

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的がん医療実用化研究事業  
(英語) Practical Research for Innovative Cancer Control
- 研究開発課題名： (日本語) 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  
(英語) Development of unique fluorescent endoscopy and clinical trial of its application
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター中央病院 内視鏡科科長 斎藤 豊  
所属 役職 氏名： (英語) Yutaka Saito, MD, PhD, Chief of Endoscopy Division, National Cancer Center Hospital, Tokyo
- 実施期間： 平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月31日
- 分担研究 (日本語) 早期がんの特異的な膜タンパク抗原の探索  
開発課題名： (英語) Search for specific antigen of early gastrointestinal cancer
- 研究開発分担者 (日本語) 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 尾野 雅哉  
所属 役職 氏名： (英語) Masaya Ono, MD, PhD, Laboratory Head of Chemotherapy and Clinical Research Division, National Cancer Center Research Institute.
- 分担研究 (日本語) 新規『蛍光プローブ』の開発  
開発課題名： (英語) Development of new fluorescent probe
- 研究開発分担者 (日本語) 東京大学 大学院薬学系研究科・医学系研究科、教授、浦野 泰照  
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences and Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Professor, Yasuteru Urano
- 分担研究 (日本語) 特異的蛍光内視鏡技術を用いた特異的治療  
開発課題名： (英語) A novel endoscopic treatment using fluorescent endoscopic imaging

研究開発分担者 (日本語) 東京慈恵会医科大学 内科学講座 消化器・肝臓内科 講師 光永真人  
所属 役職 氏名 : (英語) Division of Gastroenterology and Hepatology, The Jikei University  
School of Medicine, Lecturer, Makoto Mitsunaga

分担研究 (日本語) ALA 内服蛍光観察による消化管癌の早期発見と術中診断への応用  
開発課題名 : (英語) Early detection of gastrointestinal cancer and future application  
for real-time imaging of micro-metastasis using 5-ALA

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター中央病院 大腸外科 科長 金光幸秀  
所属 役職 氏名 : (英語) Yukihide Knemitsu, Chief, Department of Colorectal Surgery,  
National Cancer Center Hospital.

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター 中央病院 胃外科 科長 片井 均  
所属 役職 氏名 : (英語) Hitoshi Katai, Chief, Department of Gastric Surgery, National  
Cancer Center Hospital

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター中央病院 内視鏡科  
非常勤医師 鶴木 絵里子(曾)  
所属 役職 氏名 : (英語) Eriko So Tsuruki, Locum doctor, Endoscopy Division,  
National Cancer Center Hospital

分担研究 (日本語) 消化管腫瘍に対する共焦点レーザー顕微内視鏡を用いた Optical biopsy  
開発課題名 : (英語) Optical biopsy using confocal laser micro-endoscopy  
for gastrointestinal cancer

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター中央病院 検診センター センター長 松田尚久  
所属 役職 氏名 : (英語) Takahisa Matuda, Director, Screening Center,  
National Cancer Center Hospital

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター中央病院・内視鏡科 医長 小田 一郎  
所属 役職 氏名 : (英語) Ichiro Oda, Assistant Chief, Endoscopy Division,  
National Cancer Center Hospital

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター中央病院・内視鏡科 医員 阿部 清一郎  
所属 役職 氏名 : (英語) Seiichiro Abe, Medical staff, Endoscopy Division,  
National Cancer Center Hospital

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター中央病院・病理科 医長 関根 茂樹  
所属 役職 氏名 : (英語) Shigeki Sekine, Assistant Chief, Department of Pathology ,  
National Cancer Center Hospital

分担研究 (日本語) 形態情報定量化を基盤とした革新的自動診断システムを用いた大腸がんお  
開発課題名: よび前がん病変発見のための Real-time 内視鏡画像自動解析システムの  
新規開発  
(略称: e-Endoscopist)  
(英語) Real-time imaging of gastrointestinal cancer detection  
and characterization using novel artificial intelligence  
(AI) technology

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター中央病院・内視鏡科 医員 山田 真善  
所属 役職 氏名: (英語) Masayoshi Yamada, Medical staff, Endoscopy Division, National Cancer  
Center Hospital

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### 和文

浦野泰照教授 (東京大学大学院) らのグループ、尾野雅哉 (国立がん研究センター研究所) らのグループ、  
光永真人 (慈恵会医科大学) らのグループと当内視鏡科で、我々で開発した蛍光内視鏡技術を用いた、が  
んの早期発見の臨床評価を行い、微小転移の術中診断や特異的治療への応用を行った。

#### 1) 早期がんの特異的な膜タンパク抗原の探索 (尾野ら)

新規『蛍光プローブ』の開発に向けて、プロテオーム解析技術 2DICAL を使い、早期大腸がんの特異的な  
膜タンパク抗原の探索を行った。5975 タンパク質が検出され、正常粘膜、腺腫、がんにおけるタンパク  
質量の変動を 9 パターンに分類し、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した。

#### 2) 新規『蛍光プローブ』の開発 (浦野ら)

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、表面型大腸腫瘍の内視鏡切除検体を用いて GGT 蛍光活性を確認した。また早期胃癌の内視鏡切  
除検体を用いて、非腫瘍部位に特徴的なアミノペプチダーゼ様酵素活性を確認した。

#### 3) ALA 内服蛍光観察による消化管癌の早期発見と術中診断への応用 (斎藤・曾ら)

ALA 内服後患者の蛍光観察において、表面型大腸腫瘍に対する Pilot 研究では、82%の赤色蛍光が確認さ  
れ、内視鏡的に早期癌の診断が可能となり英語論文化した。本技術を応用し、進行がんの  
外科手術において腹膜播種やリンパ節転移の術中リアルタイムイメージングが可能となれば外科手術に  
革新をもたらす。プロトコールを作成し研究準備を進めている。

#### 4) 特異的蛍光内視鏡技術を用いた特異的治療 (光永ら)

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、臨床前試験としての基礎研究を行ってきた。消化管癌に対する内視鏡 PIT の応用化を目標と  
した PIT の効果を補完するための新たな治療法として bifunctional monoclonal antibody  
drug/photoabsorber conjugates を開発しその有用性について報告した。

#### 5) 消化管腫瘍に対する共焦点レーザー顕微内視鏡を用いた Optical biopsy (斎藤・阿部ら)

胃癌・大腸上皮性腫瘍の共焦点レーザー顕微内視鏡画像と病理組織診断との対比を行い、胃病変の良悪性

診断、大腸上皮性腫瘍の深達度診断に対する 40 例の pilot 研究を行い安全に関して証明した。機器は製造承認がおりているが本検査に必須のフローレセン静注については眼底検査のみ保険が収載されている。そこで、胃腫瘍に対する共焦点レーザー顕微内視鏡の診断能に関する多施設前向き研究を、国立がん研究センターで最初の国家戦略特区としての先進医療 B で行い有効性が認められた場合は、消化管領域での保険収載を目指す。すでに厚労省研究開発科との事前相談を 2 回終え、準備が整った。

6) 形態情報定量化を基盤とした革新的自動診断システムを用いた大腸がんおよび前がん病変発見のための Real-time 内視鏡画像自動解析システムの新規開発 (山田・斎藤ら)

約 2500 個の大腸ポリープ等の病変部画像を用いて、病変部特徴量を出力するように多層ニューラルネットワークによる深層学習を行い、病変検知を行うソフトウェアを構築した。さらに、病変のリアルタイム検知処理を行うために、検知を高速に実行する手法を開発した。この手法と GPU(Graphics Processing Unit)を搭載した PC を組み合わせることにより、内視鏡動画像をリアルタイムで病変検知可能か検討した。主要なアルゴリズムについて特許申請した。今後は臨床での実用化に向けてさらなるデータ集積・解析を行い、診断性能の改善を行う。

## 英文

Development of unique fluorescent endoscopy and clinical trial of it' s application

1) We have found multiple target proteins for early colorectal cancer using 2DICAL proteome analyzing technique in order to develop a new fluorescent probe. (Ono et, al)

2) We have developed a new fluorescent probe,  $\gamma$ -Glutamyl-transpeptidase (GGT) that could visualize only cancer cell in various type cancers. We evaluated ex-vivo fluorescent imaging of colorectal tumors using this GGT-probe. Thirty endoscopically resected colorectal tumors were prospectively included in this study. Of the tumors, 67% rapidly showed positive fluorescent activity. These activities were shown in adenoma (54%) and carcinoma (76%), and in protruded type (80%) and flat type (40%).

Topically spraying GGT enabled rapid and selective fluorescent imaging of colorectal tumors. (Urano et, al)

3) Five-aminolevulinic acid (5-ALA) is being increasingly used for photodynamic diagnosis of various types of tumors, however, it' s clinical effectiveness for gastrointestinal cancers remains unknown.

We evaluated the visibility of colorectal tumors using endoscopic fluorescence imaging (EFI) after oral administration of 5-ALA. Twenty-three patients with a total of 27 known colorectal lesions were enrolled in the study. Red fluorescence was observed in 22 out of 27 lesions. In comparison with histopathologic findings, the rates of red fluorescence visibility were 63 % in low-grade intraepithelial neoplasia, 78 % in high-grade neoplasia, and 100 % in submucosal carcinoma. There were no significant adverse events identified in this study. EFI with 5-ALA appears to be a novel, safe technique for improving real-time colorectal tumor imaging. (Saito, So, et, al)

4) We have recently developed a molecular target-specific phototherapy; photoimmunotherapy (PIT) utilizing monoclonal antibody-photoabsorber IR700 conjugates and near-infrared light.

Here, we conducted a preclinical study to investigate the feasibility of photochemoimmunotherapy, utilizing bifunctional monoclonal antibody drug/photoabsorber conjugates aiming for endoscopic PIT in future clinical settings. (Mitsunaga, et al)

5) Confocal endomicroscopy is innovative technology that enables us to visualize virtual histology without biopsy; however, there is no insurance approval for clinical use of fluorescent for gastrointestinal (GI) tract by the Ministry of Health, Labour and Welfare.

We have organized a CLEAR study group (eight centers in Japan) to study the efficacy of confocal endomicroscopy for early gastric cancer. Before starting this prospective multicenter study, we have conducted a pilot study. A total of 40 gastric and colorectal cancers were enrolled and confocal diagnosis using intravenous injection of fluorescent was conducted. Finally, we proved the safety and effectiveness of confocal endomicroscopic diagnosis in GI cancers. (Saito, Abe, et al)

6) In order to support endoscopes' detection of colorectal cancer and precancerous lesion during colonoscopy by AI, we have been researching and developing a software program using a convolutional neural network based on mathematical morphology and hardware, which works real-time. We will extend this system to genomic data and other gastrointestinal organ, such as stomach and esophagus, in the future. (Yamada, Saito, et al.)

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 3 件)

1. Ito K, Mitsunaga M, Nishimura T, Saruta M, Iwamoto T, Kobayashi H, Tajiri H. Near-Infrared Photochemoimmunotherapy by Photoactivatable Bifunctional Antibody-Drug Conjugates Targeting Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Positive Cancer. *Bioconjugate Chem.* 2017 in press
2. Tsuruki ES, Saito Y, Abe S, Takamaru H, Yamada M, Sakamoto T, Nakajima T, Matsuda T, Sekine S, Taniguchi H. Evaluating the efficacy and safety of a novel endoscopic fluorescence imaging modality using oral 5-aminolevulinic acid for colorectal tumors. *Endosc Int Open.* 2016 Jan;4(1):E30-5.
3. Sato C1, 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.* 2015;91(1):70-6. doi: 10.1159/000369367. Epub 2015 Jan 20.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 齋藤豊: 国内発! 共焦点診断学のポイントと分類学の提言、司会、共焦点内視鏡 Cellvisio 製品紹介特別講演会、2016/5/11、TKP ガーデンシティ品川、東京都
2. 齋藤豊: Cellvizio の新たな可能性、司会、共焦点内視鏡 Cellvizio 製品紹介特別講演会、2016/11/3、ANA クラウンプラザホテル神戸、神戸市
3. Mitsunaga M, Ito K, Nishimura T, Tajiri H. Strategies to enhance a treatment effect of HER2-targeted theranostic photoimmunotherapy in experimental human gastric cancer. ポスター、Digestive Disease Week2016、サンディエゴ (アメリカ)、2016年5月、国外
4. Mitsunaga M. HER2-targeted near-infrared photoimmunotherapy based on fluorescence molecular imaging in experimental animal model. 口頭、日本癌学会総会、横浜、2016年10月、国内
5. 山田真善、上條憲一、齋藤豊. 形態情報定量化を基盤とする人工知能システムを活用した大腸がんおよび前がん病変発見のためのリアルタイム内視鏡画像自動解析システムの開発、口頭、第94回内視鏡学会総会、福岡、2017年10月、国内 (抄録投稿中)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし