

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) 医療分野研究成果展開事業(先端計測分析技術・機器開発プログラム)

(英語) Development of Advanced Measurement and Analysis Systems

研究開発課題名：(日本語) 分子病態を可視化する高機能型内視鏡システム

(英語) Integrated multimodal endoscope for hyper-spectral imaging and on site mass spectrometry.

研究開発担当者 (日本語) 村田正治

所属 役職 氏名：(英語) Masaharu Murata

実施期間：平成28年8月22日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語)

開発課題名：(英語)

研究開発分担者 (日本語)

所属 役職 氏名：(英語)

II. 成果の概要（総括研究報告）

（和文）

胃カメラに始まる内視鏡の開発は、「体内の異常を見る」ことを目的として進められてきた。CCDイメージセンサ技術の進歩とともに内視鏡の電子化が進み、それとともに高感度化・高解像度化を中心として性能の向上が図られてきた。すでに4K以上の高精細画像や3D画像に対応した内視鏡が開発され、画質向上の面ではその極みに達した感が強い。

一方で、多彩なイメージング技術を内視鏡に組み込むことにより、肉眼では見えない深部や組織構造の変化を捉えることも可能となってきた。これらの新しいイメージング技術の活用によって、体内の「肉眼には見えない異常を診る」ことができるようになれば、内視鏡診断は病変部位の形状や色調を見るための形態診断からより高度な機能診断へとその付加価値を高めることができるであろう。

そこで本研究では二つの技術を内視鏡に導入を目指した。その一つは、物質による光の吸収スペクトルを解析する分光分析技術（ハイパースペクトルイメージング）である。これによってバイオマーカー等の特定の生体成分の種類や量を鏡視下において定性的、定量的に可視化することができる。もう一つは、質量という絶対的な信号を測定する質量分析技術である。本研究では疾患に起因する代謝物の多元的な変動（メタボリックプロファイリング）の可視化を目標とした。

当該年度は、まず大腸がんの肝転移モデルを用いて、赤外領域での吸収スペクトルの特徴量を評価し、新たにがんに特徴的な吸収を見出した。この吸収ピークを指標として画像処理したところ、がん部を明瞭にイメージングすることに成功した。またヘモグロビンの酸化状態を可視化することで、組織の酸素飽和度を定量的にイメージングすることに成功した。この技術によって臓器の酸素飽和度変化をリアルタイムに可視化することが可能となった。ナノ技術を用いてがん部に集積するナノカプセル型造影剤を開発した。一般に直径10~100nmに粒径制御された分子はがん部に集積しやすい性質を持つことが知られているが、本研究ではさらにナノ粒子表面にがん特異的なアンテナ分子を提示することで、より積極的にがんを分子イメージングすることを実現した。これらの分光内視鏡に関連する技術を集結することで、臨床用プロトタイプの開発に成功し、2017年1月に薬事承認を得た。一方、質量分析型内視鏡については内視鏡先端に装着可能なマイルドなイオン化法の開発に着手し、その試作機の開発に成功した。このイオン化デバイスを用いることで、我々が見出したがん部に特異的なバイオマーカー分子を高感度に検出することに成功した。これらの技術を内視鏡に実装することにより、高精細な通常画像に加えて、その奥に潜む組織構造の変化や特定分子の広がりに関する情報もリアルタイムに取得・重畳表示することが可能となる。これらの技術を内視鏡に実装することにより、これまで形態診断に留まっていた内視鏡を機能診断へと進化させる。リアルタイム性や診断精度の大幅な向上によって、患者負担の軽減と医療の質の向上に貢献する。

(英文)

Conventional spectral measurements using endoscopy have been performed with single or multiple optical fibers on to which the reflection light from the tissue surface is transmitted. Acquisition of spectral data with these systems is limited by the number of fibers and detectors. Single-fiber systems have some difficulties in terms of practical use, especially in detecting the spectral data of several positions simultaneously and recognizing their positions.

Two-dimensional spectral data called “hyperspectral-data” have recently become available. These data include spectral information in each pixel that is handled as images of any wavelength band. Hyperspectral data provide great advantages in supplying diagnostic support information to the endoscopic field. The greatest advantage of these data is their indication of spatial spectrum variation; consequently, area detection and diagnosis that had not been successful in this field are enabled. In this study, we evaluated the use of our newly developed hyperspectral system for diagnosis of colorectal cancer. A resected-specimen spectrum observation module (stereo scopic microscope, hyperspectral camera, and xenon lamp) was used to evaluate 21 resected colorectal cancer specimens (ex vivo experiment). A colonoscopy spectrum observation module (imaging fiberscope and hyperspectral camera) was used to perform 24 colonoscopic spectroscopy evaluations (in vivo experiment). An approximately 525-nm increase in spectral absorption occurred between normal mucosa and adenoma, with a tendency toward decreased absorption rates with aggravation of other tumor types. In vivo discrimination between tumorous and non-tumorous tissues showed 72.5% sensitivity and 82.1% specificity. This in vivo hyperspectral diagnostic system showed that reflectance spectra intensity may discriminate between normal and abnormal colonic mucosa.

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 15 件）

1. Takahito Kawano, Masaharu Murata, Fuminori Hyodo, Hinako Eto, Nuttavut Kosem, Ryosuke Nakata, Nobuhito Hamano, Jing Shu Piao, Sayoko Narahara, Tomohiko Akahoshi and Makoto Hashizume, “Noninvasive mapping of the redox status of dimethylnitrosamine induced hepatic fibrosis using in vivo dynamic nuclear polarization magnetic resonance imaging”, *Scientific Reports*, **6**, 32604 (2016).
2. Sho Endo, Kohei Nakata, Kenoki Ohuchida, Shin Takesue, Hiromichi Nakayama, Toshiya Abe, Kazuhiro Koikawa, Takashi Okumura, Masafumi Sada, Kohei Horioka, Biao Zheng, Yusuke Mizuuchi, Chika Iwamoto, Masaharu Murata, Taiki Moriyama, Yoshihiro Miyasaka, Takao Ohtsuka, Kazuhiro Mizumoto, Yoshinao Oda, Makoto Hashizume, Masafumi Nakamura, “Autophagy Activates Pancreatic Stellate Cells, Which Associates With Pancreatic Cancer Progression and Promotes Growth of Pancreatic Tumors in Mice”, *Gastroenterology*, in press.
3. Daisuke Asai, Masaharu Murata, Riki Toita, Takahito Kawano, Hideki Nakashima, and Jeong-Hun Kang, “Role of amino acid residues surrounding the phosphorylation site in peptide substrates of G protein-coupled receptor kinase 2 (GRK2)”, *Amino Acids*, in press.
4. Riki Toita, Takahito Kawano, Masaharu Murata, Jeong-Hun Kang, “Anti-obesity and anti-inflammatory effects of macrophage-targeted interleukin-10-conjugated liposomes in obese mice”, *Biomaterials*, **110**, 81-88 (2016).
5. Nobuhito Hamano, Masaharu Murata, Takahito Kawano, Jing Shu Piao, Sayoko Narahara, Ryosuke Nakata, Tomohiko Akahoshi, Tetsuo Ikeda, and Makoto Hashizume, “Förster Resonance Energy Transfer-Based Self-Assembled Nanoprobe for Rapid and Sensitive Detection of Postoperative Pancreatic Fistula”, *ACS Applied Materials & Interfaces*, **8**, 5144-5123(2016).
6. Kazuya Yokota, Takeyuki Saito, Kazu Kobayakawa, Kensuke Kubota, Masamitsu Hara, Masaharu Murata, Yasuyuki Ohkawa, Yukihide Iwamoto, “The feasibility of in vivo imaging of infiltrating blood cells for predicting the functional prognosis after spinal cord injury”, *Scientific reports*, in press.
7. Go Kagiya, Ryohei Ogawa, Fuminori Hyodo, Kei Yamashita, Mizuki Nakamura, Ayumi Ishii, Yukihiko Sejimo, Shintaro Tominaga, Masaharu Murata, Yoshikazu Tanaka & Masanori Hatashita “Development of a real-time imaging system for hypoxic cell apoptosis”, *Molecular Therapy - Methods & Clinical Development*, **5**, 16009-16017(2016).
8. Ryuichi Kumashiro, Kozo Konishi, Tohru Chiba, Tomohiko Akahoshi, Shotaro Nakamura, Masaharu Murata, Morimasa Tomikawa, Takayuki Matsumoto, Yoshihiko Maehara and Makoto Hashizume, “Integrated Endoscopic System Based on Optical Imaging and Hyperspectral Data Analysis for Colorectal Cancer Detection”, *Anticancer Research*, **36**, 3925-3932 (2016).
9. Fujimura, Y., Kawano, C., Maeda-Murayama, A., Nakamura, A., Koike-Miki, A., Yukihira, D., Hayakawa, E., Ishii, T., Tachibana, H., Wariishi, H. and Miura, D. A Chemometrics-driven Strategy for the Bioactivity Evaluation of Complex Multicomponent Systems and the Effective Selection of Bioactivity-predictive Chemical Combinations. *Scientific Reports*. Accepted
10. Li, B., Baba, T., Miyabayashi, K., Sato, T., Shima, Y., Ichinose, T., Miura, D., Ohkawa, Y., Suyama, M. and Morohashi, K. Role of Ad4-binding protein/steroidogenic factor 1 in regulating NADPH production in adrenocortical Y-1 cells. *Endocrine J.* (2017) **64**, 315-324.

11. Okumura, T., Ohuchida, K., Sada, M., Abe, T., Endo, S., Koikawa, K., Iwamoto, C., Miura, D., Mizuuchi, Y., Moriyama, M., Nakata, K., Miyasaka, Y., Manabe, T., Ohtsuka, T., Nagai, E., Mizumoto, K., Oda, Y., Hashizume, M and Nakamura, M. Extra-pancreatic invasion induces lipolytic and fibrotic changes in the adipose microenvironment and released fatty acids enhance invasiveness of pancreatic cancer cells. *Oncotarget* (2017) 8, 18280-18295.
12. Nakamura, J., Morikawa-Ichinose, T., Fujimura, Y., Hayakawa, E., Takahashi, K., Ishii, T., Miura, D. and Wariishi, H. Spatially resolved metabolic distribution for unraveling the physiological change and responses in tomato fruit using matrix-assisted laser desorption/ionization–mass spectrometry imaging (MALDI–MSI). *Anal. Bioanal. Chem.* (2017) 409, 1697-1706
13. Sato, M., Mori, T., Mishima, E., Suzuki, A., Sugawara, S., Kurasawa, N., Saigusa, D., Miura, D., Morikawa-Ichinose, T., Saito, R., Oba-Yabana, I., Oe, Y., Kisu, K., Naganuma, E., Koizumi, K., Mokudai, T., Niwano, Y., Kudo, T., Suzuki, C., Takahashi, N., Sato, H., Abe, T., Niwa, T. and Ito, S. Metabolic alterations by indoxyl sulfate in skeletal muscle induce uremic sarcopenia in chronic kidney disease. *Scientific Reports.* (2016) 6, 36618.
14. Setoyama, D., Kato, T., Hashimoto, R., Kunugi, H., Hattori, K., Hayakawa, K., Sato-Kasai, M., Shimokawa, N., Yoshida, S., Goto, Y., Yasuda, Y., Yamamori, H., Ohgidani, M., Sagata, N., Miura, D., Kang, D. and Kanba, S. Plasma metabolites predict severity of depression and suicidal ideation in psychiatric patients-A multicenter pilot analysis. *PLoS One*, (2016) 11, e0165267.
15. Hayakawa, E., Fujimura, Y. and Miura, D. MSIDV: a versatile tool to visualize biological indices from mass spectrometry imaging data. *Bioinformatics* (2016) 32, 3852-3854.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Maeda-Murayama, A., Yamaguchi, A., Fujimura, Y., Wariishi, H., and Miura, D. Development of an Integrated Proteomic and Metabolomic Imaging Technique using MALDI-MS. Sanibel Conference on Peptidomics (No. 18), p8, 2017. (January 19–22, Clearwater Beach, Florida) (ポスター) 【国際会議】
2. Kawano, C., Ishii, T., Fujimura, Y., Shindo, M., Wariishi, H., and Miura, D. Screening and Synthesis of MALDI Matrix towards Phosphopeptidomics. Sanibel Conference on Peptidomics (No. 12), p10, 2017. (January 19–22, Clearwater Beach, Florida) (ポスター) 【国際会議】
3. Ichinose, T., Fujimura, Y., Nakaya, S., Yamazaki, Y., Nakamura, J., Wariishi, H., and Miura, D. Visualization of leaf glucosinolate distribution by mass spectrometry imaging in Arabidopsis. 13th International Symposium on Cytochrome P450 Biodiversity and Biotechnology 2016. (July 22–26, Vancouver, Canada) (ポスター) 【国際会議】
4. Miura, D., Ishii, T., Fujimura, Y., Hayakawa, E., Wariishi, H., and Shindo, M. Structure–Property Relationship and Strategic Synthesis of MALDI Matrix for Low-Molecular-Weight Metabolites Analysis. 64th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (ThP380), p178, 2016. (June 5–9, San Antonio, Texas) (口頭) 【国際会議】
5. Ichinose, T., Fujimura, Y., Nakaya, S., Yamazaki, Y., Nakamura, J., Hayakawa, E.,

- Wariishi, H., and Miura, D. Optimal Sample Preparation Method for Visualizing Global Endogenous Metabolites by Mass Spectrometry Imaging in Arabidopsis. 64th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (MP240), p70, 2016. (June5-9, San Antonio, Texas) (ポスター) 【国際会議】
6. 6. Kawano, C., Fujimura, Y., Maeda-Murayama, A., Hayakawa, E., Ishii, T., Wariishi, H., and Miura, D. New Approach Analyzing Food Functionality using MALDI-MS-based Metabolic Profiling Technique: Evaluation of Green Tea Extracts. 64th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (WP240), p139, 2016. (June5-9, San Antonio, Texas) (ポスター) 【国際会議】
 7. 藤村由紀・河野ちひろ・村山彩花・三木晶琴・石井孝典・行平大地・早川英介・立花宏文・割石博之・三浦大典. 異なる質量分析システムを用いた緑茶代謝物プロファイリング. 第32回茶学術研究会・講演会・第13回日本カテキン学会年次学術大会合同大会2016 (P-7), p36, 2016 (静岡市, 2016年10月27-28日) (口頭) 【国内会議】
 8. 一瀬智美・村山布紗・藤村由紀・山崎雄三・割石博之・三浦大典. 質量分析イメージングによる葉組織内部の代謝動態解析. 第10回メタボロームシンポジウム (P-55), p101, 2016 (鶴岡市, 2016年10月19-21日) (口頭) 【国内会議】
 9. 村山布紗・一瀬智美・藤村由紀・山崎雄三・割石博之・三浦大典. 簡便高感度かつ再現性の高いMALDI-MSI 試料調製法の確立. 第10回メタボロームシンポジウム (P-51), p97, 2016 (鶴岡市, 2016年10月19-21日) (口頭) 【国内会議】
石井孝典・行平大地・早川英介・藤村由紀・割石博之・新藤充・三浦大典. In situ metabolomics に向けたMALDI用新規マトリックスの開発. 第10回メタボロームシンポジウム (P-41), p87, 2016 (鶴岡市, 2016年10月19-21日) (口頭) 【国内会議】
 10. 三木晶琴・藤村由紀・石井孝典・中村純也・河野ちひろ・新藤充・割石博之・三浦大典. 多検体迅速病態評価に向けた代謝物プロファイリング技術の開発. 第10回メタボロームシンポジウム (P-38), p84, 2016 (鶴岡市, 2016年10月19-21日) (口頭) 【国内会議】
 11. 村山彩花・藤村由紀・河野ちひろ・三木晶琴・割石博之・三浦大典. 緑茶代謝物プロファイリングでのLC-MSとMALDI-MSデータの比較. 第10回メタボロームシンポジウム (P-39), p85, 2016 (鶴岡市, 2016年10月19-21日) (口頭) 【国内会議】
 12. 河野ちひろ・藤村由紀・村山彩花・石井孝典・三木晶琴・行平大地・早川英介・割石博之・三浦大典. MALDI-MS 代謝物プロファイリングによる緑茶の抗酸化活性評価. 第10回メタボロームシンポジウム (P-40), p86, 2016 (鶴岡市, 2016年10月19-21日) (口頭) 【国内会議】
 13. 藤村由紀・中村純也・一瀬智美・立花宏文・割石博之・三浦大典. 食品の品質、おいしさ、安全性の評価に向けた質量分析イメージング. 第20回生物機能研究会 (演題番号B), p23, 2016 (宮崎市, 2016年7月20日) (口頭) 【国内会議】
 14. 一瀬智美・藤村由紀・中家修一・山崎雄三・中村純也・早川英介・割石博之・三浦大典. 植物内在性代謝物の質量分析イメージングに向けたサンプル調製法の検討. 第64回質量分析総合討論会 (3P-24), p203, 2016 (吹田市, 2016年5月18-20日) (口頭) 【国内会議】
 10. 早川英介・藤村由紀・三浦大典. 質量分析イメージングによる生物学的インデックス可視化ツールの開発. 第64回質量分析総合討論会 (3P-21), p200, 2016 (吹田市, 2016

年5月18-20日) (口頭)【国内会議】

15. 三浦大典・石井孝典・行平大地・藤村由紀・割石博之・新藤充. In situ metabolomics に向けた新規 MALDI マトリックス開発. 第64回質量分析総合討論会 (3P-20), p199, 2016 (吹田市, 2016年5月18-20日) (口頭) 【国内会議】
16. 藤村由紀・河野ちひろ・村山(前田)彩花・早川英介・石井孝典・割石博之・三浦大典. マトリックス・スクリーニングに基づいた MALDI-MS 技術の食品機能性評価への応用: 緑茶抽出物の代謝物プロファイリング. 第64回質量分析総合討論会 (2C-01-1000), p95, 2016 (吹田市, 2016年5月18-20日) (口頭)【国内会議】

(3)「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当無し

(4) 特許出願

該当無し