

原 著

当院における遺伝子検査の取り組み
—肺癌におけるEGFR遺伝子解析—Genetic Testing for Cancer :
EGFR Gene Analysis in Lung Cancer

畔上 公子 神田 真志 柳原 優香 土田 美紀
 山川 美沙紀 北澤 綾 弦巻 順子 豊崎 勝実
 川口 洋子 鏡 十代栄 桜井 友子 木下 律子
 西田 浩彰 川崎 隆 本間 慶一 藤野 良昭*

Kimiko AZEGAMI, Masashi KANDA, Yuka YANAHARA, Miki TSUCHIDA
 Misaki YAMAKAWA, Aya KITAZAWA, Junko TSURUMAKI, Katsumi TOYOSAKI
 Yoko KAWAGUCHI, Toyoei KAGAMI, Tomoko SAKURAI, Noriko KINOSHITA
 Hiroaki NISHIDA, Takashi KAWASAKI, Keiichi HOMMA and Yoshiaki FUJINO*

要 旨

遺伝子検査室で扱う検体数は年々増加傾向で、2015年1年間に1572件の解析を行った。保険収載されている項目だけではなく、臨床からの要望や日常診断に必要な検査もルーチン対応している。最近では、患者の投薬や治療方針決定に遺伝子検査が必要となっている。I章では、胃癌腹腔洗浄液中細胞のCEA mRNAの検出、悪性リンパ腫の免疫関連遺伝子の再構成の検出、軟部腫瘍の融合遺伝子、GIST（消化管間質腫瘍）のKIT遺伝子解析、大腸癌RAS遺伝子解析を解説した。II章では、肺癌EGFR遺伝子解析の院内実施までの取り組みと実施後の効果について紹介した。

はじめに

病理組織や細胞診検体を用いて行う遺伝子検査は、病理診断や治療方針の決定に重要な役割を果たすようになった。当院の遺伝子検査は、1994年に医局からその必要性を求められたことに始まる。その中で現在も続いているのは、胃癌腹腔内洗浄液中の細胞からのCEA mRNA検出と乳癌センチネルリンパ節のkeratin19 mRNAの検出がある。最近では、肺癌のEGFR遺伝子解析や大腸癌のRAS遺伝子解析が分子標的薬の治療前にルーチンに行われる検査となり、提出検体数も年々増加している。今回、遺伝子検査室で主に行っている遺伝子検査と肺癌EGFR遺伝子解析の取り組みを紹介する。

I. 当院の遺伝子検査

当院の遺伝子検査は、1994年に医局からその必要性を求められたことに始まる。実施希望項目は、p53, bcr/abl, WT-1, keratin 19などであった。その中で現在も続いているものには、胃癌の腹腔内洗浄液中の細胞からのCEA mRNA検出と乳癌センチネルリンパ節のkeratin19 mRNAの検出がある。後者は、2008年よりOSNA（One-step Nucleic Acid Amplification）法を用いて術中迅速診断として病理部で行われている。2012年よりリンパ腫における免疫関連遺伝子再構成の検出や軟部腫瘍における融合遺伝子の検出を開始した。大腸癌のRAS遺伝子解析は2012年から、肺癌のEGFR遺伝子解析は病理組織検体が2013年から、細胞診検体が2015年から、GIST（消化管間質腫瘍）のKIT/PDGFR遺伝子解析は2013年から、いずれも

新潟県立がんセンター新潟病院 病理部, *臨床検査部

Key words : 遺伝子検査 (genetic testing), 肺癌 (lung cancer), EGFR 遺伝子解析 (EGFR gene analysis), 院内実施 (insourcing)

院内実施している（表1）。検体数は2011年に151件であったが、2015年には1,572件となった。保険収載以外の検査である胃癌腹水洗浄液のCEA mRNAの検出、脂肪性腫瘍のMDM2/CDK4/p16の検出、大腸癌BRAF遺伝子解析など臨床からの要望にも対応

している（表1, 2）。患者に対する投薬や治療方針決定のための遺伝子検査が一般化してきており、特に分子標的薬に関する肺癌のEGFR遺伝子解析、大腸癌のRAS遺伝子解析が多くなっている。以下に現在遺伝子検査室で行っている主な検査を紹介する。

表1 最近5年間の当院遺伝子検査項目および件数

	(件数)				
	2011年	2012	2013	2014	2015
リンパ腫					
免疫関連遺伝子再構成PCR (IgH)	—	70	90	89	64
(TCR γ)	—	68	90	74	57
胃癌					
CEA mRNA (定性PCR)	151	224	197	232	278
(定量PCR)	—	—	53	232	278
肺癌					
EGFR遺伝子解析	—	2	13	68	175
大腸癌					
RAS遺伝子解析 (KRAS)	—	25	45	73	116
(NRAS)	—	—	—	—	109
BRAF遺伝子解析	—	—	—	—	109
GIST (消化管間質腫瘍)					
KIT遺伝子解析	—	—	14	17	15
PDGFRA遺伝子解析	—	—	14	17	15
悪性黒色腫					
BRAF遺伝子解析	—	—	—	—	1
軟部肉腫					
粘液型脂肪肉腫RT-PCR (TLS-CHOP)	—	2	1	2	4
Ewing/PNET肉腫RT-PCR (EWS-Fli1)	—	0	1	0	2
滑膜肉腫RT-PCR (SYT-SSX)	—	32	11	3	3
横紋筋肉腫RT-PCR (PAX3/PAX7-FKHR)	—	—	2	0	2
胞巣状軟部腫瘍RT-PCR (ASPL-TFE3)	—	—	—	1	4
高分化型脂肪肉腫PCR (CDK4)	—	112	48	9	104
(MDM2)	—	112	48	9	104
(p16)	—	—	48	9	104
脂肪腫RT-PCR (HMGA2-LPP)	—	—	48	0	0
その他					
HPV関連PCR	—	0	0	2	0
個人識別 (多型解析) PCR	—	2	0	5	2
API2/MALT1関連PCR	—	—	1	1	1
抗酸菌PCR	—	0	5	1	0
子宮内膜肉腫RT-PCR (JAZF-JJAF1)	—	—	—	—	11
(YWHAE-FAM22)	—	—	—	—	11
FISH (MDM2)	—	—	—	—	2
(EWS1)	—	—	—	—	1
合計	151	649	729	844	1572

表2 保険収載されている遺伝子検査項目 (2014年4月現在)

1. 悪性腫瘍遺伝子検査	
肺癌 EGFR 遺伝子検査	2100 点
大腸癌 RAS 遺伝子検査	2500 点
悪性黒色腫 BRAF V600 変異解析	6520 点
GIST 関連 c-kit 遺伝子検査	2500 点
Ewing/PNET 関連 (EWS-Flil)	2100 点
粘液型脂肪肉腫関連 (TLS-CHOP)	2100 点
滑膜肉腫関連 (SYT-SSX)	2100 点
2. 造血器腫瘍遺伝子検査	
免疫関連遺伝子再構成	2520 点
3. FISH 関連	
HER2 遺伝子標本作製	2700 点
ALK 融合遺伝子関連	6520 点
染色体検査	2730 点

胃癌の腹水洗浄液中細胞のCEA mRNA

まず、以前より行われてきた胃癌の術中腹腔洗浄液を用いたCEA mRNAの検出がある¹⁾。腹腔洗浄細胞診では、腹水中の癌細胞の有無を形態的に判定するが、癌細胞が少ない場合は精度が落ちる。通常は形態に免疫染色 (CEAとMOC-31) を加えて評価しているが、PCRによるCEA mRNAの検出が特異的であればさらに判定の確実性は増すと考えられる。2013年より定性PCRに加えて定量PCRによる検出を開始している。

悪性リンパ腫の免疫関連遺伝子再構成

病理診断は形態学と免疫染色によりなされるが、腫瘍性または反応性の判断が難しい症例も少なくない。このような症例では、ホルマリン固定パラフィン包埋標本材料から抽出したDNAを用いて行うPCRによる免疫関連遺伝子再構成のクロナリティーの検出が重要となる。現在、免疫グロブリン重鎖遺伝子 (IgH) ではVDJ領域をsemi-nested PCR法で、T細胞受容体遺伝子 (TCR) はTCR- γ 遺伝子をconventional PCR法で、モノクロナリティーの検出を行っている^{2,3)}。

軟部腫瘍の融合遺伝子

軟部腫瘍は多種多彩で組織所見のみで確定診断に至らない場合が多い。免疫染色で特異的マーカーの発現を確認することにより組織型を決定するが、腫瘍特異的な染色体異常による融合遺伝子の検出は非常に有効な診断手段である。新鮮材料またはホルマリン固定パラフィン切片から抽出したRNAを用い

て行うRT-PCRにより検出される。当院ではEwing/PNET、滑膜肉腫、胞巣状横紋筋肉腫、粘液型/円形細胞型脂肪肉腫などに対する検索に対応している⁴⁻⁷⁾。

GISTのKIT遺伝子解析

GISTは、免疫染色によるKIT蛋白の検出により確定する。KIT蛋白をコードしているKIT遺伝子に存在する突然変異の検索は、GISTの診断や治療方針決定に役立つ。GISTの約95%にKIT遺伝子変異またはPDGFRA遺伝子変異が存在し、約75%がKIT遺伝子 (exon 11) に集中しており⁸⁾、KIT遺伝子 exon 11 欠失変異は予後が悪いとされる。ホルマリン固定パラフィン切片から抽出したDNAを用いて、直接塩基配列決定法によりKIT遺伝子変異の検索を行っている。

大腸癌RAS遺伝子解析

RAS遺伝子 (KRAS/NRAS遺伝子) 変異を有する大腸癌患者は、抗EGFR抗体薬の治療効果が低いとされる。2010年にKRAS遺伝子 exon 2の変異検索が保険適応された。その後、KRAS遺伝子 exon 3, 4やNRAS遺伝子 exon 2, 3, 4の遺伝子変異を有する症例に対しても、抗EGFR抗体薬の無効性が報告され⁹⁾、2015年にそれらの部位のRAS (KRAS/NRAS) 遺伝子検査が保険適応となった。ホルマリン固定パラフィン切片から抽出したDNAを用いて、リアルタイムPCR法および直接塩基配列決定法による解析を行っている。大腸癌の5～15%にあるとされるBRAF遺伝子変異 (codon 600) の検索も行っている。

肺癌EGFR遺伝子解析

上皮成長因子受容体epidermal growth factor receptor (EGFR) 遺伝子変異は非小細胞肺癌の分子標的薬であるチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) と関連性があり、EGFR遺伝子変異症例で薬剤効果が高いことが知られている。当院では2007年から外注によるEGFR遺伝子解析が開始された。その後、組織検体は2013年から、細胞診検体は2015年からEGFR遺伝子解析の院内実施を始めている。遺伝子検索箇所は複数あり、正常細胞の混在する気管支鏡下採取検体や胸水は、有変異症例でも変異の検出が難しい場合があり、導入までに様々な検討が必要であった。II章では、肺癌のEGFR遺伝子解析導入に向けての検討と導入後の効果を紹介する。

II. 肺癌EGFR遺伝子解析

1. 肺癌EGFR遺伝子

肺癌における分子標的薬は、EGFRに特異的なTKIであるゲフィチニブ、エルロチニブ、抗体製剤であるセツキシマブ、VEGF (vascular endothelial growth factor) に対する抗体製剤であるベバシズマブなどがある。ゲフィチニブは、2002年に世界に先駆けて日本で承認され、2007年にはエルロチニブが認可された。当初から劇的な腫瘍縮小効果が女性、非喫煙者、腺癌の症例に見られた。これまでの研究により、EGFR遺伝子変異を有する症例に薬効が期待できることが明らかとなった。変異の特徴として、exon 19欠失変異とcodon 858の点突然変異 (L858R) で変異の約90%を占める¹⁰⁻¹²⁾。この他G719A/Sや頻度の低い稀な変異も多数報告されている^{11,12)}。これらの変

異は、日本人の肺腺癌の約40%に見られる¹⁰⁻¹²⁾。変異の種類によりEGFR-TKIの有効性が異なり、exon 19欠失変異の奏効率は81%、L858Rは71%、G719Xは56%である¹¹⁾。ゲフィチニブに抵抗性を獲得した場合は、codon 790の2次性獲得変異やMET遺伝子増幅などが付加することが知られている^{11,13)}。2007年6月に肺癌の治療法の選択としてEGFR遺伝子変異解析が保険適応となった。2012年に2次的遺伝子変異等が疑われ、再度治療法を選択する必要がある場合にも算定できるようになった。

2. 依頼件数、変異検出率の動向

2007年から外注で肺癌のEGFR遺伝子解析が行われており、依頼件数は増加している (表3, 図1)。2007年は手術組織検体が主であったが、気管支鏡下に採取された組織検体と細胞診検体が年々増加し、特に2013年では全体の約7割を占めた。変異陽性率は2008年では35.2%、2009年では33.6%であったが、気管支鏡下採取検体の増加とともに2010年～2014年の間は25～30%を推移し、2015年は34.7%となっている。上述したが、組織検体は2013年から、細胞診検体は2015年から院内実施しており、データは外注検査と院内検査を合わせたものである。

3. 当院におけるEGFR遺伝子変異解析結果

2007年から2015年に1,330件のEGFR遺伝子解析の依頼があった。EGFR遺伝子変異は全体の29.2%であった (表3, 図2)。患者背景因子別にみると、年齢70歳以上27.9%、70歳未満は30.6%、男性18.1%、女性52.0%、組織型が肺腺癌36.8%、非肺腺癌5.8%

表3 2007年～2015年までのEGFR遺伝子解析の検体数

	2007年	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	合計
(件数)										
組織検体										
手術	6	38	63	49	30	63	47	44	59	399
生検	1	3	10	21	16	15	14	16	50	146
小計	7	41	73	70	46	78	61	60	109	545
細胞診検体										
気管支鏡	0	0	32	75	83	93	133	109	52	577
胸水	0	13	19	11	13	15	16	18	14	119
その他	0	0	4	11	15	6	9	26	18	89
小計	0	13	55	97	111	114	158	153	84	785
合計	7	54	128	167	157	192	219	213	193	1330

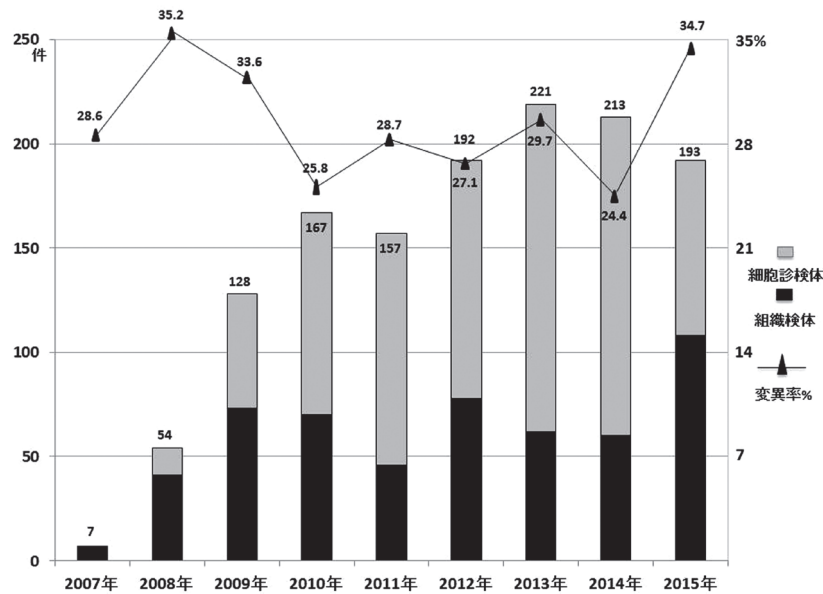
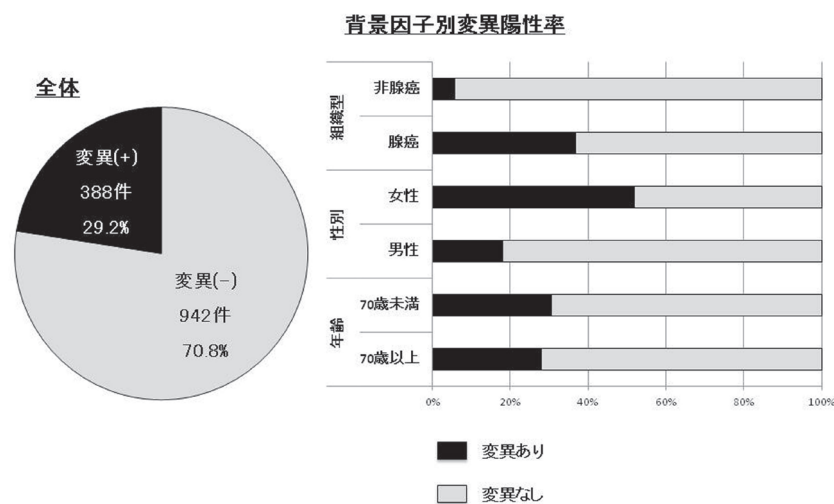


図1 検体別のEGFR遺伝子解析依頼件数および変異陽性率の推移



左：EGFR遺伝子変異陽性率，右：背景別変異陽性率。

図2 EGFR遺伝子変異陽性率（当院データ2007年～2015年）

であった。EGFR遺伝子変異が多いとされる背景因子の女性，肺腺癌と同一の結果であった（図2）。1,330件中388件に419変異が検出された。exon 18では，点変異E709A 1件（0.2%），G719A 4件（1.0%），G719C 5件（1.2%），G719S 19件（4.5%），exon 19では，欠失変異181件（43.2%），重複変異1件（0.2%），exon 20では，挿入変異6件（1.4%），点変異S768I 4件（1.0%），T790M 19件（4.5%）を認めた。exon 21は，点変異L858R 171件（40.8%），L861Q 8件（2.0%）であった（図3）。exon 19欠失変異とexon 21点変異L858Rで84.0%を占めており，他の報告と同様であった^{11,12)}。

4. 解析に使用される検体

肺癌手術検体は，10%中性緩衝ホルマリンで固定し，解析にはパラフィン切片を使用する。外注検査には10 μ mのパラフィン切片5～10枚が用いられる¹²⁾。院内検査には10 μ mのパラフィン切片1～3枚を使用し，腫瘍部分が10%以上含まれるように用手的に腫瘍部分を採取し，DNAを抽出して解析を行う（図4）。気管支鏡下採取検体には生検検体と細胞診検体があるが，生検検体は10%中性緩衝ホルマリン固定後のパラフィン切片を用いて解析する（図5）。細胞診検体は気管支擦過標本と器具洗浄液がある。院内検査は主に気管支擦過標本から顕微鏡下で腫瘍細胞が10%

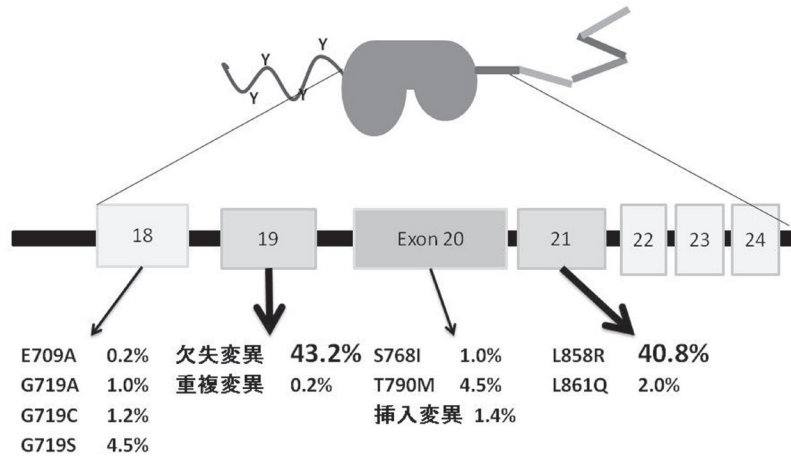
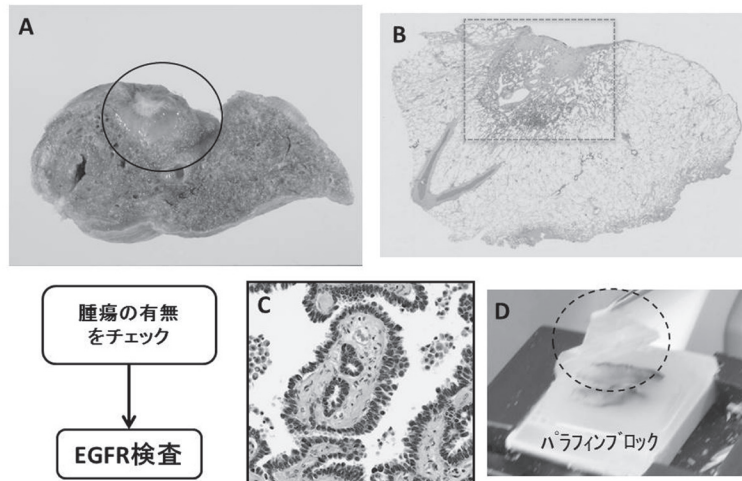


図3 当院におけるEGFR遺伝子変異部位と頻度

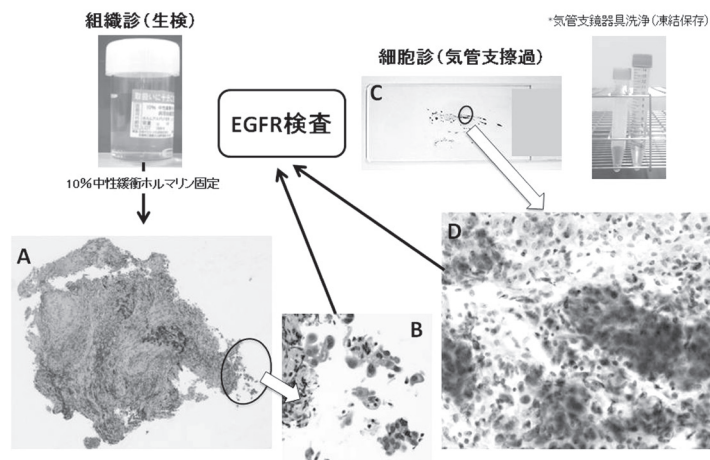
組織検体(手術)



A: 肺癌手術検体, B: HE標本, C: Bの腫瘍部分の拡大
D: EGFR解析を行うパラフィン切片

図4 組織検体(手術)

気管支鏡下採取検体



A: 気管支鏡下生検組織 (HE染色), B: Aの腫瘍部分の拡大,
C: 気管支擦過標本, D: Cの腫瘍部分の拡大 (パパニコロウ染色)
* 気管支器具洗浄検体は凍結保存し, 必要に応じてALK検査が行われる.

図5 気管支鏡下採取検体

以上含まれるように採取し、DNAを抽出し解析している(図5)。器具洗浄液は外注用に凍結保存している。胸水は検体を遠心後、オートスミア処理による標本作製と同時にセルブロックの作製を行い、一部は凍結保存する。院内検査は主に作製した標本から顕微鏡下で腫瘍細胞が10%以上含まれるように採取し、DNAを抽出し解析する(図6)。外注検査には凍結保存検体を提出する。

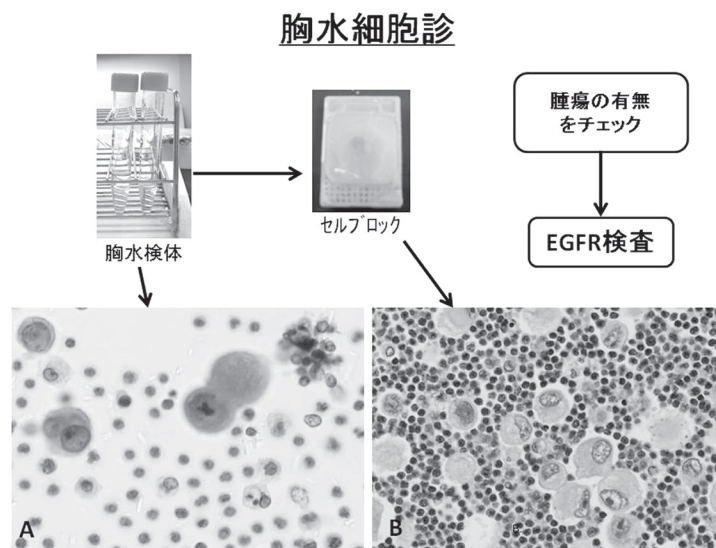
5. 院内実施に向けて(解析方法)

EGFR遺伝子解析には直接塩基配列決定(Direct sequencing)法、Cycleave法、PCR-invader法、PNA-LNA clamp法などがある¹⁴⁻¹⁶⁾。遺伝子変異の検出感度は、直接塩基配列決定法が約10%で、それ以外は1%程度とされる¹¹⁾。当院の外注検査先のBMLではPCR-invader法を採用している。院内検査では、点変異の検出はCycleave法で行い、exon 19の欠失変異とexon 20の挿入変異は直接塩基配列決定法により確認している(図7)。Cycleave法は、L858Rなど主な点変異の検出を目的とした簡便な解析法で、設計も比較的容易に行えることから新たな検出部位の設定も可能である。exon 19欠失変異における直接塩基配列決定法は、多くの変異を網羅しており、稀な変異を検出することもある。気管支鏡下採取検体(生検検体と細胞診検体)や胸水は、腫瘍細胞が少ない場合や正常細胞の含有率が高く相対的に腫瘍細胞の割合が低くなる場合がある。腫瘍細胞の含有率が10%以上

になるようにして解析すると、変異の有無の確認は確実となる(図8)。院内検査では全例で腫瘍細胞の選別を行い、腫瘍細胞の含有率が10%以上になるようにして解析を行っている。

6. 院内実施に向けて(検体の選別)

EGFR遺伝子解析を院内導入に向けて様々なデータの解析や検討を行った。2007年～2013年に外注検査が行われた検体は915件で、変異検出率は29%であった。そのうち肺腺癌は694件で、変異検出率は37%であった。肺腺癌以外の組織型も多く検査に提出されており、全体の変異検出率を押し下げる結果になっていた。細胞診検体は、組織検体の変異検出率に対しやや低値であった。上述のように検体に含まれる腫瘍細胞が少ないためと考えられた。細胞診検体の外注検査でEGFR変異陰性とされた腺癌症例で、後日組織の採取が行われた症例について再検討を行った。その結果、25例中2例(8%)でEGFR遺伝子変異が検出された。1例はexon 19欠失変異、1例はexon 20挿入変異であった。exon 19欠失変異については、細胞診標本を確認したところ腫瘍細胞含有率が1%以下で、提出された検体では変異検出が難しいと考えられた。exon 20挿入変異は、外注検査では検索外であった。確実に遺伝子変異の検出を行うためにどの検体で行うか、検体選別の重要性を示す結果であった。

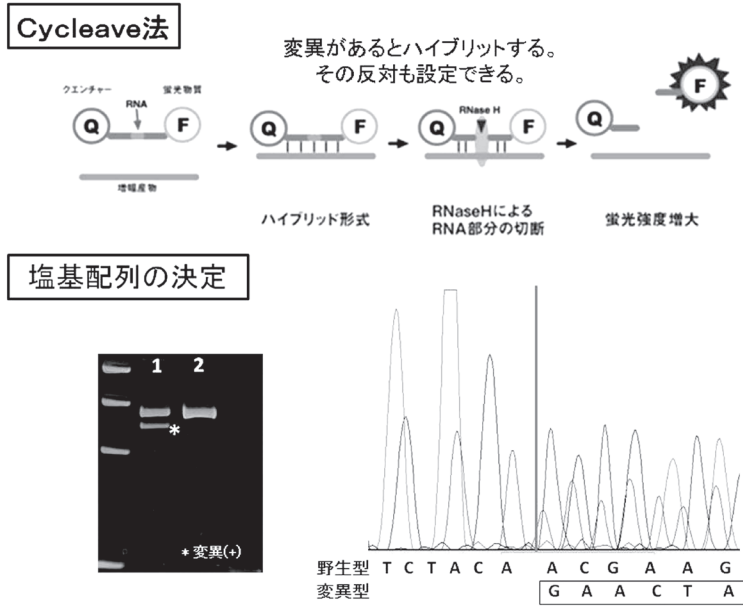


A: オートスミア処理 (パパニコロウ染色)

B: セルブロック (HE染色)

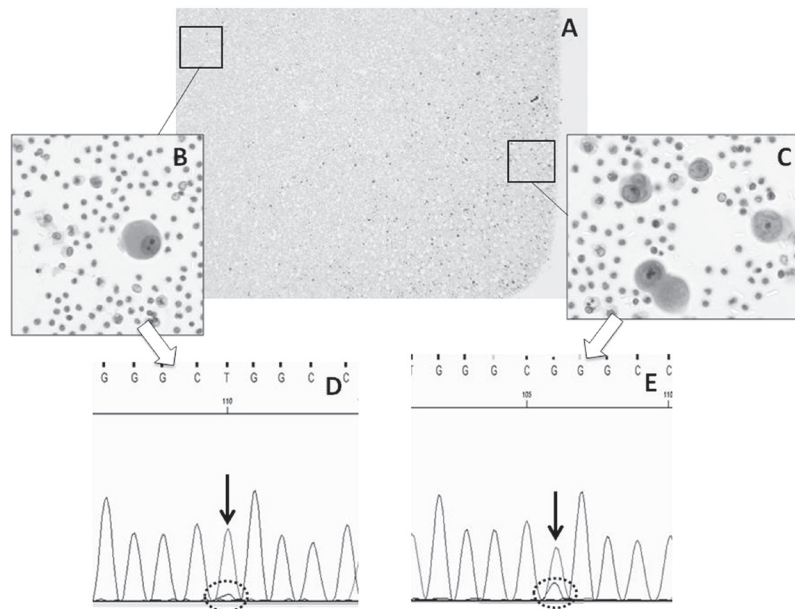
* 胸水検体の一部は凍結保存される。必要に応じて凍結検体またはセルブロックから、ALK検査が行われる。

図6 胸水検体



上：Cycleave PCR法の原理（タカラバイオ ホームページより）
 下左：EGFR遺伝子 exon 19のPCR後の電気泳動で検出されるPCR産物（レーン1：変異陽性、レーン2：変異陰性）
 下右：EGFR exon 19 欠失変異（直接塩基配列決定法、Reverse primerを使用）、野生型と変異型のアレルの波形の重なりが見られる。

図7 EGFR遺伝子解析法



A：胸水（オートスミア処理パパニコロウ染色）
 B：枠内の拡大（腫瘍含有率1%）
 C：枠内の拡大（腫瘍含有率10%）
 D：Bの解析（直接塩基配列決定法）
 E：Cの解析（直接塩基配列決定法）

図8 胸水細胞診標本における腫瘍細胞の割合

表4 肺腺癌症例における院内検査実施後の変異検出率の変化

外注				院内実施後			
2007-2015年 件数 変異(+) 検出率				2013-2015年 件数 変異(+) 検出率			
全体	810	294	36.30%	全体	192	74	38.54%
組織	300	127	42.33%	組織	140	52	37.14%
細胞	510	167	32.75%	細胞	52	22	42.31%

7. 院内実施の効果

EGFR遺伝子解析の院内実施による最も顕著な効果は、結果報告までの日数の短縮である。外注検査では報告まで7～10日を要するが、院内検査では2～5日での報告を行っている。EGFR遺伝子変異がない場合は、ALK肺癌についての検索を進めることになっており、治療方針決定の迅速化につながっている。腫瘍細胞の多い検体の選別、腫瘍細胞をより多く検体から選別採取、EGFR遺伝子の解析範囲拡大などを行うことで変異検出率が向上した。特に細胞診検体では、外注検査時と比較して院内検査の変異検出率は32.75%から42.31%へと上昇した(表4)。

おわりに

遺伝子検査は、遺伝子の知識、検査手技、結果判定など高度な技術や経験がなければ行えない。特定のバイオマーカーに基づく個別化医療が進む今日、良質な検査結果の提供が臨床支援につながる。そのためには、人材育成を含めた遺伝子検査室の拡充を図って行く必要がある。

謝辞

これまでご教示いただいた多くの先生方と遺伝子検査室の発展に寄与してこられた検査技師の皆様へ深謝いたします。

参考文献

- 1) 小寺泰弘, 中西速夫, 山村義孝他: 腹腔内洗浄液中の癌細胞の検出 - LightCyclerを用いたリアルタイムRT-PCR法を中心に -. Surgery Frontier 8(1):57-62, 2001.
- 2) McCarthy KP, Sloane JP, Kabarowski JHS et al: A simplified method of detection of clonal rearrangements of the T-cell receptor- γ chain Gene. Diagn Mol Pathol. 1(3):173-179, 1992.
- 3) Wan JH, Trainor KJ, Brisco MJ, et al: Monoclonality in B cell lymphoma detected in paraffin wax embedded sections using the polymerase chain reaction. Clin Pathol. 43(11):888-

- 890, 1990.
- 4) Kojima T, Asami S, Chin M et al: Detection of chimeric genes in Ewing's sarcoma and its clinical applications. Biol Pharm Bull. 25(8):991-994, 2002.
- 5) 元井 亨, 山本 基, 石田 剛: 滑膜肉腫の最新の知見. SYT-SSXキメラ遺伝子転写産物の検出と診断への応用. 病理と臨床. 17(9):951-958, 1999.
- 6) Krsková L, Mrhalová M, Hilská I et al: Detection and clinical significance of bone marrow involvement in patients with rhabdomyosarcoma. Virchows Arch. 456(5):463-472, 2010.
- 7) Panagopoulos I, Mandahl N, Ron D et al: Characterization of the CHOP breakpoints and fusion transcripts in myxoid liposarcoma with the 12;16 translocation. Cancer Res. 54(24):6500-6503, 1994.
- 8) 廣田誠一: KIT. 臨床検査. 57(3):262-268, 2013.
- 9) 日本臨床腫瘍学会: 大腸がん患者におけるRAS (KRAS/NRAS遺伝子) 変異の測定に関するガイダンス. 第2版2014年4月.[引用2016.1.13] https://www.jsmo.or.jp/about/doc/RAS_guidance_coi.pdf
- 10) 谷田部 恭: 肺癌における遺伝子検査. 日本染色体遺伝子検査学会雑誌. 33(1):41-46, 2015.
- 11) 日本肺癌学会バイオマーカー委員会: 肺癌患者におけるEGFR遺伝子変異検査の手引き. 第2.1版, 2014年4月. [引用2016.1.13] <https://www.haigan.gr.jp/uploads/photos/810.pdf>
- 12) 谷田部 恭, 柴田典子: 肺癌の遺伝子診断と治療選択. 臨床病理. 60(8):786-795, 2012.
- 13) 阿部徹哉, 横山 晶: 肺癌における分子標的治療. 新潟県立がんセンター新潟病院医誌. 50(1): 9-15, 2011.
- 14) Yatabe Y, Hida T, Horio Y et al: A rapid, sensitive assay to detect EGFR mutation in small biopsy specimens from lung cancer. J Mol Diagn. 8(3):335-341, 2006.
- 15) Naoki K, Soejima K, Okamoto H et al: The PCR-invader method (structure-specific 5' nuclease-based method), a sensitive method for detecting EGFR gene mutations in lung cancer specimens; comparison with direct sequencing. Int J Clin Oncol. 16(4): 335-344, 2011.
- 16) 田中智明, 長井義明, 宮沢仁志他: PNA-LNA PCR clamp法によるSmart Cycler II Systemを用いたEGFR変異の高感度迅速顕出システムの開発. BIO VIEW No.50: 9-13, 2005. [引用2016.1.13] <http://www.takara-bio.co.jp/goods/bioview/>