

先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実績報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	タンパク質絶対発現量プロファイルを基盤とする次世代がん診断技術の創出
研究機関・部局・職名	熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
氏名	大槻 純男

1. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	128,000,000	128,000,000	0	128,000,000	128,000,000	0	
間接経費	38,400,000	38,400,000	0	38,400,000	38,400,000	0	
合計	166,400,000	166,400,000	0	166,400,000	166,400,000	0	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	196,434	59,066,984	22,003,697	16,502,374	97,769,489
旅費	0	1,316,921	682,894	1,151,455	3,151,270
謝金・人件費等	0	0	816,396	4,510,527	5,326,923
その他	0	13,629,155	5,819,198	2,303,965	21,752,318
直接経費計	196,434	74,013,060	29,322,185	24,468,321	128,000,000
間接経費計	60,000	17,338,181	9,341,137	11,660,682	38,400,000
合計	256,434	91,351,241	38,663,322	36,129,003	166,400,000

4. 主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関名
リアルタイムPCR	StepOne Plus	1	2,976,750	2,976,750	2011/11/21	東北大学
超低温槽	CLN-51UW	1	1,932,000	1,932,000	2012/2/29	熊本大学
高分解能質量分析装置	ABSCIEX TripleTOF5600	1	46,042,500	46,042,500	2012/3/19	熊本大学
安全キャビネット	1355	1	1,134,000	1,134,000	2012/3/19	熊本大学
濃縮遠心システム	CC-105	1	1,050,000	1,050,000	2012/3/22	熊本大学
微量高速冷却遠心機	MX-307	1	1,312,500	1,312,500	2012/3/22	熊本大学
質量分析データ取得コンピューター一式	DELL, OptiPlex 990	1	614,250	614,250	2012/4/27	熊本大学
液体窒素保存容器	サーモフィッシャーサイ エンティフィック, CY50935-70A	1	680,400	680,400	2012/11/9	熊本大学
微量高速冷却遠心機	TOMY, MX-307	1	686,700	686,700	2012/10/3	熊本大学
質量分析アップグレード	ABSCIEX, TT5600アップグ レードキット	1	2,310,000	2,310,000	2012/10/10	熊本大学
卓上超遠心機用水平ローター(消耗品)	ベックマン・コー ルター, TLS-55	1	735,000	735,000	2012/10/12	熊本大学
分光光度計	Eppendorf, バイオス ペクトロメーターベース シック	1	628,425	628,425	2012/10/15	熊本大学
高機能高速冷却遠心機	ベックマン・コー ルター, Avanti HP-30I	1	4,987,500	4,987,500	2012/11/28	熊本大学
ケミルミイメジャー	OMEGA, LumG	1	1,575,000	1,575,000	2012/10/26	熊本大学
超純水製造装置	サーモフィッシャーサイ エンティフィック, Lab TowerEDI 15	1	1,102,500	1,102,500	2013/2/13	熊本大学

様式20

超高性能液体クロマトグラフィ	エービーサイエックス社・ekspert microLC 200 System with AB SCIEX MS kit	1	5,460,000	5,460,000	2013/6/26	熊本大学
安全キャビネット	米国サーモフィッシャーサイエンティフィック社・Class II 安全キャビネット ThermoScientific 1355 パッケージ	1	1,134,000	1,134,000	2013/7/29	熊本大学

5. 研究成果の概要

本研究では、国民の健康長寿に貢献するライフイノベーションを目指し、新しいがん診断の実現をバイオマーカーの同定とタンパク質定量技術開発の両面で行った。新しい技術開発によって検証が止まっていたガンマーカー候補タンパク質の検証を大規模に実施し、新しい有用なマーカー分子を同定した。さらに、腫瘍組織における標的分子発現量を計測し、その発現量情報に基づき個別の脳腫瘍に対して有効な分子標的を選択し、その有効性を臨床試験によって実証した。これらの成果は、次世代のがん医療診断及び機器の基盤となる。

課題番号	LS005
------	-------

先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 研究成果報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名 (下段英語表記)	タンパク質絶対発現量プロファイルを基盤とする次世代がん診断技術の創出
	Development of protein-based innovative diagnosis for personalized cancer therapy
研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記)	熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
	Kumamoto University, Faculty of Life Sciences, Professor
氏名 (下段英語表記)	大槻 純男
	Sumio Ohtsuki

研究成果の概要

(和文): 分子標的薬の個別化治療はがんに対して高い治療効果が期待できる。薬が作用する標的タンパク質の発現は、有効な分子標的薬を選択する優れた診断法となる。本研究では、質量分析を用いた独自のタンパク質定量技術を用い新しいがん診断の技術開発と個別化治療への応用を行った。分子標的薬の標的分子を一斉に定量する技術を開発し、その発現量情報を用いて分子標的薬の選択を行い、がん治療への有効性を明らかにした。さらに、サンプル前処理から計測までのスループットを劇的に改善する技術を開発した。この独自開発技術はオミクスと臨床を結ぶキーテクノロジーとなり、次世代診断を実現する医療検査機器へと発展することが期待される。

(英文): Personalized chemotherapy of molecular target drugs is able to expect good outcome for cancer patients. The protein expression levels of target protein should be good marker for selecting effective drugs. This project aims to develop new protein quantification methodology for the cancer diagnosis based on the original LC-MS-based protein quantification. We have developed simultaneous protein quantification method of target proteins, and conducted personalized chemotherapy based on protein expression information. Furthermore, we have developed new methodology improving throughput of sample preparation and LC-MS measurement. These new developed method is a key technology toward medical instrument bridging between omics studies and clinical diagnosis.

1. 執行金額 166, 400, 000円
(うち、直接経費128, 000, 000円、 間接経費38, 400, 000円)

2. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

3. 研究目的

研究代表者である大槻は、従来のプロテオミクスとは全く異なるコンセプトによって質量分析計をもちいて複数の標的タンパク質の絶対発現量を高感度に一斉定量することに成功した。本研究は、独自開発技術によって得られるタンパク質絶対発現量プロファイルを基盤として血中腫瘍マーカー及び分子標的薬の標的タンパク質の一斉高感度定量システムを研究開発し、従来の遺伝子診断に代わる次世代診断技術としてがん患者への負担の少ない診断と革新的な個別治療化診断の基盤を確立・実現することによって従来の遺伝子を基盤とした診断からタンパク質を基盤とした新しいがん診断システムへと転換を図る革新的診断技術を創出することを目的とした。

分子標的薬の個別化治療は高い効果が期待できることから待望されているが、現状では遺伝子診断に留まっている。標的分子のタンパク質発現は機能と相関するため、薬剤の有効性を診断する非常に優れた指標になると考えられるが、これまで標的タンパク質群を精度良く定量する汎用技術が存在しなかった。本研究では研究代表者が独自に開発した質量分析システムを用いたタンパク質の高感度一斉定量システムをがん診断に応用し、標的タンパク質の発現プロファイルから有効な分子標的薬を選択する次世代がん個別化治療診断システムの開発をおこなう。さらに、有効性の高い治療の前提条件となる早期診断に関しても独自定量技術を積極的に応用することによって、微量血液から一般的な診断分子と血中腫瘍マーカーの一斉定量を実現する診断システムを開発する。

4. 研究計画・方法

本研究計画の基盤となる質量分析を用いた独自のタンパク質定量技術は、従来のプロテオミクスとは全く異なるコンセプトで質量分析計をもちいて複数の標的タンパク質の絶対発現量を高感度に一斉定量する(図 1)。基本原理は、タンパク質試料をトリプシン消化し、標的タンパク質由来の特異的トリプシン消化ペプチドを質量に基づいて特異的に定量する。試料に定量するトリプシン消化ペプチドと同一配列の既知量の安定導体標識ペプチドを内部標準として添加することによって、内部標準法によって絶対量を計測する。

本定量技術の最大の特徴は以下の点である。

- (1). 遺伝子情報のみからタンパク質の定量系を構築することが可能である。
- (2). 1アミノ酸の変異や修飾を特異的に検出可能である。
- (3). 膜タンパク質を含めたタンパク質 40 分子を一斉に定量可能である。

本独自技術を基盤とし、①.分子標的薬標的タンパク質及び血中腫瘍マーカータンパク質の高感度定量系の構築、②.腫瘍及び血液検体中における各タンパク質の発現分布の解明、③.血中腫

瘍マーカータンパク質定量の高速定量システムを開発、④.タンパク質発現プロファイルに基づいた分子標的薬個別化化学療法の検証、⑤.高速定量系を用いたガンマーカー候補分子の検証をおこなった。

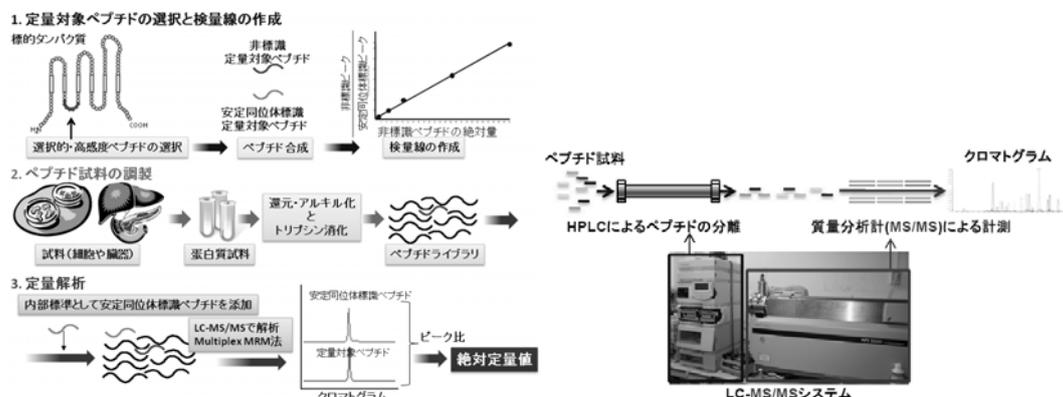


図1 独自開発技術による質量分析計(LC-MS/MS)を用いたタンパク質絶対定量法の概略

5. 研究成果・波及効果

(1). 分子標的薬標的タンパク質及び血中腫瘍マーカータンパク質の高感度定量系の構築し、腫瘍及び血液検体中における各タンパク質の発現分布を明らかにした。

分子標的薬標的分子(20分子、半定量23分子)、腫瘍マーカー(7分子)、新規腫瘍マーカー候補分子(25分子)及び一般診断マーカー(16分子)の一斉定量系を構築した。本技術開発によって、これまで絶対量を計測出来なかった分子標的薬標的分子の絶対量を一斉に計測することが可能になった。また、一般診断マーカーについても、従来は1分子ごとに多くの血液を必要としたが、本開発定量系を用いることによって1滴の血液で同時に計測することが可能となった。下記に血液検体の定量結果の一部を示す(図2)。また、脳腫瘍約40検体について各分子標的薬標的分子の絶対発現量を開発技術を用いて計測した結果、発現量にきわめて大きな個人差があることが明らかとなった。この結果は、分子標的薬の薬効に大きな個人差があることを指示しており、さらに、発現量に基づく分子標的薬の選択による個別化化学療法の必要性を示している。

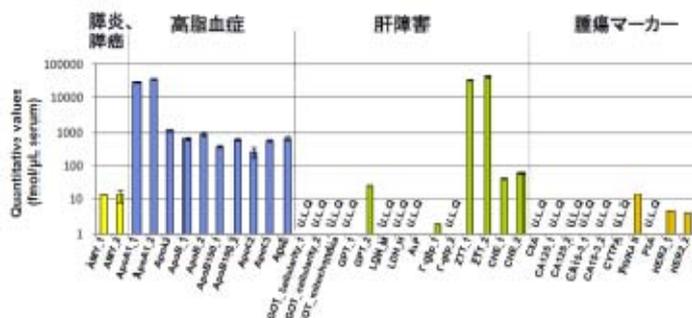


図2 一般診断マーカーの同時定量

健康人血液0.2μLを使用し一般診断マーカー24分子を同時測定。一部分子は2つの異なるペプチドを使用し定量している。

(2). 血中腫瘍マーカータンパク質定量の高速定量システムを開発する。

抗体と MALDI-IT-MS を利用した高速定量システムの開発を行った。独自の内部標準ペプチドを開発することによって、定量性に劣る MALDI-IT-MS を用いても少なくとも 500 倍のダイナミックレンジで定量出来るシステムを完成させた。さらに、膵がんマーカー候補分子の定量を行い、通常法と同等の定量値が得られることを確認した。本システムで質量分析による計測は 100 検体を 20 分で完了できる。しかし、システム開発において抗体と MALDI-IT-MS の系は、他の新規腫瘍マーカー候補分子の定量に関しては、感度が不足することが予想される新たな課題が明らかとなった。この新しい課題を克服するためマイクロ流速の液体クロマトグラフィーを用いた高速定量システム(microLC-MS/MS)の開発を行った。その結果、1 検体を 10 分で計測する系を構築した(図 3)。この系は、これまでの LC-MS/MS よりも高速であるだけでなく、高感度化も達成した。さらに、多検体定量では、前処理の高速化も必須である。検体前処理のプロセスの最適化を行い、東北大学大学院薬学研究科との共同研究で自動処理システムを完成させた(図3右)。本システムは 1 日で 100 検体の処理が可能である。自動処理システムと microLC-MS/MS を並列で稼働することで前処理から測定までの全工程を2日で 100 検体の処理が可能となった。従来は、1 検体ずつ研究者が複雑な過程で前処理を行い、1 検体 1-2 時間で計測を行っており、このようなスループットの低さが質量分析の医療応用を妨げていた。本研究開発によって達成された技術は、このような問題点を克服し、スループットの高い質量分析によるタンパク質定量を実現した。

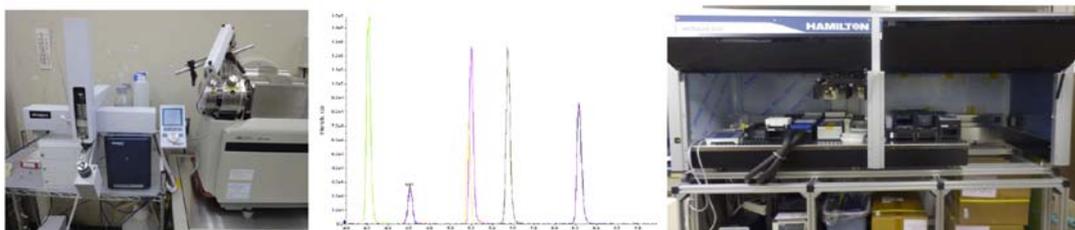


図 3 質量分析を用いたタンパク質定量の高速・高感度化

左図: microLC-MS/MS の写真。中央図:6 分子を 10 分間で測定。右図:自動前処理装置の写真。

(3). 分子標的薬標的タンパク質のタンパク質発現プロファイルを元に薬剤選択をおこない、個別化治療効果の有効性を検証した。

1で解析を行った脳腫瘍における分子標的薬標的分子の発現プロファイルを元に、金沢大学医学部から提供される各患者の脳腫瘍検体における標的分子発現量を定量し異常高発現している分子を同定した。さらに、発現プロファイル情報を金沢大学医学部にフィードバックし、倫理委員会承認のもと選択した薬剤の投与を行い、研究期間終了までに 5 例の患者に対し個別化化学療法を行い、少なくとも 4 例で有効な結果を得た。本結果は、新しい技術によって得られるタンパク質発現量情報が、がん分子標的薬の個別化診断に発展できることを示して重要な成果である。

波及効果

従来のバイオマーカー研究においては、バイオマーカー候補を同定後の評価検証において抗体による定量を行わなければならない、特異抗体の調製に長時間を要し、最終的に作成できずに評価検証を行えないケースがあった。本開発技術によって初めて、多数のバイオマーカー候補分子の特異的定量系を短時間で構築し、評価検証を行えるようになり、バイオマーカーの実用化を一気に加速するブレークスルーである。下記が本研究成果による技術の応用によって加速されたバイオマーカー研究の実例である。

- ・3年を要して特異抗体を調製できなかった修飾タンパク質の特異的定量系を3ヶ月で構築した。さらに、開発技術で検証を行ったところ、早期膵がん患者の発見に有効であることを示した。
- ・24種類のマーカー候補タンパク質の特異的定量系を2ヶ月で完了し、続く2ヶ月で血液42検体の定量を行った。定量系構築から初期評価まで4ヶ月で完了した。その後、開発技術で500検体を用いた検証を実施した。

前処理自動化および定量系高速化によってそれぞれ100検体/日の処理が可能となり、高速・高感度定量とあわせ質量分析によるタンパク質量のスループットが劇的に向上した。この技術革新は、単にバイオマーカー研究を加速させるだけではない。オミクスによるバイオマーカー研究から新しい診断法を効率よく実用化するためには、現在のようなELISAによる診断ではなく、探索、検証、臨床を一貫して質量分析で進めることが必要である。従来は、探索までであったが、本研究開発によって検証まで質量分析で進めることができるようになった。次のブレークスルーは、質量分析による臨床診断の実現である。医療機器としての質量分析はさらなる開発が必要であるが、本研究で開発した技術はその基礎となる技術であり、将来、その重要性はますます上がることが予想される。

分子標的薬の個別化治療はがん化学療法における至急の課題である。従来の研究は特定の薬剤に対して感受性の患者を選択する戦略で行われている。一方で、本研究では、各患者に最適な薬剤を複数の薬剤から選択する戦略を実現した(図4)。後者の戦略が患者にとってよりすぐれた個別化治療であることは明白であり、新しいタンパク質診断技術と併せ次世代の個別化治療診断の端緒を開いた。

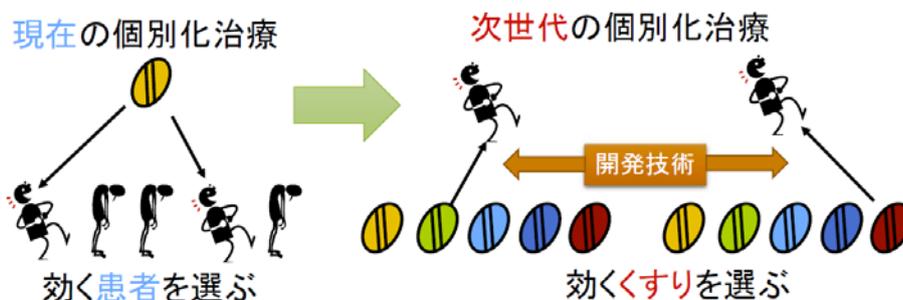


図4 従来の個別化治療と本開発技術を応用した次世代個別化治療

6. 研究発表等

雑誌論文 計 28 件	<p>(掲載済み一査読有り) 計 22 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. K. Ito, Y. Uchida, S. Ohtsuki, S. Aizawa, H. Kawakami, Y. Katsukura, J. Kamiie, T. Terasaki: Quantitative membrane protein expression at the blood-brain barrier of adult and younger cynomolgus monkeys. <i>J Pharm Sci.</i> 100:3939-3950 (2011) 2. Y. Uchida, S. Ohtsuki, Y. Katsukura, C Ikeda, T. Suzuki, J. Kamiie, T. Terasaki: Quantitative targeted absolute proteomics of human blood-brain barrier transporters and receptors. <i>J. Neurochem.</i> 117:333-345 (2011) 3. M. Fujiyoshi, M. Tachikawa, S. Ohtsuki, S. Ito, Y. Uchida, S. Akanuma, J. Kamiie, T. Hashimoto, K. Hosoya, T. Iwatsubo, T. Terasaki: Amyloid-β peptide(1-40) elimination from cerebrospinal fluid involves low-density lipoprotein receptor-related protein 1 at the blood-cerebrospinal fluid barrier. <i>J. Neurochem.</i> 118:407-415 (2011) 4. R. Shawahna, Y. Uchida, X. Decleves, S. Ohtsuki, S. Yosif, S. Dauchy, A. Jacob, F. Chassoux, C. Daumas, P.O. Couraud, T. Terasaki, J.M. Scherrmann: Transcriptomic and quantitative proteomic analysis of transporters and drug metabolizing enzymes in freshly isolated human brain microvessels. <i>Mol. Pharm.</i> 8:1332-1341 (2011) 5. Y. Uchida, S. Ohtsuki, J. Kamiie, T. Terasaki: Blood-brain barrier (BBB) pharmacoproteomics (ppx): reconstruction of in vivo brain distribution of 11 p-glycoprotein substrates based on the bbb transporter protein concentration, in vitro intrinsic transport activity, and unbound fraction in plasma and brain in mice. <i>J. Pharmacol. Exp. Ther.</i>, 339:579-588 (2011) 6. S. Akanuma, Y. Uchida, S. Ohtsuki, J. Kamiie, M. Tachikawa, T. Terasaki, K. Hosoya: Molecular-weight-dependent, anionic-substrate-preferential transport of β-lactam antibiotics via multidrug resistance-associated protein 4. <i>Drug Metab. Pharmacokin.</i>, 26:602-311 (2011) 7. S. Ohtsuki, Y. Uchida, Y. Kubo, T. Terasaki: Quantitative targeted absolute proteomics-based ADME research as a new path to drug discovery and development: methodology, advantages, strategy and prospects. <i>J Pharm Sci.</i>, 100:3547-3559 (2011) 8. Schaefer, S. Ohtsuki, H. Kawakami, T. Inoue, S. Liehner, A Saito, A. Sakamoto, N. Ishiguro, T. Matsumaru, T. Terasaki, T. Ebner: Absolute quantitation and differential expression of drug transporters, cytochrome p450 enzymes and udp-glucuronosyltransferases in cultured primary human hepatocytes. <i>Drug Metab. Dispos.</i> 40:93-103 (2012) 9. S. Ohtsuki, O. Schaefer, H. Kawakami, T. Inoue, S. Liehner, A Saito, N. Ishiguro, W.Kishimoto, E. Ludwig-Schwellinger, T. Ebner, T. Terasaki: Simultaneous absolute protein quantification of transporters, cytochrome P450s and UDP-glucuronosyltransferases as a novel approach for the characterization of individual human liver: comparison with mRNA levels and activities. <i>Drug Metab. Dispos.</i> 40:83-92 (2012) 10. A. Yoshikawa, M. Nakada, S. Ohtsuki, Y. Hayashi, W. Obuchi, Y. Sato, C. Ikeda, T. Watanabe, Y. Kawahara, T. Hasegawa, A. Sabit, D. Kita, Y. Hayashi, T. Teraaki, J. Hamada: Recurrent anaplastic meningioma treated by sunitinib based on the absolute quantitative proteomics: a case report. <i>Neuropathology and Applied Neurobiology.</i> 38:105-110 (2012) 11. K. Ohmine, K. Kawaguchi, S. Ohtsuki, F. Motoi, S. Egawa, M. Unno, T. Terasaki: Attenuation of phosphorylation by deoxycytidine kinase is key to acquired gemcitabine resistance in a pancreatic cancer cell line: targeted proteomic and metabolomic analyses in PK9 cells. <i>Pharm Res.</i> 2006-2016 (2012). ISSN: 1573-904X 12. Y. Kazuki, K. Kobayashi, S. Aueviriyavit, T. Oshima, Y. Kuroiwa, Y. Tsukazaki, N. Senda, H. Kawakami, S. Ohtsuki, S. Abe, M. Takiguchi, H. Hoshiya, N. Kajitani, S. Takehara, K. Kubo, T. Terasaki, K. Chiba, K. Tomizuka, M. Oshimura: Trans-chromosomal mice containing a human CYP3A cluster for prediction of xenobiotic metabolism in humans. <i>Hum Mol Genet.</i> 22:578-592 (2013). ISSN: 1460-2083 13. S. Ohtsuki, C. Ikeda, Y. Uchida, Y. Sakamoto, F. Miller, F. Glacial, X. Decleves, J.M. Scherrmann, P.O. Couraud, Y. Kubo, M. Tachikawa, T. Terasaki: Quantitative targeted absolute proteomic analysis of transporters, receptors and junction proteins for validation of human cerebral microvascular endothelial cell line hCMEC/D3 as a human blood-brain barrier model. <i>Mol Pharm.</i> 10:289-296 (2013). ISSN: 1543-8392 14. W. Obuchi, S. Ohtsuki, Y. Uchida, K. Ohmine, T. Yamori, and T. Terasaki: Identification of transporters associated with etoposide sensitivity of stomach cancer cell lines and methotrexate sensitivity of breast cancer cell lines by quantitative targeted absolute
----------------	--

<p>proteomics. <i>Mol Pharmacol</i> 83:490-500 (2013). ISSN: 1521-0111</p> <ol style="list-style-type: none"> 15. T. Yoneyama, S. Ohtsuki, M. Ono, K. Ohmine, Y. Uchida, T. Yamada, M. Tachikawa, and T. Terasaki. Quantitative targeted absolute proteomics-based large-scale quantification of proline-hydroxylated α-fibrinogen in plasma for pancreatic cancer diagnosis. <i>J Proteome Res</i> 12:753-762 (2013). ISSN: 1535-3907 16. Hoshi Y, Uchida Y, Tachikawa M, Inoue T, Ohtsuki S, and Terasaki T. Quantitative atlas of blood-brain barrier transporters, receptors, and tight junction proteins in rats and common marmoset. <i>J Pharm Sci.</i> 102:3343-3355 (2013). ISSN:1520-6017 17. Sakamoto A, Matsumaru T, Yamamura N, Uchida Y, Tachikawa M, Ohtsuki S, and Terasaki T. Quantitative expression of human drug transporter proteins in lung tissues: Analysis of regional, gender, and interindividual differences by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. <i>J Pharm Sci.</i> 102:3395-3406 (2013). ISSN:1520-6017 18. Uchida Y, Tachikawa M, Obuchi W, Hoshi Y, Tomioka Y, Ohtsuki S, and Terasaki T. A study protocol for quantitative targeted absolute proteomics (QTAP) by LC-MS/MS: application for inter-strain differences in protein expression levels of transporters, receptors, claudin-5, and marker proteins at the blood-brain barrier in ddY, FVB, and C57BL/6J mice. <i>Fluids Barriers CNS.</i> 10:21 (2013). ISSN:2045-8118 19. Maeda T, Sano Y, Abe M, Shimizu F, Kashiwamura Y, Ohtsuki S, Terasaki T, Obinata M, Ueda K, and Kanda T. Establishment and characterization of spinal cord microvascular endothelial cell lines. <i>Clin Exp Neuroimmunol.</i> 4:326-338 (2013). 20. Ito S, Matsumiya K, Ohtsuki S, Kamiie J, and Terasaki T. Contributions of degradation and brain-to-blood elimination across the blood-brain barrier to cerebral clearance of human amyloid-beta peptide(1-40) in mouse brain. <i>J Cereb Blood Flow Metab.</i> 33:1770-1777 (2013). ISSN:1559-7016 21. Ito S, Ohtsuki S, Murata S, Katsukura Y, Suzuki H, Funaki M, Tachikawa M, and Terasaki T. Involvement of insulin-degrading enzyme in insulin- and atrial natriuretic peptide-sensitive internalization of amyloid-beta peptide in mouse brain capillary endothelial cells. <i>J Alzheimers Dis.</i> 38:185-200 (2014). ISSN:1875-8908 22. Ohtsuki S, Kawakami H, Inoue T, Nakamura K, Tateno C, Katsukura Y, Obuchi W, Uchida Y, Kamiie J, Horie T, and Terasaki T. Validation of uPA/SCID Mouse with Humanized Liver as a Human Liver Model: Protein Quantification of Transporters, Cytochromes P450, and UDP-Glucuronosyltransferases by LC-MS/MS. <i>Drug Metab Dispos.</i> 42:1039-1043 (2014). ISSN:1521-009X <p>(掲載済み一査読無し) 計 5 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 内田康雄、大槻純男、寺崎哲也: Pharmacoproteomics (PPx)に基づく血液脳関門輸送機能の解明、遺伝子医学 MOOK19、148-154 (2011) 2. 元井冬彦、川口桂、大峰健、大槻純男、大塚英郎、力山敏樹、片寄友、江川新一、寺崎哲也、海野倫明: 膵がん個別化医療-分子生物学形跡を中心に-, 外科、73:1073-1078 (2011) 3. 立川正憲、内田康雄、大槻純男、寺崎哲也: 定量的絶対標的プロテオミクスに基づくヒト血液脳関門におけるトランスポーターの発現と生理機能、脳 21、14:42-48 (2011) 4. 大槻純男: 定量的標的プロテオミクスによるファーマコプロテオミクスアプローチ、薬学雑誌、132:479-487 (2012) 5. 大槻純男: 定量的標的プロテオミクスによる生化学の新展開: 抗体を用いない汎用的タンパク質定量技術、生化学、84:911-919, 2012 <p>(未掲載) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Ohtsuki S, Hirayama M, Ito S, Uchida Y, Tachikawa M, and Terasaki T. Quantitative targeted proteomics for understanding the blood-brain barrier: towards pharmacoproteomics. <i>Expert Rev Proteomics</i> (2014). Epub ahead of print. ISSN:1744-8387

会議発表	<p>専門家向け 計 41 件</p>
計 46 件	<p>海外招待講演</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. S. Ohtsuki: Quantitative Targeted Proteomics for Drug Development. APISX2011, Tainan, Taiwan, Apr 22-25, 2011 2. Y. Uchida, S. Ohtsuki, Y. Katsukura, C. Ikeda, T. Suzuki, J. Kamiie, T. Terasaki: Quantitative targeted absolute proteomics (qtap) of human blood-brain barrier transporters and receptors. APISX2011, Tainan, Taiwan, Apr 22-25, 2011 3. S. Ohtsuki: Novel applications of LC/MS-based membrane protein quantification for transporter research and drug development. 3rd Annual Clinically Relevant Drug Transporters, 2012/10/22-24, London 4. S. Ohtsuki: Metabolomics-like proteomics: quantitative targeted proteomics for diseases and pharmacokinetics. Indo-US Symposium on Mass Spectrometry Based Metabolomics in Disease Biology, Trivandrum, India, 23-24 Jan, 2014 5. S. Ohtsuki: Quantitative targeted absolute proteomics: LC-MS/MS-based protein quantification. Shimadzu Mini Omics Seminar, Bangalore, India, 25 Jan, 2014 6. S. Ohtsuki: Quantitative targeted absolute proteomics: LC-MS/MS-based protein quantification. Symposium in Center of Cellular and Molecular Biology. Hyderabad, India, 27 Jan, 2014. 7. S. Ohtsuki: Quantitative targeted absolute proteomics: LC-MS/MS-based protein quantification. Symposium in Vimta. Hyderabad, India, 27 Jan, 2014. 8. S. Ohtsuki: Quantitative targeted absolute proteomics: LC-MS/MS-based protein quantification. Shimadzu Omics Seminar, Milano, Italy, 29 Jan, 2014. 9. S. Ohtsuki: Quantitative targeted absolute proteomics: LC-MS/MS-based protein quantification. Avancées en spectrométrie de masse pour le diagnostic Clinique. Paris, France, 31 Jan, 2014. <p>国内招待講演</p> <ol style="list-style-type: none"> 10. 大槻純男: 定量的標的プロテオミクスによるファーマコプロテオミクスアプローチ、日本薬学会第 131 年会、2011 年 3 月 28-31 日、静岡 11. 大槻純男: タンパク質発現からみたがんの個人差と薬剤感受性機構、第 6 回がん・エピゲノム研究会、2011 年 4 月 27 日、仙台 12. 大槻純男: 質量分析を用いたタンパク質定量解析によるバイオマーカー評価と臨床応用、第 61 回日本電気泳動学会シンポジウム・第 7 回臨床プロテオーム研究会 2011 連合大会、2011 年 5 月 9-10 日、山口 13. 大槻純男: 定量的プロテオミクス(MRM 法)によるターゲット探索から創薬研究応用まで、第 15 回薬物動態談話会セミナー、2011 年 8 月 24-26 日、大阪 14. 大槻純男: 量と活性からの生体内でのトランスポーター機能の再構築、日光シンポジウム、2011 年 12 月 17 日、日光 15. 大槻純男: 質量分析による次世代タンパク質定量法と創薬臨床研究への応用、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教育研究拠点の構築主催セミナー、2012 年 2 月 23 日、熊本 16. 大槻純男: 定量的プロテオミクスによる創薬ターゲット探索と医薬品開発への利用、育薬塾セミナー、2012 年 3 月 9 日、千葉 17. 大槻純男: 薬物動態からアプローチする中枢疾患の理解と治療、神奈川県立こども医療センター講演会、2012 年 4 月 18 日、横浜 18. 大槻純男: 質量分析による次世代タンパク質定量システムの開発と創薬・臨床研究への応用、神戸大学 GCOE 学術講演会、2012 年 4 月 20 日、神戸 19. 大槻純男: 質量分析によるタンパク質定量解析を応用した生命現象の再構築、基礎生物学研究所研究会「モデル生物・非モデル生物のプロテオミクスが拓く生物学」、2012 年 5 月 14-15 日、熊本 20. 大槻純男: 分子薬物動態学と質量分析の融合によるファーマコプロテオミクスへの展開、第二回薬剤学セミナー、2012 年 6 月 29 日、熊本

<p>21. 大槻純男:質量を利用してタンパク質の量を測る新技術と臨床診断への応用、第1回熊本医薬シンポジウム、2012年7月22日、熊本</p> <p>22. 大槻純男:定量とくすりからアプローチする疾患プロテオーム解析、北里疾患プロテオーム研究会、2012年8月23日、神奈川</p> <p>23. 大槻純男: 定量的標的プロテオミクスから切り拓くがん診断と個別化治療、臨床応用を目指した最前線セミナー、2012年9月28日、東京</p> <p>24. 大槻純男:質量分析を用いたタンパク質の特異的一斉定量的薬理学への応用、新薬理学セミナー2012、2012年11月24日、熊本</p> <p>25. 大槻純男:最新定量プロテオミクスの技術と将来展望:脳腫瘍を含めた癌に対する応用、第6回金沢脳腫瘍セミナー、2013年1月19日、金沢</p> <p>26. 大槻純男:診断イノベーションに挑戦する次世代定量プロテオミクス、熊本和光ライフサイエンスフォーラム、2013年2月22日、熊本</p> <p>27. 大槻純男:創薬と診断を加速する新しいタンパク質量定量技術、日本薬学会第133年会、2013年3月30日、横浜</p> <p>28. 大槻純男:定量的量的プロテオミクスの進化と診断への応用、浜松医科大学、2013年4月9日、浜松</p> <p>29. 大槻純男:質量分析による次世代タンパク質絶対定量:薬物動態と診断への応用、住友化学、2013年5月20日、大阪</p> <p>30. 大槻純男:メンブレンプロテオミクスの進歩と応用、第8回トランスポーター研究会年会、2013年6月15日、熊本</p> <p>31. 大槻純男:Quantitative analysis of transportosome biochemistry、第86会日本生化学会大会、2013年9月13日、横浜</p> <p>32. 大槻純男:質量分析を利用したタンパク質量によるタンパク質科学の新展開、第37回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム、2013年9月27日、雲仙</p> <p>33. 大槻純男:次世代定量プロテオミクスによるトランスポーター研究の新展開、第57回日本薬学会関東支部大会、2013年10月26日、東京</p> <p>34. 大槻純男:基礎と医療と薬をつなげるプロテオミクス、第7回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム、2013年11月23日、仙台</p> <p>企業主催講演会</p> <p>35. 大槻純男:定量的標的プロテオミクスによるファーマコプロテオミクスへの展開、三井情報バイオサイエンスセミナー、2011年11月28日、東京</p> <p>36. 大槻純男:定量的プロテオミクスを分子生物学のツールとして使うための限界と工夫、ABSCIEXタンパク質量定量セミナー、2012年2月9日、大阪</p> <p>37. 大槻純男:定量的プロテオミクスを分子生物学のツールとして使うための限界と工夫、ABSCIEXタンパク質量定量セミナー、2012年2月15日、東京</p> <p>38. 大槻純男:標的化からアプローチする生化学的プロテオミクス、ABSCIEXタンパク質発現解析セミナー、2012年8月28日、大阪</p> <p>39. 大槻純男:標的化からアプローチする生化学的プロテオミクス、ABSCIEXタンパク質発現解析セミナー、2012年8月30日、東京</p> <p>40. 大槻純男:進化するタンパク質量解析-MRM, MRMRHそしてSWATHへ、ABSCIEXタンパク質の網羅的定量解析セミナー、2013年7月17日、東京</p> <p>41. 大槻純男:進化するタンパク質量解析-MRM, MRMRHそしてSWATHへ、ABSCIEXタンパク質の網羅的定量解析セミナー、2013年7月19日、大阪</p> <p>一般向け 計5件</p> <p>1. 大槻純男:脳を守るしくみと脳を治す薬、宮崎北高校教育講座、2012年9月8日、宮崎</p> <p>2. 大槻純男:タンパク質から再定義する創薬戦略と個別化療法、平成24年度九州大学大学院薬学研究院公開講座、2012年9月23日、福岡</p> <p>3. 大槻純男:新技術を駆使したがん治療への挑戦、平成24年度熊本大学関西オフィスセミナー熊本大学から発信します「熊本発の創薬研究」、2013年1月12日、大阪</p> <p>4. 大槻純男:くすりとがんの闘い:がん克服に向けた最先端薬学研究、小林高校平成25年度</p>

	<p>大学出前講義、2013年6月22日、宮崎</p> <p>5. 大槻純男:タンパク質絶対発現量プロファイルを基盤とする次世代がん診断技術の創出、FIRST EXPO、2014年2月28日、東京</p>
<p>図書</p> <p>計4件</p>	<p>1. 大槻純男:中枢への薬物分布におけるトランスポーターの機能と役割、創薬研究のストラテジー(上)、日本薬理学会編、金芳堂、京都、169-176(2011)</p> <p>2. 内田康雄、大槻純男、大槻健、寺崎哲也:血液脳関門における薬物トランスポーターの役割、トランスポートソームの世界—膜輸送研究の源流から未来へ—、金井好克、竹島浩、森泰生、久保義弘編、京都廣川書店、東京、282-290(2011)</p> <p>3. 大槻健、久保義行、大槻純男、内田康雄、寺崎哲也:定量的トランスポーター解析のための質量分析による膜タンパク質絶対定量法、トランスポートソームの世界—膜輸送研究の源流から未来へ—、金井好克、竹島浩、森泰生、久保義弘編、京都廣川書店、東京、405-410(2011)</p> <p>4. 大槻純男:抗体に依存しない新しいタンパク質定量技術の個別化治療への応用、実験医学別冊、羊土社、東京、30:1049-1056(2012).</p>
<p>産業財産権 出願・取得 状況</p> <p>計8件</p>	<p>(取得済み)計3件</p> <p>1. 上家潤一、大槻純男、寺崎哲也、質量分析計を使った膜タンパク質の定量方法、Method of quantifying membrane protein by using mass spectrometer、韓国特許登録第10-1035213号、2011年5月11日</p> <p>2. 上家潤一、大槻純男、寺崎哲也、質量分析装置を用いた代謝酵素群の一斉タンパク質量に用いるペプチド、特許登録第5299956、2013年6月28日</p> <p>3. 大槻純男、上家潤一、寺崎哲也、質量分析装置を用いたタンパク質量のための評価用ペプチド、人工標準タンパク質、及びタンパク質の定量方法、特許登録第5317336号、2013年10月16日</p> <p>(出願中)計5件</p> <p>1. 大槻純男、寺崎哲也、質量分析における安定同位体標識標的ペプチド断片の作製方法、特願2011-161351、2011年7月22日</p> <p>2. 大槻純男、寺崎哲也、質量分析における安定同位体標識標的ペプチド断片の作製方法、PCT/JP2012/003965、2012年6月18日</p> <p>3. 大槻純男、寺崎哲也、個別化治療診断のためのマーカータンパク質絶対量の定量方法、PCT/JP2012/005637、2012年9月5日</p> <p>4. 大槻純男、寺崎哲也、質量分析における安定同位体標識標的ペプチド断片の作製方法、米国出願14/233,592、2014年1月17日、欧州出願12817205.3、2014年1月8日</p> <p>5. 大槻純男、質量分析におけるペプチドピークの同定・定量のためのデータベース作成方法、特願2013-147591、2013年7月16日</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://www.ohtsuki-lab.jp 熊本大学大学院生命科学研究部 微生物薬学分野</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>1.大槻純男、東北大学オープンキャンパスでの高校生への研究概要の紹介(ポスター掲示、説明者を配置し随時参加者に説明) 2011年7月27日、28日、参加者数 2,940名(2日間延べ人数)</p> <p>2.大槻純男、脳を守るしくみと脳を治す薬、宮崎北高校教育講座、2012年9月8日、宮崎、高校生60名</p> <p>3.大槻純男、タンパク質から再定義する創薬戦略と個別化療法、平成24年度九州大学大学院薬学研究院公開講座、2012年9月23日、福岡、薬剤師等110名</p> <p>4.大槻純男、新技術を駆使したがん治療への挑戦、平成24年度熊本大学関西オフィスセミナー熊本大学から発信します「熊本発の創薬研究」、2013年1月12日、大阪、参加人数28名</p> <p>5.大槻純男、効くくすりを決める新技術、熊本大学薬学部オープンキャンパス、2012年8月8日、高校生及び父兄865名(個別対応30名)</p>

様式21

	<p>6.大槻純男、効くくすりを決める新技術、熊本大学薬学部入試説明会、2012年8月4日、熊本、185名</p> <p>7. 大槻純男、くすりとがんの闘い：がん克服に向けた最先端薬学研究、小林高校平成25年度大学出前講義、2013年6月22日、宮崎、高校生 約20名</p> <p>8.伊藤慎悟,大槻純男:効くくすりを決める新技術、熊本大学薬学部オープンキャンパス、2013年8月10日、熊本、高校生及び父兄1,290名(個別対応60名)</p> <p>9.大槻純男、タンパク質絶対発現量プロファイルを基盤とする次世代がん診断技術の創出、FIRST EXPO、2014年2月28日、東京、期間中(2月28日~3月1日)来場者数約1,400名</p>
新聞・一般雑誌等掲載計3件	<p>1. 日刊工業新聞電子版「アルツハイマー病、Aβ消失に関与-熊大・東北大が解明」 http://www.nikkan.co.jp/news/nkx0720131007eaaa.html</p> <p>2. 熊本日日新聞「アルツハイマー病の原因物質、分解・排出の仕組み確認(26面)」2013年10月10日</p> <p>3. 毎日新聞「アルツハイマー病の原因物質、除去の仕組み解明(21面)」2013年10月18日</p>
その他	<p>テレビ報道 熊本県民テレビ テレビタミン、2013年10月4日</p>

7. その他特記事項

ありません。