

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461970

研究課題名(和文)消化管間質腫瘍の発生部位と予後に関わる遺伝子の解析

研究課題名(英文) Analysis of gene expression involved in the prognosis and occurrence site of gastrointestinal stromal tumors

研究代表者

石川 卓 (ISHIKAWA, Takashi)

新潟大学・医歯学総合病院・准教授

研究者番号：70586940

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：小腸原発の消化管間質腫瘍(GIST)は胃原発GISTと比較して予後不良であり、自律的細胞増殖と腫瘍化に關与することが知られているDNPH遺伝子の關与に着目した。小腸GISTが臨床学的に悪性度の高いことを確認し、切除標本を用いてDNPH1の発現を検討した。DNPH1は胃原発、小腸原発のいずれのGISTにおいても発現が認められ、原発臓器の違いによる差異を見出すことはできなかったが、DNPH1の発現が腫瘍の発育に寄与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Gastrointestinal stromal tumor (GIST) of the small intestine has poor prognosis compared to that of the stomach. We focused on the involvement of the DNPH1 gene, which is known to be involved in autonomous cell proliferation and tumorigenesis. We confirmed that GISTs of the small intestine had high malignant potential clinically and examined the expression of DNPH1 using surgically resected specimens. DNPH1 expression were clearly observed in GIST specimens both of the small intestine and of the stomach. Although differences of the DNPH1 expression due to differences in primary organs was not clear, the expression of DNPH1 may contribute to tumor involvement.

研究分野：消化器外科学

キーワード：消化管間質腫瘍

1. 研究開始当初の背景

消化管間質腫瘍 (Gastrointestinal Stromal Tumor: GIST) の悪性度は個体間、腫瘍間で大きな差がある。一般的に用いられる予後予測因子は、腫瘍径、核分裂像の2点であり、これらを組み合わせた NIH 分類によって予後予測がなされてきた。近年ではこれに原発部位、腫瘍破裂の要素を加えた modified NIH 分類が提唱され、これらのリスク分類を用いて再発高リスク群を推定し、術後補助分子標的治療が行われている。

小腸原発 GIST は胃原発 GIST と比較して予後不良であるが、小腸原発 GIST の高悪性度の背景にある分子機構は明らかにされていない。過去に申請者らは、多層のオミクス解析により小腸原発 GIST において、癌抑制遺伝子である PML の発現が低下していることを見出した。また、多施設共同の検証研究により、PML 低発現症例の術後無再発生存期間が短いことを明らかにした。同研究では、PML 以外にも、小腸原発 GIST において発現が変化している 17 種の遺伝子が同定されている。その中で、2'-deoxynucleoside 5'-phosphate N-hydrolase 1 (DNPH1 もしくは RCL) は小腸原発 GIST で特異的に高発現していた。DNPH1 は c-Myc のターゲットの一つとして発見された酵素で、自律的細胞増殖と腫瘍化に関与することが知られている。また近年では、KIT シグナルの下流にある転写因子、ETV1 により転写調節を受けることも報告されており、GIST の発育、転移に関与している可能性が高い。

そこで申請者らは、「GIST における DNPH1 高発現は腫瘍の悪性度や分子標的治療の感受性に関与する。そして、GIST 組織中の DNPH1 発現の評価は、GIST 患者の予後予測に有用である」という仮説を立て、本研究を計画した。

2. 研究の目的

小腸原発 GIST の高悪性度の原因を明らかにするため、また悪性度の評価や治療に結びつけるため、背景にある分子機構を明らかにすることが重要であり、その一機序として DNPH1 発現に注目した。本研究の目的は、「GIST における DNPH1 遺伝子発現と腫瘍の悪性度や分子標的治療の感受性との関連を解明し、術後補助化学療法が必要な再発高リスク群の予測に有用な新規バイオマーカーを開発すること」である。

3. 研究の方法

初発 GIST 症例の外科的切除検体を使用し、DNPH1 遺伝子の腫瘍組織における発現形式を免疫組織化学染色の手法を用いて検出し、再発や予後との相関を統計学的に解析する。

分子標的治療後に外科的切除を行った

GIST 症例の切除検体を使用し、DNPH1 遺伝子の腫瘍組織における発現形式を免疫組織化学染色の手法を用いて検出し、予後や分子標的治療に対する感受性との相関を統計学的に解析する。

4. 研究成果

当院で 2000 年 5 月から 2012 年 8 月に外科的切除を行った初発 GIST 症例は 77 名であった。原発巣は胃 46 例、十二指腸 4 例、空腸・回腸 17 例、直腸 9 例、食道 1 例であった。腫瘍最大径の中央値は十二指腸原発 GIST で 9.4cm、空腸・回腸原発で 7.5cm であり、胃原発の 5.0cm、直腸原発の 3.2cm より大きく、小腸原発 GIST は発見契機が有症状である率が 57.1% と高かった。再発リスク判定も十二指腸原発で 75%、空腸・回腸原発で 59% が高リスク群と判定され、胃原発 GIST (17%) と比べて高リスク症例が多かった。再発は胃原発 GIST の 4 例、小腸原発 GIST の 5 例で認められた。図 1 に示すように、小腸 GIST の 5 年無再発生存率は 75.8% で、胃原発 GIST の 87.9% より有意に不良であった。

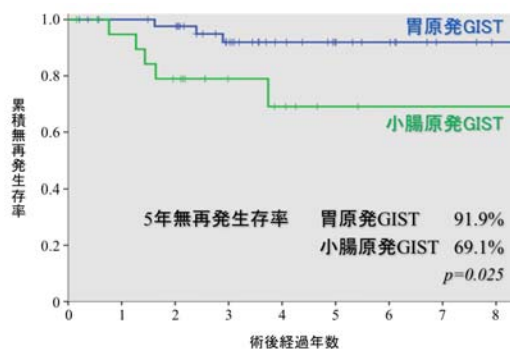


図 1. 胃および小腸 GIST 根治切除術後の無再発生存曲線

外科的切除が行われた胃原発 GIST 症例 4 例、小腸原発 GIST 症例 4 例でプロテオーム解析を行った結果を図 2 に示す。腫瘍の新鮮凍結検体から抽出したタンパク質検体を SDS-PAGE にて 24 の分子量分画に分離し、LC-MS/MS を用いてタンパク質の同定と定量を行った。合計 2600 のタンパク質を同定し、そのうち 29 のタンパク質が小腸原発 GIST に高発現していた。その中で、小腸原発 GIST における DNPH1 の発現は、胃原発 GIST のそれに比べて 4.57 倍高かった。

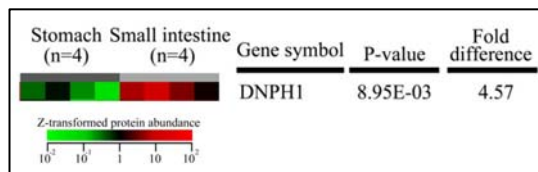


図 2. 胃原発および小腸原発 GIST における DNPH1 蛋白発現量のヒートマップ

公共データベースである Gene Expression Omnibus から外科的切除が行われた胃原発 GIST 症例 23 例、小腸原発 GIST 症例 9 例の mRNA 発現データを取得した。DNPH1 の mRNA 発現データを抽出し、胃原発 GIST と小腸原発 GIST 間で比較を行った (図 3)。小腸原発 GIST における DNPH1 mRNA の発現は、胃原発 GIST のそれに比べて有意に高かった。

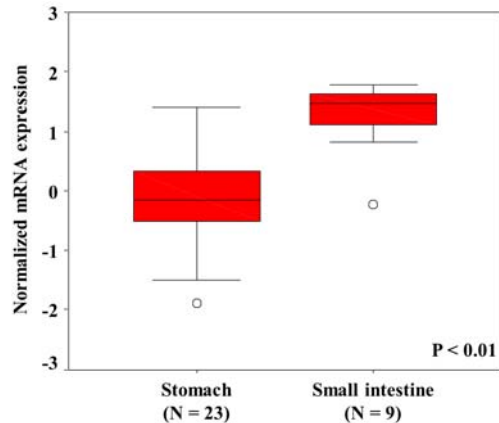


図 3. 胃原発および小腸原発 GIST における DNPH1 mRNA 発現

これらの結果に基づき胃原発 GIST 4 例、小腸原発 GIST 8 例、直腸原発 GIST 2 例をピックアップし、切除標本の免疫染色を行った。DNPH1 染色像を図 4 に示す。組織標本での免疫染色法では、発現が相対的に乏しいと考えられる胃原発 GIST においても、びまん性に陽性となり、小腸、直腸との染色性の違いは見いだせなかった。

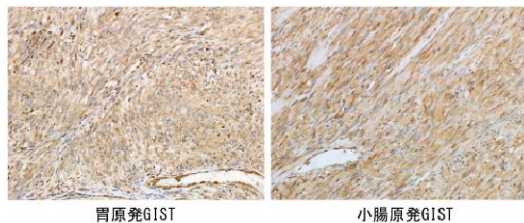


図 4. 組織標本における DNPH1 免疫染色

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 Ichikawa H, Yoshida A, Kanda T, Kosugi S, Ishikawa T, Hanyu T, Taguchi T, Sakumoto M, Katai H, Kawai A, Wakai T, Kondo T. Prognostic significance of promyelocytic leukemia expression in gastrointestinal stromal tumor; integrated proteomic and transcriptomic analysis. *Cancer Sci*. 査読有、106 巻、2015、115-124.

DOI: 10.1111/cas.12565

② Kanda T, Ishikawa T, Kosugi SI, Ueki K, Naito T, Wakai T, Hirota S. Prognostic factors after imatinib secondary resistance: survival analysis in patients with unresectable and metastatic gastrointestinal stromal tumors. *Int J Clin Oncol*. 査読有、21 巻、2016、295-301
DOI: 10.1007/s10147-015-0903-7

③ Sugase T, Takahashi T, Ishikawa T, Ichikawa H, Kanda T, Hirota S, Nakajima K, Tanaka K, Miyazaki Y, Makino T, Kurokawa Y, Yamasaki M, Takiguchi S, Wakai T, Mori M, Doki Y. Surgical resection of recurrent gastrointestinal stromal tumor after interruption of long-term nilotinib therapy. *Surg Case Rep*. 査読有、2 巻、2016、137.

DOI: 10.1186/s40792-016-0266-y

[学会発表] (計 5 件)

⑤ 石川卓、イマチニブ治療で長期生存を得られた GIST 患者の検討、第 52 回日本癌治療学会学術集会、2014 年 8 月 30 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

④ 石川卓、イマチニブ治療中止による GIST 再燃症例の検討、2015 年 3 月 5 日、第 87 回日本胃癌学会総会、リーガロイヤルホテル広島 (広島県広島市)

③ 石川卓、初発消化管間質腫瘍の手術成績、第 115 回日本外科学会定期学術集会、2015 年 4 月 17 日、名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市)

② 石川卓、高齢者消化管間質腫瘍に対するイマチニブ治療、2016 年 3 月 8 日、第 88 回日本胃癌学会総会、別府コンベンションセンター (大分県別府市)

① 石川卓、Gastrointestinal stromal tumor followed without treatment - a report of three cases. 2017 年 3 月 10 日、第 89 回日本胃癌学会総会、広島国際会議場 (広島県広島市)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

石川 卓 (ISHIKAWA, Takashi)
新潟大学・医歯学総合病院・准教授
研究者番号：70586940

(2)研究分担者

若井 俊文 (WAKAI, Toshifumi)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号：50372470

羽入 隆晃 (HANYU, Takaaki)
新潟大学・医歯学総合病院・助教
研究者番号：50719705

小杉 伸一 (KOSUGI, Shin-ichi)
新潟大学・医歯学総合病院・特任教授
研究者番号：90401736

小山 諭 (KOYAMA, Yu)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号：10323966

亀山 仁史 (KAMEYAMA, Hitoshi)
新潟大学・医歯学系・准教授
研究者番号：40626420

市川 寛 (ICHIKAWA, Hiroshi)
新潟大学・医歯学系・助教
研究者番号：50721875

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし