

原 著

〔東女医大誌 第78巻 第4号〕
〔頁 189~197 平成20年4月〕

腋窩リンパ節転移陽性乳癌における原発巣とリンパ節転移巣の HER2 発現状況についての検討

¹東京女子医科大学医学部第二外科学（主任：亀岡信悟教授）

²東京女子医科大学中央検査部

タケオ サチコ カミオ タカコ アオヤマ ケイ ニシカワ トシオ カメオカ シンゴ
竹尾 幸子¹・神尾 孝子¹・青山 喬¹・西川 俊郎²・亀岡 信悟¹

(受理 平成20年2月13日)

Assessment of HER2 Expression in Primary Lesions and their Metastatic Lymph Nodes in Breast Cancer Patients With Positive Axillary Lymph Nodes

Sachiko TAKEO¹, Takako KAMIO¹, Kei AOYAMA¹,
Toshio NISHIKAWA² and Shingo KAMEOKA¹

¹Department of Surgery II, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine

²Department of Central Clinical Laboratories, Tokyo Women's Medical University

Human epidermal growth factor receptor type 2 (HER2) is a target protein of the gene-targeting drug trastuzumab. Since the prescription of trastuzumab is determined by the HER2 expression in primary tumors, it is essential to corroborate the HER2 expression in primary tumors and their metastatic lesions. Therefore, we compared the HER2 expression in the primary tumors of 107 postoperative cases with that in all 787 corresponding metastatic lymph nodes.

In 74 of 107 cases (69.2%) HER2 scores between primary tumors and metastatic lymph nodes coincided however did not in 33 (30.8%). Maximal HER2 scores of metastatic lesions were lower than those in primary tumors in 13 of 33 cases. Conversely, metastatic lesions showed higher maximal scores than did primary tumors in 11 cases. Moreover, in 16 cases, HER2 scores were not uniform between different metastatic lesions in the same patient.

Primary tumors in 41 of 107 cases (38.3%) were found by heterogeneous staining. In 74 cases, in which HER2 scores were concordant between primary tumors and metastatic lesions, the primary tumors were not uniformly stained in 17 (23.0%). Of the remaining 33 cases, primary tumors were not uniformly stained in 24 (72.7%).

Staining variability in metastatic lesions could have contributed to this heterogeneity of primary tumors. And this heterogeneity is one of the reasons for resistance to trastuzumab therapy.

Key words: HER2, breast cancer, metastatic lymph nodes, trastuzumab

緒 言

Human epidermal growth factor receptor type 2 (HER2)は、ヒト癌遺伝子により産生される膜蛋白質受容体で、乳癌の約30%に過剰発現を認める^{1,2)}。現在最も注目されている抗腫瘍薬トラスツズマブはHER2に対するヒト化モノクローナル抗体であり、主に抗体依存性細胞障害作用と細胞増殖抑制作用により抗腫瘍効果を発揮するとされている^{3,4)}。

このようにトラスツズマブは、HER2の過剰発現を認める腫瘍細胞に対して選択性的抗腫瘍効果が期待される薬剤であるが、その適応は原発巣のHER2発現状況により決定されている^{5,6)}。

このHER2過剰発現の検出法としては、遺伝子増幅と蛋白過剰発現を見る方法がある。前者の代表がfluorescence *in situ* hybridization (FISH)法、後者がimmunohistochemistry (IHC)法で、検査キットと

して Hercep Test, ヒストファイン HER2 などがある。

FISH 法の利点は遺伝子増幅を直接検出することだが、IHC 法に比べ手技が煩雑で時間、コストの面でも劣る。一方 IHC 法は設備を選ばず、簡便で低コストな反面、遺伝子増幅との相関に若干のズレがある。このため一般の施設ではまず IHC 法で 3+ と判定されたものをトラスツズマブ治療の適応ありとし、2+ のものは FISH 法での確認の後、陽性のもののみを適応としているのが現状である。

原発巣切除とリンパ節郭清が標準術式の腋窩リンパ節転移陽性乳癌の場合、トラスツズマブの標的は、遺残リンパ節を含む癌転移巣となる。それにもかかわらず、個々の転移リンパ節の HER2 発現状況についての報告はほとんど見られない。

乳癌術後再発例において、転移巣と切除された原発巣の HER2 発現状況が果たして厳密に一致しているか否かは、トラスツズマブの治療効果を予測する上で極めて重要な問題である。

原発巣とリンパ節転移巣の HER2 発現状況を比較することにより、より正確な転移再発巣の HER2 発現状況を推測することが可能となる。

そこで今回我々は、原発巣切除時既にリンパ節転移を呈していた乳癌手術症例の原発巣およびそれらの全ての転移リンパ節における HER2 発現状況をスコア化し詳細に比較し検討を行った。

対象および方法

1. 対象

対象は平成 12 年 6 月から平成 14 年 11 月までの 2 年 6 カ月間に当科で根治術を施行した原発性乳癌症例 365 例の内リンパ節転移を認めた 107 例であり、それらの原発巣とその転移リンパ節 787 個すべてについて検討を行った。

2. 方法

原発巣およびリンパ節は既存の 20% ホルマリン溶液で固定されていたものを用い、HER2 の染色には DAKO 社の c-erbB-2 oncogene product (HER2/neu) を使用した。これは臨床上使用される Hercep Test (DAKO 社) と同一のものであるため、以降検査結果をハーセプテストと記載する。

原発巣の標本作製に当たって、乳房切除術で得られた標本は脂肪が多く固定が悪くなるためこの対策として、脂肪組織に 20% ホルマリン液を注射器で注入した後、48~72 時間 20% ホルマリン溶液に漬け固定した。乳房温存術の場合はそのまま 24~48 時間

20% ホルマリン溶液に漬け固定し、リンパ節標本は、各々の原発巣に合わせ 24~72 時間 20% ホルマリン溶液に漬け固定した。原発巣とリンパ節の固定ホルマリン濃度および固定時間は一致させた。固定後パラフィン包埋した原発巣とリンパ節を同時に切り出し HER2 染色を行った。

HER2 発現の有無は、トラスツズマブ病理部会作成の HER-2 検査ガイド⁷⁾の判定基準に従いスコア 0~3+ のカテゴリーに分類し評価を行った。

すなわち、スコア 0 は細胞膜に陽性染色なし、あるいは陽性染色のある癌細胞が 10% 未満のもの、スコア 1+ はほとんど識別できないほどかすかな細胞膜の染色がある癌細胞が 10% 以上を占め、細胞膜は部分的にのみ染色されているもの。スコア 2+ は、弱~中程度の完全な細胞膜の陽性染色がある癌細胞が 10% 以上を占めるもの、スコア 3+ は強い完全な細胞膜の陽性染色がある癌細胞が 10% 以上を占めるものとし、スコア 0 と 1+ はハーセプテスト陰性、スコア 2+ と 3+ は陽性と定義した。

トラスツズマブ病理部会によれば、ハーセプテストに使用する検体は通常 10% ホルマリン固定されたものが望ましいとされているが、今回の検討に当たり、あらかじめ 20 症例について同一原発巣から 10% と 20% ホルマリン固定標本を作製、両者の染色性を比較し、全例においてスコアの一致を確認、10% ホルマリン固定標本と 20% ホルマリン固定標本とではスコアに差は出ないことを確認した。

原発巣のスコアは、染色性に不均一を認めた場合も、HER-2 検査ガイドに従い単一のスコアに決定した。この不均一とは、プレパラート上にある腫瘍部分の内、一ヵ所でも異なる染色性を示す部分を認めた場合を指し、その占有面積は問わない。

転移リンパ節巣に関しては、転移巣(コロニー)一つ一つの染色性の違いに着目し、転移リンパ節上にあるすべての転移巣のスコアと、原発巣のスコアが一致した症例のみを一致例とし、一致率を求めた。すなわち、一つの転移リンパ節内に複数の異なる染色性(異なるスコア)を示す転移巣を認めた症例、同一症例中でスコアの異なる転移リンパ節が存在した症例、およびすべての転移リンパ節巣のスコアが同一でも原発巣のスコアと異なる症例を不一致例とした。この場合で言う転移巣とは、微小転移の定義である直径 0.2mm を超えるものとした。

また、一つのリンパ節内に複数の異なる染色性を示す転移巣が存在する場合は個々の転移巣について

表1 原発巣のHER2スコアの内訳

原発巣スコア	症例数
0	67例(62.6%)
1+	21例(19.6%)
2+	6例(5.6%)
3+	13例(12.1%)
計	107例(100%)

表3 原発巣とリンパ節転移巣スコア不一致例33例における原発巣スコアと最大転移リンパ節スコアの対比

原発巣スコア	最大転移リンパ節スコア			
	0	1+	2+	3+
0 (n = 10)		5 **	4 **	1 **
1+ (n = 14)	7 *	6	1 **	
2+ (n = 4)	2 *	2 *		
3+ (n = 5)	1 *	1 *	3	

*原発巣スコア>最大転移リンパ節スコア。

**原発巣スコア<最大転移リンパ節スコア。

スコア化し、その中の最大スコアをそのリンパ節のスコアとして原発巣のスコアと比較し検討した。

更に同一症例中でスコアの異なるリンパ節が存在する場合にはこれらをすべて併記し、原発巣のスコアと比較し検討した。

また、症例ごとに転移リンパ節上の個々の転移巣についてもスコア化し、検討を加えた。

結 果

1. 原発巣 HER2 スコアの内訳

107例の原発巣のHER2スコアの内訳は、0が67例(62.6%)、1+が21例(19.6%)、2+が6例(5.6%)、3+が13例(12.1%)であった(表1)。HER2の陽性率(スコア2+と3+の合計)は19例(17.7%)であった。

2. 一致率

原発巣とリンパ節転移巣のHER2スコアを対比すると、完全に一致した症例は74例あり、全体での一致率は107例中74例(69.2%)であった。これを原発巣のスコア別に見てみると、スコア0では85.1%、1+と2+は各々33.3%、3+は61.5%であった(表2)。

3. 不一致例

107例中33例(30.8%)で、原発巣とリンパ節転移巣のHER2スコアに不一致が認められた。

表2 原発巣とリンパ節転移巣のHER2スコアの一一致率

原発巣スコア	リンパ節転移巣スコアとの一致率		
	一致例	不一致例	一致率
0 (n = 67)	57	10	85.1%
1+ (n = 21)	7	14	33.3%
2+ (n = 6)	2	4	33.3%
3+ (n = 13)	8	5	61.5%
計 (n = 107)	74	33	69.2%

1) 不一致例における原発巣スコアと最大転移リンパ節スコアの対比

不一致例33例における原発巣と最大転移リンパ節スコアの対比を表3に示す。

原発巣のスコアより転移リンパ節の最大スコアが高い症例は、33例中13例(39.4%)で、原発巣スコア1+が14例中7例、2+が4例中4例、3+が5例中2例であった。内7例が1+から0への低下であり、2例が2+から0への低下(図1)、2+から1+への低下が各々2例、3+から1+への低下と2+への低下をそれぞれ1例ずつ認めた。

また、33例中11例(33.3%)で、転移リンパ節の最大スコアが原発巣のスコアを上回った。

スコアが上昇した11例の内5例が0から1+への上昇(図2)、4例が0から2+への上昇、他0から3+への上昇(図3)、1+から2+への上昇を各1例ずつ認めた。

原発巣と最大転移リンパ節スコアが一致する症例は、1+の6例と3+の3例で認められた。

2) 不一致例における原発巣スコアと転移リンパ節スコアの対比

不一致例における転移リンパ節スコアの詳細を示す(表4)。

33例中17例は転移リンパ節間でのスコア不一致は認めなかった。この17例の内15例は原発巣スコアと一致しなかった。残り2例は原発巣と転移リンパ節スコアが一致していたが、一つのリンパ節内に複数の異なるスコアを示す転移巣を認めたため不一致例となった症例であった。33例中16例(48.5%)においては同一症例の転移リンパ節間でのスコア不一致を認めた。この16例の内訳は、1+ & 0が10例(図4)、2+ & 1+が3例、2+ & 1+ & 0、2+ & 0と3+ & 0が各1例ずつであった(表5)。図4の症例では、原発巣の主要部分ではほとんど染色性が認められなかったが、脈管浸潤部で1+の染色性を認め、リンパ節転移巣では0と1+の両方を認めた。

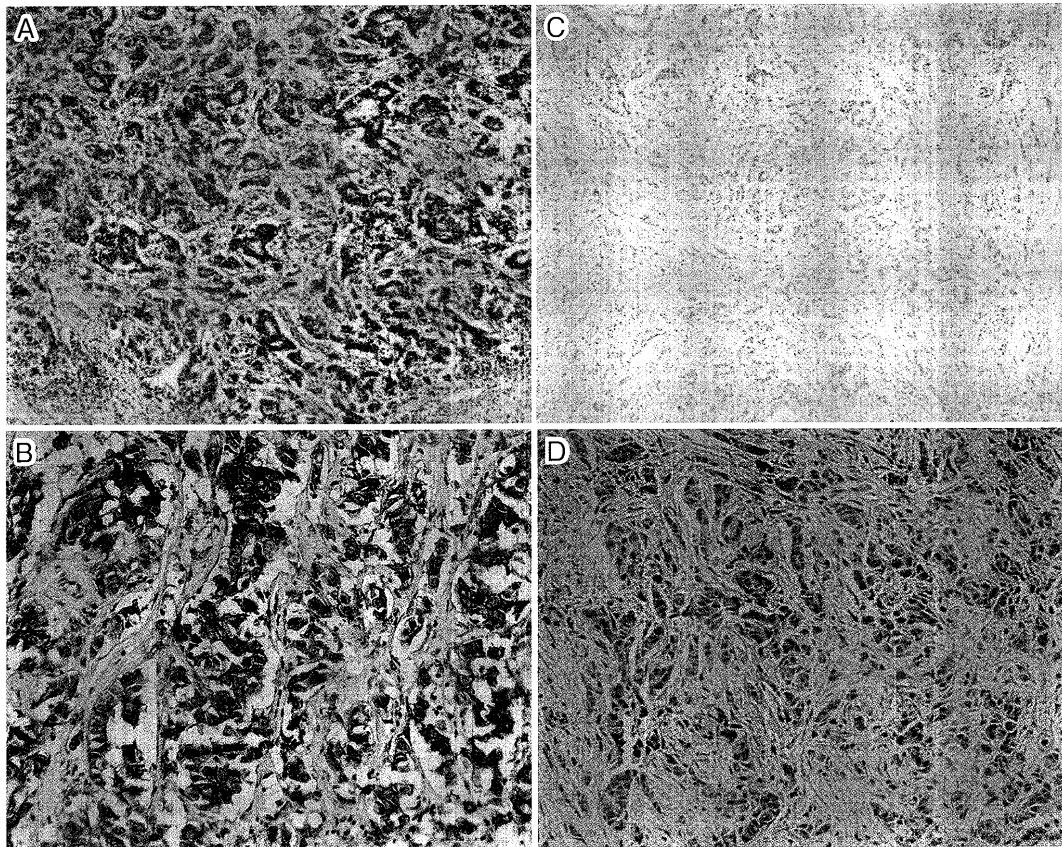


図1 原発巣スコア2+からリンパ節転移巣スコア0に低下した症例

A:原発巣×40スコア2+, B:原発巣×100スコア2+, C:リンパ節転移巣×40スコア0, D:リンパ節転移巣×100スコア0.

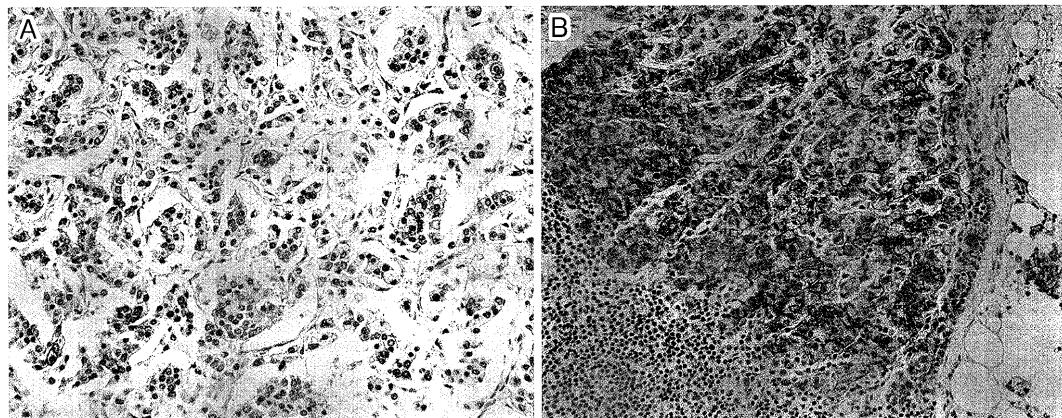


図2 原発巣スコア0からリンパ節転移巣スコア1+に上昇した症例

A:原発巣×100スコア0, B:転移巣×100スコア1+.

またリンパ節間でスコアは異なるが、原発巣と転移リンパ節の最大スコアは一致した症例を、16例中7例認めた。

3) 不一致例における原発巣スコアとリンパ節転移巣スコアの内訳

同一リンパ節内でスコアの異なる転移巣が混在す

る症例が33例中8例(24.2%), 11個のリンパ節で認められた(表6)。表中症例29では、原発巣のスコアは3+であったが、転移リンパ節のうち1個は、同一リンパ節内に複数の転移巣を認め、それぞれが0, 1+, 2+, 3+の染色性を示した(図5)。

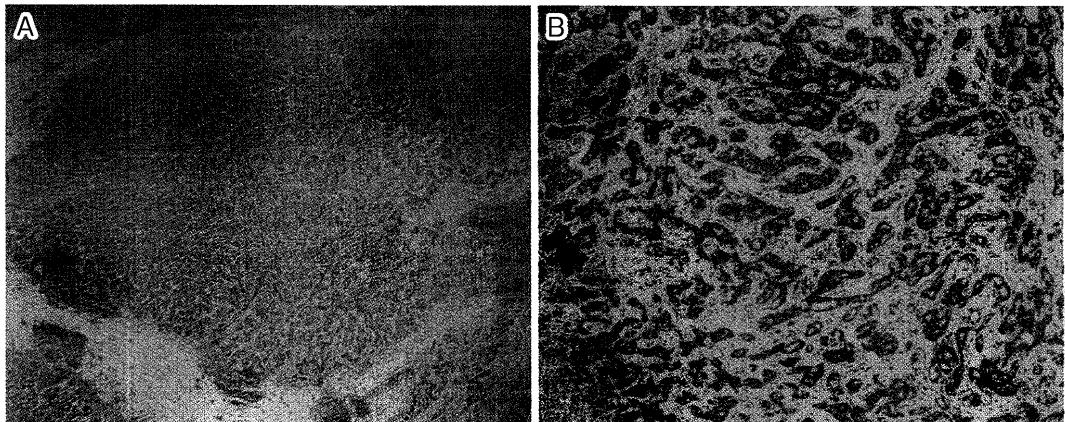


図3 原発巣の大部分を0が占めたため、原発巣スコアは0としたが、リンパ節転移巣のスコアは3+の症例

A:原発巣 ×40 スコア0, B:転移巣 ×100 スコア3+.

表4 原発巣とリンパ節転移巣スコア不一致例33例における原発巣と転移リンパ節のスコア対比

原発巣スコア	転移リンパ節スコア								
	0	1 + & 0	1 +	2 + & 1 + & 0	2 + & 1 +	2 + & 0	2 +	3 + & 0	3 +
0 (n = 10)		3 *	2	1 *	1 *	1 *	1		1
1 + (n = 14)	7	6 *			1 *				
2 + (n = 4)	2	1 *	1						
3 + (n = 5)		1			1 *		1 *	2 **	

*転移リンパ節間でのスコア不一致例。

**一つのリンパ節内に複数の異なるスコアを示した転移巣を認めたため不一致例となった症例。

表5 転移リンパ節間 HER2 スコア不一致16例の原発巣スコアとの対比

原発巣スコア	転移リンパ節スコア				
	1 + & 0	2 + & 1 + & 0	2 + & 1 +	2 + & 0	3 + & 0
0 (n = 6)	3	1	1	1	
1 + (n = 7)	6 *		1		
2 + (n = 1)	1				
3 + (n = 2)			1		1 *

*リンパ節間でスコアは異なるが、原発巣と転移リンパ節の最大スコアは一致した症例。

4. 原発巣とリンパ節転移巣のHER2スコア一致性と原発巣の染色均一性との対比

107例中41例(38.3%)に原発巣のHER2染色性の不均一を認めた(表7)。

原発巣の染色性の均一不均一と原発巣のHER2スコアとリンパ節転移巣のHER2スコアの一一致率を対比すると、一致例では不均一症例は74例中17例(23.0%)なのに対し、不一致例では不均一症例は33例中24例(72.7%)であった。

これを2×2クロス集計表の検定にかけると、観測度数と期待度数のずれは23.93となり、有意水準0.1%点を超える有意差を認めた。

考 察

原発巣に染色性の不均一が存在する場合、転移を起こすのはHER2陽性細胞だけとは限らず、実際リンパ節転移巣では種々のパターンの不一致を生じている(図6)。

これまで乳癌原発巣と転移巣のハーセプテストスコアの一一致率は90%以上^{8)~11)}とされてきたが、個々のリンパ節転移巣について言及した報告は見られない。

個々の転移リンパ節についてHER2染色性を比較した時、原発巣とリンパ節転移巣のハーセプテストスコアの一一致率は69.2%とかなり低く、一致例では原発巣の不均一率が23.0%なのに対して、不一致

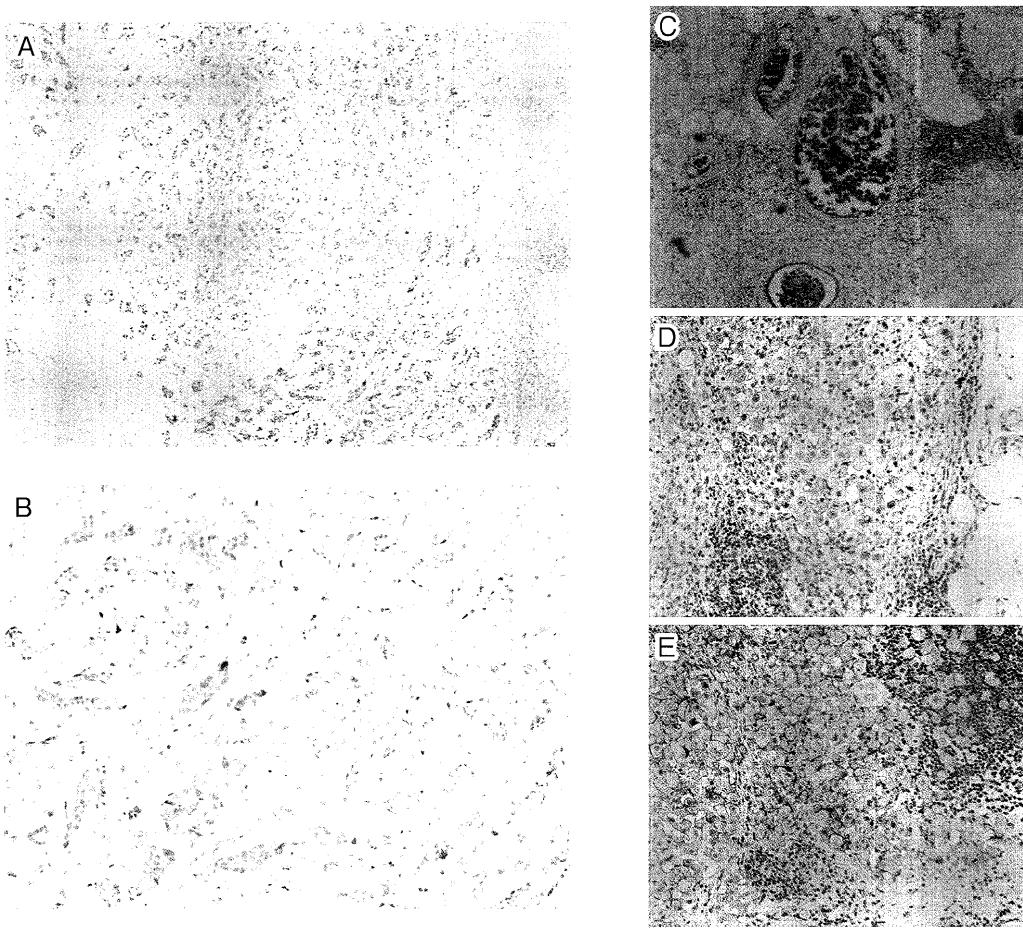


図4 原発巣の主要部分ではほとんど染色性が認められなかったが、脈管浸潤部で1+の染色性を認め、転移リンパ節では0と1+両方が認められた症例

A:原発巣×40スコア0, B:原発巣×100スコア0, C:原発巣脈管浸潤部×40スコア1+, D:リンパ節転移巣×100スコア0, E:リンパ節転移巣×100スコア1+.

例では72.7%と高く、不一致の原因の一つとして、原発巣自体のHER2染色性の不均一性の関与が考えられた。

乳癌原発巣では病理組織型分類上組織型の不均一を認めるのと同様に、HER2染色性にもしばしば不均一を認める。

現在原発巣に対するハーセプテストのスコア化には、一番強く染色された部分が全体の10%を超えていれば、たとえそれよりも低いスコアが90%近くを占めていたとしても、スコアは高い方に決定するという判定基準があり、染色性に不均一が認められた場合でもこれに従って单一のスコアに統一し決定することができる。

原発巣と異なり、転移巣では転移した細胞が比較的短期間に内にクローニングされるため、同一コロニー内でのHER2染色性の不均一はほとんど見られない。ところが別のコロニーでは異なる染色性を

示すことが稀ではなく、同一症例の別々の転移リンパ節上はもとより、同一リンパ節上でさえコロニーが異なれば、その染色性はしばしば異なる。この場合コロニーの大きさに従ってスコアを決定することはできないと判断し、今回の検討では、リンパ節転移巣のスコア化に原発巣の判定基準は用いず、トータルとしてのスコアの決定を避け、各々のスコアを併記するという形を取った。従来の報告よりも一致率が低値を示したのには、このような背景もあると考えられる。

ここで注目すべきは、HER2陰性細胞も陽性細胞と同様に転移しているという点と、原発巣スコアでは陽性細胞が10%を超えるハーセプテスト陰性と判定された症例でも、陽性細胞が転移しているという点である。

今回の結果は、原発巣スコア0と1+症例の内ハーセプテスト3+の転移リンパ節を認めたのは88

表6 原発巣とリンパ節転移巣スコア不一致例33例におけるリンパ節転移巣スコアの内訳

症例	原発巣スコア	転移リンパ節数	リンパ節転移巣スコア						
			0	1 + & 0	1 +	2 + & 1 + & 0	2 +	3 + & 2 + & 1 + & 0	3 +
1 *	0	19	16	1 **	1	1 **			
2 *	0	1				1 **			
3	0	3			3				
4	0	27	13		14				
5	0	1			1				
6	0	4			1		3		
7	0	5	4		1				
8	0	6	1				5		
9	0	1							1
10 *	0	8	2	1 **	5				
11 *	1 +	22	13	1 **	8				
12	1 +	2	1		1				
13 *	1 +	6	3	3 **					
14	1 +	1	1						
15	1 +	1	1						
16	1 +	5	3		2				
17	1 +	1	1						
18	1 +	12			11		1		
19	1 +	6	5		1				
20	1 +	1	1						
21	1 +	30	30						
22	1 +	2	2						
23	1 +	3	2		1				
24	1 +	1	1						
25	2 +	2	2						
26	2 +	1	1						
27	2 +	2	1		1				
28	2 +	1			1				
29 *	3 +	23					1 **		22
30	3 +	7			5		2		
31 *	3 +	1		1 **					
32	3 +	3	1						2
33 *	3 +	10					1 **		9

*同一リンパ節内にスコアの異なる転移巣が混在する症例。

**同一リンパ節内にスコアの異なる転移巣が混在するリンパ節。

例中1例(1.1%)のみであり、0と1+を陰性、3+を陽性とし、2+の場合はFISH法で確認し適応を決めるという現行法を否定するものではないが、原発巣スコア3+症例の内ハーセプテスト0ないし1+の転移リンパ節を認めた症例が13例中5例(38.5%)もあり、最近言われているトラスツズマブ抵抗性の原因の一端を担っていると考えられた。特に図5で示したような症例では、原発巣のハーセプテストスコアが3+でも、一部のHER2陰性細胞が生き残り、後々トラスツズマブ抵抗性を示していく可能性も示唆された。このトラスツズマブに対する耐性の機序に関しては、基礎研究でも様々なものが発表されているが^{12)~15)}、今回の結果からは、原発巣の性状を考慮する必要性についても考えさせられた。

また原発巣にHER2染色性不均一を認める症例

では、ハーセプテストスコアが低くても、トラスツズマブの治療効果が期待できる症例の存在が示唆された。

現在トラスツズマブの適応の決定に当たっては、ハーセプテストで判定困難な場合はFISH法での判定を優先させているが、ハーセプテストとFISH法で大きく異なる点は、ハーセプテストには病理医の主觀が入ることと、FISH法では染色性のムラが反映されないということであろう。

今後FISH法が一般的になれば、転移巣のスコアにバラつきを持つ症例が完全に無視されることとなる。

今後更に原発巣とリンパ節転移巣のHER2スコア一致例不一致例におけるトラスツズマブ使用後の臨床経過の比較、ハーセプテストとFISH法との陰

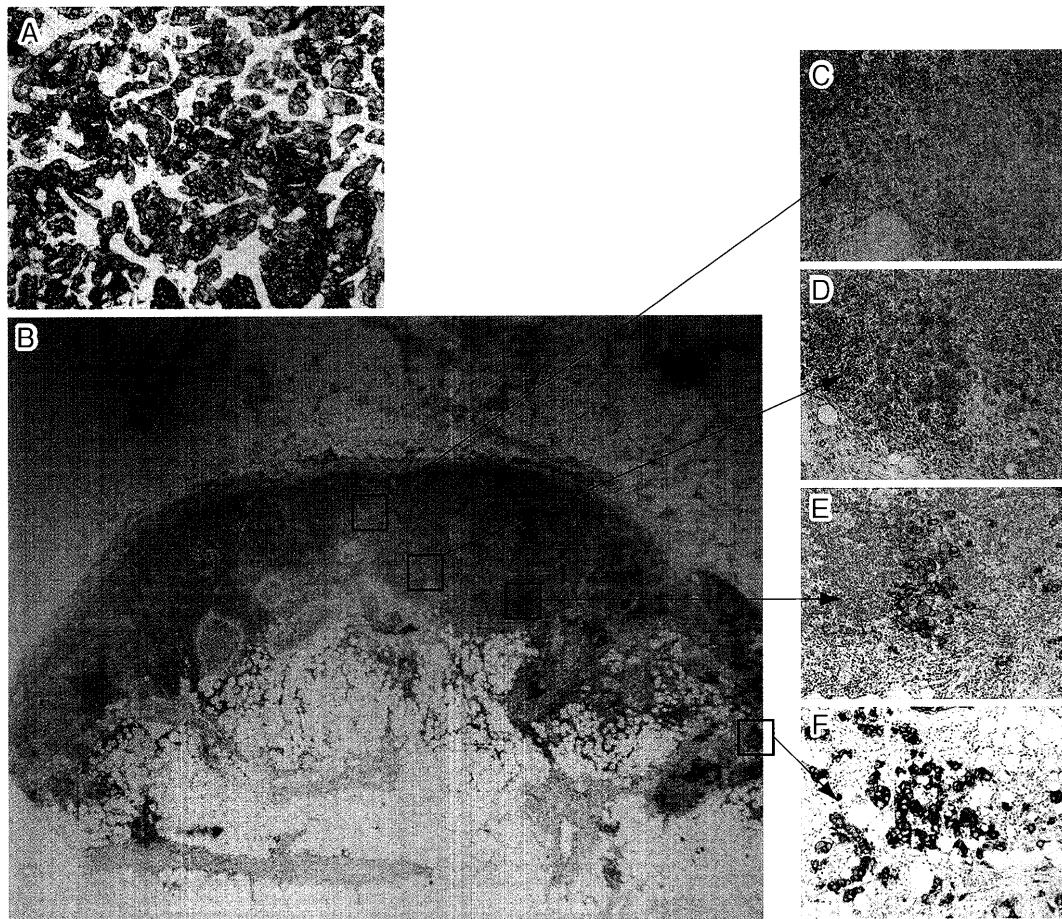


図5 一つの転移リンパ節にスコアの異なる転移巣が存在した症例

A:原発巣×40スコア3+, B:転移リンパ節×1, C:リンパ節転移巣×100スコア0, D:リンパ節転移巣×100スコア1+, E:リンパ節転移巣×100スコア2+, F:リンパ節転移巣×100スコア3+.

表7 原発巣とリンパ節転移巣のHER2スコア一致性和原発巣の染色均一性との対比

原発巣とリンパ節転移巣 HER2 スコア	原発巣の染色性	
	均一	不均一
一致例 (n = 74)	57 (77.0%)	17 (23.0%)
不一致例 (n = 33)	9 (27.3%)	24 (72.7%)
全体 (n = 107)	66 (61.7%)	41 (38.3%)

性陽性判定の比較、どちらの結果がより正しく臨床経過を反映しているかといった比較検討が必要と思われる。

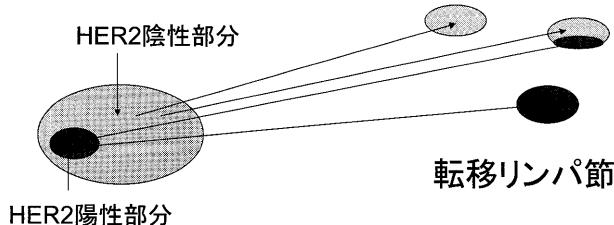
結論

トラスツズマブの適応を決定する原発巣のHER2染色性と転移巣の染色性が一致しているか否かを確認することは、トラスツズマブの効果を期待する上で非常に重要である。

今回我々は、原発巣切除時既にリンパ節転移を認

めた107例の原発巣と全てのリンパ節転移巣に対しHER2染色を行い、そのスコアを比較したところ、30.8%の不一致を認め、不一致の一因として原発巣内の染色性の不均一が考えられた。

スコアの不一致は同一症例中のリンパ節転移巣間にも認められ、トラスツズマブ抵抗性の一因と考えられた。このためトラスツズマブの効果を期待するとき、原発巣のスコアだけでなく、不均一性も考慮に入れる必要があると考えられた。



原発巣

図6 HER2陽性細胞、陰性細胞のリンパ節転移巣における転移パターン

稿を終えるにあたり、ご指導頂きました病理学(第一)小林横雄教授、ならびに膨大な量のHER2染色標本を作製して下さった病院病理科技師の皆様に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 大内憲明, 八重樫定則, 田枝督教ほか: 痢遺伝子と乳癌. 外科診療 **1**: 3-6, 1993
- 2) 黒住昌史, 松井武寿, 小林康人: 乳癌のHER-2免疫組織化学的検査法ハーセプテスト. 臨検 **47**: 220-223, 2003
- 3) 紅林淳一: 乳癌の分子標的治療. Sur Fronti **13**: 20-26, 2006
- 4) 坂東裕子, 戸井雅和: 乳癌に対するtrastuzumab治療. 医のあゆみ **219**: 82-88, 2006
- 5) 梅村しのぶ, 長村義之: 改訂 HER2検査ガイドイン. 血腫瘍 **46**: 277-281, 2003
- 6) 梅村しのぶ, 長村義之: ER, PgR, HER2の病理診断組織化学的判定について. 乳癌の臨 **18**: 412-418, 2003
- 7) HER-2検査ガイド: 「HER2アトラス」, トランツマップ病理部会 (2001)
- 8) Cardoso F, Di Leo A, Larsimont D et al: Evaluation of HER2, p53, bcl-2, topoisomerase II- α , heat shock proteins 27 and 70 in primary breast cancer and metastatic ipsilateral axillary lymph nodes. Ann Oncol **12**: 615-620, 2001
- 9) Simon R, Nocito A, Hübscher T et al: Patterns of HER-2/neu amplification and over expression in primary and metastatic breast cancer. J Natl Cancer Inst **93**: 1141-1146, 2001
- 10) 木下智樹, 京田茂也, 柏木秀幸ほか: 乳癌剖検例に見る転移巣におけるHER-2蛋白の発現. 乳癌の臨 **19**: 276-280, 2004
- 11) 関戸康友, 梅村しのぶ, 長村義之: 乳癌の原発/再発巣におけるHER2過剰発現及びp53発現の差異についての検討. 乳癌の臨 **17**: 592-593, 2002
- 12) Smith BL, Chin D, Maltzman W et al: The efficacy of Herceptin therapies is influenced by the expression of other erbB receptors, their ligands and the activation of downstream signalling proteins. Br J Cancer **91**: 1190-1194, 2004
- 13) Nagata Y, Lan KH, Zhou X et al: PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. Cancer Cell **6**: 117-127, 2004
- 14) Nahta R, Takahashi T, Ueno NT et al: P27^{kip1} down-regulation is associated with trastuzumab resistance in breast cancer cells. Cancer Res **64**: 3981-3986, 2004
- 15) Stephens P, Hunter C, Bignell G et al: Intronogenic ERBB2 kinase mutations in tumours. Nature **431**: 525-526, 2004