

# 原発性非小細胞肺癌における所属リンパ節,原発巣の臨床病理学的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/9217">http://hdl.handle.net/2297/9217</a>

## 原発性非小細胞肺癌における所属リンパ節, 原発巣の臨床病理学的研究

金沢大学医学部医学科外科学第一講座 (主任: 渡辺洋宇教授)

高 島 一 郎

原発性非小細胞肺癌384例を対象に縦隔リンパ節の転移分布, 縦隔リンパ節洞組織球増生 (sinus histiocytosis, SH), 濾胞過形成 (follicular hyperplasia, FH) の程度, 発現率を測定した。また, そのうち132例を対象に原発巣のリンパ管侵襲, 静脈侵襲を測定した。これらの因子と, 核 DNA 量, p53 蛋白発現, 増殖細胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 標識率, 他の臨床病理学的諸因子および予後との関係を検討した。SH はリンパ節断面に占める SH の面積比に応じて1度から4度の4段階に分類した。縦隔リンパ節 SH の頻度は1度が24例 (6.3%), 2度が79例 (20.6%), 3度が196例 (51.0%), 4度が85例 (22.1%) であった。SH はリンパ節転移陽性例で反応が低下していた。FH はリンパ節内の濾胞増生の程度と分布に応じて0度から3度の4段階に分類した。縦隔リンパ節 FH の頻度は0度が55例 (14.3%), 1度が60例 (15.6%), 2度が105例 (27.3%), 3度が164例 (42.8%) であった。FH は男性, T 因子高値, 扁平上皮癌, リンパ管侵襲陽性例, 静脈侵襲陽性例で高い反応を示していた。SH と生存率の検討では, SH 高反応群の方が低反応群よりも有意に予後良好であった。FH と生存率の検討では, N1-2 全体, N1-2 扁平上皮癌症例, 全腺癌症例で FH 低反応群の方が FH 高反応群より予後良好であった。原発巣リンパ管侵襲は65例 (49.2%) で陰性, 67例 (50.8%) で陽性であり, T 因子, N 因子の高値とともに陽性例が増加していた。静脈侵襲陰性例は69例 (52.3%), 陽性例は63例 (47.7%) で, リンパ節転移陽性例, PCNA 標識率高値で陽性例が増加していた。また, リンパ管侵襲, 静脈侵襲とも陰性例の方が陽性例よりも予後良好であった。以上の結果から, 原発性非小細胞肺癌において, 縦隔リンパ節の SH, FH は予後因子の一つとして有用な免疫形態学的変化であった。また, 原発巣リンパ管侵襲, 静脈侵襲は癌の進行度, 予後に密接に関係していた。

**Key words** non-small cell lung cancer, sinus histiocytosis, follicular hyperplasia, prognostic parameter, vessel invasion

原発性肺癌は近年増加傾向にあり, 早期発見例も増加している一方, 手術療法, 化学療法, 放射線療法などの集学的治療を行っても救命し得ない進行例も数多く存在する。その結果, 肺癌全体として見ると遠隔成績は20%以下と極めて不良である。肺癌患者の予後を左右する重要な因子の一つとしてリンパ節転移があり, 転移が同側気管支周囲, 同側肺門リンパ節 (N1), 同側縦隔, 気管分枝部リンパ節 (N2), 対側縦隔, 対側肺門リンパ節 (N3) へと進展するにつれて予後は不良となる。その一方で, リンパ節転移のない早期肺癌の予後も 60~70% と他臓器癌に比べて著しく不良であり, いわゆる早期癌である症例でも潜在的に転移, 再発準備状態にあることが推察される。

これらの肺癌の予後に関連する要因としては, 腫瘍自身の悪性度と宿主側の免疫能が関係しているため, この両者の解析が必要である。本論文では肺癌切除症例の縦隔リンパ節転移の拡がりについて検討し, さらに担癌患者の宿主免疫能を示す指標として所属リンパ節の反応である洞組織球増生 (sinus histiocytosis, SH) と濾胞過形成 (follicular hyperplasia, FH) を取り上げ, これらを含む臨床病理学的諸因子と予後, および腫瘍細胞の分子生物学的特性, すなわち核 DNA 量, p53 蛋白発

現, 増殖細胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 標識率などとの関連について検討した。さらに腫瘍自身の悪性度を示す指標として原発巣周囲のリンパ管と静脈への脈管侵襲を取り上げ, 検討した。なお, 小細胞癌は, 生物学的悪性度, リンパ節転移様式, 予後が他の組織型と著しく異なるので今回の研究対象からは除外した。

### 対象および方法

#### 1. 対 象

1978年1月から1991年12月までの14年間に金沢大学第一外科で切除された原発性非小細胞肺癌のうち384例を SH, FH 検索の対象とした。年齢は32才から84才 (平均64.1才), 性別は男性282例, 女性102例であった。組織分類, 手術所見記載法, 病期分類は肺癌取扱い規約第3版<sup>1)</sup>, TNM 分類<sup>2)</sup>に従った。また, TNM 分類は病理学的分類 (pTNM) で検討した。リンパ節転移の内訳は, 縦隔および肺門リンパ節転移陰性 (N0) 症例125例, 肺門リンパ節転移陽性 (N1) 症例58例, 縦隔リンパ節転移陽性 (N2) 症例200例であった。病理組織学的分類では扁平上皮癌171例, 腺癌164例, 腺扁平上皮癌37例, 大細胞癌9例, その他3例

平成8年2月29日受付, 平成8年4月8日受理

Abberiviations: DAB, 3, 31-diaminobenzidine tetrahydrochloride; FH, follicular hyperplasia; LI, labeling index; PBS, phosphate-buffered saline; PCNA, proliferating cell nuclear antigen; SH, sinus histiocytosis

であった。検討した個々のリンパ節の合計は N0 症例1532個、N1 症例792個、N2 症例3403個、合計5727個であり、1 症例平均では N0 症例12.2個、N1 症例13.7個、N2 症例17.0個、全体で 14.9個であった。

原発巣の脈管侵襲の検索は、上記の切除肺癌症例のうち N0 症例87例、N1 症例17例、N2 症例28例、計132例について検討した。年齢は40才から81才(平均66.0才)、性別は男性102例、女性30例であった。病理組織学的分類では扁平上皮癌66例、腺癌52例、腺扁平上皮癌12例、その他2例であった。

また、核 DNA 量は、上記の切除肺癌症例のうち N0 症例107例、N1 症例49例、N2 症例142例、計298例について検討した。年齢は32才から84才(平均64.0才)、性別は男性213例、女性85例であった。病理組織学的分類では扁平上皮癌132例、腺癌132例、腺扁平上皮癌30例、その他4例であった。

p53 蛋白発現は同様に139例について検討した。リンパ節転移は N0 症例90例、N1 症例16例、N2 症例33例、年齢は41才から82才(平均65.4才)、性別は男性107例、女性32例であった。病理組織学的分類では扁平上皮癌65例、腺癌60例、腺扁平上皮癌14例であった。

PCNA 標識率は131例について検討した。N0 症例85例、N1 症例15例、N2 症例31例で、年齢は41才から82才(平均65.6才)、性別は男性104例、女性27例であった。病理組織学的分類では扁平上皮癌63例、腺癌54例、腺扁平上皮癌14例であった。

縦隔リンパ節の転移分布とレベル分類については、1973年から1993年7月の間に切除した N2 肺癌288例のうち、完全寛解がなされ、術後病理検索で切除根治度が相対的治癒、あるいは相対的非治癒切除であったもの182例(相対的治癒切除:139例、相対的非治癒切除:43例)について検討した。

## II. 方法

### 1. 縦隔転移リンパ節の分布とレベル分類

N2 原発性非小細胞肺癌手術症例で摘出されたリンパ節すべてについて、病理学的に転移の有無、局在を検索した。縦隔リンパ節については、その各レベルに数個のリンパ節が存在するが、同一レベルリンパ節内の1個のみに転移を認める場合と2個以上のリンパ節に転移を認める場合を合わせて1レベル転移とし、レベル転移数によって単一レベル転移と複数レベル転移に分類した。縦隔リンパ節の部位と命名は肺癌取扱い規約第3版<sup>1)</sup>に従い、#1, 上縦隔上部リンパ節; #2, 気管傍リンパ節; #3, 気管前リンパ節; #3a, 前縦隔リンパ節; #3p, 気管後リンパ節; #4, 気管気管支リンパ節; #5, 大動脈下リンパ節; #6, 大動脈傍リンパ節; #7, 気管分岐部リンパ節; #8, 食道傍リンパ節; #9, 肺靭帯リンパ節とした。2群リンパ節群も同様に 2a リンパ節群, 2b リンパ節群に分類した(表 1)。また、上葉原発では上縦隔リンパ節群を領域リンパ節、下縦隔リンパ節群を非領域リンパ節と定義し、中下葉原発では下縦隔リンパ節を領域リンパ節、上縦隔リンパ節群を非領域リンパ節と定義した<sup>2)</sup>。

### 2. SH, FH の分類

パラフィン包埋ブロックの選択については、摘出されたすべての縦隔リンパ節について転移の有無、SH, FH の程度を分類した。これらはいずれも HE 染色で判定した。SH は、リンパ節の髄質に見られるリンパ洞の増生と、その洞内にみられるエオジン好性の細胞質を持つ大型細胞の出現程度を参考にして、それらの細胞を含むリンパ洞の面積がリンパ節全体に占める面

積比で分類した。1度、面積比が1/4未満; 2度、面積比が1/4以上1/2未満; 3度、面積比が1/2以上3/4未満; 4度、面積比が3/4以上の4段階に分類した(図 1)。FH はリンパ節の胚中心を持つリンパ濾胞、すなわち2次小節増生の程度により分類した。0度、リンパ節の皮質に濾胞がほとんど見られない; 1度、皮質に数個までの濾胞を認める; 2度、類皮質まで濾胞の増生を認める; 3度、皮質に多数の濾胞を認め、さらに髄質まで濾胞の増生を認めるの4段階に分類した(図 2)。摘出したすべてのリンパ節について分類を行ったが、同一症例でのリンパ節間で分類が異なる場合には SH, FH の最も高い分類をその症例の SH, FH とした。これらの検索にあたっては、一部にでも転移のあるリンパ節については検討から除外し、転移のないリンパ節のみを対象とした。

### 3. リンパ管侵襲と静脈侵襲

パラフィン包埋ブロックの選択については、原発巣の代表的な断面において、腫瘍に近接した周辺部におけるリンパ管内および静脈内の腫瘍細胞侵襲の有無を検討した。リンパ管侵襲と静脈侵襲は、両者とも内皮細胞に裏打ちされた管腔内への集塊状、腺構造様の癌細胞の存在として認められる。この際、癌細胞群と内膜内皮細胞との間の空隙の有無や管腔壁の弾性線維の存在の有無などによってリンパ管侵襲と静脈侵襲とを区別した。すなわちリンパ管侵襲では、癌細胞塊はリンパ管内皮との間に空隙を有することが多く、管壁に弾性線維を認めないのに対し、静脈侵襲では癌細胞塊はエラスチカファンギーソン染色陽性の弾性線維に囲まれており、癌細胞群と内膜内皮細胞間には空隙をみないことが多い。分類に当たっては、HE 染色とエラスチカファンギーソン染色を併用して判定した(図 3, 4)。

### 4. フローサイトメトリーによる核 DNA の測定

癌細胞の分散は Schutte<sup>3)</sup>の方法、核 DNA の染色は Vindelov<sup>4)</sup>の方法で行った。すなわち、癌組織を包埋したパラフィンブロックを 50 $\mu$ m の厚さに 8~10枚切り、室温下でキシレン(和光、大阪)にて1時間、2回の脱パラフィンを行った後、100%, 96%, 70%, 50%のエチルアルコール(和光)にて各30分再水和を行った。次に蒸留水で2時間の再水和後、0.25%トリプシン(Sigma, St.Louis, USA)を含むクエン酸緩衝液〔3mM クエン酸三ナトリウム(和光), 0.1% ノニデット P-40(Sigma), 1.5mM スベルミン四塩酸塩(Sigma), 0.5mM トリアミノメタン(Sigma), pH7.60〕3mlにて、37 $^{\circ}$ Cの温度下で一昼夜保温した。次に 40 $\mu$ m のナイロンメッシュ(NBC 工業、大阪)で濾過、遠心を行い、上清除去後、遊離細胞を作成した。次に組織浮遊液 200 $\mu$ l に対し溶液 A〔トリプシン(Difko, Detroit, U.S.A.) 15mg, クエン酸緩衝液 500ml〕1.5ml を加え、10分間氷冷静置した後、溶液 B〔トリプシンインヒビター(Sigma) 250mg, リボヌクレアーゼ A(Sigma) 50mg, クエン酸

Table 1. Relation between site of primary tumor and lymph node group

Site of primary tumor	Lymph node group	
	2a	2b
Right upper lobe	1, 2, 3, 4, 7	3a, 3p, 8, 9
Right middle lobe	1, 2, 3, 4, 7	3a, 3p, 8, 9
Right lower lobe	1, 2, 3, 4, 7, 8, 9	3a, 3p
Left upper lobe	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	3a, 3p, 8, 9
Left lower lobe	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	3a, 3p

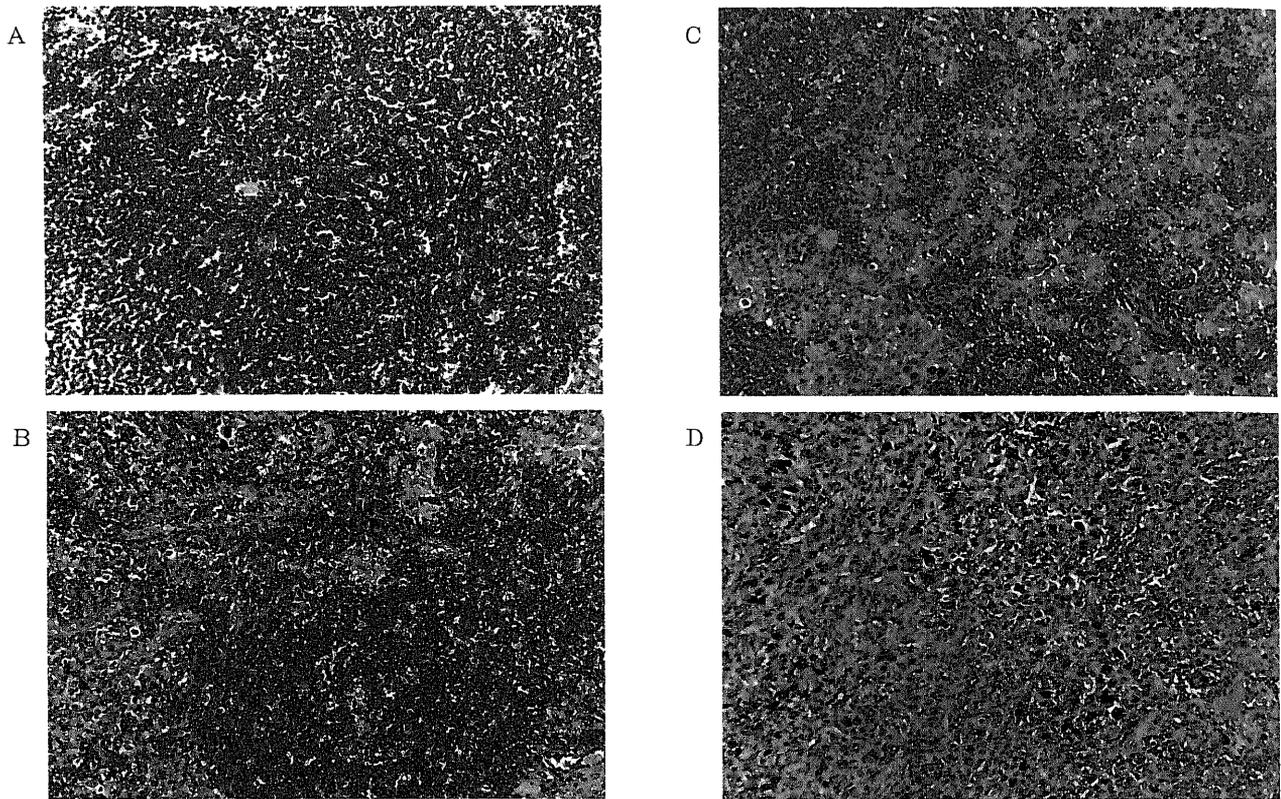


Fig. 1. Photomicrographs of mediastinal lymph nodes showing classification of sinus histiocytosis (SH). The total surface volume of SH is less than 25% of lymph node cut surface in grade 1 SH (A), between 25 to 49% in grade 2 SH (B), between 50 to 74% in grade 3 SH (C), and more in grade 4 SH (D). HE stain ( $\times 100$ ).

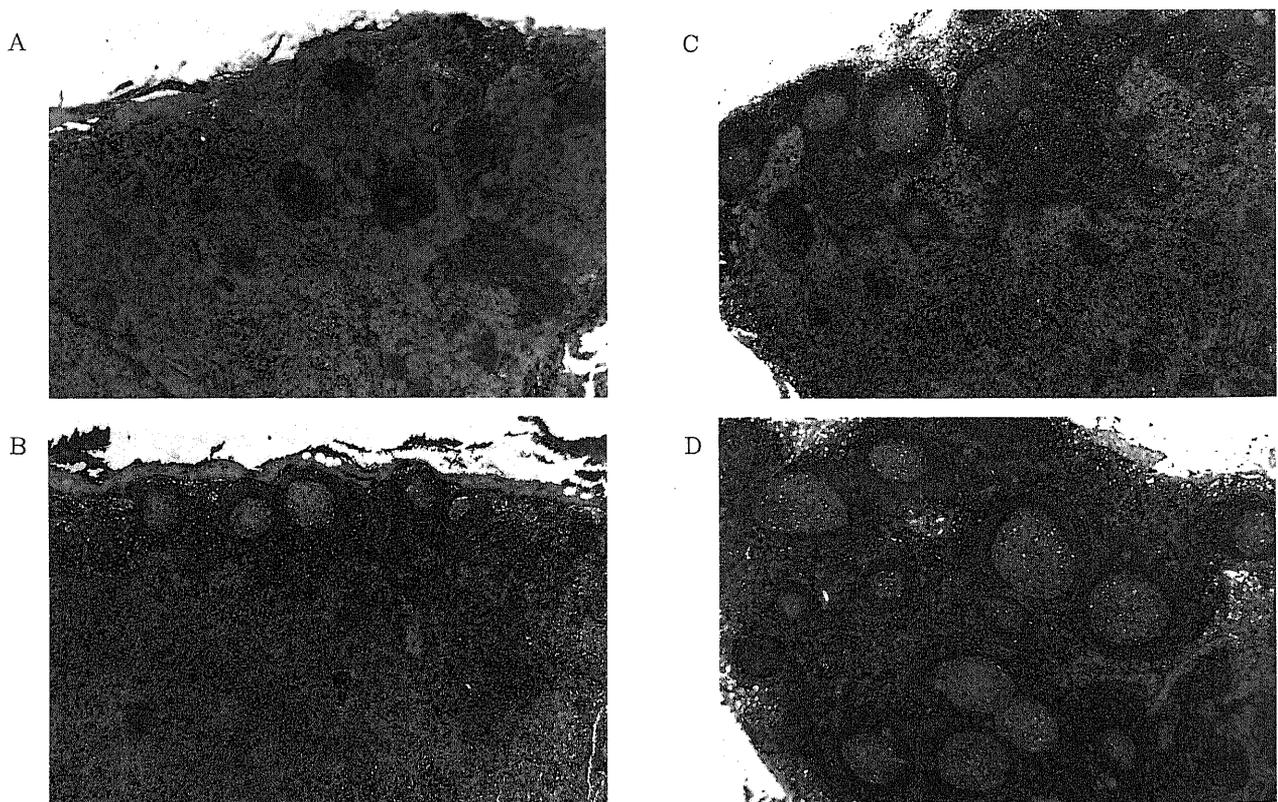


Fig. 2. Photomicrographs of mediastinal lymph nodes showing classification of follicular hyperplasia (FH). Secondary follicle is not seen even in the cortical area in grade 0 FH (A), only a few secondary follicles are found in the cortical area in grade 1 FH (B), FH is limited to the cortical and paracortical areas in grade 2 FH (C), and the cortical area is filled with many follicles and secondary follicles extend deep into the medullary cords in grade 3 FH (D). HE stain ( $\times 20$ ).

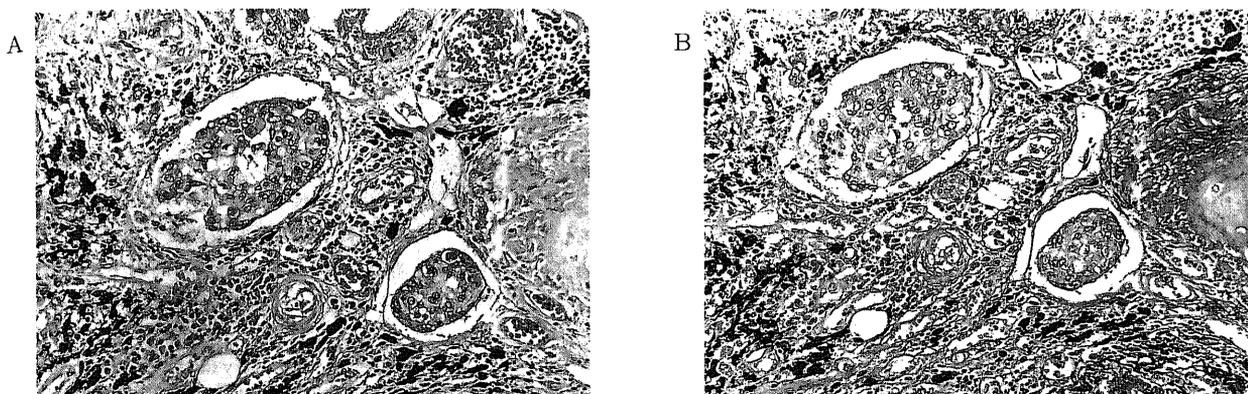


Fig. 3. Photomicrographs of primary lung cancer showing lymphatic vessel invasion in a patient with stage I adenocarcinoma. (A) HE stain (x100). (B) elastica-Van-Gieson stain (x100).

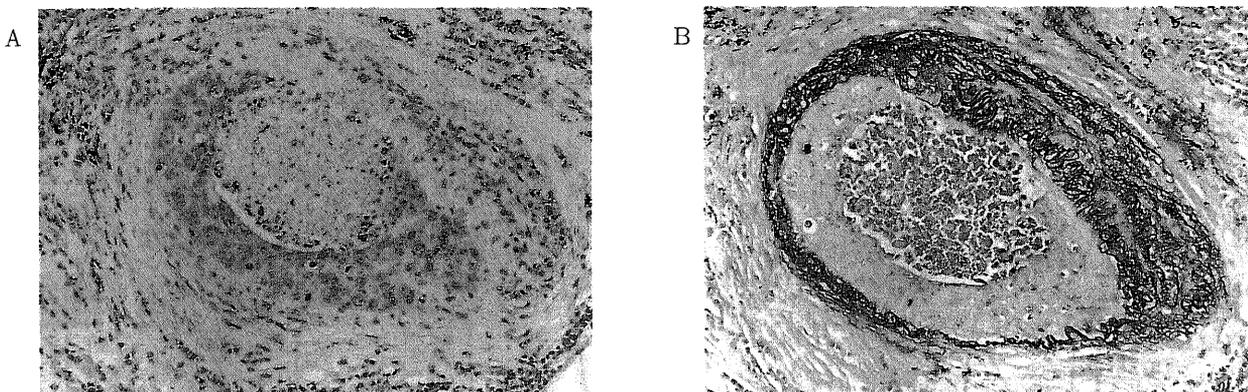


Fig. 4. Photomicrographs of primary lung cancer showing venous invasion in a patient with stage I epidermoid carcinoma. (A) HE stain (x100). (B) elastica-Van-Gieson stain (x100).

緩衝液 500ml] 1.5ml を加え, 10分間氷冷した. さらに, 溶液 C [ヨウ化プロビジウム (Hoechst, Frankfurt, Germany) 208mg, スベルミン四塩酸塩 580mg, クエン酸緩衝液 500ml] 1.5ml を加え, 10分間氷水中で, 核 DNA の染色を行った. 核 DNA 量は, フローサイトメトリー FACS-CAN (Becton-Dickinson, New Jersey, U.S.A.) を用いて, DNA 指標として相対的に評価した. 染色された細胞を 488nm のアルゴンレーザーで励起し, 580nm のフィルターを用いて約20,000個の細胞を測定し, DNA ヒストグラムに表示した. その際, 腫瘍内存在細胞 (リンパ球) や腫瘍周辺細胞を内部標準とし, その正常細胞群の示したチャンネル数 (channel number) で腫瘍細胞の示したチャンネル数を除した値を DNA 指標とした. DNA ヒストグラムにて  $G_0G_1$  ピークが単一の場合 (DNA 指標=1.00) を DNA 二倍体 (DNA diploid pattern),  $G_0G_1$  ピークが複数存在する場合 (DNA 指標 $\neq$ 1.00) を DNA 異数倍体 (DNA aneuploid pattern) とした. また, 4倍体領域 (DNA 指標=2.00 前後) は正常細胞群の混入比率も考慮し, 全体の12%以上の細胞数を認める場合に DNA 異数倍体のピークが存在すると判定し, 12%未満の場合のみ  $G_2M$  期細胞を示していると判断した. なお, 測定精度の指標としての  $G_0G_1$  ピークの変動係数が10%以上の症例は測定不能と判断し評価対象外とした.

5. p53 に対する免疫組織染色法

パラフィン包埋された癌組織および転移陽性リンパ節を

3 $\mu$ m の厚さに薄切し, 0.02%ポリ-L-リジンでスライドに付着させ, 100%キシレンで5分間, 3回の脱パラフィンを行った後, 100%, 90%, 70%, 45% のエチルアルコールで各5分間脱水し, その後20分間室温で0.3%過酸化水素水で内因性ペルオキシダーゼを阻害した. 次に10%ウサギ正常血清 (ニチレイ, 東京) を用いてブロッッキングを行い, 0.1M リン酸緩衝生理食塩水 (phosphate-buffered saline, PBS) (pH7.4) にて洗浄し, 抗 p53 蛋白抗体 (DO-7) (Novocastra Laboratories Ltd., Newcastle, UK) を蒸留水で50倍に希釈し, 4 $^{\circ}$ Cで一晩反応させた. 続いて, PBS にて5分間, 3回洗浄後, ビオチン標識ウサギ抗マウス IgG+IgA+IgM (H+L) (ニチレイ) を用いて室温にて30分間反応させ, PBS で5分間, 3回洗浄し, ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン (ニチレイ) で室温にて30分間反応させた. PBS で5分間, 3回洗浄後, 四塩酸 3, 3'-ジアミノベンジン (3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, DAB) (協和メディックス, 東京) で室温にて顕微鏡で発色状態を確認しながら約3分間の反応で発色させ, メチルグリーン液 (Merck, Darmstadt, Germany) にて核染色を行った. 最後に, 100%キシレンにより, 5分間, 3回の透徹を行った. p53 蛋白発現の検出には, 免疫染色を行ったスライドガラスを顕微鏡下に全視野を観察した. 判定は定性的に行い, 観察した癌組織の核が一部分でも染色されていた場合を p53 蛋白発現陽性例と判定した.

6. PCNA 免疫組織染色法

パラフィン包埋された癌組織および転移陽性リンパ節を  $3\mu\text{m}$  の厚さに薄切し、0.02%ポリ-L- リジンでスライドに附着させ、100%キシレンで5分間、3回の脱パラフィンを行った後、100%, 90%, 70%, 45%のエチルアルコールで各5分間脱水し、その後20分間室温で0.3%過酸化水素水で内因性ペルオキシダーゼを阻害した。次に10%ウサギ正常血清(ニチレイ)を用いてブロッキングを行い、PBSにて洗浄し、抗PCNA抗体(PC-10)(Dako, Glostrup, Denmark)を蒸留水で20倍に希釈し、4℃で一晩反応させた。続いて、PBSにて5分間、3回洗浄後、ビオチン標識ウサギ抗マウスIgG+IgA+IgM(H+L)(ニチレイ)を用いて室温にて30分間反応させ、PBSで5分間、3回洗浄し、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン(ニチレイ)で室温にて30分間反応させた。PBSで5分間、3回洗浄後、DABで室温にて顕微鏡で発色状態を確認しながら約3分間の反応で発色させ、メチルグリーン液(Merck)にて核染色を行った。最後に、100%キシレンにより、5分間、3回の透徹を行った。PCNA免疫組織染色陽性の核を定性的に判定した。

PCNA 標識率(PCNA labeling index, PCNA-LI)は、顕微鏡下に腫瘍辺縁部の任意の視野を選び、癌細胞約1000個に対する陽性核数の割合(%)を算出した。また、陽性率5%未満の場合は染色不良と判定し、検討から除外した。

### III. 統計学的処理

遠隔期生存率については、術後1カ月以内の手術死亡9例は検討から除外し、他病死はその時点で追跡終了とした。SH, FH, リンパ管侵襲、静脈侵襲と各臨床病理学的因子との独立性の検定には  $\chi^2$  検定を使用した。生存率の算出は Kaplan-

Table 2. Relation between site of primary tumor and lymph node metastatic level in patients with non-small cell lung cancer

Site of primary tumor	No. of cases with lymph node metastasis	
	Single-level	Multi-level
Right upper lobe	20	46
Right middle lobe	5	1
Right lower lobe	23	17
Left upper lobe	19	31
Left lower lobe	10	10

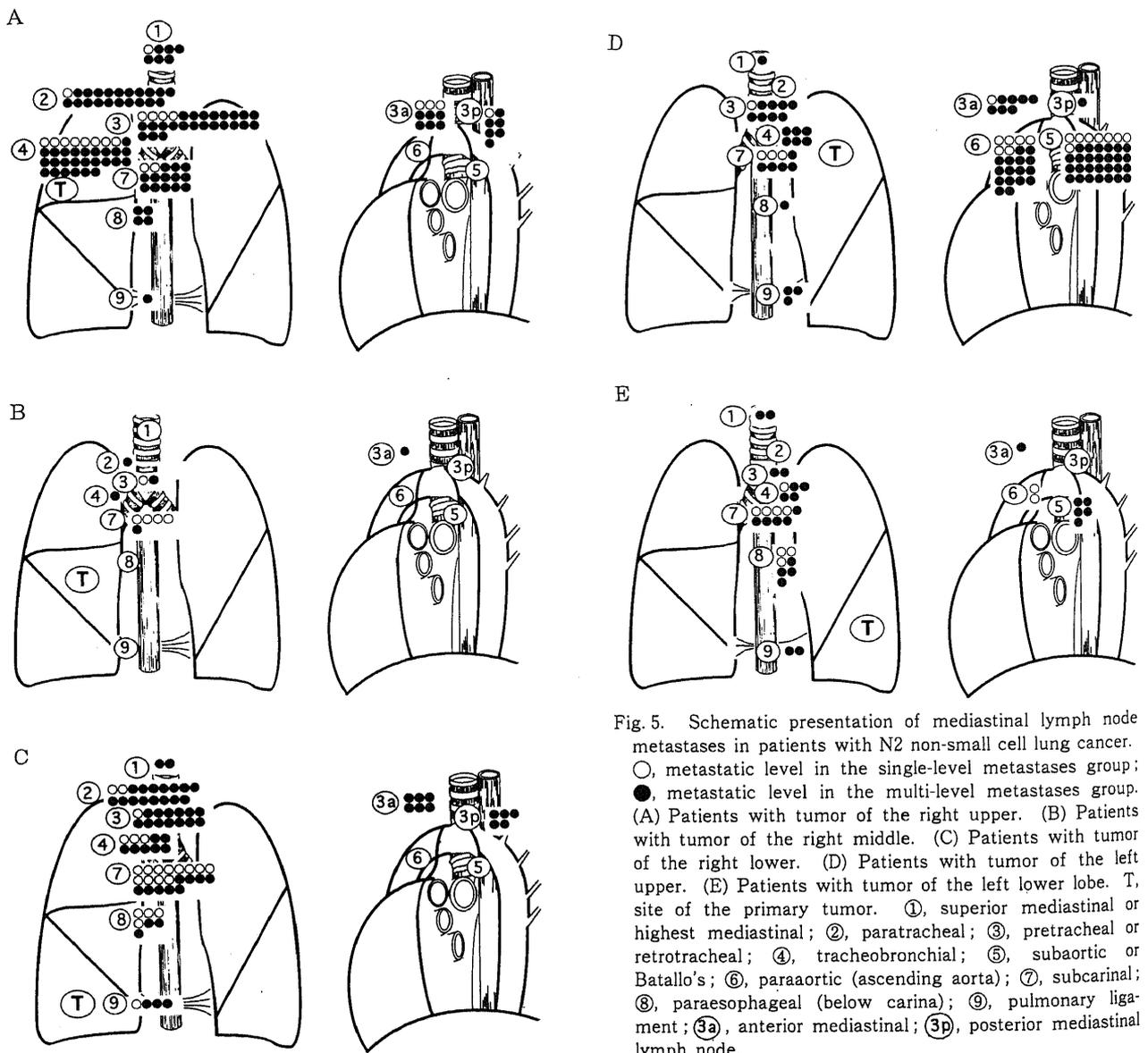


Fig. 5. Schematic presentation of mediastinal lymph node metastases in patients with N2 non-small cell lung cancer. ○, metastatic level in the single-level metastases group; ●, metastatic level in the multi-level metastases group. (A) Patients with tumor of the right upper. (B) Patients with tumor of the right middle. (C) Patients with tumor of the right lower. (D) Patients with tumor of the left upper. (E) Patients with tumor of the left lower lobe. T, site of the primary tumor. ①, superior mediastinal or highest mediastinal; ②, paratracheal; ③, pretracheal or retrotracheal; ④, tracheobronchial; ⑤, subaortic or Batallo's; ⑥, paraaortic (ascending aorta); ⑦, subcarinal; ⑧, paraesophageal (below carina); ⑨, pulmonary ligament; ③a, anterior mediastinal; ③p, posterior mediastinal lymph node.

Meier 法<sup>9)</sup>を用い、その有意差検定は Cox-Mantel 法<sup>10)</sup>を行った。いずれも、危険率5%未満を有意差ありと判定した。臨床病理学的諸因子、生存率との相関については、SH の程度を1-2度の低反応群と3-4度の高反応群の2群に、FH の程度をFH 0-2度の低反応群と3度の高反応群の2群に分けて検討した。また、N因子と、SH, FH, リンパ管侵襲、静脈侵襲との相関については、N1 の例数が少ないため、N1 群と N2 群を合計して検討した。

成 績

1. 原発巣と縦隔リンパ節転移の分布

N2 原発性非小細胞肺癌手術症例182例の原発巣局在の頻度では、右上葉66例、左上葉50例、右下葉40例、左下葉20例、右中葉6例の順であった(表2)。単一レベル転移は77例、複数レベル転移は105例となっており、延べ345レベル(平均1.9レベル)の転移を認めた。これらの縦隔内リンパ節転移の分布では、

Table 3. Correlation between clinicopathological factors and sinus histiocytosis or follicular hyperplasia in 384 patients with non-small cell lung cancer

Clinicopathological factors		Number of cases			
		Sinus histiocytosis		Follicular hyperplasia	
		Grade 1-2	Grade 3-4	Grade 0-2	Grade 3
Total		103	281	220	164
Sex	Male	82	200	150	132
	Female	21	81	70	32
Age (years)	≤65	56	148	118	86
	>65	47	133	102	78
Metastatic level of lymph node	Single-level	29	62	39	52
	Multi-level	27	82	55	54
T factor <sup>a)</sup>	1	17	74	70	21
	2	52	139	99	92
	3	24	52	37	39
	4	10	16	14	12
N factor <sup>a)</sup>	0	20	106	78	48
	1	27	31	48	10
	2	56	144	94	106
Histology <sup>b)</sup>	Epidermoid	51	120	83	88
	Adeno	40	124	110	54
	Adenosquamous	8	29	21	16
	Others	4	8	6	6
DNA ploidy pattern	Diploid	20	55	45	30
	Aneuploid	55	168	133	90
p53 protein	Positive	10	54	31	33
	Negative	17	58	47	28
PCNA-LI (%) <sup>c)</sup>	<40	15	54	38	31
	≥40	11	51	34	28
Lymphatic vessel invasion	Positive	17	50	30	37
	Negative	12	53	46	19
Venous invasion	Positive	16	47	30	33
	Negative	13	56	46	23

a) Postoperative TNM classification according to general rule for clinical and pathological record of lung cancer (the Japan Lung Society).

b) Epidermoid, epidermoid carcinoma; adeno, adenocarcinoma; adenosquamous, adenosquamous carcinoma.

c) Proliferating cell nuclear antigen labeling index.

\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001 by chi square test or Fisher's exact probability test.

2a群が304レベル, 2b群が41レベルであり, 2b群への単一レベル転移も5例に認められた。

原発巣の局在と縦隔リンパ節転移の関係では, 領域リンパ節への転移が多かったが, 非領域リンパ節への転移もかなりの頻度で認められた。すなわち, 左上葉原発から下縦隔リンパ節群 (#7, 8, 9) への転移, 左下葉原発では上縦隔リンパ節群 (#1, 2, 3, 3a, 3p, 4) への転移が認められた。部位別にみると, 右上葉では#2, 3, 4, 7, 右下葉では#2, 3, 4, 7, 左上葉では#3, 4, 5, 6, 左下葉では#5, 7, 8, の転移が多くみられた (図5)。

## II. SH, FH と臨床病理学的因子との相関

リンパ節の検索が可能で SH, FH の判定が可能であった384例を検討した。SH の頻度は1度, 24例 (6.3%); 2度, 79例 (20.6%); 3度, 196例 (51.0%); 4度, 85例 (22.1%) であった。

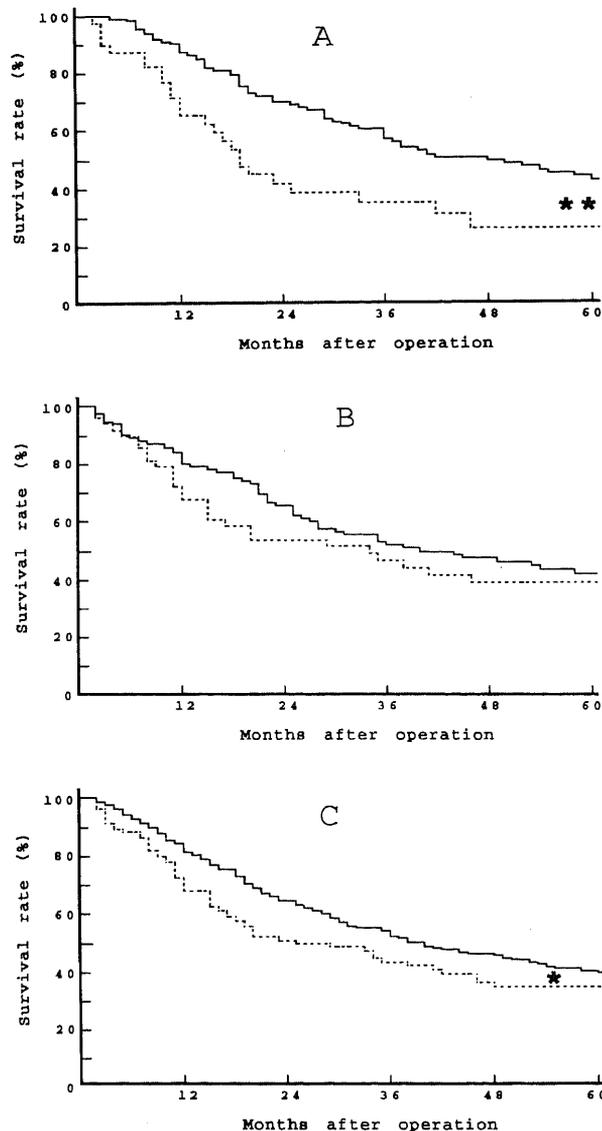


Fig. 6. Survival curves of patients with non-small cell lung cancer subdivided according to sinus histiocytosis (SH). —, patients with high grade SH; ----, patients with low grade SH. (A) Patients with adenocarcinoma. (B) Patients with epidermoid carcinoma. (C) All patients with non-small cell lung cancer. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , by Cox-Mantel test.

術後N因子においては, リンパ節転移陽性例に SH 低反応群の比率が有意に増加していた。しかし, SHと性別, 年齢, リンパ節転移レベル, 術後T因子, 組織型, 核DNA量, p53蛋白発現, PCNA 標識率, リンパ管侵襲, 静脈侵襲の各因子との間には有意の相関を認めなかった (表3)。

FH の頻度は0度, 55例 (14.3%); 1度, 60例 (15.6%); 2度, 105例 (27.3%); 3度, 164例 (42.8%) であった。FH は性別, T因子, 組織型, リンパ管浸潤, 静脈浸潤と有意の相関を示していた。すなわち, 男性, T因子高値, 扁平上皮癌, リンパ管浸潤陽性例, 静脈浸潤陽性例に高反応群が多く認められた。しかし, 年齢, リンパ節転移レベル, N因子, 核DNA量, p53蛋白発現, PCNA 標識率の各因子との相関は認めなかった。

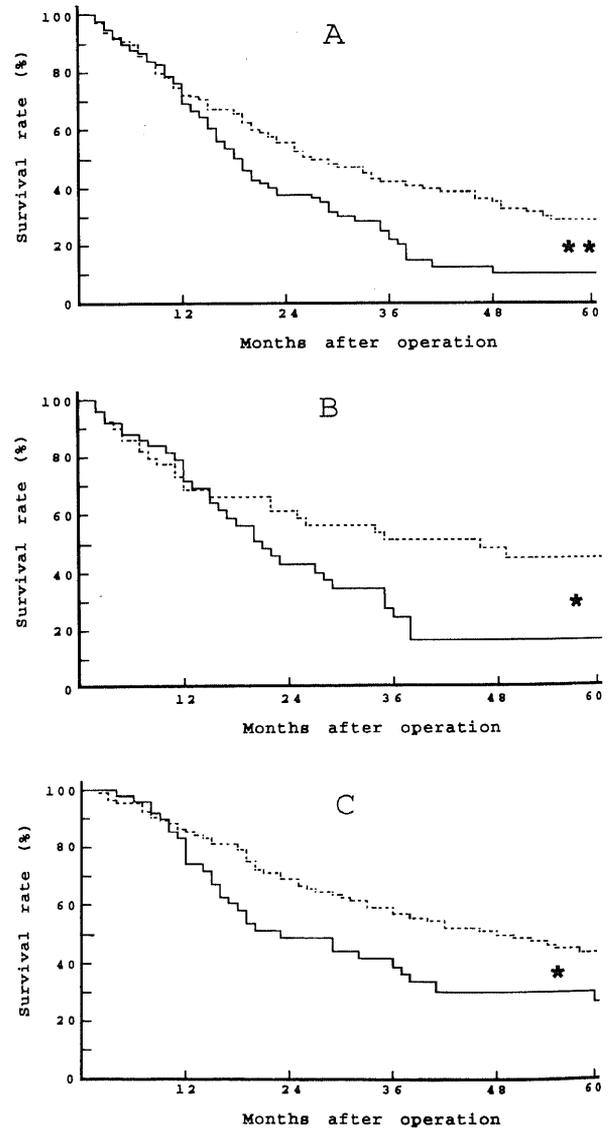


Fig. 7. Survival curves of patients with non-small cell lung cancer subdivided according to follicular hyperplasia (FH). —, patients with high grade FH; ----, patients with low grade FH. (A) Patients with total cases of N1-2 lung cancer. (B) Patients with N1-2 epidermoid carcinoma. (C) All patients with adenocarcinoma. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , by Cox-Mantel test.

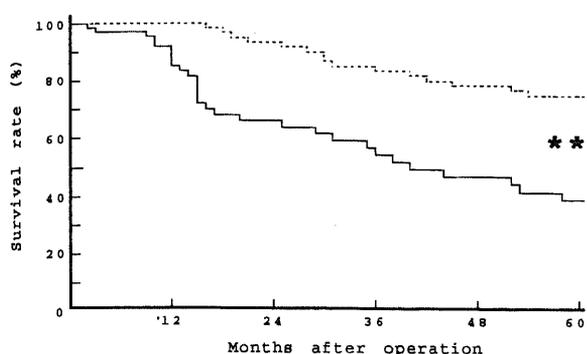


Fig. 8. Survival curves of patients with non-small cell lung cancer subdivided according to lymphatic vessel invasion. -----, patients with no lymphatic vessel invasion; —, patients with lymphatic vessel invasion. \*\* p<0.01, by Cox-Mantel test.

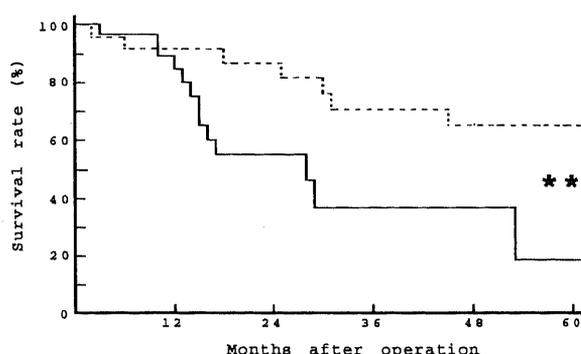


Fig. 9. Survival curves of patients with lung cancer subdivided according to venous invasion. -----, patients with no venous invasion; —, patients with venous invasion. \*\*P<0.01, by Cox-Mantel test.

Table 4. Comparison of survival rate based on grade of sinus histiocytosis

N factor <sup>a)</sup>	Histology <sup>b)</sup>	% Survival <sup>c)</sup>				p-value <sup>d)</sup>
		Sinus histiocytosis				
		Grade 1-2		Grade 3-4		
		3 yrs	5 yrs	3 yrs	5 yrs	
0	Total	78.9	73.7	72.9	59.6	0.290
	Epidermoid	63.6	54.5	68.0	54.4	0.976
	Adeno	100	100	84.2	72.1	0.174
1-2	Total	32.2	22.2	34.2	21.0	0.522
	Epidermoid	40.5	33.4	36.5	30.6	0.904
	Adeno	19.9	6.6	37.6	18.9	0.007
Total	Total	42.7	34.2	51.5	38.9	0.041
	Epidermoid	46.4	38.9	52.0	42.1	0.453
	Adeno	34.9	25.8	57.1	42.7	0.002

yrs, years.

a), b) Refer to the footnotes of Table 3.

c) By Kaplan-Meier method.

d) By Cox-Mantel test.

Table 5. Comparison of survival rate based on grade of follicular hyperplasia

N factor <sup>a)</sup>	Histology <sup>b)</sup>	% Survival <sup>c)</sup>				p-value <sup>d)</sup>
		Follicular hyperplasia				
		Grade 0-2		Grade 3		
		3 yrs	5 yrs	3 yrs	5 yrs	
0	Total	73.3	60.7	74.8	63.7	0.509
	Epidermoid	60.4	48.8	83.3	60.0	0.327
	Adeno	87.2	76.5	73.3	71.4	0.889
1-2	Total	41.8	28.8	22.1	10.6	0.002
	Epidermoid	50.9	44.7	23.8	15.9	0.024
	Adeno	37.3	19.9	23.3	7.3	0.059
Total	Total	54.1	41.9	41.8	31.6	0.075
	Epidermoid	54.4	46.0	46.3	36.3	0.418
	Adeno	57.3	44.1	39.2	26.2	0.039

yrs, years.

a), b) Refer to the footnotes of Table 3.

c), b) Refer to the footnotes of Table 4.

### Ⅲ. SH と生存率との相関

N0 症例については、N0 全体、N0 扁平上皮癌症例、N0 腺癌症例ともに SH 低反応群と高反応群の生存率の間には有意差を認めなかった。N1-2 症例については、N1-2 全体、N1-2 扁平上皮癌症例では SH 低反応群と高反応群の生存率の間には有意差を認めなかったが、N1-2 腺癌症例では SH 高反応群が低反応群より有意に予後良好であった。全症例の組織型別検討では、全腺癌症例で SH 高反応群の方が低反応群より有意に予後良好であったが (図 6A)、全扁平上皮癌症例では有意差を認めなかった (図 6B)。全症例では SH 高反応群の方が低反応群より有意に予後良好であった (表 4, 図 6C)。

### Ⅳ. FH と生存率との相関

N0 症例については、N0 全体、N0 扁平上皮癌症例、N0 腺癌症例ともに FH 低反応群と高反応群の生存率の間には有意差を認めなかった。N1-2 症例については、N1-2 全体 (図 7A)、N1-2 扁平上皮癌症例 (図 7B) では FH 低反応群が高反応群より有意に予後良好であったが、N1-2 腺癌症例では有意差を認めなかった。全症例の組織型別検討では、全腺癌症例では FH 低反応群の方が高反応群より有意に予後良好であったが (図 7C)、全扁平上皮癌症例では差を認めなかった。全症例では FH 高反

応群と低反応群の間に有意差を認めなかった (表 5)。

### Ⅴ. 原発巣リンパ管侵襲と各種臨床背景因子との相関

原発巣リンパ管侵襲陽性例は N0 群で 35.6% に対し、N1 群 58.8%、N2 群 92.9% とリンパ節転移陽性例の方が陰性例よりもリンパ管侵襲陽性例の頻度が有意に高くなっていった。また、T 因子の進行とともにリンパ管侵襲陽性例が増加していた。しかし、性別、年齢、組織型、核 DNA 量、p53 蛋白発現、PCNA 標識率の間に相関は認められなかった。原発巣静脈侵襲の比較では、N0 群では静脈侵襲陽性例 33.1% に対し、N1 群 58.8%、N2 群 85.7% とリンパ節転移陽性例で静脈侵襲陽性例の頻度が有意に高く、また、PCNA 標識率高値例も静脈侵襲陽性例の頻度が有意に高かった。しかし、術後 T 因子進行例で静脈侵襲陽性例が多い傾向が認められたものの、性別、年齢、組織型、核 DNA 量、p53 蛋白発現との間に相関はなかった (表 6)。

### Ⅵ. 原発巣リンパ管および静脈侵襲と生存率との相関

リンパ管侵襲の有無と生存率の相関を検討すると、症例全体ではリンパ管侵襲陰性例の方が陽性例より有意に予後良好であった (図 8)。組織型別にみると、腺癌ではリンパ管侵襲陰性例の方が陽性例よりも有意に予後良好であった。扁平上皮癌で

Table 6. Correlation between clinicopathological factors and lymphatic vessel invasion or venous invasion in 132 patients with non-small cell lung cancer

Clinicopathological factors		Number of cases			
		Lymphatic vessel invasion		Venous invasion	
		Negative	Positive	Negative	Positive
Total		65	67	69	63
Sex	Male	51	51	56	46
	Female	14	16	13	17
Age (years)	≤65	32	30	32	30
	>65	33	37	37	33
T factor <sup>a)</sup>	1	35	12	31	16
	2	24	45	32	37
	3	6	7	6	7
	4	0	3	0	3
N factor <sup>a)</sup>	0	56	31	58	29
	1	7	10	7	10
	2	2	26	4	25
Histology <sup>b)</sup>	Epidermoid	31	35	39	27
	Adeno	27	25	24	28
	Adenosquamous	6	6	5	7
	Others	1	1	1	1
DNA ploidy pattern	Diploid	22	12	22	12
	Aneuploid	41	39	41	39
p53 protein	Positive	26	16	26	16
	Negative	36	23	37	22
PCNA-LI (%) <sup>c)</sup>	<40	35	16	38	13
	≥40	22	22	21	23

a), b), c), Refer to the footnotes of Table 3.

\* p<0.1, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001 by chi square test or Fisher's exact probability test.

Table 7. Comparison of survival rate based on grade of lymphatic vessel invasion

Histology <sup>a)</sup>	% Survival <sup>b)</sup>				p-value <sup>c)</sup>
	Lymphatic vessel invasion				
	Negative		Positive		
	3 yrs	5 yrs	3 yrs	5 yrs	
Total	83.6	75.0	54.0	38.4	<0.001
Epidermoid	76.3	69.0	60.6	43.3	0.099
Adeno	92.0	88.0	45.1	33.8	0.001

yrs, years.

a) Refer to the footnotes of Table 3.

b, c) Refer to the footnotes of Table 4.

Table 8. Comparison of survival rate based on venous invasion

Histology <sup>a)</sup>	% Survival <sup>b)</sup>				p-value <sup>c)</sup>
	Venous invasion				
	Negative		Positive		
	3 yrs	5 yrs	3 yrs	5 yrs	
Total	78.0	73.0	59.1	38.2	0.002
Epidermoid	74.9	68.9	57.0	34.2	0.043
Adeno	86.4	81.8	58.1	50.8	0.031

yrs, years.

a) Refer to the footnotes of Table 3.

b, c) Refer to the footnotes of Table 4.

は、生存率はリンパ管侵襲陰性例の方が予後良好であったが、有意差は認められなかった(表7)。静脈侵襲でも同様であり、症例全体では静脈侵襲陰性例の方が陽性例より有意に予後良好であった(図9)。組織型別でも、腺癌、扁平上皮癌ともに静脈侵襲陰性例の方が陽性例よりも有意に予後良好であった(表8)。

考 察

癌の発育、進展や予後を規定する要因としては、核 DNA 量<sup>9)</sup>、PCNA 標識率、p53 蛋白発現<sup>10)</sup>など、癌の悪性度で表される腫瘍側の諸因子と、免疫反応である生体側の防御因子の二種類の因子が深く関与している。免疫反応の指標としては、これまでリンパ球幼弱化反応<sup>11)</sup>、マクロファージ、白血球遊走阻止反応<sup>12)13)</sup>、リンパ球腫瘍細胞混合培養反応<sup>14)</sup>、抗腫瘍活性<sup>15)</sup>などが報告されているが、これらはいずれもリンパ球などの免疫活性を測定する方法である。これに対し、本研究で検討した SH、FH は、免疫反応をリンパ節の形態学的変化としてとらえているものである。

癌の所属リンパ節に SH がしばしばみられることが以前から知られていたが、その臨床的意義付け、特に予後に関する影響については Black ら<sup>16)</sup>の1953年の報告に始まる。Black らは CFW マウス自然発生乳癌が自然治癒したマウスにおいて、脾臓の濾胞とリンパ洞に多数の大型単球様細胞の存在を認めた。これをきっかけに乳癌患者所属リンパ節の SH を検討し、リンパ節転移の有無よりも SH のほうが予後と密接な関連があり、SH の程度が強いほど予後が良好であると報告した。さらに加藤ら<sup>17)</sup>、Black ら<sup>18)</sup>が胃癌、Patt ら<sup>19)</sup>が大腸癌、Tsakraklides ら<sup>20)</sup>が子宮頸癌についても SH の程度が強いほど予後良好であると報告をしている。肺癌においては、Tosi ら<sup>21)</sup>が SH と予後は相関すると報告しているのみで、SH と予後に関する詳細な

研究は少ない。また、FH に関しては、Tsakraklides ら<sup>22)</sup>が1974年に乳癌の局所リンパ節をリンパ球の反応にもとづいて、リンパ球優勢、胚中心優勢、リンパ球減少、無反応の4段階に分類し、リンパ球が優勢な群は予後良好であったと報告しているが、FH と肺癌の関係についての報告もほとんど認められない。そこで本研究では、肺癌における SH、FH の反応と臨床背景因子、細胞生物学的因子および予後との関連について検討を行った。

リンパ節の各部位とその働きについては、1970年 Turk ら<sup>23)</sup>によって、リンパ節の傍皮質はT細胞の活動の場、胚中心はB細胞の活動の場、リンパ洞はマクロファージの活動の場と報告されている。これによるとT細胞の反応である SH は細胞性免疫、B細胞の反応である FH は液性免疫を表すとしている。SH とは、リンパ節周辺組織の組織球増生が輸入管を通してリンパ洞(特に髄洞内)へ反応性に集積する現象であり<sup>24)</sup>、その程度が著しくなるとサルコイドーシス様の反応となり、肉芽腫の形成や巨細胞の出現も認められる<sup>25)26)</sup>。しかし、SH についてはマクロファージの増生であるとされているが、その免疫学的位置付けはまだ確定されておらず、また、癌に特異的な反応であるか、非特異的な反応であるかも結論が出ていない。大森ら<sup>27)</sup>は胃癌リンパ節転移陰性例の SH が癌の占拠部位とは関係なく存在し、また、リンパ節転移陽性例では SH とリンパ節転移の間に関係が認められないことから、SH は腫瘍の存在という局所条件のみでなく、腫瘍に対する生体の全身的な反応であると推定している。このことから本研究でも縦隔リンパ節の部位別判定でなく、リンパ節全体について測定を行い、個々の症例の全身反応として SH、FH をとらえた。そのため、N 因子と SH、FH の相関についても、リンパ節転移の進展度別ではなく、リンパ節転移の有無により検討した。

SH の分類については種々の方法が報告されており、定性的

な方法としては Black ら<sup>19)</sup>, Cutler ら<sup>20)</sup>のものがある。Black ら<sup>19)</sup>はリンパ節全体が SH で占められているものを 4 度, SH が認められないものを 0 度, その間を 1 度, 2 度, 3 度と 5 段階に分類している。一方 Cutler ら<sup>20)</sup>は SH の認められないものを 1 度, リンパ節全体に SH が認められるものを 3 度, その間を 2 度と 3 段階に分類している。上記の方法は組織学的所見の定性的な分類に基づいているため, 検者によってばらつきが多いと考えられる。また逆に定量的な方法としては, Tosi ら<sup>21)</sup>がリンパ節断面に占める SH の面積比を測定する方法をとっているが, 煩雑であり, 各リンパ節ごとのばらつきが大きいため実際的ではないと思われる。そのためわれわれは, リンパ節の断面に対する SH の面積比を半定量的に測定し, 1 度, 2 度, 3 度, 4 度の 4 段階に分類し, 検討した。

FH については, Black ら<sup>19)</sup>は定性的に 0 度から 4 度の 5 段階に分類しており, 4 度は二次中心を持つ過形成性濾胞がリンパ節全体に広がるもの, 0 度は FH が認められないものとしている。Tosi ら<sup>21)</sup>は SH と同様にリンパ節断面に対する胚中心の面積比の百分率で FH を測定している。本研究での FH 分類に際してはリンパ濾胞の面積比よりむしろ存在部位に重点を置いた。すなわち, リンパ節断面に占めるリンパ節内の二次小節, すなわち胚中心を持つリンパ濾胞の増生の局在と程度に注目し, 小玉ら<sup>22)</sup>の分類に準じて 0 度, 1 度, 2 度, 3 度の 4 段階に分類した。

各症例でリンパ節の SH, FH の分類を行うと, 同一症例でも各リンパ節間でばらつきが認められる。このうちのどれをその症例の SH, FH の程度とするかも議論のあるところである。Tosi ら<sup>21)</sup>は 4 から 5 個のリンパ節を対象として前述の方法で面積百分率を算出し, その平均をその症例の SH, FH としている。小玉ら<sup>22)</sup>は胃癌を対象として, 摘出したリンパ節すべてについて SH, FH を分類し, その平均を症例の SH, FH としている。これに対し Black ら<sup>19)</sup>は最も反応の強いリンパ節を症例の SH と定義している。大森ら<sup>23)</sup>は, 個々のリンパ節の SH 分類だけでなく, 症例内の多数のリンパ節を判定し, SH 陽性リンパ節の割合に応じて症例としての SH を分類している。このように, 個々の症例では多数のリンパ節が存在するため, その SH, FH をどのように判定するかが検討を進める上で問題となる。本研究では, リンパ節のなかでも最も強い反応を示すものがその生体の免疫能を表すと考え, 摘出したすべての縦隔リンパ節を検討し, 最も反応の強いリンパ節をその個体を代表する SH, FH とした。また, 転移を有するリンパ節の取り扱いに関しても, リンパ節すべてが腫瘍細胞で置き換わっている場合には SH, FH の測定が不能なのは当然であるが, リンパ節の一部に腫瘍細胞が転移している場合でも反応のばらつきが大きいため検討から除外した。

臨床病理学的, 細胞生物学的因子として年齢, 性別, リンパ節転移レベル, T 因子, N 因子, 組織型, 核 DNA 量, p53 蛋白発現, PCNA 標識率, リンパ管侵襲, 静脈侵襲を用い SH, FH との相関を検討したところ, SH は N 因子とのみ有意の相関を示していた。これは SH が腫瘍の悪性度を示す指標, すなわち, 核 DNA 量, p53 蛋白, PCNA 標識率, リンパ管侵襲, 静脈侵襲などとは関係が認められなかったことと対照的であり, リンパ節の免疫形態学的反応である SH が腫瘍細胞の生物学的悪性度とは独立した因子であることを示している。また, 縦隔リンパ節の SH 反応が弱い症例ほど, リンパ節転移が生じ

やすいと推定された。SH と組織型の関係についても種々の報告がなされており, 山口ら<sup>31)</sup>は肺癌肺門部リンパ節を検討し, 扁平上皮癌で SH の程度が高いと報告しているが, Tosi ら<sup>21)</sup>は組織型とは無関係であったと報告している。われわれの検討でも組織型と SH の程度に差は認められず, これらの反応は組織型によって変化するものではなかった。また, SH や FH などの反応はリンパ節の所属部位によっても程度が異なると考えられ, 特に肺癌で検討される縦隔リンパ節は, 肺癌に対する腋窩リンパ節<sup>32)</sup>や, 胃癌所属リンパ節など他部位のリンパ節の SH に比較して反応が強く認められる。これは気道を通して外界に直接暴露する機会が多く, 炭粉沈着が多く認められることから, これらの刺激のために組織球増生反応が全体的に強くみられるためであると推定される。このため, 山口<sup>31)</sup>のように炭粉沈着の高度なリンパ節は SH の判定から除外している報告も認められる。

SH と予後との関係については, 他臓器に発生した癌については SH の反応が強いほど予後良好と報告されているが<sup>16-20)</sup>, 肺癌についての報告は少ない<sup>21)</sup>。本研究では全症例, 全腺癌症例, N1-2 腺癌症例では SH 高反応群の方が低反応群よりも予後良好であったが, N0 (全体, 扁平上皮癌症例, 腺癌) 症例, N1-2 (全体, 扁平上皮癌) 症例, 全扁平上皮癌症例では有意差は認められなかった。臨床病理学的因子の検討で N0 より N1-2 の方が SH の程度が低かったことと合わせて考えると, SH の反応の弱い個体で癌が進展しやすい, あるいは, 癌の進展とともに SH 反応が低下する, のいずれかであるが, SH 反応が強いものほど生体に防御的に働き, 予後良好因子として作用しているものと推定される。

FH と他の臨床病理学的因子との比較検討では, 男性, T 因子の進行した症例, 扁平上皮癌, リンパ管侵襲陽性例, 静脈侵襲陽性例に反応が有意に強く現れていた。FH では, 主腫瘍の進展とともに, 縦隔リンパ節の FH 反応が強くなっていたが, SH とは異なりリンパ節転移とは相関は認められなかった。また, 核 DNA 量, p53 蛋白, PCNA 標識率などとは関係が認められなかった。これに対し Ogawa ら<sup>30)</sup>は N0, N1 肺癌の核 DNA 量と転移陰性リンパ節の FH を検討し, DNA 異数倍体腫瘍は DNA 二倍体腫瘍に比べて FH の反応とキラー T 細胞の比率が低くなっていることから, DNA 異数倍体腫瘍ではリンパ節の抗腫瘍活性が低いと推定している。

FH と予後との関係については, Hunter ら<sup>33)</sup>が肺癌, Patt ら<sup>19)</sup>が大腸癌を対象として報告したように, 他臓器の癌では FH と予後とは逆相関するとされている。しかし, 肺癌では, Tosi ら<sup>21)</sup>は長期生存例でリンパ濾胞の面積が有意に減少していたと報告しているのに対して, Kaufmann ら<sup>30)</sup>は逆に肺扁平上皮癌で FH と正の相関を示していたと報告している。また, 山口<sup>31)</sup>は 66 例の肺癌を病期別に検討し, 児玉<sup>37)</sup>は Ia 期腺癌 50 例を検討して, FH と予後との間には相関がないと報告している。以上のごとく, 肺癌においては FH が予後に及ぼす影響に関して一定の見解は得られていないのが現状である。本研究では, 全腺癌症例, N1-2 (全体, 扁平上皮癌) 症例で FH 低反応群より高反応群の方が予後不良であり, FH と予後とは逆相関するという結果であった。

Naruke ら<sup>38)</sup>は, リンパ節転移症例の予後解析に対するリンパ節分布図の有用性について報告している。本研究では縦隔リ

リンパ節転移陽性例についてその分布図を作成し、原発巣との相関を検討した。肺リンパ流の中核側経路に関しては、縦隔内のリンパ節を経由して上行する右気管側経路、右腕頭静脈経路、左気管側経路、大動脈弓経路の4経路と、肺靭帯を経由して下行する経路があるとされている<sup>29)30)</sup>。リンパ節転移は上記のリンパ流に沿っている傾向が見られたが、N2例の転移リンパ節では頻度の差こそあれ、また、原発巣の局在を問わず2a群、2b群に広く分布していた。また領域リンパ節ばかりでなく非領域リンパ節にも広範囲に転移が認められた。

原発巣の静脈侵襲、リンパ管侵襲については、前者は血行性転移、後者はリンパ行性転移に連結する因子であり、腫瘍の転移、再発の危険性を示すと考えられる。これまでも血管侵襲が肺癌の予後を左右する重要な因子であることは数多く報告されている<sup>40-43)</sup>。Ichinoseら<sup>44)</sup>はI期肺癌において、50%にリンパ管侵襲、11%に静脈侵襲が認められ、さらに、リンパ管侵襲は腫瘍の大きさと相関し、また、N1はN0よりもリンパ管侵襲の頻度が高かったと報告している。これに対し、Macchiarini<sup>45)</sup>はT1N0M0のリンパ節転移のないI期肺癌ではリンパ管侵襲例はなく、動脈侵襲、静脈侵襲をあわせた血管侵襲は17%に認められたと報告している。これに対し本研究では、N0肺癌においても36%にリンパ管侵襲、33%に静脈侵襲が見られており、これらの症例ではすでに転移準備状態にあることを示すものである。この事実はN0例の5生率が60~70%であることとほぼ一致しており、N0肺癌でも予後が不良である例が存在することと密接に関係していると考えられた。胃癌や大腸癌をはじめとする他臓器癌においてはこれらの脈管侵襲が取り扱い規約に記載され、予後規定因子として認識されているのに対し<sup>46)47)</sup>、肺癌取り扱い規約<sup>1)</sup>では未だ記載されておらず、今後の検討課題であると思われた。

リンパ管侵襲、静脈侵襲と臨床病理学的諸因子との検討では、両者ともN1-2症例ではN0症例に比して有意に侵襲陽性例の比率が増加しており、リンパ節転移陽性例で脈管侵襲陽性例の頻度は高率であった。また、リンパ管侵襲はT因子と関連しており、主腫瘍の増大、進展とともにリンパ管侵襲の比率が増加しており、癌の進展とともに脈管侵襲が陽性となっていた。また、細胞生物学的因子との相関では、核DNA量異数倍体でリンパ管侵襲が多いとの報告<sup>34)</sup>も認められるが、本研究ではPCNA標識率と静脈侵襲が相関していたのみで、核DNA量、P53蛋白発現との間には一定の相関は認められなかった。

静脈侵襲陽性例、リンパ管侵襲陽性例ともに陰性例に較べて予後不良であり、これらの症例はリンパ節転移や病期が早期であっても術後再発の危険が高いと考えられるため、厳重な経過観察が必要である。特にリンパ管侵襲は扁平上皮癌よりも腺癌で有意に高頻度に認められており、再発に十分注意し、術後化学療法などを検討すべきである。

## 結 論

原発性非小細胞肺癌384例を対象に縦隔リンパ節SH、FHの発現率を検討し、そのうち132例を対象に原発巣のリンパ管侵襲、静脈侵襲を検討した。また、N2肺癌相対的治癒および非治癒切除例182例を対象に縦隔リンパ節の転移分布を検討し、以下の結論を得た。

1. N2肺癌182例の縦隔リンパ節転移は、単一レベル転移77例、複数レベル転移は105例で、のべ345レベル(平均1.9レベル)

ル)の転移を認めた。

2. 縦隔リンパ節SHの頻度は1度、24例(6.3%);2度、79例(20.6%);3度、196例(51.0%);4度、85例(22.1%)であった。SHと臨床病理学的諸因子との検討では、リンパ節転移陽性例でSHの反応が低下していた。

3. 縦隔リンパ節FHの頻度は0度、55例(14.3%);1度、60例(15.6%);2度、105例(27.3%);3度、164例(42.8%)であった。FHは男性、T因子、N因子高値、扁平上皮癌、リンパ管侵襲陽性例、静脈侵襲陽性例で高い反応を示していた。

4. SHと生存率の検討では、SH高反応群の方が低反応群よりも有意に予後良好であった。FHと生存率の検討では、N1-2全体、N1-2扁平上皮癌症例、全腺癌症例でFH低反応群の方が高反応群よりも有意に予後良好であった。

5. 原発巣リンパ管侵襲は65例(49.2%)で陰性、67例(50.8%)で陽性であり、T因子、N因子の高値とともに陽性例が増加していた。静脈侵襲陰性例は69例(52.3%)、陽性例は63例(47.7%)で、リンパ節転移陽性例、PCNA標識率高値例で陽性例が増加していた。

6. 生存率の検討では、リンパ管侵襲、静脈侵襲とも陰性例の方が陽性例よりも予後良好であった。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、終始、御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師渡辺洋字教授に深甚なる謝意を表します。また、直接の御指導を頂きました病理部野々村昭孝教授に深謝致します。さらに本研究の遂行に際し、御協力を頂きました第一外科、病理部の諸先生、技師、および関係各位に厚く御礼申し上げます。

本論文の要旨は第36回日本肺癌学会総会(1995,千葉)において発表された。

## 文 献

- 1) 日本肺癌学会編:臨床・病理,肺癌取扱規約.改訂第3版,15-115頁,メジカルビュー社,東京,1990.
- 2) Mountain, C. F.: A new international staging system for lung cancer. *Chest*, 89 (Supple), 225-233 (1986).
- 3) Watanabe, Y., Shimizu, J., Tsubota, M. & Iwa T.: Mediastinal spread of metastatic lymph nodes in bronchogenic carcinoma. Mediastinal nodal metastases in lung cancer. *Chest*, 97, 1059-1065 (1990).
- 4) Schutte, B., Reynders, M. J., Bosman, F. T. & Blijjan, G. H.: Flow cytometric determination of DNA ploidy level in nuclei isolated from paraffin-embedded tissue. *Cytometry*, 6, 26-30 (1985).
- 5) Vindeløv, L. L., Christensen, I. J. & Nissen, N. I.: A detergent-trypsin method for preparation of nuclei for flowcytometric DNA analysis. *Cytometry*, 3, 323-327 (1983).
- 6) Kaplan, E. L. & Meier, P.: Nonparametric estimation from incomplete observations. *J. Am. Statist. Assoc.*, 53, 457-481 (1958).
- 7) Cox, D. R.: Regression models and life tables. *J. Royal Stat. Soc., Series B* 34, 187-220 (1972).
- 8) Mantel, N.: Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother. Rep.*, 50, 163-170 (1966).
- 9) 林 義信: 原発性非小細胞肺癌切除例における核DNA量

に関する基礎的ならびに臨床的研究. 十全医会誌, 100, 47-67 (1991).

10) 家接健一: 原発性非小細胞肺癌における p53 蛋白発現および腫瘍増殖能に関する研究. 十全医会誌, 102, 492-505 (1993).

11) 網村幸夫: 肺癌患者の細胞性免疫能に関する研究—特に病期, 治療, 予後との相関について—. 十全医会誌, 92, 1-15 (1983).

12) 矢田健太郎: 癌患者免疫能の診断パラメーター. 日内会誌, 67, 1495-1498 (1978).

13) Ishii, Y., Yamaoka, H., Toh, K. & Kikuchi, K.: Inhibition of tumor growth in vivo and vitro by macrophages from rats treated with a streptococcal preparation, OK-432. *Gann*, 67, 115-119 (1976).

14) 吉田誠一, 高井信行, 小野晃, 齊藤隆史, 田中隆一: 腫瘍リンパ球混合培養反応を用いた悪性脳腫瘍患者における腫瘍特異的免疫反応の検討. 脳神経, 40, 1067-1073 (1988).

15) 荒能義彦: 肺癌患者の末梢血, 局所リンパ節および腫瘍浸潤リンパ球の自己腫瘍細胞障害活性の研究. 十全医会誌, 103, 207-219 (1994).

16) Black, M. M., Kerpe, S. & Speer, F. D.: Lymph node structure in patients with cancer of the breast. *Am. J. Pathol.*, 29, 505-521 (1953).

17) 加辺純雄, 大森幸夫, 本田一郎, 武藤輝一: 胃癌における sinus histiocytosis の検討. 日臨外医会誌, 45, 424-428 (1984).

18) Black, M. M., Freeman, C., Mork, T., Harvei, S. & Cutler, S. J.: Prognostic significance of microscopic structure of gastric carcinomas and their regional lymph nodes. *Cancer*, 27, 703-711 (1971).

19) Patt, D. J., Brynes, R. K., Vardiman, J. W. & Coppelson, L. W.: Mesocolic lymph node histology is an important prognostic indicator for patients with carcinoma of the sigmoid colon: an importance immunomorphological study. *Cancer*, 35, 1388-1397 (1975).

20) Tsakraklides, V., Anastassiades, O. T. & Kersey, J. H.: Prognostic significance of regional lymph node histology in uterine cervical cancer. *Cancer*, 31, 860-868 (1973).

21) Tosi, P., Luzzi, P., Leoncini, L., Miracco, C., Gambacorta, M. & Gross, A.: Bronchogenic carcinoma; Survival after treatment according to stage, histologic type and immunomorphologic changes in regional lymph nodes. *Cancer*, 48, 2288-2295 (1981).

22) Tsakraklides, V., Olson, P., Kersey, J. H. & Good, R. A.: Prognostic significance of the regional lymph node histology in cancer of the breast. *Cancer*, 4, 1259-1267 (1974).

23) Turk, J. L. & Oort, A.: The production of sensitized cells in cell-mediated immunity. In A. Stunder & H. Cottier (eds.), *Handbuch der Allgemein Pathologie M/3 Immunreaktionen*, 3rd ed., p392-435, Springer-Verlag, Berlin, 1970.

24) Cottier, H., Turk, J. & Sobin, L.: A proposal for a standardized system of reporting human lymph node morphology in relation to immunological function. *Bull*

*WHO*, 47, 375-408 (1972).

25) 岡田慶夫: 肺癌のリンパ行性転移. 肺のリンパ系と肺癌 (岡田慶夫編), 第1版, 52-106頁, 金芳堂, 京都, 1989.

26) Symmers, W. St. C.: Localized tuberculoid granulomas associated with carcinoma. Their relationship to sarcoidosis. *Am. J. Pathol.*, 27, 493-513 (1951).

27) 大森幸夫, 藤巻雅夫, 石塚敏朗, 阿部富男, 長谷川詮, 藤野正義, 佐々木寿英: 胃癌のリンパ節における Sinus histiocytosis について. 最新医学, 22, 162-171 (1967).

28) Cutler, S. J., Black, M. M., Mork, T., Harvei, S. & Freeman, C.: Further observations on prognostic factors in cancer of the female breast. *Cancer*, 24, 653-665 (1969).

29) 小玉正智, 藤田政良, 田中承男, 山岸久一, 稲葉征四郎, 橋本 勇: 胃癌の宿主側における予後因子の検討. 癌の臨床, 22, 826-833 (1976).

30) Black, M. M. & Speer, F. D.: Sinus histiocytosis of lymph node in cancer. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 106, 163-175 (1958).

31) 山口 豊, 佐藤展将, 室田宏宏, 木村秀樹, 藤沢武彦: 肺癌—肺癌切除例における所属リンパ節の役割. 肺と心, 30, 15-23 (1983).

32) Friedell, G. H., Millis, R. R., Sato, T., Suchi, T., Shikata, I., Chaudary, M. A. & Hayward, J. L.: Breast cancer in English and Japanese women: Prognostic significance of sinus histiocytosis and germinal center hyperplasia in axillary lymph nodes. *Breast Cancer Res. Treat.*, 18, 73-76 (1991).

33) 山口 明: 肺癌患者におけるリンパ節 (肺内, 肺門, 縦隔, 斜角筋前) の臨床病理学的検討—特に転移, 郭清, 免疫反応の予後への影響について—. 日胸外会誌, 36, 2529-2543 (1988).

34) Ogawa, J., Tsurumi, T., Inoue, H. & Shohtsu, A.: Relationship between tumor DNA ploidy and regional lymph node changes in lung cancer. *Cancer*, 69, 1688-1695 (1992).

35) Hunter, R. L., Ferguson, D. J. & Coppelson, L. W.: Survival with lung cancer related to the interaction of germinal center hyperplasia and sinus histiocytosis in axillary and internal mammary lymph nodes. *Cancer*, 36, 528-539 (1975).

36) Kaufmann, M., Wirth, K., Scheurer, J., Zimmermann, A., Lusciati, P. & Stjernsward, J.: Immunomorphological lymph node changes in patients with operable bronchogenic squamous-cell carcinoma. *Cancer*, 39, 2371-2377 (1977).

37) 児玉哲郎: 病理学的にみた肺癌の多様性と予後. 癌と化学療法, 12, 45-53 (1985).

38) Meyer, K. K.: Direct lymphatic connections from the lower lobes of the lung to the abdomen. *J. Thoracic Surg.*, 35, 726-733 (1958).

39) Naruke, T., Suemasu, K. & Ishikawa, S.: Lymph node mapping and curability at various levels of metastasis in resected lung cancer. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 76, 832-839 (1978).

40) Takise, A., Kodama, T., Shimosato, Y., Watanabe, S. & Suemasu, K.: Histopathologic prognostic factors in

adenocarcinomas of the peripheral lung less than 2cm in diameter. *Cancer*, **61**, 2083-2088 (1988).

41) Collier, F. C., Blakemore, W. S., Kyle, R. H., Enterline, H. T., Kirby, C. K. & Johnson, J.: Carcinoma of the lung: Factors which influence five year survival with special reference to blood vessel invasion. *Ann. Surg.*, **146**, 417-423 (1957).

42) Collier, F. C., Enterline, H. T., Kyle, R. H., Tristan, T. T. & Greening, R.: The prognostic implications of vascular invasion in primary carcinomas of the lung. *Arch. Pathol.*, **66**, 594-603 (1958).

43) Chung, C. K., Ziano, R., Stryker, J. A., O'Neil, M. Jr. & Demuth, W. E. Jr.: Carcinoma of the lung: Evaluation of histological grade and factors influencing

prognosis. *Ann. Thorac. Surg.*, **33**, 599-604 (1982).

44) Ichinose, Y., Yano, T., Yokoyama, H., Inoue, T., Asoh, H. & Katsuda, Y.: The correlation between tumor size and lymphatic vessel invasion in resected peripheral stage I non-small cell lung cancer. A potential risk of limited resection. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **108**, 694-686 (1994).

45) Macchiarini, P., Fontanini, G. & Hardin, M. J.: Blood vessel invasion by tumor cells predicts recurrence in completely resected T1 N0 M0 non-small-cell lung cancer. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **106**, 80-89 (1993).

46) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約. 改訂第12版, 72-75 頁, 金原出版, 東京, 1993.

47) 大腸癌研究会編: 大腸癌取扱い規約. 改訂第5版, 10-11 頁, 金原出版, 東京, 1994.

#### Clinicopathological Regional Lymph Node and Tumor Parameters in Patients with Non-small Cell Lung Cancer

Ichiro Takabatake, Department of Surgery (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. *Juzen Med Soc.*, **105**, 406—419 (1996)

**Key words** non-small cell lung cancer, sinus histiocytosis, follicular hyperplasia, prognostic parameter, vessel invasion

#### Abstract

The distribution of metastatic lymph nodes, the degree and presentation of sinus histiocytosis and follicular hyperplasia in the mediastinal lymph nodes were studied in 384 resected specimens. Lymphatic vessel invasion and venous invasion of tumors were evaluated in 132 resected specimens. The relationship was examined between these immunomorphologic factors and DNA ploidy pattern, p53 protein, proliferating cell nuclear antigen labeling index (PCNA-LI) and clinicopathological factors including prognosis. Sinus histiocytosis was classified into 4 categories according to microscopic volume of the lesion on the cut surface of the lymph node. Twenty-four (6.3%) were classified as grade 1 sinus histiocytosis, 79 (20.6%) as grade 2, 196 (51.0%) as grade 3 and 85 (22.1%) as grade 4. The lymph node reaction of sinus histiocytosis was attenuated with progression of the N factor. Follicular hyperplasia was classified into 4 categories according to degree and distribution of lymph follicles. Fifty-five (14.3%) were classified as grade 0 follicular hyperplasia, 60 (15.6%) as grade 1, 105 (27.3%) as grade 2, 164 (42.8%) as grade 3. Lymph nodes in males, those in patients with a high T factor, epidermoid carcinoma, positive lymphatic vessel invasion and positive venous invasion showed high grade follicular hyperplasia. Survival rate analysis according to sinus histiocytosis revealed that patients with a strong lymph node reaction showed a significantly better overall survival rate than those with a weak reaction. For follicular hyperplasia, patients with a weak lymph node reaction showed a significantly better survival rate than those with a strong reaction in the overall N1-2 group, the N1-2 epidermoid carcinoma group and the overall adenocarcinoma group. Lymphatic vessel invasion by the primary tumor was absent in 65 patients (49.2%) and present in 67 patients (50.8%). The incidence of lymphatic vessel invasion was significantly higher in patients with high T and N factors than in those with low T and N factors. Venous invasion by the primary tumor was absent in 69 patients (52.3%) and present in 63 patients (47.7%). The incidence of venous invasion was significantly higher in patients with N1-2 and high PCNA-LI than in those with N0 and low PCNA-LI. Patients with positive lymphatic vessel invasion and venous invasion showed a significantly better survival rate than those with negative reaction. Sinus histiocytosis and follicular hyperplasia are concluded to be useful morphological changes related to prognostic factors. Lymphatic vessel invasion and venous invasion also showed a close relationship with disease progression and prognosis.