

Materials and methods

Enrolment

Forty-one patients, with pathologically proven invasive or non-invasive breast carcinoma less than 2 cm and clinically lymph node negative, were enrolled in this pilot study, conducted between March 2007 and February 2009. Core needle biopsy or vacuum-assisted biopsy was performed to determine tumour grade, lymphovascular invasion, hormone receptor status and HER2/neu status. The other inclusion criteria were as follows: tumour easily imaged by ultrasound and lumpectomy planned as the initial treatment. Exclusion criteria included more than 1 tumour in the same breast and the presence of extensive suspicious microcalcifications surrounding the tumour mass. Patients with pacemakers, sensitivity to lidocaine or coagulopathy, or who were pregnant or lactating were also excluded. Pre-treatment evaluation consisted of a complete history and physical examination, pathological review of the carcinoma and laboratory evaluation including a complete blood count and coagulation profile. Furthermore, bilateral mammography, enhanced breast MRI and positron emission tomography-CT were performed within 2 months of RFA. This study was approved by the institutional review board at Hiroshima City Hospital. All enrolled patients were informed about this study and signed a written consent for participation.

Breast ultrasound

Bilateral breast imaging was performed to include the known tumour and surrounding breast tissue using a 7.5 MHz transducer (EUB-5500; TOSHIBA, Japan). Three-dimensional tumour measurements were performed and recorded.

Breast MRI scans

Breast MRI scans were performed before ablation and within 48 h before surgical resection. The 3-T system (Signa; G.E. Medical Systems, Japan) was utilized. Patients were imaged in the prone position with a dedicated double breast coil. Axial and sagittal T1- and T2-weighted images were obtained by the following protocol: (1) axial, T1-weighted spin-echo (500–700/16–17 [repetition time in milliseconds/echo time in milliseconds]) sequence with a 32–36 cm field of view, 3 mm section, 1 mm gap, and 512 × 256 matrix for both breasts; (2) axial, T2-weighted fast spin-echo with fat saturation sequence of the affected breast, 12–18 cm field of view, 3 mm section, 1 mm gap, and 128 or 192 matrix; and (3) sagittal T1-weighted spin-echo with fat saturation sequence after the intravenous gadodiamide administration (0.5 M, Omniscan; Nycomed, Japan). A 20 ml gadodiamide bolus was administered, regardless of body weight, followed by a 20 ml physiological saline bolus. Imaging was initiated during saline injection.

Radiofrequency ablation

RFA was performed under either general anaesthesia or local anaesthesia and sedation. In the local anaesthesia group, intravenous sedation with midazolam titrated doses were administered in preparation for RFA. Under local anaesthesia and sedation, sentinel lymph node biopsy was first performed, then, under ultrasound guidance, 0.5% lidocaine was injected around the tumour. For analgesia, a sufficient volume of lidocaine injected over the pectoralis major is important. A small skin incision was made with a number 11 surgical blade. A 3 cm Cool-Tip RF Needle Electrode (Valleylab, Boulder, CO, USA) was inserted at the centre of the tumour under ultrasound guidance. For prevention

of skin burn, 5% glucose liquid with a higher electrical resistance than saline was injected between the skin and tumour to increase the space between. The needle electrode was attached to a 500 kHz monopolar RF generator capable of producing 200 W. Grounding was achieved by attaching 2 grounding pads to the patient's thighs before the procedure. Tissue impedance was monitored continuously using circuitry incorporated in the generator. Radiofrequency energy was applied only once not exceeding 15 min. Power was set at 5 W and increased by 10 W intervals every 1 min until a rapid increase in impedance occurred (so-called roll-off). For prevention from skin burn, a sterile ice bag was placed on the skin over the ablated area. The core temperature of the ablated area was measured immediately after roll-off. Under general anaesthesia, the abovementioned procedure was performed but without using lidocaine and midazolam.

Surgery

Breast-conserving surgery (Bp 1.5 cm) was performed immediately after RFA (immediate surgical resection) under general anaesthesia or 1–2 months after RFA (delayed surgical resection) under local anaesthesia.

Pathological evaluation

After the specimen removal, pathological evaluation with haematoxylin-eosin (HE) staining was performed to evaluate the therapeutic effect according to the response criteria of the Japanese Breast Cancer Society⁶ and to estimate the tumour size and marginal status. Moreover, to accurately evaluate tumour cell death, histochemical analysis of tumour viability with nicotinamide adenine dinucleotide-diaphorase (NADH) staining was performed.⁷

Follow up

Decisions regarding adjuvant chemotherapy or hormonal therapy were made based on the pre-treatment tumour size measured by breast MRI. Axillary lymph node metastasis was determined by sentinel lymph node biopsy results. Furthermore, prognostic indications such as estrogen receptor status, progesterone receptor status, HER2/neu status, lymphovascular invasion and grade were determined by pre-treatment core biopsy. According to each patient's risk category, adjuvant therapy was administered in all patients. Whole breast irradiation was also performed in every case.

Results

Patient characteristics

Of the 41 patients in this pilot study, 9 initially underwent breast-conserving surgery immediately after RFA under general anaesthesia (immediate surgical resection). RFA was subsequently performed under local anaesthesia and sedation in the remaining 32, following which breast-conserving surgery was performed under local anaesthesia 1–2 months after RFA (delayed surgical resection). All but 1 patient completed 1 RFA session. Patient characteristics are summarized in Table 1 (median tumour size as assessed by enhanced MRI scan, 13 mm [range, 5–18 mm]; median volume of 0.5% lidocaine administered, 42 ml [range, 32–55 ml]; median RFA application time, 9 min [range, 6–15 min]; median tumour core temperature immediately after RFA, 85 °C [range, 64–100 °C]). There were no treatment-related complications other than that of a superficial burn in 1 case right above the ablated area.

Table 1
Characteristic of patients and primary tumour characteristics (n = 41).

	No. of cases
Age (years)	
Range	38–92
Median	59
Tumour size on MRI	
Median (mm)	13
< 10 mm	6
10 mm >=	35
Histology	
IDC	36
DCIS	5
Tumour grade	
1	26
2	3
3	2
ER	
+	38
–	3
PgR	
+	35
–	6
HER2	
+	1
–	40
Anaesthesia	
General	9
Local	32
Ablation time (minutes)	
Range	6–15
Median	9
Core temperature (°C)	
Range	65–100
Median	85
Complication	
Superficial skin burn	1
None	40

IDC, invasive ductal carcinoma.
DCIS, non-invasive ductal carcinoma.

Breast MRI imaging

On post-RFA MRI scans, 25/26 studies (96.2%) in which the patient had pre-RFA enhancement displayed no residual enhancement of the breast lesion. In 1 case (3.8%), in which intolerable pain prevented completion of 1 RFA session, post-MRI scans demonstrated residual enhancement consistent with residual invasive and intraductal tumour, which was confirmed histologically. Therefore, a post-ablation MRI scan appears to predict therapeutic effect by RFA for breast cancer. An ablation zone, characterized by altered signal intensity and architectural distortion, with a minor degree of peripheral enhancement was easily visible in all cases. This ablation zone measured 3.0–6.1 cm at its greater diameter (median, 3.7 cm)

and 1.8–5.5 cm at its lesser diameter (median, 2.5 cm). We termed this peripheral enhancement the protein degenerative ring, within which NADH staining demonstrated complete cell death. Representative pre- and post-RFA MRI scans demonstrating successful ablation and the protein degenerative ring are shown in Fig. 1. Residual cancer, which was suspected on MRI in 1 case, was confirmed pathologically (Fig. 2).

Pathological evaluation

HE staining of the ablated lesion removed immediately after RFA could not demonstrate complete tumour cell death, because cancer cell was diagnosed as viable cell only by HE staining. According to the response criteria of the Japanese Breast Cancer Society,⁶ no pathological complete response (Grade 3) was observed in specimens removed immediately after RFA; however, it was observed in 4 (12.5%) specimens removed by delayed surgical resection. As time elapses after ablation, tumour cell death in a tissue sample by delayed surgical resection could be more easily diagnosed than in resection immediately after RFA. However, even in delayed surgical resection specimens, HE staining alone could not reveal all pathological complete cell death (Table 2). Therefore, to evaluate more accurate tumour cell death, NADH staining was performed in specimens from 12 patients, in all (100%) of whom no viable cancer cells (i.e., complete cell death) within the whole ablated area and surgical margins were demonstrated. Of these 12 cases, only 2 showed complete pathological response by HE staining (Table 3). Therefore, NADH staining is indispensable for evaluating tumour cell death, even in delayed surgical resection specimens. The macroscopic and histological findings are shown in Fig. 3. In 5 cases, complete histological ablation could not be achieved, with only non-invasive components remaining in 4 cases. Complete ablation was indicated on imaging examination in these 4 cases, yet pathological evaluation revealed residual non-invasive ductal cancer outside the degenerative protein ring. This may indicate the limitations of imaging-based diagnosis (in particular with regard to the extent of ductal spread, accurate diagnosis of which is not easy). Invasive and non-invasive components were found in 1 case (Fig. 2), where uncontrolled pain resulted in treatment failure. Adequate analgesia is also essential for successful ablation. Overall, a complete ablation rate of 87.8% (36/41) was observed, based on the findings of HE and NADH staining.

Discussion

Various thermal ablation treatments have been attempted for breast cancer, including cryosurgery,⁸ laser ablation,⁹ MR-guided

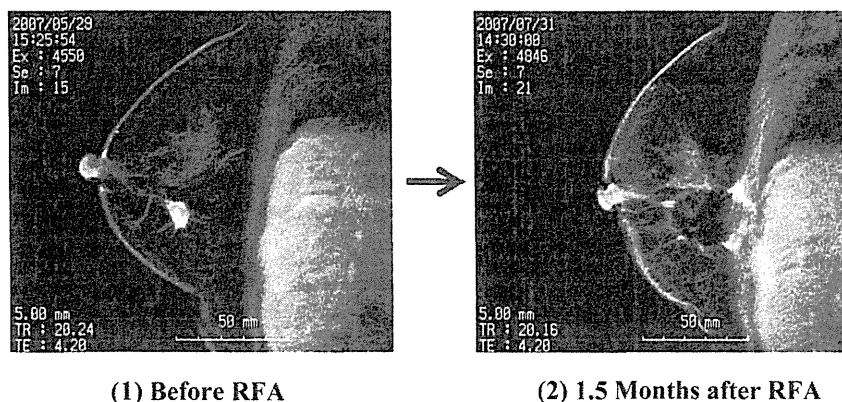


Fig. 1. Enhanced MRI scans demonstrate successful RFA ablation. An irregular, enhancing lesion is observed in the pre-RFA image. After RFA, the tumour is no longer enhanced. A zone of ablation within the protein degenerative ring is demonstrated.

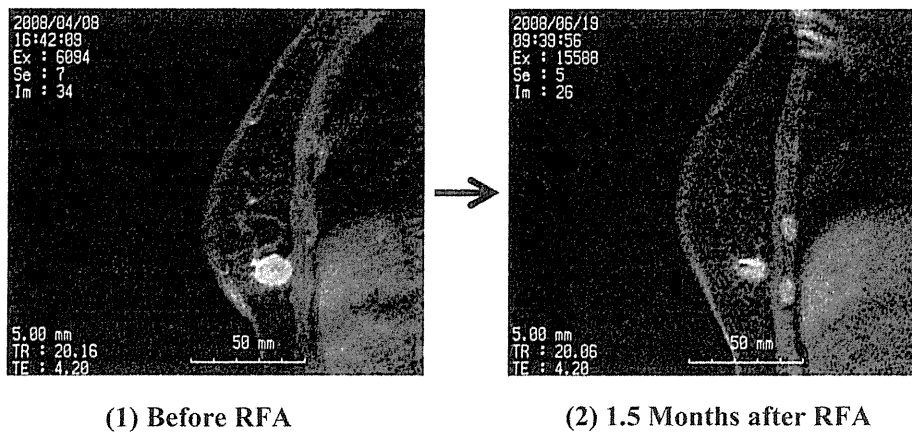


Fig. 2. The post-RFA MRI demonstrates residual enhancement consistent with a residual invasive and intraductal tumour, which was confirmed histologically.

high-intensity focused ultrasound¹⁰ and RFA. Although each of these offers theoretical advantages, each also carries significant disadvantages. Cryoablation, requiring expensive and often bulky equipment, appears to be less effective because of incomplete freezing and a subsequent high rate of residual disease. Laser ablation is not effective for larger areas and requires another probe to measure temperature. MR-guided focused ultrasound also requires very expensive and extensive equipment; moreover it takes a few hours for a single treatment.

RFA for breast cancer appears to be the most promising modality. Many investigators have attempted feasibility studies on RFA followed by resection, as shown in Table 4, whose results support RFA use in localized breast cancer treatment.^{11–21}

Our study was designed to gain further evidence on RFA reliability.

This study investigated delayed surgical resection performed 1–2 months after RFA to better assess tumour cell death over the entire ablated area; most RFA feasibility studies have investigated resection performed immediately after RFA, although 1 study reported on delayed surgical resection undertaken 1–3 weeks after

RFA.¹¹ At the beginning of our study, we also performed immediate resection after RFA, however, pathological HE evaluation failed to demonstrate tumour cell death within the ablated zone. A delay in resection facilitates more physiological assessment. Therefore, we decided to excise the ablated area 1–2 months after RFA. To our best knowledge, no report has estimated tumour cell death in specimens resected 1–2 months after RFA. In specimens examined 1–2 months after RFA, complete tumour cell death could not be demonstrated by HE staining alone, whereas this was demonstrated by NADH staining in same specimens. NADH staining is easy and reliable in this study field. Interestingly, the cell nuclei disappearance was observed both from the centre and the ablated zone periphery by HE staining, and a cell death area was clearly demarcated from the surrounding viable tissue by a band of foam cells, which we termed the protein degenerative ring. Following resection of the ablated area 6 months after RFA, all cell nuclei in that area will disappear; complete tumour cell death may be demonstrated by HE staining alone if resection is performed over 6 months after RFA.

Another feature of this study is that RFA was performed under local anaesthesia and sedation as day surgery, a protocol that was extremely well tolerated, successful in eradicating tumours and which may point the way forward. Adequate analgesia over the pectoralis major is important in RFA, and no complications occurred, apart from the 1 case where intolerable pain obviated successful completion. On post-RFA MRI scanning, this patient had residual enhancement consistent with invasive and intraductal residual tumour, which was confirmed histologically. RFA performance under local anaesthesia by day surgery is ideal for minimally invasive treatment for breast cancer, which was one of our aims.

According to a predetermined standardized algorithm, radiofrequency energy was often applied more than once in breast cancer, but several investigators have implied that a single application is sufficient.^{14,15,18} Our results are concomitant with their view for achieving complete tumour cell death within the whole ablated area, and are thus significant. Excess ablation leads to side effects such as skin burn, and multiple sessions require increased analgesia levels, which run contrary to performing RFA as day

Table 2
Histological analysis of ablated area by RFA.

Resection immediately after RFA (9 cases)	Delayed surgical resection (32cases)
Grade 1a: 4 cases (44.4%)	Grade 1a: 1 case (3.1%)
Grade 1b: 1 case (11.1%)	Grade 1b: 6 cases (18.8%)
Grade 2: 2 cases (22.2%)	Grade 2: 21 cases (65.6%)
Grade 3: 0 case (0%)	Grade 3: 4 cases (12.5%)
unknown: 2 cases (22.2%)	

Evaluation by response criteria of Japanese Breast Cancer Society	
Response criteria of Japanese Breast Cancer Society	
Grade 0	No response
Grade 1	Almost no change in cancer cells alter treatment
Grade 1a	Slight response
Grade 1b	Mild response
Grade 2	Mild change in cancer cell regardless of the area, or marked changes in cancer cell seen in less than one third of cancer cells
Grade 2	Moderate response
Grade 3	Marked changes in one third or more but less two thirds of tumor cells
Grade 3	Marked response
Grade 3	Marked changes in two thirds or more of tumor cells
Grade 3	Complete response
Grade 3	Necrosis or disappearance of all tumor cells. Replacement of all cancer cells by granuloma-like and/or fibrous tissue, In the case of complete disappearance of cancer cells, pre-treatment pathological evidence of the presence of cancer is necessary

Table 3
Comparison of pathological evaluation by NADH and HE staining.

NADH staining	HE staining
No viable cell: 12 cases (100%)	Grade 1a: 0 case (0%)
Viable cell: 0 case (0%)	Grade 1b: 1 case (8.3%)
	Grade 2: 9 cases (75%)
	Grade 3: 2 cases (16.6%)

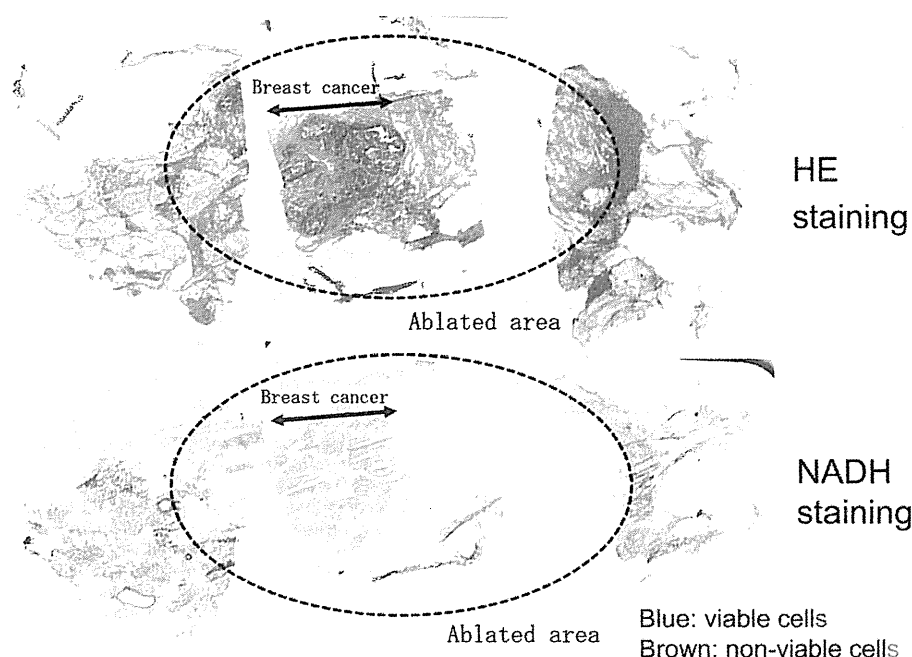


Fig. 3. NADH staining showed pathological complete cell death in the entire ablated area including surgical margin. HE staining of ablated lesion removed immediately after RFA could not demonstrate complete tumour cell death.

Table 4
Feasibility studies on radiofrequency ablation followed by surgical resection.

First Author (year) Ref.	No. of cases	T	Electrode	Application time	Power (W)	Time (min)	Complete ablation	Complications
Jeffrey (1999) ¹²	5	T2-T3	LeVeen	2 times	20–60	12–28	80%	None
Izzo (2001) ¹³	26	T1-T2	LeVeen	2 times	25–80	7–25	96%	Skin burn (1 case)
Burak (2003) ¹¹	10	T1	LeVeen	Over 2 times	–	7–21	90%	None
Singletary (2003) ¹⁴	29	T1-T2	RITA	1 time	–	30–45	86%	skin burn (1 case), Wound infection (4 cases)
Hayashi (2003) ¹⁵	22	T1	RITA	1 time	–	–	64%	skin burn (1 case)
Noguchi (2006) ¹⁶	10	T1	RITA	Over 2 times	–	–	100%	None
Khatri (2007) ¹⁷	15	T1	Cool-Tip	Over 2 times	14–53	7–36	93%	Skin puckering (2 cases), Wound infection (1 case)
Medina-Franco (2008) ¹⁸	25	T1-T2	Elektrotom	1 time	30–55	–	76%	Skin burn (3 cases), Wound infection (1 case)
Imoto (2009) ¹⁹	30	T1	LeVeen	2 times	7–89	5–42	87%	Skin burn (2 cases), Muscle burn (7 cases)
Wiksell (2010) ²⁰	31	T1	NeoDynamics AB	1 time	–	6.5–11	84%	Skin burn (1 case), Muscle burn (1 case), Pneumothorax (1 case)
Kinoshita (2011) ²¹	49	T1-T2	Cool-Tip	2 time	5–118	–	85%	Skin burn (2 cases), Muscle burn (3 cases)
Present study	41	T1	Cool-Tip	1 time	50–110	6–15	88%	Skin burn (1 case)
Total	293	T1-T3	Various	1-over 2 times	–	–	84%	Skin burn (12 cases), Muscle burn (11 cases) Pneumothorax (1 case), Miscellaneous (8 cases)

surgery. Theoretically, one application of RFA by a 3 cm electrode can ablate 3 cm in the shorter diameter; our technique ablated 1.8–5.5 cm (median, 2.5 cm) in the shorter diameter. If the greater diameter of the tumour is 1.5 cm and the surgical margin is 0.5 cm, at minimum, the zone of ablation must therefore be 2.5 cm, and so localized tumours less than 1.5 cm are indicated for RFA.

Our findings demonstrated that a single RFA session can eradicate breast cancer less than 1.5 cm by greater diameter with no EIC (extra-intraductal component); 2 or more sessions may be effective in tumours over 1.5 cm. Paradoxically, patient selection remains a very important factor in determining the suitability of RFA for breast cancer. NADH staining demonstrated complete cell death within the ablated area (the degenerative protein ring) by MRI scanning. Thus, when performing RFA without resection, if the tumour is located within this area, core needle biopsy is unnecessary to confirm cell viability. A post-ablation MRI scan can predict the therapeutic effect by RFA for breast cancer.

RFA represents a minimally invasive treatment option for the local therapy of early breast cancer instead of breast-conserving surgery. Despite the use of various RFA procedures, the overall total ablation rate in the literature is 84% (Table 4).^{11–21} RFA followed by whole breast irradiation may be a promising protocol for the local control of breast cancer. To confirm that RFA is an alternative to breast-conserving surgery, a randomized control clinical trial is indispensable for comparing the 2 treatments.

Conclusion

We found that RFA for breast cancer could be safely applied in an outpatient setting with good patient tolerance, and that only 1 RFA session could achieve total tumour cell death within the whole ablated area. RFA is a promising, minimally invasive alternative to breast-conserving surgery for local treatment in women with small (≤ 1.5 cm) breast cancer.

Conflict of interest statement

None declared.

References

1. Fisher B, Redmond C, Poisson R, Margolese R, Wolmark N, Wickerham L, et al. Eight-year results of a randomized clinical trial comparing total mastectomy and lumpectomy with and without irradiation in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 1989;**320**:822–8.
2. Jacobson JA, Danforth DN, Cowan KH, d'Angelo T, Steinberg SM, Pierce L, et al. Ten-year results of a comparison of conservation with mastectomy in the treatment of stage I and II breast cancer. *N Engl J Med* 1995;**332**:907–11.
3. Veronesi U, Salvadori B, Luini A, Banfi A, Zucali R, Del Vecchio M, et al. Conservation treatment of early breast cancer: long-term results of 1232 cases treated with quadrantectomy, axillary dissection, and radiation. *Ann Surg* 1990;**211**:250–9.
4. Giuliano AE, Jones RC, Brennan M, Statman R. Sentinel lymphadenectomy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1997;**15**:2345–50.
5. Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group. Effects of radiotherapy and surgery in early breast cancer. *N Engl J Med* 1995;**333**:1444–55.
6. Kurosumi M, Akashi-Tanaka S, Akiyama F, Komoike Y, Mukai H, Nakamura S, et al. Histopathological criteria for assessment of therapeutic response in breast cancer (2007 version). *Breast Cancer* 2008;**15**:5–7.
7. Neumann RA, Knobler RM, Pieczkowski F, Gebhart W. Enzyme histochemical analysis of cell viability after argon laser-induced coagulation necrosis of the skin. *J Am Acad Dermatol* 1991;**25**:991–8.
8. Sabel MS, Kaufman CS, Whitworth P, Chang H, Stocks LH, Simmons R, et al. Cryoablation of early-stage breast cancer: work-in-progress report of a multi-institutional trial. *Ann Surg Oncol* 2004;**11**:542–9.
9. Dowlatshahi K, Francescatti D, Bloom KJ. Laser therapy for small breast cancers. *Am J Surg* 2002;**184**:3559–63.
10. Gianfelice D, Khai A, Amara M, Belblidia A, Boulanger Y. MR imaging-guided focused US ablation of breast cancer: histopathological assessment of effectiveness-initial experience. *Radiology* 2003;**227**:849–55.
11. Burak Jr WE, Agnese DM, Povoski SP, Yanssens TL, Bloom KJ, Wakely PE, et al. Radiofrequency ablation of invasive breast carcinoma followed by delayed surgical excision. *Cancer* 2003;**98**:1369–76.
12. Jeffrey SS, Birdwell RL, Ikeda DM, Daniel BL, Nowels KW, Dirbas FM, et al. Radiofrequency ablation of breast cancer. *Arch Surg* 1999;**134**:1064–8.
13. Izzo F, Thomas R, Delrio P, Rinaldo M, Vallone P, DeChiara A, et al. Radiofrequency ablation in patients with primary breast carcinoma: a pilot study in 26 patients. *Cancer* 2001;**92**:2036–44.
14. Singletary SE. Feasibility of radiofrequency ablation for primary breast cancer. *Breast Cancer* 2003;**10**:4–9.
15. Hayashi AH, Silver SF, van der Westhuizen NG, Donald JC, Parker C, Fraser S, et al. Treatment of invasive breast carcinoma with ultrasound-guided radiofrequency ablation. *Am J Surg* 2003;**185**:429–35.
16. Noguchi M, Earashi M, Fujii H, Yokoyama K, Harada K, Tsuneyama K. Radiofrequency ablation of small breast cancer followed by surgical resection. *J Surg Oncol* 2006;**93**:120–8.
17. Khatri VP, McGahan JP, Ramsamooj R, Griffey S, Brock J, Cronan M, et al. A phase II trial of image-guided radiofrequency ablation of small invasive breast carcinoma: use of saline-cooled tip electrode. *Ann Surg Oncol* 2007;**14**:1644–52.
18. Medina-Franco H, Soto-Germes S, Ulloa-Gómez JL, Romero-Trejo C, Uribe N, Ramirez-Alvarado CA, et al. Radiofrequency ablation of invasive breast carcinoma: phase II trial. *Ann Surg Oncol* 2008;**15**:1689–95.
19. Imoto S, Wada N, Sakemura N, Hasebe T, Murata Y. Feasibility study on radiofrequency ablation followed by partial mastectomy for stage I breast cancer patients. *The Breast* 2009;**18**:130–4.
20. Wiksell H, Löfgren L, Schässburger KU, Grundström H, Janicijevic M, Lagerstedt U, et al. Feasibility study on the treatment of small breast carcinoma using percutaneous US-guided preferential radiofrequency ablation (PRFA). *The Breast* 2010;**19**:219–25.
21. Kinoshita T, Iwamoto E, Tsuda H, Seki K. Radiofrequency ablation as local therapy for early breast carcinomas. *Breast Cancer* 2011;**18**:10–7.

乳癌

Utility of frozen section diagnosis of surgical margin and sentinel lymph nodes
for operable breast cancer patients

杏林大学医学部外科¹ 同 病理² 国立がん研究センター東病院乳腺外科³

井本 滋¹ 菅間 博² 和田徳昭³

【ポイント】

- ◆ 乳房温存手術は、整容性を考慮して画像診断による適切な切除範囲を決めることが重要である。
- ◆ 乳腺の切除断端における術中病理診断は、画像診断において乳管内に進展する方向を中心に検索する。
- ◆ センチネルリンパ節の術中病理診断は2 mm 間隔での検索が望ましいが、少なくとも数断面において転移の検索を行うべきである。

臨外 66(4) : 454~456, 2011

はじめに

乳癌は集学的治療の時代にあり、手術は主に局所コントロールの目的で行われている。1980年代に導入された乳房部分切除は、放射線治療を併用した乳房温存療法として行われている¹⁾。現在は、画像診断によって乳管内進展を予測して、適切な範囲の乳腺を部分切除している。一方、従来見逃されていた乳管内進展巣が描出されるようになり、広範囲の乳房部分切除が必要な場合が増えている。また、乳房温存療法はその整容性が重視される時代にある。そこで、部分切除に伴う乳房の変形が予想される場合には、あえて乳房は温存せず、乳頭乳輪温存あるいは合併切除を伴う乳腺全切除を行い、筋皮弁あるいは tissue expander などの人工物による乳房再建を行う場合も増えている。いずれにせよ、乳房部分切除における術中病理診断は、現在も可及的に切除断端を陰性にすべく行われている。

センチネルリンパ節生検は、癌の転移を見張るリンパ節を検索してリンパ節郭清の有無を決定するリンパ節転移診断法である。しかし、微小なリンパ節転移を術中に病理診断することが困難な場合もある。

本稿では、乳腺の切除断端とセンチネルリンパ節に関する術中病理診断について述べる。

乳管内進展と温存療法後の予後

Holland ら²⁾は、乳癌の主病巣からどこまで腫瘍縁を越えて乳管内を癌が進展しているか検討した。その結果、主病巣の乳管内進展の有無によって、主病巣から2 cm 離れた範囲で33%と2%の症例で乳管内に癌を認めた(図1)。以上から、画像診断上、限局した腫瘍でも2 cm の範囲を部分切除した場合に断端が陽性になる可能性がある。Komoike ら³⁾は、3 cm 以下の乳癌1,901例を対象とした乳房温存療法に関する多施設共同研究について報告した。その結果、10年生存率と健存率は84%と78%であった(観察期間中央値は107か月)。同側乳房内の10年累積再発率は乳房照射群で8.5%、乳房非照射群で17.2%であった。同側乳房内再発に関する危険因子は多変量解析の結果、若年、断端陽性と乳房非照射であった。また、同側乳房内再発群は非再発群に比べて有意に遠隔転移再発を認めた。EBC-TCG (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group) の早期乳癌における乳房切除範囲と放射線治療に関するメタアナリシス⁴⁾では、乳房照射の有無による15年生存率について、リンパ節転移陰性群6,097例で5%、リンパ節陽性群1,214例で7%の予後の改善が認められた。以上から、乳房温存療法では最終的な乳腺の切除断端の陰性化が望ましいが、切除断端の乳

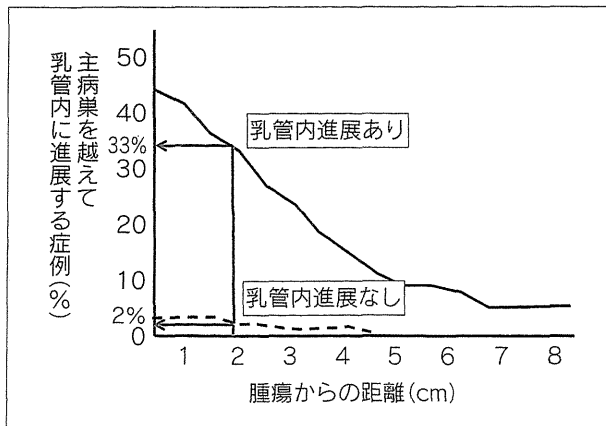


図1 腫瘍内の乳管内進展の有無と腫瘍を越えて存在する乳管内進展の範囲 (文献2より引用して改変)

管内進展の有無にかかわらず乳房照射が必要である。

乳房部分切除における術中病理診断

主病巣からの乳管内進展巣は乳頭方向に進展することが多い。しかし、MRI 画像などから水平方向あるいは垂直方向に進展する場合も稀ではない。筆者は乳頭方向の切除断端を術中病理診断に供しているが、以前所属していた国立がんセンター(現・国立がん研究センター)東病院の乳腺外科での乳房部分切除における断端陰性率は83%であった(2004年 日本乳癌学会総会抄録集O-208)。乳頭方向の切除断端をほぼ陰性化しても、側方、頭側(尾側)、あるいは深部側の断端の陰性化を術中病理診断ですべて陰性化することは困難である。

切除断端を術中にどう調べるか？

温存乳房の整容性を考慮して、かつ少なくとも切除断端ぎりぎり乳管内進展巣の露出を防ぐということであれば、切除標本の側面ならびに胸筋側をすべて術中に調べるということになる。しかし、実地臨床では全く不可能である。また、凍結切片標本による術中病理診断の敏感度と特異度は、それぞれ65~78%と98~100%と報告されている⁵⁾。さらに、非浸潤性乳管癌の乳房部分切除において、切除断端から腫瘍までの距離を少なくとも2mm以上離すことで同側乳房内再発を最小限に抑えられたと報告された⁶⁾。以上から、まず画像診断による乳管内進展巣の予測から切除範囲を決定し、次に乳管内進展巣が最も近接すると考えられる乳頭側、頭側、尾側、あるいは外側の切除断端を術中病理診断に供することが実際的である。しかし、切除断端に浸潤癌が露出する場合や、多発する乳管内進展

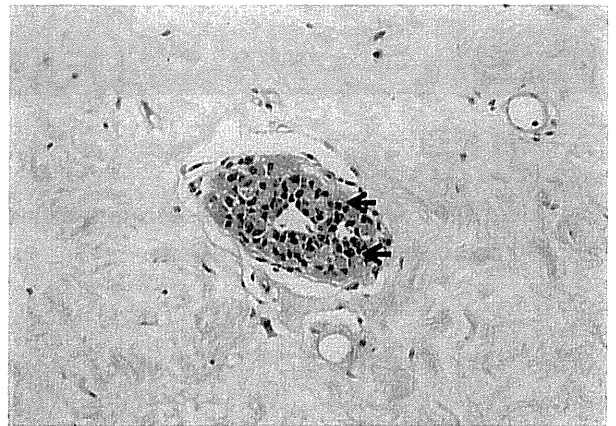


図2 切除断端に露出した乳管の迅速病理標本(×200) 乳管上皮細胞の下へ進展する小葉癌細胞(矢印)。

巣が認められる場合は、追加部分切除あるいは全切除すべきである。特に、画像診断で乳管内進展が広範に存在する場合は、術中追加切除あるいは術中または2期的乳腺全切除の可能性について術前に説明すべきである。一方、小葉癌の術中病理診断では偽陰性になる場合もあるので、術前の組織診断で小葉癌の場合は、術者が病理医にその情報を事前に伝えて慎重に術中病理診断を行うべきである(図2)。

センチネルリンパ節の術中病理診断

2010年4月より乳癌のセンチネルリンパ節生検は保険収載された。センチネルリンパ節に転移がなければリンパ節郭清は不必要である。そこで、センチネルリンパ節を術中に詳細に病理診断することは重要である。Veronesiら⁷⁾は、I期乳癌を対象としたセンチネルリンパ節生検の第Ⅲ相臨床試験において詳細な術中病理診断を行った。5mm以上のリンパ節をその長軸方向で半割し、各々50μm間隔で15組の4μm切片(合計60切片)を作製した。さらに残ったリンパ節は100μm間隔で切片を作製した。それぞれHE染色で診断し、診断が曖昧な場合はサイトケラチン抗体(MNF116)を用いた迅速法による免疫染色診断を行った。登録された516例中175例(34%)がセンチネルリンパ節転移陽性であった。しかし、ここまで迅速病理診断を行う施設あるいは臨床試験は稀である。

センチネルリンパ節の OSNA 法による術中診断

One-step nucleic acid amplification (OSNA) 法は、サイトケラチン19のmRNAの増幅測定によってリン

パ節を転移診断する方法である⁸⁾。その結果、2 mm より大きいマクロ転移と0.2~2 mmのミクロ転移とを98%の診断精度をもって区分し診断することができた。偽陽性例はなく、短時間にリンパ節のマクロ転移を診断する方法として優れている。しかし、サイトケラチン19 mRNA発現のカットオフ値の設定から0.2 mm以下のisolated tumor cells (ITC)とミクロ転移との検出率は低かった。いずれにせよ、病理医の精度と遜色のない優れた術中のリンパ節転移診断法である。

センチネルリンパ節を術中どう調べるか？

術中病理診断には、人的資源、切片作製と染色の技術、手術症例数、診断までの時間制限、病理医の診断精度など、数多くの制約がある。実地臨床において、少なくともミクロ転移を見逃さないように可及的に2 mm間隔で断面を作製して、HE染色で診断することが望ましい。もし困難であれば、少なくとも数断面を作製して診断することが望まれる。

センチネルリンパ節転移陽性乳癌の予後

米国大学外科腫瘍グループ (ACOSOG) では、I-II A期乳癌で乳房温存療法を予定した患者を対象に、HE染色で診断されたセンチネルリンパ節転移陽性乳癌におけるリンパ節郭清の意義について、第Ⅲ相臨床試験を1999年に開始した⁹⁾。Primary endpointは郭清の有無による生存率の差であり、1,900例の登録予定であった。しかし、症例集積の遅延と再発率が低かったため、2004年に試験は中止された。その結果、登録された郭清群445例中97例(22%)で非センチネルリンパ節に転移を認めた。しかし、驚くべきことに6年の観察期間において非郭清群446例の所属リンパ節再発はわずか4例(1%)であった。多変量解析では、腫瘍の悪性度のみが、局所あるいは所属リンパ節再発に関する有意な因子であった。非郭清群に所属リンパ節再発が少なかった原因として、9割以上の症例で補助薬物療法が行われたこと、温存乳房の照射野の一部に腋窩が含まれていた可能性が高いこと、癌の生物学的特性によって再発が顕性化していないことが挙げられた。いずれにせよ、精度の高いセンチネルリンパ節の同定を行い、そのリンパ節を詳細に検討することは重要であるが、迅速病理診断によってセンチネルリンパ

節転移陽性であった場合に郭清を一期的に行うかどうかは、今後の重要な課題である。

おわりに

乳癌手術における迅速病理診断の意義について考察した。乳癌の診断と治療の体系において、迅速病理診断の意義も変化している。ただし、各施設における外科、病理、臨床検査の人的資源が有効に活用され、病理検体を提出する側と診断する側の相互信頼が質の高い病理診断に不可欠であることは変わらない。

文献

- 1) Fisher B, Anderson S, Bryant J, et al : Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med* **347** : 1233-1241, 2002
- 2) Holland R, Connolly JL, Gelman R, et al : The presence of an extensive intraductal component following a limited excision correlates with prominent residual disease in the remainder of the breast. *J Clin Oncol* **8** : 113-118, 1990
- 3) Komoike Y, Akiyama F, Iino Y, et al : Ipsilateral breast tumor recurrence (IBTR) after breast-conserving treatment for early breast cancer. *Cancer* **106** : 35-41, 2006
- 4) Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group : Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival : an overview of the randomised trials. *Lancet* **366** : 2087-2106, 2005
- 5) Pleijhuis RG, Graafland M, de Vries J, et al : Obtaining adequate surgical margins in breast-conserving therapy for patients with early-stage breast cancer : current modalities and future directions. *Ann Surg Oncol* **16** : 2717-2730, 2009
- 6) Dunne C, Burke JP, Morrow M, et al : Effect of margin status on local recurrence after breast conservation and radiation therapy for ductal carcinoma *in situ*. *J Clin Oncol* **27** : 1615-1620, 2009
- 7) Veronesi U, Paganelli G, Viale G, et al : Randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med* **349** : 546-553, 2003
- 8) Tsujimoto M, Narabayashi K, Yoshidome K, et al : One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res* **13** : 4807-4816, 2007
- 9) Giuliano AE, McCall L, Beitsch P, et al : Locoregional recurrence after sentinel lymph node dissection with or without axillary dissection in patients with sentinel lymph node metastases. *Ann Surg* **252** : 426-433, 2010

IMOTO Shigeru, et al
杏林大学医学部外科
〒181-8611 東京都三鷹市新川 6-20-2

ラジオアイソトープ (RI) 法を用いた 乳癌センチネルリンパ節生検手技

井本 滋*

はじめに

2010年4月に乳癌を対象にセンチネルリンパ節生検が保険収載された。色素やラジオアイソトープ (RI) などのトレーサーを用いたセンチネルリンパ節生検によって、センチネルリンパ節に転移を認めなければ不必要な腋窩リンパ節郭清 (腋窩郭清) が省略される時代になった。折しも、2010年米国臨床腫瘍学会では、大規模なセンチネルリンパ節生検に関する臨床試験である NSABP B32, 並びに ACOSOG Z0010 と Z0011 の5年予後が報告された (表1)。その結果、NSABP B32 では、センチネルリンパ節転移陰性 [pN0 (sn)] 乳癌において、センチネルリンパ節生検のみと腋窩郭清との手技の違いによる予後の差は認められなかった。また、ACOSOG Z0010 では、pN0 (sn) 乳癌は抗サイトケラチン抗体による免疫組織染色によって up-staging されてもその予後に影響がなく、HE 染色による病理組織診断の妥当性が示唆された。さらに、症例登録がはかばかしくなく中止となった ACOSOG Z0011 では、センチネルリンパ節に微小転移 [pNmi (sn)] やマクロ転移 [pN1 (sn)] を認めた場合でも、腋窩郭清による予後の改善は認められな

かった。腋窩郭清群とセンチネルリンパ節生検群の5年リンパ節再発率は0.6%と1.3%と報告された。センチネルリンパ節生検のみでもリンパ節再発が低かった理由として、補助薬物療法が奏効すれば非センチネルリンパ節転移の陰性化が期待できること、登録された症例において非センチネルリンパ節転移の陽性率が低い可能性があったこと、仮にリンパ節転移が遺残していても顕性化しない場合があることが考えられる。以上の結果から、センチネルリンパ節生検は早期乳癌手術における基本手技であり、センチネルリンパ節生検を理解することは乳癌専門医のみならず一般外科医

表1 センチネルリンパ節生検に関する臨床試験 (2010年米国臨床腫瘍学会報告)

試験名	NSABP B32 (5,611例)	ACOSOG Z0010 (5,539例)	ACOSOG Z0011 (891例)
pN0 (sn) 乳癌の5年生存率	SNB 対 SNB+AX 95%対96%	免疫組織染色 診断 SN+ 対 SN- 96% 対 95%	
pN1mi (sn) または pN1 (sn) 乳癌の5年生存率		Z0010 症例 と比較 SN+ 対 SN- 93% 対 96%	SNB 対 SNB+AX 95% 対 96% (リンパ節再発: 1.3% 対 0.6%)

* Shigeru IMOTO 杏林大学乳腺外科 教授

key words

乳癌, センチネルリンパ節生検, ラジオアイソトープ

ACOSOG ; American College of Surgeons Oncology Group, AX ; 腋窩リンパ節郭清, NSABP ; National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project, SNB ; センチネルリンパ節生検, SN+ ; センチネルリンパ節転移陽性, SN- ; センチネルリンパ節転移陰性

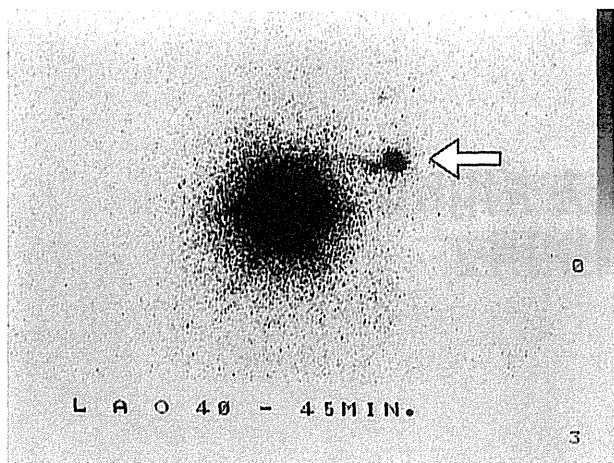


図1 RIを集積した hot spot としてシンチグラムに描出されたセンチネルリンパ節 (矢印)

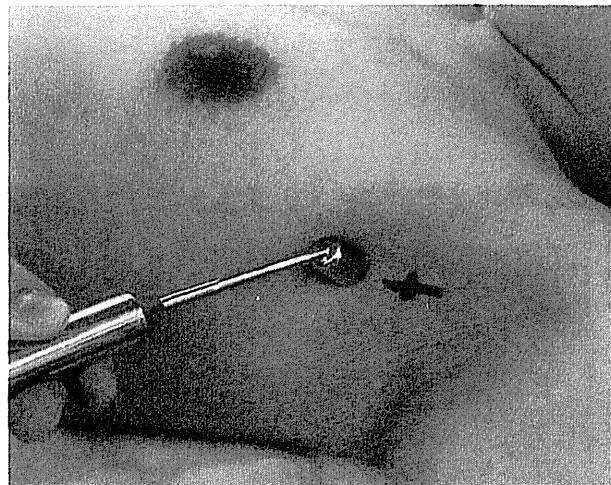


図2 ガンマプローブによるセンチネルリンパ節の探索

×印はシンチカメラ下での hot spot の位置。

においても重要である。

I. RI 法の特徴

センチネルリンパ節とは、腫瘍からのリンパ流を最初に受けるリンパ節と定義される。RI法は Krag らが 1993 年に乳癌における最初のセンチネルリンパ節生検法として報告した¹⁾。RI法では、半減期が約 6 時間であるテクネシウム 99m で標識されたトレーサーを乳房内に投与する。アイソトープを集積したリンパ節は、シンチカメラ下で hot spot として描出される (図 1)。このリンパ節から放射されるガンマ線を高感度なガンマ線検出器 (ガンマプローブ) で同定し生検する方法が RI 法である (図 2)。センチネルリンパ節を同定するトレーサーとして、RI や色素に加えて、CT 造影剤²⁾を用いた方法や色素からの蛍光波長を近赤外線カメラで同定する方法³⁾も開発されている。また、RI 法の新たなマッピング技術として SPECT との融合による同定法も考案されている⁴⁾。

RI 法の長所として、①センチネルリンパ節がガンマプローブによって容易に同定されること、②異なる領域に存在する複数個のセンチネルリンパ節の同定にすぐれていること、③皮膚より深部にセンチネルリンパ節が存在しても手技に支障がないことがあげられる⁵⁾。色素法や蛍光波長を同定する方法では、センチネルリンパ節の解剖学的位置によってリンパ節を可視的にあるいは画像的

にとらえるのが困難な場合がある。一方、RI 法の短所として、①RI 管理区域を要する施設で行えないこと、②RI ならびにシンチグラフィ検査が高価であること、③ほかの RI 検査に比べて少ないが RI 使用に伴う患者ならびに医療従事者の被曝、があげられる。

II. RI 法の実際

RI は、2009 年乳癌のリンパ管シンチグラフィにおける医薬品として追加承認されたテクネシウム 99m 標識フチン酸または同標識スズコロイドを用いる。術前日あるいは当日に数 10 MBq の RI を腫瘍周囲、腫瘍直上、または乳輪近傍に投与する。投与の深さは腫瘍周囲、皮下、皮内とさまざまであるが、投与する RI 量もセンチネルリンパ節に集積する RI 量に影響する。なお、シンチカメラ下で hot spot を皮膚にマーキングしておく術中のセンチネルリンパ節生検は容易である (図 1, 2)。センチネルリンパ節からのガンマ線の放射活性は距離の二乗に反比例して減衰する。まず、ガンマプローブの向きを変えてもっともガンマ線を検出する方向を見出し、つぎにその方向へガンマプローブを皮膚から深部に向けて押し付けてリンパ節の位置を探索する。皮膚に加えた小切開創から、滅菌したビニール袋で覆ったガンマプローブを押し当てると、皮膚からの探索よ

りはるかに高い放射活性が検出される (図3)。また、生検したセンチネルリンパ節を ex vivo でその放射活性をカウントすると、体内でのカウントよりさらに高い値が測定される。

III. RI 法のコツ

RI を集積したセンチネルリンパ節はガンマプローブによって敏感に容易に同定されるが、RI 投与部位からのガンマ線が hot spot に重なることによってガンマプローブでの検出が困難な場合がある (shine-through 現象)。この場合は、シンチカメラで正面像に加えて斜位像を撮影すると隠れていた hot spot が描出されることがある (図4)。また、色素法やほかの方法の併用もセンチネルリンパ節の見逃しを防ぐうえで有効である。

RI の投与時期は手術前日でも当日でも hot spot の描出は明瞭である (図5)。RI 投与量を増やしたり手術直前に RI を投与することで、高い

放射活性を有するセンチネルリンパ節が同定されるが、必要以上の被曝を避けるべく RI 投与量を少なくする努力も必要である。日本核医学会からセンチネルリンパ節の核医学的検出法ガイドラインが出されている。そのなかで、74MBq が残存する患者に 50 cm の距離で、1 時間作業した場合の術者の被曝線量は約 $6 \mu\text{Sv}$ とされている⁶⁾。

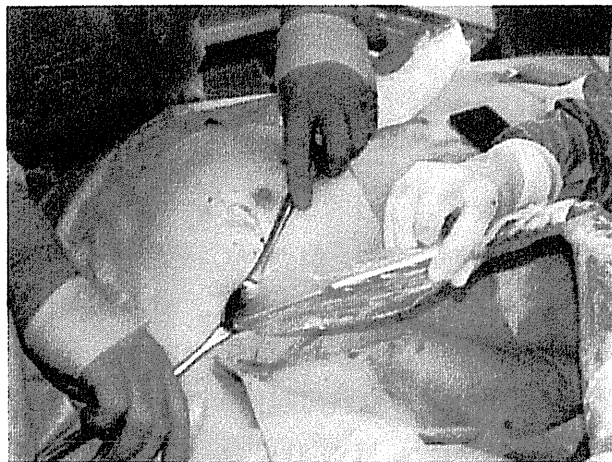


図3 術中のガンマプローブの操作

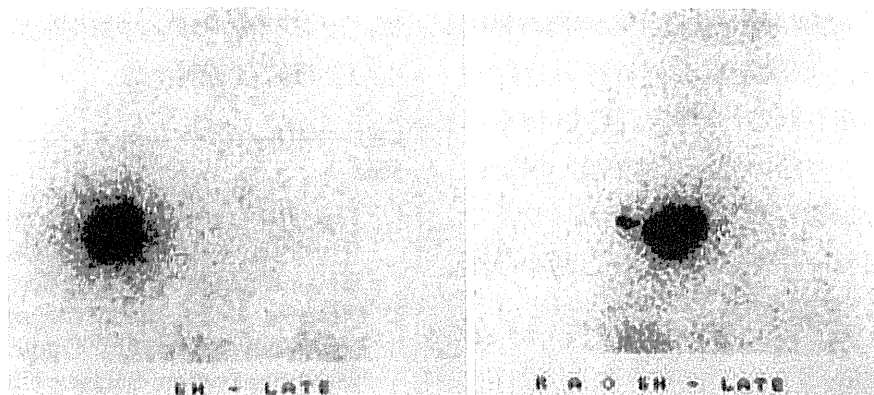


図4 Shine-through 現象とシンチカメラでの斜位像の有用性

a) 正面像。b) 斜位像。



図5 RI 投与後のシンチグラムでの hot spot の推移

a) 5 分後。b) 5 時間後。c) 24 時間後。

表2 センチネルリンパ節転移陽性乳癌に関する臨床試験

試験名	対象	目的
EORTC 10981-22023	pN1 (sn)乳癌	腋窩郭清と腋窩照射の比較
IBCSG 23-1	pN1mi (sn)乳癌	腋窩郭清と非郭清の比較
ACOSOG Z1071	T1-4N1-2 乳癌	化学療法後のSNBの妥当性

ACOSOG ; American College of Surgeons Oncology Group, EORTC ; European Organization for Research and Treatment of Cancer, IBCSG ; International Breast Cancer Study Group, SNB ; センチネルリンパ節生検

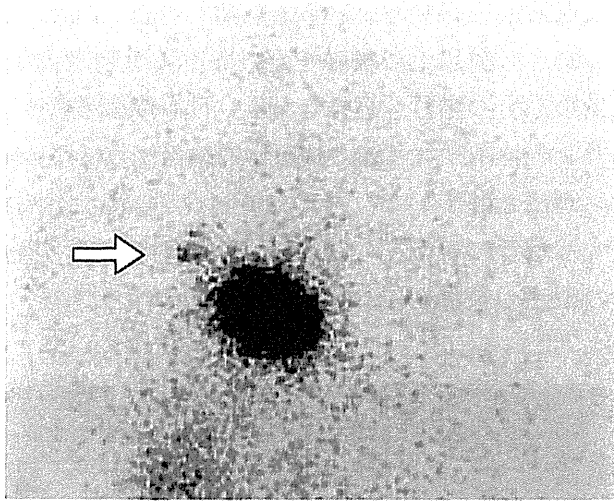


図6 放射活性が低いセンチネルリンパ節 (矢印)

筆者が以前勤めていた国立がんセンター東病院での手術中の被曝のモニタリングでは、術前日に40 MBqを乳房に投与した6人の患者から10 cmの距離で測定した被曝線量の平均値は9 μ Svであった(未報告)。いずれにせよ、RI法の施行に当たっては、普段放射線を取り扱わない医療従事者の理解と協力が不可欠である。

センチネルリンパ節生検が失敗する症例の要因として、高齢症例、肥満症例、外科医の習熟不足、hot spotが描出されない症例などがあげられる。センチネルリンパ節の放射活性が低い場合には、前述したようにあらかじめシンチカメラ下でhot spotを皮膚にマーキングしておくと同定の手引きとなる(図6)。

おわりに

日本人女性の乳癌罹患者数は4万人を越え、センチネルリンパ節生検の対象となる患者は2万人と推測される。センチネルリンパ節の同定が容易なRI法の普及は望ましいが、その使用には条件がありその同定にも限界はある。質の高いセンチネルリンパ節生検を保障するには、精度の高いセンチネルリンパ節の同定と精度の高い病理診断が必須である。RI法は精度の高い同定法であるが、センチネルリンパ節をどこまで詳細に転移検索す

べきか、どこまで微小なリンパ節転移が予後に影響を与えるかという課題に関する第Ⅲ相臨床試験が進行中である(表2)。より簡便により正確に微小なリンパ節転移を検出するための分子マーカーを用いた診断法も開発された⁷⁾。いずれにせよ、10年あるいは20年先に生体内でマイクロレベルの癌細胞の集塊を動的に診断できるようになれば、センチネルリンパ節生検自体の役割は終わるものと筆者は予測する。

文献

- 1) Krag DN et al : Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol* 2 : 335-339, 1993
- 2) Tangoku A et al : Sentinel lymph node biopsy using computed tomography-lymphography in patients with breast cancer. *Surgery* 135 : 258-265, 2004
- 3) Tagaya N et al : Intraoperative identification of sentinel lymph nodes by near-infrared fluorescence imaging in patients with breast cancer. *Am J Surg* 195 : 850-853, 2008
- 4) Ploeg IMC et al : The hybrid SPECT/CT as an additional lymphatic mapping tool in patients with breast cancer. *World J Surg* 32 : 1930-1934, 2008
- 5) Imoto S et al : Sentinel node biopsy for breast cancer patients in Japan. *Biomed Pharmacother* 56 Suppl 1 : 192s-195s, 2002
- 6) 遠藤 啓吾 : センチネルリンパ節の核医学的検出法ガイドライン. *日外会誌* 104 : 747-750, 2003
- 7) Julian TB et al : Novel intraoperative molecular test for sentinel lymph node metastases in patients with early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 26 : 3338-3345, 2008

術前化学療法とセンチネルリンパ節生検

Sentinel node biopsy for breast cancer patients treated with primary chemotherapy

杏林大学医学部外科

井本 滋

【ポイント】

- ◆ 術前化学療法によって乳房温存率は向上したが、腫瘍とリンパ節転移が pCR となる効果予測因子とレジメンは明らかではない。
- ◆ 術前化学療法後のセンチネルリンパ節生検によるリンパ節郭清の個別化は T1-2N0 乳癌では許容される。しかし、T3-4N0 乳癌では推奨できない。
- ◆ N+乳癌における術前化学療法とセンチネルリンパ節生検に関する第Ⅱ相臨床試験が行われている。

臨外 66(7) : 882~885, 2011

はじめに

センチネルリンパ節とは腫瘍からのリンパの流れを直接受けるリンパ節であり、そのリンパ節を同定し転移の有無を診断する方法がセンチネルリンパ節生検である。1990年代に始まった乳癌におけるセンチネルリンパ節生検は、腋窩のリンパ節郭清と比較した臨床試験が行われたのち T1-2N0 乳癌の標準的なリンパ節転移診断法として確立した¹⁾。現在は、その適応拡大とセンチネルリンパ節転移陽性乳癌におけるリンパ節郭清の是非について研究が進んでいる。

乳癌における術前化学療法は1980年代に始まり、現在は乳癌の標準的な薬物療法の1つとなっている。腫瘍の縮小効果に伴う乳房温存率の向上は達成されたが、より早い段階での化学療法が予後の改善につながっていない。乳癌は集学的治療の時代にあり、化学療法は生存率の向上のために、手術は局所コントロールのために行われている。

本稿では、術前化学療法とセンチネルリンパ節生検とを組み合わせることで腋窩手術は縮小するのかどうかを解説する。なお、本稿での病理学的完全奏効 (pathological complete response : pCR) とは腫瘍とリ

ンパ節における完全な腫瘍壊死と定義する。

術前化学療法の現状

乳癌の薬物療法は hormone receptor (HR) や human epidermal growth factor receptor type 2 (HER2) といった腫瘍の内因性因子に基づく分類 (intrinsic subtype) によって大別される。HR 陽性乳癌では内分泌療法が、HER2 陽性乳癌では HER2 標的療法が、HR 陰性かつ HER2 陰性乳癌では化学療法が薬物療法の基本である。そこにリンパ節転移個数や、Ki67 などの転移増殖に関する因子が加味されて、これら3つの薬物療法を組み合わせた治療法が選択される。

術前化学療法は、National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B27 に代表されるアンストラサイクリンとタキサンを併用した臨床試験の結果、pCR が得られた症例の5年全生存率は95%であった²⁾。術前化学療法における予後予測因子として pCR は重要である (図1)。von Minckwitz ら³⁾ は、ドイツで行われた術前化学療法に関する7つの臨床試験の pooled analysis の結果、より化学療法の回数を追加した場合、アンストラサイクリンやタキサンの総投与量を増やした

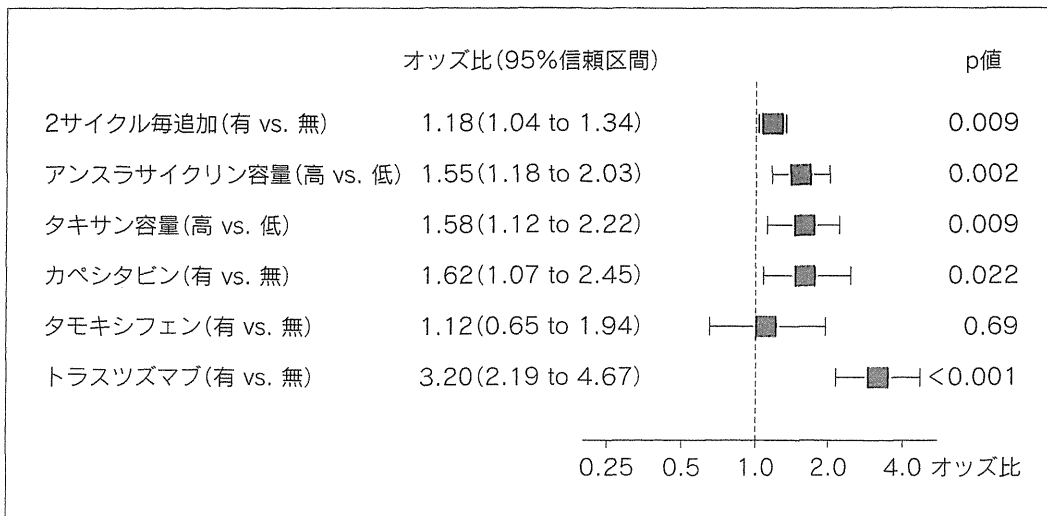


図1 術前化学療法と pCR との関連性

オッズ比 1 未満はより少ない治療で、1 以上はより多くの治療で pCR が得られたことを意味する。

(文献3をもとに作成)

場合、あるいはカペシタビンやトラスツズマブを投与した場合に、より高い pCR が期待できると報告した。しかし、HER2 標的療法に対する効果予測因子としての HER2 陽性以外、化学療法において pCR を予測する腫瘍の内因性因子は明らかではない。また、有害事象を最小限に抑えつつ腫瘍の内因性因子を考慮して pCR が期待できる化学療法のレジメンは確立していない。

センチネルリンパ節生検の現状

センチネルリンパ節は、色素やラジオアイソトープを用いてリンパの流れを同定して生検する。わが国では2010年4月に乳癌に関するセンチネルリンパ節生検が保険収載された。センチネルリンパ節生検は T1-2N0 乳癌が対象である⁴⁾。腫瘍の増大や皮膚浸潤によってリンパ管侵襲に伴うリンパ節転移の頻度は高まるので、T3-4N0 乳癌では推奨できない。センチネルリンパ節転移陰性であれば、リンパ浮腫などの後遺症を伴うリンパ節郭清が省略できる。

NSABP B32 試験では5,611名のN0乳癌患者を対象に、全生存期間についてセンチネルリンパ節生検群とリンパ節郭清群とが比較検討された。その結果、3,989名が2mm間隔でのセンチネルリンパ節のHE染色による病理診断において転移陰性であった。このうち、引き続きリンパ節郭清を施行した1,978例とセンチネルリンパ節生検のみの2,011例との8年全生存率は91.8%と90.3%で、ハザード比は1.05で有意差はな

かった ($p=0.54$)¹⁾。

さらに、センチネルリンパ節転移陰性症例のうち、リンパ節のブロックが回収できた3,268例について、再度0.5mmと1mmの間隔で深切りを加えてHE染色と免疫組織染色によって発見された潜伏転移(occult metastasis)の臨床的意義が検討された⁵⁾。その結果、0.2mm以下のisolated tumor cells(ITC)が430例(11.1%)に、0.2mmより大きく2mm以下のmicrometastasis(MIC)が172例(4.4%)に、2mmより大きいmacrometastasis(MAC)が14例(0.4%)に認められた。ITC、MIC、MACを認めた616例(19%)と潜伏転移が認められなかった3,268例の5年全生存率はそれぞれ94.6%と95.8%であり、潜伏転移を認めた症例で有意に予後は不良であった($p=0.03$)。しかし、その差はわずか1.2%であった。また、多変量解析の結果から、HR陽性乳癌に対する内分泌療法は予後を改善する効果が示された。

以上から、センチネルリンパ節は2mm間隔でHE染色による病理診断を行えば、仮に潜伏転移の見落としがあったとしても、腫瘍の悪性度に応じた薬物療法によって予後への影響を最小限に止められることが示唆された。

術前化学療法前のセンチネルリンパ節生検

化学療法の前にセンチネルリンパ節生検でリンパ節転移の有無を診断しておけば、化学療法後のリンパ節

表 1 N+乳癌における術前化学療法後のセンチネルリンパ節生検

	ALND+	ALND-
SN+	22	8
SN-	10 (偽陰性)	16 (陰性化)

SN+/SN-: センチネルリンパ節の転移の有無
 ALND+/ALND-: 腋窩リンパ節 (非センチネルリンパ節) の転移の有無
 腋窩リンパ節転移の陰性化率: 29% (16/56 例)
 センチネルリンパ節生検の偽陰性率: 25% (10/40 例)
 (文献 8 をもとに作成)

郭清の個別化は妥当であると思われる。ただし、センチネルリンパ節生検と化学療法後の手術と、2度の外科的侵襲が課題となる。Cox ら⁶⁾は T3-4N0 乳癌の 47 例を対象に化学療法前のセンチネルリンパ節生検を行い、その臨床的意義について検討した。その結果、同定率は 100% で、7 例 (15%) がセンチネルリンパ節転移陰性のため、化学療法後のリンパ節郭清は省略された。残りのセンチネルリンパ節転移陽性乳癌の 40 例は化学療法後にリンパ節郭清を行ったところ、13 例 (28%) で腋窩リンパ節に癌細胞の遺残を認めなかった (pCR^{Ax})。センチネルリンパ節転移陰性の 7 例は化学療法後 3 年間無再発健存で、pCR^{Ax} 13 例の 3 年無再発健存率は 90% であった。

以上から、T3-4N0 乳癌であってもセンチネルリンパ節生検を先行し転移陰性であれば化学療法後のリンパ節郭清は省略可能であることと、センチネルリンパ節転移陽性であっても pCR^{Ax} であれば予後は良好であることが示唆された。

術前化学療法後のセンチネルリンパ節生検

術前化学療法後のセンチネルリンパ節生検に関する研究は、その対象を N0 と N+ に分けて評価すべきである。Tan ら⁷⁾は、N0 乳癌と N+ 乳癌が術前化学療法によって N0 となった症例について術前化学療法後のセンチネルリンパ節生検の妥当性について報告した。その結果、10 試験、449 症例の解析から、同定率は 94%、偽陰性率は 7% と推計された。

しかし、N+ 乳癌が術前化学療法後で必ずしも N0 乳癌になるわけではない。Shen ら⁸⁾は、穿刺吸引細胞診で転移陽性と診断された N+ 乳癌を対象に、術前化学療法後にセンチネルリンパ節生検とリンパ節郭清を

施行してセンチネルリンパ節生検の妥当性を検討した (表 1)。その結果、29% の症例でリンパ節転移が陰性化したものの、センチネルリンパ節生検の偽陰性率は 25% であった。

以上から、T1-2N0 乳癌は術前化学療法後のセンチネルリンパ節生検によるリンパ節郭清の個別化が許容される。N+ 乳癌が術前化学療法によって N0 となった症例でのリンパ節郭清の個別化は臨床研究として行うことが望まれる。ただし、治療前に高度なリンパ節転移が認められる症例や病理学的に高度なリンパ管侵襲を伴う症例では、センチネルリンパ節の転移が陰性であったとしてもリンパ節郭清を行うべきである。

術前化学療法とセンチネルリンパ節生検に関する臨床試験

センチネルリンパ節生検によるリンパ節郭清の個別化について 2 つの第 II 相臨床試験を紹介する (図 2)。

米国の American College Of Surgeons Oncology Group (ACOSOG) Z1071 は T0-4N1-2 乳癌を対象に術前化学療法後のセンチネルリンパ節生検の信頼性を検証する試験である。Primary endpoint は偽陰性率で、660 症例が登録される予定である。

わが国の Sentinel Node Navigation Surgery (SNNS) 研究会では T1-3N0 乳癌を対象にセンチネルリンパ節生検を行い、センチネルリンパ節に合計 3 個以下の MIC、あるいは MAC を認めた症例を登録して、非センチネルリンパ節転移が術前化学療法でどこまで陰性化するか検証する試験を行っている。Primary endpoint は術前化学療法後の腋窩リンパ節の遺残転移陽性率であり、目標症例数は MIC 症例 38 例と MAC 症例 60 例で、症例集積には 1,000 例以上のセンチネルリンパ節生検が必要である。

前者では MAC 症例における術前化学療法後のセンチネルリンパ節生検の妥当性が明らかとなり、後者では N0 乳癌で同定される MIC あるいは MAC 症例における術前化学療法後の腋窩温存の可能性が明らかとなる。すなわち、前者では偽陰性率が低い場合に、後者では非センチネルリンパ節の癌遺残率が低い場合に、腋窩郭清と腋窩温存とを比較する第 III 相試験が必要である。

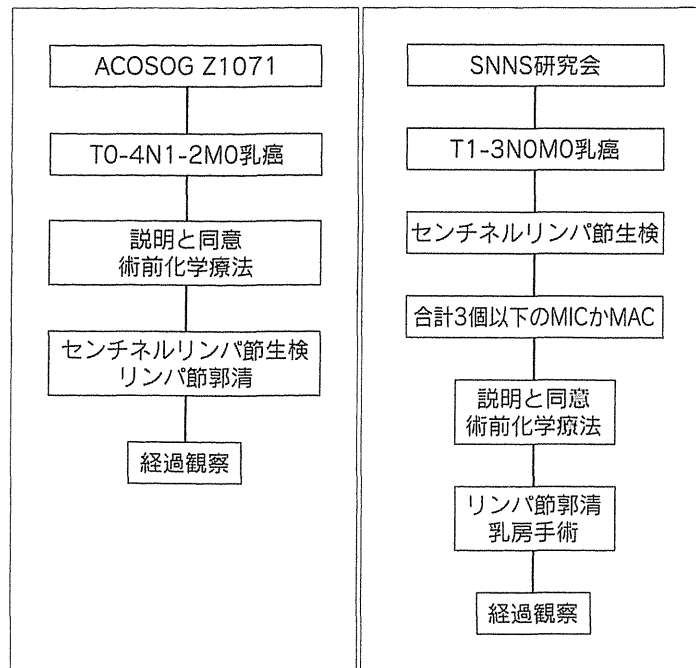


図2 術前化学療法とセンチネルリンパ節生検に関する第II相臨床試験

おわりに

術前化学療法とセンチネルリンパ節生検について現状を報告した。センチネルリンパ節にITCやMICを認めた報告のレビューから、MACを含む非センチネルリンパ節の転移陽性率はそれぞれ0~27%と0~57%であった^{9,10)}。センチネルリンパ節に微小な転移巣を認めた症例でも現行の化学療法によってリンパ節転移が完全に消失するとは想像しがたい。腫瘍の内因性因子に応じた化学療法によって50%を超えるような高いpCRが得られる時代が到来すれば、化学療法後のセンチネルリンパ節生検による腋窩手術の縮小が実現するはずである。

文献

- 1) Krag DN, Anderson S, Julian TB, et al : Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer : overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* **11** : 927-933, 2010
- 2) Bear HD, Anderson S, Smith RE, et al : Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer : National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J Clin Oncol* **13** : 2019-2027, 2006
- 3) von Minckwitz G, Untch M, Nuesch E, et al : Impact of treatment characteristics on response of different breast cancer phenotypes : pooled analysis of the German neo-adjuvant chemotherapy trials. *Breast Cancer Res Treat* **125** : 145-156,

2011

- 4) Lyman GH, Giuliano AE, Somerfield MR, et al : American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* **23** : 7703-7720, 2005
- 5) Weaver DL, Ashikaga T, Krag DN, et al : Effect of occult metastases on survival in node-negative breast cancer. *N Engl J Med* **364** : 412-421, 2011
- 6) Cox CE, Cox JM, White LB, et al : Sentinel node biopsy before neoadjuvant chemotherapy for determining axillary status and treatment prognosis in locally advanced breast cancer. *Ann Surg Oncol* **13** : 483-490, 2006
- 7) Tan VK, Goh BK, Fook-Chong S, et al : The feasibility and accuracy of sentinel lymph node biopsy in clinically node-negative patients after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer - A systematic review and meta-analysis. *J Surg Oncol*, Published online, 2011
- 8) Shen J, Gilcrease MZ, Babiera GV, et al : Feasibility and accuracy of sentinel lymph node biopsy after preoperative chemotherapy in breast cancer patients with documented axillary metastases. *Cancer* **109** : 1255-1263, 2007
- 9) van Deurzen CHM, de Bore M, Monnikhof EM, et al : Non-sentinel lymph node metastases associated with isolated breast cancer cells in the sentinel node. *J Natl Cancer Inst* **100** : 1574-1580, 2008
- 10) Wada N, Imoto S : Clinical evidence of breast cancer micro-metastasis in the era of sentinel node biopsy. *Int J Clin Oncol* **13** : 24-32, 2008

IMOTO Shigeru
杏林大学医学部外科
〒181-8611 東京都三鷹市新川 6-20-2

原発巣別

乳癌

Clinical relevance of micrometastases in lymph nodes, blood, and bone marrow for breast cancer patients

杏林大学医学部外科

井本 滋

【ポイント】

- ◆ 浸潤性乳癌は早期の段階からリンパ節に微小転移、骨髄に播種性腫瘍細胞 (DTC)、末梢血に循環腫瘍細胞 (CTC) が同定されるが、その生物学的特性について不明な点が多い。
- ◆ センチネルリンパ節生検によって同定された微小転移 [isolated tumor cells (ITC) と micrometastases (MIC)] は予後不良因子であるが、補助療法によって微小転移症例の予後の改善が報告された。
- ◆ DTC あるいは CTC は予後不良因子である。転移性乳癌における薬物療法に伴う CTC の変動は効果予測因子として報告された。今後、臨床試験に連動したトランスレーショナル研究が必要であり、DTC と CTC の診断とその結果に基づく治療選択は現時点で推奨されない。

臨外 66(10):1312~1316, 2011

はじめに

乳癌の外科治療の近代史は19世紀後半に始まり、胸筋切除とリンパ節郭清を伴う乳房全切除が標準治療として確立し¹⁾、内分泌治療として卵巣摘除も試みられた²⁾。しかし、外科治療を拡大しても予後の改善は図られなかった。60年代には胸筋温存術が、80年代には乳房温存術が導入され、現在はセンチネルリンパ節生検が早期乳癌に適応されている。乳癌細胞は早期の段階からリンパ行性と血行性に転移するため、局所コントロールを目的とした外科治療だけでは予後の改善が図れない。一方、転移した癌細胞は必ず転移巣を形成し再発巣として顕性化するのだろうか？ 乳癌における微小転移として、リンパ節に同定される0.2 mm以下（あるいは細胞数200個以下）のisolated tumor cells (ITC) と ITCより大きく2 mm以下のmicrometastases (MIC)、骨髄に同定される播種性腫瘍細胞 (disseminated tumor cells: DTC)、そして末梢血に同定される循環腫瘍細胞 (circulating tumor cells: CTC) について、その生物学的特性を踏まえて診断法と課題

について考察する。

微小転移診断

乳癌細胞を同定する際に様々な分子マーカーが用いられるが、細胞骨格を構成するサイトケラチン (CK) が最も感度が高く汎用されている。筆者らは、手術で摘出された29個のリンパ節を用いて、5つの分子マーカー (CEA, CK19, MUC1, E-cadherin, erbB-2) をRT-PCR法によって増幅し、HE染色と免疫組織化学 (IHC) 染色による病理診断と対比した (図1)³⁾。その結果、感度と特異度を検定するROC (receiver operating characteristics) 曲線において、CK19が最も信頼性の高い分子マーカーであった (図2)。この方法によるリンパ節転移診断の感度、特異度、正診率はそれぞれ89%、100%、97%で、134個のリンパ節による評価ではそれぞれ88%、100%、99%と良好な結果であった。

One-step nuclear acid amplification (OSNA) 法 (シスメックス社) はCK19を指標としたリンパ節自動診

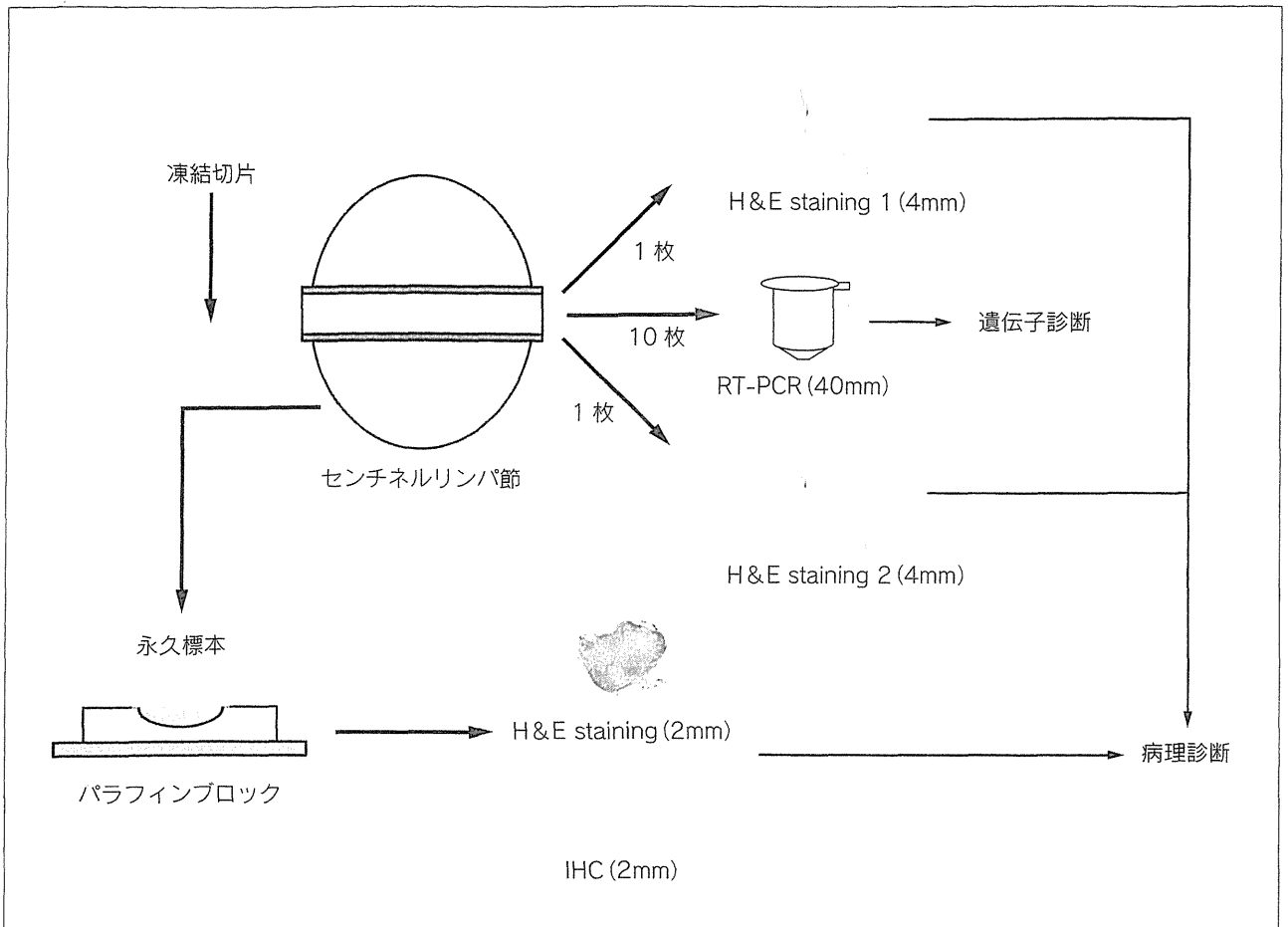


図1 分子マーカーによる転移診断

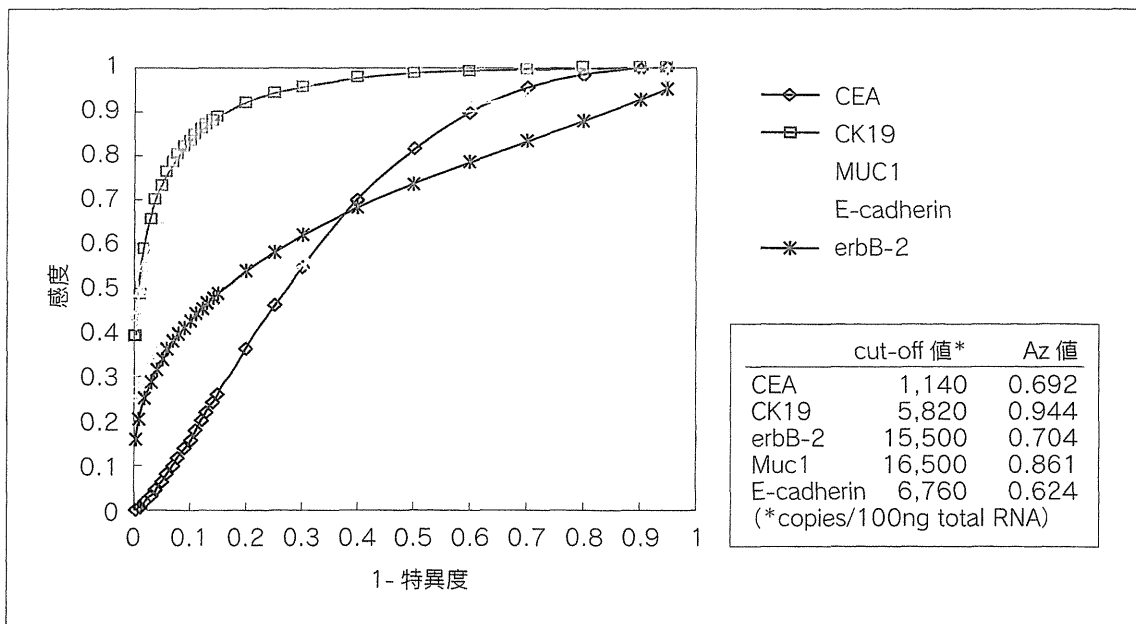


図2 各分子マーカーのROC曲線

断機器である。国内外の多施設共同試験の結果、感度、特異度、正診率はそれぞれ78~96%、94~99%、93~98%であり^{4~6)}、術中迅速病理診断における病理医の診断精度と同等と考えられる。DTCは抗CK抗体

によるIHC染色によって病理診断される⁷⁾。CTCは上皮細胞接着分子(epithelial cell adhesion molecule: EpCAM)を結合した磁性粒子を用いて血液中の上皮性細胞を高感度に同定し、抗CK抗体を腫瘍細胞の陽

性コントロールとして、抗 CD45 抗体を混入したリンパ球をふるい落とす陰性コントロールとして診断する⁸⁾。このような微小転移の検出法には課題がある。まず、OSNA 法は MIC 以上の転移巢の自動検出を目的としているため時に ITC を見落とす可能性がある⁴⁵⁾。また、CK19 の発現が少ない細胞では mRNA レベルでも蛋白レベルでも癌細胞は同定できない。内因性因子による分類からいわゆる normal-like 乳癌は CK の発現が低く CTC を検出できない可能性がある⁹⁾。以上から、微小転移診断に当たっては、その測定法の特徴と腫瘍本体の性質を考慮する必要がある。

ITC と MIC

リンパ節の微小転移と予後に関する後向き解析ではその評価が定まっていなかったが、センチネルリンパ節生検に関する臨床試験から ITC と MIC に関する知見が得られた。National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol (NSABP) B32 試験では、5,611 名のリンパ節転移陰性乳癌患者を対象に、センチネルリンパ節生検群とリンパ節郭清群の全生存期間が比較された。その結果、3,989 名が 2 mm 間隔でのセンチネルリンパ節の HE 染色による病理診断において転移陰性であった。このうち、リンパ節郭清群 1,978 例とセンチネルリンパ節生検群 2,011 例との 8 年全生存率はそれぞれ 91.8% と 90.3% で差がなかった ($p=0.54$)¹⁰⁾。さらに、センチネルリンパ節転移陰性症例のうち、リンパ節のブロックが回収できた 3,268 例について、再度 0.5 mm と 1 mm の間隔で深切りを加えて HE 染色と IHC 染色によって発見された潜伏転移 (occult metastasis) の臨床的意義が検討された¹¹⁾。その結果、ITC が 430 例 (11.1%) に、MIC が 172 例 (4.4%) に、2 mm より大きい macrometastases (MAC) が 14 例 (0.4%) に認められた。ITC, MIC, MAC を認めた 616 例 (19%) と潜伏転移が認められなかった 3,268 例の 5 年全生存率はそれぞれ 94.6% と 95.8% であった ($p=0.03$)。潜伏転移は有意な予後不良因子だが、わずか 1.2% の差の生存率であった。また、多変量解析の結果からホルモン感受性乳癌に対する内分泌療法によって予後の改善が図られた。これは、オランダでのセンチネルリンパ節に ITC と MIC を認めた症例での補助療法による予後の改善と同じ結果であった¹²⁾。以上から、センチネルリンパ節は 2 mm 間隔で HE 染色による病理診断を行うか、あるいは OSNA 法などの

分子マーカー診断を行えば、仮に潜伏転移あるいは微小転移の見落としがあったにせよ、腫瘍の悪性度に応じた薬物療法によって予後への影響を最小限に止められることが示唆された。

DTC と CTC

DTC は手術可能乳癌の、CTC は転移性乳癌の予後不良因子である (表 1)。DTC について、I 期から III 期の乳癌 4,703 例のうち 30% の症例で DTC が診断された。n0 乳癌でも 25% の症例で同定され、乳癌は早期からいわゆる「全身病」であることを裏付ける結果であった⁷⁾。DTC 陽性症例は、低分化型、n+, またはホルモン非感受性の特性をもつ乳癌と正の相関があった。一方、センチネルリンパ節と骨髄における微小転移の予後への影響を検討した American College of Surgeons Oncology Group (ACOSOG) Z0010 の結果では、3,413 例中わずか 3% の症例で DTC 陽性であった¹³⁾。DTC 陽性とセンチネルリンパ節の微小転移との相関性はなかった。この試験での DTC は単変量解析において OS の予後不良因子であった。2 つの DTC 研究において、抗 CK 抗体の種類、骨髄採取の部位と手技、病期の分布に違いがあったにせよ、DTC の同定法とその評価について標準化する必要がある。

CTC について、CellSearch システム (ベリデックス社) を用いた報告を中心に検討した (表 1)。術前化学療法に付随した研究では、I ~ III 期の乳癌 213 例のうち、治療前に 22% の症例で治療後に 11% の症例で 1 個以上/7.5 ml (全血) の CTC が認められた¹⁴⁾。また、HER2 陽性乳癌症例の半数と HER2 陰性乳癌症例の 20% で HER2 陽性 CTC が検出された。しかし、術前化学療法による奏効と CTC の治療前後の変動について関連性はなかった。同システムでは転移性乳癌において 5 個以上/7.5 ml (全血) を CTC 陽性とした場合、転移性乳癌症例の 40% 以上が CTC 陽性であり、治療前の CTC 陽性は有意な予後不良因子であった (図 3)⁸⁾。また、初回治療後の CTC 増加症例も予後不良であった^{15,16)}。一方、抗 HER2 療法を行った後では CTC 値は 4 個以下/7.5 ml (全血) になる場合が多く、CTC は HER2 陽性乳癌の予後予測因子としての意義はなかった。以上から、①CTC は DTC の surrogate marker と考えられるが、CTC 診断で DTC 陽性症例をすべて検出することは困難であること、②HER2 陰性の転移性乳癌では CTC のモニタリングが予後と治療効果に有

表 1 乳癌患者における DTC と CTC の診断と臨床病理学的特徴

報告 (年) [試験]	対象	症例数	種類	同定法と抗体	結果 (CTC は全血 7.5 ml 中の個数)
Braun ⁷⁾ (2005)	I ~ III 期	4,703	DTC	免疫細胞化学染色 抗 CK 抗体	30%の症例で陽性 (プール解析) 低分化, n+, HR 陰性と正相関 陽性症例は DFS, OS で予後不良 化学/内分泌療法で予後は改善せず
Giuliano ¹³⁾ (2011) [ACOSOG Z0010]	I ~ IIIA 期	3,413	DTC	免疫細胞化学染色 抗 CK 抗体	3%の症例で陽性 陽性症例は OS で予後不良 (単変量)
Riethdorf ¹⁴⁾ (2010) [GeparQuattro]	I ~ III 期 NAC	213	CTC	CellSearch 抗 CK 抗体 抗 EpCAM 抗体 抗 HER2 抗体	22%の症例で NAC 前に, 11%の症例で NAC 後に 1 個以上陽性 HER2 陽性乳癌の半数で, HER2 陰性乳癌の 20%で HER2 陽性 CTC が検出 NAC 奏効と CTC 変動は関連せず
Cristofanilli ⁸⁾ (2004)	転移性	177	CTC	CellSearch 抗 CK 抗体 抗 EpCAM 抗体	61%の症例で 2 個以上, 49%の症例で 5 個以上陽性 治療前後 5 個以上は予後不良
Pierga ¹⁵⁾ (2011)	転移性	267	CTC	CellSearch 抗 CK 抗体 抗 EpCAM 抗体	65%の症例で 1 個以上, 44%の症例で 5 個以上陽性 CTC と CEA, CA15-3, LDH が正相関 化学療法前 5 個以上は予後不良 化学療法後の CTC 増加も予後不良 抗 HER2 療法後は 5 個未満
Giuliano ¹⁶⁾ (2011)	転移性	235	CTC	CellSearch 抗 CK 抗体 抗 EpCAM 抗体	40%の症例で 5 個以上陽性 HER2 陰性乳癌で治療前 5 個以上は予後不良 HER2 陽性乳癌では治療と関連せず

CK : cytokeratin, DFS : disease-free survival, EpCAM : epithelial cell adhesion molecule, NAC : neoadjuvant chemotherapy, OS : overall survival

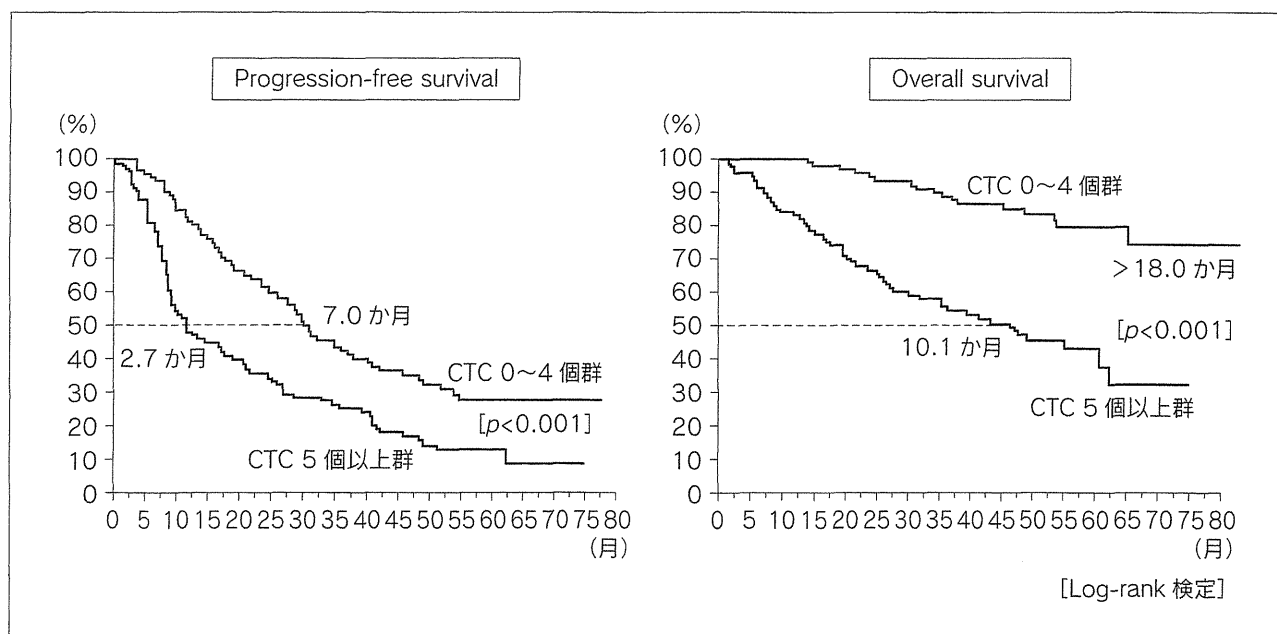


図 3 転移性乳癌の予後と治療前の CTC 数 (文献 8 より改変)

用であること, ③HER2 陽性の転移性乳癌では抗 HER2 療法によって CTC の数が減少するが, 血清 HER2 のモニタリングと同様に CTC のモニタリングの意義は小さいことが示唆された^{16,17)}.

微小転移と外科治療

微小転移は乳癌の早期の段階から存在するため, 外科治療に加えて薬物療法は欠かせない. 縮小化の一途