

**KIT並びにPDGFRA遺伝子に変異を伴わない消化管間質腫瘍(GIST)の
臨床病理遺伝学的研究**

研究実施計画書

主任研究者 : (財)大阪警察協会 大阪警察病院 外科 西田 俊朗

1. 研究デザイン

本研究は、多施設共同、後ろ向き探索研究である。

その目的は、*KIT*や*PDGFRA*遺伝子に変異を伴わないGIST—例えば、神経線維腫症に合併するGISTや小児型GIST—の臨床病理学的或いは遺伝的特徴や予後を明らかにし、治療法を開発することである。

2. 背景

消化管間質腫瘍 (Gastrointestinal stromal tumor; GIST) は食道～直腸までの消化管と腸間膜に発生する10万人に1-2人と比較的稀な、*KIT*タンパク質を特異的に発現する消化管の間葉系腫瘍である¹⁾。GISTの発生・増殖の主な原因は、*KIT* (85～90%) または血小板由来増殖因子受容体アルファ (*PDGFRA*: 5～10%) 遺伝子の機能獲得型突然変異である¹⁾。多くの場合、これらの変異を持つGISTには、*KIT*や*PDGFR*の拮抗阻害剤であるイマチニブやスニチニブが治療効果を持つ。両薬剤の効果は、GIST細胞の持つ遺伝子型と強く関連する¹⁾。一方、少数だが、*KIT*と*PDGFRA*に遺伝子変異を認めないGISTが存在し、これらの原因は、ニューロフィブロミン (NF-1) やコハク酸脱水素酵素 (Succinate Dehydrogenase: SDH) の失活化であったり、*KIT*や*PDGFRA*の下流の遺伝子 (*RAS*や*BRAF*) の機能獲得型突然変異であったりする²⁾。これらの変異を持つGISTでも、*KIT*タンパク質が強発現していることが報告されている。只、これら遺伝子変異を持つGISTに対しては、イマチニブは殆ど活性を示さず、スニチニブの治療効果も高くなく²⁾、新たな治療法の確立や治療薬の開発が必要である。

神経線維腫症は、末梢神経線維の周囲を覆うシュワン細胞などの末梢神経を支持する細胞の増殖した腫瘍が多発する疾患である。神経線維腫症には2つのタイプがあり、フォン・レックリングハウゼン病 (Neurofibromatosis) として知られている末梢性の1型 (NF1) と、中枢性の2型 (NF2) です。1型は常染色体優性遺伝を示し、NF1遺伝子 (neurofibromin 1) 異常で生じ、3000人に約1人の頻度で診られ、2型はNF2遺伝子 (schwannomin or merlin) 以上で生じ、4万人に約1人の頻度で診られます。NF1では、多数の皮下腫瘍やカフェオーレスポットが特徴的で、通常思春期を過ぎて発症する。

正確な疫学調査は無いものの、NF1の患者では、経過中約10%の患者さんにGISTが発生すると言われている。その詳細は不明であるが、多くは十二指腸から～空腸～回腸まで多発性にGISTが発生し、ごく一部が時に悪性を示し、予後を悪くする。症例報告では、消化管表面に多数の*KIT*陽性GISTを認め (多くは数mm大まで)、殆どの症例でmitotic countは少なく、sporadic GISTによく見られる*KIT*や*PDGFRA*遺伝子の変異を認めない。逆に、再発進行時には、sporadic GISTで有効な分子標的薬剤が無効であることが多い。

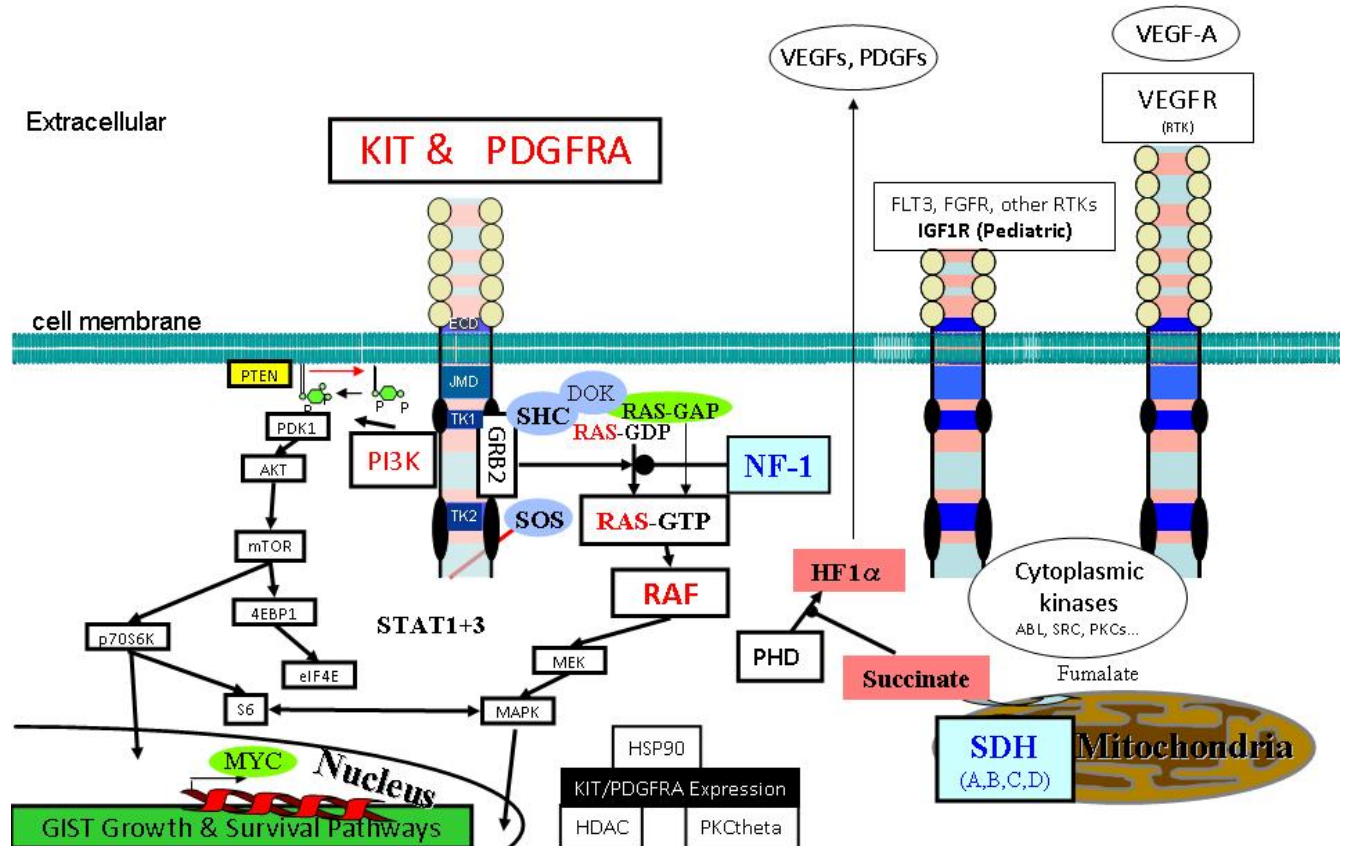
NF1に合併したGISTは非常に稀な腫瘍であることもあり、現在まで、どの様な経過を辿り、どの様な臨床病理学的特徴があるか、手術がどの程度有効であるか殆ど不明の状態である。更に、進行時の治療法や有効な治療薬剤がないのが現状である。従って、稀なNF1に合併したGISTを集積し、その臨床経過や細胞遺伝学的特徴を明らかにし、治療法を確立することは重要である。この治療法の確立は、他のNF1合併腫瘍や疾患の治療にも適応できる可能性があり、遺伝性腫瘍の治療法確立の先駆けになると期待される。

一方、小児型GISTは、最近の研究で、家族性のCarney-Stratakis syndrome (胃GISTと paragangliomasを合併)と同じくSDH (Succinate Dehydrogenase)の失活で生じると考えられている。SDHはSDHA, SDHB, SDHC, SDHDからなり、これらのどれかサブユニットの変異でSDHの失活が生じ、HIF1- α の上昇がおり、小児型GISTが発生すると考えられている。しかし、この小児型GISTに対しても、その臨床病理学的特徴はまだ明確でなく、有効な治療法も確立していない。

その他、非常に稀ではあるがKITやPDGFRAチロシンキナーゼの下流にある細胞内シグナル伝達系 (BRAf, RAS等)の遺伝子変異でもGISTが発生する(図参照)。

これらのGISTは共通してKIT・PDGFRA遺伝子変異を伴わない。稀なKITやPDGFRA遺伝子に変異を伴わないGISTの殆どで、臨床病理学的特徴は不明であり、また、これらに有効な薬剤は、現在の所、無いのが現状である。

GISTの原因遺伝子とシグナル伝達カスケード



3. 目的

本研究では、retrospectiveに、神経線維腫症に合併するGIST等KITやPDGFRA遺伝子に変異を伴わないGIST患者の臨床データを集積、外科手術された病理組織を集積し、散発性GISTと比較対照とし、以下の項目を検索、新たな治療法の開発の為の基礎データ作成を目的とする。

- 1) GISTの発生部位、発生様式、大きさ、合併乃至併存症、臨床経過等臨床学的特徴
- 2) 免疫組織染色等による病理学的特徴
- 3) 治療方法(外科的あるいは内科的治療)と予後
- 4) 細胞内シグナル伝達系の活性化状態やフィードバックの状態
- 5) *KIT*, *PDGFRA*, *NF1*, *SDHs*, *BRAF*, *NRAS*, *HRAS*を含めた遺伝子変異解析と遺伝子学的特徴

a) 適格規準

- ① 選択規準:以下を満たすもの
 - 1) 病理組織学的に診断された原発性GIST
 - 2) GIST関連の遺伝子解析に関しては、既に、別のGISTの遺伝子解析研究に関して同意が得られており、同時に検体の二次利用同意が得られているか、添付説明文書により、本人または代諾者から本研究参加への同意が得られる
- ② 除外規準:以下のいずれかを満たすもの
 - 1) 臨床情報(診断、疾患状態、外科的および内科的介入など)が得られそうにない
 - 2) 担当医が登録は不適切と考える症例

b) 調査解析方法

一次調査:2000年以降に治療介入され、上記的確基準に合う神経線維腫症を合併するGIST、小児型GIST等*KIT*や*PDGFRA*遺伝子に変異を伴わないGIST症例があるかどうかを各病院にアンケート調査する。

二次調査:一次調査で神経線維腫症を合併するGIST、小児型GIST等*KIT*や*PDGFRA*遺伝子に変異を伴わないGIST症例の治療経験を持つ病院の担当医師に、GIST研究会の「GIST患者における観察研究」や近畿GISTの「近畿GIST研究会GIST登録事業」と同じく、下記の調査項目を含む臨床病理遺伝学的情報を提供して頂く。

主な調査項目は原発GISTの部位、大きさ、転移の有無および転移部位、外科的介入の内容、内科的介入の内容、*KIT*遺伝子変異の有無、*PDGFRA*遺伝子変異の有無、病理組織学的特徴、免疫組織染色、予後転帰など。

三次調査:二次調査で十分に臨床病理学的情報が得られた症例に関し、切除残余材料を用いて、病理検索、免疫組織染色、生化学測定を行う。また可能であれば十分なICの下、切除腫瘍標本(パラフィンまたは凍結)があれば提供を願い、サンプルの遺伝子解析(somatic mutations)を行う。

主な解析内容は、免疫組織染色(GISTその他間葉系腫瘍のマーカー、カハール細胞マーカー、神経線維腫症に診られるマーカー、SDHs、HIF1,血管やリンパ管マーカー、例え

ばD2-40, CD31等)、チロシンキナーゼのリン酸化状況、チロシンキナーゼ活性の測定、遺伝子解析(GISTの原因遺伝子*KIT*, *PDGFRA*, *RAS*, *BRAF*, *SDH*, *PI3K*, *IGF1R*, *NF1*, *NF2*等)、細胞内シグナル伝達系分子の発現とリン酸化状態等。

c) 予定登録数と調査期間

予定登録数:約20~30人

コントロールとして大阪警察病院で手術をされ臨床病理遺伝子解析結果がわかっているGIST症例20人を比較

参加施設:大阪警察病院、大阪大学医学部附属病院等

登録期間:2000年以降~2012年倫理委員会承認後解析時点まで

研究期間:2012年(倫理委員会承認後)~2015年

対照症例:2000年以降~倫理委員会承認後解析時点までに神経線維腫症を合併する原発GIST、小児型GIST等*KIT*や*PDGFRA*遺伝子に変異を伴わないGISTを手術或いは治療された患者 約20~30人

*KIT*或いは*PDGFRA*遺伝子変異を伴うGIST患者 約20人

4. 研究実施にあたっての倫理上の問題点

本研究で、一次並びに二次調査において収集される情報は、被験者を特定できる個人情報を含めない。ただし後日情報の確認が必要となることを考慮して、各施設において連結可能匿名化の処置を行う。各個人情報は、各施設で独自につけた記号・認識番号を用いて、研究事務局(データセンター)に送付される。その際、記号・認識番号と患者カルテ番号を対応させた対応表を作成し、施設の研究実施責任医師が保管する。(連結可能匿名化)対応表については、施設から外部に知らされることはない。

調査研究が事務局施設において承認されたのち、大阪警察病院のホームページ上に調査内容の概要について公開する。被験者は、ホームページにアクセスすることにより本調査研究について知ることができる。一次並びに二次調査研究までは、被験者の同意は、原則必要ないと判断する。ただし、各施設の倫理審査委員会で、患者からの同意が本疫学研究に関して必要と判断された場合は、被験者からの同意を取得する。同意取得の方法は、疫学研究倫理指針に沿って実施する。また、三次調査に伴う探索的研究では、追加の免疫染色、キナーゼのリン酸化状況、キナーゼ活性の測定、somatic mutationsではあるが遺伝子解析を行うので、各施設において改めて、患者から(患者が既に死亡している等特別な理由でICに出席できない場合は、近親者から)書面でICの上、同意を得て行う。但し、三省合同指針に基づき、既に遺伝子解析の承諾を得ており、更に、検体の二次利用に関しても十分なICの下、承諾を得ている場合は、倫理委員会の承認後、改めてICを行わない。

一次並びに二次調査では、施設の診療記録に基づいた情報のみを使用して実施するため、本研究においては新たに生体試料を採取あるいは医療行為を行うなどの侵襲的な介入は行わない。また、三次調査に伴う探索的研究でも、既に臨床的診断・治療目的で行われた生検や手術等の残余材料を用いるため、この研究のために改めて組織や血液等生体試料を採

ることではない。

5. 研究の医学的意義

日本においても2008年にGISTの診療ガイドラインが策定され、GISTの治療は標準化された。イマチニブやスニチニブが臨床開発され、実臨床で使用される様になり、多くのGIST患者の予後は改善したが、一部のGISTは、これら薬剤に対する感受性が少なく、現在臨床使用できる薬剤では十分な治療を受けられない患者さんがいる。その多くは神経線維腫症を合併するGIST、小児型GIST等KITやPDGFRA遺伝子に変異を伴わないGISTである。KITやPDGFRA遺伝子に変異を伴わないGISTは通称「wild type GIST」と呼ばれ、幾つかの臨床カテゴリーに別けられると考えられているが詳細は不明である。本研究で、「wild type GIST」の臨床病理学的特徴が明らかになり、更に、原因や増殖機構が明らかになれば、これまで有効な治療がなかったこれらGISTに新しい治療薬の開発が可能になる可能性がある。またこの様な非常に稀なGIST患者に関する疫学調査や臨床病理学的解析が行われれば、現状で、これらの腫瘍の性質や外科的治療、内科的治療などの介入が予後に与える影響についても明らかにできる。また、今後の診療に関する重要な情報を提供し、診療治療ガイドラインを検証する上でも有用と考える。

6. 被験者の安全に関する問題点とその対策

一次と二次調査は、後方視的な観察研究のため、本研究によって被験者に対して安全性に関する問題が発生することはない。

三次調査と探索的研究に関しては、元の病院に於いて個人情報と連結可能匿名化されており、得られた情報、解析結果は、インターネット環境から切り離されたコンピューターにパスワード付きで保存し、厳重に管理する。

7. 被験者のプライバシー確保に関する対策

症例登録の際に患者を特定できる個人情報は使用しない。しかし、データ確認等のため情報源を特定する必要を考慮し、各施設において連結可能匿名化を行う。

8. 被験者の個人データ開示について

本研究に登録された情報を被験者に公開することはない。但し、KIT, PDGFRA, NF1, SDHs, BRAF, NRAS, HRASの腫瘍に於ける変異は、今後の治療成績に関連する可能性があるため、治療診断上重要な発見と考えられた場合は、本人に意向を尋ね、本人が希望すれば、本人にのみ開示する。

9. 問合せ先

研究実施計画書の内容について

西田俊朗、若杉正樹(外科)、辻本 正彦(病理)

大阪警察病院 外科

〒543-0035

大阪市天王寺区北山町10番31号

電話:06-6771-6051

ファックス:06-6775-2838

メール:toshin@mvp.biglobe.ne.jp

共同研究者

廣田 誠一

兵庫医科大学 病院病理

〒663-8501 兵庫県西宮市武庫川町1-1

TEL 0798-45-6666

FAX 0798-45-6671

E-mail: hiros@hyo-med.ac.jp

仲哲治

独立行政法人医薬基盤研究所 基盤的研究部 免疫シグナルプロジェクト

プロジェクトリーダー

〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7-6-8

TEL 072-641-9844

FAX 072-641-9837

E-mail: tnaka@nibio.go.jp

高橋剛

大阪大学大学院医学系研究科外科学講座 消化器外科学

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2,E2

TEL 06-6879-3251

FAX 06-6879-3259

E-mail: ttakahashi2@gesurg.med.osaka-u.ac.jp

金田眞理

大阪大学大学院医学系研究科 皮膚科学講座

E-mail: mkaneda@derma.med.osaka-u.ac.jp

平井 敏弘

川崎医科大学 消化器外科学

hiro0928@med.kawasaki-m.ac.jp

山村 真弘

川崎医科大学 臨床腫瘍学

yamamura@med.kawasaki-m.ac.jp

神田達夫

新潟大学大学院 消化器・一般外科学分野

kandat@med.niigata-u.ac.jp