

ORIGINAL ARTICLE

I期肺腺癌における術中胸腔内洗浄細胞診陽性例の細胞像と予後因子としての意義

荒木邦夫¹・高木雄三¹・徳島 武¹

Clinical and Cyto-pathological Implications of Intraoperative Pleural Lavage Cytology in Stage I Adenocarcinoma of the Lung

Kunio Araki¹; Yuzo Takagi¹; Takeshi Tokushima¹

¹Department of Surgery, National Hospital Organization, Matsue Medical Center, Japan.

ABSTRACT — **Objective.** The present study aimed to clarify the prognostic implications of intraoperative pleural lavage cytology (PLC) in patients with stage I adenocarcinoma of the lung, and to identify cyto-pathological characteristics in PLC-positive cases. **Study Design.** We studied 132 consecutively curatively resected patients with stage I adenocarcinoma of the lung who underwent intraoperative PLC. The cytological and pathological characteristics of PLC-positive cases were evaluated. We also investigated the sites of tumor recurrence and overall survival in all patients, and identified the differences according to PLC status. **Results.** Six patients were found to be PLC-positive. The most frequent histological subtype was a mixed subtype with papillary growth. Tumor recurrences were observed in 4 patients in the PLC-positive group. Only 1 of the 4 patients had limited intrathoracic recurrence, while the other 3 developed distant organ metastasis. The 5-year postoperative survival rate were 60.0% in the PLC-positive group and 90.0% in the PLC-negative group which was significantly different ($p < 0.01$). Multivariate Cox proportional hazards model analysis also demonstrated that PLC was an independent prognostic factor. **Conclusion.** PLC-positive is a poor prognostic factor in stage I adenocarcinoma of the lung. We also demonstrated that mixed histological subtypes with papillary growth and postoperative distant organ metastases were frequent in the PLC-positive group.

(JJLC. 2009;49:1027-1031)

KEY WORDS — Adenocarcinoma of the lung, Pleural lavage cytology

Reprints: Kunio Araki, Department of Surgery, National Hospital Organization, Matsue Medical Center, 5-8-31 Agenogi, Matsue-shi, Shimane 690-8556, Japan (e-mail: arakik@matsue.hosp.go.jp).

Received April 23, 2009; accepted July 28, 2009.

要旨 — **目的.** I期肺腺癌治療切除症例における術中胸腔内洗浄細胞診 (PLC) 陽性例の細胞像の特徴, 及び PLC の予後因子としての意義を解明する. **研究計画.** 手術時 (肺葉切除 + 肺門縦隔リンパ節郭清) に PLC を行った病理病期 I 期肺腺癌 132 症例を対象とした. PLC 陽性症例の細胞病理学的特徴を検索するとともに, 全症例について再発の有無と予後を調査し, PLC が予後因子となりうるか否か解析した. **結果.** PLC 陽性は 6 例であり, これらは主として乳頭型の細胞及び組織形態が特徴的であった. 4 例に再発がみられ, 同側の肺あるいは胸膜に限

局した転移が 1 例, 他臓器への遠隔転移を有するものが 3 例であった. PLC 陰性例と陽性例の予後を比較すると, 陰性例の術後 5 年生存率 90.0% に対し, 陽性例では 60.0% であり, 後者が有意に予後不良であった ($P < 0.01$). Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析でも, PLC は予後因子として独立した指標となった. **結論.** I 期肺腺癌における PLC は予後因子となることが明らかとなった. 陽性例の主体は乳頭状腺癌であること, 及びその多くは遠隔転移で再発する結果が示された.

索引用語 — 肺腺癌, 胸腔内洗浄細胞診

¹独立行政法人国立病院機構松江医療センター外科.

別刷請求先: 荒木邦夫, 独立行政法人国立病院機構松江医療センター外科, 〒690-8556 島根県松江市上乃木 5-8-31 (e-mail: arakik

@matsue.hosp.go.jp).

受付日: 2009 年 4 月 23 日, 採択日: 2009 年 7 月 28 日.

はじめに

肺癌は比較的早期で手術を行い得たとしても、術後5年生存率はIB期で66.4%、IA期でも83.3%とされており、¹他の固形癌と比較して決して良好な成績とはいえない。この成績を改善させるためには早期肺癌の予後を規定する因子を見出す必要がある。その候補として術中胸腔内洗浄細胞診（pleural lavage cytology, 以下 PLC）が注目されており、PLC陽性症例は陰性例に比較して有意に予後不良であるとする報告をみる。^{2,5}さらに組織型で比較した場合、PLC陽性例は腺癌に多いことが示されている。^{2,5}早期肺腺癌の発見率は臨床現場において明らかに増加しており、術中にPLCを行う症例が蓄積されてきた。そこで自施設での病理病期I期の肺腺癌手術症例をまとめ、PLC陽性例の細胞病理学的特徴及び予後因子としての意義を検索した。

対象及び検討事項

2000年1月から2008年1月の期間で術前及び術中に診断が確定し、肺門縦隔リンパ節郭清（ND2a）を伴う根治的肺葉切除術を行った肺癌症例を抽出し、そのうちでPLCを行った病理病期I期肺腺癌132症例を対象とした。

PLCの方法としては、術前に肺癌と確定しているかあるいは肺癌を強く疑う場合には、原則として開胸時（胸腔鏡を含む）と閉胸時に生理食塩液50mlを胸腔内に注入し、可能な限りの量を回収する。ただし術前に癌をそれほど疑っていなかった症例に対しては、術中に癌と確定した場合に、閉胸時のPLCと同様の方法で検体を採取する。対象例のうち、この方法に従い開胸時と閉胸時ともにPLCを行ったのは104例、開胸時のみPLCを行った症例が3例、閉胸時のみ行った症例が25例であった。

PLCでの採取液を細胞診検査技師がスライドグラスにすり合わせ、パパニコロー染色法により迅速標本と永久標本の両方を作製し、これを細胞診専門医である著者らとともに鏡検し、判定する。判定方法は迅速標本では陽性、疑陽性、陰性に分類する。永久標本では迅速診で疑陽性とした症例も陽性、陰性のいずれかに決定する。

切除材料から病変部の胸膜面が出る最大断面の組織標本のH.E.染色スライドと、エラスチカ・ワンギーソン染色スライドを作製した。おそらく胸膜面に最も近接する癌細胞がPLCに出現する可能性が高いと推定する理由で、この領域の癌の組織形態を中心に鏡検し、優勢組織形態をPLC陽性例と陰性例も含めて検討した。胸膜浸潤については2003年改訂肺癌取扱い規約⁶に従い、病理学的評価にてp0, 1, 2のいずれかに分類した。また後述するp1の症例に対して、主に胸膜下のリンパ管内への癌

Table 1. Clinico-pathological Profiles of Curatively Resected Patients with Stage I Adenocarcinoma of the Lung According to Pleural Lavage Cytology (PLC) Status

	PLC positive (n=6)	PLC negative (n=126)
age	74.0±8.53 *	66.4±9.66
sex		
female	2	66
male	4	60
p-stage		
IA	2	87
IB	4	39
frequent histological type		
pap [†]	5	39
non-pap	1	87
pleural invasion [‡]		
p0-1	4	120
p2	2	6
recurrence		
(+)	4	17
(-)	2	109
site of recurrence		
ipsilateral intrathoracic	1	3
distant	3	14

*mean±SD, [†]papillary growth, [‡]The grade of pathological pleural invasion by general rule for clinical and pathological record of lung cancer.

細胞の浸潤を確認する目的で、リンパ管内皮に特異的に発現するD2-40⁷を用いた免疫染色を行った。

対象症例の癌死、再発の有無、再発部位を含めた予後を調査し、PLC陽性例と陰性例とを比較検討した。癌死をエンドポイントとした生命予後に関しては、Kaplan-Meier生存曲線を用いて両者の生存率を表し、log-rank法にて有意差検定を行った。なお全症例の平均生存観察期間は55ヶ月となった。さらにPLCがI期肺腺癌の独立した予後因子となりうるか否か、他の臨床病理学的因子（年齢65歳未満vs65歳以上、性別：女性vs男性、病理病期：IAvsIB、胸膜浸潤の有無：p0~1vs p2、優勢組織形態：非乳頭型vs乳頭型〔この分類については結果の項で詳述〕）を含めてCox比例ハザード解析モデルを用い、多変量解析を行った。

結果

PLCを行ったI期肺腺癌治療切除132症例中、最終的に6例（全体の4.5%）を永久標本でPLC陽性と判定した。6例の中の2例は開胸時のPLCが陽性（うち1例は開胸時のみにPLCを施行）、他4例は閉胸時のPLCが陽性（うち1例は閉胸時のみにPLCを施行）であった。なお開胸時、閉胸時ともにPLC陽性となった症例はなかった。PLC陽性例と陰性例の臨床病理学的事項の内訳を

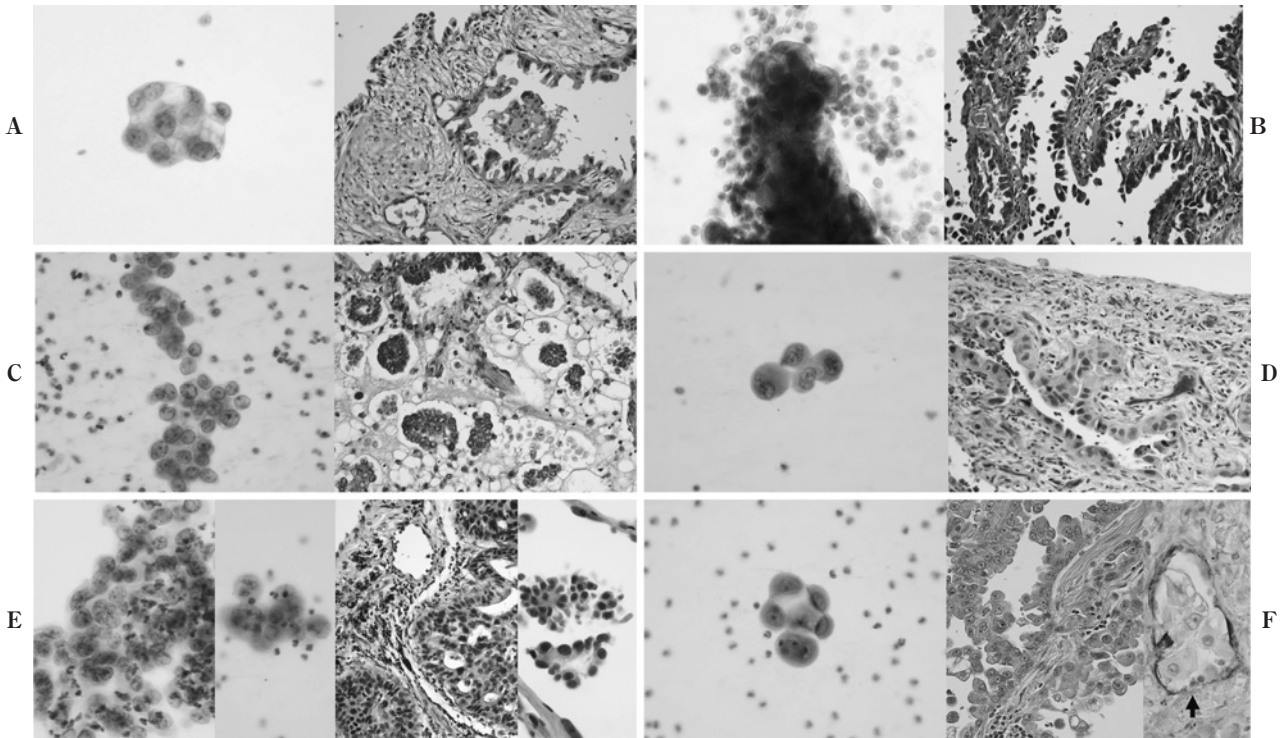


Figure 1. Cytological and pathological characteristics of 6 pleural lavage cytology (PLC)-positive cases (A-F). A-F shows some papillary clusters in PLC and histological structures with papillary growth near the subpleural lesion. E shows a large cluster with irregular intervals (the left of cyto-photo) and a few papillary clusters (the right), the histological structure with a cribriform pattern (the left of histo-photo) and some micropapillary component (the right). The arrow in F shows a infiltration of cancer cells into a lymphatic vessel immunohistochemically identified by anti-D2-40 antibody. A-F: magnification $\times 40$ (cyto-photos), from $\times 20$ to 40 (histo-photos).

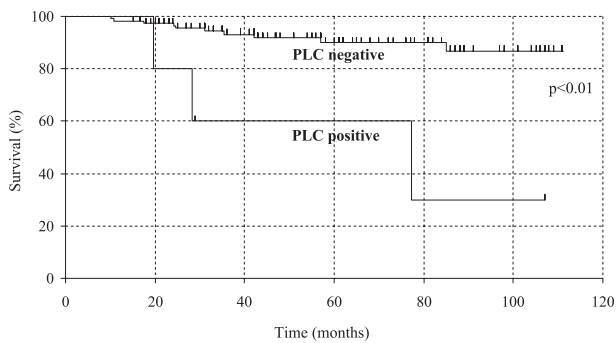


Figure 2. Kaplan-Meier survival curves after surgery according to PLC status in curatively resected stage I adenocarcinoma of the lung.

Table 1 に示す.

PLC 陽性症例の細胞診標本を鏡検したところ、6 例とも乳頭型の形態を形成する細胞集塊が目立って多く観察された (Figure 1A~1F). 中でも数個の細胞からなるいわゆる小乳頭状集塊 (Figure 1A, 1C~1F) が特徴的であり、ときに比較的大きな乳頭状集塊からなる細胞群が出現した (Figure 1B).

対象とした腺癌の組織形態は、限局型細気管支肺胞上皮癌と粘液産生性細気管支肺胞上皮癌であった少数の症例を除いてほとんどが混合型であり、種々の程度に乳頭型、腺房型、充実型、細気管支肺胞上皮型ないしその他の特殊な形態が混在していた.

PLC 陽性症例の細胞診で乳頭型の形態を示す細胞集塊が目立って多く観察されたことを受けて、病変部の胸膜面が出る最大断面の組織標本の優勢形態を乳頭型と非乳頭型に分類したところ、PLC 陽性症例 6 例中 5 例における胸膜近接領域に増生する癌の組織形態は、乳頭状腺管の形成が優勢を占める乳頭型であった (Figure 1A~1D, 1F). これらは PLC に出現した腺癌細胞と形態が類似していた. 残りの 1 例 (Figure 1E) は、いわゆる篩状の腺管形成を伴う増生形態が優勢であったが、組織写真の右に示すように一部に乳頭型成分がみられ、この組織形態に一致する小乳頭状の細胞群も一定の割合で PLC 内に出現していた.

胸膜弾性板を越え臓側胸膜表面への癌細胞の露出 (p2) がみられたのは、2 例であった. 他は胸膜弾性板を癌細胞が一部を越えているものの、胸膜面には癌細胞が

Table 2. Multivariate Cox Proportional Hazards Model Analysis for Prognostic Factors in Curatively Resected Patients with Stage I Adenocarcinoma of the Lung

	Hazard Ratio	95% C.I. *	p value
age (less than 65 years old vs over 65 years old)	0.45	(0.17-1.21)	0.11
sex (female vs male)	2.59	(0.94-7.16)	0.07
p-stage (IA vs IB)	18.18	(5.88-56.20)	<0.01
pleural invasion (p0-1 vs p2)	<0.01	(<0.01-100<)	0.52
frequent histological type (non-pap vs pap)	1.01	(0.41-2.48)	0.97
PLC (negative vs positive)	7.45	(1.96-28.31)	<0.01

*Confidence interval.

露出しておらず、p1 と判定した。この p1 の 4 例に対し、D2-40 を用いた免疫染色で腫瘍内のリンパ管を観察したところ、4 例ともリンパ管内への癌細胞の浸潤を確認した (Figure 1F にその代表例を示す)。

PLC 陽性 6 例のうち 4 例に再発がみられ、再発形式は手術切除側の肺胸膜転移が 1 例、対側の肺内転移と胸膜転移を含めた他臓器遠隔転移を有する症例が 3 例であった。手術側の肺胸膜転移の 1 例は担癌生存中であるが、遠隔転移症例は総て癌死となった。PLC 陰性例と陽性例の予後を比較すると、陰性例の術後 5 年生存率 90.0% に対し、陽性例は 60.0% であり、後者が有意に予後不良であった ($P < 0.01$; log-rank 法) (Figure 2)。Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析では、PLC 陽性におけるリスク比は 7.45 [95% 信頼区間 1.96~28.31] であり、PLC が予後因子として有意な指標となった。その他病理病期 (IA vs IB) も予後因子として有意な指標となったが、年齢、性別、胸膜浸潤の有無、優勢組織形態 (非乳頭型 vs 乳頭型) は有意とはならなかった (Table 2)。

PLC 陽性例の手術以外の治療について、1 例は手術終了時に抗癌剤シスプラチンと蒸留水を用いた胸腔内低浸透治療を行ったが、術後早期に遠隔転移をきたし死亡した。その症例を含め再発した 4 例は再発判明時に種々の抗癌治療薬を用い全身化学療法を行ったが、担癌生存中の 1 例を除いていずれも癌死の転帰となった。

考 察

術中 PLC が肺癌の予後因子として重要であるとする報告が増加している。^{2,5} しかしながら現行の肺癌取扱い規約⁶には、PLC が病期決定事項には未だ反映されておらず、規約に組み込むためにはさらなる検証が必要である。

非小細胞肺癌のうち、近年相対的に早期肺腺癌の発見率が増加しており、PLC 陽性例も実際的に腺癌症例に多くみられる。^{2,5} しかしながら腺癌の病理組織学的形態には多様性があり、その組織形態にまで踏み込んだ研究は少ない。最近肺腺癌の中で micropapillary component

を有する症例は予後不良とする知見が得られている。^{8,9} この component を有する腺癌は肺組織の脈管内に容易に進入し、結果として遠隔転移を生じやすいことが予後不良の一因とされている。自験例においては必ずしも micropapillary component と厳密に形容できる形態ではないものの、PLC に出現する腺癌細胞は乳頭型の形態を有するものが目立ち、切除標本の胸膜近接部分では、PLC 陽性例の 6 例中 5 例が乳頭型形態を示す症例であった。残り 1 例は組織学的には腺房型に含まれる篩状型に分類されたが、病変の一部に乳頭型成分がみられ、PLC に出現した乳頭型の細胞はこれに一致するものと推定した。腺癌の中でも乳頭状増生を伴う組織形態は、いわゆる浸潤性を持った成分であると考えられる。

PLC 陽性をきたす癌細胞の進展経路については、胸膜面に露出した癌細胞が直接胸腔内に遊離し脱落する経路と、もう一つは胸膜下のリンパ管内に浸潤した癌細胞が胸腔内に迷走し出現する経路¹⁰が推定されている。また閉胸時の PLC は手術操作が加わることなどの理由で、開胸時に比べて陽性例が増えるという報告^{5,11}がみられる。自験例では PLC を行う時期 (開胸時か閉胸時か) に関係なく PLC 陽性となった症例を対象に含め、いずれかで PLC 陽性となれば、それ自体が独立した予後不良因子となる結果が示された。一方で、開胸時に PLC 陽性となった 2 例はいずれも胸膜浸潤陽性 (p2) であり、閉胸時に PLC 陽性となった残り 4 例はいずれも胸膜浸潤陰性 (p1) であるという興味深い結果が得られた。この結果は、開胸時の PLC 陽性は胸膜面に露出した癌細胞が直接胸腔内に遊離し脱落する経路が主体であり、それに対して閉胸時の PLC 陽性は胸膜下のリンパ管内に浸潤した癌細胞が開胸後の手術操作などに伴い胸腔内に迷走し出現する経路が主体である可能性が高いことを示唆しているものと推察される。これを検証する目的で、p1 の 4 例に対し腫瘍内のリンパ管を D2-40 を用いた免疫染色を行い同定したところ、4 例いずれもリンパ管内への癌細胞の浸潤を確認した。上記の説をある程度支持する結果と考えられる。

再発部位に関して、PLC陽性例に特に切除側の肺胸膜再発が多いという見解は得られず、むしろ遠隔転移をきたす症例が3/4例と優勢を占めた。PLCに関する報告^{4,12}でもPLC陽性例の術後再発形式は遠隔転移が明らかに多い。自験例でも先に示した通り、PLC陽性症例においてリンパ管内への癌細胞の浸潤が明らかであることより、脈管内への癌進展が遠隔転移に大きく関わっているものと考えられる。

PLCに用いる生理食塩液の注入量については、20～1000 ml^{4,5,13}と様々であり、標準化されていないのが現状である。注入量が過小の場合は偽陰性となる可能性があり、逆に多いとそれを全量採取し検体に提出することが困難となることが予想される。著者らは50 mlで行っている。これは通常使う注射器1本分の最大注入量であることより、注入後同じ注射器を用いて即時に回収できることが、限られた手術時間の中での利点であると考えている。

PLC陽性と判明した場合の術中及び術後の治療について、局所制御に有効とされるシスプラチンと蒸留水の浸透療法を用いた術中の胸腔内化学療法剤投与¹⁴は、術中のPLCの正診率の不正確さなどの問題で、現段階では同意が得られていない治療法と思われる。また自験例でも同様に、術後再発部位は切除側の胸腔内のみでなく遠隔転移での発症も多く含まれている。自験例の検討の結果からはPLC陽性例に対する化学療法の妥当性を論ずることはできないが、局所制御のみを目的とした薬剤投与よりもむしろ全身化学療法を行い、癌細胞の全身への撒布を制御する必要性の是非を今後論じていくべきと考えている。

まとめ

肺癌手術時におけるPLC陽性症例は多くが乳頭型主体の腺癌であった。PLC陽性は独立した予後不良因子であり、かつ陽性例は遠隔転移による再発が多く含まれていることより、術後全身化学療法の是非を検討する必要がある。

謝辞：診断、及びご助言をいただいた当院非常勤病理医五明田孝先生、ならびに数多くの援助をいただいた当院病理検査技師福田智氏に深謝いたします。

REFERENCES

1. 下方 薫, 蘇原泰則. 1999年肺癌外科切除例の全国集計に関する報告. *肺癌*. 2007;47:299-311.
2. 川野亮二, 横田俊也, 池田晋悟, 羽田圓城. 原発性肺癌手術

- 例における開胸時洗浄細胞診陽性例についての検討. *日呼外会誌*. 2006;20:898-903.
3. Okada M, Sakamoto T, Nishio W, Uchino K, Tsuboshima K, Tsubota N. Pleural lavage cytology in non-small cell lung cancer: lessons from 1000 consecutive resections. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003;126:1911-1915.
4. 大石 久, 齋藤泰紀, 阿部二郎, 羽隅 透. 原発性肺癌手術時における胸腔洗浄細胞診陽性例の再発形式と予後. *胸部外科*. 2008;61:1085-1091.
5. Taniguchi Y, Nakamura H, Miwa K, Adachi Y, Fujioka S, Haruki T, et al. Prognostic significance of pleural lavage cytology after thoracotomy and before closure of the chest in lung cancer. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2009;9:102-106.
6. 肺癌取扱い規約. 日本肺癌学会, 編集. 改訂第6版. 東京: 金原出版; 2003:93-107.
7. Adachi Y, Nakamura H, Kitamura Y, Taniguchi Y, Araki K, Shomori K, et al. Lymphatic vessel density in pulmonary adenocarcinoma immunohistochemically evaluated with anti-podoplanin or anti-D2-40 antibody is correlated with lymphatic invasion or lymph node metastases. *Pathol Int*. 2007;57:171-177.
8. Miyoshi T, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Shirakusa T, Tsuchiya E, et al. Early-stage lung adenocarcinomas with a micropapillary pattern, a distinct pathologic marker for a significantly poor prognosis. *Am J Surg Pathol*. 2003;27:101-109.
9. Amin MB, Tamboli P, Merchant SH, Ordóñez NG, Ro J, Ayala AG, et al. Micropapillary component in lung adenocarcinoma: a distinctive histologic feature with possible prognostic significance. *Am J Surg Pathol*. 2002;26:358-364.
10. Kondo H, Asamura H, Suemasu K, Goya T, Tsuchiya R, Naruke T, et al. Prognostic significance of pleural lavage cytology immediately after thoracotomy in patients with lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993;106:1092-1097.
11. Enatsu S, Yoshida J, Yokose T, Nishimura M, Nishiwaki Y, Shirakusa T, et al. Pleural lavage cytology before and after lung resection in non-small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Surg*. 2006;81:298-304.
12. Satoh Y, Hoshi R, Ishikawa Y, Horai T, Okumura S, Nakagawa K. Recurrence patterns in patients with early stage non-small cell lung cancers undergoing positive pleural lavage cytology. *Ann Thorac Surg*. 2007;83:197-202.
13. Nakagawa T, Okumura N, Kokado Y, Miyoshi K, Matsuoka T, Kameyama K. Clinical relevance of intraoperative pleural lavage cytology in non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg*. 2007;83:204-208.
14. Ichinose Y, Tsuchiya R, Koike T, Yasumitsu T, Nakamura K, Tada H, et al. A prematurely terminated phase III trial of intraoperative intrapleural hypotonic cisplatin treatment in patients with resected non-small cell lung cancer with positive pleural lavage cytology: the incidence of carcinomatous pleuritis after surgical intervention. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002;123:695-699.