再発 astrocytic glioma の形態学的研究

腫瘍細胞の巨細胞化および肥胖細胞化

小柏 元英・中太 政広・麻生 有・前田 達浩・横山 治久・竹内 一夫
内ヶ崎新也*・赤井契一郎*

Morphological Analysis of Recurrent Gliomas

Giant Cell and Gemistocytic Cell Formation

Motohide OGASHIWA, Masahiro NAKADAI, Yuji ASOH, Tatsuhiro MAEDA,
Haruhisa YOKOYAMA, Kazuo TAKEUCHI, Shinya UCHIGASAKI* and Keiichiro AKAI*

Departments of Neurosurgery and *Pathology, Kyorin University, Mitaka, Tokyo

Abstract

Morphological features and microscopic characteristics of the autopsied specimens of 14 adult cadavers with supratentorial recurrent gliomas were studied. One of the specific findings in the morphological change of the tumor cells was giant cell formation. These giant cells were subdivided into 3 types: 1) monstrous cell, 2) giant cell, and 3) gemistocytic cell. 1) Monstrous cells were found in 12 cases, 4 grade 3 astrocytomas and 8 glioblastomas out of 14 recurrent gliomas. These cells were defined as those larger than 150 μm in diameter and having bizarre, irregular and hyperchromatic multinuclei. The glial fibrillary acidic protein (GFAP) stain of monstrous cells was negative. These cells were scattered in the periphery of the tumor or necrosis. 2) Giant cells were demonstrated in 3 glioblastoma cases. They were 100–150 μm in diameter and had single or multiple nuclei. These cells were scattered in the periphery of both the tumor and necrosis, and contributed major cells of the tumor in two cases. The GFAP stain was negative in two cases and positive in one. 3) Gemistocytic cells were noted in 8 cases, 5 grade 3 astrocytomas and 3 glioblastomas, and were about 100 μm in diameter. They had a single distinct nucleus. The distribution of the cells was in the marginal zone of the tumor or necrosis, or grouped around vessels in the tumor. The GFAP stain was positive. These results suggest that the specific cells indicated herein may be degenerative changes of the tumor cells exposed while withstanding such adverse conditions as hypoxia, irradiation, and chemotherapy.

Key words: recurrent glioma, monstrous cell, giant cell, gemistocytic cell, glioblastoma

I はじめに

再発 astrocytic glioma の剖検時における腫瘍の形態学的変化のなかで、腫瘍の量的変化すなわち腫瘍細胞の増生と進展および angiogenesis に関してはすでに報告した⁷⁾。本

研究は腫瘍細胞の質的变化、なかでも主に剖検脳で観察される腫瘍細胞の巨細胞化ならびに肥胖細胞化に着目した。これらの腫瘍細胞は、ユニークな形態学的特徴を持つにもかかわらず、形態学的位置付けが確立されていないため、今回はこれらの問題につき分析した。

杏林大学脳神経外科 *同病理

Address reprint requests to: M. Ogashiwa, M.D., Department of Neurosurgery, Kyorin University, 6-20-2 Shinkawa, Mitaka, Tokyo 181.

受稿 1986年3月28日 受理 1986年9月29日

II 対象および方法

対象は、初期導入療法後いったん寛解期に入り、その後再発死亡した症例のうち、剖検しえた glioma 14例である。年齢は10～78才(平均47才)、男性7例、女性7例である。剖検脳は前回の報告と同様の方法で処理し、大切片による腫瘍遠隔部を含めた検索を行った。染色は、主として HE, PTAH, Mallory's azan を行った。さらに、GFAP 抗体を用いた間接蛍光抗体法を追加した。

III 結 果

全症例の組織学的分類、臨床経過、治療法を Table 1 に示す。組織学的分類は、astrocytoma grade 3 が6例、glioblastoma 8例で、両者の区別は細胞異型あるいは構造異型を示す腫瘍面積の大小によった。腫瘍の原発部位はテント上12例、脳幹2例であったが、剖検時にテント上原発12例のうち4例(<症例4, 5, 8, 13>)に脳幹への進展、6例に脳梁経由による反対側大脳半球への進展がみられた。脳幹原発の2例は視床下部に進展していた。全臨床経過は、astrocytoma grade 3 では8～123ヵ月(平均47ヵ月)、

glioblastoma は4～39ヵ月(平均18ヵ月)であった。治療は、脳幹原発2例および間脳原発3例を除き、腫瘍の亜全摘が行われた。照射療法は全例に行われ、照射量の合計は

Table 2 Histologic features

Case No.	Cellularity	Pleomorphism	Necrosis	Vascular changes
1	卅	++	卅	卅
2	卅	++	++	卅
3	卅	卅	卅	卅
4	卅	卅	+	卅
5	+	卅	++	+
6	+	++	++	+
7	+	++	卅	+
8	+	++	卅	卅
9	+	卅	++	+
10	+	++	卅	—
11	+	卅	++	+
12	卅	++	卅	卅
13	+	++	卅	+
14	+	++	卅	+

Table 1 Summary of astrocytic glioma cases

Case No.	Age/ Sex	Grading*	Tumor site	Clinical duration (months)	Treatment	MC	GC	GMC	Distribution of giant cell	
									Localization	Formation
1	53/F	4	bil. F, CC	7	RT, ACNU	+		+	marginal	scattered
2	66/M	4	bil. F-P, CC	12	RT, CCNU	+	+		marginal zone of necrosis	scattered
3	36/F	4	bil. Th →centrum semiovale, CC	27	RT, ACNU	+		+	marginal, in the tumor	scattered, grouped
4	18/M	4	rt. P, Th, brain stem	4	RT, BLM	+	+		major cell	
5	37/M	4	bil. F-P-O →Th, HT, brain stem	28	RT, CCNU, BLM	+	+		marginal, major cell	
6	46/M	3	bil. F, CC	60	RT, CCNU, BLM	+		+	subependymal	scattered, grouped
7	44/F	3	rt. F-P	60	RT, BLM	+			marginal	scattered
8	52/F	3	bil. P-O, CC, brain stem	17	RT, ACNU	+		+	marginal zone of necrosis	scattered, grouped
9	10/F	4	brain stem, HT	10	RT, ACNU	+		+	marginal zone of necrosis	scattered, grouped
10	73/M	4	rt. F-P	15	RT, ACNU	+			in the tumor	scattered
11	50/M	4	brain stem, HT	39	RT, ACNU	+			marginal	scattered
12	41/F	3	bil. F, CC	123	RT, ACNU	+		+	marginal	scattered, grouped
13	51/F	3	rt. F-Tp, brain stem	14	RT, BLM			+	marginal zone of necrosis	grouped
14	78/M	3	rt. Tp	8	RT			+	marginal zone of tumor	grouped

*Grade 3: malignant astrocytoma, 4: glioblastoma. MC indicates monstrous cell; GC, giant cell; GMC, gemistocytic cell; F, frontal lobe; P, parietal lobe; O, occipital lobe; Tp, temporal lobe; Th, thalamus; HT, hypothalamus; CC, corpus callosum; RT, radiotherapy; BLM, bleomycin.

30~100 Gyであった。〈症例14〉を除いた13例に化学療法 (ACNU 7例, CCNUのみ1例, bleomycinのみ3例, CCNUとbleomycinの併用2例)が施行された。剖検時における腫瘍の細胞密度, 核の異型度, 血管増生などの主要組織学的所見の比較はTable 2のごとくである。

特異な腫瘍細胞はその大きさと形態から, monstrous cell型(MC型), giant cell型(GC型), gemistocytic cell型(GMC型)の3型に分類された, MC型は14例中12例にみられ, astrocytoma grade 3の4例, glioblastomaの8例に出現した。MC型の形態学的特徴は, 胞体が円形ないし楕円形できわめて大きく, その直径は150 μm 以上, 時に300 μm のものもみられた。胞体はHEで好酸性硝子様に, PTAHで茶褐色, Mallory's azanで紫赤色に染まり, 空胞変性がしばしば認められた。核は多核で10個以上, 数10個を数えるものもあり, 個々の核は小円形のものから不整形のものまで多彩であり, 膨化や融合しているものもあった。しかし, 巨核化はまれで, その配列は種々であった。すなわち, 中心性に集簇したり, 放射状あるいは環状に配列していた。また, 核分裂像はなく, 核内構造の多くは変性崩壊像を示し明らかでなかった。MCの分布は腫瘍の壊死巣の周辺, または腫瘍の変性ないし浮腫を示す領域にのみ散在性に出現し, 集簇しても5個以下であった(Fig. 1)。そして, 腫瘍細胞の密度が高く旺盛な増殖を示す領域には認められなかったことが特記される。また, 腫瘍から離れた遠隔の健常白質内に, 単発的に本細胞が出現したことも注目された。血管と密接な関係はみられなかった。なお, GFAP染色は陰性であった(Fig. 2)。

GC型は3例のglioblastoma例にのみ出現した(Fig. 3)。

3例の全臨床経過はおおの4, 12, 28ヵ月で, 全例に照射化学療法が施行されていた。腫瘍の中心部はいずれも広汎な壊死を示し, いずれの腫瘍もMCを伴っていた。本細胞の形態学的特徴は, 円形から楕円形の細胞で時に長く延

Fig. 2 Monstrous cells (MCs). Glial fibrillary acidic protein (GFAP) negative cells. GFAP stain, $\times 100$ (A), $\times 200$ (B).

Fig. 1 Monstrous cells (MCs). A: MCs in the marginal zone of necrosis. HE stain, $\times 80$. B: An MC in the marginal zone of necrosis. HE stain, $\times 400$. C: An MC in the cerebral white matter 3 cm distant from the border of the tumor. HE stain, $\times 200$.

Fig. 3 Giant cells (GCs). A, B Various types of the GC HE stain, $\times 200$ C GC constituting the tumor cell in the marginal zone of necrosis. HE stain, $\times 25$

びており、その大きさは $100\sim 150\ \mu\text{m}$ 以下、核は過染色で不整形、その構造は不明で平均 6 個の多核で細胞の辺縁部に集簇し、巨核のものも認められた。しかし核分裂像はなく、なかには核小体の明瞭に識別されるものもあった。一方、明らかに核の崩壊所見を呈するものもあり、核の所見は多様であった。GC の分布は瀰漫性で、腫瘍細胞の多

Fig. 4 Giant cells (GCs) A GFAP negative cells. GFAP stain, $\times 200$. B GFAP positive cells. GFAP stain, $\times 200$.

くが本細胞であるもの 2 例、散在性に出現したもの 1 例であった。GFAP 染色においては、陰性細胞(変性傾向の細胞)と陽性細胞(増殖の盛んな細胞)がみられた(Fig. 4)。

GMC 型は 8 例において著明に出現し、astrocytoma grade 3 の 5 例、glioblastoma の 3 例に認められ(Fig. 5)、このうち 6 例は MC を伴っていた。全臨床経過は 1 例が 10 年 3 ヶ月、その他は 60 ヶ月以下であり、全例に照射療法、7 例に化学療法が行われた。腫瘍の原発部位はテント上 7 例、脳幹 1 例であった。本細胞は gemistocytic astrocytoma の腫瘍細胞と形態学的には同一である。すなわち、多くは単核で eccentric、粗大クロマチンを有し核構造は明らかであった。しかし、核分裂像は認められなかった。胞体は $100\ \mu\text{m}$ 以下、エオジン好性で腫大しており、胞体周囲に多数の線維性突起を形成する¹⁶⁾。その分布は腫瘍周辺と壊死周辺部であり、血管周囲に集簇性に存在することが多かった。MC と GC との相異は、GFAP 染色所見にみられた。すなわち、GMC のほとんどのものはその胞体が GFAP で褐色に染色された。

IV 考 察

再発 glioma 14 例の剖検脳にみられる腫瘍細胞には、①広汎な壊死、②細胞分裂像の減少、③巨細胞化、④肥胖細胞化の所見が特徴的であった。このうち①と②は、治療特に照射化学療法の殺細胞効果として従来から指摘されていたものである^{2,8,10-13)}。しかしながら、③・④については近年ようやく治療との関係で関心が持たれはじめ、その発生機序については十分な結論が出されているとは言えない。

1. 巨細胞および肥胖細胞化腫瘍細胞の形態 (Table 3)

MC はきわめて巨大な ($150\ \mu\text{m}$) 10 個以上の核を持つ異

Fig. 5 Gemistocytic cells (GMCs). A: Typical features of grade 3 astrocytoma, residual tumor cells surrounded by necrosis in the left part of the field. An MC is disclosed. GMC grouping in the right sector. HE stain, $\times 25$. B: Residual GMCs surrounding a vessel in the necrosis. HE stain, $\times 25$. C: Group of GMCs. HE stain, $\times 50$. D: GFAP positive cells. GFAP stain, $\times 200$.

Table 3 Features of giant cells

	Type 1 (MC)	Type 2 (GC)	Type 3 (GMC)
1. Cell size	150 μm	100 150 μm	100 μm
nucleus	multinucleated degenerated	multinucleated degenerated	mononucleated distinct
2. Distribution	scattered	scattered	grouped
	marginal zone of tumor or necrosis	major cell	marginal zone of tumor or necrosis
3. GFAP	negative	negative or positive	positive
4. Labelling of 3H-thymidine	a few	a few	none
5. Pathogenesis	these cells represent the morphological changes of tumor cells withstanding disadvantageous condi- tions such as hypoxia		

GFAP indicates glial fibrillary acidic protein.

常な細胞で、胞体・核ともに変性崩壊を示す。GCはMCほど大きくなく(100~150 μm)、核の数も平均5個前後

で、時に明らかな核小体を有し、血管と接して存在し胞体よりの突起が比較的豊富である⁹⁾。GMCはGCより小型で、多核を呈することはあってもまれであり、多くは単核である。核内構造は明瞭、胞体は好酸性で反応性にみられる肥胖型星膠細胞とほぼ同一の形態を持ち、周囲に多数の突起を形成する¹⁶⁾。藤田¹⁾は、培養中の glioblastoma 細胞の形態学的所見から giant cell の出現を観察し、これを3種に分類した。すなわち、① mononucleated giant cell, ② multinucleated giant cell, ③ monstrous cell である。②と③は電顕所見からも変性が認められ、腫瘍の性格を失った細胞であることを示した。本研究のMCは③に、GCは②に相当すると考えられる。同一期間に検索した髄芽腫3例、乏突起膠腫1例、悪性リンパ腫3例の生検所見には、以上のごとき特徴ある細胞の出現はみられなかった。

2. 巨細胞および肥胖細胞化腫瘍細胞の分布、量、原発腫瘍との関連

MCはすべて isolated cell として出現し、多くても数個を越える集団はなかった。壊死巣周辺で腫瘍細胞密度の高

くない部位にのみ出現し、原発腫瘍の組織学的分類では glioblastoma に多くみられ、MC が著明に現れた例はすべて glioblastoma 症例であった。GC もすべて glioblastoma 症例に出現し、いずれも MC を伴っていた。出現様式は散在性 1 例、瀰漫性 2 例であった。GMC は集簇性かつ血管中心性に出現する傾向にあった。Astrocytoma grade 3 では GMC の出現が目立ち、glioblastoma では MC や GC が主であった。分布からみると、isolated cell としてみられるものは MC、腫瘍または壊死周辺部に cell cluster または foci として出現するものは GMC、瀰漫性にまたかも腫瘍の major cell のごとく出現したものは GC であった。

特異細胞の観察された時期は、MC は 12 例中 11 例が剖検時に、他の 1 例は照射化学療法後生検および剖検時であった。GC は、2 例では治療前後の生検時には出現せず剖検時のみ、他の 1 例は生検は行われず剖検時のみの観察である。生検施行 1 例、非生検 1 例の計 2 例の剖検脳で、腫瘍の主細胞と言えるほど広汎に本細胞がみられた。GMC はすべて剖検時に観察されたものであり、生検ならびに垂全摘出標本では認められなかった。したがって、これらの特異細胞は、再発 glioma の形態学的所見の中でも特異的なものである。

3. 特異細胞の発生機序

悪性 glioma は元来多彩な所見を呈し、また bizarre な多核細胞が giant cell glioblastoma に豊富に出現することは周知である。そこで、本研究でみられた特異細胞との相異が問題となる。神経膠腫の自然経過でみられる大型の特異細胞は、腫瘍細胞を構成する、血管と関係を持つ、核分裂が著しい、集簇的に分布する、生検でも確認されるなどの特徴を有する^{3,9)}。一方、本研究でみられた特異細胞は散在性に分布し、壊死周辺にみられ、生検ではほとんど認められないこと、剖検脳で出現するなどの点が自然発生の大型細胞と異なる点である。Willson ら¹⁵⁾は、これらの細胞の出現と治療との関係を指摘し注目された。すなわち、S 期に強い影響を与える BCNU または ACNU を *in vitro* または *in vivo* で投与すると giant cell の出現をみると、形態学的には核に著明な変化があること、電顕所見から細胞膜構造が胞体内に認められないこと¹⁾などの点から、細胞の合胞ではなく核の異常分裂によって発生したものであることが明らかとなった。

特異細胞の起源については、GMC ならびに GC の一部は GFAP に陽性所見を呈した事実から、glia 由来であることが証明された。MC ならびに一部の GC は陰性であったが、これらはすべて glioblastoma であった。GC は GFAP 陰性ならびに陽性細胞が混在していたが、前者は壊死傾向の部位に、後者は viable cell に認められたことから、

glia 由来の細胞が変性崩壊してゆく過程でこのような現象を示すものと推察された。さらに、autoradiography による検討は注目される⁴⁾。すなわち、ヒトの星膠細胞の構成細胞のなかで、トリチウムサイミジンに標識される細胞は small neoplastic cell (astrocyte)、まれに giant cell (本研究の MC, GC) である。一方、gemistocyte は標識されない。この事実は、MC では核分裂はあるものの細胞分裂が抑制されていることを裏付けるものであり、この機序に照射化学療法が関与していることはすでに報告されている^{2,8,10-12,15)}。ただし、GC は MC といくつかの点で相異があり、その性格についてはなお検討の余地があると思われる。GMC は Hoshino ら⁴⁾の指摘するごとく、glioma の再発過程における hypoxia^{3,6,14)}の影響と考えたい。Fig. 4B のごとく、広汎な壊死巣の中に血管周囲性に GMC が集簇してみられる事実は、hypoxic な環境のもとに血管周囲性に残存した腫瘍細胞の退行性変化を証明するものである。これらの腫瘍細胞は、生検でみられないことから自然発生と考えがたいこと、種々の治療から時間経過があること、再発腫瘍の主体は小型の細胞であること、その分布は変性傾向の組織中にみられることなどから、強い増殖を行っている細胞でないことは明らかである。したがって、hypoxia^{3,6,14)}など不利な生物学的環境下におかれた場合、腫瘍細胞が反応して出現するという考え¹⁾が妥当と言えよう。

V 結 語

Astrocytic glioma 再発後の剖検脳の検索により、腫瘍細胞自体の形態学的変化のなかで、特徴的な所見の一つは特異細胞の出現であった。これらは MC, GC, GMC の 3 型に大別され、MC は 150 μm 以上、GC は 100~150 μm 、GMC は 100 μm 前後の大きさで、前 2 者は多核、後者は単核であった。GFAP 染色では、MC は陰性、GC は陰性と陽性細胞が混在、GMC は陽性であり、いずれも腫瘍周辺、壊死周辺、および血管中心性に認められた。これらの細胞は不利な生物学的環境下にさらされた腫瘍細胞が退行性変化をきたしたものと考えられた。

本論文の要旨は、第 44 回日本脳神経外科学会総会(1985 年 10 月、長崎)において発表した。

文 献

- 1) 藤田豊久: ヒト glioblastoma 由来の培養細胞における giant cell の出現動態. 奈良医誌 34: 666-679, 1983
- 2) Gerstner L, Jellinger K, Heiss WD, Wöber G: Morphological changes on anaplastic gliomas treated with radiation and

- chemotherapy. *Acta Neurochir (Wien)* 36: 117-138, 1977
- 3) Gluszc A: Grouping of supratentorial gliomas according to their dominant biomorphological features. *Acta Neuropathol (Berl)* 22: 110-126, 1972
 - 4) Hoshino T, Wilson CB, Ellis WG: Gemistocytic astrocytes in gliomas. An autoradiographic study. *J Neuropathol Exp Neurol* 34: 263-281, 1975
 - 5) Jellinger K: Changes induced in anaplastic gliomas and brain tissue as a result of treatment, in Voth D, Krauseneck P (eds): *Chemotherapy of Gliomas*. Berlin, de Gruyter, 1985, pp 153-176
 - 6) Lala PK, Patt HM: Cytokinetic analysis of tumor growth. *Proc Nat Acad Sci USA* 56: 1735-1742, 1966
 - 7) 小柏元英, 中太政広, 麻生有, 前田達浩, 横山治久, 竹内一夫, 赤井契一郎: 神経膠腫の再発機序に関する形態学的研究—腫瘍細胞の進展と angiogenesis を中心に—. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 25: 1010-1018, 1985
 - 8) 小柏元英, 竹内一夫, 赤井契一郎: 悪性神経膠腫にみられた monstrous cell. *脳と神* 33: 733-742, 1981
 - 9) Rubinstein LJ: Tumors of neuroglial cells, in *Tumors of the Central Nervous System*. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C., 1972, pp 19-85
 - 10) Schiffer D, Giordana MT, Buoncrisiani P, Paoletti P: Human malignant gliomas treated with chemotherapy. A pathological study. *Neurosurgery* 3: 344-347, 1978
 - 11) Schiffer D, Giordana MT, Paoletti P, Sofietti R, Tarenzi L: Pathology of human malignant gliomas after radiation and chemotherapy. *Acta Neurochir (Wien)* 53: 205-216, 1980
 - 12) Schiffer D, Giordana MT, Sofietti R, Saolla R: Histological observations on the regrowth of malignant gliomas after radiotherapy and chemotherapy. *Acta Neuropathol (Berl)* 58: 291-299, 1982
 - 13) Schiffer D, Giordana MT, Sofietti R, Tarenzi L, Milani R, Vasario E, Paoletti P: Radio- and chemotherapy of malignant gliomas. Pathological changes in the normal nervous tissue. *Acta Neurochir (Wien)* 58: 37-58, 1981
 - 14) Tannock IF: A comparison of cell proliferation parameters in solid and ascites Ehrlich tumors. *Cancer Res* 29: 1527-1534, 1969
 - 15) Willson N, Duffy PE: Morphologic changes associated with combined BCNU and radiation therapy in glioblastoma multiforme. *Neurology (Minneapolis)* 24: 465-471, 1974
 - 16) Zülch K: *Brain Tumors, Their Biology and Pathology*, ed 3. New York, Springer, 1986, pp 210-221
- 〔別刷請求先: 〒181 東京都三鷹市新川6-20-2, 杏林大学脳神経外科, 小柏元英〕