

厚生労働科学研究費補助金

第3次対がん総合戦略研究事業

肺腺癌の診断および悪性腫瘍度予測のためのAcetate-PETの臨床応用研究

平成18年度 総括研究報告書

主任研究者 野 守 裕 明

平成19(2007)年4月

目 次

I. 総括研究報告		
肺腺癌の診断および悪性腫瘍度予測のための Acetate-PETの臨床応用研究 に関する研究	-----	1
野守 裕明		
II. 分担研究報告		
該当無し		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	8
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	10

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
（総括・分担）研究報告書

肺腺癌の診断および悪性腫瘍度予測のためのAcetate-PETの臨床応用研究に関する研究

（主任又は分担）研究者：野守 裕明・熊本大学医学部呼吸器外科教授

研究要旨

肺癌に対するPET診断としてfluorodeoxyglucose (FDG)が使用されているが、FDG-PETの弱点の一つは「高分化腺癌の約60%が陰性となる」ことである。理由は浸潤転移をしにくい高分化腺癌は代謝速度が遅いため糖の一種であるFDGを取り込みにくいからである。一方、¹¹C-Acetateは脂肪代謝の研究に使用されていたトレーサーであるが、成長速度が遅くFDG陰性となる前立腺癌や高分化肝癌にAcetate-PETが陽性になることが報告されている。我々はpreliminary なデータとしてFDG-PETに陰性の高分化肺腺癌はAcetate-PETに陽性になることを以前見出した。本研究の目的は肺腺癌、特に高分化腺癌の診断およびにおけるAcetate-PETの有用性を検討することである。そのために行うこととしてはFDG-PETで陰性となる高分化腺癌におけるAcetate-PETの陽性率を検討する。Acetate-PETにおけるAcetate集積度より高分化腺癌の悪性腫瘍度を判定できるか否かを検討する。高分化腺癌におけるEGFR変異が悪性腫瘍度と関連するか否かを検討する。抗癌剤ゲフィチニブの奏功と相関のあるEGFR変異をFDG-PETとAcetate-PETの両結果より予測できるか否かを検討する。中分化及び低分化腺癌を含めた腺癌全般の診断におけるAcetate-PETの有用性を検討する。本研究の目的は肺腺癌、特に高分化腺癌の診断およびにおけるAcetate-PETの有用性を検討することである。

分担研究者氏名・所属機関名及び所属機関における職名

高浪 巖・帝京大学医学部	教授
呉屋 朝幸・杏林大学	教授
小泉 潔・日本医科大学	教授
鈴木 隆・昭和大学医学部 藤が丘病院	教授
富吉 勝美・熊本大学医学部	教授
宇野 公一・西台クリニック	院長

A. 研究目的

1. FDG-PETで陰性となる高分化腺癌におけるAcetate-PETの陽性率を検討する。
2. Acetate-PETにおけるAcetate集積度より高分化腺癌の悪性腫瘍度を判定できるか否かを検討する。
3. 高分化腺癌におけるEGFR変異が悪性腫瘍度と関連するか否かを検討する。

4. 抗癌剤ゲフィチニブの奏功と相関のあるEGFR変異をFDG-PETとAcetate-PETの両結果より予測できるか否かを検討する。
5. 中分化及び低分化腺癌を含めた腺癌全般の診断におけるAcetate-PETの有用性を検討する。
6. Acetateが腫瘍に集積する機序を免疫組織化学的手法で解明する。

B. 研究方法

Acetate-PETの検査は各施設の倫理委員会で承諾された平成18年9月から開始された。平成19年2月末の時点で120例が登録されている。研究方法は以下に示す。

1. 各施設においてAcetate-PETの検査に関して倫理委員会にはかり、平成18年8月には全施設で承認を得た。検査前には患者に充分にそのリスクと利点を説明し、承諾書に署名を頂いた。
2. 肺腺癌の術前にFDG-PETとAcetate-PETを施行し、その結果と病理組織学的検討を行った。CTにてground-glass opacityの陰影を呈して高分化肺腺癌を疑われた症例、あるいは生検で高分化腺癌と診断された症例で手術を行う

症例に対して、術前にFDG-PETとAcetate-PETを施行した。東京地域では西台クリニックで行い、熊本地域では熊本日赤健康管理センターで行った。西台クリニックにはAcetate合成装置が既に設置されていたが、熊本日赤にはAcetate合成装置がなかったので同装置をリースしてAcetateを合成した。Acetate-PETとFDG-PETは同日に行い、Acetate-PET後にFDG-PETを行った。Acetate合成装置により 11C -Acetateを合成し、 $125\ \mu\text{Ci}/\text{kg}$ 投与し、10分後にPET画像の撮像を行った。Acetate-PET撮像30分後に 18F -FDGを $125\ \mu\text{Ci}/\text{kg}$ 投与し45分後にPET画像を撮像した。陽性陰性の判定は視覚的に行った。すなわち縦隔大血管より集積度が強いのか、あるいは同等の場合を陽性とし、縦隔大血管より集積度が弱い場合には陰性とした。なおAcetateおよびFDGの集積度は腫瘍における集積度(T)と対側肺における集積度(N)より $T-N/T+N$ によりstandard uptake value-contrast ratio (SUV-CR)にて計算した。

3. 研究開始前にFDG-PET単独が行われた症例においてFDG集積度と相関する腫瘍増殖度のマーカーを探索した。臨床病期Ia期と診断され手術された肺腺癌で1cm以上の症例71例において検討した。術前にFDG-PETを行い、FDGの集積度をSUV-CRで評価した。腫瘍増殖度のマーカーとしてKi-67(monoclonal mouse antibody MIB-1, 1:100 dilution), Cyclin D1(monoclonal mouse antibody DCS-1, 1:50 dilution), P53(monoclonal mouse antibody, D07, 1:400 dilution)の抗体DAKO社より購入して免疫染色を行った。Ki-67はMartinらの方法に従い、4視野以上で1000個以上の腫瘍細胞におけるKi-67陽性細胞を数え、Ki-67 indexとした。Cyclin D1とp53は陽性細胞数と染色度の両方の和より行った。すなわち陽性腫瘍細胞数は0, none; 1, $<1/100$; 2, $<1/100-1/10$; 3, $1/10-1/3$; 4, $1/3-2/3$; 5, $>2/3$ で判定した。染色度は0, none; 1, weak; 2, intermediate; and 3, strongで判定した。その和であるAllred scoreを用いて判定した。
4. 高分化腺癌における悪性腫瘍度とEGFR変異の関連性を検討するために、異型腺腫、肺胞上皮癌、高分化腺癌におけるEGFR変異を検討した。なおEGFR変異の検出はPNA-LNA Clamping法で行い、三菱化学Bio-Chemical Lab, Inc.に外注した1999年1月から2006年12月の間に、

当院において438例の非小細胞肺癌の切除術が行われた。このうち術前のCTにおいてスリガラス状陰影が多発していた症例を抽出した。肺内転移の可能性をできるだけ排除するため最大の腫瘍の大きさが3cmを超えないものを対象とし、腫瘍の大部分が充実性となるような低分化のAdenocarcinomaを含む症例は除外した。最終的に27例の多発GGO症例が検討に含められた。切除した組織の病理診断は1999年WHO分類ののちで行った。[11] 全員の患者から術前にインフォームドコンセントを行い、切除標本の遺伝子変異の検索を行う了承を得た。それぞれの患者につき最も悪性度の高い病変を1st tumor とし、次に悪性度が高く最も大きな病変を2nd tumor とし、それぞれのEGFR遺伝子変異を検索した。病変を1箇所した切除していないか、2nd以下の病変があまりにも小さく遺伝子検索が不能であったものは1st tumor のみの検討をおこなった。その結果計50個のGGO病変に付き検索をおこなうことができた。今回切除標本からのEGFR遺伝子変異の検索をPNA-LNA Clamping法を用いて行った。今回検討を行ったサンプルは1cm 以下のGGO病変がほとんどで、1薄切切片あたりの癌細胞の個数が少ないため、正常細胞の混入が多くても高感度に変異を検出できる本方法を用いた。[12, 13] 切除標本のホルマリン固定、パラフィン包埋ブロックを $5\ \mu\text{m}$ に薄切し、5枚の切片において腫瘍部分を目視にて切り出した。サンプルは200ulのlysis buffer (10mM Tris-Hcl pH8.0, 1mM EDTA, 0.5% SDS) と40ug のグリコーゲン、2ul のproteinase K (20mg/ml) とともに56度で一晩incubate した。DNA はphenol-chloroform 抽出し20ul TE (10mM Tris-Hcl PH8.0, 1mMEDTA)で溶解した。全てのPCR反応は25mmol/L TAPS (PH9.3)を含んだBasic mixture (50mmol/L KCL, 2mmlm/L MgCl₂, 1 mmom/L 2-melcaptoethanol, 200ul/L each of deoxynucleotide triphosphate, and 1.25 units of Takara Ex Taq HS (Takara Bio, Shiga, Japan))にて行った。Conventional PCR においては、PCRprimer (200nmol/L each)をbasic mixture に加えた。Peptide nucleic acid-locked nucleic acid (PNA-LNA) PCR clamp にはPCR primer (200nmol/L, each) と、fluorogenic probe (100nmol/L each), PNA clamp primer (5umol/L)がbasic mixture に加えられた。PCR反応とreal time amplification はSmart CyclerII (Cepheid, Sunnyvale, CA) を用いて行った。PCRサイクルは95°C30秒ののち、95°C3秒、62度(exon 18, 19) か56度(exon 21)で30秒を45サイクル。PNA-LNA PCR

Clamp のためのNested PCR は同様の条件でinnner primer と1/10(6乗)の第一-PCR反応液を加えて行った。DNA の抽出、PNA-LNA Clamping法による変異の検出についてはMitsubishi Kagaku Bio-chemical Laboratories, Inc にて行った。数値DATAの比較は2-tailed Student *t*-test にて有意差検定を行った。3群間の比較には、Bonferroni test を行った。カテゴリーDATAの比較はFisher's exact test を用いた。P<0.05 を有意と判定した。すべての数値は平均値±標準偏差 で表した。

5. 腺癌術後再発によりゲフィチニブを投与した症例において、原発巣におけるEGFR変異とゲフィチニブ奏功の関連性を検討した。非小細胞肺癌患者組織40検体(36人の患者からの検体)のEGFR遺伝子変異解析、k-RASコドン12変異解析、EGFR蛋白の免疫染色が終了した。AKT, リン酸化AKT, リン酸化EGFRの解析は継続中である。①EGFR遺伝子変異解析:東京済生会中央病院にて切除された36名の患者から得られたホルマリン固定パラフィン包埋非小細胞肺癌切除組織40検体より、5 μ m薄切標本を5-10枚作成し、三菱化学BCL株式会社にてDNA抽出およびPNA-LNA PCR Clamping法¹⁾によるEGFR遺伝子変異解析(exon19, 21)を依頼した。②K-RASコドン12遺伝子変異解析:①にて得られたDNAを用いて同じく三菱化学BCL株式会社に依頼して、enriched PCR法²⁾による遺伝子変異解析を行った。③①にて作成した薄切標本の連続切片を作製し、EGFRに対するマウスモノクローナル抗体によりABC法を用いた免疫組織化学染色を施行した。具体的には、キシレンにて切片を脱パラフィン後、抗原賦活目的にて、切片をProtease Iにて処理し、Santa CRUZ BIOTECHNOLOGY社のmouse ABC Staining System(sc-2017)を用いて、ABC法による染色を行った。一次抗体にはZYMED Laboratories 社のマウスモノクローナル抗体(clone:31G7)を200倍希釈にて使用した。染色性の判定は3段階法を用い、染色の局在(核か細胞質・細胞膜か両方か)と染色の強さ(無しか弱いか強いか)を少なくとも2人の観察者にて行った。遺伝子変異の有無や蛋白発現の有無とゲフィチニブによる治療効果との関連性については、カイ2乗検定を用いて、有意性を判定した。

6. Acetateが腫瘍に集積する機序は未だ解明されていないが、正常細胞では細胞膜における脂質代謝に関連していることが現在までの報告で明らかにされている。すなわち細胞内に取り込まれた酢酸はアセチルCoAに変換され、その多くは中性脂肪酸の合成に使用されると考えられる。合成された中性脂肪酸は細胞膜の構成成分の一つであるホスファチジルコリンの合成に使用される。この合成のKey enzymeの一つとしてコリンキナーゼがある腫瘍ではこのコリンキナーゼの活性または発現量が増加しており細胞膜におけるホスファチジルコリンの合成が亢進し、酢酸の取り込みが増加している可能性が考えられる。そこで免疫染色によりコリンキナーゼおよびホスファチジルコリンの抗体を用いて免疫染色で腫瘍内のそれらの存在とAcetateの集積度の関連を調べ、腫瘍におけるAcetate取り込み亢進の機序を解明する。

(倫理面への配慮)

Acetate-PETは既に国内のいくつかの施設で行われている検査であり、安全性の高い検査である。各施設において倫理委員会を通して同検査の承認を得た。またEGFR変異の診断においても別件として倫理委員会の承諾を得た。ヘルシンキ宣言、厚労省臨床研究の倫理指針試験に関係するすべての研究者はヘルシンキ宣言(2000改訂版)を遵守して試験を実施した。同意の取得にあたっては試験担当医師は対象となる患者に対し、試験の内容、副作用や有害事象などについて別紙説明書、同意書を用いて十分説明した上で、試験への参加について、患者本人の自由意思による同意を文書で得た。この際患者に対して質問の機会、また参加の判断をするのに十分な時間を与えた(同意書の署名を説明の翌日以降にするなどの配慮を行う)。同意文書は試験担当医師および患者が一部ずつ保管した。プライバシーの保護に関しては登録時には原則として、参加施設から登録番号が主任研究者の事務局に伝えられた。登録番号と症例の氏名、ID番号、生年月日などの対照表は院内に厳重に保管した。以後の外部のデータマネジメントにはこの登録番号を用いた。

C. 研究結果

1. 各施設の倫理委員会で承認が得られたのが平成18年8月であり、9月からAcetate-PETの検査が開始された。平成19年2月末までに120例が登録された。現段階で得られた結果の概要は以下の点である。FDG-PET (-)の肺腺癌におけるAcetate-PETの陽性率の検討に関しては、平成18年12月までに登録された82例の腺癌においてはFDG (-)であった症例が41例あり、それらは全て高分化腺癌であった。FDG (-)の高分化腺癌41例中、Acetate (+)は15例(36%)であった。またAcetate (-)FDG (-)の症例は肺胞上皮癌が多かった。中分化及び低分化腺癌は19例あったが、19例全例がFDG陽性であった。その内10例がAcetate陽性で、9例はAcetate陰性であった。なお17病変が結果的に炎症性腫瘍であったが、その内8病変が慢性炎症、9病変が急性炎症であった。慢性炎症では8病変全例がAcetate (-)FDG(-)であった。急性炎症性病への9病変ではAcetate (+)FDG(+)3病変、Acetate(+)FDG(-)2病変、Acetate (-)FDG(+)2病変、Acetate (-)FDG(-)2病変であり、一定の傾向は認められなかった。
2. 悪性腫瘍度の種々のマーカーとFDG集積度の相関性の検討: 以前にFDG-PET単独を施行された臨床病期Ia期肺腺癌の71例において、FDGの集積度(SUV-CR)が肺腺癌の増殖度の指標であるKi-67, PCNA, Cyclin-D1の染色度と関連するかを検討した。病理病期では59例がIa期であり、その他12例はリンパ節転移等が認められ病理病期ではIb期であった。病理病期Ia期とIb期の間でKi-67, Cyclin D1, p-53のscoreを比較した。Ki-67 indexではIa期では平均 9.4 ± 12.0 でIb期以上では 18.0 ± 11.0 であり、有意にIa期の方がIb期以上よりKi-67 indexが低かった($P=0.012$)。Cyclin D1では病理病期Ia期とIb期でそれぞれ 3.9 ± 1.7 と 4.1 ± 1.8 で有意差が無かった。P53では病理病期Ia期とIb期でそれぞれ 2.6 ± 2.6 と 3.3 ± 3.6 で有意差が無かった。SUV-CRと相関性が認められたものはKi-67 indexのみであり、有意な相関が認められた($r=0.42$, $P=0.0004$)。そのため今後、本研究においてはKi-67 indexを腺癌の悪性腫瘍度の指標として検討することとした。
3. 異型腺腫、肺胞上皮癌、高分化腺癌におけるEGFR変異: 腺癌における悪性腫瘍度の指標として近年注目されているEGFR変異を異型腺腫、肺胞上皮癌、高分化腺癌において検出した。対象症例は27例の多発GGO結節症例における101病変(異型腺腫10病変、肺胞上皮癌57病変、高分化腺癌34病変)の内、EGFR変異を検索し得た50病変である。検出方法はPNA-LNA Clamping法で行い、三菱化学Bio-Chemical Laboratories, Inc.に外注した。27人の患者の50病変についてEGFR遺伝子変異の検討をおこなった。Table 4に27症例の臨床病理学的特徴と1st tumor、2nd tumorの病理組織学的診断およびEGFR遺伝子変異のパターンを示す。2nd tumorまでの検討を行えた23症例のうち、2つの腫瘍の変異のパターンが同じだったものは3症例。違うパターンの変異を認めたものが3例。1つのtumorのみに変異を認めたのが12例。2つとも変異がなかったものが5例であった。10個中8個の高分化腺癌についてEGFR遺伝子の変異が認められた。異型腺腫10病変については1個のみにexon19のdeletionを認めたが、かなりHigh gradeのAAHの症例であった。全体の変異率は52%であり、高分化腺癌、肺胞上皮癌、異型腺腫の変異率はそれぞれ80%, 57%, 10%であった。高分化腺癌の変異率はその他(肺胞上皮癌と異型腺腫)と比較して有意に高率($p=0.04$)であった。
4. EGFR変異とゲフィチニブ有効性の関連性の検討: EGFR変異とゲフィチニブの有効性を検討するために外科的に切除した肺腺癌症例で術後再発をしてゲフィチニブを内服した36例について、原発巣におけるEGFR変異とイレッサ有効性の相関を検討した。その結果、EGFR変異は47%に認められ、術後再発非小細胞肺癌におけるゲフィチニブの奏功と有意な相関が認められた。患者36人はすべて非小細胞肺癌手術後に再発をきたし、ゲフィチニブによる治療を受けた患者である。年齢は中央値で61.5歳(34歳~84歳)、喫煙歴は非喫煙者12人、喫煙者24人であった。手術時の切除肺癌の組織型は、腺癌31例(84%)、扁平上皮癌3例(8%)、大細胞癌1例(3%)、その他2例(6%)であった。その他の組織型は2例とも腺扁平上皮癌であった。①遺伝子変異解析: 36例中解析可能であったものは34例であった。解析可能であった34例中16例(47%)にEGFR遺伝子変異を認めた。検出された遺伝子変異は3種類であり、エクソン19の欠失変異2種類(E746-A750 del, L747-

S751 del) とエクソン21の1塩基置換変異(L858R)であった。それぞれの変異頻度は、E746-A750 delが10例(62.5%)、L747-S751 delが2例(12.5%)、L858Rが4例(25%)であり、従来の報告よりエクソン19の欠失変異の頻度が高く、エクソン21の1塩基置換変異の頻度が低かった。遺伝子変異の有無とゲフィチニブによる抗腫瘍効果(CR/PR対SD/PD)との関連性を、カイ2乗検定にて調べると、有意に遺伝子変異が存在するほうが抗腫瘍効果を示す確率が高いことが示された($p < 0.01$)。DNAが抽出され、解析可能であった34例においてはK-RASコドン12の変異を1例も検出できなかった。

②免疫組織学的解析：遺伝子解析に用いた癌組織標本より、連続切片を作成し、EGFR蛋白を検出する目的で、免疫染色を施行した。36例全例において、免疫染色が可能であった。全くEGFRを発現していないものを陰性と表記し、癌細胞が非常に強く発現しているものを強発現と表記した。癌細胞がEGFR蛋白を発現しているが、その発現が明らかに弱いということを、2人の評価者がそろって判定したものは弱発現と表記した。陰性は染色性なし、強発現・弱発現はあわせて染色性ありと判定した。36例中22例(61%)にてEGFRの染色性を認めたが、すべて細胞質・細胞膜の発現であり、核での蛋白発現は認めなかった。蛋白染色性の有無とゲフィチニブによる抗腫瘍効果(CR/PR対SD/PD)との関連性を、カイ2乗検定にて調べたが、有意な関係は示されなかった。

D 考察

1. FDG-PET (-)となる高分化腺癌の36%がAcetate-PETで(+)として写し出された。すなわちAcetateはFDGより増殖速度の遅い高分化腺癌により多く集積することが示唆された。またFDG, Acetate共に(-)の症例には肺胞上皮癌が多い傾向が認められた。これらのことより次年度においてはさらに登録証例数を増やすことにより、信頼性の高いデータとする。肺胞上皮癌ではAcetate (-) FDG (-)となる原因としては一つにはAcetate-PETおよびFDG-PETが見ている脂肪代謝および糖代謝ともに低いことが考えられる。もう一つの原因としては細胞自体に集積はあるがGGOのCT画像で代表されるように腫瘍細胞の密度が極めて低いためにPETカメラに写らない事が挙げられる。

2. FDG集積度は腺癌の増殖度のマーカーとして有用であることが既に報告されている。今回FDG集積度とKi-67, Cyclin D1, p53の免疫染色の結果を比較検討したが、その中でKi-67がFDG集積度と有意に相関したことから、これらのなかではKi-67が腺癌の増殖度マーカーとして優れていることが判明した。そのため今後、Acetate-PETにおけるAcetate集積度と腺癌の悪性腫瘍度の判定が相関するか否かを検討するために、Acetate集積度とKi-67 indexの相関性を検討する。また我々のpreliminaryな結果としてEGFR変異は腺癌の悪性腫瘍度の判定に有用である可能性が認められているので、EGFR変異とAcetate集積度との関連も検討する。もし予測通りに肺腺癌の悪性腫瘍度がFDG (+) 症例, FDG (-) Acetate (+) 症例, FDG (-) Acetate (-) 症例の順に低くなれば、腺癌に対する手術術式を決定できる可能性がある。すなわちFDG (+) 症例には肺葉切除、FDG (-) Acetate (+) 症例には区域切除, FDG (-) Acetate (-) 症例には部分切除を行うことで根治術が可能となり、区域切除あるいは部分切除により術後肺機能の温存が可能となる。

3. EGFRの遺伝子変異が東洋人、非喫煙者、女性に頻度が高いという報告がある。またEGFR遺伝子変異は肺癌の肺胞上皮置換型の増殖パターンと密接な関連を持つと報告されている。今回の肺胞上皮癌と高分化腺癌を併せた切除結節の変異率は63%と高率であったが、肺胞上皮置換型の増殖を示す腫瘍であることと、非喫煙者、女性が多いことを考えると妥当な数字であると言える。私たちは当初、多発症例においては通常肺胞上皮癌と比較してEGFRの変異率が高率であろうと予測した。しかし、結果は全体の割合としては今までの報告と同様の結果で、全体として変異率は高くなかった。しかし興味のあることとして、今回遺伝子変異の検討をおこなった結節の変異率は高分化腺癌、肺胞上皮癌、異型腺腫でそれぞれ80%, 57%, 10%であり、悪性度の高い結節ほど変異率が高かった。今回検討したAAH病変においては1例のHigh Grade 症例を除いては変異を認めなかった。また、2例の例外を除き、多発GGO症例に発生した高分化腺癌においては全例にEGFR遺伝子変異を認めた。EGFRの遺伝子変異の蓄積によって異型腺腫から肺胞上皮癌、浸潤性の高分化腺癌へと移行するSequenceの仮説がたてられているが、EGFR変異はこうちごく早期の段階で起こっていると考えられている。しかし、今回の検討に

よるとEGFR変異は異型腺腫の段階ではほとんどおこっておらず、肺胞上皮癌、高分化腺癌へと次第に悪性度が上がるにつれて高率となることがわかった。これらのことから、EGFR変異は肺内にGGO病変が多発する原因とはなっておらず、なんらかの遺伝的、あるいは環境的因子を背景に肺内にAAH病変が多発し、そのうちEGFR遺伝子変異を獲得した結節が浸潤性の高分化腺癌へと移行していくという仮説が成立すると考える。今回、肺野に無数のGGO結節が存在し、全ての結節を切除することが不可能であった症例が10例存在した。このような症例にたいしてどのような治療をおこなうことが適切であるのかというエビデンスは未だ存在しない。多発GGO症例において浸潤性を獲得した結節の多くはEGFR遺伝子変異陽性と考えられる。近年EGFR遺伝子変異とチロシンキナーゼインヒビターの奏効率との間に密接な関連があることが報告されており、多発GGO症例に発生した浸潤癌に対してはこれらの薬剤が有効であることが予想される。以上の結果をふまえ、多発GGO症例の治療方針について以上の内容を提案する。①1cm以下のpure GGO結節に関してはAAHもしくはpure BACの可能性が高く、CTによって定期的にfollow upを行う。短期間に増大するものや内部に高吸収域を伴ってきた場合は切除を行う。②多発結節のうち内部に高吸収域を伴うものは浸潤性の高分化腺癌を含有する可能性を考え、切除する。同側のGGOに関しては可能な限り同時に切除を目指す。対側の病変に関しては1cm以下、pure GGOであればfollow upとする。③多発GGOの症例において浸潤癌が多発し、肺機能その他の理由によって完全切除が不能である場合はEGFR遺伝子変異陽性の可能性が高く、チロシンキナーゼインヒビターの適応が考慮される。結論として、今回の我々の研究により多発GGO症例の腫瘍の悪性度とEGFR遺伝子変異との間には密接な関連性が存在した。EGFR遺伝子変異は多発GGOの発生には関与しておらず、多発GGO症例における各個の結節の悪性度上昇に関与していることが示唆された。更なる研究により、多発GGO症例に対する治療のガイドラインの設定と、肺内にGGO病変が多発する遺伝的、環境的背景の解明が望まれる。

4. 従来の報告通り、ゲフィチニブの奏功とEGFR変異には深い関連が認められた。次年度はゲフィチニブの奏効率と関連のあるEGFR変異をFDG-PETとAcetate-PETの結果より予測できるか否かを検討する。すなわち我々の今回出したpreliminaryなデータとして肺胞上皮癌より浸潤性のある高分化腺癌でEGFR変異が明らかに多くなることが認められた。また別のpreliminaryなデータとして、肺胞上皮癌では多くの場合FDG (-) Acetate (-)であり、高分化腺癌ではFDG (-) Acetate (+)の事が多い傾向が認められている。そのためFDGおよびAcetateの結果より肺胞上皮癌と高分化腺癌の鑑別を行い、ひいてはEGFR変異、ゲフィチニブの有効性を予測できる可能性を検討する。肺腺癌症例においてFDG-PETとAcetate-PETよりEGFR変異を予測できれば、ゲフィチニブ投与適応決定のために組織生検をする必要がなくなる可能性がある。
5. 今回の研究では高分化腺癌を主に調べたので、中分化腺癌および低分化腺癌におけるAcetate-PETの結果は解析できていない。今後、高分化腺癌のみならず中分化および低分化腺癌に対するFDGとAcetate-PETの比較を行い、腺癌全般の診断および悪性腫瘍度予測に対するAcetate-PETの有用性を検討する。

今後の研究で期待される研究成果

1. Acetate-PETはFDG-PETより高分化肺腺癌を高率に診断できる。
2. 腺癌の悪性度はFDG (+)、FDG (-) Acetate (+)、FDG (-) Acetate (-)の順に低くなっていくことが予想され、手術適応症例においてはFDG (+)には標準術式である肺葉切除、FDG (-) Acetate (+)には縮小手術である区域切除、FDG (-) Acetate (-)にはさらに縮小する部分切除、等の術式決定の一手段となり得る。
3. 平成18年度のpreliminaryな研究で肺胞上皮癌はAcetate-PET (-)になることが多く、高分化腺癌はAcetate (+)になることが多い傾向が認められた。またEGFR変異は肺胞上皮癌より高分化腺癌に多いことが認められた。さらにゲフィチニブの効果はEGFR変異のある腺癌に有意に多い事が認められた。以上より、Acetate-PETにより肺胞上皮癌と高分化腺癌の鑑別を行い、ひいてはゲフィチニブの有効性を予測できる可能性がある。

4. 中分化および低分化腺癌でもAcetate-PETが陽性である事が高く、そうであればAcetateはFDGに代わる有用なPET tracerになり得る。
5. Acetateが腫瘍に集積する機序は未だ解明されていないが、正常細胞では細胞膜における脂質代謝に関連していることが現在までの報告で明らかにされている。すなわち細胞内に取り込まれた酢酸はアセチルCoAに変換され、その多くは中性脂肪酸の合成に使用されると考えられる。合成された中性脂肪酸は細胞膜の構成成分の一つであるホスファチジルコリンの合成に使用される。この合成のKey enzymeの一つとしてコリンキナーゼがある腫瘍ではこのコリンキナーゼの活性または発現量が増加しており細胞膜におけるホスファチジルコリンの合成が亢進し、酢酸の取り込みが増加している可能性が考えられる。そこで免疫染色によりコリンキナーゼおよびホスファチジルコリンの抗体を用いて免疫染色で腫瘍内のそれらの存在とAcetateの集積度の関連を調べ、腫瘍におけるAcetate取り込み亢進の機序を解明する。Acetateが腫瘍に集積する機序が解明されることにより、腫瘍診断および悪性度診断におけるAcetate-PETの有用性を明らかにすることができる。

E. 結論

1. 未だ研究開始1年未満であり、最終結論はないが、肺腺癌の診断におけるAcetate-PETの有用性はFDG-PETより高い可能性が示唆された。またFDG-PETとAcetate-PETを組み合わせる検査することにより、肺胞上皮癌と高分化腺癌の鑑別がある程度可能になる可能性が認められた。また肺胞上皮癌より高分化腺癌の方がEGFR変異の率が高いため、FDG-PETとAcetate-PETの結果より腫瘍生検をしなくても、EGFR変異の有無をある程度予測できる可能性が示唆された。
2. 腺癌の腫瘍増殖度および悪性度の指標として免疫組織学的にはKi-67 indexが妥当であることが示された。
3. EGFR活性化遺伝子変異は47%に認められ、術後再発非小細胞肺癌に対するゲフィチニブの奏効と正の相関が認められた。EGFR蛋白発現は61%に認められ、局在は細胞質・細胞膜のみに限局していた。乳癌などで報告があるような、核への蛋白局在は認められなかった。EGFR蛋白発現は、EGFR活性化遺伝子変異やゲフィチニブの奏効と統計学的な相関を認めなかった。

F. 健康危険情報

Acetate-PETの検査により合併症や危険性はなかった。AcetateはFDGに比べて半減期が1/6であるので、被曝はまったく問題がない。他の施設におけるAcetateをはじめとするいくつかのトレーサーを用いたPET検査でも合併症及び危険性は報告されていない。

G. 論文発表

1. Nomori H, et al. Omission of mediastinal lymph node dissection in lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2006; 12:83-8.
2. Ohtsuka T, Nomori H, et al. FDG-PET imaging for lymph node staging and pathologic tumor response after neoadjuvant treatment of non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2006; 12:89-94.
3. Watanabe K, Nomori H, et al. F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography can predict pathological tumor stage and proliferative activity determined by K-67 in clinical stage IA lung adenocarcinomas. *Jpn J Clin Oncol*. 2006; 36:403-6.
4. Ohtsuka T, Nomori H, et al. Prognostic significance of 18-F fluorodeoxyglucose uptake on positron emission tomography in patients with pathological stage lung adenocarcinoma. *Cancer* 2006; 107:2468-73.
5. Ebihara A, Nomori H, et al. Characteristics of advantages of positron emission tomography over computed tomography for N-staging in lung cancer patients. *Jpn J Clin Oncol*. 2006; 36:694-8.
6. Kaji M, Nomori H, et al. 11C-acetate and 18F fluorodeoxyglucose positron emission tomography of pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2007; 83:312-4.
7. Takanami I. Lymphatic microvessel density using D2-40 is associated with nodal metastasis in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep*. 2006; 15:437-42.
8. Okamoto J, Koizumi K, et al. Dissimilarity in gene expression profiles of lung adenocarcinoma in Japanese men and women. *Genet Med* 2006; 3: 223-35.
9. Ohtsuka K, Goya T, et al. Abnormalities of epidermal growth factor receptor in lung squamous cell carcinomas, adenocarcinomas, and large cell carcinomas. *Cancer* 2007; 109:741-50.
10. Ohnishi H, Goya T. A simple and sensitive method for detecting major mutations within tyrosine kinase domain of epidermal growth factor receptor gene in non-small cell lung carcinoma. *Diagn Mol Pathol* 2006; 15:101-8.
11. Nomori H, Ikeda K, Mori T, Kobayashi H, Iwatani K, Kawanaka K, Shirashi S, Kobayashi T. Sentinel node navigation segmentectomy for c-T1 NOMO non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2007; 133: 780-5.
12. Kobayashi S, Sakashita N, Okuma T, Nomori H, et al. Class A scavenger receptor (CD204) attenuates hypoxia-induced lung injury by reducing oxidative stress. *J Pathol* 2007.
13. Mori T, Nomori H, et al. Microscopic-sized "microthymoma" in patients with myasthenia gravis. *Chest* 2007; 131:847-9.
14. Mori T, Nomori H, et al. Three cases of multiple thymoma with a review of the literature. *Jpn J Clin Oncol*. 2007; 37:146-9.
15. Ikeda K, Nomori H, et al. Successful steroid treatment for fibrosing mediastinitis and sclerosing cervicitis. *Ann Thorac Surg* 2007; 83:199-201.
16. Ikeda K, Nomori H, et al. Impalpable pulmonary nodules with ground-glass opacity: Success for making pathological sections with preoperative marking by lipiodol. *Chest* 2007; 131:502-6.
17. Mori T, Nomori H, et al. The distribution of parenchyma, follicles, and lymphocyte subsets in thymus of patients with myasthenia gravis, with special reference to remission after thymectomy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 133:364-8.
18. Yoshioka M, Mori T, Nomori H. The efficacy of epidural analgesia after video-assisted thoracoscopic surgery: a randomized control study. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 12:313-8.
19. Iwatani K, Kubota I, Nomori H, et al. *Sparganum mansoni* parasitic infection in the lung showing a nodule. *Pathol Int* 2006; 56:674-7.
20. Ohtsuka T, Nomori H, et al. Obstructive subglottic granuloma after removal of a minitracheostomy tube. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 12:265-6.

21. Watanabe K, Nomori H, et al. Usefulness and complications of computed tomography-guided lipiodol marking for fluoroscopy-assisted thoracoscopic resection of small pulmonary nodules: experience with 174 nodules. J Thorac Cardiovasc Surg 2006; 132:320-4.
22. Ohtsuka T, Nomori H, et al. Isolated unilateral absence of a pulmonary artery treated by pneumonectomy in an adult: report of a case. Surg Today 2006; 36:55-7.
23. Mori T, Yoshioka M, Nomori H, et al. Kissing pleural metastases from metastatic osteosarcoma of the lung. Ann Thorac Cardiovasc Surg 2006; 12:129-32.
24. Ohtsuka T, Nomori H, Watanabe K, Naruke T, Suemasu K, Kosaka N, Uno K. Positive imaging of thymoma by 11C-acetate positron emission tomography. Ann Thorac Surg. 2006 Mar;81:1132-4.
25. Nomori H, et al. Sentinel node identification in clinical stage Ia non-small cell lung cancer by a combined single photon emission computed tomography/computed tomography system. J Thorac Cardiovasc Surg 2007, in press.
26. Takanami I. Endoscopic drainage of an infected giant bulla. Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery 2006; 5:794-795.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
該当無し。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
該当無し							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
該当無し					

Omission of Mediastinal Lymph Node Dissection in Lung Cancer: Its Techniques and Diagnostic Procedures

Hiroaki Nomori, MD, PhD, Kazunori Iwatani, MD, Hironori Kobayashi, MD, Atsushi Mori, MD, and Shouichi Yoshioka, MD

To reduce or omit a mediastinal lymph node dissection in the patients with clinical stage I non-small cell lung cancer (NSCLC), several authors examined the prevalence of metastatic sites of lymph nodes. Because lymphatic drainage usually heads for the upper mediastinum in upper lobe cancer and for the lower mediastinum in lower lobe cancer, upper and lower mediastinal lymph node dissection could be reduced in lung cancers of lower lobe and upper lobe.

By using sentinel node (SN) navigation surgery, it is possible to omit mediastinal lymph node dissection. Radiological findings are also useful to determine reduction of mediastinal lymph node dissection. In clinical stage Ia adenocarcinomas that show ground glass opacity (GGO) findings on computed tomography (CT) or negative for fluorodeoxyglucose accumulation on positron emission tomography (PET), mediastinal lymph node dissection can be omitted, because these types of adenocarcinomas rarely metastasize to the lymph nodes. By using these procedures, mediastinal lymph node dissection can be reduced or omitted with little risk of local recurrence. (*Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 12: 83–8)

Key words: lung cancer, lymph node dissection, sentinel node, positron emission tomography, computed tomography

Introduction

Mediastinal lymph node dissection is a procedure used to secure complete local control of non-small cell lung cancer (NSCLC), with subsequent improvement in survival as well as nodal staging.¹⁻⁵⁾ However, how many patients with clinical stage I will be advantaged by mediastinal lymph node dissection? It has been stated that 20-25% of patients with clinical stage I disease have mediastinal lymph node metastases¹⁻⁵⁾ and that 20-25% of them

may be cured by mediastinal lymph node dissection.⁶⁾ Hence, only 5% of patients with clinical stage I disease may benefit from mediastinal lymph node dissection.

To minimize damage caused by mediastinal node dissection in patients with clinical stage I NSCLC, several authors examined the characteristics of lymphatic drainage, as well as the incidence of lymph node metastasis. This was undertaken with respect to the location of the primary tumor and it indicated the possibility of reduction in dissection of mediastinal lymph nodal stations. In 1960, Cahan reported that the upper mediastinal lymph nodes should be dissected for patients with upper lobe cancer and the lower mediastinal lymph nodes should be dissected for those with lower or middle lobe cancer.⁷⁾ Recently, the concept of Cahan has been revisited, and some authors have omitted dissection of lower and upper mediastinal lymph node stations in upper and lower lobectomy.⁸⁻¹¹⁾

To expand the possibility of reduction of mediastinal

From Department of Thoracic Surgery, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, Japan

Received October 31, 2005; accepted for publication November 23, 2005.

Address reprint requests to Hiroaki Nomori, MD, PhD: Department of Thoracic Surgery, Graduate School of Medical and Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University, 1-1-1 Honjo, Kumamoto 860-8556, Japan.

Table 1. Lymph node nomenclature

Station	Name
Superior mediastinal	
1	Highest mediastinal ^a
2	Paratracheal ^a
3	Pretracheal ^a
4	Tracheobronchial ^a
Aortic	
5	Botallo ^a
6	Para-aortic ^a
Inferior mediastinal	
7	Subcarinal ^a
8	Paraesophageal ^a
9	Pulmonary ligament ^a
Hilar	
10	Hilar ^b
11	Interlobar ^b
12	Lobar ^b
Intrapulmonary	
13	Segmental ^b
14	Subsegmental ^b

^a, N2 node; ^b, N1 node.

lymph node dissection, the availability of intraoperative sentinel lymph node (SN) biopsy has been examined, using radio-isotope mapping.¹²⁻¹⁷⁾

Here, we examine reduction of lymph node dissection of clinical T1N0M0 lung cancer via literature review.

Reduction of Mediastinal Lymph Node Dissection by the Localization of Lung Cancer

In 1999, Naruke et al. examined the incidence of lymph node metastasis in each lobe from the data of 1,815 patients with T1 NSCLC who had major lung resection with mediastinal lymph node dissection.⁸⁾ Table 1 shows the lymph node nomenclature used in the original lymph node map for lung cancer reported by Naruke et al.⁴⁾ They reported that, while the frequencies of metastases of hilar lymph nodes (#10-13) were almost same in each lobe, those of each mediastinal lymph node stations were dependent on the lobe; i.e. the usual metastatic sites of mediastinal lymph node in each lobe were as follows: right upper lobe, #3–12.3% (80/648) and/or #4–8% (52/648); right middle lobe, #3 or #7–16.4% (13/79); right lower lobe, #7–13.7% (13/79); left upper lobe, #5–12.3% (60/489); and left lower lobe, #7–11.9% (26/219). As based on these data, they concluded that, while hilar lymph nodes were usually SNs in lung cancer, the following mediastinal lymph nodes could be SNs: #3 and/or #4 in right

Table 2. Residual mediastinal lymph node metastasis in T1 patients with negative mediastinal lymph nodes (Naruke T et al., *Eur J Cardiothorac Surg* 1999; 16: S17–24)⁸⁾

Lobe	Mediastinal SNs	Residual metastasis (%)
RUL	#3 and/or #4	2/249 (0.8)
RML	#3 and/or #7	0/38 (0)
RLL	#7	5/147 (3.4)
LUL	#5 and/or #6	3/186 (1.6)
LLL	#7	3/75 (4.0)

SN, sentinel node; RUL, right upper lobe; RML, right middle lobe; RLL, right lower lobe; LUL, left upper lobe; LLL, left lower lobe.

upper lobe, #3 and/or #7 in right middle lobe, #7 in right lower lobe, #5 and/or #6 in left upper lobe, and #7 in left lower lobe. Therefore, they described that, in clinical T1N0M0 lung cancer, if the hilar lymph nodes and those mediastinal SNs were negative of metastasis by intraoperative pathological diagnosis, complete mediastinal lymph node dissection could be omitted with little risk of residual metastasis (Table 2). The other authors also reported similar results, i.e. (1) if the hilar and upper mediastinal lymph nodes were negative for metastasis in the upper lobe NSCLC, the lymph node dissection for lower mediastinum could be omitted; and (2) if the hilar and lower mediastinal lymph nodes were negative in the lower lobe NSCLC, the lymph node dissection for upper mediastinum could be omitted.^{9,18)} However, Asamura et al. described that #7 could be a SN in the left lingual lobe NSCLC.⁹⁾ Consequently, several institutions have already initiated selective mediastinal lymph node dissection for clinical T1N0M0 lung cancer.

Omission of Mediastinal Lymph Node Dissection by Sentinel Node Navigation Surgery

To reduce the scope of mediastinal lymph node dissection beyond selective lymph node dissection, SN navigation surgery has been performed.^{12,13,19,20)} In 2000, Liptay et al. reported the SN identification by using radioisotope with an 82% identification rate.¹²⁾ However, the previous reports using a radioisotope¹²⁻¹⁷⁾ were based on the data of ex vivo counting, i.e. evaluation of the radioactivity of the dissected lymph nodes; that is not practical in SN navigation surgery. Although ex vivo counting is more accurate than in vivo counting, SN identification before lymph node dissection by in vivo counting is necessary for SN navigation surgery.

In 2002, we reported the SN identification data in 46

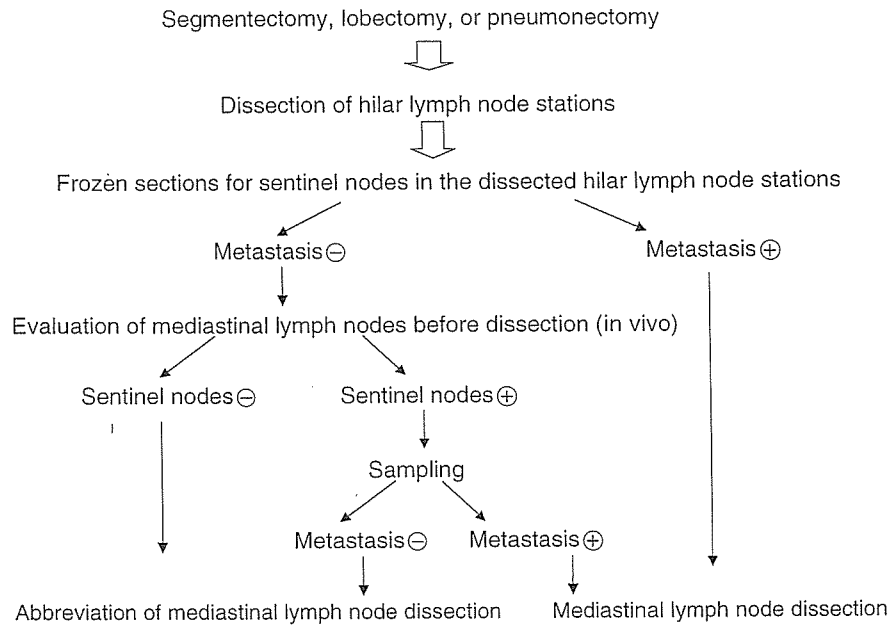


Fig. 1. The algorithm for omission of mediastinal lymph node dissection by using sentinel lymph node identification. The peak of the histogram is at the low CT number.

patients with clinical stages I-III NSCLC, with the following results: (1) there were no false negative SNs identified by ex vivo counting for patients with N1 or N2 disease, and (2) although the SN identification with in vivo counting was not available in hilar lymph node stations due to shine-through from the tumor radio-activity, it might be available for the mediastinum because there was less effect of radio-activity from the primary tumor.¹¹⁾ In 2004, we reported the results of in vivo identification of SN for 104 patients with clinical stage I NSCLC;²⁰⁾ results were as follows: (1) SNs could be identified in 84 patients (81%); (2) SNs were identified at the hilum by ex vivo counting in 78 of the 84 patients (93%) and at the mediastinum by in vivo counting in 40 patients (48%). While the in vivo counting of the mediastinum showed some false positive (over diagnosis) for SN identification, it missed (false negative) the mediastinal SNs only in 4 of the 84 patients (5%). From these results, we concluded that mediastinal lymph node dissection could be omitted by the algorithm in Fig. 1. First, patients with clinical stage I peripheral type NSCLC can be candidates for sentinel navigation surgery. To identify SNs in the hilar lymph node stations, segmentectomy or greater resection is necessary. Because the in vivo counting is not available for hilar lymph node stations, their SN identification is conducted by ex vivo counting after separating from the resected lung. The hilar SNs are examined in

intraoperative frozen sections. If the frozen section of hilar SNs showed metastases, a mediastinal lymph node dissection should be performed because of the high possibility of N2 disease. If it did not show metastasis, the mediastinal SNs are identified before lymph node dissection by in vivo counting. If there were no SNs in the mediastinum by in vivo counting, a mediastinal lymph node dissection can be omitted. If the in vivo counting of the mediastinum showed SNs, they are sampled for frozen sections. If a frozen section of mediastinal SNs did not show metastasis, the sampling is adequate and a mediastinal lymph node dissection can be omitted. If the frozen section showed metastasis, the mediastinal lymph node dissection should be performed. The study showed that N2 disease was shown in 9 of 84 (11%) patients who were diagnosed as N0 in computed tomography (CT) scan and that overlooking the mediastinal SNs by in vivo counting was shown in 4 of 84 patients (5%), resulting in the risk of leaving metastatic lymph nodes in the mediastinum to be 0.55% (11%×5%). We believe that this is an acceptable risk in the reduction of mediastinal lymph node dissection in the patients with stage I NSCLC.

Omission of Mediastinal Lymph Node Dissection for Stage I Squamous Cell Carcinoma

A skip metastasis, i.e. metastasis to the mediastinal lymph

Table 3. Correlation between pathological tumor stage and histogram pattern in clinical T1N0M0 lung adenocarcinomas

Tumor stage	Histogram pattern			Total
	One peak (low)	One peak (high)	Two peaks	
T1N0M0	18	34	27	80
T1N1M0	0	4	0	4
T2N1M0	0	3	0	3
T1N2M0	0	7	1	7
T2N2M0	0	1	0	1
T3N2M0	0	1	0	1
T4N0M0	0	3	0	3
T4N1M0	0	1	0	1
Total	18	54	28	100

node without hilar lymph node metastasis, is one of the difficulties for omission of mediastinal lymph node dissection. The skip metastasis is usually encountered in adenocarcinomas. It has been reported that approximately 25% of adenocarcinomas with N2 or N3 disease are skip metastases.²¹⁾ However, the skip metastasis has been reported to rarely occur in T1 squamous cell carcinomas. Sakurai et al. reported that, while 19 of 70 patients (25%) with squamous cell carcinoma less than 3 cm had lymph node metastasis, none of them had skip metastases.²²⁾ Besides, Asamura et al. reported that lymph node metastasis was seen in only one of 16 patients (6%) with squamous cell carcinoma less than 2 cm.²¹⁾ From their reports, it could be stated: (1) mediastinal lymph node dissection could be omitted in squamous cell carcinomas less than 3 cm, if the intraoperative frozen section of hilar lymph nodes had no metastasis; and (2) mediastinal lymph node dissection could be omitted for patients with squamous cell carcinoma less than 2 cm.

Omission of Lymph Node Dissection from the CT Findings of Primary Tumor

Because lung adenocarcinomas showing ground glass opacity (GGO) by CT are usually pathological N0 disease,²³⁻³¹⁾ they are good candidates for omission of mediastinal lymph node dissection. By using the CT number histogram, we examined lymph node metastasis in GGO or solid lesions in 100 patients with clinical T1N0M0 adenocarcinomas. According to the CT number histograms, 18 patients had one peak at a low CT number (pure GGO), 54 had one peak at a high CT number (solid), and the remaining 28 had two peaks at both low and high CT numbers (mixed GGO) (Table 3).

Pathological TNM showed that all (100%) of the 18 adenocarcinomas with one peak at a low CT number were T1N0M0, and 27 of the 28 (96%) ones with two peaks were T1N0M0. While 34 of the 54 (63%) adenocarcinomas with one peak at a high CT number were pathological T1N0M0, but the remaining 20 (37%) had lymph node metastasis. Lymph node dissection could be omitted for adenocarcinomas with pure GGO and probably ones with mixed GGO, which were defined from CT number histograms.

Omission of Lymph Node Dissection from the Findings of Positron Emission Tomography (PET)

According to the meta-analysis by Dwamena et al., ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) has higher sensitivity and specificity than CT.³²⁾ However, PET cannot detect small or micro-metastasis because of lower limits of spatial resolution of a PET camera. We previously reported the size of metastatic foci yielding false negative lymph node staging with PET in patients with lung cancer.³³⁾ From the results of 564 lymph node stations in 80 patients with peripheral type lung cancer, the sizes of metastatic foci within lymph nodes that showed false-negative (n=8) and true-positive (n=28) with PET ranged from 0.5 to 9 mm (3±1 mm) and from 4 to 18 mm (10±3 mm), respectively (p<0.001) (Fig. 2). None of the metastatic foci smaller than 4 mm could be detected with PET scanning. Therefore, lymph node dissection cannot be omitted for patients who are diagnosed N0 disease by PET scanning.

It has been reported that low grade lung cancers, such as carcinoid, mucoepidermoid carcinomas, and bronchioloalveolar carcinomas, usually show false-negative by PET

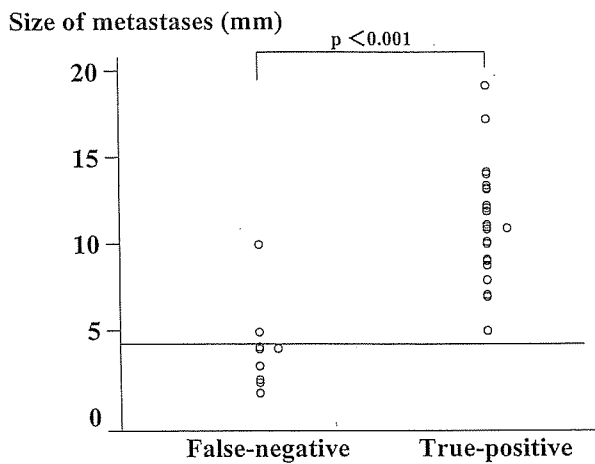


Fig. 2. The distribution of sizes of metastatic true-positive and false-negative lymph nodes with PET scan.

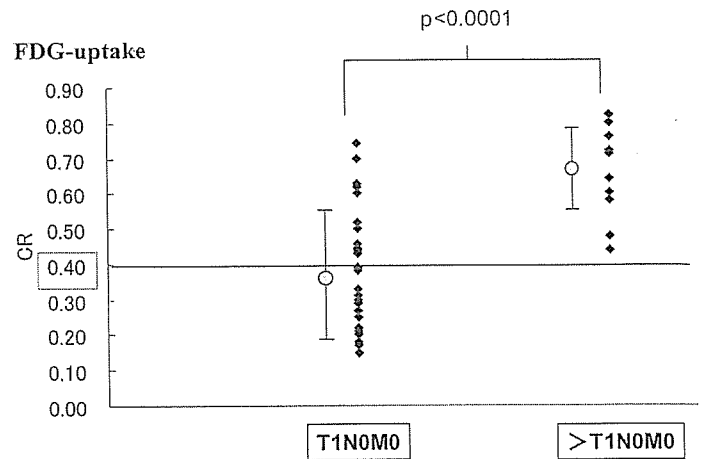


Fig. 3. The distribution of FDG-uptake of pathological T1N0M0 and more advanced stages than T1N0M0 in clinical T1N0M0 adenocarcinomas.

FDG, ^{18}F -fluorodeoxyglucose; CR, contrast ratio.

scanning. We examined the correlation between lymph node metastasis and FDG-uptake in primary tumors, finding that FDG-uptake in primary tumor could predict lymph node metastasis in lung adenocarcinomas with clinical T1N0M0.³⁴⁻³⁶ FDG-uptake was evaluated by contrast ratio (CR) comparing with the FDG-uptake of contralateral lung. The correlation between the CR of the primary tumor and pathological stage in 52 lung adenocarcinomas with clinical T1N0M0 showed that, while all of the tumors with CR less than 0.4 were pathological T1N0M0, all of the tumors advanced more than T1N0M0 ($n=11$) showed CR higher than 0.4 (Fig. 3). Therefore, we concluded that lymph node dissection or mediastinoscopy could be omitted for adenocarcinomas with clinical T1N0M0 showing CR less than 0.4 on PET scanning.

While the standard operation for lung cancer is lobectomy and mediastinal lymph node dissection, we consider that mediastinal lymph node dissection may be omitted with use of techniques described.

References

1. Seely JM, Mayo JR, Miller RR, Muller NL. T1 lung cancer: prevalence of mediastinal nodal metastases and diagnostic accuracy of CT. *Radiology* 1993; **186**: 129-32.
2. Heavey LR, Glazer GM, Gross BH, Francis IR, Orringer MB. The role of CT in staging radiographic T1N0M0 lung cancer. *AJR Am J Roentogenol* 1986; **146**: 285-90.
3. Conces DJ Jr, Klink JF, Tarver RD, Moak GD. T1N0M0 lung cancer: evaluation with CT. *Radiology* 1989; **170** (3 Pt 1): 643-6.
4. Naruke T, Suemasu K, Ishikawa S. Lymph node mapping and curability at various levels of metastasis in resected lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1978; **76**: 832-9.
5. Naruke T, Goya T, Tsuchiya R, Suemasu K. The importance of surgery to non-small cell carcinoma of lung with mediastinal lymph node metastasis. *Ann Thorac Surg* 1988; **46**: 603-10.
6. Mountain CF. Revisions in the international system for staging lung cancer. *Chest* 1997; **111**: 1710-7.
7. Cahan WG. Radical lobectomy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1960; **39**: 555-72.
8. Naruke T, Tsuchiya R, Kondo H, Nakayama H, Asamura H. Lymph node sampling in lung cancer: how should it be done? *Eur J Cardiothorac Surg* 1999; **16** (Suppl 1): S17-24.
9. Asamura H, Nakayama H, Kondo H, Tsuchiya R, Naruke T. Lobe-specific extent of systematic lymph node dissection for non-small cell lung carcinomas according to a retrospective study of metastasis and prognosis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; **117**: 1102-11.
10. Okada M, Tsubota N, Yoshimura M, Miyamoto Y, Matsuoka H. Prognosis of completely resected pN2 non-small cell lung carcinomas: what is the significant node that affects survival? *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; **118**: 270-5.
11. Graham AN, Chan KJ, Pastorino U, Goldstraw P. Systematic nodal dissection in the intrathoracic staging of patients with non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; **117**: 246-51.
12. Liptay MJ, Masters GA, Winchester DJ, et al. Intraoperative radioisotope sentinel lymph node mapping in non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2000; **70**:

- 384–90.
13. Liptay MJ, Grondin SC, Fry WA, et al. Intraoperative sentinel lymph node mapping in non-small-cell lung cancer improves detection of micrometastases. *J Clin Oncol* 2002; **20**: 1984–8.
 14. Nomori H, Horio H, Naruke T, Orikasa H, Yamazaki K, Suemasu K. Use of technetium-99m tin colloid for sentinel lymph node identification in non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; **124**: 486–92.
 15. Schmidt FE, Woltering EA, Webb WR, Garcia OM, Cohen JE, Rozans MH. Sentinel nodal assessment in patients with carcinoma of the lung. *Ann Thorac Surg* 2002; **74**: 870–4.
 16. Melfi FM, Chella A, Menconi GF, et al. Intraoperative radioguided sentinel lymph node biopsy in non-small cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003; **23**: 214–20.
 17. Sugi K, Kaneda Y, Sudoh M, Sakano H, Hamano K. Effect of radioisotope sentinel node mapping in patients with cT1 N0 M0 lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; **126**: 568–73.
 18. Okada M, Tsubota N, Yoshimura M, Miyamoto Y. Proposal for reasonable mediastinal lymphadenectomy in bronchogenic carcinomas: role of subcarinal nodes in selective dissection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; **116**: 949–53.
 19. Little AG, DeHoyos A, Kirgan DM, Arcomano TR, Murray KD. Intraoperative lymphatic mapping for non-small cell lung cancer: the sentinel node technique. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; **117**: 220–4.
 20. Nomori H, Watanabe K, Ohtsuka T, Naruke T, Suemasu K. In vivo identification of sentinel lymph nodes for clinical stage I non-small cell lung cancer for abbreviation of mediastinal lymph node dissection. *Lung Cancer* 2004; **46**: 49–55.
 21. Asamura H, Nakayama H, Kondo H, Tsuchiya R, Shimosato Y, Naruke T. Lymph node involvement, recurrence, and prognosis in resected small peripheral non-small-cell lung carcinomas: are these carcinomas candidates for video-assisted lobectomy? *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; **111**: 1125–34.
 22. Sakurai H, Asamura H, Watanabe S, Suzuki K, Tsuchiya R. Clinicopathologic features of peripheral squamous cell carcinoma of the lung. *Ann Thorac Surg* 2004; **78**: 222–7.
 23. Kuriyama K, Seto M, Kasugai T, et al. Ground-glass opacity on thin-section CT: value in differentiating subtypes of adenocarcinoma of the lung. *AJR Am J Roentgenol* 1999; **173**: 465–9.
 24. Kim EA, Johkoh T, Lee KS, et al. Quantification of ground-glass opacity on high-resolution CT of small peripheral adenocarcinoma of the lung: pathologic and prognostic implications. *AJR Am J Roentgenol* 2001; **177**: 1417–22.
 25. Kodama K, Higashiyama M, Yokouchi H, et al. Prognostic value of ground-glass opacity found in small lung adenocarcinoma on high-resolution CT scanning. *Lung Cancer* 2001; **33**: 17–25.
 26. Aoki T, Tomoda Y, Watanabe H, et al. Peripheral lung adenocarcinoma: correlation of thin-section CT findings with histologic prognostic factors and survival. *Radiology* 2001; **220**: 803–9.
 27. Kondo T, Yamada K, Noda K, Nakayama H, Kameda Y. Radiologic-prognostic correlation in patients with small pulmonary adenocarcinomas. *Lung Cancer* 2002; **36**: 49–57.
 28. Nomori H, Ohtsuka T, Naruke T, Suemasu K. Histogram analysis of computed tomography numbers of clinical T1 N0 M0 lung adenocarcinoma, with special reference to lymph node metastasis and tumor invasiveness. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; **126**: 1584–9.
 29. Nomori H, Ohtsuka T, Naruke T, Suemasu K. Differentiating between atypical adenomatous hyperplasia and bronchioloalveolar carcinoma using the computed tomography number histogram. *Ann Thorac Surg* 2003; **76**: 867–71.
 30. Matsuguma H, Nakahara R, Anraku M, et al. Objective definition and measurement method of ground-glass opacity for planning limited resection in patients with clinical stage IA adenocarcinoma of the lung. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; **25**: 1102–6.
 31. Nakata M, Sawada S, Yamashita M, et al. Objective radiologic analysis of ground-glass opacity aimed at curative limited resection for small peripheral non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; **129**: 1226–31.
 32. Dwamena BA, Sonnad SS, Angobaldo JO, Wahl RL. Metastases from non-small cell lung cancer: mediastinal staging in the 1990s—meta-analytic comparison of PET and CT. *Radiology* 1999; **213**: 530–6.
 33. Nomori H, Watanabe K, Ohtsuka T, Naruke T, Suemasu K, Uno K. The size of metastatic foci and lymph node staging yielding false-negative and false-positive lymph node staging with positron emission tomography in patients with lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; **127**: 1087–92.
 34. Nomori H, Watanabe K, Ohtsuka T, et al. Fluorine 18-tagged fluorodeoxyglucose positron emission tomographic scanning to predict lymph node metastasis, invasiveness, or both, in clinical T1 N0 M0 lung adenocarcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; **128**: 396–401.
 35. Watanabe K, Nomori H, Ohtsuka T, Naruke T, Uno K. False negative cases of F-18 fluorodeoxyglucose-positron emission tomography (FDG-PET) imaging in small lung cancer less than 3 cm in size. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 2004; **42**: 787–93. (in Jpse.)
 36. Watanabe K, Nomori H, Ohtsuka T, et al. [F-18] Fluorodeoxyglucose positron emission tomography can predict pathological tumor stage and proliferative activity determined by Ki-67 in clinical stage IA lung adenocarcinomas. *Lung Cancer* 2006. (in press)

FDG-PET Imaging for Lymph Node Staging and Pathologic Tumor Response after Neoadjuvant Treatment of Non-small Cell Lung Cancer

Takashi Ohtsuka, MD,¹ Hiroaki Nomori, MD,¹ Akinori Ebihara, MD,²
Ken-ichi Watanabe, MD,¹ Masahiro Kaji, MD,¹ Tsuguo Naruke, MD,¹
Keiichi Suemasu, MD,¹ and Kimiichi Uno, MD³

Purpose: A number of studies have demonstrated that ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) is effective for staging of lung cancer. However, the efficacy of FDG-PET for staging lung cancer after neoadjuvant treatment is still controversial. This study compared FDG-PET and computed tomography (CT) for lung cancer staging, and evaluated the ability of the two methods to predict the pathologic response of the primary tumor to neoadjuvant treatment.

Patients and Methods: Twenty-two patients who underwent neoadjuvant treatment followed by surgery were investigated. Eighteen patients received chemoradiotherapy and four patients received chemotherapy only. One hundred and three lymph node stations in the 22 patients were evaluated by FDG-PET and CT. The pathologic responses of the tumors were compared by FDG-uptake and tumor size on CT for the 15 patients who underwent FDG-PET and CT both before and after neoadjuvant treatment.

Results: There was no significant difference in the ability of FDG-PET or CT to predict residual viable tumor. Although positive predictive value by FDG-PET (0.29) was lower than that by CT (0.64) ($p=0.04$) in the mediastinal lymph nodes, there were no statistically significant differences in the other results of lymph nodes by FDG-PET and CT. Both decrease in FDG-uptake and decrease in tumor size by CT after neoadjuvant treatment correlated significantly with pathologic response in the 15 patients ($p=0.003$ and 0.009 , respectively).

Conclusion: FDG-PET did not appear to offer any advantages over CT for lymph node staging or for predicting the pathologic response after neoadjuvant treatment of non-small cell lung cancer. (*Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 12: 89–94)

Key words: lung cancer, positron emission tomography, neoadjuvant treatment, pathologic response

Introduction

It is generally accepted that multimodal therapy should be used for the treatment of locally advanced non-small

From Departments of ¹Thoracic Surgery and ²Internal Medicine, Saiseikai Central Hospital, and ³Nishidai Clinic, Tokyo, Japan

Received August 29, 2005; accepted for publication September 12, 2005.

Address reprint requests to Takashi Ohtsuka, MD: Department of Thoracic Surgery, Saiseikai Central Hospital, 1-4-17 Mita, Minato-ku, Tokyo 108-0073, Japan.

cell lung cancer. Neoadjuvant treatment followed by surgery is one type of multimodal therapy used for locally advanced non-small cell lung cancer.¹⁾ Several studies have demonstrated that ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) is effective for staging of lung cancer.²⁻⁵⁾ However, the staging of lung cancer after neoadjuvant treatment remains difficult. This study was undertaken to evaluate the usefulness of FDG-PET for staging and predicting the pathologic tumor response to neoadjuvant treatment in 22 patients with non-small cell lung cancer, in comparison with the results of

Table 1. Characteristics of patients

Patient	Age	Sex	Histology	Neoadjuvant treatment	Pathologic stage	Effect
1	49	M	AD	C+R	T3N2	Partial response
2	52	M	SQ	C+R	T1N0	Partial response
3	36	M	AD	C+R	T2N0	Partial response
4	63	M	SQ	C+R	T1N0	Partial response
5	67	F	AD	C	T2N1	Partial response
6	70	M	SQ	C+R	T2N0	Partial response
7	74	M	SQ	C+R	T3N1	Partial response
8	64	M	SQ	C+R	TON0	Partial response
9	65	M	SQ	C	T1N1	Partial response
10	64	M	AD	C+R	T1N3	Partial response
11	64	M	AD	C+R	TON0	Partial response
12	63	M	SQ	C+R	T1N2	Partial response
13	59	F	AD	C+R	T2N1	No change
14	62	F	AD	C+R	T2N3	No change
15	53	M	AD	C+R	T1N1	No change
16	65	M	SQ	C	T1N2	No change
17	71	M	AD	C+R	T2N0	No change
18	68	F	AD	C	T2N1	No change
19	61	M	AD	C+R	T2N2	No change
20	66	M	AD	C+R	T4N2	No change
21	57	M	AD	C+R	T1N2	No change
22	65	M	AD	C+R	T2N2	No change

AD, adenocarcinoma; SQ, squamous cell carcinoma; C, chemotherapy; R, radiation therapy.

computed tomography (CT).

Patients and Methods

Between December 2001 and September 2004, whole-body FDG-PET and CT scans of the chest were undertaken after induction treatment in 22 patients with biopsy-proven lung cancer. Of the 22 patients, 15 underwent FDG-PET and CT both before and after neoadjuvant treatment and the other seven patients underwent FDG-PET only after neoadjuvant treatment. The characteristics of the patients are shown in Table 1. There were 18 men and four women with a mean age of 61 years (range: 36-74 years). Preoperative chemotherapy was administered to all patients. Sixteen patients were administered carboplatin and vinorelbine, two were given carboplatin and docetaxel, two received carboplatin and paclitaxel, and one patient each received cisplatin and CPT-11, and carboplatin and gemcitabine. The mean number of courses was 2.3 (range: 1-6). Four patients received chemotherapy only, and 18 received both radiotherapy and chemotherapy. Seventeen patients received 30 Gy of chest irradiation and one patient received 60 Gy. The time interval between the end of neoadjuvant treatment and FDG-PET was a median of 1.6 months (range: 1-11 months). All

patients underwent pulmonary resection and systematic thoracic lymph node dissection. The lymph node stations were classified according to the original lymph node map of lung cancer.⁶⁾ The pathologic diagnosis of 103 lymph node stations (N1=24, N2=72, N3=7) in the 22 patients was compared by lymph node staging with FDG-PET and CT.

FDG-PET scanning and data analysis

Patients were instructed to fast for at least 4 hr prior to intravenous (IV) administration of ¹⁸F-FDG. The administered dosage of ¹⁸F-FDG was 125 μ Ci/kg (4.6 MBq/kg) body weight for non-diabetic patients and 150 μ Ci/kg (5.6 MBq/kg) body weight for diabetic patients. PET imaging was performed approximately 60 min after IV administration of FDG using a POSICAM.HZL mPOWER (Positron Corp., Houston, Texas, USA). No-attenuation-corrected emission scans were initially obtained in two-dimensional, high-sensitivity mode for 4 min per bed position, and taken from the skull to the thighs. Immediately thereafter, a two-bed-position attenuation-corrected examination was performed, with 6 min for the emission sequence and 6 min for the transmission sequence at each bed position. The images were usually reconstructed in a 256 \times 256 matrix using ordered subset