

201438019A (1/2)

厚生労働科学研究委託費

革新的がん医療実用化研究事業

高精度エピゲノム胃がんリスク診断の確立と
多層的食道がんリスク診断の開発に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 牛島 俊和

平成27年(2015)年 3月

1 / 2冊

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業による委託業務として、独立行政法人国立がん研究センターが実施した平成26年度「高精度エピゲノム胃癌リスク診断の確立と多層的食道がんリスク診断の開発」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I.	委託業務成果報告（総括）	
	高精度エピゲノム胃癌リスク診断の確立と 多層的食道がんリスク診断の開発に関する研究	----- 1
	牛島俊和 国立がん研究センター	
II.	委託業務成果報告（業務項目）	
1.	ピロリ菌除菌後健常者の中の胃癌高危険度群の 高精度捕捉の前向き臨床研究に関する研究	----- 7
	牛島俊和 国立がん研究センター	
	島津太一 国立がん研究センター	
	新井恵吏 国立がん研究センター	
	中島 健 国立がん研究センター	
	一瀬雅夫 和歌山県立医科大学	
	山道信毅 東京大学	
	伊東文生 聖マリアンナ医科大学	
	杉山敏郎 富山大学	
	村上和成 大分大学	
2.	食道がん高危険度群捕捉の多層的リスクマーカー の開発に関する研究	----- 12
	岸野貴賢 国立がん研究センター	
III.	学会等発表実績	----- 15
IV.	研究成果の刊行・別刷	----- 21

委託業務成果報告（総括）

高精度エピゲノム胃がんリスク診断の確立と多層的食道がんリスク診断の開発に関する研究

業務主任者 牛島 俊和 国立がん研究センター研究所エピゲノム解析分野 分野長

研究要旨

現在急増している除菌後健康人について、胃がん高危険度群を捕捉する技術の開発は急務である。また、難治がんである食道がんにおいては、既知のリスク因子とは独立に高危険度群を捕捉できる技術の開発が重要である。本研究では、1) 胃粘膜に蓄積した DNA メチル化の定量による、除菌後健康人における発がんリスク診断の前向き臨床研究を実施、2) ゲノム・エピゲノム異常を利用した食道がんの多層的リスクマーカーを開発することを目的とする。本年度は、胃がんリスク診断については、高危険度群の選定方法及び除外基準を設定し研究プロトコールを作成、研究倫理審査委員会 (IRB) からの承認を得た。また、食道がんの多層的リスクマーカーについては、低頻度の突然変異をシークエンサーと区別する手法を確立した。来年度以降、胃がんリスク診断前向き研究、食道がん多層的リスクマーカーの開発を進める。

業務項目の担当責任者

島津 太一	国立がん研究センター・室長
新井 恵吏	国立がん研究センター・主任研究員
中島 健	国立がん研究センター・医員
一瀬 雅夫	和歌山県立医科大学・教授
山道 信毅	東京大学・助教
伊東 文生	聖マリアンナ医科大学・教授
杉山 敏郎	富山大学・教授
村上 和成	大分大学・教授
岸野 貴賢	国立がん研究センター・研究員

A. 研究目的

(1) ピロリ菌除菌後健康者の中の胃がん高危険度群の高精度捕捉の前向き臨床研究

現在急増している除菌後健康人について、胃がん高危険度群を捕捉する技術の開発は急務である。胃粘膜での DNA メチル化レベルの定量により除菌後健康人内の高危険度群を捕捉し、発がん危険度を層別化できることを証明するための前向き臨床研究を実施する。

(2) 食道がん高危険度群捕捉の多層的リスクマーカーの開発

難治がんである食道がんにおいては、既知のリスク因子とは独立に高危険度群を捕捉できる技術の開発が重要である。本研究では、食道粘膜に蓄積した点突然変異を定量可能とし、エピゲノムマーカーと組み合わせた食道がん多層的リスクマーカーを開発し、横断的解析での感度・特異度を明らかにするこ

とを目的とする。

B. 研究方法

(1) ピロリ菌除菌後健康者の中の胃がん高危険度群の高精度捕捉の前向き臨床研究

① 症例選択、除外基準、及び集積方法の設定
高危険度群の選定方法、除外基準、症例集積の効率化、及び検体採取方法の最適化について協議し、本臨床試験の詳細を決定する。

② 臨床試験倫理審査会 (IRB) の承認申請

研究プロトコールを作成し、順次参加施設において IRB 申請を行い、承認を得る。

③ 班会議の実施

IRB 申請における問題点の検討、症例集積前の目合わせなどを目的として、定期的に班会議を行って情報交換及び協議を行う。

④ 症例集積

多施設における多数症例の登録を簡便かつ迅速に進めるために、Web による症例登録システムを構築する。

⑤ 胃洗浄液を用いた検査手法の高度化

内視鏡検査時の胃洗浄液から回収した DNA を用いた胃がんリスク検出法は低侵襲な方法であるが、有用性は不確定である。洗浄液と生検検体を比較す

ることでその検査検体としての優劣を検討する。

(2) 食道がん高危険度群捕捉の多層的リスクマーカーの開発

① 細胞と変異原処理

ヒト TK6 (lymphoblast) 細胞株は ATCC より購入した。TK6 細胞株を、0-30 µg/ml の MNU (methylnitrosourea) で 24 時間処理した後、通常培地 (10%FBS を含む RPMI1640) で 6 日間培養した。その後、細胞を回収し、ゲノム DNA を抽出した。

② 低頻度突然変異の検出

シーケンスライブラリーは、100 分子のゲノム DNA を鋳型に用いて、がん関連遺伝子解析パネル (55 遺伝子の 291 領域、48,587 bases) を用いたマルチプレックス PCR により調製した。

シーケンス解析は Ion Proton シークエンサーを用いて行った。変異数の算出は、Qiagen 社の CLC Genomics Workbench 7.0 に搭載された Quality-based variant detection を用いて行った。48,587 bases の領域中、特にリード数が多く、シーケンスエラーが少ない 15,724 bases の領域を選別し、その領域における変異頻度 0.8%-10%を示す塩基置換の数を解析した。突然変異頻度は、突然変異頻度が十分小さい場合の近似式 (突然変異頻度) = (100 コピーのゲノム DNA における変異数) / 15,724/100 を用いて計算した。

(倫理面への配慮)

本研究に関係するすべての研究者は「ヘルシンキ宣言」(日本医師会訳)及び「疫学研究に関する倫理指針」(厚生労働省告示第1号)に従って研究を実施する。また個人情報の保護に関しては、個人情報の保護に関する法律(法律第49号)に準拠する。研究試料およびアンケートは各施設の IRB の承認を得て使用される。解析結果及び臨床情報とは登録番号を用いた連結可能匿名化により統合され、個人情報は保護される。本研究は遺伝することのない DNA メチル化レベル・体細胞突然変異に関する研究であり、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」には該当しないが、個人情報と DNA メチル化・体細胞突然変異に関する情報は連結した形で保存されない。

C. 研究結果

(1) ピロリ菌除菌後健康者の中の胃がん高危険度群の高精度捕捉の前向き臨床研究

① 症例選択、除外基準、及び集積方法の設定

ピロリ菌除菌後健康人の中の胃がん高危険度群の選定を保険診療と連携するため、「ABC 検診」よりも「内視鏡所見による萎縮性変化」が適切であると 2 回の班会議を経て結論した。症例集積方法に関し

ては、全国の 8 施設(国立がん研究センター中央病院、和歌山県立医科大学付属病院、富山大学付属病院、東京大学医学部付属病院、虎の門病院、大分大学医学部付属病院、浜松医科大学医学部付属病院、広島大学病院)を共同研究施設に設定し、各関連施設を含めた症例集積体制を構築した。

② IRB への承認申請

2014 年 12 月 30 日に国立がん研究センターの倫理審査委員会に申請を行い、2015 年 2 月 26 日に条件付き承認された。現在、順次共同研究施設においても倫理審査委員会への申請が進められている。

③ 班会議の実施

2014 年 7 月 13 日に第一回、2015 年 2 月 1 日に第二回の班会議を実施した。班会議では、研究実施プロトコールについて詳細な議論を行った。また、各共同研究施設における診療状況に応じた年間予定登録数を算定するとともに、内視鏡所見(萎縮判定基準)の目合わせも行った。

④ 症例集積

Web による症例登録システムを構築し、2015 年 4 月からの症例登録開始を可能とした。

⑤ 胃洗浄液を用いた検査手法の高度化

早期胃がん内視鏡治療前にメチル化高値で 1 年以内に再発する可能性の高い症例を予測する遺伝子及び切除後の腫瘍残存と早い時点での再発(潜在癌)の発見に有用な遺伝子を明らかにした。それぞれ単独で、70%以上の感度を示した。

(2) 食道がん高危険度群捕捉の多層的リスクマーカーの開発

0、0.1、0.3、1、3、10、30 µg/ml の各 MNU 濃度で処理した場合、変異頻度 0.8%-10%を示す塩基置換の数は、それぞれ 8、11、13、18、22、29、44 個であった。この結果から計算される突然変異頻度は、それぞれ 0.5、0.7、0.8、1.1、1.4、1.8、2.8 x 10⁻⁵であった。また、検出された突然変異のうち、アルキル化剤である MNU に特徴的な G>A 置換の割合は、それぞれ 58、66、70、62、71、72、76%であり、MNU 濃度の増加に伴う割合の上昇が認められた。さらに、独立してライブラリーを調製した場合でも再現性の高い測定が可能であることを確認した。

D. 考察

(1) ピロリ菌除菌後健康者の中の胃がん高危険度群の高精度捕捉の前向き臨床研究

ピロリ菌除菌後健康人の中の胃がん高危険度群の選定方法の変更により、保険診療との連携が可能となった。加えて、ABC 検診を採用していない関連病

院の研究参加が容易となり、強力な研究協力体制の構築が可能となった。これにより、今後の症例集積の促進が期待されるとともに、研究結果の有用性が示された際には、速やかに実用化できる。

(2) 食道がん高危険度群捕捉の多層的リスクマーカーの開発

変異原処理細胞株における低頻度の突然変異をシーケンサーと区別する手法を確立した。この手法を用いれば、ヒト非がん組織に蓄積した低頻度の点突然変異が十分定量可能と考えられ、食道粘膜に蓄積した点突然変異を定量することにより、リスク評価を行うことができると期待される。

E. 結論

本年度は、「ピロリ菌除菌後健常者の中の胃がん高危険度群の高精度捕捉の前向き臨床研究」については、研究プロトコルの承認を取得し、強力な研究協力体制を構築することができた。また、「食道がん高危険度群捕捉の多層的リスクマーカーの開発」については、低頻度の突然変異をシーケンサーと区別する手法を確立した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

本研究費への謝辞があるもの

1. Takeshima H, Niwa T, Takahashi T, Wakabayashi M, Yamashita S, Ando T, Inagawa Y, Taniguchi H, Katai H, Sugiyama T, Kiyono T and Ushijima T. Frequent involvement of chromatin remodeler alterations in gastric field cancerization. **Cancer Lett**, 357: 328-338, 2015.

謝辞はないが本研究費に密接に関係するもの

1. Asada K, Nakajima T, Shimazu T, Yamamichi N, Maekita T, Yokoi C, Oda I, Ando T, Yoshida T, Nanjo S, Fujishiro M, Gotoda T, Ichinose M and Ushijima T. Demonstration of the usefulness of epigenetic cancer risk prediction by a multicenter prospective cohort study. **Gut**, 64: 388-396, 2015. (先行研究である創薬基盤推進研究事業及びがん研究開発費への謝辞がある)
2. Takahashi T, Yamashita S, Matsuda Y, Kishino T, Nakajima T, Kushima R, Kato K, Igaki H, Tachimori Y, Osugi H, Nagino M and Ushijima T. *ZNF695* methylation predicts a response of esophageal squamous cell carcinoma to definitive chemoradiotherapy. **J Cancer Res Clin Oncol**, 141: 453-463, 2015.
3. Yoda Y, Takeshima H, Niwa T, Kim JG, Ando T,

Kushima R, Sugiyama T, Katai H, Noshiro H and Ushijima T. Integrated analysis of cancer-related pathways affected by genetic and epigenetic alterations in gastric cancer. **Gastric Cancer**, 18: 65-76, 2015.

4. Ueda Y, Ando T, Nanjo S, Ushijima T and Sugiyama T. DNA methylation of *microRNA-124a* is a potential risk marker of colitis-associated cancer in patients with ulcerative colitis. **Dig Dis Sci**, 59: 2444-2451, 2014.
5. Liu Z, Zhang J, Gao Y, Pei L, Zhou J, Gu L, Zhang L, Zhu B, Hattori N, Ji J, Yuasa Y, Kim W, Ushijima T, Shi H and Deng D. Large-scale characterization of DNA methylation changes in human gastric carcinomas with and without metastasis. **Clin Cancer Res**, 20: 4598-4612, 2014.
6. Yamada M, Fukagawa T, Nakajima T, Asada K, Sekine S, Yamashita S, Okochi-Takada E, Taniguchi H, Kushima R, Oda I, Saito Y, Ushijima T and Katai H. Hereditary diffuse gastric cancer in a Japanese family with a large deletion involving *CDH1*. **Gastric Cancer**, 17: 750-756, 2014.
7. Okochi-Takada E, Hattori N, Tsukamoto T, Miyamoto K, Ando T, Ito S, Yamamura Y, Wakabayashi M, Nobeyama Y and Ushijima T. *ANGPTL4* is a secreted tumor-suppressor that inhibits angiogenesis. **Oncogene**, 33: 2273-2278, 2014.
8. Yoshida T, Kato J, Inoue I, Yoshimura N, Deguchi H, Mukoubayashi C, Oka M, Watanabe M, Enomoto S, Niwa T, Maekita T, Iguchi M, Tamai H, Utsunomiya H, Yamamichi N, Fujishiro M, Iwane M, Takeshita T, Ushijima T and Ichinose M. Cancer development based on chronic active gastritis and resulting gastric atrophy as assessed by serum levels of pepsinogen and *Helicobacter pylori* antibody titer. **Int J Cancer**, 134: 1445-1457, 2014.
9. Hidaka A, Sasazuki S, Matsuo K, Ito H, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Iwasaki M, Inoue M, Tsugane S and JPHC Study Group. Genetic polymorphisms of *ADH1B*, *ADH1C* and *ALDH2*, alcohol consumption, and the risk of gastric cancer: the Japan Public Health Center-based prospective study. **Carcinogenesis**, 36: 223-231, 2015.
10. Hidaka A, Sasazuki S, Goto A, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Iwasaki M, Inoue M, Noda M, Tajiri H, Tsugane S and JPHC Study Group. Plasma insulin, C-peptide and blood glucose and the risk of gastric cancer: the Japan Public Health Center-based prospective study. **Int J Cancer**, 136: 1402-1410, 2015.
11. Shimazu T, Wakai K, Tamakoshi A, Tsuji I, Tanaka K, Matsuo K, Nagata C, Mizoue T, Inoue M, Tsugane S, Sasazuki S and Research Group for the Development and Evaluation of Cancer Prevention Strategies in Japan. Association of vegetable and

- fruit intake with gastric cancer risk among Japanese: a pooled analysis of four cohort studies. **Ann Oncol**, 25: 1228-1233, 2014.
12. Tian Y, Arai E, Gotoh M, Komiyama M, Fujimoto H and Kanai Y. Prognostication of patients with clear cell renal cell carcinomas based on quantification of DNA methylation levels of CpG island methylator phenotype marker genes. **BMC Cancer**, 14: 772, 2014.
 13. Sato T, Arai E, Kohno T, Takahashi Y, Miyata S, Tsuta K, Watanabe S, Soejima K, Betsuyaku T and Kanai Y. Epigenetic clustering of lung adenocarcinomas based on DNA methylation profiles in adjacent lung tissue: Its correlation with smoking history and chronic obstructive pulmonary disease. **Int J Cancer**, 135: 319-334, 2014.
 14. Arai E, Sakamoto H, Ichikawa H, Totsuka H, Chiku S, Gotoh M, Mori T, Nakatani T, Ohnami S, Nakagawa T, Fujimoto H, Wang L, Aburatani H, Yoshida T and Kanai Y. Multilayer-omics analysis of renal cell carcinoma, including the whole exome, methylome and transcriptome. **Int J Cancer**, 135: 1330-1342, 2014.
 15. Yamamichi N, Hirano C, Shimamoto T, Minatsuki C, Takahashi Y, Nakayama C, Matsuda R, Fujishiro M, Konno-Shimizu M, Kato J, Kodashima S, Ono S, Niimi K, Mochizuki S, Tsuji Y, Sakaguchi Y, Asada-Hirayama I, Takeuchi C, Yakabi S, Kakimoto H, Wada R, Mitsushima T, Ichinose M and Koike K. Associated factors of atrophic gastritis diagnosed by double-contrast upper gastrointestinal barium X-ray radiography: a cross-sectional study analyzing 6,901 healthy subjects in Japan. **PLoS One**, 9: e111359, 2014.
 16. Fujimoto K, Fujishiro M, Kato M, Higuchi K, Iwakiri R, Sakamoto C, Uchiyama S, Kashiwagi A, Ogawa H, Murakami K, Mine T, Yoshino J, Kinoshita Y, Ichinose M and Matsui T. Guidelines for gastroenterological endoscopy in patients undergoing antithrombotic treatment. **Dig Endosc**, 26: 1-14, 2014.
 17. Nakachi K, Tamai H, Mori Y, Shingaki N, Moribata K, Deguchi H, Ueda K, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Kato J and Ichinose M. Prediction of poorly differentiated hepatocellular carcinoma using contrast computed tomography. **Cancer Imaging**, 14: 7, 2014.
 18. Kageyama-Yahara N, Yamamichi N, Takahashi Y, Nakayama C, Shioyama K, Inada K, Konno-Shimizu M, Kodashima S, Fujishiro M, Tsutsumi Y, Ichinose M and Koike K. Gli regulates *MUC5AC* transcription in human gastrointestinal cells. **PLoS One**, 9: e106106, 2014.
 19. Inoue I, Kato J, Tamai H, Iguchi M, Maekita T, Yoshimura N and Ichinose M. *Helicobacter pylori*-related chronic gastritis as a risk factor for colonic neoplasms. **World J Gastroenterol**, 20: 1485-1492, 2014.
 20. Yamamichi N, Shimamoto T, Sakaguchi Y, Takahashi Y, Kodashima S, Nakayama C, Minatsuki C, Ono S, Mochizuki S, Matsuda R, Asada-Hirayama I, Niimi K, Fujishiro M, Tsuji Y, Takeuchi C, Kakimoto H, Goto O, Mitsushima T and Koike K. Categorization of upper gastrointestinal symptoms is useful in predicting background factors and studying effects and usages of digestive drugs. **PLoS One**, 9: e88277, 2014.
 21. Tsuji Y, Gunji T, Sato H, Ono A, Ito T, Ohata K, Yamamichi N, Fujishiro M, Matsuhashi N and Koike K. Antithrombotic drug does not affect the positive predictive value of an immunochemical fecal occult blood test. **Dig Endosc**, 26: 424-429, 2014.
 22. Tsuji Y, Ohata K, Gunji T, Shozushima M, Hamanaka J, Ohno A, Ito T, Yamamichi N, Fujishiro M, Matsuhashi N and Koike K. Endoscopic tissue shielding method with polyglycolic acid sheets and fibrin glue to cover wounds after colorectal endoscopic submucosal dissection (with video). **Gastrointest Endosc**, 79: 151-155, 2014.
 23. Ono S, Tsuji Y, Fujishiro M, Kodashima S, Yamamichi N and Koike K. An effective technique for delivery of polyglycolic acid sheet after endoscopic submucosal dissection of the esophagus: the clip and pull method. **Endoscopy**, 46: E44-E45, 2014.
 24. Ono S, Niimi K, Fujishiro M, Takahashi Y, Sakaguchi Y, Nakayama C, Minatsuki C, Matsuda R, Hirayama-Asada I, Tsuji Y, Mochizuki S, Kodashima S, Yamamichi N, Ozeki A, Matsumoto L, Ohike Y, Yamazaki T and Koike K. Evaluation of preferable insertion routes for esophagogastroduodenoscopy using ultrathin endoscopes. **World J Gastroenterol**, 20: 5045-5050, 2014.
 25. Mochizuki S, Uedo N, Oda I, Kaneko K, Yamamoto Y, Yamashina T, Suzuki H, Kodashima S, Yano T, Yamamichi N, Goto O, Shimamoto T, Fujishiro M, Koike K and SAFE Trial Study Group. Scheduled second-look endoscopy is not recommended after endoscopic submucosal dissection for gastric neoplasms (the SAFE trial): a multicentre prospective randomised controlled non-inferiority trial. **Gut**, 64: 397-405, 2014.
 26. Takahashi Y, Yamamichi N, Shimamoto T, Mochizuki S, Fujishiro M, Takeuchi C, Sakaguchi Y, Niimi K, Ono S, Kodashima S, Mitsushima T and Koike K. *Helicobacter pylori* infection is positively associated with gallstones: a large-scale cross-sectional study in Japan. **J Gastroenterol**, 49: 882-889, 2014.
 27. Yamamoto H, Watanabe Y, Maehata T, Morita R, Yoshida Y, Oikawa R, Ishigooka S, Ozawa S,

- Matsuo T, Hosoya K, Yamashita M, Taniguchi H, Noshō K, Suzuki H, Yasuda H, Shinomura Y and Itoh F. An updated review of gastric cancer in the next-generation sequencing era: insights from bench to bedside and *vice versa*. **World J Gastroenterol**, 20: 3927-3937, 2014.
28. Shiota S, Murakami K, Okimoto T, Kodama M and Yamaoka Y. Serum *Helicobacter pylori* CagA antibody titer was a useful marker for advanced inflammation in the stomach in Japan. **J Gastroenterol Helatol**, 29: 67-73, 2014.
 29. Ueda J, Goshō M, Inui Y, Matsuda T, Sakakibara M, Mabe K, Nakajima S, Shimoyama T, Yasuda M, Kawai T, Murakami K, Kamada T, Mizuno M, Kikuchi S, Lin Y and Kato M. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection by birth year and geographic area in Japan. **Helicobacter**, 19: 105-110, 2014.
 30. Kato K, Ohkusa T, Terao S, Chiba T, Murakami K, Yanaka A, Uehara T, Ishii Y, Soma M and Tajiri H. Adjunct antibiotic combination therapy for steroid-refractory or-dependent ulcerative colitis: an open-label multicenter study. **Aliment Pharmacol Ther**, 39: 949-956, 2014.
2. 学会発表
1. Nakazato H, Takeshima H, Kishino T, Nakajima T, Hattori N, Yamashita S and Ushijima T. Early stage induction of chromatin remodeler mutations during development of esophageal squamous cell carcinoma. 5th Clinical Epigenetics International Meeting. Dusseldorf, March, 2015. (ポスター)
 2. Ushijima T. Establishment of a high-throughput detection system for epigenetic mutagens. 4th Asian Conference on Environmental Mutagens. Kolkata, December, 2014. (invited) (口頭)
 3. Ushijima T. Epigenetic field cancerization – its premises and promise. The Fourth International Cancer Epigenetics Meeting. Jiangsu, October, 2014. (invited) (口頭)
 4. Ushijima T, Hattori N, Wakabayashi M, Mori A and Okochi-Takada E. Establishment and use of a cell line for high-throughput screening of DNA demethylating agents. 45th Annual Meeting of Environmental Mutagenesis and Genomics Society (EMGS). Orlando, September, 2014. (ポスター)
 5. Ushijima T. Induction of aberrant DNA methylation by chronic inflammation, and its application to cancer risk diagnosis and prevention. Epigenetics in Development and Diseases Conference 9th Asian Epigenomics Meeting. Singapore, August, 2014. (invited) (口頭)
 6. Ushijima T. Live longer without bad cancer. JSPS-JAAT-NRCT Seminar at Research EXPO 2014. Bangkok, August, 2014. (invited) (口頭)
 7. Ushijima T. Induction of epigenetic alterations by *Helicobacter pylori*, and its clinical applications. SGCC 7th Annual Scientific Meeting. Singapore, July, 2014. (invited) (口頭)
 8. Yamanoi K, Arai E, Tian Y, Takahashi Y, Miyata S, Kushima R, Katai H, Sakamoto M and Kanai Y. Epigenetic clustering of gastric carcinoma based on DNA methylation profiles at the precancerous stage: its correlation with tumor aggressiveness and patient outcome. AACR Annual Meeting 2014. San Diego, April, 2014. (ポスター)
 9. Yoshida T, Kato J, Inoue I, Watanabe M, Enomoto S, Deguchi H, Iguchi M, Maekita T, Tamai H and Ichinose M. Esophageal cancer development during the course of *H. pylori*-associated chronic gastritis. 22nd United European Gastroenterology Week. Vienna, October, 2014. (ポスター)
 10. Murakami K, Sakurai Y, Shiino M, Funao N, Nishimura A and Asuka M. A newly developed potassium-competitive acid blocker, vonoprazan vs. lansoprazole in first-line triple therapy with amoxicillin, and clarithromycin for *H. pylori* eradication - phase3, double-blind study -. European Helicobacter Study Group XXVIIth International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Center. Rome, September, 2014. (口頭)
 11. Murakami K, Skurai Y, Shiino M, Funao N, Nishimaru A and Asaka M. A phase 3, double-blind study of a triple therapy with TAK-438, amoxicillin, and clarithromycin as first line eradication of *H. pylori* and a triple therapy with TAK-438, amoxicillin, and metronidazole as second line eradication of *H. pylori*. Digestive Disease Week 2014, Chicago, May, 2014. (ポスター)
 12. Okimoto T, Mizukami K, Ogawa R, Kodama M and Murakami K. Comparing esomeprazole based versus rabeprazole based triple therapy for the eradication of *Helicobacter pylori* in Japan. Digestive Disease Week 2014, Chicago, May, 2014. (ポスター)
 13. 牛島俊和. エピゲノム異常蓄積の測定による胃癌リスク診断. 第 87 回日本胃癌学会総会, 2015 年 3 月. (口頭)
 14. 前田将宏, 竹島秀幸, 石井源一郎, 服部奈緒子, 落合淳志, 坂井義治, 岡部寛 and 牛島俊和. 活性化胃癌関連線維芽細胞には多くのエピジェネティック異常が存在する. 第 87 回日本胃癌学会総会, 2015 年 3 月. (ポスター)
 15. 前田将宏, 竹島秀幸, 石井源一郎, 服部奈緒子, 落合淳志 and 牛島俊和. 活性化胃癌関連線維芽細胞には多くのエピジェネティック異常が存在する. 第 37 回日本分子生物学会年会, 2014 年 11 月. (ポスター)
 16. 牛島俊和. *H. pylori* 感染による「発癌の素地」と胃癌. 第 22 回日本消化器関連学会週間教育講演, 2014 年 10 月. (口頭)

17. 牛島俊和. エピジェネティクスと胃発がん. 第73回日本癌学会学術総会シンポジウム, 2014年9月.(口頭)
 18. 牛島俊和. エピジェネティック異常を標的とした発がんリスク診断とがん予防. 第52回日本癌治療学会学術集会シンポジウム, 2014年8月.(口頭)
 19. 牛島俊和. Epigenetic alterations induced by chronic inflammation and influence of colonic microbiome on them. 第18回腸内細菌学会 International Symposium, 2014年6月.(口頭)
 20. 島津太一, 若井建志, 玉腰暁子, 辻一郎, 田中恵太郎, 松尾恵太郎, 永田知里, 井上真奈美, 津金昌一郎 and 笹月静. Association of vegetable and fruit intake with gastric cancer risk: A pooled analysis of four cohort studies. 第73回日本癌学会学術総会, 2014年9月.(ポスター)
 21. 山ノ井一裕, 新井恵吏, 高橋順子, 宮田彩香, 九嶋亮治, 片井均, 坂元亨宇 and 金井弥栄. 胃がん症例の非がん胃粘膜におけるDNAメチル化プロファイルが、がんの悪性度・症例の予後と相関する. 第103回日本病理学会総会, 2014年4月.(口頭)
 22. 吉田岳市, 加藤順 and 一瀬雅夫. 胃癌リスク評価の改善にむけて. 第22回日本消化器関連学会週間, 2014年10月.(口頭)
 23. 吉田岳市, 榎本祥太郎 and 一瀬雅夫. *H.pylori* 感染胃炎進展からみた食道癌発生. 第22回日本消化器関連学会週間, 2014年10月.(口頭)
 24. Yoshida T, Kato J, Inoue I, Watanabe M, Enomoto S, Deguchi H, Iguchi M, Maekita T, Tamai H and Ichinose M. Gastric carcinogenesis based on *H. pylori*-associated highly active chronic gastritis. 第73回日本癌学会学術総会, 2014年9月.(口頭)
 25. 吉田岳市, 加藤順 and 一瀬雅夫. *H.pylori* 感染胃炎からの胃癌発生-ハイリスク群とその分子機構を巡って-. 第100回日本消化器病学会総会シンポジウム, 2014年4月.(口頭)
 26. 山道信毅, 光島徹 and 小池和彦. 胃バリウムX線検査 (MDL) 判定「慢性胃炎」の背景因子の解析. 第22回日本消化器関連学会週間シンポジウム, 2014年10月.(口頭)
 27. 山本博幸, 渡邊嘉行 and 伊東文生. 内視鏡洗浄廃液DNA解析による「胃全体の情報を網羅した」胃癌の分子診断, 第87回日本消化器内視鏡学会総会, 2014年5月.(口頭)
 28. 山本博幸, 渡邊嘉行, and 伊東文生. 胃内視鏡洗浄廃液サンプルを用いた胃癌の分子病態研究の新展開. 第100回日本消化器病学会総会, 2014年4月.(口頭)
 29. 兒玉雅明, 沖本忠義 and 村上和成. OLGA system を用いた *H. pylori* 除菌後発見胃癌と慢性炎症の関連. 第100回日本消化器病学会総会シンポジウム, 2014年4月.(口頭)
 30. 岸野貴賢, 高橋崇真, Yi-Chia Lee, 山下聡, Ming-Shiang Wu and 牛島俊和. 発癌の素地における食道扁平上皮癌のリスク評価. 第25回日本消化器癌発生学会総会シンポジウム, 2014年11月.(口頭)
 31. 山下聡, 岸野貴賢, 永野玲子 and 牛島俊和. 遺伝子点突然変異のターゲットシーケンシングによる高感度解析法の開発と Genetic な発がんの素地の解析. 第29回発癌病理研究会, 2014年9月.(口頭)
 32. 岸野貴賢, 丹羽透, 山下聡, 高橋崇真 and 牛島俊和. 食道扁平上皮癌におけるゲノムおよびエピゲノムの統合解析. 第73回日本癌学会学術総会, 2014年9月.(ポスター)
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得
 1. 渡邊嘉行, 豊田実, 今井浩三, 篠村恭久, 伊東文生 and 時野隆至. 胃粘膜洗浄液を利用した疾患関連マーカー検出法. 特許第5562554号. 登録日2014年6月20日.
 2. 実用新案登録

該当無し
 3. その他

該当無し

委託業務成果報告（業務項目）

ピロリ菌除菌後健康者の中の胃がん高危険度群の高精度捕捉の前向き臨床研究に関する研究

担当責任者	牛島 俊和	国立がん研究センター研究所エピゲノム解析分野	分野長
	島津 太一	国立がん研究センターがん予防・検診研究センター予防研究部	室長
	新井 恵吏	国立がん研究センター研究所分子病理分野	主任研究員
	中島 健	国立がん研究センター中央病院内視鏡科	医員
	一瀬 雅夫	和歌山県立医科大学医学部第二内科	教授
	山道 信毅	東京大学医学部附属病院消化器内科	助教
	伊東 文生	聖マリアンナ医科大学消化器・肝臓内科	教授
	杉山 敏郎	富山大学大学院医学薬学研究部消化器造血管腫瘍制御内科学	教授
	村上 和成	大分大学医学部附属病院消化器内科	教授

研究要旨

現在急増している除菌後健康人について、胃がん高危険度群を捕捉する技術の開発は急務である。本研究では、胃粘膜での DNA メチル化レベルの定量により除菌後健康人内の高危険度群を捕捉し、発がん危険度を層別化できることを証明するための前向き臨床研究を実施する。本年度は、高危険度群の選定方法及び除外基準を設定した。研究プロトコールの作成及び研究倫理審査委員会 (IRB) への申請を行い、2015年2月26日に条件付き承認を得た。また、Web による症例登録システムを構築した。これらの結果、来年度からの症例集積を予定通り開始することができる。

A. 研究目的

現在急増している除菌後健康人について、胃がん高危険度群を捕捉する技術の開発は急務である。胃粘膜での DNA メチル化レベルの定量により除菌後健康人内の高危険度群を捕捉し、発がん危険度を層別化できることを証明するための前向き臨床研究を実施する。

B. 研究方法

(1) 症例選択、除外基準、及び集積方法の設定

高危険度群の選定方法、除外基準、症例集積の効率化、及び検体採取方法の最適化について協議し、本臨床試験の詳細を決定する。

(2) IRB への承認申請

研究プロトコールを作成し、順次参加施設において IRB 申請を行い、承認を得る。

(3) 班会議の実施

IRB 申請における問題点の検討、症例集積前の目合わせなどを目的として、定期的に班会議を行い情報交換及び協議を行う。

(4) 症例集積

多施設における多数症例の登録を簡便かつ迅速に進めるために、Web による症例登録システムを構築する。

(5) 胃洗浄液を用いた検査手法の高度化

内視鏡検査時の胃洗浄液から回収した DNA を用いた胃がんリスク検出法は低侵襲な方法であるが、有用性は不確定である。洗浄液と生検検体を比較することでその検査検体としての優劣を検討する。

(倫理面への配慮)

本研究に関係するすべての研究者は「ヘルシンキ宣言」(日本医師会訳)及び「疫学研究に関する倫理指針」(厚生労働省告示第1号)に従って本研究を実施する。また個人情報の保護に関しては、個人情報の保護に関する法律(法律第49号)に準拠する。研究試料およびアンケートは各施設の IRB の承認を得て使用される。解析結果及び臨床情報とは登録番号を用いた連結可能匿名化により統合され、個人情報は保護される。本研究は遺伝することのない DNA メ

チル化レベルに関する研究であり、「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」には該当しないが、個人情報と DNA メチル化に関する情報は連結した形で保存されない。

C. 研究結果

(1) 症例選択、除外基準、及び集積方法の設定

ピロリ菌除菌後健康人の中の胃がん高危険度群の選定を保険診療と連携するため、「ABC 検診」よりも「内視鏡所見による萎縮性変化」がより適切であると 2 回の班会議を経て結論した。症例集積方法に関しては、全国の 8 施設（国立がん研究センター中央病院、和歌山県立医科大学付属病院、富山大学付属病院、東京大学医学部付属病院、虎の門病院、大分大学医学部付属病院、浜松医科大学医学部付属病院、広島大学病院）を共同研究施設に設定し、各関連施設を含めた症例集積体制を構築した。

(2) IRB への承認申請

2014 年 12 月 30 日に国立がん研究センターの倫理審査委員会に申請を行い、2015 年 2 月 26 日に条件付き承認された。現在、順次共同研究施設においても倫理審査委員会への申請が進められている。

(3) 班会議の実施

2014 年 7 月 13 日に第一回、2015 年 2 月 1 日に第二回の班会議を実施した。班会議では、研究実施プロトコールについて詳細な議論を行った。また、各共同研究施設における診療状況に応じた年間予定登録数を算定するとともに、内視鏡所見（萎縮判定基準）の目合わせも行った。

(4) 症例集積

Web による症例登録システムを構築し、2015 年 4 月からの症例登録開始を可能とした。

(5) 胃洗浄液を用いた検査手法の高度化

早期胃がん内視鏡治療前にメチル化高値で 1 年以内に再発する可能性の高い症例を予測する遺伝子及び切除後の腫瘍残存と早い時点での再発（潜在癌）の発見に有用な遺伝子を明らかにした。それぞれ単独で、70%以上の感度を示した。

D. 考察

ピロリ菌除菌後健康人の中の胃がん高危険度群の選定方法の変更により、保険診療との連携が可能となった。加えて、ABC 検診を採用していない関連病院の研究参加が容易となり、強力な研究協力体制の構築が可能となった。これにより、今後の症例集積の促進が期待されるとともに、研究結果の有用性が示された際には、速やかに実用化できる。

E. 結論

本年度は、研究プロトコールの承認を取得し、強力な研究協力体制を構築することができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

本研究費への謝辞があるもの

1. Takeshima H, Niwa T, Takahashi T, Wakabayashi M, Yamashita S, Ando T, Inagawa Y, Taniguchi H, Katai H, Sugiyama T, Kiyono T and Ushijima T. Frequent involvement of chromatin remodeler alterations in gastric field cancerization. **Cancer Lett**, 357: 328-338, 2015.

謝辞はないが本研究費に密接に関係するもの

1. Asada K, Nakajima T, Shimazu T, Yamamichi N, Maekita T, Yokoi C, Oda I, Ando T, Yoshida T, Nanjo S, Fujishiro M, Gotoda T, Ichinose M and Ushijima T. Demonstration of the usefulness of epigenetic cancer risk prediction by a multicenter prospective cohort study. **Gut**, 64: 388-396, 2015.
（先行研究である創薬基盤推進研究事業及びがん研究開発費への謝辞がある）
2. Takahashi T, Yamashita S, Matsuda Y, Kishino T, Nakajima T, Kushima R, Kato K, Igaki H, Tachimori Y, Osugi H, Nagino M and Ushijima T. ZNF695 methylation predicts a response of esophageal squamous cell carcinoma to definitive chemoradiotherapy. **J Cancer Res Clin Oncol**, 141: 453-463, 2015.
3. Yoda Y, Takeshima H, Niwa T, Kim JG, Ando T, Kushima R, Sugiyama T, Katai H, Noshiro H and Ushijima T. Integrated analysis of cancer-related pathways affected by genetic and epigenetic alterations in gastric cancer. **Gastric Cancer**, 18: 65-76, 2015.
4. Ueda Y, Ando T, Nanjo S, Ushijima T and Sugiyama T. DNA methylation of *microRNA-124a* is a potential risk marker of colitis-associated cancer in patients with ulcerative colitis. **Dig Dis Sci**, 59: 2444-2451, 2014.
5. Liu Z, Zhang J, Gao Y, Pei L, Zhou J, Gu L, Zhang L, Zhu B, Hattori N, Ji J, Yuasa Y, Kim W, Ushijima T, Shi H and Deng D. Large-scale characterization of DNA methylation changes in human gastric carcinomas with and without metastasis. **Clin Cancer Res**, 20: 4598-4612, 2014.
6. Yamada M, Fukagawa T, Nakajima T, Asada K, Sekine S, Yamashita S, Okochi-Takada E, Taniguchi H, Kushima R, Oda I, Saito Y, Ushijima T and Katai H. Hereditary diffuse gastric cancer in a Japanese family with a large deletion involving *CDHI*. **Gastric Cancer**, 17: 750-756, 2014.
7. Okochi-Takada E, Hattori N, Tsukamoto T, Miyamoto K, Ando T, Ito S, Yamamura Y,

- Wakabayashi M, Nobeyama Y and Ushijima T. ANGPTL4 is a secreted tumor-suppressor that inhibits angiogenesis. **Oncogene**, 33: 2273-2278, 2014.
8. Yoshida T, Kato J, Inoue I, Yoshimura N, Deguchi H, Mukoubayashi C, Oka M, Watanabe M, Enomoto S, Niwa T, Maekita T, Iguchi M, Tamai H, Utsunomiya H, Yamamichi N, Fujishiro M, Iwane M, Takeshita T, Ushijima T and Ichinose M. Cancer development based on chronic active gastritis and resulting gastric atrophy as assessed by serum levels of pepsinogen and *Helicobacter pylori* antibody titer. **Int J Cancer**, 134: 1445-1457, 2014.
 9. Hidaka A, Sasazuki S, Matsuo K, Ito H, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Iwasaki M, Inoue M, Tsugane S and JPHC Study Group. Genetic polymorphisms of *ADH1B*, *ADH1C* and *ALDH2*, alcohol consumption, and the risk of gastric cancer: the Japan Public Health Center-based prospective study. **Carcinogenesis**, 36: 223-231, 2015.
 10. Hidaka A, Sasazuki S, Goto A, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Iwasaki M, Inoue M, Noda M, Tajiri H, Tsugane S and JPHC Study Group. Plasma insulin, C-peptide and blood glucose and the risk of gastric cancer: the Japan Public Health Center-based prospective study. **Int J Cancer**, 136: 1402-1410, 2015.
 11. Shimazu T, Wakai K, Tamakoshi A, Tsuji I, Tanaka K, Matsuo K, Nagata C, Mizoue T, Inoue M, Tsugane S, Sasazuki S and Research Group for the Development and Evaluation of Cancer Prevention Strategies in Japan. Association of vegetable and fruit intake with gastric cancer risk among Japanese: a pooled analysis of four cohort studies. **Ann Oncol**, 25: 1228-1233, 2014.
 12. Tian Y, Arai E, Gotoh M, Komiyama M, Fujimoto H and Kanai Y. Prognostication of patients with clear cell renal cell carcinomas based on quantification of DNA methylation levels of CpG island methylator phenotype marker genes. **BMC Cancer**, 14: 772, 2014.
 13. Sato T, Arai E, Kohno T, Takahashi Y, Miyata S, Tsuta K, Watanabe S, Soejima K, Betsuyaku T and Kanai Y. Epigenetic clustering of lung adenocarcinomas based on DNA methylation profiles in adjacent lung tissue: Its correlation with smoking history and chronic obstructive pulmonary disease. **Int J Cancer**, 135: 319-334, 2014.
 14. Arai E, Sakamoto H, Ichikawa H, Totsuka H, Chiku S, Gotoh M, Mori T, Nakatani T, Ohnami S, Nakagawa T, Fujimoto H, Wang L, Aburatani H, Yoshida T and Kanai Y. Multilayer-omics analysis of renal cell carcinoma, including the whole exome, methylome and transcriptome. **Int J Cancer**, 135: 1330-1342, 2014.
 15. Yamamichi N, Hirano C, Shimamoto T, Minatsuki C, Takahashi Y, Nakayama C, Matsuda R, Fujishiro M, Konno-Shimizu M, Kato J, Kodashima S, Ono S, Niimi K, Mochizuki S, Tsuji Y, Sakaguchi Y, Asada-Hirayama I, Takeuchi C, Yakabi S, Kakimoto H, Wada R, Mitsushima T, Ichinose M and Koike K. Associated factors of atrophic gastritis diagnosed by double-contrast upper gastrointestinal barium X-ray radiography: a cross-sectional study analyzing 6,901 healthy subjects in Japan. **PLoS One**, 9: e111359, 2014.
 16. Fujimoto K, Fujishiro M, Kato M, Higuchi K, Iwakiri R, Sakamoto C, Uchiyama S, Kashiwagi A, Ogawa H, Murakami K, Mine T, Yoshino J, Kinoshita Y, Ichinose M and Matsui T. Guidelines for gastroenterological endoscopy in patients undergoing antithrombotic treatment. **Dig Endosc**, 26: 1-14, 2014.
 17. Nakachi K, Tamai H, Mori Y, Shingaki N, Moribata K, Deguchi H, Ueda K, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Kato J and Ichinose M. Prediction of poorly differentiated hepatocellular carcinoma using contrast computed tomography. **Cancer Imaging**, 14: 7, 2014.
 18. Kageyama-Yahara N, Yamamichi N, Takahashi Y, Nakayama C, Shioyama K, Inada K, Konno-Shimizu M, Kodashima S, Fujishiro M, Tsutsumi Y, Ichinose M and Koike K. Gli regulates *MUC5AC* transcription in human gastrointestinal cells. **PLoS One**, 9: e106106, 2014.
 19. Inoue I, Kato J, Tamai H, Iguchi M, Maekita T, Yoshimura N and Ichinose M. *Helicobacter pylori*-related chronic gastritis as a risk factor for colonic neoplasms. **World J Gastroenterol**, 20: 1485-1492, 2014.
 20. Yamamichi N, Shimamoto T, Sakaguchi Y, Takahashi Y, Kodashima S, Nakayama C, Minatsuki C, Ono S, Mochizuki S, Matsuda R, Asada-Hirayama I, Niimi K, Fujishiro M, Tsuji Y, Takeuchi C, Kakimoto H, Goto O, Mitsushima T and Koike K. Categorization of upper gastrointestinal symptoms is useful in predicting background factors and studying effects and usages of digestive drugs. **PLoS One**, 9: e88277, 2014.
 21. Tsuji Y, Gunji T, Sato H, Ono A, Ito T, Ohata K, Yamamichi N, Fujishiro M, Matsuhashi N and Koike K. Antithrombotic drug does not affect the positive predictive value of an immunochemical fecal occult blood test. **Dig Endosc**, 26: 424-429, 2014.
 22. Tsuji Y, Ohata K, Gunji T, Shozushima M, Hamanaka J, Ohno A, Ito T, Yamamichi N, Fujishiro M, Matsuhashi N and Koike K. Endoscopic tissue shielding method with polyglycolic acid sheets and fibrin glue to cover wounds after colorectal endoscopic submucosal dissection (with video). **Gastrointest Endosc**, 79: 151-155, 2014.
 23. Ono S, Tsuji Y, Fujishiro M, Kodashima S,

- Yamamichi N and Koike K. An effective technique for delivery of polyglycolic acid sheet after endoscopic submucosal dissection of the esophagus: the clip and pull method. **Endoscopy**, 46: E44-E45, 2014.
24. Ono S, Niimi K, Fujishiro M, Takahashi Y, Sakaguchi Y, Nakayama C, Minatsuki C, Matsuda R, Hirayama-Asada I, Tsuji Y, Mochizuki S, Kodashima S, Yamamichi N, Ozeki A, Matsumoto L, Ohike Y, Yamazaki T and Koike K. Evaluation of preferable insertion routes for esophagogastroduodenoscopy using ultrathin endoscopes. **World J Gastroenterol**, 20: 5045-5050, 2014.
 25. Mochizuki S, Uedo N, Oda I, Kaneko K, Yamamoto Y, Yamashina T, Suzuki H, Kodashima S, Yano T, Yamamichi N, Goto O, Shimamoto T, Fujishiro M, Koike K and SAFE Trial Study Group. Scheduled second-look endoscopy is not recommended after endoscopic submucosal dissection for gastric neoplasms (the SAFE trial): a multicentre prospective randomised controlled non-inferiority trial. **Gut**, 64: 397-405, 2014.
 26. Takahashi Y, Yamamichi N, Shimamoto T, Mochizuki S, Fujishiro M, Takeuchi C, Sakaguchi Y, Niimi K, Ono S, Kodashima S, Mitsushima T and Koike K. *Helicobacter pylori* infection is positively associated with gallstones: a large-scale cross-sectional study in Japan. **J Gastroenterol**, 49: 882-889, 2014.
 27. Yamamoto H, Watanabe Y, Maehata T, Morita R, Yoshida Y, Oikawa R, Ishigooka S, Ozawa S, Matsuo T, Hosoya K, Yamashita M, Taniguchi H, Noshio K, Suzuki H, Yasuda H, Shinomura Y and Itoh F. An updated review of gastric cancer in the next-generation sequencing era: insights from bench to bedside and *vice versa*. **World J Gastroenterol**, 20: 3927-3937, 2014.
 28. Shiota S, Murakami K, Okimoto T, Kodama M and Yamaoka Y. Serum *Helicobacter pylori* CagA antibody titer was a useful marker for advanced inflammation in the stomach in Japan. **J Gastroenterol Helatol**, 29: 67-73, 2014.
 29. Ueda J, Gosho M, Inui Y, Matsuda T, Sakakibara M, Mabe K, Nakajima S, Shimoyama T, Yasuda M, Kawai T, Murakami K, Kamada T, Mizuno M, Kikuchi S, Lin Y and Kato M. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection by birth year and geographic area in Japan. **Helicobacter**, 19: 105-110, 2014.
 30. Kato K, Ohkusa T, Terao S, Chiba T, Murakami K, Yanaka A, Uehara T, Ishii Y, Soma M and Tajiri H. Adjunct antibiotic combination therapy for steroid-refractory or-dependent ulcerative colitis: an open-label multicenter study. **Aliment Pharmacol Ther**, 39: 949-956, 2014.
2. 学会発表
 1. Nakazato H, Takeshima H, Kishino T, Nakajima T, Hattori N, Yamashita S and Ushijima T. Early stage induction of chromatin remodeler mutations during development of esophageal squamous cell carcinoma. 5th Clinical Epigenetics International Meeting. Dusseldorf, March, 2015. (ポスター)
 2. Ushijima T. Establishment of a high-throughput detection system for epigenetic mutagens. 4th Asian Conference on Environmental Mutagens. Kolkata, December, 2014. (invited) (口頭)
 3. Ushijima T. Epigenetic field cancerization – its premises and promise. The Fourth International Cancer Epigenetics Meeting. Jiangsu, October, 2014. (invited) (口頭)
 4. Ushijima T, Hattori N, Wakabayashi M, Mori A and Okochi-Takada E. Establishment and use of a cell line for high-throughput screening of DNA demethylating agents. 45th Annual Meeting of Environmental Mutagenesis and Genomics Society (EMGS). Orlando, September, 2014. (ポスター)
 5. Ushijima T. Induction of aberrant DNA methylation by chronic inflammation, and its application to cancer risk diagnosis and prevention. Epigenetics in Development and Diseases Conference 9th Asian Epigenomics Meeting. Singapore, August, 2014. (invited) (口頭)
 6. Ushijima T. Live longer without bad cancer. JSPS-JAAT-NRCT Seminar at Research EXPO 2014. Bangkok, August, 2014. (invited) (口頭)
 7. Ushijima T. Induction of epigenetic alterations by *Helicobacter pylori*, and its clinical applications. SGCC 7th Annual Scientific Meeting. Singapore, July, 2014. (invited) (口頭)
 8. Yamanoi K, Arai E, Tian Y, Takahashi Y, Miyata S, Kushima R, Katai H, Sakamoto M and Kanai Y. Epigenetic clustering of gastric carcinoma based on DNA methylation profiles at the precancerous stage: its correlation with tumor aggressiveness and patient outcome. AACR Annual Meeting 2014. San Diego, April, 2014. (ポスター)
 9. Yoshida T, Kato J, Inoue I, Watanabe M, Enomoto S, Deguchi H, Iguchi M, Maekita T, Tamai H and Ichinose M. Esophageal cancer development during the course of *H. pylori*-associated chronic gastritis. 22nd United European Gastroenterology Week. Vienna, October, 2014. (ポスター)
 10. Murakami K, Sakurai Y, Shiino M, Funao N, Nishimura A and Asuka M. A newly developed potassium-competitive acid blocker, vonoprazan vs. lansoprazole in first-line triple therapy with amoxicillin, and clarithromycin for *H. pylori* eradication - phase3, double-blind study -. European Helicobacter Study Group XXVIIth International

- Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Center. Rome, September, 2014. (口頭)
11. Murakami K, Skurai Y, Shiino M, Funao N, Nishimaru A and Asaka M. A phase 3, double-blind study of a triple therapy with TAK-438, amoxicillin, and clarithromycin as first line eradication of *H. pylori* and a triple therapy with TAK-438, amoxicillin, and metronidazole as second line eradication of *H. pylori*. Digestive Disease Week 2014, Chicago, May, 2014. (ポスター)
 12. Okimoto T, Mizukami K, Ogawa R, Kodama M and Murakami K. Comparing esomeprazole based versus rabeprazole based triple therapy for the eradication of *Helicobacter pylori* in Japan. Digestive Disease Week 2014, Chicago, May, 2014. (ポスター)
 13. 牛島俊和. エピゲノム異常蓄積の測定による胃発癌リスク診断. 第87回日本胃癌学会総会, 2015年3月.(口頭)
 14. 前田将宏, 竹島秀幸, 石井源一郎, 服部奈緒子, 落合淳志, 坂井義治, 岡部寛 and 牛島俊和. 活性化胃がん関連線維芽細胞には多くのエピジェネティック異常が存在する. 第87回日本胃癌学会総会, 2015年3月.(ポスター)
 15. 前田将宏, 竹島秀幸, 石井源一郎, 服部奈緒子, 落合淳志 and 牛島俊和. 活性化胃がん関連線維芽細胞には多くのエピジェネティック異常が存在する. 第37回日本分子生物学会年会, 2014年11月.(ポスター)
 16. 牛島俊和. *H. pylori* 感染による「発癌の素地」と胃癌. 第22回日本消化器関連学会週間教育講演, 2014年10月.(口頭)
 17. 牛島俊和. エピジェネティクスと胃発がん. 第73回日本癌学会学術総会シンポジウム, 2014年9月.(口頭)
 18. 牛島俊和. エピジェネティック異常を標的とした発がんリスク診断とがん予防. 第52回日本癌治療学会学術集会シンポジウム, 2014年8月.(口頭)
 19. 牛島俊和. Epigenetic alterations induced by chronic inflammation and influence of colonic microbiome on them. 第18回腸内細菌学会 International Symposium, 2014年6月.(口頭)
 20. 島津太一, 若井建志, 玉腰暁子, 辻一郎, 田中恵太郎, 松尾恵太郎, 永田知里, 井上真奈美, 津金昌一郎 and 笹月静. Association of vegetable and fruit intake with gastric cancer risk: A pooled analysis of four cohort studies. 第73回日本癌学会学術総会, 2014年9月.(ポスター)
 21. 山ノ井一裕, 新井恵吏, 高橋順子, 宮田彩香, 九嶋亮治, 片井均, 坂元亨宇 and 金井弥栄. 胃がん症例の非がん胃粘膜におけるDNAメチル化プロファイルが、がんの悪性度・症例の予後と相関する. 第103回日本病理学会総会, 2014年4月.(口頭)
 22. 吉田岳市, 加藤順 and 一瀬雅夫. 胃癌リスク評価の改善にむけて. 第22回日本消化器関連学会週間, 2014年10月.(口頭)
 23. 吉田岳市, 榎本祥太郎 and 一瀬雅夫. *H.pylori* 感染胃炎進展からみた食道癌発生. 第22回日本消化器関連学会週間, 2014年10月.(口頭)
 24. Yoshida T, Kato J, Inoue I, Watanabe M, Enomoto S, Deguchi H, Iguchi M, Maekita T, Tamai H and Ichinose M. Gastric carcinogenesis based on *H. pylori*-associated highly active chronic gastritis. 第73回日本癌学会学術総会, 2014年9月.(口頭)
 25. 吉田岳市, 加藤順 and 一瀬雅夫. *H.pylori* 感染胃炎からの胃癌発生-ハイリスク群とその分子機構を巡って-. 第100回日本消化器病学会総会シンポジウム, 2014年4月.(口頭)
 26. 山道信毅, 光島徹 and 小池和彦. 胃バリウムX線検査 (MDL) 判定「慢性胃炎」の背景因子の解析. 第22回日本消化器関連学会週間シンポジウム, 2014年10月.(口頭)
 27. 山本博幸, 渡邊嘉行 and 伊東文生. 内視鏡洗浄廃液DNA解析による「胃全体の情報を網羅した」胃癌の分子診断, 第87回日本消化器内視鏡学会総会, 2014年5月.(口頭)
 28. 山本博幸, 渡邊嘉行, and 伊東文生. 胃内視鏡洗浄廃液サンプルを用いた胃癌の分子病態研究の新展開. 第100回日本消化器病学会総会, 2014年4月.(口頭)
 29. 兒玉雅明, 沖本忠義 and 村上和成. OLGA system を用いた *H. pylori* 除菌後発見胃癌と慢性炎症の関連. 第100回日本消化器病学会総会シンポジウム, 2014年4月.(口頭)
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得
 1. 渡邊嘉行, 豊田実, 今井浩三, 篠村恭久, 伊東文生 and 時野隆至. 胃粘膜洗浄液を利用した疾患関連マーカー検出法. 特許第5562554号. 登録日2014年6月20日.
 2. 実用新案登録
該当無し
 3. その他
該当無し

食道がん高危険度群捕捉の多層的リスクマーカーの開発に関する研究

担当責任者 岸野 貴賢 国立がん研究センター研究所エピゲノム解析分野 研究員

研究要旨

難治がんである食道がんにおいては、既知のリスク因子とは独立に高危険度群を捕捉できる技術の開発が重要である。本研究では、食道粘膜に蓄積した点突然変異を定量可能とし、エピゲノムマーカーと組み合わせた食道がん多層的リスクマーカーを開発し、横断的解析での感度・特異度を明らかにすることを目的とする。本年度は、細胞株を用いた解析から、低頻度の突然変異をシークエンスエラーと区別する手法を確立した。確立した手法を用いることで、ポリクローナルな食道粘膜に蓄積した低頻度の点突然変異が十分定量可能であると考えられ、今後、食道がんのリスク評価に応用が可能であると期待される。

A. 研究目的

難治がんである食道がんにおいては、既知のリスク因子とは独立に高危険度群を捕捉できる技術の開発が重要である。本研究では、食道粘膜に蓄積した点突然変異を定量可能とし、エピゲノムマーカーと組み合わせた食道がん多層的リスクマーカーを開発し、横断的解析での感度・特異度を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

(1) 細胞と変異原処理

ヒトTK6 (lymphoblast) 細胞株はATCCより購入した。TK6 細胞株を、0-30 µg/ml の MNU (methylnitrosourea) で 24 時間処理した後、通常培地 (10%FBS を含む RPMI1640) で 6 日間培養した。その後、細胞を回収し、ゲノム DNA を抽出した。

(2) 低頻度突然変異の検出

シークエンスライブラリーは、100 分子のゲノム DNA を鋳型に用いて、がん関連遺伝子解析パネル (55 遺伝子の 291 領域、48,587 bases) を用いたマルチプレックス PCR により調製した。

シークエンス解析は Ion Proton シークエンサーを用いて行った。変異数の算出は、Qiagen 社の CLC Genomics Workbench 7.0 に搭載された Quality-based variant detection を用いて行った。48,587 bases の領域中、特にリード数が多く、シークエンスエラーが少ない 15,724 bases の領域を選別し、その領域における変異頻度 0.8%-10%を示す塩基置換の数を解析した。

突然変異頻度は、突然変異頻度が十分小さい場合の近似式 (突然変異頻度) = (100 コピーのゲノム DNA における変異数) / 15,724/100 を用いて計算した。

(倫理面への配慮)

本研究に係るすべての研究者は「ヘルシンキ宣言」(日本医師会訳)及び「疫学研究に関する倫理指針」(厚生労働省告示第1号)に従って本研究を実施する。また個人情報の保護に関しては、個人情報の保護に関する法律(法律第49号)に準拠する。研究試料は各施設の IRB の承認を得て使用される。解析結果及び臨床情報とは登録番号を用いた連結可能匿名化により統合され、個人情報は保護される。

C. 研究結果

0、0.1、0.3、1、3、10、30 µg/ml の各 MNU 濃度で処理した場合、変異頻度 0.8%-10%を示す塩基置換の数は、それぞれ 8、11、13、18、22、29、44 個であった。この結果から計算される突然変異頻度は、それぞれ 0.5、0.7、0.8、1.1、1.4、1.8、 2.8×10^{-5} であった。また、検出された突然変異のうち、アルキル化剤である MNU に特徴的な G>A 置換の割合は、それぞれ 58、66、70、62、71、72、76%であり、MNU 濃度の増加に伴う割合の上昇が認められた。さらに、独立してライブラリーを調製した場合でも再現性の高い測定が可能であることを確認した。

D. 考察

変異原処理細胞株における低頻度の突然変異をシ

ークエンズエラーと区別する手法を確立した。この手法を用いれば、ヒト非がん組織に蓄積した低頻度の点突然変異が十分定量可能と考えられ、食道粘膜に蓄積した点突然変異を定量することにより、リスク評価を行うことができると期待される。

E. 結論

低頻度の突然変異をシークエンズエラーと区別する手法を確立し、ヒト非がん組織に蓄積した低頻度の点突然変異の定量を可能にした。

F. 研究発表

1. 論文発表

本研究費への謝辞があるもの

該当無し

本研究費に密接に関係するもの

1. Takahashi T, Yamashita S, Matsuda Y, Kishino T, Nakajima T, Kushima R, Kato K, Igaki H, Tachimori Y, Osugi H, Nagino M and Ushijima T. *ZNF695* methylation predicts a response of esophageal squamous cell carcinoma to definitive chemoradiotherapy. **J Cancer Res Clin Oncol**, 141: 453-463, 2015.

2. 学会発表

1. 岸野貴賢, 高橋崇真, Yi-Chia Lee, 山下聡, Ming-Shiang Wu and 牛島俊和. 発癌の素地における食道扁平上皮癌のリスク評価. 第 25 回日本消化器癌発生学会総会シンポジウム, 2014 年 11 月.(口頭)

2. 山下聡, 岸野貴賢, 永野玲子 and 牛島俊和. 遺伝子点突然変異のターゲットシーケンシングによる高感度解析法の開発と Genetic な発がんの素地の解析. 第 29 回発癌病理研究会, 2014 年 9 月.(口頭)

3. 岸野貴賢, 丹羽透, 山下聡, 高橋崇真 and 牛島俊和. 食道扁平上皮癌におけるゲノムおよびエピゲノムの統合解析. 第 73 回日本癌学会学術総会, 2014 年 9 月.(ポスター)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

該当無し

2. 実用新案登録

該当無し

3. その他

該当無し

様式第19

学会等発表実績

委託業務題目「高精度エピゲノム胃癌リスク診断の確立と多層的食道がんリスク診断の開発」
 機関名 独立行政法人国立がん研究センター

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
Early stage induction of chromatin remodeler mutations during development of esophageal squamous cell carcinoma (ポスター)	Nakazato H, Takeshima H, Kishino T, Nakajima T, Hattori N, Yamashita S and Ushijima T	5th Clinical Epigenetics International Meeting	2015年3月	国外
Establishment of a high-throughput detection system for epigenetic mutagens (口頭)	Ushijima T	4th Asian Conference on Environmental Mutagens	2014年12月	国外
Epigenetic field cancerization - its premises and promise (口頭)	Ushijima T	The Fourth International Cancer Epigenetics Meeting	2014年10月	国外
Establishment and use of a cell line for high-throughput screening of DNA demethylating agents (ポスター)	Ushijima T, Hattori N, Wakabayashi M, Mori A and Okochi-Takada E	45th Annual Meeting of Environmental Mutagenesis and Genomics Society	2014年9月	国外
Induction of aberrant DNA methylation by chronic inflammation, and its application to cancer risk diagnosis and prevention (口頭)	Ushijima T	Epigenetics in Development and Diseases Conference 9th Asian Epigenomics Meeting	2014年8月	国外
Live longer without bad cancer (口頭)	Ushijima T	JSPS-JAAT-NRCT Seminar at Research EXPO 2014	2014年8月	国外
Induction of epigenetic alterations by <i>Helicobacter pylori</i> , and its clinical applications (口頭)	Ushijima T	SGCC 7th Annual Scientific Meeting	2014年7月	国外
Epigenetic clustering of gastric carcinoma based on DNA methylation profiles at the precancerous stage: its correlation with tumor aggressiveness and patient outcome (ポスター)	Yamanoi K, Arai E, Tian Y, Takahashi Y, Miyata S, Kushima R, Katai H, Sakamoto M and Kanai Y	AACR Annual Meeting 2014	2014年4月	国外
Esophageal cancer development during the course of <i>H. pylori</i> -associated chronic gastritis (ポスター)	Yoshida T, Kato J, Inoue I, Watanabe M, Enomoto S, Deguchi H, Iguchi M, Maekita T, Tamai H and Ichinose M	22nd United European Gastroenterology Week	2014年10月	国外
A newly developed potassium-competitive acid blocker, vonoprazan vs. lansoprazole in first-line triple therapy with amoxicillin, and clarithromycin for <i>H. pylori</i> eradication - phase3, double-blind study - (口頭)	Murakami K, Sakurai Y, Shiino M, Funao N, Nishimura A and Asuka M	European Helicobacter Study Group XXVIIth International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Center	2014年9月	国外
A phase 3, double-blind study of a triple therapy with TAK-438, amoxicillin, and clarithromycin as first line eradication of <i>H. pylori</i> and a triple therapy with TAK-438, amoxicillin, and metronidazole as second line eradication of <i>H. pylori</i> (ポスター)	Murakami K, Skurai Y, Shiino M, Funao N, Nishimaru A and Asaka M	Digestive Disease Week 2014	2014年5月	国外
Comparing esomeprazole based versus rabeprazole based triple therapy for the eradication of <i>Helicobacter pylori</i> in Japan (ポスター)	Okimoto T, Mizukami K, Ogawa R, Kodama M and Murakami K	Digestive Disease Week 2014	2014年5月	国外
エピゲノム異常蓄積の測定による胃癌リスク診断 (口頭)	牛島俊和	第87回日本胃癌学会総会	2015年3月	国内

活性化胃がん関連線維芽細胞には多くのエピジェネティック異常が存在する (ポスター)	前田将宏, 竹島秀幸, 石井源一郎, 服部奈緒子, 落合淳志, 坂井義治, 岡部寛 and 牛島俊和	第87回日本胃癌学会総会	2015年3月	国内
活性化胃がん関連線維芽細胞には多くのエピジェネティック異常が存在する (ポスター)	前田将宏, 竹島秀幸, 石井源一郎, 服部奈緒子, 落合淳志 and 牛島俊和	第37回日本分子生物学会年会	2014年11月	国内
<i>H. pylori</i> 感染による「発癌の素地」と胃癌 (口頭)	牛島俊和	第22回日本消化器関連学会週間教育講演	2014年10月	国内
エピジェネティクスと胃発がん (口頭)	牛島俊和	第73回日本癌学会学術総会シンポジウム	2014年9月	国内
エピジェネティック異常を標的とした発がんリスク診断とがん予防 (口頭)	牛島俊和	第52回日本癌治療学会学術集会シンポジウム	2014年8月	国内
Epigenetic alterations induced by chronic inflammation and influence of colonic microbiome on them (口頭)	牛島俊和	第18回腸内細菌学会 International Symposium	2014年6月	国内
Association of vegetable and fruit intake with gastric cancer risk: A pooled analysis of four cohort studies (ポスター)	島津太一, 若井建志, 玉腰暁子, 辻一郎, 田中恵太郎, 松尾恵太郎, 永田知里, 井上真奈美, 津金昌一郎 and 笹月静	第73回日本癌学会学術総会	2014年9月	国内
胃がん症例の非がん胃粘膜におけるDNAメチル化プロファイルが、がんの悪性度・症例の予後と関連する (口頭)	山ノ井一裕, 新井恵吏, 高橋順子, 宮田彩香, 九嶋亮治, 片井均, 坂元亨宇 and 金井弥栄	第103回日本病理学会総会	2014年4月	国内
胃癌リスク評価の改善にむけて (口頭)	吉田岳市, 加藤順 and 一瀬雅夫	第22回日本消化器関連学会週間	2014年10月	国内
<i>H. pylori</i> 感染胃炎進展からみた食道癌発生 (口頭)	吉田岳市, 榎本祥太郎 and 一瀬雅夫	第22回日本消化器関連学会週間	2014年10月	国内
Gastric carcinogenesis based on <i>H. pylori</i> -associated highly active chronic gastritis (口頭)	Yoshida T, Kato J, Inoue I, Watanabe M, Enomoto S, Deguchi H, Iguchi M, Maekita T, Tamai H and Ichinose M	第73回日本癌学会学術総会	2014年9月	国内
<i>H. pylori</i> 感染胃炎からの胃癌発生-ハイリスク群とその分子機構を巡って- (口頭)	吉田岳市, 加藤順 and 一瀬雅夫	第100回日本消化器病学会総会シンポジウム	2014年4月	国内
胃バリウムX線検査 (MDL) 判定「慢性胃炎」の背景因子の解析 (口頭)	山道信毅, 光島徹 and 小池和彦	第22回日本消化器関連学会週間シンポジウム	2014年10月	国内
内視鏡洗浄廃液DNA解析による「胃全体の情報を網羅した」胃癌の分子診断 (口頭)	山本博幸, 渡邊嘉行 and 伊東文生	第87回日本消化器内視鏡学会総会	2014年5月	国内
胃内視鏡洗浄廃液サンプルを用いた胃癌の分子病態研究の新展開 (口頭)	山本博幸, 渡邊嘉行, and 伊東文生	第100回日本消化器病学会総会	2014年4月	国内
OLGA systemを用いた <i>H. pylori</i> 除菌後発見胃癌と慢性炎症の関連 (口頭)	兒玉雅明, 沖本忠義 and 村上和成	第100回日本消化器病学会総会シンポジウム	2014年4月	国内
発癌の素地における食道扁平上皮癌のリスク評価 (口頭)	岸野貴賢, 高橋崇真, Yi-Chia Lee, 山下聡, Ming-Shiang Wu and 牛島俊和	第25回日本消化器癌発生学会総会シンポジウム	2014年11月	国内
遺伝子点突然変異のターゲットシーケンシングによる高感度解析法の開発とGeneticな発がんの素地の解析 (口頭)	山下聡, 岸野貴賢, 永野玲子 and 牛島俊和	第29回発癌病理研究会	2014年9月	国内
食道扁平上皮癌におけるゲノムおよびエピゲノムの統合解析 (ポスター)	岸野貴賢, 丹羽透, 山下聡, 高橋崇真 and 牛島俊和	第73回日本癌学会学術総会	2014年9月	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所 (学会誌・雑誌等名)	発表した時期	国内・外の別
Frequent involvement of chromatin remodeler alterations in gastric field cancerization	Takeshima H, Niwa T, Takahashi T, Wakabayashi M, Yamashita S, Ando T, Inagawa Y, Taniguchi H, Katai H, Sugiyama T, Kiyono T and Ushijima T.	Cancer Lett	2015	国外
Demonstration of the usefulness of epigenetic cancer risk prediction by a multicenter prospective cohort study	Asada K, Nakajima T, Shimazu T, Yamamichi N, Maekita T, Yokoi C, Oda I, Ando T, Yoshida T, Manjo S, Fujishiro M, Gotoda T, Ichinose M and Ushijima T	Gut	2015	国外
ZNF695 methylation predicts a response of esophageal squamous cell carcinoma to definitive chemoradiotherapy	Takahashi T, Yamashita S, Matsuda Y, Kishino T, Nakajima T, Kushima R, Kato K, Igaki H, Tachimori Y, Osugi H, Nagino M and Ushijima T	J Cancer Res Clin Oncol	2015	国外
Integrated analysis of cancer-related pathways affected by genetic and epigenetic alterations in gastric cancer	Yoda Y, Takeshima H, Niwa T, Kim JG, Ando T, Kushima R, Sugiyama T, Katai H, Noshiro H and Ushijima T	Gastric Cancer	2015	国外
DNA methylation of <i>microRNA-124a</i> is a potential risk marker of colitis-associated cancer in patients with ulcerative colitis	Ueda Y, Ando T, Nanjo S, Ushijima T and Sugiyama T	Dig Dis Sci	2014	国外
Large-scale characterization of DNA methylation changes in human gastric carcinomas with and without metastasis	Liu Z, Zhang J, Gao Y, Pei L, Zhou J, Gu L, Zhang L, Zhu B, Hattori N, Ji J, Yuasa Y, Kim W, Ushijima T, Shi H and Deng D	Clin Cancer Res	2014	国外
Hereditary diffuse gastric cancer in a Japanese family with a large deletion involving <i>CDH1</i>	Yamada M, Fukagawa T, Nakajima T, Asada K, Sekine S, Yamashita S, Okochi-Takada E, Taniguchi H, Kushima R, Oda I, Saito Y, Ushijima T and Katai H	Gastric Cancer	2014	国外
ANGPTL4 is a secreted tumor-suppressor that inhibits angiogenesis	Okochi-Takada E, Hattori N, Tsukamoto T, Miyamoto K, Ando T, Ito S, Yamamura Y, Wakabayashi M, Nobeyama Y and Ushijima T	Oncogene	2014	国外
Cancer development based on chronic active gastritis and resulting gastric atrophy as assessed by serum levels of pepsinogen and <i>Helicobacter pylori</i> antibody titer	Yoshida T, Kato J, Inoue I, Yoshimura N, Deguchi H, Mukoubayashi C, Oka M, Watanabe M, Enomoto S, Niwa T, Maekita T, Iguchi M, Tamai H, Utsunomiya H, Yamamichi N, Fujishiro M, Iwane M, Takeshita T, Ushijima T and Ichinose M	Int J Cancer	2014	国外
Genetic polymorphisms of <i>ADH1B</i> , <i>ADH1C</i> and <i>ALDH2</i> , alcohol consumption, and the risk of gastric cancer: the Japan Public Health Center-based prospective study	Hidaka A, Sasazuki S, Matsuo K, Ito H, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Iwasaki M, Inoue M, Tsugane S and JPHC Study Group	Carcinogenesis	2015	国外
Plasma insulin, C-peptide and blood glucose and the risk of gastric cancer: the Japan Public Health Center-based prospective study	Hidaka A, Sasazuki S, Goto A, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Iwasaki M, Inoue M, Noda M, Tajiri H, Tsugane S and JPHC Study Group	Int J Cancer	2015	国外
Association of vegetable and fruit intake with gastric cancer risk among Japanese: a pooled analysis of four cohort studies	Shimazu T, Wakai K, Tamakoshi A, Tsuji I, Tanaka K, Matsuo K, Nagata C, Mizoue T, Inoue M, Tsugane S, Sasazuki S and Research Group for the Development and Evaluation of Cancer Prevention Strategies in Japan	Ann Oncol	2014	国外

Prognostication of patients with clear cell renal cell carcinomas based on quantification of DNA methylation levels of CpG island methylator phenotype marker genes	Tian Y, Arai E, Gotoh M, Komiyama M, Fujimoto H and Kanai Y	BMC Cancer	2014	国外
Epigenetic clustering of lung adenocarcinomas based on DNA methylation profiles in adjacent lung tissue: Its correlation with smoking history and chronic obstructive pulmonary disease	Sato T, Arai E, Kohno T, Takahashi Y, Miyata S, Tsuta K, Watanabe S, Soejima K, Betsuyaku T and Kanai Y	Int J Cancer	2014	国外
Multilayer-omics analysis of renal cell carcinoma, including the whole exome, methylome and transcriptome	Arai E, Sakamoto H, Ichikawa H, Totsuka H, Chiku S, Gotoh M, Mori T, Nakatani T, Ohnami S, Nakagawa T, Fujimoto H, Wang L, Aburatani H, Yoshida T and Kanai Y	Int J Cancer	2014	国外
Associated factors of atrophic gastritis diagnosed by double-contrast upper gastrointestinal barium X-ray radiography: a cross-sectional study analyzing 6,901 healthy subjects in Japan	Yamamichi N, Hirano C, Shimamoto T, Minatsuki C, Takahashi Y, Nakayama C, Matsuda R, Fujishiro M, Konno-Shimizu M, Kato J, Kodashima S, Ono S, Niimi K, Mochizuki S, Tsuji Y, Sakaguchi Y, Asada-Hirayama I, Takeuchi C, Yakabi S, Kakimoto H, Wada R, Mitsushima T, Ichinose M and Koike K	PLoS One	2014	国外
Guidelines for gastroenterological endoscopy in patients undergoing antithrombotic treatment	Fujimoto K, Fujishiro M, Kato M, Higuchi K, Iwakiri R, Sakamoto C, Uchiyama S, Kashiwagi A, Ogawa H, Murakami K, Mine T, Yoshino J, Kinoshita Y, Ichinose M and Matsui T	Dig Endosc	2014	国外
Prediction of poorly differentiated hepatocellular carcinoma using contrast computed tomography	Nakachi K, Tamai H, Mori Y, Shingaki N, Moribata K, Deguchi H, Ueda K, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Kato J and Ichinose M	Cancer Imaging	2014	国外
Gli regulates <i>MUC5AC</i> transcription in human gastrointestinal cells	Kageyama-Yahara N, Yamamichi N, Takahashi Y, Nakayama C, Shiogama K, Inada K, Konno-Shimizu M, Kodashima S, Fujishiro M, Tsutsumi Y, Ichinose M and Koike K	PLoS One	2014	国外
<i>Helicobacter pylori</i> -related chronic gastritis as a risk factor for colonic neoplasms	Inoue I, Kato J, Tamai H, Iguchi M, Maekita T, Yoshimura N and Ichinose M	World J Gastroenterol	2014	国外
Categorization of upper gastrointestinal symptoms is useful in predicting background factors and studying effects and usages of digestive drugs	Yamamichi N, Shimamoto T, Sakaguchi Y, Takahashi Y, Kodashima S, Nakayama C, Minatsuki C, Ono S, Mochizuki S, Matsuda R, Asada-Hirayama I, Niimi K, Fujishiro M, Tsuji Y, Takeuchi C, Kakimoto H, Goto O, Mitsushima T and Koike K	PLoS One	2014	国外
Antithrombotic drug does not affect the positive predictive value of an immunochemical fecal occult blood test	Tsuji Y, Gunji T, Sato H, Ono A, Ito T, Ohata K, Yamamichi N, Fujishiro M, Matsuhashi N and Koike K	Dig Endosc	2014	国外
Endoscopic tissue shielding method with polyglycolic acid sheets and fibrin glue to cover wounds after colorectal endoscopic submucosal dissection (with video)	Tsuji Y, Ohata K, Gunji T, Shozushima M, Hamanaka J, Ohno A, Ito T, Yamamichi N, Fujishiro M, Matsuhashi N and Koike K	Gastrointest Endosc	2014	国外