

令和元年6月17日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10515

研究課題名(和文) H.pylori感染が誘導する脱メチル化異常と染色体不安定性

研究課題名(英文) Demethylation alteration induced by H. Pylori infection and its relation to chromosomal instability

研究代表者

斉藤 正昭 (SAITO, Masaaki)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：00382911

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、DNAメチル化異常によりセントロメア領域の反復配列であるSatAが過剰発現し、特定の染色体を標的として数的異常が生じる事を明らかにした。この変化は特に多発癌の背景粘膜で高値を示すことから、SatAは潜在的な癌の発生母地(field defect)を反映すると考えられる。本研究ではSatAのDNA脱メチル化異常に注目し、胃癌の多発発生への関与を検討した。SatAの脱メチル化レベルは、単発胃癌に比べ多発胃癌と有意に高く( $P<0.001$ )、多発胃癌の存在を予測する独立因子であった( $P=0.008$ )。SatAはfield defectを介して胃がんの多発発生に関わっていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によってセントロメア領域の脱メチル化異常による発癌の機序として、Satellite transcriptの転写が亢進し、RNAi機構やセントロメア蛋白の発現が助長され、染色体不安定性が誘導される事が考えられた。この経路にはp53蛋白の変異は関与しておらず、古典的な分化型胃癌の発癌過程とは異なるSatelliteの脱メチル化を介する新たな発癌経路の発見の糸口となる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：We previously reported that overexpression of satellite alpha transcript (SAT) facilitates chromosomal instability, which is involved in the development of multiple tumors in patients with colorectal. The centromere consists of satellite alpha repetitive sequences, which are ideal targets for DNA hypomethylation, resulting in the overexpression of SAT. In this study, we elucidated the significance of DNA demethylation of SAT in the development of multiple tumors in patients with gastric cancer. Relative demethylation level of SAT was calculated from 103 gastric patients. Patients with multiple gastric cancer ( $n=20$ ) showed higher demethylation levels than those in patients with single cancer ( $n=83$ ,  $P<0.001$ ). Additionally, multivariate analysis revealed that the demethylation level of SAT was a significant factor for predicting multiple gastric cancer ( $P=0.008$ ). Our data indicated that DNA demethylation of SAT was involved in the development of multiple gastric cancer.

研究分野：腫瘍外科学

キーワード：セントロメア 脱メチル化異常 染色体不安定性 Satellite RNA

## 1. 研究開始当初の背景

胃の発癌過程において、胃の粘膜は特徴的な変化を示す。すなわち慢性表在性胃炎、萎縮性胃炎、腸上皮化生と段階的に形態的な変化を呈し、その過程において複数の遺伝子異常や遺伝子修飾異常が漸次、蓄積されている。遺伝子異常は癌組織で多く認められるものの、非癌部組織で観察される事は少ないが、遺伝子修飾異常は癌組織だけではなく非癌部組織でも広く観察されるため、発癌過程の変化を捉えるのに有効であると考えられる。特に慢性肝炎、潰瘍性大腸炎そして HP 感染性慢性胃炎等の慢性炎症性疾患では、この遺伝子修飾異常 (DNA メチル化異常) が腫瘍抑制遺伝子の転写活性を抑制する事により発癌に関与していると報告されている。

DNA メチル化異常は局所のメチル化異常と遺伝子全域に渡る脱メチル化異常に分類される。局所のメチル化異常は、主として癌抑制遺伝子プロモーター領域における CpG island の過剰メチル化で、癌抑制遺伝子の転写不活化に関与している。一方、遺伝子全域に渡る脱メチル化異常は、ゲノム全体の 5-メチルシトシンの含有量の低下と定義され、多くの癌で同定されたもう一つの後天的な変化である。我々は脱メチル化異常に注目し、これまで胃、大腸癌組織のメチル化異常を遺伝子全域に渡り網羅的に検索し、年齢依存的に引き起こされるゲノム中のシトシンのメチル化の低下 (脱メチル化) が、染色体不安定性と相関する事を報告した。さらに我々は、DNA メチル化異常によりセントロメア領域の反復配列である **Satellite α transcript** が過剰発現し、特定の染色体を標的として数的異常が生じる事を明らかにした。この変化は特に多発癌の背景粘膜で高値を示すことから、**SatA** は潜在的な癌の発生母地 (field defect) を反映すると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では、HP 感染性慢性胃炎の発癌に関与するメカニズムの 1 つとして、HP 感染性胃粘膜に蓄積する脱メチル化異常、特に染色体分配到重要な役割を演じているセントロメア領域の DNA 脱メチル化異常に注目した。セントロメア領域は、縦列型反復配列である **Satellite α** 配列より構成され、正常では強固にメチル化し、ヘテロクロマチン構造を維持する事により染色体の均等分配を司る。ある種の癌ではセントロメア蛋白 (CENP) の過剰発現が報告されており、そのようなセントロメア領域の機能欠損が染色体の不安定化につながり、染色体分配異常から癌化の原因となる可能性が示唆されている。近年、この **Satellite α** 配列の transcript の転写亢進により、染色体不安定性が惹起される事を示唆する報告がなされた。しかし、胃癌の発癌過程において、DNA 脱メチル化異常に関与するセントロメア領域の制御破綻を検討した報告はない。そこで本研究では、胃粘膜のセントロメア領域の **Satellite α** 配列の脱メチル化異常を、HP 陰性患者、HP 陽性患者、そして担癌患者の背景粘膜で比較し、セントロメア領域の DNA 脱メチル化異常が HP 感染を介した発癌過程に与える影響を調べ、胃癌発症の危険性の評価を行った。また、セントロメア領域の DNA 脱メチル化異常が、胃癌の発癌過程で染色体不安定性を引き起こす機序を検討した。また、**Satellite α** 配列の脱メチル化異常は特に多発癌の背景粘膜で高値を示すことから、潜在的な癌の発生母地 (field defect) を反映すると考えられる。本研究では **Satellite α** 配列の DNA 脱メチル化異常に注目し、胃癌の多発発生への関与を検討した。

## 3. 研究の方法

### 臨床検体

2001年5月から2010年12月までの間に自治医科大学附属さいたま医療センターで胃切除術を施行された症例のうち、103例の胃癌症例 (若年癌を除く) を対象とした。研究目的などの研究内容の概略、組織採取による合併症などについて書面および口頭で対象者に対して説明を行い、研究に関する同意を書面で得た。本研究は自治医科大学遺伝子解析倫理委員会において承諾を得た (遺 07-13)。

### 細胞株

2種類の胃癌細胞株 (AGS, HGC27) を用いて研究に使用した。AGS は ATCC (Manassas, Virginia, USA)、HGC27 は理研 (筑波、日本) の細胞バンクより購入した。

### 5-Aza-2'-deoxycytidine による脱メチル化条件下での細胞培養

5-Aza-2'-deoxycytidine (5-Aza-dC) は、濃度依存的にゲノム DNA の脱メチル化を引き起こすシチジン類縁体の DNA メチル化阻害剤の一つである。細胞株を脱メチル化条件にするために以下の方法で細胞培養を行った。day0 に 6cm ディッシュに細胞を  $1 \times 10^5$  個蒔く。その後 day2, day5 に培地交換し 5-Aza-dC を  $1 \mu\text{M}$  ずつ添加した。day6 に細胞をセルスクレイパーで採取し、前述及び後述の方法で DNA, RNA をそれぞれ採取した。

### Total RNA 抽出と cDNA 変換方法

RNAlater に浸漬された  $-80^\circ\text{C}$  凍結標本を氷上で緩徐に融解した。Illustra RNAspin Mini Kit (GEヘルスケア社) を用い、total RNA を抽出した。Bioanalyzer (Agilent technologies 社) を用いて RNA Integrity Number (RIN 値) を算出し、RIN 値が 6 以上の検体を検討に用いた。その後速

やかに High Capacity RNA to cDNA kit (Applied biosystems 社)を用いて標準プロトコル通りに cDNA を合成した。反応条件は、2X RT Buffer 10 $\mu$ l, 20X RT Enzyme Mix 1 $\mu$ l, total RNA(1 $\mu$ g) 9 $\mu$ l 計 20 $\mu$ l の系で行った。逆転写反応温度は、37 $^{\circ}$ C 60 分間、その後 95 $^{\circ}$ C 30 秒間で行った。

#### Reverse Transcription- polymerase chain reaction (RT-PCR)法での Satellite Transcripts および CENPA mRNA 発現レベル解析

CENPA の mRNA レベルでの発現を解析するために、TaqMan RT-PCR 法を行った。反応条件は、1 反応あたり cDNA Template(50ng) 9 $\mu$ l, 20X TaqMan Gene Expression Assays(Applied biosystems 社) 1 $\mu$ l, 2X TaqMan Gene Expression Master Mix(Applied biosystems 社) 10 $\mu$ l の合計 20 $\mu$ l の系で行った。反応温度は最初の変性ステップとして 95 $^{\circ}$ C 10 分間行い、その後 95 $^{\circ}$ C 15 秒, 60 $^{\circ}$ C 1 分間を 40 サイクル行った。内在性コントロールとして Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)を用いた。

Satellite $\alpha$  Transcripts の発現解析は過去の報告の通り SYBR RT-PCR 法を用いて行った(20)。反応条件は、1 反応あたり SYBR $^{\circ}$  Premix Ex Taq (2 $\times$ ) 12.5 $\mu$ l, PCR Forward Primer (10 $\mu$ M) 0.5 $\mu$ l, PCR Reverse Primer (10 $\mu$ M) 0.5 $\mu$ l, template (50 ng) 2 $\mu$ l, Nuclease Free Water 9.5 $\mu$ l 計 25 $\mu$ l 系で PCR 反応を行った。反応温度は 95 $^{\circ}$ C 30 秒の初期変性の後、95 $^{\circ}$ C 5 秒、60 $^{\circ}$ C 34 秒で 40 サイクル繰り返し反応を行った。下にプライマー配列を示す。

[Satellite $\alpha$  Transcripts]

Forward primer: AAGGTCAATGGCAGAAAAGAA

Reverse primer: CAACGAAGGCCACAAGATGTC

#### 組織免疫染色法

胃癌組織、およびその周辺正常胃粘膜における種々の蛋白発現の有無を調査するために組織免疫染色を行った。パラフィン包埋されていた胃切除病理検体を当センター病理部技師の協力の下、スライド上に 0.5 $\mu$ m 厚切片を作成していただいた。まず初めにスライドを、56~60 $^{\circ}$ C のオーブン中で 15 分間静置させた後、脱パラフィンをを行い、組織を露出させた。抗原性賦活化を抗原回復液 (10mM クエン酸ナトリウム緩衝液 pH6.0 または Tris-EDTA 緩衝液 pH9.0) の入ったガラス製染瓶に置き、電気ポット法で 98 $^{\circ}$ C 30 分熱処理を行った。次に、内因性ペルオキシダーゼ除去を、3%過酸化水素水/メタノール混合溶液の入ったガラス製染瓶に置き、室温で 15 分反応させた。バックグラウンド染色を低減させるため 5%BSA で 10 分間サンプルを前処理した。一次抗体反応 (抗 CENP-A 抗体 (ab13939, Abcam 社 1:100), 室温 2 時間、抗 P53 抗体 (D0-7, DAKO 社 希釈済み) 室温 10 分間) を行った。

二次抗体反応は、スライド上の余分な水分を拭き取り、抗マウス、ウサギ標準二次抗体シンプルステイン MAX-PO (ニチレイバイヨサイエンス社) を順次滴下した。発色は、CENPA 解析では DAB 基質キット (DAKO 社) を用いて 10 分間発色を行い、マイヤーヘマトキシリン液で対比染色した後、脱水透徹処理を行いマリノールで封入した。p53 解析には AEC 基質キット (DAKO 社) を用いて 10 分間発色を行い、マイヤーヘマトキシリン液で対比染色した後、水溶性永久封入剤で封入した。CENPA, p53 とともに、強い核の陽性染色がある癌細胞が、10%を超えて存在する場合を陽性と定義した。

#### 細胞免疫染色法

60mm シャーレ内にカバーガラスを敷いた状態で細胞培養し培地をアスピレートした後、4%パラホルムアルデヒド溶液を 1ml 添加し固定した。透過処理として、室温で 15 分間インキュベーションした後、PBS-G(10mM Glycine, PBS pH 7.2) で 3 回洗浄、0.1%Triton-X100 溶液を 1ml 添加した。室温で 5 分間インキュベーションし、PBS-G で 3 回洗浄した。ブロッキングとして、10% NGS (正常ヤギ血清) 溶液を 1ml 添加した。室温で 30 分間インキュベーションした後、PBS-G で 1 回洗浄した。1 次抗体反応 (抗 CENP-A 抗体 (ab13939, Abcam 社 1:100), 室温 2 時間) を行った。モイストチャンバー内において室温で 2 時間インキュベーションした。次に、2 次抗体溶液 (抗ウサギ蛍光 2 次 (Alexa Fluor 488, Life Technologies, USA) を添加し、モイストチャンバー内において、室温で 2 時間インキュベーションした後、NGS-PBS で 3 回洗浄した。スライドガラスへ封入剤 (ProLong $^{\circ}$  Gold antifade reagents, Molecular Probe 社) を 1 滴滴下し、水分を拭き取ったカバーガラスをマウントした。

## 4. 研究成果

### (1) 臨床検体での解析

単発胃癌症例 83 例 (GS 群) と同時性多発胃癌症例 20 例 (GM 群) の 2 群に分類し検討を行った。切除検体の腫瘍近傍の非癌部粘膜を採取し DNA を抽出した。DNA は Bisulfite 処理を行い、定量的メチル化特異的 PCR 法である MethyLight 法を用いて反復配列 (Sat $\alpha$ ) の相対的脱メチル化レベル (RDL) を算出した。Sat $\alpha$  配列において GM 群の方が、有意に RDL が高かった (P<0.001)。年齢と Satellite $\alpha$  RDL が逆相関する傾向が見られる一方で、TP53 発現型別では TP53 野生型で Sat $\alpha$  RDL と年齢とに正相関が認められた (P=0.003)。ROC 曲線では RDL カットオフ値を 0.55 とした場合、多発胃癌予測能の感度 86%、特異度 61%、AUC 0.757 であった。Sat $\alpha$  RDL の独

立性を多変量解析で評価したところ、年齢、Diffuse type 胃癌、そして Sat  $\alpha$  RDL が多発性胃癌の存在を予測する独立因子である事が分かった。(年齢オッズ比= 1.080、P = 0.008、Intestinal type オッズ比=9.321、P=0.001、Satellite  $\alpha$  RDL オッズ比= 5.690、P=0.008)。

## (2) 胃癌組織、背景正常胃粘膜における CENPA 発現解析

CENPA とは、染色体のセントロメアに特異的なヘテロクロマチン構造を構成するためのタンパク質で、通常のヌクレオソームを形成するヒストン H3 のバリエーションである。ある種の癌では CENP-A を含めたセントロメア蛋白の過剰発現が報告されており、セントロメア領域の機能欠損が染色体の不安定化につながり、染色体分配異常から癌化の原因となる可能性が示唆されている。そこで胃癌の癌組織及び背景粘膜での CENP-A 蛋白の発現を、免疫組織化学染色で確認した。単発胃癌症例 83 例のうち、CENPA 発現を認めた症例は 49 例であった。CENPA はその発現がみられる症例では、胃癌細胞での核で発現していた。CENPA 発現群 (CENP(+)) は、有意に占拠部位が L 領域に多く (P=0.042)、また高 Satellite  $\alpha$  RDL 群が多かった (P=0.023) (表)。

表 CENPA 発現有無別に於ける臨床病理学的特徴

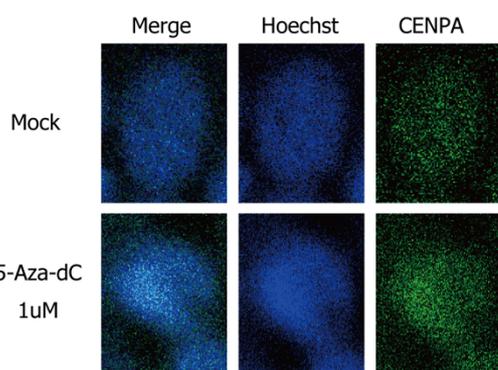
Parameter	CENPA (-) (n= 28)	CENPA (+) (n= 49)	P value
Mean age ( $\pm$ SD)	65 $\pm$ 10	66 $\pm$ 11	0.703
Sex (Male / Female)	24 / 4	34 / 15	0.112
Diff (Intestinal / Diffuse)	21 / 7	26 / 23	0.358
Depth (T1/T2/T3/T4)	3 / 11 / 12 / 2	9 / 22 / 18 / 0	0.151
Location (U/M/L)	10 / 8 / 10	10 / 9 / 30	<b>0.037*</b>
LN meta (Negative / Positive)	6 / 22	13 / 36	0.936
ly (0/1/2/3)	5 / 6 / 13 / 4	4 / 18 / 19 / 8	0.924
v (0/1/2/3)	4 / 8 / 10 / 6	9 / 17 / 14 / 9	0.447
K- ras (Wild-type / Mutant)	1 / 27	1 / 48	0.735
p53 (Wild-type / Mutant)	21 / 7	26 / 23	0.059
Satellite $\alpha$ RDL ( $\leq$ 1.5 / $>$ 1.5)	14 / 14	12 / 37	<b>0.023*</b>

CENPA 発現群 (CENP(+)) は、有意に占拠部位が L 領域に多く (P=0.042)、また高 Satellite  $\alpha$  RDL 群が多かった (P=0.023)。

## パラフィン包埋胃癌組織における CENPA 免疫染色

CENPA は胃癌組織では陽性であったが、非癌組織では陰性か、またはわずかに検出可能なだけであった。

図 CENPA 蛋白に対する蛍光免疫染色 (AGS) (上段: Control 群、下段: 5-Aza-dC 群) 核: Hoechst33342 CENPA:Alexa Flour488 で染色



細胞株での解析では、AGS に対し免疫細胞染色を行い、Control 群、5-Aza-dC 群における CENPA の発現状況を検討した。Control 群に比較し 5-Aza-dC 群において、CENPA がより発現している事がわかった。以前の当施設での研究、および本研究によってセントロメア領域の脱メチル化異常による発癌の機序として、Satellite transcript の転写が亢進し、RNAi 機構やセントロメア蛋白の発現が助長され、染色体不安定性が誘導される事が考えられた。この経路には p53 蛋白の変異は関与しておらず、古典的な分化型胃癌の発癌過程とは異なる Satellite  $\alpha$  の

脱メチル化を介する新たな発癌経路の発見の糸口となる事が期待される。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Alonso S, González B, Ruiz-Larroya T, Durán Domínguez M, Kato T, Matsunaga A, Suzuki K, Strongin AY, Giménez-Bonafé P, Perucho M. Epigenetic inactivation of the extracellular matrix metalloproteinase ADAMTS19 gene and the metastatic spread in colorectal cancer. *Clinical Epigenetics*. 2015;7:124. 査読有り
- ② Kato T, Suzuki K, Muto Y, Sasaki J, Tsujinaka S, Kawamura YJ, Noda H, Horie H, Konishi F, Rikiyama T. Multiple primary malignancies involving primary sporadic colorectal cancer in Japan: incidence of gastric cancer with colorectal cancer patients may

be higher than previously recognized. World J Surg Oncol. 2015;13:23 査読有り

- ③ Tago K, Funakoshi-Tago M, Itoh H, Furukawa Y, Kikuchi J, Kato T, Suzuki K, Yanagisawa K. Arf tumor suppressor disrupts the oncogenic positive feedback loop including c-Myc and DDX5. Oncogene. 2015;34(3):314-22 査読有り
- ④ Saito M, Kiyozaki H, Takata O, Suzuki K, Rikiyama T. Treatment of stage IV gastric cancer with induction chemotherapy using S-1 and cisplatin followed by curative resection in selected patients. World J Surg Oncol. 2014;12:406. 査読有り
- ⑤ Muto Y, Maeda T, Suzuki K, Kato T, Watanabe F, Hidenori Kamiyama, Saito M, Koizumi K, Miyaki Y, Konishi F, Sergio Alonso, Manuel Perucho, and Rikiyama T. DNA methylation alterations of AXIN2 in serrated adenomas and colon carcinomas with microsatellite instability. BMC cancer. 2014;14:466. 査読有り
- ⑥ Suzuki K, Kato Takaharu, Muto Y, Ichida K, Fukui T, Takayama Y, Tsujinaka S, Junichi Sasaki, Hisanaga Horie, Yutaka J. Kawamura, Konishi F and Rikiyama T. The XELIRI regimen plus continuous treatment with bevacizumab is well tolerated and effective in metastatic colorectal cancer patients in a second-line setting involving the sequential administration of XELOX and XELIRI. Mol Clin Oncol. 2014;2(5):827-832. 査読有り

[学会発表] (計 15 件)

#### 2018 年国際学会

- ① Nao Kakizawa, Koichi Suzuki, Hideki Ishikawa, Fumiaki Watanabe, Fumi Hasegawa, Rina Kikugawa, Shingo Tsujinaka, Kazushige Futsuhara, Yasuyuki Miyakura, Toshiki Rikiyama Significance of monitoring plasma vascular endothelial growth factor signals during treatment of colorectal cancer patients. ASCO-GI 2019, 2019. 1. 17-19, San Francisco USA, poster
- ② Fumiaki Watanabe, Koichi Suzuki, Yuhei Endo, Hideki Ishikawa, Nao Kakizawa, Hiroshi Noda, Toshiki Rikiyama Clinical significance of monitoring *KRAS* in tissue and plasma of pancreatic cancer patients. ASCO-GI 2019, 2019. 1. 17-19, San Francisco USA, poster
- ③ Watanabe F, Suzuki K, Ishikawa H, Endo Y, Ichida K, Takayama Y, Fukui T, Kakizawa N, Kasahara N, Kato T, Noda H, Rikiyama T Clinical significance of monitoring *KRGA* in tissue and serum of pancreatic cancer patients. ASCO-GI 2018, 2018. 1. 18-20, San Francisco USA, poster
- ④ Takayama Y, Suzuki K, Ichida K, Fukui T, Kakizawa N, Watanabe F, Kikukawa R, Hasegawa F, Tsujinaka S, Miyakura Y, Konishi F, Rikiyama T Dynamics and characteristics of *KRAS* mutated circulating tumor DNA in patients with metastatic colorectal cancer during various treatments. ASCO-GI 2018, 2018. 1. 18-20, San Francisco USA, poster

#### 2017 年国際学会

- ⑤ Watanabe F, Suzuki K, Ichida K, Takayama Y, Fukui T, Kakizawa N, Rikiyama T The clinical significance of *KRAS* monitoring in tumor tissues and blood of patients with pancreatic tumor 2017 Gastrointestinal Cancers Symposium, 2017. 1. 19-21, San Francisco, Poster
- ⑥ Fukui T, Suzuki K, Ichida K, Kakizawa N, Muto Y, Watanabe F, Kaneda Y, Miyakura Y, Noda H, Rikiyama T Verification of the morphological response for unresectable colorectal liver metastases Joint Congress of The 6th Biennial Congress of the Asian-Pacific Hepato-Pancreato-Biliary Association & The 29th Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery, 2017. 6. 7-10, Yokohama, Oral
- ⑦ Takayama Y, Suzuki K, Ichida K, Fukui T, Kakizawa N, Watanabe F, Hasegawa F, Tsujinaka S, Miyakura Y, Noda H, Rikiyama T Appearance of *KRAS* mutated circulating tumor DNA during various treatments for metastatic colorectal cancer patients Exosomes and Liquid Biopsies ASIA, 2017. 6. 19-20, Taipei Taiwan, Oral

#### 2016 年国際学会

- ⑧ Suzuki K, Takayama Y, Ichida K, Fukui T, Kakizawa N, Watanabe F, Hasegawa F, Kikukawa R, Tsujinaka S, Miyakura Y, Rikiyama T: Clinical applications of "Liquid biopsy" in the colorectal cancer treatment. Exosomes and Liquid Biopsies Asia 2016 2016. 4. 7-8 Taipei Taiwan Poster
- ⑨ Suzuki K, Takayama Y, Ichida K, Fukui T, Kakizawa N, Obitsu T, Muto Y, Hasegawa F, Watanabe F, Kikukawa R, Kato T, Kaneda Y, Saito M, Tsujinaka S, Futhuhara K, Miyakura Y, Noda H, Kiyozaki H, Konishi F, Rikiyama T: Practical applications of "Liquid biopsy" in the colorectal cancer treatment. ASCO Jun 3-7, 2016:Chicago
- ⑩ Ichida K, Suzuki K, Fukui T, Taka yama Y, Kakizawa N, Muto Y, Watanabe F, Saito M,

Kato T, Rikiyama T : Target chromosomes impaired by overexpression of Satellite alpha transcript in vitro. International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists. Aug. 8 2016:Sendai

- ⑪ Ichida K, Suzuki K, Muto Y, Fukui T, Takayama Y, Futsuhara K, Tsujinaka S, Miyakura Y, Noda H, Rikiyama T : 208P-Significance of the difference in size of liver tumors in management of patients with colorectal liver metastases. ESMO Asia 2016 Congress. Dec. 16-19 2016: Singapore

2018年国内学会

- ⑫ 齊藤正昭、鈴木浩一、力山敏樹他 DNA 脱メチル化異常をバイオマーカーとする胃切除範囲への臨床応用第 118 回日本外科学会定期学術集会 2018. 4. 5-7 日 東京 口演
- ⑬ Kakizawa N, Suzuki K, Rikiyama T Significance of monitoring vascular endothelial growth factor signals in blood during treatment of colorectal cancer patients 第 17 回自治医科大学シンポジウム 2018. 9. 4-5 栃木・さいたま 示説

2017年国内学会

- ⑭ 齊藤正昭、鈴木浩一、力山敏樹他セントロメア領域の脱メチル化は、染色体不安定性を誘導する第 89 回日本胃癌学会総会 2017. 3. 8-10 広島 口演
- ⑮ 市田晃佑、鈴木浩一、齊藤正昭、力山敏樹他 Specific chromosomes were impaired by overexpression of Satellite alpha transcript in breast cancer patients 第 16 回自治医科大学シンポジウム 2017. 9. 7-8 下野・さいたま ポスター

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名 : 鈴木 浩一

ローマ字氏名 : SUZUKI, Koichi

所属研究機関名 : 自治医科大学

部局名 : 医学部

職名 : 准教授

研究者番号 (8 桁) : 70332369

研究分担者氏名 : 力山 敏樹

ローマ字氏名 : RIKIYAMA, Toshiki

所属研究機関名 : 自治医科大学

部局名 : 医学部

職名 : 教授

研究者番号 (8 桁) : 80343060

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 :