

# 学 位 論 文 要 旨

氏 名

西宮 洋史



論 文 題 目

**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)

指 導 教 授 承 認 印

渡邊昌彦



## 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)

西宮 洋史

### 【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、大腸癌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による臨床病期 (TNM 分類) に関係していると考えられており、その分類に基づき治療方針が決定されていた。しかし、近年の薬物療法の進歩に伴い、ホルモン受容体や human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) 蛋白発現の有無など、内因性サブタイプ (Intrinsic subtype) に基づいた治療が推奨されている。さらに 2011 年の St.Gallen コンセンサスミーティングにて、Ki-67 蛋白の発現が、新しい乳癌の分類として導入され、化学療法導入の指標として用いられるようになった。

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、細胞増殖能を反映するマーカーとして知られる。

今回われわれは、10 年間予後が判明している術前治療を受けていない乳癌患者において病理学的因子および分子生物学的因子と再発、予後の関連について解析した。特に、Ki67 蛋白発現の臨床的意義につき検討を行った。

### 【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)、臨床病期は Stage I ; 84 例、Stage II ; 112 例、Stage III ; 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。

臨床病理学的因子および分子生物学的因子と、10 年全生存率、10 年無再発生存率について検討した。検討した因子は、4 種類の手術前因子 (年齢、術前血清 CEA 値、術前血清 CA15-3 値、術前血清 TPA 値)、2 種類の病期規定因子 (腫瘍径 (T 因子)、リンパ節転移 (N 因子))、5 種類の病理学的因子 (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、Ki-67 蛋白の免疫染色)、3 種類の治療因

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。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) をカットオフ値とした。T 因子、N 因子は UICC (Union for International Cancer Control) 第 7 版を用いた。

免疫染色は、ER 抗体 (1D5 DAKO 100 倍希釈)、PgR 抗体 (PgR636 DAKO 100 倍希釈)、HER2 抗体 (Hercep Test DAKO 200 倍希釈)、Ki-67 抗体 (MIB-1 DAKO 200 倍希釈) を用いた。免疫染色の判定は、ER、PgR は 1% 以上染色された場合を陽性とし、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 30% 以上を陽性とした。

Ki67 の発現と、臨床病理学的因子の関係は  $\chi^2$  二乗検定を用い、臨床病理学的因子と生存率の関係は log-rank test を用いて解析した。観察期間中央値は、87.4 (7-120) 月であった。多変量解析は、比例ハザードモデルを用いた。統計解析は、SAS software package JMP version 9.0 (SAS Institute, Cary, NC USA) を用い、 $p < 0.05$  を有意とした。

## 【結果】

### (1) 10 年無再発生存率と臨床病理学的因子の関係

#### 単変量予後解析

腫瘍径 T2-4 群 ( $p < 0.001$ )、リンパ節転移陽性群 ( $p < 0.001$ )、50 歳未満の若年群 ( $p < 0.01$ )、術前血清 CEA 高値群 ( $p < 0.001$ )、術前血清 TPA 高値群 ( $p < 0.01$ )、ホルモン受容体免疫染色陰性群 ( $p < 0.01$ )、Ki-67 免疫染色陽性群 ( $p < 0.001$ ) は、有意に再発率が高かった。

#### 多変量予後解析

多変量解析の結果、Ki-67 免疫染色陽性群 (リスク比 1.80、95%信頼区間 1.36-2.34、 $p < 0.001$ )、術前血清 CEA 高値群 (リスク比 1.65、95%信頼区間 1.11-2.31、 $p < 0.05$ )、若年群 (リスク比 1.43、95%信頼区間 1.12-1.83、 $p < 0.01$ ) が、独立因子であった。

### (2) 10 年全生存率と臨床病理学的因子の関係

#### 単変量予後解析

腫瘍径 T2-4 群 ( $p < 0.001$ )、リンパ節転移陽性群 ( $p < 0.001$ )、50 歳未満の若年群 ( $p < 0.05$ )、術前血清 CEA 高値群 ( $p < 0.001$ )、術前血清 TPA 高値群 ( $p < 0.05$ )、術前血清 CA15-3 高値群 ( $p < 0.05$ )、ホルモン受容体免疫染色陰性群 ( $p < 0.001$ )、HER2 免疫染色陽性群 ( $p < 0.01$ )、Ki-67 免疫染色陽性群 ( $p < 0.001$ ) は、予後が悪かった。

## 多変量予後解析

多変量解析の結果、Ki-67 免疫染色陽性群 (リスク比 2.31、95%信頼区間 1.67-3.19、 $p<0.001$ )、術前血清 CEA 高値群 (リスク比 2.02、95%信頼区間 1.32-2.96、 $p<0.01$ )、ホルモン受容体免疫染色陰性群 (リスク比 1.67、95%信頼区間 1.19-2.33、 $p<0.01$ )、若年群 (リスク比 1.49、95%信頼区間 1.08-2.08、 $p<0.05$ )、腫瘍径 T2-4 群 (リスク比 1.49、95%信頼区間 1.06-2.17、 $p<0.05$ ) が、独立因子であった。

### (3) Ki-67 発現と進行病期別の再発、予後

多変量解析では、10 年全生存率、10 年無再発生存率でリスク比が最も高かった因子が Ki-67 免疫染色陽性であったため進行病期別に、Ki-67 発現と、再発、予後について解析した。その結果、Stage I、Stage II、Stage III において、Ki-67 免疫染色陽性群は、10 年全生存率、10 年無再発生存率が悪かった ( $p<0.05$ )。

### (4) Ki-67 発現と Intrinsic subtype 別の再発、予後

ホルモン陽性/HER2 陰性 (Luminal type)、ホルモン陽性/HER2 陽性 (Luminal-HER2 type)、ホルモン陰性/HER2 陽性 (HER2 type)、ホルモン陰性/HER2 陰性 (Triple Negative type) の subtype に分類し、Ki-67 発現と再発、予後について解析した。その結果、ホルモン受容体免疫染色陰性である HER2 type、Triple Negative type において、Ki-67 免疫染色陽性群は、10 年全生存率、10 年無再発生存率ともに悪かった ( $p<0.05$ )。ホルモン受容体免疫染色陽性である Luminal type、Luminal-HER2 type においても、Ki-67 免疫染色陽性群は、10 年全生存率は有意に悪かった ( $p<0.05$ ) が、10 年無再発生存率に関して統計学的有意差を認めなかった。

## 【考察】

Ki-67 は 1980 年代初期に発見され、悪性リンパ腫などの悪性腫瘍の増殖に関連する指標として用いられてきた。乳癌においては 2011 年の St. Gallen コンセンサスメーティングにおいて、subtype 別による治療の適応が明確化された。その中で、Ki-67 の発現状況により、ホルモン受容体免疫染色陽性、HER2 免疫染色陰性乳癌である Luminal type を、悪性度の低い Luminal A type (Ki67 発現低値群)と、悪性度が高く、再発リスクの高い Luminal B type (Ki67 発現高値群) とに分類することが決定された。しかしながら、Ki-67 発現と、予後予測因子に関する 10 年間の経過観察された報告は少ない。今回、1990 年代後半に当院で手術を施行した症例で、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 発現の予後予測因子としての有用性を検討し確認した。

Ki-67 は、triple negative type など予後が悪いとされる subtype において 10 年全生存率、10 年無再発生存率ともに予後因子であった。さらに、HER2 免疫染色陽性乳癌でも、Ki-67 免疫染色が予後因子となった。乳癌患者における Ki-67 免疫染色の発現は、いずれの subtype のよっても予後予測因子として有用であると考えられた。

Luminal type の解析において、Luminal B type に相当する Ki67 免疫染色陽性群は、10 年無再発生存率で有意差を認めず、10 年全生存率では有意に予後不良であった。ホルモン受容体免疫染色陽性群に対する術後ホルモン治療の施行率は、Ki-67 陰性/陽性群の間に差がないことから、ホルモン治療施行による予後への影響はないと考えられた。再発までの期間が同等で、予後が悪いということより、Ki-67 免疫染色陽性群は再発後の治療に対しての抵抗性が高いと予測された。これまでの Ki-67 免疫染色陽性乳癌が、ホルモン治療に抵抗性が高いという報告も我々の結果を裏付けるデータと言える。

臨床病期別ではいずれの病期でも、Ki-67 免疫染色陽性群の予後が悪いことが明らかとなった。また、病期の進行に伴い、Ki-67 免疫染色陽性群の予後が悪くなる傾向がみられた。すなわち、病期、subtype に関わらず、Ki-67 免疫染色が陽性となった症例は、予後が悪いことが明らかとなった。

今回の解析ではリンパ節転移陽性群は、再発、予後に関する独立因子とはならなかった。本研究における症例は、手術当時ホルモン受容体や HER2 などの分子生物学的因子の評価がなされていないこともあり、リンパ節転移を認めた症例は予後不良であると考えられ、そのほとんどに化学療法が導入されていた。化学療法の内容は、現在行われている標準治療と異なるが、当時標準であった薬剤が有効であったと解釈できるかもしれない。

今回の研究により、乳癌における Ki-67 発現の予後に関する重要性が示された。Ki-67 発現症例に対する治療薬の研究は、Ki-67 が核タンパクであり分子量が大きいため基礎研究も進んでいない。今後、予後因子の指標としてテーラーメイド医療のマーカーとして使用するのみならず、さらなる Ki-67 の関連因子に関する分子生物学的な研究により、新たな治療薬の開発が期待される。