

神経膠腫の腫瘍血管の微細構造

— 血管透過性および内皮細胞の増殖能に関する形態計測的検討 —

1990

高野 晋 著

①

筑波大学審査

医学博士学位論文

神経膠腫の腫瘍血管の微細構造

—血管透過性および内皮細胞の増殖能に関する形態計測的検討—

1990

北茨城市立総合病院脳神経外科

高野晋吾

目次

I	はじめに	1
II	対象および方法	14
	1. 対象	14
	2. 方法	16
III	結果	19
	1. type Aとtype Bの血管の差異	19
	2. 良性および悪性神経膠腫の差異	20
	1) type Aの血管	20
	2) type Bの血管	20
	3. 悪性神経膠腫のうちの早期および晩期再発例の差異	22
	4. WPBの出現頻度と血管新生の関係	23
	5. 小括	24
IV	考察	26
	1. 神経膠腫の血管新生の過程	26
	1) capillary sprouts (type Aの血管) について	26
	2) 成熟した腫瘍血管 (type Bの血管) について	28
	3) 神経膠腫の血管新生の過程	29

2. 神経膠腫の悪性度と腫瘍血管の微細構造との関連	3 1
1) 血管透過性に関する微細構造の形態計測的検討	3 1
① pinocytic vesicleの数	3 3
② junctionの異常	3 7
③ その他の形態的特徴	4 0
④ 小括	4 0
2) 内皮細胞の増殖能に関する形態計測的検討	4 1
① Weibel-Palade body	4 1
② 内腔狭小度	4 7
③ 内皮細胞の核の形態異常	4 9
④ 基底膜の厚さ	5 0
⑤ mitochondrial density	5 4
⑥ 小括	5 7
3. 今後の神経膠腫治療への展開	5 8
1) 血管透過性に関して	5 8
2) 内皮細胞の増殖能に関して	5 9
V 結語	6 1
謝辞	6 3
参考文献	6 4
図表	7 3

I はじめに

悪性神経膠腫はX線CT、MRIなどの画像検査の際に造影剤を投与すると、腫瘍陰影がよりはっきりと描出される。その機序に関しては、脳血液関門 (Blood-Brain Barrier: 以下BBBと略す。) の破壊による造影剤の血管外漏出 (Gado 1975, Kormano 1976)、あるいは腫瘍の血管新生による血管内の造影剤の増加 (Taveras 1976, Butler 1978, Daumas-Duport C 1983, Zimmerman 1984, Kelly 1987) によるものと説明されている。この造影剤による腫瘍陰影の増強効果は摘出標本の病理学的検索や臨床経過からみると神経膠腫の悪性度を少なからず示唆している。

従って、神経膠腫の血管に関する研究もBBBの破壊および血管新生の2点が強調されたものが多い。BBBの破壊に関しては、機能的には血管透過性の亢進を現しており、微細構造の面からこれまでもかかずの報告がある。すなわち、Longら (1970) は19例の悪性脳腫瘍 (glioblastoma 13例、転移性脳腫瘍 1例、悪性髄膜腫 1例、dural sarcoma 1例) と6例の正常脳との比較から、悪性脳腫瘍の毛細血管の特徴は、血管内皮細胞間隙の離開であり、これが悪性脳腫瘍においてBBBが欠如しているといわれる大きな理由であると述べている。土田ら (1974) は42例の脳腫瘍の検索で、非グリア系腫瘍の血管はfenestrated capillaryがBBB欠如に関与しているのに対して、神経膠腫の血管ではLongらの報告とは異なりfenestrated capillaryあるいは内皮細胞間のjunctionの離開はみられず、血管内皮細胞は表面が不規則で、厚さを増し、pinocytic vesicleが著名に増加しているといっ

た血管内皮細胞自体の変化が強く、BBBの破綻あるいは欠如はこの内皮細胞自体の変化によるものであると述べている。Hiranoら(1975)は様々な脳腫瘍血管の観察から、腫瘍血管のBBBの欠如に関与する形態的变化として、① fenestration, ② 内皮細胞間の junctionの開大、③ pinocytic vesicleの数の増加、④ 血管の内腔に内皮細胞が複雑に突出して結果的に内腔が狭窄している像をあげており、Longら、土田らの報告を併せて考えてもBBBの破綻、すなわち血管の透過性亢進に関するコンセンサスはHiranoらのこの4種の形態的变化に集約されると思われる。

一方、腫瘍の血管新生はFolkmanら(1971)が提唱したTumor Angiogenesis Factor(以下TAFと略す。)による血管の反応性の変化と考えられている。その新生血管の形態は、悪性神経膠腫の血管の特徴の一つであるendothelial proliferationとしてとらえられ、小血管、主に毛細血管の数が増加し、内皮細胞の核の大きさ、mitotic activityが増加し、極端な場合には血管が塊をなして、内腔は屈曲蛇行し腎臓の糸球体の様相を呈するとされている(Wagner 1976, Russel & Rubinstein 1989)。このendothelial proliferationの出現する部位に関しては腫瘍辺縁部に多く、腫瘍中心部に向かうにつれて軽減し(Manuelidis 1971, Wagner 1976)、実際に悪性神経膠腫の代表であるglioblastomaの腫瘍血管と腫瘍の部位との関係を光顕所見からみた研究では、壊死を伴うような腫瘍中心部に比べて腫瘍辺縁部では血管数が約2倍(宮上 1985)、約5倍(Schiffer 1989)に増加している。また、Luthertら(1985)の実験神経膠腫の血管の光顕所見の報告でも、腫瘍中心部の血管数は正常の皮質の約20%に減じ、

血管数が最も多いのは腫瘍辺縁部であったとしている。我々も、腫瘍の部位と血管数の関係を本研究で対象とした神経膠腫のうち、良性神経膠腫5例、悪性神経膠腫7例で検討した。各症例につき、壊死を伴うような腫瘍中心部と腫瘍辺縁部の血管数を、400倍の一定視野、10視野で測定した(表、図、p11)。400倍の一定視野中の血管数は、良性神経膠腫では腫瘍中心部で4.9から8.5個、平均6.7個、腫瘍辺縁部で6.1から7.9個、平均6.8個と大体同じであった。悪性神経膠腫では腫瘍中心部で3.4から6.7個、平均4.8個、腫瘍辺縁部で11.5から30.9個、平均21.1個であり、腫瘍辺縁部では腫瘍中心部に比べて血管数が約4倍多かった。しかも、Schifferら(1989)が悪性神経膠腫の腫瘍中心部の血管の直径は、腫瘍辺縁部の血管に比べて約2倍に増大していると述べているように、壊死を伴うような腫瘍中心部では比較的大きな血管が少数みられるのに対して、腫瘍辺縁部では小さな血管が多数みられるのが特徴的であった(図、p12)。この結果は、悪性神経膠腫の腫瘍辺縁部で血管新生が盛んであることを示している。一方、黒岩ら(1987)のようにglioblastomaの血管をさらに、その機能も考えて光顕所見から分類する試みもある。彼らによると腫瘍辺縁部ではendothelial proliferationが程度の差はあれ必ずみられ、新しい内皮細胞を形成していく増殖過程の血管であるとし、腫瘍中心部にいくに従い腫瘍組織を灌漑する血管と考えられる繊維性肥厚をおこした壁の厚い微細血管と、血液を導出すると考えられる壁の薄い内腔の広い血管がみられるとしている。そして、この血液を導出する血管の内皮細胞は極端に扁平伸展しており、endothelial proliferationが減退しているとしている。これらの光顕所見の報告および我々の結果から悪性神経膠腫の腫瘍の辺縁部では血

管新生が盛んであるといえる。この血管新生の程度を定量化する試みがBremら(1972)によってなされている。即ち、400倍の視野における血管の数(vasoproliferation)、最も増生の強い血管の断面像における内皮細胞の数(endothelial cell hyperplasia)、内皮細胞、核の形からみた異型度(endothelial cytology)の3個のパラメーターを用いて血管新生の程度をスコア化したもの(microscopic angiogenesis grading system:MAGS)で、MAGSの最高値は100で、良性神経膠腫は16から50、glioblastomaは64から100となり血管新生の程度は悪性神経膠腫ではるかに高い。以上のように、神経膠腫の新生血管は増殖過程の血管で、腫瘍辺縁部に、しかも悪性ほど多く出現してくると小括される。

ところで、これら新生血管の機能的な検討、ことにその内皮細胞の増殖能という観点からはどうであろうか。腫瘍血管の内皮細胞の増殖能はlabelling index(S期細胞数の割合)を測定することにより、実験腫瘍では正常の血管に比べて30-40倍も増殖能が高いとされている(Denekamp 1982, Tannock 1970, Groothuis 1980, Feign 1958)。しかも、実験脳腫瘍では内皮細胞のlabelling indexが、腫瘍中心部に比べて腫瘍辺縁部で有意に高く(Brien 1989)、腫瘍辺縁部の内皮細胞の増殖能は特に高いといえる。最近になり、glioblastomaの血管増殖能も5-bromodeoxyuridine(BrdU)を用いた内皮細胞のlabelling indexの測定(Nagashima 1987)、growth fraction(増殖細胞数の割合)(Yoshii 1988)により、正常の血管に比べて非常に高い事が指摘されている。特に腫瘍の増殖能が高い部位、すなわち腫瘍辺縁部では内皮細胞のgrowth fractionは腫瘍のgrowth fractionよりも高い事

が指摘されている (Yoshii 1988)。以上の報告から、神経膠腫の辺縁部にみられる新生血管は、光顕所見からは形態的に単に内皮細胞の塊である endothelial proliferation を示しているにすぎなかったが、機能的には非常に高い増殖能を持つ内皮細胞からなる血管群であると示唆される。

ではこのような増殖能の高い内皮細胞の微細構造に関する検討はどうであろうか。脳腫瘍血管の微細構造に関しては多くの報告がみられるが、上で述べた BBB の破壊に関する形態的特徴以外に、Weibel-Palade body (WPB) の出現、内皮細胞の hypertrophy、ミトコンドリアの増加、内皮細胞の核の形の異常、基底膜の肥厚、pericyte の増加などが挙げられている (宮上 1985, Roy 1989, Long 1970, Weller 1977, Hirano 1975, Kumar 1980, McLone 1980, 土田 1974, 柴田 1985, Waggner 1976)。これらの脳腫瘍血管の形態的特徴のうち、Kumar ら (1980) は 6 例の medulloblastoma、1 例の astrocytoma、1 例の oligodendroglioma において腫瘍辺縁部では、腫瘍中心部に比べて血管内皮細胞内に WPB が有意に多くみられたことより、WPB は脳腫瘍の血管新生のマーカーとなり得ると述べている。宮上ら (1985) は 6 例の glioblastoma の光顕と電顕所見を併せて WPB は血管増殖に比例して増加していると述べている。このように WPB は血管新生と密接な関係があるとされているが、他の形態的特徴の意義に関して特に血管新生との関連において詳しく調べた報告はみられない。

以上述べてきた様に、神経膠腫の血管は BBB の破壊および血管新生の面から研究されている。BBB の破

壊に関する微細構造はかなり確立されたものといえるが、血管新生、換言すれば増殖能の高い内皮細胞および血管の形態的特徴に関しては現段階でもまだ不十分であるといえよう。BBBの破壊に関する形態的特徴についても、pinocytic vesicleがどれだけ増加すれば、またjunctionの異常がどれだけあればそれが悪性神経膠腫の血管といえるかという、定量的な検討は限られている。また、血管新生と密接な関係があるとされるWPBについても、正常脳血管と単に量的に違いがあるだけなのか、それとも腫瘍により新たに出現した変化なのか否かは未だに議論の多いところである。さらに、脳腫瘍血管でみられる他の形態的特徴についても、どのくらいの量が出現すれば腫瘍血管の内皮細胞といえるかすら明確ではない。

その理由の一つは微細構造を定量的に比較検討した研究が少ないためではないかと思われる。神経膠腫における形態計測的研究は少なく、主として実験脳腫瘍による研究の報告が多い。Deanら(1981-2)はratに移植されたastrocytomaの血管を腫瘍の増殖時期により分類し、その形態的特徴を定量的に詳細に検討している。Nishioら(1983)はethylnitrosourea induced gliomaにおいてミトコンドリア、粗面小胞体、核のeuchromatinの割合などの内皮細胞自体の形態的变化を定量的に検討している。これらの実験脳腫瘍は腫瘍の境界がはっきりしており、検体の採取が容易であり、電顕の検索条件は良好であるが、脳腫瘍内にみられる血管の形やpinocytic vesicleの数に関しては、ヒトの神経膠腫と比べるとかなり違いがある(Nishio 1983, Stewart 1987-3)ために、実験脳腫瘍の血管の形態的、機能的特徴がそのままヒト脳腫瘍の血管の特徴を反映してはいない。Coomberら(1988)とStewartら

(1985)は実験脳腫瘍の研究に基づき、ヒト神経膠腫の血管に関する形態計測的研究(Coomber 1987, Stewart 1987-2)を精力的に行っている。しかしながら、彼らの報告もBBBの破壊に関する定量的計測であり、内皮細胞の増殖能に関する形態計測は未解決の問題と思われる。神経膠腫の腫瘍血管の内皮細胞の増殖能を形態学的にとらえ、さらにその増殖能が内皮細胞内のどこの構造物に起因しているかを知ることにより、腫瘍血管へのtargeting治療法への展開が可能と思われる。

さらに、腫瘍血管の微細構造を定量的に検索する上で、腫瘍の部位による要素を考慮に入れることが必要である。すなわち、悪性神経膠腫の場合先にも述べたが、光顕所見あるいはlabelling indexを用いた研究で、腫瘍血管の内皮細胞の増殖能は腫瘍中心部に比べて腫瘍辺縁部で高いといえる。血管透過性に関しては、悪性神経膠腫の場合CTあるいはMRIで造影剤による増強効果がしばしばring likeになるという所見(Steinhoff 1977)は腫瘍辺縁部で血管透過性が高い事を示唆している。これらより、悪性神経膠腫の場合、内皮細胞の増殖能、血管透過性の検索に腫瘍辺縁部の血管は注目すべき血管群であると考えられる。他方、良性神経膠腫の場合、光顕所見では腫瘍中心部と辺縁部で組織所見で違いが少ないこと、CTあるいはMRIによる画像診断において境界明瞭な均一なdensityの腫瘍としてとらえられ、造影剤による増強効果がみられる場合も均一にみられる(Willkins 1985)ことから腫瘍の辺縁部と中心部で血管透過性、内皮細胞の増殖能に大きな違いはないと推測される。実際に、我々の検討でも良性神経膠腫の血管数は、腫瘍中心部と腫瘍辺縁部で大きな違いはなかった(表, 図, p11)。しか

しながら良性神経膠腫でも時間的な差はあるものの、近接正常脳実質への浸潤形式には大きな違いは無く、腫瘍辺縁部の血管について内皮細胞の増殖能、血管透過性の検索は重要である。

腫瘍の血管新生は tumor angiogenesis factor による血管の反応性の変化である (Folkman 1976)。血管新生は腫瘍組織のみならず胎生期 (Risau 1986)、糖尿病性網膜症の患者の硝子体 (Glaser 1980)、正常な生体における創傷治癒の際 (Banda 1986) などの非腫瘍組織でも活発にみられる。これらの腫瘍組織、非腫瘍組織でみられる血管新生の最初の過程は angiogenesis factor の分泌により capillary sprout ができることから始まる (Folkman 1987)。capillary sprout は、1) 蛋白分解酵素による既存の正常血管の基底膜の断裂、2) 内皮細胞の遊走、3) 2, 3 個の内皮細胞の融合によって形成される (Ausprunk 1977)。初期の capillary sprout の過程には腫瘍組織、非腫瘍組織ともに angiogenesis factor が血管新生に重要な働きをなす。その後の血管の成長においては capillary sprout の内皮細胞の増大と増殖により、長さが増して血管として完成される (Folkman 1987)。この血管として完成に至るまでの過程が腫瘍組織と非腫瘍組織では異なる。すなわち、非腫瘍組織の場合には capillary sprout ができて、血液が流れ始めると組織の酸素濃度が上昇し angiogenesis factor の産生がとまり、血管の成熟には angiogenesis factor の関与は無いとされている (Knighton 1983)。それに対して、腫瘍組織の場合には腫瘍が除去されるか、あるいは宿主が死なない限り tumor angiogenesis factor が産生され続けるために、内皮細胞の増殖が非腫瘍組織の場合よりも盛んに起こり、正常の血管

への成長が阻害されて、内皮細胞が過剰で、内腔の狭い特有の腫瘍血管が形成される (Folkman 1987, Dean 1981-1)。このように、腫瘍組織と非腫瘍組織の間には、capillary sproutから血管として完成されるまでの過程に違いがある。神経膠腫の血管新生の過程においても、報告はまだないが、まず最初にcapillary sproutが形成され、その後もtumor angiogenesis factorの分泌が続くことにより内皮細胞の増殖が盛んに起こり同様の特徴をもつ腫瘍血管の形成が起こるものと思われる。

capillary sproutはangiogenesis factorに対する生体反応として、腫瘍組織にも非腫瘍組織にも共通してみられる血管新生過程である。その後の形成過程においてもangiogenesis factorが働くか、働かないかによって血管分化に腫瘍血管としての特徴を付与するかどうかの差が生まれる。従って、神経膠腫内の血管の特性、即ち血管透過性や内皮細胞の増殖能の変化を形態的側面から捉えるためには、capillary sproutをそれ以降に分化発達した部分より除外して考える必要がある。capillary sproutはヒト胎児脳 (Hauw 1975, Allsopp 1979-1)、創傷治癒を行う組織 (Cliff 1963)、実験脳腫瘍 (Dean 1981-1)で観察されているように、1)血管内腔が非常に狭く、2)1個から数個の内皮細胞で構成され、3)核細胞質比が高く、4)基底膜が薄いという微細構造的特徴を持つ。神経膠腫の腫瘍血管においても同様の特徴を持つcapillary sproutの存在を示す報告がみられる (Weller 1977)。Deanら (1981-1)はratにastrocytomaを移植してその血管新生の過程を、腫瘍が小さい間のearly vascular stageと、腫瘍がさらに増大した時のlate vascular stageに分けて観察している。彼らのearly vascular stageでの新生血管は、ほとんどがcapillary sproutであり、late

vascular stageでみられる血管はcapillary sproutと様々な形態の腫瘍血管であるという。このように実験神経膠腫では生体反応としてのcapillary sproutとより成長した腫瘍血管が区別されていることから、我々はヒト神経膠腫の腫瘍血管を観察する場合、capillary sproutとより成長した腫瘍血管を分けて議論することが重要であると考え(図, p13)。capillary sproutの構造について、Deanら(1981-1)、Hauwら(1975)、Allsoppら(1979-1)は構成する内皮細胞の数は1から3個、内腔径は $3\mu\text{m}$ 未満と述べている。我々も内皮細胞の数が3個以下でかつ内腔径が $3\mu\text{m}$ 未満の血管をcapillary sproutに相当するtype Aの血管とし、それ以外の内腔径 $10\mu\text{m}$ 以下の血管をより成長したtype Bの血管と区別し、type Aとtype Bの血管の比較から、神経膠腫における血管新生の過程を考えてみた。本研究では良性及び悪性神経膠腫の腫瘍辺縁部の血管を、まずtype Aとtype Bに分けて、①BBB、すなわち血管透過性に関与する血管構造における両者の形態計測的差異を明らかにし、②内皮細胞の増殖能に関する形態的特徴を明らかにし、③今後の神経膠腫治療応用への展開を試みることを目的とした。

case	部位	benign glioma										平均
		number of vessels / 400x field										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	center	8	14	5	9	10	6	6	8	10	9	8.5
	margin	3	6	9	10	8	11	7	5	11	9	7.9
2	center	5	5	6	10	6	8	6	7	9	9	7.1
	margin	5	10	8	5	5	5	10	5	7	8	6.8
3	center	11	8	9	6	10	7	5	12	8	7	8.3
	margin	6	5	7	6	8	8	5	11	6	6	6.8
4	center	4	2	4	4	8	6	5	7	2	5	4.7
	margin	8	6	8	5	3	9	8	5	3	6	6.1
5	center	6	3	6	5	4	4	7	5	5	4	4.9
	margin	7	5	5	11	3	10	5	3	9	7	6.5

case	部位	malignant glioma										平均
		number of vessels / 400x field										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	center	5	3	4	3	3	4	3	4	2	3	3.4
	margin	13	8	31	16	10	9	13	12	6	10	12.8
2	center	5	1	2	4	6	4	4	7	9	4	4.6
	margin	13	11	10	13	10	9	13	12	13	11	11.5
3	center	5	3	6	5	3	4	0	6	4	10	4.6
	margin	16	12	30	8	33	26	19	18	20	13	19.5
4	center	4	6	6	6	4	5	5	6	3	4	4.9
	margin	26	40	31	29	38	29	33	29	24	30	30.9
5	center	8	6	7	10	6	8	6	3	8	5	6.7
	margin	27	17	31	22	21	22	27	27	30	24	24.8
6	center	4	5	6	4	7	3	4	7	6	5	5.1
	margin	30	31	28	30	18	27	15	20	22	27	24.8
7	center	7	2	3	4	5	4	5	5	5	4	4.4
	margin	16	25	24	25	14	17	43	14	30	27	23.5

表 良性、悪性神経膠腫の部位別血管数
各症例につき、腫瘍中心部と腫瘍辺縁部の血管数を、
400倍の一定視野、10視野で測定した。

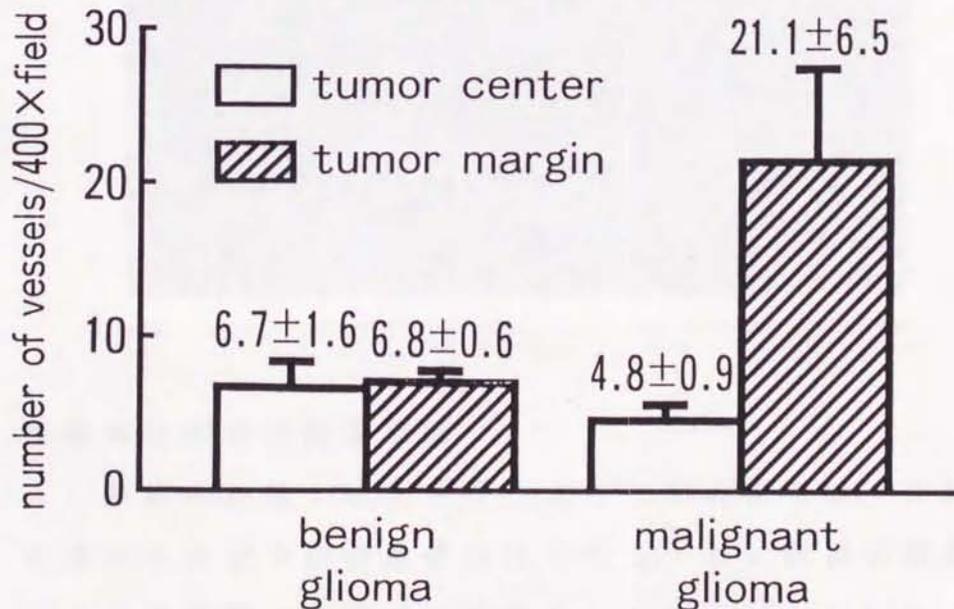
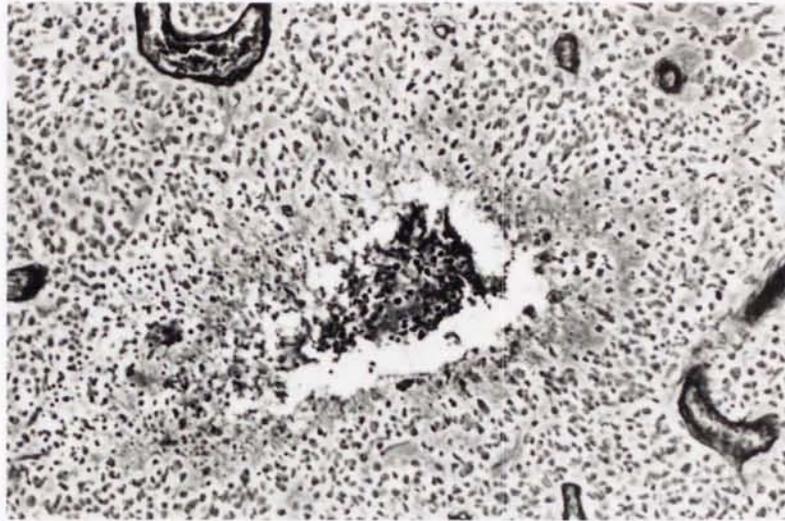


図 良性、悪性神経膠腫の部位別血管数
400倍の一定視野中の平均血管数は、良性神経膠腫では
中心部で6.7個、辺縁部で6.8個とかわり無かったが、
悪性神経膠腫では中心部で4.8個、辺縁部で21.1個と
辺縁部で約4倍多かった。

A



B

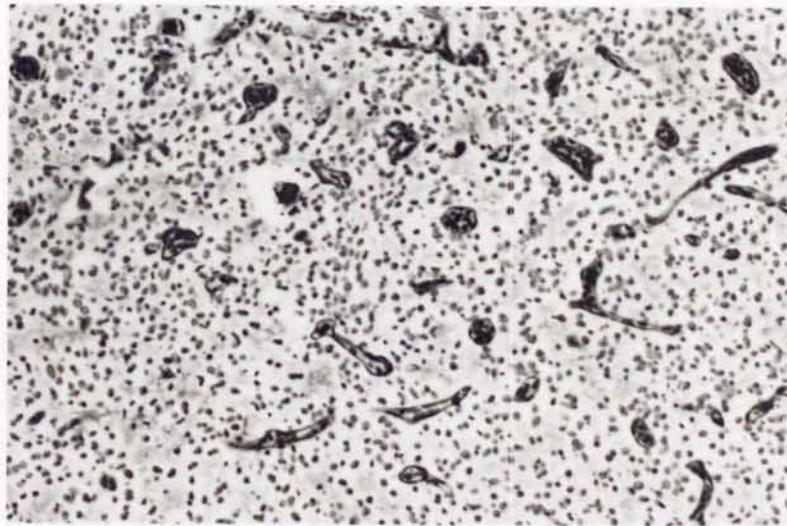
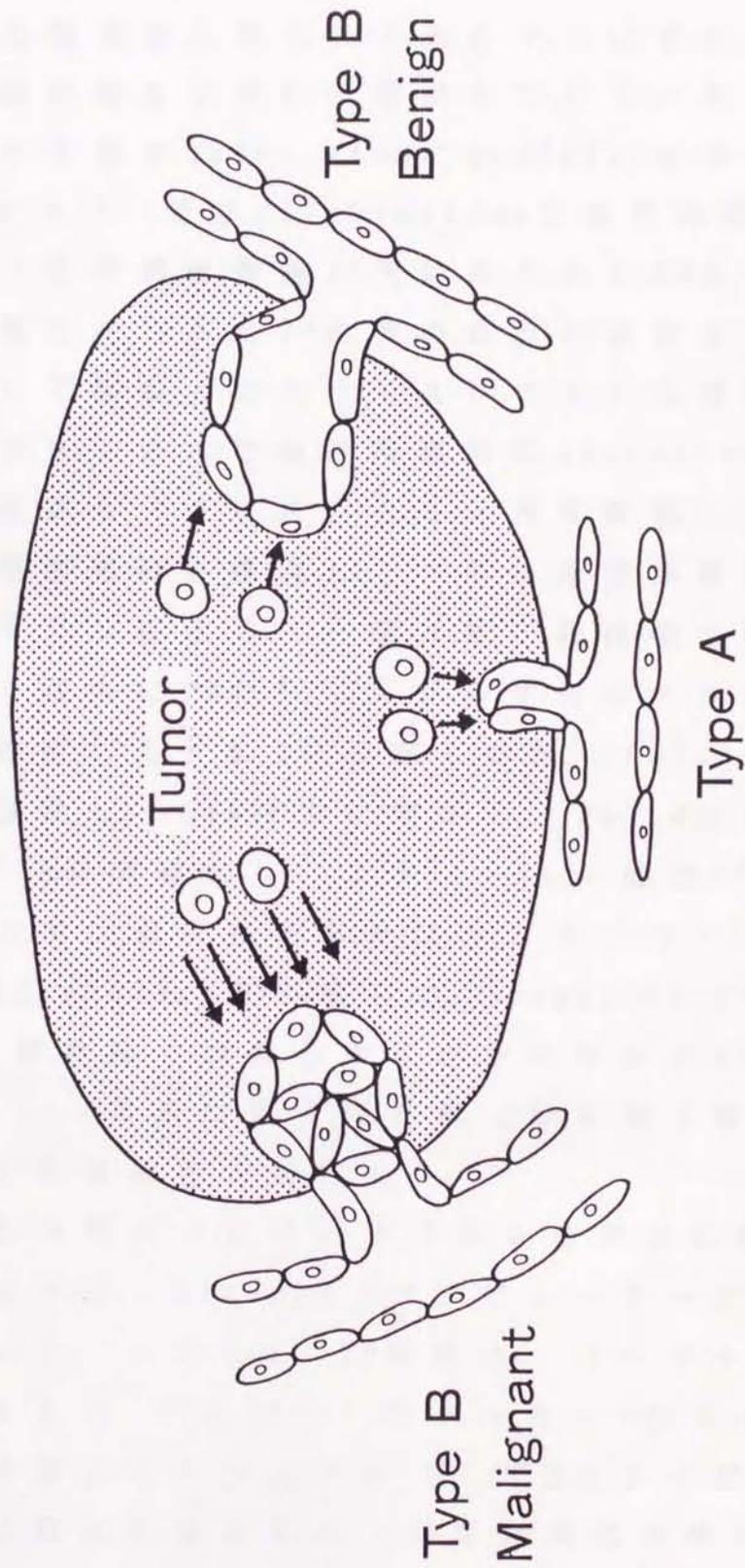


図 悪性神経膠腫の腫瘍血管

A) 腫瘍中心部：壊死を伴うような中心部では、比較的直径の大きな少数の血管がみられる。B) 腫瘍辺縁部：直径の小さな多数の血管がみられる。reticulin stain, x100

Hypothetical Illustration of Glioma vessel



II 対象及び方法

1. 対象

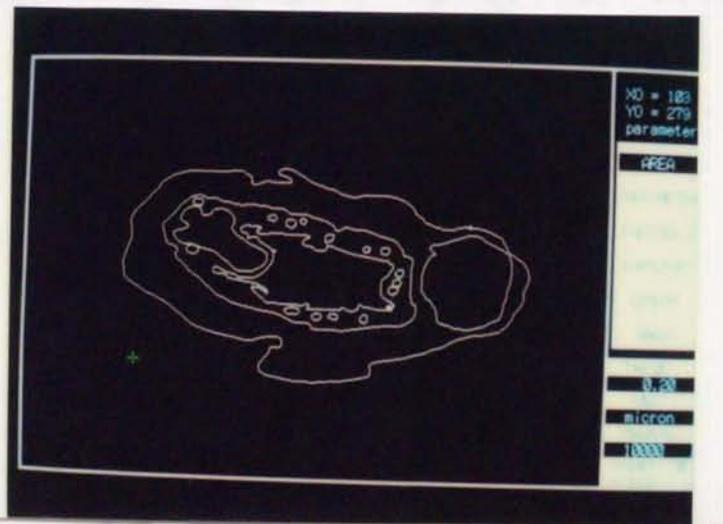
腫瘍組織は26例（男性14例、女性12例、年齢は10才から70才）の患者から得られたもので、いずれの患者も手術以前に放射線および化学療法を受けていない。対象を Kernohan の分類の astrocytoma grade 1, 2 を良性神経膠腫群、grade 3, 4、及び glioblastoma を悪性神経膠腫群の2群に分け、良性神経膠腫11例にみられた38血管、悪性神経膠腫15例にみられた37血管の合計75血管を検討した。

術前にCT画像上のスライスレベルから腫瘍辺縁部を想定しておき、さらに術中肉眼的に necrosis のみられないことを確認しスライスレベルを再度確認した上で腫瘍辺縁部の腫瘍組織を採取し、一部は光学顕微鏡の検索の為にホルマリン固定し、一部は電子顕微鏡の検索の為に手術室にて直ちに PH7.4、2% グルタルアルデヒド燐酸緩衝液で固定した。2-3日固定した後、PH7.4の燐酸緩衝液で充分洗浄し、1mm 四方に細切し、PH7.4の1% オスミウム酸中で1.5時間固定し、エタノール、酸化プロピレンにて脱水しエボン包埋したあとにトルイジン・ブルーで染色し semithin slice を作成した。semithin slice を400倍の光学顕微鏡で観察し血管の多い部分の ultrathin slice を作成し、透過型電子顕微鏡（日本電子製 JEM-100CX）を用いて腫瘍血管を観察した。

撮影された写真の面積および長さの測定には半自動画像解析システム、BILD/2D（コンピュータービルト株式会社）を用いた。このBILD/2D装置は、パーソナルコンピューター NEC PC 9801シリーズとデジタルイザータブレットを基にしたシステムで、デジタルイザータブレットの有効エリア内に電顕写真を載せ、測定対象物の輪郭をカー

ソルで描くことにより、面積、周辺長の充分精度のある測定が可能である。ページ下に実際のモニターの画面を示す。

今回検討した腫瘍血管は内腔の直径が $10\mu\text{m}$ 以下の血管に限定し、それ以上の口径を有した血管やsinusoid様の血管は除外した。その理由は腫瘍辺縁部でもまれにみられるsinusoid様の血管はその内皮細胞が極端に扁平伸展し、endothelial proliferationが殆どみられず、腫瘍内の血液を導出するための血管と考えられていること(黒岩 1987)、glioblastomaの壊死のみられない部分からの血管は、その90%以上が内腔の直径が $10\mu\text{m}$ 以下であるという報告(Coomber 1987)によっている。内腔の直径は内腔面積から以下の式で計算した(直径 $= 2 \times \sqrt{\text{内腔面積} / \pi}$)(Coomber 1985)。これら血管径の条件に加えて血管横断面で1個以上の核を有する血管を対象とした。これは内皮細胞の核の検討も加えるためである。これら2つの条件を満たした75血管は、さらに内腔の直径が $3\mu\text{m}$ 未満でかつ、構成する内皮細胞の数が3個以下の血管(type A)と、内腔の直径が $10\mu\text{m}$ 以下の血管(type B)とに分けられた。type Aは良性神経膠腫10血管、悪性神経膠腫7血管、type Bは良性神経膠腫28血管、悪性神経膠腫30血管であった。



BILD/2D装置による
腫瘍血管の形態計測

さらに、臨床像との関連をみるために、悪性神経膠腫のうち最初の手術の後、腫瘍の増大により6カ月以内に2度目の手術あるいは入院が必要になった症例を早期再発例、それ以外を晩期再発例とした。悪性神経膠腫の早期再発例は8症例で、検討された血管は16血管、晩期再発例は7症例で、検討された血管は21血管であった。

2. 方法

すべての内皮細胞、基底膜の形態的变化について以下に示すパラメーターを用いた。

(1) 内腔狭小度 (図1) : 3,300-10,000倍の低倍率の血管の全体を撮影した写真からBILD/2D装置を用いて外周面積、内腔面積を測定し、外周面積に対する内腔面積の割合を各血管につき検討した。外周とは内皮細胞の外壁であり基底膜、pericyteは含まれていない。この割合が小さいほど血管の内腔狭小度が強いと判断した。内皮細胞に核があるだけで内腔狭小度が強まる事も考えられ、今回対象となる75血管はすべて核を有したものを用了。

(2) 基底膜の厚さ (図1) : 3,300-10,000倍の低倍率の血管の全体を撮影した写真から、BILD/2D装置を用いて各血管につき外周面積および内皮細胞の基底膜、perivascular space、pericyte、astrocyteのfoot processの基底膜も含めた血管全体の面積を測定し、その得られた面積値から外周および血管全体の近似直径(calculated diameter)を上述の計算式に従って求め、(血管全体の直径 - 外周の直径) / 2の式を使って基底膜の厚さとした。

(3) pinocytic vesicleの数 (図2) : 75血管の各血管につき33,000倍の高倍率で撮影された内皮細胞の中で核あるいはjunctionのはいらない任意のtest areaを3視野選び、細胞質1 μm^2 あたりのpinocytic vesicleの数を数

え、その平均値を各血管につき検討した。

(4) junctionの異常：75血管にみられた junction 322個を33,000倍の高倍率で撮影し、junctionが明らかにopenしていたり、openしていなくても tight junctionの長さが0.25 μ m以下の junctionを異常として(図3)、その出現率を各血管について検討した。tight junctionの定義は、細胞膜の outer leafletが互いに融合し、33,000倍の写真では電子密な層としてみえるものとした。従って、真の tight junctionの他に、gap junctionの区別(小川 1974)はなされていらない。junctionの中には、部分的に tight junctionが途切れて細胞膜の outer leafletの間に間隙がみられるものや、部分的に cleft(図3B)を持つものもみられたがこれらの程度には関係なく tight junctionの長さで異常かどうかを判断した。

(5) Weibel-Palade body(以下WPBと略す。図4)：75血管すべてを10,000倍の低倍率で撮影し、血管の全体像をとらえてさらに、構成する全内皮細胞322個の中に含まれるWPBを数えた。10,000倍ではdense bodyやミトコンドリアやmultivesicular bodyと紛らわしい場合には33,000倍の高倍率を必ず加えて、その管状構造を確かめてWPBと判断した。a)内皮細胞中に含まれるWPBの数に関係なく、各血管を構成する全内皮細胞数に対する、WPBを含む内皮細胞数の割合を測定した。b)1個の内皮細胞に含まれるWPBの数を各血管につき検討した。WPBにはmatrixの比較的明るいimmature type(図4A)とmatrixの比較的暗いmature type(図4B)がみられたが、両者は区別せずに数えた。

(6) 内皮細胞の核の形の異常(図5)：3,300-10,000倍の低倍率の写真にみられた102個の内皮細胞の核を以下のgrade 0から3に分け、各血管の内皮細胞の核につきそ

の grade を検討した。 grade 0 : 紡錘形の平たい、正常と思われる形。 grade 1 : 楕円形。 grade 2 : 楕円形で、かつ軽度の surface infolding のあるもの。 grade 3 : surface infolding の強いもの。 また、核を持つ内皮細胞 102 個につき、その核細胞質比を測定した。

(7) mitochondrial density (図 6) : 10,000 倍の低倍率で撮られた 75 血管を構成する全内皮細胞 322 個についてすべてのミトコンドリアが細胞質に占める面積比を求め、各血管別に面積比の平均値を求めた。ミトコンドリアの同定は bilaminar membrane で覆われている事、その中にクリステがある事とした。

これら 7 個のパラメーターを用いて ① type A と type B の腫瘍血管に如何なる差異があるか。 ② 良性神経膠腫と悪性神経膠腫の腫瘍血管に如何なる差異があるか。 ③ 悪性神経膠腫の中でも、臨床像との関連から 6 ヶ月以内の早期再発例とそれ以外の晩期再発例の腫瘍血管に如何なる差異があるかについて検討した。尚、これら 7 個のパラメーターのうち少なく共内腔狭小度、pinocytic vesicle の数、junction の異常は、Hirano ら (1975) が述べているように血管透過性に関与するパラメーターと考えられる。

統計学的処理は各グループ間のパラメーターの平均値の差を T-test を用いて検定した。

III 結 果

良性神経膠腫、38血管の形態計測値を表1に、悪性神経膠腫、37血管の形態計測値を表2に示す。

1. type Aとtype Bの血管の差異 (表3)

type Aの血管は良性および悪性神経膠腫を併せて17血管、type Bの血管は良性および悪性神経膠腫を併せて58血管であった。type Aの3血管を図7に示す。type Aの血管は内腔の直径が $3\mu\text{m}$ 未満で、かつ構成する内皮細胞の数が3個以下と定義したので内腔の直径および構成する内皮細胞の数はtype Bの血管に比べて有意な違いがみられる。そのほかにtype Aとtype Bの血管の間で、内腔狭小度、基底膜の厚さ、junctionの異常、WPBの出現頻度、核細胞質比の各パラメーターで有意な違いがみられた。

すなわち、血管内腔狭小度はtype Aで15.0%、type Bで33.0%とtype Aで有意に($p < 0.01$)強く、slit like lumenを示すものが多かった。核細胞質比は、type Aで60.2%、type Bで51.8%とtype Aで有意に($P < 0.04$)高かった。基底膜の厚さはtype Aで $0.8\mu\text{m}$ 、type Bで $2.1\mu\text{m}$ とtype Aで有意に($P < 0.01$)薄く、また時に不連続であったりする。WPBの出現頻度に関しては、全内皮細胞に対するWPBを含む内皮細胞の割合がtype Aで8.8%、type Bで24.2%とtype Aで有意に($p < 0.05$)低く、また、1個の内皮細胞に含まれるWPBの数もtype Aで0.17個、type Bで0.66個とtype Aで有意に($p < 0.01$)低かった。junctionの異常に関してはtype Bでも9.6%にしかみられなかったが、type Aでは全くみられず有意な違いがみられた。他の内皮細胞内に含まれるパラメーター(核の形の

grade、pinocytic vesicleの数、mitochondrial density)にはtype Aとtype Bの血管の間で有意な違いはみられなかった。

2. 良性および悪性神経膠腫の差異

1) type Aの血管 (表4)

type A、17血管のうち良性神経膠腫の10血管と悪性神経膠腫の7血管の間で、上記7個のパラメーターにはいずれも違いはみられなかった。

2) type Bの血管 (表5)

(1)内腔狭小度：内皮細胞に核があるだけで狭小度が強まる事も考えられ、対象となる血管はすべて核を有し、内皮細胞の数、核の数にも差はみられていない。外周面積には差が無かったにもかかわらず内腔狭小度は、良性神経膠腫で38.7%、悪性神経膠腫で27.8%と悪性神経膠腫で有意に($p < 0.01$)強かった。良性神経膠腫の血管でも、核のある部分では内皮細胞が内腔に突出している場合があるが、悪性神経膠腫の血管では、その度合いが強く、また核の無い部分の内皮細胞も内腔に突出していることが多かった。図8(A,B,C)に内腔狭小度の弱い良性神経膠腫の3血管を、図9(A,B,C,D)に内腔狭小度の強い悪性神経膠腫の4血管を示す。

(2)基底膜の厚さ：良性神経膠腫では $1.2\mu\text{m}$ 、悪性神経膠腫では $2.9\mu\text{m}$ と悪性神経膠腫で有意に($p < 0.01$)基底膜は厚かった。図8(A,B,C)に基底膜の薄い良性神経膠腫の3血管を、図9(A,C,E)に基底膜の厚い悪性神経膠腫の3血

管を示す。悪性神経膠腫では内皮細胞の基底膜が肥厚し、時には何層にもなり、その間に大小様々な大きさの pericyte が多数みられることが多かった。また、perivascular space も悪性神経膠腫でより広がっていることが多かった。一方、astrocyte の foot process の基底膜は良性および悪性神経膠腫共に一層で薄いものが多かった。これらの構造物のどれが今回の基底膜の厚さの測定に、大きなウエイトを占めているかは検討しなかった。

(3) pinocytic vesicle の数：良性神経膠腫で 4.04 個 / μm^2 、悪性神経膠腫で 8.10 個 / μm^2 と悪性神経膠腫で有意に ($P < 0.01$) 多く見られた。pinocytic vesicle は特に血管の外腔側に多くみられ、数が多い部分では幾つかの vesicle がくっついてみられたり、vesicle が内皮細胞の基底膜側の表面と連結していることが多かった。図 10 (A, B, C) に pinocytic vesicle が多くみられた悪性神経膠腫血管の内皮細胞を示す。

(4) junction の異常：数えた junction の数は良性神経膠腫で 161 個、悪性神経膠腫で 161 個で、tight junction の長さが $0.25 \mu m$ 以下の junction を異常としてとらえた各血管別の異常の割合をみると、良性神経膠腫で 10.3%、悪性神経膠腫で 8.9% にみられたが、両者に有意な差はみられなかった。また、junction の血管内腔側は隣接する内皮細胞が細長く伸びて villous projection を形成していることが異常な junction ではほとんどで、正常な junction でもしばしばみられた。

(5) WPB について：全内皮細胞に対する、WPB をふくむ内皮細胞の割合は、良性神経膠腫で 14.2%、悪性神経膠

腫で33.5%で悪性神経膠腫で有意に($p < 0.01$)多かった。1個の内皮細胞に含まれるWPBの数は、良性神経膠腫で0.39個、悪性神経膠腫で0.92個で悪性神経膠腫で有意に($p < 0.05$)多くみられた。図11(A)にWPBが多くみられた悪性神経膠腫の1血管を示す。図11(B,C,D,E,F)はこの血管の内皮細胞の色々な部位で観察されたWPBの高倍率写真である。観察されたWPBはtubulusの配列が粗で、ゴルジ装置に近接して存在するmatrixが比較的明るいimmature typeと、部位の特徴は特に無くmatrixが暗いmature typeがそれぞれ半々であった。また、1個の内皮細胞に含まれるWPBの数は0-20個に及ぶが、WPBを持つ内皮細胞にはWPBがまとめてみられる傾向がみられ、それぞれの内皮細胞の間ではばらつきが多かった。

(6)内皮細胞の核の形について：観察した核の数は良性神経膠腫で36個、悪性神経膠腫で48個で、各血管別にみた核のスコアは良性神経膠腫で平均grade 1.3、悪性神経膠腫で平均grade 2.0と悪性神経膠腫で有意に($p < 0.01$)gradeが高かった。しかし、内皮細胞の核細胞質比は両者の間に違いはみられなかった。図8(A,B,C)でみられる良性神経膠腫の血管の核のgradeは低く、図9(A,B,C,D)でみられる悪性神経膠腫の血管の核のgradeは高い。

(7)mitochondrial density：良性神経膠腫で4.16%、悪性神経膠腫で5.64%であり悪性神経膠腫で有意に($p < 0.01$)mitochondrial densityは高かった。図12にmitochondrial densityの高い悪性神経膠腫の1血管を示す。

3.悪性神経膠腫のうちの早期および晩期再発例の差異
(表6)

悪性神経膠腫の血管のうち早期再発例の血管は16血管、晩期再発例の血管は21血管で、7個のパラメーターのうち全内皮細胞に対する、WPBを含む内皮細胞の割合が早期再発例で44.3%、晩期再発例で19.7%と早期再発例で有意に($P < 0.01$)に高かった。また1個の内皮細胞に含まれるWPBの数は早期再発例で1.20個、晩期再発例で0.50個と早期再発例で多い傾向がみられたが、他のパラメーター同様に有意差はみられなかった。

4 WPBの出現頻度と血管新生の関係

WPBの出現頻度に関しては、実際に光顕所見での血管新生との相関をみるために、良性神経膠腫3例、悪性神経膠腫9例の合計12例について、さらに検討する血管数を集積して検討した。まず、各症例につき、その腫瘍辺縁部の組織標本 (reticulin stain) において、400倍の一定視野、10視野の血管数を数えた。次に、各症例につき光顕標本に用いたのと同様な組織に電顕処理を行い、そこにみられた内腔径 $10\mu\text{m}$ 以下の5から10血管、合計77血管を電子顕微鏡を用いて観察した。そして、各症例につき、観察した血管の全部の内皮細胞に対する、WPBを含む内皮細胞の割合 (WPB-1) を測定すると共に、一個の内皮細胞に含まれるWPBの数 (WPB-2) を測定した。そして、血管数とWPB-1およびWPB-2との相関を検討した。

各症例の400倍の一定視野、10視野の血管数を表8に、WPB-1およびWPB-2を表9に示す。一視野の平均血管数とWPB-1の間には有意な($p < 0.02$)相関がみられた ($r = 0.690$ 、図16A)。また、血管数とWPB-2

の間にも有意な ($P < 0.02$) 相関がみられた ($r = 0.674$, 図 16B)。

以上より、神経膠腫の腫瘍辺縁部においては、WPBの出現頻度は血管数が多くなるにつれて高くなった。

5. 小括

1) type Aとtype Bの血管 (図 13)

type Aの血管はtype Bの血管に比べて、内腔狭小度が高く、核細胞質比は高く、基底膜は薄く、WPBの出現頻度が低かった。また、type Bの血管ではjunctionの異常が約10%にみられたが、type Aの血管ではみられなかった。

2) 良性神経膠腫と悪性神経膠腫の血管

type Aの血管では良性と悪性神経膠腫の間で違いはみられなかった。

type Bの血管では悪性神経膠腫の血管は良性神経膠腫の血管に比べて①BBBに関与する、すなわち血管透過性に関与する血管構造の形態計測的差異に関しては、内腔狭小度が強く、pinocytic vesicleが多くみられたが、junctionの異常の程度には違いがみられなかった。②その他の血管構造の形態計測的差異に関しては、WPBの出現頻度が高く、核の形の不規則さが強く、mitochondriaが多くみられ、基底膜が厚かった (図 14)。

我々の検討でみられた神経膠腫の腫瘍血管における、type Aとtype B、良性神経膠腫と悪性神経膠腫の関係をわかりやすくシェーマで示す (図 15)。

3) 悪性神経膠腫のうちの早期再発例と晩期再発例の血

管

早期再発例の血管は、晚期再発例の血管に比べて W P B を含む内皮細胞の割合が高かった。

4) 神経膠腫の腫瘍辺縁部では、W P B の出現頻度は血管数が多くなるにつれて高くなった。

IV 考 察

1. 神経膠腫における血管新生の過程

1) capillary sprouts (type Aの血管) について

腫瘍血管は腫瘍ができる事によって増殖あるいは新生した血管であるので、腫瘍血管を理解するには血管の発達、換言すれば胎生期血管の発達過程がそのよいモデルであるように思える。ヒト脳の毛細血管の発達に関しては、Hauwら(1975)の報告がみられる。彼らはヒト胎児の小脳と olfactory bulb にみられた capillary を type 1 から type 5 に分けている。彼らのいう type 4 の血管は、①血管の内腔は曲がりくねって殆ど開通していない状態で、②2,3個の内皮細胞より構成され、③内皮細胞の核は不規則な形を有し、④基底膜は非常に薄く、不連続で、⑤多数の free ribosome と mitochondria がみられ、⑥ endoplasmic reticulum や pinocytic vesicle はわずかであるといった形態的特徴を有し、capillary sprouts であると述べている。また、Deanら(1981-1)は rat に移植された astrocytoma において、腫瘍辺縁部の血管は、直径が小さく、内腔が slit-like で、内皮細胞の核は大きく、不規則な形をしていて、核小体が目だつ血管で、Hauwらのいう血管に相当するものだとしている。ヒト悪性神経膠腫の腫瘍辺縁部の血管については、Wellerら(1977)の報告にみられる immature capillary では内皮細胞は plump で、内腔は slit-like で、基底膜は薄く、内皮細胞の核細胞質比が高く、細胞内小器官が比較的乏しいという特徴を持っており、これも Hauwらのいう血管に相当すると思われる。我々の検索では、内腔の直径が $3\mu\text{m}$ 未満でかつ構成する内皮細胞の数が3個以下の血管と定義した type A の血管が

Hauwら、Deanら、Wellerらの報告している血管と形態的に合致しており、しかも標本採取部位も腫瘍辺縁部ということを考え合わせると capillary sprouts に相当する血管であると考えられた。ただし、Deanら(1981-1)の capillary sprouts で見られたような内皮細胞の数より、tight junction の数が多い様な血管や、核が分裂している様な像、あるいは Allsoppら(1979-1)が胎児脳で示した様な junction の無い1個の内皮細胞よりなる "seamless" capillary はみられなかった。おそらくはこれらの実験脳腫瘍、胎児脳における新生血管は我々の type A の血管よりさらに未熟な血管と考えられる。

capillary sprouts がみられるのはヒト胎児脳(Hauw 1975, Allsopp 1979-1)、実験脳腫瘍(Dean 1981-1)、ヒト神経膠腫(Weller 1977)だけでなく、創傷治癒を行う組織では全身どこでも出現しうるので(Cliff 1963)、生体反応から惹起された新生血管であると理解でき、従って我々の検索でも type A の血管においては神経膠腫の良性、悪性との間で各パラメーターに量的な差異が無かったこともうなずける。

1971年、Folkmanらの tumor angiogenesis factor の報告以来、腫瘍のみならず種々の組織由来の angiogenesis factor が研究されている。Bandaら(1985)による創傷治癒の際に出現する、wound fluid angiogenesis factor や、Glaserら(1980)による糖尿病性網膜症の患者の硝子体や、Risauら(1986)によるマウス胎仔腎、ニワトリ胎仔脳に出現している正常組織由来の angiogenesis factor の報告がみられる。これらの数多い報告は angiogenesis factor の多種多様性を示唆しているようである。さらに、Folkman(1987)らが angiogenesis factor の作用機序は2種類あると報告しているのは注目に値する。即ち、直接血

管内皮細胞に働いて内皮細胞の移動と mitosis を刺激して、血管新生を行う因子と、宿主の細胞、例えば macrophage に作用して endothelial growth factor や内皮細胞に対する chemotactic factor を遊離させ、間接的に血管新生を行う因子の 2 種類があるとしている。いずれにしても生体反応性の新生血管の形成には、angiogenesis factor が作用して内皮細胞の遊走をおこし、内皮細胞が蛇行し、solid sprout を作ることから始まり、この sprout の長さが増大し 2 つの sprout の先端が融合して血管腔ができることにより capillary sprouts が形成される (Folkman 1987) ものと解釈される。従って、形態的に定義された capillary sprouts は、angiogenesis factor の研究からも論理的に説明され正常の生体が持っている血管反応としての新生血管と理解してよいと思われる。

2) 成熟した腫瘍血管 (type B の血管) について

さて、腫瘍、非腫瘍組織どちらからも capillary sprouts を出発点として成熟した血管になるが、両者の大きな違いは非腫瘍組織の場合 angiogenesis factor により新しい毛細血管が組織の中に作られることにより、組織の酸素濃度が上昇すると、angiogenesis factor が産生されなくなり、そのために血管の成熟には angiogenesis factor の関与は無いとされているのに対し、腫瘍組織の場合 tumor angiogenesis factor が産生され続けるため内皮細胞の増殖が続くだけでなく、正常の成熟が阻害されて、腫瘍血管に分化していくと考えられている (Folkman 1987)。この成熟した脳腫瘍の血管の微細構造に関しては多くの報告がみられる (宮上 1985, Roy 1989, Long 1970, Weller 1977, Hirano 1975, Kumar 1980, McLone 1980, 土田 1974, 柴田 1985, Waggner 1976) が、特に悪性神

経膠腫に関して論じたものがほとんどである。これらをまとめると、血管の透過性に関しては pinocytic vesicle の増加、junction の異常、luminal surface infolding の増強が共通点であり、一方その他の微細構造に関しては WPB の増加、内皮細胞の hypertrophy、ミトコンドリアの増加、内皮細胞の核の形の異常、基底膜の肥厚および pericyte の増加が共通点であった。これらの形態的特徴は我々の悪性神経膠腫の type B の血管の形態そのものである。従って、我々の type B の血管は成熟した腫瘍血管であると示唆される。

3) 神経膠腫における血管新生の過程

今まで述べてきた様に、type A の血管は正常の生体が持っている血管反応としての新生血管であり、type B の血管はより成熟した腫瘍血管であると考えられる。神経膠腫の腫瘍辺縁部でみられた type A と type B の血管の関係は、Deanら(1981-1)が rat に移植した astrocytoma において観察した血管新生の過程のうちの late vascular stage にみられた capillary sprouts と成熟した血管との関係、Wellerら(1977)が悪性神経膠腫の辺縁部で観察した capillary sprouts と成熟した血管との関係と一致している。すなわち、神経膠腫の血管新生の過程は腫瘍からの angiogenesis factor のうち、内皮細胞を遊走させる factor により既存の血管から 2-3 個の内皮細胞が遊走してきて、これが融合して小さな管腔を形成し (type A の血管)、その後も angiogenesis factor が分泌され続け、内皮細胞の増殖を促す factor により、type A の血管の内皮細胞が増殖を繰り返して、悪性および良性神経膠腫とも成熟した血管 (type B の血管) ができると推測される。そして、type B の血管では、良性と悪性神経膠腫の間で

様々な形態的差異がみられたのは、内皮細胞の増殖を促す angiogenesis factor の量がただ単に違うだけか、あるいはその種類が違うためと考えられる。

さらに、我々の type A と type B の血管の差異の結果から type A の血管の微細構造で重要な点は、従来言われている slit like lumen、薄い基底膜、高い核細胞質比の他に junction の異常が全くみられなかった点である。これは、最近の実験脳腫瘍における HRP を使った血管透過性に関する研究でも証明されている (Nir 1989)。しかも、pinocytic vesicle の数が type B の良性神経膠腫同様少なかった点である。すなわち、junction の異常、pinocytic vesicle の数の増加という血管透過性に関する微細構造の変化がみられないことより、type A の血管は血管透過性に関する血管群ではないといえる。一方、後で述べるように WPB の出現は内皮細胞の増殖能に関する形態的变化と考えられるが、type A の血管の WPB の出現頻度が、type B の血管に比べて有意に少なかった。これは、Sholley ら (1984) が rat の角膜の炎症反応性の血管新生モデルにおいて、2000-8000 rads の X 線照射をして内皮細胞の増殖を止めても vascular sprouts がみられたという報告にあるように、vascular sprouting には内皮細胞の増殖が必要でないことをうらずけているかもしれない。

2. 神経膠腫の悪性度と腫瘍血管の微細構造との関連

我々の研究の目的は神経膠腫の血管のBBBに關与する、すなわち血管透過性に關与する血管構造の形態計測的差異を明らかにし、内皮細胞の増殖能に關する形態的特徴を明らかにすることであり、これらの検索の条件に当てはまる血管を選ぶために良性および悪性神経膠腫にみられる血管のうち様々な設定を設けてきた。腫瘍辺縁部の血管であること、内腔の直径が $10\mu\text{m}$ 以下であること、断面に核を含むこと、capillary sproutsでないことである。そして、この設定にみあう血管がtype Bの血管であり、血管透過性および内皮細胞の増殖能に關与する血管群であると考えられる。そこで、我々はType Bの血管において、神経膠腫の悪性度によっていかなる微細構造の差異があるかを形態計測的に検討したところ、様々な違いが明らかにされた。ここでは、この微細構造の違いがどのように血管透過性および内皮細胞の増殖能に關係しているかをパラメーター別に考察する。

1) 血管透過性に關する微細構造の形態計測的検討

血管の内腔からextracellular spaceへの物質の移送は、その物質が非常に小さい(1nm 以下)場合は、内皮細胞を通してのdiffusionが可能であるが(Fenstermacher 1966)、それより大きい物質の場合は3種類のルートがあると考えられている。まず、junctionを介するinter-endothelial route、次にfenestrationを介して、最後にpinocytic vesicle(以下PVと略す。)を介するtrans-endothelial routeである(Rapoport 1976, Brightman 1977, Van Deurs 1980)。血管透過性が亢進するような様々な状態でこれら3種類のどのルートが主に關与している

かが horseradish peroxidase (HRP) などの tracer を用いて検討されている。

頭部外傷では P V の増加が重要であるとされている (Castejon 1980, 1984, Povlishock 1978)。acute hypertension や高浸透圧溶液による B B B の osmotic opening の実験では P V の増加によるとする報告 (Farrell 1984, Westergaard 1977-1, 1977-2, Hansson 1980, Nag 1979) と、tight junction の opening によるとする報告 (Nagy 1979-1, 1979-2, Brightman 1973) に分かれている。実験脳腫瘍では fenestration によるとする報告 (Brightman 1971, 1972, Vick 1972, 1977) や、junction の open あるいは空隙によるとする報告 (Vick 1972, 1977, Nishio 1983, Blank 1976, Stewart 1985, Coomber 1988) や、P V の増加によるとする報告 (土田 1974-2, Cox 1976, Dean 1981-2) など様々である。

この様に各種の血管透過性が亢進している状態での研究は多くみられるが、何が血管の透過性に影響を及ぼしているかを結論するのは難しい状況である。特に実験脳腫瘍の場合、誘発する腫瘍の種類、動物の種類によって異なった結論がでるのであるとされている (Nishio 1983) ため、ヒト脳腫瘍にその結果を直接あてはめるわけにはいかない。ヒト脳腫瘍に関しても、脳腫瘍血管の透過性の亢進を論じるにはこの3種類のルートを検討する必要がある。このうち、fenestration に関しては脳腫瘍血管の場合、papilloma、neurinoma、meningioma ではしばしば fenestration が見られる (Hirano 1975) が、神経膠腫の場合みられることはほとんど無いとされている (Hirano 1975, 土田 1974, Long 1970)。我々の結果でも 75 血管中 fenestration はいずれの血管にもみられず、神経膠腫の血管の場合には fenestration は物質の移送には大き

な役目を果たしてはいないと考えられる。残りの2種類のルートであるP Vの増加、junctionの異常のどちらが、神経膠腫の腫瘍血管透過性の亢進に関与しているかについても、我々の検討でみられたようにP Vの増加によるとする報告(Raimondi 1964, 土田 1974-1, Roys 1989, Castejon 1985)と、junctionの異常によるとする報告(Long 1970, Coomber 1987)と、両者によるとする報告(Stewart 1987-2, 柴田 1985)があり結論をみていない。

以上、神経膠腫の血管透過性に関係する形態的特徴として①P Vの増加、②junctionの異常に加えて、③その他として、はじめに述べたようにluminar surface infoldingが挙げられる(Hirano 1975)。それぞれの形態的变化に対して定量的な評価を加えてみる。

① P V の 数

P Vは脳血管では非常に数が少なく、脳腫瘍の血管では増加するといわれている(Coomber 1987, Hirano 1975, 柴田 1985, Stewart 1987-2, 土田 1974-1)。脳腫瘍のなかでも悪性神経膠腫では特にその増加が著明であるとされており(Long 1970, Mclone 1980, 宮上 1985, Weller 1977)、宮上ら(1985)はさらにその辺縁部で増加が著明であったとしている。これらの結果が悪性神経膠腫のCTスキャン、MRIでは造影剤による増強効果、腫瘍周辺部の浮腫としてとらえられる血管の透過性亢進に関与していることは間違いないと思われる。

しかし、P Vの数の定量となると、報告は最近に限られており、ヒト脳の正常のP Vの数は細胞質 $1\mu\text{m}^2$ あたり3-4個とされている(Coomber 1987, Stewart 1987-1, 1987-2)。我々の検討ではP Vの数は良性神経膠腫の腫瘍血管で細胞質 $1\mu\text{m}^2$ あたり4.04個、悪性神経膠腫の腫瘍

血管で8.10個であり、良性神経膠腫ではほぼ正常と同じP Vの数であるが、悪性神経膠腫では有意にP Vが多かった。しかも、後で述べるように我々の検討ではjunctionの異常の割合が良性および悪性神経膠腫で違いが無かった為に、悪性神経膠腫における血管透過性の亢進にはP Vの増加が主因をなしていると考えられた。悪性神経膠腫の腫瘍血管のP Vの定量になると報告はさらに少なく、Coomberら(1987)がglioblastoma5例の68血管を検討しており、彼らはglioblastomaにおけるP Vの数は2.9-6.8個で、正常の部分のP Vの数と有意差は無かったとしている。また、良性と悪性神経膠腫のP Vの数を定量しているのは柴田ら(1985)の報告に限られている。彼らはフリーズフラクチャーレプリカ法によりP Vを測定し、細胞質 $1\mu m^2$ あたりglioblastomaで24個、astrocytomaで34個と両者ともに正常の状態よりは明らかに増加しているが、両者の間では有意差は認めなかったとしている。そしてCoomberら(1987)、柴田ら(1985)はjunctionの異常の割合が悪性神経膠腫で多くみられることから、血管透過性の亢進にはP Vではなく、junctionの異常が主因をなしているのではないかと述べている。この様に神経膠腫のP Vの定量値に関しては一定の値がでていない。この違いは内皮細胞内のP Vの数の測定を行う時のtest areaの選択によるのかも知れない。すなわち、高倍率で血管の内皮細胞に含まれるすべてのP Vを測定するのは難しい為にその測定に当たってはtest areaを選ぶ。Coomberら(1987)は内皮細胞の核の辺縁とそこから最も遠いjunctionとの中間部位をtest areaとしているのに対して、我々は内皮細胞の核あるいはjunctionが入らない任意の3視野をtest areaとしたためであろうか。

最近の、surface membrane mordantsを用いた研究

(Wagner 1981, Bundgaard 1983-2, Jones 1983)や serial reconstructionにより P V を 3 次元的にとらえた研究 (Bundgaard 1983-1, Frokjaer-Jensen 1985, Coomber 1986) から P V の中にもいくつかのタイプがあると考えられている。Coomberら(1986)は、mouse の内皮細胞にみられた P V を、a)他の vesicle とくっついている fused vesicle、b)血管の内腔や外腔に開いている surface-connected vesicle、c)ゴルジ装置や endoplasmic reticulum と連結している tube-connected vesicle、d)細胞質内に孤立している free vesicle の 4 種類に分類し a)と b)の vesicle が脳血液関門の無い部位 (area postrema, choroid plexus) の血管内皮細胞、骨格筋の血管内皮細胞で有意に多く、c)と d)の vesicle は血管の部位にその数に関係ないことより、P V の中でも血管の透過性に関係するものは fused vesicle あるいは surface-connected vesicle であろうと述べている。但し、fused vesicle や surface-connected vesicle でも実際にいくつかの vesicle がくっついて大きな cluster を作り、血管の内腔と外腔を直接交通させているような所見 (Simionescu 1978) は、これらの研究でも殆どみられていないため、free vesicle も物質を取り込んで直接運搬するという "shuttle" 機能 (Palade 1961) により血管透過性に関与している可能性はある。我々の結果でも P V の多いところは 2、3 個の vesicle がくっついたり、血管の特に外腔側に接しているものが多くみられたことは注目に値する。今後はただ単に P V の数の測定だけでなく、fused vesicle あるいは surface-connected vesicle の数の測定が血管透過性の亢進の有無を判断するのに必要になってくるのではないかと思われる。

また、内皮細胞内にみられる P V は内腔から外腔への物質の移送、外腔から内腔への物質の移送両者に関係

し、このうち血管透過性の亢進に関与するのは内腔から外腔への物質の移送であるという報告(Broadwell 1983)は、P Vの数の測定だけでは血管透過性を論じられない事を示す。実際に、Nirら(1989)は実験脳腫瘍の血管透過性に関する研究で、確かにP Vの数は増えているが、血管内に注入されたHRPを取り込んでいるP Vの数は正常脳と変わらずに、HRPを取り込んでいない血管外腔側のP Vが増えていることから、P Vの増加は血管外腔から内腔への物質の移送に関与しているのかも知れないと述べている。実験的なvasogenic edemaの研究(Vorbrodt 1985)でも血管外のHRPでラベルされた浮腫液が血管内に取り込まれることから、何らかの再吸収の機構が内皮細胞にはあるはずであり、血管外腔に多くみられるP Vはその一端を担っているのかも知れない。我々の研究のようにヒト脳腫瘍を対象とした場合、HRPなどのtracerを使った検索が難しい為に(Roy 1989)、P Vの数の増加が血管外腔から内腔への再吸収に関与しているかどうかは不明といわざるをえない。これらの問題点の解決には、今後P Vの評価にあたり、形態的变化だけでは無く、Lossinskyら(1983)、Maedaら(1985)、Vorbrodtら(1985)、Ryanら(1985)がP Vと細胞膜のalkaline phosphataseなどの酵素の局在の関係を血管透過性の面から述べているように、P Vのcytochemicalな機能も同時に評価していく必要が出てくると思われる。しかし、現段階では実験脳腫瘍において、tracerが注入後15分では血管内腔のみにみられ、注入後30分では増加したP Vに、注入後45分でperivascular spaceが順番に染まってくるという報告(土田 1974-2)や、BBBのosmotic openingの実験で、血管内腔側の細胞膜に結合するcholeraenoid-peroxidaseをopeningの前に投与しておくと、これでマークされたP Vが増えると

いう報告 (Hansson 1980)、perivascular spaceには tracer がみられないのに基底膜に接した P V には tracer がみられるという報告 (Nag 1979) から、P V の増加は血管の透過性亢進に関与すると考えて良いと思われる。

以上、神経膠腫の血管透過性の亢進に関して我々の検討からは、従来の報告にみられるように P V の増加がその主因であると考えられたが、P V の定量についてはさらに 3 次元的な計測および cytochemical な機能との関連性の検討が必要と思われた。

② junction の異常

脳腫瘍の血管は大抵の場合に tight junction でお互いの内皮細胞が結合しており (Hirano 1975)、時に open channel となっている場合があるとされている (Long 1970)。しかし、junction が完全に open となっているものは極めて少なく、open となっている場合もその血管の壁の厚さが薄いものが多いようである (Long 1970)。従って、HRP などの tracer を使った B B B の osmotic opening に関する実験 (Westergaard 1977, Hansson 1980, Nag 1979) でも、tight junction が一部でも残っており tracer が血管の内腔と外腔とを交通している所見がみられない場合には、その junction は intact であるとされてきた。

tracer を使った機能形態的な検討の他には tight junction の異常を定義する方法はまだ確立されていないようだが、Frontら (1984)、Nirら (1986) が神経膠腫において、腫瘍の ^{99m}Tc の取り込みの割合と電顕で観察された腫瘍血管の tight junction の長さに逆の相関があるとしている報告は、形態的に junction の異常をとらえるのに参考になる。すなわち、 ^{99m}Tc の取り込みが多い腫瘍の血管では tight junction の長さが $0.25\mu\text{m}$ 以下であるものが多か

ったのに対して、 ^{99m}Tc の取り込みが少ないか全くみられない腫瘍の血管の多くはtight junctionの長さが $0.5\mu\text{m}$ 以上であったので、tight junctionの長さが $0.25\mu\text{m}$ 以下のjunctionは"leaky"junctionであると定義している。

我々も彼らの報告を参考に、神経膠腫の腫瘍血管のtight junctionの長さが $0.25\mu\text{m}$ 以下のjunctionを異常と定義して、良性および神経膠腫の腫瘍血管のjunctionを観察した。その結果、junctionの異常の割合は良性および悪性神経膠腫共に約9-10%で、両者の間に有意な違いが見られず、神経膠腫の血管の透過性亢進にはjunctionの異常の関与は少ないと結論した。

しかし、最近のjunctionの異常に関する研究報告(Bundgaard 1984, Coomber 1987, Stewart 1987-1, 1987-2)にはtight junctionの長さよりも、tightでない部分のうち特に一部だけ広がった部分(これをcleftと呼ぶ。)に注目しているものがみられる。このcleftは、連続切片による電顕的観察により3次元的にとらえると、隣同士でつながり血管の内腔から外腔へとつながる一つの蛇行したparacellular routeとなっているという報告(Bundgaard 1984)や、脳腫瘍以外の血管の透過性が高まっているような状態でもみられる(頭部外傷: Castejon 1985, osmotic stress: Nagy 1979-2, Dorovini-Zis 1983, Nagy 1985, hydrocephalus: Nakagawa 1984, Experimental allergic neuritis: Hahn 1985, Histamine-induced permeability of bovine lung vessels: Meyrick 1984)ことから、junctionのcleftの多さが血管の透過性に関係しているのではないかと考えられている。Coomberら(1987)はjunctionのouter leafletが 10nm 以上離れている部位をcleftと定義して、cleftを持つjunctionの割合を求めた。その結果、正常脳ではその割合が皆無であったのに対し、

glioblastomaではその割合が0から21%であり、かつP Vの数が両者の間で変わり無かったことより、cleftを持つjunctionの多さがglioblastomaの血管透過性の亢進に関与していると述べている。また、Castejonら(1985)はjunctionが完全にopenしていなくても、junctionのcleftあるいはjunctionの基底膜側と連結するtubular structureやP Vが血管の透過性に関係していると述べている。Stewartら(1987-1, 1987-2)もglioblastomaの腫瘍周辺脳および正常脳の検討からjunctionalのcleftが血管透過性に関係していると述べている。

我々もjunctionのcleftの概念(Coomber 1987)も取り入れて再検討してみたが、cleftを持つjunctionの数は良性神経膠腫のjunction 161個のうち5個、悪性神経膠腫のjunction 161個のうち6個にすぎず、これらをjunctionの異常ととらえてみても両者の間に差異はみられなかった。

また、柴田ら(1985)はjunctionの全貌をとらえられるとされている(Farrel 1984)フリーズ-フラクチャーレプリカ法によりjunctionを観察し、正常脳およびastrocytomaのjunctionのstrandは7条であるのに対し、glioblastomaのjunctionのstrandは2-3条と少なく、未熟なtight junctionであり、glioblastomaの血管の透過性亢進にはこのjunctionの未熟さが関与していると述べている。

このように、glioblastomaのjunctionは正常あるいはastrocytomaと比べて、cleftを含む割合が多かったり、構成するstrandの数が少なかったりするという報告もみられるが、今回の我々の結果では良性神経膠腫と悪性神経膠腫の間に少なくとも、junctionのopenあるいはshort junctionの程度に関しては差がみられず、この点からは神経膠腫の血管の透過性にjunctionの関与は少ないとい

える。

③ その他の形態的特徴

luminar surface infoldingは後でも述べるが、内皮細胞のhypertrophyを表している他に血管の透過性にも関係している。つまり、luminar surface infoldingにより血管内腔と内皮細胞の接触面積が増えることで、血管の内腔と脳実質のfluid transferが増す状態になると考えられている(Hirano 1975)。従って、我々の検討で内腔狭小度で代用したluminal surface infoldingが悪性神経膠腫において強いという事は、悪性神経膠腫の血管透過性がより高い事を表しているとも考えられる。luminar surface infoldingの程度の定量に関しては、後で内皮細胞の増殖能と関連して述べる。

血管内腔側にみられるmicrovilliも内皮細胞と血管内腔との接触面積を増大させるという点で血管透過性に関与していると考えられている(Hirano 1975, Long 1970, Waggner 1976, Roy 1989)。我々の検討でもCoomberら、Stewartらのjunctionのcleftとは違い、junctionが血管の内腔側および外腔側で開き、そのまま血管内腔あるいは細胞外腔に通じている所見はたびたびみられた。特に血管内腔側ではjunctionが開き、villous projectionを形成している事が多く、血管内腔側のmicrovilliと同様に血管透過性の亢進に関与していると考えられたが良性神経膠腫と悪性神経膠腫の間でその程度に違いはみられなかった。

④ 小括

神経膠腫の血管透過性を形態計測的にとらえるには

P V の数、 junction の異常の程度、luminal surface infolding の程度を測定する事は重要である。我々の検討では細胞質 $1\mu\text{m}^2$ あたりの P V の数が良性神経膠腫の腫瘍血管では4個で、正常と変わり無かったが、悪性神経膠腫の腫瘍血管では8個と有意に増加していた。しかも、short junction あるいは cleft を持つ junction を異常ととらえた junction の異常に関しては、良性および悪性神経膠腫の腫瘍血管とも差を認めなかった。また、luminal surface infolding が著明であると強まる血管内腔狭小度が悪性神経膠腫で強かった。従って、神経膠腫の腫瘍血管の血管透過性の亢進は P V の増加、luminal surface infolding がその主因である。

2) 内皮細胞の増殖能に関する形態計測的検討

脳腫瘍血管、特に悪性神経膠腫の血管の微細構造を内皮細胞の増殖能と関連つけて検討した報告は未だに少ない (Kumar 1980, 宮上 1985)。どのような内皮細胞の形態的变化が、どのくらいみられればその内皮細胞の増殖能が高いかを検討するために、我々は W P B の出現頻度、内皮細胞の核の形の異常、内腔狭小度、換言すれば内皮細胞の hypertrophy の程度、ミトコンドリアの量、基底膜および pericyte の増殖程度を良性および悪性神経膠腫の血管増殖能の高いと考えられる腫瘍辺縁部の血管について検討したところ両者の間で有意な違いがみられた。これらのパラメーターと内皮細胞の増殖能との関係を一つ一つ考察してみる。

① W P B

W P B は、1964年に Weibel と Palade が正常の rat と

frogの血管内皮細胞にみつけた、直径が $0.1\mu\text{m}$ 、長さが $3\mu\text{m}$ で、限界膜に限られ、中に厚さ 4\AA 、外径 $150-200\text{\AA}$ のtubuleを認める円柱状の桿体である。tubuleの配列が粗で、ゴルジ装置に近接して存在するmatrixが比較的明るいimmature typeと、部位の特徴は無くmatrixが暗いmature typeと、kawamuraら(1974)が転移性脳腫瘍で報告した、vacuole内にWPB内のtubulusと同様の構造を認められたtypeの3種類があるといわれている。この第3のtypeはHiranoら(1978)、Ohsugiraら(1977)によっても認められている。まず、Golgi sac内に突起を形成し、これが淡明な管状物となってゴルジ装置から分離したのがimmature typeで、その後約2週間を経てmature typeに成長、発達すると考えられている。宮上ら(1985)はglioblastomaにみられるWPBに関してimmature typeの増殖が主体を占めるとするのに対し、我々が観察したWPBは、特に区別してカウントはしなかったがmature typeとimmature typeがほぼ半々であり、Hiranoら(1975)の報告と同様であった。我々の検索ではKawamuraら(1974)、Hiranoら(1978)、Ohsugiraら(1977)のいう第3のtypeはみられなかった。

WPBの機能に関しては、a)血液凝固との関連(Eweinstein 1987, Wagner 1982, Fujimoto 1982, Kagawa 1987)、b)血圧上昇機能との関連(Bertini 1970)、c)血管収縮作用との関連(Fujimoto 1978, Kumar 1980, Kagawa 1987)、d)内皮細胞の増殖との関連(Davison 1980, Kawamura 1974, Kumar 1980, 宮上 1985)などがあげられている。このうち、血液凝固との関連については第VIII因子関連抗原がWPBにみられた事(Wagner 1982, Schiffer 1989)、実際に電気泳動法によりWPBが分子量 220k のvon Willebrand因子と分子量 100k のプロポリペプチドの少なくとも2種類のペ

プチドを含有している (Ewenstein 1987) 事から、W P B が von Willebrand 因子の生合成、貯蔵、放出にあずかることは間違いないようである。生体内では胎生循環の生理的閉塞期に W P B が著明に増加する事から、血管の血栓性作用に働いているという報告もみられる (Fujimoto 1982, Kagawa 1987)。このように W P B は多くの機能を持つと示唆されるが、特に我々は血管内皮細胞の増殖との関係に注目して検索した。

W P B は血管内皮細胞に特有のものでありカエル、動物、人間の正常組織のみならず、炎症性、腫瘍性の病的組織の血管内皮細胞にも広く存在するが、正常の脳血管には非常に少ないと言われている (Herrlinger 1974, 宮上 1985)。脳腫瘍の中では medulloblastoma、ependymoblastoma、pituitary adenoma の腫瘍血管の内皮細胞でよくみられるとされている (Hirano 1975)。Kumar ら (1980) は 6 例の medulloblastoma、1 例の oligodendroglioma、1 例の astrocytoma における検索において腫瘍の辺縁部では、中心部に比べて、1 個の内皮細胞に含まれる W P B の数は有意に多くみられ、しかも mental retardation や dementia を有した症例の脳血管の W P B が内皮細胞 1 個あたり 1.3 ± 1.59 個であることより、内皮細胞 1 個あたりの W P B の個数が 2.8 個以上であれば active capillary growth がみられると判断され、W P B は脳腫瘍の血管新生のマーカーとなりうると述べている。宮上ら (1985) は 6 例の glioblastoma について光顕と電顕所見を併せて検討しているが、W P B は腫瘍の辺縁部で中心部より多くみられること、光顕では腫瘍辺縁部で中心部より血管数が多い事より W P B は血管増殖と比例して増加していると述べている。

今回の我々の結果は腫瘍辺縁部においては良性神経

膠腫にくらべ悪性神経膠腫では有意にWPBが多くみられ、しかもWPBの出現頻度は、単位面積あたりの血管数が多くなるにつれて高くなった。Type Bでの内皮細胞1個あたりのWPBの数は良性神経膠腫で 0.39 ± 0.62 個、悪性神経膠腫で 0.92 ± 1.23 個であり、この数値は悪性神経膠腫に関しては宮上ら(1985)のglioblastomaの辺縁部での1.3個よりやや少なく、良性神経膠腫に関しては宮上らの良性神経膠腫の辺縁部での0.15個よりやや多いが、これは我々の悪性神経膠腫の中にはglioblastomaだけでなくastrocytoma grade 3,4も含み、宮上らの良性神経膠腫の中にはoligodendrogliomaが含まれているためか、あるいはWPBの出現は症例によっても違いがあり、宮上らの対象症例は悪性神経膠腫6例、良性神経膠腫2例であるが、我々の対象症例が悪性神経膠腫15例、良性神経膠腫11例と多いためかもしれない。また、Kumarら(1980)の結果では2.8個以上が血管増殖の数値としているが、我々の結果で2.8個を越えたものは悪性神経膠腫でさえ37血管中1血管にすぎない。この違いは同じ脳腫瘍といっても我々はastrocytoma、glioblastomaを対象としたのに対して、Kumarらはmedulloblastomaが主体であることによるものであろう。

また、WPBの個数にばらつきが多いのは、我々の場合1個の内皮細胞あたりのWPBの個数は0-20個に及び、WPBのみられる内皮細胞にはある程度まとまってWPBがみられる傾向があり、そのためにすべての内皮細胞を対象にして検討した場合にばらつきがでるのであろう。Kumarら(1980)も同様の事を指摘しており、内皮細胞のうちの幾つかが増殖しているにすぎないのではないかと述べている。type BでのWPBを持つ内皮細胞の全内皮細胞に対する割合をみてみると良性神経膠腫で14.2

%, 悪性神経膠腫で33.5%であり、やはり悪性神経膠腫の血管で有意に高かった。悪性神経膠腫に関して、この数値は宮上ら(1985)が glioblastoma の辺縁部の血管で報告した32.4%と大体同等であり、悪性神経膠腫の血管では約3分の1の内皮細胞がWPBを有している事になり、この約3分の1の内皮細胞が増殖しているとも考えられる。この一部の内皮細胞が増殖しているにすぎないという考えは、labelling indexを用いた glioblastoma の内皮細胞増殖の研究(Nagashima 1987)で、BrdU-labelled cellは glomerular shaped vesselに多く認められるが、この血管の中の20%の内皮細胞にしか陽性の細胞は無かったという報告からもうらざけられよう。

このようにWPBは悪性神経膠腫の血管、特にその中の一部の内皮細胞で良性神経膠腫に比べて有意に多くみられ、これは悪性神経膠腫の内皮細胞の増殖能が高い事を示唆していると思われた。

さらに、WPBに関して我々の検討からわかった重要な点は、悪性神経膠腫のうちの早期再発例と晩期再発例を比較した場合、WPBの出現頻度が早期再発例で有意に高かった点である。これまで比較してきた良性神経膠腫と悪性神経膠腫の診断は光顕所見から得られたものである。確かに光顕所見での astrocytoma の5年生存率は57.6%、 glioblastoma の5年生存率は7.2%(脳腫瘍全国集計調査報告, 1987)と大きく値が違ふことや、推計学的に組織学的悪性度が高いほど再発期間が短縮することが証明されている(Jelsma 1969, Takeuchi 1977)ことから、これら光顕の良性、悪性所見からその腫瘍の内皮細胞の増殖能を検討することの妥当性はあるだろう。しかし、実際の臨床でその腫瘍の悪性度は増生能力、未分化性などの組織学的悪性度だけでなく、その腫瘍の浸潤性格の強さ

でも規定される。腫瘍の浸潤性格はCTスキャン、MRIなどの画像診断でその形をとらえることができるが、実際にはその腫瘍がいかに早く増殖するか、換言すればいかに早く再発してくるかであると思われる。そこで、我々は神経膠腫の浸潤性格に及ぼす腫瘍血管のパラメーターを探る為に、悪性神経膠腫のうち最初の手術の後、腫瘍の増大により6ヶ月以内に2度目の手術あるいは入院治療が必要になった症例を早期再発例、それ以外のものを晚期再発例として両者の血管の間でパラメーターを検討してみた。両者の血管の間では、1個の内皮細胞に含まれるWPBの数は他のパラメーター同様違いはみられなかったが、全内皮細胞に対するWPBを含む内皮細胞の割合だけが早期再発例で有意に多くみられた。我々の検討では、早期再発例の血管の内皮細胞の実に44.3%がWPBを有しており、この数値は宮上ら(1985)がGlioblastomaの辺縁部の血管の内皮細胞で示した32.4%よりはるかに高い。

このように、良性および悪性神経膠腫という病理組織学的な、さらには単位面積あたりの血管数で示されるstaticな要素からみた腫瘍血管の検討で、WPBの増加は内皮細胞の増殖能に関与していることが推測された。さらに臨床経過というkineticな要素からみた腫瘍血管の検討では、WPBの増加の中でも、血管を構成する内皮細胞のうちのどれだけ多くの内皮細胞にWPBが含まれているかによって、血管新生の程度、腫瘍の増殖の程度が決まってくる事が推測される。そればかりでなく、多数の内皮細胞にWPBが出現することはその腫瘍の悪性度の指標にもなると思われる。

最後に、WPBが内皮細胞の増殖のこういった点に関与しているのかを考えてみる。WPBの有意の増加は内皮細胞の増殖能に関係していそうだという事はわか

ったが、W P B が増加することによって内皮細胞が増殖するの、内皮細胞の増殖に伴ってW P B が増加するの、かはまだわかっていない。著者らの推測では、先にも述べた様にW P B は von Willebrand 因子とプロポリペプチドの2種類のペプチドを含有するほかに、分子量20k, 30kの蛋白の存在も最近確認されており(藤本 1989)、これらの蛋白そのものが内皮細胞の増殖因子である可能性も考えられる。また、W P B はゴルジ装置を離れるに従い小胞を次から次へと付着させて電子密度を増加させる。従って、ゴルジ装置で産生されてから何らかの物質をとりこんでいる事が考えられ(Sengel 1970)、さらに酸フォスファターゼ活性が陰性でライソゾーム機能が否定されている(Lemeunier 1969)事と考え合わせると、W P B が代謝産物でなく内皮細胞の増殖に関する物質を含んでいることも考えられる。また、Glioblastomaの辺縁部の血管には時々血栓形成を示す事が知られている(Nystrome 1960, Sun NCJ 1974)。この事実は悪性神経膠腫の内皮細胞が増殖した結果、内腔を閉塞せしめんとするときW P B が自発的な開口分泌をおこし(McNiff 1983)、その凝固促進因子として登場することも考えられる。

② 内腔狭小度

脳腫瘍血管の形態的特徴の一つに luminar surface infolding があげられている(Hirano 1975, Long 1970, Mcclone 1980, 宮上 1985, 柴田 1985, 土田 1974-1, Weller 1977, Roy 1989, Waggner 1976)。内皮細胞の内腔側が内腔に突出し血管内腔が狭くなり、従って血管の基底膜あるいは pericyte を含まない外周面積に対する内腔面積の割合で示される内腔狭小度を計測することにより、その血

管の *infolding* の程度を検討した。

我々の *type B* の血管では悪性神経膠腫は良性神経膠腫に比べて有意に血管内腔狭小度が強かった。このことはすなわち悪性神経膠腫の血管の方が *luminal surface infolding* が強いことを数値的に示唆していた。*luminal surface infolding* の強い血管の写真から明かなように、*infolding* のみられるところでは内皮細胞自体の厚さが厚くなっており、*luminal surface infolding* は内皮細胞の *hypertrophy* を現していると考えられる。そして、細胞の *hypertrophy* と増殖は同時におこることが多いこと、あるいは分子生物学レベルでは両者を厳密に区別できないこと(現代の病理学 1985)から *luminal surface infolding* は内皮細胞の増殖能が高い事を反映しているといえよう。

この様に、悪性神経膠腫のほうが良性神経膠腫に比べて *luminal surface infolding* が強いという報告はみられるが(宮上 1985, Long 1970, 土田 1974, 柴田 1985)、その程度を数値的に現したものはみられない。これは同じ神経膠腫の血管といってもその部位により、また血管の直径によって内腔狭小度が違ってくるため、我々の検討のように腫瘍辺縁部でかつ内腔の直径が $10\mu\text{m}$ 以下の血管に限定した場合その定量値は意味をもってくると思われる。実際に内皮細胞の増殖能の少なくなった腫瘍中心部の血管では、血管壁が薄くなり、血管の径が大きくなり *luminal surface infolding* はほとんどみられなくなる(黒岩 1987, Weller 1977)ことから、腫瘍の部位を考えることは大切である。また、腫瘍辺縁部にも血管壁の薄い血液を導出すると思われる、直径が非常に大きな血管が稀にみられ(黒岩 1987, Coomber 1987)、これらの血管の内腔狭小度は少ないことから血管の直径を考えることも大切である。内腔狭小度の定量値に関しては、我々の結

果では内腔狭小度は良性神経膠腫で $38.7 \pm 16.8\%$ 、悪性神経膠腫で $27.8 \pm 11.7\%$ であったことから、内腔狭小度が20%以下であれば悪性神経膠腫の、40%以上であれば良性神経膠腫の腫瘍血管である可能性が高いと判断されよう。luminar surface infoldingの他の意義に関しては、血管透過性の考察でも述べたように内皮細胞のhypertrophyにより内皮細胞を通してのfluid transferが減少する分を代償するために、血管の内腔との接触面積を増大させていることも考えられる。

以上、内腔狭小度はその血管の部位と直径を考えれば、内皮細胞の増殖能を現す良いパラメーターになりうると考えられた。

③ 内皮細胞の核の形態異常

脳腫瘍の内皮細胞の核の形態的異常に関する記載は意外に少ない。Longら(1970)はa)hyperchromasia, b)enlargement, c)marked irregularity, d)infoldingをあげている。Hiranoら(1975)、Wellerら(1977)は核細胞質比が高く未熟血管のようであると述べている。Nishioら(1983)、Coxら(1976)はethylnitrosoureaによって誘発されたrat brain tumorにおいて核の中のchromatinに注目し、heterochromatinに比べeuchromatinが多く、代謝の亢進した状態であろうとしている。これらの報告を参考に我々は、核の形態を紡錘形の平たい、正常と思われる形から、surface infoldingの強い形まで核の形状の不規則さに従って4段階にスコア化した。悪性神経膠腫では良性神経膠腫に比べて有意に核のスコアが高く、核の形態に関しては悪性化するに従い腫大し、さらにsurface infoldingが増していると考えられた。核のsurface in-

foldingsは核の分裂につながる形態的变化と考えられるため(山田 1967)、内皮細胞の増殖能に関連があるといえよう。

血管の未熟性を現す核細胞質比(Hirano 1975)に関しては、new capillary sproutsと考えられるtype Aの血管ではtype Bの血管に比べ核細胞質比が高く、Wellerら(1977)が指摘するごとくtype Aの血管の未熟性を現していた。type Bの血管では悪性神経膠腫と良性神経膠腫の間では核細胞質比に違いはみられなかった。これは悪性神経膠腫の腫瘍血管の内皮細胞は、核の形だけをみた場合その形の不規則さから悪性化した内皮細胞であるかどうかはわからないが、細胞質自身も腫大しinfoldingがみられるために、核細胞質比が良性神経膠腫と変わらないのであり、悪性神経膠腫の血管内皮細胞がhypertrophyをおこしていると考えられる根拠にもなる。

④ 基底膜の厚さ

我々が検討した基底膜の厚さとは、血管の外周からastrocyteのfoot processの基底膜を含めた血管の全体像までの厚さであり、この中には内皮細胞の基底膜、perivascular space、pericyte、astrocyteのfoot processの基底膜が含まれている。しかし、これらの構造物のうち、内皮細胞の基底膜の肥厚、pericyteの増殖が特に悪性神経膠腫で多くみられた。神経膠腫における基底膜の変化とpericyteの変化に分けて考察する。

a) 基底膜の変化

神経膠腫における基底膜の変化は、主に電顕により観察されている。一般に基底膜は肥厚し、ある種のもの

は重層・断片化を認める (Duffel 1963, 河本 1978, Long 1970, McClone 1980, Nystrome 1960, 土田 1974-1, Wagner 1974, 上松 1989, Luse 1960)。我々の検討でも悪性神経膠腫の基底膜には同様の変化がみられた。

しかし、これらの基底膜の変化がどのような機序で起こっているかを述べた報告は少ない。光顕的な悪性神経膠腫の腫瘍血管の観察において、グリア系腫瘍の基底膜を染める laminin 染色でみられた基底膜の変化と、血管新生の程度との比較から、腫瘍血管の基底膜の肥厚、断裂、屈曲、癒合といった変化は内皮細胞の増殖の程度に伴って強くみられたという報告 (篠田 1989) から、内皮細胞の増殖と基底膜の変化には関係がありそうである。実際に、内皮細胞の増殖と基底膜の関係については基底膜の構成基質が内皮細胞の増殖を調節しているという報告がみられる (Form 1986, Gospodarowicz 1980, Pratt 1986)。これらの報告は血管新生に際して内皮細胞が基底膜の構成基質である laminin と collagen type IV を分泌することにより内皮細胞の増殖がおけると同時に、新しい基底膜が作られるというもので基底膜と内皮細胞の増殖には密接な関係がある。Formら (1986) はさらに詳しく血管新生のおこっている血管の末梢部でまず laminin が分泌され、内皮細胞の migration がおこるが、laminin だけでは基底膜の形成に不十分で、さらに collagen type IV の分泌がおこり血管の内腔が形成されると同時に基底膜が新生されていくと述べている。

これらの報告をふまえると、我々の検討でみられた type A の血管の基底膜の厚さが薄く時に不連続であるのは、type A の血管が血管新生のおこっている末梢部の血管、すなわち new capillary sprouts であるために、基底膜の形成が不十分であることを証明しているといえよう。

また、type Bの悪性神経膠腫の血管で基底膜が肥厚、重層・断片化する機序に関しては、上松ら(1989)も推論するように繰り返す内皮細胞の増殖に伴って基底膜が新生また部分的に残存したためと考えられる。従って、腫瘍血管の基底膜の肥厚、重層・断片化は、その血管の内皮細胞の増殖能に関係する形態的变化といえる。

脳血管の基底膜の他の意義に関しては、構成基質である laminin や fibronectin が細胞の adhesion に重要であることから、基底膜が血管周囲の astrocyte の adhesion に関係している、あるいは腎臓の糸球体の基底膜のようにろ過機能に関係しているという報告(Sapsford 1983)もみられるが、この機能と腫瘍血管の基底膜が肥厚、重層・断片化することとの関係ははっきりしない。

b) Pericyte の変化

pericyte の機能に関しては十分に説明されていないが 1) phagocytic activity (Van Deurs B 1976, Cancila 1972, Mato 1981)、2) 血管増殖の調節 (Orlidge 1987, 1989, Ausprunk 1977, Burger 1981, Cavallo 1973, Crocker 1970, Shalley 1977)、3) 基底膜、コラーゲンの biosynthesis (Cohen 1980, Rhodin 1968, Allsopp 1979-1)、4) 血管収縮能 (Joyce 1984, Mazant 1982) が挙げられている。特に、実験的に血管を透過した外因性の物質に対してみられる phagocytic activity から、pericyte は BBB の一端を担っていると考えられている (Van Deurs 1976, Cancila 1972, Mato 1981)。我々の検討では悪性神経膠腫の血管で、pericyte の数、大きさが増加しており、血管透過性の亢進により extracellular space にでたより多くの物質を phagocyte する為であるとも考えられる。実際に、Stewartら(1987-2)は glioblastoma の周辺脳の pericyte は

phagocytic activityの結果としてのライソゾームの蓄積により丸くなると述べている。

しかし、我々の検討ではライソゾームを多数含んだ大きなpericyteが増加するだけでなく、ライソゾームを含まない小さいpericyteも増加しており、pericyteの増加をphagocytic activityだけでは説明できない。血管増殖の調節に関して、pericyteが内皮細胞と接触あるいは近接することにより、内皮細胞の増殖が抑制され、また内皮細胞自身がpericyteの増殖そして成熟に関する因子を分泌しているという報告(Orlidge 1987, 1989)から、pericyteは内皮細胞の増殖に伴う2次的な変化として増加しているとも考えられる。

このように、pericyteの増加は、血管透過性亢進あるいは内皮細胞増殖に伴う2次的な変化と考えられる。

c) 我々の測定した基底膜の厚さ

以上述べた様に基底膜自身の厚さは直接内皮細胞の増殖能を、pericyteの増加は内皮細胞の増殖能および血管透過性の亢進を2次的に現していると思われる。我々の検討した基底膜の厚さには、内皮細胞の基底膜、pericyteの他に、astrocyteのfoot processの基底膜、perivascular spaceが含まれている。このうち、astrocyteのfoot processの基底膜は、astrocytomaでは不明瞭で未熟であり(上松 1989)、良性と悪性神経膠腫の間でも大きな違いが無かったことは、血管透過性と内皮細胞の増殖の面から考えた場合、astrocyteの基底膜は両者に関係しない構造物といえるかも知れない。正常の内皮細胞の基底膜の厚さに関しては $10\mu\text{m}$ 以下の正常の血管を対象としたStewartら(1987-2)の結果では $0.22 \pm 0.01\mu\text{m}$ であった。この基底膜の厚さは正常の薄い、一層の内皮細胞の基底

膜の厚さであり、悪性神経膠腫の基底膜の様に何層にもなった基底膜の厚さを一枚ずつ測定する事は困難と考えられる。また、我々の検討では良性神経膠腫でさえ、基底膜の厚さが $1.2\mu\text{m}$ とかなり厚いことは、pericyteの増殖の多さ、あるいはperivascular spaceの厚さが神経膠腫の場合重要であることを示している。今回の検討から、pericyte、perivascular spaceを含めた基底膜の厚さは、内皮細胞の増殖に伴うものであると推測されるが、今後は各構造物の定量化を、例えばpericyteだけの増殖の程度(Stewart 1987-2)を試みる必要があると思われた。

⑤ Mitochondrial density

ミトコンドリア(以下MITと略す。)は細胞のエネルギー源であり、MIT densityが高い事はその細胞のmetabolic activityが高い事を現している。Oldendorf(1975, 1976, 1977)らはrat capillaryにおいてnon-BBB capillary(choroid plexus, anterior pituitary, median eminence of the hypothalamus, skin, skeletal muscle, lungなど)のMIT densityは2-5%であったのに対して、BBB capillary(cerebellum, cerebral cortex, spinal cord, cauda equina)のそれは8-11%と高く、この違いは一つにはBBBという特殊な構造を維持する為であり、一つには血清と脳の細胞外液の間のion gradientの維持に関係していると述べている。後者に関しては、脳の細胞外液のカリウム濃度はneuronの安定化を計る為に血清のそれに比べて約40%低く、このion gradientを保つためには脳からカリウムを排出するためのpumpが必要であり、このpumpを動かすためにエネルギーを消費するからであるとされている。また、血清からextrachoroidal CSFを

産生するのにエネルギーを消費するからであるともされている。このように、MIT densityをBBBの機能維持からとらえた場合、Oldendorfら(1975,1976,1977)の説明は納得がいく。

腫瘍の悪性度とMIT densityとの関係においてはどうかであろうか。Stewartら(1985)、Nishioら(1983)のrat glioma modelによる腫瘍血管の検索では、腫瘍血管では非腫瘍血管に比べて有意にMIT densityは低く、これは腫瘍血管ではBBBが破壊されている為であろうと報告されている。しかし、脳のBBB capillaryにおいてMIT densityはrat, chicken, mouse, humanでそれぞれ5.1%, 5.9%, 3.3%, 1.7%と種による違いがあるし(Stewart 1987-1)、実験脳腫瘍とヒト脳腫瘍の血管の形態も違うために実際のヒト脳腫瘍にこの結果を当てはめる訳にはいかない。ヒト脳腫瘍血管の微細構造において、我々の検討と同様に悪性神経膠腫でMITが増加しているという報告は幾つかみられる(Hirano 1975, 土田 1974, 宮上 1985, Long 1970)が、その定量になるとCoomber(1987)らの報告に限られている。彼らはglioblastoma 5例と生検で得られた正常脳2例のそれぞれの血管のMIT densityを比較し、腫瘍血管のMIT densityは正常脳のそれに比べてすべて高く、5例のうち2例では有意に高かったと述べており、先のrat glioma modelとは逆の結果をだしている。

我々の良性および悪性神経膠腫の腫瘍血管ではMIT densityが、良性神経膠腫で4.16%、悪性神経膠腫で5.64%であり、悪性神経膠腫で有意に高かった。悪性神経膠腫の腫瘍血管は血管透過性の面からは、BBBが破壊されておりMIT densityは低下するはずであるが、それ以上に内皮細胞のmetabolic activityが高いと考えられ、そのエネルギー源として必要なMIT densityも高くなると考え

て良いと思われる。そして、悪性神経膠腫の内皮細胞の増殖能は高いというこれまでの種々の検索から考えると、内皮細胞の metabolic activity が高いことは、内皮細胞の増殖に関与している可能性が高い。ただし、正常の脳血管の MIT density に関しては 1.5% から 6% (Stewart 1987-1, Brown 1978, Mancardi 1985, Coomber 1987) と報告により違いがみられる。この違いは Coomber が指摘するごとく MIT density の測定方法の違いによるものと思われ、我々の測定値を他の報告と比べる事は無理がある。しかし、同じ条件で測定した我々の良性および悪性神経膠腫の間の違いは事実であろう。

一方、悪性腫瘍と MIT density の関係が腫瘍細胞のエネルギー代謝の面から研究されている。即ち、悪性腫瘍はその腫瘍細胞のエネルギー代謝が正常の状態と異なり、胎児のようにグルコースの利用が高まるといわれている (Warburg 1956) ので、エネルギー源を得るのに MIT を必要としなくなる。それ故に、悪性腫瘍細胞の MIT は 50% 以上減少する (Pederson 1978) のが一般的である。これらの研究は腫瘍血管に関してはなされてはいないが、脳腫瘍でも PET を用いた研究によりヒト神経膠腫ではその悪性度とグルコース利用能との間に相関があるとされており (Kornblith 1984, Di chiro 1982)、腫瘍血管も悪性化しているのであれば、MIT density は理論的には減少するはずである。我々の検討では、悪性神経膠腫の内皮細胞の MIT density がむしろ増加している事から、グルコース代謝の面からみた場合、悪性神経膠腫の血管は腫瘍化した血管というよりも、正常の内皮細胞の代謝が亢進して、反応性に増殖した血管であるといえよう。

以上、神経膠腫の腫瘍血管においては、MIT density は内皮細胞の増殖能をあらわすパラメーターになりうる

と考えられ、MIT densityが高いほど内皮細胞の代謝が亢進し、増殖能が高いといえる。

⑥ 小括

神経膠腫の腫瘍血管の微細構造において、WPBの出現頻度、核の形の不規則さ、内腔狭小度、基底膜の厚さ、MIT densityは、腫瘍辺縁部の血管、内腔の直径が10 μ m以下の血管、capillary sproutsではない、より成熟した血管という条件を満たす血管群においては、その血管内皮細胞の増殖能を現すパラメーターになり得る可能性を有する。

特に、WPBの出現頻度は単位面積あたりの血管数に比例して高くなること、臨床経過というkineticな要素にも関与することから内皮細胞の増殖能を現す重要なパラメーターである。

3. 今後の神経膠腫治療への展開

我々の研究では良性神経膠腫と悪性神経膠腫の血管の透過性の亢進および内皮細胞の増殖に関する様々な形態的違いが定量的に明らかにされた。この形態的違いが今後の悪性神経膠腫に対する治療にどのように役立つかを考察する。

1) 血管透過性の亢進に関して

悪性神経膠腫の治療を考える上で、血管の透過性亢進をいかに抑えるかは、血管透過性亢進に伴う脳浮腫との関連から重要である。我々の結果から、悪性神経膠腫における血管透過性の亢進は pinocytic vesicle (P V) の増加によるところが大きく、P V を介する血管内腔から外腔への物質の移送を抑えるために、内皮細胞の内腔側に張り付いて離れない高分子蛋白質の開発、あるいは P V のうち幾つかが融合した fused vesicle が血管透過性には関与していると考えられていることから、P V に取り込まれても P V の membrane 同士が融合できないようにする物質の開発が望まれよう。また、血管外腔から内腔への物質の移送に関与する P V だけを増加させる工夫も必要であろう。

一方、脳腫瘍の化学療法を考える上で B B B の存在はその効果を左右する重要な因子である。脳腫瘍血管の微細構造の研究から B B B は種々の程度に破綻をきたしているが、神経膠腫のように正常脳組織に浸潤する悪性腫瘍では腫瘍の浸潤部位では B B B が正常であることから、B B B との関連においてはいかに B B B を通過させる薬剤を開発するか、あるいは Neuwelt (1980) によって始められた osmotic barrier opening による化学療法の増強

効果が期待できないかが化学療法の新しい試みとしてなされている (Greig 1987)。しかし、一方では BBB の破綻のある脳腫瘍組織にのみ移行する薬剤を使って、その部位の腫瘍組織を確実に治療するという考え方も見直されて (Greig 1987) しかるべきで、Blasbergら (1986) のように、BBB の破綻にどのような形態的变化が最も関与しているかを見きわめ、その形態的变化に併せて化学療法剤を変えていくことが、より有効な化学療法になると思われる。我々の検討では BBB の破綻としてとらえられた血管の透過性の亢進に影響を及ぼす最も特徴的な形態的变化は PV の増加であった。従って、いかに PV に取り込まれやすい化学療法剤を見つけるかが重要であろう。

2) 内皮細胞の増殖能に関して

Labelling index を用いた研究で、腫瘍血管の内皮細胞の増殖能が正常の血管の内皮細胞の増殖能に比べて非常に高い事から、targetting tumor therapy として anti-proliferative endothelium therapy (APET) が注目されている (Denekamp 1982)。内皮細胞に特異的な抗体をつけた DNA 合成期に特異的に効く化学療法剤を使えば、増殖の盛んな腫瘍の内皮細胞だけが損傷を受けて腫瘍の治療につながるというものである。Denekampら (1982) は内皮細胞に特異的な抗体には、分化した内皮細胞のマーカである第 VIII 因子関連抗原 (Hoyer 1973) に対する抗体を挙げている。最近正常組織だけでなく血管新生の盛んな腫瘍組織の内皮細胞のマーカとして第 VIII 因子関連抗原より優れている *Ulex Europaeus* Type I Lectin (UEA I) が報告されており (Weber 1985)、これに対する抗体も開発されれば、さらに効果的な APET への展開となるにちがいな

い。

同じように増殖の盛んな内皮細胞を標的にして腫瘍の治療に結び付けようという試みが血管新生の面からも考えられている。内皮細胞の増殖は血管新生によるものであるから、血管新生を抑えることをめざすというもので、血管新生あるいは angiogenesis factor に関係する Cooper ion の血清濃度を下げることで腫瘍の増殖を抑えることが実験的に証明されている (Brem 1990, Alpern-Elran 1985, Zagzag 1986)。

我々の検討では W P B が内皮細胞の増殖能に最も関与していると考えられるので、APETとしてW P Bの形成を妨げる、あるいはW P Bの出現した内皮細胞だけを特異的に損傷することができれば神経膠腫の治療につながるといえよう。W P Bはその構造蛋白が同定されつつあり(藤本 1989)、この構造蛋白に対するモノクローナル抗体を用いたAPETの可能性を秘めていると思われる。

V 結語

1. 良性および悪性神経膠腫の腫瘍辺縁部にみられた内腔径 $10\mu\text{m}$ 以下の血管を電顕形態計測的に観察し、内皮細胞の数と内腔径の違いから type A と type B に分類した。
2. type A の血管は type B の血管に比べて、1) 内腔狭小度が強く、2) 核細胞質比が高く、3) 基底膜が薄く、4) WPB (Weibel-Palade body) の出現頻度が低く、5) junction の異常がみられなかった。
3. type A の血管では、良性神経膠腫と悪性神経膠腫の間に形態的差異は無かった。
4. type B の血管においては、悪性神経膠腫は良性神経膠腫に比べて血管の、1) 内腔狭小度が強く、2) 基底膜が厚く、3) pinocytic vesicle が多く、4) junction の異常の程度に違いはみられず、5) WPB の出現頻度が高く、6) 核の形の不規則さが強く、7) mitochondria が多くみられた。
5. WPB の出現頻度は、単位面積あたりの血管数が多くなるにつれて高くなり、悪性神経膠腫の早期再発例で特に高かった。
6. 神経膠腫の腫瘍血管において type B の血管の、1) 内腔狭小度、2) 基底膜の厚さ、3) pinocytic vesicle の数、4) WPB の出現頻度、5) 核の形の不規則さ、6) mitochondria の多さは、腫瘍の悪性度を現す指標として使

えることが示唆された。

特に、pinocytic vesicleの増加と内腔狭小度の強さは血管透過性の亢進に関与する形態的变化であり、WPBの出現頻度の高さは内皮細胞の増殖能を表す形態的变化と考えられる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、終始たゆまぬ総括的な御指導を賜った筑波大学臨床医学系 能勢忠男教授、ならびに本研究の直接的な御指導をしていただいた吉井与志彦助教授、一部の電顕標本作成に共同研究していただいた土佐純一先生（横浜南共済病院脳神経外科）、検索材料を提供していただいた筑波大学脳神経外科診療グループの諸先生に深甚なる感謝の意を表します。

また、電顕標本作成にあたり御助力くださいました森直美氏、ならびに菅江則子技官に対し深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Allsopp G, Gamble HJ: An electron microscopic study of the pericytes of the developing capillaries in human fetal brain and muscle. *J Anat* 128: 155-168, 1979-1
- 2) Allsopp G, Gamble HJ: Light and electron microscopic observations on the development of the blood vascular system of the human brain. *J Anat* 128: 461-477, 1979-2
- 3) Alpern-Elran H, Brem S: Angiogenesis in human brain tumors: Inhibition by copper depletion. *Surg Forum* 36: 498-500, 1985
- 4) Ausprunk DH, Folkman J: Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc Res* 14: 53-65, 1977
- 5) Banda MJ, Dwyer KS, Beckman A: Wound fluid angiogenesis factor stimulates the directed migration of capillary endothelial cells. *J Cell Biochem* 29: 183-193, 1985
- 6) Bertini F, Santolaya R: A novel type of granules observed in toad endothelial cells and their relationship with blood pressure active factors. *Experientia* 26: 522-523, 1970
- 7) Blank NK, Yung W, Vick NA: Blood vessels and blood channels in experimental viral induced mammalian gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 35: 102-103, 1976
- 8) Blasberg RG, Groothuis DR: Chemotherapy of brain tumors: Physiological and pharmacokinetic considerations. *Semin Oncol* 13: 70-82, 1986
- 9) Brem S, Cotran R, Folkman J: Tumor angiogenesis—a quantitative method for histologic grading. *J Nat Cancer Inst* 48: 347-356, 1972
- 10) Brem S, Tsanaclis AMC, Zagzag D: Anticopper treatment inhibits pseudopodial protrusion and the invasive spread of 9L gliosarcoma cells in the rat brain. *Neurosurgery* 26: 391-396, 1990
- 11) Brien SE, Zagzag D, Brem S: Rapid in situ cellular kinetics of intracerebral tumor angiogenesis using a monoclonal antibody to bromodeoxyuridine. *Neurosurgery* 25: 715-719, 1989
- 12) Brightman M, Reese TS, Vick NA, Bigner DD: A mechanism underlying the lack of a blood-brain barrier to peroxidase in virally induced brain tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 30: 139-140, 1971
- 13) Brightman M, Prescott L, Kirchestein R: Cytological features pertaining to the distribution of exogenous peroxidase in simian virus 40 induced tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 31: 177, 1972
- 14) Brightman M, Hori S, Rapaport SI, Reese TS, Westergaard E: Osmotic opening of tight junctions in cerebral endothelium. *J Comp Neurol* 152: 317-326, 1973
- 15) Brightman M: Morphology of the blood-brain interfaces. *Exp Eye Res (Suppl.)* 25: 1-25, 1977
- 16) Broadwell RD, Brian JB, Salzman M, Kaplan RS: Brain-blood barrier? Yes and no. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 7352-7356, 1983
- 17) Brown WJ: The capillaries in acute and subacute multiple sclerosis plaques. A morphometric analysis. *Neurology* 28: 84-92, 1978
- 18) Bruce JN, Crisculo GR, Merrill MJ, Moquin RR, Blacklock JB, Oldfield EH: Vascular permeability induced by protein product of malignant brain tumors: inhibition by dexamethasone. *J Neurosurg* 67: 880-884, 1987
- 19) Bundgaard M, Hagman P, Crone C: The three dimensional organization of plasmalemmal vesicular profiles in the endothelium of rat heart capillaries. *Microvasc Res* 25: 358-368, 1983-1
- 20) Bundgaard M: Vesicular transport in capillary endothelium: Does it occur? *Fed Proc Fed Am Soc Exp Biol* 42: 2425-2430, 1983-2

- 21) Bundgaard M: The three-dimensional organization of tight junctions in a capillary endothelium revealed by serial-section electron microscopy. *J Ultrastruct Res* 88: 1-17, 1984
- 22) Burger PC, Klintworth GK: Autoradiographic study of corneal neovascularization induced by chemical cautery. *Lab Invest* 45: 328-335, 1981
- 23) Butler AR, Horii SC, Kricheff II, Shannon MB, Budzilovich GN: Computed tomography in astrocytomas. A statistical analysis of the parameters of malignancy and the positive contrast-enhanced CT scan. *Radiology* 1 29: 433-439, 1978
- 24) Cancilla PA, Baker RN, Pollock PS, Frommes BS: The reaction of pericytes of the central nervous system to exogenous protein. *Lab Invest* 26: 376-383, 1972
- 25) Castejon OJ: Electron microscopic study of capillary wall in human cerebral edema. *J Neuropathol Exp Neurol* 152: 296-328, 1980
- 26) Castejon OJ: Increased vesicular and vacuolar transport in traumatic human brain edema. *J Submicrosc Cytol* 16: 359-369, 1984
- 27) Castejon OJ: Electron microscopic observations of endothelial junctions in perifocal human brain edema. Interpretative study. *J Submicrosc Cytol* 17: 105-114, 1985
- 28) Cavallo T, Sade R, Folkman J, Cotran RS: Ultrastructural autoradiographic studies of the early vasoproliferative response in tumor angiogenesis. *Am J Pathol* 70: 345-362, 1973
- 29) Cliff WJ: Observations on healing tissue-A combined light and electron microscopic investigation. *Phil Trans Roy Soc B246*: 305-325, 1963
- 30) Cohen MP, Frank RN, Khalita AA: Collagen production by cultured retinal capillary pericytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 19: 90-94, 1980
- 31) Coomber BL, Stewart PA: Morphometric analysis of CNS microvascular endothelium. *Microvasc Res* 30: 99-115, 1985
- 32) Coomber BL, Stewart PA: Three-dimensional reconstruction of vesicles in endothelium of blood-brain barrier versus highly permeable microvessels. *Anat Rec* 215: 256-261, 1986
- 33) Coomber BL, Stewart PA, Hayakawa K, Farrell CL, Maestro RF: Quantitative morphology of human glioblastoma multiforme microvessels: Structural basis of blood-brain barrier defect. *J Neuro-Oncology* 5: 299-307, 1987
- 34) Coomber BL, Stewart PA, Hayakawa E, Farrell CL, Maestro RF: A quantitative assessment of microvessel ultrastructure in C6 astrocytoma spheroids transplanted to brain and to muscle. *J Neuropathol Exp Neurol* 47: 29-40, 1988
- 35) Cox DJ, Pilkington GJ, Lantos PI: The fine structure of blood vessels in ethylnitrosourea induced tumors of the rat nervous system. With special reference to the breakdown of the blood-brain barrier. *Br J exp Path* 57: 419-430, 1976
- 36) Crisculo GR, Merrill MJ, Oldfield EH: Further characterization of malignant glioma-derived vascular permeability factor. *J Neurosurg* 69: 254-262, 1988
- 37) Crocker DJ, Murad TM, Geer JC: Role of the pericyte in wound healing. An ultrastructural study. *Exp Mol Pathol* 13: 51-65, 1970
- 38) Davison PM, Bensch K, Karasek MA: Growth and morphology of rabbit marginal vessel endothelium in cell culture. *J Cell Biol* 85: 187-198, 1980
- 39) Dumas-Duport C, Meder JF, Monsuingeon V, Missir O, Aubin ML, Szikla G: Cerebral gliomas: Malignancy, limits and spatial configuration. Comparative data from serial stereotaxic biopsies and

- computed tomography. *J Neuroradiol* 10: 51-80, 1983
- 40) Dean BR, Lantos PL: The vasculature of experimental brain tumors. Part 1. A sequential light and electron microscope study of angiogenesis. *J Neurol Sci* 49: 55-66, 1981-1
 - 41) Dean BR, Lantos PL: The vasculature of experimental brain tumors. Part 2. Quantitative assesment of morphological abnormalities. *J Neurol Sci* 49: 67-77, 1981-2
 - 42) Denekamp J: Endothelial cell proliferation as a novel approach to targeting tumor therapy. *Br J Cancer* 45: 136-139, 1982-1
 - 43) Denekamp J, Hobson B: Endothelial-cell proliferation in experimental tumors. *Br J Cancer* 46: 711-720, 1982-2
 - 44) Di Chiro G, DeLaPaz RL, Brooks RA: Glucose utilization of cerebral gliomas measured by [¹⁸F]fluoro-deoxyglucose and positron emission tomography. *Neurology* 32: 1323-1329, 1982
 - 45) Duffel D, Farber L, Chou S, Hartmann JF, Nelson E: Electron microscopic observations on astrocytoma. *Am J Pathol* 43: 539-554, 1963
 - 46) Dorovini-Zis K, Sato M, Goping G, Rapoport S, Brightman M: Ionic lanthanum passage across cerebral endothelium exposed to hyperosmotic arabinose. *Acta Neuropathol (Berl)* 60: 49-60, 1983
 - 47) Ewenstein BM, Warhol MJ, Handin RI, Pober JS: Composition of the von Willebrand factor storage organelle (Weibel-Palade body) isolated from cultured human umbilical vein endothelial cells. *J Cell Biol* 104: 1423-1433, 1987
 - 48) Farrell CL, Shivers PR: Capillary junctions of the rat are not affected by osmotic opening of the blood-brain barrier. *Acta Neuropathol (Berl)* 63: 179-189, 1984
 - 49) Feign I, Allen LB, Lipkin L, Gross SW: The endothelial hyperplasia of the cerebral blood vessels with brain tumors and its sarcomatous transformation. *Cancer* 11: 264-277, 1958
 - 50) Fenstermacher JD, Johnson JA: Filtration and reflection coefficients of the blood-brain barrier. *Amer J Physiol* 211: 341-346, 1966
 - 51) Folkman J, Merler E, Abernathy C, Williams G: Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. *J Exp Med* 133: 275-288, 1971
 - 52) Folkman J, Klagsbrun M: Angiogenic factors. *Science* 235: 442-447, 1987
 - 53) Form DM, Pratt BM, Madri JA: Endothelial cell proliferation during angiogenesis. In vitro modulation by basement membrane components. *Lab Invest* 55: 521-530, 1986
 - 54) Frokjaer-Jensen J: The vesicle controversy. *Prog Appl Microcirc* 9: 21-42, 1985
 - 55) Front D, Israel O, Kohn S, Nir I: The blood-tissue barrier of human brain tumors: Correlation of scintigraphic and ultrastructural findings: concise communication. *J Nucl Med* 25: 461-465, 1984
 - 56) Fujimoto S, Yamamoto K, Takeshige Y: Histochemical and autoradiographic findings on specific granules of endothelial cells. Ninth International Congress on Electron Microscopy, Tronto, vol 11, Microscopical society of canada, Tronto, 1978, 466-467
 - 57) Fujimoto S, Yamamoto K, Arashidani K, Hayabuchi I, Yoshizuka M, Nomiyama T: Endothelial specific granules in the umbilical veins of the postnatal rabbit. *Cell Tissue Res* 227: 509-518, 1982
 - 58) 藤本 淳, 上田 宏: Weibel-Palade body. *電子顕微鏡* 24: 33-39, 1989
 - 59) Gado MH, Phelps ME, Coleman RE: An extravascular component of contrast enhancement in cranial computed tomography. Part 1: The tissue blood ratio of contrast enhancement. Part 2: Contrast enhancement and the blood tissue barrier. *Radiology* 117: 589-593, 595-597, 1975

- 60) Glaser BM, Damore PA, Michels R, Brunson SK, Allan BS, Fenselau H, Thomas R, Patz A: The demonstration of angiogenic activity from ocular tissues. *Ophthalmology* 87: 440-446, 1980
- 61) Gospodarowicz D, III CR: Extracellular matrix and the control of proliferation of vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 65: 1351-1364, 1980
- 62) Groothuis DR, Fischer JM, Vick NA, Bigner DD: Experimental gliomas: an autoradiographic study of the endothelial component. *Neurology* 30: 297-301, 1980
- 63) Greig NH: Optimizing drug delivery to brain tumors. *Cancer Treatment Reviews* 14: 1-28, 1987
- 64) Hahn AF, Feasby TE, Gilbert JJ: Blood-nerve barrier studies in experimental allergic neuritis. *Acta Neuropathol(Berl)* 68: 101-109, 1985
- 65) Hansson HA, Johansson BB: Induction of pinocytosis in cerebral vessels by acute hypertension and by hyperosmolar solutions. *J Neurosci Res* 5: 183-190, 1980
- 66) Hauw JJ, Berger B, Escourolle R: Electron microscopic study of the developing capillaries of human brain. *Acta neuropathol(Berl)* 31: 229-242, 1975
- 67) Herrlinger H, Anzil AP, Blinzinger K, Kronski D: Endothelial microtubular bodies in human brain capillaries and venules. *J Anat* 118: 205-209, 1974
- 68) Hirano A, Matsui T: Vascular structures in brain tumors. *Human Pathology* 6: 611-621, 1975
- 69) Hirano A, Ohsugi T, Matsumura H: Pores and tubule-containing vacuoles in altered blood vessels of the central nervous system. *Adv Neurol*, Vol. 20, ed. by Cervos-Navarro J, Raven Press, New York, 1978, p461-469
- 70) Hoyer LW, De Ros Santos, Hoyer JR: Antihemophilic factor antigen. Localization in endothelial cells by immunofluorescent microscopy. *J Clin Invest* 52: 2737-2744, 1973
- 71) Jelsma R, Bucy PC: Glioblastoma multiforme: Its treatment and some factors effecting survival. *Neurology (Minneapolis)* 20: 161-171, 1969
- 72) Jones W, O'Morchoe PJ, O'Morchoe CC: The organization of endocytotic vesicles in lymphatic endothelium. *Microvasc Res* 25: 286-299, 1983
- 73) Joyce NC, De Camilli P, Boyles J: Pericytes, like vascular smooth muscle cells, are immunocytochemically positive for cyclic GMP-dependent protein kinase. *Microvasc Res* 28: 206-219, 1984
- 74) Kagawa H, Fujimoto S: Electron-microscopic and immunocytochemical analysis of Weibel-Palade bodies in the human umbilical vein during pregnancy. *Cell Tissue Res* 249: 557-563, 1987
- 75) 河本圭司、平野朝雄、松井孝: Astrocytomaの突起に関する電子顕微鏡学的考察. *脳神経外科* 6: 1173-1179, 1978
- 76) Kawamura J, Kamiyoy Y, Sunaga T, Nelson E: Tubular bodies in vascular endothelium of a cerebellar neoplasm. *Lab Invest* 30:358-365, 1974
- 77) Kelly PJ, Daumas-Duport C, Kispert DB, Kall BA, Scheithauer BW, Illig JJ: Imaging based stereotaxic serial biopsies in untreated intracranial glial neoplasms. *J Neurosurg* 66: 865-874, 1987
- 78) Knighton DR, Hunt TK, Schevenstuhl H, Halliday BJ, Werb Z, Banda, MJ: Oxygen tension regulates the expression of angiogenesis factor by macrophages. *Science* 221: 1283-1285, 1983
- 79) Kornblith PL, Cummins CJ, Smith BH: Correlation of experimental and clinical studies of metabolism by PET scanning. *Prog Exp Tumor Res* 27:170-178, 1984
- 80) Kormano M, Dean PB: Extravascular contrast material: the major

- component of contrast enhancement. *Radiology* 121: 379-382, 1976
- 81) Kumar P, Kumar S, Marsden HB, Lynch PG, Earnshaw E: Weibel-Palade bodies in endothelial cells as a marker for angiogenesis in brain tumors. *Cancer Res* 40: 2010-2019, 1980
 - 82) 黒岩敏彦、平野朝雄、Llenna JF: Glioblastomaの血管に関する光顕的検討. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 27: 717-723, 1987
 - 83) Lemeunier A, Burri PH, Weibel ER: Absence of acid phosphatase activity in specific endothelial organelles. *Histochemie* 20: 143-149, 1969
 - 84) Long DM: Capillary ultrastructure and the blood-brain barrier in human malignant brain tumor. *J Neurosurg* 32: 127-144, 1970
 - 85) Lossinsky AS, Vorbrodt AW, Wisniewski HM: Ultracytochemical studies of vesicular and canalicular transport structures in the injured mammalian blood-brain barrier. *Acta Neuropathol(Berl)* 61: 239-245, 1983
 - 86) Luchert PJ, Lantos PL: A morphometric study of the microvasculature of a rat glioma. *Neuropathol Appl Neurobiol* 11: 461-473, 1985
 - 87) Luse SA: Electron microscopic study of brain tumors. *Neurol* 10: 881-905, 1960
 - 88) Maeda T, Nishiyama F, Ogashiwa M, Takeuchi K, Hirano H: Phosphatase activities in human glioma cells as revealed by light and electron microscopy. A preliminary study. *J Neurooncol* 3: 211-216, 1985
 - 89) Mancardi GL, Tabaton M, Liwnicz BH: Endothelial mitochondrial content of cerebral cortical capillaries in Alzheimer's disease. An ultrastructural quantitative study. *Eur Neurol* 24: 49-52, 1985
 - 90) Manuelidis EE, Solitare GB: Glioblastoma multiforme, in Mincler J (ed): *Pathology of the Nervous System*, vol 2. New York, McGraw-Hill, 1971, pp2026-2071
 - 91) Mato M, Ookawara S: Influences of age and vasopressin on the uptake capacity of fluorescent granular perithelial cells (FGP) of small cerebral vessels of the rat. *Am J Anat* 162: 45-53, 1981
 - 92) Mazant R, Franzini-Armstrong C: Scanning electron microscopy of pericytes in rat red muscle. *Microvasc Res* 23: 361-369, 1982
 - 93) McLone DG: Ultrastructure of the vasculature of central nervous system tumors of childhood. *Child's Brain* 6: 242-254, 1980
 - 94) McNiff JM, Gil J: Secretion of Weibel-Palade bodies observed in extra-alveolar vessels of rabbit lung. *J Appl Physiol* 54: 1284-1286, 1983
 - 95) Meyrick B, Brigham KL: Increased permeability associated with dilatation of endothelial cell junctions caused by histamine in intimal explants from bovine pulmonary artery. *Exp Lung Res* 6: 11-25, 1984
 - 96) 宮上 光祐、坪川 孝志、Smith BH, Kornblith PL: Glioblastoma 血管内皮細胞における tubular bodies(Weibel-Palade 小体). *脳神経* 37: 277-285, 1985
 - 97) Nag S, Robertson DM, Dinsdale HB: Quantitative estimate of pinocytosis in experimental acute hypertension. *Acta Neuropathol (Berl)* 46: 107-116, 1979
 - 98) Nagashima T, Hoshino T, Cho KG: Proliferative potential of vascular components in human glioblastoma multiforme. *Acta Neuropathol(Berl)* 73: 301-305, 1987
 - 99) Nagy Z, Mathieson G, Huttner I: Opening of tight junctions in cerebral endothelium. Effect of pressure-pulse induced acute arterial hypertension. *J Comp Neurol* 185: 579-585, 1979-1
 - 100) Nagy Z, Pappius HM, Mathieson G, Huttner I: Opening of tight junctions in cerebral endothelium. Effects of hyperosmolar mannitol infused through the internal carotid artery. *J Comp Neurol* 185: 569-578, 1979-2

- 101) Nagy Z, Goehlert UG, Wolfe LS, Huttner I: Ca²⁺ depletion-induced disconnection of tight junctions in isolated rat brain microvessels. *Acta Neuropathol (Berl)* 68: 48-52, 1985
- 102) Nakagawa Y, Cervos-Navarro J, Artibas J: A possible paracellular route for the resolution of hydrocephalic edema. *Acta Neuropathol (Berl)* 64 : 122-128, 1984
- 103) Neuwelt EA: CT monitoring of chemotherapeutic agent delivery after osmotic blood brain barrier disruption. *Clin Neurosurg* 28: 520-531, 1980
- 104) Nir I, Kohn S, Doron Y, Israel O, Front D: Quantitative analysis of tight junctions and uptake of ^{99m}Tc in human gliomas. *Cancer Invest* 4: 519-524, 1986
- 105) Nir I, Levanon D, Iosilevsky G: Permeability of blood vessels in experimental gliomas: uptake of ^{99m}Tc-glucoheptonate and alteration in blood-brain barrier as determined by cytochemistry and electron microscopy. *Neurosurgery* 25: 523-532, 1989
- 106) Nishio S, Ohta M, Abe M, Kitamura K: Microvascular abnormalities in ethylnitrosourea (ENU)-induced rat brain tumors: Structural basis for altered blood-brain barrier function. *Acta Neuropathol (Berl)* 59: 1-10, 1983
- 107) 脳腫瘍全国集計調査報告、第6巻、1987
- 108) Nystrome S: Pathological changes in blood vessels of human glioblastoma multiforme. Comparative studies using plastic casting, angiography, light microscopy, and electron microscopy. *Acta Pathol Microbiol Scand (Supple)* 137: 9-83, 1960
- 109) 小川和朗, 小田琢三, 黒住一昌, 杉野幸夫: 細胞学大系 1 概説, 細胞膜. 朝倉書店, 1974, pp317-339
- 110) Ohnishi T, Sher PB, Posner JB, Shapiro WR: Capillary permeability factor secreted by malignant brain tumor. Role in peritumoral brain edema and possible mechanism for anti-edema effect of glucocorticoids. *J neurosurg* 72: 245-251, 1990
- 111) Ohsugi T, Hirano A: Tubular bodies in endothelial cells in meningiomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 3: 1-8, 1977
- 112) Oldendorf WH, Brown WJ: Greater number of capillary endothelial cell mitochondria in brain than in muscle. *Proc Soc Exp Biol Med* 149: 736-738, 1975
- 113) Oldendorf WH, Cornford ME, Brown WJ: The large apparent metabolic work capacity of the blood-brain barrier. *Trans Amer Neurol Assoc* 101: 157-160, 1976
- 114) Oldendorf WH, Cornford ME, Brown WJ: The large apparent metabolic work capacity of the blood-brain barrier: a study of the mitochondrial content of capillary endothelial cells in brain and other tissues of the rat. *Ann Neurol* 1: 409-417, 1977
- 115) Orledge A, D'Amore PA: Inhibition of capillary endothelial cell growth by pericytes and smooth muscle cells. *J Cell Biolog* 105: 1455-1462, 1987
- 116) Orledge AA, Smith SR, D'Amore PA: Influence of pericytes on capillary endothelial cell growth. *Am Rev Respir Dis* 140: 1129-1131, 1989
- 117) Palade GE: Blood capillaries of the heart and other organs. *Circulation* 24: 368-384, 1961
- 118) Pederson PL: Tumor mitochondria and the bioenergetics of cancer cells. *Prog Exp Tumor Res* 22: 190-274, 1978
- 119) Povlishock JT, Becker DP, Sullivan HG, Miller JD: Vascular permeability alterations to horseradish peroxidase in experimental brain injury. *Brain Res* 153: 223-239, 1978
- 120) Pratt BM, Form DM, Madri JA: Endothelial cell- extracellular matrix

- interactions. *Ann NY Acad Sci* 460: 274-288, 1986
- 121) Raimondi AJ: Localization of radio-iodinated serum albumin in human glioma. *Arch Neurol* 11: 173-184, 1964
 - 122) Rapoport SI: Transport in cells and tissues. In *Blood-Brain Barrier in Physiology and Medicine*, pp17-42, New York, Raven Press, 1976
 - 123) Rhodin J: Ultrastructure of mammalian venous capillaries, venules and small collecting veins. *J Ultrastruct Res* 25: 452-500, 1968
 - 124) Risau W: Developing brain produces an angiogenesis factor. *Proc Natl Aca Sci* 83: 3855, 1986
 - 125) Roy S, Sarkar C: Ultrastructural study of micro-blood vessels in human brain tumors and peritumoral tissue. *J Neuro-oncol* 7: 283-294, 1989
 - 126) Russell DS, Rubinstein LJ: *Pathology of Tumours of the Nervous System*, ed 5. Edward Arnold, 1989, pp231-232
 - 127) Ryan US: Use of endothelial cells in culture for studies of the microcirculation. *Prog Appl Microcirc* 9: 150-164, 1985
 - 128) Sapsford I, Buontempo J, Weller RO: Basement membrane surfaces and perivascular compartments in normal human brain and glial tumours. A scanning electron microscope study. *Neuropathol Appl Neurobiol* 9: 181-194, 1983
 - 129) Schiffer D, Chio A, Giordana T, Mauro A, Migheli A, Vigliani C: The vascular response to tumor infiltration in malignant gliomas. *Acta Neuropathol* 77: 369-378, 1989
 - 130) Sengel A, Stoebner P: Golgi origin of tubular inclusions in endothelial cells. *J Cell Biol* 44: 223-226, 1970
 - 131) Shalley MM, Cavallo T, Cotran RS: Endothelial proliferation in inflammation. I. Autoradiographic studies following thermal injury to the skin of normal rats. *Am J Pathol* 89: 277-296, 1977
 - 132) 柴田 尚武、福島 政昭、井上 優、堤 健二、森 和夫: 脳腫瘍血管透過性の超微形態. *脳神経外科* 13: 275-281, 1985
 - 133) 篠田 淳、平山宏史、荒木有三、安藤 隆、坂井 昇、山田 弘: Astrocytic tumorにおける血管内皮増生とその基底膜変化. *脳神経* 41: 263-271, 1989
 - 134) Sholley MM, Ferguson GP, Seibel HR, Montour JL, Wilson JD: Mechanisms of neovascularization. Vascular sprouting can occur without proliferation of endothelial cells. *Lab Invest* 51: 624-634, 1984
 - 135) Simionescu N, Simionescu M, Palade G: Structural basis of permeability in sequential segments of the microvasculature of the diaphragm. *Microvas Res* 15: 17-36, 1978
 - 136) Steinhoff H, Lanksch W, Kazner E, Grumme T, Meese W, Lange S, Aulich A, Schindler E, Wende S: Computed tomography in the diagnosis and differential diagnosis of glioblastomas. A qualitative study of 295 cases. *Neuroradiology* 14: 193-200, 1977
 - 137) Stewart PA, Hayakawa K, Hayakawa E, Farrell CL, Maestro FD: A quantitative study of blood-brain barrier permeability ultrastructure in a new rat glioma model. *Acta Neuropathol(Berl)* 67: 96-102, 1985
 - 138) Stewart PA, Magliocco M, Hayakawa K, Farrell CL, Maestro RF, Girvin J, Kaufmann JCE, Vinters HV, Gilbert J: A quantitative analysis of blood-brain barrier ultrastructure in the aging human. *Microvasc Res* 33: 270-282, 1987-1
 - 139) Stewart PA, Hayakawa K, Farrell CL, Maestro RF: Quantitative study of microvessel ultrastructure in human peritumoral brain tissue. *J Neurosurg* 67: 697-705, 1987-2
 - 140) Stewart PA, Hayakawa EM: Interendothelial junctional changes underlie the developmental tightening of the blood-brain barrier. *Dev Brain Res* 32: 271-281, 1987-3

- 141) Sun NCJ, Bowie EJW, Kazmier EJ, Elveback LR, Owen CA: Blood coagulation studies in patients with cancer. *Mayo Clin Proc* 49: 636-641, 1974
- 142) Takeuchi K, Hoshino K: Statistical analysis of factors affecting survival after glioblastoma multiforme. *Acta Neurochir (Wien)* 37: 57-73, 1977
- 143) Tannock IF: Population kinetics of carcinoma cells, capillary endothelial cells and fibroblasts in a transplanted mouse mammary tumour. *Cancer Res* 32: 2470-2476, 1970
- 144) Taveras JM, Wood EH: Diagnostic neuroradiology, vol.2, 2nd ed., Part 4. Selection of diagnostic procedures. Baltimore. Williams & Wilkins, 1976, pp1000
- 145) 土田 正: 脳腫瘍血管の超微細構造と血液脳関門に関する研究. *神経進歩* 18: 362-377, 1974-1
- 146) 土田 正: 脳腫瘍血管の超微細構造と脳血液関門に関する研究—第2報 実験脳腫瘍から— . *神経進歩* 18: 595-602, 1974-2
- 147) 上松右二, 平野朝雄, 河野寛一, Llena JF: 小脳astrocytomaにおける astrocyte-endothelial interface. *脳神経外科* 17: 999-1004, 1989
- 148) Van Deurs B: Observations on the blood-brain barrier in hypertensive rats, with particular reference to phagocytic pericytes. *J Ultrastruct Res* 56: 65-77, 1976
- 149) Van Deurs B: Structural aspects of brain barriers, with special reference to the permeability of the cerebral endothelium and choroidal epithelium. *Int Rev Cytol* 65: 117-191, 1980
- 150) Vick NA, Bigner DD: Microvascular abnormalities in virally induced brain tumors. Structural basis for altered blood-brain barrier function. *J Neurol Sci* 17: 29-39, 1972
- 151) Vick NA, Bigner DD: Chemotherapy of brain tumors. *Arch Neurol* 34: 523-526, 1977
- 152) Vorbrott AW, Lossinsky AS, Wisniewski HM, Suzuki R, Yamaguchi T, Masaoka H, Klatzo I: Ultrastructural observations on the transvascular route of protein removal in vasogenic brain edema. *Acta Neuropathol(Berl)* 66: 265-273, 1985
- 153) Waggener JD, Beggs JL: Vasculature of neural neoplasm. *Adv Neurology* 15: 27-49, 1976
- 154) Wagner DD, Olmsted JB, Marcer VJ: Immunolocalization of von Willebrand protein in Weibel-Palade bodies of human endothelial cells. *J Cell Biol* 95: 355-360, 1982
- 155) Warburg O: On the origin of cancer cells. *Science* 123: 309-314, 1956
- 156) Weber T, Seitz RJ, Liebert UG, Gallasch E, Wechsler W: Affinity cytochemistry of vascular endothelia in brain tumors by biotinylated Ulex Europaeus Type I Lectin (UEA I). *Acta Neuropathol (Berl)* 67: 128-135, 1985
- 157) Weibel ER, Palade GE: New cytoplasmic components in arterial endothelia. *J Cell Biol* 23: 101-112, 1964
- 158) Weller RO, Foy M, Cox S: The development and ultrastructure of the microvasculature in malignant gliomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 3: 307-322, 1977
- 159) Westergaard E, Van Deurs B, Brondsted HE: Increased vesicular transfer of horseradish peroxidase across cerebral endothelium, evoked by acute hypertension. *Acta Neuropathol(Berl)* 37: 141-152, 1977-1
- 160) Westergaard E: The blood-brain barrier to horseradish peroxidase under normal and experimental conditions. *Acta Neuropathol(Berl)* 39: 181-187, 1977-2
- 161) Wilkins RH, Rengachary SS: *Neurosurgery* vol.1, McGraw-Hill Book Company, 1985, pp568-569

- 162) 山田英智, 山元寅男, 渡辺陽之輔: 電子顕微鏡による細胞組織図譜 I.
医学書院, 1967, pp66-69
- 163) 横山 武, 福西 亮, 綿貫 勤, 喜納 勇: 現代の病理学. 総論. 金原出版,
1985, pp 103-110
- 164) Yoshii Y, Sugiyama K: Intercapillary distance in the proliferating
area of human glioma. *Cancer Res* 48: 2938-2941, 1988
- 165) Zagzag D, Brem S: Control of neoplastic development in the brain:
Copper depletion prevents neovascularization and tumor growth.
Surg Forum 37: 506-509, 1986
- 166) Zimmerman HM: The pathology of primary brain tumors.
Semin Roentgenol 19: 129-138, 1984

	NO	AL μm^2	Aab μm^2	AE μm^2	DL μm	Dab μm	DE μm	END 個
type A	1	1.6	33.3	50.1	1.43	6.51	7.99	2
	2	6.4	24.1	34.1	2.85	5.54	6.59	3
	3	2.0	19.5	42.1	1.60	4.98	7.32	2
	4	2.1	21.1	29.0	1.64	5.18	6.08	3
	5	6.9	23.4	38.4	2.96	5.46	6.99	2
	6	2.5	19.0	25.3	1.78	4.92	5.68	2
	7	2.1	22.3	35.2	1.64	5.33	6.70	3
	8	2.5	42.2	55.1	1.78	7.33	8.38	2
	9	6.6	26.2	40.6	2.90	5.78	7.19	3
	10	3.6	27.1	69.5	2.14	5.88	9.41	2
type B	11	18.3	62.0	192.4	4.83	8.89	15.65	11
	12	6.6	26.3	38.3	2.90	5.79	6.98	4
	13	13.5	35.6	58.9	4.15	6.73	8.66	4
	14	9.7	25.3	32.8	3.51	5.68	6.46	2
	15	6.7	56.3	70.7	2.92	8.47	9.49	5
	16	48.8	74.8	104.0	7.88	9.76	11.51	3
	17	28.9	44.0	72.9	6.07	7.49	9.63	3
	18	31.3	48.9	64.8	6.31	7.90	9.08	2
	19	47.9	86.9	153.1	7.81	10.52	13.96	7
	20	16.6	48.1	158.4	4.60	7.83	14.20	4
	21	38.0	75.9	118.4	6.96	9.83	12.28	3
	22	5.6	46.1	109.5	2.67	7.66	11.81	4
	23	10.3	63.3	109.0	3.62	8.98	11.78	7
	24	32.9	77.8	90.8	6.47	9.96	10.75	3
	25	50.6	99.4	137.2	8.03	11.25	13.21	6
	26	70.7	113.7	185.0	9.49	12.03	15.35	6
	27	18.2	73.4	115.9	4.81	9.67	12.15	5
	28	15.5	74.5	113.0	4.44	9.74	11.99	5
	29	79.0	128.8	157.4	10.03	12.81	14.16	7
	30	22.2	51.6	107.2	5.32	8.11	11.68	6
	31	6.7	44.1	56.9	2.92	7.50	8.51	5
	32	10.8	40.9	63.2	3.71	7.22	8.97	2
	33	59.5	115.5	192.1	8.70	12.13	15.64	6
	34	37.6	91.3	114.4	6.92	10.78	12.07	5
	35	13.0	48.2	73.6	4.07	7.84	9.68	6
	36	50.7	120.3	156.1	8.03	12.38	14.10	5
	37	28.7	59.5	91.1	6.04	8.71	10.77	7
	38	9.3	46.0	90.6	3.44	7.65	10.74	4
mean		21.7	56.2	90.7	4.67	8.16	10.35	4.2
SD		20.6	30.4	48.3	2.41	2.23	2.87	2.0

表1 良性神経膠腫の血管の形態計測値
(略語は表7参照)

NO	LN %	BM μ m	PV 個	JA %	WPB-1 %	WPB-2 個	NS grade	N/C %	MIT %
1	4.80	0.74	11.90	0.0	0.0	0.00	2.0	55.1	4.10
2	26.56	0.53	1.17	0.0	0.0	0.00	1.0	61.0	4.05
3	10.26	1.17	8.69	0.0	0.0	0.00	1.0	72.5	6.43
4	9.95	0.45	5.30	0.0	33.3	0.67	1.0	73.4	6.33
5	29.49	0.77	5.06	0.0	0.0	0.00	1.0	40.0	6.56
6	13.16	0.38	2.66	0.0	0.0	0.00	1.0	72.6	0.00
7	9.42	0.69	5.18	0.0	0.0	0.00	1.0	69.0	4.33
8	5.92	0.53	4.01	0.0	0.0	0.00	1.0	74.5	8.86
9	25.19	0.71	0.73	0.0	0.0	0.00	2.0	29.5	10.90
10	13.28	1.77	4.41	0.0	0.0	0.00	2.0	70.1	2.19
11	29.52	3.38	10.00	18.2	0.0	0.00	2.0	67.4	2.17
12	25.10	0.60	6.32	25.0	25.0	0.75	1.5	67.9	4.90
13	37.92	0.97	4.18	0.0	0.0	0.00	1.5	50.1	6.07
14	38.34	0.39	7.50	0.0	0.0	0.00	2.0	47.3	3.45
15	11.90	0.51	5.35	0.0	0.0	0.00	2.0	51.4	2.24
16	65.24	0.88	8.12	0.0	0.0	0.00	0.0	55.1	4.15
17	65.68	1.07	4.62	0.0	0.0	0.00	0.0	46.8	2.46
18	64.01	0.59	8.50	0.0	0.0	0.00	2.0	44.8	4.65
19	55.12	1.72	1.84	28.6	14.3	0.86	2.0	62.8	3.59
20	34.51	3.19	1.09	25.0	75.0	2.00	2.0	34.8	4.48
21	50.07	1.23	0.20	66.6	33.3	1.67	1.0	43.7	2.50
22	12.15	2.08	1.43	0.0	25.0	0.50	1.0	37.6	4.95
23	16.27	1.40	1.64	42.9	42.9	1.43	1.0	65.9	2.90
24	42.29	0.40	0.28	0.0	0.0	0.00	1.0	55.9	0.98
25	50.91	0.98	2.18	0.0	0.0	0.00	1.0	48.3	2.55
26	62.18	1.66	6.46	0.0	0.0	0.00	1.0	58.7	2.84
27	24.80	1.24	3.50	20.0	80.0	2.00	1.0	60.5	2.73
28	20.81	1.13	4.84	0.0	0.0	0.00	1.0	51.2	2.91
29	61.34	0.68	2.67	14.3	28.6	0.29	1.0	73.4	3.39
30	43.02	1.79	2.61	0.0	33.3	0.33	2.0	35.9	6.83
31	15.19	0.51	2.83	20.0	20.0	0.60	2.0	67.9	4.20
32	26.41	0.88	4.66	0.0	0.0	0.00	1.0	32.8	4.95
33	51.52	1.76	7.02	0.0	0.0	0.00	1.0	52.9	4.24
34	41.18	0.65	4.48	0.0	20.0	0.40	1.0	65.7	6.63
35	26.97	0.92	2.52	0.0	0.0	0.00	1.0	42.2	3.69
36	42.14	0.86	1.45	0.0	0.0	0.00	1.0	64.1	7.60
37	48.24	1.03	6.42	28.6	0.0	0.00	1.0	74.1	5.47
38	20.22	1.55	0.30	0.0	0.0	0.00	1.0	44.8	8.93
mean	30.64	1.10	4.27	7.6	11.3	0.30	1.3	55.8	4.48
SD	20.27	0.69	2.84	14.7	20.1	0.56	0.5	13.1	2.24

表1 良性神経膠腫の血管の形態計測値
(前ページに続く、略語は表7参照)

	NO	AL μ m ²	Aab μ m ²	AE μ m ²	DL μ m	Dab μ m	DE μ m	END 個
type A	1	3.6	30.8	38.8	2.14	6.26	7.03	2
	2	2.7	22.1	47.9	1.85	5.30	7.81	2
	3	2.3	23.0	30.1	1.71	5.41	6.19	2
	4	0.6	35.7	68.5	0.87	6.74	9.34	3
	5	5.8	22.2	49.1	2.72	5.32	7.91	2
	6	5.4	23.3	36.4	2.62	5.45	6.81	2
	7	6.8	30.8	49.2	2.94	6.26	7.91	2
type B	8	22.3	102.5	185.4	5.33	11.4	15.36	4
	9	23.0	50.6	101.2	5.41	8.03	11.35	3
	10	7.8	45.8	82.0	3.15	7.64	10.22	3
	11	10.2	33.5	158.0	3.60	6.53	14.18	2
	12	34.1	84.8	210.1	6.59	10.39	16.36	11
	13	22.1	77.5	207.6	5.30	9.93	16.26	8
	14	5.8	43.9	220.1	2.72	7.48	16.74	5
	15	59.2	111.6	338.5	8.68	11.92	20.76	5
	16	18.4	150.6	300.8	4.84	13.85	19.57	3
	17	40.3	123.2	502.5	7.16	12.52	25.29	7
	18	16.1	65.7	257.7	4.53	9.15	18.11	4
	19	18.9	83.9	133.5	4.91	10.34	13.04	6
	20	8.4	72.3	248.2	3.27	9.59	17.78	6
	21	32.5	161.7	616.8	6.43	14.35	28.02	3
	22	8.5	33.7	85.7	3.29	6.55	10.45	9
	23	11.6	91.4	107.2	3.84	10.79	11.68	3
	24	18.8	43.8	61.8	4.89	7.47	8.87	4
	25	14.7	67.6	205.0	4.33	9.28	16.16	6
	26	34.9	102.5	200.5	6.67	11.42	15.98	5
	27	11.5	93.7	275.9	3.83	10.92	18.74	6
	28	20.7	67.3	114.1	5.13	9.26	12.05	2
	29	21.4	69.6	109.1	5.22	9.41	11.79	3
	30	33.1	113.7	204.8	6.49	12.03	16.15	5
	31	38.4	134.5	197.1	6.99	13.09	15.84	8
	32	32.5	66.4	546.9	6.43	9.19	26.39	3
	33	20.1	87.1	117.9	5.06	10.53	12.25	5
	34	18.9	48.0	103.5	4.91	7.82	11.48	4
	35	10.2	36.9	112.6	3.60	6.85	11.97	4
	36	6.2	74.3	237.7	2.81	9.73	17.40	6
	37	10.2	23.3	70.40	3.60	5.45	9.47	4
mean		17.8	68.9	179.2	4.43	9.02	14.12	4.3
SD		12.9	37.3	138.2	1.74	2.53	5.35	2.1

表2 悪性神経膠腫の血管の形態計測値
(略語は表7参照)

NO	LN %	BM μ m	PV 個	JA %	WPB-1 %	WPB-2 個	NS grade	N/C %	MIT %	REC E/D
1	11.69	0.39	11.30	0.0	0.0	0.00	2.0	70.7	3.78	E
2	12.21	1.26	3.17	0.0	0.0	0.00	1.0	61.4	3.32	E
3	10.00	0.39	1.79	0.0	0.0	0.00	2.0	59.6	3.68	D
4	1.68	1.30	3.01	0.0	66.7	1.67	2.0	58.8	8.49	D
5	26.13	1.30	3.31	0.0	0.0	0.00	2.0	59.7	2.15	D
6	23.18	0.68	8.81	0.0	50.0	0.50	1.0	56.7	5.13	D
7	22.08	0.83	6.39	0.0	0.0	0.00	1.0	39.5	2.97	D
8	21.76	1.98	20.20	0.0	50.0	0.75	2.5	45.2	4.22	E
9	45.45	1.66	7.56	66.7	66.7	1.00	2.0	32.2	4.33	E
10	17.03	1.29	2.89	0.0	33.3	0.33	2.0	57.7	5.21	E
11	30.45	3.83	6.56	50.0	50.0	1.00	1.0	53.7	5.04	E
12	40.21	2.99	4.24	45.5	18.2	0.36	1.5	32.5	5.60	E
13	28.52	3.17	4.88	0.0	62.5	1.88	2.0	53.2	4.62	E
14	13.21	4.63	9.92	20.0	40.0	0.60	1.5	56.9	5.66	E
15	53.05	4.42	4.24	0.0	40.0	0.80	3.0	54.5	4.89	E
16	12.22	2.86	18.60	0.0	100.0	6.33	2.0	38.7	5.30	E
17	32.71	6.39	13.90	0.0	57.1	1.71	2.0	24.1	5.00	E
18	24.51	4.48	5.77	0.0	25.0	0.25	2.0	52.7	6.61	E
19	22.53	1.35	12.80	16.7	33.3	0.83	1.3	62.0	6.21	E
20	11.62	4.10	7.13	0.0	66.7	2.33	3.0	39.1	6.72	E
21	20.10	6.84	3.68	0.0	66.7	1.00	2.0	48.6	4.48	E
22	25.22	1.95	11.00	0.0	33.3	0.78	2.0	46.6	5.66	D
23	12.69	0.45	14.90	0.0	33.3	1.33	1.0	61.4	3.57	D
24	42.92	0.70	11.30	0.0	0.0	0.00	1.0	62.0	7.11	D
25	21.75	3.44	15.10	16.7	50.0	0.67	2.0	65.4	7.52	D
26	34.05	2.28	11.50	0.0	0.0	0.00	1.5	51.3	5.12	D
27	12.27	3.91	3.28	0.0	16.7	0.33	1.5	46.2	6.15	D
28	30.76	1.40	8.69	0.0	0.0	0.00	2.0	17.6	5.62	D
29	30.75	1.19	5.12	0.0	0.0	0.00	1.5	52.2	5.89	D
30	29.11	2.06	3.39	0.0	60.0	2.00	2.0	58.5	4.71	D
31	28.55	1.38	3.56	0.0	50.0	2.38	1.5	60.3	4.80	D
32	48.95	8.60	10.70	0.0	0.0	0.00	3.0	45.6	10.10	D
33	23.08	0.86	1.22	0.0	20.0	0.20	2.0	65.2	8.14	D
34	39.38	1.83	1.09	0.0	0.0	0.00	1.5	60.8	9.73	D
35	27.64	2.56	3.45	0.0	0.0	0.00	3.0	37.7	3.06	D
36	8.34	3.84	11.10	0.0	33.3	0.67	2.5	55.0	6.19	D
37	43.78	2.01	5.31	50.0	0.0	0.00	3.0	62.3	1.97	D
mean	25.39	2.56	7.59	7.2	30.3	0.80	1.9	51.5	5.37	
SD	12.18	1.89	4.85	16.9	27.2	1.16	0.6	11.9	1.83	

表2 悪性神経膠腫の血管の形態計測値
(前ページに続く、略語は表7参照)

parameter	type A(n=17)		type B(n=58)		T-test
	mean	SD	mean	SD	
LN (%)	15.0	8.3	33.0	15.4	p<0.01
BM (μ m)	0.8	0.4	2.1	1.7	p<0.01
PV (個)	5.11	3.23	6.14	4.54	NS
JA (%)	0	0	9.6	17.4	p<0.01
WPB-1 (%)	8.8	19.9	24.2	26.2	p<0.05
WPB-2 (個)	0.17	0.42	0.66	1.02	p<0.01
NA (grade)	1.4	0.5	1.6	0.7	NS
N/C (%)	60.2	12.8	51.8	12.0	p<0.04
MIT (%)	4.90	2.67	4.93	1.89	NS

表3 type Aとtype Bの血管の形態計測値
(略語は表7参照)

parameter	benign(n=10)		malignant(n=7)		T-test
	mean	SD	mean	SD	
LN (%)	14.8	8.5	15.3	8.1	NS
BM (μ m)	0.8	0.4	0.9	0.4	NS
PV (個)	4.91	3.18	5.40	3.28	NS
JA (%)	0	0	0	0	NS
WPB-1 (%)	3.3	10.0	16.7	26.7	NS
WPB-2 (個)	0.07	0.20	0.31	0.58	NS
NA (grade)	1.3	0.5	1.6	0.5	NS
N/C (%)	61.8	14.9	58.1	8.64	NS
MIT (%)	5.38	2.99	4.22	1.93	NS

表4 type Aにおける良性神経膠腫と悪性神経膠腫
の血管の形態計測値
(略語は表7参照)

parameter	benign(n=28)		malignant(n=30)		T-test
	mean	SD	mean	SD	
LN (%)	38.7	16.8	27.8	11.7	p<0.01
BM (μ m)	1.2	0.7	2.9	1.9	p<0.01
PV (個)	4.04	2.67	8.10	5.01	p<0.01
JA (%)	10.3	16.3	8.9	18.3	NS
WPB-1 (%)	14.2	22.0	33.5	26.3	p<0.01
WPB-2 (個)	0.39	0.62	0.92	1.23	p<0.05
NA (grade)	1.3	0.6	2.0	0.6	p<0.01
N/C (%)	53.7	11.7	50.0	12.0	NS
MIT (%)	4.16	1.79	5.64	1.69	p<0.01

表5 type Bにおける良性神経膠腫と悪性神経膠腫
の血管の形態計測値
(略語は表7参照)

parameter	early(n=16)		delay(n=21)		T-test
	mean	SD	mean	SD	
LN (%)	24.8	12.4	25.8	12	NS
BM (μ m)	3.2	1.8	2.0	1.8	NS
PV (個)	8.55	5.26	6.86	4.38	NS
JA (%)	12.4	21.2	3.2	11.0	NS
WPB-1 (%)	44.3	25.5	19.7	23.3	p<0.01
WPB-2 (個)	1.20	1.47	0.50	0.72	NS
NA (grade)	1.9	0.6	1.9	0.6	NS
N/C (%)	49.0	12.3	53.4	11.2	NS
MIT (%)	5.06	0.92	5.61	2.26	NS

表6 悪性神経膠腫における早期再発例と晩期再発例
の血管の形態計測値
(略語は表7参照)

- AL: area of vessel lumen (内腔面積)
- Aab: area of vessel ablumen (外周面積)
- AE: area of entire profile
- DL: diameter of vessel lumen (内腔直径)
- Dab: diameter of vessel ablumen (外周直径)
- DE: diameter of entire profile
- LN: luminal narrowing (内腔狭小度 = $AL/Aab \times 100$)
- BM: thickness of basement membrane (基底膜の厚さ = $DE-Dab/2$)
- END: number of endothelial cell (血管構成内皮細胞数)
- PV: number of pinocytic vesicle (細胞質 $1\mu m^2$ あたりのpinocytic vesicleの数)
- JA: junction abnormality (junctionの異常の割合)
- NS: nuclear shape (核の形のgrade)
- N/C: nuclear-cytoplasmic ratio (核細胞質比)
- WPB-1: 全内皮細胞に対するWeibel-Palade bodyを含む内皮細胞の割合
- WPB-2: 1個の内皮細胞に含まれるWeibel-Palade bodyの数
- MIT: mitochondrial density
- REC E: early recurrence (早期再発)
- REC D: delayed recurrence (晩期再発)

表7 表1から表6までの略語

diag	number of vessels / 400x field										平均
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1 BG	5	10	8	5	5	5	10	5	7	8	6.8
2 BG	6	5	7	6	8	8	5	11	6	6	6.8
3 BG	8	6	8	5	3	9	8	5	3	6	6.1
4 MG	27	17	31	22	21	22	27	27	30	24	24.8
5 MG	30	31	28	30	18	27	15	20	22	27	24.8
6 MG	13	8	31	16	10	9	13	12	6	10	12.8
7 MG	13	11	10	13	10	9	13	12	13	11	11.5
8 MG	16	25	24	25	14	17	43	14	30	27	23.5
9 MG	26	40	31	29	38	29	33	29	24	30	30.9
10 MG	16	25	24	25	14	17	43	14	30	27	23.5
11 MG	25	30	19	22	27	29	30	21	24	25	25.2
12 MG	27	41	31	29	27	26	30	28	36	33	30.8

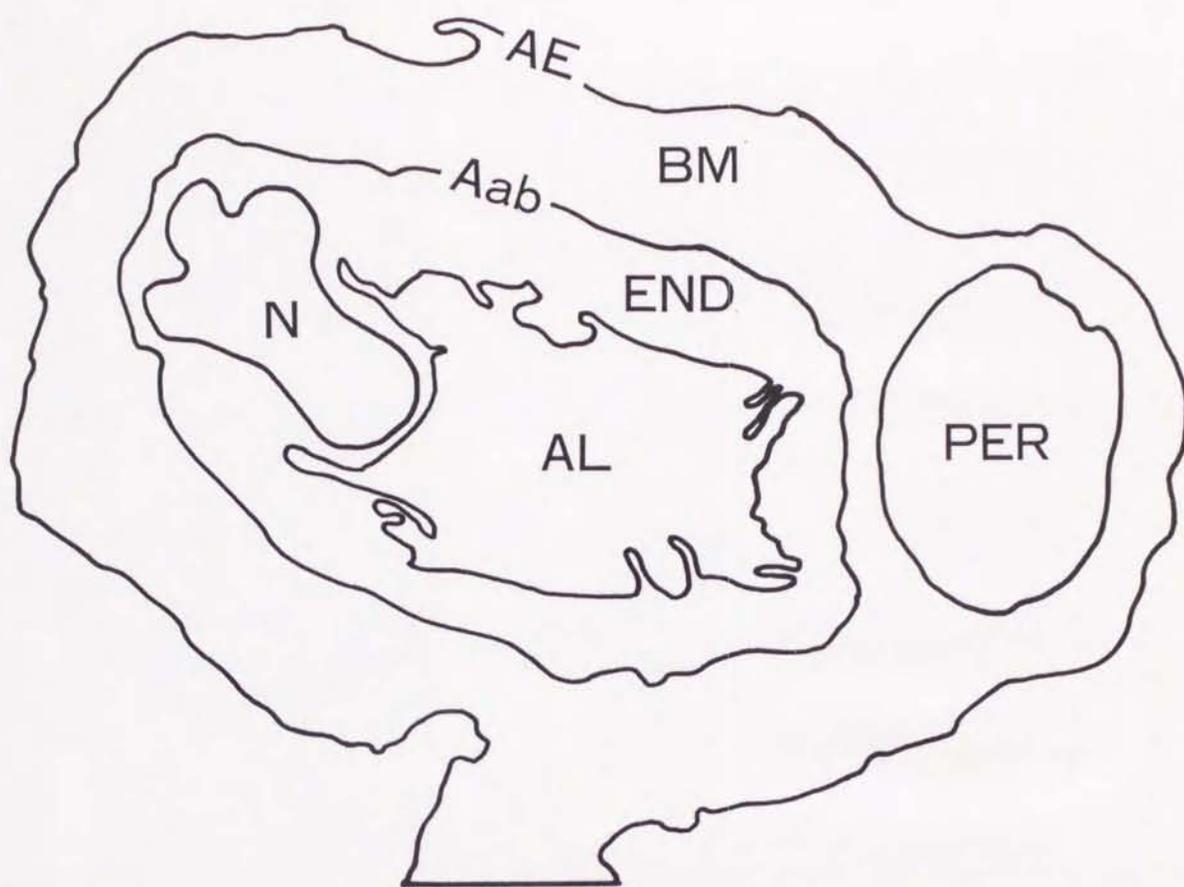
表8 腫瘍辺縁部の血管数
400倍の一定視野、10視野の血管数およびその平均値
BG:benign glioma, MG:malignant glioma

diag	vessel end (no.)	end (no.)	WPB(+) (no.)	WPB-1 (%)	WPB (no.)	WPB-2 (no./end)
1 BG	7	38	8	21.1	14	0.37
2 BG	5	13	1	7.7	3	0.23
3 BG	5	29	1	3.4	2	0.07
4 MG	7	26	21	80.8	59	2.27
5 MG	5	29	17	58.6	57	1.97
6 MG	9	22	10	45.5	23	1.05
7 MG	6	20	6	30	11	0.55
8 MG	6	36	24	66.7	97	2.69
9 MG	5	27	4	14.8	7	0.26
10 MG	10	26	13	50	34	1.31
11 MG	5	38	24	63.2	53	1.39
12 MG	7	19	16	84.2	65	3.42

表9 WPBの出現頻度
end:number of observed endothelium
WPB(+):number of endothelium with WPB
WPB-1:WPB(+)/end x100
WPB:number of WPB
WPB-2:WPB/end
BG:benign glioma, MG:malignant glioma



図1 内腔狭小度と基底膜の厚さ



B

図1 内腔狭小度と基底膜の厚さ

A : 腫瘍血管の低倍率写真。Bar=1 μ m

B : シェーマ。

AL : area of vessel lumen

Aab: area of vessel ablumen

AE : area of entire profile

N : nucleus, END : endothelial cell

BM: basement membrane, PER: pericyte

$$DL \text{ (diameter of vessel lumen)} = 2\sqrt{AL/\pi}$$

$$Dab \text{ (diameter of vessel ablumen)} = 2\sqrt{Aab/\pi}$$

$$DE \text{ (diameter of entire profile)} = 2\sqrt{AE/\pi}$$

$$\text{内腔狭小度} = AL / Aab \times 100 \quad (\%)$$

$$\text{基底膜の厚さ} = DE - Dab / 2 \quad (\mu m)$$

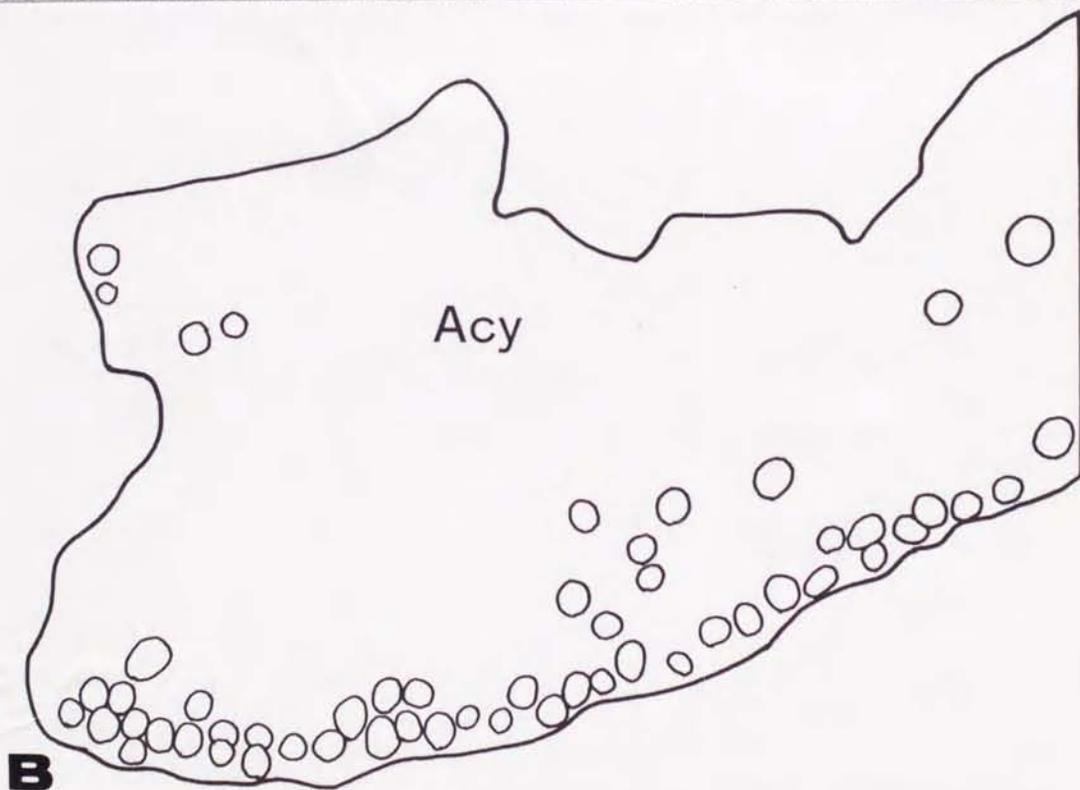


図2 pinocytic vesicleの測定

A: 腫瘍血管の細胞質の高倍率写真。Bar=0.5 μ m

B: シェーマ。細胞質の任意のtest area (シェーマ) を選び、その部分の面積 (Acy μ m²) およびpinocytic vesicleの数 (n 個) を数えて、細胞質1 μ m²あたりのpinocytic vesicleの数をn/Acy 個/ μ m²で求める。3個のtest areaの平均値をその血管のpinocytic vesicleの数とした。

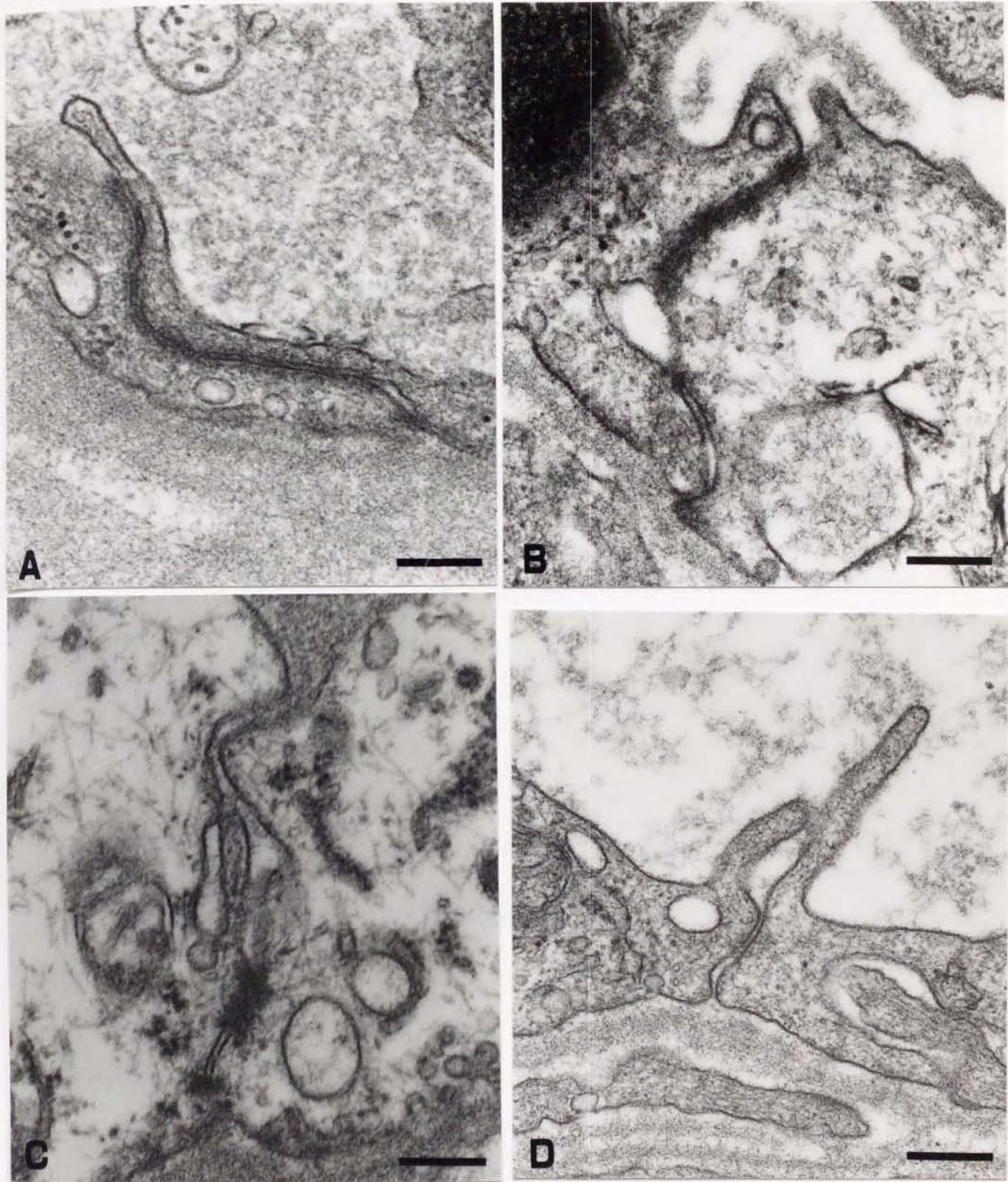


図3 junctionの異常

4個のjunctionを示す。A：全長がtight junctionである。B：junctionの一部に cleftがみられるが、tight junctionの長さが $0.25\mu\text{m}$ 以上ある。C：junctionのうち外葉の離れている部分が長く、tight junctionの長さが $0.25\mu\text{m}$ 未満である。D：全長にわたり、junctionの外葉が離れており、tight junctionが無い。これらのうちC、Dのjunctionを異常とした。それぞれのjunctionの血管内腔側には villous projectionがみられる。Bar= $0.25\mu\text{m}$

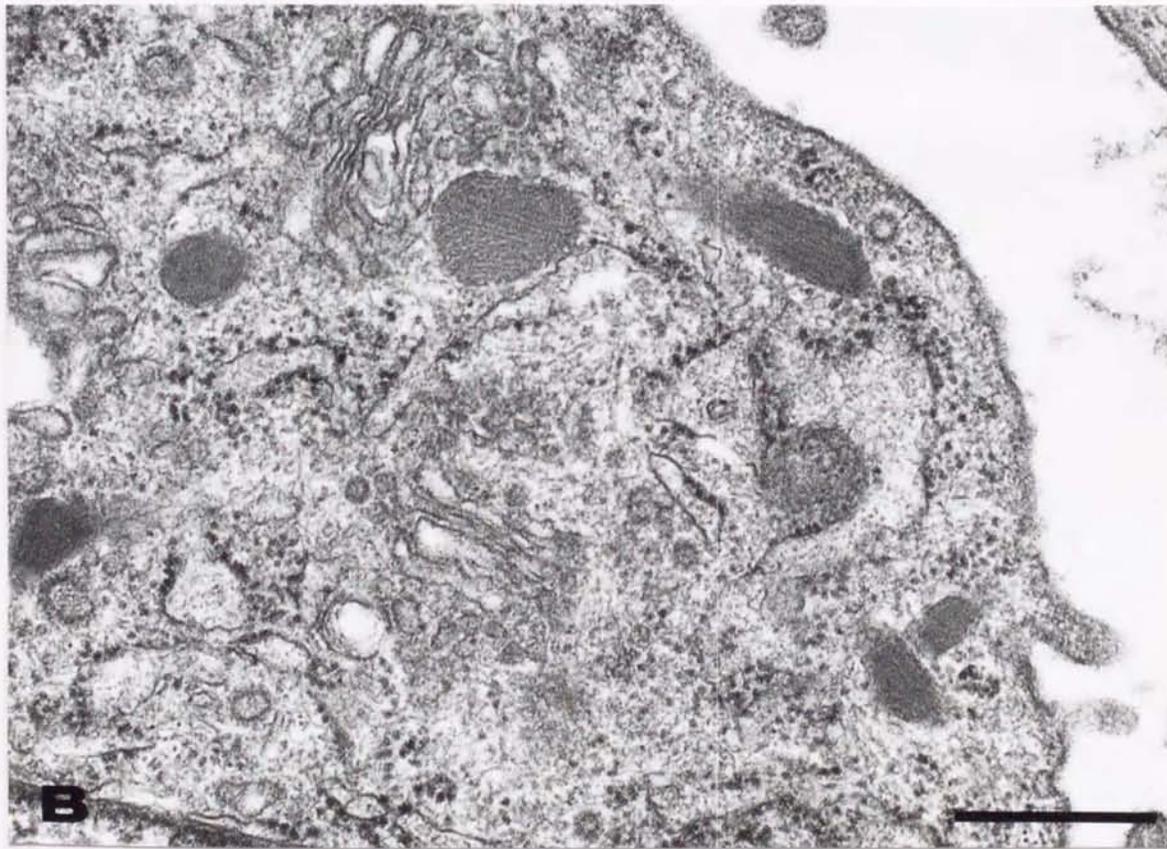
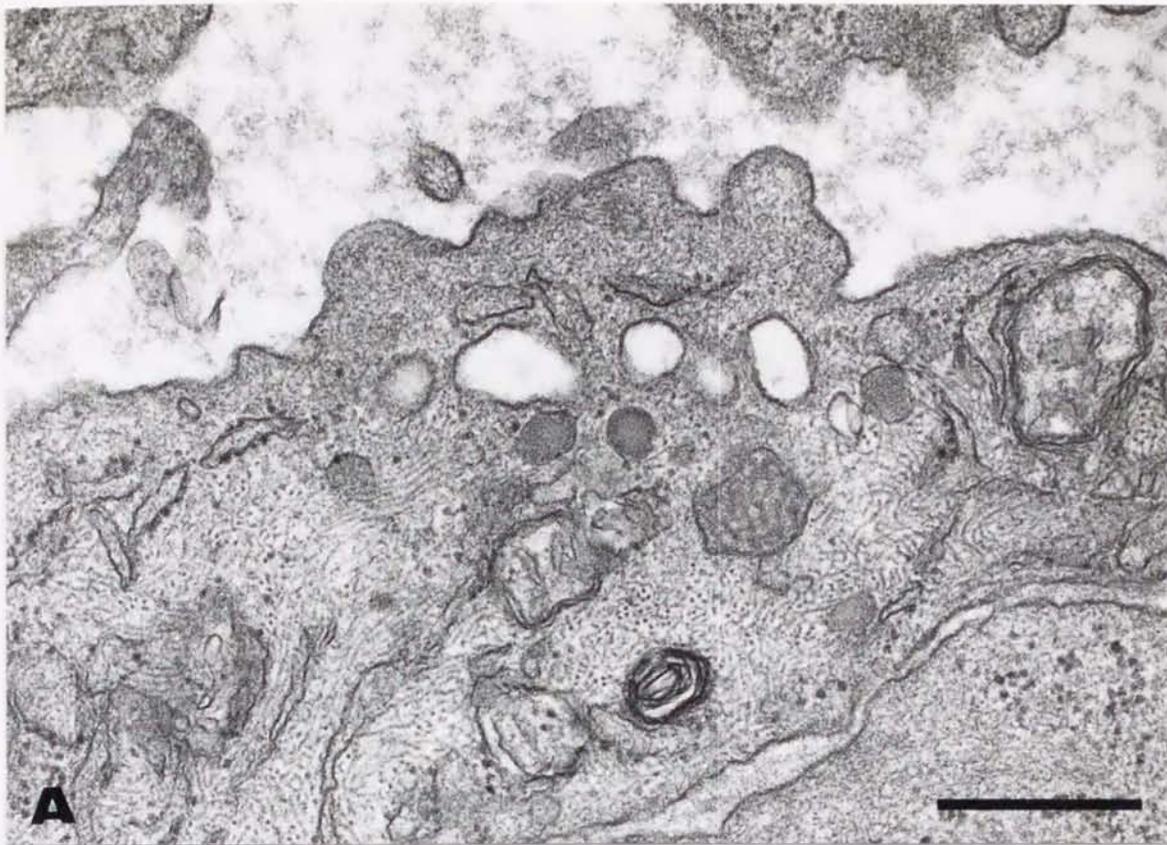


図4 Weibel-Palade body

A : matrixの比較的明るいimmature type。

B : matrixの比較的暗いmature type。

Bar=0.5 μ m

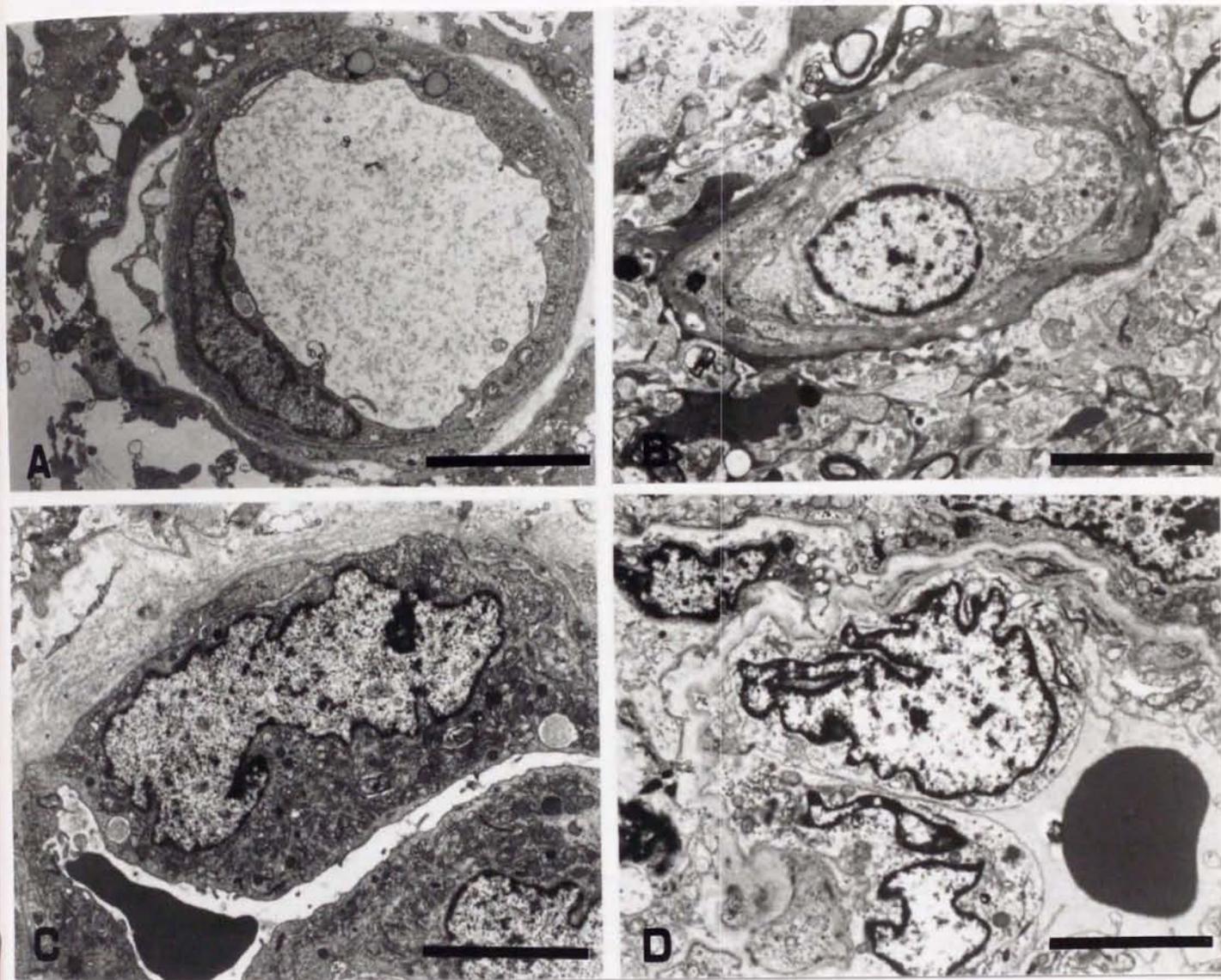


図5 核の形の異常

以下の4段階に分けた。

- A : grade 0; 紡錘形の平たい、正常と思われる形。
- B : grade 1; 楕円形。
- C : grade 2; 楕円形でかつ軽度の切れ込みのある形。
- D : grade 4; 切れ込みの強い形。

Bar=5 μ m

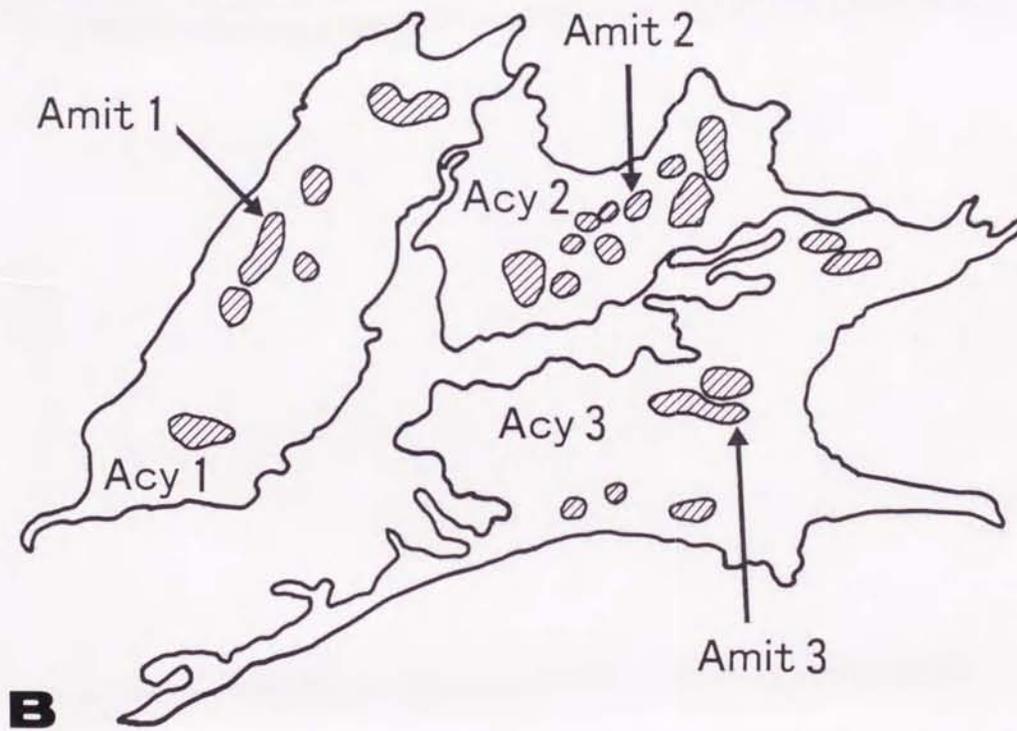
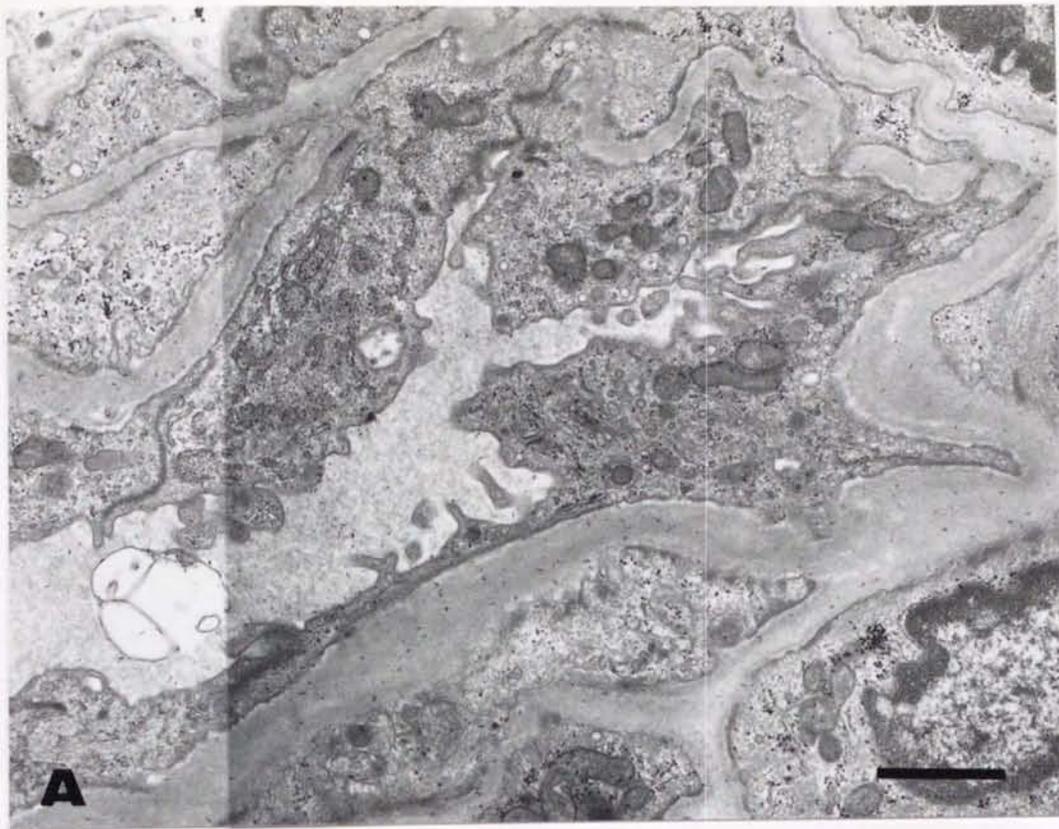


図6 Mitochondrial densityの測定

A : 腫瘍血管の低倍率写真。Bar=1 μ m

B : シェーマ。1個の内皮細胞において細胞質の面積 (Acy) に占める全部のmitochondriaの面積の合計 (Amit) の割合を求め、血管を構成するn個の内皮細胞の平均値をその血管のmitochondrial densityとした。

$$\text{Mitochondrial density (\%)} = \left(\frac{\text{Amit 1}}{\text{Acy 1}} + \frac{\text{Amit 2}}{\text{Acy 2}} + \dots + \frac{\text{Amit n}}{\text{Acy n}} \right) \times 100 / n$$

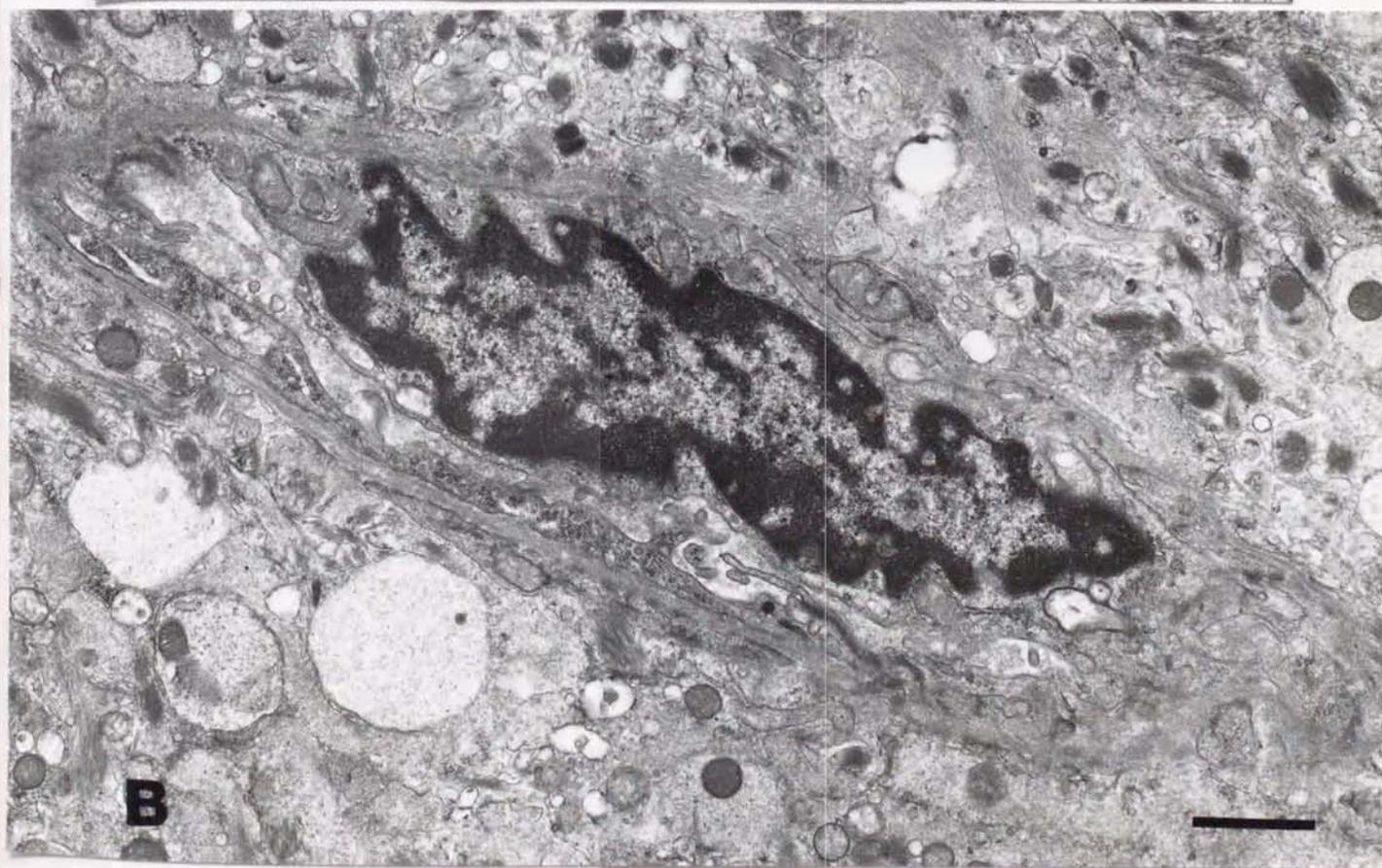
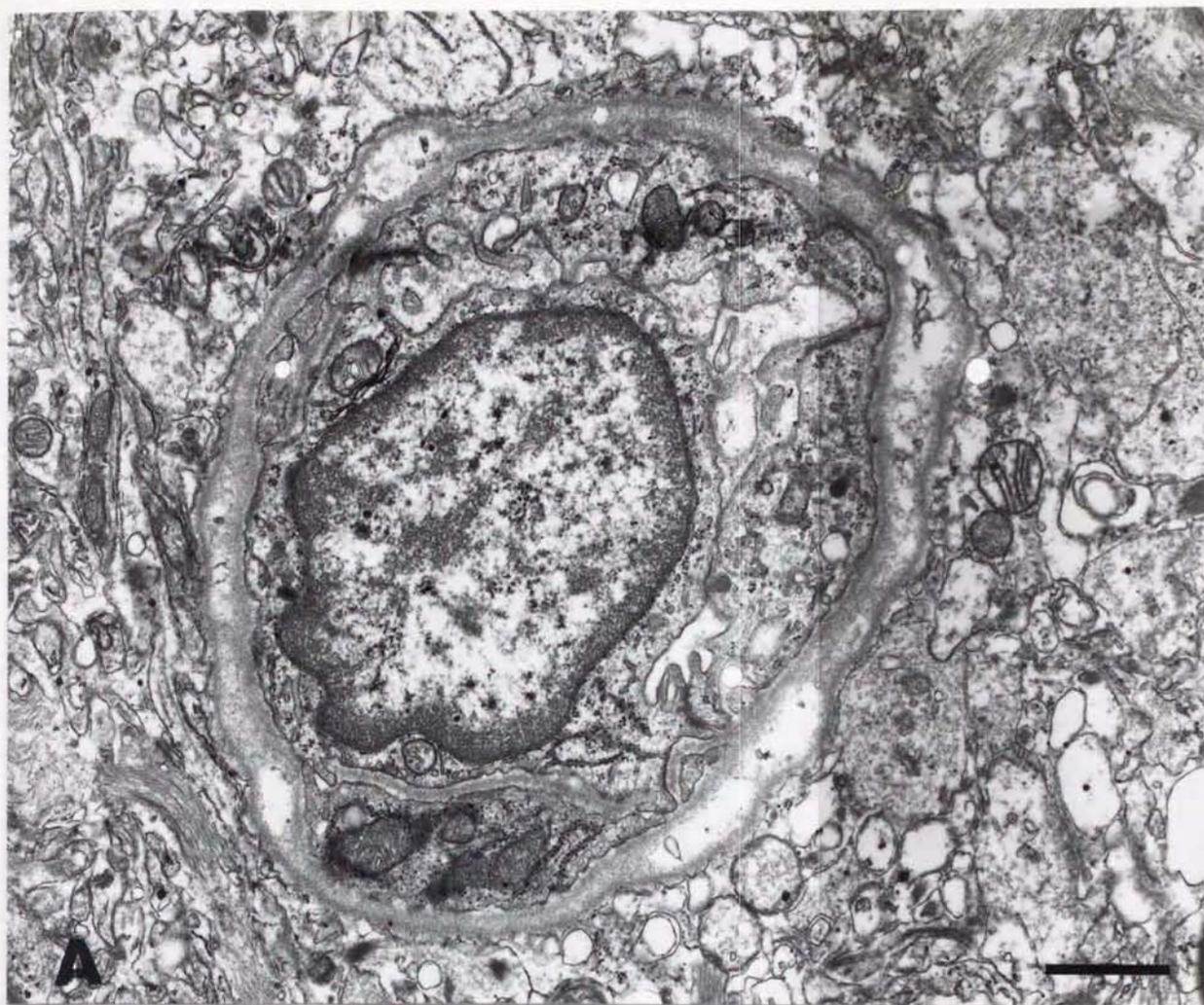


図7 type Aの血管

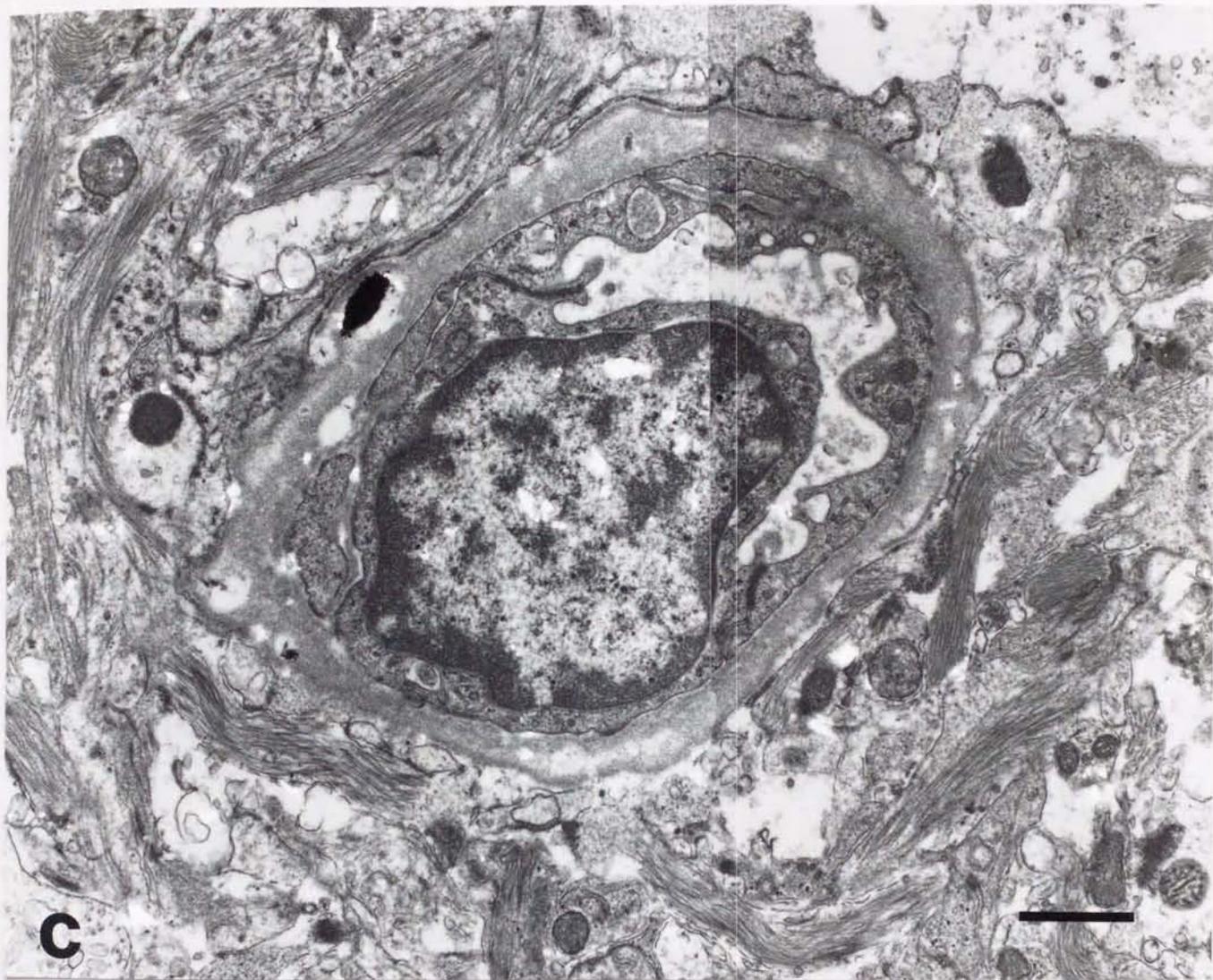


図7 type Aの血管

A : 良性神経膠腫の血管 (no.7)

B : 悪性神経膠腫の血管 (no.3)

C : 良性神経膠腫の血管 (no.6)

type Aは内腔の径が $3\mu\text{m}$ 未満で、構成する内皮細胞の数が3個以下の血管である。
内腔はslit likeで、基底膜は薄く、核細胞質比は高い。Bar= $1\mu\text{m}$

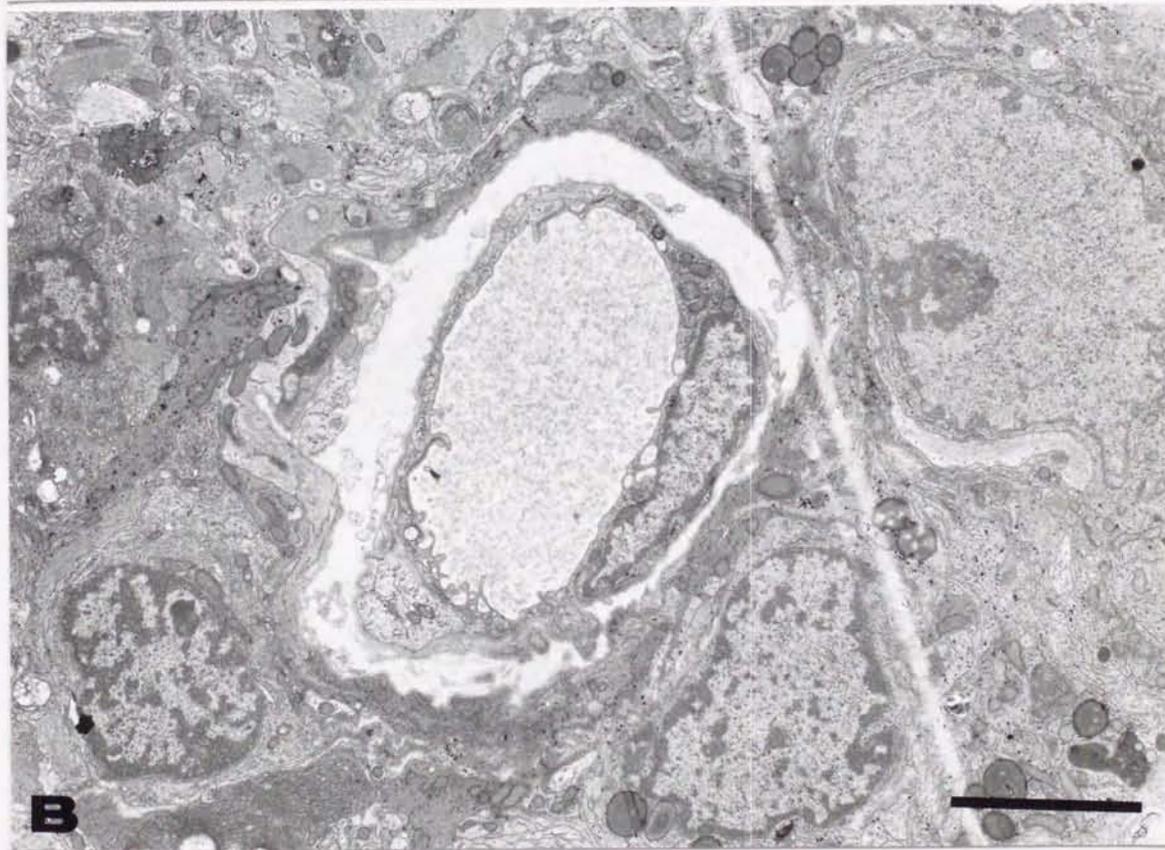
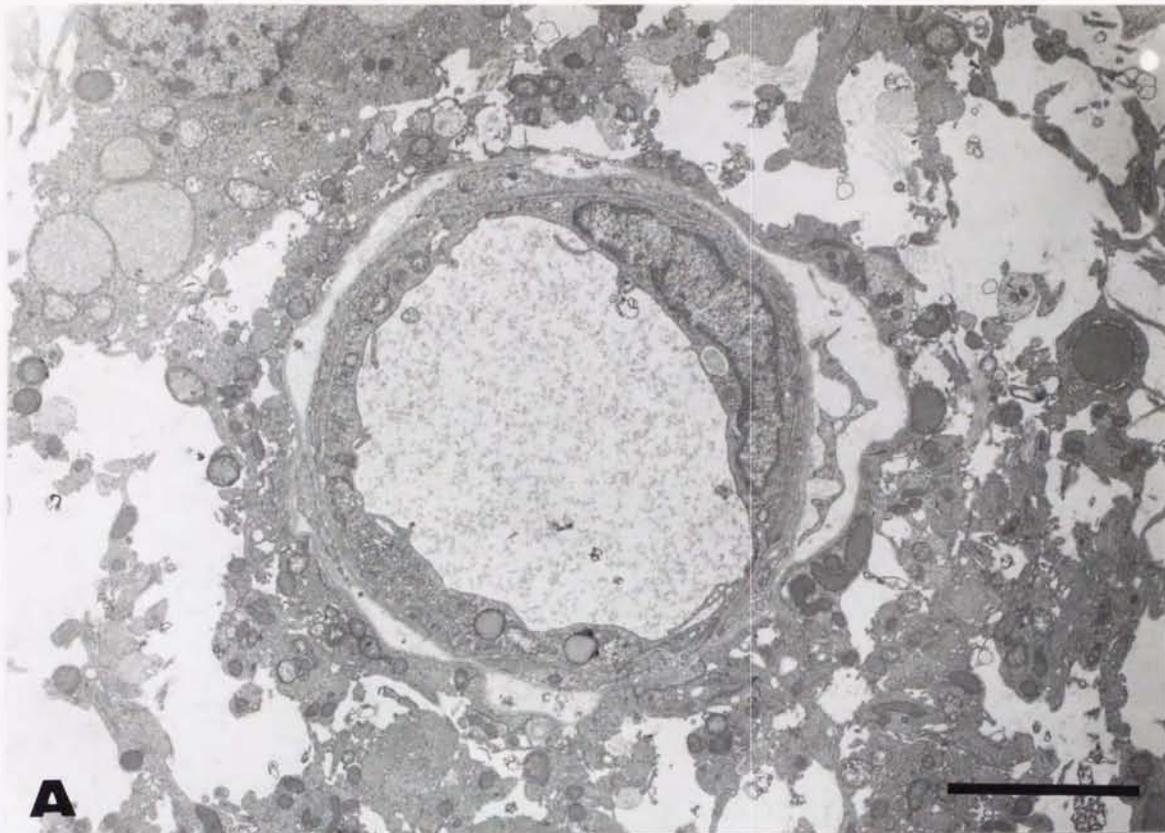


図8 良性神経膠腫、type Bの血管における内腔狭小度と基底膜の厚さ

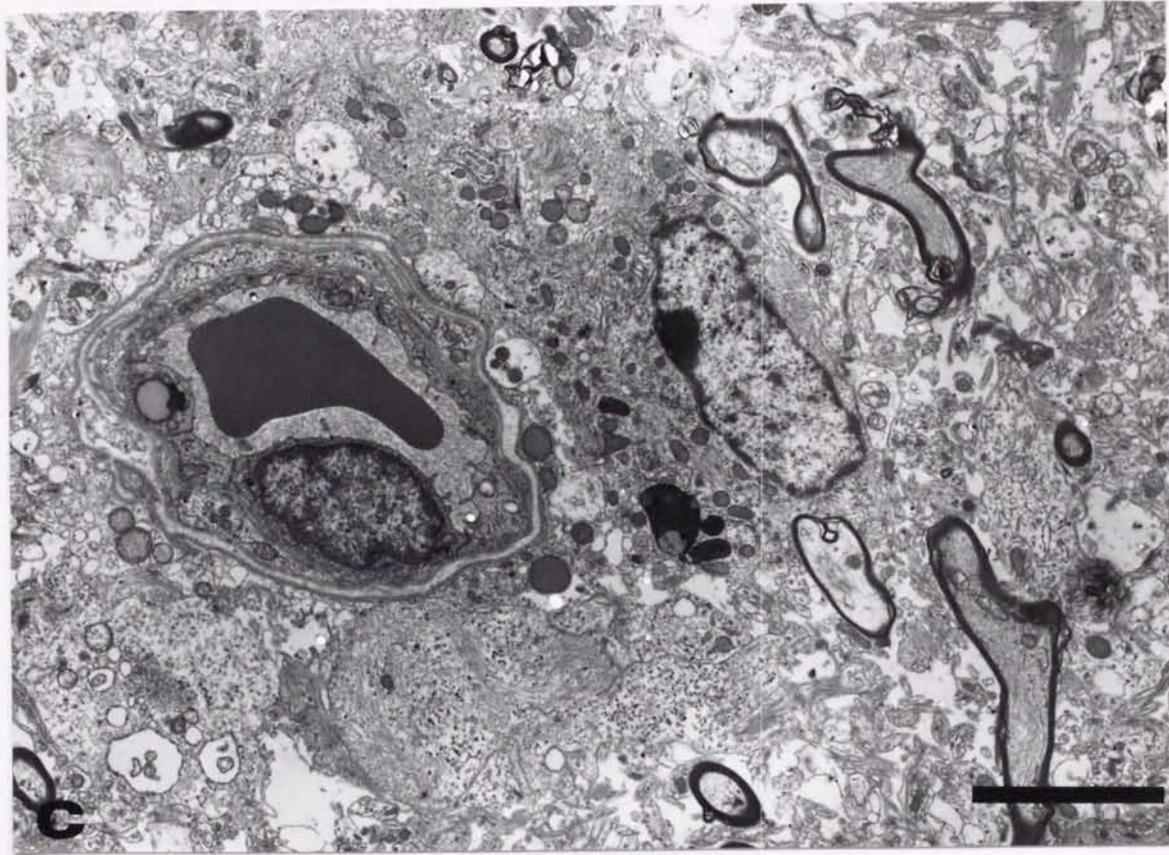


図8 良性神経膠腫、type Bの血管における内腔狭小度と基底膜の厚さ

A : no.16、B : no.17、C : no.37

内腔狭小度はA : 65.2%、B : 65.7%、C : 48.2%で、悪性神経膠腫の血管に比べて弱い。

基底膜の厚さはA : $0.88\mu\text{m}$ 、B : $1.07\mu\text{m}$ 、C : $1.03\mu\text{m}$ で、悪性神経膠腫の血管に比べて薄い。Bar= $5\mu\text{m}$

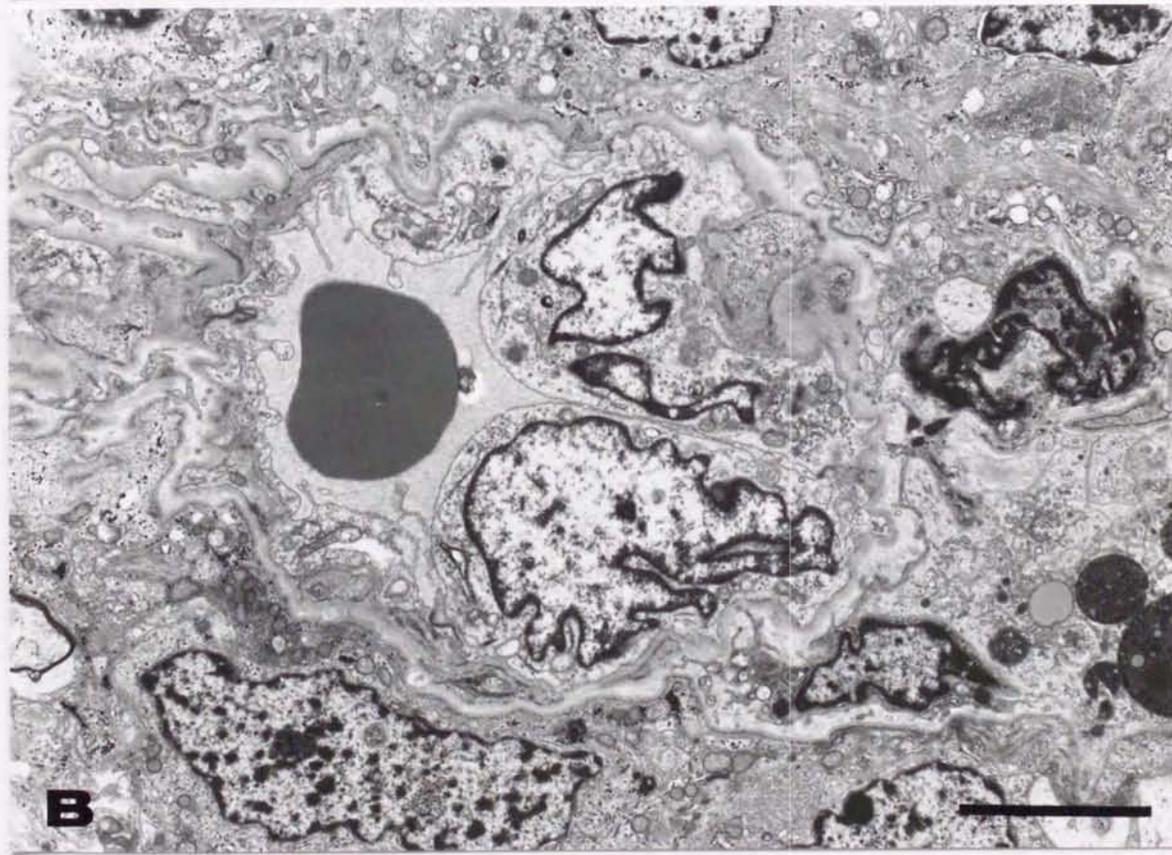
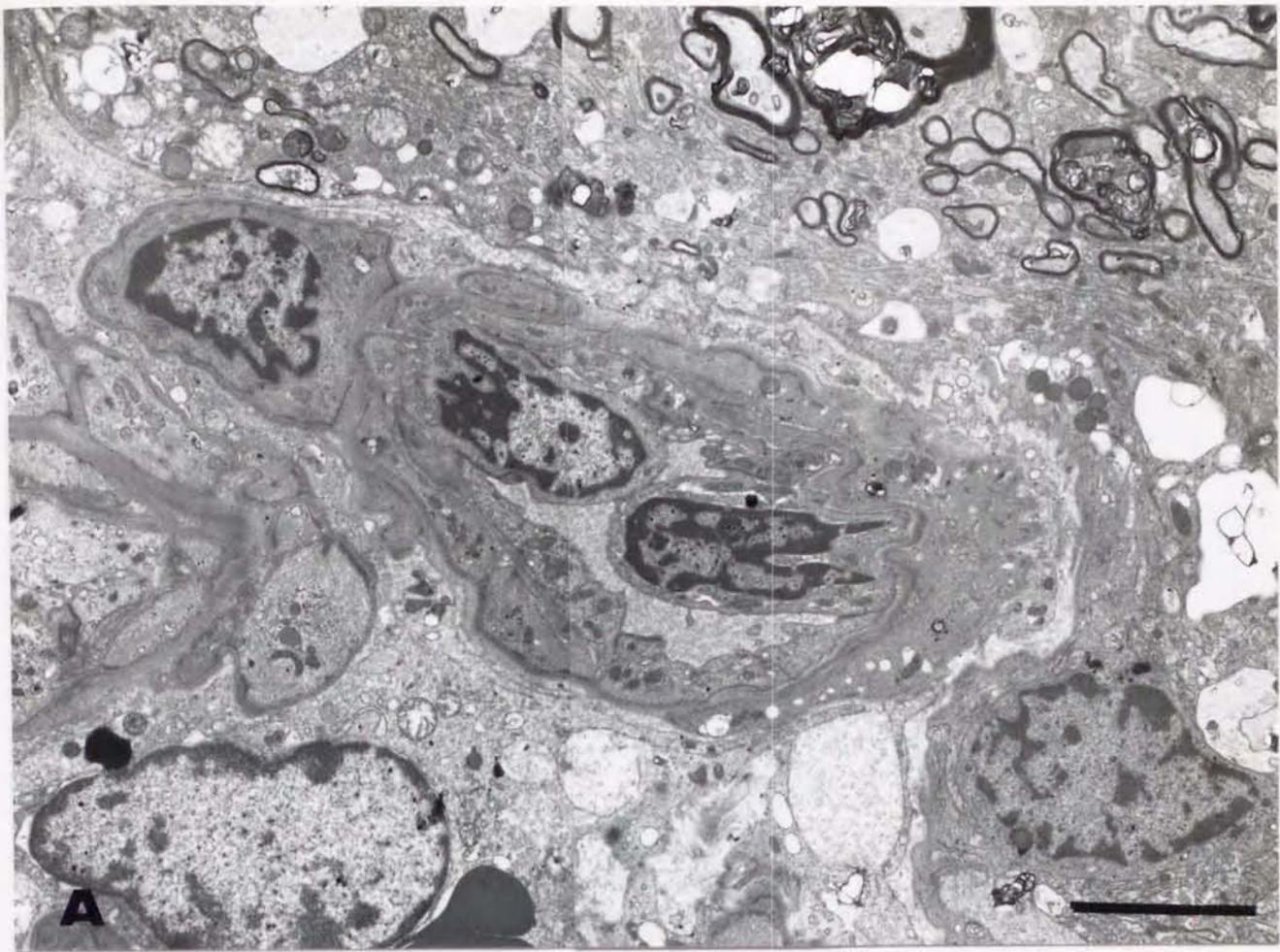


図9 悪性神経膠腫、type Bの血管における内腔狭小度と基底膜の厚さ

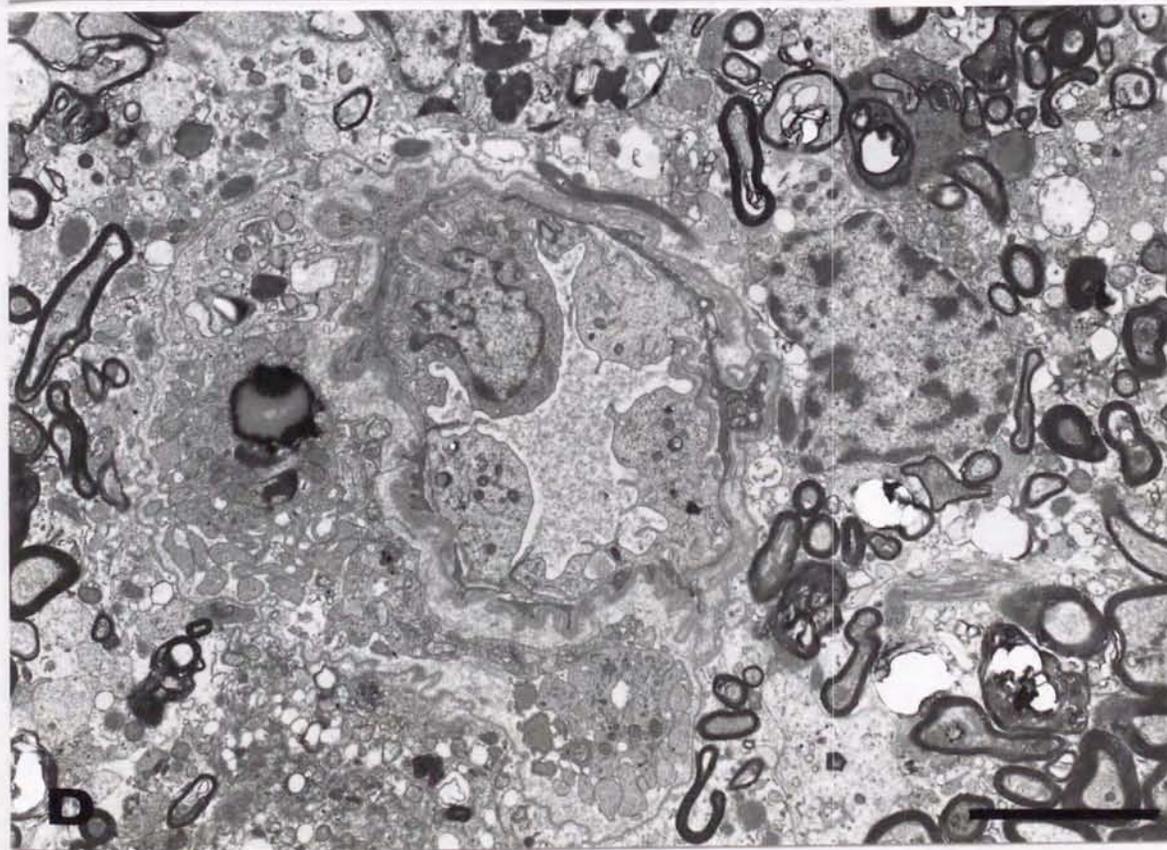
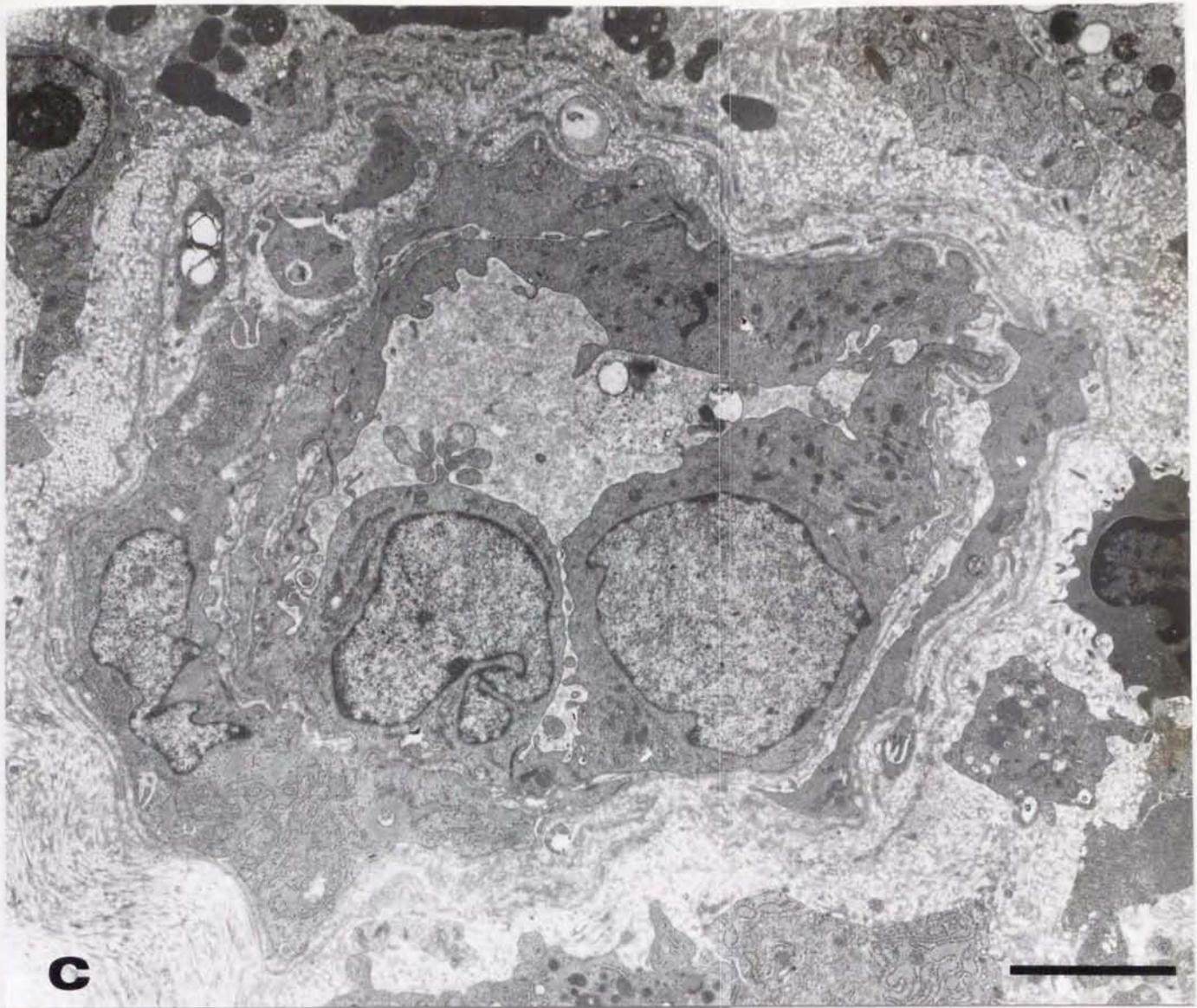


図9 悪性神経膠腫、type Bの血管における内腔狭小度と基底膜の厚さ

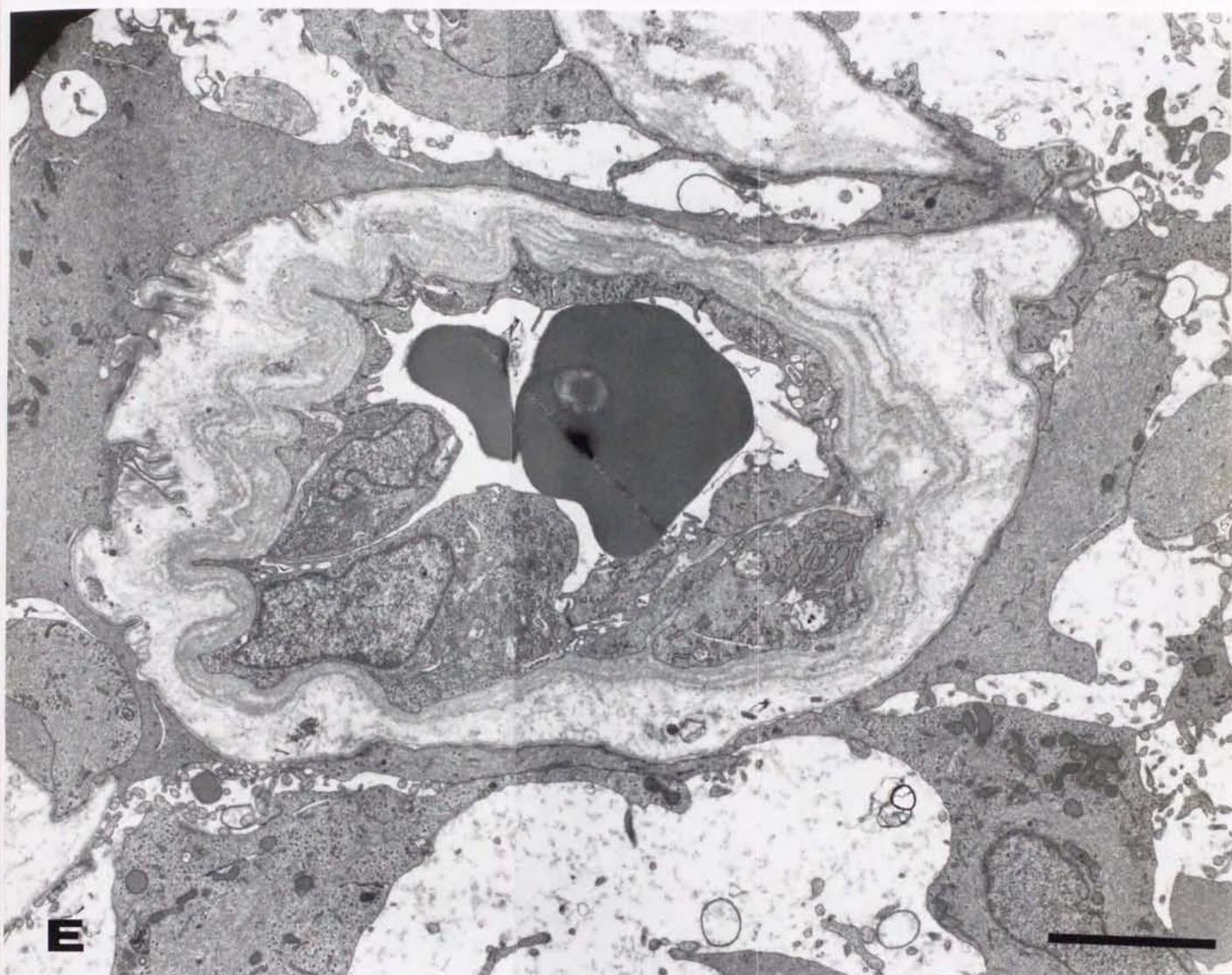
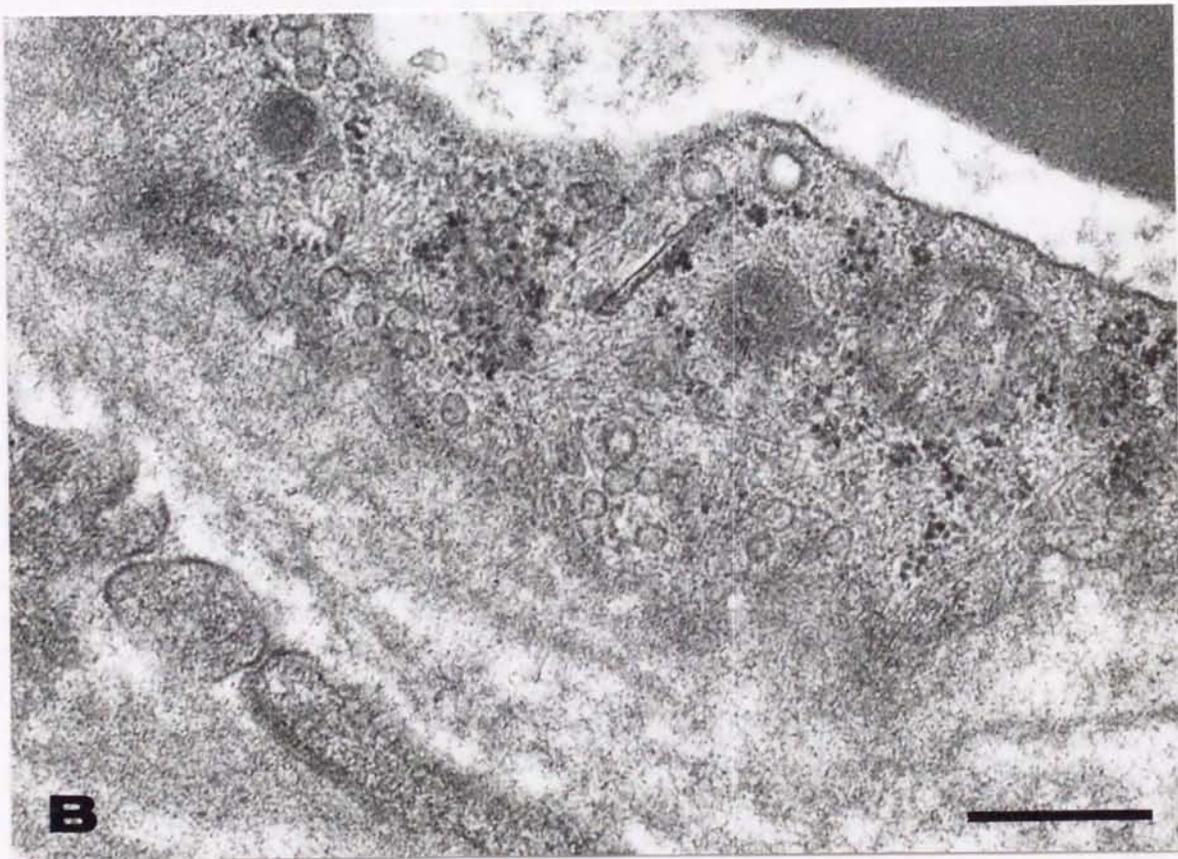


図9 悪性神経膠腫、type Bの血管における内腔狭小度と基底膜の厚さ

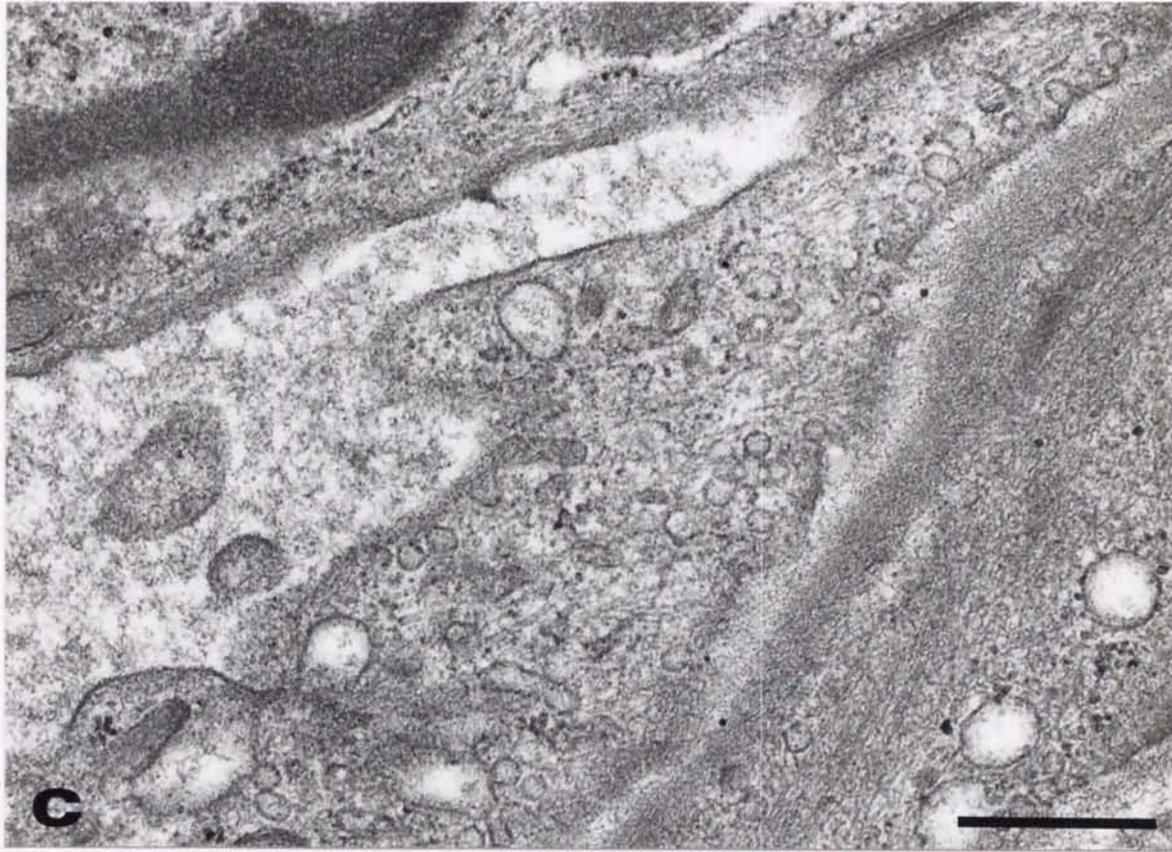
A : no.36、 B : no.8、 C : no.21、 D : no.35、 E : no.12

内腔狭小度は A : 8.3%、 B : 21.8%、 C : 20.1%、 D : 27.6%、 E : 40.2%で、
 良性神経膠腫の血管に比べて強い。

基底膜の厚さは A : $3.84\mu\text{m}$ 、 B : $1.98\mu\text{m}$ 、 C : $6.84\mu\text{m}$ 、 D : $2.56\mu\text{m}$ 、
 E : $2.99\mu\text{m}$ で、 良性神経膠腫の血管に比べて厚い。 Bar= $5\mu\text{m}$



☒ 10 pinocytic vesicle



⊠ 10 pinocytotic vesicle

A : 悪性神経膠腫の血管 (no.22)

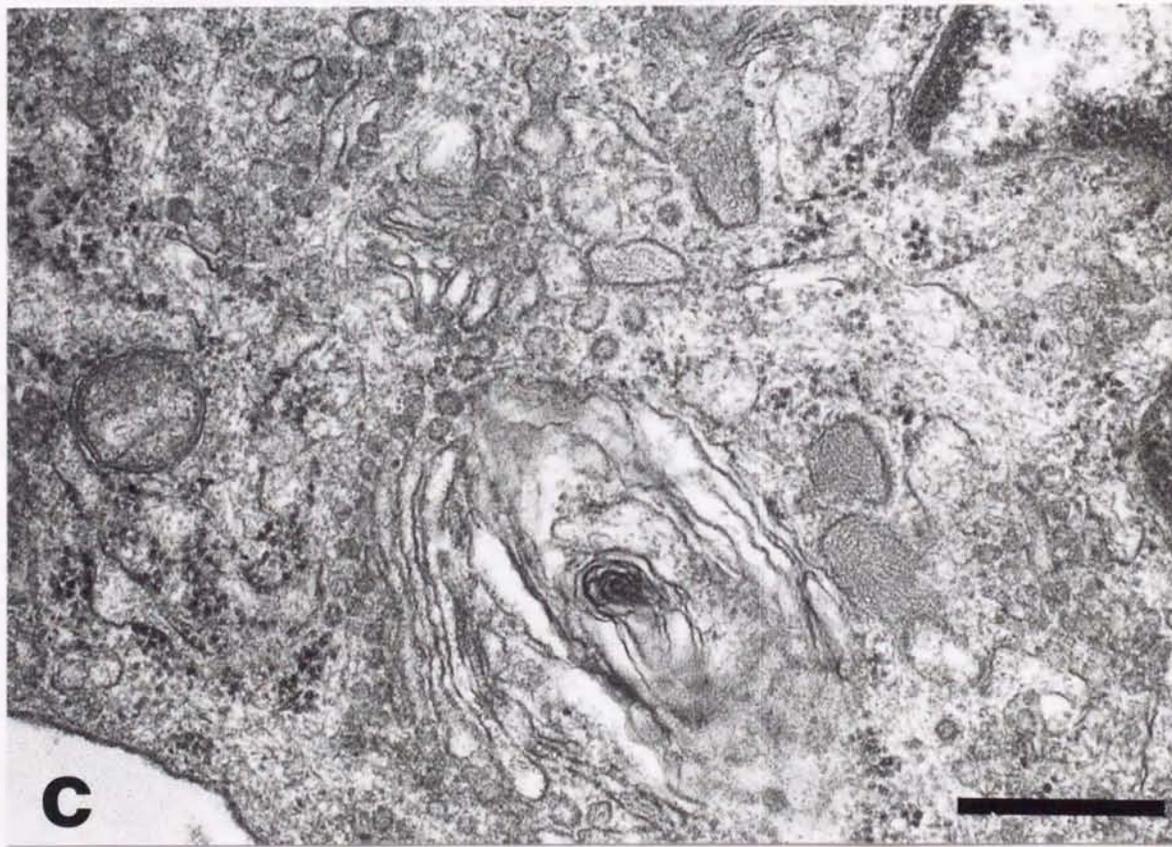
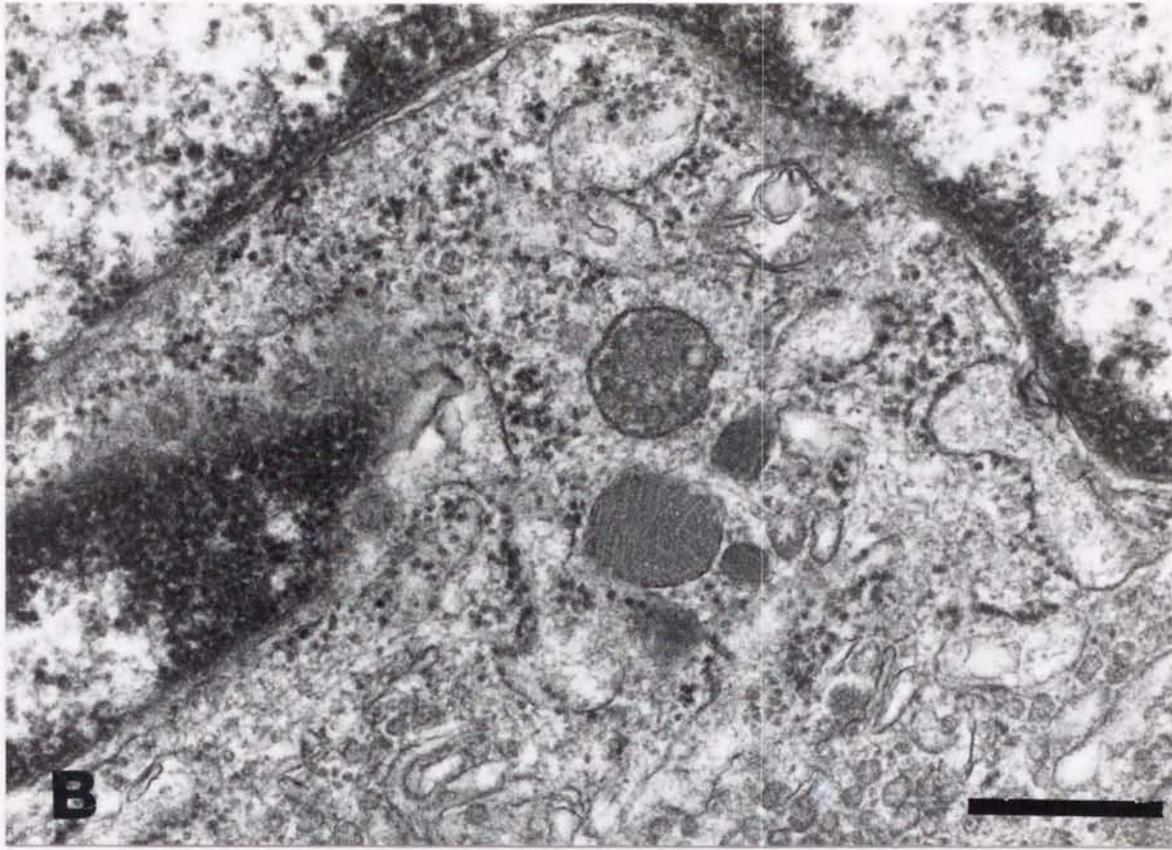
B : 悪性神経膠腫の血管 (no.32)

C : 悪性神経膠腫の血管 (no.36)

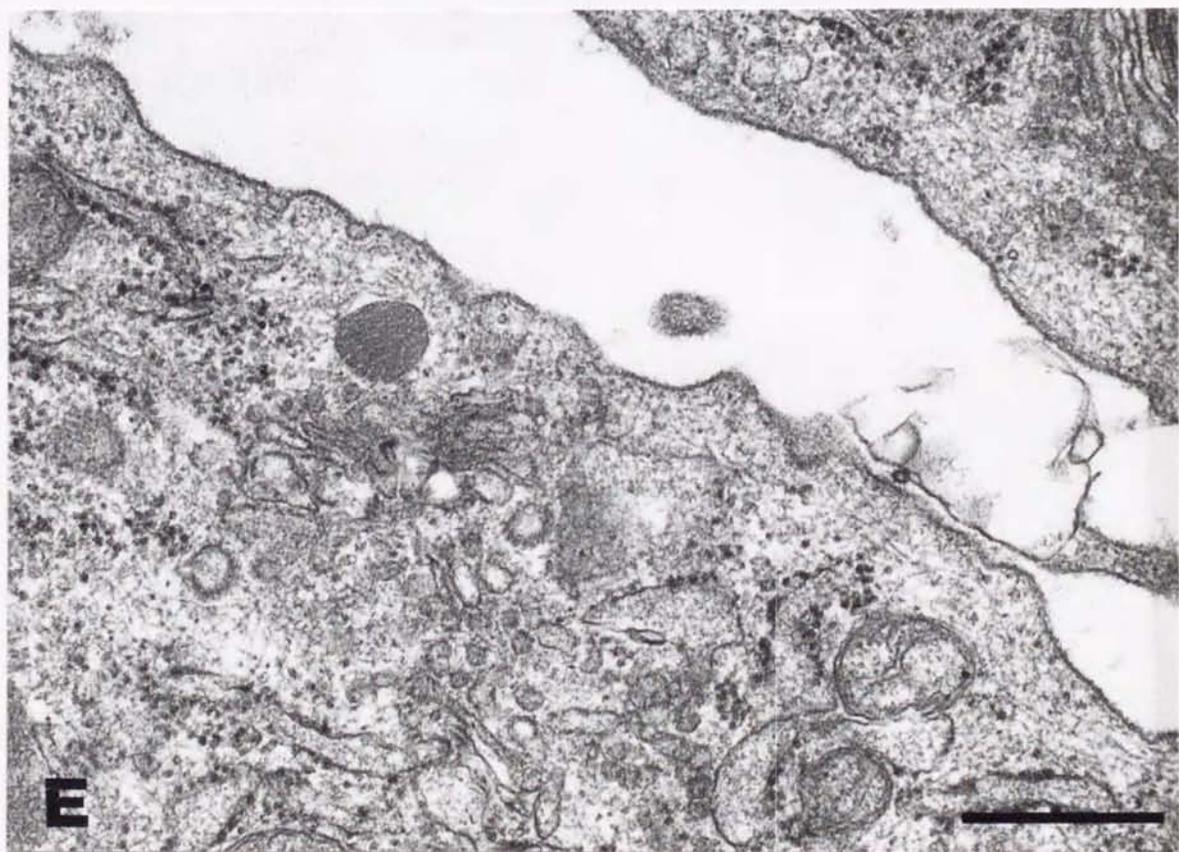
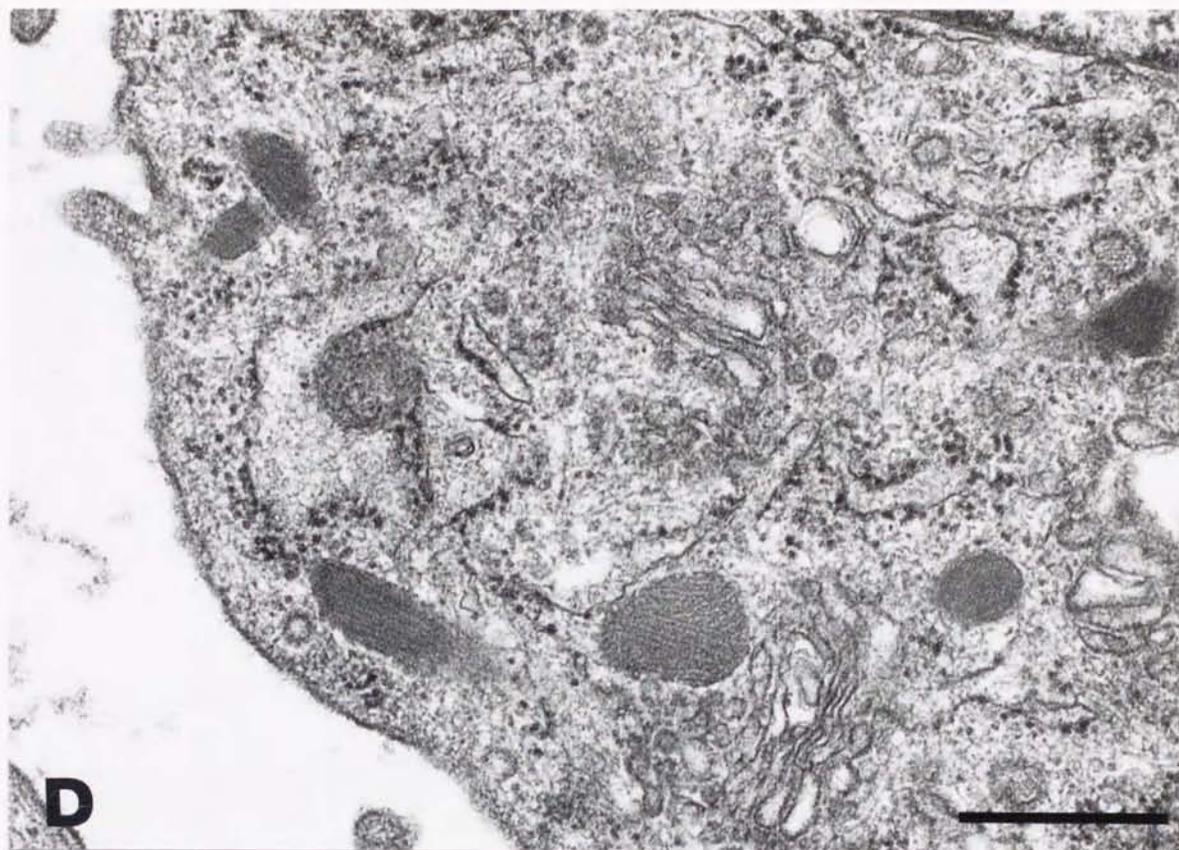
多数の pinocytotic vesicle が、主に abluminal side にみられる。幾つかが fusion しているものもみられる。それぞれの細胞質 $1\mu\text{m}^2$ あたりの pinocytotic vesicle の数は A : 11.0 個、B : 10.7 個、C : 11.1 個であった。Bar = $0.5\mu\text{m}$



⊠ 11 Weibel-Palade body



⊠ 11 Weibel-Palade body



⊠ 1 1 Weibel-Palade body

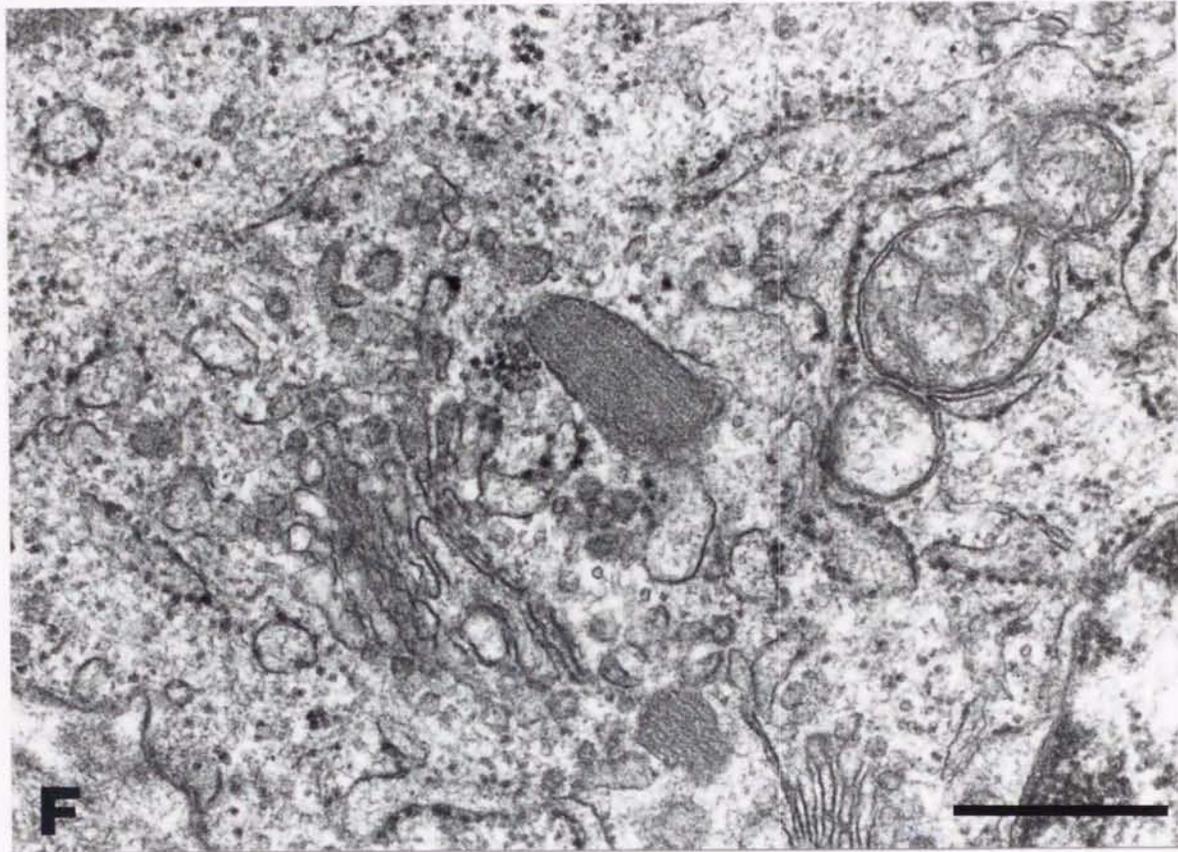
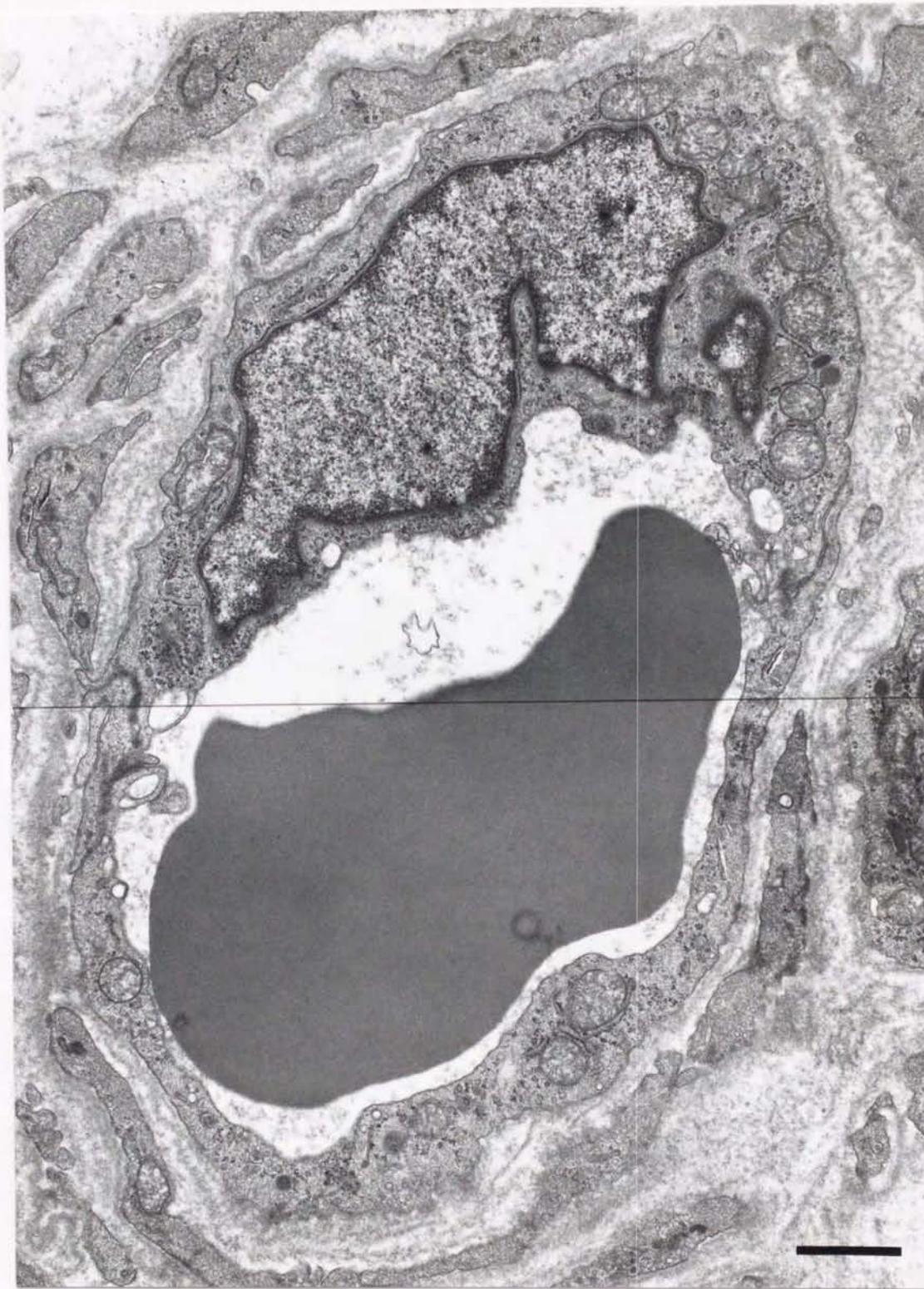


図 11 Weibel-Palade body

悪性神経膠腫の血管 (no. 16)

A : 低倍率写真。WPBは全内皮細胞3個のうち100%にみられており、1個の内皮細胞に含まれるWPBの数は平均6.33個であった。Bar=5 μ m

B、C、D、E、F : 高倍率写真。Bar=0.5 μ m



⊠ 12 Mitochondrial density

悪性神経膠腫の血管 (no.32) におけるmitochondrial densityは10.1%と高い。

Bar=1 μ m

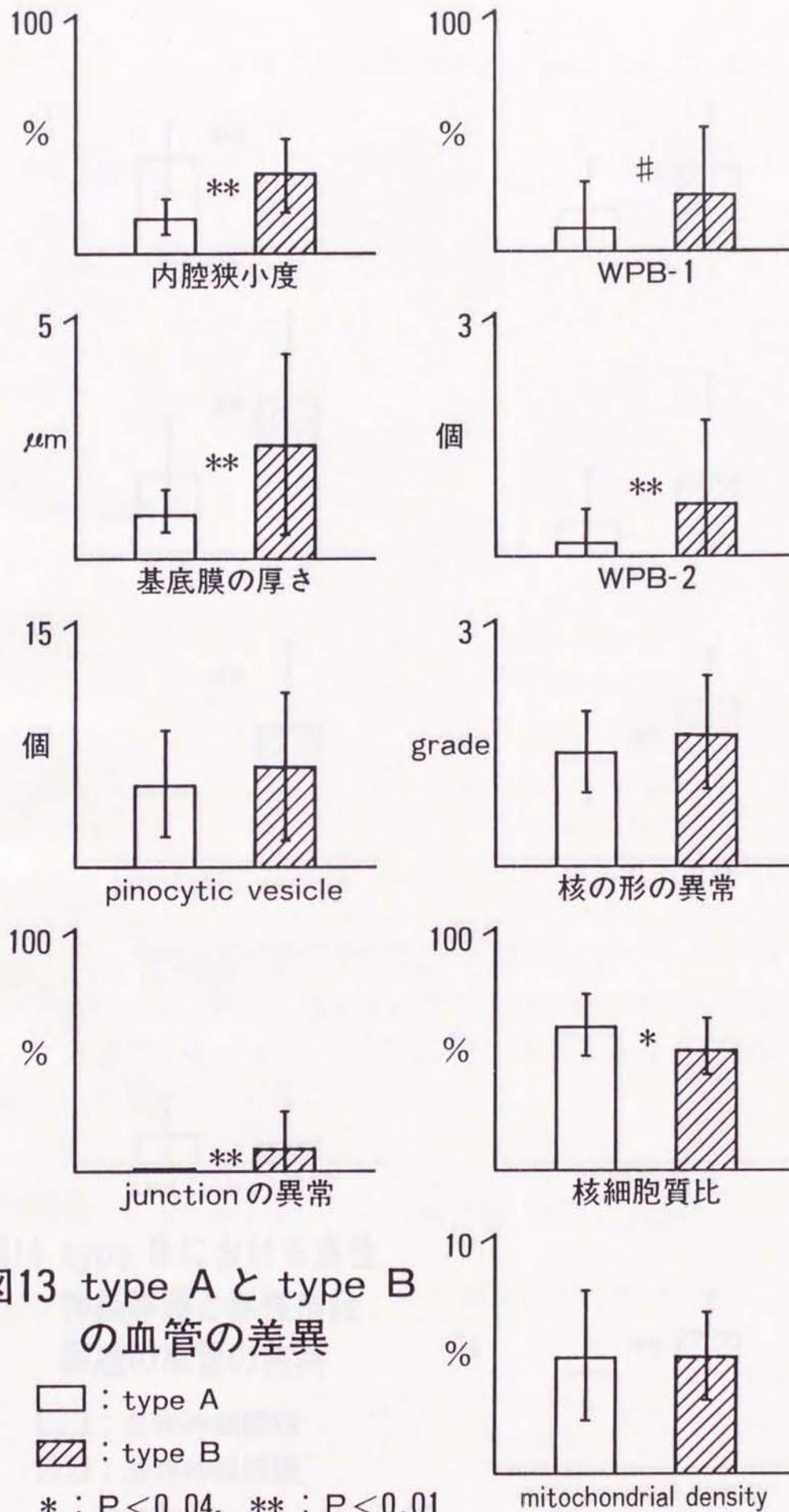


図13 type A と type B
の血管の差異

□ : type A

▨ : type B

* : $P < 0.04$, ** : $P < 0.01$

: $P < 0.05$

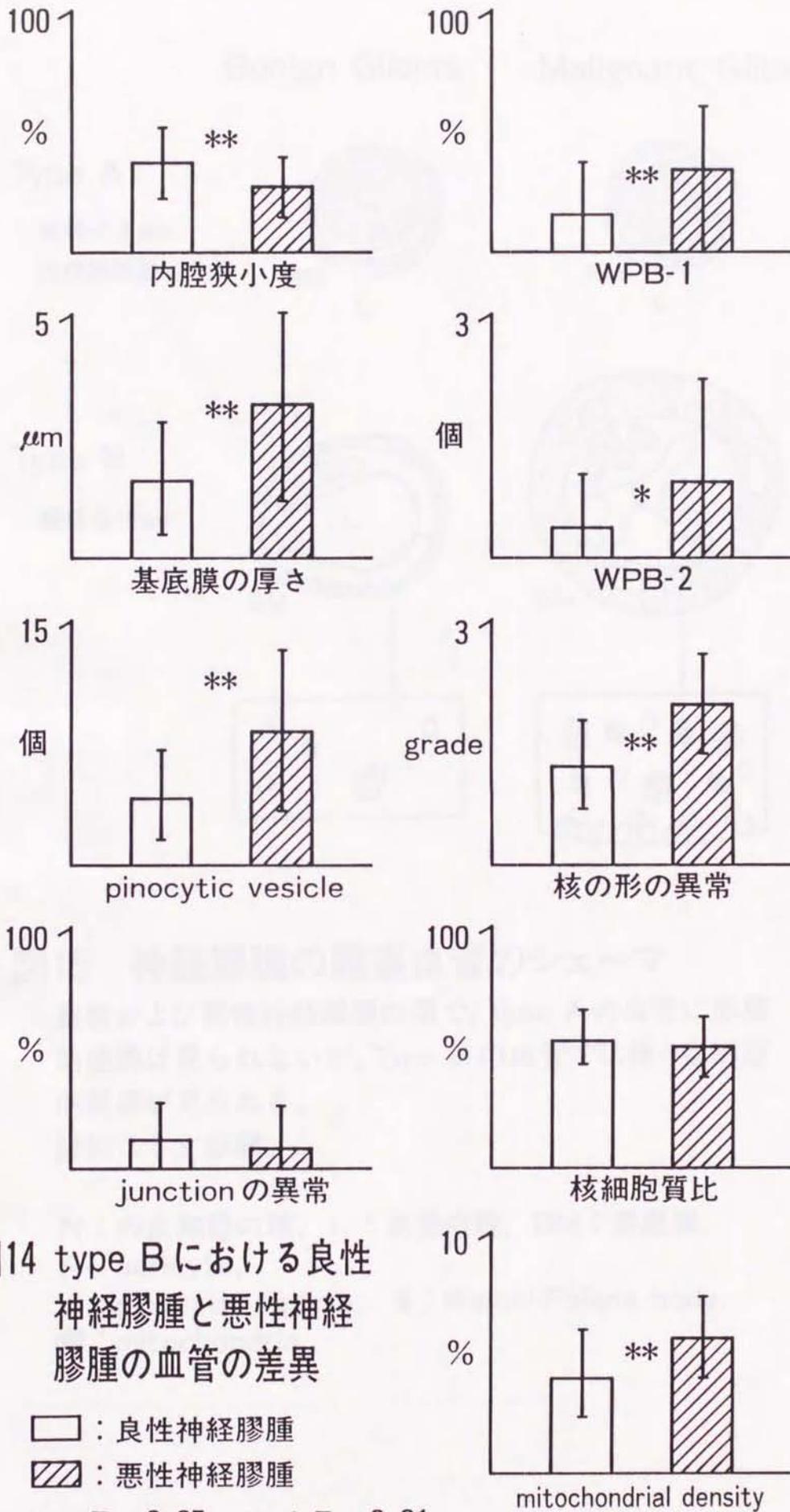


図14 type Bにおける良性
神経膠腫と悪性神経
膠腫の血管の差異

□ : 良性神経膠腫

▨ : 悪性神経膠腫

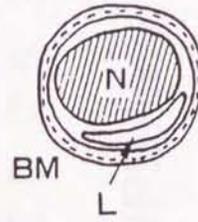
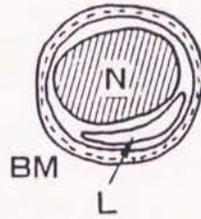
* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$

Benign Glioma

Malignant Glioma

Type A

直径 $< 3 \mu\text{m}$
 内皮細胞数 ≤ 3 個



Type B

直径 $\leq 10 \mu\text{m}$

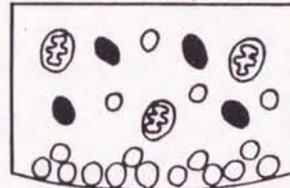
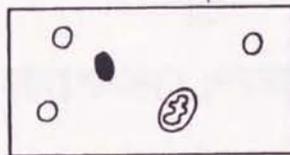
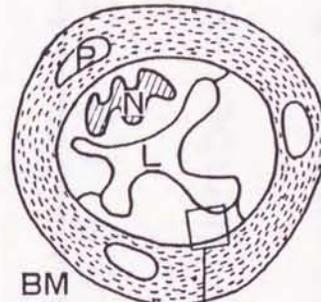
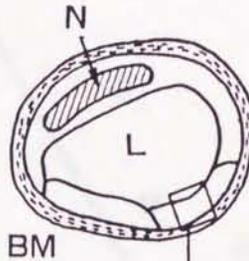


図15 神経膠腫の腫瘍血管のシェーマ

良性および悪性神経膠腫の間で、Type Aの血管に形態的差異は見られないが、Type Bの血管では様々な形態的差異が見られる。

詳細は本文参照。

N : 内皮細胞の核, L : 血管内腔, BM : 基底膜,
 P : pericyte,
 O : pinocytic vesicle, ● : Weibel-Palade body,
 ⊗ : mitochondria

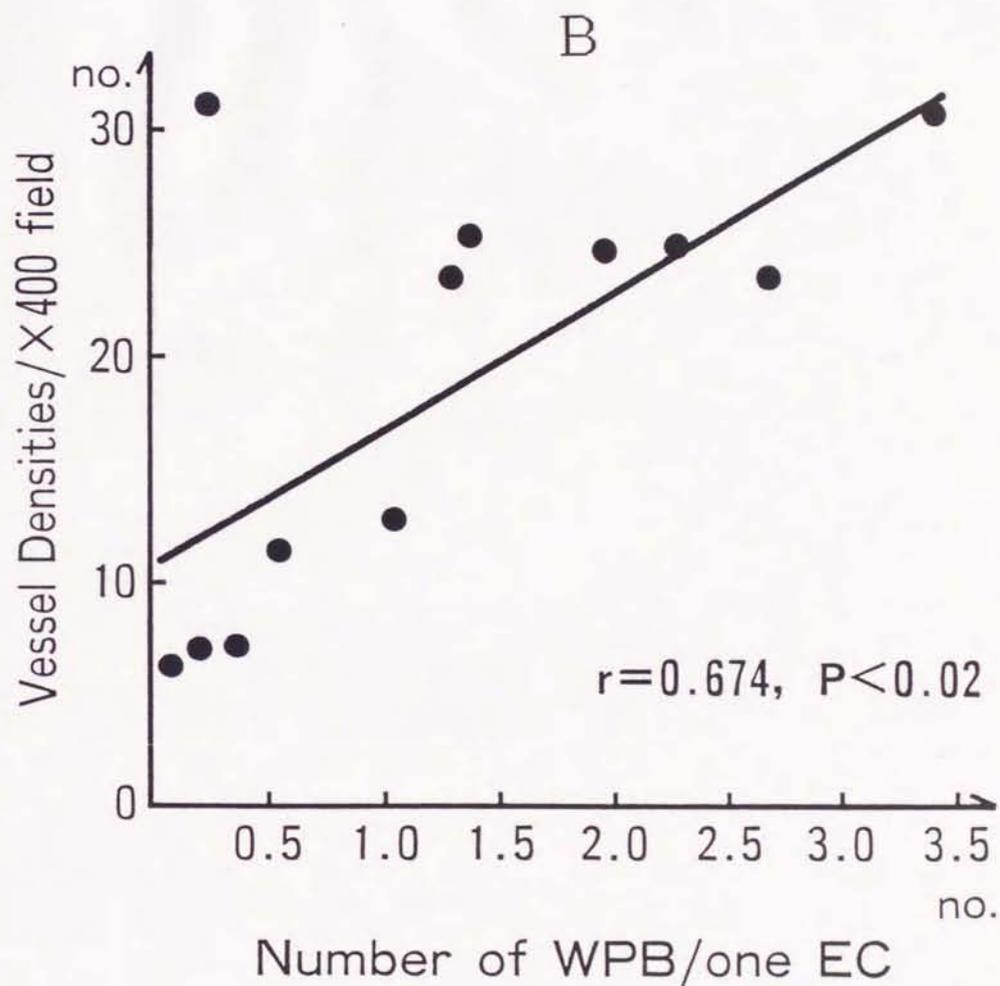
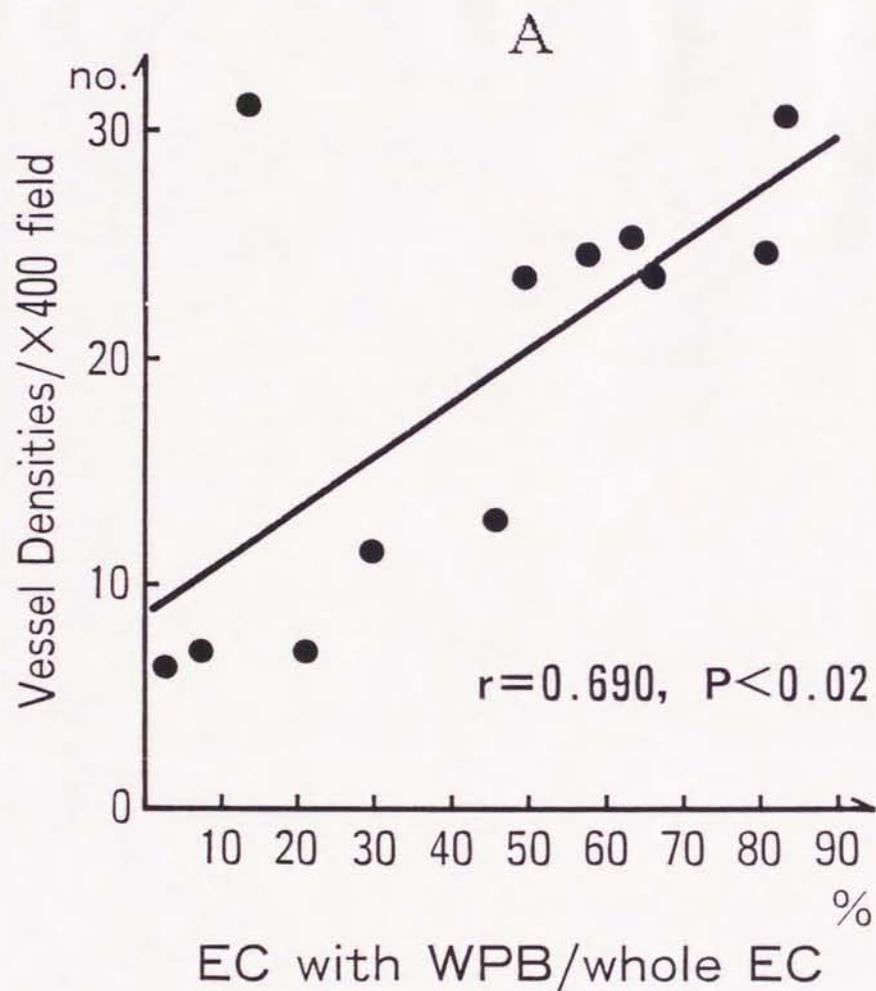
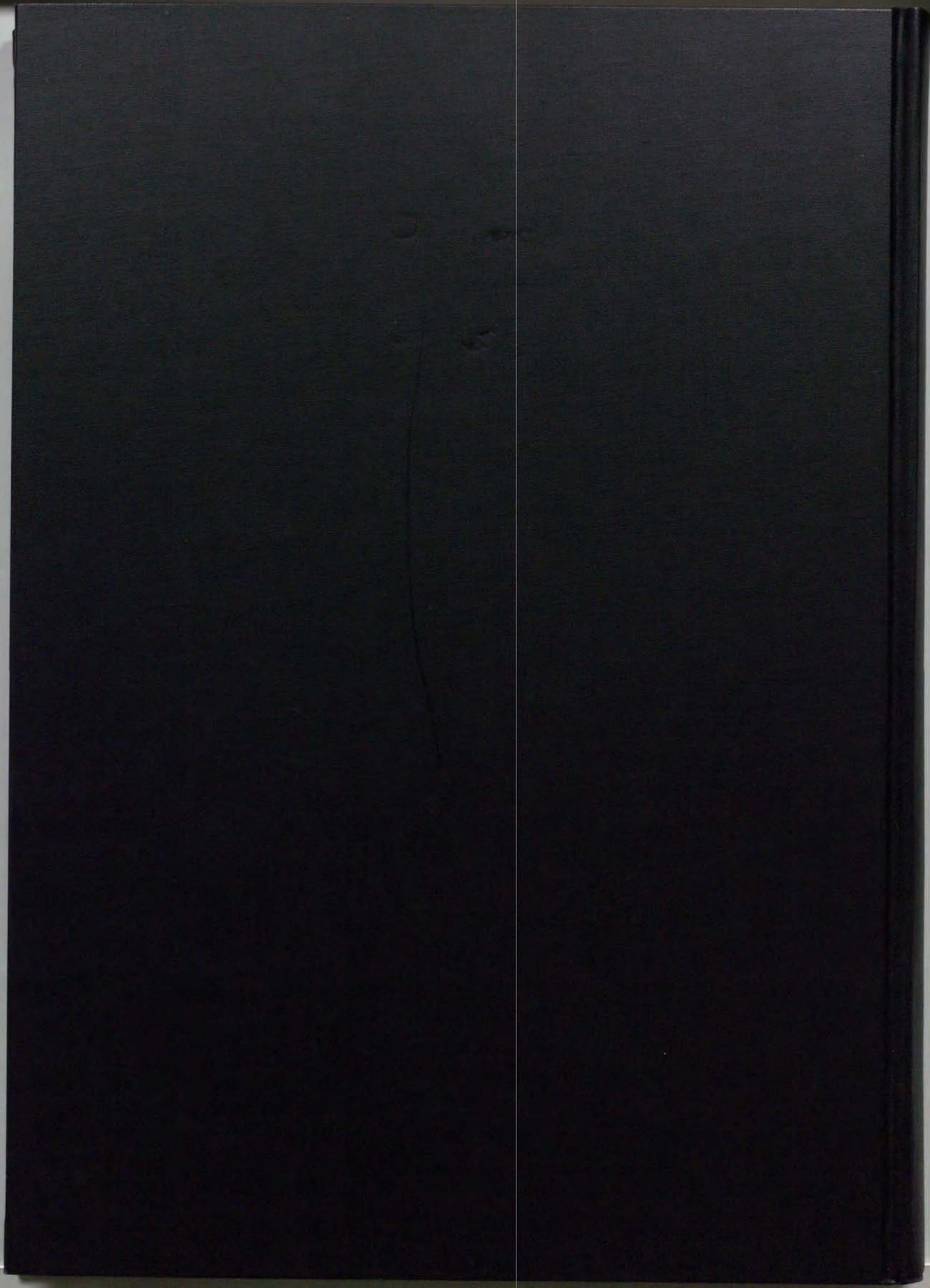


図 16 WPB の出現頻度と単位面積あたりの血管数との関係

A : WPB を含む内皮細胞の全内皮細胞に対する割合と血管数との相関。

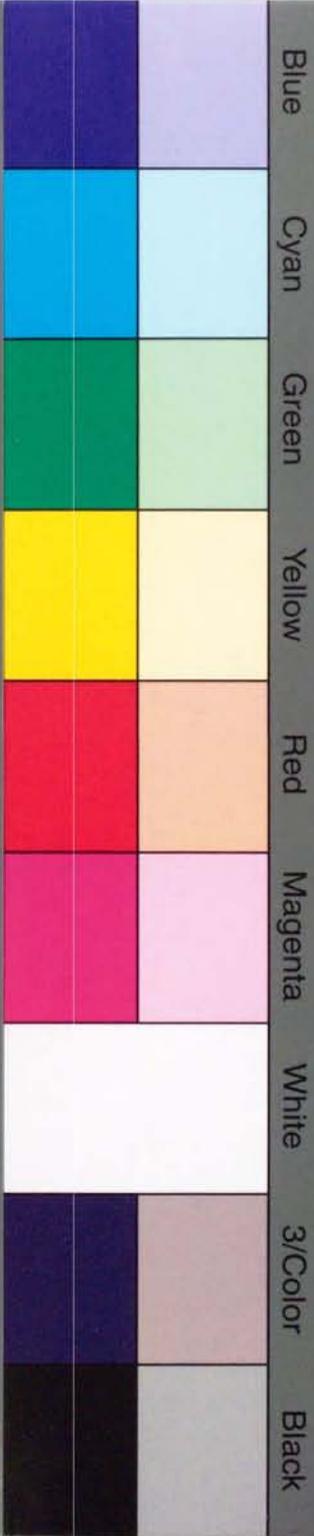
B : 1 個の内皮細胞に含まれる WPB の数と血管数との相関。



inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 **M** 8 9 10 11 12 13 14 15 **B** 17 18 19

