

肺腺癌と肺扁平上皮癌では血管浸潤が
予後へ与える影響が異なる

2 0 1 3

筑波大学大学院博士課程人間総合科学研究科

薄 井 真 悟

筑 波 大 学

博 士 （ 医 学 ） 学 位 論 文

肺腺癌と肺扁平上皮癌では血管浸潤が
予後へ与える影響が異なる

2 0 1 3

筑波大学大学院博士課程人間総合科学研究科

薄 井 真 悟

目次

要旨

略語表

第 1 章 緒言

第 2 章 方法

2-1 症例選択

2-2 組織学的検査

2-3 統計解析

第 3 章 結果

3-1 対象全症例の解析

3-1-1 単変量解析

3-1-2 生存解析

3-1-3 多変量解析

3-2 浸潤性腺癌の解析

3-2-1 単変量解析

3-2-2 生存解析

3-2-3 多変量解析

3-2-4 腺癌組織亜型別解析

3-2-4-1 亜型別生存解析

3-2-4-2 亜型別の血管浸潤(VI)の寄与

3-3 末梢発生扁平上皮癌の解析

3-3-1 単変量解析

3-3-2 生存解析

3-3-3 多変量解析

3-3-4 浸潤血管径に基づく解析

3-3-4-1 単変量解析

3-3-4-2 生存解析

3-3-4-3 空洞形成(cavity formation)に着目した解析

3-3-5 代表的な扁平上皮癌症例

3-3-5-1 症例 1

3-3-5-2 症例 2

3-3-5-3 腺癌における血管浸潤(VI)

第 4 章 考察

4-1 全症例を対象とした血管浸潤(VI)の意義

4-2 浸潤性腺癌

4-3 末梢発生扁平上皮癌

第 5 章 結語と今後の展望

参考文献

謝辞

Figure

Table

要旨

血管浸潤(vascular invasion: VI)は、肺癌において古くから知られる重要な予後因子の一つであり、広く受け入れられている。しかしながら、組織型に応じた臨床病理学的な VI の重要性については明らかになっていない。本研究の目的は、肺腺癌、および、肺扁平上皮癌における VI の重要性、さらに組織型の間に有る臨床病理学的特徴の差異を明らかにすることである。

対象は筑波大学呼吸器外科で行われた連続手術症例 336 例で、その内訳は 81 例の末梢発生扁平上皮癌、255 例の浸潤性腺癌を選択した。

全 336 例の 5 年生存率は、VI を有する群が 38.4%、陰性群が 76.3%であり、生存曲線の解析は統計的な有意差($p<0.0001$)を認めた。多変量解析では、病理学的 N 因子と同等の、独立した予後因子として VI は評価され、hazard ratio は、VI 陰性群に対し陽性群は 1.83 であった。組織型別の生存曲線解析は、腺癌において有意差($p<0.0001$)が認められたものの、扁平上皮癌では認められなかった($p=0.086$)。2011 年に提唱された新しい腺癌の組織亜型分類に応じた生存解析を、VI 陽性、陰性群で行うと、置換型($p<0.0001$)、腺房型($p=0.0060$)、乳頭型($p=0.0026$)は VI 陽性群の生存曲線が、陰性群に対して有意に予後不良を示したが、充実型は有意差を認めなかった($p=0.58$)。さらに、扁平上皮癌症例において

VI 陽性症例を、癌細胞が浸潤する血管径に応じて 2 群に分け解析を行った。

1000 μ m を基準として、大血管浸潤(large vascular invasion: LVI)群は、1000 μ m 未満の小血管浸潤(small vascular invasion: SVI)群と比較し、遠隔転移併存症例の頻度が高く、また空洞所見が有意に多く観察された。

以上から、VI は肺癌における有用な予後因子となり得ることが明らかになった。腺癌と扁平上皮癌において VI は異なる意味を持っており、腺癌においては予後不良因子であることが示された一方、扁平上皮癌では 1000 μ m 以上の太い血管浸潤を有する症例は、遠隔転移の同時併存が潜在する可能性が示された。

略語表

VI	Vascular invasion	血管浸潤
PS	Performance status	
IASLC	International Association for the Study of Lung Cancer	國際肺癌学会
ATS	American Thoracic Society	米国胸部学会議
ERS	European Respiratory Society	欧州呼吸器学会議
AIS	Adenocarcinoma <i>in situ</i>	上皮内腺癌
MIA	Minimally invasive adenocarcinoma	微少浸潤癌
CEA	Carcinoembryonic antigen	
SCC 抗原	squamous cell carcinoma 抗原	
proGRP	Pro-gastrin-releasing peptide	
NSE	Neuron-specific enolase	
CYFRA	Cytokeratin 19 fragment	
SLX 抗原	Sialyl Lex-i 抗原	
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent assay	
RIA	Radioimmunoassay	
IRMA	Immunoradiometric assay	

HE 染色 Hematoxylin-eosin 染色

EVG 染色 Elastica van Gieson 染色

Ly lymphatic permeation リンパ管侵襲

DFS Disease free survival 無再発生存

SVI Small VI 小血管浸潤 (浸潤血管径 1000 μ m 未満)

LVI Large VI 大血管浸潤 (浸潤血管径 1000 μ m 以上)

pl Pleural invasion 胸膜浸潤

第 1 章 諸言

肺癌は世界的な癌関連死亡の主たる原因となっており、病理病期Ⅰ期の癌でさえ、その5年生存率が66から83%と満足できるものではない(1)。肺癌患者の予後因子として、年齢、性別、performance status(PS)、術前リンパ球数、腫瘍径、胸膜浸潤、リンパ管侵襲、血管浸潤(vascular invasion: VI)、リンパ節転移、遠隔転移が古くから報告されている(2 - 6)。これらの予後因子において、高齢、男性、PS不良例、低リンパ球数、腫瘍径の増大、ならびに、胸膜浸潤、リンパ管侵襲、VI、リンパ節転移、遠隔転移の陽性例は、いずれも強力な予後因子である。

その中でも、VIは重要な予後因子の一つとして、1957年にBallantyneらが、1958年にCollierらが肺癌における有用性を報告している(7, 8)。近年の報告では、全病期だけでなく早期の癌においても予後に寄与することが報告されている(9-17)。特に早期癌においては、Tsuchiyaら、及びShojiらが予後不良因子として、リンパ節転移陰性例を解析し報告している(15, 16)。VIは、現取扱い規約においてoptional descriptorとして取り扱われているが、病期の決定には寄与していない。本研究において、病期に依存しないVIの与える影響を明らかにすれば、よりVIが普遍的な価値を見出すと考えた。

また VI の組織型への影響は、腺癌において予後に寄与するとの Bordendorf らによる報告があり、局所再発よりも遠隔転移が多いことが示されている(11)。多変量解析を用いた報告で、Ruffini は腺癌における脈管浸潤の有無と、腺癌か非腺癌であるかが重要な予後因子であることを示した(17)。一方、扁平上皮癌においては VI の予後への寄与は報告がなく、明らかになっていない。

2011 年、新しい腺癌の分類(international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma)が IASLC/ATS/ERS 3 学会合同で提唱された。この分類において、浸潤性腺癌は 5 つの組織亜型、すなわち、置換型、腺房型、乳頭型、充実型、微小乳頭型各々の優位型に分類されることとなった(18)。これら 5 つの亜型は組織学的に異なるだけでなく、予後も異なっている。Nakazato らは、置換型、腺房型、乳頭型は、充実型、微小乳頭型と比べ、予後が良いことを報告しているが、これら亜型の中での VI の寄与については解析されていない(19)。

よって、本研究では、VI の病期に依存しない影響、そして、肺癌の組織型、並びに、浸潤性腺癌の組織亜型に対する寄与を明らかにすることを目的とする。

第 2 章 方法

2-1 症例選択

筑波大学附属病院呼吸器外科において、2001 年 1 月から 2010 年 12 月に実施された肺癌に対する手術症例 511 例のうち、組織学的に腺癌、または、扁平上皮癌と診断された、連続する手術症例 420 例を対象とした。胸部単純写真、または胸部 CT(computed tomography)で、発見可能な末梢発生肺癌を想定して対象を選定し、肺癌の代表的な組織型を選択した。そのため、中枢発生の扁平上皮癌 14 例、定義上 VI を伴わない上皮内腺癌(*adenocarcinoma in situ*: AIS)及び微少浸潤腺癌(*minimally invasive adenocarcinoma*: MIA)と診断された 52 例、術前治療例 18 例の合計 84 例を除外した。加えて、稀な組織型である腺扁平上皮癌や癌肉腫等も除外した。

選択した症例は、亜区域支より末梢に発生した扁平上皮癌 81 例、及び、各亜型優位型に分類可能な粘液産生型腺癌を含む浸潤性腺癌 255 例とした。各症例の臨床データは呼吸器外科肺癌手術症例データベースを使用した。使用した症例は全て術前にインフォームドコンセントが行われ、包括同意を得た。対象症例の臨床病理学的特徴を Table 1 に示す。術前の評価には、胸腹部 CT、骨シンチグラフィ(scintigraphy)、頭部 MRI(magnetic resonance imaging)、及び、末梢

血採血を用いた腫瘍マーカー測定 (CEA(ng/ml), SCC(ng/ml), proGRP(pg/ml); ELISA 法, NSE(ng/ml); RIA 法, CYFRA(ng/ml), SLX(ng/ml); IRMA 法)を行った。

また、手術時に遠隔転移を伴う症例及び術後 30 日以内に遠隔転移を認めた症例を有遠隔転移例と定義し、生存解析からは除外した。

2-2 組織学的検査

手術検体は、15% formalin で注入固定後、5 から 7mm の厚さに切り出し、腫瘍の最大断面を含む切片は、周囲の正常肺を含め全てを標本作成した。パラフィン包埋後、4 μ m の厚さに薄切、Hematoxylin-eosin(HE)染色を行った。VI 及びリンパ管侵襲(lymphatic permeation: Ly)の評価は、Elastica van Gieson(EVG)染色、及び、D2-40 による免疫染色を用いた(Fig. 1)。VI の評価は、肺癌取り扱い規約第 7 版に準拠した(20)。顕微的な血管浸潤(VI)を有する症例は V1、肉眼的に解る血管浸潤(VI)を有する症例は V2 と評価し、V は本来静脈(venous)浸潤を示すものであるが、肺癌に於いてはしばしば動脈浸潤も認められるため、規約に準じ動脈、静脈ともに VI として集計した。

腺癌の分類には、IASLC/ATS/ERS international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma を使用した(Table 2)(18)。本分類において浸潤性腺癌は、置換型、腺房型、乳頭型、微小乳頭型、充実型の 5 つの組織亜型の最も優位な

成分で各々の優位型に分類される(Fig. 2)。扁平上皮癌は、WHO 分類（2004 年版）を用いた(21)。腫瘍の病理学的 T 因子(Tumor factor)、N 因子(Node factor)、病期、及び、胸膜浸潤、VI、リンパ管侵襲の決定は、staging manual for thoracic oncology(2009)に準拠した(22)。

2-3 統計解析

統計解析は、SPSS 11.5J (SPSS inc., Chicago, IL, USA)を用いた。生存曲線は、無再発生存(disease free survival: DFS)を使用し、Kaplan-Meier 法を用いて解析、Log-rank test を用いて統計学的有意差を検討した。DFS は再発日、または最終外来受診日と手術日より算出し、他病死の影響を除くため DFS を使用した。臨床病理学的因子との相関を調べるために、 χ^2 乗検定または Fisher's exact 検定を使用し、数量化される指標は t 検定を用いた。無再発生存に寄与する独立予後因子の検討には、logistic 解析による多変量解析を用いた。p 値が 0.05 未満を持って統計学的に有意差があると判断した。

第 3 章 結果

3-1 対象全症例の解析

3-1-1 単変量解析

VI の有無と、種々の臨床病理学的因子の関係を解析した。VI 陽性群は、腫瘍径、病理学的 T 因子、N 因子、病理病期、有遠隔転移例の頻度、胸膜浸潤、リンパ管侵襲の頻度、腫瘍マーカー(CEA, SCC, CYFRA)と正の相関を認めた(Table 3)。

3-1-2 生存解析

5 年生存率は、VI 陽性、陰性群それぞれ 38.4%と 76.3%であり、生存曲線に有意差($p<0.0001$)を認めた(Fig. 3-a)。

3-1-3 多変量解析

主要な予後因子である、腫瘍径、病理学的 T 因子、N 因子、病理病期、VI、リンパ管侵襲、胸膜浸潤、組織型、組織亜型、腫瘍マーカー、術後補助化学療法の有無を用いた多変量解析では、VI 陽性群、病理学的 N 因子陽性群、充実型

腺癌群が独立した予後因子であることが示された(Table 4)。腫瘍マーカーは正常値を cut-off とせず、より予後に寄与すると考えられる Log-rank 値が最大となる cut-off 値を別に求め、高低値群で群別化した(CEA 9.0 ng/ml, CYFRA 3.0 ng/ml, SCC 1.7 ng/ml)。Hazard ratio は、VI 陽性群、リンパ節転移陽性群、充実型腺癌群が、VI 陰性群、リンパ節転移陰性群、非充実型腺癌に対して、各々、1.83, 1.98, 2.33 であった。

3-2 浸潤性腺癌の解析

3-2-1 単変量解析

VI 陽性群は、腫瘍径、病理学的 T 因子、N 因子、病理病期、有遠隔転移例の頻度、胸膜浸潤、リンパ管侵襲、腫瘍マーカー(CEA, SCC, CYFRA)と正の相関を認めた(Table 5)。また、新腺癌の分類亜型との相関を認め、VI 陽性群は置換型優位が少なく、腺房型優位、乳頭型優位が多かった。

3-2-2 生存解析

5 年生存率は、VI 陽性、陰性群それぞれ 33.4%と 77.1%となり、生存解析においても統計的有意差($p<0.0001$)を認めた(Fig. 3-b)。

3-2-3 多変量解析

腫瘍径、病理学的 T 因子、N 因子、病理病期、VI、リンパ管侵襲、胸膜浸潤、組織亜型、腫瘍マーカーを用いた多変量解析を全例解析と同様行った。VI 陽性群と、充実型腺癌群が独立した予後因子であることが示され、hazard ratio は、VI 陽性群、充実型腺癌群が、各々の陰性群に対して、2.40, 2.13 を示した(Table 6)。全例解析と比較すると、VI 陽性群の hazard ratio が最も高い値を示した。

3-2-4 腺癌組織亜型別解析

新腺癌の分類(IASLC/ATS/ERS multidisciplinary classification)に基づいた生存曲線の解析を行った。今回用いた 255 例の内訳は、置換型 144 例、腺房型 52 例、乳頭型 44 例、充実型 43 例、微小乳頭型 2 例であった。微小乳頭型の症例数は 2 例と少なかったため、生存解析からは除外した。

3-2-4-1 亜型別生存解析

浸潤性腺癌組織亜型それぞれの5年生存率は、置換型、腺房型、乳頭型、充実型、各々83.3%、27.2%、33.4%、55.9%であり、生存曲線はFig. 4に示した。

生存解析において置換型は、腺房型($p=0.0006$)、乳頭型($p<0.0001$)、充実型($p<0.0001$)と比較して有意差をもって予後良好であった。

3-2-4-2 亜型別の血管浸潤(VI)の寄与

各組織亜型別の血管浸潤の有無による5年生存率は、置換型がVI陽性、陰性群それぞれ、46.7%及び94.9%、以下、腺房型は10.0%及び46.7%、乳頭型は16.0%及び70.2%、充実型は56.5%及び56.6%であった。生存解析はFig. 5に示すように、置換型($p<0.0001$)、腺房型($p<0.0061$)、乳頭型($p<0.0026$)に統計学的有意差を認めたが、充実型では有意差を認めなかった($p=0.58$)。

3-3 末梢発生扁平上皮癌の解析

3-3-1 単変量解析

VI陽性群は、腫瘍径の増大、病理学的N因子、病理病期、胸膜浸潤において正の相関を認めたが他の項目に相関は見られなかった(Table 7)。

3-3-2 生存解析

5 年生存率は、VI 陽性、陰性群それぞれ 44.0%と 60.5%となり、生存曲線の解析においても統計的な有意差($p=0.086$)を認めなかった(Fig. 3-c)。

3-3-3 多変量解析

腫瘍径、病理学的 T 因子、N 因子、病理病期、VI、リンパ管侵襲、胸膜浸潤、腫瘍マーカーを用いた多変量解析を全例解析と同様に行った。リンパ節転移陽性群と、リンパ管侵襲陽性群が独立した予後因子であることが示され、hazard ratio は、9.09, 3.99 を示した(Table 8)。一方 VI 陽性は独立予後因子としては示されず、VI 陽性群の hazard ratio は 1.09 であった。

3-3-4 浸潤血管径に基づく解析

癌細胞が浸潤する血管径に着目し、観察標本内の最大浸潤血管径に基づいて 1000 μ m 以上の血管に浸潤する群を LVI(large vascular invasion)群と定義した。血管径の評価は、短軸径、血管外膜径を用いた。扁平上皮癌症例 81 例のうち、LVI 群は 21 例、1000 μ m 未満の血管浸潤所見を有する群(small vascular invasion: SVI)は 24 例、LVI を認めない群(non-LVI)は 60 例となり、群間の差異を検討した。

3-3-4-1 単変量解析

LVI、SVI の 2 群と臨床病理学的関係を解析すると、LVI 群は、有遠隔転移例数と空洞形成(cavity formation)所見との間に有意な正の相関を認めたが、他の項目には有意差を認めなかった(Table 9)。空洞形成は、肉眼的に空洞を認め、組織学的に壊死組織で空洞壁が構成されているものと定義した。すなわち、気腫化や肺嚢胞性の空洞は含まれていない。

LVI と non-LVI 群の比較検討では、LVI 群は、腫瘍径、有遠隔転移例数と空洞形成所見との間に有意な正の相関を認めた(Table 10)。

3-3-4-2 生存解析

5 年生存率は、SVI 群が 42.1%、LVI 群が 45.9%となり、生存曲線の解析においても統計的な有意差($p=0.70$)を認めなかった(Fig. 6-a)。また、LVI 群と non-LVI 群の生存曲線の解析を行っても統計的な有意差($p=0.97$)を認めなかった(Fig. 6-b)。

3-3-4-3 空洞形成(cavity formation)に着目した解析

LVI 群と空洞形成に有意相関を認めたことから、空洞形成陽性、及び陰性の 2 群に再度群別化し評価した。今回対象とした扁平上皮癌 81 例の組織所見評価は、

空洞形成陽性群 32 例、陰性群 49 例であった。単変量解析を行うと、空洞形成陽性群は、LVI 群のみ正の有意相関を認め、他の臨床病理学的因子とは相関を認めなかった(Table 11)。また、空洞形成の有無に基づく生存解析を行ったが、両群の間には統計的有意差($p=0.77$)を認めなかった(Fig. 6-c)。

3-3-5 代表的な扁平上皮癌症例

本研究で、LVI 陽性所見は、空洞形成陽性と有遠隔転移例の頻度に有意に相関し、空洞形成陽性群が LVI 陽性所見と相関することが明らかとなった。今回検討した症例の中で、LVI 陽性、空洞形成陽性で手術時、または、術後 30 日以内に遠隔転移が診断された症例を抽出し、以下に症例報告する。

3-3-5-1 症例 1(Fig. 7)

76 歳男性、喫煙指数 2400。術前腫瘍マーカーは CYFRA が 7.4 ng/ml と上昇、胸部 CT で腫瘍の中心部に空洞所見を認めた(Fig. 7-a)。左下葉切除施行され、ホルマリン固定後に切り出した肺切除検体断面において空洞を認めた(Fig. 7-b)。腫瘍は最大径 38 mm、pT2aN0 stage IB の中分化型扁平上皮癌と診断された。空洞の組織所見は壊死性で(Fig. 7-c)、胸膜浸潤、リンパ管侵襲は観察されなか

ったが、LVI を認めた(Fig. 7-d)。術後 10 日目の胸部 CT で対側肺転移を認め、術後 210 日目に肺癌死した。

3-3-5-2 症例 2(Fig. 8)

76 歳男性、喫煙指数 1000。術前腫瘍マーカーは SCC 5.2 ng/ml、CYFRA 22.2 ng/ml、CEA 5.8 ng/ml と上昇、胸部 CT で腫瘍の中心部に空洞所見を認めた(Fig. 8-a)。右下葉切除施行され、ホルマリン固定後に切り出した肺切除検体断面において空洞を認めた(Fig. 8-b)。腫瘍は最大径 65 mm、pT2bN1 stage IIIA の低分化型扁平上皮癌と診断された。胸膜浸潤を認め(pI1)、空洞の組織所見は壊死性で(Fig. 8-c)、リンパ管侵襲は観察されなかったが、LVI を認めた(Fig. 8-d)。術前検索において孤立性の脳転移を認めており、術後放射線治療が行われた。術後 406 日目に肺癌死した。

3-3-5-3 腺癌における血管浸潤(VI): 症例 3, 4

今回対象とした腺癌の中から、LVI を有するが、空洞形成を認めない例(症例 3)と、ホルマリン固定後に切り出した肺切除検体断面で空洞形成を認めたが、LVI を認めない例(症例 4)を、扁平上皮癌症例との比較に提示する。

(症例 3) 63 歳女性、喫煙指数 35。術前腫瘍マーカーは SCC 1.1 ng/ml、CYFRA 0.8 ng/ml、CEA 2.3 ng/ml といずれも正常範囲。胸部 CT で胸膜に接する充実性の腫瘍を認めた(Fig. 9-a)。右上葉切除施行され、ホルマリン固定後に切り出した肺切除検体断面は、腫瘍は白色充実性で境界明瞭であった(Fig. 9-b)。腫瘍は最大径 23 mm、pT2aN1 stage IIA の腺房型優位の浸潤性腺癌と診断された。胸膜浸潤を認め(pI1)、リンパ管侵襲及び LVI を含む高度血管浸潤を認めた(Fig. 9-c)。術前、孤立性脳腫瘍に対する手術が行われ、摘出標本の組織像の類似性から肺癌脳転移と診断された。術後放射線治療を含む集学的治療が行われた。術後 869 日目に肺癌死した。

(症例 4) 52 歳女性、非喫煙者。術前腫瘍マーカーは SCC 1.0 ng/ml、CYFRA 0.6 ng/ml、CEA 2.9 ng/ml といずれも正常範囲。胸部 CT で腫瘍中心に空洞所見を認め、腫瘍辺縁にすりガラス影を伴っていた(Fig. 10-a)。右下葉切除施行され、ホルマリン固定後に切り出した肺切除検体断面は、腫瘍は褐色状で一部白色を呈し内部に空洞を認めた(Fig. 10-b)。腫瘍は最大径 41 mm、pT2aN0 stage IB の置換型優位の浸潤性腺癌と診断された。空洞壁の組織像は壊死を認め(Fig. 10-c)、VI を観察した(Fig. 10-d)が小血管浸潤(SVI)に留まっていた。腫瘍に到達する肺動脈分枝に血栓を認めた(Fig. 10-e)。術前検索において両側副腎腫瘍を認め、術

後急速に増大し副腎転移と診断した。術後化学療法が行われたが、術後 243 日に肺癌死した。

第 4 章 考察

4-1 全症例を対象とした血管浸潤(VI)の意義

VI の有無は、肺癌の代表的な組織型である腺癌と扁平上皮癌を総括した解析において、多くの臨床病理学的因子との相関を認めた。既存の予後因子である病理学的 T, N 因子、病理病期を始め、肺癌取扱い規約第 7 版で評価すべき項目として列挙されている胸膜浸潤やリンパ管侵襲のみならず、術前に計測される腫瘍マーカーも VI 陽性例では CEA, SCC, CYFRA において高値を示すことが明らかになった。対象全症例を用い、これらの有力な予後因子との組み合わせで行った多変量解析においても、病理学的 N 因子と同等の独立した予後因子で、hazard ratio が 1.83 を示した。

従来 of 報告では、リンパ管侵襲(Ly)もよく知られた予後不良因子であり、脈管浸潤として両者を区別せずに解析された報告も見られる(10, 23)。今回の対象症例に対して行った Ly の有無による生存曲線解析において(Fig. 11)、対象全症例、腺癌では Ly 陽性群の予後が有意に悪いことが示されたが($p<0.0001$)、扁平上皮癌は VI と同様有意な差は認められなかった($p=0.065$)。また、VI 及び Ly の陽・陰性を組み合わせた 4 群間の生存解析において(Fig. 12)、両因子陽性群の予後は、VI または Ly 単独陽性群、両因子陰性群と比較して有意に予後不良であることが

示され、既報と同様の結果を得た。しかし、本研究では Ly を区別して VI にのみ着目し評価した。全症例及び腺癌の多変量解析の結果において、Ly は独立した予後因子として示されず($p=0.28$)、加えて、日常臨床でしばしば評価に用いられる腫瘍マーカーの高低値群や病理病期が、多変量解析で独立予後因子として評価されなかったことから、これら因子の中で VI はより強い予後因子である可能性が示されたと思われる。

VI 陽性が予後不良となる理由は、遠隔転移の発生が最も考えやすいが、その分子基盤は明らかでない。肺癌において、その進行とともに既存の肺胞構造を構築する弾性線維の破壊される様子が顕微的に観察されることから、血管壁の弾性線維も同様の機序で破壊される可能性がある。また、VI に関係した遺伝子として、fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1), β -catenin, vascular endothelial growth factor (VEGF)等が近年報告されている(24-26)。今後これら遺伝子の発現と、VI の有無の関係を調べる必要があると考える。

治療の予後に与える影響を明らかにするため、全例を対象とした術後補助療法の有無の寄与を多変量解析で評価したが、その独立性は示されなかった。本研究の対象期間は 2001 年まで遡っていることから、近年明らかになった術後補助療法の影響は反映されていないものとする。特に、EGFR-TKI の出現による術後再発例に対する予後改善が期待されるが、今回使用したデータベースでは

遺伝子発現のプロファイルは網羅されておらず解析できなかった。今後遺伝子変異データの蓄積も必要になると考える。

本研究は規約に準じて、VI は動静脈いずれの浸潤も同義に扱った。遠隔転移の発生による予後の悪化を想定すると、動脈浸潤は血行力学的に直接の関係を有さない。しかし、本研究における予後の差は歴然とした結果であり、今後動脈浸潤を除外した純粋な静脈浸潤のみを抽出する検討を行えばよりインパクトのある結果になる可能性がある。形態的に肺の動静脈浸潤の区別は判然としないことも多くある。動静脈を区別した研究を今後行うためには、各々の内皮や中膜に特異的に染色される免疫染色法などの確立が必要となると考える。

腺癌と扁平上皮癌における VI の影響を、様々な臨床病理学的因子や、生存曲線で解析した。VI 陽性の腺癌は、陰性の腺癌と比較して悪い予後が示されたが、扁平上皮癌の VI の予後に対する影響を示すことはできなかった。Bodendorf と Ruffini は、腺癌の何れの病期においても、VI が予後と相関することを示した(11,17)。本研究においても、腺癌の VI の発生率 45.1%に対して、扁平上皮癌の方が 55.6%と高率に VI を認めるものの、VI の予後への影響は、腺癌の方が優位に影響を与えていた。

また、再発統計において(Table 1)、胸腔内再発例と遠隔転移再発例の、組織型別の発生頻度を比較検討した。再発死亡例における胸腔内再発は、腺癌 70.0%、

扁平上皮癌 58.3%と腺癌が高率であったが、再発生存例における胸腔内再発は、腺癌 45.8%に対し、扁平上皮癌が 62.5%と高率であった。しかし、再発死亡例 ($p=0.49$)、再発生存例 ($p=0.34$) と何れの場合も統計的な有意差を認めず、再発形式の特徴は見出せなかった。

4-2 浸潤性腺癌

浸潤性腺癌の組織像は非常に多様性に富み、多くの亜型に分類されている。2011 年、IASLC/ATS/ERC 3 学会合同での、新しい腺癌亜型分類では、浸潤性腺癌は最も高頻度に観察される組織像に基づいて、置換型、腺房型、乳頭型、充実型、微小乳頭型の 5 つの亜型優位型に分類され、本研究では VI がこれら亜型に与える影響について評価した。新しい腺癌の分類において、VI が観察される症例は浸潤癌に分類されると定義され、非浸潤癌(AIS)及び微小浸潤癌(MIA)は今回の検討から除外した。結果は、置換型、腺房型、乳頭型では VI の有無による予後差を認めるものの、充実型では示されなかった。

非浸潤癌から微小浸潤癌を経て置換型を伴う多段階発癌を示す浸潤性腺癌において(27)、低悪性度の組織亜型(置換型、腺房型、乳頭型)では VI の寄与が大きい、de novo 発生と考えられる高悪性度の充実型ではその影響が喪失された結果が本研究で示された。同時に充実型であること自体が、VI に匹敵する予後因

子であることも多変量解析で示された。充実型腺癌以外の浸潤性腺癌の悪性度評価に VI は有効であると言える。容易に観察できる VI 所見を用いてこれら予後不良群が鑑別できることから、手術後の補助化学療法等の実施に対する判断など、個別化医療につながる可能性を持った結果であると考えられる。

一方、充実型腺癌には、VI 以上に予後に影響を与える強力な因子があることが予想される。Nakazato らは nuclear grade が充実型腺癌における予後に寄与することを明らかにした(28)。核異型(nuclear atypia)は様々な遺伝子異常蓄積から生じる生物学的特性が反映されており、診断の際に注目する形態の特徴である。核異型は、細胞増殖能の上昇や薬剤耐性の獲得に関連して高頻度に観察される所見とされ、充実型腺癌において VI より強力な予後因子となる可能性が考えられる。

微小乳頭型の生存解析は症例数が限られたため行うことができず、VI の与える影響について不明点が残ってしまった。しかし、微小乳頭型浸潤性腺癌は、充実型腺癌と同様予後不良と報告されており、また形態学的にリンパ管侵襲が多く認められるという特徴を持っている(29)。血管とリンパ管は壁を形成する蛋白が異なり、診断の際にも血管壁には弾性線維を認めるがリンパ管には認められない。このような構造の違いを有する VI と Ly の、微小乳頭型における臨床

的重要性の差異や、分子基盤の解明がなされれば、さらに興味深いと考えられる。

4-3 末梢発生扁平上皮癌

扁平上皮癌においては、VI の有無は生存解析に明らかな差を認めなかった。多変量解析の結果では VI の hazard ratio が 1.09 で、独立した予後因子として示されず、扁平上皮癌における予後への寄与は乏しいことが明らかになった。

腺癌の Ly が VI と強い関連を認める一方、扁平上皮癌において Ly と VI の相関は認められなかった。生存解析から Ly の生存への寄与は乏しい反面、多変量解析では N 因子並びに Ly が独立した予後因子として示され Ly の HR は 3.99 であった。これらの結果から、扁平上皮癌のリンパ管侵襲は、VI とは異なる機序で発生している可能性が考えられる。浸潤性腺癌における微小乳頭状と合わせ、扁平上皮癌のリンパ管壁構成蛋白への interaction に関連する分子基盤の解明が必要となると思われる。

病理診断における経験から、腺癌と比べ扁平上皮癌において太い VI をしばしば観察することから、癌細胞の浸潤する血管径に注目し各症例の最大浸潤血管径を計測し群別化を行ったところ、血管径の上昇に伴い 1000 μ m をカットオフ値とした群間に有遠隔転移例の頻度との相関が見出された。Macchiarini は、血

管浸潤が潜在的な遠隔転移の指標になると報告しており(30)、1000 μ m 以上の血管浸潤所見を LVI と定義して臨床病理学的因子との関係を再検討した。LVI は有遠隔転移例の発生頻度、すなわち、手術時に遠隔転移を有する症例との関係のみならず、空洞性病変との強い相関が示された。LVI と有遠隔転移例の有意相関は、静脈性の LVI が腺癌とは異なる潜在性、及び、術後早期の遠隔転移に寄与している可能性を考える。また、LVI と空洞性病変の有意相関は、動脈性の LVI が肺梗塞を発生させ空洞を形成した可能性を考える。一般に胸部 CT は、術前に空洞性病変を検出するのに適した検査である。本研究から、胸部 CT において腫瘍内に空洞を検出する場合、LVI が併存していて、潜在的な遠隔転移が存在する指標と成り得る可能性を示すものと考えられる。

第 5 章 結語と今後の展望

本研究で、VI の与える影響は、浸潤性腺癌と扁平上皮癌では異なることが明らかになった。扁平上皮癌と比較して、腺癌はその亜型である、置換型、腺房型、乳頭型において VI が予後因子であることが明らかとなったが、充実型腺癌においては示されなかった。充実型腺癌は、その組織型自体が有力な予後因子であった。

扁平上皮癌における VI は予後因子であることは示されなかったが、LVI が空洞性病変の形成と深く関与し、遠隔転移に寄与することを明らかにした。

肺癌は多様性に富み、種々の組織型を有する特性がある。それらの VI の予後への寄与を考慮することで、適切な術後治療を選択する際の有力な因子と成り得ると考えられた。今後取扱い規約において、VI を optional descriptor から病期決定に関与する因子として取り上げるべきと考える。今回対象とした症例の、病理病期別の VI の寄与を生存解析で示す(Fig. 13)。I 期では VI の陽・陰性群間に有意差を認めたが、II 期以上では認めなかった。多数例の蓄積や、多施設での症例の累積による評価が望ましいと考える。

本研究では、肺癌の主力な組織型である腺癌並びに扁平上皮癌を対象としたが、今後は、他の組織型に与える VI の影響の検討や、今回深い関わりを有した

腺癌においてその多段階発癌と VI の影響のメカニズムを今後明らかにしていきたい。

参考文献

- [1] Asamura H, Goya T, Koshiishi Y, et al. A Japanese lung registry study: prognosis of 13,010 resected lung cancers. *J Thorac Oncol* 2008;3:46–52.
- [2] Suzuki K, Nagai K, Yoshida J, et al. Conventional clinicopathologic prognostic factors in surgically resected non-small cell lung carcinoma. A comparison of prognostic factors for each pathologic TNM stage based on multivariate analyses. *Cancer* 1999;86:1976–1984.
- [3] Mountain CF, Lung cancer staging classification. *Clin Chest Med* 1993;14:43–53.
- [4] Naruke T, Goya T, Tsuchiya R, et al. Prognosis and survival in resected lung carcinoma based on the new international staging system. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988;96:440–447.
- [5] Paesmans M, Sculier JP, Libert P, et al. Prognostic factors for survival in advanced non-small-cell lung cancer: univariate and multivariate analyses including recursive partitioning and amalgamation algorithms in 1,052 patients. The European Lung Cancer Working Party. *J Clin Oncol* 1995;13:1221–1230.
- [6] Kobayashi N, Usui S, Kikuchi S, et al. Preoperative lymphocyte count is an

independent prognostic factor in node-negative non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2012;75:223– 227

[7] Ballantyne AJ, Clagett OT, McDonald JR, et al. Vascular invasion in bronchogenic carcinoma. *Thorax*. 1957;12:294-299.

[8] Collier FC, Enterline HT, Kyle RH, et al. The prognostic implications of vascular invasion in primary carcinomas of the lung; a clinicopathologic correlation of two hundred twenty-five cases with one hundred per cent follow-up. *AMA Arch Pathol*. 1958;66:594-603.

[9] Kessler R, Gasser B, Massard G, et al. Blood vessel invasion is a major prognostic factor in resected non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1996;62:1489–1493.

[10] Bre´chot JM, Chevret S, Charpentier MC, et al. Blood vessel and lymphatic vessel invasion in resected non-small cell lung carcinoma. Correlation with TNM stage and disease-free and overall survival. *Cancer* 1996;78:2111–2118

[11] Bodendorf MO, Haas V, Laberke HG, et al. Prognostic value and therapeutic consequences of vascular invasion in non-small cell lung carcinoma. *Lung Cancer* 2009;64:71–78.

[12] Mineo TC, Ambrogi V, Baldi A, et al. Prognostic impact of VEGF, CD31,

CD34, and CD105 expression and tumour vessel invasion after radical surgery for IB-IIA non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol* 2004;57:591–597.

[13] Khan OA, Fitzgerald JJ, Field ML, et al. Histological determinants of survival in completely resected T1-2N1M0 non-small cell cancer of the lung. *Ann Thorac Surg* 2004;77:1173–1178.

[14] Gabor S, Renner H, Popper H, et al. Invasion of blood vessels as significant prognostic factor in radically resected T1-3N0M0 non-small cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004;25:439–442.

[15] Tsuchiya T, Akamine S, Muraoka M, et al. Stage IA non-small cell lung cancer: vessel invasion is a poor prognostic factor and a new target of adjuvant chemotherapy. *Lung Cancer* 2007;56:341–348.

[16] Shoji F, Haro A, Yoshida T, et al. Prognostic significance of intratumoral blood vessel invasion in pathologic stage IA non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2010;89:864–869.

[17] Ruffini E, Asioli S, Filosso PL, et al. Significance of the presence of microscopic vascular invasion after complete resection of stage I–II pT1-T2N0 non-small cell lung cancer and its relation with T-size categories: Did the 2009 7th Edition of the TNM Staging System miss something? *J Thorac Oncol* 2011;

6:319-326

[18] Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma. J Thorac Oncol 2011;6:244-285

[19] Nakazato Y, Maeshima AM, Ishikawa Y, et al. Interobserver agreement in the nuclear grading of primary pulmonary adenocarcinoma. J Thorac Oncol 2013;8:736-743

[20] 臨床・病理 肺癌取扱い規約 第7版, 日本肺癌学会/編, 2010.11.(株)金原出版

[21] Travis WD, Bramblilla E, Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. 2004;IARC Press

[22] Goldstraw P, Staging Manual in Thoracic Oncology; An International Association for the Study of Lung Cancer Publication. 2009;Editorial Press

[23] Kato T, Ishikawa K, Aragaki M, et al. Angiolymphatic invasion exerts a strong impact on surgical outcomes for stage I lung adenocarcinoma, but not non-adenocarcinoma. 2012;77:394-400.

[24] Tran TN, Selinger CI, Kohonen-Corish MR, et al. Fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) copy number is an independent prognostic factor in

non-small cell lung cancer. Lung Cancer 2013, in press

[25] Kase S, Sugio K, Yamazaki K, et al. Expression of E-cadherin and beta-catenin in human non-small cell lung cancer and the clinical significance. Clin. Cancer Res. 2000;12:4789-4796

[26] Han H, Silverman JF, Santucci TS, et al. Vascular endothelial growth factor expression in stage I non-small cell lung cancer correlates with neoangiogenesis and a poor prognosis. Ann. Surg. Oncol. 2001;8:72-79

[27] Noguchi M, Stepwise progression of pulmonary adenocarcinoma--clinical and molecular implications. Cancer metastasis rev 2011;30:185-197

[28] Nakazato Y, Minami Y, Kobayashi H, et al. Nuclear grading of primary pulmonary adenocarcinomas: correlation between nuclear size and prognosis. Cancer 2010;116:2011-2019.

[29] Motoi N, Szoke J, Riely GJ et al, Lung adenocarcinoma: modification of the 2004 WHO mixed subtype to include the major histologic subtype suggests correlations between papillary and micropapillary adenocarcinoma subtypes, EGFR mutations and gene expression analysis. Am J Surg Pathol 2008;32:810-827

[30] Macchiarini P, Fontanini G, Dulmet E, et al. Angiogenesis: an indicator of

metastasis in non-small cell lung cancer invading the thoracic inlet. *Ann Thorac Surg* 1994;57:1534-1539

謝辞

本研究の遂行に当たり、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました筑波大学医学医療系 呼吸器外科学 佐藤幸夫教授、診断病理学 野口雅之教授に厚く御礼申し上げます。 また、肺癌病理診断の基礎から論文作成に当たり御指導を頂きました、診断病理学 南優子准教授に厚く御礼申し上げます。 最後に、病理診断から研究への多くの御助言、御協力頂いた診断病理学教室室員の皆様、呼吸器外科肺癌手術症例データベースの使用、情報提供に御協力を頂いた呼吸器外科学教室室員の皆様に深く感謝致します。

Fig. 1

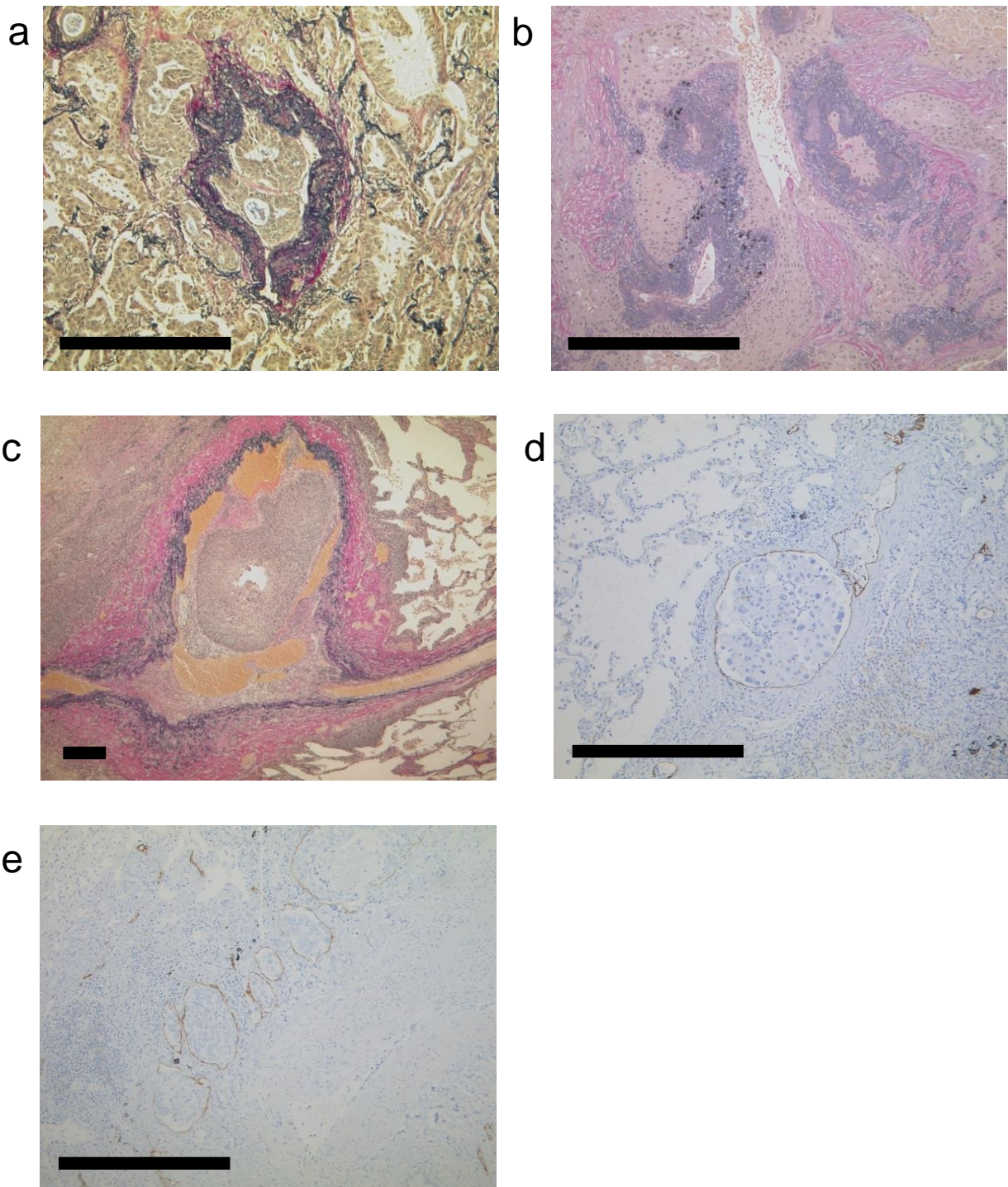


Fig. 1 Pathologic findings of vascular invasion (VI) in (a) adenocarcinoma and (b) squamous cell carcinoma of the lung as revealed by Elastica van Gieson staining(EVG staining) ($\times 10$), and (c) invasion of large vessels (LV) by squamous cell carcinoma (EVG staining, $\times 2.5$). And Pathologic findings of lymphatic permeation in (d) adenocarcinoma and (e) squamous cell carcinoma of the lung revealed by D2-40 by immunohistochemistry ($\times 10$). Each black bar is 500 μm .

Fig. 2

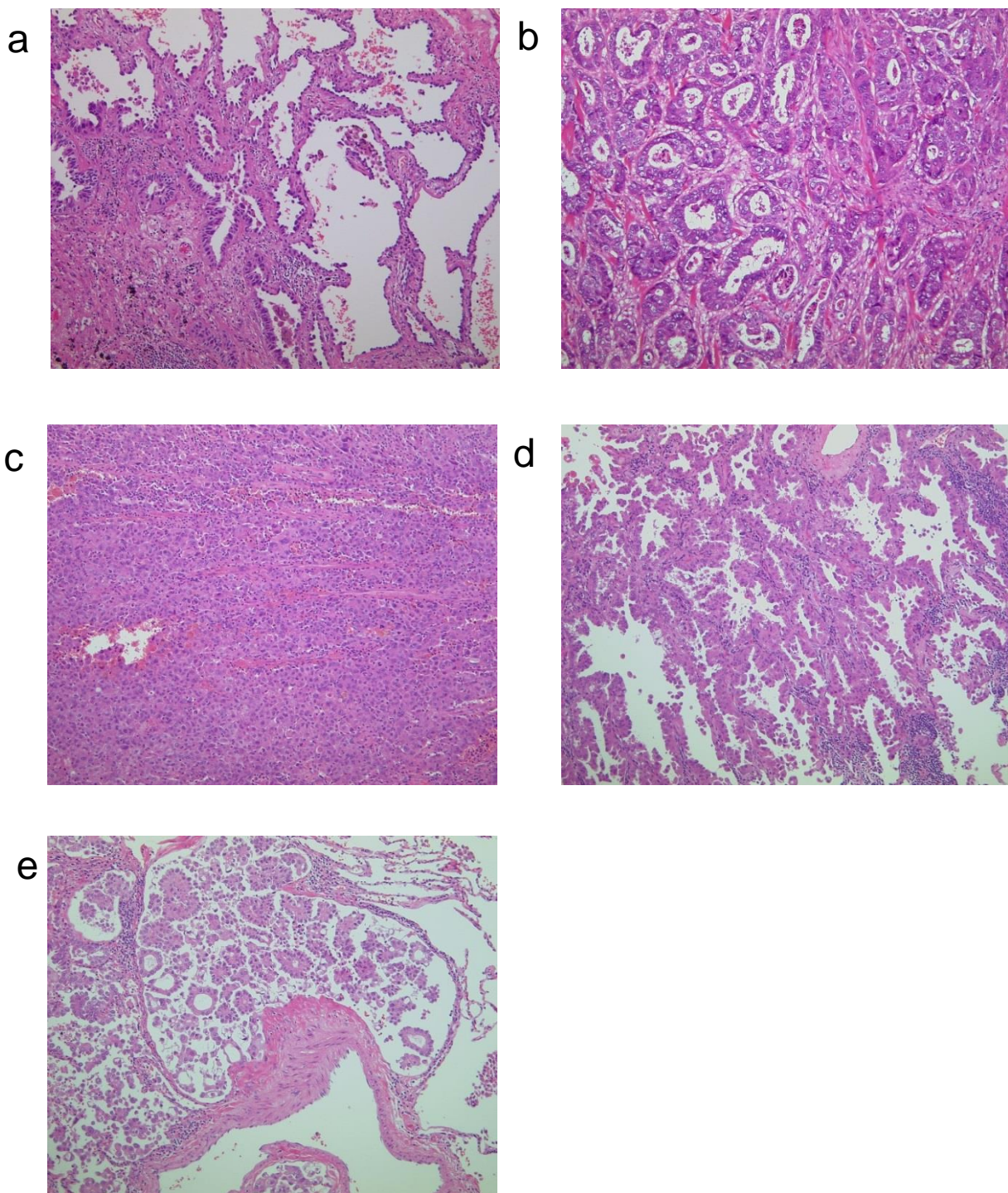


Fig. 2 Pathologic findings of invasive adenocarcinoma, predominant of (a) lepidic, (b) acinar, (c) solid, (d) papillary and (e) micropapillary are shown by hematoxylin-eosin stain(H & E staining) ($\times 10$)

Fig. 3

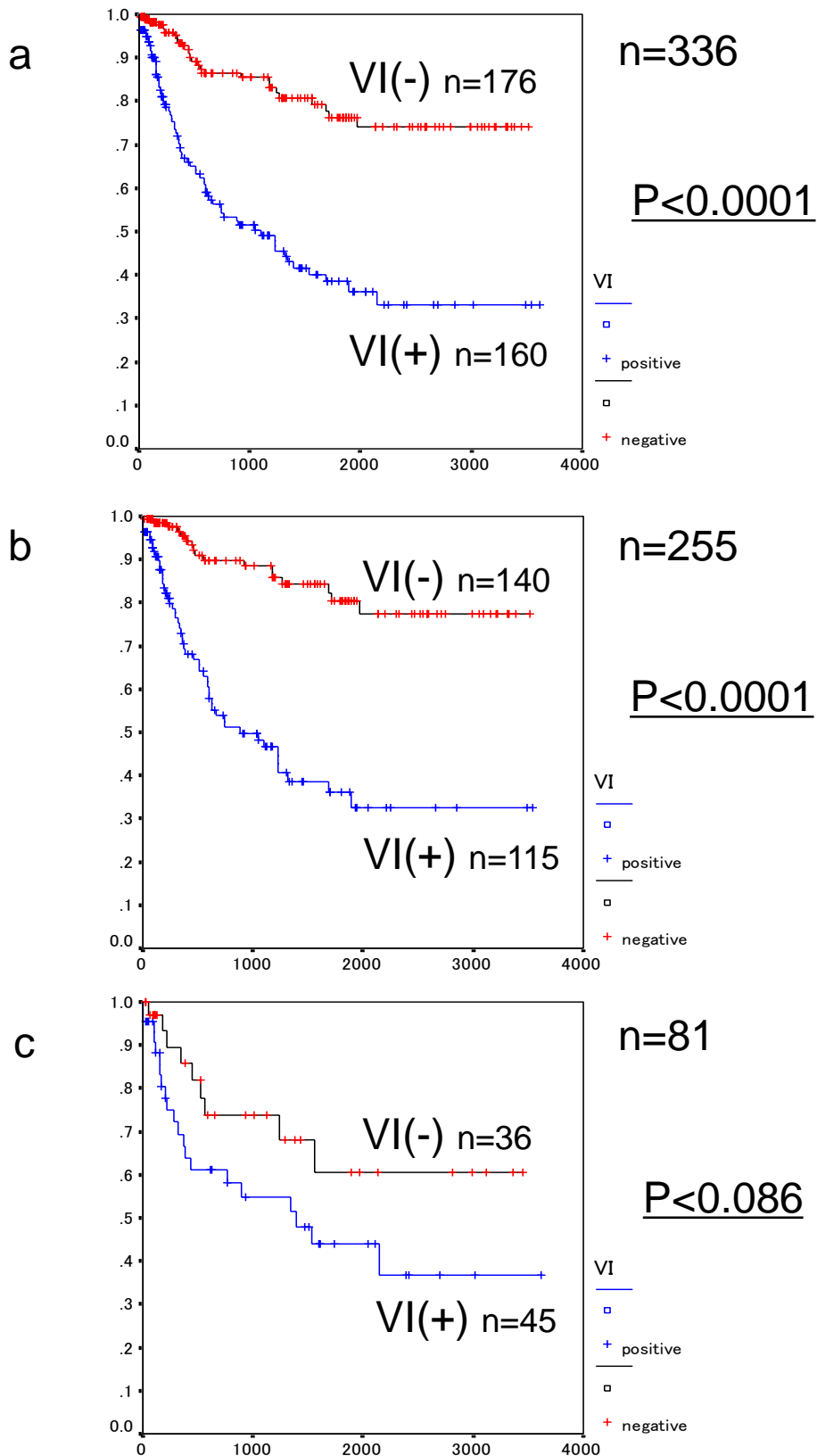


Fig.3 Disease-free survival curves for patients with and without vascular invasion. (a) Total cases (336 cases), (b) adenocarcinoma (255 cases), and (c) squamous cell carcinoma (81 cases). The significance of differences between survival curves was assessed by the log-rank test.

Fig. 4

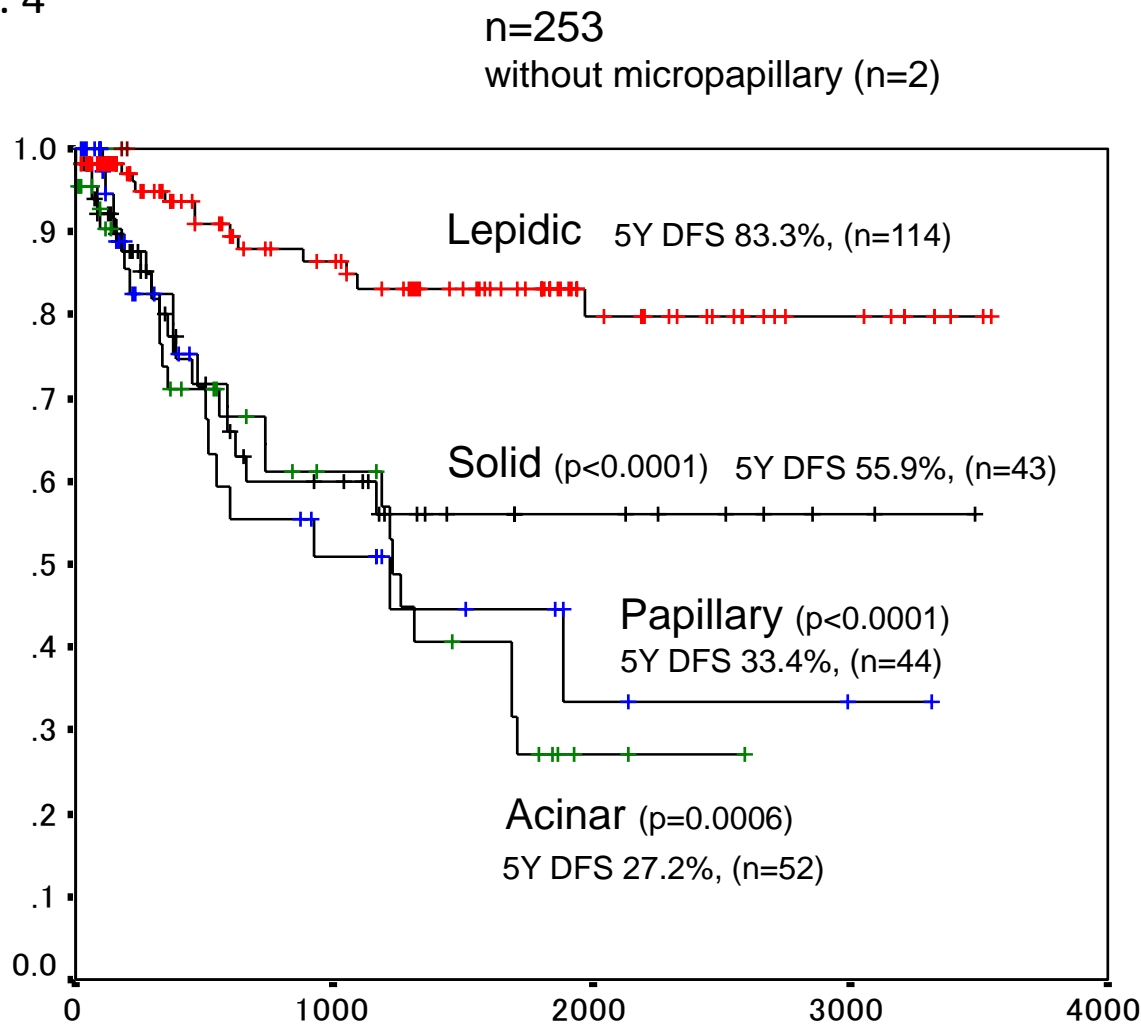


Fig.4 Disease-free survival curves for patients by each four specific adenocarcinoma subtypes. For lepidic subtype, solid ($p < 0.0001$), papillary ($p < 0.0001$) and acinar ($p = 0.0006$) subtype had a poor prognosis. The significance of differences between survival curves was assessed by the log-rank test.

Fig. 5

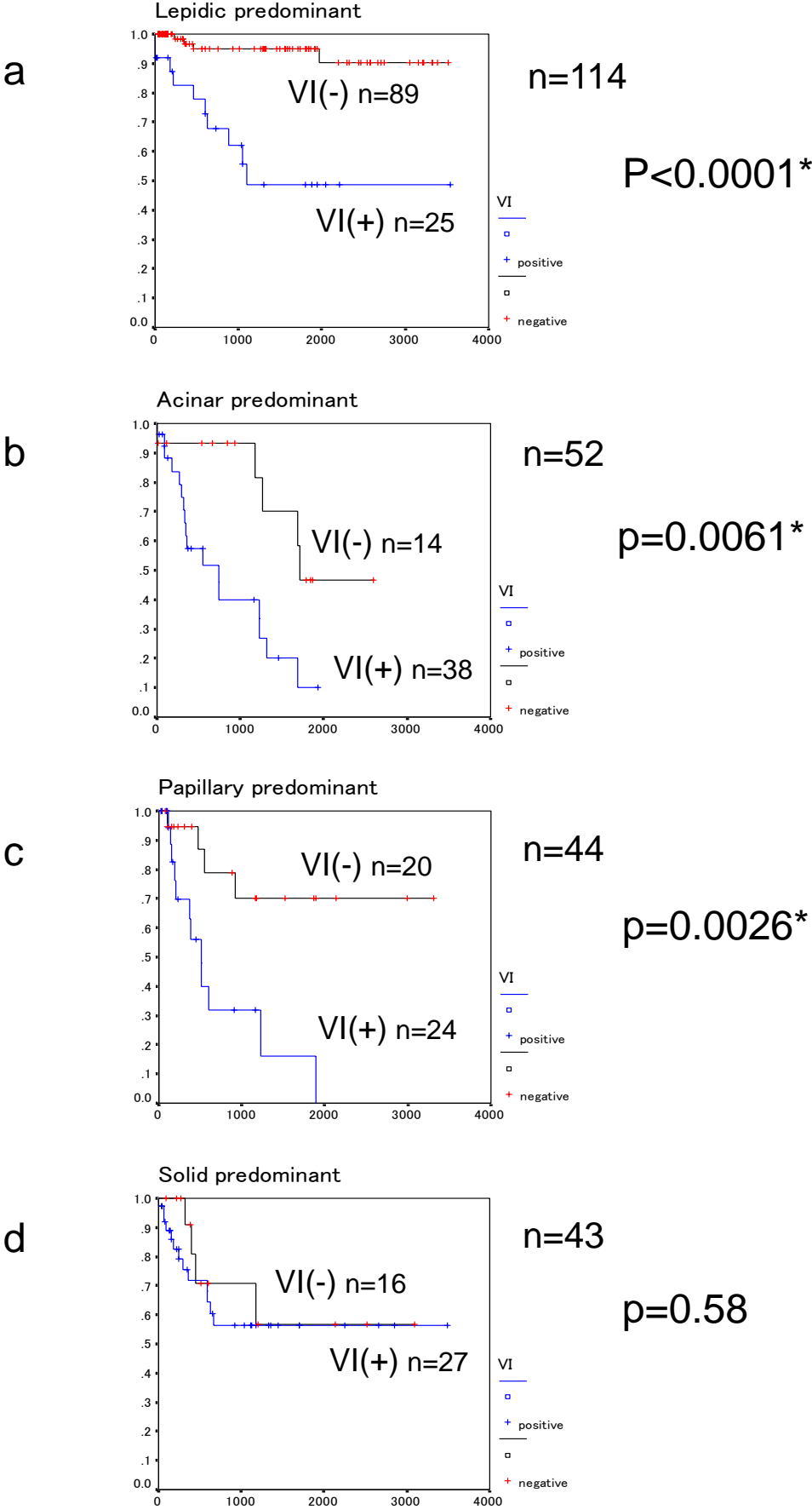


Fig.5 Differences between the survival curves for VI-positive and -negative cases are shown for (a) lepidic predominant subtype, (b) acinar predominant subtype, (c) papillary predominant subtype, and (d) solid predominant subtype. The significance of differences between survival curves was assessed by the log-rank test.

Fig. 6

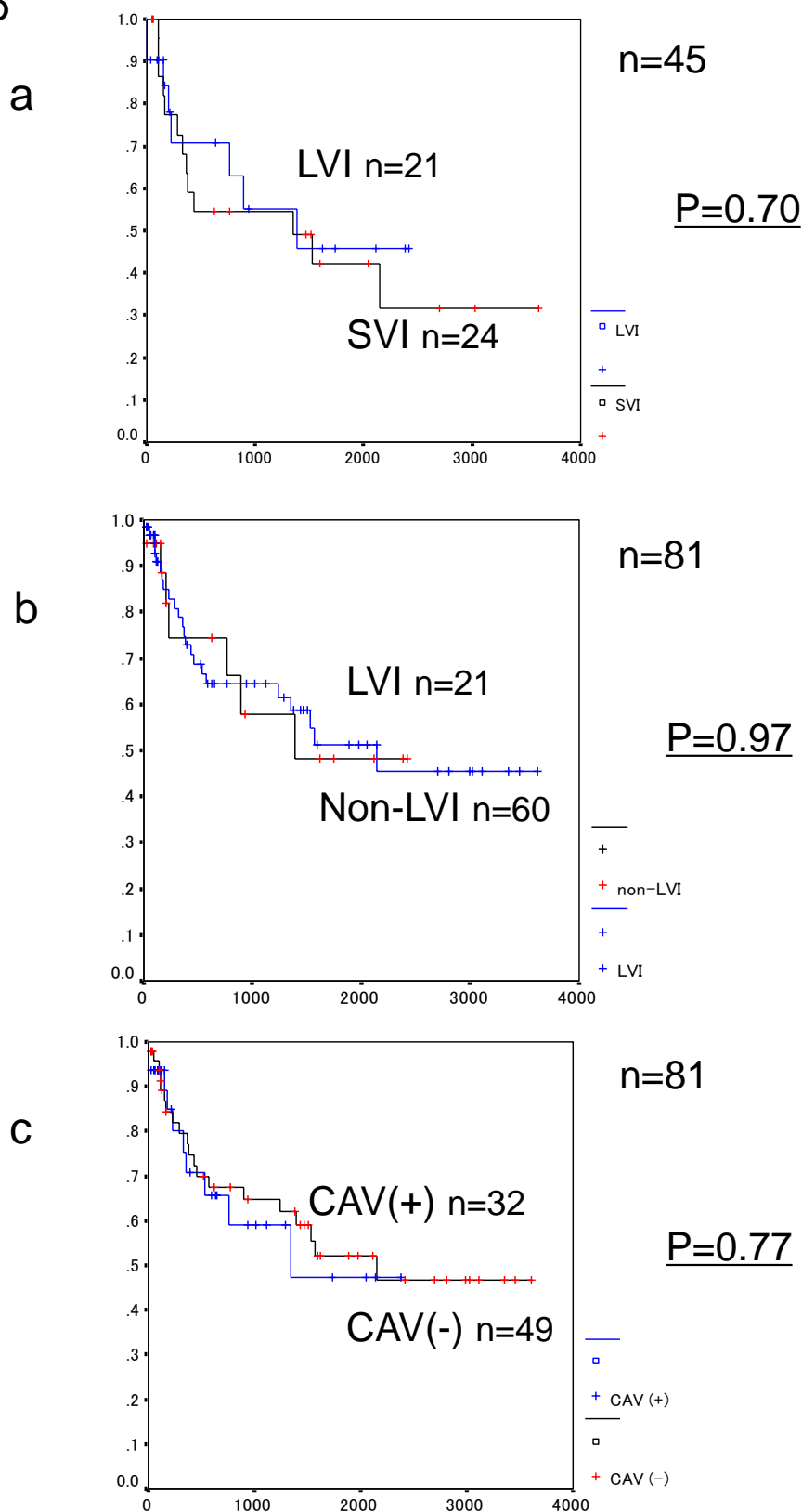


Fig. 6 Disease-free survival curves for (a) patients with small vascular invasion(SVI) and large vascular invasion(LVI) with vascular invasion(45 cases), (b) patients with LVI and non-LVI, (c) patients with and without cavity formation(CAV) in squamous cell carcinoma. The significance of differences between survival curves was assessed by the log-rank test.

Fig. 7

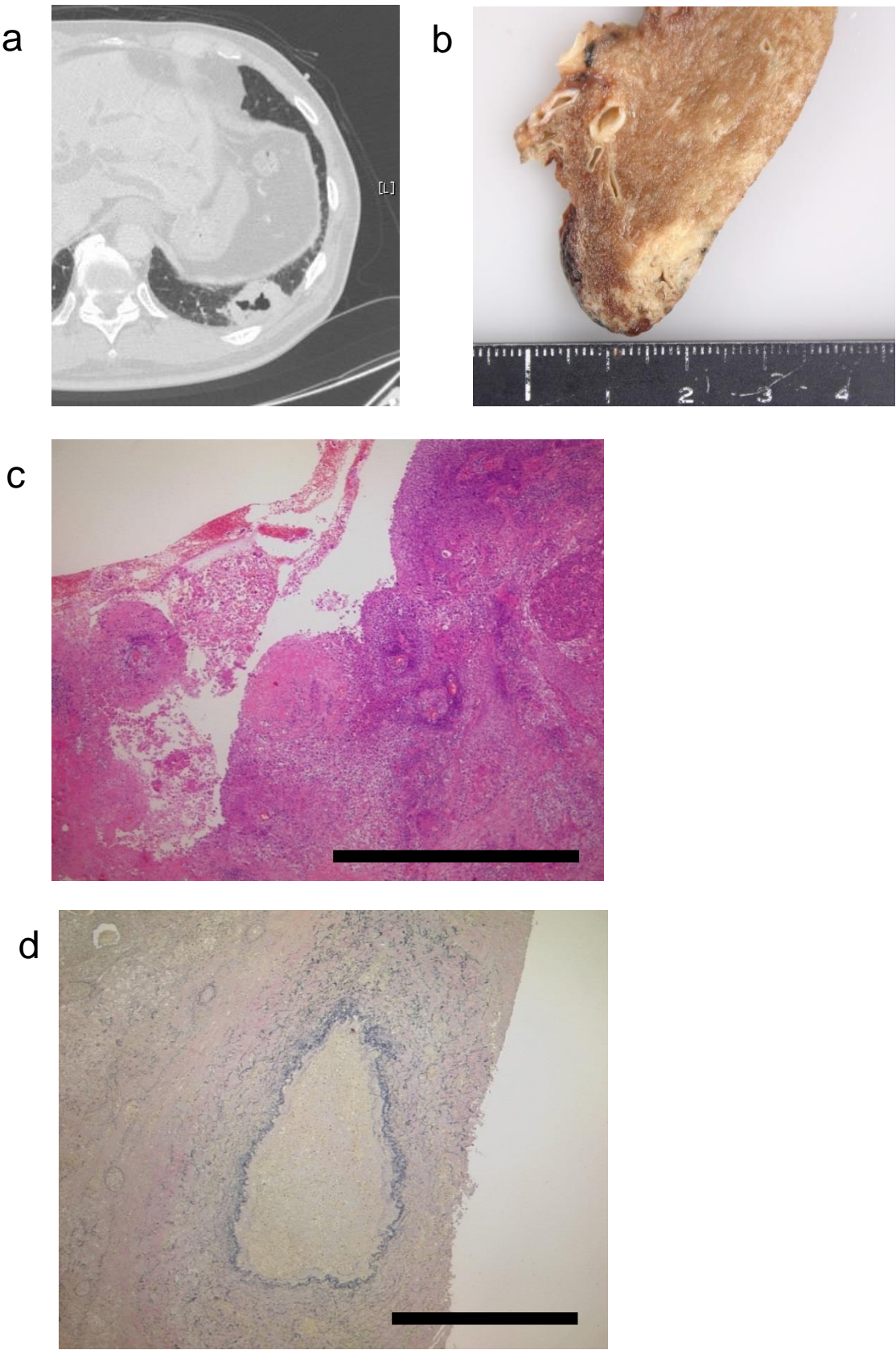


Fig. 7 A representative case of squamous cell carcinoma showing large vascular invasion (LVI). Case 1. (a) Chest computed tomography, (b) cut surface of the tumor, (c) microscopic findings in the cavity wall (H and E staining, x4), and (d) LVI ($\geq 1000\mu\text{m}$ in diameter) found in this tumor (EVG staining, x2.5). Each black bar is $1000\mu\text{m}$.

Fig. 8

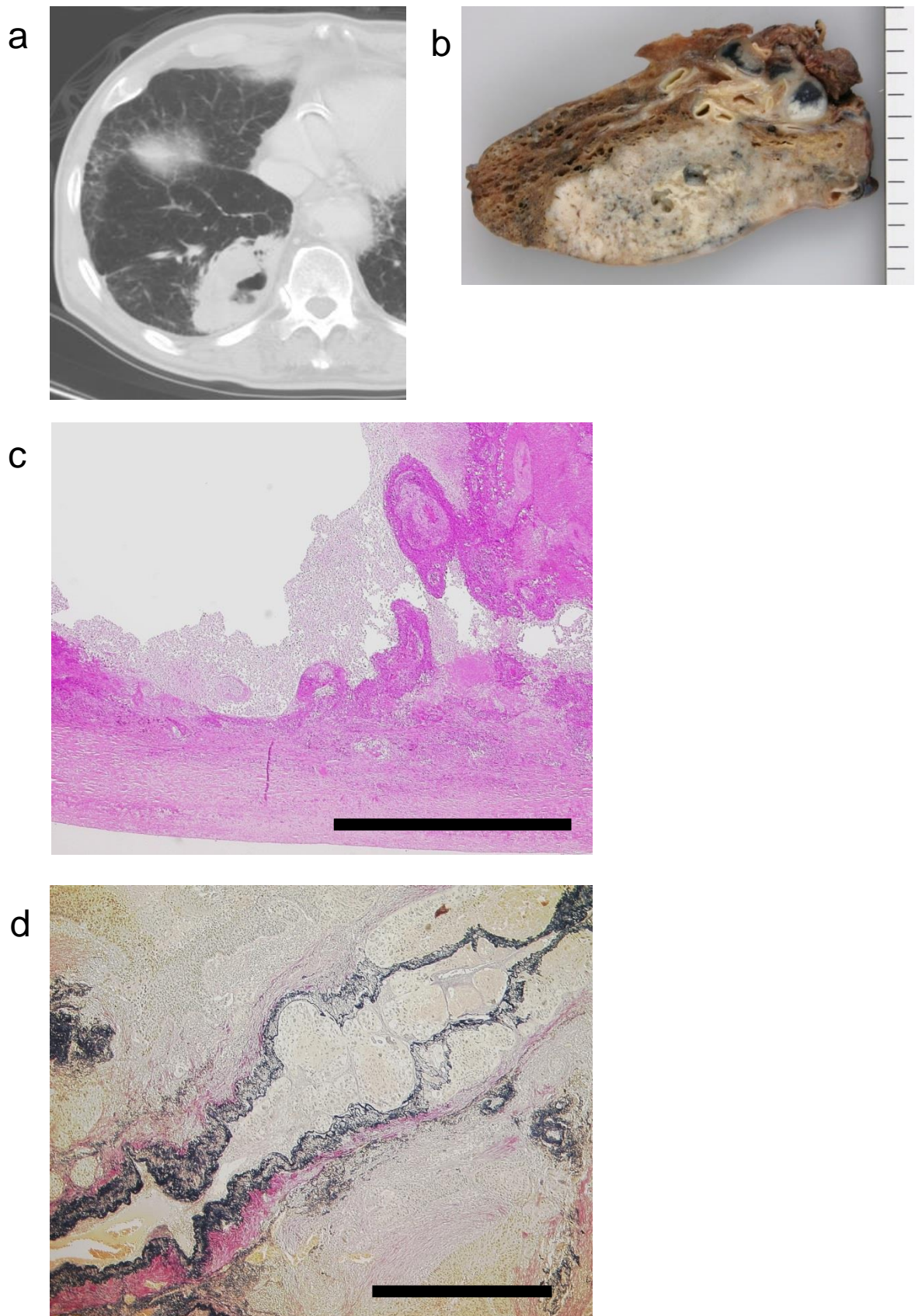
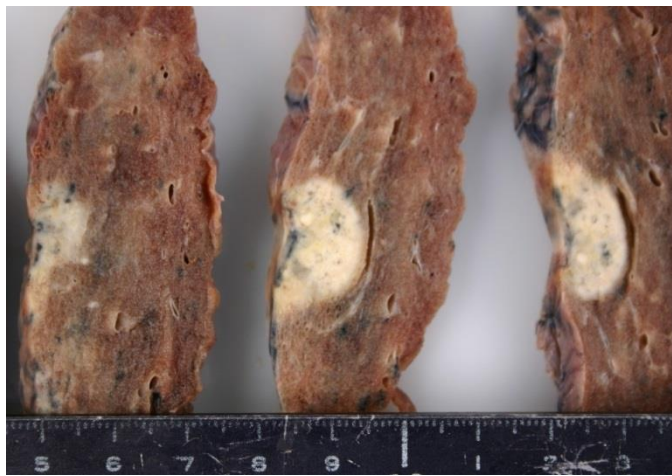


Fig. 8 Case 2. (a) Chest computed tomography, (b) cut surface of the tumor, (c) microscopic findings in the cavity wall (H and E staining, x4), and (d) LVI ($\geq 1000\mu\text{m}$ in diameter) found in this tumor (EVG staining, x2.5). Each black bar is 1000 μm .

Fig. 9 a



b



c

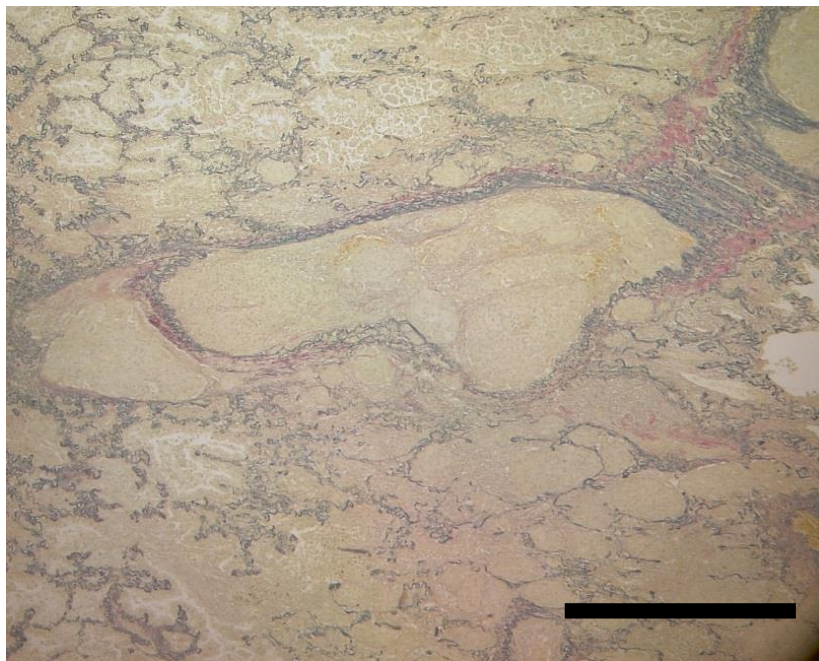


Fig. 9 Case 3 without cavity formation in invasive adenocarcinoma with LVI. (a) Chest computed tomography, (b) cut surface of the tumor, and (c) invasion of a large vessel ($\geq 1000\mu\text{m}$ in diameter) found in this tumor (EVG staining, x2.5). black bar is $1000\mu\text{m}$.

Fig. 10

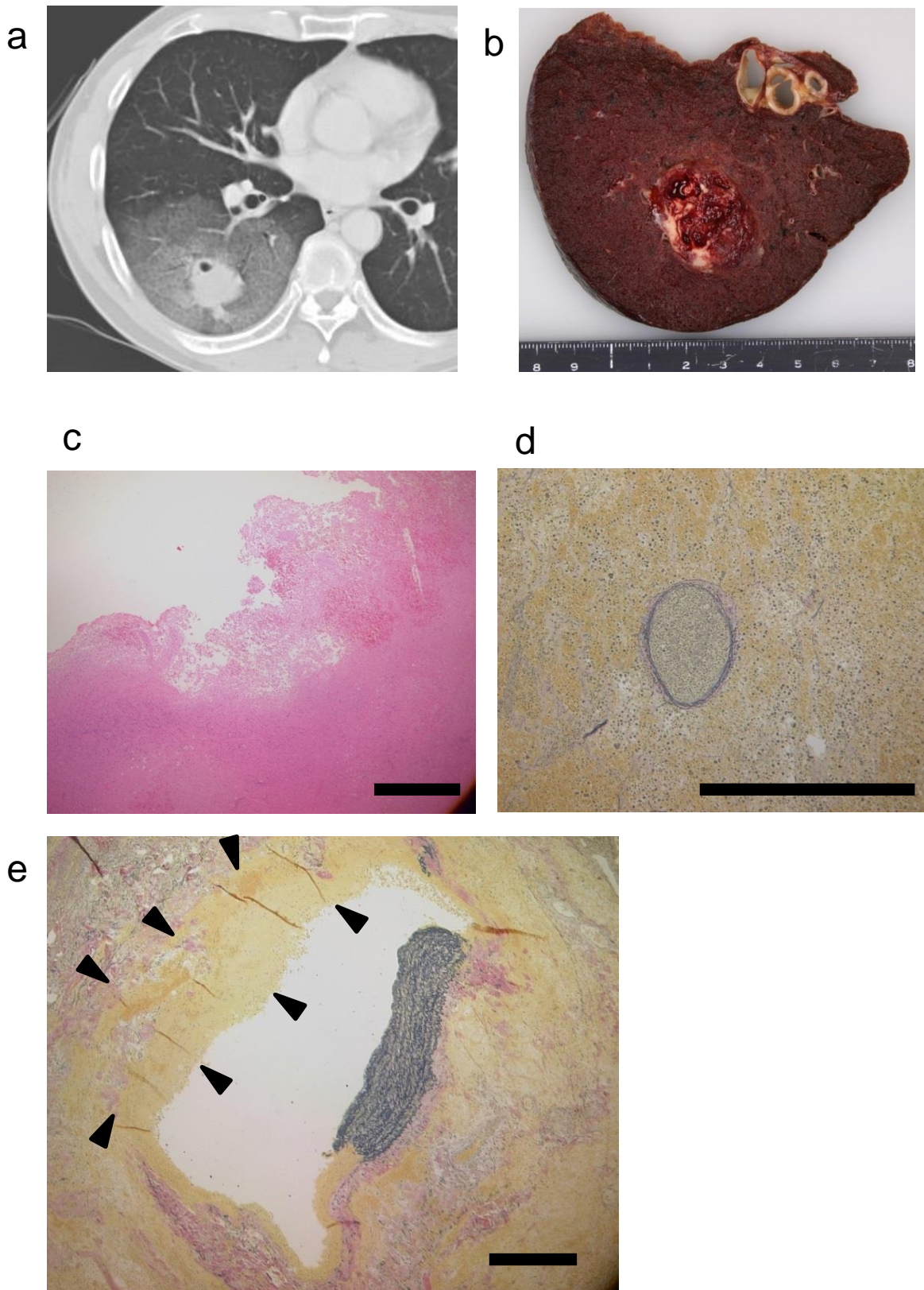


Fig. 10 Case 4 with cavity formation in invasive adenocarcinoma without LVI. (a) Chest computed tomography, (b) cut surface of the tumor, (c) microscopic findings in the cavity wall (H and E staining, x4), (d) small VI ($<1000\mu\text{m}$ in diameter) found in this tumor (EVG staining, x10), and (e) presence of arterial thrombus. Each black bar is $500\mu\text{m}$.

Fig. 11

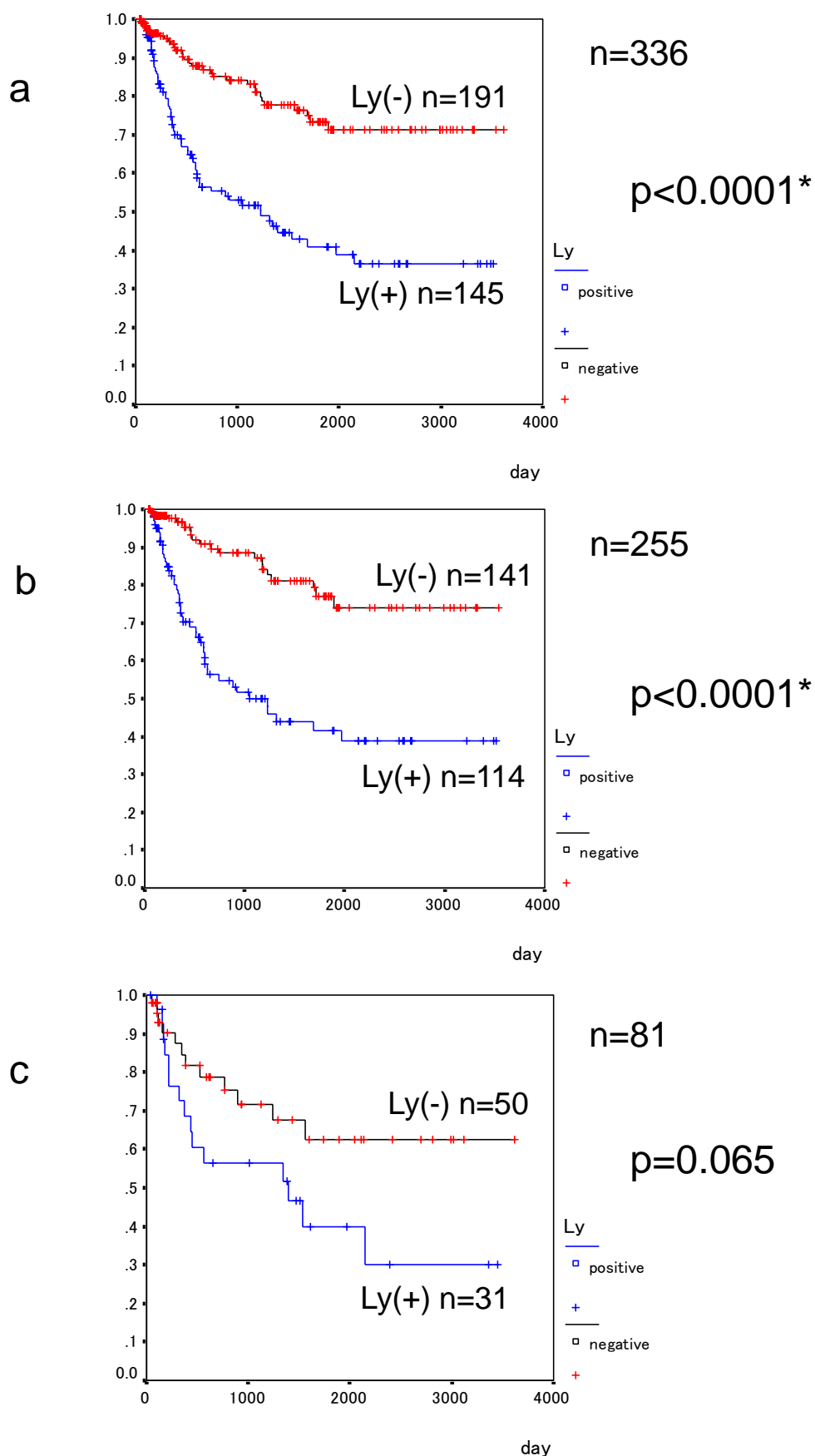


Fig. 11 Disease-free survival curves for patients with and without lymphatic permeation. (a) Total cases (336 cases), (b) adenocarcinoma (255 cases), and (c) squamous cell carcinoma (81 cases). The significance of differences between survival curves was assessed by the log-rank test.

Fig. 12

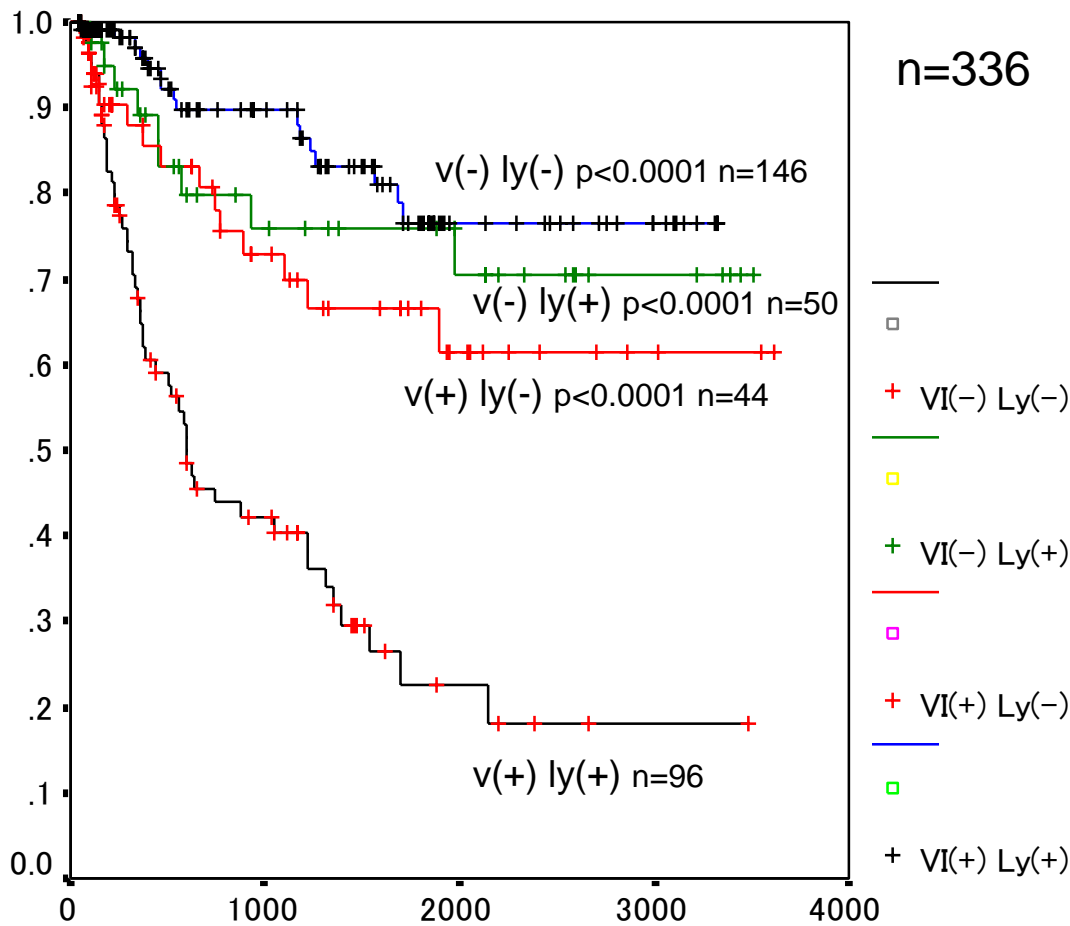


Fig. 12 Disease-free survival curves for patients by each combination of vascular invasion(v) and lymphatic permeation(ly). For v(+) ly(+), v(+) ly(-) ($p < 0.0001$), v(-) ly(+) ($p < 0.0001$), v(-) ly(-) ($p < 0.0001$) had a good prognosis. The significance of differences between survival curves was assessed by the log-rank test.

Fig. 13

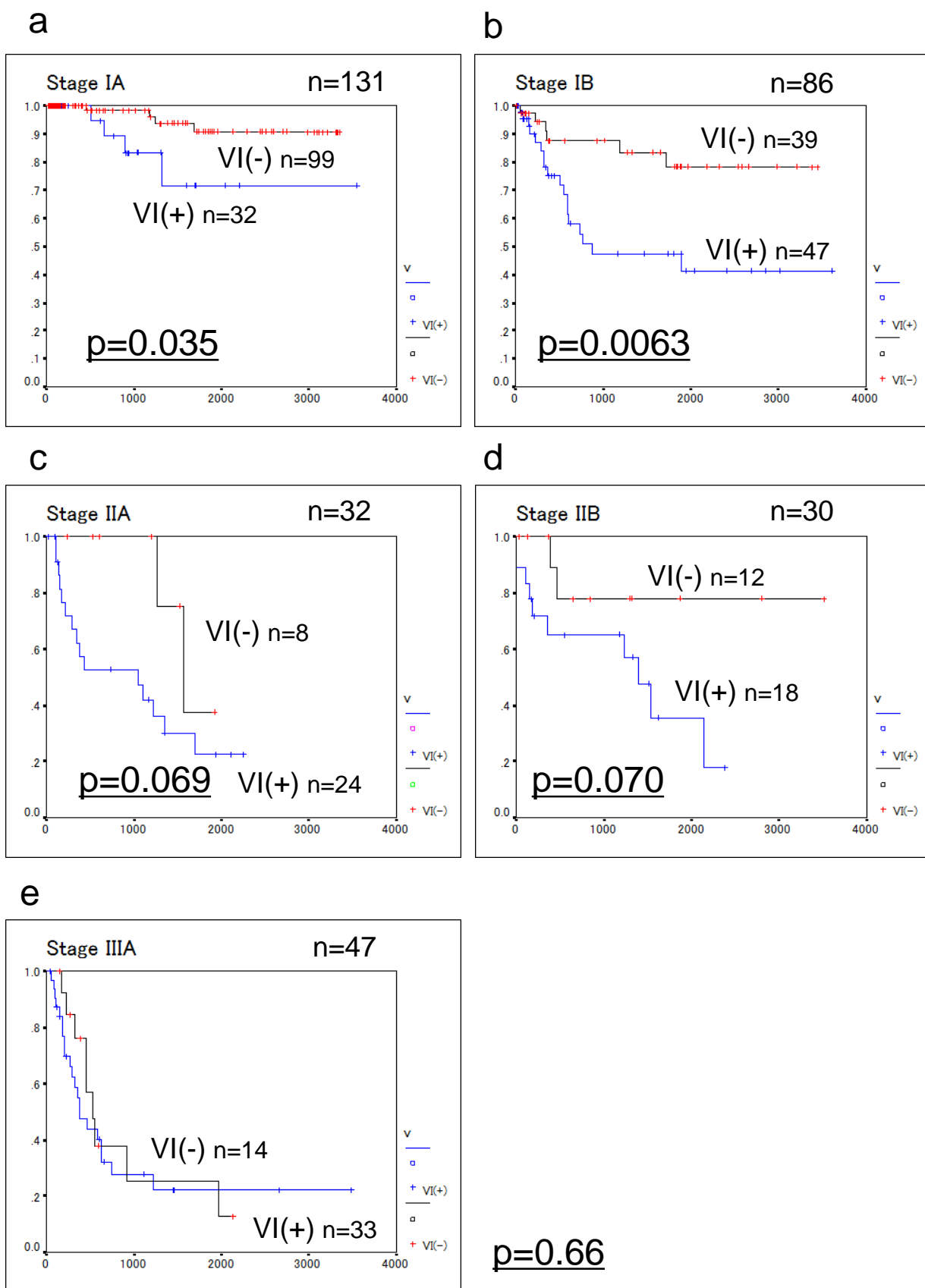


Fig.13 Differences between the survival curves for VI-positive and -negative cases are shown for pathological stage (a) IA, (b) IB, (c) IIA, (d) IIB and (e) IIIA. The significance of differences between survival curves was assessed by the log-rank test.

Table 1. Clinicopathological characteristics of all patients (n=336) 対象症例の臨床病理学的特徴(全336例)

	All cases n=336	Ad n=255	Sq n=81
Age	69.0±9.9	67.6±10.3	73.4±7.0
Sex (male / female)	225 / 111	153 / 102	72 / 9
Tumor Size (Av.±S.D.)	28.0±14.1	26.0±12.6	34.1±16.6
Primary Site (left / right)	146 / 190	102 / 153	44 / 37
Surgical Procedure (par / seg / lob / pn)	30 / 30 / 274 / 2	23 / 23 / 207 / 2	7 / 7 / 67 / 0
Pathological stage (IA / IB / IIA / IIB / IIIA / IIIB / IV)	131 / 86 / 32 / 30 / 47 / 2 / 8	106 / 60 / 25 / 16 / 39 / 1 / 8	25 / 26 / 7 / 14 / 8 / 1 / 0
Pathological T (1a / 1b / 2a / 2b / 3 / 4)	87 / 55 / 132 / 14 / 46 / 2	75 / 40 / 98 / 9 / 31 / 2	12 / 15 / 34 / 5 / 15 / 0
Pathological N (0 / 1 / 2 / 3)	254 / 37 / 44 / 1	189 / 29 / 37 / 0	65 / 8 / 7 / 1
Presence of distant metastasis (%)	16 (4.8%)	10 (3.9%)	6 (7.4%)
Pleural invasion (0 / 1 / 2 / 3)	211 / 75 / 24 / 26	164 / 57 / 20 / 14	47 / 18 / 4 / 12
Presence of vascular invasion (%)	160 (47.6%)	115 (45.1%)	45 (55.6%)
Presence of lymphatic permeation (%)	145 (43.2%)	114 (44.7%)	31 (38.3%)
Recurrence of cancer (%)	87 (25.9%)	67 (26.3%)	20 (24.6%)
Alive	32	24	8
Surgical margin	1 (3.1%)	1 (4.2%)	
Intra thoracic	8 (25.0%)	6 (25.0%)	2 (25.0%)
Pulmonary metastasis	7 (21.9%)	4 (16.7%)	3 (37.5%)
Distant metastasis	9 (31.3%)	8 (33.3%)	1 (12.5%)
Unknown	7	5	2
VI positive	24 (75.0%)	18 (75.0%)	6 (75.0%)
Death	55	43	12
Intra thoracic	37 (67.3%)	30 (69.8%)	7 (58.3%)
Distant metastasis	18 (32.7%)	13 (30.2%)	5 (41.7%)
VI positive	40 (72.7%)	32 (74.4%)	8 (66.7%)
Cause of death	82 (24.4%)	59 (23.1%)	23 (28.4%)
Lung cancer	53	43	10
Other	27	16	11
Unknown	2	0	2

par, partial resection; seg, segmentectomy; lob, lobectomy; pn, pneumonectomy;

Ad, adenocarcinoma; Sq, squamous cell carcinoma

The italics letter showed a breakdown.

Table 2. 肺腺癌の新分類 (IASLC/ATS/ERS, 2011)

前浸潤性病変	Preinvasive lesion
異型腺腫様過形成	AAH (atypical adenomatous hyperplasia)
上皮内腺癌 (3cm以下)	AIS (adenocarcinoma in situ)
微少浸潤癌 (3cm以下、浸潤部が5mm以下)	Minimally invasive adenocarcinoma (MIA)
浸潤癌	Invasive adenocarcinoma
置換型優位 (浸潤部が5mm以上)	Lepidic predominant
腺房型優位	Acinar predominant
乳頭型優位	Papillary predominant
微小乳頭型優位	Micropapillary predominant
充実型優位	Solid predominant
その他浸潤癌	
浸潤性粘液産生性腺癌	Invasive mucinous adenocarcinoma
他	

Table 3. Univariate analysis between VI negative and VI positive in all 336cases 全症例単変量解析

	VI negative n=176	VI positive n=160	p
Age (Av.±S.D.)	69.0±9.7	69.7±9.9	0.18
Tumor Size (Av.±S.D.)	24.9±12.6	31.4±14.9	0.0001*
Pathological stage (IA / IB / IIA / IIB / IIIA / IIIB / IV)	99 / 39 / 8 / 12 / 14 / 2 / 2	31 / 47 / 24 / 18 / 33 / 0 / 6	0.0001*
Pathological T (1a / 1b / 2a / 2b / 3 / 4)	64 / 39 / 48 / 5 / 18 / 1	22 / 16 / 84 / 9 / 28 / 1	0.0001*
Pathological N (0 / 1 / 2 / 3)	152 / 9 / 14 / 1	102 / 28 / 30 / 0	0.0001*
Presence of distant metastasis (%)	4 (2.3%)	12 (7.5%)	0.022*
Pleural invasion (0 / 1 / 2 / 3)	142 / 19 / 9 / 6	69 / 56 / 15 / 20	0.0001*
Presence of lymphatic permeation (%)	42 (23.9%)	103 (64.4%)	0.0001*
CEA (Av.±S.D.) ng/ml	6.3±17.2	18.0±88.0	0.0001*
SLX (Av.±S.D.) ng/ml	24.5±20.1	26.2±14.5	0.062
SCC (Av.±S.D.) ng/ml	1.2±1.0	2.7±11.2	0.0001*
CYFRA (Av.±S.D.) ng/ml	1.7±1.9	3.3±10.2	0.001*
NSE (Av.±S.D.) ng/ml	8.7±3.7	8.9±5.6	0.92
ProGRP (Av.±S.D.) ng/ml	23.3±4.8	26.2±17.1	0.25

VI, vascular invasion

Table 4. Multivariate prognostic analysis for cancer free survival 全症例多変量解析

Variable	Hazard ratio	(95% CI)	p value
Histological subtype (sq vs ad)	0.68	(0.35-1.30)	0.25
Tumor size (30mm< vs 30mm>=)	1.1	(0.64-1.90)	0.72
Pathological T (1 vs 2>=)	1.26	(0.90-1.78)	0.18
Pathological N (negative vs positive)	1.98*	(1.11-3.51)	0.020*
Pathological stage (I vs II>=)	1.02	(0.64-1.60)	0.95
Vascular invasion (negative vs positive)	1.83*	(1.07-3.14)	0.028*
Lymphatic permeation(negative vs positive)	1.37	(0.77-2.44)	0.28
Pleural invasion (0 vs 1>=)	1.00	(0.76-1.32)	0.99
CEA (9ng/ml< vs 9ng/ml>=)	1.23	(0.70-2.16)	0.47
SCC (1.7ng/ml< vs 1.7ng/ml>=)	1.25	(0.70-2.24)	0.46
CYFRA (3.0ng/ml< vs 3.0ng/ml>=)	1.09	(0.56-2.13)	0.80
Post operative adjuvant chemotherapy	1.78	(0.84-3.77)	0.13
solid predominant invasive adenocarcinoma or not	2.33*	(1.24-4.41)	0.0090*

Sq, squamous cell carcinoma; Ad, adenocarcinoma; CI, confidence interval

Table 5. Univariate analysis between VI negative and VI positive in 255 cases of invasive adenocarcinoma
腺癌単変量解析

	VI negative n=140	VI positive n=115	p
Age (Av.±S.D.)	68.4±10.1	68.0±10.3	0.74
Tumor Size (Av.±S.D.)	23.2±11.0	28.8±10.4	0.0001*
Pathological stage (IA / IB / IIA / IIB / IIIA / IIIB / IV)	83 / 30 / 7 / 8 / 9 / 1 / 2	23 / 30 / 18 / 8 / 30 / 0 / 6	0.0001*
Pathological T (1a / 1b / 2a / 2b / 3 / 4)	58 / 29 / 36 / 3 / 13 / 1	17 / 11 / 62 / 6 / 18 / 1	0.0001*
Pathological N (0 / 1 / 2 / 3)	122 / 9 / 9 / 0	67 / 20 / 28 / 0	0.0001*
Presence of distant metastasis (%)	2 (1.4%)	8 (7.0%)	0.024*
Pleural invasion (0 / 1 / 2 / 3)	114 / 15 / 8 / 3	50 / 42 / 12 / 11	0.0001*
Presence of lymphatic permeation (%)	31 (22.1%)	81 (70.4%)	0.0001*
Predominant (lepi / aci / sol / pap / micropap)	89 / 16 / 14 / 20 / 1	25 / 27 / 38 / 24 / 1	0.0001*
CEA (Av.±S.D.)	6.4±19.0	22.0±104	0.0001*
SLX (Av.±S.D.)	25.0±21.9	26.9±16.4	0.076
SCC (Av.±S.D.)	1.0±0.54	1.2±0.30	0.001*
CYFRA (Av.±S.D.)	1.3±0.75	1.9±1.9	0.018*
NSE (Av.±S.D.)	8.5±3.6	8.2±2.9	0.98
ProGRP (Av.±S.D.)	23.0±9.5	24.8±10.5	0.26

VI, vascular invasion; lepi, lepidic; aci, acinar; sol, solid; pap, papillary; micropap, micropapillary

Table 6. Multivariate prognostic analysis of invasive adenocarcinoma 腺癌多变量解析

Variable	Hazard ratio	(95% CI)	p value
Pathological T (1 vs 2 \geq)	1.14	(0.79-1.14)	0.48
Pathological N (negative vs positive)	1.12	(0.62-1.12)	0.71
Pathological stage (I vs II \geq)	1.53	(0.98-1.53)	0.062
solid predominant invasive adenocarcinoma or not	2.13*	(1.12-4.06)	0.021*
Vascular invasion (negative vs positive)	2.40*	(1.17-4.93)	0.017*
Lymphatic permeation(negative vs positive)	1.21	(0.58-2.54)	0.61
Pleural invasion (0 vs 1 \geq)	1.00	(0.72-1.40)	0.99
CEA (9ng/ml< vs 9ng/ml \geq)	1.28	(0.66-2.51)	0.47
SCC (1.7ng/ml< vs 1.7ng/ml \geq)	1.67	(0.79-3.55)	0.18
CYFRA (3.0ng/ml< vs 3.0ng/ml \geq)	1.28	(0.55-3.02)	0.57

CI, confidence interval

Table 7. Univariate analysis between VI negative and VI positive in 81 cases of squamous cell carcinoma 扁平上皮癌単変量解析

	VI negative n=36	VI positive n=45	p
Age (Av.±S.D.)	71.8±6.7	74.6±7.1	0.089
Tumor Size (Av.±S.D.)	29.4±13.3	37.8±18.1	0.040*
Pathological stage (IA / IB / IIA / IIB / IIIA / IIIB)	16 / 9 / 1 / 4 / 5 / 1	9 / 17 / 6 / 10 / 3 / 0	0.048*
Pathological T (1a / 1b / 2a / 2b / 3)	7 / 10 / 12 / 2 / 5	5 / 5 / 22 / 3 / 10	0.21
Pathological N (0 / 1 / 2 / 3)	30 / 0 / 5 / 1	35 / 8 / 2 / 0	0.020*
Presence of distant metastasis (%)	2 (5.6%)	4 (8.9%)	0.57
Pleural invasion (0 / 1 / 2 / 3)	28 / 4 / 1 / 3	19 / 14 / 3 / 9	0.015*
Presence of lymphatic permeation (%)	11 (30.6%)	20 (44.4%)	0.20

VI: vascular invasion

Table 8. Multivariate prognostic analysis of squamous cell carcinoma
扁平上皮癌多變量解析

Variable	Hazard ratio	(95% CI)	p value
Pathological T (1 vs 2 \geq)	1.26	(0.16-9.82)	0.82
Tumor size (30mm< vs 30mm \geq)	1.72	(0.36-8.33)	0.50
Pathological N (negative vs positive)	9.09*	(1.24-66.3)	0.03*
Pathological stage (I vs II \geq)	0.47	(0.07-3.00)	0.42
Vascular invasion (negative vs positive)	1.09	(0.28-4.21)	0.90
Lymphatic permeation(negative vs positive)	3.99*	(1.06-15.0)	0.04*
Pleural invasion (0 vs 1 \geq)	1.63	(0.33-7.97)	0.55
CEA (9ng/ml< vs 9ng/ml \geq)	2.95	(0.46-18.9)	0.25
SCC (1.7ng/ml< vs 1.7ng/ml \geq)	1.13	(0.31-4.14)	0.86
CYFRA (3.0ng/ml< vs 3.0ng/ml \geq)	0.97	(0.25-3.78)	0.97

CI, confidence interval

Table 9. Univariate analysis between squamous cell carcinoma cases with SVI and those with LVI (n=45) 浸潤血管径に基づく解析

	SVI group n=24	LVI group n=21	p
Age (Av.±S.D.)	74.0±8.0	75.0±6.0	0.53
Tumor Size (Av.±S.D.)	34.3±16.0	41.7±20.0	0.24
Pathological stage (IA / IB / IIA / IIB / IIIA)	5 / 9 / 5 / 4 / 1	4 / 8 / 1 / 6 / 2	0.50
Pathological T (1a / 1b / 2a / 2b / 3)	2 / 4 / 12 / 1 / 5	3 / 1 / 10 / 2 / 5	0.68
Pathological N (0 / 1 / 2)	19 / 4 / 1	16 / 4 / 1	0.97
Presence of distant metastasis (%)	0 (0%)	4 (19.0%)	0.025*
Pleural invasion (0 / 1 / 2 / 3)	11 / 8 / 1 / 4	8 / 6 / 2 / 5	0.80
Presence of lymphatic permeation (%)	11 (45.8%)	9 (42.9%)	0.84
Presence of cavity formation (%)	4 (16.7%)	14 (66.7%)	0.001*

SVI, small vascular invasion; LVI, large vascular invasion

Table 10. Univariate analysis between squamous cell carcinoma cases with non-LVI and those with LVI (n=81) 浸潤血管径に基づく解析

	non-LVI group n=60	LVI group n=21	p
Age (Av.±S.D.)	72.7±7.2	75.2±6.0	0.12
Tumor Size (Av.±S.D.)	31.4±14.5	41.7±20.0	0.041*
Pathological stage (IA / IB / IIA / IIB / IIIA / III)	21 / 18 / 6 / 8 / 6 / 1	4 / 8 / 1 / 6 / 2 / 0	0.48
Pathological T (1a / 1b / 2a / 2b / 3)	8 / 14 / 25 / 3 / 10	3 / 1 / 10 / 2 / 5	0.40
Pathological N (0 / 1 / 2 / 3)	49 / 4 / 6 / 1	16 / 4 / 1 / 0	0.35
Presence of distant metastasis (%)	2 (3.3%)	4 (19.0%)	0.025*
Pleural invasion (0 / 1 / 2 / 3)	39 / 12 / 2 / 7	8 / 6 / 2 / 5	0.16
Presence of lymphatic permeation (%)	22 (36.7%)	9 (42.9%)	0.62
Presence of cavity formation (%)	18 (30.0%)	14 (66.7%)	0.003*

SVI, small vascular invasion; LVI, large vascular invasion

Table 11. Univariate analysis between cases with cavity formation and without cavity formation (n=81) 空洞形成に着目した解析

	Cavity formation		p
	negative n=49	positive n=32	
Tumor Size (Av.±S.D.)	31.0±15.6	38.4±17.4	0.053
Pathological stage (IA / IB / IIA / IIB / IIIA / IIIB)	18 / 13 / 6 / 9 / 2 / 1	7 / 13 / 1 / 5 / 6 / 0	0.094
Pathological T (1a / 1b / 2a / 2b / 3)	8 / 13 / 16 / 2 / 11	4 / 3 / 18 / 3 / 4	0.13
Pathological N (0 / 1 / 2 / 3)	42 / 4 / 2 / 1	23 / 4 / 5 / 0	0.22
Presence of distant metastasis (%)	3 (6.1%)	3 (9.4%)	0.59
Pleural invasion (0 / 1 / 2 / 3)	28 / 10 / 3 / 8	19 / 8 / 1 / 4	0.86
Presence of lymphatic permeation (%)	21 (42.9%)	10 (31.3%)	0.29
Presence of small VI	27 (55.1%)	18 (56.3%)	0.92
Presence of Large VI	7 (14.3%)	14 (43.8%)	0.0030*

VI, vascular invasion