

## 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 25年 6月 20日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590340

研究課題名（和文） 乳腺の前癌病変：疾患概念の確立と臨床病理学的意義の検証

研究課題名（英文） Precancerous lesion of the breast: Establishment of disease entity and verification of clinic-pathological significance

研究代表者

森谷 卓也（MORIYA TAKUYA）

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号：00230160

研究成果の概要（和文）：乳癌のほとんどは乳管内にとどまる非浸潤性乳管癌として発生し、多くがやがて浸潤癌に進行すると考えられる。しかし、癌発生の前段階や浸潤癌への進展様式は多彩であり、癌を早期に発見した際に個々の症例の特性を見極めて適切な治療戦略を立てる必要がある。本研究では、非浸潤性乳管癌を病理学的に検討し、浸潤癌への進展様式の多彩性に関する仮説を検証した。また、一部の癌には病理検査で確認可能な前癌段階があり得ることを示し、病理細胞学的にそれらを把握するための診断学的基盤を提唱した。

研究成果の概要（英文）：Most of breast cancers occur within the mammary duct, as ductal carcinoma in situ, and many cases will extend into invasive carcinoma in the future. However, precancerous stage as well as the way to advanced carcinoma may be variable. Thus, it is necessary to perform accurate pathological evaluation for individual patients, especially at the earlier stage, to predict the biological behavior for the appropriate therapy. In this research work, we pathologically examined ductal carcinoma in situ, and validated the hypothesis concerning the heterogeneity of the way to the development into invasive carcinoma. In addition, we showed that some ductal carcinoma in situ cases really have precancerous lesions detectable by pathological examination.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：乳腺、乳癌、前癌病変、非浸潤癌、上皮内癌、異型過形成、診断病理学、免疫組織化学

## 1. 研究開始当初の背景

本邦女性の乳癌患者数は著しく増加し、年間新規患者が4万人超で、女性の20-25人が生涯のうちに乳癌を発症する時代になった。特に、早期癌の代表であり、浸潤癌に至る最終段階とも目される非浸潤癌、とりわけ非浸潤性乳管癌の頻度が、乳癌全体の10%を超えるようになり、早期発見・早期治療の必要性がますます重要になるものと考えられた。

一方、病理診断の立場からは、乳癌の早期診断は必ずしも容易でない。針生検など低侵襲性の診断手法を含め、非浸潤癌を、より客観的かつ確に診断する必要性に迫られていた。

さらに、癌に進展しつつある途中の段階に相当する「前癌病変」あるいは「境界病変」の疾患概念については、欧米を中心とした海外では「異型乳管過形成」等が広く用いられる一方で、本邦ではその存在自体への疑義や経験症例の少なさから、ほとんど研究が進んでいないのが実情であった。

そこで、非浸潤癌までを含めた前癌病変・境界病変の病態を明らかにし、適切な病理診断を行うためのツールを開発することと、それら病変の生物学的な意義を検証することが求められていた。

## 2. 研究の目的

乳腺における前癌病変（非浸潤癌までを含める）の存在を認識し、適切な病理診断を実践するための基盤を作成することと、当該病変の病理学的・臨床的特性を明らかにすることを目的とし、研究を行った。

## 3. 研究の方法

### (1) 非浸潤性乳管癌の病理形態学的多様性

非浸潤性乳管癌を亜分類し、免疫組織学的手法を用いてその特徴を検討した。

① 非浸潤性乳管癌について、浸潤性乳管癌における内因性サブタイプ分類に準じて亜分類を行い、浸潤癌との差を検討した。また、基底細胞型乳癌のマーカー(CK5/6, CK14, EGFR)発現について検討を加えた。

② ホルモンレセプター陽性、HER2陰性の非浸潤性乳管癌症例について、免疫組織染色ならびにレクチン染色を行って、各種マーカーの発現の様子を観察した。

### (2) Mucocoele-like lesionに関する検討

病理組織学的に mucocoele-like lesion と診断された症例について、併存する乳管内病変の性状について病理組織学的に検討した。またこの病変の臨床像を調査検討した。

### (3) 平坦型異型に関する検討

生検で平坦型異型 (flat epithelial atypia) と病理診断した症例について、非浸潤性乳管癌と鑑別が可能か、穿刺吸引材料を用いて、細胞形態学的な特徴についての検討を行った。

### (4) 乳管内乳頭状病変に対する病理組織診断の普遍性に関する検討

乳管内乳頭状病変は、良性の乳管内乳頭腫、悪性の非浸潤性乳管癌・乳頭型(嚢胞内乳頭癌を含む)と病理組織診断の鑑別が極めて難しいこと、良悪性境界病変の存在や疾患概念が確立されていないことから、コンサルテーションの頻度も高い。病理医間の診断の差を明らかにする目的で、バーチャルスライドを用いたコンサルテーション実験を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 非浸潤性乳管癌の病理形態学的多様性

#### ① 非浸潤性乳管癌例の内因性サブタイプ

621例についてホルモン受容体(エストロゲンレセプター、プロゲステロンレセプター、HER2)に対する免疫組織染色を行ったところ、下表の結果となった。Triple negative 乳癌の頻度は浸潤癌の1/2ないしそれ以下で、この型の乳癌は、非浸潤癌の時期を十分経ずに早期に浸潤癌へと移行進展するものと推測された。

サブタイプ	基準	症例数(%)
Luminal A	HR+, HER2-	473 (76.2)
Luminal B	HR+ HER2+	57 (9.2)
HER2	HR-, HER2+	61 (9.8)
Triple negative	HR-, HER2-	30 (4.8)
合計		621

[注] (HR:ホルモン受容体;ER または PR)

コメド型の癌は非コメド型に比して有意にHR発現が低頻度、HER2過剰発現が高頻度であった。HR発現は核異型度と逆相関、HER2は正の相関を認めた。

次に、triple negative 乳癌29例をそれ以外の型207例と比較した。コメド型、および核異型高度の症例は、有意にtriple negative型で高頻度であった。また、下表のようにp53陽性率発現例も有意に高頻度だが、Ki-67の増殖能には差がなかった。

一方、triple negative 型浸潤性乳癌の80%程度に発現を認める基底細胞型マーカーは、非浸潤癌の場合にはいずれも6.9%の症例にしか発現がみられなかった。乖離の理由を検討する目的で細胞形態に着目すると、20例(69%)が好酸性胞体からなるアポクリ

ン分化を示しており、triple negative 型非浸潤癌の lineage は浸潤癌のそれとは異なっている可能性が示唆された。

	TN 型	非 TN 型	p value
症例数	29 例	207 例	
Ki-67LI	11.7	10.6	0.484
p53	11 (38%)	39 (19%)	0.019
CK5/6	2 (6.9%)	1 (0.5%)	0.041
CK14	2 (6.9%)	0	0.015
EGFR	2 (6.9%)	1 (0.5%)	0.041

〔注〕 (TN : triple negative)

## ② 非浸潤性乳管癌のマーカー発現

ホルモンレセプター陽性、HER2 陰性の形質を持つ Luminal A 型の非浸潤性乳管癌 50 例について、免疫組織学的に検討した。年齢にかかわらず癌細胞がアロマターゼを発現していること、約 80% の症例がエストロゲンレセプターの発現にかかわる転写因子 GATA3 および FOXA1 を、1/3 例が XBP1 を発現していることを明らかにした。3 つの転写因子は背景の正常乳腺における発現が乏しいことを確認しており、低異型度癌が発生する段階のいずれかにおいて発現するものと推測された。

レクチン染色は、36 種類について網羅的に解析したところ、6 種類が正常乳腺では発現がみられないが、Luminal A 型の非浸潤性乳管癌において高発現を示していた。

## (2) Mucoccele-like lesion に関する検討

Mucoccele-like lesion と病理診断がなされた症例 55 例を再検討した。病巣に付随する上皮の異型度は良性 30 例 (54.5%)、核異型を伴う境界悪性相当 10 例 (18.2%)、非浸潤性乳管癌に付随するもの 15 例 (27.3%) で、半数近くの例に異型上皮以上の病巣が合併していた。併存する非浸潤性乳管癌は 15 例中 14 例が低乳頭状、全例が核異型軽度、ホルモンレセプター陽性、HER2 陰性 (すなわち Luminal A 型)、非comedo であった。対側乳房には粘液癌同時発生 1 例、上皮異型を伴う mucoccele-like lesion 1 例を認め、本病変が低異型度癌の前癌病変の一つであることが示唆された。

## (3) 平坦型異型に関する検討

15 例の穿刺吸引細胞像を再検討した。集塊は軽度核重積性で、核密度が高く、一部はほつれて孤立性に散在していた。核には腫大傾向があり、核形は長円〜類円形で軽度の核形不整とクロマチン増量があり、明瞭な核小体も認められた。細胞質は比較的広く、細顆粒状を呈し、筋上皮との二相性は不明瞭な部が主体を占めた。以上の所見は本症の組織像を十分反映していたが、特異性は決して高くは

ないように思われた。

## (4) 乳管内乳頭状病変に対する病理組織診断の普遍性に関する検討

20 症例の乳管内病変を抽出し、バーチャルスライドを作成して、9 名の病理専門医に画像の web 観察を依頼した。良性側ではアポクリン化生が目立つ乳管腺腫が過剰評価を受ける場合がみられた。癌では、微小浸潤の有無に関して判断が分かれる症例があり、バーチャルスライド観察の限界とも思われた。バーチャルスライドによる病理診断では、Z 軸の移動を含むフォーカス調整の問題、パソコンを用いて診断すること自体への慣れの問題があるが、この方式による病理診断・およびコンサルテーションは近い将来日常診療に導入される可能性が十分考えられるため、乳腺前癌病変・境界病変などを含む微妙な病変の診断にも十分耐えうる機器の開発と病理医の修練が必要と思われた。

## (5) 総括

上記研究成果から以下の知見が得られた。

- ① 浸潤性乳管癌に内因性サブタイプが存在するのと同様に、非浸潤性乳管癌も亜分類が可能である。しかし、その症例分布は浸潤癌とは異なっており、非浸潤癌が浸潤癌に移行する速さに依存している可能性が示唆された。
- ② トリプルネガティブ型の非浸潤性乳管癌の性質はトリプルネガティブ型浸潤癌とは一致しておらず、異なる lineage に位置する癌と考えられた。
- ③ Luminal A 型乳癌の前駆段階には、エストロゲンレセプター発現に関わる転写因子の異常が関わっている可能性が示唆された。Mucoccele-like lesion もこのタイプの癌の前癌の一つと考えられた。
- ④ 乳管内腫瘍の研究を遂行するにあたり、病理組織診断の標準化も同時に進めてゆくべきであることが強く印象づけられた。

以上、乳癌の病理組織形態・生物学的特性は多彩であり、その前駆病変も多彩な性質を有していることが明らかになった。今後は、さらにパラメータを増やして解析を進めるとともに、次のステップとして背景乳腺における異常の早期発見と、一方で浸潤癌への進展のメカニズムについても検討が必要であると考えられた。

## 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 8 件)

- ① Hida Akira, Oshiro Yumi, Inoue Hiromichi, Kawaguchi Hiodetoshi, Yamashita Natsumi, Moriya Takuya, Visual assessment of Ki67 at a glance is an easy method to exclude many luminal-type breast cancers from counting 1000 cells. Breast Cancer, 2013. DOI:10.1007/s12282-013-0460-8 査読有り.
- ② Kimijima Izo, Yoshida K, Tamura R, Moriya Takuya. Effectiveness of multi-detector row computed tomography in detection of the presence and extent of ductal carcinoma in situ. Breast Cancer 20:26-33, 2013、査読有り.
- ③ Nakashima Kazutaka, Moriya Takuya, Comprehensive ultrasound diagnosis for Intraductal spread of primary breast carcinoma. Breast Cancer 20: 3-12, 2013、査読有り.
- ④ Takagi Kiyoshi, Moriya Takuya, Kusosumi Masafumi, Oka Kimako, Miki Yasuhiro, Ebata Akiko, Toshima Takashi, Tsunakawa Shoji, Takei Hiroyuki, Hirakawa Hisashi, Ishida Takanori, Hayashi Shinichi, Kurebayashi Junichi, Sasano Hironobu, Suzuki Takashi, Intratumoral estrogen concentration and expression of estrogen-induced genes in male breast carcinoma. Comparison with female breast carcinoma. Horm Cancer 4:1-11, 2013, 査読有り.
- ⑤ 水藤 晶子、園尾 博司、齋藤 互、小池 良和、山下 哲正、藤井 清香、下登志朗、山本 裕、椎木 滋雄、中島 一毅、田中 克浩、紅林 淳一、森谷 卓也、当科における乳癌症例の術前病理診断の検討、川崎医学会誌 38:1-10, 2012、査読有り.
- ⑥ 森谷卓也、異型乳管過形成 (ADH) について教えてください、Cancer Board 乳癌 2:20-21, 2011、査読なし.
- ⑦ Toi Masakazu, Ohashi Yasuo, Seow Adeline, Moriya Takuya, Tse Gary, Sasano Hironobu, Park Byeong Woo, Chow Louis WC, Laudico Adriano V, Yip Cheng Har, Ueno Ei, Ishiguro Hiroshi, Bando Hiroko, The Breast Cancer Working Group presentation was divided into three sections: the epidemiology, pathology

and treatment of breast cancer. Jpn J Clin Oncol 40(Suppl1):13-18, 2010, 査読有り.

- ⑧ Moriya Takuya, Kanomata Naoki, Kozuka Yuji, Hirakawa Hisashi, Kimijima Izo, Kimura Michio, Eatanabe Mika, Sasano Hironobu, Ishida Takanori, Ohuchi Noriaki, Kurebayashi Junichi, Sonoo Hiroshi, Molecular morphological approach to the pathological study of development and advancement of human breast cancer. Med Mol Morphol 43:67-73, 2010. 査読有り.

[学会発表] (計 13 件)

- ① 森谷卓也、鹿股直樹、乳腺 DCIS・境界病変の臨床病理と細胞像、第 54 回日本臨床細胞学会総会、2013 年 6 月 2 日、東京.
- ② 平川 久、田澤 篤、岡 きまこ、木村 道夫、森谷 卓也、秋保 信彦、長嶋 真紀、阿保 昌樹、実方 一典、井口 淳子、乳腺粘液癌様病変と乳癌との関連についての検討、第 20 回日本乳癌学会学術総会、2012 年 6 月 29 日、熊本.
- ③ 兼松 美幸、本田 純子、須見 高尚、高橋 雅子、坂東 良美、森谷 卓也、笹 三徳、DCIS におけるサブタイプ分類と病理組織学的特徴の比較検討、第 20 回日本乳癌学会学術総会、2012 年 6 月 29 日、熊本.
- ④ 高橋 雅子、兼松 美幸、本田 純子、坂東 良美、森谷 卓也、笹 三徳、Intrinsic subtype 別にみた DCIS 画像所見、第 20 回日本乳癌学会学術総会、2012 年 6 月 28 日、熊本.
- ⑤ 森谷 卓也、鹿股 直樹、乳癌治療における細胞診断の新しい役割：微小病変に対する細胞診断の現状と問題点 病理から見た微小乳腺病変、第 53 回日本臨床細胞学会総会、2012 年 6 月 3 日、東京.
- ⑥ 森谷 卓也、鹿股 直樹、大井 恭代、坂谷 貴司、原田 大、堀井 理絵、前田 一郎、山口 倫、平川 久、バーチャル画像を用いた乳腺針生検病理コンサルテーションの精度、第 101 回日本病理学会総会、2012 年 4 月 26 日、東京.
- ⑦ Moriya Takuya、Diagnostic clue in breast pathology. 国際病理アカデミー 日本支部 50 周年記念国際シンポジウム、2011 年 11 月 19 日、東京.
- ⑧ 小塚 祐司、鹿股 直樹、森谷 卓也、乳腺細胞診の新たな展開：増加する早期癌の診断 良悪鑑別困難疾患の細胞像、第 50 回日本臨床細胞学会秋期大会、2011 年 10 月 22 日、東京.
- ⑨ 長嶋 真紀、平川 久、秋保 信彦、田澤 篤、木村 道夫、渡辺 みか、森谷 卓也、乳腺平坦型異型 (flat epithelial

atypia) の細胞学的検討、第 50 回日本臨床細胞学会秋期大会、2011 年 10 月 22 日、東京。

- ⑩ Moriya Takuya, Borderline lesion of the breast, 第 7 回アジアオセアニア病理学会、2011 年 5 月 23 日、台北市、台湾。
- ⑪ Moriya Takuya、The pathological features of breast carcinoma in Asian women. 第 9 回アジア臨床腫瘍学会・学術集会、2010 年 8 月 26 日、岐阜。
- ⑫ 森谷 卓也、鹿股 直樹、小塚 祐司、平川 久、田澤 篤、木村 道夫、君島 伊造、紅林 淳一、園尾 博司、トリプルネガティブ型 DCIS の病理学的特徴、第 18 回日本乳癌学会学術総会、2010 年 6 月 24 日、札幌。
- ⑬ 畠 榮、森谷 卓也、非浸潤性乳管癌 (DCIS) の細胞像について、第 51 回日本臨床細胞学会総会、2010 年 5 月 31 日、横浜。

[図書] (計 4 件)

- ① Collins Laura, O' Mallery Frances, Visscher Dan, Moriya Takuya, Ichihara Shu, Reis-Filfo S Jorge, IARC Press, Encapsulated papillary carcinoma. WHO classification of tumours of the breast. 2012, 240 (106-107).
- ② 森谷 卓也、小葉性腫瘍、中山書店、癌診療指針のための病理診断ブラックティス 乳癌(青笹克之、黒住昌史、編)、2011、333 (170-175)。
- ③ 森谷 卓也、乳頭腫と乳頭癌の鑑別、文光堂、乳癌、腫瘍病理鑑別診断アトラス (黒住 昌史、森谷 卓也、編)、2010、270(194-198)。
- ④ 森谷 卓也、鹿股 直樹、周辺病変・免疫染色。篠原出版新社、非浸潤性乳管癌のすべて (秋山 太、編)、2010、207 (161-175)。

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: Ki-67 インデックス算定二重染色法を用いた陽性率測定方法

発明者: 鹿股 直樹、森谷 卓也

権利者: 学校法人 川崎学園

種類: 特許

番号: 特願 2012-70355

出願年月日: 2012 年 3 月 26 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

川崎学園 教員情報

<http://kwweb-res.kawasaki-m.ac.jp/kwmhp/KgApp?kyoinId=ykmmyyodggy>

川崎医科大学 病理学 2

<http://www.kawasaki-m.ac.jp/pathology2/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森谷 卓也 (MORIYA TAKUYA)

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号: 00230160

(2) 研究分担者

紅林 淳一 (KUREBAYASHI JUNICHI)

川崎医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 10248255

鈴木 貴 (SUZUKI TAKASHI)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号: 10261629

(3) 連携研究者

鹿股直樹 (KANOMATA NAOKI)

川崎医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 60263373