



## Immunohistochemical and genetic features of gastric and metastatic liver gastrointestinal stromal tumors: sequential analyses

|       |  |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: Japanese<br>出版者: 浜松医科大学<br>公開日: 2013-08-27<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 菊池, 寛利<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/10271/338">http://hdl.handle.net/10271/338</a>                                  |

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

|       |  |         |             |
|-------|--|---------|-------------|
| 学位記番号 | 医博第 481号   | 学位授与年月日 | 平成19年 3月14日 |
| 氏名    | 菊池寛利   |         |             |
| 論文題目  | Immunohistochemical and genetic features of gastric and metastatic liver gastrointestinal stromal tumors: sequential analyses<br>(消化管間質腫瘍の胃原発巣と肝転移巣における免疫組織化学染色および遺伝子学的比較検討) |         |             |

博士(医学) 菊池寛利

## 論文題目

Immunohistochemical and genetic features of gastric and metastatic liver gastrointestinal stromal tumors: sequential analyses.

(消化管間質腫瘍の胃原発巣と肝転移巣における免疫組織化学染色および遺伝子学的比較検討)

## 論文の内容の要旨

[はじめに]

消化管間質腫瘍(GIST)は消化管のペースメーカーであるカハールの介在細胞由来の間葉系腫瘍であり、*c-kit*またはplatelet derived growth factor receptor alpha (*PDGFRA*) 遺伝子の機能獲得性変異がその発生原因とされる。原発GISTに対する治療の第一選択は外科手術であるが、再発GISTに対する有効な治療は最近まで存在しなかった。しかし、慢性骨髄性白血病に対する分子標的治療薬として開発されたイマチニブ(グリベック®)がGIST患者に投与され有効な成績を収め、現在における悪性腫瘍に対する分子標的治療の先駆的存在となった。本邦でも臨床試験における優れた成績が報告され「イマチニブ時代」の到来と大きく期待されたが、最近になりイマチニブに対する二次耐性の出現が注目されている。この二次耐性の原因として、*c-kit* および*PDGFRA*遺伝子の二次変異などが報告されている。しかし未だ不明な点も多く、イマチニブに対する耐性機序のみならずGISTの生物学的悪性化機序の解明が今後の臨床において重要である。本研究はGIST肝転移症例における原発巣と転移巣の病理組織学および遺伝子学的比較検討による、生物学的悪性化や肝転移能獲得機序の解明を目的とする。

[材料ならびに方法]

浜松医科大学第二外科において肝切除術が施行された、胃GIST術後肝転移4症例の原発巣および肝転移巣を用いて、*c-kit*, CD34, alpha smooth muscle actin (SMA), S-100, vimentin, desmin, Ki67の免疫組織化学染色を施行し、各症例における両病巣の比較検討を行った。このうち、書面による同意の得られた3症例の切除検体よりDNAを抽出し、PCR-direct sequence法にて*c-kit*, *PDGFRA*遺伝子の遺伝子変異を、マイクロサテライトマーカー解析にて同遺伝子領域のLoss of heterozygosity (LOH)を検索した。さらに同遺伝子座の存在する4番染色体のFluorescence *in situ* hybridization (FISH)を行った。

[結果]

免疫組織学的検討：各症例とも*c-kit*, CD34, SMA, S-100, vimentin, desmin 染色は原発巣と転移巣で同様な染色性であったが、Ki67染色強度は原発巣に比し肝転移巣で高値を示した。胃切除術前に neoadjuvant therapy としてイマチニブを投与した症例の原発巣では、大部分でイマチニブによる変性像を示したが、一部にviableで高いKi67染色性を示す部位を認め、同部位は組織学的に肝転移巣と類似していた。

遺伝子解析：各症例とも*c-kit* Exon11に原発巣と転移巣で同じ遺伝子変異を認め、転移巣における新たな変異は認められなかった。*c-kit* 遺伝子領域のLOHをマイクロサテライトマーカー解析およびFISHを用いて検索したところ、3症例中2症例の原発巣および転移巣に同遺伝子領域のLOHを認めた。胃切除術前にイマチニブを投与した症例では、原発巣のviableな部分および肝転移巣でLOHを認めた。

## 〔考察〕

4 症例とも原発巣に比し転移巣で、細胞増殖度を表すKi67 染色性が亢進しており、GISTの転移過程における生物学的悪性化が示唆された。特に胃切除術前にイマチニブを投与した症例の検討では、原発巣において発生した高悪性クローンが肝転移を惹起したものと考察された。またGISTの原発巣がheterogeneousであることを示す所見でもあり、詳細な病理組織学的検討の重要性や、生検による正確な診断の困難さが示唆された。遺伝子検索結果より、GIST悪性化機序のひとつとして*c-kit* 遺伝子領域のLOHが関与している可能性が示唆された。しかしLOHを認めない転移巣も存在し、転移巣における*c-kit*遺伝子領域のLOHの有無と肝切除後の予後との関連など、更なる研究が必要であると考えられた。

## 〔結論〕

GISTの悪性化および肝転移発生における、*c-kit* 遺伝子領域のLOHの関与の可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

消化管のペースメーカーであるカハールの介在細胞由来の間葉系腫瘍である消化管間質腫瘍 (GIST)は *c-kit*またはplatelet derived growth factor receptor alpha (*PDGFRA*) 遺伝子の機能獲得性変異がその発生原因とされる。原発 GIST の治療は外科手術が第一選択であるが、近年、慢性骨髄性白血病に対する分子標的治療薬として開発されたイマチニブ(グリベック®)のGISTに対する劇的な治療効果が報告され、悪性腫瘍に対する分子標的治療の先駆的存在となっている。本邦においても優れた治療成績が報告されたが、最近イマチニブに対する二次耐性の出現が問題になってきた。その原因として *c-kit* および *PDGFR* の二次変異などが報告されているがその詳細は明らかではない。申請者は GIST 肝転移手術摘出症例を対象に、原発巣と転移巣の病理組織像ならびに遺伝子異常を比較検討することにより、生物学的悪性化や肝転移能獲得機構を解析した。

浜松医科大学第二外科において肝切除術が施行された、胃GIST術後肝転移4症例を対象とした。原発巣および肝転移巣の、*c-kit*, CD34, alpha smooth muscle actin (SMA), S-100, vimentin, desmin, Ki67の免疫組織化学染色を施行し、形質および悪性度の変化を検討した。また書面による同意の得られた3症例の切除検体よりDNAを抽出し、PCR-direct sequence法にて*c-kit*, *PDGFRA*遺伝子の遺伝子変異を検討し、マイクロサテライトマーカー解析にて同遺伝子領域のLoss of heterozygosity (LOH)を検索した。さらに同遺伝子座の存在する4番染色体のFluorescence *in situ* hybridization (FISH)を行った。

その結果、いずれの症例においても *c-kit*, CD34, SMA, S-100, vimentin, desmin 染色性は原発巣と転移巣で違いを認めなかったが、Ki67 染色性は原発巣に比し肝転移巣で増強しており、肝転移巣では細胞増殖性が増強していることが示された。また胃切除術前に neoadjuvant therapy としてイマチニブを投与した原発巣の組織像は不均一で、大部分で変性像を示したが一部に高いKi67 染色性を示す腫瘍残存部位を認めた。

遺伝子解析では、各症例とも*c-kit* Exon11に原発巣と転移巣で同じ遺伝子変異を認め、転移巣における新たな変異は認められなかった。*c-kit* 遺伝子領域をマイクロサテライトマーカー解析およびFISHを用いて検索したところ、3 症例中 2 症例の原発巣および転移巣に同遺伝子領域のLOHを認めた。また胃切除術前にイマチニブを投与した症例では、原発巣の腫瘍残存部分および肝転移巣でLOHを認めたが変性部位では認めなかった。

以上より、GISTの生物学的悪性化および肝転移においては、新たな遺伝子変異の獲得でなく、*c-kit*遺伝子領域のLOHが関与している可能性があるとしている。またGIST原発巣の生物学的悪性度は均一でなく、LOHを有する高悪性クローンが原発巣に存在し肝転移を惹起しているとした。これより予後診断には詳細な病理組織学的検討が重要であり、遺伝子変異部位、LOHの有無等に応じたテーラーメイド治療の必要性を提唱している。

審査委員会では、原発巣と転移巣という異なる時相の異なる部位での病理標本の詳細な検討から、GISTの生物学的悪性化および肝転移に関わる新規な機構を見だし、新たな治療方法の可能性を世界に先駆けて提唱した点を高く評価した。またその機構の妥当性を証明するべく更に継続して症例を解析している点も高く評価した。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) GISTの定義と発症頻度
- 2) Ki67染色に用いた抗体の特性と、染色性の定量方法
- 3) *c-kit*, *PDGFRA*遺伝子の遺伝子変異部位と悪性度の関係
- 4) *KIT*の機能獲得および喪失と疾患の関係
- 5) 遺伝子変異に伴う信号伝達増強の機序
- 6) 検索した遺伝子変異部位の妥当性
- 7) イマチニブの作用機序と副作用
- 8) LOH検索に必要な検体試料の量
- 9) *c-kit*遺伝子領域のLOHと生物学的悪性化の関係
- 10) どのようなテーラーメイド治療が可能か
- 11) GISTに対する他の分子標的薬剤の効果
- 12) 手術標本の遺伝子解析に際して医療倫理にどのように配慮したか

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 浦野哲盟  
副査 大園誠一郎 副査 峯田周幸