

平成 21年 5月 31日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19790939

研究課題名（和文） 消化管間質腫瘍悪性化機序の解明

研究課題名（英文） Analysis of malignant mechanism of gastrointestinal stromal tumors

研究代表者

瀬戸口 智彦（SETOGUCHI TOMOHIKO）

浜松医科大学・医学部・リサーチアシスタント

研究者番号：19790939

研究成果の概要：

GIST 臨床検体を用いて、マイクロアレイ解析で網羅的遺伝子解析を施行。さらに Real time-PCR 解析を用いることで、GIST 悪性化機序に関わると予測される遺伝子候補を見出した。良性 GIST と悪性 GIST の間で現在蛋白レベルでも発現に違いがあるのか免疫組織染色で解析中である。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	0	1,700,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

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：消化管間質腫瘍（GIST）,肝転移,loss of heterozygosity

1. 研究開始当初の背景

消化管間質腫瘍（GIST）は、長期にわたり診断基準が確立されず、その起源も不明であり、外科治療が唯一の治療法である予後不良な疾患であった。しかし、消化管のペースメーカーである Cajal の介在細胞が由来の腫瘍であり、c-kit 遺伝子の機能獲得性変異が原因であると報告されて以来、GIST の診断と治療方針は一変した。特に慢性骨髄性白血病に対する分子標的治療薬であるイマチニブが GIST 患者に投与され有効な成績を治め、一時はイマチニブにより再発 GIST も根治可能と思われた。しかし、二次耐性により腫瘍の再増殖が認められ問題となった。しかし、耐性

の出現や GIST 悪性化機序のメカニズムについては不明な点も多くそれらの解析が治療方針決定のために重要な課題であった。

2. 研究の目的

1 で述べた背景から GIST 悪性化機序のメカニズムを解析すること、および術後再発リスクの高い症例を検討して補助化学療法としてのイマチニブ投与症例を選別することが目的である。

3. 研究の方法

臨床検体を用いて、通常の遺伝子解析 (PCR 法) で c-kit および PDGFRA 遺伝子変異を検索する。また凍結検体を用いて RNA を抽出、網羅的に遺伝子解析を施行し、その後の患者の経過を追うことで悪性化に関わる遺伝子群を同定する。それらは、おもにマイクロアレイ解析で検討する。さらにマイクロアレイで有意差のあった候補遺伝子を Real time PCR で解析することで mRNA のレベルを比較する。蛋白発現の違いを比較するために、多施設からパラフィンブロックを収集し、免疫組織染色を施行し臨床病理学的に解析することで悪性化に関与するメカニズムを同定する。

4. 研究成果

2004 年 8 月～2008 年 11 月までに当院で手術を施行した原発 GIST6 例と肝転移 GIST8 例を対象とし、すべての検体から mRNA を抽出しマイクロアレイ解析を施行した。原発部位は胃が 4 例、小腸が 2 例ですべてイマチニブ非投与例であった。肝転移症例はイマチニブ非投与切除症例が 5 例、イマチニブ投与後切除症例が 3 例であった。悪性化に関与する遺伝子検索のため 1. 原発部位 (胃 vs 小腸) 2. 大きさ (<5cm vs >5cm) 3. Ki67 (<10% vs >10%) 4. exon 変異部位 (exon11 vs それ以外) 5. 原発巣と転移巣 6. イマチニブ投与転移群と非投与転移群 7. 再発までの期間 (<12 ヶ月 vs >12 ヶ月) をパラメーターとして各々 2 群に分け、発現の異なる遺伝子群を検索した。【結果】 2 群間での遺伝子発現を $p=0.05$, Fold change 2 倍以上をカットオフ値として解析した結果 1. 235 遺伝子 2. 208 遺伝子 3. 3 遺伝子 4. 19 遺伝子 5. 429 遺伝子 6. 75 遺伝子 7. 58 遺伝子が候補に挙げられた。その中から癌の転移や悪性化に関わるといわれている 16 個の遺伝子を、悪性化メカニズムに関わる癌遺伝子として候補に挙げ RT-PCR 解析を施行した。その結果有意差のあった遺伝子を 4 個に絞り、蛋白発現を調べるため、現在多施設からパラフィンブロックを集積し免疫組織染色を施行中である。

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 1 件)

Hirotohi Kikuchi

Effect of loss of heterozygosity of the c-kit gene on prognosis after hepatectomy for metastatic liver gastrointestinal stromal tumors.

Cancer Science 98 (11):1734-39,2007

[学会発表] (計 2 件)

① Tomohiko Setoguchi

Effect of loss of heterozygosity of the c-kit gene on Liver metastasis from gastrointestinal stromal tumors.

American association for cancer research, April 2008, Sandiego

② 山本真義

GIST 肝転移に対する根治的肝切除後の Imatinib 適応症例についての解析

日本癌治療学会、2008 年 10 月 30 日、名古屋

[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]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瀬戸口智彦 (SETOGUCHI TOMOHIKO)

浜松医科大学・医学部・リサーチアシスタント

研究者番号 : 80436956

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者