精巣腫瘍対側精巣生検にて Carcinoma in situ と 診断された症例の検討

東北大学医学部泌尿器科学教室¹⁾, 同 病理部²⁾

菅藤 哲¹⁾ 平松 正義¹⁾ 竹内 晃¹⁾
大山 力¹⁾ 佐藤 信¹⁾ 斎藤 誠一¹⁾
福崎 篤¹⁾ 遠藤 希之²⁾ 荒井 陽一¹⁾

CARCINOMA IN SITU DETECTED BY CONTRALATERAL TESTICULAR BIOPSY OF 55 GERM CELL TUMOR PATIENTS

Satoru Kanto¹⁾, Masayoshi Hiramatsu¹⁾, Akira Takeuchi¹⁾,
Chikara Ohyama¹⁾, Makoto Sato¹⁾, Seiichi Saito¹⁾,
Atsushi Fukuzaki¹⁾, Mareyuki Endo²⁾ and Yoichi Arai¹⁾
Department of Urology¹⁾, Department of Pathology²⁾
Tohoku University School of Medicine, Sendai, Miyagi

(Purpose) We performed contra-lateral testicular biopsies in 55 testicular tumor patients when high orchiectomy was performed. In these cases, two cases developed invasive testicular tumor later although the biopsies had not revealed testicular CIS. Then we re-examined the sensitivity of biopsies and judged if our results are contradictory against Skakkebaek's theory.

(Patients and Methods) The paraffin blocks of two cases who later developed testicular tumor were sliced again and re-examined by H/E staining and immunostaining with PLAP antibody (clone No. 8A9). The other 53 H/E samples were re-examined and the result of the contra-lateral testis was re-researched in the case that CIS was detected in the specimen.

(Results) CIS was detected in one of the two cases who later developed contra-lateral testicular tumor and another case among the other 53 cases. We could not reveal the result of the testis of case No. 3 because of the patient's disappearance. CIS existed 3.6% (2/55) and two cases were found to have been false negative.

(Conclusion) It is important for both urologists and pathologists to know well about testicular CIS and to perform biopsy according to Skakkebaek's guidance for raising the sensitivity to detect testicular CIS.

Key words: CIS, testicular tumor, biopsy

要旨: (目的) 精巣腫瘍 55 症例に対し高位精巣摘出術と同時に対側精巣生検を行った。その結果精巣 CIS と診断された症例はなかったが、そのうち 2 症例において後に対側精巣に精巣腫瘍を発生した。そこで我々は生検の感度に問題がなかったかどうか、そして我々の結果がスカッケベクの理論に整合性を認めるかどうかを検証した。

(症例と方法) 後に精巣腫瘍を発生した 2 症例の生検標本のパラフィンブロックを再度切り出し、ヘマトキシリン・エオジン染色と PLAP 抗体 (クローン番号: 8A9) を用いて免疫染色を行い、再度評価しなおした。他の 53 症例の標本も再度評価しなおし、その結果精巣 CIS が認められた症例の対側精巣の転帰を追跡調査した。

(結果) 後に精巣腫瘍を発生した2症例の標本うち1症例の標本において精巣 CIS が認められた。又、残りの53症例の内1標本において精巣 CIS が認められた。この症例は本人の失踪により対側精巣の転帰は確認できなかった。CIS は3.6% (55症例中2症例) に確認され、2症例において偽陰性となったことが確認された。

(結論) 精巣 CIS に対する精巣生検の感度を上げるには泌尿器科医及び病理医が精巣 CIS について知識を深め、スカッケバクのガイダンスに従った方法で行われることが重要と考えられる。

キーワード: CIS, 精巣腫瘍, 精巣生検

緒 言

精巣 carcinoma in situ (CIS) は精母細胞性セミノーマと幼児期精巣腫瘍を除く胚細胞腫瘍の共通の前駆細胞であると Skakkebaek らにより報告されてきた¹⁾。精巣腫瘍の対側精巣には4.9~6.1%^{2)~4)}の頻度で CIS が存在すると報告されており、精巣腫瘍の対側精巣生検はデンマーク、ドイツ、オーストリアを中心に欧州では比較的広く行われている。しかし本邦では対側精巣生検の意義を検証した報告は少ない。

一方精巣 CIS は5年で50%、7年で70%が精巣腫瘍に進展すると報告されており¹⁾、そのほとんどがいずれ精巣腫瘍に進展するものと理解されている。

我々の施設において両側精巣腫瘍の頻度は3.3% (9/274) であることを既に報告した⁵⁾。そこで今回は高位精巣摘出術と同時に施行した対側精巣生検55標本における CIS の頻度と生検後の対側精巣の転帰及び我々の結果と Skakkebaek の報告との整合性について検討を行った。

対象・方法

我々の施設において昭和57年より平成13年にかけて精巣腫瘍の診断にて高位精巣摘出術と同時に対側精巣生検を施行した55症例を対象とした。生検は開放生検により、数ミリメートル立方の組織を en block に摘出後、ホルマリンまたはブアン固定液にて固定、1カ所の切片につき H/E 染色を行って評価された。対象となった年齢は17歳から64歳で、セミノーマが27例、非セミノーマ (混合型を含む) が28例であった。これらの症例の既往歴として停留精巣が3例 (5.5%)、不妊症1例 (1.8%)、尿道下裂1例 (1.8%)、萎縮精巣1例 (1.8%) が認められた。これらの症例の対側精巣標本において当時 CIS と病理診断された症例は無かった。しかしその内2症例において後に対側精巣に腫瘍が発生したことが判明した。そこで精巣生検の感度に問題なかったかを検証するため全ての生検標本の再評価を行った。

まず対側精巣に後に腫瘍を発生した2例の精巣生検

標本の H/E 染色を病理医と共に再度評価するとともに PLAP (Placental-like alkaline phosphatase) 抗体による免疫染色を合わせに行った。PLAP 免疫染色は一次抗体を抗 PLAP モノクローナル抗体 (DAKO 社) Clone No. 8A9 を使用し、ordinary ABC method を用いて DAB 発色し、ヘマトキシリンで counter staining を行った。さらに対側精巣生検を施行した残り53標本の H/E 染色を再度評価しなおした。その結果精細管内に異型細胞の存在が疑われた標本において PLAP 免疫染色を合わせて施行した。最終的に精巣 CIS ありと判断された症例につきその後の転帰を追跡調査した。

結 果

表1に対側精巣に後に腫瘍を発生した2例と残り53標本の再評価の結果最終的に精巣 CIS ありと診断された1症例の計3症例の概要を示す。対側精巣に腫瘍が発生した2例中1例 (症例1) の H/E 染色において精細管内に異型細胞を認めた (図1)。異型細胞は PLAP 免疫染色にて陽性であり (図2)、精巣 CIS と判断された。この症例は初診時40歳で初発精巣腫瘍の病理結果は非セミノーマであったが、一部セミノーマの成分を含んでいた。初発から11年後に対側精巣にセミノーマを発生した。この症例は停留精巣、萎縮精巣の既往は無く、初回手術前に挙児を2人、初回術後挙児をさらに2人得ていた。対側精巣に腫瘍を発生したもう1例 (症例2) には明らかな CIS は認められず PLAP 免疫染色を行ったが結果は陰性であった。この症例は初診時33歳で、初発精巣腫瘍の病理結果はセミノーマであった。初発から13年後に対側精巣に非セミノーマを発生した。この症例は独身で、停留精巣、萎縮精巣の既往は認めなかった。

残り53標本の H/E 染色で1例 (症例3) において典型的な精巣 CIS を認めた (図3)。PLAP 免疫染色を行ったところ陽性であった (図4)。この症例は術後7年が経過しており、退院後一度も通院してなかったため、戸籍を確認して連絡したが、本人の失踪により対側精巣の転帰は不明であった。また、この症例は初診

表1 (症例1～症例3の概要)

症例1 (初診時 40 歳)	
(既往歴) 特になし 既婚, 子供 4 人 (初回術前 2 人, 術後 2 人)	
1985 年 5.30 Rt. high orchiectomy → Pathology : Seminoma Embryonal carcinoma Choriocarcinoma 対側生検 : H/E 染色にて異型細胞 (+) PLAP (+) 術後化学療法 PVB 施行 Stage I	1996 年 8.6 Lt. high orchiectomy → Pathology : Seminoma Stage I
症例2 (初診時 33 歳)	
(既往歴) 特になし 独身	
1982 年 2.15 Lt. high orchiectomy → Pathology : Seminoma 対側生検 : H/E 染色にて異型細胞 (-) PLAP (-) RPLN metastasis あり, Radiation 施行 Stage II	1985 年 10.5 Rt. high orchiectomy → Pathology : Embryonal carcinoma Choriocarcinoma Stage I
症例3 (初診時 29 歳)	
(既往歴) 両側停留精巣, 右そけいヘルニアあり, 14 歳時右そけいヘルニア 根治術及び両側精巣固定術施行 独身	
1994 年 10.6 Rt. high orchiectomy → Pathology : seminoma 対側生検 : H/E 染色にて異型細胞 (+) PLAP (+) Stage I	退院後通院しておらず, 本人の失踪のため対側精巣の転帰は不明

時 29 歳で, 摘出標本の病理結果はセミノーマであった。この症例は独身で, 既往歴として両側停留精巣及び右そけいヘルニアにて 14 歳時に右そけいヘルニア根治術及び両側精巣固定術を受けていた。

最終的に 3.6% (2/55) に CIS が認められたことになり, 当科における両側精巣腫瘍の頻度 3.3% にほぼ一致する結果であった。

考 察

精巣 CIS は Skakkebaek が後に精巣腫瘍を発症した 2 名の男性不妊症患者の精巣生検で認められた異型精祖細胞として 1972 年に初めて報告した⁶⁾。その後数多くの検証により, 現在では精巣 CIS は精母細胞性セミノーマと幼児期精巣腫瘍を除く胚細胞腫瘍の共通の

前駆細胞として認識されるに至っている¹⁾。

精巣腫瘍の対側精巣における精巣 CIS の頻度は 1987 年に Skakkebaek らがデンマークの 600 人の患者の生検結果より 5.7% と初めて報告したが²⁾, その後 1996 年にドイツとオーストリアの患者 1,954 人の生検結果から 4.9% と報告され³⁾, 概ね 5% 程度と推測されている¹⁾。

一方精巣 CIS はその大部分がいずれ精巣腫瘍に進展すると理解されており, 5 年で 50%, 7 年で 70% が浸潤性精巣腫瘍に進展すると報告されている¹⁾。

精巣 CIS は 18~20Gy の放射線照射により根治が得られ化学療法は根治性が低いとされている^{7)~9)}。放射線照射により精細管内はセルトリ細胞のみとなり無精

図1 症例1 H/E 染色

精細管内に核が大型化しクロマチンの濃染した異型細胞が認められる。精細胞分化は認められない。精細管壁には肥厚が観察される。

図2 症例1 PLAP 染色

大型の異型細胞の細胞膜から細胞質にかけて陽性所見が認められる。

図3 症例3 H/E 染色

肥厚した精細管基底膜に沿って正常の精祖細胞より大きく、明瞭な核小体を有する異型細胞が一列に並び、精細管の径は狭小化し、精細胞分化は停止している。

子症となるが、ライディッヒ細胞が比較的放射線感受性が低いことよりテストステロン補充は不必要となることが多い⁹⁾。したがって高位精巣摘出術時の対側精巣生検により CIS が検出できれば将来摘出されるべき精巣を温存できテストステロン補充も回避出来る可能性があり、その臨床的意義は大きいと考えられる。また精巣腫瘍症例に対し放射線治療前に精子の凍結保存をして ICSI を施行した報告もなされており¹⁰⁾、放射線療法による無精子症の発生に救済の道を残している。現在ではさらに 18Gy 以下の低線量照射の試みも進行中である¹⁾。

今回の対側精巣生検標本の再検討にて 2 症例において精巣 CIS が認められたが、そのうち症例 3 は H/E 染色にて CIS に典型的とされる像を呈していた。すなわち肥厚した精細管基底膜に沿って正常の精祖細胞よ

図4 症例3 PLAP 染色

異型細胞の細胞膜から細胞質にかけて陽性所見を認める。

り大きく、明瞭な核小体を有する異型細胞が一列に並び、精細管の径は狭小化し、精細胞分化は停止していた¹¹⁾。この像は精巣 CIS を見たことがあれば診断は難しくはなかったと思われ、精巣 CIS について正しい知識を持ち病理医と密な連携をとっていく必要があると考えられた。

症例1はH/E染色では典型的とは言えないものの異型細胞を認め、PLAP免疫染色にて陽性であった。RT-PCRとPrimer extensionによる解析ではCISとセミノーマでは主にGCAP(Germ-cell-specific alkaline phosphatase)が発現しており、胎児性癌ではGCAP/PLAP比は異なってくると報告されているが、GCAPとPLAPは免疫組織学的には区別されず¹⁰⁾、GCAP/PLAPはCIS、セミノーマ、PGC(Primordial germ cell)、Gonocyteの免疫染色でのマーカーとなるとされている¹²⁾¹³⁾。GCAP/PLAPによるCIS、セミノーマでの陽性率は各々93%、94%と感度が良く有用なマーカーと言える¹²⁾。したがってGCAP/PLAPによる免疫染色を行うことは精巣CISの診断のうえで非常に価値が高いと考えられる¹¹⁾。この症例は対側精巣腫瘍の発生まで11年かかっていたが、最初の精巣摘出後に化学療法を受けたため、対側精巣CISの退行変化を起こした可能性が考えられる¹⁴⁾。化学療法後の精巣CISの再発率は5年後21%、10年後42%と報告されている¹⁵⁾。

症例2は少なくとも現存している標本にはCISは確認できなかった。CISは通常精巣内に広く分布すると報告されており、Conventional surgical biopsyで感度は95%と高く¹¹⁾、1,954症例の精巣生検で偽陰性率

は0.3%であった¹⁶⁾と報告されている。しかしこの高い感度の達成のためには切片は標本の最低5カ所以上のレベルで作成し、各々における連続切片を作成することが必要とされている¹¹⁾。この症例では保存されていた生検標本が非常に小さく、一カ所でしか切片を作成できなかったため、偽陰性となった可能性が否定できない。又、生検組織のホルマリン固定はshrinkage artifactを起こし精細管内の評価を難しくするためブアン固定が望ましいとされているが¹¹⁾、この標本の固定法はホルマリンであった可能性がありさらに診断を難しくした可能性がある。ただしこの症例は最初の精巣の発症から対側精巣の発症まで13年を要しており、これだけの期間精巣内にCISが進展せずにとどまっていたかどうかは疑問である。

今回の検討により対側に腫瘍を発生した症例或いは対側にCISを認めた症例いずれにおいても初発精巣においてセミノーマの成分を含んでいた。しかしCISの頻度と特定の成分が関連するとする報告は無く、SkakkebaekによるとCISは免疫組織学的にheterogenousであり¹⁷⁾、よりtotipotent embryonic cellsに退行する能力を持ったCISが非セミノーマに進展し、その能力を失ったCISがセミノーマに進展するとの仮説が提唱されている¹⁸⁾。

又、今回の検討により精巣腫瘍の対側精巣におけるCISの頻度は3.6%であり、Skakkebaekの報告より低い値となった。もし症例2においてCISが検出されていれば精巣CISの頻度は5.5%(3/55)となりこれまでの報告にほぼ一致することになる。この差異が生検の感度によるものか地理、或いは人種の差異によるものなのかは今後の検討が必要とされる。

Skakkebaekは精巣CISの起源を胎生期に想定しており、胎生期における性腺への環境ホルモンの曝露などにより正常の分化から逸脱したGonocyteが出生後の性腺刺激ホルモンによって増殖し、CISに進展すると仮説をうちたてている¹⁹⁾。しかし異常なGonocyteからCISそして精巣腫瘍への自然史についてはいまだ解明されていない部分が多く、さらなる検討が必要とされる。

これに対しChagantiはzygotene-pachytene期に異常な染色体交換によって12pのcopy numberが増加することによりCyclin D2の過剰発現を惹起した精母細胞がCISとなるとSkakkebaekと全く異なる立場を提言している²⁰⁾。

先に述べたことであるが、精巣腫瘍の対側精巣生検

により、CISが検出されれば、将来摘出されるべき精巣が温存され、テストステロン補充の必要性が回避される可能性が高い。しかし、症例1においては対側精巣の摘出までに自然妊娠により挙児を2人得ており、もし放射線治療により無精子症となっていたら、挙児の可能性はなかった。現在、精巣腫瘍患者の精子凍結保存の明確なガイドラインは無く、十分な環境が整備されているとは言い難い。したがって術前の精液検査に加え、ガイドラインの作成と環境の整備が進んで初めて妊孕性を含めたインフォームドコンセントが可能となると考えられる。

また今回の検討により精巣生検を行うにあたっては正しい知識と方法により感度を高める必要があると認識させられた。しかし95%の症例に無用の検査となる精巣生検には否定的な見解もあり²¹⁾、また最近精巣CISに対し20Gy照射したにもかかわらず精巣腫瘍を発生した症例が2例報告されており²²⁾、より十分なインフォームドコンセントのうえで施行されるべきであると考えられる。

文 献

- 1) Rorth, M., Rajpert-De Meyts, E., Andersson, L., Dieckmann, K.P., Fossa, S.D., Grigor, K.M., Hendry, W.F., Herr, H.W., Looijenga, L.H., Oosterhuis, J.W. and Skakkebaek, N.E.: Carcinoma in situ in the Testis. *Scand J Urol Nephrol Suppl*, **205**, 166—186, 2000.
- 2) Giwercman, A., and Berthelsen, J.G., Muller, J., von der Maase, H. and Skakkebaek, N.E.: Screening for carcinoma-in-situ of the testis. *Int J Androl*, **10**, 173—180, 1987.
- 3) Dieckmann, K.P. and Loy, V.: Prevalence of contralateral testicular intraepithelial neoplasia in patients with testicular germ cell neoplasms. *J Clin Oncol*, **14**, 3126—3132, 1996.
- 4) Holstein, A.F. and Lauke, H.: Histologic diagnostics of early testicular germ-cell tumor. *Int J Urol*, **3**, 165—172, 1996.
- 5) Ohyama, C., Kyan, A., Satoh, M., Saito, S., Nishimura, Y., Imai, Y., Oikawa, K., Yokoyama, J., Suzuki, K., Takeuchi, M., Hoshi, S. and Orikasa, S.: Bilateral testicular tumors: a report of nine cases with long-term follow-up. *Int J Urol*, **9**, 173—177, 2002.
- 6) Skakkebaek, N.E.: Possible carcinoma-in-situ of the testis. *Lancet*, **2**, 516—517, 1972.
- 7) Giwercman, A., von der Maase, H., Berthelsen, J.G., Rorth, M., Bertelsen, A. and Skakkebaek, N.E.: Localized irradiation of testes with carcinoma in situ; effects on Leydig cell function and eradication of malignant germ cells in 20 patients. *J Clin Endocrinol Metab*, **73**, 596—603, 1991.
- 8) Mumperow, E., Lauke, H., Holstein, A.F. and Hartmann, M.: Further practical experiences in the recognition and management of carcinoma in situ of the testis. *Urol Int*, **48**, 162—166, 1992.
- 9) Dieckmann, K.P., Besserer, A. and Loy, V.: Low-dose radiation therapy for testicular intraepithelial neoplasia. *J Cancer Res Clin Oncol*, **119**, 355—359, 1993.
- 10) Chen, S.U., Ho, H.N., Chen, H.F., Huang, S.C., Lee, T.Y. and Yang, Y.S.: Pregnancy achieved by intracytoplasmic sperm injection using cryopreserved semen from a man with testicular cancer. *Hum Reprod*, **11**, 2645—2647, 1996.
- 11) Roelofs, H., Manes, T., Janszen, T., Millan, J.L., Oosterhuis, J.W. and Looijenga, L.H.: Heterogeneity in alkaline phosphatase isozyme expression in human testicular germ cell tumours: An enzyme- / immunohistochemical and molecular analysis. *J Pathol*, **189**, 236—244, 1999.
- 12) Hustin, J., Collette, J. and Franchimont, P.: Immunohistochemical demonstration of placental alkaline phosphatase in various states of testicular development and in germ cell tumours. *Int J Androl*, **10**, 29—35, 1987.
- 13) Jorgensen, N., Rajpert-De Meyts, E., Graem, N., Muller, J., Giwercman, A. and Skakkebaek, N.E.: Expression of immunohistochemical markers for testicular carcinoma in situ by normal human fetal germ cells. *Lab Invest*, **72**, 223—231, 1995.
- 14) Montironi, R.: Intratubular germ cell neoplasia of the testis: testicular intraepithelial neoplasia. *Eur Urol*, **41**, 651—654, 2002.
- 15) Christensen, T.B., Daugaard, G., Geertsens, P.F. and von der Maase, H.: Effect of chemotherapy on carcinoma in situ of the testis. *Ann Oncol*, **9**, 657—660, 1998.
- 16) Dieckmann, K.P., Souchon, R., Hahn, E. and Loy, V.: False-negative biopsies for testicular intraepithelial neoplasia. *J Urol*, **162**, 364—368, 1999.
- 17) Rajpert-De Meyts, E., Kvist, M. and Skakkebaek, N.E.: Heterogeneity of expression of immunohistochemical tumour markers in testicular carcinoma in situ: pathogenetic relevance. *Virchows Arch*, **428**, 133—139, 1996.
- 18) Skakkebaek, N.E., Berthelsen, J.G., Giwercman, A. and Muller, J.: Carcinoma-in-situ of the testis: possible origin from gonocytes and precursor of

- all types of germ cell tumours except spermatocytoma. *Int J Androl*, **10**, 19—28, 1987.
- 19) Skakkebaek, N.E., Rajpert-De Meyts, E. and Main, K.M. : Testicular dysgenesis syndrome : an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod*, **16**, 972—978, 2001.
- 20) Chaganti, R.S. and Houldsworth, J. : Genetics and biology of adult human male germ cell tumors. *Cancer Res*, **60**, 1475—1482, 2000.
- 21) Herr, H.W. and Sheinfeld, J. : Is biopsy of the contralateral testis necessary in patients with germ cell tumors? *J Urol*, **158**, 1331—1334, 1997.
- 22) Dieckmann, K.P., Lauke, H., Michl, U., Winter E. and Loy, V. : Testicular Germ Cell Cancer despite Previous Local Radiotherapy to the Testis. *Eur Urol*, **41**, 643—650, 2002.
- (2002 年 12 月 11 日受付, 2003 年 7 月 9 日受理)
-