

主論文の要旨

**The impact of Girdin expression on recurrence-free survival in patients with luminal-type breast cancer**

〔 Luminal タイプ乳癌患者の無再発生存率に及ぼす  
Girdin 発現の影響について 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻  
病態外科学講座 腫瘍外科学分野

(指導：椰野 正人 教授)

西前 香寿

## 【緒言】

2011年にスイスのSt. Gallenで開催された第12回 International breast Cancer Conferenceでは、乳癌の分子生物学的サブタイプ分類の定義とサブタイプに応じた初期治療の指針について新たな合意が形成された。しかし、ホルモン受容体陽性乳癌(Luminal type)のうち、特にHER2陰性のもの(HER2 negative luminal type: 以下HNLТ)に対して化学療法を追加する判断基準は未だ明確化されておらず、リンパ節転移などのリスク因子があれば考慮するとの言及にとどまっている。HNLТにおいて再発リスクが高く化学療法を追加を推奨する患者群と、再発リスクが低くホルモン療法単独で十分な患者群を層別化する簡便なバイオマーカーの出現が望まれる。

我々は細胞の癌化や癌の転移に関連するAktの新規基質として同定されたGirdin(girders of actin filaments)に着目した。Girdinはアクチン線維と結合し、その特性としてアクチン細胞骨格の制御や細胞の運動性への関与等が報告されている。また、複数の悪性腫瘍細胞株や臨床検体においてGirdinの発現が確認されている。

## 【目的】

本研究は浸潤性乳癌組織におけるGirdinの発現状況を明らかにし、HNLТにおいてGirdinが再発リスクの高い患者群を抽出するバイオマーカーとなる可能性について検討した。

## 【対象と方法】

2006年1月から12月に当院で根治手術を行った初発乳癌患者129例中、浸潤性乳癌と病理診断した101例を対象とした。抗ヒトGirdin IgG抗体(IBL社)を用いて免疫染色を行い、Girdinの発現状況と臨床病理学的特徴(年齢、月経状況、術後補助薬物療法または放射線治療の有無、腫瘍径、腋窩リンパ節転移の有無、TNMステージ、核グレード、ホルモンレセプター(ER、PgR)とHER2の発現、Ki-67標識率、サブタイプ)や予後との関連性を検討した。

## 【免疫染色の評価法】

Girdinは乳癌細胞の細胞質と正常乳管の筋上皮に発現し、正常乳管上皮には通常発現を認めないというJiangらの報告に基づき、次のように染色評価法を設定した。癌と同一切片に含まれる正常乳管上皮の染色強度を基準とし、癌浸潤部の細胞質がより濃く染色されている場合に“発現あり”と判定し、その占有率によってScore 0から5の6段階に分類した。Score 0は発現なし、Score 1は発現細胞の占有率が1/100未満、Score 2は1/100以上1/10未満、Score 3は1/10以上1/3未満、Score 4は1/3以上2/3未満、Score 5は2/3以上とし、Score 0~2を陰性、Score 3~5を陽性と判定した(Fig. 1)。

ER、PgRの染色評価にはAllred scoreを用いた。Ki-67標識率はBIOREVO BZ-9000 Generation II顕微鏡(キーエンス社)を用いて算出し、14%以上を高値と判定した。また、

Luminal タイプ乳癌において Ki-67 標識率が 14%未満を Luminal A、14%以上を Luminal B とした。

### 【結果】

浸潤性乳癌患者 101 例の平均年齢は 54 歳、観察期間中央値は 1847±673 日だった。観察期間中に 6 例が死亡した。その他の臨床病理学的特徴を Table 1 に示す。Girdin 発現状況は Score 0 が 32 例、Score 1 が 27 例、Score 2 が 16 例、Score 3 が 14 例、Score 4 が 9 例、Score 5 が 3 例だった。Score 3 以上の 26 例を Girdin 陽性と判定した。Table 2 に Girdin と Ki-67 の発現状況と臨床病理学的特徴との関連性を示した。Girdin 陽性群の 65%に腋窩リンパ節転移を認め、Girdin 陰性群の 29%と比較して腋窩リンパ節転移陽性率が有意に高かった ( $p=0.001$ )。同様に Ki-67 も高値群は低値群と比較して腋窩リンパ節転移陽性率が有意に高かった (47% 対 27%、 $p=0.040$ )。Girdin 発現状況と Ki-67 標識率またはサブタイプ (Table 3) に相関性を認めなかった。

次に Luminal A (42 例) と HER2 陰性 Luminal B (31 例) から構成される HNLТ 患者の生存分析を行った。Girdin 陽性単独では術後無再発生存率に関連性を示さなかった ( $p=0.346$ )。Girdin と Ki-67 を組み合わせた場合、Girdin・Ki-67 共陽性群の無再発 5 年生存率は 57%で、非共陽性群の 92%と比較して有意に低かった ( $p=0.002$ ; Fig. 2A)。31 例の HER2 陰性 Luminal B タイプでは Girdin 陽性群と陰性群を比較して無再発生存率に統計学的有意差を認めないものの、陽性群は無再発生存率が低い傾向にあった ( $p=0.063$ ; Fig. 2B)。

### 【考察】

腋窩リンパ節転移は乳癌の主要な予後規定因子とされている。本研究で Girdin はリンパ節転移と有意に関連し、同じく予後規定因子である Ki-67 よりも強い相関性を示した (Table 2)。

Jiang らは Girdin をノックダウンしたヒト乳癌細胞株 (MDA-MB-231 細胞) をヌードマウス皮下に移植し、肺への転移が有意に抑制されたと述べている。これは Girdin が生体内で転移と何らかの関連があることを示唆しており、臨床検体を用いた本研究で Girdin 陽性群に腋窩リンパ節転移が多かったことを支持する報告と言える。転移に関与するメカニズムはまだ不明だが、Girdin の特性である細胞の運動性が関わっていると推察される。

乳癌症例を用いた過去の研究で Girdin は腋窩リンパ節転移とは相関性を示しておらず、本研究と相違している。これは免疫染色のカットオフ値の違いが一因している可能性がある。過去の研究では Girdin を発現した腫瘍細胞の占有率が 1%以上の場合を陽性としているが、我々は 10%以上を陽性と定義した。そのため Girdin 陽性率を Ling らは 41%、Liu らは 55%と報告しており、本研究の 25%よりも高い割合だった。よって本研究との単純比較は難しいと思われる。また、彼らは Luminal タイプによるサブグループ解析は行っておらず、我々の知る限りで、本研究は HER2 陰性 Luminal タイプに

における Girdin 発現と予後について報告した初めての研究と言える。

本研究は後ろ向き研究、少ない症例数、患者背景が不均一な点で解釈に注意を要する。より厳密に乳癌と Girdin について検討するにはよくデザインされた前向き研究が必要と思われる。

#### **【結語】**

浸潤性乳癌において Girdin と腋窩リンパ節転移に有意な関連性を認めた。HNLТ では Girdin・Ki-67 共陽性群は非共陽性群と比較して無再発生存率が有意に低かった。よって Girdin は Ki-67 を組み合わせることで、HNLТ において再発リスクが高く化学療法追加を推奨する患者群を層別化するバイオマーカーとなる可能性が示唆された。