

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659693

研究課題名（和文） グリオーマ幹細胞特異的分子群の超微量解析システムの構築

研究課題名（英文） System development for microquantitative molecular analyses of glioma stem cells

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）：近年、悪性腫瘍より癌幹細胞が分離され、抗癌剤耐性機構や、癌再発の謎を解く重要な鍵として注目されている。グリオーマ幹細胞(GIC)の新規治療標的や診断指標になり得る分子群探索のため、高感度融合プロテオミクス法確立とその検証法を検討した。マウス頭蓋内移植で悪性グリオーマ(GBM)を早期に発症する GIC クローンを樹立し、融合プロテオミクス法(プロテオームとトランスクリプトーム同時解析データ融合法：iPEACH)を高感度に最適化することによって、GIC から非幹細胞性グリオーマへの分化・増殖のスイッチングに参与する分子群の探索・同定を行った。その結果、GIC は神経系幹細胞/分化/悪性グリオーママーカーを有し、分化に連動して MAPK/PI3K 系路の活性化を誘導すること、integrin family および ECM タンパク質群の顕著な発現によって分化ニッチを形成すること、更にこれらの阻害剤は GIC 頭蓋内移植による悪性グリオーマ発症マウスモデルの抗癌剤の感受性を高め、生存率を上昇させることが判明した。これらの一連の解析システムは、グリオーマ新規治療標的候補分子群の検出・同定に有用であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Glioma initiating cells (GICs) are considered responsible for the therapeutic resistance and recurrence of malignant glioma. To clarify the molecular mechanism of GIC differentiation, we established GIC clones which differentiate into malignant gliomas, and subjected to DNA microarray/iTRAQ based integrated proteomics (iPEACH). GO analysis revealed that the expression of cell adhesion molecules, including integrin subfamilies and ECMs, was significantly upregulated during serum-induced GIC differentiation. This process, also accompanied by the upregulation of MAPK/PI3K signals, was dramatically accelerated by these ECMs and suppressed by integrin inhibitors such as RGD which also inhibited GIC proliferation, and raised their sensitivity against TMZ. Combination treatments of TMZ and RGD inhibit glioma progression and lead the longer survival of mouse intracranial GIC xenograft model. GICs induce/secrete ECMs to develop microenvironments, namely differentiation niches that further stimulate GIC differentiation and proliferation via the integrin recognition motif RGD. This study provides a new perspective for developing therapeutic strategies against the early onset of GIC-associated glioma.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：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：がん幹細胞、グリオーマ幹細胞、融合プロテオミクス、ニッチ、インテグリン、細胞外マトリクス、プロテオミクス、トランスクリプトーム

1. 研究開始当初の背景

脳神経系腫瘍の中でも悪性脳腫瘍(グリオブラストーマ;GBM)はほとんどの場合、手術による治癒は不可能であり、術後脳内に残った腫瘍細胞は放射線療法・化学療法に対する反応性、再発などの予後を決める最も重要な因子である。現在のところ、予後を予測できる診断マーカーは存在せず、患者の化学療法感受性を見極める診断法や治療ターゲットの開発は早急に取り組むべき重要な課題とされている。近年、glioma 組織細胞由来の幹細胞様癌細胞(GIC)の存在が示され、その濃縮法および樹立法が各地で検討される様になった。多様に分化する GIC の研究が悪性脳腫瘍再発や、薬剤耐性の謎をとく最も重要な鍵となることが示唆されているが、GIC の純粋分離法や検出に用いるマーカー分子群はもとより、GIC の化学治療耐性機能などに関わる分子群の詳細な情報は非常に限られているため、研究開発は困難を極めている。以前より、我々は glioma において唯一化学療法に感受性を示し予後良好な anaplastic oligodendroglioma (AO)/ oligoastrocytoma (AOA)に関して、詳細な分子レベルの解析を行ってきたが、現在までに全 8,471 種の glioma 組織細胞蛋白質を定量的に同定することに成功している(glioma 組織細胞蛋白 database 特許出願 2010-81524)。これらの情報から、化学治療感受性に関与すると考えられる新規の 34 機能蛋白質を含む 209 種類の蛋白質を特定し、翻訳後修飾によって発現と活性が特異的に制御される新規転写因子活性化ネットワークを発見した(特願 2010-081524)。そこで、本融合プロテオミクス法を超高感度に GIC に最適化し、グリオーマ幹細胞様特性維持と分化に関わる分子群の検索と、これらの悪性腫瘍発生に関わる治療ターゲット分子群の解析に応用することを考えた。

2. 研究の目的

本研究では、悪性グリオーマにおいて、特に再発や薬剤耐性の謎をとく最も重要な鍵とされる GIC に焦点をあて、治療標的となりうる分子群を検索するため、GIC に最適化された融合プロテオミクスの方法論とその検証法の確立を試みた。分子発現差異解析法である iTRAQ (8 Plex) 法、2D-DIGE 法、および DNA array 法を融合的に用いて同一サンプル群を同時に解析し、得られたすべての情報を統合マイニングすることによって、病態において異常に制御されたシグナル伝達経路を特異的に抽出する方法論(iPEACH 法)を確立し、同定されたターゲット候補分子群を、臨床サンプルおよび培養細胞と動物移植モデルによる検証実験に供した。特に GIC の幹細胞様特性維持と分化に関わる分子群の検索

と、これらの悪性腫瘍発生に関わる治療ターゲット候補分子群の抽出に応用した。まず、グリオーマ患者組織由来のグリオーマ幹細胞(GIC)を樹立し、GIC の分化誘導によって変動する分子群の融合プロテオミクスを行い、有意に同定された GIC による分化制御に関わる分子群の細胞生物学的検証と、その治療ターゲットとしての可能性を細胞と動物実験によって検証し、プロテオーム解析データ、およびトランスクリプトーム解析データのすべてを統合し、統合的マイニングによるプロテオミクスの融合的アプローチ解析法、臨床サンプルおよび病態モデルへの検証法も含めて、微量な GIC に最適化された網羅的分子解析トータルシステムの確立を目標にした。

3. 研究の方法

質量分析を用いた解析には、高感度タンデム質量分析器(nano ESI-QqTOF: QStarElite, QstarPulsari, TripleTOF5600, MALDI-TOF-TOF:4700, 5800, nanoESI-ionTrap QQQ: 4000QTRAP, AB Sciex)、および付随する nano レベルのクロマトグラフィー装置(nanoLC:Ultimate 3000, Dionex, DiNa, MaL, KYA)、解析ソフト群(ProteinPilot, MASCOT, Analyst QS, MRM/MRM pilot, quant, scheduled, GPS, Progenesis, Decyder, GeneSpringsGP, MANGO, iPEACH 等)を用いた。高感度タンデム質量分析器 nanoLC-ESI-QqTOF、nanoLC-MALDI-TOF-TOF は網羅的なペプチドの高感度検出および比較定量/同定用に、さらに nanoLC-ESI-ionTrapQQQ(QTRAP4000 Applied Biosystems)は高感度定量用に、それぞれ融合的に組み合わせて使用した。

高感度同時比較定量解析法として、iTRAQ (isobaric Tagging for Relative and Absolute Quantitation)法および検証用に MRM(Multiple Reaction Monitoring)法を用いた。又、リン酸化および proteolysis などの翻訳後修飾発現差異解析に関しては、ProQ-Diamond による染色法を併用した 2D-DIGE 法を用いた。mRNA 発現解析は、DNA chip (Human Genome U133 Plus 2.0 Array, affimetrix)を用いた。

検証法の一つとして、独自に開発を行った全自動 2 次元電気泳動装置を用いた Western Blotting 法 (Auto2D-WB) を用いて、複数個のマーカー分子の同時迅速検出法の最適化を検討した。

生体サンプルとして、ヒトグリオーマ培養細胞 (U373, U251, A172, U81G)、ヒト腫瘍組織は神経幹細胞分離培地にてクローン化を行った。培養がん幹細胞として、11 人の患者由来 GBM 組織より分離した 9 つの幹細胞

様クローンから、動物移植にて早期に悪性グリオーマを発症するグリオーマ幹細胞 GIC03A、GIC03U、GIC07U を樹立した。同一のサンプルを同時にタンパク質 (iTRAQ、2D-DIGE) と mRNA (DNA array) 用に抽出調製して解析に用いた。まず学習セットを選択し全ての解析データを iPEACH (特願 2010-81524) を用いて統合し、GO 解析 GeneSpring GX (Agilent Technologies)、ネットワーク解析 KeyMolnet (医薬分子設計研究所) を用いた機能解析を行い、抽出された特異的活性化シグナル分子群に対して、各抗体を用いて 1D/2D-Western Blotting 法、組織免疫染色法、各分子に対する siRNA および阻害剤処理による細胞の抗がん剤 (Temozolomide: TMZ, ACNU, CCNU, Procarbazine, Vincristine 等) の感受性の変化を WST 法にて検討した。又、動物移植モデルとして、NOD-scid マウスを用い、GIC の頭蓋内移植による悪性腫瘍形成能を評価した。又、抗癌剤の感受性評価をマウス移植モデルの生存能で評価した。

4. 研究成果

(1) プロテオミクス解析情報統合プログラム iPEACH の開発と応用

統合プロテオミクス解析のために作成した統合プログラム iPEACH によって自動的に解析ファイルを統合する一連の方法論を開発した。すなわち、解析対象グループの発現差異解析によって得られた遺伝子 (DNA array) とタンパク質群 (iTRAQ : ESI-Qq-TOF と MALDI-TOF-TOF による両解析データ、2D-DIGE:PI3-11 のデータおよび PI4-7 のデータ) のそれぞれの同定分子群の全ての情報を含むリストを読み込み、アクセッションを統合したファイルを作成する。このファイルには gene description (分子の定義や機能情報)、染色体位置情報、統合プロテオミクスにおける解析法 [DNA microarray, iTRAQ (MALDI-MS), iTRAQ (ESI-MS/MS), 2D-DIGE 等], Gene Ontology annotation, タンパク質翻訳後修飾の有無と頻度 (2D-DIGE で同定された修飾スポットの情報) などが付与されている。又、統合ファイルのデータの内、それぞれの分子に重み付けを行い (iPEACH Intex)、優先順位をつけ、同一タンパク質でもタンパク質の翻訳後修飾が併せて確認されるものを注目すべき分子として自動的に上位にランクするアルゴリズムを用いている。更に自動的に有意と評価して閾値を設定し、閾値以下の変動分子を解析対象から外すようにマスクした後、GO 解析や KeyMolnet 等の分子ネットワーク解析に直接用いることができるように整形済みテキストとして統合ファイルを出力することができる (特願 2010-81525)。今回のオリジナル解析データの一元化ファイルにおいてはグリオーマ関

連 30000 個の分子情報を対象とし、その中から統計学的に定量性が有意なもの約 20000 分子を抽出した。

(2) 悪性グリオーマ幹細胞分化制御マーカーおよび治療標的分子群の解析

グリオーマ患者組織より分離した GIC、分化誘導によって変動する分子群の融合プロテオミクスを行い、有意に同定された GIC による分化ニッチ形成と制御に関わる分子群の細胞生物学的検証と、その治療ターゲットとしての可能性を動物実験によって検証した。iPEACH ソフトウェアによって定量可能な全同定データ (8,471 タンパク質、21,857 mRNA) を融合し、GIC の分化誘導における発現変動分子群 (上昇 662 個、減少 326 個) から、GO 解析および network 解析に供した。GIC は、幹細胞マーカー CD133、nestin、Sox2 の発現と、分化誘導時のこれらの減少、及び Astrocyte マーカー GFAP、Neuron マーカー Tuji1、悪性グリオーママーカー CD44・vimentin、及び活性化 EGFR-RAS-MAKP と PI3K-AKT-mTOR 系路の発現を誘導し、神経幹細胞様の性質とグリオーマ細胞への分化能を有すること、さらに、分化に連動して integrin family およびそのリガンド ESM タンパク質群の顕著な発現上昇が認められた。細胞生物学的な検証実験の結果、integrin αV と fibronectin をコアとする分化に関わるニッチ成分が GIC の増殖と分化誘導に関わっており、これらの阻害剤が有意に分化を抑制することを見出した。さらに、GIC のマウス頭蓋内移植による悪性グリオーマ発症モデルにおいて、この分化ニッチ阻害剤は抗癌剤の感受性を高め、マウスの生存率を上昇させることが判明した。以上のことから、これらの一連の解析システムによって得られた結果は、GIC の治療ターゲット候補分子群の検出・同定に有用であることが示唆された。

(3) 考察、結論、および展望

マウス脳への異種移植で悪性神経膠腫を発症する GIC クローンを樹立し、血清よる分化誘導モデルを確立した。GIC の分化誘導において特異的に発現変動している分子群を同定するため、統合プロテオミクス解析を行い、GIC 分化誘導において発現亢進された分子リストを得た。さらに GO 解析を行い、GIC の分化を制御していると考えられる ECM、接着/細胞間コミュニケーション、および細胞膜などに関連する分子群を抽出した。この分子群に含まれる細胞接着に関するインテグリンファミリーと COL4、LAM、および FN などの ECM に注目し、インテグリン αV と FN の発現と相互作用が GIC の分化を促進していることを明らかにした。また、GIC の分化阻害実験から、インテグリン αV 抗体と RGD ペプチド

の阻害剤がGICの分化抑制に有用であることを示した。これはインテグリン αV とFNがGICの分化における主要因子であることを証明するものである。これらの事から、GICはFNをコアとしたECMを自ら発現・分泌し、インテグリン αV を介して分化を制御する微小環境“分化ニッチ”を形成することを提唱した。インテグリン αV やRGD認識部位をターゲットとすることでGICの接着、遊走、分化を抑制することが可能であり、グリオーマの再発・転移を早期に阻害する新規な治療法の考案につながることを期待される。これら神経系腫瘍(幹)細胞の新規分化調節治療ターゲット候補分子群の腫瘍悪性化のマーカーとしての可能性と、その分子機能やシグナルの上流および下流の分子を標的とした治療戦略が期待される。GICのマーカー分子群や、脳神経系の悪性腫瘍における治療抵抗性に最も有効に関わる分子シグナルカスケードを有効に抽出したこれらの解析システムと、基礎情報は、グリオーマの再発・転移を早期に阻害する新規な薬剤開発や、治療方針や予後予測を正しく診断するための病理診断マーカー等の考案につながることを期待される。

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, 責任著者に*)

〔雑誌論文〕(計 11 件)

- Nambu, NA., Midorikawa U, Mizuguchi S, Hide T, Nagai M, Komohara Y, Nagayama I M, Hirayama M, Kobayashi D, Tsubota N, Takezaki T, Makino K, Nakamura H, Takeya M, Kuratsu J and Araki N*. Glioma initiating cells form a differentiation niche via the induction of extracellular matrices and integrin alpha V. *PLOS ONE*, 2013, 8(5):e59558 (査読有り)
- Hirayama M, Kobayashi D, Mizuguchi S, Morikawa T, Nagayama M, Wilson MM, Nambu NA, Yoshizawa A, Kawano S, and Araki N*. Integrated proteomics identified a novel activation signaling of dynein IC2-GR-COX-1 in NF1 disease model cells. *Mol. Cell. Proteomics*, 2013, 12(5):1377-1394.(査読有り)
- Shimada H, Nambu-Niibori A, Wilson-Morifuji M, Mizuguchi S, Araki N*, Mezaki Y, Senoo H, Ishikawa K, Okamoto O, Fujiwara S. Epiplakin modifies the motility of the HeLa cells and accumulates at the outer surfaces of three-dimensional cell clusters. *J. Dermatol*, 2013, 40(4):249-58. (査読有り)
- Nitta H, Wada Y, Kawano Y, Murakami Y, Irie A, Taniguchi K, Kikuchi K, Yamada G, Suzuki K, Honda J, Wilson MM, Araki N, Eto M, Baba H and Imamura T. Enhancement of human cancer cell motility and invasiveness by anaphylatoxin C5a via aberrantly expressed C5a-receptor (CD88). *Clinical Cancer Research*, 2013, 19(8); 1-10(査読有り)
- Irie A, Harada K, Araki N, Nishimura Y. Phosphorylation by PKD2 at Ser171 of SET reduced its inhibitory effect on PP2A phosphatase in T cells. *PLOS ONE* 2012;7(12):e51242. (査読有り)
- Sawanyawisuth K, Wongkham C, Riggins GJ, Wongkham S, Araki N*. Possible involvement of cyclophilin a processing in fumagillin- induced suppression of cholangiocarcinoma cell proliferation. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13 Suppl:137-41. (査読有り)
- Sawanyawisuth K, Wongkham C, Araki N, Zhao Q, Riggins GJ, Wongkham S*. Serial Analysis of Gene Expression Reveals Promising Therapeutic Targets for Liver Fluke-associated Cholangiocarcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13 Suppl:89-93. (査読有り)
- Khaenam P, Niibori A, Okada S, Jearanaikoon P, Araki N*, Limpai boon T*. Contribution of RIZ1 to regulation of proliferation and migration of a liver fluke-related cholangiocarcinoma cell. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13(8):4007-11. (査読有り)
- Yamamoto T, Nakayama K, Hirano H, Tomonaga T, Ishihama Y, Yamada T, Kondo T, Kodera Y, Sato Y, Araki N, Mamitsuka H, Goshima N. Integrated View of the Human Chromosome X-centric Proteome Project. *J Proteome Res*. 2012;12:58-61. doi: 10.1021/pr300844p (査読有り)
- Silsirivanit A, Araki N*, Pairoj kul C, Wongkham C, Narimatsu H, Kuwahara K, Wongkham S, Sakaguchi N. A novel serum carbohydrate marker on MUC5AC: values for diagnostic and prognostic indicators for cholangiocarcinoma. *Cancer*, 2011;117(15):3393-403. (査読有り)
- Esaki K, Terashima Y, Toda E, Yoshinaga S, Araki N, Matsushima K, Terasawa H. Expression and purification of human FROUNT, a common cytosolic regulator of CCR2 and CCR5. *Protein Expression and Purification*, 2011;77(1):86-91(査読有り)

〔学会発表〕(計 32 件)

- 融合プロテオミクスによる癌特異的分子の統合的解析

- 荒木令江 産業総合技術研究所セミナー(茨城県つくば市/産総研中央第2OSL) 2013年3月28日
2. 融合プロテオミクスによるグリオーマ幹細胞の分化誘導ニッチの解析
荒木令江、南部(新堀)晶子、緑川宇一、永井美奈子、小林大樹、水口惣平、秀拓一郎、中村英夫、菰原義弘、竹屋元裕、倉津純一. 第84回日本生化学会大会(福岡/福岡国際会議場・マリンメッセ福岡) 2012年12月14日~16日
 3. 腫瘍細胞内ピメンチンの翻訳後就職およびフラグメント化とその機能解析
山口浩、小林大樹、荒木令江.
第84回日本生化学会大会(福岡/福岡国際会議場・マリンメッセ福岡) 2012年12月14日~16日
 4. 翻訳後の分子間相互作用をとらえる新しいタンパク質解析技術~融合プロテオミクスによる病態シグナルの検出と創薬への挑戦
荒木令江 シンポジウム招待講演 新薬理セミナー2012(熊本/熊本大学薬学部宮本記念館) 2012年11月24日
 5. 薬学における融合オミクス解析 融合プロテオミクスによる癌の病態システムズバイオロジー
荒木令江、招待講演 生命医薬情報学連合大会 2012(2012年日本バイオインフォマティクス学会年会 情報計算化学生物学会(CBI学会)年次大会オミクス医療研究会年会)(東京/タワーホール船堀) 平成2012年10月16日
 6. 融合プロテオミクスによるグリオーマの化学治療予後予測分子ネットワークの解析
荒木令江、水口惣平、森川崇、坪田誠之、小林大樹、平山未央、緑川宇一、中村英夫、倉津純一.
第70回日本癌学会学術総会(札幌/ホテルロイトン札幌) 2012年9月19日~21日
 7. An integrated proteomics by iPEACH, a new application, identified novel activated signal cascades in chemotherapy resistant malignant gliomas
Araki N. Mizuguchi S, Morikawa T, kawano S, Yamaguchi A, Kobayashi D, Hirayama M, Midorikawa U, Nakamura H, Kuratsu J. HUPO 11th Annual World Congress(Hynes Convention Center, Boston, US), 9-13, Sep. 2012
 8. Integrated Proteomics Identified Translationally Controlled Tumor Protein as a Biological Target for Neurofibroma and Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors
Kobayashi D, Hirayama M, Komohara Y, Mizuguchi S, Wilson-morifuji M, Ihn h, Takeya M, Kuramochi A, **Araki N.** HUPO 11th Annual World Congress (Hynes Convention Center, Boston,US) ,9-13 Sep. 2012
 9. Analysis of abnormal cellular signals via silencing of NF1 tumor suppressor protein in neuronal cells by integrated proteomics
Hirayama M, Kobayashi D, Morikawa T, Nagayama M, Mizuguchi S, **Araki N.** HUPO 11th Annual World Congress (Hynes Convention Center, Boston,US) , 9-13 Sep. 2012
 10. 融合プロテオミクスによるがん幹細胞の分化誘導メカニズムの解析
荒木令江、南部(新堀)晶子、緑川宇一、水口惣平、小林大樹、平山未央、菰原義弘、秀拓一郎、竹屋元裕、倉津純一
日本プロテーム学会 2012年大会日本プロテオーム機構(東京/日本科学未来館) 2012年7月26日~27日
 11. 融合プロテオミクスによる新規神経線維腫瘍症I型(NF1)関連因子TCTPの同定と、治療標的としての機能解析
小林大樹、平山未央、菰原義弘、水口惣平、ウィルソン-森藤政代、尹浩信、竹屋元裕、倉持朗、荒木令江
日本プロテーム学会 2012年大会日本プロテオーム機構(東京/日本科学未来館) 2012年7月26日~27日
 12. 融合プロテオミクスによるグリオーマの化学治療予後予測分子ネットワークの解析
荒木令江、水口惣平、森川崇、坪田誠之、小林大樹、平山未央、緑川宇一、中村英夫、倉津純一
第70回日本癌学会学術総会(名古屋/名古屋国際会議場) 2011年10月3日~5日
 13. Significance of fucosyltransferase III in cholangiocarcinoma progression
Silsirivanit A, Araki N, Wongkham C, Kuwahara N, Sakaguchi N, Narimatsu Y, Narimatsu H, Wongkham S. 第70回日本癌学会学術総会(名古屋/名古屋国際会議場) 2011年10月3日~5日
 14. Glycans on MUC5AC mucin as diagnostic/prognostic and early markers for cholangiocarcinoma
Wongkham S, Silsirivanit A, Wongkham C, Pairojkul C, Narimatsu Y, Narimatsu H, kuwahara K, **Araki N.** Sakaguchi N. 第70回日本癌学会学術総会(名古屋/名古屋国際会議場) 2011年10月3日~5日
 15. 融合プロテオミクスによる悪性脳腫瘍化学治療耐性に関わる分子ネットワーク

- クの解析
荒木令江、水口惣平、森川崇、坪田誠之、
 小林大樹、平山未央、緑川宇一、南部晶子、中村英夫、倉津純一
 第84回日本生化学会大会（京都/京都国際会館）2011年9月21日～24日
16. 融合プロテオミクスによるNF1腫瘍抑制遺伝子Neurofibrominの機能欠損による神経系細胞内異常シグナルの解析
 平山未央、小林大樹、森川崇、長山慈、緑川宇一、水口惣平、荒木令江
 第84回日本生化学会大会（京都/京都国際会館）2011年9月21日～24日
17. 融合プロテオミクスによる幹細胞様グリオーマの分化制御機構の解析
 南部晶子、緑川宇一、水口惣平、長山慈、永井美奈子、平野久、荒木令江
 第84回日本生化学会大会（京都/京都国際会館）2011年9月21日～24日
18. 融合プロテオミクスによる腫瘍特異的分子ネットワークの解析と病態マーカー/治療ターゲット開発への応用
荒木令江
 ライフサイエンス統合データベースセンターセミナー（東京・ライフサイエンス統合データベースセンター）
 2011年9月7日
19. iPEACH を用いた統合プロテオミクスデータファイルの作成と応用
 水口惣平、荒木令江 ライフサイエンス統合データベースセンターセミナー（東京ライフサイエンス統合データベースセンター）2011年9月7日
20. 病態マーカーと治療ターゲット開発のための融合プロテオミクス
荒木令江、水口惣平、森川崇、緑川宇一、ウイルソン森藤政代、南部-新堀晶子、小林大樹、坪田誠之、中村英夫、倉津純一
 日本プロテオーム学会2011年大会日本ヒトプロテオーム機構第9回大会（新潟/朱鷺メッセ）2011年7月28日～29日
21. 2D-PAGE/2D-DIGE の基本・新技術と応用
荒木令江
 日本プロテオーム学会2011年大会日本ヒトプロテオーム機構第9回大会（新潟/朱鷺メッセ）2011年7月28日～29日
22. 融合プロテオミクスによるNF1腫瘍抑制タンパク質の神経系細胞内発現抑制を介した異常シグナル分子群の解析
 平山未央、小林大樹、森川崇、長山慈、緑川宇一、水口惣平、荒木令江
 日本プロテオーム学会2011年大会日本ヒトプロテオーム機構第9回大会（新潟/朱鷺メッセ）2011年7月28日～29日
23. 融合プロテオミクスによる神経系腫瘍の発症メカニズムの解析
荒木令江

第43回日本結合組織学会学術大会第58回マトリックス研究会大会合同学術集会教育講演（大分・別府ビーコンプラザ）
 2011年6月10日～11日

24. 融合プロテオミクスによる病態関連分子群の統合解析と検証法
荒木令江
 第61回日本電気泳動学会シンポジウム第7回日本臨床ヒトプロテオーム研究会（山口・山口大学小串キャンパス）
 2011年5月9日～10日

【図書】（計1件）

1. 荒木令江、神経線維腫症2型、皮膚科臨床アセット15、金田眞理編集、中山書店、印刷中2013年

【産業財産権】

○出願状況（計2件）

①名称：統合プロテオーム解析用データ群の生成方法ならびに同生成方法にて生成した統合プロテオーム解析用データ群を用いる統合プロテオーム解析方法、およびそれを用いた原因物質同定方法

発明者：荒木令江、水口惣平、森川崇、坪田誠之、倉津純一、小林大樹、ウイルソン政代

権利者：国立大学法人熊本大学

種類：特許

番号：国際特許 PCT/JP2011/58366

公開 US-2013-0023574-A1

出願年月日：2013年1月24日出願

国内外の別：国外

②名称：融合プロテオミクスによるNF1特異的タンパク質の同定方法、NF1特異的タンパク質発現抑制方法、NF1特異的タンパク質の腫瘍マーカー及び治療ターゲットとしての使用方法

発明者：荒木令江、小林大樹、水口惣平、平山未央

権利者：国立大学法人熊本大学

種類：特許

番号：特願 2012-075242

出願年月日：2011年3月28日出願

国内外の別：国内

【その他】

ホームページ等

熊本大学大学院生命科学研究部腫瘍医学

<http://arv02.medic.kumamoto-u.ac.jp/dep>

[t/tumor/index.html](http://tumor/index.html)

6. 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