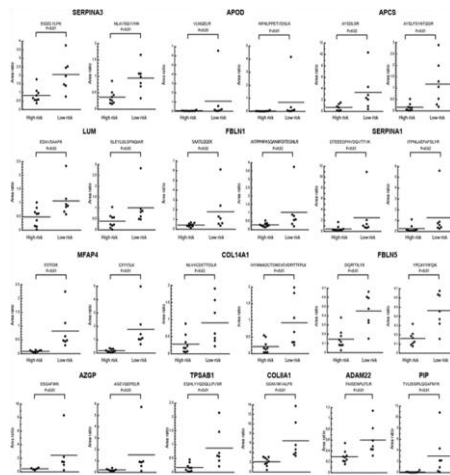


図 6: 乳癌組織膜タンパク質バイオマーカー候補タンパク質の検証 SRM/MRM による解析後それぞれのリスク群を有意差検定 Wilcoxon test を行い有意差 ($p < 0.05$) がえられたタンパク質の結果を示している。

10 種類の候補タンパク質中で利用できる抗体があった XX と YY のウエスタンブロッティング・免疫組織学染色による検討を行った。XX は、ウエスタンブロッティングの結果よりハイリスク群に比べローリスク群で有意差のある発現変動が示された (図 7)。YY も同様にウエスタンブロッティングの結果ハイリスク群に比べローリスク群で発現変動が

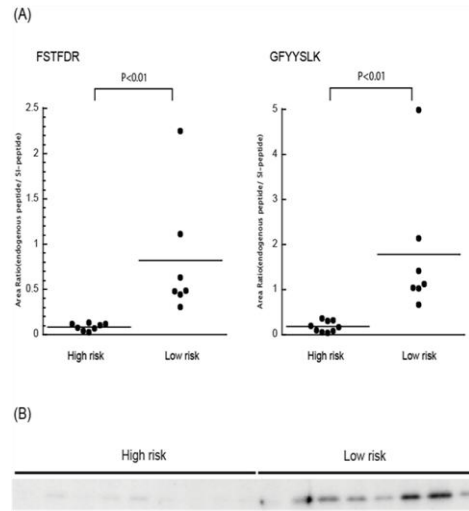


図 7: 乳癌組織膜タンパク質バイオマーカー候補タンパク質 XX の検証

A: SRM/MRM での検証, B: ウエスタンブロットでの検証

確認され、また免疫組織学染色によっても同様の結果が示された (図 8)。

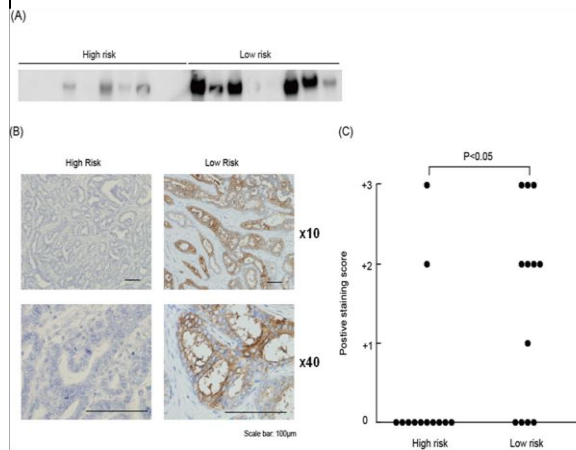


図 8: 乳癌組織膜タンパク質バイオマーカー候補タンパク質 YY の検証

A: SRM/MRM での検証, B: ウエスタンブロットでの検証, C: 免疫染色での検証 (上図 x10, 下図 x40)

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 18 件)

- 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. Human pathology in press. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22304787>
- Abulazi M, Tomonaga T, Satoh M, Sogawa K, Matsushita K, Kodera Y, Obul J, Takano S, Yoshitomi H, Miyazaki M, Nomura F. The Application of a Three-Step Proteome Analysis for

- Identification of New Biomarkers of Pancreatic Cancer. *Int J Proteomics* in press.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22091389>
3. 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* 2012;75:1803-15.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22245045>
 4. 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* 2012;75:833-44.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22051404>
 5. Wu D, Matsushita K, Matsubara H, Nomura F, Tomonaga T. An alternative splicing isoform of eukaryotic initiation factor 4H promotes tumorigenesis in vivo and is a potential therapeutic target for human cancer. *Int J Cancer*. 2011;128:1018-30.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20473909>
 6. T Tonoike Y., Matsushita K., Tomonaga T., Katada K., Tanaka N., Shimada H., Nakatani, Y., Okamoto, Y., Nomura, F. Adhesion molecule periplakin is involved in cellular movement and attachment in pharyngeal squamous cancer cells. *BMC Cell Biol.* 2011;12:41.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21951621>
 7. Sogawa K, Kodera Y, Noda K, Ishizuka Y, Yamada M, Umemura H, Maruyama K, Tomonaga T, Yokosuka O, Nomura F. The measurement of a fibrinogen alpha C-chain 5.9kDa fragment (FIC 5.9) using MALDI-TOF MS and a stable isotope-labeled peptide standard dilution. *Clin Chim Acta.* 2011;412:1094-9.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21354123>
 8. Muto T, Taniguchi H, Kushima R, Tsuda H, Yonemori H, Chen C, Sugihara Y, Sakamoto K, Kobori Y, Palmer H, Nakamura Y, Tomonaga T, Tanaka H, Mizushima H, Fujita S, Kondo T. Global expression study in colorectal cancer on proteins with alkaline isoelectric point by two-dimensional difference gel electrophoresis. *J Proteomics.* 2011;74:858-73.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21385629>
 9. Kitamura A, Matsushita K, Takiguchi Y, Shimada H, Tada Y, Yamanaka M, Hiroshima K, Tagawa M, Tomonaga T, Matsubara H, Inoue M, Hasegawa M, Sato Y, Levens D, Tatsumi K, Nomura F. Synergistic effect of non-transmissible Sendai virus vector encoding the c-myc suppressor FUSE-binding protein-interacting repressor plus cisplatin in treatment of malignant pleural mesothelioma. *Cancer Sci.* 2011;102:1366-73. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.01931.x.
 10. Sawai S, Umemura H, Mori M, Satoh M, Hayakawa S, Kodera Y, Tomonaga T, Kuwabara S, Nomura F. Serum levels of complement C4 fragments correlate with disease activity in multiple sclerosis: proteomic analysis. *J Neuroimmunol.* 2010;218:112-5.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19923011>
 11. Ritchie SA, Heath D, Yamazaki Y, Grimmalt B, Kavianpour A, Krenitsky K, Elshoni H, Takemasa I, Miyake M, Sekimoto M, Monden M, Tomonaga T, Matsubara H, Sogawa K, Matsushita K, Nomura F, Goodenowe DB. Reduction of novel circulating long-chain fatty acids in colorectal cancer patients is independent of tumor burden and correlates with age. *BMC Gastroenterol.* 2010;10:140.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21114854>
 12. Kuga T, Nozaki N, Matsushita K, Nomura F, Tomonaga T. Phosphorylation statuses at different residues of lamin B2, B1, and A/C dynamically and independently change throughout the cell cycle. *Exp Cell Res.* 2010;316:2301-12.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20580708>

13. Kawashima Y, Fukutomi T, Tomonaga T, Takahashi h, Nomura F, Maeda T, Kodera Y. High-yield peptide-extraction method for the discovery of subnanomolar biomarkers from small serum samples. *J Proteome Res.* 2010;9:1694-705.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20184378>
14. Yamamoto-Ishikawa K, Suzuki H, Nezu M, Kamiya N, Imamoto T, Komiya A, Sogawa K, Tomonaga T, Nomura F, Ichikawa T. The isolation and identification of apolipoprotein C-I in hormone-refractory prostate cancer using surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Asian J Androl.* 2009;11:299-307.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19182819>
15. Umemura H, Nezu M, Kodera Y, Satoh M, Kimura A, Tomonaga T, Nomura F. Effects of the time intervals between venipuncture and serum preparation for serum peptidome analysis by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Chim Acta.* 2009;406:179-80.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19520068>
16. Matsushita K, Tomonaga T, Kajiwara T, Shimada H, Itoga S, Hiwasa T, Kubo S, Ochiai T, Matsubara H, Nomura F. c-myc suppressor FBP-interacting repressor for cancer diagnosis and therapy. *Front Biosci.* 2009;14:3401-8.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19273283>
17. Hattori N, Oda S, Sadahiro T, Nakamura M, Abe R, Shinozaki K, Nomura F, Tomonaga T, Matsushita K, Kodera Y, Sogawa K, Satoh M. YKL-40 identified by proteomic analysis as a biomarker of sepsis. *Shock.* 2009;32:393-400.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19197227>
18. Guo WZ, Sugaya S, Satoh M, Tomonaga T, Nomura F, Hiwasa T, Takiguchi M, Kita K, Suzuki N. Nm23-H1 is responsible for SUMO-2-involved DNA synthesis induction after X-ray irradiation in human cells. *Arch Biochem Biophys.* 2009;486:81-7.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19332021>

[学会発表] (計13件)

1. 朝長 毅: 大規模定量プロテオミクスを用いた疾患バイオマーカー探索とSRMを基盤とした実用化へのアプローチ. 第9回北里疾患プロテオーム研究会, 東京, 2011年7月27日
2. 朝長 毅: 定量プロテオミクス. 日本プロテオーム学会2011年会, 新潟, 2011年7月28-30日.
3. 朝長 毅: 大規模定量プロテオミクスによる疾患バイオマーカー探索. 第131回質量分析関西談話会, 大阪, 2011年11月12日.
4. 朝長 毅: 近年のプロテオーム解析技術の進歩と循環器病研究への応用. 第11回 Cardiovascular Frontier Conference, 東京, 2011年11月19日.
5. Shio Watanabe, Shinji Tagami, Seizo Sano, Kumiko Yoshizawa-Kumagaye, Masahiko Tsunemi, Masayasu Okochi and Takeshi Tomonaga "Absolute quantitation of plasma biomarker peptides for Alzheimer disease at pico-molar level using SRM coupled with stable isotope standards and capture by anti-peptide antibodies." HUP02011 10th World Congress, Geneva, Switzerland, 4-7 September, 2011.
6. 朝長 毅: 国内のプロテオミクス研究拠点の動向. 日本ヒトプロテオーム機構第8回大会 第6回日本臨床プロテオーム研究会連合会, 千葉, 2010年7月26-27日.
7. 朝長 毅: 近年のプロテオミクス技術の進歩とそれががん研究への応用. 第69回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010年9月22-24日.
8. 朝長 毅: 最近のプロテオミクスの進歩〜ターゲットプロテオミクス: 翻訳後修飾解析とSRMを用いた絶対定量〜 第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010年12月7-10日.
9. 朝長 毅: 疾患関連バイオマーカー探索研究の現状と今後の方向性. 第7回北里疾患プロテオーム研究会, 神奈川, 2009年7月26日. (口頭)
10. 朝長 毅: プロテオームリサーチセンターにおける疾患関連バイオマーカー探索研究. 日本ヒトプロテオーム機構第7回大会, 東京, 2009年7月27-28日. (口頭)
11. 朝長 毅: 最新プロテオーム解析技術を用いた疾患関連バイオマーカー探索研究. 第82回日本生化学会大会, 神戸, 2009年10月21-24日. (口頭)

12. 朝長 毅：プロテオーム解析の最新事情と基盤研プロテオームリサーチセンターの現状。 彩都バイオサイエンスセミナー大阪, 2009年11月26日。(口頭)
13. Tomonaga T, Wu D, Nomura F., Validation and functional analysis of a tumor marker candidate, eIF4H isoform 1, identified by 2DE. 3rd EuPA Congress, Stockholm, June 14-17, 2009.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

<http://www.nibio.go.jp/proteome/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

朝長 毅 (TOMONAGA TAKESHI)
独立行政法人医薬基盤研究所・創薬基盤研究部プロテオームリサーチプロジェクト・プロジェクトリーダー
研究者番号：80227644

(2) 研究分担者

松原 久裕 (MATSUBARA HISAHIRO)
千葉大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：20282486
野村 文夫 (NOMURA FUMIO)
千葉大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：80164739
西村 基 (NISHIMURA MOTOI)

千葉大学・大学院医学研究院・助教
研究者番号：80400969

(3) 連携研究者
()

研究者番号：

