

再発死亡したリンパ節転移陰性直腸癌における
微小リンパ節転移の予後因子としての
意義についての検討

下山 雅朗・谷 達夫・飯合 恒夫

岡本 春彦・畠山 勝義

新潟大学大学院医歯学総合研究科

消化器・一般外科学分野

山崎 俊幸

新潟市民病院外科

須田 武保

日本歯科大学新潟歯学部附属医科病院外科

**Prognostic Significance of Lymph Node Micrometastases
in Patients with Node Negative Rectal Cancer
Who Died of Recurrence**

Masaaki SHIMOYAMA, Tatsuo TANI, Tsuneo IIAI

Haruhiko OKAMOTO and Katsuyoshi HATAKEYAMA

Division of Digestive and General Surgery,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Toshiyuki YAMAZAKI

Department of Surgery, Niigata City General Hospital

Takeyasu SUDA

Department of Surgery, Medical Hospital,

The Nippon Dental University School of Dentistry at Niigata

Reprint requests to: Masaaki SHIMOYAMA
Division of Digestive and General Surgery
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先: 〒951-8510 新潟市旭町通り1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器・
一般外科学分野 下山 雅朗

Abstract

We investigated the prognostic value of lymph node micrometastases in histologically - node - negative rectal cancer patients who died of recurrence. The 231 lymph nodes from 15 patients with histologically node - negative rectal cancer who died of recurrence were examined. The lymph nodes were stained with antibody to cytokeratins 7 and 8 (CAM5.2) and examined for the presence of occult lymph node metastases. Micrometastases were detected in 25 lymph nodes (10.8 %) from 10 (66.7 %) patients. The rate of lymph node micrometastasis was significantly higher in the male patients, but no significant differences were found in another clinicopathological factors. There were no significant differences in recurrence sites between the two groups, and there were no significant differences between the survival curves of them. The median survival time was 55 months among the patients without cytokeratin - positive nodes, 38 months among the patients with 3 or fewer cytokeratin - positive nodes, and 26 months among the patients with 4 or more cytokeratin - positive nodes. The survival time of the patients with 4 or more cytokeratin - positive nodes was shorter than among patients with no or 3 or fewer cytokeratin - positive nodes. In conclusion, 67 % of node - negative rectal cancer patients who died of recurrence had lymph node micrometastases. The presence of micrometastases may affect the prognosis of rectal cancer.

Key words: rectal cancer, node negative, micrometastasis, cytokeratin, recurrence

緒 言

大腸癌においてリンパ節転移の有無は最も重要な予後因子の一つであり¹⁾²⁾, リンパ節転移陰性大腸癌の予後は良好である³⁾. 近年, 抗サイトケラチン抗体を用い, 従来のヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色では検出できなかった微小リンパ節転移が検出されるようになったが, その意義はいまだ十分には明らかにされてはいない.

今回, 我々は微小リンパ節転移の意義を明らかにする目的で, 対象を再発死亡した直腸癌症例に絞って臨床病理学的に検討したので報告する.

対象と方法

1. 対象

1984年1月から1995年12月まで当施設でリンパ節郭清を伴う根治切除術が施行された直腸癌症例のうち, 肉眼的, 組織学的に治癒切除が施行され, 切除標本の病理検索でリンパ節転移が陰性で, かつ, 再発死亡した15例を対象とした. 年齢は44~82歳(平均65.5歳)で, 男性10例, 女

性5例であった. 腫瘍局在は直腸S状部(Rs)5例, 上部直腸(Ra)4例, 下部直腸(Rb)6例. 壁深達度はsm2例, mp1例, ss/a18例, se/a23例, si/ai1例であった. 術式は高位前方切除術1例, 低位前方切除術10例, 腹会陰式直腸切断術4例であった. 再発までの期間は2~85か月(中央値16か月), 生存期間は18~107か月(中央値38か月)であった.

2. 方法

15症例の郭清リンパ節231個(15.4±10.1リンパ節/症例)のホルマリン固定パラフィン包埋切片から4μmの切片を作成しHE染色を行った. さらに, 連続する3枚の10μm切片を作成し, これらに免疫染色を行った. 抗体は抗サイトケラチン7, 8抗体であるCAM5.2(Becton Dickinson社製)を用いた. リンパ節の切片を脱パラフィン後トリプシン処理を37℃で20分間行った. CAM5.2を10倍希釈で用い, 4℃で一晩反応させ, strep-toavidin-biotin-immunoperoxidase法(SAB法)にて免疫染色を行った. DABにて発色し, Counterstainとしてメチルグリーン染色を行い検鏡した. 陽性コントロールとして大腸癌組織標本

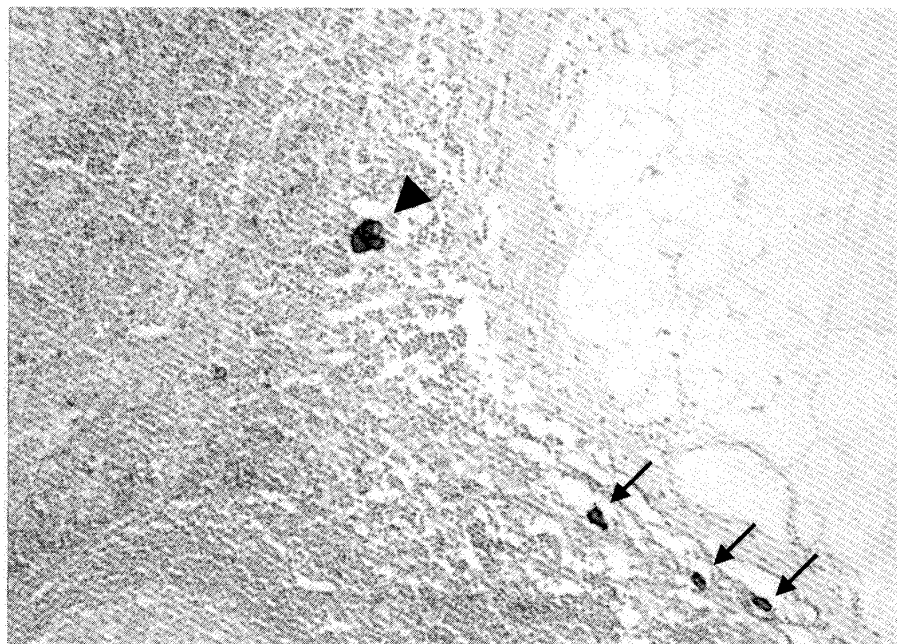


図1 抗サイトケラチン抗体 CAM5.2 による微小リンパ節転移
転移癌細胞は single cell (矢印), あるいは cluster を形成して
(矢頭) 認められる.

を用いた. 1枚の HE 染色を行った切片と, 免疫染色を行った3枚の連続切片を, それぞれ予後や病理組織学的因子などを加味せず検鏡し, リンパ節転移の有無を検索した. 微小リンパ節転移は HE 染色で検出されず, CAM5.2 を用いた免疫染色で検出された癌細胞陽性のリンパ節転移と定義した.

リンパ節番号およびリンパ節群分類は大腸癌取り扱い規約²⁾に従った.

統計学的有意差検定は χ^2 検定または Fisher の直接検定, Student t 検定を用い, 生存曲線は Kaplan-Meier 法を用い, その生存率解析は log-rank test を用いた. $P < 0.05$ を統計学的に有意差ありと判定した.

結 果

1. 微小リンパ節転移

微小リンパ節転移は single cell あるいは small cluster を形成して認められた (図1). 15 症例中 10 例 (66.7%), 231 個のリンパ節中 25 個 (10.8%) に微小リンパ節転移を認めた. 転移程度は n1(+)

症例 5 例, n2 (+) 症例 4 例, n3 (+) 症例 1 例であった. 症例の内訳を示した (表1).

2. 微小リンパ節転移と臨床病理学的因子との関連

微小リンパ節転移陽性例 10 例と微小リンパ節転移陰性例 5 例の臨床病理学的因子を比較検討した (表2). 微小リンパ節転移陽性群 10 例中 9 例が男性で, 転移陰性群に比べ有意に男性の比率が高かった. 年齢, 腫瘍局在, 組織型, 壁深達度, 脈管侵襲の有無などの臨床病理学的因子には差を認めなかった.

3. 再発形式

再発部位に関しては, 局所再発やリンパ節再発を含め, 微小リンパ節転移の有無による違い, あるいは特徴的な再発形式は認められなかった (表3).

4. 微小リンパ節転移と生存曲線

生存期間の中央値を微小リンパ節転移陽性群, 陰性群の 2 群で比較したが, それぞれ 38 か月, 55 か月で有意差を認めなかった (図2). 微小リンパ節転移個数でみると, 0 個群 55 か月, 1~3 個群 38 か月, 4 個以上群 26 か月であった. 4 個以上

表1 再発死亡したリンパ節転移陰性直腸癌症例

No.	年齢 / 腫瘍 性別 局在	術式	組織型	深達度	リンパ節数	CAM5.2 陽性 リンパ節数	転移リンパ節	再発部位	生存 期間 (月)
微小転移陰性 (n=5)									
1	71/M Rs	低位前方切除	高分化腺癌	ss	9	0		肺, 骨	87
2	44/F Rb	低位前方切除	中分化腺癌	a1	13	0		肝, 局所	30
3	82/F RbP	腹会陰式直腸切断術	高分化腺癌	a2	7	0		局所	37
4	57/F Rb	腹会陰式直腸切断術	高分化腺癌	sm	34	0		局所, 肺	55
5	73/F Rs	低位前方切除	高分化腺癌	sm	5	0		肝	86
微小転移陽性 (n=10)									
6	48/M RaRb	低位前方切除	中分化腺癌	ss	19	2	251N1, 251N2	肝, 肺, 局所	61
7	60/M RbP	腹会陰式直腸切断術	高分化腺癌	a2	31	2	251N2	肺, リンパ節	18
8	72/M Ra	低位前方切除	高分化腺癌	si	3	1	251N1	肝, 肺, 局所	38
9	78/F Rs	低位前方切除	中分化腺癌	se	1	1	251N1	肝, 骨	28
10	51/M Ra	低位前方切除	高分化腺癌	ss	29	1	251N2	局所	38
11	72/M Rs	低位前方切除	中分化腺癌	ss	15	3	251N1	肝, 骨, 局所	44
12	72/M Rb	腹会陰式直腸切断術	高分化腺癌	a1	22	1	251N1	肺, 局所	107
13	60/M Rb	低位前方切除	中分化腺癌	mp	14	5	251N1	肝	26
14	81/M Ra	低位前方切除	高分化腺癌	ss	16	4	252, 241N2, 262R, 262L	局所	33
15	62/M Rs	高位前方切除	高分化腺癌	ss	13	5	251N1, 252	肝, 肺	23

表2 微小転移の有無による臨床病理学的因子の比較

	微小転移陽性 (n = 10)	微小転移陰性 (n = 5)	P 値
年齢	65.6 ± 11.1	65.4 ± 14.9	NS
性別			P = 0.017
男性	9 (90.0)	1 (20.0)	
女性	1 (10.0)	4 (80.0)	
腫瘍局在			NS
Rs	3 (30.0)	2 (40.0)	
Ra	4 (40.0)	0	
Rb	3 (30.0)	3 (60.0)	
深達度			NS
sm	0	2 (40.0)	
mp	1 (10.0)	0	
ss/a1	6 (60.0)	2 (40.0)	
se/a2	2 (20.0)	1 (20.0)	
si/ai	1 (10.0)	0	
組織型			NS
高分化腺癌	6 (60.0)	4 (80.0)	
中分化腺癌	4 (40.0)	1 (20.0)	
リンパ管浸潤			NS
(－)	6 (60.0)	3 (60.0)	
(＋)	4 (40.0)	2 (40.0)	
静脈浸潤			NS
(－)	5 (50.0)	4 (80.0)	
(＋)	5 (50.0)	1 (10.0)	

表3 微小転移の有無による再発部位と再発率の比較

再発部位	微小転移陽性 (n = 10)	微小転移陰性 (n = 5)	
肝	8例	6 (60%)	2 (20%)
肺	7例	5 (50%)	4 (40%)
局所	9例	6 (60%)	3 (60%)
リンパ節	1例	1 (10%)	0 (0%)
骨	2例	2 (20%)	0 (0%)
脳	1例	0 (0%)	1 (20%)

] NS

群の生存期間は1～3個群に比べ短い傾向を示し、0個群より有意に短かった(図3)。

考 察

近年、抗サイトケラチン抗体を用いた微小リンパ節転移の検出が種々の癌で試みられ、その臨床的意義が注目されている。大腸癌においてもリンパ節転移陰性大腸癌症例の約20～40%に微小リンパ節転移を認めるとされているが^{4)–9)}、再発や予後との関連を含めた臨床的意義は十分に明らかにはされていない。

大腸癌における微小リンパ節転移の臨床的意義を考える際に、リンパ節転移経路や予後および再

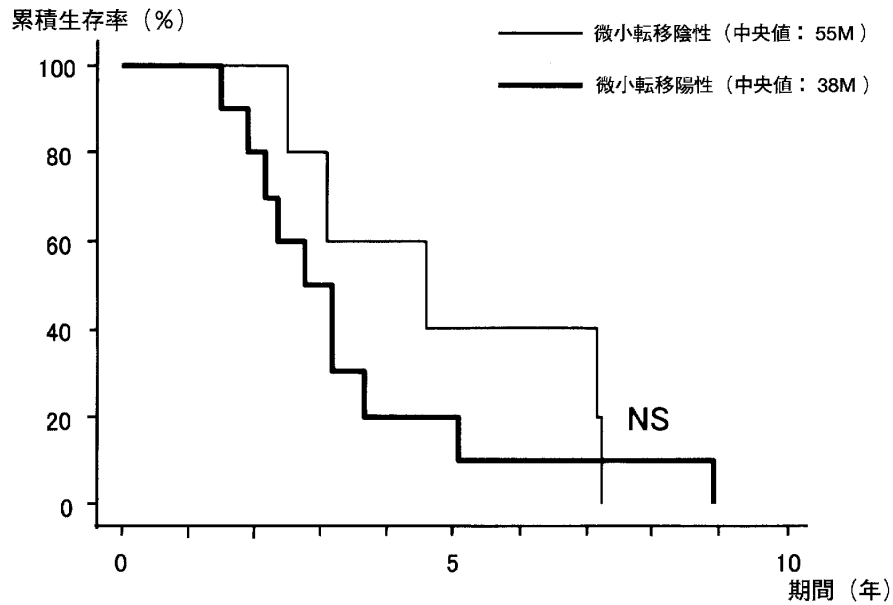


図2 微小転移の有無による生存曲線

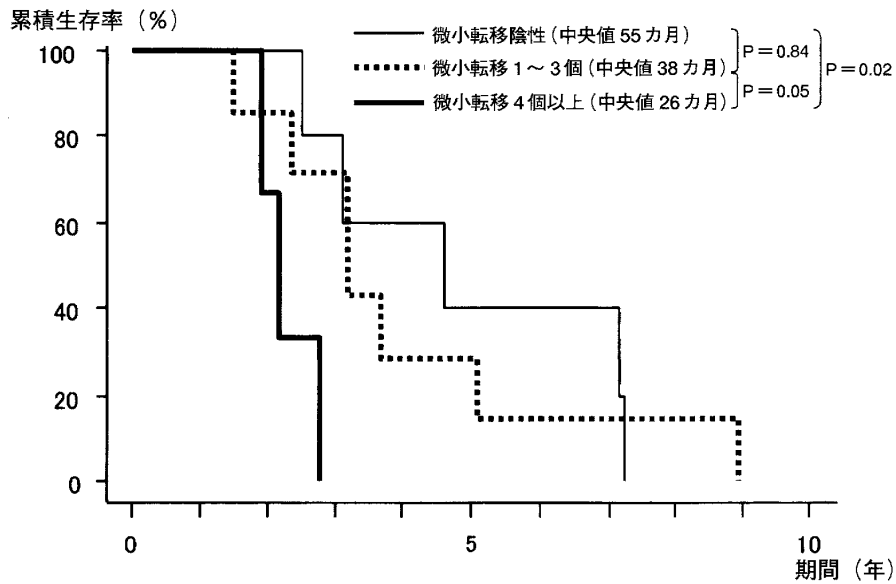


図3 微小転移個数による生存曲線

発形式が異なる結腸癌と直腸癌を区別して検討する必要があると考えられる。直腸癌は解剖学的問題や自律神経温存と側方リンパ節郭清などの手技的問題からリンパ節郭清の難易度が結腸癌より高く、また再発率も高い¹⁰⁾⁻¹²⁾。特にリンパ節転移例の予後が悪い直腸癌で微小リンパ節転移について検討することは重要なことと考えられる。黒川

ら¹¹⁾はDukes A大腸癌372例中再発を来したのは16例であり、そのうち15例が直腸癌であったと報告している。

Isakaら⁶⁾は、Dukes B直腸癌の傍直腸リンパ節における微小リンパ節転移の有無は、再発率、無再発生存期間、10年生存率に影響を与えると報告している。当科では無再発症例の検討は行って

いないが、彼らは無再発症例 32 例中微小リンパ節転移を認めたのは 4 例であったのに対し、再発した 10 例中 5 例に微小転移を認めたと報告している。この結果は微小リンパ節転移が予後に関連する因子であることを示唆するものと考えられる。

今回の検討では、再発死亡した 15 例の Dukes A および Dukes B 直腸癌のうち 10 例 66.7% と高率に微小リンパ節転移を認めた。これは予後不良であった再発死亡症例における検討であるため、高値を示したと考えられる。また、微小リンパ節転移例には男性が有意に多かったが、年齢、腫瘍局在、壁深達度、組織型、リンパ管侵襲、静脈侵襲などの性別以外の臨床病理学的因子との関連は認めなかった。再発部位に関しても、微小リンパ節転移の有無で差はなく、局所再発やリンパ節再発との関連を示唆する結果ではなかった。直腸癌の局所再発の原因としては、転移リンパ節の遺残以外にも手術手技に起因する EW あるいは AW が不十分となる腫瘍切除や癌細胞の implantation などが考えられるため¹³⁾、微小リンパ節転移の影響は大きくでないものと考えられた。

次に、微小リンパ節転移と生存期間との関連を検討した。微小リンパ節転移の有無で生存期間の中央値に差を認めなかったが、転移個数で分けた場合、4 個以上群の生存期間は 1～3 個群より短い傾向を示し、0 個群より有意に短い結果であった。石田ら¹⁴⁾は Dukes C 結腸癌症例をリンパ節転移個数で 3 個以下群と 4 個以上群に分け、4 個以上群の予後が有意に不良であったと報告しているが、微小リンパ節転移の評価においても転移個数が重要な因子であることが示唆される。

結 論

今回の検討で、再発直腸癌症例における微小リンパ節転移が高頻度に存在することが明らかとなり、予後に影響を及ぼしていることが示唆されたが、さらなる検討により微小リンパ節転移の臨床的意義が明らかになるものと考えられる。

文 献

- 1) UICC: TNM Classification of malignant tumors. 5th edition. Springer, Berlin, 1997.
- 2) 大腸癌研究会編：大腸癌取扱い規約。改訂第 6 版。金原出版，東京，1998。
- 3) Koyama Y and Kotake K: Overview of colorectal cancer in Japan: report from the registry of the Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. Dis Colon Rectum 40 (Suppl): S2-9 1997.
- 4) Greenson JK, Isenhardt CE, Rice R, Mojzisek C, Hauchens D and Martin EW: Identification of occult micrometastases in pericolic lymph nodes of Dukes' B colorectal cancer patients using monoclonal antibodies against cytokeratin and CC49. Cancer 73: 563-569 1994.
- 5) Broll R, Schauer V, Schimmelpenning H, Strik M, Woltmann A, Best R, Bruch HP and Duchrow M: Prognostic relevance of occult tumor cells in lymph nodes of colorectal carcinoma. Dis Colon Rectum 40: 1465-1471 1997.
- 6) Isaka N, Nozue M, Doy M and Fukao K: Prognostic significance of perirectal lymph node micrometastases in Dukes' B rectal carcinoma: An immunohistochemical study by CAM5.2. Clin Cancer Res 5: 2065-2068 1999.
- 7) Jeffers MD, O'dowd GM, Mulcahy H, Mulcahy H, Stagg M, O'Donoghue DP and Toner M: The prognostic significance of immunohistochemically detected lymph node micrometastases in colorectal carcinoma. J Pathol 172: 183-187, 1994.
- 8) Adell G, Boeryd B, Franlund B, Sjö Dahl R and Håkansson L: Occurrence and prognostic importance of micrometastases in regional lymph nodes in Dukes' B colorectal carcinoma: An Immunohistochemical study. Eur J Surg 162: 637-642 1996.
- 9) Öberg A, Stenling R, Tavelin B and Lindmark G: Are lymph node micrometastases of any clinical significance in Dukes Stages A and B colorectal cancer? Dis Colon Rectum 41: 1244-1249 1998.

- 10) 山田哲司, 中島久幸, 大平政樹, 大村健二, 酒徳光明, 平野 誠, 川浦幸光, 岩 喬: 直腸癌再発形式の検討. 日消外会誌 18: 794-798 1985.
- 11) 黒川幸典, 三嶋秀行, 西庄 勇, 武田 裕, 平尾素宏, 藤谷和正, 沢村敏郎, 蓮池康徳, 辻仲利政: Dukes A 大腸癌術後再発症例の検討. 日消外会誌 35: 487-491 2002.
- 12) Obrand DI and Gordon PH: Incidence and patterns of recurrence following curative resection for colorectal carcinoma. Dis Colon Rectum 40: 15-24 1997.
- 13) 五十嵐達紀: 直腸癌局所再発(骨盤内再発および会陰部再発)の成立機序に関する臨床病理学的研究. 日本大腸肛門病会誌 39: 361-372 1986.
- 14) 石田秀之, 古川 洋, 龍田眞行, 榎谷誠三, 今村博司, 清水潤三, 増田慎三, 江角晃治, 川崎高俊, 里見 隆: Dukes C 結腸癌におけるリンパ節転移個数と予後との関連に関する検討. 日消外会誌 35: 369-373 2002.

[特別掲載]

(平成15年10月28日受付)
