

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25293173

研究課題名(和文) 微小環境がもたらす肝癌の治療抵抗性の獲得機構-融合プロテオミクスを用いた解析-

研究課題名(英文) Analysis of microenvironment-mediated treatment resistance of hepatocellular carcinoma in terms of integrated proteomics

研究代表者

佐々木 裕 (Sasaki, Yutaka)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号：70235282

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：癌を取り巻く微小環境は、肝癌細胞の治療抵抗性獲得や生物学的特性の維持のために、時空間的に関与することが予想される。遺伝子・タンパク質発現の網羅的解析、翻訳後修飾や相互作用から見たタンパク質機能解析を融合した病態システム解析を用いた検討より、細胞骨格や分子シャペロンに分類される蛋白質群が、微小環境によりその機能が変化し治療抵抗性を担う可能性が示された。また栄養環境はエピゲノム制御因子であるLSD2(Lysine-specific demethylase2)を介して代謝リプログラミングを誘導し、生物学的特性の維持に関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Microenvironment surrounding cancer tissues might contribute much spatiotemporally so that cancer cells could obtain treatment resistance and exhibit biological characteristics. Comprehensive analysis of gene and protein expression in hepatoma cells, associated with analysis of post-translational modification, have described that phosphorylation status of thirty proteins has significantly changed under apoptotic stimulation. These proteins are including chaperon proteins, cytoskeleton-related molecules. In addition, nutritional environment would induce metabolic re-programming in terms of mediating the cross talk between the epigenome and lipid metabolism.

研究分野：医歯薬学

キーワード：肝癌 微小環境 治療抵抗性 エピジェネティクス プロテオミクス 翻訳後修飾 代謝リプログラミング

1. 研究開始当初の背景

1) 癌細胞の有する「治療抵抗性」を担う分子基盤として、細胞死抵抗性、無制限な細胞増殖能、転移浸潤能、血管新生能等があげられる。我々はこれまでに、このような「治療抵抗性」に關与する責任分子の多くは、タンパク質の発現量の多寡のみならず、燐酸化や糖鎖付加などの翻訳後修飾を介した機能制御により、「治療抵抗性」の分子基盤をさまざまな比重で担っていることを見出してきた。例えば、酸化ストレス刺激による肝細胞障害の分子基盤をプロテオミクスにて解析する中で、複数のタンパク質が、質量分析では同一のアミノ酸配列を持つタンパク質と同定された分子でありながら、二次元電気泳動上では近接する複数の変動スポットとして観察されることを見出した。このような多様な移動度と分子量のシフトは、細胞外刺激によりタンパク質が、燐酸化や分解などの複雑な翻訳後修飾を受けていることを表している。これらの責任酵素や構造変化のメカニズムを解明することで、治療ターゲットや創薬への基本情報が得られる可能性を示唆した(Biochem. Biophys. Res. Commun. 2007, J. Biol. Chem. 2008)

(研究代表者 佐々木裕、分担研究者 荒木令江 ほか: 基盤研究B 課題番号 18390219 平成18年度~20年度、基盤研究B 課題番号 21390230 平成21年度~24年度)。

2) 環境・栄養因子などの微小環境は、エピゲノム制御を介して細胞内代謝を修飾する。エピゲノム制御とはDNAの塩基配列の変化を伴わずに遺伝子の発現を調節する仕組みであり、DNAメチル化やヒストン修飾を介したゲノムの印付けにより遺伝子発現が制御されている。エピゲノム制御因子の1つであるLSD1 (Lysine-specific demethylase1) は最近同定されたフラビン依存性ヒストン脱メチル化酵素であり、遺伝子の転写活性化/不活性化の指標となる特定リジン残基の脱メチル化を担うことで、標的遺伝子の遺伝子発現制御に関わっている。このようなメチル化を修飾する酵素は栄養由来の代謝物を基質と補酵素として利用するため、エピゲノム制御は栄養状態と代謝状態に大きく影響を受けることが予想される。

実際に肝細胞癌株を用いた我々の先行研究(Nat. Commun. 3: 758, 2012)では、LSD1のノックアウト(以下KD)で解糖系遺伝子の発現が有意に低下し、糖新生関連の遺伝子とミトコンドリア機能のマスターレギュレーターであるPGC-1

の発現が有意に増強することを明らかにした。さらにLSD1-KDにより有意に変動する代謝物を同定し、LSD1-KDによりミトコンドリア呼吸機能が増強すること、あるいは定量的リアルタイムPCR解析やグルコース取り込みの検討から、LSD1は糖の取り込みを増強することを示した。癌細胞では酸素条件によらず解糖系によるATP産生と乳酸産生が亢進しており(好氣的解糖、ワールブルグ効果)、LSD1は肝癌細胞において糖の取り込みを活性化しミトコンドリア呼吸に關連する遺伝子の発現を抑制することで、細胞内代謝をミトコンドリア呼吸から好氣的解糖系へのシフトさせること、即ちワールブルグ効果に關連していることを見出した。

2. 研究の目的

肝癌細胞が治療抵抗性を獲得し維持していくためには、癌を取り巻く微小環境が時空間的に關与することが予想される。そこで、微小環境が肝癌細胞のいかなる標的分子に影響し治療抵抗性を獲得・維持させるかを、遺伝子・タンパク質発現の網羅的解析、翻訳後修飾や相互作用から見たタンパク質機能解析を融合した病態システムハイオリシ-を用いて明らかにする。最終的には肝癌

の治療抵抗性を抑制するため、癌の微小環境をも包括した治療戦略を構築する。

一方、癌細胞が生物学的特性を発揮するためには、十分なエネルギーと蛋白質など高分子化合物の確保が必須である。そのために癌細胞では栄養環境を含めた微小環境に適応しつつ代謝リプログラミングが行われており、それを制御するものとしてepigeneticsが考えられる。そこでエピゲノム制御因子LSDのファミリーの1つであるLSD2 (Lysine-specific demethylase2) に焦点を当て、肝癌細胞におけるLSD2を介した代謝リプログラミングを解析する。

3. 研究の方法

1) in vitro, in vivo での検討

複数の肝細胞癌株を対象に、微小環境としての慢性炎症に伴う酸化ストレス(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)刺激下に、FACSを用いて細胞死を評価した。コントロールとしてヒト肝細胞株を用いた。プロテオーム解析のために刺激前後でcell lysateを調整し、多重蛍光色素標識法(Cy3/5)を用いた2次元ディアルシナル電気泳動を行った。さらに蛋白質検出を高感度に行うためにSYPRO Rubyを、燐酸化を検討するためにProQ Diamondを使用した特殊染色を施行し、刺激前後での蛋白質発現、あるいは燐酸化の変化を評価した。引き続き蛋白質スポットを切り出し質量分析器(MS/MS)にて燐酸化蛋白質を同定した。一方、遺伝子発現解析として刺激前後でRNAを抽出した上でcDNAを作製し、Gene Chip (Human genome U133 Plus 2.0 Array)を用いて遺伝子発現の網羅的解析を行った。最終的には情報統合プラットフォームを用いて、蛋白質発現・燐酸化解析と遺伝子発現解析との結果を統合するネットワーク解析を行い、慢性炎症により修飾される細胞死抵抗性分子群を絞り込んだ。

一方、肝臓におけるLSD2機能の役割を知るために、肝癌細胞株HepG2細胞において特異的なsiRNA (small interfering RNA)を用いることでヒトLSD2の発現をノックダウン(KD)し、DNAマイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析を行った。さらにLSD2-KDによる代謝特性の変化の特徴をとらえるために、HepG2細胞を用いたメタボローム解析を行った。メタボローム解析ではキャピラリー電気泳動飛行時間質量分析(CE-TOFMS)と液体クロマトグラフィー-飛行時間質量分析(LC-TOF-MS)の2種類の移動相と質量分析法を組み合わせ、細胞内の多種類の代謝物を網羅的に定量することで、ハイアスを軽減した代謝物プロファイリングを実施した。

2) ヒト肝癌組織を用いた解析

兵庫医科大学第一外科にて肝切除術を施行された原発性肝癌組織とその非癌部組織を対象に、in vitro, in vivoの解析で抽出された候補分子の発現を確認すると共に、腫瘍径、病期、予後との関連を検討した。また患者血清を用いて候補責任分子がバイオマーカーとしての可能性があるかを解析した。

なお、ヒト肝癌組織・血清を用いた解析に関しては、患者様に十分な説明を行い、インフォームドコンセントを得た。またすべての症例は匿名化し、患者情報とプライバシーの管理を厳重に行った。本研究内容については、熊本大学大学院生命科学研究部ならびに兵庫医科大学のそれぞれの倫理委員会より承認を受けている。

4. 研究成果

1) 微小環境である慢性炎症が肝癌細胞の治療抵抗性に及ぼす影響

肝癌細胞株であるHepG2細胞、Huh7細胞、ならびに肝細胞株Hc細胞では、細胞死を誘導する慢性炎症刺激に対する感受性が異なっており、HepG2が最も細胞死抵抗性を示した。

そこで微小環境である慢性炎症刺激下の HepG2 を用いた網羅的翻訳後修飾解析から、リン酸化が有意に変化する約 30 個の蛋白質を同定した。その 1 つである Nucleophosmin (NPM) は、ハイオインフォマテクスより細胞死誘導を抑制する可能性が示された。これまで NPM は核小体に豊富に存在する 37kDa の磷酸化蛋白質で、細胞周期関連分子(p21, p53)の抑制を介する細胞増殖の亢進する、p53 の活性化を抑えアポトーシスを抑制する、癌細胞には高発現で癌遺伝子としての働きが示唆されている。次に siRNA により NPM の発現を低下させると、活性酸素、分子標的治療薬などに対する肝癌細胞の細胞死抵抗性が減弱した。逆に、NPM 強制発現細胞では細胞死抵抗性が増強すると共に、細胞増殖能も亢進した。そこで NPM 強制発現細胞を NOD/SKID マウスの皮下に注射すると、親株に比べて有意に大きな腫瘍塊を形成した。次に磷酸化が蛋白質機能を担うことが予想されるため、磷酸化部位のアミノ酸を置換した非磷酸化 NPM を発現する Stable transfectant を作製した。さらに CREISPR/Cas9 で内因性 NPM を抑制し非磷酸化型 mutant を作製した。野生型に比して mutant では細胞死感受性が増強した。また、分子標的治療薬を添加すると、野生型の増殖は抑制され内因性 NPM の磷酸化は減弱するが、mutant では増殖は抑制されなかった。以上から、NPM の蛋白質発現量は癌細胞の細胞増殖能に、磷酸化は細胞死抵抗性に関連することが示された。

一方、ヒト肝癌組織 23 症例 (B 型肝炎ウイルス陽性 5 例、C 型肝炎ウイルス陽性 13 例、非 B 非 C 5 例) について NPM の発現を検討した。NPM ならびに p-NPM (磷酸化 NPM) は、癌部において非癌部より発現が有意に増強しており、なかでも p-NPM は、腫瘍径の大きい例、多結節例、単結節周囲増殖型/多結節癒合型で癌部での発現が高い傾向にあった。加えて NPM は、非癌部肝組織の活動性の高い例において有意に高値であり、さらに p-NPM 高値例は、再発までの期間が有意に短縮されていた。このように NPM、とりわけ p-NPM はヒト肝癌組織の形質と密接な関連があることが示唆された。今後 Laser Capture Micro-dissection を用いて、NPM が肝癌細胞そのものに特異的に発現しているか、それとも間葉系細胞が担うかを解析していく計画である。

一方、患者血清を用いた ELISA では、NPM 濃度は肝癌において慢性肝炎よりも高く、肝癌切除後に前値に比べ血清 NPM 値は低下していることから、新たなバイオマーカーとしての可能性も示された。

このように NPM が細胞死抵抗性のみならず、細胞増殖にも関連している可能性が示されたが、どのような条件下でそれぞれの特性を担うかは不明である。今後、NPM の発現、磷酸化の制御機構を解析し、癌細胞の生物学的特性における重要性を明らかにし、治療標的になりうるか否かを検討する予定である。

### 3) 微小環境としての栄養環境がもたらす肝癌細胞の代謝リプログラミング

高脂肪食投与マウスではヒストン脱メチル化酵素 LSD2 の発現が亢進していることを見出した。次に HepG2 細胞にて LSD2 をノックアウト(KD)させてハイオインフォマテクスな解析を行い、コントロールに比し LSD2-KD で 1.5 倍以上変化した 1,362 プローブを見出した。その結果、KD により有意差をもって発現が上昇した遺伝子の多くは、“脂質およびリポタンパク質の代謝”に関連する遺伝子群に属することが示された。実際に定量的リアルタイム PCR では、脂肪酸輸送体 CD36 をはじめとした脂質代謝に関連する重

要な調節因子は LSD2-KD にて有意に転写が上昇することが確認された。

さらに、LSD2 を KD した HepG2 細胞を対象に、メタボーム解析を行い脂質やリポタンパク質を含めた代謝物 (275 種類) を同定したところ、LSD2-KD にて脂肪酸をはじめとした、多くの脂質代謝に関わる代謝物の量が増加していた。この中には、リン脂質、セラミド類、そしてコレステロールといったいくつかの生物学的活性をもった中間代謝物、あるいは細胞毒性をもった中間代謝物の増加も認められた。

加えて脂肪酸に蛍光色素を結合させた試薬を用いて、脂肪酸の取り込み量を調べると、LSD2-KD により細胞内の脂肪酸の取り込みが有意に増加していたことより、LSD2 は脂肪酸の取り込みを抑制していることが示唆された。これらの結果を合わせると、LSD2 は脂肪酸の細胞内への流入を抑え、脂質代謝を抑制していることが示された。

さらに臨床検体を用いた免疫組織化学染色による解析により、肝癌組織 (n=31) における LSD2 の発現を検討すると、発現が癌部で高い検体が 68% と、背景肝組織と比べ肝癌組織では LSD2 は高発現である傾向を確認した。

このように微小環境としての栄養環境は代謝リプログラミングを介して、肝癌組織の増殖進展に関与することが示され、エピゲノム制御機構を介した新しい肝癌の治療法の開発につながる可能性が示された。

## 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 49 件)

1. Oral branched-chain amino acid granules improve structure and function of human serum albumin in liver cirrhotic patients. Setoyama H, Naoe H, Watanabe T, Sasaki Y, et al. J Gastroenterol in press 査読有
2. Expression of adipophilin in gastric epithelial neoplasia is associated with intestinal differentiation and discriminates between adenoma and adenocarcinoma. Gushima R, Sasaki Y, et al. Virchows Arch. 468:169-177, 2016 DOI: 10.1007/s00428-015-1870-0 査読有
3. The longitudinal effect of the aldehyde dehydrogenase 2 \*2 allele on the risk for non-alcoholic fatty liver disease. Oniki K, Watanabe T, Sasaki Y, et al. Nutr Diabetes 6, e210, 2016. 査読有
4. The retrovirus HTLV-1 inserts an ectopic CTCF-binding site into the human genome. Satou Y, Watanabe T, et al. Proc Natl Acad Sci USA 11, 3054-3059, 2016. 査読有
5. jPOSTrepo: an international standard data repository for proteomes. Okuda S, Araki N, et al. Nucl Acids Res. doi: 10.1093/nar/gkw1080, Epub 2016 査読有
6. Cellular biological validations of proteomics data. Kobayashi D, Araki N. Proteome Letters 2016;1(1):38-56 査読有
7. Polythiol-containing, recombinant mannosylated-albumin is a superior CD68+/CD206+ Kupffer cell-targeted nanoantioxidant for treatment of two acute hepatitis models. Maeda H, Sasaki Y, et al. J Pharmacol Exp Ther 352:244-57, 2015 doi: 10.1124/jpet.114.219493. Epub 2014 Nov 14. 査読有
8. Clinicopathological differences of

- laterally spreading tumors arising in the colon and rectum. Miyamoto H, Sasaki Y, et al. *Int J Colorectal Dis* DOI 10.1007/s00384-014-1931-x, 2015 査読有
9. Lysine-specific demethylase 2 suppresses lipid influx and metabolism in hepatic cells. Nagaoka K, Sasaki Y, et al. *Molecular cellular Biology* 35(7):1068-1080, 2015 査読有
  10. Carbohydrate antigen 19-9 is a useful prognostic marker in esophagogastric junction adenocarcinoma. Tokunaga R, Naoe H, Sasaki Y, et al. *Cancer Med* 11:1659-66, 2015 doi: 10.1002/cam4.514. Epub 2015 Aug 26 査読有
  11. Evaluation of sorafenib treatment and hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma: a comparative study using the propensity score matching method. Fukubayashi K, Watanabe T, Naoe H, Sasaki Y, et al. *Cancer Med* 4: 1214-1223, 2015. 査読有
  12. Carbohydrate antigen 19-9 is a useful prognosis marker in esophagogastric junction adenocarcinoma. Tokunaga R, Naoe H, Sasaki Y, et al. *Cancer Medicine*. Nov4 (11):1659-66. 2015 査読有
  13. Up-regulation of DRP-3 long isoform during the induction of neural progenitor cells by glutamate treatment in the ex vivo rat retina. Tokuda K, Araki N, et al. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015 463(4):593-9. 査読有
  14. The frontier of proteomics-based life science and its clinical application. edited by Araki N. Araki N. *JPrOS*, 13:1-260, 2015 査読無
  15. Togo Table: cross-database annotation system using the Resource Description Framework (RDF) data model. Kawano S, Araki N, et al. *Nucl Aci Res* 2014 42: 442-8 査読有
  16. Anatomic liver resection of right paramedian sector: ventral and dorsal resection. Fujimoto J, et al. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2015;22:538-45 査読有
  17. Outcomes of hepatic resection for large hepatocellular carcinoma: special reference to postoperative recurrence. Tanaka S, Fujimoto J, et al. *Am Surg* 2015;81:64-73 査読有
  18. Splenectomy attenuates murine liver fibrosis with hypersplenism stimulating hepatic accumulation of Ly-6C<sup>lo</sup> macrophages. Yada A, Fujimoto J, et al. *J Hepatol* 2015;63:905-16 査読有
  19. Recent advances in hepato-biliary-pancreatic science". Fujimoto J. Highlights of topic " *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2015;22:511 査読有
  20. Granulocyte colony-stimulating factor-producing cholangiocellular carcinoma Suzumura K, Fujimoto J, et al. *Int Surg* 2015;100:123-7 査読有
  21. Cys34-cysteinylated human serum albumin is a sensitive plasma marker in oxidative stress-related chronic diseases" Nagumo K, Sasaki Y, et al. *PLoSOne* 9(1) e85216, 2014
  22. Translationally Controlled Tumor Protein is a Novel Biological Target for Neurofibromatosis Type 1 (NF1)-associated Tumors. Kobayashi D, Araki N, et al. *J. Biol. Chem.* 2014 289(38):26314-26. 査読有
  23. Development of a fully automated 2-dimensional electrophoresis device, Auto-2D, and its application for the integrated proteomics. Araki N, et al. *J Electrophoresis*, 58, 39-42. 2014 査読有
  24. Multivariate logistic regression analysis for prediction of clinically relevant pancreatic fistula in the early phase after pancreaticoduodenectomy. Kosaka H, Fujimoto J, et al. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2014;21:128-33 査読有
  25. Interferon  $\gamma$  and plasminogen activator inhibitor 1 regulate adhesion formation after partial hepatectomy. Ohashi K, Fujimoto J, et al. *Brit J Surg* 2014;101:398-407 査読有
  26. Blockage of CXCR2 suppresses tumor growth of intrahepatic cholangiocellular carcinoma. Sueoka H, Fujimoto J, et al. *Surgery* 2014;155:640-9 査読有
  27. New malignant grading system for hepatocellular carcinoma using the Sonazoid contrast agent for ultrasonography. Tanaka H, Fujimoto J, et al. *J Gastroenterol* 2014;49:755-63 査読有
  28. Nationwide survey in Japan regarding splenectomy/partial splenic embolization for interferon treatment targeting hepatitis C virus-related chronic liver disease in patients with low platelet count. Ikeda N, Fujimoto J, et al. *Hepatol Res* 2014;44:829-36 査読有
  29. Value of pre-and postoperative meticillin-resistant staphylococcus aureus screening in patients undergoing gastroenterological surgery. Takahashi Y, Fujimoto J, et al. *J Hosp Infect* 2014;87:92-7 査読有
  30. Prediction of postoperative hepatic failure after liver resection for hepatocellular carcinoma: significance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index. Tanaka S, Fujimoto J, et al. *Hepato-Gastroenterology* 2014;61:755-61 査読有
  31. Non-B non-C hepatocellular carcinoma: the risk factors for recurrence and the types of recurrence following hepatic resection. Tanaka S, Fujimoto J, et al. *Hepato-Gastroenterology* 2014;61:762-70 査読有
  32. Analysis of unique liver volume restoration after laparoscopic fenestration of liver cysts. Imuro Y, Fujimoto J, et al. (他 6 名, 8 番目) *Asian J Endosc Surg* 2014;7:124-32 査読有
  33. Delayed arterial hemorrhage after pancreaticoduodenectomy. Suzumura K, Fujimoto J, et al. *Int Surg* 2014;99:432-7 査読有
  34. Granulocyte-colony stimulating factor-producing gallbladder carcinoma. Suzumura K, Fujimoto J, et al. *Int Surg* 2014;99:577-83 査読有
  35. A synthetic nano-fibrillar matrix promotes in vitro hepatic differentiation of embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. Yamazoe T, Sasaki Y, et al. *J Cell Science* 126:5391-5399, 2013 査読有
  36. Development and validation of a symptom scale specific for ascites

- accompanied with cirrhosis: the ASI-7. Onishi Y, Sasaki Y, et al. Clinical and Translational Gastroenterology (2014)5, e48 doi:10.1038/ctg.2013.20 査読有
37. Electrocautery therapy combined with oral steroid administration for refractory corrosive esophageal stenosis prevents restenosis. Nonaka K, Naoe H, Sasaki Y, et al. Esophagus. 10:230-234, 2013 Epub 2013 Apr 20. 査読有
  38. The APC/C activator Cdh1 regulates the G2/M transition during differentiation of placental trophoblast stem cells Naoe H, et al. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2013, 11;430(2):757-62 査読有
  39. Electrocautery therapy for refractory corrosive esophageal stenosis combined with oral steroid administration prevents stenosis. Nonaka K, Naoe H, Sasaki Y, et al. Esophagus. 2013;10:230-234. Epub 2013 Apr 20. 査読有
  40. Pancreatic metastasis from mixed adenoneuroendocrine carcinoma of the uterine cervix: a case report. Nishimura C, Naoe H, Watanabe T, Sasaki Y, et al. Case Rep Oncol 6: 256-262, 2013 査読有
  41. Integrated proteomics identified a novel activation signaling of dynein IC2-GR-COX-1 in NF1 disease model cells. Hirayama M, Araki N, et al. Molecular & Cellular Proteomics, 2013 12(5):1377-1394 査読有
  42. Integrated View of the Human Chromosome X-centric Proteome Project. Yamamoto T, Araki N, et al. J Proteome Res. 2013;12:58-61. 査読有
  43. Enhancement of human cancer cell motility and invasiveness by anaphylatoxin C5a via aberrantly expressed C5a-receptor (CD88). Nitta H, Araki N, et al. Clinical Cancer Research, 2013, 19(8); 1-10 査読有
  44. The complete amino acid sequence, and enzymatic properties of an i-type lysozyme isolated from the common orient clam (*Meretrix lusoria*) Kuwano Y, Araki N, et al. Bioscience Biotechnology, and Biochemistry, 2013 77:2269-77. 査読有
  45. Angiogenesis is crucial for liver regeneration after partial hepatectomy. Uda Y, Fujimoto J, et al. Surgery 2013;153:70-7 査読有
  46. Interferon-gamma-mediated tissue factor expression contributes to T-cell-mediated hepatitis through induction of hypercoagulation in mice. Kato J, Fujimoto J, et al. Hepatology 2013;57:362-72 査読有
  47. Regional hepatic regeneration after liver resection correlates well with preceding changes in the regional portal circulation in humans. Iimuro Y, Fujimoto J, et al. Dig Dis Sci 2013;58:3001-9 査読有
  48. Safety of hepatic resection for hepatocellular carcinoma in obese patients with cirrhosis. Tanaka S, Fujimoto J, et al. Surg Today 2013;43:1290-7 査読有
  49. Primary adenocarcinoma arising in an interposed colon. Suzumura K, Fujimoto J, et al. Esophagus 2013;10:99-102 査読有
- 〔学会発表〕(計 10 件)
- 1) Tanaka M, Sasaki Y, et al. Clinical outcomes of hepatocellular carcinoma patients who obtained HCV eradication after interferon therapy. HCV2016, October 11-15, Kyoto
  - 2) Tateyama T, Sasaki Y, et al. Combination therapy with Daclatasvir and Asunaprevir for the patients infected with HCV genotype 1. HCV2016, October 11-15, Kyoto
  - 3) Nagaoka K, Sasaki Y, et al. Integrative role of histone lysine demethylase LSD 1/2 in liver cancer metabolism AASLD annual meeting 2016, 2016.11.13, Boston
  - 4) Watanabe T, Narahara S, Sasaki Y, et al. A novel serum biomarker, clusterin, could be an early predictor of response to sorafenib. AASLD annual meeting 2016, 2016.11.12, Boston
  - 5) Naoe H, Watanabe T, Fujimoto J, Araki N, Sasaki Y, et al. Integrated proteomics analyses identified a phosphoprotein relevant to apoptosis resistance in human hepatocellular carcinoma. AASLD annual meeting 2015, Nov 13-17, 2015, San Francisco, USA
  - 6) Setoyama H, Naoe H, Watanabe T, Sasaki Y, et al. Human mercapto-albumin level is a useful biomarker of progression and functional property of human serum albumin in chronic liver disease. AASLD annual meeting 2015, Nov 13-17, 2015, San Francisco, USA
  - 7) Watanabe T, Sasaki Y, et al. Lymphotoxin- $\beta$  regulated by NF- $\kappa$ B is a useful biomarker related to poor prognosis in hepatocellular carcinoma. AASLD annual meeting 2015, Nov 13-17, 2015, San Francisco, USA
  - 8) Setoyama H, Sasaki Y, et al. Oral branched-chain amino acid administration improves the structure and function of human serum albumin in patients with chronic liver diseases. AASLD annual meeting 2014, 2014.Nov.9-11, Boston
  - 9) Nagaoka K, Hino S, Sasaki Y & Nakao M. Integrative role of histone lysine demethylase LSD2 in hepatic energy metabolism. AASLD annual meeting 2014, 2014.Nov.9-11, Boston
  - 10) Watanabe T, Nakao M and Sasaki Y, et al. The regulation of Lymphotoxin $\beta$  is involved in the higher-order chromatin conformation of the *TNF/LT* locus in Hepatocellular carcinoma cells. The 2<sup>nd</sup> JSGE International Topic Conference, Mar 23, 2013, Kagoshima, Japan
- 〔図書〕(計 2 件)
1. 吉丸洋子, 田中基彦, 佐々木裕. 当科における肝硬変の成因別実態. 肝硬変の成因別実態 2014 泉並木監修 pp.52-57, 医学図書出版株式会社, 東京, 2015 査読なし
  2. 荒木令江. プロテオミクス辞典 日本プロテオーム学会編 講談社 全 127 頁 2013 年 査読有
- 〔産業財産権〕  
出願状況 (計 1 件)
1. 名称:皮膚状態の評価方法  
発明者:荒木令江, 他 3 名  
権利者:国立大学法人熊本大学 / 花王株式会社  
種類:特許  
番号:特願 2015-136897  
出願年月日:平成 26 年 7 月 8 日

国内外の別: 国内

取得状況(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  
発明者: 荒木令江、他2名  
権利者: 国立大学法人熊本大学  
種類: 特許  
番号: 特許第 5822309 号  
出願年月日:  
取得年月日: 平成 27 年 9 月 15 日  
国内外の別: 国際
2. 名称: 癌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: 阪口薫雄、荒木令江、他  
権利者: 国立大学法人熊本大学  
種類: 特許  
番号: 特許第 5716257 号  
出願年月日:  
取得年月日: 平成 27 年 3 月 17 日  
国内外の別: 国際

[その他]

ホームページ等

<http://www2.kumamoto-u.ac.jp/gastro>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 裕(SASAKI YUTAKA)  
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授  
研究者番号: 70235283

(2) 研究分担者

● 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

● 藤元 治朗(FUJIMOTO JIRO)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 90199373

● 直江 秀昭(NAOE HIDEAKI)  
熊本大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号: 30599246

● 渡邊 丈久(WATANABE TAKEHISA)  
熊本大学・大学院生命科学研究部・助教  
研究者番号: 20634843

(3) 連携研究者

中尾光善(NAKAO MITSUYOSHI)  
熊本大学・発生理学研究所・教授  
研究者番号: 00217663

(4) 研究協力者

長岡克弥(NAGAOKA KATSUYA)  
熊本大学・医学部附属病院・医員  
研究者番号: 00759524