原 著

頭蓋内 Germinoma の術中細胞診

——その有効性と随伴病変の把握について——

宮崎医科大学病院病理¹⁾, 同 第2病理²⁾, 同 脳神経外科³⁾,
誠和会和田病院脳神経外科³⁾, 県立日南病院脳神経外科⁴⁾佐藤 信也¹⁾ 鍋島 一樹²⁾ 大野 招伸¹⁾ 日野浦雄之¹⁾
三倉 剛³⁾ 森田 能弘⁴⁾ 脇坂信一郎⁵⁾ 河野 正²⁾

頭蓋内 germinoma は放射線療法がきわめて有効で、生検による病理診断確定が重要である。特徴的な腫瘍細胞が認められれば術中診断は容易であるが、グリオースや肉芽腫性炎症などの随伴病変によって診断困難な病例もある。われわれは組織学的に germinoma と診断された12例（術中細胞診施行9例、内4例は同時に凍結切片を作成）の再検討を行った。凍結切片のみによる germinoma の診断率は50%（2/4例）であった。その診断率の低い原因は、得られた組織が広範なグリオース、類上皮肉芽腫によって占められ、腫瘍細胞がほとんど認められなかったこと、また組織挫滅により腫瘍細胞の確定が不可能な点にあった。組織診断上、グリオースは12例中8例（66.7%）、高度の組織挫滅は2例（16.7%）、組織球の集簇は8例（66.7%、2例では類上皮肉芽腫形成を伴う）と比較的高頻度に認められることを見出した。細胞診上、グリオースは組織学的にグリオースの認められた全例で観察され、組織球の集簇、類上皮細胞様集団も組織学的に認められた症例の約86%に認められた。しかもそれら随伴病変が強いため凍結切片のみでは診断困難であった症例も含めて全例で圧挫細胞診にて腫瘍細胞を検出し得た。

細胞診の併用は随伴病変により診断の困難な症例で有用であり、細胞所見から随伴病変の存在も判断し得る。

Key words : Intracranial germinoma—Cytology—Gliosis—Granulomatous inflammation—Morphology

Intraoperative cytology of intracranial germinoma—Its usefulness and detection of accompanying pathological changes—

Shinya SATO¹⁾, C.T., I.A.C., Kazuki NABESHIMA²⁾, M.D., Akinobu OHNO¹⁾, C.T., I.A.C., Yuji HINOURA¹⁾, C.T., I.A.C., Takeshi MIKURA³⁾, M.D., Yoshihiro MORITA⁴⁾, M.D., Shin-ichiro WAKISAKA⁵⁾, M.D., Masashi KOONO²⁾, M.D.

¹⁾Department of Pathology, Miyazaki Medical College Hospital

²⁾Second Department of Pathology, ³⁾Department of Neurosurgery, Miyazaki Medical College

⁴⁾Department of Neurosurgery, Seiwakai Wada Hospital

⁵⁾Department of Neurosurgery, Miyazaki Prefectural Nichinan Hospital

論文別刷請求先 ☎ 889-1692 宮崎県宮崎郡清武町大字木原5200 宮崎医科大学附属病院病理部 佐藤信也

平成10年6月5日受付

平成10年10月16日受理

I. 緒 言

頭蓋内 germinoma は放射線感受性が高いため、stereotaxic biopsy (SB) により病理診断を確定し、放射線療法を選択することが多い¹⁻⁴⁾。したがってその術中病理診断は重要である。凍結切片による組織診断では、SBによって得られる組織がきわめて小さいことや組織挫滅により判読が困難な場合があるため、圧挫法細胞診を併用することによって広範な組織の検索が可能となる。したがって、術中診断において細胞診は重要な役割を果たしている⁴⁻⁹⁾。特徴的な腫瘍細胞が見出されれば診断は容易であるが、時としてグリオースや肉芽腫性変化によってSB上診断が困難な

症例のあることが報告されている¹⁰⁻¹⁴⁾。頭蓋内 germinoma のもとまった細胞像の報告は少ない⁴⁾。また、上記随伴病変に関する細胞像はグリオーシスを伴う 1 症例で報告をみるのみである⁷⁾。

今回われわれは組織学的に germinoma と診断された 12 例 (術中細胞診施行 9 例、内 4 例は同時に凍結切片を作成) の再検討を通して、術中細胞診の有用性およびグリオーシスや肉芽腫性変化の細胞像とその頻度を明らかにした。これらの細胞像を理解することによって、頭蓋内 germinoma のより正確な術中診断が可能となるものと考えている。

II. 対象および方法

1978 年から 1997 年の間に宮崎医科大学病理学教室にて診断された頭蓋内 germinoma 12 例を対象とした (Table 1)。年齢は 6 歳から 27 歳 (平均 20 歳)、男女比は 11:1、発生部位はトルコ鞍上部 5 例、トルコ鞍、天幕上、側脳室前角、大脳基底核、視床、松果体、延髄背側部各 1 例であった。症状は発生部位によって異なるが、視覚障害、尿崩症症状、頭痛、嘔吐を主訴としていた。9 例 (症例 1~8 および 12) で術中細胞診が行われ、4 例 (症例 5~7 および 12) では術中凍結切片も作られた。細胞診標本は圧挫法および捺印法にて作成し、パパニコロウ、ギムザ、H-E 染色を行った。免疫染色は組織切片、細胞診標本に対してそれぞれストレプトアビジンビオチン法 (LSAB 2 kit, DAKO) にて、抗ヒト胎盤由来アルカリフォスファターゼ (P-ALP) 抗体 (DAKO)、抗グリア線維性酸性蛋白 (GFAP) 抗体 (DAKO)、抗 PG-M1 抗体 (組織球マーカー, DAKO) を用いて行った。

III. 結 果

1. 術中診断

術中に凍結切片の作成された症例 (5~7 および 12) (Table 2) における凍結切片のみによる germinoma の診断率は 50% (2/4 例) であった。症例 5 と 12 では腫瘍細胞とリンパ球からなる典型的な two-cell pattern が認められ診断は容易であった。症例 6 では広範なグリオーシスとリンパ球浸潤が主体で組織挫滅もみられた (Photo. 1 a)。また、症例 7 は類上皮肉芽腫のみから成る組織像であった (Photo. 1 b)。ともに明らかな腫瘍細胞は認めなかった。しかし、両症例とも術中細胞診にてそれぞれグリオーシス像と類上皮様組織球に混在して、少数ながら腫瘍細胞を認めた (Photo. 1 c, d)。術後のパラフィン包埋標本の連続切片にて 2 例とも腫瘍細胞が確認された (Photo. 1 e, f)。また術中細胞診では全例で (症例 1~8 および 12) (Table 3) 腫瘍細胞が認められた (9/9 例, 100%)。

術中診断を困難にしている要因と考えられたグリオーシス、肉芽腫性変化、組織挫滅についてその組織像、細胞像を検討した。

2. 組織所見

症例 2~5, 8~10 および 12 の計 8 例では大型の腫瘍細胞とリンパ球からなる two-cell pattern を明瞭に認め (Photo. 2 a)、診断は容易であった (Table 2)。腫瘍細胞は PAS (periodic acid schiff) 染色 (Photo. 2 b)、抗 P-ALP 抗体 (Photo. 2 c) 陽性であった。症例 6 は広範なグリオーシスと組織挫滅、症例 7 は広範な類上皮肉芽腫形成、症例 11 は強い組織挫

Table 1 Summary of cases

Case	Age	Sex	Tumor location	Clinical findings
1	14	M	sellar	polydipsia, polyurea
2	24	M	suprasellar	polydipsia, polyurea, bitemporal hemianopsia, left visual disturbance
3	27	M	intratentorial~supratentorial	headache, ataxia
4	12	M	left lateral ventricle anterior horn	spasm
5	14	M	basal ganglia	left hemiparesis, left hemiplegic gait, headache, vomiting
6	25	M	bilateral thalamus	diplopia, right esotropia
7	23	M	IVth ventricle~medulla oblongata	headache, diplopia, hydrocephalus
8	24	M	pineal body	headache, general fatigue, hydrocephalus
9	6	M	suprasellar	dehydration, bilateral visual disturbance
10	25	F	suprasellar	amenorrhea, polydipsia, polyurea, visual disturbance, visual field defect
11	27	M	suprasellar	polydipsia, polyurea, headache, vomiting
12	19	M	suprasellar	appetite loss, nausea, polydipsia, polyurea

Table 2 Histological findings

case	tumor cells in frozen section	clear Two-cell pattern	gliosis	histiocyte aggregates	epithelioid granulomas	crush artifact
1	n.d.	—	—	—	—	—
2	n.d.	+	+	+	—	—
3	n.d.	+	+	+	—	—
4	n.d.	+	+	+	+	—
5	+	+	+	+	—	—
6	—	—	+	+	—	+
7	—	—	+	+	+	—
8	n.d.	+	—	—	—	—
9	n.d.	+	—	+	—	—
10	n.d.	+	+	—	—	—
11	n.d.	—	—	—	—	+
12	+	+	+	+	—	—

n.d.=not done

* with multinucleate cells

滅, また症例1では奇形腫のごく一部にのみ germinoma 細胞が存在していたために腫瘍細胞の検出が困難であったが, 連続切片を多数作成することによって腫瘍細胞が確認された。

グリオーシスは腫瘍組織内および周囲にみられる GFAP 陽性の神経膠星状細胞 (アストロサイト) の増生によるものであり (Photo. 2 d), 12 例中 8 例 (66.7%) に認められた。

肉芽腫性炎症の一部を成す PG-M 1 陽性の組織球の集簇は 8 例 (8/12 例, 66.7%) に認められ (Photo. 2 e), さらに 2 例 (16.7%) では類上皮肉芽腫形成が認められた (Photo. 2 f)。

高度の組織挫滅は 2 例 (16.7%) に観察された (Photo. 2 g)。

3. 細胞所見

腫瘍細胞は全例で認められたが, 症例1および7では細胞数がきわめて少なく, 捺印標本では検出されず, 圧挫標本のごく一部で認められた (Table 3)。多くの場合, 腫瘍細胞はリンパ球を伴って特徴的な two-cell pattern を呈しており (Photo. 3 a), 結合性に乏しく単在性に出現する高 N/C となる大型異型細胞として認められる。核は円形から類円形で一部不整を伴い, クロマチンは微細顆粒状~網状を呈し, 核縁は薄く大型不整核小体を1~数個有していた。細胞質はやや融解状で境界は不明瞭であった (Photo. 3 b)。免疫染色にて組織標本同様 P-ALP 陽性であった (Photo. 3 c)。

グリオーシスは, 細長い突起状の細胞質と異型の無い小型核を有するアストロサイト由来を思わせる細胞

よりなる大小の集団として認められ, H-E 染色により明瞭であった (Photo. 4)。術中細胞診を施行した 9 例中, 組織学的にグリオーシスの認められた全例 (7 例) でも観察された。

比較的明るい核と豊富な胞体を有する組織球の集簇像も 6 例 (6/7, 86%) に認められ, 組織所見とほぼ一致していた。特に症例4と7では多数出現しており, より強く集簇する部分では, 核がやや紡錘形となり組織像でみられる類上皮細胞様であった (Photo. 5)。

IV. 考 察

頭蓋内 germinoma は germ cell tumor の中で最も多い腫瘍型で, 全国集計によると発生頻度は全脳腫瘍の 2.3%, 小児脳腫瘍 (15 歳以下) の 8.3% となり男性に圧倒的に多い^{15,16)}。発生部位は松果体, 鞍上部が最も多く, 視床, 基底核, 第三脳室周囲などにも報告をみる。この腫瘍は放射線感受性が強く, その治療法による 5 年および 10 年生存率は 80% 以上であるため, stereotaxic biopsy (SB) による病理診断の確定が治療法の選択にとって重要となる^{1~4)}。リンパ球を背景として, 特徴的な腫瘍細胞が存在する two cell pattern が得られれば術中診断は容易であるが, 時としてグリオーシスや肉芽腫性炎症などの随伴病変によって凍結切片による術中組織診断の困難な症例がある^{10~14)}。

今回のわれわれの germinoma 12 例 (術中細胞診施行 9 例, 同時に 4 例は凍結切片を作成) の再検討では, 凍結切片のみによる頭蓋内 germinoma の術中診

Photo. 1 Intraoperative frozen sections and cytologic preparations and postoperative paraffin sections of case 6 and 7. a, c and e are of case 6, and b, d and f are of case 7. a, a frozen section showing gliosis and lymphocytic infiltrate accompanied by crush artefact (H-E, $\times 20$); b, a frozen section showing epithelioid granulomatous inflammation (H-E, $\times 20$); c, touch preparations demonstrating germinoma cells with large nuclei and prominent irregularly-shaped nucleoli, accompanied by lymphocytes (Pap., left $\times 40$, right $\times 100$); d, a squash preparation demonstrating germinoma cells associated with lymphocytes (Pap., $\times 100$); e, a postoperative paraffin section showing germinoma cells accompanied by gliosis and lymphocytic infiltrate (H-E, $\times 20$); f, a postoperative paraffin section showing several germinoma cells within the granulomatous lesion (H-E, $\times 40$)

断率は50% (2/4例)であったが、その原因は、高度のグリオース、組織挫滅および肉芽腫性変化のためであった。診断の困難であった2例でも、細胞診標本においては少数ながら特徴的な腫瘍細胞を認め、その有用性が示唆された。特に圧挫標本が腫瘍細胞の検出には優れていたが、これは凍結切片が組織のある断面

のみでの評価になるのに対して、圧挫標本では、その組織片全体を広範囲に観察することが可能になるからであろう^{4,6-9)}。また腫瘍細胞の微細な形態観察には、パパニコロウ染色が優れていた。術中の腫瘍細胞の検出に非常に有用で、診断確定とともに採取部位の妥当性を外科医に知らせることができるであろう。診断を

Table 3 Cytological findings

case	tumor cells imprint	tumor cells squash	lymphocytes	glial cells	histiocytes	epithelioid cells
1	n.d.	+	+	—	—	—
2	n.d.	+	+	+	—	—
3	+	+	+	+	+	—
4	n.d.	+	+	+	+	+
5	n.d.	+	+	+	+	—
6	+	+	+	+	+	—
7	—	+	+	+	+	+
8	n.d.	+	+	—	—	—
12	+	+	+	+	+	—

n.d.=not done

Photo. 2 Histologic findings. a, a typical two-cell pattern consisting of large germinoma cells and infiltrating lymphocytes (case 8, H-E, $\times 20$) ; b, tumor cells showing granular positive staining with PAS in their cytoplasm (case 8, PAS, $\times 20$) ; c, tumor cells showing cytoplasmic immunostaining for P-ALP (case 8, immunostaining, $\times 20$) ; d, GFAP-positive reactive astrocytes demonstrated among tumor cells (case 5, immunostaining, $\times 10$) ; e, aggregated histiocytes stained positive with anti-PG-M 1 antibody within the tumor tissue (case 7, immunostaining, $\times 20$) ; f, epithelioid granulomas accompanied by lymphocytes (case 7, H-E, $\times 20$) ; g, marked crush artefact showing chromatin diffusion and cleft formation (case 12, H-E, $\times 20$)

困難とする随伴病変に関しては程度はさまざまであるが、グリオーシスは12例中8例(66.7%)、高度の組織挫滅は2例(16.7%)、組織球の集簇は8例(66.7%)、2例では類上皮肉芽腫形成を伴う)と比較的高頻度に認められることを見出した。細胞診上、グ

リオーシスは組織学的にグリオーシスの認められた全例で観察され、組織球の集簇、類上皮細胞の集団も組織所見とほぼ一致して、その86% (6/7例) に認められた。細胞診標本の所見から germinoma の随伴病変の存在も判断し得るものと考えた。

Photo. 3 Cytologic findings. a, a squash preparation showing a typical two-cell pattern consisting of large tumor cells and small lymphocytes (case 3, H-E, $\times 40$) ; b, tumor cells, which have large round to oval nuclei and prominent nucleoli, in touch preparations (case 13, Pap., $\times 100$) ; c, tumor cells in a squash preparation showing positive immunostaining for P-ALP (case 3, immunostaining, $\times 40$)

頭蓋内 germinoma は、頭蓋咽頭腫、悪性リンパ腫などとともによりグリオースの比較的強く認められる腫瘍の一つであるが¹⁷⁾、圧挫標本では線維状の細胞質を有するアストロサイト由来を思わせる細胞集団として認められた。これは H-E 染色によってより明瞭であった。astrocytoma との鑑別を要するが、細胞密度

Photo. 4 Gliosis detected in a squash preparation. Clusters of astrocytes with long eosinophilic cytoplasmic processes are seen (case 4, H-E, $\times 20$).

Photo. 5 Histiocyte clusters observed in touch preparations. Clusters of coherent histiocytes with epithelioid appearance are noted accompanied by lymphocytes (case 7, Pap., $\times 40$)

が低く核異型のないこと、リンパ球、組織球さらには germinoma 細胞の出現とともに判断すれば、反応性変化であることは判断可能である。

頭蓋内 germinoma に合併する肉芽腫性炎症は 1947 年に Friedman¹⁰⁾ により最初に記載され、その後 Kraichoke ら¹²⁾ によってその変化のために初回生検では診断のつかなかった 4 例が報告されている。その頻度は Bjornsson ら¹⁵⁾ によると 4.7% (2/47 例) であるが、自験例では明らかな類上皮肉芽腫形成は 16.7% (2/12 例) に、組織球の集簇は 66.7% (8/12 例) に認められた。この肉芽腫性炎症の発生機序は、著明なリンパ球 (T-cell) 浸潤を示す腫瘍に随伴することから、T リンパ球によって interferon γ が産生され、組織球を活性化するためと考えられている¹⁸⁾。しかし、肉芽腫性炎症の予後に対する影響については不明である。

脳組織は他臓器に比べて水分含量が多いため、凍結切片作製時に微細な氷の結晶が組織内にできやすく、組織採取時の挫滅の影響をさらに大きくしたり、細胞や核の形を変化させてしまう場合があるので⁹⁾、この点でも細胞診の併用は有効だと思われる。

Abstract

Objective : In cases of intracranial germinoma, it is important to obtain accurate pathologic diagnosis via stereotaxic biopsy since radiation therapy is very effective for this disease. Intraoperative diagnosis with frozen sections alone is, however, difficult in some cases. In the present study, we examined the factors which cause difficulty in diagnosis and examined whether cytology is effective in such cases.

Study Design : We reviewed 12 cases of intracranial germinoma (intraoperative diagnosis (ID) with cytologic preparations, 9 cases ; ID with frozen sections, 4 cases) with special reference to associated pathologic changes which caused difficulty in diagnosis.

Results : Intraoperative diagnosis of germinoma could not be obtained with frozen sections alone in 50% of cases because of prominent gliosis, crush artifacts and epithelioid granulomatous lesions. Histologically, gliosis was found in 8 cases (66.7%), marked crush artifacts in 2 cases (16.7%), and histiocyte aggregates in 8 cases (66.7% ; epithelioid granulomas in 2 cases). On cytologic preparations, gliosis was found in all 8 cases, and histiocyte aggregates, including epithelioid cell clusters, were also noted in 86% of the histologically positive cases. Moreover, cytologic preparations revealed the presence of germinoma cells in all the cases.

Conclusion : Cytologic preparations are not only effective for obtaining germinoma cells but also associated changes such as gliosis and granulomatous inflammation.

文 献

- 1) Sung, D.I., Harisiadis, L., Chang, C.H. Midline pineal tumors and suprasellar germinomas : Highly curable by irradiation. *Radiol.* 1978 ; 128 : 745~751.
- 2) Waga, S., Handa, H., Yamashita, J. Intracranial germinomas : Treatment and results. *Surg. Neurol.* 1979 ; 11 : 167~172.
- 3) Sano, K., Matsutani, M. Pinealoma (germinoma) treated by direct surgery and postoperative irradiation. A long-term follow-up. *Child's Brain* 1981 ; 8 : 81~97.
- 4) Ho-Keung, N.G. Cytologic diagnosis of intracranial germinomas in smear preparations. *Acta Cytol.* 1995 ; 39 : 693~697.
- 5) 藤井雅彦, 加藤一夫, 石井保吉, 佐久間市朗, 斉藤博子, 高橋正宜. 脳腫瘍の細胞形態学的検討. *日臨細胞誌* 1989 ; 28 : 384~388.
- 6) 小林省二, 三木 洋, 大森正樹, 船本康申, 岸田不二雄, 河野幸治・ほか. 圧挫標本細胞診による脳腫瘍の診断. *日臨細胞誌* 1989 ; 28 : 378~383.
- 7) 佐藤信也, 鍋島一樹, 大野招伸, 日野浦雄之, 大田元, 河野 正. 術中細胞診が有用であった頭蓋内 germinoma の 1 例. *日臨細胞誌* 1993 ; 32 : 443~446.
- 8) Piaton, E. Cytology of tumors of the central nervous system. *Acta Cytol.* 1996 ; 40 : 846~848.
- 9) Sidawy, M.K., Jannotta, F.S. Intraoperative cytologic diagnosis of lesions of the central nervous system. *Am. J. Clin. Pathol.* 1997 ; 108 : S 56~S 66.
- 10) Friedman, N.B. Germinoma of the pineal. Its identity with germinoma (seminoma) of the testis. *Cancer Res.* 1947 ; 7 : 363~368.
- 11) Simson, L.R., Lampe, I., Abell, M.R. Suprasellar germinomas. *Cancer.* 1968 ; 22 : 533~544.
- 12) Kraichoke, S., Cosgrove, M., Chandrasoma, P.T. Granulomatous inflammation in pineal germinoma. A cause of diagnostic failure at stereotaxic brain biopsy. *Am. J. Surg. Pathol.* 1988 ; 12 : 655~660.
- 13) 奥野修三, 久永 学, 知禰史郎, 榊 寿右, 角田 茂. 放線冠に肉芽腫様変化を伴って発生した germinoma . *脳神経外科* 1992 ; 20 : 775~780.
- 14) Gotoda, H., Fuzita, M., Inoue, K., Sawamura, Y., Tada, M., Abe, H., et al Cerebral germinoma with marked granulomatous inflammation : Granulomatous germinoma. *Neuropathol.* 1996 ; 16 : 165~171.
- 15) Bjornsson, J., Scheihauer, B.W., Okazaki, H., Leech, R.W. Intracranial germ cell tumors : Pathobiological and immunohistochemical aspects of 70 cases. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1985 ; 44 : 32~46.
- 16) 大田富雄. 胚細胞腫瘍 germ cell tumor . *脳神経外科学*. 京都 : 金芳堂 1990 : 513~517.
- 17) Burger, P.C., Scheithauer, B.W. Germ cell tumor. Tumor of the central nervous system. Washington, D. C. : A.F.I.P. 1993 : 251~257.
- 18) Mitchell, R.N., Cotran, R.S. Acute and Chronic Inflammation. Kumar, V., Cotran, R., Robbins, S.L. Basic Pathology (sixth edition). Philadelphia, Pennsylvania. : W.B. Saunders Company. 1997 : 41~46.