

学位論文

**Prognostic Significance of Ki-67 in Chemotherapy-naïve
Breast Cancer Patients with 10-year Follow-up**

（化学療法未治療原発性乳癌手術症例の Ki-67 と術後 10 年予後
予測に対する検討）

DM10029 西宮 洋史

北里大学大学院医療系研究科医学専攻博士課程
臨床医科学群 外科学
指導教授 渡邊 昌彦

著者の宣言

本学位論文は、著者の責任において実験を遂行し、得られた真実の結果に基づいて正確に作成したものに相違ないことをここに宣言する。

要旨

【背景】

近年乳癌は増加の一途をたどっており、女性の年齢調整罹患率は大腸がんを抜いて一位となり、死亡率も上昇している。1990年代は乳癌の予後は腫瘍径やリンパ節転移の有無などが反映された臨床病期に関係していると考えられており、それに基づいて治療方針が決定されていた。しかし近年では薬物療法の進歩に伴い、ホルモン受容体や HER2 蛋白発現の有無など、治療効果予測因子に基づいた治療適応の決定が推奨されている。2011 年ザンクトガレンで行われたコンセンサスミーティングにて Ki-67 を新しく乳癌のサブタイプ分類に導入することが提言された。Ki-67 はもともと白血病患者の自己抗体から発見された抗体に対する抗原であり、細胞の分裂期に表現が増加する非常に分子量の大きな核蛋白であり、一般に細胞増殖能力を現すとされている。今回われわれは、乳癌における腫瘍の病理学的特徴に分子生物学的指標を加えた生物学的特性による予後因子についての有用性を比較検討し、Ki-67 発現の乳癌患者の予後予測に対する検討を行った。

【対象と方法】

1995 年 4 月から 1999 年 12 月の間に当院で施行した浸潤性乳癌患者の中で、術前化学療法施行例と両側乳癌・重複癌を除いた症例 253 例を対象とした。対象となった症例の年齢は平均 51.7 歳（22－84 歳）であり、臨床病期 Stage 1/2/3 の分布はそれぞれ 84/112/57 例であった。生存例が 191 例、死亡例は 62 例（24.5%）でありそのうち原病死は 56 例であった。術式は乳房全摘が 172 例、乳房温存術は 81 例（32.0%）であった。術後補助化学療法が施行されたものは 141 例（55.7%）で、術後補助ホルモン療法が施行されたものは 95 例（37.5%）であった。対象となるそれぞれの患者の臨床病理学的因子・臨床的因子および分子生物学的因子について 10 年生存率、10 年無再発生存率を検討した。検討した因子は 5 つの手術前因子（年齢、性別、術前血清 CEA 値、術前血清 CA15-3 値、術前血清 TPA 値）、3 つの進行病期規定因子（腫瘍径（T 因子）、リンパ節転移（N 因子）、他臓器転移（M 因子））、5 つの病理学的因子（組織型、エストロゲン受容体（ER）、プロゲステロン受容体（PgR）、HER2 蛋白発現、Ki-67 の免疫染色）、3 つの処置因子（手

術方法、術後補助化学療法、術後補助ホルモン療法）であった。術前血清腫瘍マーカーのカットオフ値は SRL ラボで定義されている値を用いることとし、CEA は 2.5 (ng/ml)、CA15-3 は 28 (U/ml)、TPA は 70 (U/ml) をカットオフ値と設定した。病期規定因子として用いた T 因子、N 因子、M 因子は第 7 版の UICC (Union for International Cancer Control) を用いた。免疫染色を行う際に用いた抗体はエストロゲン受容体が ER antibody (1D5 DAKO 100 倍希釈)、プロゲステロン受容体が PgR antibody (PgR636 DAKO 100 倍希釈)、human epidermal growth factor receptor 2 が HER2 (Hercep Test DAKO 200 倍希釈)、Ki-67 が Ki-67 antibody (MIB-1 DAKO 200 倍希釈) であった。免疫染色の判定は ER、PR は 1%以上染まったものを陽性とし、Ki-67 は 20%以上を陽性とした。HER2 蛋白発現の判定には Hercep Test definition を用いた。解析に関しては 10 年全生存率、10 年無再発生存率の解析には log-rank test を用いた。10 年無再発生存率は術後から癌の再発までの期間と定義し、10 年全生存率は術後から他病死を含めた死亡までの期間とした。観察中央期間は 87.4 (7-120) ヶ月であった。解析ソフトとして SAS software package JMP version 9.0 (SAS Institute, Cary, NC USA) を用いて解析し、相関の有意差を $p<0.05$ とした。

【結果】

10 年無再発生存率の単変量予後解析において統計学的有意差を認めた因子は腫瘍径、リンパ節転移の有無の病期規定因子以外に年齢、術前血清 CEA 値、術前血清 TPA 値、ホルモン受容体、Ki-67 であった。多変量予後解析を行ったところ統計学的に有意な独立予後因子として Ki-67、術前血清 CEA 値、年齢が残った。その中でも Ki-67 がリスク比 1.80 と最も再発に寄与していると考えられた。10 年全生存率の単変量予後解析において統計学的有意差を認めた因子は腫瘍径、リンパ節転移の有無の病期規定因子以外に年齢、術前血清 CEA 値、術前血清 TPA 値、術前血清 CA15-3 値、ホルモン受容体、HER2、Ki-67 であった。多変量予後解析を行ったところ統計学的に有意な独立予後因子として Ki-67、術前血清 CEA 値、ホルモン受容体、年齢、T 因子が残った。その中でも Ki-67 がリスク比 2.31 と最も予後に寄与していると考えられた。各進行期別に Ki-67 の再発、

予後との相関を解析したところ、本来予後規定因子で分類されている進行期分類別においても全てのステージで Ki-67 は再発、予後との間に相関関係を認めた。コンセンサス会議に基づく乳癌病型分類(Luminal A/B, HER2type, Triple Negative)別で Ki-67 の再発、予後との相関を解析した。ホルモン受容体陰性である HER2type と、Triple Negative では再発、予後ともに相関関係を認めた。しかし、ホルモン受容体陽性である Luminal A/B では予後に関しては相関関係を認めたが再発との間には相関関係は認めなかった。

【考察】

乳癌において、術前、補助化学療法とホルモン療法は OS,DFS の改善に大きく寄与している。しかし、治療の継続には高い毒性と患者の生活の制限ができてしまう。そのため、利点と危険を考慮された患者に施行するべきである。現在の臨床では治療の決定のために組織病理学的因子と生物マーカー（代表的なものとして ER,HER2）を予後予測する手段として用いている。Ki-67 は 1980 年代初期に発見され、その後悪性リンパ腫などに代表される悪性腫瘍の増殖因子として広く一般に用いられてきた。2011 のザンクトガレンではサブタイプ別による治療の適応が明確化され、LuminalA の分類として導入された。それだけではなくトリプルネガティブなど予後が悪いとされるサブタイプによる予後因子としても認められている。これらの結果は全く我々の結果を裏付けるものであった。さらに今回 HER2 陽性癌においても Ki-67 が予後因子となった。患者数は少ないが Ki-67 が多変量解析で独立予後因子となった。これらの結果は、乳がんにおける Ki-67 陽性癌の予後予測因子としての重要性を改めて強調する結果だと考える。Luminal A/B type における Ki-67 の予後解析において、10 年無再発生存率より 10 年全生存率でより強い差が認められている点は非常に重要だと考える。このことは、Ki-67 陽性癌はホルモン治療に対しての抵抗性を示す可能性を示すものである。実際にいくつかの論文で Ki-67 陽性乳癌のホルモン抵抗性が示されており、我々の結果はこれを裏付けた。さらに術前化学療法の効果の指標としても有用であることが示されている。乳癌の治療の多様化に伴い術前療法の導入が多くの割合を占めるようになり、Ki-67 の治療に修飾されていない予後予測因子としての報告は少なかった。今回 1990 年代

後半の当院で手術を受けた、術前療法に修飾されていない患者で 10 年無再発生存率、10 年全生存率を解析することにより Ki-67 の予後予測因子としての能力を解析した。現在、Ki-67 のカットオフ値が議論されることが多いが今回は 20% をカットオフ値で用いた。カットオフ値を 20% にすることにより陰性と陽性の判定に難渋する症例はほとんど見られなかった。実際のプレパレードの観察においては、陽性例は強陽性が多く、10-20% で判定に悩む症例はほとんど見られなかった。ホルモンレセプター、HER2 蛋白の発現によるグループ分けにおいても全てのグループで Ki-67 の陽性は陰性に比べ予後が悪かった。ザンクトガレンでいわれている、予後が良いとされている HR 陽性、HER2 陰性症例では予後の良い症例を見つけるのに有効であると思われた。さらに予後が悪いとされる HR 陰性 HER2 陰性でも、Ki-67 陰性症例では有意に予後が良く、10 年全生存率でも 70% 以上を示し、HR 陽性、HER2 陰性、Ki-67 陽性症例よりも予後が良かった。臨床病期別に予後を見てみると確かに予後は病気の進行に伴い悪くなる傾向はみられた。しかし、その中でも Ki-67 が陽性は陰性に比べ各病期別でも予後が有意に悪くなっていることが示唆された。今回の予後解析においてリンパ節転移の因子が予想より小さかった。1990 年代、当時はホルモンレセプターや HER2 などの生物マーカーなどよりも腫瘍径やリンパ節転移などの臨床病期より治療方針が決まっていた。そのために特にリンパ節転移を認めたものは予後不良であると考えられ積極的な化学療法が導入されていたことが影響したと思われる。今回の解析によって、Ki-67 の予後に関する重要性が証明された。Ki-67 は分子量の大きさにより研究は進んでいない。今後はその遺伝子的な研究により新たな治療薬の開発が期待される。

目次

	頁
1. 序論 -----	1
2. 方法	
2-1. 対象 -----	1
2-2. 免疫染色 -----	2
2-3. データ解析 -----	2
2-4. 統計学的解析 -----	3
3. 結果	
3-1. 10 年無再発生存率の検討	
3-1-1. 単変量解析 -----	4
3-1-2. 多変量解析 -----	4
3-2. 10 年全生存率の検討	
3-2-1. 単変量解析 -----	4
3-2-2. 多変量解析 -----	5
3-3. 進行期別の Ki-67 と再発、予後の関係	5
3-4. 病型分類別の Ki-67 と再発、予後の関係	5
4. 考察	6
5. 結論	7
6. 謝辞	8
7. 引用文献	9
8. 業績目録	15
9. 図表	18

1. 序論

近年、本邦における乳癌患者は増加の一途をたどっており、女性の年齢調整罹患率は大腸がんを抜いて一位となり、死亡率も上昇している。1990年代、乳癌の予後は、腫瘍径やリンパ節転移の有無などが反映された臨床病期に関係していると考えられており、それに基づいて治療方針が決定されていた。しかし、近年は、薬物療法の進歩に伴い、ホルモン受容体やHER2蛋白発現の有無など、治療効果予測因子に基づいた治療適応の決定が推奨されている。

2011年ザンクトガレンで行われたコンセンサスミーティングにおいて、Ki-67を新しく乳癌のサブタイプ分類に導入することが提言された。

Ki-67は白血病患者から発見された自己抗体に対する抗原であり、細胞の分裂期に増加する分子量の大きな核蛋白であり、細胞増殖能力を現すとされる。

今回われわれは、乳癌における腫瘍の病理学的特徴に分子生物学的特性を加え、予後因子についての有用性を検討し、乳癌患者の予後に対するKi-67発現の検討を行った。

2. 方法

2-1. 対象

1995年4月から1999年12月の間に、当院で手術を施行した遠隔転移を伴わない浸

潤性乳癌患者のうち、術前化学療法施行例、両側乳癌、重複癌を除いた 253 例を対象とした。平均年齢は 51.7 歳（22－84 歳）であり、臨床病期は Stage1 ; 84 例、Stage2 ; 112 例、Stage3 ; 57 例であった。生存例が 191 例、死亡例は 62 例（24.5%）であり、そのうち原病死は 56 例であった。術式は、乳房全摘が 172 例、乳房温存術は 81 例（32.0%）であった。術後補助化学療法が 141 例（55.7%）に、術後補助ホルモン療法が 95 例（37.5%）に施行されていた。

2－2． 免疫染色

検体材料は手術時のホルマリン固定されたパラフィン材料を用いた。検体を 3 μ m に薄切し免疫染色を行った。免疫染色の一次抗体にはそれぞれ、エストロゲン受容体に ER antibody (1D5 DAKO 100 倍希釈)、プロゲステロン受容体に PgR antibody (PgR636 DAKO 100 倍希釈)、human epidermal growth factor receptor 2 に HER2 (Hercep Test DAKO 200 倍希釈)、Ki-67 に Ki-67 antibody (MIB-1 DAKO 200 倍希釈) を用いた。免疫染色の判定は、ER、PR は 1%以上染まったものを陽性とし、Ki-67 は 20%以上を陽性とした。HER2 蛋白発現の判定は Hercep Test definition を用いた。

2－3． データ解析

対象症例の臨床病理学的因子および分子生物学的因子と、10 年生存率、10 年無再

発生存率について検討した。検討した因子は、5つの手術前因子（年齢、術前血清 CEA 値、術前血清 CA15-3 値、術前血清 TPA 値）、2つの進行病期規定因子（腫瘍径（T 因子）、リンパ節転移（N 因子））、5つの病理学的因子（組織型、エストロゲン受容体（ER）、プロゲステロン受容体（PgR）、HER2 蛋白発現、Ki-67 の免疫染色）、3つの処置因子（手術方法、術後補助化学療法、術後補助ホルモン療法）であった。術前血清腫瘍マーカーのカットオフ値は SRL ラボで定義されている値を用いることとし、CEA は 2.5、CA15-3 は 28、TPA は 70 をカットオフ値とした。病期規定因子として用いた T 因子、N 因子は UICC（Union for International Cancer Control）第 7 版を用いた。

2－4．統計学的解析

10 年全生存率、10 年無再発生存率は、log-rank test を用いて解析した。10 年無再発生存率は、術後から癌の再発までの期間と定義し、10 年全生存率は、術後から他病死を含めた死亡までの期間とした。観察期間中央値は 87.4（7-120）ヶ月であった。

解析ソフトとして SAS software package JMP version 9.0（SAS Institute, Cary, NC USA）を用い、有意差は $p<0.05$ とした。

3．結果

3－1．10 年無再発生存率の検討

3－1－1．単変量解析

10 年無再発生存率の単変量解析では腫瘍径 ($p<0.001$)、リンパ節転移 ($p<0.001$) の病期規定因子以外では年齢が 50 歳未満 ($p<0.01$)、術前血清 CEA 値が高値 ($p<0.001$)、術前血清 TPA 値が高値 ($p<0.01$)、ホルモン受容体陰性 ($p<0.01$)、Ki-67 陽性 ($p<0.001$) の症例は統計学的有意差をもって再発率が悪かった。

3-1-2. 多変量解析

多変量予後解析では統計学的に有意な独立予後因子は Ki-67 陽性 ($p<0.001$)、術前血清 CEA 値が高値 ($p<0.05$)、年齢 50 歳未満 ($p<0.01$) であった。その中でも Ki-67 陽性例はリスク比 1.80 と最も再発に寄与していると考えられた。

3-2. 10 年全生存率の検討

3-2-1. 単変量解析

10 年全生存率の単変量予後解析では腫瘍径 ($p<0.001$)、リンパ節転移 ($p<0.001$) の病期規定因子以外では年齢が 50 歳未満 ($p<0.05$)、術前血清 CEA 値が高値 ($p<0.001$)、術前血清 TPA 値が高値 ($p<0.05$)、術前血清 CA15-3 値が高値 ($p<0.05$)、ホルモン受容体陰性 ($p<0.001$)、HER2 蛋白発現陽性 ($p<0.01$)、Ki-67 陽性 ($p<0.001$) の症例は統計学的有意差をもって予後が悪かった。

3-2-2. 多変量解析

多変量予後解析では統計学的に有意な独立予後因子は Ki-67 陽性 ($p<0.001$)、術前血清 CEA 値が高値 ($p<0.01$)、ホルモン受容体陰性 ($p<0.01$)、年齢 50 未満 ($p<0.05$)、腫瘍径が T2-4 ($p<0.05$) の症例であった。その中でも Ki-67 がリスク比 2.31 と最も予後に寄与していると考えられた。

3-3. 進行期別の Ki-67 と再発、予後の関係

各進行期別に Ki-67 の再発、予後との関係を解析したところ、本来予後規定因子で分類されている進行期分類別においても、全てのステージで Ki-67 陽性症例は再発、予後ともに有意差 ($p<0.05$) をもって悪かった。

3-4. 病型分類別の Ki-67 と再発、予後の関係

コンセンサスメETINGに基づく乳癌病型分類(Luminal A/B, HER2type, Triple Negative)別で Ki-67 の再発、予後との関係を解析した。ホルモン受容体陰性である HER2type と、Triple Negative では再発、予後ともに Ki-67 陽性症例は有意差 ($p<0.05$) をもって悪かった。しかし、ホルモン受容体陽性である Luminal A/B では予後に関しては有意差 ($p<0.05$) を認めたが、再発との間には有意差は認めなかった。

4. 考察

Ki-67 は 1980 年代初期に発見され、その後悪性リンパ腫などに代表される悪性腫瘍の増殖因子として広く一般に用いられてきた。2011 のザンクトガレンで行われたコンセンサスミーティングではサブタイプ別による治療の適応が明確化され、LuminalA の分類として導入された。しかし、乳癌の治療の多様化に伴い、術前療法の導入が多くの割合を占めるようになり、Ki-67 の術前療法が行われていない症例に対する予後予測因子としての報告は少なかった。今回 1990 年代後半の当院で手術を受けた、術前療法に影響されていない患者で 10 年無再発生存率、10 年全生存率を解析することにより Ki-67 の予後予測因子としての能力を解析した。

Ki-67 は Luminal A/B の分類のみならずトリプルネガティブなど予後が悪いとされるサブタイプにおいても予後因子としても認められている。今回の我々の結果はこれらの結果を裏付けるものであった。さらに今回 HER2 陽性癌においても Ki-67 が予後因子となり、患者数は少ないが Ki-67 が多変量解析で独立予後因子となった。これらの結果は、乳がんにおける Ki-67 陽性癌の予後予測因子としての重要性を改めて強調する結果だと考えられた。

Luminal A/B type における Ki-67 の予後解析において、10 年無再発生存率より 10 年全生存率でより強い差が認められている点は非常に重要だと考えた。このことは、Ki-67 陽性症例はホルモン治療に対しての抵抗性をもつ可能性を示すものと考えられ

た。実際にいくつかの論文で Ki-67 陽性乳癌のホルモン抵抗性が示されており、我々の結果はこれを裏付けた。

臨床病期別に予後を見てみると予後は病気の進行に伴い悪くなる傾向はみられた。しかし、その中でも Ki-67 が陽性は陰性に比べ各病期別でも予後が有意に悪くなっていることが示唆された。今回の予後解析においてリンパ節転移の因子が予想より小さかったが、1990 年代はホルモンレセプターや HER2 などの生物マーカーなどよりも、腫瘍径やリンパ節転移などの臨床病期により治療方針が決まっていた。そのために特にリンパ節転移を認めたものは予後不良であると考えられ積極的に化学療法が導入されていたことが影響したと思われる。

5. 結論

本研究により、Ki-67 の発現が、乳癌患者の術後再発、予後予測因子であることが明らかになった。しかし、Ki-67 は分子量の大きさにより研究は進んでいない。今後はその遺伝子的な研究により新たな治療薬の開発が期待される。

6. 謝辞

本研究の完成にあたり、終始変わらぬご指導とご鞭撻を賜りました北里大学外科学教授 渡邊昌彦先生に深甚なる謝意を表します。

本研究の遂行にあたり、直接の御指導と数多くの示唆に富むご助言をいただきました北里大学外科学 山下継史先生、小坂愉賢先生に厚く御礼を申し上げます。そして、本研究の遂行にあたり、実験技術および結果解析等について、丁寧なご指導ご協力をいただきました北里大学外科研究室内の皆様に心より感謝いたします。

7. 引用文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008:GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 2008; 127: 2893-917.
- 2 Bear HD, Anderson S, Smith RE, Geyer CE Jr., Mamounas EP, Fisher B, et al. Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer:National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. J Clin Oncol 2006; 24: 2019-27.
- 3 Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. Ann Oncol 2007; 18: 1133-44.
- 4 Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thurlimann B, Senn HJ. 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 2011; 22: 1736-47.

5 Lopez F, Belloc F, Lacombe F, Dumain P, Reiffers J, Bernard P, et al Modalities of synthesis of Ki67 antigen during the stimulation of lymphocytes. Cytometry 1991; 12: 42-9.

6 Birner P, Ritzl M, Musahl C, Knippers R, Gerdes J, Voigtlander T, et al. Immunohistochemical detection of cell growth fraction in formalin-fixed and paraffin-embedded murine tissue. Am J Pathol 2001; 158: 1991-6.

7 Pinder SE, Wencyk P, Sibbering DM, Bell JA, Elston CW, Nicholson R, et al. Assessment of the new proliferation marker MIB1 in breast carcinoma using image analysis: associations with other prognostic factors and survival. Br J Cancer 1995; 71: 146-9.

8 van Dierendonck JH, Keijzer R, van de Velde CJ Cornelisse CJ. Nuclear distribution of the Ki-67 antigen during the cell cycle: comparison with growth fraction in human breast cancer cells. Cancer Res 1989; 49: 2999-3006.

9 Vandewalle B, Hornez L, Lassalle B, Revillion F, Bertout M Lefebvre J. Intracellular calcium and breast-cancer cell-growth and differentiation. Int J Oncol 1993; 2: 613-20.

10 Ermiah E, Buhmeida A, Abdalla F, Khaled BR, Salem N, Pyrhonen S, et al. Prognostic value of proliferation markers: immunohistochemical ki-67 expression and cytometric s-phase fraction of women with breast cancer in libya. J Cancer 2012; 3: 421-31.

11 Wang Y, Yin Q, Yu Q, Zhang J, Liu Z, Wang S, et al. A retrospective study of breast cancer

subtypes: the risk of relapse and the relations with treatments. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 130: 489-98.

12 Millar EK, Graham PH, McNeil CM, Browne L, O'Toole SA, Boulghourjian A, et al. Prediction of outcome of early ER+ breast cancer is improved using a biomarker panel, which includes Ki-67 and p53. *Br J Cancer* 2011; 105: 272-80,.

13 Jung SY, Han W, Lee JW, Ko E, Kim E, Yu JH, et al. Ki-67 expression gives additional prognostic information on St.Gallen 2007 and Adjuvant! Online risk categories in early breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 1112-21.

14 Viale G, Regan MM, Maiorano E, Mastropasqua MG, Dell'Orto P, Rasmussen BB, et al. Prognostic and predictive value of centrally reviewed expression of estrogen and progesterone receptors in a randomized trial comparing letrozole and tamoxifen adjuvant therapy for postmenopausal early breast cancer: BIG 1-98. *J Clin Oncol* 2007; 25:3846-52.

15 Luporsi E, Andre F, Spyrtatos F, Martin PM, Jacquemier J, Penault-Llorca F, et al. Ki-67: level of evidence and methodological considerations for its role in the clinical management of breast cancer: analytical and critical review. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 132: 895-915.

16 Good E, Hammond M, Martin C, Burns C, Groos A. An audit of local government planning tools for their potential use in addressing community food and nutrition issues. *Health Promot J Austr* 2010; 21: 5-11.

17 Group EBCTC: Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005; 365: 1687-717.

18 Harbeck N, Salem M, Nitz U, Gluz O, Liedtke C. Personalized treatment of early-stage breast cancer: present concepts and future directions. *Cancer Treat Rev* 2010; 36: 584-94.

19 Penault-Llorca F, Andre F, Sagan C, Lacroix-Triki M, Denoux Y, Verrièle V, et al. Ki67 expression and docetaxel efficacy in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2809-15.

20 Taylor WC and Muss HB: Recent advances: adjuvant therapy for older women with breast cancer. *Cancer J* 2010; 16: 289-93.

21 Dowsett M, Procter M, McCaskill-Stevens W, de Azambuja E, Dafni U, Rueschoff J, et al. Disease-free survival according to degree of HER2 amplification for patients treated with adjuvant chemotherapy with or without 1 year of trastuzumab: the HERA Trial. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2962-9.

22 Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353: 1659-72.

23 Untch M, Gelber RD, Jackisch C, Procter M, Baselga J, Bell R, et al. Estimating the

magnitude of trastuzumab effects within patient subgroups in the HERA trial. *Ann Oncol* 2008; 19: 1090-6.

24 Loi S: Molecular analysis of hormone receptor positive (luminal) breast cancers: what have we learnt? *Eur J Cancer* 2008; 44:2813-8.

25 Nishimura R, Osako T, Okumura Y, Hayashi M, Toyozumi Y, Arima N. Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer subtype and a predictor of recurrence time in primary breast cancer. *Exp Ther Med* 2010; 1: 747-54.

26 Raica M, Jung I, Cimpean AM, Suciuc C, Muresan AM. From conventional pathologic diagnosis to the molecular classification of breast carcinoma: are we ready for the change? *Rom J Morphol Embryol* 2009; 50: 5-13.

27 Jiyoung Rhee S-WH, Do-Youn Oh. The clinicopathologic characteristics and prognostic significance of triple-negativity in node-negative breast cancer. *BMC Cancer* 2008; 8: 307.

28 Munzone E, Botteri E, Sciandivasci A, Curigliano G, Nole F, Mastropasqua M, et al. Prognostic value of Ki-67 labeling index in patients with node-negative, triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 134: 277-82.

29 Dowsett M, Smith IE, Ebbs SR, Dixon JM, Skene A, A'Hern R, et al. Prognostic value of Ki67 expression after short-term presurgical endocrine therapy for primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 167-70.

30 Viale G, Giobbie-Hurder A, Regan MM, Coates AS, Mastropasqua MG, Dell'Orto P, et al. Prognostic and predictive value of centrally reviewed Ki-67 labeling index in postmenopausal women with endocrine-responsive breast cancer: results from Breast International Group Trial 1-98 comparing adjuvant tamoxifen with letrozole. J Clin Oncol 2008; 26: 5569-75.

31 Choy ET, Chiu A, Butow P, Young J, Spillane A. A pilot study to evaluate the impact of involving breast cancer patients in the multidisciplinary discussion of their disease and treatment plan. Breast 2007; 16: 178-89.

32 Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. Clin Cancer Res 2007; 13: 2329-34.

8. 業績目録

【論文】

1. Prognostic Significance of Ki-67 in Chemotherapy-naïve Breast Cancer Patients with 10-year Follow-up

Nishimiya H, Yoshimasa K, Keishi Y, Naoko M, Mariko K, Akira E, Kazunori N,

Mina W, Norihiko S, Hirokazu T, Masaru K, Watanabe M.

Anticancer Res, in press

- 2. DNA damage-inducible gene, reprimed functions as a tumor suppressor and is suppressed by promoter methylation in gastric cancer.**

Ooki A, Yamashita K, Yamaguchi K, Mondal A, Nishimiya H, Watanabe M

Mol Cancer Res. 2013; 11:11:1362-74.

- 3. Cancer specific promoter CpG Islands hypermethylation of HOP homeobox (HOPX) gene and its potential tumor suppressive role in pancreatic carcinogenesis.**

Waraya M, Yamashita K, Katoh H, Ooki A, Kawamata H, Nishimiya H, Nakamura K, Ema A, Watanabe M.

BMC Cancer. 2012; 7:12:397

- 4. Therapeutic potential of PRL-3 targeting and clinical significance of PRL-3 genomic amplification in gastric cancer.**

Ooki A, Yamashita K, Kikuchi S, Sakuramoto S, Katada N, Waraya M, Kawamata H, Nishimiya H, Nakamura K, Watanabe M.

BMC Cancer. 2011; 6:11:122.

【学会発表】

1. H.Nishimiya, K.Ymashita, Y.Kosaka, M.Kikuchi, H.Katoh, T.Enomoto, N.Sengoku, M.Kuranami, M.Watanabe : Great potential of Ki-67 as a predictive prognostic biomarker in resected localized breast cancer with no prior treatment who were followed up for 10 years.Society of Surgical Oncology 2013.3.6-9 [発表形式：一般公演（ポスター発表）]
2. 西宮洋史、小坂愉賢、山下継史、菊池真理子、加藤弘、榎本拓茂、仙石紀彦、蔵並勝、渡邊昌彦：乳癌病型分類別による Ki-67 の予後予測に対する検討
第 114 回日本外科学会定期学術集会 [発表形式：一般公演（ポスター発表）]
3. 西宮洋史、小坂愉賢、南谷菜穂子、菊池真理子、藁谷美奈、榎本拓茂、仙石紀彦、谷野裕一、蔵並勝、渡邊昌彦：乳癌脳転移症例についての検討
第 51 回日本癌治療学会学術集会 [発表形式：一般公演（口頭発表）]
4. 西宮洋史、小坂愉賢、山下継史、菊池真理子、榎本拓茂、仙石紀彦、蔵並勝、渡邊昌彦：乳癌進行病期別の Ki-67 発現と予後に対する検討
第 21 回日本乳癌学会学術総会 [発表形式：一般公演（ポスター発表）]

5. 西宮洋史、小坂愉賢、林京子、榎本拓茂、仙石紀彦、梶田咲美乃、蔵並勝、渡邊

昌彦：ホルモン受容体陽性症例のリンパ節転移に対する化学療法を検討

第 20 回日本乳癌学会学術総会 [発表形式：一般公演（口頭発表）]

6. 西宮洋史、小坂愉賢、加藤弘、梶田咲美乃、林京子、榎本拓茂、仙石紀彦、蔵並

勝、渡邊昌彦：当院における乳癌 10 年生存率と術前腫瘍マーカーの検討 第 19

回日本乳癌学会学術総会 [発表形式：一般公演（ポスター発表）]

9. 図表

Figure 1

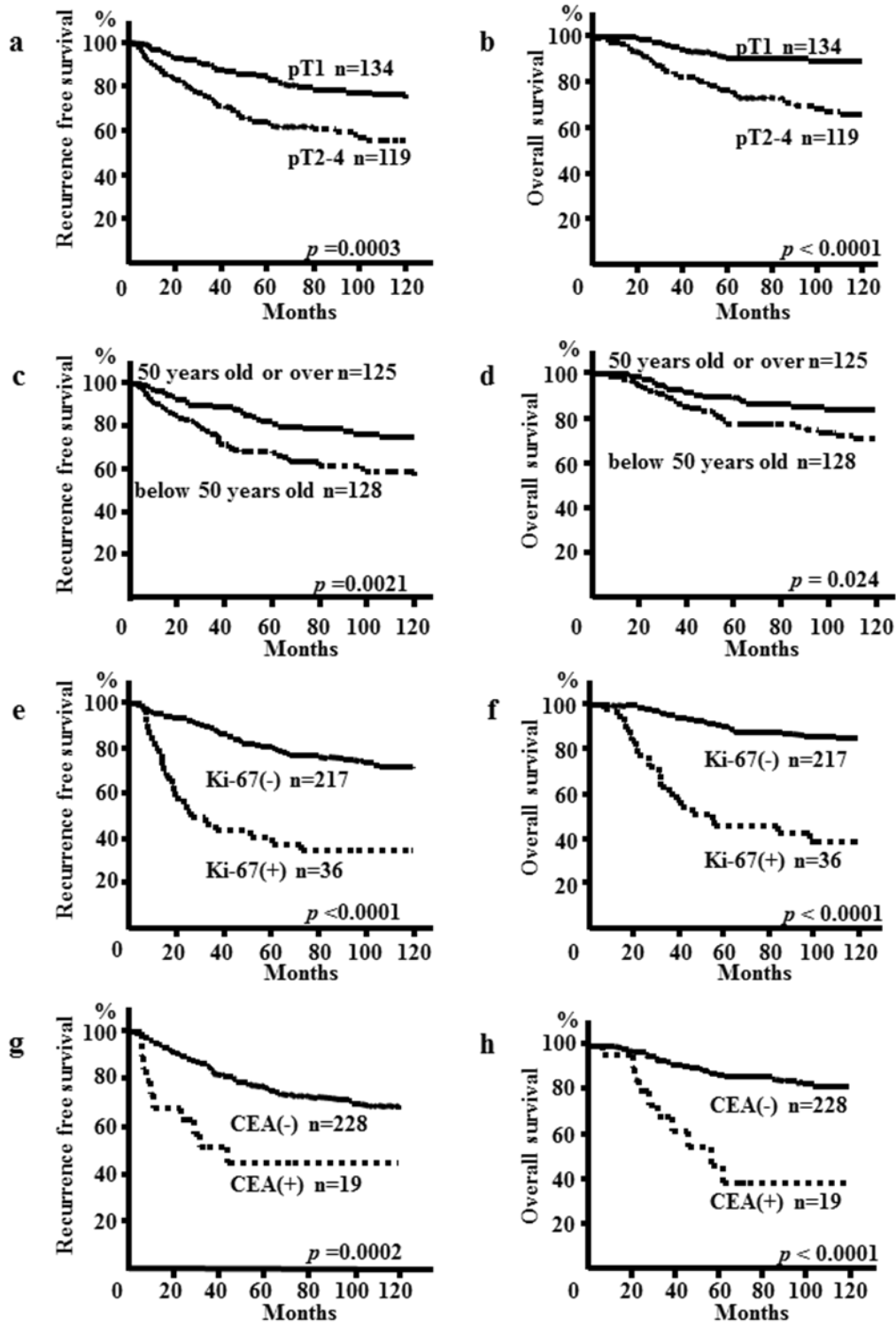


Figure 2

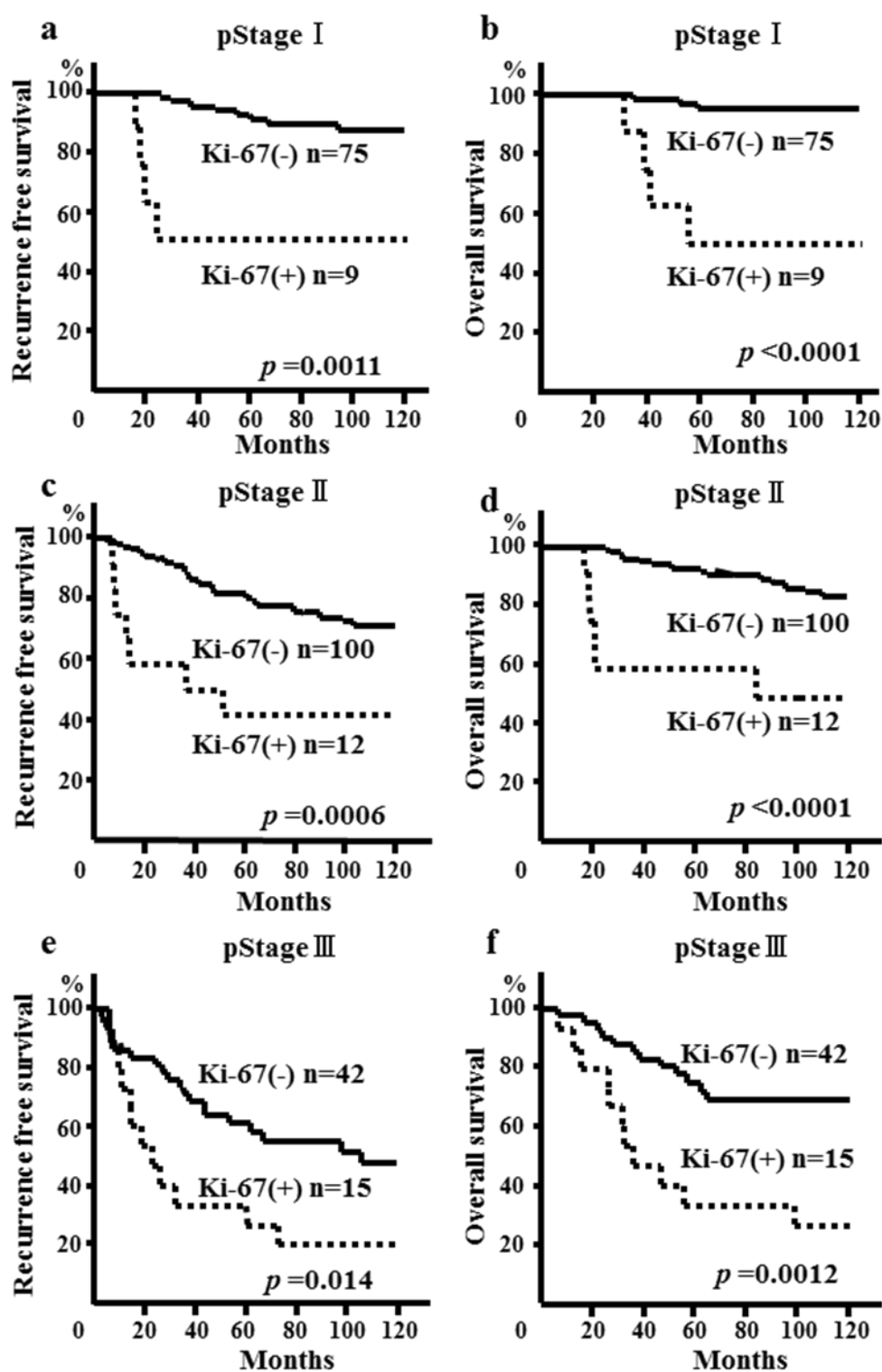


Figure 3

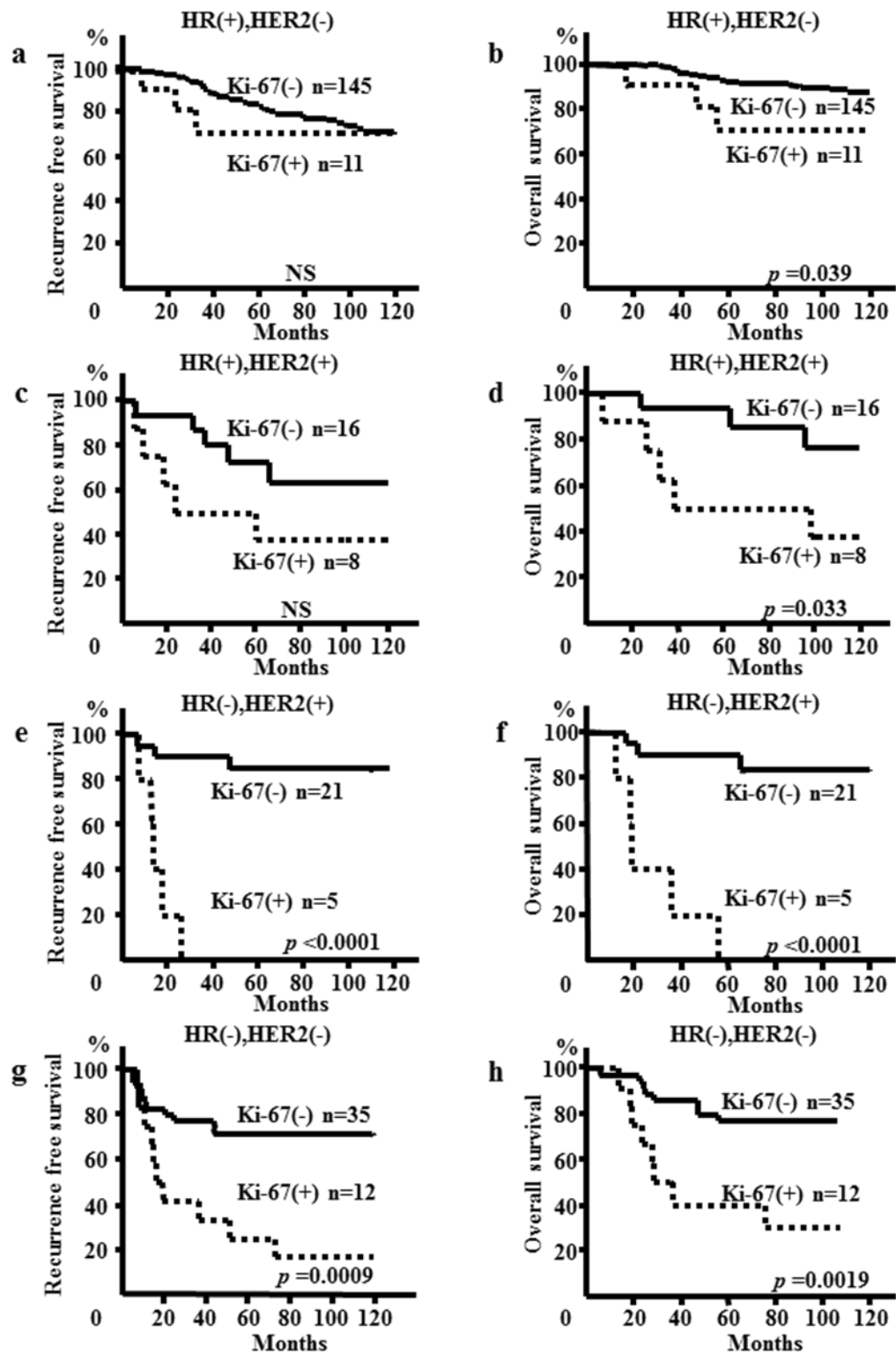


Table.1 Characteristics of the 253 primary breast cancer patient background		
Variables	Number	%
Patient	253	100.0
Pre operative factor		
Age (mean± S.D.)	51.7 ± 11. 0	
Sex		
Male	1	0.4
Female	252	99.6
Preoperative CEA value		
2.5 ng/ml or over	19	7.5
Below 2.5 ng/ml	228	90.1
Unknown	6	2.4
Preoperative TPA value		
70 IU/ml or over	24	9.5
Below 70 IU/ml	217	85.8
Unknown	12	4.7
Preoperative CA15-3 value		
28 IU/ml or over	5	2.0
Below 28 IU/ml	242	95.6
Unknown	6	2.4
Stage related pathological factor		
pT factor		
pT1	134	53.0
pT2	99	39.1
pT3	15	5.9
pT4	5	2.0
pN factor		
pN0	136	53.7
pN1	65	25.7
pN2	31	12.3
pN3	21	8.3
pM factor		
pM0	253	100.0
pM1	0	0.0
pStage		
I	84	33.2
II	112	44.3
III	57	22.5
Stage unrelated pathological factor		
Historogy		
Invasive ductal carcinoma	223	88.1
Invasive lobular carcinoma	9	3.6
Others	11	4.4
Unknown	10	3.9
Estrogen receptor (IHC)		
Positive	176	69.6
Negative	77	30.4
Progesteron receptor (IHC)		
Positive	164	64.8
Negative	89	35.2
HER2 (IHC)		
Positive	50	19.8
Negative	203	80.2
Ki-67 (IHC)		
Positive	36	14.2
Negative	217	85.8
Treatment factor		
Method		
Mastectomy	172	68.0
Lumpectomy	81	32.0
Postoperative adjuvant hormone therapy		
Yes	95	37.5
No	158	62.5
Postoperative adjuvant chemotherapy		
Yes	141	55.7
No	112	44.3
Prognosis		
Recurrence		
Yes	79	31.2
No	174	68.8
Death		
Yes	62	24.5
No	191	75.5
S.D. ;Standard Deviation IHC;Immunohistochemistry		

Table.2 Univariate prognostic analysis of 253 patient with breast cancer

Categories	Classification	Number	Number proportion	10-year RFS	P value	10-year OS	P value
Age	50 years of age or over	125	49%	74.66%	0.002	84.21%	0.026
	below 50 years of age	128	51%	57.40%		71.11%	
Preoperative CEA value	2.5 ng/ml or over	19	8%	45.22%	<0.001	38.45%	<0.001
	below 2.5 ng/ml	228	92%	68.05%		81.26%	
Preoperative TPA value	70 IU/ml or over	24	10%	48.02%	0.005	65.22%	0.012
	below 70 IU/ml	217	90%	68.14%		80.24%	
Preoperative CA15-3 value	28 IU/ml or over	5	2%	40.00%	NS	30.00%	0.028
	below 28 IU/ml	242	98%	66.89%		78.88%	
pT factor	pT1	134	53%	75.09%	<0.001	89.16%	<0.001
	pT2-4	119	47%	56.11%		65.55%	
pN factor	pN0	136	54%	78.77%	<0.001	87.17%	<0.001
	pN+	117	46%	52.31%		67.69%	
Histology	Invasive ductal carcinoma	223	92%	65.50%	NS	77.37%	NS
	Others	20	8%	72.10%		83.31%	
Hormone receptor (IHC)	Positive	180	71%	68.42%	0.003	83.05%	<0.001
	Negative	73	29%	60.20%		64.88%	
HER2 (IHC)	Positive	50	20%	61.17%	NS	63.16%	0.004
	Negative	203	80%	67.40%		81.26%	
Ki-67 (IHC)	Positive	36	14%	34.78%	<0.001	39.01%	<0.001
	Negative	217	86%	71.19%		84.50%	
Method	Total	172	68%	61.27%	0.007	73.22%	0.007
	Partial	81	32%	76.51%		87.95%	
Postoperative adjuvant hormone therapy	Yes	95	38%	79.00%	0.002	89.31%	0.002
	No	158	62%	58.25%		71.06%	
Postoperative adjuvant chemotherapy	Yes	141	56%	56.34%	<0.001	68.07%	<0.001
	No	112	44%	79.23%		91.47%	

RFS ; Recurrence free survival OS ; Overall survival NS ; not significant IHC ; Immunohistochemistry

Table.3 Multivariate prognostic analysis for 10-year RFS in breast cancer			
Prognostic factor	HR	95% CI	P value
Ki-67 (IHC)	1.80	1.36-2.34	<0.001
Preoperative value of CEA 2.5 ng/ml or over	1.65	1.11-2.31	0.015
Below 50 years of age against 50 years of age or over	1.43	1.12-1.83	0.004
Preoperative value of TPA 70 IU/ml or over	1.31	0.93-1.78	NS
Adjuvant hormone therapy	1.26	0.95-1.71	NS
pN+ against pN0	1.20	0.85-1.73	NS
Hormone receptor (IHC)	1.19	0.92-1.53	NS
pT2/3/4 against pT1	1.14	0.89-1.48	NS
Postoperative adjuvant chemotherapy	0.95	0.65-1.41	NS
Method	0.92	0.67-1.25	NS
HR; Hazard Ratio CI ; Confidence interval IHC ; Immunohistochemistry NS ; not significant			

Table.4 Multivariate prognostic analysis for 10-year OS in breast cancer			
Prognostic factor	HR	95% CI	P value
Ki-67 (IHC)	2.31	1.67-3.19	<0.001
Preoperative value of CEA 2.5 ng/ml or over	2.02	1.32-2.96	0.002
Hormone receptor (IHC)	1.67	1.19-2.33	0.003
Below 50 years of age against 50 years of age or over	1.49	1.08-2.08	0.015
pT2/3/4 against pT1	1.49	1.06-2.17	0.022
Postoperative adjuvant hormone therapy	1.21	0.81-1.88	NS
HER2 (IHC)	1.19	0.84-1.65	NS
Preoperative value of CA15-3 28 IU/ml or over	1.17	0.55-2.13	NS
Preoperative value of TPA 70 IU/ml or over	1.15	0.73-1.71	NS
Method	0.97	0.61-1.46	NS
pN+ against pN0	0.76	0.49-1.23	NS
Postoperative adjuvant chemotherapy	0.58	0.34-0.99	0.045
HR; Hazard Ratio CI ; Confidence interval IHC ; Immunohistochemistry NS ; not significant			