

察可能であった。また、その蛍光波長と相対的蛍光強度(636nmと626nmの蛍光強度の差)をVLD-EXにて客観的に確認することが可能であった。

今後5-ALAを用いた蛍光イメージングをさらに発展させるためには、更なる症例集積のもとに赤色蛍光が得られる病変の組織型を含めた臨床病理学的特徴の解析や、VLD-EXにおける相対的蛍光強度の至適閾値の設定、より励起光を照射し、かつ広域な観察が可能な専用内視鏡の開発が必要と考える。

さらに、この蛍光イメージングは、外科手術例の浸潤癌におけるリンパ節転移、腹膜播種の診断にも応用可能と考える。今後は転移巣における蛍光イメージングと原発巣イメージングとの相関を検討し、原発巣の蛍光イメージングから術前に転移予測が可能か評価し、術中イメージングの臨床試験を計画する予定である。

#### E. 結論

5-ALA内服後により大腸腫瘍性病変の赤色蛍光をリアルタイムに観察可能であった。その蛍光陽性率は、深達度に比例して上昇傾向を示した。また、隆起成分を含むものは陽性率が高いことが示唆された。

また、AFIが通常光内視鏡で診断困難なcolitic cancerの診断に有用である可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

対象症例23例中5例に嘔吐、1例に発疹を認めたが、いずれも軽微であった。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Sakamoto T, Nakajima T, Matsuda T, Saito Y. Case 52 NBI Protruding serrated adenoma. New Image-Enhanced Endoscopy NBI/BLI Atlas, (Supervisor) Tajiri S (Editors) Kato M, Tanaka S, Saito Y, Muto M. Nihon Medical Center, 2014.11.1, 182-183.

2) Sato C, Matsuda T, Saito Y. Case 65 NBI Composite (I s+ II c) SM Carcinoma. New Image-Enhanced Endoscopy NBI/BLI Atlas, (Supervisor) Tajiri S (Editors) Kato M, Tanaka S, Saito Y, Muto M. Nihon Medical Center, 2014.11.1, 208-209.

3) Haruyama S, Saito Y, Kushima R. Case 70 NBI BLI LST-NG, pseudo-depressed type. New Image-Enhanced Endoscopy NBI/BLI Atlas, (Supervisor) Tajiri S (Editors) Kato M, Tanaka S, Saito Y, Muto M. Nihon Medical Center, 2014.11.1, 218-221.

4) (Supervisor) Tajiri S (Editors) Kato M, Tanaka S, Saito Y, Muto M. New Image-Enhanced Endoscopy NBI/BLI Atlas, 2014.11.1, 1-236

5) Saito Y, Yamada M, So E, Abe S, Sakamoto T, Nakajima T, Otake Y, Ono A, Matsuda T. Colorectal endoscopic submucosal dissection: Technical advantages compared to endoscopic mucosal resection and minimally invasive surgery. Dig Endosc. 2014 Jan;26 Suppl 1:52-61.

6) Arezzo A, Passera R, Saito Y, Sakamoto T, Kobayashi N, Sakamoto N, Yoshida N, Naito Y, Fujishiro M,

Niimi K, Ohya T, Ohata K, Okamura S, Iizuka S, Takeuchi Y, Uedo N, Fusaroli P, Bonino MA, Verra M, Morino M. Systematic review and meta-analysis of endoscopic submucosal dissection versus transanal endoscopic microsurgery for large noninvasive rectal lesions. *Surg Endosc.* 2014 Feb;28(2):427-38.

7) Saito Y, Sakamoto T, Nakajima T, Matsuda T. Colorectal ESD: current indications and latest technical advances. *Gastrointest Endosc Clin N Am.* 2014 Apr;24(2):245-55.

8) 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, Katai H. Hereditary diffuse gastric cancer in a Japanese family with a large deletion involving CDH1. *Gastric Cancer.* 2014 Oct;17(4):750-6.

9) Yoshida N, Saito Y, Hirose R, Ogiso K, Inada Y, Yagi N, Naito Y, Otake Y, Nakajima T, Matsuda T, Yanagisawa A, Itoh Y. Endoscopic Mucosal Resection for Middle and Large Colorectal Polyps with a Double-Loop Snare. *Digestion.* 2014 Dec 17;90(4):232-239.

10) 斎藤豊, 松田尚久, 藤井隆広: I 「拡大内視鏡研究会」の10年の歩み 4. 大腸、監修: 工藤進英、吉田茂昭、編集: 拡大内視鏡研究会、拡大内視鏡 極限に挑む、日本メディカルセンター、2014.10.25: 33-36

11) 松田尚久, 斎藤豊, 藤井隆広: 3. 大腸 4. 早期大腸癌に対する pit pattern 診断-肉眼型別検討: II c, LST-NG、監修: 工藤進英、吉田茂明、編集: 拡大内視鏡研究会、拡大内視鏡 極限に挑む、

日本メディカルセンター、2014.10.25: 151-162

12) 斎藤豊, 松田尚久, 藤井隆広: IV 治療 1 処置および治療 内視鏡的粘膜切除術 (EMR)、内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) -大腸、監修: 一般財団法人日本消化器病学会、編集: 「消化器病診療(第2版)」編集委員会、消化器病診療 第2版、医学書院、2014.10.31: 333-336

13) 斎藤豊, 山田真善, 曾絵里子, 高丸博之, 坂本琢, 大竹陽介, 中島健, 松田尚久, 九嶋亮治: VII. LST に対する ESD 治療の基本とピットフォール (1) EMR/ESD の選択基準, 分割 EMR 許容の是非、生検の是非、*INTESTINE* 2014; 18(1):69-78

14) 山田真善, 斎藤豊, 坂本琢, 中島健, 松田尚久: 大腸内視鏡治療の最前線 3. ESD を選択すべき大腸腫瘍、*Modern Physician* 2014;34(5):580-584

15) 斎藤豊, 高丸博之, 山田真善, 坂本琢, 大竹陽介, 中島健, 松田尚久, 九嶋亮治: state of the art 大腸癌治療ガイドライン改訂のポイント[内視鏡治療]、大腸がん perspective 2014;1(1):19-24

16) 斎藤豊, 高丸博之, 松田尚久: 大腸 ESD の最前線、*医学のあゆみ* 2014; 250 (10) :969-975

17) 山田真善, 斎藤豊, 坂本琢, 中島健, 松田尚久: [大腸]大腸病変に対するスタンダードなアプローチ、*消化器内視鏡* 2014; 26(9):1326-1332

18) 斎藤豊: CO2 送気の導入: *消化器内視鏡* 2014; 26(9):1418-1419

19) 池澤伸明, 斎藤豊, 松田尚久: I. 限局性病変・単発病変 1. 隆起性病変 A. 上皮の変化を伴うもの LST-G, LST-NG、*消化器内視鏡* 2014;26 (12) :1982-1983

20) Watanabe R, Hanaoka H, Sato K, Nagaya T, Harada T, Mitsunaga M, et

al. Photoimmunotherapy targeting prostate-specific membrane antigen: are antibody fragments as effective as antibodies? J Nucl Med. 2015;56:140-4.

## 2. 学会発表

1) Saito Y. 1) EAES Consensus Conference on Early Rectal Cancer. 2) ESD: Endoscopic Submucosal Dissection; Indications, Technique and Results. ① Panelist as one of the selected expert. ② Lecture and Live demo. ① Oral Presentation and discussion. ② Oral Presentation and Live demo. European Association for Endoscopic Surgery (EAES) Consensus Conference on Early Rectal Cancer, 3rd - 4th Mar, 2014, University of Torino, Torino, Italy.

2) ① & ② Saito Y. ③ Saito Y. & Otake Y. as assistant for ESD Live demos. ① Working in the famous National Cancer Centre, Tokyo! ② EMR vs ESD for colonic polyps, when and how? Japanese perspective. ③ Live demonstrations. 1) Lecture at Workshop Dinner, Special Dinner Lectures: 2) Lecture. 3) Live demos. 1) 2) Oral Presentation. 2) Live demos. ENDOSCOPY 2014, 29th -30th Mar, 2014, University of Malaya Medical Centre, Kuala Lumpur, Malaysia.

3) Saito Y. ESD for Colon. Panelist at SAGES/JSES Panel: Endoscopic Submucosal Dissection (ESD) - When Will We catch Up With Our Japanese Colleagues? Oral Presentation and discussion. SAGES 2014, 4th Apr, 2014, The Salt Palace Convention

Center, Salt Lake City, UT, USA

4) Saito Y. Consensus conference Early rectal cancer. Panelist at Scientific session. Oral Presentation and discussion, WCES-PARIS 2014, 26th June, 2014, Palais de Congrès, Paris, France.

5) Saito Y. ① Lower gastrointestinal bleeding. ② Colorectal ESD. 3) ESD Live demos. ① Lecture at Session 4 for Internists and General Practitioners. ② Lecture at Session 1 for Gastroenterologists and Gastrointestinal Surgeons. ③ Hands on (Session I and Session II) .① and ② Oral Presentations at the symposium on July 5, 2014. ③ Transmission from Metropolitan Hospital at the Athens Endoscopy Live 2014 on July 4, 2014. 2nd Athens International Symposium, 5th July, 2014, ① & ② Athens Hilton Hotel, ③ Metropolitan Hospital, Athens, Greece.

6) Saito Y. ① Resection approach for colonic LST. ② Live demonstration of ESD in a Tissue model. ③ Hands on ESD stations. ④ Coffee & Discussion about ESD Knives. ① Lecture. ② Live demo. ③ Hands on. ④ Lecture and discussion, ① and ④ Oral Presentations. ② and ③ Live demos. ESD (Endoscopic Submucosal Dissection) Workshop, 16th ~17th Oct, 2014, VIMAS Education Centre at Quad, Queen Alexandra Hospital, Portsmouth, UK.

7) Saito Y. Efficiency and clinical case presentation of BLI in colon. Lecture and Discussion. Oral Presentation, FUJIFILM's UEG Week 2014 Satellite

Symposium, 20th Oct,2014, ACV Vienna, Hall I/K, Vienna, Austria.

8) Saito Y. EFFICACY AND SAFETY OF ENDOSCOPIC SUBMUCOSAL DISSECTION FOR EARLY STAGE COLORECTAL NEOPLASIA: RESULTS FROM A NATIONWIDE REGISTRY THROUGHOUT JAPAN. Lecture at the Symposium "Endoscopic management of early colorectal neoplasia. Oral Presentation. UEGW 2014, 21st Oct,2014, ACV Vienna, Hall G/H, Vienna, Austria.

9) Oka S. and Saito Y. ① Video recorded clinical cases of colorectal tumor and Quiz. ② Video recorded clinical cases in esophagus carcinoma and quiz. ① Lecture at the Scientific Program: WEO/A-PSDE/JGES ADEC, Session: Lower GI, Practice of narrow-band imaging (NBI) diagnosis. ② Lecture at the Scientific Program: WEO/A-PSDE/JGES ADEC, Session 2: Upper GI. ①& ② Oral Presentations. APDW 2014, 24th Nov,2014, Bali Nusa Dua Convention Centre, Room7, Bali, Indonesia.

10) Saito Y. ① Colorectal ESD for masters: beyond the current limitations. ② Lateral resection margin involvement by cancer: what's your plan? ① Lecture at the Session III. ESD for Treatment of Early Colorectal Cancer. ② Lecture at the Session IV. Lessons from Experts: How to Troubleshoot? Oral Presentations. 7th Asan International Digestive Disease Symposium (AIDDS 2014). 13th Dec,2014, Asan Hall, Asan Institute for Life Sciences 15F., ASAN

Medical Center, Seoul, Korea.

11) 齋藤豊: ①大腸EMR/E S D-コックとピットフォール ②大腸内視鏡治療のQ&A、①特別講演2 ②パネルディスカッションパネリスト、第33回大腸内視鏡検査法研究会、2014/2/20 毎日新聞社「オーバーホール」、大阪市

12) 齋藤豊: 大腸早期癌の診断と治療-ESD適応とサーベイランス-、特別講演、第12回ESD研究会 in 愛知、2014/4/10 ホテルグランドティアラ安城 1F マグノリア+ジャスミン、愛知県安城市

13) 齋藤豊: 内視鏡ライブセッション 2 下部消化管、コメンテーター、第87回日本消化器内視鏡学会総会、2014/5/15 福岡国際会議場 5階 501、福岡市

14) 齋藤豊: 大腸画像診断・観察の実際と最近のトピック-NBI/BLI/分子イメージング-、講演、第19回北多摩開業医消化器内視鏡勉強会、2014/6/7、吉祥寺第一ホテル7階「若草」、東京都

15) 齋藤豊: 大腸内視鏡診断と治療-軸保持短縮法・NBI診断・ESD、特別講演 I、第12回阪神消化管フォーラム、2014/6/10、都ホテルニューアルカイク、尼崎市

16) 齋藤豊: 大腸内視鏡診断と治療-ESD適応拡大の是非、特別講演、第127回備後内視鏡研究会、2014/6/18、福山ニューキャッスルホテル、福山市

17) 齋藤豊: Colorectal ESD-Pushing the therapeutic frontier、口演、8th colorectal Disease Symposium in Tokyo (CDST)、2014/7/26、時事通信ホール、東京都

18) 齋藤豊: 大腸 NBI 拡大診断～国内統一分類の試みと色素拡大診断との棲み分け～、サテライトシンポジウム 91、講演、JDDW2014Kobe、2014/10/25、ポ

ートピアホテル ポートピアホール(第4会場)、神戸市

19) 斎藤豊：大腸早期がんの診断とESD/EMRの選択、特別講演、2014/11/19、山口グランドホテル2F「鳳凰の間」、山口市

20) 斎藤豊：大腸腫瘍の内視鏡診断とEMR/ESD-NBI拡大分類も含めて -、特別講演、2014/11/27、第3回東海大腸腫瘍セミナー、キャスルプラザホテル3F「孔雀の間」、名古屋市

21) Eriko So Tsuruki, Seiichiro Abe, Chiko Sato, Hayato Sasaki, Hiroyuki Takamaru, Masayoshi Yamada, Taku Sakamoto, Yosuke Otake, Takeshi Nakajima Takahisa Matsuda and Yutaka Saito: Evaluation of a New Endoscopic Fluorescence Imaging Modality Using Oral 5-Aminolevulinic Acid for Colorectal Tumors ポスター、2014 米国消化器病週間 (2014/5 シカゴ)

22) Eriko So Tsuruki, Yutaka Saito, Masanori Sekiguchi, Seiichiro Abe : Evaluation of a New Endoscopic Fluorescence Imaging Modality Using Oral 5-Aminolevulinic Acid for Colorectal Tumors、口頭発表、第2回国際ALAポルフィリン学会 (2014 /11 東京)

23) 関口雅則, 鶴木(曾)絵里子, 田中寛人, 池澤伸明, 高丸博之, 山田真善, 阿部清一郎, 坂本 琢, 中島 健, 松田尚久, 斎藤豊: 5-アミノレブリン酸内服による大腸腫瘍イメージングの可能性、口頭発表、第11回日本消化管学会総会 (2014/2 東京)

24) Activatable Optical Imaging Probes Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen: The Role of Antibody Fragment Platform and short PEG

linker

Rira Watanabe; Kazuhide Sato; Hirofumi Hanaoka; Toshiko Harada; Takahito Nakajima; Makoto Mitsunaga; Insook Kim; Chang Paik; Anna M. Wu; Peter Choyke; Hisataka Kobayashi. WMIC2014, Seoul, Korea.

25) Photoimmunotherapy Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen: The Role of Antibody Fragment Platforms

Rira Watanabe; Kazuhide Sato; Hirofumi Hanaoka; Toshiko Harada; Takahito Nakajima; Makoto Mitsunaga; Insook Kim; Chang Paik; Anna M. Wu; Peter Choyke; Hisataka Kobayashi. WMIC2014, Seoul, Korea.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

新規『蛍光プローブ』の開発

担当責任者 東京大学 大学院医学系研究科・薬学系研究科 浦野泰照

研究要旨

分担研究者が新たに開発したアミノペプチダーゼ活性検出蛍光プローブを、大腸がん、胃がんの ESD 新鮮検体へと適用することで、がん部位、非がん部位（正常部位）での応答に大きな差のあるプローブを見いだす検討を開始した。その結果、一部の大腸がんで GGT 蛍光プローブが有効であることが明らかとなった。

A. 研究目的

外科手術、内視鏡手術時に、がん部位を完全に取り切ることの臨床的意義は大きい。そこで本研究では、1 mm 以下の微小がんであっても、これを術中に迅速かつ鋭敏に検出することを可能とさせる技術の確立を目指し、がん部位が持つペプチダーゼ活性を鋭敏に検出可能な蛍光プローブを開発する。開発したプローブは、研究代表者との共同研究により、実際の患者から得られた ESD 新鮮検体へと適用し、その機能を検証する。

B. 研究方法

分担研究者が確立することに成功した分子内 spiro 環化平衡に基づく蛍光プローブ分子設計法に則り、がん細胞でその活性が亢進しているとの報告がある様々な種類のアミノペプチダーゼ活性を、鋭敏に検出可能な蛍光プローブを開発する。特にγ-グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT) 活性はいくつかのがん種で亢進が見られることから、GGT 活性検出蛍光プローブを胃、大腸 ESD 臨床新鮮検体へと適用し、がん部位の選択的可視化が可能かどうか精査する。具体的には、各種プローブの PBS

溶液（濃度 50 μM）を検体に散布し、その後の時間依存的な蛍光強度の変化を簡易型 in vivo イメージャーで観測し、蛍光上昇部位とがん・非がん部位との関係を病理検査結果と比較する。

C. 研究結果

大腸がん ESD サンプルへと各種プローブを適用したところ、一部のプローブではがん部位での蛍光上昇が正常部位に比べて大きい画像を得ることが出来たが、検体間での応答の差違も大きく、高い正診率で「がん>正常」となるプローブは現在のところ見つからない。しかしながら GGT 活性検出蛍光プローブを散布した検体では、比較的高い正診率でがん部位の蛍光強度が強くなり、これまでに 20 例のイメージング結果を病理組織検査結果と比較したところ、67%の検体でがん部位を蛍光画像から特定することが可能であった。また一例だけではあるが adenoma 部位に比べて有意に adenocarcinoma 部位の蛍光強度が強いイメージング画像も得られ、GGT 活性を活用することで両病変部位を見分けることも可能で

あることが示唆された。

胃癌 ESD サンプルへも様々なプローブの適用を開始したが、「がん>正常」となるプローブは現在のところ見つかっていない。GGT プローブはがん部位だけでなく正常部位でも高い蛍光を示すことが多かったが、一例だけががん部位の蛍光が有意に弱く、不染となるサンプルが存在した。さらに開発に成功した他のアミノペプチダーゼ活性検出蛍光プローブを網羅的に適用したところ、一部のプローブで同様に、その蛍光強度変化が「がん<正常」となることが明らかとなった。今後、これらのプローブ適用例をさらに増やし、がんを特徴付けるペプチダーゼ活性の発見を目指す予定である。

#### D. 考察

GGT は細胞内グルタチオンの生合成に重要な役割を果たすことが知られており、その高い増殖活性から細胞内グルタチオンを常に供給する必要がある一部のがんで、特にその発現量が増加していることが知られている。今回得られた大腸がん ESD 検体でのイメージング結果は、このがん細胞特徴を生きている状態で蛍光可視化に成功したためであると考えている。

#### E. 結論

適切なアミノペプチダーゼ活性検出蛍光プローブの適用により、大腸がん、胃癌の新鮮 ESD 検体中に存在するがん部位を検出可能であることが明らかとなった。今後は本技術の臨床での使用を目指し、検討症例の拡大と安全性試験等の開始を目指し研究を継続していく予定である。

#### 別紙 3

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）（斎藤豊班）

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Sato C, Abe S\*, Saito Y, So Tsuruki E, Takamaru H, Makazu M, Sato Y, Sasaki H, Tanaka H, Ikezawa N, Yamada M, Sakamoto T, Nakajima T, Matsuda T, Kushima R, Kamiya M, Maeda S, Urano Y\*, A Pilot Study of Fluorescent Imaging of Colorectal Tumors Using a  $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase-Activatable Fluorescent Probe. *Digestion* 91:70-76, 2015. (DOI: 10.1159/000369367)

##### 2. 学会発表

該当なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む。）

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

別紙3

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）（斎藤豊班）  
研究課題名：「消化管がんに対する特異的蛍光内視鏡の開発とその臨床応用」  
（分担）研究報告書

「早期がんの特異的な膜タンパク抗原の探索」

担当責任者 尾野雅哉

国立がん研究センター研究所・創薬臨床研究分野・ユニット長

研究要旨

われわれが開発した 2DICAL (2 Dimensional Image Converted Analysis of Liquid Chromatography and Mass Spectrometry (LC/MS)) はハイスループットなショットガンプロテオミクス解析手法である。2DICAL を用い大腸がん診断用抗体蛍光プローブを作成可能な大腸がん特有のタンパク質（特に、膜タンパク質および特異酵素）を探索することを目的に本分担研究を行っている。本年度は 2DICAL を改良し、タンパク質の同定精度と検索タンパク質のデータ視認性を高め、2DICAL で得られるタンパク質 big data から、効率的に特異的タンパク質抗原を検出する手法として、新規のパスウェイ解析法を導入した。

A, 研究目的

国立がん研究センター中央病院消化管内視鏡科の内視鏡生検検体を、創薬臨床研究分野で独自に開発したプロテオーム解析技術 2DICAL (2 Dimensional Image Converted Analysis of Liquid Chromatography and Mass Spectrometry (LC/MS)) にて解析し、大腸がん診断用抗体蛍光プローブを作成可能な大腸がん特有のタンパク質（特に、膜タンパク質および特異酵素）を探索することを目的とする。

B, 研究方法

1) 倫理要件を満たした大腸内視鏡生検材料を用いる。大腸内視鏡で正常粘膜、腺腫、癌を採取し、直後にサンプルチューブに移し、-80度で保存する。サンプル処理時に解凍し、メタノールで固定する。プロトコールにのっとりた方法でサンプルをトリプシン処理し、質量分析計で質量データを

取得する。質量データを 2DICAL にて解析し、プロテオームデータファイルを獲得する。正常粘膜、腺腫、癌で変化するタンパク質を同定し、個々の変化、並びに、パスウェイでの変化から、正常粘膜に対して腺腫、癌で特異的に変化するタンパク質を同定する。

2) プロテオーム解析に当たっては、技術の進歩に対応して、随時、2DICAL を改良する。プロテオーム解析から得られる網羅的データを解析するために、既存のパスウェイなどを利用した解析ソフトウェアを利用し、より高い精度で大腸がん診断用抗体蛍光プローブを作成可能な大腸がん特有なタンパク質を探索する。

(倫理面への配慮)

国立がん研究センターの倫理委員会による審査で承認された方法で採取保管され、検体の個人情報が漏出することが無いよ



うに匿名化が厳重に行われるように配慮した患者より得られた生検検体を用いる。

#### C、研究結果

本研究に先立つ研究班で、正常粘膜 17 例、腺腫 17 例、大腸癌 15 例の生検材料を用いて、質量分析計で質量データを取得し、プロテオームデータファイルの獲得が行われている。その解析により、5975 タンパク質が検出され、正常粘膜、腺腫、癌におけるタンパク質量の変動を 9 パターンに分類して比較検討することが可能であった。統計学的手法を用いて腺腫の段階から変動するタンパク質を選別し、複数の変動タンパク質を同定することができた。本年度は、これらのデータを用いて、質量分析計で生成されるペプチドデータから、より効率よくタンパク質の量的変動を取得するために新しくプログラムを開発し、システムとして稼働させた。さらに、既存のソフトウェアであるクロスパスを用いて、正常粘膜、腺腫、癌で特異的に変化するパスウェイから、高い精度での大腸がん診断用抗体蛍光プローブを作成可能な大腸がん特有のタンパク質を探索するシステムを導入したが、本年度は、2DICAL で得られたプロテオームデータファイルをクロスパスで効率よく解析できるプログラムの開発を行った。

#### D、考察

一つの生検材料からのプロテオームプロファイルの解析は困難であることが予想されたが、2DICAL を用いることにより、十分なプロテオームデータが確保され、正常粘膜、腺腫、癌のプロテオームを比較解析できることも明らかとなった。このシステムを用いることにより、当初の目的である大腸がん診断用抗体蛍光プローブが作成可能な大腸がん特有のタンパク質（特に、

膜タンパク質および特異酵素）の探索を進めることは可能であるが、システムには改善の余地があるため、本年度は、質量分析計で測定されたデータの解析精度を高め、網羅的なプロテオームデータの活用が可能なシステムの開発に傾注した。いくつかのアプリケーションを開発し、これまでの解析例に応用することが可能であることは確認できたが、システムとして完成するためには、さらなる症例を解析し、検証を進めていく必要がある。これらは来年度の研究の重要な課題として取り組む必要がある。

#### E、結論

- 1、大腸生検材料から 2DICAL を用いて、正常粘膜、腺腫、癌で変動するタンパク質を同定することが可能であった。
- 2、より高い精度での大腸がん診断用抗体蛍光プローブを開発するためには、解析システムのさらなる改良や網羅的情報を解析する既存の方法の導入が必要である。
- 3、来年度は、新規の臨床材料の解析を進め、改良された解析システムと新規に導入されたシステムを用い、大腸がん診断用抗体蛍光プローブを作成可能な大腸がん特有のタンパク質を探索する。

#### F、健康危険情報

特になし

#### G、研究発表

##### 1、論文発表

- 1、Taira N., Yamaguchi T., Kimura J., Lu Z. G., Fukuda S., Higashiyama S., Ono M., Yoshida K.

Induction of amphiregulin by p53 promotes apoptosis via control of

- microRNA biogenesis in response to DNA damage.  
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 111, 717-22. (2014).
- 2、Matsukawa S., Morita K. I., Negishi A., Harada H., Nakajima Y., Shimamoto H., Tomioka H., Tanaka K., Ono M., Yamada T., Omura K.  
Galectin-7 as a potential predictive marker of chemo- and/or radio-therapy resistance in oral squamous cell carcinoma.  
Cancer Med. 3, 349-61. (2014).
- 3、Kobayashi E., Satow R., Ono M., Masuda M., Honda K., Sakuma T., Kawai A., Morioka H., Toyama Y., Yamada T.  
MicroRNA expression and functional profiles of osteosarcoma:  
Oncology. 86, 94-103. (2014).
- 4、Masuda M., Chen W. Y., Miyanaga A., Nakamura Y., Kawasaki K., Sakuma T., Ono M., Chen C. L., Honda K., Yamada T.  
Alternative mTOR signal activation in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cells revealed by array-based pathway profiling. Mol. Cell. Proteomics. 13, 1429-38. (2014)
- 5、Kagami Y., Nihira K., Wada S., Ono M., Honda M., Yoshida K.  
Mps1 phosphorylation of condensin II controls chromosome condensation at the onset of mitosis.  
Journal of cell biology. 205, 781-790. (2014).
- 6、Kamita M., Mori T., Sakai Y., Ito S., Gomi M., Miyamoto Y., Harada A., Niida S., Yamada T., Watanabe K., Ono M.  
Proteomic analysis of ligamentum flavum from patients with lumbar spinal stenosis  
Proteomics. in press. (2015).
- 7、尾野雅哉  
プロテオーム解析システム 2DICAL を用いたバイオマーカー開発.  
医学のあゆみ. 251, 984-988. (2014).
- 8、尾野雅哉, 斎藤豊, 山田康秀  
LCMS 解析手法 2DICAL を用いた大腸癌関連マーカーの開発.  
G. I. Research. 23, 31-37. (2015).
- 2、学会発表
1. 4th Annual World Congress of Molecular & Cell Biology  
平成 26 年 4 月 26 日 (Dalian International Conference Center, Dalian, China)  
Ono M.  
Biomarker Discovery of Pancreas Cancer and Gastrointestinal Cancer by 2dical - 2-Dimensional Image Converted Analysis of LC/MS.
2. 62<sup>nd</sup> Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics  
平成 26 年 6 月 18 日 (Baltimore Convention Center, Baltimore, MD, USA)  
Ono M., Kamita M, Kawasaki K, Gomi M, Sakuma T, Otake Y, Sakamoto T, Nakajima T, Matsuda T, Saito Y, Yamada T

Proteomic analysis of biopsy specimen revealed the profiles of adenoma-carcinoma sequence of colorectal cancer

3. 第10回日本臨床プロテオーム研究会  
平成26年5月10日(京王プラザホテル、東京都)  
尾野雅哉  
2DICAL解析を基盤としたプロテオーム臨床応用の将来展望
4. 日本プロテオーム学会2014年会  
平成26年7月27日(つくば国際会議場、つくば市)  
本田一文、尾野雅哉、山田哲司、  
アレイ技術・抗体基盤・質量分析基盤  
プロテオミクスの融合-がんバイオマーカー探索と検証に向けて-
5. 第73回日本癌学会学術総会  
平成26年9月26日(パシフィコ横浜、横浜市)  
仁平直江、吉田清嗣、尾野雅哉  
新規p53関連遺伝子AREGはDNA損傷下でのmicroRNA代謝制御に関わる
6. 第73回日本癌学会学術総会  
平成26年9月27日(パシフィコ横浜、横浜市)  
加賀美裕也、仁平啓史、尾野雅哉、  
吉田清嗣  
Mps1/TTKはcondensin IIのリン酸化を介して染色体凝集を制御する
7. 第73回日本癌学会学術総会  
平成26年9月27日(パシフィコ横浜、横浜市)  
小松正人、吉丸哲郎、尾野雅哉、松尾泰佑、清谷一馬、三好康雄、笹三

徳、片桐豊雅  
悪性度の高いトリプルネガティブ乳癌における核内19S-proteasome関連遺伝子(nPAG1)の役割

8. 第73回日本癌学会学術総会  
平成26年9月27日(パシフィコ横浜、横浜市)  
笹木有佑、山田康秀、尾野雅哉、紙田正博、赤須孝之  
プロテオーム解析で見るStageIII大腸癌におけるPIK3CA遺伝子変異
  9. 第73回日本癌学会学術総会  
平成26年9月26日(パシフィコ横浜、横浜市)  
新井恵吏、高橋順子、坂本裕美、尾野雅哉、宮田彩香、藤元博行、山田哲司、吉田輝彦、金井弥栄  
逆行分析前方シミュレーションモデルを用いた腎細胞がんのバイオマーカーならびに治療標的分子の同定
- H, 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
- 1、特許  
なし
  - 2、実用新案登録  
なし
  - 3、その他  
なし

厚生労働科学研究費委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

特異的蛍光内視鏡技術を用いた微小転移の術中診断

担当責任者 金光幸秀 独立行政法人国立がん研究センター中央病院 大腸外科長

研究要旨

近年、光感受性薬剤を用いた光線力学的療法（PDT：Photo Dynamic Therapy）が種々のがんの診断と治療に応用されており、この原理を応用した診断技術（PDD：Photo Dynamic Diagnosis）が開発され注目されている。中でもポルフィリンの前駆体である5-アミノレブリン酸（5-ALA）はそれ自体に光感受性はないが、人体に取り込まれると、細胞内で代謝されて蛍光物質であるプロトポルフィリンIX（PpIX）に変化する。このPpIXは正常細胞では集積しにくく、がん組織内に多く集積する特徴があり、特定の波長（励起波長405nm、発光波長635nm）で観察することでがん組織識別が可能である。今回このALAを使用し術中所見での原発巣と所属リンパ節転移診断の有用性について検討する前向きな介入研究を計画した。

A. 研究目的

内視鏡検査で結腸、直腸癌が診断され、大腸切除術が予定されているStage II-IV腸癌患者を対象して、進行大腸癌の術中所見における、ALA内服による原発巣と所属リンパ節転移検出の有用性を検討する。

Primary endpoint: 進行大腸癌における術中ALA診断での原発巣の同定割合

Secondary endpoint: 進行大腸癌の所属リンパ節における術中ALA診断の同定割合

B. 研究方法

大腸癌の手術検体で、VLD-EX（波長照射/計測兼用機器）を用いてALAを取り込んだ原発巣と転移リンパ節の検出の有無を評価する。

予定患者登録数で手順、また視認性の有無の確認を行い、Step1の人数で研究の妥当性の確認ができれば、Step2にすすむ。

<予定登録患者数>

Step1: 10名

Step2: 50名（Step1の症例を含む）。

登録期間: 1年。追跡期間: 最終登録患者の治療後の外来受診日まで

ただし6ヶ月以内の登録期間の延長はプロトコール改訂手続き不要とする。

（倫理面への配慮）

本研究の実施にあたっては、倫理的な配慮を慎重にし、登録前に患者本人から下記の内容について十分に説明し同意を得る。未成年者、成人で十分な判断能力のない場合、成人で意識のない場合など、本人から研究に対する承諾を得ることが難しい場合は、対象外とする。この説明と同意に際して担当医は患者本人に施設のIRB承認が得られた説明文書および同意文書（別紙）を使用し、以下の内容を口頭で詳しく説明する。患者本人の署名と同意日を得る。その際説明した医師の署名を加える。

C. 研究結果

平成26年度は、ALAを取り込んだ原発巣と転移リンパ節の検出方法について検討を重ね、測定手技を確立した後に研究実施計画書を作成した。平成27年度は施設のIRB審査承認を得て患者登録を開始する。平成27～28年度は登録を進め、登録を完遂して解析を行う。

#### D. 考察

大腸癌において、リンパ節転移は強力な予後予測因子であり、手術術式や補助化学療法の適応を選択する上でリンパ節転移を正確に診断することは重要である。現時点で術中にリンパ節転移の有無を正確に判断することは不可能である。しかし、手術中に微小なものも含めて、リンパ節転移が高い精度で診断可能となれば、将来的には、郭清領域を縮小した低侵襲手術や郭清範囲を個別化した手術が可能となる。また、SS-SEと予想されるStage II-IVの原発巣に対するALA検出の割合を調べることで、陽性の場合の臨床的意義を明らかにすることができれば、新たな補助療法適応基準の策定につながり、今後の臨床試験を通じて大腸癌の予後改善に寄与し得る。

該当なし

#### 3. その他

該当なし

#### E. 結論

ALAを使用した術中所見での原発巣と所属リンパ節転移診断の有用性について検討する前向き介入研究を計画した。本試験の結果、大腸癌原発巣とリンパ節において、がん組織識別が可能となれば、新たな治療開発に繋がる可能性がある。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

- ・金光幸秀、志田大、塚本俊輔, 下部直腸癌における外科治療のダイナミズム—手術先行の立場から 第114回日本外科学会, 2014.4
- ・金光幸秀、塚本俊輔、坂本良平、志田大. 術前3DシミュレーションとCT colonography 深達度診断を併用した、下部進行直腸癌に対する側方郭清術. 第69回日本消化器外科学会総会. 2014.7
- ・金光幸秀,志田大,塚本俊輔,落合大樹,小森康司,森谷宜皓.郭清効果からみた下部直腸癌に対する側方郭清の意義と課題. 第76回日本臨床外科学会総会. 2014.11

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。)

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

特異的蛍光内視鏡技術を用いた特異的治療

担当責任者 東京慈恵会医科大学 内科学講座 消化器・肝臓内科 光永真人  
国立がん研究センター中央病院・消化管内科 医長 山田 康秀

研究要旨

がん特異的モノクローナル抗体(trastuzumab)に光感受性蛍光プローブ(IR700)を結合させた化合物と抗がん剤を併用した治療法によって、分子標的的特異的な蛍光診断および蛍光分子イメージングをガイドとした光線治療(photoimmunotherapy)の効果を増強させることが可能であった。

A. 研究目的

モノクローナル抗体やチロシンキナーゼ阻害剤などの分子標的薬を用いたがん治療法は近年の医療に広く普及するようになり、がん患者の予後改善に寄与している。一方で、これらの薬が単独でがん患者に効果を示す疾患は限りがあるため、モノクローナル抗体に放射性物質(radioimmunotherapy; RIT)やトキシン(imunotoxin; ITT)を結合させ、抗体を標的組織へのキャリアーとして使用する方法が開発され臨床応用されているが、治療効果には限界がある。申請者らは蛍光プローブ IR700 とがん治療用モノクローナル抗体を用いて、新たながん特異的近赤外光治療法 photoimmunotherapy を開発し報告してきた。この方法により、消化器内視鏡や手術時における分子標的的特異的な蛍光イメージング（標的分子の発現診断つまりがんの存在診断）とその治療および治療効果判定を近赤外光の照射のみで行うことが可能となった。

本研究では photoimmunotherapy の効果を増強するための方法について preclinical model を用いて検討した。

B. 研究方法

HER2 強発現している胃がん細胞株である NCI-N87 および HER2 非発現胃がん細胞株 MKN-45 を対象とした。HER2 標的モノクローナル抗体である trastuzumab に対して蛍光プローブ IR700 を結合させた化合物を作製した (Tra-IR700)。上記細胞株に対する Tra-IR700 と近赤外光照射による細胞障害性および抗がん剤 5-FU による細胞障害性、さらに、併用治療による治療効果について検討した。

次に、ヌードマウスに上記細胞株を移植した腫瘍モデルを作製し、腫瘍生着後に Tra-IR700 を静注し、in vivo イメージングシステムにて IR700 の局在を経時的に評価した。IR700 の局在した腫瘍に対して、近赤外光を照射し、腫瘍体積の変化について in vitro と同様の検討を行った。（倫理面への配慮）本研究の内容は東京慈恵会医科大学実験動物委員会により承認を受けて、動物愛護的に施行された。

C. 研究結果

フローサイトメーターによる HER2 分子発現の解析では、NCI-N87 細胞においてその発現を強く認めたが、MKN-45 細胞においてはその発現は極めて限られていた。各細胞株の MTS assay

による 5-FU の IC<sub>50</sub> 濃度は NCI-N87 細胞 4.623±0.421 μM (mean±SE)、MKN-45 細胞 3.52±0.829 μM であった。上記細胞株において、Tra-IR700 および IC<sub>50</sub> 濃度の 5-FU と 24 時間反応後、洗浄してから近赤外光の照射を行った細胞の細胞膜障害性は、HER2 陽性の NCI-N87 細胞において trastuzumab による抗体依存性細胞障害性 (ADCC) に加えて、近赤外光の照射量に依存した細胞障害性を認め、その効果は 5-FU の添加により優位に増強された。一方で HER2 を発現しない MKN-45 細胞においてはわずかに 5-FU の効果がみられるのみで、trastuzumab や近赤外光による細胞障害性は認めなかった。

nu/nu マウスに NCI-N87 細胞および MKN-45 細胞を 3~5×10<sup>6</sup> 細胞の皮下移植し、腫瘍モデルを作製したところ、7 日後には径 5mm 程度の腫瘍が生着した。この時点で 50 μg の Tra-IR700 を静注したところ、HER2 特異的な IR700 の局在を *in vivo* イメージングシステムにて 24 時間後より確認可能であった。IR700 の標的腫瘍特異的な集積は、Tra-IR700 静注 24~48 時間後に最も高かった。そこで、Tra-IR700 静注 24 時間後に IR700 集積腫瘍に対して近赤外光を照射すると、対照群に比して腫瘍体積の増大を抑制することが可能であった。更に、その効果は 5-FU の併用投与により増強された。

#### D. 考察

がん特異的モノクローナル抗体に IR700 を結合させた化合物と抗がん剤を併用した治療法によって、分子標的・特異的な蛍光診断および蛍光分子イメージングをガイドとした光線治療 (photoimmunotherapy) の効果を増強させることが可能であった。

#### E. 結論

Photoimmunotherapy は正常組織への障害が少ない低侵襲な治療法であり、本研究の結果を基に、今後の臨床応用が展開されることが期待される。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Watanabe R, Hanaoka H, Sato K, Nagaya T, Harada T, Mitsunaga M, et al. Photoimmunotherapy targeting prostate-specific membrane antigen: are antibody fragments as effective as antibodies? J Nucl Med. 2015;56:140-4.

##### 2. 学会発表

1) Activatable Optical Imaging Probes Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen; The Role of Antibody Fragment Platform and short PEG linker  
Rira Watanabe; Kazuhide Sato; Hirofumi Hanaoka; Toshiko Harada; Takahito Nakajima; Makoto Mitsunaga; Insook Kim; Chang Paik; Anna M. Wu; Peter Choyke; Hisataka Kobayashi. WMIC2014, Seoul, Korea.

2) Photoimmunotherapy Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen; The Role of Antibody Fragment Platforms  
Rira Watanabe; Kazuhide Sato; Hirofumi Hanaoka; Toshiko Harada; Takahito Nakajima; Makoto Mitsunaga; Insook Kim; Chang Paik; Anna M. Wu; Peter Choyke; Hisataka Kobayashi. WMIC2014, Seoul, Korea.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。)

##### 1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし



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）  
委託業務成果報告（業務項目）

消化管がんの病理組織診断および共焦点レーザー顕微内視鏡画像との対比  
担当責任者 関根茂樹 国立がん研究センター中央病院 病理科 医長

研究要旨

蛍光内視鏡で用いる蛍光観察による腫瘍観察の所見の分子基盤を理解するため、蛍光発生に重要な GGT の発現分布を組織標本上で明らかにし、蛍光観察所見との相関を明らかにする。

A. 研究目的

蛍光内視鏡で用いる蛍光観察による腫瘍観察の所見の分子基盤を理解するため、組織標本を用いて蛍光発生に重要な GGT の発現分布を組織標本上で明らかにする。

これまでの他臓器での検討で良好な染色が得られている抗体を入手したため、今後染色条件の検討などを行っていく。

B. 研究方法

病理診断後に余剰となったホルマリン固定・パラフィン包埋標本を用いて、抗 GGT 抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、その蛋白発現分布を、ex vivo で得られた蛍光観察像と対比する。

E. 結論

内視鏡による蛍光観察の進捗に合わせて検討が可能となるよう、準備を進めていく

C. 研究結果

本年度中は ex vivo での蛍光観察を行う試料の選定とそのサンプルを用いた免疫染色の手順について打ち合わせを行った。また、免疫組織化学染色に用いる 1 次抗体の選定を行った。

F. 健康被害情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

該当無し

2. 学会発表

該当無し

D. 考察

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

様式第19

学会等発表実績

委託業務題目「消化管がんに対する特異的蛍光内視鏡の開発とその臨床応用に向けた研究」

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
A PILOT STUDY OF FLUORESCENT IMAGING OF COLORECTAL TUMOR USING $\gamma$ -GLUTAMYLTRANSPEPTIDASE. (poster)	Chiko Sato, Seiichiro Abe, Eriko So, Masayoshi Yamada, Makomo Makazu, Hiroyuki Takamaru, Hayato Sasaki1, Yasushi Matsuyama, Taku Sakamoto, Takeshi Nakajima, Takahisa Matsuda, Ryoji Kushima, Mako Kamiya, Yasuteru Urano, Yutaka Saito.	UEGW2014, Vienna, Austria.	20th Oct, 2014	国外
大腸上皮性腫瘍に対する $\gamma$ グルタミルトランスぺプチダーゼ (GGT) 活性検出プローブを用いた蛍光イメージングの試み、ワークショップ、口演	佐藤知子、阿部清一郎、高丸博之、山田真善、曾絵里子、真一まこも、佐々木隼人、松山泰士、坂本琢、中島健、松田尚久、九嶋亮治、浦野泰照、斎藤豊	第10回日本消化管学会総会学術集会、コラッセ福島、福島市	2014. 2	国内
1) EAES Consensus Conference on Early Rectal Cancer. 2) ESD: Endoscopic Submucosal Dissection; Indications, Technique and Results. ① Panelist as one of the selected expert. ② Lecture and Live demo. ① Oral Presentation and discussion. ② Oral Presentation and Live demo.	Saito Y.	European Association for Endoscopic Surgery (EAES) Consensus Conference on Early Rectal Cancer. University of Torino, Torino, Italy.	3rd - 4th Mar, 2014	国外

① Working in the famous National Cancer Centre, Tokyo! ② EMR vs ESD for colonic polyps, when and how? Japanese perspective. ③ Live demonstrations. ① Lecture at Workshop Dinner, Special Dinner Lectures: ② Lecture. ③ Live demos. ① ② Oral Presentation. ② Live demos.	① & ② <u>Saito Y.</u> ③ <u>Saito Y. &amp; Otake Y.</u>	ENDOSCOPY 2014, University of Malaya Medical Centre, Kuala Lumpur, Malaysia.	29th -30th Mar, 2014	国外
ESD for Colon. Panelist at SAGES/JSES Panel: Endoscopic Submucosal Dissection (ESD) - When Will We catch Up With Our Japanese Colleagues? Oral Presentation and discussion.	<u>Saito Y.</u>	SAGES 2014, The Salt Palace Convention Center, Salt Lake City, UT, USA	4th Apr, 2014	国外
Consensus conference Early rectal cancer. Panelist at Scientific session. Oral Presentation and discussion	<u>Saito Y</u>	WCES-PARIS 2014, Palais de Congrès, Paris, France.	26th June, 2014	国外
① Lower gastrointestinal bleeding. ② Colorectal ESD. 3) ESD Live demos. ① Lecture at Session 4 for Internists and General Practitioners. ② Lecture at Session 1 for Gastroenterologists and Gastrointestinal Surgeons. ③ Hands on (Session I and Session II) . ① and ② Oral Presentations at the symposium ③ Transmission from Metropolitan Hospital at the Athens Endoscopy Live	<u>Saito Y.</u>	2nd Athens International Symposium, 5th July, 2014, ①&② Athens Hilton Hotel, ③ Metropolitan Hospital, Athens, Greece.	① and ② July 5, 2014. ③ July 4, 2014.	国外
① Resection approach for colonic LST. ② Live demonstration of ESD in a Tissue model. ③ Hands on ESD stations. ④ Coffee & Discussion about ESD Knives. ① Lecture. ② Live demo. ③ Hands on. ④ Lecture and discussion, ① and ④ Oral Presentations. ② and ③ Live demos.	<u>Saito Y.</u>	ESD (Endoscopic Submucosal Dissection) Workshop, VIMAS Education Centre at Quad, Queen Alexandra Hospital, Portsmouth, UK.	16th ~17th Oct, 2014	国外
Efficiency and clinical case presentation of BLI in colon. Lecture and Discussion. Oral Presentation	<u>Saito Y.</u>	FUJIFILM' s UEG Week 2014 Satellite Symposium, ACV Vienna, Hall I/K, Vienna, Austria.	20th Oct, 2014	国外

EFFICACY AND SAFETY OF ENDOSCOPIC SUBMUCOSAL DISSECTION FOR EARLY STAGE COLORECTAL NEOPLASIA; RESULTS FROM A NATIONWIDE REGISTRY THROUGHOUT JAPAN. Lecture at the Symposium "Endoscopic management of early colorectal neoplasia. Oral Presentation.	<u>Saito Y.</u>	UEGW 2014, ACV Vienna, Hall G/H, Vienna, Austria.	21st Oct, 2014	国外
① Video recorded clinical cases of colorectal tumor and Quiz. ② Video recorded clinical cases in esophagus carcinoma and quiz. ① Lecture at the Scientific Program: WEO/A-PSDE/JGES ADEC, Session: Lower GI, Practice of narrow-band imaging (NBI) diagnosis. ② Lecture at the Scientific Program: WEO/A-PSDE/JGES ADEC, Session 2: Upper GI. ①& ② Oral Presentations.	Oka S. and <u>Saito Y.</u>	APDW 2014, Bali Nusa Dua Convention Centre, Room7, Bali, Indonesia.	24th Nov, 2014	国外
① Colorectal ESD for masters: beyond the current limitations. ② Lateral resection margin involvement by cancer: what's your plan? ① Lecture at the Session III. ESD for Treatment of Early Colorectal Cancer. ② Lecture at the Session IV. Lessons from Experts: How to Troubleshoot? Oral Presentations.	<u>Saito Y.</u>	7th Asan International Digestive Disease Symposium (AIDDS 2014), Asan Hall, Asan Institute for Life Sciences 15F., ASAN Medical Center, Seoul, Korea.	13th Dec, 2014	国外
①大腸EMR/ESD-コツとビットフォール ②大腸内視鏡治療のQ&A、①特別講演2、口演 ②パネルディスカッション、パネリスト	齋藤豊	第33回大腸内視鏡検査法研究会、毎日新聞社「オーバーホール」、大阪市	2014/2/20	国内
大腸早期癌の診断と治療-ESD適応とサーベイランス-、特別講演、口演	齋藤豊	第12回ESD研究会 in 愛知、ホテルグランドティアラ安城 1Fマグノリア+ジャスミン、愛知県安城市	2014/4/10	国内
内視鏡ライブセッション2 下部消化管、コメンテーター	齋藤豊	第87回日本消化器内視鏡学会総会、福岡国際会議場5階501、福岡市	2014/5/15	国内
大腸画像診断・観察の実際と最近のトピック-NBI/BLI/分子イメージング-、講演、口演	齋藤豊	第19回北多摩開業医消化器内視鏡勉強会、吉祥寺第一ホテル7階「若草」、東京都	2014/6/7	国内
大腸内視鏡診断と治療-軸保持短縮法・NBI診断・ESD、特別講演I、口演	齋藤豊	第12回阪神消化管フォーラム都ホテルニューアルカイク、尼崎市	2014/6/10	国内
大腸内視鏡診断と治療-ESD適応拡大の是非、特別講演、口演、第127回 備後内視鏡研究会	齋藤豊	福山ニューキャッスルホテル、福山市	2014/6/18	国内
Colorectal ESD-Pushing the therapeutic frontier、口演	齋藤豊	8th colorectal Disease Symposium in Tokyo (CDST)、時事通信ホール、東京都	2014/7/26	国内