日消外会誌　32（10）：2463～2468，1999年

特集12

微小転移からみた胸部食道癌の頸部郭清および腹部傍大動脈周囲郭清の適応

京都大学医学研究科腫瘍外科
嶋田　裕　佐藤　史顕　渡辺　剛　山崎　誠二
加藤　雅之　加納　正人　加賀野井純一　今村　正之

食道癌における頸部リンパ節（LN）郭清および腹部傍大動脈 LN 郭清の適応について Cytokeratin の免疫染色（AE1/AE3）と SCCmRNA の RT-PCR による微小転移の観点から検討した．pN（－）48例の1,145個の LN において18個の LN に微小転移が陽性で pN（＋）61例2,832個の LN においては75個の LN に微小転移が陽性であった．その結果，11例が新たに LN 転移陽性となった．微小転移検出感度は通常病理検査で6.5%，免疫染色で8.6%，RT-PCR では10.6%が陽性で，RT-PCR での検出感度が最も良好であった．以上の微小転移を含めた胸部食道癌 LN 転移の検討で頸部 LN 転移12例で50%（6例），頸部 LN 再発 4 例で50%（2 例）に106LN 転移が認められた．一方，腹部傍大動脈 LN 再発10例全例で 1，2，3．または 7 に LN 転移が認められた．以上より，106LN 転移を認めた症例は頸部郭清が必要で，下部食道癌において LN1，2，3，7に転移を認める症例は腹部傍大動脈周囲郭清の適応である．

Key words：　esophageal cancer, micrometastasis, lymph node dissection

はじめに

従来の食道癌の取扱い規約において，リンパ節転移の認められる所属リンパ節群より遠位のリンパ節群が完全に郭清された場合に根治度 CIII とし，郭清されたリンパ節群まで転移が認められた場合は根治度 CII または CI とするものであった．これは改訂された1999度の第 9 版においても根治度 A，B の定義として引き継がれている．その概念的根拠はリンパ節転移の認められたリンパ節群より遠位のリンパ節が郭清されていれば完全切除されている可能性が高いが，遠位のリンパ節群が郭清されていなければ微小転移の残存の可能性があるとの考え方である．一方，食道癌においては頸部リンパ節郭清および腹部傍大動脈周囲リンパ節郭清の適応は大規模な randomized study がなされていないことから，いまだに論争のある課題であるが，その郭清の目的も微小転移の郭清にある．また，食道癌の特殊性について従来から跳躍リンパ節転移の存在が指摘されてきたが，腫瘍近縁のリンパ節を経ているか否かについては色素や CH44を使用したリンパ流の検討にとどまり，実際の微小転移の存在についての詳細な検討はされていない．

近年，分子生物学的手法によりリンパ節内の微小転移の検出が比較的簡便に行えるようになり，郭清リンパ節内の微小転移の状況把握が可能となった．そこで本稿では，食道癌におけるリンパ節内微小転移を検討し，その結果を基に頸部郭清と腹部傍大動脈リンパ節郭清の適応を検討した．

対　象

1991年以降の胸部食道癌で sm 以上の片側頸部郭清を含む 2 領域郭清80例，3 領域郭清29例の109例を対象とした．このうち胸部食道癌は101例であった．転移リンパ節個数が10個以上を越える症例は微小転移の検討対象として不適切と考え 9 個以下とした（**Table 1**）．検討リンパ節個数は3,977個で pN（－）48例および pN（＋）61例であり，頸部リンパ節転移症例12例，頸部リンパ節再発症例 4 例，腹部傍大動脈リンパ節再発10例および腹部傍大動脈リンパ節予防郭清11例であった．

＊第53回日消外会総会シンポ 4・食道癌の進行度に応じた至適リンパ節郭清

＜1999年 7 月28日受理＞別刷請求先：嶋田　裕
〒606-8507　京都市左京区聖護院川原町54　京都大学医学研究科腫瘍外科学

Table 1　Background data of the patients

Guide lines for the clinical and pathologic studies on carcinoma of the esophagus.(The 9th Editon)

Tumor location	Number of cases
Ce	8
Te(Ut)	11
Te(Mt)	65
Te(Lt)	24
Ae	1
pT1b	30
pT2	26
pT3	38
pT4	15
pN(−)	48
pN(＋) ＊	61

＊ number of nodes metastases are less than 9

なお，腹部傍大動脈リンパ節転移11例については1991年以前の症例を含み，また微小転移による検討は行っていないが，転移状況解析に必要なために症例を追加した．

微小転移検出法

微小転移の検討法は主に Cytokeratin 染色を行い，一部の症例には SCCmRNA の RT-PCR も同時に施行した．

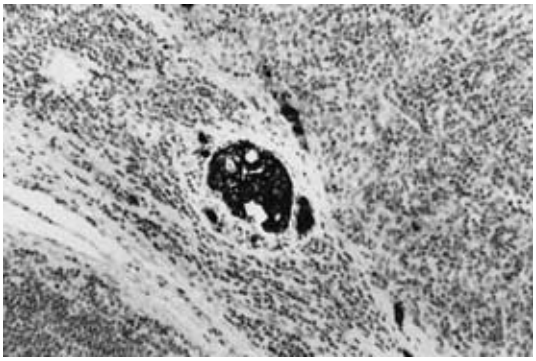
1）Cytokeratin 染色

Cytokeratin 染色はモノクローナル抗体のカクテル AE1/AE3（DAKO 社）を使用した．パラフィンブロックより4μm の連続切片を作成しオートクレーブにて抗原賦活を行い，ABC 法で免疫染色した．あらかじめ食道原発巣での発現を確認し（90%で陽性），部分的発現と無発現症例は除外した．染色の判定基準は grade 1：陽性細胞 1 個，grade 2：陽性細胞数個，grade 3：細胞集塊形成，grade 4：HE 染色にても診断可能の 4 段階に分類し，grade 3以上を陽性とした（**Fig. 1**）．grade 1，2では CD68陰性でマクロファージでないことが確認された核異型を有する細胞を微小転移陽性とした．

2）SCCmRNA の RT-PCR

SCCmRNA の RT-PCR は手術室でリンパ節を半切し用時まで液体窒素に保存した．残り半分は上記の Cytokeratin 染色および通常の病理 HE 染色に供した．RT-nested PCR のプライマーは我々が独自に作成したものを使用した[1]．その感度は10^6個の細胞に 1 個の癌細胞が検出できる感度であった．

Fig. 1　An example of a micrometastasis.
A cluster of AE1/AE3 positively stained tumor cells in the peripheral of the lymph node is shown.



結　果

1）n（−）症例において AE1/AE3では18/1,145（1.6%）に微小転移を認めた．その結果48例の n（−）症例において新たに11例が転移陽性と判定された．n（＋）61例では病理検査転移陽性7.7%（218/2,832）に対して10.3%（293/2,832）に AE1/AE3陽性リンパ節を認めた（**Table 2**）．通常病理検査では36個（6.5%）のリンパ節転移であった557個のリンパ節において AE1/AE3では48個（8.6%），SCCmRNA の RT-PCR では59個（10.6%）で陽性と判定され，RT-PCR での検出感度が最も良好であった．

2）胸部食道癌において頸部リンパ節転移12例の50%（6 例）および頸部リンパ節再発 4 例の50%（2 例）に106リンパ節転移を認めた（**Table 3,4**）．頸部リンパ節再発で初回に郭清したリンパ節に微小転移が認められなかった 2 症例の再発リンパ節郭清後の予後は良好であった．

3）No16リンパ節転移例では高率に 1，2，3，7 リンパ節に転移が認められその予後は不良であった．さらに No16リンパ節再発10例において 7 例は通常病理検査ですでに腹部リンパ節転移陽性であり，腹部リンパ節転移陰性 3 例においても腹部リンパ節に微小転移が認められた．一方，No16リンパ節郭清症例では病理検査転移陰性 No16リンパ節には AE1/AE3陽性リンパ節は認められなかったが，2 例に RT-PCR 陽性例を認めた（**Table 5,6,7**）．

考　察

AE1/AE3はモノクローナル抗体のカクテルで Cytokeratin 2，4，5，6，8，9，15，16，19を認識する[2]．

Table 2 AE1/AE3 expression in dissected nodes

	HE metastasis positive nodes	AE1/AE3 positive nodes	AE1/AE3 negative nodes	Total
pN(−) 48 cases	0	18 *	1,127	1,145
pN(+) 61 cases	218	293	2,539	2,832
	218	311	3,666	3,977

* : Eleven out of 48 cases are newly diagnosed as node metastasis positive.

Table 3 Micrometastases in the cases of cervical nodes metastasis

	Cases	Tumor location	Depth of tumor	HE and AE1/AE3 positive nodes	AE1/AE3 positive nodes	SCCmRNA RT-PCR positive nodes
1	68M	Mt	pT3	1, 3, 102	7	NT
2	62M	Mt	pT2	3, 101, 107		NT
3	67M	Mt	pT2	102, 106		NT
4	61M	Mt	pT4	2, 101	106	NT
5	67M	Mt	pT1b	101, 104		NT
6	77M	Ut	pT3	101, 106	105, 107	NT
7	56M	Ut	pT3	102	106	NT
8	59M	Mt	pT3	102, 106	107, 108	NT
9	58F	Mt	pT4	106	7, 101	NT
10	57M	Mt	pT3		1, 2, 102, 109, 112	NT
11	53M	Ut	pT3	3, 101, 104, 105	7	109
12	65M	Mt	pT3	3	102	NT

NT : not tested

Table 4 Micrometastases in the cases of cervical nodes recurrence

	Cases	Tumor location	Depth of tumor	HE and AE1/AE3 positive nodes	AE1/AE3 positive nodes	Prognosis
1	58F	Mt	pT4	102, 104, 106	7, 101	10M death
2	62M	Mt	pT2	107, 3	106	3Y3M alive *
3	43M	Mt	pT1b			3Y2M alive *
4	57M	Mt	pT1b			3Y1M alive *

* : Survival time after dissection of recurrent nodes

Table 5 Cases of paraaortic nodes metastasis

	Case	Tumor location	Depth of tumor	Metastatic nodes	Prognosis
1	55M	Mt	pT2	106—112, 2, 3, 7, 8, 11, 16	9M death
2	62M	Lt	pT1b	105—112, 2, 8, 16, 18	3M death
3	64M	Lt	pT4	1, 3, 7, 16	4M death
4	52M	Lt	pT2	106recR, 106tbL, 112, 1, 3	1Y2M death
5	72M	LtAe	pT3	106tbL, 2, 3, 7, 16	7M death
6	63M	Mt	pT3	1, 16	8M death
7	56M	Lt	pT3	110, 1, 3, 7, 16	1Y deatn
8	39M	Mt	pT4	16	10Y alive
9	69F	Lt	pT3	1, 2, 8, 9, 16	11Y alive
10	62M	Lt	pT3	1, 2, 8, 11, 16	9M death
11	44M	Lt	pT3	102—112, 1, 2, 3, 7, 6, 16	4M death

Table 6　Micrometastases in the cases of paraaortic nodes recurrence

	Case	Tumor location	Depth of tumor	HE and AE1/AE3 positive nodes	AE1/AE3 positive nodes
1	58F	UtMt	pT4	102L，104L，106recL	101，7
2	58F	Mt	pT3	109L	112，2
3	57M	MtLt	pT3	108	102，109，1，2
4	68M	Mt	pT3	1，3	7
5	60M	Lt	pT3	1，3，7	2
6	65M	Lt	pT3	111，3，7	
7	60M	Lt	pT1b	107，110	3
8	62M	Lt	pT1b	105—112，2，8，16，18	
9	72M	Lt	pT3	106tbL，2，3，7，16	
10	68F	Mt	pT3	3	

Table 7　Micrometastases in the case of paraaortic nodes dissection

	Case	Tumor location	Depth of tumor	HE and AE1/AE3 positive nodes	AE1/AE3 positive nodes	SCCmRNA RT-PCR positive nodes	Prognosis
1	46M	Lt	pT2	106recR，1，3，7		NT	3Y4M alive
2	66M	Lt	pT3			NT	2Y death＊
3	56M	Mt	pT2		106pre	NT	3Y alive
4	52M	Mt	pT1b	108，110，1		NT	3Y alive
5	66M	Lt	pT3	106pre，112，1，3		NT	1Y6M alive
6	64M	Lt	pT3		110，3，7	NT	1Y10M alive
7	78M	Lt	pT3	107，1，2		NT	1Y4M alive
8	61M	Lt	pT1b	3，7		NT	2Y alive
9	67M	Lt	pT2		3	NT	3Y alive
10	53M	Mt	pT2	2，7	109	1，2，7，16a2	3Y alive
11	71M	Lt	pT3			19，1，3，16a2	5M alive

NT : not tested　＊: liver metastasis

このうち食道で発現するとされているのが4，6，8，15，16，19である．抗体としては中皮細胞に反応しないとされるBer-EP4がより特異的に上皮細胞の微小転移の検出に良いとする報告[3]も認められるが，染色性が弱くAE1/AE3を使用した．grade 1，2の細胞についてはそのなかでも間質反応を伴わないものはmicroinvolvementとしてmicrometastasisと区別して扱う報告[4]も見られるが，microinvolvementは微小転移として成立しているかどうかは別にして，腫瘍細胞が通過した証明にはなるものと考えられる．また，食道癌におけるRT-PCRによる微小転移の検出にはCEAmRNAのRT-PCRによる報告[5)6)]が見られるがCEAは偽陽性があることから，我々は偽陽性の無いSCCmRNAを使用している[1]．これらの方法による微小転移の検出を基にしたリンパ節郭清の検討はこれまでなされていない．RT-PCRは微小転移の検出に最も優れているが，これは染色における平面の検討ではなく，リンパ節の半分を使用した立体としての検討であることが反映されているものと考えられる．したがって，Cytokeratin染色で検出された微小転移より多くの微小転移の存在が示唆される．

全般的な検討では従来，跳躍転移とされてきた腫瘍近接リンパ節転移を伴わない遠隔リンパ節転移も腫瘍近接リンパ節を経由した転移であることが示唆され，系統立てた郭清の必要性が再認識された．局所の検討では頸部リンパ節への主要な転移経路は106リンパ節であることが示され，腹部傍大動脈周囲リンパ節転移への主要経路は1，2，3，7の胃周囲リンパ節であることが示された．このことから胸部食道癌において106リンパ節転移を認める症例は少なくとも頸部郭清の適応症例であり，胸部下部食道癌において1，2，3，7にリンパ節転移が疑われる症例は腹部傍大動脈周囲リンパ節郭清の適応症例である．また頸部転移の半数は101であり，101リンパ節郭清は必須のものと考えられた．

頸部リンパ節再発で初回手術時郭清したリンパ節に微小転移が認められなかった2症例の転移経路として，渡辺ら[7]により提唱されている系統的リンパ系転移を逸脱した縦隔内脂肪組織内の微小転移巣を通過するリンパ節転移の可能性も否定できない．一方，腹部においてはNo11リンパ節を経由するリンパ節転移経路は明らかでなく，No11郭清の必要性については今回の検討では明らかに出来なかった．

既に明らかな頸部転移または腹部傍大動脈周囲転移のある症例の郭清予後は不良であり補助療法の適応である．したがって，郭清の意義が認められるとすると微小転移の時点での郭清と考えられる．現在我々が行っている腹部傍大動脈周囲リンパ節郭清は予後良好で数例において微小転移を郭清し得て長期生存が得られている．腹部傍大動脈周囲リンパ節転移の頻度は決して多くはないが頸部転移と異なり再発時の郭清が容易である症例は少なく，予防的郭清の意義は大きいと考えている．松原ら[8]も胃上部リンパ節転移症例に腹部傍大動脈リンパ節再発が高率であると報告し，胃上部リンパ節転移症例には腹部左傍大動脈周囲郭清をすべきとしている．

術中微小転移の検出には感度の点からSCCmRNAのRT-PCRが最も鋭敏であるが，判定までに数時間かかるため現段階では術中迅速診断には適さない．したがって，現在術中リンパ節AE1/AE3迅速染色の臨床応用の検討を行っている．条件設定を工夫することにより1時間弱で診断可能となっているが10症例の予備的検討では微小転移を検出できなかった．現在診断に必要なリンパ節の選別法と必要個数の検討をしている．

1) 微小転移の検討から上縦隔リンパ節転移陽性症例において頸部リンパ節郭清の適応があり，胸部下部食道癌において腹部胃周囲リンパ節転移陽性症例にはNo16リンパ節郭清の適応症例が有る．2)ピックアップ的な郭清では微小転移を残存させる可能性があり系統立てた郭清が望ましいと考えられる．

免疫染色に協力してくれた腫瘍外科大学院生の李　志剛先生，微小転移判定および病理切片作成に協力を戴いた臨床病理部の桜井孝規先生および山邊博彦教授に深謝致します．

本研究の一部は文部省科学研究費(09671301)の助成を受けた．

文　献

1) Kano M, Shimada Y, Kaganoi J et al：Detection of lymph node metastasis of esophageal cancer by RT-nested PCR for SCC antigen gene mRNA. Br J Cancer 1999 (in press)

2) Moll R, Franke WW, Schiller DL：The catalog of human cytokeratins：Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell **31**：11—24, 1982

3) Izbicki JR, Hosch SB, Pichlmeier U et al：Prognostic value of immunohistochemically identifiable tumor cells in lymph nodes of patients with completely resected esophageal cancer. N Engl J Med **337**：1188—1194, 1997

4) Natsugoe S, Mueller J, Stein HJ et al：Micrometastasis and tumor cell microinvolvement of lymph nodes from esophageal squamous cell carcinoma. Cancer **83**：858—866, 1998

5) Luketich JD, Kassis ES, Shriver SP et al：Detection of micrometastases in histologically negative lymph nodes in esophageal cancer. Ann Thorac Surg **66**：1715—1718, 1998

6) Mori M, Mimori K, Inoue H et al：Detection of cancer micrometastases in lymph nodes by reverse transcriptase-polymerase chein reaction. Cancer Res **55**：3414—3420, 1995

7) 渡辺　寛, 加藤抱一, 飯塚紀文ほか：食道癌治療手術症例の実態とその補助療法のあり方について．Oncologia **20**：29—33, 1987

8) 松原敏樹, 奥村　栄, 植田　守ほか：胸部食道癌郭清術式決定におけるリンパ節転移の術前評価の意義．日消外会誌　**25**：1145—1150, 1992

Indication of Cervical and Abdominal Para-Aortic Lymph Node Dissection in Esophageal Cancer Patients from the Viewpoint of Micrometastasis

Yutaka Shimada, Fumiaki Sato, Go Watanabe, Seiji Yamasaki, Masayuki Kato,
Masato Kano, Jun-ichi Kaganoi and Masayuki Imamura
Department of Surgery & Surgical Basic Science, Graduate School of Medicine, Kyoto University

For determination of the indication of cervical lymph node（LN）and abdominal para-aortic LN dissection in esophageal cancer patients, we examined micromatastasis in LN with immunohistochemical（IHC）staining of cytokeratin（AE1/AE3）and RT-nested PCR for SCC antigen mRNA. Among 109（3977 LNs）esophageal cancer patients, 80 cases received 2 fields（including left cervical LN dissection）and 29 cases received 3 fields dissection. Eighteen micrometastasis and 75 micrometastasis were newly detected in 1145 LNs（pN0, 48 cases）and in 2832 LNs（pN1, 61 cases）with IHC respectively. As a result, 11 cases were newly diagnosed as positive of lymph node metastasis. With RT-nested PCR detected more large number of LN metastases（10.6%，59/557）were detected than with IHC（8.6%，48/557）and HE（6.5%，36/557）. Among 12 cases of cervical LN metastasis, 6 cases（50%）had positive LN in upper mediastinal LN（#106）, whereas among 89 cases of negative cervical LN metastasis, 23 cases（25.8%，23/89）had positive LN in upper mediastinal LN. With regard to para-aortic LN metastasis（#lt-16a1 and #lt-16a2), all 10 recurret cases had metastasis（including micrometastasis）in perigastiric lymph node（#1, 2, 3, or 7）. Furthermore, two recent cases of lower thoracic esophageal carcinoma with para-aortic LN dissection showed that both cases have micrometastasis in dissected para-aortic LN and one has survived 3 years after esophagectomy and the other has survived 5 months. These results indicated that the cases of upper mediastinal LN metastasis in thoracic esophageal cancer patients should receive cervical LN dissection and the cases of perigastric LN metastasis in lower thoracic esophageal cancer patients should receive para-aortic LN dissection. Further examination is required due to the small number of cases and short periods of follow-up.

Reprint requests：Yutaka Shimada　Department of Surgery and Surgical Basic Science, Graduate School of Medicine, Kyoto University
54 Shogoin-kawaracho, Sakyo-ku, Kyoto, 606-8507 JAPAN