

Hattori T, Amano H, Nagai Y, <u>Ishikawa O</u>	Leukemia cutis in a patient with acute monocytic leukemia presenting as a unique facial erythema.	J Dermatol.	35	671-674	2008
Hino R, Kabashima K, Kato Y, Yagi H, Nakamura M, Honjo T, Okazaki T, <u>Tokura Y</u>	Tumor cell expression of programmed cell death ligand 1 is a prognostic factor for malignant melanoma.	Cancer	116	1757-1766	2010
門野岳史	皮膚外科による治療.	からだの科学	262	109-112	2009
門野岳史	手術が適応となる疾患・ならない疾患 知っておきたい皮膚病の常識・非常識.	MB Derma	160	33-38	2009
Miyagaki T, Sugaya M, Kagami S, Nakashima H, Ishiura N, Watanabe R, Ohmatsu H, Fujita H, Yazawa N, <u>Kadono T</u> , Fujimoto M, Saeki H, Tamaki K.	Increased CCL1 levels in the sera and blister fluid of patients with bullous pemphigoid.	J Dermatol Sci	54	45-47	2009
Yabunaka K, Iizuka S, Nakagami G, Aoi N, <u>Kadono T</u> , Koyanagi H, Uno M, Ohue M, Sanada S, Sanada H	Can ultrasonographic evaluation of subcutaneous fat predict pressure ulceration?	J Wound Care	18	192-198	2009
Aoi N, Yoshimura K, <u>Kadono T</u> , Nakagami G, Iizuka S, Higashino T, Araki J, Koshima I, Sanada H	Ultrasound assessment of deep tissue injury in pressure ulcers: possible prediction of pressure ulcer progression.	Plast Reconstr Surg	124	540-550	2009

REVIEW ARTICLE

Yoichi Moroi

## Significance of sentinel lymph node biopsy in malignant melanoma: overview of international data

Received: September 28, 2009

**Abstract** The notion of sentinel lymph node (SLN) mapping and its use during surgery for staging cancer was initially reported in 1992, in a study involving patients with malignant melanoma. To date SLN biopsy (SLNB) has emerged as a rational approach for staging regional lymph nodes in patients with clinically node-negative melanoma (stage I and II disease). The significance of SLNB as a staging and prognostic tool in melanoma is widely accepted. Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis of the SLN remains very controversial. Whether SLNB improves survival in melanoma patients remains an open question.

**Key words** Melanoma · Sentinel lymph node biopsy · Lymph node dissection · Staging tool · Prognostic value · Therapeutic effect

### Introduction

The sentinel lymph node (SLN) is defined as the first node in the lymphatic basin into which the primary tumor drains. The primary afferent lymphatic first drains into the SLN of the respective basin. Therefore, the status of the SLN(s) accurately reflects the status of the entire basin. If the SLN is not involved with metastatic disease, the remainder of the lymph nodes should also be negative. Likewise, if the SLN is positive, the risk exists that higher-order nodes may also be involved with metastatic disease. Of interest, a number of trials have failed to demonstrate a survival benefit for elective lymph node dissection (ELND).<sup>1–4</sup>

According to the notion of the SLN, sentinel lymph node biopsy (SLNB) was introduced as a less invasive alternative to ELND, to allow evaluation of the regional lymph

node(s).<sup>5</sup> SLNB has minimal complication risks compared to a standard ELND.<sup>6</sup> The SLNB technique has been verified and is now widely accepted as a staging tool not only for melanoma but also for breast cancer and other selected malignancies. Despite the success and acceptance of lymphatic mapping, some controversies remain. Topics regarding the significance of SLNB in melanoma patients are reviewed here.

### Technical advances in SLNB

SLN biopsy can pose a technical challenge, depending on the experience of the surgeon, pathologist, and the nuclear medicine radiologist. Isosulfan blue dye remains the gold standard for identifying SLNs. However, carbon particles injected with the blue dye have been used successfully as an inert marker in identifying micrometastases in the SLN.<sup>7</sup> Lymph mapping with a suspension of carbon particles and isosulfan blue dye has enabled the histopathologic confirmation of an SLN as a true SLN. Moreover, the pattern of carbon deposition within the node indicates the intranodal site of micrometastatic tumor cells.

A newly developed real-time fluorescence navigation system with indocyanine green (ICG) is capable of detecting the SLN; this method has achieved a high identification rate and allows effective observation for several hours.<sup>8</sup> This method may become a useful option for the detection of SLNs in patients with melanoma and skin cancers.

### SLNBs have staging and prognostic value

After the first report by Morton et al.<sup>5</sup> in 1992, SLN mapping and SLNB have been used to identify a subset of patients with microscopic metastatic disease, offering greater accuracy in staging. Major revisions have been made to form a new American Joint Committee on Cancer (AJCC) staging system for melanoma,<sup>9</sup> which became official in 2002. Meanwhile, the prognostic value of SLNB in patients

Y. Moroi (✉)  
Department of Dermatology, Graduate School of Medical Science,  
Kyushu University, 3-1-1 Midashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582,  
Japan  
Tel. +81-92-642-5585; Fax +81-92-642-5600  
e-mail: ymoroi@dermatol.med.kyushu-u.ac.jp

with early-stage melanoma has been validated by panels of reports from around the world, with relatively small-sized studies.<sup>10-13</sup>

The Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial I (MSLT-I) was performed to evaluate the contribution of SLNB to outcomes in patients with newly diagnosed melanoma.<sup>14</sup> In this study, 1347 patients with a primary cutaneous melanoma (intermediate thickness: 1.2 to 3.5 mm) were randomly assigned to wide excision and postoperative observation of regional lymph nodes with lymph node dissection (LND) if nodal relapse occurred (therapeutic lymph node dissection; TLND), or to wide excision and SLNB with immediate LND if nodal micrometastases were detected on biopsy (complete lymph node dissection; CLND); 1269 of these patients were evaluable. In the SLNB group, the presence of metastases in the SLN was the most important prognostic factor; the 5-year survival rate was  $72.3 \pm 4.6\%$  among patients with tumor-positive SLN and  $90.2 \pm 1.3\%$  among those with tumor-negative SLN (hazard ratio for death, 2.48; 95% confidence interval [CI], 1.54 to 3.98;  $P < 0.001$ ). The study authors concluded that the staging of intermediate-thickness (1.2 to 3.5 mm) primary melanomas according to the results of SLNB provided important prognostic information.

A French study ( $n = 455$ ) also confirms the strong prognostic value of SLNB.<sup>15</sup> A positive SLN was identified in 98 of 455 cases. Of these 98 cases, 88 had a single positive SLN, 9 had two, and 1 had three. For these 98 basins, CLND found at least one positive non-SLN in 22 cases (22.4%). The mean follow up was 29 months. Only 10 patients were lost to follow up. Disease-free survival and disease-specific survival were significantly shorter in SLN-positive patients than in SLN-negative patients. In addition, extracapsular invasion was found to be an independent prognostic factor of disease-free survival; ulceration of the primary tumor and the maximum diameter of the largest metastasis were identified as independent predictive factors of disease-specific survival.

A recent report demonstrated that among node-positive melanoma patients ( $n = 429$ ), the presence of a positive non-SLN was a highly significant poor prognostic sign, even after considering the total number of positive nodes and volume of disease in the SLN.<sup>16</sup> Of the 429 patients, 71 (17%) had at least one positive non-SLN identified. Median follow-up time was 36.8 months. The presence of a positive non-SLN was significantly associated with poor outcome, although long-term survival was possible. The presence of ulceration, a high mitotic rate, angiolymphatic invasion, total number of positive nodes, and volume of disease in the SLN were significant predictors of survival on univariate analysis, but lost significance on multivariate analysis. Ariyan et al.<sup>17</sup> reported similar results. Therefore, LND after the identification of a positive SLN provides this important prognostic information. However, others have reported that non-SLN positivity was not significantly associated with a worse prognosis.

The status of the SLN is also significantly linked to survival in patients with thin melanoma (tumor thickness  $< 1.0$  mm).<sup>18</sup> Of 631 patients with thin melanomas who

underwent SLNB, 31 (5%) had a tumor-positive SLN. At a median follow up of 57 months for the 631 patients, the mean (SD) 10-year rate of disease-free survival was 96% (1%) vs 54% (10%) for patients with tumor-negative SLNs vs those with tumor-positive SLNs, respectively ( $P < 0.001$ ); the mean (SD) 10-year rate of melanoma-specific survival was 98% (1%) vs 83% (8%), respectively ( $P < 0.001$ ). Also, tumor-positive SLNs were more common in patients aged 50 years and younger ( $P = 0.04$ ). The SLN status maintained importance on multivariate analysis for both disease-free survival ( $P < 0.001$ ) and melanoma-specific survival ( $P < 0.001$ ). Therefore, SLNB should be considered for patients with thin melanoma to obtain complete prognostic information.

Taken together, the above results show that SLNB is a powerful tool for the staging of patients with early stage-melanoma, and its prognostic value has been validated and widely accepted.

### Is molecular staging in the SLN useful?

Detection of micrometastases in the regional tumor-draining lymph nodes is critical for accurate staging and prognosis in melanoma patients. Many clinicians and researchers have hypothesized that a multiple-mRNA marker reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay would improve the detection of occult metastases in the SLN, compared with hematoxylin and eosin (H&E) staining and immunohistochemistry (IHC), and that the expression of the multiple-mRNA marker would be predictive of disease relapse. Shivers et al.<sup>19</sup> found that RT-PCR for tyrosinase predicted recurrence and overall survival in a prospective cohort study of consecutive patients in whom SLNB was performed on 114 melanoma patients with clinical stage I and stage II disease. Twenty-three patients (20%) had pathologically positive SLNs, and all of these patients were also RT-PCR-positive. Of the 91 patients with pathologically negative, SLNs, 44 were RT-PCR-negative and 47 were RT-PCR-positive. Fourteen of the 23 patients who showed both pathological and RT-PCR positivity had a recurrence (recurrence rate, 61%) and 1 of the 44 patients whose SLNs showed both pathological and RT-PCR negativity had a recurrence (recurrence rate, 2%). For patients who were upstaged by molecular assay (pathologically negative, RT-PCR-positive SLNs), the recurrence rate was 13% (6 of 47 patients). The differences in recurrence rates and overall survival between the pathologically negative, RT-PCR-negative and pathologically negative, RT-PCR-positive patient groups were statistically significant ( $P = 0.02$  for both disease-free survival and overall survival). This is the first report to show that the use of an RT-PCR assay for the detection of submicroscopic melanoma metastases in SLNs improved the prediction of melanoma recurrence and overall survival over routine pathological examination.

Interestingly, in this report,<sup>19</sup> there was only one recurrence in the 44 patients whose SLNs were negative both

pathologically and by RT-PCR, and the recurrence rate was 13% in the patients whose SLNs were histologically negative and PCR-positive. The specificity of tyrosinase has been questioned, mainly because of the possibility of a false-positive result. This has led investigators to evaluate multiple-marker RT-PCR to improve specificity. Using a multiple-marker real-time RT-PCR assay (MART1, MAGE3, GalNAc-T, and Pax3), Takeuchi et al.<sup>20</sup> found prognostic value for real-time RT-PCR analysis of SLNs. Of 162 patients with histopathology-negative SLNs by H&E and/or IHC, 48 (30%) had nodes that expressed at least one of the four PCR markers, and these 48 patients also had a significantly increased risk of disease recurrence by a Cox proportional hazards model analysis ( $P < 0.0001$ ; risk ratio, 7.48; 95% CI, 3.70 to 15.15). The presence of one or more markers in histopathology-negative SLNs was also a significant independent prognostic factor for overall survival by multivariate analysis ( $P = 0.0002$ ; risk ratio, 11.42; 95% CI, 3.17 to 41.1).

However, in a large, prospective, multi-institutional study ( $n = 1446$ ), RT-PCR analysis (tyrosinase, MART1, MAGE3, and GP-100) of SLNs provided no additional prognostic information beyond standard histopathological analysis (H&E and IHC) of SLNs.<sup>21</sup> At a median follow up of 30 months, there was no difference in disease-free survival, distant disease-free survival, or overall survival between the RT-PCR-positive ( $n = 620$ ) and RT-PCR-negative ( $n = 826$ ) patients. Recently, a Spanish group also demonstrated that multimarker quantitative real-time RT-PCR analysis (tyrosinase, MART1, SSX2, MAGEA3, PAX3, and GalNAc-T) of SLNs did not correlate with disease recurrence in their cohort of patients ( $n = 195$ ).<sup>22</sup>

RT-PCR of SLN for staging remains investigational and should not be used to direct adjuvant therapy at this time.

To further examine the importance of SLN metastases and the relevance of molecular assessment of the SLN, the organizers of the MSLT-I designed a second Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial (MSLT-II).<sup>23</sup> In the MSLT-II, patients are randomized according to multimarker RT-PCR analysis of SLN specimens. Patients whose SLNs are negative for tumor by H&E and IHC will undergo multimarker RT-PCR at the John Wayne Cancer Institute and those whose molecular assessment is negative will undergo routine follow up, whereas those whose assessment is positive will be randomized to either observation or to CLND. The study plans to accrue 3500 patients, and is open to enrollment at present.

### Can the patient with tiny metastasis in the SLN avoid CLND?

Although the SLNB evaluation technique can identify very early micrometastases, including isolated tumor cells, the significance of these isolated tumor cells with respect to prognosis is controversial. Some have advocated the "prognostic false-positivity" theory of SLNs.<sup>24,25</sup> This theory sug-

gests that there are micrometastases that are clinically irrelevant and are not destined to develop into clinically relevant disease, and thus some positive SLNs are "false" in their prognostic relevance.

A number of studies have classified SLN metastases by different criteria and have discussed the differences in biological behavior that they may represent. At least three micromorphometric parameters of melanoma SLN metastases are advocated: invasion depth from the capsule (Starz classification),<sup>26</sup> maximum diameter (Rotterdam criteria),<sup>27</sup> and location within the node (Dewar classification).<sup>28</sup> In regard to the Rotterdam criteria, Govindarajan et al.<sup>29</sup> demonstrated that no patients with a metastasis of 0.20 mm or less in size of the largest tumor deposit in the SLN had a positive non-SLN ( $n = 127$ ). They concluded that the histological features of tumor metastases in positive SLNs might be useful in defining a population of patients who may be spared CLND and a group at high risk of recurrence. An European group (van Akkooi et al.<sup>30</sup>) has also classified SLN tumor burden by the maximum diameter of the largest metastasis in the SLN (Rotterdam criteria), and analyzed the occurrence rate and the correlation with prognosis. In 388 SLN-positive patients, 40 patients (10%) had metastases of less than 0.1 mm. Additional nodal positivity was found in only 1 of the 40 patients (3%). At a mean follow up of 41 months, estimated overall survival at 5 years was 91% for metastasis less than 0.1 mm, 61% for metastasis 0.1 to 1.0 mm, and 51% for metastasis less than 1.0 mm ( $P < 0.001$ ). SLN tumor burden increased significantly with tumor thickness. When the cutoff value for submicrometastases was less than 0.2 mm (such as in breast cancer), the overall survival at 5 years was 89%, and 10% had additional non-SLN nodal positivity. van Akkooi et al.<sup>30</sup> finally recommended that patients with micrometastasis of less than 0.1 mm in the SLN might avoid LND. Another report compared the three micromorphometric parameters of melanoma sentinel node metastases mentioned above.<sup>31</sup> They demonstrated that invasion depth and diameter of the metastasis ( $n = 116$ ) correlated best with the presence of additional nodal disease. They concluded that invasion depth (Starz classification) best predicted overall survival. It seems justified to refrain from completion dissection in patients with SLN tumor invasion depth up to 0.4 mm.

At this time, however, because the majority of studies suggest that micrometastases do affect prognosis and a large study has not been completed, for the appropriately selected patient with good surgical and anesthesia risk, most surgical oncologists specializing in melanoma would recommend CLND for those with positive SLNs, even those with isolated micrometastases. A large, multicenter randomized trial is currently underway to evaluate whether CLND should be performed in those who have a positive SLN (MSLT-II).<sup>23</sup> Patients with positive SLNs are randomized to: (1) CLND or (2) close observation with physical examinations and nodal ultrasound, and CLND only after the demonstration of nodal recurrence. This trial may help reduce the number of CLNDs performed after a positive SLN is identified.



## Does SLNB itself improve survival?

The hypothesis was proposed that SLNB would identify those patients who could possibly benefit from the removal of all regional lymph nodes and this could lead to a survival benefit.

The only randomized controlled trial (RCT) of SLNB – the MSLT-I – was designed to evaluate the therapeutic benefit of the procedure in patients with intermediate-thickness melanomas.<sup>14</sup> The MSLT-I enrolled 1269 such patients between 1994 and 2002. In this trial, 769 patients were randomly assigned to receive SLNB, with immediate CLND if nodal micrometastases were detected, and 500 were randomly assigned to observation, with subsequent TLND if nodal relapse occurred. The MSLT-I, however, failed to demonstrate a survival benefit in favor of the SLNB procedure. Five-year melanoma-specific survival rates were similar in the SLNB group and control group (87.1% and 86.6%). However, the 5-year disease-free survival rate was significantly higher in the patients who underwent SLNB and immediate LND (78.3% vs 73.1%;  $P = 0.009$ ). Furthermore, among those with nodal metastases, overall survival was significantly higher in patients who underwent SLNB and immediate LND compared with those who had LND only after having clinically detectable disease (72.3% vs 52.4%;  $P = 0.004$ ). Updated MSLT-I data suggest that nodal micrometastases detected by SLNB will develop into clinically relevant disease if left in place.<sup>32</sup> Consequently, the early detection and removal of nodal metastasis detected by SLNB might contribute to improving the prognosis of patients with intermediate-thickness melanoma.

As mentioned above, some critics claim that SLNB provides “prognostic false-positivity,” implying that a positive SLN can give false-positive prognostic information. They claim a 3.8% rate of SN false-positivity in MSLT-I, based on the difference between a 19.4% rate of nodal metastasis in the SNB group (16% positive plus 3.4% false-negative SLNBs) and a 15.6% rate of clinical recurrence during nodal observation. These critics cite some studies showing that when a nodal micrometastasis can be detected only by IHC<sup>33</sup> or when it is below a certain size<sup>27</sup> (e.g., <0.1 mm), patient outcomes are similar to those in patients with negative SLNs. However, it is not possible to know, prior to performing an SLNB, which patient will have nodal micrometastases below a certain size (and thus whether an SLNB can be avoided according to these critics) and which patient will have a larger amount of tumor involvement. One fact that persists through all the studies is that patients with positive SLNs have a worse overall survival than those with negative SLNs, thus confirming the prognostic significance of a positive SLN.

SLNB provides the most important prognostic data in melanoma, with limited morbidity; thus, it is reasonable to recommend the procedure to patients with suitable surgical and anesthesia risk once it is explained to them that, while their overall survival will not be changed according to whether or not they undergo an SLNB, valuable prognostic information will be gained from the procedure.

## Conclusion

SLNB was introduced into the management of cancer patients 20 years ago. Most hospitals now use the technique as a routine diagnostic tool in patients with localized malignant melanoma. However, the technique is complex and numerous details need to be determined and assessed to provide reliable diagnostic and prognostic information. Now an SLNB manual is available, in which the fine procedures of this technique are mentioned, with 11 sections from “definition of SLN” to “pathological evaluation of melanoma-draining SLN”.<sup>34</sup> The surgical management of lymph nodes continues to be important in melanoma, because effective systemic therapies are not available. Controversy exists around the therapeutic significance of the early detection and management of microscopically positive lymph nodes detected by SLNB, and this is the subject of current surgical clinical trials. However, SLNB is an accurate, minimally invasive staging procedure that provides important prognostic data for both the patient and the physician.

## Conflict of interest statement

The author indicated no potential conflicts of interest.

**Acknowledgments** This study was partly supported by a Grant-in-Aid for Cancer Research (19-7) and a grant (H19-clinical trial-general-018) from The Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.

## References

- Veronesi U, Adamus J, Bandiera DC, et al. (1977) Inefficacy of immediate node dissection in stage 1 melanoma of the limbs. *N Engl J Med* 297:627–630
- Sim FH, Taylor WF, Ivins JC, et al. (1978) A prospective randomized study of the efficacy of routine elective lymphadenectomy in management of malignant melanoma. Preliminary results. *Cancer* 41:948–956
- Balch CM, Soong S, Ross MI, et al. (2000) Long-term results of a multiinstitutional randomized trial comparing prognostic factors and surgical results for intermediate thickness melanomas (1.0–4.0 mm). *Intergroup Melanoma Surgical Trial. Ann Surg Oncol* 7: 87–97
- Cascinelli N, Morabito A, Santinami M, et al. (1998) Immediate or delayed dissection of regional nodes in patients with melanoma of the trunk: a randomised trial. *WHO Melanoma Programme. Lancet* 351:793–796
- Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al. (1992) Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early-stage melanoma. *Arch Surg* 127:392–399
- Wrightson WR, Wong SL, Edwards MJ, et al. (2003) Complications associated with sentinel lymph node biopsy for melanoma. *Ann Surg Oncol* 10:676–680
- Morton DL, Hoon DSB, Cochran AJ, et al. (2003) Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early stage melanoma: therapeutic utility and implications of nodal microanatomy and molecular staging for improving the accuracy of detection of nodal micrometastases. *Ann Surg* 238:538–549
- Fujiwara M, Mizukami T, Suzuki A, et al. (2009) Sentinel lymph node detection in skin cancer patients using real-time fluorescence navigation with indocyanine green: preliminary experience. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 62:373–378

9. Balch CM, Buzaid AC, Atkins MB, et al. (2000) A new American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *Cancer* 88:1484-1491
10. Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield PF, et al. (1999) Multi-institutional melanoma lymphatic mapping experience: the prognostic value of sentinel lymph node status in 612 stage I or II melanoma patients. *J Clin Oncol* 17:976-983
11. Stenius Muller MG, van Leeuwen PA, de Lange-De Klerk ES, et al. (2001) The sentinel lymph node status is an important factor for predicting clinical outcome in patients with stage I or II cutaneous melanoma. *Cancer* 91:2401-2408
12. Eggermont AM, Keilholz U, Testori A, et al. (2001) The EORTC melanoma group translational research program on prognostic factors and ultrastaging in association with the adjuvant therapy trials in stage II and stage III melanoma. European Organization for Research and Treatment of Cancer. *Ann Surg Oncol* 8(9 Suppl):38S-40S
13. Thompson JF (2001) The Sydney Melanoma Unit experience of sentinel lymphadenectomy for melanoma. *Ann Surg Oncol* 8(9 Suppl):44S-47S
14. Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, et al. (2006) Sentinel-node biopsy or nodal observation in melanoma. *N Engl J Med* 355:1307-1317
15. Debarbieux S, Duru G, Dalle S, et al. (2007) Sentinel lymph node biopsy in melanoma: a micromorphometric study relating to prognosis and completion lymph node dissection. *Br J Dermatol* 157:58-67
16. Ghaferi AA, Wong SL, Johnson TM, et al. (2009) Prognostic significance of a positive nonsentinel lymph node in cutaneous melanoma. *Ann Surg Oncol* [Epub ahead of print]
17. Ariyan C, Brady MS, Gönen M, et al. (2009) Positive nonsentinel node status predicts mortality in patients with cutaneous melanoma. *Ann Surg Oncol* 16:186-190
18. Wright BE, Scheri RP, Ye X, et al. (2008) Importance of sentinel lymph node biopsy in patients with thin melanoma. *Arch Surg* 143:892-899
19. Shivers SC, Wang X, Li W, et al. (1998) Molecular staging of malignant melanoma: correlation with clinical outcome. *JAMA* 280:1410-1415
20. Takeuchi H, Morton DL, Kuo C, et al. (2004) Prognostic significance of molecular upstaging of paraffin-embedded sentinel lymph nodes in melanoma patients. *J Clin Oncol* 22:2671-2680
21. Scoggins CR, Ross MI, Reintgen DS, et al. (2006) Prospective multi-institutional study of reverse transcriptase polymerase chain reaction for molecular staging of melanoma. *J Clin Oncol* 24:2849-2857
22. Hilari JM, Mangas C, Xi L, et al. (2009) Molecular staging of pathologically negative sentinel lymph nodes from melanoma patients using multimarker, quantitative real-time RT-PCR. *Ann Surg Oncol* 16:177-185
23. Amersi F, Morton DL (2007) The role of sentinel lymph node biopsy in the management of melanoma. *Adv Surg* 41:241-256
24. Thomas JM (2008) Prognostic false-positivity of the sentinel node in melanoma. *Nat Clin Pract Oncol* 5:18-23
25. Rosenberg SA (2008) Why perform sentinel-lymph-node biopsy in patients with melanoma? *Nat Clin Pract Oncol* 5:1
26. Starz H, Siedlecki K, Balda BR, (2004) Sentinel lymphonodectomy and s-classification: a successful strategy for better prediction and improvement of outcome of melanoma. *Ann Surg Oncol* (3 Suppl):162S-168S
27. Carlson GW, Murray DR, Lyles RH, et al. (2003) The amount of metastatic melanoma in a sentinel lymph node: does it have prognostic significance? *Ann Surg Oncol* 10:575-581
28. Dewar DJ, Newell B, Green MA, et al. (2004) The microanatomic location of metastatic melanoma in sentinel lymph nodes predicts nonsentinel lymph node involvement. *J Clin Oncol* 22:3345-3349
29. Govindarajan A, Ghazarian DM, McCready DR, et al. (2007) Histological features of melanoma sentinel lymph node metastases associated with status of the completion lymphadenectomy and rate of subsequent relapse. *Ann Surg Oncol* 14:906-912
30. van Akkooi AC, Nowecki ZI, Voit C, et al. (2008) Sentinel node tumor burden according to the Rotterdam criteria is the most important prognostic factor for survival in melanoma patients: a multicenter study in 388 patients with positive sentinel nodes. *Ann Surg* 248:949-955
31. van der Ploeg IM, Kroon BB, Antonini N, et al. (2009) Comparison of three micromorphometric pathology classifications of melanoma metastases in the sentinel node. *Ann Surg* 250:301-304
32. Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF (2007) Authors' response to a letter to the editor re: sentinel node biopsy for early-stage melanoma. *Ann Surg* 245:828-829
33. Spanknebel K, Coit DG, Bieligk SC, et al. (2005) Characterization of micrometastatic disease in melanoma sentinel lymph nodes by enhanced pathology: recommendations for standardizing pathologic analysis. *Am J Surg Pathol* 29:305-317
34. Chakera AH, Hesse B, Burak Z, et al. (2009) EANM-EORTC general recommendations for sentinel node diagnostics in melanoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 36:1713-1742

## 悪性黒色腫の治療マニュアル

九州大学大学院医学研究院 皮膚学分野

師 井 洋 一

### はじめに

ホクロのがんとして知られる悪性黒色腫は転移を生じやすく、悪性度の高い腫瘍として認知されている。遠隔転移のある病期IVの進行期メラノーマの5年生存率は欧米でも本邦でも9-13%<sup>1)</sup>で、極めて予後不良と言える。一方、腫瘍の厚さ2 mm以下でリンパ節転移の無い病期Iであれば90%以上と高い生存率を示し、早期発見によって予後が改善することは明白である。本邦においても2007年「皮膚悪性腫瘍ガイドライン」が公開されたが、悪性度が高く、特に進行期では進行が極めて速いこの疾患に関して、既存のかつ比較的新しい治療法を概説し、問題点を考察した。

「皮膚悪性腫瘍診療ガイドライン」は以下のアドレスから全文無料で閲覧可能となっている。

<http://www.dermatol.or.jp/medical/guideline/skincancer/index.html>

### 1. 正確な診断と治療計画 (初期治療)

#### 1.1 臨床病期診断

悪性黒色腫を疑う皮膚病変(図1)を診察する場合のアルゴリズムはガイドラインにも記載されている(図2)。まずは、視診+ダーモスコピーで詳細な観察を行う。所属リンパ節領域だけでなく、全身の表在リンパ節も十分に触診し、リンパ節腫大の有無を確認する。問診、視診で原発巣病変以外の皮膚に最近出現した(黒色)結節の出現がないか、また、触診で所属リンパ節までの皮膚・皮下に結節(in transit 転移)がないか確認する。可能ならば、超音波で原発巣の腫瘍厚([Breslow's] tumor thickness=TT)を確認し、所属リンパ節の形状、性状を観察する(後述)。

診断に迷う場合は、2-5mmの水平マージン、皮下脂肪組織で全切除生検 excisional biopsy を行う。欧米では excisional biopsy はTTを知るために、日常的に行われており、この手技によって、予後が増悪することもなく、またその後の拡大切除手術までの待機期間の長短も予後に影響しないことが判明している。病変が大きく、全切除が不可能な場合には、後述の拡大手術を予定した上で、incisional biopsy を行わざる得ない場合もある。その際には、手術は2週間以内に予約し、病理組織学的検討ができるよう十分な大きさの検体(長軸1 cm以上)を採取すべきである。しかし、頭頸部原発のメラノーマに関してのみ、部分生検によって生存率が低下する可能性<sup>2)</sup>があることを知っておくべきである。

病期診断における、重要なポイントの一つはTTである。有茎性や大きな結節を生じている場合は、その高さで4 mmを超えることが多く、pT4の診断は容易であり、また爪甲のまだらな色素斑で、爪甲の変形・破壊がなければin situ 疑いと診断できるが、その他の腫瘍では臨床的にTTを診断することは難しい。その点、高周波超音波検査では比較的正確なTTが診断できるとされている。注意すべきはあまり押し付けて腫瘍を圧迫しないことで、それにより本来よりも薄いTTと診断してしまうことになる。

もう1点はリンパ節転移の有無である。センチネルリンパ節の生検は、TT1~4mmのメラノーマの患者にはセンチネルリンパ節生検を実施することが推奨されているが、詳細な診察が不可欠であることは言うまでもない。触知した皮下結節の、大きさ、形状、硬さ、可動性、自覚症状を記載し、超音波検査では、

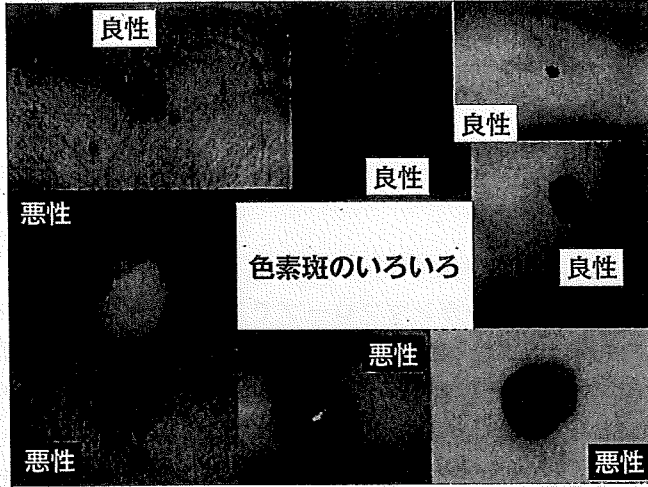


図1 色素斑のいろいろ。皮膚科医でも、典型的なもの以外、その診断は難しい。ABCDルールが参考になる。いずれかに当てはまるようなら、皮膚科専門医の診断が望ましい。A=asymmetry 左右非対称（いびつな形）、B=border irregularity 辺縁不整（しみ出し、辺縁の不規則性）、C=color 色調（まだらな色、色むら）D=diameter 大きな直径（直径6mm以上）

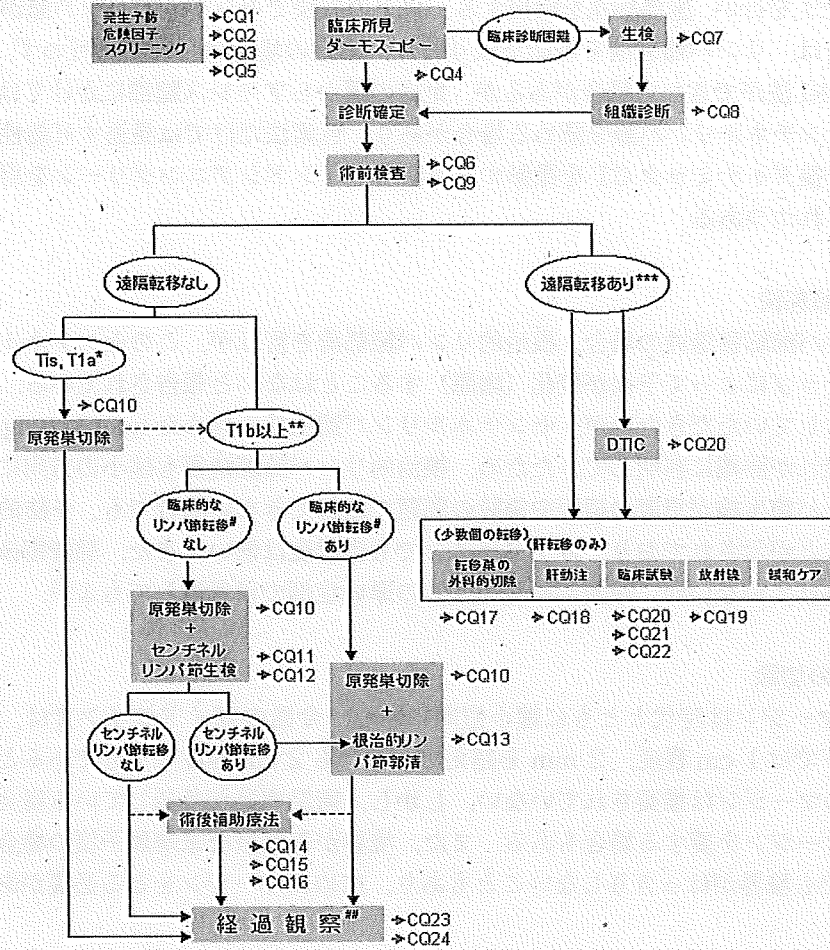


図2 「悪性黒色腫 診察アルゴリズム」皮膚悪性腫瘍診療ガイドラインより  
 \* Tis : melanoma in situ (上皮内黒色腫) 病変  
 T1a : Tumor thickness 1mm 以下、潰瘍なし、レベル III 以下、のすべての条件を満たす原発巣  
 \*\* T1b 以上 : Tumor thickness 1mm 超、あるいは潰瘍あり、あるいはレベル IV 以上の原発巣  
 \*\*\* 原発巣に対しても必要に応じて適切な処置を施行する。  
 # 理学的所見ならびに画像検査による評価  
 ## 遠隔転移を生じてきたら、本ガイドライン中の「遠隔転移あり」の項へ進む。



リンパ節の形状は楕円形か、内部構築が保たれているかどうか、血流信号は豊富ではないか、などを中心に観察する。

以上の情報をもとに、術前の臨床病期を決定する。

## 1.2 手術

### 1.2.1 センチネルリンパ節生検

通常、前日午後にリンパシンチグラムを行う。原発巣周囲の皮内に<sup>99m</sup>Tcで標識したフチン酸またはスズコロイドを0.4ml (= 37MBq/0.1ml)注射する。ガンマカメラやガンマプローブでRI集積部(センチネルリンパ節の存在部位)を同定し、マーキングする。手術当日は、原発巣周囲の皮内に生体色素(院内調整1-2%パテントブルー)を1-2ml注射する。術前の手洗い前に色素注射を行う。再度ガンマプローブでRI集積部を確認後、同部に皮膚切開を加えると、脂肪織内に青染するリンパ管とセンチネルリンパ節が確認できる。ガンマプローブでセンチネルリンパ節であることを確認した後に摘出する。摘出したリンパ節はHE標本および免疫組織化学染色(悪性黒色腫細胞を同定する抗体:抗S-100蛋白, HMB-45抗体, MART-1抗体など)を行い、腫瘍細胞を検出する。以上の方法でセンチネルリンパ節が転移陽性と診断された症例に関しては、リンパ節郭清を可能な限り行う。陰性の場合、郭清を行わず、経過観察とする。施設によっては、RI法ができない場合があるが、足底の踵からアキレス腱部にかけては膝に、また上肢では、肘や上腕にセンチネルリンパ節を認める場合があり、色素法だけでは見逃す可能性がある。近年、造影剤を皮内注射した後ダイナミックCTを撮影する方法や、インドシアニングリーンを用いた蛍光法がその代用として使用されつつある。

### 1.2.2 リンパ節郭清

センチネルリンパ節転移陽性の場合、根治的リンパ節郭清を行うが、このセンチネルリンパ節生検→郭清の2段階のステップによって予後が変化(増悪)することはないと報告されている。郭清方法の実際は、他の成書を参考にさせていただきたいが、センチネルリンパ節生検を含めたlymph navigation surgeryが広まり、リンパの流れが詳細に判明してきたため、根治的リンパ節郭清術も縮小の方向にある。

センチネルリンパ節生検が患者の拒否や施設の問題で施行できない場合でも、予防的リンパ節郭清は予後を改善しないことが示されており、ガイドラインでも推奨度は低い。また、郭清術後の放射線療法も生存率の向上は示されていないが、頭頸部原発でTTの厚い症例では考慮してもよい。

### 1.2.3 原発巣の切除

原発巣の切除マージンは時代とともに縮小傾向にある。今回のガイドラインでは、in situで3-5mm, TTが2mm以下では1cm程度; 2mmを超えるものでも2cm程度で十分であるとされている。現在では3cm以上のマージンは推奨されていない。しかし、衛星病巣が多発している場合など、症例によって3cm以上のマージンを要する場合もある。また、境界が不明瞭な末端黒子型の場合、ダーモスコピーでの詳細な観察でも境界がはっきりしないこともあり、広めにマージンをとる必要がある。

## 1.3 術後の補助療法

### 1.3.1 化学療法

本邦では、旧UICC病期分類のII期, III期において、DAV/Feron療法[DTIC, ACNU, vincristin (VCR), IFN-β (Feron®)]を施行した場合に、historical control(同時期ではない以前の報告・統計)であるDAVと比較して、有意に5年生存率を向上させたと報告されている(65.1% vs 46.2%; p < 0.05)<sup>1)</sup>。そのため術後補助療法として、ガイドラインでもpT4bのstage IIC, N1以上のstage IIIではこの化学療法が推奨されている。しかし、このレジメンに含まれる抗がん剤では、まれながら白血病や骨髄異型性症候群など2次発癌の報告があり、特に高齢者では注意を必要とする。

処方例)

DAVFeron 療法

ダカルバジン <sup>®</sup> 注	80-140 mg/m <sup>2</sup>	点滴静注	第1-5日	
ニドラン <sup>®</sup> 注	50-80 mg/m <sup>2</sup>	点滴静注	第1日	適応症外
オンコビン <sup>®</sup> 注	0.5-0.8 mg/m <sup>2</sup>	点滴静注	第1日	適応症外
フェロン <sup>®</sup>	300万単位	術創部周囲の皮内に局注	第1-10日	

有為に予後を延長したのは、4-5クール以上施行した症例。

### 1.3.2 インターフェロン療法

欧米で使用される IFN- $\alpha$  について、ランダム化試験が複数行われている。pT4 または N1 の症例について、術後1年高用量 IFN- $\alpha$  を投与することで、無病生存期間の有為な延長が認められたが、全生存率には影響しないとする報告が多い。低用量、長期間の投与で、有為な予後改善の報告があるものの、追試での検討がなされていない。本邦では、上記の DAVFeron 療法終了後や、高齢などの理由で化学療法ができない場合、さらに stage II の症例などに、月1-2回の IFN- $\beta$  局注を継続する、維持療法が報告されている。注射時の痛み以外ほとんど副作用のなく、継続しやすく、通院の動機付けにつながる面もある。現在のところ、この治療を推奨するエビデンスはなく、臨床試験の遂行が望まれる。

処方例)

フェロン<sup>®</sup> 300万単位 術創部周囲、または所属リンパ節周囲の皮内に2-3ヶ所 4-8週毎継続、最低2-3年

### 1.4 手術不能例の対応

何らかの理由で原発巣の切除手術ができない場合、選択肢は限られてくる。通常の化学療法や、放射線療法はほとんど無効であると考えられている。頭頸部で直径が3 cm 以内であれば、後述のサイバーナイフやガンマナイフなどの定位放射線療法が有効であり、局所コントロールにおける奏成功率は高い。高齢者など全身状態不良のため、原発巣切除手術不能であれば、IFN- $\beta$  の局注を考慮してもよいが、放置した場合との比較で予後が改善するかどうかは不明である。超高齢でも原発巣切除手術は可能な場合が多いので、上記のように有効な治療法がない現状では、できる限り縮小手術でも(局所麻酔+マージン最小)摘出術を考慮するのがよい。

### 1.5 手術後の経過観察

術後の定期的な画像検査は予後を改善させる確証がなく、今回のガイドラインでも推奨されていない。しかし、解説文を読むとわかるが、この推奨文は欧米の報告をもとに作成されている(日本からはこのような報告はない)。転移が早期発見できた症例では生存率の向上が認められている。現在の画像診断能力の高さや、近年普及してきた PET (-CT) の登場により、転移巣の早期発見がより可能となっており、術後の定期的画像検査を完全否定するものではない。前向き研究で検証されるべきである。

## 2. 遠隔転移を伴う進行期の治療

皮膚悪性腫瘍診療ガイドラインでは進行期メラノーマの治療に関して、6項目のクリニカルクエスチョンが設定されている。残念ながら、遠隔転移の切除と緩和的放射線療法が推奨度 B である以外、その他の化学療法などは推奨度が C1-C2 と低く、エビデンスのある治療法がほとんどないことを物語っている。現在、行われている治療法、将来有望と思われる治療法について概説する。

### 2.1 手術療法

手術療法は遠隔転移を伴う進行期メラノーマの治療において生存期間の延長が期待できる唯一の治療法

となっている。個々の報告のエビデンスレベルは低く、症例集積報告のみであるものの、ガイドラインでも推奨度はB（行うよう勧められる）とされている。遠隔転移が単発または、数個の転移巣でも比較的侵襲の少ない手術で摘出可能であれば、手術により生存期間の延長が期待できる。特に、皮膚、皮下組織、リンパ節の転移では、他臓器に転移がなければ、もちろん、最も有効な治療法となる。これらは出現した時点で切除の対象となる。完全摘出が必要であるが、必要最小限のマージンで切除すべきで、原発巣切除時のような切除マージンをとる必要はない。肺、脳、消化管、肝臓、副腎についても個々の臓器に局限した転移巣の切除効果が報告されている。単発または1区域に局限した肺転移に関しては侵襲の少ない内視鏡手術が可能な場合が多く、積極的に手術適応を考える。これらの転移については、転移発見後、数週間程度の経過観察を行い、増殖が急速でないことや同一臓器や他臓器に転移の新生がないことを確認の上、手術適応を考える。ときに、手術侵襲によって術後早期に多発転移が出現することがあり、生存期間を短縮させる結果になることがあるためである。脳転移については手術よりも後述の定位放射線照射療法が適応になることが多い。

## 2.2 化学療法

現時点では、多剤併用療法で dacarbazine (DTIC) 単独を上回る生存期間延長効果が得られるものは存在しない。しかし、DTIC 単独療法の奏功率も低いため、様々な多剤併用療法が試されてきた。おおむね奏功率で上回るものが多いものの、生存期間の延長効果では有意差を認めない（効果が無い）ものばかりであった。DTIC 単独療法は、850-1000mg/m<sup>2</sup>を1日で、または250mg/m<sup>2</sup>/dayを5日間連続で行われる。DTIC 単独療法の奏功率（CR+PR）は10-20%、完全奏功（CR）は5%以下とされており、生存期間の延長は望めない<sup>3)</sup>。本邦では、1996年に山崎らにより報告された DACTam [DTIC, nimustine (ACNU), cisplatin (ADDP), tamoxifen (TAM)]<sup>4)</sup>、または1995年に報告された CDV [CDDP, DTIC, vinblastine (VLB)]<sup>5)</sup>が選択されることが多い。より効果的な化学療法剤の登場が望まれる。

メラノーマに対して近年有効性が報告された薬剤として temozolomide (TMZ)<sup>6)</sup>と fotemustine (FOT)<sup>7)8)</sup>がある。TMZはDTICと同系統の薬剤で、肝臓での代謝を必要とせず、経口薬という特徴がある。ランダム化試験でDTICと同程度の効果が証明され、中枢神経系への転移抑制効果および患者QOLの向上も示唆されたが、本邦での導入は見送られた。FOTはニトロソウレア系薬剤で血液脳関門を通過しやすいよう工夫がなされている。ランダム化試験でDTICを奏功率で上回ったが、生存期間延長効果は同程度で、期待された成績ではなかった。

処方例)

### DAC-Tam 療法

ダカルバジン <sup>®</sup> 注	220mg/m <sup>2</sup>	点滴静注	第1-5日	用量適応外
ニドラン <sup>®</sup> 注	60mg/m <sup>2</sup>	点滴静注	第1日	適応症外
ランダ <sup>®</sup> 注	25mg/m <sup>2</sup>	点滴静注	第1-3日	適応症外
ノルバディックス錠 <sup>®</sup> (10mg)	2錠	分2内服	連日第1-28日	適応症外

以上を1クールとして、4-5クール繰り返す。

## 2.3 生物化学療法

連続的生物化学療法とは化学療法に引き続き、IFN- $\alpha$  2a および IL-2 を投与する方法で、抗がん剤で腫瘍を破壊した後、免疫活性を上昇させて抗腫瘍効果を増強する目的で行われている。これらも多剤併用化学療法と同じく、高い奏功率を示したものの生存期間延長には効果がなかった。

## 2.4 放射線療法

元来放射線療法に抵抗性であることが知られていることから、終末期の骨転移に対する緩和照射以外に、放射線療法が治療の選択肢になることはあまりなかった。しかし、近年の照射技術の進歩により、症例を

選択すれば有効な場合も散見されるようになった。定位照射と呼ばれる方法でコンピュータ制御され、極めて正確な位置精度を保ちながら精密に照射できる。標的をできるだけ小さく正確に局限して設定することで総線量の増加が可能となった。サイバーナイフ（ライナック）やガンマナイフ（コバルト）のほか、ごく限られた施設では重粒子線、陽子線が定位照射されている。これらによって局所コントロール（腫瘍縮小・消失による QOL の向上）は高い確率で可能となっている。しかし、現在照射できるのは呼吸による動きの影響のない頭頸部に限られ、さらに転移抑制までには至っておらず、生存期間延長効果はないのが現状である。脳転移に対しては数が限られ個々の転移巣の大きさが 3 cm 以下であれば、治療というより QOL 向上のため積極的に考慮する。転移巣を定位照射した後の再発予防に、または多発転移など予後不良例に全脳照射する場合もあり、症状の改善が期待できるが、同様に生存期間延長は期待できない。

我々は眼球原発巣の摘出後に生じた頸部・耳下腺リンパ節転移の手術不能例に対し、重粒子線（炭素イオン線）照射し、その後 5 年間の無病生存期間（病巣の完全消失：現在も継続中）を認めた症例を経験していることから、有効症例の選択が可能であれば有用な治療法となりうる可能性がある。事実、眼科領域では眼球原発のメラノーマの手術拒否例に対して、原発巣に試みられ十分な局所コントロールが得られている。骨転移の疼痛緩和目的の放射線療法では 1 回線量 3 Gy で計 10 回、総線量 30Gy が一般的な照射法で、50-80% で疼痛緩和が期待できる。

## 2.5 免疫療法

メラノーマは様々な特異的な腫瘍抗原を発現することなどにより、免疫系に認識されやすい悪性腫瘍として知られている。動物腫瘍モデルも簡単に作成可能で、特異的免疫療法の格好の標的として、世界中の研究者がその克服に取り組んでいる。

それぞれ重なり合う部分もあるが、非特異的免疫療法と特異的免疫療法に区別して紹介する。

### 2.5.1 非特異的免疫療法

前述のように IFN- $\beta$  が本邦では、術後補助療法として使用されている。一方、生物学的に同一の効果を示す IFN- $\alpha$  2a については欧米で様々な試験が行われている。大量投与で無病生存期間の延長が確認され、比較的低容量、長期間の投与では、いくつかの報告で無病生存期間、全生存期間の延長が認められたが、十分な追試はなされていない。現在のところエビデンスレベルは非常に弱いものの、欧米、本邦ともに術後補助療法（の一部）として推奨されている。進行期においても多発する皮膚転移に対して IFN- $\beta$  を局注することで転移巣の縮小・消失を認めたという報告は散見され、試してみる価値はあると考えられる。信州大学皮膚科のグループが正電荷リポソームに IFN- $\beta$  遺伝子を包埋して皮膚転移巣に注入する遺伝子治療を施行したが、全身の病巣を抑えるには至らなかった。

1990 年代に登場した LAK [lymphokine activated killer cell] 療法（末梢血単核球を IL-2 [+抗 CD3 抗体] で増殖させたもの）は、その後、様々な投与方法の改変などを経て現在でも一部で行われている。現在では投与した LAK 細胞（=活性化 NK 細胞）が腫瘍に集積して抗腫瘍効果を発揮したのではなく、体内で活性化された T 細胞が腫瘍拒絶に関与することが判明している。術後補助療法としては有効な可能性が高いものの、その他の癌種を含めて進行期で有効であったという報告はほとんどない。現在では、この治療法を患者に提供している民間クリニックが増加している。

### 2.5.2 特異的免疫療法

LAK 療法が期待された効果を発揮できなかったため、腫瘍に浸潤している T 細胞を増殖させて輸注する TIL [tumor infiltrating lymphocytes] 療法が開発された。TIL には腫瘍を認識する多くの T 細胞が含まれており、腫瘍特異的免疫療法となるが、輸注後の体内生存時間が短く、期待された効果を認めなかった。これらの受動的養子免疫療法（抗腫瘍活性のある細胞を体外で作製・増殖後に輸注する）に続いて、ワクチン療法（能動的免疫療法：体内で抗腫瘍活性のある細胞を誘導・活性化する）が施行されるように



なった。癌抗原同定方法の開発によって、様々なペプチド抗原が明らかになり、ペプチド単独または+アジュバント、さらに免疫誘導活性を上げるために樹状細胞を併用したワクチン療法が世界中で開始された。我が国でも、腫瘍特異的免疫療法として、様々な施設で、ペプチドワクチン、樹状細胞療法が試行されている。2004年米国国立癌研究所のRosenbergらは、これら能動的免疫療法の世界中からの報告を集計すると奏成功率はわずか2.6%であったと報告し、ワクチン療法の限界を示唆した<sup>9)</sup>。現在までの解析では、ワクチン療法によって末梢血中の抗腫瘍前駆細胞(腫瘍を認識できるCD8+T細胞)の増加は認められているが、腫瘍局所ではそれらの細胞が機能不全に陥っていることが明らかとなっている。すなわち、能動免疫療法で十分に腫瘍拒絶を起こすためには、全身性・腫瘍局所での抗腫瘍免疫阻害環境を是正することが重要である。これまでの標準的なワクチン療法の限界が明らかになり、新たな戦略を立て直す必要性が強調されている。

一方、前述のRosenbergらは腫瘍内に浸潤していたTILを実験室内で大量に培養・増殖させて、骨髓非破壊性前処置(シクロフォスファミド、フルダラビン)をした患者に輸注後、IL-2を投与する方法で、35例中18例に効果が認められ、奏成功率は51%であったと報告した<sup>10)</sup>。このうち3例はCRとなり、2年以上再発のない症例もある。この奏成功率は、従来のあらゆる治療法のなかでも画期的で、現在世界最強と考えられている治療法である。

彼らも指摘しているように、胆癌患者では腫瘍に対する免疫反応を抑制する免疫抑制性の細胞の活性が上昇しており、骨髓非破壊性前処置によって、それらの細胞が抑制されるのではと想定されている。免疫抑制性の細胞の一つである制御性T細胞の機能に関連する分子CTLA-4を阻害する抗CTLA-4抗体がペプチドワクチンとの併用で臨床試験され、抗腫瘍効果の増強した症例も認められた<sup>11)</sup>。

## 2.6 新しい治療法と可能性

近年のメラノーマにおける分子生物学的検討により、発生、増殖に関わる遺伝子の異常が明らかにされてきている。このような、基礎的研究成果に基づいた分子標的療法が期待されている。メラノーマ細胞で種々の程度に活性化されている各種キナーゼの阻害剤(imatinib mesylate: グリベック<sup>®</sup>, sorafenib: ネクサバル<sup>®</sup>, sunitinib: スーテント<sup>®</sup>)が試されている。これまでin vitroの実験結果からは期待が薄かったが、単独での有効例も報告されており<sup>12)</sup>、化学療法や免疫療法との併用での抗腫瘍効果増強が期待可能である。また、近年では腫瘍新生血管や間質に標的を絞った治療法の開発が進んでいる。残念ながら腎癌で有効性の認められた血管成長因子阻害剤である抗VEGF抗体(アバスチン<sup>®</sup>)は、単独ではメラノーマには効果を示さなかったものの、腫瘍そのものではなく、間質や血管に作用する多数の薬剤が開発・試験されている。以上、様々な方向からメラノーマ克服への研究・臨床試験が進んでいる。これらをうまく組み合わせ、なんとか進行期メラノーマの治療戦略を考えていきたいものである。

### おわりに

最初に述べたように、メラノーマは早期発見と適切な治療ができれば十分根治可能な悪性腫瘍である。一方、遠隔転移を伴う進行期メラノーマに対する有効な治療法は、現時点ではないとしか言えない。我々皮膚科医が、メラノーマの臨床所見や悪性腫瘍としての性質をいかに一般の方々に認知してもらって、早期に確実に診断するかが重要となってくる。

## 参 考 文 献

- 1) 石原和之: 皮膚悪性腫瘍の統計 過去. *Skin Cancer* 22: 209-216, 2007.
- 2) Austin JR, Byers RM, Brown WD and Wolf P: Influence of biopsy on the prognosis of cutaneous melanoma of the head and neck. *Head Neck* 18: 107-117, 1996.
- 3) 斎田俊明, 宇原久: 抗がん剤適正使用のガイドライン 皮膚悪性腫瘍. *Int J Clin Oncol* 9 (suppl II): 35-43, 2004.

- 4) 山崎直也, 山本明史, 和田隆, 石川博士: 進行期悪性黒色腫に対する Dacarbazine, ACNU, Cisplatin 及び Tamoxifen 併用化学療法 有効例と投与スケジュールの実際. *Skin Cancer* 13: 53-56, 1998.
- 5) 山崎直也, 佐々木英也, 浅野一, 石原和之: 進行期悪性黒色腫に対する cisplatin-dacarbazine-vindesine 併用化学療法 21 例の投与経験. *日皮会誌* 105: 1439-1444, 1995.
- 6) Paul MJ, Summers Y, Calvert AH, Rustin G, Brampton MH, Thatcher N and Middleton MR: Effect of temozolomide on central nervous system relapse in patients with advanced melanoma. *Melanoma Res* 12: 175-178, 2002.
- 7) Middleton MR, Grob JJ, Aaronson N, Fierlbeck G, Tilgen W, Seiter S, Gore M, Aamdal S, Cebon J, Coates A, Dreno B, Henz M, Schadendorf D, Kapp A, Weiss J, Fraass U, Statkevich P, Muller M and Thatcher N: Randomized phase III study of temozolomide versus dacarbazine in the treatment of patients with advanced metastatic malignant melanoma. *J Clin Oncol* 18: 158-166, 2000.
- 8) Avril MF, Aamdal S, Grob JJ, Hauschild A, Mohr P, Bonerandi JJ, Weichenthal M, Neuber K, Bieber T, Gilde K, Guillem Porta V, Fra J, Bonnetterre J, Saïag P, Kamanabrou D, Pehamberger H, Sufliarsky J, Gonzalez Larriba JL, Scherrer A and Menu Y: Fotemustine compared with dacarbazine in patients with disseminated malignant melanoma: a phase III study. *J Clin Oncol* 22: 1118-1125, 2004.
- 9) Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP: Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med.*, 10: 909-915, 2004.
- 10) Dudley ME, Wunderlich JR, Yang JC, Sherry RM, Topalian SL, Restifo NP, Royal RE, Kammula U, White DE, Mavroukakis SA, Rogers LJ, Gracia GJ, Jones SA, Mangiameli DP, Pelletier MM, Gea-Banacloche J, Robinson MR, Berman DM, Filie AC, Abati A and Rosenberg SA: Adoptive cell transfer therapy following non-myeloablative but lymphodepleting chemotherapy for the treatment of patients with refractory metastatic melanoma. *J Clin Oncol*. 23: 2346-2357, 2005.
- 11) Peggs KS, Quezada SA, Korman AJ and Allison JP: Principles and use of anti-CTLA4 antibody in human cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol*. 18: 206-213, 2006.
- 12) Hodi FS, Friedlander P, Corless CL, Heinrich MC, Mac Rae S, Kruse A, Jagannathan J, Van den Abbeele AD, Velazquez EF, Demetri GD and Fisher DE: Major response to imatinib mesylate in KIT-mutated melanoma. *J Clin Oncol*. 26: 2046-2051, 2008.

## プロフィール

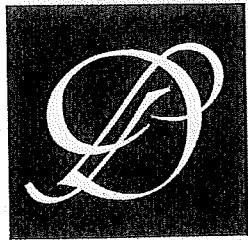
師井 洋一 (もろい よういち)

九州大学准教授 (大学院医学研究院皮膚科学分野). 医学博士.

◆略歴: 1960年福岡市貝塚団地で生る. 1986年熊本大学医学部卒業. 九州大学医学部皮膚科入局. 1993年九州大学大学院 (生医研免疫・野本亀久雄教授) 修了. 1993年国家公務員等共済組合連合会新小倉病院医長. 1994年九州大学医学部皮膚科助手. 1995年米国ニューヨーク医科大学研究員. 1996年米国スローン・ケタリング記念癌センター研究員. 1999年新日鐵八幡記念病院皮膚科医長. 2000年九州厚生年金病院皮膚科部長. 2001年九州大学医学部附属病院皮膚科講師. 2002年九州大学病院皮膚科講師. 2007年より現職.

◆研究テーマと抱負: 悪性黒色腫が研究の中心になっています. 予後不良なこの疾患を皮膚免疫学, 腫瘍免疫学, 皮膚外科学を駆使して, 克服したいと考えています.

◆趣味: スポーツ観戦, テニス, 読書



◆特集／新しい皮膚科検査法 実践マニュアル

## IV. 画像・手術による検査法

# センチネルリンパ節の同定と転移診断

師井洋一\*

**Key words :** センチネルリンパ節生検 (sentinel lymph node biopsy), 悪性黒色腫 (malignant melanoma), 組織学的診断 (histopathological diagnosis)

**Abstract** センチネルリンパ節理論を基に, 悪性黒色腫の手術療法において治療のスタンダードとなってきたセンチネルリンパ節生検について総説した. その適応症例の選択から手技の実際を解説するとともに, 最近行われるようになった RI を用いないリンパマッピングも簡単に紹介する. 本邦, 海外での現状を報告し, 当科で施行した症例の経験を紹介する. センチネルリンパ節の転移検索において, 当科では通常の HE 標本だけではなく, HMB45 に加えて MART-1, チロシナーゼ, MITF-M の免疫組織化学染色を併用し, さらに補助診断としてチロシナーゼ, MART-1, gp100 を標的に RT-PCR 法を利用している. 免疫組織化学染色ではチロシナーゼ, MITF-M の優位性が示唆され, RT-PCR 法は補助診断として有用であった. 最後に, 日本では報告のない色素法による副作用報告を紹介し, 実施の際の注意点にも言及した.

### 悪性黒色腫におけるセンチネルリンパ節生検

「腫瘍から最初にリンパ流を受けるリンパ節に最初の微小転移が生じる」このリンパ節をセンチネルリンパ節 (sentinel node または sentinel lymph node ; SLN) と呼び, 「癌の転移はまずこのセンチネルリンパ節から始まる」という仮説がセンチネルリンパ節理論 (sentinel node concept) として紹介された (図 1). 1992 年, アメリカ西海岸の外科医 Morton と病理医 Cochran らが, 悪性黒色腫における術中リンパ節転移診断をこの手技を用いて, 報告した<sup>1)</sup>. 当初, 彼らは色素法のみでセンチネルリンパ節を同定し, その有用性を報告していたが, 1994 年には術前リンパシンチグラフィの併用による同定率の向上が示され, 翌 1995 年にはガンマプローブ併用が報告された. 現在, センチネルリンパ節生検を含め一連の手技

は sentinel node navigation surgery (SNNS) と呼ばれている. その後, 悪性黒色腫を対象とした多くの報告が蓄積されると, 乳癌をはじめとするその他の固形癌に対してもその概念が導入され, 一般化してきた.

まずは現在, 本邦で広く実施されるようになった悪性黒色腫におけるセンチネルリンパ節生検の実際を紹介する.

### センチネルリンパ節生検の実際

#### 1. 被験者の適格基準および選定方法

**選択基準 :** 臨床的 (術前の診察や画像検査による) にリンパ節や内臓臓器に転移がない悪性黒色腫患者で, かつ, 以下の条件のいずれかを満たすもの. 触診, ダーモスコピー, エコー, CT, MRI などの画像検査によって原発巣の厚さが 1 mm 以上あるいは原発巣の浸潤が真皮内に及ぶと予測される場合, または原発巣表面にびらん潰瘍を伴う場合.

**除外基準 :** 何らかの転移病巣を持つ場合, 重篤

\* Yoichi MOROI, 〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1 九州大学大学院医学研究院皮膚科学, 准教授



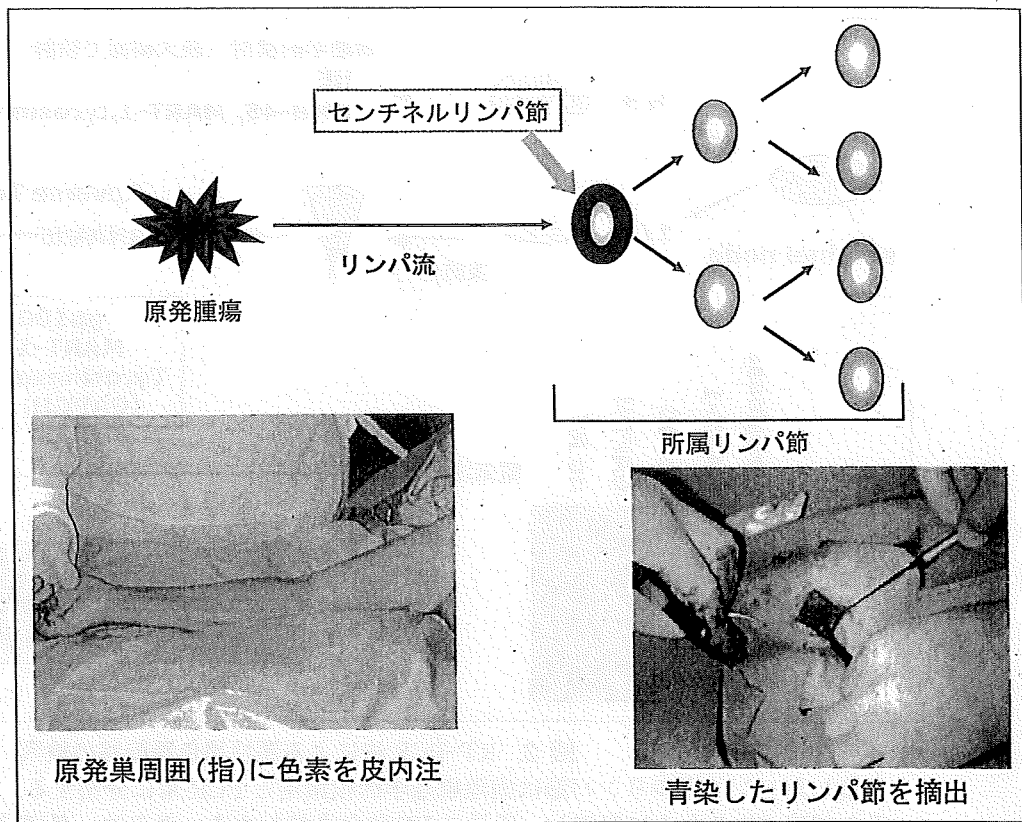


図 1.  
センチネル(歩哨)リンパ節の概念  
リンパ流は必ずセンチネルリンパ節(sentinel node)と呼ばれる所属リンパ節内の特定のリンパ節に最初に流入する。このことを利用して、センチネルリンパ節を同定・生検することにより、悪性腫瘍のリンパ節転移を明らかにし、不必要な郭清術を回避することができる。

な肝腎機能低下のある患者。

被験者の選定：選択基準を満たす原発巣を持つ悪性黒色腫患者について、原発巣以外の臓器転移の有無について検索し、理学的・画像的に転移がない場合に本検査についての説明を行う。本人の同意が得られれば本検査の対象とする。

## 2. 施行手順

原則として手術前日に原発巣周囲の皮内に $99\text{mTc}$ で標識したフチン酸(富士フィルム RI ファーマ)またはスズコロイド(日本メジフィジックス社)を $0.4\text{ ml}(=37\text{ MBq}/0.1\text{ ml})$ 注射する。センチネルリンパ節は早期に RI の集積を認めるので、可能な限り、投与後 $1\sim 30$ 分間はガンマカメラでの撮影を行うことが望ましい。投与後1時間を超えると、センチネルリンパ節とそれ以降の2次、3次リンパ節との区別が困難となる場合がある。その後、ガンマプローブで RI 集積部(センチネルリンパ節の存在部位)を同定し、マーキングする。手術当日は、原発巣周囲の皮内に生体色素(院内調整 $1\%$ パテントブルー)を $1\sim 2\text{ ml}$ 注射する。再度ガンマプローブで RI 集積部を確認後、同部に皮膚切開を加えると、脂肪織内に青染するリンパ管とセンチネルリンパ節が確認でき

る。ガンマプローブでセンチネルリンパ節であることを確認した後に摘出する。シンチカメラではなく、SPECTと呼ばれるCT画像との合成可能なシステムも存在し、より確実に同定が可能となる装置も開発されている。

最近、RIを用いずにSNNSを行う方法が報告されている<sup>2)</sup>。最新のCTでは、短時間に四肢をスキャンすることが可能であるため、造影剤(ヨード系)を直接皮内に投与することで、センチネルリンパ節を同定することが可能となる。この方法なら、シンチカメラやRIが不要となるため、施行可能な施設は格段に増加することになる。また、インドシアニングリーンという蛍光色素と赤外線観察カメラシステム(photo-dynamic eye; PDE)を組み合わせることでセンチネルリンパ節を同定する方法も報告されている<sup>3)</sup>。

## 転移の検索

摘出したリンパ節は永久標本として、最大断面でHE標本による病理学的検討、および免疫組織化学染色(抗S-100蛋白、HMB-45抗体、抗チロシナーゼ抗体、抗MART-1抗体など)を行い、腫瘍細胞を検索する。後述のように、通常のHE標



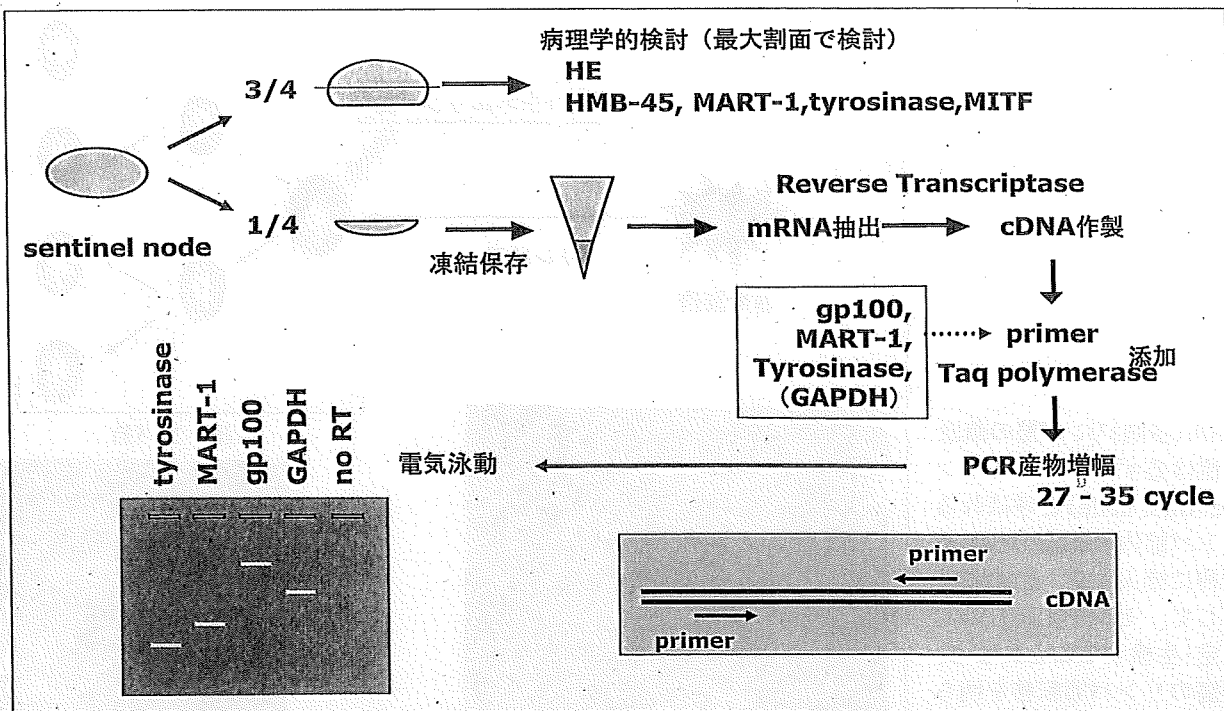


図 2. RT-PCR 法による悪性黒色腫転移の検索

生検したセンチネルリンパ節は病理組織学的検索用と PCR 用に分割する。病理検索用はリンパ節の最大断面が出るように薄切し、通常の HE 染色を施行する。さらに、各種抗体を用いて免疫組織化学的に検討する。凍結保存したリンパ節は後日解凍し、乱切後 RNA 抽出キットを用いて RNA を抽出・精製。1 mg の RNA を RNA PCR キットで cDNA 作製後、それぞれチロシナーゼ、MART-1、gp-100 のプライマーセットを用いて増幅する。ハウスキープングジーン GAPDH などのプライマーセットを用いて、陽性コントロールとする。

本でも、ときに転移診断は困難であるので、術中迅速での転移評価は世界的に行われていない。また、我々など一部の施設ではリンパ節の一部を凍結保存し、mRNA を抽出後、黒色腫に特異的に発現するチロシナーゼ、gp100、MART-1 などの各遺伝子を RT-PCR 法で増幅し、検出する方法を併用している<sup>4)</sup>(図 2)。

症例を提示する。69 歳、女性、左膝の TT=4.0 mm の結節型黒色腫。通常の HE 標本では転移下腫瘍細胞は同定できなかったが、RT-PCR 法ではすべてのプローブが増幅され陽性となり、免疫組織化学では、チロシナーゼと MITF-M のみ陽性の腫瘍胞巣がリンパ節辺縁に認められた(図 3)。現在、このように、免疫組織化学染色の一部や、RT-PCR 法のみで陽性となった場合は、HE 標本に戻り、明らかな異型細胞が同部に認められれば転移陽性とすべき、とのコンセンサスが厚生労働省がん研究助成金会議で得られている。それに従い、再度 HE 標本も見直してみると、確かに免疫組織化学染色で陽性になった部位に明らかな

異型細胞の散在を認めた(図 4)。一方、この HE 標本の所見のみでは転移と診断することは困難である。このことより、通常の HE 標本のみでなく、免疫組織学的検索が必須であること、また、RT-PCR 法は補助診断として極めて有用であることが示された。

以上の方法でセンチネルリンパ節に転移陽性と診断された症例に関しては、リンパ節郭清を可能な限り行う。陰性の場合には、郭清を行わず、経過観察とする。

#### 本邦・海外での動向

厚生労働省がん研究助成金 15-10(主任研究者：斎田俊明教授(信州大学医学部皮膚科))の 2003～2006 年までの検討では、340 症例中、330 例(97.1%)でセンチネルリンパ節が同定された。センチネルリンパ節に転移がなく、根治的リンパ節廓清を省略できた症例は 207 例(全症例の 60.8%)あったが、その後に残存リンパ節に転移を生じてきたものは 5 例(2.4%)のみであった。

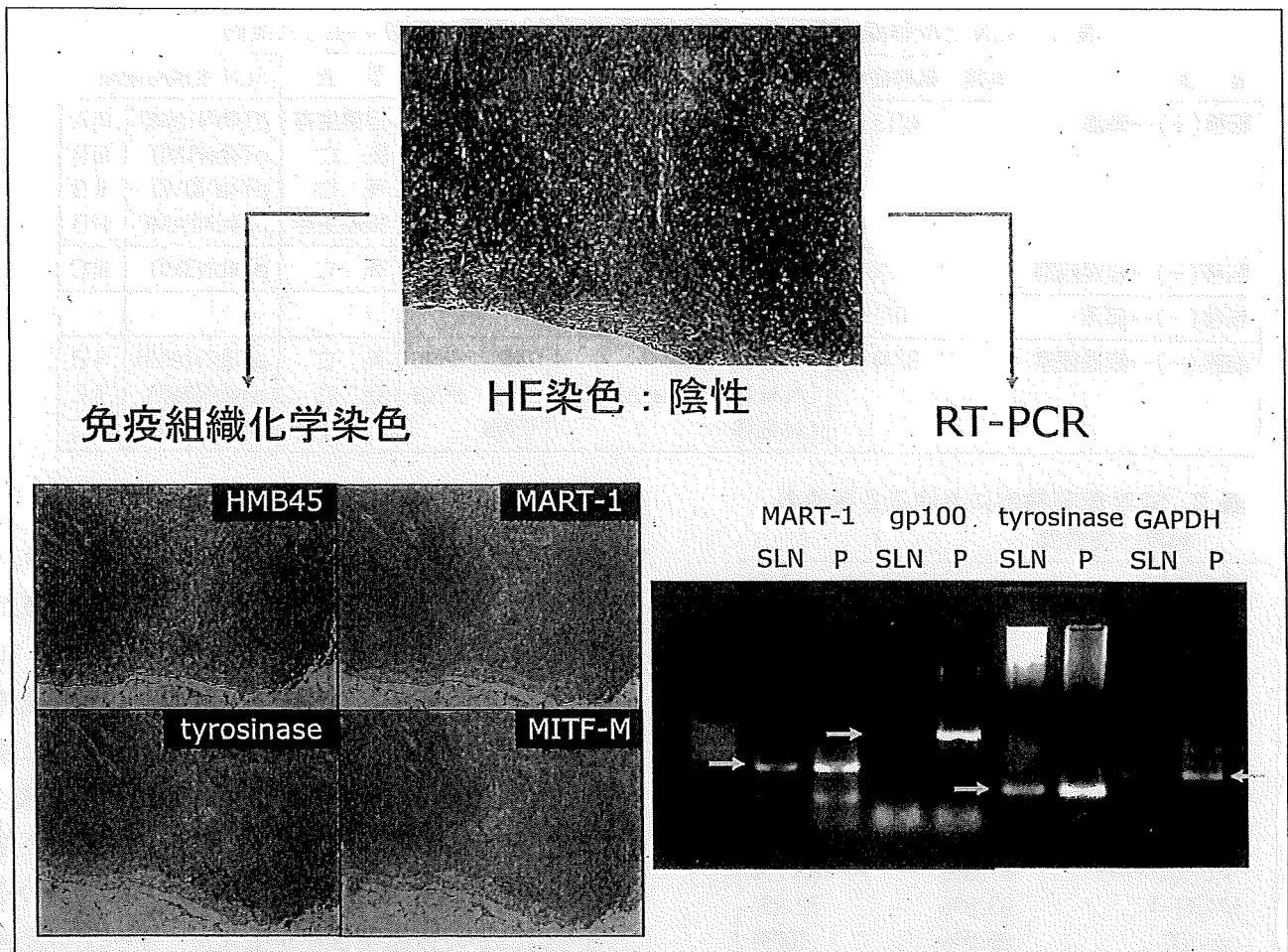


図 3. 69歳, 女性. 左膝の TT=4.0 mm の結節型黒色腫  
 通常の HE 標本では転移下腫瘍細胞は同定できなかったが, RT-PCR 法ではすべてのプローブが増幅され陽性となり, 免疫組織化学染色では, チロシナーゼと MITF-M のみ陽性の腫瘍胞巣がリンパ節辺縁に認められた.

センチネルリンパ節生検によって, 従来であれば予防的リンパ節郭清を受ける可能性のあった患者の約 60% は生検のみですみ, 患者の身体的負担を大幅に軽減できたということになる. 残りの 40% は生検したセンチネルリンパ節に微小転移が発見され, 根治的なリンパ節廓清を受けたが, この集団は, 従来であれば術前検査でリンパ節転移なしと判断され, 手術することなく経過をみていた可能性のある群である. 従って, この集団についても, センチネルリンパ節生検によって早期に微小転移が発見でき, 早期に根治的なリンパ節廓清を受けられたことになり, 有益であったと考える. センチネルリンパ節の同定を行ってみると, 従来予想もしなかった領域のリンパ節に原発巣からのリンパ管が流入することが少なくないことが判明した. 従って, 所属リンパ節領域の手術を行う際には, センチネルリンパ節の同定検査は必須

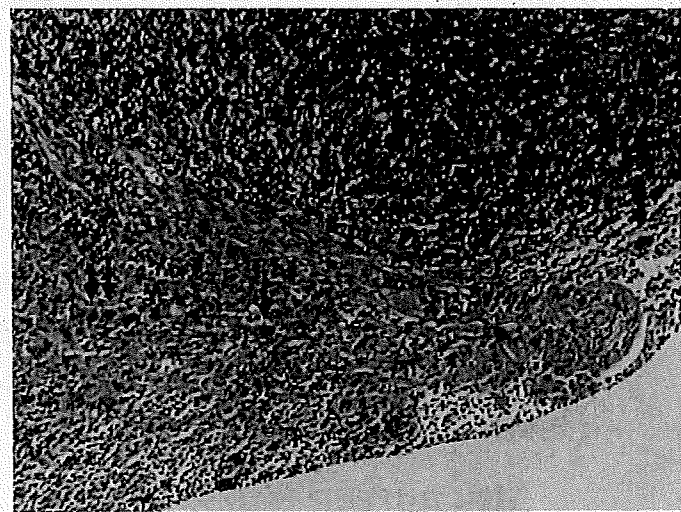


図 4. 図 3 と同一症例  
 免疫組織化学染色で陽性であった部位を, 再度 HE 標本で確認したところ, 明らかな異型細胞の散在を認めた(矢印). 通常の HE 標本だけでは, この所見を転移と診断するのは困難である.

表 1. SLN と転移陽性率とその予後(総数 55 例) 再発・転移の生じた症例

経過	再発・転移症例	転移	治療	予後	SLN 生検時病期	
転移(+) →郭清	4/13 例	遠隔転移	切除	担癌生存	pT4bN1aM0	ⅢA
		遠隔転移	無治療	死亡	pT4bN1M0	ⅢB
		遠隔転移	化学療法	死亡	pT4aN0M0	ⅡB
		遠隔転移	化学療法	担癌生存	pT4aN2aM0	ⅢB
転移(+) →経過観察	1/2 例	LN 転移+遠隔転移	切除, IFNβ	死亡	pT4bN3M0	ⅢC
転移(-) →郭清	0/1 例					
転移(-) →経過観察	3/44 例	in transit 転移	切除, IFNβ	死亡	pT3bN1aM0	ⅡB
		LN 転移+in transit 転移	切除, IFNβ	死亡	pT4bN0M0	ⅡC
		LN 転移	IFNβ	担癌生存	pT4aN0M0	ⅡC

表 2. SLN 転移検出における各標的の感度・特異度

免疫染色	転移陽性	17 例
	感度	特異度
チロシナーゼ	76.5%	100%
MART-1	70.6%	91.7%
HMB45	52.9%	100%
MITF-M	82.4%	92.3%
RT-PCR	転移陽性	16 例(1 例未施行)
	感度	特異度
チロシナーゼ	81.3%	69.2%
MART-1	93.8%	72.2%
gp-100	68.9%	100%

である。また、被験者の安全性については、前記の 340 症例において、特に問題となる有害事象は報告されていない。

米国では、Morton らが、1269 例を対象に、センチネルリンパ節生検を行った群と、検査を行わずに原発巣の処理のみで経過をみた群とについて、予後についてランダム化比較試験を行っている<sup>9)</sup>。結果はセンチネルリンパ節生検による早期治療群が勝っており、またセンチネルリンパ節の転移の有無は極めて重要な予後因子情報になることを報告している。

#### 当院におけるセンチネルリンパ節生検

実際に当科では 2002 年 4 月～2008 年 4 月まで計 72 例の早期悪性黒色腫症例にセンチネルリンパ節生検を施行した。メラノーマ班会議で推奨されているリンパシンチ、術中プローブ法、色素法の 3 種を用いて行った症例が 66 例、そのうち、pT1 以上の 55 例について詳細に検討した。同定率は 55 例中 55 例の 100%であり、手技的にはほ

ぼ確立した方法と考えられる。センチネルリンパ節の平均数は 2.81 個であり、複数のリンパ節が検出されることがほとんどであった。55 例中 15 例をセンチネルリンパ節転移と診断し、転移陰性と診断したものの、その後同所属リンパ節に転移を生じた false negative 症例を 2 例認めた(表 1 の最下段 2 症例)。センチネル陽性と判断した症例のうち 13 例に根治的郭清を施行した。そのうち 4 例にその後遠隔転移が生じた。すべての症例が pT4 以上であった。高齢などの理由により郭清しなかった 2 例においても、1 例に同部リンパ節転移・遠隔転移を生じ、死亡に至ったが、他 1 例は再発なく存命中である。転移陰性と判断し、その後多数の in transit 転移を生じ死亡した症例を 1 例認めた。その他の症例ではその後の再発転移はない。

各種検出方法による転移検出について検討した(表 2)。免疫染色では抗 MITF-M 抗体による染色が感度 82.4%、特異度 92.3%で、また抗チロシナーゼ抗体による染色が感度 76.5%、特異度 100%で最も有用と考えられた。現在、悪性黒色腫に対する特異的抗体として広く使用されている HMB45 染色は、特異度は 100%と高いものの感度が 52.9%とかなり低かった。HMB45 染色のみではほぼ半数の症例で転移を見落とすことになる。RT-PCR 法はおおむね良好な感度で、補助診断として有用であるが、チロシナーゼ、MART-1 に関しては false positive が多く、特異度が低かった。

また、被験者の安全性については、当科で施行した全 72 症例において、問題となる有害事象は経験していない。



前記のように本邦では幸い、センチネルリンパ節における副作用・合併症は報告されていないが、海外報告について検討した。PubMedで検索すると多数の副作用報告が検出でき、その多くは、色素法によるアレルギー反応である。我々も使用し、世界的に使われているパテントブルーはアナフィラキシーをはじめとする、さまざまなアレルギー反応の報告がある。幸い死に至った報告はないが、十分な注意が必要である。興味深いものとして、メチレンブルーはセンチネルリンパ節の描出はパテントブルーと遜色なく、アレルギー報告が少ないことより、第一選択として使用すべきという報告があった<sup>6)</sup>。一方、色素に比べ、RIトレーサーによるアレルギー報告は極端に少なく、調べた限り、本邦ではあまり使用されないテクネシウムアルブミンコロイドによるものが1報のみであった<sup>7)</sup>。世界保健機構の下部組織が公表している発癌物質のリストにパテントブルーは掲載されている。それによると、ラットの皮下に繰り返し投与することで投与部位に線維肉腫が発生したとのことであった。しかし、現在までヒトでの同様な有害事象の報告はなく、センチネルリンパ節生検での使用法を考えると、重大な問題にはならないと考えられる。

以上の副作用報告を考慮したうえで、色素法を行う際はアレルギー反応の起こりえることに留意し、局所麻酔下で行わずに麻酔医管理の下で行い、麻酔科医にも十分にアレルギー反応が起こりうることを周知する必要がある。発癌の可能性はほとんどないものの、安全性を高めるため、RIトレーサーや色素は腫瘍原発巣周囲の切除範囲内(切除マージン内)に投与する、といった注意が必要である。

センチネルリンパ節生検は早期悪性黒色腫患者における治療のスタンダードとなっている。しかし、腫瘍の微少転移を検出するためにはルーチンの病理学的検討に加えて詳細な検討が不可欠で、特に、悪性黒色腫の場合、免疫組織学的検索を施行する必要がある。RT-PCR法はその補助的診断として極めて有用である。さらに、リンパ節転移の可能性の高い他の皮膚悪性腫瘍についても適応が拡大している。当科でも、リンパ節転移の予想される有棘細胞癌、乳房外パジェット病、汗腺悪性腫瘍などでセンチネルリンパ節生検を施行している。

## 文献

- 1) Morton DL, Wen DR, Wong JH et al : Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg*, 127 : 392-399, 1992.
- 2) 菅 一能, 狩野裕一, 河上康彦ほか : CT リンパグラフィによるセンチネルリンパ節生検. *リンパ学*, 28(2) : 92-98, 2005.
- 3) Kitai T, Inomoto T, Miwa M et al : Fluorescence navigation with indocyanine green for detecting sentinel lymph nodes in breast cancer. *Breast Cancer*, 12 : 211-215, 2005.
- 4) 師井洋一, 小幡千景, 藤田尚平ほか : メラノーマ患者における RT-PCR 法を用いたセンチネルリンパ節微小転移発見の試み. *西日本皮膚*, 64 : 211-217, 2002.
- 5) Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ et al : Sentinel-node biopsy or nodal observation in melanoma. *N Eng J Med*, 355 : 1307-1317, 2006.
- 6) Golshan M, Nakhli F : Can methylene blue only be used in sentinel lymph node biopsy for breast cancer? *Breast J*, 12(5) : 428-430, 2006.
- 7) Chicken DW, Mansouri R, Ell PJ et al : Allergy to technetium-labelled nanocolloidal albumin for sentinel node identification. *Ann R Coll Surg Engl*, 89(2) : W12-13, 2007.