

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 17 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 年 ～ 2011 年

課題番号：21591694

研究課題名（和文） 消化管間質腫瘍（GIST）における KIT キナーゼ耐性クローンの多様性に関する研究

研究課題名（英文） Diversity of imatinib-resistance clones in gastrointestinal stromal tumors

研究代表者

神田 達夫（KANDA TATSUO）

新潟大学・医歯学系・講師

研究者番号：80303147

研究成果の概要（和文）：イマチニブ二次耐性消化管間質腫瘍（GIST）の組織学的、遺伝子学的多様性をホルマリン固定パラフィン包埋切片をもちいて分析した。27 腫瘍中 20 腫瘍（74.1%）が組織形態学的、免疫組織学的に異なる細胞領域をもっていた。全 66 細胞領域中、遺伝子分析が可能であったのは、20 領域（30.3%）に過ぎなかった。

研究成果の概要（英文）：We addressed clonal diversity of imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors (GIST) using histological and genomic approaches. Of 27 imatinib-resistant GIST, 20 tumors (74.1%) were composed of foci that showed morphologically different appearance. Although PCR samples were retrieved from the 66 tumor foci using a microdissection technique, KIT gene analysis was capable in only 20 foci (30.3%).

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011 年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：GIST、遺伝子分析、イマチニブ、耐性、KIT 遺伝子

1. 研究開始当初の背景

KIT キナーゼの阻害薬であるメシル酸イマチニブは転移・再発性消化管間質腫瘍（GIST）に対し高い効果を示す。治療継続中にもかかわらず、有意な効果を示した後に、一部の病巣が悪化する二次耐性という現象があり、分子標的薬に特有の現象として注目されていた。この二次耐性は KIT 遺伝子のチロシンキナーゼ領域に付加的に生じた点変異に基づくことが知られていたが、このような耐性クローンが、どの時点で生まれているのか（イマチニブ治療の前か後か）、また、

どのように生じるのか（本当に単一クローンから発生するのか）は明らかではなかった。

2. 研究の目的

消化管間質腫瘍（GIST）においてメシル酸イマチニブ耐性クローンが、どの時期にどのように生じるかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 材料

新潟大学医歯学総合病院で切除されたイマチニブ二次耐性腫瘍標本のホルマリン固

定パラフィン包埋ブロックを材料とした。病理スライドを組織学的に観察し、同一腫瘍内から形態的に異なる病巣を選び出した。各病巣からマイクロ・ダイセクション法を用いて腫瘍組織を切り出し、遺伝子分析に供した。

(2) 遺伝子分析

腫瘍組織から DNA を抽出し、PCR 法で *KIT* 遺伝子を増幅した。増幅された *KIT* 遺伝子をダイレクト・シーケンス法で分析し、各病巣の二次遺伝子変異を含む *KIT* 遺伝子変異が同一か否かを分析した。

4. 研究成果

(1) 組織学的多様性

イマチニブ二次耐性 27 腫瘍中、病巣内に組織学的形態および免疫反応性の異なる細胞領域が認められた腫瘍は 20 腫瘍 (74.1%) であり、その細胞領域の総数は 66 領域であった (図 1)。

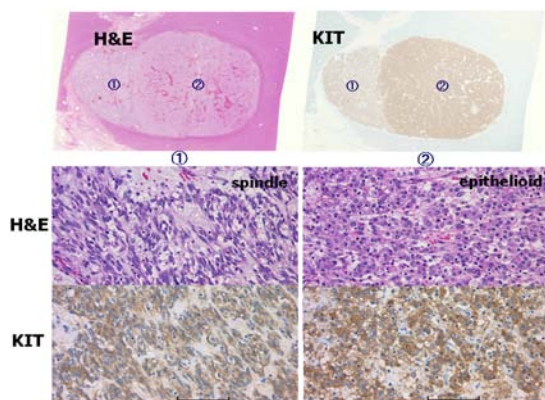


図 1 イマチニブ二次耐性腫瘍内に見られる組織学的多様性

ひとつのイマチニブ二次耐性腫瘍巣が紡錘状の細胞 (①) と類上皮細胞 (②) からなる細胞の二つの異なる細胞集団が相接して形成されている。免疫組織学的な *KIT* 受容体の発現強度も類上皮細胞の方が高い。

(2) 遺伝子分析

上記 66 細胞領域からマイクロ・ダイセクション法で腫瘍組織片を切り出し、得られた組織から DNA を抽出し、*KIT* 遺伝子分析に供した。しかしながら、全 66 細胞領域のうち、信頼に足る遺伝子分析が行い得たものは 6 腫瘍、20 領域に過ぎなかった。分析可能であった領域の *KIT* 遺伝子変異の内訳を以下に記す。

① 一次変異

エクソン 9 であったものが 6 腫瘍中 2 腫瘍 (33%)、エクソン 11 であったものが 4 腫瘍 (67%) であった。

② 二次変異

エクソン 17 の点変異が 4 領域に、エクソン 20 の点変異が 1 領域に認められた。二次変異の好発領域とされているエクソン 13 に

は変異は認めなかった。

エクソン 17 および 20 の変異例はいずれも一次変異がエクソン 11 の腫瘍であった。

(3) 本研究により、*KIT* 遺伝子の恒常的活性化によって生じる GIST においても、組織形態学的に異なる細胞群からなることが示された。しかしながら、これらの細胞群がどのような遺伝子学的特徴を有するのかまで分析することはできなかった。微細な細胞領域ごとの遺伝子分析を行うには、ホルマリン固定後の臨床標本は材料に適さないと考えられ、今後は培養細胞などの生体材料をもちいた研究が必要と思われた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- 1) Tatsuda K, Kanda T, Ishikawa T, Hirota S, 他. Secondary resistance to imatinib mesylate 70 months after initiation of therapy in a patient with a metastatic gastric gastrointestinal stromal tumor. Clin J Gastroenterol. 査読あり. 4, 2011, 218-22.
- 2) 神田達夫, 廣田誠一, 畠山勝義. 上部消化管疾患の実地臨床: GIST に対する内科治療. Medical Practice. 査読なし. 28, 2011, 341-346.
- 3) Sato H, Kanda T, Hirota S, Bamba T, Sakamoto K, Kosugi S, Matsuki A, Mashima Y, Ajioka Y, Hatakeyama K. Surgical resection of gastrointestinal stromal tumor of esophagus following preoperative imatinib treatment: a case report. Esophagus. 査読あり. 7, 2010, 65-69.

[学会発表] (計 2 件)

- 1) 神田達夫, 石川 卓, 畠山勝義. 切除不能・転移性消化管間質腫瘍に対するイマチニブ治療-二次耐性と増悪腫瘍切除. パネルディスカッション「消化器疾患における分子標的治療」JDDW2011、福岡市、2011年10月21日.
- 2) 神田達夫, 廣田誠一, 畠山勝義. イマチニブ治療増悪後の治療戦略-二次耐性腫瘍切除の位置付け. ワークショップ「GISTの基礎と臨床」JDDW2010、横浜市、2010年10月14日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神田 達夫 (KANDA TATSUO)
新潟大学・医歯学系・講師

研究者番号：80303147

(2)研究分担者

味岡洋一 (AJIOKA YOICHI)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号：80222610

廣田 誠一 (HIROTA SEIICHI)
兵庫医科大学・医学部・教授
研究者番号：50218856

(3)連携研究者

なし