

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：85401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23590839

研究課題名(和文)原爆被爆者の乳がんに関する免疫組織学的疫学研究

研究課題名(英文)Immunohistological epidemiologic study of breast cancer among atomic-bomb survivors

研究代表者

小笹 晃太郎(OZASA, Kotaro)

公益財団法人放射線影響研究所・広島疫学部・部長

研究者番号：20204191

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：広島および長崎の原爆被爆者寿命調査集団から1950～2005年に発生した乳がん症例を収集して、病理医パネルによる組織診断および免疫組織化学染色による内因性サブタイプの決定を行った。組織学的に診断された乳がん症例1615例のうち、浸潤性乳管癌が81%、上皮内癌が6%であり、内因性サブタイプに関する染色が可能であった1377例のうちLuminal A型が32%、Luminal B型が40%、HER2過剰発現型が8%、三重陰性型が9%であった。今後、判定の確定の後、これらの結果と放射線被曝との関連、日本での乳がん増加の観点から診断暦年等との関連等の解析を行う。

研究成果の概要(英文)：Breast cancer cases developed in the cohort of atomic-bomb survivors' Life Span Study in Hiroshima and Nagasaki were histologically diagnosed and their intrinsic subtypes were classified using immunohistochemical staining methods by pathologist panel. Among 1615 cases of breast cancer that were histologically confirmed, 81% were classified as invasive ductal carcinoma, 6% as in-situ carcinoma. Among 1377 cases that were available for staining for the subtype, 32% were classified as Luminal A, 40% as Luminal B, 8% as HER2-rich, and 9% as triple-negative. After judgement is confirmed, association of these results and radiation exposure, and also association with year of diagnosis from the viewpoint of increase of breast cancer in Japan will be investigated.

研究分野：放射線疫学

キーワード：放射線 疫学 原子爆弾 乳がん 内因的サブタイプ 病理学 追跡調査

1. 研究開始当初の背景

乳がんは被爆者寿命調査 (LSS) コホート研究において最も高い過剰相対リスクを示す固形がんのひとつである。近年、乳がんをいくつかの鍵となる遺伝子の発現状態に基づいた内因性サブタイプに分類することが可能となった。すなわち、エストロゲン受容体 (ER)、プロゲステロン受容体 (PR) およびヒト上皮増殖因子受容体 2 (HER2) の発現によって 4 つのサブタイプに分けられる。そのサブタイプは、Luminal A 型 (ER+ and/or PR+, and HER2-), Luminal B 型 (ER+ and/or PR+, and HER2+), HER2-過剰発現型 (ER- and PR- and HER2+), および三重陰性例 (3 種のマーカーすべてに陰性) である。三重陰性例は、さらにサイトケラチン (CK)5/6 と HER1 のマーカーによって基底類似型 (CK5/6+ and/or HER1+) および分類不能型 (CK5/6- and HER1-) に分類される。

これらのサブタイプは明瞭な臨床的結果および危険因子のプロフィールと関連するとされ、がん発生上の差異があるかもしれないと考えられてきた。なかでも、三重陰性がん、特に基底類似型は、アフリカ系米国人種、若年発症、多産、若年での初回妊娠、短期間授乳、および閉経前における BMI 高値などの特徴的な分子・遺伝学的プロフィールと明瞭な危険因子の組み合わせを示している。

現在のところ、放射線関連乳がんにおけるサブタイプの分布に関する情報は少なく、関連の有無に関する結果が一致していない。したがって、LSS コホート研究において放射線に関連するリスクの評価に対して、この内因性サブタイプ分類を適用することは有益であると思われた。また、日本では戦後、生活習慣の変化等により乳がんの発生頻度が増加してきたが、この増加に関する内因性サブタイプの関連も明確ではない。LSS コホートは戦後のほぼ全期間をカバーしているため、その関連を探索することも期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、内因性サブタイプと放射線被曝との関連を、診断時の年齢や暦年、放射線被曝時年齢、さらに、身体状況や生殖歴、その他の個人的因子などを考慮しながら探究する。また、年齢や閉経の前後などのように、内因性サブタイプに影響を与えることがすでに知られている因子で調整した上で、内因性サブタイプのベースラインの分布に、出生コホートによる違いがあるかどうかを検証することも可能である。さらに、観察期間における日本での乳がんの増加とサブタイプとの関連についても、あわせて検討できる。

本研究では、原爆被爆者に発生した乳がん症例を収集し、その病理組織学的診断および内因性サブタイプを放射線被曝と関連して特徴づけることによって、放射線被曝と病理

学的所見および内因性サブタイプの分布との関連を評価して、放射線誘発乳がんの発生に特異的な仮説に関する基礎的情報を得ることを目的とした。

3. 研究の方法

LSS コホートから 1950 ~ 2005 年に発生した乳がん症例を、地域がん登録等の情報に基づいて収集した。それらの症例について 3 人の病理医が独立して 2003 年および 2012 年 WHO 組織分類に基づいて診断を行い、診断結果が異なった場合には 3 人の協議により最終診断を決定した。

これらの乳がん組織について、HE スライドの鏡検により内部サブタイプに関する染色適性のある症例を選択し、それらのパラフィンブロックを症例の帰属する病院から借用した。

免疫組織化学染色には厚さ 5 ミクロンの組織全体の薄切切片を使用した。まず、試料を ER および PR に対する抗体を用いて染色した。ER および PR は、非腫瘍部の乳管上皮細胞に必ず発現していると考えられるので、それを陽性対照とした。染色性の判定は 2 人の病理医によって独立して行い、結果が異なった場合には 2 人が協議して決定した。陽性対照適格症例は、さらに HER2 および Ki-67 に対する抗体で染色し、三重陰性例については CK5/6 および HER1 に対する抗体で染色した。なお、近年の内因性サブタイプの分類改訂に対応して、HER2 陰性の Luminal B 型を分類するために、Ki-67 による染色を導入した。

ER および PR は Allred score 法により、染色性に関する proportion score と intensity score より total score が 3 以上のものを陽性と判定した。HER2 は ASCO/CAP ガイドラインに基づいて 3+ を陽性と判定した。Ki-67 は染色された細胞数の割合で判定した。CK5/6 は 10% 以上の腫瘍細胞が染色されているものを陽性と判定した。HER1 はいずれかの腫瘍細胞が染色されていれば陽性と判定した。

以上の結果の組み合わせにより、以下のよう

- 1) Luminal A 型 : ER(+) and/or PR(+), and HER2(-), Ki-67 (<14%)
- 2) Luminal B 型 : ER(+) and/or PR(+), and HER2(+)
- 3) Luminal B 型 : ER(+) and/or PR(+), and HER2(-), Ki-67 (≥14%)
- 4) HER2 過剰発現型 : ER(-) and PR(-) and HER2(+)
- 5) 三重陰性型 : ER(-) and PR(-) and HER2(-)
 - 5-1) 基底類似型 : CK5/6(+) and/or HER1(+)
 - 5-2) 分類不能型 : CK5/6(-) and HER1(-)
 - 5-3) 判定不能例
- 6) 除外例 : 陽性対照不染例
- 7) 判定不能例

組織診断および内因性サブタイプの判定が終了したのち、それらの放射線被曝との関連を、過剰相対リスク等の指標により線量反応関係等を評価することとしているが、本報告書作成時点において未完了である。

本研究での倫理的手順は文部科学省・厚生労働省告示「疫学研究に関する倫理指針」に従った。本研究計画は放影研の施設内倫理委員会および所要の委員会で承認されており、さらに必要とされた場合には協力医療機関の施設内倫理委員会で承認を受けた。対象者の資試料は、連結可能匿名化して取り扱われた。

4. 研究成果

1950～2005年までの地域がん登録(死亡診断書情報を含む)、放影研の剖検記録、外科病理記録などから乳腺腫瘍が疑われたLSS対象者2115名のうち、1906名が病理学的検討の候補となった。そのうち1612名が実際に病理医の診断を受け、1540名(うち女性1525名)が悪性乳腺腫瘍と診断された。女性1525名中、1615症例の上皮性および非上皮性腫瘍を認めた。その内訳は以下のとおりである。

表. 病理診断により確定された女性乳腺腫瘍の組織学的分類 (WHO, 2003, 2012)

組織学的分類	%
Invasive ductal carcinoma	81.1
Invasive ductal carcinoma, NOS	81.1
Papillotubular carcinoma*	14.6
Solid-tubular carcinoma*	23.0
Scirrhous carcinoma*	42.5
Pleomorphic carcinoma	0.1
Invasive lobular carcinoma	2.3
Classic lobular carcinoma	1.3
Solid lobular carcinoma	0.1
Mixed lobular carcinoma	0.9
Mucinous carcinoma	3.7
Invasive micropapillary carcinoma	1.6
Paget disease of the nipple	0.7
Other epithelial tumors	3.6
Metaplastic carcinoma	3.7
Apocrine carcinoma	1.2
Medullary carcinoma	0.4
Neuroendocrine carcinoma	0.2
Secretory carcinoma	0.2
Invasive cribriform carcinoma	0.1
Tubular carcinoma	0.1
Adenoid cystic carcinoma	0.1
Glycogen-rich clear cell carcinoma	0.1
In situ carcinoma	6.4

Ductal carcinoma in situ	5.9
Intraductal papillary carcinoma	0.3
Intracyclic papillary carcinoma	0.2
Other non-epithelial tumors	0.6
Phyllodes tumor	0.4
Malignant lymphoma	0.1
合計 (1615 例)	100

*: 乳癌取扱い規約に基づく分類である

上記の乳がん症例のうち、免疫組織化学染色のために組織ブロックを借用できた症例は広島・長崎合計 1377 例であった。これらの免疫組織化学染色の判定結果および内因性サブタイプの判定結果を以下に示す(ただし、本報告書作成時点で最終判定が完了していない)。

ERについては陽性が75.9%、陰性が22.4%、残りが判定不能および未定(以下同様)、PRについては陽性が71.5%、陰性が25.2%、HER2については陽性が15.0%、陰性が83.8%、Ki-67については陽性細胞14%未満が32.3%、14%以上が37.7%であった。

その結果、

- 1) Luminal A 型 : 32.1%
- 2) Luminal B 型 [HER2(+)] : 7.2%
- 3) Luminal B 型 [HER2(-), Ki-67(+)] : 32.6%
- 4) HER2 過剰発現型 : 7.8%
- 5) 三重陰性型 : 8.7%

であり、残りが除外例、判定不能例、または判定未定例であった。

三重陰性例(120例)のうち、CK5/6については陽性が34.2%、陰性が51.7%、HER1については陽性が50.0%、陰性が36.7%であった。その結果、

5-1) 基底類似型 : 67.5% (5.9%)

5-2) 分類不能型 : 25.8% (2.3%)

であり、残りが判定不能例または判定未定例であった。なお、()内は全1377症例に対する割合である。

今後は、内因性サブタイプの判定を確定した後に、

- 1) 内因性サブタイプと、病理組織学分類、診断年、発病時年齢との関連などの基本的な関連性分析
- 2) LSS母集団での個人線量に基づく、各組織型および内因性サブタイプの放射線リスクの推定等の解析を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計1件)

定金敦子、米原修治、西阪隆、中島正洋、Eric J Grant、坂田律、杉山裕美、歌田真依、小笹晃太郎、原爆被爆者に生じた乳がん症例でみ

られた放射線被曝線量群別の組織型の分布。
がん予防学術大会2015。2015年6月5日。ラフ
レさいたま（埼玉県さいたま市）

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

公益財団法人放射線影響研究所 がんの特
別調査

<http://www.rerf.jp/programs/rp/canheads.html>

原爆被爆者における乳がん発生率、1950-2005
年

[http://www.rerf.jp/programs/rparchiv/rp05-08.ht
m](http://www.rerf.jp/programs/rparchiv/rp05-08.htm)

原爆被爆者の乳がんの intrinsic subtypes に関
する研究 (RP 5-08 の補遺)

[http://www.rerf.jp/programs/rparchiv/rp06-10.ht
m](http://www.rerf.jp/programs/rparchiv/rp06-10.htm)

6. 研究組織

(1)研究代表者

小笹 晃太郎 (OZASA, Kotaro)

公益財団法人放射線影響研究所・広島疫学
部・部長

研究者番号：20204191

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

米原 修治 (YONEHARA, Shuji)

厚生連尾道総合病院・病理研究検査科・部
長

西阪 隆 (NISHISAKA, Takashi)

広島県立広島病院・臨床研究検査科・部長

中島 正洋 (NAKASHIMA, Masahiro)

長崎大学原爆後障害医療研究所・腫瘍・診
断病理学分野・教授

定金 敦子 (SADAKANE, Atsuko)

公益財団法人放射線影響研究所・広島疫学
部病理学研究室・室長代理

早田 みどり (SODA, Midori)

公益財団法人放射線影響研究所・長崎疫学
部・囑託研究員

古川 恭治 (FURUKAWA, Kyoji)

公益財団法人放射線影響研究所・統計部・
副主任研究員

馬淵 清彦 (MABUCHI, Kiyohiko)

米国国立がん研究所・がん疫学・遺伝学部・
放射線疫学部門・チェルノブイリ研究班長
兼主任研究員