

出國報告（出國類別：其他）

赴西班牙馬德里參加 2017 年第九屆世界生物標記研討會出國報告

服務機關：核能研究所

姓名職稱：官孝勳 副工程師

派赴國家：西班牙

出國期間：106 年 12 月 5 日~106 年 12 月 10 日

報告日期：107 年 1 月 3 日

摘要

根據衛福部統計，台灣的惡性腫瘤是十大死因之首，且蟬聯 35 年。全球每年新增約 1,400 多萬人罹患癌症，造成 820 多萬人死亡。研究顯示，若能在癌症發生的初期及早期診斷與適當治療，則可達到 90% 的五年存活率。因此，發展癌症早期診斷藥物與治療藥物是刻不容緩的工作。目前全球對於疾病診斷與治療藥物之開發皆趨向於具有靶向性來設計，如此可準確對病灶部位做診斷及有效治療，同時也降低副作用。近年來，核能研究所多以病灶處表現特異性生物標記為標的位置，去設計具有靶向性之分子核醫藥物，對於搜尋出具有特異性的生物標記，作為疾病診斷或治療的標靶位置是相當關鍵。因此，為了掌握國際間在疾病生物標記的最新發現與最新疾病標靶治療藥物在臨床前或臨床研究的情況，定期派員參與國際研討會接受訓練與汲取新知，方能在未來核醫藥物發展規劃上有寬宏視野，並提升核醫藥物在臨床上的應用能力。

此次國外公差之目的為了參加在西班牙馬德里舉行的 2017 年第九屆世界生物標記會議 (9th World Biomarkers Congress)，並於在會議中發表論文，展現本所在腫瘤核醫診斷領域之成果與國際能見度，並與各方學者討論目前的研究方向，有助於計畫執行。藉由在大會演講或投稿論文中獲得最新的疾病生物標記之資訊，以及有機會與全世界相關領域的學者作知識交流，加強國際討論，作為未來計畫規劃之參考。學習生物標記搜尋與鑑定、影像分析技術搜尋癌症之血清或組織蛋白生物標記，及利用核醫造影技術追蹤藥物於生物體內之代謝分佈，做為臨床前藥物之參考。此次會議由 Topolcan Ondrej 教授主持，會期於 2017 年 12 月 7 日起至 12 月 8 日，為期兩天。演講主題包含：腫瘤生物標記、病理診斷、生物標記搜尋與開發，因適逢與第 20 屆國際製藥暨生物技術研討會合併辦理，穿插演講主題包括：藥物代謝與設計、最新藥物化學在藥物開發之應用等，內容對於本所在藥物開發的研究上相當有益處。

透過本次所學習的新知，結合本所既有的生物標記搜尋研究技術，相信能增進本所開發的標靶性藥物之潛力，並快速推向臨床試驗，期望有朝一日能嘉惠病患福祉。

目次

	頁次
摘要	i
一、目的	1
二、過程	3
(一) 行程	3
(二) 9 th WBC 簡介	5
(三) 參加 9 th WBC 重點紀要	6
(四) 壁報論文發表狀況	26
三、心得	27
四、建議事項	30
五、附錄	31

圖目錄

	頁次
圖 一、西班牙馬德里會場位置圖	4
圖 二、壁報展示與活動紀錄	4
圖 三、Topolcan Ondrej 教授及肝癌的發展	6
圖 四、肝癌患者生物標記之表現程度	7
圖 五、Jianhua Luo 教授與正常組織與癌化組織的基因組融合差異性	8
圖 六、MAN2A1-EFR 轉殖基因鼠誘導腫瘤生成及腫瘤生成機制	8
圖 七、基因編輯技術破壞融合基因序列造成癌細胞死亡之流程圖	9
圖 八、內視鏡黏膜切除術與內視鏡黏膜下剝離術操作流程圖	11
圖 九、‘Ome’ 體學的分類及代謝體學的分析技術	12
圖 十、代謝體學分析流程	13
圖 十一、PEA3 轉錄因子基因序列與 PEA3 在臨床食道癌組織檢體之表現	14
圖 十二、抑制 PEA3 表現後會影響食道癌細胞增生及侵襲能力	14
圖 十三、ERK-PEA3-MMP-1 在臨床組織的表現及在不同時期的表現差異之比較	15
圖 十四、RhoGDI3 蛋白質在胰腺癌與正常胰細胞的表現	17
圖 十五、臨床試驗觀察 PHI 診斷前列腺癌之靈敏度與特異性	18
圖 十六、PEA3 在胃癌組織的表現及存活率的影響	19
圖 十七、胃癌受試者分類及存活率	20
圖 十八、實驗設計流程與 LC-MSMS 分析結果	21
圖 十九、西方墨點法與組織免疫染色法驗證 NSCLC 蛋白質表現	21
圖 二十、microRNA 合成與基因調控	22
圖 二十一、微滴式數字 PCR 流程	23
圖 二十二、Sorafenib 處理大腸癌細胞後的細胞存活率與 ROS 生成分析	25
圖 二十三、壁報論文合影	26

表目錄

	頁次
表 一、參加 9 th WBC 行程與工作重點	3
表 二、傳統手術與內視鏡治療之比較表	10

一、目的

數十年來，對抗癌症一直是全球許多醫、學界共同努力的目標，儘管已有些突破，但仍有漫長的路要前進。根據衛福部統計，惡性腫瘤佔據台灣十大死因榜首已蟬聯 35 年，2016 年的死亡人數高達 4.8 萬人，而 2014 年癌症新發生人數超過 10 萬人，全球每年新增約 1,400 多萬人罹患癌症，造成 820 多萬人死亡。研究顯示，若能在癌症發生的初期或早期診斷與適當治療，則五年存活率可達到 90% 以上。因此，發展癌症早期診斷藥物是刻不容緩的工作。核能研究所多年來致力於核子醫藥的開發，希望能將分子影像技術應用於醫療服務，以達到癌症早期診斷早期治療的目的，造福廣大民眾。現階段的藥物載體多以具有腫瘤靶向性的概念作設計，而標靶位置的選擇就是藥物療效之關鍵。腫瘤生物標也就是腫瘤表現特有的蛋白質，若能夠準確的找出這些生物標記，就能夠有效應用在藥物設計上。因此，本所同位素組官孝勳副工程師為了配合標靶分子核醫影像藥物之開發，奉派參加 2017 年第九屆世界生物標記研討會 (9th world biomarkers congress, 9th WBC)，以瞭解世界各國在腫瘤生物標記的搜尋與分析的最新進展，作為計畫推動之參考。

本次會議的大會主題為「一個嶄新的診斷與臨床研究時代 (A New Era of Diagnosis and Clinical Research)」，突顯疾病診斷在臨床研究的重要性，也是提供醫學治療的重要評估依據。本次會議重要議題包括：腫瘤生物標記發展現況、生物標記之搜尋技術、腫瘤生物標記在臨床之應用現況和以代謝體學分析腫瘤生物標記等，涵蓋之腫瘤包括：胃癌、大腸癌、乳癌、前列腺癌、肝癌、食道癌及胰臟癌等。因本年度的會議結合第 20 屆國際製藥暨生物技術研討會合併舉行，會議中穿插演講主題包括：藥物代謝與設計、最新藥物化學在藥物開發之應用等，內容對於本所在藥物開發的研究上相當有益處。核能研究所有 1 篇壁報論文獲大會接受發表，於本次會議中張貼及解說，有助於國際了解核能研究所目前的研發成果，該篇論文摘要將刊登 Journal of proteomics and bioinformatics 2017, 10:12 (Suppl)，提升本所能見度。

於透過大會取得之資訊及與學者相互討論後，更能提升核能研究所在生物標記搜尋技術的能力，使核能研究所有機會能自行發現特有的腫瘤生物標記，對於未來相關

專利的申請、藥物開發以及學術研究上將有相當大的幫助。本次會議另外設有 e-poster (電子壁報) 項目，可供作者先上傳電子檔案至大會伺服器，會議期間與會人員可以在 e-poster 專區利用電腦自行瀏覽。

本次國外公差之主要目的有三：

1. 代表本所於 9th WBC 發表 1 篇腫瘤生物標記相關研究論文。篇名為「Fluorescence-conjugated CD166 anti-peptide for detecting colorectal cancer stem-cell like tumor in vivo」，提升本所在國際之能見度。
2. 積極參與 9th WBC，與世界相關領域的學者作知識交流，加強國際討論，作為未來計畫規劃之參考。
3. 積極參與 9th WBC，學習生物標記搜尋、鑑定與分析之技術，提升本所在生物標記研發之能量，增進藥物研發之創新與效果。

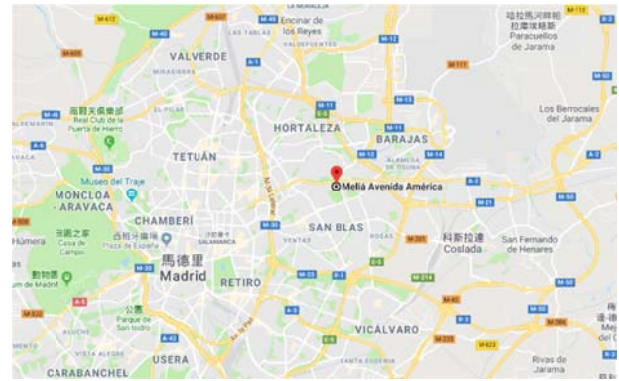
二、過程

(一) 行程

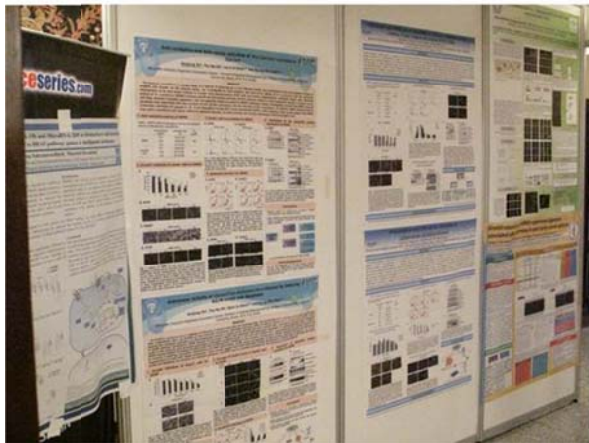
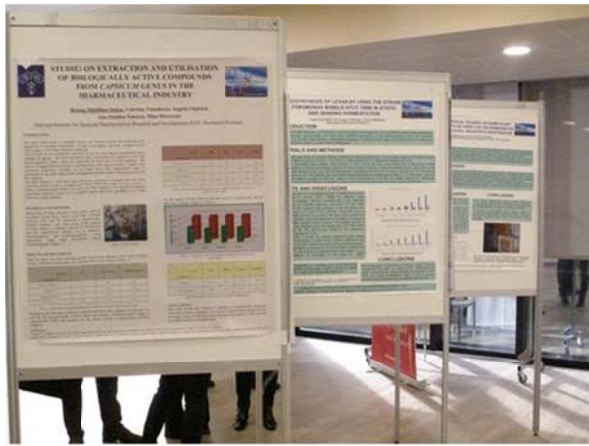
今年第九屆世界生物標記研討會 (9th WBC) 在西班牙馬德里的美洲大道美麗雅酒店舉行 (Melia Avenida America)，馬德里是西班牙首都也是最大的城市，全歐洲僅次於倫敦及柏林，人口數約 340 萬人，亦是全國之冠，其位於西班牙國土中部，由曼薩納雷斯河貫穿市區，現今則與巴塞隆納並列為西班牙的兩大對外文化窗口。本次公差自 106 年 12 月 5 日至 106 年 12 月 10 日，共計 6 天，扣除飛機行程之往來，實際工作共 2 天，工作內容重點如下表一。西班牙馬德里會議地點請參見圖一。

表一、參加 9th WBC 行程與工作重點

日期	星期	工作地點	工作重點
12/5	二	西班牙馬德里	去程：從台灣桃園國際機場搭乘華航航空前往德國法蘭克福機場轉機。
12/6	三	西班牙馬德里	去程：從德國法蘭克福機場轉搭西班牙航空前往西班牙巴拉哈斯國際機場。
12/7-8	四-五	西班牙馬德里	1. 參加 2017 第九屆世界生物標記研會 (9th WBC)，張貼壁報論文 1 篇。 2. 聆聽各場次關於生物標記之搜尋分析技術、最新的腫瘤生物標記之發展及目前腫瘤生物標記在臨床應用之現況。 3. 研讀重要 poster，並與作者進行討論。
12/9	六	西班牙馬德里	返程：從西班牙巴拉哈斯國際機場搭乘西班牙航空至義大利費米齊諾機場轉機。
12/10	日	台灣桃園	返程：從義大利費米齊諾機場轉搭華航航空至台灣桃園國際機場。



圖一、西班牙馬德里會場位置圖



圖二、壁報展示與活動紀錄

(二) 9th WBC 簡介

本屆世界生物標記研討會 (world biomarkers Congress, WBC) 是由 Conference Series Ltd 舉辦。該組織在 1000 多個科學協會的支持下，在美國、歐洲和亞洲舉辦 3000 多場會議，出版 700 多種開放性獲取期刊，其中包括超過 5 萬名知名人士，知名科學家作為編輯委員會成員。ConferenceSeries 是開放性獲取出版物和全球性國際科學會議和活動的綜合體。ConferenceSeries 成立於 2007 年，唯一的目標是提供有關科學和技術“開放獲取”的信息，並在科學、工程、管理和技術期刊的各個方面出版學術期刊。會議系列將科學技術的知識推向了一般大眾的門檻。研究學者、學生、圖書館、教育機構、研究中心和行業是主要的利益相關者，從這種知識傳播中受益匪淺。ConferenceSeries 所舉辦的國際會議，透過辯論、圓桌討論、壁報展示、研討會、專題討論會和展覽進行知識與新知分享。

9th WBC 網站吸引了超過 25000 相關領域的老年醫學醫師、研究人員、院士和商業專業人員瀏覽與詢問。9th WBC 會議包括主題演講、口頭演講和海報演講。與會代表包括編委會相關會議系列國際期刊的會員。會議的主題是「一個嶄新的診斷與臨床研究時代 (A New Era of Diagnosis and Clinical Research)」。本次會議舉行的目的是希望提供一個有關腫瘤領域專業人員跨學科交流的舞台。會議為期 2 天，因與第 20 屆國際製藥暨生物技術研討會合併舉行，因此共分四大議題做演講 (附錄一)。

Session 1: Biomarkers / Cancer Biomarkers / Pathology Diagnosis

Session 2: Biopharmaceuticals / Computer Aided Drug Design (CADD)/Medicinal Chemistry in Modern Drug Discovery / Drug Metabolism and Drug Designing

Session 3: Advance in Biomarkers Discovery / Biomarkers and Non Cancerous Diseases / Cell Free Biomarkers

Session 4: Cancer Biomarkers / Biomarkers & Immuno-Oncology / Biomarkers Detection & Discovery / Clinical Biomarkers / Advances in Biomarkers Discovery

(三) 參加 9th WBC 重點紀要

本次會議的內容相當豐富，來自世界各地約 20 位學者進行大會主題論壇與學術專題演講，不僅有基礎研究，也包括臨床數據的呈現。以下將針對主題論壇及專題報告做細項說明。

1. 主題論壇

(1) 肝癌生物標記

來自捷克共和國的 Topolcan Ondrej 教授，針對肝癌目前現有的生物標記做報告。首先對肝癌的發生流程作簡介，當肝臟受到損傷或刺激等發炎反應時，會使肝臟產生纖維化。然而，目前飲食普遍精緻，也有脂肪肝的現象，長久下來也引起肝纖維化。若長期的傷害，將形成大量的纖維組織，使進入肝臟的血流量下降。由於肝細胞無法獲得足夠營養，而影響原有的功能，造成肝硬化，此為不可逆的狀態。當肝細胞有病變時，就有很大的機會形成腫瘤（圖三），此為原發性肝癌。相對地，有許多研究顯示，大腸癌的肝轉移是肝臟中最常見的轉移性惡性腫瘤，被稱作 colon cancer liver metastases (CCLM)，這類病患約有 60-70%會有術後再復發的可能，所以對於肝癌治療上相當棘手。因此，Topolcan Ondrej 教授向在場聽眾提出幾個問題，包括：(1)對於肝癌患者，利用切除手術是否真的都很好。(2)如何去選擇哪些人該執行肝切除手術。(3)原發性腫瘤是否需要一開始就切除。(4)對於化療或手術切除是否有理想的評估程序等。



圖三、Topolcan Ondrej 教授及肝癌的發展

接著 Topolcan Ondrej 教授認為，要解決以上的問題，可以透過特異性生物標

記做評估。生物標記可以幫助原發性肝癌患者 (primary liver cancer, LC) 進行風險評估、治療的方式、手術的程度及診斷肝癌的病程等，而對於轉移性的肝癌患者 (metastasis to liver, LM) 可以進行早期診斷與積極性評估、治療的方式、手術的程度及監控患者術後的恢復情況等。於是 Topolcan Ondrej 等研究團隊從 2000 年至 2016 年間，合計針對約 5 百多位的肝癌患者進行血清生物標記之分析 (圖四)。這些患者來源有根治性手術及射頻腫瘤燒灼等。透過血液分析最終與正常受試者比較得出差異性的生物標記有: CEA, CA19-9, CA72-7, TJ, TPA, TPS, cyfra21.1, AFP, Pivka, Hyaluronic acid, Galaktin 3 等。

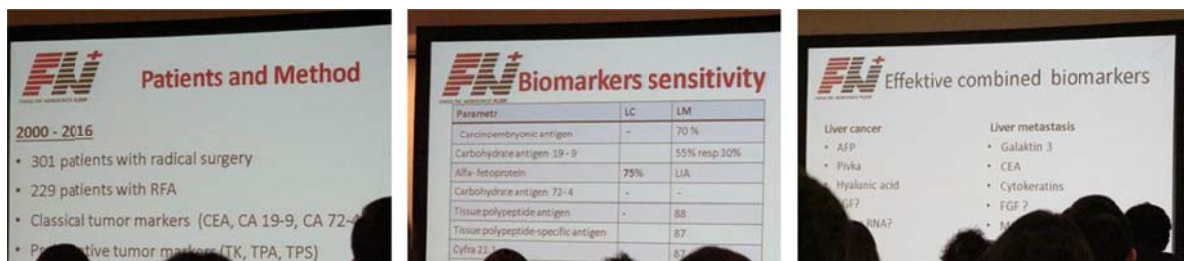


圖 四、肝癌患者生物標記之表現程度

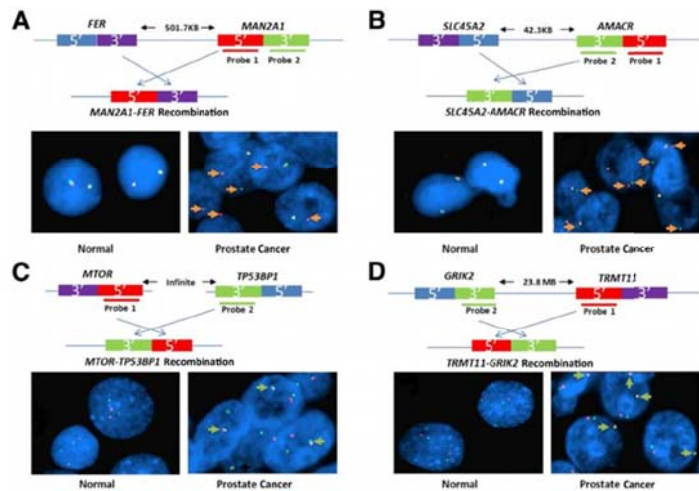
最後結論指出，PIVKA-II, Hyaluronic acid, Fibroblast growth factor (FGF) 的表現差異，對於原發性肝癌的評估具有良好的參考意義。而 Galectin-3 的表現對於在遠端轉移肝癌的評估是較具有統計差異。

■ 結合以上之肝癌血清生物標記，可以應用於檢測套組之設計與製作，由多個生物標記組成的檢測套組，可改善個別生物標記的靈敏度與特異性不足，且具有非侵入性與方便性，有利於進行大量檢體之篩檢與執行。

(2) 腫瘤基因與其在人類腫瘤所扮演的角色

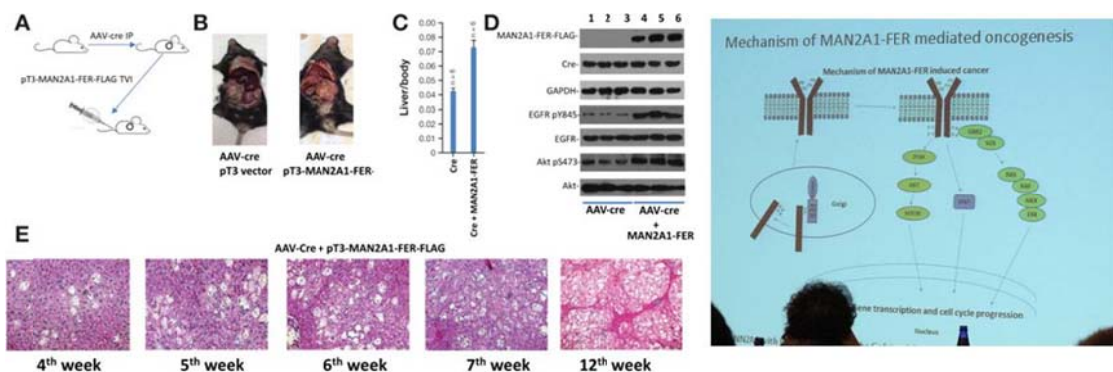
來自美國匹茲堡大學醫院的 Jianhua Luo 醫師/教授指出，他們的研究團隊致力於肝癌及前列腺癌的基因組序列分析，透過基因組複製數量變異性 (genome copy number variance)、基因組甲基化模式 (genome methylation pattern) 及新型融合轉錄物特異性 (novel fusion transcript specific) 等方式，在臨床預測罹患肝癌或前列腺癌的結果方面取得了很高的準確性。其中，有些融合基因 (fusion

gene) 也會出現在各種人類惡性腫瘤中 (圖五)。主要的可能原因是這些融合的基因會開啟新的訊息傳遞路徑，造成癌化反應，並且使癌細胞產生新的功能，而這些新融合基因也可以稱作腫瘤生物標記。包括：MAN2A1-EFR、SLC45A2-AMACR、MTOR-TP53BP1、GRIK2-TRMT11、LRRC59-FLJ60017、TMEM135-CCDC67、CCNH-C5orf30、KDM4B-AC011523.2 等，有機會做為腫瘤的標靶位置或治療的標的物，透過藥物去影響訊息傳遞路徑而改善腫瘤轉移或術後存活率不佳的現象。



圖五、Jianhua Luo 教授與正常組織與癌化組織的基因組融合差異性

這些被融合的基因組有 90% 會被體內再修復，一旦修復機制不完全時，就會造成腫瘤的發生。其中被研究較透徹的是 MAN2A1-EFR 融合基因。Luo 教授提到，建立基因轉殖動物模式大約 4 周後，就可以發現腫瘤的生長 (圖六左)。而誘使腫瘤的生成機制，可能是該融合基因組會引起酪氨酸激酶蛋白 (protein tyrosine kinase, PTK) 高度活化，開啟下游訊息傳遞路徑，影響細胞週期正常運作 (圖六右)。



圖六、MAN2A1-EFR 轉殖基因鼠誘導腫瘤生成及腫瘤生成機制

Luo 教授最後提到，利用現有的基因重組技術，可以將被融合的基因組進行剪裁，移除該基因片段，而達到抑制腫瘤發生的機會。以 TMEM135-CCDC67 融合基因組為例，利用一種基因編輯技術-Cas9-based genome editing，將融合基因組置換成 TMEM135-EGFP-tk-CCDC67 基因片段，促使轉譯後的蛋白質可以將藥物磷酸化，進而抑制癌細胞 DNA 合成，造成細胞死亡（圖七）。綜合上述，Luo 教授認為，針對融合基因的靶向治療有希望成為人類治療癌症的方法之一。

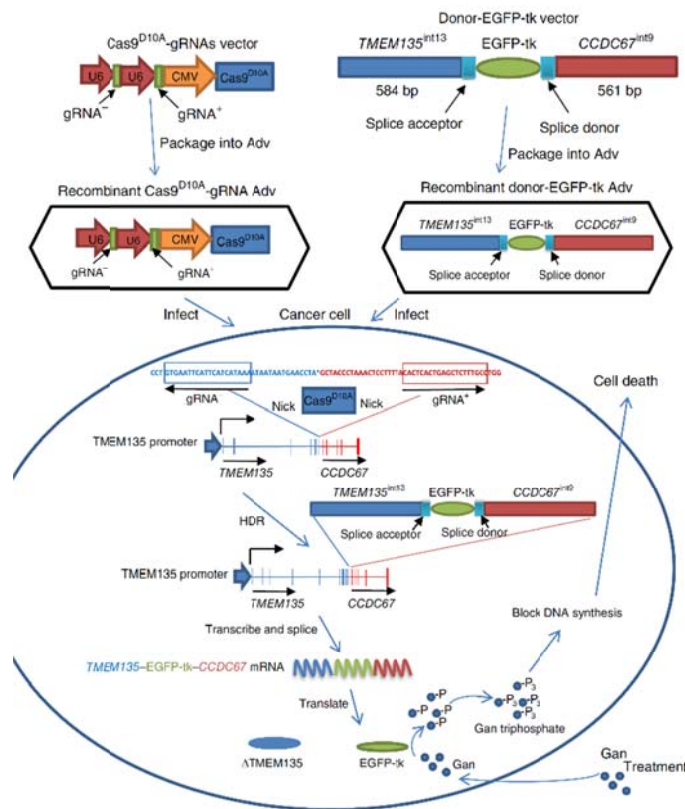


圖 七、基因編輯技術破壞融合基因序列造成癌細胞死亡之流程圖

■ 以特异性基因为標的位置的腫瘤治療已是另一個研究的焦點，近年來透過基因編輯技術的提升，使得移除或插入特异性基因片段的能力變得更容易。原本只應用在建立轉殖基因動物上，如今也可以應用在腫瘤細胞的特异性基因研究上，甚至是治療。目前在國外（中國大陸、美國等）也陸續有一些基因編輯技術用於腫瘤治療的臨床試驗正在進行，且效果顯著。

2. 學術專題演講

(1) 胃內視鏡粘膜下剝離術用於腫瘤分期與治療

來自英國Matthew Davenport博士指出，早期胃癌及癌前病變可以經內視鏡治療或傳統外科手術進行治療，兩者治療效果雖然相當，但對於患者術後的生活品質仍有差異，包括在腹部傷口、術後活動、飲食、住院天數等都顯示內視鏡治療有較佳的優勢（表二）。然而，內視鏡治療又可以分成兩種，分別是內視鏡黏膜切除術(Endoscopic mucosal resection, EMR) 以及內視鏡黏膜下剝離術(Endoscopic Submucosal Dissection, ESD)。EMR的實際操作方面，首先在內視鏡下必須先以染色或內視鏡超音波以區分病灶範圍，然後在病灶的黏膜下層注射生理食鹽水等溶液使病灶鼓起，接著在內視鏡前端以特殊的器材將病灶吸起並完整套住，最後通電切除並取出檢體確認已經完整切除。而ESD是首先利用染色確認腫瘤大小及範圍，必要時會使用專用電燒刀在病灶周圍標記需要切除之範圍，接著以注射針將甘油或玻尿酸打入黏膜下層，使病灶隆起，再使用專用電燒刀在病灶周圍做全環狀切開或部分環狀切開，並視情況重覆注射甘油或玻尿酸使病灶隆起，及利用專用電燒刀將病灶與下方的黏膜下層逐步剝離，直至整個病灶完全切除為止（圖八）。由研究數據指出，ESD比EMR有更多優勢，包括可切除大於1.5公分以上的病灶組織、組織切除後容易透過組織染色進行分期評估與可完整切除病灶處，因此復發機率很低。但缺點就是過程花費時間較久，需要長時間訓練以獲得較佳的操作技巧。

表二、傳統手術與內視鏡治療之比較表

治療方式	腹部傷口	活動	飲食	住院天數	費用	生活品質
內視鏡	無	清醒後即可下床活動	次日即可進食流質	3-5天	視自費耗材使用狀況	良好
傳統手術	有	受限制 (因傷口疼痛)	需禁食 (直到排氣)	5-7天	視自費耗材使用狀況	受影響

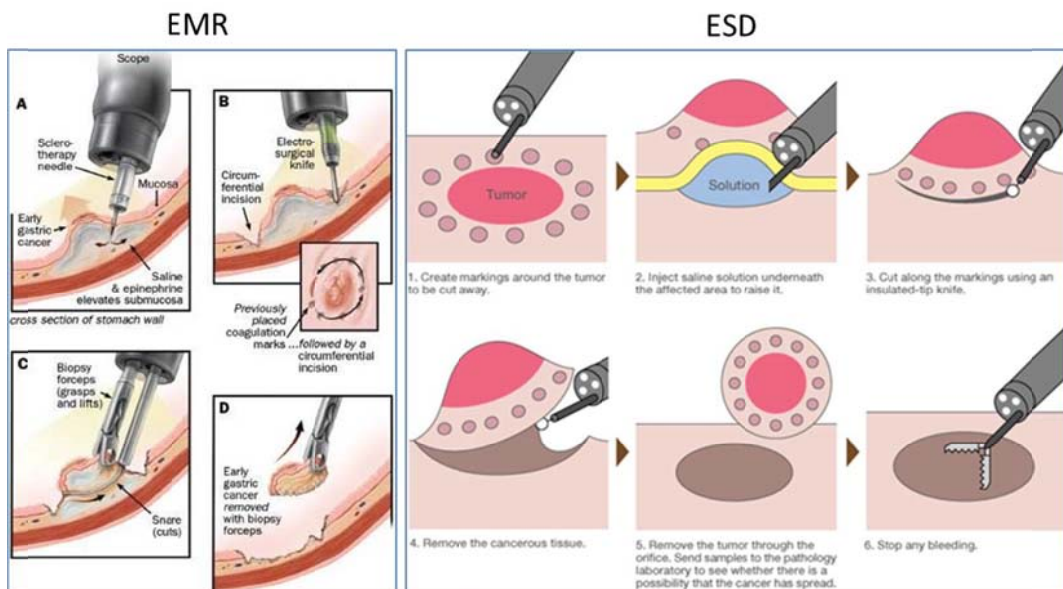


圖 八、內視鏡黏膜切除術與內視鏡黏膜下剝離術操作流程圖

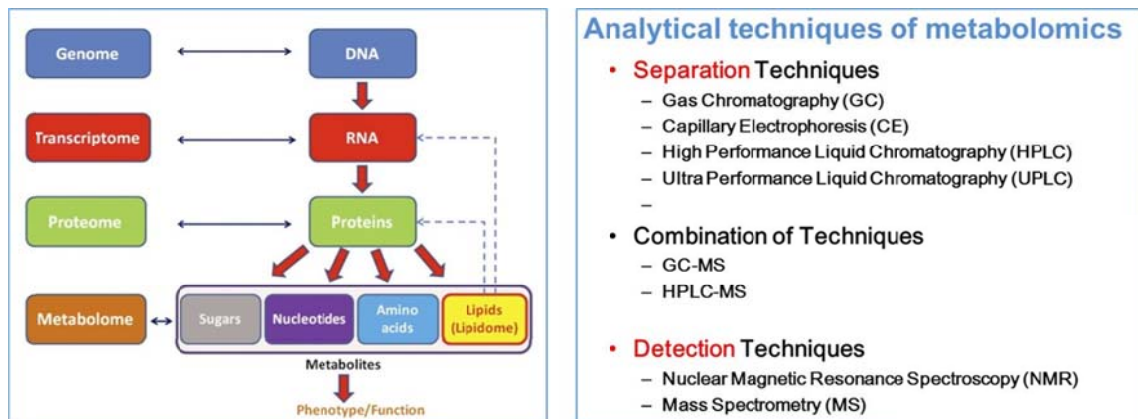
Matthew Davenport 博士進行為期 3 年的研究，去觀察共 21 位高加索人在使用 ESD 後的狀況。可一次性完整切除的比率為 71.4%，而所有患者完整切除率為 90.5%。結果顯示，有 28% 患者判定已被治癒，而有 24% 患者判定尚未治癒，48% 患者無法確定。而所有患者治療後 3 年內的存活率達 91.7%。此實驗證實 ESD 可以有效地診斷並治療英國地區的胃癌患者。然而，他也指出，由於樣品數太少以及研究時程稍短的問題仍需要進一步去改善。

■ 針對臨床組織檢體進行切片染色是普遍醫院用來判定組織是否癌化的檢測方式，但精確度有賴於檢體採集的狀況，以及人為判讀能力。姑且不論人為判讀能力，在樣品的採集方式，有手術直接切除及內視鏡切除等方式。由於 ESD 的治療存活率達 90% 以上，證明以此技術所取得的組織檢體較為精確，也比較完整，降低轉移的機率。

(2) 代謝物模組作為生物標記去診斷疾病

代謝體學 (Metabolomics) 是指在特定的時間點下，對生物體內 (細胞、組織與生物體液) 的小分子代謝物進行定性和定量。而代謝物 (metabolic) 泛指分子量小於 1000 Da 的物質，例如：葡萄糖，脂質，胺基酸... 等。代謝物為生物系統中的最終產物，相較於基因或蛋白，更能直接表現生物體在特定時間下的狀況，且最接

近表現型 (phenotype)，實際反應出環境變化對生物體的影響 (圖九左)。例如檢測尿液是否含有葡萄糖來診斷是否有高血糖或腎臟可能出問題。



圖九、‘Ome’體學的分類及代謝體學的分析技術

來自俄羅斯的 P G Lokhov 博士針對代謝體學作簡單介紹，並且說明研究過程中需要利用到的技術，包括代謝產物的分離、偵測及分析等技術，可透過相對應的儀器設備來執行 (圖九右)。同時也提到，由於臨床常用的生物標記 (CA-125, CA19-9, CA15-3, PSA, α -fetoprotein) 無法用於腫瘤初期的診斷，原因是這些生物標記在體內的含量不高，儀器難以偵測到，即使偵測到也不容易有顯著差異。若是換成 mRNA 作為生物標記反而效果比較好，原因是可以用 PCR 放大含量再偵測，但是 mRNA 的穩定度需要進一步考量，實際執行上也不容易。同樣地，代謝物在體內的表現也是有限，對於儀器偵測上仍有困難，所以 P G Lokhov 博士決定不分離這些小分子的代謝物，而是直接對整個代謝產物圖譜變化去分析與患者的疾病關係。首先分別收集健康與癌症受試者 (n>330) 血液、尿液經初步分離後，直接進入質譜儀分析，每個圖譜約有 500 多個代謝產物訊號產生，收集所有數據後進行比對分析，就可從圖譜的變化得出哪些代謝產物與腫瘤具有相關性，甚至可以了解與哪些訊息傳遞路徑有相關性 (圖十)。該實驗仍在進行當中，然而，P G Lokhov 博士也特別提到，利用代謝體圖譜去診斷疾病的方式仍有一些限制，例如：化學複雜性、基因型多樣性、分子大小超出鑑定範圍、需要的分析的設備成本過高、空間分變率有限、分析的變異、樣品游離化被抑制、代謝產物鑑定和相同分子量的代謝產物出現重疊

訊號的情形。

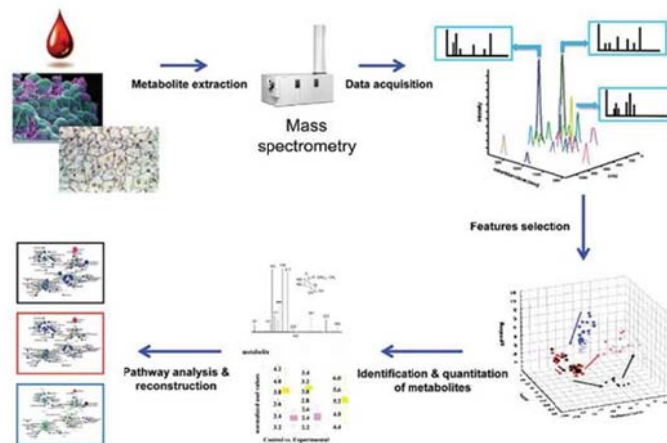


圖 十、代謝體學分析流程

■ 代謝體學 (metabolomics) 為後基因體世代之新興領域，從事生物系統中所有低分子量代謝物的全面性辨識，可提供宏觀資訊，這對於精確診斷來說具有相當大的幫助。隨著儀器設備日益精進，相信未來可以改善在代謝物鑑定上的解析度與靈敏度等問題。透過臨床檢體（血液或尿液）以非侵入性的方式去診斷疾病或是做癌症分期具有大量篩檢的優點，由宏觀的代謝物去做比對，比僅單獨分析某一種代謝物的含量來的更精確。

(3) 食道癌生物標記--ERK-PEA3/ETV4-MMP-1

食道癌在胃腸道癌症中預後最不好的一種，存活率也較差。食道癌在全世界之發生率與地域性有關，普遍分布在亞洲。在台灣食道癌佔男性癌症死亡率的第六位，是相當危險性的疾病。在台灣食道癌的發生以男性居多，男性與女性比為 9 比 1，發生年齡以 50 到 60 歲居多，發生的部位以食道中下段居多，幾乎都為鱗狀上皮細胞癌，腺癌佔少數。致病因素在飲食方面包括抽菸、喝酒、含亞硝胺之食物、發霉的食物、熱茶、缺乏蔬果、礦物質、維生素等，至於嚼食檳榔是否與食道癌有關，目前也正在研究中。

研究顯示，許多 ETS-domain 的轉錄因子與腫瘤生成有密切關係，它們藉由 Ras-ERK 的訊息傳遞路徑活化下游腫瘤生長因子的表現。來自英國曼徹斯特大學的

Yeng S Ang 教授提到，關於全球食道癌的患者逐漸上升，在癌化前期難以辨識查覺，往往發現時已經是末期，也沒有太多的治療方式。PEA3 是 ETS-domain 的家族成員，序列中除了有 ETS-domain 外，還有 Acidic Domain、KKKK 序列等具有 95% 高度相似性（圖十一左），PEA3 會參與實體腫瘤轉移，且在臨床組織可發現有大量 PEA3 之表現（圖十一右）。因此，研究團隊想去了解 PEA3 蛋白質在食道癌細胞所扮演的角色、是否可以用細胞模式來研究 PEA3 的調控與標的物、細胞與患者是否有相似的調控模式等。

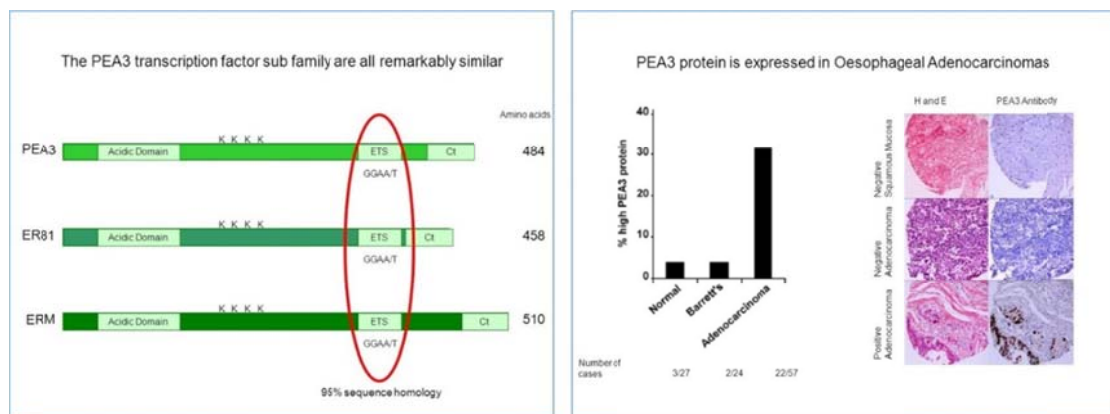


圖 十一、PEA3 轉錄因子基因序列與 PEA3 在臨床食道癌組織檢體之表現

由結果顯示，將 PEA3 以 siRNA 方式將其表現抑制後，在顯微鏡下觀察到有降低食道癌細胞的增生（圖十二左）與侵襲功能（圖十二右），且 MMP-1 是下游的調控因子。而當 ERK 被抑制後，也會抑制 PEA3 及 MMP-1 的表現。證實 ERK-PEA3-MMP1 這條訊息傳遞路徑與食道癌的發生有顯著關係。

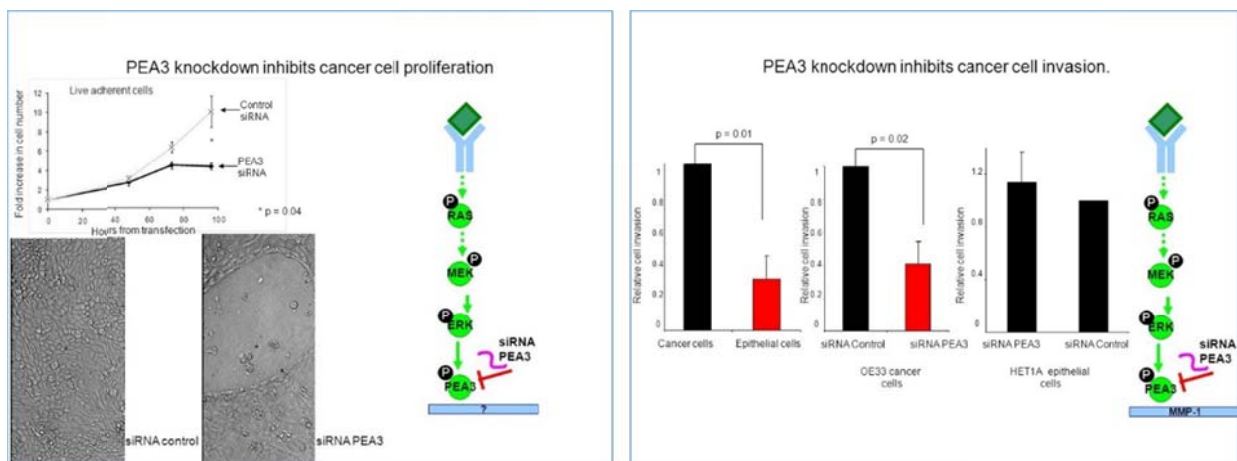


圖 十二、抑制 PEA3 表現後會影響食道癌細胞增生及侵襲能力

最後，Yeng 教授針對臨床檢體去觀察是否與細胞具有同樣的現象。結果顯示，在癌組織中，ERK-PEA3-MMP-1 也同樣有表現（圖十三左）。且 ERK 和 PEA3 的兩者與末期食道癌具有高度相關性（圖十三右）。總結上述，在食管腺癌細胞中，PEA3 受到 ERK MAP 激酶調控而調節下游 MMP1 蛋白的表現，最終改變細胞侵襲和增殖能力。這也證明 ERK-PEA3-MMP-1 訊息傳遞鏈是食管腺癌轉移進展的一個潛在的重要驅動因素。

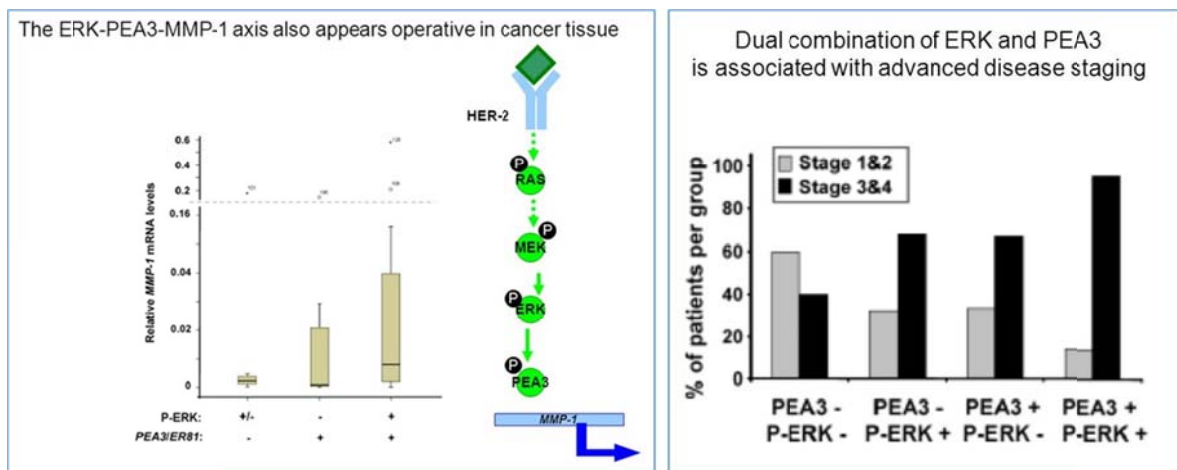


圖 十三、ERK-PEA3-MMP-1 在臨床組織的表現及在不同時期的表現差異之比較

■ 食道癌的診斷並不困難，但大部份病人約 90%是因為吞嚥問題而來，只有少數在作例行健康檢查而早期發現。診斷食道癌可以做內視鏡檢查或食道 X 光鋇劑攝影，若證實為食道癌則檢查胸部 X 光、腹部超音波、骨骼掃描及電腦斷層以做為分期之根據，內視鏡超音波檢查也可以看出食道癌侵犯的層次，提供分期之參考。由於食道癌之發現不易，一有食道症狀即時接受內視鏡檢查，是目前較消極的方式。若能早期經由腫瘤標記的篩檢（像是本研究所提到的 PEA3 蛋白質），會使食道癌的預後大大改進，這是今後醫、學界仍需要努力的目標。

(4) 胰管腺癌生物標記--RhoGDI3

胰臟癌最常見的症狀和徵象包括黃疸、腹痛或背痛、不明原因的體重減輕、淺色糞便、茶色尿和食慾不振。疾病的早期通常沒有症狀，且這些症狀通常不具特異

性。因此，發現胰臟癌時常常已經進展到癌症晚期，且癌細胞已經轉移到身體其他部位。最常見的胰臟癌是胰臟腺癌 (pancreatic adenocarcinoma)，風險因子包括吸菸、肥胖、糖尿病和特定的罕見基因。胰臟癌的診斷常結合醫學影像、血液檢驗和組織切片等技術，但目前尚無大量篩檢胰臟癌的方法。

來自墨西哥 Mercedes Piedad de León-Bautista 博士指出，胰管線癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 在所有癌症的死亡人數全球佔第十位。2015 年，美國就有將近 5 萬個新病例產生。RhoGDI 蛋白質涉及人類許多腫瘤，它的其中一個家族成員-RhoGDI3 蛋白質，首先在小鼠腦組織中被發現，後來在人腦和胰腺組織中被發現。早期研究發現，RhoGDI3 的表現量在乳癌臨床分期或預後指標有重要意義。然而，與胰臟癌的相關性研究卻相當有限。因此，de León-Bautista MP 研究團隊希望能探討 RhoGDI3 在正常胰腺細胞與末期 PDAC 組織的表現量與功能。透過免疫螢光分析顯示，與正常細胞比較，胰腺癌細胞的 PDAC 表現量明顯較高 (圖十四)。接著，de León-Bautista 博士針對在人體胰臟組織進行偵測，證實 RhoGDI3 扮演著與腫瘤發展和侵襲性有關之角色，也說明 RhoGDI3 可以作為診斷 PDAC 是否具有侵襲性的生物標記。

■ 國外研究顯示，胰臟癌患者在確診後，至少 73% 活不過一年，醫界分析後認為胰臟深處人體臟器之間，導致診斷不易、早期沒有明顯症狀、治療預後效果不佳等情況的影響很大。世界男高音帕華洛帝以及蘋果電腦創辦人賈伯斯，皆因罹患胰臟癌而過世。在美國，胰臟癌是僅次於肺癌、排名第二大的癌症。而在台灣，從衛生福利部最新公布的 105 年十大癌症死因報告，可以發現占第 8 名癌症死因的胰臟癌共奪走 1996 條人命，死亡率每十萬人中有 8.5 人，較十年前的 5.5 人成長約 55%，奪命之快令人惶恐。目前關於胰臟癌的生物標記大多是末期胰腺癌，對於要用來做早期診斷實際上有困難，也不一定準確，所以要篩檢胰臟癌仍有漫長的路要走，儘管如此，RhoGDI3 的變化提供我們一個研究方向，向上游或相關蛋白質作探討，也許能夠找出早期胰臟癌相關的生物標記，去解決這高死亡率的癌症。

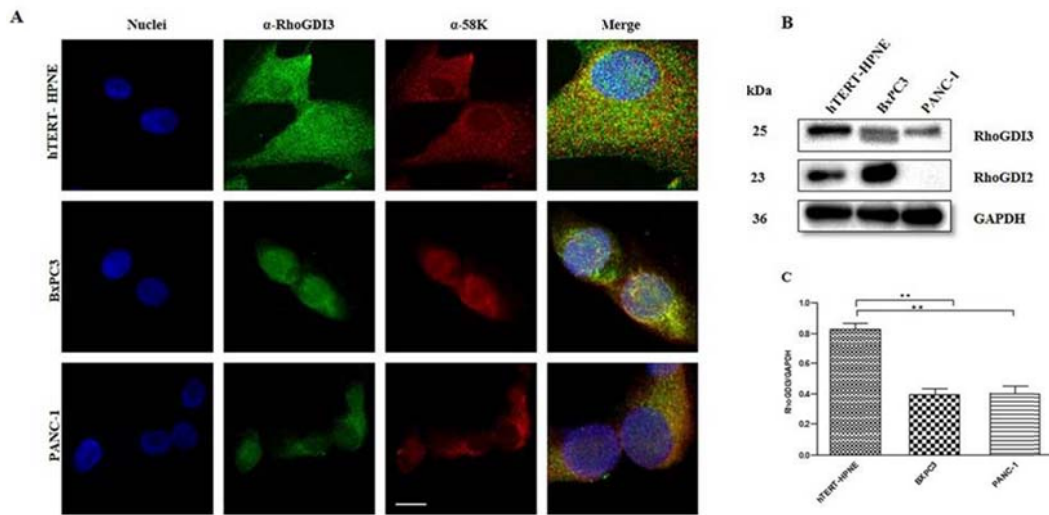


圖 十四、RhoGDI3 蛋白質在胰腺癌與正常胰細胞的表現

(5) 前列腺癌生物標記--PHI

前列腺癌是指發生在前列腺的上皮性惡性腫瘤，前列腺癌病理類型上包括腺癌（腺泡腺癌）、導管腺癌、尿路上皮癌、鱗狀細胞癌、腺鱗癌，其中前列腺腺癌占 95% 以上。前列腺癌是男性癌症死亡人數排名第五位，全球每年有大約 1 百萬人被診斷出罹患前列腺癌，每年死亡人數約 30 萬人。前列腺癌的發病率隨著男性年齡的增長而增高，以 50 歲以上的男性較易患上前列腺癌。前列腺癌與發生在其他身體部位的癌症略有不同，若癌症只發生在小部分的前列腺上，癌細胞可以維持一段時間不變，然後才開始擴散、生長。50 歲或以上的男性當中，約有三分之一的人能在其前列腺發現癌細胞，而 80 歲或以上的男性中，則幾乎全部的人能在其前列腺發現癌細胞。於前列腺內的癌細胞，通常以很慢的速度生長，尤其是在年長者裡，可能永遠也不會發生問題，但在某些特殊案例裡，癌細胞可以生長得很快，並且擴散至身體其他部位，例如骨髓。

Topolcan Ondrej 教授提到，前列腺特異性抗原（prostatic specific antigen, PSA）是一種由 240 個胺基酸組成的單股勝肽鏈，構成絲氨酸蛋白酶一部分。在血清中，PSA 會與 alpha-anti-chymotrypsin 或 alpha2-macroglobulin 結合者稱作複合型 PAS (complex form PAS, cPSA)，約有 15% 的 PSA 在血清中呈現游離狀態，稱作游離型 PAS (free from PSA, fPAS)。在 1980 年代末期，總量 PSA (total level

of PSA, tPSA) 被作為前列腺癌診斷的生物標記。大多數的前列腺癌診斷方式是透過穿刺採集組織檢體進行切片免疫染色分析 PSA 表現。在 fPSA 有一小部分稱作 proPSA，於前列腺癌細胞的表現特別顯著。因此，Topolcan Ondrej 教授根據 tPSA、proPSA、fPSA 的變化，計算出前列腺健康指數 (protaste health index, PHI)。

這種 PHI 可以作為評估患者是否罹患前列腺癌的依據，相較於只單純評估 tPSA 來的更精確。他們收集 5800 個前列腺癌組織檢體、1448 份 MRI 影像結果及 150 份 PET/MRI 影像數據、4900 個血清樣品計算出 PHI 數值。

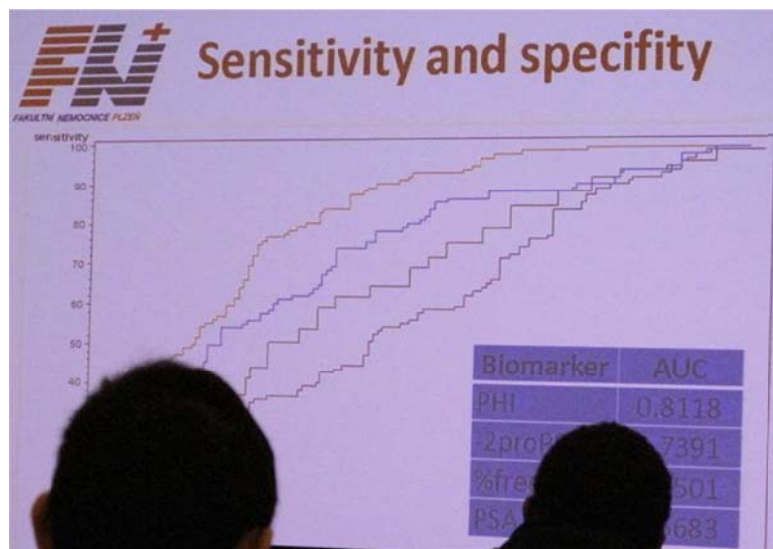


圖 十五、臨床試驗觀察 PHI 診斷前列腺癌之靈敏度與特異性

在靈敏度與特異性比較下，由曲線下面積得出 (Area Under Curve, AUC)，PHI 值高達 0.8118 (圖十五)，比其他單一評估方式 (proPSA, fPSA, tPSA) 更精確，使得 PHI 適合作為診斷前列腺癌的生物標記。透過血清的非侵襲性分析方式，可以減少組織穿刺採樣或影像分析比率，並且提供精準的判讀與治療方式的決定，也可以作為術後的評估指標。

■ 由於個體差異性的關係，單一生物標記評估 (診斷) 已逐漸被複合式生物標記所取代，本研究透過大量臨床血液檢體所獲得的數據更說明 PHI 用於前列腺癌的診斷，若能搭配現有的直腸指診和超音波檢查將有助於及早偵測到癌病灶及早治療。

(6) 胃癌生物標記--PEA3

胃癌是全球癌症死亡人數排名第四大的疾病。台灣 2012 年的統計，胃癌排十大癌症死因的第六位，主要原因是胃癌由胃的黏膜細胞不正常的繁殖與增生所形成的。起初只是胃壁稍微增厚，該處黏膜功能雖然消失，但相對整個胃而言，很難產生警訊，所以大多數患者患發現時已經是末期，也是難以治癒的原因，一旦發現後，5 年存活率是小於 20%。

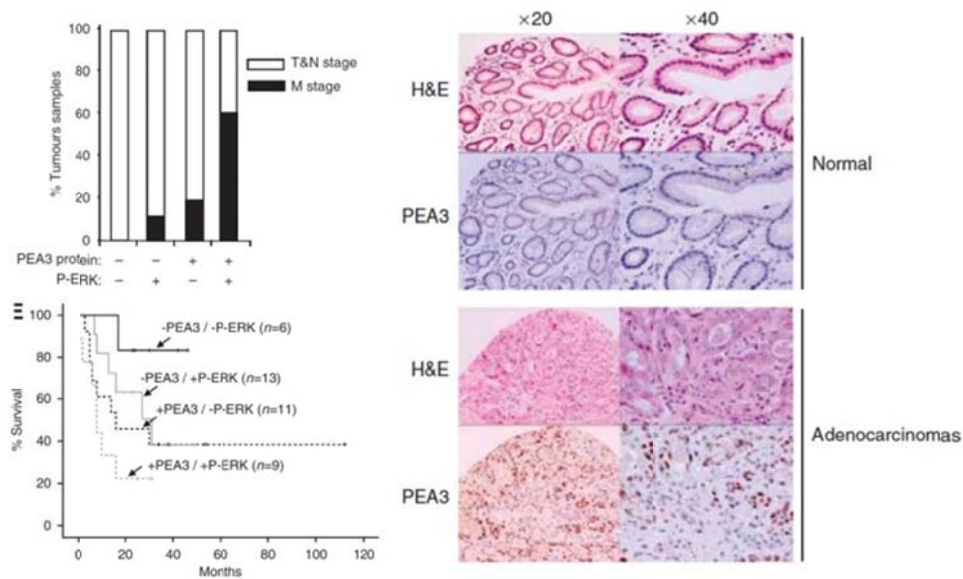


圖 十六、PEA3 在胃癌組織的表現及存活率的影響

Yeng S Ang 教授指出，胃癌多見於嗜鹽醃、煎炸、炙烤，煙燻魚、肉和高香料食品之人群。某些疾病如胃息肉，萎縮性胃炎、胃酸缺乏症或惡性貧血者，是胃癌發生的癌前變化。另外，胃幽門桿菌也和胃癌的發生有關。東西方國家兩者對於腫瘤產生位置明顯不同，西方國家主要發生在胃部前端三分之一的位置。早期研究已知，PEA3 蛋白會大量表現在胃癌組織，且存活率與 PEA3、ERK 表現有關（圖十六）。於是，他們針對 43 位胃癌病患及 15 位健康受試者進行試驗。結果證實，PEA3 及 ERK 的表現量與胃腫瘤生長或轉移有密切關係，PEA3 及 ERK 同時表現者，存活率越低（圖十七）。



圖 十七、胃癌受試者分類及存活率

■ 目前胃癌的診斷方式主要以胃鏡檢查為主，針對可能病灶位置取組織，經由病理報告來做最後的判定。電腦斷層檢查則是用來做分期，幫助分辨腫瘤大小、侵犯深度、以及是否有轉移的情形。另一種診斷的方式是鋇劑攝影，經口喝入顯影劑，在放射線下檢查，經由顯影劑在胃裡灌注及排空的情形來做判斷。好處是浸潤型和潰瘍型的腫瘤都可以看出來，缺點是偽陰性高達 50%，早期癌的診斷率也只有 14%。當鋇劑攝影懷疑有胃部病灶時，仍需藉由胃鏡檢查取得檢體做確診。透過 PEA3 蛋白質的血液檢測，是一個較為簡便的方式，可以快速且大規模的篩檢較有可能的胃癌患者。

(7) 肺癌生物標記—VDAC1、SMAC、HK-1、AIF、MAVS

肺癌是全世界所有癌症死亡率佔第一位的癌症，台灣已連續超過 5 年佔癌症死亡率的第一位。由於早期肺癌並沒有任何症狀，所以大部分新診斷的肺癌約 7 成至 7 成半均已屬於晚期肺癌。肺癌主要分成小細胞肺癌 (Small cell lung cancer, SCLC) 與非小細胞肺癌 (Non-Small cell lung cancer, NSCLC) 兩類。NSCLC 可再分為肺腺癌 (Adeno carcinoma, AC)、鱗狀上皮癌 (Squamous cell carcinoma, SCC) 與大細胞肺癌 (Large cell carcinoma)。小細胞肺癌約佔肺癌病例的 15%，肺腺癌佔的比例最高，約 50-55%，鱗狀上皮癌佔約 30%。

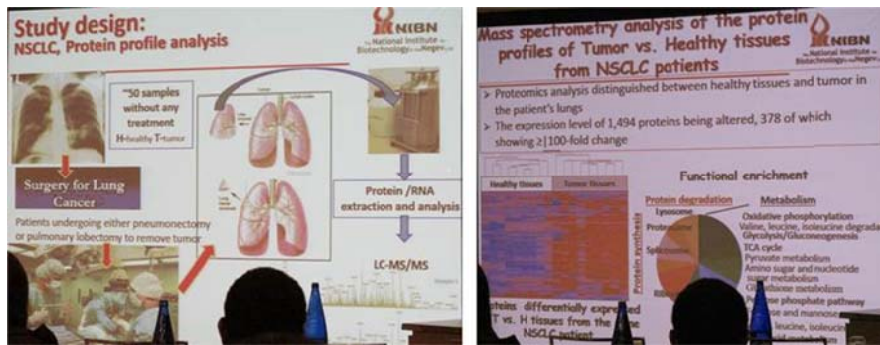


圖 十八、實驗設計流程與 LC-MSMS 分析結果

來自以色列本古里安大學的 Varda Shoshan-Barmatz 教授認為，肺癌細胞經歷代謝、細胞存活和抵抗細胞凋亡的重新編碼，調控這些重新編碼的蛋白質可作為生物標誌物。於是她們研究團隊收集 50 位國內 NSCLC 患者之組織檢體，以液相層析串聯式質譜儀 (Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MSMS) 分析，去搜尋與肺癌相關的蛋白生物標記 (圖十八左)。結果共搜尋出 1494 個與對照組具有差異的蛋白質，其中 378 個蛋白質差異性大於 100 倍 (圖十八右)。接著，再以西方墨點法 (圖十九左) 及組織免疫染色法 (圖十九右) 去做驗證，最終挑選出幾個具有潛力的蛋白質，包括: VDAC1、SMAC HK-1、AIF、MAVS。

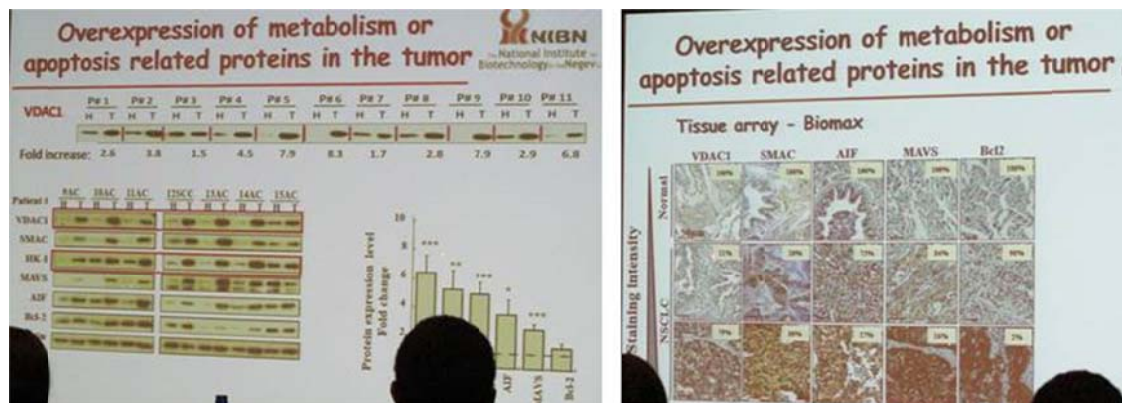


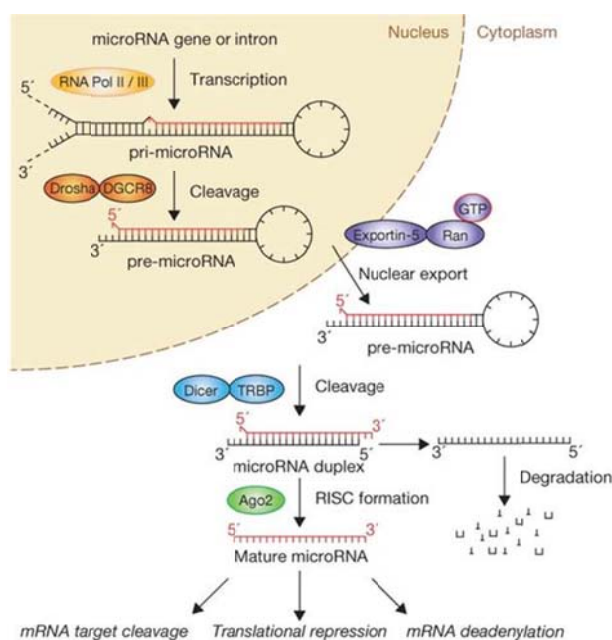
圖 十九、西方墨點法與組織免疫染色法驗證 NSCLC 蛋白質表現

■ 分析病灶處的組織，所獲得之生物標記其相關性比從血液分析所獲得的生物標記更具意義，因為這些生物標記的表現是源自於病灶本身的變化有直接上的關係。然而，由此研究得知，在質譜分析中所呈現具有差異的蛋白質，在實際切片染色、西方墨點法確認後，僅有部分生物標記是具有潛力的，也說明了生物

標記搜尋不易。這需要考慮技術上、儀器設備、人為取樣的因素，相信隨著科技日新月異，上述的問題終將一一克服，可降低搜尋疾病生物標記之困難度。

(8) 乳癌生物標記--microRNAs

乳癌佔國人女性癌症發生率的第二位，乳癌早期發現的好處是治癒率高，然而國人因個性保守，以致早期乳癌只佔 15-20%。由於乳房含豐富血管、淋巴管、淋巴結，因此乳癌細胞容易擴散到其他器官。目前的乳癌診斷方式有：(1)臨床的徵狀。(2)個人病史。(3)家族病史。(4)乳房的視診及觸診。(5)乳房 X 光攝影檢查。(6)超音波檢查。(7)針抽吸細胞檢查。(8)乳房切片檢查。(9)血液生物標記檢測。

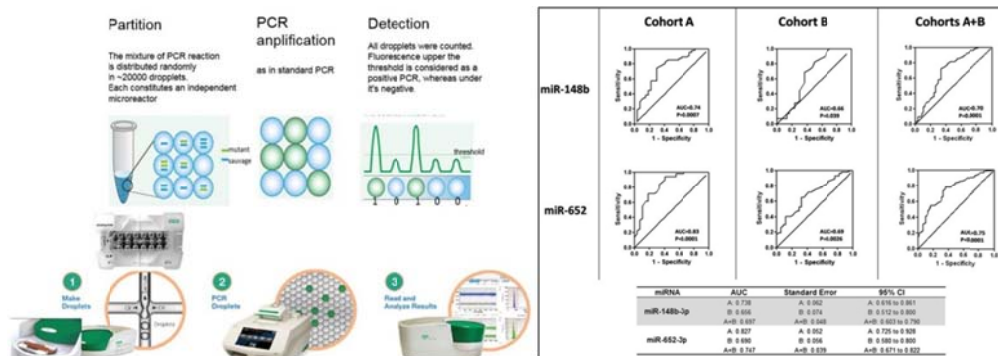


圖二十、microRNA 合成與基因調控

蘇丹共和國 Sayda Omer Ebnaof 博士指出，目前常用於臨床檢測的乳腺癌血清生物標誌物包括：癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA) 和碳水化合物抗原 15-3 (carbohydrate antigen 15-3)。但許多證據顯示，兩者的靈敏度性和特異性都不高，因此，需要搜尋更好的生物標記。在血清或血漿中存在著穩定循環的 microRNAs (miRNA)，研究顯示，這些微小的 miRNA 可望作為癌症生物標誌物。miRNA 是真核生物中廣泛存在的一種長約 18-25 個核苷酸的核糖核酸 (RNA) 分子，藉由

抑制或 mRNA 降解方式去調控其他基因的表現。這些 miRNA 首先會經由細胞內的轉錄酶 (RNA polymerase II, III) 進行複製形成 pre-miRNA，接著再由 Drosha-DGCR8 複合體進行切割，再送出細胞核由 DICER-TRBP 複合體做第二序列切割，最終形成成熟型 miRNA (mature microRNA)，如此就能夠進行基因表現之抑制功能 (圖二十)。

不過，要將 miRNA 作為癌症生物標記會面臨一些挑戰，例如：血清中有細胞污染、樣品處理過程、miRNA 穩定性、紅血球污染、RNA 萃取與樣品均質化等，皆會影響分析結果。Sayda Omer Ebnaof 博士以 Droplet digital PCR (ddPCR) 進行分析。以往在定量 PCR 產物時大多是相對性的定量，而近期隨著科學進步，發展出第三代 DNA 定量技術---數字 PCR (digital PCR, dPCR)，能精確地測定樣品中核酸的 DNA 分子個數 (絕對定量)。dPCR 的概念是將一個樣本分成幾十到百萬份，再分配到不同的反應單元中，每一個單元最多包含一個標的分子 (DNA 模板)，接著在每個反應單元中，分別對標的分子進行 PCR 擴增，最後再以螢光訊號進行偵測分析，因此可以偵測樣品的絕對 DNA 分子個數，而不再是相對性的定量。而微滴式數字 PCR (Droplet Digital PCR, ddPCR) 是將樣品分成數分後，在體積 nL 的乳化微滴中，以熱迴圈儀進行 PCR 反應，最後再以微滴分析儀逐個分析每個樣品中各液滴的螢光量並做絕對定量 (圖二十一左)。



圖二十一、微滴式數字 PCR 流程

Sayda Omer Ebnaof 博士針對兩種罹患乳癌族群 (A 組=28 位義大利人, B 組=59 位美國人) 進行分析，結果顯示，乳腺癌患者血清的 miR-148b-3p 和 miR-652-3p 含量比對照組還低。受試者 (ROC) 曲線分析顯示 miR-148b 和 miR-652 在兩個群組中具有出顯著預測乳腺癌的能力 (圖二十一)。

■ 由上述結果可以得知，miR-148b-3p 及 miR-652-3p 這兩種 miRNA 具有乳癌腫瘤抑制效果，也就是說，當體內細胞這兩種 miRNA 表現異常時，就無法有效抑制突變的基因序列，最終造成乳癌發生。換一個角度想，這些 miRNA 是抑制何種基因片段，這些基因片段產生那些蛋白質。因此，這些產生的蛋白質也可以稱作是一種腫瘤生物標記，後續可以過機制去作深入探討。

(9) 大腸癌生物標記--VEGFR、Raf 家族、PDGFR

來自黎巴嫩貝魯特阿拉伯大學的 M Al Hassan 博士提到，結腸直腸癌是世界上最普遍的惡性腫瘤，其發生率在已開發國家中，明顯的都較高。2008 年，在美國約有 148,810 新結腸直腸癌病例被診斷出來，因疾病死亡的人數裡，大約有 49,960 人。在種族差異上，白人較黑人有較高的機會得到結腸直腸癌。在性別差異上，男性比女性罹患直腸癌的機會較高，結腸癌則大致相同。她也特別提到黎巴嫩到了 2020 年，每十萬人將有 17.5 人發生大腸癌。根據台灣衛福部癌症登記統計顯示，95 年發生人數首次超越肝癌，成為我國癌症發生人數最多的癌症，發生人數已超過 12,000 人，98 年標準化發生率為每 10 萬人口 41.4 人，標準化發生率上升 81%。而死亡人數在民國 100 年已增至 4,921 人，標準化死亡率為每 10 萬人口 15 人，標準化死亡率上升 13%。早期的結腸直腸癌若能在癌細胞擴散出去之前及早治療，五年存活率有高達九成以上的機會。然而，目前僅約三分之一的病人是在未轉移前被發現，若已發生淋巴轉移，五年存活率僅剩五成左右，一旦有其他遠處器官轉移，如肝臟、肺臟，其五年存活率低於一成。

結腸直腸癌的發生因素有：(1)分子基因的層面:危險因子與宿主間交互作用的最終結果，都是使細胞的基因發生了變化，失去正常的功能，而產生癌症。這些基因的改變，包括缺失、突變等。突變的基因包括 *ras*、*c-myc*、*DCC*、*p53*，突變的例子有 *5q21*、*MCC*、*FAP* 等。(2)解剖學的觀點:一般認為大部份的結腸癌源自於既有的腺瘤，也就是黏膜表皮細胞產生不正常的增值，慢慢堆積長大變成息肉、腺瘤，然後腺瘤變大，腺瘤上頭的細胞再有漸漸發生癌變，再慢慢長大，侵犯蔓延。這從

正常細胞到發展成內視鏡檢查可見的腫瘤過程，可能需時數年。

大腸癌患者執行化學治療的原因是 (1)患者無法手術。(2)手術後的輔助性治療。(3)手術前的新輔助性治療 (Neo-Adjuvant Chemotherapy)。常見的化療藥物包括:5-Fluorouracil (5-FU) 、leucovorin (一種維生素)、 CPT-11、Oxaliplatin、Tomudex、及口服的抗癌藥物如 UFT、Capecitabine、S-1 等都在發展中。

Hassan 博士在會議中提到一種抗大腸癌藥物—Sorafenib。這是一種激酶抑制劑，已經被美國 FDA 核准作為放療抗性的甲狀腺癌、腎臟癌及肝癌藥物。報告指出，sorafenib 的標的分子是 VEGFR、Raf 家族成員及 PDGFR。透過抑制訊息傳遞鏈上的分子，而影響腫瘤生長，促進細胞死亡 (乳癌細胞與腎癌細胞)。因此，Hassan 博士要試著用此藥物去處理大腸癌細胞觀察是否也具有生長抑制功能。結果顯示，15 μ M 的劑量下，就有毒殺效果 (圖二十二左)，而這些腫瘤細胞毒殺作用的機制是透過 ROS 的產生所造成的 (圖二十二右)。

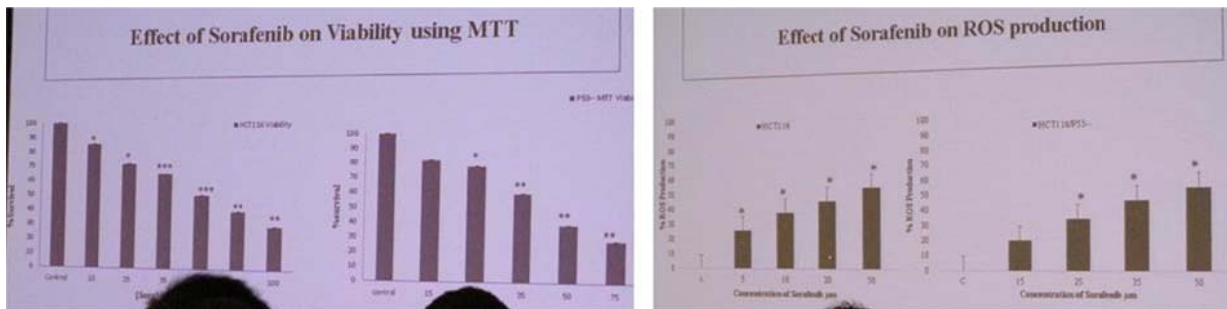


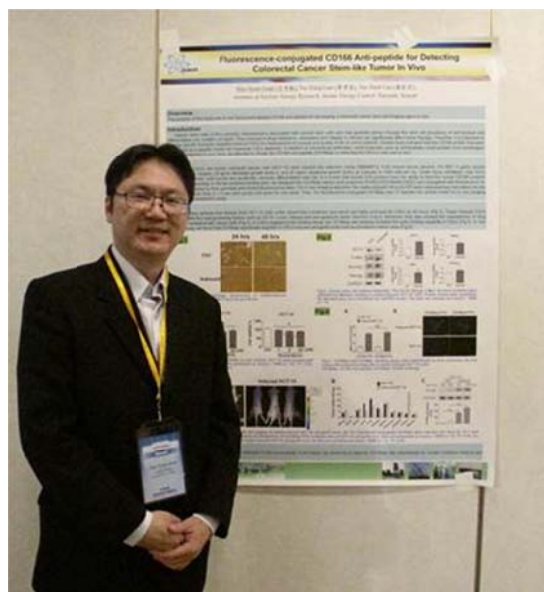
圖 二十二、Sorafenib 處理大腸癌細胞後的細胞存活率與 ROS 生成分析

Hassan 博士提到，雖然現階段只進行 in vitro 實驗，但仍讓研究團隊有相當大的信心去進行 in vivo 實驗，以確認藥物的治療效果，以及可能產生的副作用。

■ 本研究所使用的藥物- Sorafenib，由於對 VEGFR、Raf 家族成員及 PDGFR 具有標的效果。也說明了大腸癌與這些生物標記具有相關性，可以考慮作為靶向性診斷藥物的標的位置。另外，由於 Sorafenib 本身是抑制劑，可與特異性蛋白質作結合，因此，可以將 sorafenib 設計成藥物探針，可攜帶放射性物質，提供腫瘤診斷的能力。

(四) 壁報論文發表狀況

此次會議發表一篇壁報論文:「Fluorescence-conjugated CD166 Anti-peptide for detecting colorectal cancer stem-like tumor in vivo」(圖二十三)。由於腫瘤幹細胞 (cancer stem cells, CSCs) 與腫瘤抗藥性、轉移和癌症復發有關,因而影響腫瘤治療效果。因此,開發大腸癌幹細胞特異性療法之探針是相當重要的。研究發現,CD166蛋白被認為可用來偵測 CSCs的生物標記。本研究,我們建立大腸癌類幹細胞 (colorectal cancer stem-like cells, CCSLCs) 之細胞模式,這些CCSLCs細胞能表現OCT4、c-myc、Nanog和抗凋亡因子 (Survivin) 等癌症幹細胞生物標記蛋白質,並有抗藥性的能力,與一般腫瘤幹細胞有相似的特徵與功能。接著,我們設計了CD166抗胜肽作為體外和體內檢測CCSLCs探針。經過細胞結合試驗、動物影像及生物分佈結果顯示具有標的CCSLCs能力,且結合能力與CD166抗體相當。由此證實,我們成功地設計了一種針對CCSLCs檢測的特異性探針,未來可應用在CCSLCs動物核醫造影之應用上。本壁報論文摘要將刊登在Journal of proteomics and bioinformatics 2017 10:12 (Suppl) (附錄二)。本次會議共收錄32篇的壁報論文,其題目與作者請詳見附錄三,詳細摘要內容請詳見大會手冊。



圖二十三、壁報論文合影

三、心得

本次公差從 106 年 12 月 5 日至 106 年 12 月 10 日，參加第九屆世界生物標記研討會，參與來自世界各地的專家或學者之專題演講，並於會後討論與收集最新資訊，收獲相當豐富。心得摘要如下：

- (一) 這是我個人代表核能研究所第一次參加國外公差，所遇到的研討會議題（疾病生物標記）也與我剛來核能研究所時執行的計畫相關，計畫執行內容主要是針對退化性神經疾病（阿茲海默氏症）的患者搜尋其血液中的特異性生物標記。利用的技術是以二維電泳搭配質譜分析鑑定出與正常受試者顯著差異的蛋白質生物標記，最後我們也針對這些具有差異的蛋白質申請專利（發明第 I438430 號）。由於本身對於生物標記搜尋的相關技術已有了解，且本身也實際參與實驗操作，對於會議上講者提到的一些相關技術就不陌生，也能夠立即進入狀況，同時能在會後對以往技術上無法克服的問題向講者討論，解決不少困擾，使得將來若有機會再執行這方面的研究（如疾病生物標記搜尋或身分鑑定時）時有相當大的幫助。
- (二) 有別於國際年度大型研討會（如歐洲消化醫學會、美國核醫年會、歐洲核醫學年會等），本次會議的規模屬於小型研討會，所有演講均在同一個會議廳舉行，如此一來讓聽眾可以參與所有的演講，但議程僅有 2 天，主辦單位雖然針對每一種癌症提供一場演講，但實際上應有更多的生物標記被搜尋出來。另外，從參與研討會的國家來看，除了歐洲（西班牙、英國、捷克、瑞士、土耳其、羅馬尼亞、俄羅斯）、美洲（加拿大、美國、古巴、巴西、墨西哥）等國家外，還包括亞洲（台灣、南韓、中國大陸、伊朗、黎巴嫩、巴基斯坦、以色列、沙烏地阿拉伯）、非洲（蘇丹）合計 21 個國家共襄盛舉。這說明了疾病相關生物標記的研究仍是受到全世界的關注，而會議所提到的生物標記也是未來核能研究所在藥物開發的設計上可以納入考慮的對象。
- (三) 會議中有多位講者提到利用臨床患者血清進行生物標記之分析，這類型的生物標記屬於血液循環型，具有開發成為臨床血液檢測套組的特性，然而醫院傳統的血

清篩檢方式是透過酵素免疫分析法 (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA)，雖然已經可以自動化執行，但若有多種生物標記要檢測時，就必須分批執行，操作上仍有麻煩。晶片開發一直是台灣的強項，若將多種生物標記全部製作在晶片上，就可以快速篩檢血清。目前國內已經有 miRNA 的晶片 (敏盛醫療) 問世。因此，利用晶片篩檢是一個趨勢，相信未來也會有其他疾病生物標記 (代謝物或是蛋白質) 檢測晶片產出。

(四) 此次會議也聽到有關基因的生物標記被應用於治療的概念。早期疾病生物標記多以蛋白質為對象，分成細胞膜蛋白及細胞內蛋白質。這些蛋白質有的功能像酵素具有催化細胞內代謝反應之功能，有些是分布在細胞膜上做為物質進出細胞的運送功能。透過這些蛋白質作為標靶位置，目的是將藥物精確的帶至病灶處，抑制蛋白質功能或是造成細胞內毒殺效果來抑制腫瘤生長。這些異常表現的蛋白質可源自於基因的變異所造成的，因此，若能夠先從腫瘤細胞內的特異性基因去研究，將這些基因表現抑制後，就可以降低腫瘤細胞正常生長。基因編輯技術很早就已經被提出，從第一代技術 ZFN (鋅指核酸酶) 發展到第二代 TALEN (轉錄激活樣效應因子核酸酶)，現今第三代技術 CRISPR/Cas9。如今，基因編輯技術趨於成熟，可隨意且快速的編輯基因 (刪除或插入基因片段)，使得腫瘤細胞內的特異性基因可以被刪除或修復，甚至可以應用在遺傳性疾病治療。除了腫瘤細胞本身的基因編輯，將編輯對象用在免疫細胞上就是目前相當熱門的免疫療法執行方式。這些自體免疫細胞在體外經過基因編輯後具有活化現象，再導入自身體內進行腫瘤治療，此方法是透過免疫細胞特有的辨識方式，區別腫瘤與正常細胞，然後將腫瘤細胞殺死，對於正常細胞不做攻擊，大大降低副作用，提供另一種腫瘤療法的新思維。

(五) 臨床檢體反應出病灶處最真實的情況。本次會議的講者，多以取得臨床檢體後進行分析實驗，若分析樣品數夠多的話，所得出的結果會是具有意義。而這些檢體必須由醫師提供，所以與醫師建立良好的關係是科學研究進步的重要關鍵。處於第一線的醫師，他們了解到目前的疾病情況，也容易發現問題所在，至於如何解

決這些問題就我們的工作，也是我們研發的方向，開發出來的產品或技術才有在醫院應用的機會與價值。所以，與醫院合作不僅僅只是取得臨床檢體或是臨床用藥，更重要的是我們研發的產品能實際反映出醫院需求，對於之後產品或技術轉移的機會大大提升，未來在臨床試驗上更有醫院願意參與，縮短藥物上市的時程。

(六) 會議中，有演講者是利用小分子作為腫瘤治療藥物，這類的小分子會與腫瘤生物標記作結合，導致生物標記功能被抑制。因此，這些小分子物質具有腫瘤靶向性，可以作為藥物攜帶的探針或載體。傳統上以抗體為普遍使用的藥物探針，但因分子過大、在體內代謝速率慢、肝腎聚集現象以及成本與技術層面高，還必須考慮免疫問題，所以應用在腫瘤診斷或治療上會受限制。相對地，小分子物質（抑制劑或胜肽片段），在體內清除速率快、肝腎不易堆積、背景值低、成本較低、合成技術成面較低且較無免疫反應等，這些因素使得開發小分子標靶診斷或治療藥物開始受到關注，本所目前有部分計畫也有使用小分子標靶藥物作為核醫藥物開發的對象，相信有上述的優勢之下，讓研發團隊更具信心去專注在這具有潛力的產品上。

四、建議事項

本次國外公差參加第九屆世界生物標記研討會，對於最新資訊的取得、研發現況及臨床應用皆有豐富收穫。依此次公差的經驗，對本所未來核醫藥物發展有下列建議：

- (一) 多投入基礎科學研究：生物標記的選擇是標靶藥物開發最先也是最重要的步驟，一個有良好辨識正常與病灶位置的生物標記才是未來藥物開發成功于否的關鍵。然而，這些生物標記有賴於基礎科學的分析研究去做進一步的確認是否有專一性，一旦確認後，將可以利用專利做保護，有利於未來相關藥物的開發。
- (二) 多支持年輕研究者參加臨床學術研討會：本所年輕的研究者皆是實際執行實驗工作的人員，對於相關研究技術較為了解，在與國外學者討論時較能反映出問題所在，同時，對於會議內容也能立即進入狀況並有效吸收，而透過會議了解臨床目前與未來狀況，才能與現有研究做連結。另外，也藉此鼓勵本所年輕學者發表研究成果，提升本所在國際之能見度，有利於吸引國際合作夥伴。
- (三) 長期與醫師建立合作關係：醫師不僅是提供檢體的來源，也是能提供本所研究的方向，唯有醫師迫切需要的產品（診斷或治療），我們開發才有意義，產業界才會認同，未來才有技轉的空間，可提高研究計畫取得之機會。
- (四) 投入小分子標靶藥物之開發：小分子標靶藥物（抑制劑或胜肽）的價格和單株抗體標靶藥不相上下，具有高單價及高營收。由 2015/2016 年 FDA 核准的藥物來觀察，小分子藥物佔 7 成，大分子藥物佔 3 成。這顯示，具有標靶性的小分子，可專一性的辨別特定基因或特定分子目標為標靶，加上小分子比大分子有特殊的優勢下，也極具開發的價值。

五、附錄

附錄一、會議時間、講者與題目。

Day 1 December 07, 2017	
08:00-09:00 Registrations	
Burgos	
conferenceseries.com 09:00-09:10	Opening Ceremony
Keynote Forum	
09:10-09:15	Introduction Title: Mobilome and resistome analysis of canine multidrug resistant methicillin-Resistant
09:15-09:45	Staphylococcus sciuri strain C2865 and comparative genomics of S. sciuri species group Elena Gómez-Sanz, ETHZ, Switzerland
09:45-10:15	Title: Biomarkers and liver cancer process Topolcan Ondrej, Charles University, Czech Republic
Session 1: Biomarkers Cancer Biomarkers Pathology Diagnosis	
Session Chair: Wancai Yang, University of Illinois at Chicago, USA	
Session Introduction	
10:15-10:40	Title: Genetic and epigenetic alterations in chronic colitis malignant transformation Wancai Yang, University of Illinois at Chicago, USA
Networking & Refreshment Break 10:40-10:55@ SALAMANCA	
10:55-11:20	Title: Genetic deficiency of PRSS8 causes mouse intestinal inflammation and tumors Yonghua Bao, Jining Medical University, China
11:20-11:45	Title: Gastric Endoscopic Submucosal Dissection (ESD) as a treatment for early neoplasia and for accurate staging of early cancers in a UK Caucasian population M Davenport, Salford Royal NHS Foundation Trust, UK
11:45-12:10	Title: The ERK MAP kinase-PEA3/ETV4-MMP-1 axis is operative in oesophageal adenocarcinoma Yeng S Ang, Salford Royal University Hospital, UK
Session 2: Biopharmaceuticals Computer Aided Drug Design (CADD) Medicinal Chemistry in Modern Drug Discovery Drug Metabolism and Drug Designing	
Session Chair: Vladimir A Baulin, Universitat Rovira I Virgili, Spain	
12:10-12:35	Title: Targeting viral membrane proteins <i>in silico</i> Wolfgang B Fischer, National Yang-Ming University, Taiwan
12:35-13:00	Title: Crocin, a carotenoid pigment of saffron inhibits the replication of HSV and HIV <i>in vitro</i> Sepehr Soleymani, Pasteur Institute of Iran, Iran
Group photo	
Lunch Break 13:00-13:50@ SALAMANCA	
13:50-14:15	Title: RNAi-based tailored therapeutic strategies: Are we there yet? Sukru Tuzmen, Eastern Mediterranean University, Turkey
14:15-14:40	Title: Anticancer efficacy of self-nanoemulsifying drug delivery system of sunitinib malate Saad M Alshahrani, Prince Sattam Bin Abdulaziz University, Saudi Arabia
14:40-15:05	Title: Cucurbitacin B mitigates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibition of IL-17/IL-23 immune axis Nima Sanadgol, University of Zabol, Iran
15:05-15:30	Title: Design strategies for nanoparticles translocating through lipid bilayers Vladimir A Baulin, Universitat Rovira I Virgili, Spain
Session 3: Advance in Biomarkers Discovery Biomarkers and Non Cancerous Diseases Cell Free Biomarkers	
Session Chair :Bodour Salhia, University of Southern California, USA	

15:30-15:55	Title: Clinical utility of cell-free DNA methylation in managing breast cancer recurrence Bodour Salhia , University of Southern California, USA
Networking & Refreshment Break 15:55-16:10@SALAMANCA	
16:10-16:35	Title: Antiae a novel biomarker for cytodiagnosics Elena V Pikuta , Athens State University, USA
16:35-17:00	Title: Prognostic biomarkers of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): A step forward in the understanding of the disease Ana Cristina Calvo , University of Zaragoza, Spain
17:00 -17:25	Title: Advances on flow cytometry and new immunophenotypic markers on AML diagnosis, prognosis determination and overall survival Amanda Costa , Federal University of Sergipe, Brazil
Panel Discussion	
Day 2 December 08, 2017	
Keynote Forum	
09:55-10:00	Introduction
10:00-10:30	Title: Cancer genomics and its role in human cancers Jianhua Luo , University of Pittsburgh School of Medicine, USA
10:30-11:00	Title: Systems biology and metabolic engineering of microalgae for the production of pharmaceutical Amaryllidaceae alkaloids Isabel Desgagné-Penix , Université du Québec à Trois-Rivières, Canada
Networking & Refreshment Break 11:00-11:15@SALAMANCA	
Session 4: Cancer Biomarkers Biomarkers & Immuno-Oncology Biomarkers Detection & Discovery Clinical Biomarkers Advances in Biomarkers Discovery	
Session Chair :Topolcan Ondrej , Charles University, Czech Republic	
11:15 -11:40	Title: Usage of metabolomics profile as biomarkers itself for diagnostic diseases P G Lokhov , Institute of Biomedical Chemistry, Russia
11:40 -12:05	Title: RhoGDI3, is this small molecular regulator key orchestrating the movement and tumor mass in PDAC? Mercedes Piedad de León-Bautista , Central adn, Mexico
12:05 -12:30	Title: PHI and prostate cancer - optimal management Topolcan Ondrej , Charles University, Czech Republic
12:30 -12:55	Title: PEA3/ETV4-related transcription factors coupled with active ERK signalling are associated with poor prognosis in gastric adenocarcinoma Yeng S Ang , Salford Royal University Hospital, UK
Lunch Break 12:55-13:35@ SALAMANCA	
13:35 -14:00	Title: Novel biomarker proteins for cancer: Impact on diagnosis, prognosis and treatment Varda Shoshan-Barmatz , Ben-Gurion University of the Negev, Israel
14:00 -14:25	Title: Soarfenib effect on human colon cancer cells HCT116 and HCT116 p53-/- M Al Hassan , Beirut Arab University, Lebanon
14:25 -14:50	Title: Diagnostic and prognostic microRNAs in the serum of breast cancer patients measured by droplet digital PCR Sayda Omer Ebnaof , University of Khartoum, Sudan
14:50-15:15	Title: Association of Human Papilloma Virus with Head and Neck Cancer Patients from Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan Maimoona Sabir , University of Haripur, Pakistan

附錄二、發表於 9thWBC 壁報論文。

本論文摘要將刊登於 Journal of proteomics and bioinformatics 2017 10:12 (Suppl)

conferenceseries.com

JOINT EVENT ON

9th WORLD BIOMARKERS CONGRESS

20th International Conference on
PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY

Siao Syun Guan et al., J Proteomics Bioinform 2017, 10:12(Suppl)
DOI: 10.4172/0974-276X-C1-110

December 07-09, 2017 | Madrid, Spain

Fluorescence-conjugated CD166 anti-peptide for detecting colorectal cancer stem-like tumor *in vivo*

Siao Syun Guan, Tse Zung Liao and Tsai Yueh Luo
Institute of Nuclear Energy Research, Taiwan

Cancer stem cells (CSCs) possess characteristics associated with normal stem cells and may generate tumors through the stem cell processes of self-renewal and differentiation into multiple cell types. They involved in drug resistance, metastasis and relapse of cancers can significantly affect tumor therapy. Therefore, it is important to develop specific therapies targeted probe at CSCs for improvement of survival and quality of life of cancer patients. Studies have indicated that the CD166 protein has been considered as a specific marker for colorectal CSCs detection. In addition to monoclonal antibodies, small molecules such as anti-peptides could provide more advantages for CSCs detection *in vivo*. Here, we attended to design the CD166 anti-peptide (CD166ap) to detecting the CSCs *in vitro* and *in vivo*. To obtain CSCs, the human colorectal cancer cells (HCT-15) were seeded into selection media (DMEM/F12, 0.4% bovine serum albumin, 2% B27, 5 µg/mL bovine insulin, 4 µg/mL heparin, 20 ng/mL fibroblast growth factor 2, and 20 ng/mL epidermal growth factor) at a density of 1000 cells per mL. Under these conditions, only CSCs and early progenitor cells survive and proliferate, whereas differentiated cells die. Next, we designed a CD166ap (amino acid: KDSEGYESYNGNLGSQC {It is known that human CD6 proteins have the ability to bind the human CD166 proteins specifically (Chappell PE et al., Structure. 2015, 23:1426-1436). Depending on the two proteins binding sites, we designed the amino acid sequence of CD166 anti-peptide. However, the N- and C-terminal amino acid (lysine and cysteine) were added for conjugating with fluorescence, nuclear medicine chelator and Polyethylene glycol (PEG).} and conjugated with fluorescence for CSCs binding assay by flow cytometry and immunofluorescence stain. For *in vivo* imaging detection, the media-induced CSCs (2×10⁶) were subcutaneous inoculated into the right flank of nude mice (n=5 per each group) and grew for one week. Then, the fluorescence conjugated CD166ap was IV injected into animal model for *in vivo* imaging system and biodistribution assay. The primary spheres that derived from HCT-15 cells under serum-free conditions and which are highly enriched for CSCs at 48 hours. These induced CSCs overexpressed the reprogramming factors such as OCT4, c-myc, Nanog and anti-apoptosis factor (Survivin). Moreover, they also showed the characteristic of drug resistance compared with cancer cells. In CSCs targeted probe binding assay, the CD166ap and antibody revealed the quite binding capability in CSCs. The *in vivo* imaging assay, we found that CD166ap specifically targeted to CSCs-induced xenograft model and accumulated in tumor area. In conclusion, we designed a specific probe for CSCs detection *in vivo* successfully. In addition, the CD166ap may label radioisotope for nuclear medicine imaging and conjugate drug for CSCs therapy in clinical.

Biography

Siao Syun Guan received his PhD Degree from the National Taiwan University, College of Medicine Graduate Institute of Toxicology in 2015. His research interests include biomarker discovery and drug development for tumor diagnosis by nuclear medical imaging. He is a Deputy Engineer in Division of Isotope Application, Institute of Nuclear Energy Research in Taiwan. The programs he has participated in includes: Nuclear Medicine in Diagnosis of Central Nervous Diseases (2008-2009), Development of Gastric Cancer Detection Kit (2010-2013), Colorectal Cancer Capsule Endoscopy (2012), Peptide-Based Tumor Target Probe (2014) and Radioactive Protein Labeling Technology (2015-2016). He is currently the Co-Program Manager for Tumortheranostics Drug Development (2017).

ssguan@iner.gov.tw

附錄三、研討會壁報論文標題與作者

Poster Presentations Slot I 15:15-16:15 @ SALAMANCA	
Poster Judge :Vladimir A Baulin, Universitat Rovira I Virgili, Spain	
PB-01	Title: Anticancer activity of <i>Osmanthus matsumuranus</i> extract by inducing G2/M arrest and apoptosis Byung Woo Kim, Dong-Eui University, South Korea
PB-02	Title: Anti-oxidative and anti-cancer activities of <i>Machaerium cuspidatum</i> extract Soojung Jin, Dong-Eui University, South Korea
PB-03	Title: Antioxidative and anticancer activities of <i>Julbernardia globiflora</i> extract Hyun Ju Kwon, Dong-Eui University, South Korea
PB-04	Title: Antioxidant and anticancer activities of <i>Sorbus rufopilosa</i> extract in human colon adenocarcinoma HT29 cells You Na Oh, Dong-Eui University, South Korea
PB-05	Title: Surface charge engineering of nitric oxide-releasing polymeric nanoparticles: Adhesion and anti-biofilm efficacy against wound infection associated MRSA biofilm in db/db mice Nurhasni Hasan, Pusan National University, South South Korea
PB-06	Title: Biotechnological studies on some plant species able to be used for the remediation of pharmaceutical industry's wastewater Ana Despina Ionescu, National Chemical-Pharmaceutical for Research and Development Institute, Romania
PB-07	Title: Layer-by-layer coated dexamethasone microcrystals for experimental inflammatory bowel disease therapy Murtada A Oshi, Pusan National University, South South Korea
PB-08	Title: Biosynthesis of levan by using the strain <i>Zymomonas mobilis</i> ATCC 10988 in static and shaking fermentation Angela Casarica, National Chemical-Pharmaceutical for Research and Development Institute, Romania
PB-09	Title: Haemostatic activity of butanol extracts of <i>Lamium album</i> and <i>Lamium purpureum</i> Corina Bubueanu, National Institute for Chemical-Pharmaceutical R&D, Romania
PB-10	Title: An accelerator mass spectrometry-enabled micro-tracer study to evaluate the human mass balance of KD101, an anti-obesity drug under development Howard Lee, Seoul National University College of Medicine and Hospital, South Korea
PB-11	Title: Mebendazole in giardiasis: Systematic review and meta-analysis Pedro Almirall, Ministry of Public Health of Cuba, Cuba
PB-12	Title: A physiologically-based pharmacokinetic model adequately predicted the human pharmacokinetic profiles of YH4808, a novel potassium-competitive acid blocker, to treat gastric acid related diseases Hyun A Lee, Seoul National University, South Korea
PB-13	Title: Studies on extraction and utilisation of biologically active compounds from <i>Capsicum</i> genus in the pharmaceutical industry Roxana Madalina Stoica, National Institute for Chemical-Pharmaceutical Research and Development-ICCF, Romania
PB-14	Title: Comparative study on the growth and consumption curves of <i>Zymomonas mobilis</i> NCIB 1163 and <i>Z. mobilis</i> ATCC 10988, levan producer Georgiana Gabriela Iordache, National Chemical-Pharmaceutical for Research and Development Institute, Romania

Poster Judge: Mercedes Piedad de León-Bautista, Central adn, Mexico

- WB 01 **Title: A framework for selecting analytical biomarkers: A first principles approach**
Samantha A Byrnes, Intellectual Ventures Laboratory, USA
- WB 02 **Title: Blood-based biomarkers of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's: Inflammation, vascular risks, gender and APOEε4 status**
James Hall, University of North Texas Health Science Center, USA
- WB 03 **Title: Expression of PD-L1 in relation to Human Papillomavirus (HPV) and p16 INK4a protein in primary and metastatic Squamous Cell Carcinomas of the Head and Neck (SCCHN)**
Dawn Sloane, Companion Diagnostics, USA
- WB 04 **Title: The fluctuations in homocysteine level caused by various combinations of folic acid cycle genes SNP alleles as a factor in the course of pregnancy violation**
Andrei V Ivanov, University Hospital of Saint-Petersburg State University, Russia
- WB 05 **Title: Cancer stem Cells as the target: Early detection for therapy**
Paola B Castro García, University of Guadalajara, Mexico
- WB 06 **Title: Characterization of a microRNA expression signature associated with recurrence in oral cavity cancer patients**
Ashlin Ninibeth Lara-Holguin, National Cancerology Institute, Mexico
- WB 07 **Title: Gene expression profiling reveals novel candidate genetic biomarkers of ovarian carcinoma prognosis and metastasis**
Radka Vaclavikova, National Institute of Public Health, Czech Republic
- WB 08 **Title: Cardiac troponins and their predictive value of myocardial injury on model of chronic anthracycline cardiomyopathy**
Michaela Adamcova, Charles University in Hradec Králové, Czech Republic
- WB 09 **Title: RhoGDI3 and the novel role in carcinogenesis: Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC)**
Rocío Thompson Bonilla, ISSSTE, Mexico
- WB 10 **Title: Serum EGF in non-small cell lung cancer: The biomarker value & the role of platelets**
Idania González-Pérez, Centre of Molecular Immunology, Cuba
- WB 11 **Title: Investigation of GGT5 and GGT7 mRNA expressions in patients with breast cancer**
Sevgi Yardim Akaydin, Gazi University School of Pharmacy, Turkey
- WB 12 **Title: Investigation of expression levels of DNA repair genes in molecular subtypes of breast cancer**
Ece Salihoğlu, Gazi University School of Pharmacy, Turkey
- WB 13 **Title: MicroRNA-9, MicroRNA-15b and MicroRNA-205 as biomarkers and metastasis regulators related to BRAF pathway genes in malignant melanoma**
Parisa Sahranavardfard, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, Iran
- WB 14 **Title: The relationship of adiponectin, vitamin D, copper and zinc serum levels with rheumatoid arthritis**
Nahid Kianmehr, Iran University of Medical Sciences, Iran
- WB 15 **Title: UMELisa EGF®: The companion kit for CIMAvax-EGF® vaccine**
Idania González-Pérez, Centre of Molecular Immunology, Cuba
- WB 16 **Title: Fluorescence-conjugated CD166 Anti-peptide for detecting colorectal cancer stem-like tumor *in vivo***
Siao Syun Guan, Institute of Nuclear Energy Research, Taiwan
- WB 17 **Title: Biomarker of breast cancer using SVM algorithm based on WXS data**
Gyu-Bum Han, South Korea Advanced Institute for Science and Technology, South Korea
- WB 18 **Title: Measurement of serum EGF levels, a methodological approach: Learning what means low-/high concentration of EGF in serum-Clinical implications**
Idania González-Pérez, Centre of Molecular Immunology, Cuba