

## 免疫染色を用いた乳癌術前化学療法薬剤の選択

公立大学法人横浜市立大学附属市民総合医療センター  
武田奈津子、佐々木毅

### 【はじめに】

乳癌における術前化学療法は、近年、増加傾向にあり、それは、大規模臨床試験の結果、術後補助化学療法と比較して、全生存率、無病生存率に差がないことが確認され、腫瘍の down sizing あるいは down stage が得られ、手術での乳房温存率の向上が期待できる、微小転移巣に対して、早期に全身的な治療を行うことができる、薬剤に対する感受性を早く知ることができる、といった利点のためである。

現在、日本では anthracycline 系薬剤と taxane 系薬剤の逐次投与が高い治療効果が得られるとして汎用されている。しかし、中には治療効果が得られない症例も少なからず認められ、化学療法プロトコルの再検討が課題であると考えられる。

術前針生検検体に対する HER2 タンパクの免疫染色によって、anthracycline 系薬剤あるいは taxane 系薬剤のどちらか一方のみの薬剤を選択し、プロトコルに準じて投薬、その後の手術検体で術前化学療法の病理学的治療効果を判定した。また、estrogen receptor (ER)・progesterone receptor (PgR)・Topoisomerase (topo)・Ki-67・p53・class -tubulin といった免疫染色による病理学的効果予測因子と病理学的完全奏功 (pathological complete response : pCR) との関連について解説する。

### 【乳癌術前化学療法に用いられる薬剤】

#### 1. anthracycline

doxorubicin や epirubicin が anthracycline 系抗癌剤に分類され、腫瘍細胞の DNA と complex を形成することによって DNA polymerase 反応、RNA polymerase 反応を阻害し、DNA・RNA の双方の生合成を抑制することにより、抗腫瘍効果を示す。

anthracycline の標的分子は topo である。topo 遺伝子の下流には HER2 遺伝子が存在し、HER2 を過剰発現している腫瘍は過剰発現していない腫瘍に比べ、anthracycline に対する治療効果が有意に高いことが知られている。

#### 2. taxane

docetaxel や paclitaxel が taxane 系抗癌剤に分類され、微小管の合成促進と同時に脱重合の阻害により細胞分裂を阻害し、抗腫瘍活性を示す。taxane の標的分子は -tubulin である。

-tubulin には 8 つの isotype が存在し、class および class が taxane の感受性予測因子として有用であると考えられている。

【病理学的効果予測因子に使用した抗体】

#### 1. HER2

*HER2* 遺伝子はヒト上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) 遺伝子と類似する構造を有する癌遺伝子として同定された。*HER2* 遺伝子のコードする産物 (HER2 タンパク) は、細胞膜に存在する膜貫通型のタンパクで、細胞外、膜貫通部、細胞内の 3 つの活性部位 (ドメイン) をもつ。細胞の増殖に関与しており、乳癌症例の約 20-30% で *HER2* 遺伝子の増幅と HER2 タンパクの過剰発現が認められ、それらの症例では統計学的有意差を持って全生存期間や無病再発期間が短く、予後不良であると報告されている。現在、乳癌では HER2 タンパク / *HER2* 遺伝子は抗 HER2 抗体薬である trastuzumab の治療適応判断には欠かせないものであるが、同時に anthracycline 系薬剤に対する感受性との関連も高いとされている。

#### 2. ER・PgR

エストロゲンは脂溶性ホルモンであり、標的細胞の ER と直接結合し、細胞増殖を促す。PgR はエストロゲンシグナルによって誘導され、細胞がエストロゲンに反応しているかどうかの指標として用いられる。

ホルモン療法の治療効果予測因子として重要な因子である。

#### 3. topo

topo は二本鎖 DNA を切断することができる酵素で、遺伝子主座は *HER2* 遺伝子の上流に位置する。topo は細胞周期の増殖期の細胞のみに発現し、anthracycline 系薬剤の標的分子である。

#### 4. Ki-67

細胞周期の増殖期に発現している抗原で、細胞増殖の指標として用いられる。陽性率が高い癌ほど抗癌剤の感受性が高いが、予後不良といわれている。

#### 5. p53

DNA の修復、細胞周期のチェックポイント、さらにアポトーシスに関与する癌抑制遺伝子をコードするタンパク。

約 1/3 の乳癌で *p53* 遺伝子変異が認められる。遺伝子変異により p53 タンパクの半減期が延長するため、遺伝子変異を検出する目的で免疫染色が利用されている。*p53* 遺伝子変異を有する乳癌では一般に悪性度が高いと報告されている。

#### 6. class III $\beta$ -tubulin

微小管を構成するタンパクで、taxane 系薬剤の標的分子であり、その感受性予測因子として有用と考えられている。



【免疫染色技術】

20%中性緩衝ホルマリンで固定した針生検の検体を用い、HER2 (ポリクローナル抗体)・ER (1D5)・PgR (PgR636)・topo (Ki-S1)・Ki-67 (MIB-1)・p53 (DO-7)・class -tubulin (SDL.3D10) の免疫染色を行った。染色には自動免疫染色装置を用いた。(図1~6)

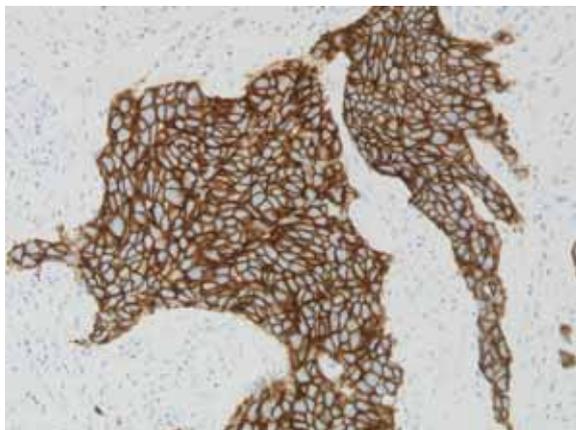


図1 HER2 陽性像  
細胞膜が陽性を呈する

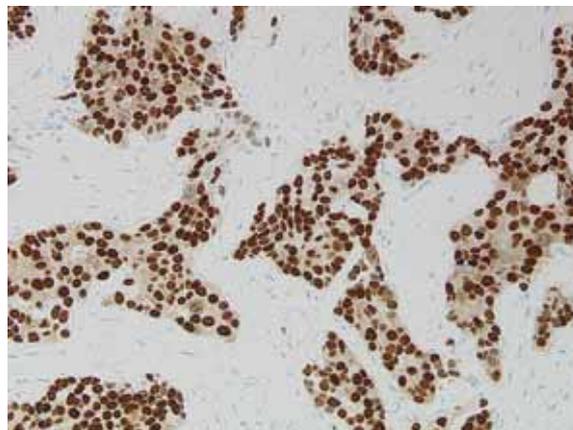


図2 ER 陽性像  
核が陽性を呈する

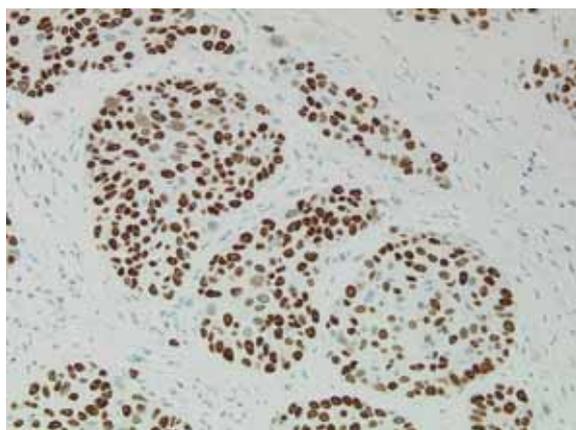


図3 PgR 陽性像  
核が陽性を呈する

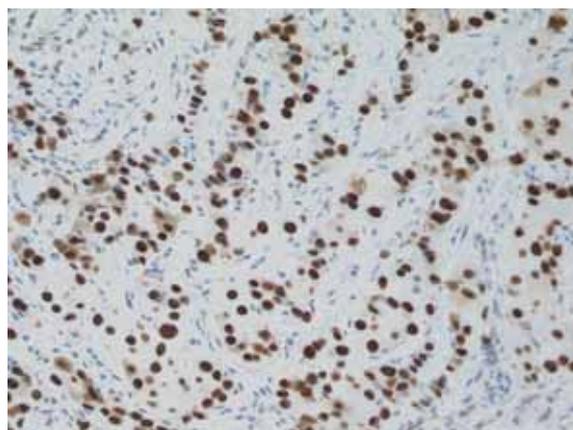


図4 topo 陽性像  
核が陽性を呈する

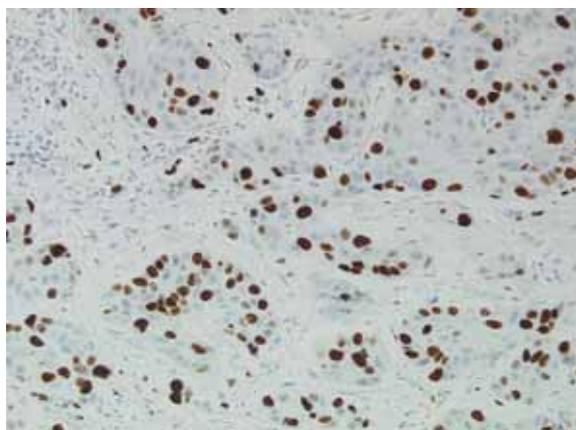


図5 Ki-67 陽性像  
核が陽性を呈する

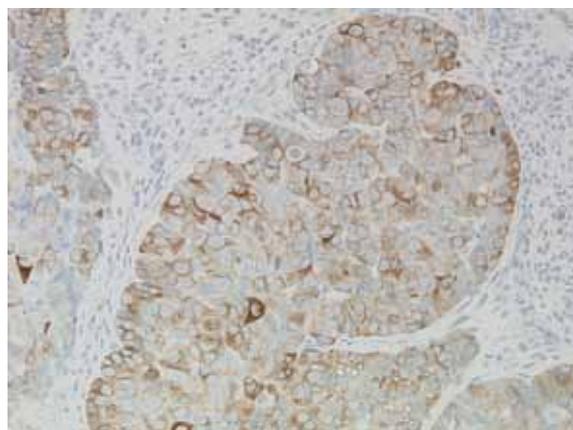


図6 class -tubulin 陽性像  
細胞質が陽性を呈する

【HER2 免疫染色の結果と術前化学療法薬剤の選択】

HER2 陽性症例には anthracycline 系薬剤を含むレジメン（AC：doxorubicin + cyclophosphamide 60/600 × 4）を、HER2 陰性症例には taxane 系薬剤を含むレジメン（TC：docetaxel + cyclophosphamide 75/600 × 4）で術前化学療法を行い、手術摘出標本にて組織学的治療効果判定を行った。（図 7）

その結果 pCR 率は全体で 40.0%（20/50）、anthracycline 系薬剤では 26.7%（4/15）、taxane 系薬剤では 45.7%（16/35）と非常に高い pCR 率であり、従来の術前化学療法の奏効率（13%、NSABP B-18）に比較して非常に良い結果であった。

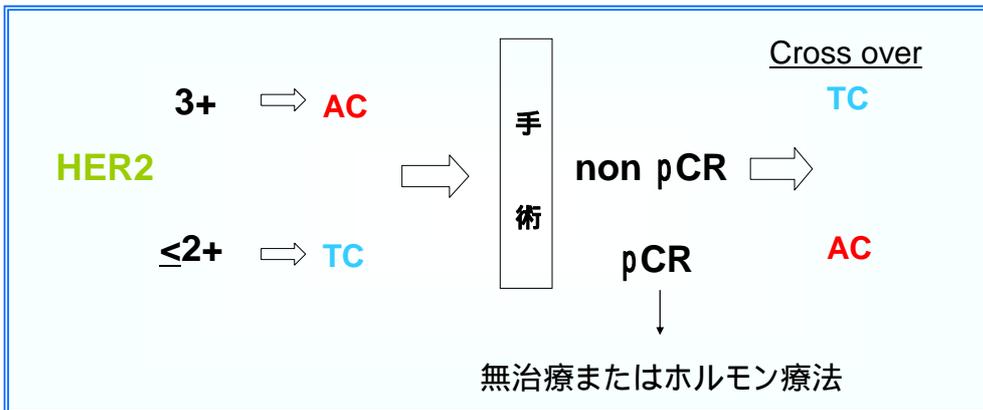


図 7 薬剤選択および投薬方法

- \* AC：anthracycline 系薬剤を含むレジメン（doxorubicin + cyclophosphamide 60/600 × 4）
- \* TC：taxane 系薬剤を含むレジメン（docetaxel + cyclophosphamide 75/600 × 4）
- \* HER2 陽性症例 AC を選択、HER2 陰性症例 TC を選択
- \* 手術摘出標本にて組織学的治療効果判定
- pCR 症例：無治療もしくはホルモン療法
- non pCR 症例：AC から TC、あるいは TC から AC へクロスオーバー（薬剤のスイッチング）

乳癌サブタイプ別の pCR 率は anthracycline 系薬剤において luminal B（ER+ and/or PgR+, HER2+）では 33.3%（2/6）、HER2 type（ER -, PgR -, HER2+）では 22.2%（2/9）であった。taxane 系薬剤においては luminal A（ER+ and/or PgR+, HER2 -）では 15.0%（3/20）、Triple-negative（ER -, PgR -, HER2 -）では 86.7%（13/15）と非常に高い pCR 率であった。（図 8）

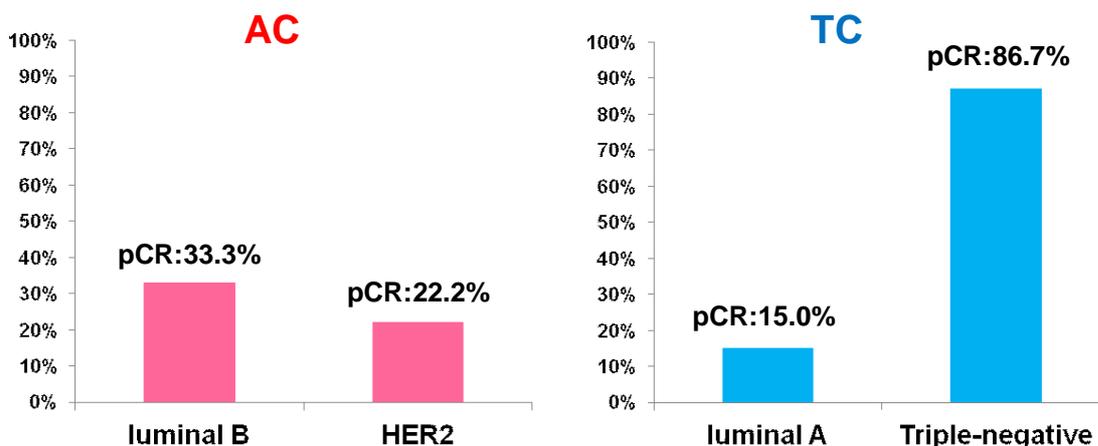


図 8 サブタイプ別 pCR 率

< AC 治療後の pCR 率 >

luminal B 33.3%、HER2 22.2%  
 luminal B：ER+ and/or PgR+, HER2+  
 HER2 type：ER -, PgR -, HER2+

< TC 治療後の pCR 率 >

luminal A 15.0%、Triple-negative 86.7%  
 luminal A：ER+ and/or PgR+, HER2 -  
 Triple-negative：ER -, PgR -, HER2 -

#### 【病理学的治療効果予測因子】

pCR 群と non pCR 群の治療効果判定に関する単変量解析では、anthracycline 系薬剤では有意な相関因子は認められなかったが、taxane 系薬剤においては ER( - )・Ki-67( + )・topo ( + ) において有意に高い pCR 率が得られた。

#### 【まとめ】

乳癌において免疫染色をはじめとする病理組織学的検索で術前化学療法薬剤の選択を行うことにより得られるメリットは、効果のある薬剤を予測して投薬することにより、従来の術前化学療法に比較して非常に高い治療奏率が得られる、一方の薬剤のみの投薬となるため、投与期間が従来の anthracycline 系薬剤と taxane 系薬剤の逐次投与（6 カ月）の約半分（3 カ月）で治療が完遂する、抗腫瘍効果が得られない薬剤の投薬を防ぐことができる、等が挙げられる。

日常業務である免疫染色を用いて薬剤感受性を予測し、薬剤選択を行うことは有用な方法であり、これからの病理部門の新たな職務の 1 つになると考えられる。