

早期胃癌に対するsentinel node理論に基づく リンパ行性癌転移診断・治療の新展開

竹内 裕也 才川 義朗 上田 政和 北川 雄光

要 旨：cT1N0胃癌は、sentinel node(SN)理論を応用した機能温存・個別化縮小手術が最も期待されている疾患の一つである。低侵襲性と術後QOLの維持を目指し、今後は積極的に腹腔鏡下胃癌手術にsentinel node navigation surgeryを応用した縮小手術が取り入れられることが予想される。しかし、本来定型的な幽門側胃切除術で完治を目指すことが十分可能な病期であるだけに、安全性や精度の検証には慎重を期するべきである。SN転移診断に基づく縮小手術を行うには術中SN微小転移診断が必須であり、その臨床的有用性評価が待たれるところである。

(J Jpn Coll Angiol, 2008, 48: 415-418)

Key words: sentinel node, early gastric cancer, laparoscopic surgery, RT-PCR

はじめに

腫瘍から直接リンパ流を受けるリンパ節をsentinel node(SN)と呼んでいる。SN理論とはSNを最初のリンパ節微小転移が生じる場所とする考え方である。この理論が正しいと仮定すると、SNにリンパ節転移がなければその他のリンパ節にも転移は生じていないと判断することができ、SN以外のリンパ節郭清は不必要となる。sentinel node navigation surgery(SNNS)とは、このSNの分布(SN mapping)とSNの生検による転移の有無を指標として、リンパ節郭清を個別的に縮小ないし省略し、それに伴って臓器切除範囲を最小限とすることを目的とした手術である。

すでに乳癌や悪性黒色腫では、SN理論の妥当性、臨床的有用性が実証されており^{1,2)}、乳癌におけるSN転移診断に基づく腋窩リンパ節郭清の省略など個別化縮小手術が実践されている。早期胃癌は消化器癌のなかではSN理論研究が最も進んだ領域であり、SNNSによる機能温存・個別化縮小手術への応用が期待され、現在われわれはその開発に取り組んでいる³⁾。

一方、胃癌のような深部臓器の腫瘍でSN転移診断に

基づく縮小手術を行うには、術中のSN転移診断が必須である。術中SN迅速微小転移検出法についてもこれまでさまざまなシステムが開発され、われわれが開発した術中迅速real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)のシステムを含めて臨床的有用性評価が待たれるところである。

本稿では、早期胃癌におけるSN理論を応用した個別化縮小手術とSN微小転移診断の現況につき概説する。

早期胃癌に対するSN同定手技

SNは、トレーサー[色素あるいはradioisotope(RI)でラベルされたコロイド]を腫瘍原発巣周囲に投与し、ある一定時間後にトレーサーが集積したSNを視認、あるいはRI活性を測定することにより同定している。われわれは早期胃癌のSN同定には、現時点で色素法単独よりもRIと色素の併用法が適していると考えており、isosulfan blueと^{99m}テクネシウムスズコロイドによる併用法を実践している。色素はその粒子径が小さいため比較的短時間で遠位のリンパ節まで拡散する。そのため術中のリアルタイムなリンパ流の観察や、SN領域(SN basin)の視認性には優れているものの、厚い脂肪組織内に隠れたSNを同定する

には必ずしも適してはいない。一方^{99m}テクネシウムスズコロイドは、粒子径が比較的大きく、SNにおける滞留性に優れているため、深部脂肪組織内など色素による視認の困難な部位の検索を可能にし、腹腔鏡下手術におけるSN同定にも有用である。

トレーサー投与方法としてはisosulfan blue, ^{99m}テクネシウムスズコロイドともに術前、術中内視鏡を用いた粘膜下注入法を採用している。この方法は漿膜側からは触知しにくいcT1病変についても正確なトレーサー投与が可能であり、腹腔鏡下手術においても応用可能である点があり、有利である。

通常、手術前日内視鏡下に^{99m}テクネシウムスズコロイドを病変直下の粘膜下層に全周4カ所に注入し、約4時間後にSN同定のための術前リンフォシンチグラフィーを行っている。注入したRIトレーサーが正しく粘膜下層に注入されることが重要である。

実際の手術中のSN同定手技につき概説する。手術開始直後に内視鏡を用いて、isosulfan blueを腫瘍周囲の粘膜下層に0.5mlずつ全周4カ所注入する。すると色素注入後より病巣部から青く染まったリンパ管が視認できるので、色素注入15分後にこれをたどっていくと青く染まったリンパ節(blue node)が同定される。さらに小型ガンマプローブによりRIの集積したSN(hot node)を同定する。blue nodeとhot nodeは一致することがほとんどであるが、一致しない例もあるため注意を要する。

次いでSNのサンプリングあるいはSNを含むそのリンパ領域(SN basin)の切除を行う。摘出したSNはback tableでRI集積を測定、術中迅速病理診断とRT-PCR診断を行っている。

早期胃癌に対するSNNS臨床応用の展望

消化器癌領域において現時点で、機能温存・個別化縮小手術への応用が最も期待される対象はcT1N0胃癌である。近年、胃癌に対するSN同定手技は飛躍的に向上し、これまでに多数の単施設研究で良好なSN同定率、転移検出感度が報告されている。さらには腹腔鏡下胃癌手術手技の向上により、内視鏡下手術による低侵襲性の確保とQOL維持を目指したSNNSによる機能温存・縮小手術の組み合わせが技術的に可能となってきた⁴⁻⁶⁾。2008年3月でSNNS研究会/厚生労働省がん研究助成金研究班による多施設共同研究が登録完了し、今後SNNS標準手術手技の確立に向けてその結果が注目されている。

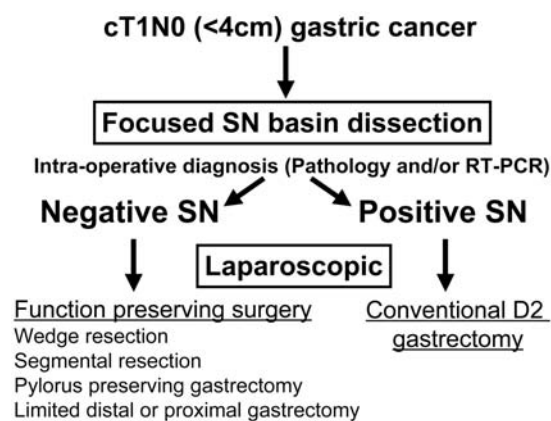


Figure 1 Current approaches for early gastric cancer based on SN navigation.

SN転移陰性早期胃癌は、郭清の完全省略、胃原発巣の局所切除だけで根治術とすることが理論的には可能である。しかし、偽陰性(SNには転移がみられないのにSN以外のリンパ節に転移を認める)の問題が完全には解決されていない現状では、より安全域のある根治性を損なわない術式が求められる。すなわち、現時点ではSNを含むそのリンパ領域(SN basin)を選択的に郭清する術式(SN basin dissection)がよいと考えられる⁷⁾(Fig. 1)。これまでの検討では、SN同定の技術的問題や術中迅速診断の見逃しにより偽陰性が生じた場合でも、実際のリンパ節転移はSN basin内に存在した限定される可能性が高い。術中にSNが1領域に限定される場合は、その領域のbasin dissectionと原発巣を含む胃局所切除が可能である。またSNが2領域(小彎、大彎)にわたる場合は、その2領域のbasin dissectionと原発巣を含む胃分節切除が可能と考えられる。一方、SNに明らかな転移が認められる症例ではSN領域外にも転移が存在する可能性が否定できないため、現時点では標準的な切除郭清術が必要である。

今後、早期胃癌に対するSNNSの臨床応用に向け、術中SN同定技術、微小転移診断技術の精度向上が必須であるが、われわれは現時点で安全性を損なわない方策として前項のSN basin dissectionの施行と術中迅速RT-PCR法の実用化が重要であると考えている。今後、胃癌におけるSN理論の妥当性が実証され、SN生検標準手術手技が確立すれば、今後は積極的に腹腔鏡下胃癌手術にSNNSを応用した縮小手術が取り入れられることが予想される。しかし腹腔鏡下に行う場合の標準手技の確立や

精度の検証も慎重に進める必要がある。

胃癌SN術中迅速病理診断

SNにおける胃癌微小転移検出のための術中迅速病理診断は、従来リンパ節の最大断面を含む数切片の限られたスライドの顕微鏡下での検索であり、ヘマトキシリン・エオジン(H&E)染色だけではその検出感度に限界があった。これまでにH&E染色に抗サイトケラチン抗体カクテルなどの免疫組織染色を加えることでSN微小転移検出感度が著しく向上することが報告されている。しかしながら、H&E染色と同様に数切片の限られたスライドの検索であることや、frozen sectionはパラフィン包埋切片と比べ病理診断が困難である点があり、SN内の微小転移を見落とす可能性を完全には否定できない。

われわれの約250例の検討では、H&E染色だけの術中迅速病理診断では、永久標本診断と比べ約20%の症例で転移陽性の診断ができなかった。これに術中免疫組織染色を加えても10%弱の症例がやはり転移陽性を診断できなかった。このような従来の病理組織学的な術中転移診断の限界から、分子生物学的手法を用いた新たな術中転移診断法の開発が進められている。

分子生物学的手法を用いた 胃癌センチネルリンパ節術中診断

近年RT-PCR法やone-step nucleic acid amplification (OSNA)法など分子生物学的手法を用いて形態学的には捕捉しえない癌細胞まで検出することが可能となってきた^{8,9)}。これらは従来の病理学的診断法よりも高感度であることや、数スライドだけの検索ではなくリンパ節全体を一度に検索できる点で優れた手法であるといえる。しかし、こうした高感度な手法で検出された目に見えない“癌細胞”，つまり癌細胞特異的DNAや癌細胞特異的mRNA発現を、果たしてどこまで癌転移と判断してよいのかは慎重であるべきと考えている。たとえばRT-PCR法におけるmRNA抽出からRT, PCRにいたる過程でのコンタミネーションや、手技の不確実さによる偽陰性の問題、PCRの再現性の問題など注意すべき点は多い。

これまでに、RT-PCR法を用いた胃癌のSN微小転移検索についていくつかの論文報告がなされている。Osaka¹⁰⁾は早期胃癌患者57例から切除された計345個のリンパ節(blue node 150個と非blue node 195個)を検討した。切除されたリンパ節は半割され、片方は病理組織学的

検索、もう半分はCEAとCK20をマーカーとしたreal time RT-PCR法に用いられた。通常のH&E染色では全てのリンパ節が転移陰性であったが、うち 8 個のリンパ節が抗サイトケラチン染色陽性であった。またRT-PCR法で陽性と判定されたものは、計21個(10症例)のリンパ節であった。この10人はblue nodeのうちいずれか 1 つはRT-PCR陽性であったことから、molecular levelでも偽陰性症例は認められず、blue nodeはSNと考えられると結論付けている。

Arigami¹¹⁾は、RI法によるSN生検を施行したcT1, cT2N0胃癌患者61例の計1,410個のリンパ節で同様の検討を行っている。それによるとSNのH&E染色で転移陽性と診断された患者は 5 例(8.2%)、SN抗サイトケラチン染色陽性例は 8 例(13.1%)に認められた。SNの免疫組織染色陰性例53例のうち、SNのRT-PCR法で陽性であったものは13例(25%)あった。SNのRT-PCRが陰性であった40例のうち、非SNでRT-PCRが陽性であった、つまりmolecular levelでの偽陰性例はcT2症例 1 例のみであった。この結果は、cT1N0症例であれば、molecular levelでも偽陰性症例は認められないということとなり、cT1N0症例におけるSN理論の妥当性や、彼らのSN生検から微小転移診断に至る手技の正確性を評価できる報告である。また、今後これらの結果をもとに胃機能温存・個別化縮小手術の開発が期待される。

われわれも胃癌に対するSN微小転移診断法としてRoche Diagnostics社とCK19, CK20, CEAをマーカーとしたreal time RT-PCR法を共同開発し、その臨床の有用性を検証中である。この方法は検体採取から結果が出るまで約60分と術中迅速診断に有用である。これまでに約100例のSN生検施行例について検討を行い、molecular levelでの偽陰性症例を 4%に認めている。しかしながら、これら偽陰性を生じた非SNはいずれもSNと同一のlymphatic basin内に認められており、今後SN転移診断に基づく個別化縮小手術において最も重要な点である安全性の担保としてSN basin dissectionは不可欠であると考えられる。

早期胃癌における癌微小転移やisolated tumor cellsの臨床的意義についてはいまだ明らかではなく、長期予後の検討も含め今後さらなる検証が必要である。

おわりに

今後早期胃癌に対して機能温存・個別化縮小治療を

目指すうえで、腹腔鏡下SNNSの臨床応用が積極的になされていくものと考えられる。一方、機能温存・縮小手術と同時に安全性、根治性の確保は必要不可欠であり、術中のSN微小転移診断能の向上が求められている。今後はSN生検から微小転移診断まで共通の手技、プロトコールを用いた大規模な多施設共同研究が必要であろうと考えられる。

文 献

- 1) Morton DL, Wen DR, Wong JH et al: Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. Arch Surg, 1992, **127**: 392–399.
- 2) Giuliano, AE Kirgan DM, Guenther JM et al: Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. Ann Surg, 1994, **220**: 391–398.
- 3) Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M et al: The role of the sentinel lymph node in gastrointestinal cancer. Surg Clin North Am, 2000, **80**: 1799–1809.
- 4) Saikawa Y, Otani Y, Kitagawa Y et al: Interim results of sentinel node biopsy during laparoscopic gastrectomy: possible role in function-preserving surgery for early cancer. World J Surg, 2006, **30**: 1962–1968.
- 5) Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M et al: Intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymph node sampling in esophageal and gastric cancer. Surg Oncol Clin N Am, 2002, **11**: 293–304.
- 6) Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M et al: Sentinel lymph node mapping in esophageal and gastric cancer. Cancer Treat Res, 2005, **127**: 123–139.
- 7) 竹内裕也, 才川義朗, 和田則仁 ほか: 早期胃癌におけるセンチネルリンパ節生検の手法と課題. 消化器外科, 2007, **30**: 1481–1487.
- 8) Takeuchi H, Kitajima M, Kitagawa Y: Sentinel lymph node as a target of molecular diagnosis of lymphatic micrometastasis and local immunoresponse to malignant cells. Cancer Sci, 2008, **99**: 441–450.
- 9) 竹内裕也, 才川義朗, 和田則仁 ほか: 術前・術中のリンパ節転移診断の方法とその有用性 胃癌における術前・術中のリンパ節転移診断の方法とその有用性. 臨床外科, 2008, **63**: 347–352.
- 10) Osaka H, Yashiro M, Sawada T et al: Is a lymph node detected by the dye-guided method a true sentinel node in gastric cancer? Clin Cancer Res, 2004, **10**: 6912–6918.
- 11) Arigami T, Natsugoe S, Uenosono Y et al: Evaluation of sentinel node concept in gastric cancer based on lymph node micrometastasis determined by reverse transcription-polymerase chain reaction. Ann Surg, 2006, **243**: 341–347.

New Insights into the Diagnosis and Management of Lymphatic Spread Based on the Sentinel Node Concept for Early Gastric Cancer

Hiroya Takeuchi, Yoshiro Saikawa, Masakazu Ueda, and Yuko Kitagawa

Department of Surgery, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

Key words: sentinel node, early gastric cancer, laparoscopic surgery, RT-PCR

For cT1N0 early gastric cancer, in which better prognosis generally has been achieved by conventional surgical approaches, an individualized minimally invasive surgery should be considered as the next surgical challenge. Although some issues still need to be resolved, a combination of laparoscopic gastrectomy with sentinel node (SN) navigation surgery has the potential to achieve this goal. Increasing the sensitivity of occult tumor cell detection in the SN using molecular-based analysis should provide a more accurate understanding of the clinical significance of various patterns of micrometastatic nodal disease.

(J Jpn Coll Angiol, 2008, **48**: 415–418)

Online publication March 24, 2009

脈管学 Vol. 48, 2008