様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成　21 年　6 月　7 日現在

研究種目：基盤研究 C
研究期間：2007～2008
課題番号：19590743
研究課題名（和文）　消化管間質腫瘍（GIST）の転移・再発に関与する遺伝子に関する研究

研究課題名（英文）　Genetic alternation of metastatic and recurrent gastrointestinal stromal tumor (GIST)

研究代表者
澤木　明（SAWAKI　AKIRA）
愛知県がんセンター（研究所）　分子腫瘍学部　研究員
研究者番号：10426489

研究成果の概要：
(1) 当院で治療を行った GIST 患者の臨床情報の整理を行った。凍結組織が保存されているか、パラフィン包埋ブロックが存在しているかを確認した。c-kit および PDGFRa の遺伝子変異や臨床のパラメーターと GIST の経時的変化との相関に関して検討を行った。本邦においても欧米と同様に c-kit exon11 が最も多く、次に exon9 であり、イマチニブの臨床効果も exon11 で高かった。

(2) DNA アレイを用いたエピジェネティックに制御されるがん関連遺伝子の解析を行うとともに、凍結組織より RNA を抽出して cDNA アレイを用いた網羅的発現解析を行ない、細胞接着などの転移・侵潤に関する遺伝子群の発現について検討した。転移・再発を認めた GIST にメチル化の頻度が極めて高い 2 つの遺伝子を同定した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
2007 年度	**2,700,000**	**810,000**	**3,510,000**
2008 年度	**900,000**	**270,000**	**1,170,000**
年度			
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：消化器内科学
キーワード：消化管間質腫瘍、転移、再発

１．研究開始当初の背景

GIST の腫瘍化の原因遺伝子として c-kit および PDGFRA の遺伝子変異が報告されているが、GIST の悪性度に関与する遺伝子はほとんど解明されていない。GIST の腫瘍形成過程を解明することで新しい治療薬の開発、転移・再発の診断が可能になると期待される。

２．研究の目的

(1) イマチニブの感受性は c-kit 遺伝子変異の部位により予想可能であるが、その耐性に関与する遺伝子は明らかではない。臨床効果を予測するサロゲートとなる遺伝子マーカーを明らかにする。

(2) GIST の悪性度は腫瘍径と核分裂像によ

り規定されている。しかし、この悪性度の基準では必ずしも転移・再発を予測できないため、転移･再発に関与する遺伝子を同定する。

３．研究の方法

(1) あらかじめ遺伝子検索の同意が得られている GIST 患者の腫瘍組織を①凍結切片②パラフィン包埋切片に分類し、すべての患者の臨床情報を整理した。

(2) ①および②より抽出した遺伝子を増幅し、GIST の腫瘍化に関与する c-kit および PDGFRA 遺伝子の変異を検索し、採取方法や検体量別の再現性の確認を行った。

(3) Methylated CpG Island amplification-microarray (MCAM) 法を用いて 6,157 遺伝子のプロモーター領域の DNA メチル化異常を網羅的に解析した。同定した遺伝子のメチル化状態をパイロシークエンス法により定量的に解析して GIST の臨床病理学的背景との関連を検討した。

４．研究成果

(1) 臨床情報を整理することで､GIST の発生部位の頻度が明らかとなった。既報と同様に胃原発が最も多く次に小腸であった。しかし、転移・再発をきたした GIST の原発部位は小腸が最も多く胃が第 2 位であった。胃 GIST は当初、胃粘膜下腫瘍として診断される。粘膜下腫瘍における GIST の頻度は 67%であることが判明した。

(2) 超音波内視鏡下穿刺吸引生検法により得られた検体における診断でも免疫組織学的診断のみならず遺伝子検索が可能であることが明らかとなった。

(3) 遺伝子変異と GIST の悪性度、DNA メチル化様式には相関が認められなかった。6,157 遺伝子のうち良性 GIST 群では 375 遺伝子、悪性 GIST 群では 503 遺伝子で DNA メチル化異常を認め、悪性度の高い GIST で有意に高頻度に DNA メチル化異常を認めた(P=0.01)。また悪性 GIST と良性 GIST は異なったクラスターに集積する傾向にあった。総ゲノムの DNA メチル化を反映する LINE１のメチル化レベルは良性 GIST 群で 69%、悪性 GIST 群で 65%であり、悪性度の高い GIST で LINE１のメチル化低下が認められた（P=0.004)。以上の結果より、GIST の発症には KIT 遺伝子、PDGFRα遺伝子のチロシンキナーゼ受容体の変異が重要であるが、その進展にはゲノム全体の低メチルとプロモーター領域のメチル化亢進が深く関与していると考えた。

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　4 件）
(1) 澤木明､山雄健次　医学書院､臨床外科､2009､64 巻 2 号 P197-183 転移・再発 GIST に対するイマチニブ治療　査読無
(2) 澤木明、南江堂、内科、2008、101 巻 6 号 P1133-1136　消化器　消化管間質腫瘍（GIST）　査読無
(3) 澤木明、水野伸匡、伯耆徳之ら（1 番/15 人)、医学書院、胃と腸、2008、43 巻 2 号 P199-204 GIST の自然史　査読無
(4) 澤木明、水野伸匡、山雄健次。メジカルビュー社、Mebio、2007、24 巻 5 号 P50-55 Gastrointestinal stromal tumor に対するイマチニブ・メシレート療法　査読無

〔学会発表〕（計　5 件）
(1) Akira Sawaki. Diagnostic Utility of Endoscopic Ultrasound-guided Fine Needle Aspiration for Gastric Submucosal Tumors. KJSGE2009. 2009 年 3 月 28 日. Seoul
(2) Akira Sawaki. DIAGNOSTIC IMPACT OF ENDOSCOPIC ULTRASOUND GUIDED FINE NEEDLE ASPIRATION FOR GASTRIC SUBMUCOSAL TUMORS. UEGW2008. 2008 年 9 月 21 日. Wienna
(3) Akira Sawaki. Diagnostic Utility of Endoscopic Ultrasound Guided Fine Needle Aspiration for Gastric Submucosal Tumors. World Cancer Congress2008 2008 年 6 月 14 日.Shanghai
(4) Akira Sawaki. Diagnosis of gastric submucosal tumors using endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration. 2008ASCO Annual meeting. 2008 年 6 月 2 日. Chicago
(5) Akira Sawaki. Long-term follow-up of patients with gastrointestinal stromal tumors in stomach. 2008 Gastrointestinal cancers symposium. 2008 年 1 月 25 日. Orlando

〔図書〕（計　0 件）

〔産業財産権〕
○出願状況（計　0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

なし

６．研究組織
(1)研究代表者
　澤木　明（SAWAKI　AKIRA）
　愛 知 県 が ん セ ン タ ー （ 研 究 所 ）
　分子腫瘍学部　研究員
　研究者番号：10426489
(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし