

シンポジウム 1 子宮筋腫の発育制御とその管理

(1) 針生検による子宮筋腫管理の実際とその問題点

大阪市立総合医療センター婦人科

部長 川 村 直 樹

Actual Management and its Problem for Uterine Myoma Using
Transcervical Needle Biopsy

Naoki KAWAMURA

Division of Gynecology, Osaka City General Hospital, Osaka

Key words : Myoma · Leiomyosarcoma · Needle biopsy · Ki67 · Teromerase

緒 言

子宮筋腫は、性成熟期女性の 20～30% に認められる頻度の高い良性腫瘍である。1990 年ごろの診断における MRI の臨床導入とその後の普及、治療における GnRH agonist の健康保険収載、さらに最近では子宮動脈塞栓術、集束超音波療法などの新しい治療法の臨床応用に伴い、それ以前と比較し外科的治療よりも保存的管理・治療が選択される機会が明らかに増加してきている。子宮筋腫を保存的に管理しようとする場合、まれながら存在する子宮肉腫を否定しておくことは臨床重要問題であるが、両者の術前鑑別診断は必ずしも容易ではない¹⁾²⁾。

現在ひろく用いられている検査法の中で、有用な鑑別診断法として MRI があげられる。MRI はその信号パターンを分析することで腫瘍組織の性状をある程度推定することが可能であり、肉腫のスクリーニングという点では有効な手段と思われるが、子宮筋腫にしばしば認められる各種変性との鑑別には限界がある。PET も期待されている検査法であるが、現時点では評価が充分行われていない³⁾。

腫瘍の良性・悪性を判定するうえで最も信頼できる術前検査法は病変部の生検である。しかし、通常行われている内膜生検は腫瘍が子宮内腔に達していなければ診断が得られないためその正診率は約 30% と低く、診断精度を高めるには直接腫瘍に対する生検が必要であるが、子宮筋腫(様腫瘍)の生検は実地臨床ではほとんど行われていない。

本報告は、経子宮頸管的針生検の実施における問題点、および子宮筋腫と肉腫の鑑別診断における診断精度を明らかにし、実地臨床導入に向けての有用性の評価を行うことを目的とした。

方 法

1. 対象

1994 年 5 月から 2006 年 4 月の期間に、大阪市立大学医学部附属病院産婦人科、または大阪市立総合医療センター婦人科の子宮筋腫外来(手術適応があるが保存的管理を希望する担子宮筋腫患者が主な対象)を受診した患者のうち、検査の同意の得られた 694 例を対象とした。妊娠中、著明な出血傾向、婦人科臓器の急性炎症時、有茎性漿膜下腫瘍は対象から除外した。

はじめに全例に conventional MRI を撮像し、結節の個数・大きさ・存在部位・T2 強調画像の信号パターンを確認した。多発性筋腫の場合、信号パターンが異なればそれぞれから、同一であれば最大結節を生検対象とした。

2. 採取方法とアプローチ⁴⁾⁵⁾

Tru-cut タイプの 16 ゲージ 25cm 長の生検針を用い、経子宮頸管的にアプローチし標本を採取した。あらかじめ外径 4mm、20cm 長のステンレス性ガイド管を子宮腔内に挿入し、これを経腹超音波で描出確認しながら採取目的とする筋腫様結節に向くように操作する。ついで、生検針をこのガイド管の中を通して筋腫様結節に刺入し、部位を変えて計 3 カ所より標本を採取した(図 1)。麻酔は原則施行しないが、ガイド管

挿入時、頸管拡張操作が必要な場合に限り傍頸管ブロックあるいはペンタゾシンの静脈投与を行った。

3. 針生検標本の判定方法

①病理組織学的評価：子宮平滑筋腫瘍の悪性度に関与する病理組織学的指標として、Bell, Hendrickson et al.⁶⁾の提唱した、「核分裂指数」、「細胞異型」、「腫瘍細胞凝固壊死」の3指標に注目し(図2), その有無と程度により5段階のGroup分類を設定し判定した(表1)。図3にgroup I・IV・Vの例を示す。group Iは悪性所見なしあるいは硝子変性のみ, group IVはひとつの指標に異常が認められるが肉腫の診断基準を満たさず, group Vは2以上の指標に異常が認められ, 生検のみで肉腫の診断が確定する。

②免疫組織学的評価：49例に対しては次の悪性形質マーカーに対する1次抗体を用い, LSAB法にて免疫染色を行い, 標識率あるいは染色強度をもって評価

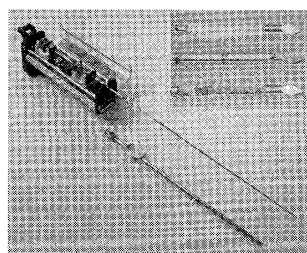
し判定を行った。Ki67(MIB1：標識率), P53(標識率), hTERT(染色強度：4段階半定量)(図4)。

③テロメラーゼ活性測定による評価：62例に対しては, telomeric repeat amplification protocol (TRAP) 法により定量的にテロメラーゼ活性の測定を行い判定した⁷⁾。

TRAP 法

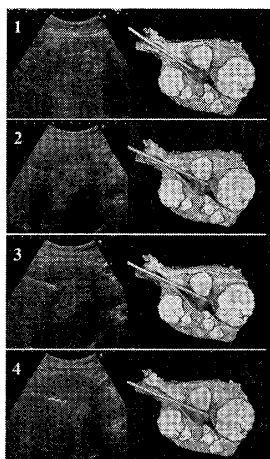
針生検標本をマイクロチューブ内でホモジナイズしてテロメラーゼ分画を含む上清を採取し, これに反応混合試薬を加えたTSプライマーを基質としたテロメラーゼ伸長反応を行う。次にこの反応産物であるDNAをPCR増幅させ, PCR産物を12.5%のポリアクリルアミドゲルにて電気泳動後, エチジウムブロマ이드にて染色し, 各バンドの蛍光強度をデンストメリーを用いて測定した。酵素活性の定量化は, デンストメーターでバンドの強度を読み取り, 陽性コント

経子宮頸管的針生検



生検針、ピストル、ガイド管

図1 経子宮頸管的針生検



(弱拡大)
凝固壊死 細胞異型

+	+	平滑筋肉腫	平滑筋肉腫
	—	低悪性度 平滑筋腫	平滑筋肉腫
—	+	異型 平滑筋腫	平滑筋肉腫
	—	平滑筋腫	核分裂の多い 平滑筋腫(まれ)

0 10 核分裂指数 (強拡大)

図2 子宮平滑筋腫瘍の病理組織学的診断基準(Bell et al. 1994 を改編)

表1 子宮平滑筋腫瘍針生検標本の病理組織所見に基づくGroup分類(Bell et al.の診断基準に準拠)

Group	核分裂指数	細胞異型	壊死	細胞密度	脈管侵襲 異型分裂	辺縁浸潤	上皮様変化 粘液腫様変化
I	0	なし	硝子壊死	減少 不変	なし	なし	なし
II	..	軽度	..	増加	..	..	..
III	≥ 1	..	凝固 壊死疑	..	あり	疑	疑
IV	≥ 10	中等度 強度	凝固 壊死	..	..	..	あり
V	Group IV の所見が2つ以上			..	..	あり	..

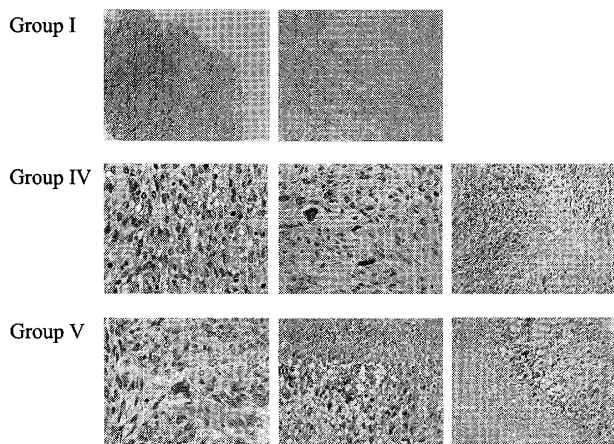


図3 子宮平滑筋腫瘍針生検標本の病理組織所見に基づく Group 分類

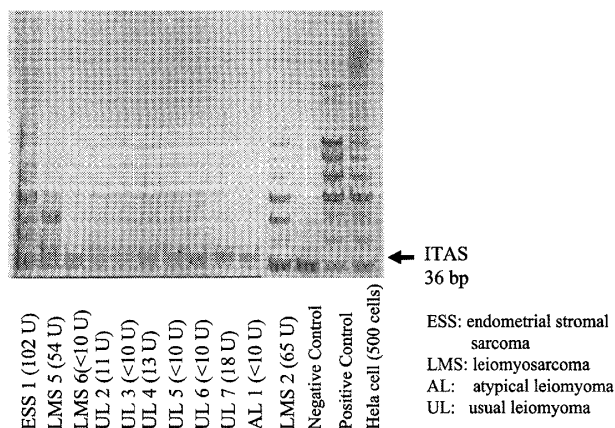


図5 子宮平滑筋腫瘍の針生検標本におけるテロメラーゼ活性 (TRAP 法)

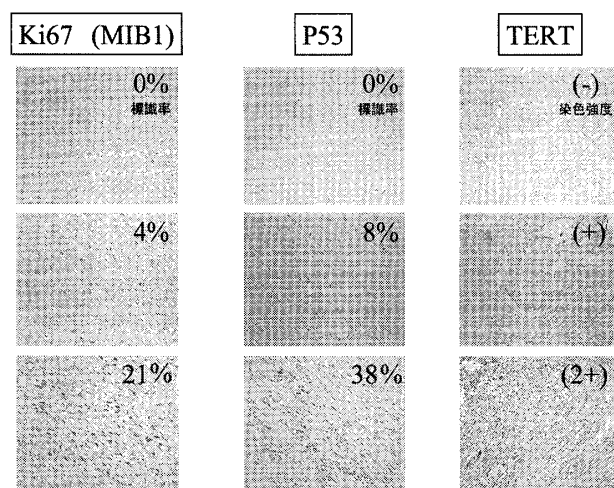


図4 悪性形質マーカー (Ki67, P53, hTERT) による免疫染色

成 績

針生検を施行した 694 例のうち 688 例において標本を採取することが可能であった。肉腫症例は 11 例であった。検査所要時間は平均 5.8 分 (1~35 分)、出血量は平均 9.5g (1~115g) で、輸血や外科的介入が必要となるような検査合併症 (出血、感染、周辺臓器損傷) はみられなかった。

①病理組織診断：生検後 2 年以上経過した症例、あるいは生検後手術が行われた症例 673 例中、Group I・II と判定された症例の中では、内膜生検で子宮内膜癌が判明した 3 例を除き、現在まで悪性の経過・転帰をとった症例、あるいは摘出標本で子宮肉腫と病理組織診断された症例は認められていない。Group III 以上の異常所見ありと判定された症例は 26 例 (3.8%) で (図 6, 表 2)、生検のみで肉腫の診断が確定する Group V と判定されたのは 6 例であった。すなわち、Bell et al. が提唱する子宮平滑筋腫瘍悪性度判定の診断基準をそのまま当てはめた場合の本生検法の感度は 55%、特異度は 100% であった。Group VI + V を陽性とした場合、および Group III + VI + V を陽性とした場合の感度・特異度・陽性適中率、陰性適中率を表 3 に示す。Group VI + V を陽性とした場合に最も良好な診断精度が得られた。

②免疫組織学的評価：肉腫鑑別の至適カットオフ値は、Ki67, P53, TERT, それぞれ 5%, 14%, 2+ で (図 7, 表 4)、この場合の感度・特異度はそれぞれ 86%・98%, 57%・100%, 57%・100% で、Ki67 による評価が最も良好な診断精度が得られた。

③テロメラーゼ活性測定：肉腫鑑別の至適カット

ロールの ITAS (internal telomerase assay standard) に対する反応産物の活性値を 100U としてノーマライズし、サンプル活性値を算出した (図 5)。

4. 参照標準 (ゴールドスタンダード) とカットオフ値の決定

良性・悪性判定の参照標準は、手術症例は摘出標本に対して Bell et al. が提唱した子宮平滑筋腫瘍の病理組織診断基準をもって行い、手術が行われなかった症例は生検後の悪性経過の有無をもって判定した。生検後 2 年を経過していない経過良好非手術症例は、診断精度の評価からは除外した。

肉腫鑑別における各種判定法の至適カットオフ値は、receiver operator characteristic curve (ROC 曲線) を用い決定した。

オフ値は 20units で、この場合の感度・特異度はそれぞれ 85%・100% であった(図 8)。

考 察

子宮筋腫様病変に対する針生検の検査手技は比較的容易で、所要時間も短時間であり、また、臨床的に問題となるような検査合併症はみられなかった。100 g を超える出血は 2 例に認められたが、いずれも遷延した月経期に検査を施行したものであり、検査時の出血量には月経血が相当量含まれる。50g を超える比較的多めの出血がみられたときは、8 Fr 小児用膀胱留置バルーンカテーテルを子宮内腔に挿入し、バルーンを膨らませ数時間留置することで、すべての症例で止血しえた。以上より手技、検査リスクの点では、本法は実地臨床に十分適用可能な検査法と考えられた。

診断精度の点では、Bell et al. が提唱した子宮平滑筋腫瘍の病理組織診断基準を生検標本に対しそのまま

適用した場合、肉腫の診断が確定したのは 11 例中 6 例(55%)に過ぎなかったが、疑陽性を反映する判定法である Group 分類を用い胃や大腸のポリープの生検診断と同様に臨床的取扱い(表 5)まで言及することで、本法は実地臨床に適用可能な検査法であると考え

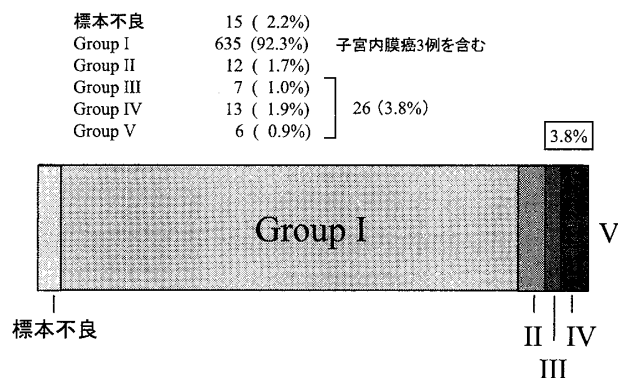


図 6 子宮平滑筋腫瘍の針生検 688 例の判定

表 2 経子宮頸管的針生検標本による Group III 以上(陽性・疑陽性症例)の手術摘出標本病理組織所見・診断

Group	No.	内膜生検	針生検標本			摘出標本の病理組織診断	転帰
			核分裂指数	細胞異型	凝固壊死		
III	1	No malig.	1	—	—	Usual leiomyoma	NED
	2	No malig.	1	—	—	Usual leiomyoma	NED
	3	No malig.	1	—	—	ND	AWD
	4	No malig.	2	—	—	Usual leiomyoma	NED
	5	No malig.	5	—	—	Usual leiomyoma	NED
	6	No malig.	0	—	?	Usual leiomyoma	NED
	7	No malig.	0	—	?	Usual leiomyoma	NED
	8	No malig.	0	epithelioid	—	ND	AWD
IV	1	No malig.	0	moderate	—	Atypical leiomyoma	NED
	2	No malig.	0	moderate	—	Atypical leiomyoma	NED
	3	No malig.	0	moderate	—	Atypical leiomyoma	NED
	4	No malig.	0	moderate	—	ND	?
	5	No malig.	1	moderate	—	ND	AWD
	6	No malig.	0	moderate	—	Atypical leiomyoma	NED
	7	No malig.	0	—	+	LMP	NED
	8	No malig.	0	moderate	—	Leiomyosarcoma	DOD
	9	No malig.	0	moderate	—	Leiomyosarcoma	NED
	10	No malig.	0	—	+	Leiomyosarcoma	NED
	11	No malig.	0	moderate	—	Leiomyosarcoma	NED
	12	No malig.	1	moderate	—	Leiomyosarcoma	AWD
V	1	No malig.	15	moderate	+	Leiomyosarcoma	DOD
	2	LMS susp	12	moderate	?	ND (skin meta +)	DOD
	3	ESS susp	15	moderate	—	ESS (high grade)	DOD
	4	LMS susp	4	severe	+	Leiomyosarcoma	NED
	5	insuff.	5	moderate	+	ND (liver meta +)	AWD
	6	No malig.	12	moderate	—	Leiomyosarcoma	NED

ND : not done NED : no evidence of disease AWD : alive with disease DOD : dead of disease

表3 子宮平滑筋腫瘍の針生検標本の病理組織診断による診断精度(生検後2年を経過していない経過良好非手術症例13例を除外した675例で検討)

陽性範囲	感度	特異度	陽性適中率	陰性適中率
Group V	55% (27 ~ 83%)	100.0% (99.4 ~ 100%)	100% (48 ~ 100%)	99.3% (99.5 ~ 99.8%)
Group IV + V	100% (71 ~ 100%)	98.9% (98.1 ~ 99.6%)	69% (45 ~ 89%)	100.0% (99.4 ~ 100%)
Group III + IV + V	100% (71 ~ 100%)	97.7% (96.5 ~ 98.7%)	46% (27 ~ 67%)	100.0% (99.4 ~ 100%)

() 内は95%信頼区間

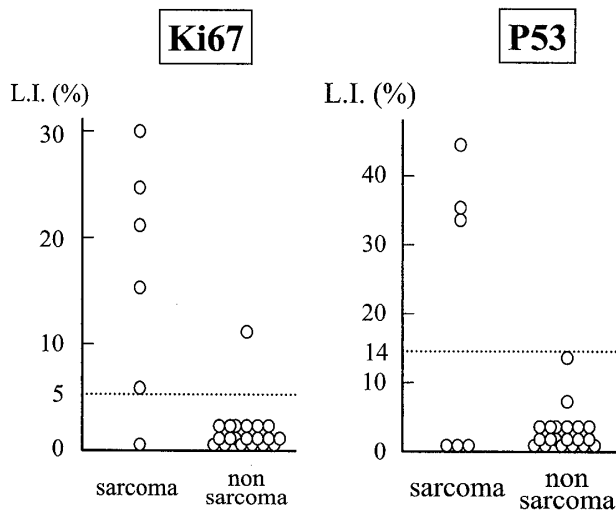


図7 子宮平滑筋腫瘍のKi67, P53に対する免疫染色態度(L.I.; labeling Index)

表4 子宮平滑筋腫瘍のhTERTに対する免疫染色態度

判定	sarcoma	non sarcoma
2+	3	0
1+	1	1
±	0	2
-	2	40
合計	6	43

られた。

子宮平滑筋腫瘍の病理組織診断による悪性度の判定は、最も異常の程度の強い部位で行わなければならないが、針生検標本は微小検体であるため必ずしも最強病変が採取されるとは限らず、本質的に過小診断になりやすいという問題点がある。しかし、病理組織診断における疑陽性は、画像診断や腫瘍マーカーの判定

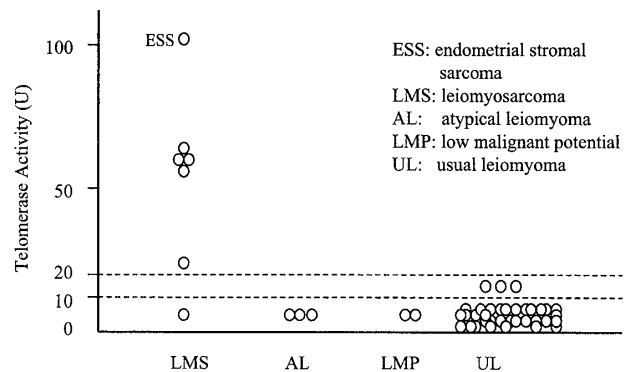


図8 子宮平滑筋腫瘍のテロメラーゼ活性

における疑陽性とは異なり、少なくともその腫瘍は悪性のポテンシャルを持つことを意味し、その疑陽性判定をもって子宮摘出等の治療に踏み切ったとしても、従来臨床経過やMRI非定型所見で肉腫が疑われて手術が行われていた症例の数%に限られるため、許容できうるものと考えられる。

本法は腫瘍組織が得られるため、病理組織学的検索以外にも、免疫組織学的(各種悪性形質マーカー)、分子生物学的手法を用いることにより、診断精度を高められる可能性がある。今回は増殖マーカーとしてKi67, 癌抑制遺伝子p53異常産物であるP53, 不死化マーカーとしてテロメラーゼ構成タンパクであるhTERTの3つを選択して免疫組織学的に検討を行った。結果、増殖マーカーであるKi67の標識率による判定が最も良好な診断精度を示した。

また、不死化マーカーとしてのテロメラーゼはTRAP法の開発により針生検で得られるような微小検体でもその酵素活性測定が可能となり、今回の検討でも病理組織診断に匹敵しうる診断精度を示した。テロメラーゼは内部に鋳型RNAを有するため、壊死物質やRNaseの混入により偽陰性になることや、逆に

表5 子宮平滑筋腫瘍の針生検結果に基づく管理指針

・ Group I	症状に応じて管理・治療
・ Group II	症状に応じて管理・治療
・ Group III	手術を勧める（診断確定手術）
・ Group IV	至急治療開始（診断確定手術）
・ Group V	至急治療開始（手術）

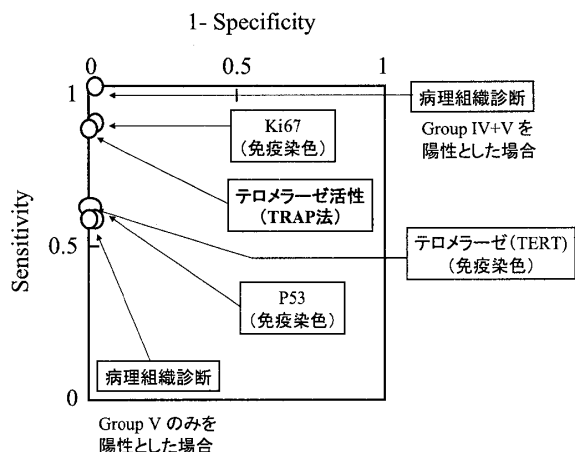


図9 各種判定法のROC曲線至適カットオフ値での子宮肉腫診断精度の比較

子宮内膜にテロメラーゼ活性が認められることからその混入により偽陽性となることもあるが、組織ホモジネートを用いた場合はこれら判定阻害因子の関与を明らかにすることができない。診断精度が高いだけに本法を良悪性の判定に用いるときは、標本の取扱いには細心の注意が必要である。

今回の針生検標本を用いた各種判定法の診断精度を比較すると、「Group IV以上を陽性とした場合の病理組織診断による判定」が最も良好な診断精度を示し、以下「カットオフ値を核標識率5%としたときのKi67の免疫染色による判定」、「カットオフ値を20IUとしたときのテロメラーゼ活性値による判定」が良好であった(図9)。

本針生検は、MRIによるスクリーニングと組み合わせることで、精度の高い筋腫・肉腫の鑑別が可能になり、GnRH agonistによる閉経逃げ込み療法や、子宮動脈塞栓術、集束超音波療法などの新しい保存的治療をより安全に行っていくうえで有用な検査法であると考えられた。

また、本生検法は生検で得られた標本に対しさまざ

まな手法による解析を加えることで、従来であれば不可能であったその後の子宮筋腫の成長や薬物反応性の予知などに関する検討も可能となり^{8)~13)}、子宮筋腫の自然史解明においても有用な手技と考えられた。

謝 辞

第59回日本産科婦人科学会シンポジウムにおいて、本研究の発表の機会をいただきました丸尾 猛学術集会長、ならびに座長の労をお執りいただきました小西郁生教授、岩下光利教授に深謝いたします。

共同研究者

大阪市立大学大学院医学研究科 女性病態医学講座：市村友季、伊藤文博、中野朱美、高橋久美代、吉田 愛、清水幸子、石河 修、荻田幸雄

子宮筋腫病変生検研究会：代表世話人 田中忠夫

文 献

1. Kawamura N, Ito F, Ichimura T, Shibata S, Tsujimura A, Minakuchi K, Ishiko O, Ogita S. Transient rapid growth of uterine leiomyoma in a postmenopausal woman. *Oncol Rep* 1999; 6: 1289—1292
2. Kawamura N, Iwanaga N, Hada S, Maeda K, Sumi T, Ishiko O, Ogita S. Transient shrinkage of a uterine leiomyosarcoma treated with GnRH agonist for a presumed uterine leiomyoma: comparison of magnetic resonance imaging finding before and during GnRH agonist treatment. *Oncol Rep* 2001; 8: 1255—1257
3. Umesaki N, Tanaka T, Miyama M, Kawamura N, Ogita S, Kawabe J, Okamura T, Koyama K, Ochi H. Positron emission tomography with (18)F-fluorodeoxyglucose of uterine sarcoma: a comparison with magnetic resonance imaging and power Doppler imaging. *Gynecol Oncol* 2001; 80: 372—377
4. Kawamura N, Ichimura T, Takahashi K, Tsujimura A, Ishiko O, Ogita S. Transcervical needle biopsy of uterine myoma-like tumors using an automatic biopsy gun. *Fertil Steril* 2002; 77: 1060—1064
5. Kawamura N, Ichimura T, Ito F, Shibata S, Takahashi K, Tsujimura A, Ishiko O, Haba T, Wakasa K, Ogita S. Transcervical needle biopsy for the differential diagnosis between uterine sarcoma and leiomyoma. *Cancer* 2002; 94: 1713—1720
6. Bell SW, Kempson RL, Hendrickson MR. Problematic uterine smooth muscle neoplasms. A clinicopathologic study of 213 cases. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 535—558
7. Tsujimura A, Kawamura N, Ichimura T, Honda K, Ishiko O, Ogita S. Telomerase activity in needle biopsied uterine myoma-like tumors: differential

- diagnosis between uterine sarcomas and leiomyomas. *Int J Oncol* 2002 ; 20 : 361—365
8. Minakuchi K, Kawamura N, Tsujimura A, Ogita S. Remarkable and persistent shrinkage of uterine leiomyoma associated with interferon alfa treatment for hepatitis. *Lancet* 1999 ; 353 : 2127—2128
 9. Kawamura N, Ito F, Ichimura T, Shibata S, Umesaki N, Ogita S. Correlation between shrinkage of uterine leiomyoma treated with buserelin acetate and histopathologic findings of biopsy specimen before treatment. *Fertil Steril* 1997 ; 68 : 632—636
 10. Ito F, Kawamura N, Ichimura T, Tsujimura A, Ishiko O, Ogita S. Ultrastructural comparison of uterine leiomyoma cells from the same myoma nodule before and after gonadotropin-releasing hormone agonist treatment. *Fertil Steril* 2001 ; 75 : 125—130
 11. Takahashi K, Kawamura N, Ishiko O, Ogita S. Shrinkage effect of gonadotropin releasing hormone agonist treatment on uterine leiomyomas and t(12; 14). *Int J Oncol* 2002 ; 20 : 279—283
 12. Takahashi K, Kawamura N, Tsujimura A, Ichimura T, Ito F, Ishiko O, Ogita S. Association of the shrinkage of uterine leiomyoma treated with GnRH agonist and deletion of long arm of chromosome 7. *Int J Oncol* 2001 ; 18 : 1259—1263
 13. Ichimura T, Kawamura N, Ito F, Shibata S, Minakuchi K, Tsujimura A, Umesaki N, Ogita S. Correlation between the growth of uterine leiomyomata and estrogen and progesterone receptor content in needle biopsy specimens. *Fertil Steril* 1998 ; 70 : 967—971

Synopsis

Background

Recent clinical introductions of GnRH agonists and uterine artery embolization have meant that the patients with uterine myoma, who might have previously undergone surgery, are now often managed conservatively. In both of the above situations, there is an important common clinical problem; that is distinguishing uterine sarcomas from benign leiomyomas. However, clinical differential diagnosis between uterine sarcomas and benign leiomyomas is difficult even with magnetic resonance imaging (MRI).

The most reliable preoperative diagnostic method is a biopsy of the tumor. We have evaluated the accuracy and the practical problem of needle biopsy for uterine myoma-like tumors, a procedure that has been infrequently performed.

Methods

Transcervical needle biopsy was performed in 694 patients with uterine myoma-like tumors. The biopsy specimens were classified into 5 groups for degree of malignancy according to the histopathological criteria proposed by Bell et al. Immunohistochemical analysis (49 cases) using Ki67 (MIB1), P53 and hTERT, and telomerase activity measured using TRAP (62 cases) were also evaluated for differential diagnosis. Histopathological evaluation of surgical specimens and clinical outcome of 2 years of follow-up were used as the reference standards.

Results

Among 694 patients, 11 had uterine sarcomas. Six cases, judged as Group V, were diagnosed as 'sarcoma' by needle biopsy alone. No sarcoma cases were included in those patients with Group I, II, and III. The cutoff level combining the highest sensitivity and specificity with respect to distinguishing uterine leiomyosarcoma from uterine leiomyoma was obtained was Group VI; sensitivity, specificity, positive, and negative predictive values were 100%, 98.9%, 69%, and 100.0%, respectively. Of the 3 immunohistochemical analyses, the evaluation using Ki67 showed the highest accuracy. At cutoff values of 20 units, telomerase activity in needle biopsy sample showed the highest accuracy; sensitivity and specificity were 85% and 100%, respectively.

Conclusions

Transcervical needle biopsy using histopathological grouping is a reliable diagnostic test for differential diagnosis between uterine sarcomas and leiomyomas. This diagnostic method, combined with MRI screening, could support the conservative management for patients with uterine myoma more safely.
