

図1. センチネルリンパ節

センチネルリンパ節(SN)とは、腫瘍からのリンパ流が最初に到達するリンパ節である。SNは最初のリンパ節微小転移が発生する場所とする考え方をSN理論と呼んでいる。腫瘍からもっとも近い位置のリンパ節が必ずしもSNであるとは限らない。またSNは2個以上存在することもまれではない。

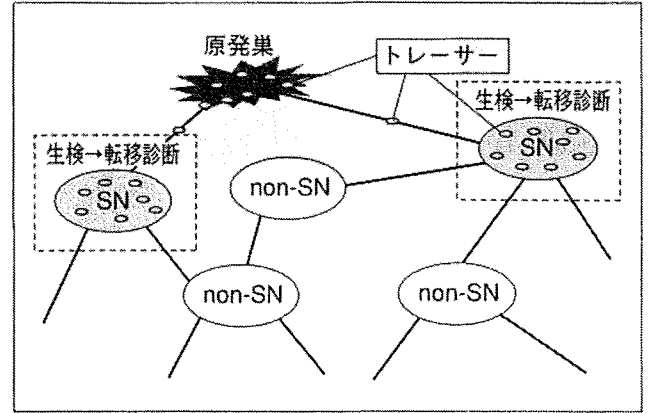


図2. センチネルノードナビゲーション手術

SNNSとは、トレーサー(色素ないしradioisotope)を腫瘍原発巣周囲に投与し、一定時間後にトレーサーが集積したSNを同定、生検のうえ転移診断を行い、SN転移陰性例ではリンパ節郭清を縮小ないし省略し、それに伴って切除範囲を最小限とすることを目的とした手法である。

ような背景に基づき、近年効率よいリンパ節転移診断とリンパ節郭清の縮小・省略を目指した低侵襲手術として、センチネルノードナビゲーション手術(SNNS)が注目されている。

I. SNNSとは

センチネルリンパ節(SN)とは、腫瘍から直接リンパ流を受けるリンパ節のことであり、SNが最初のリンパ節微小転移を生ずる場所とする考え方をSN理論と呼んでいる(図1)。この理論が正しければ、SNにリンパ節転移がなければその他のリンパ節転移は生じていないと判断することができる。SN同定は、トレーサー(色素あるいはradioisotopeでラベルされたコロイド)を腫瘍原発巣周囲に投与し、ある一定時間後にトレーサーが集積したSNを視認、あるいはRI活性を測定することにより同定している。SNNSとは、このSNの分布(SN mapping)と生検による転移の有無を指標として、リンパ節郭清を個別的に縮小ないし省略し、それに伴って切除範囲を最小限とすることを目的とした手法である(図2)。

1990年代前半にMortonやGiulianoらが悪性黒色腫や乳癌を対象に始めたSNNSは、今や消化器

癌、泌尿器科、婦人科悪性腫瘍、頭頸部癌、甲状腺癌、肺癌などにもその適応が拡大し、臨床応用が模索されている²⁻⁵⁾。すでに悪性黒色腫と乳癌では、SN理論の妥当性、臨床的有用性が実証され、SN転移診断に基づく個別化縮小手術が実践されている。しかしながら、その他の領域については疾患によってその臨床的意義や有用性がいまだ確立しておらず、多くの技術的課題も残している。

II. SN同定不能例と偽陰性例

現在、さまざまな固形癌においてSN理論の妥当性が検証されているが、SN生検にあたり一番の問題となるのが、SN同定不能例とSN偽陰性例である。SN同定不能例とは、原発巣に注入したトレーサーがリンパ節まで到達しなかった例や、技術的な問題によりSNがどこに存在するか判定できない例である。一方、偽陰性例はSNとして同定されたリンパ節には転移を認めないにもかかわらず、SN以外のリンパ節に転移を認める症例をさす。偽陰性例は、①SNとして同定されたリンパ節が真のSNでなかった可能性、②複数存在した真のSNをすべて同定できなかった可

能性, ③真のSNを同定したにもかかわらず微小転移を見落とした可能性, ④SN理論そのものが成立しなかった可能性などが考えられる。

SN同定不能例と偽陰性例はそれぞれ技術的な問題と腫瘍学的な要因を考慮する必要がある。詳細は他稿に譲るが、技術的な問題点としてたとえばトレーサーの選択やその投与方法とタイミング、術中のSN同定手技の精度や生検方法、SN微小転移診断の精度などがあげられる。また、たとえば画像診断上明らかなリンパ節転移陽性例(cN1)や消化器癌におけるT3以深の癌は、同定不能例や偽陰性例が多いことが知られている。

同じstageの癌腫でも個々の症例で生物学的悪性度がまったく異なることを考慮すれば、リンパ節のフィルターをかいくぐってランダムな転移を生ずる特殊な(悪性度の高い?)癌が存在する可能性も否定できない。近い将来、SN理論の妥当性の是非が各種の癌で結論づけられることとなるであろうが、とくに偽陰性例については詳細な検討が必要である。つまり、単なるSN同定、転移診断の技術的な問題だけでなく、腫瘍の生物学的特性が偽陰性の原因に含まれる可能性があり、病理組織学的・分子生物学的アプローチによる腫瘍特性の解析も必要と考えられる。こうした分析に基づいてSNNSの適応症例を明確にすることが今後の安全な臨床応用に向けて重要である。

III. 外科領域におけるSNNSの現況

乳癌に対する多くのfeasibility studyにより、乳癌におけるSN理論の妥当性が実証され、欧米ではSNNSはcN0乳癌に対する標準的な術式となっている^{4,5)}。わが国でも日本SNNS研究会により2003年に乳癌SNNSガイドラインが策定され、大規模多施設共同研究がすすめられた一方で、cN0乳癌に対して多くの施設で日常臨床としてSNNSが導入されてきた⁶⁾。

乳癌におけるSNNSは、これまで一律に行われてきた腋窩リンパ節郭清をSN生検結果により省略するという画期的な治療改革を生み、患者に対して大きな恩恵をもたらした。cN0乳癌においてはSN転移陰性であれば腋窩郭清の省略が可能で

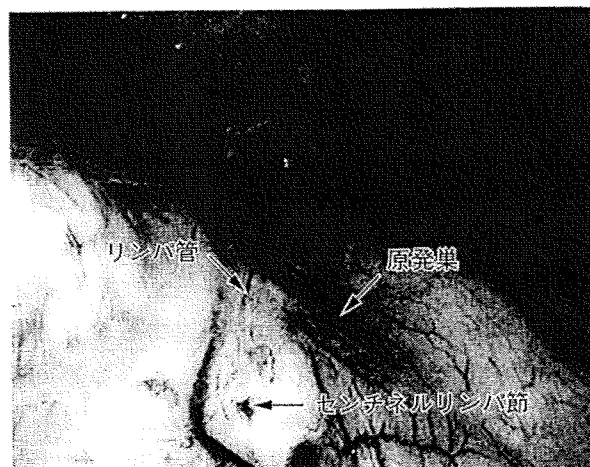


図3. 胃小彎領域センチネルリンパ節
術中内視鏡を用いて原発巣周囲の粘膜下層に注入した色素(isosulfan blue)により、流出リンパ管、センチネルリンパ節(No.3)が同定される。

あり、従来、術後高頻度に発生していた患側上肢のリンパ浮腫や知覚障害、挙上障害などを有意に減少させた。長期フォローアップによるSNNSに基づいた腋窩郭清省略の臨床的意義についても現在大規模な検証が行われているが、これまでのいくつかの報告ではSN転移陰性腋窩郭清省略例の予後は、健存率、生存率において腋窩郭清群と比べて有意差を認めていない。

早期胃癌は、消化器癌の中ではSN理論研究がもっともすすんだ領域であり、SNNSによる機能温存・個別化縮小手術への応用が期待されている^{7,8)}。現在、色素(isosulfan blue)とradioisotope [^{99m}テクネシウム(Tc)スズコロイド]を用いて原発巣の粘膜下に注入する併用法(SNNS研究会/厚生労働省がん研究助成金研究班)の多施設共同研究が進行中であり、今後SNNS標準手術手技の確立に向けてその結果が注目されている(図3)⁹⁾。今後、胃癌におけるSN理論の妥当性が実証され、SN生検標準手術手技が確立すれば、今後は積極的に腹腔鏡下胃癌手術にSNNSを応用した新しい低侵襲・個別化縮小手術が取り入れられることが予想される¹⁰⁾。しかし、腹腔鏡下に行う場合の安全性や精度の検証には十分な注意を払う必要があり、SN微小転移検出のための術中迅

速RT-PCR法の開発なども期待されている¹³⁾。

IV. SN転移のメカニズム

腫瘍原発巣から直接リンパ流を受けるSNへの癌転移の成立は、単に腫瘍内あるいは傍腫瘍微小リンパ管内に癌細胞が侵入し、リンパ流に乗ってSNに癌細胞が到達するという解剖学的な要因だけで説明がつくのであろうか。SNは原発巣から腫瘍特異抗原の情報が最初に到達するリンパ組織であり、局所免疫応答の場としてもきわめて重要な役割を担っている。当然宿主側としては、SN転移を抑止するような抗腫瘍免疫が働くはずであるのに、なぜSNは癌転移を食い止められないのであろうか。SNはリンパ節微小転移成立のメカニズムを明らかにする研究対象としても注目されている¹⁴⁾。

SNにおける局所免疫の状態は、必ずしも癌による全身性の免疫抑制を反映しているものではないが、最近の研究で腫瘍細胞がリンパ行性転移を起こすためにSNの局所免疫を抑制するメカニズムが少しずつ明らかになってきている。リンパ節内のparacortical areaには樹状細胞や各種リンパ球が存在するが、それらの数や活性は個々のリンパ節において異なっている。SNと非SNを比較すると、SNではparacortexの樹状細胞の数、maturityとも有意に減少していることが最近報告されている^{12,13)}。さらに、T細胞の数やその活性においてもSNは非SNより劣っていた¹⁴⁾。また、naïve T細胞が抗原提示樹状細胞を認識するために通過するhigh endothelial venules(HEV)の数も、SNは非SNより有意に減少していた。これらの結果は、SNが腫瘍原発巣からのimmune modulationを受け、SN内で癌細胞が生存できる環境、転移成立しやすい環境になっていることを示唆するものである。

腫瘍原発巣から産生されるIL-10がSNにおける樹状細胞の活性を抑制していることが報告されている。また、腫瘍のリンパ管増殖因子であるVEGF-C/Dや血管増殖因子VEGF-Aの発現、ケモカイン-ケモカインレセプターネットワークが癌のリンパ行性転移と深くかかわっていること

が最近数多くの報告で明らかとなっている。

このようなSN微小転移成立機序の解明により、今後SNを標的とした新しい治療法の開発につながることが期待される。

おわりに

SNNSは究極のテーラーメイド手術であり、SN同定、生検から転移診断にいたるまで精度の高い手技と診断能力が要求される。その意味では画一的な定型手術を行うよりも高度な手術であるといえる。しかし、乳癌における腋窩郭清省略に代表されるSNNSによる縮小手術の恩恵は、患者にとって計り知れないものがあり、今後消化器癌、とくに早期胃癌においてSNNSの臨床応用が積極的になされていくものと考えられる。一方、機能温存・縮小手術と同時に安全性、根治性の担保はいうまでもないことであり、この点でSN理論の妥当性の検証とSNNS手術手技の確立なしに安易な臨床応用は避けるべきである。今後、各固形癌におけるSNNS標準手技の確立と臨床的意義の検証が求められる。また、分子生物学的手法を用いたSN微小転移検出法の開発とSN転移成立機序の解明が期待される。

◆ ◆ ◆ 文献 ◆ ◆ ◆

- 1) Gervasoni JE Jr, Taneja C, Chung MA et al : Biologic and clinical significance of lymphadenectomy. *Surg Clin North Am* 80 : 1631-1673, 2000
- 2) Morton DL, Wen DR, Wong JH et al : Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 27 : 392-399, 1992
- 3) Reintgen D, Cruse CW, Wells K et al : The orderly progression of melanoma nodal metastasis. *Ann Surg* 220 : 759-767, 1994
- 4) Giuliano AE, Kirgan DM, Guether V et al : Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 220 : 391-398, 1994
- 5) Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V et al : Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet* 349 : 1864-1867, 1997

- 6) 井本 滋, 和田徳昭, 山内稚佐子: 乳癌の SNNS—臨床応用の現況と多施設共同試験. 臨外 59 : 559-562, 2004
- 7) Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M et al : The role of the sentinel lymph node in gastrointestinal cancer. Surg Clin North Am 80 : 1799-1809, 2000
- 8) Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M et al : Intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymph node sampling in esophageal and gastric cancer. Surg Clin North Am 11 : 293-304, 2002
- 9) 竹内裕也, 北川雄光, 才川義朗ほか: センチネルリンパ節生検の日常臨床への導入—多施設共同研究. 臨消内科 22 : 1123-1126, 2007
- 10) Saikawa Y, Otani Y, Kitagawa Y et al : Interim results of sentinel node biopsy during laparoscopic gastrectomy ; possible role in function-preserving surgery for early cancer. World J Surg 30 : 1962-1968, 2006
- 11) Takeuchi H, Kitajima M, Kitagawa Y : Sentinel lymph node as a target of molecular diagnosis of lymphatic micrometastasis and local immunoresponse to malignant cells. Cancer Sci 99 : 441-450, 2008
- 12) Cochran AJ, Huang RR, Lee J et al : Tumor-induced immune modulation of sentinel lymph nodes. Nature Rev Immunol 6 : 659-670, 2006
- 13) Huang RR, Wang HJ, Lin LL et al : MHC-class II molecules expression by dendritic cells correlates with activated OPD4+T cell in of sentinel and non-sentinel nodes from melanoma patients. Mod Pathol 17 : 382, 2004
- 14) Huang RR, Paul E, Wang HJ et al : Sentinel lymph nodes are immunosuppressed whether or not they contain metastatic melanoma. Mod Pathol 18 : 379, 2005

センチネルリンパ節とリンパ行性癌転移

竹内 裕也 北川 雄光

脈管学 第48巻第2号
別刷

日本脈管学会

(J Jpn Coll Angiol, 2008, 48: 137-142)

センチネルリンパ節とリンパ行性癌転移

竹内 裕也 北川 雄光

要 旨：乳癌では，センチネルリンパ節 (sentinel node: SN)理論の妥当性，臨床的有用性が実証され，SN転移診断に基づく個別化縮小手術が実践されている。今後は，早期胃癌を対象にsentinel node navigation surgery (SNNS)の臨床応用が積極的になされていくものと考えられ，現在胃癌SN微小転移検出のための術中迅速RT-PCR法の開発が行われている。SN微小転移は単に解剖学的な要因だけでなく，SNにおける局所免疫抑制作用やリンパ管新生など多くの因子がその転移成立に関与していると考えられ，転移成立機序の解明と治療法の開発が期待される。

(J Jpn Coll Angiol, 2008, 48: 137-142)

Key words: sentinel node, breast cancer, gastric cancer, RT-PCR, micrometastasis

はじめに

一般・消化器外科領域においてリンパ節郭清の縮小・省略を目指した低侵襲機能温存手術として，sentinel node navigation surgery (SNNS)が注目されている。センチネルリンパ節 (sentinel node: SN)とは，腫瘍原発巣から直接リンパ流を受けるリンパ節のことであり，最初のリンパ節微小転移が発生する場所と考えられている (SN理論)。さらにいえばSNにリンパ節転移がなければその他のリンパ節転移は生じていないと判断することができ，SNに集中した病理学的あるいは分子生物学的転移診断を行うことにより，時間的，経済的に効率よいリンパ節微小転移診断を行うことができる。SNNSとは，このSNの分布 (SN mapping)とSN生検による転移の有無を指標として，リンパ節郭清を個別的に縮小ないし省略し，それに伴って切除範囲を最小限とすることを目的とした手法である。

すでに悪性黒色腫や乳癌では，SN理論の妥当性，臨床的有用性が実証され¹⁻⁴⁾，SN転移診断に基づく個別化縮小手術が実践されている。消化器癌領域では，SN同定から転移診断に至るまでまだまだ多くの技術的課題を残しているが，早期胃癌は消化器癌のなかでSN理論研究が最も進んだ領域であり，SN転移診断に基づく胃機能温存・個別化縮小手術への応用が期待されている。

一般・消化器外科領域における SNNS臨床応用の現状と展望

(1) 乳癌

乳癌に対する多くのfeasibility studyにより，乳癌におけるSN理論の妥当性が実証され，欧米ではSNNSはcN0乳癌に対する標準的な術式となっている^{3, 4)}。わが国でもSNNS研究会により2003年に乳癌SNNSガイドラインが策定され，大規模多施設共同研究が進められている一方で，cN0乳癌に対してはすでに多くの施設で日常臨床としてSNNSが行われている⁵⁾。

乳癌におけるSNNSは，これまで長年にわたり行われてきた腋窩リンパ節郭清をSN生検結果により省略するという画期的な治療法の開発につながり，患者に対して大きな恩恵をもたらした。cN0乳癌においては通常SNは腋窩に存在しているが，SN転移陰性であればSN以外の腋窩リンパ節郭清の省略が可能であり，術後高頻度に発生していた患側上肢のリンパ浮腫や知覚障害，挙上障害などを有意に減少させた。現在，SNNS研究会により長期フォローアップによるSNNSに基づいた腋窩リンパ節郭清省略の臨床的意義について検証中であるが，当教室における2002年1月以降のSN転移陰性腋窩リンパ節郭清省略例の予後は，健存率，生存率において過去の腋窩郭清群と比して有意差を認めなかった。

また腋窩郭清を省略した436例において観察期間中央値28カ月の時点では腋窩リンパ節再発は認めていない。現在米国ではSNNSと腋窩リンパ節郭清の長期予後と比較検討する第III相臨床試験が進められており、結果が待たれるところである。

乳癌は他の固形癌に比べ、化学療法、ホルモン療法、放射線療法、分子標的治療などさまざまな治療法の組み合わせが可能であり、今後も新しい集学的治療が開発されていくものと考えられる。乳癌においてSNに集中した病理学的あるいは分子生物学的転移診断を行うことにより、正確で効率よいリンパ節微小転移診断を行うことが可能となり、リンパ節転移診断と局在診断に基づいた集学的治療法が開発されていくことが期待される。

AJCC(American Joint Committee on Cancer)分類におけるリンパ節微小転移の意義に関して、乳癌においては径2mmまでの微小リンパ節転移が必ずしも腋窩リンパ節転移としての臨床的意義を有さないとの報告がみられているが、今後さらに精度の高い検証を行う必要がある。また乳癌において、1個ないし2個のSNにのみ転移がみられるような症例が比較的多く存在することが明らかとなってきており、このような症例の選別と腋窩郭清の是非が今後の課題となろう。

(2) 胃癌

消化器癌領域において現時点で、機能温存・個別化縮小手術への応用が最も期待される対象はcT1N0胃癌である。内視鏡下トレーサー注入、radioisotope (RI)法の導入などにより、胃癌に対するSN同定手技は飛躍的に向上し(Fig. 1)、これまでに多数の単施設研究が行われ、良好なSN同定率(90~100%)、転移検出感度(85~100%)が報告されている。教室では2006年までに、cT1N0ないしcT2N0胃癌症例382例に対してRI法+色素併用法によるSN生検を施行している(SN同定率96%、転移検出感度99%)^{6,7)}。現在、色素(Lymphazurin™)とRIを内視鏡下に粘膜下注入する併用法(SNNS研究会/厚生労働省がん研究助成金研究班)による多施設共同研究が進行中であり、今後SNNS標準手術手技の確立に向けてその結果が注目されている(Table 1)。

早期胃癌においてSN理論が成立するのであれば、乳癌のようにSN転移陰性早期胃癌は郭清の完全省略と胃(原発巣)の局所切除だけで根治術とすることが理論的

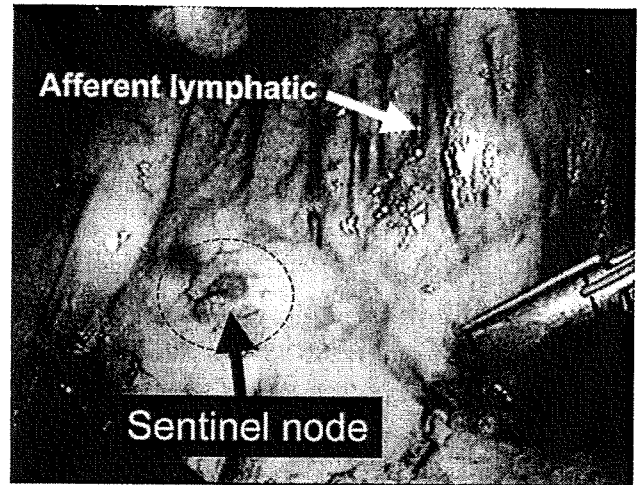


Figure 1 Laparoscopic sentinel node mapping for early gastric cancer.

には可能である。しかし、SNは転移陰性であるのにSN以外のリンパ節に転移が認められる、いわゆる偽陰性症例の存在が皆無とはいえない現状では、より安全域のある根治性を損なわない術式が要求される。つまり、SNを含むそのリンパ領域(SN basin: Fig. 2)を選択的に郭清する術式(SN basin dissection)が推奨されている⁸⁾。SN同定の技術的問題や術中迅速診断の見逃しにより、偽陰性が生じた場合でも、実際のリンパ節転移はSN basin内に存在し、また限定される可能性が高いことが明らかとなっている。一方、SNに明らかな転移が認められる症例ではSN領域外にも転移が存在する可能性が否定できないため、現時点では標準的な切除郭清術が必要である。

今後、早期胃癌に対するSNNSの臨床応用に向け、術中SN同定技術、微小転移診断技術の精度向上が必須であるが、われわれは現時点で安全性を損なわない方策としてSN basin dissectionの施行と術中迅速RT-PCR法の開発(後述)が重要であると考えている。

腹腔鏡下胃癌手術手技の向上により、内視鏡下手術による低侵襲性の確保とSNNSによる機能温存・縮小手術の組み合わせが技術的に可能となっている⁶⁻⁹⁾。現在行われている多施設共同研究の結果により、胃癌におけるSN理論の妥当性が実証され、SN生検標準手術手技が確立すれば、今後は積極的に腹腔鏡下胃癌手術にSNNSを応用した縮小手術が取り入れられることが予想される。

Table 1 Standard protocol for sentinel node mapping for gastric cancer
(Japanese Society for Sentinel Node Navigation Surgery)

Indication
cT1/T2 N0M0 gastric cancer (single lesion, no previous treatment) Diameter of primary lesion < 4.0 cm
Radio-guided method
Tracer: 99m Technetium tin colloid (0.3 mCi at the time of surgery) Administration: Endoscopic submucosal injection (0.5 ml × 4 points) Timing of administration: the day before surgery SN detection: Gamma probing (GPS Navigator, Tyco HealthCare Japan)
Dye-guided method
Tracer: 1% Isosulfan blue (Lymphazurin, Tyco HealthCare Japan) Administration: Endoscopic submucosal injection (0.5 ml × 4 points) Timing of administration: the day before surgery SN detection: Identification of blue stained nodes within 15 min

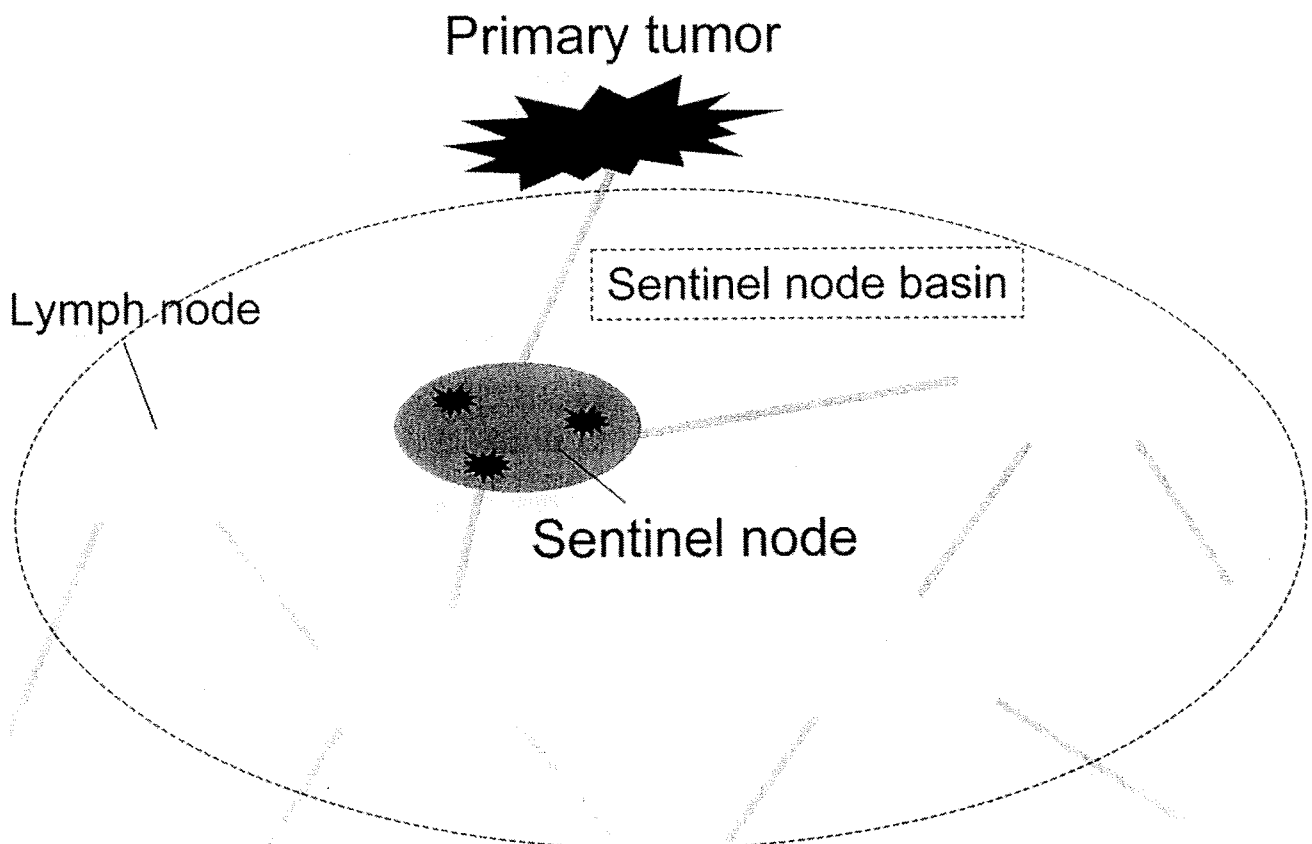


Figure 2 Sentinel node and sentinel node basin. Sentinel node basin dissection is a sort of focused lymph node dissection containing sentinel nodes.

胃癌センテネルリンパ節術中迅速転移診断

悪性黒色腫や乳癌のような体表の癌腫では、生検されたSNの永久標本の病理結果により後日改めて領域リンパ節の郭清術を追加することが可能であるが、胃癌のような腹腔内臓器でSN転移診断に基づく縮小手術を行うには、術中のSN転移診断が必須である。胃癌微小転移検出のための術中迅速病理診断は、従来リンパ節の最大断面を含む数切片の限られたスライドの顕微鏡下での検索であり、ヘマトキシリン・エオジン(H&E)染色だけではその検出感度に限界があった。これに抗サイトケラチン抗体などを用いた免疫組織染色を加えることでSN微小転移検出感度が向上することが報告されている。しかし、H&E染色と同様に数切片の限られたスライドの検索であることや、frozen sectionはパラフィン包埋切片と比べ、病理診断が困難な点があり、SN内の微小転移を見落とす可能性を完全には否定できない。

近年reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)法やone-step nucleic acid amplification (OSNA)法など分子生物学的手法を用いて形態学的には捕捉しえない癌細胞まで検出することが可能となってきている。これらは従来の病理学的診断法よりも一般的に高感度であり、数スライドだけの検索ではなくリンパ節全体を一度に検索できる利点を有する。しかし、RT-PCR法におけるmRNA抽出からRT、PCRに至る過程でのコンタミネーション(偽陽性)や、手技の不確実さによる偽陰性の問題、PCRの再現性の問題など、分子生物学的手法による微小転移検索は極めて高度なテクニックを必要とする手技といえる¹⁰⁾。

Arigamiら¹¹⁾は、RI法によるSN生検を施行したcT1、cT2N0胃癌患者61例の計1,410個のリンパ節で病理組織学的検索とreal time RT-PCR法の比較検討を行っている。それによるとSNのH&E染色で転移陽性と診断された患者は5例(8.2%)、SN抗サイトケラチン染色陽性例は8例(13.1%)に認められた。SNの免疫組織染色陰性例53例のうち、SNのRT-PCR法で陽性であったものは13例(25%)あった。SNのRT-PCRが陰性であった40例のうち、非SNでRT-PCRが陽性であった。つまりmolecular levelでの偽陰性例はcT2症例1例のみであった。この結果は、cT1N0症例であれば、molecular levelでも偽陰性症例は認められないということとなり、cT1N0

胃癌症例におけるSN理論の妥当性をmolecular levelでも証明したものである。

われわれは胃癌に対するSN微小転移診断法としてRoche Diagnostics社とCK19, CK20, CEAをマーカーとしたreal time RT-PCR法を共同開発し、現在臨床応用に向けて多施設共同研究を計画中である¹²⁾。この方法は、検体採取から結果が出るまで約60分と術中迅速診断に有用である。これまでに96例のSN生検施行例について検討を行い、molecular levelでの偽陰性症例を4例に認めている。しかしながら、これら偽陰性を生じた非SNはいずれもSNと同一のlymphatic basin内に認められており、今後SN転移診断に基づく個別化縮小手術において最も重要な点である安全性の担保としてSN basin dissectionは不可欠であると考えられる。

早期胃癌における癌微小転移やisolated tumor cells (ITC)の臨床的意義についてはいまだ明らかではなく、長期予後の検討も含め今後さらなる検証が必要である。

センテネルリンパ節癌転移のメカニズム

腫瘍原発巣から直接リンパ流を受けるSNへの癌転移の成立は、単に腫瘍内あるいは傍腫瘍微小リンパ管内に癌細胞が侵入し、リンパ流に乗ってSNに癌細胞が到達するという解剖学的な要因だけで説明がつくのであろうか。SNは原発巣から腫瘍特異抗原の情報が最初に到達するリンパ組織であり、局所免疫応答の場としても極めて重要な役割を担っている。なぜSNが癌転移を食い止められないか、この点は大きな興味の対象である。SNにおける局所免疫の状態は、必ずしも癌による全身性の免疫抑制を反映しているものではないが、最近の研究で、腫瘍細胞がリンパ行性転移を起こすためにSNの局所免疫を抑制するメカニズムが少しずつ明らかになってきている。

Nagataら¹³⁾は、ラットの腸間膜SN節モデルを用いて、リンパ節転移成立時の経時的な形態変化とリンパ節内のサイトカインの変動を観察した。リンパ節にmigrateした癌細胞は、当初marginal sinusに存在することから、marginal sinusはSNを通過しようとする癌細胞のmechanical barrierとなっていることが推測される。またmarginal sinusに癌細胞が充満した状態を経て、腫瘍は堰を切ったようにcortexやparacortexに浸潤していく。このとき、SN内のマクロファージから産生されるtumor necrosis factor (TNF) α やinterleukin (IL)-1 β , IL-2

は、転移初期には著明に増加するもののリンパ節内腫瘍の増大に伴い、経時的に抑制されることを明らかにした。彼らはこのマクロファージがSN転移成立の阻害に重要な役割を果たしていると考えしている。

Paracortical areaには樹状細胞や各種リンパ球が存在するが、それらの数や活性は個々のリンパ節において異なっている。最近の報告では、SNと非SNを比較すると、SNではparacortexの樹状細胞の数、maturityとも有意に減少し、樹状細胞のmeshworkも有意に少なくなっていることが明らかとなった^{14, 15)}。さらに、T細胞の数やその活性においてもSNは非SNより劣っていた¹⁶⁾。またnaive T細胞が抗原提示樹状細胞を認識するために通過するhigh endothelial venules (HEV)の数もSNは非SNより有意に減少していた。これらの結果は、SNが腫瘍原発巣からのimmune modulationを受け、SN内で癌細胞が生存できる環境、転移成立しやすい環境になっていることを示唆するものである。

腫瘍原発巣から産生されるIL-10がSNにおける樹状細胞の活性を抑制していることが報告されている。また腫瘍のリンパ管増殖因子であるVEGF-C/Dや血管増殖因子VEGF-Aの発現が癌のリンパ行性転移と深くかかわっていることが最近数多くの報告で明らかとなっている¹⁰⁾。

癌細胞がケモカインレセプターを発現しており、各臓器から分泌されるケモカインによって癌細胞が遊走し、臓器特異性転移が成立するというMüllerら¹⁷⁾の報告は、Paget¹⁸⁾の“seed and soil”theoryを説明する結果として注目された。その後、数多くの追加報告があり、癌細胞がケモカイン、ケモカインレセプターを発現し、周囲の免疫担当細胞や、線維芽細胞との相互作用によって浸潤・転移能を獲得していくことが明らかとなりつつある。われわれは、ケモカインレセプターCCR7がメラノーマ細胞において発現しており、SN転移と関係していること、またそのリガンドであるケモカインCCL21はSNに高発現しているが、転移形成とともに有意に抑制されることを報告した¹⁹⁾。CCL21は先に述べたHEVから主に分泌されていることから、何らかのメカニズムによりSN転移形成にCCL21の抑制が関与していることが示唆される。

おわりに

乳癌における腋窩リンパ節郭清省略に代表される

SNNSによる機能温存・縮小手術による恩恵は大きく、今後消化器癌、特に早期胃癌を対象にSNNSの臨床応用が積極的になされていくものと考えられる。そのためには胃癌SN微小転移検出のための術中迅速RT-PCR法の開発が急務であろう。SN微小転移は単に解剖学的な要因だけでなく、SNにおける局所免疫抑制作用やリンパ管新生など多くの因子がその転移成立に関与していると考えられ、このメカニズムの解明により今後リンパ行性転移の抑制やSN転移病変を標的とした新しい治療法の実現が期待される。

文 献

- 1) Morton DL, Wen DR, Wong JH et al: Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg*, 1992, **127**: 392-399.
- 2) Reintgen D, Cruse CW, Wells K et al: The orderly progression of melanoma nodal metastases. *Ann Surg*, 1994, **220**: 759-767.
- 3) Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM et al: Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg*, 1994, **220**: 391-398.
- 4) Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V et al: Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet*, 1997, **349**: 1864-1867.
- 5) 井本 滋, 和田徳昭, 山内雅彦: 乳癌のSNNS: 臨床応用の現況と多施設共同試験. *臨外*, 2004, **59**: 559-562.
- 6) Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M et al: The role of the sentinel lymph node in gastrointestinal cancer. *Surg Clin North Am*, 2000, **80**: 1799-1809.
- 7) Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M et al: Sentinel lymph node mapping in esophageal and gastric cancer. *Cancer Treat Res*, 2005, **127**: 123-139.
- 8) 竹内裕也, 才川義朗, 和田則仁 他: 早期胃癌におけるセンチネルリンパ節生検の手法と課題. *消化器外科*, 2007, **30**: 1481-1487.
- 9) Saikawa Y, Otani Y, Kitagawa Y et al: Interim results of sentinel node biopsy during laparoscopic gastrectomy: possible role in function-preserving surgery for early cancer. *World J Surg*, 2006, **30**: 1962-1968.
- 10) Takeuchi H, Kitajima M, Kitagawa Y: Sentinel lymph node as a target of molecular diagnosis of lymphatic micrometastasis and local immunoresponse to malignant cells. *Cancer Sci*, 2008, **99**: 441-450.
- 11) Arigami T, Natsugoe S, Uenosono Y et al: Evaluation of sentinel node concept in gastric cancer based on lymph node

- micrometastasis determined by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Ann Surg*, 2006, **243**: 341–347.
- 12) Matsuda J, Kitagawa Y, Fujii H et al: Significance of metastasis detected by molecular techniques in sentinel nodes of patients with gastrointestinal cancer. *Ann Surg Oncol*, 2004, **11**: 250S–254S.
- 13) Nagata H, Arai T, Soejima Y et al: Limited capability of regional lymph nodes to eradicate metastatic cancer cells. *Cancer Res*, 2004, **64**: 8239–8248.
- 14) Cochran AJ, Huang RR, Lee J et al: Tumour-induced immune modulation of sentinel lymph nodes. *Nat Rev Immunol*, 2006, **6**: 659–670.
- 15) Huang RR, Wang HJ, Lin LL et al: MHC-class II molecules expression by dendritic cells correlates with activated OPD4+ T cell in of Sentinel and Non-Sentinel nodes from Melanoma patients. *Mod Pathol*, 2004, **17**: 382.
- 16) Huang RR, Paul E, Wang HJ et al: Sentinel lymph nodes are immunosuppressed whether or not they contain metastatic melanoma. *Mod Pathol*, 2005, **18**: 379.
- 17) Müller A, Homey B, Soto H et al: Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature*, 2001, **410**: 50–56.
- 18) Paget S: The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet*, 1889, **1**: 571–573.
- 19) Takeuchi H, Fujimoto A, Tanaka M et al: CCL21 chemokine regulates chemokine receptor CCR7 bearing malignant melanoma cells. *Clin Cancer Res*, 2004, **10**: 2351–2358.

Sentinel Node and Mechanism of Lymphatic Metastasis

Hiroya Takeuchi and Yuko Kitagawa

Department of Surgery, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

Key words: sentinel node, breast cancer, gastric cancer, RT-PCR, micrometastasis

The sentinel node (SN) concept has revolutionized the approach to the surgical staging of breast cancer, and the technique can yield patient benefit by avoiding various complications due to unnecessary prophylactic complete lymph node dissection in cases with negative SNs for cancer metastasis. Moreover various types of function preserving surgery for cT1N0 gastric cancer can be individually performed based on SN concept. We are establishing intra-operative system of real time RT-PCR assay for SN navigation surgery in early gastric cancer. Recent studies have demonstrated that primary tumors can actively induce lymphangiogenesis and promote SN metastasis. Also SNs dramatically show morphological, phenotypical and functional changes that indicate immune suppression by tumor cells. Further studies may develop a novel therapy that can prevent or eradicate SN metastasis. (J Jpn Coll Angiol, 2008, **48**: 137–142)

日本臨牀 66 卷 増刊号 5 (2008 年 7 月 28 日発行) 別刷

胃 癌

—基礎・臨床研究のアップデート—

VII. 転移・再発診断

胃癌におけるセンチネルリンパ節微小転移 検出法の確立

竹内裕也 向井萬起男 北島政樹 北川雄光

胃癌におけるセンチネルリンパ節微小転移 検出法の確立

Molecular diagnosis of micrometastasis in the sentinel node for gastric cancer

竹内裕也¹ 向井萬起男² 北島政樹³ 北川雄光¹

Key words : センチネルリンパ節, 微小転移, 胃癌, PCR, 免疫組織染色

はじめに

センチネルリンパ節(sentinel node: SN)とは、腫瘍から直接リンパ流を受けるリンパ節のことであり、SNは最初のリンパ節微小転移が発生する場所とする考え方をSN理論と呼んでいる。この理論が正しければ、SNにリンパ節転移がなければその他のリンパ節転移は生じていないと判断することができ、SNに集中した病理学的あるいは分子生物学的転移診断を行うことにより、時間的、経済的に効率よいリンパ節微小転移診断を行うことができる。

既に悪性黒色腫や乳癌では、SN理論の妥当性、臨床的有用性が実証され^{1,2)}、SN転移診断に基づく乳癌手術における腋窩郭清の省略など個別化縮小手術が実践されている。消化器癌領域では、SN同定から転移診断に至るまでいまだ多くの技術的課題を残しているのが現状である。しかしながら、早期胃癌は消化器癌の中ではSN理論研究が最も進んだ領域であり、SN転移診断に基づく胃機能温存・個別化縮小手術への応用が期待されている。

悪性黒色腫や乳癌のように体表の癌腫では、生検されたSNの永久標本の病理結果により後日改めて領域リンパ節の郭清術を追加することが可能であるが、胃癌のような腹腔内臓器で

SN転移診断に基づく縮小手術を行うには、術中のSN転移診断が必須である。しかもトレーサー投与に始まり術中のSN同定と摘出、病理学的・分子生物学的転移診断に至るまでの一連の手技は、‘完璧’といえるほどの正確性が要求される。

本稿では、その中でもSN微小転移検出法に的を絞り、開発の現状とその課題、臨床応用への展望について概説することとする。

1. 胃癌センチネルリンパ節術中 迅速病理診断

胃癌に対するSN同定手技に関しては、これまでに多数の単施設研究が行われ、良好なSN同定率(90-100%)、転移検出感度(85-100%)が報告されている。教室では2006年までに、cT1N0ないしcT2N0症例382例に対してradioisotope(RI)法+色素併用法によるSN生検を施行している(SN同定率96%、転移検出感度99%)^{3,4)}。

SNにおける胃癌微小転移検出のための術中迅速病理診断は、従来リンパ節の最大割面を含む数切片の限られたスライドの顕微鏡下での検索であり、ヘマトキシリン・エオジン(H&E)染色だけではその検出感度に限界があった。これまでにH&E染色に免疫組織染色を加えるこ

¹Hiroya Takeuchi, Yuko Kitagawa: Department of Surgery, Keio University School of Medicine 慶應義塾大学医学部 外科 ²Makio Mukai: Department of Pathology 同 病理診断部 ³Masaki Kitajima: International University of Health and Welfare 国際医療福祉大学

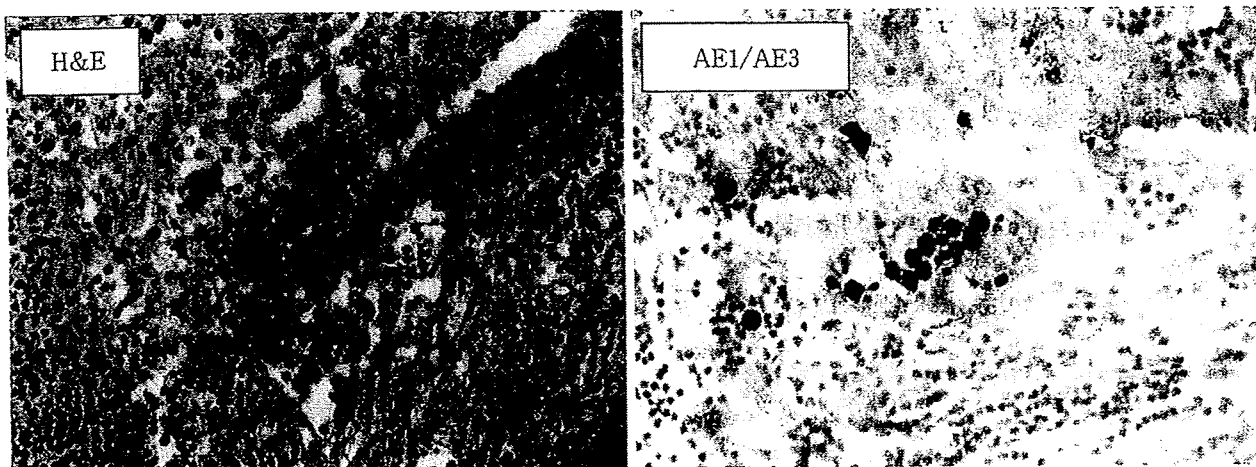


図1 Intra-operative pathological examination (frozen section)

表1 Sensitivity of intra-operative pathological examination—252 cases—

	intra-operative pathological examination	
	H&E	IHC
cases	77% (20/26)	92% (24/26)
LN _s	63% (27/43)	93% (40/43)

IHC: immunohistochemistry, LN_s: lymph nodes

とでSN微小転移検出感度が著しく向上することが報告されている(図1)。特に、抗サイトケラチン抗体カクテル(AE1/AE3など)の使用は、免疫組織染色による微小転移検出率を上げる点で有用な方法と考えられる。しかしながら、H&E染色と同様に数切片の限られたスライドの検索であることや、frozen sectionはパラフィン包埋切片と比べ、病理診断が困難である点があり、SN内の微小転移を見落とす可能性を完全には否定できない。

著者らの約250例の検討では、H&E染色だけの術中迅速病理診断では、永久標本診断と比べ23%の症例で転移(+)の診断ができなかった。これに術中免疫組織染色を加えても8%の症例がやはり転移(+)を診断できなかった(表1)。このような従来の病理組織学的な術中転移診断の限界から、分子生物学的手法を用いた新たな術中転移診断法の開発が進められている。

2. 分子生物学的手法を用いた胃癌センチネルリンパ節術中診断

近年 reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法や one-step nucleic acid amplification (OSNA) 法など分子生物学的手法を用いて形態学的には捕捉しえない癌細胞まで検出することが可能となってきている。これらは従来の病理学的診断法よりも高感度であることや、数スライドだけの検索ではなくリンパ節全体を一度に検索できる点で優れた手法であるといえる。しかし、こうした高感度な手法で検出された目に見えない‘癌細胞’、つまり癌細胞特異的 DNA や癌細胞特異的 mRNA 発現を、はたしてどこまで癌転移と判断してよいのかは慎重であるべきと考えている。例えば RT-PCR 法における mRNA 抽出から RT, PCR に至る過程でのコンタミネーション(偽陽性)や、手技の不確実さによる偽陰性の問題、PCR の再現性の問題など、分子生物学的手法による微小転移検索は極めて高度なテクニックを必要とする手技と

- ✓ rapid
- ✓ high sensitivity
- ✓ low false positive
- ✓ low false negative
- ✓ prevent contamination of RNA or DNA
- ✓ reproducible
- ✓ quantitative

図2 Ideal intra-operative RT-PCR assay

いえる⁹⁾(図2)。

これまでに、RT-PCR法を用いた胃癌のSN微小転移検索について幾つかの論文報告がなされている。Osakaら⁹⁾は早期胃癌患者57例から切除された計345個のリンパ節(色素法で検出されたいわゆるblue node 150個と非blue node 195個)を検討した。切除されたリンパ節は半割され、片方は病理組織学的検索、もう半分はCEAとCK20をマーカーとしたreal time RT-PCR法に用いられた。通常のH&E染色ではすべてのリンパ節が転移陰性であったが、うち8個のリンパ節が抗サイトケラチン染色陽性であった。またRT-PCR法で陽性と判定されたものは、計21個(10症例)のリンパ節であった。この10人はblue nodeのうちいずれか1つはRT-PCR陽性であったことから、molecular levelでも偽陰性症例は認められず、blue nodeはSNと考えられると結論付けている。

Arigamiら⁷⁾は、RI法によるSN生検を施行した61例のcT1, cT2N0胃癌患者の計1,410個のリンパ節で同様の検討を行っている。それによるとSNのH&E染色で転移陽性と診断された患者は5例(8.2%)、SN抗サイトケラチン染色陽性例は8例(13.1%)に認められた。SNの免疫組織染色陰性例53例のうち、SNのRT-PCR法で陽性であったものは13例(25%)であった。SNのRT-PCRが陰性であった40例のうち、非SNでRT-PCRが陽性であった、つまりmolecular levelでの偽陰性例はcT2症例1例のみであった。この結果は、cT1N0症例であれば、mo-

lecular levelでも偽陰性症例は認められないということとなり、cT1N0症例におけるSN理論の妥当性や、彼らのSN生検から微小転移診断に至る手技の正確性を評価できる報告である。また、今後これらの結果をもとに胃機能温存・個別化縮小手術の開発が期待される。

著者らも胃癌に対するSN微小転移診断法としてRoche Diagnostics社とCK19, CK20, CEAをマーカーとしたreal time RT-PCR法を共同開発し、現在臨床応用に向けて多施設共同研究を計画中である(図3)⁹⁾。この方法は、検体採取から結果が出るまで約60分と術中迅速診断に有用である。これまでに96例のSN生検施行例について検討を行い、molecular levelでの偽陰性症例を4例に認めている。しかしながら、これら偽陰性を生じた非SNはいずれもSNと同一のlymphatic basin内に認められており、今後SN転移診断に基づく個別化縮小手術において最も重要な点である安全性の担保としてSN basin dissectionは不可欠であると考えられる。

早期胃癌における癌微小転移やisolated tumor cells(ITC)の臨床的意義についてはいまだ明らかではなく、長期予後の検討も含め今後更なる検証が必要であろう。

おわりに

これまでSNを含む胃癌所属リンパ節の分子生物学的微小転移検索に関する報告は、個々の施設で独自に開発されたアッセイ法に基づいている。そのため、施設ごとの成績を客観的に比較することは不可能であり、その臨床的意義の検証を困難にしている。今後はSN生検から微小転移診断まで共通の手技、プロトコルを用いた大規模な多施設共同研究が必要であろう。また、はたして本当に分子生物学的手法が病理組織学的転移診断を凌駕するのか、の問いに対しては、それぞれの手法による微小転移の臨床的意義だけでなく、医療経済や労力の観点も含めた多角的な評価が必要であると思われる。

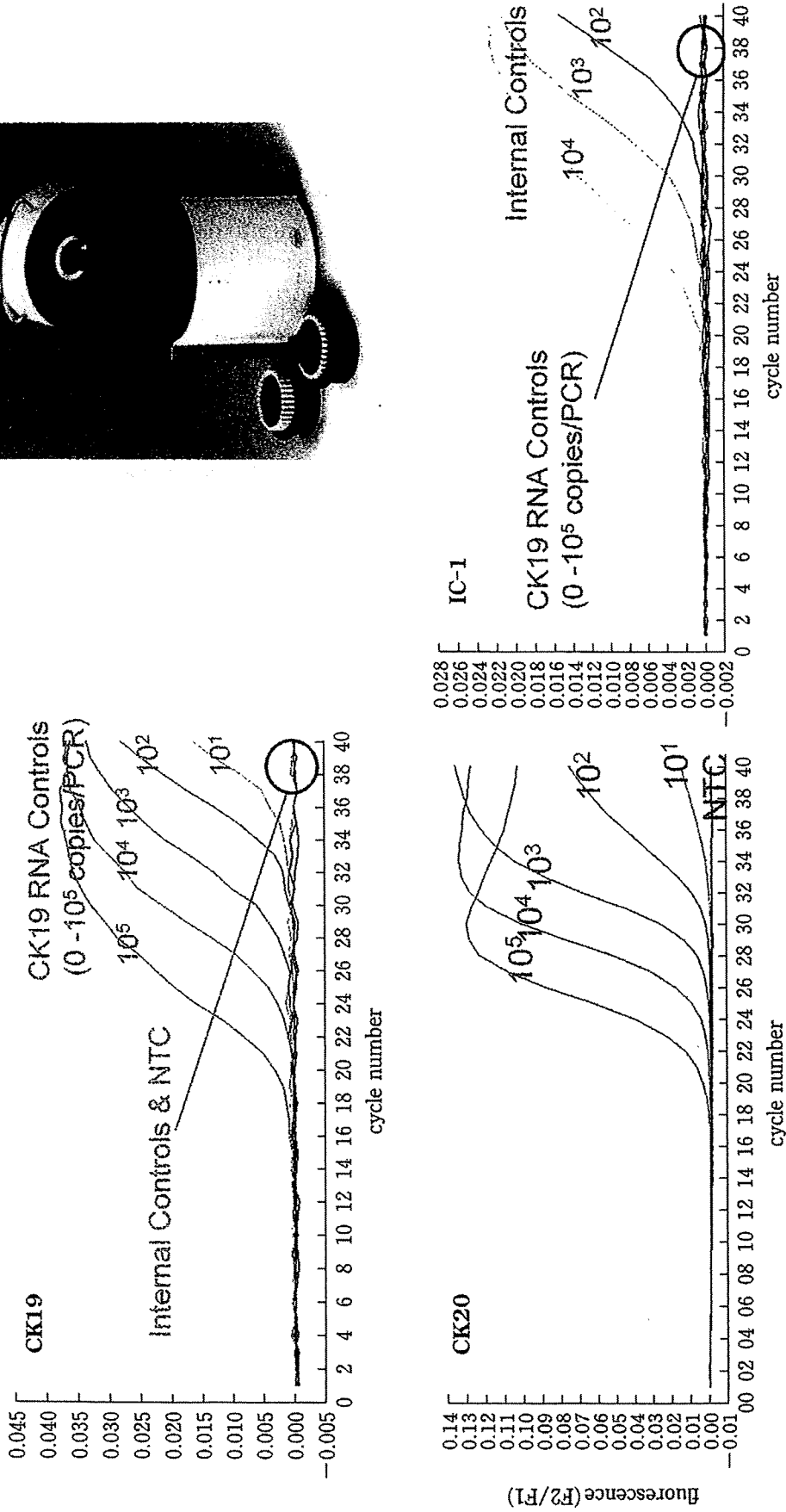
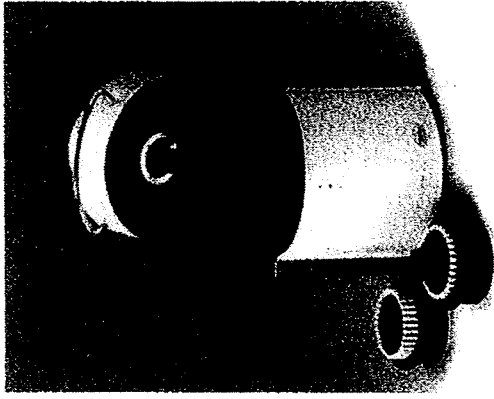


図 3 Real time RT-PCR on LightCycler

■ 文 献

- 1) Morton DL, et al: Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 27: 392-399, 1992.
- 2) Giuliano AE, et al: Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 220: 391-398, 1994.
- 3) Kitagawa Y, et al: The role of the sentinel lymph node in gastrointestinal cancer. *Surg Clin North Am* 80: 1799-1809, 2000.
- 4) Kitagawa Y, et al: Sentinel lymph node mapping in esophageal and gastric cancer. *Cancer Treat Res* 127: 123-139, 2005.
- 5) Takeuchi H, et al: Sentinel lymph node as a target of molecular diagnosis of lymphatic micrometastasis and local immunoresponse to malignant cells. *Cancer Sci* 99: 441-450, 2008.
- 6) Osaka H, et al: Is a lymph node detected by the dye-guided method a true sentinel node in gastric cancer? *Clin Cancer Res* 10: 6912-6918, 2004.
- 7) Arigami T, et al: Evaluation of sentinel node concept in gastric cancer based on lymph node micrometastasis detected by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Ann Surg* 243: 341-347, 2006.
- 8) Matsuda J, et al: Significance of metastasis detected by molecular techniques in sentinel nodes of patients with gastrointestinal cancer. *Ann Surg Oncol* 11: 250S-254S, 2004.

Sentinel node navigation surgery for esophageal cancer

Hiroya Takeuchi, MD · Yuko Kitagawa, MD

Received: 29 January 2008
© The Japanese Association for Thoracic Surgery 2008

Abstract Although sentinel node (SN) biopsy has been utilized to predict regional lymph node metastasis in patients with melanoma and breast cancer, the validity of the SN hypothesis is still controversial in regard to esophageal cancer. SN mapping for esophageal cancer is relatively complicated compared to that for gastric cancer, and the number of early-stage esophageal cancers is limited. Therefore, only a few studies have demonstrated the feasibility and validity of the SN concept for esophageal cancer. Nevertheless, our preliminary studies showed that SN mapping may be feasible in patients with early-stage esophageal cancer. Transthoracic extended esophagectomy with three-field radical lymph node dissection has been recognized as a curative procedure for thoracic esophageal cancer in Japan. However, uniform application of this highly invasive procedure might increase the morbidity and markedly reduce quality of life (QOL) after surgery. Although further accumulation of evidence based on multicenter clinical trials using standard protocol is required, SN mapping would provide significant information on individualized selective lymphadenectomy, which might reduce the morbidity and retain the patients' QOL.

Key words Esophageal cancer · Sentinel node · Radioisotope · Metastasis · Micrometastasis

This review was submitted at the invitation of the editorial committee.

H. Takeuchi (✉) · Y. Kitagawa
Department of Surgery, Keio University School of Medicine,
35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan
Tel. +81-3-3353-1211; Fax +81-3-3355-4707
e-mail: htakeuch@sc.itc.keio.ac.jp

Introduction

The sentinel node (SN) is defined as the lymph node(s) first receiving lymphatic drainage from the site of the primary tumor.¹ The SN is thought to be the first possible site of micrometastasis along the route of lymphatic drainage from the primary lesion. The pathological status of the SN is considered to predict the status of all regional lymph nodes. If the SN is recognizable and negative for cancer metastasis, unnecessary radical lymph node dissection could be avoided.

Initially, SN mapping and biopsy was applied to melanoma and breast cancer and was subsequently extended to many other solid tumors including gastrointestinal (GI) cancers.^{1–6} More efficient and accurate diagnosis of lymphatic spread and prognostic information could be obtained from a small number of lymph nodes by intra-operative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy.^{1,2} The SN concept has changed the approach to the surgical staging of both melanoma and breast cancer, and these techniques can yield patient benefit by avoiding various complications due to unnecessary prophylactic radical lymph node dissection in patients with a negative SN for cancer metastasis.

Esophageal cancer has one of the highest malignant potentials of any tumor.⁷ Lymph node metastasis has been recognized as a powerful indicator for predicting the outcome of esophageal cancer. The specific characteristics of esophageal cancer is multidirectional lymphatic flow from the primary lesion and the widespread and random patterns of lymph node metastasis from cervical to abdominal areas.⁷ In fact, anatomical skip metastases were found in 50%–60% of patients with esophageal cancer. Based on these clinical observations, extended radical esophagectomy with three-field lymph

Table 1 Results of sentinel node biopsy for esophageal cancer

Study	Year	Method	Tumor depth	No. of patients	Detection rate	Sensitivity	Accuracy
Kitagawa ¹²	2000	RI (^{99m} technetium tin colloid)	cT1-T3	27	25/27 (93%)	14/16 (88%)	23/25 (92%)
Kato ¹³	2003	RI (^{99m} technetium rhenium sulfide)	pT1-T4	25	23/25 (92%)	13/15 (87%)	21/23 (91%)
Lamb ¹⁴	2005	RI (^{99m} technetium nanocolloid)	ND	57 ^a	57/57 (100%)	35/37 (95%)	55/57 (96%)
Arima ¹⁵	2006	RI (^{99m} technetium tin colloid)	pT1-T3	19	18/19 (95%)	14/18 (78%)	14/18 (78%)

RI, radioisotope; ND, not determined

^aAdenocarcinoma

node dissection has become recognized as a standard procedure in Japan,^{7,8} although it is one of the most invasive GI surgical procedures. Significantly increased morbidity after the invasive procedures has been reported.^{9–11} To eliminate the necessity of uniform application of highly invasive surgery, SN mapping might play a role in individualizing information to allow modification of the surgical procedure.

Sentinel node mapping for esophageal cancer is relatively complicated compared to that for gastric cancer,⁶ and the number of early-stage esophageal cancers is limited in Western countries. Therefore, only a few studies have demonstrated the feasibility and validity of the SN concept for esophageal cancer, and these early studies were lacking in the number of patients^{6,12–15} (Table 1). We have developed a radio-guided method using technetium-99m tin colloid for SN mapping in esophageal cancer.⁶ Our preliminary studies demonstrated that SN mapping may be feasible in patients with early-stage esophageal cancer.^{6,12} Kato et al.¹³ also reported that lymphatic mapping with technetium-99m colloidal rhenium sulfide in 25 patients with esophageal cancer was useful for identifying the lymphatic basin, and their results were mostly coincident with ours.

Sentinel node mapping procedures

To detect the SNs in esophageal cancer, we perform a radio-guided method rather than the conventional blue dye method as previously described.^{6,12} Technetium-99m tin colloid solution is injected at four quadrants into the submucosal layer around the primary tumor using an endoscopic puncture needle the day before surgery. Preoperative lymphoscintigraphy (Fig. 1) is usually performed 4 h after the tracer injection. The distribution of SNs was widely spread from cervical to abdominal areas.

Intraoperative SN sampling is performed using a handheld gamma probe. Gamma probing is also feasible in thoracoscopic or laparoscopic sampling of a SN. SNs located in the cervical area can be identified by percuta-

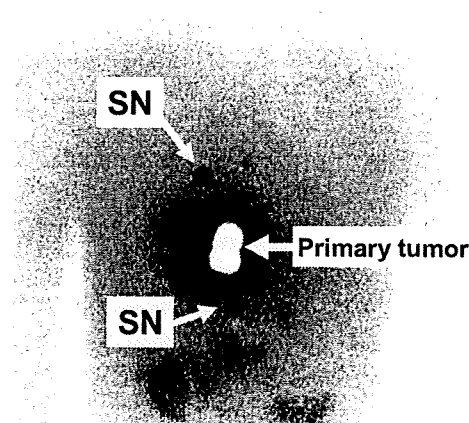


Fig. 1 Preoperative lymphoscintigraphy for thoracic esophageal cancer. SN, sentinel node

neous gamma probing. For abdominal esophageal cancer or adenocarcinoma of the esophagogastric junction, a dual tracer method of the radioactive tracer and blue dye (1% isosulfan blue) is used for SN detection. The blue dye is injected into the submucosal layer of the primary lesion endoscopically right after surgery begins. Subsequently, the tracer passes through the afferent lymphatics, and blue-stained nodes are identified as the SN approximately 15 min after the injection.

Cases with clinically apparent lymph node metastasis are excluded from SN mapping because the purpose of this technique is to identify clinically undetectable lymph node involvement. Clinically T1 and T2 esophageal cancers were suitable targets for SN mapping.^{6,12} On the other hand, clinically T3 or T4 tumors, in which original lymphatic drainage routes might be obstructed and altered, result in a high incidence of false-negative cases.

The dye-guided SN mapping is not suitable for thoracic esophageal cancer because regional lymph nodes of the thoracic esophagus are frequently pigmented by anthracosis. Moreover, real-time observation of the lymphatic route using blue dye is impossible without operative mobilization of the esophagus, but the mobilization

itself may destroy active lymphatic flow from the primary lesion.

Clinical significance of micrometastasis in sentinel nodes

A number of reports have demonstrated underestimation of micrometastasis in regional lymph nodes by conventional pathological diagnosis using hematoxylin and eosin (H&E) staining.¹⁶ However, application of intensive examinations such as immunohistochemistry and reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) for all resected lymph nodes is not practical. A focused examination on SNs may resolve this issue.

Recently, we established highly sensitive real-time RT-PCR system to detect mRNA of cytokeratin (CK) 19, CK20, squamous cell carcinoma (SCC) and carcinoembryonic antigen (CEA). In a preliminary study, two of six patients with thoracic esophageal cancer with histopathology-negative but PCR-positive SNs had postoperative recurrence.¹⁷ We have to accumulate sufficient data to assess the clinical significance of molecular micrometastasis in SNs for early-stage esophageal cancer.

Future application

Transthoracic extended esophagectomy with three-field radical lymph node dissection has been recognized as a curative procedure for thoracic esophageal cancer in Japan.^{7,8} The esophagectomy with three-field lymphadenectomy may be a reasonable procedure because of the wide distribution of SNs and unpredictable metastatic patterns. However, uniform application of this highly invasive procedure might increase the morbidity and markedly reduce quality of life (QOL) after surgery. SN mapping would provide significant information in regard to performing individualized selective lymphadenectomy, which might reduce morbidity and retain QOL.¹⁸ The incidence of Barrett's carcinoma has been increasing in Western countries and more recently in Japan. The individualized extent of resection and lymph node dissection for Barrett's carcinoma based on lymphatic mapping will become an important topic for surgical treatment of upper GI cancer.

The metastatic status of regional lymph nodes is regarded as one of the most important prognostic factors in patients with esophageal cancer. A previous randomized trial showed that postoperative adjuvant chemotherapy with cisplatin and 5-fluorouracil (5-FU) for esophageal cancer had a significant preventive effect on relapse in patients with lymph node metastasis.¹⁹ There-

fore, accurate and sensitive detection of micrometastasis assessed by SN mapping is clinically important for cN0 esophageal cancer to perform adequate adjuvant chemotherapy.

Conclusion

The incidence of lymph node metastasis cannot be ignored in patients with cN0 esophageal cancer. Therefore, the accuracy of SN mapping is indispensable for SN navigation surgery of esophageal cancer. Previous reports suggest that the SN concept seems valid, and radio-guided SN mapping may be feasible for cT1N0 or cT2N0 esophageal cancer. Further accumulation of the evidence based on multicenter clinical trials using a standard protocol is required.

References

1. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992;127:392–9.
2. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994;220:391–401.
3. Morton DL, Thompson JF, Essner R, Stern SL, Nieweg OE, Roses DF, et al. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial; Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. *Ann Surg* 1999;230:453–63.
4. Krag D, Weaver D, Ashikaga T, Moffat F, Klimberg VS, Shriver C, et al. The sentinel node in breast cancer: a multicenter validation study. *N Engl J Med* 1998;339:941–6.
5. Bilchik AJ, Saha S, Wiese D, Stonecypher JA, Wood TF, Sostrin S, et al. Molecular staging of early colon cancer on the basis of sentinel node analysis: a multicenter phase II trial. *J Clin Oncol* 2001;19:1128–36.
6. Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M, Kubota T, Ando N, Watanabe M, et al. The role of the sentinel lymph node in gastrointestinal cancer. *Surg Clin North Am* 2000;80:1799–809.
7. Ando N, Ozawa S, Kitagawa Y, Shinozawa Y, Kitajima M. Improvement in the results of surgical treatment of advanced squamous esophageal carcinoma during 15 consecutive years. *Ann Surg* 2000;232:225–32.
8. Akiyama H, Tsurumaru M, Udagawa H, Kajiyama Y. Radical lymph node dissection for cancer of the thoracic esophagus. *Ann Surg* 1994;220:360–73.
9. Fujita H, Kakegawa T, Yamana H, Shima I, Toh Y, Tomita Y, et al. Mortality and morbidity rates, postoperative course, quality of life, and prognosis after extended radical lymphadenectomy for esophageal cancer: comparison of three-field lymphadenectomy with two-field lymphadenectomy. *Ann Surg* 1995;222:654–62.
10. Kinugasa S, Tachibana M, Yoshimura H, Ueda S, Fujii T, Dhar DK, et al. Postoperative pulmonary complications are associated with worse short- and long-term outcomes after extended esophagectomy. *J Surg Oncol* 2004;88:71–7.