

脳腫瘍病理診断のための電子顕微鏡学貢献

Electron Microscopic Contribution for Diagnosis of Brain Tumor Pathology

河本 圭司, 大石 哲也, 大重 英行, 川口 琢也, 瀬野 敏孝, 甄 云波, 李 一, 龍 新兵

Keiji Kawamoto, Tetsuya Oishi, Hideyuki Oshige, Takuya Kawaguchi, Toshitaka Seno, Yunbo Zhen, Yi Li and Xinbing Long

^a関西医科大学脳神経外科

要 旨 電子顕微鏡は1930年代に von Ardenne により開発されて以来, 器械, 染色法, ミクロトームの開発, 改良により, 形態学の発展に大きく発展してきた。脳腫瘍の微細構造の解明, 診断にも貢献してきた。その後, 脳腫瘍の新しい発見にも寄与してきた。脳腫瘍の形態学における電子顕微鏡の役割として, ①脳腫瘍の超微細構造より, その特徴を把握できる, ②光顕では鑑別が困難な腫瘍に有用である, ③病理組織診断に高い診断価値がある, ④腫瘍の悪性度, 分化, 機能などの検索にも有用である。これらの中でも電顕は形態学による超微細構造が明確になることから, 形態学, 病理診断学に大きな貢献をしており, 電顕により今後新しい発見も追加されていくことであろうと考えられる。

キーワード: 脳腫瘍, 電子顕微鏡, 微細構造, グリオーマ, 髄膜腫

1. 脳腫瘍の微細構造研究の pioneer

電子顕微鏡を使って, 脳腫瘍のその微細構造を明らかにしたのは, 1947年の Fernández-Morán¹⁾ で, astrocytoma, glioblastoma, medulloblastoma について報告した。その後, 試料作成の技術の進歩に伴い, より解像力の高い画像が得られるようになり, 1958年, Luse は astrocyte と reactive astrocyte, astrocytoma の比較を行った²⁾。

本邦においては, 1959年角田は astrocytoma, oligodendroglioma, ependymoma, benign spongioblastoma, schwannoma についての微細構造を初めて報告した³⁾。

2. 脳腫瘍における新しい発見

電子顕微鏡により, それまでに観察されていた光顕レベルの細胞・組織は新しい所見が次々と発見されていった。1960年 Luse は神経鞘腫の特徴として, “Long spacing collagen” を見出し, Luse body と名付けられた⁴⁾。1961年 Kepes は meningothelial meningioma における “Whorl および psammoma body” の形成過程を報告した⁵⁾。1962年, Raimondi は種々の脳腫瘍の微細構造を観察し, 各脳腫瘍の organella の特徴を明らかにした⁶⁾。

1962年, 本邦では小泉は medulloblastoma の周辺組織への浸潤形成を観察した⁷⁾。1963年, Duffell らは astrocytoma における Rosenthal fiber について cell process の変性であると

報告している⁸⁾。

アメリカの Montefiore Hospital で Zimmerman の Neuropathology の研究室で電顕を用いた研究から, Tani らは1963年, 脳腫瘍の血管⁹⁾, 1966年, oligodendroglioma¹⁰⁾, 1969年 glioma¹¹⁾, lymphoma¹²⁾ の超微細構造について次々と報告した。

3. Monograph の出版

脳腫瘍の電顕アトラスは1971年, Montefiore Hospital から Poon, Hirano, Rubinstein の3名によって “Electron microscopic atlas of brain tumors” のタイトルではじめて monograph として出版された¹³⁾。その後1984年 Doleman が続いた¹⁴⁾。日本では Tabuchi らは “Light and electron microscopy of brain tumors”¹⁵⁾, 中村は1989年に “脳腫瘍の電子顕微鏡” を出版し¹⁶⁾, また筆者も1992年, 脳腫瘍の画像・電顕アトラスを出版した¹⁷⁾。電顕のみのモノグラフではないが, 脳腫瘍の電顕が取り入れられているのは, 小野江¹⁸⁾, 日本脳腫瘍病理学会編¹⁹⁾, 久保田らの出版がみられる²⁰⁾。

4. 電顕による新しい脳腫瘍の発見

4.1 Tanycytic ependymoma

第3脳室壁などに存在する特殊な ependymoma で細胞の基底部から伸びる極めて長い細胞突起を有し, その先端は血管や軟膜表面に達する。perivascular pseudorosette 形成は乏しく, pilocytic astrocytoma と類似する^{21,22)}。しかし1997年 Langford らは電顕的に cilia を見出し, tanycytic ependymoma と考えられた症例を報告している²³⁾。

4.2 Neurocytoma

脳室内 midline 近くに発生する腫瘍で光顕レベルでは peri-

^a 〒570-8507 守口市文園町10-15
TEL: 06-6993-9479
E-mail: kawamoto@takii.kmu.ac.jp
2008年8月20日受付

nuclear halo を示すので、以前は oligodendroglioma と診断されることがあった²⁴⁾。1982年、Hassounらは電子顕微鏡を用いて観察したところ、secretory granuleを発見し、Neurocytomaと名付けた(図1)²⁵⁾。この腫瘍はGFAPでも陽性に染まり、またNeurofilamentでも染まることが知られている。筆者らはglialとneuronを同時に染色し、同じ細胞に両者が陽性になる細胞を見出している²⁶⁾。

4.3 Clear cell ependymoma

1989年Kawanoらが提唱し、1993年のWHO分類に取り入れられた。円形の明るい腫瘍細胞でperinuclear haloを示すが、これと類似するastrocytoma, oligodendroglioma, neurocytomaとは光顕では鑑別が難しい²⁷⁾。その微細構造はmicrovilliやciliaを有するmicrolumenがみられ、細胞間にはinterdigitationやzipper-like desmosomeがみられることからependymomaの診断の根拠となった(図2)²⁸⁾。

4.4 Epithelioid ependymoma

Kleinmanらはa new variant of ependymomaとして3例のepithelioid ependymomaを報告している。epithelioid clusterを示す細胞にepithelial membrane antigen陽性、glial fibrillary

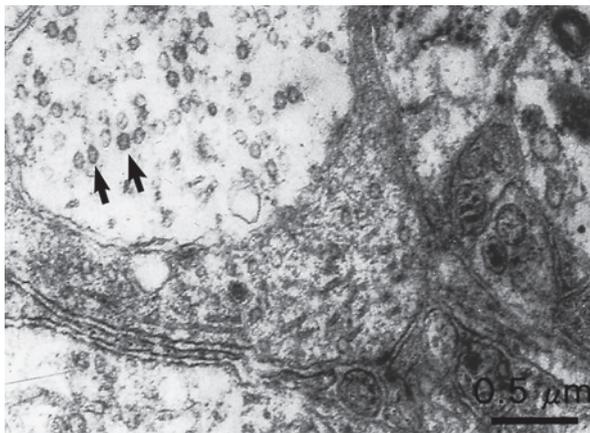


図1 Neurocytomaの電顕像：分泌顆粒が特徴

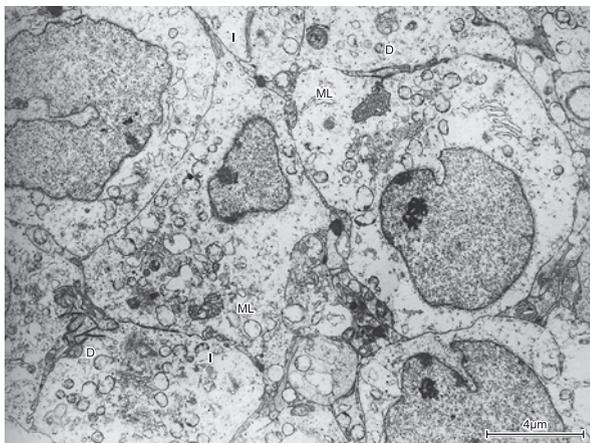


図2 Clear cell ependymoma電顕像：microlumenやdesmosomeがみられる

acid proteinとvimentin, cytokeratinは陰性であった。しかし電顕的には多数のsurface microvilliがあり、giant cell-like clustersの細胞にはjunctionsやmicrovilliを有したlumenがみとめられた²⁹⁾。

5. 電子顕微鏡が鑑別診断に有効な脳腫瘍

5.1 Malignant meningiomaとhemangiopericytoma

これらは発生部位や光顕所見は類似している。EMAに染まればmeningiomaと考えられるが、難しいこともある。一方電顕ではmalignant meningioma(atypical meningioma, anaplastic meningioma)ではinterdigitationやdesmosome junctionは存在しているが、hemangiopericytomaではそれらはみられず、dense materialsがみられるので鑑別可能である(図3-①②)^{30,31)}。

5.2 Hematopoietic tumor

hematopoietic tumorとして、plasmacytoma, malignant lymphoma, granulocytic sarcomaがあるが、光顕的には円形細胞であり、鑑別診断は難しい。plasmacytomaでは細胞質にr-ERがよく発達し、層状パターンを示し、lymphomaでは核小体が明瞭でnuclear blebがみられ、free ribosomeが多く、granulocytic sarcomaは細胞質にある好酸球由来の顆粒や幼若な白血球を証明することが鑑別となる^{32,33)}。

5.3 Clear cell tumors

前述のようにcytoplasmがぬけたような腫瘍としてoligodendroglioma, clear cell ependymoma³⁴⁾, neurocytoma^{25,26)}, astrocytoma³⁵⁾, ependymoma³⁶⁾が電顕が重要な鑑別の所見となる。

5.4 Cystic tumor

arachnoid cyst(図4)³⁷⁾, enterogenous cyst, gliependymal cyst³⁸⁾, neuroepithelial cystなどの鑑別には電顕が重要となる。

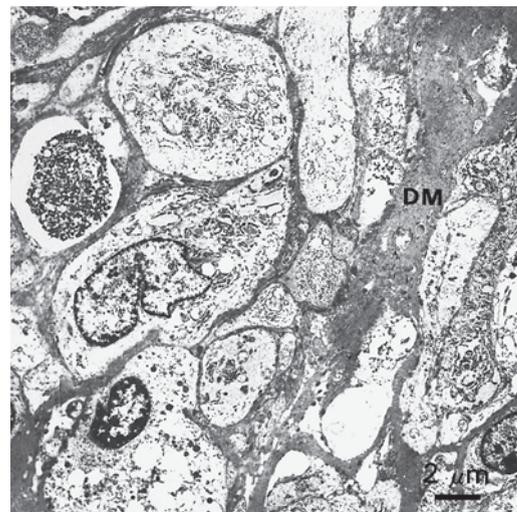


図3 hemangiopericytomaの電顕像：dense materialがみられるのが特徴

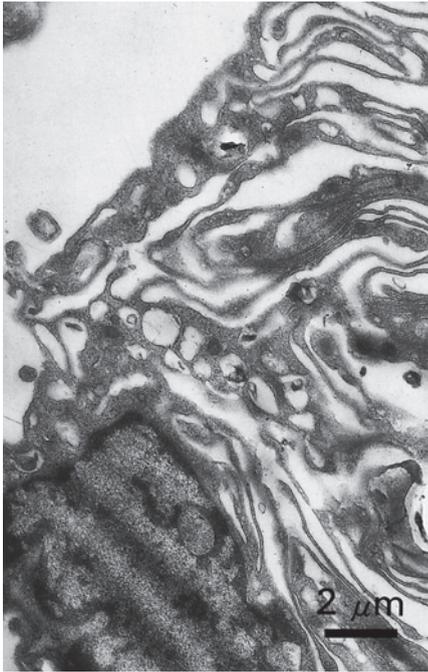


図4 arachnoid cystの電顕像：細長い突起がネットワークとなり desmosome がみられる

5.5 その他

Neuroglial tumor として gangliocytoma (図5)³⁹⁾, vascular tumor として hemangioblastoma⁴⁰⁾の診断に電顕は有効である。

6. 脳腫瘍の分化

脳腫瘍の電顕的観察から、脳腫瘍がいろいろな方向に分化していく形態が示されている。

6.1 meningioma

meningioma は単層培養では desmosome junction は消失していくが (図6)³¹⁾, collagen gel 培養では三次元培養のため whorl like formation がみられると報告している⁴¹⁾。

6.2 medulloblastoma

medulloblastoma は neuronal and glial differentiation することが知られているが、Weeks らは 72 例を電顕的に調べ、neuronal differentiation については 24 例、prominent 21 例、minimal 2 例なし、25 例は intermediate であり、種々の spectrum を示したと (GFAP は全例陽性であった) 述べている⁴²⁾。

6.3 neurocytoma

Shimura らは central neurocytoma について電顕を用いて検索した。dense core vesicle や腫瘍細胞の細胞突起の中に微小管がみられ、さらにしばしば cilia が存在することを観察したことから、central neurocytoma に上衣腫への分化を示すことを報告している⁴³⁾。

6.4 chordoid glioma

佐藤らは、第三脳室 chordoid glioma の電顕的観察で、microvilli がしばしばみられ、異常な cilia の 3 つのタイプが稀に観察されたと述べている。また、腫瘍細胞の周囲には基底膜が多くみられ、intermediate junction が乏しいか中等度の発育したものでみられたと報告している⁴⁴⁾。

6.5 PNET

primitive neuroectodermal tumor について免疫組織学的に neuronal, astrocytic, mesenchymal, and epithelial differentiation を示したが、電顕的にも同じ所見が得られている^{45~47)}。

6.6 Atypical teratoid rhabdoid tumor (AT/RT)

1996 年、Rorke らが小児の小脳虫部に発生する腫瘍を medulloblastoma と異なる腫瘍として AT/RT の名称を提唱して以来、その報告例が増加しつつある。

AT/RT の病理学的所見としては、腫瘍細胞は主として、rhabdoid cell と PNET あるいは medulloblastoma 類似の未分化な小細胞の 2 種類の細胞から成り立っている。特に大型の細胞の病理学的特徴としては、epithelial membrane antigen, cytokeratin, vimentin, smooth muscle actin (SMA), desmin, GFAP, S-100 protein, neurofilament protein, synaptophysin, alpha-fetoprotein などが多彩に陽性所見を示すことがいわれて

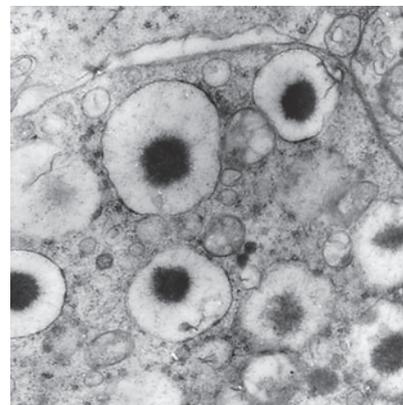
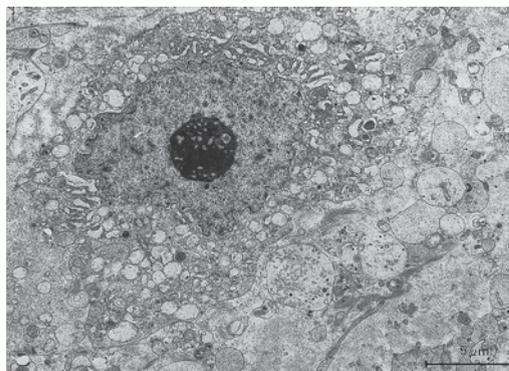


図5 gangliocytoma の電顕像 写真の付図は gangliocytoma
① ganglion cell ② dense core vesicle

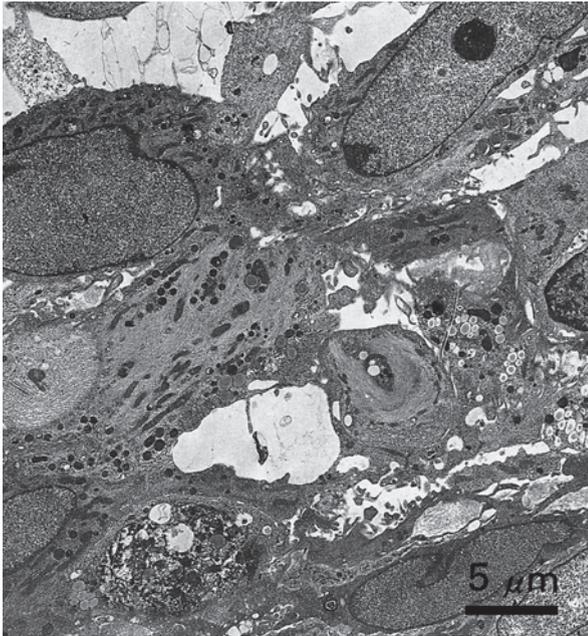


図6 培養 meningioma の電顕像：interdigitation が消失している

いる。しかし報告例によっては必ずしもこれらが陽性になるとは限らず、cytokeratin, SMA の陽性率が高いとの報告例がある。我々の2症例では neurofilament, synaptophysin は陰性であった。この腫瘍は多分化能を示すが、腫瘍の発生時期により腫瘍の性状が変化し、それらの陽性率は異なるものと考えられる。

AT/RT の電顕的検索は少ない。rhabdoid cell は intracytoplasmic bundle (図7) や secretory granule や desmosome junction の存在が報告されている^{48,49)}。

7. おわりに

電子顕微鏡による観察は形態のみならず機能をも解明される手法となっており、細胞生物学的研究には大きな手法となっている。脳腫瘍の病理診断として、歴史的に H&E 染色、特殊染色、電顕、組織化学、免疫組織化学、最近では分子生

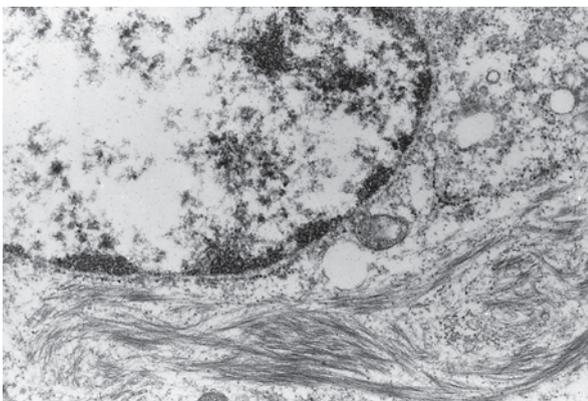


図7 AT/RT の電顕像：intracytoplasmic bundle

物学、遺伝学的手法が加わり、発展してきました。脳腫瘍の形態学における電子顕微鏡の役割として、①脳腫瘍の超微細構造より、その特徴を把握できる、②光顕では鑑別が困難な腫瘍に有用である、③病理組織診断に高い診断価値がある、④腫瘍の悪性度、分化、機能などの検索にも有用である。

これらの中でも電顕は形態学による超微細構造が明確になることから、形態学、病理診断学に大きな貢献をしており、電顕により今後新しい発見も追加されていくことであろうと考えられる。

文 献

- 1) Fernández-Morán, H.: Examination of brain tumors tissue with the electron microscope. *Arkiv Für Zoologi*, 40A, 4-15 (1947)
- 2) Luse, S.A.: Ultrastructure of reactive and neoplastic astrocytes. *Lab. Invest.*, 7, 401-417 (1958)
- 3) 角田 弘：脳組織ならびに頭蓋内腫瘍の電子顕微鏡的研究。新潟大学医学部病理学教室研究報告, 70, 1-13 (1959)
- 4) Luse, S.A.: Electron microscopic studies of brain tumors. *Neurol.*, 10, 881-905 (1960)
- 5) Kepes, J.: Electron microscopic studies of meningiomas. *Am. J. Pathol.*, 39, 499-510 (1961)
- 6) Raimondi, A.J., Mullan, S. and Evans, J.P.: Human brain tumors: An electron microscopic study. *J. Neurosurg.*, 19, 731-753 (1962)
- 7) 小泉準之：脳腫瘍の電顕像。神経研究の進歩, 7, 61-85 (1963)
- 8) Duffell, D., Farber, L., Chou, S., Hartmann, J.F. and Nelson, E.: Electron microscopic observations on astrocytomas. *Am. J. Pathol.*, 539-554 (1963)
- 9) Tani, E. and Ishii, S.: Ontogenic studies on the rat brain capillaries in relation to the human brain tumor vessels. *Acta Neuropathol.*, 2, 253-270 (1963)
- 10) Tani, E. and Handa, H.: A polygonal crystalline structure in a human oligodendroglioma. Sixth Interenat Congr Elect Micro 2, pp. 771-772, Tokyo: Maruzen Co. Ltd, 1966
- 11) Tani, E., Yamashita, J., Takeuchi, J. and Handa, H.: Polygonal crystalline structures and crystalline aggregates of cylindrical particles in human glioma. *Acta Neuropathol.*, 13, 324-337 (1969)
- 12) Tani, E., Ametani, T., Kawamura, Y. and Handa, H.: Nuclear structures of primary malignant lymphoma in the brain. *Cancer*, 24, 617-624 (1969)
- 13) Poon, T.P., Hirano, A. and Zimmerman, H.M.: Electron microscopic atlas of brain tumors. Grune & Stratton, 1971
- 14) Doleman, C.L.: Ultrastructure of brain tumors and biopsies, A diagnostic Atlas, p. 1-260, CBS Educational and Professional Publishing, New York, 1984
- 15) Tabuchi, K. and Nishimoto, A.: Atlas of brain tumors, light and electron-microscopic features. Springer-Verlag, 1988
- 16) 中村三郎：脳腫瘍の超微細構造。p. 1-223, 新興医学出版, 東京 (1989)
- 17) 河本圭司：脳腫瘍画像・電顕アトラス, 金原出版 (1992)
- 18) 小野江為則：電顕腫瘍病理学, 南山堂 (1982)
- 19) 河本圭司, 吉田 純, 中里洋一編：脳腫瘍臨床病理カラーアトラス, 医学書院 (1988)
- 20) 久保田紀彦, 佐藤一史：脳腫瘍の病理と臨床, 診断と治療社 (2002)
- 21) Langford, L.A. and Barre, G.M.: Tanycytic ependymoma. *Ultrastr.*

- Pathol.*, 21, 135–142 (1997)
- 22) Kawano, N., Yagishita, S., Oka, H. *et al.*: Spinal tanyctic ependymoma. *Acta Neuropathol.*, 101, 43–48 (2001)
 - 23) Sato, K., Kubota, T., Ishida, M. *et al.*: Immunohistochemical and ultrastructural study of chordoid glioma of the third ventricle: its tanyctic differentiation. *Acta Neuropathol. (Berl)*, 106, 176–180 (2003)
 - 24) Kubota, N., Kawamoto, K. *et al.*: Histological differential diagnosis of oligo dendroglioma (in Japanese). *Brain. Tumor. Pathol.*, 5, 225–235 (1988)
 - 25) Hassoun, J., Gambarelli, D., Grisoli, F. *et al.*: Central neurocytoma; an electron microscopic study of two cases. *Acta Neuropathol. (Berl)*, 56, 151–156 (1982)
 - 26) Tsuchida, T., Matsumoto, M., Kawamoto, K. *et al.*: Neuronal and glial characteristics of central neurocytoma: electron microscopical analysis of two cases. *Acta Neuropathol.*, 91, 573–577 (1996)
 - 27) Kawano, Y., Yada, K. and Yagishita, S.: Clear cell ependymoma; A histologic variant with diagnostic implications. *Virchows Archiv. A Pathol. Anat. Histopathol.*, 415, 467–472 (1989)
 - 28) Hirano, A., Matsui, T. and Zimmermann, H.M.: The fine structure of ependymoma. *No Shinkei Geka*, 3, 557–563 (1975)
 - 29) Kleinman, G.M., Zagzag, D. and Miller, P.D.: Epithelioid ependymoma: a new variant of ependymoma: report of three cases. *Neurosurgery*, 53, 743–747 (2003)
 - 30) Copeland, D.D., Bell, S.W. and Shelburne, D.J.: Hemidesmosome-like intercellular specializations in human meningiomas. *Cancer*, 41, 2242–2249 (1978)
 - 31) Kawamoto, K. *et al.*: An ultrastructural study of cultured human meningioma cells. *Acta Neuropathol.*, 46, 11–15 (1979)
 - 32) Kawamoto, K. and Hirano, A.: Ultrastructure study of astrocytoma cell processes. *Neurological. Surgery*, 6, 1173–1179 (1978)
 - 33) Llena, J.F., Kawamoto, K. and Hirano, A.: Granulocytic sarcoma of the central nervous system. *Acta Neuropathol.*, 42, 145–147 (1978)
 - 34) Kawano, N., Yada, K., Aihara, M. *et al.*: Oligodendroglioma-like cells (celar cells) in ependymoma. *Acta Neuropathol. (Berl)*, 62, 141–144 (1983)
 - 35) Kawamoto, K. and Hirano, A.: Ultrastructure study of astrocytoma cell processes. *Neurological. Surgery*, 6, 1173–1179 (1978)
 - 36) Sara, Am, Bryber, J.M. and Mackay, B.: Ultrastructure of ependymoma. *Ultrastruct. Pathol.*, 18, 33–42 (1994)
 - 37) Kawamoto, K. *et al.*: Pathogenesis and fine structure of intracranial primary arachnoid cyst. *J. Clin. Electron. Microscopy*, 13, 645–646 (1980)
 - 38) Tsuchida, T., Kawamoto, K., Sakai, N. *et al.*: Gliopendymal cyst in the posterior fossa. *Clinical. Neuropathol.*, 16, 13–16 (1997)
 - 39) Kawamoto, K. *et al.*: Ultrastructural study of a cerebral gangliocytoma. *Surg. Neurol.*, 24, 541–549 (1985)
 - 40) Miyagami, M., Nakamura, S. and Moriyasu, N.: Ultrastructure of cerebellar hemangioblastoma (In Japanese). *Shinkei Kenkyu No Shinpo*, 22, 1080–1088 (1975)
 - 41) Yamada, A., Tsuchida, T., Kato, T. *et al.*: Ultrastructural analysis of brain tumors using collagen gel culture. *Brain. Tumor. Pathol.*, 19, 11–14 (2002)
 - 42) Weeks, D.A., Malott, R.L., Goin, L. *et al.*: Ultrastructural spectrum of medulloblastoma with immunocytochemical correlations. *Ultrastruct. Pathol.*, 27, 101–107 (2000)
 - 43) Shimura, T., Mori, O., Kitamura, T. *et al.*: Central neurocytoma expressing characteristics of ependymal differentiation: electron microscopic findings of two cases. *Med. Electron. Microsc.*, 36, 98–105 (2003)
 - 44) Sato, K., Kubota, T., Ishida, M. *et al.*: Immunohistochemical and ultrastructural study of chordoid glioma of the third ventricle: its tanyctic differentiation. *Acta Neuropathol. (Berl)*, 106, 176–180 (2003)
 - 45) Szekessy, D.P. and Stoltenburg-Didinger, G.: Differentiation, proliferation and apoptosis in primary and recurrent primitive neuroectodermal tumors of childhood. *Childs. Nerv. Syst.*, 17, 320–327 (2001)
 - 46) Kawamoto, K. *et al.*: Fine structure of primitive neuroectodermal tumor showing glial differentiation after cell culture. *J. Clin. Elect.*, 23, 796–797 (1990)
 - 47) Perry, A., Scheithauer, B.W., Macaulay, R.J. *et al.*: Oligodendrogliomas with neurocytic differentiation. A report of 4 cases with diagnostic and histogenetic implications. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 61, 947–955 (2002)
 - 48) Seno, T., Yamanouchi, Y., Kawaguchi, T. *et al.*: An immunohistological and electron microscopic study of atypical teratoid/rhabdoid tumor. *Brain. Tumor. Pathol.*, 25, in print (2008)
 - 49) 河本圭司：脳腫瘍の鑑別診断 シリーズ VIII-1 電子顕微鏡による鑑別 脳神経外科速報, 18, 842–843 (2008)