

令和 2 年 5 月 1 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08707

研究課題名(和文) 早期乳癌の検診過剰診断抑制および複合免疫非侵襲的治療へ向けた臨床病理学的基盤研究

研究課題名(英文) A clinicopathological base study to control over-diagnosis in early breast cancer screening and advance compound noninvasive immunotherapy for early breast cancer

研究代表者

山口 倫 (Yamaguchi, Rin)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：10309750

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：乳癌は、組織学的見地の他、現在サブタイプという概念が浸透している。我々は、乳癌が早期から浸潤癌までどのように進展、発育するかをサブタイプ(基本的にルミナル、Her2陽性、トリプルネガティブ群に大別)の概念から、特に免疫応答の観点も加え、検診における過剰診断や過剰治療にも言及できるよう検討を行った。早期乳癌において、Her2陽性上皮内癌はcomedo壊死を有する高異型度癌が多く、腫瘍リンパ球浸潤免疫応答によって浸潤する経路があり、他サブタイプとは異なることが明らかになった。また、浸潤性Her2陽性乳癌ではER陽性と陰性群で病理・形態学的・免疫応答の点において大きく二分されることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高異型度上皮内乳癌が浸潤する際に免疫応答による経路が明らかになり、さらに通常高異型度癌が有するcomedo壊死がマンモグラフィなど画像による石灰化に反映することから、元来予後不良であったHer2陽性や高異型度乳癌の早期発見に繋がることが示唆された。浸潤性Her2陽性乳癌ではER陽性と陰性群で病理・形態学的・免疫応答の点において大きく二分されることが明らかとなり、他サブタイプとの進展、浸潤の差異、類似点から、更なる早期発見や治療指針にも寄与できる。また、今後の複合免疫療法など新たな治療にも繋がる。我々の研究結果は、目的とした検診の過剰診断抑制や今後の乳癌治療指針への大きな貢献を可能とする。

研究成果の概要(英文)：Breast cancer (BC) is investigated from not only histological viewpoints, but also the subtypes. We examined how BC progresses from early (in situ) diagnosis to invasion by the subtypes (luminal, Her2, triple negative), as well from the histological viewpoint of the immune response to control over-diagnosis and over-treatment in early BC screening. In early BC, in situ Her2 BCs have high-grade cancer cells with comedo necrosis and there is a pathway of invasion by the response of tumor-infiltrating lymphocytes, which are different from other subtypes. Invasive Her2 BCs are revealed to divide largely into ER positive and negative depending on pathological, morphological, and immunological viewpoints. We believe that our results can contribute to the control of over-diagnosis and over-treatment in early BC screening and advance compound noninvasive immunotherapy for early BC.

研究分野：乳腺病理

キーワード：乳癌 サブタイプ 過剰診断 HER2陽性 腫瘍浸潤リンパ球 DCIS コメド壊死 複合免疫療法

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

#### 乳癌において

検診領域では非浸潤癌を含めた早期乳癌の過剰診断・過剰治療;

進行癌治療領域では癌微小環境における免疫応答の臨床的応用 (免疫療法) がトピックとなっている。

### 2. 研究の目的

は検診画像における石灰化の識別が過剰診断を、非侵襲的治療が早期乳癌の過剰治療 (手術) を防ぐことになる。

に関して我々は高度腫瘍周囲リンパ球浸潤 (TIL) の非浸潤癌 (DCIS) 例での腫瘍自浄作用 (healing) 所見を見出している。

このHealingと癌の遺伝子分類 (サブタイプ) およびコメド壊死石灰化との関連を解析し

(i) 検診における過剰診断を防止する;

(ii) リンパ球サブセットおよび免疫チェックポイント分子を検討から、腫瘍悪性度やサブタイプや治療感受性因子との関連を明らかにすることで、将来的な分子標的治療に受動・能動免疫療法や免疫チェックポイント阻害剤を加えた「複合免疫療法」による早期癌の非侵襲的治療の実現に繋げたい。

### 3. 研究の方法

1) 2011-16年にJCHO久留米総合病院で主に石灰化を指標に施行されたステレオガイド下VAB生検471例を対象に非浸潤癌をVan Nuys Classificationを用い、病理学的石灰化とサブタイプ (luminal, HER2陽性, トリプルネガティブ (TN))との関連性を検討した。

2) 2013年1月から2016年12月までに手術を受けた浸潤性乳癌1301例よりHer2陽性乳癌を抽出し、このうち術前化学療法を施行していない166例からホルモン受容体 (ER) 陽性群 (LH) と陰性群 (NLH)に分け、詳細な臨床病理学的検討を行った。

3) 2007年1月から2017年12月までに術前補助化学療法後に手術が施行された浸潤性乳癌287例中評価可能であったHer2陽性乳癌82例をER陽性、陰性群に分け、術前補助化学療法 (NAC) 施行前針生検標本におけるAndrogen receptor (AR) の免疫組織化学による発現、NAC後、手術標本における組織学的治療効果 (pCR) (Grade 0 - 3) およびAR発現別全生存率もしくは無病生存率を検討した。

### 4. 研究成果

1) 低異型度非浸潤癌は、22/23例が分泌型石灰化を有し、中等度非浸潤癌は、12/28例が壊死型石灰化、20/28例が壊死型と分泌型石灰化の混在を認めた。高度非浸潤癌は、12/22例が壊死型石灰化、7/22例が壊死型と分泌型石灰化の混在を認めた。癌とサブタイプは、低異型度非浸潤癌は22/23がluminal、中等度非浸潤癌は、11/28例がluminal、3/28例がHER2、高度非浸潤癌は、11/22がluminal、9/22がHER2、1/22例がTNであった。石灰化カテゴリー (C) は、C3は中等度非浸潤癌以上が28/430例 (7%)であったが、C4, 5以上の中等度非浸潤癌以上はそれぞれ25/80 (31%)、2/6 (33%)と上昇した。サブタイプ別ではC3はLuminalが46/430例に対し、HER2が4/430例でluminalが有意に高頻度であった。一方、C4, 5はHER2とTNが10/80例 (14%)、1/6例 (16%)であり、HER2とTNの頻度が上昇した。

(結論) 石灰化を対象とする検診ではTN浸潤癌の前駆病変と考えるTN非浸潤癌はほぼ見つから

ない。

2) 形態的観点からはNLH群は乳管内癌が占める割合が高く(In situ carcinoma score ) [LH-high群 9例 (10.1%)/LH-low群 5例(23.8%)/NLH群 19例 (33.9%),  $p=0.0056$ ]、comedo壊死も有意に多かった [LH-high群 60例 (67.4%)/LH-low群 19例 (90.5%)/NLH群 49例 (87.5%),  $p=0.0058$ ]。一方で LH群は中心線維化が有意に多かった[LH-high群 35例 (39.3%)/LH-low群 6例 (28.6%)/NLH群 5例 (8.9%),  $p<0.001$ ]。免疫応答の観点からは、NLH群はTIL[LH-high群 14例 (15.7%)/LH-low群 11例 (52.4%)/NLH群 39例(69.6%),  $p<0.001$ ]や healing [LH-high群 16例 (18%)/LH-low群 14例 (66.7%)/NLH群 40例 (71.4%),  $p<0.001$ ]が有意に多かった。

また、Tsunodaら (Breast Cancer 2008)の分類に準じて腫瘍肉眼像を、腺管増殖型 (a1)、充実増殖型 (a2)、硬性増殖型 (a3)に分類し、HER2サブグループと腫瘍形態及び画像所見についての検討において、腫瘍肉眼像はLH-high群で有意にa3が多く (56% vs 33% vs 19.3%)、NLH群でa1が有意に多かった (27.5% vs 47.6% vs 64.9%,  $p<0.0001$ )。画像所見について、マンモグラフィで Ct-4以上の石灰化を有する割合はNLH群で有意に高く (25% vs 28.6% vs 45.3%,  $p=0.0411$ )、spiculationもしくはdistortionを有する割合はLH群で有意に高かった (31.8% vs 19% vs 11.3%,  $p=0.0183$ )。超音波検査で乳管内進展を認めた症例は、LH-low群およびNLH群で有意に多かった (27.5% vs 47.6% vs 59.6%,  $p=0.0004$ )。超音波検査における腫瘍形態はLH-high群で有意にa3が多く (74.7% vs 61.9% vs 43.9%)、NLH群でa1が有意に多かった (18.7% vs 33.3% vs 38.6%,  $p=0.0069$ )。

(結論) HER2陽性乳癌は形態的、免疫応答的観点からLH-high群とNLH群の2群に大別されるということが明らかとなった。

3) HER2陽性浸潤性乳癌60例の内訳は、LH群が35例 (58.3%)、NLH群は25例 (41.7%)であり、30例 (50%) [LH群: 16例 (45.7%)、NLH群: 14例 (56%)]がAR陽性であった。pCRは25例 (41.7%) [LH群: 11例 (31.4%)、NLH群: 14例 (56%)]、near pCRは30例 (50%) [LH群: 15例 (42.9%)、NLH群: 15例 (60%)]であった。AR陽性症例のpCRは19例 (63.3%) ( $p<0.001$ )、near pCRは23例 (76.7%) ( $p<0.001$ )であり、ともにAR陰性症例と比較して有意に高かった。サブグループ間では、LH群におけるAR陽性症例のpCRは9例 (56.3%) ( $p<0.01$ )、near pCRは12例 (80%) ( $p<0.01$ )であり、ともにAR陰性症例と比較して有意に高かった。一方、NLH群におけるAR陽性症例のpCRは10例 (71.4%) ( $p=0.08$ )であり有意差はないものの、near pCRは11例 (78.6%) ( $p=0.03$ )であり、AR陰性症例と比較して有意に高かった。

(結論) ARの高発現はHER2陽性乳癌において、LH群、NLH群ともに治療効果予測因子として有用である可能性が示唆された。

以上の結果より、高異型度上皮内乳癌が浸潤する際に免疫応答による経路が明らかになり、さらに通常高異型度癌が有するcomedo壊死がマンモグラフィなど画像による石灰化に反映することから、元来予後不良であったHer2陽性や高異型度乳癌の早期発見に繋がることが示唆された。一方、TN上皮内癌、TN微小浸潤癌は極めて低頻度であり、石灰化を指標とした今後の乳癌検診においては、予後不良であるTN乳癌の検出は比較的困難であり、過剰診断・治療を抑制するために、HER2乳癌をターゲットとして行うことが推奨される。

浸潤性Her2陽性乳癌ではER陽性と陰性群で病理・形態学的・免疫応答の点においてに大きく

二分されることが明らかとなった。また、浸潤性 Her2 陽性乳癌では AR 高発現が治療効果予測として有用である可能性が示唆された。特に ER 陰性 HER2 陽性乳癌で腫瘍リンパ球浸潤が高度であることから、これらのグループでは、浸潤癌のみならず、非浸潤（上皮内）癌から複合免疫療法など非侵襲的な治療法への可能性も広がると考える。他サブタイプとの進展、浸潤の差異、類似点から、更なる早期発見や最終診断前の治療指針にも寄与できる。

我々の研究結果は、目的とした検診の過剰診断抑制や今後の乳癌治療へ大きな指針を与えるものと確信している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 McCart Reed AE, Kalaw E, Nones K, Yamaguchi R, et al.	4. 巻 247
2. 論文標題 Phenotypic and molecular dissection of metaplastic breast cancer and the prognostic implications.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Pathol	6. 最初と最後の頁 214-227
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/path.5184.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kanomata N, Kurebayashi J, Koike Y, Yamaguchi R, Moriya T.	4. 巻 19
2. 論文標題 CD1d- and PJA2-related immune microenvironment differs between invasive breast carcinomas with and without a micropapillary feature.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 76
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12885-018-5221-9.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Akashi M, Yamaguchi R, Kusano H, Obara H, Yamaguchi M, Toh U, Akiba J, Kakuma T, Tanaka M, Akagi Y, Yano H.	4. 巻 76
2. 論文標題 iverse histomorphology of HER2-positive breast carcinomas based on differential ER expression.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Histopathology	6. 最初と最後の頁 560-571
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/his.14003.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Mori H, Kubo M, Yamaguchi R, Nishimura R, Osako T, Arima N, Okumura Y, Okido M, Yamada M, Kai M, Kishimoto J, Oda Y, Nakamura M	4. 巻 8
2. 論文標題 The combination of PD-L1 expression and decreased tumor-infiltrating lymphocytes is associated with a poor prognosis in triple-negative breast cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 15584-15592
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.14698	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計40件（うち招待講演 34件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Yamaguchi R
2. 発表標題 HER2 positive breast carcinomas: clinicopathological similarities and differences between ER+ and ER-.
3. 学会等名 The 11th Congress of Asia Pacific International Academy of Pathology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計8件

1. 著者名 山口 倫	4. 発行年 2019年
2. 出版社 アトムス社	5. 総ページ数 165
3. 書名 乳癌サブタイプと乳腺病理～これからの乳腺診療と画像診断のために～	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	赤司 桃子  (Akashi Momoko)		
研究協力者	田中 真紀  (Tanaka Maki)		
研究協力者	鹿股 直樹  (Kanomata Naoki)  (60263373)		