

令和元年6月28日現在

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08390

研究課題名(和文) 胃消化管間質腫瘍の亜型と悪性度の解明 - 非コードRNAからのアプローチ

研究課題名(英文) Subclassification of gastrointestinal stromal tumor and elucidation of prognostic factors - approach by non-coding RNA

研究代表者

高澤 豊 (Takazawa, Yutaka)

公益財団法人がん研究会・がん研究所 病理部・部長

研究者番号：50313151

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：胃消化管間質腫瘍(GIST)を非コードRNA発現の観点から、発生臓器間、および、低悪性度と高悪性度間で比較することによって、その発生・由来および生物学的性質に迫ることを目的とする研究である。c-kit、PDGFR、その他の遺伝子変異の解析とmicroRNA発現の網羅的解析を行った。microRNAの発現は発生臓器間の有意差はなかったが、クラスター分析では、発生臓器の違いで3つのグループに分けられる傾向があった。低悪性度群および高悪性度群の比較では、発現に差のあるmicroRNAが同定され、これらは細胞増殖や転移能に関係したものであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

稀少がんの一つであるが消化管に発生する非上皮系の悪性腫瘍で最も頻度の高い胃消化管間質腫瘍(GIST)について、非コードRNA発現の観点から、その腫瘍発生および悪性度評価を解明することを目的とする研究である。GISTの発生頻度や悪性度は発生臓器(食道、胃、小腸、結腸、直腸)により異なることは未解決の問題であったが本研究によって、非コードRNA発現パターンから発生臓器は3つのグループに分かれる傾向があること、GISTの悪性度は細胞増殖や転移能に関係するmicroRNAの発現と関係していること、が見いだされた。これらの結果は臨床におけるGISTの治療戦略に影響を与える可能性がある。

研究成果の概要(英文)：This study was aimed to reveal the tumorigenesis and biological behavior of gastrointestinal stromal tumor (GIST) in terms of non-coding RNA expression. Differences of expression among organs and between low grade and high grade were examined. We reviewed c-kit, PDGFR and other gene mutations and comprehensively analyzed microRNA expression. The expression of microRNAs was not significantly different among different organs (esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum, colon, rectum, and extragastrointestinal organs), although cluster analysis revealed three groups according to the different organs. Comparison of low grade and high grade groups identified differentially expressed microRNAs, which were associated with cell proliferation and metastatic potential.

研究分野：人体病理学

キーワード：胃消化管間質腫瘍 非コードRNA microRNA

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 胃消化管間質腫瘍の遺伝子変異

胃消化管間質腫瘍(Gastrointestinal Stromal Tumor: GIST)は、主に食道から直腸までの消化管壁に発生する、平滑筋系あるいは神経系への分化を示さない非上皮系腫瘍と定義されている。1998年、廣田らによって、GISTにおけるc-kit遺伝子の機能獲得性突然変異が報告され、現在では、GISTは遺伝子変異によって次の2つに大きく分けられている。①c-kit遺伝子あるいはPDGFR α の遺伝子異常のあるもの、②c-kit遺伝子にもPDGFRA遺伝子にも変異のないもの(神経線維腫症1型(NF-1)、Carney triad、Carney-Stratakis症候群、若年者に発生する孤発性GISTの多く、などが含まれる)。

(2) GISTの未解決問題

GISTの腫瘍発生と診断学は確立されていると一般に考えられているが、実は以下のような未解決かつ本質的な問題が存在する。

①GISTの多彩な組織像と遺伝子変異との関連は解明されておらず、組織像、免疫組織化学的形質、遺伝子変異などが異なる腫瘍を一括してGISTと呼称してよいのか、という問題。

②遺伝子変異のパターンに発生臓器による有意な差のないことは、GISTが臓器によって発生頻度、組織像、および悪性度が異なることを説明できない、という問題。

③GISTは基本的には肉腫であり、30%程度が悪性の経過をたどるが、遺伝子変異が必ずしも悪性度と対応していない、という問題。

(3) GISTに対するエピゲノム解析の現状

DNAメチル化異常に関しては、今までの報告では、GISTでは癌関連遺伝子のDNAメチル化異常は比較的高頻度に見られるが、メチル化のプロファイルと悪性度に関連はない、とするものが多い。GISTにおけるmicroRNAの発現の報告は未だ少なく、報告はいずれも少数の症例に対する網羅的解析の手法がとられている。microRNAは個体の発生・分化においてdynamicな発現変動を通じて影響を与えており、GISTの未解決問題に、microRNAがどのように関与しているかについての詳細な検討が必要である。また、microRNA以外にも、遺伝子発現を制御する機能をもつ長鎖非コードRNAがつぎつぎと発見されているが、GISTでの解析、報告は未だに少なく、詳細な解析が期待されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、GISTを非コードRNA(本研究ではmicroRNAと長鎖非コードRNAを対象とする)発現の観点から、発生臓器間での比較、および、低悪性度と高悪性度GIST間の比較、をすることによって、GISTの発生・由来および生物学的性質に迫ることである。

GISTには発生臓器によって、組織像、免疫組織化学的形質、悪性度などに差があるので、関連する2つの課題を設定した。

(1) 課題1: GISTの亜分類

GISTの組織像の多様性は比較的良好に知られているが、発生臓器ごとにその多様性が異なる(各組織亜型の頻度に差がある)。GISTが発生臓器(胃、小腸、直腸、消化管外)によって組織像が異なっているのに対して、遺伝子変異には発生臓器による有意な差がないことから、エピジェネティクスの機構の関与が疑われる。microRNA発現プロファイルは癌の分類に有用であり、腫瘍の発生系列と分化状態を反映しているという報告もある。課題1では発生臓器間での非コードRNAであるmicroRNAと長鎖非コードRNAの発現プロファイル解析を行うことにより、GISTの発生・由来に迫り、それらに基づく亜分類を試みる。

(2) 課題2: 悪性度のバイオマーカーの探索

GISTには悪性度評価の明確な病理組織学的基準がない。腫瘍径と核分裂数の組み合わせによる転移リスク分類が治療方針の決定に使われているが、予後予測マーカーの発見が求められている現状である。非コードRNAの癌領域でのバイオマーカーとしての有用性が多くの報告で示されており、今後の治療標的となる可能性も考えられることから、非コードRNAに着目して、予後予測マーカーの発見を試みる。

また、臨床上的診断補助および治療標的の可能性を検討する目的で、患者血清およびエクソソームから予後予測マーカーとなるような非コードRNAの検出を試みる。

3. 研究の方法

microarrayを用いて、microRNAおよび長鎖非コードRNAの網羅的解析を行い、GISTの亜分類、悪性度評価のバイオマーカーの探索を行う。ホルマリン固定パラフィン包埋検体を用いたmicroRNA発現量や発現パターンを評価することの正当性の検証を、新鮮凍結検体を用いて行う。階層クラスタリングおよび非負値行列要素化法の手法によって(ア)各発生臓器の差異、(イ)

c-kit 遺伝子や PDGFRA 遺伝子変異に変異のある群とない群の差異、(ウ) 高悪性度群と低悪性度群の差異、を検討し、バイオマーカーの同定を行う。患者血清中およびエクソソーム中の microRNA、長鎖非コード RNA を prospective に検出する。バイオマーカーの探索は対照群との比較で行い、有意な非コード RNA が得られたら、RT-PCR で確認する。

4. 研究成果

(1) c-kit 遺伝子、PDGFRA 遺伝子、およびその他の遺伝子 (BRAF、TP53、KRAS、NRAS) 変異を各発生臓器 (胃、小腸、直腸、食道、結腸、消化管外)、低悪性度および高悪性度、若年発症に対して検討し、消化管外発生、高悪性度症例の中にはいずれの遺伝子変異もない症例が有意に多いことを見いだした。また、消化管外 GIST と診断されていた症例のうち 1 例は別の軟部肉腫であることがわかった。

(2) microRNA 発現の網羅的解析によって、発生臓器間で有意な発現の差は見いだすことはできなかったが、クラスター分析によって、胃、消化管外、それら以外 (主に小腸、結腸) の 3 つのグループに分けられる傾向が示された。低悪性度群および高悪性度群の比較では、各群で差のある microRNA を同定したが、それらは細胞増殖や転移能に関係したものであった。

(3) 長鎖非コード RNA の発現の解析

数種類の長鎖非コード RNA について発現を比較したが、発生臓器間あるいは悪性度による違いは見いだせなかった。

(4) 発現解析

代表的症例について主要ながん関連経路に関係する遺伝子の発現を網羅的に検索し、microRNA や長鎖非コード RNA の発現との関係を検討した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 6 件)

- ① 高澤 豊 他、胃消化管間質腫瘍における悪性度評価のバイオマーカーとしての miRNA 発現、日本病理学会、2015
- ② 神田 浩明 他、GIST 骨転移 4 例の細胞学的検討、日本臨床細胞学会、2015
- ③ 杉浦 善弥 他、日常の細胞診での肉腫診断の進め方について、日本臨床細胞学会、2017
- ④ 古田 則行 他、胃粘膜下腫瘍の多彩性、日本臨床細胞学会、2018
- ⑤ 池畑 浩一 他、消化器領域における EUS-FNA on-site cytology 当院の運用方法、日本臨床細胞学会、2019
- ⑥ Yutaka Takazawa, Non-epithelial tumor of the gastrointestinal tract, 3rd Dongwu Forum on New Advances in Gastrointestinal Malignancies, 2019

[図書] (計 2 件)

- ① 高澤 豊 他、文光堂、腫瘍病理鑑別診断アトラス 胃癌 第 2 版、2015、308
- ② 高澤 豊 他、武藤化学、希少がんと細胞診 1、2018、107

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者：なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：長野裕子

ローマ字氏名：NAGANO Yuko

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。