

論文要旨

Area of Nodal Metastasis and Radioisotope Uptake in Sentinel Nodes of Upper Gastrointestinal Cancer

上部消化器癌のセンチネルリンパ節における転移面積と
RI 取り込みとの関係

有馬 豪男

【目的】

Sentinel Node (SN) Concept は、1992 年に Morton D.L. が提唱した概念であり、“腫瘍から最初にリンパ流を受けるリンパ節 (SN) が存在し、癌の微小転移はまずこのリンパ節より生じる”という仮説である。現在、乳癌やメラノーマで Sentinel Node Navigation Surgery (SNNS) の臨床応用が行われており、乳癌では腋窩リンパ節郭清の省略は標準的術式となっている。一方、消化器癌では色素や Radioisotope (RI) を用いた SNNS の臨床応用の有用性が検討され始めている。臨床応用のためには術前診断に基づく適応の選択と術前および術中の正確なリンパ節転移診断が重要である。しかし、リンパ節の大部分が転移に置換されている場合、RI の取り込みがないために SN が同定できず、偽陰性となる症例を認めた。今回、SNNS を施行した食道癌と胃癌症例でリンパ節転移を認めた症例を対象として、上記の臨床的問題点を明らかにするためにリンパ節の転移面積と RI の取り込みの関係を検討した。

【対象と方法】

臨床研究倫理委員会の承認後、インフォームド・コンセントの得られた 2000 年 8 月から 2005 年 1 月までの切除例は食道癌 79 例、胃癌 195 例であった。転移個数の少ない症例が SNNS の適応となることから、転移個数が 3 個以内である食道癌 19 例と胃癌 24 例を本研究の対象とした。

手術前日に ^{99m}Tc -Tin コロイドを内視鏡下に腫瘍周囲の粘膜下層 4 カ所へ 0.5ml ずつ注入を行った。手術中は GPS Navigator により SN の検索を行い、カウントが測定可能なリンパ節を SN として同定した。術後は全ての摘出リンパ節をマッピング後、再度 RI の測定を行った。組織学的転移診断は Hematoxylin-Eosin (HE) 染色により行った。

リンパ節における腫瘍占拠率の解析は NCC Volumetrer (version 2.03) の画像解析ソフトを用いた。RI カウントを認めない群 ; RI(-) と、認める群 ; RI(+) に分類して腫瘍占拠率との関係を検討した。有意差検定は Mann-Whitney の t 検定で行い、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

【結果】

- 1) 食道癌における転移陽性例は 19 例、胃癌では 24 例であった。そのうちSNに 1 個以上転移を認めた症例は食道癌で 14 例、胃癌で 21 例であった。食道癌の 1 例はSNを同定できず、残る 7 例(食道癌 4 例、胃癌 3 例)ではSNに転移が認められなかった。
- 2) 食道癌症例で RI(-)群の腫瘍占拠率は $76.9 \pm 9.7\%$ 、RI(+)の腫瘍占拠率は $25.9 \pm 26.2\%$ であり、両群間に有意差を認めた($p=0.0006$)。胃癌症例でも同様に RI(-)群の腫瘍占拠率は $53.9 \pm 28.2\%$ 、RI(+)の腫瘍占拠率は $7.8 \pm 12.2\%$ と有意に RI(-)群で占拠率が高かった($p<0.0001$)。
食道癌と胃癌の全例における RI(-)群と RI(+)群の腫瘍占拠率は各々 $67.9 \pm 20.8\%$ と $15.1 \pm 20.8\%$ であり、両群間に有意差を認めた($p<0.0001$)。
- 3) 偽陰性例は 8 例であったが、全例で腫瘍占拠率は 60%以上であった。しかし、これらの 8 例は術前に転移陽性と診断されていた。
- 4) リンパ節における腫瘍占拠率と RI カウントとの関係を解析した結果、腫瘍占拠率が高い程 RI カウントは低く、腫瘍占拠率が低い程 RI カウントは高い傾向にあったが、有意差は認められなかった($p=0.083$)。

【考察】

消化器癌で SNNS を遂行する場合には次のような問題点がある。1) RI コロイドの粒子径、2) RI コロイドの移行性、3)リンパ節内での滞留性である。われわれはこれらの問題を検証してきた。さらにリンパ節の大部分が転移に置換されている場合、SN が同定できず偽陰性となる症例があった。これまでにリンパ節の転移面積と Radioisotope (RI) 取り込みとの関係を検討した報告はなされていない。この問題を解決するために SNNS を行った食道癌および胃癌で転移を認めた症例を、RI(-)と RI(+)の 2 群に分類し、リンパ節の転移面積と Radioisotope (RI) 取り込みとの関係を検討した。その結果、偽陰性症例におけるリンパ節転移面積はすべて 60%以上で明らかな転移リンパ節であり、今回の検討では術前に転移と診断されていた。したがって、転移面積が広範なリンパ節では術前および術中の正確なリンパ節転移診断が必須である。SNNS を臨床応用するためには術前にリンパ節転移陰性と診断された症例が適応となると考えられた。SNに転移を認めた場合には標準的なリンパ節郭清が必要である。以上の知見より早期食道癌や胃癌における SNNS は臨床応用可能である。SNNSによりリンパ節郭清の縮小や個別化のもとに低侵襲手術に有用と考えられた。

論文審査の要旨

報告番号	医研第644号	氏名	有馬豪男
審査委員	主査	中條政敬	
	副査	米澤傑	金蔵拓郎

Area of nodal metastasis and radioisotope uptake in sentinel nodes of upper gastrointestinal cancer

(上部消化器癌のセンチネルリンパ節における転移面積とRI取り込みとの関係)

Sentinel node (SN) conceptは“腫瘍から最初にリンパ流を受けるリンパ節 (SN) が存在し、癌の微小転移はまずこのリンパ節より生じる”という仮説である。消化器癌では色素やradioisotope (RI)を用いたSN navigation surgery(SNNS)の臨床応用が検討され始めている。リンパ節の大部分が転移に置換されている場合、RIの取り込みがないためにSNが同定できず、偽陰性となる症例を認める。本研究は、SNNSを施行した食道癌と胃癌症例でリンパ節転移を認めた症例を対象として、上記の臨床的問題点を明らかにするためにリンパ節の転移面積とRIの取り込みとの関係を検討している。

【対象と方法】

転移個数が3個以内である食道癌19例と胃癌24例を本研究の対象とした。手術前日に^{99m}Tc-Technetium Tin コロイドを内視鏡下に腫瘍周囲の粘膜下層に注入した。手術中はRI集積が測定可能なリンパ節をSNとして同定した。リンパ節における腫瘍占拠率の解析は NCC Volumetrer (version 2.03)の画像解析ソフトを用いた。RI集積を認めない群;RI(-)と、認める群;RI(+))に分類して腫瘍占拠率との関係を検討した。有意差検定はMann-Whitneyのt検定で行い、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

【結果】

- 食道癌における転移陽性例は19例、胃癌では24例であった。そのうちSNに1個以上転移を認めた症例は食道癌で14例、胃癌で21例であった。食道癌の1例はSNを同定できず、残る7例(食道癌4例、胃癌3例)ではSNに転移が認められなかった。
- 食道癌症例でRI(-)群の腫瘍占拠率は $76.9 \pm 9.7\%$ 、RI(+))の腫瘍占拠率は $25.9 \pm 26.2\%$ であり、両群間に有意差を認めた($p=0.0006$)。胃癌症例でも同様にRI(-)群の腫瘍占拠率は $53.9 \pm 28.2\%$ 、RI(+))の腫瘍占拠率は $7.8 \pm 12.2\%$ と有意にRI(-)群で占拠率が高かった($p < 0.0001$)。食道癌と胃癌の全例におけるRI(-)群とRI(+))群の腫瘍占拠率は各々 $67.9 \pm 20.8\%$ と $15.1 \pm 20.8\%$ であり、両群間に有意差を認めた($p < 0.0001$)。
- 偽陰性例は8例であったが、全例で腫瘍占拠率は60%以上であった。しかし、これらの8例は術前に転移陽性と診断されていた。
- リンパ節における転移面積とRIカウントとの関係を解析した結果、転移面積が大きい程RIカウントは低く、転移面積が小さい程RIカウントは高い傾向にあった($p = 0.083$)。

【考察】

消化器癌でSNNSを遂行する場合には次のような問題点がある。1) RI colloidの粒子径、2) RI colloidのリンパ管への移行性、3)リンパ節内での滞留性であり、学位申請者らはこれらの問題を検証してきた。さらに、偽陰性の原因として、リンパ節の大部分が転移に置換されている場合が考えられる。この問題を解決するために、SNNSを行った食道癌および胃癌で転移を認めた症例をRI(-)とRI(+))の2群に分類し、リンパ節の転移面積とRI取り込みとの関係を検討した。その結果、偽陰性症例におけるリンパ節転移面積は、すべて60%以上の明らかな転移リンパ節であり、今回の検討では術前に転移と診断されていた。したがって、転移面積が広範なリンパ節では術前および術中の正確なリンパ節転移診断が必須である。SNNSを臨床応用するためには術前にリンパ節転移陰性と診断された症例が適応となると考えられた。SNに転移を認めた場合には標準的なリンパ節郭清が必要である。以上の知見より早期食道癌や早期胃癌におけるSNNSは臨床応用可能である。SNNSはリンパ節郭清の縮小や個別化による低侵襲手術を可能とし、上部消化器癌においても有用と考えられた。

これまでに上部消化管癌のSNにおける転移面積とRI取り込みとの関係に関する報告はなく、極めて興味深い研究である。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

最終試験の結果の要旨

報告番号	医研第644号	氏名	有馬豪男
審査委員	主査	中條政敬	
	副査	米澤傑	金蔵拓郎

主査および副査の3名は、平成19年1月15日、学位請求者 有馬豪男 氏に面接し、学位請求論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下の様な質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

- ① 胃癌はadenocarcinoma、食道癌はsquamous cell carcinomaであるが、それぞれの組織型に関らずリンパ節転移の部位にRIは流入しないのか？
答) Autoradiographyを用いて確認を行ったが、組織型に関わらずリンパ節内の転移部位にRIの流入は認められず、リンパ節構築が保たれた転移のない正常部分に集積していた。
- ② 胃癌の偽陰性症例の割合は低かったのか？
答) 対象を、胃癌ではcT1N0、食道癌ではcT1とした。食道癌もcT1N0に限ると偽陰性率はほぼ同程度であり、とくに胃癌の偽陰性率が低いとはいえない。
- ③ リンパ節転移面積が60%だと正常部が40%は残っているはずだが、それでもRIは流入しないのか？
答) 今回の研究では、転移面積が60%以上の症例中2例でRIカウントを認めたが、それ以外の症例ではすべてカウントを認めなかったため、今回の結果からは60%以上の転移では流入しないと考えられた。粒子径が関与していると考えられ、小さい粒子径のトレーサーを用いればRIカウントは測定されると考えられる。
- ④ RIが流入しない原因は、輸入リンパ管に転移があつてせき止められて流入できないのか、それとも40%程度の面積では測定が出来ないのか、どちらか？
答) 一般的には癌の転移形成過程として、輸入リンパ管から流入して辺縁洞から転移が形成されると考えらる。転移面積が大きくなると輸入リンパ管がせき止められ、リンパ流が遮断されるためにRIも流入できないと考えられる。もう一つの要因としては上述の粒子径が関与すると考えられる。
- ⑤ リンパ節内のcolloidはマクロファージや組織球に貪食されるのか、それともしみ込んでいただけなのか？
答) 原発巣周囲に注入されたRIがリンパ節内へ流入するまでは受動輸送によるものと考えられる。これは以前の色素を使用した研究で確認している。リンパ節内に取り込まれた後は、colloidの特性で凝集するためリンパ節内に集積し、おそらく数日以上経過するとマクロファージに貪食されると考えられる。この現象は以前マイクロスフェアを用いた実験で確認している。
- ⑥ 対象をリンパ節転移3個以下の症例にしたのはなぜか？
答) 食道癌・胃癌における同定リンパ節個数が約2.5～5個であり平均約3個という結果から、SNを反映するのはリンパ節転移3個以下の症例と判断し対象とした。
- ⑦ Table 2のタイトル“Cases without lymph node metastasis in sentinel nodes”の解釈は？ Table 2での論旨は？
答) Table 2は、食道癌・胃癌においてRIの集積を認めたSNに転移を認めなかった偽陰性8例に対する検討である。つまりこれら8例は、SNは同定できたがそれらのSNには転移は認めず、SN以外のリンパ節に転移を認めた症例である。SN以外の転移リンパ節は、1例を除いてすべて転移面積が60%以上であった。したがって転移面積の大きい、特に転移面積が60%以上あるリンパ節はSNとして同定されず、偽陰性症例になることが考えらる。
- ⑧ ^{99m}Tc-Tin colloidが大きくなるのはどのような機序によるものか？
答) ColloidのサイズはpHに依存するもので、クロールやカルシウムイオンと反応して増大するものと考えられる。
- ⑨ 粒子径は100nmと非常に小さなcolloidだが、本当にリンパ節内にせき止められて流出しないのか？
答) 注入の際は100nmだが、徐々に増大し1000～1200nm程度まで大きくなり、さらにリンパ節内で凝集することによりリンパ節内に留まり、流出しないものと考えられる。
- ⑩ Colloidはリンパ節内のどこに留まっているのか？
答) Autoradiographの結果から、リンパ節内の辺縁洞～中間洞に留まっていると考えられる。
- ⑪ 時間的検討はしているのか？
答) これまで、^{99m}Tc-Tin colloidを用いた場合、リンパ節内のcolloidの集積は注入後約2時間～24時間後は変わらないと報告されている。

- ⑫ 偽陰性症例の原因は、RIが転移のあるリンパ節をすり抜けた、RIが転移のあるリンパ節に流れず、迂回して別なリンパ節に流れた、などが考えられると思うがどうか？
答) 偽陰性の原因として、注入手技や同定に関する技術的な問題、癌細胞がSNに着床せず通り抜けてしまう可能性、それとも一つがSNにおける転移巣がリンパ流を遮断しリンパ路が変更されて、本来のSNにRIが取り込まれない可能性があると考えられる。多施設共同研究においても技術的な点については指摘されており、learning curveが存在するといわれている。癌細胞がSNに着床せず通り抜けてしまう可能性についてはbiologicalな検討が必要であり、教室の研究でも未分化型の症例ではこの危険性が考えられる。
- ⑬ 深達度の問題ということは、RIを固有筋層まで打ち込まなかったからということか？
答) これまでの教室での結果から、SNNSの適応はcT1N0の早期癌と考えられる。進行癌では壁内および壁外リンパ流が癌の浸潤により遮断もしくは変更されSNの同定は困難であり、偽陰性が増加するため適応外と考える。
- ⑭ RI(+)とRI(-)の区別は術中・術後のいつ行なったか？さらに術後であれば、摘出後どの位の時間で行なったか？
答) 手術中はリンパ節内の線量が測定可能なリンパ節をSNとして同定した。術後に再度、全摘出リンパ節内の線量を測定し、カウントのあるものをRI(+), ないものをRI(-)としている。摘出後1時間、遅くとも2時間以内には測定されている。
- ⑮ 今回の対象症例の274例全例に対してSNの同定が行われているのか？
答) 全ての症例においてSNの同定を行っている。さらに免疫染色やRT-PCRによる微小転移診断も行っている。
- ⑯ 今回の検討で転移3個以下の症例は43例だが、SNNSは3個以上の症例には有用ではないのか？
答) SNNSは基本的に転移が1つでもあれば縮小手術の適応ではなく、標準的切除郭清が必要であると考えられる。リンパ節転移がある症例で標準手術を行う場合、郭清後に残存するSNの取り残しがないようにするために有用である。これまでに経験した症例の中にも、郭清終了後にRIが集積したSNの残存を確認し、転移リンパ節を発見した症例がある。
- ⑰ 術前リンパ節の転移診断が重要と思われるが、現在転移診断として行っているのは何か？術前検査との対比は？
答) 術前のリンパ節転移診断は、体外エコー・超音波内視鏡・CT・MRI・PETなどで行っている。それぞれの術前検査における比較は今回検討していないが、総合評価として術前に転移を疑われた症例では転移検出感度、正診率ともに低い結果となっている。精度の高い術前転移診断が重要であると考えられる。
- ⑱ この研究の結果では8/43、つまり約20%位の偽陰性率となるが、約20%の確率でSN navigationが外れるということなのか？
答) 今回の研究では、対象がcT1/2/3まで進行癌を含めて検討されているので約20%の偽陰性率であったが、cT1N0では胃癌・食道癌ともに100%の正診率である。したがって、SNNSはcT1N0の早期癌が適応であると考えられる。
- ⑲ 偽陰性症例を減らすためには何が必要か？
答) 今回の結果から60%以上の転移面積をもつリンパ節は偽陰性となる可能性が高く、これを術前検査によって診断することが重要である。60%以上の転移面積をもつリンパ節は、体外エコー、超音波内視鏡、CTなどにより高い精度で診断可能である。したがって、SNNSの臨床的適応としてcN0とすることが重要である。
- ⑳ cN0の早期癌に対してSNNSを施行し、SNを含めたリンパ節郭清を行ったら、ほぼ全例で治癒切除できるといえるか？
答) cT1N0を適応とした場合、縮小手術による治癒切除は可能であると考えられる。これは微小転移を含めた研究からもSN理論が成立していたことも背景にある。

以上の結果から、3名の審査委員は本人が大学院博士課程修了者としての学力と識見を具備しているものと判断し、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。