

消化管間質腫瘍(GIST)における vasohibin 発現の意義に関する臨床病理学的検討

[1] 組織

代表者：森谷 卓也

(川崎医科大学)

対応者：佐藤 靖史

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

鹿股 直樹 (川崎医科大学)

山村 真弘 (川崎医科大学)

研究費：物件費 13 万 5 千円，旅費 6 万 5 千円

[2] 研究経過

(目的)

Vasohibin-1はVEGF（血管内皮細胞増殖因子）により制御されている。癌組織においては、正常組織に比して強く発現し、血管増殖を抑制する働きを持つこと、一般に異型度の高い癌においては低い癌に比して vasohibin および VEGFR-2 陽性血管の割合が高いこと、などが知られており、我々も複数臓器の癌においてその発現の様子を確認してきた。

消化管間質腫瘍（Gastrointestinal tumor; GIST）は、消化管の壁に発生する希少腫瘍の一つである。本腫瘍には、血管を豊富に含むものと乏しいものがあることが造影画像診断などから明らかになっている。また、切除不能 GIST に対する第一選択はイマチニブであるが、耐性となった場合、新たな治療薬として血管新生に関わる VEGF 受容体や PDGF（血小板由来増殖因子）受容体に対する分子標的薬（スニチニブ）が承認され、注目を浴びている。

そこで、今回は GIST 症例における vasohibin、ならびに関連物質の発現を免疫組織学的に観察し、スニチニブの治療効果を含めた様々な臨床病理学的因子と比較検討して、GIST における vasohibin 発現の意義について考察することを目的とし研究を行った。

(概要)

以下、研究活動状況の概要を記す。平成 25 年度に研究を開始した。川崎医科大学の倫理委員会より承認を得（川崎医科大学研究番号#1517）、川崎医科大学附属病院で 1997 年から 2012 年の間に過去に手術が施行された GIST 症例の臨床データを抽出するとともに、当該症例の初回手術時病理標本を再検討した。次に各症例の代表的なパラフィンブロックから

新規に組織切片を作製し、免疫組織染色（抗 vasohibin-1 抗体、抗 VEGF 抗体、抗 VEGF-2 受容体抗体、血管内皮マーカー CD31）、増殖マーカー Ki-67 の染色を実施した。

本年度は、一部再染色を行い、染色結果の安定を試みた。次に、グリッド入りの視野で顕微鏡観察を行い、単位面積あたりで陽性に染色される血管数（vasohibin-1, VEGF-2 受容体, CD31）および腫瘍細胞中の陽性核数のラベリングインデックス（Ki-67）をカウントした。しかし、目視による計測の場合は、各症例において代表的な染色性と思われる小範囲を計測するのが限界であるため、より広い範囲の腫瘍組織の状態を把握する目的で、染色組織標本をバーチャルスライド化し、専用のソフトを用いて自動計測することとした。

Ki-67 については他領域の腫瘍（乳癌）における別研究でカウント条件を作成したため、それを利用することが可能であったが、血管数については一部の抗血清で血液成分にも発色がみられてカウント数に齟齬を生じる（実際の数よりも多くカウントしてしまう）例が少なからず認められたため、それらを適正に評価するために行う補正条件の策定を行った。その結果、目視とほぼ同様の結果が得られる、満足のゆく評価プログラムを確立することができた。

研究打ち合わせは、川崎医科大学所属の研究分担者とは学内において染色結果の確認、染色結果の判定法についてミーティングを行った。また、加齢医学研究所対応者の佐藤靖史教授とは、分担研究者の鹿股が、平成 27 年 1 月 11-12 日、仙台において打ち合わせを行い、進捗状況の報告と今後の研究発展に関する協議を行った。また、研究の進捗状況について、電子メールを用いて報告した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

平成 25 年度は GIST 手術症例 78 例（男性 34：女性 44 例、平均年齢 58.4 歳、発生部位は胃 52 例、小腸 17 例、大腸 4 例、腹膜 1 例）、を収集し、免疫組織染色を実施した。また、臨床的因子についてカルテの再調査を行った。

平成 26 年度は、評価法の標準化を行う目的で、

専用ソフトを用いて、目視による計測では困難と思われる広い範囲（組織切片全体）での核計測(Ki-67)、血管数計測（vasohibin-1, VEGF-2 受容体、CD31）の判定条件を策定することができた。特に、微妙な発色がなされた場合にそれらを陽性と判断するかどうか、一つの血管の発色が分断されている場合に同一血管として認識できるか、多くのトライアルを試みて至適な条件を見出すことができた（写真）。



写真：専用ソフトによる自動カウントの様子。全ての視野を計測することが可能である。

（3-2）波及効果と発展性など

組織計測に関して、標本全体を一律に計測することが可能な条件を確立できたので、同様の方法を試みることにより、他の様々な染色にも応用が可能と思われる。昨今、腫瘍病理診断の中に治療の適応決定や効果予測のためのコンパニオン診断の概念が導入されるようになったこともあり、病理組織を用いた免疫組織染色の研究全般への福音となり得ると考えられる。

本研究の成果自体については、計測結果と他の臨床病理学的因子とを照合することにより、治療効果および予後をより的確に推測するための新たな基準の一つが確立されることが期待できる。

[4] 成果資料

（本研究自体の成果はまだ公表されていない）

（参考資料）

- (1) 山村真弘、山口佳之、平井敏弘：GISTの治療における分子標的薬の位置づけ。GISTに対する新しい分子標的治療。癌の臨床 2013, 59巻5号：555-562.
- (2) Ito T, Yamamura M, Hirai T, et al.
Gastrointestinal stromal tumors with exon 8 c-kit gene mutation might occur at extragastric sites and have metastasis-prone nature. Int J Experiment Pathol 2014, 7巻11号, 8024-8031.
- (3) Nishida T, Matsushima T, Yamamura M, et al.
Cyclin-Dependent Kinase Activity Correlates with the Prognosis of Patients Who Have

Gastrointestinal Stromal Tumors. Ann Surg Oncol. 2015 (Epub ahead of print)

- (4) Kanomata N, Sato Y, Moriya T, et al.
Vasohibin-1 is a new predictor of disease-free survival in operated patients with renal cellcarcinoma. J Clin Pathol 2013, 66巻7号: 613-619.
- (5) Polley MY, Leung SC, Moriya T et al.: An international study to increase concordance in Ki-67 scoring. Mod Pathol 2015 (Epub ahead of print)