Neuron-specific enolase を用いた meningioma の免疫組織化学的検討

特に正常の meningocyte との対比において

池田 秀敏・片倉 隆一・新妻 博・鈴木 晋介・加藤 正哉・鈴木 二郎
笹野 伸昭*

Immunohistochemical Demonstration of Neuron-specific Enolase in Meningiomas and in Normal Meningocytes

Hidetoshi IKEDA, Ryuichi KATAKURA, Hiroshi NIIZUMA, Shinsuke SUZUKI,
Masaya KATO, Jiro SUZUKI and Nobuaki SASANO*

*Division of Neurosurgery, Institute of Brain Diseases, and *Department of Pathology, Tohoku University, Sendai*

Abstract

An immunohistochemical study by peroxidase-antiperoxidase method for neuron-specific enolase (NSE) was performed on 23 cases of meningioma (meningothelial: 10, transitional: 8, fibroblastic: 5), 3 cases of normal cranial meninx and 2 cases of choroid plexus. Meningocytes were found in the normal arachnoid membranes and choroid plexuses. These meningocytes showed positive immunoperoxidase staining for NSE. On the other hand, dural fibroblasts showed negative staining for NSE. As for meningiomas, strongly positive immunoperoxidase stainings for NSE were seen in the meningothelial type. Immunoperoxidase stainings for NSE were weak in the fibroblastic type. Psammoma bodies were found not only in the meningiomas but also in the normal tissues of the arachnoid membranes and choroid plexuses. These results are consistent with the idea that meningiomas, including meningothelial, transitional and fibroblastic types, are derived from meningocytes and not from dural fibroblasts.

Key words: meningioma, neuron-specific enolase, meningocyte, psammoma body, immunohistochemistry

I はじめに

Meningioma の発生に関しては、今なお議論が絶えない。正常組織において neuron あるいは neuroendocrine cell に特異的に存在すると言われる neuron-specific enolase¹⁸⁾ (NSE) を用い、meningioma を系統的に調べた報告は見当たらない。今回我々は、細胞機能を表わす marker

の 1 つとしてこの NSE に着目し、meningioma 好発部の正常硬膜および脈絡叢と meningioma とを免疫組織化学により比較検討したので報告する。

II 対象および方法

1. 対象

頭部に異常所見のない剖検例より得られた上矢状洞付近

東北大学脳研脳神経外科 *同病理

Address reprint requests to: H. Ikeda, M.D., Division of Neurosurgery, Institute of Brain Diseases, Tohoku University, 1-1 Seiryō-cho, Sendai 980.

受稿 1985年5月7日 受理 1986年3月17日

の正常硬膜3例と側脳室脈絡叢2例、さらに1982年から1983年の間に東北大学脳神経外科にて手術を行い摘出した meningioma 23例を検討対象とした。Meningioma 23例の内訳は、男性11例、女性12例で、年齢は30才から75才に及び平均50.9才であった。組織型別では、meningothelial meningioma 10例、fibroblastic meningioma 5例、transitional meningioma 8例であった。発生部位の内訳は、falx 7例、sphenoidal ridge 3例、parasagittal 3例、tuberculum sellae, tentorial, suprasellar 各2例、posterior fossa, middle fossa, ventricular, olfactory groove 各1例であった。

2. 方法

標本は10%ホルマリン固定後、パラフィン包埋したブロックから2.5 μ mの切片を作製した。Hematoxylin and eosin 染色および銀染色に加え、SternbergerのPAP法²⁰⁾により抗NSEウサギ血清を用いて免疫組織化学的染色を行った。まず、脱パラ・脱水した切片を内因性ペロキシダーゼ除去のため、無水アルコールに3%過酸化水素を加えた溶液中に30分静置した。これを0.01 M phosphate buffer solution (PBS)にて洗滌後、nonspecific back ground ブロックのため30分間 normal swine serum (1:40)と反応させた。次に、抗NSEウサギ血清 (IBL, 1:100)を30分間反応させたのちPBSで15分洗滌し、さらに anti rabbit IgG swine serum (1:40)をかけ30分間静置した。これを0.01 M PBSで15分間洗滌したのち、ウサギ PAP (1:200)をかけ30分間静置する。再びこれを0.01 M PBSで15分洗滌したのちDAB・H₂O₂溶液を10分間かけ、これを水洗しエタノールにて脱水、キシロールに浸して封入し永久標本とし、これを顕微鏡レベルで観察した。なお、陰性コントロールは、一次抗体の代わりに normal rabbit serum (DAKO, 1:40)を用いたものとし、陽性コントロールの標本としてヒト大脳皮質の神経細胞を用いた。

III 結 果

1. 正常硬膜

上矢状洞付近の硬膜には arachnoid membrane が陥入しており、meningocyte の cluster とともに psammoma body が多数認められた (Fig. 1A)。NSE 抗体を用いた免疫染色では、arachnoid membrane に存在する細胞は、meningocyte も含め NSE 陽性であったのに対し、周囲の硬膜の細胞は陰性であった (Fig. 1B)。

2. 正常脈絡叢

脈絡叢の間質には meningocyte の cluster がいくつか認められ、さらに psammoma body もみられた (Fig. 2A)。NSE 抗体を用いた免疫染色では、meningocyte の cluster が陽性を示した (Fig. 2B)。

Fig. 1 Photomicrographs of dura mater (d) near the superior sagittal sinus. Dura mater intermingled with arachnoid villi and psammoma bodies (p) can also be seen. Arachnoid membrane (a), cluster of meningocytes (m). A: HE stain, $\times 10$, B: Neuron-specific enolase (NSE) stain, $\times 20$.

3. Meningioma

Meningioma は、組織型により程度・分布の差はあるものの、すべて NSE 陽性を示した。

Meningothelial meningioma : Meningocyte 様の腫瘍細胞が nest を作りつつ増殖しており、銀染色では tumor cell 間に reticulin fiber はみられず、tumor cell の増殖は上皮性の態度をとっていた (Fig. 3A)。NSE 抗体を用いた免疫染色では、tumor nest 全体が強陽性を示す傾向にあり、間質の細胞は陰性であった (Fig. 3B)。

Transitional meningioma : Meningocyte 様の腫瘍細胞の small nest と fibroblast 様の腫瘍細胞の meshed whorl とが入り混じり、その移行は連続的である。銀染色でみると、fibroblastic な部分では reticulin fiber が比較的密に入り込んでいるが、tumor nest を成す腫瘍細胞間には reticulin fiber は疎であった (Fig. 4A)。NSE 抗体を用いた免疫染色では、meningocyte 様の腫瘍細胞が tumor nest を形成する

Fig. 2 Photomicrographs of choroid plexus of lateral ventricle. Both clusters of meningiocytes (m) and psammoma bodies (p) can be seen. A: HE stain, $\times 48$, B: NSE stain, $\times 150$.

上皮様増殖傾向の強い部分において強陽性となる傾向にあった (Fig. 4B).

Fibroblastic meningioma : Fibroblast 様の腫瘍細胞が, loose-meshed whorl を形成しつつ増殖していた. 銀染色でみると, 個々の腫瘍細胞間にまで reticulin fiber が入り込んでおり, 非上皮性腫瘍様の増殖態度を示していた (Fig. 5A). NSE 抗体を用いた免疫染色では, 強陽性に染まる細胞はなく, diffuse に弱陽性を示す傾向にあった (Fig. 5B).

IV 考 察

Meningioma の発生に関しては諸説があり, 今世紀初頭より mesodermal origin 説²⁵⁾ と ectodermal origin 説⁸⁾ の間で論争が絶えなかった.

ところで, meningioma の発生由来を論ずる際, ① meningioma の発生母地となる細胞は何か, ②その発生母地の発生学的由来は何か, という2点を明確にする必要がある. まず, ①の meningioma の発生母地に関して,

Fig. 3 Photomicrographs of meningothelial meningioma. A: Reticulin fiber can't be seen where tumor cells show a medullary growth. Silver stain, $\times 150$. B: NSE positive cells are observed in the tumor cells of medullary pattern. NSE stain, $\times 150$.

Cleland (1864)²⁾ は, endothelial (*i.e.* meningothelial) type of meningioma と normal arachnoid cell clusters との形態学的相似を記載し, この種の meningioma が arachnoid cell origin であると指摘した最初の人物である. その後, Robin¹⁶⁾, Schmidt¹⁹⁾, Cushing and Weed⁴⁾, Mallory¹¹⁾ らも, 形態学的類似性という観点から Cleland の説を支持する結論に至っている. しかし, これらの研究はいずれも meningothelial type の meningioma に関するものであった. Wolman²⁶⁾ は, meningioma の発生すると言われる部位ではすべて arachnoid villi あるいは arachnoid cap cell が証明されており, しかも meningioma の組織型により発生部位に特徴はみられないことから, fibroblastic type をも含め meningioma は arachnoid cell cluster から生ずるとした. さらに, 電顕の出現により細胞の超微細構造が知られるようになり, 光顕レベルでは meningothelial type, transitional type, fibroblastic type と多様性を示す tumor cell も, 結局は共通した性格を有していることが明らかとなった^{14,23)}.

Fig 4 Photomicrographs of transitional meningioma NSE positive cells tend to be observed where tumor cells show epithelial proliferation A Silver stain, $\times 75$, B NSE stain, $\times 75$

Fig 5 Photomicrographs of fibroblastic meningioma A. Each tumor cell is surrounded by reticulin fibers Silver stain, $\times 150$. B Tumor cells show weak positive immunostaining for NSE NSE stain, $\times 150$

しかも、この共通する性格は硬膜の fibroblast よりは arachnoid cell の性格に類似するものであった¹⁵⁾。次に、②の arachnoid meningotheial cell の発生学に関して、leptomeninginx と pachymeninginx は common primordium (mesoderm) から生ずるとした His⁹⁾, Kölliker¹⁰⁾, Salvi¹⁷⁾, Sterzi²¹⁾, Weed²⁵⁾らの説に対し、Harvey ら⁸⁾は動物での neural tube 移植実験により、leptomeninginx の形成には neural crest cell が必要であり leptomeninginx は pachymeninginx とは由来が異なることを示した。一方 Stone²²⁾は、頭部の neural crest cell には connective tissue や cartilage を生成する能力があることを動物実験によって示し、neural crest cell の multipotentiality を示した。また Napolitano ら¹⁴⁾は、電顕による研究で、meningioma に共通する性格として mesenchymal な性格と epithelial な性格の 2 面性があることを示し、このような multipotentiality を示す meningioma が neural crest cell 由来とするならば、neural crest cell も multipotentiality を有するであろうとして Stone の説を支持している。すな

わち、meningioma における intracytoplasmic fibril の存在、細胞が spindle form を呈すること、tumor cell が collagen 産生能を有していると思われることなどは、meningioma が mesenchymal derivation であることを示唆する所見であり、meningioma における plasma membrane の interdigitation, desmosomal attachments, hemi-desmosome 構造³⁾などの存在は meningioma の epithelial な性格を示す所見であるとしている。以上①・②の結果を総合すると、arachnoid cell は multipotentiality を有する neural crest cell から由来したものであり、しかもこれを母地として発生した meningioma にも mesenchymal な性格と epithelial な性格との 2 面性が備っていると見えうである。

次に NSE についてであるが、NSE は 1972 年 Moore¹³⁾により初めて bovine brain より抽出された、分子量 78,000 の protein である。Glycolytic protein の 1 つである enolase には、 α , β , γ の 3 つの subunit があり、それぞれ異なる遺伝子の支配下にあるとされる¹²⁾。この $\gamma\gamma$ 型のものが NSE で

あり、免疫組織化学やラジオイムノアッセイを用いた検討により、正常組織では neuron あるいは neuroendocrine cell に特異的に存在する metabolic marker であるとされている^{7,18)}。しかし、腫瘍組織では、neoplastic cell の metabolic flexibility のために、正常組織におけるような specific marker とはなりえないと言う^{1,5,24)}。NSE を用いた今回の検討により明らかとなったのは、正常の arachnoid villi や脈絡叢にみられる meningocyte は NSE 陽性であり、周囲の dural fibroblast は NSE 陰性であった点であり、しかも meningioma の組織中では tumor cell が上皮性増殖を示す部分、すなわち tumor cell が meningocytic な形に近い部分で NSE 陽性となる傾向にあった点である。NSE は腫瘍組織中では必ずしも specific marker となりえないと言うものの、meningioma 好発部における正常組織の NSE 染色性と meningioma の染色性という観点に立つならば、meningioma の発生母地は dural fibroblast と言うよりは arachnoidal meningocyte であると言えそうである。そして、もし Stone や Harvey らの発生学的な研究結果を前提に今回の我々の検討を考え合わせるならば、“meningocyte が neural crest 由来である”と言えそうである。しかしながら、Harvey の結果に異論を唱えるもの⁶⁾もあり、また現在入手できる NSE 抗体の specificity も今一つ⁵⁾というところであり、meningocyte の発生学的由来についてはさらに検討を重ねる必要があると思われる。

V 結 語

1. 正常の arachnoid membrane および脈絡叢には meningocyte が存在し、これらはいずれも NSE 陽性であった。一方、dural fibroblast は陰性であった。

2. Meningioma は多様な細胞形態、増殖様式を示すが、なかでも meningocyte が上皮性の増殖を示す部分で、NSE に対し強陽性となる傾向があった。

3. Meningioma が arachnoidal meningocyte から発生するという説は、NSE に対する arachnoid membrane、脈絡叢および meningioma の染色態度の相似性より免疫組織化学の見地からも支持される。

本論文の要旨は、第43回日本脳神経外科学会総会(1984年10月、千葉)において発表した。

文 献

- 1) Bonnin JM, Rubinstein LJ: Immunohistochemistry of central nervous system tumors. *J Neurosurg* 60: 1121-1133, 1984
- 2) Cleland J: Description of two tumors adherent to the deep surface of the dura mater. *Glasgow Medical Journal* 11: 148-154, 1864

- 3) Copeland DD, Bell SW, Shelburne JD: Hemidesmosome-like intercellular specializations in human meningiomas. *Cancer* 41: 2242-2249, 1978
- 4) Cushing H, Weed LH: Studies on the cerebrospinal fluid and its pathway. IX. Calcareous and osseous deposits in the arachnoidea. *Bull Hopkins Hosp* 26: 367-372, 1915
- 5) Draroff G, Bigner DD: A word of caution in the use of neuron-specific enolase expression in tumor diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 108: 535, 1984
- 6) Flexner LB: Development of the meninges in amblystoma. *Contributions to Embryology, vol 20*. Washington DC, Carnegie Institute of Washington, 1929, pp 31-50
- 7) Goodwin FK: Brain enolase as specific markers of neuronal and glial cells. *Science* 199: 313-314, 1978
- 8) Harvey SC, Burr HS: The development of the meninges. *Arch Neurol Psychiat* 15: 545-567, 1926
- 9) His W: Die Häute und Höhlen des Körpers. *Archiv für Anatomie und Physiologie* 8: 368-404, 1903
- 10) Kölliker H: *Grundriss der Entwicklungsgeschichte des Menschen*. Leipzig, Engelmann, 1880, cited in 8)
- 11) Mallory FB: The type cell of the so-called dural endothelioma. *Journal of Medical Research* 41: 349-364, 1920
- 12) Marangos PJ, Zis AP, Clark PL, Goodwin FK: Neuronal, non-neuronal and hybrid forms of enolase in brain: Structural, immunological and functional comparisons. *Brain Res* 150: 117-133, 1978
- 13) Moore BW: Chemistry and biology of two proteins, S-100 and 14-3-2, specific to the nervous system, in Pfeiffer CC, Smythies JR (eds): *International Review of Neurobiology, vol 15*. New York, Academic, 1972, pp 215-225
- 14) Napolitano L, Kyle R, Fisher ER: Ultrastructure of meningioma and the derivation and nature of their cellular components. *Cancer* 17: 233-241, 1964
- 15) Pease DC, Schultz RL: Electron microscopy of rat cranial meninges. *Am J Anat* 102: 301-321, 1958
- 16) Robin C: Recherches anatomiques sur l'épithélioma des séreuses. *J Anat* 6: 239-288, 1869
- 17) Salvi G: *Histogénèse et Structure des Meninges*. Thèse de Paris, 1898, cited in 8)
- 18) Schmechel D, Marangos P, Brightman M: Neuron-specific enolase is a molecular marker for peripheral and central neuroendocrine cells. *Nature* 276: 834-836, 1978
- 19) Schmidt MB: Über die Pacchionischen Granulationen und ihr Verhältniss zu den Sarcomen und Psammomen der Dura Mater. *Virchow Arch Path Anat* 170: 429-464, 1902
- 20) Sternberger LA: *Immunocytochemistry*. New York, John Wiley, 1979, 104 pp
- 21) Sterzi G: Recherches sur l'anatomie comparée et sur l'ontogénèse des meninges. *Arch Ital Biol* 37: 257-269, 1902
- 22) Stone LS: Experiments showing the role of migrating neural crest (mesectoderm) in the formation of head skeleton and loose connective tissue in *Rana palustris*. *Archiv für Entwicklungsmechanik*

der Organismen 118: 40-77, 1929

- 23) Thomas H: Light- und Electronen-Mikroskopische Untersuchungen an der Weichen Hirnhäuter und Pacchionischen Granulationen des Menschen. *Z Mikr Anat Forsch* 75: 271-327, 1966
- 24) Vinocres SA, Bonnin JM, Rubinstein LJ, Marangos PJ: Immunohistochemical demonstration of neuron-specific enolase in neoplasms of the CNS and other tissues. *Arch Pathol Lab Med* 108: 536-540, 1984
- 25) Weed LH: The development of the cerebrospinal spaces in pig and in man. *Contributions to Embryology, vol 5*. Washington DC, Carnegie Institute of Washington, 1917, pp 1-116
- 26) Wolman L: Role of the arachnoid granulation in the development of meningioma. *AMA Arch Path* 53: 70-77, 1952

〔別刷請求先：〒980 仙台市星陵町1-1, 東北大学脳研脳神経外科, 池田秀敏〕