

Gastrointestinal stromal tumor (GIST) の真の発生頻度とその顕性化および悪性化に関する遺伝子異常の検索

齋藤 加奈^{1), 2)}、櫻井 信司²⁾、桑野 博行¹⁾、中島 孝²⁾

1) 群馬大学大学院 病態総合外科学、2) 応用腫瘍病理学

1. はじめに

消化管に最も高頻度に発生する Gastrointestinal stromal tumor (GIST) は近年、その発生に癌遺伝子である *c-kit* 遺伝子および *PDGFR α* 遺伝子の変異が関与していることが明らかとなった。治療の基本方針は外科的切除であるが、切除不能例や再発症例に対し、*c-kit* に対する分子標的治療薬である Imatinib mesylate (商品名: Glevec) の有効性が報告されている。しかし、Glevec に耐性を示す症例や、また奏効例であったにもかかわらず平均約2年の経過で二次耐性を示す症例など、GIST に対する新たな問題も生じてきている。

従来、平滑筋腫、平滑筋肉腫と診断されてきた GIST に、KIT、CD34、胎児型ミオシン (Smemb) が発現し、カハールの介在細胞 (interstitial cells of Cajal; ICC) が同様の免疫形質を示すことが明らかになり GIST を ICC 由来ないし ICC への分化を示す腫瘍とする概念は、現在までに定着されつつあるが、まだまだ GIST の起源、分化については不明な点が多く、異なる起源、分化を示す細胞が混じている可能性もある。また、GIST の発生・悪性化のメカニズムについては、マイクロサテライトマーカーを用いた検索から、GIST の発生には *c-kit* 遺伝子変異に加え、1p、14q、22q の LOH が、悪性化には 2q、9q、11q、17q の欠失が関与している可能性を見出したが、まだ具体的な原因遺伝子は特定できていない。また悪性 GIST では DNA の複数エラーが見られ、悪性化には遺伝子修復酵素異常の関与も示唆される。

また、臨床的に切除される GIST の発生頻度は欧米、本邦ともおよそ10万人に1~2人程度であるが、食道癌、胃癌、胃潰瘍などで切除された胃検体の病理検索過程で、臨床的には検出されていない顕微鏡的な GIST と思われる病変がしばしば見出されることにより、これらの顕微鏡的 GIST が臨床的 GIST の前駆病変であり、顕性化するまでには、*c-kit*、*PDGFR α* 遺伝子変異以外の遺伝子変化が必要であると考えている。

2. 方法

(1) 顕微鏡的 GIST の頻度

胃癌切除症例100例について、5 mm 間隔の全割標本を1例あたり84~231個(平均130個)作成し、HE染色標本から結節性病変を抽出した。それらの病変にKIT、CD34、Desminの免疫組織学的検討を加えた。KIT陽性を示したのものについては *c-kit* 遺伝子 exon11 について変異の検索も行った。

(2) CGH アレイ遺伝子解析

5 mm ~ 35 mm 大の low-risk GIST 11例について DNA を抽出し、1、4、14、22番染色体に対し、45~85mer の DNA プローブを設定、CGH アレイ解析を行った。

(3) マイクロサテライト不安定性の検討

臨床的 GIST 28例において、高精度蛍光マイクロサテライト配列解析法 (HRFMA) を用いて MSI を観察した。HRFMA は蛍光標識した primer を用いてわずかなマイクロサテライト変

化を抽出できる方法で、6 bp 以内の変化を示すものを Type A、変化の幅が 8 bp 以上に及ぶものを Type B と分類する。これまでに使用した解析法よりも微細な変化を検出することが可能であり、5 種類のマーカーを用いて検討を行った。

(4) 異常メチル化の検討

臨床的 GIST 35 例について、9 種類の癌関連 CpG 領域 (*p15*, *p16*, *p73*, *MGMT*, *E-cadherin*, *hMLH1*, *MINT* (methylated in tumors) 1, *MINT2*, *MINT31*) の異常メチル化の検討を、Methylation specific PCR で行った。

3. 結果

(1) 顕微鏡的 GIST は 100 例中 35 例に認められ、うち 9 例で 2 個、3 例で 3 個と多発しており、合計 50 病変を検出した。KIT 陽性は 46 病変 (92%) で、CD34 は全例で陽性であった。臨床病理学的背景としては、男性 29 例、女性 6 例で、平均年齢は 65 歳 (47~79 歳) であった。35 例中 12 例で、平滑筋腫も併存していた。胃内での分布としては、45 例 (90%) が食道胃接合部を含む、胃上部に存在しており、下部には 1 例も認められなかった。大きさは 0.2~4 mm (平均 1.5 mm) で、固有筋層または筋層間神経叢周囲に認められた。いずれも紡錘形細胞からなる GIST で、分裂像は認めなかった。36 病変 (72%) で、硝子化結節を伴っていた。PCR で遺伝子増幅が可能であった 25 例のうち 2 例において、臨床的 GIST と同様の遺伝子変異を認めた。

(2) 11 例に共通して変化を示す遺伝子領域を 35 領域抽出し、原因遺伝子を特定すべく、現在解析中である。

(3) LOH は、5 領域中 4 領域に各 1 例ずつ認めた。MSI は、1 例のみで、Type B であった。LOH の症例は、4 例中胃が 3 例、小腸が 1 例で、いずれも *c-kit* 変異例であった。リスク分類は、胃 1 例

のみ low risk で、他 3 例は high risk 症例であった。マイクロサテライト不安定性は high risk の胃症例のみで、*PDGFR α* 変異例であった。使用したマイクロサテライトマーカーでの変化は、*c-kit* や *PDGFR α* 遺伝子の変異のない症例では検出されず、新たな発生経路との関連は明らかにはならなかった。しかし、high risk 症例が多かったこと、異常メチル化の頻度も比較的高頻度であったことを考えると、進展に関連がある可能性が示唆された。

(4) *c-kit* 遺伝子変異例 25 例では平均 28.4%、*PDGFR α* 遺伝子変異例 7 例では平均 25.4% に異常メチル化が認められた。遺伝子変異のない症例 3 例では 5 領域に平均 37.0% の異常メチル化を認め、変異有症例に比べて高率な傾向を認めた。また、遺伝子変異のない症例ではいずれも 3 領域以上に異常メチル化を認め、他の遺伝子変化の存在が考えられた。CpG 領域別では、ミスマッチ修復遺伝子である *hMLH1* で 60% と最も高率に異常メチル化を認めた。リスク分類では、異常メチル化との関連は認められなかった。GIST における異常メチル化は、その発生よりもむしろ進展、悪性度等に関与している可能性が示唆された。

4. まとめ

以上より、GIST における新たな遺伝子変化の存在が示されつつある。すでに GIST の発生には 1p、14q、22q の LOH が関与している可能性を報告しているが、現在解析中の CGH アレイの結果から、さらに具体的な原因遺伝子の解明が可能である。顕微鏡的微小 GIST と臨床的に顕性化した GIST の遺伝子変化の状況を比較し、その発生、悪性度などの特徴を検討することにより、GIST の悪性度評価のための客観的な遺伝子指標、新たな分子標的治療薬のターゲットの発見につながると考えている。