

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 8 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590393

研究課題名（和文）：腫瘍細胞間質細胞化生および癌間質性状評価による癌悪性度研究

研究課題名（英文）：Analyses for malignant degree of carcinomas based on epithelial-mesenchymal transition, histological characteristics and biological characteristics of carcinoma cells.

研究代表者：

長谷部 孝裕（HASEBE TAKAHIRO）

独立行政法人国立がん研究センター・東病院・医長

研究者番号：00250209

研究成果の概要（和文）：

乳癌腫瘍間質線維芽細胞におけるp53蛋白発現、リンパ管腫瘍塞栓異型度、乳癌異型腫瘍間質線維芽細胞、リンパ節転移腫瘍核分裂数は乳癌患者の予後因子となった。提唱病理組織学的因子（Fibrotic focus、リンパ管腫瘍塞栓異型度、乳癌タイプ、リンパ節転移腫瘍核分裂数）は、既知病理学的因子に勝り、改訂提唱分類も、UICC pTNM分類、Nottingham Prognostic Indexに有意に勝った。

研究成果の概要（英文）：

1. p53 protein expression in tumor-stromal fibroblasts was closely associated with the number of nodal metastasis and the outcome of invasive ductal carcinoma (IDC) patients of the breast who received and who did not receive neoadjuvant therapy. Furthermore, the Allred score risk classification based on the combined assessment of p53 expression in tumor-stromal fibroblasts forming and not forming FFs is a very useful outcome predictor among patients with IDC who did not receive neoadjuvant therapy.
2. The grading system for lymph vessel tumor emboli was an excellent histological outcome predictive grading system for IDC patients who received and who did not receive neoadjuvant therapy.
3. The presence of atypical tumor-stromal fibroblasts, especially in fibrotic foci, was significantly associated with tumor recurrence and tumor-related death of patients with IDC of the breast who received and who did not receive neoadjuvant therapy.
4. The presence of six or more mitotic figures in a lymph node tumor significantly increased the hazard ratios for tumor recurrence and tumor-related death among IDC patients as a whole, those with nodal metastases, and those with a histologic grade of 2 or 3.
5. Type 4 IDC was significant outcome predictors for lymph node-negative and -positive, UICC pTNM stages II and III, luminal A-subtype, luminal B-subtype, and equivocal HER2 subtype IDC patients. Lymph vessel tumor embolus grades 2 and 3 were significant outcome predictors for lymph node-positive, UICC pTNM stages II and III, luminal A-subtype and triple negative IDC patients. A more than five mitotic figures in metastatic carcinoma to the lymph nodes was a significant outcome predictor for lymph node-positive, UICC pTNM stage II and luminal A-subtype IDC patients. A fibrotic focus diameter >8 mm was a significant outcome predictor for UICC pTNM stages I and III IDC patients.
6. The modified PVN classification clearly exhibited a superior significant power, compared with UICC pTNM classification and the reclassified Nottingham Prognostic Index, for the accurate prediction of tumor recurrence and tumor-related death among patients with IDC in a manner that was independent of the nodal status, the hormone receptor status and adjuvant therapy status.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：人体病理学

キーワード：乳癌、癌間質、上皮間葉移行、癌悪性度、異型腫瘍間質線維芽細胞、リンパ管腫瘍塞栓、静脈腫瘍塞栓、予後分類

1. 研究開始当初の背景

我々は腫瘍間質成分の生物学的性状が癌の増殖・進展に密接に関係することを以前より指摘し、殊に浸潤性乳管癌におけるFibrotic focus (FF、線維化巣) に着目し研究を行ってきた。FFの存在は浸潤性乳管癌患者の短期・長期予後と密接に関係する組織形態学的因子であり (Hasebe T, et al. Jpn J Cancer Res 1996;87:385-94, Hasebe T, et al. Breast Cancer Res Treat 1998;49:195-208, Hasebe T, et al. Mod Pathol 2002;15:502-16, Hasebe T, et al. Hum Pathol 2008;39:681-93)、FFを有する浸潤性乳管癌はFFを有さない浸潤性乳管癌に比べ、腫瘍内血管新生が有意に高いことを明らかとした (Jitsuiki Y, Hasebe T, et al. Mod Pathol 1999;12:492-8)。FFの予後因子としての重要性は、欧米施設においても確認され (Colpaert C, et al. Histopathology 2001;39:416-25, Colpaert C, et al. J Pathol 2001;193:442-9, Colpaert C, et al. Breast Cancer Res Treat 2003;81:137-47, Baak JPA, et al. Eur J Cancer 2005;41:2093-101)、腫瘍内血管新生にも密接に関係することが確認された (Colpaert C, et al. J Pathol 2001;193:442-9, Van den Eynden GG, et al. Br J Cancer 2005;93:1128-36)。さらにリンパ節転移陰性浸潤性乳管癌において、FFの存在は低酸素関連遺伝子、リンパ管・血管新生関連遺伝子、予後不良規定遺伝子の発現と密接に関係することがcDNAマイクロアレイ解析により明らかとなった (Van den Eynden GG, et al. Clin Cancer Res 2008;14:2944-52)。

脈管内癌成分及びリンパ節転移癌成分の癌悪性度評価における重要性については、乳癌に加え、肝外胆管癌の正確な悪性度評価に重要であることが明らかとし (Hasebe T, et al. Hum Pathol 2008;39:37-48)、特にリンパ節転移癌において、腫瘍間質性状が癌浸潤・転移において極めて重要な役割を担っ

ていることを明示した。

2. 研究の目的

- 1) 腫瘍細胞、腫瘍間質細胞の生物学的性状の検討
- 2) 腫瘍細胞の腫瘍間質細胞化生の臨床病理学的意義の検討
- 3) Stem cell関連因子発現の検討
- 4) 腫瘍間質性状の相違に基づくプロテオーム解析

3. 研究の方法

- 1) 病理組織形態像を中心とする検討
2000～2005年において、国立がんセンター中央病院で手術された浸潤性乳管癌1,368症例を対象とする。評価対象成分は原発癌組織、脈管内癌組織、リンパ節転移癌組織の3癌組織成分である。各成分において既知乳癌病理組織学的因子に加え、腫瘍間質性状であるFibrotic focus (FF)、腫瘍間質細胞化生、及びリンパ管腫瘍塞栓組織異型度 (Ly-Grade) を評価し予後との相関を調べる。
- 2) 腫瘍細胞・腫瘍間質細胞の生物学的性状相違の有無についての検討
 - (1) 増殖因子蛋白・増殖因子受容体蛋白：HGF/HGFR、FGF/FGFR、PDGF/PDGFR、EGF/EGFR等
 - (2) 腫瘍・腫瘍抑制遺伝子蛋白：nm23、c-fos、c-jun、c-myc、Fascin等
 - (3) 細胞周期調節蛋白：Skp2、p27、Cyclin-D1、Cyclin-E、Kruppel-like factor (KLF5)等
 - (4) ケラチン蛋白発現：CK5/6、CK8/18、34betaE12等
- 3) 腫瘍間質細胞化生の臨床病理学的意義の検討
 - (1) FFを含む腫瘍間質において、腫瘍細胞間質細胞化生像を示唆する所

見があるか否か HE で観察する。

- (2) 免疫組織化学による検討：間質細胞化生を示す腫瘍細胞における Keratin、間葉系蛋白発現、接着因子蛋白発現などを検討することにより、間質細胞化生をより客観的に評価する。
- 4) Stem cell 関連因子蛋白発現の検討
原発癌組織、リンパ管内癌組織、リンパ節転移癌組織において腫瘍細胞、腫瘍間質に分け、下記に記す Stem cell marker の発現の有無を免疫組織染色により比較検討する。
- 5) 腫瘍間質性状の相違に基づくプロテオーム解析
 - (1) 蛍光二次元電気泳動法
 - (2) Western blotting 法：約 1000 種類の市販抗体を用いて発現および翻訳後修飾の定量的比較解析を行う。

4. 研究成果

- 1) 浸潤性乳管癌の腫瘍間質線維芽細胞における p53 癌抑制遺伝子蛋白発現は術前薬物療法を受けなかった群 (1039 例) 並びに受けた群 (319 例) において、他の既知臨床病理学的因子および腫瘍細胞 p53 癌抑制遺伝子蛋白発現との多変量解析により、浸潤性乳管癌患者の癌再発・死亡に密接に係わる因子であることを明らかとした。Fibrotic focus (FF) は浸潤性乳管癌の特異的な癌間質形態であるが、FF 形成線維芽細胞における p53 癌抑制蛋白発現は、非 FF 形成線維芽細胞における p53 蛋白発現に比べ密接に患者予後に相関していることも明らかとした。
- 2) リンパ管内に侵入したリンパ管腫瘍細胞よりなるリンパ管腫瘍塞栓異型度は、術前薬物療法の有無に関係なく、浸潤性乳管癌患者の極めて重要な組織学的予後因子であることを、既知臨床病理学的因子などとの多変量解析により明らかとした。
- 3) 浸潤性乳管癌の腫瘍間質の主成分である腫瘍間質線維芽細胞の中で、奇怪な核異型を示す異型腫瘍間質線維芽細胞の存在を明らかとした。その存在は、浸潤性乳管癌患者の予後を推測する上で極めて重要であり、術前薬物療法を受けていない浸潤性乳管癌患者 (1042 例)、並びに術前薬物療法を受けた浸潤性乳管癌患者 (318 例) の腫瘍再発・腫瘍死と有意に相関することを他臨床病理学的因子との多変量解析にて明らかとした。また、術前薬物療法の有無に係らず、異型腫瘍間質線維芽細胞は、非異型腫瘍間質線維芽細胞に比べ、p53 蛋白の核内発現が有意に高いこ

とを明らかとした。

- 4) 以前、我々はリンパ節に転移した腫瘍細胞の核分裂数 (閾値：6 個以上) が重要な病理組織学的予後因子となることを報告した。今回は、異なる母集団 (術前薬物療法を受けていない浸潤性乳管癌患者、1042 例) において、リンパ節転移腫瘍細胞の核分裂像が同様に予後因子となることを改めて証明した。
- 5) 我々が報告してきた乳管癌の病理組織学的因子 (Fibrotic focus、リンパ管腫瘍塞栓組織異型度、乳管癌タイプ型、リンパ節転移腫瘍核分裂像) と既知臨床病理学的因子の中で、どの病理組織形態因子が最も乳管癌患者の予後を正確に推測できるか検討し、我々提唱因子が既知臨床病理学的因子に優る予後因子であることを明らかとした。
- 6) 以前、我々は提唱因子よりなる Primary tumor/Vessel tumor/Nodal tumor (PVN) 分類を考案し、提唱分類が UICC pTNM 分類、Nottingham Prognostic Index (NPI) に優る乳管癌の予後分類であることを示したが、PVN 分類を改訂し、異なる乳管癌母集団において、改訂 PVN 分類が UICC pTNM 分類、NPI に優る乳管癌患者予後分類であることを確認した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

1. Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shibata T, Sasajima Y, Kinoshita T, Tsuda H. Prognostic significance of mitotic figures in metastatic mammary ductal carcinoma to the lymph nodes. Hum Pathol 2011; 42: 1823-1832. (査読有)
Doi:10.1016/j.humpath.2011.02.015
2. Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shibata T, Kinoshita T, Tsuda H. Important histological outcome predictors for patients with invasive ductal carcinoma of the breast. Am J Surg Pathol 2011; 35: 1484-1497. (査読有) DOI: 10.1097/PAS.0b013e318224ca28
3. Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shibata T, Kinoshita T, Tsuda H. Modified primary tumor/vessel tumor/nodal tumor (PVN) classification for patients with invasive ductal carcinoma of the

- breast. Br J Cancer 2011; 105: 698-708. (査読有) Doi:10.1038/bjc.2011.279
4. Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shimizu C, Andoh M, Fujiwara Y, Shibata T, Sasajima Y, Kinoshita T, Tsuda H. Atypical tumor-stromal fibroblasts in invasive ductal carcinoma of the breast treated with neoadjuvant therapy. Hum Pathol 2011; 42: 998-1006. (査読有) Doi:10.1016/j.humpath.2010.10.020
 5. Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shibata T, Sasajima Y, Kinoshita T, Tsuda H. Atypical tumor-stromal fibroblasts in invasive ductal carcinoma of the breast. Am J Surg Pathol 2011; 35: 325-336 (査読有) DOI: 10.1097/PAS.0b013e31820afab9
 6. Okada N, Hasebe T, Iwasaki M, Tamura N, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shibata T, Sasajima Y, Kanai Y, Kinoshita T. Metaplastic carcinoma of the breast. Hum Pathol 2010;41 :960-970. (査読有) <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2009.11.013>,
 7. Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shibata T, Sasajima Y, Kinoshita T, Tsuda H. p53 expression in tumor-stromal fibroblasts forming and not forming fibrotic foci in invasive ductal carcinoma of the breast. Mod Pathol 2010;23 :662-672. (査読有) doi:10.1038/modpathol.2010.47
 8. Hasebe T, Tamura N, Iwasaki M, Okada N, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shimizu C, Shibata T, Sasajima Y, Tsuda H, Kinoshita T. Grading system for lymph vessel tumor emboli: significant outcome predictor for invasive ductal carcinoma of the breast who received neoadjuvant therapy. Mod Pathol 2010;23:581-592. (査読有) doi:10.1038/modpathol.2010.3
 9. Hasebe T, Okada N, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, Hojo T, Shibata T, Sasajima Y, Tsuda H, Kinoshita T. Grading system for lymph vessel tumor emboli: significant outcome predictor for invasive ductal carcinoma of the breast. Hum Pathol 2010;41:706-715. (査読有) <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2009.10.015>,
 10. Hasebe T, Tamura N, Okada N, Hojo T, Akashi-Tanaka S, Shimizu C, Tsuda H, Shibata T, Sasajima Y, Iwasaki M, Kinoshita T. p53 expression in tumor-stromal fibroblasts is closely associated with the nodal metastasis and outcome of patients with invasive ductal carcinoma who received neoadjuvant therapy. Hum Pathol 2010;41:262-270. (査読有) doi:10.1016/j.humpath.2009.07.021
 11. Tamura N, Hasebe T, Okada N, Houjoh T, Akashi-Tanaka S, Shimizu C, Shibata T, Sasajima Y, Iwasaki M, Kinoshita T. Tumor histology in lymph vessel and lymph nodes for the accurate prediction of outcome among breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. Cancer Sci 2009;100:1823-1833. (査読有) DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01264.x
 12. Hasebe T, Okada N, Tamura N, Houjoh T, Akashi-Tanaka S, Tsuda H, Shibata T, Sasajima Y, Iwasaki M, Kinoshita T. p53 expression in tumor-stromal fibroblasts is associated with the outcome of patients with invasive ductal carcinoma of the breast. Cancer Sci 2009;100:2101-2108. (査読有) DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01307.x
- [学会発表] (計 7 件)
1. 長谷部孝裕、他。異型腫瘍間質線維芽細胞。術前薬物療法乳癌症例の予後因子としての重要性、第 70 回日本癌学会学術総会、2011 年 10 月 3、名古屋国際会議場(名古屋)。
 2. 長谷部孝裕、他。異型的な腫瘍間質線維芽細胞の役割、第 100 回日本病理学会春季総会、2011 年 4 月 30 日、パシフィコ横浜 (横浜市)。
 3. 長谷部孝裕、他。リンパ管腫瘍塞栓組織異型度。術前薬物療法浸潤性乳管癌患者の重要な予後因子、第 18 回日本乳癌学会総会、2010 年 6 月 24-25 日、ロイトン札幌 (札幌市)。
 4. 長谷部孝裕、他。p53 expression in tumor-stromal fibroblasts forming fibrotic foci in invasive ductal carcinoma of the breast、第 69 回日本癌学会学術総会、2010 年 9 月 22-24 日、大阪国際会議センター・リーガロイヤルホテル大阪 (大阪市)。
 5. 長谷部孝裕、他。リンパ管腫瘍塞栓組織異型度。乳癌予後因子としての重要性、第 99 回日本病理学会総会、2010 年 4 月 27-29 日、京王プラザ (新宿区)。
 6. 田村宣子、長谷部孝裕。リンパ管内腫瘍及びリンパ節転移腫瘍組織形態像の予後因子としての重要性。術前薬物療法施行乳管癌症例を対象として、第 68 回 日本

癌学会総会、2009年10月1-3日、パシフィコ横浜（横浜市）。

7. 長谷部孝裕、他。異型腫瘍間質線維芽細胞。術前薬物療法乳癌症例の予後因子としての重要性、第68回 日本癌学会総会、2009年10月1-3日、パシフィコ横浜（横浜市）。

6. 研究組織

(1) 研究代表者：

長谷部 孝裕

(HASEBE TAKAHIRO)

独立行政法人国立がん研究センター・東病院・医長

研究者番号：00250209