

(表紙)

表 題 低異型度 ER 陽性 HER2 陰性乳がんにおける術前化学療法による腫瘍縮小様式と予後解析に関する研究

論文の区分 論文博士

著 者 名 深田 一平

所 属 厚生労働省
大臣官房 厚生科学課

2017年 10月 13日申請の学位論文

紹 介 教 員 地域医療学系 専攻 消化器疾患学消化器外科学
職名・氏名 教授 佐田 尚宏

目次

1.	はじめに	2
2.	研究方法	6
3.	結果	16
4.	考察	27
5.	おわりに	31
6.	謝辞	32
7.	引用論文	33

1. はじめに

原発性乳がんに対する術前化学療法 (Neoadjuvant Chemotherapy; 以下、NAC) は、主に手術不能の局所進行乳がんや炎症性乳がんを対象として施行され、化学療法により down staging を図ることが目的である。現在、乳房温存率の向上、化学療法の効果判定が容易であるため薬剤感受性を判定する目的においても、NAC は一般臨床で広く施行されている。

AC 療法 4 コースを術後に施行する標準アームと、術前に施行する試験アームを比較した NSABP B-18 試験、AC 療法後にドセタキセル 4 コースを術前もしくは術後に施行する両群を比較した B-27 試験の結果から、術前化学療法群と術後化学療法群における無再発生存率 (Disease free survival; 以下、DFS) および全生存率 (Overall survival; 以下、OS) が同等であることが示された (1, 2)。さらに、ドセタキセルの術前投与により病理学的完全奏効 (Pathological Complete Response; 以下、pCR) 率が 12% 向上し (2, 3)、NAC 後に pCR が得られた症例では、非 pCR 症例と比較して DFS、OS とともに良好であることが明らかになった (1)。したがって、アメリカ食品医薬品局による新規抗悪性腫瘍剤の承認においても pCR 率の向上が重要視されるようになり、今後も pCR を目指す薬物療法の開発が急務である。

一方、Perou CM らにより、乳がんは DNA マイクロアレイを用いた mRNA 発現プロファイルによる分類から始まり、実臨床においては、ホルモン受容体および HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) 発現状況に基づく 4 種類のサブタイプに分類され、サブタイプに基づく治療が主流となっている (図 1)。

		ホルモン受容体	
		陽性	陰性
HER2	陽性	ルミナール HER2	HER2
	陰性	ルミナール	トリプルネガティブ

図 1. ホルモン受容体および HER2 発現状況にもとづくサブタイプ分類

原則として、ホルモン受容体陽性乳がんでは内分泌療法、HER2 陽性乳がんでは化学療法+抗 HER2 療法が主体となり、トリプルネガティブ乳がんでは化学療法が一般的な治療法となる。

NAC の効果予測因子として、エストロゲン受容体 (ER)、プロゲステロン受容体 (PgR)、HER2 が一般的に使用されているが、乳がんは非常に不均一性の高い細胞集団であり、化学療法に対する反応は多岐にわたる。ER 陽性乳がんに対する NAC の効果が乏しいことは数多く報告されており、ER 発現状況は NAC において重要な効果予測因子と言える。2013 年のザンクトガレン乳がんコンセンサス会議において、ER および PgR 陽性、HER2 陰性 (ルミナール) 乳がんにおいて、細胞増殖指標である Ki67 が低値の乳がんをルミナール A 乳がん、Ki67 が高値の乳がんをルミナール B 乳がんとして定義した(4)。ルミナール A 乳がんは、内分泌療法への感受性が高い一方で、様々な研究において化学療法に対する感受性が低く (5, 6, 7)、ルミナール A 乳がんに対する NAC による pCR 率は ホルモン受容体陰性乳がんと比較して低いことが明らかとなっている (8, 9, 10)。また、Minckwitz らは、ER/PgR 陽性 HER2 陰性、かつ核異型度が 1 または 2 の、低異型度ルミナール乳がんにおける pCR 率は 8.9%であり、さらに、pCR が予後と関連しないことを報告している(11)。

ルミナール A 乳がんとルミナール B 乳がんを区別するための Ki67 値に関し

て、そのカットオフの具体的な数値について一定の見解が得られておらず、ルミナール A 乳がんを厳密に定義することは困難である。したがって、ルミナール乳がんにおいて、核異型度が 1 または 2 で増殖能がより低く、生物学的特性がルミナール A 乳がんに近いと考えられる、低異型度ルミナール乳がんにおける pCR に代わる予後予測因子を同定することが重要である。

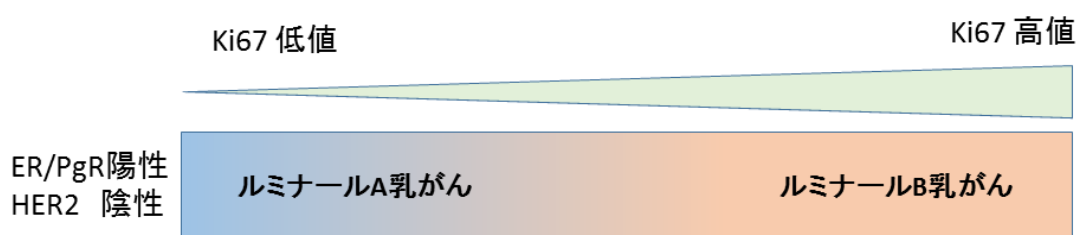


図 2. 低異型度ルミナール乳がんの定義

ルミナール乳がんは、増殖能がより低いルミナール A 乳がん、増殖能がより高いルミナール B 乳がんの大別されるが、Ki67 のカットオフ値については一定の見解が得られていない。ルミナール乳がんにおいて、核異型度が 1 または 2 の増殖能がより低く、ルミナール A 乳がんの生物学的特性に近いと考えられるものを、低異型度ルミナール乳がんとして定義した。

一方、MRI (magnetic resonance imaging) は、化学療法後の血流の伴わない線維性瘢痕と、活動性が残存している腫瘍細胞を区別することが可能である。

MRI を用いて乳房原発巣の NAC 前後における画像上変化を評価することは、治療効果を判定する上で非常に有用であり、すでに実臨床で広く使用されている(12, 13, 14, 15)。さらに、化学療法に対する乳房原発巣の治療反応から、その生物学的特徴を把握することが出来ると考えられるが、これまでの解析報告は

少ない。NAC に対する乳がんサブタイプ毎の治療効果に関する理解が深まってきたが、NAC によるその縮小様式が予後に関連するのか明らかになっていない。したがって、pCR 率が低いとされる、低異型度ルミナル乳がんにおいて、NAC に対する治療反応を画像的に詳細に検討し、その生物学的特徴を把握することは新たな治療戦略構築に有用と考えられる。そこで、本検討では、低異型度ルミナル乳がんに対する NAC による腫瘍縮小様式を解析し、その生物学的特徴と予後関連因子を同定することにより、有効な治療方法の構築を検討することを目的とした。

2. 研究方法

2.1 研究対象

2000年1月から2009年12月までにがん研究会有明病院でNACを施行した853人のうち、アンストラサイクリン系抗がん剤およびタキサン系抗がん剤を含む標準的化学療法を施行し、NAC前の針生検検体が保管され本検討で再評価が可能であった523人において、ERおよびPgR陽性、HER2陰性、かつ核異型度が1もしくは2の低異型度ルミナール乳がん183人を対象とし、Development setとして腫瘍縮小様式と予後との相関について検討した。

2.2 低異型度ルミナール乳癌の定義

Minckwitzらの定義を用いて、針生検検体において、ERおよびPgR陽性、HER2陰性、かつ核異型度が1もしくは2を、低異型度ルミナール乳がんとして定義した(12)。

2.3 NACの実施方法

がん研究会有明病院におけるNACの適応は、浸潤径3cm以上、もしくは腋窩リンパ節に転移を認める症例とした。NAC開始前に、胸部レントゲン検査、腹部超音波検査、骨シンチ検査、もしくはPET-CTにて遠隔転移を認めないことを確認している。

本検討では、アンストラサイクリン系抗がん剤およびタキサン系抗がん剤の標準的な化学療法を施行した。アンストラサイクリン系抗がん剤として、FAC療法(フルオロウラシル 500 mg/m², ドキソルビシン 50 mg/m², シクロホスファミド 500 mg/m²) または FEC療法 (フルオロウラシル 500 mg/m², エピルビシン

100 mg/m², シクロホスファミド 500 mg/m²)を使用している。また、タキサン系抗がん剤として、毎週パクリタキセル(80 mg/m²)、3週毎パクリタキセル(175 mg/m²)、3週毎ドセタキセル(75 mg/m²)のいずれかを施行した。

2.4 画像評価方法

NAC 開始前、治療終了時、治療レジメン変更時に MRI を用いて治療効果判定を施行した。MRI 検査は腹臥位で行い、MRI は 1.5 テスラ (Signa HD;GE Health Care) を使用して撮影を行った。撮影プロトコールとして、まず患側乳房のみ検査を施行、始めに脂肪抑制 T2 強調画像 (TR/TE: 4800/85 msec, ETL16,matrix=384 x 224, field of view(FOV)=260mm, スライス厚 3 mm, スライスギャップ 0mm) を撮影した。引き続き、ガドリウム製剤 (オムニスキャン、第一三共) 0.2mmol/kg を 3ml/秒の投与速度で静脈内注入し、脂肪抑制 T1 強調画像 (TR/TE/FA=3.6msec/1.0msec/15°,FOV=26×26cm; matrix=320× 240; section,スライス厚 3 mm, スライスギャップ 0mm, スキャン時間 60 秒) を撮影した。尚、撮影タイミングは造影剤投与前、投与後 60,120,180,240 秒とした。さらに造影剤投与後 300 秒後に VIBRANT 3D 画像を両側体軸断面 (TR/TE/FA=4.9msec/2.3msec/10°, FOV=35×35cm; matrix=350× 320; section スライス厚 32.0mm、スライスギャップ 0mm、スキャン時間 234sec) を撮影した。

Development set の全ての MRI 画像は、読影歴 25 年以上の 1 名の画像診断医により、NAC 前後の MRI 画像における腫瘍進展範囲、形態および造影効果を精査して腫瘍縮小様式を評価した。

MRI 画像における NAC 前後の腫瘍縮小様式は、求心性縮小様式 (concentric shrinkage) と、非求心性縮小様式に分類した。

求心性縮小様式は、次の 2 つの様式から構成される。まず、治療前の MRI において mass enhancement（腫瘍病変）のみで、治療により単純に求心性に縮小するパターン（simple concentric shrinkage pattern; simple CS）と、治療前の形態に関わらず NAC により完全に造影効果が消失するか、5mm 未満の focus（微小増強効果）を残すのみのパターン（concentric shrinkage to small foci; CS to small foci）である。

simple CS とは、まず NAC 前に mass enhancement（腫瘍病変）のみで、周囲に non-mass enhancement（腫瘍非形成性病変）や娘病変を伴わず、さらに NAC により単純に求心性に縮小をきたすものと定義した（図 3-A）。CS to small foci は、NAC 前の形態は問わないが、化学療法により求心性縮小を示し、造影効果が消失するか、もしくは微小病変（focus）を残すのみとなったものと定義した（図 3-B）。Focus は 5mm 未満の微小造影効果のため形態的評価が困難な病変である(16)。

非求心性縮小様式は、びまん性縮小（diffuse decrease, 図 3-C）、造影密度のみの低下（decrease of intensity only, 図 3-D）、不変（no change）、増大（enlargement）を合わせたものと定義した。

また、NAC 前の MRI の造影パターンに関しては、mass enhancement only（腫瘍病変のみ）と、non-mass enhancement（腫瘍非形成性病変）を伴うものに分類して解析を行った。

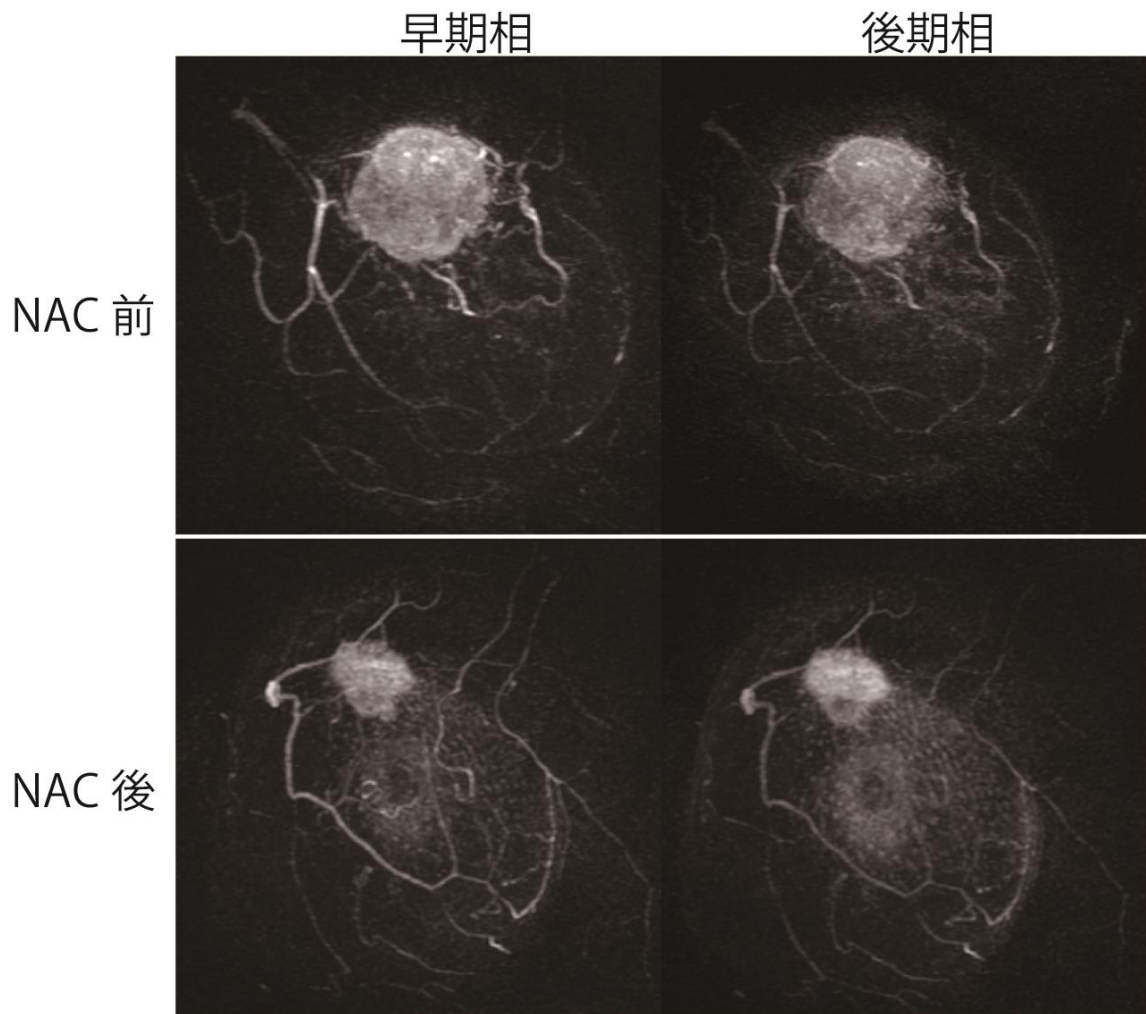


図 3-A. simple concentric shrinkage pattern (simple CS)

NAC 前に mass enhancement (腫瘍病変) のみで、周囲に non-mass enhancement (腫瘍非形成性病変) や娘病変を伴わず、NAC により単純に求心性縮小をきたす。

(文献 38 より改変引用)

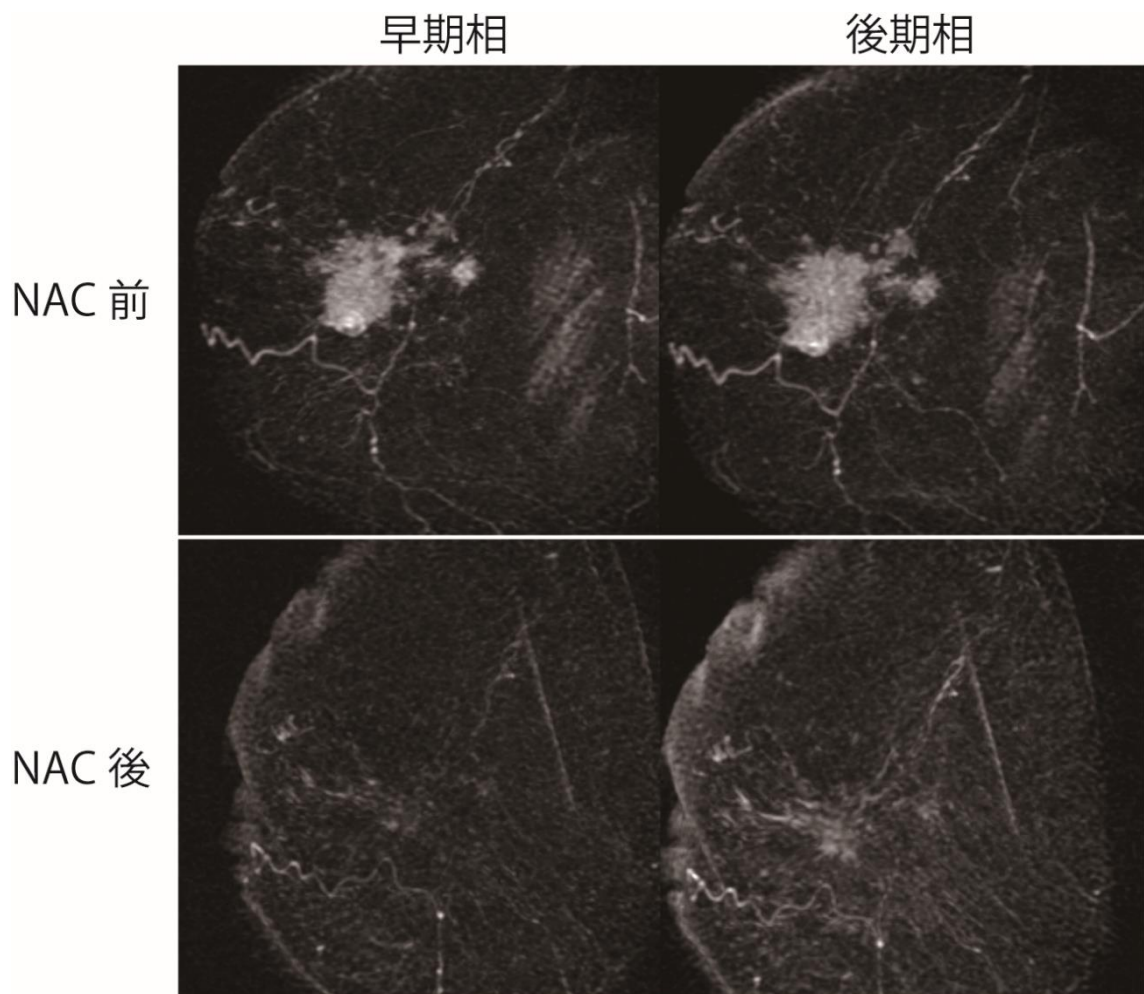


図 3-B. concentric shrinkage to small foci (CS to small foci)

NAC 前の形態は問わないが、化学療法により求心性縮小様式を示し、造影効果が消失する、もしくは focus (微小病変) を残すのみに縮小する。

(文献 38 より改変引用)

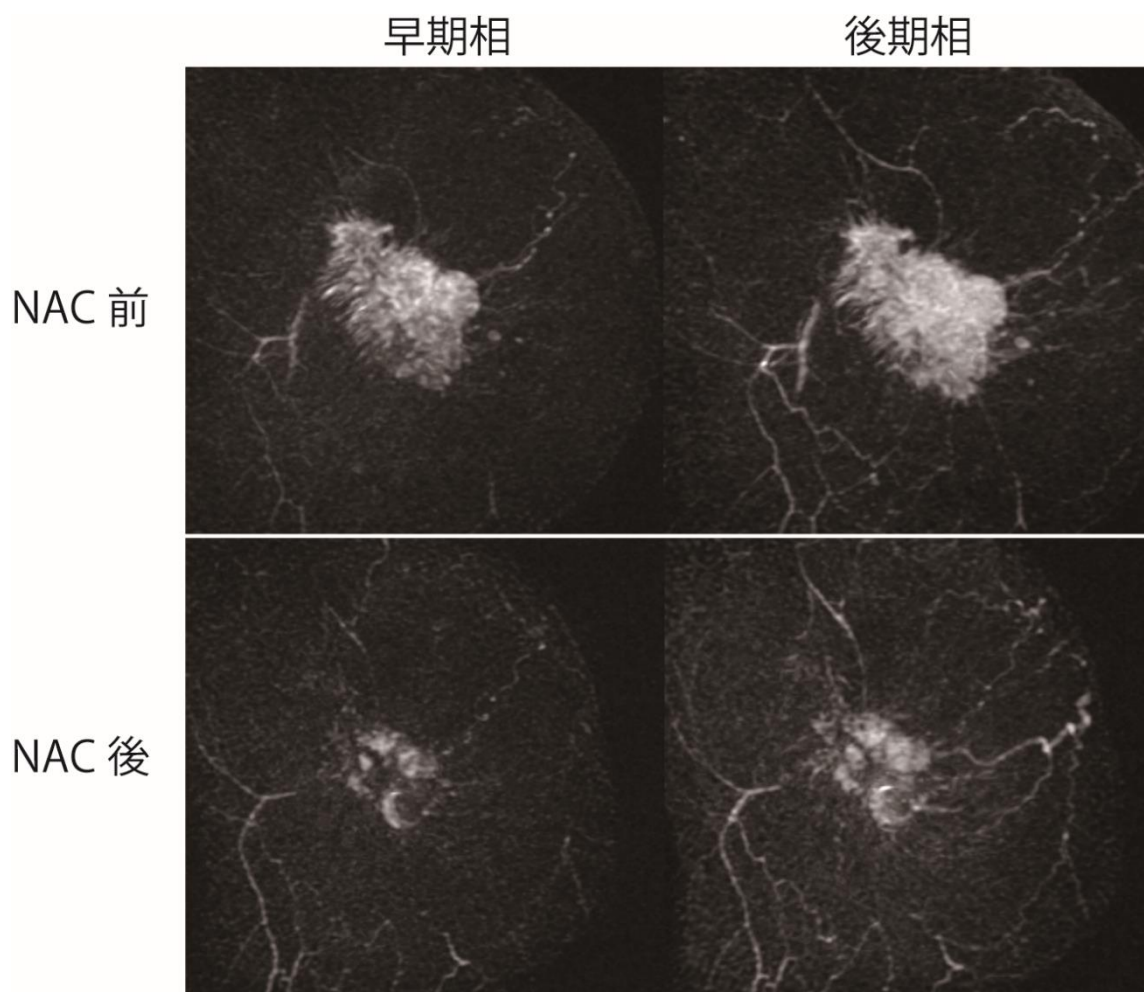


図 3-C. 非求心性縮小様式である、びまん性縮小 (diffuse decrease)

(文献 38 より改変引用)

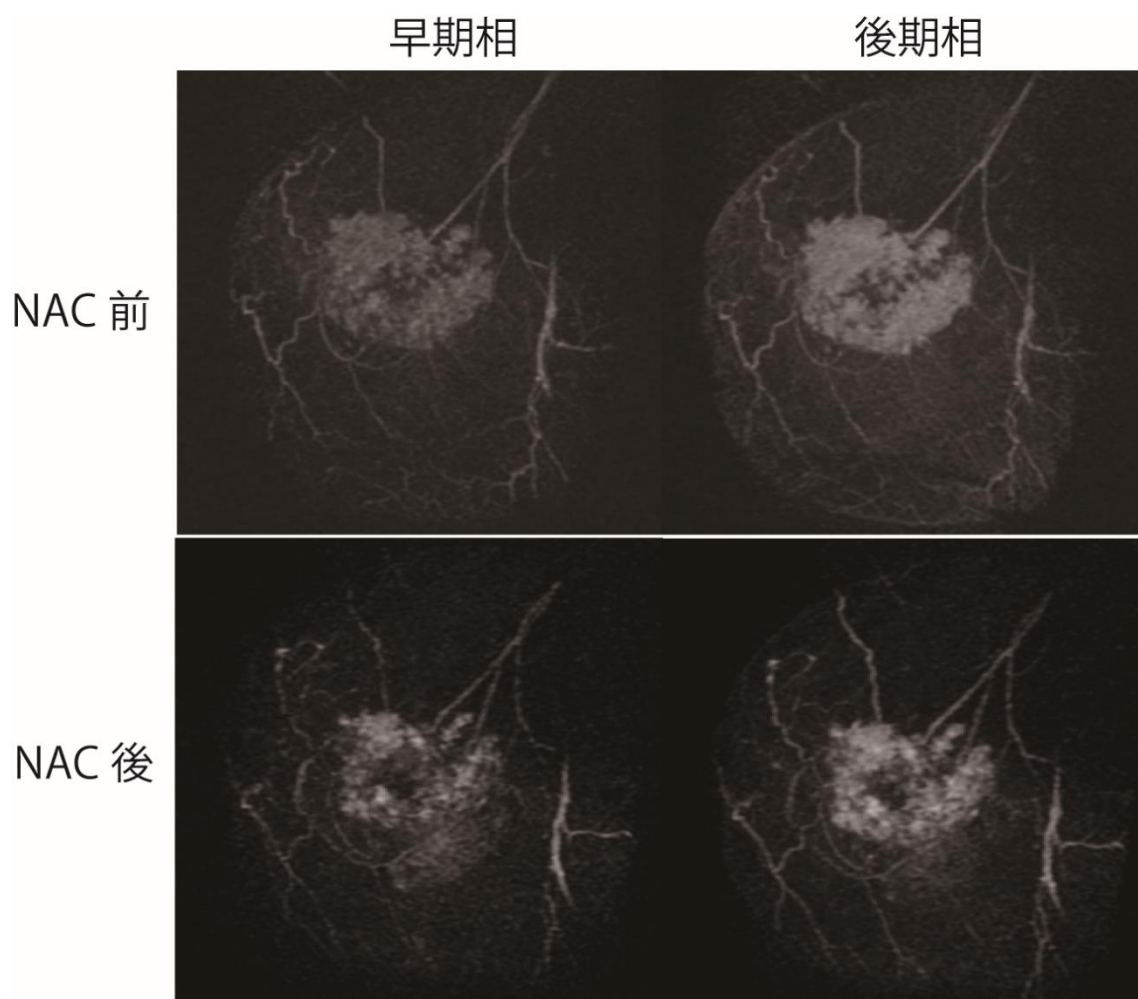


図 3-D. 非求心性縮小様式である、造影密度のみの低下 (decrease of intensity only)

(文献 38 より改変引用)

2.5 組織学的治療効果の定義

針生検検体はパラフィン包埋の上、4 μ m 厚の薄切切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色および、ER、PgR、HER2 の免疫組織染色による病理組織学的評価を行った。HE 染色標本において、日本乳癌学会乳癌取扱い規約 (第 15 版) に準じて、組織学的亜型および核異型度を評価した(17)。乳がんの組織学的亜型は、乳頭腺管癌、充実腺管癌、硬癌に分類し (特殊型は本検討より除外)、核グレード (Nuclear grade) は、核異型スコアと核分裂像スコアの合計で判定し、Grade1 (2,3 点)、Grade2 (4 点)、Grade3 (5,6 点) に分類した。

ER、PgR の発現状況の評価は、それぞれ ER 抗体 (clone1D5, Dako Japan) と PgR 抗体 (clonePgR636, Dako, Japan) を用いた免疫組織学的評価を行った。ER および PgR 陽性は、それぞれ 10%以上の核染色と定義した。ER および PgR のスコアリングは陽性細胞の比率 (0~5 段階で評価) と染色強度 (0~3 段階で評価) を組み合わせた Allred スコアを用いて評価した。

HER2 蛋白および遺伝子増幅検査の評価は ASCO ガイドラインに基づき(18)、HER2 蛋白の免疫組織学的検査は Hercep テスト (Dako,Japan) を用いて施行した。HER2 発現状況は 0,1+,2+,3+に分類され、発現状態が免疫組織学的に 2+の腫瘍においては FISH (Abbott Molecular Inc., Des Plaines, IL, USA) 検査を追加し評価を行った。免疫組織学的検査にて HER2 蛋白発現状況が 0,1+であるか、2+の場合には FISH 検査にて遺伝子増幅を認めないもの(シグナル比 2.0 未満)を HER2 陰性と定義した。

病理学的完全奏効 (pCR) は MD アンダーソンがんセンターから報告されている定義(19)を用いて評価し、ypT0/is ypN0 (乳房原発巣とリンパ節ともに浸潤性病変の残存なし、乳房原発巣の乳管内病変残存は許容) を pCR と定義し

た。また、ypTinv ypN0（乳房原発巣に浸潤性病変が残存するも、リンパ節に残存病変なし）と ypTis/inv ypN+（乳房原発巣の浸潤性病変/非浸潤性病変残存、リンパ節残存病変あり）を非 pCR と定義した。

2.6 腫瘍縮小効果判定（Validation set での検討）

腫瘍縮小様式と予後との相関について、Validation set として 2010 年 1 月から 2012 年 12 月までにがん研究会有明病院で NAC を施行した 292 人のうち、アンストラサイクリン系およびタキサン系抗がん剤を含む標準的化学療法を施行し、NAC 前後における乳房原発巣の MRI 画像評価を行った、低異型度ルミナル乳がん 121 人において検証した。Development set での画像評価を行った 1 名の画像診断医に、2 名の画像診断医を加えて腫瘍縮小様式の評価を行った。求心性縮小様式は全ての画像診断医が合意した場合にのみにその定義を採用し、それ以外の場合は非求心性縮小様式と定義した。

2.7 統計学的処理

統計学的処理は SPSS(ver17.0, IBM, Armonk, NY)を使用、単変量解析における無再発生存期間と全生存期間は Kalan-Meier 法を用いて Log-rank 法で検定し、DFS もしくは OS における P 値が 0.2 以下を示した因子を用いて多変量解析を COX 回帰分析にて行った。また、2 群間の比較は Fischer 法にて検定した。P<0.05 を有意差ありとした。

2.8 倫理審査委員会承認状況

本検討は、がん研究会有明病院の研究倫理審査委員会（IRB）の承認を得て実施された（IRB 承認番号;2013-1138）。病理検体に関しては術前に包括的同意

を取得し、さらに本研究に関するオプトアウトを病院ホームページ上にて行った。

3. 結果

3.1 Development set における患者背景

2.1 の研究対象で記載した、2000 年 1 月から 2009 年 12 月までにがん研究会有明病院で NAC を施行した低異型度ルミナル乳がん 183 人を Development set として検討を行った。

患者背景ならびに腫瘍縮小様式による患者分布を表 1 に示す。観察期間の中央値は 67.9 ヶ月で、再発は 31 例 (6.9%)、乳がん死は 16 例 (8.7%) に認められた。5 年 DFS および OS は、それぞれ 84.7% と 94.3% であった。NAC による求心性縮小様式は 104 例 (56.8%) に認められ、非求心性縮小様式は 79 例 (43.2%) であった。NAC 前の MRI の造影パターンによる腫瘍形態に関しては、mass enhancement only (腫瘍病変のみ) が 110 例 (60.1%) に認められ、non-mass enhancement (腫瘍非形成性病変) を伴うものは 73 例 (39.9%) に認められた。NAC による組織学的治療効果に関しては、3 例 (1.6%) に pCR を認めたのみであり、180 例 (98.4%) で pCR に至らなかった。求心性縮小群と非求心性縮小群では、年齢、ホルモン受容体発現状況、核異型度、組織型、NAC レジメンでは両群に差は認められなかったが、腫瘍径 ($p=0.002$)、リンパ節転移個数 ($p=0.002$)、NAC 前腫瘍形態 ($p<0.001$) および組織学的治療効果 ($p=0.017$) において有意差を認めた。

表1 腫瘍縮小様式による患者背景 (Development set)

	求心性縮小群	非求心性縮小群	P 値
	104 例	79 例	
年齢			
中央値	50.5	49.0	
範囲	22-75	28-76	
49 \geq	48	42	0.347
50 \leq	56	37	
NAC 前腫瘍径			
T1	12	6	0.002
T2	78	44	
T3	5	16	
T4	9	13	
リンパ節転移数			
0	34	13	0.002
1-3	49	34	
4-9	17	23	
10<	4	9	
ホルモン受容体(Allred score)			
ER7 \leq , PgR7 \leq	45	32	0.102
ER7 \leq , PgR7>	51	46	
ER7>, PgR7>	8	1	
ER7>, PgR7 \leq	0	0	
核異型度(NG)			
NG1	67	57	0.268
NG2	37	22	
組織学的亜型			
乳頭腺管癌	9	14	0.068
充実腺管癌	20	8	
硬癌	75	57	
術前化学療法レジメン			
アンストラサイクリン	33	19	0.397
アンストラサイクリン→タキサン	70	58	
タキサン	1	2	
術後化学療法レジメン			

アンストラサイクリン	0	0	-
タキサン	15	15	
<hr/>			
NAC 前腫瘍形態			
腫瘍非形成性病変あり	25	48	<0.001
腫瘍病変のみ	79	31	
<hr/>			
組織学的治療効果			
ypT0/is ypN0	2	1	0.017
ypTinv ypN0	33	11	
ypTis/inv ypN+	69	67	
<hr/>			
予後			
再発	6	25	
死亡	2	14	
<hr/>			

(文献 38 より改変引用)

3.1 Development set における腫瘍縮小様式と予後の相関

観察期間中央値 67.9 カ月において、求心性縮小群では再発 6 例(3.3%)、乳がん死は 2 例(1.1%)であり、非求心性縮小群では再発 25 例(13.7%)、乳がん死は 14 例(7.7%)であった。腫瘍縮小様式による予後の解析において、求心性縮小群では、非求心性縮小群と比較して DFS の有意な延長を認めた (ハザード比[HR],0.13; 95% CI, 0.05 to 0.35; $p<0.001$)。また、OS においても、求心性縮小群では、非求心性縮小群と比較して有意な延長が認められた (HR,0.12; 95% CI, 0.03 to 0.50; $p<0.001$)。

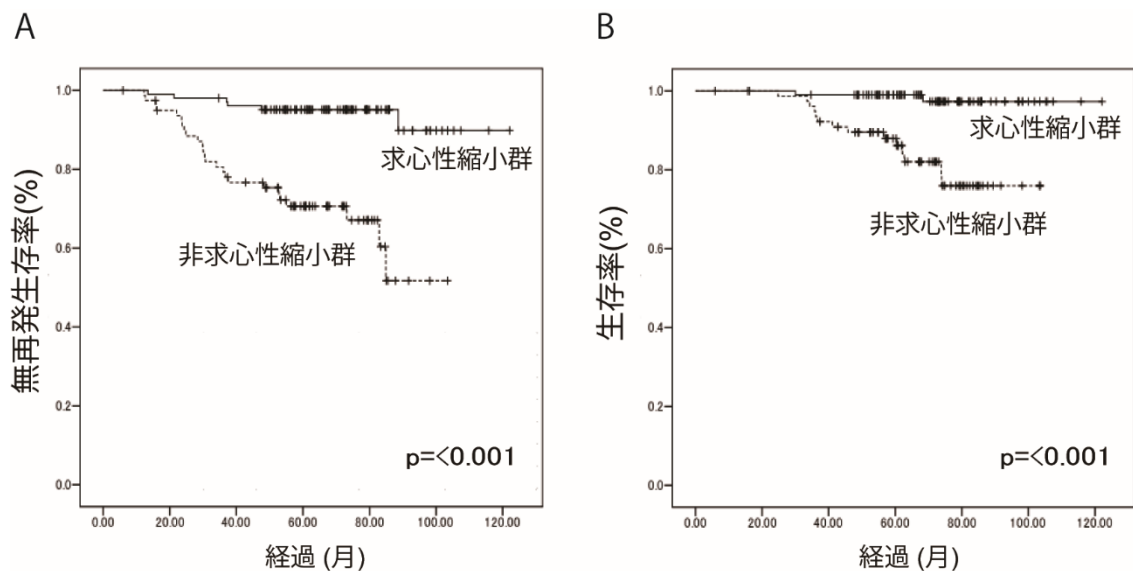


図 2. Development set における腫瘍縮小様式と予後の相関

求心性縮小群では、非求心性縮小群と比較して DFS および OS の有意な延長を認めた。

(文献 38 より改変引用)

3.2 Development set における予後関連因子の単変量および多変量解析

単変量解析では DFS と OS において、リンパ節転移 4 個以上 ($p < 0.001$ 、 $p = 0.012$) と大きい腫瘍径 ($p = 0.003$ 、 $p = 0.002$) が有意な予後不良因子であり、求心性縮小様式 ($p < 0.001$ 、 $p < 0.001$) が有意な予後良好因子であった。多変量解析では、DFS においてリンパ節転移 4 個以上 ($p = 0.021$) が予後不良因子であり、単純求心性縮小様式 ($p = 0.001$)、組織型 ($P = 0.042$) が有意な予後良好因子であった。OS においては、求心性縮小様式が唯一の予後良好因子 ($p = 0.009$) であった。

表 2 予後関連因子における単変量および多変量解析 (Development set)

因子	単変量解析		多変量解析			
	P 値		DFS		OS	
	DFS	OS	Hazard Ratio	P 値	Hazard Ratio	P 値
年齢						
50 ≤, 50 >	0.487	0.346				
NAC 前腫瘍径						
T1+T2, T3+T4	0.003	0.002	1.361	0.449	2.175	0.174
リンパ節転移個数						
n4 >, n4 ≤	<0.001	0.012	2.539	0.021	1.412	0.543
ホルモン受容体(Allred score)						
ER7 ≤ and PgR7 ≤, others	0.054	0.051	0.578	0.193	0.408	0.172
核異型度 (NG)						
NG1, NG2	0.559	0.519				
組織学的亜型						
乳頭腺管癌, 充実腺管癌, 硬癌	0.056	0.264	1.987	0.042	2.076	0.139
腫瘍縮小形態						
求心性, 非求心性	<0.001	<0.001	0.179	0.001	0.123	0.009
NAC 前腫瘍形態						
腫瘍非形成性病変あり vs 腫瘍性病変のみ	0.020	0.207	0.694	0.342	0.964	0.945
組織学的治療効果						
ypT0/is ypN0, ypTinv ypN0, ypTis/inv ypN+	0.642	0.364				

(文献 38 より改変引用)

3.3 Validation set における腫瘍縮小様式と予後の相関

Validation set として用意した 121 例の低異型度ルミナール乳がんにおいて、腫瘍縮小様式と予後の相関について検証した。観察期間中央値 56.9 カ月において、再発 20 例 (16.5%)、乳がん死 8 例 (6.6%) を認めた。5 年 DFS および OS は、それぞれ 82.4% と 93.2% であった。NAC による求心性縮小様式は 74 例 (61.2%) に認められ、非求心性縮小様式は 47 例 (38.8%) であった。

腫瘍縮小様式による予後の解析において、求心性縮小群では、非求心性縮小群と比較して有意な DFS の延長を認めた (HR,0.18; 95% CI, 0.07 to 0.50; $p<0.001$)。また OS においても、求心性縮小群では、非求心性縮小群と比較して有意な延長が認められた (HR,0.09; 95% CI, 0.01 to 0.71; $p=0.004$)。多変量解析においても求心性縮小様式が DFS および OS と関連する因子であった ($p=0.007$, $p=0.037$)。

表 3 腫瘍縮小様式による患者背景 (Validation set)

	求心性縮小群	非求心性縮小群	P 値
	74 例	47 例	
年齢			
中央値	49.0	47.0	
範囲	27-70	30-70	
49 \geq	39	29	0.331
50 \leq	35	18	
NAC 前腫瘍径			
T1	9	3	0.068
T2	51	25	
T3	9	11	
T4	5	8	
リンパ節転移数			
0	21	8	0.061
1-3	38	19	
4-9	12	17	
10<	3	3	
ホルモン受容体(Allred score)			
ER7 \leq , PgR7 \leq	32	14	0.060
ER7 \leq , PgR7>	35	22	
ER7>, PgR7>	7	8	
ER7>, PgR7 \leq	0	3	
核異型度(NG)			
NG1	35	32	0.025
NG2	39	15	
組織学的亜型			
乳頭腺管癌	5	6	0.198
充実腺管癌	16	5	
硬癌	53	36	
術前化学療法レジメン			
アンスラサイクリン	12	6	0.603
アンスラサイクリン→タキサン	62	41	
タキサン	0	0	
Postoperative chemotherapy			

アンストラサイクリン	0	0	-
タキサン	4	2	
<hr/>			
NAC 前腫瘍形態			
腫瘍非形成性病変あり	11	27	<0.001
腫瘍病変のみ	63	20	
<hr/>			
組織学的治療効果			
ypT0/is ypN0	2	0	0.256
ypTinv ypN0	19	8	
ypTis/inv ypN+	53	39	
<hr/>			
予後			
再発	5	15	
死亡	1	7	
<hr/>			

(文献 38 より改変引用)

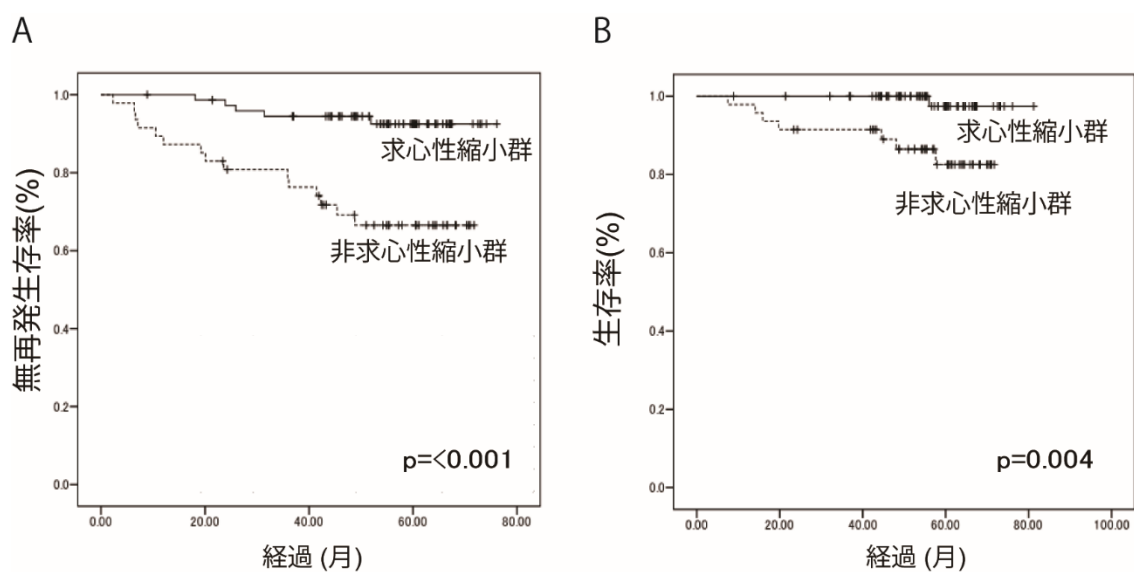


図 3. Validation set における腫瘍縮小様式と予後の相関

求心性縮小群では、非求心性縮小群と比較して DFS および OS の有意な延長を認めた。

(文献 38 より改変引用)

表 4. 予後関連因子における単変量および多変量解析 (Validation set)

因子	単変量解析		多変量解析			
	P 値		DFS		OS	
	DFS	OS	Hazard Ratio	P 値	Hazard Ratio	P 値
年齢						
50 ≤, 50 >	0.873	0.333				
NAC 前腫瘍径						
T1+T2, T3+T4	0.398	0.553				
リンパ節転移個数						
n4 >, n4 ≤	0.009	0.195	2.295	0.078	1.722	0.461
ホルモン受容体(Allred score)						
ER7 ≤ and PgR7 ≤, others	0.025	0.031	0.345	0.096	0.000	0.966
核異型度(NG)						
NG1, NG2	0.580	0.840				
組織学的亜型						
乳頭腺管癌, 充実腺管癌, 硬癌	0.182	0.541	2.063	0.162	2.343	0.361
腫瘍縮小形態						
求心性, 非求心性	<0.001	0.004	0.212	0.007	0.097	0.037
NAC 前腫瘍形態						
腫瘍非形成性病変 vs 腫瘍性病変のみ	0.179	0.719	1.245	0.659	1.577	0.544
組織学的治療効果						
ypT0/is ypN0, ypTinv ypN0, ypTis/inv ypN+	0.297	0.734				

(文献 38 より改変引用)

4. 考察

本論文は、熟練した画像診断医および同一の病理診断医により、MRI 画像評価、術前針生検検体の評価、組織学的治療効果判定を行ない、低異型度ルミナル乳がんの生物学的特性を捉えた初めての報告である。

今回の検討において、NAC 前後における MRI での求心性縮小様式は、低異型度ルミナル乳がんにおける、唯一の独立した予後関連因子であった。Loo らは、乳がんに対する NAC において、MRI での腫瘍径の変化と残存病変との関連を報告している(20)。彼らの研究では、188 例の NAC 症例を後方視的に解析し、トリプルネガティブ乳がんと HER2 陽性乳がんでは NAC における MRI でのモニタリングの有用であった。しかしながら、ER 陽性かつ HER2 陰性乳がんでは残存腫瘍と MRI 画像上での変化との有意な関連は認められないことを報告し、ER 陽性かつ HER2 陰性乳がんにおける腫瘍内の不均一性の高さが、低い pCR および MRI 画像での非相関に関係している可能性を指摘している。さらに、Loo らは 272 例の ER 陽性 HER2 陰性のルミナル乳がんにて特化した別の研究において、NAC 後に MRI 画像上完全寛解が得られた 44 例 (16.2%) で最も良好な予後が得られ、NAC 後の小さい腫瘍径が有意な予後良好因子であることを報告している (21)。

我々の検討において、低異型度ルミナル乳がんに対する NAC により求心性の腫瘍縮小様式が得られる頻度は約半数あり、低異型度ルミナル乳がんにおける生物学的特性を反映した腫瘍縮小様式が明らかとなり、散在している残存腫瘍細胞が薬物療法耐性に関与している可能性が示唆された。

非求心性縮小様式が予後不良に関連している原因のひとつとして、ルミナル乳がん特有の腫瘍増殖様式が関与している可能性がある。ER 陽性かつ HER2

陰性乳がんは腫瘍増殖の速度が遅いため、その内部に非常に高い不均一性が生じ、腫瘍細胞が転移能を獲得することを Foulkes らは報告している (22)。

本検討の留意事項としては、病理標本検体における Ki67 による腫瘍増殖能指標がないことが挙げられる。ルミナル乳がんは、Ki67 により増殖能の低いルミナル A 乳がん、より増殖能が高いとされるルミナル B 乳がんに分けられる。しかしながら、Ki67 は連続する増殖能の指標であり、その測定および評価方法は標準化されておらず(23, 24,25)、ki67 を用いてルミナル A 乳がん とルミナル B 乳がんを区別することに対して一定の見解が得られていない。さらに 2015 年の ザンクトガレン乳癌コンセンサス会議においても、ルミナル A 乳がん とルミナル B 乳がんを区別する Ki67 について具体的な数値は示されず、各医療施設における判断に委ねられることとなった (26)。Ki67 高値の乳がんは高い核異型度を持つことが報告されており(27, 28,29)、本検討では、核異型度を用いて低異型度ルミナル乳がんを定義した。

低異型度ルミナル乳がんの予後を報告した論文は少ないものの、Borges GS らは ER および PgR 陽性 HER2 陰性かつ Ki67 低値 (14%以下) のルミナル A 乳がんの 3 年 DFS と OS はそれぞれ 86.0%、93.4% (Stage III B では、それぞれ 88.89%、88.89%)であることを報告している (30)。我々の検討における 3 年 DFS と OS は、それぞれ 90.6%、97.2%であり、過去の報告と比較して遜色のない結果であった。

今回の我々の検討において、非求心性腫瘍縮小様式が予後不良関連因子であることが明らかとなり、散在性の残存腫瘍細胞が治療耐性に関与している可能性が示唆されたことにより、内部不均一性の高い乳がんにおいて、より高い pCR 率を追究するためには現在の標準治療であるアンストラサイクリン系抗がん剤およびタキサン系抗がん剤の逐次療法では治療効果に限界がある可能性が示

された。

NACにおける画像評価にて標準治療の効果が不十分であった場合に、別の薬剤を逐次併用することで治療効果の改善を期待できることが報告されており、GeparTrio 試験では術前 TAC（ドセタキセル、ドキシソルビシン、シクロホスファミド）療法を2コース施行後の non-responder 群において、TAC 継続と NX 療法（ビノレルビン、カペシタビン）に変更を行う群に振り分けて検討し、薬剤を変更した NX 療法群において有意に良好な予後が得られることを報告している（31）。

さらに、I-SPY2（Investigation of Serial Studies to Predict Your Therapeutic Response with Imaging and Molecular Analysis 2）試験は、複数の新薬候補を同時に評価できる適応的無作為化デザインを用い、StageII/III の高リスク乳がんに対する標準的な術前化学療法と併用する新薬候補の有効性をバイオマーカーで評価する多施設共同第 II 相臨床試験であり、NAC 中の MRI 画像検査と分子解析により治療反応を予測する一連の探索研究という新しい試みが開始されている。I-SPY2 試験では、ER および HER2 発現状況、MammaPrint 検査を用いた評価により再発高リスクとされる早期乳がん患者が登録され、パクリタキセル、ドキシソルビシンおよびシクロホスファミドを用いた標準的な術前化学療法に治療薬を併用し、その投与が有効とみられる群を、バイオマーカーを用いて特定することを目的としている。

本試験の患者集団は、ER や HER2 など乳癌の予後と関連することがすでに分かっている標準バイオマーカー、治療薬と関連があると考えられるが臨床試験では確認されていない予備的バイオマーカー、また、本試験中に行われる全ゲノムシーケンス研究から得られる試験的バイオマーカーによって分類される。有望な新規薬剤は I-SPY2 試験を卒業とし、その有効と考えられるバイオ

マーカーを持つ集団を対象とした第3相試験に送られる。I-SPY2では最大で12種類の互いに異なった種類の治験薬を試験することとなっており、すでに、ポリ ADP リボースポリメラーゼ (PARP) 阻害剤のベリパリブ (veliparib) とカルボプラチンの併用療法が標準補助化学療法との同時投与でトリプルネガティブ乳がん患者に、汎上皮成長因子受容体 (ErbB) 阻害薬であるネラチニブは HER2 陽性でホルモン受容体陰性の患者にそれぞれ有望な結果であったことが報告されている (32, 33)。

さらに、近年、NAC に対する乳房原発巣の反応を定量的に評価する試みが行われており (34, 35)、このような新しい画像での評価方法による治療評価を、臨床試験のデザインに組み合わせることにより、画像検査と分子解析により治療反応を予測する一連の探索研究を推し進め、低異型度ルミナル乳がんにおける新規のバイオマーカーならびに治療薬の開発に寄与できる可能性がある。

本研究では、NAC 前後の MRI 画像の詳細な検討を行うことで、低異型度ルミナル乳がんの生物学的特性を明らかにし、その予後関連因子の同定を行った。今後、本研究結果を踏まえた上で、手術時検体において残存した腫瘍組織を用いた更なるバイオマーカーの検索、また、ER 陽性 HER2 陰性進行乳がん患者において有効性が確立し (36, 37)、手術不能又は再発乳がんにおいて本邦でも製造販売が承認された、サイクリン依存性キナーゼ 4/6 (CDK4/6) 特異的阻害である経口分子標的薬のパルボシクリブ等の有望な新規分子標的薬を用いた新規臨床試験の立案等を通じて、低異型度ルミナル乳がんに対する新たな治療戦略構築を目指した取組みを推進したい。

5. おわりに

低異型度ルミナール乳がんにおいて、術前化学療法中の **MRI** を用いたモニタリングが有用であり、求心性縮小様式は重要な予後関連因子である。

6. 謝辞

本論文を書き終えるにあたり、研究の推進に終始適切なご指導をいただきました、がん研有明病院 乳腺センター センター長 大野真司先生、乳腺内科部長 伊藤良則先生に深く感謝いたします。

そして、研究にあたり、自治医科大学一般外科・消化器外科部門をご紹介くださり、貴重なご指導を頂いた、がん研有明病院血液腫瘍科部長 畠清彦先生に深く感謝いたします。

自治医科大学外科学講座消化器一般外科学部門前教授安田是和先生、および最後まで研究の継続のためご尽力くださった同教授佐田尚宏先生に深く感謝いたします。

7. 引用文献

- 1) Wolmark N, Wang J, Mamounas E, Bryant J, Fisher B. Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Natl Cancer Ins Monogr* 2001; 30: 96-102.
- 2) Bear HD, Anderson S, Brown A, Smith R, Mamounas EP, Fisher B, Margolese R, Theoret H, Soran A, Wickerham DL, Wolmark N; National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. The effect on tumor response of adding sequential preoperative docetaxel to preoperative doxorubicin and cyclophosphamide: preliminary results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-27. *J Clin Oncol* 2003; 21(22): 4165-4174.
- 3) Symmans WF, Penitinger F, Hatzis C, Rajan R, Kuerer H, Valero V, Assad L, Poniecka A, Hennessy B, Green M, Buzdar AU, Singletary SE, Hortobagyi GN, Pusztai L. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2007; 25(28): 4414-4422.
- 4) A. Goldhirsch, E. P. Winer, A. S. Coates, R. D. Gelber, M. Piccart-Gebhart, B. Thürlimann. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* 2013; 24(9):2206-2223.
- 5) Pritchard KI, Shepherd LE, O'Malley FP, Andrulis IL, Tu D, Bramwell VH, Levine MN; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. HER2 and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2006; 354(20):2103-2111.
- 6) Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG): Effects of

chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomized trials. *Lancet* 2005; 365(9472):1687-1717.

7) Swain SM, Jeong JH, Geyer CE Jr, Costantino JP, Pajon ER, Fehrenbacher L, Atkins JN, Polikoff J, Vogel VG, Erban JK, Rastogi P, Livingston RB, Perez EA, Mamounas EP, Land SR, Ganz PA, Wolmark N. Longer therapy, iatrogenic amenorrhea, and survival in early breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 362(22):2053-2065.

8) Guarneri V, Broglio K, Kau SW, Cristofanilli M, Buzdar AU, Valero V, Buchholz T, Meric F, Middleton L, Hortobagyi GN, Gonzalez-Angulo AM. Prognostic value of pathologic complete response after primary chemotherapy in relation to hormone receptor status and other factors. *J Clin Oncol* 2006; 24(7):137-144.

9) Toi M, Nakayama S, Kuroi K, Iwata H, Ohno S, Masuda N, Kusama M, Yamazaki K, Hisamatsu K, Sato Y, Kashiwaba M, Kaise H, Kurosumi M, Tsuda H, Akiyama F, Ohashi Y, Takatsuka Y; Japan Breast Cancer Research Group (JBCRG). Phase II study of preoperative sequential FEC and docetaxel predicts of pathological response and disease free survival. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 110(3):531-539.

10) Alba E, Calvo L, Albanell J, De la Haba JR, Arcusa Lanza A, Chacon JI, Sanchez-Rovira P, Plazaola A, Lopez Garcia-Asenjo JA, Bermejo B, Carrasco E, Lluch A; GEICAM. Chemotherapy (CT) and hormonotherapy (HT) as neoadjuvant treatment in luminal breast cancer patients: results from the GEICAM/2006-03, a multicenter, randomized, phase-II study. *Ann Oncol* 2012; 23(12):3069-3074.

11) von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, Gerber B, Eiermann W, Hilfrich J, Huober J, Jackisch C, Kaufmann M, Konecny GE, Denkert C, Nekljudova V, Mehta K, Loibl S. Definition and Impact of Pathologic Complete Response on Prognosis After Neoadjuvant Chemotherapy in Various Intrinsic

Breast Cancer Subtypes. *J Clin Oncol* 2012; 30(15):1796-1804.

12) Loo CE, Teertstra HJ, Rodenhuis S, van de Vijver MJ, Hannemann J, Muller SH, Peeters MJ, Gilhuijs KG: Dynamic contrast-enhanced MRI for prediction of breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy: Initial results. *Am J Roentgenol* 2008; 191(5):1331-1338.

13) Manton DJ, Chaturvedi A, Hubbard A, Lind MJ, Lowry M, Maraveyas A, Pickles MD, Tozer DJ, Turnbull LW.: Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: Early response prediction with quantitative MR imaging and spectroscopy. *Br J Cancer* 2006; 94(3):427-435.

14) Padhani AR, Hayes C, Assersohn L, Powles T, Makris A, Suckling J, Leach MO, Husband JE: Prediction of clinicopathologic response of breast cancer to primary chemotherapy at contrast-enhanced MR imaging: Initial clinical results. *Radiology* 2006; 239(2):361-374.

15) Pickles MD, Lowry M, Manton DJ, Gibbs P, Turnbull LW. Role of dynamic contrast enhanced MRI in monitoring early response of locally advanced breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 91(1):1-10.

16) D'Orsi CJ, Sickles EA, Mendelson EB, Morris EA. ACR BI-RADS Atlas, Breast Imaging Reporting and Data System. 5th ed. Reston, VA: *American College of Radiology*, 2013.

17) Sakamoto G, Inaji H, Akiyama F, Haga S, Hiraoka M, Inai K, Iwase T, Kobayashi S, Sakamoto G, Sano M, Sato T, Sonoo H, Tsuchiya S, Watanabe T; Japanese Breast Cancer Society. General rules for clinical and pathological recording of breast cancer 2005. *Breast Cancer* 2005; 12 Suppl: S1-27

18) Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH Allred

DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF; American Society of Clinical Oncology; College of American Pathologists.. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *Arch Pathol Lab Med* 2014; 138(2):241-256.

19) Green MC, Buzdar AU, Smith T, Ibrahim NK, Valero V, Rosales MF, Cristofanilli M, Booser DJ, Puztai L, Rivera E, Theriault RL, Carter C, Frye D, Hunt KK, Symmans WF, Strom EA, Sahin AA, Sikov W, Hortobagyi GN. Weekly paclitaxel improves pathologic complete remission in operable breast cancer when compared with paclitaxel once every 3 weeks. *J Clin Oncol* 2003; 23(25): 5983-5992.

20) Loo CE, Straver ME, Rodenhuis S, Muller SH, Wesseling J, Vrancken Peeters MJ, Gilhuijs KG. Magnetic Resonance Imaging Response Monitoring of Breast Cancer During Neoadjuvant Chemotherapy: Relevance of Breast Cancer Subtype. *J Clin Oncol* 2011; 29(6):660-666.

21) Loo CE, Rigter LS, Pengel KE, Wesseling J, Rodenhuis S, Peeters MJ, Sikorska K, Gilhuijs KG. Survival is associated with complete response on MRI after neoadjuvant chemotherapy in ER-positive HER2-negative breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2016 Aug 5;18(1):82.

22) Foulkes WD, Reis-Filho JS, Narod SA. Tumor size and survival in breast cancer — a reappraisal. *Nat Rev Clin Oncol.* 2010; 7(6):348-353.

23) Luporsi E, André F, Spyrtos F, Martin PM, Jacquemier J, Penault-Llorca F, Tubiana-Mathieu N, Sigal-Zafrani B, Arnould L, Gompel A, Egele C, Poulet B, Clough KB, Crouet H, Fourquet A, Lefranc JP, Mathelin C, Rouyer N, Serin D, Spielmann M,

Haugh M, Chenard MP, Brain E, de Cremoux P, Bellocq JP. Ki-67: level of evidence and methodological considerations for its role in the clinical management of breast cancer: analytical and critical review. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 132(3):895–915.

24) Denkert C, von Minckwitz G. Reply to Ki67 in breast cancer: a useful prognostic marker. *Ann Oncol* 2014; 25: 542-543.

25) Polley MY, Leung SC, McShane LM, Gao D, Hugh JC, Mastropasqua MG, Viale G, Zabaglo LA, Penault-Llorca F, Bartlett JM, Gown AM, Symmans WF, Piper T, Mehl E, Enos RA, Hayes DF, Dowsett M, Nielsen TO; International Ki67 in Breast Cancer Working Group of the Breast International Group and North American Breast Cancer Group. An International Ki67 Reproducibility Study. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105(24):1897-1906.

26) Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, Senn HJ; Panel Members. Tailoring therapies - improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol* 2015; 26(8):1533-1546.

27) Barbareschi M, Girlando S, Mauri FM, Forti S, Eccher C, Mauri FA, Togni R, Dalla Palma P, Doglioni C. Quantitative growth fraction evaluation with MIB1 and Ki67 antibodies in breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1994; 102(2):171-175.

28) Kennedy JC, el-Badawy N, DeRose PB, Cohen C. Comparison of cell proliferation in breast carcinoma using image analysis(Ki67) and flow cytometric systems. *Anal Quant Cytol Histol* 1992; 14(4):304-311.

29) Gasparini G, Pozza F, Meli S, Reitano M, Santini G, Bevilacqua P. Breast cancer cell kinetics: immunocytochemical determination of growth fractions by monoclonal antibody Ki-67 and correlation with flow cytometric S-phase and with some features of

tumor aggressiveness. *Anticancer Res* 1991; 11(6):2015-2021.

30) Borges GS, Colchon PH, Staak MC Jr, Girardi F, Rosar KCh, Zamboni FM, Grazziotin LF, Rebello JR, Ribeiro MA, Felipe GC, Rovere RK. Analysis of Disease-free Survival and Overall Survival in Patients with Luminal A Breast Cancer Stratified According to TNM. *Klin Onkol* 2014; 27(3): 178–182.

31) von Minckwitz G, Blohmer JU, Costa SD, Denkert C, Eidtmann H, Eiermann W, Gerber B, Hanusch C, Hilfrich J, Huober J, Jackisch C, Kaufmann M, Kümmel S, Paepke S, Schneeweiss A, Untch M, Zahm DM, Mehta K, Loibl S. Response-guided neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol*. 2013; 10;31(29):3623-3630.

32) Rugo HS, Olopade OI, DeMichele A, Yau C, van 't Veer LJ, Buxton MB, Hogarth M, Hylton NM, Paoloni M, Perlmutter J, Symmans WF, Yee D, Chien AJ, Wallace AM, Kaplan HG, Boughey JC, Haddad TC, Albain KS, Liu MC, Isaacs C, Khan QJ, Lang JE, Viscusi RK, Pusztai L, Moulder SL, Chui SY, Kemmer KA, Elias AD, Edmiston KK, Euhus DM, Haley BB, Nanda R, Northfelt DW, Tripathy D, Wood WC, Ewing C, Schwab R, Lyandres J, Davis SE, Hirst GL, Sanil A, Berry DA, Esserman LJ; I-SPY 2 Investigators. Adaptive Randomization of Veliparib-Carboplatin Treatment in Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2016 Jul 7;375(1):23-34.

33) Park JW, Liu MC, Yee D, Yau C, van 't Veer LJ, Symmans WF, Paoloni M, Perlmutter J, Hylton NM, Hogarth M, DeMichele A, Buxton MB, Chien AJ, Wallace AM, Boughey JC, Haddad TC, Chui SY, Kemmer KA, Kaplan HG, Isaacs C, Nanda R, Tripathy D, Albain KS, Edmiston KK, Elias AD, Northfelt DW, Pusztai L, Moulder SL, Lang JE, Viscusi RK, Euhus DM, Haley BB, Khan QJ, Wood WC, Melisko M, Schwab R, Helsten T, Lyandres J, Davis SE, Hirst GL, Sanil A, Esserman LJ, Berry DA; I-SPY 2 Investigators. Adaptive Randomization of Neratinib in Early Breast Cancer. *N Engl J*

Med. 2016 Jul 7;375(1):11-22.

34) Park SH, Moon WK, Cho N, Song IC, Chang JM, Park IA, Han W, Noh DY.

Diffusion-weighted MR imaging: pretreatment prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Radiology* 2010; 257(1): 56-63.

35) Wu LA, Chang RF, Huang CS, Lu YS, Chen HH, Chen JY, Chang YC. Evaluation of the treatment response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer using combined magnetic resonance vascular maps and apparent diffusion coefficient. *J Magn Reson Imaging.* 2015; 42(5):1407-1420.

36) Finn RS1, Martin M1, Rugo HS1, Jones S1, Im SA1, Gelmon K1, Harbeck N1, Lipatov ON1, Walshe JM1, Moulder S1, Gauthier E1, Lu DR1, Randolph S1, Diéras V1, Slamon DJ1. Palbociclib and Letrozole in Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2016; 375(20): 1925-1936.

37) Turner NC1, Ro J, André F, Loi S, Verma S, Iwata H, Harbeck N, Loibl S, Huang Bartlett C, Zhang K, Giorgetti C, Randolph S, Koehler M, Cristofanilli M; PALOMA3 Study Group. Palbociclib in Hormone-Receptor-Positive Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2015; 16; 373(3):209-219.

38) Fukada I, Araki K, Kobayashi K, Tomoko S, Takahashi S, Gomi N, Horii S, Akiyama F, Iwase T, Ohno S, Hatake K, Sata N, Ito Y. The pattern of tumor shrinkage during neoadjuvant chemotherapy is associated with prognosis in low-grade luminal early breast cancer. *Radiology* 2017 Jul 24:161548. doi: 10.1148/radiol.2017161548. [Epub ahead of print], publisher and copyright holder; RSNA (RSNA.org).