

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25640068

研究課題名(和文) グリオーマ幹細胞の維持と分化に関わる分子ネットワーク解析と治療標的の探索

研究課題名(英文) Analysis of molecular network on maintenance and differentiation of glioma stem cells

研究代表者

荒木 令江 (Araki, Norie)

熊本大学・その他の研究科・准教授

研究者番号：80253722

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：近年グリオーマ幹細胞(GSC)の存在が示されこれを標的にした新たな治療の創出が期待されている。本研究では、悪性グリオーマ組織より樹立したGSCを用いて、融合プロテオミクス解析法によって、分化に伴い発現変動する分子ネットワークと治療標的の検索を行った。その結果、GSC分化刺激によってECMの分泌と接着分子発現亢進による特殊な分化ニッチの形成と、それを介したインテグリン-MAPK-PI3Kシグナルの亢進がGSCの増殖と分化を誘導し、その阻害剤でGSCが抗癌剤感受性に転じることを移植マウスにて明らかにした。同定された分化スイッチングシグナルは新しい治療標的として有用である可能性がある。

研究成果の概要(英文)：To identify the molecular network regulating the maintenance/differentiation of glioma stem cells (GSCs), we established 9 clones from patient's gliomas having the potential to form glioblastomas, and subjected to iTRAQ, 2D-DIGE and DNA array based integrated proteomics. iPEACH analysis of 8,471 proteins and 21,857 mRNAs revealed that ECMs-integrins-RAS-MAPK/PI3K signalings were significantly upregulated during GSC differentiation. The differentiation was dramatically accelerated by the ligand ECMs, and suppressed by integrin inhibitors that raised GSC chemosensitivity. Combination of TMZ and their inhibitors suppressed glioma progression and led the longer survival of mouse xenograft models. These results demonstrate that GSCs induce ECMs/receptors-related network to regulate their stemness and differentiation process via developing specific niches. This is the first integrated proteomics providing new therapeutic ideas against the stem cell-associated malignant gliomas.

研究分野：腫瘍生化学

キーワード：がん幹細胞 プロテオミクス 分子治療標的

### 1. 研究開始当初の背景

悪性脳腫瘍は、外科的手術による完全な治癒は殆ど不可能であり、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となる。現在のところ、予後予測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効果的な診断法や治療標的の開発は重要な課題とされている。近年、glioma 組織細胞由来のがん幹細胞(GSC)樹立が行われ (Singh S, Hide T at el., *Nature* 2004; Pollard at el., *Cell Stem Cell* 2009), 脳腫瘍細胞様幹細胞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るようになったが、GSC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、GSCの悪性腫瘍発現機構などに関わる分子群の翻訳後修飾等を含む蛋白質の網羅的な情報は殆ど報告されていないため、研究開発は困難を極めている。以前より我々は悪性 glioma において唯一化学療法に感受性を示す anaplastic oligodendroglioma (AO)に関して、詳細な分子レベルの解析を行ってきた。AOにおいて一部の症例は、PCV (TMZ)療法や放射線治療に高い感受性を示すことから、化学治療に感受性および非感受性の合計 60 例の AO 組織と培養細胞を用いて、これらに最適化したトランスクリプトーム・プロテオーム融合解析技術(融合プロテオミクス:iPEACH/MANGO法: Araki et al. *Mol. Cell. Proteomics* 2009 特願 2010-81525 [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])を開発し、全 27,415 種の AO 組織細胞分子群の定量的同定とデータベース開発を行った (glioma 組織細胞蛋白質 database, 特許出願 2012-509621)。更に、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 分子のネットワークを独自の iPEACH ソフトウェア (特願 2010-81524)を用いて解析した結果、特異的リン酸化と蛋白分解による翻訳後修飾によって発現と活性が大きく制御される、新規の転写因子活性化ネットワーク "EphA4-cdc42-PAK-calpain-vimentin activation loop"の抽出に成功した(国際特許 PCT/JP2011/58366)。興味深いことに、このネットワーク構成分子群を標的とした阻害剤(リン酸化酵素/蛋白質分解酵素阻害剤および siRNAs)は TMZ などの抗癌剤抵抗性の glioma 細胞を、薬剤感受性に大きく転じさせた。これらのことから、一連の本解析方法から得られた情報が悪性 Glioma 治療や創薬等に有用であり、GSC における特異的分子ネットワーク解析に応用可能であることが考えられた。

### 2. 研究の目的

癌幹細胞を分化誘導して非幹細胞性腫瘍細胞を抗がん剤治療の標的にする方法が脳腫

瘍治療にも有効である可能性が示唆されているが、癌幹細胞から非幹細胞性腫瘍細胞への分化誘導のスイッチングに直接的に関わる特定の分子ネットワークの情報は殆ど報告されていないため、この分野における治療戦略は困難を極めている。その原因として、翻訳後修飾を含むタンパク質の多様性や特異的変動分子群を経時的に同定できる解析システム、特に微量サンプルの蛋白質レベルの解析法や解析システム・データベースの限界が考えられる。そこで、本研究では微量タンパク質を網羅的に解析するために融合プロテオミクス法 (iTRAQ/2D-DIGE 法/DNA アレイ法の融合解析システム)の最適化を、膨大なデータ解析においては統合データ解析 iPEACH システムを応用することで、これらの問題を解決することを計画した。すなわち、GBM 患者組織から glioma 様幹細胞 (GSC)を樹立し、これを用いて分化誘導刺激で経時的に変動する特有の細胞内活性化分子ネットワークを最適化した融合プロテオミクス法により詳細に解析し、幹細胞維持と分化誘導スイッチングの分子メカニズムの一端を明らかにすることを目的とした。また、有効な阻害/促進剤の開発候補分子群を絞り込み、機能解析を行うことにより、脳腫瘍の新規治療ターゲットへの基礎情報データベース作成、臨床応用への可能性を検討することを目標とした。得られた GSC のマーカー候補分子群や、glioma の化学治療感受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 Database は、薬剤耐性を感受性に転ずるための薬剤の開発や、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の開発のための基礎情報として有効利用できる可能性がある。又、同一の脳腫瘍組織・細胞、特に神経系(癌)幹細胞から同定されたプロテオーム及びトランスクリプトームの統合情報は世界的にも極めて乏しいことから、国際的な脳神経系および腫瘍幹細胞のゲノム・プロテオーム・トランスクリプトーム情報の整理と共有化(メタアナリシス等)に貢献できることは意義深い。本方法論の確立によって様々な癌幹細胞の分子メカニズムや治療標的探索研究へ応用できる可能性が高く、本分野に新しい技術と概念を導入することを目標とした。

### 3. 研究の方法

1. Glioblastoma 患者組織細胞からの GSC 樹立: Glioblastoma 組織由来癌幹細胞を EGF, FGF を含む特殊培養条件下で半年以上培養した。これによって 11 例の患者組織サンプルから脳腫瘍癌幹細胞 9 クローンを分離し、同所性移植で GBM を発生する癌幹細胞性の高い 4 クローン (GSC03A, -03U, -07U, -09U) を単離した。

2. 樹立した細胞における脳腫瘍癌幹細胞

## 評価法による解析

(1) 脳腫瘍癌幹細胞マーカー: 細胞表面マーカーである CD133 発現確認 (免疫染色法, Western blot 法, FACS 法を用いた CD133 陽性細胞の分離), 分化マーカーあるいは神経幹細胞マーカー ( $\alpha$ -Nestin, -GFAP, -Sox2, -Tuj1, -MiB1, -vimnetin, -O4, -HIF1, -Musashi1) 等を用いた。(2) 自己複製能: sphere formation アッセイ, limiting dilution アッセイ (3) グリオーマ細胞への分化能: 血清存在下でグリオーマ細胞へ分化誘導を行う (4) 腫瘍形成能: 脳腫瘍癌幹細胞のマウス同所性移植実験によるグリオーマ形成能評価. クローン化した GSC を NOD-SKID マウス脳内に移植し, 形成された脳腫瘍組織を摘出, 免疫組織染色法にて評価した. GSC 樹立後, マーカータンパク質を免疫蛍光染色法, Western blot 法, FACS 法により解析した。

3. GSC 分化誘導モデルの確立: 樹立した GSC を血清存在下で分化誘導を行い, GFAP, CD44, CD133 等のマーカーを用いて分化レベルを評価した. また, 血清由来因子, 細胞外マトリクス (collagen, fibronectin, laminin) などによる微小環境の試験管内再構築モデルの検討を行った。

4. GSC の特異的発現分子群および分化制御分子群の探索・同定: プロテオームおよびトランスクリプトーム解析: GSC の分化誘導前後の細胞から可溶化タンパク質, mRNA を同時に抽出・調整し, 以下のプロテオミクスおよび DNA microarray による発現差異解析を行い, リン酸化, アルキル化, 酸化, 糖鎖等の翻訳後修飾を含む詳細なタンパク質の比較定量的な同定を行った. 2D-DIGE; fluorescence difference 2-D gel electrophoresis technology (二次元電気泳動蛍光差異解析法)

iTRAQ 法; protein quantitation by amine-reactive isobaric tagging reagents 法: ショットガンによる定量的同定解析. 複数の質量分析からの膨大なデータは protein pilot (ABSciex) にて解析した。

DNA microarray: Affimetrix U133 Plus 2.0 チップに用いるサンプルはタンパク質と同時に回収した (分化誘導前後) mRNA を使用し, 得られたデータを Gene Spring, Subio Platform を用いて解析した。

5. データ統合と Data Base 構築, 特異的シグナル分子群の選択とネットワークの抽出: 全てのデータを iPEACH ソフトウェアによって統合し Data Base 化した。発現変動候補分子群を分子ネットワーク解析ソフト KeyMonet (医薬分子設計研究所: 文献上報告されている分子ネットワーク情報を網羅的に収集した生命情報統合プラットホー

ム) により GSC 分化に関与する分子群ネットワークを抽出同定した。

6. 同定分子群の細胞内機能解析と治療ターゲットとしての可能性の検討

・抽出された分子群の検証: 全てのクローンでの共通の発現変動を抽出された分子群の抗体カクテルと 2D-Western Blot 法にて確認, glioma 幹細胞マーカーとしての可能性の検討, および免疫組織学的な解析との比較, 情報のデータベース化を行う. glioma 幹細胞の分化のスイッチングに重要と思われる候補分子を選択する. 各分子をロックダウンし, 抗がん剤による細胞増殖/毒性を評価・タイムラプス共焦点顕微鏡による形態変化の観察, また, 細胞内で候補分子の発現抑制あるいは亢進に伴って同時に変化する関連分子群の発現を解析する. さらに, 候補分子の中和抗体, ペプチド等の阻害剤を用いて, 分化誘導への影響を *in vitro* で検討した。

・移植動物モデルにより同定分子の臨床応用への可能性の検討 (動物移植実験システムの構築)

*in vitro* において有効であった阻害剤および抗がん剤を移植動物モデルへ投与し, 腫瘍への影響を検討した。そのために各種 GSC 移植に最適化した動物実験のシステム構築を行った。

## 4. 研究成果

ヒト glioma 患者組織より GSC を樹立する方法論を検討した結果, 9 クローン (GBM: 10 検体, AO: 1 検体) の単離・樹立に成功した。このうち 3 クローンはマウス頭蓋内移植にて, Ki67 陽性の悪性グリオーマを 6-15 週以内に形成した。この GSC は神経幹細胞マーカー CD133, Sox2 を特異的に発現し, 血清添加による分化誘導により, これらが減少すると同時に GFAP (アストロサイト, glioma マーカー), CD44 (悪性腫瘍マーカー), Vimentin (腫瘍悪性化/EMT マーカー) の発現を誘導したことから, 分離 GSC は神経幹細胞様の性質とグリオーマ細胞への分化能を有していることが判明した。そこで, その中の 2 クローンについて融合プロテオミクス解析法を用いて発現変動分子を検討した。その結果, iTRAQ 法では約 5600 個のタンパク質を同定し, そのうち定量的に有意な 4191 分子を, また DNA array では定量的に有意な 20752 分子を同定した。全てのデータを iPEACH にて統合マイニングし, 分化誘導によって共通に変動する 1458 分子の KeyMolnet による Gene Ontology base シグナル解析を行った結果, extracellular matrix: ECM ( $p < 3.40E-3$ ), cell adhesion ( $p < 7.33E-3$ ), cell proliferation ( $p < 6.02E-5$ ) 等の興味深い機能分子群が抽出された。network 解析から, GSC は幹細胞マーカー CD133, nestin, Sox2 の分化誘導時の発現減少, 及び GFAP, Tuj1, CD44・vimentin, 及び

活性化 EGFR-RAS-MAPK 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が判明した。特に分化誘導時に有意に発現が亢進する細胞接着関連因子群 (ECM:COL4A1, COL2A1, FN1, LAMA; 接着因子群: ITGA2, ITGAV) に注目し、免疫染色および western blot 法による検証実験の結果、確かにこれらの新規分子群が神経幹細胞/グリオーマ細胞分化の関連既知分子群に加えて、GSC 分化誘導時に発現誘導されることを確認した。さらに血清添加による分化の促進は、これらの阻害剤である integrin 中和抗体と特異的ペプチドにより阻害された。特に GSC 自身が分化刺激によって特異的に分泌する fibronectin による integrin  $\alpha$ V を介した GSC の分化誘導は、 $\alpha$ V 中和抗体と RGD ペプチドの添加によって顕著に阻害されたことから、GSC の接着因子と ECM を発現制御することで分化誘導を制御できることを明らかにした。

さらに GSC の抗癌剤感受性の変化について解析したところ、GSC は分化誘導前の幹細胞状態では、抗がん剤に対して抵抗性を示したが、分化スイッチが入ることにより分化初期状態で抗がん剤感受性に転じることを明らかとなった。細胞モデルおよび同所性移植マウスモデルを用いて、ECM と接着因子との結合阻害剤 RGD ペプチドおよびインテグリン抗体を作用させることで、GSC の接着・分化、増殖は抑制され、GSC は分化初期状態に留まった状態で抗がん剤 TMZ 感受性に転じ、移植マウスの生存を顕著に延長させることを明らかにした。これらの結果から、GSC は分化誘導刺激により分化に必要な ECM を自己分泌し、これらのレセプター (integrin family 等) 分子群を制御することで、細胞自らが分化するための特異的な微小環境 (分化ニッチ) を形成し、分化誘導を促進することが示唆された。

以上の結果から、GSC の分化ニッチを含めた分化スイッチングシグナルは新しいグリオーマの治療ターゲットとして有用であることを提唱した。また、申請者らが開発した一連の融合プロテオミクス法が GSC 分化誘導時に変動する分子群検索に有用であること、さらに、これらの分子への標的試薬が Glioma 治療に有効である可能性が高いことを示唆した。

#### 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 11 件)

1. Kawano S\*, Watanabe T, Mizuguchi S, Araki N, Katayama T and Yamaguchi A. TogoTable: cross-database annotation system using the Resource Description Framework (RDF) data

model. **Nucleic Acids Research** 2014 42(Web Server issue):W442-8, doi: 10.1093/nar/gku403

2. Kobayashi, D., Hirayama M., Komohara, Y., Mizuguchi, S, Wilson Morifuji, M. Patrakitkomjorn, S, Ihn, H., Takeya, M, Kuramochi, A., and Araki, N\*.

Translationally Controlled Tumor Protein is a Novel Biological Target for Neurofibromatosis Type 1 (NF1)-associated Tumors. **J. Biol. Chem.** 2014 289(38):26314-26. doi: 10.1074/jbc.M114.568253

3. 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. **Molecular & Cellular Proteomics**, 2013 12(5):1377-1394

4. Nambu, NA., Midorikawa U, Mizuguchi S, Hide T, Nagai M, Komohara Y, Nagayama 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

5. Yamamoto T, Nakayama K, Hirano H, Tomonaga T, Ishihama Y, Yamada T, Kondo T, Koderu Y, Sato Y, Araki N, Mamitsuka H, Goshima N. Integrated View of the Human Chromosome X-centric Proteome Project. **J Proteome Res.** 2013;12:58-61.

6. Silsirivanit A, Araki N\*, Wongkham C, Vaeteewoottacharn K, Pairojkul C, Kuwahara K, Narimatsu Y, Sawaki H, Narimatsu H, Okada S, Sakaguchi N, Wongkham S. CA-S27: A novel Lewis A associated carbohydrate epitope is diagnostic and prognostic for cholangiocarcinoma. **Cancer Sci.** 2013; 104(10):1278-84. doi: 10.1111/cas.12222.

7. 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

8. Kuwano Y, Yoneda K, Kawaguchi Y, Araki N, Araki T. The complete amino acid sequence, and enzymatic properties of an i-type lysozyme isolated from the common orient clam (*Meretrix lusoria*) **Bioscience Biotechnology, and**

**Biochemistry**, 2013 77(11):2269-77.

9. 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.

10. 荒木令江\* 南部(新堀 晶子)晶子、西村宗総、緑川 宇一、小林大樹 Development of a fully automated two-dimensional electrophoresis device, Auto-2D, and its application for the integrated proteomics 全自動2次元電気泳動装置の開発と融合プロテオミクスへの応用 生物物理化学 電気泳動 2014 日本電気泳動学会誌、電気泳動第 58 巻第 2 号 pp.39-42, 2014

11. 荒木令江\* 南部(新堀 晶子)晶子小林大樹 融合プロテオミクスによるは発がんメカニズムの解析 医学のあゆみ、「臨床プロテオミクス」医歯薬出版, Vol.251 No.10 pp.939-947, 2014,

〔学会発表〕(計 29 件)

1. Norie Araki. Invited Symposist  
Integrated proteomics for identification of specific targets in cancer stem cells  
15th Annual International Proteomics Conference (KHUPO 2015) 2015 年 3 月 26 ~ 27 日 Global Education Center for Engineers, Seoul National University, Seoul, Korea

2. Norie Araki Invited speaker  
Integrated proteomics for identifying the specific signal networks regulated by post-translational modifications in cancer and cancer stem cells.  
5 th ACGG(Asian Commumunications of Glycobiology and Glycotechnology) International Conference. (Khon Kae Thailand )  
2013 年 10 月 14 日 ~ 18 日

3. 荒木令江 シンポジウム招待講演  
Development of a fully automated two-dimensional electrophoresis device, Auto-2D, and its application for the integrated proteomics  
日本電気泳動学会シンポジウム  
2014 年 10 月 22 日 (横浜)

4. 荒木令江 シンポジウム招待講演  
融合プロテオミクスによるがん標的となる修飾分子群の抽出と機能解析  
レドックス・ライフイノベーション第 170 委員会/JHUPO サテライトシンポジウム  
2014 年 8 月 22 日 (シーガイア コンベンションセンター&シェラトングランデオーシャンリゾート・宮崎)

5. 荒木令江 シンポジウム招待講演

融合プロテオミクスによるがん細胞およびがん幹細胞の悪性化ネットワーク抽出と治療ターゲットの検索.

第 40 回 BMS (Biological Mass Spectrometry)コンファレンス (シーガイア コンベンションセンター&シェラトングランデオーシャンリゾート・宮崎)2013 年 7 月 8 ~ 9 日

6. 荒木令江 教育講演  
プロテオミクスを基盤とした病態システムズバイオロジー ~がん幹細胞の分化メカニズムへの応用~ 大学院教育特別講演 2013 年 11 月 19 日 岡山大学

7. 荒木令江 教育講演  
融合プロテオミクスを基盤とした病態システムズバイオロジーによる癌の治療標的検出への挑戦. バイオシグナル教育特別講演 2013 年 11 月 12 日 神戸大学

8. 荒木令江 セミナー招待講演  
神経系腫瘍の発症メカニズムと治療ターゲットの融合プロテオミクスによる解析 .  
プロテオミクス特別講演 2013 年 7 月 10 日 宮崎大学

9. 荒木令江 推薦講演  
融合プロテオミクスによる異常病態シグナル検出システムの開発と応用.  
BIO Tech2013 第 12 回国際バイオテクノロジー展/技術会議 (東京ビッグサイト) 2013 年 5 月 8 日 ~ 10 日

10. 荒木令江、南部(新堀)晶子、緑川宇一、水口惣平、秀拓一郎、小林大樹、ウィルソン森藤政代、菰原義弘、中村英夫、竹屋元裕、倉津純一.  
融合プロテオミクスによるグリオーマ幹細胞の分化遊動機構と治療ターゲット分子の解析 第 70 回日本癌学会学術総会 (パシフィコ横浜) 2013 年 10 月 3 日 ~ 2013 年 10 月 5 日 ワークショップ English oral

11. Norie Araki, Takashi Morikawa, Souhei Mizuguchi, Daiki Kobayashi, Akiko Niibori Nambu, Uichi Midorikawa, Mio Hirayama, Masayo morifuji Wilson, Sin Kawano, Hideo Nakamura, Junichi Kuratsu.  
An Integrated Proteomics for Extracting Molecular Target of Malignant Gliomas.  
HUPO 11th Annual World Congress (パシフィコ横浜)2013 年 09 月 11 日 ~ 2013 年 09 月 13 日

12. A. Niibori Nambu, U Midorikawa, S. Mizuguchi, T. Hide, M. Nagai, Y. Komohara, M. Nagayama, M. Hirayama, D. Kobayashi, H. Nakamura, M. Takeya, J. Kuratsu, N. Araki.  
"Integrated Proteomics Identified the

Differentiation Niche Induced by Glioma Stem Cells” The Human Proteome Organization (HUPO) 12th Annual World Congress, HUPO 11th Annual World Congress (パシフィコ横浜) 2013年09月11日～2013年09月13日

13. 荒木令江、南部(新堀)晶子、緑川一、小林大樹、水口惣平、永井美奈子、秀拓一郎、中村英夫、倉津純一。融合プロテオミクスによるグリオーマ幹細胞の分化ニッチと悪性化メカニズムの解析。第84回日本生化学会大会ワークショップ(パシフィコ横浜)2013年09月11日～2013年09月13日

14. 小林大樹・平山未央・水口惣平・荒木令江  
融合プロテオミクスによる新規 NF1 病態関連分子ネットワークの同定  
第62回質量分析総合討論会 ホテル阪急エキスポパーク 大阪府吹田市 2014年5月14日～16日

15. 小林大樹、長山慈、平山未央、大槻純男、荒木令江  
新規神経線維腫症腫瘍病態関連因子 TCTP の機能プロテオーム解析 第12回日本プロテオーム学会 2014年7月17日～18日(つくば国際会議場)

16. 西村 宗徳、緑川 宇一、長山 慈、小林大樹、村上 洋嗣、笹尾 明、河野 吉昭、今村隆寿、和田 孝浩、鶴沼 豊、荒木 令江  
全自動2次元電気泳動装置を用いた前立腺がんマーカータンパク質群の解析  
第12回日本プロテオーム学会 2014年7月17日～18日(つくば国際会議場)

17. 荒木令江、シンポジウム招待講演  
融合プロテオミクスによる疾患メカニズム解析と標的分子群の検出～がん幹細胞の特異的分子群の解析例から～  
第12回日本プロテオーム学会 2014年7月17日～18日(つくば国際会議場)

18. Silsirivanit A, Phoomak C, Indramanee S, Sukprasert L, Saentaweek W, Puapairoj W, Pairojkul C, Wongkham C, Araki N, Wongkham S. ALTERATION OF PROTEIN GLYCOSYLATION AS BIOMARKERS FOR CHOLANGIOCARCINOMA  
第12回日本プロテオーム学会 2014年7月17日～18日(つくば国際会議場)

荒木令江、南部(新堀)晶子、緑川宇一、水口惣平、小林大樹、ウイルソン森藤政代、秀拓一郎、中村英夫、倉津純一。グリオーマ幹細胞の維持と分化に関わるニッチ分子群の融合プロテオミクスによる解析  
第73回日本癌学会 2014年9月25日～27日(パシフィコ横浜)

19. Silsirivanit A, Araki N, Wongkham C, Vaeteewoottacharn K, Pairojkul C, Kuwahara K, Narimatsu Y, Sawaki H, Narimatsu H, Okada S, Sakaguchi N, Wongkham S. CA-S27: a novel Lewis a associated carbohydrate epitope is diagnostic and prognostic for cholangiocarcinoma.  
第73回日本癌学会 2014年9月25日～27日(パシフィコ横浜)

20. Daiki Kobayashi, Megumi Nagayama, Mio Hirayama, Sumio Ohtsuki, Norie Araki  
Functional proteome analysis of translationally controlled tumor protein (TCTP), a novel Neurofibromatosis type 1 (NF1)-related protein.  
13th human proteome organization World Congress 2014, 10/5～8, IFEMA Madrid Spain

21. Norie Araki, Akiko Nambu, Uichi Midorikawa, Souhei Mizuguchi, Daiki Kobayashi, Jun-ichi Kuratsu  
Integrated Proteomics for Cancer Stem Cells.  
13th human proteome organization World Congress 2014, 10/5～8, IFEMA Madrid Spain

22. 小林 大樹、荒木 令江 (シンポジウム講演) 融合プロテオミクス: 新規治療標的分子ネットワーク同定のためのマルチオミクス解析基盤 第87回日本生化学会 国立京都国際会館(京都市) 2014年10月15日～18日

23. 西村 宗徳、緑川 宇一、長山 慈、小林大樹、村上 洋嗣、笹尾 明、河野 吉昭、今村隆寿、鶴沼 豊、荒木 令江  
全自動2次元電気泳動装置を用いた前立腺がんの特異的翻訳後修飾タンパク質群のプロファイリング 第87回日本生化学会 国立京都国際会館(京都市) 2014年10月15日～18日

他、6発表

〔図書〕(計2件)

1. 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

2. 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、2013年

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