

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

**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**

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 斎藤 豊

平成27(2015)年 3月

委託業務成果報告書への標記について

委託業務に係る成果報告書の表紙裏に、次の標記を行うものとする。

本報告書は、厚生労働省の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理事長 堀田 知光が実施した平成26年度「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」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）	
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	----- 1
齋藤豊	
Ⅱ. 委託業務成果報告（業務項目）	
1. GGT 蛍光観察による早期発見	----- 13
松田尚久、小田一郎	
2. ALA 内服蛍光観察による早期発見	----- 16
齋藤豊、阿部 清一郎、光永 真人	
3. 新規『蛍光プローブ』の開発	----- 23
浦野泰照	
4. 早期がんの特異的な膜タンパク抗原の探索	----- 25
尾野雅哉	
5. 特異的蛍光内視鏡技術を用いた微小転移の術中診断	----- 29
金光幸秀	
6. 特異的蛍光内視鏡技術を用いた特異的治療	-----31
山田康秀、光永真人	
7. 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	-----34
関根茂樹	
Ⅲ. 学会等発表実績	----- 35
Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷	

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（総括）

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関する研究
業務主任者 斎藤豊 国立がん研究センター 中央病院・内視鏡科 科長・センター長

研究要旨：

表面型消化管がんの早期発見は困難である。がん研究開発費において、消化管がんに対する特異的蛍光内視鏡の開発を行ってきた特異的蛍光内視鏡技術を用いた消化管癌の早期発見の臨床評価を行うこと、同時に微小転移の術中診断や特異的治療への応用の可能性を検討することを目的として、1)早期がんの特異的な膜タンパク抗原の探索 2)新規『蛍光プローブ』の開発 3)GGTなどの蛍光観察による早期発見 4)ALA 内服蛍光観察による早期発見 5)特異的蛍光内視鏡技術を用いた特異的治療 6)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 7)特異的蛍光内視鏡技術を用いた微小転移の術中診断について研究している。

がん特異的膜蛋白を同定し、それにもとづいた特異的蛍光プローブを開発する。特異的蛍光プローブの内視鏡治療検体を用いた解析、早期大腸癌患者に於ける ALA による分子イメージング解析の結果から従来、診断困難な早期癌の蛍光分子イメージングの可能性が示されたことは大きな成果である。今後、新規の蛍光プローブの探索を継続するとともに、外科領域における微小転移診断にも臨床応用することで、リンパ節転移の郭清範囲など患者 QOL に大きく寄与することが可能である。さらには、診断と同時に特異的蛍光内視鏡技術を用いた特異的内視鏡治療への期待も大きい。

斎藤 豊 国立がん研究センター 中央病院 内視鏡科科長・センター長
松田 尚久 国立がん研究センター 中央病院・内視鏡科 医長
小田 一郎 国立がん研究センター 中央病院・内視鏡科 医長
阿部 清一郎 国立がん研究センター 中央病院・内視鏡科 医員
浦野 泰照 東京大学大学院 医学系研究科 教授
光永 真人 東京慈恵会医科大学付属病院 内科学講座 消化器・肝臓内科 診療医
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・プロテオミクスユニット長
金光 幸秀 国立がん研究センター 中央病院・大腸外科 科長
山田 康秀 国立がん研究センター中央病院・消化管内科 医長
関根 茂樹 国立がん研究センター中央病院・病理科 医長

A . 研究目的

表面型消化管がんの早期発見は困難である。我々が第2・3次がん克服10か年戦略において開発・薬事認可されたNBIは、食道早期がんの発見には有用であるが、同じ消化管でも大腸、胃における臨床的有用性・意義は十分でない。がん研究開発費において、消化管がんに対する特異的蛍光内視鏡の開発を行ってきた。特異的蛍光内視鏡技術を用いた消化管癌の早期発見の臨床評価を行うこと、同時に微小転移の術中診断や特異的治療への応用の可能性を検討することを目的としている。

B . 研究方法

下記のテーマを検討する。

1) 早期がんの特異的な膜タンパク抗原の探索

2) 新規『蛍光プローブ』の開発

3) GGTなどの蛍光観察による早期発見

4) ALA内服蛍光観察による早期発見

5) 特異的蛍光内視鏡技術を用いた特異的治療

6) 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

7) 特異的蛍光内視鏡技術を用いた微小転移の術中診断

1) 早期がんの特異的な膜タンパク抗原の探索；新規『蛍光プローブ』のさらなる開発に向けて、プロテオーム解析技術2DICALを用いて、消化管早期がんの特異的な膜タンパク抗原の探索を行う。

2) 新規『蛍光プローブ』の開発；GGT高発現以外のがん腫における新規マーカー酵素として、カテプシンB/Lを標的としたプローブの開発を行い、細胞レベル、動物モデル、ヒトがん組織を用い、蛍光活性の確認を行う。

3) GGTなどの蛍光観察による早期発見；

様々ながん細胞で発現亢進しているGGT活性を検出し、「がん細胞」だけを光らせる新規『蛍光プローブ』を開発し、これまで、表面型大腸癌の内視鏡切除検体を用いてGGT蛍光活性を確認した。今後、GGT以外のより感度・特異度の高いターゲットの探索を行う。プローブライブラリーを活用した消化管がんイメージングターゲットの探索、及び最適化されたプローブのヒトがんESD検体への適用を行う。

4) ALA内服蛍光観察による早期発見；ALA内服後患者の蛍光観察において、表面型の大腸上皮性腫瘍の患者に対するPilot研究では、これまで82%の赤色蛍光が確認され、早期発見の可能性が示唆された。今後は外科手術例の浸潤癌において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する。

4-2) 新規にプローブ型共焦点レーザー顕微内視鏡検査所見と病理組織学的所見の比較により消化管腫瘍性病変の診断に有用な所見を探索する。まず国立がん研究センター中央病院・東病院の2施設で40例のPilot研究を行う。その後、プローブ型共焦点レーザー顕微内視鏡検査に必要なフルオレセインの静注（消化管領域での薬事未承認）の薬事適応拡大を視野に入れ、先進医療Bの制度を利用し、プローブ型共焦点レーザー顕微内視鏡を導入済みの国内8施設で多施設前向き臨床試験を予定している。

5) 特異的蛍光内視鏡技術を用いた特異的治療；蛍光プローブIR700とがん分子標的的特異的モノクローナル抗体を用いて、新たな癌特異的光線治療法（PIT）を開発し、消化管癌に対する内視鏡PITの応用化を目指し、臨床前試験としての基礎研究を行ってきた。今後、担癌マウスモデルを用いて、

PIT の治療効果を増強できる方法を評価し、臨床応用化へ向けた更なる検討を加えていく。

6)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；ESD、外科手術検体における GGT 活性を、病理組織検体と対比することで早期がんにおける GGT 活性の組織学的検証を行う。内視鏡治療・外科手術患者における治療前診断における共焦点レーザー顕微内視鏡画像と病理組織像との対比から、共焦点顕微内視

鏡観察における内視鏡所見分類の確立と、共焦点顕微内視鏡の Virtual histology としての有用性と限界を明らかにする。

7)特異的蛍光内視鏡技術を用いた微小転移の術中診断；ALA 内服後患者の蛍光観察により、消化管（胃・大腸）癌リンパ節転移、腹膜転移など術中診断への応用を模索する。また、GGT 蛍光観察による進行がん切除検体での最適化されたプローブ蛍光活性の確認後、微小転移の術中診断への応用を模索する。

消化管がん早期診断



(倫理面への配慮)

すべての臨床研究は「世界医師会ヘルシンキ宣言(2013年フォルタレザ改正)」および「臨床研究に関する倫理指針(平成20年7月31日全部改正)」に従って行った。また各施設の倫理委員会で承認され、検体に関しては、審査で承認された方法で採取保管され、検体の個人情報が出ることがないように匿名化が厳重に行われるように配慮している。動物実験は実験動物委員会で承認されている。

C. 研究結果

1) 早期がんの特異的な膜タンパク抗原の探索; 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。本年度は、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 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。

2) 新規『蛍光プローブ』の開発; 大腸がん ESD サンプルへ各種プローブを適用したところ、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 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。胃がん 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。一例だけ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。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、胃がんの新鮮 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。

3) GGT などの蛍光観察による早期発見; 内視鏡的に切除した大腸上皮性腫瘍 30 病変を対象とした。新鮮切除検体に gGlu-HMRG1000 μ l を 50 μ M もしくは 500 μ M の濃度で撒布し、Discovery を用いて撒布後 30 秒 15 分間の蛍光イメージングを撮像した。蛍光陽性は 20 例(67%)、陰性は 10 例(33%)であった。癌 17 病変では、陽性 13 例(76%)、腺腫 13 病変では、陽性 7 例(54%)であった。gGlu-HMRG の局所撒布により、大腸上皮性腫瘍に対する短時間で選択的な蛍光イメージングが可能であった。

4) ALA 内服蛍光観察による早期発見; 内視鏡治療、外科切除が予定されている大腸上皮性腫瘍 23 症例 27 病変を対象とし、5-ALA(20mg/kg)を内服投与し、病変を研究用内視鏡、VLD-EX を使用して赤色蛍光の有無を検討した。結腸/直腸; 18/9, 表面型/隆起型; 12/15, 腫瘍径中央値 30mm, 腺腫/M 癌/SM 癌; 8/9/10 であった。赤色蛍光陽性率は 81.5%(22/27)、組織型別では、腺腫 62.5%(5/8), M 癌 77.8%(7/9), SM 癌 100%(10/10)であった。

5) 特異的蛍光内視鏡技術を用いた特異的治療; nu/nu マウスに NCI-N87 細胞および MKN-45 細胞を $3 \sim 5 \times 10^6$ 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 μ g 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。

6)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；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ため、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。

7)特異的蛍光内視鏡技術を用いた微小転移の術中診断；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

1)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。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。

2)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。

3) 今後はプローブライブラリーを活用してGGT以外のより感度・特異度の高いターゲットの探索を行い、得られた結果をもとに、最適化されたプローブのヒトがんESD検体への適用を予定している。

4)5-ALA内服後に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。また、その蛍光波長と相対的蛍光強度をVLD-EXにて客観的に確認することが可能であった。今後、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。

5)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。

6)プローブ型共焦点レーザー顕微内視鏡検査所見と病理組織学的所見の比較により消化管腫瘍性病変の診断に有用な所見を探索する。まずは国立がん研究センター中央病院・東病院の2施設で40例のPilot研究を行う。その後、プローブ型共焦点レーザー顕微内視鏡検査に必要なフルオレセインの静注(消化管領域での薬事未承認)の薬事適応拡大を視野に入れ、先進医療Bの制度を利用し、プローブ型共焦点レーザー顕微内視鏡を導入済みの国内8施設で多

施設前向き臨床試験を予定している。

7) 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。手術中にALAによる蛍光内視鏡診断に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。

E . 結論

がん特異的膜蛋白を同定し、それにもとづいた特異的蛍光プローブを開発している。特異的蛍光プローブの内視鏡治療検体を用いた解析、早期大腸癌患者に於けるALAによる分子イメージング解析の結果から従来、診断困難な早期癌の蛍光分子イメージングの可能性が示されたことは大きな成果である。今後、新規の蛍光プローブの探索を継続するとともに、外科領域における微小転移診断にも臨床応用することで、リンパ節転移の郭清範囲など患者QOLに大きく寄与することが可能である。さらには、診断と同時に特異的蛍光内視鏡技術を用いた特異的内視鏡治療への期待も大きい。

1) 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。

2) 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・胃がんの新鮮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、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。

3) gGlu-HMRGの局所撒布により、大腸上皮

性腫瘍の内視鏡治療検体において短時間で選択的な蛍光イメージングが可能であった。

4) 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。

5) 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。

6) 蛍光内視鏡による分子イメージングの病理組織学的裏付けを免疫組織学的に行う準備が整った。

7) 将来的に、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を可能とすることを目的に、リンパ節転移や腹膜播種に対するALAによる術中蛍光内視鏡診断の臨床研究を行う。

F . 健康危険情報

ALA内服蛍光観察による早期発見：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。

その他の業務項目：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 -Glutamyl-Transpeptidase-Activatable Fluorescent Probe. Digestion 91:70-76, 2015.

2) 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.
- 3) Sato C, Matsuda T, Saito Y. Case65 NBI Composite (s+ 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.
- 4) Haruyama S, Saito Y, Kushima R. Case70 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.
- 5) (Supervisor) Tajiri S (Editors) Kato M, Tanaka S, Saito Y, Muto M. New Image-Enhanced Endoscopy NBI/BLI Atlas, 2014.11.1, 1-236
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 齋藤豊、松田尚久、藤井隆広：「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
- 12) 松田尚久、齋藤豊、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：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
- 13) 齋藤豊、松田尚久、藤井隆広：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
- 14) 齋藤豊、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： .LST に対する E S D 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
- 15)山田真善、齋藤豊、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
- 16) 齋藤豊、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 perspective2014;1(1):19-24
- 17) 齋藤豊、高丸博之、松田尚久：大腸 E S D の最前線、医学のあゆみ 2014 ; 250 (10) :969-975
- 18)山田真善、齋藤豊、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
- 19) 齋藤豊：CO2 送気の導入：消化器内視鏡 2014 ; 26(9):1418-1419
- 20) 池澤伸明、齋藤豊、松田尚久： . 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
- 21) 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.
- 22)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 -Glutamyl-Transpeptidase-Activatable Fluorescent Probe. Digestion 91:70-76, 2015.
- 23)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).
- 24)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).
- 25)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).
- 26)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)
- 27)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).

28) 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).
 29) 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).
 30) 尾野雅哉, 齋藤豊, 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) Chiko Sato, Seiichiro Abe, Eriko So, Masayoshi Yamada¹, Makomo Makazu, Hiroyuki Takamaru¹, Hayato Sasaki¹, Yasushi Matsuyama, Taku Sakamoto, Takeshi Nakajima, Takahisa Matsuda, Ryoji Kushima, Mako Kamiya, Yasuteru Urano, Yutaka Saito.
 A PILOT STUDY OF FLUORESCENT IMAGING OF COLORECTAL TUMOR USING -GLUTAMYLTRANSPEPTIDASE (GGT) FLUORESCENCE ACTIVITY PROBE. UEGW2014, 20th Oct, 2014, Vienna, Austria.
 2) 佐藤知子、阿部清一郎、高丸博之、山田真善、曾絵里子、眞一まこも、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、齋藤豊：大腸上皮性腫瘍に対する グルタミルトランスペプチダーゼ (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、2014.2、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
 3) Saito Y. 1) EAES Consensus Conference on Early Rectal Cancer. 2) ESD: Endoscopic Submucosal Dissection;

Indications, Technique and Results. Panelist as one of the selected expert.
 Lecture and Live demo. Oral Presentation and discussion. 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.
 4) & Saito Y. Saito Y. & Otake Y. as assistant for ESD Live demos. Working in the famous National Cancer Centre, Tokyo! EMR vs ESD for colonic polyps, when and how? Japanese perspective. Live demonstrations. 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.
 5) 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
 6) 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.
 7) Saito Y. Lower gastrointestinal bleeding. Colorectal ESD. 3) ESD Live demos. Lecture at Session 4 for Internists and General Practitioners. Lecture at Session 1 for Gastroenterologists and

Gastrointestinal Surgeons. Hands on (Session I and Session II). and Oral Presentations at the symposium on July 5, 2014. Transmission from Metropolitan Hospital at the Athens Endoscopy Live 2014 on July 4, 2014. 2nd Athens International Symposium, 5th July, 2014, & Athens Hilton Hotel, Metropolitan Hospital, Athens, Greece.

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

9) 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.

10) 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.

11) Oka S. and Saito Y. Video recorded clinical cases of colorectal tumor and Quiz. Video recorded

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

12) Saito Y. Colorectal ESD for masters: beyond the current limitations.

Lateral resection margin involvement by cancer: what's your plan? Lecture at the Session III. ESD for Treatment of Early Colorectal Cancer. 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.

13) 齋藤豊: 大腸EMR/ESD-コツとピットフォール- 大腸内視鏡治療のQ&A、特別講演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「オーバールーム」、大阪市

14) 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

15) 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

16) 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

17) 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、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

18) 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

19) 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

20) 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

21) 齋藤豊：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

22) 齋藤豊：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

23) 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)

24) 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)

25) 関口雅則, 鶴木(首)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, 齋藤豊: 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)

26) 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.

27) 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.

28) 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.

29)62nd 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

30)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

31)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-

32)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

33)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

34)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

35)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

36)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 恵史、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
 逆行分析前方シュミ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

37)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

38)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

39)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
 (予定を含む。)

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） 委託業務成果報告（業務項目）

GGT などの蛍光観察による早期発見

担当責任者 松田 尚久 国立がん研究センター 中央病院 内視鏡科 医長
小田 一郎 国立がん研究センター 中央病院 内視鏡科 医長

研究要旨

【目的】大腸上皮性腫瘍に対する gGlu-HMRG を用いた蛍光イメージングについて、内視鏡切除検体を用いて評価した。

【方法】内視鏡的に切除した大腸上皮性腫瘍 30 病変を対象とした。新鮮切除検体に gGlu-HMRG1000 μ l を 50 μ M もしくは 500 μ M の濃度で撒布し、Discovery を用いて撒布後 30 秒 15 分間の蛍光イメージングを撮像した。

【結果】蛍光陽性は 20 例(67%)、陰性は 10 例(33%)であった。癌 17 病変では、陽性 13 例(76%)、腺腫 13 病変では、陽性 7 例(54%)であった。【結論】 gGlu-HMRG の局所撒布により、大腸上皮性腫瘍に対する短時間で選択的な蛍光イメージングが可能であった。

A．研究目的

グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT)は生体内に存在する酵素であり、癌細胞で発現が亢進していることが報告されている。Urano らは、GGT 活性検出蛍光プローブ gGlu-HMRG を開発した。gGlu-HMRG は、中性 pH 環境では

ほぼ無蛍光であるが、GGT 発現の高い癌部では効率良く加水分解され、蛍光活性を有する HMRG に変換されることから、新たな蛍光イメージングのためのプローブとして期待されている。本研究では、大腸上皮性腫瘍に対する gGlu-HMRG を用いた蛍光イメージング

について、内視鏡切除検体を用いて評価した。

B．研究方法

内視鏡的に切除した大腸上皮性腫瘍 30 病変(ESD:27 病変/EMR:3 病変)を対象とした。対象病変の新鮮切除検体に gGlu-HMRG1000 μ l を 50 μ M もしくは 500 μ M の濃度で撒布し、撒布後 30 秒毎 15 分間の蛍光イメージングを、専用撮像機である Discovery(INDEC 社)を用いて撮像した。蛍光活性は、gGlu-HMRG 撒布 15 分後に腫瘍部に一部でも蛍光活性を認めるものを蛍光陽性とし、3 人の内視鏡医が判定した。

本研究は「世界医師会ヘルシンキ宣言 (2013 年フォルタレザ改正)」および「臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年 7 月 31 日全部改正)」に従っておこなった。

C．研究結果

臨床病理学的特徴は、平均年齢 68 ± 7 歳、男女比 15/15、平均腫瘍径 39 ± 13 mm、肉眼型:LST-G:20 病変/LST-NG:10 病変、平均切除時間 61 ± 27 分、病理組織:腺腫:13 病変/分化型腺癌:17 病変であった。また gGlu-HMRG による組織障害性は認めなかった。GGT 陽性(以下陽性)は 20 例(67%)、GGT 陰性(以下陰性)は 10 例(33%)であった。癌 17 病変では、陽性 13 例(76%)、陰性 4 例(24%)、腺腫 13 病変では、陽性 7 例(54%)、陰性 6 例(46%)、であった。肉眼系別では、LST-G16 例(80%)、LST-NG4 例(40%)が陽性であった。また、蛍光活性陽性の病変のうち、病変部の一部のみで蛍光活性を示したり、腺腫内癌において腺癌部分のみで蛍光活性を有する症例を経験した。

D．考察

GGT は卵巣、肺、肝臓、胆管のがん細胞に発現が亢進しており、早期発見のバイオマーカーとして注目されている。

現状の蛍光イメージングは、蛍光物質がターゲット部位で活性化したり、ターゲット以外の部位で wash out されるまでに時間を要することから、リアルタイム診断や臨床への応用へは現実的ではないと考えられていた。しかし、gGlu-HMRG は GGT 高発現の細胞で速やかに蛍光活性を有する HMRG に変換されることから、短時間かつ選択的な蛍光イメージングが可能となった。

これまでに、腹膜播種や Colitic cancer の動物モデルにおける gGlu-HMRG を用いた蛍光イメージングを報告しているが、

本研究はヒト大腸上皮性腫瘍に対する gGlu-HMRG を用いた初の蛍光イメージングである。蛍光が得られた症例のうち、部分的な蛍光活性を示したり、腺腫内癌において腺癌部分のみで蛍光活性を有する症例を経験した。このことは大腸上皮性腫瘍の heterogeneity を反映している可能性があるものと考えられた。

今後はプローブライブラリーを活用して GGT 以外のより感度・特異度の高いターゲットの探索を行い、得られた結果をもとに、最適化されたプローブのヒトがん ESD 検体への適用を予定している。

E．結論

gGlu-HMRG の局所撒布により、大腸上皮性腫瘍に対する短時間で選択的な蛍光イメージングが可能であった。

F．健康危険情報

本研究は内視鏡切除検体と体外試薬を用いた ex-vivo study であり、対象症例へ

の有害事象は認めなかった。

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 γ -Glutamyl-Transpeptidase-Activatable Fluorescent Probe. Digestion 91:70-76, 2015.

2. 学会発表

1) Chiko Sato, Seiichiro Abe, Eriko So, Masayoshi Yamada¹, Makomo Makazu, Hiroyuki Takamaru¹, Hayato Sasaki¹, Yasushi Matsuyama, Taku Sakamoto, Takeshi Nakajima, Takahisa Matsuda, Ryoji Kushima, Mako Kamiya, Yasuteru Urano, Yutaka Saito.
A PILOT STUDY OF FLUORESCENT IMAGING OF COLORECTAL TUMOR USING Γ -GLUTAMYLTRANSPEPTIDASE (GGT) FLUORESCENCE ACTIVITY PROBE.UEGW2014,20th Oct,2014, Vienna,Austria.

2) 佐藤知子、阿部清一郎、高丸博之、山田真善、曾絵里子、眞一まこも、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：大腸上皮性腫瘍に対する 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、2014.2、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

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）

ALA 内服蛍光観察による早期発見

担当責任者 齋藤 豊 国立がん研究センター 中央病院 内視鏡科科長・センター長
阿部 清一郎 国立がん研究センター 中央病院・内視鏡科 医員
光永 真人 東京慈恵会医科大学付属病院 内科学講座 消化器・肝臓内科診療医

研究要旨

【背景】5-ALA による大腸腫瘍の蛍光イメージングを検討する。

【方法】内視鏡治療、外科切除が予定されている大腸上皮性腫瘍 23 症例 27 病変を対象とした。5-ALA(20mg/kg)を内服投与し、病変を研究用内視鏡，VLD-EX を使用して赤色蛍光の有無を検討した。

【結果】結腸/直腸；18/9，表面型/隆起型；12/15，腫瘍径中央値 30mm，腺腫/M 癌/SM 癌；8/9/10 であった。赤色蛍光陽性率は 81.5%(22/27)、組織型別では，腺腫 62.5%(5/8)，M 癌 77.8%(7/9)，SM 癌 100%(10/10)であった。

【考察】蛍光イメージングが可能であり、蛍光陽性率は深達度に関連した。

A . 研究目的

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。PpIX は癌組織内に多く集積する特徴があり、特定の波長で励起すると赤色蛍光として観察され、癌の認識が可能であるとされている。この原理を利用し、脳腫瘍や泌尿器の分野ではすでに臨床応用されている。消化管でも研究が進みつつあるものの、大腸腫瘍における臨床的有用性に関する報告はまだ少ない。本研究では5-ALAによる新たな大腸腫瘍のイメージングの可能性・有用性につき検討した。また、colitic cancer における蛍光イメージングについて検討した。

B . 研究方法

検討 大腸腫瘍・早期癌を有し、本研究に同意が得られ、文書にてインフォームドコンセントを取得できた23症例27病変を対象とした。

5-ALA(20mg/kg)を内服投与し、3-6時間後に病変を富士フィルム社製の研究用内視鏡(XG-0001)、SBIファーマ社製の内視鏡鉗子孔から挿入可能なファイバーおよび紫色半導体レーザー光源(VLD)を用いたVLD-EX〔波長照射(405-410nm) / 計測(636nm)兼用機器〕を使用して、臨床病理学的特徴および赤色蛍光の視認の有無を検討した。

検討 潰瘍性大腸炎を背景とした大腸腫瘍性病変(colitic cancer)の検出能向上のため、ALA内服後に通常光内視鏡に加えて、自家蛍光内視鏡(AFI)やBlue Laser Imagingを用いて大腸内視鏡を施行した。本研究は「世界医師会ヘルシンキ宣言(2013年フォルタレザ改正)」および

「臨床研究に関する倫理指針(平成20年7月31日全部改正)」に従っておこなった。

C . 研究結果

結果 臨床病理学的特徴は男/女; 12/11,年齢中央値66歳(範囲52-85),結腸/直腸;18/9,表面型/隆起型;12/15,腫瘍径中央値30mm(範囲10-75),腺腫/M癌/SM癌;8/9/10,内視鏡治療/手術;20/7であった。

全体での赤色蛍光の陽性率は81.5%(22/27)であった。組織型別の検討では、腺腫では62.5%(5/8),M癌では77.8%(7/9),SM癌では100%(10/10)と、腺腫ではやや低かったものの、深達度に比例して赤色蛍光の陽性率は上昇傾向を示した。また肉眼型に隆起成分(1s)を含むものは含まないものと比較し、蛍光陽性率は93.3%(14/15) vs. 63.6%(7/11),腺腫では100%(5/5) vs. 0%(0/3),M癌では83.3%(5/6) vs. 66%(2/3)と、腺腫やM癌であっても隆起成分を含むものの方が蛍光陽性率は高率であった。

Colitic Cancerは白色光観察では診断が困難であるが、AFIでは認識が可能であった。

D . 考察

本研究によって、5-ALA内服後に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。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て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関連を検討し、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. Case52 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. Case65 NBI Composite (s+ 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. Case70 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：「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： 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：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： .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 perspective2014;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： . 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. Panelist as one of the selected expert. Lecture and Live demo. Oral Presentation and discussion. 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) & Saito Y. Saito Y. & Otake Y. as assistant for ESD Live demos. Working in the famous National Cancer Centre, Tokyo!

EMR vs ESD for colonic polyps, when and how? Japanese perspective.

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

6) Saito Y. Resection approach for colonic LST. Live demonstration of ESD in a Tissue model. Hands on ESD stations. Coffee & Discussion about ESD Knives.

Lecture. Live demo. Hands on. Lecture and discussion, and Oral Presentations. and 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. Video recorded clinical cases of colorectal tumor and Quiz. Video recorded clinical cases in esophagus carcinoma and quiz. Lecture at the Scientific Program: WEO/A-PSDE/JGES ADEC, Session: Lower GI, Practice of narrow-band imaging (NBI) diagnosis.

Lecture at the Scientific Program: WEO/A-PSDE/JGES ADEC, Session 2: Upper GI. & Oral Presentations. APDW 2014, 24th Nov, 2014, Bali Nusa Dua Convention Centre, Room 7, Bali, Indonesia.

10) Saito Y. Colorectal ESD for masters: beyond the current limitations. Lateral resection margin involvement by cancer: what's your plan? Lecture at the Session III. ESD for Treatment of Early Colorectal Cancer. 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) 斎藤豊: 大腸EMR / ESD-コツとピットフォール- 大腸内視鏡治療のQ & A、特別講演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) 斎藤豊: 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) 斎藤豊: 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) 斎藤豊: 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) 斎藤豊: 大腸内視鏡診断と治療-軸保持短縮法・NBI 診断・ESD-、特別講演、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) 斎藤豊: 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) 斎藤豊: 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) 斎藤豊: 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 2 F 「鳳凰の間」、
山口市

20) 齋藤豊：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, 齋
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

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）

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、一部の大腸がんでは 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、がん部位を完全に切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 -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 μ M）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。

胃がん 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、胃がんの新鮮 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。

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 -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

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っ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, 齋藤豊, 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. 62nd 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。

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ー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

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）

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、分子標的の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の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したが、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 IC₅₀ 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 IC₅₀ 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 × 10⁶ 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。

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。

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。

D. 考察

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。

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

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

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

—

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 - GLUTAMYLTRANSPEPTIDASE.(poster)	Chiko Sato, <u>Seiichiro Abe</u> , Eriko So, Masayoshi Yamada, Makomo Makazu, Hiroyuki Takamaru, Hayato Sasaki1, Yasushi Matsuyama, Taku Sakamoto, Takeshi Nakajima, <u>Takahisa Matsuda</u> , Ryoji Kushima, Mako Kamiya,	UEGW2014,Vienna,Austria.	20th Oct,2014	国外

	<p>Yasuteru Urano, <u>Yutaka</u> <u>Saito.</u></p>			
<p>大腸上皮性腫瘍に対する 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</p>	<p>佐藤知子、<u>阿部清一郎</u>、高丸博之、山田真善、曾絵里子、眞一まこも、佐々木隼人、松山泰士、坂本琢、中島健、<u>松田尚久</u>、九嶋亮治、浦野泰照、<u>斎藤豊</u></p>	<p>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</p>	<p>2014.2</p>	<p>国内</p>

<p>1) EAES Consensus Conference on Early Rectal Cancer. 2) ESD: Endoscopic Submucosal Dissection; Indications, Technique and Results. Panelist as one of the selected expert. Lecture and Live demo. Oral Presentation and discussion. Oral Presentation and Live demo.</p>	<p><u>Saito Y.</u></p>	<p>European Association for Endoscopic Surgery (EAES) Consensus Conference on Early Rectal Cancer. University of Torino, Torino, Italy.</p>	<p>3rd - 4th Mar, 2014</p>	<p>国外</p>
<p>Working in the famous National Cancer Centre, Tokyo! EMR vs ESD for colonic polyps, when and how? Japanese perspective. Live demonstrations. Lecture at Workshop Dinner, Special Dinner Lectures: Lecture. Live demos. Oral Presentation. Live demos.</p>	<p>& <u>Saito Y.</u> <u>Saito Y.</u>& Otake Y.</p>	<p>ENDOSCOPY 2014, University of Malaya Medical Centre, Kuala Lumpur, Malaysia.</p>	<p>29th -30th Mar,2014</p>	<p>国外</p>
<p>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.</p>	<p><u>Saito Y.</u></p>	<p>SAGES 2014, The Salt Palace Convention Center, Salt Lake City, UT, USA</p>	<p>4th Apr,2014</p>	<p>国外</p>
<p>Consensus conference Early rectal cancer. Panelist at Scientific session. Oral Presentation and discussion</p>	<p><u>Saito Y</u></p>	<p>WCES-PARIS 2014, Palais de Congrès, Paris, France.</p>	<p>26th June, 2014</p>	<p>国外</p>

<p>Lower gastrointestinal bleeding. Colorectal ESD. 3) ESD Live demos. Lecture at Session 4 for Internists and General Practitioners. Lecture at Session 1 for Gastroenterologists and Gastrointestinal Surgeons. Hands on (Session I and Session II) . and Oral Presentations at the symposium Transmission from Metropolitan Hospital at the Athens Endoscopy Live</p>	<p><u>Saito Y.</u></p>	<p>2nd Athens International Symposium, 5th July, 2014, & Athens Hilton Hotel, Metropolitan Hospital, Athens, Greece.</p>	<p>and July 5, 2014. July 4, 2014.</p>	<p>国外</p>
<p>Resection approach for colonic LST. Live demonstration of ESD in a Tissue model. Hands on ESD stations. Coffee & Discussion about ESD Knives. Lecture. Live demo. Hands on. Lecture and discussion, and Oral Presentations. and Live demos.</p>	<p><u>Saito Y.</u></p>	<p>ESD (Endoscopic Submucosal Dissection) Workshop, VIMAS Education Centre at Quad, Queen Alexandra Hospital, Portsmouth, UK.</p>	<p>16th ~17th Oct,2014</p>	<p>国外</p>
<p>Efficiency and clinical case presentation of BLI in colon. Lecture and Discussion. Oral Presentation</p>	<p><u>Saito Y.</u></p>	<p>FUJIFILM's UEG Week 2014 Satellite Symposium, ACV Vienna, Hall I/K, Vienna, Austria.</p>	<p>20th Oct,2014</p>	<p>国外</p>

<p>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.</p>	<p><u>Saito Y.</u></p>	<p>UEGW 2014, ACV Vienna, Hall G/H, Vienna, Austria.</p>	<p>21st Oct,2014</p>	<p>国外</p>
<p>Video recorded clinical cases of colorectal tumor and Quiz. Video recorded clinical cases in esophagus carcinoma and quiz. Lecture at the Scientific Program: WEO/A-PSDE/JGES ADEC, Session: Lower GI, Practice of narrow-band imaging (NBI) diagnosis. Lecture at the Scientific Program: WEO/A-PSDE/JGES ADEC, Session 2: Upper GI. & Oral Presentations.</p>	<p>Oka S. and <u>Saito Y.</u></p>	<p>APDW 2014,Bali Nusa Dua Convention Centre, Room7,Bali , Indonesia.</p>	<p>24th Nov,2014</p>	<p>国外</p>

Colorectal ESD for masters: beyond the current limitations. Lateral resection margin involvement by cancer: what's your plan? Lecture at the Session III. ESD for Treatment of Early Colorectal Cancer. 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
大腸EMR/ESD-コツとピットフォール-大腸内視鏡治療のQ&A、特別講演2、口演パネルディスカッション、パネリスト	<u>斎藤豊</u>	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	<u>斎藤豊</u>	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	<u>斎藤豊</u>	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	<u>斎藤豊</u>	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、	<u>斎藤豊</u>	第12回阪神消化管フォーラム都ホテ	2014/6/10	国内

特別講演、口演		ルニューアルカイック、尼崎市		
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
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、口演	齋藤豊	ポートピアホテルポートピアホール(第4会場)、神戸市	2014/10/25	国内
大腸早期がんの診断とESD/EMRの選択、特別講演、口演	齋藤豊	山口グランドホテル2F「鳳凰の間」、山口市	2014/11/19	国内
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、口演	齋藤豊	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	2014/11/27	国内

<p>Evaluation of a New Endoscopic Fluorescence Imaging Modality Using Oral 5-Aminolevulinic Acid for Colorectal Tumors ポスター</p>	<p>Eriko So Tsuruki, <u>Seiichiro Abe</u>, Chiko Sato, Hayato Sasaki, Hiroyuki Takamaru, Masayoshi Yamada, Taku Sakamoto, Yosuke Otake, Takeshi Nakajima Takahisa Matsuda and <u>Yutaka Saito</u></p>	<p>米国 DDW(シカゴ)</p>	<p>2014 年 5 月</p>	<p>国外</p>
<p>Evaluation of a New Endoscopic Fluorescence Imaging Modality Using Oral 5-Aminolevulinic Acid for Colorectal Tumors 口頭</p>	<p>Eriko So Tsuruki, <u>Yutaka Saito</u>, Masanori Sekiguchi, <u>Seiichiro Abe</u></p>	<p>第 2 回国際 ALA ポルフィリン学会(東京)</p>	<p>2014 年 11 月</p>	<p>国内</p>

<p>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</p>	<p>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, <u>阿部清一郎</u>, 坂本 琢, 中島健, 松田尚久, <u>斎藤豊</u></p>	<p>第 11 回日本消化管学会総会 (東京)</p>	<p>2015 年 2 月</p>	<p>国内</p>
<p>Activatable Optical Imaging Probes Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen; The Role of Antibody Fragment Platform and short PEG linker、ポスター</p>	<p>Rira Watanabe ; Kazuhide Sato; Hirofumi Hanaoka; Toshiko Harada; Takahito Nakajima ; <u>Makoto Mitsunaga</u>; Insook Kim; Chang Paik; Anna M. Wu; Peter Choyke; Hisataka Kobayashi</p>	<p>World molecular imaging congress 2014 .Seoul, Korea.</p>	<p>2014/9/20</p>	<p>国外</p>

<p>Photoimmunotherapy Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen; The Role of Antibody Fragment Platforms、ポスター</p>	<p>Rira Watanabe ; Kazuhide Sato; Hirofumi Hanaoka; Toshiko Harada; Takahito Nakajima ; <u>Makoto Mitsunaga</u>; Insook Kim; Chang Paik; Anna M. Wu; Peter Choyke; Hisataka Kobayashi</p>	<p>World molecular imaging congress 2014 .Seoul, Korea.</p>	<p>2014/9/20</p>	<p>国外</p>
<p>Biomarker Discovery of Pancreas Cancer and Gastrointestinal Cancer by 2dical - 2-Dimensional Image Converted Analysis of LC/MS. (口頭)</p>	<p><u>Ono M.</u></p>	<p>4th Annual World Congress of Molecular & Cell Biology (Dalian International Conference Center、Dalian、China)</p>	<p>平成 26 年 4 月 26 日</p>	<p>国外</p>

Proteomic analysis of biopsy specimen revealed the profiles of adenoma - carcinoma sequence of colorectal cancer (ポスター)	Ono M, Kamita M, Kawasaki K, Gomi M, Sakuma T, Otake Y, Sakamoto T, Nakajima T, Matsuda T, Saito Y, Yamada T	62nd Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (Baltimore Convention Center, Baltimore, MD, USA)	平成 26 年 6 月 18 日	国外
2DICAL 解析を基盤としたプロテオーム臨床応用の将来展望 (口頭)	尾野雅哉	第 10 回日本臨床プロテオーム研究会 (京王プラザホテル、東京都)	平成 26 年 5 月 10 日	国内
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- (口頭)	本田一文、尾野雅哉、山田哲司	日本プロテオーム学会 2014 年会 (つくば国際会議場、つくば市)	平成 26 年 7 月 27 日	国内
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 (口頭)	仁平直江、吉田清嗣、尾野雅哉	第 73 回日本癌学会学術総会 (パシフィコ横浜、横浜市)	平成 26 年 9 月 26 日	国内
Mps1/TTK は condensin II のリン酸化を介して染色体凝集を制御する (口頭)	加賀美裕也、仁平啓史、尾野雅哉、吉田清嗣	第 73 回日本癌学会学術総会 (パシフィコ横浜、横浜市)	平成 26 年 9 月 27 日	国内
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	小松正人、吉丸哲郎、尾野	第 73 回日本癌学会学術総会 (パシフィコ横浜、横	平成 26 年 9 月 27 日	国内

(nPAG1)の役割(口頭)	雅哉、松尾泰佑、清谷一馬、三好康雄、笹三徳、片桐豊雅	浜市)		
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(口頭)	笹木有佑、山田康秀、尾野雅哉、紙田正博、赤須孝之	第73回日本癌学会学術総会(パシフィコ横浜、横浜市)	平成26年9月27日	国内
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(ポスタ)	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	第73回日本癌学会学術総会(パシフィコ横浜、横浜市)	平成26年9月26日	国内
下部直腸癌における外科治療のダイナミズムー手術先行の立場から [シンポジウム6 直腸癌に対する治療戦略] 口演	金光幸秀、志田大、塚本俊輔	第114回日本外科学会	2014.4	国内
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。[ビデオシンポジウム4: 直腸癌における側方リンパ節郭清のコツ] 口演	金光幸秀、塚本俊輔、坂本良平、志田大	第69回日本消化器外科学会総会	2014.7	国内

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. [シンポジウム 9 進行直腸癌に対する側方郭清の意義] 口演	<u>金光幸秀</u> , 志田大, 塚本俊輔, 落合大樹, 小森康司, 森谷宜皓	第 76 回日本臨床外科学会総会	2014.11	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
A Pilot Study of Fluorescent Imaging of Colorectal Tumors Using a -Glutamyl-Transpeptidase-Activatable Fluorescent Probe.	Sato C, Abe S, <u>Saito Y</u> , So Tsuruki E, Takamaru H, Makazu M, Sato Y, Sasaki H, Tanaka H, Ikezawa N, Yamada M, Sakamoto T, Nakajima T, <u>Matsuda T</u> , Kushima R,	Digestion 91:70-76	2015	国外

		Kamiya M, Maeda S, Urano Y			
Case52 Protruding adenoma.	NBI serrated	Sakamoto T,Nakaji ma	New Image-Enhanced Endoscopy NBI/BLI Atlas. Nihon Medical Center P.182-183. P. 208-209. P.218-221.	2014.11.1	国内
Case65 Composite(Carcinoma. R.Case70 LST-NG,pseudo-depressed type.	NBI s+ c)SM NBI BLI	T,Matsud a T, <u>Saito</u> <u>Y.</u> Sato C,Matsud a T, <u>Saito</u> <u>Y.</u> Haruyam a S, <u>Saito</u> <u>Y.</u> Kushima (Supervis or) Tajiri S (Editors) Kato M,Tanaka S, <u>Saito Y.</u> Muto M.			

<p>Colorectal endoscopic submucosal dissection: Technical advantages compared to endoscopic mucosal resection and minimally invasive surgery.</p>	<p><u>Saito Y</u>, Yamada M, So E, Abe S, Sakamoto T, Nakajima T, Otake Y, Ono A, Matsuda T.</p>	<p>Dig Endosc. ;26 Suppl 1:52-61.</p>	<p>2014 Jan</p>	<p>国外</p>
<p>Systematic review and meta-analysis of endoscopic submucosal dissection versus transanal endoscopic microsurgery for large noninvasive rectal lesions. .</p>	<p>Arezzo A, Passera R, <u>Saito Y</u>, 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>	<p>Surg Endosc.;28(2):427-38</p>	<p>2014 Feb</p>	<p>国外</p>

	P, Bonino MA, Verra M, Morino M			
Colorectal ESD: current indications and latest technical advances.	<u>Saito Y</u> , Sakamoto T, Nakajima T, Matsuda T.	Gastrointest Endosc Clin N Am.;24(2):245-55.	2014 Apr	国外
Hereditary diffuse gastric cancer in a Japanese family with a large deletion involving CDH1.	Yamada M, Fukagaw a T, Nakajima T, Asada K, Sekine S, Yamashit a S, Okochi-Ta kada E, Taniguchi H, Kushima R, Oda I,	Gastric Cancer.;17(4):750-6 .	2014 Oct	国外

	Saito Y, Ushijima T, Katai H.			
Endoscopic Mucosal Resection for Middle and Large Colorectal Polyps with a Double-Loop Snare.	Yoshida N, Saito Y, Hirose R, Ogiso K, Inada Y, Yagi N, Naito Y, Otake Y, Nakajima T, Matsuda T, Yanagisawa A, Itoh Y.	Digestion. ;90(4):232-239.	2014 Dec 17	国外
「拡大内視鏡研究会」の10年の歩み 4.大腸 3 .大腸 4.早期大腸癌に対する pit pattern 診断-肉眼型別検討： c,LST-NG	齋藤豊、松田尚久、藤井隆広 松田尚久、齋藤豊、藤井隆広	拡大内視鏡研究会-極限に挑む-、日本メディカルセンター 33-36 151-162	2014.10.25	国内

治療 1 処置および治療 内視鏡的粘膜切除術 (EMR)	齋藤豊、松田尚久、藤井隆広	内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) - 大腸、医学書院 : 333-336	2014.10.31	国内
.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	齋藤豊、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	INTESTINE ; 18(1):69-78	2014	国内
大腸内視鏡治療の最前線 3.ESD を選択すべき大腸腫瘍	山田真善、齋藤豊、坂本琢、中島健、松田尚久	Modern Physician;34(5):580-584	2014	国内
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]	齋藤豊、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	大腸がん perspective;1(1):19-24	2014	国内
大腸ESDの最前線	齋藤豊、高丸博之、松田尚久	医学のあゆみ ; 250 (10) :969-975	2014	国内

[大腸]大腸病変に対するスタンダードなアプローチ	山田真善、 <u>斎藤豊</u> 、坂本琢、中島健、松田尚久	消化器内視鏡 ; 26(9):1326-1332	2014	国内
CO2 送気の導入 ; 26(9):1418-1419	<u>斎藤豊</u>	消化器内視鏡 ; 26(9):1418-1419	2014	国内
. 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	池澤伸明、 <u>斎藤豊</u> 、松田尚久	消化器内視鏡 ;26 (12) :1982-1983	2014	国内
Photoimmunotherapy targeting prostate-specific membrane antigen: are antibody fragments as effective as antibodies?	Watanabe R, Hanaoka H, Sato K, Nagaya T, Harada T, <u>Mitsunaga M</u> , Kim I, Paik CH, Wu AM, Choyke PL, Kobayashi H.	J Nucl Med.	2015 01	国外

<p>A Pilot Study of Fluorescent Imaging of Colorectal Tumors Using a -Glutamyl-Transpeptidase-Activatable Fluorescent Probe.</p>	<p>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, <u>Urano Y</u></p>	<p>Digestion 91:70-76</p>	<p>2015</p>	<p>国外</p>
<p>Induction of amphiregulin by p53 promotes apoptosis via control of microRNA biogenesis in response to DNA damage.</p>	<p>Taira N., Yamaguchi T., Kimura J., Lu Z. G., Fukuda</p>	<p>Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.111, 717-22.</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>

	S., Higashiya ma S., <u>Ono M.</u> , Yoshida K.			
Galectin-7 as a potential predictive marker of chemo- and/or radio-therapy resistance in oral squamous cell carcinoma.	Matsuka wa S., Morita K. I., Negishi A., Harada H., Nakajima Y., Shimamoto H., Tomioka H., Tanaka K., <u>Ono M.</u> , Yamada T., Omura K.	Cancer Med.3, 349-61	2014	国外
MicroRNA expression and functional profiles of osteosarcoma.	Kobayashi E., Satow R., <u>Ono M.</u> , Masuda M., Honda K., Sakuma T., Kawai A.,	Oncology.86, 94-103.	2014	国外

	Morioka H., Toyama Y., Yamada T.			
Alternative mTOR signal activation in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cells revealed by array-based pathway profiling.	Masuda M., Chen W. Y., Miyanaga A., Nakamura Y., Kawasaki K., Sakuma T., <u>Ono M.</u> , Chen C. L., Honda K., Yamada T.	Mol. Cell. Proteomics.13, 1429-38.	2014	国外
Mps1 phosphorylation of condensin II controls chromosome condensation at the onset of mitosis.	Kagami Y., Nihira K., Wada S., <u>Ono M.</u> , Honda M., Yoshida K.	Journal of cell biology	205, 781-790.	国外

Proteomic analysis of ligamentum flavum from patients with lumbar spinal stenosis	Kamita M., Mori T., Sakai Y., Ito S., Gomi M., Miyamoto Y., Harada A., Niida S., Yamada T., Watanabe K., <u>Ono M.</u>	Proteomics. in press	2015	国外
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	<u>尾野雅哉</u>	医学のあゆみ.251, 984-988	2014	国内
LCMS 解析手法 2DICAL を用いた大腸癌関連マーカーの開発	<u>尾野雅哉</u> , <u>齋藤豊</u> , <u>山田康秀</u>	G.I.Research. 23, 31-37	2015	国内

(注1) 発表者氏名は、連名による発表の場合には、筆頭者を先頭にして全員を記載すること。

(注2) 本様式は excel 形式にて作成し、甲が求める場合は別途電子データを納入すること。