

原 著

悪性褐色細胞腫の臨床病理学的特徴

¹東京女子医科大学内分泌外科（指導：岡本高宏教授）²東京女子医科大学医学部病理学（第一）コダマヒトミ¹・サワダ タツオ²・イハラ マサトシ¹・オバラ タカオ¹・オカモト タカヒロ¹
児玉ひとみ¹・澤田 達男²・飯原 雅季¹・小原 孝男¹・岡本 高宏¹

（受理 平成24年8月6日）

Clinico-pathological Feature of Malignant Pheochromocytoma

Hitomi KODAMA¹, Tatsuo SAWADA², Masatoshi IHARA¹,
Takao OBARA¹ and Takahiro OKAMOTO¹¹Department of Endocrine Surgery, Tokyo Women's Medical University²Department of Pathology, Tokyo Women's Medical University School of Medicine

Purpose: Histopathological differentiation between benign and malignant pheochromocytoma is often difficult, and the presence of metastasis may be a definite diagnostic criterion for malignancy. The purpose of this study was to investigate histopathological and clinical features of malignant pheochromocytoma that might be useful for differentiation from its benign counterpart.

Subjects and methods: In this study we compared two groups of patients with pheochromocytoma: one in which malignancy was confirmed at the first operation on the basis of metastasis (early metastasis group), and the other in which the tumor was considered benign at the first operation, but developed metastasis several years later (late metastasis group). Among 198 pheochromocytomas, 17 were diagnosed as malignant (early metastasis 9 cases; late metastasis 8 cases). We compared the clinical features and prognosis of the two groups in which metastasis was recognized at different times, and also the histopathological and immunohistochemical features of 11 primary malignant pheochromocytomas.

Results: Malignant pheochromocytomas were often located outside the adrenal, large in size, and associated with elevation of the Noradrenalin (NA) level. There was no difference in prognosis between the early metastasis and late metastasis groups. The pheochromocytoma of the adrenal gland scale score (PASS) was significantly higher in the early metastasis group. MIB-1 ratio was also significantly higher in the early metastasis group, while PCNA ratio was significantly higher in both the early and late metastasis groups than in benign cases.

Conclusions: Extra-adrenal, large size, and noradrenalin dominant type are clinical features of malignant pheochromocytoma. Histopathological demonstration of necrosis and PCNA positivity may be helpful in identifying patients at risk of developing metastasis in the future.

Key Words: malignant pheochromocytoma, PCNA, MIB-1, PASS, prognosis

緒 言

褐色細胞腫は副腎髄質や傍神経節などのクロマフィン細胞から発生し、カテコラミンを分泌する結果、高血圧などのホルモン過剰症状を呈する稀な疾患である。その多くは良性であり外科的治療で完治するが、約10%は悪性で治療に難渋する。初回治療

時に転移を認めれば悪性褐色細胞腫の診断は容易であるが、当初は良性と診断されながら後に遠隔転移が出現することもあり、適切な経過観察が行われなければ再発の診断と治療は遅れる可能性もある。

悪性褐色細胞腫の診断根拠は非クロマフィン組織への転移とされていることから、原発巣の病理組織

所見だけから良悪性を鑑別診断することは困難であるが Thompson は 12 項目の病理組織所見に点数を付与してスコア化する pheochromocytoma of the adrenal gland scaled score (PASS)¹⁾を提唱し、スコア 4 以上をカットオフ値とした場合には感度 100%, 特異度 100% で良悪性を鑑別できると報告した^{1)~3)}。これに対し木村らは、PASS は既に転移や再発が認められている悪性褐色細胞腫の診断には有用だが、転移をきたす前の腫瘍の良悪性を鑑別することはできないと指摘している²⁾⁴⁾。ただし、当初は良性と診断されながら後に遠隔転移が出現した症例を対象に PASS の妥当性を評価した報告はない。

一方、免疫組織化学検査によって悪性褐色細胞腫を診断する試みがある。特に、増殖細胞核内抗原 proliferating cell nuclear antigen (PCNA)⁵⁾、モノクローナル ki-67 抗体 (MIB-1) を用いての報告があるが^{6)~8)}、これらについても転移が顕在化する前の腫瘍細胞を対象に検討した報告はない。

本研究では、初回治療時に良性と診断されながら後に転移が出現して悪性褐色細胞腫と判明した症例の特徴を明らかにすることを目的とし、臨床病理学的所見と予後の検証を行った。

対象および方法

1. 対象

1981~2007 年の 26 年間に東京女子医科大学病院内分泌外科で治療を行った褐色細胞腫 198 例 (副腎原発 161 例, 副腎外原発 37 例)のうち悪性の診断が確定した 17 例 (8.6%)と、対照群として無作為に選んだ良性 17 例を対象とした。悪性例は、①病理組織学的にリンパ節転移または遠隔転移がある、②手術時あるいは術後の画像検査で明らかに転移がある、の少なくともどちらか一方を認めた症例と定義した。悪性 17 例のうち、初回治療時には転移を認めず良性と診断されたが、後に遠隔転移をきたして悪性と診断が訂正された症例は 8 例あり、これらを晩期転移群とした。一方、初回診断時に転移を認めて悪性と診断した症例は 9 例あり、これらを早期転移群とした。

2. 検討項目

1) 臨床的特徴と予後

各症例の初回治療時年齢、性、腫瘍部位 (副腎・副腎外)、腫瘍最大径、カテコラミン型 (アドレナリン型/A, ノルアドレナリン型/NA), および悪性例では臨床経過と疾患特異的生命予後を調査した。生命予後は転移が出現し悪性と診断した時点から、原病

死または最終追跡日までの時間とした。

2) 病理組織学的所見

原発巣の病理標本を入手できたのは、早期転移群 9 例のうち 6 例, 晩期転移群 8 例のうち 5 例, そして良性群 17 例であった。パラフィン包埋ブロックからヘマトキシリン・エオシン (HE) 染色標本を作製し、以下に示す PASS の病理組織所見 12 項目を評価した¹⁾⁴⁾。評価項目は大巣構造またはびまん性構築 (large nests or diffuse growth), 限局性または融合性壊死 (focal or confluent necrosis), 高い充実性細胞 (high cellularity), 細胞の均一性 (cellular monotony), 紡錘型細胞 (tumor cell spindling), 核分裂像の亢進 (increased mitotic figures), 異型核分裂像 (atypical mitotic figures), 副腎周囲脂肪化 (periadrenal adipose), 血管浸潤 (vascular invasion), 被膜浸潤 (capsular invasion), 核異型度 (profound nuclear pleomorphism), クロマチン増加 (hyperchromasia) である。各項目に割りあてられた score の合計を求め、PASS \geq 4 をカットオフ値として、良悪性の鑑別を行った。さらに免疫組織学的検討として MIB-1 と PCNA の免疫染色を行った。コントロールは子宮内容物を使用した。パラフィン包埋ブロックから 4 μ m 切片を作製し、0.01M クエン酸バッファー pH6.0 または 10mM Tris-EDTA pH9.0 または 1mM EDTA とマイクロウエーブまたはオートクレーブを用いて抗原の賦活化を行った。抗 ki-67 モノクローナル抗体 (DAKO 社), 抗 PCNA モノクローナル抗体 (NOVOCASTRA 社) を一次抗体として 4 $^{\circ}$ C で一晩反応させ、ABC 法 (VECTASTAIN) により検討した。発色にはジアミノベンチジンをを用いた。各症例で 1,000 個の腫瘍細胞を観察し、MIB-1 および PCNA それぞれの陽性細胞数を算定して陽性率 (%) を求めた。MIB-1 陽性率のカットオフ値は、文献を参考に 3% 以上を陽性と判定した⁹⁾。PCNA 陽性率のカットオフ値は、5% 以上を陽性と判定した。病理組織学的所見の評価は臨床情報を与えられていない病理医 (1 名) が行った。

3. 統計学的分析

臨床的特徴、病理組織学的所見、および免疫組織学的所見の群間比較には χ^2 検定, Wilcoxon 検定, あるいは Kruskal-Wallis 検定を用いた。疾患特異的生存率は Kaplan-Meier 法で推定し、群間差の検定には Logrank 法を用いた。

Table 1 Clinical characteristics of the patients.

		Benign		Malignant		p value
				Late metastasis	Early metastasis	
Number of patient		17		8	9	
Age	Mean	43		41	43	0.9616*
	Range	(18 ~ 67)		(13 ~ 65)	(22 ~ 73)	
Sex	Male	4		4	4	0.3468**
	Female	13		4	5	
Primary	Adrenal	13		6	2	0.0173**
	Extra adrenal	4		2	7	
Tumor size (mm)	Mean	44		107	60.8	0.0181*
Types of catecholamine	A	8		1	0	0.0208**
	NA	9		7	9	

*Kruskal-Wallis test ** χ^2 test

結 果

1. 悪性褐色細胞腫の臨床的特徴 (Table 1)

悪性褐色細胞腫症例は、男性 8 例、女性 9 例、初発年齢は平均 42.5 (13~73) 歳であった。副腎原発が 8 例あり、右副腎が 2 例、左副腎が 3 例、両側発生が 3 例であり、両側例のうち 1 例が多発性内分泌腫瘍症 (multiple endocrine adenomatosis : MEN) 2A、残る 2 例は家族性発生例 (父と子) であった。副腎外原発悪性褐色細胞腫は 9 例あり、1 例が膀胱原発、8 例が傍神経節由来であった。

臨床的特徴を良性群、晩期転移群、早期転移群の 3 群間で比較すると、副腎外腫瘍は早期転移群で有意に多くみられた ($p=0.017$)。良性群と比べて、晩期転移群、および早期転移群では平均腫瘍径が大きく (それぞれ 44cm, 107cm, 61cm, $p=0.018$)、カテコラミン分泌は NA 型が多かった (53%, 88%, 100%, $p=0.0208$)。

転移部位は早期転移群で、骨 4 例、肺 2 例、肝 1 例、リンパ節 5 例、晩期転移群で、骨 4 例、肺 4 例、肝 3 例、リンパ節 6 例であった。

2. 予後

早期転移群の 4 例が原病死し、死亡までの期間は 1 ヶ月~4 年 4 ヶ月 (平均 2 年 7 ヶ月) であった。一方、晩期転移群 8 例は初回診断後 2 年 8 ヶ月~32 年 2 ヶ月 (中央値 7 年 4 ヶ月) 後に転移が発現した。晩期転移群では 5 例が原病死し、転移発現から死亡までの期間は 4 年 9 ヶ月~23 年 6 ヶ月 (平均 11 年 3 ヶ月) であった。

悪性褐色細胞腫全 17 例の 5 年生存率は 70.6% (95% confidence interval (CI) : 45.8~87.2%), 10 年生存率は 57.5% (95% CI : 33.5~78.5%) であった。晩期転移群と早期転移群とに分けて転移出現後の生

存率を比較すると、5 年生存率は晩期転移群 87.5% (95% CI : 46.3~98.3%), 早期転移群 55.6% (95% CI : 25.1~82.3%), 10 年生存率は晩期転移群 62.5% (95% CI : 28.5~87.5%), 早期転移群 55.6% (95% CI : 25.1~82.3%) であり、有意差はなかった (Logrank 検定, $p=0.9418$, Fig. 1)。悪性群の追跡期間は中央値 10 年、良性群は中央値 5 年 4 ヶ月であった。

3. 病理組織学的所見 (PASS)

良性群、晩期転移群、早期転移群別に PASS 各項目の陽性率を Table 2 に示す。項目別では、限局性または融合性壊死が早期転移群にのみ高率 (67%) に認められた。各群の PASS 平均値は、良性群 4.5, 晩期転移群 3.5, 早期転移群 6.7 であり有意差を認めた ($p=0.035$, Fig. 2a)。早期転移群は晩期転移群に比べて有意に高いが ($p=0.033$)、良性群との間には有意差はなかった ($p=0.096$)。晩期転移群と良性群との間には有意差を認めなかった ($p=0.0933$)。Thompson が報告した PASS ≥ 4 をカットオフ値とすると、感度 64%, 特異度 24% であった。

4. 免疫組織学的所見

MIB-1, PCNA とともに最も陽性率の高かった Case 5 を Fig. 3 に示す。

MIB-1 陽性率の平均値は、良性群 0.6%, 晩期転移群 0.9%, 早期転移群 1.8% であり、有意差を認めた ($p=0.012$, Fig. 2b)。早期転移群は良性群に比べて有意に高いが ($p=0.022$)、晩期転移群との間には有意差はなかった ($p=0.816$)。晩期転移群と良性群との間には有意差を認めなかった ($p=0.238$)。過去の報告を参考とし、悪性褐色細胞腫の診断における MIB-1 陽性率のカットオフ値を 3% とすると、感度 9%, 特異度 100% であった。

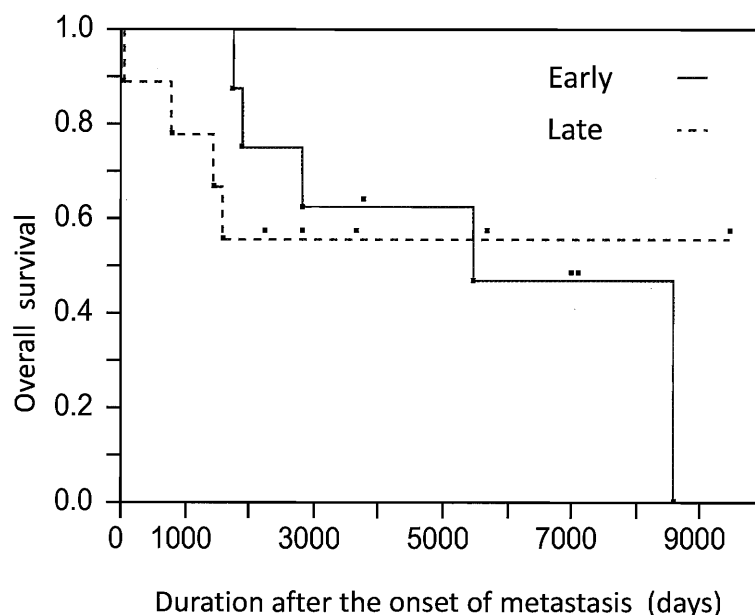


Fig. 1 Kaplan-Meier estimates of disease specific survival of patients with malignant pheochromocytoma either with early metastasis or late metastasis.
Logrank test $p=0.9418$

Table 2 Twelve pathological features of pheochromocytoma of the adrenal gland scaled score (PASS).

PASS	score	Benign			Malignant	
		n=17	Late metastasis n=5	Early metastasis n=6		
Pathological features	score					
Large nests or diffuse growth	2	11 (65%)	3 (60%)	5 (83%)		
Focal or confluent necrosis	2	0 (0%)	0 (0%)	4 (67%)		
High cellularity	2	6 (35%)	0 (0%)	1 (17%)		
Cellular monotony	2	1 (6%)	0 (0%)	2 (33%)		
Tumor cell spindling	2	0 (0%)	0 (0%)	1 (17%)		
Increased mitotic figures	2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)		
Atypical mitotic figures	2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)		
Periadrenal adipose	2	1 (6%)	0 (0%)	0 (0%)		
Vascular invasion	1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)		
Capsular invasion	1	7 (41%)	2 (40%)	4 (67%)		
Profound nuclear pleomorphism	1	15 (88%)	2 (40%)	4 (67%)		
Hyperchromasia	1	17 (100%)	4 (80%)	6 (100%)		

PCNA 陽性率の平均値は、良性群 1.2%、晚期転移群 5.1%、早期転移群 16.2% であり、群間に有意差を認めた ($p=0.0002$, Fig. 2c). 晚期転移群は早期転移群、良性群に比して有意に高値を示した ($p=0.045$, $p=0.011$). PCNA ≥ 5 をカットオフ値とすると、感度 73%、特異度 100% であった。

5. 各症例における臨床所見と病理学的所見 (Table 3)

症例毎の臨床所見, PASS, MIB-1, PCNA の値を

Table 3 にまとめた。悪性では副腎外腫瘍、腫瘍径が大きい、NA 型などの項目に複数該当している症例が多かった。早期転移群の Case5 は腫瘍径、PASS、MIB-1、PCNA、いずれも非常に高値であるが、転移を認めたまま 6 年以上生存している。PASS は、悪性でも晚期転移群にスコアが低い症例が多く、良性でもスコアが高い症例が多くみられ、病理組織所見のみでは良悪性の鑑別は困難である。PCNA が高い症例は悪性に限られていた。

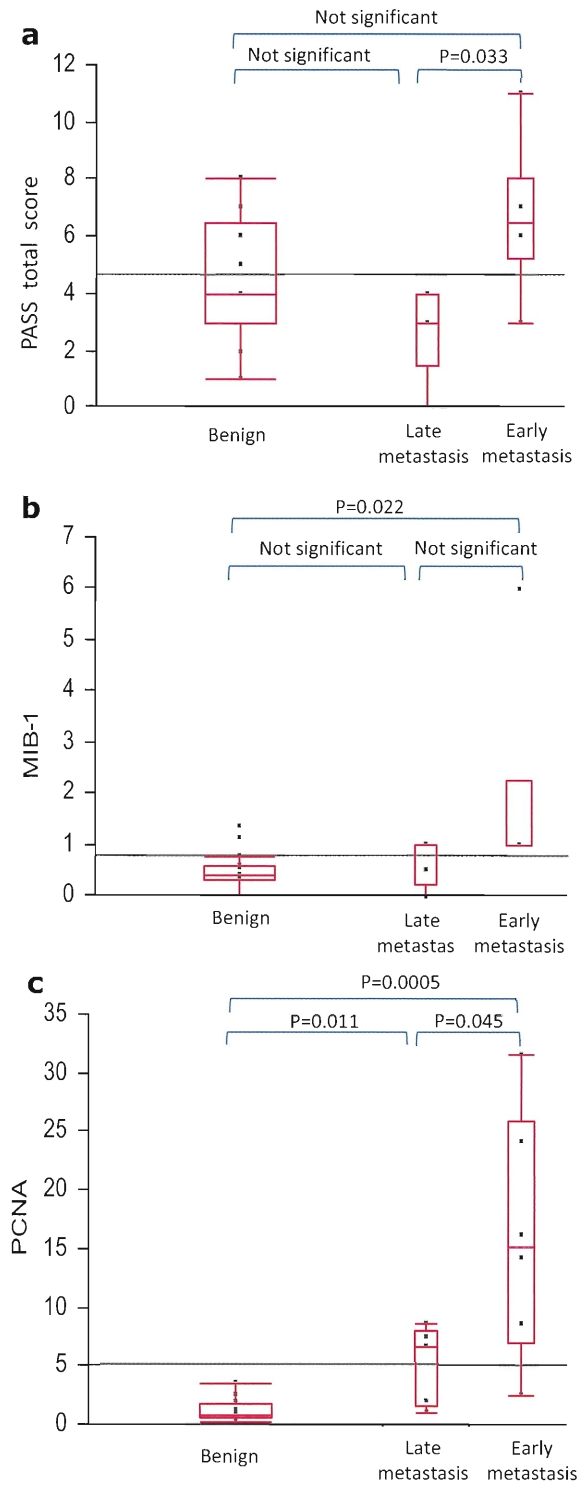


Fig. 2

a Box plots of PASS total score for patients with benign or malignant pheochromocytoma.

Kruskal-Wallis test $p = 0.0354$

b Box plots of immunohistochemical positivity for MIB-1.

Kruskal-Wallis test $p = 0.0116$

c Box plots of immunohistochemical positivity for PCNA.

Kruskal-Wallis test $p = 0.0002$

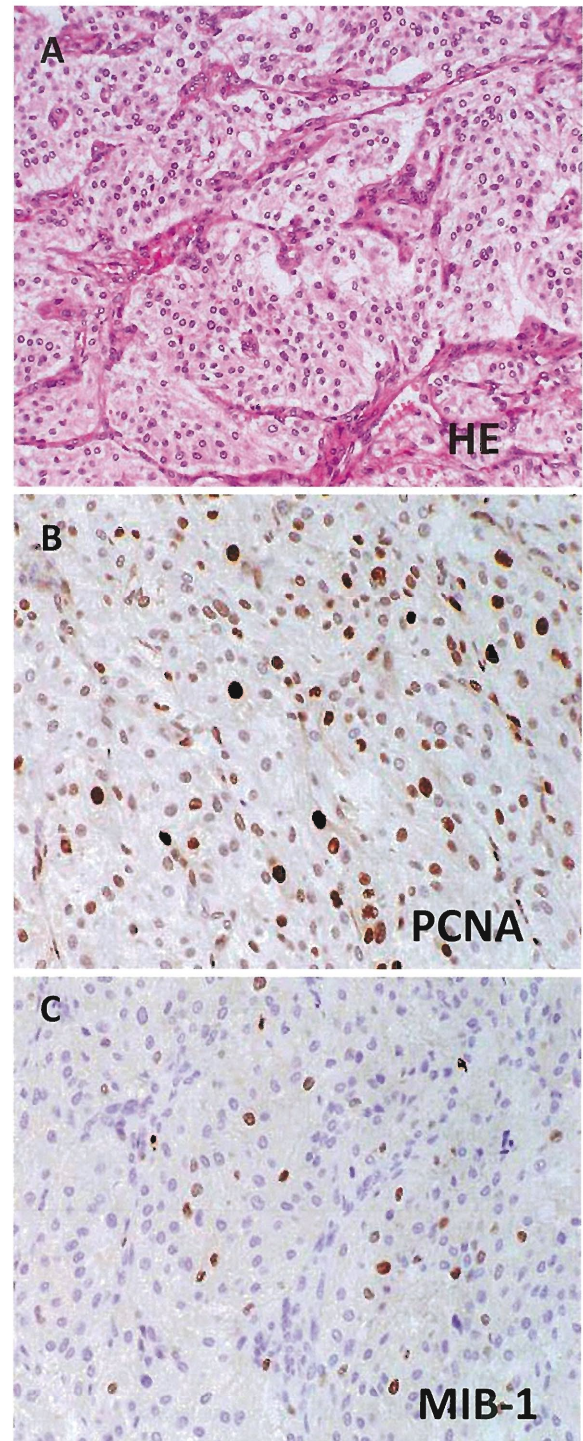


Fig. 3 Positive immunostaining for PCNA (Fig 3-B) and MIB-1 (Fig 3-C) of malignant pheochromocytoma (Case 5).

A; (HE $\times 400$)

B; (PCNA $\times 400$): 31.5%,

C; (MIB-1 $\times 400$): 6% <

考 察

本研究では晩期転移群の特徴を明らかにするため、早期転移群および良性群との比較を行った。

Table 3 Clinicopathological data of each patient

Case number	Age	Sex	Primary	Size (mm)	A/NA	Without meta (year)	With meta (year)	Survival	PASS	MIB1 (%)	PCNA (%)	
1	early	39	F	E	50	NA		25.9	6	1	8.5	
2	early	25	F	E	55	NA		15.5	7	1	24.1	
3	early	22	F	E	60	NA		10	3	1	14.2	
4	early	73	M	E	45	NA		7.7	6	1	2.59	
5	early	45	M	A	100	NA		6.1	11	6	31.5	
6	early	41	F	A		NA		4.3	death			
7	early	56	F	E		NA		3.9	death			
8	early	33	M	E		NA		2.2	death			
9	early	55	M	E	55	NA		0.1	death	7	1	16.1
10	late	13	M	E		NA	32.2	7.7	death			
11	late	55	M	A		NA	9	23.5	death			
12	late	16	F	A		A	9.6	19.5		0	0	2
13	late	19	F	A		NA	5.7	19.1				
14	late	48	M	A	72	NA	9.6	15	death	3	0.5	1
15	late	48	F	E	92	NA	4.5	10.4		4	1	6.63
16	late	65	M	A	145	NA	3	5.2	death	3	1	8.55
17	late	64	F	A	120	NA	2.7	4.8	death	4	1	7.46
18	benign	18	F	A	30	NA	3.3			7	0.38	2
19	benign	35	F	A	55	NA	5.6			4	0	0.8
20	benign	63	F	E	30	NA	5.9			4	1.13	1.13
21	benign	57	M	A	40	A	2.9			7	0	0.21
22	benign	37	F	A	18	A	5.2			4	1.35	3.41
23	benign	53	F	A	32	A	2.5			1	0.6	0.57
24	benign	38	M	A	35	NA	0.3			2	0.55	1.8
25	benign	31	M	A	40	A	6.1			5	0.33	1.69
26	benign	67	F	A	52	A	5.3			5	0.36	1.89
27	benign	33	F	E	50	NA	6.3			4	0.44	0.22
28	benign	67	F	A	60	A	6.2			2	0.77	0.84
29	benign	71	F	A	58	NA	6.2			6	0.39	0.84
30	benign	27	F	A	38	NA	3.8			5	0	0.95
31	benign	45	F	A	27	A	6.2			8	0.32	0.78
32	benign	40	M	E	82	A	5.3			7	0.42	2.5
33	benign	27	F	E	48	NA	7.1			2	0.42	0.45
34	benign	22	F	A	53	NA	2.2			4	0.56	0.51

early: Early metastasis

late: Late metastasis

E: Extra adrenal

A: Adrenal

A: Adrenalin

NA: Noradrenalin

Without meta: Survival time without metastasis

With meta: Survival time with metastasis

悪性褐色細胞腫の臨床的な特徴として、腫瘍径が大きい、副腎外病変が多い、そしてカテコラミン分泌はノルアドレナリン (NA) 優位が多いことが知られている。本研究で判明した晩期転移群の臨床的特徴は大きな腫瘍径 (平均 10.7cm) と NA 優位のホルモン分泌である。副腎外病変の頻度は 25% であり早期転移群 (78%) に比べて少なく、良性群 (24%) と同じであった。晩期転移群では転移が顕在化するま

での期間が中央値 7 年 4 ヶ月と比較的長期であり、転移が発現した後の疾患特異的生命予後は早期転移群と比べて差を認めなかった。悪性褐色細胞腫全体の 5 年生存率 70.6% は従来の報告よりも良好であった^{8)~13)}。症例数が少なく、治療法も個々に異なるので、生存期間を過去の報告と単純に比較するのは妥当でないが、診断技術や周術期管理の進歩あるいは多剤併用化学療法 (CVD 療法) を含む集学的治療

Table 4 MIB-1 indices in previous reports of malignant pheochromocytoma.

Author	Report	Population	n	MIB-1 mean (%)	MIB-1 Cut off (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Clarke	1998	Benign	23	1.0	3.0	50	100
		Malignant	10	5.0			
Nagura	1999	Benign	8		2.0	88	97
		Malignant	34				
Brown	1999	Benign	45		1.0	50	100
		Malignant	6				
Van der Harst	2000	Benign	93	0.2	2.5	50	100
		Malignant	36	3.0			
Gupta	2000	Benign	30	Adrenal0.75 Extra-adrenal4.3	3.0	100	64
		Malignant	20	Adrenal13.9 Extra-adrenal14.4			
Ohji	2001	Benign	21	0.9	2.0	100	100
		Malignant	4	4.3			
Tompson	2002	Benign	43		1.0	15	98
		Malignant	33				
Salmenkivi	2003	Benign	85		6.0	86	80
		Malignant	7				
Vivian	2008	Benign	40	0.8	2.0	40	95
		Malignant	5	1.4			
Tavangar	2010	Benign	44		5.0	100	100
		Malignant	11				
Kodama	2011	Benign	17	0.47	3.0	57	100
		Malignant	11	0.59			

の成果もあると思われる¹⁴⁾。

初回治療時に晩期転移群の可能性を認識できれば、転移の早期発見と治療が可能になり、予後改善も期待できるかもしれない^{10)~12)}。その可能性を探るため、病理組織診断法としてPASSを、そして免疫組織化学的検査法としてMIB-1とPCNAを検証した。ThompsonはPASS \geq 4をカットオフ値とすることで良悪性を感度100%、特異度100%で鑑別できると報告したが、本研究では感度64%、特異度24%であった。特に、早期転移群では感度83%であるのに対し、晩期転移群では感度40%である。しかもPASSの評価には観察者間変動があることが報告されており¹⁵⁾、晩期転移群の診断に病理組織学的所見は有用でない。MIB-1やPCNAなどの増殖細胞関連抗原による免疫組織化学的染色法は腫瘍の増殖能を評価するものである^{4)~9)16)~20)}。Table 4に悪性褐色細胞腫におけるMIB-1の染色陽性率に関する報告をまとめた^{4)~9)16)~20)}。過去の報告をみると、特異度に比べて感度が低い報告が多い^{4)~9)16)~20)}。本研究では悪性褐色細胞腫全体におけるMIB-1、PCNAの感度はそれぞれ9%、73%でありPCNAの方が高かった。また晩期転移群における感度はそれぞれ0%、60%であった。一方いずれも特異度は100%であり、感度は低いものの、カットオフ値を超える染色

性を示していれば悪性であると言える。

今回の研究から、晩期転移群の多くは副腎発生であるものの、腫瘍径が大きい、NA優位のカテコラミン分泌など従来から報告されている悪性褐色細胞腫の臨床的特徴を示す事が明らかとなった。これらの特徴を有し、免疫組織染色検査でMIB-1あるいはPCNA高値を認める症例では晩期転移群の可能性を念頭に置く必要がある。一方、良悪性の鑑別所見としてこれらの特徴には限界があることから、転移を伴わない「良性」褐色細胞腫の術後には定期的に尿中メタネフリン濃度を測定し、長期にわたる経過観察を行うことが晩期転移群の早期発見につながる実際の管理法であろう。

最後に本研究の限界に触れておきたい。本研究ではデザインが遡及的であるため、病理標本が入手できた症例数は悪性褐色細胞腫の64%にとどまり症例数が少なかった。さらに良性群の追跡期間が中央値5年4ヵ月と短く、良性群のなかに将来転移が顕在化する晩期転移症例が含まれている可能性もあることなどから、結論について限界がある。希少疾患であるため、より確実な結論を導くためには多施設共同大規模研究を行い、「良性」症例の登録と予後調査を行い、転移再発をエンドポイントとして生存分析を行って臨床的特徴や病理学的所見との関連を検

証することが必要であろう。

結 論

悪性褐色細胞腫のなかには、初回治療後数年を経
てから転移が顕在化する晩期転移群が少なからず存
在することが明らかとなった。腫瘍径が大きい、NA
優位のカテコラミン分泌などの臨床的特徴を示し、
免疫組織染色検査でMIB-1あるいはPCNA高値を
認める症例では晩期転移群の可能性を念頭に置く必
要がある。

開示すべき利益相反状態はない。

文 献

- 1) **Thompson LD**: Pheochromocytoma of the adrenal gland scaled score (PASS) to separate benign from malignant neoplasms: A clinicopathologic and immunophenotypic study of 100 cases. *Am J Surg Pathol* **26**: 551-566, 2002
- 2) **Thompson LD**: *In Pathology & Genetics. Tumours of Endocrine Organs*, pp147, World Health Organization Classification of Tumours (2004)
- 3) **Scholz T, Eisenhofer G, Pacak K et al**: Current treatment of malignant pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab* **2**: 1217-1225, 2007
- 4) **Kimura N, Watanabe T, Noshiro T et al**: Histological grading of adrenal and extra-adrenal pheochromocytomas and relationship to prognosis: A clinicopathological analysis of 116 adrenal pheochromocytomas and 30 extra-adrenal sympathetic paragangliomas including 38 malignant tumors. *Endocr Pathol* **16**: 23-32, 2005
- 5) **Brown HM, Komorowski RA, Wilson SD et al**: Predicting metastasis of pheochromocytomas using DNA flow cytometry and immunohistochemical markers of cell proliferation: a positive correlation between MIB-1 staining and malignant tumor behavior. *Cancer* **86**: 1583-1589, 1999
- 6) **Clarke MR, Weyant RJ, Warson CG et al**: Prognostic markers in pheochromocytoma. *Hum Pathol* **29**: 522-526, 1998
- 7) **Nagura S, Katoh R, Kawaoi A et al**: Immunohistochemical estimation of growth activity to predict biological behavior of pheochromocytomas. *Mod Pathol* **12**: 1107-1111, 1999
- 8) **van der Harst E, Bruining HA, Jaap Bonjer H et al**: Proliferative index in phaeochromocytomas: does it predict the occurrence of metastases? *J Pathol* **191**: 175-180, 2000
- 9) **Gupta D, Shidham V, Holden J et al**: Prognostic value of immunohistochemical expression of topoisomerase alpha II, MIB-1, p53, E-cadherin, retinoblastoma gene protein product, and HER-2/neu in adrenal and extra-adrenal pheochromocytomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* **8**: 267-274, 2000
- 10) **Remine WH, Chong GC, van Heerden JA et al**: Current management of pheochromocytoma. *Ann Surg* **179**: 740-747, 1974
- 11) **van Heerden JA, Sheps SG, Hamberger B et al**: Pheochromocytoma: current status and changing trends. *Surgery* **91**: 367-373, 1982
- 12) **Sclafani LM, Woodruff JM, Brennan MF**: Extraadrenal retroperitoneal paragangliomas: Natural history and response to treatment. *Surgery* **108**: 1124-1129, 1990
- 13) **Pommier RF, Vetto JT, Billingsly K et al**: Comparison of adrenal and extraadrenal pheochromocytomas. *Surgery* **114**: 1160-1166, 1993
- 14) **Nomura K, Kimura H, Shimizu S et al**: Survival of patients with metastatic malignant pheochromocytoma and efficacy of combined cyclophosphamide, vincristine, and dacabazine chemotherapy. *J Clin Endocrinol Metab* **94**: 2850-2856, 2009
- 15) **Wu D, Tischler AS, Lloyd RV et al**: Observer Variation in the Application of the Pheochromocytoma of the Adrenal Gland Scaled Score. *Am Surg Pathol* **33**: 599-608, 2009
- 16) **Salmenkivi K, Heikkila P, Haglund C et al**: Malignancy in pheochromocytomas. *APMIS* **112**: 551-559, 2004
- 17) **Ohji H, Sasagawa I, Ichiyangi O et al**: Tumour angiogenesis and Ki-67 expression in phaeochromocytoma. *BJU Int* **87**: 381-385, 2001
- 18) **Salmenkivi K, Heikkila P, Haglund C et al**: Lack of histologically suspicious features, proliferative activity, and p53 expression suggests benign diagnosis in phaeochromocytomas. *Histopathology* **43**: 62-71, 2003
- 19) **Strong VE, Kennedy T, Al-Ahmadie H et al**: Prognostic indicators of malignancy in adrenal pheochromocytomas: clinical, histopathologic, and cell cycle/apoptosis gene expression analysis. *Surgery* **143**: 759-768, 2008
- 20) **Tavangar SM, Shojaee A, Tabriz HM et al**: Immunohistochemical expression of Ki67, c-erbB-2, and c-kit antigens in benign and malignant pheochromocytoma. *Pathology-Research and Practice* **206**: 305-309, 2010