

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10052

研究課題名(和文) 乳癌術前化学療法後の病理学的完全奏功(pCR)の術前診断システムの開発

研究課題名(英文) Development of the prediction of pCR to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients

研究代表者

金昇晋(KIM, Seung Jin)

大阪大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：90346213

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は乳癌術前化学療法(NAC)後の病理学的完全奏功(pCR)を高い精度で診断するシステムの開発を目指した。paclitaxel±trastuzumab - FEC 療法後に手術を施行したStage II-IIIの原発性乳癌において、NAC前の乳腺造影MRIでの腫瘍の形状、ホルモン受容体、遺伝子解析によるintrinsicサブタイプ、循環血液中腫瘍DNAのメチル化の減少が有意にpCRと相関した。ROC解析では腫瘍の形状とintrinsicサブタイプとの併用が最も有用なpCR予測モデルであった。臨床的CR症例では、腫瘍の形状とclinicalサブタイプの併用が高率にpCRを予測できた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to develop the prediction system of pathological complete response (pCR) after neoadjuvant chemotherapy (NAC) for breast cancer. In breast cancer patients with Stage II - III diseases preoperatively treated with paclitaxel +/- trastuzumab followed by FEC therapy, the tumor shape on dynamic contrast-enhanced (CE) MRI before NAC, the hormone receptor status, the intrinsic subtype, and a decrease of methylated circulating tumor DNA after NAC were significantly associated with pCR. A ROC analysis demonstrated the combination of the baseline tumor shape on dynamic CE-MRI and the intrinsic subtype showed a high predictive performance for pCR. In addition, a combination analysis of the baseline tumor shape and the clinical subtype classification using hormone receptor and HER2 status had a highly correlated with pCR in patients with clinical CR on dynamic CE-MRI after NAC.

研究分野：乳腺外科学

キーワード：乳癌 術前化学療法 pCR 乳腺造影MRI ctDNA メチレーション predictive factor サブタイプ

### 1. 研究開始当初の背景

近年、乳癌治療において術前化学療法は Stage III - IV の進行乳癌だけでなく、Stage II の早期乳癌に対しても汎用されるようになってきた。アンストラサイクリン系、タキサン系抗癌剤に加え、最近では分子標的薬も導入され、術前化学療法により原発巣と腋窩リンパ節の両方で癌細胞が完全に消失する、いわゆる病理組織学的完全奏功 (pathological complete response, pCR) が得られることも多く経験するようになった。しかし、現時点では手術前に pCR を診断することが出来ないため、臨床的に乳癌が完全に消失 (clinical CR) していても、手術を縮小することは可能であるが省略することはできない。つまり、術前化学療法の普及と進歩により、pCR 症例は増えているにも関わらず、患者はそのベネフィットを十分には享受できていない。もし術前化学療法を受けた患者において、手術前に pCR を高い精度で診断できれば、手術自体の省略が可能であり、患者にとっては大きな福音になると考えられる。また、手術を中心とした従来の乳癌治療が大きく変化する可能性がある。

### 2. 研究の目的

本研究は、術前化学療法を受けた乳癌患者において、術前化学療法施行前後での乳腺造影 MRI 所見と、化学療法施行前に採取した針生検サンプルを用いて乳癌組織中の既存および新規の種々のバイオマーカーを測定することにより、術前化学療法で pCR がえられているかどうかを手術前に高い精度で診断できるシステムの開発を目的とした。

### 3. 研究の方法

術前化学療法により pCR が得られているかを手術前に診断するために、(1)術前化学療法前にえられる種々のマーカーを用いて pCR の予測精度を検討した。(2)術前化学療法後の乳腺造影 MRI で clinical CR になっている症例を選び出し、その中から実際に pCR になった症例を予測できるマーカーについて検討を行った。おもな手順を下記に示す。

- 1) 造影 MRI 検査
- 2) 吸引補助下針生検により組織採取
- 3) paclitaxel - FEC 療法による術前化学療法
- 4) 造影 MRI による臨床効果判定
- 5) 手術 術後病理検査精度

\* 本研究における pCR は原発巣で完全に癌が消失していることと定義しており、リンパ節転移の状況は考慮していない。

### 4. 研究成果

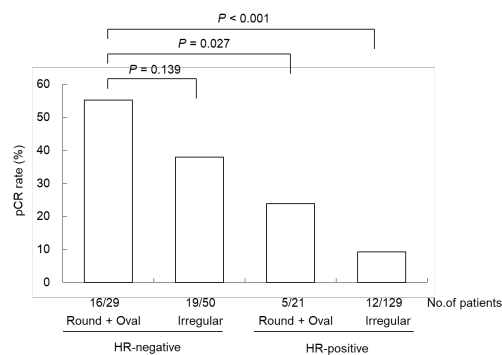
#### (1) 術前の乳腺造影 MRI 画像と乳癌組織中のバイオマーカーによる予測

##### 単変量・多変量解析

2005 年 12 月～2013 年 12 月までに大阪大学医学部附属病院乳腺内分泌外科において、paclitaxel-FEC 療法により術前化学療法を行い、その後に手術を施行した Stage II - III の乳癌患者のうち、当院で化学療法の前後で乳腺造影 MRI 検査を施行した 229 例で評価を行った。229 例中 52 例 (22.7%) が pCR となった。この pCR と相関する臨床病理学的因子を検討したところ、閉経の有無 (post vs. pre, OR 2.0,  $p=0.035$ )、組織学的グレード (3 vs. 1+2, OR 2.3,  $p=0.001$ )、ホルモン受容体 (negative vs. positive, OR 6.2,  $p<0.001$ )、HER2 (positive vs. negative, OR 2.6,  $p=0.005$ )、Ki67 (20% vs. <20%, OR 4.1,  $p=0.001$ )、術前化学療法前の造影 MRI での形状 (round + oval vs. irregular, OR 3.5,  $p<0.001$ )、辺縁 (circumscribed vs. not circum., OR 2.1,  $p=0.020$ )、造影率 (159.5% vs. <159.5%, OR 2.3,  $p=0.036$ )などが pCR と有意に相関した。多変量解析では、ホルモン受容体 ( $P=0.008$ ) と MRI 画像の形状 ( $p=0.039$ )が独立した pCR 予測因子であった。

##### コンビネーション解析

上記のホルモン受容体と MRI 画像での形状を合わせて解析すると、さらに pCR 予測能が向上することが明らかとなった。ホルモン受容体陰性かつ MRI で round + oval な腫瘍は 29 例中 16 例 (55%)が pCR で、ホルモン受容体陽性かつ irregular な腫瘍 (12/129 例、9.3%) に比べ有意に pCR 症例が多かった。



### intrinsic subtype

術前化学療法前の生検で採取した乳癌組織を用いた遺伝子発現解析による intrinsic subtype 分類で pCR 予測を検討した (n=81 例)。HER2-enriched タイプの pCR 率は 72.2% で、basal-like 31.3%, luminal B 11.8%, luminal A 6.7% に比べ有意に高率であった。

### ROC 解析

pCR 予測モデルの有用性を検討するため ROC 解析を施行した。

・ホルモン受容体 + 腫瘍の形状 (MRI) : AUC 0.747

・ホルモン受容体 + 腫瘍の形状 (MRI) + HER2 : AUC 0.789

・ホルモン受容体 + 腫瘍の形状 (MRI) + HER2 + Ki67 : AUC 0.807

・腫瘍の形状 (MRI) + intrinsic subtype : AUC 0.828

以上より、造影 MRI 画像における腫瘍の形状 + intrinsic subtype の AUC が最も高く予測診断能としては優れていたが、症例数も少なく、遺伝子解析も必要なことから容易に実臨床で用いることは困難と考えられた。一方、ホルモン受容体 + 腫瘍の形状 (MRI) + HER2 + Ki67 は、いずれも実臨床で使用している因子であり、AUC も高いことから実臨床で用いる pCR の予測モデルとしては有用であると考えられた。

### computer-aided diagnosis による解析

computer-aided diagnosis を用いて、術前化学療法前の MRI 画像における乳腺腫瘍内の高度濃染-早期 washout 型を示す腫瘍面積と pCR との相関を検討したが有意の相関を認めなかった。

## (2) 化学療法後の造影 MRI で clinical CR となった症例での検討

2005 年 12 月 ~ 2014 年 12 月までに当科において、paclitaxel-FEC 療法による術前化学療法後に手術を施行した Stage II - III の乳癌患者のうち、術前化学療法前後に乳腺造影 MRI 検査を施行した 266 人において pCR 予測の検討を行った。266 例のうち術前化学療法後の MRI 検査で clinical CR であった症例は 101 例であったが、実際 pCR であったものは 48 例で、約半数で乖離を認めた。この MRI で CR と判定された 101 例において、pCR と相関する因子の検討を行った。

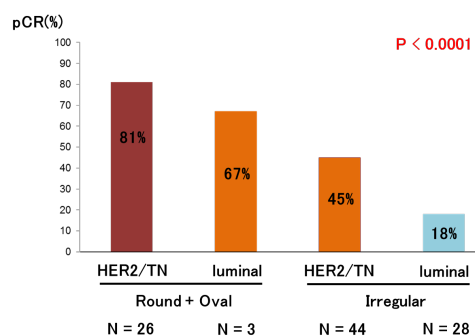
### 単変量解析

閉経の有無、histologic grade、ホルモン受容体、Ki67、そして術前化学療法前の MRI による腫瘍の形状が、有意に pCR と相関した。

MRI で Round + Oval タイプの腫瘍は 29 例中 79% が pCR であったのに対し、irregular タイプは 72 例中 35% と、前者で有意に pCR 率が高かった ( $p < 0.0001$ )。一方、ホルモンレセプターと HER2 の発現により、HER2 陽性乳癌、triple negative (TN) 乳癌の抗癌剤感受性が高いと思われる群と、HR 陽性 HER2 (-) の抗癌剤低感受性と思われるルミナル乳癌に分けて検討すると、HER2/TN 乳癌で pCR 率は 59% で、ルミナル乳癌の 23% に比べ有意に高率であった ( $p = 0.0008$ )。

### コンビネーション解析

術前化学療法前の MRI 画像による腫瘍の形状と、ホルモン受容体・HER2 によるサブタイプ分類を組み合わせて解析した。化学療法前の MRI で round + oval タイプの腫瘍で、かつ TN や HER2 陽性乳癌であれば、NAC 後の MRI で CR と判定された場合、81% は実際に pCR であった。一方、最初の MRI で irregular な腫瘍で、かつ TN や HER2 陽性乳癌は、NAC 後の MRI で CR でも pCR である率は 45% であった。同様に、最初の MRI で irregular な腫瘍で、かつルミナル乳癌は化学療法後の MRI で CR であっても、pCR である率はわずか 18% しかなかった。



## (3) ctDNA による pCR 予測

2012 年 7 月 ~ 2015 年 8 月に当科で paclitaxel ± trastuzumab - FEC 療法による術前化学療法を行い、手術を施行した Stage II-III の原発性乳癌患者 89 人のうち、術前化学療法前後 (N=87) および術後 1 年目 (N=54) に血中 free-DNA (ctDNA) を測定できた症例で、RASSF1A のプロモーター領域のメチレーションを測定し pCR や再発との相関を検討した。術前化学療法前のメチル化 ctDNA の頻度は

23.0%で、腫瘍マーカーである CEA (8.6%)や CA15-3 (7.4%)よりも有意に高率に認められた ( $p < 0.05$ )。これら術前化学前のメチル化 ctDNA 陽性の程度(コピー数)は、術前化学療法に奏功した症例では化学療法後に有意に低下していたが ( $p = 0.006$ )、術前化学療法に不応であった症例では低下がみられなかった。また、術前化学療法後にメチル化陽性であった症例は、高率に病理学的にも腫瘍残存の程度が大きかった ( $p = 0.008$ )。さらに、術前化学療法後にはメチル化陰性であった症例で術後1年目の検査において、メチル化 ctDNA が増加していた症例を7例認め、うち3例に再発を認めた。メチル化 ctDNA の推移は、術前化学療法の効果を反映しているだけでなく、その後の再発のモニタリングにも有用である可能性が示唆された。

#### 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 4 件)

Takahashi H, Kagara N, Tanei T, Naoi Y, Shimoda M, Shimomura A, Shimazu K, Kim SJ, Noguchi S. Correlation of Methylated Circulating Tumor DNA With Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer Patients. Clin Breast Cancer. 査読有, 17 巻, 2017, 61-69.e3. DOI: 10.1016/j.clbc.2016.06.006.

Tsunashima R, Naoi Y, Kagara N, Shimoda M, Shimomura A, Maruyama N, Shimazu K, Kim SJ, Noguchi S. Construction of multi-gene classifier for prediction of response to and prognosis after neoadjuvant chemotherapy for estrogen receptor positive breast cancers. Cancer Lett. 査読有, 365, 2015, 166-73. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.05.030.

Takamoto K, Shimazu K, Naoi Y, Shimomura A, Shimoda M, Kagara N, Kim SJ, Tamaki Y, Noguchi S. One-Step Nucleic Acid Amplification Assay for Detection of Axillary Lymph Node Metastases in Breast Cancer Patients Treated with Neoadjuvant Chemotherapy. Ann Surg Oncol. 査読有, 23, 2016, 78-86. DOI: 10.1245/s10434-015-4693-y.

Michishita S, Kim SJ, Shimazu K, et al. Prediction of pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy by magnetic resonance imaging in breast cancer patients. The Breast, 査読有, 24, 2015, 159-165, DOI: 10.1016/j.breast.2015.01.001.

〔学会発表〕(計 3 件)

金昇晋、富田興一、渡邊法之、他、術前化学療法後 IBR の治療成績、第 5 回日本オンコプラスティックサージャリー学会総会、2017/9/22、東京都

金昇晋、島津研三、直居靖人、他、術前化学療法後の一次乳房再建、第 4 回日本オンコプラスティックサージャリー学会総会、2016/10/6、千葉県舞浜市

金昇晋、島津研三、下村淳、他、乳癌術前化学療法による乳房温存手術の適応拡大とバイオマーカーの検討、第 116 回日本外科学会総会、2016/4/16、大阪市

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

金昇晋 (KIM, Seung Jin)  
大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授  
研究者番号: 90346213

(2) 研究分担者

下村淳 (SHIMOMURA, Atsushi)  
大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教  
研究者番号: 10625841

多根井智紀 (TANEI, Tomonori)  
大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教  
研究者番号: 80771518

(3) 連携研究者

なし