# Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST), Cajal Cell Phenotype of the Stomach: A Clinicopathologic Study and Comparative Genomic Hybridization Analysis

Satoshi Takahashi\*, Yoshifuku Nakayama\*, Hiroshi Murayama\*, Hiroshi Inoue\*, Masako Ishiguro\*, Akinori Iwasaki\*\*, Yuichi Yamashita\*\*, Takayuki Shirakusa\*\* and Masahiro Kikuchi\*

Abstract: Recently, there has been a remarkable change in the concept of gastrointestinal stromal tumors (GISTs). GIST is a major subset of mesenchymal tumors of the gastrointestinal tract, but their definition, histogenesis, biological behavior, and clinical handling remain controversial. As a result, we herein defined GIST as a c-kit positive mesenchymal tumor of the gastrointestinal tract, with a "cajal cell phenotype". In this study, we examined 44 cases of cajal cell phenotypes arising in the stomach, to clarify the clinicophatholgic and immunohistochemical features. In addition, we employed comparative genomic hybridization (CGH) to detect any relative chromosome copy number changes in the cajal cell phenotype. According to our results, the age of the patients ranged from 42 to 87 years old (median 67). Almost all of the tumors were located in the upper parts of the stomach (70%). The median size of the cajal cell phenotype was 4.4 cm, including ten intramural small microscopic lesions (median 0.7 cm), that were incidentally detected. The tumors were classified into three groups, according to their predominant light microscopic appearance as benign (n=10, 23%), borderline malignancy (n=25, 57%), and malignant (n=9, 20%), mainly based on the presence of cellular and nuclear atypia and pleomorphism. Distant metastasis, direct invasion, or recurrence was observed in five cases, and all were histologically classified as malignant. The possibility of the presence of pluripotential stem cells was suspected to be the histogenetic orign of the tumor. In the immunohistochemical analysis, all tumors are diffusely stained for both c-kit and CD34. Caldesmon (h-CD), a novel smooth muscle maker, was also expressed in 36 (81%), while epithelial makers, such as epithelial membrane antigen (EMA) and cytokeratins, were only positive in one malignant case. It seems that the presence of epithelioid cells is thus one of the most important prognostic indicators for an aggressive behavior, in addition to tumor size, the mitotic index and/or Ki-67 labeling index. We confirmed the previously reported findings by observing losses on chromosome 14q, 22q, 1p, 9q and gains on 8q, 5q to be present in the cajal cell phenotype. In addition, several new chromosomal changes such as a deletion of 16p, 17q, 19p and a gain of 4q, 6q were frequently observed. The possibility that these quantitative genetic changes participated in tumor growth and development was therefore suggested.

Key words: GIST, Cajal cell phenotype, C-kit, Caldesmon, Cytokeratin, Clinicopathologic study, CGH

<sup>\*</sup>Departments of Pathology

<sup>\*\*</sup>Surgery, School of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, Japan

### 胃原発 Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST), Cajal Cell Phenotype の

## 臨床病理学的検討および Comparative Genomic Hybridization (CGH) 法を用いた遺伝子異常領域の解析

高橋 聡\* 中山 吉福\* 村山 寛\* 井上 浩\* 石黒 晶子\* 岩崎 昭憲\*\* 山下 裕一\*\* 白日 高歩\*\* 菊池 昌弘\*

\*福岡大学医学部第1病理学教室

要旨:消化管の間葉系腫瘍のなかで最も多いとされる Gastrointestinal stromal tumor (GIST) の概 念は近年大きく変動し、その定義、組織学的起源、生物学的悪性度や臨床的取り扱いも未だ明らかではな い. 今回我々は, c-kit 陽性の一群の腫瘍を GIST, cajal cell phenotype とし, このうち胃原発の切除症 例44例を対象に臨床病理学的に検討し、免疫組織学的特徴を確認した. さらに Comparative genomic hybridization (CGH) 法を用いて遺伝子異常領域の解析を行った。結果、年齢は42歳から87歳で平均67 歳であった。発生部位は胃上部に31例(70%)を認め最も多かった。腫瘍径は、平均4.4±3.9cmであった が、壁内型の顕微鏡的微小病変(平均 0.7cm)を10例認めた。細胞異型・核異型・多形性などをもとに組 織学的に3群に分けると、良性が10例(23%)、境界悪性が25例(57%)、悪性が9例(20%)であった。転 移・浸潤, 再発を認めた5症例はすべて組織学的にも悪性に分類された. 免疫組織化学的には全例が ckit, CD34 によりびまん性陽性像を示した。平滑筋マーカーである caldesmon (h-CD)の発現を36例 (81%) に、また EMA, cytokeratin などの上皮マーカーの発現を1例に認めた。従来言われている、腫 瘍径,核分裂率,Ki-67標識率等の他に,悪性度の指標として,上皮様細胞の存在が重要であると考えら れた. 腫瘍の発生起源として、多分化能を持つ未分化間葉系幹細胞の存在が疑われた。 CGH 法を用いた 遺伝子異常領域の解析では、他の報告にある 14q, 22q, 1p, 9q の欠失, または8qや5qの増加に加え, 16p, 17q, 19p などの欠失, および4q, 6q の増加も高頻度に見られており, これらの遺伝子領域の量的な変化 も, 腫瘍の発生や進展に関与する可能性があるものと示唆された.

索引用語:GIST, Cajal cell phenotype, C-kit, Caldesmon, Cytokeratin, 臨床病理,CGH

#### はじめに

消化管の間葉系腫瘍(gastrointestinal mesenchymal tumor:GIMT)は、従来その多くは、平滑筋由来の腫瘍であると考えられてきた<sup>1)2)</sup>. しかし、免疫組織化学的および電子顕微鏡的に、明らかな筋原性あるいは神経原性の分化を示す症例は少なく<sup>3)-5)</sup>、"gastrointestinal stromal tumor(GIST)"という用語は、当初このような中立的な性格をあらわす腫瘍を示すものとして1983年 Mazur らによって提唱された<sup>6)</sup>. その後、消化管の間質(stroma)を包括的に捉え、GIMT 全体を総称する意味で、"広義の GIST"として用いられることが多くなってきた。Rosai らはこの"広義の GIST"を平滑筋細胞や神経細胞への分化により、①GIST、smoothmuscle type、②GIST、neural type、③GIST、com-

bined smooth muscle-neural type, ④GIST, uncommitted type と分類し、さらに①で上皮様の細胞形態を示すものを、GIST, smooth muscle type, epithelioid variant と細分している<sup>7)</sup>.

その後、Rijn や Monihan らによって、GIMT には血液幹細胞系のマーカーとして知られる CD34 の発現を示すものが多いことが報告された $^{8)9}$ )。また、癌原遺伝子である c-kit によりコードされる KIT receptor(c-kit, CD117)の発現がほとんどの例に認められるとの報告もある $^{10)11}$ )。このことより免疫組織化学的には、CD34および c-kit(CD117)の両者を発現する GIMTを"狭義の GIST"と呼ぶようになってきた。一方、正常消化管組織において、これら CD34 および c-kit(CD117)を同時に発現している細胞は、消化管の蠕動運動を司るカハールの介在細胞(interstitial cells of cajal:ICC)をおいて他にないことから $^{12)13}$ )、"狭義の

<sup>\*\*</sup>福岡大学医学部第2外科学教室

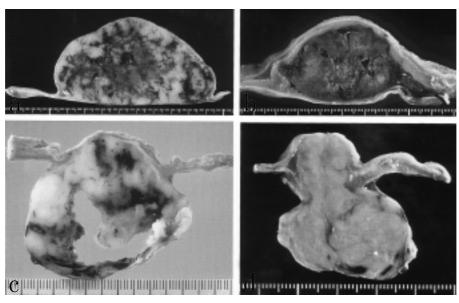


図1 Cajal cell phenotype の肉眼的発育形態

a. 管内型:粘膜下層を主座とし管腔内に大きく突出している。b. 壁内型:筋層内に限局。わずかに管腔内に突出しているが、立ち上がりはなだらか。c. 管外型:管外性に大きく突出している。本症例では中心部に嚢胞性の変化を認める。d. 混合型 (ダンベル型):粘膜下層から筋層を越える部位でくびれ、管内性および管外性に突出している。

GIST"に対して ICC 由来もしくは、ICC への分化を示す腫瘍として、interstitial Cajal cell tumor(ICCT)や<sup>14</sup>、Gastrointestinal pacemaker cell tumor(GI-PACT)という名称も提唱された<sup>15</sup>)。最近では、c-kit 陽性の一群の腫瘍のみを"狭義の GIST"、または単に GIST と呼ぶことが一般的となってきている。

このように、GISTという用語・概念は依然流動的であり、その組織学的起源・悪性度などについても未だ明らかではない。そこで今回我々は、消化管由来の腫瘍の中で、胃原発の間葉系腫瘍に対し免疫組織化学染色を行い、このうち"狭義の GIST"を対象にその臨床病理学的特徴を明らかにするための検討を行った。さらにComparative genomic hybridization(CGH)法を用いて遺伝子異常領域の解析を試みた。

なお以下本稿では、用語の混同を避けるために、c-kit 陽性の一群の消化管の間葉系腫瘍(狭義の GIST)に対し、ICC と同様の免疫組織化学的特徴(immunophenotype)を示すという意味で、cajal cell phenotype という言葉を用いた。

#### 対象および材料と方法

#### 1. 対象

1987年1月から2001年7月までの福岡大学第1病理学 教室の消化管手術症例ファイルの中で、胃原発の間葉系 腫瘍は59例であった。そこで、これらに対して c-kit, desmin, S-100の3つの抗体を用いて免疫組織化学的染 色を行い c-kit 陽性, desmin 陰性, S-100 protein 陰性の44例を cajal cell phenotype と判定し, これを対 象とした.

#### 2. 臨床病理学的方法

患者の臨床病理学的データとして、上記消化管手術症例ファイル、手術記録、入院および外来カルテより、性、年齢、部位、主訴、併発疾患の有無、浸潤・転移の有無、潰瘍の有無、最大径、術後の転帰、などの情報を得た、また、腫瘍の肉眼的発育型式は、Skandalakis らの報告を参考に分類した(図1)<sup>16</sup>.

#### 3. 病理組織学的材料と方法

ホルマリン固定パラフィン包埋切片より代表切片  $1\sim3$  枚を選び、 $3\mu$ m の厚さで連続切片を作製し、免疫組織化学的染色と対比できるように、再度 haematoxylin and eosin (H&E) 染色行った。H&E 染色標本上で、主に腫瘍の細胞異型、核異型および多形性をもとに組織学的悪性度を判定し、良性 (benign)、境界悪性 (borderline malignancy)、悪性 (malignant) の 3 群に分類した(図2)。さらに、紡錐形・上皮様などの細胞型、出血・壊死の有無、腫瘍辺縁のリンパ球浸潤の有無などの評価を加えた。細胞密度は、強拡大( $40\times10$ 倍、0.24mm²)で10視野の全細胞数を数え、これを1視野あたりの平均数に換算した。核分裂像は、強拡大(同上)で50視野の全陽性細胞数を数えこれを10視野あたりの平均数に換算した。なお、0.5cm 以下の微小病変に対して

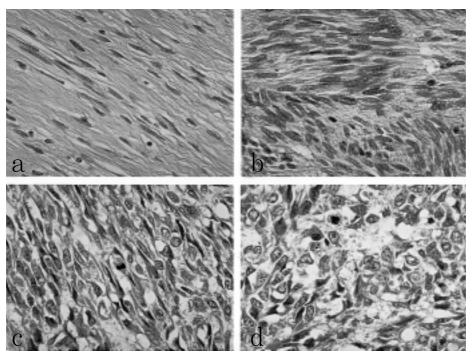


図2 Cajal cell phenotype の組織像 (HE 染色)

a. 良性:腫瘍細胞は紡錐形で均一,核異型に乏しい.細胞密度が低く東状に配列をしている.b. 境界悪性:紡錐形細胞の核は軽度に腫大し,両端が鈍で棍棒状.良性腫瘍に比べ細胞密度が高いが比較的均一.c. 悪性:紡錐形細胞は大小不同で多形性に富み,核クロマチンの濃染,粗造化,核膜の肥厚などが見られる.写真中央には核分裂像が見られる.d. 悪性:紡錐形および上皮様細胞の増殖.明瞭な核小体を認め,核分裂像も散見される.良性または境界悪性症例と比べ細胞の接着性が悪い.

#### は、10視野のみの陽性細胞数を数え評価した。

免疫組織化学的染色は, labeled streptavidin-biotin -peroxidase (LSAB) 法を用いた. 使用した抗体なら びに希釈倍率, 前処置等を(表1)にまとめた. 染色結 果の判定は、c-kit は正常の消化管に存在する肥満細胞 を, CD34 および vimentin は血管内皮細胞を, α-SMA, desmin, caldesmon (h-CD), calponin (CALP) は血管平滑筋細胞や、粘膜筋板または筋層の既存の平滑 筋細胞を陽性コントロールとした。また Ki-67 は、粘膜 層の増殖帯に存在する腺管上皮細胞の核やリンパ濾胞内 の胚中心の核や、併存した癌細胞の核などを陽性コント ロールとした. これらのコントロールを指標として, 腫 瘍細胞が同等の強度で染色された場合を陽性(+)とし, 全く染色されないものを陰性(-),やや薄いものの染色 性を認めるものを弱陽性(±)として判定した. また, 陽性細胞率および分布を、diffuse (3/4以上)、partial  $(3/4\sim1/4)$ , focal (1/4以下), patchy (1/4未満で所々), sporadic (散在性) の4型に分類し評価を加えた。Ki-67 (MIB-1) については、強拡大 (40×10倍, 0.24mm<sup>2</sup>) で50視野の全陽性細胞数を数え、これを細胞数100個あ たりに換算し、Ki-67 labeling index を算出し評価し た.

#### 4. 遺伝子解析の材料と方法

遺伝子異常の解析は、Comparative genomic hybridization(CGH)法を用いて行った。材料は、ホルマリン固定パラフィン包埋切片を使用した。 $50\sim60\,\mu\mathrm{m}$ の厚さで $5\sim10$ 枚の連続切片を作製し、これより H&E 染色標本と対比しながら腫瘍部分のみを切り取り、Isoda らの方法に従い DNA の抽出を行った $^{17}$ ).

CGH 法は、Kallioniemi らの原法に準じて行った<sup>18)</sup>. パラフィン包埋切片より抽出した DNA の断片は 200~350bp と短いものがほとんどであったため、Ohshima らの方法で<sup>19)</sup>、Degenerate Oligonucleotide Primed – PCR (DOP-PCR) を、DOP-PCR Master Kit (Boehringer) を用いて行い、腫瘍 DNA の増幅ならびに、Fluorescein-12-dUTP (FITC、Boehringer) (緑色)による直接標識を行った。これと正常細胞 DNA をSpectrum red (Vysis) (赤色) に標識したものとを混合し、正常リンパ球の分裂中期展開標本 (Vysis slide、Vysis、Inc.) 上に hybridization を行った。なお、ゲノム中の反復配列をブロックするため、Cot-1DNA (GIBCO/BRL) を加えた。蛍光シグナルは蛍光顕微鏡ならびに CCD Camera (ImacoCCD530、Zeiss) を用いて、デジタル信号画像として取り込み、一つの染色体あ

Antibody/clone	Source	Dilution	Pre-treatment
c-kit (K963) /polyclonal	Immuno-Biochemical laboratory	1/5	Autoclave
CD34/QBEND10	Immuno-Biochemical laboratory	1/50	Microwave
Vimentin/V9	DAKO	1/100	Microwave
Desmin/D33	DAKO	1/40	Microwave
$\alpha$ -SMA/1A4	DAKO	1/100	No Pre-treatment
Caldesmon/h-CD	DAKO	1/50	Autoclave
Calponin/CALP	DAKO	1/50	Autoclave
S100 protein/polyclonal	ニチレイ,Histofine	Kit	No Pre-treatment
Epithelial Membrane Antigen/E29	DAKO	1/100	No Pre-treatment
Cytokeratin/AE1 and AE3	DAKO	1/50	Microwave
Cytokeratin/CAM5.2	BECTON DICKINSON	Kit	Microwave
MIB1/Ki-67	IMMUNOTECH	1/100	Autoclave
p53 protein/DO7	Novocastra	1/50	Microwave

表1 今回の研究で用いた抗体一覧

表 2 Cajal cell phenotype の臨床像および肉眼像の要約

	Total (44例)	良性(10/44例)	境界悪性(25/44例)	悪性 (9/44例)
性,男:女	25:19	7:3	12:13	6:3
年齢,平均生標準偏差/範囲	$67.1 \pm 9.7 / 42 – 87$	$71.7 \pm 6.41/66 - 81$	$64.8 \pm 9.6 / 42 – 87$	$68.3 \pm 12.0 / 49 – 86$
主訴#, 下血:吐血:上腹部痛:腹部膨満感	6:2:5:2	1:1:0:0	3:1:1:2	2:0:4:0
: 検診など無症状 (:不明)	:19(:2)	:4(:0)	:14(:1)	:1(:1)
他疾患の併発、あり:なし	14:30	10:0	3:22	1:8
部位,上部:中部:下部	31:11:2	9:1:0	17:7:1	5:1:1
肉眼的発育型式,管内:管外:壁内:混合	8:14:17:5	0:3:7:0	8:6:8:3	0:5:2:2
潰瘍、あり:なし	7:37	0:10	5:20	2:7
腫瘍最大径,平均±標準偏差/範囲(cm)	$4.4 \pm 3.9 / 0.2 – 19.0$	$0.6 \pm 0.3 / 0.2 – 1.3$	$4.4 \pm 2.6 / 1.5 – 12.8 *$	$8.5 \pm 4.9 / 3.5 - 19.0 *$
転移・再発,あり:なし	0:44	0:10	0:25	5:4

<sup>\*</sup>明らかに併発疾患による症状と思われた8例を除いた、\*: 良性群との比較で P<0.05

たり10本以上を目安に、CGH 解析ソフトウエア(ISIS CGH MetaSystems)を用いて解析した.

結果の判定は、FITC (緑) / Spectrum red (赤) の 蛍光強度比で、1.17以上を塩基配列のコピー数増加 (増幅)、0.85以下をコピー数滅少 (欠失) とした。また、テロメアならびにセントロメア領域および性染色体は、個体差が大きく定量性に欠くため、これらの領域は除外し評価した。

#### 5. 統計解析の方法

統計解析は、Student's-t test、Chi-squared test を Stat View 5.0 (SAS institute Inc.) を用いて行い、p<0.05 を統計的に有意と判断した.

#### 結 果

#### 1. 臨床病理学的事項

Cajal cell phenotype の臨床像と肉眼的所見の要約を(表2)に示した. 男性が25例(57%), 女性が19例(43%)で男性にやや多く, 平均年齢は67.1±9.7(42-

87) 歳であった. 主訴は, 明らかに併発疾患によるものと思われる8例を除くと, 下血が6例, 吐血が2例, 上腹部痛が5例, 腹部膨満感が2例であった. 症状がなく検診や他疾患の経過観察中に偶然発見されたものが19例(43%), 不明であったものが2例であった. 発生部位は, 胃上部が31例(70%)と最も多く次いで中部に11例(25%), 下部に2例(5%)であった. 腫瘍の肉眼的発育型式は,管内型8例(18%), 管外型14例(32%), 壁内型17例(39%), 混合型5例(11%)で, 壁内型および管外型が多かった. 腫瘍部に潰瘍を伴っていたものは7例存在した. 腫瘍の最大径は, 平均4.4±3.9cm であった. 他の疾患を伴っていた症例は14例あり, これらの多くは1cm 以下の微小病変であった.

次に、cajal cell phenotype を組織学的悪性度により3群に分けると(表2)、良性群が10例(23%)、境界悪性群が25例(57%)、悪性群が9例(20%)であった。この3群の臨床像および肉眼像を比較すると、性、年齢には明らかな傾向は見られず、主訴は、悪性症例を除くと検診や、他疾患の経過観察中に発見された無症状のものが多かった。他の疾患を伴っていた14例の内10例は良

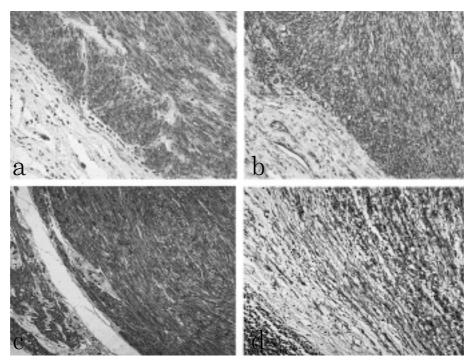


図3 胃原発の間葉系腫瘍の免疫組織像

a. c-kit (cajal cell phenotype):腫瘍細胞にびまん性に c-kit 陽性像を認める. 左下の非腫瘍部に positive control とした肥満細胞を示す. b. CD34 (cajal cell phenotype):c-kit 同様, 腫瘍細胞にびまん性に CD34 陽性像を認める. 左下の非腫瘍部に positive control とした血管内皮細胞を示す. c. desmin(smooth muscle type):腫瘍細胞に desmin のびまん性陽性像を認める. 左下に positive control とした既存の平滑筋細胞を示す. d. S100 protein (neural type):腫瘍細胞に S100 protein のびまん性陽性像を認める. 左下に腫瘍辺縁に見られたリンパ球浸潤を示す.

表 3 Cajal cell phenotype の病理組織学的所見のまとめ

	良性(10/44例)	境界悪性(25/44例)	悪性(9/44例)
細胞型,Sp:Ep:Sp+Ep	10:0:0	22:1:2	4:2:3
出血, (+):(-)	0:10	19:6	8:1
壊死, (+):(-)	0:10	9:16	8:1
腫瘍辺縁のリンパ球浸潤,あり:なし	2:8	9:16	5:4
細胞密度,平均±標準偏差/範囲(/1HPF)	$405.1\!\pm\!155.5/193.6-657.6$	$566.6\!\pm\!153.3/274.8\!-\!816.5^*$	$606.7\!\pm\!345.5/298.2\!-\!1218.0$
核分裂像,平均±標準偏差/範囲(/10HPF)	$0.4\!\pm\!0.4/0\!-\!1.0$	$1.6 \pm 0.8 / 0.4 – 3.2 *$	$12.8\!\pm\!8.3/5.0\!-\!30.4^{*\sharp}$
Ki-67 Labeling Index	$0.05\!\pm\!0.05/0\!-\!0.14$	$0.33\!\pm\!0.25/0.01\!-\!1.03*$	$2.14 \pm 1.93 / 0.73 – 5.82 * \sharp$

Sp:spindle, Ep:epithelioid, HPF:high power fields, \*: 良性群との比較で P<0.05, #:境界悪性群との比較で P<0.05

表 4 Cajal cell phenotype の免疫組織化学的染色の結果

	c–kit	CD34	Vim	Des	$\alpha$ -SMA	CALP	h-CD	S-100	EMA	AE1/AE3	CAM5.2	p53
良性/10	10	10	10	0(6)	0(6)	0(5)	3(10)	0(2)	0	0	0	0(3)
境界悪性/10	25	25	25	0	0(3)	0(8)	19(20)	0	0	0	0	0(24)
悪性/9	9	9	9	0	0(1)	0(2)	4(6)	0	1	1	1	0(9)

c–kit : c – kit protein, Vim : vimentin, Des : desmin,  $\alpha$  – SMA :  $\alpha$  – smooth muscle actin, CALP : calponin,

h-CD: heavy caldesmon, S-100: S-100protein, EMA : Epithelial Membrane Antigen,

AE1/AE3: Cytokeratin AE1and AE3, CAM5.2: Cytokeratin CAM5.2, p53: p53 protein (DO7),

<sup>( )</sup>内は sporadic または、patchy に陽性所見を認めた症例を含めた数

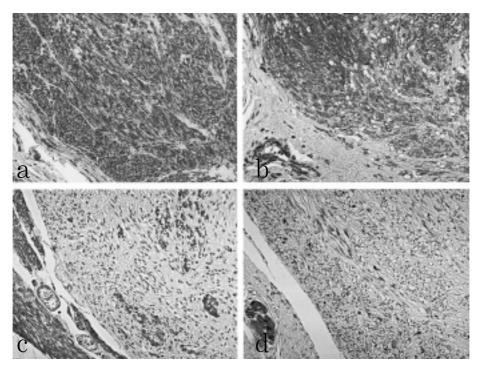


図4 Cajal cell phenotype の免疫組織像

a. vimentin:典型的な GIST の免疫組織像、腫瘍細胞にびまん性に vimentin 陽性像を認める。b. h-CD:左下 positive control の血管平滑筋よりやや薄いものの、腫瘍細胞にびまん性に h-CD 陽性像を認める。同様な所見を GIST の59%に認めた。c. $\alpha$ -SMA:一部の症例の腫瘍辺縁部に  $\alpha$ -SMA の sporadic-patchy な陽性所見を認めた。左下に既存の平滑筋細胞を示す。d. S100 protein:ごく一部の症例では、腫瘍辺縁部に S100 protein の patchy な陽性所見を認めた。左下に既存の神経細胞をしるす。

性群に含まれていた. 腫瘍径の平均は良性群で 0.6cm, 境界悪性群で 4.4cm, 悪性群で 8.5cm と悪性度が上がるにつれて腫瘍径も大きくなる傾向にあった. 統計学的には,良性群と悪性群の間 (Student's t検定;p=0.0014),および良性群と境界悪性群の間 (p<0.0001)で有意差を認めた. 転移・再発を認めた 5 例は,組織学的にもすべて悪性群に分類された. 内訳は,手術時に他臓器に転移または直接浸潤を認めたものが 2 例,経過観察中に肝転移,肺転移または腹腔内再発などが確認され腫瘍死したものが 3 例認められた.

#### 2. 病理組織学的事項

胃原発の間葉系腫瘍59例のうち、GIST の概念が導入される以前の37症例の診断は、leiomyoma が20例、epithelioid leiomyoma (leiomyoblastoma) が3例、leiomyosarcoma が9例、epithelioid leiomyosarcoma が2例、schwanomma(neurilemoma)が3例で、その大部分は筋原性腫瘍であった。これらを含め再度上記59例に対し免疫組織化学的染色を行った。結果 cajal cell phenotype (c-kit+、desmin-、S-100 protein-)が44例で75%を占めていた。次いで、smooth muscle type (c-kit-、desmin+、S-100 protein-)が12

例, neural type (c-kit-, desmin-, S-100 protein +) が3例であり、従来、筋原性腫瘍と診断されていたものの大部分が cajal cell phenotype と判明した(図3)

Cajal cell phenotype の病理組織学的所見のまとめ を (表3) に示す. 細胞形態は、44例中36例 (82%) が 紡錐形細胞のみから構成されていた。特に、良性群の10 例は全例が紡錐形細胞のみで構成されており, 逆に悪性 群では9例中5例(56%)に上皮様細胞の成分を認めた. 顕 微鏡的に明らかな出血・壊死を伴う症例は、良性群には 認めず,悪性群では9例中8例に認めた. 腫瘍辺縁のリ ンパ球浸潤は、従来、神経原性の腫瘍に多いとされてき たが、cajal cell phenotype の16例にも同様なリンパ 球浸潤を認めた. 細胞密度は, 良性が405.1 (/1HPF), 境界悪性が566.6 (/1HPF), 悪性が606.7 (/1HPF) で, 悪性度が上がるにつれて細胞密度が高くなる傾向にあっ たが、統計学的には、良性と境界悪性の間でわずかに有 意差を認めたのみであった(p=0.0424). 核分裂像は, 良性が0.4 (/10HPF), 境界悪性が1.6 (/10HPF), 悪性 が12.8 (/10HPF) と, 悪性度が上がるにつれ核分裂像 が多く見られ、統計学的にも明らかな有意差を認めた (良性 vs. 境界悪性で p=0.0048, 境界悪性 vs. 悪性

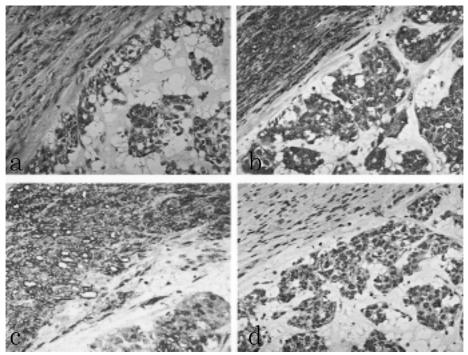


図5 手術時に多発肝転移を認めた, 悪性 Cajal cell phenotype の1例

a. HE:腫瘍の大部分は粘液質の間質を伴う上皮様細胞の増殖からなり,これに混在して紡錐形細胞の増殖を認めた。b. c-kit:上皮様細胞,紡錐形細胞ともに c-kit のびまん性に陽性像を認めた。c. CD34:c-kit 同様,上皮様細胞,紡錐形細胞ともに CD34 のびまん性に陽性像を認めた。d. Cytokeratin/CAM5.2:おもに上皮様細胞の部分でびまん性陽性像を認めた。また,他の上皮性マーカー(EMA,Cytokeratin/AE1 and AE3)も同様の染色性を示した。

で p=0.0040, 良性 vs. 悪性で p=0.0021).

免疫組織化学的染色の結果を(表4)にまとめた. cajal cell phenotype 44例のすべての症例で, c-kit, CD34 および Vimentin にびまん性の染色パターンを 示 し た (図 3 - a, b, 図 4 - a). 一 方, Desmin 6 例 (13.6%), α-SMA 10例 (22.7%), Calponin 15例 (34.1%), S-100 protein 2 例 (4.5%) に弱陽性~陽性 像を示したが、これらは腫瘍辺縁の一部の細胞に sporadic~patchy に発現を認めるのみであった(図4-c, d). Caldesmon (h-CD) は分化型平滑筋細胞に特異 性が高いマーカーとして, 近年主に軟部系の腫瘍で注目 されてきている抗体であるが、26例(59.1%)でびまん 性の陽性像を示した. 一部の細胞のみに発現を認めた 11例(25%)を合わせると、36例(81.8%)で陽性 所見を認めた (図 4-b). また,全例に対し上皮性マー カーである Epithelial Membrane Antigen (EMA), Cytokeratin/ AE1 and AE3, Cytokeratin/CAM5.2 の免疫染色を行ったが、1例において陽性像を示したの みであった. 同症例は、胃中部の混合型発育を示す腫瘍 で、手術時に多発肝転移を認めた、組織学的には、腫瘍 細胞の大部分は上皮様細胞により構成され、これに混在 するように紡錐形細胞の増殖を認めた. 免疫組織化学的

染色では、c-kit、CD34、vimentin は上皮様細胞および紡錐形細胞の両者にびまん性に陽性像を示し、上記の上皮性マーカーは、おもに上皮様細胞の部分でびまん性の陽性像を示した(図 5).

Ki-67 Labeling Index は (表 3), 良性群で0.05%, 境界悪性群で0.33%, 悪性群で2.14%と, 組織学的悪性 度が増すにつれ陽性率の増加が見られ, 3 群間において 統計学的にも有意差を認めた. (良性 vs. 境界悪性; p=0.0067, 境界悪性 vs. 悪性; p=0.0119, 良性 vs. 境界 悪性; p=0.0221)

#### 3. CGH による遺伝子異常領域の解析

Cajal cell phenotype 44例のうち、CGH の解析に適した DNA が得られたものは、良性群 2 例、境界悪性群12例、悪性群 5 例であった。よってこれらに対し CGH の解析を行った。結果、良性群の 2 例には、明らかな遺伝子異常領域は検出されなかった。境界悪性群12 例の DNA コピー数の変化領域を(図 6-1)に、悪性群 5 例の DNA コピー数の変化領域を(図 6-2)に示す

境界悪性群12例中,複数の検体でコピー数の減少が認められた領域は,19p(6例,50%),7q11.2,16p12.1-

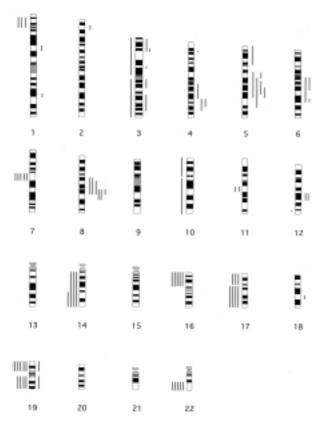


図 6-1 CGH 解析結果(境界悪性12症例)

境界悪性症例の DNA コピー数の変化領域. 染色体模式図の右側の線はコピー数の増加を, 左側の線は, コピー数の減少を示す.

pter, 22q (5例, 41%), 14q24-qter, 17q, 19q (4例, 33%), 1p36.1-34.2, 14q11.2-23, 17p (3例, 25%), 11q13.1 (2例, 17%) であった. 一方コピー数の増加が認められた領域は、8q21.3 (6例, 50%), 5q21.3-23.1 (4例, 33%), 5q14.3-22.1, 5q23.3, 8q13-2.1 (3例, 33%), 3p25, 4q31.1-32, 5q13, 5q14.1, 6q14-16, 6q22.3, 8q12, 8q22, 12q21 (2例, 17%) であった.

同様に悪性群 5 例で、複数の検体でコピー数の減少が認められた領域は、9q34-qter、14q24-qter、16p、19p、22q(3 例、60%)、1p32-pter、9q33、15q、17p、17q、19q(2 例、40%)であった。一方コピー数の増加が認められた領域は、4p14-15.2、4q13-33、5p13-14、5q15-23、6q14-16、7q31、8q22、13q22-32(3 例、60%)、3q26.1-26.3、4p12-13、5p15.1-pter、5q14、6q12-13、6q21-24、7p15、8q12-21.3、8q23-24.1、11q22、11q23-qter、20p12(2 例、40%)であった。

#### 考 察

消化管の間葉系腫瘍は、従来その多くは、平滑筋由来 の腫瘍であると考えられてきた、今回の検討では免疫組

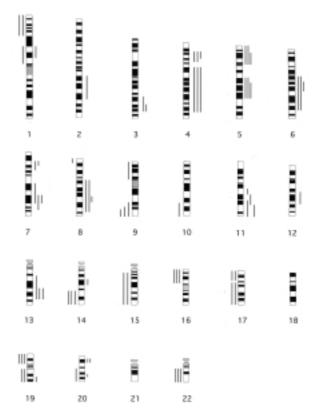


図6-2 CGH 解析結果 (悪性5症例)

悪性症例の DNA コピー数の変化領域. 染色体模式図の右側の線はコピー数の増加を, 左側の線は, コピー数の減少を示す.

織化学的に、明らかに筋原性腫瘍と思われたものは20% のみで、神経原性腫瘍は5%であった。一方、全体の内75%が c-kit および CD34 にびまん性の陽性像を示し、cajal cell phenotype と考えられた。この結果は、近年報告されている Kindblom らの $90\%^{15}$ 、Hirotaらの $80\%^{10}$ 、Sircar らの $72\%^{14}$  とほぼ一致する結果であった。

Cajal cell phenotype の肉眼的発育型式は、管内型8例 (18%)、管外型14例 (32%)、壁内型17例 (39%)、混合型5例 (11%)で、壁内型が最も多く次いで管外型が多かった。これは、諸家の報告が管内型もしくは管外型が多いとするものと異なる結果となった15)20)21)。一方、腫瘍径の平均はこれらの報告では6~8cm 前後であり、我々の平均 4.4cm という結果はやや小さいものであった。これは、今回の検討には他の手術の際、偶然または同時に摘出された症例が14例 (32%)あり、この中には術前気付かれていなかった平均 0.7cm の壁内型の顕微鏡的微小病変が10例 (23%)含まれたことによる。この14症例を除くと管内型6例、管外型10例、壁内型9例、混合型5例に、また腫瘍径は6.1±3.8cmとなり、他の報告とほぼ一致する結果となる。逆にこの事は、今

まで良性平滑筋腫と診断されていた,小さな壁内型の間葉系腫瘍の中にも,cajal cell phenotype が相当数存在すことを示唆するものである.また,Rosai らは"狭義の GIST のすべては悪性または潜在的に悪性である"と記載しているが $^{77}$ ,cajal cell phenotype の中にも,このような多くの微小病変が存在することが明らかとなった.

Cajal cell phenotype の良・悪性の絶対的判定基準 は転移と浸潤のみである. 文献的には、肉眼的に腫瘍 径, 腫瘍内の出血・壊死の有無を, 免疫・組織学的に, 核分裂率,細胞の異型性,細胞密度,Ki-67や p53 の 免疫染色を<sup>23)-27)</sup>, また, 分子生物学的に kit 遺伝子の 変異の解析を有用とする報告等様々である28)29). 一般的 には核分裂率が客観的で, 最も信頼性が高いとされ, こ れに腫瘍径を加味して評価する事が多いが7)、未だ一定 した見解が得られていない. そこで, 今回我々は転移・ 浸潤の有無をもとに、転移・浸潤群(5例:手術時およ び経過観察中に転移・浸潤を認めたもの), 非転移・浸 潤群(24例:上記以外で,充分な臨床経過情報が得られ ていない症例や、併存疾患により死亡した症例を除いた もの)の2群に分類し、悪性度の指標とされる様々な因 子について再度検討し解析を行った. 結果, 特に腫瘍径  $(p=6.59\times10^{-6})$ , 上皮様細胞の存在 (p=0.0013), 壊死 (p=0.0064), 核分裂像  $(p=4.34\times10^{-8})$ , Ki-67 Labeling Index (p=3.42×10<sup>-6</sup>) で統計学的に有意差を 認めた(表5). これらのうち, 腫瘍径, 上皮様細胞の 有無、核分裂像は、術前の画像や生検診断の段階で得ら れる情報であるため、悪性度を占う因子として、または 治療方針を決定する指標として有用であると思われた.

Cajal cell phenotype の発生起源に関しては、従来、正常消化管組織において、c-kit および CD34 を同時に発現している細胞はカハールの介在細胞 (interstitial cells of cajal:ICC) をおいて他にないことから $^{12)-14}$ 、GIST の概念が紹介された当初は、ICC を発生起源と考える報告が多かった。しかし、今回の我々の検討では、(表 4) に記したとおり、cajal cell phenotype 44

例中26例(59%)に、平滑筋マーカーである高分子型 caldesmon(h-CD)にびまん性の陽性所見を認めた. caldesmon は, 平滑筋の主要な calmodulin, actin お よび tropomyosin と結合するタンパク質で, actinmyosin 系を介し平滑筋の収縮,細胞移動,細胞分裂, 細胞表面レセプター可動性に関与することが知られてい る. 特に高分子型であるh-CDは, 分化型平滑筋細胞およ び筋上皮細胞に特異的に存在すると言われている30)-32). Miettinen らは、h-CD の発現を、軟部系腫瘍と消化 管の間葉系腫瘍について広範に調べた結果, cajal cell phenotype の50例中42例 (84%) に h-CD の発現を 認めたと報告している33). また、大網・腸間膜を原発と する, つまり ICC が存在しないと思われる消化管の壁 外を原発とする, c-kit ならびに CD34 陽性の腫瘍の存 在を示す報告もあり<sup>34)35)</sup>, これらのことから, cajal cell phenotype の発生起源を, ICC や平滑筋に分化し うる=多分化能を持つ、未分化間葉系幹細胞ではないか と論ずるものもある35)36). 筆者らの上述 h-CD の発現 も,この仮説を支持するものと思われた。また、今回の 検討で、上皮性マーカーがびまん性に染まった cajal cell phenotype の一例を示した.一部の報告の中に, 悪性度の高い cajal cell phenotype において非常に稀 であるが、上皮性マーカーが染まる事があるとの記述が ある以外37), 症例を呈示した文献は見当たらない. 自験 例も手術時に多発肝転移を認めた上皮様成分を主体とす る悪性症例であった。以上より、悪性度の高い cajal cell phenotype は、ICC や平滑筋への分化のみなら ず,上皮細胞への分化をもし得る,非常に未熟な幹細胞 を背景として起こる可能性が推察された.

従来, 固形腫瘍のゲノム異常の解析はヘテロ接合性消失 (loss of heterozygosity:LOH) の有無を検出する事により,染色体欠失領域を探すというアプローチがなされてきたが,腫瘍に生じるゲノム変化は欠失だけではない. Comparative genomic hybridization (CGH) 法は,Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法の原理を応用して,1992年 Kallioniemi らによって

表 5 悪性度に関する再検討

	転移・浸潤群 (5 例)	非転移·浸潤群 (24例)	p値
年齢, 平均±標準偏差/範囲	68.8±10.9/57-81	$63.5 \pm 7.9/42 - 73$	0.107*
腫瘍最大径,平均±標準偏差/範囲(cm)	$11.2 \pm 5.1/6.5 - 19.0$	$3.5 \pm 2.4 / 0.2 – 9.0$	$6.59 \times 10^{-6*}$
上皮様細胞, (+):(-)	4:1	3:21	0.0013**
出血, (+):(-)	5:0	15:9	0.0992**
壞死, (+):(-)	5:0	8:16	0.0064**
細胞密度,平均±標準偏差/範囲(/1HPF)	$650.6\!\pm\!426.3/298.2\!-\!1218.0$	$507.9\!\pm\!165.5/193.6\!-\!816.5$	0.1031*
核分裂像,平均±標準偏差/範囲(/10HPF)	$15.1\!\pm\!9.8/5\!-\!30.4$	$1.4 \pm 0.8 / 0.4 – 3.0$	$4.34 \times 10^{-8*}$
Ki-67 Labeling Index	$2.89\!\pm\!2.37/1.10\!-\!5.82$	$0.31\!\pm\!0.26/0\!-\!1.03$	$3.42 \times 10^{-6*}$

HPF: high power fields, p值:\*=独立2群検定(student t値), \*\*=Chi-squared test

開発された方法で、特別なプローブを必要とせず、1回の ハイブリダゼーションで腫瘍 DNA コピー数の増加ま たは欠失を同時に検出でき、しかも全染色体上にマッピ ングできると言う長所がある。1998年、廣田らにより、 cajal cell phenotype 発生の初期段階において癌原遺 伝子である c-kit 遺伝子の機能獲得性突然変異が高率 に関与することが報告され<sup>10)</sup>, 更に germline において も同様の遺伝子異常により、多発性 cajal cell phenotype の家族内発生の報告がされている<sup>38)</sup>. その後, 14 番・22番などの染色体異常の報告がされているが39)40), cajal cell phenotype の発生・腫瘍化にはその他にも 様々遺伝子の異常が推測されている41). そこで、今回 我々は cajal cell phenotype における遺伝子異常領域 の解析を, CGH 法を用いて行った. 結果, 他の報告に もある 14q, 22q, 1p, 9q の欠失29)38)42) が自験例でも 境界悪性群・悪性群ともに認められた. さらに今回の結 果では、16p、17q、19p などの欠失も高頻度に見られて おり、これらは新たに未知なる腫瘍抑制遺伝子が存在す る可能性がある領域と考えられた. また, 遺伝子領域の 増加に関しては、8q や 5q などの報告があるが<sup>29)</sup>、こ れらに加えて今回の結果では、4q、6q の増加も認めた. 前述, 廣田らの報告にある c-kit 遺伝子の突然変異に 加え10), これらの遺伝子領域の量的な変化も, 腫瘍の発 生や進展に関与する可能性が示唆された. しかし一方 で、ほとんどすべての染色体上で、何らかの増加・欠失 が認めている点は、腫瘍の発育過程で起こった二次的・ 付加的異常を検出している可能性も否定できないため、 今後さらなる検討が必要であると思われる.

#### 文 献

- 1) Stout, A.P.: Bizarre smooth muscle tumors of the stomach. Cancer, 15:400-409, 1962.
- 2) Appeleman, H. D., Helwing, E. B.: Gastric epithelioid leiomyoma and leiomyosarcoma (leiomyoblastoma). Cancer, 38: 708-728, 1976.
- 3) Pike, A. M., Lloyd, R. V., Appelman, H. D.: Cell markers in gastrointestinal stromal tumors. Hum. Pathol., 19(7): 830-834, 1988.
- 4) Ma, C. K., Amin, M. B., Kintanar, E., Linden, M. D., Zarbo, R. J.: Immunohistologic characterization of gastrointestinal stromal tumors: a study of 82 cases compared with 11 cases of leiomyomas. Mod. Pathol., 6(2): 139-144, 1993.
- 5) Miettinen, M., Virolainen, M., Maarit Sarlomo, R.: Gastrointestinal stromal tumors — value of CD34 antigen in their identification and separation from true leiomyomas and schwannomas. Am. J. Surg. Pathol., 19(2): 207-216, 1995.
- 6) Mazur, M. T., Clark, H. B.: Gastric stromal tu-

- mors. Reappraisal of histogenesis. Am. J. Surg. Pathol., 7(6): 507-519, 1983.
- 7) Rosai, J.: Stromal tumor. Ackerman's Surgical pathology, 8th ed., pp. 645-647, Mosby-Year Book Inc (St. Louis, Chicago), 1996.
- 8) van de Rijn, M., Hendrickson, M. R., Rouse, R. V.: CD34 expression by gastrointestinal tract stromal tumors. Hum. Pathol., 25(8): 766-771, 1994.
- 9) Monihan, J. M., Carr, N. J., Sobin, L. H.: CD34 immunoexpression in stromal tumours of the gastrointestinal tract and in mesenteric fibromatoses. Histopathology, 25(5): 469-473, 1994.
- 10) Hirota, S., Isozaki, K., Moriyama, Y., Hashimoto, K., Nishida, T., Ishiguro, S., et al.: Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. Science, 279(5350): 577-580, 1998.
- 11) Sarlomo Rikala, M., Kovatich, A. J., Barusevicius, A., Miettinen, M.: CD117: a sensitive marker for gastrointestinal stromal tumors that is more specific than CD34. Mod. Pathol., 11(8): 728-734, 1998.
- 12) Chan, J. K.: Mesenchymal tumors of the gastrointestinal tract: a paradise for acronyms (STUMP, GIST, GANT, and now GIPACT), implication of c-kit in genesis, and yet another of the many emerging roles of the interstitial cell of Cajal in the pathogenesis of gastrointestinal diseases? Adv. Anat. Pathol., 6(1): 19-40, 1999.
- 13) Maeda, H., Yamagata, A., Nishikawa, S., Yoshinaga, K., Kobayashi, S., Nishi, K.: Requirement of c-kit for development of intestinal pacemaker system. Development, 116(2): 369-375, 1992.
- 14) Sircar, K., Hewlett, B. R., Huizinga, J. D., Chorneyko, K., Berezin, I., Riddell, R. H.: Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors. Am. J. Surg. Pathol., 23(4):377-389, 1999.
- 15) Kindblom, L. G., Remotti, H. E., Aldenborg, F., Meis-Kindblom, J. M.: Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. Am. J. Pathol., 152(5): 1259-1269, 1998.
- 16) Skandalakis, J. E., Gray, S. W., Shepard, D.: Smooth Muscle Tumors of the Stomach. Int. Abstr. Surg., 110: 209-226, 1960.
- 17) Isoda, J., DeVries, S., Chu, L., Ghazvini, S., Waldman, F.: Analysis of changes in DNA sequence copy number by comparative genomic hybridization in archival paraffin-embedded tumor sample. Am. J. Pathol., 145: 1301-1308, 1994.
- 18) Kallioniemi, A., Kallioniemi, O. P., Sudar, D., Rutovitz, D., Gray, J. W., Waldman, F., et al.: Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. Science, 258(5083): 818-821, 1992.
- 19) Oshima, K., Ishiguro, M., Ohgami, A. et al.:Ge-

- netic analysis of sorted Hodgin and Reed-Sternberg cells using conparative genomic hybridization. Int. J. Cancer 82: 250-255, 1999.
- 20) Davis, G. B., Blanchard, D. K., Hatch, G. F., 3rd., Wertheimer-Hatch, L., Hatch, K. F., Foster, R. S. Jr., et al.: Tumors of the stomach. World J. Surg., 24(4): 412-420, 2000.
- 21) Ueyama, T., Guo, K. J., Hashimoto, H., Daimaru, Y., Enjoji, M.:A clinicopathologic and immunohistochemical study of gastrointestinal stromal tumors. Cancer, 69(4): 947-955, 1992.
- 22) Seidal, T., Edvardsson, H.: Expression of c-kit (CD117) and Ki67 provides information about the possible cell of origin and clinical course of gastrointestinal stromal tumours. Histopathology, 34(5): 416-424, 1999.
- 23) Carrillo, R., Candia, A., Rodriguez-Peralto, J. L., Caz, V.: Prognostic significance of DNA ploidy and proliferative index (MIB-1 index) in gastrointestinal stromal tumors. Hum. Pathol., 28 (2):160-165, 1997.
- 24) Al-Bozom, I. A.: p53 expression in gastrointestinal stromal tumors. Pathol. Int., 51(7): 519-523, 2001.
- 25) Wang, X., Mori, I., Tang, W., Utsunomiya, H., Nakamura, M., Nakamura, Y., et al.: Gastrointestinal stromal tumors: Clinicopathological study of Chinese cases. Pathol. Int., 51(9): 701-706, 2001.
- 26) Amin, M. B., Ma, C. K., Linden, M. D., Kubus, J. J., Zarbo, R. J.: Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen index in gastric stromal tumors. Correlation with mitotic count and clinical outcome. Am. J. Clin. Pathol., 100 (4): 428-432, 1993.
- 27) Taniguchi, M., Nishida, T., Hirota, S., Isozaki, K., Ito, T., Nomura, T., et al.: Effect of c-kit mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumors. Cancer Res., 59(17): 4297-4300, 1999.
- 28) Ernst, S. I., Hubbs, A. E., Przygodzki, R. M., Emory, T. S., Sobin, L. H., O'Leary, T. J.: KIT mutation portends poor prognosis in gastrointestinal stromal/smooth muscle tumors. Lab. Invest., 78(12): 1633-1636, 1998.
- 29) 野口 剛, 佐藤哲郎, 武野慎祐ら: 消化管間葉系腫瘍の悪性 度診断. 外科, 63 (9): 1045 - 1057, 2001.
- 30) Sobue, K., Sellers, J. R.: Caldesmon, a novel regulatory protein in smooth muscle and nonmuscle actomyosin systems. J. Biol. Chem., 266 (19): 12115-12118, 1991.
- 31) Frid, M. G., Shekhonin, B. V., Koteliansky, V. E., Glukhova, M. A.: Phenotypic changes of human smooth muscle cells during development: late expression of heavy caldesmon and calponin. Dev. Biol., 153(2): 185-193, 1992.
- 32) Sobue, K., Tanaka, T., Kanda, K., Ashino, N., Kakiuchi, S.: Purification and characterization of caldesmon77: a calmodulin-binding protein that in-

- teracts with actin filaments from bovine adrenal medulla. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82(15): 5025 5029, 1985.
- 33) Miettinen, M. M., Sarlomo-Rikala, M., Kovatich, A. J., Lasota, J.: Calponin and h-caldesmon in soft tissue tumors: consistent h-caldesmon immunoreactivity in gastrointestinal stromal tumors indicates traits of smooth muscle differentiation. Mod. Pathol., 12(8): 756-762, 1999.
- 34) Sakurai, S., Hishima, T., Takazawa, Y., Sano, T., Nakajima, T., Saito, K., et al.: Gastrointestinal stromal tumors and KIT-positive mesenchymal cells in the omentum. Pathol. Int., 51(7): 524-31, 2001.
- 35) Miettinen, M., Monihan, J. M., Sarlomo-Rikala, M., Kovatich, A. J., Carr, N. J., Emory, T. S., et al.: Gastrointestinal stromal tumors/smooth muscle tumors (GISTs) primary in the omentum and mesentery: clinicopathologic and immunohistochemical study of 26 cases. Am. J. Surg. Pathol., 23(9): 1109-1118, 1999.
- 36) Miettinen, M., Sarlomo-Rikala, M., Lasota, J.,: Gastrointestinal stromal tumors: recent advances in understanding of their biology. Hum. Pathol., 30 (10): 1213-1220, 1999.
- 37) Miettinen, M., Lasota, J.: Gastrointestinal stromal tumors—definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. Virchows Arch., 438(1):1-12, 2001.
- 38) Hirota, S., Okazaki, T., Kitamura, Y., O'Brien, P., Kapusta, L., Dardick, I.: Cause of familial and multiple gastrointestinal autonomic nerve tumors with hyperplasia of interstitial cells of Cajal is germline mutation of the c−kit gene. Am. J. Surg. Pathol., 24(2):326-327, 2000.
- 39) Breiner, J. A., Meis-Kindblom, J., Kindblom, L. G., McComb, E., Liu, J., Nelson, M., et al.: Loss of 14q and 22q in gastrointestinal stromal tumors (pacemaker cell tumors). Cancer Genet. Cytogenet., 120 (2): 111-116, 2000.
- 40) El-Rifai, W., Sarlomo-Rikala, M., Andersson, L. C., Knuutila, S., Miettinen, M.:DNA sequence copy number changes in gastrointestinal stromal tumors: tumor progression and prognostic significance. Cancer Res., 60(14): 3899-3903, 2000.
- 41) Hirota, S.: The concept of gastrointestinal stromal tumor (GIST). Endoscopia digestive, 12(9): 1231– 1237, 2000.
- 42) Kim, N. G., Kim, J. J., Ahn, J. Y., Seong, C. M., Noh, S. H., Kim, C. B., et al.: Putative chromosomal deletions on 9P, 9Q and 22Q occur preferentially in malignant gastrointestinal stromal tumors. Int. J. Cancer., 85(5): 633-638, 2000.

(平成15.11.7受付, 15.12.25受理)