GH 産生下垂体腺腫のホルモン産生機能と形態

—酵素抗体法による定量的検討—

筑波メディカルセンター病院脳神経外科*,

筑波大学臨床医学系脳神経外科**

(指導:牧 豊教授)

塚 田 篤 郎*, 伴 野 悠 士**

Functional and Morphological Analysis on GH Producing Adenomas with Quantitative Immunohistochemical Method

Atsuro TSUKADA* and Yuji TOMONO**

Department of Neurosurgery, Tsukuba Medical Center Hospital* and

Department of Neurosurgery, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba**

We studied functioning cells of GH-producing pituitary adenoma quantitatively by the immunohistochemical method using anti GH antibody and compared the result with clinical hormonal data by discussing a clinical significance of the immunohistochemical study of pituitary adenoma. Fifteen acromegalics with pituitary adenoma, who underwent surgical operation followed by immunohistochemical study, were subjected. Volume of the adenoma was calculated on the basis of thin coronal cut CT scanning. The specimen was stained after PAP method. The quantitative analysis was done by investigating the ratio of anti GH antibody positive area in 30 fields (SAR). Using the value obtained, stained volume (SV) was calculated by multiplying total volume by SAR. The SV was regarded as total volume of GH positive cells. These values were compared to the preoperative serum GH levels. The results were as follows: (1) Immunohistochemically, the adenomas were classified into two types, the sporadic type and the diffuse type, by incidence of GH positive cells. SAR ranged from 0.2% to 52.4%, and means of the types were 3.0% and 24.8%, respectively. (2) All the eosinophilic adenomas demonstrated to be the diffuse type and the mean SAR was 23.7%. On the contrary, 75% of chromophobe adenomas were the sporadic type and the mean SAR was 4.9%. (3) There was no significant correlation between the serum GH level and the volume of the adenoma. There was an especially high correlation between the serum GH level and SV with a correlation constant of 0.971. (4) In fibrous adenomas the serum GH level was extremely low for their total volume.

I 諸 言

従来, 過剰な成長ホルモン (GH) による acromegaly ないしは gigantism は好酸性下垂体腺腫に

よるものとされていたが, また一方 GH 産生下垂体腺腫の中には嫌色素性腺腫も存在することが知られ, ²¹⁾色素親和性に基づく古典的な腺腫分類と機能的分類に不一致が見られるに至った。1966 年, Nakane ら ¹⁵⁾によりホルモン抗体を用いた酵素抗体法が考案されて以来, 下垂体腺腫の機能組織学的研究は飛躍的に進歩した。この免疫組織化学的手法を用い, すでに多数の研究者により正常下垂体や種々の下垂体腺腫の機能と形態を結び付けた研究が成されており ⁵⁾¹⁶⁾²⁶⁾¹⁹⁾³⁴⁾また電子顕微鏡によるそれらの超微形態の検討 ⁶⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹⁴⁾や電顕酵素抗体法 ¹⁷⁾¹⁸⁾によりさらに微細かつ詳細に検討されてきている。しかしながら GH 産生腺腫において, 免疫組織化学的に陽性に認められた GH 顆粒あるいは超微形態上の顆粒と腺腫の内分泌学的活性との関連についてはまだ一定した見解が得られていない。これまでの報告では, 腺腫細胞のすべてには酵素抗体法によって GH 陽性に染色される顆粒, すなわち GH 顆粒が含まれていないとされている ²⁾¹³⁾²²⁾²⁶⁾。本研究では, (1) 活性細胞は GH 陽性細胞なのか, あるいは活発にホルモンを分泌しているため胞体内に GH 顆粒を含まない細胞なのか, (2) いかなる種類の腺腫が GH を多く産生しているのかなどの疑問を明らかにすることを目的とし, 方法として (1) 術前の内分泌学的データ (2) CT 所見 (3) 組織学的検索として (a) 酵素抗体法による免疫染色による腺腫の機能形態学的所見 (b) hema-toxylin-eosin (HE) 染色を用い, これらを定量化して比較検討した。

II 対象および方法

1) 対象

1979年12月より1984年8月まで筑波大学附属病院で手術を施行した16例の acromegaly を呈した GH 産生下垂体腺腫症例のうち, 術前の神経放射線学的, 内分泌学的検索が十分になされた症例15例である (Table 1)。性別は男性8例, 女性7例で, 年齢は30歳から58歳まで, 平均47.3歳であった。

Table 1 Clinical features and laboratory findings of 15 acromegalic cases

Case No.	Sex	Age	Serum GH (ng/ml)	Classification	TRH LH-RH Test
1.	F	30	17	III-O	T
2.	M	52	17	III-O	T
3.	M	45	30	II-A	N
4.	F	53	31	II-C	N
5.	M	51	32	II-O	T
6.	M	45	34	II-B	T
7.	M	43	43	III-O	L
8.	M	44	44	II-O	B
9.	M	58	88	II-O	T
10.	F	56	116	II-B	T
11.	F	52	166	III-A	B
12.	F	54	194	III-C	T
13.	F	50	222	II-B	B
14.	M	31	299	IV-B	B
15.	F	45	367	II-B	T

Classification: Wilson's classification of pituitary adenoma, T: TRH responder,

L: LH-RH responder, B: TRH & LH-RH responder, N: non responder

2) 検討項目と方法

(1) 患者の血清 GH 値: 血清 GH 値は HGH-I (栄研) を用いて radioimmunoassay (RIA) により測定した。これらは早朝基礎値として 5 回以上測定したものの平均値であり, 最低 17ng/ml から最高 367ng/ml で, 平均は 109.3ng/ml であった。

検討方法は以下のごとくである。

(2) 腺腫体積の計測

術前の computed tomography (CT) は GE CT/T-8800 を用い, 1.5mm ないし 5 mm のスライス厚で前額断により行った。Wilson の分類³⁰⁾による各腺腫の進展度は Table 1 のごとくであった。この造影剤静注後の CT から digitizer 入力による computerized volumetry により腺腫の体積を算出した。(volume of adenoma: VA; mm³)

(3) 組織標本の作成

下垂体腺腫の手術標本は 10% フォルマリンに固定後パラフィン包埋を行った上, 4 μm の連続切片を作成した。これに対して HE 染色および, 以下に述べる GH に対する免疫染色を施した。免疫染色は, 連続切片を脱パラフィン後, 酵素非標識法である Sternberg の peroxidase-antiperoxidase method (PAP 法)²³⁾を抗 hGH 抗体を用いた DAKO PAP Kit により施行した。発色剤は diaminobenzidine (DAB) を用いた。さらに hematoxylin による核染色を施行し, 免疫染色標本は核染, 非核染の 2 種類を作成した。

(4) 組織標本の定量的計測

光学顕微鏡レベルでの画像解析装置 TAS-plus (西独 Leitz 社製) により核染のない免疫染色標本および HE 染色標本につき以下の項目を無作為の 30 視野において計測し, その平均値を算出した。

(i) RSAR (rough stained area ratio; %) : 免疫染色標本の GH 陽性部分の 1 視野に占める面積比の平均値。

(ii) NR (nuclear ratio; %) : HE 標本中の核の 1 視野に占める面積比の平均値。

(5) 検討に用いたパラメーター

(i) SAR (stained area ratio; %) : RSAR を核の占める面積比で補正したもので, 組織中で GH 陽性細胞の占める面積比を表す。すなわち,

$$SAR = RSAR \times \frac{100}{100 - NR}$$

で表わせる。

(ii) SV (stained volume; mm³) : SAR に腺腫体積 VA を乗じたもので腺腫中の GH 陽性細胞の占める体積を示す。

$SV = SAR/100 \times VA$ で表せる。

これらのパラメーターにより GH 産生下垂体腺腫における, GH 陽性細胞の占める比率あるいわ体積と血清 GH 値との関係につき検討を加えた。

III 結 果

各組織・画像上の定性的および定量的結果を Table 2 に示した。

1) HE 染色による組織型分類

Eosinophilic adenoma が 6 例 (40%), chromophobe adenoma が 4 例 (27%), 明らかに両者が混在している mixed adenoma が 5 例 (33%) であった。

2) GH に対する免疫染色による組織型分類

(1) GH 陽性細胞の定性的判定:すでに指摘されているように²⁶⁾GH 陽性細胞が高頻度で瀰漫性に染色される diffuse type (Fig. 1) と頻度が低く粗に染色される sporadic type (Fig. 2) に大別された。GH 産生細胞の胞体は類円形または多角形で細胞質に富み, GH 陽性顆粒は全例で細胞質内に均一に認められた。diffuse type と sporadic type の GH 陽性細胞の性状には差異は認められず, また同一標本内ではほぼ同様の GH 陽性細胞の分布を示した, これらを定性的に判断すると, diffuse type は10例, sporadic type は5例であった。

(2) GH 陽性細胞の定量的判定:画像解析により得られた免疫染色された細胞の占める割合を示す SAR は最少0.2%の低い値から, 最大52.4%までと試料により大きな差が認められた。それぞれの平均値±標準偏差値は diffuse type が $24.8 \pm 13.0\%$, sporadic type が $3.0 \pm 2.5\%$ であり ($p < 0.001$, Cochran-Cox method), 明らかに diffuse type では SAR は高値であった。この数値を定量的判定と対比させると, 14~5%以上が diffuse type であると判断したことになる。

Table 2. Results of quantitative study

Case No.	H-E	PAP	Serum GH (ng/ml)	VA(mm ³)	SAR(%)	SV(mm ³)
1.	M	S	17	560	6.8	38
2.	E	D	17	1120	14.3	160
3.	C	S	30	4830	3.0	149
4.	C	S	31	22340	1.4	319
5.	M	S	32	3400	3.7	128
6.	C	S	34	9700	0.2	18
7.	E	D	43	2170	17.0	370
8.	E	D	44	6040	13.9	839
9.	M	D	88	2020	15.7	318
10.	M	D	116	5360	22.6	1215
11.	E	D	166	5020	34.4	1727
12.	C	D	194	11460	15.3	1764
13.	E	D	222	15030	23.7	3572
14.	E	D	299	9380	39.1	3675
15.	M	D	367	8750	52.4	4589

H-E: Hematoxylin-Eosin stain, E: eosinophilic adenoma, C: chromophobe adenoma, M: mixed adenoma, PAP: peroxidase-antiperoxidase method, S: sporadic type, D: diffuse type, VA: volume of adenoma, SAR: stained area ratio, SV: stained volume

3) HE 染色と PAP 法の関係

HE 染色による組織型と免疫染色による分類を比較すると (Fig. 3 上段), eosinophilic adenoma はすべて diffuse type であるのに対し, chromophobe adenoma では sporadic type が多かったが, 1例に diffuse type が見られた。また各病理形型の SAR を比較しても (Fig. 3 下段), eosinophilic adenoma では $23.7 \pm 10.8\%$ と高値であり, それに対して chromophobe adenoma では有意に低い値を取る ($5.0 \pm 7.0\%$) が, mixed adenoma では diffuse type が3例, sporadic type が2例で, 平均値は中間の値を示したが, 各資料間ではその値は様々で分散が大であった。

Fig. 1. Diffuse type of GH producing adenoma (Case 11). A: Eosinophilic adenoma (H-E stain, $\times 200$) B: Diffuse distribution of GH positive cells. (Immunoperoxidase stain for GH without counter stain, $\times 200$)

Fig. 2. Sporadic type of GH producing adenoma (Case 3). A: Chromophobe adenoma. (H-E stain, $\times 200$) B: Sparse distribution of GH positive cells. (Immunoperoxidase stain for GH without counter stain, $\times 200$)

Fig. 3. Relation between H-E and immunoperoxidase stain. Top: Incidence of immunohistochemical types; Bottom: Mean SAR of each type by H-E stain.

Fig. 4. Relation between serum GH level and volume of adenoma (VA), showing no significant correlation. (Arrows; fibrous adenomas)

4) 腺腫体積と血清 GH 値との関係

CT から volumetry により算出した腺腫体積, VA は最小560mm³から最大は22,340mm³まで, 平均6,759mm³であった。血清の GH 値を腺腫 1 cm³あたりに換算すると1.4から43.6ng/ml/cm³までと, 最小から最大値までの間に実に約31倍の開きがあった (Table 2)。

血清 GH 値と腺腫体積との関係は Fig. 4 に示されたように相関係数 $r = +0.295$ と有意な相関は認められなかった。すなわち GH 産生能は腺腫の大きさのみでは規制されないと考えられた。し

かしグラフ中矢印で示した2例 (Case 4, 6) は手術時腺腫は極めて硬く, 組織所見でも線維性成分が多く, 多くの部分を占めていたが (Fig. 5), これらの症例では腺腫体積に比して血清 GH 値が極めて低値であった。GH 免疫染色では SAR 0.2%, 1.4% で最も低い値を示した。これらの2例を除いた13例で血清 GH 値と腺腫体積の関係をみると, 相関係数 $r = +0.735$ と正の相関を認めており, 間質に乏しい通常の腺腫においては GH 産生能と腺腫の大きさはある程度相関するといえよう。

5) 血清 GH 値と SAR との関係

血清 GH 値と SAR との関係を見ると (Fig. 6), 相関係数 $r = +0.893$ で有意の正相関が得られた ($p < 0.01$)。この相関係数は体積, GH 値間の相関係数との間には有意差は認められなかった。

Fig. 5. Fibrous adenoma (Case 4). A: The adenoma contains remarkable fibrous component. (H-E stain, $\times 200$) B: GH positive cells are scarcely distributed.

Fig. 6. Relation between serum GH level and stained area ratio (SAR), showing significant positive correlation.

6) 血清 GH 値と SV との関係

さらに血清 GH 値と GH 陽性細胞の体積を表わすと考えられる SV を計算すると, Table 2 に示されたように最小18mm³から最大は4589mm³であったが, 例えば最大の VA (22340mm³) であった Case 4 の SV がわずか319mm³であり, 5020mm³と中等度の VA であった Case11の SV が1727mm³と高値であるなど腺腫体積とはかなりの相違が認められた。この SV と血清 GH 値との関係を見ると, Fig. 7 に見られるように, $r=+0.971$ ($p<0.001$) ときわめて高い正の相関を示した。そしてこの相関係数と GH 値と腺腫体積との相関係数との間には有意の差が認められた ($p<0.01$)。また線維性腺腫を除外した13例において検討しても, GH 値-SV 間の相関係数 $r=+0.969$ で, GH 値-VA 間の相関係数 $r=+0.735$ とは有意差を認めた ($p<0.05$)。このことから血清 GH レベル, すなわち GH 産生腺腫のホルモン分泌能はその体積よりも GH 陽性細胞の量に比例することが明らかとなった。

さらにこの事実から GH 産生腺腫の GH 分泌活性は, 胞体内に GH 顆粒を多く保持しているほど高いことが推論された。

Fig. 7. Relation between serum GH level and stained volume (SV), showing especially high correlation.

IV 考 察

1) 免疫染色からみた HE 染色上の分類の意義

酵素抗体法による GH に特異的な染色が可能となって以来, HE 染色における色素親和性による分類は臨床的にはあまり意味のないものになりつつある。近年では Eosinophilic adenoma=GH producing adenoma という定義は成り立たなくなり, かえって eosinophilic と chromophobe との混在した mixed adenoma および chromophobe adenoma の方が多いとする報告もある²¹⁾²⁶⁾³³⁾³⁴⁾。今回の対象においても eosinophilic adenoma 6 例 (40%) に対して mixed および chromophobe はそれぞれ 5 例と 4 例, 計 9 例であった。

GH に対する免疫染色の染色性を定性的に判断した分類との比較では eosinophilic adenoma は全例が diffuse type であったが, chromophobe adenoma は大多数が sporadic type であった。しかし sporadic type にも一例で diffuse に染色されたものがあり, すべてにおいてこの 2 つの分類が一致するものではなかった。しかしもちろん sporadic と diffusetype との間は連続的に移行するも

ので、境界は明確なものでなく、従ってその判定はかなり主観的なものである。これは HE 染色の判定も同様なことがいえ、特に、どこまでを mixed type とするかは難しいところであろう。GH 陽性細胞の占める比率を画像解析により定量化した値、SAR によって検討してみると、mixed adenoma では分散がかなり大きくきれいなデータではなかったものの、やはり eosinophilic と chromophobe adenoma の間には有意の差が見られた。すなわち GH 顆粒を含む細胞が多いほど eosinophilic cell を多く含むということを意味する。Eosin の GH に対する特異性は免疫染色と比較してはるかに低いにせよ、GH 産生腺腫の eosin に対する染色性の違い、すなわち eosinophilic, mixed, chromophobe 各 adenoma の判定は GH 陽性細胞の量的な差によるものであろう。

2) GH 陽性細胞の定量化の意義

(1) 腺腫体積と血清 GH 値との関連について

プロラクチン (PRL) 産生下垂体腺腫においては、のう胞性変化などが見られない限り血清 PRL 値と腺腫の大きさには正の相関が認められるとされている²⁶⁾²⁹⁾。しかし GH 産生腺腫においては、初期には血清 GH 値と腺腫の大きさが比例するという報告も見られたが³¹⁾、最近では両者には相関がないとする報告が多い²³⁾²⁶⁾³²⁾。今回の検討では線維性腺腫を含めた場合にはこれらの二者の間には相関が見られなかった。我々のこれまでの PRL 腺腫の免疫組織化学的検討からも、PRL 腺腫の大多数はほとんど全ての細胞に、核に隣接して Nebenkern 状に染色される PRL 顆粒を有しているのが特徴である²⁶⁾²⁷⁾。これに対して GH 腺腫の場合には、個々の腺腫により SAR が様々であり、今回の定量的検討でも少ないものは 0.2% の低値から、多いものは 52.4% までの差が見られ、この多様性から単に体積のみでは腺腫ホルモン分泌活性度を計りえないことは理解できる。ただ傾向のみから大ざっぱに言えば、腺腫体積が 5 cm³ 以下のものでは血清 GH 値が 100ng/ml を上回るものではなく、5 ないし 15cm³ のものでは GH はさらに高値であった。これに当てはまらず、体積の割に GH 値が極端に低いものは嚢胞性腺腫、または CT や MRI 上充実性であれば線維性腺腫を考えるべきである。線維性腺腫は通常の下垂体腺腫と異なって極めて硬く、transsphenoidal approach では全摘が困難で、経頭蓋手術の追加が必要となることもある²⁵⁾が、画像診断手術前にこれを予知することは難しい。GH 産生腺腫では比較的頻度が低いともいわれるが、我々の 15 例中でも 2 例に経験されており、このことは術前の鑑別に重要な所見である。

(2) GH 腺腫細胞活性度と GH 陽性細胞との関連について

この画像解析装置を用いた測定値では、diffuse に顆粒をもつものでも SAR が 52% 以下で全体に低い値を示した。山上³²⁾は GH 陽性率は多いもので 80% であると述べているが、我々の測定値は腺腫組織内の血管腔や間質を含めたすべてに対する比率であり、またごく薄く染色された部分は画像解析装置に検出されないため、実際の腺腫細胞のみに対する比率はもっと大きくなるはずであろう。しかし体積との関連を検討するには腺腫細胞のみを取り出すよりも本法の方が適切であると考えられる。

これまでも GH 腺腫細胞活性度と GH 陽性細胞の多寡との関連に関しては種々の議論があった。すなわち GH 陽性細胞と GH 値が相関するとする説²⁾²⁶⁾²⁷⁾、逆に陽性細胞が少ない方が活性度が高く、GH 陽性細胞は胞体内にホルモン顆粒を貯えているだけであるとする説⁷⁾¹²⁾、それら 2 つの間には関係がないとする説¹⁾¹¹⁾¹³⁾²²⁾等である。寺本²⁶⁾²⁷⁾は diffuse type で GH 値の高い傾向を認めており、また Fukaya ら²⁾はやはり半定量的ながら GH 陽性細胞の多いものに GH が高値であるとしている。しかしながら Martinez ら¹²⁾、亀谷ら⁷⁾は逆に GH 陽性細胞の少ない方が GH 値が高く、GH 産生能が高いと結論している。最近の報告では GH 分泌活性能と免疫染色における GH 陽性細胞

胞の染色の程度や頻度とは関連がないとするものが多く, 超微形態の検討においても, granularity よりもむしろ粗面小胞体の数やゴルジ装置の発達などと相関するとする報告もある¹¹⁾¹³⁾²⁰⁾²⁸⁾。

我々の検討方法では GH 陽性細胞の比率を定量しえたが, 一方その各細胞内の顆粒の量までは検討しえていない訳で, そこに議論の余地は少なからず残っていると思われる。

RIA や酵素抗体法による検出はあくまでも正常 hGH を抗原として作成され, hGH あるいわそれと同じ免疫反応性をもった GH を見ているのであり, すべての型の GH をとらえているとは限らない。GH には heterogeneity が認められ, "bigGH" や "pre-bigGH" が見つかっている³⁾。しかし acromegaly では正常人より大分子型が少ないとされており, 生物学的測定法でも RIA の値とよく一致するとの報告もある⁴⁾。さらに大分子型の GH も正常 GH と同様の RIA 活性が認められるとの報告もあり²⁴⁾, これが大きな誤差の原因になるとは考えにくい, heterogeneity に関しては今後の研究を持たねばなるまい。

このような問題点が存在するが, 我々の検討において血清 GH 値と GH 陽性細胞の量とに極めて高い正の相関が得られたことは, とりもおさず免疫染色における陽性細胞がホルモンを分泌している活性細胞であると結論せざるをえない。

GH 顆粒を含まない腺腫中の細胞が実際にホルモンを産生しているのか, その活性度については明らかではない。常に同じ細胞が産生しているのか, ある周期を持って交互に産生しているのか, TRH 等の GH 産生誘発物質にさらされたときに初めて活性化されるのかなどの疑問点は今後明らかにされるべき事項であろう。

V 結 語

GH 産生下垂体腺腫15例に関し, CT より測定した腺腫体積と, 血清 GH 値および手術標本の HE 染色, GH 免疫染色による GH 陽性細胞の定量的測定値とを比較検討したところ, 次のごとき結果を得た。

(1) Eosinophilic adenoma ではやはり GH 陽性細胞が多いのに対し chromophobe adenoma では有意に低率であった。

(2) 血清 GH 値は腺腫体積とは相関がなかったが, 腺腫中の免疫染色による GH 陽性細胞の体積とは極めて高い相関を示し, GH 陽性細胞が腺腫中のホルモン分泌活性細胞であると考えられた。

(3) 腺腫体積に比して血清 GH 値が極端に低いときには線維性腺腫を考えるべきで, 手術に際し重要な情報と考えられる。

本研究の結果の一部は第44回日本脳神経外科学会総会(1985年, 長崎)において発表した。

文 献

- 1) Esiri, M.M., Adams, C.B.T., Burke, C. and Underdown, R.: Pituitary adenomas: Immunohistology and ultrastructural analysis of 118 tumors. *Acta Neuropath.*, 62: 1-14, 1983.
- 2) Fukaya, T., Kageyama, N., Kuwayama, A., Takanohashi, M., Okada, C., Yoshida, J. and Osamura, Y.: Morphofunctional study of pituitary adenomas with acromegaly by immunoperoxidase technique and electron microscopy. *Cancer*, 45: 1598-1603, 1980.
- 3) Goodman, A.D., Tanenbaum, R. and Rabinowitz, D.: Existence of two forms of immunoreactive growth hormone in human plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 35: 868-878, 1972.

- 4) Gordon, P., Lesniak, M.A., Eastman, R., Hendricks, C.M. and Roth, J.: Evidence for higher proportion of "little" growth hormone with radioreceptor activity acromegalic plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43: 364–373, 1976.
- 5) Halmi, N.S.: Immunostaining of growth hormone and prolactin in paraffin-embedded and stored or previously stained materials. *J. Histochem. Cytochem.*, 26: 486–495, 1978.
- 6) Horvath, E. and Kovacs, K.: Ultrastructural classification of pituitary adenomas. *Can. J. Neurol. Sci.*, 3: 9–21, 1976.
- 7) 亀岡 徹, 円谷 勝: 免疫組織化学。日本臨床 44: 633–637, 1986.
- 8) Kovacs, K. and Horvath, E.: Pituitary adenomas: Pathogenic aspects. In *Clinical Neuroendocrinology: A pathophysiological approach*. ed. by Tolis, G. et al. Raven Press, New York, 1979. pp.367–384.
- 9) Landolt, A.M. and Rothenbühler, V.: The size of growth hormone granules in pituitary adenomas producing acromegaly. *Acta Endocr.*, 84: 461–469, 1977.
- 10) Lewis, P.D. and Van Noorden, S.: Pituitary abnormalities in acromegaly. *Archs. Path.*, 94: 119–126, 1972.
- 11) Lloyd, R.V., Gikas, P.W. and Chandler, W.F.: Prolactin and growth hormone-producing pituitary adenomas. An immunohistochemical and ultrastructural study. *Am. J. Surg. Pathol.*, 7: 251–260, 1983.
- 12) Martinez, A.J., Moossy, J. and Maroon, J.C.: Pituitary adenomas: Clinicopathological and immunohistochemical study. *Ann Neurol.*, 7: 24–36, 1980.
- 13) Mukai, K.: Pituitary adenomas: Immunocytochemical study of 150 tumors with clinicopathological correlation. *Cancer*, 52: 648–653, 1983.
- 14) 中川福夫: ヒト成長ホルモン (GH) 産生腺腫細胞の電顕的形態計測による分泌顆粒定量と血中ホルモン量の相関。脳神経 35: 269–281, 1983.
- 15) Nakane, P.K. and Pierce, G.B.: Enzyme-labeled antibodies: Preparation of application for the localization of antigens. *J. Histochem. Cytochem.*, 14: 929–931, 1966.
- 16) 長村義之: 下垂体細胞の免疫組織化学。日本臨床 37: 703–713, 1979.
- 17) Osamura, R.Y., Komatsu, M., Izumi, S., Yoshimura, S., Murakoshi, M. and Watanabe, K.: Pre-embedding immunoelectron microscopy by peroxidase-labeled antibody method – Application to endocrinology. *Acta Histochem. Cytochem.*, 14: 383–390, 1981.
- 18) Roth, J., Lavazzola, M., Bendayan, M. and Orci, L.: Application of the protein A-gold technique for electron microscopic demonstration of polypeptide hormones. *Endocrinology*, 108: 247–253, 1981.
- 19) Saeger, W.: Licht- und Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur sekretorischen Aktivität von Hypophysenadenomen bei Akromegalie. *Virchows Arch. Abt. A. Path. Anat.*, 358: 343–354, 1973.
- 20) Schatz, H., Daun, M., Leicht, R., Strache, H., Saeger, W. and Zierski, J.: Immunohistochemical examination of pituitary adenomas: Comparison to clinical and endocrinological findings. *Hormone Res.*, 21: 246–253, 1985.
- 21) Schelin, U.: Chromophobe and acidophil adenoma of the human pituitary gland. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl.* 158, 1962.
- 22) Smallman, L.A., Dunn, P.J.S., Curran, R.C. and London, D.R.: Pituitary adenomas producing growth hormone in acromegalic patients. *J. Clin. Pathol.*, 37: 382–389, 1984.
- 23) Sternberger, L.A., Hardy, P.H., Cuculis, J.J. and Meyer, H.G.: The labeled antibody-enzyme method of immunohistochemistry: Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex

- (horseradish peroxidase-antiperoxidase) and its use in identification of spirochetes. *J. Histochem. Cytochem.*, 18: 315, 1970.
- 24) Tanaka, T., Shishiba, Y., Gout, P.W., Beer, C.T., Noble, R.L. and Friesen, H.G.: Radioimmunoassay and Bioassay of human growth hormone and human prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 56: 18–20, 1983.
- 25) Taren, J.A.: Management of pituitary lesions: Correlative Neurosurgery, ed. by Schneider, R.C., Kahn, E.D., Crosby, E.C. and Taren, J.A., Charles C Thomas, Springfield, Illinois, 1982, ed. 3, pp.815–881.
- 26) 寺本 明: ホルモン産生下垂体腺腫の免疫組織化学的検討. *脳神経* 32: 1163–1174, 1980.
- 27) 寺本 明: Functioning pituitary adenoma の病理. -免疫組織化学による機能的病理分類を中心に- *脳神経* 33: 479–488, 1981.
- 28) Trouillas, J., Girod, C., Lheritier, M., Claustrat, B. and Dubois, M.P.: Morphological and biochemical relationship in 31 human pituitary adenomas with acromegaly. *Virchows Arch. A. Path. Anat.*, 389: 127–142, 1980.
- 29) 魚住 徹, 森信太郎: Hyperprolactinemia (1). *Neurol. Med. Chir.*, 20: 1075–1079, 1980.
- 30) Wilson, C.B.: Neurological management of large and invasive pituitary tumors: Clinical management of pituitary disorders, ed. by Tindall, G.T. and Collins, W.F., Raven Press, New York, 1979, pp.335–342.
- 31) Wright, AD, Malachlan, M.S.H., Doyle, F.H. and Frazer, T.R.: Serum growth hormone level and size of pituitary tumour untreated acromegaly. *Br. Med. J.*, 4: 582–584, 1969.
- 32) 山上達人: 下垂体腺腫における免疫組織化学的考察及び内分泌学的検討. *日外宝* 53: 756–778, 1984.
- 33) Young, D.G., Bahn, R.C. and Randall, R.V.: Pituitary tumors associated with acromegaly. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 25: 249–259, 1965.
- 34) Zimmerman, E.A., Defendini, R. and Frantz, A.G.: Prolactin and growth hormone in patients with pituitary adenomas: A correlative study of hormone in tumor and plasma by immunoperoxidase technique and radioimmunoassay. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 38: 577–584, 1974.
- (受付日: '87. 4. 24)