非機能性下垂体腺腫の免疫組織化学的・電顕的検討

ゴナドトロピン産生腺腫との関連性について

宮崎 宏道・戸谷 重雄・大谷 光弘・和田 知益*・亀谷 徹*

Immunohistochemical and Electron Microscopic Study of Nonfunctioning Pituitary Adenomas

With Special Reference to Gonadotroph Adenomas

Hiromichi MIYAZAKI, Shigeo TOYA, Mitsuhiro OTANI, Chieki WADA*
and Toru KAMEYA*

*Department of Neurosurgery, Keio University, Tokyo; *Department of Pathology, Kitasato University, Sagami-hara, Kanagawa*

Abstract

Immunohistochemical techniques and electron microscopy were employed in a study of nine surgical patients with nonfunctioning pituitary adenomas and no clinical or biochemical evidence of increased hormone secretion. Six of the patients were found to have gonadotroph adenomas, which exhibited extensive immunostaining for gonadotropins, and the remaining three appeared to have null cell adenomas, which showed no reactivity for any pituitary hormone. Clinically, it was difficult to distinguish these two groups of patients. Gonadotroph adenomas are likely to have low secretory activity, resulting in normal or slightly high serum gonadotropin levels. In addition, some common histopathological features were observed in the two groups: a predominantly papillary, sinusoidal pattern; rather poorly developed cell organelles, with the exception of an abundance of mitochondria; and small, round secretory granules dispersed throughout the cytoplasm. It is possible that null cell adenoma produces so little gonadotropin that it is not detectable by immunohistochemistry. In this study, two thirds of the nonfunctioning adenomas were, in fact, gonadotroph adenomas. The authors speculate that there is a common cytogenesis of gonadotroph adenomas and some, if not all, null cell adenomas.

Key words: pituitary adenoma, gonadotropin, immunohistochemistry, electron microscopy

I はじめに

下垂体腺腫は、血中前葉ホルモンの異常高値および特徴的な内分泌徴候を伴った機能性腺腫と、それらを欠いた非機能性腺腫とに臨床上大別される。一方、近年報告の増えているゴナドトロピン産生腺腫(gonadotroph adenoma⁶⁾)は

通常特徴的な臨床徴候を持たないため、しばしば非機能性腺腫とされている可能性がある。今回我々は、最近経験した9例の非機能性腺腫を免疫組織化学的および電顕的に検討した結果、6例が形態的にゴナドトロピン産生腺腫と考えられた。また、ホルモン免疫活性を示さない残りの3例、いわゆる null cell adenoma⁹⁾にも形態的にそれと類似

慶應義塾大学脳神経外科 *北里大学病理

Address reprint requests to: H. Miyazaki, M.D., Division of Neurosurgery, Hiratsuka City Hospital, 1-19-1 Minamihara, Hiratsuka, Kanagawa 254.

受稿 1987年5月7日 受理 1987年8月20日

した所見を認めた。非機能性腺腫とゴナドトロピン産生腺腫の関連性に関し、考察を加えた。

II 対象と方法

慶應義塾大学脳神経外科にて1985年5月より翌年8月までに手術された非機能性下垂体腺腫9例を対象とした。同時期に手術された機能性腺腫14例〔プロラクチン(以下PRL)産生7, 成長ホルモン(以下GH)産生6, 向副腎皮質ホルモン(以下ACTH)産生1〕にも同様の検索を行った。

手術材料を顕微鏡用にはブアン固定、パラフィン包埋後、切片を作製し、HE染色を施した。顕微鏡用には組織を2.5%グルタルアルデヒドおよび2%オスミウム酸にて固定、エポン包埋後、切片を作製し、電子二重染色ののち、JEM100SX透過型電子顕微鏡にて観察した。免疫染色は顕微鏡用切片に対し、avidin biotin complex法⁷⁾にて行い、抗体はGH, PRL, ACTH, そして甲状腺刺激ホルモン(以下TSH), 黄体化ホルモン(以下LH), 卵胞刺激ホルモン(以下FSH)の各 β -subunitおよび α -subunitのおのおのに対するものを使用した(前三者はImmuno Nuclear社より、後四者はNational Institute of Arthritis, Diabetes and Digestive and Kidney Disease: 以下NIADDKより入手)。反応の特異性は、特異抗体の代りに正常血清あるいは抗原(NIADDK)にて吸収した抗体を使用し、反応の陰性化することにより確認した。後四者の特異抗体間の交差反応は交差吸収試験にて除外した。また、内分泌細胞の分泌顆粒のマーカーとされるchromogranin¹⁵⁾の抗体(Immuno Nuclear社)に対する反応性を同時に検索した。

III 結 果

非機能性腺腫と臨床診断された9例のうち、6例が免疫染色の結果、gonadotroph adenoma (以下GtA)と考えられた。以下、その臨床的、病理組織学的な特徴を述べ、また残りの3例のnull cell adenoma (以下NcA)と比較する。

1. 臨床的所見 (Table 1)

GtAの6例は中高年(平均57.2才)の男性4例、女性2例であり、主訴は無月経、乳汁分泌の<症例4>を除き、視力視野障害で、その5例は入院時に両耳側半盲を示した。男性ではlibidoの低下を訴えることが多く、また女性では無月経を認めたが、いずれも長期にわたる性腺機能不全を有するものではなく、身体所見でも正常な性徴候を示した。CT scan上は鞍上進展を示す軽度高吸収のmacroadenomaで、造影剤にて増強された。2例ではcystと思われる低吸収域を含んでいた。内分泌学的検査ではGtAの血中ゴナドトロピン値はほぼ正常範囲内にあり、<症例1, 6>ではFSHがやや高値を示したが、高齢によるものと考え、正常範囲内と判断された。LH releasing hormone (以下LHRH)負荷試験(早朝空腹時LHRH 100 μ g 静注)では、全例FSH, LHの上昇反応を示した。他のホルモンでは<症例4>にPRLの軽度上昇があり、<症例1, 3, 5, 6>では下垂体予備能力の一部低下を認めた。手術では<症例3, 5>でCT scanの低吸収域に一致して茶褐色液を含むcystを認めたが、他の4例は充実性の通常の下垂体腺腫の所見であった。

NcAの3例も概して類似した所見を示し、臨床的側面

Table 1 Clinical features of nine patients with nonfunctioning adenomas

Case No.	Age, Sex	Chief complaint	Loss of libido	Suprasellar extension	Cyst	LH (mIU/ml)		FSH (mIU/ml)	
						Base	Peak	Base	Peak
Gonadotroph adenomas:									
1	71, M	visual disturbance	+	+	—	23	40	48	61
2	58, M	visual disturbance	+	+	—	24	34	19	25
3	51, M	visual disturbance	—	+	+	11	25	10	16
4	46, F	amenorrhea/galactorrhea		+	—	4	44	4	18
5	50, M	visual disturbance	+	+	+	11	24	10	19
6	67, F	visual disturbance		+	—	15	29	32	85
Null cell adenomas:									
7	48, M	visual disturbance	+	+	—		not examined		
8	50, F	visual disturbance		+	—	5	11	5	11
9	45, F	visual disturbance		+	—	10	29	8	19

The normal ranges of luteinizing hormone (LH) are 4 to 23 in males less than 40 years old and 3 to 20 in premenopausal females. For follicle stimulating hormone (FSH) the normal ranges in the same age groups are 2 to 18 and 3 to 13, respectively. In males over age 40 and in postmenopausal females, LH and FSH are higher. Peak indicates peak for LH releasing hormone test.

からは両者の区別は困難であったと思われる。

2. 病理組織学的所見 (Table 2)

GtA には HE 染色にて好酸性を呈するものがあり、これは後述する oncocytic change を反映したものと思われる^{9,10)}。Pleomorphism および mitosis は認められない。血管の増生をしばしば認め、sinusoidal ないし papillary な構築を主とする症例が多く、NcA でも 2 例に同様な傾向を認めた。同時期に手術された 14 例の機能性腺腫はいずれも

diffuse な細胞構築が主であった。

免疫染色では GtA と NcA が明らかに区別された。すなわち、〈症例 1~6〉ではゴナドトロピン陽性の細胞を組織中に広汎に認めた (Fig. 1A) が、〈症例 7~9〉はすべてのホルモンに対し反応陰性であった (Fig. 2A)。一方、電顕所見では GtA に共通した特徴がいくつか挙げられる (Fig. 1B)。核は概して類円形で、核小体は顕著ではない。細胞質は豊富で、丸味を帯びた多角形のものが多く、血管周囲

Table 2 Pathological features of nine nonfunctioning adenomas

Case No	HE stain	LH β	FSH β	α -subunit	Chromogranin	Oncocytic change	Secretory granules (nm)	Development of RER and Golgi apparatus
Gonadotroph adenomas								
1	A/D+P	+	+	++	+++	severe	100-150	poor
2	C+A/S+D	++	++	++	++	moderate	80-130	moderate
3	C+A/S	++	++	++	+++	moderate	100-200	moderate
4	C/P	++	++	++	+++	moderate	100-200	moderate
5	C+A/P+D	+	++	+	++	severe	80-200	poor
6	C/D	-	++	+++	+++			
Null cell adenomas								
7	A/D	-	-	-	-	severe	80-150	poor
8	C/S	-	-	-	++	moderate	60-130	poor
9	C/D+P	-	-	-	-	mild	60-120	moderate

In Case 6, the electron microscopy sample was inadequate. A indicates acidophilic, C, chromophobe, D, diffuse, P, papillary, S, sinusoidal, RER, rough endoplasmic reticulum -, +, ++, and +++ indicate negative, weak, moderate, and strong immunoreactivity, respectively

Fig. 1 Case 4 Gonadotroph adenoma. A Many cells are immunoreactive for gonadotropin [β -subunit of follicle stimulating hormone (FSH β)] Immunoperoxidase stain, $\times 200$ B: Electron micrograph reveals oncocytic changes in some cells. Bar = 2 μ m. C Most cells show immunoreactivity for chromogranin Immunoperoxidase stain, $\times 200$

Fig 2 Case 8 Null cell adenoma. A No hormone is detected Immunoperoxidase stain (FSH β), $\times 200$. B Electron micrograph reveals oncocytic change Bar=2 μ m C. Some cells show immunoreactivity for chromogranin. Immunoperoxidase stain, $\times 200$

では長方形ないし紡錘形を示すものも認める。細胞内器官では粗面小胞体、Golgi 装置は多くの細胞に認められるものの、GH 産生腺腫や PRL 産生腺腫に比べると、明らかに発達は不良である。分泌顆粒は円形で80~200 nmと小型で、細胞質内に diffuse に分布しており、数は症例により、また同一症例でも細胞により疎なものから密なものまであり、一定していない。ミトコンドリアの増生、すなわち oncocytic change を示す細胞の多いのが特徴で、〈症例 1, 5〉は形態的には oncocytoma¹⁰⁾と考えられた。数個の lysosome を認める細胞が多い。NcA の電顕所見でも GtA に類似した特徴を認めた (Fig. 2B)。まず、oncocytic change を示す細胞が多く、〈症例 7〉は oncocytoma とみなされた。他の機能性腺腫では著明な oncocytic change を示すものはなかった。また、粗面小胞体、Golgi 装置の発達は概して不良であり、分泌顆粒は円形、小型で、細胞内に diffuse に存在し、その数は GtA と比べて必ずしも少なくなかった。以上、GtA と NcA とは免疫染色にて区別できるが、形態的には決定的な違いを指摘することはできなかった。

Chromogranin に対する免疫反応では、GtA の 6 例は全例陽性を示し (Fig. 1C)、NcA でも 1 例が陽性を示した (Fig. 2C)。他の機能性腺腫では、ゴナドトロピン陽性細胞を含んだ 3 例の GH 産生腺腫以外はすべて陰性であった。

IV 考 察

機能性下垂体腺腫のなかで TSH 産生腺腫、ゴナドトロピン産生腺腫はまれなものとされる⁸⁾。ゴナドトロピン産生腺腫に関しては、他のホルモン産生腺腫のように特徴的な内分泌徴候が知られていないため、‘機能性’の意味するところはゴナドトロピンの異常分泌、すなわち血中値の上昇のみとなろう。しかし、過去の報告例のうち免疫組織化学的に確認され、かつ内分泌テータの揃った 45 例^{2-6,13,14,20,21)}を調べてみると、血中値の上昇を伴わず、免疫組織化学的にのみ証明されたものが 15 例^{4,6,14,20,21)}ある。これらは今回の我々の 6 例を含め、定義上は‘非機能性’と分類されて然るべきであるが、ホルモン含有が証明されるかぎり、細胞にそのホルモン産生能がある可能性はきわめて高いと思われ、‘機能性’ではなくとも‘産生’腺腫と呼ぶのは妥当と思われる。あるいは、より形態に重点を置いて、ゴナドトロピン細胞腺腫 (gonadotroph adenoma⁶⁾) と言うのが適当かもしれない。一方、残りの 30 例をみてもゴナドトロピン値の上昇は軽度のものが多く、正常上限の 2~5 倍以内のものがほとんどで、高いものでも約 10 倍である。ところが、ゴナドトロピンは正常者でも男女とも中年以降、加齢とともに上昇を示す場合がある〔当院における正常対照者：男性 15 名 (43~84 才) で最高約 4 倍まで、女性 28 名 (49~93 才) で最高約 16 倍まで〕ため、多少の上昇は加齢による残存下垂体からの生理的分泌亢進として正常範囲内とされることも多いかと思われる。実際に血中値の上

昇が腫瘍性なのか否かの区別には、前者ではFSHが優位を示すこと¹⁹⁾、LHRH試験でpeak FSH/LHが>1を示すこと¹⁹⁾、またTRH試験にてLH、FSHの上昇をみること¹⁸⁾が指標になるというが、必ずしも絶対的ではない。したがって、GtAは血中値の上昇を伴わないものはもちろん、機能性(血中値の上昇を伴うもの)であっても、免疫組織化学的検索がなされないかぎり、いわゆる非機能性腺腫とされる可能性が高い^{4,13)}。今までに非機能性腺腫と分類されていたもののうち、かなりの部分をGtAが占めるのではないかと推測される。

上述のごとく、GtAのゴナドトロピン値は軽度上昇ないし正常範囲内であるのが特徴と思われる。血中値の高いGtAの組織培養で、他の機能性腺腫に比べ、培養液中へのホルモン分泌量の低いことが指摘されており^{13,17)}、この特徴は腫瘍自体の性質によるものと考えられる。形態上の粗面小胞体やGolgi装置の発達不良、あるいはoncocytic changeが分泌量の低さに関与している可能性がある^{12,13)}。一方では細胞内に顆粒を多少とも認めること、免疫染色でかなりの細胞がホルモン陽性であることを考えると、なんらかの分泌障害もあるものと思われる。また、構造的ないし免疫活性的に正常と異なるホルモンが分泌されている可能性も挙げられる²¹⁾。

臨床的名称である非機能性腺腫に対応する形態的な名称として、従来よりchromophobe adenoma, undifferentiated cell adenomaなどが使われてきた⁹⁾が、最近ではKovacsら⁹⁾により提唱されたnull cell adenomaという名前が広まってきている。これは臨床的、内分泌学的にホルモン分泌亢進が示唆されず、かつ免疫組織化学的にホルモン含有が証明されないものと定義されている。我々の9例の非機能性腺腫のうち、6例は免疫染色にて広汎に強くゴナドトロピン陽性反応を認め、病理組織学的にはGtAと考えられた。残りの3例がNcAに相当する。しかし、今回の症例に限って言えば、この両者は光顕上あるいは電顕上、形態的に区別がつきがたく、むしろ共通した特徴を有する傾向があった。GtA^{6,21)}でもNcA⁹⁾でも血管構築に富むことは指摘されており、このことは正常下垂体でゴナドトロピン細胞が血管の豊富な前葉の後内側に特に多い¹⁶⁾ことを考えると興味深い。Kovacsら⁹⁾はNcAの電顕上の特徴として、今回我々の9例に認めた特徴、すなわち種々の程度のoncocytic change、発育の悪い粗面小胞体およびGolgi装置、そして円形で小型の分泌顆粒の存在を挙げている。また一方、GtAの電顕所見の報告で、Horvathら⁶⁾は30例の検索の結果、男性例ではNcAと同様の所見を示すものが多く、女性例および一部の男性例ではより分化した形態を認めるとしている。

以上、GtAとNcAとは臨床、そして形態的にも往々にして類似していることは明らかであり、両者を明確に区別するのは免疫染色によって示されるホルモンの有無のみと言えるかもしれない。また一方では、Mashiterら¹²⁾が9例のNcAを培養し、うち8例に、Asaら¹⁾が7例のNcAと5例のoncocytomaを培養し、その全例にゴナドトロピンの分泌を認めたと報告している。このことは、NcAは免疫染色では検出できないが潜在的にはゴナドトロピンを産生する能力を有することを示唆しており、Asaら¹⁾はNcAの細胞がゴナドトロピン産生細胞に分化しうる、あるいは両者が共通のprecursorを有する可能性を指摘している。また、Lloydら¹¹⁾は副腎髄質のカテコールアミンの分泌顆粒の可溶性蛋白の主成分であり、多くの内分泌細胞に認められるchromogranin¹⁵⁾に対する抗体で下垂体を免疫組織化学的に検索し、正常では糖蛋白ホルモン(LH, FSH, TSH)細胞が、腫瘍ではTSH and/or FSH・LH産生腫瘍およびNcAが陽性を示すことを報告している。我々の症例ではGtAの全例とNcAの3例中1例が陽性を示した。ChromograninをGtAのより鋭敏なマーカーと考えると、この結果もNcAのなかにホルモン免疫染色にて検出されないGtAが含まれている可能性を示唆している。果してNcAにGtAと細胞起源を同じくするものがあるのか、あるいはまったく別個に、たとえば正常下垂体にも存在するというnull cell⁹⁾などに起源を求めるべきものであるのかは、今後解明を待つ課題である。

V 結 語

1. 非機能性下垂体腺腫と分類されているもののなかに、かなりのゴナドトロピン産生腺腫が含まれている可能性がある。
2. ゴナドトロピン産生腺腫とnull cell adenomaとは免疫組織化学的に区別できるが、光顕上、電顕上は概して共通した所見を示した。

電顕の検索において御協力頂きました北里大学電顕センター技術員の皆様に感謝致します。

文 献

- 1) Asa SL, Gerrie BM, Singer W, Horvath E, Kovacs K, Smyth HS: Gonadotropin secretion in vitro by human pituitary null cell adenomas and oncocytomas. *J Clin Endocrinol Metab* 62: 1011-1019, 1986
- 2) Beckers A, Stevenaert A, Mashiter K, Hennen G: Follicle-stimulating hormone-secreting pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 61: 525-528, 1985
- 3) Borges JLC, Ridgway EC, Kovacs K, Rogol AD, Thorner

- MO: Follicle-stimulating hormone-secreting pituitary tumor with concomitant elevation of serum α -subunit levels. *J Clin Endocrinol Metab* 58: 937-941, 1984
- 4) Cravioto H, Fukaya T, Zimmerman EA, Kleinberg DL, Flamm ES: Immunohistochemical and electron-microscopic studies of functional and non-functional pituitary adenomas including one TSH secreting tumor in a thyrotoxic patient. *Acta Neuropathol (Berl)* 53: 281-292, 1981
 - 5) Friend JN, Judge DM, Sherman BM, Santen RJ: FSH-secreting pituitary adenomas: Stimulation and suppression studies in two patients. *J Clin Endocrinol Metab* 43: 650-657, 1976
 - 6) Horvath E, Kovacs K: Gonadotroph adenomas of the human pituitary: Sex-related fine-structural dichotomy. *Am J Pathol* 117: 429-440, 1984
 - 7) Hsu SM, Raine L, Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques. *J Histochem Cytochem* 29: 577-580, 1981
 - 8) Kovacs K: Light and electron microscopic pathology of pituitary tumors: Immunohistochemistry, in Black PM (ed): *Secretory Tumors of the Pituitary Gland*. New York, Raven, 1984, pp 365-375
 - 9) Kovacs K, Horvath E, Ryan N, Erzin C: Null cell adenoma of the human pituitary. *Virchows Arch [Pathol Anat]* 387: 165-174, 1980
 - 10) Landolt AM, Oswald VM: Histology and ultrastructure of an oncocytic adenoma of the human pituitary. *Cancer* 31: 1099-1105, 1973
 - 11) Lloyd RV, Wilson BS, Kovacs K, Ryan N: Immunohistochemical localization of chromogranin in human hypophyses and pituitary adenomas. *Arch Pathol Lab Med* 109: 515-517, 1985
 - 12) Mashiter K, Adams E, Van Noorden S: Secretion of LH, FSH and PRL shown by cell culture and immunocytochemistry of human functionless pituitary adenomas. *Clin Endocrinol (Oxf)* 15: 103-112, 1981
 - 13) Miura M, Matsukado Y, Kodama T, Mihara Y: Clinical and histopathological characteristics of gonadotropin-producing pituitary adenomas. *J Neurosurg* 62: 376-382, 1985
 - 14) Mukai K: Pituitary adenomas. Immunocytochemical study of 150 tumors with clinicopathological correlation. *Cancer* 52: 648-653, 1983
 - 15) O'Conner DT, Burton D, Deftos LJ: Immunoreactive human Chromogranin A in diverse polypeptide hormone producing human tumors and normal endocrine tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 57: 1084-1086, 1983
 - 16) Phifer RF, Midgley AR, Spicer SS: Immunohistologic and histologic evidence that follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone are present in the same cell type in the human pars distalis. *J Clin Endocrinol Metab* 36: 125-141, 1973
 - 17) Snyder PJ, Bashey HM, Phillips JL, Gennarelli TA: Comparison of hormonal secretory behavior of gonadotroph cell adenomas in vivo and cultures. *J Clin Endocrinol Metab* 61: 1061-1065, 1985
 - 18) Snyder PJ, Sterling FH: Hypersecretion of LH and FSH by a pituitary adenoma. *J Clin Endocrinol Metab* 42: 544-550, 1976
 - 19) 武内重二, 青木道夫, 宗光博文, 山上達人, 半田 肇: ギナドトロピン産生下垂体腺腫. 第3回下垂体腫瘍 Workshop 講演集. 1983, pp 99-104
 - 20) Trouillas J, Girod C, Sassolas G, Claustrat B, Lheritier M, Dubois MP, Goutelle A: Human pituitary gonadotroph adenoma: Histological, immunocytochemical, and ultrastructural and hormonal studies in eight cases. *J Pathol* 135: 315-336, 1981
 - 21) 土田博美, 佐藤 修, 伝法公麿, 室谷光三: Gonadotropin 産生腺腫の5例 —免疫組織学的・電顕的検討—. 第3回下垂体腫瘍 Workshop 講演集. 1983, pp 83-98
- [別刷請求先: 〒254 神奈川県平塚市南原1-19-1, 平塚市民病院 脳神経外科, 宮崎宏道]