

主論文の要旨

**Low ETV1 mRNA expression is associated with
recurrence in gastrointestinal stromal tumors**

〔転写因子 ETV1 mRNA 発現低値は術後 GIST 再発と関連する〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態内科学講座 消化器内科学分野

(指導：藤城 光弘 教授)

坂巻 慶一

【緒言】

消化管粘膜下腫瘍の中で最も頻度の高い腫瘍である消化管間質腫瘍(GIST)は、そのほとんどに KIT 遺伝子または PDGFRA 遺伝子の変異を有し、かつ c-kit 蛋白を過剰発現している。GIST におけるこれらの遺伝子変異は c-kit 受容体の活性化に持続的な影響をもたらし、腫瘍増生と密接な関わりをもつため、「機能獲得」変異と呼ばれる。一般に GIST の臨床像は様々であり、悪性度を推測するための新たなバイオマーカーの発見が切に望まれている。

2010 年に、ETV1 遺伝子が GIST において普遍的に発現し、KIT と協調し腫瘍形成に寄与していると報告された。しかし、ETV1 は全ての GIST には発現しておらず、ETV1 発現と GIST の無再発生存率に明らかな違いは認めなかったという別の報告もあり、ETV1 発現と GIST 患者の予後との関係は不明のままである。ETV1 mRNA 発現と GIST のリスク分類及び臨床的特徴との関係を明らかにするために今回の研究を行った。

【対象と方法】

2008 年 10 月から 2015 年 2 月まで名古屋大学医学部附属病院にて外科的切除を受けた GIST 患者連続 64 例を対象とした。GIST は、改訂 NIH コンセンサス基準に従い、超低、低、中、高リスクに分類した。2020 年 3 月時点において術後再発の有無及び生存(中央値 60 カ月、観察期間 2-96 カ月)について予後調査を行った。なお、本研究は名古屋大学医学部附属病院の生命倫理審査委員会の承認を受けて、全ての患者において書面同意を得て行った。

採取した腫瘍組織は液体窒素で凍結したのちトリゾールを用い RNA 抽出した。次いで cDNA 逆転写後、KIT/PDGFRA プライマーにて全長を PCR 増幅し、ダイレクトシーケンス法にて遺伝子変異解析を行った。ETV1 定量解析はリアルタイム PCR 法にて行い、検体間の発現比較は $\Delta\Delta$ CT 法にて行った。術前に GIST と疑われていた非 GIST13 例も同様の方法で ETV1 mRNA 発現解析を行い GIST との比較を行った。統計解析は SPSS 24 を使用した。手術後再発に関しては Cox 比例ハザードモデルを使用し単変量多変量解析を行った。全生存率及び無再発生存率は Kaplan-Meier 法を用い、ETV1 mRNA 発現の高低群間の比較にはログランク検定を使用した。統計的有意差は $P < 0.05$ と定義した。

【結果】

64 例の臨床的特徴を表 1 に示す。術後観察期間中に 11 例が再発を認めており、補助化学療法を受けた 6 例のうち 2 例が再発を来した。本研究では術後再発を来した GIST を悪性 GIST と定義した。再発を認めた 11 例全てで分子標的薬による化学療法を行い、5 例が原病死した(表 S2)。

変異解析結果について表 2 に示す。58 例(91%)が KIT 変異を有しており、PDGFRA 変異は 2 例、4 例が双方の変異を持たない野生型であった。11 例の悪性 GIST におい

ては、9例がエクソン11変異(6例が欠失、2例が点変異、1例が挿入)、1例がエクソン9の挿入、残りの1例は野生型であった。

ETV1 mRNA 発現は GIST 群(中央値: 44.3、範囲: 1.0-192.3)において非 GIST 群(中央値: 0.008、範囲: 0.0-0.13)より有意に高値であった($P < 0.0001$) (図 1a、1b)。

ETV1 mRNA 発現とリスク分類の関係を調べると、超低及び低リスク群($n=47$)が、中及び高リスク群($n=17$)よりも有意に高値を示した(中央値: 46.7 vs 21.9) ($P=0.005$) (図 1c)。加えて、悪性 GIST ($n=11$)は他の GIST ($n=53$)に比べて有意に低値を示した(中央値: 23.2 vs 47.7) ($P=0.001$) (図 1d)。

GIST64例の ETV1 mRNA 発現中央値を基に、低($n=32$)または高($n=32$)発現の2群に分けた。各群の臨床的特徴と変異については表1、表2に示す。術後再発に関する因子を検討した多変量解析では、ETV1 低発現(HR 8.1、 $P=0.022$)、腫瘍径(HR 4.8、 $P=0.039$)、部位(HR 11.7、 $P=0.017$)、及び核分裂数(HR 13.9、 $P < 0.001$)が独立因子として挙げられた。全生存(OS)に関しては、術後の核分裂数のみが有意な因子であった(表3)。

術後 OS および無再発生存(RFS)に関して Kaplan-Meier 曲線を引くと、5年生存率は高 ETV1 発現群で $90.9 \pm 8.7\%$ 、低 ETV1 発現群で $86.8 \pm 6.2\%$ であり(図2)、両群間で有意差は認めなかった($P=0.183$)。しかし、5年 RFS 率は高 ETV1 発現群で $92.1 \pm 5.4\%$ 、低 ETV1 発現群で $71.8 \pm 7.9\%$ と高発現群で有意に RFS 延長を認めた($P=0.025$) (図3)。高発現群では2例(6.3%)再発したのに対し、低発現群では9例(28%)が術後再発を来しており、低発現が GIST 術後再発に関連している結果であった。

【考察】

本研究で、我々は GIST における ETV1 発現について幾つかの点を明らかにした。第一に、ETV1 は mRNA レベルにおいて GIST 全例で発現し、非 GIST と比べて有意に上昇していた。第二に、ETV1 mRNA 発現は悪性 GIST において有意に減弱していた。第三に、ETV1 低発現は既知のリスク因子(腫瘍径、部位、核分裂数)に加え、多変量解析で独立した再発因子と判明した。さらには、ETV1 低発現 GIST の患者は、ETV1 高発現の患者に比べて無再発生存期間が短かった。これらより ETV1 mRNA 発現が低いと悪性度が高い、つまり負の関係を認めた。

従来の研究が主に免疫組織化学染色法を用いて ETV1 発現を評価していたのに対し、今回の研究では real-time PCR 法を用い全ての GIST に ETV1 mRNA が発現していることを確認した上で、臨床所見との関係性を評価できたのは特筆すべきことと言える。ただ、症例数が少ないこと、ETV1 発現の高低を分けるカットオフ値を全症例の中央値によって定めたため、研究集団の構成により左右されること、大部分が胃 GIST であること、ETV1 を mRNA のみで検討し蛋白レベルでの比較ができていないことなどが limitation として挙げられる。さらには、悪性度と ETV1 発現低下の機序が不明な点に関しては今後の研究の蓄積による解明が期待される。

【結論】

ETV1 低発現は、術後再発と関連し、従来の因子に加えて独立した因子であることが明らかになった。よって ETV1 発現は悪性 GIST の予測因子となる可能性がある。また ETV1 発現に基づき再発リスクをより高い精度で予測できれば、補助化学療法を必要とする患者の選別にも役立つ可能性があるだろう。