



MRIと超音波が連動した画像で、がんの位置を正確に確認しながらラジオ波の電極を入れる

がんの焼灼の前に、まずセンチネルリンパ節生検(*)が行われた。

「事前の画像診断でがんが乳房にとどまっていると判断されても、センチネルリンパ節にがんが転移していれば、リンパ節の郭清が必要となります」

摘出されたセンチネルリンパ節が術中病理診断に回された。

がんを焼灼する熱によるやけど対策に注力する

この後、電極を刺す前に周囲の正常な組織ががんを焼灼する際に発生する熱や電流そのものによって、やけどしないようにするため、がんの周囲の皮膚側、筋肉側に5パーセントブドウ糖溶液を注入して保護し、いよいよラジオ波によるがんの焼灼が始まった。

ラジオ波焼灼が行われている傍らでは、氷が入った袋で乳房が冷やされている。皮膚のやけどを予防するためだ。

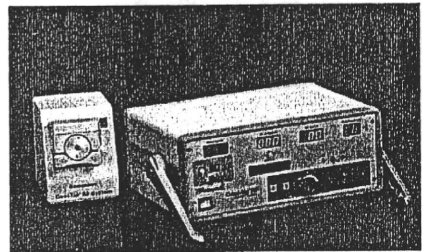
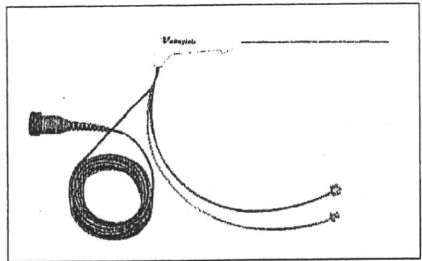
こうして電極を入れ、電流を流し始めれば、通常、7〜8分で焼灼は終了する。がんが焼灼されたかどうかは、電極先端の温度計の計測で60度を超えれば、十分に焼灼されたと判断される。



ラジオ波による焼灼は、表面の皮膚がやけどしないように氷を当てながら行われる

実際、この日の患者さんに対して、焼灼中の電極の先端が捉えた温度は66度だった。

ところが、電極をわずかに1センチ動かしただけで、ラジオ波を発するジェネレータの表示に示された温度は48度にしか上がっていない。これでは十分に焼灼できていないかもしれない。焼灼しきれなかったがんを乳房に残すようなことがあつては、再発のリスクを見逃ごすことになってしまう。「念には念を入れて、焼灼しなければ」と、木下さんが言うように、再度、電極を刺して、焼灼が行われた。すると、次は3分とたたず「ブレイクしました」と、ジェネレータ脇に陣取るスタッフが



ラジオ波を出す電極(上)。ラジオ波を発生させるジェネレータ(下)に接続して使用する

声を上げる。

「ブレイク」とは、刺した電極が捉えた電気抵抗が一定の数値を超えたことで、ラジオ波の発生が自動的に止められることをいう。組織がラジオ波で焼灼されると、細胞から水分が失われ、電気抵抗が高まる。

電気抵抗の高まりを捉えることで、十分にがんが焼灼されると判断されてブレイクが起こるのだが、2度目とはいえ、3分とたたずにブレイクするのは早すぎる。

「患者さんの体内に流す電流は、太腿に貼った対極板に逃がすようになっています。ただし、患者さんの脂肪が多い場合などは全身の電極が高くなり、対極板

を太腿に貼っていても、十分にがんを焼灼できていなくてもブレイクになってしまうことがあります。またこの患者さんは、病変が小さかったために早くブレイクしてしまったものと考えられます」

そこで、脂肪により電気抵抗が高まるのを抑えるため、乳房により近いところに対極板を貼り直すことがあるが、この日の患者さんに対しては背中に対極板を貼り直して、再度、電極を入れ、焼灼が続けられた。

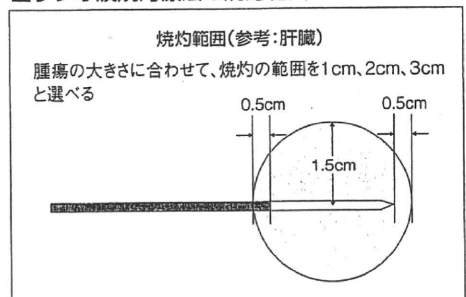
焼灼前に病理検査に回されたセンチネルリンパ節生検の結果も、陰性であることが知らされ、リンパ節の郭清を行うことなく、治療は終了した。

残るのはほんのわずかな傷のみ

こうして3度の焼灼を行ってもなお、ラジオ波焼灼療法による乳房の傷は、電極を入れる際に切開した1カ所と、センチネルリンパ節を取り出した際の傷だけ。乳房の皮膚がいくぶん赤みを帯びたような感じで、傷らしい傷は見られない。

今でこそ乳房を温存する手術が一般化しているとはいえ、そ

■ラジオ波焼灼療法の焼灼範囲



乳がんを用いている電極は、図の白色部分から半径1.5センチで焼灼することができる

れでもメスで切除する以上、どうしても傷は残ってしまう。これに対して、ラジオ波焼灼療法は乳房にほとんど傷を残さないのだから、理想的な乳がん治療といえるだろう。

ラジオ波焼灼療法が適応となる乳がんとは？ 木下さんは2006年6月より、同センターの倫理審査委員会の承認の下、乳がんに対してラジオ波焼灼療法を実施した上で、その部位を摘出し、焼灼しきれなかったがんの有無を確かめる臨床研究を実施した。

「原理的にはラジオ波を発生する電極の先端部分から半径1.5センチの範囲内を焼灼するこ

とができるので、臨床研究では腫瘍径3センチまでの乳がんを適応としました。ただし、ラジオ波での焼灼後、がんを切除し、確実に焼灼できているかを確かめると、3センチ以下の症例の一部に不完全焼灼が認められ、2センチ以下であればなんとか焼灼できることがわかりました」

適応は腫瘍径が1センチ以下の限局性の乳がん

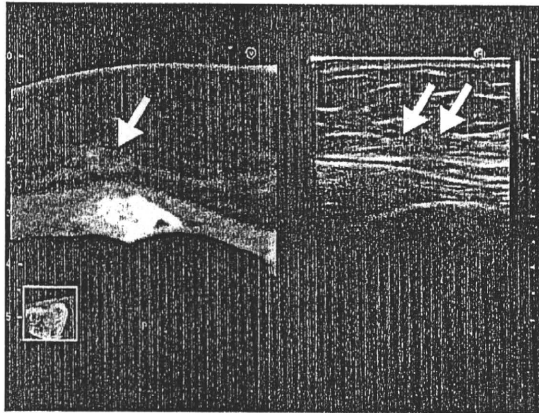
ただ、画像診断で2センチ以下と判断されても、切除してみると3センチを超えるがんであることも少なくない。そのため木下さんは、ラジオ波焼灼療法の適応を厳しく絞り、腫瘍径1センチ以下で、腫瘍外にがん細胞が広がっていないがんに限ることにした。

1センチ以下という、早期で発見されなければ適応とならない。一部の医療機関では3センチ以上の乳がんに対してもラジオ波焼灼療法を実施している医療機関もあるが、木下さんらの臨床研究の結果を見れば、再発リスクを極力避けるためには適応条件を厳しくするのも致し方ないのかもしれない。

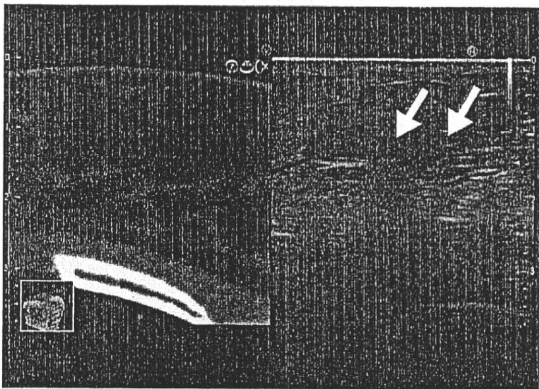
乳がん総力特集

「傷をつけない治療」乳がんのラジオ波焼灼療法、実際の効果は？

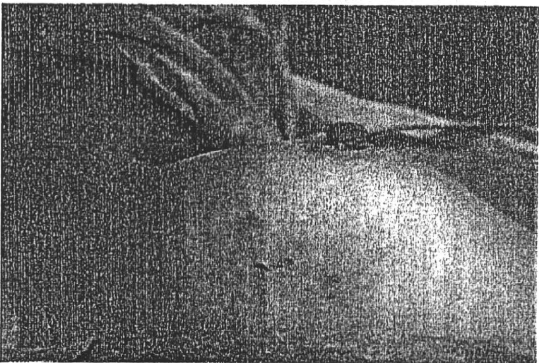
■ラジオ波焼灼療法の効果



焼灼前 矢印で指しているのががんの部分



焼灼後 ラジオ波によってがんが焼かれて、消えたのがわかる



ラジオ波の電極を入れる傷。ほかに、脇の部分にセンチネルリンパ節を取り出すための1センチほどの傷がつく

1センチ以下に限られるといっても、乳房をほとんど傷つけることがないなら、多くの乳がん患者が受けてみたいと思うかもしれないが、過信は禁物だと木下さんは指摘する。

「確かにラジオ波焼灼療法は、乳房摘出術に比べて、乳房の変形がほとんどない、理想的な治療法といえるかもしれませんが。しかし、術中に迅速病理検査を実施しながら、がんが見つければ切除範囲を広げるという修正ができる乳房温存手術と比べると、ラジオ波焼灼療法は不確実性が伴うと認識したほうがいい

「長期的な治療成績は今後の研究課題」

手術であっても、再発するリスクを考慮し、術後、放射線治療を実施したり、薬物療法が行われる。当然、ラジオ波焼灼療法でも、同様に放射線治療や薬物療法が行われるが、適応となる1センチ以下の乳がん自体が少ないため、現時点で手術との再発率の比較検討を実施するまでには至っていない。

「現在、乳がんに対するラジオ波焼灼療法は高度医療に認められ、国立がん研究センター中央病院を含めて6施設（国立がん研究センター東病院、国立病院機構四国がんセンター、千葉県がんセンター、群馬県立がんセンター）、国立病院機構大阪医療センター）で実施しています。ここで症例数が積み重ねられ、その後の再発の様子を追跡し、再発率などが明らかになってくれば、保険適応にしていきたい治療法なのかはつきりするでしょう。この療法が普及させられるかどうかは、今後の治療成績次第ですね」

と、乳がんに対するラジオ波焼灼療法の将来性について、木下さんは慎重に説明する。実際、乳がん細胞を乳房に残すリスクは避けたいと考え、従来の乳房温存療法を希望する患者さんもいるという。

高度医療であるため、ラジオ波焼灼療法に関しては全額負担となり、国立がん研究センターの場合、治療費は14万7000円と高額である。

重篤な合併症はないものの、熱凝固させたがんが皮膚を破って出てきて、潰瘍ができてしまった症例も報告されている。皮膚のやけどを防いでいるとはいえ、ラジオ波により生じた熱が皮膚に及ぶほか、対極板を貼りつけたところでやけどが起こることもある。また、患者によっては焼灼したがんが体内になかなか吸収されずに、しこりとなって乳房の中に残ることもある。

ラジオ波焼灼療法は、乳房の変形を最低限に抑えてがん治療ができる点で、多くの乳がん患者さんに福音をもたらすと期待されるが、安易に飛びつくことなく、長期的な治療成績は未だ不明であることや、合併症もあることも理解した上で受けていただきたい。

⑤

Lecture

解説



乳がん外科治療におけるセンチネルリンパ節生検の意義：これまでの報告と今後の課題*

木下 貴之**

Key Words : breast cancer, sentinel lymph node biopsy, lymphatic mapping

はじめに

Halsted法に始まる近代的な乳がんの外科手術は、胸筋切除から胸筋温存へ、乳房全切除から乳房温存へと変遷してきた。腋窩リンパ節転移の治療として腋窩リンパ節郭清(ALND)は標準的の外科治療として行われてきた¹⁾。1990年代前半から、乳がんにおけるセンチネルリンパ節生検(SNB)は欧米を中心にその同定法と診断法について検証が進められてきた。センチネルリンパ節(SN)は腫瘍からのリンパ流を直接受けるリンパ節と定義される(図1)。SNに組織学的に転移を認めなければ、ALNDを行わずにSNBのみの腋窩リンパ節非郭清が可能となるという概念である。今日でもALNDは早期乳がん以外の標準的な外科治療に位置づけられる。ALNDによる利点は、①がんの局所コントロールが可能になること、②リンパ節転移は最も重要な予後因子であり正確な病期診断ができること²⁾、③リンパ節転移の有無によって術後の補助化学内分分泌療法が選択されること³⁾、などが挙げられる。反面、最近では組織学的リンパ節転移陰性であっても腫瘍本体の悪性度などによって補助化学内分分泌療法は選択されること⁴⁾や早期乳がん症例での4人中3人に実際には腋窩リンパ節転移がないという事実も明らかである。また、腋窩リンパ節郭清に伴う術後の患側上肢の後遺症(浮腫、疼痛、挙上障害、知覚障害、だるさなど)は、今日でも対症療法しかなく患者のQOLを著しく低下させている。

乳がんにおけるSNBは、1993年にKragが放射性薬剤を用いて²⁾、1994年にGiulianoが色素法を用いて報告して以来³⁾、この仮説の正当性、信頼性を検証する臨床研究が進められてきた。SNBにおけるfeasibility studyの代表的な結果を示す(表1)⁴⁾⁻¹⁰⁾。90%以上の同定率と95%以上の正診率、さらに腋窩リンパ節転移陽性症例の約半数がSN転移のみであるという事実から、この仮説は実証されたものと考えられ、本邦においても急速に普及してきた。現在、臨床的リンパ節転移陰性乳がんを対象としてALNDとSNBとを比較する第III相臨床比較試験(ACOSOG-Z0010, -Z0011, NSABP-B32, EORTC10981)が実施されておりその結果が逐次報告され、標準的手技としての確立を目指しつつある。本邦においても日本乳癌学会が主体となり保険収載を目指した多施設共同試験「臨床的腋窩リンパ節転移陰性の原発性乳癌に対するSNBの安全性に関する多施設共同臨床試験」が施行され、2010年春に保険診療として認められた。SNBは一般診療として実施されることとなった。

SNBの現状

1990年代後半からN0乳がんを対象としたSNBによる腋窩治療の個別化に関する試験が行われている(表2)¹¹⁾⁻¹⁹⁾。多くの試験で症例登録を終了しているが、予後に関する報告は少ない。これは①対象がN0乳がん予後が良好なこと、②乳がんは集学的治療標準であり、原発巣の悪性

* Current situation and prospect of sentinel lymph node biopsy for breast cancer patients.

** Takayuki KINOSHITA, M.D.: 国立がん研究センター中央病院乳腺科(〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1); Department of Breast Surgery, National Cancer Center Hospital, Tokyo 104-0045, JAPAN

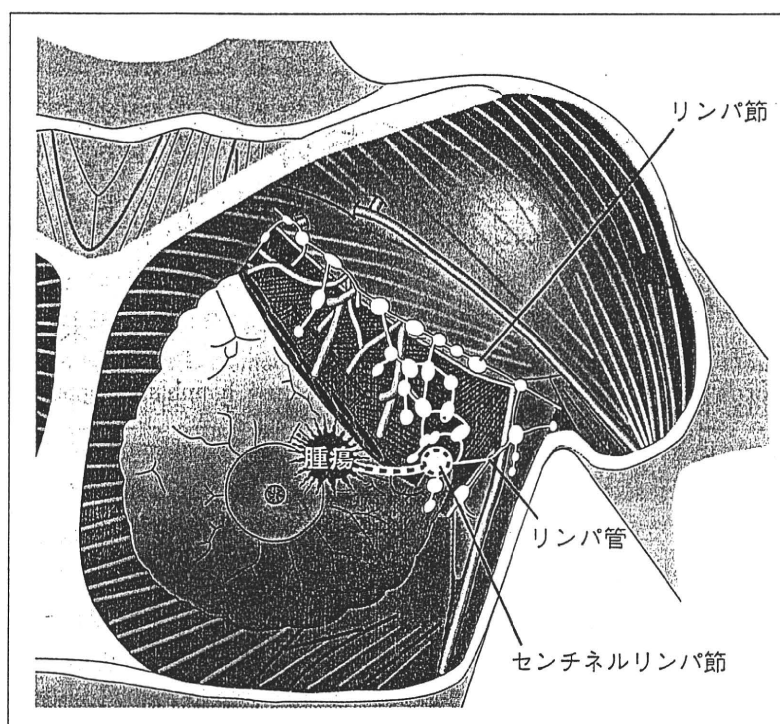


図1 センチネルリンパ節の概念

乳房の腫瘍からリンパ管を経て、最初に到達するリンパ節をセンチネルリンパ節という。

表1 乳がんセンチネルリンパ節生検のfeasibility study

報告者	年	方法	患者数	同定率 (%)	正診率 (%)	敏感度 (%)	センチネルのみリンパ節転移 (%)
Giuliano ⁴⁾	1997	色素法	107	93	100	100	67
Galimberti ⁵⁾	1998	RI法	241	99	98	95	36
Borgstein ⁶⁾	1998	RI法	130	94	99	98	59
Cox ⁷⁾	1998	色素+RI法	466	94	100	99	—
Krag ⁸⁾	1998	RI法	443	93	97	89	53
Veronesi ⁹⁾	1999	RI法	376	99	96	93	44
Hill ¹⁰⁾	1999	色素+RI法	492	93	95	89	61
Imoto	1999	色素+RI法	56	96	98	96	48

表2 センチネルリンパ節生検に関する第III相臨床試験

試験名	Primary endpoint	登録状況	予後に関する報告
NSABP B32 ¹¹⁾	pN0(sn)での郭清の意義	5,611例 終了	未報告
ACOSOG Z0010 ¹²⁾	微小転移の診断と意義	5,539例 終了	未報告
EIO (Milan) ¹³⁾¹⁴⁾	pN0(sn)での郭清の意義	532例 終了	pN0と同等のDFS, OS
ALMANAC ¹⁵⁾	術後後遺症とQOL評価	1,031例 終了	SNBによるQOL改善
Cambridge ¹⁶⁾	術後後遺症とQOL評価	298例 終了	SNBによるQOL改善
ACOSOG Z0011 ¹⁷⁾	pN1(sn)での郭清の意義	889例 中止	未報告
EORTC10981-22023 (AMAROS) ¹⁸⁾	pN1(sn)での郭清対照射	登録中	—
IBCSG 23-01 ¹⁹⁾	pNmi(sn)での郭清の意義	登録中	—

度に応じた全身治療が施行されて再発が抑制されていること、③腋窩治療および再発単独が予後に与える影響が少ないことなどが理由として考えられる。また1970年代に行われた腋窩リン

パ節郭清の有無を比較したNational Surgical Adjuvant Bowel and Breast Project (NSABP) B04からは、腋窩郭清を省略した群では30%近い腋窩リンパ節転移が予測されたにもかかわらず腋窩

リンパ節再発は18%でありリンパ節転移が必ずしも臨床的に顕性化しないことが報告されている²⁰⁾。

実臨床ではSNに基づいた腋窩治療の個別化が進んでいる。SN転移陰性例は腋窩リンパ節非郭清(腋窩温存)が選択され、SN転移陽性例では局所コントロールとリンパ節転移状況の確認のため腋窩郭清が行われている。SN転移陰性乳がんにおいて腋窩リンパ節郭清を省略した場合の腋窩リンパ節再発は年率0.3%と推計された²¹⁾。一方、SN転移陽性乳がんの38~67%は非SN転移陰性であり、SN転移陰性乳がんと同様に腋窩郭清の意義は小さい。そこで腫瘍の性状やSNの転移状況によって、非SNの転移を予測するスコアやノモグラムも開発、検討されてきているが実臨床での評価は不十分である。

2002年International Union Against Cancer (UICC)第6版から、微小なリンパ節転移について、その最大径が0.2mm以下のisolated tumor cells (ITC), 0.2mmから2mm以下のmicrometastases (MIC), 2mmより大きいmacrometastases (MAC)に分類された。ITCは転移形成能に乏しく病理学的リンパ節転移陰性(n0)に分類され、MICはMACと同様に転移陽性(n+)と分類され腋窩郭清が推奨された。その理由としてSNにMICを認めたpN1mi(sn)乳がんの6%から57%で非SNに転移が認められたと報告されていたからである²²⁾。しかし、コンセンサスやエビデンスがないにもかかわらず実臨床ではITCとMIC例での腋窩温存が始められつつある。今日では腫瘍本体の悪性度によっても薬物療法の適応が決定されるため、ITCやpN1mi(sn)乳がんにおける腋窩郭清の意義は小さいとの判断からであろう。実臨床ではSNBの適応は早期乳がんからさらなる適応拡大が試みられてきている。

SNBの長期予後への影響

NSABP B04で、腋窩郭清は生存率の向上に寄与しないとされた²⁰⁾。これよりn0症例にSNBで郭清を省略しても生存率には影響はないと考えられる。しかし、同様の試験のメタアナリシスでは、腋窩郭清自体による5.4%の生存率向上への寄与が報告され²³⁾、さらには摘出リンパ節個数

に応じて生存率が向上するという報告もあり²⁴⁾、いまだ腋窩郭清、腋窩再発の意義に関しては検証していく必要がある。Milan trialではSNBは生存率に影響を及ぼさないことを報告したが、症例数が不十分であった。SNBの長期予後に関しては、より大規模のNSABP B32の結果が待たれる。

SN微小転移例[pN1mi(sn), pN0[i+](sn)]における問題点

SNに転移を認める場合、腋窩リンパ節郭清を行うのが標準である。しかし、SN転移を認める場合でもその38~67%の患者ではSNのみの転移で非SNへの転移を認めない²⁵⁾。

このような患者には腋窩リンパ節郭清の省略が可能なることから、それを特定する研究が行われている。当初、腫瘍やSN転移径の大ききなどが非SN転移と関係するとされたが、その後の検討でそれらの因子を用いても非SNの13~26%に転移が認められることが報告された。この検討では、それ以外に腫瘍の脈管浸潤や被膜外浸潤などの因子を考慮しても非SN転移の予測は困難であるとされた。免疫染色で検出されるような0.2mm以下の孤立性がん細胞をITCと呼ぶが、SNにITCを認める患者でも非SNに5~14%の転移を認めると報告されている²⁶⁾²⁷⁾。SNにMICとITCを認める患者の非SN転移陽性率を表3にまとめた²⁸⁾。これらの報告の中に非SNにマクロメタを認める患者を少なからず認めることは局所コントロールばかりでなく、全身治療決定のためのStagingの観点からも問題となる。

2009年American Society of Clinical Oncology (ASCO)総会でのオランダMIRROR studyからの報告を表4にまとめた。同スタディグループのレトロスペクティブな解析でSNにITCやMICを認め、腋窩治療(郭清あるいは照射)を追加していないグループでは腋窩再発のリスクが高いと報告した²⁹⁾。さらに同スタディグループは、比較的悪性度の低い早期乳がん患者でN0とSNにITCやMICを認める患者群の予後を比較した。術後補助療法を受けていないITC/MIC乳がん患者はN0患者と比較して予後が不良であることが示された。なお、ITCとMICでは予後に差が認められ

表3 SLNにITC, 微小転移(MIC)を認める場合の非SLN転移率

報告者	年度	ITC(+) 患者数	非SLN陽性 患者数	%	MIC(+) 患者数	非SLN陽性 患者数	%
Calhoun	2005	61	3 (1 macro, 2 MIC)	4.9	—	—	—
Gipponi	2006	—	—	—	116	16 (10 macro, 6 MIC)	13.8
van Rijk	2006	54	4 (2 macro, 2 MIC)	7.4	106	20 (16 macro, 4 MIC)	18.9
Houvenaeghel	2006	187	30	16	301	43	14.3
Cserni	2004	347	38 (H&E) and 10 (IHC)	11~14	789	156 (H&E) and 39 (IHC)	20~25
Cox	2008	107	10 (9 macro, 1 MIC)	9	97	15 (14 macro, 1 MIC)	16
Reed	2008	13	0	0	41	11 (7macro, 4 MIC)	27

(文献²⁸⁾より改変)

表4 MIRROR studyにおけるSN転移単別の腋窩再発リスク

	腋窩治療	患者数	5年腋窩再発率	HR	95% CI
pN0(sn)	郭清	125	1.6%	1.00	
pN0(sn)	SNBのみ	732	2.3%	1.08	0.23~4.98
pN0(i+)(sn)	郭清または照射	450	0.9%	1.00	
pN0(i+)(sn)	SNBのみ	345	2.0%	2.39	0.67~8.48
pN1mi(sn)	郭清または照射	887	1.0%	1.00	
pN1mi(sn)	SNBのみ	141	5.0%	4.39	1.46~13.24

(文献²⁹⁾より改変)

ていない³⁰⁾。一方, HansenらはN0患者とSNにITCやMICを認める患者群では予後に差を認めないと報告している³¹⁾。ただし, N0の患者の3人に1人が補助薬物療法を受けていないのに対して, ITC/MIC群では90%以上の患者が術後補助薬物療法を受けていることが大きく影響していると考えられる。すなわち, 両報告からITC/MIC群に対しても全身的治療を追加することによりN0と同等の予後が期待できると考察できる。いずれにしても, pN1mi患者に対しては他の因子を考慮しない限り, 局所治療として追加腋窩郭清が適切な治療とされる。

術前化学療法後のSNBにおける 問題点と成績

術前化学療法後のSNBに関してはいまだ十分なエビデンスは得られていない。これまでの報告例はいずれも単一施設での少数例の結果であり, 大規模な臨床試験は行われていない。早期乳がん患者に対するSNBと比較すると, 術前化学療法後の症例の問題点は, ①腫瘍径の大きな患者が対象になる, ②腋窩リンパ節転移の存在するまたは, 存在した患者がより多く含まれる, ③術前化学療法が腫瘍-リンパ管-リンパ節の

流れに影響を与える可能性がある, ④術前化学療法は転移陽性だったSNと非SNに同程度の効果があるのか? ⑤術前化学療法後のn0の意義がまだ明らかになっていない。などが挙げられる。これらの要因が術前化学療法のSNBの妥当性を検証するうえで問題となってきた。

術前化学療法後のSNBのこれまで報告されてきた単一施設の成績を表5にまとめた^{32)~39)}。症例数は15例から51例といずれも少数例での報告となっている。腫瘍径は平均で3.3cmから5.5cmで, T1からT4までを対象とし, また, リンパ節転移が認められる患者も含めた試験も報告されている。これらのSNの同定率は84%から93%程度で, 早期乳がんの成績よりやや低い程度である。偽陰性率は, 0%から33%とばらつきを認める。これら7施設の報告をまとめると全体としての同定率は88.7%で, 偽陰性率は5.3%である。ただし, 偽陰性率に関してはNasonらの15例での33%という報告と少数例を対象にした0%という報告を除けば10%から15%程度という成績が臨床的にも妥当なのではないかと推測する。

術前化学療法後のSNBのこれまでに報告された多施設の成績を表6にまとめた^{40)~43)}。MamounasらはNational Surgical Adjuvant Breast

表 5 術前化学療法後センチネルリンパ節生検—単施設の成績—

	症例数	病期	平均腫瘍径(cm)	同定数(%)	偽陰性数(%)
Breslin, et al. (2000) ⁶⁾	51	II or III	5.0	43 (84.3)	3 (12)
Miller, et al. (2002) ⁷⁾	35	T1~3, N0	3.5	30 (86.0)	0 (0)
Stearns, et al. (2000) ⁸⁾	34	T3~4, any N	5.0	29 (85.0)	3 (14)
Haid, et al. (2001) ⁹⁾	33	T1~3, any N	3.3	29 (88.0)	0 (0)
Julian, et al. (2002) ¹⁰⁾	31	I or II	NS	29 (93.5)	0 (0)
Tafra, et al. (2001) ¹¹⁾	29	Any T, N0	NS	27 (93.0)	0 (0)
Nason, et al. (2000) ¹²⁾	15	T2~4, N0	NS	13 (87.0)	3 (33)
Shimazu, et al. (2004) ¹³⁾	47	II or III	4.5	44 (93.6)	4 (12)
Kinoshita, et al. (2006) ¹⁴⁾	77	T2~4, any N	4.8	72 (93.5)	3 (11)
Lee, et al. (2007) ¹⁵⁾	219	N+	3.4	179 (77.6)	7 (6)
Shen, et al. (2007) ¹⁶⁾	69	T1~4, N+	4.0	64 (92.8)	10 (25)
Gimbergues, et al. (2008) ¹⁷⁾	129	T1~3, any N	4.0	121 (93.8)	8 (14)

表 6 術前化学療法後センチネルリンパ節生検—多施設の成績—

	症例数	手技(色素/RI)	同定率(%)	偽陰性率(%)
Mamounas, et al. ¹⁴⁾ (NSABP B-27)	428	Blue dye	78	14
		Radiocolloid	89	5
		Combination	88	9
		All techniques	85	11
Krag, et al. ¹⁵⁾	443	Radiocolloid	93	11
Tafra, et al. ¹⁶⁾	529	Combination	87	13
McMaster, et al. ¹⁷⁾	806	Blue dye or radiocolloid	86	12
		Combination	90	6
		All techniques	88	7

and Bowel Project randomized trial (NSABP B-27) のAC 4 サイクルにdocetaxelを加えた術前化学療法後にSNBが試みられた428例の成績を報告している⁴⁰⁾。試験が多施設にわたるためSNB手技はまちまちであるが、全体としての同定率は85%、偽陰性率は11%という結果である。その他の3つの多施設からの報告も同定率が90%前後、偽陰性率が10%前後と早期乳がんに対するSNBの成績と遜色のない結果が報告されている。

国立がん研究センターの成績

当院では、早期乳がんに対するSNBのfeasibility studyを終了後、2003年7月から術前化学療法後の乳がん患者に対するSNBのfeasibility studyを開始し、その成績を報告してきた。本試験は単一の外科医、手技により実施された。

腫瘍径3 cm以上あるいは腋窩リンパ節転移を認める乳がん患者を対象に術前化学療法として①FEC/ACを4サイクル、②weekly paclitaxelを12サイクルを組み合わせたものを原則とし、高齢者にのみ②だけ実施した。術前化学療法後

に原発巣がPR以上の効果を示し、かつ、治療後腋窩リンパ節転移が陰性であった88例をSNBの対象とした。これらの化学療法前の平均腫瘍径は4.9cm(2.5cmから12.0cm)で、T4が6例、治療前に明らかにリンパ節転移を認めた42例も対象となっている(表7)。SNBは、色素-RI法を用いたものが80例で、色素法単独が8例となっている。結果として、SNが同定できた症例は80例で、同定率は92%となる。これらの症例の、SNと非SNの転移の有無をまとめたものを表8に示す。SNに転移を認めず、非SNに転移を認めたものは3例で偽陰性率は9%であり、全体として96%の症例においてSNが腋窩リンパ節全体の状況を正確に反映していることが証明された。臨床的諸因子とSNの同定率との関連を検討したが、治療前のリンパ節転移の有無、臨床的治療効果、病理組織学的治療効果は関連せず、唯一、T4d(炎症性乳がん)症例のみがSNの同定を困難にしていることが明らかとなった。一方、SNが同定できた症例中、偽陰性になった症例は3例のみであったため、術前化学療法も含めてこれらに影響を

表7 患者背景

症例数		症例数	
平均年齢(歳)	50.2(27~77)	術前化学療法	
平均腫瘍径(cm)*	4.91(2.7~12)	FEC plus paclitaxel	85(97%)
T分類*		paclitaxel alone	3(3%)
T2	54(61%)	臨床的腫瘍効果	
T3	28(32%)	CR	45(51%)
T4	6(7%)	PR	35(40%)
N分類*		NC	8(9%)
N0	46(52%)	病理組織学的腫瘍効果	
N1	34(39%)	pCR	34(39%)
N2	8(9%)	pINV	54(61%)
組織型		リンパ節転移	
浸潤性乳管がん	86(98%)	陰性	38(43%)
浸潤性小葉がん	2(2%)	陽性	50(57%)

* 化学療法前. pCR : pathological complete response, pINV : pathological invasive

表8 術前化学療法後センチネルリンパ節生検の成績

センチネル リンパ節の転移	非センチネルリンパ節の転移	
	陽性	陰性
陽性	23	20
陰性	4	64

False negative rate 8.5%, overall accuracy 96%

与える因子は明らかではなかった。

当院での術前化学療法後SNBの結果から、炎症性乳がん以外の術前化学療法が著効した症例において、SNBは十分に安全に実施できると結論づけられた。同定率は92%、偽陰性率は9%で、早期乳がんにおける成績と遜色のないものとなった。海外における最近の報告や多施設からの報告は、当院の結果を支持するものである。一方、2005年度にJournal of Clinical Oncology (JCO)に発表されたASCOのガイドラインでは、術前化学療法後のSNBに関して、①技術的には安全に実施することはできる、②術前化学療法後のn0の意義が明らかではない、③これらの症例では、正確な腋窩リンパ節の転移状況の把握が治療方針を決める際に重要であること、④エビデンスが十分でない、ことより推奨されていない。正確な腋窩リンパ節の情報を得るという目的からするとSNBを術前化学療法前に施行し、術前化学療法後に実施する場合でもN0症例に限られるべきだと強調している⁴⁾。

当院での成績から、術前化学療法後症例でもSNBは、安全に実施できることが確認された。

術前化学療法が著効した乳がん症例(cCR)では、腋窩リンパ節陽性率が25%程度になることから術前化学療法後にSNBを実施することに意義があるものと考えられる。ただし、本対象に局所進行乳がんも含まれることを十分に認識し、その適応に関しては多施設前向き試験にて結論を出すことが望ましい。

おわりに

乳がん診療におけるセンチネルリンパ節生検は、外科手術の個別化、低侵襲化という流れの中で、確固たる地位を築きつつあり、今日では腫瘍外科医にとっては、センチネルリンパ節生検の手技の習得は必須である。腋窩Stagingのための手技は、腋窩リンパ節郭清からセンチネルリンパ節生検へと完全に移行しつつある。今後は、センチネルリンパ節の分子生物学的手法を併用した詳細な病理診断の結果に対応した新たな乳がん治療体系を腫瘍内科医および放射線治療医と築いていくことが急務であると考えられる。

文 献

- 1) Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, et al. Meeting highlights : international consensus panel on treatment of primary breast cancer. J Clin Oncol 2001 ; 19 : 3817.
- 2) Krag DN, Weaver DL, Alex JC, et al. Surgical resection and radiolocalization of sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. Surg Oncol

- 1993 ; 2 : 335.
- 3) Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994 ; 220 : 391.
 - 4) Giuliano AE, Jones RC, Brennan M, et al. Sentinel lymphadenectomy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1997 ; 15 : 2345.
 - 5) Galimberti V. Can sentinel node biopsy avoid axillary dissection in clinically node-negative breast cancer patients? *Breast* 1998 ; 7 : 8.
 - 6) Borgstein PJ, Pijpers R, Comans EF, et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer ; guidelines and pitfall of lymphoscintigraphy and gamma probe detection. *J Am Coll Surg* 1998 ; 186 : 275.
 - 7) Cox CE, Pendas S, Cox JM, et al. Guidelines for sentinel node biopsy and lymphatic mapping of patients with breast cancer. *Ann Surg* 1998 ; 227 : 645.
 - 8) Krag D, Weaver D, Ashikaga T, et al. The sentinel node in breast cancer ; a multicenter validation study. *N Engl J Med* 1998 ; 339 : 941.
 - 9) Veronesi U, Paganelli G, Viale G, et al. Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer ; results in a large series. *J Natl Cancer Inst* 1999 ; 91 : 368.
 - 10) Hill AD, Tran KN, Akhurst T, et al. Lessons learned from 500 cases of lymphatic mapping for breast cancer. *Ann Surg* 1999 ; 229 : 528.
 - 11) Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, et al. Technical outcomes of sentinel-node resection and conventional axillary-lymph node dissection in patients with clinically node-negative breast cancer : results from the NSABP B-32 randomised phase III trial. *Lancet Oncol* 2007 ; 8 : 881.
 - 12) Ross MI. Sentinel node dissection in early-stage breast cancer : ongoing prospective randomized trials in the USA. *Ann Surg Oncol* 2001 ; 8(9 Suppl) : 77S.
 - 13) Veronesi U, Paganelli G, Viale G, et al. A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 546.
 - 14) Veronesi U, Paganelli G, Viale G, et al. Sentinel-lymph-node biopsy as a staging procedure in breast cancer : update of randomized controlled study. *Lancet Oncol* 2006 ; 7 : 983.
 - 15) Mansel RE, Fallowfield L, Kissin M, et al. Randomized multicenter trial of sentinel node biopsy versus standard axillary treatment in operable breast cancer : the ALMANAC Trial. *J Natl Cancer Inst* 2006 ; 98 : 599.
 - 16) Purushotham AD, Upponi S, Klevesath MB, et al. Morbidity after sentinel node biopsy in primary breast cancer : results from a randomized controlled trial. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 4312.
 - 17) Grube BJ, Giuliano AE. Observation of the breast cancer patients with a tumor-positive sentinel ACOSOG Z011 trial. *Semin Surg Oncol* 2001 ; 20 : 230.
 - 18) Hurkmans CW, Borger JH, Rutgers EJ, et al. Quality assurance of axillary radiotherapy in EORTC AMOROS trial 10981/22023 : the dummy run. *Radiother Oncol* 2003 ; 68 : 233.
 - 19) Mansel RE, Goyal A. European studies on breast lymphatic mapping. *Semin Oncol* 2004 ; 31 : 304.
 - 20) Fisher B, Redmond C, Fisher ER, et al. Ten-year results of a randomized clinical trial comparing radical mastectomy and total mastectomy with or without radiation. *N Engl J Med* 1985 ; 312 : 674.
 - 21) Rutgers EJ. Sentinel node biopsy : interpretation and management of patients with immunohistochemistry-positive sentinel nodes and those with micrometastases. *J Clin Oncol* 2008 ; 26 : 698.
 - 22) Cserni G, Gregori D, Merletti F, et al. Meta-analysis of non-sentinel node metastases associated with micrometastatic sentinel nodes in breast cancer. *Br J Surg* 2004 ; 91 : 1245.
 - 23) Orr RK. The impact of prophylactic axillary node dissection on breast cancer survival- a Bayesian meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 1999 ; 6 : 109.
 - 24) Fisher B, Slack NH. Number of lymph nodes examined and the prognosis of breast carcinoma. *Surg Gynecol Obstet* 1970 ; 131 : 79.
 - 25) Cox CE, Bass SS, McCann CR, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in patients with breast cancer. *Ann Rev Med* 2000 ; 51 : 525.
 - 26) McCready DR, Yong WS, Ng AK, et al. Influence of

- the new AJCC breast cancer staging system on sentinel lymph node positivity and false negative rates. *J Natl Cancer Inst* 2004 ; 96 : 873.
- 27) Calhoun KE, Hansen NM, Turner RR, et al. Nonsentinel node metastases in breast cancer patients with isolated tumor cells in the sentinel node : implications for completion axillary node dissection. *Am J Surg* 2005 ; 190 : 588.
- 28) Reed J, Rosman M, Verbanac KM, et al. Prognostic implications of isolated tumor cells and micrometastases in sentinel nodes of patients with invasive breast cancer : 10-year analysis of patients enrolled in prospective East Carolina University/Ann Arundel Medical Center sentinel node multicenter study. *J Am Coll Surg* 2009 ; 208 : 333.
- 29) Tjan-Heijnen VC, van Diest PJ, de Boer M, et al. Impact of omission of completion ALND or axRT in breast cancer patients with pN1mi or pN0(i+) in SN : results from the Dutch MIRROR study. *J Clin Oncol* 2009 ; 27 : 18s.
- 30) de Boer M, van Deurzen CH, van Dijk JA, et al. Micrometastases or isolated tumor cells and outcome of breast cancer. *N Engl J Med* 2009 ; 361 : 653.
- 31) Hansen NM, Grube B, Ye X, et al. Impact of micrometastases in sentinel node of patients with invasive breast cancer. *J Clin Oncol* 2009 ; 28 : 4679.
- 32) Breslin TM, Cohen L, Sahin A, et al. Sentinel Lymph node biopsy in accurate after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol* 2000 ; 18 : 3480.
- 33) Miller AR, Thompson VE, Yeh IT, et al. Analysis of sentinel lymph node mapping with immediate pathologic review in patients receiving preoperative chemotherapy for breast carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2002 ; 9 : 243.
- 34) Stearns V, Ewing CA, Slake R, et al. Sentinel lymphadenectomy after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer may reliably represent the axilla except for inflammatory breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2000 ; 9 : 235.
- 35) Haid A, Tausch C, Lang A, et al. Is sentinel lymph node biopsy reliable and indicated after preoperative chemotherapy in patients with breast cancer? *Cancer* 2001 ; 92 : 1080.
- 36) Julian TB, Dusi D, Wolmark N. Sentinel node biopsy after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Am J Surg* 2002 ; 184 : 315.
- 37) Tafra L, Verbanac KM, Lannin DR. Preoperative chemotherapy and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Am J Surg* 2001 ; 182 : 312.
- 38) Nason KS, Anderson BO, Byrd DR, et al. Increased false negative sentinel node biopsy rates after preoperative chemotherapy for invasive breast carcinoma. *Cancer* 2000 ; 89 : 2187 .
- 39) Shimazu K, Tamaki Y, Taguchi T, et al. Sentinel lymph node biopsy using periareolar injection of radiocolloid for patients with neoadjuvant chemotherapy-treated breast carcinoma. *Cancer* 2004 ; 100 : 2555.
- 40) Mamounas E, Brown A, Anderson S, et al. Sentinel node biopsy after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer : results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 2694.
- 41) Krag D, Weaver D, Ashikaga T, et al. The sentinel node in breast cancer : a multicenter validation study. *N Engl J Med* 1998 ; 339 : 941.
- 42) Tafra L, Lannin DR, Swason MS, et al. Multicenter trial of sentinel node biopsy for breast cancer using both technetium sulfur colloidal and isosulfan blue dye. *Ann Surg* 2001 ; 223 : 51.
- 43) McMaster KM, Tuttle TM, Carison DJ, et al. Sentinel lymph node biopsy for breast cancer : A suitable alternative to routine axillary dissection in multi-institutional practice when optimal technique in used. *J Clin Oncol* 2000 ; 18 : 2560.
- 44) Lyman GH, Giuliano MR, Somerfield MR, et al. American Society of Clinical Oncology guideline recommendation for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 7703.



How to Do It

The Development of New Instruments (NT forceps) for Video-Assisted Thoracoscopic Surgery

RYOTA TANAKA, YOSHIMASA NAKAZATO, and TOMOYUKI GOYA

Department of Surgery, Institute of Medical Sciences, Kyorin University, 6-20-2 Shinkawa, Mitaka, Tokyo 181-8611, Japan

Abstract

A new type of forceps (NT forceps) was developed in November 2007, designed for dividing connective tissues and for holding tissue together. These forceps measure 32 cm in length and are made of stainless steel. The insides of the forceps have atraumatic dispositions because longitudinal notches are placed on them. Therefore, they can grasp important soft organs such as the lung, azygos, and pulmonary vein. In addition, the acral forceps also possess carbide chips with cross notches. They can therefore hold vessel tape, sutures, etc. There are two types of forceps, which are curved at different angles, either a sharp angle or a slight angle. The forceps can be used for dividing and holding tissue while performing basic surgical manipulations, especially during an operation using a video-assisted procedure with a minithoracotomy. These forceps are useful tools for performing technical manipulations for standard operations, such as a lobectomy.

Key words Video-assisted thoracoscopic surgery · New instrument · NT forceps

Introduction

New forceps have been produced by Solve Co. Ltd (Yokohama, Japan), and these instruments (NT forceps) are now commercially available in Japan (Fig. 1).¹ The new instruments were developed in November 2007. NT forceps are designed for dividing connective tissue and for holding tissue together. The forceps measure 32 cm in length and are made of stainless steel. These instruments can therefore be used during a video-assisted thoracoscopic surgery (VATS) operation with a mini-

thoracotomy. The insides of the forceps have atraumatic dispositions because they contain longitudinal notches. Therefore, they can grasp important soft organs such as the lung, azygos, or pulmonary vein. In addition, the acral forceps also possess carbide chips with cross notches that improve their grasping ability. Therefore, they can hold vessel tape, sutures, etc. (Fig. 2). There are two types of forceps curved at different angles, either at a sharp angle or a slight angle.

Technique

A lobectomy for a cancer patient (stage I) is usually performed through a minithoracotomy of the auscultatory triangle with a 5–7-cm skin incision using video-assisted procedures, with two access ports. The forceps can be used for dividing and holding tissue while performing basic surgical manipulations, especially during a lung resection using a thoracoscope. The forceps open automatically and easily with appropriate power because they are powered by a spring in a “pencil-grip” manner. Exfoliation of the tissue can be performed when the closed acral forceps are inserted into soft areas of some tissue. The exfoliating forces result from the restitutive spring power of the forceps. The forceps have been used in combination with other techniques and instruments such as electrocautery, scissors, and new devices (e.g., LigaSure; Valleylab, Boulder, CO, USA, and Harmonic Scalpel; Ethicon Endo-Surgery, Cincinnati, OH, USA). The apex of the forceps should alternately be closed and opened while exfoliations are performed. However, the forceps can be opened naturally at a site of exfoliation, because the forceps utilize the power of the spring. Atraumatic exfoliations can also be performed around blood vessels using the forceps. In addition, the ends of the forceps can also be used to hold and grasp sutures or vessel tape. Cavitation trauma can be avoided when using the Harmonic Scalpel

Reprint requests to: R. Tanaka

Received: September 25, 2009 / Accepted: December 2, 2009

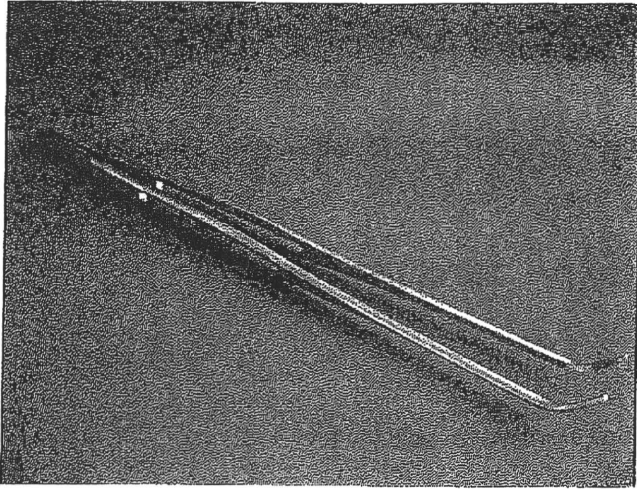


Fig. 1. The NT forceps

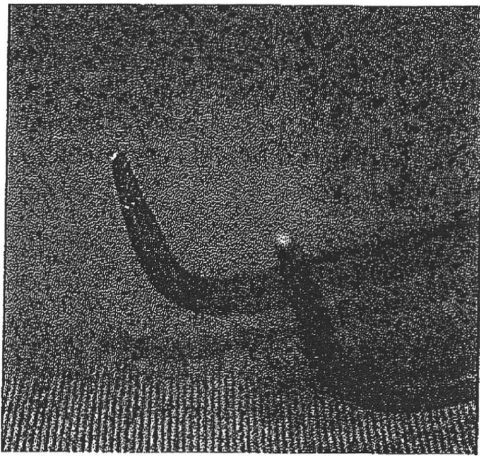


Fig. 2. The insides of the acral forceps have longitudinal notches and possess carbide chips with cross notches

around important organs by applying the forceps to sites beside the organs (Fig. 3). The combination of these new devices might allow useful techniques when cases are complicated with severe adhesions in an intrathoracic space. Exfoliation can easily be performed by repeatedly opening and closing the forceps in a loose tissue area. The forceps and the new devices provide effective approaches for a lymphadenectomy and can spread the mediastinum space using their spring, especially during a VATS procedure. The forceps and new devices are repeatedly used for dividing and cutting connective tissues during such operations. The combination of the forceps and new devices (such as LigaSure and Harmonic Scalpel) can be effectively utilized for the resection of a mediastinum tumor, because the area surrounding the mediastinum includes many important organs and vessels associated with the cardiovascular system (Fig. 4). A tumor resection can be effectively

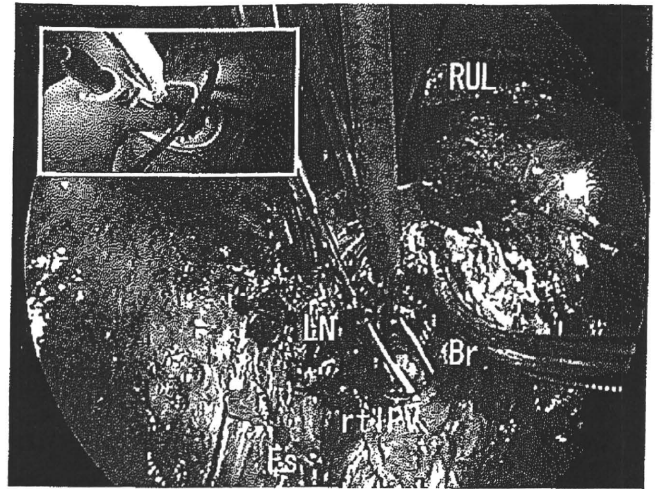


Fig. 3. A combination of the NT forceps and the Harmonic Scalpel is used for dividing and cutting connective tissues during a lymphadenectomy. RUL, right upper lobe; LN, lymph nodes; Br, bronchus; rtIPV, right inferior pulmonary vein; Es, esophagus

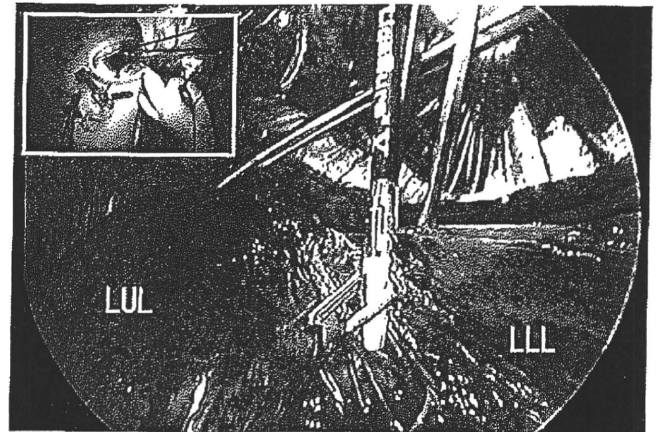


Fig. 4. A combination of the NT forceps and the LigaSure is used for dividing and cutting connective tissues between left upper lobe and lower lobe. LUL, left upper lobe; LLL, left lower lobe

performed by separating the tumor from those organs in the area of mediastinum. The forceps are useful tools for avoiding important organs surrounding the lesion when there are physical limitations to handling instruments in confined spaces. These forceps have been used for almost all procedures performed at this institute since December 2007, and no complications have occurred as a result of their use.

Discussion

A lobectomy is a standard surgical operation for lung cancer. Recently, the general surgical approach for this

operation has been the use of video-assisted procedures. Almost all thoracoscopic instruments have been developed based on classical instruments such as scissors or forceps. However, thoracoscopic instruments are often limited and difficult to handle, because such procedures demand a comprehensive understanding of the anatomical variations in the intrathoracic space. Therefore, the limitations of classical instruments are often frustrating when performing VATS procedures. In addition, almost all currently commercially available thoracoscopic devices for the use of video-assisted procedures were designed to be held by the operator in a "pistol-grip" manner. When using such pistol-grip forceps, the movements of the device to produce right-and-left or up-and-down motions of the acral forceps are mainly controlled by the senses according to the operator's own experience. Precise and accurate movements of the forceps might therefore often be difficult using the power of the operator's motor control in a two-

dimensional view. This drawback motivated the design of a new instrument for performing VATS. In comparison with the pistol-grip forceps, the new pencil-grip forceps are easier to handle and thereby compensate for various limitations, especially when performing video-assisted procedures.

In conclusion, the new forceps are considered to be a useful tool for performing technical manipulations during standard operations such as a lobectomy. In addition, these forceps can also be used with other new devices (such as LigaSure and Harmonic Scalpel) to perform effective combination techniques.

References

1. Tanaka R, Nakazato Y, Goya T. Development of fusion instruments (NT forceps) for video-assisted thoracic surgery (in Japanese with English summary). *Kyobu Geka* 2009;62:465-7.

Nuclear Grading of Primary Pulmonary Adenocarcinomas

Correlation Between Nuclear Size and Prognosis

Yoshimasa Nakazato, MD^{1,2,3}; Yuko Minami, MD²; Hiromi Kobayashi, MD²; Kaishi Satomi, MD²; Yoichi Anami, MD²; Koji Tsuta, MD⁴; Ryota Tanaka, MD⁵; Masafumi Okada, MD⁶; Tomoyuki Goya, MD¹; and Masayuki Noguchi, MD²

BACKGROUND: According to the World Health Organization Classification of Tumors, the prognostic value of morphometric cytologic atypia has not been assessed in pulmonary adenocarcinoma. **METHODS:** Primary tumors of 133 pulmonary adenocarcinomas ≤ 2 cm were analyzed using an image processor for analytical pathology. The results were evaluated using receiver operator characteristic curve analysis, and survival curves were drawn by the Kaplan-Meier method. Furthermore, the results were applied to routine histological diagnosis. Four pathologists evaluated the nuclear factors relative to the size of small lymphocytes as a standard. **RESULTS:** By using the nuclear area and nuclear major axis dimension, lung adenocarcinomas were divisible into 2 groups showing extremely favorable prognosis and fairly favorable prognosis, without considering histological features or classification. A nuclear area level of $<67 \mu\text{m}^2$ was correlated with longer survival ($P < .0001$), and the 5-year survival rate was 90.4%. Similarly, a nuclear diameter level of $<0.7 \mu\text{m}$ was correlated with longer survival ($P = .0002$), and the 5-year survival rate was 88.6%. The mean (\pm standard deviation [SD]) value of the kappa statistic for the 4 pathologists who evaluated the cases using the size of small lymphocytes as a standard was 0.58 ± 0.10 , and the mean (\pm SD) value of the accuracy metric was 0.66 ± 0.10 . **CONCLUSIONS:** Nuclear area and nuclear major dimension are 2 useful independent markers for evaluating the prognosis of lung adenocarcinoma. *Cancer* 2010;116:2011-9. © 2010 American Cancer Society.

KEYWORDS: nuclear grading, prognosis, pulmonary adenocarcinoma, nuclear area, nuclear diameter.

In continuously dividing normal cells, the cell constituents increase in a progressive and precise manner during the cell cycle phases to avoid any progressive reduction of daughter cell size. Therefore, cell growth and proliferation are tightly coordinated and subjected to organized biological processes to ensure the generation of normal cells.¹ In cancer cells, however, these tightly coordinated processes are perturbed, and the nuclei of most cells in solid tumors vary in size, shape, and chromatin pattern, both in comparison with normal nuclei and also among cancer cells.² The features of such morphologic changes in the nucleus have not been explained in terms of conventional concepts of nuclear structure and theories of carcinogenesis. However, in various cancers such as breast cancer, nuclear atypia has been used clinicopathologically to evaluate malignancy.

Lung cancer is the most common cancer worldwide (12.6% of all new cancers, 17.8% of cancer deaths).³ Among the histologic types of nonsmall cell carcinoma of the lung, adenocarcinoma has a poor prognosis.⁴ Recently, surgical treatment of small-sized peripheral lung carcinomas, especially adenocarcinoma, has increased in parallel with improvements in diagnostic radiology.⁴ Noguchi et al⁵ examined many surgically resected adenocarcinomas of the lung at an early stage, and proved that some adenocarcinomas have a very favorable prognosis. According to their criteria, localized bronchioloalveolar carcinoma (BAC, type A) and localized BAC with alveolar collapse (type B) are defined as in situ adenocarcinoma, and localized BAC with foci of active fibroblastic proliferation includes minimally invasive adenocarcinoma (type

Corresponding author: Masayuki Noguchi, MD, Department of Pathology, Major of Medical Sciences, Graduate School of Human Comprehensive Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8575, Japan; Fax: (011) 81-29-853-3150; nmasayuk@md.tsukuba.ac.jp

¹Department of Surgery, Institute of Medical Sciences, Kyorin University, Tokyo, Japan; ²Department of Pathology, Major of Medical Sciences, Graduate School of Human Comprehensive Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan; ³Division of Diagnostic Pathology, Gunma Prefectural Cancer Center, Gunma, Japan; ⁴Pathology Division, National Cancer Center Hospital, Chuo-ku, Tokyo, Japan; ⁵Division of Thoracic Surgery, Gunma Prefectural Cancer Center, Gunma, Japan; ⁶Department of Epidemiology, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan

DOI: 10.1002/cncr.24948, Received: May 20, 2009; Revised: July 23, 2009; Accepted: August 4, 2009; Published online February 11, 2010 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com)

C). Type C tumors include adenocarcinomas showing various prognoses, and there are no useful criteria that can be used to distinguish minimally invasive carcinomas from type C tumors.

Conversely, the World Health Organization (WHO) Classification of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus, and Heart states that for evaluation of malignancy, "Grading of pulmonary adenocarcinomas is based on conventional histological criteria, including the extent to which the architectural pattern of the tumor resembles normal lung tissue, and cytologic atypia."³ In other words, malignant grading depends on the degree of differentiation, including variations in histological architecture and cell atypia. The judgment of histological differentiation is difficult. Although the WHO classifies 4 major histological subtypes on the basis of tumor differentiation, it does not define histological differentiation itself. The evaluation of cell atypia is also difficult, and there are no objective definitions of cell atypia in tumor cells of lung adenocarcinoma. Furthermore, using the WHO classification, it is not possible to distinguish minimally invasive adenocarcinomas from invasive cancers. Nuclear morphometry is a method for quantitative measurement of histopathologic changes in the appearance of stained cell nuclei. Some studies have indicated that such assessments may provide clinically relevant information related to the degree of progression and malignant potential of various cancers.⁶⁻¹⁰ In the present study, we performed nuclear morphometry and tried to use the results for extracting minimally invasive adenocarcinomas.

MATERIALS AND METHODS

Patients

Primary tumors were obtained from 139 patients with pulmonary adenocarcinomas ≤ 2 cm in maximum dimension who were treated surgically during the period between January 1993 and December 2000. These patients underwent surgical resection of their tumors along with mediastinal and pulmonary hilar lymph node dissection at the National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan. Informed consent for specimen collection was obtained from all patients. Moreover, none of the patients selected had received neoadjuvant or adjuvant chemotherapy or radiotherapy before or after surgery. Six patients subsequently died of causes other than lung carcinoma. The study focused on a series of 133 patients, excluding these 6 patients.

Tissue Specimens and Pathologic Information

The resected specimens were fixed with 10% to 15% neutral buffered formalin at room temperature, and then embedded in paraffin for histologic examination. All of the sections (4 μ m thick), including the largest cut surface of the tumor, were stained with hematoxylin and eosin and elastica van Gieson and examined by light microscopy. Tumors were classified according to the criteria of the WHO International Histological Classification of Tumors and also the histological criteria proposed by Noguchi et al.⁵ Microscopically, the diagnosis was performed by 3 pathologists (Y.N., Y.M., M.N.). If 2 or more opinions coincided, the diagnosis was considered to be firm. All patients gave informed consent for specimen collection. The small-sized lung adenocarcinomas were classified histologically as described previously (Table 1).⁵ Lung tumors of types A, B, and C show replacement growth of the pulmonary alveolar structure, whereas those of types D, E, and F show nonreplacement growth. This staging was evaluated according to the International Union Against Cancer TNM Classification of Malignant Tumors (fifth edition).

Morphometric Procedure

An Image Processor for Analytical Pathology (Sumitomo Technoservice Co., Osaka, Japan) was used for morphometric analysis of nuclear size (nuclear area, nuclear major axis diameter [nuclear diameter], and nuclear roundness). The system was connected to a BX50 microscope (Olympus, Japan). The instrument was calibrated with a micrometer slide before each measurement. All measurements were performed on the monitor screen using a $\times 40$ objective and a $\times 10$ video ocular. We chose tumor areas with the largest available nuclei for morphometric investigation. On examining the sections for selection of fields, tumor cells from the most cellular area at the center of the tumor were selected. Necrotic and inflammatory areas were avoided, and overlapping nuclei were omitted. Five microscopic fields were screened, 10 cells per field were selected, and 50 cells per tumor were measured. The nuclear profile area measurements were assessed by tracing the nuclear membrane using the computer mouse. Fifty nuclei of the tumor cells in each specimen were measured using a computer software package (IPAP-WIN Version 3.0, Sumika Technoservice Co., Osaka, Japan). In each case, the mean nuclear size (nuclear area, nuclear diameter, nuclear perimeter, and nuclear roundness) was used for evaluation. The picture on the computer monitor captured from histologic specimens was manipulated. As a

Table 1. Patient Characteristics

Characteristics	No. of Patients
No. of patients	133
Sex (men/women)	64/69
Mean age \pm SD, y (range)	60.4 \pm 9.8 (38-82)
Mean tumor size \pm SD, mm (range)	15.9 \pm 3.4 (6-20)
Tumor classification	
T1	112
T2	7
T3	4
T4	10
Lymph node status	
N0	90
N1	18
N2	24
N3	1
Pleural invasion	
P0	98
P1	24
P2	8
P3	3
Stage	
I (IA/IB)	86 (83/3)
II (IIA/IIIB)	20 (16/4)
III (IIIA/IIIB)	26 (17/9)
IV	1
WHO histological classification	
BAC	25
Mixed subtypes	86
Acinar	1
Papillary	5
Solid	16
Noguchi classification	
Type A/B/C	12/14/66
Type D/E/F	27/8/6
Type of resection	
Lobectomy	126
Pneumonectomy	2
Segmentectomy	4
Wedge resection	1

SD indicates standard deviation; WHO, World Health Organization; BAC, bronchioloalveolar carcinoma.

result, the nuclei were identified and measured using the computer software (Fig. 1a-f).

Interobserver Variability and Accuracy of the Nuclear Factors

We applied the morphological results to routine histological diagnosis using the size of small lymphocytes as a standard. Sixty patients were randomly selected from this series of 133 patients. A tumor cell was judged to be positive if its nuclear area and nuclear diameter were 5 \times and 3 \times larger than the corresponding values for small lymphocytes, respectively.

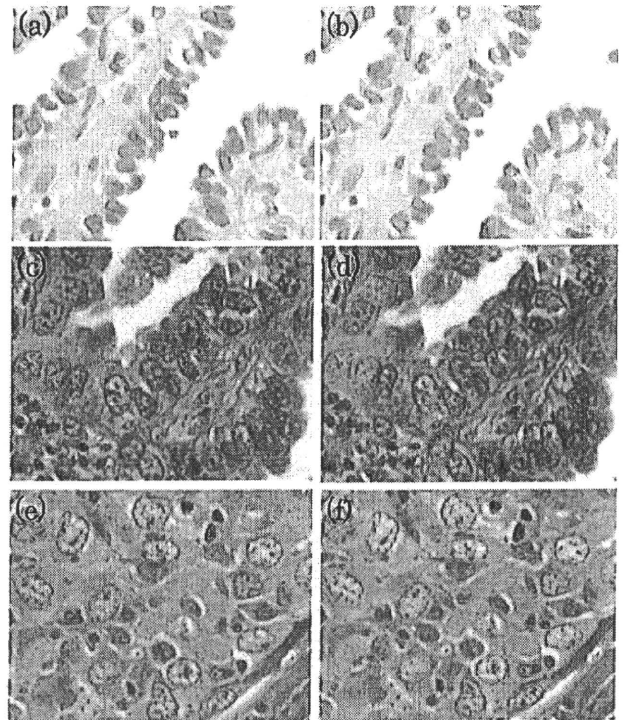


Figure 1. (a, c, e) Histology of small-sized adenocarcinoma of the lung is shown (H & E; original magnification, $\times 400$). (b, d, f) Karyometric analysis using an Image Processor for Analytical Pathology is shown. The nucleus in the carcinoma cell was picked up from the field in each panel. The red area represents the nucleus. Morphometry was performed on each area. (a, b) A type A tumor using Noguchi classification is shown. (c, d) A type C tumor using the Noguchi classification is shown. (e, f) A type D tumor using the Noguchi classification is shown.

A field with ≥ 5 positive cells was considered to be a positive field. If there were ≥ 3 positive fields, we considered the case to be positive. Any case that did not meet all of these requirements was judged to be negative. In general, cases with critical nuclear area levels of $\geq 67 \mu\text{m}^2$ tended to be positive, and cases with critical nuclear area levels $< 67 \mu\text{m}^2$ tended to be negative. Four pathologists (M.N., Y.M., H.K., and K.S.) evaluated all 60 cases independently and divided the specimens into 2 groups (positive cases and negative cases). The kappa statistic value was used for nuclear grading among the 2 groups (positive cases and negative cases) between the 4 pathologists.

Statistical Analysis

Analysis of the correlation between clinicopathologic features and nuclear size was performed using F test, Student *t* test, and Tukey test. Evaluation of the cutoff point for nuclear size was performed using receiver operating

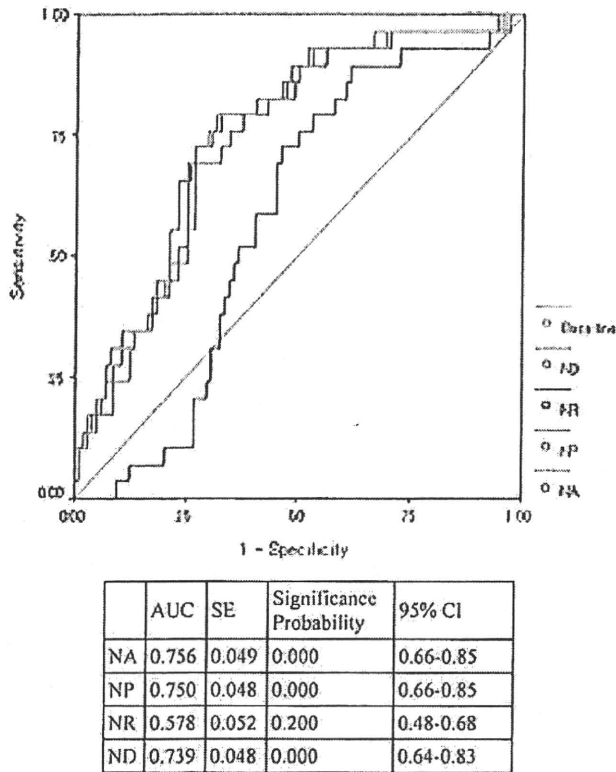


Figure 2. Receiver operating characteristic curves of mean nuclear size (nuclear area [NA], nuclear major axis dimension [ND], nuclear roundness [NR], and nuclear perimeter [NP]) are shown for the diagnosis of malignant stricture. AUC indicates the area under the curve; SE, standard error; CI, confidence interval.

characteristic (ROC) curve analysis. The survival curves were drawn by the Kaplan-Meier method. Overall survival was calculated from the date of primary surgery for lung tumors to the date of death or last follow-up. The curves were evaluated by the log-rank test ($P = .05$). The independent staging factors for pulmonary adenocarcinomas were evaluated by multivariate analysis for nuclear size. Interobserver variability and accuracy were evaluated using kappa statistics. Data were censored when patients were lost to follow-up. All analyses were performed using SPSS statistical software (version 12.0; SPSS, Chicago, Ill).

RESULTS

Clinical and Histological Findings

The most relevant clinicopathologic features are listed in Table 1. The tumors were classified according to the histological criteria proposed by Noguchi et al.⁵ Follow-up was complete for all patients up to January 2005 and

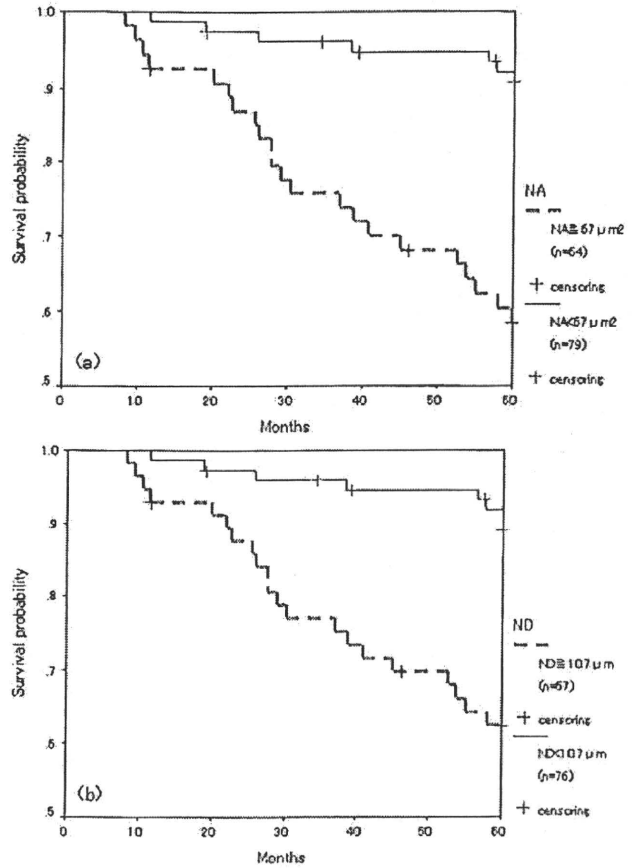


Figure 3. Five-year recurrence-free survival rates are shown for all patients, classified using the critical nuclear size. (a) A nuclear area (NA) of 67 μm^2 was used as a cutoff value ($P < .0001$). (b) A nuclear major axis dimension (ND) of 10.7 μm was used as a cutoff value ($P = .0002$).

ranged from 8 to 150 months (mean, 79.8; median, 84.1). The overall 5-year survival rates for stages I, II, and III were 91.9%, 75.0%, and 38.5%, respectively.

Morphometric Analysis and Outcome

Mean (\pm standard deviation [SD]) values of nuclear size parameters were: nuclear area $64 \pm 17 \mu\text{m}^2$ (range, 34-130), nuclear diameter $10.3 \pm 1.3 \mu\text{m}$ (range, 7.4-14.6), and nuclear roundness 0.860 ± 0.016 (range, 0.812-0.893). The ROC curve analysis showed that a cutoff nuclear area level of $67 \mu\text{m}^2$ had a sensitivity and specificity of 75% and 70%, respectively (area under the curve [AUC], 0.756; 95% confidence interval [CI], 0.66-0.85) (Fig. 2). The nuclear dimension level of 10.7 μm had a sensitivity and specificity of 75% and 65%, respectively (AUC, 0.739; 95% CI, 0.64-0.83) (Fig. 2). The mean nuclear area and nuclear diameter were significantly higher in patients with malignant stricture. However, the AUC for nuclear roundness was

Table 2. Distribution of Clinicopathologic Features and Nuclear Size

Factor	NA			ND		
	<67 μm^2	$\geq 67 \mu\text{m}^2$	<i>P</i>	<10.7 μm	$\geq 10.7 \mu\text{m}$	<i>P</i>
Pathologic stage						
Stage I	65	21	<.0001	60	26	<.0001
Stage \geq II	14	33		16	31	
Tumor classification						
T1	74	38	<.0001	71	41	<.0001
\geq T2	5	16		5	16	
Lymph node status						
N0	67	23	<.0001	62	28	<.0001
\geq N1	12	31		14	29	
Pleural invasion						
P0	68	30	<.0001	64	34	.001
\geq P1	11	24		12	23	
WHO histological classification						
BAC	25	0	<.0001	24	1	<.0001
Mixed subtypes	46	40	.254	45	41	.149
Solid, acinar, papillary	8	14		7	15	
Noguchi classification^a						
Types A and B	25	1	.001	25	1	<.0001
Type C	38	28	.104	36	30	.119
Types D, E, and F	16	25		15	26	

NA indicates nuclear area; ND, nuclear major axis dimension; WHO, World Health Organization; BAC, bronchioloalveolar carcinoma.

^aTable adapted from Noguchi et al.⁵

<0.6 (95% CI, 0.48-0.68) (Fig. 2). The Kaplan-Meier survival curves showed that the 5-year survival rate of patients whose tumor cells had a mean nuclear area of <67 μm^2 was 90.4% (Fig. 3a). Conversely, the corresponding survival rate of those with tumor cells having a mean nuclear area of $\geq 67 \mu\text{m}^2$ was 57.7%. A nuclear area of $\geq 67 \mu\text{m}^2$ was correlated with shorter survival ($P < .0001$). Similarly, the 5-year survival rate of patients whose tumor cells had a mean nuclear diameter of <10.7 μm was 88.6% (Fig. 3b). The corresponding survival rate of patients with tumor cells having a mean nuclear diameter of $\geq 10.7 \mu\text{m}$ was 61.8%. A nuclear diameter of $\geq 10.7 \mu\text{m}$ was correlated with shorter survival ($P = .0002$). The clinicopathological characteristics and the nuclear size (nuclear area and nuclear diameter) were compared in Table 2. All prognostic factors reported before, such as pathological stage, tumor classification (T stage), lymph node metastasis, pleural invasion, WHO histological classification, and Noguchi's classification, were significantly associated with the nuclear size (nuclear area and nuclear diameter). Then, we performed multivariate analysis to determine the factors contributing most significantly to the 5-year recurrence-free survival rate using Cox regression analysis. It demonstrated that nuclear area was 1 of the 4 significant prognostic fac-

tors including pleural invasion, tumor classification, and lymph node status ($P = .037$) (Table 3).

The data from morphometric analysis were then compared with the WHO classification (Table 4, Fig. 4). The mean (\pm SD) value of nuclear area was $48 \pm 9 \mu\text{m}^2$ in BAC, $68 \pm 8 \mu\text{m}^2$ in the papillary subtype, $82 \pm 20 \mu\text{m}^2$ in the solid subtype, and $65 \pm 15 \mu\text{m}^2$ in the mixed subtype. The nuclear areas of BAC tumor cells were significantly smaller than those of the other subtypes except for the acinar subtype, and the nuclear areas of solid tumor cells were significantly larger than those of other subtypes except for the acinar subtype (Fig. 4). The mean (\pm SD) value of nuclear diameter was $9.1 \pm 0.9 \mu\text{m}$ in BAC, $10.8 \pm 0.8 \mu\text{m}$ in the papillary subtype, $11.4 \pm 1.3 \mu\text{m}$ in the solid subtype, and $10.5 \pm 1.2 \mu\text{m}$ in the mixed subtype. The mean nuclear diameter of BAC tumor cells was significantly smaller than that of the other subtypes except for the acinar subtype, and the nuclear diameter of solid tumor cells was larger than that of the other subtypes except for the acinar subtype. The 5-year survival rate for all 133 patients was 78.2%. Conversely, the corresponding rates for patients with BAC ($n = 25$), the solid subtype ($n = 16$), and the mixed subtype ($n = 86$) were 100%, 75%, and 70.9%, respectively (Table 4).

Table 3. Multivariate Cox Regression Analysis of Pathological Staging Factors

Variable	P	Relative Risk	95% CI
Nuclear area: $\geq 67 \mu\text{m}^2$ vs $< 67 \mu\text{m}^2$.037	0.35	0.13-0.94
Pleural invasion: P0 vs P1-3	.046	2.49	1.02-6.12
Tumor classification: T1 vs \geq T2	.010	0.31	0.12-0.76
Lymph node status: N0 vs \geq N1	.001	0.20	0.08-0.50

CI indicates confidence interval.

Table 4. Nuclear Size of Histologic Typing in Patients With Small Adenocarcinoma of the Lung With 5-Year Survival Rate

Type	No. of Patients	NA, Mean \pm SD, μm^2	P	ND, Mean \pm SD, μm	P	5-Year Survival, %
Acinar	1	53		9.6		—
Papillary	5	68 \pm 8	.029	10.8 \pm 0.8	.014	100
BAC	25	48 \pm 9	<.0001	9.1 \pm 0.9	<.0001	100
Solid	16	82 \pm 20	<.0001;	11.4 \pm 1.3	<.0001;	75
Mixed subtypes	86	65 \pm 15	vs BAC, <.0001	10.5 \pm 1.2	vs BAC, <.0001	71

NA indicates nuclear area; SD, standard deviation; ND, nuclear major axis dimension; BAC, bronchioloalveolar carcinoma.

Adapted from World Health Organization Classification of Tumors.³

The data obtained by morphometric analysis were then compared with Noguchi's classification (Table 5, Fig. 5). The mean nuclear area of type A tumors (mean \pm SD, 47 \pm 7 μm^2) was similar to that of type B tumors (mean \pm SD, 51 \pm 15 μm^2), whereas the mean nuclear area of type C tumors (mean \pm SD, 63 \pm 15 μm^2) was significantly larger than that of types A and B tumors (mean \pm SD, 49 \pm 12 μm^2) ($P < .0001$). In addition, the nuclear area of type D tumors (mean \pm SD, 77 \pm 18 μm^2) was significantly larger than that of type C tumors ($P = .002$). The mean nuclear diameter of type A tumors (mean \pm SD, 8.9 \pm 0.6 μm) was similar to that of type B tumors (9.4 \pm 1.4 μm), whereas the mean nuclear diameter of type C tumors (mean \pm SD, 10.4 \pm 1.2 μm) was significantly larger than that of types A and B tumors (9.2 \pm 1.1 μm) ($P < .0001$). The 5-year survival rates of patients with type C tumors ($n = 66$) and nonlepidic-type tumors (types D, E, and F) ($n = 41$) were 72.3% and 73.2%, respectively (Fig. 6). The 5-year survival rate for patients with types A and B tumors ($n = 26$) was 100%. The results of morphometric analysis were compared between 2 different histological groups: lepidic-type tumors (types A, B, and C) and nonlepidic-type tumors (types D, E, and F). The nuclear area of nonlepidic-type tumors (mean \pm SD, 73 \pm 17 μm^2) was significantly larger than that of lepidic-type tumors (mean \pm SD, 59 \pm 16 μm^2) ($P < .0001$), and the nuclear diameter of nonle-

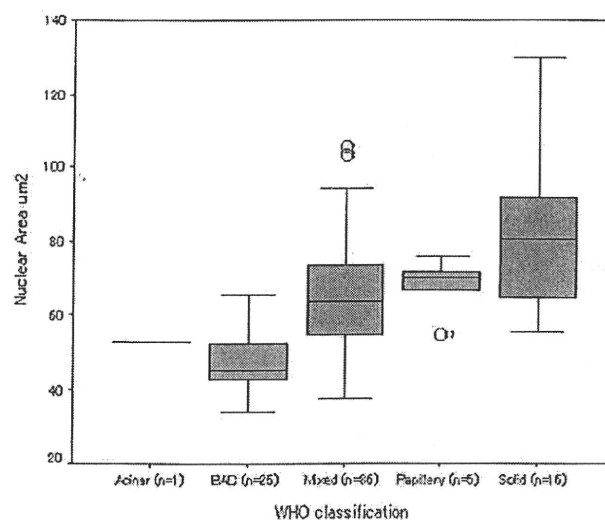


Figure 4. A box plot of the nuclear area in all patients is shown, classified according to the World Health Organization (WHO) classification. BAC indicates bronchioloalveolar carcinoma.

pidic-type tumors (mean \pm SD, 11.0 \pm 1.2 μm) was significantly larger than that of lepidic-type tumors (mean \pm SD, 10.0 \pm 1.2 μm) ($P < .0001$).

Interobserver Variability and Accuracy

We then attempted to apply our results to routine histological diagnosis. As the mean (\pm SD) values of nuclear