

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：84409

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591893

研究課題名(和文)オスナ法によるセンチネルリンパ節微小転移の臨床的意義と術前化学療法への応用

研究課題名(英文)Clinical significance of lymph node metastasis detected by OSNA and its application for breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy

研究代表者

玉木 康博(Tamaki, Yasuhiro)

地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪府立成人病センター(研究所)・その他部局等・その他(副院長)

研究者番号：10273690

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：研究1．乳癌術前化学療法症例の腋窩リンパ節転移検索におけるOSNA法の有用性を調べた。平成23年9月から25年9月までの92例において摘出リンパ節を病理検索とOSNA法により検索したところ、OSNA法の転移検出感度は84.4%、特異度は93.5%、陰性的中率は95.8%であった。術前化学療法症例にセンチネルリンパ節生検を施行し、OSNA法で陰性であれば腋窩郭清を省略できる可能性がある。

研究2．センチネルリンパ節生検症例833例をもとに、OSNA法を用いた非センチネルリンパ節転移予測モデルを作成した。ROC曲線による正確度は0.704で、術中に非センチネルリンパ節転移が予測できることが示された。

研究成果の概要(英文)：Study 1. Usefulness of OSNA for detection of lymph node metastasis in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy was examined. Lymph nodes obtained from 92 patients operated between September 2011 and September 2013 were sliced into 4 pieces, and examined with pathology and OSNA. Sensitivity, specificity and negative predictive value of OSNA for pathology were 84.4%, 93.5% and 95.8% respectively. In breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy who undergo sentinel lymph node biopsy, axillary dissection can be avoided if sentinel lymph nodes are negative for metastasis with OSNA.

Study 2. A nomogram to predict non-sentinel lymph node metastasis was created based on results of OSNA obtained from 833 breast cancer patients who underwent sentinel lymph node biopsy and axillary dissection. Accuracy of our model was 0.704 indicated by ROC curve, and the nomogram using OSNA can be used for intraoperative prediction of non-sentinel lymph node metastasis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：乳癌 センチネルリンパ節 OSNA 術前化学療法 転移予測

1. 研究開始当初の背景

(1)臨床的に明らかな腋窩リンパ節の腫大を認めない早期の乳癌に対しては、術後のリンパ浮腫等の後遺症を減らす目的で、センチネルリンパ節生検を行い、センチネルリンパ節に転移がなければ腋窩リンパ節郭清を施行しない手術が現在、世界的に標準手術となっている。一方、初診時に腫瘍径が大きい、あるいは腋窩リンパ節転移があるなど、やや進行した症例に対しては術前化学療法を施行し、腫瘍の縮小を図ってから手術をする方法が広く行われている。このような術前化学療法施行症例の中には化学療法により腋窩リンパ節転移が消失する例も多くみられ、そのような症例には本来、腋窩リンパ節郭清は不要と考えられる。そこで術前化学療法を受けた乳癌患者に対するセンチネルリンパ節生検を行う試みが数多く報告されている。しかしながら術前化学療法症例においては偽陰性率が早期乳癌の場合に比して高く、現時点ではセンチネルリンパ節生検はまだ標準手術として確立されていない。偽陰性率が高くなる理由の一つとして、化学療法による組織変性が転移検索を難しくしていることがあげられる。そこで、よりの確にリンパ節転移の有無を検索するために、近年、臨床導入された one-step nucleic acid (OSNA)法を用いて転移検索を行うことを試みた。

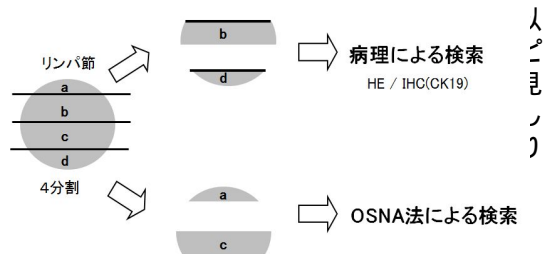
(2)早期乳癌症例に対してセンチネルリンパ節生検を行い、センチネルリンパ節に転移がなければ腋窩リンパ節郭清は省略が可能である。一方、転移が確認された場合、微小転移であれば約 10%前後、マクロ転移であれば 40 ~ 50% の症例で非センチネルリンパ節転移があると報告されており、腋窩郭清を追加することが日本乳癌学会ガイドラインでも推奨されている。一方、センチネルリンパ節転移症例の約 6 割はセンチネルリンパ節単独転移であるとの報告もあり、全例に腋窩郭清を追加した場合の後遺症の問題は無視できない。そこで、センチネルリンパ節に転移を認めた場合の非センチネルリンパ節転移について予測する計算式(ノモグラム)が多く開発されている。しかし、主腫瘍を切除しなければ得られない病理学的因子をその項として含んでいるものが多く、術中判断には使いづらい。また、実際に的中率の面で、臨床には使いにくいものも多い。そこで、より精度の高い非センチネルリンパ節転移予測ノモグラムを作成するために、OANA 法による転移検索結果を用いることを試みた。従来の病理学的検索はリンパ節の 1 ~ 数割面を見るだけであるのに対し、OSNA 法はリンパ節に含まれる腫瘍細胞の cytokeratin 19 の mRNA コピー数を半定量的に測定できることから、リンパ節に含まれる腫瘍組織量をより正確に知ることができる。このため、従来の病理検査結果を用いたノモグラムに比してより精度の高いものが作成できると期待される。

2. 研究の目的

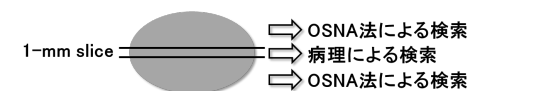
(1)術前化学療法を受けた原発性乳癌症例における腋窩センチネルリンパ節転移検索に対する OSNA 法の有用性を検討する。
 (2)比較的早期の原発性乳癌症例に対してセンチネルリンパ節生検を施行し、OSNA 法による術中転移検索にて転移陽性と診断された場合の非センチネルリンパ節転移予測モデルを作成する。

3. 研究の方法

(1)術前化学療法施行症例に対して腋窩郭清もしくはセンチネルリンパ節生検を施行し、摘出された腋窩リンパ節のうち、1 症例最大 4 個までのリンパ節を専用のカッターを用いて 4 分割した。得られたスライスは下図のごとく交互に病理学的検査と OSNA 法で転移を検索した。すなわちリンパ節の半分は病理学的検査に、のこり半分は OSNA 法検査に用いた。病理学的検査はヘマトキシリン エオジン(HE)染色と抗サイトケラチン 19 抗体を用いた免疫染色により行った。OSNA 法は、サンプルをホモジナイズして上清中の CK19mRNA を専用機器を用いて増幅し、そのコピー数を半定量した。マニュアルにしたがって 250 コ



(2)術前化学療法非施行の早期乳癌に対してセンチネルリンパ節生検を施行し、摘出されたセンチネルリンパ節すべてを下図のごとくに分割した。中央部分の 1mm スライスホルマリン固定して病理検索に提出し、残りすべてをホモジナイズして OSNA 法にて術中転移診断を行った。前述の診断基準に従って、OSNA+以上と+i を転移陽性と診断した。転移陽性症例には通常の腋窩リンパ節郭清を施行し、切除された非センチネルリンパ節は 2 分割して HE 染色にて転移を病理学的に検索した。



4. 研究成果

(1) 平成 23 年 9 月より平成 25 年 9 月までの術前化学療法後の手術症例 92 例において、検索できたリンパ節は 309 個であった。病理判定と OSNA 法判定の比較結果は、表 1 に示すごとく、OSNA 転移なし/病理転移なし:229 個、OSNA 転移あり/病理転移あり:10 個、OSNA 転移あり/病理転移なし:16 個、OSNA 転移あり/病理転移あり:54 個であった。OSNA 法の転移検出感度は 84.4%、特異度は 93.5%、一致率は 91.6%、陽性的中率は 77.1%、陰性的中率は 95.8%であった。昨年報告された同様の術前化学療法症例における OSNA 法と病理学的検索の比較研究の結果によると、一致率 91.1%、感度 88.3%、特異度 91.7%であり、今回の研究の結果とほぼ同じ結果であった。また、2009 年に報告されたわが国で行われた術前化学療法非施行の早期乳癌症例における OSNA 法と病理学的検索の臨床比較試験によると、OSNA 法の感度は 87.5%、特異度は 94.1%、一致率は 92.9%、陽性的中率は 76.1%、陰性的中率は 92.9%であり、今回の結果はこれらとほぼ同等の結果であった。術前化学療法症例においては、治療による影響でリンパ節の変性が生じていることが多いが、このような状況下でも OSNA 法は術前化学療法非施行症例に対するのと同様に転移検索に用いることができることがわかった。術前化学療法施行症例におけるセンチネルリンパ節生検においてはセンチネルリンパ節同定の精度向上に関してまだ検討の余地はあるが、少なくとも摘出されたリンパ節の転移検索においては術前化学療法非施行症例と同様に OSNA 法で転移検索を行ってよいと考えられる。また、病理学的検索が、切離面 1 割面での検索であるのに対し、OSNA 法ではリンパ節の大部分に含まれる腫瘍量を検索できることを考えると、理論的には OSNA 法が病理学的検索に勝っている可能性が示唆される。術前化学療法施行症例では、一般的に手術後の追加化学療法は行われなため、センチネルリンパ節転移陰性で腋窩非郭清とした場合の局所再発が危惧されるが、今回の研究結果からは、OSNA 法で転移陰性と判定された場合は、腋窩リンパ節郭清を省略できる可能性が高いと考えられた。

	病理学的検索結果		計
	転移有	転移無	
OSNA 陽性	54	16	70
OSNA 陰性	10	229	239
計	64	245	309

(2) 平成 23 年 10 月より平成 24 年 10 月までに手術を施行された術前化学療法非施行の早期乳癌 357 例に対し、センチネルリンパ節生検を施行し、OSNA 法により転移ありと診断された 98 例に腋窩郭清を施行した。このうち 22 例に非センチネルリンパ節転移を認め、

すべて OSNA++もしくは+i の症例であった。

臨床病理因子		Non-SN 転移		p 値
		-	+	
OSNA	+	34	0	<0.001
	++/+I	42	22	
T	T1	51	14	0.84
	T2	23	7	
転移 SN	1 個	59	9	<0.001
	2 個以上	17	13	
HG	1	27	5	0.18
	2or3	44	17	
HR	-	6	1	0.97
	+	72	21	
HER2	-	67	18	0.89
	+	11	4	

SN: センチネルリンパ節

Non-SN: 非センチネルリンパ節

HG: 組織学的悪性度

HR: ホルモン受容体

HER2: ヒト上皮細胞成長因子受容体

OSNA 法判定、臨床病理学的因子と非センチネルリンパ節転移との関連を調べたところ、上記表のように、OSNA 判定と転移センチネルリンパ節個数が有意に関連していた。

このことから、OSNA 法による CK19mRNA コピー数を用いた非センチネルリンパ節転移予測モデルとしてのノモグラムを作製できる可能性が示唆された。そこで平成 23 年 10 月より平成 24 年 12 月までに手術を施行した早期乳癌症例（上記症例含む）と同時期に同様の方法で OSNA による転移検索を行った他院の手術症例を合わせた 833 例を用いて、非センチネルリンパ節転移予測モデルの作製を試みた。このうち腋窩郭清が施行されたのは 161 例で、これをランダムに 2 群（試行群と検証群）に分けた。試行群を用いて臨床病理学的因子と非センチネルリンパ節転移との関連を調べたところ、転移陽性センチネルリンパ節個数、術前腫瘍径と OSNA 法による CK19mRNA コピー数が有意に関連していた。そこでこれらをそれぞれスコア化し、その合計によって転移予測モデルを作成した。これを用いて検証群でその精度を ROC 曲線を用いて検証したところ、AUC は 0.704 であった。さらに症例を追加して cut-off を検討する必要はあるが、術前に得られる臨床的情報と、OSNA 法によって得られる情報をもとに、手術中に非センチネルリンパ節転移予測が可能となるモデルを作成することができた。従来この予測モデルでは一般臨床では術後でなければ得ることのできない病理学的因子を含んでおり、我々のモデルは有用であると考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

論文表題 :One-Step Nucleic Acid Amplification Assay for Intraoperative Prediction of Non-Sentinel Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Patients with Sentinel Lymph Node Metastasis

著者名 : Atsuko Teramoto, Kenzo Shimazu, Yasuto Naoi, Atsushi Shimomura, Masafumi Shimoda, Naofumi Kagara, Naomi Maruyama, Seung Jin Kim, Katsuhide Yoshidome, Masahiko Tsujimoto, Yasuhiro Tamaki, Shinzaburo Noguchi

雑誌名 : The Breast

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

玉木 康博 (TAMAKI, Yasuhiro)
地方独立行政法人大阪府立病院機構
大阪府立成人病センター (研究所)
その他部局等・その他
研究者番号 : 1 0 2 7 3 6 9 0

(2)研究分担者

島津 研三 (SHIMAZU, Kenzo)
大阪大学・医学 (系) 研究科 (研究院)・
講師
研究者番号 : 3 0 4 4 8 0 3 9

(3)連携研究者

なし