

Dr. Orosz Zsolt

Országos Onkológiai Intézet, Daganatpatológiai Osztály
Budapest

GIST patológiája

2006-ban a GIST-tel foglalkozó közlemények száma tovább emelkedett. Számos esetismertetés és kisebb szériás munka mellett több áttekintő cikk és a GIST-ek molekuláris prognosztikájával foglalkozó cikk érdemel figyelmet.

Miettinen és Lasota az **Arch Pathol Lab Med**-ben jelentettek meg 2006-ban egy áttekintő cikket a gastrointestinalis stromalis tumorok morfológiájáról, molekuláris patológiájáról, prognózisáról és differenciáldiagnosztikájáról. A szerzők a GIST-ek nemzetközi hírű szakértői, korábbi években számos közleményt írtak ebben a témakörben, nagy részben az Armed Forces Institute of Pathology anyagára alapozva. A GIST-ek a gastrointestinalis traktus mesenchymalis tumorai, amelyek immunhisztokémiaiál általában Kit (CD117) pozitívak, kialakulásukban pedig nagyobb részben a KIT gén, kisebb részben a PDGFR-A gén mutációja játszik szerepet. A GIST-ek szövettanilag orsó és/vagy epithelioid sejtfarmákból épülnek fel, ritkán pleomorphak. A GIST-ek biológiai viselkedése széles spektrumban változó.

A gastrointestinalis stromalis tumorok magukba foglalják a GI traktus korábban leiomyomaként, leiomyoblastomaként, leiomyosarcomaként vagy neurofibromaként és schwannomaként diagnosztizált elváltozások jelentős részét. Valódi simaizom tumorok túlnyomórészt a nyelöcső falában illetve a colorectum muscularis mucosájával összefüggésben figyelhetők meg. Valódi simaizom és idegköteg tumorok ebben a lokalizációban szörványosan fordulnak elő. A gastrointestinalis autonom ideg tumorok (GANT) szövettani, immunhisztokémiai és molekuláris eltéréseik alapján a GIST alcsoportját képezik.

A GIST-ek leggyakrabban gastrointestinalis vérzés tüneteivel jelentkeznek, ami lehet akut vagy krónikus. Ritkább, hogy a tumor rupturája vagy obstructio akut has tüneteivel hívja fel a figyelmet a daganatra. A kisebb GIST-ek gyakran incidentalis leletek, más orvosi beavatkozás, elsősorban endoscopos vizsgálat kapcsán.

A gyomorból kiinduló GIST-ek 20-25%-a, a vékonybél kiindulásúak 40-50%-a malignus klinikailag a jelentkezéskor. A metastasisok helye leggyakrabban a hasüreg és a máj, ritkább a csontokba, lágyrészekbe és a bőrbe adott áttét, a tüdő és a nyirokcsomó metastasisok extrém ritkák. Áttétek akár 10-15 évvel a primer daganat felfedezése után is kifejlődhhetnek, ami hosszú távú követést indokol.

A histogenezisre vonatkozó ma elfogadott vélemény szerint a GIST-ek a Cajal-féle interstitialis sejtekből vagy ezek precursoraiból indulnak ki. A Cajal-sejtek a GI traktus autonom beidegzése és a simaizomsejtek közötti kapcsolódásban játszanak szerepet, szabályozva a motilitást. A sejtek Kit és Kit-ligand ("stem cell factor") pozitívak, és a plexus myentericusban valamint a muscularis propriában helyezkednek el.

A GIST-ek 80%-ában Kit vagy PDGFR-A tirozin kináz receptor működést befolyásoló mutáció mutatható ki. A mutáció általában a receptor ligandtól független dimerizációjához és aktiválódásához vezet.

A Kit és a PDGFR-A gének jelentős homológiát mutató tirozin kináz proteinek kódolnak. Mindkét gén a 4q12-n helyezkedik el. A fehérjék strukturálisan a III-as típusú tirozin kináz receptor családba tartoznak.

Sporadikus GIST-ekben a Kit gén 4 különböző régiójában lehet mutáció, ezek gyakoriság szerint csökkenő sorrendben 11-es exon, 9-es exon, 13-as exon és 17-es exon. A legtöbb Kit-mutáns protein szenzitív az imatinib (Glivec) kezelésre, de a 17-es mutáció rezisztens és az exon 9 kevésbé szenzitív, mint a 11-es.

A legtöbb GIST-ben a juxtamembrán domain-t érintő 11-es exon mutáció van jelen. Ez a régió közvetlenül a sejtmembrán mellett belül helyezkedik el és valószínűsíthetően a Kit aktiváció szabályozásában gátló szerepet tölt be. A második leggyakoribb mutáció (5-13%) a 9-es exont érinti, ami az extracelluláris domain végét kódolja. Ez a mutáció gyakori vékonybél GIST-ek esetében. A PDGFR-A mutációk gyakorisága csökkenő sorrendben: 18-as exon, 12-es exon és 14-es exon. Ezek a régiók megfelelnek a Kit exon 17, 11 és 13-nak. A PDGFR-A mutációk elsősorban gyomor epithelioid GIST-ekben mutathatók ki, de előfordulhatnak duodenalis esetekben is. A leggyakoribb (80%) exon 18-as PDGFR-A mutáció imatinib elleni elsődleges rezisztenciával jár. Az imatinib kezelés során kialakuló rezisztencia szekunder mutációk következménye.

A GIST-ek incidenciája skandináv adatok szerint 11-14,5/millió lakos/év. A GIST-ek többnyire 50 éves kor felett kerülnek felfedezésre, a nemek között nincs gyakoriságbeli különbség. A leggyakoribb lokalizáció a gyomor (60%), ezt a jejunum és az ileum követi (30%). A duodenalis esetek aránya kb. 5%, a colorectum kevesebb, mint 5%. A nyelőcső és appendix GIST-jei 1%-nál ritkábbak. Az extragastrointestinalis GIST-ek pathogenesisénél feltételezik, hogy ezek szintén az üreges szervekkel kapcsolatban alakulnak ki, de fejlődésmenetük során lefűződnek a gyomor- vagy a bélfalról. A GIST-ek kevesebb, mint 5%-a társul 1-es típusú neurofibromatosiszal, Carney-triásszal vagy familiáris GIST szindrómával. A szakirodalomban eddig 12 dokumentált GIST-es család került dokumentálásra.

A GIST makroszkópos megjelenésében subserosus, intramuralis vagy polypoid, intraluminalis elváltozásként jelentkezhet.

A gyomorból kiinduló GIST-ek szövettani megjelenés szerint 8 alcsoportba sorolhatók: 1) sclerotizáló orsósejtes, 2) palisád elrendeződés vacuolisált sejtes, 4) hypercellularis orsósejtes, 4) sarcomatosus orsósejtes, 5) sclerotizáló epithelioid sejtes, 6) dyscohesive epithelioid sejtes, 7) hypercellularis epithelioid sejtes és 8) sarcomatosus epithelioid sejtes. A vékonybél GIST-jei döntő többségükben orsósejtesek és kb. 50%-uk tartalmaz ún. skeinoid rostokat. Ezek jelenléte relatíve kedvezőbb prognózist jelezhet. A vékonybél epithelioid sejtes daganatai általában malignusabb viselkedést mutatnak.

A GIST-eket immunhisztokémiailag a CD117 reaktivitás jellemzi, csak 5% a CD117 negatív esetek száma. Gyakori, bár kevésbé specifikus a CD34 és a nestin pozitivitás. A CD34 a gyomor GIST-ek kb. 80-85%-ában, a vékonybél GIST-ek kb. felében expresszálódik. Változó arányban pozitívak a simaizom markerek (simaizom actin, h-caldesmon, calponin), a desmin általában negatív. A gyomor és a vékonybél tumorokban az alfa simaizom pozitivitás kedvezőbb prognózist jelez. Az S100 pozitivitás ritka, a GFAP negatív. Alkalmilag előfordulhat cytokeratin 18 és cytokeratin 8 reaktivitás. A PDGFR-A immun-hisztokémiáról egyelőre csak szórványos adatok állnak rendelkezésre, a reakció paraffinba ágyazott, fixált mintákon nem megbízható.

A protein kináz theta és a DOG1 nehezebben hozzáférhető antitestek, kevés a tapasztalat velük. A GIST-ek biológiai viselkedésének megítélésében a daganat méretét és a 400-as nagyítással 50 nagy nagyítású (5 mm²) látótérben megszámlolt osztódó alakok számát vesszük figyelembe. A prognosztikai besoroláshoz kialakított konszenzus kritériumokat (Human Pathology 2002) a szerzők kritizálják, mert saját tapasztalatukra hivatkozva azt állítják, hogy a gyomor és a vékonybél GIST-jei ugyanazon paraméterek mellett eltérő viselkedésűek, nevezetesen a vékonybél GIST-jei magasabb malignus potenciállal rendelkeznek. Erre alapozva a konszenzusos besorolástól eltérő, kissé bonyolultabb prognosztikai táblázatot alakítottak ki. A szakirodalomban erről várhatóan komoly viták lesznek, kérdés.

A GIST diagnosztikájában alapvető fontosságú a CD117 immunhisztokémiai reakció. Dorfman és mtsai az **Arch Pathol Lab Med** CD117 immunhisztokémiai szöveti microarray felmérésükről számoltak be. A vizsgálatot a College of American Pathologists (CAP) szervezte. A szöveti microarray (TMA) 10 tumor 3 mm átmérőjű mintáit tartalmazta. A minták között 4 GIST, 1 uterus leiomyoma, 1 perifériás idegköteg tumor, 1 uterus stromalis sarcoma és 3 leiomyosarcoma szerepelt. A résztvevő laboratóriumoknak 2004-ben és 2005-ben egy-egy festetlen TMA metszetet küldtek. A minták ugyanazok voltak, csak a TMA-ban más sorrendben helyezték el a hengereket. A résztvevők a metszetet a saját laboratóriumukban használatos antitesttel és módon festették meg. A vizsgálatban

2004-ben 63, 2005-ben 90 laboratórium vett részt. A legtöbb résztvevő poliklonális anti-CD117 antitestet használt, immunfestő automatában. A 4 CD117 pozitív GIST esetében a mindkét évben 95% feletti konkordanciát tapasztaltak. A különböző antitestek vagy antigén feltárási módszerek között nem találtak lényeges különbséget. A CD117 negatív 2 leiomyosarcoma és uterus leiomyoma 81%-os egyezési arányt adott. A többi tumor esetében az egyezés ennél rosszabb volt, a résztvevők CD117 reaktívnak találták a tumorokat 11,1-21,0%-ban. A téves véleményezés okaként a necrosis jelenlétét vagy a normál hízósejtek reaktivitását jelölték meg. A vizsgálat eredményei 2004 és 2005 között javultak. A szerzők következtetése szerint a TMA jó módszer a laboratóriumok közötti összehasonlításra és a minőség biztosításra. Különösen fontos, hogy a GIST-ek CD117 reaktivitását a laboratóriumok igen jó arányban adták meg helyesen.

Daum és mtsai az **Annals of Diagnostic Pathology**-ben a PDGFR-A-mutáns GIST-ek diagnosztikus morfológiai jellemzőit, molekuláris genetikai és szövettani elemzését végezték el, gyomorra lokalizált 60 eset kapcsán. A 27 férfi és 33 nő átlagéletkora 63,8 év volt. KIT mutációt 31 esetben (51,7%), PDGFR-A mutációt 22 esetben (36,7%) találtak, míg 7 eset (11,7%) Kit és PDGFR-A "wild-type" volt. A c-kit gén 9, 11, 13 és 17-es valamint a PDGFRA gén 12, 14 és 18-as exonjának lehetséges mutációit elemezték. KIT 11-es exon mutáció 30 esetben, KIT 13-as exon mutáció 1 esetben, PDGFR-A 18-as exon 17 esetben, PDGFR-A 12-es exon mutáció 4 esetben és PDGFR-A mutációt 1 esetben találtak. A CD117 immunhisztokémia 20 esetben volt negatív, ebből 15 PDGFR-A, 3 KIT mutáns 2 pedig vad típusú volt. A PDGFR mutáns csoportból 15 eset volt CD117 negatív és 7 pozitív. Harminc daganat mutatott epithelioid vagy kevert orsó/epithelioid mintázatot, és ezek 73,3%-a PDGFR-A mutáns, 13,3%-a KIT mutáns, 13,3%-a mindkét génre vad típusú volt. Myxoid stromát 33 esetben figyeltek meg, ezek 37,5%-ában a KIT, 46,5%-ában a PDGFR-A volt mutáns. A tumoron belül elhelyezkedő hízósejteket hízósejt triptáz elleni antitesttel tüntették fel. Intratumorális hízósejteket csak PDGFR-A mutáns vagy vad-típusú GIST-ekben találtak. A többmagvú óriássejteket is tartalmazó 20 tumor 65%-a PDGFR, 25%-a KIT mutáns, 10%-a vad típusú volt. Rhabdoid neoplasticus sejtek 24 tumorban látszottak, ezek egy negyede KIT mutáns, 62,5%-a PDGFR-A mutáns, 12,5%-a vad típusú volt.

A szerzők következtetése szerint a PDGFR-A mutáns daganatok sokkal gyakrabban epithelioid sejtess vagy kevert fenotípusúak és intratumorális hízósejtek is elsősorban ezekben láthatók. A rhabdoid és többmagvú tumorsejtek is gyakrabban jelennek meg a PDGFR-A mutáns tumorokban, bár a különbség itt nem annyira szembetűnő.

Agaram és mtsai a **Clin Cancer Res**-ben megjelent közleményükben arra kerestek választ, hogy milyen pathológiai válaszok és molekuláris eltérések láthatók a klinikailag imatinib stabil/imatinib responsive GIST-ekben. A GIST-es betegek imatinib-re adott válasza függ a KIT mutáció lokalizációjától. A 11-es exon mutációt hordozó esetekben a részleges válasz 84%, míg KIT mutáció nélkül az arány 0%. Az imatinib elleni szerzett rezisztencia többnyire a KIT gén további mutációinak kialakulása miatt lép fel. A második mutáció leggyakrabban a 17-es exont érinti és a KIT kináz domain-jének egy aminosavval történő szubsztitúcióját jelentik. Az imatinibre adott választ általában kontrasztanyag CT-vel vagy MRI-vel mérik, a Southwest Oncology Group/Response Evaluation Criteria in Solid Tumors szerint. Egyértelmű, hogy ezek a kritériumok nem alkalmasak a kialakuló gyógyszer rezisztencia megállapítására. A szerzők a tanulmányba olyan kezelt GIST-es betegeket választottak, akiknél képalkotókkal részleges válasz vagy stabil betegség volt megfigyelhető, és akik reziduális tumorát sebészileg eltávolították. Az imatinibre adott szövettani választ százalékos arányban fejezték ki és a necrosis valamint a fibrosis makroszkópos és mikroszkópos aránya alapján fokozatokba sorolták be: 1) minimális válasz (0-10%); 2) alacsony válasz (11-50%); 3) mérsékelt válasz (51-90%); és 4) magas (90% felett). Ugyancsak rögzítették a daganatsejtek fenotípusát és az osztódási aktivitást. A tanulmányba 15 férfi és 13 nő került be. Átlagéletkor 57,2 év volt. 14 betegnek vékonybél, 8-nak gyomor kiindulású primer tumora volt, a többi rectumra lokalizált vagy extraintestinalis volt. A daganatok többsége (23) orsósejtes megjelenésű volt. A vizsgálat szerint a klinikailag partialis választ mutató betegek

több mint felében nagyon jó (grade 4) histologiai választ találtak, míg stabil betegségben ez nem volt kimutatható. A betegek egy kisebb hányada a klinikailag reagálók közül (14%) csak grade 1 histologiai választ mutatott. Érdekes megfigyelés, hogy a 11-es exon mutációjú vagy vad típusú GIST-esek több mint fele nagyon jó histologiai választ mutatott. A GIST-ek imatinib kezelésre adott válasza variábilis és heterogén. Nagyon jó histologiai válasz mellett is maradhatnak apró aktív, élő daganatgócok. A szerzők beszámolnak róla, hogy az imatinibre reagáló daganatok egy részében egyértelmű simaizom irányú differenciáció alakult ki, amit immunhisztokémiával és elektronmikroszkóposan is igazolni tudtak. Következtetésük szerint az imatinib a KIT szignálúton keresztül okozza ezt a transz-differenciációt.

A közlemény véső következtetése szerint a szövettani és klinikai válasz nem mutat szoros összefüggést. A második KIT mutáció a reagáló csoportban ritka, míg a rezisztens csoportban gyakori és nagyrészt ez a kináz domain-t érinti.

Az imatinib rezisztencia kialakulásának kérdése a kezeléssel nyert immár több éves tapasztalatok függvényében egyre inkább előtérbe kerül. Heinrich és mtsai a **Journal of Clinical Oncology**-ban megjelent cikkükben a gyógyszer rezisztencia és a molekuláris eltérések kapcsolatát vizsgálták. Randomizált II. fázisú vizsgálatba 147 beteget vontak be, akik előrehaladt, nem reszekálható GIST-ben szenvedtek, és ebből a csoportból 43 beteg daganatszövetén a kezelés előtt és kezelés után molekuláris vizsgálatokat végeztek. 10 betegnél primer, 33 betegnél sekunder rezisztencia állt fenn. Az imatinib rezisztens GIST-ekben a kezeletlen GIST-ekhez hasonló szignálutak figyelhetők meg. A primer rezisztens esetekben csak ritkán van jelen másodlagos mutáció. A primer rezisztens csoportban nagyobb arányú a PDGFR-A D842V és a KIT 9-es exon mutáció. Ezek a molekuláris eltérések, szemben a KIT 11-es exon mutációval, kevésbé érzékenyek az imatinib kezelésre. A PDGFR-A D842V mutáció in vitro is közepes vagy nagy rezisztenciával jár, ami megmagyarázza, hogy ez a típusú mutáció miért okoz primer rezisztenciát. Ráadásul ez a mutáció másodlagosan, a kezelés során is kialakulhat, akár korábbi, más típusú PDGFR-A, akár KIT mutációhoz társulva, aminek következménye sekunder gyógyszer rezisztencia. A KIT 9-es exon mutációs esetek primer rezisztenciájának pontos molekuláris mechanizmusa nem ismert, de a szerzők elmélete szerint ilyenkor alternatív KIT aktiváció lép fel, amelyhez nem kell a KIT enzimatis aktivitása.

A **Human Pathology** egy japán munkacsoport vizsgálatát közölte, amelyben a szerzők a gyomor mikroszkópikus GIST-jeinek gyakori előfordulásáról számolnak be. Kawanowa és mtsai 100 teljes gastrectomiás mintát (gyomorrák miatti eltávolítás) dolgoztak fel. A feldolgozás során a teljes gyomrot 5 mm-enként szeletelték fel és minden esetből átlagosan 130 metszetet készítettek. A szokványos mikroszkópos vizsgálatot incidentális tumorok esetében CD117, CD34 és desmin immunhisztokémiai reakciókkal valamint a KIT gén 11-es exonját megcélzó mutáció analízissel egészítették ki. 51 gyomorban 101 mikroszkópikus tumort találtak, amelyeket mesenchymalis orsósejtek építettek fel. Ezek közül 35 gyomorban 50 tumor GIST-nek, 51 leiomyomának bizonyult. 100 resectatumból 35-ben összesen 50 mikroszkópikus GIST-et találtak. 12 gyomorban szimultán mikroszkópikus GIST és leiomyoma volt jelen. Az 50 GIST közül 46 volt CD117 pozitív, mindegyik reagált CD34-gyel és negatív volt desminnel. Multiplex GIST 12 esetben fordult elő. A GIST-ek 90%-a a gyomor felső részében helyezkedett el. Az incidentális GIST-ek egyike sem volt 5mm-nél nagyobb (0,2-4.0 mm, átlag 1,5 mm) és mindegyike a muscularis propriában vagy a plexus myentericus közelében helyezkedett el. A GIST-ek mindegyike orsósejtes megjelenést mutatott. Molekuláris vizsgálatra 25 eset volt alkalmas, ebből kettőben találtak 11-es exon mutációt (a többi KIT exont és a PDGFR-A mutációkat nem vizsgálták). A Cajal-sejt hyperplasiától a szerzők szerint a mikroszkópikus GIST-eket utóbbiak expanzív növekedése különíti el. A szerzők következtetése szerint a GIST-ek kialakulásában alapvető lépés a c-kit mutáció, azonban a klinikai GIST-ek kialakulásához további genetikai károsodás szükséges.

Irodalom:

1. Fletcher JA, Rubin BP.: KIT Mutations in GIST. *Curr Opin Genet Dev.* 2007 Feb;17(1):3-7
2. Heinrich MC, Corless CL, Blanke CD, Demetri GD, Joensuu H, Roberts PJ, Eisenberg BL, von Mehren M, Fletcher CD, Sandau K, McDougall K, Ou WB, Chen CJ, Fletcher JA.: Molecular Correlates of Imatinib Resistance in Gastrointestinal Stromal Tumors. *J Clin Oncol.* 2006 Sep 5 24:4764-4774
3. Dorfman DM, Bui MM, Tubbs RR, Hsi ED, Fitzgibbons PL, Linden MD, Rickert RR, Roche PC: College of American Pathologists Cell Markers Committee. *Arch Pathol Lab Med.* 2006 Jun;130(6):779-82.
4. Meza-Zepeda LA, Kresse SH, Barragan-Polania AH, Bjerkehagen B, Ohnstad HO, Namlos HM, Wang J, Kristiansen BE, Myklebost O.: Array Comparative Genomic Hybridization Reveals Distinct DNA Copy Number Differences between Gastrointestinal Stromal Tumors and Leiomyosarcomas. *Cancer Res.* 2006 Sep 15;66(18):8984-93.
5. Miettinen M, Lasota J.: Gastrointestinal stromal tumors. Review on Morphology, Molecular Pathology, Prognosis, and Differential Diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130:1466-1478
6. Heinrich MC.: Molecular basis for treatment of gastrointestinal stromal tumours. *EJC Supplements* 4: Suppl 1 (2006) 10-18
7. Daum O, Grossmann P, Vanecek T, Sima R, Mukensnabl P, Michal M.: Diagnostic morphological features of PDGFRA-mutated gastrointestinal stromal tumors: molecular genetic and histologic analysis of 60 cases of gastrointestinal stromal tumors. *Ann Diagn Pathol* 2007; 11:27-33
8. Min KW, Leabu M.: Interstitial Cells of Cajal (ICC) and Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST): facts, speculations, and myth. *J Cell Mol Med.* 2006 Oct-Dec;10(4):995-1013.
9. Agaram NP, Besmer P, Wong GC, Guo T, Socci ND, Maki RG, Desantis D, Brennan MF, Singer S, Dematteo RP, Antonescu CR.: Pathologic and molecular heterogeneity in imatinib-stable or imatinib-responsive gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res.* 2007 Jan 1;13(1):170-81
10. Kawanowa K, Sakuma Y, Sakurai S, Hishima T, Iwasaki Y, Saito K, Hosoya Y, Nakajima T, Funata N.: High incidence of microscopic gastrointestinal stromal tumors in the stomach. *Mod Pathol* 2006, 37: 1527-1535
11. Orosz Zs, Dezső B, Sápi Z, Tiszlavicz L, Tornóczy T.: Gastrointestinalis mesenchymalis daganatok újraosztályozása. *Magy Onkol* 2006, 50: 287-292