

# 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

京都大学脳神経外科学教室 (指導: 半田 肇教授)

山 上 達 人

〔原稿受付: 昭和59年8月20日〕

## Immunohistochemical and Endocrinological Study of Pituitary Adenomas

TATSUHITO YAMAGAMI

Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University  
(Director: Prof. Dr. HAJIME HANDA)

Operative specimens of 217 pituitary adenomas were examined immunohistochemically by using peroxidase antiperoxidase method. These include 51 cases of prolactin (PRL) secreting adenomas, 46 cases of growth hormone (GH) secreting adenomas, 87 cases of non-functioning adenomas, 7 cases of gonadotropin secreting adenomas, 3 cases of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) secreting adenomas, one case of thyroid stimulating hormone (TSH) secreting adenoma and 22 cases of unclassified adenomas. The antisera were anti-PRL, anti-GH, anti-ACTH, anti-LH  $\beta$ , anti-FSH  $\beta$ , anti-TSH and anti-FSH  $\alpha$  subunit. Endocrinological data were compared with immunohistochemical results.

In PRL secreting adenomas patterns of immunohistochemical positive reaction were as follows. Forty-six cases were positive for PRL (90%). Seven cases were positive for GH (14%). One case was positive for ACTH (2%). Two cases were positive for LH  $\beta$  (4%). Seven cases were positive for FSH  $\beta$  (14%). Three cases were positive for TSH (6%). And nine cases were positive for FSH  $\alpha$  (18%).

In GH secreting adenomas multi-hormonal reactivity was found immunohistochemically (100% for GH, 46% for PRL, 12% for ACTH, 27% for LH  $\beta$ , 59% for FSH  $\beta$ , 33% for TSH and 41% for FSH  $\alpha$ ). GH positive cells were different from ACTH, LH  $\beta$ , FSH  $\beta$ , TSH or FSH  $\alpha$  positive cells. In most cases, GH positive cells were considered to be different from PRL positive cells. Only in three cases among 21 GH secreting adenomas, there were some cells which were

Key Words: Immunohistochemistry, Pituitary adenoma, GH (growth hormone) secreting adenoma, Non-functioning adenoma, Endocrinological study.

索引語: 下垂体腺腫, 免疫組織化学, 成長ホルモン産生下垂体腺腫, 非機能性下垂体腺腫, 内分泌学的検討.  
Present address: Department of Neurosurgery, Kyoto University Medical School, 54-Shogoin Kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto, 606, Japan.

stained with both anti-GH and anti-PRL sera. Some LH  $\beta$  positive cells were different from FSH  $\beta$  positive cells. And some FSH  $\alpha$  positive cells were different from both LH  $\beta$  and FSH  $\beta$  positive cells.

There were no significant correlation between immunohistochemical positive reactions and hormonal responses to endocrinological stimulating tests both in PRL secreting and GH secreting adenomas.

In 87 cases of non-functioning adenomas immunohistochemical positivity was as follows (1% for PRL, 3% for GH, 2% for ACTH, 5% for LH  $\beta$ , 10% for FSH  $\beta$ , 10% for TSH and 21% for FSH  $\alpha$ ). Nine cases were positive only for FSH  $\alpha$  subunit. In contrast, in cases of functioning adenomas, almost all the cases which were positive for FSH  $\alpha$  were also positive for FSH  $\beta$  and/or LH  $\beta$ . One of these nine cases of non-functioning, FSH  $\alpha$  positive adenoma showed high concentration of HCG  $\alpha$  subunit in serum. These data indicate that there are  $\alpha$  subunit secreting pituitary adenomas in the group which have been diagnosed as non-functioning adenoma.

FSH  $\alpha$  positive cases in non-functioning adenoma have a tendency of low response of TSH, LH and TSH to TRH and LH-RH stimulation tests, although some of them were not significantly different from those of FSH  $\alpha$  negative cases. In FSH response to LH-RH test one case had delayed response and eight cases had low response among the thirteen. This patterns of abnormal response were significantly different from those of FSH  $\alpha$  negative cases ( $p < 0.005$ ).

There were many cases which had positive reactions for two or more anti-sera of pituitary hormones immunohistochemically. The interpretation of these positive cells without any clinical sign or high hormonal level is 1) admixture of normal pituitary cells, 2) hyperplastic cell which can transform to adenomatous change, 3) multi-secreting adenoma, 4) multi-secreting adenoma with control by hypothalamus. The potentiality of multi-secreting function was discussed from the immunohistochemical and endocrinological point of view.

## I. はじめに

近年、内分泌学、特に鋭敏な radioimmunoassay の発達及び免疫組織化学的手法の進歩により、下垂体腺腫はホルモン産生能に基づいて分類されるようになった。Microsurgery や transsphenoidal approach の技術向上により、biopsy や選択的腺腫摘出術も容易になってきたが<sup>1,14,26)</sup>、その反面 bromocriptine を中心とした薬物療法にも目を見張るものがある<sup>59)</sup>。

下垂体ホルモンの過剰分泌により、prolactin (PRL) 産生腺腫、growth hormone (GH) 産生腺腫、adrenocorticotrophic hormone (ACTH) 産生腺腫が診断され、稀なものとして、gonadotropin (LH: luteinizing hormone, FSH: follicle stimulating hormone) 産生腺腫、thyroid stimulating hormone (TSH) 産生腺腫がある。また、2種さらには多種類のホルモンを同

時に産生する下垂体腺腫の概念も登場した<sup>15,48)</sup>。しかし、内分泌学的検査より、hyperfunction の認められない、いわゆる non-functioning adenoma は依然として wastebasket の疾患である。以前より chromophobe adenoma においても、電顕的に細胞内分泌顆粒が存在することが指摘されているが<sup>10)</sup>、その分泌能力は未知である。この non-functioning adenoma を含め、下垂体腺腫を形態学的及び内分泌学的に詳細に検討することは重要である。

正常下垂体には、PRL, GH, ACTH, MSH (melanocyte stimulating hormone), LH, FSH, TSH 等を分泌する細胞が存在していることは従来の組織化学的手法のみならず、免疫組織化学的手法により確立されている。この中でも、LH と FSH は同一の細胞より分泌するという<sup>16,41)</sup>説と、また LH のみ<sup>5)</sup>、或いは FSH のみ分泌する細胞<sup>30,33,36,42)</sup>があるという説がある。さ

らに、GH と PRL とは別々の細胞より分泌されることは定説となっている。また、それぞれのホルモン分泌細胞の分布様式は一定している<sup>6,11,31,33,37</sup>。下垂体腺腫が生ずると、正常下垂体を圧排し、或いは浸潤して、それぞれの正常細胞の分布が乱れてくる。腺腫摘出術にて得た手術標本を基に、免疫組織化学的検討を行ない、術前の内分泌学的所見との関連も加えて検討し、下垂体腺腫細胞の性格の側面を追及した。

## II. 材料と方法

1965年4月より、1984年6月迄の間に京都大学脳神経外科において手術された235例の下垂体腺腫について、光顕免疫組織化学的検討を加えた。手術によって得られた組織片を固定したが、1981年3月までは10%ホルマリンを用いた。1981年4月よりは、さらに、中性緩衝ホルマリン、Zamboni 固定液、Bouin 固定液を用いた。固定後、通常の光顕用パラフィン包理を行なったが、後二者で固定した場合には、充分水洗後、一夜0.01モル PBS (Phosphate Buffered Saline) (pH 7.2) にて洗浄してから包理した。厚さ4 $\mu$ mの切片を作成して、免疫組織化学の材料とした。

### 1 抗血清

1次抗血清は以下のものを用いた。PRL, GH, ACTH, TSH は DAKO 社 (USA) のキットのものを用いた。以下に述べる様に0.01モル PBS (pH 7.2) にて2倍に希釈して用いた。

また、NIAMDD (National Institute of Arthritis, Metabolism & Digestive Diseases) (Dr. Parlow) より入手した FSH  $\alpha$  subunit, LH  $\beta$  subunit 及び FSH  $\beta$  subunit の抗血清を0.01モル PBS (pH 7.2) にて200倍希釈して用いた。

なお、2次抗血清にはブタ抗ウサギ IgG (DAKO, USA) を使用した。

### 2. 免疫組織化学の特異性の検定

#### 1) Sensitivity control

1次抗血清を0.01モル PBS (pH 7.2) にて希釈して反応させた。PRL, GH, ACTH, TSH の抗血清は2倍、4倍、8倍、10倍、50倍、100倍、1000倍に希釈した。

LH  $\beta$ , FSH  $\beta$  及び FSH  $\alpha$  subunit の抗血清は100倍、200倍、400倍、800倍、1000倍、2000倍、4000倍、8000倍、10000倍に希釈した。

#### 2) Method control

#### i) Specificity control

1次抗血清の代わりに0.01モル PBS (pH 7.2) 及び正常ウサギ血清 (0.01モル pH 7.2, PBS にて2%に希釈) を用いて反応を行なった。

#### ii) Absorption test

ACTH 製剤 (第1製薬, 抗原 100  $\mu$ g/ml) を10倍、100倍、1000倍、10000倍に希釈したものをそれぞれ同じ容量の1次抗血清 (PRL, GH, ACTH, TSH, LH  $\beta$ , FSH  $\alpha$  及び FSH  $\beta$ ) に加え、4°C で24時間 incubate して、1次抗血清の代わりに用いて反応を行なった。

次に、PRL (第一ラジオアイソトープ研究所, 抗原 100 ng/ml) 及び GH (ダイナボット株式会社, 抗原 80 ng/ml) を10倍、100倍、1000倍に希釈したものを等容量の1次抗血清 (PRL, GH) に加え、4°C にて18時間 incubate して、1次抗血清の代わりに用いて反応を行なった。

## 3. 方法

[光顕] 免疫組織化学は peroxidase antiperoxidase (PAP) 法 (Sternberger)<sup>50</sup> で行ない、組織片中に incidental に含まれる正常下垂体組織を対照 (positive control) とした。まず、内因性 peroxidase を抑制するために脱パラフィンした切片を0.3% 過酸化水素を含む100%メチルアルコールにて20分間処理し、0.01モル PBS (pH 7.2) にて5分間ずつ3回洗浄した<sup>50</sup>。

その後、切片に3%正常ブタ血清をかけて室温に20分間静置し、ブタ血清をふきとって1次抗血清を重ねた。反応は室温、湿箱内で20分とした。2次抗血清との反応は室温で20分間として、ウサギ PAP 複合体と20分間反応させ、最後に3-amino-9-ethylcarbazole にて発色させ、細胞核を hematoxylin にて弱染色し、5%アンモニア水にて5分間処理した。水洗後、10%グリセリン (グリセリン 1:0.01モル, pH 7.2 PBS 9) にて封入した。

各反応は、湿箱内で行ない、各過程間の切片の洗浄は、0.05モル, pH 7.6, Tris 緩衝液を用いた。

また、二種類のホルモンが一個の細胞に同時に染色されているかどうか検索するために、連続切片を用い、写真撮影後検討した。

結果判定の基準は以下の通りである。免疫組織化学的な陽性にも intensity の差があり、また腺腫周囲に正常下垂体細胞を含む場合もあるので、腺腫細胞と判断される部分のみを検討の対象とした。弱く曖昧に反応した例や一標本中に孤立して数個の細胞しか反応し

なかった場合には陰性とした。

なお、PRL 産生腺腫57例中13例には、術前に bromocriptine の投与がしてある<sup>52)</sup>。

1975年以降の症例では、内分泌機能を評価するために ITT (Insulin Tolerance Test), TRH (TSH Releasing Hormone) test, LH-RH (LH Releasing Hormone) test における反応性を調べた。ITT における GH の正常反応 (最高値が 10 ng/ml 以上), TRH に対する PRL の正常反応 (15~30分で前値の200%以上), TRH に対する TSH の正常反応 (最高値が 10  $\mu$ U/ml 以上), LH-RH に対する LH の正常反応 (最高値が 40~100 mIU/ml) LH-RH に対する FSH の正常反応 (最高値が 10~50 mIU/ml) 以外に、無反応, 低反応, 遅延反応, 過剰反応等の判定を行なった<sup>47)</sup>。PRL 産生腺腫, GH 産生腺腫及び non-functioning adenoma について、ホルモン基礎値及び ITT, TRH test, LH-RH test に対する反応性の異常と免疫組織化学的な陽性との関係を調べた。PRL 産生腺腫における PRL の反応性及び GH 産生腺腫における GH の反応性については検討しなかった。

統計学的な有意差判定には、Student's t test を用いた。

### III. 結 果

#### 1. 免疫組織化学的特異性の検定

##### 1) Sensitivity control (Table 1)

PRL, GH, ACTH 及び TSH の抗血清は、10倍以上の希釈では、ほとんど免疫活性は認められなかった。2倍希釈が適切な濃度であると判定された。

LH  $\beta$ , FSH  $\beta$  及び FSH  $\alpha$  subunit の抗血清は、

1000倍以上の希釈では、ほとんど免疫活性はなく、200倍希釈が適切な濃度であると判定された。

##### 2) Method control

###### i) Specificity control

1次抗血清の代わりに PBS 及び正常ウサギ血清を用いた場合、対象である正常下垂体及び下垂体腺腫の細胞のいずれも免疫活性は出現しなかった。

###### ii) Absorption Test (Table 2, 3)

正常下垂体における ACTH の呈色反応は、ACTH を抗原量として 0.01  $\mu$ g/ml 加えることにより減弱し、10  $\mu$ g/ml 以上では消失した。

また、一部 LH  $\beta$  及び FSH  $\alpha$  の呈色反応で ACTH の抗原の添加により、減弱反応が認められた。

他の呈色反応は ACTH の抗原の影響は全く受けなかった (Table 2)。

PRL の呈色反応は PRL 抗原 1 ng/ml 以上で減弱を示し、10 ng/ml 以上で消失したが、GH 抗原の影響は受けなかった (Table 3)。

GH の呈色反応は GH 抗原 0.8 ng/ml 以上で減弱し、8 ng/ml 以上で消失したが、PRL 抗原の影響は全く受けなかった。

したがって、用いた PRL と GH の1次抗血清は互いに交叉反応は認められないと判定された。

#### 2. 下垂体腺腫細胞の免疫組織化学

臨床的徴候・内分泌学的所見・組織学的所見 (H-E 染色, PAS 染色) により、235例は PRL 産生腺腫 (prolactinoma) 57例, GH 産生腺腫 (acromegaly) 51例, gonadotropin 産生腺腫 (主に FSH 産生腺腫) 12例, ACTH 産生腺腫 (Cushing 病) 4例, TSH 産生腺腫 1例及びいわゆる non-functioning adenoma 110

Table 1. Sensitivity control

Dilution	Antisera				Dilution	Antisera		
	PRL	GH	ACTH	TSH		LH $\beta$	FSH $\beta$	FSH $\alpha$
×1	+++	+++	+++	+++	×100	+++	+++	++
×2	++	++	++	++	×200	++	++	+
×4	+		+	+	×400		+	±
×8	±	±	+		×800		+	
×10	-	-			×1000		+	-
×50	-	-	-	-	×2000	-	-	
×100	-	-	-	-	×4000	-	-	-
×1000	-	-	-	-	×8000	-	-	-
					×10000	-	-	-

+++ strongly positive, ++ moderately positive, + weakly positive, ± equivocally positive, - negative

Table 2. Absorption test with ACTH

Amount of antigen ( $\mu\text{g/ml}$ )	LH $\beta$ ( $\times 200$ )	FSH $\alpha$ ( $\times 200$ )	FSH $\beta$ ( $\times 200$ )	TSH ( $\times 2$ )	GH ( $\times 2$ )	PRL ( $\times 2$ )	ACTH ( $\times 2$ )
0.001	++	++	++	++	++	++	++
0.01	++	++	++	++	++	++	+
0.1	++	++	++	++	++	++	±
1.0	+	±	++	++	++	++	±
10	±	±	++	++	++	++	-

例と分類されていたが、免疫組織化学的検討を行なったところ、検討すべき標本中に適切な腺腫を含むもののみ限定し、最終的に PRL 産生腺腫51例、GH 産生腺腫46例、gonadotropin 産生腺腫7例、ACTH 産生腺腫3例、TSH 産生腺腫1例、non-functioning adenoma (臨床的或いは、内分泌学的に hyperfunction がないか、これらの data が不足の場合には、どの抗血清にも陽性となる細胞が認められないもの) 87例及び unclassified adenoma (いずれかの抗血清に陽性となる細胞があるが、臨床的或いは内分泌学的な data の不足のために functioning adenoma とは分類できないもの) 22例の計217例が今回の検討の対象となった。

腺腫細胞の免疫組織化学的陽性率は、PRL 産生腺腫51例では、PRL 90%、GH 14%、ACTH 2%、LH  $\beta$  4%、FSH  $\beta$  14%、TSH 6%、FSH  $\alpha$  18% であった (Table 4)。PRL 陽性物質は核に接して副核の様に小

塊状、或いは棘状に認められた。一部には細胞質全体に一樣に PRL 陽性物質が呈色される星形の細胞も見られた。必ずしも、全腺腫細胞が陽性ではなかった。全腺腫細胞中の PRL 陽性細胞の比率は5~95%であった。PRL 産生腺腫51例中13例が、bromocriptine を術前に使用しており、これらでは PRL の陽性率は77% (13例中10例)、bromocriptine 非使用例では95% (38例中36例) であった。即ち PRL が陰性であった5例中3例は bromocriptine 使用例であった。PRL 以外の抗血清に対する陽性物質は、陽性細胞の細胞質全体に一樣に認められた (Fig. 1)。

GH 産生腺腫46例では、腺腫細胞の免疫組織化学的陽性率は、GH 100%、PRL 46%、ACTH 12%、LH  $\beta$  27%、FSH  $\beta$  59%、TSH 33%、FSH  $\alpha$  41% であった (Table 4)。GH 陽性細胞は、細胞質全体に呈色反応を示す場合と、核の近傍に小塊状として示される場合とがあり、両者が混在する例も見られた (Fig. 2)。全腺

Table 3. Absorption test with PRL and GH

Amount of antigen (ng/ml)	PRL ( $\times 2$ )	GH ( $\times 2$ )	Amount of antigen (ng/ml)	PRL ( $\times 2$ )	GH ( $\times 2$ )
0.1	+	++	0.08	++	+
1	±	++	0.8	++	±
10	-	++	8	++	-
100	-	++	80	+	-

Table 4. Immunohistochemical Results (%)

	PRL	GH	ACTH	LH $\beta$	FSH $\beta$	TSH	FSH $\alpha$
PRL secreting adenoma	90	14	2	4	14	6	18
GH secreting adenoma	46	100	12	27	59	33	41
Non-functioning adenoma	1	3	2	5	10	10	21

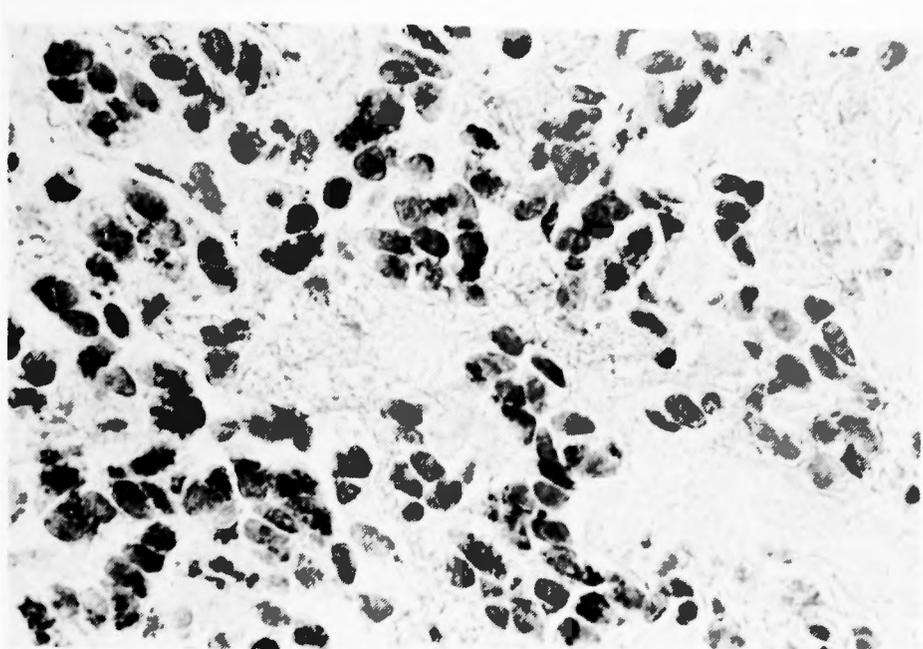


Fig. 1. PRL positive cells in PRL secreting adenoma. PRL is positive as "Nebenkern" shape in the cytoplasm ( $\times 200$ ).

腫細胞が GH 陽性となることはなかった。全腺腫細胞中の GH 陽性細胞の比率は多い例で80%であった。GH 産生腺腫におけるPRL 陽性細胞は21例 (Fig. 3)

に認められたが、PRL 陽性細胞は細胞質全体に呈色反応を示すものが、核に近接して小塊状の呈色反応となるものよりも多かった。また、腺腫標本中において、

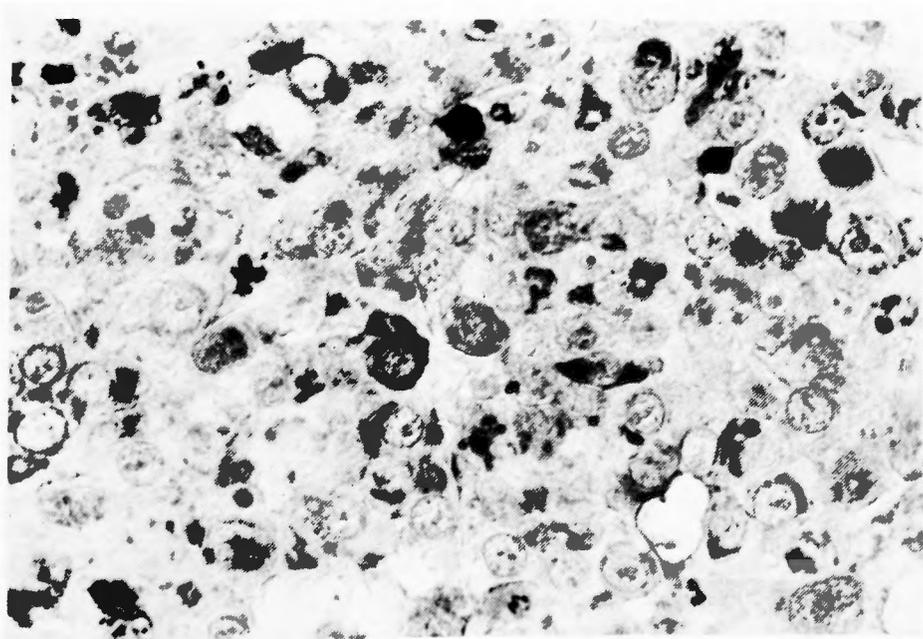


Fig. 2. GH positive cells in GH secreting adenoma. GH is present as dots contiguous to the nucleus or diffuse image in the cytoplasm ( $\times 200$ ).

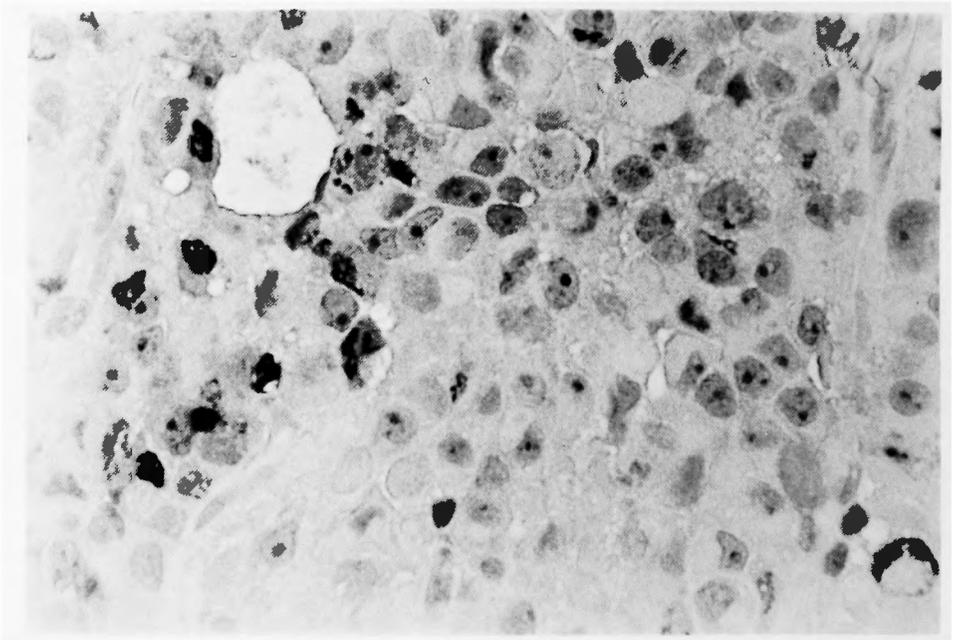


Fig. 3. PRL positive cells in GH secreting adenoma. PRL positive cells are not so numerous as those of PRL secreting adenoma ( $\times 200$ ).

PRL 陽性細胞の比率は1例を除いて GH 陽性細胞よりも少なかった。それぞれの陽性細胞の異同であるが、GH 陽性細胞と ACTH, TSH, LH  $\beta$ , FSH  $\beta$  及び FSH  $\alpha$  subunit 陽性細胞とは明らかに局在が異なっていた。

次に、21例の GH 産生腺腫について、GH 陽性細胞と PRL 陽性細胞との異同を連続切片を作って調べたところ GH, PRL 共に陽性であると判断される細胞が確認されたものが3例 (そのうち1例は高 PRL 血症を伴う)、同一細胞が GH, PRL 両者に同時に陽性を示す所見の得られなかったもの18例であった (Fig. 4, 5)。

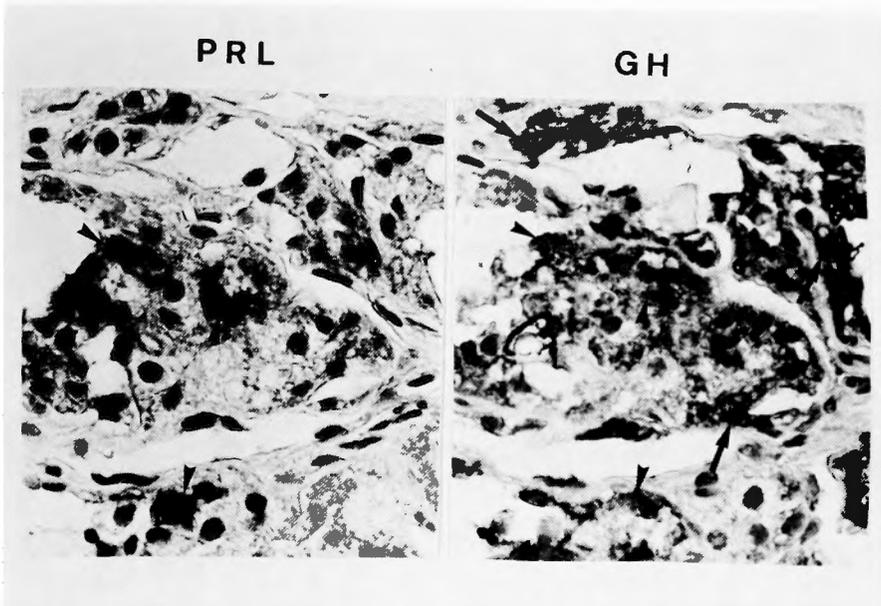
LH  $\beta$  陽性例は8例、FSH  $\beta$  陽性例は27例、FSH  $\alpha$  陽性例は20例であったが、LH  $\beta$  と FSH  $\beta$  の両者に陽性である例は7例であった。LH  $\beta$  陽性細胞と FSH  $\beta$  陽性細胞とは連続切片では同じ細胞もあったが、異なる細胞が多く認められた。また、FSH  $\alpha$  陽性細胞は、FSH  $\beta$  陽性細胞、LH  $\beta$  陽性細胞と同一の細胞である場合も異なる細胞である場合もあった (Fig. 6)。

Non-functioning adenoma 87例では、腺腫細胞の免疫組織化学的陽性率は、PRL 1%, GH 3%, ACTH 2%, LH  $\beta$  5%, FSH  $\beta$  10%, TSH 10%, FSH  $\alpha$  21% であった (Table 4)。陽性細胞における陽性物質の分布

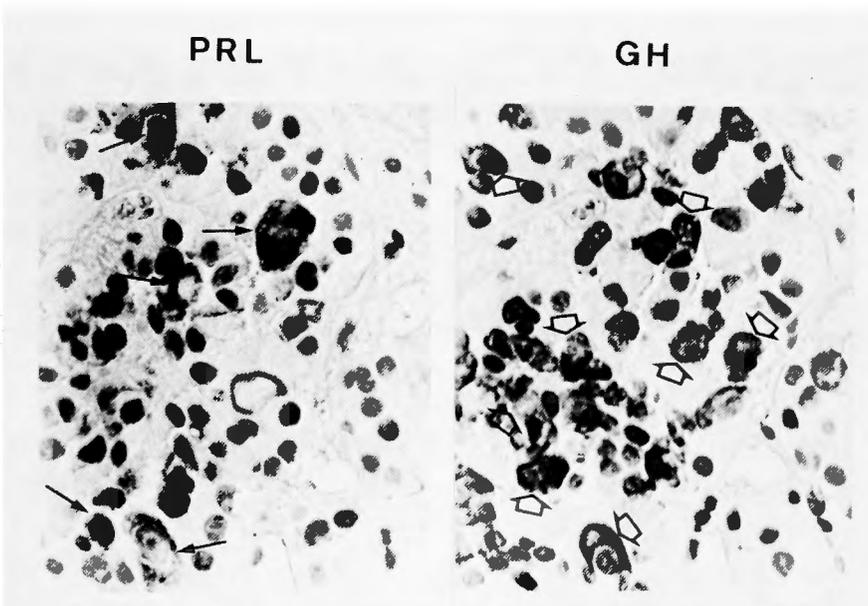
は、細胞質全体に一樣に呈色反応を示していた (Fig. 7)。それぞれの抗血清に対し陽性を呈した細胞は、腺腫中に部分的、或いは孤立して巣状或いは小集団として局在していた。腺腫中における陽性細胞の比率は1例で FSH  $\alpha$  subunit 陽性細胞が40%であったが、その他の陽性例では15%以下であった。LH  $\beta$  陽性細胞と FSH  $\beta$  陽性細胞とは異なる細胞であることが多かった (Fig. 8)。FSH  $\alpha$  subunit 陽性例の意義については後述する。

Gonadotropin 産生腺腫7例では、腺腫細胞の免疫組織化学的陽性例は、PRL 1例、GH 1例、ACTH 1例、LH  $\beta$  2例、FSH  $\beta$  7例、TSH 2例及び FSH  $\alpha$  3例であった (Table 5)。陽性細胞の呈色反応は細胞質全体に一樣であり、全腺腫細胞中における陽性細胞の比率は、症例2の FSH  $\beta$  40% が最高であった。症例6では、7種の抗血清すべての陽性細胞が認められたが、血清値は LH 及び FSH のみ高値であった。LH  $\beta$  陽性細胞と FSH  $\beta$  陽性細胞は同一であったが、他は異なる細胞であった (Fig. 9)。

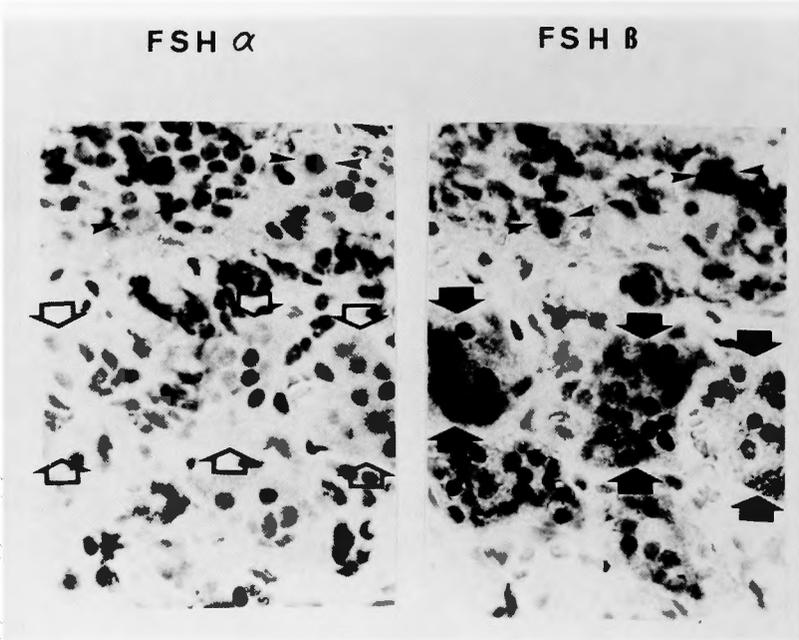
ACTH 産生腺腫3例では、腺腫細胞の免疫組織化学的染色は ACTH のみ3例共陽性となった。大きな Crooke 変性に陥った細胞の細胞質に一樣に ACTH が陽性であった (Fig. 10)。



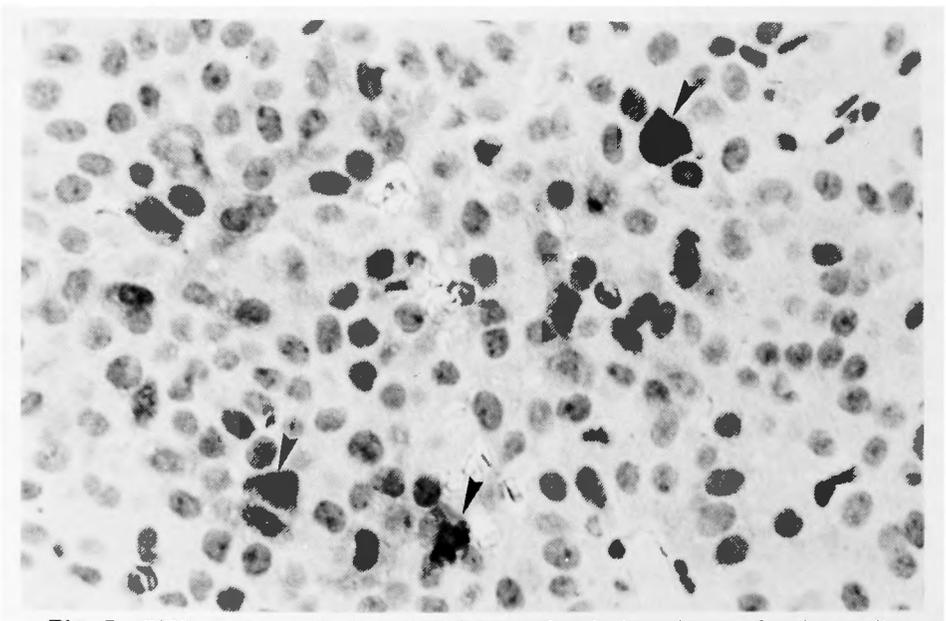
**Fig. 4.** Serial sections of GH secreting adenoma (Left: PRL stain, Right: GH stain). Some cells are positive for both PRL and GH (arrowheads) and others are positive only for GH (arrows). ( $\times 100$ ).



**Fig. 5.** Serial sections of GH secreting adenoma. PRL positive cells (black arrows in the left) are different from GH positive cells (white arrows in the right). ( $\times 100$ ).



**Fig. 6.** GH secreting adenoma. Two cells (arrowheads) are positive for both FSH $\alpha$  (Left) and FSH $\beta$  (Right), although staining intensity of FSH $\alpha$  is weak. Many cells which are negative for FSH $\alpha$  (white arrows in the left) are positive for FSH $\beta$  (black arrows in the right). ( $\times 100$ ).



**Fig. 7.** FSH $\alpha$  positive cells (arrowheads) in non-functioning adenoma found sporadically in the adenoma ( $\times 200$ )

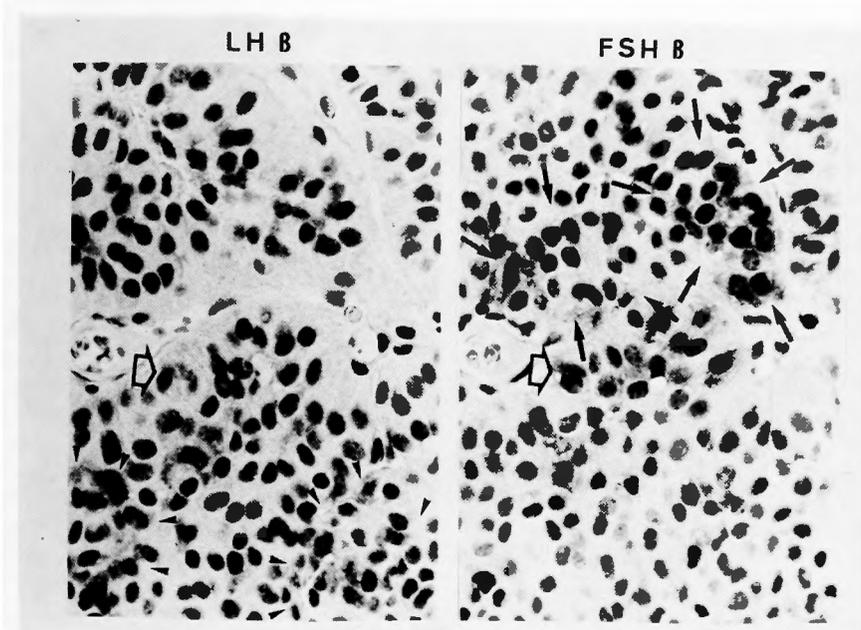


Fig. 8. LH $\beta$  positive cells and FSH $\beta$  positive cells in non-functioning adenoma. Cell nests positive for LH $\beta$  (the area surrounded by arrowheads in the left) are negative for FSH $\beta$  (in the right). In contrast, cell nests positive for FSH $\beta$  (arrows in the right) are negative for LH $\beta$ . But some cells are positive for both LH $\beta$  and FSH $\beta$  (white arrows). ( $\times 100$ ).

TSH 産生腺腫 1 例では TSH および FSH  $\alpha$  subunit に陽性であった (Fig. 11).

Unclassified adenoma とした 22 例は、いずれかの抗血清に対する陽性細胞が認められるが、臨床的徴候或いは必要な内分泌学的データの不足のために functioning adenoma として分類できないものであり、1977 年以前の症例ばかりである。それぞれの陽性細胞の全腺腫細胞における比率は 10% 以下であった (Table 6, Fig. 12)。症例 1, 2 は臨床的には Cushing 症候群はないが、腺腫細胞中に ACTH 陽性細胞が多数認めら

れ silent corticotroph cell adenoma の可能性があると思われた。

それぞれの腺腫における陽性となるホルモン及び subunit の組み合わせにより、分類した。まず、PRL 産生腺腫 51 例では、PRL のみ陽性となるものが最も多く 33 例 (65%) で、PRL と GH とが陽性のものが 3 例あった (Table 7)。PRL 陽性細胞と GH 陽性細胞とは局在が異なっていた。

GH 産生腺腫 46 例では、GH のみ陽性となるものが最も多く 11 例 (24%)、PRL と GH とが陽性である

Table 5. Gonadotropin secreting adenoma

Case No.	PRL	GH	ACTH	LH $\beta$	FSH $\beta$	TSH	FSH $\alpha$
1					+		+
2					+		+
3					+		
4				+	+	+	
5					+		
6	+	+	+	+	+	+	+
7					+		

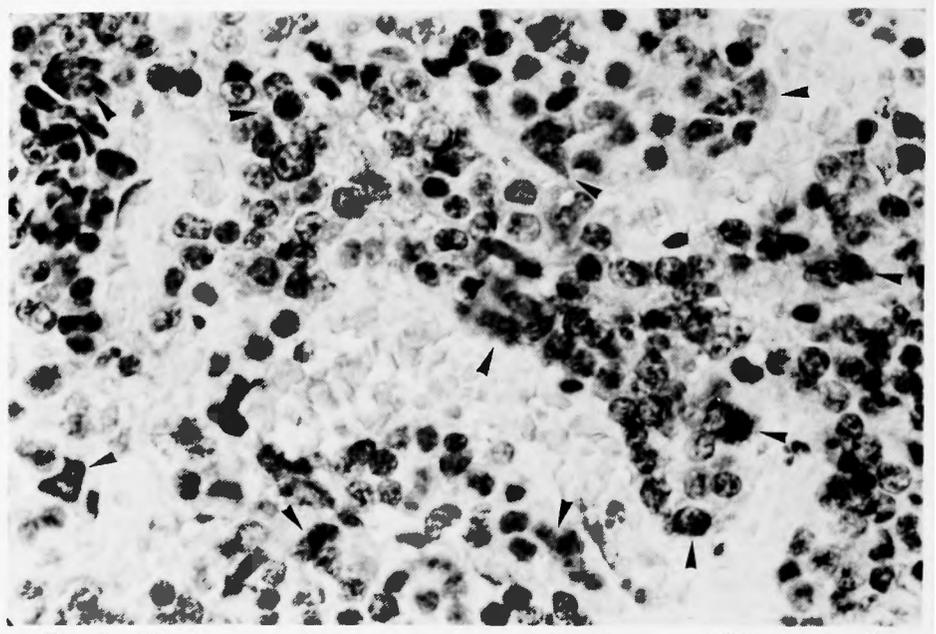


Fig. 9. FSH $\beta$  positive cells in gonadotropin secreting adenoma. FSH $\beta$  positive cells are close to the vessels ( $\times 200$ ).

ものが6例, PRL, GH, FSH $\beta$  及び FSH $\alpha$  subunit が陽性となるものが5例, GH, FSH $\beta$  subunit 及び TSH が陽性となるものが4例, GH, FSH $\beta$ , TSH 及

び FSH $\alpha$  subunit が陽性となるものが3例であった. 全例, GH を含めた1つ以上のホルモンに対し陽性であった (Table 7).

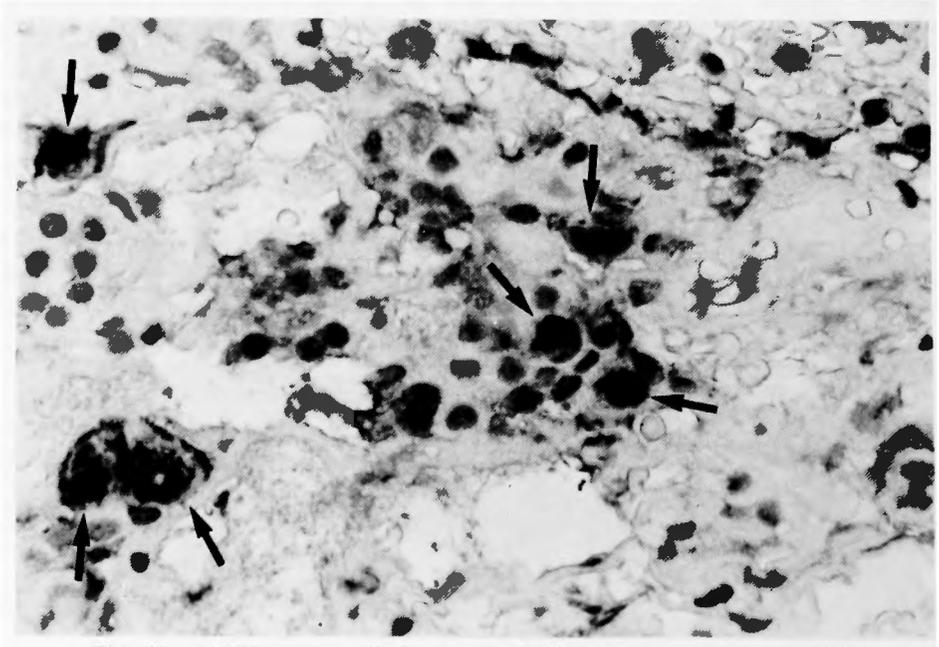


Fig. 10. ACTH positive cells (arrows) in ACTH secreting adenoma ( $\times 200$ )

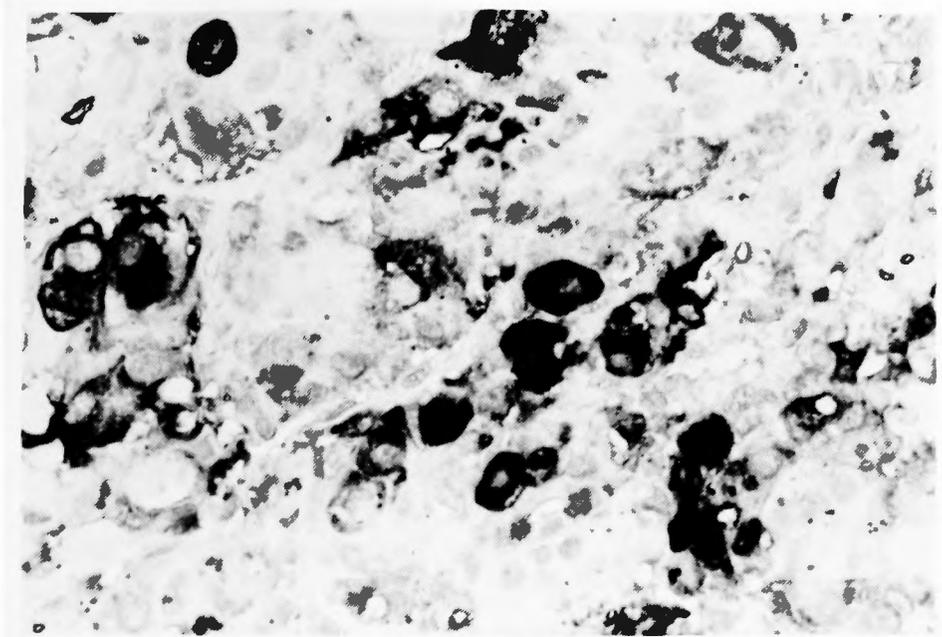


Fig. 11. TSH positive cells in TSH secreting adenoma ( $\times 200$ )

Non-functioning adenoma 87例では、FSH  $\alpha$  subunit のみ陽性となるものが9例、全く陰性のもものが66例であった (Table 7)。87例中18例に FSH  $\alpha$  subunit が陽性であった。 $\alpha$  subunit は細胞質全体に homo-

geneous に染色された (Fig. 7)。この  $\alpha$  subunit 陽性細胞は腺腫中に sporadic に存在するものから、腺腫細胞の40%程度を占めるものまで様々であった (Fig. 13)。血管に近い部分に  $\alpha$  subunit 陽性細胞が多いと

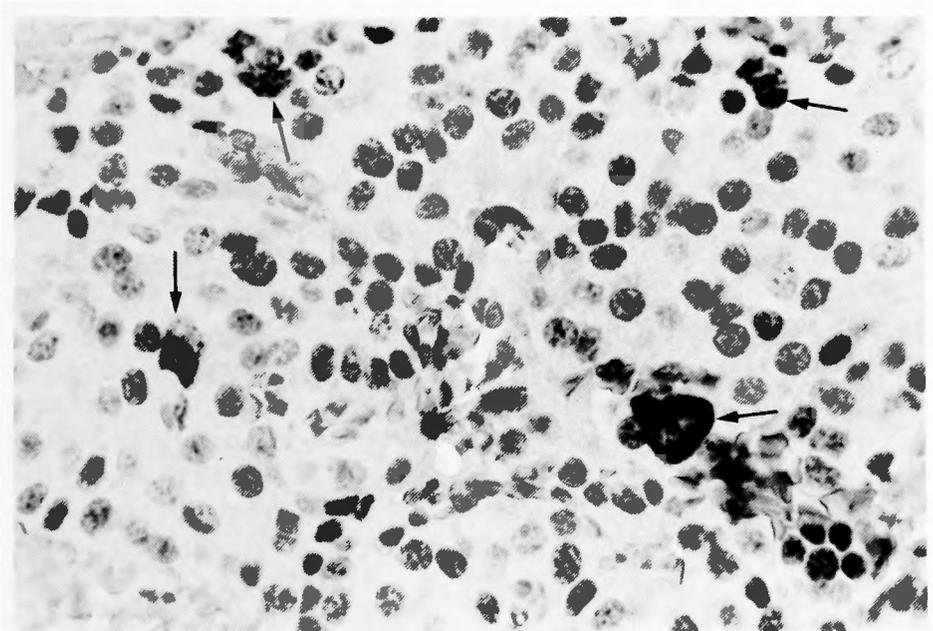


Fig. 12. ACTH positive cells (arrows) in unclassified adenoma ( $\times 200$ )

Table 6. Unclassified adenoma

Case No.	PRL	GH	ACTH	LH $\beta$	FSH $\beta$	TSH	FSH $\alpha$
1			+				
2			+				
3						+	
4					+		+
5	+	+	+				
6		+					+
7				+	+		+
8					+		+
9	+	+			+		+
10		+					
11				+	+	+	+
12	+			+	+	+	+
13		+					
14				+	+	+	+
15				+	+		
16				+		+	
17	+		+	+	+	+	
18		+	+				
19				+	+	+	
20	+	+	+		+		
21	+		+				
22				+	+	+	+

いうことはなかった。

GH 産生腺腫でも高率に (41%), FSH  $\alpha$  subunit 陽性であった。Non-functioning adenoma の例と同様に  $\alpha$  subunit は細胞質全体に homogeneous に染色さ

Table 7. Multi-hormonal Reactivity

	Type	Cases
PRL secreting adenoma (51 Cases)	P	33
	P, G	3
	other combination	11
	none	4
GH secreting adenoma (46 Cases)	G	11
	P, G	6
	P, G, F $\beta$ , F $\alpha$	5
	G, F $\beta$ , T	4
	G, F $\beta$ , T, F $\alpha$	3
	other combination	17
Non-functioning adenoma (87 Cases)	F $\alpha$	9
	other combination	12
	none	66

P: Prolactin, G: GH, F $\beta$ : FSH $\beta$ , T: TSH, F $\alpha$ : FSH $\alpha$

れた。この場合には、FSH  $\beta$  或いは LH  $\beta$  subunit も同時に陽性であった。

PRL 産生腺腫では、18%に  $\alpha$  subunit が陽性であったが、この場合も FSH  $\beta$  subunit の同時陽性を伴うことがほとんどであった。

$\alpha$  subunit 陽性の gonadotropin 産生腺腫も FSH  $\alpha$ ,  $\beta$  subunit ともに陽性であった。

### 3. 内分泌機能との関連

#### a. 内分泌負荷試験に対する反応

PRL 産生腺腫33例のうち24例に insulin tolerance test (ITT) が施行されている。このうち6例は免疫組織化学的に GH 陽性細胞を含んでいたが、GH の反応は正常であった。GH 陽性細胞を含まない18例では、GH の反応は無反応1例、低反応5例、基礎値が高くて低反応1例、正常とは逆に低下する paradoxical な反応が3例、正常反応が8例であった (Table 8)。

LH-RH test は31例に施行されており、LH  $\beta$  陽性細胞を含む2例では、LH の反応は低反応であった。LH  $\beta$  陽性細胞を含まない PRL 産生腺腫29例では、LH の反応は低反応9例、正常とは逆に低下する paradoxical な反応1例、正常反応14例、過剰反応5

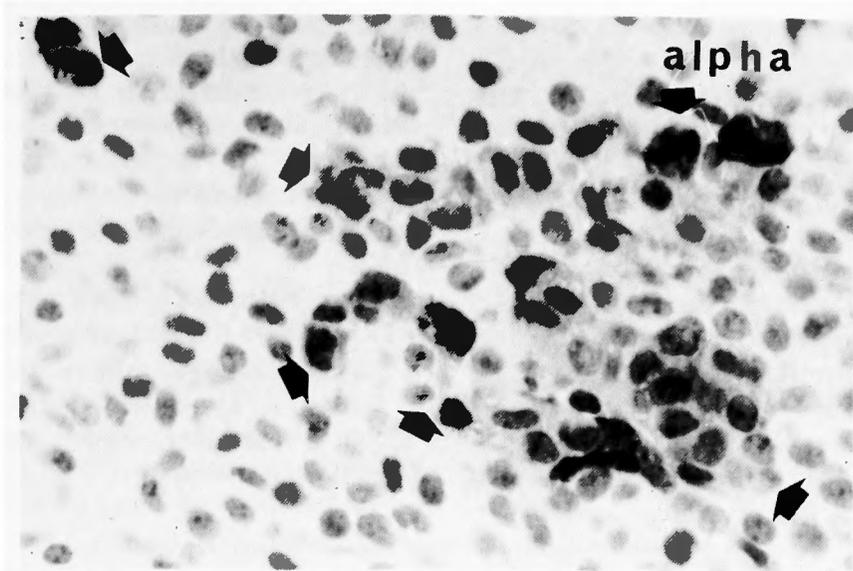


Fig. 13. FSH $\alpha$  subunit positive cells (arrows) in non-functioning adenoma ( $\times 200$ )

例であった。

FSH  $\beta$  陽性細胞を含む 7 例の PRL 産生腺腫では、FSH の反応は、低反応 3 例、低及び遅延反応 1 例、

正常反応 3 例であった。

FSH  $\beta$  陽性細胞を含まない 24 例の PRL 産生腺腫では、FSH の反応は、低反応 5 例、遅延反応 2 例、

Table 8. Relationship between hormonal response & immunohistochemical staining. PRL secreting adenoma (33 Cases)

	Hormonal response	Staining	No. of Cases
GH to ITT	no response*	—	1
	low response	—	5
	high basal level & low response	—	1
	paradoxical response	—	3
	normal response	+	6
	normal response	—	8
LH to LH-RH	low response	—	9
	low response	+	2
	paradoxical response	—	1
	normal response	—	14
	high response	—	5
FSH to LH-RH	low response	—	5
	low response	+	3
	low & delayed response	+	1
	delayed response	—	2
	paradoxical response	—	2
	normal response	—	15
	normal response	+	3
TSH to TRH	low response	—	2
	normal response	—	26
	normal response	+	3

No response\* means normal basal level and no response to stimuli.

正常とは逆に低下する paradoxical な反応 2 例, 正常反応 15 例であった.

TRH test も 31 例に施行されており, TSH 陽性細胞を含む 3 例の PRL 産生腺腫では, TSH の反応は全て正常であった. TSH 陽性細胞を含まない PRL 産生腺腫 28 例では, TSH の反応は, 2 例が低反応, 26 例が正常反応であった.

以上 4 種の負荷試験において, それぞれの免疫組織化学的陽性と負荷試験に対する反応異常との間には, 有意の相関関係はなかった. また, LH, FSH 及び TSH においては, それぞれの免疫組織化学的陰性と負荷試験に対する正常反応との間にも有意の相関関係はなかった. GH 陽性細胞を含む PRL 産生腺腫では, GH の ITT に対する反応異常は認められな

った. 腺腫内に LH $\beta$  陽性細胞が存在する PRL 産生腺腫では, LH-RH test における LH は低反応を示した. TSH 陽性細胞を含む PRL 産生腺腫では TSH の TRH test に対する反応異常は認められなかった.

結局, PRL 産生腺腫 33 例では, 内分泌学的異常と免疫組織化学的陽性との間には一定の関係は得られなかった.

GH 産生腺腫 45 例のうち, 33 例に PRL に対する TRH test が施行された. PRL 陽性細胞を含む 15 例の GH 産生腺腫における PRL の反応は, 2 例が低反応, 9 例が正常反応, 1 例が高 PRL 値で低反応, 3 例が高 PRL 値で正常反応であった. PRL 陽性細胞を含まない 18 例の GH 産生腺腫では, PRL の反応は, 4

**Table 9.** Relationship between hormonal response & immunohistochemical staining. GH secreting adenoma (45 Cases)

	Hormonal response	Staining	No. of Cases
PRL to TRH	low response	-	4
	low response	+	2
	paradoxical response	-	1
	normal response	-	7
	normal response	+	9
	high basal level & low response	-	3
	high basal level & low response	+	1
	high basal level & normal response	-	3
	high basal level & normal response	+	3
LH to LH-RH	low response	-	8
	low response	+	1
	low & delayed response	-	1
	normal response	-	21
	normal response	+	3
	high response	-	4
	high response	+	2
FSH to LH-RH	low response	-	3
	low response	+	11
	low & delayed response	-	1
	low & delayed response	+	1
	delayed response	+	1
	normal response	-	11
	normal response	+	11
	high response	-	1
TSH to TRH	no response	+	1
	low response	-	3
	low response	+	2
	normal response	-	24
	normal response	+	9
	high response	+	1

例が低反応, 1例が正常とは逆に低下する paradoxical な反応, 7例が正常反応, 3例が高 PRL 値で低反応, 3例が高 PRL 値で正常反応であった (Table 9).

LH-RH test は40例に施行されており, LH  $\beta$  陽性細胞を含む6例の GH 産生腺腫では, LH の反応は, 1例が低反応, 3例が正常反応, 2例が過剰反応であった. LH  $\beta$  陽性細胞を含まない34例の GH 産生腺腫では, LH の反応は, 8例が低反応, 1例が低及び遅延反応, 21例が正常反応, 4例が過剰反応であった.

FSH の反応については, FSH  $\beta$  陽性細胞を含む24例の GH 産生腺腫では, 11例で低反応, 1例で低及び遅延反応, 1例で遅延反応, 11例で正常反応であった. FSH  $\beta$  陽性細胞を含まない16例の GH 産生腺腫では, FSH の反応は, 3例が低反応, 1例が低及び遅延反応, 11例が正常反応, 1例が過剰反応であった.

TSH に対する TRH test は40例に施行されており, TSH 陽性細胞を含む13例の GH 産生腺腫では, TSH の反応は, 1例で無反応, 2例で低反応, 9例で正常反応, 1例で過剰反応であった. TSH 陽性細胞を含まない27例の GH 産生腺腫では, TSH の反応は, 3例で低反応, 24例で正常反応であった. 以上4つの負荷試験において, GH 産生腺腫では, それぞれの免疫組織化学的陽性と負荷試験に対する反応異常との間及びそれぞれの免疫組織化学的陰性と負荷試験に対する正常反応との間の関係はいずれも有意なものではなかった.

Non-functioning adenoma 44例では36例に LH-RH test が施行された. LH  $\beta$  陽性細胞を含む3例の non-functioning adenoma では LH の反応は, 2例で低反応, 1例で正常反応であった. LH  $\beta$  陽性細胞を含まない33例の non-functioning adenoma では, LH の反応は15例で低反応, 16例で正常反応, 2例で過剰反応であった. また,  $\alpha$  subunit 陽性細胞を含む13例の non-functioning adenoma では, LH の反応は, 8例で低反応, 5例で正常反応であった.  $\alpha$  subunit 陽性細胞を含まない23例の non-functioning adenoma では, LH の反応は, 9例で低反応, 12例で正常反応, 2例で過剰反応であった (Table 10).

FSH  $\beta$  陽性細胞を含む7例の non-functioning adenoma では, FSH の反応は, 5例で低反応, 2例が正常反応であった. これに対し, FSH  $\beta$  陽性細胞を含まない29例の non-functioning adenoma では, FSH の反応は, 8例で低反応, 1例が遅延反応, 20例が正常反応であった. LH-RH test における FSH の反応

**Table 10.** Relationship between hormonal response & immunohistochemical staining. Non-functioning adenoma (44 Cases)

	Hormonal response	Staining	No. of Cases
LH to LH-RH	low response	-	15 (7)
	low response	+	2 (1)
	normal response	-	16 (4)
	normal response	+	1 (1)
	high response	-	2 (0)
FSH to LH-RH	low response	-	8 (5)
	low response	+	5 (3)
	delayed response	-	1 (1)
	normal response	-	20 (3)
	normal response	+	2 (1)
TSH to TRH	no response	-	1 (0)
	low response	-	7 (3)
	low response	+	5 (5)
	paradoxical response	-	1 (0)
	normal response	-	19 (4)
	normal response	+	5 (3)
GH to ITT	no response	-	3 (1)
	low response	-	10 (3)
	paradoxical response	-	2 (1)
	paradoxical response	+	1 (1)
	normal response	-	10 (2)
	normal response	+	1 (0)
PRL to TRH	low response	-	10 (4)
	low response	+	1 (1)
	paradoxical response	-	1 (0)
	normal response	-	16 (7)

The number in parentheses means FSH  $\alpha$  subunit positive cases.

異常は, FSH  $\beta$  陽性の non-functioning adenoma 7例中5例, FSH  $\beta$  陰性の non-functioning adenoma 29例中9例ということになり, 統計学的に有意の差が認められた ( $p < 0.001$ ). また  $\alpha$  subunit 陽性細胞を含む13例の non-functioning adenoma では, FSH の反応は, 8例が低反応, 1例が遅延反応, 4例が正常反応であった. これに対し,  $\alpha$  subunit 陽性細胞を含まない23例の non-functioning adenoma では, FSH の反応は, 5例が低反応, 18例が正常反応であった. したがって, LH-RH test における FSH の反応異常は,  $\alpha$  subunit 陽性の non-functioning adenoma 13例中9例,  $\alpha$  subunit 陰性の non-functioning adenoma 23例中5例となり, 統計学的に有意の差が認められた ( $p < 0.005$ ).

TSH に対する TRH test は38例に施行され, TSH

陽性細胞を含む non-functioning adenoma 10例では, TSH の反応は, 低反応が5例, 正常反応が5例であった. TSH 陽性細胞を含まない28例の non-functioning adenoma では, TSH の反応は, 1例が無反応, 7例が低反応, 1例が正常とは逆に低下する paradoxical な反応, 19例が正常反応であった. また,  $\alpha$  subunit 陽性細胞を含む non-functioning adenoma 15例では, TSH の反応は, 8例が低反応, 7例が正常反応であった.  $\alpha$  subunit 陽性細胞を含まない non-functioning adenoma 23例では, TSH の反応は, 1例が無反応, 4例が低反応, 1例が正常とは逆に低下する paradoxical な反応, 17例が正常反応であった.

ITT は27例に施行され, GH 陽性細胞を含む2例の non-functioning adenoma では, GH の反応は, 1例が正常とは逆に低下する paradoxical, 他の1例が正常反応であった. GH 陽性細胞を含まない25例の non-functioning adenoma では, GH の反応は, 3例で無反応, 10例が低反応, 2例が正常とは逆に低下する paradoxical な反応, 10例が正常反応であった. また,  $\alpha$  subunit 陽性細胞を含む8例の non-functioning adenoma では, GH の反応は, 1例が無反応, 3例が低反応, 2例が正常とは逆に低下する paradoxical な反応, 2例が正常反応であった.  $\alpha$  subunit 陽性細胞を含まない19例の non-functioning adenoma では, GH の反応は, 2例が無反応, 7例が低反応, 1例が正常とは逆に低下する paradoxical な反応, 9例が正常反応であった.

PRL に対する TRH test は28例に施行され, PRL 陽性細胞を含む1例の non-functioning adenoma では, PRL の反応は低反応であった. PRL 陽性細胞を

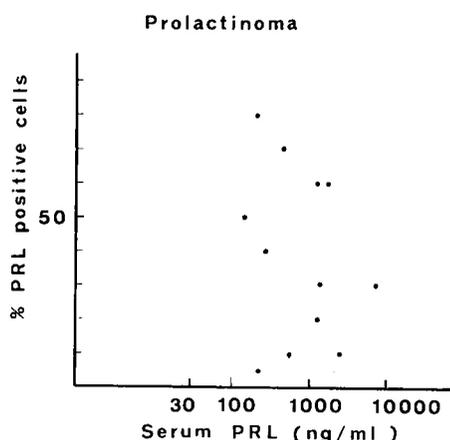


Fig. 14. PRL secreting adenoma. No significant correlation between the ratio of PRL positive cells in the adenoma and the serum PRL level.

含まない27例の non-functioning adenoma では PRL の反応は, 10例が低反応, 1例が正常とは逆に低下する paradoxical な反応, 16例が正常反応であった. また,  $\alpha$  subunit 陽性細胞を含む non-functioning adenoma 12例では, PRL の反応は5例が低反応, 7例が正常反応であった.  $\alpha$  subunit 陽性細胞を含まない non-functioning adenoma 16例では PRL の反応は, 6例が低反応, 1例が正常とは逆に低下する paradoxical な反応, 9例が正常反応であった.

結局, non-functioning adenoma では, LH-RH test における FSH の反応異常例に, 腺腫中の免疫組織化学的に陽性な FSH  $\beta$  細胞及び  $\alpha$  subunit 細胞が見い出されやすいという結果が得られた.

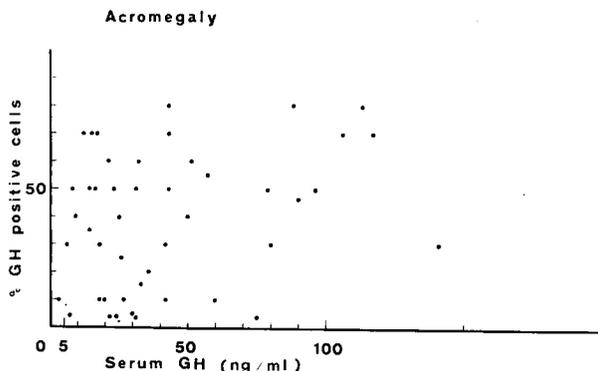


Fig. 15. GH secreting adenoma. No definite correlation between the ratio of GH positive cells in the adenoma and serum GH level.

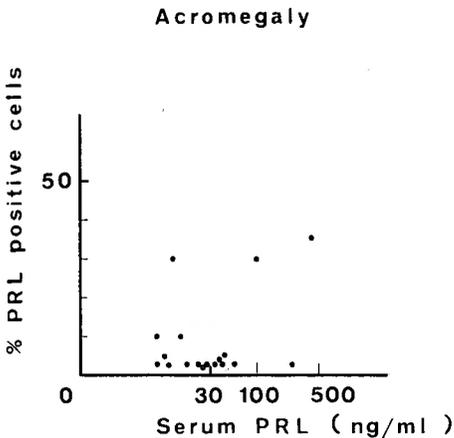


Fig. 16. GH secreting adenoma. There is no correlation between the ratio of PRL positive cells in the adenoma and the serum PRL level.

b. 腺腫中の免疫組織化学的陽性細胞と血中ホルモン値

PRL 産生腺腫13例において、血中の PRL 値と PRL 陽性細胞の全腺腫細胞中における比率との関係を求めたところ、両者の間に相関関係はなかった(相関係数  $r=0.006511$ , Fig. 14).

次に46例の GH 産生腺腫について、血中の GH 値と GH 陽性細胞の全腺腫細胞中における比率との関係を調べると、両者の間には相関関係はなかった( $r=0.27731$ , Fig. 15).

18例の GH 産生腺腫において、血中の PRL 値と PRL 陽性細胞の全腺腫細胞中における比率との関係を求めたところ、明らかな相関関係は得られなかった( $r=0.55737$ , Fig. 16).

c. GH 産生腺腫における血中 GH 値と PRL 値  
PRL 陽性細胞を含む GH 産生腺腫が必ずしも血中 PRL 値が高いということはなく、血中 PRL 値と血中 GH 値との間にも一定の関係は認められなかった(Fig. 17).

d. 血中の  $\alpha$  subunit 値

$\alpha$  subunit 陰性の PRL 産生腺腫1例、 $\alpha$  subunit 陽性の non-functioning adenoma 3例及び、 $\alpha$  subunit 陰性の non-functioning adenoma 1例で、血中の HCG  $\alpha$  subunit 値を測定したところ、 $\alpha$  subunit 陽性の non-functioning adenoma 男性例で、0.78 ng/ml と高値であった(正常値・男性 0.17~0.53 ng/ml, 女性 卵胞期 0.25~0.63 ng/ml, 黄体期 0.07~0.55 ng/ml, 月経期 0.08~1.80 ng/ml).

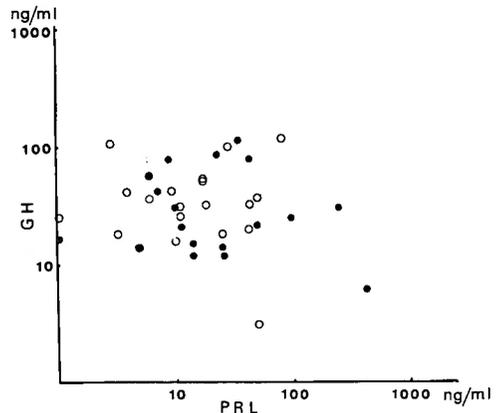


Fig. 17. No correlation between the serum GH level and the serum PRL level of the GH secreting adenoma. Dots mean PRL positive cases and empty circles mean PRL negative cases in the adenoma tissue.

ml, 月経期 0.08~1.80 ng/ml).

#### IV. 考 察

PRL 産生腺腫の腺腫細胞が PRL 陽性であり<sup>22)</sup>, GH 産生腺腫のそれが GH 陽性である<sup>25,53)</sup>ことは当然であるが、ホルモン産生下垂体腺腫について、さらに詳しく免疫組織化学的検討と内分泌学的検討とを対比した報告が最近散見されている<sup>19,34)</sup>.

今回、PRL, GH, ACTH, LH  $\beta$ , FSH  $\beta$ , TSH, FSH  $\alpha$  subunit の7種類の抗血清を用いて、non-functioning adenoma を含めた下垂体腺腫の免疫組織化学的検討を行なった。PAP 法<sup>50)</sup>は Nakane ら<sup>32)</sup>の酵素抗体法間接法よりも sensitivity が高く、かなり古い10%ホルマリン固定、パラフィン包埋標本に対する免疫組織化学的な反応も充分信頼性がある<sup>15)</sup>。したがって、10年以上経ったパラフィン包埋標本も、この検討の対象となり得る。

PRL 顆粒は、電顕的には、rough-surfaced endoplasmic reticulum, Golgi apparatus 及び分泌顆粒に存在すると言われており<sup>7,55)</sup>, 光顕レベルで PRL 陽性となるのはこれらの構造物と考えられている。術前に bromocriptine を使用した例では、PRL 細胞の減少、染色性の低下が指摘されているが<sup>2,43,54,55)</sup>, PRL は turnover が速いので、免疫組織化学的陽性と PRL 産生とは必ずしも相関しないと考えられる。Bromocriptine 使用例の PRL 陽性率(77%)は、bromocriptine 非使用例(95%)に比べてやや低かった。PRL 陽性細胞

が認められなかった5例のうち3例は bromocriptine の効果もある程度考えられるが、残り2例について、陰性の理由は不明であるが、標本採取から固定、包埋の過程で抗原性が消失した可能性もある。また、PAP法の sensitivity の限界の可能性もある。PRL 産生腺腫については、血中 PRL 値と腺腫の大きさに相関関係があるという報告もあるが、特に PRL 産生腺腫の場合は周囲組織への invasion、また不定型の腺腫が多いため腺腫の体積を正確に求めるのは難しく、今回の検討では腺腫の大きさを検討の対象としなかったが、少なくとも血中 PRL 値と PRL 陽性細胞の比率即ち PRL 陽性細胞の密度との間には相関関係は認められなかった。PRL 産生腺腫では、GH、FSH  $\beta$ 、FSH  $\alpha$  subunit にも陽性となる細胞が含まれる例が、14~18%認められるが、明確な内分泌学的異常との関連性はなかった。

GH 産生腺腫では、腺腫の大きさと血中 GH 値には相関関係はないと考えられているが、血中 GH 値と GH 陽性細胞の密度にも相関関係は認められなかった。GH 産生腺腫が GH 以外のホルモンに対しても高率に陽性になることは、従来より指摘されてきたが<sup>9)</sup>、GH 陽性細胞が他のホルモンにも陽性となるかどうかという点は論争的となっており、特に GH と

PRL の陽性に関しては、同一の細胞が二つのホルモンの陽性となるという<sup>44,56)</sup> 説と、別々の細胞がそれぞれ異なったホルモンの陽性となるという説<sup>3,9,12,60)</sup> がある。今回の検討で、GH 陽性細胞は、ACTH、TSH、LH  $\beta$ 、FSH  $\beta$ 、FSH  $\alpha$  subunit 陽性細胞とは局在が異なっていた。また GH と PRL に関しては、21例中3例において GH、PRL の両者に陽性であると判断された細胞の存在を認めたが、他の18例を検索した範囲内では、同一細胞が両者に陽性を呈する所見が得られなかった。また、高 PRL 血症の有無との関係も明確ではなかった。しかし、腺腫の全てを連続切片によって検索することは不可能なので、GH、PRL 両者に陽性となる細胞の存在が見落されている可能性はある。Kovacs らは連続切片による方法では同定に限界があると述べている<sup>24)</sup>。Kanie らは GH と PRL の二重染色法を用いて、同一細胞が GH 及び PRL に陽性となる例が多いことを証明している<sup>19)</sup>。また、Dada らの様に flip flopped section によりもっと厳密に調べる必要がある<sup>5)</sup>。Kovacs らは、GH と PRL とが同一細胞である腺腫の一つとして、acidophil stem cell adenoma を分類している<sup>23)</sup>。一方、抗血清の交叉反応の存在を全く否定することはできないので、同一細胞から GH、PRL を産生する場合があるか否か、現時点で断定は

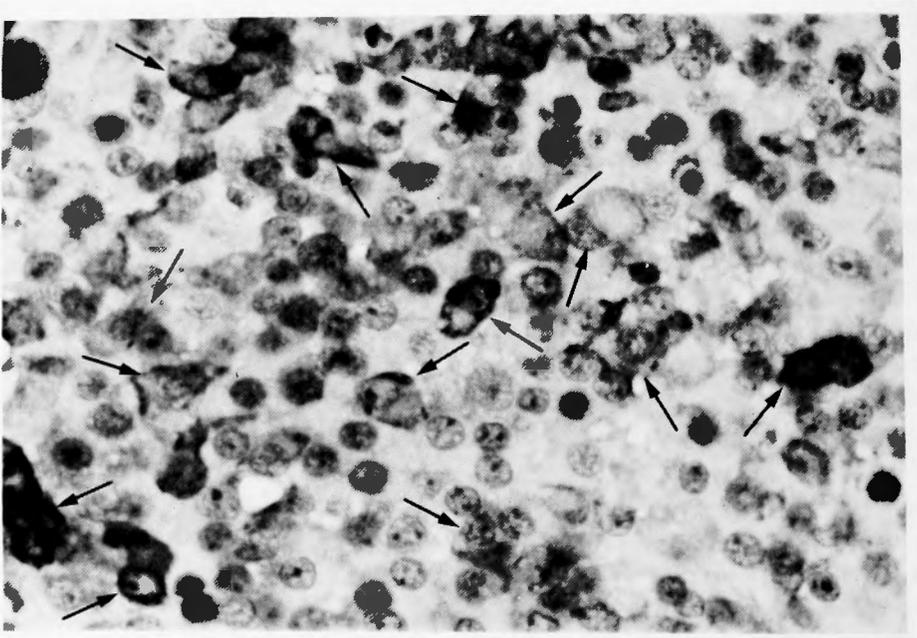


Fig. 18. LH $\beta$  positive cells (arrows) in GH secreting adenoma. Staining intensity of LH $\beta$  is different from cells to cells ( $\times 200$ ).

できないと思われる。

次に、GH 産生腺腫において、小塊状あるいは集簇して認められる GH 以外のホルモン陽性細胞の意義は何であろうか (Fig. 18)。腺腫細胞の一部とする考え方の他に正常細胞の混在、或いは腺腫周囲の過形成細胞の混在も否定できない<sup>29)</sup>。しかし、GH 産生腺腫では、LH  $\beta$  陽性細胞と FSH  $\beta$  陽性細胞とが異なる部分で認められるものが全例で、それぞれの陽性細胞が孤立して含まれる例が少なかったことより、これらのホルモン陽性細胞は腺腫細胞の一部とも考えられる。

Non-functioning adenoma に対して免疫組織化学的検討を行なった報告はあまり見られない<sup>4)</sup>。Non-functioning adenoma 87例中66例 (76%) では、いずれのホルモンにも陰性であったが、他は陽性例でそれぞれのホルモンに対して、各々1~21%の陽性率が認められた。もちろん、この中には、gonadotropin 産生腺腫、TSH 産生腺腫は含まれていない。Non-functioning adenoma 例については、1974年以前の症例が多く、ホルマリン固定標本におけるホルマリンの抗原性の保持能力期間を10年くらいと考えれば、1974年以前の症例では再現性に疑問が残る。したがって、1975年以降の44例についてのみみると、15例 (34%) に FSH  $\alpha$  subunit 陽性細胞が存在した。この中で7例は FSH  $\alpha$  subunit のみ陽性であった。

Surmont らは、連続切片による染色法を用い、functionless adenoma における LH, FSH 及び  $\alpha$  subunit は同じ細胞に認められると述べているが<sup>51)</sup>、今回の検討では異なる場合が多かった。

LH, FSH, TSH はそれぞれ  $\alpha$ ,  $\beta$  の2つの subunit より成り立ち、 $\beta$  subunit がそれぞれの特性を示し、各ホルモンの  $\alpha$  subunit は免疫学的に identical であると考えられている<sup>8,40)</sup>。また、この  $\alpha$  subunit は HCG の  $\alpha$  subunit とも同一とされている<sup>8)</sup>。

$\alpha$  subunit 産生腺腫は、下垂体腺腫<sup>20,21,35,38,45)</sup>として、或いは異所性の腫瘍<sup>18,46,57)</sup>として報告され、その概念も確立され始めてきたが、甲状腺機能低下症、腎不全の患者、閉経後の婦人では、 $\alpha$  subunit が高値となる<sup>13,20)</sup>。血清  $\alpha$  subunit 値が高値を示した男性の non-functioning adenoma 例では、甲状腺機能低下症、腎機能障害は認められなかった。

内分泌学的刺激試験は当然のことながら、残存した正常下垂体機能を同時に見ているわけであるが、今回の検討から、 $\alpha$  subunit 陽性例では、LH-RH test において FSH の低反応を中心とする反応異常が多く認

められることが一つの特徴と考えられた。厳密には、TRH test, LH-RH test において、 $\alpha$  subunit 値の変化を追って、その自律性の分泌や反応異常を確認する必要がある<sup>20,21,49)</sup>。

また、Macfarlane らによれば、放射線治療により、血清  $\alpha$  subunit の値は低下するとされている<sup>27)</sup>。したがって、比較的古い症例の中には、放射線治療後に採取された標本もあり、本来  $\alpha$  subunit 高値であった例が含まれていた可能性がある。

このように、いわゆる non-functioning adenoma の中には、かなりの頻度で  $\alpha$  subunit 産生腺腫が存在することは疑いない。

次に、unclassified adenoma であるが、この中には ACTH のみ陽性となる2例があり、恐らく Horvath らの言う silent corticotroph cell adenoma の概念<sup>17,23)</sup>に入るものと思われる。Kovacs らは、腺腫細胞に  $\alpha$  subunit, TSH  $\beta$ , FSH  $\beta$ , LH  $\beta$  或いは PRL が陽性となり、逆分化の過程で、ホルモン産生が停止した未熟な前駆細胞となっている群を、undifferentiated cell adenoma<sup>25)</sup> と分類しており、今回検討した、他の unclassified adenoma や non-functioning adenoma の一部に、これに相当するものが含まれると考えられる。

以上のどの種類の腺腫においても、免疫組織化学的陽性物質のホルモン過剰分泌症状が出現しない場合、その理由の一つとして、細胞内の異常が考えられる。細胞内で産生されたホルモンが貯蔵されても、細胞外へ release されない場合、或いは細胞内の lysosomal activity の増大により、細胞内で活性を失ってしまうといった状態がある。また、免疫学的活性は必ずしも生物学的活性と同義ではないことも重要である<sup>39)</sup>。

今回の検討により、以下の事が結論された。

臨床的に単一ホルモン分泌増加による機能性腺腫の中に、免疫組織化学的には多くのホルモン陽性細胞が認められるものがある。特にこの傾向は、GH 産生腺腫に著明である。

免疫組織化学的に陽性となるホルモンについて、内分泌負荷試験の成績と比較検討したところ、特に免疫組織化学的に陽性なホルモンが負荷試験で異常反応を示すということはなかった。

従来、non-functioning adenoma とされていたものの中に、免疫組織化学的に  $\alpha$  subunit 陽性のものがあり、臨床的には non-functioning であるが、 $\alpha$  subunit 産生腺腫とすべき群があると考えられた。

免疫組織化学的な陽性は必ずしも、臨床徴候、内分

泌学的な特徴を反映するものではないが、下垂体腺腫の中に多種類のホルモン陽性細胞が認められる事実は、

- (i) 腺腫周囲の正常下垂体細胞の混在。
- (ii) 過形成細胞の混在で、今後腺腫細胞化する可能性を有する。
- (iii) 多ホルモン産生腺腫の存在。腺腫増大につれ、それぞれのホルモン過剰分泌症状が出現すると思われる。
- (iv) 多ホルモンを産生しているが、最初に過剰産生されたホルモン以外は、視床下部からの feedback により、産生が調節されている。

のような可能性を示唆するものであり、下垂体腺腫細胞の起源、分化、逆分化などについて、さらに詳しく検討する必要がある。また多ホルモン産生能力の可能性、即ち、新たにホルモン産生腺腫となる、いわば準備状態とも言うべき状態が存在する可能性があると考えられた。

## V. 結 語

- 1) 51例の PRL 産生腺腫、46例の GH 産生腺腫、87例の non-functioning adenoma、7例の gonadotropin 産生腺腫、3例の ACTH 産生腺腫、1例の TSH 産生腺腫、及び22例の unclassified adenoma 計217例の腺腫組織に対し、免疫組織化学的検討 (PRL, GH, ACTH, LH  $\beta$ , FSH  $\beta$ , TSH, FSH  $\alpha$  subunit) を行ない、内分泌学的データとの関係を考察した。
- 2) PRL 産生腺腫では、PRL 以外に GH, FSH  $\beta$ , FSH  $\alpha$  が14~18%の陽性率を示した。
- 3) GH 産生腺腫では、多ホルモン反応性が明らかで、免疫組織化学的陽性率は、GH 100%, PRL 46%, ACTH 12%, LH  $\beta$  27%, FSH  $\beta$  59%, TSH 33%, FSH  $\alpha$  41% であった。GH 陽性細胞は ACTH, LH  $\beta$ , FSH  $\beta$ , TSH, FSH  $\alpha$  陽性細胞とは局在が異なっていた。GH, PRL に関しては、両者が同一細胞で認められるという所見の得られない例が大部分であった。
- 4) Non-functioning adenoma では、免疫組織化学的陽性率は、FSH  $\beta$ , TSH が10%, FSH  $\alpha$  が21%であった。9例は FSH  $\alpha$  subunit のみ陽性であり、このうち1例に血中の  $\alpha$  subunit 値の高値を認めた。FSH  $\alpha$  subunit 陽性例の内分泌負荷試験では、LH-RH test で、FSH の反応異常 (主に低反応) が認められた。したがって、non-functioning adenoma の中に、かなりの頻度で、 $\alpha$  subunit 産生腺腫が含まれていると考えられる。

- 5) 多くの下垂体腺腫、とりわけ GH 産生腺腫には、多種類のホルモン陽性細胞が認められた。この陽性細胞の意義について考察したところ、下垂体腺腫における多ホルモン分泌の、いわば準備状態とも言うべき状態が存在する可能性があると考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました恩師半田 肇教授に深甚なる感謝の意を表します。

また、終始御示唆、御指導を戴きました京都大学脳神経外科助手橋本信夫博士、並びに福井赤十字病院脳神経外科部長武内重二博士に心からの謝意を表します。

## 参 考 文 献

- 1) Aubourg PR, Derome PJ, et al: Endocrine outcome after transsphenoidal adenomectomy for prolactinoma: Prolactin levels and tumor site as predicting factors. *Surg Neurol* **14**: 141-143, 1980.
- 2) Barrow DL, Tindall GT, et al: Clinical and pathological effects of bromocriptine on prolactin-secreting and other pituitary tumors. *J Neurosurg* **60**: 1-7, 1984.
- 3) Corenblum B, Sirek AMT, et al: Human mixed somatotrophic and lactotrophic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* **42**: 857-863, 1976.
- 4) Cravioto H, Fukaya T, et al: Immunohistochemical and electron-microscopic studies of functional and non-functional pituitary adenomas including one TSH secreting tumor in a thyrotoxic patient. *Acta Neuropathol* **53**: 281-292, 1981.
- 5) Dada MO, Campbell GT, et al: A quantitative immunocytochemical study of the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone cells in the adenohypophysis of adult male rats and adult female rats throughout the estrous cycle. *Endocrinology* **113**: 970-984, 1983.
- 6) Dada MO, Campbell GT, et al: The localization of gonadotrophs in normal adult male and female rats. *Endocrinology* **114**: 397-406, 1984.
- 7) Duello TM and Halmi NS: Ultrastructural-immunocytochemical localization of growth hormone and prolactin in human pituitaries. *J Clin Endocrinol Metab* **49**: 189-196, 1979.
- 8) Fiddes JC and Goodman HM: The gene encoding the common alpha subunit of the four human glycoprotein hormones. *J Mole Appl Gen* **1**: 3-18, 1981.
- 9) Fukaya T, Kageyama N, et al: Immunoenzymatic study of pituitary adenomas in acromegalic patients. In *Pituitary Microadenomas* (eds. Faglia G, Giovanelli MA et al), pp. 205-210, Academic Press, London and New York, 1980.

- 10) 福光太郎：脳下垂体腺腫の電子顕微鏡的研究，特に chromophobe 腺腫にみられる分泌顆粒について。日外宝 **33** : 329-349, 1964.
- 11) Gross DS: Hormone production in the hypophysial pars tuberalis of intact and hypophysectomized rats. *Endocrinology* **112**: 733-744, 1983.
- 12) Guyda H, Robert F, et al: Histologic ultrastructural and hormonal characterization of a pituitary tumor secreting both hGH and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* **36**: 531-547, 1973.
- 13) Hagen C, Gilby ED, et al: Comparison of circulating glycoprotein hormones and their subunit in patients with oat cell carcinoma of the lung and uraemic patients on chronic dialysis. *Acta Endocrinol* **83**: 26-35, 1976.
- 14) Hardy J: Subnasal transphenoidal approach to the pituitary. In *Microneurosurgery*, ed. by Rand RW. CV Mosby Co., Saint-Louis, pp 105-130, 1978.
- 15) Heitz PU: Multihormonal pituitary adenomas. *Hormone Res* **10**: 1-13, 1979.
- 16) Herbert DC: Immunocytochemical evidence that luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) are present in the same cell type in the rhesus monkey pituitary gland. *Endocrinology* **98**: 1554-1557, 1976.
- 17) Horvath E, Kovacs K, et al: Silent corticotrophic adenomas of the human pituitary gland. *Am J Pathol* **98**: 617-636, 1980.
- 18) 井村裕夫, 中井義勝, 他: 機能的腫瘍の問題点—とくに異所性ホルモン産生腫瘍を中心に—. 蛋白質, 核酸, 酵素 **23** : 641-656, 1978.
- 19) Kanie N, Kageyama N, et al: Pituitary adenoma in acromegalic patients: An immunohistochemical and endocrinological study with special reference to prolactin-secreting adenoma. *J Clin Endocrinol Metab* **57**: 1093-1101, 1983.
- 20) Klibanski A, Ridgway EC, et al: Pure alpha subunit-secreting pituitary tumors. *J Neurosurg* **59**: 585-589, 1983.
- 21) Kourides IA, Weintraub BD, et al: Secretion of alpha subunit of glycoprotein hormones by pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* **43**: 97-106, 1976.
- 22) Kovacs K, Horvath E, et al: Pituitary chromophobe adenomas consisting of prolactin cells: A histologic immunocytological and electron microscopic study. *Virchow Arch* **366**: 113-123, 1975.
- 23) Kovacs K, Horvath E, et al: Pituitary adenomas. In *Pathology Annual* (eds. Sammers SC, Rosen PP) **12**: 341-382, 1977.
- 24) Kovacs K, Horvath E, et al: Pituitary adenomas associated with hyperprolactinemia: morphological and immunocytological aspects. In *Pituitary Microadenoma*. (eds. Faglia G, Giovanelli MA, et al) pp 123-135, Academic Press, London and New York, 1980.
- 25) Kovacs K, Horvath E, et al: Immunocytology of the human pituitary. *Diagnostic Immunohistochemistry* (ed. Dellis RA). New York/Paris/Barcelons, Masson, pp 17-35, 1981.
- 26) Laws ER Jr, Piepgras DG, et al: Neurosurgical management of acromegaly. Results in 82 patients treated between 1972 and 1977. *J Neurosurg* **50**: 454-461, 1979.
- 27) Macfarlane IA, Beardwell CG, et al: Glycoprotein hormone  $\alpha$  subunit secretion by pituitary adenomas: Influence of external radiation. *Clin Endocrinol* **13**: 215-222, 1980.
- 28) Matrín-Comin J and Robyn C: Comparative immunoenzymatic localization of prolactin and growth hormone in human and rat pituitaries. *J Histochem Cytochem* **24**: 1012-1106, 1976.
- 29) Martínez AJ, Lee A, et al: Pituitary adenomas: Clinicopathological and immunohistochemical study. *Ann Neurol* **7**: 24-36, 1980.
- 30) Moriarty GC: Immunocytochemistry of the pituitary glycoprotein hormones. *J Histochem Cytochem* **24**: 846-863, 1976.
- 31) Moriarty GC and Tobin RB: Ultrastructural immunocytological characterization of the thyrotroph in rat and human pituitaries. *J Histochem Cytochem* **24**: 1131-1139, 1976.
- 32) Nakane RK and Pierce GB: Enzyme-labeled antibodies: preparation and application for the localization of antigens. *J Histochem Cytochem* **14**: 929-931, 1966.
- 33) Nakane PK: Classification of anterior pituitary cell types with immunoenzyme histochemistry. *J Histochem Cytochem* **18**: 9-20, 1970.
- 34) Nieuwenhuijzen Kruseman AC, Bots GTh, et al: Immunocytochemical growth hormone and prolactin in pituitary adenomas causing acromegaly and their relationship to basal serum hormone levels and response to thyrotrophin releasing hormone. *Clin Endocrinol* **19**: 1-8, 1983.
- 35) 長村義之: 下垂体細胞の免疫組織化学. 日本臨床 **37** : 17-27, 1979.
- 36) Pelletier G, Leclève R, et al: Identification of gonadotropic cells in the human pituitary by immunoperoxidase technique. *Mol Cell Endocrinol* **6**: 123-128, 1976.
- 37) Pelletier G, Robert F, et al: Identification of human anterior pituitary cells by immunoelectron microscopy. *J Clin Endocrinol Metab* **46**: 534-542, 1978.
- 38) Paterson RE, Kourides IA, et al: Luteinizing hormone- and  $\alpha$ -subunit-secreting pituitary tu-

- mor: Positive feedback of estrogen. *J Clin Endocrinol Metab* **52**: 692-698, 1981.
- 39) Petrusz P, Sar M, et al: Specificity in immunocytochemical staining. *J Histochem Cytochem* **24**: 1110-1112, 1976.
- 40) Pierce JG, Parsons TF: Glycoprotein hormones: Structure and function. *Ann Rev Biochem* **50**: 465-495, 1981.
- 41) Phiffer RF, Midgley AR, et al: 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.
- 42) Purandare T, Sar M, et al: Immunohistochemical localization of FSH and LH in rat pituitary. *Mol Cell Endocrinol* **10**: 57-62, 1978.
- 43) Rengachary SS, Tomita T, et al: Structural change in human pituitary tumor after bromocriptine therapy. *Neurosurg* **10**: 242-251, 1982.
- 44) Richardson UI: Establishment in culture of a multihormone-secreting cell strain derived from the MtT/F rat pituitary tumor. *J Cell Physiol* **88**: 287-296, 1975.
- 45) Ridgway EC, Klibanski A, et al: Pure alpha-secreting pituitary adenomas. *N Eng J Med* **304**: 1254-1259, 1981.
- 46) Rosen SW and Weintraub BD: Ectopic production of the isolated alpha subunit of the glycoprotein hormones. *New Eng J Med* **290**: 1441-1447, 1974.
- 47) 佐藤 修, 堀田晴比古, 他: 高プロラクチン血症を呈する下垂体腺腫の内分泌学的考察. *脳神経* **33**: 1115-1123, 1981.
- 48) Scanarini M and Mingrino S: Functional classification of pituitary adenomas. *Acta Neurochir* **52**: 195-202, 1980.
- 49) Snyder PJ, Johnson J, et al: Abnormal secretion of glycoprotein  $\alpha$ -subunit in men with pituitary adenomas and FSH hypersecretion. *J Clin Endocrinol Metab* **51**: 579-584, 1980.
- 50) Sternberger LA, Hardy PH Jr, et al: The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem* **18**: 315-333, 1970.
- 51) Surmont DWA, Winslow CLJ, et al: Gonadotropin and alpha subunit secretion by human 'functionless' pituitary adenomas in cell culture: Long effects of luteinizing hormone releasing hormone and thyrotropin releasing hormone. *Clin Endocrinol* **19**: 325-336, 1983.
- 52) 武内重二, 宗光博文, 他: Prolactinoma の保存的外科的治療. 第2回下垂体腫瘍ワークショップ講演集 95-102, 1981.
- 53) 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**: 1163-1166, 1980.
- 54) 寺本 明, 高倉公朋, 他: Bromocriptine 投与に伴う prolactinoma の病理学的変化—臨床のおよび実験的検討. 第2回下垂体腫瘍ワークショップ講演集 133-144, 1981.
- 55) Tindall GT, Kovacs K, et al: Human prolactin-producing adenomas and bromocriptine: A histological, immunocytochemical, ultrastructural and morphometric study. *J Clin Endocrinol Metab* **55**: 1178-1183, 1982.
- 56) Ueda G, Moy P, et al: Multihormonal activities of normal and neoplastic pituitary cells as indicated by immunohistochemical staining. *Int J Cancer* **12**: 100-114, 1973.
- 57) Walker RA: Significance of  $\alpha$ -subunit HCG demonstrated in breast carcinomas by the immunoperoxidase technique. *J Clin Path* **31**: 245-249, 1978.
- 58) 渡辺慶一: 酵素抗体法—理論・手技解説とその応用—. 学際企画, 共栄社, 東京, 1981.
- 59) Werder K, Brendel C, et al: Medical therapy of hyperprolactinemia and Cushing's disease associated with pituitary adenomas. In *Pituitary Microadenomas* (eds. Faglia G, Giovanelli MA, et al) pp 383-397, Academic Press, London and New York, 1980.
- 60) Zimmerman EA, Defendini R, et al: 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**: 577-585, 1974.