



Evaluation of HER-2 status in breast carcinoma by fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小倉, 廣之 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1246

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 393号	学位授与年月日	平成15年 3月26日
氏 名	小 倉 廣 之		
論文題目	Evaluation of HER-2 status in breast carcinoma by fluorescence <i>in situ</i> hybridization and immunohistochemistry (FISH と免疫組織化学法による乳癌の HER-2 検査法の検討)		

博士(医学) 小 倉 廣 之

論文題目

Evaluation of HER-2 status in breast carcinoma by fluo-rescence *in situ* hybridization and immunohistochemistry
(FISHと免疫組織化学法による乳癌のHER-2検査法の検討)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

human epidermal growth receptor-2(HER-2)はヒト上皮増殖因子受容体の1つであり、ヒト乳癌細胞では10-30%の陽性率と報告されている。臨床的に乳癌の予後因子や化学療法、およびホルモン療法の効果予測因子として注目を集めている。HER-2蛋白に対し特異的なヒト化モノクローナル抗体治療薬(トラスツズマブ)が国内でも登場し、その使用に関しては予めHER-2 statusを確認することが、適正な症例選択を行うためには必要不可欠である。しかしながらHER-2検査法には、タンパク質レベルでの過剰発現を検査する免疫組織化学法(immunohistochemistry、以下IHC)やDNAレベルでの遺伝子増幅を検査する蛍光in-situハイブリダイゼーション(fluorescence *in situ* hybridization、以下FISH)、血清を用いたELISA法などの方法がある。ヒト乳癌細胞においては、タンパク質レベルでの過剰発現と遺伝子増幅がほぼ等しいとされ、欧米をはじめ国内においても様々な検査法、抗体、判定基準が用いられている。一般的にFISHによりHER-2遺伝子増幅を確認された症例ではIHCによりHER-2蛋白過剰発現を確認された症例と比較して、トラスツズマブの奏効率が高いことが報告されている。しかしながらその手技の煩雑さ、費用の面から現在まだ一般的ではない。一方IHCは国内において一般的に施行されており、普及しやすいという利点がある。今回、FISHとIHCとの相関を検討することにより、乳癌における適正なHER-2検査法の標準化を目指す。

〔対象と方法〕

1999年6月から2000年3月、癌研究会附属病院で手術を受け、切除された浸潤性乳管癌113例、このうちFISHで判定可能であった110例を対象とした。

原則的に20%ホルマリンに48時間以内固定された後パラフィン包埋された組織を用いた。IHCでは、HercepTest™(DAKO社)を使用し、判定基準はHercepTest™の判定基準に則った。FISHはマルチカラーFISHであるPathVysion™キットを用いた。60個の癌細胞でのHER-2 DNAとセントロメアDNA(CEP17)それぞれの蛍光シグナル数を蛍光顕微鏡で計測し、60個の癌細胞でのDNAとCEP17シグナル総数に対するHER-2シグナル総数の比率が2倍以上のものを、HER-2陽性と判定した。統計学的に2群間の比較には χ^2 検定、もしくはFisherの直接法を用い、 $p<0.05$ をもって有意差ありと判定した。

〔結果〕

FISHでは、HER-2/CEP17は最小0.55、最大18.8で、2以上の遺伝子増幅を認めた症例は22%(24/110)であった。IHCでは、0は27例(24.5%)、1+は53例(48.3%)、2+は10例(9.1%)、3+は20例(18.1%)あった。IHCとFISHとの相関は、IHCで3+と判定した症例20例は全例がFISH陽性であり、2+と判定した症例は10例中1例(10%)がFISH陽性であった。IHCで1+と判定した症例では4%(2/53)、0と判定し

た症例では4%(1/27)のFISH陽性症例を含んでいた。IHCの陽性の判定基準について今回のFISHとIHCの結果から検討すると、3+のみを陽性とした場合では一致率は96%であり、統計学的にも $p<0.0001$ で有意に相関を認めた。IHC2+と3+を陽性とした場合では、FISHとの間に統計学的には $p<0.0001$ で有意に相関を認めたが、一致率は89%と低下した。

〔考察〕

IHCのHER-2陽性の判定基準について、FISHでの結果が正しいHER-2 statusを表していると仮定して今回のFISHとIHCの結果から検討すると、IHC3+のみを陽性とした場合とIHC2+、3+を陽性とした場合では、両者ともにFISHとの間に統計学的に有意に相関を認めた。しかしながら一致率が96%から89%と低下した。これはIHC2+症例におけるFISH陽性率が10%と低率であったことに起因している。文献的にはIHC3+症例でのFISH陽性率は80-100%、IHC2+症例は20-70%と報告されている。我々の結果ではIHC3+症例でのFISH陽性率が100%と高く、奏効率においてもFISHと差がないと予想される。一方、IHC2+症例でのFISH陽性率は低く、IHC2+を陽性とするFISHとの不一致例が多く含まれることとなる。

〔結論〕

IHC3+症例に関してはFISH陽性と同様であった。またIHC2+症例に関してはIHCのみでは90%のFISHとの不一致例を含む事になり、FISHによる再検討が必要と考えられた。

論文審査の結果の要旨

小倉廣之氏は、FISHと免疫組織化学法による乳癌のHER-2検査法について検討し報告した。HER-2はヒト上皮増殖因子受容体の1つであり、臨床的に乳癌の予後因子や化学療法、およびホルモン療法の効果予測因子として注目を集めている。しかしながらHER-2検査法には、タンパク質レベルでの過剰発現を検査する免疫組織化学法(immunohistochemistry、以下IHC)やDNAレベルでの遺伝子増幅を検査する蛍光in-situハイブリダイゼーション(fluorescence in situ hybridization、以下FISH)などがある。一般的にFISHによりHER-2遺伝子増幅を確認された症例ではIHCによりHER-2蛋白過剰発現を確認された症例と比較して、トラスツマブの奏効率が高いことが報告されているが、その手技の煩雑さ、費用の面から現在まだ一般的ではない。一方IHCは国内において一般的に施行されており、普及しやすいという利点がある。今回、FISHとIHCとの相関を検討することにより、乳癌における適正なHER-2検査法の標準化を目指す。対象は、1999年6月-2000年3月、癌研究会附属病院で手術を受け、切除された浸潤性乳管癌110例である。IHCでは、HercepTest™(DAKO社)を使用し、判定基準はHercepTest™の判定基準に則った。FISHはマルチカラーFISHであるPathVysion™キットを用いた。統計学的に2群間の比較には χ^2 検定、もしくはFisherの直接法を用い、 $p<0.05$ をもって有意差ありと判定した。FISHでは2以上の遺伝子増幅を認めた症例は22%(24/110)であった。IHCでは、0は27例(24.5%)、1+は53例(48.3%)、2+は10例(9.1%)、3+は20例(18.1%)あった。IHCとFISHとの相関は、IHCで3+と判定した症例20例は全例がFISH陽性であり、2+と判定した症例は10例中1例(10%)がFISH陽性であった。IHCの陽性の判定基準について今回のFISHとIHCの結果から検討すると、3+のみを陽性とした場合では一致率は96%であり、統計学的にも $p<0.0001$ で有意に相関を認めた。IHC2+と3+を陽性とした場合では、FISHとの間に統計

学的には $p < 0.0001$ で有意に相関を認めたが、一致率は89%と低下した。これは IHC2+ 症例における FISH 陽性率が10%と低率であったことに起因している。文献的には IHC3+ 症例での FISH 陽性率は80-100%、IHC2+ 症例は20-70%と報告されている。本研究の結果では IHC3+ 症例での FISH 陽性率が96%と高く、(奏効率においても)FISH と差がないと予想される。一方、IHC2+ 症例での FISH 陽性率は低く、IHC2+ を陽性とする FISH との不一致例が多く含まれることとなる。

以上より、IHC3+ 症例に関しては FISH 陽性と同様であった。また IHC2+ 症例に関しては IHC のみでは90%の FISH との不一致例を含む事になり、FISH による再検討が必要と考えられた。

審査の過程において、審査委員会はつぎのような質問を行った。

- 1) 対象とした乳癌の組織亜型による予後は調査したか、また一般にどのようにいわれているか
- 2) 対象とした組織の固定はどのようなものをつかったか
- 3) 組織染色の部位による差はあったか
- 4) 乳癌では CEP17 が diploid つまり二個のことが多いのか
- 5) IHC 0 あるいは 1+ と判定された症例で、FISH が陽性の症例の組織学的特徴はどうか
- 6) IHC 3+ と判定された症例では FISH 100%と非常に良好な結果になっているがこれはキットの性能のせいかな
- 7) HER-2 遺伝子の増幅は tandem amplification か
- 8) IHC2+ における、遺伝子増幅がポリソミーをみている可能性について
- 9) IHC と FISH は連続切片でおこなったのか
- 10) エストロゲンやプロゲステロン レセプターの発現との相関について
- 11) 浸潤癌の乳管内病変における Her2 の変化について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	梶 村 春 彦	
	副査	橋 本 賢 二	副査 三 浦 克 敏