

内分泌療法後の前立腺癌組織の検討

安住 誠, 佐賀 祐司, 橋本 博, 柿崎 秀宏
旭川医科大学泌尿器科学講座

HISTOLOGICAL INVESTIGATION OF PROSTATE CANCER TREATED
WITH HORMONAL AGENTS

Makoto AZUMI, Yuji SAGA, Hiroshi HASHIMOTO and Hidehiro KAKIZAKI
The Department of Urology, Asahikawa Medical College

The histological diagnosis of prostate cancer treated with hormonal agents is often difficult because of various morphological changes induced by androgen ablation. Immunostaining of cytokeratins may be useful to prevent the underdetection of cancer cells.

We examined prostatic specimens with histological diagnosis of 11 pT0 patients who had undergone neoadjuvant endocrine therapy followed by radical prostatectomy. Anti-cytokeratin antibody, AE1/AE3 was used to detect the prostatic epithelial cells. Anti-cytokeratin antibody, 34 β E12 was used to detect the prostatic basal cells. The loss of basal cells indicates the acini to be cancer. The immunostaining with these antibodies revealed that 2 out of 11 cases had residual cancer and were not pT0.

The immunostaining of cytokeratins was useful to detect the residual prostatic cancer after endocrine therapy.

(Hinyokika Kyo 52 : 781-784, 2006)

Key words : Prostate cancer, Hormonal therapy, Cytokeratin

緒 言

根治的前立腺全摘除術に先立ち内分泌療法を施行することがあるが、内分泌療法施行後の前立腺全摘標本では前立腺腺管の萎縮などにより癌細胞の観察がしばしば困難になるとされている¹⁻³⁾。このため全摘標本が組織学的治療効果判定基準⁴⁾にて癌細胞を認めないグレード 3b と分類された症例でも、詳細に検討すると viable な細胞が存在し、症例によっては PSA failure が起こることもあると言われている⁵⁾。また今後の前立腺癌治療の展開を考えた時、非観血的治療の組織学的効果を正しく評価することは、きわめて重要なことと思われる。

治療により何らかの変化を来した上皮組織を的確に捉えるには、代表的な上皮マーカーであるサイトケラチンの利用が考えられるが、実際に Bazinet らは H-E 染色にサイトケラチン染色を併用することでより正確な病理学的診断が施行できたと報告している⁶⁾。

今回われわれは、内分泌療法施行後に前立腺全摘除術を行った症例において、Bazinet ら⁶⁾の報告を参考にサイトケラチンを免疫組織化学的に染色し、その意義につき検討したので報告する。

対 象 と 方 法

1994年7月から2005年2月までの間に、3カ月以上の内分泌療法後に前立腺全摘除術を行った33例中 pT0 と診断された11例を対象とした (Table 1)。内分泌療法は LH-RH アナログ (leuporelin acetate or goserelin acetate) 単独投与または抗アンドロゲン剤 (flutamide or bicalutamide) と併用投与が行われていた。これらの全摘標本の各切片についてサイトケラチンの局在を観察した。Bazinet ら⁶⁾が用いたサイトケラチンは上皮細胞を広く捉えるもの (AE1/AE3) のみであったが、われわれは基底細胞マーカーである 34 β E12 も併用して、AE1/AE3 で捉えた細胞が癌細胞か正常細胞なのかを鑑別しやすいように工夫した。

サイトケラチン染色法として酵素抗体法 (ABC 法 : avidin-biotin-peroxidase complex) を用いた。一次抗体には抗ヒトサイトケラチンマウスモノクローナル抗体 (AE1/AE3 および 34 β E12, いずれも DAKO 社) を使用した。AE1/AE3 はサイトケラチン 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 14, 15, 16, 19 に活性を有し、34 β E12 はサイトケラチン 1, 5, 10, 14 に活性を有し、組織内のこれらの抗原に反応するものである。一次抗体以降の反応はヒストファイン SAB-PO (M) キット (ニチレイ社) を用い、発色反応はヒストファイン DAB 基質キット (ニチレイ社) を用いて行った。

Table 1. Patients characteristics

Case No.	Age (years)	Clinical stage	No. of positive/total cores	Gleason score	Serum PSA (ng/dl)	Duration of hormone therapy (months)
1	59	T1c	4/17	3+3	3.6	6
2	63	T1c	3/ 8	4+5	8.1	4
3	66	T1c	6/14	3+4	11	6
4	73	T1c	2/12	3+3	5.1	11
5	64	T1c	2/12	3+3	7.1	3
6	68	T1c	1/13	3+3	4.6	6
7	58	T1c	4/12	3+3	10.5	5
8	72	T2a	1/14	3+3	5.7	9
9	62	T2a	1/12	3+2	1.9	12
10	66	T2a	2/ 5	4+3	75.3	15
11	72	T2a	2/12	3+3	40.1	6

結 果

病理学的に残存癌を認めないとされた11例中 9 例ではサイトケラチン染色によっても癌病巣を見出すことはできなかったが、2 例 (Table 1 の症例 2 と 7) において残存癌が検出された。以下その 2 例を供覧する。

症例 2 : 64歳, 男性

1997年 9 月17日 PSA 8.1 ng/ml にて経直腸的前立腺生検施行。低分化型腺癌の診断 (c-T1cN0M0) のもと MAB 療法を 4 カ月間行った後1998年 2 月23日根治的前立腺全摘除術施行。病理学的に残存癌なし (pT0) との報告をうけ経過観察していたが, PSA failure のため2000年 1 月より抗アンドロゲン剤の内服を開始した。今回の検討では, H-E 染色だけでは認識しにくい部位に AE1/AE3 陽性の腺管構造を認め, 同時に行った 34 β E12 染色は陰性で (基底細胞を認めず), この病巣は残存した癌病巣と診断した (Fig. 1a, b, c)。

症例 7 : 58歳, 男性

2003年 3 月 5 日 PSA 10.5 ng/ml にて経直腸的前立腺生検施行。中分化型腺癌の診断 (c-T1cN0M0) のもと MAB 療法を 5 カ月間行った後2003年 9 月 8 日根治的前立腺全摘除術施行。残存癌なしとの報告をうけ経過観察中で, 現在まで PSA failure は認めていない。今回の検討では, H-E 染色では認識しにくい小腺管構造が AE1/AE3 染色にて多数確認でき, 34 β E12 染色陰性のため残存癌と診断した (Fig. 2a, b, c)。

考 察

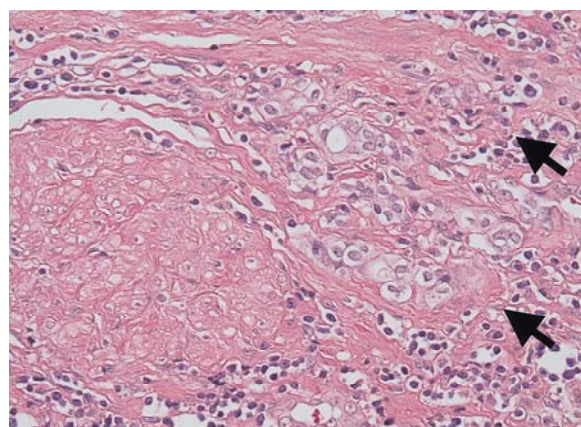
サイトケラチンは上皮性細胞の細胞骨格を成す中間径フィラメントで, 複数の遺伝子に支配される分子量 40~68 kD の蛋白群の総称である。分子量や生化学的分析によって20種類ほどの異なる蛋白に分類され, 前立腺上皮に関してはこれまでにサイトケラチン 5, 6,

7, 8, 10, 11, 14, 15, 16, 18, 19の存在が確認されている^{7,8)}。また免疫組織化学染色により前立腺分泌細胞と基底細胞では異なったサイトケラチンの存在が証明されており, 基底細胞には高分子量のサイトケラチンが存在するという特徴がある。抗ヒトサイトケラチン AE1/AE3 は酸性サブファミリーを認識する AE1 と塩基性サブファミリーを認識する AE3 という 2 つの異なるクローンを混合したもので, パンサイトケラチンとも呼ばれており, サイトケラチン 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 14, 15, 16, 19を認識でき, 前立腺分泌細胞および前立腺基底細胞ともに陽性所見を示し, 正常前立腺腺管構造の二層性を確認できる。Bazinet ら⁶⁾はこの抗体を使用して萎縮した前立腺腺管を検出するのに有用であることを示した。しかし癌細胞であることを認識するにはこれのみでは不十分であるため, われわれは抗ヒトサイトケラチン 34 β E12 も併用した。

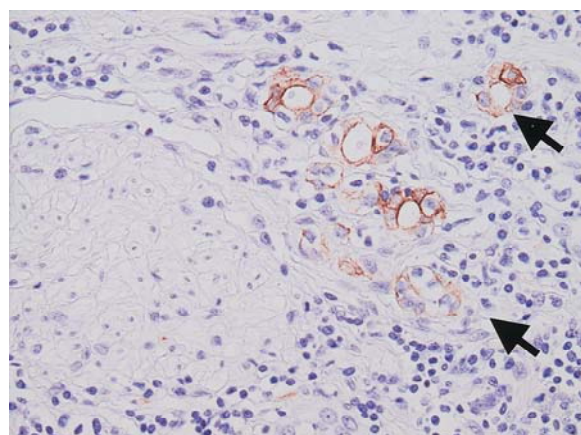
抗ヒトサイトケラチン 34 β E12は高分子量のサイトケラチン 1, 5, 10, 14を認識するものであり, 前立腺基底細胞の細胞質を染色し, 分泌細胞では陰性となる。すなわち, 前立腺基底細胞層が保たれている正常前立腺組織では陽性所見が得られるが, 基底細胞層が消失している前立腺癌では陰性所見を示し, これらの鑑別に有用である。

われわれはまず AE1/AE3 染色を行って広くサイトケラチンを検出し, H-E 染色では認識しにくい腺構造が少なからず存在することを確認した。その後 34 β E12 染色により基底細胞消失の有無を観察し, AE1/AE3 で認識された構造が癌組織であるか否かを検討した。この結果当初 pT0 と診断された11例中 2 例に癌組織が残存していることを見出した。この方法は種々の修飾が加わる非観血的治療後の組織診断において有効なものと思われた。

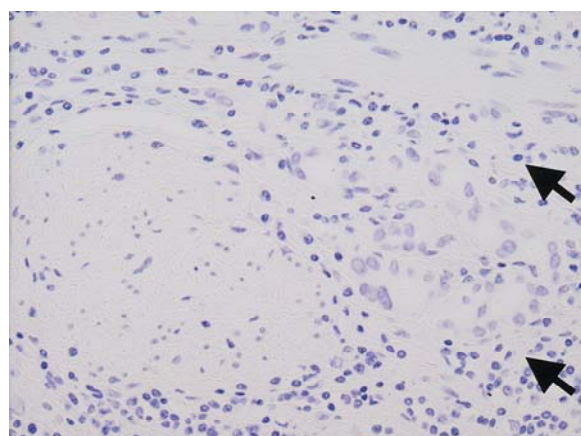
最近前立腺の基底細胞核に存在する抗原である p63 を用いた検討や, また前立腺癌特異マーカーの可能性



a H-E



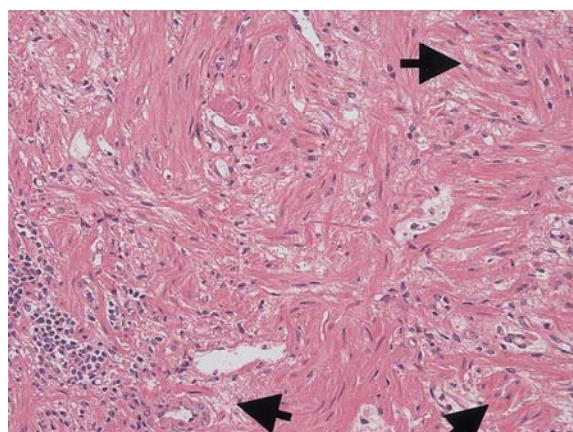
b AE1/AE3



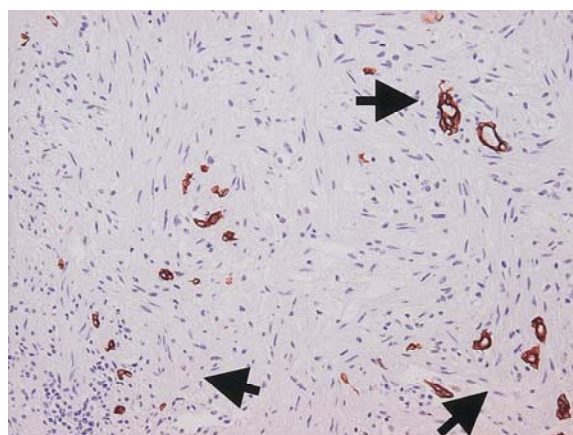
c 34βE12

Fig. 1. Histopathological examination of the prostate showed small acini near the nerve, but they were difficult to recognize (H-E, $\times 400$, a). Cytokeratin AE1/AE3 immunohistochemical staining revealed small acini ($\times 400$, b). Negative reactivity for cytokeratin 34βE12 showed those acini to be cancer ($\times 400$, c).

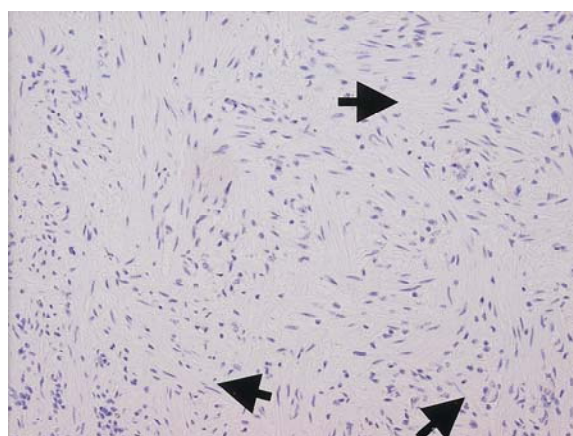
のある抗原として α -methylacyl-CoA racemase (AMACR) による検討が報告されており, 前立腺癌の組織診断がより精密なレベルで行われようとしている。一方われわれの用いた AE1/AE3 や 34βE12 はそれぞれの意義は確立しており, 質の高い抗体が市販さ



a H-E



b AE1/AE3



c 34βE12

Fig. 2. There were many small acini but they were difficult to recognize (H-E, $\times 400$, a). Cytokeratin AE1/AE3 immunohistochemical staining revealed residual tumor with marked atrophy ($\times 400$, b). Negative reactivity for cytokeratin 34βE12 in the tumor cells ($\times 400$, c).

れている点からも, 現時点では実際的な組み合わせではないかと考えられる。

結 語

ある種のサイトケラチンの局在を観察することによ

り、内分泌療法後に pT0 と診断されていた前立腺癌症例の一部で癌細胞が残存していることを見出した。種々の修飾を受けている非観血的治療後の前立腺癌組織を的確に診断することは容易ではなく、われわれの行ったような免疫染色法はその一助になると思われる。

本論文の要旨は第93回日本泌尿器科学会総会（東京都，2005年）において発表した。

文 献

- 1) Scolieri MJ, Altman A and Resnick MI: Neoadjuvant hormone ablative therapy before radical prostatectomy. *J Urol* **164**: 1465-1472, 2000
- 2) Abbas F and Scardino PT: Why neoadjuvant androgen deprivation prior to radical prostatectomy is unnecessary. *Urol Clin North Am* **23**: 587-604, 1996
- 3) Fair WR and Scher HI: Neoadjuvant hormonal therapy plus surgery for prostate cancer: the MSKCC experience. *Surg Oncol Clin North Am* **6**: 831-846, 1997
- 4) 日本泌尿器科学会，日本病理学会編：泌尿器科・病理，前立腺癌取り扱い規約第3版，金原出版，東京，2001
- 5) Kollermann J, Caprano J, Budde A, et al.: Follow-up of nondetectable prostate carcinoma (pT0) after prolonged PSA monitored neoadjuvant hormonal therapy followed by radical prostatectomy. *Urology* **62**: 476-480, 2003
- 6) Bazinet M, Zheng W, Begin LR, et al.: Morphologic changes induced by neoadjuvant androgen ablation may result in underdetection of positive surgical margins and capsular involvement by prostatic adenocarcinoma. *Urology* **49**: 721-725, 1997
- 7) Sun TT, Tseng SC, Huang AJ, et al.: Monoclonal antibody studies of mammalian epithelial keratins: a review. *Ann N Y Acad Sci* **455**: 307-329, 1985
- 8) Moll R, Franke WW, Schiller DL, et al.: The Catalog of Human Cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* **31**: 11-24, 1982

(Received on February 9, 2006)

(Accepted on May 1, 2006)