

浸潤性乳癌における Ki-67 標識率の検討 — Ki-67 は予後因子となりうるのか? —

渋谷 里 絵, 長 沼 廣, 原 田 雄 功*
大江 大*, 赤 石 洋*, 高 屋 潔*

はじめに

近年, 乳房全摘術あるいは乳房部分切除術後, 病理組織診断の際に組織型をはじめとして様々な因子の検索がなされ, 詳細に報告されている. 2005年 St. Gallen コンセンサス会議にて提唱されたリスク分類が治療方法の決定上重要になり¹⁾, 更に乳癌患者に対して個別的な治療が求められる時代となった. リスク分類では年齢, 腫瘍径, 核グレード, 脈管侵襲, リンパ節転移, HER2, ER, PgR の発現が大きな因子となっている²⁾. 最近では細胞増殖の指標として Ki-67 標識率の検索⁵⁾ が注目されるようになった. すなわち, 乳癌の治療選択に病理組織像から得られた情報が大きなウェイトを占めるようになってきたことになる.

当院では 2008 年から浸潤性乳癌および非浸潤性乳管癌の全例に対し, Ki-67 の免疫染色学的検査を行っている. 今回 Ki-67 の標識率が他の生物学的特性とどのような関連があるのかについて検討したので, 若干の考察を加えて報告する.

対象および方法

2006 年 1 月~2010 年 5 月の間に当院で施行された乳癌手術症例の中で, リンパ節郭清も施行された浸潤性乳癌の中で, 組織型, 腫瘍径, 脈管侵襲, 核グレード分類, 組織異型度分類, リンパ節転移の有無, 転移個数が正確に診断され, エストロゲン・レセプター, プロゲステロン・レセプ

ター, HER2 の他に Ki-67 の免疫染色が施行された 91 例を対象とした. エストロゲン・レセプター抗体およびプロゲステロン・レセプター抗体は Novocastra, HER2 抗体はニチレイ, Ki-67 抗体は DAKO を用いた. ホルモン・レセプターは All red スコアを用いて評価し, HER2 は 3+ を陽性とした. Ki-67 は免疫染色を行い, 300~500 個前後の細胞数を計測して, 陽性比率を算出した.

対象症例を St. Gallen コンセンサス会議で提唱された各因子で分類した. 腫瘍径は T1 群と T2 以上群の 2 群, 核グレード分類は NG1 群, NG2 群, NG3 群の 3 群, 組織異型度分類は HGI 群, HGII 群, HGIII 群の 3 群, リンパ節転移はあり群となし群の 2 群, 脈管侵襲は 1y1 以上, v1 以上の侵襲あり群と 1y0, v0 の侵襲なし群の 2 群, ホルモン・レセプターは依存群 (ER 陽性かつ/または PR 陽性) と非依存群 (ER 陰性かつ PgR 陰性) の 2 群, HER2 発現は陰性群 (スコア 0 または 1), 偽陽性 (スコア 2) と陽性 (スコア 3) の 3 群, また 2007 年 St. Gallen で提唱されたリスク分類の低リスク群, 中間リスク群, 高リスク群の 3 群である. 各因子群間で Ki-67 標識率を比較検討した. 独立した 2 群間はウィルコクソン順位和検定による有意差検定を行い, 正規分布を確認後にウェルチの *t* 検定による平均値の有意差検定を行った.

結 果

症例は 30 歳~96 歳で, 平均は 59 歳であった. 組織型は表 1 に示すごとくであった.

1) 腫瘍径における比較 (表 2); T1 群 65 例, T2 群 22 例, T3 群 1 例, T4 群 3 例であった. T1

仙台市立病院病理診断科
*同 外科

表 1. 組織型

乳頭腺管癌	17
充実腺管癌	18
硬癌	46
硬癌+乳頭腺管癌	2
硬癌+小葉癌	3
充実腺管癌+小葉癌	1
充実腺管癌+IMPC	1
充実腺管癌+粘液癌	1
アポクリン癌	1
髓様癌	1
	91

表 2.

T分類(腫瘍径)		Ki-67 標識率
T1	65	18.5 ± 20.4%
T2以上	26	21.9 ± 16.6%
	91	

群 65 例では標識率が 1%~80% で、平均 ± 標準偏差は 18.5 ± 20.4%、T2 以上群 26 例では 1%~60% で、平均 ± 標準偏差は 21.9 ± 16.6% であった。2 群間に有意差は認めなかった。

2) 核異型度における比較 (表 3); NG1 群 49 例では標識率が 1%~50% で平均 ± 標準偏差は 9.7 ± 9.1%、NG2 群 19 例では 5%~35% で、平均 ± 標準偏差は 19.4 ± 10.2%、NG3 群 23 例では 4%~80% で平均 ± 標準偏差は 40.2 ± 24.5% であった。NG1 群と NG2 群、NG2 群と NG3 群では異型度の高い群の標識率が高値で、 P 値 < 0.05 で有意差が見られ、NG1 群と NG3 群では P 値 < 0.005 で有意差を認めた。

3) 組織異型度における比較 (表 4); HGI 群 40 例では標識率 1%~25% で平均 ± 標準偏差は 8.8 ± 6.8%、HGII 群 30 例では 1%~80% で平均 ± 標準偏差は 19.4 ± 16.6%、HGIII 群 21 例では 5%~80% で平均 ± 標準偏差は 39.6 ± 23.2% であった。HGI 群と HGII 群、HGII 群と HGIII 群の間では組織異型度の高い群の標識率が高値で、 P 値 < 0.05 で有意差があり、HGI 群と HGIII 群の間には P 値 < 0.005 で有意差を認めた。

4) リンパ節転移の有無における比較 (表

表 3.

核異型度		Ki-67 標識率
NG1	49	9.7 ± 9.1%
NG2	19	19.4 ± 10.2%
NG3	23	40.2 ± 24.5%
	91	

* P 値 < 0.05
** P 値 < 0.005

表 4.

組織学的異型度		Ki-67 標識率
HG1	40	8.8 ± 6.8%
HG2	30	19.4 ± 16.6%
HG3	21	39.6 ± 23.2%
	91	

* P 値 < 0.05
** P 値 < 0.005

表 5.

リンパ節転移		Ki-67 標識率
N-	59	20.4 ± 20.2%
N+	32	17.6 ± 17.7%
	91	

5); リンパ節転移なし群 59 例では標識率 1%~80% で、平均 ± 標準偏差は 20.4 ± 20.2%、リンパ節転移あり群 32 例では 1%~80% で平均 ± 標準偏差は 17.6 ± 17.7% であった。2 群間では有意差は認めなかった。

5) 脈管侵襲の有無における比較 (表 6); 脈管侵襲なし群 45 例では標識率 1%~80% で平均 ± 標準偏差は 18.3 ± 20.1%、脈管侵襲あり群 46 例では 1%~80% で平均 ± 標準偏差は 20.5 ± 18.7% であった。2 群間では有意差は認めなかった。

6) ホルモン依存における比較 (表 7); ホルモン依存群 (D) 68 例では標識率 1%~30% で平均 ± 標準偏差は 12.6 ± 10.2% で、ホルモン非依存群 (ND) 23 例では 5%~80% で平均 ± 標準偏差は 39.6 ± 25.3% であった。2 群間ではホルモン非依存群の標識率が高値で、 P 値 < 0.005 で有意差

表 6.

脈管侵襲		Ki-67 標識率
ly, v-	45	18.3 ± 20.1%
ly, v+	46	20.5 ± 18.7%
	91	

表 7.

ホルモン依存性		Ki-67 標識率
Hormone ND (ER- and PR-)	23	39.6 ± 25.3%
Hormone D (ER+ and/or PR+)	68	12.6 ± 10.2%
	91	

****P* 値 < 0.005 D: dependent, ND: non-dependent

を認めた。

7) HER2 発現における比較 (表 8); HER2 陰性群 (スコア 0 およびスコア 1) 78 例では標識率 1~80% で平均 ± 標準偏差は 19.1 ± 20.3%, HER2 偽陽性群 (スコア 2) 6 例では 1~60% で平均 ± 標準偏差は 20.8 ± 12.8%, HER2 陽性群 (スコア 3) 7 例では 1~70% で平均 ± 標準偏差は 21.2 ± 12.8% であった。3 群間において有意差は認めず, HER2 陰性群 (スコア 0 およびスコア 1) と HER2 陽性群 (スコア 2 およびスコア 3) の 2 群間でも有意差は認めなかった。

8) ホルモン非依存で HER2 陰性 (Triple negative; TN) と非 TN の比較 (表 9); 非 TN 群 76 例は標識率 1%~65% で平均 ± 標準偏差は 13.6 ± 11.0%, TN 群 15 例は 15%~80% で平均 ± 標準偏差は 49.0 ± 25.1% であった。2 群間では TN 群の標識率が高値で, *P* 値 < 0.005 で有意差を認めた。

9) St. Gallen リスク分類における比較 (表 10); 低リスク群 29 例は標識率 1%~15% で平均 ± 標準偏差は 9.9 ± 7.6%, 中間リスク群 50 例では 1%~80% で平均 ± 標準偏差は 23.8 ± 21.0%, 高リスク群 12 例では 1%~80% で平均 ± 標準偏差は 24.1 ± 24.5% であった。低リスク群と中間リスク群の間では中間リスク群の標識率が高値で,

表 8.

HER2		Ki-67 標識率
HER2 陰性	78	19.1 ± 20.3%
HER2 偽陽性	6	20.8 ± 12.8%
HER2 陽性	7	21.2 ± 12.8%
	91	

表 9.

Triple negative		Ki-67 標識率
nonTN	76	13.6 ± 11.0%
TN(ER-, PR-, HER2-)	15	49.0 ± 25.1%
	91	

****P* 値 < 0.005

表 10.

St. Gallen リスク分類		Ki-67 標識率
低リスク群	29	9.9 ± 7.6%
中間リスク群	50	23.8 ± 21.0%
高リスク群	12	24.1 ± 24.5%
	91	

****P* 値 < 0.005

P 値 < 0.005 で有意差を認めたが, 低リスク群と高リスク群, 中間リスク群と高リスク群の間には有意差は認めなかった。

考 察

最近, 乳癌の個別化治療が進んでいる。以前は乳癌の組織型, 脈管侵襲, リンパ節転移の有無が予後を知る上での大きな因子であったが³, 年齢, 癌細胞の核異型度分類, ホルモン・レセプターの発現, HER2 の発現など様々な因子で予後を推測する方向になってきた。米国・欧州ではガイドラインによる薬物療法の徹底が死亡率低下に繋がっているとされる⁴⁾ が, スイス St. Gallen で隔年に行われるコンセンサス会議の治療方針の中ではより一層個別化的な治療を推奨している^{2,3)}。

近年, 増殖因子 Ki-67 は検査方法が簡易であることから, 乳癌の予後との関連について注目されており⁵⁾, 2009 年に行われた St. Gallen コンセンサス会議では増殖能の評価として Ki-67 標識率も

表 11. 浸潤性乳癌の組織型と予後

比較的良好	中間	不良
管状癌	通常型乳管癌	炎症性乳癌
篩状癌	小葉癌	癌肉腫
粘液癌	アポクリン癌	浸潤性微小乳頭癌
髓様癌	分泌癌 (成人)	多形型小葉癌
腺様嚢胞癌	化生性癌	脂質分泌癌
分泌癌 (小児)		Glycogen-rich 癌

(Silverberg SG: Atlas of Breast Pathology, Saunders, 2002 より引用)

表 12. 乳癌の亜型分類

① 乳管上皮型 A (ER and/or PgR+, HER2-)
② 乳管上皮型 B (ER and/or PgR+, HER2+)
③ HER2 陽性, ホルモン非依存型 (ER-PgR-HER2+)
④ 基底細胞型 (ER-PgR-HER2-, cytokeratin 5/6 and/or HER1+)
⑤ 分類不能

予後因子の一つに加える方向を示した³⁾。しかし、Ki-67 の染色方法や標識率 (低: 1-15%, 中間 16-30%, 高: 30% 以上) の評価方法については、未だ一定の見解が得られず、施設毎の結果が一定していないのが実情である。今回我々は浸潤性乳癌の Ki-67 標識率を調べ、乳癌の予後因子となるかを検討した。

病理学的な組織型判定により表 11 のごとく、予後が良好なもの、不良なものに分けられるが、現時点では St. Gallen リスク分類の中には組織型は含まれていない。リンパ節転移状況は重要な予後因子として知られており、予後不良な組織型ではリンパ節転移が多いことも証明されているため、病理組織診断は重要である⁶⁻⁸⁾。更にホルモン・レセプターの有無、HER2 の発現、癌細胞の性質から亜型分類も行われている⁹⁻¹¹⁾。表 12 の様に乳管上皮型、HER2 陽性型、基底細胞型乳癌など亜型に分類され、今後は組織型と亜型分類が重視される可能性がある。

今回の検討では Ki-67 標識率は核異型度が高い群、組織異型度が高い群、ホルモン非依存群、トリプル陰性群において高い傾向にあり、その平均値に有意差を認めた。しかし、それぞれの群において標識率に大きなばらつきもあり、かならずし

も異型度と標識率がよく相関するとは言えなかった。逆に見れば、それぞれの因子群内での予後の違いを反映している可能性があると考えられた。

St. Gallen リスク分類^{2,3)} は核異型度、ホルモン依存が強く関与する分類であるため、低リスク群と中間リスク群の間に Ki-67 標識率の差があるのは当然である。乳癌以外の腫瘍一般においても核・細胞異型が強い腫瘍の Ki-67 標識率は高い傾向にある。乳癌も同様と考えられるが、その中で、増殖因子としてのホルモン・レセプター発現の有無が Ki-67 標識率に関与し、HER2 は発現の有無に関与しないのは興味深い。HER2 発現の有無に関わらず、ホルモン非依存群は標識率が高い傾向にあるが、HER2 以外の増殖因子に関しては今後の研究成果を期待したい。

腫瘍径は St. Gallen リスク分類では予後規定因子であるが¹²⁾、Ki-67 標識率と腫瘍径に相関は認めなかった。小さな腫瘍を早期発見することがリスクを低下させる事は明白であるが、小さい腫瘍でも予後の悪い症例はある。今回の検討の中で、St. Gallen 高リスク群の中に標識率が低い症例が 3 例含まれていた。その中の 1 症例は腋窩の多発リンパ節転移で発見された $\phi 5$ mm 程度 of 原発性乳癌であったが、標識率は 1% 程度であった。多発リンパ節転移があり、高リスク群に分類されたが、脈管侵襲やリンパ節転移と Ki-67 標識率は相関しないので、値が低くとも理解出来る事例である。但し、転移を示していない微小な乳癌でも高リスク群に入る可能性もあるので、現在使われている予後因子以外の危険因子を検索できることが望まれる。Ki-67 に関しては各群において平均値より大きく外れる症例に対する評価が今後問題になると思われる。

前述の様にリンパ節転移・脈管侵襲の有無においても Ki-67 標識率に差は認めなかったが、増殖因子と転移能が異なることを示している可能性がある。リンパ節転移の有無は乳癌の予後に直結する重要な因子で^{1,2,13)}、転移の個数も問題になり、リスク分類では 4 個以上は高リスク群に分類される。郭清されたリンパ節を正確に検査することの重要性を示している。最近ではセンチネルリンパ

節生検の普及に伴い、2 mm 以下の微小転移や孤立細胞性転移が注目されているが、まだ、予後との関連については十分に分かっていない¹⁴⁾。しかし、現実にはセンチネルリンパ節における微小転移の有無はリンパ節廓清の程度と関係してくるため、今後は郭清後のリンパ浮腫など QOL との関連から重要となると思われる¹⁵⁾。

増殖因子の研究では Oncotype DX や Mamma Print が注目を浴びており^{16,17)}、多数の遺伝子検索にて予後を判断できるようになった。Oncotype DX の検査項目の中に Ki-67 遺伝子も含まれているが、これらの増殖遺伝子解析と免疫染色による Ki-67 標識率との間に相関はないと言われているので、免疫染色による Ki-67 の検査が意味を持つかどうかは未だ不明である。しかし、現在の所、遺伝子検索は高額な上に、どこでも出来る検査ではないため、当院では安価で、検査がやりやすい Ki-67 の免疫染色検査は続行する予定である。今後、更なる研究が進むことを期待する。

文 献

- 1) Goldhirsch A et al : Meeting highlights : international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann Oncol* **16** : 1569-1583, 2005
- 2) 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
- 3) 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
- 4) Breast Cancer Treatment Guideline for Patients Version IV. American Cancer Society/National Comprehensive Care Network, 2007, 10
- 5) E de Azambuja E et al : Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer : a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer* **96** : 1504-1513, 2007
- 6) 坂本吾偉 : 乳腺の病理 : 悪性腫瘍. 病理と臨床 **7** : 435-448, 1989
- 7) 槇 慶子 他 : 浸潤性乳管癌 (乳頭腺管癌, 充実腺管癌, 硬癌) の組織型別生物学的性状. 乳癌の臨床 **21** : 165-169, 2006
- 8) Elston CW et al : Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer : Experience from a larger study with long-term follow-up. *Histopathol* **19** : 403-410, 1991
- 9) Kurebayashi J et al : The prevalence of intrinsic subtypes and prognosis in breast cancer patients of different races. *Breast* **16** Suppl 2 : S72-77, 2007
- 10) Millikan RC et al : Epidemiology of basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **109** : 123-139, 2008
- 11) Kim MJ et al : Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer : a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. *Hum Pathol* **37** : 1217-1226, 2006
- 12) Neville AM et al : Predicting treatment responsiveness and prognosis in node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* **10** : 696-705, 1992
- 13) Galea MH et al : The Nottingham Prognostic Index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **22** : 207-219, 1992
- 14) Moriya T et al : Pathological evaluation of sentinel lymph node for breast cancer. *Asian J Surg* **27** : 256-261, 2004
- 15) Sabel MS et al : Accuracy of sentinel node biopsy in predicting nodal status in patients with breast carcinoma. *J Surg Oncol* **77** : 243-246, 2001
- 16) Kaklamani VG et al : Gene expression in breast cancer. *Curr Treat Options Oncol* **7** : 123-128, 2006
- 17) Knauer M et al : The predictive value of the 70-gene signature for adjuvant chemotherapy in early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **120** : 655-661, 2010