

当院における浸潤性乳癌の内因子亜分類と組織学的特徴について

長 沼 廣, 渋谷 里 絵

はじめに

日本では各臓器の癌取扱規約があり、各種の癌は現在でも癌取扱規約で組織分類が行われている。昨年乳癌の WHO 分類が多少変わり、浸潤性乳管癌は非特異的な浸潤性乳癌と名称が変更されたが、依然として数多くの組織型分類がある。組織分類が行われる反面、近年は分子標的薬の登場により癌の生物学的本体に基づいた内因子亜分類が行われるようになった。癌の個別化の始まりである。内因子亜分類の重要性が増したため、ホルモンレセプターや HER2 の免疫染色の精度管理も重要となってきた。2012 年に日本病理学会精度管理委員会が行った乳癌免疫染色の精度管理に参加した結果に基づき、当院における浸潤癌の内因子亜分類を再検討し、頻度および従来の組織型分類を比較検討したので報告する。

対象と方法

1) 精度管理システム；2012 年に日本病理学会精度管理委員会が行った乳癌免疫染色に関する精度管理システムに参加し、当院における ER, PR, HER2 染色の精度管理の評価を受けた。精度管理委員会から送られた乳癌切片 6 症例の免疫染色を当院で実施している方法で行い、染色結果を当院の病理医 2 名で判定した。染色した標本と判定結果を精度管理委員会に郵送し、委員会の評価を受けた。

2) 乳癌のホルモンレセプターおよび HER2 の免疫染色の評価；当院において 2001 年～2012 年の 12 年間にホルモンレセプター、HER2 検査が行われた 322 例の浸潤性乳癌を対象とした。各

症例は 10% ホルマリン或いは緩衝ホルマリンで固定された乳癌組織の主病巣のパラフィン切片を用いて、エストロゲンレセプター (ER)、プロゲステロンレセプター (PR)、HER2 の免疫染色が行われていた。ER, PR の抗体はノボキャストラ、HER2 の抗体はニチレイのものをを用いた。ER, PR は all red score 3 点以上を陽性とし、HER2 は 3+ を陽性、2+ 弱陽性とした。1+, 0 は陰性とした。これらの症例の組織型との関連について検討した。

3) 内因子亜分類について；ホルモンレセプターおよび HER2 の免疫染色結果に基づき、以下の 4 型に分類した。1) 乳管上皮型 A (Luminal A；LA)；ホルモンレセプター陽性、HER2 陰性、2) 乳管上皮型 B (Luminal B；LB)；ホルモンレセプター陽性、HER2 陽性、3) HER2 陽性型；ホルモンレセプター陰性、HER2 陽性、4) Triple negative 型 (TN)；ホルモンレセプター陰性、HER2 陰性の 4 グループである。

4) 内因性因子の頻度；乳癌の内因性因子の発現頻度を調べ、これまでに行われた全国調査結果による頻度を比較し、当院の判定状態を検討した。

結 果

1) 精度管理の結果；ER の染色および判定については良好の評価を得た。HER2 の免疫染色では推奨される抗体を使用していないが、診断上問題はないと評価された。しかし、PR の染色に関しては偽陽性例が見られ、検討の余地があると評価された。PR の染色状態に問題があることが分かったため、当院の症例の再検討を行った。問題になる例は PR のみが陽性になる症例で、2001 年～2003 年の 6 例が対象となった。PR 抗体のチェッ

ク、標本の保存状態の再検討を行い、問題の6例について再検討した結果、6例中3例が陽性から陰性に判定された。

2) 組織分類(表1); 322例の内訳は浸潤性乳管癌260例、微小乳頭状腺癌(IMPC)を伴った浸潤性乳管癌3例、浸潤性乳管癌と浸潤性小葉癌を伴った例7例、粘液癌を伴った浸潤性乳管癌4例、浸潤性小葉癌23例、粘液癌を伴った浸潤性小葉癌1例、粘液癌9例、IMPC5例、髄様癌5例、グリコーゲン豊富癌(GRCC)2例、アポクリン癌1例、基質産生癌1例、管状癌1例であった。年齢は28歳~85歳で、平均56歳であった。

3) 内因性亜分類と組織型について(表2); LA

は69.6%で、浸潤性乳管癌190例、浸潤性小葉癌19例、粘液癌8例、IMPC5例であった。LBは6.6%で、浸潤性乳管癌19例、粘液癌2例であった。HER2陽性型は7.8%で、浸潤性乳管癌23例、浸潤性小葉癌1例、アポクリン癌1例であった。TN型は16.1%で、浸潤性乳管癌42例、浸潤性小葉癌4例、髄様癌3例、GRCC2例、基質産生癌1例であった。

4) 内因性因子の頻度(表3); 組織型に関わらず、ホルモンレセプター、HER2の染色状態を分類してみるとERおよびPR陽性で、HER2陰性群(E+/P+/H-)157例(48.8%)、ERのみ陽性群(E+/P-/H-)49例(15.2%)、PRのみ陽性群(E-/P+/H-)18例(5.6%)、ER、PRとHER2がすべて陽性群(E+/P+/H+)11例(3.4%)、ERとHER2陽性群(E+/P-/H+)5例(1.6%)、PRとHER2陽性群(E-/P+/H+)5例(1.6%)、HER2のみ陽性群(E-/P-/H+)25例(7.8%)、TN群(E-/P-/H-)52例(16.1%)であった。日本乳癌学会が行った全国調査の結果によればE+/P+/H-群53.8%、E+/P-/H-群13.1%、E-/P+/H-群2.1%、E+/P+/H+群4.4%、E+/P-/H+群2.5%、E-/P+/H+群0.4%、E-/P-/H+群8.2%、E-/P-/H-群15.5%で、当院ではPRのみ陽性群(E-/P+/H-) (5.6% vs 2.1%)とPRとHER2陽性群(E-/P+/H+) (1.6% vs 0.4%)の頻度に大きな差を認めた。

表1. 浸潤癌の組織分類

浸潤性乳管癌	260例
浸潤性乳管癌+浸潤性微小乳頭癌	3例
浸潤性乳管癌+浸潤性小葉癌	7例
浸潤性乳管癌+粘液癌	4例
浸潤性小葉癌	23例
浸潤性小葉癌+粘液癌	1例
粘液癌	9例
浸潤性微小乳頭癌	5例
髄様癌	5例
グリコーゲン豊富癌	2例
アポクリン癌	1例
基質産生癌	1例
管状癌	1例
	322例

表2. 免疫染色分類と組織型

免疫染色結果	浸潤性乳管癌	浸潤性小葉癌	粘液癌	髄様癌	IMPC	GRCC	アポクリン癌	管状癌	基質産生癌	合計	%
ER+/PR+/HER2-	130	14	7	0	5	0	0	1	0	157	48.8
ER+/PR-/HER2-	44	4	1	0	0	0	0	0	0	49	15.2
ER-/PR+/HER2-	16	1	0	1	0	0	0	0	0	18	5.6
ER+/PR-/HER2+	4	0	1	0	0	0	0	0	0	5	1.6
ER-/PR+/HER2+	4	0	0	1	0	0	0	0	0	5	1.6
ER+/PR+/HER2+	11	0	0	0	0	0	0	0	0	11	3.4
ER-/PR-/HER2+	23	1	0	0	0	0	1	0	0	25	7.8
ER-/PR-/HER2-(TN)	42	4	0	3	0	2	0	0	1	52	16.1
	274	24	9	5	5	2	1	1	1	322	100.0

IMPC; 浸潤性微小乳頭癌

GRCC; グリコーゲン豊富癌

表 3. 内因性亜分類

	例数	合計	頻度	
Luminal A	① ER+/PR+/HER2-	157	224	69.6
	② ER+/PR-/HER2-	49		
	③ ER-/PR+/HER2-	18		
Luminal B	④ ER+/PR+/HER2+	11	21	6.5
	⑤ ER+/PR-/HER2+	5		
	⑥ ER-/PR+/HER2+	5		
HER2	⑦ ER-/PR-/HER2+	25	25	7.8
Triple negative	⑧ ER-/PR-/HER2-	52	52	16.1
		322		100.0

考 察

乳癌は様々な組織型を示し、癌取扱規約¹⁾やWHO分類²⁾でも組織分類が行われている。組織型により予後の違いが報告されていた(表4)が、組織型の違いによる治療法の選択はほとんど行われていなかった。近年はホルモンレセプターの有無、増殖因子であるHER2の発現の有無により治療法の選択が積極的に行われている。2007年St. Gallenコンセンサス³⁾(表5)では腫瘍径、核異型、転移の有無、ホルモンレセプターの有無、HER2の発現、2009年からはER陽性、HER2陰性の患者では増殖の程度による分類で治療法の選択を行った⁴⁾(表6)。増殖力の程度は核分裂の頻度、Ki-67標識率やSTK15⁵⁾などで表現されるが、当院ではKi-67標識率を用いている。最近、乳癌で高発現あるいは低発現している遺伝子をクラスターリング解析することで、新しい乳癌の分類がな

表 4. 組織型と予後の関係

比較的予後良好	中間	予後不良
管状癌	通常型乳癌	炎症性乳癌
篩状癌	小葉癌	浸潤性微小乳頭癌
粘液癌	アポクリン癌	脂肪分泌癌
髄様癌	分泌癌(成人)	グリコーゲン豊富癌
分泌癌(小児)		癌肉腫・肉腫

表 5. St. Gallen リスク分類

低リスク群	中間リスク群	高リスク群
リンパ節転移はなく、以下の条件をすべて満たすもの ・腫瘍径 2 cm 以下 ・核グレード分類 1 ・広い範囲の脈管侵襲がない ・HER2 陰性 ・ホルモンレセプター発現がある ・35 歳以上	1) リンパ節転移がなく、以下の条件の少なくとも 1 つを満たすもの ・腫瘍径 2 cm 以上 ・核グレード分類 2~3 ・広い範囲の脈管侵襲がある ・HER2 陽性 ・ホルモンレセプター発現がない ・35 歳以下 2) リンパ節転移が 1~3 個ある ・ホルモンレセプター発現があり、かつ HER2 陰性	1) リンパ節転移が 1~3 個ある ・ホルモンレセプター発現がなし、または HER2 陽性 2) リンパ節転移が 4 個以上ある

された。Sorlieら^{6,7)}は多数の乳癌組織のマイクロアレイ解析の遺伝子プロファイリングを用いて、乳癌を 4 つの個別的なタイプ (intrinsic sub-

表 6. ER 陽性、HER2 陰性患者での化学・内分泌療法選択

	化学・内分泌療法の相対的適応	決定には役立たない因子	内分泌療法単独の相対的適応
ER と PR	より低い ER, PR レベル		より高い ER, PR レベル
組織学的グレード	グレード 3	グレード 2	グレード 1
増殖 (Ki-67 等)	高い	中間	低い
リンパ節転移	4 個以上	1-3 個	陰性
脈管侵襲	広汎にあり		広汎ではない
腫瘍径	5 cm 以上	2.1-5 cm	2 cm 以下
患者の選択	使用可能なすべての治療を希望		副作用は避けたい
遺伝子シグニチャ	高得点		低得点

type) に分類した。1つ目のグループは正常上皮の性格をもつ腫瘍 (Normal-like 型) で、腫瘍としての特徴は一定の見解がない。2つ目は乳管内上皮 (luminal) 型と呼ばれる群であるが、ER の発現量はさまざまである。さらなる亜分類が必要であるとされ、luminal A/B/C と亜分類されている。3つ目は HER2 (ERBB2+) 型で、HER2 遺伝子および関連遺伝子の過剰発現があり、エストロゲンレセプター (ER) 遺伝子群の発現は低いタイプで、比較的増殖能が高く、トラスツズマブの効果が期待できる。4つ目は、Basal-like 型と称され、基底膜細胞としての特徴を有し、高い増殖能を示すものである。このなかで Basal-like 型は全乳癌の 10~15% であるとされ、ER 遺伝子自体や ER に関連した遺伝子の発現は低く、HER2 遺伝子や関連した遺伝子の発現も低い。TN 癌がこのグループに入る。これらの内因性亜分類を行うことで治療の選択肢を増やしており、これが乳癌の個別化で治療成績の向上に寄与していると考えられる。免疫染色による組織学的分類では遺伝子プロファイリングに対応して LuminalA 型、LuminalB 型、HER2 型、Basal-like 型 (TN 型) の 4 つに分類しているが、近年は LuminalA 型で高 Ki-67 標識率の症例を LB1、従来の LB を LB2 として LB を 2 つに分けている⁸⁾。今回の検討では全例に Ki-67 の検査を行っていなかったため、前述の 4 型とした。現在は LB を 2 型に分けた分類に伴って治療法の選択がなされている⁸⁾。

当院の症例の組織型を見てみると圧倒的に浸潤性乳管癌が多く、かつホルモン依存例が多い。多くの LA はホルモン療法単独で治療されるが、リスク分類に挙げられた発症年齢、腫瘍径、核異型度、Ki-67 標識率、転移の有無を加えることで更に個別化される。すなわち、ホルモンレセプター陽性で、HER2 陰性、Ki-67 標識率低値の症例でも腫瘍径が 5 cm 以上やリンパ節転移が陽性である症例は内分泌療法単独とはならない。LB、HER2 型に組織型の特徴は見られないが、TN 癌の中には特殊型が多く含まれた。TN は治療法が確立していないため、ホルモンレセプターや HER2 の発現の有無の確かさが必須となる。

従って、ホルモンレセプターの免疫染色、HER2 染色、Ki-67 標識率の判定は大切な因子であるので、免疫染色の精度管理は非常に重要になる。今回、その精度管理に参加した結果、染色状態や判定に関しては大きな問題はなかったが、PR 染色に関して若干の問題があった。この結果を踏まえて、当院における症例の内因性頻度を全国レベルと比較することでより精度管理を確かなものにするを試みた。

日本乳癌学会登録委員会からの資料⁹⁾によると、2004 年度登録症例の 14,749 例のうち、ER、PgR、HER2 が測定してある症例は 11,705 例 (全体の 79.4%) であった。その内訳を見ると表 8 になり、当院の症例と比較するとほぼ同じような比率であった。しかし、PgR 単独陽性症例 (5.6%) に関しては、全国的頻度 (2.1%) に比べても高く、精度管理判定でも、指摘を受けたように問題があった。PR に関しては ER 陰性、PR 陽性例はアーティファクトとも言われ、実際は陽性判断に問題がある。再検討の結果、当院では 2001 年~2003 年の間に PR 単独陽性例が多いことが分かった。この頃はホルモンレセプターの免疫染色が始まったばかりで、どの抗体を使用すれば良いかも問題であった。PR 単独陽性例を現在使用している抗体で染色し直した所、3 例が陰性であった。すなわち、PR 単独陽性例の半分は TN 癌と判明した。治療の選択に問題があると思われるが、この時期にはまだ個別の治療法の選択が確立していなかったため、治療法に大きな違いはないと考えられた。現在では PR 陽性例はほぼ ER 陽性であると言われ、ER-/PR+ の症例は再検討する必要がある。

全国的に登録されたトリプルネガティブ乳癌症例は 1,819 例 (15.5%) であり、この数値が最も信頼できるわが国での TN 乳癌の比率である。最も頻度の高いものは LA サブタイプ (53.8%) であり、TN 癌はそれに次ぐ高い頻度であった。当院でも LA が 48.8% で、TN 癌は 16.1% と二番目に多い結果であった。HER2 が陽性、すなわち免疫組織化学 (IHC) 法により 3+ のもの、あるいは 2+ のもので FISH 法陽性のものは HER2 陽性とされ、トラスツズマブなどの HER2 を標的と

した治療薬が適応される。当院で使用している抗体はHER2 2+が少ないが、その頻度(7.8%)は全国的頻度(8.2%)と大きく変わらない。

乳癌個別化治療を行うに当たっては乳癌の組織診断を正確に行うことが求められる。まずは乳癌組織を速やかに固定し、病理診断に際しては腫瘍径、組織型、転移の有無、ホルモンレセプター、HER2、Ki-67の染色をきちんと行う必要がある。特に固定条件に関しては固定後48時間以内に標本作製を行うことが理想とされている。当院では可能な限り、この条件を満たすように努力しているが、症例によってはやや時間がかかるものもある。各臓器においても同様に病理学的検索結果が治療と大きく関わる症例が増えてきているので、病理組織検体の扱い、組織分類、免疫染色の精度管理等の振り返りが必要である。

文 献

- 1) 日本乳癌学会(編): 臨床・病理. 乳癌取扱い規約 第17版, 金原出版, 2012
- 2) Lakhani SR et al (eds): WHO Classification of Tumours of the Breast, IARC Press, Lyon, 2012
- 3) Goldhirsch A et al: Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. *Ann Oncol* **18**: 1133-1144, 2007
- 4) Goldhirsch A et al: Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2009. *Ann Oncol* **20**: 1319-1329, 2009
- 5) Steams J et al: Biomarker modulation following short-term vorinostat in women with newly diagnosed primary breast cancer. *Clin Cancer Res* **19**: 1-9, 2013
- 6) Sorlie T et al: Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**: 10869-10874, 2001
- 7) Sorlie T et al: Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**: 8418-8423, 2003
- 8) Goldhirsch A et al: Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol* **22**: 1736-1747, 2011
- 9) 岩瀬弘敬 他: トリプルネガティブ乳癌の生物的特徴. *乳癌の臨床* **23**: 75-80, 2008