Glioma 微小血管における factor VIII-related antigen の微細局在と tubular body (Weibel-Palade 小体)

宮上 光祐・坪川 孝志・Barry H. Smith*・Paul L. Kornblith*

Immunocytochemical Localization of Factor VIII-related Antigen and Tubular Bodies (Weibel-Palade Bodies) in Blood Vessels of Human Gliomas

Mitsusuke MIYAGAMI, Takashi TSUBOKAWA, Barry H. SMITH*
and Paul L. KORNBLITH*

*Department of Neurological Surgery, Nihon University, Tokyo; *Surgical Neurology Branch, NINCDS, NIH, Maryland, U.S.A.*

Abstract

The authors have studied the distribution of factor VIII-related antigen (FVIII: Ag) using both immunohistochemical and immunoelectron microscopic techniques with periodate-lysine-paraformaldehyde fixation and tubular bodies (Weibel-Palade bodies) in endothelial cells in 15 cases of gliomas and 3 samples of non-tumor brain tissue. Twelve glioblastoma, 1 ependymoma, 1 astrocytoma grade II, and 1 oligodendroglioma were evaluated. On FVIII: Ag study 7 non-glial tumors (2 metastatic tumor, 3 meningioma, 1 hemangioblastoma, and 1 chordoma) were compared with gliomas.

FVIII: Ag was localized to the vascular lumen, to the intercellular spaces between endothelial cells (apparently without tight junctions), and to the endothelial cell basement membrane. In the cytoplasm of the endothelial cells FVIII: Ag was found in the endoplasmic reticulum, perinuclear space, intracytoplasmic vacuoles, vesicles, and luminal surfaces of endothelial cell membranes. Characteristic of malignant tumors (6 out of 7), especially in the cases having endothelial proliferation or hyperplasia, it was strongly-positive at the dilated endoplasmic reticulum, whereas only 1 of 5 benign tumors showed such staining. These findings suggest that FVIII: Ag synthesis occurs more effectively in the endothelial cells of malignant tumors, such as glioblastoma.

The tubular body (Weibel-Palade body) observed in the endothelial cells of the glioma vessels consisted of a membrane-limited round, oval or elongated intracytoplasmic body (about 0.1-0.2 μ m) which contained tubules of 150-200 Å outer diameter. Tubular bodies were classified into two types. One of them, mature type, is relatively electron dense, the other, immature type, has a relatively pale matrix. The immature types were located in close proximity to the Golgi complex or endoplasmic reticulum. Tubular bodies were common only in the endothelial cells in the marginal zones of glioblastoma with respect to the increased microvessels. In the endothelial cells of glioblastoma they appeared more prominently consistent with neovascularity than with benign glioma. It is suggested that large numbers of tubular bodies may be a marker for proliferating endothelial cells.

Key words: glioma, factor VIII, immunoenzyme techniques, tubular body, Weibel-Palade body

日本大学脳神経外科 *Surgical Neurology Branch, NINCDS, NIH

Address reprint requests to: M. Miyagami, M.D., Department of Neurological Surgery, Nihon University, 30 Ohyaguchi-kamimachi, Itabashi-ku, Tokyo 173.

受稿 1984年 6月28日 受理 1984年10月 4日

I はじめに

Glioma 微小血管の解明は、化学療法の血管透過性ならびに腫瘍増殖と tumor angiogenesis とも関連し、重要である。一方、glioblastoma の特徴として新生血管、endothelial proliferation は良く知られ、さらに腫瘍内血管の血栓形成^{17,29)}、glioma 患者における hypercoagulability の臨床報告^{22,23)}も散見され、glioblastoma 微小血管は腫瘍内凝固亢進とも関連して興味深い。

Endothelial cell marker として tubular body、第Ⅷ凝固因子が良く使用され、今回この2つの marker を指標として glioblastoma の微小血管を中心に検討した。Tubular body は1964年 Weibel and Palade³⁴⁾により発見され、血管内皮細胞に特異的に存在する0.1 M の rod-shaped tubular body (Weibel-Palade 小体)として報告された。一方、第Ⅷ凝固因子は正常血漿中に5~100 µg/ml 含まれる糖蛋白で、機能的に異なった2つの成分に分類できる⁵⁾。すなわち、内因系凝固機転で凝固活性を示す clot promoting factor (FⅤC)と血小板の粘着凝集に関与する von Willebrand factor (FⅧR)より成る複合体で、FⅧR に関しては異種動物に対する免疫原性が証明され、その抗原は第Ⅷ因子関連抗原(factor Ⅷ-related antigen, 以下 FⅧR: Ag)と呼ばれる^{5,14,21,26)}。近年、FⅧR: Ag を用いた免疫組織学的研究が増加しつつある^{2,13,16,18-20,27)}が、脳腫瘍血管について FⅧR: Ag の電顕酵素抗体法を用いた微細局在の検討はない。

今回、免疫電顕および免疫組織学的方法の両者により glioblastoma 微小血管における FⅧR: Ag の微細局在を明らかにするとともに tubular body について検討したので報告する。

II 対象および方法

Glioblastoma 12例、astrocytoma grade II 1例、ependymoma 1例、oligodendroglioma 1例の計15例の glioma と3例の非腫瘍脳組織(悪性脳腫瘍例の遠隔部脳組織)を対象とした。さらに、FⅧR: Ag については non-glial tumor 7例(metastatic tumor 2例、meningioma 3例、hemangioblastoma 1例、chordoma 1例)においても検索し、glioma と比較した。

FⅧR: Ag 微細局在の検討:すべて手術時の摘出標本で、摘出後ただちに細切し、冷保存されていた McLean's periodate-lysine-paraformaldehyde¹⁵⁾固定液にて一晩固定後、渡辺³³⁾の凍結切片を用いた酵素抗体間接法に従って下記のごとく電顕、光顕の両者において検索した。まず、固定後10% sucrose 加 PBS で4時間、15% sucrose 加 PBS で

4時間、20% sucrose 加 PBS で4時間、20% sucrose および5% glycerin 加 PBS で1時間洗滌したのち急速凍結し、6 µm の連続凍結切片を作製した。これを10%正常ヤギ血清に10分、ついで抗ヒト FⅧR: Ag ウサギ抗血清(DAKO, Copenhagen, 1/500)に一晩反応させたのち PBS で洗滌し、さらに HRP 標識抗ウサギ IgG ヤギ抗血清(Cappel Laboratories, Cochranville, 1/100)に1時間反応させた。その後、免疫組織学的には0.03% 3,3' diamino-benzidine (DAB)過酸化水素液に10分間反応させて発色させ、アルコール脱水後封入した。電顕酵素抗体法では、1% glutaraldehyde で20分間固定後、1% DMSO 加 DAB に30分、ついで DAB-H₂O₂ 液に10分間反応させ、PBS 洗滌にて DAB 反応を停止させたのち、2% osmium tetroxide で45分間後固定した。アルコール脱水後、あらかじめ作製しておいた Epon 樹脂の入ったカプセルを切片上に被せて包埋し、incubation ののち heating により剝離し、超薄切片を作製し、無染色にて Philips 201透過型電顕を用いて検索した。なお FⅧR: Ag の微細局在を明らかにする目的で、必要に応じクエン酸鉛あるいは uranyl acetate(1分間)による染色を行った。

Control は正常ウサギ血清を使用し同様のステップで染色したが、陽性所見はまったくみられなかった。さらに、ヒト第Ⅷ凝固因子(Travenol Laboratories, Glendale, California)を用いて抗ヒト FⅧR: Ag ウサギ抗血清に混合した吸収試験においても、いずれの切片にても陽性染色を認めなかった。

Tubular body の検索:通常電顕の検索方法に従って glioma 微小血管の電顕写真から glioblastoma と良性 glioma とで比較検討した。手術時に摘出した腫瘍はただちに細切後 Karnovsky 液にて固定し、2次固定には2% osmium tetroxide を使用した。また、標本は手術的に腫瘍内の数カ所および周辺脳より摘出し、薄切切片による電顕の検索と同時に同一ブロックから toluidine blue 染色を行い、光顕的に血管数を算定し、血管増殖と tubular body との関連についても検索した。

III 結 果

1. FⅧR: Ag

免疫組織学的検討:FⅧR: Ag の局在は、血管壁の内皮細胞層において線状あるいは軽度顆粒状の染色性として認められた。一般に腫瘍組織では、比較的大きな血管よりも毛細血管の内皮細胞においてより著明な染色性を示し、血管径が大きくなるに従って染色性が弱くなる傾向であった。しかし、内皮細胞以外の間質細胞あるいは腫瘍細胞には FⅧR: Ag による染色をまったく認めなかった。

Fig. 1 A: Proliferating capillaries stain intensely for factor VIII-related antigen (FVIII:Ag) in this astrocytoma grade IV. The surrounding neoplastic glial cells do not stain. B: FVIII:Ag positive vessels in an ependymoma. Immunoperoxidase method, $\times 172$.

Glioblastoma では endothelial proliferation あるいは hyperplasia を認め、これらに一致して FVIII:Ag による染色の増強と染色範囲の拡大を示し、染色パターンも正常血管と比較して不規則であった (Fig. 1). 良性 glioma 血管では血管壁の FVIII:Ag による染色は悪性 glioma に比較してより薄く、ほぼ非腫瘍脳組織血管の染色パターンと類似であった。

電顕酵素抗体法による検討: $6\mu\text{m}$ の連続凍結切片を用いて glioblastoma 4 例, ependymoma 1 例, 非腫瘍脳組織 1 例の計 6 例について検討するとともに, metastatic tumor 2 例, meningioma 3 例, hemangioblastoma 1 例, chordoma 1 例の non-glial tumor 計 7 例と比較した。Glioma および非腫瘍脳組織血管における FVIII:Ag の局在は, non-glial tumor と同様内皮細胞質内, 内皮細胞間腔, 基底膜, 血管内腔側内皮細胞膜面および血管内腔に認められた (Fig. 2~5). 内皮細胞質内においては, FVIII:Ag は endoplasmic reticulum, perinuclear space, intra-

cytoplasmic vacuole, vesicle (血管腔側, 基底膜側) に限局していたが, 核あるいはその他の細胞小器官にはみられなかった (Fig. 2, 3). 電顕による検索でも, 光顕と同様腫瘍細胞, 他の間質細胞, 特に pericyte にも FVIII:Ag による染色性を認めず, たとえ endothelial proliferation があっても, FVIII:Ag の染色性は血管内腔に面する最内層の内皮細胞細胞質内に認められるのみであった。なお, 正常ウサギ血清を用いた control 切片ではいずれも陽性の反応産物は認めなかった。各腫瘍および非腫瘍脳組織における内皮細胞

Fig. 2 A: Electron micrograph of an unstained ultrathin section from astrocytoma grade IV treated with rabbit anti-factor VIII-related antigen (FVIII:Ag). The dense precipitate for FVIII:Ag is located in the endoplasmic reticulum (arrow) of the endothelial cell (e) but not in mitochondria (m). Vascular lumen (l). B: The dense precipitate indicating the presence of FVIII:Ag is observed in the perinuclear space (arrow) and intracytoplasmic vacuoles (v) and on the luminal surface of endothelial cells in a chordoma. Bar = $1\mu\text{m}$.

Table 1 Results of immunocytochemical localization of factor VIII-related antigen (FVIII: Ag) in human central nervous system tumors

No.	Pathological diagnosis	Vascular lumen		Endo- plasmic reticulum	Endothelial cytoplasm		Vesicle		Inter- endothelial cleft	Basement membrane
		Plasma	Luminal surface		Peri- nuclear space	Intra- cytoplasmic vacuole	Luminal side	Adven- titial side		
1	astrocytoma grade IV	++	+	+++	+	+/++	+	+	++	++
2	astrocytoma grade IV	+	+	+++	+	+	+/±	+	±	++
3	astrocytoma grade IV	+/++	+	++	+	+	+	+	±	++/+++
4	astrocytoma grade IV	+	+	—	—	+	+/++	+	+/±	++
5	ependymoma	+	+	+	+	+	+/++	+++	+	++/++
6	metastatic tumor (adenocarcinoma)	+	+	++/+++	—	+	—	+	±	++/+
7	metastatic tumor (osteogenic sarcoma)	+	+	+	—	+/++	+	+	+	++
8	malignant meningioma	++	+	++	—	++/+++	+	—	+	+
9	meningioma	++	++	—	++	++/++	+	+/++	+	++
10	meningioma	+	+	—	—	+/++	+	++	±	++/++
11	chordoma	+	+	—	++	++/++	+	+	+	++
12	hemangioblastoma	±	—	—	—	+	—	+	—	++
13	non-tumor brain tissue	+	+	—	+	+	+	+	—	++

Grading for intensity and distribution of staining for FVIII: Ag; —: negative, ±: borderline, +: slightly positive, ++: moderate positive, +++: strong positive.

胞, 基底膜の FVIII: Ag による反応産物の広がり, 染色強度については 5 段階に分類して Table 1 に示した。

Endoplasmic reticulum への FVIII: Ag の分布は, glioblastoma では 4 例中 1 例を除き強陽性に認められ, non-glial tumor を含めた悪性腫瘍 7 例では 6 例に陽性であった。一方, 良性腫瘍の 5 例では 1 例にのみ陽性で, 非腫瘍脳組織では陰性であった。Glioblastoma など悪性腫瘍内皮細胞における endoplasmic reticulum はしばしば拡大し, その幅は 50~200 nm であった。FVIII: Ag による反応産物は endoplasmic reticulum の cistern 内に含まれ, 時々互いに結合して intracellular network を形成していた (Fig. 2)。Perinuclear space の FVIII: Ag による染色は多くは線状で, 染色程度, 分布はともに不規則であった。Glioma では glioblastoma 4 例中 3 例, ependymoma, 非腫瘍脳組織において陽性であったが, non-glial tumor 7 例では 2 例にのみ陽性であった。核周囲腔の FVIII: Ag の分布は, 悪性,

Fig. 3 A: Unstained electron micrograph of a meningioma showing factor VIII-related antigen (FVIII: Ag) located in intracytoplasmic vacuoles (arrow) and the basement membrane (b). Dense FVIII: Ag precipitates are also present in the vesicles at the luminal side of the endothelial cell (e). B: The vesicles (arrow) in the adventitial side of endothelial cell have dense precipitate of FVIII: Ag. Bar=1 μ m.

良性による差は明らかでなかった。

内皮細胞内腔面側および基底膜面側の vesicle では, glioma, non-glioma の全例および非腫瘍脳組織において FVIII: Ag による反応産物を認め, 内腔面側内皮細胞膜面にも多少の差はみられるが陽性染色を示した。一方, 大部分の内皮細胞内 vacuole に FVIII: Ag を認め, その大きさは種々で, 直径 $0.1 \sim 0.7 \mu\text{m}$ に及んだ。Vacuole の一部に大きさ, 形態ともに Weibel-Palade 小体に類似した所見を示すものを認めたが, vacuole 内の免疫反応産物の染色によりその微細構造が明らかでなく, 今後さらに検討を続ける予定である。Vacuole 内の FVIII: Ag の分布は vesicle と同様 glioma, non-glioma の全例および非腫瘍脳組織に認め, 悪性度による差はなかった。

Glioma, non-glioma の全例, 非腫瘍脳組織において内皮細胞と内皮細胞下組織との間の基底膜に明らかな FVIII: Ag の陽性所見を認め, その反応産物の染色性は瀰漫性, 不規則点状, 斑状を呈した (Fig. 3)。なお, 脳腫瘍

Fig. 4 A: Factor VIII-related antigen (FVIII: Ag) localized to the luminal surface, intercellular space (arrow), and basement membrane (b) of endothelial cells (c) in an astrocytoma grade IV. B: Pericytes or other mesenchymal cells under the endothelial cell show no dense precipitate for FVIII: Ag in this metastatic tumor. Bar = $1 \mu\text{m}$.

Fig. 5 A: Astrocytoma (grade IV) showing strong staining for factor VIII-related antigen (FVIII: Ag) in the hyperplastic endothelial cell endoplasmic reticulum, in vacuoles, and in the basement membrane. The vascular wall is thicker in this astrocytoma grade IV than in the ependymoma. B: In this ependymoma, the dense precipitate of FVIII: Ag is localized in the cytoplasm, the basement membrane, and the subendothelial layer. Cytoplasmic staining is weak, if it occurs at all. Bar = $1 \mu\text{m}$.

12例中11例において FVIII: Ag による染色が血管内腔から連続して内皮細胞間腔, 内皮細胞下基底膜に及ぶ所見がみられた (Fig. 4)。

2. Tubular body

Glioblastoma では腫瘍辺縁部において微小血管の増殖を示した。これらの微小血管は血管壁—内腔比が高く, 内皮細胞の肥大, 血管壁細胞の増加を示すため血管内腔の狭小化をきたし, しばしば血管内腔は slit 様となり, 未熟血管を示した。

Tubular body は血管内皮細胞にのみ認められ, 直径約 $200 \text{ \AA}$ の tubule を持つ円形, 陥円形, 桿状を呈し, 幅 $0.1 \sim 0.2 \mu\text{m}$ の大きさで unit membrane を持っている。ま

Fig. 6 A: Astrocytoma grade IV. This endothelial cell in marginal zone shows the immature type of tubular bodies (arrow) near the Golgi apparatus (g). B: High magnification, same as in A. Bar=1 μ m.

Fig. 7 A: Astrocytoma grade IV. This endothelial cell contains the mature type of electron dense tubular bodies (arrow). B: High magnification, same as in A. Bar=1 μ m.

た tubular body は mature type と immature type に分類され、後者は比較的淡明で Golgi 装置、endoplasmic reticulum などの細胞小器官の多い部位に存在する (Fig. 6) が、前者は tubular body 内に密に tubule を認めることから electron dense であり、細胞小器官は比較的疎である (Fig. 7).

Glioblastoma では良性 glioma と異なり血管増殖と相関して内皮細胞内 tubular body の増加を認め、腫瘍辺縁部の一つの微小血管における tubular body を持った内皮細胞数の全内皮細胞数に対する割合は平均30%であったが、良性 glioma では平均5%と低値を示した。

IV 考 察

1973年 Bloom ら¹⁾、Hoyer ら⁴⁾は蛍光抗体法を用いて FVIII R: Ag が血管内皮細胞、megakaryocyte、血小板に局在することを最初に報告し、その後の組織培養を用いた免

疫組織学的検討から FVIII R: Ag が血管内皮細胞にて産生されることが確認された^{6,8,25,30,32)}。一方、免疫電顕法による FVIII R: Ag の微細局在に関する報告は少なく、Piovella ら¹⁹⁾が骨髄組織についての検索で内皮細胞、血小板、骨髄巨核球にその局在を述べ、Rand ら²⁰⁾がヒト臍帯血管組織について検討し、さらに臍帯血管からの培養内皮細胞について Jeanneau ら⁷⁾、Wagner ら³¹⁾の報告が散見される程度である。これまでの各組織中の FVIII R: Ag の分布に関する免疫組織学的検討^{1,2,4,6,13,16,18,20,24)}は、ホルマリン固定によるパラフィン切片を用い臍帯、正常皮膚、各種腹腔内臓器、各種腫瘍について検索しているが、FVIII R: Ag が血管内皮細胞の良い marker となることから内皮細胞との関連において腫瘍細胞の histogenesis を解明することが主目的のようであった。

McComb ら¹³⁾のヒト glioblastoma, gliosarcoma における FVIII R: Ag の免疫組織学的検討では、FVIII R: Ag は小血管の

内皮細胞に局限し、周辺細胞では陰性であったと報告されている。我々の電顕酵素抗体法による検索でも FVIII: Ag は細胞成分では内皮細胞にのみ局限し、McComb ら¹³⁾と同様であったが、それ以外に Rand ら²⁰⁾の電顕的検索では内皮細胞下基底膜にも明らかに認めている。

従来、培養内皮細胞の FVIII: Ag に関する immunocytochemical study^{4,6,8)}, radioimmunoassay による検討^{8,9,25,30,32)}から血管内皮細胞における FVIII: Ag の産生が確認されているが、我々の免疫電顕による検討でも endoplasmic reticulum, perinuclear space に FVIII: Ag が分布し、内皮細胞での産生を示唆している結果を得た。血管内皮細胞内には FVIII: Ag と同様内皮細胞の marker ともなっている tubular body が認められ、これは glioblastoma では腫瘍辺縁部の血管増殖の著明な部位に一致して増加傾向を示した。最近 Wagner ら³¹⁾は培養内皮細胞の蛍光抗体法、免疫電顕的検討から FVIII: Ag が Weibel-Palade 小体の中に分布することを報告しており、我々の脳腫瘍血管でも FVIII: Ag が intracytoplasmic vacuole に分布したと述べたもののなかに、一部その大きさ、形態、分布範囲などからその局在部位が Weibel-Palade 小体である可能性が考慮されたものもあったが、確証はつかめず、今後さらに検討する予定である。

腫瘍内血管・正常血管内皮細胞のごとく分化した内皮細胞では FVIII: Ag 陽性染色を認めるが、内皮細胞起源と考えられる腫瘍細胞では必ずしも陽性とはならない^{16,24)}。すなわち、血管における内皮細胞と内皮細胞起源の腫瘍細胞とは異なった所見を示し、vascular origin の悪性腫瘍細胞では良性のものと比較し FVIII: Ag 陽性細胞が少ないとされている²⁴⁾。我々の電顕・免疫組織学的検討では glioblastoma, metastatic tumor, malignant meningioma の悪性腫瘍血管における FVIII: Ag の分布は良性腫瘍に比較し広く、その染色性も強く、特に悪性腫瘍 7 例中 6 例において内皮細胞内 endoplasmic reticulum に FVIII: Ag 陽性であったのに対し良性腫瘍では 5 例中 1 例のみ陽性で、有意の差を認めた。これは悪性腫瘍内皮細胞における FVIII: Ag の産生亢進を示唆しているものと思われる。すなわち、endothelial hyperplasia, proliferation が endoplasmic reticulum の増加、肥大を伴い、FVIII: Ag 産生増大に導いている可能性がある。

Tubular body は、1964年 Weibel and Palade³⁴⁾が正常ラットおよびカエルの血管内皮細胞に新しい細胞小器官として発見した。彼らによれば、この小体は直径約 $0.1\ \mu\text{m}$ 、長さ $3\ \mu\text{m}$ の限界膜に限られた円柱状の桿体で、この中に厚さ $40\ \text{\AA}$ 、外径 $150\sim 200\ \text{\AA}$ の tubule を認める。この小体は血管内皮細胞に特有のものであり、カエル、動物、ヒトの

種々の正常組織のみならず、炎症性、腫瘍性などの病的組織の血管内皮細胞にも広く存在する^{3,10,12,28)}。また tubular body は mature type と immature type に分類され¹²⁾、後者は Golgi 装置や endoplasmic reticulum の多いところにみられる比較的淡明な小体であるが、前者は Golgi 装置などの細胞小器官とは特に関連なく密に tubule を含むため、比較的 electron dense である。その機能については内皮細胞の代謝、血流動態、血液凝固などとの関連性が論じられているが、現在なお不明である。

Tubular body は新生血管、tumor angiogenesis とも関連して興味深く、Kumar ら¹¹⁾は小児後頭蓋窩脳腫瘍例において腫瘍内局在別に内皮細胞内 tubular body を定量的に検索し、腫瘍辺縁では中心部に比較し有意に増加していたことから、tubular body は内皮細胞増殖の marker となりうることを報告した。我々の glioma における検討でも tubular body は glioblastoma 辺縁部の血管増殖の著明な部位に一致して増加傾向を示し、Kumar ら¹¹⁾の結果と一致した。また、glioblastoma では良性 glioma と異なり明らかに tubular body を含む内皮細胞が多く、一方非腫瘍脳組織血管内皮細胞では tubular body はきわめて少なかった。

V 結 語

電顕酵素抗体法と免疫組織学的方法を用いて glioma, non-glial tumor, 非腫瘍脳組織血管の第Ⅷ因子関連抗原 (FVIII: Ag) の微細局在と tubular body (Weibel-Palade 小体) について検討した。

1. FVIII: Ag の分布は微小血管、特に glioblastoma などの endothelial proliferation あるいは hyperplasia のみられるものに著明であった。

2. 電顕酵素抗体法では glioma, non-glial tumor とともに血管内皮細胞、基底膜に FVIII: Ag の分布を認め、血管内皮細胞では endoplasmic reticulum, vacuole, vesicle, perinuclear space, 血管腔側内皮細胞膜面に FVIII: Ag 陽性であった。

3. Glioblastoma, metastatic tumor では良性腫瘍および非腫瘍脳組織に比較し FVIII: Ag の分布が多く、特に内皮細胞内 endoplasmic reticulum に著明に陽性であることが特徴的であった。

4. Tubular body は glioma においても血管内皮細胞にのみ認められ、また glioblastoma においては血管増殖に相関して増加傾向を示し、良性 glioma に比較し明らかに増加していた。

本論文の要旨は、1983年度全米脳神経外科学会(1983年4月、

Washington, D.C.)および第25回日本神経病理学会(1984年5月, 東京)において発表した。

文 献

- 1) Bloom AL, Giddings JC, Wilks CJ: Factor VIII on the vascular intima: Possible importance in haemostasis and thrombosis. *Nature (London)* 241: 217-219, 1973
- 2) Burgdorf WHC, Mukai K, Rosai J: Immunohistochemical identification of factor VIII related antigen in endothelial cells of cutaneous lesions of alleged vascular nature. *Am J Clin Pathol* 75: 167-171, 1981
- 3) Fuchs A, Weibel ER: Morphometrische Untersuchung der Verteilung einer spezifischen cytoplasmatischen Organelle in Endothelzellen der Ratte. *Z Zellforsch* 73: 1-9, 1966
- 4) Hoyer LW, de los Santos RP, Hoyer JR: Antihemophilic factor antigen: Localization in endothelial cells by immunofluorescent microscope. *J Clin Invest* 52: 2737-2744, 1973
- 5) Jaffe EA: Endothelial cells and the biology of factor VIII. *N Engl J Med* 296: 377-383, 1977
- 6) Jaffe EA, Hoyer LW, Nachman RL: Synthesis of antihemophilic factor antigen by cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 52: 2757-2764, 1973
- 7) Jeanneau C, Sultan Y: Localization of factor VIII/von Willebrand factor antigen by immunoelectron microscopy in human endothelial cells using Fab fragments coupled to peroxidase. *J Histochem Cytochem* 30: 1091-1096, 1982
- 8) Jones TR, Kao KJ, Pizzo SV, Bigner DD: Endothelial cell surface expression and binding of factor VIII/von Willebrand factor. *Am J Pathol* 103: 304-308, 1981
- 9) Kao KJ, Pizzo SV, McKee PA: Demonstration and characterization of specific binding sites for factor VIII/von Willebrand factor on human platelets. *J Clin Invest* 63: 656-664, 1979
- 10) Kawamura J, Kamijyo Y, Sunaga T, Nelson E: Tubular bodies in vascular endothelium of a cerebellar neoplasm. *Lab Invest* 30: 358-365, 1974
- 11) Kumar P, Kumar S, Marsden HB, Lynch PG, Earnshaw E: Weibel-Palade bodies in endothelial cells as a marker for angiogenesis in brain tumors. *Cancer Res* 40: 2010-2019, 1980
- 12) Matsuda H, Sugiura S: Ultrastructure of "tubular body" in the endothelial cells of the ocular blood vessels. *Invest Ophthalmol* 9: 919-925, 1970
- 13) McComb RD, Jones TR, Pizzo SV, Bigner DD: Immunoperoxidase detection of factor VIII/von Willebrand factor in hyperplastic endothelial cells in glioblastoma multiforme, mixed glioma-sarcoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 41: 479-489, 1982
- 14) McKee PA, Anderson JC, Switzer ME: Molecular structural studies of human factor VIII. *Ann NY Acad Sci* 240: 8-33, 1975
- 15) McLean IW, Nakane PK: Periodate-lysine-paraformaldehyde fixative. A new fixative for immunoelectron-microscopy. *J Histochem Cytochem* 22: 1077-1083, 1974
- 16) Mukai K, Rosai J, Burgdorf WHC: Localization of factor VIII-related antigen in vascular endothelial cells using an immunoperoxidase method. *Am J Surg Pathol* 4: 273-275, 1980
- 17) Nyström S: Pathological changes in blood vessels of human glioblastoma multiforme. Comparative studies using plastic casting, angiography, light microscopy and electron microscopy, and with reference to some other brain tumors. *Acta Path Microbiol Scand [Suppl]* 137: 9-83, 1960
- 18) Pelt-Verxul EV, Emeis JJ: The use of a carbodiimide-containing fixative for the immunohistochemical demonstration of coagulation factor VIII in rat vascular tissue. *Histochemistry* 71: 187-194, 1981
- 19) Piovella F, Nalli G, Malamani GD, Majolino I, Frassoni F, Sitar GM, Ruggeri A, Dell'Orbo C, Ascari E: The ultrastructural localization of factor VIII-antigen in human platelets, megakaryocytes and endothelial cells utilizing a ferritin labeled antibody. *Br J Haematol* 39: 209-213, 1978
- 20) Rand JR, Sussman II, Gordon RE, Chu SV, Solomon V: Localization of factor-VIII-related antigen in human vascular sub-endothelium. *Blood* 55: 752-756, 1980
- 21) Ratnoff OD: Antihemophilic factor (factor VIII). *Ann Intern Med* 88: 403-409, 1978
- 22) Ruff RL, Posner JB: The incidence of systemic venous thrombosis and the risk of anticoagulation in patients with malignant gliomas. *Ann Neurol* 10: 92, 1981
- 23) Sacx GH, Levin J, Bell WR: Trousseau's syndrome and other manifestations of chronic disseminated coagulopathy in patients with neoplasms: Clinical, pathophysiologic and therapeutic features. *Medicine (Baltimore)* 56: 1-37, 1977
- 24) Sehested M, Hou-Jensen K: Factor VIII related antigen as an endothelial cell marker in benign and malignant diseases. *Virchows Arch [Pathol Anat]* 391: 217-225, 1981
- 25) Shearn SAM, Peake IR, Giddings JC, Humphrys J, Bloom AL: The characterization and synthesis of antigens related to factor VIII in vascular endothelium. *Thromb Res* 11: 43-56, 1977
- 26) 柴山 昭, 高橋芳右: Von Willebrand 病. *日臨* 39: 47-55, 1981
- 27) 新保義勝: 第VIII因子関連抗原の免疫組織学的検討. *脳と神* 35: 395-402, 1983
- 28) Steinsiepe KF, Weibel ER: Elektronenmikroskopische Untersuchungen und spezifischen Organellen von Endothelzellen des Frosches (Rana temporaria). *Z Zellforsch* 108: 105-126, 1970
- 29) Sun NCJ, Bowie EJW, Kazmier FJ, Elveback LR, Owen CA: Blood coagulation studies in patients with cancer. *Mayo Clin Proc* 49: 636-641, 1974
- 30) Thudendham EGD, Lazarchicx J, Hoyer LW: Synthesis and release of factor VIII by cultured human endothelial cells. *Br J Haematol* 47: 617-626, 1981
- 31) Wagner DD, Olmsted JB, Marder VJ: Immunolocalization of von Willebrand protein in Weibel-Palade bodies of human endothelial cells. *J Cell Biol* 95: 335-360, 1982
- 32) Wall RT, Counts RB, Harker LA, Striker GE: Binding and release of factor VIII/von Willebrand's factor by human endothelial

- cells. *Br J Haematol* 46: 287-298, 1981
- 33) 渡辺慶一：酵素抗体法. 東京, 学際企画, 1981, pp 33-118
- 34) Weibel ER, Palade GE: New cytoplasmic components in arterial endothelium. *J Cell Biol* 23: 101-112, 1964

〔別刷請求先：〒173 東京都板橋区大谷口上町30, 日本大学脳神経外科, 宮上光祐〕