Low Grade Glioma の病態

特に悪性化の機序に関する研究

小柏 元英・麻生 有二・前田 達浩・横山 治久・原 充弘・竹内 一夫

Clinicopathological Study on Low Grade Glioma

In Relation to Malignant Transformation

Motohide OGASHIWA, Yuji ASOH, Tatsuhiro MAEDA, Haruhisa YOKOYAMA,
Mitsuhiro HARA and Kazuo TAKEUCHI

Department of Neurosurgery, Kyorin University, Mitaka, Tokyo

Abstract

The clinical status of patients with glioma is influenced by 1) the histological malignancy of the tumor, 2) the tumor volume, 3) secondary status such as brain edema or intracranial hypertension due to the tumor, and 4) the host immunity. Due to some improvement in at least 2) and 3) by the initial treatment, most low grade glioma cases pass through a clinically silent postsurgical period. However, at a certain point, transition to a high grade tumor malignant transformation may occur with exacerbation of the symptoms. Twenty-two cases of histologically established low grade glioma experienced over the past 7 years, in which immunological status was evaluated, were analyzed. Nine cases (41%) showed malignant transformation. Characteristic pictures of the clinical symptoms, computed tomography (CT) scan findings, immunological status, and morphological findings (mainly immunohistochemical examination) in nine cases were delineated. The findings at the time of exacerbation of the symptoms were as follows. In all cases CT scan demonstrated the change in the main lesion from low density to mixed density and were compatible with a high grade glioma. Reduction in host immunity was verified. Morphological increase in the tumor volume, increase in histological malignancy and deterioration in the secondary status due to the tumor were confirmed. Necrosis of the tumor cells as well as increase in giant cells and gemistocytes were observed. Immunohistochemical analysis revealed a decrease and irregularity in glial fibrillary acidic protein positive cells and positive processes as well as increase in vimentin intensity. These findings demonstrate change in the biological characteristics of the tumor. It was not possible, however, to clarify the factors causing malignant transformation in low grade glioma.

Key words: low grade glioma, malignant transformation, immunity, immunohistochemical analysis

I はじめに

low grade glioma は組織学的異型度が低く、寛解期導入

療法により腫瘍容積の減少や二次的病態の改善が期待されるため、術後臨床的に一定期間 silent¹⁹⁾で経過し、長期の寛解を維持することができる。しかし、ある時点で腫瘍細

杏林大学脳神経外科

Address reprint requests to: M. Ogashiwa, M.D., Department of Neurosurgery, National Center of Neurology and Psychiatry, 4-1-1 Ogawahigashi-cho, Kodaira, Tokyo 187.

受稿 1987年12月21日 受理 1989年3月10日

胞が active に転じると腫瘍の再増大が生じ、症状が再燃して再発と診断されることになる。このとき同時に腫瘍細胞の異型化を伴うものが腫瘍の悪性化、すなわち malignant transformation である。low grade glioma の多くの症例は臨床的にも良性であるが、悪性化の可能性があるために長期観察が必要であり、いったん悪性化が生じると high grade glioma と同様に転帰不良となる。この事実は腫瘍の発生、悪性化、腫瘍の生物化学的特性を論じるに当り重要であるが、その病態や悪性化の機序はなお不明である。そこで我々は、glioma の悪性化に関与する要因を retrospective に検討し、low grade glioma の病態解明に努めた。

II 対象および方法

1986年以前の7年間に当科に入院した成人テント上 low grade glioma 35例のうち、組織像が十分観察できる生検が得られ、かつ宿主免疫能と腫瘍組織の免疫組織学的検索を行えたものは22例であった。

臨床的所見としては病歴期間、臨床症状、腫瘍の局在、CT 所見、治療、転帰、免疫能を取り上げ、組織学的所見として HE 染色のほか免疫組織学的所見を加えた。免疫能は、遅延型皮膚反応(purified protein derivative: PPD, および phytohemagglutinin: PHA)、PHA に対するリンパ球幼若化現象、リンパ球サブセットの OKT4/OKT8 比、血清補体価を検査した。組織学的所見は腫瘍細胞密度、異型度、多形性、核分裂、血管新生、壊死、巨細胞や肥胖細胞の出現につき検討した。免疫組織学的検索には peroxidase antiperoxidase (PAP)¹²⁾法を用いた。一次抗体には10倍希釈の家兎抗 glial fibrillary acidic protein (GFAP)抗体(日本ターナー、神戸)、50倍希釈の家兎抗 neuron specific enolase (NSE)抗体(免疫生物研究所、群馬)およびマウス抗 vimentin 抗体(日本ターナー)を用いた。二次抗体には、peroxidase 標識抗家兎 IgG (400倍希釈)、または抗マウス IgG (200倍希釈)を用いた。反応強度の判定は、対照とする正常星細胞および神経細胞の染色性と反応の強弱をもとに染色強度を判定し、vimentin では陽性細胞を検索した。

以上の方法により、22例の low grade glioma のうち再発時に組織学的異型化を示した症例(悪性化群)について、その病態の特徴を明らかにすることを試みた。

III 結 果

22例全例において、手術時(再発例では初回手術時)の生検材料はすべて grade 2 astrocytoma であった。このうち再発時に悪性化を認めたものは9例(41%)であり、8例が grade 3 に変化し、1例(Case 4, Fig. 1)は剖検で grade 4 と確認された(Table 1)。grade 3 の8例中、1例(Case 5)は

Table 1 Location of tumor, recurrence, histologically malignant transformation and outcome in 22 cases with low grade glioma

Case No.	Age, Sex	Location of tumor	Recurrence	Malignant transformation (Grade)	Outcome (Follow-up period)
1	34, F	lt. F	+	+(2→3)	died
2	43, M	lt. F	+	+(2→3→4)	died
3	52, F	lt. P	+	+(2→3→4)	died
4	36, F	lt. Th	+	+(2→4)	died
5	41, M	rt. F	+	+(2→3→4)	died
6	53, M	rt. F	+	+(2→3)	died
7	18, M	rt. T	+	+(2→3)	alive (3 yrs)
8	58, F	rt. F	+	+(2→3)	alive (2 yrs 6 mos)
9	41, M	rt. F	+	+(2→3)	died
10	50, M	lt. F	-	-	alive (2 yrs)
11	27, M	rt. F	-	-	alive (2 yrs 1 mo)
12	62, M	rt. P	-	-	died
13	32, M	rt. F	-	-	died
14	36, F	lt. F	-	-	alive (2 yrs 10 mos)
15	27, M	lt. P	-	-	alive (5 yrs 3 mos)
16	28, F	rt. P	+	-	alive (5 yrs)
17	50, M	rt. P	-	-	alive (2 yrs 3 mos)
18	40, M	lt. F	+	-	alive (5 yrs)
19	35, M	rt. F	-	-	alive (2 yrs 2 mos)
20	48, F	rt. T	-	-	alive (5 yrs 7 mos)
21	41, M	rt. F	-	-	alive (10 yrs 10 mos)
22	25, M	rt. F	-	-	alive (13 yrs)

F indicates frontal lobe; P, parietal lobe; T, temporal lobe; Th, thalamus.

さらに手術で(Fig. 2)、また2例(Case 2, 3)は剖検でそれぞれ grade 4 と診断されたが、3例では剖検でも grade 3、残る2例は現在も生存中である。したがって、死亡7例の組織学的所見は grade 3 が3例、grade 4 が4例であった。初回手術から症状再燃時までの期間は2~13年、平均4年3ヵ月であった。

一方、悪性化が認められなかった13例では、Case 12・13の2例がおのおの術後1年、11ヵ月で腫瘍死した。また Case 16・18はいずれも5年後に再発し再手術が行われたが、組織学的所見は初回と同様 grade 2 であった。

悪性化群の初発症状としてはてんかん発作が多く(8例、89%)、いずれの症例も高年初発てんかんに対し長期間抗てんかん薬を服用していた(Table 2)。このような症例は CT 上低吸収域を呈することが多く、nonenhancing low density glioma としてすでに報告されている^{8,9)}。発症から

Fig. 1 Case 4 Morphological and immunohistochemical features A-C Specimen taken at first surgery demonstrating grade 2 astrocytoma The capillary wall is thickened D-F Specimen taken at second surgery demonstrating grade 4 astrocytoma Pleomorphism of tumor cells, increase in cellularity, absence of glial fibrillary acidic protein (GFAP) positive cells and positive staining for factor 8 (F-8) in the capillary endothelia are noted HE stain (A, D), GFAP stain (B, E), and F-8 stain (C, F), $\times 200$

Fig. 2 Case 5 Morphological and immunohistochemical features A-D Grade 2 astrocytoma taken at first surgery E-H Specimen taken at recurrence demonstrating grade 3 astrocytoma Pleomorphism, large bizarre cell, decrease of GFAP positive cells, increase of vimentin positive cells are disclosed HE stain (A, E), GFAP stain (B, F), vimentin stain (C, G), and F-8 stain (D, H), $\times 200$.

初回手術までの期間は、1年以内が4例、1～5年4例、5年以上1例であった。また手術から再発症状出現までの期間は1～5年が6例、5年以上3例であった。CT所見をみると、初回CTが施行できた5例中3例では、病巣は低吸収域で増強効果はなかった。しかし、再発時には5例全例でなんらかの増強効果を示し、mass effectも強く、high grade gliomaの所見に一致していた。さらに、悪性化群では初回入院時の免疫能は低下しており、特に細胞性免疫能

の指標であるPPDおよびPHA、リンパ球T細胞幼若化現象の低下はおおの6例中5例、7例中6例に認められた。

悪性化群9例における初回採取標本の組織学的検索結果をTable 3に示す。腫瘍細胞密度は低く、血管成分は少なく、細胞の多形性や核分裂像を示すものはなかった。壊死はmicrocystic degenerationで、56%にみられた。また、巨細胞や肥胖細胞の出現は少なく、初回の形態学的所見は

Table 2 Clinical summary in nine cases showing malignant transformation (Group 1) compared with 13 cases without malignant transformation (Group 2)

	Group 1	Group 2
Presenting symptoms		
seizure	8 cases	8 cases
motor disturbance	1	4
IICP	0	1
Duration of symptoms prior to surgery		
less than 1 year	4	9
1-5 years	4	2
more than 5 years	1	2
Duration between surgery and recurrence		
less than 1 year	0	0
1-5 years	6	0
more than 5 years	3	2
Initial CT		
low density	3/5	5/10
ring enhancement	1/5	2/10
nodular enhancement	1/5	3/10
mixed enhancement	0/5	0/10
CT findings at recurrence		
low density	0	1
ring enhancement	1	3
nodular enhancement	3	8
mixed enhancement	5	1
Preoperative immunological status		
negative PPD and/or PHA	5/6	10
decrease of blastogenic response of T cell	6/7	9/12
decrease of OKT4/OKT8 ratio	0/2	6
increase of CH50	2/6	6

IICP indicates increased intracranial pressure; PPD, purified protein derivative; PHA, phytohemagglutinin.

low grade glioma に一致していた。免疫組織学的検査では、浸潤性腫瘍の細胞間に星細胞が存在しており、GFAP 陽性細胞の突起も樹枝状に認められた。突起の不規則化および腫大化を示す所見は11%、GFAP 陰性所見を示す腫瘍細胞は44%であった。また、NSE 染色性および vimentin 染色性はそれぞれ56%に認められ、その陽性所見は軽度であった。

次に、これらの症例が臨床的に再発した時点と初回発症時および手術時の所見を対比し、変化のあった項目を調査した (Table 4)。寛解期の外来通院中に運動麻痺が出現し再発を疑われた例が56%と、初回発症時(11%)に比して増加した。初回手術から症状再燃までは2~5年が67%と多く、5年以上も33%と長期寛解を示す例も少なくない。1

例 (Case 8) は13年後に再発と診断され、組織学的所見は grade 3 astrocytoma で悪性化と判定された。全例において再発時の CT では増強効果が出現し、high grade glioma の所見が認められた。宿主免疫能に関しては、PPD および PHA、PHA に対するリンパ球幼若化現象において全例異常所見を呈し、細胞性免疫能の異常^{12,24,25)} が明らかであった。しかし、OKT4/OKT8 比は40%が低下しているのみであった。組織学的所見の変化は、細胞密度の増加(初回手術時11%から再発時78%)、血管新生(67%)、壊死の出現または増加(55%から100%)、巨細胞の出現または増加(22%から78%)であった。免疫組織学的検索からは、腫瘍細胞の GFAP 染色性の消失(44%から89%)、GFAP 陽性突起の減少・不規則化または消失(11%から100%)、NSE 染色性の増加(55%から67%)、vimentin 染色性の増加(55%から78%)がみられた。

IV 考 察

glioma の生存期間を左右する主な要因は、年齢と組織学的異型度であり、年齢は65才(glioma の5年生存率: 55~64才13%、65~74才4.9%)¹⁸⁾、組織学的異型度では grade 1~4 の各群間に推計学的有意差(5年生存率は特に low grade glioma 57.6%、glioblastoma 7.2%と明瞭な差を示す¹⁸⁾) を認めている。本稿ではテント上 glioma のうち grade 2 を取り上げたが、脳腫瘍全国集計調査報告¹¹⁾ では grade 2 の5年生存率は50.2%、10年生存率38.9%と報告されている。いずれにしても、この数値は high grade

Table 3 Morphological findings at initial surgery in Group 1

Cellularity	++ +	1 case 8
Vessels	++ +	0 9
Necrosis	+	5 4
Giant cell	+	2 7
Gemistocytic cell	+	3 6
GFAP		
negative staining of tumor cell		4
irregularity of GFAP positive cell process		1
NSE		
positive tumor cell		5
Vimentin		
positive tumor cell		5

GFAP indicates glial fibrillary acidic protein; NSE, neuron specific enolase.

Table 4 Clinical and morphological findings at malignant transformation in nine cases

Signs at malignant transformation		
seizure		3 cases
motor disturbance		5
IICP		9
Duration between initial surgery and exacerbation of clinical signs		
6 months-1 year		0
1-2 years		0
2-5 years		6
more than 5 years		3
Immunological status		
negative PPD and PHA		8/8
decrease of blastogenic response of T cell		8/8
decrease of OKT4/OKT8		2/5
increase of CH50		3/8
Changes of histological features		
increase of cellularity		7
increase or occurrence of necrosis		9
increase of vascularity		6
increase or occurrence of giant cell		7
increase or occurrence of gemistocytic cell		7
Immunohistochemical findings		
GFAP	negative change	4
	negative tumor cell	8
	irregularity of GFAP positive cell process	9
	positive staining of giant cell	5/7
	positive staining of gemistocytic cell	7
NSE	positive change	1
	positive tumor cell	6
Vimentin	positive change	2
	positive tumor cell	7

glioma に比し明らかに有意である。また low grade glioma に対する放射線化学療法の効果は必ずしも明らかでない¹⁸⁾。これらの事実は、生長解析の面から、low grade glioma の BrdU による標識率が低いことから裏付けられる^{3,4)}。すなわち、low grade glioma の S 期の細胞は少ないこと^{4,13)}、cell cycle time の長いことなどから、low grade glioma は元来 active な腫瘍細胞は少なく、症状発現までに長期間を要する。本研究では、22 例中 9 例が 1 年以上の病期期間を有し、かつ主症状は 16 例がてんかん発作であった。初回 CT では 53% で増強効果²⁾がみられず、脳梗塞との鑑別を要した。てんかん発作で発症し、CT 上では大脳白質の低吸収域のみで増強効果なく、長期間他の巣症状に乏しい low

grade glioma を nonenhancing low density glioma^{8,9)} としてまとめると、low grade glioma の一種の自然経過が窺われる。

本研究では、非悪性化群のうち 2 年 10 ヶ月以上生存している Case 14~22 (Case 10~13 は観察期間が短く、また非腫瘍死例であるために除外した) と悪性化群との間で、年齢、性別、腫瘍の局在、症状、病期期間、初回 CT 所見、治療法、術前の宿主免疫能、初回手術時の組織学的所見、免疫組織学的所見の各項目において有意差は認められなかった。これらの所見から、本研究における症例は従来の low grade glioma の範疇を越えるものではなかった。少なくとも初回手術前および手術時の臨床所見、神経放射線学的所見、形態学的所見において、直接悪性化につながる特徴はなかった。また、免疫組織学的にも両群間に差はなかった。両群の NSE および vimentin 染色の強度も、諸家の報告と大差はなかった。grade 1・2 群では GFAP 優位、grade 3・4 では NSE 優位となる傾向を有すること、星細胞は腫瘍化することより、GFAP から vimentin, non neuronal enolase から NSE なる構成蛋白の変化が起こってくるとする報告が多い^{5,20,23)}が、本研究の結果もそれらの見解を支持するものであった。これらの事実は、形態学的に grade 2 と診断された時点で 10 年生存率 38.9% が期待されることを意味する。しかし、残りの 61.1% は 10 年以内に死亡し、かつ組織の異型化をきたす症例であることもまた事実である。そこで問題となるのは、寛解期を示している grade 2 glioma の異型化を促進する要因は何かということである。これを検討するに当り、形態学的異型化および臨床的悪性化をきたした 9 例において、悪性化前後での変化を検討することにより、悪性化の機序を明らかにしようとした。

low grade glioma のうち悪性化をきたした症例は 13~66%^{1,6,7,10,13)} と差はあるもののけって少ない率ではなく、またこれらの差は follow up 期間の差によるものと考えられる。再発までの平均期間は 12 ヶ月から 34 年 3 ヶ月^{6,10)} であり、長期の経過観察が必要となる。悪性化した時点での臨床的所見は、てんかん発作の増加と運動麻痺の出現、CT 上では増強効果の出現と mass effect の増大を示し、これらは high grade glioma の所見に一致するものであった^{2,15,16)}。この事実は、形態学的に細胞密度の増加(初回に比し有意、 $p < 0.05$)、血管増生($p < 0.05$)からも支持される。その他壊死の出現ないし増加($p < 0.1$)、巨細胞の出現($p < 0.1$)がみられた。免疫組織学的には、腫瘍細胞の GFAP 染色性の低下ないし消失、腫瘍細胞突起の不規則化ないし消失($p < 0.01$)、大型細胞の GFAP 陽性化、腫瘍細胞の NSE および vimentin 陽性化がみられた。このこと

は、星細胞分化型細胞が減少するのに対し、間葉系細胞の中間径 filament を構成する vimentin の増加を示し、腫瘍細胞の未分化化に伴う GFAP から vimentin への構成蛋白の変化を意味する²⁰⁾。また NSE の増加は、腫瘍細胞の異型度の増加に伴って神経細胞への dedifferentiation を示すものと思われる。すなわち、腫瘍細胞の持つ生物化学的特徴が変化したことを示唆し、腫瘍細胞の悪性化時には形態学的変化のみならず蛋白代謝、抗原性の変化も伴っていることを意味する。

glioma の異型化を促進する要因としては、手術²¹⁾や放射線照射²²⁾などの報告がみられる。しかし、本研究の結果や Müller ら¹⁰⁾の指摘することく、両者とも悪性化を促進する要因にはならないと考えられる。Rubinstein¹⁴⁾の指摘のように、腫瘍細胞の異型化は、differential cell が再び kinetic cycle に入る activity, stem cell の存在、cycle に残っている細胞の分裂能と時間的要因、腫瘍細胞の differential potential など、種々の要因の interaction によるものであろう。本研究からも、腫瘍細胞の真の異型化の要因を解明することはできなかった。

以上の検討から、low grade glioma の臨床経過は、Fig. 3 のごとく大別される。すなわち、Group 2 では長期寛解が維持され、たとえ再発しても治療による再寛解が期待される。一方、真の悪性化をきたした Group 1 では、腫瘍細胞の dedifferentiation をきたす oncogenic origin は明ら

Fig. 3 Clinical courses of patients diagnosed as low grade gliomas at initial surgery. □: low grade glioma, ■: high grade glioma. Downward deflection indicates impairment of clinical condition.

かにされなかった。また、glioma は多彩な形態を示すため、採取された標本がたまたま grade 2 の部分であり、high grade glioma の部分が残っているいわば false negative の症例が Group 1 に含まれる可能性がある。この場合、寛解期導入療法が十分行われると、high grade glioma の部分に殺細胞効果が起こるため、長期寛解がありうる。しかし、残存する high grade glioma が inactive から active に変化すると症状が再燃して再発し、high grade の部分が増大するため第2回目の手術標本は high grade glioma を示すことになる。このような例では手術標本を十分採取することが必要であるが、low grade glioma が悪性化するまでの寛解期は high grade glioma の再発に比べ長いことなどから区別することができよう。

V ま と め

テント上 low grade glioma 22例のうち、形態的に異型化を示した症例について臨床所見、神経放射線学的所見、宿主免疫能、形態学的所見を検討し、以下の結果を得た。

1. 腫瘍の再増大に伴う形態学的異型化を示す悪性化群は、22例中9例(41%)であった。

2. 年齢、病期期間、臨床症状、CT 所見、免疫能、形態学的所見から、悪性化を示唆する要因は見い出せなかった。

3. 悪性化時の臨床所見は、high grade glioma に一致する所見であった。すなわち、CT 上の増強効果、免疫能低下、形態学的な腫瘍細胞の異型化に加え、免疫組織学的に GFAP 陽性細胞の減少と消失、GFAP 陽性突起の消失、NSE および vimentin 陽性細胞の増加がみられた。これらの所見より、腫瘍細胞は形態学的異型化に加え、蛋白代謝や抗原性の変化も伴って悪性化をきたすことが明らかとなった。

4. 腫瘍細胞の dedifferentiation を促進する oncogenic origin を解明することはできなかった。

本研究の一部は、財団法人東京総合医学研究所の援助を受けた。

本論文の要旨は、第46回日本脳神経外科学会総会(1987年10月、東京)において報告した。

文 献

- 1) Áfra D, Müller W, Bonist GY, Schröder R: Supratentorial recurrence of gliomas. Results and reoperation on astrocytomas and oligodendrogliomas. *Acta Neurochir (Wien)* 43: 217-227, 1978
- 2) 青山育弘, 山下純宏, 半田 肇, 中野善久: Low grade astrocytoma の CT による経過観察. *CT 研究* 3: 679-685, 1981

- 3) Hoshino T: A commentary on the biology and growth kinetics of low-grade and high-grade gliomas. *J Neurosurg* 61: 895-900, 1984
- 4) Hoshino T, Wilson CB: Cell kinetic analysis of human malignant brain tumors (gliomas). *Cancer* 44: 956-962, 1979
- 5) 加藤恭三, 吉田 純, 小林達也, 景山直樹, 中島伸夫, 神崎正紀, 加藤兼房: 脳腫瘍における neuron specific enolase の免疫組織化学的研究. *神経病理学* 5: 59-65, 1984
- 6) 北原正和, 片倉隆一, 新海準二, 新妻 博, 吉本高志, 鈴木二郎, 森 照明, 和田徳男: テント上 low-grade astrocytoma の治療成績. *脳神経外科* 15: 597-604, 1987
- 7) Laws ER Jr, Taylor WF, Clifton MB, Okazaki H: Neurosurgical management of low-grade astrocytoma of the cerebral hemisphere. *J Neurosurg* 61: 665-673, 1984
- 8) 前田達浩, 中太政広, 麻生有二, 横山治久, 小柏元英, 竹内一夫, 赤井契一郎: 術前経過の長い glioma の病理学的特異性 —特に CT 上増強効果を示さない病巣の検討—. *Neurol Med Chir (Tokyo)* (投稿中)
- 9) 前田達浩, 岡田純一郎, 竹内一夫: 造影剤で増強されない神経膠腫 —CT 像の経時的变化—. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 24: 863-868, 1984
- 10) Müller W, Áfra D, Schröder R: Morphological studies in relation to time intervals with astrocytomas. *Acta Neurochir (Wien)* 37: 75-91, 1977
- 11) 脳腫瘍全国統計委員会: 脳腫瘍全国集計調査報告, vol 5. 東京, 1984, pp 1-108
- 12) 小柏元英, 麻生有二, 前田達浩, 横山治久, 竹内一夫: Glioma の再発機序に関する免疫学的研究. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 28: 467-472, 1988
- 13) Piepmeyer JM: Observations on the current treatment of low-grade astrocytic tumors of the cerebral hemispheres. *J Neurosurg* 67: 177-181, 1987
- 14) Rubinstein LJ: The correlation of neoplastic vulnerability with central neuroepithelial cytonony and glioma differentiation. *J Neurooncol* 5: 11-27, 1987
- 15) Silverman C, Marks JE: Prognostic significance of contrast enhancement in low-grade astrocytomas of the adult cerebrum. *Radiology* 139: 211-213, 1981
- 16) Steinhoff H, Lanksch W, Kozner E: Computed tomography in the diagnosis and differential diagnosis of glioblastomas. *Neuroradiology* 14: 193-200, 1977
- 17) Sternberger LA, Hardy PH Jr, Cuculis JJ, Meyer HG: The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in the identification of spirochates. *J Histochem Cytochem* 18: 315-333, 1970
- 18) 高倉公朋: 悪性グリオーマ治療の現状. 第46回日本脳神経外科学会総会抄録集. 1987, p 4
- 19) 竹内一夫, 原 充弘, 横田 仁: 非活動性神経膠腫. *脳神経外科* 8: 911-919, 1980
- 20) 田代賀比古, 朝長正道, 菊池昌弘: Astrocytoma 系腫瘍における免疫組織学的研究. *神経病理学* 6: 97-107, 1985
- 21) Tooth HH: Some observations on the growth and survival period of intracranial tumors. *Brain* 35: 61-108, 1912
- 22) Walter W, Müller W: Histologische Veränderungen an röntgenbestrahlten Gliomen. *Zbl Neurochir* 19: 79-90, 1959
- 23) Yen SH, Fields KL: Antibodies to neurofilament, glial filament proteins bind to different cell type of the nervous system. *J Cell Biol* 88: 115-126, 1981
- 24) 横山治久, 原 充弘, 小柏元英, 竹内一夫: 脳腫瘍の immunological monitoring —脳腫瘍患者の予後と細胞性免疫能—. *脳と神* 35: 1103-1108, 1983
- 25) 横山治久, 中太政広, 麻生有二, 前田達浩, 小柏元英, 竹内一夫: 脳腫瘍の immunological monitoring —リンパ球サブセットと遅延型皮膚反応による予後診断—. *脳と神* 37: 193-199, 1985

[別刷請求先: 〒187 東京都小平市小川東町4-1-1, 国立精神神経センター脳神経外科, 小柏元英]