

ISSN 1346-9312

Neuro-Oncology

2001, vol 11, No 2

ニューロ・オンコロジーの会

Neuro-Oncology

2001. vol 11. No 2

主題

“Low grade astrocytoma に対する治療戦略”

“遺伝子診断の臨床への貢献”

“脳腫瘍全般に関する一般演題”

第22回 ニューロ・オンコロジーの会 (2001,12)

【目次】

はじめに 研究会会長 千葉大学医学研究院 神経統御学 岩立 康男

I 脳腫瘍全般に関する一般演題【I部】

病理診断に苦渋した下垂体部腫瘍の1例	2
東邦大学	根本暁央 ほか
頸髄背側から頸椎、上部胸椎後方にひろがるPNETの1例	7
神奈川県立がんセンター	西村 敏 ほか
1年間で急速に増大したradiation induced meningiomaの1例	12
昭和大学	泉山 仁 ほか
白血病治療後に発症した小児悪性小脳腫瘍の1例	17
弘前大学	浅野研一郎 ほか
髄液播種にて発症し、診断に苦慮した、小児脳腫瘍の1例	22
旭川医科大学	程塚 明 ほか

II 脳腫瘍全般に関する一般演題【II部】

再発第三脳室chordoid gliomaの1例	27
杏林大学	菊池隆文 ほか
側脳室前角に発生したgangliogliomaの1例	31
中村記念病院	伊東民雄 ほか
脳室壁にび慢性に発生したoligodendrogliomaの1例	37
東京女子医科大学	一内視鏡所見および放射線化学療法の効果について 久保長生 ほか
右前頭葉深部に発生したPXAの1例	41
東京女子医科大学	田中雅彦 ほか
視神経膠腫、類モヤモヤ病、小脳神経膠芽腫を合併したNF1の症例	44
北里大学	久須美真理 ほか

III Low grade astrocytomaに対する治療戦略

中脳pilocytic astrocytomaの症例	48
筑波大学	坪井康次 ほか
成人diffuse astrocytoma例の長期予後～5年以上の寛解例を中心に～	51
東京医科大学	秋元治朗 ほか
杏林大学におけるlow-grade astrocytomaの治療	57
杏林大学	永根基雄 ほか
テント上diffuse astrocytomaに対する放射線単独療法の長期予後	64
北里大学	宇津木聡 ほか
Interferon-βを用いたlow grade astrocytomaの治療成績	69
日本大学	横山貴一 ほか
AstrocytomaにおけるCD98の発現と分子標的としての可能性	75
防衛医科大学校	苗代 弘 ほか

V 遺伝子診断の臨床への貢献

孤発性および家族性血管芽腫の遺伝子診断とそれに基づく治療法の選択	79
横浜市立大学	菅野 洋 ほか
DNA microarrayを用いた、グリオプラストーマ細胞株における放射線照射後の遺伝子発現の解析	83
順天堂大学	大供 孝 ほか
プロテオミクスによるグリオーマ薬剤感受性規定因子の検索	88
千葉大学	岩立康男 ほか
グリオーマ抗原遺伝子を用いた遺伝子診断および血清診断	93
慶應義塾大学	戸田正博 ほか
グリオーマ治療におけるEBMとIATの接点	95
北里研究所メディカルセンター病院	田中 聡 ほか

VI 脳腫瘍全般に関する一般演題【Ⅲ部】

新規光感受性物質Npe6を用いたグリオーマの蛍光標識	100
東京医科大学	松邨宏之 ほか
5-ALAによる悪性脳腫瘍のPhoto Dynamic Diagnosis (PDD: 術中蛍光診断)	105
筑波大学	松村 明 ほか
5-ALAと術中MRIを用いたhigh grade glioma摘出術および組織学的検討	112
東京女子医科大学	丸山隆志 ほか
GBMに対する炭素イオン治療の途中解析	117
放射線医学総合研究所	溝江純悦 ほか
Oligodendrogliomaに対する化学療法(PAV)単独による治療効果	120
千葉県がんセンター	大里克信 ほか
悪性神経膠腫に対する樹状-腫瘍細胞融合細胞ならびにインターロイキン12を用いた免疫療法	123
東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所	菊池哲郎 ほか

はじめに

この度、第22回ニューロ・オンコロジーの会のお世話を千葉大学脳神経外科で担当させていただきましたことは、大変光栄なことと感じております。貴重な機会を与えていただきました久保長生先生をはじめとする世話人の先生方、教室の山浦晶教授に心より感謝申し上げます。

今回の主題は、①遺伝子診断の臨床への貢献、②low grade astrocytomaに対する治療戦略、③脳腫瘍全般に関する一般演題、とさせていただきます。ヒトゲノム塩基配列がほぼ確定された今日、我々が手にできる情報量は飛躍的に増大し、これまで各施設で積み上げられてきた基礎研究の成果を臨床の場に還元できる日が近づいてきたように思われます。特に、今回の演題にもありましたSEREX法、DNAマイクロアレイ、プロテオミクスなどの網羅的な遺伝子発現解析法は、これまで病理学的所見のみに依存していた診断技術に新たな情報を与え、疾患単位のより詳細な階層化とそれに基づいた治療戦略の確立に寄与するものと期待されます。この主題①に関連して、九州大学遺伝情報実験センター長の林健志教授より、「ゲノムの定量的解析：SNPアレル頻度定量とマイクロサテライトを用いた脳腫瘍の客観的LOH評価」と題した教育講演をいただきました。林教授に概説していただいた一塩基多型(single nucleotide polymorphism: SNP)の解析も、疾患関連遺伝子の探索を可能にし、治療のみならず疾患の予防に役立つ技術であります。主題②は、特に放射線治療のタイミングをどのように決定するかという点を議論していただきたく設定させていただきました。多くの示唆に富んだご発表をいただき、私自身も勉強させていただきましたが、その答えは主題①にも共通する「より詳細な疾患単位の確立」にあるように思います。主題③では比較的稀な病態に関する貴重なご発表をいただきました。また、蛍光色素を用いた手術法の工夫、重粒子線治療、樹状細胞を用いた免疫療法など新たな治療法に関するご発表もあり、21世紀へ向けて希望の光が見えたような気がいたしました。近い将来、グリオーマのより詳細な疾患単位が確立され、多数の選択肢の中からそれぞれの病態に応じた最適な治療法を選べるようになることを期待しております。

全体として29題という多数のご演題をいただき、お世話をさせていただく立場としてこれに勝る喜びはありません。本当にありがとうございました。一方で、限られた時間のなかで多くの方々にご不便をおかけしたのではないかと危惧している次第ですが、会員の皆様のご協力と座長の先生方のご尽力により要点を押さえた議論ができたことに重ねて感謝申し上げます。最後になりましたが、日本の脳腫瘍研究の牽引役として本研究会がますます発展し、脳腫瘍の患者さんにとって真に有用な情報が発信されていくことを祈念いたします。

第22回ニューロ・オンコロジーの会
研究会会長
千葉大学大学院 神経統御学 岩立 康男

病理診断に苦渋したトルコ鞍部腫瘍の1例

Pituitary carcinoma presented difficulty in diagnosis

東邦大学第一脳神経外科

根本 暁央、清木 義勝、三瓶 健二、横田 京介、柴田 家門

【はじめに】

下垂体癌は下垂体前葉の新生物であり、非常に稀な疾患である。他臓器癌における悪性度は、一般に核の異型性や多形性、分裂像、壊死、出血の存在や浸潤性などの組織学的基準で判定されるが、下垂体癌においては腺腫との鑑別が困難であることより全身または脳脊髄液に転移を認めるで判定される事が多い。その理由として腺腫は臨床的に良性の経過を呈するが、細胞の異型性が強かったり、浸潤を認めることが稀ではないからであるとされる。今回、我々は、明らかな臨床的悪性経過を呈し、さらに組織学的にも悪性の所見を呈したものの病理診断に苦渋した下垂体癌の1例を経験したので報告する。

【症例】

症例：62歳 女性

主訴：全身倦怠感

現病歴：平成12年10月頃より全身倦怠感が出現し、食欲低下・頭重感を自覚した。近医(脳神経外科)を受診し、頭部MRIを施行したが、異常は指摘されなかった。次第に症状の進行を認めたために、平成13年1月に当院心療内科を受診、うつ病の疑いにて入院となった。入院後、症状が増悪、また、右外転神経障害による複視が出現したことより頭部MRIを施行したところ、トルコ鞍部に腫瘍と思われる異常所見が認められたことより2月に当科転科となった。

既往歴：(1)22歳 虫垂炎(2)28歳 卵巣のう腫(3)40歳 乳房切除術(病名不明、良性腫瘍と説明をうけた)
入院時所見：全身倦怠感(頭重感・食欲低下・睡眠障害)、右外転神経麻痺による複視四肢の運動及び感覚障害(-)

入院時検査所見：血液・生化学・尿検査は正常。髄液検査では蛋白143細胞数492(Mono:Poly=484:8)と上昇していた。内分泌学的検査では、ACTH・Cortisol・TSH・PRL・GH等の基礎値の低下は認められなかった。感染症検査 カンジタ抗体・アスペルギルス抗体・クリプトコッカス抗体すべて陰性。腫瘍マーカー CA-125・CEA・SLX・NCC-ST439・BCA225・

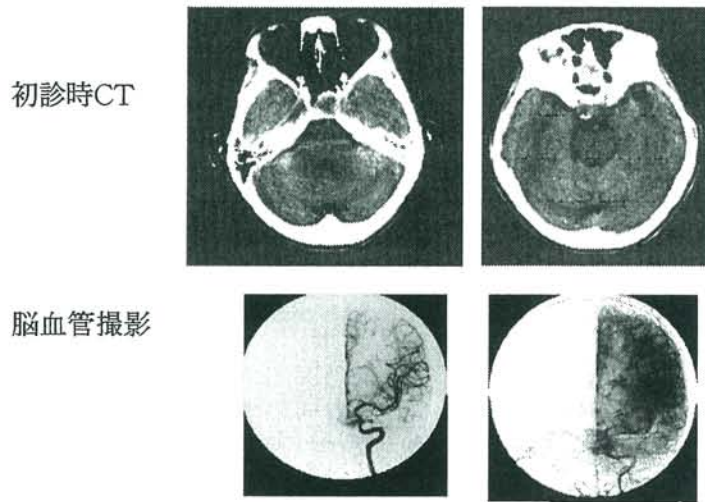
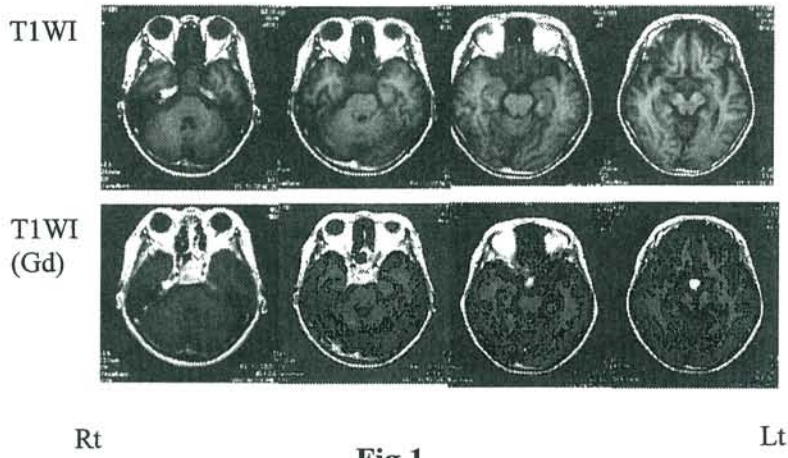
SCC等の主たるマーカーは陰性であった。

画像所見：入院時の頭部CT上、蝶形骨洞よりトルコ鞍内に iso-density の mass が認められ (Fig.2)、当院転科時のトルコ鞍部断層写真では鞍底部の破壊像が認めらる。頭部MRIのT1強調画像のAxial像では、蝶形骨洞よりトルコ鞍内また鞍上部に iso-signal な mass が認められ、Gd-DTPAによって強く造影され海綿静脈洞への浸潤も認められた (Fig.1,3)。脳血管撮影では、両側内頸動脈撮影によって、トルコ鞍を中心として腫瘍濃染像を認め、左内頸動脈サイフォン部の辺縁不整、極小化を認めた (Fig.2)。

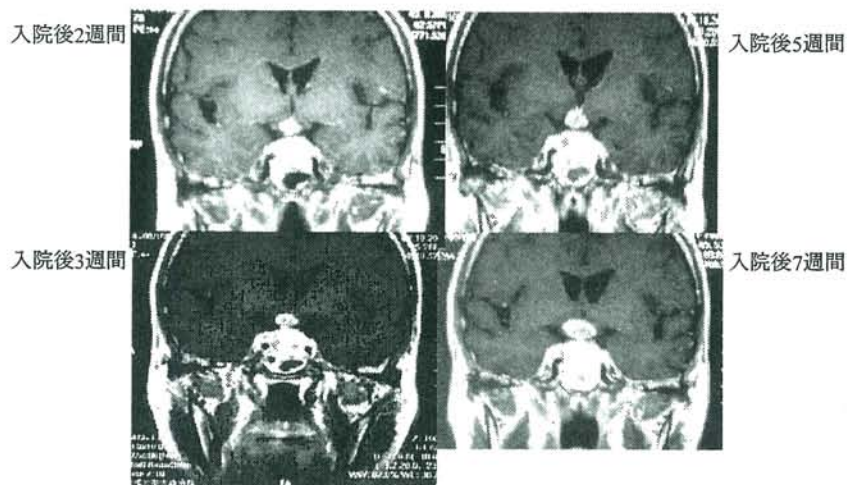
転科後の経過：唾液や鼻水に少量の血液の混入あり、耳鼻科にて精査を行うも咽頭部～鼻腔に悪性所見なし。転科数日後より軽度の意識障害・眼筋麻痺が出現、経過で全眼筋麻痺となり尿崩症が出現、汎下垂体機能不全となり補充療法を開始した。転移性下垂体腫瘍を疑い全身CT・ガリウム・トリウムを行うも頭部を除く明らかな異常所見は認められなかった。髄液の培養検査も陰性で髄液細胞診も Class-Iであったことより浸潤性の下垂体線種、髄膜腫の可能性が考えられたが、断定できる術前診断は得られず経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術が施行された。

手術所見：蝶形骨洞から観察される下垂体窩底はPinkishな腫瘍が所々より突出しておりほとんどの鞍底部は腫瘍により破壊されており頭蓋内からの進展と思われた。摘出した腫瘍は軟らかく、易出血性であり出血量が多く止血困難であったことから生検にとどまった。摘出した病理所見は、核の大小不同があり、N/C比の高い核クロマチンの増量や核小体の顕在化が認められた。腫瘍細胞は壊死傾向にあり、MIB-1 20%と増殖性の強い腫瘍と思われたが、診断を確定できず、後日、腫瘍摘出術(経蝶形骨洞)を施行した。腫瘍は前回よりも易出血性となっており摘出には困難を極めたものとなった。病理所見は、全体的に胞体が淡明で広い上皮性の細胞が増成しており上皮性様の細胞はEMAに陽性一部ビメンチンに陽性であった。腫瘍内部より摘出したものより異型細胞のごく一部に顆粒状の好酸性な細胞が集簇してお

初診時MRI



経時的MRI画像



り、免疫学的に研究したところ、GH・PRLに陽性所見を示していた事から最終的診断として下垂体癌に矛盾しないものと考えた (Fig.5,6)。

術後経過：意識障害が進行し、腫瘍の増大とともに腫瘍付近にCTにて低吸収域が出現し積極的な治療を行う事ができずに当院入院後約9週間で腫瘍増大による死の転帰をとった (Fig.4)。

【考察】

トルコ鞍部の骨破壊を認め、経時的な画像検査にてトルコ鞍部を中心とした腫瘍であり、MRIにてT₁、T₂で延長しGd-DTPAでの著名な増強効果を認めた事より下垂体腺腫を第一に考えた。炎症性病変も完全には否定はできなかったが、生検の結果下垂体癌であった。初発症状は頭痛、複視などの所見が認められ、CT、MRIから海綿静脈洞に浸潤した下垂体腫瘍による特異的症状と思われたが、症状の進行は速く非特異的経過であった。鑑別診断として、髄膜腫、転移性腫瘍、頭頸部癌の頭蓋底からの浸潤、炎症性肉芽腫を考えたが、悪性腫瘍の全身検索・耳鼻科的精査・感染症検索・、脳血管撮影結果よりトルコ鞍部を発生部位とした下垂体腫瘍に合致すると思われた。トルコ鞍部に発生する病変は、CAMP&DOG (Craniopharyngioma, Aneurysm, Meningioma, Pituitary adenoma, Dermoid cyst, Optic glioma, Germinoma)として知られている。稀ではあるが、非腫瘍性のもので真菌症、サルコイドーシスなどの非腫瘍性病変が挙げられる。

下垂体腫瘍は大きさが径10mm未満のmicroadenomaと径10mm以上のmacroadenomaに分けられているが、特に腫瘍が下垂体被膜を越え、海綿静脈洞や骨に進展しているものはものはinvasive macroadenomaといわれており¹⁰⁾、臨床的に良性の経過を呈するが、細胞の異型性が強かったり局所浸潤を認めることが稀ではない^{8,10)}。本例では腫瘍径は3~4cmもあり海綿静脈洞に浸潤がみられたが、invasive adenomaのような境界が明瞭なものではなかった。下垂体腫瘍は1)組織学的に良性であるにも関わらず転移を来す事がある。2)臨床的に良性の経過を呈するが、細胞の異型性が強い事がある。3)局所浸潤を認めることが稀ではない、などが特徴とされている^{1,2,8,14)}。下垂体腫瘍の細胞像について良性、悪性の区別については多くの報告^{1,2,8,12-14)}があるが、invasive macroadenomaではかなりの細胞異型性を示す場合があり、診断に際しては臨床情報を十分に参考にすることと細胞増殖能にも注意を払う必要があるとされる。

一方、下垂体癌の頻度は下垂体腫瘍の0.2%とされており非常に稀である。下垂体癌の診断は、細胞異型の強さ・核分裂像・壊死巣等の組織学的悪性度に

よって診断されていたが、その特徴として、1)脳や視神経に浸潤し、髄膜腔へも播種する稀な下垂体腫瘍である。2)骨・肝臓・肺・リンパ節への転移もする。3)著明な悪性像を呈さずに遠隔転移を来す症例もある、が挙げられる³⁾。また、他臓器から下垂体への転移は珍しくないで、下垂体癌と診断するには原発巣と転移巣の比較検討が必要であるとの意見^{1,2,4-6,9,12)}もあり、臨床症状のみで診断がつきにくい¹¹⁾。そのうち約75%はホルモン産生腫瘍、約25%が無機能性腫瘍である^{4,13)}。臨床症候はホルモン過剰による内分泌症状や悪性化による浸潤・転移・播種は、ホルモン産生腫瘍の中でもACTH産生下垂体癌が最も認めやすいとされている^{4,7,13)}。

本症例は、当初の画像検査より下垂体腺腫を疑い経蝶形骨洞腫瘍摘出術を行ったが、止血困難であったために生検のみとなったが診断がつかず再度生検を行い下垂体癌と診断した。初回生検組織は壊死及び細胞の異型が強く認められ、全体は上皮性の細胞が増殖していた。2回目生検組織にて異型細胞のごく一部に胞体が顆粒状で好酸性な細胞が集簇、免疫組織学的研究よりGH及びPRH陽性所見を示したことより下垂体癌に矛盾しないと思われた。生検より得られた組織像の特徴として初回は全体が脱分化の所見を強く表しており(非特異的部位)2回目で下垂体に分化する細胞(特異的部位)がごく一部に認められ、これにより診断することができた。骨・肝臓・肺・リンパ節への転移は認められないものの、本症例は画像上、発症より約4ヵ月で死の転帰をとっており経過が急速であり、病理学的、放射線学的所見、臨床経過より下垂体癌と最終的に診断、ホルモン非産生性下垂体癌の非常に稀な1例であった。術中所見や短期間での腫瘍増大と進展様式及び臨床症状は明らかな悪性像を呈しており易出血性の腫瘍であったことから生検組織はごく少量であり、結果的に診断に苦慮したが、retrospectiveにみると海綿静脈洞に浸潤が不明瞭に認められ、脳や脳神経に浸潤していた事・転移性腫瘍や頭頸部癌が否定された事に臨床経過より下垂体癌を考えるのが妥当であったかもしれない。下垂体癌も念頭におき確定診断のための十分な生検を考慮すべき1例であった。

【結語】

1. 急速な臨床経過を呈した稀な原発性無機能性下垂体癌の1例を経験した。
2. 易出血性の腫瘍であたため十分な生検が行えずその診断に苦慮したが、再度行った生検よりごく一部に下垂体に分化する悪性所見に加え免疫組織学的所見より下垂体癌と診断した。
3. 本症例においては明らかな転移巣は認められなかったが、短期間での腫瘍増大により死の転帰をと

入院9週間後

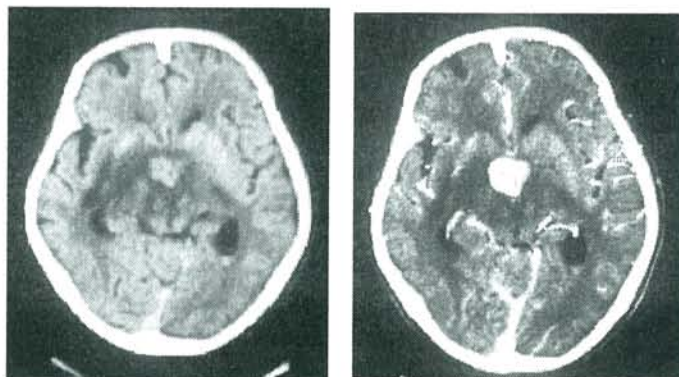
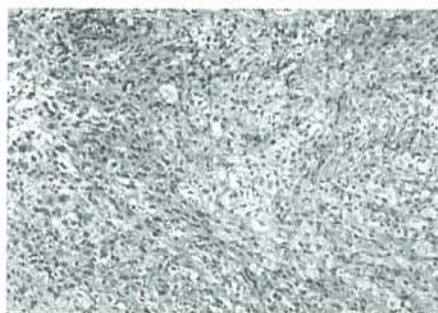


Fig.4

HE stain-1

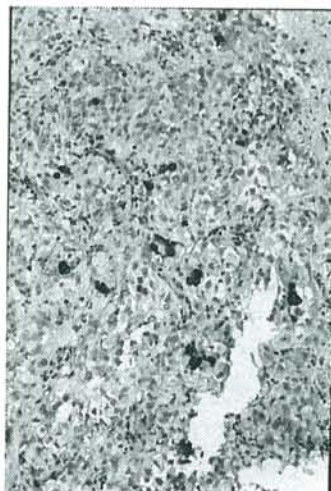


HE stain-2



Fig.5

GH stain



PRLstain

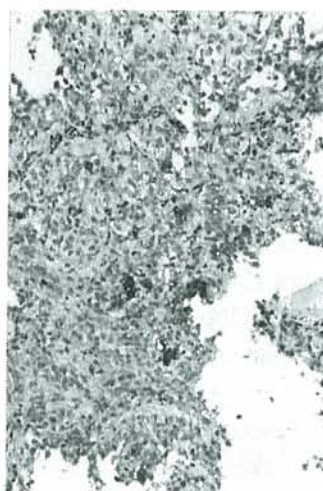


Fig.6

った。

【参考文献】

- 1) Pernicone PJ, Scheithauer BW, Sebo TJ, Kovacs KT, Horvath E, Young WF Jr, Lloyd RV, Davis DH, Guthrie BL, Schoene WC.: Pituitary carcinoma : a clinicopathologic study of 15 cases, Cancer 1997 Feb 15;79(4):804-12
- 2) Zafar MS, Mellinger RC, Chason JL: Cushing's disease due to pituitary carcinoma, Henry Ford Hosp Med J 1984;32(1):61-6
- 3) 脳腫瘍全国統計委員会 : 脳腫瘍全国統計調査報告, Vol.9、1996
- 4) Renagachry, SS, et al : Pituitary carcinomas. In Neurosurgery, Vol(ed by Wilkins RH, et al). P1329-1333, McGraw-Hill, New York, 1996
- 5) Nudleman KL; Choi B; Kusske JA Primary pituitary carcinoma : a clinical pathological study. Neurosurgery 1985 Jan;16(1):90-5
- 6) Lormeau B, Miossec P, Sibony M, Valensi P, Attali JR. Adrenocorticotropin-producing pituitary carcinoma with liver metastasis. J Endocrinol Invest. 1997 Apr;20(4):230-6.
- 7) 一色郁子、今福俊夫 他 : ACTH 産生性下垂体癌の 1 例、ホルモンと臨床 Vol147 1999
- 8) 細胞異型の目立った成長ホルモン産生巨大下垂体腺腫の 1 例 : 日本臨床細胞学会雑誌 第 39 巻 199-203
- 9) Pichard C, Gerber S, Laloi M, : Pituitary carcinoma: report of an exceptional case and review of the literature、J Endocrinol Invest 2002 Jan;25(1):65-72
- 10) 佐野寿昭. 臨床内分泌病理診断学(笹野伸昭編). 東京 : 医歯薬出版、1994、92~104
- 11) 甲斐美咲、布引治 他 : 脳脊髄液中に腫瘍細胞を認めた下垂体癌の 1 症例 - 免疫細胞学、免疫電子顕微鏡的観察 - . 日臨細胞誌 1994 ; 33、1092~1097
- 12) Nudleman KL, Choi B, Kusske JA. : Primary pituitary carcinoma : a clinical pathological study, Neurosurgery 1985 Jan;16(1):90-5
- 13) 石井則宏、渡辺明良 他 : 全身転移を来した ACTH 産生下垂体癌 1 例、脳神経外科速報 Vol.8 No.11 885~890
- 14) 松本一仁、池崎福治 他 : 細胞異型の目立った成長ホルモン産生巨大下垂体腺腫の 1 例、日本臨床細胞学会雑誌 2000 ; 39 : 199~203

頸髄背側から頸椎、上部胸椎後方にひろがる PNET の一例

A case report of PNET in cervical spinal epidural space and post-vertebral muscle

神奈川県立がんセンター脳神経外科

西村 敏、久間 祥多

【はじめに】

Primitive neuroectodermal tumor (PNET) という用語は、中枢神経系のみでなく末梢神経系の腫瘍などを含む包括的な概念となり、混乱を招く結果となっている。今回当施設でperipheral PNETと診断された一例を経験したので治療と経過について報告する。

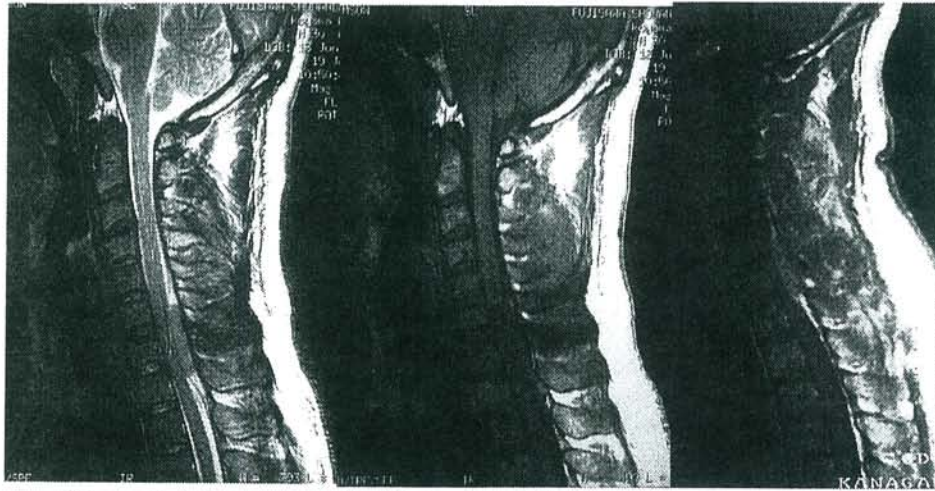
【症 例】

症例は30歳の男性で、2001年5月頃より後頸部の腫瘍で発症した。後頸部痛を主訴として同年6月21日に当科へ紹介初診し、6月22日に入院した。治療前のMRIでは、C6~Th1のレベルの脊髄硬膜外腔にT2WIにてやや高信号、T1WIにてやや低信号、Gd-DTPAにて著明な造影効果を示す占拠病変を認め、またC3~Th4のレベルの後脊柱筋内にT2WIにてやや高信号、T1WIにてやや低信号、Gd-DTPAにて不規則な造影効果を示す占拠病変を認め、さらにC7の棘突起は、T1WIにて低信号を示した(→Fig.1a,b)。CTでもC7の棘突起は、erosiveな変化が観察された(→Fig.2)。後頸部腫瘍に対して、6月22日にはneedle biopsyが施行された。病理所見は、小円形から類円形の核がクロマチンに富む比較的均一な異型細胞が、細かい硝子様の間質を伴いながら密に増殖していた(→Fig.3)。ところどころロゼット様の配列がみられた。LCA(-)、L26(-)、CD79a(-)、UCHL-1(-)、CD3(-)等リンパ球系の免疫組織染色は全て陰性であった。神経系の免疫組織染色ではNSE(+)、Vimentin(+)、GFAP(-)、N-CAM(-)であった。以上よりPNETと診断された。また6月25日には上咽頭部の生検を施行したが、これは正常リンパ腺組織であった。入院後急激に脊髄圧迫症状が進行し、6月25日には歩行不能となったため、やむを得ず頸椎の腫瘍部へ局所照射を6月26日~7月2日まで、総量11.1Gy施行した。施行後急速な下肢麻痺の改善と、MRI画像上でも占拠病変の著明な縮小をみた(→Fig.4)。7月3日にはopen biopsyを施行した。病理所見は、免疫組織染色でp30/32MIC2(+)

NSE(+)、Synaptophysin(+)、N-CAM(-)で前回の所見とあわせてもPNETと診断された。その後化学療法が施行された。化学療法は原則として、IFOS(2.5g/m²:day1-5) + VP-16(100mg/m²:day1-5)とIFOS(2g/m²:day1-3) + Adr(30mg/m²:day1,2)を交互に4週間毎に、全部で6コース施行した。Fig.5a,bはその途中経過であるが、著明な脊髄硬膜外病変の縮小をみている。後頸部の腫瘍にもかなりの縮小がみられる。Fig.6は臨床経過のまとめであるが、病理診断の確定、局所照射、化学療法を施行し、最終的に'01.11.20に椎弓切除を含んだ摘出術を施行している。今後は病変部を包括する局所照射とさらに数コースの化学療法を計画している。

【考 案】

PNETは1973年にHart & Earl¹⁾が始めて若年者の大脳に発生した未分化な神経外胚葉細胞から成る腫瘍に対して使用したのに始まり、1983年Rorke²⁾によって局所や部分的な腫瘍細胞の分化方向に関係なく未分化な腫瘍細胞から成る種々の腫瘍すべてに対して使用するに至った。さらに包括的な概念として1986年Dehner³⁾が"central"と"peripheral"PNETを提唱するに至って、分類上混乱を招く結果となっている。1993年のWHO分類、1995年の脳腫瘍取扱い規約では、小脳以外に発生した組織学的に髄芽腫と類似した腫瘍としている。また、いわゆるperipheral PNET (PNETとEwing's sarcoma)は染色体異常t(11;22)(q24;q12)が殆どの症例でみられ^{4,5)}、MIC2 geneを発現していると推定され、glycoprotein p30/32MIC2が産生されている^{6,7)}と考えられている。またPNETはVimentin、NSE、Synaptophysinなどで免疫組織染色されることで神経系へ分化がみられるものをとされ、分化がみられないより未分化なものはEwing's sarcomaと分類されている。現在では、peripheral PNETが一つのtumor entityを成すものと考えられてきており、central PNETは予後が多くは不良であるのに対して^{8,9)}、peripheral

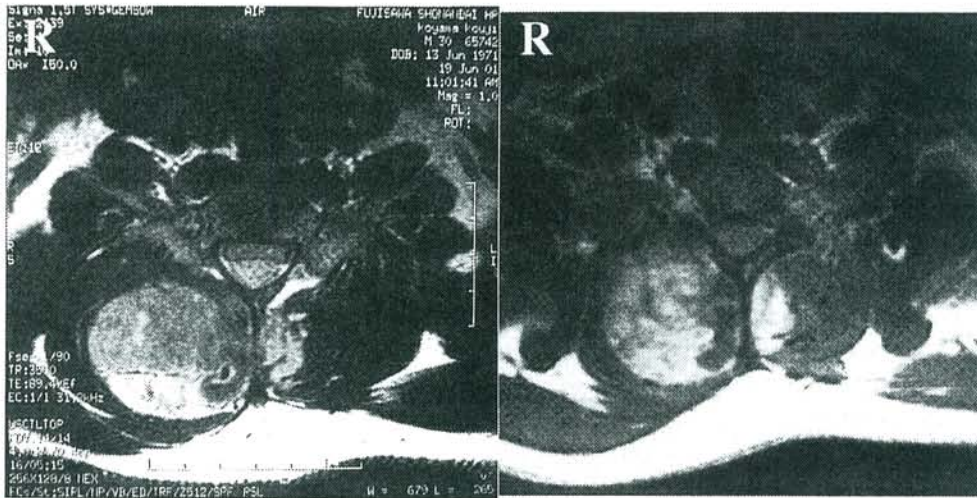


'01.6.13/T2

'01.6.13/T1

'01.6.25/Gd

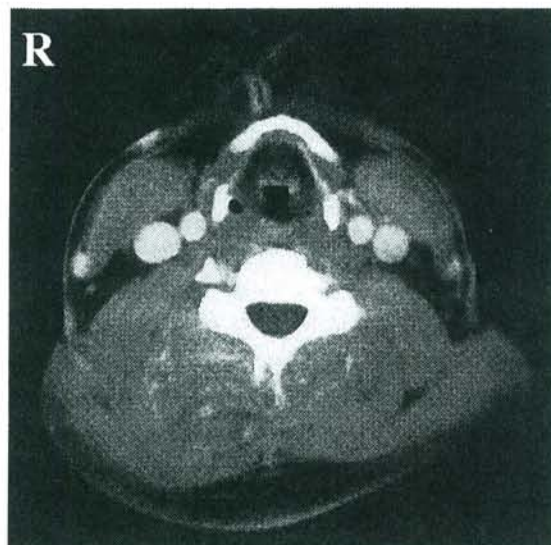
Fig.1a



'01.6.13/T2

'01.6.25/Gd

Fig.1b



'01.6.29/CT(E)

Fig.2

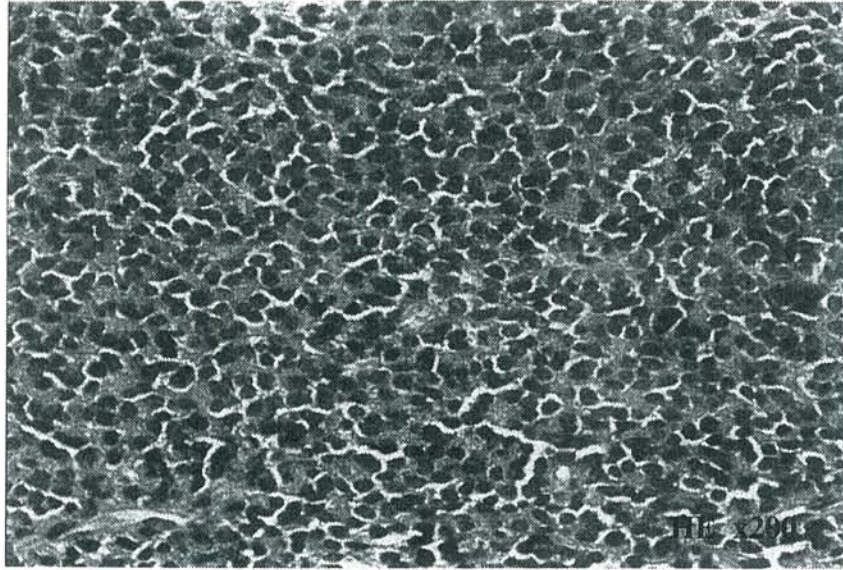
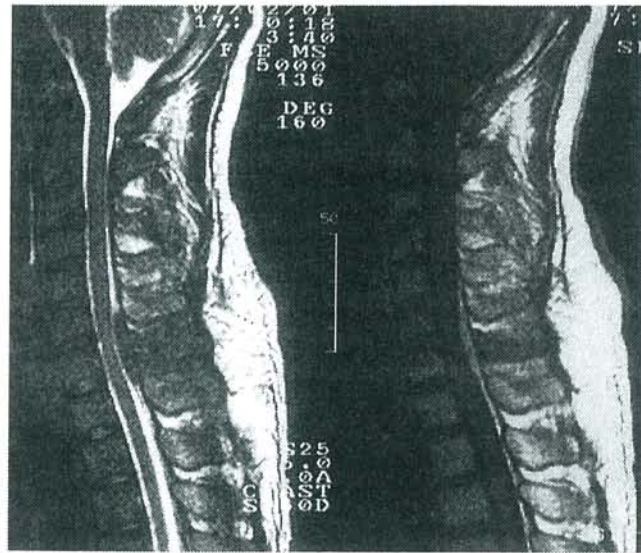


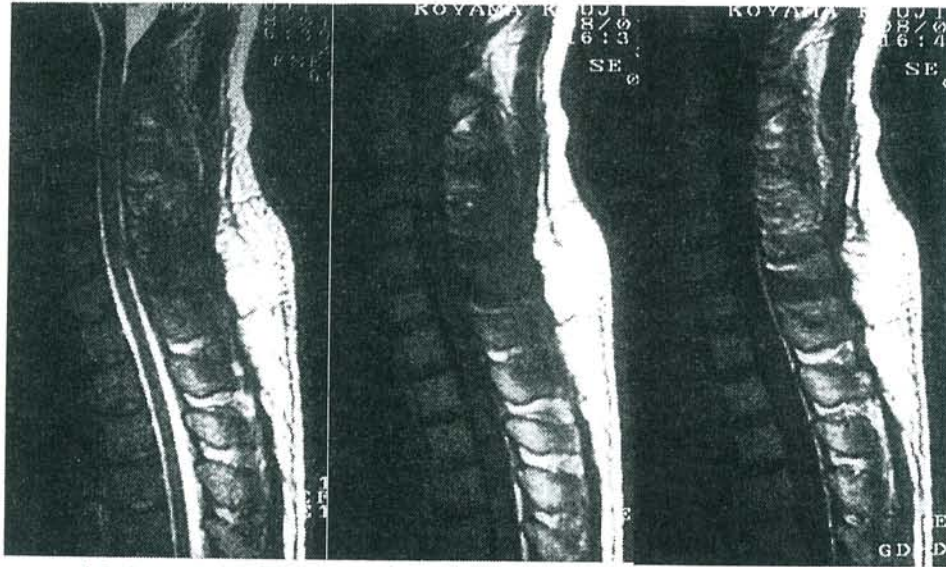
Fig.3



'01.7.2/T2

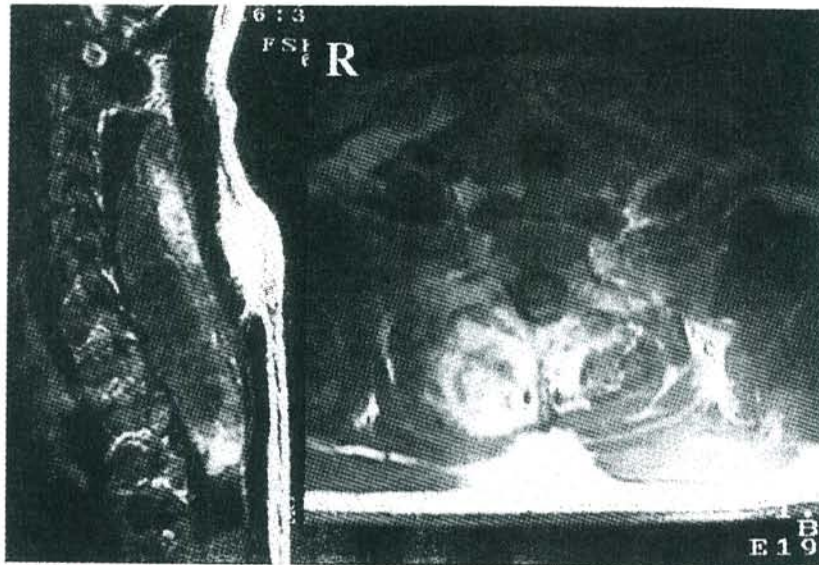
'01.7.2/Gd

Fig.4



'01.8.1/T2 '01.8.1/T1 '01.8.1/Gd

Fig.5a



'01.8.1/T1 '01.8.1/Gd

Fig.5b

Clinical Course

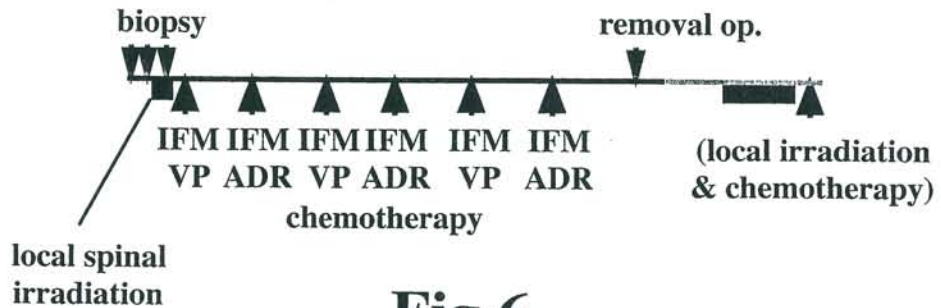


Fig.6

PNETは適切な治療で予後の格段の向上^{10,11)}が観られてきている。

【結語】

1)急速に脊髄圧迫症状が進行し、治療が奏効した頸髄背側から頸椎、上部胸椎後方に拡がるPNETの一例を経験した。

2)的確な免疫組織診断と迅速な各種の治療が、予後を決定する重要な要素と考えられた。

【文献】

- 1) Hart MN, Earle KM: Primitive neuroectodermal tumors of the brain in children. *Cancer* 32: 890-897, 1973
- 2) Rorke LB: The cerebellar medulloblastoma and its relationship to primitive neuroectodermal tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 42: 1-15, 1983
- 3) Dehner LP: Peripheral and central primitive neuroectodermal tumors: a nasologic concept seeking a consensus. *Arch Pathol Lab Med* 110: 997-1005, 1986
- 4) Ambros IM, Ambros PF, Strehl S, Kovar H, Gardner H: MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral neuroectodermal tumors. *Cancer* 67: 1886-1893, 1991
- 5) Ladanyi M, Lewis R, Garin-Chesa P, Rettig WJ, Huvos AG, Healey JH, Jhanwar SC: EWS rearrangement in Ewing's sarcoma and peripheral neuroectodermal tumor: molecular detection and correlation with cytogenetic analysis and MIC2 expression. *Diagn Mol Pathol* 2: 141-146, 1993
- 6) Lawlor ER, Murphy JJ, Sorensen PH, Fryer CJ: Metastatic primitive neuroectodermal tumour of the ovary: successful treatment with mega-dose chemotherapy followed by peripheral blood progenitor cell rescue. *Med Pediatr Oncol* 29: 308-312, 1997
- 7) Kovar H, Dworzak M, Strehl S, Schnell E, Ambros IM, Ambros PF, Gardner H: Overexpression of the pseudoautosomal gene MIC2 in Ewing's sarcoma and peripheral neuroectodermal tumor. *Oncogene* 5: 1067-1070, 1990
- 8) Dirks PB, Harris L, Hoffman HJ, Humphreys RP, Drake JM, Rutka JT: Supratentorial primitive neuroectodermal tumors in children. *J Neuro-Oncology* 29: 75-84, 1996
- 9) Nishio S, Morioka T, Suzuki S, Hamada Y, Kaneko Y, Fukui M: Supratentorial primitive neuroectodermal tumours: a report of four cases with an unusual clinical course in one patient.

Acta Neurochir 140: 207-213, 1998

- 10) Granowetter L: Ewing's sarcoma and extracranial primitive neuroectodermal tumors. *Curr Opin Oncol* 4: 696-703, 1992
- 11) Schmidt D, Herrmann C, Jurgens H, Harms D: Malignant peripheral neuroectodermal tumor and its necessary distinction from Ewing's sarcoma. A report from Kiel Pediatric Tumor Registry. *Cancer* 68: 2251-2259, 1991

1年間で急速に増大した radiation induced tumorの1例

昭和大学脳神経外科学教室、東京女子医科大学脳神経外科*

泉山 仁、阿部 琢巳、福田 直、国井 紀彦、川村 典義、松本 清、久保 長生*

【はじめに】

我々は、幼少時に小脳のpilocystic astrocytoma に対し放射線治療後、照射部位に発生し約1年間で急速に増大したmeningiomaの1例を経験したので、radiation induced tumor の特徴を含め、若干の文献的考察を加えて報告する。

【症例】

症例は27歳女性。1975年0歳時に嘔吐・歩行障害にて初診。水頭症が認められV-Pシャント術を施行。1979年5歳時、CT上小脳のcyst壁に造影されるnoduleが認められ、腫瘍摘出術施行。病理診断はpilocystic astrocytomaであった。術後40Gyの全脳照射を施行した。1987年13歳時、頭痛・歩行障害出現。腫瘍再発が認められ腫瘍再摘出術を施行した。病理診断は同じくpilocystic astrocytomaであったが、術後腫瘍部位に50Gyの局所照射を施行した。その後は外来にて再発所見も無く、年1回のCT検査にてfollow-upされていた。

(Fig.1)しかし2001年になり神経学的異常所見は認められなかったものの、軽度の頭痛・嘔気が頻回に出現し、精査・手術目的で入院となった。CTにて右前頭側頭部に、蝶形骨大翼に広く接してほぼ均一に造影されるmassが認められ(Fig.2)、MRIではT1強調像にて灰白質よりやや低信号、ほぼ均一に造影され、T2強調像では周囲にedemaを伴う白質より高信号のmass、拡散強調像でも高信号を認めた。(Fig.3) MRSでは腫瘍部分はコリンが上昇しNAAが低値となり、髄膜腫の所見として矛盾しない所見であった。(Fig.4) また、DSAでは右中硬膜動脈からのtumor stainが認められ、右中大脳動脈、内頸動脈の偏移も認められた。

(Fig.5,6) Gaシンチでは腫瘍部分への異常集積が認められ、TI-SPECTでもearly scan、delay scan 共にtumorへの異常集積が認められた。(Fig.7) PETでは、C11-コリン、F18-コリンとも、腫瘍部分への強い集積が認められており(Fig.8)、これらの結果と臨床経過から悪性度の高いmeningiomaを疑い手術となった。腫瘍は、肉眼的に脳表との境界は明瞭、表面平滑で弾性軟の腫瘍で、色調は暗赤色で一部明るい半透明な部分を

有していた。二期的に手術を施行し(Simpson分類Grade II)、一部頭蓋底部の硬膜付着部分の腫瘍は残したものの十分に電気凝固した。(Fig.9) 病理所見は、whorl formationを認めるmenigothelial meningiomaの部分が多数みられるが、核分裂像が多くMIB-1は10.0%と高値で、増殖能の高い腫瘍であることを示唆する所見であった。最終病理診断は、atypical meningioma with menigothelial partであった。(Fig.10)

【考察】

放射線照射後に脳腫瘍が発生したという報告が散見されるようになってきたが、文献的には髄膜腫が発生したとする報告が多いが、これらの多くは頭部皮膚疾患に対するlow dose irradiation後に発生し^{1,2)}、原発性脳腫瘍に対する放射線治療後の報告は比較的少ない。また、その多くは良性のmeningiomaであり^{3,4)}、今回の我々のケースのような悪性の報告は少ない。放射線誘発腫瘍の診断基準としては、古くはCahanらが⁵⁾1948年に定めたものがあり⁵⁾、また脳腫瘍に関してはHuangらが⁶⁾1987年に定めた基準すなわち、①腫瘍は照射野に一致して発生すること、②腫瘍は照射前には存在しないこと、③十分な潜伏期間が存在すること、④腫瘍が組織学的に確診されること、⑤腫瘍の組織像が原発腫瘍と異なること、⑥神経線維腫症や結節性硬化症などの遺伝的疾患ではないこと、がある⁶⁾。本症例はこの診断基準を満たしており、放射線誘発腫瘍と考えた。今回の自験例のように原発脳腫瘍に対するhigh dose irradiationが髄膜腫を誘発したとする報告は比較的少なかったものの、脳腫瘍に対する放射線療法の拡大とともにその報告例も増え、Strojanらによる⁷⁾と、10Gy以上の照射を施行された後に髄膜腫が誘発された症例が126例報告されている。それらの報告から放射線誘発の髄膜腫の特徴として、女性のほうがやや多く、Radiation doseは平均43.6Gy、Latencyも平均18.7年、average ageは33歳と若く、再発率:8%、多発性:8%であり、悪性型が今までの報告例より多い(atypical:16%, anaplastic:8%)。またMIB-1について数例ではあるが、benign(5例)3.2%、atypical(4例)10%

MRS & MRI (diffusion)

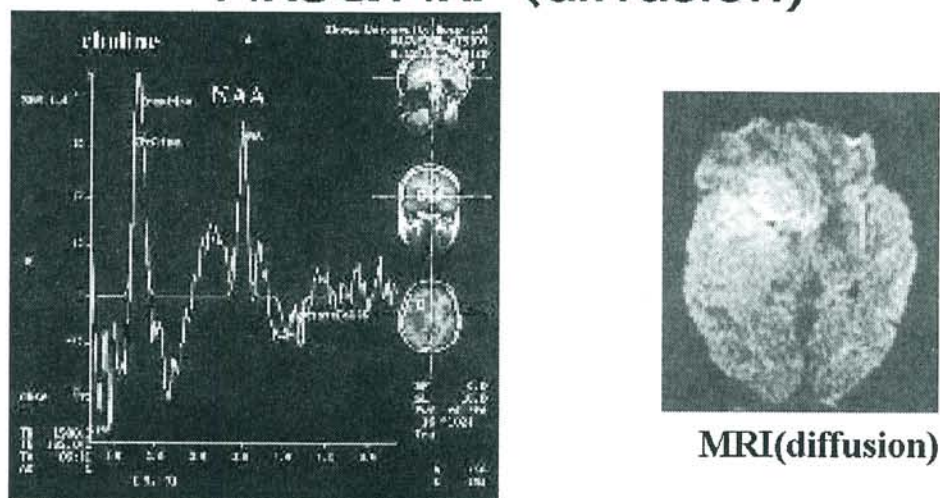
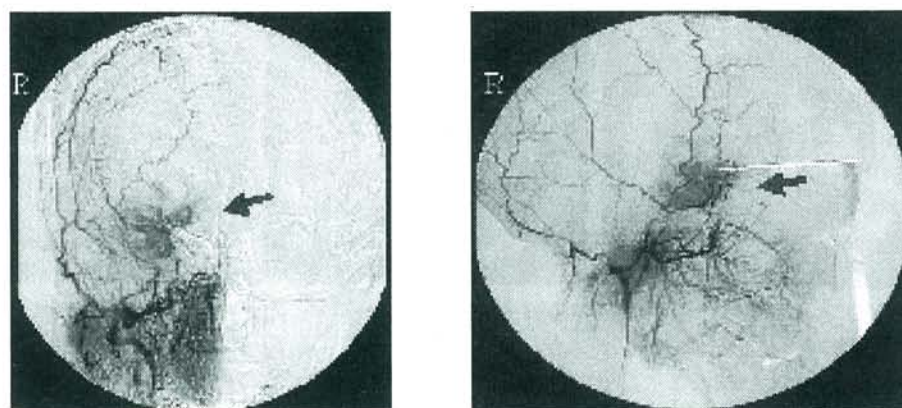


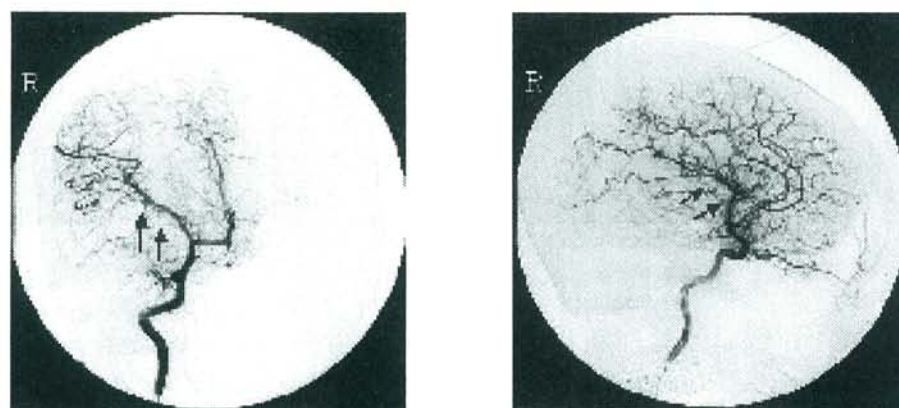
Fig.4 MRS

DSA (右外頸動脈)



正面 側面
Fig.5

DSA (右内頸動脈)

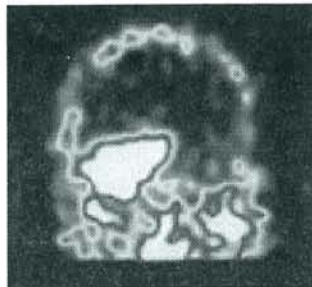


正面 側面
Fig.6

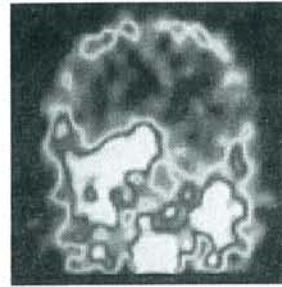
Gaシンチ & Tlシンチ



Gaシンチ
Fig.7



Tlシンチ
early scan



Tlシンチ
delay scan

PET



11C-choline



18F-choline
注入5分後



18F-choline
注入30分後

Fig.8

術中所見 & 術後CT

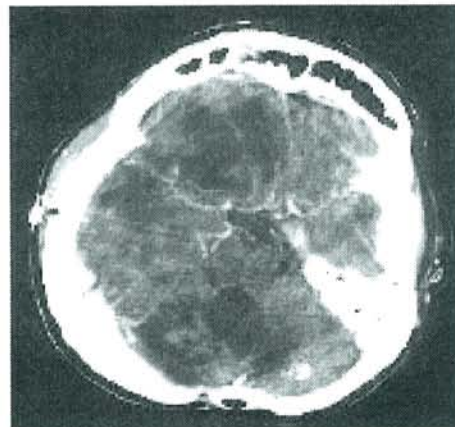
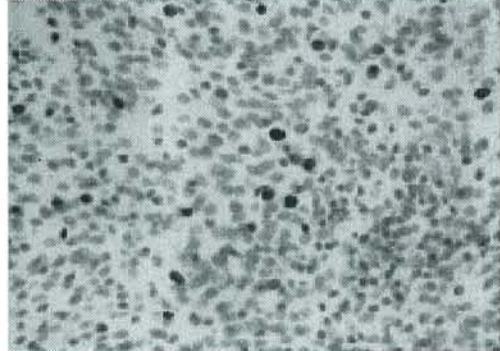
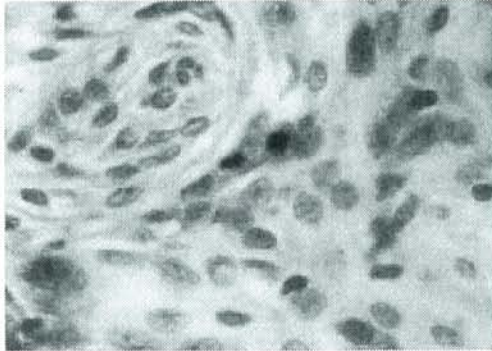


Fig.9

病理所見

Atypical meningioma with meningotheelial part



H.E.

MIB-1=10%

Fig.10

と記載され、最近の加藤らの報告⁸⁾にもあるが、自然発生の腫瘍より高い増殖能を持っている可能性が示唆された。

【結語】

- 1) 幼少時に小脳のpilocytic astrocytomaに対し放射線治療後、照射部位に発生し、1年で急速に増大したmeningiomaを経験した。
- 2) Radiation induced meningiomaは通常のmeningiomaと比較し高い増殖能を持っている可能性があり、注意深くfollow-upしていく必要がある。

【文献】

- 1) Gomori JM, Shaked A : Radiation induced meningiomas. *Neuroradiology* 23 : 211-212, 1982
- 2) Soffer D, Pittaluga S, Feiner M, Beller A : Intracranial meningiomas following low-dose irradiation to the head. *J Neurosurg* 59 : 1048-1053, 1983
- 3) Harrison MJ, Wolfe DE, Lau TS, Mitnick RJ, Sachdev VP : Radiation induced meningiomas : Experience at the Mount Sinai Hospital and review of literature. *J Neurosurg* 75 : 564-574, 1991
- 4) Mack EL, Willson CB : Meningiomas induced by high-dose cranial irradiation. *J Neurosurg* 79 : 28-31, 1993
- 5) Cahan WG, Woodand HQ, Highinbotham NL, Steward FW, Coley BL : Sarcoma arising in irradiated bone. *Cancer* 1 : 3-29, 1948
- 6) Huang CI, Chiou WH, Ho DM : Oligodendroglioma occurring after radiation therapy for pituitary adenoma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 50 : 1619-1624, 1987

- 7) P Strojan, M Popovic, B Jereb : Secondary intracranial meningiomas after high-dose cranial irradiation : Report of five cases and review of the literature. *I. J. radiation Oncology Biol.Phys.* 48 : 65-73, 2000
- 8) 加藤直樹, 嘉山孝正, 桜田 香, 斉野 真, 黒木 亮 : Radiation induced glioblastomaの一手術および剖検例. *脳神経* 52 : 413-418, 2000

白血病治療後に発症した小児悪性小脳腫瘍の1例

A child case of malignant cerebellar tumor after treatment for leukemia

弘前大学医学部脳神経外科¹⁾、東京女子医科大学脳神経センター脳神経外科²⁾

浅野 研一郎¹⁾、大熊 洋揮¹⁾、竹村 篤人¹⁾、鈴木 重晴¹⁾、久保 長生²⁾

【はじめに】

WHO の脳腫瘍の分類¹⁾にも示される様に、unclassified tumors と称される症例や^{2,3)}、病理診断に苦渋する症例⁴⁾は日常の臨床現場において時々経験される。特に小児脳腫瘍においては診断に苦渋する症例が多いかと思われる。実際 2000 年刊行の脳腫瘍全国統計⁵⁾では 1984 年～1993 年の登録総数 38273 名中 112 名、0.3%が unclassified tumors とされている。その内 0～14 歳の小児例は 3198 名中 24 名、0.8%とやや高い。

今回我々は白血病治療後に発症した小児悪性小脳腫瘍の 1 例を経験した。病理診断が非常に困難であり、現在まだ検索中であるが、稀な 1 例と考えられるので、文献的考察を加え報告する。

【症 例】

15 歳、男性。

主 訴：回転性めまい。

家族歴：特記すべきことなし。

既往歴：10 歳時、反復性気胸により右肺上葉切除術を受けた。

現病歴：1993 年 4 月(7 歳)、acute lymphoblastic leukemia(ALL)発症し、化学療法により軽快。この際 CNS leukemia 予防のため、全脳照射 24Gy と methotrexate(MTX)の髄注が行われた。1995 年 11 月(9 歳)、左 testis leukemia 再発のため両側睾丸に局所照射 20Gy と化学療法施行し軽快。1996 年 2 月(10 歳)、melphalan と全身照射 12Gy の前処置後 HLA 一致同胞(弟)より骨髄移植術を受けた。その後再発なく経過し、定期的な骨髄生検や頭部 MRI にて異常所見は見られなかった。しかし 2001 年 6 月中旬(15 歳)より回転性めまいと立ちくらみが出現。7 月初旬より頭痛、悪心、嘔吐が強くなり近医にて MRI を施行。左小脳腫瘍を疑われ、7 月 26 日当科紹介入院となった。

入院時所見：意識清明。脳神経症状は認めず、左小脳症状と軽度うっ血乳頭が見られた。末梢血、生化学的所見、腫瘍マーカー(AFP、CEA、CA19-9、CA15-3)は異常なかった。染色体検査や骨髄生検なども異常

なかった。

神経放射線学的所見：頭部単純 CT にて左中小脳脚から小脳半球にかけ iso～high density mass を認め(Fig.1a)、造影 CT にて淡く heterogenous に造影された(Fig.1b)。頭部 MRI T1 強調画像にて腫瘍は low intensity(Fig.2a)、T2 強調画像にて high intensity(Fig.2b)、造影剤にて腫瘍は heterogenous に造影され、錐体部硬膜もわずかに造影効果が見られた(Fig.2c)。脳血管撮影では淡い腫瘍濃染像が見られた。

手術所見：2001 年 8 月 2 日、後頭下開頭にて手術を施行。家族の強い希望にて左小脳扁桃ヘルニアの部分切除、生検にとどめた。腫瘍は灰白質で軟く境界は不明瞭だった。

病理組織学的所見：腫瘍は medullary に増殖しており細胞質に乏しく、核の pleomorphism が強く、分裂像が多数みられた(Fig.3a)。ごくわずかに Homer Wright 様ロゼットが見られたが明らかなものはなく、一部には focal necrosis もみられ(Fig.3b)、endothelial proliferation もわずかに見られた(Fig.3c)。また一部には多核細胞や ganglion 様細胞も見られた(Fig.3d)。銀染色にて reticulin fiber は全く見られなかった。免疫組織学的染色では GFAP(Fig.4a)、vimentin(Fig.4b)、EMA が陰性。Synaptophysin が細胞間基質にわずかに陽性だが細胞突起には陰性と考えられた(Fig.4c)。その他 neurofilament、S-100、Leu7、chromogranin A、LCA、UCLH-1、CD3、L26、LN1、LN2 なども全て陰性であった。MIB-1 陽性率は 76%ときわめて高い増殖率を示していた(Fig.4d)。

術後経過：術後局所 50Gy の放射線照射を追加した。11 月 15 日放射線治療後の MRI にて腫瘍は著明な縮小効果が見られたが、中脳、左側頭葉内に脳内転移が出現している(Fig.5a～c)。その後 ACNU と INF-β による加療も追加し、12 月現在リハビリ加療中である。

【考 察】

本症例は臨床経過や病理組織学的所見からは極めて悪性の腫瘍であり、かつ放射線療法に効果が見ら

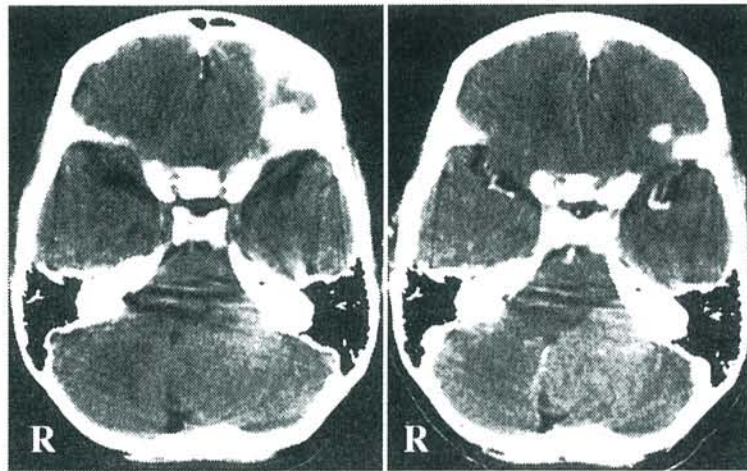


Fig. 1 a: CT (P)

b: CT (CE)

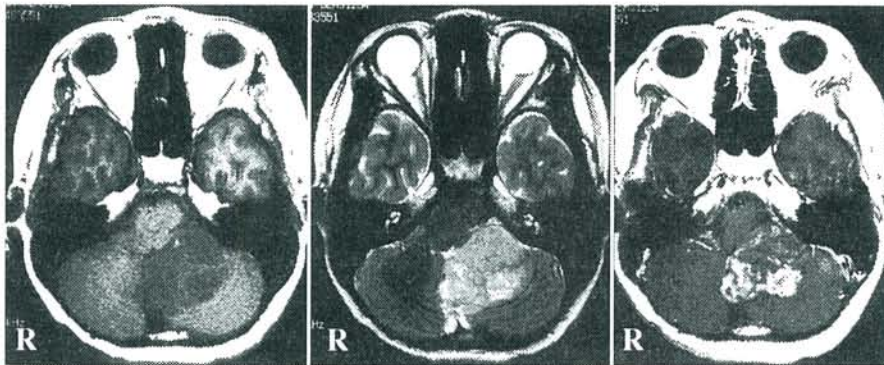


Fig. 2 a: T1

b: T2

c: T1 Gd

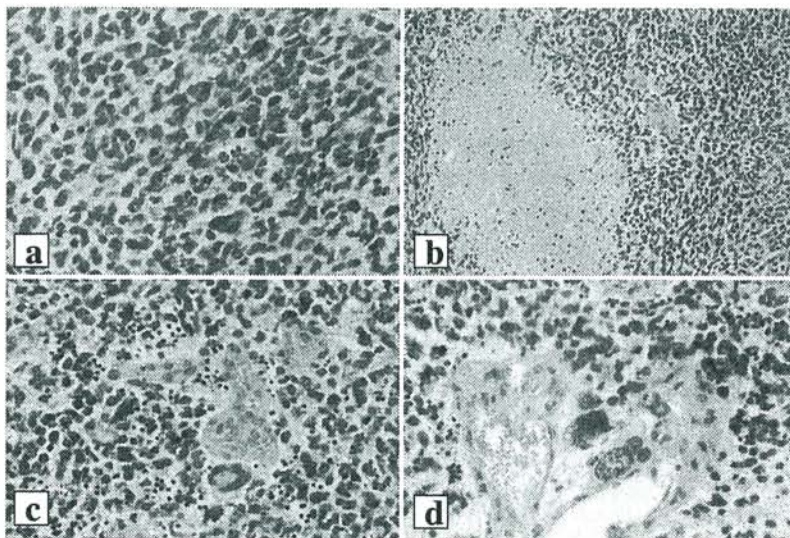


Fig. 3 a: H&E. x400
c: H&E. x400

b: H&E. x100
d: H&E. x400

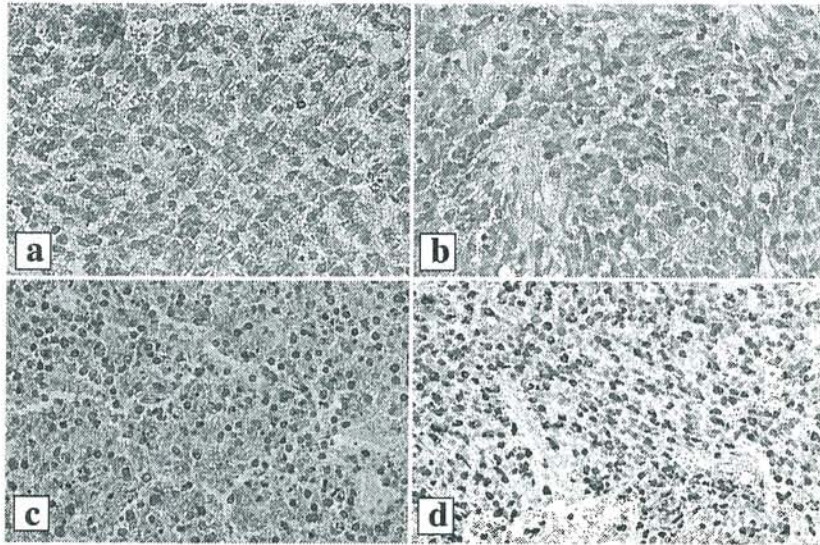


Fig. 4 a: GFAP. x400 b: Vimentin. x400
c: Synaptophysin. x400 d: MIB-1. x200

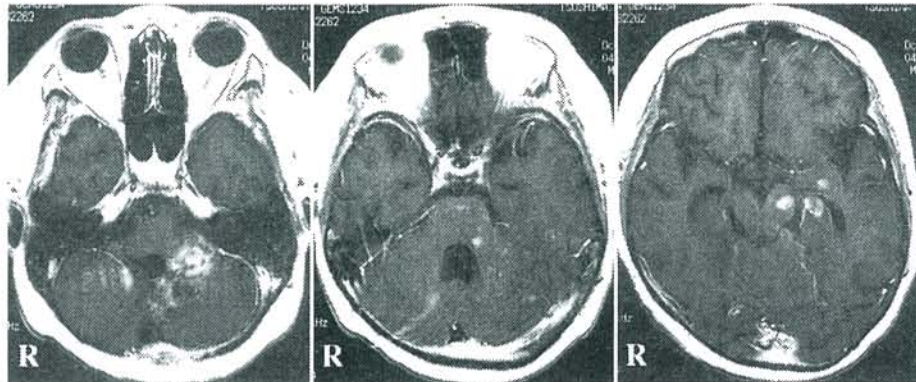


Fig. 5 a: T1 Gd b: T1 Gd c: T1 Gd

れた症例である。病理学的に鑑別診断を挙げるとすれば、①放射線誘発 glioblastoma、②腫瘍形成性白血病、③Primitive neuroectodermal tumor (PNET) 等を考えなければならない。

放射線照射後の二次腫瘍の条件としては Cahan ら⁶⁾の診断基準が知られており、脳腫瘍に関しては Huang ら⁷⁾の診断基準が一般的に知られている。本症例はこれらの診断基準と照らし合わせると二次腫瘍の組織が決定されていないこと以外は全て合致する。放射線誘発脳腫瘍の中では髄膜腫が一番多く^{8,9)}、次いで神経膠腫、肉腫と続く。さらに神経膠腫の中でも glioblastoma が一番多く^{8,10)}、また原因疾患別では放射線誘発神経膠腫 75 例中 ALL が 25 例と最も多いという特記すべき報告もある⁸⁾。また一般に放射線誘発 glioblastoma は、自然発生の glioblastoma に比べて悪性で予後不良との報告が多い^{11,12)}。加藤ら⁸⁾の報告では、両者を比較して病理所見上は特変はなかったが MIB-1 による増殖率は 65% と高いと報告しており本

例と同様である。また本症例と経過が極めてよく似た症例を福井ら¹³⁾は示している。つまり ALL の治療にて全脳照射を受けた後に発生した放射線誘発 glioblastoma に対し放射線療法が著効した 1 例を挙げており、通常では効果の期待しにくい不十分な放射線量でなぜ効果が見られたのか、apoptosis の検索を行い検討しているが原因は不明としている。本症例は病理所見上も形態的には glioblastoma に類似する所見はわずかに見られる。しかし GFAP や vimentin 等が全く陰性であり断定はできない。

また鑑別診断として腫瘍形成性の白血病が挙げられる。白血病に合併する中枢神経障害を総称して、CNS leukemia と呼ぶが、白血病の 5~10% に合併するとされ小児に多く、また ALL が acute myelogenous leukemia (AML) より数倍発症しやすいとされる¹⁴⁾。CNS leukemia は通常腫瘍細胞が髄膜に浸潤した meningeal leukemia が大部分であるが、腫瘍を形成することが稀に見られる¹⁵⁾。Gururangan¹⁶⁾は CNS

leukemia 中 2.8%が腫瘍形成性白血病であるとしておりきわめて稀な病態である。また多くは下垂体や視床下部での症例報告である^{17,18}。腫瘍形成性白血病のCT所見は正常脳組織に比しほぼ iso~low densityを示し、弱い造影効果が見られる。MRIはT1強調画像でlow intensity、T2強調画像でhigh intensityを示し、造影剤にて淡くheterogenousに造影されるとされ¹⁹本症例と同様である。またmeningeal leukemiaを合併していれば通常硬膜が造影されるとされ¹⁹、本症例も腫瘍と接している硬膜が造影されている。しかし本症例は髄膜刺激症状は全く見られず、また通常CNS leukemiaが出現する時は大部分の症例で骨髄再発が見られるとされるが本症例ではその徴候は全くない。また免疫組織学的染色においてB-cellまたはT-cellマーカーにも染色性を示さず腫瘍形成性白血病の可能性は低いかと考えられる。

さらに形態的にはPNETも鑑別診断として考えなければならない。PNETはHartら²⁰が報告して以来、定義や腫瘍の範疇に紆余右曲折は見られるが現段階として「Medulloblastoma類似の小児腫瘍で大脳または脊髄から発生したきわめて稀な腫瘍」と定義することができる²¹。本症例はごく一部にHomer Wright様ロゼット形成が見られるが基本的には特定の配列パターンを示さない細胞の増殖からなりGFAPやsynaptophysinが陰性でundirectionalである。したがって基本的に神経系の要素が強い腫瘍であるが、時にbipotentialな性質を示すmedulloblastomaとは違う。また近年小児のALLや悪性リンパ腫にて全脳照射とMTXの髄注療法を受けた後、放射線誘発PNETが発症したという症例報告が散見される^{22,23}。特にBrustleら²³は3例の放射線誘発PNETの小児例を示し、K-rasのpoint mutationが初めてPNETで見られたとしている。したがって小脳に発生した場合PNETとしてよいかという事には異論のあるところだが、放射線誘発PNETという診断も妥当かもしれない。

しかし現段階ではまだ確定診断が下せる根拠はなく、放射線誘発のunclassified tumorとせざるを得ない。今後遺伝子解析も含めた検索を行う予定である。

【文献】

- 1) 脳腫瘍全国統計委員会・日本病理学会編: 臨床・病理 脳腫瘍取扱い規約. 金原出版, 東京, 1995, pp 6
- 2) Zulch KJ: Are there still unclassified cerebral tumours?. Acta Neurochir (Wien) 61: 139-144, 1982
- 3) 谷本邦彦, 中川義信, 津田敏雄, 曾我部紘一郎, 上田 伸, 松本圭蔵: 組織分類困難であった脳腫瘍の1例. 脳外 9: 181-188, 1981
- 4) 田中雅彦, 久保長生, 浅野研一郎, 大熊洋揮, 鈴木重晴: 診断が困難であった多発性脳腫瘍の1例. Neuro Oncology 10: 47-51, 2000
- 5) The Committee of Brain Tumor Registry of Japan: Report of brain tumor registry of Japan (1969-1993). Neurol Med Chir (Tokyo) 40 sup: 5-14, 2000
- 6) Cahan WG, Woodard HQ, Higinbotham NL, Stewart FW, Coley BL: Sarcoma arising in irradiated bone: report of eleven cases. 1948. Cancer 82: 8-34, 1998
- 7) Huang CI, Chiou WH, Ho DM: Oligodendroglioma occurring after radiation therapy for pituitary adenoma. J Neurol Neurosurg Psychiatry 50:1619-1624, 1987
- 8) 加藤直木, 嘉山孝正, 桜田 香, 斎野 真, 黒木 亮: Radiation induced glioblastomaの一手術および剖検例. 脳神経 52: 413-418, 2000
- 9) Liwnicz BH, Berger TS, Liwnicz RG, Aron BS: Radiation-associated gliomas: a report of four cases and analysis of postradiation tumors of the central nervous system. Neurosurgery 17:436-445, 1985
- 10) Kitanaka C, Shitara N, Nakagomi T, Nakamura H, Genka S, Nakagawa K, Akanuma A, Aoyama H, Takakura K: Postradiation astrocytoma. Report of two cases. J Neurosurg 70: 469-474, 1989
- 11) Matsumura H, Takimoto H, Shimada N, Hirata M, Ohnishi T, Hayakawa T: Glioblastoma following radiotherapy in a patient with tuberous sclerosis. Neurol Med Chir (Tokyo) 38: 287-291, 1998
- 12) Nishio S, Morioka T, Inamura T, Takeshita I, Fukui M, Sasaki M, Nakamura K, Wakisaka S: Radiation-induced brain tumours: potential late complications of radiation therapy for brain tumours. Acta Neurochir (Wien) 140: 763-770, 1998
- 13) 福井公子, 稲村孝紀, 中溝 玲, 池崎清信, 伊野浪論, 中村和正, 松崎彰信, 福井仁士: 放射線治療が著効した放射線誘発 glioblastoma の1例. 脳外 29: 673-677, 2001
- 14) Bleyer WA, Byrne TN: Leptomeningeal cancer in leukemia and solid tumors. Curr Probl Cancer 12: 181-238, 1988
- 15) Corbetta A, Jankovic M, Conter V, Fuga T, Crivellaro M, Masera G: Parenchymal brain leukemia. Case report: problems related to the diagnosis and treatment. Haematologica 76: 324-326, 1991
- 16) Gururangan S, Sposto R, Cairo MS, Meadows AT, Finlay JL: Outcome of CNS disease at diagnosis in disseminated small noncleaved-cell lymphoma and B-cell leukemia: a Children's Cancer Group study. J Clin Oncol 18: 2017-2025, 2000
- 17) Wongpraparut N, Pleanboonlers N, Suwattee P,

- Rerkpattanapipat P, Turtz A, Moster M, Gala I, Kim YN: Pituitary apoplexy in a patient with acute myeloid leukemia and thrombocytopenia. *Pituitary 3*: 113-116, 2000
- 18) Juan D, Hsu SD, Hunter J: Case report of vasopressin-responsive diabetes insipidus associated with chronic myelogenous leukemia. *Cancer 56*: 1468-1469, 1985
- 19) Tsetis D, Bhattacharya J, Cavenagh J, Thakkar CH: Case report: CT and MRI demonstration of hypothalamic and infundibular relapse in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Radiol 69*: 269-271, 1996
- 20) Hart MN, Earle KM: Primitive neuroectodermal tumors of the brain in children. *Cancer 32*: 890-897, 1973
- 21) 日本脳腫瘍病理学会編: 脳腫瘍臨床病理カラーアトラス. 第2版. 医学書院, 東京, 1999, 84-85
- 22) Barasch ES, Altieri D, Decker RE, Ahmed S, Lin J: Primitive neuroectodermal tumor presenting as a delayed sequela to cranial irradiation and intrathecal methotrexate. *Pediatr Neurol 4*: 375-378, 1988
- 23) Brustle O, Ohgaki H, Schmitt HP, Walter GF, Ostertag H, Kleihues P: Primitive neuroectodermal tumors after prophylactic central nervous system irradiation in children. Association with an activated K-ras gene. *Cancer 69*: 2385-2392, 1992

髄液播種にて発症し、診断に苦慮した小児脳腫瘍の一例

A Case of pediatric brain tumor with CSF dissemination.

旭川医科大学脳神経外科

程塚 明、桐山 健司、和田 始、櫻井 寿郎、
渡辺 剛助、内田 和希、宮野 真、川崎 和凡、田中 達也

【はじめに】

胚細胞腫瘍(germ cell tumor)は、全脳腫瘍の3.0%、小児脳腫瘍の15.6%を占め、その50.0%は15歳以下に発症する、小児に好発する腫瘍である^{1,9)}。男性に好発(73%)し、好発部位は松果体部やトルコ鞍上部がよく知られている。胚細胞腫瘍は、germinoma, teratoma, yolk sac tumor, choriocarcinoma, embryonal carcinoma の5型及び、上記の各組織型の混在した、mixed germ cell tumor から成り、多彩な組織型を呈し、その組織型により治療法も予後も大きく異なる。そのため、近年は組織診断の必要性がますます高くなっている⁶⁾。今回我々は、広範な髄液播種にて発症し、その病理組織診断に苦慮したものの、術後化学療法にて著効を得た胚細胞腫瘍の一例を経験したので報告する。

【症例】

14歳 女児 NS010205

主 訴：頭痛、嘔吐、複視

現病歴：2001年3月30日より、頭痛・嘔吐が出現し、同4月7日には複視が出現して、近医眼科を受診したところ両眼に乳頭浮腫を指摘され、同院脳神経外科にて脳室内腫瘍及び水頭症との診断にて同11日当科に転院となった。

入院時全身所見：身長148cm、体重37Kg。初潮の発来はなく、陰毛も認められなかった。

入院時神経学的所見：意識は清明であったが、頭痛・嘔吐の訴えが著明であった。しかし、髄膜刺激症状は認めなかった。脳神経では両側外転神経麻痺を認め、両眼で乳頭浮腫を認めた。四肢の麻痺や運動失調は認めず、四肢深部腱反射に異常なく病的反射も認めなかった。

神経放射線学的所見：頭部造影CT(Fig.1)では、モンロー孔近傍に主座を置き、右側脳室から第3脳室まで進展する直径約2cmの腫瘍を認め、ほぼ均一な増強効果を認めた。また、左側脳室前角上衣下にも同

様の腫瘍を認め、髄液播種と考えられた。両側脳室は、中等度の拡大を呈し、PVLも伴い、閉塞性水頭症も合併していた。頭部造影MRI(Fig.2)でも同様で、トルコ鞍上部には異常なく、腫瘍の主座はモンロー孔近傍と考えられた。また、入院当日に緊急にて脳血管造影を施行したが、明らかな腫瘍陰影は認めなかった。

臨床検査所見：内分泌学的検査では、コルチゾール<0.50 μ U/ml, F-T3 3.03pg/ml, F-T4 1.00pg/ml, TSH 0.66 μ U/ml, LH 0.21mIU/ml, FSH 0.52mIU/ml, PRL 47.54ng/ml, GH 1.09ng/mlとコルチゾールの低値が著明でPRLの軽度の上昇も認められた。血液・生化学検査では異常なかった。

入院後経過：入院同日、髄液播種を伴うモンロー孔近傍原発の脳室内腫瘍及び急性水頭症との診断にて、緊急手術を施行した。右前頭開頭下に皮質切開を加えて、右側脳室経由にて腫瘍摘出術及び脳室ドレナージ術を施行した。手術所見では(Fig.3)、腫瘍は淡赤色でやや硬く易出血性であり、一部はカリフラワー状であり、脈絡叢と癒着しており、拡大したモンロー孔より第3脳室内に連続しており、側脳室内の腫瘍のみ部分摘出した。また、術直前より副腎皮質ホルモンの補充療法も開始した。

病理組織学的所見：HE染色標本(Fig.4)では、クロマチン豊富な核を有する、多角形の細胞が増殖し、一部で乳頭状の構造を認め、間質には紡錘型の細胞が慢性に増殖し肥厚していた。乳頭状の構造には、立方上皮を認めなかった。また、核の大小不同を認めたが、細胞分裂像は散見するのみで、出血・壊死は認めなかった。免疫組織染色標本(Fig.5,6)では、乳頭状の構造はCytokeratin陽性で、間質はVimentin陽性であった。GFAPは陰性で、S-100はごく一部で陽性であった。以上より、当初はatypicalな脈絡叢乳頭腫を疑った。しかし、その後の免疫染色でPLAPは陰性であったが、AFPは乳頭状の部分で陽性であった。しかし、HCGは陰性であった。なお、MIB-1陽性率

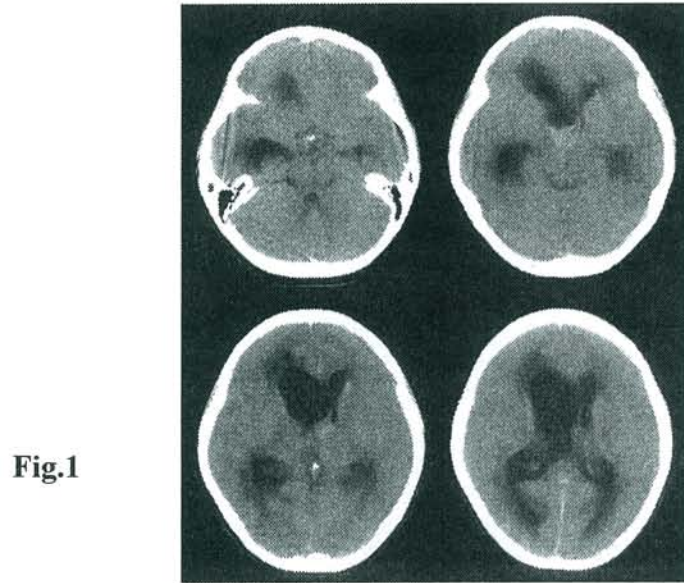


Fig.1

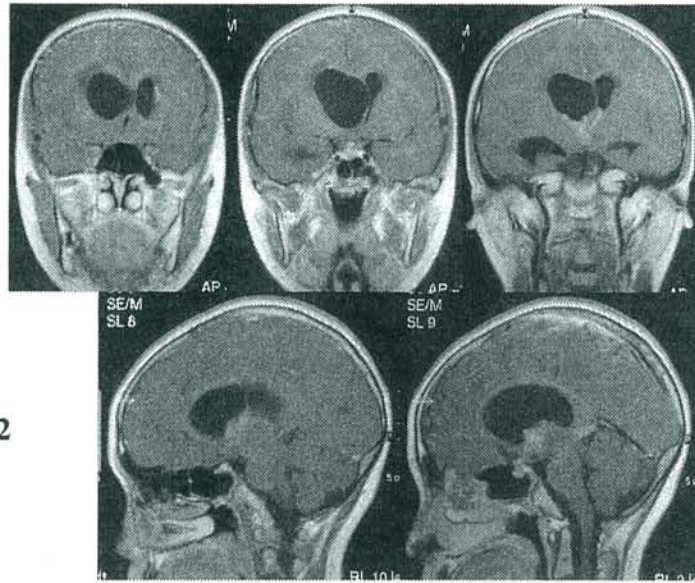


Fig.2

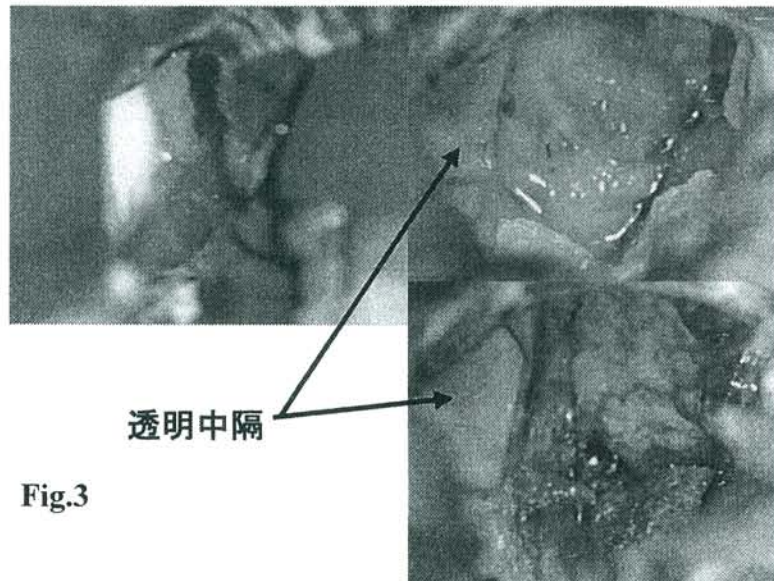
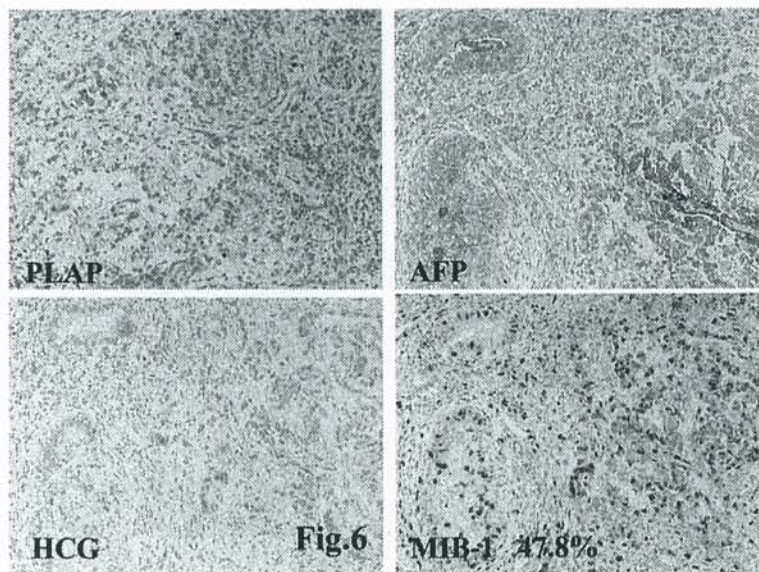
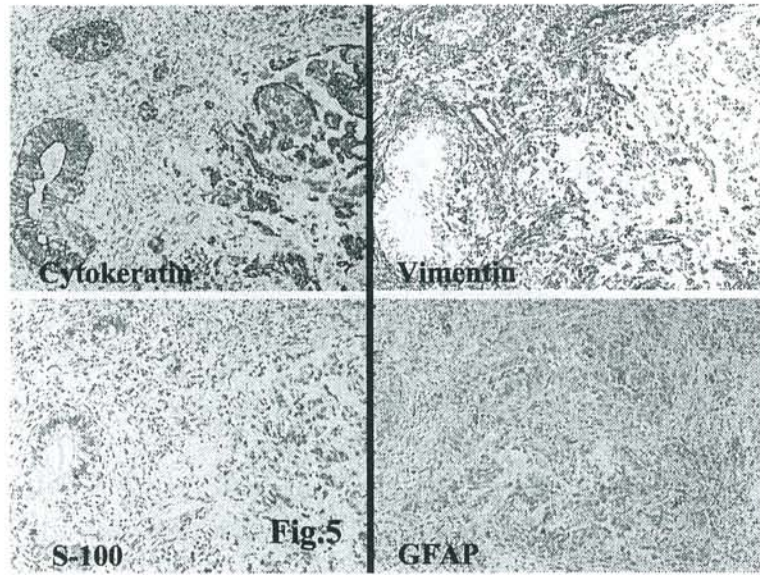
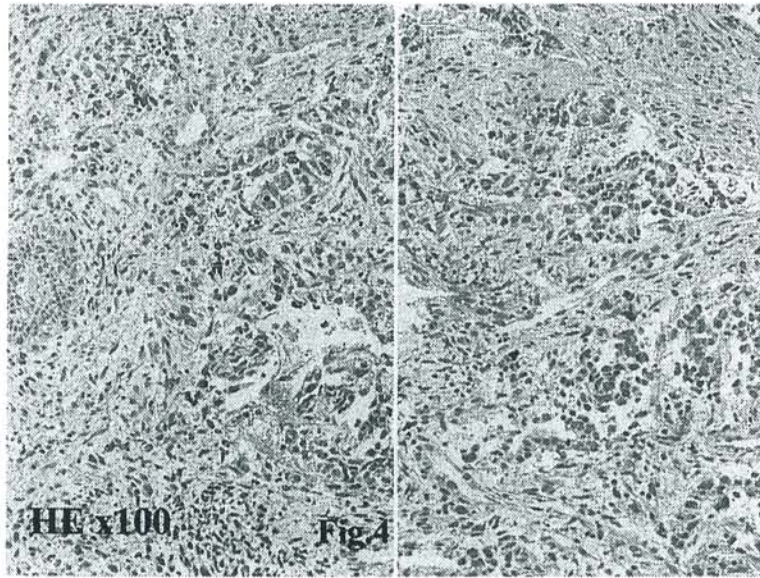


Fig.3



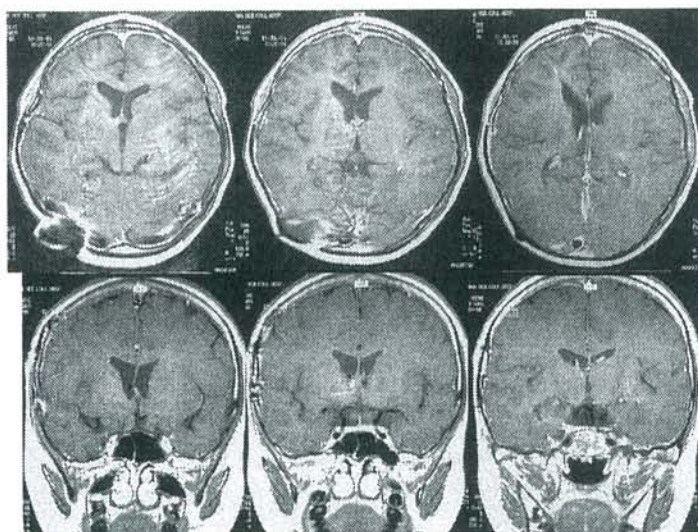


Fig.7

は 47.8%であった。以上より、病理組織診断は non-germinomatous germ cell tumor とし、その中でも yolk sac tumor ないし mixed germ cell tumor と診断した。

術後経過：術後に血清腫瘍マーカーの結果が上がり、HCG 103mIU/ml, AFP 26ng/ml, NSE 5.8ng/ml, PLAP 8%と HCG の上昇と AFP のごく軽度の上昇を認めた。また、髄液検査では、蛋白 80mg/dl, 糖 98mg/dl, 細胞数 57/3(M:12,P:44), LDH 45 IU/ml で細胞診も陰性であった。神経学的には、両側の外転神経麻痺は徐々に改善軽快し、新たな神経脱落症状の出現もなかった。また術後の内分泌学的検査でも著変を認めなかった。4月18日に脳室ドレナージを抜去して V-P シャント術を施行した。術後、当院小児科へ転科の上、通常の CARB-VP 療法に Vincristine 及び Cyclophosphamide を追加して 4 週毎の全身化学療法を開始し、更に Methotrexate の髄注も併用した。経過中、一過性の頭痛・嘔吐と白血球減少を認めたが、鎮痛剤・制吐剤及び G-CSF 製剤の投与で軽快している。化学療法 2 クール終了時の頭部造影 MRI (Fig.7) では、腫瘍は化学療法に著効を示してほぼ消失し、第 3 脳室右側の上衣下に僅かな残存腫瘍を認めるのみであった。このため、更に 3 クールを追加後、放射線療法を開始し、全脳に 18 Gy、全脊髄に 18 Gy、局所に 32 Gy を照射した。その後更に PBSCT 併用下に全身化学療法を継続している。

【考察】

本症例は、急性水頭症にて発症し、入院時の画像所見にて既に髄液播種を認めた。このため、緊急にて腫瘍摘出術及び水頭症のコントロールのため脳室ドレナージ術を施行した。画像所見と手術所見からは、モンロー孔近傍の脈絡叢由来の腫瘍が疑われ、

当初の病理組織学的所見でも atypical な脈絡叢乳頭腫が疑われた。しかし、その後、血清腫瘍マーカー及び免疫組織学的検査所見より、germ cell origin が強く疑われた。しかし、germ cell tumor として、病理組織学的には典型的ではなく、免疫組織染色での HCG 陰性と血清 HCG 高値には解離を認め、病理組織診断に苦慮した。このため、病理組織診断は non-germinomatous germ cell tumor とし、CARB-VP 療法に Vincristine 及び Cyclophosphamide を追加し、更に Methotrexate の髄注も併用した。腫瘍は、化学療法によく反応し、2 クール終了時の頭部 MRI では、著明な縮小を認め、第 3 脳室壁右側の上衣下に僅かな残存腫瘍を認めるのみであった。また、術前の全身所見及び内分泌学的所見より、同部位が原発巣と考えられた。その後は、化学療法に加え、全脳全脊髄照射も併用し、照射後の化学療法も継続している。胚細胞腫瘍(germ cell tumor)は、小児脳腫瘍の 15.6% を占め、その 50.0% は 15 歳以下に発症し、トルコ鞍上部や松果体部に好発すると言われている^{1,9)}。胚細胞腫瘍は、germinoma, teratoma, yolk sac tumor, choriocarcinoma, embryonal carcinoma の 5 型及び、上記の各組織型の混在した、mixed germ cell tumor から成り、多彩な組織型を呈し、その組織型により治療法も予後も大きく異なる。特に non-germinomatous germ cell tumor においては、手術と放射線療法のみでは予後不良となる症例が多く³⁻⁵⁾、化学療法の重要性が提唱されている^{7,8)}。本症例においては、Matsutani らの多施設共同研究の治療分類では、poor prognosis group に相当すると考えられた⁷⁾が、HE 標本にて悪性所見が著明でなく、免疫組織所見と血清腫瘍マーカー値に解離が認められた事より、CARB-VP 療法を改変したプロトコールと髄注化学療法を開始した。結果、著明な腫瘍の縮小効果を得られたことよりこの

治療を継続し、更に放射線療法も併用した。胚細胞腫瘍の診断には、腫瘍マーカーも診断や経過観察に重要である⁸⁾。しかし、一方で免疫組織学的所見と血清学的所見の一致しない報告も散見され^{2,8)}、最終的には組織診断が重要である²⁾。特に本症例においては、通常の HE 染色標本に加え、免疫組織学的検索が有用であった。現在のところ、yolk sac tumor ないし mixed germ cell tumor と診断している。

【結論】

1. 髄液播種にて発症し、診断に苦慮した小児脳腫瘍の一例を報告した。
2. 画像所見・手術所見では、脈絡叢との関連が疑われ、HE 染色標本では、一部で脈絡叢様の組織が認められたが、腫瘍マーカー及び免疫組織染色にて non-germinomatous germ cell tumor と診断した。
3. 術後、全身及び髄注化学療法に著効を示した。

【文献】

- 1) Burger PC, Scheithauer BW: Germ Cell Tumors pp 251-257 Tumors of the Central Nervous System in Atlas of Tumor Pathology AFIP Washington DC 1994
- 2) Fowler JE Jr, Stutzman RE, Sesterhenn I, et al: Localization of alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin to specific histologic types of nonseminomatous testicular cancer. Urology 22:649-654,1983
- 3) Jennings MT, Gelman R, Hochberg F: Intra-cranial germ cell tumors: Natural history and pathogenesis. J Neurosurg 63:155-167, 1985
- 4) 松角康彦、阿部 弘、田中隆一ら：頭蓋内悪性 germ cell tumor に対する cisplatin-vinblastine-bleomycin₃ 者併用療法(PVB療法)-第II相試験.癌の臨床 32:1387-1393,1986
- 5) 松谷雅生、佐野圭司、高倉公朋ら：頭蓋内 germ cell tumor. Neurosurgeons 3:83-100,1984
- 6) Matsutani M,Sano K,Takakura K. et al: Primary intracranial germ cell tumors; A clinical analysis of 153 histologically verified cases. J Neurosurg 86:446-455,1997
- 7) Matsutani M, Ushio Y, Abe H, et al: Combined chemotherapy and radiation therapy for central nervous system germ cell tumors: preliminary results of a phase II study of japanese pediatric brain tumor study group. Neurosurg Focus. 5:1-5,1998
- 8) 田中隆一：Germ cell tumor と松果体部腫瘍. 松本 悟、大井静雄(編)：臨床小児脳神経外科学, pp503-519, 医学書院, 1992

- 9) The Committee of Brain Tumor Registry of Japan: Report of Brain Tumor Registry of Japan (1969-1993) 10th Edition. Neurol Med Chir(Suppl) 40:1-103,2000

再発第三脳室 chordoid glioma の一例

A case of recurrent chordoid glioma of the third ventricle.

杏林大学脳神経外科¹⁾、病理部²⁾

菊地 隆文¹⁾、日野 健¹⁾、永根 基雄¹⁾、塩川 芳昭¹⁾、藤岡 保範²⁾、齋藤 勇¹⁾

【はじめに】

第三脳室 chordoid glioma は、2000 年版 WHO 脳腫瘍分類に始めて採用された新たな稀な脳腫瘍概念である¹⁾。今回我々は初回部分摘出後腫瘍増大をきたし、再手術を施行した症例を経験したので、画像・病理所見を主に報告する。

【症 例】

患者は44才男性で、特記すべき家族歴はない。既往歴として糖尿病(36才～)、胆石症(41才～)、腎盂腎炎(44才)、胆管炎(44才)があり、現在も加療中である。平成10年5月に目の霞み感が出現し、近医にてステロイド療法を施行したが効果を認めず、同月に当科を受診した。MRIが施行され、T1強調画像で isointense, gadolinium で第三脳室前半部に均一に造影される類球形の腫瘍を認めたため入院した(Fig.1)。入院時、意識清明、麻痺・感覚障害はなく、視力障害(V.d. 0.1, V.s. 20 cm)を認めた、同年6月に開頭腫瘍部分摘出術が施行された。病理組織学的には、比較的淡明な核をもち、好酸性の細胞質に富む腫瘍細胞が、敷石状あるいは索状に増殖し、腫瘍細胞間には好塩基性で myxoid な基質が存在した。また、リンパ球や形質細胞の浸潤も認められた(Fig.2A,B)。Desmin 及び vimentin 染色で陽性所見、GFAP 染色では腫瘍辺縁の脳組織内のグリア細胞や Rosenthal fiber は著明に陽性であったが、腫瘍細胞では僅かに陽性の部分も見られたが、全般的には陰性と考えられ(Fig.2C,D)、chordoid meningioma が疑われた。再度行った GFAP 染色で腫瘍細胞に陽性所見を認め(Fig.2E)、chordoid glioma と診断した。

術後、視力の回復を認め(V.d. 0.7, V.s. 0.15)、外来にてMRIを含め経過観察をしていたが(Fig.3 A-C)、平成13年4月頃より視覚障害が再発し、平成13年10月施行のMRIにて第三脳室内前半部を充満する腫瘍の再増大を認め(Fig.3 D-F)、再入院した。入院時、意識清明で明らかな麻痺は認められなかったが、視野障害が出現し、記憶力障害が認められ、長谷川式簡易知能スケールは29点であった。同月、開頭腫瘍摘出術を施行し、第三脳室底部の一部を除き可及的に摘出した

(Fig.5)。病理組織学的には、腫瘍は第1回目標本とほぼ同様の所見を示し、細胞異型性は低く、mitosis は認めず、MIB-1 染色陽性細胞は1%未満と低値を示した。腫瘍細胞は明らかに GFAP 陽性、また CD 34 陽性を示し、chordoid glioma と診断した(Fig.6)。術後、尿崩症の出現と記憶力障害の残存を認め、現在加療中である。

【考 察】

第三脳室 chordoid glioma は、1998 年に Brat らが 8 例の類似症例を初めて発表し、2000 年の WHO 脳腫瘍分類で由来不明の神経上皮性腫瘍として初めて登録された新たな腫瘍概念である。30～70 歳代(平均46歳)の女性に優位に(約3倍)多く、視床下部から第三脳室前半部壁に発生する^{1,2)}。CT, MRI の画像所見では、楕円形で境界明瞭な腫瘍で通常強く均一な造影効果が認められる³⁾。病理像としては、上皮様の多角形腫瘍細胞が索状/敷石状の集団を作って増殖し、好塩基性で粘液用の基質が豊富に存在する。免疫染色では、GFAP が陽性となり、また vimentin, S-100 も陽性となる⁴⁾。時に CD-34 が陽性となることも報告されている⁵⁾。腫瘍内や隣接脳組織内にはリンパ球や形質細胞が著明に浸潤することも特徴である²⁾。周辺脳には Rosenthal fiber の形成を伴う gliosis も認められる。鑑別診断としては、同部に発生しうる腫瘍として chordoid meningioma, choroid plexus papilloma, ependymoma, pilocytic astrocytoma, pituitary adenoma, craniopharyngioma, paraganglioglioma 等があるが、通常、細胞形態、発生部位、免疫染色(GFAP, synaptophysin, EMA 等)により鑑別が可能である。

本症例は、男性であること以外は上記本疾患概念に極めて類似しており、典型的な chordoid glioma であると考えられる。しかし、診断確定には細胞形態に加え GFAP 染色陽性が重要な所見であり、本例のように周辺脳のグリア細胞に比べ腫瘍細胞の GFAP 染色性が顕著でない場合(第一回目標本の初回 GFAP 染色、Fig. 2D)、chordoid meningioma との鑑別が困難なことがある。chordoid meningioma では周辺脳実質から明確な境

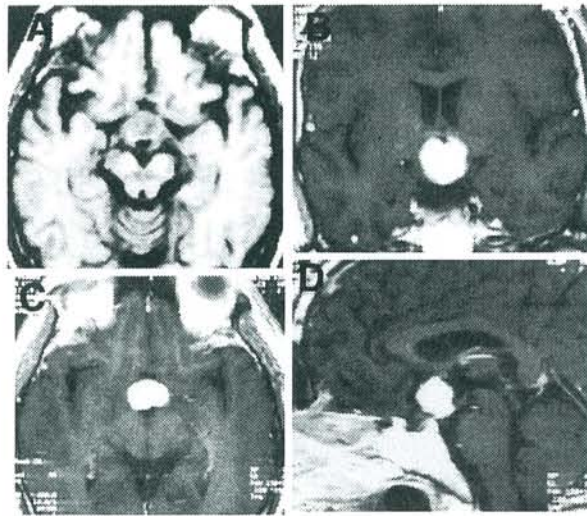


Fig.1

T1-weighted magnetic resonance (MR) images showing an ovoid mass lesion located in the anterior portion of the third ventricle on the first admission in May 1998. A. Plain axial view. B-D. Gadolinium-enhanced T1-weighted images.

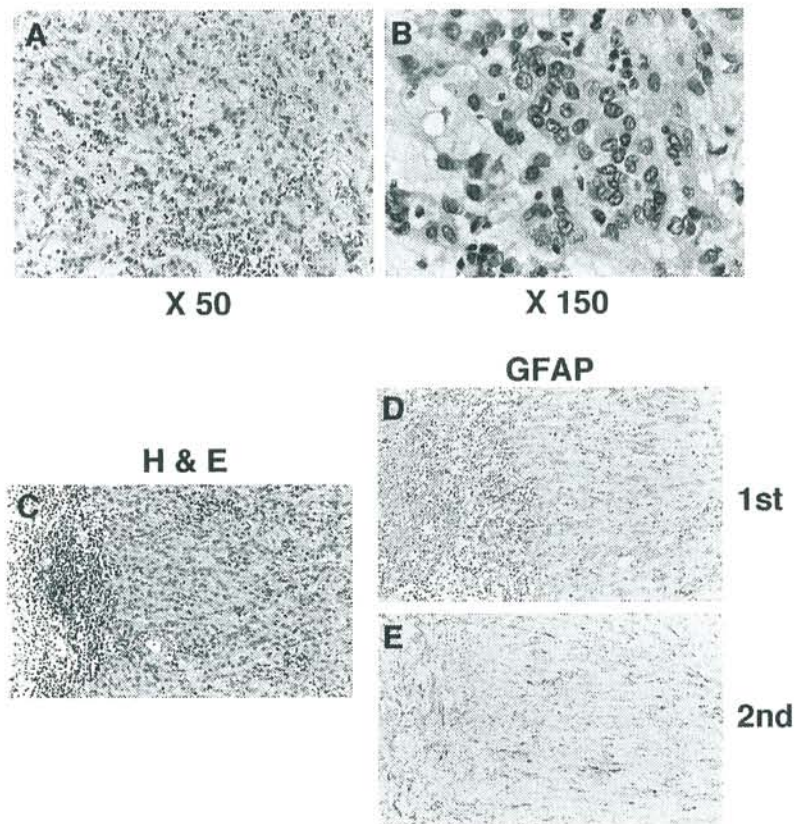


Fig.2

Microphotographs of the first surgical specimen showing epithelioid tumor cells with abundant eosinophilic cytoplasm embedded in a mucinous and vacuolated stroma. They are arranged in clusters and cords, and accompanied with prominent lymphoplasmacytic infiltrates (A, B). Initial GFAP staining shows the tumor cells being minimally positive (D), which are clearly positive in the second staining (E). A hematoxylin and eosin staining of the similar area is shown (C). Original magnification: A, C-E x 50; B x 150.

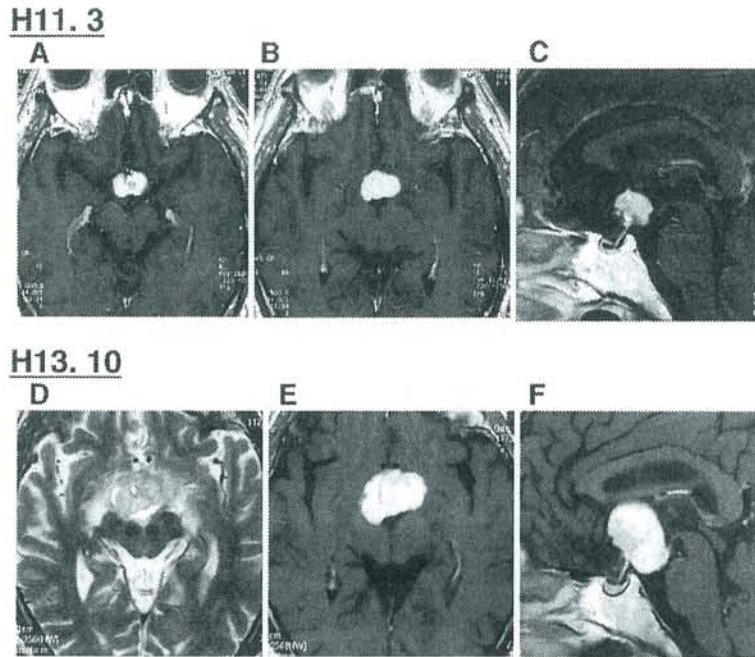


Fig.3
MR images at 9 months postoperatively (March 1999) (A-C) and on the second admission (October 2001) (D-E) demonstrating regrowth of the tumor. A, B, D, E: Axial views. C, F: Coronal views.

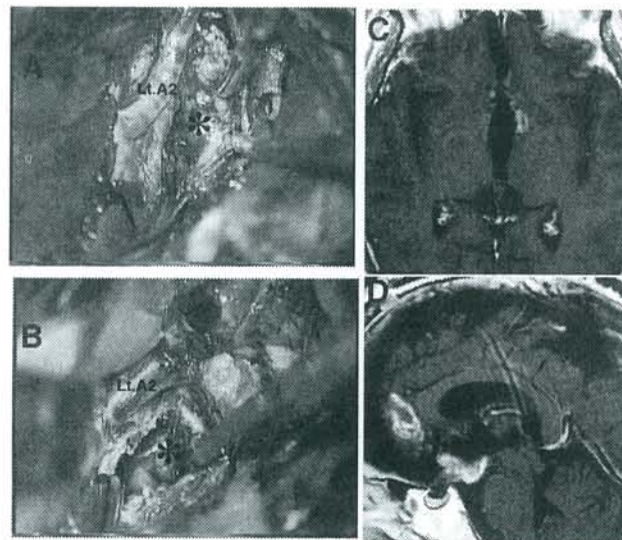


Fig.4
Intraoperative photographs showing removal of the tumor (asterisk) through an interhemispheric trans-lamina terminalis approach (A, B). C, D. Postoperative gadolinium-enhanced MR images.

界をもち、典型的には上皮性 marker である EMA 染色陽性所見と通常 Castleman 症候群を伴うことなどが鑑別のポイントとなる⁶⁾。また GFAP 染色の本疾患診断における重要性から、明確な染色結果が得られない場合は本症例のように GFAP 染色の再検を試みるべきであろう (Fig.2E)。

腫瘍の局在が第三脳室前下方壁であり、しばしば視床下部・鞍上部の間脳に強く癒着していることから、治療として本腫瘍を手術で全摘することは困難である。しかし通常腫瘍細胞の増殖能は比較的 low MIB-1 staining index でも 1.5% 以下²⁾あるいは 5% 未満との報告

があり⁵⁾、亜全摘でも定期的画像 follow up も可能と考えられる。しかし、本症例のように MIB-1 染色での proliferation index が低値でも比較的短期間に腫瘍再増殖を来す場合があり、注意が必要である。補助療法として放射線治療も行われているが、その有効性についてはまだ明らかではなく、今後化学療法も含めてその適応を検討していく必要がある。本症例では O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) や P-glycoprotein の発現が比較的 low で (data not shown)、ACNU, vincristine が有効の可能性も考えられる⁷⁾。

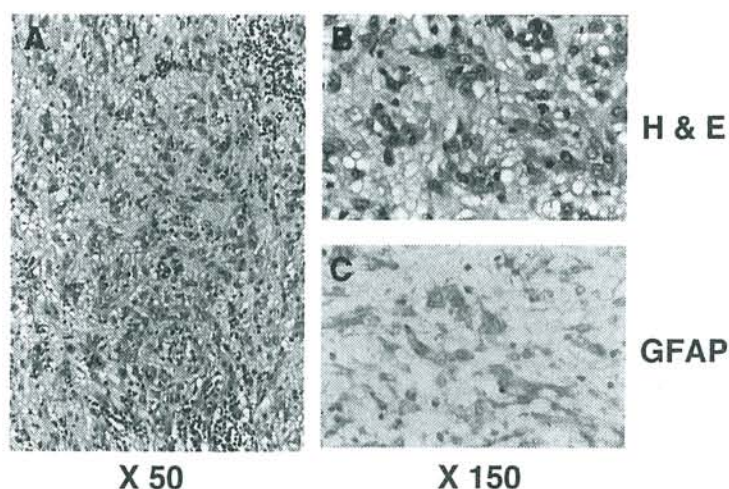


Fig.5

Microphotographs of the second surgical specimen showing similar pathological features to the initial one, which are compatible with chordoid glioma (A, B). Tumor cells are clearly positive for GFAP staining (C). Original magnification: A x 50; B, C x 150.

【結語】

1. 視力・視野障害を呈し、部分摘出後3年の経緯で再発(再増殖)をきたした第三脳室 chordoid glioma の症例を報告した。
2. 画像・病理所見ともに典型的 chordoid glioma の特徴を示した。
3. 診断確定に重要なGFAP染色が初回に明瞭でなく、再検を必要とした。
4. 腫瘍の局在部位上、手術的全摘は困難であり、術後の有効な補助療法の検討が必要である。

【文献】

- 1) Brat, D. J., Scheithauer, B. W., Cortez, S. C., Reifenberger, G., Burger, P. C. Chordoid glioma of the third ventricle. In: P. Kleihues and W. K. Cavenee (eds.), Pathology and Genetics of Tumours of the Nervous System, Second Edition, pp. 90-91. Lyon, France: IARC Press, 2000.
- 2) Brat, D. J., Scheithauer, B. W., Staugaitis, S. M., Cortez, S. C., Brecher, K., Burger, P. C. Third ventricular chordoid glioma: a distinct clinicopathologic entity. *J Neuropathol Exp Neurol* 57: 283-90, 1998.
- 3) Pomper, M. G., Pässe, T. J., Burger, P. C., Scheithauer, B. W., Brat, D. J. Chordoid glioma: a neoplasm unique to the hypothalamus and anterior third ventricle. *AJNR Am J Neuroradiol* 22: 464-9, 2001.
- 4) Vajtai, I., Varga, Z., Scheithauer, B. W., Bodosi, M. Chordoid glioma of the third ventricle: confirmatory report of a new entity. *Hum Pathol* 30: 723-6, 1999.
- 5) Reifenberger, G., Weber, T., Weber, R. G., Wolter, M., Brandis, A., Kuchelmeister, K., Pilz, P., Reusche, E., Lichter, P., Wiestler, O. D. Chordoid glioma of the third ventricle: immunohistochemical and molecular genetic characterization of a novel tumor entity. *Brain Pathol* 9: 617-26, 1999.
- 6) Kepes, J. J., Chen, W. Y., Connors, M. H., Vogel, F. S. "Chordoid" meningeal tumors in young individuals with peritumoral lymphoplasmacellular infiltrates causing systemic manifestations of the Castleman syndrome. A report of seven cases. *Cancer* 62: 391-406, 1988.
- 7) Nagane, M., Huang, H. J., Cavenee, W. K. Causes of drug resistance and novel therapeutic opportunities for the treatment of glioblastoma. *Drug Resist Updat* 2: 30-37, 1999.

側脳室前角に発生した ganglioglioma の 1 例

Ganglioglioma of the lateral ventricle : case report

中村記念病院脳神経外科

伊東 民雄、岡 亨治、尾崎 義丸、中村 博彦

【はじめに】

Ganglioglioma はてんかん発作を初発症状として大脳半球、特に側頭葉に多く発生する腫瘍である。発生部位別では、次いで、小脳、頭頂後頭葉、前頭葉の順に好発するが、基底核、視床下部、脳幹発生の報告もある^{2,6,7,10}。今回我々は、軽度の閉塞性水頭症を呈した側脳室前角に発生した ganglioglioma の稀な 1 例を経験したので文献的考察を加えて報告する。

【症例】

患者：26 才、女性

主訴：右耳鳴り

家族歴・既往歴：特記事項なし

現病歴：平成 13 年 5 月中旬より右耳鳴りが出現し、近医耳鼻科を受診。耳鼻科的には異常を認めなかったが、MRI にて軽度の閉塞性水頭症を伴った側脳室前角部腫瘍を認められたため、6 月 14 日中村記念病院脳神経外科に紹介入院となった。

入院時所見：神経学的異常は認められなかった。

画像所見：単純 CT では、右側脳室前角に等吸収域の病変を認め、点状の石灰化と嚢胞形成を伴っていた。造影 CT ではほぼ均一に増強効果を認めた(Fig.1)。MRI では、T1, T2 強調画像で等信号、Proton 強調画像で高信号を呈し、ガドリニウムにてほぼ均一に増強効果を示した(Fig.2-A)。脳血管撮影では前大脳動脈よりわずかに tumor stain を認めた。

手術所見：平成 13 年 6 月 26 日、anterior transcallosal approach にて開頭腫瘍摘出術を施行した。腫瘍は軟らかく易出血性で、右側脳室前角の内側壁、すなわち septum pellucidum から fornix を発生母地としており、そこに一部腫瘍を残し亜全摘出した(Fig.2-B)。

病理組織学的所見：HE 染色では、中型から小型の腫瘍細胞が増生しており、中に広い胞体を有する大型異型細胞もみられた(Fig.3-A,B,C)。免疫染色では、前者は一部に GFAP に陽性で(Fig.4-A,B)、後者は NSE, Chromogranin A などの神経内分泌マーカーが強陽性、synaptophysin が弱陽性を示した(Fig.5)(Table 1)。増殖能を表す MIB-1 LI は約 1%と低値であった。電顕所

見では、大型細胞には dense granule が多数みられ、rER も発達しており neuronal origin と考えられた(Fig.6)。以上の所見より、側脳室前角に発生した ganglioglioma と診断された。

術後経過：術後経過は良好で、増殖能も低いことから後療法なしで経過観察中であるが、MRI 上再発はみられていない。

【考察】

Ganglioglioma は ganglion cell と glia cell が同時に腫瘍性増殖を示したもので、全脳腫瘍中の 0.4-7.6% を占めるとされている。発生部位別では、大脳半球、特に側頭葉に最も多く発生する^{2,3,7,10}。次いで小脳、頭頂後頭葉、前頭葉の順に多いが、基底核、視床下部、脳幹にもみられると報告されている^{2,6,7,10}。発症年齢は 10 - 30 才と若年者に多くみられ、初発症状は側頭葉に多いこともあり、けいれん発作にて発症するものが最も多い。

側脳室前角に発生した ganglioglioma は極めて稀であり、側脳室三角部に発生した 3 例^{4,10}を除けば、前角に発生したものは我々の渉猟した限りでは、文献上 2 編の報告があるのみである(Table 2)。Majos らは 71 才男性と高齢ではあるが 4 ヶ月前からの頭痛、嘔気にて発症した 1 例を報告している⁹。腫瘍の発生母地は septum pellucidum であり、全摘出後症状の改善をみたとしている。Gabriel らは 25 才女性で 1 ヶ月前からの頭痛と blepharospasm にて発症した 1 例を報告している¹¹。腫瘍は側脳室の床より発生し全摘出後 blepharospasm が消失したことから、本症状と腫瘍との因果関係はあると述べている。文献中、側脳室前角に発生した ganglioglioma は CT 時代より前にも 2 例報告があったと記されている¹¹。今回の我々の症例は耳鳴りでみつかったものであるが、術後閉塞性水頭症が改善しても耳鳴りは持続しており、incidental case であると考えている。

側脳室前角に発生する腫瘍の鑑別すべきものとしては、本症例の ganglioglioma のほかに、central neurocytoma, subependymal giant cell astrocytoma

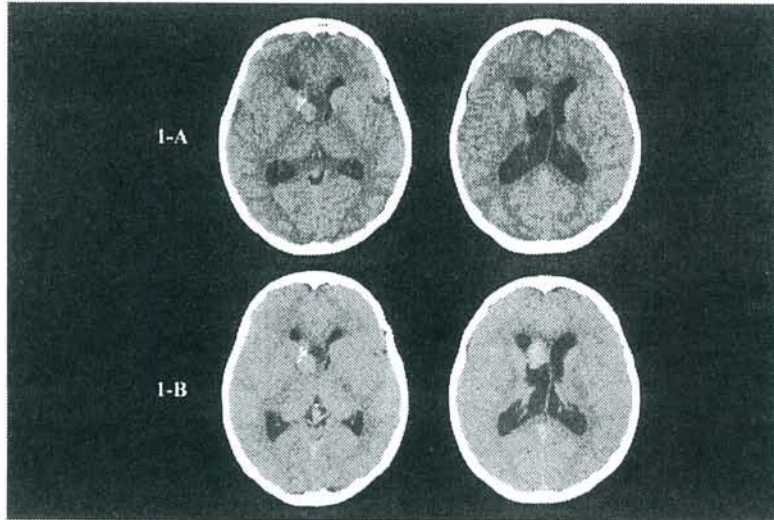


Fig.1

CT (pre-ope) ; 1-A : plain, 1-B : enhancement

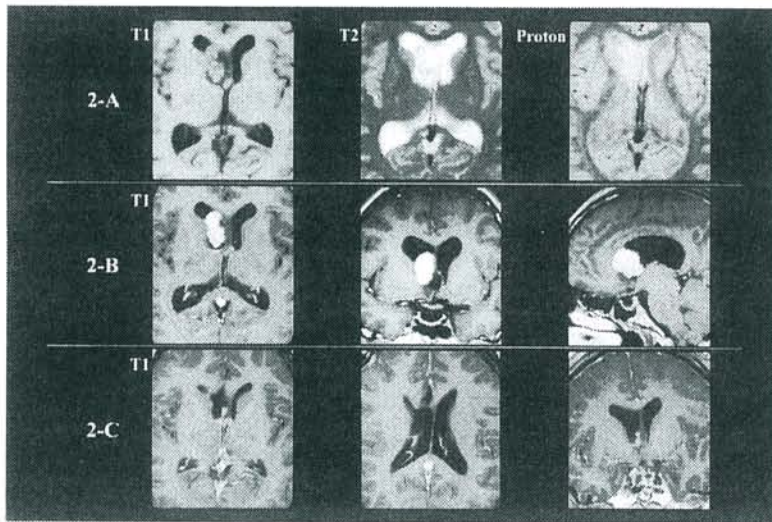


Fig.2

MRI ; 2-A : plain (pre-ope)
2-B : enhancement (pre-ope)
2-C : enhancement (post-ope)

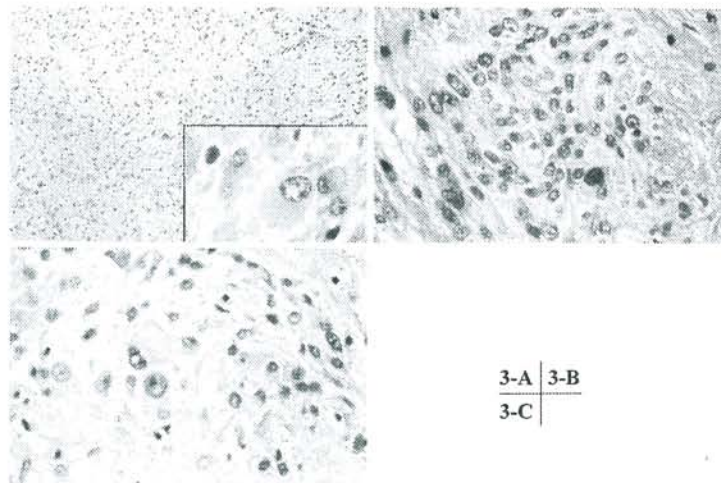


Fig.3A

HE 染色全体像
3-B : 小型-中型の tumor cell
3-C : 大型の ganglion like cell

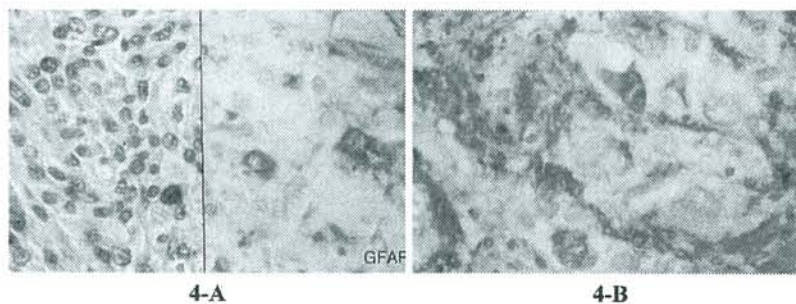


Fig.4

A : 小型 tumor cell の HE と GFAP
 B : 小型 tumor cell の GFAP

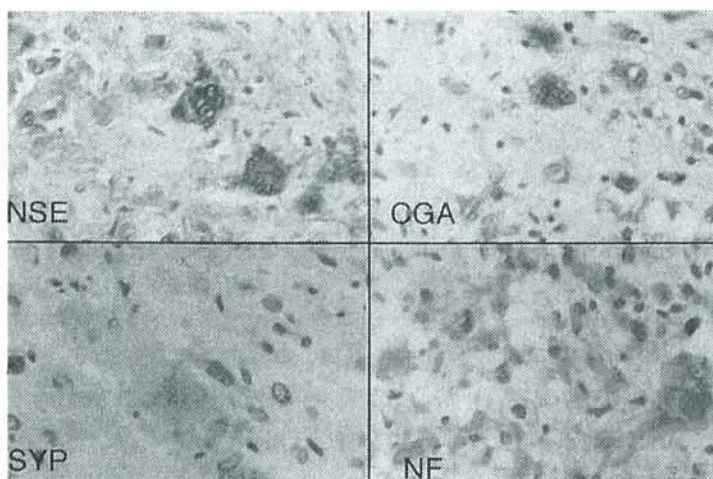


Fig.5

大型 tumor cell の神経内分泌マーカー

Table 1

Immunostaining results

	large cell	small cell
GFAP	—	+
EMA	—	—
Keratin (wide range)	—	—
Vimentin	+	+
Synaptophysin	+	—
NSE	++	—
Chromogranin A	++	—
Neurofilament	+	—

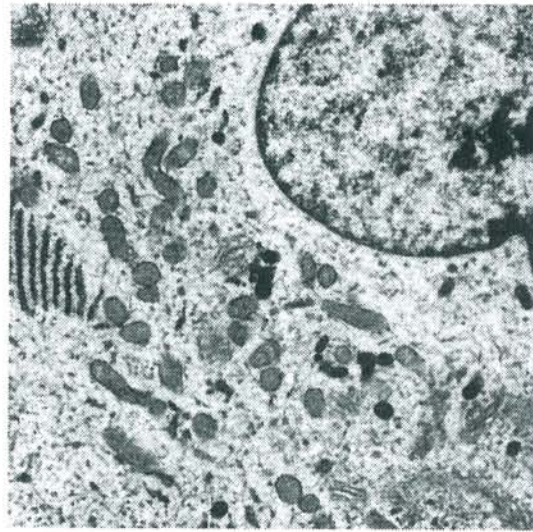


Fig.6
大型 tumor cell の EM 所見 (×5000)

Table 2
Ganglioglioma of the lateral ventricle

1962	Russel DS	26 F	headache
1991	Silver JM	33 M	seizure, visual acuity ↓
1998	Majos C	71 M	headache
1999	Matsumoto K	31 F*	seizure
		10 M*	headache, vomiting
2001	Jaeger M	20 F*	asymptomatic
2001	Gabriel YFL	25 F	headache, blepharospasm
2001	Present case	26 F	tinnitus

* : trigone

Table 3
鑑別となる主な腫瘍の発生母地

	Origin
Central neurocytoma	septum pellucidum subependymal precursor cell (PC)
Subependymal giant cell astrocytoma	lateral wall
Subependymoma	septum pellucidum
Ganglioglioma	septum pellucidum - fornix (present case)

(SGA), subependymomaなどが挙げられる(Table 3)。西尾らの側脳室腫瘍における発生母地の面からの検討によると、経験したSGA 4例中全例がlateral wallすなわち尾状角頭部の壁に発生していたのに対し、その他の腫瘍はすべてseptum pellucidumであったとしている¹²⁾。

本症例において病理所見からも最も鑑別を要する腫瘍としては結節性硬化症を合併しないSGAが挙げられる。しかし、病理学的に異型性のあるganglion cellが多数存在し、腫瘍性の神経細胞の同定に特異性の高いマーカーであることとされるChromogranin A, synaptophysin¹¹⁾がともに陽性であることと、発生母地が側脳室前角の内側壁、すなわちseptum pellucidumからfornixにかけてであり、西尾らのSGAがlateral wallより発生していたという事実¹²⁾とも合わせて本症例がgangliogliomaであることを支持するものと思われる。

Gangliogliomaが側脳室壁に発生しうる細胞の起源について検討してみると、Lewisは側脳室周囲の上皮下層にはsecondary germinal site (germinal matrix layer)が存在しており、この部の細胞は生後も細胞分裂能を持ち続け、神経細胞、グリア細胞へ分化する能力を持っていると述べている⁸⁾。従って両者の腫瘍性増殖能をもつgangliogliomaが側脳室壁に発生しても矛盾しないと考えられる。

さてgangliogliomaは一般的に高分化なものが多く、anaplasiaのみられる症例は5%程度と言われている。増殖に関与する細胞がglia cellのみであるのか、ganglion cell, glia cellの両者なのかは議論のあるところであるが、一般的には両細胞とも腫瘍性格をもつものと考えられている⁵⁾。Anaplasiaに関してはWolfらはganglion cellにはみられず、BudR, Ki-67はastrocytic cellのみに取り込まれ、1%以下がほとんどであったと述べている¹⁴⁾。

Gangliogliomaの治療に関しては、全摘出された例では放射線治療は不要であるが、亜全摘出、部分摘出に留まったものでも後療法せず経過観察でよいとの意見が多い^{7,13)}。本症例でもMIB-1 LIは約1%と低値であり、悪性所見がないことより残存腫瘍に対し後療法せずそのまま経過観察しているが、いまだ観察期間が7ヶ月と短いものの腫瘍の再増大はみられていない。

【結語】

1. 今回我々は側脳室前角に発生した稀なgangliogliomaの1例を報告した。
2. 発生母地は、内側壁でseptum pellucidumからfornixにかけてであった。
3. 側脳室前角部腫瘍の鑑別疾患として、central neurocytoma, subependymal giant cell astrocytoma,

subependymomaの他にgangliogliomaも考慮すべきと思われた。

【文献】

- 1) Gabriel YFL, Grace S, Peter CB, Brian PB, John LC : Ganglioglioma of the lateral ventricle presenting with blepharospasm – case report and review of the literature. *Journal of Clinical Neuroscience* 8 : 279-282, 2001
- 2) Haddad SF, Moore SA, Menezes AH, VanGilder JC : Ganglioglioma : 13 years of experience. *Neurosurgery* 31 : 171-178, 1992
- 3) İidan F, Tuna M, Gocer IA, Erman T, Cetinalp E : Intracerebral ganglioglioma : clinical and radiological study of eleven surgically treated cases with follow-up. *Neurosurg Rev* 24 : 114-118, 2001
- 4) Jaeger M, Hussein S, Schuhmann U, Brandis A, Samii M, Blomer U : Intraventricular trigonal ganglioglioma arising from the choroid plexus. *Acta Neurochir (Wien)* 143 : 953-955, 2001
- 5) Kalyan-Raman UP, Olivero WC : Ganglioglioma : a correlative clinicopathological and radiological study of ten surgically treated cases with follow-up. *Neurosurgery* 20 : 428-433, 1987
- 6) Lagares A, Gomez PA, Lobato RD, Ricoy JR, Ramos A, de la Lama A : Ganglioglioma of the brainstem : report of three cases and review of the literature. *Surg Neurol* 56 : 315-324, 2001
- 7) Lang FF, Epstein FJ, Rnnssohoff J, Allen JC, Wisoff J, Abbott R, Miller DC : Central nervous system gangliogliomas Part 2 : Clinical outcome. *J Neurosurg* 79 : 867-873, 1993
- 8) Lewis PD : Cell proliferation in the postnatal nervous system and its relationship to the origin of gliomas. *Semin Neurol* 1 : 181-187, 1981
- 9) Majos C, Aguilera C, Ferrer I, Lopez L, Pons LC : Intraventricular ganglioglioma : case report. *Neuroradiology* 40 : 377-379, 1998
- 10) Matsumoto K, Tamiya T, Ono Y, Furuta T, Asari S, Ohmoto T : Cerebral ganglioglioma : clinical characteristics, CT and MRI. *Acta Neurochir (Wien)* 141 : 135-141, 1999
- 11) Miller DC, Lang FF, Epstein FJ : Central nervous system gangliogliomas Part 1 : Pathology. *J Neurosurg* 79 : 859-866, 1993
- 12) 西尾俊嗣、福井仁士 : 側脳室腫瘍の生物学的特性. *Neurosurgeons* 9 : 69-77, 1990
- 13) Silver JM, Rawlings CE III, Rossitch E Jr, Zeidman SM, Friedmann AH : Ganglioglioma : a clinical study with long-term follow-up.

Surg Neurol 35 : 261-266, 1991

- 14) Wolf HK, Muller MB, Spanle M, Zentner J,
Schramm J, Wiestler OD : Ganglioglioma :
a detailed histopathological and
immunohistochemical analysis of 61 cases.
Act Neuropathol 88 : 166-173, 1994

脳室壁にび漫性に発生した oligodendroglioma の一例

東京女子医科大学脳神経センター脳神経外科

久保 長生、田中 雅彦、上川 秀史、山根 文孝、高橋 研二、堀 智勝

【はじめに】

Oligodendroglioma は脳実質内に発生する腫瘍で脳室壁に限局して発生することは稀である。Oligodendroglioma の病理診断に関してはその診断基準が明確ではなく、組織学的なマーカーがなく、脳室近傍の腫瘍では central neurocytoma などの類似疾患との鑑別診断が困難な場合がしばしばある。しかし、Oligodendroglioma の Molecular Genetic Analysis が進歩し、これを応用した分子生物学的診断では 1p or 19q loss of heterozygosity (LOH) の存在が本腫瘍の診断を確実にしつつある。その結果本腫瘍に対する治療は化学療法が極めて効果的であるとの報告があり、本腫瘍の診断と治療に関して、新しい展開がひらかれてきた。

今回われわれは比較的緩徐な臨床経過で発症した脳室周囲の脳腫瘍を経験し、内視鏡的生検術にて oligodendroglioma と診断、放射線化学療法にて寛解しえた症例を経験した。この部位の oligodendroglioma は central neurocytoma, subependymoma などがあるが、組織学的には両者は否定できた。更に放射線化学療法にて著効を得たので報告する。

症 例：38 歳男性

主 訴：頭痛平成 9 年から頭痛、発熱が見られ、左脳室の拡大を指摘されていた。平成 12 年 7 月 MRI にて脳室内腫瘍と診断、近医にて平成 13 年 2 月に髄液検査試行、髄液 P L A P は 10pg/ml で胚細胞性腫瘍の所見は見られなかった。3 月頭痛が進行したために当科入院した。

入院時所見：神経学的には麻痺などなく、記銘力障害がみられた。

画像所見：2001/3/5 の MRI では脳室内にび漫性に isointensity lesion がみられた。この異常陰影は右前角から体部に至り、更に左側にまで進展している。Gd 造影 MRI では前角から後角にかけて全体に造影される。又脳室体部では右側が不規則に造影された (Fig.1)。

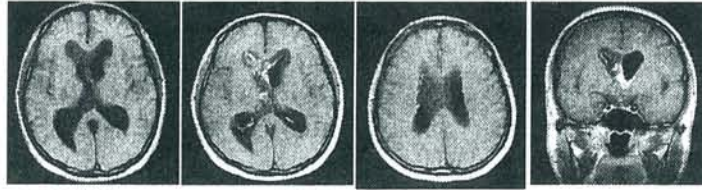
入院後に 2 度の内視鏡的生検を行った。内視鏡的には腫瘍は脳室壁にび漫性に腫瘤を形成していた。比較的軟らかく、腫瘍血管もみられた。これらを注意深く吸引除去した。

これらの操作を二度行い、部分摘出した (Fig.1)。組織学的には核が円形で perinuclear halo を oligodendroglial cell からなり、honeycomb structure を形成していた。腫瘍血管は endothelial proliferation 像を呈する。免疫組織学的には GFAP 染色では陽性細胞はこれらの円形細胞の周辺医わずかに見られたのみで、腫瘍細胞は陰性である。MIB-1=17.1% と高値である (Fig.2)。核分裂像もみられた。更に腫瘍細胞は脳室壁に浸潤増殖している所見が得られ、この部位の GFAP 染色では腫瘍本体は陰性で脳室壁から上衣下組織のみが陽性である (Fig.3)。鍍銀染色では腫瘍細胞間には reticulin fiber はみられない。シナプトフィジンは陰性である。2 度目の生検組織では MIB-1=7.6% である。ロゼットなどは見られない。以上より組織学的診断は anaplastic oligodendroglioma とした。残念ながら生検組織での分子生物学的検索が出来ず 1p or 19q loss of heterozygosity (LOH) の存在は確認できていない。術後の MRI では腫瘍は脳室壁に存在している (Fig.5)。2001/6/13 から 7/23 まで全脳 56Gy を照射した。放射線照射後の画像所見では腫瘍はわずかに縮小したが脳室内から周辺にみられた。照射後外来にて化学療法を行った。Oligodendroglioma に対する化学療法は欧米では PCV (procarbazine-CCNU-vincristine) が有効といわれている。わが国では CCNU は使用できないので、われわれは PCV 変法として procarbazine (ナツラン)、ACNU (ニドラン) および Vincristine を用いた PAV 療法を行った (Table 1)。2001 年 9 月 6 日より本治療 1 クールを行った。その後の MRI では腫瘍は著明に縮小している (Fig.6)。更に 3 ヶ月後再度本治療をおこなった。

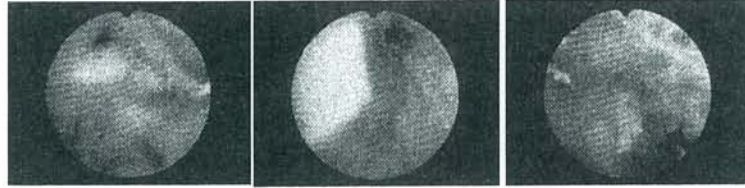
【考 察】

Anaplastic oligodendroglioma の治療は PCV 療法が試みら得ようになり、その効果が確認された。本例もその発生部位が稀ではあるが、PCV 変法と放射線治療により腫瘍の縮小がみられた。本例の発生部位は組織学的には脳室周辺であり、この腫瘍が脳室壁に沿って増殖したものと考えられる。原発症例でこのような進展様式を呈した症例はほとんど見られない。Oligodendroglioma は subpial thickness を呈して脳

Fig-1

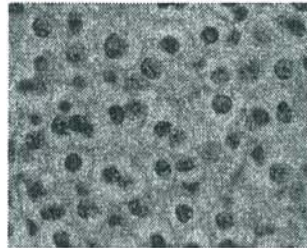


2001/3/5 preoperative MRI

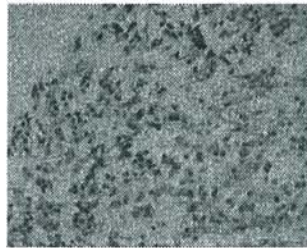


20013/18 operative finding sof 1 st endoscopic biopsy

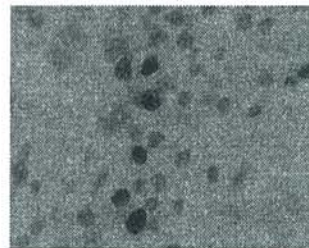
Fig-2



HE

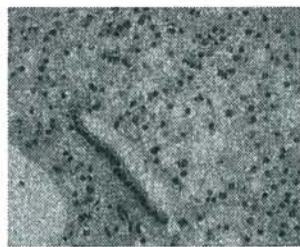


GFAP

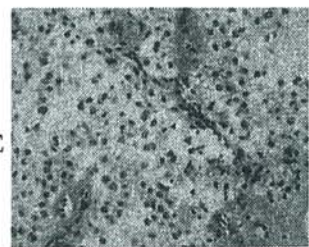


MIB-1=17.1%

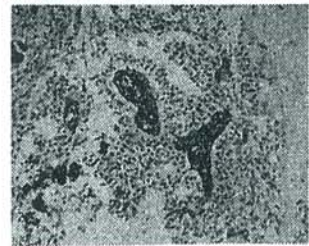
Fig-3



HE



GFAP



reticulin stain

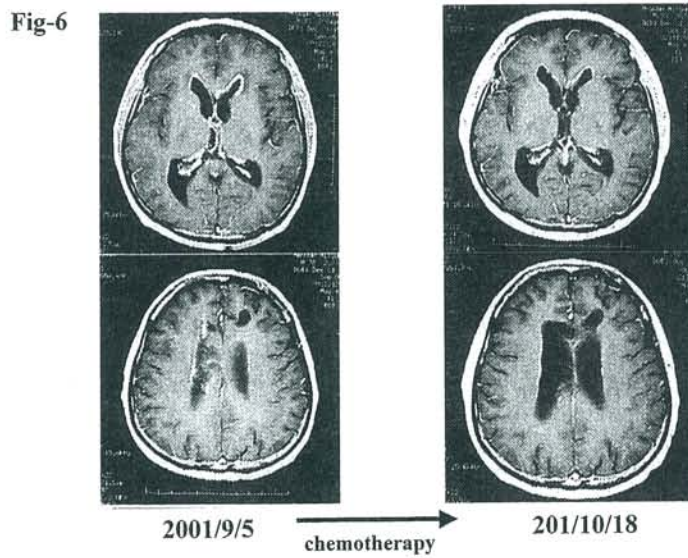
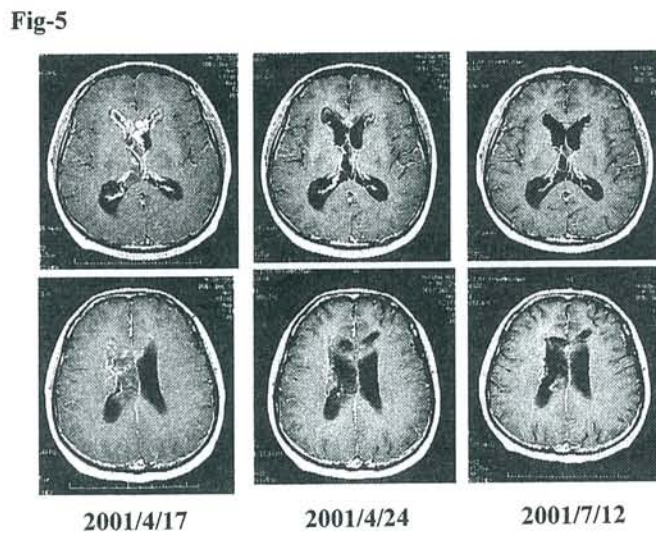
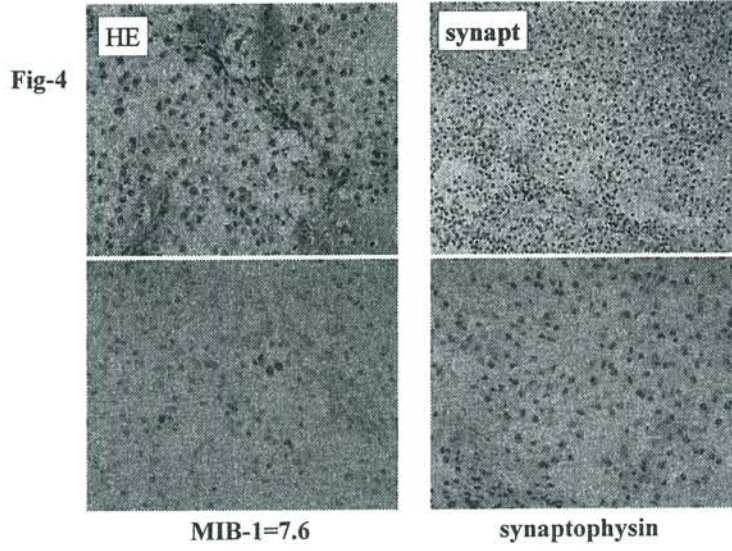


Table 1

Oligodendroglioma に対する P C V 変法 (PAV)			
C : ACNU (ニドラン)			
P : procarbazine (ナツラン)			
V : Vincristine (オンコビン)			
ACNU	70-80mg/m ²	IV	Day 1
VCR	1mg/m ²	IV	Day 8 および Day 29
PCZ	75mg/m ²	PO	Day 8 - Day 21

表に進展はするが、本例は脳実質には腫瘍組織は見られない。しかし、組織学的には Central neurocytoma が否定でき、極めて稀な症例である。しかも PVA 療法が効果的であり、その面からも oligodendroglial tumor と考える。

【結語】

脳室壁から脳室内にび漫性に浸潤発育 anaplastic oligodendroglioma の一例を経験し、PCV 療法の変法である PAV 療法の効果が確認できた。

本研究の一部は (財) 車両競技公益資金記念財団の助成金の援助を得ました。

【文献】

- 1) Sasaki H, Zlatescu MC, Betensky RA, Johnk LB, Cutone AN, Cairncross JG, Louis DN.: Histopathological-molecular genetic correlations in referral pathologist-diagnosed low-grade "oligodendroglioma". J Neuropathol Exp Neurol 2002 Jan;61(1):58-63
- 2) J Diabira S, Rousselet MC, Gamelin E, Soulier P, Jadaud E, Menei P. PCV chemotherapy for oligodendroglioma: response analyzed on T2 weighted-MRI J Neurooncol 2001 Oct;55(1):45-50
- 3) Ueki K, Nishikawa R, Nakazato Y, Hirose T, Hirato J, Funada N, Fujimaki T, Hojo S, Kubo O, Ide T, Usui M, Ochiai C, Ito S, Takahashi H, Mukasa A, Asai A, Kirino Correlation of Histology and Molecular Genetic Analysis of 1p, 19q, 10q, TP53, EGFR, CDK4, and CDKN2A in 91 Astrocytic and Oligodendroglial Tumors. Clin Cancer Res 2002 Jan;8(1):196-201
- 4) Perry JR. Oligodendrogliomas: clinical and genetic correlations Curr Opin Neurol 2001 Dec;14(6):705-10

前頭葉深部に発生したPXAの1例

Pleomorphic Xanthoastrocytoma in the Deep Frontal Lobe - Case Report -

東京女子医科大学脳神経センター脳神経外科

田中 雅彦、久保 長生、伊関 洋、村垣 善浩、丸山 隆志、堀 智勝

Key word : pleomorphic xanthoastrocytoma, deep frontal lobe, pathological findings

【はじめに】

Pleomorphic xanthoastrocytoma (PXA) は、1979年に Kepes らが発表した腫瘍であり、好発部位はテント上側頭葉大脳皮質である。また、組織学的には細胞の多形性に富み、一見悪性星細胞腫の様な像を呈するが、その予後は良好である。今回我々は、前頭葉深部に発生した成人 PXA の 1 症例を経験したので報告する。

【症例】

患者：35歳、女性。

既往歴・家族歴：特記すべき事項なし。

現病歴：平成13年6月、両手のしびれ感および眩暈を自覚した。このため、他医を受診した。頭部 CT および MRI を施行され、右前頭葉嚢胞性病変を指摘された。同年6月22日、嚢胞内容液の aspiration を施行され、細胞診にて class III と診断され、その後は経過観察されていた。

同年9月1日、精査および治療希望にて当科を受診、10月5日、入院となる。

入院時神経学的所見：意識清明、麻痺なし。明らかな神経学的異常所見は認められなかった。また、痙攣発作の既往もなかった。

神経放射線学的所見：頭部 CT にて、右前頭葉に、低吸収域の嚢胞性腫瘍病変を認めた。内部は、CSF よりもわずかに高吸収であり、造影 CT では周囲がリング状に極軽度造影された (Fig.1)。

同病変は、頭部 MRI で、T1WI にて低信号、T2WI にて高信号を呈し、ガドリニウム造影では、周囲がリング状に軽度造影された (Fig.2)。

また、脳血管造影にて腫瘍陰影は認められなかった。

臨床検査所見：末梢血・生化学検査および凝固系検査は正常範囲であった。

入院経過：平成13年10月12日、全身麻酔下に摘出術を施行した。右前頭開頭後、硬膜切開を置き、右前頭葉表面を観察したが、脳表は肉眼的に正常であった。そこで、右前頭葉脳表に、超音波のプロベを用いて病変の位置を同定した。皮質切開を入れ、病変に向かい剥離を進めると、比較的硬い wall を有する組織を認めた。内容液を吸引すると、黄色漿液性の fluid が得られた。周囲脳組織 (白質) と病変の wall との間を剥離しながら摘出操作を行い、一塊として嚢胞性病変を摘出した (Fig.3)。

術後経過は順調で、神経学的異常所見もなく10月31日、独歩自宅退院となる。

病理組織学的所見：腫瘍組織は、部位により多彩な像を呈していた。腫瘍細胞密度は比較的疎であったが、単核および多核の巨細胞を多数認めた。これらの腫瘍細胞は、核分裂像がなく、免疫組織化学的に GFAP 陽性で、MIB-1 陽性細胞も少なかった。

また、腫瘍組織には、granulated body、Rosenthal fiber およびリンパ球などが多数認められた。一方、腫瘍細胞間には、鍍銀染色にて好銀線維が豊富であった。なお、MIB-1 陽性率は、1.4%と低値であった。これらの所見から、本症例を PXA と診断した (Fig.4,5)。

【考察】

Pleomorphic xanthoastrocytoma (PXA) は、1979年に Kepes らが発表した腫瘍である。その概念は、① astrocytoma であるが fibrous xanthoma に類似した病理組織像、②多形性に富み、一見悪性であるが予後は良好、③特徴的な病理組織像、④嚢胞を伴うことが多い、にまとめられる¹⁾。Ciannini らは、71例の PXA についてその臨床像を報告している。年齢は平均26歳で、性差は男性35例、女性36例で性差はない。部位的には98%がテント上で、その49%が側頭葉であった。初発症状は痙攣発作が最も多い。治療法は

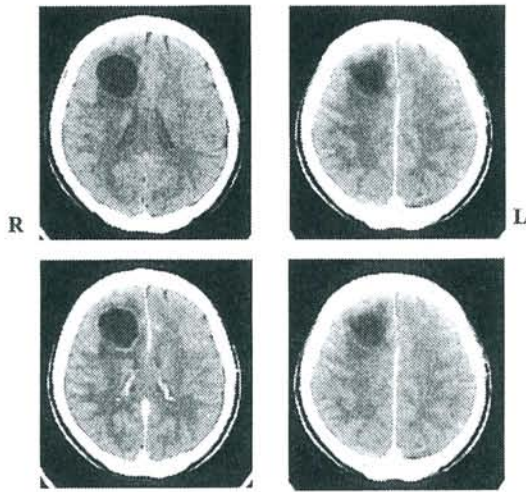


Fig.1 : preoperative CT

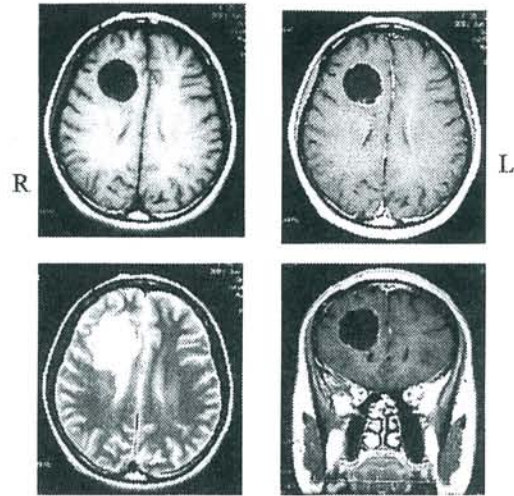


Fig.2 : preoperative MRI

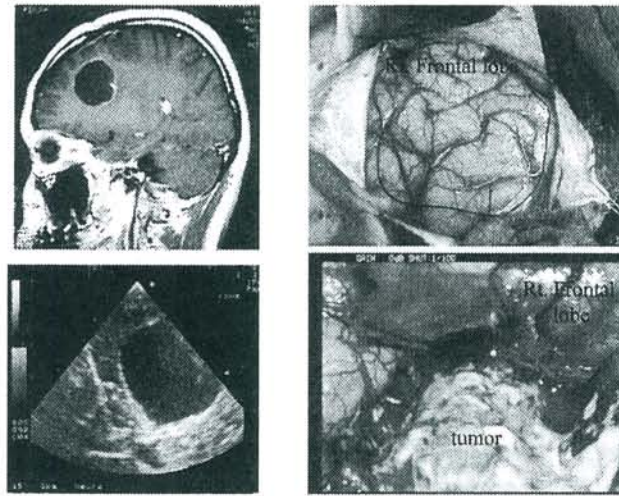


Fig.3 : operative findings

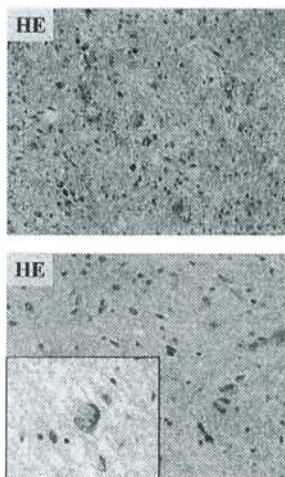


Fig.4

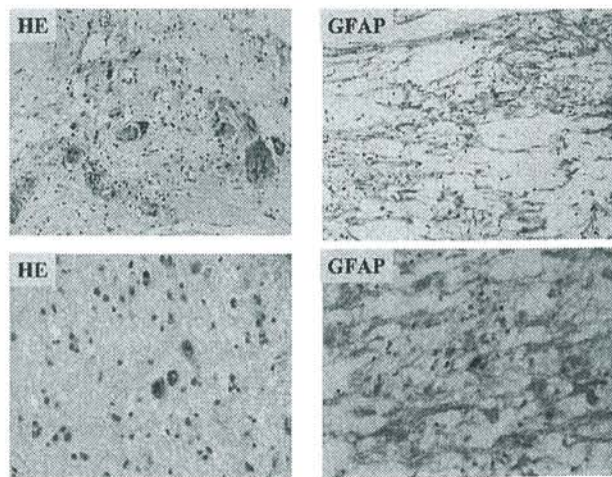


Fig.5

外科的摘出術であり、再発に関与する因子は主に mitotic index と腫瘍摘出率であり、予後に影響する因子は主に mitotic index とされている。5 年生存率は 81%、10 年生存率は 70%であった。なお、放射線および化学療法の有効性については明らかにされていない²⁾。

また、PXA の病理学的特徴は、① astrocyte 由来、②多核巨細胞、③核分裂像少ない、④壊死巣少ない、⑤線維形成が認められる、⑥慢性変性所見を認める、⑦周囲脳組織に gliosis を認める、などの点に要約できる。このため、glioblastoma, fibrous xanthoma, xanthosarcoma などと鑑別されることがある。しかし、これらの腫瘍に比して再発も少なく、悪性転化例も報告³⁻⁵⁾されてはいるものの予後は良好である。

本例は pilocytic astrocytoma との鑑別を要する病理所見であるが、成人、前頭葉、細胞の多形成などの所見より PXA と診断した。

さて、本報告で問題とする好発部位であるが、諸家の報告でも、その大半はテント上側頭葉脳表である。稀な症例として、NF1 に合併した後頭葉深部発の PXA⁶⁾、また、小脳発性の PXA も現在までに 3 例報告されており⁷⁻⁹⁾、胸髄より発生したとの報告もある¹⁰⁾。

本症例は、前頭葉深部に発生し、かつ、痙攣発作の既往もなく、成人発症であることから比較的稀な症例と考える。

このように、PXA は、脳表以外にも発生することから、深部白質の嚢胞性病変において、鑑別診断の 1 つとして考慮すべきである。

【文献】

- 1) 川野 信之. pleomorphic xanthoastrocytoma
日本脳腫瘍病理学会編 脳腫瘍臨床病理カラー
アトラス第 2 版 医学書院 : pp 30-31, 1999
- 2) Ciannini C et al : Pleomorphic xanthoastrocytoma :
What do we really know it?.
Cancer 85 : 2033-45, 1999
- 3) Weldon-Linn CM et al : Pleomorphic
xanthoastrocytoma. Ultrastructural and
immunohistochemical study of a case with a rapidly
fatal outcome following surgery.
Cancer 52 : 2055-63, 1983
- 4) Kepes JJ et al : Histopathological features of a
recurrent pleomorphic xanthoastrocytoma : further
corroboration of the glial nature of this neoplasm.
A study of 3 cases.
Acta neuropathol 78 : 585-93, 1989
- 5) Macaulay R.J.B et al : Increased mitotic activity as a
negative prognostic indicator in pleomorphic
xanthoastrocytoma. Case report.

- J Neurosurg 79 : 761-8, 1993
- 6) Kubo O et al. Pleomorphic xanthoastrocytoma with
neurofibromatosis type 1. Case report.
Brain Tumor Pathol 13 : 9-12, 1996
- 7) Lim SC et al : Cerebellar pleomorphic
xanthoastrocytoma in infant.
Pathol Int 49 : 811-5, 1999
- 8) Wasdahl DA et al : Cerebellar pleomorphic
xanthoastrocytoma : Case report.
Neurosurg 35 : 947-50, 1994
- 9) Rosemberg S et al : Pleomorphic xanthoastrocytoma
of the cerebellum.
Clin Neuropathol 19 : 238-42, 2000
- 10) Herpers M.J.H.M. et al : Pleomorphic
xanthoastrocytoma in the spinal cord. Case report.
J Neurosurg 80 : 564-9, 1994

視神経膠腫、類もやもや病、glioblastoma を合併した Neurofibromatosis type I の一例

北里大学医学部脳神経外科、北里研究所メディカルセンター病院脳神経外科*

久須美 真理、岡 秀宏、宇津木 聡、石渡 雅男、岩本 和久、田中 聡*、藤井 清孝

Key word ; glioblastoma、moyamoya disease、optic glioma、neurofibromatosis type I

【はじめに】

Neurofibromatosis type I (NF1)の15%に視神経膠腫が合併することはよく知られている⁸⁾。また、NF1には類もやもや病が起こりやすいといわれており^{1,3,11)}、glioblastoma の発生も少なからず報告されている⁴⁾。しかし、NF1 に視神経膠腫、類もやもや病、glioblastoma すべてを合併した報告我々が渉猟し得た限りではみられなかったのでその発生率、病因等につき若干の文献的考察を加え報告する。

【症 例】

患者：32歳男性

主訴：頭痛、めまい

既往歴：昭和47年(4歳時) café au lait spot を認めNF1と診断され、同年左視神経膠腫に対し眼窩内腫瘍摘出術を施行した。病理は pilocytic astrocytoma であった。

昭和49年に残存腫瘍が視交叉から右視神経に浸潤を認めたため、視神経をカバーする照射野に(両側内頸動脈を含む) total 60Gy の放射線局所照射を施行した (Fig.1)。

家族歴：母親がNF1

現病歴：平成13年8月下旬より頭痛、ふらつきを認め、頭部CT上左小脳半球に腫瘍性病変とそれに伴う水頭症を認め緊急入院となった。

入院時理学所見：全身9箇所に café au lait spot を認める。

入院時神経学的陽性所見：左失明、左小脳失調

入院時検査所見：特に異常認めず

入院時画像所見：頭部MRI所見では、昭和49年の頭部CTと比較し、視神経膠腫の増大所見は認めなかった (Fig.2)が、左小脳半球にT1強調画像で低信号、T2強調画像で高信号を示し、Gd-DTPAによりリング状の増強効果を示す腫瘍性病変を認めた (Fig.3-A, B,

C)。脳血管造影検査では、左右の内頸動脈撮影で両側内頸動脈の狭窄ともやもや血管の増生を認めた (Fig.4-A, B, C, D)、椎骨動脈撮影では左小脳半球に tumor stain を認めたが、椎骨-脳底動脈系の狭窄は認めなかった。

手術所見：入院後、頭痛の増強あり、頭部CT上水頭症の進行を認め、頭蓋内圧亢進の増悪が考えられたため、平成13年10月9日、後頭窩開頭腫瘍摘出術施行となった。左小脳半球脳表より1cmのところではゼラチン様の透明にやや灰色がかかった内容とその周囲に灰色調のややトロトロした組織を認めた。腫瘍と正常脳の境界は不明瞭であり、脳幹側の腫瘍は残し腫瘍を摘出した。

病理組織学的所見：昭和47年の組織像は、bipolar に突起をもつ腫瘍細胞の増殖がみられ、腫瘍細胞の核異型はみられず、Rosenthal fiber も散見される、pilocytic astrocytoma の像であった (Fig.5)。今回手術時の組織像は、核異型が著明で、mitosis、necrosis、endothelial proliferation があり、典型的な glioblastoma の像であった (Fig.6)。

術後経過：神経学的陽性所見としては左小脳失調残存を認めるのみで、術後残存腫瘍に対して放射線照射及び化学療法施行し現在経過良好である。

【考 察】

NF1は、3500人に一人の発生率で約半数が孤発例と言われている⁸⁾。原因遺伝子は Chromosome17q25 に存在するNF1遺伝子で、45%に中枢神経系腫瘍を合併する^{6,8)}。その84%を glioma が占めており(最多が視神経膠腫)、多発性中枢神経系腫瘍は7%で、視神経膠腫との合併例がほとんどである⁹⁾。NF1に合併した多発中枢神経系腫瘍は Sorensen ら⁶⁾の9例報告が最多であるが、我々が渉猟し得た限りではNF1症例における視神経膠腫と glioblastoma の合併例は、

Fig.1

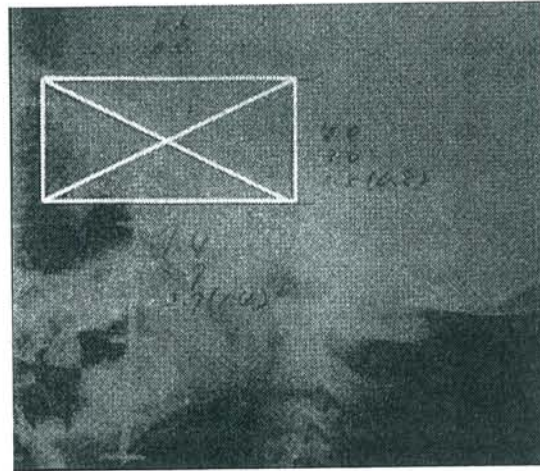
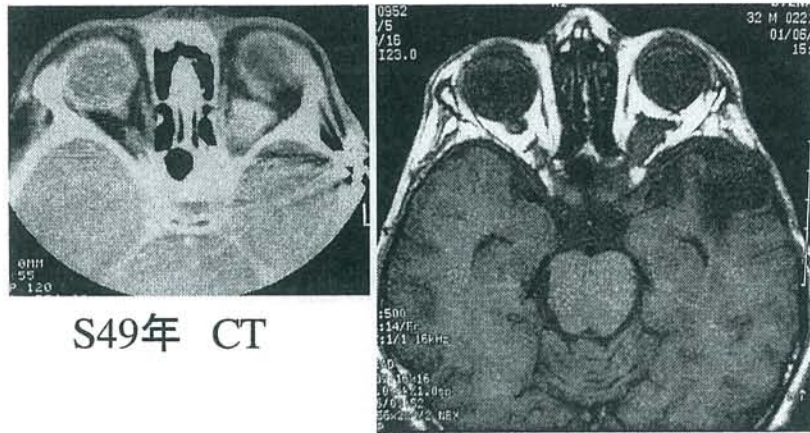


Fig.2



S49年 CT

H13年9月 MRI T1 WI

Fig.3



T1-WI

T2-WI

Gd-DTPA

Fig.4

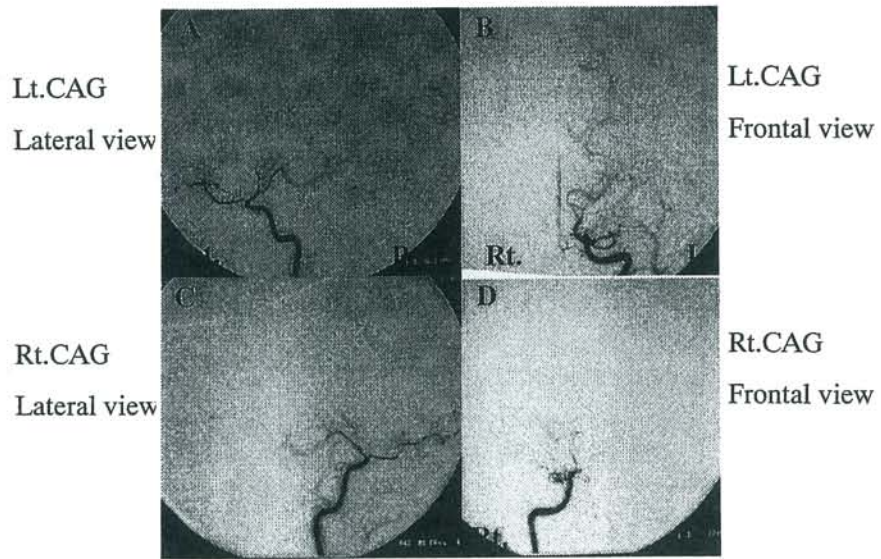


Fig.5

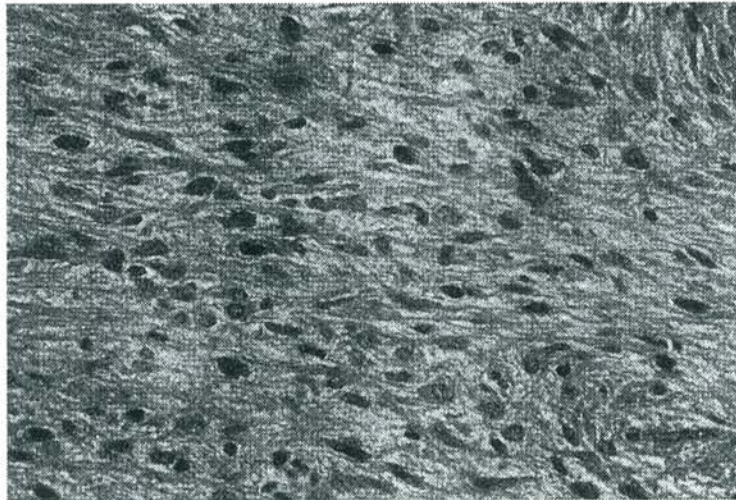
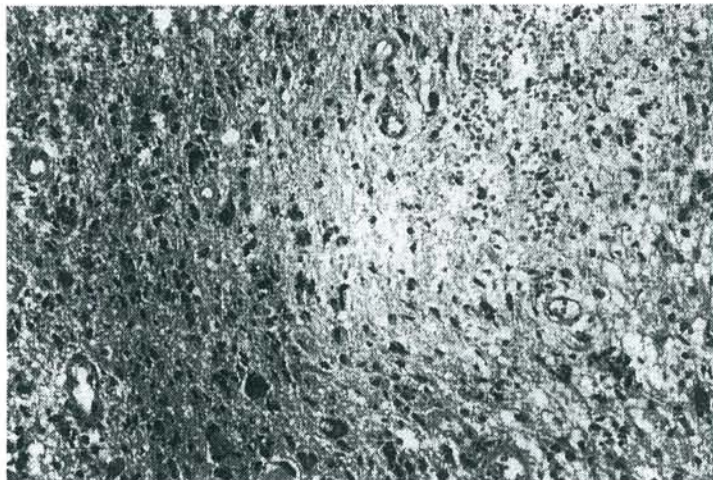


Fig.6



Miaux ら⁴⁾が報告した一例のみであった。本症例において小脳 glioblastoma は、視神経膠腫との連続性はない。え視神経膠腫の再増大も認めなかった。また、放射線照射野から外れていることから放射線誘発性腫瘍である可能性も否定的であった。つまり、この glioblastoma の発生は視神経膠腫の悪性化や転移、放射線誘発性腫瘍などは考えにくく、NF 1 遺伝子に起因する視神経膠腫と glioblastoma を合併した稀な症例と考えられた。

NF 1 は内頸動脈閉塞に伴うもやもや血管の合併頻度が 10%と高く¹⁾、もやもや病の診断基準から NF 1 は除外されている。一方、小児の craniopharyngioma や視神経膠腫に対する放射線照射においても類もやもや病は発生する可能性がある^{1,2,3,9)}。また、NF 1 に合併しない視神経膠腫に対する放射線照射で類もやもや病の発生が 9%に認められるが³⁾、NF 1 に合併した視神経膠腫に対する放射線照射の場合類もやもや病の発生は 60%と高率になることが知られている³⁾。本症例における類もやもや病は、視神経膠腫発症時 4 歳であったことから放射線照射前に脳血管造影を施行していないため確証に欠けるが、放射線照射野が内頸動脈末梢部を含むことより、放射線照射が類もやもや病を引き起こすことに関与したもと考えた。さらに、家族性もやもや病関連遺伝子が chromosome17q25 に存在し⁹⁾、これが NF 1 遺伝子に近接していることも、NF 1 に類もやもや病が発生しやすい一因と考えられた。

【謝 辞】

本症例報告の一部は文部科学省科学研究助成、アカデミックフロンティア推進事業、北里大学医学部父兄会研究助成の援助を受けた。

【文 献】

- 1) Beker RA, Paden P, Sobel DF, Flynn FG. ; Moyamoya pattern of vascular occlusion after radiotherapy for glioma of the optic chiasm Neurology 1986;36:1173-1178
- 2) Bitzer M, Topka H. ; Progressive Cerebral Occulsive Disease After Radiation Therapy Stroke 1995;26 (1) ; 131-141
- 3) Kestle JRW, Hoffman HJ, Mock AR. ; Moyamoya phenomenon after radiation for optic glioma J Neurosurgery 1993;79:32-35
- 4) Miaux Y, Guermazi A, Cornu P, Mokhtari K, Singer B, Chiras J, Blanchet-Bardon C. ; High-intensity lesion on T1-weighted MR images in Neurofibromatosis type 1 : a case of premalignant lesion Acta Neurochir (Wien) 1997;139:1085-1087
- 5) Muhammad AK, Yoshimine T, Maruno M,

- Tokiyoshi K, Takemoto O, Ninomiya H, Hayakawa T. ; Chromosome 17 allelic loss in astrocytic tumors and its clinico-pathologic implications Clin Neuropathol 1997 Jul-Aug;16 (4) :202-206
- 6) Sorensen SA, Mulvihill JJ, Nielsen A. ; Long-term follow-up of von Recklonghausen neurofibromatosis Survival and Malignant Neoplasms ; The England Journal of Medicine 1986 April17;314 (16) :1010-1015
- 7) Vinchon M, Soto-Ares G, Ruchoux MM, Dhellemmes P. ; Cerebellar gliomas in children with NF1 : pathology and surgery Child's Nerv Syst 2000;16:417-420
- 8) Wilkins RH, Reugachary SS. ; Neurosurgery Second Edition McGRAW-HILL Health Professions Divisio:673-676, 662-663
- 9) Yamauchi T, Tada M, Houkin K, Tanaka T, Nakamura K, Kuroda S, Abe H, Inoue T, Ikezaki K, Matsushima T, Fukui M. ; Linkage of Familial Moyamoya Disease (Spontaneous Occulsive of the Circle of Willis) to Chromosome17q25 Stroke 2000;31 (4) :930-939
- 10) 太田富雄；脳神経外科学 改訂 8 版 金芳堂 2000:454-458
- 11) 鈴木二郎；Moyamoya 病 医学書院 1983;132-137

中脳 Pilocytic astrocytoma の症例

Midbrain pilocytic astrocytoma

筑波大学臨床医学系脳神経外科

坪井 康次、中村 和弘、松田 和郎、能勢 忠男

【はじめに】

脳幹腫瘍、とりわけ脳幹の髄内腫瘍の治療は極めて困難である。従来は画像診断または生検後、放射線治療と対症療法が主たる治療とされ、予後が不良なために敬遠されてきた傾向がある。その多くは神経膠腫であるが、小児では中脳に発生する症例は脳幹神経膠腫の約10-12%とされており比較的少ない^{1,2,15)}。しかし、適切に選択された症例では、摘出術にて良好な予後が得られた症例も報告されつつあり^{4,8,13,15)}、診断方法の進歩とともに治療方針は変わってきている。最近、われわれは中脳の tegmental focal tumor の症例を経験し治療に苦慮した。新たな治療の試みも含め、その治療経験を報告する。

【症例】

13歳の子供が、頭痛、嘔吐、意識障害にて当院へ搬送された。この患者の現病歴は平成9年9月下旬に始まり、その頃から軽度の右片麻痺が出現し徐々に進行した。同年10月20日に近医受診したところ、頭部MRIにて脳幹部腫瘍と診断された。続いて11月14日、定位的腫瘍生検術が施行された結果 glioblastoma と病理診断され、放射線療法が開始された。しかし、照射は5Gyで中断となり、ステロイド剤の経口投与を受けながら自宅療養となっていた。その後、平成10年6月上旬には頭痛が増強、8月中旬には嚥下障害、9月上旬には構語障害がみられ、10月上旬からは右聴覚障害が加わり、頭蓋内圧亢進症状が進んだために、10月31日に別の近医を受診したところ11月1日本院へ紹介、搬送となった。家族歴、既往歴には特記すべき事はなかった。

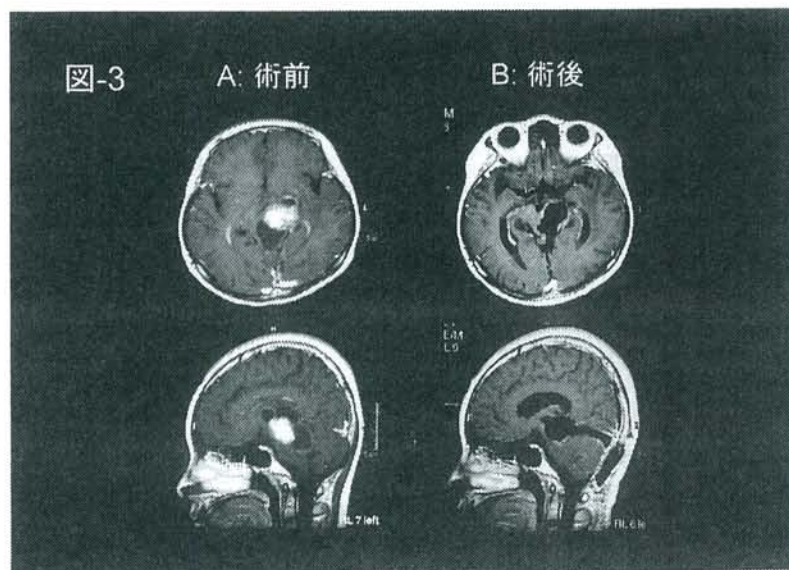
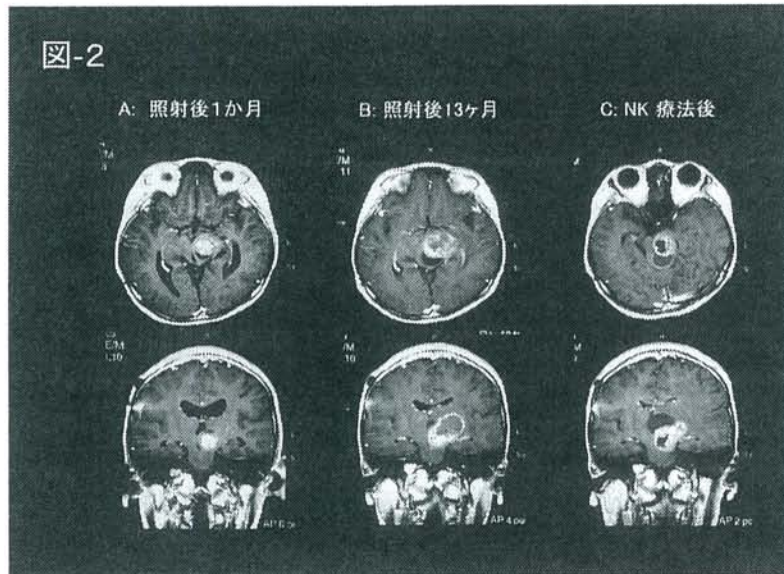
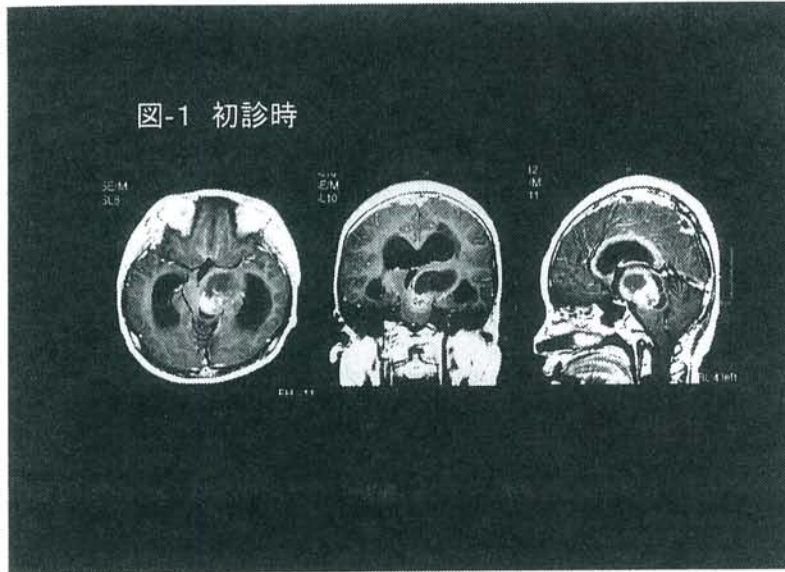
入院時の神経学的所見では、意識レベルはII-10で眼球運動障害、右聴覚障害、構語障害を認め、顔面を含む右片麻痺(上肢:0/5、下肢:2/5)と右半身感覚障害を伴っていた。来院時のMRIでは側脳室、第三脳室の著しい拡大を認め、左の中脳から視床にかけて Gadlinium にて不均一に増強される腫瘍性病変があり、その頭側にある嚢胞により中脳水道は閉塞されていた(図-1)。緊急で脳室-腹腔シャント術

を行ったところ、頭蓋内圧更新症状は解除されたが、脳幹の局所症状には著変を認めなかった。定位的に嚢胞穿刺開放術を行い、同時に Ommaya リザーバーを留置した。症状が安定したところで同部位に対して55.8Gyの照射を行った結果、腫瘍と嚢胞は縮小し、症状はさらに軽快して、無事中学校を卒業することができた(図-2、A)。しかし、照射終了約13ヵ月後から右片麻痺と聴力障害の悪化が認められ、MRI上も腫瘍の再増殖が確認された(図-2、B)。そこで患者末梢血から自家ナチュラルキラー細胞(NK)を誘導して合計7回のNKを腫瘍嚢胞内へ局所投与した(図-2、C)。症状は改善し画像上も腫瘍の縮小を認めたが、再び嚢胞が増大したために腫瘍摘出術を行うこととした(図-3、A)。

まず、SEPをモニターして、腹臥位にて後頭窩開頭を行った。テント下に小脳上面を進み、culmenにcoticotomyをいれ、そこを経由して中脳背側の嚢胞を開放した。次に腫瘍の頭側の腫瘍を開放し、腫瘍本体の背側から頭側にかけての範囲を確認した後に腫瘍をpiece mealに摘出した。腫瘍からの出血は少なく、腫瘍の境界も比較的明瞭で肉眼的に全摘出可能であった。病理学的所見では、細胞密度は低く Rosenthal fiberを多数認め、mitotic figureはほとんど認められなかった。一部にいわゆる piloid patternを認めることから pilocytic astrocytomaと診断した。MIB-1陽性率は0.5%と低値であった。術後、新たな神経症状の出現はなく(図-3、B)、聴力障害と顔面の麻痺はほぼ消失し、右片麻痺は軽減した。術後7ヶ月現在も再発はなく、リハビリテーション中であるが、独歩可能となり自宅内では自立している。

【考察】

中脳の神経膠腫は、腫瘍の部位からは tectal, tegmental, paraaqueductal の3つに分類され、発育のパターンからは exophytic, focal, diffuseに分類される^{1,5,11)}。これらの分類からは本症例は tegmental focal gliomaと分類される。tectal, Tegmentalの腫瘍のほとんどは focalで良性腫瘍が多いとされているが^{3,9)}、Wongら



は 35 例の自験例の解析から、tectal, tegmental の症例の 1/2 から 1/4 は悪性であったと報告し、exophytic または focal な発育を示す腫瘍はほとんどが pilocytic か low grade astrocytoma で摘出が可能な症例が多いが、diffuse pattern を呈する腫瘍は悪性であることが多く予後不良と述べている¹⁵⁾。一方、“focal midbrain tumor”として脳幹腫瘍の中では比較的予後のよい疾患群があるとも考えられ^{6,9,13)}、その多くは pilocytic または low grade glioma である。

本症例では、始めの病理学的診断は正確ではなかったが、定位的生検術では、正確な病理診断が得られる確立は低いとの報告もある⁷⁾。その後、放射線療法により腫瘍は約 1 年コントロールされたが、Retrospective には始めから直達手術が最良の選択であったとする意見も有るだろう。脳幹や間脳に発生する pilocytic astrocytoma に対して、放射線治療が有効であるとの報告はある^{5,10,15)}。しかし、脳幹腫瘍では放射線治療が終了すると後に残された治療法が極めて限られてしまう。今回、自家ナチュラルキラー細胞 (NK) を誘導して局所投与したが、手術が不可能な脳幹腫瘍に対しては、今後も同様な特異的腫瘍免疫療法の可能性を探るべきであると考えられる。

中脳の腫瘍へのアプローチとしては、infratentorial supracerebellar approach か occipital transtentorial approach が考えられる^{2,8,14)}。前者の場合は左右の視野が広く取れるが、脳幹の軸と straight sinus とのなす角度が小さい場合は困難である。一方、後者のアプローチは患者の体位や術者の姿勢は比較的楽であるが、視野が限られており腫瘍摘出の操作にもかなり制限がある。本症例ではこの straight sinus の仰角が大きく、視野が大きく取れたこと、腫瘍の周囲に複数の嚢胞があり、それらを開放することで腫瘍の位置とサイズが判断しやすかったこと、さらに腫瘍自身と周囲の脳幹組織の境界も判断できたなどから全摘出が可能であったと推察している。むしろこのような好条件がそろふことは少ないだろうと予想されるが、本症例では初診時の MRI では腫瘍の辺縁がはっきりしないことから、放射線療法や NK 療法などの影響で腫瘍がこのような状態になった可能性もありうる。確かに安全に腫瘍摘出が可能であればそれが第一の選択になるだろうが、良性腫瘍に対する routine aggressive surgical debulking は必要ないという報告もあり⁶⁾、やはり摘出術の適応については注意深く検討すべきである。

【文献】

- 1) Boydston WR, Sanford RA, Muhlbauer MS, Kun LE, Kirk E, Dohan FC Jr, Schweitzer JB: Gliomas of the tectum and periaqueductal region of the mesencephalon. *Pediatr Neurosurg* 17(5): 234-238, 1991-92
- 2) Constantini S, Epstein F. Surgical indication and technical considerations in the management of benign brain stem gliomas. *J Neurooncol* 28(2-3): 193-205, 1996
- 3) Epstein F, McCleary EL. Intrinsic brain-stem tumors of childhood: surgical indications. *J Neurosurg* 64(1): 11-15, 1986
- 4) Epstein F, Constantini S. Practical decisions in the treatment of pediatric brain stem tumors. *Pediatr Neurosurg* 24(1): 24-34, 1996
- 5) Freeman CR, Farmer JP. Pediatric brain stem gliomas: a review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 15;40(2): 265-271, 1998
- 6) Hamilton MG, Laurysen C, Hagen N: Focal midbrain glioma: long term survival in a cohort of 16 patients and the implications for management. *Can J Neurol Sci* 23(3): 204-207, 1996
- 7) Jackson RJ, Fuller GN, Abi-Said D, Lang FF, Gokaslan ZL, Shi WM, Wildrick DM, Sawaya R. Limitations of stereotactic biopsy in the initial management of gliomas. *Neuro-oncol* 3(3): 193-200, 2001
- 8) Pendl G, Vorkapic P, Koniya M: Microsurgery of midbrain lesions. *Neurosurgery* 26(4): 641-648, 1990
- 9) Robertson PL, Muraszko KM, Brunberg JA, Axtell RA, Dauser RC, Turrisi AT: Pediatric midbrain tumors: a benign subgroup of brainstem gliomas. *Pediatr Neurosurg* 22(2): 65-73, 1995
- 10) Rubin G, Michowitz S, Horev G, Herscovici Z, Cohen IJ, Shuper A, Rappaport ZH: Pediatric brain stem gliomas: an update. *Childs Nerv Syst* 14(4-5): 167-73, 1998
- 11) Sun B, Wang CC, Wang J. MRI characteristics of midbrain tumours. *Neuroradiology* 41(3): 158-62, 1999
- 12) Tokuriki Y, Handa H, Okumura T, Paine JT: Brain stem glioma: An analysis of 85 cases. *Acta Neurochir*: 79:67-73, 1986
- 13) Vandertop WP, Hoffman HJ, Drake JM, Humphreys RP, Rutka JT, Amstrong DC, Becker LE: Focal midbrain tumors in children. *Neurosurgery* 31(2): 186-194, 1992
- 14) Vishteh AG, David CA, Marciano FF, Coscarella E, Spetzler RF: Extreme lateral supracerebellar infratentorial approach to the posterolateral mesencephalon: technique and clinical experience. *Neurosurgery* 46(2): 384-389, 2000
- 15) Wang C, Zhang J, Liu A, Sun B, Zhao Y: Surgical treatment of primary midbrain gliomas. *Surg Neurol*, 53(1): 41-51, 2000

成人 diffuse astrocytoma 例の長期予後 ～5年以上の寛解例を中心に～

Clinical analysis of long term survivors of cerebral diffuse astrocytoma in adult

東京医科大学脳神経外科

秋元 治朗、松邨 宏之、稲次 忠介、原岡 襄

【はじめに】

Low grade glioma が疑われる患者を目前にした時どのような治療を選択するのか。「KPS を下げない範囲で可能な限り腫瘍を摘出し、放射線治療を行う」との答えが現状での及第点であろう。しかし Evidence based medicine が求められる現在、自分の選択する治療の risk と benefit の具体的評価を成し得なければ、誰にでも信頼される治療として継続し得なくなってしまうのではないだろうか。

4年前の本会において、慶応大学の太谷先生が選んだテーマは「Low grade glioma における adjuvant therapy の適応と timing」であった。その会で著者らは腫瘍発生部位の functional eloquence が術前後の KPS、腫瘍摘出度を決定し、放射線治療を施行しても腫瘍残存部が多い程、腫瘍再発、悪性化も多く、その予後を決定する重要な因子であると報告した。Low grade glioma の予後因子としての年齢、術前 KPS、手術摘出度の重要性は既に周知のものであり、著者らが4年前に述べた結論¹⁾では、放射線治療の benefit に関しては全く論じ得なかったのである。又、他施設の報告でも放射線治療の是非について明言し得たものは無かった。では4年経過した現在、我々は adjuvant therapy としての放射線照射の是非についてなんらかの知見を得たのか。残念ながら何も得ていないのが現状である。やはり放射線照射は漫然と継続し、4年前に実感した prospective study の必要性に関する具体的方針は全く立っていない。

そんな中、本年の脳腫瘍病理学会で筑波大学の高野先生が報告したデータ²⁾は衝撃的であった。Low grade glioma に対する放射線治療は腫瘍細胞の遺伝子変異を惹起し、再発、悪性化への促進因子となっている可能性を述べられたのである。放射線照射の是非を改めて検討すべき時期にあることを実感した。

そこで我々は成人テント上 low grade glioma 自験例の臨床経過を再検討、今回は特に長期生存例における QOL に注目し、放射線治療の功罪等を含めた治療

予後を分析した。

【対象および方法】

臨床像および病理像の bias をなるべく除外する目的で、今回は成人のテント上に発生した、病理学的に diffuse astrocytoma と診断された 32 例を対象とした。深部発生で生検術後の病理診断にて diffuse astrocytoma と診断されても、画像上明らかに malignant glioma が疑われる例や、gemistocytic type は除外している。初療時年齢は 16-73 才(平均 39.3 才)で、男性 15 例、女性 17 例である。これらの症例における調査時までの再発の有無を検討、再発例、非再発例における年齢、初発症状、術前 KPS、発生部位の functional eloquence、手術摘出度、術後放射線の有無、その線量等を比較した。そして 5 年以上再発の見られない寛解例における QOL を、Laws ら³⁾が述べた low grade glioma 例における術後予後評価スケール(Table 2)を用いて評価、予後良好例と不良例における上記臨床情報を比較検討した。そして予後不良例における臨床像を詳細に分析し、その病態につき検討した。

【結果】

1、再発について

調査時までに再発をみたのは 14 例(44%)であり、TTP(time to progression)は平均 41 カ月、約 3 年半であった。14 例中 12 例(86%)に組織学的悪性化を認め、再発後の 1 年生存率は 55%であった。調査時までに再発をみなかった 18 例(寛解例)は平均 90.1 カ月、約 7 年半の follow up 期間であった。Table 1 に再発例、寛解例の臨床情報の比較を示すが、寛解例では再発例に比し若年で、痙攣発症、non-eloquent area 例で、18 例中 12 例(67%)に亜全摘以上の手術が成されていた。Student-t 検定では明らかな有意差は無かったが、いわゆる予後良好因子が反映されたと思われる。放射線照射は両群とも約 8 割の症例に施行され、線量

も平均 55Gy で近似していた。

2、寛解例における QOL

1995 年に Laws ら³⁾ が述べた術後 QOL 判定基準を基に QOL のスコア化を試みた。(Table 2) 具体的には、術前神経脱落症状の改善があったか、術前の痙攣発作がコントロールされたか、神経症状を含めた日常の activity は如何か、復職を含め社会復帰し得たか、QOL を維持するための medication が必要か否かの 5 項目の合計点で QOL を評価した。寛解例 18 例中十分な臨床情報から QOL 評価が可能であったのは 13 例で、QOL スコア 4、5 の良好群が 7 例、QOL スコア 3 以下の不良群が 6 例であった。(Table 3) 両群の臨床情報の比較では初療時年齢、functional eloquence、手術摘出度、放射線照射、線量等に差は無く、follow up 期間が良好群で 7 年半、不良群で 10 年と CT era の古い症例で QOL が低い印象が得られた。

3、QOL 不良群の実際 (症例提示)

10 年近い follow up を行うと腫瘍の寛解は得られていても、治療に起因する種々の障害が見えてくる。症例 AT は 53 才女性であるが、左前頭葉弁蓋部から基底核へ進展しており、50% の摘出に終わっている。Focal 70Gy の irradiation を施行したが、術後 18 ヶ月頃より白質に低吸収域が出現し、徐々に脳室拡大も伴い、73 ヶ月生存するも QOL スコア 0、PS 4 という状態である。(Fig.1) 症例 NH は 44 才女性、右前頭葉例で 95% の摘出がなされ、focal 51Gy の irradiation が成された。術直後の KPS は 90% であったが、術後 28 ヶ月頃より前頭葉白質中心に低吸収域が出現、術後 8 年頃より高次脳機能障害が明らかとなり 10 年の経過で QOL スコア 0、PS 4 でほぼ寝たきりとなってしまった。(Fig.2) 症例 MT は 25 才女性の右海馬発生例である。Transcortical approach にて亜全摘し、focal 60Gy の irradiation を施行したが、術後右同名半盲を生じ、痙攣コントロールも不良、精神的に抑鬱状態となり、8 年の経過で QOL スコア 1 と評価した。(Fig.3) 症例 MM は 34 才男性、前頭葉深部に発生した例で亜全摘、focal 60Gy の irradiation を施行したが、5 年後に照射野内へ出血を、11 年後にその近傍に梗塞を生じた。脳血管撮影にて照射野の脳主幹動脈の狭細化が認められている。この例では左半身麻痺と高次脳機能障害を後遺し、QOL スコア 3 と評価した。(Fig.4a,4b)

4、QOL 不良群の病因

Table 4 に 6 例のまとめを示したが、3 例では術後の神経脱落症状の残存あるいは悪化が QOL 低下の主たる原因であり、難治性痙攣の合併等を含め、腫瘍残存等に起因する精神的不安感などから抑鬱状態に移行する症例もあった。Radiation に起因する白質脳症は照射後 2 年程で画像上捉えられ、臨床的に問題となるまでに 6-7 年かかる様であるが、4 例で明らかな高次脳機能障害を生じ、以後急速に痴呆状態へ移

行した。又 1 例で放射線照射に起因する脳血管障害がみられ、結果として生じた神経脱落症状が QOL 低下の主因となった。

【考察】

Neuro-oncologist にとって low grade glioma の natural course、再発、悪性化、放射線治療の可否は近年最も重要なテーマと言える。分子生物学的手法の進歩は glioma の biology の解明に多大な貢献をもたらしたが、未だ low grade glioma に関するこれらの命題に対する breakthrough は得られていない。多くの報告^{1,3,4)} から組織学的に diffuse astrocytoma (grade 2) と診断された症例の 5 年生存率は 60%、生存期間中央値は 6-8 年とされ、再発までの期間は平均 4 年程度とされる。今回の著者らの報告で 5 年以上再発の無い症例を寛解例と呼んだのは、初期治療によって早期再発を逃れたという意味を持つ。

実際の臨床の場でも、我々は 5 年間再発が無ければ一安心である旨を患者に伝えている。しかし low grade glioma が理論上治癒し得ない腫瘍であることを鑑みると、依然として再発のリスクは避けられない事実であり、患者は常にその恐怖に怯えているのである。それ故、治療担当者である我々は患者に治療選択を行う上で、十分なインフォームドコンセントを行う義務があるが、実際は放射線治療という一つの治療オプションにでさえ、その治療意義を説明し得る十分な evidence を持っていない。

今回の検討においても、初期寛解が得られた後、十分な QOL を得、最早ほぼ治癒と呼べる症例があった一方で、腫瘍の再発が無いにも関わらず、初期治療に起因する障害により極めて QOL の乏しい症例を経験した。それらは手術摘出によって生じた神経脱落症状、放射線照射に起因する脳症、病態や症状に対する不安から生ずる抑鬱などが原因であった。手術に起因する神経症状に関しては、近年の手術手技の向上、monitoring、navigation、functional MRI 等の技術応用⁴⁾により、ある程度の光りが見えており、今回報告した症例もまさに CT era の古い症例であることから、その克服の可能性を実感しつつある。

放射線障害に関しても、長期 follow up し得た症例とは、まさに CT era の古い症例である事実があり、放射線照射野設定の問題や、照射方法など、近年の方法論とは多くの差異があることも否めない。実際 focal irradiation といっても術後の造影 CT 上、辺縁 2cm を目標とするルールはどれほど正確といえたのか。全脳への放射線照射が正常脳へ与える侵襲、そしてこれに起因する高次脳機能障害に関しては多くの報告があり、low grade glioma への適応はほぼ無いと思われる。一方で局所照射による高次脳機能障害の検討に関しては、Taphoorn ら⁵⁾、Vigliani ら⁶⁾ の報告

Table 1

	Recurrence (+)	Recurrence (-)	P
	TTP:41mon.	Follow-up 90.1mon.	
N	14	18	
Age	42.43±15.8	36.1±13.8	0.1501
Seizure	7 (50%)	13 (72%)	
Pre-KPS	86.4±5.0	86.4±7.0	n.s.
Eloquence	7 (50%)	6 (33%)	
Surgery	13	18	
Biop/Part	8	6	
STR	4	7	
GTR	1	5	
Radiation (dose)	11 (54.3±8.7)	15 (55.4±5.6)	0.3711

Table 2 *Standard outcome measurement tool following surgery of low grade gliomas*

- 1, Amelioration of neurological symptoms and signs: **yes/ no: 1 / 0**
 - 2, Relief from preoperative seizures: **yes/ no: 1 / 0**
 - 3, Functional status, including assessment of activities of daily life and needs: **good/ poor: 1 / 0**
 - 4, Return to employment or usual day-to-day activities: **yes/ no: 1 / 0**
 - 5, Medication needed to maintain quality of life: **yes/ no: 0 / 1**
 - 6, Time to disease recurrence
 - 7, Survival
- QOL score: 0 ~ 5**

Table 3

QOL score	4-5	0-3	P
N	7	6	
Age	34.6±11.5	38.0±10.7	0.736
Eloquence	2	2	
Surgery			
Biop/Part	2	1	
STR	3	4	
GTR	2	1	
Rad (dose)	5 (53.8±5.2)	6 (52.8±17.5)	0.8679
Follow up (month)	91.7±31.9	123.5±39.0	0.1572

Table 4 QOL score 0-3

Case	score	age	follow up	eloq	rad dose	symptom	etiology
NH	0	44	139mon	(-)	51.0	dementia,hypokinesia	radiation
AS	0	53	73mon	(+)	71.5	dementia, hypokinesia	radiation
MT	1	25	91mon	(+)	60.0	hemianopia, depression intractable seizure	FND psychosis
YT	2	34	121mon	(-)	IOR20	hemiparesis,psychosis	FND psychosis
MM	3	34	133mon	(-)	60.0	hemiparesis cognitive impairment	CVD
FU	3	52	184mon	(-)	50.0	hemiparesis, fatigue cognitive impairment	FND psychosis

FND: focal neurological deficits, CVD:cerebrovascular disease

Case A.T. 53y.o., Female: Partial seizure with mild motor aphasia

Preoperative KPS: 70, Partial removal (50%)

with focal 70 Gy irradiation

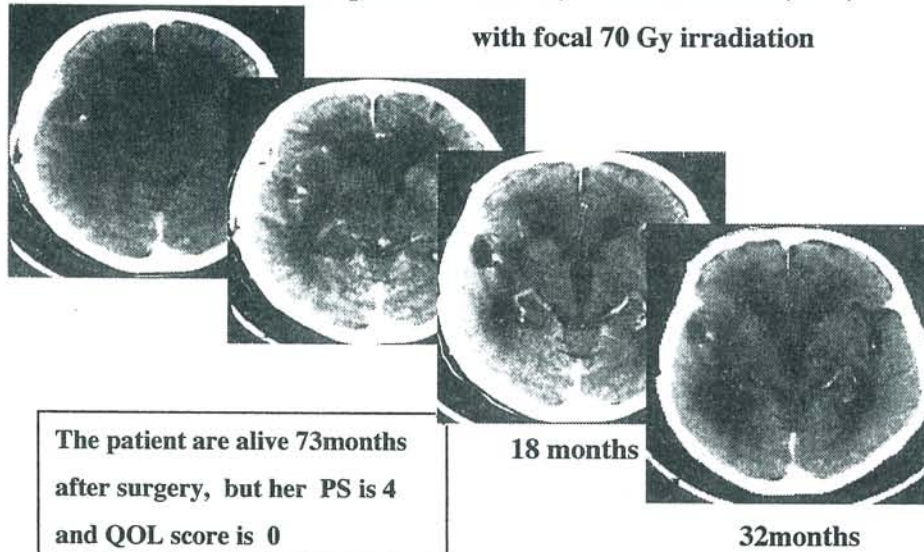


Fig.1

Case N.H., 44 y.o., Female. Partial seizure, Preoperative KPS 90

Subtotal removal (95%)

with 51 Gy focal irradiation

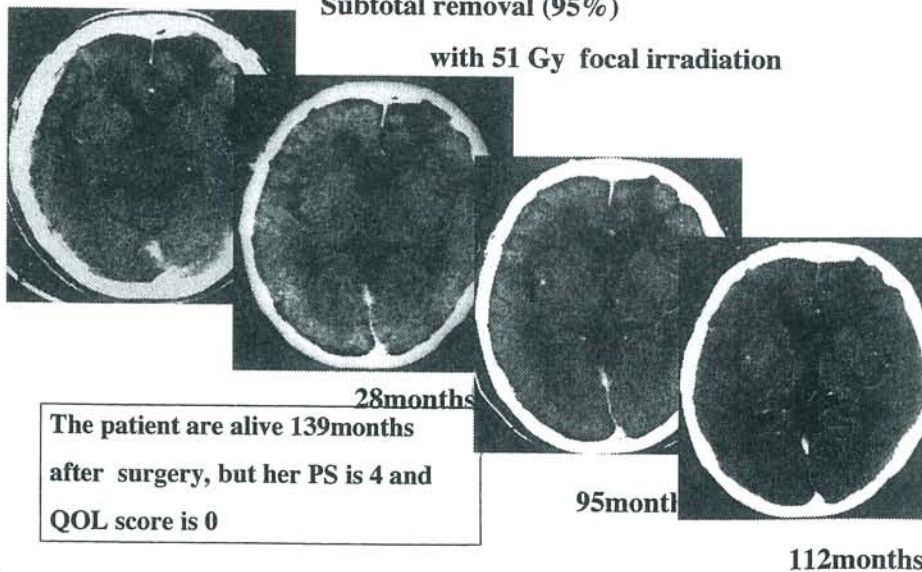
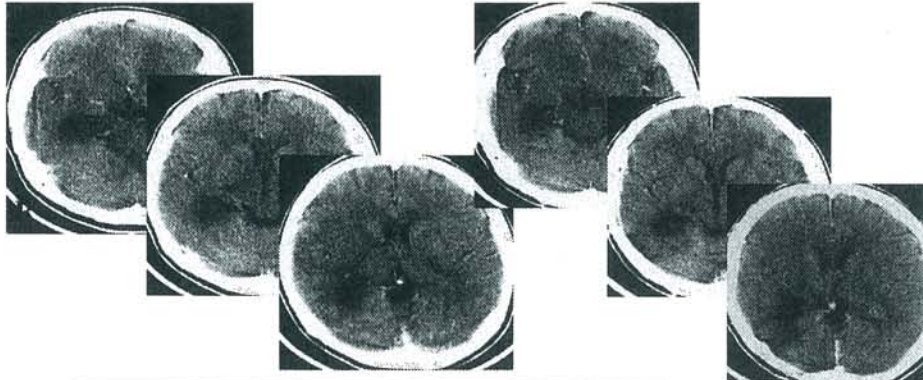


Fig.2

Case M.T., 25y.o., Female: Complex partial seizure, Preoperative KPS 90, Subtotal removal of the tumor, with focal 60 Gy irradiation

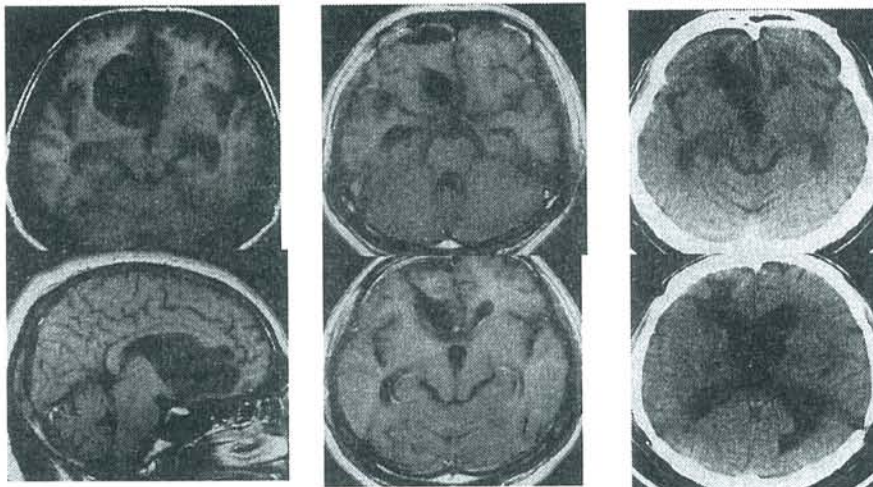


The patient is alive 91 months after surgery, but her QOL score is 1, complaining homonymous anopia, intractable seizure, anxiety and depression.

18 months

Fig.3

Case M.M., 34y.o., Male: IICP symptoms, Preoperative KPS 80, Subtotal removal of the tumor, with focal 60 Gy irradiation

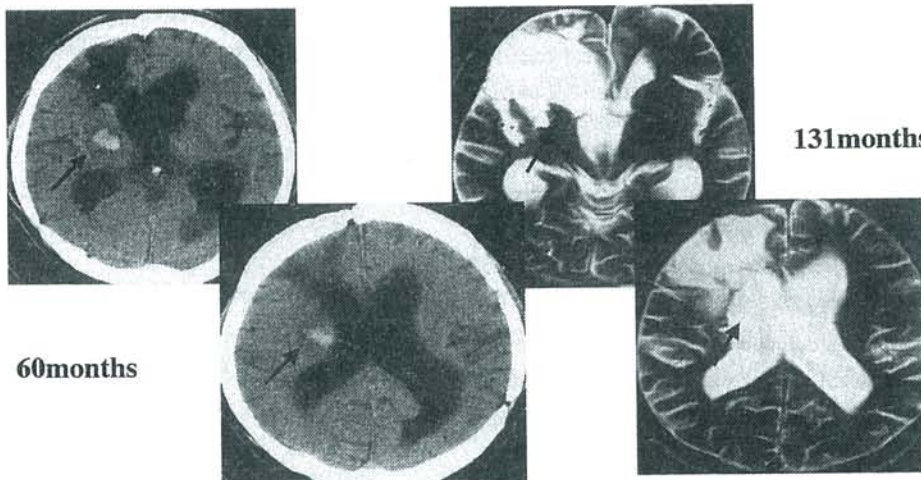


Preoperative images

5months

18months

Fig.4a



60months

131months

The patient is alive 135 months after surgery, but his QOL score is 3, complaining left hemiparesis and cognitive impairment

Fig.4b

があるが、いずれも3-4年といった短い follow up 期間に過ぎない。前者は low grade glioma 罹患例では放射線照射の有無に関わらず認知機能、情動面 (fatigue and depressed mood)の低下があると述べた。後者は照射後6ヵ月に見られる一過性の認知機能低下があるが、長期化はしないと述べた。しかし我々の症例は照射後6-7年後に著明な QOL の低下をみたのである。より厳密な意味での focal irradiation における prospective で、かつ長期的な認知機能予後の評価が必要ではないだろうか。

【結 論】

- 1、32例の成人テント上 diffuse astrocytoma の長期予後を分析した。
- 2、再発は44%の症例に平均3.5年で生じ、eloquent area に発生し、手術摘出度の低い症例に多かった。
- 3、5年以上の寛解が得られている症例では、QOL スコアも良好で、治癒と判定可能な症例も含まれているが、平均10年の経過でQOL スコアが悪化、高次脳機能障害、局所神経症状、精神症状等を呈する症例が見られた。
- 4、QOL スコア悪化の原因として放射線障害、手術に起因する神経症状、難治性痙攣、神経症等が考えられ、初療時における放射線照射の是非に関する prospective な検討、eloquent area 発生例における機能的予後に配慮した手術、精神面でのケア等、長期予後の面からもそれらの重要性が示唆された。

【文 献】

- 1) 秋元治朗、鈴木信宏、伊東洋ほか：当科における Low grade glioma 治療の現状—特に腫瘍の location(eloquence)に注目して—
Neuro-Oncology 7(1), 36-40, 1997
- 2) 高野晋吾、坪井康次、松村明ほか：Astrocytoma の progression に関わる因子
第19回日本脳腫瘍病理学会抄録集, 45, 2001
- 3) Laws ER, Thapar K : Surgical aspects and general management of astrocytomas, in Apuzzo MJ (ed): Benign Cerebral Glioma, Volume II.
AANS Publications Committee, 1995, pp381-395
- 4) 松本健五、富田享、大本堯史：深部および機能的な重要領域におけるグリオーマの手術：機能的マッピング、術中モニター、ナビゲーションの応用 脳外 25(1), 17-28, 1997
- 5) Taphoorn MJB, Schiphorst AK, Snoek FJ et al: Cognitive functions and quality of life in patients with low-grade gliomas: The impact of radiotherapy
Ann Neurol 36, 48-54, 1994
- 6) Vigliani MC, Sichez N, Poisson M et al: A prospective study of cognitive functions

following conventional radiotherapy for supratentorial gliomas in young adults: 4-year results
Int J Radiation Oncology Biol Phys 35, 527-533, 1996

杏林大学におけるlow grade astrocytomaの治療

Clinical analysis of cases with low-grade astrocytomas in the Kyorin University Hospital.

杏林大学脳神経外科¹⁾、病理部²⁾

永根 基雄¹⁾、小林 啓一¹⁾、塩川 芳昭¹⁾、藤岡 保範²⁾、齋藤 勇¹⁾

【はじめに】

神経膠腫gliomaは髄膜腫と並び最も高頻度に見られる原発性脳腫瘍であり、その中心を占めるastrocytic gliomaではhigh gradeを示すanaplastic astrocytoma (AA) 及びglioblastoma multiforme (GBM) は依然極めて予後不良な疾患であるのに対し、pilocytic astrocytomaやdiffuse astrocytomaを含むlow grade astrocytoma (LGA) の治療成績は向上してきており、長期生存症例も多数存在する¹⁾。一方、LGA術後にしばしば併用される放射線治療や化学療法は、白質脳症、脳萎縮^{2,3)}、再発時の悪性転化⁴⁾、二次癌⁵⁾等の合併をきたす可能性もあり、術後のquality of life (QOL)を含め、これまでの標準的治療法を見直す時期に差しかかっていると言えよう。

今回、杏林大学附属病院におけるLGAの治療をretrospectiveにreviewし、治療法、治療成績及び予後に影響する因子を解析したので報告する。

【対象・方法】

杏林大学附属病院脳神経外科教室が開設された1973年より2001年12月までの間に、杏林大学附属病院において治療を受けたLGA (diffuse astrocytoma, WHO分類grade 2及びpilocytic astrocytoma, WHO分類grade 1)を対象とした。この期間の症例の内、1)カルテが現存する、2)神経病理医とのreviewにより腫瘍標本の病理所見がLGA (diffuse astrocytoma及びpilocytic astrocytoma)と確認された症例を今回の解析に使用し、その他の診断(oligoastrocytoma等)が得られた症例は除外した。これらの症例について病歴から臨床所見、治療内容・経過を調査し、予後に関与する因子を検討した。

予後影響因子として、初期治療時年齢(45以下とそれ以上)、入院時KPS(80以上とそれ未満)、腫瘍局在(大脳脳葉とそれ以外)、画像所見上造影効果の有無、腫瘍摘出度(全摘/亜全摘とそれ以外)、放射線治療60Gy以上とそれ未満、或いは50Gy以上とそれ未満、化学療法の有無、ACNU使用の有無、再発の有無、悪性転化の有無、病理所見(gemistocyte優位性の有無)を検討した。生存率曲線はKaplan-Meier法を用い、一

般化Wilcoxon検定にて検定した。単変量解析にて有意差が認められた予後因子について、比例ハザードモデルによる多変量解析を行い、有意な予後因子を検索した。統計解析にはStatView version 4.5J (SAS Institute Inc., U.S.A.)を用いた。

【結果】

上記基準を満たす症例は、pilocytic astrocytoma 5例、diffuse astrocytoma 35症例であった。カルテが現存しなかった症例は11例、oligoastrocytomaと診断された症例が6例あり除外された。年代別では、1973～1980年に4例、1981～1990年に8例、1991～2001年に23例であった。一方、今回の解析の対象外であるanaplastic astrocytomaは同期間中に44例、glioblastoma multiformeは74例であった。

Diffuse astrocytoma 症例の臨床像

35例のdiffuse astrocytomaの臨床像をTable 1に示す。平均年齢は約45才で男性23例、女性12例であった。初発症状で最も多かったのは痙攣発作で約半数の症例に認められた。次いで片麻痺が約4分の1に見られた。入院時Kernofsky performance status (KPS)は平均で約80、中間値で90と、半数以上で比較的良好なPSが維持されていた。腫瘍の局在は、27例(77%)で大脳半球脳葉内に存在し、大脳深部・基底核・脳幹・小脳局在は稀であった。画像所見では、CT或いはMRIにて低吸収(信号)/等吸収(信号)域を示す腫瘍が85%以上を占め、また石灰化が4例、明らかな嚢胞形成が3例に認められた。造影剤による部分的な増強効果は13例(41%)に認められた。治療後経過追跡期間中に腫瘍再発が認められた症例が17例(52%)あり、この内組織学的に腫瘍の悪性転化(malignant transformation)が確認された症例は8例(28%)であった。手術は肉眼的全摘及び亜全摘が8例(23%)であり、大部分は部分摘出或いは生検術が施行された。放射線治療は33例とほぼ全例に施行されており、照射線量中間値は60Gyであった。化学療法も27例(77%)で施行されており、主としてACNU(静注或いは動注)が使用されていた。11例(31%)でvincristine (VCR)と併用による同調放射線化学療法が施行された⁶⁾。また

Table 1. Clinical features of the patients with diffuse astrocytoma treated in Kyorin University Hospital since 1973.

Age: mean 45.4 yo (13-72)	
Sex: male 23, female 12	
Presentations:	
1. Epilepsy	45.7%
2. Hemiparesis	25.7%
3. Headache	17.1%
3. Visual disturbance	17.1%
5. Gait disturbance	11.4%
Initial KPS: mean 78.8 (40-100)	
Side: right 20, left 11, bilateral 3, center 1	
Location:	
Cerebral hemisphere (F 17, FP 2, FT 1, P 3, T 2, PT 2)	
Others: thalamus/basal ganglia 6, brain stem 1, cerebellum 2	
Neuroimaging (CT and/or MRI):	
Hypo-/isodense 29, hyperdense 5; calcification 4, cyst 3	
Contrast enhancement: (+) 13, (-) 19	
Recurrence: (+) 17, (-) 16	
Malignant progression: (+) 8, (-) 21	
Surgical resection:	
Gross total removal 3, subtotal 5, partial 16, biopsy 11	
Radiotherapy (RT): (+) 33, (-) 2; median dose 60 Gy (0-70)	
Chemotherapy: (+) 27, (-) 8	
CENU (+) 23, (-) 10; Vincristine (VCR) (+) 11, (-) 22;	
interferon β (IFN) (+) 5, (-) 29	
Synchronized radiotherapy (RT/ACNU/VCR): 11	
IAR (IFN/ACNU/RT): 2	

Ranges of values are shown in parenthesis. KPS, Karnofsky performance status; F, frontal; FP, fronto-parietal; FT, fronto-temporal; P, parietal; T, temporal; PT, parieto-temporal; CENU, chloroethylnitrosourea.

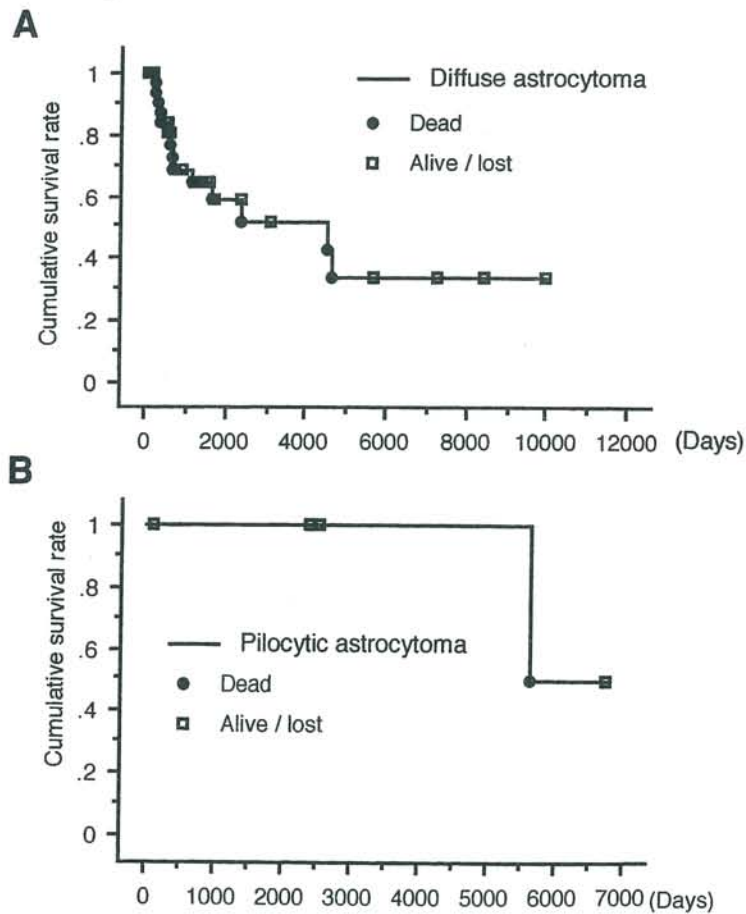


Fig.1

Kaplan-Meier estimated probability of overall survival rate of the patients with low-grade astrocytoma treated in the Kyorin University Hospital since 1974. A. Diffuse astrocytoma (35 cases). B. Pilocytic astrocytoma (5 cases).

interferon- β (IFN)は5例で投与された。

Kaplan-Meier 法による累積生存率曲線

今回検討した35例のdiffuse astrocytoma症例のoverall survivalをKaplan-Meier法にて検討した。平均追跡期間は64か月(3~333か月)で、1年生存率は83.9%、5年生存率58.7%、10年生存率は42.8%であり、20年以上の長期生存者も存在した(Fig.1A)。脳腫瘍全国統計に比べ5年生存率で約10%程度低い傾向が認められたが¹⁾、諸家の報告とはほぼ同様の結果であった⁷⁻¹⁰⁾。症例の年代別生存率には有意差がなかった。5例のpilocytic astrocytomaでは、5年生存率100%、10年生存率50%であった(Fig.1B)。

Diffuse astrocytomaでの無再発生存期間は、1年76.6%、5年47.8%、10年で30.7%と、約半数の症例で5年以内に再発が認められた(Fig.2)。

Diffuse astrocytomaの生存期間に関与する予後影響因子

方法に示した各予後影響因子について、diffuse astrocytoma症例の累積生存率曲線への関与をまず単変量解析にて検討した(Table 2)。初期治療時年齢(≤ 45) ($p = 0.004$)、入院時KPS (≥ 80) ($p = 0.004$)、大脳脳葉局在($p = 0.011$)、及び悪性転化なし($p = 0.011$)の4因子において有意に生存率の延長が認められた(Fig. 3A,B,C,D)。一方、画像上の造影効果、手術による摘出度、放射線照射線量(≥ 60 或いは ≥ 50)、化学療法、病理所見(gemistocyte)は生存率と有意な相関性が認められなかった。 χ^2 検定では上記の有意差が認められた各因子間に相関性は認めなかった。また、悪性転化の有無と画像上の造影効果、放射線照射の線量、病理所見との間にも有意な相関は認められなかった。

次に単変量解析で生存率に対する有意な予後影響因子であった年齢、入院時KPS、腫瘍局在、及び悪性転化の有無の各因子を共変量として比例ハザードモデルによる多変量解析を行った。これらの変数は同時有意差検定で尤度比検定 ($\chi^2 = 6.18, p = 0.013$)、Wald検定 ($\chi^2 = 5.13, p = 0.024$) とともに有意であり、選択は妥当と考えられた。検定の結果、生存期間と有意な相関を示した因子は年齢($p = 0.024$)のみであった。入院時KPSも強い相関性($p = 0.0501$)が認められたが、腫瘍局在及び悪性転化の有無では有意差が認められなかった(Table 2)。

Diffuse astrocytomaの無再発期間に関与する因子

次に、diffuse astrocytomaの再発までの期間に影響する予後因子を同様に解析した。単変量解析では、上記の生存期間に関与する因子と同じく、年齢 (≤ 45) ($p = 0.029$)、入院時KPS (≥ 80) ($p = 0.026$)、大脳脳葉局在 ($p = 0.023$)、悪性転化なし ($p = 0.006$)がそれぞれ有意な因子として抽出された(Table 3)。これら4因子を共変量とした同時有意差検定では、尤度比検定 ($\chi^2 = 7.571, p = 0.006$)、Wald検定 ($\chi^2 = 6.01, p = 0.014$) とともに

有意であった。比例ハザードモデルによる多変量解析では年齢 (≤ 45) ($p = 0.045$)及び悪性転化なし ($p = 0.046$) で有意に再発までの期間の延長が認められた(Table 3)。

【考察】

今回の解析では、当科が開設以来の過去約30年間に治療されたLGAを対象としたが、解析対象の条件を満たす症例数はdiffuse astrocytomaで35例、pilocytic astrocytomaは5例に過ぎず、malignant gliomaのGBMなどと比べると、少ない傾向がみられた。

Diffuse astrocytomaの治療は、生検・部分摘出を主とする手術を施行後、ほぼ全例(33/35)に放射線治療が行われ(照射線量中間値60Gy、80年代半ばまでは40Gy以下の照射線量)、更に大部分の症例(27/35)でACNUを主体とする化学療法が併用されていた。手術による腫瘍摘出度は多くの報告で有意な予後延長因子とされており^{9,11-13)}、我々の症例でも、亜全摘以上の摘出が可能であった群は、症例数が少なく統計学的有意差は得られなかったものの予後が良好な傾向が認められた(単変量解析 $p = 0.064$)。また、部分摘出以下の症例が多いことは、腫瘍の病理組織診断において腫瘍本体の悪性度が適切に反映されているか問題が残る点である。

放射線治療は、glioma術後における標準的補助療法として施行されているが、LGAに対してはその有効性を示す報告⁹⁻¹¹⁾がある一方、日本脳腫瘍統計では非照射群と有意差が認められていない¹⁾。また、照射後病理学的にhigh-grade astrocytomaとして再発する率が非照射症例より高いとし、腫瘍の悪性転化が放射線照射により誘発される可能性も最近指摘されている。今回検討した症例では、ほぼ全例が放射線治療を受けており、治療の有無による予後への影響は判定できなかった。照射線量による効果はEuropean Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC)のrandomized studyの結果と同様に線量差による予後の違いは認められず¹⁴⁾、また再発率、再発時の悪性転化との相関も認められなかった。

化学療法も77%の症例で施行された。その殆どでACNUが使用されており、その他VCR, Bleomycin等の多種類の薬剤が併用されていた。また一部の症例ではinterferon β も投与されている。一定のprotocolで施行されていないため、その治療効果を判定することは困難であるが、少なくとも化学療法の有無、あるいは各薬剤毎の使用の有無、ACNU/VCR併用療法による予後の延長効果は認められなかった。比較的予後の良好なLGAに対し、術後に放射線療法或いは化学療法を施行するか否かは、予後並びにQOLにかかわる重要な臨床上の課題であり、手術的摘出度やその他の影響因子、増殖能・薬剤耐性などの腫瘍細胞の生物学・遺伝子学的特性^{7,12,15,16)}を考慮にいれたprospectiveなstudyを行つ

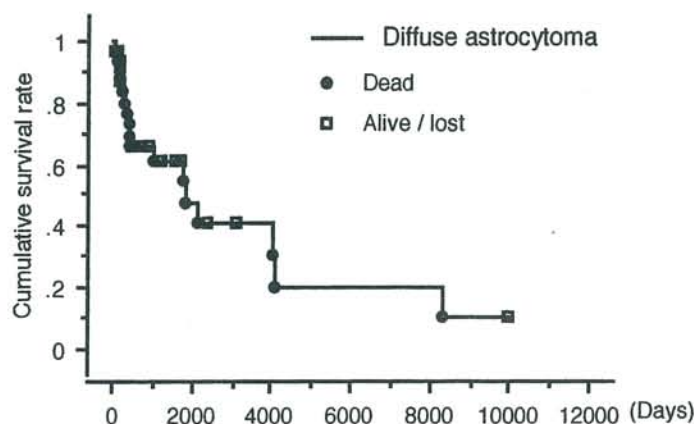


Fig.2

Kaplan-Meier estimated probability of recurrence-free survival rate of the patients with diffuse astrocytoma.

Table 2. Clinical factors influencing overall survival of the patients with diffuse astrocytoma.

Significant favorable factors for overall survival:		
	Univariate	Multivariate
1. Age ≤ 45	p = 0.004*	p = 0.024*
2. Initial KPS ≥ 80	p = 0.004*	p = 0.0501
3. Location in cerebral hemisphere	p = 0.011*	p = 0.335
4. Malignant transformation (-)	p = 0.011*	p = 0.130
Insignificant factors:		
1. Contrast enhancement (-)	p = 0.615	
2. Extent of resection (TR + STR)	p = 0.064	
3. Radiotherapy ≥ 60 Gy	p = 0.746	
4. Chemotherapy	p = 0.282	
5. Prominent gemistocytes	p = 0.738	

*, statistically significant; TR, gross total removal; STR, subtotal removal.

Table 3. Clinical factors influencing recurrence-free survival of the patients with diffuse astrocytoma.

Significant favorable factors for recurrence-free survival:		
	Univariate	Multivariate
1. Age ≤ 45	p = 0.029*	p = 0.045*
2. Initial KPS ≥ 80	p = 0.026*	p = 0.174
3. Location in cerebral hemisphere	p = 0.023*	p = 0.424
4. Malignant transformation (-)	p = 0.006*	p = 0.046*
Insignificant factors:		
1. Contrast enhancement (-)	p = 0.650	
2. Extent of resection (TR + STR)	p = 0.111	
3. Radiotherapy ≥ 60 Gy	p = 0.568	
4. Chemotherapy	p = 0.530	
5. Prominent gemistocytes	p = 0.206	

*, statistically significant; TR, gross total removal; STR, subtotal removal.

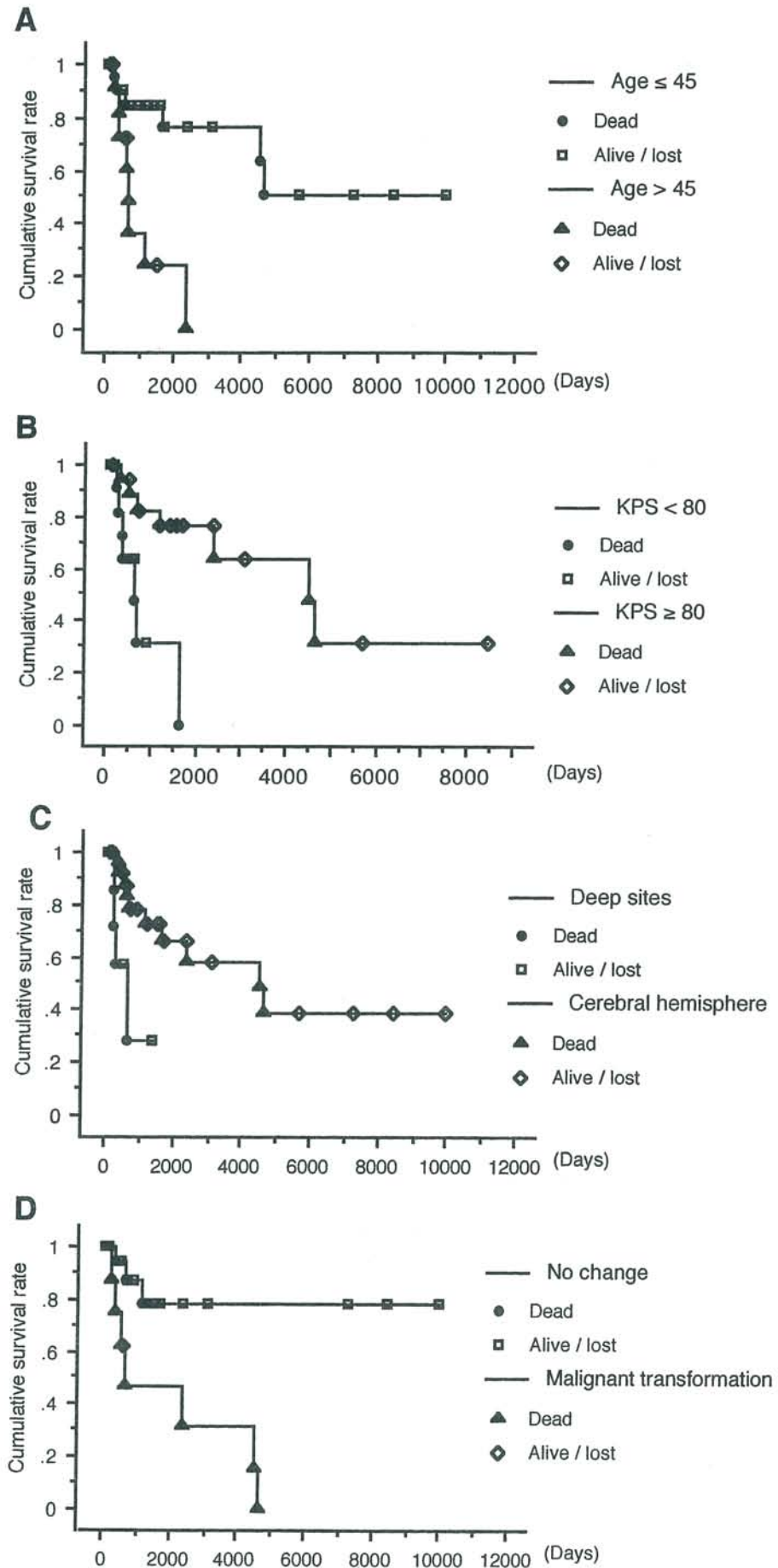


Fig.3 Kaplan-Meier estimated probability of overall survival rate of the patients with diffuse astrocytoma. A. Initial age \leq 45 or $>$ 45. B. Preoperative KPS \geq 80 or $<$ 80. C. Tumor location at the cerebral hemisphere or at deep sites. D. Malignant transformation: yes or no.

ていく必要があると考えられる。

今回の予後因子検定では、治療時年齢、術前KPS、腫瘍局在、及び悪性転化の有無が単変量解析で有意な生命予後規定因子として抽出された。年齢、KPS、局在の各因子はこれまでの報告でも同様に有意な因子とされており¹¹⁻¹³⁾、今回の症例群に特別な偏りがないことを示唆するものと考えられる。大脳脳葉の局在は手術における摘出率との関連も考えられ、実際亜全摘以上の生命予後は良好な傾向がみられた。多変量解析では年齢が有意な因子となり、KPSもほぼ有意と考えられたが ($p=0.0501$)、治療法による生命予後への貢献は明らかにされなかった。再発までの期間についても、単変量解析では同様の因子が抽出されたが、多変量解析では年齢及び悪性転化の有無が選択され、組織学的悪性化を来す腫瘍では早期に再発することが示された。術前のCT・MRIでの造影剤増強効果・病理所見等は、再発或いは悪性転化と相関せず、有意な予知因子ではなかった。そのような一部の予後不良な腫瘍を検出・鑑別するため、今回検討していない増殖能(MIB-1染色率)¹²⁾、血管新生能(vascular endothelial growth factor発現度など)⁷⁾、癌遺伝子・癌抑制遺伝子の発現・異常などの多角的な解析を行っていくことが今後の課題と言えよう。

【結語】

1. 杏林大学病院で治療され、病歴・病理所見からLGAと診断された40症例(Grade 1: 5例, grade 2: 35例)につき、予後解析を行った。
2. Diffuse astrocytomaの生存率は、1年: 83.9%、5年: 58.7%、10年: 42.8%であり、予後に影響する因子として、年齢・術前KPS・悪性転化の有無・腫瘍局在の関与が認められた。
3. 術後放射線治療は殆どの症例で、また化学療法は多くの症例で施行されていたが、手術における腫瘍摘出度も含め、有意な予後因子ではなかった。
4. 今後、各種モニタリング・ナビゲーター等を駆使した腫瘍摘出率の向上、腫瘍細胞の生物学・遺伝子学的特性を含む因子の解析、更にはprospectiveな放射線療法・化学療法の効果判定を行っていく必要がある。

【文献】

- 1) The Committee of Brain Tumor Registry of Japan: Report of Brain Tumor Registry of Japan (1969-1993), 19th ed. Neurol Med Chir (Tokyo) 40 (Suppl), 2000
- 2) Tsuboi K, Yoshii Y, Hyodo A, Takada K, Nose T. Leukoencephalopathy associated with intra-arterial ACNU in patients with gliomas. J Neurooncol 23: 223-31, 1995.
- 3) Corn BW, Yousem DM, Scott CB, Rotman M, Asbell SO, Nelson DF, Martin L, Curran WJ Jr. White matter changes are correlated significantly with radiation dose. Observations from a randomized dose-escalation trial for malignant glioma (Radiation Therapy Oncology Group 83-02). Cancer 74: 2828-35, 1994.
- 4) Hellwig D, Mennel HD, Bauer BL, List-Hellwig E, Koop EA, Neidel HO. Malignant transformation of benign gliomas during interstitial irradiation. Acta Neurochir Suppl 63: 101-8, 1995.
- 5) Zeimet AG, Thaler J, Abfalder E, Marth C, Dapunt O. Secondary leukaemias after etoposide. Lancet 340: 379-80, 1992.
- 6) Matsutani M, Nakamura O, Nakamura M, Nagashima T, Asai A, Fujimaki T, Tanaka H, Ueki K, Tanaka Y. Radiation therapy combined with radiosensitizing agents for cerebral glioblastoma in adults. J Neurooncol 19: 227-37, 1994.
- 7) Abdulrauf SI, Edvardsen K, Ho KL, Yang XY, Rock JP, Rosenblum ML. Vascular endothelial growth factor expression and vascular density as prognostic markers of survival in patients with low-grade astrocytoma. J Neurosurg 88: 513-20, 1998.
- 8) Medbery CA 3rd, Straus KL, Steinberg SM, Cotelingam JD, Fisher WS. Low-grade astrocytomas: treatment results and prognostic variables. Int J Radiat Oncol Biol Phys 15: 837-41, 1988.
- 9) North CA, North RB, Epstein JA, Piantadosi S, Wharam MD. Low-grade cerebral astrocytomas. Survival and quality of life after radiation therapy. Cancer 66: 6-14, 1990.
- 10) Shibamoto Y, Kitakabu Y, Takahashi M, Yamashita J, Oda Y, Kikuchi H, Abe M. Supratentorial low-grade astrocytoma. Correlation of computed tomography findings with effect of radiation therapy and prognostic variables. Cancer 72: 190-5, 1993.
- 11) Nakamura M, Konishi N, Tsunoda S, Nakase H, Tsuzuki T, Aoki H, Sakitani H, Inui T, Sakaki T. Analysis of prognostic and survival factors related to treatment of low-grade astrocytomas in adults. Oncology 58: 108-16, 2000.
- 12) Schiffer D, Cavalla P, Chio A, Richiardi P, Giordana MT. Proliferative activity and prognosis of low-grade astrocytomas. J Neurooncol 34: 31-5, 1997.
- 13) Leighton C, Fisher B, Bauman G, Depiero S, Stitt L, MacDonald D, Cairncross G. Supratentorial low-grade glioma in adults: an analysis of prognostic factors and timing of radiation. J Clin Oncol 15: 1294-301, 1997.
- 14) Karim AB, Maat B, Hatlevoll R, Menten J, Rutten EH,

Thomas DG, Mascarenhas F, Horiot JC, Parvinen LM, van Reijn M, Jager JJ, Fabrini MG, van Alphen AM, Hamers HP, Gaspar, L, Noordman E, Pierart M, van Glabbeke M. A randomized trial on dose-response in radiation therapy of low-grade cerebral glioma: European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Study 22844. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 36: 549-56, 1996.

- 15) Nagane M, Huang HJS, Cavenee WK. Causes of drug resistance and novel therapeutic opportunities for the treatment of glioblastoma. *Drug Resist Updat* 2: 30-37, 1999.
- 16) Ishii N, Tada M, Hamou MF, Janzer RC, Meagher-Villemure K, Wiestler OD, Tribollet N, Van Meir EG. Cells with TP53 mutations in low grade astrocytic tumors evolve clonally to malignancy and are an unfavorable prognostic factor. *Oncogene* 18: 5870-8, 1999.

テント上 diffuse astrocytoma に対する 放射線療法の長期予後

Long-term outcome of radiotherapy for supratentorial diffuse astrocytomas

北里大学脳神経外科、北里研究所メディカル・センター病院*

宇津木 聡、岡 秀宏、田中 聡*、近藤 宏治、谷崎 義徳、安井 美江、藤井 清孝

Key words : diffuse astrocytoma, radiotherapy, prognosis,
long-term follow-up study

【はじめに】

組織学的に比較的良性とされる diffuse astrocytoma は、その浸潤性の性格により手術による全摘出が必ずしも容易でなく、経過中しばしば悪性転化することより必ずしも満足のいく治療成績が得られていないのが現状である¹⁾。その初期治療として手術による腫瘍摘出と放射線療法が主な治療法であるが、放射線療法の照射法、有効性についても疑問点が残る^{2,3,7,17,18)}。また、治療に反応し腫瘍が縮小する症例や、縮小はしなくとも腫瘍の大きさが変わらない症例がある一方、短期間に再発する症例や悪性転化をきたしている症例も存在する¹⁾。今回我々は、このように再発・悪性化を起しやすい症例の病理組織学的所見を再検討し、当施設における手術摘出および放射線照射で治療を行った大脳半球に発生した low grade astrocytoma(LGA)の長期間における転帰を検討したので報告する。

【対象・方法】

当院で過去に手術治療を行った 78 例の LGA のなかで、(1) WHO 分類 (2000 年) diffuse astrocytoma と診断され、(2) テント上に存在する腫瘍で、(3) 腫瘍摘出後に放射線照射 (50~60Gy) を施行し、(4) 化学療法を行っていない症例で、(5) 生存例は 5 年以上経過観察できた 29 例を対象とした。手術による摘出は肉眼、画像所見をあわせ、MRI がある場合は T₂-WI で high intensity の部分が腫瘍のある部分とし、全摘出、亜全摘出、部分摘出、生検に分類し検討した。放射線照射は全摘出例には腫瘍切断端に、腫瘍が残存している場合はその部分に局所照射 20~30Gy、拡大局所照射を 20~30Gy で total 50~60Gy の照射を行った。これらの組織所見を詳細に再検討し、Ki-67 と

p-53 の免疫組織化学を合わせて行った。生存曲線は Kaplan-Meier 法を用い、有意差検定には log-rank test を用いた。これらの初回時、再発時の組織所見、悪性転化の因子、転帰について検討した。

【結果】

上記の条件を満たした 29 例の内訳は、男性 13 例、女性 16 例、年齢は 6 歳から 71 歳 (平均 40.7 歳 : 50 歳未満が 21 例で 50 歳以上が 8 例) であった。経過観察期間は 2 ヶ月から 17 年 (平均 104 ヶ月) であった (Table 1)。腫瘍の占拠部位は前頭葉 16 例、頭頂葉 7 例、側頭葉 3 例、後頭葉 3 例であった。初発症状は痙攣 16 例、頭痛 5 例、局所神経症状は 8 例であった。

全体での 5 年、10 年生存率はそれぞれ 64%、60% であった (Fig.1)。腫瘍摘出は全摘 5 例、亜全摘 6 例、部分摘出 5 例、生検 13 例に施行され、それぞれの 5 年生存率は 100%、50%、60%、54% であった。

初回手術時の摘出腫瘍組織における Ki-67 labeling index は 1%未満が 24 例、1%以上が 5 例であった。また p53 陽性率は 1%未満が 24 例、1%以上が 5 例であった。有意差のある予後良好因子は手術による全摘出 (p<0.01)、年齢が 50 歳未満 (p<0.001)、初発時の症状が痙攣発作 (p<0.01) であった。一方、今回の検討では Ki-67 labeling index (LI) や p53 陽性率は統計学的に予後には関連しなかった。

再発例の検討では 3 年未満に再発したのも (Early recurrence 群) と 3 年以上たってから再発したもの (Late recurrence 群) に分類した場合、Early recurrence 群は 6 例、Late recurrence 群は 8 例であった (Table 2)。Early recurrence 群と Late recurrence 群では、予後因子として明らかな差は認められなかった。しかし、その組織所見を詳細に検討すると、Early recurrence 群

Fig 1 Survival curve

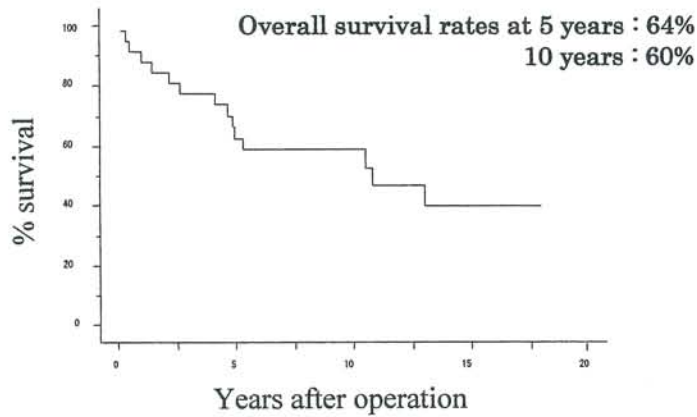


Table 1 Clinical data of 29 patients

	All cases (n=29)	No recurrent cases (n=15)	Recurrent cases (n=14)
Sex			
male	13	8	4
female	16	7	10
Age(yrs)			
mean	40.7	36.1	45.6
Tumor location			
frontal	16	9	7
parietal	7	3	4
temporal	3	2	1
occipital	3	1	2

Table 2 Clinical data of 14 recurrent cases

	Early recurrence (< 3 yrs)	Late recurrence (≥ 3 yrs)
Operation		
total removal	0	0
subtotal removal	1	2
partial removal	2	1
biopsy	3	5
Ki-67 labeling index		
< 1%	5	7
≥ 1%	1	1
p53		
< 1%	4	8
≥ 1%	2	0

Fig.2

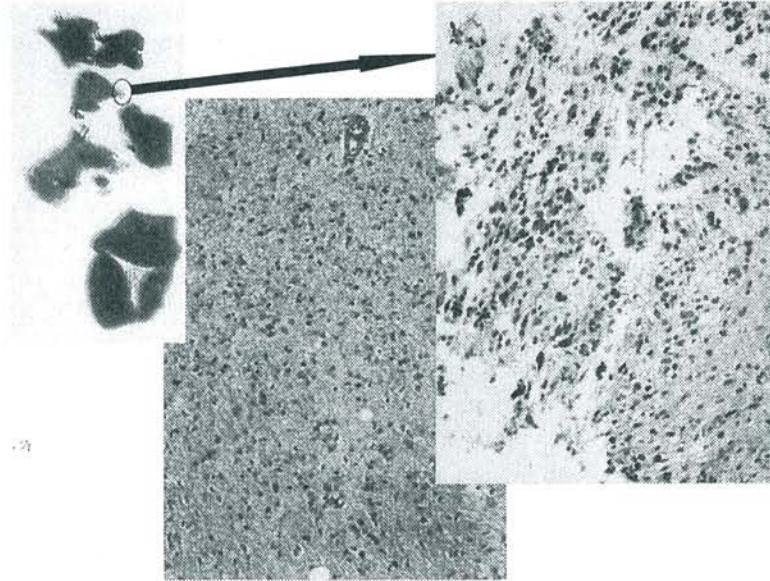


Fig.3

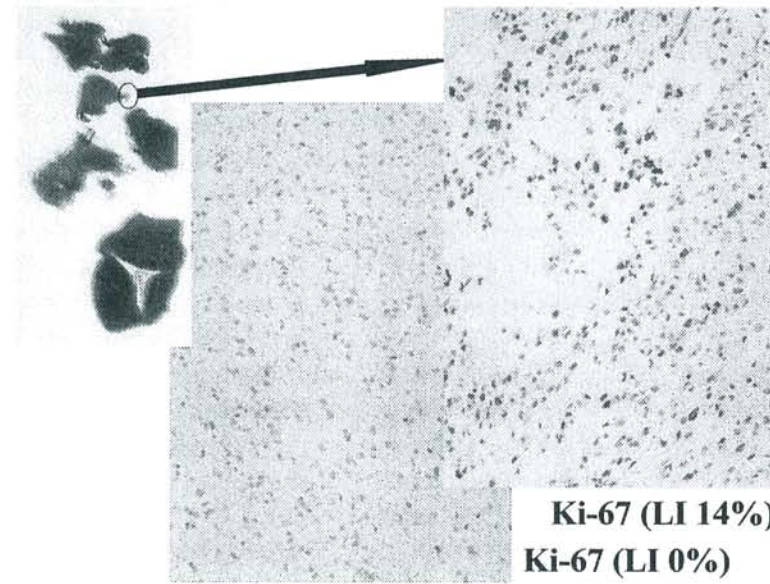
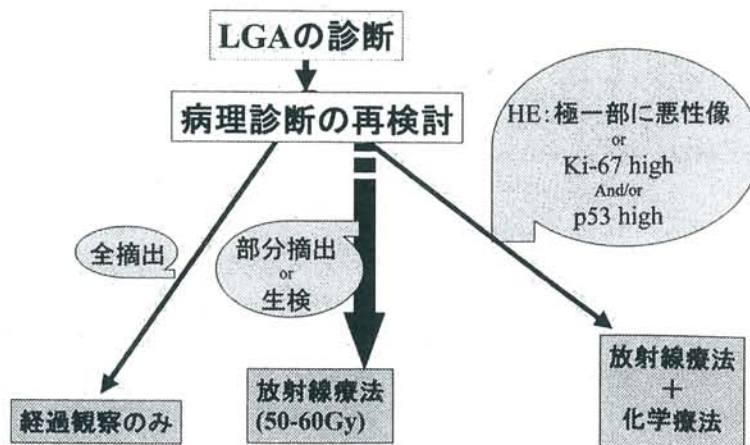


Fig 4

Treatment plan of low grade astrocytoma



の Ki-67 LI が 1% を超えていた 1 例は、亜全摘で得られたほとんどの組織は異型性に乏しく Ki-67 LI も 0% であったが、弱拡大で 1 視野程度の範囲で異型性が強く、Ki-67 LI も 14% と高値であり部分的に悪性の像を示していた (Fig. 2, 3)。また、他の部分摘出を行った 2 例では、組織像は異型性がほとんどみられず、Ki-67 LI も 1% 未満であったが、p53 陽性率が 38%、46% と高値であった。Late recurrence 群には部分的に Ki-67 LI が 5% を超える症例や、p53 陽性率が 10% を超える症例はみられなかった。

【考察】

過去の LGA の治療成績は 5 年生存率で 65~78%、10 年生存率で 49~62% と報告されているが、多くの報告は少数ながら pilocytic astrocytoma や oligodendroglioma、mixed glioma などいろいろな組織型のものを含んでいる場合がある^{4,7,9)}。Diffuse astrocytoma に限った報告は比較的少ないが、5 年生存率で 41~52%、10 年生存率で 20% 前後と報告されており¹¹⁻¹³⁾、LGA の中でもその浸潤性の性格⁶⁾、再発時悪性化すること¹¹⁾などがその要因と考えられる。今回のわれわれの検討では 5 年生存率が 64%、10 年生存率が 60% であった。われわれの検討では有意差のある予後良好因子として、手術による全摘出、年齢 (50 歳未満)、初発症状 (痙攣発作) があげられ過去の報告と同様であった^{1,8,11,12)}。

本検討では 5 年生存率 (64%) と 10 年生存率 (60%) にはほとんど差がみられなかった。つまり、LGA の治療成績を向上する一因には早期再発症例の治療成績を上げる必要があると言える。自験例のなかで 3 年未満の早期に再発を認めた症例を詳細に検討した結果 1 例は画像、病理組織学的にも LGA でありながら、腫瘍組織の極一部に Ki-67 LI が 14% と高い部分的を認めたため比較的早期に再発したものと考えられた。また、2 例において増殖能は低値であったにもかかわらず p53 陽性率が高値であった。これらの症例は、LGA から secondary glioblastoma へ比較的早期に悪性化した可能性が示唆された^{10,16)}。悪性 glioma に対して未だ確立された治療法はないが、放射線単独療法より、放射線療法と化学療法の補助療法を併用の方が治療成績はよい傾向にある^{14,15)}。一方、p53 に関連した apoptosis 抑制状態にある腫瘍は放射線による治療効果が低下することも知られている⁵⁾。以上のことから、病理組織学的に LGA と診断された症例でも、免疫組織化学を含め病理組織検索をより詳細に検討し治療方針を決めることが重要と考える (Fig. 4)。今回の検討の結論として、全摘出例においては手術摘出と放射線照射により良好な転帰をえることが出来た。しかし、今後は放射線による副作用を考慮し再発する可能性を踏まえた上で放射線照射を行わ

ず経過観察することも可能であると考えられた。一方、亜全摘、部分摘出、生検に留まった症例では病理組織をより詳細に検討し、一部分でも Ki-67 LI が高い症例や p-53 陽性率の高い症例には放射線単独療法ではなく、化学療法などの併用を考慮することが LGA の治療成績の向上につながるものと考えられた。

【謝辞】

本検討の一部は文部科学省科学研究助成、アカデミックフロンティア推進事業、北里大学医学部父兄会研究助成の援助を受けた。

【文献】

- 1) Grabenbauer GG, Roedel CM, Paulus W, et al: Supratentorial low-grade glioma: results and prognostic factors following postoperative radiotherapy. *Strahlenther Onkol* 176:259-264, 2000
- 2) Iwabuchi S, Bishara S, Herbison P, et al: Prognostic factors for supratentorial low grade astrocytomas in adults. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 39:273-81, 1999
- 3) Jeremic B, Shibamoto Y, Grujicic D, et al: Hyperfractionated radiation therapy for incompletely resected supratentorial low-grade glioma. A phase II study. *Radiother Oncol* 49:49-54, 1998
- 4) Kandil A, Khafaga Y, ElHusseiny G, et al: Low-grade astrocytoma--a retrospective analysis of 102 patients. *Acta Oncol* 38:1051-1056, 1999
- 5) Kim IA, Yang YJ, Yoon SC, et al: Potential of adenoviral p53 gene therapy and irradiation for the treatment of malignant gliomas. *Int J Oncol* 19: 1041-1047, 2001
- 6) Kleihuse P, Cavenee WK. *Pathology and Genetics of Tumors of the Nervous System*. IARC Press, Lyon, 2000, pp10-26
- 7) Matsumoto K, Abe T, Terada K, et al: [Clinical results of supratentorial astrocytoma grade II.] *No Shinkei Geka* 27:139-145 (Jpn), 1999
- 8) Nakamura M, Konishi N, Tsunoda S, et al: Analysis of prognostic and survival factors related to treatment of low-grade astrocytomas in adults. *Oncology* 58:108-116, 2000
- 9) Nemoto K, Yamada S, Takai Y, et al: [Radiation therapy for low-grade astrocytomas: survival and QOL]. *Nippon Igaku Houshasen Gakkai Zasshi* 57: 336-340 (Jpn), 1997
- 10) Nozaki M, Tada M, Kobayashi H, et al: Roles of the functional loss of p53 and other genes in astrocytoma tumorigenesis and progression. *Neuro-oncol* 1: 124-137, 1999
- 11) Rudoler S, Corn BW, Werner-Wasik M, et al:

- Patterns of tumor progression after radiotherapy for low-grade gliomas: analysis from the computed tomography/magnetic resonance imaging era. *American Journal of Clinical Oncology.* 21:23-7, 1998
- 12) Schuurman PR, Troost D, Verbeeten B et al: 5-year survival and clinical prognostic factors in progressive supratentorial diffuse "low-grade" astrocytoma: a retrospective analysis of 46 cases. *Acta Neurochirurgica.* 139:2-7, 1997
 - 13) Shaw EG, Daumas-Duport C, Scheithauer BW. Institution Radiation therapy in the management of low-grade supratentorial astrocytomas. *J Neurosurgery.* 70:853-861, 1989
 - 14) Tanaka S, Kamitani H, Amin MR, et al: Preliminary individual adjuvant therapy for gliomas based on the results of molecular biological analyzes for drug-resistance genes. *J Neuro-Oncol* 46:157-171, 2000
 - 15) Tanaka S, Taniura S, Matsumoto S, et al: Long-term human interferon- β maintenance therapy for malignant gliomas. *Int J Immunotherapy* 17: 39-49, 1999
 - 16) von Deimling A, von Ammon K, Schoenfeld D, et al: Subsets of glioblastoma multiforme defined by molecular genetic analysis. *Brain Pathol* 3: 19-26, 1993
 - 17) van Kampen M, Engenhardt-Cabillic R, Debus J, et al: Low-grade astrocytoma: treatment with conventionally fractionated stereotactic radiation therapy. *Radiology* 201:275-278, 1996
 - 18) Whitton AC, Bloom HJG : Low grade glioma of the cerebral hemispheres in adults: a retrospective analysis of 88 cases. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 18 783-786, 1990

Interferon- β を用いた Low-grade Diffuse Astrocytomas の治療成績

Treatment of low-grade diffuse astrocytomas by interferon- β

日本大学医学部脳神経外科

横山 貴一、小峰 千明、福島 崇夫、渡辺 学郎、吉野 篤緒、片山 容一

【はじめに】

low-grade diffuse astrocytoma (WHO grade II)は比較的緩徐な発育を示し、組織学的には分化型グリオーマとして位置づけられている。しかし、経過中にしばしば悪性転化をきたし、最終的には腫瘍死はまぬがれない^{16,21,22,25}。low-grade diffuse astrocytoma の治療目標は悪性転化の予知および予防にあるといえるが、その生物学的性状は個々の症例により大きく異なるために、臨床経過、予後の予見が困難であり、治療方針に関しても統一された見解が得られていないのが現状である。最近の治療成績に関する報告では、手術摘出度が共通した予後因子としてあげられているが^{1,9,19,20,23,24}、放射線照射の有用性については否定的な意見が多い^{2,13,22}。化学療法に関しては、系統だった治療成績の報告が少なく、その有用性を得るには至っていない^{4,9,14}。

interferon- β は最も大規模に臨床試験あるいは臨床応用が行われている BRM 療法の一つであり、malignant glioma では放射線化学併用療法による生存期間の延長が認められている^{18,26,27}。一方、low-grade astrocytoma に対する interferon- β の延命効果を評価した trial は報告されていない。interferon- β 単独投与の腫瘍縮小効果を検討したわが国の phase II study では¹⁸、glioblastoma での有効率 14%に対し、low-grade astrocytoma では 24%と比較的良好な有効率が示されていることから、interferon- β は low-grade diffuse astrocytoma の術後療法に加えるべき治療手段として評価できるものと考えられる。

私どもは、1991年以降、low-grade diffuse astrocytoma の術後治療として放射線照射は行わずに interferon- β 療法を行ってきた。本研究では、1990年以前の手術のみまたは放射線照射例における治療成績を比較し、interferon- β 療法の有効性ならびに長期成績について検討した。

【対象および方法】

1981年から1998年までに日本大学脳神経外科で手術を行った low-grade diffuse astrocytomas (WHO grade II)のうち、18才以下、視索、基底核、視床、脳幹、または小脳に発生した症例を除く 62例を対象とした。年齢は 19才から 62才まで平均 34才であった。性別は男性 29例、女性 33例であった。病理組織学的には、50例(81%)が fibrillary type、7例(11%)が protoplasmic type、5例(8%)が gemistocytic type であった。

手術は全例で行われ、31例(50%)が gross total resection、16例(26%)が subtotal resection、11例(17%)が partial resection、4例(7%)が biopsyであった。術後療法として、1991年以降の 28症例では interferon- β 単独療法が行われた。1990年以前では、手術のみが 16例、放射線照射が行われたのは 18例であった。

interferon- β 療法は術後 2週間以内に開始した。初期治療としては、フェロン[®](東レ/第一製薬)300-600万単位の週 5日の静脈内投与を 4週間施行した。維持療法として、2週に 1度の 300-600百万単位の投与を、原則として 2年以上施行した。

progression free survival (PFS) および overall survival (OS) は Kaplan-Meier 法にて評価し、log-rank test により有意差検定を行った。long-rank 検定にて有意差を認めた因子については、さらに multivariable Cox regression 解析を行った。

【結果】

interferon- β 単独療法を行った 28症例のうち、11症例が画像所見上測定可能病変を認めた。このうち 4例(36%)が治療に反応し、1例が CR、3症例が PR であった。これらの腫瘍縮小効果は治療開始後 3週間以内に認められており、現在も持続している(2.6-10.2年、平均 7.3年)。腫瘍の再発は 8症例で認められた(術後 1.2-4.7年、平均 3.4年)。interferon- β 単独療法は 1.2-4.4年(平均 2.3年)続けられ、副作

用としては、発熱が9例(41%)、軽度顆粒球減少症が5例(18%)、軽度の血小板減少症が3例(11%)に認められたが、G-CSFの投与や血小板輸血を必要とする症例はなかった。

術後直後に放射線療法を行った18症例のうち、10症例が測定可能病変を有し、4例(40%)で縮小効果が認められた。内訳は、CRが2例、PRが2症例であった。CRの2症例では現在も治療効果が持続しているが(術後15.3と16.4年)、PRの2症例では術後5.1と7.3年で再発を認めた。18例全体では、12例に腫瘍の再発を認めている(1.1-10.5年、平均4年)。progression freeの6例のうち、2例で照射に起因すると思われるencephalopathyを認めた。

追跡期間は患者の死亡または2001年1月までとし、最短2.1年、最長17.8年、平均6.6年であった。各治療群における臨床および組織病理学的特徴をTable 1に、PFSおよびOSをTable 2に示す。interferon- β 療法を行った症例では手術単独の症例と比べ有意にPFSの延長を認めた($P=0.0356$)(Fig.1)。

全62症例における単変量解析の結果をTable 3に示す。40才未満および全摘出が有意なPFSの延長に関与していた。OSにおいては、年齢、腫瘍摘出度、interferon- β 療法が有意な予後因子であった。放射線照射は、PFSおよびOSいずれにおいても有意な予後因子ではなかった。多変量分析では、年齢(95% confidence interval 0.226-0.988, $P=0.0463$)および腫瘍摘出度(95% confidence interval 0.134-0.658, $P=0.0028$)がPFSに有意に影響する因子であった。OSにおいては、年齢(95% confidence interval 0.130-0.695, $P=0.0049$)、腫瘍摘出率(95% confidence interval 0.108-0.658, $P=0.0041$)およびinterferon- β 療法(95% confidence interval 0.116-0.891, $P=0.0291$)が有意な予後因子であった。

観察期間中に62例中31例(50%)に再発を認め、26例が死亡した。死亡例はすべて腫瘍死であった。21例に再手術が行われ、15例(71%)で組織学的に悪性転化が確認された。初発時に放射線照射を受けていない症例は19例で、再手術にて全摘出されかつ悪性転化が認められなかった4症例を除く15例に対して、再発時に放射線療法が行われた。放射線照射のsalvage therapyとしては、ACNUとinterferon- β が9例、ACNUのみが3例、procarbazine、ACNU、vincristineが2例、cisplatinとetoposideが1例であった。一方、初発時に放射線照射を受けていた症例は12例であり、このうち6例でACNUとinterferon- β 、3例でACNUのみのsalvage therapyが行われた。初発時放射線照射施行例ではsalvage therapyの有効例が9例中1例(11%)のみであったのに対して、初発時放射線照射非施行例では15例中12例(80%)に腫瘍縮小効果を認めた($P=0.0022$, Fisher's exact test)。再発

後の生存期間に関与する有意な予後因子は、KPS、初発時放射線療法の有無、腫瘍摘出度、悪性転化の有無であった(Table 4)。

【考察】

今回の検討では、interferon- β 単独投与による治療効果は36%のlow-grade diffuse astrocytomaに認められた。副作用としては、発熱および軽度の骨髄抑制がみられたが、すべて一過性であった。interferon- β 療法を施行した28症例の5年および10年PFS率はそれぞれ65%、5年および10年OS率はそれぞれ96%と60%であり、手術単独治療群と比べ有意なPFSの延長が認められた。この治療成績は、これまでの手術単独あるいは放射線療法併用例での報告^{4,9,10,15,16,19,21,22,24})と比べても優れたものである。interferon- β 療法が行われたlow-grade diffuse astrocytomaは1991年以降の新しい症例であり、最近の画像診断法や数々の手術支援システムの進歩がその治療結果に多大な影響を及ぼした可能性も考えられるが、多変量解析でinterferon- β 療法が独立した予後因子であることは、interferon- β の有効性を示しているものと考えられる。

interferonの抗腫瘍効果には、直接的なcytotoxic effectと間接的なimmunomodulatory effectがある。今回の検討では、腫瘍縮小効果はすべて初期療法期間中に認められていることから、その効果は主に直接的なcytotoxic effectによるものと考えられる。一方、維持療法の目的はimmunomodulatory effectにより宿主免疫能を高めることにあるが、今回の検討では患者免疫能の変動を解析しておらず、interferonのimmunomodulatory effectを評価することはできない。これまでnatural killer活性がinterferon投与による宿主免疫能変化を最も鋭敏に捉えるパラメーターとされてきたが、最近の報告ではその臨床的有用性について意見は分かれている^{3,5}。論理的な維持療法を展開するためには、interferonのimmunomodulatory effectを特異的に反映するマーカーの開発ならびに確立が必要であり、今後の検討を要するところである。

low-grade astrocytomaにおける手術全摘出の有用性は広く認められているが、その生命予後に及ぼす影響力は年齢やKPSに比べて弱いとする報告も多い^{10,15,16,24})。今回の検討では、手術摘出度がPFSおよびOSいずれにおいても最も重要な予後因子であった。我々の死亡例がすべて悪性転化による腫瘍死であったことを考えると、積極的手術療法の目的は、変異腫瘍細胞を最大限に減じ、悪性転化の危険を最小限にすることにあるといえる。cortico-spinal motor evoked potential¹¹)やpropofolを用いた覚醒下開頭手術による言語マッピング⁶)などの術中モニタリングの進歩が、さらなる手術成績の向上につながるものと期待される。

Table 1. Patient characteristics

Characteristics	Surgery alone (N = 16)	Surgery plus radiation (N = 18)	Surgery plus HFIF (N = 28)	P value
Follow up period (months)	97.62±45.80	104.1±63.84	73.61±32.84	0.0383*
Sex				
Male	8	7	14	
Female	8	11	14	0.7285
Age				
<40 years	10	10	17	
≥40 years	6	8	11	0.9082
KPS				
≥80	10	9	21	
<80	6	9	6	0.2199
Histological type				
Fibrillary	13	13	24	
Protoplasmic	1	3	1	
Gemistocytic	2	2	3	0.6100
Surgery				
Gross total	8	6	17	
Subtotal/Partial/Biopsy	8	12	11	0.1934

Follow-up periods are expressed as mean±standard deviation. *Difference between surgery plus radiation therapy and surgery plus HFIF therapy.

Table 2. PFS and OS by treatment arm

	Surgery alone (N = 16)	Surgery plus radiation (N = 18)	Surgery plus HFIF (N = 28)	All cases (N = 62)
PFS				
Median (years)	4.3	5.1	NR	6.0
5-year rate (%)	38	56	65	56
10-year rate (%)	31	39	65	46
OS				
Median (years)	6.8	6.5	10.6	9.8
5-year rate (%)	75	67	96	81
10-year rate (%)	43	39	60	51

PFS, progression free survival; OS, overall survival; NR, not reached.

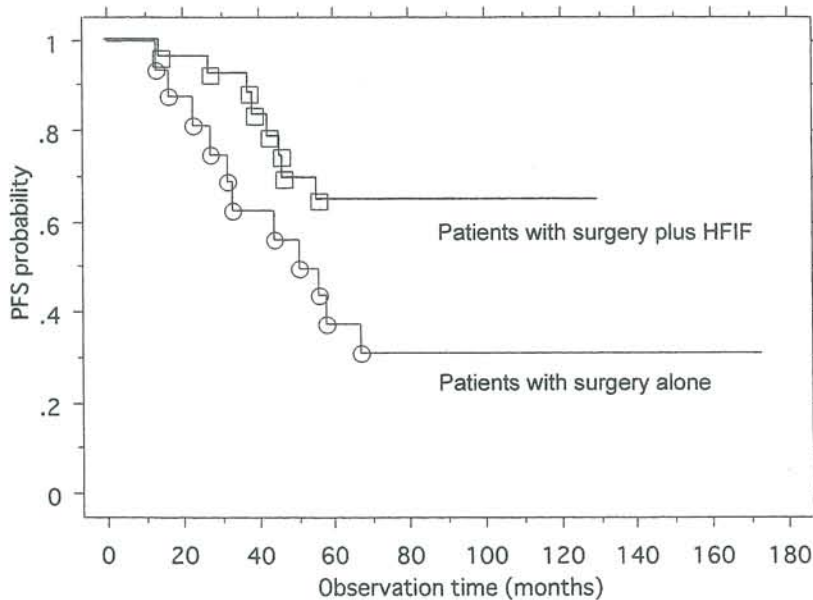


Fig.1. Kaplan-Meier curves demonstrating the progression free survival (PFS) in patients with surgery alone and those with surgery plus HFIF therapy

Table 3. Univariate analysis of the association of factors with PFS and OS

Factor	Median PFS (months)	P value	Median OS (months)	P value
Sex				
Male	56		118	
Female	87	0.4767	135	0.4631
Age				
<40 years	NR		NR	
≥40 years	47	0.0050	79	0.0047
KPS				
≥80	126		135	
<80	54	0.0613	85	0.1108
Histological type				
Fibrillary	61		118	
Protoplasmic	NR		NR	
Gemistocytic	72	0.5967	127	0.7094
Surgery				
Gross total	NR		NR	
Subtotal/Partial/Biopsy	44	0.0002	79	0.0004
Immediate radiation				
Yes	61		78	
No	NR	0.4942	127	0.1199
HFIF				
Yes	NR		127	
No	56	0.0509	82	0.0471

PFS, progression free survival; OS, overall survival; NR, not reached.

Table 4. Univariate analysis of the association of factors with survival after recurrence/progression

Factor	Median survival after recurrence/progression (months)	P value
Sex		
Male	31	
Female	24	0.6255
Age		
<40 years	26	
≥40 years	24	0.7278
KPS		
≥80	49	
<80	14	<0.001
Prior radiation		
Yes	11	
No	35	<0.001
Surgery		
Gross total	84	
Subtotal/Partial/Biopsy	26	0.0017
Malignant transformation		
Yes	26	
No	84	0.0037
Response to adjuvant therapy		
Yes	31	
No	14	<0.001

low-grade astrocytoma に対する放射線療法の有用性 に関しては、いまだ意見が大きく分かれている^{2,4,7-10,13,17,19,20,23}。最近の論文では、初回手術後に放射線照射を行った場合と再発時に行った場合とでは長期予後に差がなかったとする報告も散見される^{2,13,22}。今回の検討では、術直後の放射線療法は、PFS および OS いずれにおいても有意な予後因子ではなかった。また、初発時に放射線照射を施行していない症例では再発時における放射線療法を含む salvage therapy の有効性が高く、初発時放射線照射施行例に比べて有意な再発後生存期間の延長が認められた。このことから、再発時に放射線照射を考慮することが妥当であると考えられる。

【文 献】

- 1) Áfra D, Osztie E, Sipos L, et al: Preoperative history and postoperative survival of supratentorial low-grade astrocytomas. *Br J Neurosurg* 13: 299-305, 1999
- 2) Bauman G, Lote K, Larson D, et al: Pretreatment factors predict overall survival for patients with low-grade gliomas: a recursive partitioning analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 45: 923-929, 1999
- 3) Brunda MJ, Bellantoni D, Sulich V: In vivo anti-tumor activity of combinations of interferon α and interleukin-2 in a murine model: correlation of efficacy with the induction of cytotoxic cells resembling natural killer cells. *Int J Cancer* 40: 365-371, 1987
- 4) Eyre HJ, Crowley JJ, Townsend JJ, et al: A randomized trial of radiotherapy versus radiotherapy plus CCNU for incompletely resected low-grade gliomas: a Southwest Oncology Group study. *J Neurosurg* 78: 909-914, 1993
- 5) Fine HA, Wen PY, Robertson M, et al: A phase I trial of a new recombinant human β -interferon (BG9015) for the treatment of patients with recurrent gliomas. *Clin Cancer Res* 3: 381-387, 1997
- 6) Fukaya C, Katayama Y, Yoshino A, et al: Intraoperative wake-up procedure with propofol and laryngeal mask for optimal excision of brain tumour in eloquent areas. *J Clin Neurosci* 8: 253-255, 2001
- 7) Henderson KH, Shaw EG: Randomized trials of radiation therapy in adult low-grade gliomas. *Semin Radiat Oncol* 11: 145-151, 2001
- 8) Hilton DA, Love S, Barber R, et al: Accumulation of p53 and Ki-67 expression do not predict survival in patients with fibrillary astrocytomas or the response of these tumors to radiotherapy. *Neurosurgery* 42: 724-729, 1998
- 9) Janny P, Cure H, Mohr M, et al: Low grade supratentorial astrocytomas. *Cancer* 73: 1937-1945, 1994
- 10) Kandil A, Khafaga Y, El Husseiny G, et al: Low-grade astrocytoma : a retrospective analysis of 102 patients. *Acta Oncol* 38: 1051-1056, 1999
- 11) Katayama Y, Tsubokawa T, Maejima S, et al: Cortical direct response in humans: indication of the motor cortex during intracranial surgery under general anesthesia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 51: 50-59, 1988
- 12) Leibel SA, Sheline GE: Radiation therapy for neoplasms of the brain. *J Neurosurg* 66: 1-22, 1987
- 13) Leighton C, Fisher B, Bauman G, et al: Supratentorial low-grade gliomas in adults: an analysis of prognostic factors and timing of radiation. *J Clin Oncol* 15: 1294-1301, 1997
- 14) Lesser GJ: Chemotherapy of low-grade gliomas. *Semin Radiat Oncol* 11: 138-144, 2001
- 15) Lote K, Egeland T, Hager B, et al: Survival, prognostic factors, and therapeutic efficacy in low-grade glioma: a retrospective study in 379 patients. *J Clin Oncol* 15: 3129-3140, 1997
- 16) McCormack BM, Miller DC, Budzilovich GN, et al: Treatment and survival of low-grade astrocytoma in adults - 1977-1988. *Neurosurgery* 31: 636-642, 1992
- 17) Medbery CA III, Straus KL, Steinberg SM, et al: Low-grade astrocytomas: treatment results and prognostic variables. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 15: 837-841, 1998
- 18) Nagai M: Interferon therapy on gliomas. *Hematology & Oncology* 26: 335-340, 1993
- 19) Nakamura M, Konishi N, Tsunoda S, et al: Analysis of prognostic and survival factors related to treatment of low-grade astrocytomas in adults. *Oncology* 58: 108-116, 2000
- 20) North CA, North RB, Epstein JA, et al: Low-grade cerebral astrocytomas: survival and quality of life after radiation therapy. *Cancer* 66: 6-14, 1990
- 21) Philippon JH, Clemenceau SH, Fauchon FH, et al: Supratentorial low-grade astrocytomas in adults. *Neurosurgery* 32: 554-559, 1993
- 22) Piepmeier J, Christopher S, Spencer D, et al: Variations in the natural history and survival of patients with supratentorial low-grade astrocytomas. *Neurosurgery* 38: 872-879, 1996
- 23) Shaw EG, Dumas-Duport C, Scheithauer BW, et al: Radiation therapy in the management of low-grade supratentorial astrocytomas. *J Neurosurg* 70: 853-861, 1989

- 24) van Veelen MLC, Avezaat CJJ, Kros JM, et al:
Supratentorial low grade astrocytoma: prognostic factors, dedifferentiation, and the issue of early versus late surgery.
J Neurol Neurosurg Psychiatry 64: 581-587, 1998
- 25) Vertosick FT Jr, Selker RG, Arena VC: Survival of patients with well-differentiated astrocytomas diagnosed in the era of computed tomography.
Neurosurgery 28: 496-501, 1991
- 26) Wakabayashi T, Hatano N, Kajita Y, et al: Initial and maintenance combination treatment with Interferon-beta, MCNU (Ranimustine), and radiotherapy for patients with previously untreated malignant glioma. *J Neurooncol* 49: 57-62, 2000
- 27) Yoshida J, Kajita Y, Wakabayashi T, et al:
Long-term follow up results of 175 patients with malignant gliomas: importance of radical tumour resection and postoperative adjuvant therapy with interferon, ACNU and radiation.
Acta Neurochir (Wien) 127: 55-59, 1994

AstrocytomaにおけるCD98の発現と 分子標的としての可能性

防衛医科大学校脳神経外科微生物学教室¹⁾、杏林大学医学部薬理学教室²⁾

苗代 弘、大谷 直樹、福井 伸二、島 克司、
四ノ宮 成祥¹⁾、松尾 洋孝²⁾、遠藤 仁²⁾、金井 好克²⁾

【目的】

アミノ酸は細胞の生存に必須で、細胞膜の通過に際しアミノ酸トランスポーターを必要とする。腫瘍細胞においてもアミノ酸トランスポーターが増殖に不可欠で、システムA、Lが重要な役割を担っているといわれてきた。長らく分子実態が不明であったが最近、システムLトランスポーター(LAT1)が分子クローニングされ、CD98 light chainと同一のものであることが明らかとなった¹⁾。またCD98 heavy chain(hc)は4F2hcと同一のもので、以前から腫瘍のtransformation、リンパ球の活性化に際して高発現することが知られていた^{2,3)}。ヒトシステムLトランスポーター(hLAT1)も同定され、これに対する抗体を用いて、神経膠腫におけるLAT1/CD98 light chainの発現を検討した。

【方法】

最近8年間に経験した60人、60例のグリオーマ(glioblastoma 28例、anaplastic astrocytoma 17例、low-grade(WHO grade1,2) astrocytoma 15例)を対象とした。これらのパラフィン切片をウサギpolyclonal抗LAT1抗体、抗4F2hc抗体で免疫染色した。免疫染色性を-、1+、2+、3+の4段階で評価し、生存期間(手術日から死亡時または最終観察日までの期間)との相関をKaplan-Meier法、Log-rank検定で統計的有意差があるかどうかを検討した。免疫染色の評価は、negative, weak, strongの3段階で1000個以上の腫瘍細胞をカウントし75%以上の陽性細胞を認める場合をdiffuse staining、75%未満の陽性細胞を認める場合をpatchy stainingとした。これらからpatchy weakまたはnot stainedを(-); diffuse weak stainingを(+); strong patchy stainingを(++); strong diffuse stainingを(+++)と判定した。さらにLAT1と4F2hc staining scoreを、他の予後因子(age, gender, tumor histology, PCNA staining index)とstepwise multivariate Cox regression analysisで検定した。LAT1 scoreと他の予後因子との相関は χ^2 test、Spearman's rank correlationで評価した。

【結果】

すべての腫瘍切片でLAT1と4F2hcの免疫染色性(+~+++)を認めた。代表的症例の免疫染色写真を示す(Fig.1A-H)。low grade astrocytomaと比較しglioblastoma、anaplastic astrocytomaにおいてLAT1の免疫染色性が亢進していたが、glioblastomaの症例でもLAT1の免疫染色性が低いものもあった(Fig.1A)。免疫染色の特異性を検定するためにLAT1合成ペプチドを用いた吸収試験を行ったところ免疫原性の陰性化が観察された(Fig.1H,I)。LAT1の免疫染色性および4F2hcの免疫染色性と他の因子との相関をTable 1に示した。LAT1と4F2hc、PCNA、および組織型(WHO分類)には有意の正の相関を認めた(Table 1)。Kaplan-Meier法で検討するとLAT1の発現は有意に生存曲線に負の影響を及ぼしていた($P<0.0001$) (Fig.2)。各予後因子のLog-rank検定の結果をTable 2に示した。多変量解析(stepwise multivariate Cox regression analysis)でもLAT1の免疫染色性が有意であった(Table 3)。さらにglioblastoma(n=28)の中で、LAT1の免疫染色性が強いものほど予後は不良であった($p<0.05$)。

【考察】

増殖能の高い細胞ほど栄養素である糖分やアミノ酸の取込みが活発であることは良く知られている。腫瘍細胞でも同様で、グルコースとアミノ酸の取込みが腫瘍組織では著しく高く、このことを利用してPETやSPECTで腫瘍の質的診断が試みられている⁴⁾。一方、アミノ酸トランスポーターは基質選択性、Na依存性の有無から各種のシステムが存在することが知られているが分子実体は最近まで明らかではなかった。1998年にクローニングされたLAT1は、大きな中性アミノ酸に親和性が高くNa非依存的にleucine, isoleucine, valine, phenylalanine, tryptophan, methionineなどの必須アミノ酸を交換輸送する²⁾。もともとラットのC6グリオーマ細胞からクローニングされたことから推察されるようにヒトグリオーマでも発現が予想されたが、検討した報告はいまだない。ヒトにおいては胎児

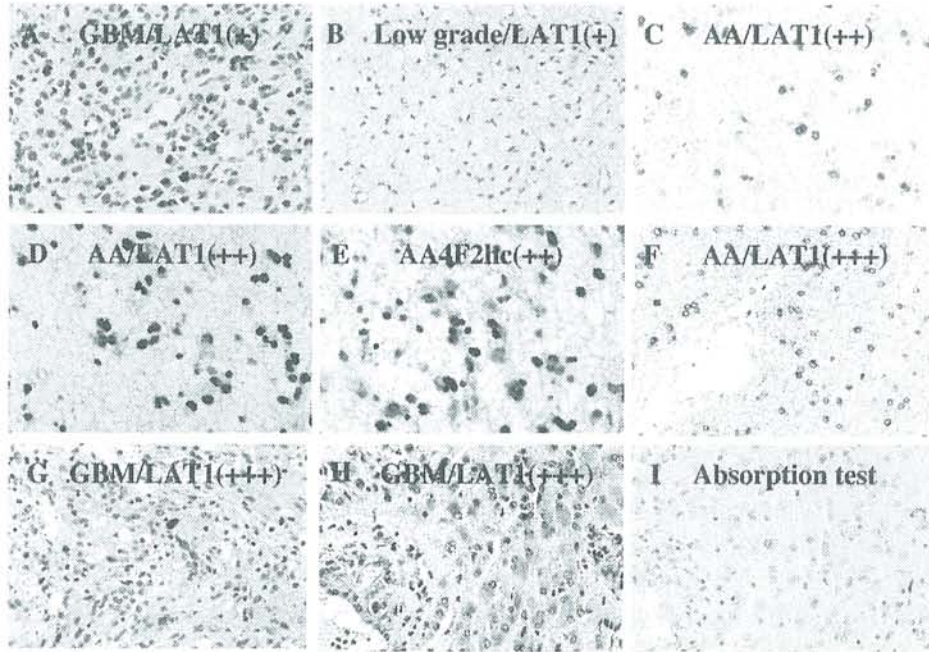


Table 1 Correlation of LAT1 and 4F2hc staining with clinical and histopathological features of astrocytic tumors

	LAT1			p	4F2hc			p
	(+) (n=21)	(++) (n=18)	(+++) (n=21)		(+) (n=27)	(++) (n=22)	(+++) (n=11)	
Age (yrs)								
0-19	6	2	0		4	4	0	
20-39	5	4	3	0.0658	6	4	2	0.731
40-59	7	8	8		11	8	4	
60+	3	4	10		6	6	5	
Tumor histology								
Low-grade astrocytoma	10	4	1		8	7	0	
AA	4	8	5	0.0059	10	4	3	0.1074
GBM	7	6	15		9	11	8	
Gender								
Male	9	6	14	0.0953	15	7	7	0.1354
Female	12	12	7		12	15	4	
PCNA index								
<5%	7	4	0		6	5	0	
5-30%	10	10	8	0.0075	16	9	3	0.0264
>30%	4	4	13		5	8	8	
4F2hc								
(+)	12	9	6	0.0098				
(++)	8	8	6					
(+++)	1	1	9					

Fig 2. actuarial survival (Kaplan-Meier method) of patients with astrocytoma whose tumors had LAT1 immunostaining of (+), (++) or (+++)

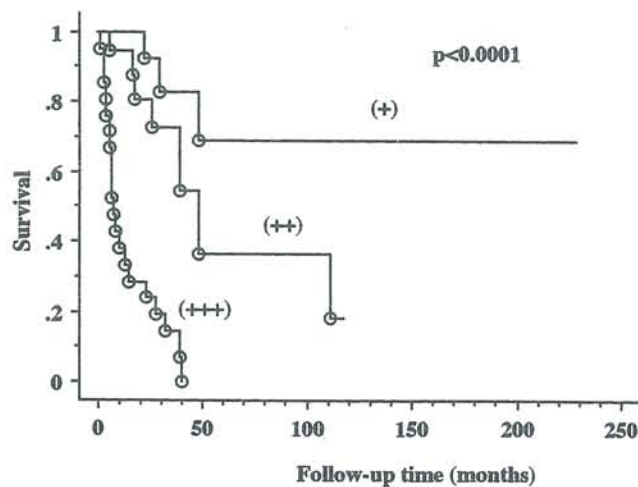


Table 2 Univariate analysis of prognostic factors for survival

	No. of patients	3-yr survival (%)	p (log rank)
Age (yrs)			
0-19	8	83.3	
20-39	12	69.8	
40-59	23	59.5	0.0030
60+	17	14.0	
Tumor histology			
Low-grade astrocytoma	15	80.2	
AA	17	53.4	0.0003
GBM	28	33.4	
Gender			
Male	29	33.3	
Female	31	72.6	0.0051
PCNA index			
<5%	11	85.7	
5-30%	28	50.3	0.0791
30%<	21	38.5	
LAT1			
(+)	21	83.1	
(++)	18	72.9	<0.0001
(+++)	21	14.3	
CD98hc			
(+)	27	56.1	
(++)	22	60.0	0.0004
(+++)	11	13.6	

Table 3 Multivariate Cox regression analysis of the factors associated with survival

step	Variable	Relative risk (95% CI) ^a	p(log-rank)
2	Age (yrs)		0.1350
	0-19	0.941(0.078-11.381)	0.9622
	20-39 ^c		
	40-59	0.800(0.214-2.993)	0.7403
	60+	2.783(0.824-9.396)	0.0992
	Tumor histology		0.1766
	Low-grade astrocytoma ^c		
	AA	3.673(0.636-21.207)	0.1458
	GBM	4.396(0.923-20.933)	0.0629
	LAT1		0.0032
	(+)	0.119(0.028-0.513)	0.0043
	(++)	0.229(0.075-0.701)	0.0098
	(+++) ^c		
	4F2hc		0.4986
	(+)	0.667(0.231-1.922)	0.4530
(++)	0.480(0.141-1.632)	0.2399	
(+++) ^c			
3	Tumor histology		0.2403
	Low-grade astrocytoma ^c		
	AA	2.134(0.489-9.309)	0.3130
	GBM	3.459(0.762-15.712)	0.1079
	LAT1		0.0016
	(+)	0.101(0.024-0.427)	0.0018
	(++)	0.232(0.079-0.676)	0.0075
	(+++) ^c		
	4F2hc		0.3801
	(+)	0.585(0.216-1.583)	0.2911
(++)	0.440(0.134-1.449)	0.1770	
(+++) ^c			
4	Tumor histology		0.1021
	Low-grade astrocytoma ^c		
	AA	2.357(0.553-10.049)	0.2463
	GBM	4.301(1.005-18.417)	0.0493
	LAT1		0.0001
	(+)	0.094(0.023-0.386)	0.0011
	(++)	0.178(0.068-0.466)	0.0004
(+++) ^c			
5	LAT1		<0.0001
	(+)	0.051(0.014-0.193)	<0.0001
	(++)	0.163(0.063-0.420)	0.0002
	(+++) ^c		

^aPotential prognostic factors selected from Table 2 were used.

^bCI, confidence interval.

^cReference category

癌原性に発現することが知られており、成人では脳の血液脳関門、胎盤、精巣で高発現している²⁾。分子の実体が明らかとなって、LAT1はCD98 light chainと同一のもので、機能発現のためには4F2 heavy chain/CD98 heavy chainとheterodimer (S=S結合)を形成することが必要であることも明らかとなった。今回の、神経膠腫 astrocytoma におけるLAT1/CD98 light chainの発現を検討した結果からLAT1の免疫染色性は有意な予後因子で治療のターゲットとなりうることが示唆された。さらにLAT1の発現の定量的評価を現在進めている。

【文献】

- 1) Y. Kanai, H. Segawa, K. Miyamoto, H. Uchino, E. Takeda and H. Endou. Expression cloning and characterization of a transporter for large neutral amino acids activated by the heavy chain of 4F2 antigen (CD98).
J. Biol. Chem. 273: 23629-23632, 1998
- 2) B.F. Haynes, M.E. Hemler, D.L. Mann, G.S. Eisenbarth, J. Shelhamer, H.S. Mostowski, C.A. Thomas, J.L. Strominger and A.S. Fauci. Characterization of a monoclonal antibody (4F2) that binds to human monocytes and to a subset of activated lymphocytes. J. Immunol. 126:1409-1414, 1981
- 3) K. Hara, H. Kudoh, T. Enomoto, Y. Hashimoto and T. Masuko. Malignant transformation of NIH3T3 cells by overexpression of early lymphocyte activation antigen CD98. Biochem. Biophys. Res. Commun. 262:720-725, 1999
- 4) Samnick S, Bader JB, Hellwig D, Moringlane JR, Alexander C, Romeike BF, Feiden W, Kirsch CM. Clinical value of iodine-123-alpha-methyl-L-tyrosine single-photon emission tomography in the differential diagnosis of recurrent brain tumor in patients pretreated for glioma at follow-up.
J Clin Oncol. 20:396-404, 2002

弧発性および家族性血管芽腫の遺伝子診断と それに基づく治療法の選択

Molecular genetic diagnosis of sporadic and familial hemangioblastomas
and decision making of therapy

横浜市立大学医学部脳神経外科¹⁾、同泌尿器科²⁾、高知医科大学泌尿器科³⁾

菅野 洋¹⁾、村田 英俊¹⁾、林 明宗¹⁾、山本 勇夫¹⁾、矢尾 正祐²⁾、執印 太郎³⁾

【はじめに】

血管芽腫は、成人の小脳・脊髄に好発する腫瘍であり、嚢胞を伴うことが多い。小脳に発生した場合は、小脳症状、腫瘍の圧排による中脳水道狭窄から水頭症、頭蓋内圧亢進症状を呈することが多く、脊髄に発生した場合は知覚障害や運動麻痺により、発症する。画像診断では、MRI、CTにて、境界鮮明で顕著な造影効果を示す。血管撮影では、顕著な腫瘍濃染像(tumor staining)を認める。この腫瘍は、約3割が家族性腫瘍性疾患である von Hippel-Lindau 病 (VHL) に伴ってみられ、この場合は中枢神経系に多発性に見られることも少なくなく、また、多臓器の腫瘍(網膜血管腫、腎癌、褐色細胞腫)、腹部臓器の嚢胞(膵嚢胞、腎嚢胞、肝嚢胞、副腎嚢胞性腺腫)をしばしば伴う¹⁻⁴⁾。血管芽腫が、弧発性か遺伝性(VHL)かは、通常、家族歴や合併病変の有無により鑑別可能だが、弧発性であっても多発性に発生したり、中枢神経系の別の場所に発生することも稀ならずあり、こうした場合は鑑別が難しいことがある。また、家族歴がないVHLで、最初に血管芽腫を発生し、後に他臓器の病変を合併することもある。こうした場合、VHLの原因遺伝子であり、血管芽腫の原因遺伝子でもあるVHL腫瘍抑制遺伝子(VHL遺伝子)を用いた遺伝子診断は有用で、VHLであるか否かは、VHL遺伝子の胚細胞系列遺伝子変異(germline mutation)の有無を確認すればよい⁵⁻⁸⁾。さらに、germline mutationの変異のタイプによって、蛋白切断(truncation)を引き起こすものと、アミノ酸置換に留まるものに分けられるが、それぞれのタイプによって、合併病変や予後が違ってくることが判明しており^{9,10)}、こうした情報を得ることも可能である。また、血管芽腫の腫瘍組織におけるVHL遺伝子の体細胞遺伝子変異(somatic mutation)の有無とgermline mutationの有無を組み合わせることも鑑別に有用である⁵⁾。そこで、著者らは、これまで弧発性および家族性(VHL)

の血管芽腫症例に関して、VHL遺伝子のgermlineあるいはsomatic mutationの遺伝子解析を行い、検討した。

【対象および方法】

対象は、当院および関連施設で治療と遺伝子解析を行った弧発性血管芽腫28例、VHLに伴う家族性血管芽腫8例である。これらに対して、患者の静脈血のリンパ球および腫瘍組織(凍結もしくはパラフィンブロック包埋組織)からDNAを抽出し、VHL遺伝子を構成する3個のexonのすべてをカバーするプライマーを5セット設定し、それぞれについてsingle-strand conformation polymorphism(SSCP)法にて、まず、遺伝子異常の領域を特定したのち、その領域についてdirect sequencing法にて塩基配列の異常について解析した¹¹⁾。また、弧発性血管芽腫19例については、ヘテロ接合性消失(loss of heterozygosity, LOH)の有無について、染色体第3番単腕(3p)上の7種のmicro-satellite probe(D3S 1304, D3S 1317, D3S 1038, D3S 647, D3S 1067, D3S 1228, D3S 1603)と2種のVHL遺伝子内のsingle nucleotide polymorphism(SNP)(A1149G, K54/MA3B)を用いて、上記のリンパ球と腫瘍組織のDNAを対比することで解析した¹²⁾。また、とくに弧発性および家族性の血管芽腫例について、その合併病変について検討した。

【結果】

弧発性血管芽腫28例中14例(50%)にVHL遺伝子変異(うち2例は、パラフィンブロック包埋組織からのDNAの抽出のため、SSCPの異常のみ)を認めた。変異の部位は、exon1が5例、exon2が5例、exon3が4例であった。塩基配列解析まで施行しえた12例の内訳は、アミノ酸置換をきたすmissense mutation(1塩基置換)が9例、蛋白切断(truncation)をきたすframe-shiftを呈するdeletion(塩基欠失)が2例、exon1

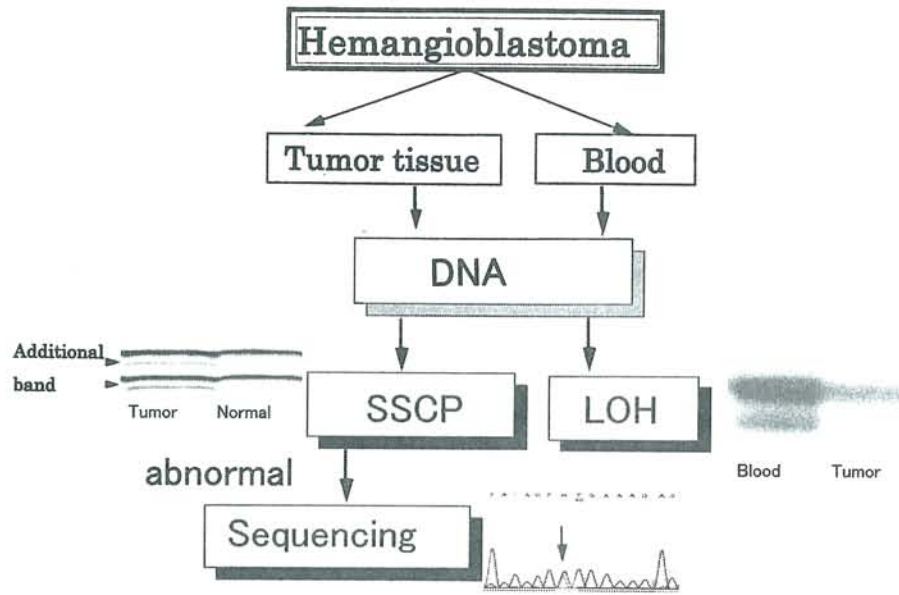


Fig.1

血管芽腫の遺伝子診断。弧発性血管芽腫では、VHL 遺伝子の体細胞変異(somatic mutation)が約半数に認められるが、胚細胞変異(germline mutation)は認められない。家族性血管芽腫では、VHL 遺伝子の体細胞変異と胚細胞変異の両者が認められる。SSCP 法で additional band が認められた場合には、direct sequencing 法で塩基配列の決定を行う。同時に 3p の LOH を解析する。

近傍の splice-site mutation (1 塩基置換) が 1 例であった。3p LOH は、解析した 19 例中 16 例に認められ、このうち 11 例は VHL 遺伝子の領域に認められた。

これに対し、VHL 病に伴う家族性血管芽腫 9 例(家系)では、germline mutation が 6 例に認められた。このうち、3 例は missense mutation で 1 例は splice-site mutation、2 例は 3 塩基の deletion によるアミノ酸 (phenylalanine) の欠失を呈する変異であった。遺伝子変異の部位は、exon 1 が 3 例、exon 3 が 3 例(exon 3 近傍の splice-site mutation を含む)であった。3 例は VHL 遺伝子の germline に SSCP 法で遺伝子異常が認められなかったが、そのうち 1 例では血管芽腫の腫瘍の DNA の中で VHL 遺伝子の exon 2 に microdeletion を認めた。また、VHL 病の 9 例のうち、8 例は褐色細胞腫を伴わない VHL type 1 で、1 例だけが褐色細胞腫を伴う VHL type 2 であった。また、9 例中 5 例に腎細胞癌(clear cell type)を認めた。

【考察】

血管芽腫の遺伝子診断に関しては、1993 年に米国癌研究所の Zbar らのグループにより VHL 遺伝子が単離されてから¹³⁾、著者らのグループをはじめとして、いくつかの報告がなされている^{11,14)}。いずれも、弧発性血管芽腫に関しては、多くても約 50%しか VHL 遺伝子の体細胞変異(somatic mutation)が報告されていない。この点に関して、最近、Neumann らは VHL 遺

伝子以外の遺伝子異常によって血管芽腫が発生する可能性を論じているが、その根拠として、血管芽腫で VHL 遺伝子に変異が認められない例では、腎細胞癌のように VHL 遺伝子の hypermethylation がほとんど認められないことをあげている¹⁵⁾。しかしながら、VHL 遺伝子以外に原因となる候補は未だ明らかではない。著者らの検討では弧発性血管芽腫 28 例中 14 例(50%)に VHL 遺伝子変異を認めているが、3p LOH に関していえば、検討した 19 例中 16 例に認めており、これはこの領域の遺伝子不活化が腫瘍発生の原因となっていることを示唆するものである。この 19 例中 VHL 遺伝子の体細胞変異が認められた 10 例中では 6 例に 3p LOH が認められるにすぎず、Knudson の主張する two-hit theory で腫瘍発生を説明できる例は、結局 25 例中 6 例ということになり、これは決して高い率ではない。したがって、すべての血管芽腫について、VHL 遺伝子の不活性化が腫瘍発生の原因であると断定するまでには至らないと考えられる。ただ、中枢神経系の腫瘍の中では、VHL 遺伝子の体細胞変異の見られるのは一部のグリオーマをのぞいてほぼ血管芽腫に限定されており、その意味からは、腫瘍細胞において VHL 遺伝子の変異が認められれば、血管芽腫の病理診断を裏付けることになるものと考えられる。

これに対して、VHL に伴う家族性血管芽腫の場合は、腫瘍細胞の遺伝子変異 (somatic mutation) より

も、血液中のリンパ球から抽出した DNA における VHL 遺伝子変異 (germline mutation) を調べることがより重要である。これによって、VHL 遺伝子の germline mutation が認められれば、VHL であると遺伝子の上から確定診断することができるのである。VHL は、遺伝子診断をすることでその後の生存期間を延長に貢献する疾患群の一つに認定されている¹⁶⁾。それは、VHL であると確定診断することで、発生の予想される腎細胞癌や血管芽腫などを早期に発見することができ、それらに対して適切な治療がなされる機会が増すからである。血管芽腫患者で、VHL と診断されれば、定期的検査を受けることが推奨されるし、逆に、VHL ではないことが明らかにされれば、将来的に VHL 病の発症を懸念する必要がなくなるわけである。米国では、VHL のような遺伝性疾患に関して、両親のうちいずれかが遺伝子キャリアーである場合、その子供について、妊娠初期に羊水から DNA を抽出して胎児の遺伝子診断を行い、その結果に基づき妊娠の継続をするか否かを決定している。その決定権は、胎児の両親にあるとされている。我が国の現状では、そうしたことを規制する法的整備はまだ十分なされていないが、生後早期に致死あるいは高度の障害を示す重篤な遺伝性疾患に関しては、羊水の遺伝子診断によって妊娠中絶が選択されることもひとつの選択枝とされる日が来ることが予想される。しかし、VHL のように治療が可能な腫瘍を発症する遺伝性疾患に関しては、胎児の段階での遺伝子診断に関しては議論の余地があるところと思われる。

【文献】

- 1) 菅野 洋：脳病変と von Hippel-Lindau 病、*病理と臨床* 15(2):129-133, 1997
- 2) 菅野 洋：血管芽腫、神経症候群・別冊 *日本臨床 領域症候群* シリー-28: 169-172, 2000
- 3) 菅野 洋, 山本勇夫, 矢尾正祐, 執印太郎: von Hippel-Lindau(VHL)病. *神経症候群・別冊 日本臨床 領域症候群* シリーズ 28: 501-503, 2000
- 4) 菅野 洋：von Hippel-Lindau 病、*脳腫瘍病理カラーアトラス第2版* 日本脳腫瘍病理学会編集、医学書院、pp.164-165, 1999
- 5) Kanno H, Shuin T, Kondo K, Ito S, Hosaka M, Torigoe S, Fujii S, Tanaka Y, Yamamoto I, Kim I, Yao M: Molecular genetic diagnosis of von Hippel-Lindau disease. *Jpn J Cancer Res* 87: 423-428, 1996.
- 6) Clinical Research Group for VHL in Japan (Shuin T, Yao M, Kanno H, et al): Germline mutations in the von Hippel-Lindau disease (VHL) gene in Japanese VHL. *Human Molecular Genetics* 4: 2233-2237, 1995.
- 7) 菅野 洋, 山本勇夫, 矢尾正祐, 執印太郎: von Hippel-Lindau 病. *脳神経* 51 (1): 33-40, 1999
- 8) 菅野 洋: von Hippel-Lindau 病家系の遺伝子診断、*医学のあゆみ*, 190: 762-763, 1999
- 9) Shuin T, Kondo K, Ashida S, Okuda H, Yoshida M, Kanno H, Yao M: Germline and somatic mutations in von Hippel-Lindau disease gene and its significance in the development of kidney cancer. *Contrib Nephrol* 128: 1-10, 1999
- 10) Yoshida M, Ashida K, Kondo K, Kobayashi H, Kanno H, Shinohara N, Shitara T, Kishida T, Kawakami S, Baba I, Yamamoto I, Hosaka M, Shuin T, Yao M: Germ-line mutation analysis in patients with von Hippel-Lindau disease in Japan: an extended study of 77 families. *Jpn J Cancer Res* 91: 204-212, 2000
- 11) Kanno H, Kondo K, Ito S, Yamamoto I, Fujii S, Trigoe S, Sakai N, Hosaka M, Shuin T, and Yao M: Somatic mutations of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in sporadic central nervous system hemangioblastomas. *Cancer Res* 54: 4845-4847, 1994
- 12) Kanno H, Shuin T, Kondo K, Yamamoto I, Ito S, Shinonaga M, Yoshida M, and Yao M: Somatic mutations of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene and loss of heterozygosity on chromosome 3p in human glial tumors. *Cancer Res* 57: 1035-1038, 1997
- 13) Latif, F., Gnarra, J., Tory, K., Gnarra, J., Yao, M., Duh, F.-M., Orcutt, M.L., Stackhouse, T., Kuzmin, I., Modi, W., Geil, L., Schmidt, L., Zhou, F., Li, H., Wei, M.H., Chen, F., Glenn, G., Choyke, P., Walter, M.M., Weng, Y., Duan, D.R., Dean, M., Glavac, D., Richards, F.M., Crossey, P.A., Ferguson-Smith, M.A., Paslier, D.L., Chumkov, I., Cohen, D., Chinault, C., Mahler, E.R., Linehan, W.M., Zbar, B., and Lerman, M.I. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Science*, 260: 1317-1320, 1993.
- 14) Lee JY, Dong SM, Park WS, Yoo NJ, Kim CS, Jang JJ, Chi JG, Zbar B, Lubensky IA, Linehan WM, Vortmeyer AO, Zhuang Z.: Loss of heterozygosity and somatic mutations of the VHL tumor suppressor gene in sporadic cerebellar hemangioblastomas. *Cancer Res* 58: 504-508, 1998
- 15) Glasker S, Bender BU, Apel TW, van Velthoven V, Mulligan LM, Zintner J, Neumann HP. Reconsideration of biallelic inactivation of the VHL tumour suppressor gene in hemangioblastomas of the

central nervous system.

J Neurol Neurosurg Psychiatry 70:644-648, 2001

- 16) American Society of Clinical Oncology. Statement of the American Society of Clinical Oncology. Genetic testing for cancer susceptibility. J Clin Oncol 14 : 1730, 1996

グリオブラストーマ細胞株 U87 における X線照射後の遺伝子発現の解析

DNA microarray analysis of gene responses to ionizing radiation
in glioblastoma cell line U87 (preliminary report)

順天堂大学医学部脳神経外科¹⁾、同放射線科²⁾

大供 孝¹⁾、菱井 誠人¹⁾、新井 一¹⁾、佐藤 潔¹⁾、笹井 啓資²⁾

【はじめに】

グリオブラストーマの標準的補充療法として放射線治療が施行されるが、その治療成績は満足すべきものではない。放射線治療成績の向上には、グリオブラストーマ細胞の放射線感受性を規定する因子の解析¹⁾が重要であると考えられる。近年、腫瘍細胞に対する放射線照射後の遺伝子発現に関する知見が多数報告されており²⁾、グリオブラストーマ細胞を用いた報告³⁾もなされたが、その結果は未だ一定の見解に達していない。我々は DNA microarray を用いて、グリオブラストーマ細胞の放射線感受性と放射線照射後発現遺伝子の関連を網羅的に解析し、放射線感受性を規定する遺伝子群を同定することを目的に研究を開始した。今回は、グリオブラストーマ細胞株 U87MG における放射線照射後の経時的遺伝子発現パターンの解析結果を preliminary report として報告する。

【方法】

細胞株、放射線照射、コロニー法：ATCC より入手したヒトグリオブラストーマ細胞株、U87, T98, U373, A172, U138 を用いた。フラスコにて、37°C、5% CO₂ の条件にて RPMI 1640, 10% FCS 培地を用いて培養した。放射線感受性はコロニー法⁴⁾にて評価した。具体的には、対数増殖期の細胞に X 線を照射し細胞数を算定した後に、60 mm シャーレにて約 2 週間培養した。エタノール固定、ギムザ染色後、細胞数 50 以上のコロニーを、肉眼と顕微鏡を併用し算出した。X 線照射は、日立メデイコ社製 X 線照射装置 MBR-1505R2 を使用した。25cm 平方フラスコで培養した細胞を、管電圧 250Kv, 管電流 5mA, 線量率 200 rad/min. の条件にて X 線照射した。U87 は 5 つの細胞株の中では中等度の放射線感受性を有すると考えられた。(図 1)

RNA 単離、cDNA 作成、hybridization：total RNA

の単離は酸性フェノール法にて行い、宝酒造社製 RNA fluorescence labeling core kit にて蛍光ラベルした cDNA を作製した。DNA microarray は、同社製 IntelliGene human cancer chip ver.3 を使用した。同社のプロトコールに従い、prehybridization を施行後、12～16 時間の hybridization を行った。

実験デザイン、データ解析：フラスコ内で confluent に増殖した細胞に 6Gy の X 線照射を行い、0.5, 1, 6, 12, 24 時間後に total RNA を採取した。各 time points での独立したコントロールとして放射線照射していない U87 細胞から採取した total RNA を用いた。それぞれの発現の差を DNA chip 上で蛍光シグナルとして読み取り、解析ソフトウェアで処理した。蛍光信号の読み取りと数値化は GMS 418 Array Scanner を使用した。データ解析には ImaGene ver.4.1 を使用し、normalization には housekeeping gene の ribosomal protein S5 を用いた。発現の上昇した遺伝子の選択は normalization 後、ヒストグラム上でシグナル比 2.7 以上のものを選択した。選択した遺伝子は各 time points の散布図上で黒色の点として表示した。(図 2) 散布図の目盛は自然対数を底とした対数目盛りで、縦軸はコントロールのシグナル、横軸は照射後のシグナルとし、normalization 後の回帰直線を表示した。

【結果】

上述した基準にて選択された発現上昇遺伝子を以下に列挙する。

照射後 0.5 時間での発現上昇遺伝子

1. eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 2 (beta, 38kD)
2. nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B cells inhibitor, alpha
3. myeloid leukemia factor 2
4. Ras-related GTP-binding protein
5. ras homolog gene family, member A

Colony formation assay

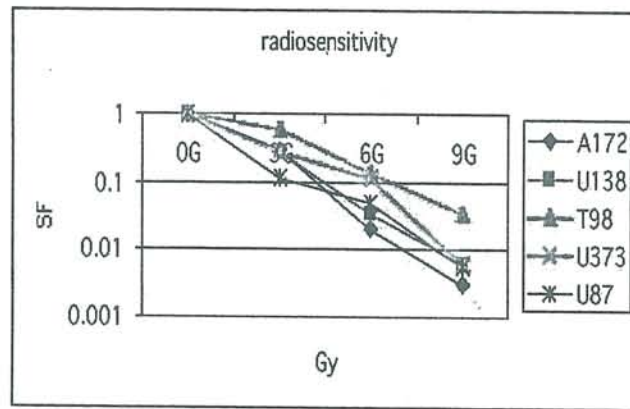


図1

Results(scatter plots)

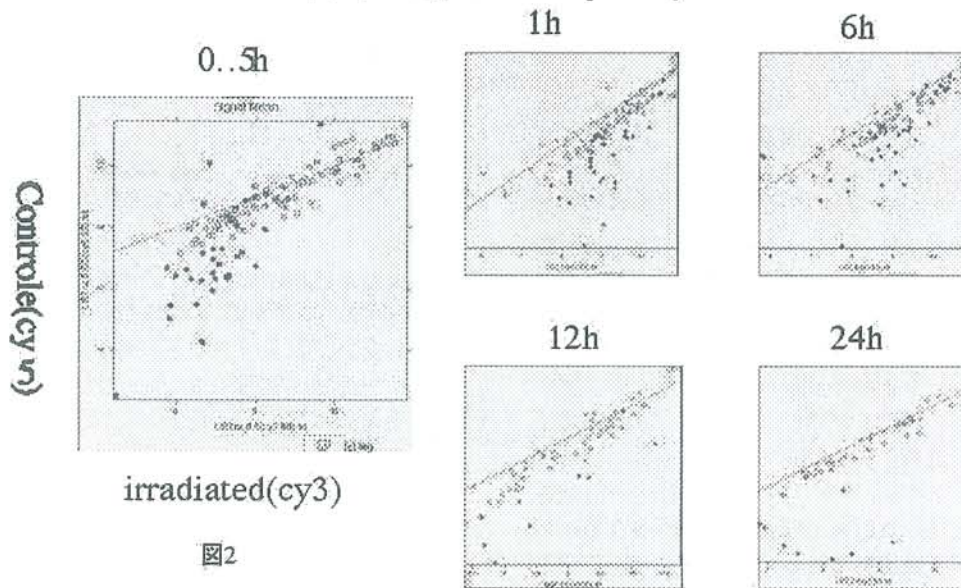


図2

- 6. glutaredoxin (thioltransferase)
- 7. anti-oxidant protein 2 (non-selenium glutathione peroxidase, acidic calcium-independent phospholipase A2)
- 8. collagen, type VI, alpha 3
- 9. guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha inhibiting activity polypeptide 3
- 10. lysophospholipase-like
- 11. adenine phosphoribosyltransferase
- 12. integrin beta 3 binding protein (beta3-endonexin)
- 13. CD44 antigen (homing function and Indian blood group system)
- 14. keratin 10 (epidermolytic hyperkeratosis; keratosis palmaris et plantaris)
- 15. guanine monphosphate synthetase
- 16. ClpP (caseinolytic protease, ATP - dependent, proteolytic subunit, E. coli) homolog

- 17. B-cell associated protein
- 18. collagen, type I, alpha 2
- 19. eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 2 (beta, 36kD)
- 20. malate dehydrogenase 1, NAD (soluble)
- 21. Xray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 5 (double-strand-break rejoining; Ku autoantigen, 80kD)
- 22. FYN oncogene related to SRC, FGR, YES

照射後 1 時間での発現上昇遺伝子

- 1. vimentin
- 2. hexabrachion (tenascin C, cytotactin)
- 3. aldolase A, fructose-bisphosphate
- 4. RAD23 (S. cerevisiae) homolog B
- 5. tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5monooxygenase activation protein, zeta polypeptide

6. integrin, alpha 3 (antigen CD49C, alpha 3 subunit of VLA-3 receptor)
7. caveolin 1, caveolae protein, 22kD
8. profilin 1
9. early growth response 1
10. v-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral oncogene homolog 11 1 eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 2 (beta, 38kD)
12. topoisomerase (DNA) II alpha (170kD)
13. ubiquitin-conjugating enzyme E2A (RAD6 homolog)
14. Xray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 5 (double-strand-break rejoining; Ku autoantigen, 80kD)
15. thyroid autoantigen 70kD (Ku antigen)
16. eukaryotic translation elongation factor 2
17. centromere protein F (350/400kD, mitotin)
18. plasminogen activator, urokinase receptor
19. integrin-linked kinase
20. Fas (TNFRSF6)-associated via death domain
21. diaphorase (NADH/NADPH) (cytochrome b-5 reductase)
22. high-mobility group (nonhistone chromosomal) protein 1
23. integrin beta 3 binding protein (beta3-endonexin)
24. cadherin 13, H-cadherin (heart)
25. malate dehydrogenase 1, NAD (soluble)
26. exportin 1 (CRM1, yeast, homolog)
27. chondroitin sulfate proteoglycan 2 (versican)

照射後 6 時間での発現上昇遺伝子

1. high-mobility group (nonhistone chromosomal) protein 1
2. fibronectin 1
3. hexabrachion (tenascin C, cytotactin)
4. topoisomerase (DNA) II alpha (170kD)
5. transforming growth factor beta-stimulated protein TSC-22
6. eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 2 (beta, 38kD)
7. collagen, type I, alpha 2
8. glutaredoxin (thioltransferase)
9. collagen, type VI, alpha 3
10. malate dehydrogenase 1, NAD (soluble)
11. CDC28 protein kinase 1
12. caveolin 1, caveolae protein, 22kD
13. ribonucleotide reductase M1 polypeptide
14. cytochrome c
15. X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 5 (double-strand-break

- rejoining; Ku autoantigen, 80kD)
16. active BCR-related gene
17. ornithine decarboxylase 1
18. cadherin 13, H-cadherin (heart)
19. paxillin
20. tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, zeta polypeptide

照射後 12 時間での発現上昇遺伝子

1. vimentin
2. insulin-like growth factor binding protein 3
3. prefoldin 5

照射後 24 時間での発現上昇遺伝子

1. prefoldin 5
2. insulin-like growth factor binding protein 3
3. glutathione peroxidase 1
4. hepatoma-derived growth factor (high-mobility group protein 1-like)
5. non-metastatic cells 1, protein (NM23A) expressed in
6. hexokinase 1

【考 察】

これまでの実験報告では、細胞株に照射する X 線線量は 1Gy 以下から 10 Gy 以上までと、実験の目的により多様である。今回の実験の際の X 線線量は以下の点を考慮して 6Gy に設定した。1.コロニー法の結果で 6Gy 以上での各細胞株間の生存率の差が顕著となったこと、2.放射線照射後の遺伝子発現や蛋白発現を調べる実験で比較的多く用いられる線量であること、3.線量依存的に、発現遺伝子の種類、数が増加し、より多様な変化をとらえられる可能性がある³⁾こと、4.アポトーシス関連遺伝子の転写制御は 5Gy の照射後 2 時間以内に開始すると報告されていること⁵⁾、5.1~6Gy の照射でグリオブラストーマ細胞株の遊走能と浸潤能が促進されるとの報告があること⁶⁾、等である。Time points の設定は急性期、及び亜急性期応答遺伝子の発現時間を考慮した。急性期応答遺伝子の発現の経時的変化は多様⁷⁾であり発現上昇から短時間で減少するものもあるため、最初の time point から 30 分後にも time point を設定した。照射後早期に発現の上昇した遺伝子は、12 時間後以降に発現の上昇がみられた遺伝子よりも多かった。この理由として、使用した 638 種類のプローブが癌疾患関連遺伝子であり、その中に急性期応答遺伝子とそれらに関連した遺伝子が多く含まれていた事、設定した線量、データ処理の際のカットオフ値、等の影響が考えられる。X 線照射後の遺伝子発現の変化としては、今回の発現上昇遺伝子の内容は、過去に報告された^{1,3,8,9,10)}、

oncogene, stress response, growth control, DNA repair 等の、いわゆる genotoxic-responsive genes²⁾が多くみられた。またそれらの遺伝子は急性期応答遺伝子として短時間で多様な反応を呈していることが予想された。今後、これらの遺伝子間の相互作用と、蛋白発現機構がさらに解明されるものと考えられる。

放射線感受性に関しては、P53 を含めたアポトーシス関連の遺伝子に注目した報告が多くみられる^{5,8,10)}。今回の我々の実験で発現が上昇した遺伝子の中で、H and K-ras, IGF- α , NF- κ B, Fas に関しては放射線感受性との関連^{8,11)}が報告されており、興味深い遺伝子群と考えられる。今後、異なる放射線感受性を有する細胞株との比較実験の際に、これらの遺伝子にも注目すべきと考える。

放射線感受性以外の点で、照射後 0.5, 1 時間後に発現の上昇した integrin 関連遺伝子と X 線照射後の細胞移動能との関連⁹⁾も報告されている。このことは放射線照射による腫瘍制御の問題点の解明や、放射線治療戦略の再検討につながる可能性⁶⁾もあると考えられる。

以上 preliminary な形での報告をした。今後、研究の課題としては、特定の遺伝子に対する定性、定量的評価¹²⁾、他の細胞株⁴⁾や手術検体との比較、それらの結果と臨床的治療効果との比較^{1,13)}、更には遺伝子治療への応用^{14,15,16)}等があげられる。

【謝 辞】

本研究の一部は老人性疾患病態治療研究センターにて行われた。DNA microarray に関する御指導を頂きました順天堂大学生化学第一教室 石堂一巳講師、ImaGene によるデータ処理に御助言を頂きました宝酒造株式会社 植田稔氏、技術的支援を頂きました、荻野郁子女史、栗原佐知子女史に深く感謝いたします。

【文 献】

- 1) Tada M, Matsumoto R, Iggo RD, Onimaru R, Shirato H, Sawamura Y, Shinohe Y. Selective sensitivity to radiation of cerebral glioblastomas harboring p53 mutations. *Cancer Res.* 1998 May 1;58(9):1793-7.
- 2) Fornace, A.J. Jr, Amundson, S.A., Bittner, M. Myers TG, Meltzer P, Weinstein JN, Trent J. The complexity of radiation stress responses: analysis by informatics and functional genomics approaches. *Gene Expr* 1999;7(4-6):387-400
- 3) Khodarev NN, Park JO, Yu J, Gupta N, Nodzenski E, Roizman B, Weichselbaum RR. Dose-dependent and independent temporal patterns of gene responses to ionizing radiation in normal and tumor cells and

tumor xenografts. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001 Oct 23;98(22):12665-70.

- 4) Ham, R.G. : *Methods in Cell Biology*, 5, 37, 1972
- 5) Voehringer DW, Hirschberg DL, Xiao J, Lu Q, Roederer M, Lock CB, Herzenberg LA, Steinman L, Herzenberg LA. Gene microarray identification of redox and mitochondrial elements that control resistance or sensitivity to apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2000 Mar 14;97(6) : 2680-5.
- 6) Wild-Bode C, Weller M, Rimmer A, Dichgans J, Wick W. Sublethal irradiation promotes migration and invasiveness of glioma cells: implications for radiotherapy of human glioblastoma. *Cancer Res.* 2001 Mar 15;61(6) : 2744-50.
- 7) Hallahan DE, Dunphy E, Virudachalam S, Sukhatme VP, Kufe DW, Weichselbaum RR. c-jun and Egr-1 participate in DNA synthesis and cell survival in response to ionizing radiation exposure. *J. Biol. Chem.* ,1995 Dec 22;270(51):30303-9.
- 8) Rosen EM, Fan S, Rockwell S, Goldberg ID. The molecular and cellular basis of radiosensitivity: implications for understanding how normal tissues and tumors respond to therapeutic radiation. *Cancer Invest.* 1999;17(1):56-72. Review.
- 9) Lehnert S. Prediction of tumor response to therapy: molecular markers and the microenvironment. *Apoptosis and chips: an overview of the proceedings.* *Radiat Res.* 2000 Aug;154(2):121-4.
- 10) Hong JH, Chiang CS, Campbell IL, Sun JR, Withers HR, McBride WH. Induction of acute phase gene expression by brain irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995 Oct 15;33(3):619-26.
- 11) Gupta AK, Bakanauskas VJ, Cerniglia GJ, Cheng Y, Bernhard EJ, Muschel RJ, McKenna WG. The Ras radiation resistance pathway. *Cancer Res.* 2001 May 15;61(10):4278-82.
- 12) Taniguchi M, Miura K, Iwao H, Yamanaka S. Quantitative assessment of DNA microarrays--comparison with Northern blot analyses. *Genomics.* 2001 Jan 1;71(1):34-9.
- 13) Joki T, Carroll RS, Dunn IF, Zhang J, Abe T, Black PM. Assessment of alterations in gene expression in recurrent malignant glioma after radiotherapy using complementary deoxyribonucleic acid microarrays. *Neurosurgery.* 2001 Jan;48(1):195-201; discussion 201-2.
- 14) Nakahara N, Okada H, Witham TF, Attanucci J, Fellows WK, Chambers WH, Niranjan A, Kondziolka D, Pollack IF. Combination of stereotactic radiosurgery and cytokine

gene-transduced tumor cell vaccination: a new strategy against metastatic brain tumors.

J Neurosurg. 2001 Dec;95(6):984-9.

- 15) Lammering G, Lin PS, Contessa JN, Hampton JL, Valerie K, Schmidt-Ullrich RK.
Adenovirus-mediated overexpression of dominant negative epidermal growth factor receptor-CD533 as a gene therapeutic approach radiosensitizes human carcinoma and malignant glioma cells. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2001 Nov 1;51(3):775-84.
- 16) Badie B, Goh CS, Klaver J, Herweijer H, Boothman DA. Combined radiation and p53 gene therapy of malignant glioma cells. Cancer Gene Ther. 1999 Mar-Apr;6(2):155-62.

プロテオミクスによる グリオーマ薬剤感受性規定因子の検索

Proteomics for searching the molecular factors
related with chemosensitivity in human gliomas

千葉大学大学院医学研究院神経統御学¹⁾、同遺伝子生化学²⁾、
千葉県がんセンター研究局化学療法研究部³⁾

岩立 康男¹⁾、堺田 司^{1,2)}、日和佐 隆樹²⁾、滝口 正樹²⁾、藤本 修一³⁾、山浦 晶¹⁾

Key Words : Proteomics, Proteome analysis,
2D-electrophoresis, glioma, chemosensitivity

【はじめに】

細胞や組織で発現している全タンパク質群（プロテオーム）の網羅的な動態解析を行う技術をプロテオミクスと呼ぶ。この技術は、二次元電気泳動法 (2-Dimensional Electrophoresis: 2-DE)、質量分析 (Mass Spectrometry: MS) と、ヒトゲノムの塩基配列決定に伴い近年急速に発展してきている生物情報科学 (Bioinformatics) が統合されることにより可能となった¹⁾。mRNA レベルでの機能的ゲノミクスに関する情報は、DNA マイクロアレイの登場により飛躍的に増えてきているが^{2,6,7,9,11)}、刻々と変化する生命現象の最終的な担い手はタンパク質であり、その機能発現は翻訳後修飾やタンパク質相互作用などに大きく依存している。これらタンパク質相互作用ネットワークの解析は、プロテオミクスの手法を用いる事により初めて可能になる分野であり、生命現象の包括的な理解に必須であると考えられる^{8,10)}。医学の分野においては、この技術の応用により種々の病態の物質的背景が明らかにされ、治療に直結する分子標的が見いだされていくことが期待される。

種々の治療に抵抗性を示す悪性グリオーマの治療成績向上は脳神経外科領域の重要な課題の一つである。我々はこれまでに、抗癌剤感受性試験というバイオアッセイ系を用いて、悪性グリオーマの化学療法の個別化に取り組んできた³⁻⁵⁾。その結果、同一組織診断の腫瘍でも薬剤感受性は症例毎に異なっていること、治療の個別化は glioblastoma において有効であることなどが明らかとなった。また、こういった生物学的特徴の多様性を与えている遺伝子変異もいくつか見いだされている。しかしながら、細胞培養

を経たバイオアッセイの結果は生体内環境を十分に反映しているとは言えず、また個々の遺伝子検索に基づく情報は断片的であり、これらの検査結果からグリオーマの生物学的特徴の全体像に迫ることはできない。臨床に寄与する重要な情報を得るには、遺伝子発現に関するより網羅的な検索が必要である。プロテオミクスを用いることにより、症例毎の薬剤感受性の違いも、タンパク質レベルでの複数の遺伝子発現の差として記述可能と考えられる。本研究では、抗癌剤感受性試験の結果とプロテオーム・プロファイリングパターンとの対応を検討することにより、抗癌剤感受性と関連するタンパク質群を抽出することを目的とした。また、これらの情報は、グリオーマの生物学的特徴を分子レベルで説明し、従来病理組織学的所見のみに基づいていた疾患単位により詳細かつ客観的な分類基準を与えるための基礎データとなりうる。

【対象と方法】

Materials : 病理診断が確定している悪性グリオーマ 65 例 (glioblastoma multiforme [GM] 52 例、anaplastic astrocytoma [AA] 13 例)、oligodendroglioma 8 例、正常脳 6 例を対象とした。

Study design : これらの症例に対し以下の抗癌剤感受性試験を行い、30 種類の薬剤のうち有効薬剤が 1 剤も存在しない症例を、アポトーシス抵抗性を獲得した腫瘍という観点から低感受性群 (Resistant group) に分類し、1 剤でも有効薬剤の見いだされた症例を、アポトーシスの機構が保たれている症例として感受性群 (Sensitive group) に分類した。この両群間でプロ

テオーム・プロファイリングパターンの違いを検討するとともに、有意に発現の異なるタンパク質を探索した。

Chemosensitivity test: 腫瘍組織を摘出後直ちに細切し、single cell suspension に近い状態とし、30種類の抗癌剤を臨床常用量における最高血中濃度の10分の1の濃度で8時間接触させた後、薬剤を含まない培地 (RPMI1640) で追加培養を行った⁴⁾。裸核処理後 Propidium Iodide (PI) にて DNA 染色を行い、フローサイトメーター (FACScan) にて核 DNA 量を測定した。効果判定は DNA ヒストグラムにおける sub-G1 peak の上昇 (アポトーシス細胞の増加) およびこれに伴う G0/G1 ピークの低下 (正常細胞の減少) を指標とした⁴⁾。同時に、薬剤処理後の細胞をギムザ染色し、細胞形態 (核断裂像、核濃縮像) を観察することによりアポトーシス細胞の比率を測定した。

2D-Electrophoresis: 凍結標本から homogenizer と界面活性剤およびプロテアーゼ阻害剤を含む lysis buffer を用いてタンパク質分画を抽出し、濃度測定後に凍結乾燥した。その 100 μ g を、尿素と CHAPS を含む sample buffer に溶解し、ImmobilineTM DryStrip (pH3-10) と MultiphorTM II を用いて一次元目等電点電気泳動を行った。続いて、SDS と DTT を用いて DryStrip の平衡化を行った後、二次元目 SDS-PAGE を施行した。銀染色にてスポットを可視化した後、Melanie 3 software と SWISS 2D-PAGE データベースにてプロファイリングパターンの標準化・解析を行った。

MALDI-TOF MS (Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry)

: スポットを切り出し、トリプシンにてゲル内消化した後、得られたペプチド混合物を、AXIMA-CFR (島津製作所) にて質量分析を行った。得られたペプチド質量の組み合わせから、検索ソフト MASCOT を用いて peptide mass fingerprinting (PMF) によるタンパク質同定を行った。

Statistics: SPSS software により解析を行った。抗癌剤感受性と関連するタンパク質の抽出には判別分析 (discriminate analysis)、プロテオーム・プロファイリングパターンによる各症例間の類似性・距離の測定には階層的クラスター解析 (cluster analysis) を用い、dendrogram として表現した。

【結果】

2D-Electrophoresis

二次元電気泳動の結果、平均約 350 個のスポットが分離された (Fig.1)。その基本的パターンは組織型により差異が認められ、また同一組織型の腫瘍でも多くの異なるスポットが見いだされた。感受性群と低感受性群では、各群間で共通して発現の変化するス

ポットが存在した (Fig.2)。

Proteome profiling patterns

悪性グリオーマ 65 例において、感受性群と低感受性群で有意に発現の異なるタンパク質は 37 個存在した。その機能は、シグナル伝達系、cell cycle 関連、細胞骨格、transcription やタンパク分解の regulator など多岐にわたるが、機能未知のタンパク質も 10 個含まれていた。37 個のタンパク質のうち、24 個が低感受性群でより強く発現し、13 個が感受性群で強く発現していた。

Cluster analysis

79 例全体を、プロテオーム解析に基づいてクラスター解析した結果を dendrogram として Fig.3 に示す。正常脳と oligodendroglioma はいずれも最短距離にクラスターされており、プロテオーム・プロファイリングパターンにより、これらと astrocytic tumor との鑑別が可能であることが示唆された。Astrocytic tumors では、おおむね感受性群と低感受性群に分かれてクラスターされていたが、一部両群で混在してクラスターされた症例が存在した。

MALDI-TOF MS

二次元電気泳動のゲル上のスポットを切り出し、質量分析を行うことにより、タンパク質の同定が可能であった。その結果は、データベースに基づくスポットマッチングと一致していたが、二次元電気泳動データベース上に存在しないタンパク質 (GFAP, apolipoprotein A1 など) や未知のタンパク質の同定に有用である。

【考察】

プロテオミクスは、ゲノム情報の最終的な表現型であるタンパク質の全体 (プロテオーム) を大規模に解析することで、ゲノム情報の機能的な側面を理解し、ゲノムと生命の関係を解き明かすための情報基盤を提供することを目的としている^{8,10)}。刻々と変化する生体の状況を、ゲノム情報の発現プロファイルの変動と関連させて理解する試みは mRNA を解析対象とするトランスクリプトームのレベルでも行われており、DNA チップなどを武器としたその戦術は、網羅性、検出感度、処理能力などの点で現状のプロテオミクス技術を上回る^{2,6,7,9,11)}。我々は、タンパク質相互作用・翻訳後修飾の検討といった将来的な応用範囲の広さという観点からプロテオーム解析に着目し、グリオーマに応用を試みた。その結果、プレリミナリーな段階ながら、二次元電気泳動から得られるプロテオーム・プロファイリングパターンが組織診断のみならず薬剤感受性という細胞の機能的側面まで反映している可能性が示唆された。さらなる情報の蓄積により、これまで HE 染色による形態学的特徴のみから診断されていた脳腫瘍分類に、より詳細

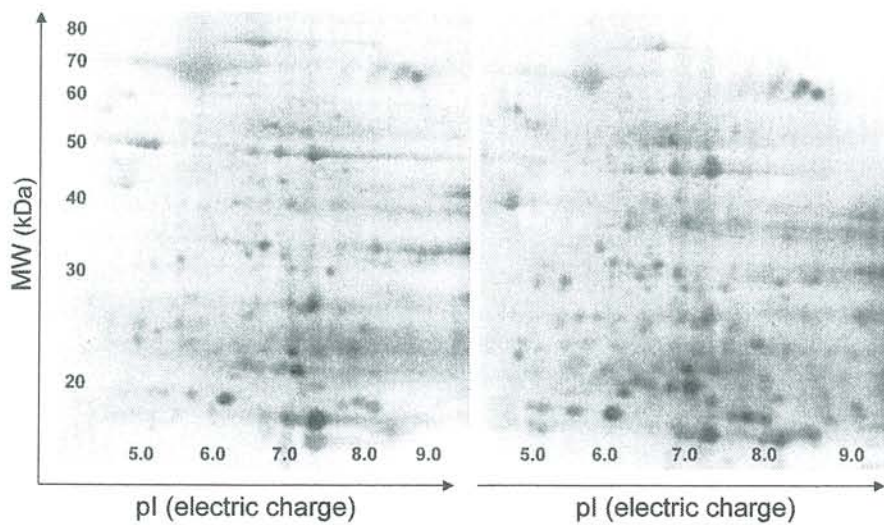


Fig.1
2D Electrophoresis of the human glioblastoma samples. A chemosensitive tumor (left) and a chemoresistant tumor (right) are shown.

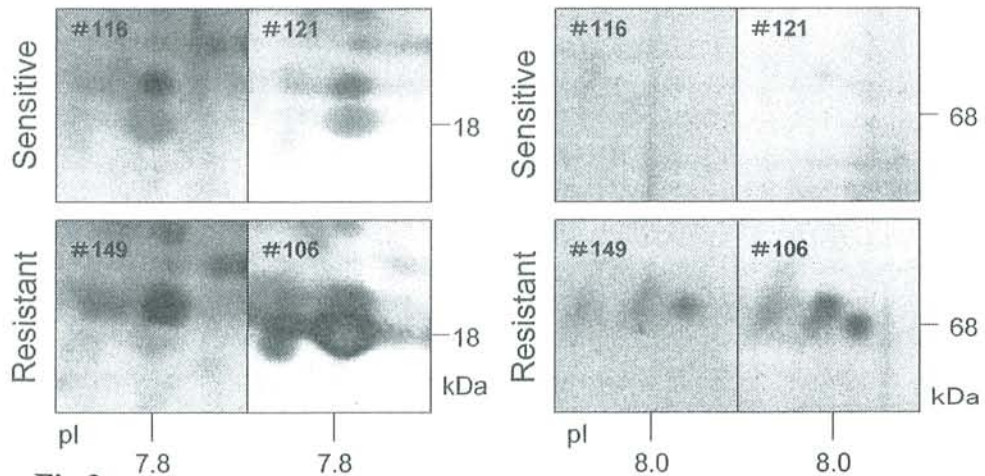


Fig.2
Cluster analysis of the proteome profiling patterns related to histological diagnosis and drug sensitivity. A dendrogram using complete linkage is shown.

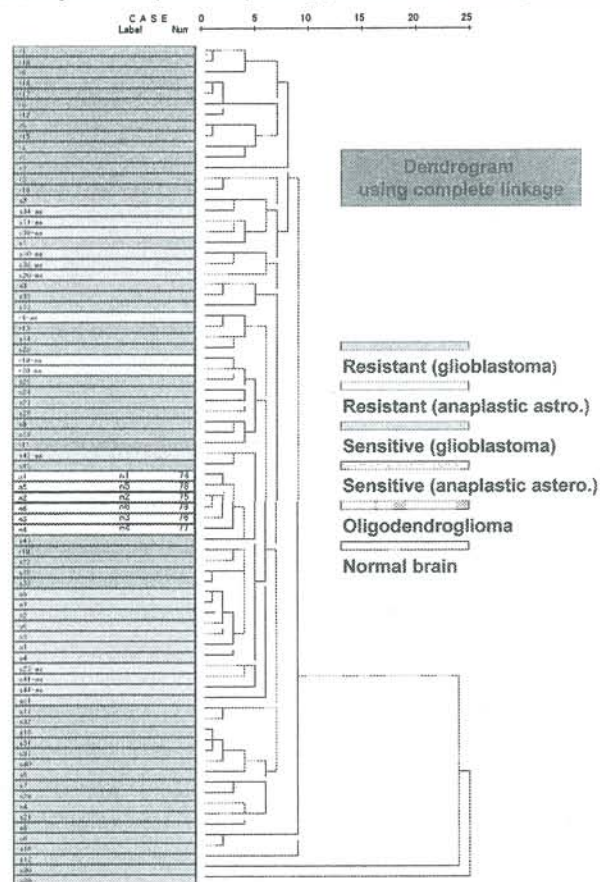
で治療法選択と直結した層別化が行えると思われる。我々の手にできる情報量が飛躍的に増加しつつある今日、グリオーマの分化段階や発症機構に基づいた疾患単位の再構築が急務である。

一般に、予想される遺伝子数約 34000 のうち、個々の細胞において機能的に発現している遺伝子はごく一部であり、プロテオーム解析の対象となるタンパク質の数は 5000 程度とされている¹⁾。今回の二次元電気泳動により分離しえたスポット数は 300 から 400 程度であり、1/10 以下の検出感度にとどまった。通常の二次元電気泳動ではこの程度の数値が限界と考えられるが、膜タンパクなど疎水性の高いタンパク質の抽出、等電点や分子量をいくつかの部分に分けて電気泳動するなどの工夫により、検出感度を高めることは可能である。また、一つのスポットに複

数のタンパク質が含まれている可能性も高く、MALDI-TOF MS による詳細な質量分析を行うことにより検出感度自体も向上すると期待される。

こういった腫瘍の詳細な層別化、ある機能的・臨床的特徴を有する腫瘍で特異的に発現しているタンパク質の同定などにより、従来よりも細分化・個別化された治療法の選択が可能となりうる。個別化の方法として、機能ゲノム解析の一環として行うもの¹¹⁾と、バイオアッセイ系を用いて薬剤による細胞障害を直接測定するもの⁴⁾とが考えられる。我々は、FACS による apoptosis の検出を応用したバイオアッセイ系により、悪性グリオーマ治療の個別化を行ってきた。この薬剤感受性試験の有用性はすでに多方面から実証されており、臨床材料に応用するには最も適した感受性試験であると考えられるが、in vitro の細胞培

Cluster analysis of the proteome profiling patterns related to drug sensitivity



- 5) Iwadata Y, Mochizuki S, Yamaura A, et al: Alteration of CDKN2/p16 in human astrocytic tumors is related with increased susceptibility to antimetabolite anticancer agents. *Int J Oncol* 17: 501-505, 2000
- 6) Khan J, Wei JS, Meltzer PS, et al: Classification and diagnostic prediction of cancers using gene expression profiling and artificial neural networks. *Nat Med* 7: 673-679, 2001
- 7) Markert JM, Fuller CM, Gillespie GY, et al: Differential gene expression profiling in human brain tumors. *Physiological Genomics* 5: 21-33, 2001
- 8) Oliver S: Guilt-by-association goes global. *Nature* 403: 601-603, 2000
- 9) Rhee CH, Hess K, Zhang W, et al: cDNA expression array reveals heterogeneous gene expression profiles in three glioblastoma cell lines. *Oncogene* 18: 2711-2717, 1999
- 10) Sali A: Functional links between proteins. *Nature* 402: 23-26, 1999.
- 11) Scherf U, Ross DT, Weinstein JN, et al: A gene expression database for the molecular pharmacology of cancer. *Nature Genet* 2000; 24: 236-244.

グリオーマ抗原分子を用いた新しい診断法の開発

Novel methods for diagnosis of glioma using glioma antigens

慶應義塾大学医学部脳神経外科¹⁾、先端医科学研究所²⁾

戸田 正博^{1,2)}、飯塚 幸彦²⁾、植田 良^{1,2)}、吉田 一成¹⁾、河瀬 斌¹⁾、河上 裕²⁾

【はじめに】

癌抗原を同定する試みは、現在まで主に癌特異的に反応する細胞障害性T細胞 (CTL) を用いた解析が中心に行なわれてきた。一方、近年、患者血清中IgGとの反応を利用するSEREX (Serological identification of antigens by recombinant expression cloning) 法が Preundschuhらによって開発された⁴⁾。一般的に癌特異的なCTLの樹立と解析には高度な技術が要求される上、T細胞で抗原を同定してもその抗原をコードする遺伝子を同定するためには、遺伝子導入実験や抗原ペプチドの単離実験などを行なう必要がある。したがって抗原を探索する過程でCTLを必要としないことはSEREX法の大きな利点である。またSEREX法で同定された抗原は、コードする遺伝子がすでにファージに単一のcDNAとして組み込まれており、抗原の同定と遺伝子の同定が直結していることも特徴である。さらに検索に用いる抗体をIgGクラスに限定することで、少なくともヘルパーT細胞に認識される抗原を同定することが可能であり、実際にSEREX法で同定された癌抗原がCTLに認識されることも報告されている³⁾。

中枢神経系は免疫学的寛容の場として知られていたが、近年、活性化されたリンパ球が血液脳関門を通過して脳内に侵入し、脳内抗原と反応することが示されている^{1,2)}。また最近米国で行なわれた樹状細胞を用いたワクチン療法の臨床治験においても、Glioblastoma患者脳内にT細胞浸潤が認められ、それら症例における生存期間の延長が報告されている⁵⁾。これらの報告は、中枢神経系に発生するグリオーマに対しても免疫反応が惹起されうる可能性を示唆する。そこで本研究では新たなグリオーマの診断法の開発を目的として、SEREX法を用いて患者血清中IgGに認識されるグリオーマ抗原の同定を行なった。

【方法】

SEREX法の概略を図1に示した。グリオーマ細胞株、U87MGおよびT98Gよりtotal RNAを抽出しオリゴデックス(dT)30を用いてmRNAを精製し、cDNA libraryの作製は、StratageneのcDNA合成キットを用いて、逆

転写により合成したcDNAをλZap Expressファージベクターに組み込んだ。一方血清の調製として、バクテリアに反応する抗体を除去するため、1:10に希釈した血清を大腸菌の抽出物と反応させた後、その上清を最終的に1:100に希釈した。150mmのディッシュ一枚あたり、10,000個のファージをプレーティングして、8時間培養後、IPTGで誘導されたrecombinant蛋白をニトロセルロース膜に転写した。転写したメンブレンはスキムミルクにて非特異的反應をブロッキングした後、1:100に希釈した患者血清と反応させた。血清中の抗体が反応したクローンを、アルカリフォスファターゼ標識抗ヒトIgG抗体を用いて検出し、陽性クローンはさらに数回のスクリーニングを繰り返し、その抗体反応性を確認した。

単離された抗原はさらに様々な血清を用いて、抗原に対する反応性を解析した。スクリーニングに用いた血清は、グリオーマ患者17例 (glioblastoma 9例、anaplastic astrocytoma 5例、anaplastic oligoastrocytoma 2例、diffuse astrocytoma 1例)、他の脳疾患患者 8例 (悪性リンパ腫 2例、脳膿瘍 1例、Meningioma 3例、転移性脳腫瘍 1例、くも膜下出血 1例)、他の癌患者 16例 (Melanoma 4例、膀胱癌 4例、腎癌 4例、食道癌 4例)、健康人 16例である。

単離された抗原の遺伝子発現を解析するために、正常組織 (脳、心臓、腎臓、脾臓、肝臓、小腸、肺、精巣、胎盤、胃)、ヒトグリオーマ細胞株 (GI-1, U87MG, T98G)、ヒトグリオーマ組織、ヒト悪性黒色腫細胞株 (1362 mel, 888 mel)、肺癌細胞株 (LU99, RERF-LC-MA)、食道癌細胞株 (TE10)、乳癌細胞株 (MDA231)、膀胱癌細胞株 (PK1)、腎細胞癌細胞株 (RCC6)、膀胱癌細胞株 (BC47)、前立腺癌細胞株 (PC3)、及び白血病細胞株 (HL60.Molt4) 由来のRNAを用いて、ノーザンブロットあるいはRT-PCR解析を行った。

【結果および考察】

患者血清一人あたり5x10⁵個のファージクローンをスクリーニングして、グリオーマ患者12人の血清から、

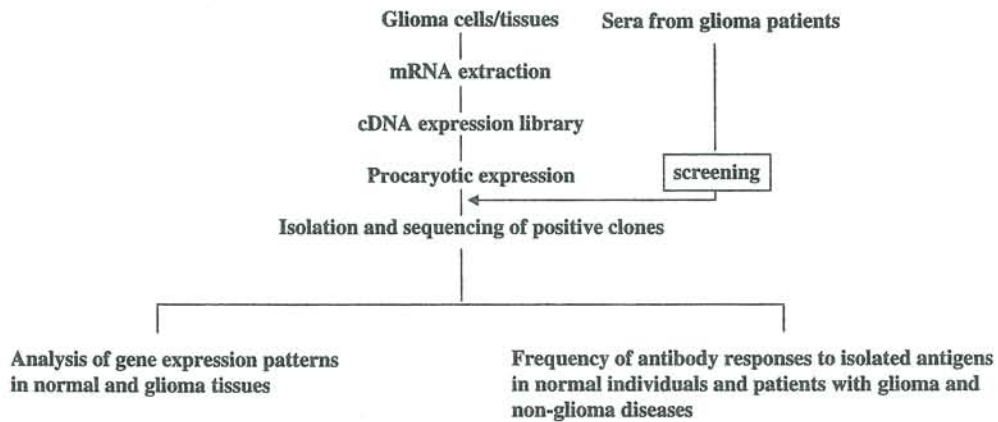


Fig. 1 SEREX with sera from glioma patients

合計92個の陽性クローンを単離した。ファージに組み込まれたcDNAインサートをPCRで増幅した後、各塩基配列を決定したところ、それらが52種の異なる遺伝子由来の抗原であることが明らかとなった。その各配列からDNAデータベースを検索した結果、38抗原が既知の遺伝子由来であり、14抗原が新規の遺伝子由来であった。同じ遺伝子由来のクローンが、単一の患者血清から複数個単離される場合、また複数の患者血清から単離される場合があり、これらは免疫原性の強い抗原と考えられた。

単離された抗原を用いて、グリオーマの血清診断への応用を検討するため、さまざまな血清を用いた免疫反応を解析した。54種のSEREX抗原をスクリーニングした結果、(a)グリオーマ患者でのみ抗体が検出され、健常人を含む他の群では抗体が検出されない抗原を7種(新規抗原KU-GB-2遺伝子を含む)、また(b)グリオーマおよび他の癌患者血清でのみ抗体が検出され、健常人を含む他の群では抗体が検出されない抗原が4種(新規抗原KU-GB-1遺伝子を含む)、が選出された。グリオーマの血清診断へ応用するために、(a)の7種の抗原は、グリオーマでの特異性、臨床への有用性という点から最も期待される抗原であるが、癌での特異性の点から、(b)の4種の抗原にも注目している。

塩基配列の解析結果から新規抗原KU-GB-1は1120個のアミノ酸配列をコードする遺伝子から構成されており、一方新規抗原KU-GB-2には4種類のアイソフォームが存在することが明らかになった。すなわち、1154個のアミノ酸配列をコードする遺伝子から構成されるKU-GB-2aの他、KU-GB-2b、KU-GB-2c、及びKU-GB-2dの3種類のアイソフォームが同定された。

これら新規抗原の遺伝子発現を解析するために、正常組織およびヒトグリオーマ含む各種の癌細胞株由来のRNAを用いて、ノーザンブロットあるいはRT-PCRを行った結果、KU-GB-1は、正常組織において精巣以外に発現が認められず、一方、グリオーマを

含む癌細胞株において高い発現が認められた。KU-GB-2も同様に、正常組織においては精巣以外に明らかな発現が見られず、グリオーマおよびメラノーマにおいて高い発現が観察された。

以上の結果から、グリオーマは免疫学的寛容な中枢神経系に発生するが、我々が想像した以上に、免疫系がグリオーマの発現する蛋白を認識していることが明らかになった。また、グリオーマ患者血清のみ反応する抗原が単離されたことから、新たな診断法として、SEREX抗原によるグリオーマの血清診断の可能性が示された。今後、さらにこれら単離された抗原の発現パターンの解析やT細胞に認識されるエピトープの解析を進めることにより、抗原特異的な免疫療法への応用も併せて検討していく予定である。

【文献】

- 1) Irani DN, Lin KI, Griffin DE: Regulation of brain-derived T cells during acute central nervous system inflammation. *J Immunol* 158:2318-2326, 1997
- 2) Raivich G, Jones LL, Kloss CU, et al: Immune surveillance in the injured nervous system: T-lymphocytes invade the axotomized mouse facial motor nucleus and aggregate around sites of neuronal degeneration. *J Neurosci* 18:5804-5816, 1998
- 3) Sahin U, Tureci O, Pfreundschuh M: Serological identification of human tumor antigens. *Curr Opin Immunol* 9:709-716, 1997
- 4) Sahin U, Tureci O, Schmitt H, et al: Human neoplasms elicit multiple specific immune responses in the autologous host. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:11810-11813, 1995
- 5) Yu JS, Wheeler CJ, Zeltzer PM, et al: Vaccination of malignant glioma patients with peptide-pulsed dendritic cells elicits systemic cytotoxicity and intracranial T-cell infiltration. *Cancer Res* 61:842-847, 2001

グリオーマ治療におけるEBMとIATの接点

EBM and IAT in glioma therapy

北里研究所メディカルセンター病院脳神経外科、北里大学医学部脳神経外科¹⁾

田中 聡、小林 郁夫、岡 秀宏¹⁾、宇津木 聡¹⁾、安井 美江¹⁾、藤井 清孝¹⁾

【要約】

グリオーマ治療における唯一のevidenceとして、全国脳腫瘍集計調査報告における手術摘出率と生存期間の相関が挙げられる。われわれの経験した200症例のグリオーマのうち、glioblastoma 66例の化学療法施行率は90.9%、3年生存率は25.0%であり、全国統計3621例の70.7%、12.9%を有意に上回った ($P = 0.0003$, $P = 0.0041$)。自験グリオーマ200症例の化学療法施行率は、84.0%であり、初期治療の有効率と生存期間に関する多変量解析では、Karnofsky's performance scaleと組織学的悪性度 (glioblastoma) がそれぞれ最も有意であり ($P = 0.0049$, $P = 0.0024$)、手術摘出率は、有効率に関しては有意な因子ではなく ($P = 0.4790$)、生存期間に関しては単変量解析では有意であったが ($P = 0.0088$)、多変量解析では、有意ではなかった ($P = 0.0835$)。我々は、1997年から脳腫瘍に対する reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)におけるO6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) mRNAの発現に基づく Individual adjuvant therapy (IAT)を行っており、2001年4月からは、定量的RT-PCRにおけるMGMT/ β 2MG比が0.1未満の症例にはACNUを、0.1以上の症例には白金製剤を治療の中心に用いるIATを開始している。それらを含む全IAT60例の現在までの有効率は53.1%であり、glioblastomaの観察期間1年未満の観察打ち切り症例を除く median survival periodは18ヶ月と良好な成績である。グリオーマ治療においては、evidence-based medicineより、われわれのIATのようなオーダーメイド治療が好ましいと考えられる。

Key Words

EBM, MGMT, glioma, IAT, RT-PCR

【はじめに】

最近、randomized control trialに基づいた医療技術の普遍化、すなわちevidence-based medicine (EBM)を医療の中心として考える風潮がある¹⁾。脳神経外科領域においても未破裂脳動脈瘤の治療や閉塞性脳血管障害の

治療において、大規模な臨床的研究が行われている^{2,3)}。グリオーマ治療においては、症例数の少なさとその難治性により、治療に関するevidenceと成り得る報告はほとんどない。その中で、全国脳腫瘍集計調査報告における、手術摘出率と生存期間の関係は唯一のevidenceと考えられ、特に機能的領域のグリオーマにおいても摘出率を上げる努力が重ねられている⁴⁾。

機能的画像診断や神経生理学的モニタリングの進歩は著しく、これらに基づいたグリオーマの手術摘出率の向上は、もちろんその全体的な治療成績の向上に結びつくものと思われる⁵⁾。しかしながら、特に悪性グリオーマの手術において、術後、新たな神経学的脱落症状をつくることは、倫理的にも許されることではない。また、IFN- β を含む化学療法のグリオーマにおける有効性に関しては、未だ疑問視されていることが多く、悪性グリオーマに対しても、術後に放射線治療以外に十分な治療が行われない場合も多いのが現状と考えられる。前述のevidenceとしての手術摘出率と生存期間に関しても、もし有効な補助療法が広く行われるようになれば、見直されるべきであると考えられる。

近年、癌治療においては、腫瘍や宿主の特異性、特に分子生物学的解析に基づいたオーダーメイド治療が推奨されている⁶⁾。我々は、1997年4月より、グリオーマに対するオーダーメイド治療として、reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)におけるACNU耐性遺伝子であるO6-methylguanine DNA methyl-transferase (MGMT)の発現に基づく Individual adjuvant therapy (IAT)を60症例に対して行ってきた⁷⁾。

本稿では、一見相反すると考えられるEBMとIATの概念に関して、我々の自験例の統計学的解析に基づいて検討し、それらの接点を見出すことによってグリオーマ治療の現在あるべき姿勢を考え直したい。

【対象ならびに方法】

1985年から2001年までの17年間に経験した広義のグリオーマ200症例を全国脳腫瘍統計の1984年～1993年までの全グリオーマ症例と比較した⁴⁾。われわれの

Table 1 Comparison of our 66 glioblastomas with it in Brain Tumor Registry of Japan (BTRJ)

Factors	Our cases	BTRJ	P value*
	(85-01)	(81-93)	
N	66	3621	-
Age	58.0 ± 15.8	55.4	-
Karnofsky's performance scale	60.1 ± 25.0	57.4	-
Surgical reduction rate (%)	63.6 ± 31.4	54.1	-
Chemotherapy or IFN-β (%)	90.9	70.7	0.0003
Radiation therapy (%)	76.6	78.0	>0.9999
Effect of the initial therapy	35.1	-	-
1 years survival rate (%)	58.9	51.1	0.2151
3 years survival rate (%)	25.0	12.9	0.0041
5 years survival rate (%)	8.9	7.6	0.8158

*, Fisher's exact probability test.

Table 2 Statistical analysis of 200 gliomas in therapeutic results and survivals

Factors	Data	Effect of initial therapy		Overall survival	
		Single-Variant	Multi-Variant	Single-Variant	Multi-Variant
Age	44.5 ± 22.5	0.0180**	0.2862	<0.0001 ^{##}	0.0312
Karnofsky's performance scale	65.6 ± 23.8	0.0008**	0.0049	<0.0001*	0.0170
Surgical reduction rate (%)	65.9 ± 31.9	0.4790**	-	0.0088 ^{##}	0.0835
Histologicay (rate of GM, %)	31.5	0.0014****	0.7798	<0.0001 [#]	0.0024
Chemotherapy (%)	84.0	0.0227*	0.0116	0.0098 ^{###}	0.0073
Use of ACNU (%)	67.2	0.2890*	-	0.4399 [#]	-
Use of more than 3 drugs (%)	25.8	0.0439*	0.3908	0.0024 [#]	0.0260
Use of IFN-β (%)	68.3	0.1628*	-	0.3932 [#]	-
Radiation therapy (%)	72.4	>0.9999*	-	0.7736 [#]	-
Effect of the initial therapy	39.0	-	-	0.0237 [#]	0.3876
Maintenance therapy	40.2	-	-	0.0002 [#]	0.0108

*, Fisher's exact probability test; **, Mann-Whitney's U-test; ***, Student's t-test; ****, chi-square test;

#, Wilcoxon's test; ##, Wald's test; ###, Mantel-Cox's test.

Table 3 Results of 60 individual adjuvant therapy

Histology	N	Results					Effect (%)	MST (M)
		CR	PR	NC	PD	NE		
All	60	1	25	12	11	11	53.1	22
Low grade gliomas	8	0	4	3	0	1	57.1	35
Grade III gliomas	19	0	7	6	2	4	46.7	25
Glioblastomas	26	1	8	3	9	5	42.9	18
Medulloblastomas*	7	0	6	0	0	1	100	39

*including a pineoblastoma; NE, not evaluable; MST, median survival time excluding the survivors followed shorter than 1 year in glioblastomas, 1.5 years in grade III and 2 year in others.; *including a pineoblastoma

Table 4 Statistical analysis of 60 glioma patients treated by IAT

Factors	Data	Effect of initial therapy		Overall survival	
		Single-Variant	Multi-Variant	Single-Variant	Multi-Variant ^{##}
Age	45.5 ± 23.8	0.0677**	-	0.0025 ^{##}	0.8610
Karnofsky's performance scale	63.9 ± 25.9	0.0010**	0.0094	0.0003*	0.0081
Surgical reduction rate (%)	65.0 ± 32.2	0.5533**	-	0.0742 ^{##}	-
Histology (rate of GM, %)	42.4	0.0927****	-	0.0395 [#]	0.0995
MGMT/ β 2MG ratio	6.3 ± 15.8	0.0426***	0.0136	0.1784 ^{##}	-
Use of ACNU (%)	57.6	>0.9999*	-	0.7132 [#]	-
Use of Pt compounds (%)	42.4	>0.9999*	-	0.7337 [#]	-
Use of more than 3 drugs (%)	42.4	0.1541*	-	0.0109 [#]	0.1294
Use of IFN- β (%)	91.5	>0.9999*	-	0.3357 [#]	-
Radiation therapy (%)	62.7	0.1395*	-	0.1612 [#]	-
Dose of ACNU (mg/m2) [@]	92.4 ± 18.5	0.0338**	0.0191	0.2010 ^{##}	-
Effect of the initial therapy	52.1	-	-	0.0033 [#]	0.4100
Maintenance therapy	62.0	-	-	0.0024 [#]	0.6493

*, Fisher's exact probability test; **, Mann-Whitney's U-test; ***, Student's t-test; ****, chi-square test; [#], Wilcoxon test; ^{##}, Wald's test.

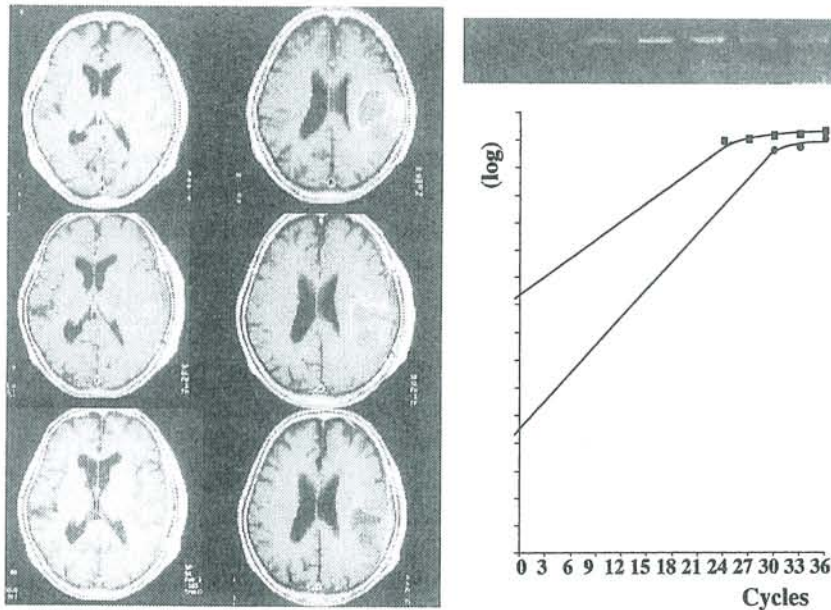


Fig.1

A illustrative case. A 84-years-old women who had suffered from a months history of progressing motor aphasia and dementia by a left parietal cystic glioblastoma (Left, Upper) was underwent 50% resection of the tumor (Left, Middle). Postoperative quantitative RT-PCR showed that MGMT/ β 2MG ratio of her tumor specimen was 0.0002 (Right). Two months after the initiation of the adjuvant therapy with 100 mg of ACNU once and 3 x 10⁶ IU of IFN- β 3 times a week for 2 weeks and then once a week, her tumor showed a partial response, over 50% decrease of the tumor size (Left, Lower). She is now well at home and is continuing the maintenance therapy with IFN- β once a week.

数が少なく、また、現在のところ標準的に用いられるべき有効な補助療法は存在しないと考えるべきである。グリオーマの難治性については、言うまでもないが、特にglioblastoma multiformeに代表されるような多様性は、その一因であると考えられる。このようなグリオーマの特徴から、我々のIATのような個別化補助療法、すなわちオーダーメイド化された治療が、現状では好ましいと考えられる^{6,10)}。

我々のIATの治療成績は、他の多くの報告を上回ってはいるものの、未だ十分とは言えない⁷⁾。今後の課題としては、リアルタイムPCRなどの導入により薬剤耐性遺伝子定量の精度を上げることが必要であると同時に、MGMT高発現症例に対する治療法の再検討が必要である¹¹⁾。我々のIAT症例の統計学的解析に見られるように、MGMTの発現量の多い症例は、高齢者、KPSの低い症例と並んで予後不良であり、特に最も予後不良と考えられるprimary glioblastomaの症例では、MGMT/ β 2MG比が他の組織型およびsecondary glioblastomaに比べて有意に高値であることを報告した⁸⁾。最近、MGMTは、単なる薬剤耐性遺伝子にとどまらず、変異型p53遺伝子との関係やそのメチル化による不活化が注目され、gliomaの予後を決定する癌遺伝子の一つのように認識されつつある^{12,13)}。

現在我々は、MGMT/ β 2MG比が1以上の症例に白金製剤を用いているが、その治療成績は決して良好とは言えず、ACNU耐性グリオーマに対する治療法の検討は急務である^{14,15)}。新規抗癌剤の導入やACNU耐性の克服、および高齢者や骨髄機能低下の著しい再発症例に対するものを含めた新しい補助療法の開発を検討する必要があると考えられる。

【文献】

- 1) Sackett DL, Rosenberg WMC, Gray JAM, et al: Evidence based medicine: What it is and what it isn't. It's about integrating individual clinical expertise and the best external evidence. *Br Med J* 312: 71-72, 1996
- 2) 端 和夫: UCAS JAPAN の方法論とEBMとしての価値. *Jpn J Neurosurg (Tokyo)* 10: 592-595, 2001
- 3) 小川 彰: 脳卒中の外科におけるEBM-JET study を中心に。 *Jpn J Neurosurg (Tokyo)* 10: 596-603, 2001
- 4) Nomura K eds: Report of brain tumor registry of Japan (1969-1993) 10th edition. *Neurol med-chirur (Suppl)* 40: 36-58, 2000
- 5) 村垣善浩、丸山隆志、伊関 洋・他: Gliomaの新しい治療Strategy. *Neuro-Oncology* 11: 65-73, 2001
- 6) Tsongalis GJ, Curtun RW, Ricci A Jr: Gene amplification as means for determining therapeutic strategies in human cancers. *Clin Chem Lab Med* 38: 837-839, 2000
- 7) Tanaka S, Kamitani H, Amin MR, et al: Preliminary individual adjuvant therapy for gliomas based on the results of molecular biological analyzes for drug-resistance genes. *J Neuro-Oncology* 46: 157-171, 2000
- 8) Tanaka S, Kobayashi H, Oka H,: Drug-resistance gene expression and progression of astrocytic tumors. *Brain Tumor Pathology (in press)*
- 9) Zhou HH, Kelly PJ. : Transcranial electrical motor evoked potential monitoring for brain tumor resection. *Neurosurgery* 48: 1075-1080, 2001
- 10) 太田富雄: EBMと脳神経外科医の相関—特殊技術習得とEBMの関係—。 *Jpn J Neurosurg (Tokyo)* 10: 582-586, 2001
- 11) Heid CA, Stevens J, Livak KJ, et al: Real time quantitative PCR. *Genome Res* 6: 986-994, 1996
- 12) Rolhion C, Penault-Llorca F, Kemeny J-L, et al: O6-methylguanine-DNA methyltransferase gene (MGMT) expression in human glioblastomas in relation to patient characteristics and p53 accumulation. *Int J Cancer* 416:416-420, 1999
- 13) Esteller M, Hamilton SR, Burger PC, et al: Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promotor hypermethylation is a common event in primary human neoplasia. *Cancer Res* 59: 793-797, 1999
- 14) Boiardi A, Silvani A, Milanese I, et al: Primary glial tumor patients treated by combining cis-platin and etoposide. *J Neuro-Oncol* 11: 165-170, 1991
- 15) Zhao KM, Chen JM, Zuo HZ, et al: Modulation of O6-methylguanine-DNA methyltransferase-mediated nimustine resistance in recurrent malignant gliomas by streptozotocin – a preliminary report. *Anticancer Res* 15: 645-648, 1995.

mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6)を用いた photodynamic diagnosis (PDD)の悪性脳腫瘍への応用

Adaptation of photodynamic diagnosis (PDD)
with mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6) for malignant glioma

東京医科大学脳神経外科¹⁾、
東京医科大学生理学教室第二講座²⁾、東京医科大学難病治療研究センター³⁾

松邨 宏之^{1,2,3)}、會沢 勝夫²⁾、秋元 治朗^{1,3)}

Department of Neurosurgery, Tokyo Medical University¹⁾
Department of Physiology, Tokyo Medical University²⁾
Department of Tokyo Medical University Intractable Disease Research Center³⁾

Matsumura Hiroyuki^{1,2,3)}, Aizawa Katsuo²⁾, Akimoto Jiro^{1,3)}

【概要】

The ability of laser-induced fluorescence spectroscopy to delineate tumor margins intraoperatively was studied using a rat intracerebral glioma model. Following mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6) was injected intravenously, the diode laser-induced fluorescence imaging of tumor bearing rat brain was performed under operative microscope. The significant fluorescence signal was demonstrated in the tumor bulk and peritumoral zone, but no optical change was demonstrated in the adjacent normal cortex. The magnitude of fluorescence signal in the tumor bulk was greater than that of peritumoral zone. And the fluorescence intensity was adequate for tumor detection under administration of 2.5mg/kg of NPe6 and for 30 minutes to 4 hours after injection. Contrast ratios of up to 7:1 were found for glioma:normal brain fluorescence signals. The histopathological examination demonstrated the ability of these studies to differentiate between normal brain and glioma tissue. The application of laser-induced fluorescence imaging using Npe6 may allow for the more accurate determination of tumor margins and may increase the extent of removal of the malignant glioma.

【緒言】

悪性神経膠腫の治療には外科的摘出に放射線照射を加えることが一般的である。更に化学療法や免疫療法等の補助療法が工夫されているが、その治療成績は他臓器癌のそれに比して十分満足ゆく結果を得ていない¹⁻³⁾。その原因として、腫瘍の浸潤性発育に起因した摘出の制限、補助療法等の効果が不十分な点等が挙げられる。また、従来の報告では外科的摘出度のみが再発と予後に相関するため、予後の改善には腫瘍の摘出度の向上が重要とされている¹⁻³⁾。しかし、浸潤性発育部では正常脳との境界が識別困難な例が多く術前の詳細な画像検討や術中の顕微鏡下摘出にも関わらず、十分な摘出度が得られないことも少なくない。近年、可及的腫瘍摘出、局所コントロールに対し hematoporphyrin derivative (HPD) 等の

(第一世代) 蛍光物質を腫瘍組織内に取り込ませ、低出力エネルギーの可視光線を照射し蛍光標識として腫瘍の局在を確認する光線力学診断 (photodynamic diagnosis ; PDD) や、更にその光化学反応により腫瘍組織を破壊する光線力学治療 (photodynamic therapy ; PDT) の研究が報告されている⁴⁻¹⁰⁾。第二世代蛍光物質である mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6) は水溶性であり組織内での代謝が早く、腫瘍親和性に優れている等の特徴からその有用性が他臓器癌モデルの研究で証明されている¹¹⁻¹⁷⁾。しかし、脳腫瘍の蛍光標識への応用に関する本物質の報告はないため、今回ラット担脳腫瘍を対象に検討したので報告する。

【材料と実験方法】

SD ラット (体重 330 g 370 g、雄 10 週齢) の頭

蓋正中から 2 mm 右側方冠状縫合上にドリルにて穿頭を行い、27G 針を脳表より 2 mm まで穿刺し C6 rat glioma cell (5×10^5 個/ $5 \mu\text{l}$) を注入移植し担脳腫瘍ラットを作成した。5 日後に右半球の開頭を行い脳表の腫瘍を確認し、尾静脈より NPe6 (1.25 mg、2.5 mg、5.0 mg、10.0 mg/kg) を投与した。開頭部にダイオードレーザーを照射しその蛍光分布及び、経時的变化を CCD 高感度カメラで記録し、蛍光光度を NIH image (ver. 1.6) にて測定した。レーザーは波長 664nm、照射径 2.0 cm、NPe6 を励起させないよう出力 $10 \mu\text{W}$ に設定した。その後ラットを屠殺、腫瘍を摘出し、蛍光部の病理組織学的同定を行った。

1. mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6)

テトラピロール環の D 環にある二重結合が解裂したクロリン環の炭素 17 位置にアスパラギン酸がアミド結合している分子量 799.7 の物質で、通常は黒緑色粉末である。PBS 溶液では soret 帯が 398nm、Q 帯が 502、530、620、654nm にピークが存在する。しかし、血液中ではアルブミン、リポ蛋白等に結合し存在するため吸収域が長波長側に $10 \cdot 15\text{nm}$ 移動する¹⁸⁻²¹。このためにヘモグロビン等の生体物質による吸収帯 (576nm) から逃れ、組織浸透性、励起効率、吸収特性に優れている^{11,12,18,21}。(Fig.1)

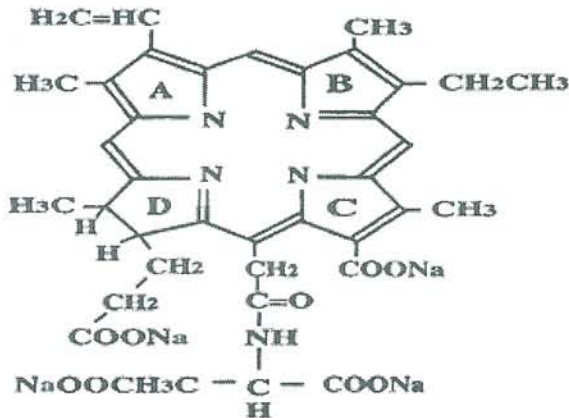


Fig.1
Structure of Npe6

2. ダイオードレーザーシステム

手術顕微鏡蛍光画像観測装置は手術顕微鏡 (OMS-600 トプコン東京) を改造して組み立てた (Fig.2)。NPe6 励起光源として波長 664 nm のダイオードレーザー (松下産業機器 大阪) を手術顕微鏡装置の白色照明と同時に混入させて NPe6 の励起を行えるようにした。ダイオードレーザー装置は AlGaInP から成る半導体レーザー素子、半導体レーザー素子の発振波長を制御するための温度調節器 (冷却装置)、これらの制御装置および入力・表示部から構成されている。半導体レーザー発振は温度制御により中心波長を 664 nm に設定した。この 664 nm の中心波長スペクトルの半値幅を狭くするために中心波長 664 nm の可視光バンドパスフィルター (光伸光学工業 大

阪) をレーザー出射側に設置した。励起光はファイバー先端にセルホックレンズを挿入し試料面に直径 20 mm の範囲にわたり均一に出力 $10 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ にして照射した。この励起光照射範囲内から発した蛍光画像は観測直前に中心波長 664 nm のノッチフィルター (Kaiser Optical Systems, Inc. USA) を透過させ波長 664 nm の励起光を遮断した。ノッチフィルターの導入により NPe6 の吸収帯 664 nm で励起して 672 nm にピークをもつ特有の蛍光画像は光増感装置付き CCD 装置で最高感度 10^{-3}Lux (WV-BD900、松下電器産業 大阪) にして受光した。受光した画像はビデオ録画撮りを行いながら TV で観測して記録した。

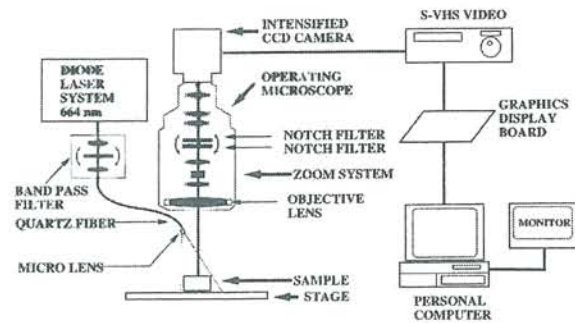


Fig.2
Diagram of epifluorescence stereoscope

【結果】

腫瘍塊に比較的強い蛍光所見を認め、さらにその周囲に淡い蛍光部位を認めた。開頭範囲は全て蛍光所見を呈していたため、生体下で正常脳との境界を確認することは出来なかったが、摘出脳にレーザーを照射することで、腫瘍-正常脳境界を確認できた。(Fig.3)

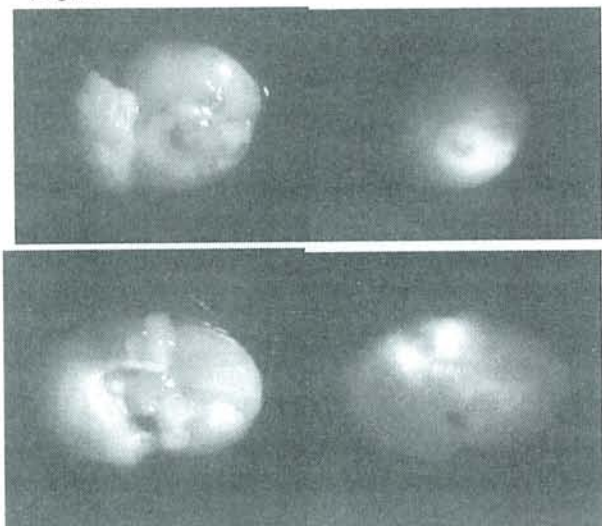


Fig.3
Lt ; rat brain tissue implanted C6 glioma cell under conventional white light
Rt; rat brain image under 644nm diode laser irradiation

蛍光の経時変化では投与直後より急速に腫瘍組織への集積を認め、30分後には最高蛍光度に達し以後4時間はその光度が持続することが認められた。開頭のみを行ったラットを用い、正常脳への集積を測定したが、その蛍光度との比較で、投与5分後より十分な光度差が得られることが確認された。また、投与量における検討においては、1.25 mg/kg 投与群と2.5mg/kg 投与群に用量依存性の光度差が認められたが、2.5mg/kg 以上の投与では光度に有意な差は認められず、2.5mg/kg が至適投与量であると考えられた。(Fig.4)

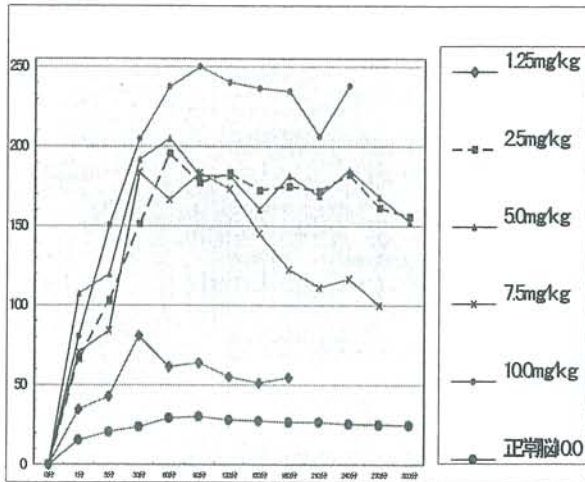


Fig.4 Magnitude and time course of optical changes from tumor bearing rat brain after the injection of various dose of NPe6

蛍光部位の病理学的検索において、強い蛍光部位は腫瘍の本体であり、一部蛍光欠損部は壊死もしくは血腫部位であることを確認した。さらに周囲のやや弱い蛍光部位はマクロファージ等の反応性細胞、脳腫瘍細胞浸潤領域であり、正常脳へはほとんどNPe6の取り込みがないことが認められた。(Fig.5)

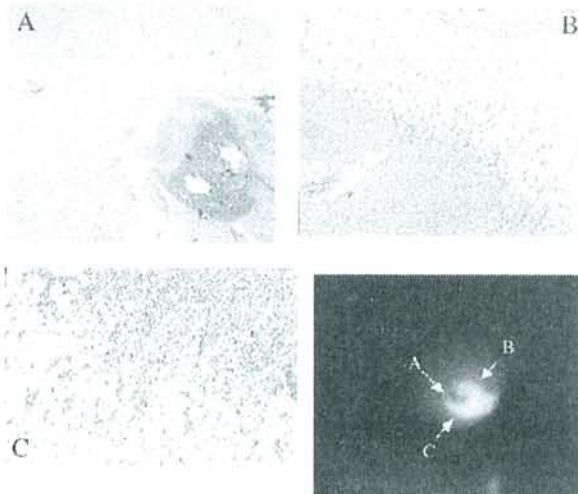


Fig.5 Photomicrograph of fluorescent rat brain tissue

【考察】

光感受性物質を用いた PDD、PDT は臨床的に応用され、有効性が報告されている^{11,13-15}。脳外科疾患においては既に 1948 年に Moor.G.E 等により術中蛍光標識による腫瘍摘出の試みが報告されており、以後、実験脳腫瘍及び、臨床例で報告を散見するが治療効果や予後の検討を行った大規模な報告はされておらず、未だ臨床応用には至っていない²²⁻²⁵。この理由の一つとして、光感受性物質の性能の問題がある。主に用いられる HPD はその吸収帯が 630nm と生体による吸収帯 576nm に近い組織透過性、励起効率が悪く十分な腫瘍標識、腫瘍殺傷効果が得られないこと、体内での代謝が遅く血液中の HPD が PDD の妨げになること、更には光線過敏症等の全身合併症が遷延する等の不利な点が多い^{5,9,10,22}。

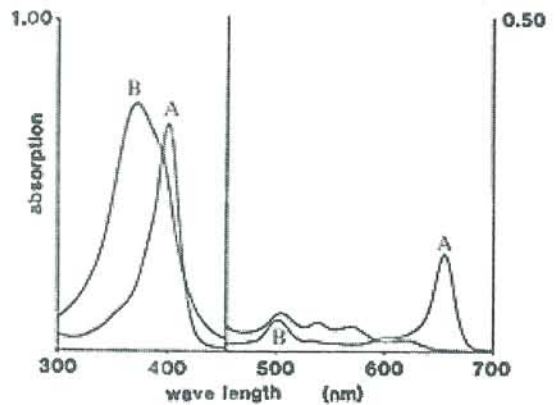


Fig.6 Absorption spectra of NPe6 and HPD in phosphate buffer saline. A; NPe6 B; HPD

(K.Aizawa et-al 1987)

今回の実験において Npe6 は C6 glioma への高い集積を認め、正常脳への取り込みがほとんどないことからその局在を示す十分なコントラストを得た。また、その経時変化では正常脳との最大光度差が投与後30分で得られ、更にこの光度が4から5時間持続することは、HPDの光度差が投与後24から72時間でピークに達することと比較してもPDD、PDTにおいてより臨床応用に適した所見であると考えられた。さらにHPDに比して代謝速度が10倍以上も早く、投与10時間後には血漿濃度が投与量の1/100以下となることが報告されており²⁶⁻²⁸、血漿中のNpe6による影響をうけにくいこともより有効な所見であると思われた。

病理学的同定では、高い集積部位は腫瘍細胞領域であり、やや弱い集積部位は腫瘍細胞浸潤領域、反応性細胞領域であり、5-ALA (5-aminolevulinic acid) や BPD (benzoporphyrin derivative mono acid) 等の報告と同様の結果であった²⁹⁻³³。この病理組織と蛍光所見の高い相関性は術中の腫瘍塊及び、浸潤領域の認識に

有用な情報となり、摘出度の向上に貢献しうるものと考えられた。

【結語】

今回我々は新規蛍光物質 NPe6 を用いてラット担脳腫瘍モデルにおける蛍光標識について検討した。

NPe6 は投与直後より腫瘍組織に集積し、正常脳への取り込みがほとんどないことから、短時間で局在を確認できるコントラストを得ることが出来た。また、その蛍光範囲は正確に腫瘍組織のみに認められた。今後、腫瘍細胞浸潤領域における標識細胞の同定や、その取り込み機序の検討、更に光線力学治療への応用等を検討していく予定である。

【文献】

- 1) Bertrand C. Devaux M.D., et-al :
Resection, biopsy, and survival in malignant glial neoplasm : J Neurosurgery 78 ; 767-775 ; 1993
- 2) Taizo Nitta, M.D., and Kiyoshi sato, M.D : Prognostic Implications of the Extent of Surgical Malignant Gliomas : Cancer 75 ; (1) 2727-31 ; 1995
- 3) Mario Ammirati, M.D., Nicholas Vick, M.D., et-al :
Effect of the Extent of Surgical Resection on Survival and Quality of Life in Patients with Supratentorial Glioblastomas and Anaplastic Astrocytomas : Neurosurgery 21;(2)201-206 ; 1987
- 4) Emil A. Popovic, M.B., et-al : Photodynamic Terapy of Brain Tumor :
J.Cli.Las. 14 ; (5) 251-261 ; 1996
- 5) 4. Emil A. Popovic, M.B., et-al : Photodynamic Terapy of Brain Tumors :
Semi . Sur . Onc. 11 ; 335-345 ; 1995
- 6) Michael Chopp , Lara Madigan., et-al :
Photodynamic Terapy of Human Glioma(U87) in the Nude Rat : Phot . Phot. . 64(4) ; 707-711 ; 1996
- 7) Feng Jiang , Pharmd , Lothar Lilge et-al :
Photodynamic Terapy of U87 Human Glioma in Nude Rat Using Liposome-Delivered Photofrin :
Las . Surg . Med ; 22 ; 74-80 ; 1998
- 8) Yasuhiro Okuda , Shizuo Oi , et-al : Photodynamic Terapy of Experimental 9L Gliosarcoma – Cytocidal Effect and Pathohistological Analysis- :
Neur. Med. Chir (Tokyo) : 27 ; 588-593 ; 1987
- 9) 大野喜久郎、青柳傑 平川公義 :
アルゴンレーザーを用いた悪性脳腫瘍に対する光化学療法 : 病態生理 : 14(4) ; 301-306 ; 1995
- 10) Oritano TC , Karash SM et-al : Photodynamic Terapy for intracranial neoplasms : investigation of photosensitizer uptake and distribution using Indium-3 Photofrin-2 single photon emission computed tomography scan in human with intracranial neoplasms :
Neurosurgery ; 32 ; 357-364 ; 1993
- 11) 森圭介、太田昌孝 他 : 第二世代光感受性物質 mono-L-aspartyl chlorin e6 を用いた光化学療法の可能性 : 日眼会誌 : 101 ; (2)134-140 ; 1996
- 12) Kouiti Saito , Naoka Mikuniya , Katsuo Aizawa :
Effects of Photodynamic Terapy Using mono-L-aspartyl chlorin e6 on Vessels and Its Contribution to the Antitumor Effect :
Jpn . J . Cancer Res ; 91 ; 560-565 ; 2000
- 13) Angle Ferrario , David Kessel et-al : Metabolic Properties and Photosensitizing Responsivenss of mono-L-aspartyl chlorin e6 in a Mouse Tumor Model : Cance Res ; 52 ; 2890-2893 ; 1992
- 14) Katsumi Toichirou , Katsuo Aizawa et-al :
Photodynamic Terapy Using aDiode Laser with Mono-L-aspartyl Chlorin e6 for Implanted Fibrosarcoma in Mice :
Jpn . J . Cancer . Res ; 85 ; 1165-1170 ; 1994
- 15) 中村順哉, 炭山嘉伸 他 : 肝腫瘍に対する光化学的診断法(PDD)および治療法(PDT)の基礎的検討 (第二報) ;
癌と化学療法 ; 27(12) ; 1876-1878 ; 2000
- 16) 會沢勝夫 , 黒岩ゆかり 他 : 光感受性物質の細胞内動態 : 癌と化学療法 ; 23(1) ; 22-26 ; 1996
- 17) Aizawa Katsuo , Okunaka Tetsuya , et-al :
Localization of Mono-L-aspartyl chlorin e6 (Npe6) in Mouse Tissues : Phot. Phot ; 46 ; 789-793 ; 1987
- 18) Kann Soujuurou , Ilyar Xiahedin ; et-al :
レーザー照射による-L-aspartyl chlorin の赤血球に対する作用 : 東医雑誌 ; 54(1) ; 3-8 ; 1996
- 19) Ilyar Sheyhedin , Katsuo Aizawa , et-al :
The Effect of Serum on Cellular Uptake and Phototoxicity of -L-aspartyl chlorin e6(Npe6) in vitro : phot.phot. ; 68(1) ; 110-114 ; 1998
- 20) D.V.Ash and S.B.Brown : New Drags and Future Developments in Photodynamic Terapy :
Eur . J . cancer ; 29A ; 1783-1789 ; 1993
- 21) David Kessel : Determinants of Photosensitization by -L-aspartyl chlorin e6 :
phot . phot . ; 49(4)447-452 ; 1989
- 22) C.T. Perria . T. Capuzzo et-al : First attempts at the photodynamic treatment of human gliomas :
J. Neurosurgery ; 24 ; 119-129 ; 1980
- 23) D.P. Noske , J.G. Wolbers , et-al : Photodynamic Terapy of malignant glioma , A review of literature :
Clin . Neurol . Neurosurg ; 93 ; 293-307 ; 1991
- 24) H.I. Pass : Review photodynamic therapy in

- oncology : mechanisms and clinical use :
J. Natl . Cancer Inst ; 85 ; 443-456 ; 1993
- 25) R. Van Hillegersberg , W J. Kort , et-al :
Current status of photodynamic Therapy in
oncology : *Drugs* ; 48 ; 510-527 ; 1994
- 26) Kessel D , Allen R , et-al : Determinants of
localization by second-generation PDT sensitizers :
Photodynamic Therapy and biomedical laser ;
526-530 ; 1992
- 27) Gomer C.J. , Ferrario A.,et-al : Tissue distribution
and photosensitizing properties of Mono-L-aspartyl
chlorin e6 in a mouse tumor model :
Cancer Res ; 50 ; 3985-3990 ; 1990
- 28) Nerson J.S. Roberts W.G.,et-al : In vivo study on the
utilization of mono-L-aspartyl chlorin (Npe6) for
photodynamic therapy :
Cancer Res ; 47 ; 4681-4685 ; 1987
- 29) Kostron H. Obwegeser A.,et-al : photodynamic
therapy in neurosurgery : a review : *phot . phot .* ;
36 ; 157-168 ; 1996
- 30) Hill J.S., Kahl S. B.,et-al : Selective tumor uptake of
a boronated porphyrin in an animal model of cerebral
glioma : *Proc . Natl . Acad . Sci . USA* ; 89 ;
1785-1789 ; 1992
- 31) Hill J.S., Kahl S. B.,et-al : Selective tumor kill of
cerebral glioma by photodynamic therapy using a
boronated porphyrin photosensitizer : *Proc . Natl .
Acad . Sci . USA* ; 92 ; 12126-12130 ; 1995
- 32) Malham G.M., Thomsen R.J.,et-al : Subcellular
distribution and photocytotoxicity of aluminium
phthalocyanines and haematoporphyrin derivative in
cultured human meningioma cells :
Brit . J . Neurosurgery ; 10(1) ; 51-57 ; 1996
- 33) Poon W.S., M.B.,Kevin F.R.C.S.,et-al :
Laser-induced fluorescence : experimental
intraoperative delineation of tumor resection
margins : *J . Neurosurgery* ; 76 ; 679-686 ; 1992

高感度 CCD カメラを用いた 悪性脳腫瘍の蛍光ナビゲーション手術

Fluorescent pharmacological navigation operation
for malignant brain tumors using high resolution chilled color CCD system

筑波大学臨床医学系脳神経外科

松村 明、山本 哲哉、張 天、高野 晋吾、木村 泰、坪井 康次、安田 貢、能勢 忠男

【はじめに】

悪性脳腫瘍の治療成績においてはその手術摘出度が長期予後を大きく左右すると言われている¹³⁾。悪性脳腫瘍手術における腫瘍の境界診断は色調・硬さなどの肉眼的所見にもとづいて行われるが、近年になりナビゲーションシステム、術中 MRI・CT などを用いて手術成績を向上させる工夫が行われている。脳腫瘍における蛍光診断はこれらの術前画像所見をもとにした方法とは異なり、脳腫瘍にある種の薬剤を投与し、それが腫瘍特異的に取り込まれ、蓄積する性質を利用して特定の周波数の励起光を照射し、腫瘍から得られる蛍光をもとに術中に real time で薬理的な蛍光ナビゲーション(pharmacological navigation)を行おうとする手法である^{3,11,12)}。

筆者らはこのような腫瘍に集積する蛍光物質を用いた蛍光診断において高感度カラー CCD カメラを用いた蛍光診断システムを開発し、delta-aminolevulinic acid (5-ALA) (和光純薬、大阪)を用いた臨床応用を行っており、その結果を報告する。

【対象と方法】

1) 対象患者 (Table 1)

対象は悪性グリオーマ 8 例、転移性脳腫瘍 3 例で、男性 8 例、女性 3 例である。患者の年齢は 21 歳から 74 歳 (平均 50.2 歳) であり、MRI 上全体的に増強効果がみられたのは 5 例、リング状あるいは一部に増強効果のみられた症例が 6 例で、全く増強効果のみられなかった症例は行っていない。グリオーマの内訳は Glioblastoma が 3 例、Anaplastic Astrocytoma (Anaplastic Oligoastrocytoma 1 例含む) が 4 例、Secondary Glioblastoma が 1 例である。

2) 使用薬剤

5-ALA の投与は腫瘍摘出が予想される 3 時間前に 10mg/kg の量で 50ml の生理的食塩水に溶解し、経鼻的胃チューブから注入し、閉鎖状態のままとした。

これはほぼ麻酔の導入時に一致することが多かった。投与-時間によっては経口から飲んでもらうこともあった。

3) 蛍光診断システム

蛍光の観察は color chilled 3CCD camera (C5810: 浜松フォトニクス社、静岡) に専用の架台を作製し、手術術野内に近いところから任意の方向と距離で蛍光が観察・記録できる装置を開発した (Fig.1)。清潔操作をするためにカメラ側にはカバーをつけ、カメラから画像処理装置までのケーブルを延長した。励起光源は PHOTOCURE 200UV-SPOT LIGHT SOURCE (浜松フォトニクス社製、静岡) を用いた。励起波長については光源からの光をフィルターにて調整し、405nm の紫外光をファイバーにて得た。この励起光についても術野で清潔操作ができるようにファイバーを 3m に延長して、滅菌したものを術者が直接操作するようにした。ファイバーの延長による光の減衰は少なく、メーカーの測定によると 5% 程度であった。

術中の操作としては蛍光診断を行う際はフィルター付きの眼鏡を着用し、術野の直接的な肉眼的観察とともに CCD camera による画像の記録を行い、静止画像の記録は随時コンピューター上のソフトにて保存した。腫瘍摘出は主として超音波破砕吸引装置 (CUSA) を用いて蛍光を発している赤色の部分を吸引しながらすすめた。CCD カメラの画像は 0.3 秒の蓄積画像を動画像としてビデオに連続記録した。動画からの静止画保存はマッキントッシュパーソナルコンピューターを使用して蛍光診断システムに付属しているソフトウェア (C5810 コントロールユニット) にて記録した。画像の合成は Adobe Photoshop にて行った (Fig.1)。

4) 基礎的検討

まず、本システムの最適化のために Fisher 944 rat に 9L gliosarcoma 細胞を $1 \times 10^4/10^7$ で正中より 2mm

外側、冠状縫合直前のところで深さ 4mm に注入し、脳腫瘍モデルを作成した。腫瘍細胞移植後 2 週間で実験を行った。5-ALA を腹腔内に 10mg/kg の量で注入し、3,6 時間後に脳を摘出し、腫瘍のあるスライスにて蛍光診断システムの励起光、CCD カメラ側のフィルター設定を行った。励起は 405nm の紫外光を用い、CCD カメラは青色をカットするフィルターの調整を行い、赤色の蛍光がみられるようにフィルターを組み合わせた。

【結果】

1) 基礎的検討

9L gliosarcoma を用いて蛍光観察を行い、腫瘍に一致した赤色蛍光がみられた (Fig.2)。これを用いてこの後の臨床研究を進めた。

2) 臨床研究の結果

これまでに行った 11 症例 (Table 1) においては、グリオーマでは 1 例を除いて蛍光が得られた。1 例において蛍光を有する部分と蛍光を示さない部分が混在している例がみられた。転移性脳腫瘍においては辺縁部が蛍光を発することが多く、肉眼的に壊死と思われる中心部は蛍光が少ない傾向がみられた。1 例で蛍光が得られなかった。蛍光は長時間励起光を照射しているといわゆる photobleaching 現象により、蛍光が微弱化したのが表在部分の腫瘍を吸引して新たな層を露出すると赤い蛍光が顕在化した。転移性腫瘍の場合に、明らかに腫瘍を全摘出したあとに淡くピンクに蛍光を発する部分が見られる例があったが、腫瘍の蛍光とは色が異なっており、周囲の浮腫に取り込まれている可能性が考えられた。

【代表症例】

症例 1 : 28 歳, 男性 (Table 1; case 6)。

2001 年 3 月 10 日、突然の全身けいれんにて発症。救急車にて近医に搬送される。CT scan にて左前頭葉腫瘍がみられたため、当院紹介され、入院。MRI では左前頭葉に ring enhancement を有し、不均一に淡く染まる腫瘍がみられた (Fig.3)。神経症状は特にみられず、開頭腫瘍摘出手術を行った。腫瘍は cyst の部分は壁が赤くなっていたが、実質性の部分は周囲の脳組織よりわずかに黄色調であり、やや正常脳より硬めだったが、境界ははっきりしなかった。側脳室前角近くまで腫瘍を摘出したが術中エコー (Fig.4) にて腫瘍の残存が考えられたため蛍光診断を行ったところ赤く光る腫瘍が残っており、蛍光が消失するまで組織の摘出を行った。術後の MRI では残存腫瘍は画像上はほとんどなく (Fig.3)、PAV 2 クール終了後、外来にて ACNU+インタフェロン γ の維持療法を続けており、再発の徴候はみられない。腫瘍の病理組織は Anaplastic Oligoastrocytoma で MIB-1 は 14.3%

だった。

症例 2 : 23 歳, 女性 (Table 1; case 9)。

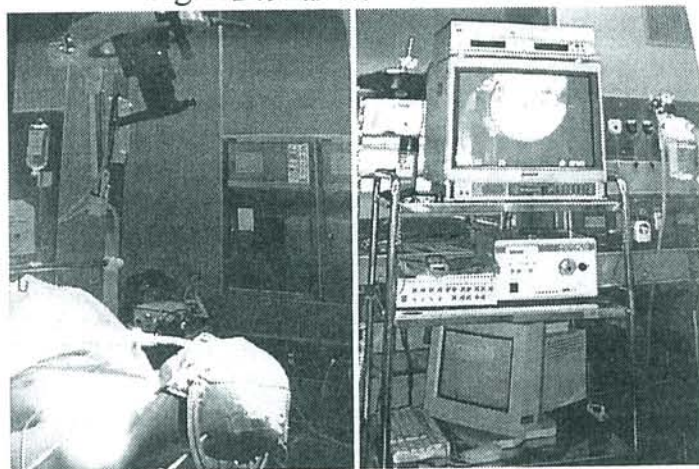
1997 年 8 月に意識消失発作があり、近医にて MRI を施行し、右側頭・前頭葉にまたがる腫瘍がみられ、当院紹介され入院し、手術にて部分摘出を受けた。病理学的には fibrillary astrocytoma との診断にて局所に 56Gy の分割外照射を行った。その後、外来にて定期的に MRI にて経過観察をおこなっていたが、初発症状後約 4 年経過した 2001 年 5 月 31 日の MRI にて良く増強される腫瘍がみられ、benign glioma の悪性転化と診断し、入院となった。MRI では右側頭葉から内包にかけて腫瘍がみられ、一部側脳室の壁に沿って三角部の方向に進展していた (Fig.5)。これに対し、蛍光診断を併用した開頭腫瘍摘出手術を行った。右側頭葉先端部の腫瘍は蛍光がみられたため Motor Evoked Potential (MEP) をモニターしながら内包付近まで摘出したところ、MEP の電位が低下し、約 50%以下となってきたため、ここで腫瘍摘出を中止した。この部分に対し蛍光診断を行ったところ、一部赤く蛍光を示す部分が残存していた (Fig.6)。後方へは側脳室の壁に沿って前方の腫瘍よりもかなり硬い腫瘍がみられたが、この部分は蛍光がみられず性状の異なる腫瘍が混在している可能性が示唆された。術後の MRI では側頭葉先端部と内包の部分は腫瘍はほぼ摘出されていたが、側脳室の壁に沿った部分に残存腫瘍がみられた (Fig.5)。これに対し、PAV 1 クールと拡大局所にて分割外照射 41.4Gy を行い、さらに側脳室の壁の部分に対し、20Gy の stereotactic radiotherapy (SRT) を追加照射した。その後、外来にて経過観察中である。

【考察】

悪性脳腫瘍においては手術摘出度が治療成績に関与する因子として重要といわれている¹³⁾。特に悪性神経膠腫においては肉眼的にその境界を判断することが困難なことが多い。そのような状況の中で少しでも手術による腫瘍の摘出度を向上させるためにわれわれは今回、高感度の color chilled 3CCD camera と強力な励起光源を用いた real time pharmacological navigation system (術中リアルタイム薬理的ナビゲーションシステム) を開発した。本システムの最も大きな特徴は高感度の color chilled 3CCD camera で蓄積画像を得ることによりその診断感度を向上させたことにある。このようなシステムはこれまでの通常の CCD カメラによる画像に比べて感度が高く、蛍光診断能を向上させることができたと考えている。

脳腫瘍に対する蛍光薬剤の臨床応用については hematoporphyrin による photodynamic therapy を過去に行ったが¹⁷⁾、患者を約 1 週間暗室に隔離しなければならず、薬剤の光毒性の問題が大きかった。これに対

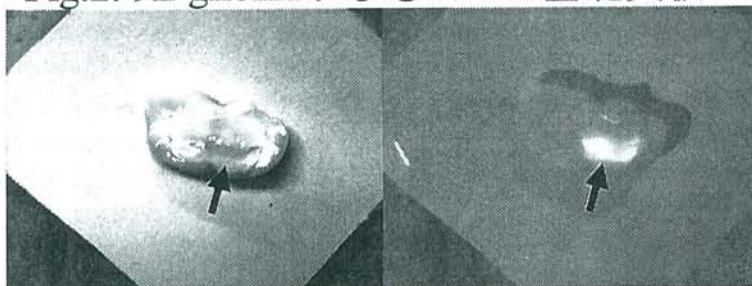
Fig.1: 蛍光診断セットアップ



CCDカメラ

画像記録・処理装置

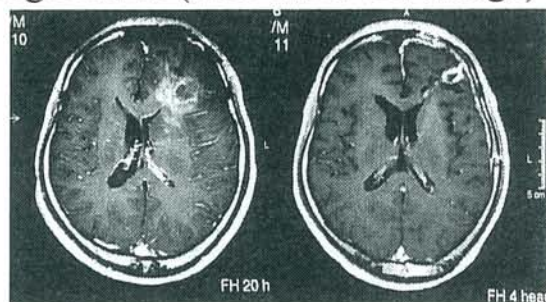
Fig.2: 9L glioma による5-ALA基礎実験



左: 腫瘍(→)を含む脳切片の通常画像

右: 腫瘍(→)を含む脳切片の蛍光画像(赤い蛍光がこの画像では白く見える)

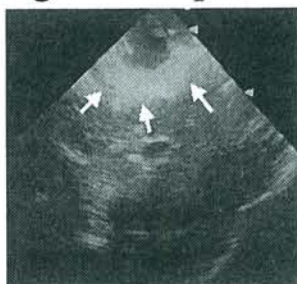
Fig.3: MRI (case 6: T1-Gd Image)



Pre-ope

Post-ope

Fig.4: Intraoperative Echo Findings (case6)



↗ : Hyper-echoic residual tumor



↗ : After tumor removal using fluorescence

Table 1

Profile of the patients of intraoperative photodynamic diagnosis with 5-ALA)

No.	患者	年齢・性別	診断名	手術摘出度	蛍光
1.	I.Y.	59/M	GBM	subtotal	(+)
2.	J.Y.	49/M	GBM	partial	(+)
3.	N.S	71/M	Meta	total	(-)
4.	U.K.	74/M	Meta	total	(+)
5.	K.N.	29/M	AA	partial	(-)
6.	H.H.	28/M	AO	total	(+)
7.	M.K.	58/F	AA	total	(+)
8.	M.A.	21/F	Recurr AA	total	(+)
9.	S.N.	23/F	2nd GBM	subtotal	(+)&(-)
10.	H.I.	68/M	Meta	total	(+)&(-)
11.	H.T.	72/M	GBM	subtotal	(+)

Abbreviations; GBM: glioblastoma, Meta: metastasis, AA: anaplastic astrocytoma, AO: anaplastic oligodengrogloma, Recurr: recurrent, 2nd: secondary

Fig.5: MRI (case 9: T1-Gd Image)

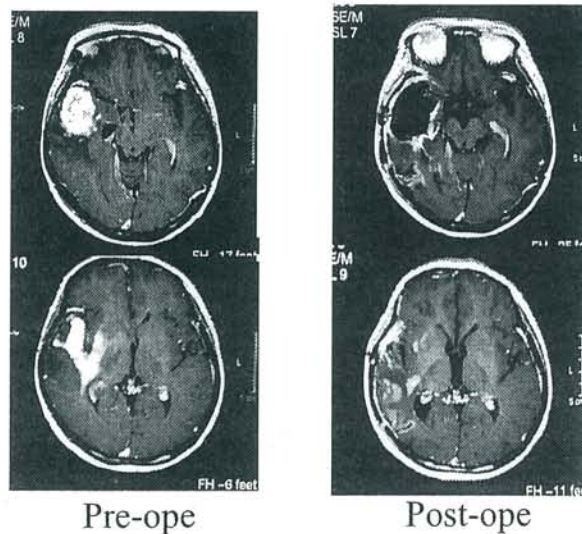
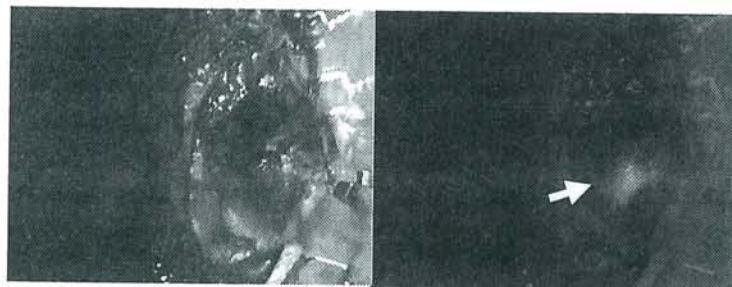


Fig.6: Intraoperative Fluorescent Image



23F, secondary GM (case9)。左側: 内包付近まで摘出してところ(通常画像)。右側: 蛍光画像では赤く蛍光を発する残存腫瘍が見られる(本画像では白く見える; 白矢印)。

し、5-ALA という薬剤が出現してきて、この5-ALA 自身が光毒性を有さず光毒性の問題点がないことや、5-ALA が腫瘍細胞に取り込まれた後に protoporphyrin IX に変化して腫瘍細胞のみが蛍光を発する利点から広く用いられるようになってきた^{3,10,11,12}。すなわち、血液は蛍光を発することがなく、出血しても腫瘍以外のところからの蛍光はないということである。

投与量としてはわれわれの今回の臨床治験では 10mg/kg の量を経口あるいは経胃投与したが、光毒性の問題はなくその他の副作用もみられなかった。これまでの報告では投与量 5mg/kg-15mg/kg の少量投与でも蛍光がみられ、投与後 3-4 時間後で蛍光を発する¹⁴といわれている。われわれの症例においても開頭が早く行われた症例において 3 時間までは蛍光がなく、その後次第に蛍光が出現し、その蛍光の強度を増してきた例を経験している。したがって、蛍光観察には少なくとも投与後 3 時間は時間をあける必要があると考えられる。また、蛍光のピークは約 6 時間とされているが、時間がたつにつれて周囲の浮腫組織への移行がないかどうか問題となることである。転移性脳腫瘍で赤い蛍光を示した部分を明らかに腫瘍を摘出した後に淡くピンク色に蛍光を発する部分が周囲に残存する症例も経験しており、浮腫組織に移行する可能性も考えられるので、今後さらに検討の余地があると考えられる。Hebeda らは 5-ALA 200mg/kg と大量に投与したラットにおいて淡い蛍光を腫瘍周囲の正常脳や反対側の脳からも検出したとしており、循環している血液中や腫瘍血管から leak したポルフィリンをみているのではないかと推測している¹。悪性グリオーマにおいては周囲の脳への腫瘍の浸潤が MRI の増強部位を超えていることは MRI と剖検脳の検討から知られており⁴、周囲の蛍光は単に浮腫脳だけではなく腫瘍組織も混在していると思われる。これまでに Stummer¹²、金子³の報告にもあるように腫瘍細胞の密度と蛍光強度とは比例関係にあることがいわれており、その蛍光強度を指標にして腫瘍摘出を行うことが理想である。今後、スペクトロメーターを用いて蛍光の定量的な評価が可能になれば、細胞密度をより正確に評価できる可能性も出てくると考えられる。

今回、まったく蛍光を発しない、anaplastic astrocytoma を 1 例経験し、さらに secondary glioblastoma にて明らかに腫瘍があるにもかかわらず、蛍光を発する部分と発しない部分の混在する 1 例を経験した。このような蛍光を発する部分と発しない部分のメカニズムの解明は今後、蛍光診断システムの確立の上で最も重要な検討項目と考えられる。金子の報告でも腫瘍内の不均一性については金子らの報告³でも悪性グリオーマでは Specificity (蛍光があれば腫瘍である) は 100%であるものの、Sensitivity

(蛍光を発しない部分は腫瘍でない) は 60%とやや劣るとしており、蛍光を発しない部分でも腫瘍が存在する可能性について指摘をしている。In vitro の腫瘍細胞系の研究においても細胞の種類によって蛍光の反応の程度が異なることが報告されており¹⁵、蛍光を発する細胞と発しない細胞についてはさらに今後のそのメカニズムの解明を要する。実験的グリオーマ系細胞において Hebeda らはさらに 9L と C6 では蛍光の分布が異なり、9L では腫瘍に均一に蛍光がみられ、腫瘍から離れると蛍光がはっきりと消失するのに対し、C6 ではパッチ状に蛍光がみられ、辺縁もはっきりと境界がみられなかったとしている²。我々の基礎的な検討の段階でも 9L を用いたが (Fig.2)、均一に蛍光がみられ辺縁もシャープであった。9L tumor では Hematoporphyrin derivatives (HpD) を用いた photodynamic therapy 治療の際でも蛍光がみられるとの報告があり、比較的蛍光が出やすい腫瘍であるとされている¹。

ポルフィリンの取り込みのメカニズムについてこれまでに腫瘍細胞での代謝活動の亢進、ferrochelatase 酵素の腫瘍細胞での低下などの機序がいわれている^{2,3}。われわれもこれまでに HpD,5-ALA 以外にも各種のポルフィリンについてその腫瘍集積性について検討を行ってきた。ATN-10 というマンガンポルフィリン (蛍光を有しないポルフィリン化合物) については MRI を用いて動物モデルにて検討したところ、9L 腫瘍では長時間ポルフィリンが滞留していたが、脳梗塞による cytotoxic edema model や凍結損傷による vasogenic edema model においては一過性の集積しかみられず、腫瘍特異的に蓄積していることがあきらかとなった¹⁶。さらに ATX-S10 という新規ポルフィリン化合物を用いて in vitro 系にてその集積性を flowcytometry にてみたところ、すべての細胞周期に取り込まれていることがわかり、実際の腫瘍においてすべての細胞をカバーできている可能性を示した⁸。また、ポルフィリン化合物の取り込みには LDL receptor が関与していることや⁹、hemopexin といわれる糖蛋白の関与⁷がいわれており、今後のさらなる研究により取り込みのメカニズムの解明とこれらの基礎的検討にもとづいた診断能向上への工夫が期待される。

良性グリオーマにおいても金子らは astrocytoma grade I, II においても 13 例中、7 例 (58%) において蛍光がみられたとしており、今後感度をあげることにより良性グリオーマでも蛍光診断ができる可能性を述べている³。我々の今回の自験例では 8 症例中 7 例で蛍光がみられており、悪性グリオーマではその臨床的有用性は高いと考えている。しかしながら、肉眼的所見や MRI 所見などからあきらかに腫瘍であるにもかかわらず、蛍光をしめさなかった症例もあ

り、今後さらにその要因と改善について検討を要する必要性が考えられる。現在、われわれはまだ良性グリオーマについては臨床応用を開始していないが、今回使用した高感度の CCD カメラによる術中蛍光観察システムはこれまでの中で最も感度の高いシステムのひとつであり、今後良性グリオーマについても検討を行っていく予定である。

我々は現在のところ高感度の cooled color CCD camera を用いて蓄積画像の観察を行い、マクロレベルでの蛍光診断を行っている。他の方法としては肉眼的蛍光診断³⁾や CCD カメラによる観察^{11,12)}などがあるが、黒岩らは独自に顕微鏡蛍光診断システムを開発しており⁶⁾、今後高感度 cooled color CCD camera を組み合わせた手術用顕微鏡システムな開発によりさらに感度と解像度を改善していくことによりさらに蛍光診断システムの発展が期待される。

【謝 辞】

本研究の装置を組み上げるにあたって多大なる協力をいただきました戸松澄世氏（筑波大学メデイカルフォトセンター）、竹山周良氏（浜松フォトニクス社）および佐光利昭氏（株式会社ムトウ）に感謝します。

本研究の一部は文部科学省科学研究費基盤 C（12680824）、筑波大学学内プロジェクト B、桐仁会設立 10 周年記念臨床研究基金の援助を受けた。

【文 献】

- 1) Hebeda KM, Kamphorst W, Sterenborg HJCM, Wolbers JG: Damage to Tumour and Brain by Interstitial Photodynamic Therapy in the 9L Rat Tumour Model Comparing Intravenous and Intratumoral Administration of the Photosensitizer. *Acta Neurochir (Wien)* 140: 495-501, 1998.
- 2) Hebeda KM, Saarnak AE, Olivo M, Sterenborg HJCM, Wolbers JG: 5-Aminolevulinic Acid Induced Endogenous Porphyrin Fluorescence in 9L and C6 Brain Tumours and in the Normal Rat Brain. *Acta Neurochir (Wien)* 140: 503-513, 1998.
- 3) 金子貞男: 脳腫瘍に対する光モニタリング。-ALA induced Pp IX による術中脳腫瘍蛍光診断-。脳外 29: 1019-1031, 2001。
- 4) 小松洋治、吉井與志彦、能勢忠男、山田 隆、高野晋吾、小林栄喜: 神経膠腫における Gd-DTPA 増強 MRI と病理組織所見との対応。CT 研究 11: 505-511, 1989.
- 5) Kostron H, Obwegeser A, Jakober R: Photodynamic therapy in neurosurgery: a review. *J Photochem Photobiol B: Biology* 36: 157-168, 1996.
- 6) Kuroiwa T, Kajimoto Y, Ohta T: Development of fluorescein operative microscope for use during malignant glioma surgery. A technical note and preliminary report. *Surg Neurol* 50: 41-49, 1998.
- 7) Nakajima S, Moriyama T, Hayashi H, Sakata I, Nakae Y, Takemura T: Hemopexin as a carrier protein of tumor-localizing Ga-metalloporphyrin-ATN-2. *Cancer Lett* 149:221-6, 2000
- 8) Shibata Y, Matsumura A, Yoshida F, Yamamoto T, Nakai K, Nose T, Sakata I, Nakajima S: Cell cycle dependency of Porphyrin uptake in glioma cell line: Flow cytometry analysis. *Cancer Letters* 129: 77-85, 1998.
- 9) Shibata Y, Matsumura A, Yoshida F, Yamamoto T, Nakai K, Nose T, Sakata I, Nakajima S: Competitive uptake of porphyrin and LDL via the LDL receptor in glioma cell lines: flow cytometric analysis. *Cancer Letters* 166, 79-87, 2001
- 10) Stummer W, Stepp H, Moller G, Ehrhardt A, Leonhard M, Reulen HJ: Technical Principles for Protoporphyrin-IX-Fluorescence Guided Microsurgical Resection of Malignant Glioma Tissue. *Acta Neurochir (Wien)* 140: 995-1000, 1998.
- 11) Stummer W, Stocker S, Wagner S, Stepp H, Fritsch C, Goetz C, Goetz AE, Kieffmann R, Reulen HJ: Inreoperative Detection of Malignant Gliomas by 5-Aminolevulinic Acid-induced Porphyrin Fluorescence. *Neurosurgery* 42: 518-526, 1998.
- 12) Stummer W, Novotony A, Stepp H, Goetz C, Bise K, Reulen HJ: Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using 5-Aminolevulinic acid-induced porphyrins: a prospective study in 52 consecutive patients. *J Neurosurg* 93: 1003-1013, 2000
- 13) The Committee of Brain Tumor Registry of Japan: Report of brain tumor registry of Japan (1969-1993) 10th Edition. *Neurol Med Chirur* 40 Suppl: 36-43, 2000.
- 14) Wang I, Clemente LP, Cardoso E, Clemente MP, Montan S, Svanberg S, Svanberg K: Fluorescence diagnostics and kinetic studies in the head and neck region utilizing low-dose d-aminolevulinic acid sensitization. *Cancer Lett* 135: 11-19, 1999
- 15) Wyld L, Reed MWR, Brown NJ: Differential cell death response to photodynamic therapy is dependent on dose and cell type. *Br J Cancer* 64: 1384-1386, 2001.
- 16) Yamamoto T, Matsumura A, Shibata Y, Fujimori H, Nakai K, Yoshida F, Nose T, Sakata I, Nakajima S,

- Miwa N: Manganese-metalloporphyrin (ATN-10) as a Tumor-localizing Agent: Magnetic Resonance Imaging and Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy Study with Experimental Brain Tumors. *Neurosurgery* 42: 1332-1338, 1998.
- 17) Yoshii Y, Maki Y, Kukita C, Kamezaki T, Takano S, Hashikawa M, Matsumura A: Photodynamic therapy of malignant glioma using an argon laser. Basic study and clinical trials. *Neurol Med Chir (Tokyo)(in Japanese)* 27:180-186, 1987.

5-ALAと術中MRIを用いた high grade glioma 摘出術および組織学的検討

東京女子医科大学脳外科、東京大学大学院工学研究科、
NHKエンジニアリングサービス

丸山 隆志、村垣 善浩、田中 雅彦、伊関 洋、
久保 長生、望月 亮、望月 誠、佐久間 一郎、堀 智勝

【はじめに】

5-aminolevulinic acid(5-ALA)は悪性神経膠腫において選択的に腫瘍に取り込まれ、紫外光による励起により蛍光を発する性質を利用した腫瘍の同定に応用が進められている。我々の術中MRI、real-time navigationに加え5-ALAによる光診断法を用いた腫瘍摘出術の方法を紹介すると共に、これまでの症例のうちhigh grade gliomaにおける発光部位の組織学的検討を行ったので報告を行う。

【対象ならびに方法】

対象：2000年10月から2001年9月までに経験したglioma 19症例のうち初発のglioblastoma(Grade IV)4例、anaplastic astrocytoma(Grade III)5例中、正常を含めた腫瘍摘出を行い蛍光発色境界領域の採取が可能であった3例(glioblastoma 2例、anaplastic astrocytoma 1例)を用いた。

方法：5-ALA 20mg/kgを生理食塩水20mlに溶解し麻酔導入の約1時間前に経口投与を行う。術中の励起にはXenonランプ(ZEISS Superlux 300)からの光をbandpass filter(Nikon EX405/10 395-415nm)を通しUV光として用いられた。蛍光の観察にはlow cut filter(Kenko Y2)を通して3CCDカメラにて記録した。手術は硬膜切開の後ナビゲーション用マーカーと共にMRIの撮影を行う。この画像を元にしてregistrationを行い、術中navigationを行いつつ腫瘍の摘出を行う。正常脳との境界部およびeloquent area近傍まで摘出を行った後、改めてMRIを撮影しnavigation画像のup-dateを行う。Gdにて増強効果を示す腫瘍存在部位を確認し残存組織の摘出を行う。この腫瘍摘出腔に対してUV lightによる照射を行いピンク色の蛍光を発する領域を再度摘出、組織は保存用と迅速診断用として分割を行う。high grade glioma症例のうち、発光部位と無発光部位との境界を含んだサンプルを用いてHE染色およびMIB-1 indexによる病理組織学的検索を行った。

【結果】

5-ALAによる蛍光が観察された症例では全例MRIにてGdによる造影効果をうける症例であった。

(Fig.1)これに対し蛍光がみられなかった症例はGdによる造影効果が見られない症例であった。(Fig.2)

症例1 (Fig.3)

64歳 男性 右小脳 glioblastoma

5-ALAにて蛍光を発する部位では細胞密度が高くpseudopalisading、necrosis、endothelial proliferationを示す典型的なglioblastomaの像を呈していた。この部位ではMIB-1 indexも40%を超える高い増殖能を示していた。ただし、本例の腫瘍周辺部で蛍光を発していない部位からも組織を採取したが、腫瘍細胞密度は少ないもののMIB-1陽性を示す腫瘍細胞の浸潤が確認された。

症例2 (Fig.4)

60歳 男性 右前頭葉 glioblastoma

腫瘍摘出の際、浅層の正常脳を含めて一塊の摘出を行う。腫瘍塊において蛍光(-)から(+)への移行部では蛍光強度が増すにつれ腫瘍周辺部正常構造から次第に腫瘍細胞が増加する所見が得られた。蛍光が強陽性の部位ではMIB-1陽性細胞や血管内皮の増生が観察された。

症例3 (Fig.5)

49歳 男性 右前頭葉 anaplastic astrocytoma with oligodendroglial component

正常脳から空胞形成を伴った腫瘍細胞へと移行するにつれて蛍光強度が増強を示した。強い蛍光を呈した領域はoligodendroglial component主体の領域のほかにgemistocyteが集簇する部位もみられた。

【考察】

腫瘍に選択的に蓄積する薬剤を用いての術中診断は1940年代より進められてきたが、これまでの薬剤では脳血管関門、体内蓄積時間や腫瘍特異性に問題があり臨床応用までには至っていない。5-ALAは

5-ALA fluorescence (+)

65yo M glioblastoma (grade IV)



63yo F glioblastoma rec. (grade IV)



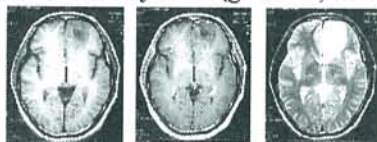
49yo M anaplastic astrocytoma (grade III)



Fig.1

5-ALA fluorescence (-)

30yo M astrocytoma (grade II, MIB-1 = 7%)



32yo F anaplastic astrocytoma (grade III, MIB-1 = 12%)



32yo F glioblastoma (grade IV, MIB-1 = 57%)



Fig.2

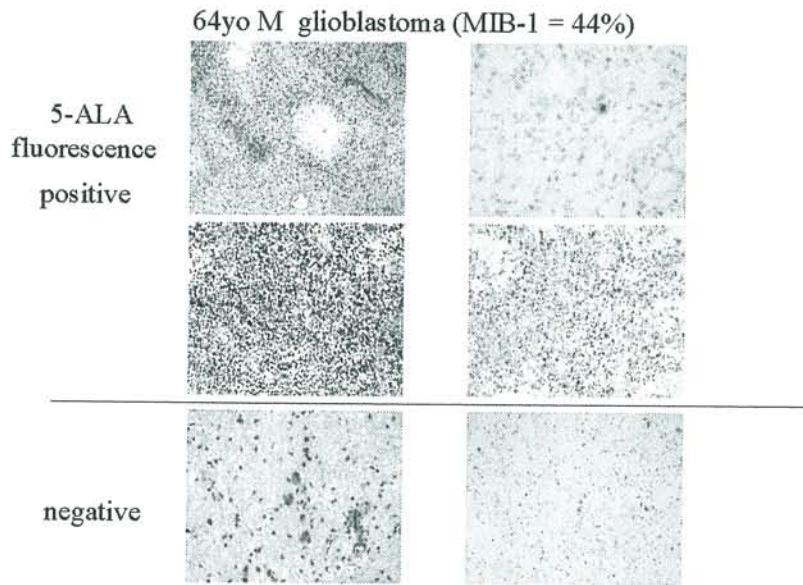


Fig.3

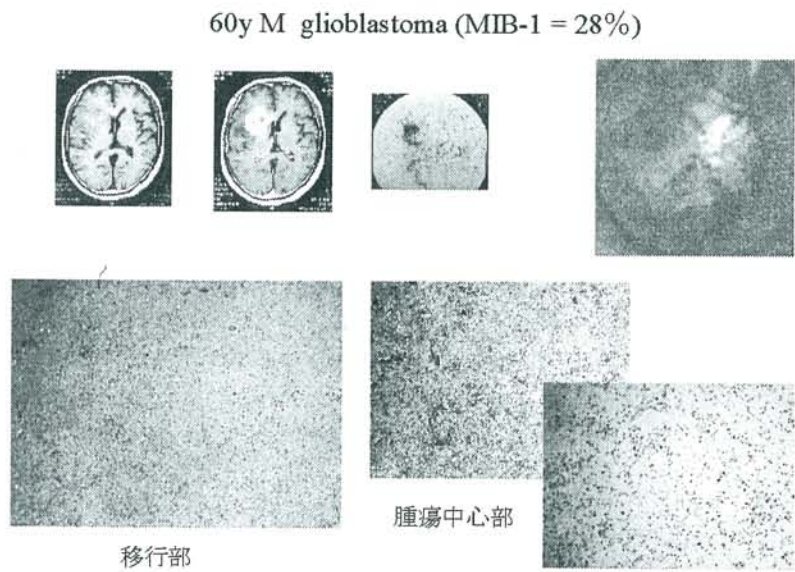


Fig.4

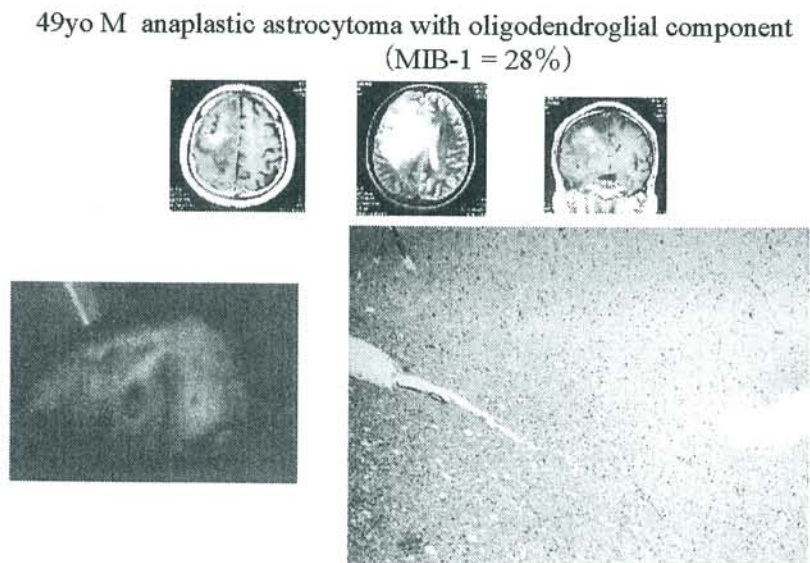


Fig.5

Heme 合成過程に生成される生体内物質と同一の構造をとり、ミトコンドリア内で酵素の働きにより PpIX へと変換される。この PpIX に紫外光を照射することにより蛍光発色することが知られている¹⁾。現在のところ集積機序は明らかになっていないが、種々の腫瘍において腫瘍細胞に特異的に PpIX が蓄積することが知られつつあり、皮膚癌、口腔癌、気管支癌、膀胱癌など様々な分野での光診断法としての応用が始まっている²⁾。脳腫瘍においてこれまで Stummer らが 52 例の glioblastoma において蛍光部位から採取された組織に対して組織特異性 (specificity) 99~100%、組織感受性 (sensitivity) 85% と報告している³⁾。金子らの報告では malignant glioma で組織特異性 100%、組織感受性 (false positive) 60% と蛍光発色部の腫瘍の存在はほぼあきらかとされている⁴⁾。我々は術中 MRI を用いたナビゲーションを用いて、Gd にて造影効果を受ける部位の摘出を行った後、摘出腔の PpIX 発光を観察することにより残存腫瘍を確認し摘出するという方法にて腫瘍摘出を行っている。肉眼的に正常脳との区別の困難な Glioma において腫瘍細胞をリアルタイムで識別可能となる術中診断法は摘出率の向上のみならずその後の生存率まで向上させると考えられる⁵⁾。

今回の我々は、発光強度と病理組織の関連性を中心に検索を行った。5-ALA による発光については、初発の high grade glioma において Gd にて造影効果を示す症例では全例蛍光発色が観察された。これに対し Gd での造影効果を示さない症例では 5-ALA での発光も認められなかった。病理学的検索ではどちらの症例でも核異型性、血管内皮の増殖、壊死の存在など典型的 glioblastoma の特徴を有し Mib-1 index も 20% を超える高い増殖能を有していた。以上より、腫瘍細胞における増殖能と蛍光発色には関連は少ないと考えられた。蛍光発色を呈するための条件としては血流を介した 5-ALA の腫瘍内への取り込み、PpIX への腫瘍細胞内への代謝、PpIX の腫瘍内濃度の増加が必要である。造影剤が腫瘍内に取り込まれない機序と同様に腫瘍血管における血管壁の透過性に起因する可能性のほか、細胞内の酵素量などの代謝メカニズムに起因する可能性もあり今後の検討課題である。

これまでに正常脳も含めて一塊として摘出された組織において移行部の発光の記録および病理学的検索が可能であった症例は 3 例である。すべての症例で正常脳側での発光は見られず、弱い発色から次第に蛍光強度が増強することが確認されており、これら組織では正常脳から次第に腫瘍細胞数が増加する像が確認された。特に症例 3) では移行部には反応性の gemistocyte などの異型細胞が多く観察されている。Oligodendroglial component を有していた症例では、移

行部に近づくに従い空胞形成を伴った腫瘍細胞の増加も認めている。MIB-1 index によるとこれら移行部位での腫瘍細胞の増殖能は低レベルであった。以上より 5-ALA による発光強度は腫瘍細胞の密度に依存する可能性が示唆された。移行部正常脳側においては腫瘍細胞密度が少ない場合には肉眼的に蛍光発色が観察できない部位も存在することが明らかになった。金子らは同様に発光していない腫瘍周囲組織中に腫瘍細胞の存在した例は 61 サンプル中 25 サンプル (41%) と報告している。すなわち、5-ALA による発光が見られなくても腫瘍細胞が存在すること (false negative) はあり得ると考えられる。

5-ALA を用いた蛍光診断法の主要な目的は、正常脳との境界部位にて蛍光発色を指標とする正確な腫瘍摘出を可能とするものである。我々は術中 MRI を用いて髄液流出や腫瘍摘出に伴う brain shift に対し MRI 画像を update しての navigation を用いた腫瘍摘出を行っている。しかし、時間の経過による造影剤の腫瘍周囲への染み出しによる false positive や造影剤集積部位の摘出を行った後の残存腫瘍の存在部位確認のためには、術中蛍光診断は大きな役割を担うと考えられる。これまでの結果からは発光を呈した部位に腫瘍細胞の存在する確率はほぼ 100% に近いものであり、蛍光診断を用いることにより積極的な腫瘍の摘出が可能になることが示唆された。しかし、蛍光発光していない領域に腫瘍細胞の存在することも明らかであり、肉眼的観察に加えより感度の高い発光強度定量化や組織内 PpIX の定量化による詳細な検討が必要と考えられる。

【結語】

正常脳腫瘍移行部における発光強度と腫瘍細胞の関係を検討した。正常脳での発光は見られず、弱い発色から次第に蛍光強度が増強することが確認されており、これら組織では正常脳から次第に腫瘍細胞数が増加する像が確認された。腫瘍の 5-ALA による発光は腫瘍細胞の増殖能との相関はみられず、細胞密度に依存すると考えられた。

本研究の一部は(財)車両競技公益資金記念財団の助成金、厚生科学研究費補助金の援助を受けている。

【文献】

- 1) Baumgartner R, Fisslinger H, Jocham D, Lenz H, Stepp H : Section V-ALA in vivo localization and photodynamic therapy. Photochem Photobiol 46:795-763, 1987
- 2) James K, Stuart M, Roy P : Photodynamic therapy (PDT) and photodiagnosis (PD) using endogenous photosensitization induced by 5- γ - L^{A}

- ALA Aminolevulinic acid(ALA): mechanisms and clinical results. *J Clin Las Med and Surg* 14(5) : 289-304, 1996
- 3) Stummer W, Novotny A, Mehta A, Stepp H, Goetz C, Bise K, Reulen HJ : Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrines : a prospective study in 52 consecutive patients. *J Neurosurg* 93 : 1003-1013, 2000
 - 4) 金子貞夫 : 脳腫瘍に対する光モニタリング :
—ALA induced PpIX による術中脳腫瘍蛍光診断— : *脳神経外科* 29(11) : 1091-1031, 2001
 - 5) H.Iseki, Y.Masutani, M.Iwahara, T.Tanikawa, Y.Muragaki, T.Taira, T.Dohi, K.Takakura :
Volumegraph(Overlaid Three-Dimensional Image-Guided Navigation) Clinical Application of Augmented Reality in Neurosurgery. *Stereotactic and Functional Neurosurgery*. 68(1-4):18-24 : 1997

GBM に対する炭素イオン治療の途中解析

Preliminary result of carbon ion radiotherapy for glioblastoma

放射線医学総合研究所、重粒子治療センター病院

溝江 純悦、辻井 博彦、長谷川 安都佐、山本 信治

【はじめに】

炭素イオン線を含む重イオン線は、速中性子線と同様に高 LET (linear energy transfer) 放射線の 1 種であり、X 線や陽子線等の低 LET 放射線に比し細胞周期に依存する放射線感受性の差が少なく、細胞の損傷からの回復が少なく、又、酸素濃度による放射線感受性の差が少ないなどの生物学的特徴を持っている。このような炭素イオン線の特徴は、従来の方法では難治な腫瘍である GBM に対し、その治療効果が期待されている。

放医研では 1994 年 6 月より炭素イオン線を使用した臨床試験を行っている。GBM を含む中枢神経系腫瘍に対する Phase I/II 臨床試験は 1994 年 11 月より開始された。

【対象と方法】

治療の開始に先立ってプロトコールが作製された。患者適格性は、組織学的に証明された GBM 症例で、年齢は 18 才から 80 才まで、K.I は 60% 以上で Neurological Function は grade I または II、過去に放射線治療や化療が行われておらず、髄膜播種が無く、また、自らの同意が可能な症例である。放射線治療は、まず、MRI の T2WI で高シグナルを示す範囲に 50 Gy/25 回/5 週間の X 線照射が行われ、その間第 1 週目と第 4 または 5 週目に ACNU 100mg/m² の投与が併用された。X 線照射に引き続き 8 回/2 週間の炭素イオン線治療が造影剤で造影される腫瘍部分に行われたが、その総線量は 16.8 GyE (光子線のグレイ等価線量、gray equivalent dose) から開始され、3 例以上の照射結果で安全性を確認後、10% ずつの線量増加が行われた。

1994 年 11 月から 2001 年 4 月までの間に 34 例が登録されたが、うち 3 例は不完全治療例として解析対象から除かれた (X 線照射後の炭素イオン線治療を拒否したため X 線のみで照射が行われた 1 例、X 線 2 Gy/1 回照射時点での突然死を来した 1 例、および X 線照射中に腫瘍増大による神経症状の悪化のために放射線治療を中止し手術切除が行われた 1 例)。残

りの 31 例の特徴は、男性が 2 : 1 と多く、年齢の中央値は 55 才、K.I は 90% が 15 例と最も多く、部分切除後例が 20 例であった (表 1)。

【結果】

X 線照射は 31 例で予定通り行われたが、ACNU の投与は 22 例 (71%) で 2 コースが投与された以外、白血球および血小板減少などのため 8 例 (26%) では 1 コースのみが、又 1 例では肝機能低下のため投与されなかった。

炭素イオン線の線量は、総線量 16.8 GyE (1 回線量 2.1 GyE) から開始され現在は 24.8 GyE/8 回 (1 回 3.1 GyE) の線量で照射されている (表 2)。16.8 GyE 群で 1 例がマシントイムの都合で 6 回の照射 (12.6 GyE) で終了し残りを X 線で治療 (4.2 Gy) したが、それ以外では予定通りの照射が行われた。31 例全例の median PFS (progression free survival) は 7.2 カ月であるが、16.8 GyE 群では 6.3 カ月、18.4 GyE 群では 8.3 カ月、20.0 GyE 群では 7.0 カ月、22.4 GyE 群では 13.1 カ月と線量の増加とともに上昇する傾向がある。31 例の MST (median survival time) は 15 カ月であるが、16.8 GyE 群では 11.8 カ月、18.4 GyE 群では 25.9 カ月、20.0 GyE 群では 17.3 カ月、22.4 GyE 群では 20.5 カ月であった (図 1)。

炭素イオン線の線量増加とともに放射線脳壊死の発生も増加する傾向にあるが、いずれも炭素イオン線の治療体積内の脳炎・脳壊死であり、重篤な後期反応は解析時点で見られていない。

【考察】

GBM に対する治療成績は多くの新しいまたは集学的治療にもかかわらず、いまだ改善が見られておらず、m-PFS は 7~9 カ月、MST は 10~16 カ月である。最近の報告でも、X 線治療と抗癌剤の併用¹⁻⁴⁾や、多分割照射と抗癌剤の併用^{5,6)}、及び小線源治療や術中照射^{7,8)}において、その成績の向上は見られていない。

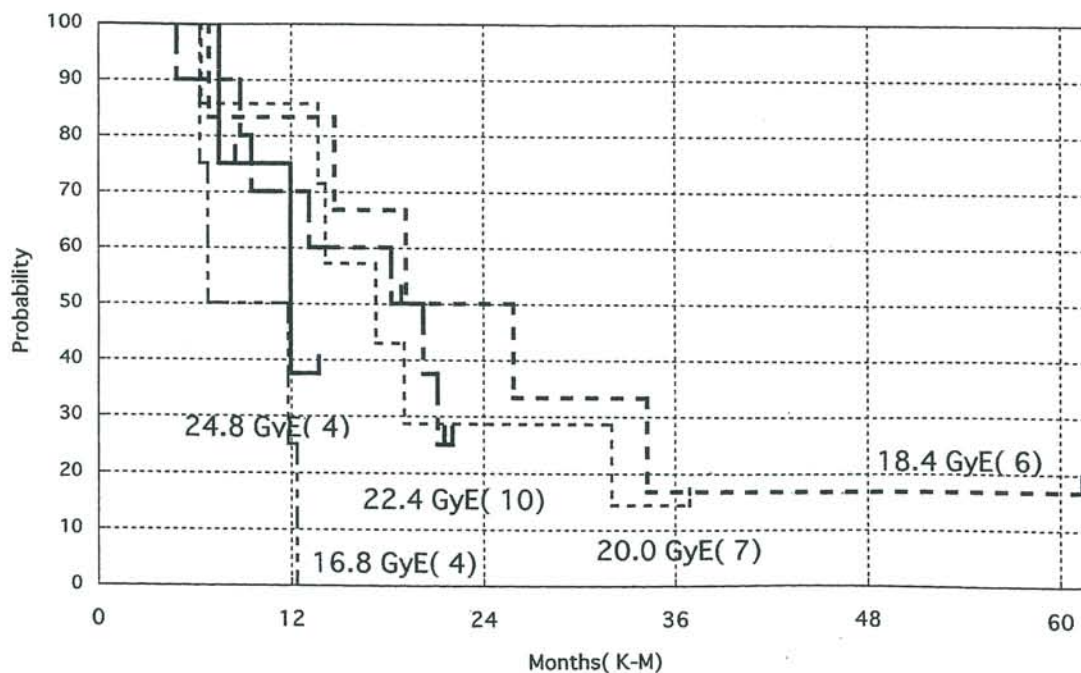
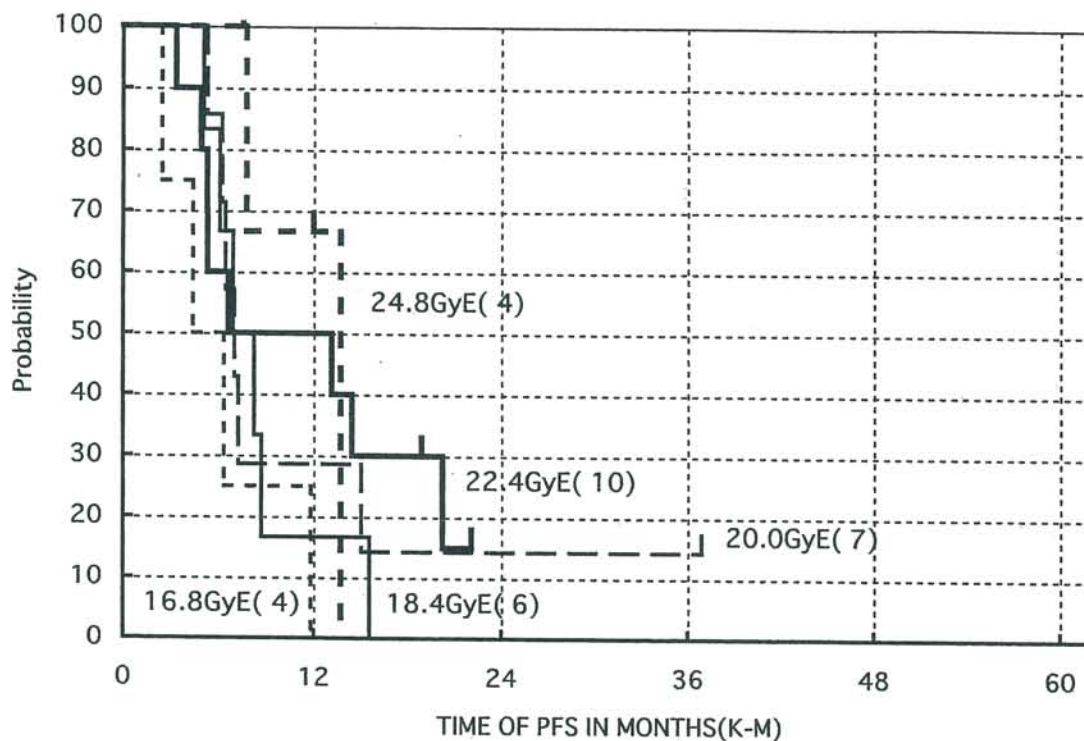
今回の途中解析では、炭素イオン線治療の線量増

表 1 : 症例の特徴

Male/Female	20/11
Age(median)	18~78(55)
K.I.(60/70/80/90/100)	6/ 2/ 7/15/ 1
Operation(T/S/P/B)	2/ 6/20/ 3
Volume(~100/~200/~300cc)	14/12/5

表 2 : 炭素イオン線の線量

Fraction Size	Total Dose	Patients
1) 2.1GyE	16.8 GyE	3
	12.6 GyE	1
2) 2.3GyE	18.4 GyE	6
3) 2.5GyE	20.0 GyE	7
4) 2.8GyE	22.4 GyE	10
5) 3.1GyE	24.8 GyE	4



加ともに m-PFS および MST の上昇傾向が認められる。併用した X 線治療と ACNU の用量が一定であることから、この傾向は炭素イオン線の効果と判断され、少数例とはいえ炭素イオン線治療の有効性を示唆している。

使用したプロトコールは、炭素イオン線が世界で初めて使用される臨床試験研究のプロトコールであったために、炭素イオン線の正常脳組織への線量・効果の関係が不明であるとの立場から、X 線との併用療法として照射が行われた。この臨床試験および他の臨床試験の結果から脳組織の耐容線量も判明しつつあり、今後は炭素イオン線単独治療でのプロトコールで臨床試験を行う予定である。

【文献】

- 1) Tanaka M, Shibui S, Nomura K, Nakanishi Y.: Radiotherapy combined with nimustine hydrochloride and etoposide for malignant gliomas: results of a pilot study. *Jpn J Clin Oncol.* 31:246-50, 2001.
- 2) Langer CJ, Ruffer J, Rhodes H, Paulus R, Murray K, Movsas B, Curran W.: Phase II radiation therapy oncology group trial of weekly paclitaxel and conventional external beam radiation therapy for supratentorial glioblastoma multiforme. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 51:113-9, 2001.
- 3) Puchner MJ, Herrmann HD, Berger J, Cristante L.: Surgery, tamoxifen, carboplatin, and radiotherapy in the treatment of newly diagnosed glioblastoma patients. *J Neurooncol.* 49:147-55., 2000.
- 4) Fisher BJ, Scott C, Macdonald DR, Coughlin C, Curran WJ.: Phase I study of topotecan plus cranial radiation for glioblastoma multiforme: results of Radiation Therapy Oncology Group Trial 9507. *J Clin Oncol.* 15: 1111-7, 2001.
- 5) Jeremic B, Shibamoto Y, Grujicic D, Stojanovic M, Milicic B, Nikolic N, Dagovic A, Aleksandrovic J.: Concurrent accelerated hyperfractionated radiation therapy and carboplatin/etoposide in patients with malignant glioma: long-term results of a phase II study. *J Neurooncol* 51:133-41, 2001.
- 6) Prados MD, Wara WM, Sneed PK, McDermott M, Chang SM, Rabbitt J, Page M, Malec M, Davis RL, Gutin PH, Lamborn K, Wilson CB, Phillips TL, Larson DA. Phase III trial of accelerated hyperfractionation with or without difluoromethylornithine (DFMO) versus standard fractionated radiotherapy with or without DFMO for newly diagnosed patients with glioblastoma multiforme. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 49:71-7, 2001.
- 7) Hulshof MC, Schimmel EC, Andries Bosch D, Gonzalez Gonzalez D.: Hypofractionation in glioblastoma multiforme. *Radiother Oncol.*;54:143-8, 2000.
- 8) Nemoto K, Ogawa Y, Matsushita H, Takeda K, Takai Y, Yamada S, Kumabe T. Intraoperative radiation therapy (IORT) for previously untreated malignant gliomas. *BMC Cancer.* 2:1, 2002.

oligodendroglioma に対する 化学療法 (PAV) 単独による治療効果

Result of chemotherapy (PAV) for oligodendroglioma

千葉県がんセンター脳神経外科

大里 克信、井内 俊彦、大賀 優

【はじめに】

oligodendroglioma は従来手術、放射線治療が主体であった。しかし近年、化学療法が有効であるとの報告がなされ^{1,2)}、後療法に化学療法が加えられることが多くなった。当センターにおいても 1996 年から手術後、放射線療法と化学療法を併用するプロトコルで治療をはじめた。短期的治療効果は良好であるが、最近放射線照射が行えなく化学療法のみで治療せざるを得なかった症例を 2 例経験した。2 例とも化学療法の反応がよく、画像的にも改善がみられたため報告する。

【症例】

1 例めは 49 才時、平成 3 年 9 月にケイレンで発症した男性。近くの病院に搬入され脳腫瘍と診断され左前頭葉の腫瘍摘出を受ける。組織診断は oligodendroglioma であった。術後重粒子治療を受け退院。平成 8 年 12 月に腫瘍再発し再手術を受ける。12 年になり摘出腔の外側に MRI で造影される部分が出現。そのまま経過観察されていたが徐々に言語障害が進行したため当センターを受診。受診時の MRI では造影される部分は増大し、更に前頭葉外側に孤在するような形での進展が観察された (Fig.1)。神経学的には運動性の失語症が認められた。再発と診断し化学療法が選択された。化学療法は procarbazine, ACNU, vincristine (PAV) の三者併用療法を行った。PAV の治療プロトコルは Levin 等のものを多少 modify している (Table 1)。プロトコルを 1 クール終了した後の MRI (Fig.2) では造影される部分の縮小が観察され、神経学的にも失語症は完全に改善し会社勤めが可能となっていた。2 クールを終了した時点では造影部分はさらに縮小し、著名な治療効果が得られていると判断された。

2 例めは 73 才の女性。平成 13 年 5 月頃より言葉が話せなくなり、6 月に急に意識障害と右半身麻痺が出現し近医にて脳腫瘍と未破裂動脈瘤が発見さ

れた。腫瘍摘出と未破裂動脈瘤 (左中大脳動脈瘤と右内頸動脈瘤) のクリッピング術を受け当センターに転院となった。摘出した腫瘍の組織診断は oligodendroglioma であり、右半身麻痺と意識障害が続く言葉はほとんど理解できない状態であった。神経学的維持を計るため放射線治療より化学療法が適していると判断し家族の了承のもと PAV による化学療法を選択した。PAV 1 クールを施行し、効果判定をおこなった MRI (Fig.3) では腫瘍の著明な縮小が観察された。会話も可能となり、同時に行ったりハビリテーションにて麻痺も改善している。

【考察】

oligodendroglioma の治療は手術による可及的摘出の後経過観察のみを行い、必要に応じて再手術を考慮する立場から放射線、化学療法などを積極的に行う立場まで幅広く存在する。我々の施設でも以前には放射線あるいはこれに化学療法をも加えた後療法を行ない一定の成果を上げてきた。しかし近年、化学療法が奏功するという報告^{3,4)}が相次いでなされ oligodendroglioma の治療法は大きな転機を迎えようとしている。本邦では放射線治療が一定の成果を挙げてきたため、術後に化学療法のみで治療するという体制はまだ確立していない。放射線治療後の再発例において化学療法の効果を確認する作業が残されている。化学療法は nitrosourea 系薬剤に procarbazine, vincristine を加えた 3 者併用療法が推奨されている^{5,6)}。我々はこのプロトコルを astrocytoma 系腫瘍にも応用してきたが、末梢神経炎や筋炎の副作用が発生したため多少 modify した量を採用している⁷⁾。このプロトコルで、放射線治療の適応のない oligodendroglioma の 2 例を治療した。その結果神経症状、画像所見とも著名な改善効果が得られた。この結果から現在は術後に化学療法をまず施行し、その後の経過から放射線治療を考慮するという方針に変更した。両症例とも 1P の LOH が観察されているが、

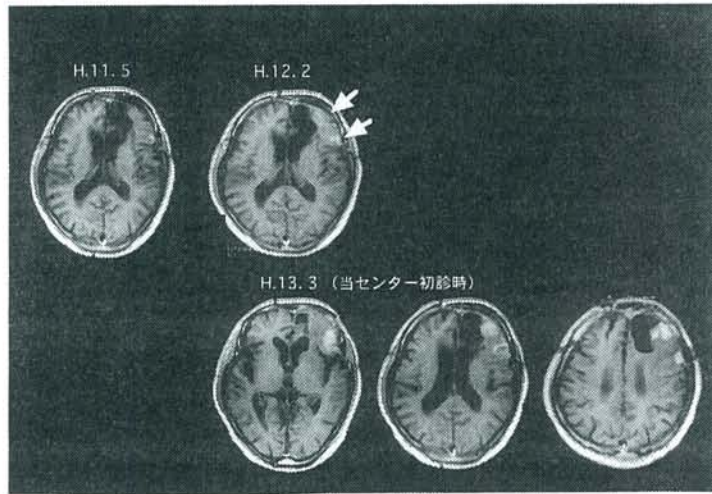


Fig.1
腫瘍再発および当センター受診時の MRI. 矢印は複数の再発腫瘍巣をしめす。

Table 1
当センターの glial tumors に対する化学療法のプロトコール

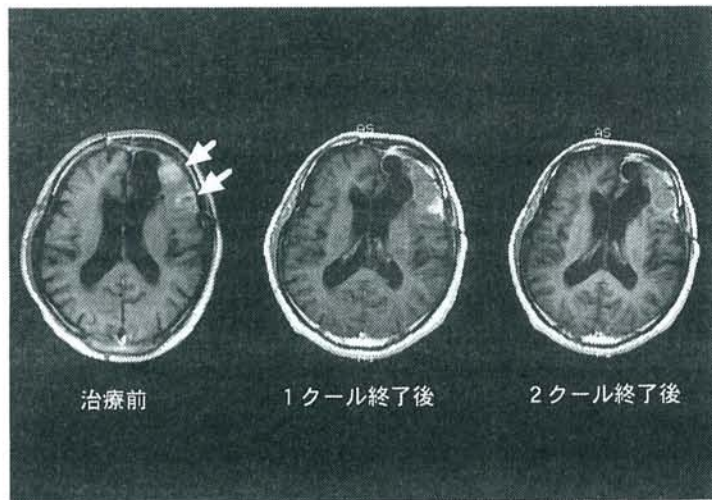
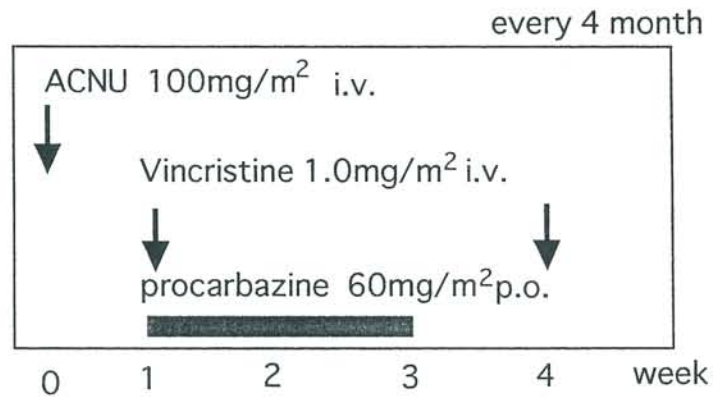


Fig.2
症例 1 の化学療法後の MRI. 矢印は再発部位を示し、化学療法後には同部位の縮小がみられる。

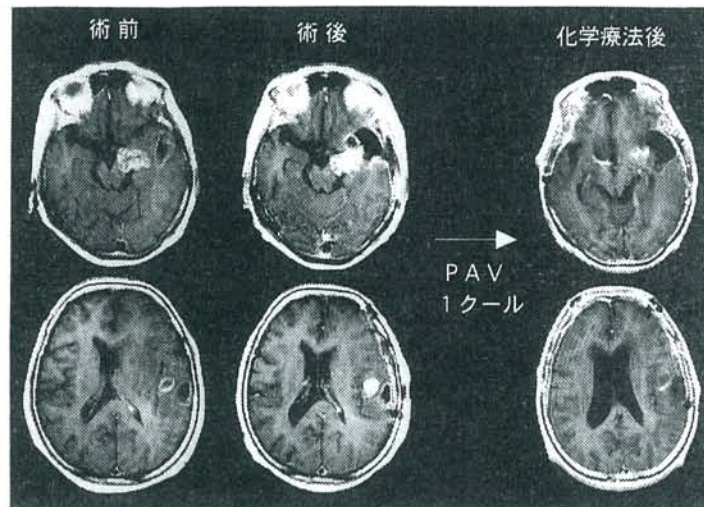


Fig.3
症例2の術前および化学療法前後のMRI

化学療法はこのような遺伝子異常が認められる症例で奏功することが報告されている⁸⁾。今後は遺伝子的検査結果から化学療法のプロトコルを検討する方針でもいる。

- 8) Smith JS et al; Alterations of chromoome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas, and mixed oligoastrocytomas. J Clin Oncol 18;636-645,2000

【文献】

- 1) Cairncross JG, Macdonald DR; Chemotherapy for oligodendroglioma. Arch Neurol 48;225-227,1991
- 2) Wakabayashi T ,et al;The clinicopathological study of oligodendroglial tumors,the effectiveness of interferon-beta,ACNU/MCNU, and radiation(JAR/IMR) for anaplastic tumors. Brain Tumor Pathol 17;29-33,2000
- 3) Glass J,Hochberg FH,Gluber ML ,et al; The treatment of oligodendrogliomas and mixed oligodendroglioma-astrocytoma with PCV chemotherapy. J Neurosurg 76;741-745,1992
- 4) Cairncross G, Macdonald D, Ludwin S ,et al; Chemotherapy for analastic oligodendroglioma. J Clin Oncol 12;2013-2021,1994
- 5) Wakabayashi T et al; Efficacy of Ajuvant therapy with Procarbazine,MCNU and Vincristine for Oligodendroglial Tumors. Neurol Med Chir(Tokyo)41,115-120.2001
- 6) Levin VA et al;Modified procarbazine ,CCNU, and vincristine(PCV 3) combination chemotherapy in the treatment of malignant brain tumors. Cancer Treat Rep 64;237-241,1980
- 7) 大里克信、末吉貫爾、難波宏樹、牛久保修、岩立康男; 悪性グリオーマに対する当院のプロトコルとその結果について. Neuro-Oncology (Jpn)1;4-6,1996

悪性神経膠腫に対する樹状－ 腫瘍細胞融合細胞を用いた免疫療法

Clinical Trial of Vaccination of Glioma Patients with Fusions of Dendritic and Glioma Cells

東京慈恵会医科大学悪性腫瘍治療研究部 脳神経外科

菊池 哲郎、赤崎 安晴、本間 定、阿部 俊昭、大野 典也

【Abstract】

In this study, we investigated the safety and clinical response of immunotherapy with fusions of dendritic and glioma cells for the treatment of patients with malignant glioma. Eight patients with malignant glioma, ranging in age from 4 to 63 years old, participated in this study. Dendritic cells were generated from peripheral blood. Cultured autologous glioma cells were established from surgical specimens in each case. Fusion cells of dendritic and glioma cells were prepared with polyethylene glycol. All patients received the fusion cells every three weeks for a minimum of 3 and a maximum of 7 immunizations. Fusion cells were injected intradermally close to a cervical lymph node. Clinical results showed that there were no serious adverse effects and two partial responses. Although the results of the Phase I clinical trial of fusion cells indicated that this treatment safely induced immune responses, we were unable to establish a statistically significant treatment associated response rate due to the limited sample population. Therefore, further evaluation of the role of adjuvant cytokines is necessary.

Key words: glioma, immunotherapy, dendritic cells, fusion

【Introduction】

Dendritic cells (DCs) are professional antigen-presenting cells (APCs) that have a unique potency for activating T cells. DCs express high levels of major histocompatibility complex (MHC), adhesion and costimulatory molecules¹¹⁾. The efficient isolation and preparation of both human and murine DCs are now possible⁹⁾. Several methods that use DCs for the induction of antitumor immunity have been investigated to date: DCs pulsed with proteins or peptides extracted from tumor cells⁸⁾, DCs transfected with genes encoding TAAs¹²⁾, DCs cultured with tumor cells²⁾ and DCs fused with tumor cells³⁾. Clinically, DCs pulsed with tumor lysate or tumor peptides were generally used⁹⁾. However, since 1) fusion cells (FCs) can induce antitumor immunity against unknown TAAs and 2) the common TAAs of gliomas have not yet been identified, the use of FCs may offer a potentially therapeutic approach for malignant gliomas, particularly since vaccination with FCs prolonged the survival of mice with brain tumors. Based on these experimental findings, clinical trials of vaccine therapy with FCs have begun. In the present study, we describe the vaccination of eight malignant glioma cases with dendritic cells fused with autologous glioma

cells. The safety, feasibility and immunological response of this approach are discussed.

【Materials and methods】

Patient Selection for Treatment by Vaccination with Fusion Cells

Patients were selected using the following inclusion criteria: patients had 1) histologically proven glioblastoma, anaplastic astrocytoma or other malignant gliomas according to the World Health Organization (WHO) criteria; 2) progression of their tumor despite radiotherapy and/or chemotherapy; 3) no antineoplastic chemotherapy or radiotherapy during the previous 4 weeks; 4) residual tumors detectable using Magnetic Resonance Imaging (MRI) or Computed Tomography (CT); and 5) available primary cultured autologous tumor cells.

Generation of Dendritic Cells from Peripheral Blood

Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were separated from peripheral blood (50 ml) using Ficoll-Hypaque density centrifugation. PBMCs were resuspended in RPMI1640 (Sigma, St. Louis, MO) and allowed to adhere to 24-well cluster plates. The

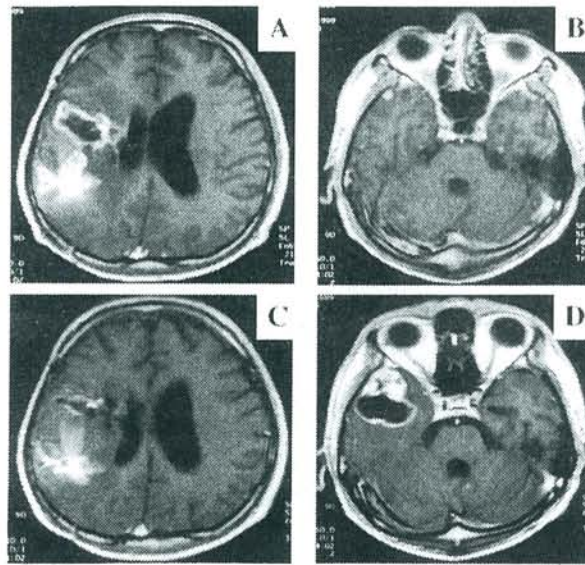


Fig.1

MRI of case 2 shows that, although the size of the tumor itself did not change, the shift of the midline structure was improved due to a reduction of the brain edema. T1-weighted (A) and T2-weighted (B) images before immunization. T1-weighted (C) and T2-weighted (D) images after immunization.

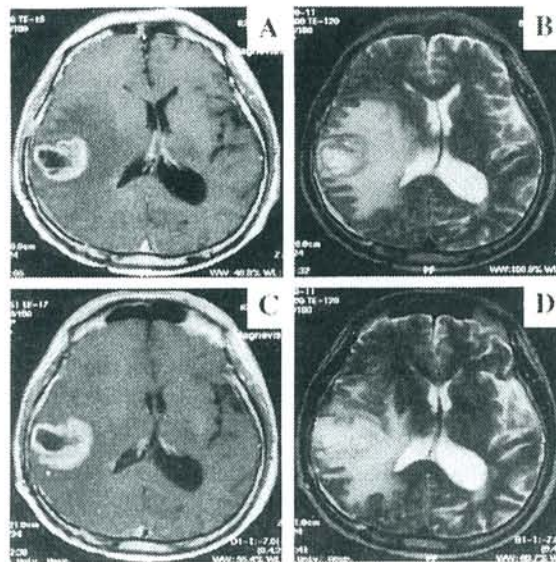


Fig.2

T1-weighted MRI of case 1 after the immunizations shows that the size of the primary tumor was decreased (A, C) although there was progression of the secondary lesion (B, D). A, B: before immunization. C, D: after immunization.

nonadherent cells were removed and the adherent cells were subsequently cultured for 7 days in RPMI 1640 medium supplemented with 1% heat-inactivated autologous serum, 50 mM 2-mercaptoethanol (Sigma), 2 mM glutamate (Cosmo Bio. Co. LTD, Japan), 100 U/ml penicillin (Sigma), 100 mg/ml streptomycin (Sigma), 10 ng/ml recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF; Becton Dickinson, San Jose, CA), 30 U/ml recombinant human interleukin-4 (IL-4; Becton Dickinson) and 20 ng/ml Tumor Necrosis Factor- γ (TNF- γ ; Becton Dickinson).

Generation of Cultured Glioma Cells from Surgical Specimens

Single cell suspensions of tumor cells were obtained by enzymatic digestion.

Preparation of Fusion Cells

DCs were fused with glioma cells as described previously³.

Design of the Phase I Trial of Fusion-cell Therapy

The study protocol was approved by the ethical committee of Jikei University. All patients provided informed consent before treatment. All patients received the FCs made from autologous DCs and autologous glioma cells every three weeks for a minimum of 3 and maximum of 7 immunizations. As many FCs as possible were injected, ranging from 2.4 to 8.7 x 10⁶ cells a time as DCs. FCs were drawn in 0.3 ml normal saline and were injected intradermally close to a cervical lymph node. The response to the treatment was evaluated by clinical observations and radiological findings.

[Results]

Vaccine Administration

Intradermal vaccination with FCs was performed at least three times, with the exception of cases 7 and 8. Mean administration was 4.5 times, ranging from 1 to 9. In cases 7 and 8, therapy was discontinued due to deterioration in symptoms between the first and second immunization. Total number of inoculated FCs was 11.9 x 10⁶ cells (mean), ranging from 4.6 x 10⁶ to 2.5 x 10⁷ (Table 2).

Clinical Responses

Vaccination with FCs was well tolerated in all patients and was administered on an outpatient basis. Vital signs monitored included blood pressure, temperature, pulse, cardiac rhythm and respiration. We observed no serious adverse effects, clinical signs of autoimmune reaction, or substantial changes in the results of routine blood tests including absolute lymphocyte count (data not shown). In one case (case 6), erythema at the injection site was shown after the third immunization with FCs, suggesting

that delayed-type hypersensitivity had occurred.

Clinical response data are listed in Table 2. There were two minor responses (cases 2 and 4). Case 2 suffered an uncontrollable headache despite the administration of analgesics before the immunization, which deteriorated after the immunizations. Interestingly, MRI showed that, although the size of the tumor itself did not change, the shift of the midline structure was improved and the high intensity area on the T2-weighted image reduced (Fig.1). In case 1, the size of primary tumor was decreased after the immunizations. However, the progression of a secondary lesion (Fig.2) required surgical removal. Following a culture, the expression of MHC class I and II was analyzed. No remarkable difference in the expression of MHC class I and II between primary and secondary tumor cells was found (data not shown).

Discussion

Genetically engineered glioma cells can be used as APCs for vaccination against gliomas, but the antitumor effect insufficiently eradicates established brain tumors in the mouse model¹³. However, an intradermal injection of fusions with dendritic and glioma cells prolonged the survival of mice with brain tumors. A DC-based vaccine is therefore a potential treatment for brain tumors¹⁰. Based on these experimental data, we started a clinical trial of immunotherapy using FCs.

Several methods using DCs for the induction of antitumor immunity have been investigated to date and some reports of the clinical application of immunotherapy using DCs have been published^{7,9}. DCs pulsed with tumor lysate or tumor peptides were generally used, whereas DCs fused with autologous tumor cells were used in Kugler's⁵ and our studies. It may be advantageous to use FCs as a potential therapeutic approach for malignant gliomas, since 1) the common TAAs of gliomas have not yet been identified, 2) FCs can be used to induce antitumor immunity against unknown TAAs, and 3) the induction of autoimmune responses against normal cells including endothelial cells and neurons can be avoided. However, TAAs of recurrent tumors may not be the same as those of cultured tumor cells, resulting in the "escape phenomenon" in which CTLs induced by FCs can kill only tumor cells expressing the same TAAs as those of the cultured tumor cells. In case 1, after immunization with FCs, the size of primary tumor was decreased while there was progression of the secondary lesion. We speculate that CTLs induced by administered FCs recognized only the primary and not the secondary tumors due to the difference in TAAs. Clinical trials with DCs have not reported autoimmune response to date. It has

Table 1 Patient characteristics

Case	Age/Sex (years)	Pathological Diagnosis	Previous Therapy	Karnofsky Score (%)	MHC Expression on Autologous Glioma Cells	
					Class I/+IFN- γ	Class II/+IFN- γ
1	41/M	GBM	S, C, R	70	++++	-/-
2	56/M	AA	S, C, R	90	++++	-/+
3	33/F	GBM	S, C, R	90	++++	-/-
4	37/M	GBM	S, C, R	70	++++	-/+
5	63/M	GBM	S, C, R	90	+++	-/+
6	36/M	AO	S, C, R	100	+++	-/-
7	37/M	GBM	S, C, R	50	++++	-/-
8	4/M	AA	S, C, R	30	ND	ND

GBM: glioblastoma multiforme, AA: anaplastic astrocytoma, AO: anaplastic oligodendroglioma, S: surgery, C: chemotherapy, R: radiotherapy, ND: not done

Table 2 Results of immunotherapy using fusion cells

Case	Initial Vaccination	No. of Vaccinations	Total Amount of FCs ($\times 10^6$)	Fusion Efficiency (%)	Clinical Response after 8 weeks	Outcome in Jun 00	Radiological Findings	Adverse Effects
1	Aug 99	3	6.3	19.1	SD	DD	MR	No
2	Sep 99	7	19.8	13.9	PR	PD	NC	No
3	Dec 99	3	4.6	9.2	SD	PD	NC	No
4	Dec 99	8	25.4	35.3	PR	PD	NC	No
5	Feb 00	3	10.2	26.0	SD	PD	NC	No
6	Mar 00	4	6.8	ND	SD	SD	NC	No
7	Mar 00	1	12.0	9.9	PD	PD	NC	No
8	Apr 00	2	9.9	ND	PD	DD	PD	No

SD: stable disease, PR: partial response, PD: progressive disease, DD: died of disease, NC: no change, MR: mixed reaction, ND: not done, Jun 00: June 2000.

been reported that in MUC1 transgenic mice, immunization with FCs with DCs and MUC1-positive tumor cells resulted in the rejection of established MUC1-positive tumor cells and no apparent autoimmunity against normal tissues⁴. On the other hand, Ludewig et al. reported that immunotherapy using peptide-pulsed DCs induced an autoimmune response in a mouse model⁶. Therefore, even if severe autoimmune responses against normal cells have not occurred in clinical trials, careful investigation is necessary.

The results of the Phase I clinical trial of FCs with DCs and cultured autologous glioma cells indicated that this treatment safely induced immune responses. However, since our sample population was limited to 8 fully evaluable patients, we were unable to determine a statistically significant treatment associated response rate. Our study in a mouse brain tumor model demonstrated that systemic administration of recombinant IL-12 enhanced the antitumor effects of FCs, suggesting that further evaluation of the role of adjuvant cytokines is necessary. IL-12, originally known as natural killer cell stimulatory factor or cytotoxic lymphocyte maturation factor, enhances the lytic activity of NK/lymphokine-activated killer (LAK) cells, facilitates

specific cytotoxic T lymphocyte (CTL) responses, acts as a growth factor for activated T and NK cells, induces production of IFN- γ from T and NK cells, and acts as an angiogenesis inhibitor¹. These results indicate that IL-12 may be a potential candidate for an adjuvant cytokine. Based on data from this Phase I trial, a clinical trial of immunization with FCs and recombinant human IL-12 is currently under way.

[References]

- 1) Brunda M J : Interleukin-12. *J Leukoc Biol* 55: 280-288, 1994
- 2) Celluzzi C M, Falo L J: Physical interaction between dendritic cells and tumor cells results in an immunogen that induces protective and therapeutic tumor rejection. *J Immunol* 160: 3081-3085, 1998
- 3) Gong J, Chen D, Kashiwaba M, et al: Induction of antitumor activity by immunization with fusions of dendritic and carcinoma cells. *Nat Med* 3: 558-561, 1997
- 4) Gong J, Chen D, Kashiwaba M, et al: Reversal of tolerance to human MUC1 antigen in MUC1 transgenic mice immunized with fusions of dendritic and carcinoma cells.

- Proc Natl Acad Sci U S A 95: 6279-6283, 1998
- 5) Kugler A, Stuhler G, Walden P, et al: Regression of human metastatic renal cell carcinoma after vaccination with tumor cell-dendritic cell hybrids. *Nature Medicine* 6: 332-336, 2000
 - 6) Ludewig B, Ochsenbein A F, Odermatt B, et al: Immunotherapy with dendritic cells directed against tumor antigens shared with normal host cells results in severe autoimmune disease. *J Exp Med* 191: 795-803, 2000
 - 7) Morse M A, Deng Y, Coleman D, et al: A Phase I study of active immunotherapy with carcinoembryonic antigen peptide (CAP-1)-pulsed, autologous human cultured dendritic cells in patients with metastatic malignancies expressing carcinoembryonic antigen. *Clin Cancer Res* 5: 1331-1338, 1999
 - 8) Nair S K, Snyder D, Rouse B T, et al: Regression of tumors in mice vaccinated with professional antigen-presenting cells pulsed with tumor extracts. *Int J Cancer* 70: 706-715, 1997
 - 9) Nestle F O, Alijagic S, Gilliet M, et al: Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 4: 328-332, 1998
 - 10) Okada H, Tahara H, Shurin M R, et al: Bone marrow-derived dendritic cells pulsed with a tumor-specific peptide elicit effective anti-tumor immunity against intracranial neoplasms. *Int J Cancer* 78: 196-201, 1998
 - 11) Steinman R M: The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol* 9: 271-296, 1991
 - 12) Tuting T, Wilson C C, Martin D M, et al: Autologous human monocyte-derived dendritic cells genetically modified to express melanoma antigens elicit primary cytotoxic T cell responses in vitro: enhancement by cotransfection of genes encoding the Th1-biasing cytokines IL-12 and IFN- α . *J Immunol* 160: 1139-1147, 1998
 - 13) Wakimoto H, Abe J, Tsunoda R, et al: Intensified antitumor immunity by a cancer vaccine that produces granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4. *Cancer Res* 56: 1828-1833, 1996

第22回 ニューロ・オンコロジーの会

研究会会長 千葉大学医学研究院
神経統御学 岩立 康男
TEL : 043-226-2158 FAX : 043-226-2159

脳腫瘍全般に関する一般演題
テーマ演題 **Low grade astrocytoma に対する治療戦略**
遺伝子診断の臨床への貢献

1. 日時 : 平成13年12月15日(土) 14:00~19:30
2. 場所 : 新宿野村ビル 4階会議室 (東京都新宿区西新宿1-26-2、当日TEL : 03-3342-3085)
事前連絡先 日本化薬(株) TEL : 03-5955-1802
3. プログラム

I 脳腫瘍全般に関する一般演題【I部】(発表5分 討論3分) (14:00~14:40)

座長 順天堂大学 菱井 誠人

- 1) 病理診断に苦渋した下垂体部腫瘍の1例
東邦大学 脳神経外科 根本暁央、清木義勝、横田京介、柴田家門
- 2) 頸髄背側から頸椎、上部胸椎後方にひろがる PNET の1例
神奈川県立がんセンター 脳神経外科 西村 敏、久間祥多
骨軟部腫瘍外科 櫛田和義、村山 均
- 3) 1年間で急速に増大した radiation induced meningioma の1例
昭和大学 脳神経外科 泉山 仁、阿部琢巳、福田 直、国井紀彦、川村典義
松本 清
- 4) 白血病治療後に発症した小児悪性小脳腫瘍の1例
弘前大学 脳神経外科 浅野研一郎、大熊洋揮、竹村篤人、鈴木重晴
東京女子医科大学 脳神経外科 久保長生
- 5) 髄液播種にて発症し、診断に苦慮した、小児脳腫瘍の1例
旭川医科大学 脳神経外科 程塚 明、桐山健司、和田 始、櫻井寿郎、渡辺剛助
内田和希、宮野 真、川崎和凡、田中達也

II 脳腫瘍全般に関する一般演題【II部】(発表5分 討論3分) (14:40~15:20)

座長 千葉県がんセンター 大里 克信

- 1) 再発第三脳室 chordoid glioma の1例
杏林大学 脳神経外科・病理部 菊池隆文、日野 健、永根基雄、塩川芳昭、藤岡保範、齋藤 勇
- 2) 側脳室前角に発生した ganglioglioma の1例
中村記念病院 脳神経外科 伊東民雄、岡 亨治、尾崎義丸、中村博彦
- 3) 脳室壁にび漫性に発生した oligodendroglioma の1例 -内視鏡所見および放射線化学療法の効果について-
東京女子医科大学 脳神経外科 久保長生、上川秀士、山根文孝、高橋研二、堀 智勝
- 4) 右前頭葉深部に発生した PXA の1例
東京女子医科大学 脳神経外科 田中雅彦、久保長生、伊関 洋、村垣善浩、丸山隆志
堀 智勝

5) 視神経腫、類モヤモヤ病、小脳神経膠芽腫を合併した NF1 の症例

北里大学

脳神経外科

久須美真理、岡 秀宏、宇津木聡、田中 聡、石渡雅男
藤井清孝

III Low grade astrocytoma に対する治療戦略(発表6分 討論4分)

(15:20~16:30)

座長 東京女子医科大学 久保 長生

1) 中脳 pilocytic astrocytoma の症例

筑波大学

脳神経外科

坪井康次、高野晋吾、能勢忠男

2) 成人 diffuse astrocytoma 例の長期予後~5年以上の寛解例を中心に~

東京医科大学

脳神経外科

秋元治朗、松邨宏之、稲次忠介、原岡 襄

3) 杏林大学における low-grade astrocytoma の治療

杏林大学

脳神経外科

永根基雄、小林啓一、塩川芳昭、齋藤 勇

4) Low grade glioma の長期予後と当院の治療戦略

東京都立駒込病院

脳神経外科

山田良治、岡本幸一郎、篠浦伸禎、中村 治

5) テント上 diffuse astrocytoma に対する放射線単独療法の長期予後

北里大学

脳神経外科

宇津木聡、岡 秀宏、田中 聡、石渡雅男、近藤宏治、
藤井清孝

6) Interferon- β を用いた low grade astrocytoma の治療成績

日本大学

脳神経外科

横山貴一、小峰千明、福島崇夫、渡辺学郎、吉野篤緒、
片山容一

7) Astrocytoma における CD98 の発現と分子標的としての可能性

防衛医科大学校

脳神経外科

苗代 弘、大谷直樹、福井伸二

杏林大学

微生物学

四ノ宮成祥

杏林大学

薬理学

松尾洋孝、遠藤 仁、金井好克

IV 教育講演 (16:30~17:15)

座長 千葉大学 岩立 康男

「ゲノムの定量的解析: SNP アレル頻度定量とマイクロサテライトを用いた脳腫瘍の客観的 LOH 評価」

九州大学生体防御医学研究所・遺伝情報実験センター長 林 健志 先生

(休憩 15分)

V 遺伝子診断の臨床への貢献 (発表6分 討論4分)

(17:30~18:20)

座長 杏林大学 永根 基雄

1) 孤発性および家族性血管芽腫の遺伝子診断とそれに基づく治療法の選択

横浜市立大学

脳神経外科

菅野 洋、村田英俊、林 明宗、山本勇夫

高知医科大学

泌尿器科

矢尾正祐

高知医科大学

泌尿器科

執印太郎

2) DNA microarray を用いた、グリオブラストーマ細胞株における放射線照射後の遺伝子発現の解析

順天堂大学

脳神経外科

大供 孝、菱井誠人

放射線治療科

笹井啓資

3) プロテオミクスによるグリオーマ薬剤感受性規定因子の検索

千葉大学

神経統御学

岩立康男、堺田 司、山浦 晶

遺伝子生化学

日和佐隆樹、瀧口正樹

千葉県がんセンター

化学療法研究部

藤本修一

4) グリオーマ抗原遺伝子を用いた遺伝子診断および血清診断

慶應義塾大学 脳神経外科 戸田正博、植田 良、吉田一成、河瀬 斌
先端医科学研究所 飯塚幸彦、河上 裕

5) グリオーマ治療におけるEBMとIATの接点

北里研究所メディカルセンター病院 脳神経外科 田中 聡、小林郁夫
北里大学 脳神経外科 岡 秀宏、宇津木聡、安井美江、藤井清孝

VI 脳腫瘍全般に関する一般演題【Ⅲ部】(発表6分 討論4分)

(18:20~19:30)

座長 筑波大学 坪井 康次

1) Musashi1, Hu, Nestin を用いた神経外胚葉性腫瘍の免疫組織学的検討

慶應義塾大学 脳神経外科 片山 真、吉田一成、石森久嗣、河瀬 斌
病理学 池田栄二
生理学 岡野ジェームス洋尚、岡野栄之

2) 新規光感受性物質 Npe6 を用いたグリオーマの蛍光標識

東京医科大学 脳神経外科¹⁾ 松邨宏之^{1,2)}、秋元治朗^{1,2)}
難病治療センター²⁾ 稲次忠介^{1,3)}、原岡 襄¹⁾
第2生理³⁾ 會沢勝夫^{2,3)}

3) 5-ALA による悪性脳腫瘍の Photo Dynamic Diagnosis (PDD: 術中蛍光診断)

筑波大学 脳神経外科 松村 明、山本哲哉、木村 泰、張 天、高野晋吾、
坪井 康次、安田 貢、能勢忠男

4) 5-ALA と術中 MRI を用いた high grade glioma 摘出術および組織学的検討

東京女子医科大学 脳神経外科 丸山隆志、村垣善浩、田中雅彦、伊関 洋、久保長生、
堀 智勝
東京大学大学院 工学研究科 望月 誠、望月 亮
NHKエンジニアリングサービス 佐久間一郎

5) GBM に対する炭素イオン治療の途中解析

放射線医学総合研究所 重粒子治療センター 溝江純悦、辻井博彦、長谷川安都佐、山本信治

6) Oligodendroglioma に対する化学療法(PAV)単独による治療効果

千葉県がんセンター 脳神経外科 大里克信、井内俊彦、大賀 優

7) 悪性神経膠腫に対する樹状-腫瘍細胞融合細胞ならびにインターロイキン 12 を用いた免疫療法

東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 菊池哲郎、赤崎安晴、本間 定、阿部俊昭、大野典也
悪性腫瘍治療研究部

* 参加費として、受付で1,000円頂きます。

* ご参加の先生方は、日本脳神経外科専門医クレジット(3点)が取得できます。

* 研究会終了後、懇親会を予定しております。

共催 ニューロ・オンコロジーの会
日本化薬株式会社

ニューロ・オンコロジーの会 (第1回~第24回)

第1回	開催日	H3.4.13 (土)
	世話人	東京大学医学部脳外科・松谷雅生
	テーマ演題	再発髄芽腫の治療
	講演	再発髄芽腫の治療 (熊本大脳神経外科・生塩之敬)
	特別講演	最近の癌遺伝子と癌抑制遺伝子研究の展開 (国立がんセンター研究所・口野嘉幸)
第2回	開催日	H3.12.14 (土)
	世話人	東京女子医科大学脳神経センター脳神経外科・久保長生
	テーマ演題	再発神経膠腫の診断と治療
	教育講演	再発神経膠腫の診断-脳放射線壊死との鑑別に於いて- (筑波大脳神経外科・吉井与志彦)
	特別講演	癌化学療法 of 進歩-基礎から臨床 (国立がんセンター・西條長宏)
第3回	開催日	H4.4.11 (土)
	世話人	順天堂大脳神経外科・佐藤潔
	テーマ演題	悪性脳腫瘍に対する免疫・生物療法の現状および展望
	教育講演	悪性グリオーマに対する β -Interferon療法 (獨協大脳神経外科・永井政勝)
	特別講演	癌免疫療法の基礎と臨床-今後の展開 (東北大学薬学部衛生化学・橋本嘉幸)
第4回	開催日	H4.12.12 (土)
	世話人	日本大脳神経外科・宮上光祐
	テーマ演題	再発髄膜腫の診断と治療
	教育講演	脳腫瘍に対するLineacを用いたstereotaxic radiosurgery (国立がんセンター放射線治療部・秋根康之)
	特別講演	悪性髄膜腫瘍 (九州大脳神経外科・福井仁士)
第5回	開催日	H5.4.10 (土)
	世話人	国立がんセンター脳神経外科・野村和弘
	テーマ演題	転移性脳腫瘍の診断と治療
	特別講演	人がんの発生と進展にかかわる癌抑制遺伝子 (国立がんセンター生物学部長・横田 純)
第6回	開催日	H5.12.11 (土)
	世話人	群馬大学脳神経外科・田村 勝
	テーマ演題	CNS Lymphomaの診断と治療
	教育講演	松果体実質腫瘍の病理 (群馬大第一病理・中里洋一)
第7回	開催日	H6.4.9 (土)
	世話人	帝京大学医学部附属市原病院脳神経外科・長島 正
	テーマ演題	悪性グリオーマの治療
	教育講演	癌遺伝子治療の現状と今後の展望-悪性グリオーマ治療を中心に- (国立がんセンター研究所生物物理部・口野嘉幸)
	教育講演	悪性グリオーマに対する放射線治療の実際 (日本大学医学部放射線科・田中良明)
第8回	開催日	H6.12.10 (土)
	世話人	日本医科大学脳神経外科・高橋 弘
	テーマ演題	悪性脳腫瘍におけるBRMを含めた維持療法
	教育講演	フローサイトメトリーを用いた脳腫瘍のcell kineticsと免疫 (関西医科大学脳神経外科・河本圭司)
第9回	開催日	H7.4.15 (土)
	世話人	順天堂大学脳神経外科・新田泰三
	テーマ演題	悪性グリオーマの手術に関する問題点
	教育講演	肝臓外科手術の進歩 (東京大学第2外科・幕内雅敏)
	特別講演	マッピング下の functional area の手術 (鳥取大学医学部免疫学・堀 智勝)
第10回	開催日	H7.12.9 (土)
	世話人	筑波大学脳神経外科・吉井與志彦
	テーマ演題	悪性グリオーマの治療評価診断と治療法の選択
	一般演題	悪性グリオーマ全般について
	教育講演	TI-201SPECTによる腫瘍診断-脳腫瘍への応用を含めて- (金沢大学医学部核医学科・利波紀久)
教育講演	DNA修復と神経系 (放射線医学総合研究所・佐藤弘毅)	

第11回	開催日	H8.4.6 (土)
	世話人	神奈川県立がんセンター脳神経外科・久間祥多
	テーマ演題	悪性グリオーマに対する化学療法 -各施設のプロトコールについて-
	一般演題	悪性グリオーマに対するその他の非手術的治療
	教育講演	統計的検定の結果をどう解釈するか (愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・橋 敏明)
	教育講演	感受性試験を基にした脳腫瘍の化学療法 (金沢大学がん研究所化学療法部・田中基裕)
第12回	開催日	H8.12.7 (土)
	世話人	昭和大学脳神経外科・松本 清
	テーマ演題	高齢者 (70歳以上) の髄膜腫に対する治療
	一般演題	高齢者の脳腫瘍治療における現況
	教育講演	良性脊髄外腫瘍の治療の問題点について・・・特に頭蓋内髄膜腫・神経鞘腫との比較について・・・ (東京都立神経病院脳神経外科・高橋 宏)
	教育講演	脳腫瘍におけるアポトーシスの意義 (佐賀医科大学脳神経外科・田淵和雄)
第13回	開催日	H9.4.12 (土)
	世話人	慶應義塾大学脳神経外科・大谷光弘
	テーマ演題	Low grade gliomaに対するadjuvant therapyの適応とtimingについて
	一般演題	Low grade gliomaの興味ある症例
特別講演	T細胞に認識されるヒトメラノーマ抗原の単離同定と免疫遺伝子治療への臨床応用 (Surgery Branch, National Cancer Institute, NIH・河上 裕)	
第14回	開催日	H9.12.13 (土)
	世話人	東京医科大学脳神経外科・秋元治朗
	テーマ演題	神経細胞系腫瘍の臨床
	特別講演	再発悪性グリオーマに対する治療選択 癌化学療法の分子標的耐性とアポトーシス (東京大学分子細胞生物学研究所・鶴尾 隆)
第15回	開催日	H10.4.11 (土)
	世話人	東邦大学脳神経外科・柴田家門
	テーマ演題	脳室内腫瘍の治療選択
	特別講演	脳腫瘍 (原発・再発) に対する新しい治療の試み 変異型ウィルスを応用した脳腫瘍の遺伝子治療 (慶應義塾大学生理学教室・矢崎貴仁)
第16回	開催日	H10.12.12 (土)
	世話人	自治医科大学脳神経外科・篠田宗次 増沢紀男
	テーマ演題	グリオーマ治療耐性とその対策
	特別講演	悪性グリオーマ grade III の治療方針 アデノ随伴ウイルス (AAV) を利用した遺伝子導入法とその遺伝子治療への応用 (自治医科大学 血液学講座・遺伝子治療研究部・小澤敬也)
第17回	開催日	H11.4.10 (土)
	世話人	東京大学脳神経外科・藤巻高光
	テーマ演題	転移性脳腫瘍とどう闘うか
	特別講演	ependymomaの臨床像・その他 悪性脳腫瘍髄腔内播種に対する髄腔内化学療法 (熊本大学脳神経外科・河内正人)
第18回	開催日	H11.12.11 (土)
	世話人	横浜市立大学医学部附属浦舟病院脳神経外科・林 明宗
	テーマ演題	その他の稀な腫瘍 (1) 脊髄 (髄内) 腫瘍 (2) 母斑症 (Phacomatosis) に合併する脳腫瘍
	特別講演	QOLを重視したグリオーマの治療 本邦における von Hippel-Lindau 病の実態と遺伝子異常: 遺伝子異常と腫瘍発生のメカニズム (高知医科大学泌尿器科・執印太郎)
特別講演	悪性リンパ腫の治療-自施設の経験を中心に- (神奈川がんセンター第四内科・児玉文雄)	
第19回	開催日	H12.4.8 (土)
	世話人	千葉県がんセンター脳神経外科・大里克信
	テーマ演題	小児悪性脳腫瘍の診断と治療: 症例報告も含む
	特別講演	グリオーマに対する放射線照射範囲と照射法についての工夫: 有用性と副作用 その他、最近経験した興味ある症例について 神経芽細胞腫における発がんと進展の分子機構 (千葉県がんセンター生化学研究部・中川原 章)

第20回	開催日	H12.12.9 (土)
	世話人	東京女子医科大学脳神経センター脳神経外科・堀 智勝
	テーマ演題	治療に難渋している脳腫瘍症例の検討
	テーマ演題	脳腫瘍に対するバイオセラピーの現状
	テーマ演題	その他、「脳腫瘍全般に関する一般演題」
	教育講演	脳腫瘍の遺伝子治療の現況 (ハーバード大学マサチューセッツ総合病院脳神経外科・藤堂具紀)
	教育講演	高活性キラーリンパ球の誘導培養法と脳腫瘍の細胞療法を試み (理化学研究所細胞開発銀行・大野忠夫)
第21回	開催日	H13.4.14 (土)
	世話人	北里大学 脳神経外科・岡 秀宏
	テーマ演題	悪性脳腫瘍に対する治療の現状と将来への展望
	テーマ演題	脳腫瘍診断および治療における血管内手術の貢献
	テーマ演題	症例検討 (診断および治療に難渋した症例)
教育講演	「悪性グリオーマ特異的レトロウイルスベクターの開発と遺伝子治療 (高知医科大学脳神経外科・清水恵司)	
第22回	開催日	H13.12.15 (土)
	世話人	千葉大学大学院医学研究院神経統御学(脳神経外科) 岩立康男
	テーマ演題	Low grade astrocytomaに対する治療戦略
	テーマ演題	遺伝子診断の臨床への貢献
	テーマ演題	脳腫瘍全般に関する一般演題
特別講演	ゲノムの定量的解析: SNPアレル頻度定量とマイクロサテライトを用いた脳腫瘍の客観的LOH評価 (九州大学生体防御医学研究所・林 健志)	
第23回	開催日	H14.4.13 (土)
	世話人	杏林大学医学部 脳神経外科教室 永根 基雄
	テーマ演題	悪性脳腫瘍治療における新規分子標的
	テーマ演題	原発性悪性脳腫瘍に対する radiosurgery - 適応と治療効果
	テーマ演題	診断/治療に難渋した症例
	教育講演 I	「抗癌剤耐性のメカニズム - up to date」 (国立がんセンター研究所 薬効試験部 室長西尾 和人)
教育講演 II	「脳腫瘍のMRI診断の最近の進歩」 (杏林大学 放射線科 助教授 土屋 一洋)	
第24回 (予定)	開催日	H14.12.14 (土)
	世話人	東京慈恵医科大学DNA医学研究所悪性腫瘍治療研究部 菊地哲郎
	テーマ演題	悪性グリオーマに対する治療戦略-各施設における工夫-
	テーマ演題	症例検討 (診断および治療に難渋した症例)
	特別講演	未定

ニューロ・オンコロジーの会 会則 (Neuro-Oncology Conference)

第一章 総則

- 第1条 本会は、ニューロ・オンコロジーの会(Neuro-Oncology Conference)と称する。
第2条 本会は、事務局を東京女子医科大学脳神経センター脳神経外科内に設置する。

第二章 目的および事業

- 第3条 本会は、脳腫瘍における日常臨床上の問題点を討議し、脳腫瘍症例の診断と治療の向上とわが国における neuro-oncology の発展を目的とする。
第4条 本会は、前条の目的を達成するため以下の事業を行う。
(1) 研究会の開催
(2) 研究会発表記録等の出版、発行
(3) 関連学術団体との連絡および協力
(4) その他、本会の目的を達成するために必要とされる事業

第三章 会員および世話人

- 第5条 本会は、会員及び賛助会員によって構成される。
(1) 会員は、本会の対象領域に関心を持つ医師および医療従事者とする。
(2) 賛助会員は本会の目的に賛同する個人又は団体とする。
第6条 会員の中から世話人を置き、本会の運営を行う。世話人会が研究会会長を選出する。
第7条 世話人の中から庶務幹事と会計幹事を置く。

第四章 世話人会

- 第8条 世話人会は世話人の2/3以上の出席(含委任状)により成立し、随時開催される。
第9条 議決は委任状を含む世話人半数以上の同意をもって決する。

第五章 研究会の開催

- 第10条 研究会は年2回の開催とする。
第11条 研究会は会長が主催する。
第12条 研究会は各回毎”テーマ”を決め、以下の内容にて行う。
(1) 症例検討
(2) 基礎及び臨床研究
(3) 教育講演または特別講演
第13条 研究会を開催するにあたり参加費を徴収する。

第六章 会計

- 第14条 研究会等の運営は参加費及びその他の収入をもって、これにあてる。
第15条 研究会等の収支決算は会計幹事が作成し、世話人会に報告し、承認を得る。

第七章 細則

- 第16条 本会は日本脳神経外科学会専門医クレジット対象学会で3点が認められている。
第17条 本会則を変更する場合には、世話人会の承認を要する。
第18条 本会則は、平成12年12月9日に改訂され、同日実施される。

ニューロ・オンコロジーの会事務局(庶務幹事 久保長生)

〒162 東京都新宿区河田町8-1

東京女子医科大学 脳神経センター 脳神経外科内 TEL 03-3353-8111(代)

FAX 03-5269-7398

ニューロ・オンコロジーの会 世話人一覧

平成13年12月15日

世話人	施設
秋元 治朗	東京医科大学附属病院
浅井 昭雄	東京大学医学部附属病院
大里 克信	千葉県がんセンター
久間 祥多	神奈川県立がんセンター
栗原 秀行	群馬大学医学部附属病院
篠田 宗次	自治医科大学附属病院
柴田 家門	東邦大学医学部附属大森病院
渋井 壮一郎	国立がんセンター中央病院
高橋 弘	日本医科大学附属第二病院
坪井 康次	筑波大学医学部附属病院
長島 正	帝京大学医学部附属市原病院
西川 亮	埼玉医科大学附属病院
林 明宗	横浜市立大学医学部附属市民総合医療センター
菱井 誠人	順天堂大学附属順天堂医院
藤巻 高光	帝京大学医学部附属病院
泉山 仁	昭和大学医学部附属病院
宮上 光祐	駿河台日本大学病院
吉田 一成	慶應義塾大学医学部附属病院
久保 長生	東京女子医科大学病院
村垣 善浩	東京女子医科大学病院

編集後記

第 22 回ニューロ・オンコロジーの会は千葉大学医学部脳神経外科岩立康男先生の会長のもとが多数の演題が発表されました。教室の山浦晶教授の御支持で大変すばらしい会となりました。両先生に感謝いたします。

第 23 回からは会場を東京女子医科大学弥生記念講堂 A 会議室とし、経費も少なく実り多い会にしたいと思います。第 23 回は杏林大学脳神経外科永根基雄先生が会長に悪性脳腫瘍治療における新規分子標的、原発性悪性脳腫瘍に対する radiosurgery などをテーマに行います。

機関誌 Vol11-No2 は多数の演題の大部分が投稿され、内容のある機関誌となりました。山浦先生からはこの機関誌の abstract を英文で載せれば更に価値のある機関誌へと発展するとのご意見をいただきました。次号からはぜひ英文 abstract または英文そのものが増えることを希望します。近年、脳腫瘍の診断と治療における進歩はありますが、それぞれの症例でかなりの工夫が必要です。適切な治療とは？永遠の命題であります。しかし、症例数の少ない各施設では EBM に基づいた治療を決められません。この会で新しい試みを望む声が高まりつつあります。Low grade astrocytoma または diffuse astrocytoma の治療に対する共同研究の試案を提案いたします。皆様の忌憚ないご意見をお聞かせください。

Neuro-Oncology (Tokyo) Vol 11 No2.2001

2001 年 12 月 発行

編集・発行 / ニューロ・オンコロジーの会
(編集: 久保長生)

事務局 〒162-8666

東京都新宿区河田町 8-1

東京女子医科大学 脳神経外科

Tel:03-3353-8111, Fax:03-5269-7398

E-mail: okubo@nij.twmu.ac.jp (Kubo Osami, M.D., Ph.D)