

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：72602
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2017～2022
課題番号：17K10568
研究課題名(和文) 病理標本を基盤とした形態診断と分子診断を統合した新しい乳癌再発予測モデルの開発

研究課題名(英文) Development of a novel recurrence prediction model in breast cancer combining histopathology and molecular pathology

研究代表者
大迫 智 (OSAKO, Tomo)

公益財団法人がん研究会・がん研究所 病理部・研究員

研究者番号：70535442
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)：日本人乳癌のベースラインリスク(無治療であった場合の再発率)を明らかにするために、2つの研究を行った。まず、腫瘍と免疫微小環境双方のマーカーを効率的に検索するために、組織マイクロアレイ作製手法を開発した。これにより、病理標本作製の労力・費用の大幅な削減が可能となった。続いて、1970～1980年代に手術され、術後薬物療法が未施行の日本人乳癌患者を用いて、ベースラインリスクを探索した。ベースラインリスクは病期(浸潤径、リンパ節転移個数)、組織型、病理学的グレード、脈管浸潤、サブタイプ、腫瘍浸潤リンパ球量などにより層別化が可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌の術後薬物療法では、各患者のベースラインリスク(無治療であった場合の再発率)を正確に推定することで、その患者に適した治療選択が可能となる。しかし、既存のリスク予測モデルは欧米人を用いて作成されたもので、アジア人では予測性能が劣る。本研究では、日本人乳癌のベースラインリスクが、免疫微小環境を含めた臨床病理学的因子により層別化できることを明らかにした。今後、これらの因子を組み合わせたリスク予測モデルを開発することで、アジア人乳癌の正確なベースラインリスク評価および術後薬物療法の最適化に貢献できる。

研究成果の概要(英文)：To clarify the baseline recurrence risk (i.e. recurrence rate without adjuvant systemic treatments) of Japanese breast cancer patients, the following two studies were conducted. First, we developed a tissue microarray construction method to efficiently search for markers in both the tumor and the immune microenvironment. This method reduced the work load and cost of preparing pathological specimens by 1/23. Secondly, we investigated prognostic factors in Japanese breast cancer patients who did not receive adjuvant systemic treatments. The baseline recurrence risk could be stratified based on clinicopathological factors such as cancer stage (primary tumor and lymph node status), histological type, pathological grade, lymphovascular invasion, subtype, and tumor-infiltrating lymphocyte status.

研究分野：乳癌腫瘍学

キーワード：乳癌 ベースラインリスク アジア人 再発 予後因子 術後薬物療法 組織マイクロアレイ 免疫微小環境

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乳癌術後に再発予防を目的として薬物療法（内分泌療法、化学療法、抗 HER2 療法など）が行われている。術後薬物療法の適応および薬剤選択は、ベースラインリスク（無治療であった場合の再発リスク）、薬剤投与による再発抑制効果および副作用・費用などを考慮して決定される。そのうち、ベースラインリスク評価には、実地臨床では臨床病理学的因子を用いたリスク予測モデルが用いられる。しかし、既存のリスク予測モデルは欧米人を用いて作成されたもので、アジア人、若年者および高悪性度の癌で予測性能が劣るといった問題点が指摘されている^{1, 2}。日本人を含むアジア人のベースラインリスクは明らかにされておらず、リスク予測モデルも開発されていない。

また近年、乳癌でも免疫微小環境が注目を集めている。腫瘍浸潤リンパ球や PD-L1 発現などの免疫微小環境が癌の悪性度および予後と相関することが明らかにされている^{3, 4}。しかし、既存のリスク予測モデルには、免疫微小環境の因子は含まれていない。

2. 研究の目的

(1) 腫瘍と免疫微小環境双方のマーカーを効率的に検索するため組織マイクロアレイ (TMA) 作製手法の開発を行う。

(2) 日本人乳癌のベースラインリスクが、免疫微小環境を含めた臨床病理学的因子により層別化できることを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) TMA 作製手法の開発

乳癌 246 症例を対象とし、浸潤巣の辺縁から 2 mm 径コアを 3 本採取した 3 コア TMA、浸潤巣の中心部から 2 mm 径コアを 1 本採取した 1 コア TMA の 2 種類を作製した。腫瘍 (ER、PgR、HER2、Ki67)、免疫環境 (PD-L1、腫瘍浸潤リンパ球) の 6 マーカーにおける、代表切片 whole section と各 TMA の一致度を探索した。ER、PgR、HER2、PD-L1 はカテゴリー変数 (陽性、陰性) として扱い、一致率 (%) および一致度 (計数) を再出した。Ki67 および腫瘍浸潤リンパ球は連続変数として扱い、一致度 (級内相関係数) を算出した。

(2) 日本人乳癌ベースラインリスクの解明

癌研究会附属病院 (現・がん研究会有明病院) で 1979 ~ 82 年に手術が行われ、術後薬物療法が未施行の日本人乳癌患者 926 例を対象とした。癌が含まれる全ブロックの HE 標本を再作製し、浸潤径、組織型、グレード、脈管浸潤、腫瘍浸潤リンパ球などを評価した。さらに、上記手法で TMA を作製し、ER、PgR、HER2、Ki67、PD-L1 などを免疫染色で評価した。その後、それらの因子と無遠隔再発率との相関を探索した。生存曲線の推定には Kaplan-Meier 法を用いた。

4. 研究成果

(1) TMA 作製手法の開発

代表切片を基準とした、3 コア TMA および 1 コア TMA それぞれの 6 マーカーの一致率および一致度は表 1 の通りであった。

表 1 . 3 コア TMA および 1 コア TMA の代表切片との一致率・一致度

マーカー		3 コア TMA			1 コア TMA		
		一致率	一致度	判定	一致率	一致度	判定
腫瘍因子	ER	97.2%	0.92	Almost perfect	96.4%	0.90	Almost perfect
	PgR	97.2%	0.94	Almost perfect	90.7%	0.81	Almost perfect
	HER2	100%	1.00	Perfect	99.2%	0.96	Almost perfect
	Ki67	-	0.90	Almost perfect	-	0.75	Good
免疫微小環境因子	PD-L1	91.9%	0.82	Almost perfect	80.2%	0.54	Moderate
	腫瘍浸潤リンパ球	-	0.92	Almost perfect	-	0.76	Good

3 コア TMA は、腫瘍・免疫微小環境の双方のマーカーにおいて、代表切片と非常に高い一致度を示した。一方、1 コア TMA は、腫瘍内不均一性が低いマーカー（ER、PgR、HER2）において、代表切片と非常に高い一致度を示した。しかし、腫瘍内不均一性が高いマーカー（Ki67、PD-L1、腫瘍浸潤リンパ球）における一致度は、3 コア TMA と比較すると低下した。

この TMA 作製手法により、免疫染色標本作製の労力・費用を 3 コア TMA では 23 分の 1 に、1 コア TMA では 71 分の 1 に削減可能である。

（2）日本人乳癌ベースラインリスクの解明

対象全体のベースラインリスク（遠隔再発率）は、5 年で 13%、10 年で 19%、15 年で 22%であった。ベースラインリスクは浸潤径、リンパ節転移個数、病期（図 1）組織型、病理学的グレード、脈管浸潤（図 2）、サブタイプ（図 3）、腫瘍浸潤リンパ球（図 4）などにより層別化が可能であった。

図 1 . 病理学的病期によるベースラインリスク層別化

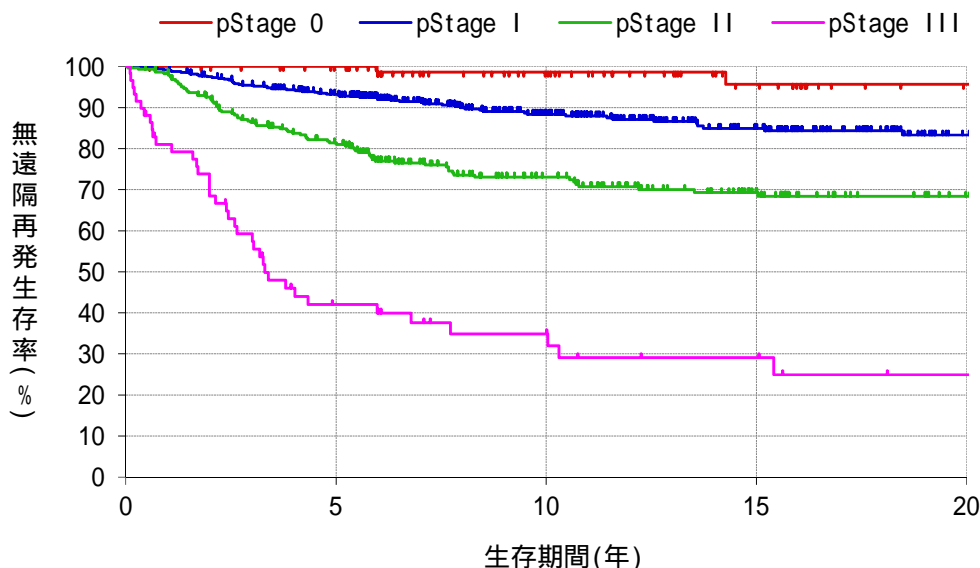


図 2 . 脈管浸潤によるベースラインリスク層別化

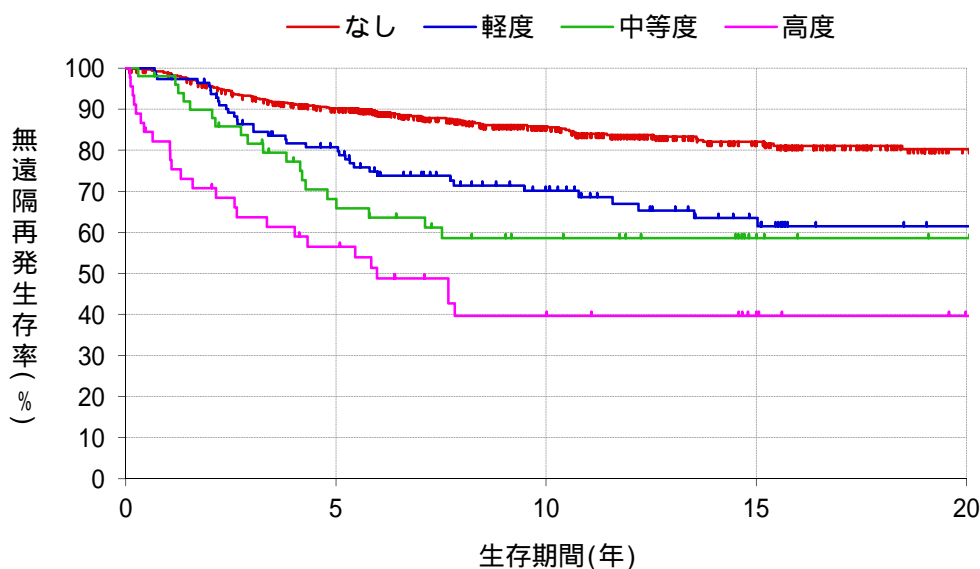


図3 . サブタイプによるベースラインリスク層別化

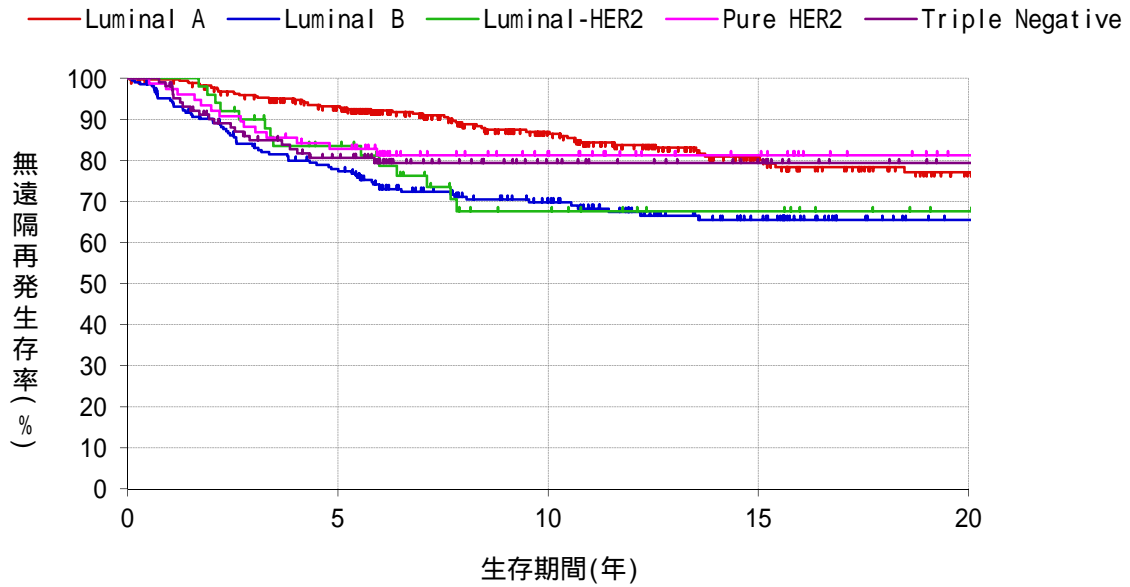
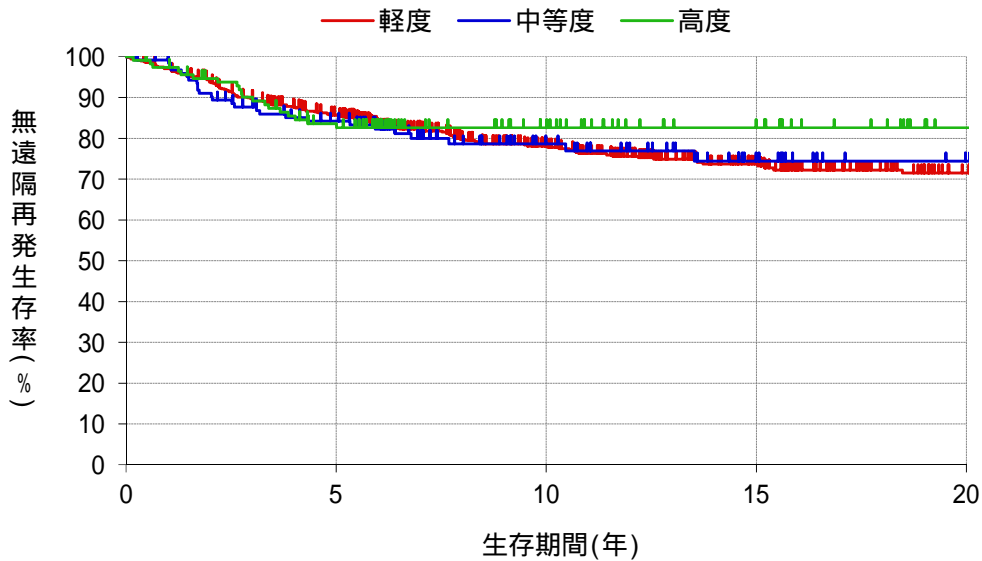


図4 . 腫瘍浸潤リンパ球によるベースラインリスク層別化



今後、これらの因子を組み合わせたリスク予測モデルを開発することで、アジア人乳癌の正確なベースラインリスク評価および術後薬物療法の最適化に貢献できる。

<引用文献>

1. Bhoo-Pathy N, Yip CH, Hartman M, et al. Adjuvant! Online is overoptimistic in predicting survival of Asian breast cancer patients. *Eur J Cancer*. 2012;48: 982-989.
2. Hajage D, de Rycke Y, Bollet M, et al. External validation of Adjuvant! Online breast cancer prognosis tool. Prioritising recommendations for improvement. *PLoS One*. 2011;6: e27446.
3. Mao Y, Qu Q, Chen X, Huang O, Wu J, Shen K. The Prognostic Value of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016;11: e0152500.
4. Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, et al. Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget*. 2015;6: 5449-5464.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fukuoka Megumi, Ichikawa Yuichi, Osako Tomo, Fujita Tomoko, Baba Satoko, Takeuchi Kengo, Tsunoda Nobuyuki, Ebata Tomoki, Ueno Takayuki, Ohno Shinji, Saitoh Noriko	4. 巻 113
2. 論文標題 The ELEANOR noncoding RNA expression contributes to cancer dormancy and predicts late recurrence of estrogen receptor positive breast cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2336 ~ 2351
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15373	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大迫智、福岡恵、上野貴之、大野真司、竹内賢吾
2. 発表標題 乳癌の腫瘍・微小環境解析に最適化した組織マイクロアレイの開発
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秋谷昌史、大迫智、福岡恵、上野貴之、大野真司、竹内賢吾
2. 発表標題 原発臓器推定に用いられる各種マーカーの乳癌における有用性の検証
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 乳癌サブタイプ別の臓器特異的マーカーの有用性
2. 発表標題 秋谷昌史、福岡恵、上野貴之、大野真司、大迫智
3. 学会等名 第29回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福岡恵、大迫智、上野貴之
2. 発表標題 乳癌におけるエレノアノンコーディングRNA発現の検討
3. 学会等名 第28回日本乳癌学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 秋谷昌史、大迫智、小野麻紀子、福岡恵、上野貴之、大野真司、竹内賢吾
2. 発表標題 再発乳癌における原発巣推定マーカーの有用性
3. 学会等名 第111回日本病理学会学術総会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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
連携研究者	牛嶋 大 (USHIJIMA Masaru) (60328565)	公益財団法人がん研究会・有明病院 臨床研究・開発センター・研究員 (72602)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------