



## Target-Oriented Classification of Triple-negative Breast Cancer

水本，紗千子

---

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2023-09-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8754号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100489979>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

## 学位論文の内容要旨

### Target-Oriented Classification of Triple-negative Breast Cancer

治療標的に基づいたトリプルネガティブ乳癌の分類

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻  
乳腺内分泌外科学  
(指導教員:福本 巧 教授)

水本 紗千子

## 【諸言】

トリプルネガティブ乳癌 (triple-negative breast cancer; TNBC)は、エストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PR)、およびヒト上皮増殖因子受容体-2 (HER2)の発現が全て陰性の乳癌と定義され、乳癌の約 12-17%を占めている。若年発症が多く、術後 5 年以内に再発を認めることが多い予後不良の乳癌である。HER2 陽性乳癌の治療は HER2 を標的とし、ER 陽性乳癌は ER を標的として治療が行われる。一方、TNBC は HER2 蛋白や ER のような治療標的がないため、細胞障害性化学療法が治療の第一選択であった。TNBC は、ER 陽性乳癌および HER2 陽性乳癌を除く「全て」の乳がんが含まれる異種グループ(heterogenous group)であるにもかかわらず、適切な分類がされてこなかったことが治療に難渋する原因であった。唯一、Lehmann らにより TNBC が 6 つのサブタイプ(basal-like1, basal-like2, immunomodulatory, mesenchymal, mesenchymal stem-like, luminal androgen receptor)に分類されたが、治療標的に基づいた分類ではなかった。しかし、近年、生殖細胞系列 *BRCA* 病的バリエントをもつ乳癌に対する poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase inhibitors (PARP 阻害薬) や、HER2-low 乳癌に対する Trastuzumab-deruxtecan、PD-L1 陽性乳癌に対する免疫チェックポイント阻害薬の有効性が認められ、TNBC でも個別化治療が開発してきた。

本研究では、TNBC における HER2、programmed death ligand 1 (PD-L1)、androgen receptor (AR)、cytokeratin 5/6 (CK5/6)、epidermal growth factor receptor (EGFR)の蛋白発現および、BRCAnezz 遺伝子検査を行うことにより、治療標的に基づいた TNBC の新たな分類を提示した。

## 【方法】

2018 年 1 月 1 日から 2019 年 7 月 31 日の間に、神戸大学病院において手術を先行した原発性 TNBC 患者 17 例の腫瘍を検討した。免疫組織染色にて HER2、PD-L1、AR、CK5/6、EGFR の蛋白発現および、multiple ligation-dependent probe amplification (MLPA)法を用いた BRCAnezz 遺伝子検査にて BRCA1-like を確認した。

### ① 免疫組織染色

HER2、PD-L1、AR、CK5/6、EGFR の免疫組織染色を実施した。HER2-low は、HER2 スコア 1 または、HER2 スコア 2かつ fluorescence in situ hybridization (FISH)陰性と定義した。PD-L1 は tumor-infiltrating immune cell (腫瘍浸潤免疫細胞) の 1%以上の染色を陽性と定義した。AR は腫瘍細胞核の 10%以上の染色を陽性と定義した。CK5/6 はいずれかの腫瘍細胞質が染色された場合を陽性と定義した。EGFR はいずれか腫瘍細胞膜が染色された場合を陽性と定義した。CK5/6 と EGFR のいずれかが陽性である場合を basal-like と定義した。

## ② MLPA 法

MLPA 法を用いて、組織切片中の腫瘍組織部の BRCAness 遺伝子検査を実施した。BRCAness スコアのカットオフは 0.5 とし、0.5 以上を BRCA1-like とした。BRCAness 遺伝子検査は、生殖細胞系列 *BRCA1* 病的バリアントを持つ乳癌患者の組織をテンプレートとして BRCAness (BRCA 遺伝子の機能不全状態) をゲノムコピー数異常としてとらえる方法であるため、BRCA1-like と判定された腫瘍は BRCAness と同義とされる。

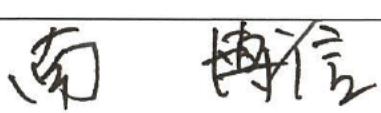
### 【結果】

TNBC 17 例のうち、HER2-low (HER2 score1 または score2/FISH 陰性) は 11 例 (64.7%)、PD-L1 陽性は 4 例 (23.5%)、AR 陽性は 6 例 (35.3%)、BRCAness (BRCA1-like) は 6 例 (35.3%)、Basal-like (CK5/6 and/or EGFR が陽性) は 13 症例 (76.5%) であった。いずれにも該当しない症例は 1 例のみであった。

### 【考察】

TNBC は HER2 や ER のような治療標的がなく、かつては細胞障害性化学療法が第一選択であり、標的治療は行われていなかった。近年、生殖細胞系列 *BRCA* 病的バリアントをもつ乳癌に対する PARP 阻害薬や、HER2-low 乳癌に対する Trastuzumab-deruxtecan、PD-L1 陽性乳癌に対する Atezolizumab や Pembrolizumab といった免疫チェックポイント阻害薬の有効性が示され、治療標的に基づいた TNBC の個別化治療の開発が進んでいる。今回の研究では、さらに、AR、BRCAness を新たな治療ターゲットの候補として提示した。AR 陽性乳癌に対する AR 阻害薬については、すでにいくつかの臨床試験で有望な結果が示されている。BRCAness は *BRCA* 遺伝子の機能不全であると Turner らが定義した。そのため、DNA 修復障害のある腫瘍に有効と考えられている白金製剤や PARP 阻害薬が BRCAness 腫瘍に対して有効であることが推測される。現在、神戸大学において、TNBC に対する術前化学療法後に病理学的完全奏効 (pathological Complete Response: pCR) に至らなかった症例を術後カルボプラチニン投与群と経過観察群に分ける、第Ⅲ相ランダム化比較試験を行っている。割付因子に BRCAness を用いており、BRCAness 腫瘍に対するカルボプラチニンの有効性が期待される。また、現在、cell-free circulating tumor DNA を用いて体細胞 *BRCA1/2* 遺伝子変異を認めた転移性乳癌に対する Tarazoparib (PARP 阻害薬) の有効性をみる臨床試験も行われており、その結果が待たれる。

今回の研究において、1 例を除いてすべての TNBC を治療可能なターゲット (HER2-low, PD-L1, AR, BRCAness) で分類することができた。今後の臨床試験の結果も踏まえて、今回の分類が、治療標的に基づいた TNBC の治療戦略の確立に寄与すると考えられる。

| 論文審査の結果の要旨                    |  |    |        |
|-------------------------------|--|----|--------|
| 受付番号                          | 甲 第 3325 号   | 氏名 | 水本 紗千子 |
| 論文題目<br>Title of Dissertation | 治療標的に基づいたトリプルネガティブ乳癌の分類<br>Target-Oriented Classification of Triple-negative Breast Cancer   |    |        |
| 審査委員<br>Examiner              | 主査 <br>Chief Examiner<br>副査 <br>Vice-examiner<br>副査 <br>Vice-examiner |    |        |

(要旨は1,000字~2,000字程度)

## 【背景・目的】

トリプルネガティブ乳癌 (triple-negative breast cancer; TNBC)は、エストロゲン受容体(ER)、プログステロン受容体(PR)、およびヒト上皮増殖因子受容体-2 (HER2)が全て陰性の乳癌で、乳癌の 12-17%を占め若年発症が多く予後不良である。HER2 陽性乳癌では HER2 を標的とし、ER 陽性乳癌は ER を標的として治療が行われる。一方、TNBC は HER2 蛋白や ER など治療標的がなく細胞障害性抗悪性腫瘍薬で薬物療法を行うことになる。TNBC は heterogenous な腫瘍であるが、治療に結び付く適切な分類がなかった。近年、生殖細胞系列 *BRCA* 病的バリアントをもつ乳癌に対する poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase (PARP) 阻害薬や、HER2 低発現 (HER2-low) の乳癌に対する Trastuzumab-deruxtecan、programmed death ligand 1 (PD-L1) 陽性乳癌に対する免疫チェックポイント阻害薬の有効性が認められ、TNBC でも個別化治療が開発されている。

本研究では、TNBC における HER2、PD-L1、androgen receptor (AR)、cytokeratin 5/6 (CK5/6)、epidermal growth factor receptor (EGFR) の蛋白発現および、BRCAneSS 遺伝子検査により、治療標的に基づいた TNBC の新たな分類を提示した。

## 【対象と方法】

2018 年 1 月 1 日から 2019 年 7 月 31 日の間に、神戸大学医学部附属病院において術前治療なしに手術を施行した原発性 TNBC 患者 17 例の腫瘍を検討した。免疫組織染色で HER2、PD-L1、AR、CK5/6、EGFR の蛋白発現を評価し、multiple ligation-dependent probe amplification (MLPA) 法を用いた BRCAneSS 遺伝子検査にて *BRCA1*-like を検討した。

### ① 免疫組織染色

HER2、PD-L1、AR、CK5/6、EGFR の免疫組織染色を実施し、HER2-low は HER2 スコア 1 または、HER2 スコア 2 かつ fluorescence in situ hybridization (FISH) 陰性とした。PD-L1 は tumor-infiltrating immune cell (腫瘍浸潤免疫細胞) の 1%以上の染色を陽性、AR は腫瘍細胞核の 10%以上の染色を陽性、CK5/6 はいずれかの腫瘍細胞質が染色された場合を陽性、EGFR はいずれか腫瘍細胞膜が染色された場合を陽性と定義した。CK5/6 と EGFR のいずれかが陽性である場合を basal-like に分類した。

### ② MLPA 法

MLPA 法を用いて、組織切片中の腫瘍の BRCAneSS 遺伝子検査を実施した。BRCAneSS スコアのカットオフは 0.5 とし、それ以上を *BRCA1*-like とした。BRCAneSS 遺伝子検査は、生殖細胞系列 *BRCA1* 病的バリアントを持つ乳癌患者の組織をテンプレートとして BRCAneSS (BRCA 遺伝子の機能不全状態) をゲノムコピー数異常としてとらえる方法であるため、*BRCA1*-like と判定された腫瘍は BRCAneSS と同義とされる。

## 【結果】

TNBC 17 例のうち、HER2-low (HER2 score 1 または score 2/FISH 隆性) は 11 例 (64.7%)、PD-L1 隆性は 4 例 (23.5%)、AR 隆性は 6 例 (35.3%)、BRCAneSS (BRCA1-like) は 6 例 (35.3%)、Basal-like (CK5/6 and/or EGFR が隆性) は 13 症例 (76.5%) であった。いずれにも該当しない症例は 1 例のみであった。

## 【考察】

TNBC は HER2 や ER のような治療標的がなく、かつては薬物療法としては細胞障害性抗悪性腫瘍薬による化学療法しかなく、分子標的治療は行われていなかった。近年、生殖細胞系列 *BRCA* 病的バリエントをもつ乳癌に対する PARP 阻害薬や、HER2-low 乳癌に対する Trastuzumab-deruxtecan、PD-L1 隆性乳癌に対する免疫チェックポイント阻害薬の有効性が示され、治療標的に基づいた TNBC の個別化治療の開発が進んでいる。

さらに今回の研究では、AR、BRCAneSS を新たな治療ターゲットの候補として細分類した。AR 隆性乳癌に対して AR 阻害薬の臨床試験はすでにいくつかが実施され、有望な結果が報告されている。一方、BRCAneSS は *BRCA* 遺伝子の機能不全であると Turner らが定義した。そのため、DNA 修復障害のある腫瘍に有効と考えられている白金製剤や PARP 阻害薬が BRCAneSS 腫瘍に対して有効であると推測される。現在、神戸大学医学部附属病院において、TNBC に対する術前化学療法後に病理学的完全奏効に至らなかつた症例に対する術後カルボプラチニン治療を経過観察と比較する第Ⅲ相ランダム化試験を実施している。割付因子に BRCAneSS を用いており、BRCAneSS 腫瘍に対するカルボプラチニンの有効性が明らかにされるものと期待される。また、現在、cell-free circulating tumor DNA を用いて体細胞 *BRCA1/2* 遺伝子変異を認めた転移性乳癌に対する Tarazoparib (PARP 阻害薬) の有効性をみる臨床試験も行われており、その結果が待たれる。

## 【結論】

本研究は 1 例を除いてすべての TNBC を治療の可能性がある標的 (HER2-low、PD-L、AR、BRCAneSS) で分類することができることを示したものであり、今後の臨床試験の結果も踏まえて、今回の分類が治療標的に基づいた TNBC の治療戦略の確立に寄与する可能性があると考えられ、重要な貢献をした価値ある研究であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。