

## References

- Abulafi AM, Williams NS. Local recurrence of colorectal cancer: the problem, mechanisms, management and adjuvant therapy. *Br J Surg* 1994;81:7–19.
- Minagawa M, Makuuchi M, Torzilli G, Takayama T, Kawasaki S, Kosuge T, Yamamoto J, Imamura H. Extension of the frontiers of surgical indications in the treatment of liver metastases from colorectal cancer: long-term results. *Ann Surg* 2000;231:487–499.
- Choti MA, Sitzmann JV, Tiburi MF, Sumetchotimetha W, Rangsin R, Schulick RD, Lillemoe KD, Yeo CJ, Cameron JL. Trends in long-term survival following liver resection for hepatic colorectal metastases. *Ann Surg* 2002;235:756–766.
- Nordlinger B, Guiguet M, Vallant JC, Balladur P, Boudjema K, Bachellier P, Jaeck D. Surgical resection of colorectal carcinoma metastases to the liver: a prognostic scoring system to improve case selection, based on 1568 patients. *Cancer* 1996;77:1254–1262.
- Sasaki A, Iwashita Y, Shibata K, Matsumoto T, Ohta M, Kitano S. Analysis of preoperative factors for long-term survival after hepatic resection of liver metastasis of colorectal carcinoma. *J Gastrointest Surg* 2005;9:374–380.
- Ambiru S, Miyazaki M, Isono T, Ito H, Nakagawa K, Shimizu H, Kusashiro K, Furuya S, Nakajima N. Hepatic resection of colorectal metastases: analysis of prognostic factors. *Dis Colon Rectum* 1999;42:632–639.
- Nagashima I, Oka T, Hamada C, Naruse K, Osada T, Muto T. Histopathologic prognostic factors influencing long-term prognosis after surgical resection for hepatic metastases from colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 1999;94:739–743.
- Sasaki A, Aramaki M, Kawano K, Yasuda K, Inomata M, Kitano S. Prognostic significance of intrahepatic lymphatic invasion in patients with hepatic resection due to metastases from colorectal carcinoma. *Cancer* 2002;95:105–111.
- Bruckner HW, Lavin PT, Plaxe SC, Storch JA, Livstone EM. Absolute granulocyte, lymphocyte, and monocyte counts: useful determinants of prognosis for patients with metastatic cancer of the stomach. *JAMA* 1982;247:1004–1006.
- Elias EG, Leuchten JM, Buda BS, Brown SD. Prognostic value of initial mononucleated cell percentages in patients with epidermoid carcinoma of the head and neck. *Am J Surg* 1986;152:487–490.
- Riesco A. Five-year cancer cure: relation to total amount of peripheral lymphocytes and neutrophils. *Cancer* 1970;25:135–140.
- Sasaki A, Iwashita Y, Shibata K, Matsumoto T, Ohta M, Kitano S. Prognostic value of preoperative peripheral blood monocyte count in patients with hepatocellular carcinoma. *Surgery* 2006;139:755–764.
- Nozoe T, Matsumata T, Kitamura M, Sugimachi K. Significance of preoperative elevation of serum C-reactive protein as an indicator for prognosis in colorectal cancer. *Am J Surg* 1998;176:335–338.
- McMillan DC, Wotherspoon HA, Fearon KC, Sturgeon C, Cooke TG, McArdle CS. A prospective study of tumor recurrence and the acute-phase response after apparently curative colorectal cancer surgery. *Am J Surg* 1995;170:319–322.
- Nielsen HJ, Christensen IJ, Sorensen S, Moesgaard F, Brunner N. Preoperative plasma plasminogen activator inhibitor type-I and serum C-reactive protein levels in patients with colorectal cancer. The RANX05 Colorectal Cancer Study Group. *Ann Surg Oncol* 2000;7:617–623.
- Taketomi A, Shimada M, Shirabe K, Kajiyama K, Gion T, Sugimachi K. Natural killer cell activity in patients with hepatocellular carcinoma: a new prognostic indicator after hepatectomy. *Cancer* 1998;83:58–63.
- Curiell TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, Evdemon-Hogan M, Conejo-Garcia JR, Zhang L, Burow M, Zhu Y, Wei S, Kryczek I, Daniel B, Gordon A, Myers L, Lackner A, Disis ML, Knutson KL, Chen L, Zou W. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med* 2004;10:942–949.
- Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol* 1991;9:271–296.
- Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F, Liles TM, Czerwinski D, Taidi B, Engleman EG, Levy R. Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1996;2:52–58.
- Nestle FO, Alijagic S, Gilliet M, Sun Y, Grabbe S, Dummer R, Burg G, Schadendorf D. Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1998;4:328–332.
- Sadanaga N, Nagashima H, Mashino K, Tahara K, Yamaguchi H, Ohta M, Fujie T, Tanaka F, Inoue H, Takesako K, Akiyoshi T, Mori M. Dendritic cell vaccination with MAGE peptide is a novel therapeutic approach for gastrointestinal carcinomas. *Clin Cancer Res* 2001;7:2277–2284.
- Iwashita Y, Tahara K, Goto S, Sasaki A, Kai S, Seike M, Chen CL, Kawano K, Kitano S. A phase I study of autologous dendritic cell-based immunotherapy for patients with unresectable primary liver cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2003;52:155–161.
- Iwashita Y, Goto S, Tahara K, Kawano K, Chen CL, Kitano S. Potent stimuli combined with lipopolysaccharide and IFN $\gamma$  may improve immunotherapy against HCC by increasing the maturation and subsequent immune response of the dendritic cells. *Cancer Biother Radiopharm* 2003;18:1–6.
- Takahashi T, Kuniyasu Y, Toda M, Sakaguchi N, Itoh M, Iwata M, Shimizu J, Sakaguchi S. Immunologic self-tolerance maintained by CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> naturally anergic and suppressive T cells: induction of autoimmune disease by breaking their anergic/suppressive state. *Int Immunol* 1998;10:1969–1980.
- Yamazaki S, Patel M, Harper A, Bonito A, Fukuyama H, Pack M, Tarbell KV, Talmor M, Ravetch JV, Inaba K, Steinman RM. Effective expansion of alloantigen-specific Foxp3<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> regulatory T cells by dendritic cells during the mixed leukocyte reaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:2758–2763.
- Ghiringhelli F, Menard C, Puig PE, Ladoire S, Roux S, Martin F, Solary E, Le Cesne A, Zitvogel L, Chauffert B. Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4(+)CD25(+) regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients. *Cancer Immunol Immunother* 2006;56(4):641–648; Sep 8 (Epub ahead of print)
- Kreijveld E, Koenen HJ, Hilbrands LB, van Hooff HJ, Joosten I. The immunosuppressive drug FK778 induces regulatory activity in stimulated human CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T cells. *Blood* 2006;109(1):244–252; Aug 10 (Epub ahead of print)

# Risk Factors for Occult Lymph Node Metastasis of Colorectal Cancer Invading the Submucosa and Indications for Endoscopic Mucosal Resection

Kazuhiro Yasuda, M.D.,<sup>1</sup> Masafumi Inomata, M.D.,<sup>1</sup> Akio Shiromizu, M.D.,<sup>1</sup> Norio Shiraishi, M.D.,<sup>1</sup> Hidefumi Higashi, M.D.,<sup>2</sup> Seigo Kitano, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Gastroenterological Surgery, Oita University Faculty of Medicine, Oita, Japan

<sup>2</sup> Department of Surgery, Beppu Medical Center, Beppu, Japan

**PURPOSE:** Although risk factors for histologically overt lymph node metastasis in patients with early-stage colorectal cancer have been clarified, the risk factors for occult lymph node metastasis are not clear. This study was designed to clarify risk factors for lymph node metastasis, including occult metastasis, in patients with colorectal cancer invading the submucosa and to determine the criteria for endoscopic resection of early colorectal cancer. **METHODS:** The risk factors for lymph node metastasis, including occult metastasis, were analyzed in 86 cases of surgically resected colorectal cancer invading the submucosa. The lymph nodes were assessed by immunohistochemistry with cytokeratin antibody CAM5.2. **RESULTS:** The frequencies of overt and occult metastasis to the lymph nodes were 13 percent (11/86) and 13 percent (10/75), respectively. Multivariate analysis showed vascular invasion ( $P=0.001$ ) and tumor budding ( $P=0.003$ ) to be independent risk factors for lymph node metastasis, including occult metastasis. For tumors with submucosal invasion  $\leq 1,000 \mu\text{m}$ , no lymph node metastasis was found. The frequencies of lymph node metastasis for tumors with

submucosal invasion of 1,000 to 2,000  $\mu\text{m}$  and  $>2,000 \mu\text{m}$  were 21 and 37 percent, respectively. In considering combinations of risk factors, there was no lymph node metastasis in tumors having neither vascular invasion nor tumor budding and submucosal invasion of  $\leq 3,000 \mu\text{m}$ . **CONCLUSIONS:** Vascular invasion, tumor budding, and the degree of submucosal invasion were significant risk factors for lymph node metastasis, including occult metastasis. These three factors can be used in combination to identify patients requiring additional surgery after endoscopic resection. [Key words: Colorectal cancer; Lymph node metastasis; Occult metastasis; Immunohistochemistry; Endoscopic treatment]

Recent progress in endoscopic diagnosis and techniques has resulted in increased frequency of detection of early-stage colorectal cancer. Some of these tumors can be safely and successfully removed endoscopically.<sup>1-3</sup> Although endoscopic resection is considered adequate therapy for early-stage colorectal cancer without lymph node metastasis, there is a risk of lymph node metastasis when cancer cells have invaded the submucosa. Previous studies have clarified the risk factors for histologically determined lymph node metastasis in patients with colorectal cancer invading the submucosa, and these factors include the depth of submucosal invasion, vascular invasion, poorly differentiated cancer, and tumor budding.<sup>4-7</sup>

With recent developments in immunohistochemistry and molecular biology, it has become possible to

Supported in part by a Grant-in-Aid for Scientific Research (no. 15390401) from the Japanese Ministry of Education, Science, and Culture.

Presented at the Congress of Japan Surgery Society, Tokyo, Japan, March 29 to 31, 2006.

Reprints are not available.

Correspondence to: Kazuhiro Yasuda, M.D., Department of Gastroenterological Surgery, Oita University Faculty of Medicine, 1-1 Idaigaoka, Yufu, Oita 879-5593, Japan, e-mail: kyasuda@med.oita-u.ac.jp

Dis Colon Rectum 2007; 50: 1370-1376

DOI: 10.1007/s10350-007-0263-0

© The American Society of Colon and Rectal Surgeons

Published online: 28 July 2007

identify single or small clustered tumor cells that cannot be detected by conventional histologic examination based on hematoxylin and eosin staining.<sup>8-10</sup> Histologically overt lymph node metastasis is one of the most important prognostic factors in patients with colorectal cancer.<sup>11,12</sup> Although there is still controversy about the prognostic significance of occult lymph node metastasis in patients with histologically determined node-negative colorectal cancer,<sup>9,13-16</sup> the possibility that occult lymph node metastasis has adverse effects cannot be neglected. However, few studies have specifically addressed the factors predicting occult lymph node metastasis in patients with colorectal cancer invading the submucosa.<sup>4</sup>

This study was designed to determine the frequency of occult lymph node metastasis in cases of colorectal cancer invading the submucosa and to clarify the risk factors for lymph node metastasis, including occult metastasis, which would be clinically useful for determining therapeutic approaches. Special attention was directed to the depth of submucosal invasion, which is considered the most important predictor of lymph node metastasis.

## PATIENTS AND METHODS

The study subjects comprised 95 patients with colorectal cancer invading the submucosa treated by surgical resection and lymphadenectomy at the Department of Gastroenterological Surgery, Oita University Faculty of Medicine, or at one of three associated hospitals. It is more difficult to identify the proper cutting angle with endoscopically resected specimens than with surgical specimens.<sup>17</sup> To evaluate accurately the depth of submucosal invasion, nine patients who underwent previous endoscopic treatment were excluded.

The age and gender of patients, tumor size, and histologic type were obtained from the patients' medical charts and pathology reports. Histologic and macroscopic types were determined according to the Japanese classification of colorectal carcinoma outlined by the Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum.<sup>18</sup> Macroscopically, tumors were classified as protruded (Ip, Isp, Is) or superficial (IIa, IIb, IIc, IIa + IIc, IIc + IIa). The depth of submucosal invasion was defined as the vertical distance from the lower edge of the muscularis mucosa to the deepest invasive front and was measured with an optical micrometer. When the muscularis mucosa could not be identified, the vertical distance from apex of the

tumor to the deepest invasive front was measured. Vascular invasion was regarded as cancerous involvement of lymphatic and/or venous vessels and was assessed immunohistochemically with anti-human endothelial cell antibody CD31 (Dako, Glostrup, Denmark) and Victoria blue elastic fiber staining. Tumor budding was defined as an isolated undifferentiated cell or small cluster of undifferentiated cancer cells at the advancing edge of the tumor.<sup>19</sup>

Resected specimens were fixed in 10 percent formalin, and the whole lesion was cut into 3-mm-thick specimens. The specimens were embedded in paraffin and stained with hematoxylin and eosin. Routine histopathologic examination was performed with one section from each block. All lymph nodes were reevaluated histologically to confirm the presence of overt lymph node metastasis. To determine whether lymph node micrometastasis was present, one 3- $\mu$ m-thick section from each node was prepared for hematoxylin and eosin staining, and five 6- $\mu$ m-thick sections were prepared for immunohistochemical staining with mouse monoclonal anti-human cytokeratin antibody (CAM 5.2; Becton Dickinson, San Jose, CA). Immunohistochemical staining was performed by the streptavidin-biotin immunoperoxidase method (Histofine SAB-PO kit; Nichirei Corp., Tokyo, Japan). For antigen retrieval, deparaffinized and dehydrated sections were trypsinized in 0.1 percent calcium chloride for 20 minutes. The sections were incubated with CAM 5.2 at 1:5 dilution, biotinylated rabbit anti-mouse immunoglobulin, and streptavidin-peroxidase. Occult metastasis was defined as the presence of a single cell or a small cluster of cancer cells immunostained by CAM 5.2 and not detected by hematoxylin and eosin staining, which is classified as isolated tumor cell by the TMN classification.<sup>20</sup> Immunohistochemical staining with CD31 antibody (dilution 1:20) was performed in the same manner.

The chi-squared and Fisher's exact tests were used to compare categorical variables and the *t*-test was used for continuous variables. Independent risk factors for lymph node metastasis were examined by multivariate stepwise logistic regression analysis.  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

## RESULTS

A total of 793 lymph nodes from 86 patients with colorectal cancer invading the submucosa were examined. The number of lymph nodes per patient

ranged from 1 to 39 (median, 7; mean, 9). Histologically overt lymph node metastasis was detected in 27 of the 793 lymph nodes and was found in 11 of 86 patients. Among histologically node-negative colorectal cancer, lymph node micrometastasis was detected in 22 of 643 lymph nodes and was found in 10 of 75 patients. The majority of occult metastases was located in the peripheral sinuses and was found as single cells or small clusters of tumor cells. The overall frequency of lymph node metastasis, including occult and overt metastasis was 24 percent (21/86 patients).

Clinicopathologic factors in the 86 study patients are shown by the presence and absence of occult or overt metastasis to the lymph nodes in Table 1. The presence of lymph node metastasis was significantly associated with histologically moderate or poor differentiation ( $P < 0.01$ ), degree of submucosal invasion ( $P < 0.05$ ), vascular invasion ( $P < 0.01$ ), and tumor budding ( $P < 0.01$ ).

Multivariate stepwise logistic regression analysis included nine dichotomous factors listed on Table 1. Of these, risk factors independently associated with

lymph node metastasis were vascular invasion ( $P < 0.01$ ) and tumor budding ( $P < 0.01$ ; Table 2).

The degree of submucosal invasion was significantly associated with the status of lymph node metastasis (Table 3). For tumors with submucosal invasion of  $\leq 1,000 \mu\text{m}$ , no lymph node metastasis was found. Among 19 tumors with submucosal invasion of 1,000 to 2,000  $\mu\text{m}$ , 4 (21 percent) had metastasized to lymph nodes. Among 46 tumors with submucosal invasion of  $> 2,000 \mu\text{m}$ , 17 (37 percent) had metastasized to lymph nodes, and 10 of these 17 (59 percent) showed overt lymph node metastasis.

The minimal extent of submucosal invasion in tumors with lymph node metastasis, including occult metastasis, was 1,200  $\mu\text{m}$ , and all node-positive tumors with submucosal invasion of  $\leq 3,000 \mu\text{m}$  showed vascular invasion, tumor budding, or both.

## DISCUSSION

Endoscopic resection has become the standard treatment for small colonic polyps.<sup>3,21,22</sup> Advances in endoscopic instruments and techniques have

**Table 1.**  
Association Between Clinicopathologic Factors and Lymph Node Metastasis

Factor	Occult or Overt Lymph Node Metastasis		P Value
	Positive (n=21)	Negative (n=65)	
Age (yr)			
Mean $\pm$ SD	66.5 $\pm$ 10.2	67.2 $\pm$ 9.9	0.78
$\leq 65$	9	22	
$> 65$	12	43	0.454
Male/female ratio	13/8	44/21	0.625
Tumor site			
Colon	17	51	
Rectum	4	14	0.807
Tumor size (mm)			
Mean $\pm$ SD	2.2 $\pm$ 0.9	2.4 $\pm$ 1.7	0.49
$\leq 20$	10	34	
$> 20$	11	31	0.708
Macroscopic type			
Protruded	18	43	
Superficial	3	22	0.086
Histologic differentiation			
Well	10	54	
Moderate, Poor <sup>a</sup>	11	11	0.001
Depth of submucosal invasion ( $\mu\text{m}$ )			
Mean $\pm$ SD	3,054.8 $\pm$ 1,204.3	2,212.3 $\pm$ 1,820.7	0.018
$\leq 2,000$	4	36	
$> 2,000$	17	29	0.003
Vascular invasion present	18	23	0
Tumor budding present	17	23	0

SD=standard deviation.

<sup>a</sup>Only two tumors in the node-negative group had poor histologic differentiation. *t*-test for continuous variables and chi-squared test for categorical variables.

**Table 2.**  
Multivariate Analysis of Risk Factors for Lymph Node Metastasis

Variable	P Value	Odds Ratio	95% Confidence Interval
Age (yr)			
≤65 vs. >65	0.741		
Gender			
Male vs. female	0.893		
Tumor site			
Colon vs. rectum	0.418		
Tumor size (mm)			
≤20 vs. >20	0.758		
Macroscopic type			
Protruded vs. superficial	0.465		
Histologic differentiation			
Well vs. moderate, poor	0.293		
Depth of submucosal invasion (μm)			
≤2,000 vs. >2,000	0.209		
Vascular invasion			
Absent vs. present	0.001	12.023	3.751–116.751
Tumor budding			
Absent vs. present	0.001	11.112	3.644–146.031

increased the number of endoscopic resections for early-stage colorectal cancer and provided a better quality of life for patients. However, with the widespread application of endoscopic treatments, adverse outcomes, such as tumor recurrence, have been observed.<sup>23,24</sup> Therefore, it is necessary to determine the optimum criteria for endoscopic resection of early-stage colorectal cancer.

This is the first detailed study that addressed risk factors for lymph node metastasis, including occult metastasis, in patients with colorectal cancer invading the submucosa. We found an overall frequency

of micrometastasis and overt metastasis to the lymph nodes of 24 percent in patients with colorectal cancer invading the submucosa. Independent risk factors for lymph node metastasis were vascular invasion and tumor budding. Moreover, the degree of submucosal invasion was strongly associated with the status of lymph node metastasis and therefore was a useful parameter for determining whether endoscopic resection could be considered curative.

The frequency of histologically overt lymph node metastasis in cases of colorectal cancer invading the submucosa is reported at 8 to 17 percent.<sup>3,5,7,17,25,26</sup>

**Table 3.**  
Depth of Submucosal Invasion and Lymph Node Metastasis

Depth of Submucosal Invasion (μm)	Lymph Node Metastasis		Total
	Occult Metastasis	Overt Metastasis	
≤1,000	0	0	0/21 (0%)
≤500	0	0	0/16
500–1,000	0	0	0/5
1,000–2,000	3	1	4/19 (21%) <sup>a</sup>
1,000–1,500	2	1	3/13
1,500–2,000	1	0	1/6
>2,000	10	10	17/46 (37%) <sup>b</sup>
2,000–2,500	1	2	3/8
2,500–3,000	4	3	5/11
3,000+	5	5	9/27

<sup>a</sup>  $P < 0.05$  by Fisher's exact test (tumors with submucosal invasion of  $\leq 1,000$  μm vs. tumors with submucosal invasion of 1,000–2,000 μm).

<sup>b</sup>  $P < 0.01$  by Fisher's exact test (tumors with submucosal invasion of  $\leq 1,000$  μm vs. tumors with submucosal invasion of  $>2,000$  μm)

Accordingly, we observed a frequency of 13 percent (11/86). Moreover, occult lymph node metastasis was found by immunohistochemistry in 10 of 75 patients (13 percent) with histologically determined node-negative colorectal cancer. There have been only two other studies regarding occult lymph node metastasis in cases of colorectal cancer invading the submucosa; the frequencies of occult lymph node metastasis were 10 and 13 percent.<sup>4,13</sup> These data were in accordance with that of our series.

The prognostic importance of occult lymph node metastasis is known in cancer of other organs, including breast, esophageal, and gastric cancer.<sup>27-29</sup> Although the significance of occult lymph node metastasis in colorectal cancer remains controversial,<sup>9,13,16</sup> several previous studies have shown that the number and level of occult lymph node metastasis is significantly associated with postoperative recurrence.<sup>14,15</sup> To establish appropriate criteria for endoscopic treatment, the risk factors for lymph node metastasis, including occult metastasis, should be evaluated. Our multivariate analysis showed that vascular invasion and tumor budding are significant risk factors for lymph node metastasis, including occult metastasis.

The degree of submucosal invasion was not an independent risk factor and it might be associated with relatively low statistical power. However, this quantitative variable was clinically significant, especially in endoscopically resected specimens. Many previous studies have shown that the degree of submucosal invasion is an important predictor of lymph node metastasis.<sup>3-5,30</sup> There are several classification systems for the depth of submucosal invasion of colorectal cancer.<sup>3,31</sup> Kudo *et al.*<sup>3</sup> divided the submucosal layer into three equal parts (upper: sm1, middle: sm2, lower: sm3) and showed the degree of submucosal invasion to be associated with the frequency of lymph node metastasis. However, their classification system is relative, and it is difficult to evaluate an endoscopically resected specimen for which the full thickness of the submucosal layer has not been removed. Haggitt *et al.*<sup>31</sup> proposed a four-level classification system for the depth of submucosal invasion in cases of colorectal polyps. Level 4 tumors, which invade the submucosa of the underlying colonic wall, pose a high risk of lymph node metastasis and require additional surgery after endoscopic resection. However, Haggitt's classification system does not reflect the degree of submucosal invasion of the tumor. Sessile-type cancers with slight submucosal invasion are always classified as Level 4

tumors, and even pedunculated-type cancers with massive submucosal invasion may be classified as Level 2 or 3 tumors.

Measuring the vertical distance of submucosal invasion from the muscularis mucosa seems to be accurate and appropriate for endoscopic resection cases. Kobayashi *et al.*<sup>30</sup> studied 154 colorectal cancers invading the submucosa and reported that tumors with submucosal invasion of  $\leq 1,000$   $\mu\text{m}$  showed no lymph node metastasis. A Japanese collaborative study in a large series of 865 patients with colorectal cancer invading the submucosa found no lymph node metastasis in tumors with submucosal invasion of  $\leq 1,000$   $\mu\text{m}$ .<sup>32</sup> Accordingly, in our current study, neither overt lymph node metastasis nor micrometastasis in the lymph nodes was observed for tumors with submucosal invasion of  $\leq 1,000$   $\mu\text{m}$ . These study results indicate that when submucosal invasion of an endoscopically resected tumor is  $< 1,000$   $\mu\text{m}$ , complete cure can be achieved by endoscopic resection alone.

To extend the criteria for curative endoscopic resection, the combination of a quantitative factor (depth of submucosal invasion) and qualitative factors, including vessel invasion and tumor budding, is useful.<sup>4</sup> The Japanese collaborative study showed that there was no lymph node metastasis in cases of pedunculated tumors with  $\leq 3,000$   $\mu\text{m}$  of submucosal invasion and without lymphatic invasion.<sup>32</sup> Ueno *et al.*<sup>4</sup> examined 292 colorectal cancers invading the submucosa and analyzed the correlation between a combination of risk factors and lymph node metastasis. No lymph node metastasis was found in tumors having none of the three qualitative risk factors (unfavorable tumor grade, vascular invasion, and tumor budding) and  $\leq 2,000$   $\mu\text{m}$  of submucosal invasion. The present study showed that tumors with  $< 3,000$   $\mu\text{m}$  of submucosal invasion and neither vascular invasion nor tumor budding were without even lymph node micrometastasis. Therefore, when a tumor with submucosal invasion of  $\leq 3,000$   $\mu\text{m}$  shows neither vascular invasion nor tumor budding, additional colectomy with lymph node dissection seems to be unnecessary.

## CONCLUSIONS

Vascular invasion and tumor budding were important risk factors for lymph node metastasis, including occult metastasis, and the degree of submucosal invasion also was a useful quantitative factor for

deciding whether endoscopic resection can be considered curative. These three factors can be used in combination to identify patients requiring additional surgery after endoscopic resection.

### ACKNOWLEDGMENT

The authors thank the following doctors who took part in the study: Tsuyoshi Arita, Arita Gastrointestinal Hospital; Katsuhiko Shimoda, Koga Hospital; and Shoichi Era, Department of Pathology, Beppu Medical Center.

### REFERENCES

- Hurlstone DP, Sanders DS, Cross SS, *et al.* Colonoscopic resection of lateral spreading tumours: a prospective analysis of endoscopic mucosal resection. *Gut* 2004; 53:1334-9.
- Rembacken BJ, Fujii T, Cairns A, *et al.* Flat and depressed colonic neoplasms: a prospective study of 1000 colonoscopies in the UK. *Lancet* 2000;355:1211-4.
- Kudo S, Kashida H, Tamura T, *et al.* Colonoscopic diagnosis and management of nonpolypoid early colorectal cancer. *World J Surg* 2000;24:1081-90.
- Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y, *et al.* Risk factors for an adverse outcome in early invasive colorectal carcinoma. *Gastroenterology* 2004;127:385-94.
- Kikuchi R, Takano H, Takagi K, *et al.* Management of early invasive colorectal cancer: risk of recurrence and clinical guidelines. *Dis Colon Rectum* 1995;38:1286-95.
- Cooper HS, Deppisch LM, Gourley WK, *et al.* Endoscopically removed malignant colorectal polyps: clinicopathologic correlations. *Gastroenterology* 1995;108:1657-65.
- Hase K, Shatney CH, Mochizuki H, *et al.* Long-term results of curative resection of "minimally invasive" colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1995;38:19-26.
- Hermanek P, Hutter RV, Sobin LH, Wittekind C. International Union Against Cancer. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer* 1999;86:2668-73.
- Hayashi N, Ito I, Yanagisawa A, *et al.* Genetic diagnosis of lymph-node metastasis in colorectal cancer. *Lancet* 1995;345:1257-9.
- Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: pattern of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982;31:11-24.
- Fisher ER, Sass R, Palekar A, Fisher B, Wolmark N. Dukes' classification revisited: findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Projects (protocol R-01). *Cancer* 1989;64:2354-60.
- Jass JR, Atkin WS, Cuzick J, *et al.* The grading of rectal cancer: historical perspectives and a multivariate analysis of 447 cases. *Histopathology* 1986;10:437-59.
- Noura S, Yamamoto H, Miyake Y, *et al.* Immunohistochemical assessment of localization and frequency of micrometastasis in lymph nodes of colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:759-67.
- Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi N, Yamaguchi K, Hirabayashi Y, Kitano S. Pattern of lymph node micrometastasis and prognosis of patients with colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2001;8:300-4.
- Sasaki M, Watanabe H, Jass JR, *et al.* Occult lymph node metastases detected by cytokeratin immunohistochemistry predict recurrence in "node-negative" colorectal cancer. *J Gastroenterol* 1997;32:758-64.
- Öberg A, Stenling R, Tavelin B, Lindmark G. Are lymph node micrometastases of any clinical significance in Dukes' stage A and B colorectal cancer?. *Dis Colon Rectum* 1998;41:1244-9.
- Suzuki T, Sadahiro S, Mukoyama S, *et al.* Risk of lymph node and distant metastases in patients with early invasive colorectal cancer classified as Haggitt's level 4 invasion: image analysis of submucosal layer invasion. *Dis Colon Rectum* 2003;46:203-8.
- Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. Japanese classification of colorectal carcinoma. 1<sup>st</sup> English ed. Tokyo: Kanehara, 1997:4-40.
- Hase K, Shatney C, Johnson D, Trollope M, Vierra M. Prognostic value of tumor "budding" in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1993;36:627-35.
- Sobin LH, Wittekind C, eds. TNM classification of malignant tumors. 6th ed. New York: Wiley, 2002.
- Whitlow C, Gathright JB, Hebert SJ, *et al.* Long-term survival after treatment of malignant colonic polyps. *Dis Colon Rectum* 1997;40:929-34.
- Tanaka S, Yokota T, Saito D, Okamoto S, Oguro Y, Yoshida S. Clinicopathologic features of early rectal carcinoma and indications for endoscopic treatment. *Dis Colon Rectum* 1995;38:959-63.
- Volk EE, Goldblum JR, Petras RE, Carev WD, Fazio VW. Management and outcome of patients with invasive carcinoma arising in colorectal polyps. *Gastroenterology* 1995;109:1801-7.
- Seitz U, Bohnacker S, Seewald S, *et al.* Is endoscopic polypectomy an adequate therapy for malignant colorectal adenomas? Presentation of 114 patients and review of the literature. *Dis Colon Rectum* 2004; 47:1789-97.
- Egashira Y, Yoshida T, Hirata I, *et al.* Analysis of pathological risk factors for lymph node metastasis of submucosal invasive colon cancer. *Mod Pathol* 2004; 17:503-11.

26. Sakuragi M, Togashi K, Konishi F, *et al*. Predictive factors for lymph node metastasis in T1 stage colorectal carcinomas. *Dis Colon Rectum* 2003;46:1626–32.
27. Rampaul RS, Miremadi A, Pinder SE, *et al*. Pathological validation and significance of micrometastasis in sentinel nodes in primary breast cancer. *Breast Cancer Res* 2001;3:113–6.
28. Komukai S, Nishimaki T, Suzuki T, *et al*. Significance of immunohistochemical nodal micrometastasis as a prognostic indicator in potentially curable oesophageal carcinoma. *Br J Surg* 2002;89:213–9.
29. Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi N, *et al*. Prognostic effect of lymph node micrometastasis in patients with histologically node-negative gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2002;9:771–4.
30. Kobayashi M, Watanabe H, Maeo S, *et al*. Correlation of histological atypia and cancer sprouting with vascular permeation and lymph nodal metastasis by our new histological classification of submucosal invasion by colorectal carcinomas. *Stomach Intestine* 1994;29:1151–60.
31. Haggitt RC, Glotzbach RE, Soffer EE, Wruble LD. Prognostic factors in colorectal carcinomas arising in adenomas: implications for lesions removed by endoscopic polypectomy. *Gastroenterology* 1985;89:328–36.
32. Kitajima K, Fujimori T, Fujii S, *et al*. Correlations between lymph node metastasis and depth of submucosal invasion in submucosal invasive colorectal carcinoma: a Japanese collaborative study. *J Gastroenterol* 2004;39:534–43.



## 内視鏡外科における基礎研究の進歩

——内視鏡外科生理学・免疫学・腫瘍学の確立  
Development of basic research on endoscopic surgery



猪股雅史(写真) 白石憲男 北野正剛

Masafumi INOMATA, Norio SHIRAIISHI and Seigo KITANO

大分大学医学部第1外科

◎内視鏡外科手術は、炭酸ガス気腹に伴う腹腔内圧上昇やアシドーシスへの変化、さらに低侵襲性をもたらす生体反応など、呼吸・循環器系、免疫系、さらには悪性腫瘍の増殖・進展への影響が考えられる。著者らはこの内視鏡外科に関する基礎研究分野を、内視鏡外科生理学・免疫学・腫瘍学とそれぞれ位置づけ、臨床研究の裏づけとなる研究成果を蓄積してきた。内視鏡外科における基礎研究は臨床研究とともに、安全で根治性の高い内視鏡外科手術のさらなる発展に必要である。



Key word : 内視鏡外科手術, 低侵襲手術, 内視鏡外科腫瘍学, 内視鏡外科生理学, 炭酸ガス気腹

内視鏡外科手術は1987年に腹腔鏡下胆嚢摘出術がはじめて行われて以来、痛まず・傷が小さく・早く家に帰れる低侵襲手術(minimally invasive surgery; 「サイドメモ」参照)として注目を集め、この15年間に驚くばかりの急速な発展を遂げた<sup>1)</sup>。その適応も当初は良性疾患が主体であったが、1990年代前半より早期癌に対し、最近では進行癌へとその適応が拡大されてきた<sup>2)</sup>。この内視鏡外科手術の普及の背景には、技術の進歩と器具・機器の開発に加えて、数多くの国内外の臨床研究と、その臨床研究結果を裏づける基礎研究の成果が重要な役割を担っている。

本稿では、内視鏡外科の発展を支えてきた内視鏡外科基礎研究のこれまでの概要と今後の展望について述べたい。

### 内視鏡外科の基礎研究

内視鏡外科手術は従来の開腹・開胸手術と異なり、生体へ及ぼす手術侵襲をできるだけ軽減させる目的で、体腔鏡をはじめ特殊な器具・装置を用

いて小さい傷で行う手術である。とくに腹部手術の場合は、炭酸ガスによる気腹(pneumoperitoneum)によってworking spaceをつくりだしている。したがって内視鏡外科手術は、局所や全身の免疫などの生体反応、創傷治癒、循環器系・呼吸器系・代謝内分泌系への生理機能などさまざまな面で、従来手術とは異なる影響を与えることが考えられる。また、悪性腫瘍に対する手術の場合に

サイド  
メモ

### 低侵襲手術

生体は手術侵襲に対し内部環境を整え、恒常性を維持し、侵襲から回復するための生体防御反応を引き起こすことが知られている。過剰な生体反応が生じると臓器機能の低下、感染の憎悪、悪性腫瘍の進展に影響を与え、手術のmorbidityやmortalityにも影響を及ぼすことが明らかになっている。小さな傷で体腔内環境の変化を最小限に保つ内視鏡外科手術は近年の臨床研究でその低侵襲性が評価されており、低侵襲手術として日常臨床に定着している。

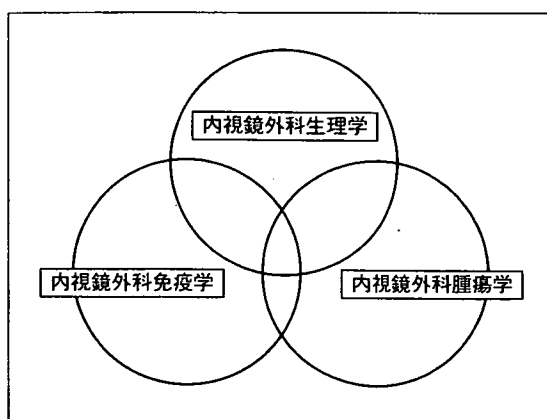


図 1 内視鏡外科基礎研究

は、炭酸ガス気腹が特殊な生体反応を生じ、その結果、腫瘍の増殖性・浸潤性・転移性にも影響を及ぼすと推察される。このような背景を受け、著者らは 1990 年代後半より内視鏡外科手術や炭酸ガス気腹が生体の生理機能や腫瘍の進展にどのような影響を及ぼすかを明らかにするため、3つの新しい分野、“内視鏡外科生理学(endoscopic surgical physiology)”、“内視鏡外科免疫学(endoscopic surgical immunology)”、“内視鏡外科腫瘍学(endoscopic surgical oncology)”<sup>3)</sup>を設立し、ブタ・ラット・マウスなど動物モデルや臨床検体を用いて基礎研究を展開した(図 1)。

### 内視鏡外科生理学

炭酸ガス気腹が生体の生理機能や腹腔内臓器の形態にどのような影響を及ぼすか、動物モデルおよび臨床検体を用いて検討した。

### 1. 全身循環動態への影響(ブタ気腹モデル)<sup>4)</sup>

① 気腹による末梢血管抵抗の増大のため、静脈灌流が減少した。

② 腹腔内臓器血流が減少し代謝性アシドーシスへと傾くが、腹腔内ガス(CO<sub>2</sub> vs. ヘリウム)では差を認めず、この現象は腹腔内圧の上昇に起因すると考えられた。

### 2. 肝・腎機能に及ぼす影響(ラット気腹モデル)<sup>5)</sup>

① 気腹下では血中バゾプレシンが上昇し、乏尿へとつながるが、その antagonist(OPC-31260)の投与で乏尿を予防できる。

② 気腹下では門脈血流が低下し、buffer response として肝動脈血流が上昇した。

### 3. 気腹法とつり上げ法の比較(臨床研究)

腹腔鏡下胆嚢摘出術で、術中循環動態を検討した。その結果、気腹下では心・腎血流量の低下をもたらしたが、気腹解除とともに改善した。つり上げ法では臓器血流量への影響は認めなかった<sup>6)</sup>。

### 4. 炭酸ガス気腹が腹膜および肝の組織学的形態に及ぼす影響(マウス気腹モデル)

① 電顕による腹膜の観察では気腹直後より腹膜中皮細胞のバルーンニング変化を認めたが、開腹後では中皮細胞の剝離・脱落を認めた<sup>7)</sup>(図 2)。

② 電顕による肝血管内皮細胞の観察では、気腹後は開腹後に比べ明らかに肝血管内皮細胞の形態学的変化を認めた<sup>8)</sup>。

### 内視鏡外科免疫学

炭酸ガス気腹や手術創の大きさが生体免疫システムに及ぼす影響を検討した。



図 2 CO<sub>2</sub>気腹が腹膜中皮細胞に及ぼす影響<sup>7)</sup>

A: コントロール, B: CO<sub>2</sub>気腹 24 時間後, C: 開腹 24 時間後. ×1,000.

表 1 気腹が免疫能に及ぼす影響

気腹操作は開腹操作に比べ、IL-6 の誘導が少ない (Frank, N. D. : <i>Ann. Surg.</i> , 1998)
気腹操作は開腹操作に比べ、細胞性免疫・NK 細胞活性の低下が少ない (Da Costa, M. L. : <i>Surg.</i> , 1998) (Catriona, G. H. : <i>Am. J. Surg.</i> , 1999)
気腹操作は開腹操作に比べ、Th1 の低下が軽度である (Iris, C. N. : <i>Am. J. Sur.</i> , 1999)
気腹操作は開腹操作に比べ、NK 活性・CTL 活性の低下が明らかに軽度である (Fuji, K. : <i>Surg. Today</i> , 2003)

1. 炭酸ガス気腹が全身免疫系へ及ぼす影響

① 気腹下では、全身および腹腔内の炎症性サイトカイン(IL-1 $\beta$ , IL-6)の産生が一時的に抑制された<sup>9)</sup>。

② マウスの脾細胞を用いた NK 活性と CTL 活性の検討では、気腹群は開腹群と比較し、両者の低下が有意に軽度であった<sup>10)</sup>。

③ 腹腔鏡下および開腹下胃切除術後の臨床血液サンプルを用いた検討では、腹腔鏡下胃切除術後は開腹下と比較し、Th1/Th2 バランスが維持されることを明らかにした<sup>11)</sup>。

2. 手術創が全身免疫系へ及ぼす影響

マウスを用い、開腹創の大きさや手術侵襲のマーカである IL-6 の値との関連を調べ、手術創の大きさが IL-6 と相関することを明らかにした。一方、開腹せずに皮膚のみの切開の場合は、切開の大きさによる明らかな IL-6 の変動は認めなかった<sup>12)</sup>。

3. 他施設からの報告のまとめ

これまで報告されてきた気腹操作による免疫能への影響について表 1 にまとめた。これらをまとめると、気腹操作は開腹操作に比べ炎症性サイトカインである IL-6 の誘導が少なく、細胞性免疫や NK 活性、CTL 活性、Th1 細胞の低下が軽度であり、腫瘍免疫に対する影響は少ないと考えられる。

内視鏡外科腫瘍学

マウス気腹モデルを用いて、炭酸ガス気腹が癌の増殖・浸潤・転移に及ぼす影響を検討した。

1. 血行性転移に及ぼす影響

① マウス尾静注肺転移モデルにおいて、気腹

表 2 気腹が肺転移へ及ぼす影響  
—動物実験における検討

著者	動物種/投与法	結果
Da Costa, M. L. (1998)	マウス/皮下注	開腹>気腹
Ishida, H. (2000)	マウス/尾静注	開腹>気腹
Shiromizu, A. (2000)	マウス/尾静注	開腹>気腹
Tomita, H. (2001)	ラット/盲腸壁注入	開腹>気腹
Wildbrett, G. (2002)	マウス/尾静注	開腹>気腹

群は開腹群に比べ、肺転移の大きさおよび数が有意に低値であり、IL-6 上昇の変動も少なかった。この現象は、内視鏡外科手術の低侵襲性に基づく癌の転移性への抑制効果を示した<sup>13)</sup>。

② マウス脾注肝転移モデルにおいて、気腹群は開腹群に比べ、肝転移の大きさおよび数が有意に高値であった<sup>14)</sup>。この理由として、内視鏡外科生理学の項で述べたように、気腹後は門脈血流が減少し、さらに電顕で肝血管内皮細胞の形態学的変化が開腹操作に比べて著明であることから、肝血管内皮細胞の傷害程度が転移性に影響を与えていると考えられる。

③ 他施設からの報告のまとめ：動物実験における気腹操作と肺転移に関する報告を表 2 にまとめた。これらの結果は、開腹操作は気腹操作に比べ肺転移を増強させる可能性を示している。また、気腹操作と肝転移に関する報告を表 3 にまとめた。肺転移とは異なり、気腹操作が開腹操作に比べ、肝転移を増強させる可能性を示している。

2. 腹膜播種に及ぼす影響

① 漿膜浸潤大腸癌をモデルとしたマウス大腸癌盲腸達着モデルにおいて、開腹群はコントロール群に比べ、有意に腹膜播種結節個数の増加を認めたが、気腹群と開腹群との間には有意差は認めなかった。したがって、著者らのモデルでは、開腹操作のほうが気腹操作に比べて腹膜播種を増強させる可能性を示した<sup>15)</sup>。この理由として、電顕上で開腹後のほうが気腹後より腹膜中皮細胞の傷害が著明であることが関与していると考えられる。

② 他施設からの報告のまとめ：気腹の腹膜播種に及ぼす影響について表 4 にまとめた。これらの大部分はいずれも培養癌細胞を動物の腹腔内注入する実験系として進められており、その結果、開腹操作が気腹操作に比べ腹膜播種を増強すると

表 3 気腹が肝転移へ及ぼす影響  
—動物実験における検討

著者	動物種/投与方法	結果
Chen, W. S. (1997)	マウス/脾注	気腹>コントロール
Ishida, H. (2000)	ウサギ/門脈注	気腹>開腹
Gutt, C. N. (2000)	ラット/門脈注	気腹>開腹
Ishida, H. (2001)	マウス/門脈注	気腹>コントロール
Gutt, C. N. (2001)	ラット/脾注	気腹=開腹
Tomita, H. (2001)	ラット/盲腸壁縫着	気腹=開腹
Ishida, H. (2001)	マウス/脾注	気腹>コントロール

表 4 気腹が腹膜播種に及ぼす影響

CO <sub>2</sub> 気腹<開腹
Allendorf, J. D. F. et al. : <i>Arch. Surg.</i> , 1995.
Mathew, G. et al. : <i>Br. J. Surg.</i> , 1996.
Bouvy, N. D. et al. : <i>Br. J. Surg.</i> , 1997.
CO <sub>2</sub> 気腹=開腹
Hubens, G. H. et al. : <i>Surg. Endosc.</i> , 1996.
Watson, D. I. et al. : <i>Arch. Surg.</i> , 1997.
CO <sub>2</sub> 気腹>開腹
Jacobi, C. A. et al. : <i>Surg. Endosc.</i> , 1997.

表 5 気腹が腫瘍の発育・進展へ及ぼす影響

腫瘍の発育・進展	開腹	気腹
腹膜播種	↑↑↑	↑
血行性転移		
肺	↑↑↑	↑↑
肝	↑↑	↑↑↑
リンパ節転移	↑↑↑	↑

した報告が6件中3件で、逆に気腹操作のほうが腹膜播種を増強するとして報告が1件であり、さらなる検討が必要と考えられる。

### 3. 気腹がリンパ節転移に及ぼす影響

まず著者らは癌細胞を後腹膜腔内に注入し、外科的侵襲を伴わない腹腔内リンパ節転移モデルを完成させ、このモデルを用いて気腹および開腹操作がリンパ節転移に及ぼす影響を検討した。腹腔内リンパ節、縦隔内リンパ節ともに、リンパ節転移個数は開腹操作が気腹操作およびコントロールより有意に増加していた。

### 4. 気腹が創転移に及ぼす影響

① マウス気腹モデルにおいて、気腹群が開腹群と比べ高度に腹腔内ヒアルロン酸の誘導を生じた<sup>16)</sup>。ヒアルロン酸の腹腔内投与は、気腹後の癌創転移を増強させた<sup>17)</sup>。

② マウス気腹モデルにおいて、気腹下では接着分子のインテグリンおよびCD44が創転移の誘発を示した<sup>18)</sup>。

性腫瘍への影響などが考えられる。これまでの基礎研究の結果から、手術操作が癌の増殖・浸潤・転移に及ぼす影響を表5に示した。内視鏡外科手術の適応拡大に伴い、今後は、腹膜炎や bacterial translocation における気腹の影響、肝、腸管免疫への影響、さらに進行した状態の悪性腫瘍に対する影響など、内視鏡外科生理学、免疫学、そして腫瘍学などの基礎研究を推し進めていく必要がある。

## おわりに

内視鏡外科手術はその導入から十数年とまだ日が浅く、臨床においては長期成績を明らかにするための大腸癌に対するランダム化比較試験がわが国でも進行中である<sup>19,20)</sup>。この炭酸ガス気腹を用いた低侵襲手術が生体の生理系や免疫系システム、癌の発育・進展に及ぼす影響はいまだ十分には解明されていない。より安全で根治性を備えた内視鏡外科手術の発展のためには、長期成績に基づく臨床研究とともに内視鏡外科における基礎研究を推進していくことが重要である。

## 内視鏡外科基礎研究の課題

内視鏡外科手術では、炭酸ガス気腹による腹腔内圧上昇に伴う物理的影響とアシドーシスという化学的影響、さらに低侵襲性をもたらす生体や悪

## 文献

- 1) 日本内視鏡外科学会：内視鏡外科手術に関するアンケート調査—第8回集計結果報告。日本内視鏡外科学会雑誌，11：523-628，2006。
- 2) 猪股雅史・他：内視鏡下手術の方法と限界：癌治

- 療における内視鏡外科の動向. 癌の臨床, 50(12): 951-959, 2004.
- 3) 北野正剛・他: 内視鏡外科における癌の増殖・進展・転移. 日本外科学会雑誌, 101: 526-530, 2000.
  - 4) Shuto, K. et al.: Hemodynamic and arterial blood gas changes during carbon dioxide and helium pneumoperitoneum in pigs. *Surg. Endosc.*, 9: 1173-1178, 1995.
  - 5) Baatar, D. et al.: Vasopressin antagonist improves renal function in rat model of pneumoperitoneum. *J. Surg. Res.*, 79(2): 109-114, 1998.
  - 6) Ninomiya, K. et al.: Comparison of pneumoperitoneum and abdominal wall lifting as to hemodynamics and surgical stress response during laparoscopic cholecystectomy. *Surg. Endosc.*, 12(2): 124-128, 1998.
  - 7) Suematsu, T. et al.: Morphology of the murine peritoneum after pneumoperitoneum vs laparotomy: a scanning electron microscopy study. *Surg. Endosc.*, 15(9): 954-958, 2001.
  - 8) Izumi, K. et al.: Morphological changes in hepatic vascular endothelium after carbon dioxide pneumoperitoneum in a murine model. *Surg. Endosc.*, 19(4): 554-558, 2005.
  - 9) Matsumoto, T. et al.: The effect of gases in the intraperitoneal space on cytokine response and bacterial translocation in a rat model. *Surg. Endosc.*, 15(1): 80-84, 2001.
  - 10) Fujii, K. et al.: Less impaired cell-mediated immune response in the murine peritoneal cavity after CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum. *Surg. Today*, 33(11): 833-838, 2003.
  - 11) Fujii, K. et al.: T lymphocyte subsets and Th1/Th2 balance after laparoscopy-assisted distal gastrectomy. *Surg. Endosc.*, 17(9): 1440-1444, 2003.
  - 12) Ishibashi, S. et al.: Length of laparotomy incision and surgical stress assessed by serum IL-6 level. *Injury*, 37(3): 247-251, 2006.
  - 13) Shiromizu, A. et al.: Effect of laparotomy and laparoscopy on the establishment of lung metastasis in a murine model. *Surgery*, 128(5): 799-805, 2000.
  - 14) Izumi, K. et al.: Liver metastasis and ICAM-1 mRNA expression in the liver after carbon dioxide pneumoperitoneum in a murine model. *Surg. Endosc.*, 19(8): 1049-1054, 2005.
  - 15) Takeuchi, H. et al.: Increased peritoneal dissemination after laparotomy vs pneumoperitoneum in a mouse cecal cancer model. *Surg. Endosc.*, 18(11): 1795-1799, 2004.
  - 16) Yamaguchi, K. et al.: Enhancement of port-site metastasis by hyaluronic acid under CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum in a murine model. *Surg. Endosc.*, 15(5): 504-507, 2001.
  - 17) Yamaguchi, K. et al.: Hyaluronic acid secretion during carbon dioxide pneumoperitoneum and its association with port-site metastasis in a murine model. *Surg. Endosc.*, 15(1): 59-62, 2001.
  - 18) Hirabayashi, Y. et al.: Port-site metastasis after CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum: role of adhesion molecules and prevention with anti-adhesion molecule. *Surg. Endosc.*, 18(7): 1113-1117, 2004.
  - 19) Kitano, S. et al.: Randomized controlled trial to evaluate laparoscopic surgery for colorectal cancer: Japan clinical oncology group study JCOG 0404. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 35(8): 475-477, 2005.
  - 20) 猪股雅史・他: 標準化された治療としての腹腔鏡下大腸癌手術. *Pharma Medica*, 23(12): 41-45, 2005.

\* \* \*

# 消化器癌に対する腹腔鏡下手術と内視鏡治療の境界

安田一弘\*<sup>1</sup>・白石憲男\*<sup>2</sup>・北野正剛\*<sup>3</sup>

## abstract

内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) や腹腔鏡下手術などの開発に伴い、内視鏡治療と外科手術の境界領域病変に対する治療法選択が臨床上の問題点の一つとなっている。内視鏡治療の難易度が高い「EMRの適応拡大病変」が境界領域病変であり、治療法を選択にあたっては各病変の内視鏡治療の難易度、各施設の技量や経験、患者の全身状態を総合的に評価する必要がある。腹腔鏡下手術は開腹術と同等の安全性・根治性を有し、開腹術に比べて術後疼痛が軽度・消化管機能の回復が早い・術後の炎症反応が軽度などの利点があるため、内視鏡治療が困難な場合は腹腔鏡下手術を選択するのが根治性の点からも安全である。さらに患者QOLの向上に貢献するため、腹腔鏡下の機能温存手術やセンチネルリンパ節検索の開発とその有用性の検証が現在進められており、今後の展開が期待される。

## I はじめに

胃癌や大腸癌に対する治療は、これまでの画一的なリンパ節郭清を伴った手術から個々の患者の腫瘍進行度および全身状態と患者希望に応じて、根治度とQOLのバランスを考慮した治療法が選択されるようになってきた。この背景には内視鏡的粘膜下層剥離術 (endoscopic submucosal dissection: ESD) の開発や腹腔鏡下手術の進歩がある<sup>1),2)</sup>。リンパ節転移のない早期癌に対しては、根治性を保ちながら臓器機能を温存できるESDが第一選択となるが、その治療手技は標準化されておらず、病変によっては技術的難易度が高い。そこで、本稿では早期胃癌と早期大腸癌に対する腹腔鏡下手術の現状と治療成績を示し、内視鏡治療と外科手術の適応境界病変に対する腹腔鏡下手術の有用性について述べる。

## II 早期胃癌に対する腹腔鏡下手術

胃癌に対する腹腔鏡下手術は1991年に本邦で開発され<sup>3)</sup>、その症例数は年々増加している。日本内視鏡外科学会の第8回アンケートによると、これまでの総手術件数は12,626例で、2004年は2,168例、2005年は2,631例に施行されている<sup>2)</sup>。この2年間の術式別頻度は、幽門側胃切除術が74% (D1+ $\alpha$  30%, D1+ $\beta$ /D2 44%), 胃全摘術が7%, 噴門側胃切除術が5%, 胃局所切除術が4%, 胃内手術が1%である。技術の進歩に伴い、難易度の高い2群リンパ節郭清・胃全摘・噴門側胃切除例が増加する一方で、ESDの開発により胃局所切除術と胃内手術例は減少している。

2004~2005年の2年間に行われた4,799例の術中偶発症は2%, 開腹移行は1%, 術後合併症は9%であった。これらの頻度は開腹術と同等であり、これまでに行われた無作為化比較試験・症例対照研究でも

\*1 大分大学医学部第一外科

\*2 大分大学医学部第一外科准教授

\*3 大分大学医学部第一外科教授

開腹術と同等の安全性が示されている<sup>4)~6)</sup>。厚生労働省がん研究助成金研究班(北野班)の胃癌に対する腹腔鏡下胃切除術の多施設共同研究の成績をみると、観察期間の中央値36カ月で早期癌1,294例の5年無再発生存率は99.4%と良好であった<sup>7)</sup>。進行癌を含めた無作為化比較試験でも腹腔鏡下胃切除術(n=30)の5年生存率は54.8%で、開腹術(n=29)の55.7%と差はなかった<sup>5)</sup>。また、これまでの臨床研究で開腹手術と比べて、術後疼痛が軽度・消化管機能の回復が早い・術後炎症反応が軽度・術後呼吸機能の低下が軽度などの利点が示されている<sup>4)~6)</sup>。

### III 早期大腸癌に対する腹腔鏡下手術

大腸癌に対する腹腔鏡下手術は1991年に米国から報告され<sup>8)</sup>、本邦には1992年に導入された<sup>2)</sup>。大腸癌に対する腹腔鏡下手術症例も年々増加しており、全国アンケートをみると2005年までに26,818例に施行され、2004年には4,385例、2005年には5,259例に行われている<sup>2)</sup>。

大腸癌に対しては世界中で大規模無作為化試験やメタアナリシスが行われ、腹腔鏡手術の有用性が評価されている<sup>9)~12)</sup>。その結果、術中・術後合併症は開腹術と同等で、術後回復については、開腹術より術後疼痛が軽度・消化管機能の回復が早い・術後在院日数が短いなどの利点が証明されている<sup>9),10)</sup>。大腸癌患者872例を対象にした米国の無作為化比較試験の遠隔成績をみると、腹腔鏡下手術の5年生存率は86%で、開腹術の85%と同等であり<sup>11)</sup>、香港の大規模無作為化比較試験も腹腔鏡下手術と開腹術で差は認めていない<sup>12)</sup>。本邦の無作為化比較試験は現在進行中であるが、結腸癌1,495例を対象とした多施設共同研究の5年生存率は、stage Iが97%、stage IIが94.8%、stage IIIが79.6%と良好である<sup>13)</sup>。

### IV 内視鏡治療と腹腔鏡下手術の境界

内視鏡治療と腹腔鏡下手術の適応の境界領域となる病変は、リンパ節転移はないものの内視鏡治療の難易度が高い「内視鏡治療の適応拡大病変」となる。これまでの詳細な臨床病理学的検討からリンパ節転

移のない胃癌・大腸癌の条件は明らかになり、その結果をもとに内視鏡治療適応基準が提唱されている。

#### 1 胃癌に対する内視鏡治療の適応拡大病変

日本胃癌学会による「胃癌治療ガイドライン」では、リンパ節転移がなく一般的に一括切除できるものを内視鏡的粘膜切除術の適応原則とし、具体的条件を「2cm以下の分化型M癌、陥凹型では潰瘍のないもの」としている<sup>14)</sup>。これ以外のリンパ節転移のない早期癌、すなわち①潰瘍のない分化型M癌で2cmより大きいもの、②潰瘍のある分化型M癌で3cm以下のもの、③潰瘍のない未分化型M癌で2cm以下のもの、④浸潤度500 $\mu$ m未満のSM癌(SM1)で脈管侵襲のない3cm以下のものが内視鏡治療の適応拡大病変とされ、臨床研究的治療に位置づけられている。

#### 2 大腸癌に対する内視鏡治療の適応拡大病変

大腸癌研究会による「大腸癌治療ガイドライン」は、内視鏡治療の適応基準を、①M癌・軽度SM浸潤癌、②最大径2cm未満、③肉眼型は問わないとしており、「2cm以上のM癌や軽度SM浸潤癌」が内視鏡治療の適応拡大病変となる<sup>15)</sup>。

これらの内視鏡治療適応拡大病変に対しては、各病変の内視鏡治療の難易度、各施設の技量や経験、患者の全身状態を総合的に評価し、内視鏡治療の難易度が高いと判断した場合は腹腔鏡下手術を選択するのが根治性の点からも安全である(図)<sup>16)</sup>。

### V おわりに

内視鏡治療が困難な病変に対する腹腔鏡下手術は、開腹術に比べて低侵襲で安全性・根治性を有する有用な治療法である。さらに患者QOLの向上に貢献するために、腹腔鏡下の分節胃切除術や幽門保存胃切除術などの機能温存手術や腹腔鏡下センチネルリンパ節検索が試みられており<sup>17),18)</sup>、今後の展開が期待される。

#### 参考文献

- 1) Ono H, Kondo H, Gotoda T, et al: Endoscopic mucosal resection for treatment of early gastric cancer. Gut 48: 225~229, 2001

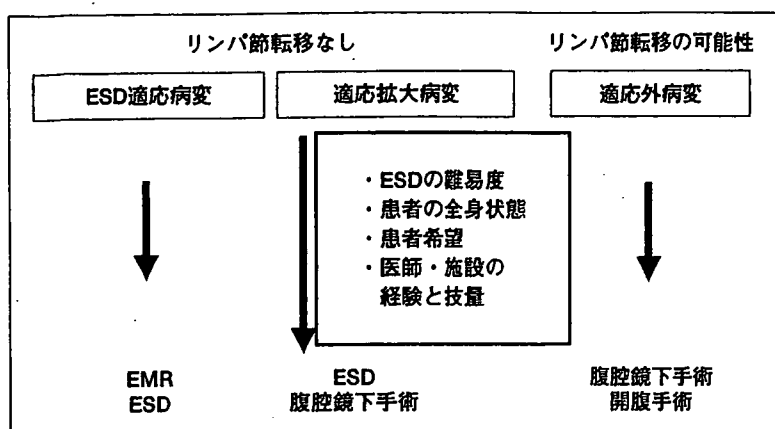


図 早期胃癌・大腸癌に対する治療選択

- 2) 日本内視鏡外科学会：内視鏡外科手術に関するアンケート調査—第8回集計結果報告—。日内視鏡外会誌 11：551～562, 2006
- 3) Kitano S, Iso Y, Moriyama M, et al：Laparoscopy-assisted Billroth I gastrectomy. Surg Laparosc Endosc 4：146～148, 1994
- 4) Kitano S, Shiraishi N, Fujii K, et al：A randomized controlled trial comparing open vs laparoscopy-assisted distal gastrectomy for the treatment of early gastric cancer：an interim report. Surgery 131：S306～S311, 2002
- 5) Huscher CG, Mingoli A, Sgarzini G, et al：Laparoscopic versus open subtotal gastrectomy for distal gastric cancer：five-year results of a randomized prospective trial. Ann Surg 241：232～237, 2005
- 6) Yasuda K, Sonoda K, Shiroshita H, et al：Laparoscopically assisted distal gastrectomy for early gastric cancer in the elderly. Br J Surg 91：1061～1065, 2004
- 7) Kitano S, Shiraishi N, Uyama I, et al：A multicenter study on oncologic outcome of laparoscopic gastrectomy for early cancer in Japan. Ann Surg 245：68～72, 2007
- 8) Jacobs M, Verdeja JC, Goldstein HS：Minimally invasive colon resection (Laparoscopic colectomy). Surg Laparosc Endosc 1：144～150, 1991
- 9) Aziz O, Constantinides V, Tekkis PP, et al：Laparoscopic versus open surgery for rectal cancer：a meta-analysis. Ann Surg Oncol 13：413～424, 2006
- 10) Abraham NS, Young JM, Solomon MJ：Meta-analysis of

- short-term outcomes after laparoscopic resection for colorectal cancer. Br J Surg 91：1111～1124, 2004
- 11) The Clinical Outcomes of Surgical Therapy Study Group：A comparison of laparoscopically assisted and open colectomy for colon cancer. N Engl J Med 350：2050～2059, 2004
- 12) Leung KL, Kwok SP, Lam SC, et al：Laparoscopic resection of rectosigmoid carcinoma：prospective randomised trial. Lancet 363：1187～1192, 2004
- 13) Kitano S, Kitajima M, Konishi F, et al：A multicenter study on laparoscopic surgery for colorectal cancer in Japan. Surg Endosc 20：1348～1352, 2006
- 14) 日本胃癌学会編：胃癌治療ガイドライン 医師用 2004年4月改訂 (第2版)。金原出版, 東京, 2004
- 15) 大腸癌研究会編：大腸癌治療ガイドライン 医師用 2005年版。金原出版, 東京, 2005
- 16) 安田一弘, 白石憲男, 北野正剛：早期胃癌に対するESDと腹腔鏡下手術の接点—私はこう考える 外科の立場から。胃と腸 41：1514～1516, 2006
- 17) Otani Y, Furukawa T, Kitagawa Y, et al：New method of laparoscopy-assisted function-preserving surgery for early gastric cancer：vagus-sparing segmental gastrectomy under sentinel node navigation. J Am Coll Surg 198：1026～1031, 2004
- 18) Kitagawa Y, Kitano S, Kubota T, et al：Minimally invasive surgery for gastric cancer：toward a confluence of two major streams：a review. Gastric Cancer 8：103～110, 2005



## 進行結腸癌に対する腹腔鏡下手術 —厚生労働省班研究に基づく本邦の現況—

猪股 雅史\*<sup>1,6</sup> 衛 藤 剛\*<sup>1</sup> 白石 憲男\*<sup>1</sup> 北野 正剛\*<sup>1,7</sup>  
小西 文雄\*<sup>2,8</sup> 杉原 健一\*<sup>3,8</sup> 渡邊 昌彦\*<sup>4,8</sup> 森谷 宜皓\*<sup>5,8</sup>

Key words ◆ 進行結腸癌, ランダム化比較試験, 腹腔鏡下手術

◆要旨：日本内視鏡外科学会の全国アンケート調査によると、本邦の大腸癌に対する腹腔鏡下手術症例の中で進行癌の占める割合は急速に増加し、2005年には6割に達している。これまで2001年から2年間にわたり厚生労働省がん研究助成金（北野班）によるretrospective multicenter studyが行われ、各ステージとも開腹手術とほぼ同等の治療成績であった。これを受けて、2003年より厚生労働科学研究補助金に基づく新たな研究班（北野班）を組織し、腹腔鏡下大腸切除研究会のメンバーを中心に、「進行大腸癌に対する腹腔鏡下手術および開腹手術の根治性に関するランダム化比較試験（JCOG 0404）」をスタートさせた。全症例の手術写真の中央判定実施や術者の規定などQC/QAを重視し、これまで報告された海外のRCTの問題点を克服すべくさまざまな工夫がなされている。総登録数1,050例を目標に、現在までに約700例を上回る登録ペースで順調に進捗している。世界最大規模の症例数と質の高いプロトコールによる本邦のRCTの結果が、国内外から注目されている。

### はじめに

1991年、Jacobsら<sup>1)</sup>が世界で初めて腹腔鏡下大腸切除術を報告して以来、腹腔鏡下手術は従来の開腹手術と比べ低侵襲で整容性に優れており、低侵襲治療としての位置づけを確立しながら、この15年あまりで急速に普及してきた<sup>2)</sup>。一方、早期癌から進行癌へその適応拡大が進むにつれport site recurrenceなどの癌に対する腹腔鏡下

手術の影響が懸念されるようになり、1990年半ばより各国で大腸癌に対する開腹手術と腹腔鏡下手術の長期成績をエンドポイントとしたランダム化比較試験（randomized controlled trial：RCT）が開始された<sup>3)</sup>。本稿では、海外の5つの大規模RCTの結果と、2004年10月より本邦でスタートした進行結腸癌に対するRCT（厚生労働省科学研究費補助金に基づく研究班：JCOG0404）<sup>4)</sup>の特色と進捗状況を述べ、進行結腸癌に対する腹腔

\*<sup>1</sup> 大分大学医学部第1外科 \*<sup>2</sup> 自治医科大学大宮医療センター外科 \*<sup>3</sup> 東京医科歯科大学医学部腫瘍外科

\*<sup>4</sup> 北里大学医学部外科 \*<sup>5</sup> 国立がんセンター中央病院大腸外科 \*<sup>6</sup> JCOG0404 研究事務局

\*<sup>7</sup> JCOG0404 研究代表者 \*<sup>8</sup> JCOG0404 運営委員

別刷請求先：猪股雅史 大分大学医学部第1外科 (☎879-5593 大分県由布市挾間町医大ヶ丘1-1)

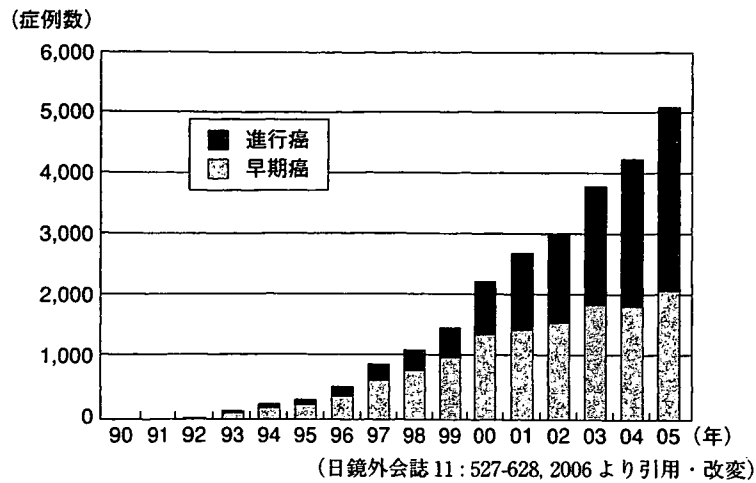


図1 大腸癌に対する腹腔鏡下手術の動向  
(第8回日本内視鏡外科学会全国アンケート調査: 1,373施設)

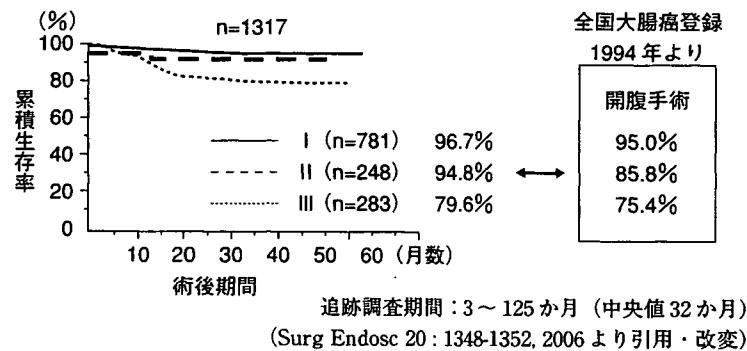


図2 結腸癌に対する腹腔鏡下手術の遠隔成績 (TNM staging別)

鏡下手術の現況を概説する。

## 本邦における腹腔鏡下大腸癌手術の現況

### 1. 日本内視鏡外科学会アンケート調査結果

本邦における大腸癌に対する腹腔鏡下手術の現況は、日本内視鏡外科学会が2年に1度行っている全国アンケート調査結果<sup>5)</sup>に基づくと、2005年までに施行された腹腔鏡下手術の症例数は年々増加しており、総手術症例数は26,818例を超え、2005年の1年間では5,259例に及び、その中で進行癌の比率は58%を占めるに至っている(図1)。本邦のこのような普及の背景には、各施設の技術の進歩と2002年の腹腔鏡下手術の保険適応拡大が主要な要因の1つと考えられる。

### 2. Retrospective multicenter study (厚生労働省多施設共同研究)

本邦の大腸癌に対する腹腔鏡下手術の治療成績について、平成13~16年度厚生労働省がん研究助成金「がんにおける体腔鏡手術の適応拡大に関する研究(北野班)」における多施設共同研究(retrospective multicenter study)の中で報告されている<sup>6)</sup>。この班研究は、本邦の腹腔鏡下手術の先進的な17施設が参加し、1993~2002年8月までの大腸癌に対する腹腔鏡下手術施行2,036症例を集計し、安全性と根治性を解析している<sup>7)</sup>。

これによると結腸癌1,495例の登録症例の癌進行度の割合は、stage Iが53%、stage IIが16%、stage IIIが26%、stage IVが5%である。開腹移行(conversion)は、結腸癌の4.8%で、開腹

表1 長期成績が報告された海外 RCT の試験概要  
(大腸癌に対する開腹手術 vs. 腹腔鏡下手術)

Authors	Journal	Cases	Primary endpoints	Secondary endpoints
Lacy (スペイン)	Lancet (2002)	OC 101 LAC 105	Cancer related survival	Overall survival Free of recurrence
Leung (香港)	Lancet (2004)	OC 200 LAC 203	Overall survival, Disease free-survival	—
COST (USA)	N Eng J Med (2004)	OC 428 LAC 435	Time to tumor recur- rence	Disease-free survival, Overall survival Complications Quality of life
Braga (イタリア)	Dis Colon Rectum (2005)	OC 201 LAC 190	Long-term complication	Survival rate Quality of life
CLASICC (英国)	JCO (2007)	OC 268 LAC 526	Overall survival Disease free-survival Local recurrence	Remote recurrence Quality of life

表2 長期成績が報告された海外 RCT の試験結果  
(大腸癌に対する開腹手術 vs. 腹腔鏡下手術)

Authors	Conversion rate (%)	Morbidity	Perioperative Mortality	Overall survival	Disease-free survival
Lacy (スペイン)	11%	p=0.001 (29% vs 11%)	p=0.19 (2.9% vs 0.9%)	HR 0.39 95% CI 0.19-0.82	p=0.006 (Stage III 症例)
Leung (香港)	23%	N S (24% vs 26%)	p=0.97 (0.6% vs 2.4%)	p=0.61 (73% vs 76%)	p=0.45 (78% vs 75%)
COST (USA)	21%	p=0.64 (20% vs 21%)	p=0.40 (1.0% vs 0.5%)	p=0.51 (85% vs 86%)	N S
Braga (イタリア)	4%	p=0.018 (15% vs 7%)		p=0.55 (83% vs 84%)	p=0.78 (83% vs 84%)
CLASICC (英国)	16%		p=0.65 (5% vs 4%)	p=0.35 (68% vs 67%)	p=0.70 (68% vs 66%)

移行理由は、適応を超えた癌の過進展が約半数、術中の出血や他臓器損傷が約3割という内訳である。結腸癌の治療成績では、術中合併症は1.4% (出血0.4%, 他臓器損傷0.5%など)、術後合併症は12.6% (創感染6.5%, 縫合不全1.5%など)の頻度である。根治手術1,481例中61例(4.1%)に再発を認め、その形式は、肝が2.4%と最も多く、腹膜が0.4%、肺が0.4%、リンパ節が0.3%、局所が0.2%という内訳である。5年生存率は、stage I, II, IIIの順に、95%, 86%, 74%を示している(図2)。このretrospective multicenter studyの報告から、本邦の結腸癌の治療成績は、合併症・再発率・再発形式・5年生存率のいずれも従来の大腸癌研究会が行っている全国大腸癌登録における開腹手術の治療成績と比較してほぼ同等と考えられる。

## 海外での腹腔鏡下大腸癌手術の現況

1990年代半ばより海外で進められている大腸癌に対する腹腔鏡下手術と開腹手術のRCTの中で、現在まで長期成績が報告された5つのTrialの概要と結果を表1, 2にまとめた。2002年のスペインのLacyら<sup>9)</sup>の報告では、腹腔鏡下手術は再発率、癌死亡率、全死亡率において独立した危険減少因子であり(p=0.04, p=0.02, p=0.006)、その差はstage IIIの開腹手術の治療成績不良によるものと考察されている。2004年のCOST(米国)<sup>9,10)</sup>、香港<sup>11)</sup>、CLASICC(英国)<sup>12)</sup>からの報告では腹腔鏡下手術と開腹手術との間にどのstageにおいても再発率、全生存率に差は認めず同等との結果であった。すなわち、進行結腸癌に対しても腹腔鏡下手術は開腹手術と比較し、短期

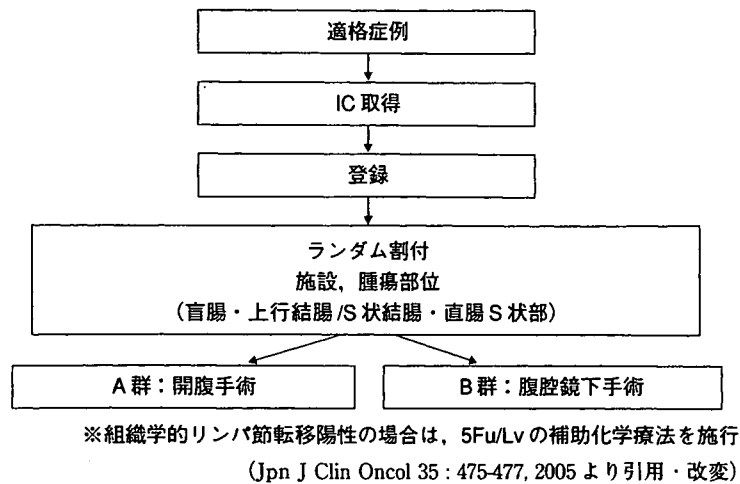


図3 JCOG0404 臨床試験の概要

表3 適格規準

- 1) 組織学的に大腸癌（腺癌，粘液癌，印環細胞癌，腺扁平上皮癌）と診断
- 2) 主占居部位がC, A, S, Rsのいずれか
- 3) 術前診断にてT3, T4（他臓器浸潤を除外），N0-2, M0
- 4) 内視鏡と画像検査で多発病変を認めない
- 5) 術前CTまたは注腸造影で，腫瘍の最大径が8cm以下
- 6) 下剤を用いた腸管洗浄が不十分となる腸閉塞がない
- 7) 20歳以上，75歳以下
- 8) 腸管（胃を含む）切除を伴う手術の既往がない（虫垂切除術を除く）
- 9) 化学療法，放射線照射の既往がない
- 10) 主要臓器の機能が保持されている

(Jpn J Clin Oncol 35: 475-477, 2005より引用・改変)

および長期成績で同等といえよう。しかし、これらのRCTは、症例数が少なかったり、術後補助療法の規定がなかったり、あるいは開腹移行率や合併症発生率が高い、リンパ節郭清の規定があいまい、quality controlの不十分さなど、いくつかの問題をかかえている。また、標準治療である開腹手術の治療成績自体が海外の報告より良好な本邦の現状をふまえると、海外の大規模RCTの結果を本邦の医療にそのまま受け入れることは妥当ではないと考えられる。

### 本邦における prospective randomized controlled study の現況

本邦の retrospective multicenter study と海外のRCTの結果を受けて、2003年4月に厚生労働省科学研究費補助金に基づく研究班を組織し、

Japan Clinical Oncology Group (JCOG) の臨床研究として、2004年10月より「進行大腸がんに対する腹腔鏡下手術と開腹手術との根治性に関するランダム化比較試験 (JCOG0404)」(研究代表者：北野正剛)<sup>4)</sup>を開始している。予定登録症例数は1,050例、登録期間は4年、追跡期間5年の非劣性試験である。腫瘍深達度はT3・T4（他臓器浸潤を除く）、主占拠部位は盲腸・上行結腸・S状結腸・直腸S状部の病変を対象とし、ランダム化割付因子は登録施設と腫瘍占拠部位（右側/左側）の2因子である（図3）。適格規準を表3に示す。このRCTは海外で報告されたRCTの問題点を克服すべく以下のような特徴を有している。すなわち、(1) 対象は早期癌を除外し進行癌に限定、(2) リンパ節郭清をD3と規定、(3) 補助化学療法はstage IIIに対して国際的スタンダード