

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10150

研究課題名(和文)大腸癌の新たなバイオマーカーによる癌予測診断と治療法の開発

研究課題名(英文)Development of cancer predictive diagnosis and therapy using new biomarker of colorectal cancer

研究代表者

飯沼 久恵 (Inuma, Hisae)

帝京大学・医学部・講師

研究者番号：30147102

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌のLiquid biopsyとして血中循環腫瘍細胞(CTC)、血漿エクソソーム内包microRNA、血漿cell free DNAのバイオマーカーとしての有用性を検討した。CTC、microRNAおよびcell-free DNAは、癌の再発および予後予測マーカーとして有用であった。CTCを次世代シーケンスで解析したところ、再発例のCTCに新たな遺伝子変異が確認された。microRNA-21とmicroRNA-Xは大腸癌の早期診断マーカーとして優れていた。cell free DNAの遺伝子変異はRECISTの結果と関連し、治療効果モニタリングマーカーとして有用であることが確認された。

研究成果の概要(英文)：In a liquid biopsy of colorectal cancer patients, the usefulness as a biomarker of circulating tumor cells (CTC), plasma exosome-encapsulating microRNA, plasma cell free DNA was examined. CTC, microRNA and cell-free DNA were useful as cancer recurrence and prognostic markers. Analysis of CTC with the next generation sequence revealed a new genetic mutation in CTC of the recurrent case. microRNA-21 (miR-21) and miR-X were excellent markers for early diagnosis of colorectal cancer. The gene mutation of cell free DNA was correlated with the results of RECIST, and it was confirmed that cell free DNA was able to predict treatment effect earlier than CT.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：Colon cancer Liquid biopsy CTC microRNA exosome cell-free DNA Biomarker

## 1. 研究開始当初の背景

大腸癌の予後を改善するためには、癌の早期診断、早期再発予測診断および治療効果を予測するバイオマーカーが重要である。Precision Medicine の考えに基づき、厳密な個別化治療をおこなうためには、治療効果を予測するバイオマーカーが重要である。現在、K-ras, N-ras 変異は、抗上皮成長因子受容体抗体の治療抵抗性予測因子として知られている。しかし、化学療法や放射線療法の治療効果および副作用予測因子として臨床応用可能なバイオマーカーは、これまでほとんど報告がない。

近年、がん患者の血液や体液を用いた Liquid biopsy が、腫瘍などの生体組織の一部を採取して行っていた biopsy と同等の性能を持ち、かつ患者への負担の少ない検査法として注目されている。この診断法は、腫瘍組織の生検が困難な患者でも、薬剤の有効性や治療方針を決める助けとなり得るだけでなく、同一患者から複数回の検査が必要な治療効果のモニタリングとしても有用である。これまで、Liquid biopsy として、血中循環腫瘍細胞 (Circulating tumor cell: CTC)、体液中の cell free DNA、体液中のエクソソームと内包された核酸 (microRNA, mRNA) などが検討され、その臨床的意義が明らかになりつつある。我々はこれまで、Liquid biopsy の先駆けとして CTC に注目し、CTC に癌幹細胞のマーカーを加えることにより、従来の一般的上皮系マーカーでは検出が困難であった症例の再発予測も可能であることを明らかにした (Iinuma H. JCO 2011, Oncol Report 2012)。また、CTC は癌幹細胞以外の様々な分子を発現し、より詳細なマーカーと成り得る可能性をもつが、大腸癌でこれらのマーカーの有用性を詳細に検討した報告はこれまでにない。さらに、血漿エクソソーム内包 microRNA は早期癌のマーカーとして期待されているが、大腸癌のステージ別に詳細に検討した報告はほとんどない。

## 2. 研究の目的

今回はまず、CTC の heterogeneity と薬剤耐性の問題がクローズアップされていることから、single cell レベルでの CTC のゲノム解析を行う。そのため、CTC を、癌幹細胞、EMT 細胞、上皮系細胞マーカーによる多重蛍光染色をおこない、染色パ

ターンごとに single cell をピックアップして次世代シーケンスでゲノム解析を行い、画像診断よりも早期の診断法可能なバイオマーカーの確立を目指す。このように、CTC を分子マーカーの発現によりプロファイリングし、薬剤耐性、および治療効果予測のバイオマーカーとしての有用性を検討した報告はこれまでにない。

さらに、Liquid biopsy の新たなバイオマーカーとして注目されている血漿エクソソーム内包 microRNA および血漿 cell free DNA を加え、大腸の早期癌および早期の転移・再発予測診断法としての有用性を検討する。特にこれまでに保存してある約 500 例の大腸癌サンプルを用いて、CTC、血漿エクソソーム内包 microRNA および血漿 cell free DNA を測定し、それぞれのマーカーの特色、利点および課題を明らかにする。特に、同一症例の癌組織と血液および血漿 (術前・術後) サンプルをペアで測定し、血漿 microRNA および cell free DNA が、癌組織由来か否かをより明らかにすることが可能である。このような、多数の同一症例で、これらの有望なマーカーを総合的に検討した報告はこれまでになく、貴重なデータが得られると期待される。

## 3. 研究の方法

(1) 大腸癌 CTC の heterogeneity と薬剤感受性との関連性を検討する。

固定保存されている大腸癌血液サンプル (約 500 例) を用い、CTC に発現している癌関連分子の多重蛍光染色を行い heterogeneity を数値化する。まず、血液サンプルを FITC 標識上皮系マーカー (AE1/AE3), TRITC または Texas Red 標識癌幹細胞マーカー (CD133, CD44, lgr5)、PerCP-Cy5.5 標識 EMT マーカーで多重蛍光染色する。次に共焦点イメージサイトメーターで、各マーカー陽性細胞の数を染色パターンごとに定量する。さらに、CTC 発現分子のパターンの変化と画像診断による大腸癌の薬剤耐性、治療効果、再発および予後との関連性を検討する。

(2) CTC の single cell の次世代シーケンスによる遺伝子解析を行う。化学療法剤 + 分子標的薬に効果が認められた症例とそうでない症例の患者血液から磁気ビーズを用いて CD45 陽性細胞を除去し、CTC を濃縮する。CTC を FITC 標識上皮系マーカー (AE1/AE3), TRITC または Texas Red 標識癌幹細胞マーカー (CD133, CD44,

Lgr5)、PerCP-Cy5.5 標識 EMT マーカーで多重染色する。CTC を single cell レベルでピックアップし、採取した CTC から DNA を抽出し、Single Cell WGA Kit を用いて増幅する。CTC から RNA を抽出して、SMART 法で増幅する。次世代シーケンサー (IonPGM: Invitrogen) を用いて遺伝子解析をおこなう。heterogeneity を示す CTC のゲノムによるプロファイリングを行う。

**(3)** 血漿エクソソーム内包 miRNA の、早期診断・再発予測診断・治療効果予測診断マーカーとしての有用性を検証する。

大腸癌血漿サンプルを超遠心で分離し (15000g 70 分)、エクソソームを回収する。健康人血漿サンプルから同様にエクソソームを分離する。miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen) で total RNA を抽出する。microRNA 3D-Gene (東レ) アレイを用いた比較検討により、大腸癌の転移・再発に関連した microRNA を抽出する。大腸癌約 500 症例を対象に、Taqman microRNA-PCR 法で、選択した microRNA のバイオマーカーとしての有用性を検証する。

**(4)** 大腸癌血漿 cell free DNA の、早期診断・再発予測診断・治療効果予測診断マーカーとしての有用性を検証する。

大腸癌の組織より DNA を抽出し、次世代シーケンサー (IonPGM: Invitrogen) を用いて、Oncogenic な遺伝子変異を明らかにする。同一症例の血漿から、cell free DNA を抽出し、大腸癌組織と同じ遺伝子変異があるか、デジタル PCR で測定する。

(4.) 同一症例での血中 CTC、血漿エクソソーム microRNA、血漿 cell free DNA の結果の比較検討を行う。これまで測定した、同一症例の血中 CTC、血漿エクソソーム内包 microRNA、血漿 cell free DNA の結果と、再発・予後・薬剤治療効果の結果を比較検討し、それぞれの測定法の特徴、利点、課題などを明らかにする。

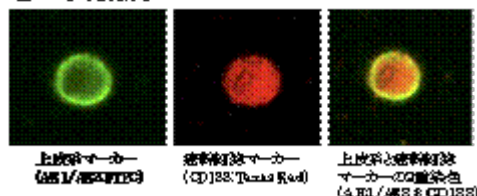
#### 4. 研究成果

我々はまず、CTC の heterogeneity が癌の進展や薬剤治療効果に影響する可能性が危惧されていることから、CTC の発現分子を多重蛍光染色で解析し、次に CTC の single cell を採取してその遺伝子変異の特徴を次世代シーケンサーで明らかにした。

##### (1) CTC 発現分子の解析

大腸癌血液サンプルの CTC に蛍光多重染色を行い、イメージサイトメーターでその数を測定し、癌の進行度との関連性を検討した。用いた抗体は、FITC 標識上皮系マーカー (AE1/AE3) と腫瘍マーカー (CEA), Texas Red 標識癌幹細胞マーカー (CD133, CD44)、PerCP-Cy5.5 標識 EMT マーカー (PLS-3, Vimentin) である。図 1 にその一例を示す。

図1 CTC発現分子



大腸癌の病期ごとにその違いを検討したところ、癌の進行に伴い、癌幹細胞分子を発現した CTC (CEA+CD133+CTC および CK+CD44+CTC) および EMT 関連分子を発現した CTC (CEA+ PLS3+CTC および CK+CD44+ Vimentin+ CTC) の割合が増加した。特に stage IV におけるこれらの分子を発現した CTC の数は、stage I, II に比べて有意に高い値を示した。

##### (2) CTC の遺伝子変異の解析

同一症例の大腸癌原発部組織と CTC の遺伝子解析を、次世代シーケンサーを用いておこなった。CTC のシングルセルは誘電泳動マイクロウエルアレイシステムで採取した。原発部癌組織と CTC の DNA 変異の比較したところ、約 7 割の遺伝子変異が共通していた。大腸癌の進行により、CTC に悪性度の高い分子の発現が確認された。再発症例の CTC では、原発巣にない新たな遺伝子変異が確認された。これらの結果から、癌病態のリアルタイムな変化を確認し厳密な個別化治療をおこなうために、CTC の臨床的有用性は高いと考えられた。

**(3)** 血漿エクソソーム内包 microRNA の大腸癌早期診断、再発予測診断および予後予測診断マーカーとしての有用性の検討。

血漿エクソソーム内包 microRNA に注目し、大腸癌早期診断、再発予測診断および予後予測診断マーカーとしての有用性を検討した。血漿エクソソームは超遠心法で分離し、RNA は miRNeasy Serum/Plasma Kit を用いて抽出した。microRNA の測定は、TaqMan microRNA assay で行ない、外部標準として

Cel-miR-39、内部標準に miR-16 を用いた。microRNA のプロファイリングは miRNA Array で検討した。まず、大腸癌の再発症例に特異的な microRNA を明らかにするため、大腸癌再発症例、治癒切除症例、健常人の血漿エクソソームの miRNA 発現パターンを miRNA アレイを用いて比較検討した。その結果、再発群の血漿で高発現を認めた microRNA-21(miR-21)および microRNA-X(miR-X)に注目し、早期診断および再発予測診断としての有用性を、大腸癌 326 例を対象に癌の病期別に明らかにした。血漿エクソソーム miR-21 および miR-X は、大腸癌の進行により有意に上昇した。さらに、腫瘍組織と血漿エクソソーム microRNA 発現の間に有意な正の相関を認めた。病理因子との関連において、血漿エクソソーム miR-21 および miR-X は肝転移および病理病期と有意な関連性を示した。Kaplan-Meier 生存曲線解析において、血漿エクソソーム miR-21 および miR-X 高発現群の全生存率および無再発生存率は、低発現群に比較し有意に低下した(図 2)。Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析において、エクソソーム miR-21 および miR-X は全生存および無再発生存に対して有意差を示した。

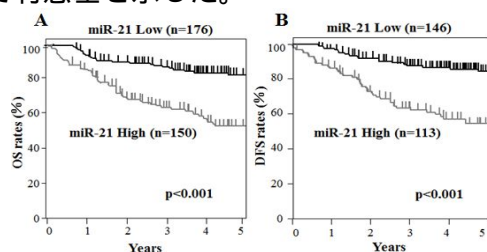


図2 miR-21の発現と全生存率(A)と無再発生存率(B)

Kaplan-Meier 法による生存曲線を、大腸癌の病期別に解析したところ、TNM stage II および III において、エクソソーム miR-21 および miR-X 高値群は低値群に比べ、全生存率および無再発生存率が有意に低かった。TNM stage IV も、エクソソーム miR-21 および miR-X 高値群は低値群に比べ全生存率が有意に低かった。病期別に Cox 多変量解析を行ったところ、大腸癌 stage II, III および IV において、血漿エクソソーム miR-21 および miR-X は、全生存または無再発生存に対して有意差を示し、独立した予後因子であることが明らかとなった。これらの結果から、大腸癌患者における血漿エクソソーム内包 miR-21 および miR-X の値は、原発部およ

び転移部腫瘍組織の発現を反映しており、大腸癌の早期診断、再発および予後予測診断のバイオマーカーとして有用であることが明らかとなった。特にこれらのマーカーは、TNM stage II の補助化学療法選択の指標として臨床的意義が大きいと考えられた。

**(4) 血漿エクソソーム内包 microRNA の化学療法と分子標的薬の治療効果モニタリングマーカーとしての有用性の検討。**

まず、大腸癌の化学療法と分子標的薬投与症例における、血漿エクソソーム microRNA(miR-21, miR-Y)の治療効果モニタリングマーカーとしての有用性を経時的に検討した。薬剤投与前と投与後3か月ごとに採血してこれらの microRNA を測定し、CT による画像診断の結果と比較検討した。その結果、miR-21 および miR-Y の値は、RECIST 判定 CR, PR, SD 例に比べて、PD 例で高値を示した。さらに、CT よりも早い段階で癌の再発予測が可能であった。

**(5) 血漿 cell free DNA の化学療法と分子標的薬の治療効果モニタリングマーカーとしての有用性の検討**

大腸癌の化学療法と分子標的薬投与症例における、cell free DNA の治療効果モニタリングマーカーとしての有用性を検討した。まず、大腸癌 30 例の原発部腫瘍組織の遺伝子変異を次世代シーケンスで解析し、遺伝子変異部位を特定した。これらの症例で高頻度に変異が認められた遺伝子は、TP53、KRAS、APC、BRAF などであった。次に、同一症例の血漿サンプルで、腫瘍組織と同じ遺伝子変異を示す cell free DNA をデジタル PCR で測定した。その結果、腫瘍組織と同じ遺伝子変異を持つ cell free DNA が、7 割の症例に確認された。cell free DNA の検出率は、癌の進行度とともに上昇した。cell free DNA は体内の腫瘍量と密接な関連性を示した。末梢血中の cell free DNA 検出率と化学療法剤による治療効果の関係を検討したところ、RECIST 判定 CR, PR, SD 例は、PD 例に比べて遺伝子変異の検出率は低かった。PD 症例に原発巣にない遺伝子変異が確認された。血漿 cell-free DNA による遺伝子変異の検出は CT による画像解析の結果と強い関連性を認め、治療効果のモニタリングマーカーとして有用であることが示唆された。



## (6) 結語

大腸癌を対象に liquid biopsy として、CTC、エクソソーム micro-RNA および cell-free DNA の、バイオマーカーとしての有用性とそれぞれの特色を検討した。CTC と cell-free DNA は、再発予測および癌病態のリアルタイムな変化を確認し厳密な個別化治療をおこなうために、microRNA は特に早期癌と早期再発予測マーカーとして有用性は高いと考えられた。

### 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57件)一部記載

1. Matsumura T, Sugimachi K, Iinuma H, (他3名). Exosomal microRNA in serum is a novel biomarker of recurrence in human colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2015 Jul 14;113(2):275-81. doi:10.1038/bjc.2015.201. 査読有
2. Dejima H, Iinuma H, (他4名) A case of invasive Langerhans cell histiocytosis localizing only in the lung and diagnosed as pneumothorax in an adolescent female. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Mar 1;8(3):3354-7. eCollection 2015. 査読有
3. Fukushima Y, Iinuma H, Hashiguchi Y. Clinical significance of mmicroRNA-21 as a biomarker in each Dukes' stage of colorectal cancer. *Oncol Rep*. 2015 Feb;33(2):573-82. doi:10.3892/or.2014.3614. 査読有
4. Uchi R, Takahashi Y, Iinuma H (他3名). Integrated Multiregional Analysis Proposing a New Model of Colorectal Cancer Evolution. *PLoS Genet*. 2015;18:e1005778. doi:10.1371/journal.pgen.1005778. 査読有
5. Keiji Matsuda, Hisae Iinuma, Yojiro Hashiguchi. Laparoscopic-Assisted Surgery for Malignant Fibrous Histiocytoma Originating from the Descending Colon: A Case Report and Literature Review. *Int. J of Cancer and Clinical Research*. 2015;2:2-3. 査読有
6. Uchi R, Takahashi Y, Iinuma H (他7名). Integrated Multiregional Analysis Proposing a New Model of Colorectal Cancer Evolution. *PLoS Genet*. 2016;12:1-24. doi:10.1371/journal.pgen.1005778. 査読有
7. Matsutani N, Dejima H, Takahashi Y, Uehara H, Iinuma H (他2名). Birt-Hogg-Dube syndrome accompanied by pulmonary arteriovenous malformation. *J Thorac Dis*. 2016;8:1187-1189. 査読有
8. Iinuma H, (他3名). Anti-PD-1 Antibody Drugs - Potential of Plasma PD-L1 Protein as a Biomarker. *Gan To Kagaku Ryoho*. 2016;43:1030-1035. 査読有
9. Dejima H, Iinuma H, (他3名). Exosomal microRNA in plasma as a non-invasive

- biomarker for the recurrence of non-small cell lung cancer. *Oncol Lett*. 2017;13:1256-1263. doi:10.3892/ol.2017.5569. 査読有
10. Tsukamoto M, Iinuma H, Hashiguchi Y. Circulating Exosomal MicroRNA-21 as a Biomarker in Each Tumor Stage of Colorectal Cancer. *Oncology*. 2017;92:360-370. doi: 10.1159/000463387. 査読有
  11. Matsutani N, H, Iinuma H (他3名). Pericardial Conduit for Pulmonary Artery Reconstruction by Surgical Stapling. *Ann Thorac Surg*. 2017;103:469-471. doi: 10.1016/j.athoracsur.2016.11.073. 査読有
  12. Sakai T, Matsutani N, Iinuma H (他3名). Efficacy of a sheet combined with fibrin glue in repair of pleural defect at the early phase after lung surgery in a canine model. *General thoracic and cardiovascular surgery*. 2017;66:103-105. doi: 10.3892/or.2018.6418. 査読有
  13. Takano Y, Masuda T, Iinuma H (他13名), Circulating exosomal microRNA-203 is associated with metastasis possibly via inducing tumor-associated macrophages in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017;8:78598-78613. doi:10.18632/oncotarget.20009. 査読有
  14. Matsutani N, Dejima H, Iinuma H (他6名). Impact of pregabalin on early phase post-thoracotomy pain compared with epidural analgesia. *J thoracic disease*. 2017;9:3766-3773. doi:10.21037/jtd.2017.09.78. 査読有
  15. Matsutani N, Sawabata N, Iinuma H (他7名). Does lung cancer surgery cause circulating tumor cells?-A multicenter, prospective study. *Journal of thoracic disease*. 2017;9:2419-2426. doi:10.21037/jtd.2017.07.33. 査読有
  16. Matsutani N, Iinuma H (他5名). Pericardial Conduit for Pulmonary Artery Reconstruction by Surgical Stapling. *The Annals of thoracic surgery*. 2017;103:469-471. doi:10.1016/j.athoracsur.2016.11.073. 査読有
  17. Uchi R, Takahashi Y, Iinuma H, Mimori K et al. Correction: Integrated Multiregional Analysis Proposing a New Model of Colorectal Cancer Evolution. *PLoS genetics*. 2017;13:e1006798. doi:10.1371/journal.pgen.1006798. 査読有
  18. Matsuda K, Iinuma H, Hashiguchi Y. Case Report of a Clinically Complete Response in a Rectal Cancer Patient after Chemoradiotherapy with a 2-year Watch and Wait Approach. *J Jap Col of Surg*. 2017;42:835-840. 査読有
  19. Matsuda K, Iinuma H, Sasajima Y, Kondo F, Fujii S, Hashiguchi Y. Alteration of tumor markers may predict survival in colorectal cancer. *Biomed Res Clin Prac*. 2017;2:1-5. doi:10.15761/BRCP.1000136. 査読有
  20. Yaguchi Y, Iinuma H (他5名). Clinical Significance of Area of Psoas Major Muscle on Computed Tomography after Gastrectomy in Gastric Cancer Patients. *Annals of nutrition &*

metabolism. 2017;71:145-149. doi: 10.1159/000480520.査読有

21. Takahashi K, Iinuma H, (他8名). Usefulness of exosome-encapsulated microRNA-451a as a minimally invasive biomarker for prediction of recurrence and prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma. Journal of hepato-biliary-pancreatic sciences. 2018;25:155-161. doi:10.1002/jhbp.524.査読有

22. Kanaoka R, Iinuma H, (他5名). Usefulness of Plasma Exosomal microRNA-451a as a Non-invasive Biomarker for Early Predictor of Recurrence and Prognosis of Non-Small Cell Lung Cancer. Oncology. 2018;94:311-323. doi:10.1159/000487006.査読有

23. Kumata Y, Iinuma H (他8名). Exosome-encapsulated microRNA-23b as minimally invasive liquid biomarker for prediction of recurrence and prognosis in each tumor stage of gastric cancer. Oncology Report. 2018;40:319-330. doi:10.3892/or.2018.6418.査読有

24. Yoshikawa M, Iinuma H(他4名). Exosome-encapsulated microRNA-223-3p as minimally invasive biomarker for early detection of invasive breast cancer. Oncol. Lett. 2018;15:9584-9592. doi:10.3892/ol.2018.8457.査読有

〔学会発表〕(計111件)一部記載

1. Junko Tamura, Hisae Iinuma, Yojiro Hashiguchi(他13名). Clinical impact and molecular characteristics of circulating tumor cells (CTCs) in patients with colorectal cancer. 74th Annual Meeting the Japanese Cancer Association. 2015年10月08日(名古屋)

2. Hisae Iinuma, Yojiro Hashiguchi (他13名). Clinical impact of plasma exosomal microRNA-21 as a biomarker in each stage of colorectal cancer Patients. 74th Annual Meeting the Japanese Cancer Association. 2015年10月08日(名古屋)

3. Hisae Iinuma (他7名). Plasma PD-L1 and PD-L2 proteins as possible new biomarkers in non-small cell lung cancer patients. 第75回日本癌学会学術総会。2016年10月06日(横浜)

4. Junko Tamura, Hisae Iinuma (他6名). Exosomal microRNA in plasma as non-invasive biomarkers for recurrence of nonsmall-cell lung cancer. 第75回日本癌学会学術総会。2016年10月06日(横浜)

5. 飯沼久恵 (他7名). 肺癌症例における血漿PD-L1およびPD-L2蛋白のバイオマーカーとしての可能性。第54回日本癌治療学会学術集会。2016年10月20日(横浜)

6. 飯沼久恵 (他9名). 非小細胞肺癌における新規再発予測マーカーとしての血漿エクソソーム内包PD-L1 mRNAの有用性。76th Annual Meeting the Japanese Cancer Association。2017年9月28日(横浜)

7. 田村 純子、飯沼久恵、橋口陽二郎。(他9名).大腸癌の各病期における血漿エクソソ

ームmicroRNAのバイオマーカーとしての有用性。76th Annual Meeting the Jap. Cancer Association。2017年9月28日(横浜)

8. 飯沼久恵、(他11名).Clinical Significance of Circulating Exosomal microRNA as a Biomarker in Each Tumor Stage of Colorectal Cancer. 55th Annual Meeting the Jap.Society of Clinical Oncology。2017年10月20日(横浜)

9. 金岡 里枝、飯沼久恵(他8名)。非小細胞肺癌における血漿エクソソーム内包microRNA のバイオマーカーとしての有用性。第58回日本肺癌学会学術集会。2017年10月14日(横浜)

10. 飯沼久恵、橋口陽二郎 (他10名)。Clinical Significance of Circulating Exosomal microRNA as a Biomarker in Each Tumor Stage of Colorectal Cancer. 55th Annual Meeting the Japanese Society of Clinical Oncology。2017年10月20日(横浜)

11. 飯沼久恵 (他8名)。非小細胞肺癌症例血漿エクソソーム内包PDL-1mRNA のバイオマーカーとしての可能性。第30回日本バイオセラピー学会。2017年11月30日(岐阜)

〔図書〕 計2件

1. 橋口陽二郎、松田 圭二。日本医事新報社。1336専門家による私の治療 2017-18年度版。2017年。1734。

2. 橋口陽二郎。医学書院。今日の治療指針 私はこう治療している TODAY'S THERAPY 2018。

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称:MLH1 メチル化群判定用マーカー及び判定方法

発明者:飯沼久恵、河津正人、山本陽子、間野博行、佐藤一仁

権利者:同左

種類:特許

番号:特願 2018-019481

出願年月日:2018年

国内外の別:国内

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

飯沼久恵 (IINUMA, Hisae)

帝京大学・医学部・講師

研究者番号: 30147102

(2)研究分担者

橋口陽二郎 (HASHIGUCHI, Yojiro)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号: 60251253

(3)連携研究者( )

(4)研究協力者( )