

# I期原発性非小細胞肺癌における微小リンパ節転移検出の意義

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/2297/9320">http://hdl.handle.net/2297/9320</a>

## 正 誤 表

金沢大学十全医学会雑誌 第107巻 第4号 293-302 (1998)

### I期原発性非小細胞肺癌における 微小リンパ節転移検出の意義

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)

野 澤 寛

以下の表が欠落していました。

Table 6. Comparison of survival rates based on T factors and lymphatic micrometastasis

T factor	% Survival <sup>a)</sup>				P-value <sup>b)</sup>
	Lymphatic micrometastasis				
	Negative		Positive		
	3 yrs	5 yrs	3 yrs	5 yrs	
T1	92.1	92.1	80.0	70.0	P<0.05
T2	73.3	50.0	53.3	40.0	P<0.10

yrs, years.

a) By Kaplan-Meier method.

b) By generalized Wilcoxon test.

## I期原発性非小細胞肺癌における 微小リンパ節転移検出の意義

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)

野 澤 寛

長期予後の判明しているI期原発性非小細胞肺癌治療切除例132例(リンパ節2038個)を対象に、抗サイトケラチン抗体を用いた免疫組織化学染色法により微小リンパ節転移の検出を行い、臨床病理学的諸因子および予後との関連を検討した。微小リンパ節転移は132例中36例(27.3%)、2038個のリンパ節中106個(5.2%)のリンパ節に検出された。組織型別にみると扁平上皮癌では44例中14例(31.8%)、腺癌では87例中21例(24.1%)、大細胞癌では1例中1例(100%)に微小リンパ節転移を認めた。T因子別には、T1では87例中21例(24.1%)、T2では45例中15例(33.3%)に微小リンパ節転移を認めた。年齢、性別、分化度、原発部位および腫瘍径の検討でも微小リンパ節転移の陽性率との相関性を認めなかった。原発巣におけるリンパ管侵襲陽性例は陰性例に比べて微小リンパ節転移の頻度が高くなる傾向があった( $P < 0.10$ )。上葉原発および左下葉原発症例では領域リンパ節への微小リンパ節転移が高頻度にみられたが、右下葉原発症例では非領域リンパ節への転移も高頻度にみられた。微小リンパ節転移部位に基づいた訂正病期ではI期96例、II期7例、III A期29例となった。訂正病期別の5年生存率はI期78.1%、II期42.9%、III A期58.6%と、II期、III A期例はI期例よりも有意に予後不良であった(各々 $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。以上の結果から、病理病期I期原発性非小細胞肺癌においても、微小リンパ節転移は広範囲に縦隔に分布し、正確な病期分類、および予後向上のためには、系統的縦隔リンパ節郭清を伴った根治手術が必要であると考えられた。また、微小リンパ節転移陽性症例は陰性症例に比べて有意に予後不良であり、予後の向上のために微小リンパ節転移陽性例に対して選択的術後補助療法を行うことも今後の検討課題と考えられた。

**Key words** non-small cell lung cancer, micrometastasis, cytokeratin, lymph node metastasis

肺癌は近年増加傾向にあり、悪性腫瘍の部位別年齢調整死亡率において、男性では1994年に胃悪性腫瘍を抜き死因の第1位、女性では胃、大腸の悪性腫瘍に次ぎ第3位となった<sup>1)</sup>。非小細胞肺癌の治療方法は治療切除可能例に対しては外科的切除が中心であるが、I期肺癌切除例においても5年生存率は65~75%と予後不良である。I期肺癌の原発巣における予後因子に関しては、形態学的検討から遺伝子レベルの解析まで研究が積み重ねられてきている<sup>2)</sup>。しかしこれら原発巣の分子生物学的予後因子の他に、手術時にすでに遊離癌細胞による骨髄、リンパ節等への微小転移が存在している可能性があることから、近年、光学顕微鏡による従来の病理組織診断では検出できない血中、リンパ節中の微小転移の検出が着目され、種々の臓器の癌について検討されている<sup>3)~5)</sup>。消化器癌においては原発巣における遺伝子異常が、転移巣でも生じているという考えから、p53蛋白の発現や、K-ras変異をマーカーとした微小転移検出法が報告されている<sup>6)7)</sup>。しかしこれらの遺伝子変異も全ての癌腫において同頻度で生じるのではなく、消化器癌ではp53蛋白発現が75~80%、K-ras点突然変異が40~50%である<sup>8)~10)</sup>のに対し、原発性非小細胞肺癌ではp53蛋白発現が49~63%<sup>11)12)</sup>、K-ras点突然変異が15~50%<sup>11)13)~17)</sup>と、消化器癌に比べ低頻度である。さらに肺癌では、組織型によりその発現が異なるため、微小転移の検出に特異的とは言い難い。乳癌<sup>18)19)</sup>や肺癌<sup>20)~25)</sup>に

において、リンパ節、骨髄、および血液などの非上皮性組織内の遊離癌細胞を検出する簡便な方法として、上皮性細胞の中間径フィラメントであるサイトケラチンをマーカーとする方法が最近注目されている。

そこで本研究では、長期予後の判明しているI期原発性非小細胞肺癌治療切除症例を対象として、抗サイトケラチン抗体を用いた免疫組織学的検索を行い、リンパ節内の微小転移を検出した。また、検出した微小転移をもとに訂正病期分類を行い、臨床病理学的諸因子、および予後との相関について検討した。

### 対象および方法

#### I. 対 象

1988年1月から1991年12月までの金沢大学医学部第一外科学講座の原発性非小細胞肺癌で、肺門・縦隔を含むリンパ節郭清が行われた絶対治療切除例のうち、他病死例を除いた術後病理病期I期肺癌132例を対象とした。肺切除標本およびリンパ節はホルマリン固定パラフィン包埋ブロックとして金沢大学医学部附属病院病理部に保存されているものを用いた。組織分類、リンパ節命名法を含む手術所見記載法、病期分類は肺癌取扱い規約第4版<sup>26)</sup>に従った。対象症例の年齢は46歳から84歳(平均65.1歳)、性別は男性87例、女性45例であった。組織型は扁平上皮癌44例、腺癌87例、大細胞癌1例であった。T因子は

平成10年7月27日受付, 平成10年9月7日受理

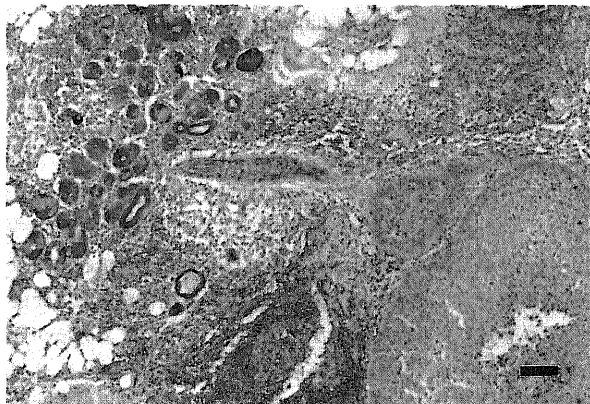
Abbreviations: CK, cytokeratin; DAB, 3, 3-diaminobenzidine tetrahydrochloride; PBS, phosphate-buffered saline

T1: 87例, T2: 45例であった。原発部位は右上葉44例, 右中葉9例, 右下葉32例, 左上葉31例および左下葉16例であった。検討に用いたリンパ節は総計2038個であり, 1症例あたりのリンパ節検索個数は6個から24個(平均15.4個)であった。

## II. 微小リンパ節転移の検出方法

### 1. サイトケラチン (cytokeratin, CK) 18に対する免疫組織化学染色法

ホルマリン固定パラフィン包埋標本を4  $\mu$ mの厚さに薄切し, シランコーティングスライド(武藤化学, 東京)に付着させ, キシレンにて10分間, 3回の脱パラフィンを行った後, 100%, 100%, 100%, 90%, 70%のエタノールにて各20回振盪した。さらに水道水で1分間流水し親水した後, pH 7.2リン酸緩衝食塩水 (phosphate-buffered saline, PBS) (ダルベッコPBS (-), 日水製薬, 東京)に浸した。次に0.4%ペプシン [ペプシン (Sigma, USA) 40 mgを0.01 N塩酸10 mlに溶解して調製]で, 30分間室温にて酵素処理した後, 0.01 Mクエン酸緩衝液(無水クエン酸1.9 gを蒸留水1000 mlに溶解し, 2 N水酸化ナトリウムにてpH 6.0に調整)中で500 W, 5分間, 3回のマイクロウェーブ処理を行い, 室温になるまで約20分間放置し

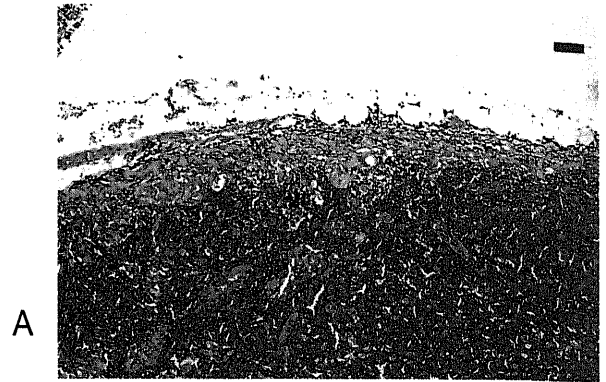


A

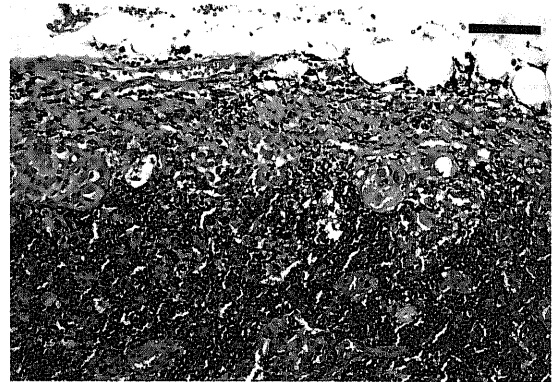


B

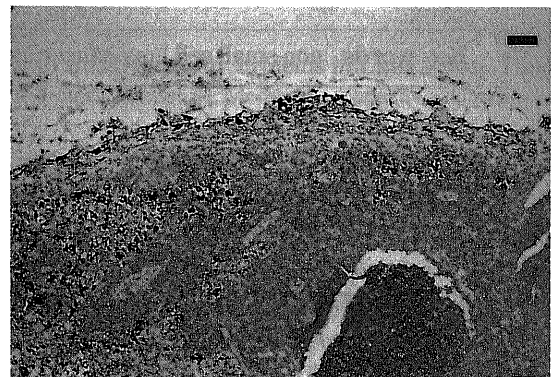
Fig. 1. Immunohistochemical staining of cytokeratins in primary lung squamous cell carcinoma. (A) Stained by CK18 monoclonal antibody ( $\times 40$ ). (B) Stained by AE1/AE3 monoclonal antibody ( $\times 40$ ). Scale bar indicates 100  $\mu$ m.



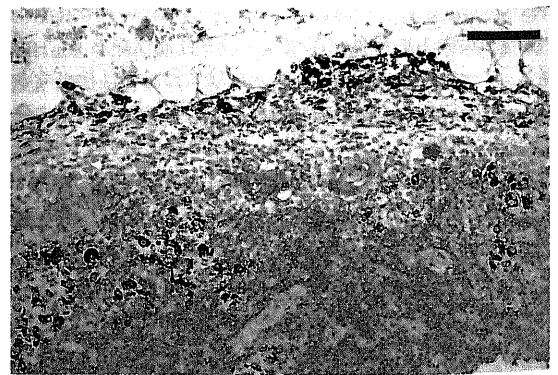
A



B



C



D

Fig. 2. Photomicrographs of mediastinal lymph nodes showing positive micrometastases. It was difficult to detect metastatic tumor cells by routine HE stain, but was easy by immunohistochemical AE1/AE3 staining. (A) HE stain ( $\times 40$ ). (B) HE stain ( $\times 100$ ). (C) Immunohistochemical AE1/AE3 staining ( $\times 40$ ). (D) Immunohistochemical AE1/AE3 staining ( $\times 100$ ). Scale bar indicates 100  $\mu$ m.

た後、新しいPBSに浸した。

次いで0.3%過酸化水素加メタノールにて15分間室温で処理して内因性ペルオキシダーゼを阻害し、10分間流水洗浄した後PBSに浸し、ウシ正常血清アルブミン(ダコジャパン, 京都)を用いて10分間室温にてブロッキングを行った。続いて、抗ヒトCK18抗体(クローンDC10, マウスIgG1)(ダコジャパン)をPBSで20倍に希釈し、室温で1時間反応させた。PBSにて5分間3回洗浄後、ビオチン標識抗マウス、抗ウサギ・ヤギ抗体(ダコジャパン)を用いて室温で20分間反応させ、PBSにて5分間3回洗浄した後、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン(ダコジャパン)を室温で20分間反応させた。PBSにて5分間3回洗浄後、四塩酸3, 3-ジアミノベンチジン溶液 [3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride (和光, 東京) 30 mgを150 mlのPBSに溶解し、30 μlの34%過酸化水素水を加えて調整]にて顕微鏡で発色状態を確認しながら、各検体の原発巣の組織切片の染色具合を陽性コントロールとし、約6分間反応させ、

10分間流水洗浄した後、マイヤー・ヘマトキシリン(武藤化学)にて1分間核染色を行った。その後7分間流水にて色出しを行い、90%、100%、100%、100%のエタノールにて各20回振盪させることにより脱水し、キシレンにて20回振盪を3回行い透徹した後、マリノール(武藤化学)にて封入した。

2. AE1/AE3に対する免疫組織化学染色

CK18の免疫組織化学染色に使用した標本の連続切片を用いAE1/AE3の免疫染色を行った。脱パラフィン操作を前記と同様に行った後、ペプシン処理を行わず、マイクロウェーブ処理、内因性ペルオキシダーゼ阻害、正常血清アルブミンによるブロッキングを前記の方法に準じて行った。一次抗体は、抗ヒトCK抗体(AE1/AE3)(クローンAE1+AE3, マウスIgG1+IgG1)(ダコジャパン)をPBSにて50倍に希釈し、室温で1時間反応させた。以後、PBS洗浄、二次抗体、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン、DAB発色、核染色、脱水、透徹、封入についてもCK18の染色と同様に行った。

3. 微小リンパ節転移の判定

各症例について原発巣と、提出されたすべてのリンパ節のHE染色、CK18およびAE1/AE3の免疫組織化学染色標本を、臨床データの先入観なしに光学顕微鏡を用いて観察、評価した。CK18およびAE1/AE3の染色性の判定は、原発巣を基準とした。微小リンパ節転移の判定は、リンパ節内の一部に一個以上のCK18またはAE1/AE3陽性細胞(原発巣で陽性を示す抗体)が存在し、その細胞(または細胞集団)が、核の不整やN/C比の増大、顆粒状のクロマチンをもった細胞であった場合に、これを癌細胞と判断し陽性と判定した。リンパ節内および極めて近傍の脈管内に癌細胞を認めた場合は微小リンパ節転移陽性としたが、リンパ節外に孤立して存在する癌細胞は他の場所よりの

Table 1. Clinical findings in 132 patients with stage I non-small cell lung cancer

Clinicopathological findings	Number (%) of cases		
	Total	Nodal micrometastasis	
		Positive	Negative
No. of cases examined	132	36 (27.3)	96 (72.7)
Sex			
Male	87	22 (25.3)	65 (74.7)
Female	45	14 (31.1)	31 (68.9)
Age <sup>a)</sup>	65.1 ± 8.3	65.5 ± 8.9	65.1 ± 8.1
Histology <sup>b)</sup>			
Adenocarcinoma	87	21 (24.1)	66 (75.9)
Squamous cell ca.	44	14 (31.8)	30 (68.2)
Large cell carcinoma	1	1 (100)	0 (0)
T factor			
T1	87	21 (24.1)	66 (75.9)
T2	45	15 (33.3)	30 (66.7)
Differentiation			
Adenocarcinoma			
Well	61	15 (24.6)	46 (75.4)
Moderately	18	3 (16.7)	15 (83.3)
Poorly	8	3 (37.5)	5 (62.5)
Squamous cell ca.			
Well	13	3 (23.1)	10 (76.9)
Moderately	25	9 (36.0)	16 (64.0)
Poorly	6	2 (33.3)	4 (66.7)
Location 1			
Right upper lobe	44	14 (31.8)	30 (68.2)
Right middle lobe	9	2 (22.2)	7 (77.8)
Right lower lobe	32	9 (28.1)	23 (71.9)
Left upper lobe	31	6 (19.4)	25 (80.6)
Left lower lobe	16	5 (31.3)	11 (68.7)
Location 2			
Hilar	17	3 (17.6)	14 (82.4)
Intermediate	2	1 (50.0)	1 (50.0)
Periphery	113	32 (28.3)	81 (71.7)

a) Years.  $\bar{x} \pm SD$ .

b) Squamous cell ca, Squamous cell carcinoma.

Table 2. Correlations between clinicopathological findings and incidence of the lymphatic micrometastasis

Clinicopathological findings	Number (%) of cases		
	Total	Nodal micrometastasis	
		Negative	Positive
Tumor diameter 1 (mm)			
~10	7	6 (85.7)	1 (14.3)
11~20	43	33 (76.7)	10 (23.3)
21~30	44	31 (70.5)	13 (29.5)
31~	38	26 (68.4)	12 (31.6)
Tumor diameter 2 (mm)			
Adenocarcinoma			
20 ≥	34	25 (73.5)	9 (26.5)
21 ≤	53	41 (77.4)	12 (22.6)
Squamous cell ca. <sup>a)</sup>			
20 ≥	16	14 (87.5)	2 (12.5)
21 ≤	28	16 (57.1)	12 (42.9)
Lymphatic vessel invasion			
Negative	64	52 (81.3)	12 (18.7)
Positive	52	34 (65.4)	18 (34.6)
Venous invasion			
Negative	64	50 (78.1)	14 (22.9)
Positive	52	36 (69.2)	16 (30.8)

\* P<0.05 by Fisher's exact probability test.

\*\* P<0.10 by chi square test.

a) See the footnotes of Table 1.

混入と判断し転移陰性とした。いずれの抗体においても免疫組織化学染色にて微小リンパ節転移陽性と判断された場合は、転移の見落としであったことを否定するために、再度HE染色標本を見直して、HE染色標本では転移陽性と判定することが困難であることを確認した。

4. 脈管侵襲の判定

脈管侵襲については各症例の原発巣のいくつかの断面において、腫瘍に近接した周辺部におけるリンパ管および静脈内の腫瘍細胞侵襲の有無を検討した。検討対象は116例である。リンパ管侵襲と静脈侵襲は、いずれも内皮細胞に裏打ちされた管腔

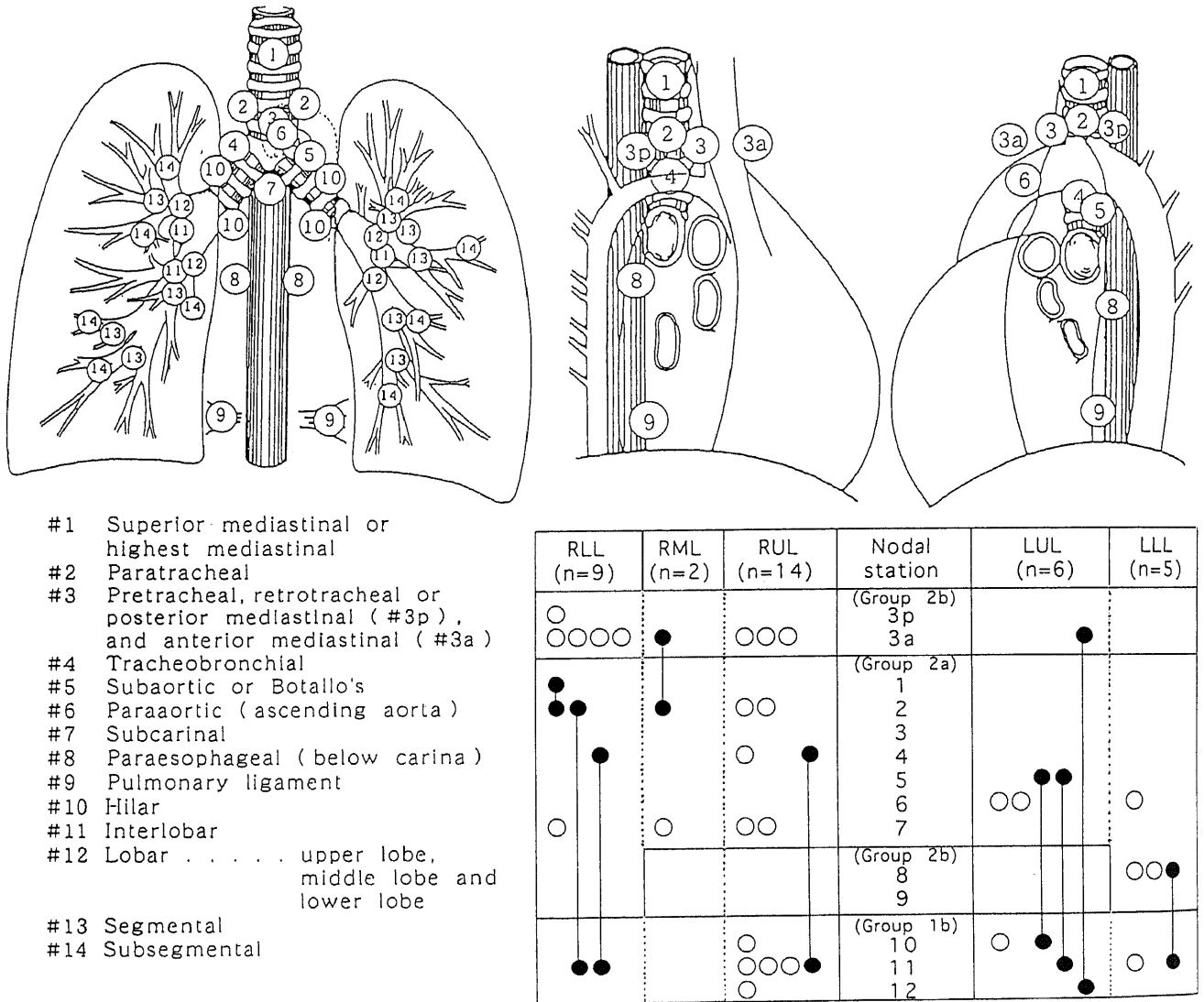


Fig. 3. Sites and nomenclature of mediastinal, hilar, and intrapulmonary lymph nodes (proposed by the Japan Lung Cancer Society) and intramediastinal spread of lymphatic micrometastases related on sites of the primary tumor. RLL, right lower lobe; RML, right middle lobe; RUL, right upper lobe; LUL, left upper lobe; LLL, left lower lobe; ○, single level metastasis; ●, multi level metastasis. Bars between the closed circles mean the same cases.

Table 3. Correlations between T factor and lymphatic vessel invasion, and between T factor and venous invasion

T factor	Number of cases			
	Lymphatic vessel invasion		Venous invasion	
	Negative	Positive	Negative	Positive
T1	52	19	46	25
T2	12	33	18	27

\* P<0.001, \*\* P<0.01 by chi square test.

Table 4. Correlations between the primary tumor site and revised staging based on the micrometastasis

Location	Number (%) of cases			
	Total	Stage I	Stage II	Stage IIIA
RUL	44	30 (68.2)	5 (11.4)	9 (20.5)
RMLL	41	30 (73.2)	0 (0.0)	11 (26.8)
LUL	31	25 (80.6)	1 (3.2)	5 (16.3)
LLL	16	11 (68.8)	1 (6.3)	4 (25.0)

RUL, right upper lobe; RMLL, right middle and lower lobe; LUL, left upper lobe; LLL, left lower lobe.

Table 5. Comparison of the survival rate

Clinicopathological findings	Number of cases examined	% Survival <sup>a)</sup>	
		3 yrs	5 yrs
All	132	81.1	72.0
Micrometastasis			
Negative	96	86.5	78.1
Positive	36	66.7	55.6
Revised staging			
Stage I	96	86.5	78.1
Stage II	7	57.1	42.9
Stage III A	29	69.0	58.6
T factor			
T1	87	88.9	86.4
T2	45	66.7	46.7

ys, years.

\* P<0.01, \*\* P<0.05 by generalized Wilcoxon test.

a) By Kaplan-Meier method.

内への集塊状、腺構造様の癌細胞の存在として認められた。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し、管壁に弾性線維を認めないことが多いのに対し、静脈侵襲では癌細胞塊はエラスチカ・ワンギーンソン染色で黒色に染まる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。脈管の分類に当たっては、HE染色とエラスチカ・ワンギーンソン染色を併用し、結果は陽性または陰性として判定した。

5. 訂正病期の決定法

免疫組織化学染色にてリンパ節転移陽性と判定し、かつHE染色で陰性と判定した症例において、転移リンパ節部位に基づき、肺癌取り扱い規約第4版<sup>20)</sup>の病期分類法に従い新たに分類した。

6. 統計学的処理

微小リンパ節転移の有無と、各臨床病理学的因子との独立性の検討には $\chi^2$ 検定またはFisherの直接確率計算法を用いた。生存率はKaplan-Meier法を用いて算出し、その有意差検定には一般化Wilcoxon検定を用いた。いずれも、危険率5%未満

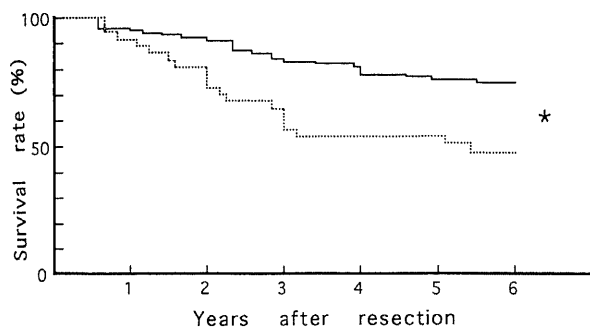


Fig. 4. Survival curves of patients with stage I non-small cell lung cancer after curative resection subdivided according to the lymphatic micrometastases. —, patients without lymphatic micrometastasis; ···, patients with lymphatic micrometastasis. \* P < 0.01, by generalized Wilcoxon test.

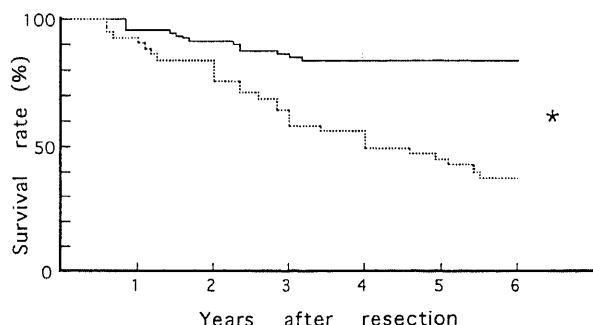


Fig. 6. Survival curves of patients with stage I non-small cell lung cancer after curative resection subdivided according to T factor. —, T1; ···, T2. \* P < 0.01, by generalized Wilcoxon test.

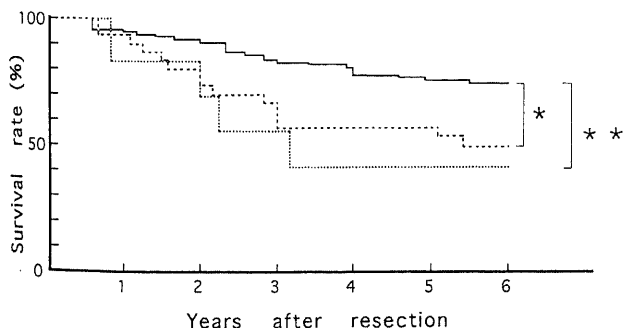


Fig. 5. Survival curves of patients with stage I non-small cell lung cancer after curative resection subdivided according to the revised staging. —, stage I; ···, stage II; - · - ·, stage III A. \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, by generalized Wilcoxon test.

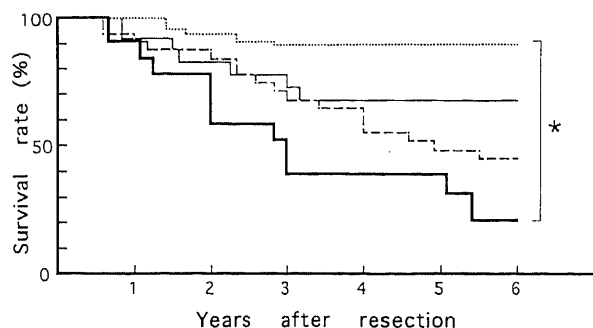


Fig. 7. Survival curves of patients with stage I non-small cell lung cancer after curative resection subdivided according to the combination of T factor and the lymphatic micrometastases. ···, T1 mm (-); —, T1 mm (+); - · - ·, T2 mm (-); - - - -, T2 mm (+). \* P < 0.001 between T1 mm (-) and T2 mm (+), by generalized Wilcoxon test.

( $p < 0.05$ ) の場合を統計学的に有意差ありと判定した。

## 成 績

### I. CK18 と AE1/AE3 による免疫組織化学染色の比較

CK18 染色は正常腺上皮細胞および、腺癌には強い染色性を示したが、正常扁平上皮、扁平上皮癌では染色性は弱くなる傾向がみられた。今回検討した扁平上皮癌 44 例のうち明らかに陽性と判定できた症例は 14 例で、残り 30 例については判定困難であった。一方 AE1/AE3 染色は全症例の正常上皮細胞および腫瘍細胞で強い染色性を示した (図 1)。リンパ節転移巣における癌細胞も、原発巣と同様の染色性を示した。

### II. 微小リンパ節転移陽性症例の組織像

微小転移陽性リンパ節において、癌細胞集団の大きさに組織型による特異性はみられなかった。リンパ節内における微小転移巣は、ほとんどすべての症例においてリンパ節の辺縁部に存在していた。その他に、微小転移はリンパ管内や血管内またはそれらの周囲組織にみられた (図 2)。

### III. 微小リンパ節転移と臨床病理学的因子との相関

微小リンパ節転移は、132 例中 36 例 (27.3%) に認め、2038 個のリンパ節のうち 106 個 (5.2%) に認めた。組織型別には腺癌 87 例中 21 例 (24.1%)、扁平上皮癌 44 例中 14 例 (31.8%)、大細胞癌 1 例中 1 例に微小リンパ節転移を認めた。T 因子別には、T1 で 87 例中 21 例 (24.1%)、T2 で 45 例中 15 例 (33.3%) に微小リンパ節転移を認めた。年齢、性別、組織型、T 因子、分化度、原発部位の各臨床病理学的背景因子と微小リンパ節転移の陽性率に統計学的な有意差は認められなかった (表 1)。

### IV. 原発部位と肺門、縦隔微小リンパ節転移部位との相関

原発部位別に、微小リンパ節転移陽性率に有意差は認めなかった (表 1)。微小リンパ節転移陽性の 36 例における、原発部位と微小リンパ節転移部位との関係を図 3 に示した。微小リンパ節転移の転移形式は、単発転移 27 例、多発転移 9 例であり、多発転移例では、肺門、縦隔共に転移巣が認められるものが 7 例あった。肺門リンパ節への微小転移は 14 例 (うち上葉原発 10 例) で認めた。縦隔リンパ節への微小転移 29 例では、領域リンパ節転移 17 例、非領域リンパ節転移 12 例と、領域リンパ節への転移が多くみられた。すなわち上葉原発では上縦隔リンパ節への転移が多くみられ (14 例中 12 例)、左下葉原発では下縦隔リンパ節への転移が最も多くみられた (4 例中 3 例)。しかし、右下葉原発例では非領域リンパ節群への転移、すなわち上縦隔へのリンパ節転移が多くみられた (9 例中 8 例)。

### V. 原発巣の最大腫瘍径と微小リンパ節転移の相関

全症例の比較では、原発巣の最大腫瘍径と微小リンパ節転移頻度には有意な相関は認められなかった。組織型別には、腺癌で最大腫瘍径と微小リンパ節転移頻度には有意な相関は認められなかった。扁平上皮癌では原発巣最大腫瘍径 21mm 以上の症例において、20mm 以下の症例よりも有意に微小リンパ節転移陽性率が高かった ( $p < 0.01$ ) (表 2)。

### VI. 原発巣脈管侵襲と微小リンパ節転移の相関

#### 1. 原発巣のリンパ管侵襲と微小リンパ節転移の相関

原発巣のリンパ管侵襲は 52 例 (44.8%) に認めた。微小リンパ節転移陽性例は、リンパ管侵襲陽性例では 18 例 (34.6%) であったのに対し、リンパ管侵襲陰性例では 12 例 (18.7%) と、リンパ管侵襲陽性例で微小リンパ節転移の頻度が高い傾向があったが有意差はなかった ( $P=0.052$ ) (表 2)。

#### 2. 原発巣の静脈侵襲と微小リンパ節転移の相関

原発巣の静脈侵襲は 52 例 (44.8%) に認めた。微小リンパ節転移は、静脈侵襲陽性例では 16 例 (30.8%) に認めた。リンパ管侵襲陰性例では 14 例 (22.9%) に認め、原発巣における静脈侵襲の有無と微小リンパ節転移の頻度には、有意な相関は認められなかった (表 2)。

### VII. T 因子と脈管侵襲との相関

リンパ管侵襲は、T1 症例では陽性 19 例 (26.8%)、陰性 52 例 (73.2%)、T2 症例では陽性 33 例 (73.3%)、陰性 12 例 (26.7%) であった。T2 症例は T1 症例よりも有意にリンパ管侵襲の陽性

Table 7. Comparison of survival rates based on histologic types and lymphatic micrometastasis

Histology <sup>b)</sup>	% Survival <sup>a)</sup>				P-value <sup>c)</sup>
	Lymphatic micrometastasis				
	Negative		Positive		
	3 yrs	5 yrs	3 yrs	5 yrs	
Adenocarcinoma	83.3	75.8	66.7	57.1	P=0.05
Squamous cell ca.	92.9	82.1	64.3	50.0	P<0.01

yrs, years.

a) By Kaplan-Meier method.

b) Refer to the footnotes of Table 1.

c) By generalized Wilcoxon test.

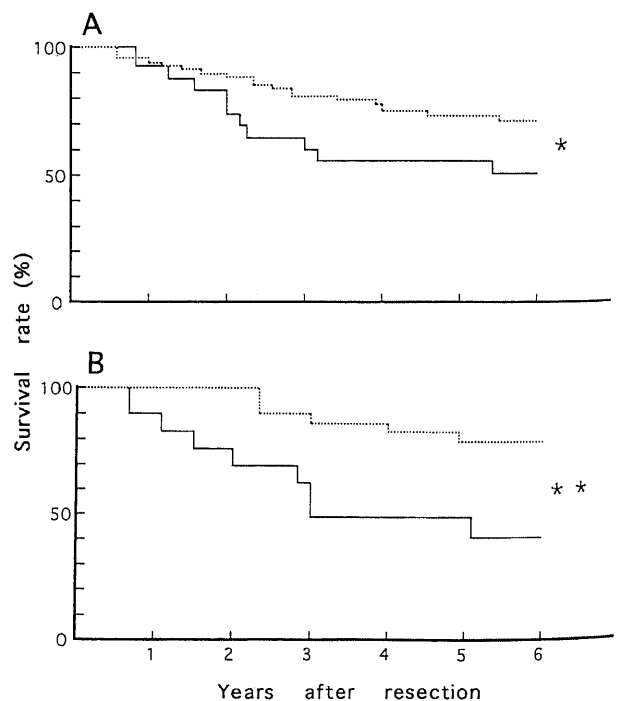


Fig. 8. Survival curves of patients with stage I non-small cell lung cancer after curative resection subdivided according to the lymphatic micrometastases. —, patients with lymphatic micrometastasis; ···, patients without lymphatic micrometastasis. (A), patients with adenocarcinoma; (B) patients with squamous cell carcinoma. \*  $P=0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , by generalized Wilcoxon test.



率が高かった ( $p < 0.001$ ) (表3). 静脈侵襲は, T1症例では陽性25例 (35.2%), 陰性46例 (64.8%), T2症例では陽性27例 (60.0%), 陰性18例 (40.0%)であった. T2症例はT1症例よりも有意に静脈侵襲の陽性率が高かった ( $p < 0.01$ ) (表3).

#### Ⅷ. 微小リンパ節転移の有無による訂正病期分類

微小リンパ節転移の有無に基づき, 訂正病期分類を行うと, I期96例 (72.7%), II期7例 (5.3%), IIIA期29例 (22.0%)となった. 病理病期I期症例の27.3%が訂正病期II期以上となった. 原発部位別にも, 訂正病期II期以上の症例の頻度に差は認めなかった (表4).

#### Ⅸ. 各因子と予後との相関

##### 1. 微小リンパ節転移の有無と予後の相関

臨床病期I期症例全体の5年生存率は72.0%であった. 微小リンパ節転移陽性例は, 陰性例に比べ有意に予後が不良であった ( $p < 0.01$ ) (表5, 図4).

##### 2. 訂正病期と予後の相関

I期に比しII期およびIIIA期は有意に予後不良であった (各々  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ) が, II期とIIIA期の間には有意差は認めなかった (表5, 図5).

##### 3. T因子, 微小リンパ節転移と予後の相関

T2症例はT1症例に比し有意に予後不良であった ( $p < 0.01$ ) (表5, 図6). T因子と微小リンパ節転移の有無を組み合わせ, 各々の生存率を比較した. T1かつ微小リンパ節転移陰性例は, T2かつ微小リンパ節転移陽性例およびT2かつ微小リンパ節転移陰性例に比し, 有意に予後良好であった ( $p < 0.01$ ). またT1かつ微小リンパ節転移陽性例はT2かつ微小リンパ節転移陽性例に比し, 有意に予後良好であった ( $p < 0.05$ ) (表6, 図7).

##### 4. 組織型別の微小リンパ節転移の有無と予後との相関

腺癌においては, 微小リンパ節転移陰性例に比べ, 陽性例の予後が不良である傾向を認めた ( $p = 0.051$ ). 扁平上皮癌においては, 微小リンパ節転移陰性例に比べ, 陽性例において有意に予後不良であった ( $p < 0.01$ ) (表7, 図8).

## 考 察

原発性非小細胞肺癌における再発形式は, 骨転移, 脳転移, 肺転移などの遠隔転移が大部分であるが, リンパ節再発を中心とした局所再発も少なくない. I期肺癌でも5年生存率は65~75%<sup>27,28)</sup>と, 他臓器癌のI期症例と比較して予後は不良である. 肺癌においては, リンパ節転移の有無が予後因子としては重要であり<sup>29)</sup>, I期肺癌においても, 従来方法では検出されない微小リンパ節転移が見逃され, 予後不良の原因となる可能性がありうる. よって微小転移巣を検出することにより, 再発の危険性を予測できる可能性がある. 本研究では原発性非小細胞肺癌I期症例のうち, 従来のHE染色法に基づいた病理診断で転移陰性とされたリンパ節について, 免疫組織学的手法を用いた微小リンパ節転移の検出を行い, 臨床病理学的背景因子および予後との関連を検討した.

微小リンパ節転移の検出は, 本研究では抗CK抗体であるCK18およびAE1/AE3の免疫組織染色法により行った. CKは, 上皮由来細胞の細胞骨格をなす中間径フィラメントであり, 分子量約4~7×10<sup>4</sup>, 等電点4.7~7.5の範囲で少なくとも19種類のサブクラスに分類されている<sup>30)</sup>. そのなかでも, CK18およびCK8は, 肺腺癌, 扁平上皮癌のいずれの腫瘍細胞でも発現しており<sup>31)</sup>, 乳癌<sup>18)</sup>や肺癌<sup>20)~22)</sup>において微小転移の検出に用い

られている. しかし, CK18は腺上皮では強く発現するが扁平上皮ではその発現性に差があるとの報告もある<sup>32)</sup>. 本研究においてCK18の免疫染色は, 肺腺癌では全例で原発巣の腫瘍細胞が強染したが, 肺扁平上皮癌では多くが弱染性であり, 全く染色されない症例もあった. 同じ抗CK18抗体でも, 用いる抗体によって, ケラチン18の異なるサブユニットを認識するため染色性にばらつきがある. また, 抗体の種類により固定や染色の条件がその染色性に影響を及ぼす<sup>33)</sup>. 微小転移の検出には, 原発巣の腫瘍細胞が陽性に染色される抗体を使用することが必要条件となる. そこで本研究では, CK18に加え, 酸性サブファミリー (56.5, 50, 50', 48, 40) を認識するAE1と塩基性サブファミリー (65-67, 64, 59, 58, 56, 52) を認識するAE3の混合モノクローナル抗体であるAE1/AE3を併用した. AE1/AE3を使用した免疫染色では, 腺癌, 扁平上皮癌, 大細胞癌のいずれにおいても, 原発巣腫瘍細胞は陽性と判定された. よって, 本研究において微小リンパ節転移の判定で, リンパ節においても原発巣と同等に染まる1個以上の細胞を認めた場合に微小リンパ節転移陽性と判断したことは合理的であると考えられる.

本研究では抗CK抗体を用いた免疫組織学的検討で, 病理学的にI期と診断された132例のうち36例 (27.3%) に微小リンパ節転移を認めた. 微小リンパ節転移陽性の判定においては, 本研究では染色陽性細胞の局在性を重視した. 染色陽性細胞および陽性細胞集団が, リンパ節に付随した脈管からはなれてリンパ節外に存在する場合には他の場所よりの混入と考え, 微小リンパ節転移陰性と判定した. 混入は術中, 標本整理中, 切り出し作業中のいずれの段階でも起こりうる. 本研究では他の場所よりの混入として微小リンパ節転移陰性と判定した症例は30例 (22.7%) であった. 抗CK抗体を用いた微小リンパ節転移の頻度は, 10.4%から70.5%と報告<sup>21,24,25,34)</sup>によりばらつきがある. その原因としては, 用いる抗体や, 手技の細部における問題があると考えられる. Maruyamaら<sup>25)</sup>のRT-PCR法を用いた検索での微小リンパ節転移陽性率は70.5%と免疫組織学的検索に比べて陽性率が高い. これはRT-PCR法が高感度であることと共に, 他の場所より混入した細胞のRNAが増幅され, 陽性と判定された可能性がある. Nicholsonら<sup>35)</sup>の抗CK抗体であるMNF116を用いたI期肺癌の検討では, 49例中5例 (10.4%) にしか染色陽性細胞を認めず, 術後再発とも関連を認めなかった. その原因として, リンパ節内の陽性細胞が癌細胞であっても, 自己の免疫系により破壊されたり, 観察された陽性細胞が, 同抗体で交差反応する中皮細胞である可能性を挙げている. 自己の免疫系による癌細胞の破壊は, 理論的には起こりうることである. しかし, その陽性率は, 本研究や他の研究と比べて低値であるうえに, 彼らの用いたMNF116は, 中皮細胞や中皮腫細胞に対しても上皮由来細胞と同様に反応する特性がある. 本研究に用いたCK18およびAE1/AE3は, 大部分の症例において上皮由来の細胞にのみ特異的に反応するため, 非上皮性組織の中に混在する上皮由来の腫瘍細胞を検索するのに有用な抗体であると考えられた. 本研究で用いた免疫染色法は, 適及的な検討が可能で比較的簡便な方法であり, 他部位からの混入もほとんどなく, 正確な微小リンパ節転移の検出が可能であると考えられた.

抗CK抗体以外の抗体を用いた微小リンパ節転移の検出方法としてDobashiら<sup>35)</sup>はp53免疫染色法の検討を行い, pN0であ

った非小細胞肺癌31例中14例(45%)に微小リンパ節転移を認めた。この検討は原発巣においてp53陽性であった症例(非小細胞肺癌101例中47例)のみを対象としており、約半数のp53陰性症例に関しての検討はなされていない。本研究に用いたサイトケラチンを用いた方法は、原発巣の腫瘍細胞はすべて染色陽性であり、すべてのN0症例に対しての再評価が可能である。

原発部位と縦隔リンパ節転移部位との関係については、Watanabeら<sup>36)</sup>は、124例のN2肺癌の検討で、非領域リンパ節への転移は、上葉および左下葉原発で20%~35%であったのに対し、右下葉原発では47%~53%であったと報告している。本研究における微小リンパ節転移29例の検討でも、上葉原発、および左下葉原発の場合は領域リンパ節への微小転移が多かったが、右下葉原発の場合では非領域リンパ節への微小転移が多かった。一方、Libshitzら<sup>37)</sup>のN2肺癌48例の縦隔リンパ節転移部位の検討では、多くは領域リンパ節への転移であったが、気管分岐部リンパ節(#7)へのリンパ節転移は29例中16例が上葉原発であったと報告している。本研究においても、同部への微小転移は少ないながらも4例中2例が右上葉原発であり、上葉原発例でも#7リンパ節郭清は必要であると考えられる。Takizawaら<sup>38)</sup>は、術前病期がI期であった肺癌N2症例79例の検討で、ほとんどの縦隔リンパ節転移は領域リンパ節のみに生じ、非領域リンパ節への転移症例は、その多くが多発リンパ節転移を伴っているとされた。本研究では右下葉原発例では単独の非領域リンパ節、すなわち上縦隔の微小リンパ節転移を9例中8例において認めた。特に#3a、#3pへの転移を4例に認め、右下葉原発例では下縦隔だけの郭清ではN2転移を見落とす可能性があり、上縦隔のルーチンな郭清が必要であると考えられる。

原発巣の腫瘍径とリンパ節転移に関して、渡辺ら<sup>39)</sup>は腫瘍径が増大するにつれてリンパ節転移の頻度が増すことを示した。本研究では、腺癌では原発巣の最大腫瘍径と微小リンパ節転移陽性率に相関は認められなかったが、扁平上皮癌では原発巣の最大腫瘍径が21mm以上の症例は、最大腫瘍径20mm以下の症例よりも有意に微小リンパ節転移陽性率が高かった。高島<sup>40)</sup>は原発巣におけるリンパ管侵襲は、T因子と関連しており、腫瘍径の増大が脈管への侵襲率を増大させ、予後を不良にすると報告している。同様にIchinoseら<sup>41)</sup>は、I期肺癌212例の検討において、原発巣の最大腫瘍径が3.0cm以下で43.6%、3.1cm以上で56.9%にリンパ管侵襲を認め、さらにII期症例では85.0%でリンパ管侵襲を認めた。本研究においても、T2症例はT1症例よりも有意にリンパ管侵襲、静脈侵襲の陽性率が高く、リンパ管侵襲陽性症例は微小リンパ節転移を来しやすい傾向にあった。すなわち腫瘍径が微小リンパ節転移と深く関わっていることを示した。

Narukeら<sup>42)</sup>はI期肺癌617例を検討し、縦隔リンパ節郭清を施行した群と施行しなかった群とに分け、5年生存率が前者66.9%、後者34.2%であったと報告している。またWatanabeら<sup>43)</sup>は、術前病期I期のN2肺癌47例全体の5年生存率は17%であったが、このうち根治手術が施行された31例での5年生存率は33%と、根治手術により予後の向上が得られたと述べている。今回の検討では、微小リンパ節転移は広範囲に縦隔に分布し、微小リンパ節転移のなかった訂正I期症例に比べ、肺門リンパ節に微小転移を認めた訂正II期症例、縦隔リンパ節に微小転移を認めた訂正III A期症例共に有意に予後が不良であった。しかし、特に訂正III A期症例の予後は、一般のN2症例の

予後に比し良好であり、I期肺癌といえども予防的リンパ節郭清により、予後の向上が期待される。以上より、正確な病期分類、肺癌の手術成績向上のためには、系統的リンパ節郭清を伴った根治手術が必要であると考えられた。またI期肺癌症例において、微小リンパ節転移陽性例は陰性例に比べて有意に予後不良であり、さらなる予後向上のために微小リンパ節転移陽性例に対し選択的に術後補助療法を施行することも今後の課題と考えられた。

## 結 論

I期原発性非小細胞肺癌治療切除例132例を対象に、抗サイトケラチン抗体を用いた免疫組織化学染色法により微小リンパ節転移の検出を行い、以下の結論を得た。

1. I期原発性非小細胞肺癌治療切除例132例中36例(27.3%)に微小リンパ節転移を認めた。
2. 原発巣の腫瘍径の増大に伴い原発巣におけるリンパ管侵襲および微小リンパ節転移の頻度が高くなる傾向があった。
3. 微小リンパ節転移は、領域リンパ節に多くみられたが、右下葉原発例では非領域リンパ節群への転移が比較的高頻度に見られた。
4. 微小リンパ節転移陽性例は転移陰性例に比し有意に予後不良であり、訂正病期分類の結果、I期例に比べてII期およびIII A期例の予後は有意に不良であった。

以上の結果から、I期原発性非小細胞肺癌において、微小リンパ節転移の存在は潜在的進行癌の状態であることが示された。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師渡辺洋宇教授に深甚なる謝意を捧げます。また、本研究の遂行にあたり終始御協力頂きました田中洋子技師、金沢大学医学部第一外科学講座の皆様にも厚く御礼申し上げます。

なお、本論文の要旨の一部は第56回日本癌学会(京都, 1997)、第50回日本胸部外科学会(東京, 1997)、第27回癌とリンパ節研究会(京都, 1997)、第38回日本肺癌学会(仙台, 1997)において発表した。

## 文 献

- 1) 財団法人厚生統計協会編. 国民衛生の動向. 厚生指摺臨時増刊号 44: 53-55, 1997
- 2) 渡辺洋宇. 肺癌の予後因子. 日胸 54: 535-546, 1995
- 3) Hayashi N, Ito I, Yanagisawa A, Kato Y, Imaoka S, Watanabe H, Ogawa M, Nkamura Y. Genetic diagnosis of lymph node metastasis in colorectal cancer. Lancet 345: 1257-1259, 1995
- 4) Hayashi N, Arakawa H, Nagase H, Yanagisawa A, Kato Y, Ohta H, Takano S, Ogawa M, Nakamura Y. Genetic diagnosis identifies occult lymph node metastases undetectable by the histopathological method. Cancer Res 54: 3853-3856, 1994
- 5) 中森正二, 亀山雅男, 今岡真義, 安田卓司, 甲利幸, 平塚正弘, 古河洋, 大東弘明, 石川治, 相原智彦, 中野博史, 佐々木弘, 岩永剛, 武田理, 中村祐輔. 分子生物学的アプローチによる血液中およびリンパ節内微小癌細胞の検出とその臨床応用. 日消外会誌 30: 891-896, 1997
- 6) 林尚子, 江上寛, 高野定, 小川道雄, 中森正二, 今岡真義, 中村祐輔. MASA法による変異遺伝子の検出とその臨床応用. 日消外会誌 30: 897-900, 1997

- 7) 須貝幸子, 林 尚子, 中村祐輔. PCRによる点突然変異の検出—アレル特異的PCR—. 蛋白質 核酸 酵素 41: 546-548, 1996
- 8) Bos JL. ras oncogenesis in human cancer: a review. *Cancer Res* 49: 4682-4689, 1989
- 9) Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. *Nature* 342: 705-708, 1989
- 10) Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 358: 453-457, 1991
- 11) 春原哲之. 原発性・転移性肺腫瘍における接着分子CD44発現に関する研究—p53蛋白発現とK-ras点突然変異との関連—. 十全医会誌 106: 214-235, 1997
- 12) 大竹由美子, 原発性非小細胞肺癌におけるBcl-2蛋白およびp53蛋白発現の予後因子としての意義について. 十全医会誌 106: 96-104, 1997
- 13) Sugio K, Ishida T, Yokoyama H, Inoue T, Sugimachi K, Sasazuki T. Ras gene mutations as a prognostic marker in adenocarcinoma of the human lung without lymph node metastasis. *Cancer Res* 52: 2903-2906, 1992
- 14) Rodenhuis S, Slebos RJ, Boot AJ, Evers SG, Mooi WJ, Wagenaar SS, van Bodegom PC, Bos JL. Incidence and possible clinical significance of K-ras oncogene activation in adenocarcinoma of the human lung. *Cancer Res* 48: 5738-5741, 1988
- 15) Mitsudomi T, Viallet J, Mulshine JL, Linnoila RI, Minna JD, Gazdar AF. Mutations of ras genes distinguish a subset of non-small-cell lung cancer cell lines. *Oncogene* 6: 1353-1362, 1991
- 16) Slebos SJ. The ras oncogenes in human lung cancer. *Am Rev Respir Dis* 142: 27-30, 1990
- 17) Kobayashi T, Tsuda H, Noguchi M, Hirohasi S, Shimosato Y, Goya T, Hayata Y. Association of point mutation in c-Ki-ras oncogene in lung adenocarcinoma with particular reference to cytological subtypes. *Cancer* 66: 289-294, 1990
- 18) Schoenfeld A, Luqmani Y, Sinnett HD, Shousha S, Coombes RC. Keratin 19 mRNA measurement to detect micrometastases in lymph nodes in breast cancer patients. *Br J Cancer* 74: 1639-1642, 1996
- 19) Noguchi S, Aihara T, Motomura K, Inaji H, Imaoka S, Koyama H. Histologic characteristics of breast cancers with occult lymph node metastases detected by keratin 19 mRNA reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Cancer* 15: 1235-1240, 1996
- 20) Thomas TS, Liu J, Battifora H. Keratin gene expression in non-epithelial tissues. *Am J Pathol* 142: 1111-1118, 1993
- 21) Chen ZL, Perez S, Hormes EC, Wang HJ, Coulson WF, Wen DR, Cochran AJ. Frequency and distribution of occult micrometastases in lymph nodes of patients with non-small-cell lung carcinoma. *J Nat Cancer Inst* 85: 493-497, 1993
- 22) Passlick B, Izbicki JR, Kubuschok B, Nathrath W, Thetter O, Pichlmeier U, Schweiberer L, Riethmuller G, Pantel K. Immunohistochemical assessment of individual tumor cells in lymph nodes of patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 12: 1827-1832, 1994
- 23) Passlick B, Izbicki JR, Kubuschok B, Thetter O, Pantel K. Detection of disseminated lung cancer cells in lymph nodes: Impact on staging and prognosis. *Ann Thorac Surg* 61: 177-183, 1996
- 24) Izbicki JR, Passlick B, Hosch SB, Kubuschok B, Schneider C, Busch C, Knoefel WT, Thetter O, Pantel K. Mode of spread in the early phase of lymphatic metastasis in non-small-cell lung cancer: significance of nodal micrometastasis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 112: 623-630, 1996
- 25) Maruyama R, Sugio K, Mitsudomi T, Saitoh G, Ishida T, Sugimachi K. Relationship between early recurrence and micrometastases in the lymph nodes of patients with stage I non-small-cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 114: 535-543, 1997
- 26) 日本肺癌学会編. 臨床・病理 肺癌取扱い規約, 改訂第4版. 23-30頁, 金原出版, 東京, 1995
- 27) Naruke T, Goya T, Tsuchiya R, Suemasu K. Prognosis and survival in resected lung carcinoma based on the new international staging system. *J Thorac Cardiovasc Surg* 96: 440-447, 1988
- 28) Martini N, Bains MS, Burt ME. Incidence of local recurrence and second primary tumors in resected stage I lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 109: 120-129, 1995
- 29) 渡辺洋宇. 肺癌の予後因子. 日胸 54: 535-546, 1995
- 30) Moll R, Franke WW, Schiller DL. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, Tumors and cultured cells. *Cell* 31: 11-24, 1982
- 31) Broers JLV, Ramaekers FCS, Rot MK, Oostendorp T, Huysmans A, van Muijen GNP, Wagenaar SSc, Vooijs GP. Cytokeratins in different types of human lung cancer as monitored by chain-specific monoclonal antibodies. *Cancer Res* 48: 3221-3229, 1988
- 32) 近藤恵美子, 角浜千賀子. ホルマリン固定パラフィン切片に有効な抗サイトケラチン抗体の検討. 臨床検査 36: 429-434, 1992
- 33) 鈴木 直, 當銘良也, 古屋周一郎, 向井 清. ケラチンの免疫染色における固定の影響と蛋白分解酵素処理による染色性の回復. 病理と臨床 9: 695-699, 1991
- 34) Nicholson AG, Graham ANJ, Pezzella F, Angeta G, Goldstraw P, Pastorino U. Does the use of immunohistochemistry to identify micrometastases provide useful information in the staging of node-negative non-small cell lung carcinomas? *Lung Cancer* 18: 231-240, 1997
- 35) Dobashi K, Sugio K, Osaki T, Oka T, Yasumoto K. Micrometastatic p53-positive cells in the lymph nodes of non-small-cell lung cancer: prognostic significance. *J Thorac Cardiovasc Surg* 114: 339-346, 1997
- 36) Watanabe Y, Shimizu J, Tsubota M, Iwa T. Mediastinal spread of metastatic lymph nodes in bronchogenic carcinoma. *Chest* 97: 1059-1065, 1990
- 37) Libshitz HI, McKenna Jr. RJ, Mountain CF. Patterns of mediastinal metastases in bronchogenic carcinoma. *Chest* 90: 229-232, 1986
- 38) Takizawa T, Terashima M, Koike T, Akamatsu H, Kurita Y,

Yokoyama A. Mediastinal lymph node metastasis in patients with clinical stage I peripheral non-small-cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 113: 248-252. 1997

39) 渡辺洋宇, 林 義信, 高島一郎, 清水淳三, 村上真也, 森田克哉, 荒能義彦, 野々村昭孝. リンパ節転移の拡がりからみた, 広範囲郭清の必要性. *胸部外科* 47: 4-8, 1994

40) 高島一郎. 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. *十全医会誌* 105: 406-419, 1996

41) 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. *J Thorac Cardiovasc Surg* 108: 684-686. 1994

42) Naruke T, Goya T, Tsuchiya R, Suemasu K. The importance of surgery to non-small cell carcinoma of lung with mediastinal lymph node metastasis. *Ann Thorac Surg* 46: 603-610, 1988

43) Watanabe Y, Shimizu J, Oda M, Hayashi Y, Watanabe S, Tatsuzawa Y, Iwa T, Suzuki M, Takashima T. Aggressive surgical intervention in N2 non-small cell cancer of the lung. *Ann Thorac Surg* 51: 253-261. 1991

**Detection of Lymphatic Micrometastases in Patients with Stage I Non-small Cell Lung Cancer** Hiroshi Nozawa, Department of Surgery (1), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — *J. Juzen Med Soc.*, **107**, 293 — 302 (1998)

**Key words** non-small cell lung cancer, micrometastasis, cytokeratin, lymph node metastasis

#### Abstract

To examine the prognostic significance of lymphatic micrometastases, immunohistochemical anti-cytokeratin staining was used to study 2038 lymph nodes from 132 non-small cell lung cancers which had been pathologically revealed as stage I and received curative resection. Lymphatic micrometastases were detected in a total of 106 lymph nodes from 36 (27.3%) patients. There was no correlation between the frequency of positive micrometastases and other clinicopathological parameters such as age, gender, histology, T factor, cell differentiation, location and size of primary tumor. The incidence of lymphatic vessel invasion and venous invasion was significantly higher in patients with T2 disease than in those with T1 disease ( $P < 0.01$ ). The incidence of lymphatic micrometastases were relatively higher in patients with lymphatic vessel invasion than in those with no lymphatic vessel invasion ( $P < 0.10$ ). In the upper left and right and lower left lobe lesions, lymphatic micrometastases were mostly found in regional lymph nodes. But in the lower right lobe lesions lymphatic micrometastases were more often found in non-regional lymph nodes. After revised staging based on the sites of nodal micrometastases, patients with stage II or stage III A disease showed significantly poorer survival rates than those with stage I disease ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  respectively). This study suggests that radical resection with mediastinal dissection is necessary to ensure a better prognosis and definite staging because of wide spread of mediastinal lymphatic micrometastases. Furthermore, because of significantly poorer prognosis in patients with positive lymphatic micrometastases, the next step should be to evaluate the efficacy of selective postoperative adjuvant therapy for these patients.