

論文の内容の要旨

論文題目「根治術を受けた病理病期I、II期非小細胞肺癌における郭清リンパ節類洞内遊離癌細胞の発現と再発、予後に関する検討」

学位申請者 中村 雄介

キーワード： 遊離癌細胞、非小細胞肺癌、リンパ節類洞、肺門リンパ節転移、
予後

背景

遊離癌細胞とは、癌細胞が原発巣から離れ近傍のリンパ路を経由してリンパ節の類洞内を自由に浮遊している細胞または細胞群のことを言う。通常この遊離癌細胞はHE染色で容易に認識できる（組織学的な）リンパ節転移とは異なり、単細胞またはいくつかの細胞からなる細胞群で発現しているためHE染色ではその発現を検出することは難しくサイトケラチンによる免疫染色により容易に検出される。このリンパ節類洞内における遊離癌細胞の発現が根治術を受けた大腸癌や胃癌の転移、再発、予後に深く関与していることが多数報告されている。

また、リンパ節類洞内の遊離癌細胞の発現はHE染色で検出しにくいというだけであって病態的にはリンパ節転移と同様のものをみているのではないかという疑念もある。そこで本研究では、まず①根治術を受けた非小細胞肺癌全切除例を対象として郭清リンパ節類洞内の遊離癌細胞の発現と再発、予後に関連性があるかどうかを調べ、また②対象をHE染色でリンパ節転移のないI期症例に絞りN0症例において遊離癌細胞の発現の有無により再発、予後に差があるかどうかを、さらに③HE染色でリンパ節転移があると診断された症例（肺門リンパ節転移陽性症例：N1症例）に対象を移しリンパ節転移があっても遊離癌細胞の発現の有無により再発、予後に差があるかどうかを調べることにした。

肺の中のリンパ節は、大腸や胃に所属するリンパ節とは異なり多数の炭粉を含んでいる。従来の3,3'-diaminobenzidine (DAB) を用いたサイトケラチン免疫染色法（DAB法）ではペルオキシダーゼにより基質が茶色に染まるためリンパ節の背景にある炭粉から区別して遊離癌細胞を見付けるのに時間を要した。ゆえに今回はFast Redとナフトールを反応させサイトケラチン陽性細胞を赤色に発色させるアルカリフォスファターゼを

結合した二次抗体を使用し炭粉との区別を容易にした。

目的

以上より、本研究では病理病期I、II期全症例、HE染色でリンパ節転移のないI期症例、および肺門リンパ節転移陽性症例の非小細胞肺癌に対しFast Red染色法を用いてリンパ節類洞内の遊離癌細胞を検出し、その発現と様々な臨床病理学的因子との関係を調査した。

方法

2002年から2011年に根治術を受けた全164例を調査した。郭清リンパ節に抗サイトケラチン抗体を用いて免疫染色した。遊離癌細胞と炭粉との区別をつきやすくするために二次抗体にはFast Red染色法を用いた。郭清リンパ節類洞内にHE染色で検出できずFast Red染色法で検出できる遊離癌細胞が1個でも認められたらその症例は遊離癌細胞陽性と定義した。

結果

遊離癌細胞の検出：Fast Red染色法を用いたところ遊離癌細胞は全体で18例（11.0%）の症例で検出された。遊離癌細胞は既報通り単細胞で検出されることもあればいくつかの細胞群で検出されることもあった。

臨床的特徴および原発巣の組織型：遊離癌細胞陽性群と陰性群の間で年齢、性別に関して有意差は認めなかった。原発巣の組織型に関しては遊離癌細胞陽性全18例中、腺癌が12例（66.7%）、扁平上皮癌が5例（27.8%）、大細胞癌が0例（0.0%）、そのほかが1例（5.6%）であった。遊離癌細胞陰性全146例中、腺癌が110例（75.3%）、扁平上皮癌が25例（17.1%）、大細胞癌が6例（4.1%）、その他が5例（3.4%）であった。原発巣の組織型に関して両群間で有意な差は認めなかった。

再発および予後（全症例）：全164例中、18例が遊離癌細胞陽性、146例が陰性であった。5年無再発生存率は遊離癌細胞陽性群で33.3%、陰性群76.9%と陽性群で有意に低かった（ $P<0.001$ 、相対危険度4.675、95%信頼区間2.384-9.164）。また5年全生存率も遊離癌細胞陽性群で65.8%、陰性群86.6%と陽性群で有意に低かった（ $P=0.014$ 、相対危険度2.979、95%信頼区間1.188-7.467）。

再発および予後（N0・I期症例）：全164例中、132例がHE染色で転移を認めないN0・I期症例であった。132例中6例が遊離癌細胞陽性、126例が陰性であった。5年無再発生存率は遊離癌細胞陽性群で50.0%、陰性群82.3%と陽性群で有意に低かった（ $P=0.010$ 、相対危険度4.303、95%信頼区間1.275-14.522）。また5年全生存率も遊離癌細胞陽性群で66.7%、陰性群92.0%と陽性群で有意に低かった（ $P=0.023$ 、相対危険度4.952、95%信頼区間1.070-22.931）。

再発および予後（N1症例）：全164例中、22例が肺門または肺内リンパ節に転移を認めた（N1症例）。N1症例22例中9例が遊離癌細胞陽性、13例が遊離癌細胞陰性であった。5年無再発生存率は遊離癌細胞陽性群で0.0%、陰性群53.8%と陽性群で有意に低かった（ $P=0.006$ 、相対危険度4.828、95%信頼区間1.421-16.402）。5年全生存率は遊離癌細胞

陽性群で53.3%、陰性群で69.2%と陽性群で低い傾向にあった（ $P=0.463$ 、相対危険度1.674、95%信頼区間0.417-6.721）。

再発に関する遊離癌細胞の感度、特異度、正診率：全164例中、遊離癌細胞は18例で陽性、146例で陰性、また全164例中、36例が再発、128例が無再発。再発36例中、遊離癌細胞陽性12例、陰性6例、無再発128例中、遊離癌細胞陽性6例、陰性122例であった。よって再発に関する遊離癌細胞の感度は33.3%、特異度95.3%、偽陽性率33.3%、偽陰性率16.4%、陽性反応的中率66.7%、陰性反応的中率83.6%、正診率81.7%。また対象をN0・I期症例にしたところ感度16.7%、特異度97.4%、偽陽性率50.0%、偽陰性率11.9%、陽性反応的中率50.0%、陰性反応的中率88.1%、正診率86.4%。一方、対象をN1症例にしたところ感度69.2%、特異度100.0%、偽陽性率0.0%、偽陰性率30.8%、陽性反応的中率100.0%、陰性反応的中率69.2%、正診率81.8%となった。

初回再発部位：5年の観察期間中に遊離癌細胞陽性全18例中、12例、14か所に初回再発を認めた。局所再発1例（7.1%）、胸膜播種3例（21.4%）、リンパ節転移5例（35.7%）、肝転移0例（0.0%）、肺転移0例（0.0%）、脳転移1例（7.1%）、骨転移4例（28.6%）、副腎転移0例（0.0%）、その他0例（0.0%）であった。一方遊離癌細胞陰性全146例中、24例、29か所に初回再発を認めた。局所再発1例（3.4%）、胸膜播種4例（13.8%）、リンパ節転移3例（10.3%）、肝転移0例（0.0%）、肺転移15例（51.7%）、脳転移3例（10.3%）、骨転移2例（6.9%）、副腎転移0例（0.0%）、その他1例（3.4%）であった。肺転移再発が遊離癌細胞陽性群より陰性群で有意に多いことが示された（ $P<0.001$ ）。

考察

本研究により、病理病期I、II期非小細胞肺癌では遊離癌細胞陽性の場合、再発および予後が不良であった。また対象をN1症例にした場合も遊離癌細胞陽性群の5年無再発生存率は陰性群と比べて有意に低く、5年全生存率は低い傾向にあることが分かり、遊離癌細胞はリンパ節転移とは違う概念であると考えた。

またI期においては遊離癌細胞陰性であればより再発のリスクが低くなることがその高い陰性反応的中率により、一方N1においては遊離癌細胞陽性であればより再発のリスクが高くなることがその高い陽性反応的中率により示された。

結論

根治術を受けた病理病期I、II期の非小細胞肺癌において郭清リンパ節類洞内の遊離癌細胞の発現は予後の悪さと相関していた。また、I期症例においては遊離癌細胞陰性であればより再発のリスクが低くなることが、N1症例においては遊離癌細胞の発現が癌再発高危険群検出の有用なマーカーになる可能性があることが、それぞれ示された。