

人脳組織の水解酵素および脱水素酵素の組織化学的研究

第 2 編

脳腫瘍組織について*

岡山大学医学部第 1 外科教室 (指導: 田中早苗教授)

助 手 中 村 正 人

(昭和42年 1月27日受稿)

緒 言

第 1 編**では正常人脳組織の水解酵素および脱水素酵素の組織化学所見を報告したが、本編では各種脳腫瘍組織で同様の研究結果を報告し、かつ酵素活性と臨床所見との関係についても考察した。検索酵素は第 1 編と同様水解酵素 5 種、脱水素酵素 8 種で略名も第 1 編と同様で以下に示す。alkaline phosphatase (Alp), acid phosphatase (Acp), β -esterase (β -Est), leucine aminopeptidase (Amp or LAP), β -glucuronidase (β -Gl), lactic dehydrogenase (LDH), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), succinic dehydrogenase (SDH), malic dehydrogenase (MDH), NADP-isocitric dehydrogenase (IdDH), glutamic dehydrogenase (GDH), α -glycerophosphate dehydrogenase (α -GDH), β -hydroxybutyric dehydrogenase (β -HbDH).

実験材料及び方法

実験材料は岡山大学第 1 外科における脳腫瘍患者総計 140 例で, glioma 59 例, meningioma 31 例, neurinoma 13 例, その他である。実験方法は第 1 編と同様で酵素活性は (+4)~(-) までの 6 段階に区分した。

実験結果および所見

1. Glioma; 病理組織学的分類は研究者によりかなり異同がある。本編では Bailey, Cushing が 1926 年 survival period (in months) for the various types of glioma より臨床的に配列した分類序列を基本と

し, Armed forces institute of pathology (AFIP) による分類を参考とし, さらに本実験の結果を考慮して臨床経過のよい Astr. gr. 1 から悪性の Gliobl. まで Astr. gr. 1, Oligodendr., Spong., Ependym., Astr. gr. 2~3, Medullobl., Gliobl. mult. の 7 段階に分類した (表 1, 表 2)。

A. 水 解 酵 素

1) Alp: 正常の脳皮質と髄質では Alp 活性はほとんど陰性で, 摘出腫瘍の周辺や gliosis の部にごく弱い活性をみた。glioma の腫瘍細胞は組織化学的に正常脳の glia 細胞と著しく異なり組織学的悪性度の少ない astrocytoma gr. 1, oligodendroglioma で (+3)~(+1) とかなり高い活性をみた。ことに astrocytoma gr. 1 では (+3)~(+2) の活性が腫瘍組織全体にはほぼ均等にみられるが, 毛細血管およびその周辺でやや増強するのがみられた (図 1)。一般に protoplasmic type の腫瘍細胞および巨細胞の活性は最も強いが腫瘍の境界およびその附近での活性増加は認められなかった。腫瘍細胞内では細胞質, とくに核周辺部に塊状に, 細胞膜附近や細胞質の突起には彌漫性の活性がみられた。活性は主にゴルヂ装置およびその附近に存在すると考えられるが細胞膜自身での活性は不詳であつた。核, 核小体の活性はみられなく ferrocalcium particle とその周辺のごく小範囲でも活性が陰性であるがその外側の腫瘍細胞には腫瘍組織の他の部分より活性が増強した。oligodendroglioma の 5 例中 4 例は活性を示した。

腫瘍細胞組織の Alp 活性の局在は前述 astrocytoma gr. 1 と同様であつた (図 2)

* 本論文の要旨は第23回および第24回日本脳神経外科学会総会シンポジウムにおいて発表した

** 岡山医学会雑誌77巻, 10~12号に掲載

(sarcomatous type or sarcomatous m.) と三大別した。psammomatous m., angiomatous m. は前例しかみられず、前記の分類に含ませた。第1編で正常脳の leptomeninx (pia-arachnoid), pachymeninx (dura mater) の活性をみているのでこれを control とした。酵素活性は一般に control と類似の活性を示したが、いずれも meningioma の方に強い傾向をみた (表3)。

Table 3 Enzymatic activity of meningioma and neurinoma

Enzymes	Activity	meningocytic	meningioma	malignant	Neurinoma	Enzymes	Activity	meningocytic	meningioma	malignant	Neurinoma
Alp	++	++	++	++	++	SDH	++	++	++	++	++
Acp	++	++	++	++	++	MDH	++	++	++	++	++
β -Est	++	++	++	++	++	IdDH	++	++	++	++	++
Amp	++	++	++	++	++	GdH	++	++	++	++	++
β -G1	++	++	++	++	++	d-GdH	++	++	++	++	++
LDH	++	++	++	++	++	β -HDH	++	++	++	++	++
G6PDH	++	++	++	++	++						

A. 水解酵素系

1) Alp: 活性は fibroblastic m. で (+3)~(+2), meningocytic m. で (+2)~(±), malignant m. でほとんど (−) と、三型で明らかな差をみた (図11, 12)。活性はいずれも腫瘍細胞の核に陰性、核膜周辺から細胞の辺縁にかけて微細な顆粒状の染色を示した。細胞質周辺で強い傾向があるが、細胞質の突起にはしばしば強い染色性が示された。malignant m. では活性がほとんどないため詳細は不明であつた。whorl formation, concentric arrangement の部では活性の増強がみられた。calcium 沈着、

psammoma 自身とその形成直前と推定される部分の活性は陰性であつた。一般に meningioma には血管増殖が著しいが、Alp 活性には影響が少なく、control での血管の活性と同じく非常に強力であつた。

2) Acp: Alp と比較して活性強度、腫瘍組織での局在など類似の所見を示すが、Alp のような著しい変化を示さなかつた。とくに fibroblastic m. では Alp ほど強い染色性は示さず malignant m. で

も約半数例に微弱な活性がみられた。whorl formation の部分で活性は増強し、反対に calcium 沈着の部分では陰性であつた。血管系ではほとんど活性をみなかつた (図13, 14)。

3) β -Est: meningioma では活性を示す症例が多く、とくに fibroblastic m. で活性が強く、meningocytic m. の腫瘍細胞の細胞質には細かい粒子状の染色をみた。Alp, Acp と同様 whorl formation, concentric arrangement の部位で上昇の傾向をみたが malignant m. では活性の低下をみた (図15)。

4) Amp: meningioma はしばしば陽性を示し、fibroblastic m. で (+2)~(+3) 程度の活性をみたが一部陰性のものも観察された (図16)。

腫瘍細胞の核に陰性、細胞質中には彌漫性にみられた。しかし meningocytic m. では活性をみず、malignant m. でもほとんど陰性を示した。

β) β -G1: 上述4酵素とは反対に malignant m. で活性の上昇を示した。

B. 脱水素酵素系

多少の差はあるが meningioma の三つの型ともそれぞれ非常に強い活性をみた。形態学的悪性度との関係はなかつた。腫瘍細胞内の局在は glioma 系の所見と大差なく、G6PDH, IdDH の一部をのぞき細胞質ことに核周辺に大小多様の顆粒状の染色を示した。whorl formation, concentric arrangement の部ですべての脱水素酵素活性の上昇をみたが、calcium 沈着の部では陰性であつた。しかし石灰化部の存在する症例では脱水素酵素活性が低下する傾向をみた (図17, 18, 19 および 20)。

1) LDH, G6PDH: LDH 以外の脱水素酵素群では meningioma の各型とも正常脳の leptomeninx よ

活性は陰性であつた。oligodendroglioma の Acp 活性分布と組織構造との間に特長のある対応性はなく glioblastoma multiforme でも同様であつた。

3) β -Est: glioma の分類と β -Est 活性の間に何らの関係もみられなかつた。正常脳組織では β -Est 活性は血管周辺の microglia に時に弱い活性がみられたが、glioma 組織には中等度以下の弱い活性がみとめられた。腫瘍組織内分布は Acp に似るが β -Est の場合はより diffuse であつた。壊死部の活性は低下した。

4) Amp: 正常脳同様 glioma でも全例に本酵素陰性であつた。

5) β -Gl: 正常脳組織では本酵素の活性は他の酵素とくに脱水素酵素系と異なり皮質よりも髓質に強い活性をみた。glioma ではしかし oligodendroglioma にとくに強い活性を示す傾向はみられず、むしろ astrocytoma gr. 1 の活性がやや強い傾向にあつた。glioma 全体としては中等度の活性を示した。本実験の染色法では β -Gl 活性は細胞質の周辺に偏在した (図5)。

分化度の低い astrocytoma gr. 3~4 では巨細胞に強い活性がみられるほか特長のある所見をみなかつた。腫瘍細胞の間隙を走る結合組織の活性は陰性であつた。

B. 脱水素酵素

第1編と同様嫌氣的解糖系、好氣的解糖系およびアミノ酸・脂肪代謝系の各酵素群に大別した。水解酵素とくに Alp でみられる形態学的悪性度と酵素活性の間に特別な関係はみられなかつたが、各脱水素酵素間にも著しい差異はみられず、同一腫瘍内でも明らかな染色性の相違は認められなかつた。脱水素酵素全体における傾向、腫瘍組織内分布など共通の所見を以下に一括し詳細は各論でのべた。一般に glioma の脱水素酵素活性は正常脳 glial cell のそれよりやや増強するが、正常脳皮質野の神経細胞の活性より弱いことがみとめられた。腫瘍細胞では活性は細胞質内に微細な顆粒状となり、ミトコンドリア分布に一致すると推定された。LDH, G6PDH および IcDH ではやや瀰漫性に出現した。核、核小体などは活性をかくが、核膜周辺でやや増強し、G6PDH, IcDH では核周辺の細胞質に弱い活性がみられた。脱水素酵素活性は腫瘍細胞が大形になると増強する傾向があり、astrocytoma gr. 3~4 の巨細胞にはかなり強い活性がみられた。壊死部、出血巣などの活性は陰性であるが、これらに接する周辺の腫

瘍細胞ではやや増強するのがみられた。全脱水素酵素を通じ rosette, cartwheel 形成部で活性上昇、中心部の sucker feet の部分では細胞膜をのぞき陰性の傾向をみた。腫瘍の辺縁部と中心部との間に活性の相違はみられなかつた。脱水素酵素活性は血管系にては media, adventitia とともに活性が存在し、LDH が最強、IcDH, α -GDH, SDH などとはごく微弱であり、その他の脱水素酵素はその中間の活性を示した。血管の酵素活性は glioma の分化度が低下して血管新生、壁の肥厚が著しいほど上昇する傾向を示した。腫瘍組織中、結合組織など間質では被膜は別として一般に脱水素酵素活性はきわめて微弱であつた (図6, 7, 8, 9 および10)。

1) 嫌氣的解糖系 (LDH, G6PDH): 両酵素とも腫瘍の悪性と何らの関係もみられぬが、LDH が (+3) 前後の強い活性をみたのに反し、G6PDH では (+1) を中心とする活性しか示さなかつた。

2) 好氣的解糖系 (SDH, MDH, IcDH): 三酵素とも正常脳組織の皮質領の glial cell とほぼ同じ活性強度を示した。SDH, MDH は (+2) 前後、IcDH は (+1) 以下であつた。glioma の種類別は spongioblastoma polare で SDH がかなり低活性の外は有意の差はみられなかつた。換言するとこれらの酵素では正常脳の glial cell の活性は腫瘍細胞と大差ないことが判つた。

3) アミノ酸、脂肪酸代謝系 (GDH, α -GDH, β -HGDH): 正常脳皮質で神経細胞に高い GDH 活性をみたが glial cell では中等度の活性しかみられなかつた。glioma でも glial cell の所見とほぼ同様で、glioma の種類別の活性変化もみられなかつた。 α -GDH, β -HGDH は正常脳では皮質、髓質ともに α -GDH がやや強い活性を示したが glioma でもほぼ同様であつた。総括して前項の好氣的解糖系と同様正常脳の glial cell の各酵素活性は腫瘍化した場合でもほとんど変化を示さなかつた。

2. Meningioma

現在一般に行なわれる Bailey, Bucy, Zimmermann の分類に従い、arachnoid の外表面のいわゆる cap cell すなわち arachnoid villi に集簇する meningocyte に類似した形態を示すものを meningocytic meningioma (meningotheliomatous m. or endothelial m.), arachnoid の結合組織または一部は dura から生じたと推定される fibroblastic m. (fibroplastic m.), 中胚葉起源で meningocytic m. のような組織構造に giant cell, mitosis など存在する malignant m.

Table 1 Enzymatic activity of glioma—I

Enzymes	Activity	Astrocystoma grade 1	Oligodendro-glioma	Spongioblastoma polare	Ependymoma	Astrocystoma grade 2~3	Medullo-blastoma	Glioblastoma multiforme
Alp	+4	••••						
	+3	•••••	•••					••••
	+2	•••••	•	•••	•	•	•	••••
	+1	•••••	•	•	•	•	•	••••
	±	•••••	•••	•••	•••••	•••••	•••••	•••••
Acp	+4	••		•	••••	••••	•••	••
	+3	•••••		•	••••	••••	•••	••
	+2	•••••	••••	•••	••	••••	••	•••••
	+1	••	••••	•••	••	••••	••	•••••
	±	••	••••	•••	••	••••	••	••
β-Est	+4							
	+3	•				••		••
	+2	•	•	•••	•••••	•••••		••
	+1	•		•	•	••••	•••••	••
	±	•••••	•••	•••	••	••••	•••••	•••••
Amp	+4							
	+3							
	+2							
	+1							
	±	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••
β-Gl	+4	••			•	•		•••••
	+3	••••	•••••	•••••	•	•••••	••	•••••
	+2	••••	•	•••••	••	•••••	••	•••••
	+1	•	•	•••••	••	•••••	••	•••••
	±	•						
LDH	+4	•			••			••
	+3	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	••••	•••••
	+2	••		••	•	•	•	••
	+1					•		••
	±							
G6PDH	+4							
	+3	•••••	•	••	•••	•••	••	••
	+2	•••••	•	••	•••	•••	••	••
	+1	••	••••	•••	••••	•••	•	••••
	±	•	•	•	•	•	•	••••

Table 2 Enzymatic activity of glioma—II

Enzymes	Activity	Astrocystoma grade 1	Oligodendro-glioma	Spongioblastoma polare	Ependymoma	Astrocystoma grade 2~3	Medullo-blastoma	Glioblastoma multiforme
SDH	+4	••				••		
	+3	•••••	••••	••	•••••	••	••	••••
	+2	••	••••	••	•	••	••	••••
	+1	••	•	••••		•		••••
	±	••	•	••••				••••
MDH	+4	•			••••	••••	•••	•••••
	+3	•••••	•	•	••••	••••	••	•••••
	+2	••••	••••	•	•	••••	••	••••
	+1	••	••••	•	•	••	••	••
	±	•	••	•	•	•	•	•
ICDH	+4							
	+3	•••••	•	•	••	••	•••	•
	+2	••	••	••	••	••	•	••
	+1	••	••	••	••	••	•	••
	±	••	••	••	••	••	•	••
GDH	+4	•			••	•		••
	+3	••	•••••	•••••	••	•••••	••	••
	+2	••	••	••	•	••	••	••
	+1	••	••	••	•	•	••	••
	±	••	••	••	•	•	•	•
α-GDH	+4							
	+3	•	•		•••••	•	•••••	•••••
	+2	•••••	••	••	•	•••••	•••••	•••••
	+1	••	••	••	•	•	•	••
	±	•	•	•	•	•	•	•
β-HDH	+4							
	+3	•			••	••		•
	+2	•••••	••••	••••	•••••	••••	••	••
	+1	••	••	••	•	••	••	••
	±	••	••	••	•	••	••	••

spongioblastoma polase では活性はすべて弱く腫瘍細胞の核周辺の細胞質とその突起に瀰漫性に弱く出現した。以下の各 glioma では活性は陰性かごく微弱であつた。glioblastoma multiforme で部分的に活性のある場所は haematoxyllin eosin 染色標本で well differentiated の部分と一致した。ependymoma などにみられる rosette では他の酵素(dehydrogenase の一部)に示される活性の増強は認められなかつた。正常脳組織では一般に Alp 活性は毛細血管および細小血管の内皮細胞に強く出現したが, glioma ではその分化度と血管壁の Alp 活性の間にある程度の傾向をみた。すなわち AFIP 分類の astrocytoma gr. 1~2 の毛細血管は(+4)の Alp 反応を示すが, astrocytoma gr. 2~3 の血管は新生, 血管壁の肥厚が著しく, その Alp 活性は低下する傾向を示し astrocytoma gr. 4 では陰性ときに微弱な活性をみた。一般に Alp 活性は壊死部の周辺で弱まり壊死部で陰性であつた。以上病理組織学的所見と Alp 活性との関係について記載したが, 良性の glioma で活性が増し, 悪性化するにつれて消失するという本研究で検索した他の酵素に比較して最も興味ある関係を示した。

2) Acp : 正常脳組織では神経細胞に中等度以上の Acp 活性をみたが, glia 細胞では軽度または陰性であつた。glioma はその分化度, 腫瘍の種類に関係なく, 腫瘍細胞の核膜周辺に種々の大きさと染色濃度の細胞質内顆粒をもつ中等度前後の活性を示すが(図3, 図4), 毛細血管には Alp の如き強い活性はみられなかつた。calcium 沈着の部や rosette 形成細胞の周辺部での活性は低下した。血管壁周辺の sucker foot の場所は無活性であるが, その外側での活性は反対にやや増強し, これは血管周辺の組織構造に特長的な ependymoma で著しかつた。壊死部の

りやや活性の上昇をみるが LDH のみはとくに著しい上昇を示した。この傾向はどの型の meningioma でも同様であつた。G6PDH 活性はどの型とも (+2) またはやや高いが IcDH と同じく細胞膜に近い細胞質の周辺に染色性をみた。

2) SDH, MDH, IcDH :

三酵素はどの型の meningioma とも (+2)~(+3) の強い活性を示したが、いずれも正常脳の leptomeningeal におけるよりも上昇をみた。

3) GDH, α -GDH, β -HDH : 三酵素はそれぞれ生化学的役割を異にするが活性と腫瘍の悪性度との間に何らの関係も示さず、類似の傾向を示し腫瘍組織内での酵素活性の局在も他の脱水素酵素のそれとほぼ同様であつた。

3. Neurinoma

検索した12例とも acoustic neurinoma であつた。腫瘍細胞の核は特有の "palisade" または "hering bone pattern" の配列を示す。その他小さな円形状の核をもつた "foamy cell" なる細胞があるが本症例ではみとめられなかつた。一般に neurinoma は fibroblastic meningioma に似た酵素活性を示すが、Alp, β -Est および Amp の各活性がほとんど陰性の点で相違を示した (表3)。脱水素酵素では LDH が最強で (+3) 前後の活性をみた。Alp 活性は他の腫瘍と同じく毛細血管に強いが fibroblastic meningioma よりもかなり低活性を示した (図21, 22)。このように neurinoma では他の腫瘍ごとくに fibroblastic meningioma, spongioblastoma polare に比べ特長ある酵素活性上の所見がみられなかつた。

4. その他の脳腫瘍の酵素活性 :

実験症例が少ないので統計的考察は出来なかつたが、酵素活性の変動では同一腫瘍の間ではほとんど一致する結果を得た。

1) Pinealoma (2例) 1例は epitheloid cell が lymphoid cell に比べ非常に多数を占めていた。

腫瘍細胞の間隙には線維状の組織構造がみられた。上述2種の細胞で酵素活性の差を追求したが本実験では著しい差異はみられなかつた。Alp : 2例とも (+3) の高い活性が腫瘍細胞の細胞質とくにその周辺に顆粒状に偏在した。毛細血管およびその周辺で活性の増強をみた。Acp : 中等度または弱い活性をみたが活性局在は Alp と大差なく腫瘍細胞の二つの型の間でも差がみられなかつた。 β -Est : (+2)~(+1) の活性を示し細胞内の活性分布も Alp, Acp と大差なかつた。Amp : 活性は全くみられな

かつた。 β -Gl : 腫瘍細胞内で細胞質の周辺に偏在する (+1)~(±) 程度の活性を示した。

脱水素酵素は一般に両腫瘍細胞に中等度大の顆粒状の染色をみたが、とくに細胞質の周辺に偏在しなかつた。二つの型の腫瘍細胞での活性差は判然とせず、epitheloid cell にやや強い傾向をみた。SDH は非常に強く、MDH は非常に強く、MDH は弱い。また G6PDH は中等度の活性を示した (図23)。

2) Craniopharyngeoma (7例) 最外層の cylindric cell layer, この内部の epithel cell layer, connective tissue 等からなる。epithel cell layer を外側の外層、内部の内層と大別したが、その内外両層の間には酵素活性上かなりの差がみられた。一般に間質、結合組織では各酵素の活性はほとんど陰性、cystic な部分の内面などの腫瘍細胞の活性はやや上昇をみた。腫瘍細胞の活性は核に陰性、細胞質内では顆粒状の染色を示した。Alp : cylindric cell layer で活性はほとんど陰性、epithel cell layer では外層に (+3)~(+2), 内層で (+1)~(±), 毛細血管には最強をみた (図24, 図25)。Acp : cylindric cell layer, epithel cell layer 間の活性差はみられず、後者の外層に (+3)~(+2), 内層で (+2)~(±) の活性をみた。 β -Est : 各層とも陰性のものが多く、2例のみ epithel cell layer の外層にみられた。Amp : 全例とも活性はみられなかつた。 β -Gl : cylindric cell layer で (±), epithel cell layer の外層で (+3)~(+2), 内層で (+1)~(±) であつた。脱水素酵素系 : 活性の強さは別とし、各酵素間ではほぼ同様であつた。cylindric cell layer をふくめ外側の活性は非常に高く (+4)~(+3) で、本腫瘍に特長的であつた。

epithel cell layer の内層でやや下降する活性をみた。脱水素酵素活性中 LDH が最強で (+4), IcDH, β -HDH はそれぞれ (+2)~(+1), (+1)~(±) で弱い活性を示した。

3) Pituitary adenoma (4例), 全例とも chromophobe adenoma で "densely packed cells containing agranular cytoplasm" の pattern を示し、間隙に疎な結合組織が隔壁状に走る。

Alp : 毛細血管で (+4)~(+3) の活性をみる外には全く陰性であつた。Acp : 全例とも (+2) の活性をみた。 β -Est, Amp : 活性は全くみられなかつた。 β -Gl : 中等度の活性が細胞質の周辺に偏在するのがみられた。結合組織では全く陰性であつた。脱水素酵素 : 一般に腫瘍細胞の細胞質内に顆粒状の

染色を示し細胞質周辺にやや偏在した。結合織では各脱水素酵素ともほとんど活性をみなかつた。本腫瘍では G6PDH 活性の強いのが特長で、LDH, G6PDH, SDH, MDH はいずれも (+3)~(+2), IcDH, GDH, β -HDH で (+2) 前後の活性を示した (図26, 図27)。

4) Papillary ependymoma (3例): 側脳室または第4脳室の choroid plexus 由来のもので樹枝状、乳頭状の組織の表層をさい形、または円柱状の neuroectoderm がおい、内側に central connective tissue が走る。結合織中の酵素活性は全くみられなかつた。Amp, β -Est 活性の一部をのぞき、その他の脳腫瘍中では各酵素とも本腫瘍で最高の活性を示した。腫瘍細胞内での活性分布は他の腫瘍と大差なかつた。

Alp: 腫瘍細胞に (+3)~(+2), 毛細血管に (+4) の活性をみた (図28)。Acp: (+3)~(+2) の活性をみた。 β -Est: (+2)~(±) Amp: 2例で陰性, 1例で (+1)~(±) の活性が腫瘍の一部にみられた。 β -Gl: (+2), 腫瘍細胞での局在は他の腫瘍と同じであつた。脱水素酵素: 一般に非常に強いが SDH, IcDH, β -HDH の一部でやや活性の低いのがみられた (図29)。

考 按

脳組織の酵素組織化学研究は1940年代から行なわれ、脳腫瘍についてもほぼ平行してなされ、主に glioma 系, meningioma などで Alp, Acp, β -Est, β -Gl, SDH, LDH, α -GDH, G6PDH などが検索されている。正常脳組織におけると同様、従来の報告の間にかかなりの差をみる。

実験材料が外部の変化に対し易変性の大きいこと、従来および現在の酵素組織化学証明法が種々であることなどがその原因と考えられる。本研究は可及的に実験条件を統一し、数多くの症例と種類で13種の酵素活性を同時に連続切片で検索した。その目的の一つは従来不十分な各種脳腫瘍の酵素活性強度の統計的处理, 比較考察, 脳腫瘍の臨床所見との関係の究明であつた。このためアンケートによる資料も用いられた。しかし pinealoma, craniopharyngeoma, pituitary adenoma, papillary ependymoma などは症例が少なくこのような考察は出来なかつた。組織化学本来の目的である腫瘍内での酵素活性の分布状態等は可及的に追求し、他の研究結果と併せて考察したが、いずれにせよ現在の組織化学的方法では限

界があり、今後電子顕微鏡の組織化学の方法で細胞内微細構造と酵素作用機構との関係を究明し、これらと臨床所見との関連性を追求しない限り発展は望みえない。

1. Glioma

Glioma 系は脳腫瘍中もつとも頻度が高く、植木ら¹⁾によると本邦で全脳腫瘍中34.4%を占めるというが欧米に比し頻度は劣る。いずれにせよ比較的良好の astrocytoma から悪性の medulloblastoma, glioblastoma などに至る多くの種類を含む glioma 系は脳神経外科でも最も重要な地位を占めている。

1) Alp: Alp の組織化学的研究は既に多いが、ほとんど高松および Gomori の原法、変法で行なわれ、脳腫瘍についても例外ではない。この方法は鋭敏であるが、染色過程に中間生成物の diffusion, 吸着などのいわゆる artefact を生じやすい欠点をもつ。近年は Manheimer & Seligman²⁾, Gomori, Pearse, Burston, 森ら³⁾ による azo-coupling 法が行なわれている。この方法は前述のより操作も簡単で短時間に発色し、diffusion が少なく局在性においてすぐれている。本研究ではあとの方法を探つた。Landow⁴⁾ は高松, Gomori の法で glioma の Alp 活性を検索し、本酵素の活性は astrocytoma で中等度だが glioblastoma では4例中1例のみしか活性が存在しないことをみた。彼は medulloblastoma でも glioblastoma と同様の傾向を、oligodendroglioma では astrocytoma と medulloblastoma との中間の所見をみ、いずれも毛細血管に強い活性をみているが腫瘍細胞内での Alp 活性の詳しい点にはふれていない。Manheimer ら²⁾ は azo-coupling 法で Alp 活性は astrocytoma に陰性とした。Feigin & Wolf⁵⁾ は21例の glioma を Gomori 法で Alp 活性を検し、astrocytoma ++, malignant astrocytoma ++, ependymoma ++, malignant ependymoma +, oligodendroglioma ++, medulloblastoma ++ の結果を得、Alp 活性と glioma の anaplasia の間に何らの関係もないとした。O'Connor ら⁶⁾ は glioma 13例を Pearse らの法で Alp 活性を検索し本酵素は毛細血管に最強に出現するが症例の約半数に微弱から中等度の活性が腫瘍細胞の細胞質内に粗い粒子状の染色を示すのをみた。また毛細血管周辺の腫瘍細胞にかなり強く活性が出現し、astrocytoma に比較的に活性が強く、glioblastoma multiforme, medulloblastoma などで活性が低下するとした。最近 Nasu⁷⁾ は66例の glioma の Alp 活性を検索し毛細血管に最強の活性

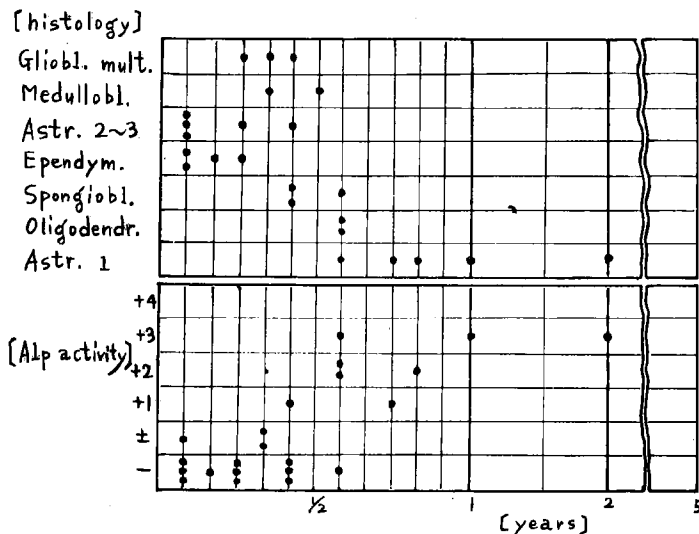
をみるが腫瘍細胞そのものには弱いが、ほとんど活性をみないこと、毛細血管内の Alp 活性も glioma の悪性度が進み血管壁の肥厚、増殖が著しいものでは低下するとした。しかし、本研究では glioma の分化度と Alp 活性の間に著しい相関がみられ、Landow, O'Connor らの所見と類似する結果をえ、しかも Alp 陰性例の予後がかなり悪いことが統計的に判った。すなわちアンケートから脳腫瘍術後の予後を経過良好のもの、再発死亡などの経過不良のものに大別し、Alp 活性との関係をみ、また Alp 活性の代わりに病理組織学的分類を以て同様な統

計をとつたが、Alp 活性と予後にかんがりの相関がみられた。Alp 以外の酵素活性と予後の間に相関は全くない(表4)。また初発症状発現より手術までの期間を病期期間とし、これと Alp 活性との関係を見た(表5)、が大部分の症例で Alp 活性が弱いほど病期期間が短く、急激な病勢の進行を示した。しかしこれらは統計的には症例が少なく、腫瘍の位置、その他種々の条件による例外も多く、詳細な分析は今後の研究にまきたい。また腫瘍の浸潤度と Alp 活性との間にも関連性がなく、予後については手術時の肉眼的観察、普通染色標本の検討を要するのは

Table 4 Prognosis of cases operated on gliomas

tumor	Astr. 1	Olig.	Spong.	Epend.	Astr. 2 3	Medull.	Gliobl.
good	5	2	1	3	0	1	0
poor	4	1	2	2	4	1	5
Alp activity		—	±	+1	+2	+3	+4
good		1	2	2	3	4	0
poor		12	2	2	1	1	0
G6PDH activity		—	±	+1	+2	+3	+4
good		0	1	6	3	0	0
poor		0	2	5	7	0	0
SDH activity		—	±	+1	+2	+3	+4
good		0	1	2	8	1	0
poor		0	2	4	8	2	0

Table 5 Duration of symptoms and signs of operated glioma cases



勿論である。本研究と同じ実験方法で検索した脳腫瘍以外の人体腫瘍でも Alp 活性と腫瘍の悪性度との間に若干の相関がみられ⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾、ことに乳腺腫瘍では Alp 活性の強い症例が良性の傾向を示した。

2) Acp : Alp に比べて研究が少ないが Wolf¹¹⁾, Nasu¹⁷⁾ の報告をみる。前者は Gorori の磷酸鉛法によるもので、後者の結果とかなり異なる。Wolf¹¹⁾ は人および動物（主に guinea-pig）で glioma のみでなく、同時に他の種々の器管での活性をも検討し、いずれも細胞の核に Acp 活性が存在するとした。しかしその後 Nasu¹⁷⁾ や、また本研究でも核には陰性であることが判った。これは Wolf の実験が azo-coupling 法と異なり、また彼の固定が冷アセトン、純アルコール、パラフィン等で反復されたため perinuclear での活性が組織のある程度の凝縮から核そのものの活性とあやまれたものと考えられる。

Wolf, Nasu 両者とも Acp 活性と glioma の悪性との間には一定の傾向をみていない。

Acp は前立腺癌およびその骨転移組織中に極めて多量にみられ、同時に血清中の Alp 活性もかなりの例で上昇する¹²⁾ ことが判っている。

Alp は骨の増殖と密接な関係をもつ故当然で、このように Alp, Acp が関連する腫瘍もあるが、glioma では両酵素間にはほとんど関連をみず、同じ磷酸結合の水解に関与する酵素が作用 pH 領域を異にするのみで、このように相違するのは特異的で両酵素の細胞内器管での局在の相違など今後解明すべき問題が多い。なお、最近 Smith, Novikof¹⁸⁾ の電子顕微鏡的研究などより Acp の局在は細胞内の lysosome ではないかと推定されている。

3) β -Est : glioma に関する研究はほとんどみられない。動物脳組織では第 1 編にのべた様に若干の研究があるが、人については正常脳での報告もみられない。本研究では正常脳に比べ全体としてやや強い活性をみるほか、特異な所見がなく正常脳組織同様 glioma にてもあまり重要な役割を占めていないと思われる。

4) Amp : 正常脳, glioma とも陰性であるが Green¹²⁾ の生化学的研究で胃, 小腸, 大腸, 乳腺等の各種腫瘍組織で若干の活性をみている。Burstone¹⁴⁾, Grenner¹⁵⁾, Braun-Falco¹⁶⁾ は各種病変組織の組織化学的研究より、癌の間質に強い Amp 活性をみ、腫瘍の浸潤度に関係があることを指摘している。本研究と同様の条件で検索した他の

人体腫瘍組織では Amp 陽性の腫瘍はわずかである⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾, Monis¹⁷⁾ のように腫瘍間質の Amp 活性は増生する結合組織の生物学的性質により、腫瘍の性質には特別関係ないのかも知れない。

5) β -Gl : 生化学的に癌組織で本酵素の活性が高いことが判っているが、脳腫瘍と β -Gl との関係はほとんど知られていない。Norman¹⁸⁾ は人の正常および腫瘍脳組織で β -Gl 活性の定量的研究を行ない astrocytoma の grade がすすむにつれ β -Gl 活性値が急速に高まるとした。すなわち astrocytoma grade 1 で平均 2.89 μ g. per hour per mg. of dry weight (以下同), grade 2 で 5.03, grade 4 で実に 21.41 の値をえている。換言すると glioma の悪性度と β -Gl 活性との間に著しい相関をみている。一方本研究ではこのようなことはほとんどみられない。しかし grade の進んだものの巨細胞、異型性細胞中に強い β -Gl 活性を示すので Norman の結果とある程度の共通点がある。今後更に新しい組織化学証明法を用いて β -Gl 活性と glioma の悪性度との関係を追求すべきであろう。

6) 脱水素酵素

Glioma の脱水素酵素に関する研究も非常に少ない。現在まで C₃H 系マウスの glioma の SDH 活性について Ogawa¹⁹⁾ の報告、人脳腫瘍の MDH, LDH, G6PDH 活性を定量した Paxton²⁰⁾、人の glioma の SDH 活性をみた Mossakowski²¹⁾、人脳腫瘍の SDH, LDH, α -GDH および G6PDH 活性を行なった O'Connor⁸⁾ らの研究がみられる。

a. 好氣的解糖系 (SDH, MDH, IdDH)

SDH が最もよく検索されているが現在まで多くの研究で SDH 活性は neuron および neuropil に強く存在し glial cell では非常に少ないか陰性とされている。しかし Potanos²³⁾ は glial cell とくに oligodendroglia に高活性があるとした。Friede²⁴⁾ も腫瘍をかこむ gliosis の部で同じ所見を得ている。Ogawa¹⁹⁾ は nitro-BT で実験し、C₃H マウスの人工的 ependymoma の SDH 活性は正常大脳のそれよりかなり低く、これは主に ependymoma の腫瘍細胞中のミトコンドリアの量や大きさの小さいことによるとした。Mossakowski²¹⁾ は Ogawa と同じ方法で人の glioma 系腫瘍の SDH 活性は腫瘍の悪性度が増すにつれて上昇するとした。O'Connor⁸⁾ は人の glioma 13 例の SDH 活性を検索し、低い活性を認めているが、この結果は Friede²⁴⁾ が人脳腫瘍で得た結果とはほぼ一致する。本研究は SDH と共に

TCA-cycle 酵素の MDH, IdDH も検索したが、これらが助酵素、代謝的性質など条件の違いにかかわらずほぼ同様の所見を示し、正常脳皮質の glial cell での活性と大略同じ強さをみた点で従来の報告とやや趣を異にした。glioma の分化度とこれらの活性の間に相関のみられない点でも Mossakowski の結果と異なつた。

b. 嫌氣的解糖系 (LDH, G6PDH)

Warburg²⁶⁾ らが1920年代に悪性腫瘍は嫌氣的および好氣的解糖が活潑なことを見出したが、その後 Greenstein²⁶⁾ が数多くの研究より Greenstein の法則を提唱したのは有名である。その後癌細胞の酵素は iso(en)zyme の立場から再検討されつつある。LDH は一般に哺乳動物で5種の isozyme があり Starkweather ら²⁷⁾ は癌細胞の LDH が isoenzymatic pattern で電気泳動的に正常組織のそれと異なることを示唆している。Boxer ら²⁸⁾ は最近腫瘍組織で乳酸より焦性葡萄糖への還元 LDH が必須であり解糖早期の DPN の重要な源であることを強調した。Corridori ら²⁹⁾ はホモジネートした脳腫瘍組織で正常脳より腫瘍組織で LDH 活性がやや増強し悪性なもので更に増強するとした。Green ら³⁰⁾ も同様の実験で同じ結果をえた。Paxton²⁰⁾ も定量的な研究ではほぼ類似の結果をえている。O'Connor ら⁶⁾ は定性的研究で SDH よりもやや強い LDH 活性をみたが glioma の分化度との関連性はみとめていない。G6PDH は五単糖磷酸回路活性の強弱を反映するがその組織化学的研究は少ない。第1編で正常脳組織の G6PDH 活性は低く Warburg-Dickens 系解糖は余り著しくないと述べたが glioma については Paxton²⁰⁾ は定量的な研究で腫瘍細胞では正常脳の3~10倍の活性のあることをみている。Lehrer³¹⁾ は10例の glioma で G6PDH 活性は正常小脳の分子層、および顆粒層のそれよりやや増強しているとした。O'Connor ら⁶⁾ は13例の glioma で G6PDH 活性は LDH と大差なく正常脳組織よりやや増強するとした。総括して嫌氣的解糖系の酵素活性は正常脳組織のそれと同じか、またはやや増強していた。本研究では G6PDH 活性は LDH のそれより若干低かつたが、それぞれ正常脳組織の astrocyte と大差なく、腫瘍化した場合でも嫌氣的解糖系の特別な活潑化はないものと推定される。

c. GDH, α -GDH および β -HDH

これら各酵素の研究はほとんどみられない。本研究での GDH 活性は SDH と同様の活性強度と局在

性を示し、正常脳皮質、髄質での astrocyte と各 glioma の腫瘍細胞との間に有意の差がみられない。 α -GDH, β -HDH も同様である。正常脳皮質の神経細胞の一部にみられた極度に高い GDH 活性を示すものではなく、glioma でのアミノ酸、脂肪酸代謝系に特異な変化はみとめられなかつた。

2. Meningioma

脳膜の腫瘍を一括して meningioma とするのは臨床的な便宜からで、組織として単一でなく固有の蜘蛛網膜の他に様々の非特異的組織よりなり、その組織内容の多様なことはいうまでもない。酵素組織化学的にも glioma と異なり変化に富むものが多い。

1) Alp および Acp: glioma と同様 Alp に関する研究は詳しいが、その他の酵素についてはみるべきものがない。Landow ら⁴⁾ は11例の meningioma 中7例に強い Alp 活性をみたが、高松・Gomori の原法によつてゐる。更に彼は腫瘍内の毛細血管壁に最強の活性を、広汎な fibrosis, hyalinization のある例で活性の消失をみとめ、石灰沈着と Alp 活性の間の相関性を推測した。Wolf ら¹¹⁾ は Landow らと同じ方法で meningioma の Alp 活性が腫瘍細胞の核に存在するとしたが、現在これは否定されるべきものであ。Büttger ら³²⁾ は meningioma の種類と Alp, Acp 活性との関係を探し、aceton 固定で前記と同じ方法で Alp 活性は fibromatöse M. に非常に強く、endotheliomatöse M., angiomatöse M. の順に活性が低下することをみた。また彼のいわゆる "Raschwachsendes M." に最強の活性が存在し、Acp 活性には以上のような傾向のないことなどをのべている。Feigin, Wolf ら⁵⁾ は Büttger と同様の方法で Alp 活性は meningothelial type に(+3)の強活性をみるが malignant, angioblastic 各 type ではほとんど活性が(-)とした。Pepler³³⁾ は Pearse (1953) の方法で meningioma の Alp 活性を検索し、arachnoidal granulation の cap cell と arachnoidal membrane には強活性をみるが psammomatous m. の psammoma のまわりは低活性になることをみ、Alp と石灰化との相関性を指摘している。O'Connor⁶⁾ は Pearse の法で Alp 活性は fibromatous, endotheliomatous の別なく(+4)から(-)に至る種々の強度の活性を、また whorl formation, psammoma body の周辺で活性の上昇するのをみた。Nasu³⁴⁾ は最近43例の meningioma で、Alp 活性は Gomori (1946) の Calcium-kobalt 法、Acp 活性は Grogg, Pearse (1952) の azo-coupling 法で検索した、これ

によるとほとんどの meningioma で高い Alp 活性を得たが collagen fiber 自身の活性はないとした。また腫瘍細胞内の活性局在は本研究とはほぼ同じ結果をえているが、毛細血管およびその周辺では活性の上昇を、hyaline 物質、石灰化巣自身には活性陰性、その外側には強い活性をみとめている。また psammoma のまわりの腫瘍細胞にも強い活性をみとめ腫瘍の石灰化と Alp 活性は平行するとした。一方 Acp 活性にはこのような特性はみられていない。Alp 活性が fibroblastic type で最強、meningocytic type で中等度、malignant type で陰性の所見を得る点では本編の所見は Nasu, Büttger らのそれと一致した。このように Alp 活性は meningioma の発育、石灰化と何らかの関係をもつとみられるが、臨床との関係をみると病期期間が長いほど meningocytic, malignant 両 type の Alp 活性が強い。fibroblastic type にはこのような傾向はみられない(図表 6)。

2) その他の水解酵素

Norman が β -Gl 活性を定量的に、Nasu³⁴⁾ が β -Est を検索しているのが見られる程度である。Norman によると meningothelial type の β -Gl の活性量は glioma のその 2/3~1/2 としたが、これは

本編の結果に似る。Nasu によると β -Est 活性は meningioma で非常に弱いが endotheliomatöse M., "raschwachsende Tumor" ではかなり強いとした。本研究ではむしろ臨床的に Alp に類似しており Amp 活性についても同様の傾向をみた。

3) 脱水素酵素系

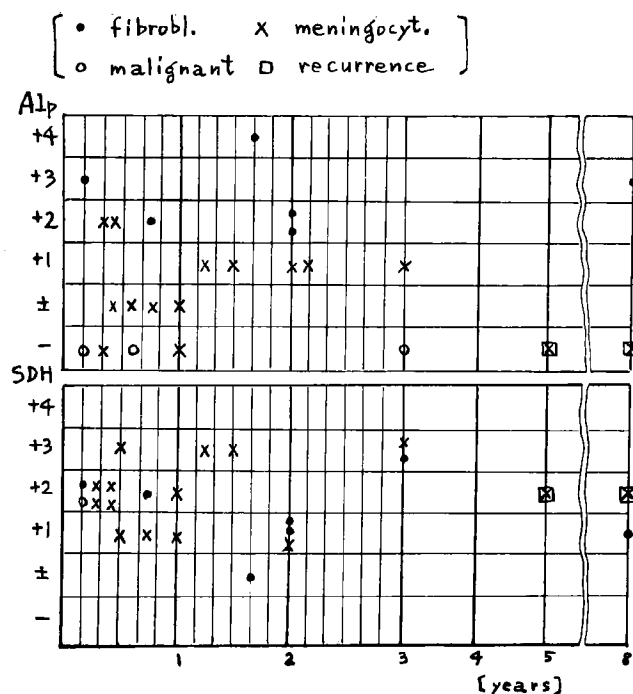
meningioma の脱水素酵素活性についても 2~3 の文献をみるにすぎない。Paxton²⁰⁾ は psammomatous meningioma, dura mater の各種脱水素酵素量を定量し、前者で後者よりはるかに多量の、すなわち MDH で 9 倍、LDH で 17 倍、G6PDH で 11 倍もの脱水素酵素を含むとした。彼はこれを腫瘍の高い cellularity と低い collagen 含有に帰した。O'Connor²²⁾ は定量的研究から SDH, LDH, α -GDH および G6PDH の活性を検索し、各酵素とも meningotheliomatous type により高い値を、とくに G6PDH にこの傾向が著しいことをみている。Nasu³⁴⁾ も LDH, MDH, GDH および SDH の各酵素活性の詳細な観察から腫瘍細胞内での活性局在で本編の結果とはほぼ一致する所見を得ているが、LDH が最強で SDH でやや活性低下をみ、meningioma の type と余り関係ないことなども本編と同様であつた。ただ

彼の "rapid growing type" での所見に相当するものは本研究ではみられなかつた。IcDH および β -HcDH については現在研究例をみない。SDH 活性と病期期間との関連では fibroblastic m. ののみ活性が強いほど病期期間が短縮した傾向がみられたが、その他の type, 脱水素酵素活性には特別の所見をみない。

3) Neurinoma

本腫瘍は Schwann cell 起源とされ非常に細長い核と更に両側に伸長せる細胞質の突起をもつ fibroblastic cell を主な構成体とするが、その細胞の始原の詳細は不明である。結果からみて spongioblastoma polare は形態が neurinoma と似ているが酵素活性の面でも類似している。neurinoma に関する酵素組織化学的研究も少なく、Alp, Acp に関する業績が若干みとめられる程度である。

Table 6 Meningioma: Alp, SDH activity and duration of signs and symptoms



Feigin, Wolf ら⁵⁾ は中等度強から弱い Alp 活性を palisade 形成帯の中にみとめている。Müller, Nasu³⁶⁾ は Gomori (1946, 1950), Pearse (1954) らの方法で Alp, Acp 活性を, Nachlas, Seligman (1940) らの方法で β -Est 活性をみ, Alp 活性はほとんど毛細血管のみに, Acp 活性は腫瘍細胞の核周辺にのみ中等度に, また β -Est 活性は細胞質に瀰漫性に存在するとしたが, 腫瘍細胞中の lipopigment granula と Acp 活性は常に併存すると推定している。Norman¹⁸⁾ の β -Gl 活性についての研究では meningioma と glioblastoma の中間の値をえている。以上のように neurinoma については傾向を把握するには資料不足であるが, neurinoma の発生源, 代謝の特性などの解明上組織化学的方法是重要とみられる。

4. その他の脳腫瘍について

本研究でも症例が少ないが, 従来の研究も同じであり, これらの脳腫瘍については症例報告的な論文が多く, 文献的な考察も不充分である。

1) Pinealoma

本腫瘍の組織化学的な研究はみられない。これには two cell pattern を示すのが多いが, 近年これに germ cell 起源であるとする説も有力である。epitheloid cell と lymphoid cell の間で何らの酵素活性差がみられなかつたが代謝面ではこの両腫瘍細胞に大きな違いがないと考えられる。

2) Craniopharyngeoma

Nasu³⁶⁾ が 5 例はどこについて Alp, Acp, Est 活性を Gomori 法でみているが, 彼は更に本腫瘍と normale Epidermis 各層とを比較し, 前者の角化せる細胞と後者の角化層で Acp の強い活性をみるが, 前者で角化の始まる部位, すなわち角化部に直接した周囲, 後者で透明層にて Est 活性が著明に上昇する所見を得ている。

本研究ではこのような比較はしなかつたが, Acp, Est 活性に特異な所見はみられなかつた。

3) Pituitary adenoma

Feigin, Wolf ら⁵⁾ は本腫瘍に Alp 活性が全くみられないとしたが, Nasu³⁷⁾ の研究でも血管をのぞいて陰性を示している。また彼は MDH, SDH, α -GDH, IdDH, LDH, GDH などは強い活性が核周辺にみられるとしたが本実験でもほぼ同様な所を得た。

4) Papillary ependymoma

Helmy, Hack³⁸⁾ は正常の choroid plexus の SDH

を nitro-BT 法で検索し, 活性が epithelial cell に強く出現するのをみているが, 細胞内の局在にはふれていない。腫瘍細胞については Allen¹⁸⁾ が β -Gl 活性の定量を行ない, 彼の検索した脳腫瘍中ほとんど最強の値を得, これは glioblastoma のそれに匹敵するとした。Alp に関しては Feigin, Wolf⁵⁾ が 1 例のみについて検索し毛細血管以外は弱い活性しかみとめていないが, 本実験においてはかなりの活性を見出した。以上のように資料も少ないため代謝機構の解明には今後多くの研究が必要である。

結 論

手術により得られた人の脳腫瘍組織で主に glioma, meningioma および neurinoma など 140 例を用い, 5 種の水解酵素, 8 種の脱水素酵素の活性分布を組織化学的に検討し次の結果を得た。なお, glioma および meningioma では酵素活性と臨床所見との関係を統計的に追及し若干の結果を得た。

1) Glioma

a. Alp 活性は正常グリア細胞には全く活性をみなかつたが glioma では活性が出現し, 組織学的に分化度が低くなるにつれ活性が低下する傾向を示した。

b. Acp 活性では Alp にみられるような傾向は全く示さなかつた。その他の水解酵素では著しい特長を示さなかつた。Amp 活性は正常脳組織にけると同様に全く陰性であつた。

c. 脱水素酵素は嫌氣的, 好氣的解糖系, およびアミノ酸, 脂肪酸代謝系所属のいずれを問わず各酵素間, および glioma の種類との間で著しい差異を示さなかつた。また正常脳グリア細胞との間にも有意の活性差をみなかつた。

2) Meningioma

a. Alp 活性は meningioma の 3 型で明らかに強さの差異を示し, fibroblastic m. で最高, malignant m. で非常に微弱, meningocytic m. では両者の中間であつた。

b. Acp 活性では Alp にみられたような傾向は全く示さなかつた。その他の水解酵素では Amp 活性がしばしば陽性を示すのが特長的であるが β -Est, β -Gl などは特長のある所見を示さなかつた。

c. 脱水素酵素は glioma におけると同様, 各酵素間および meningioma の種類の間で有意の活性差をみなかつた。

3) Neurinoma

酵素活性上で著しい特長はみられず、組織構造の類似した spongioblastoma polare, fibroblastic meningioma と比べても特別に異なつた所見をみなかった。

4) その他の脳腫瘍は例数が少なく統計的な考察は行ない得なかつたが、同一腫瘍の酵素活性はほとんど一致する結果を示した。

5) glioma の予後と Alp 活性との間に一定の傾

向がみられた。

稿のおわりにご指導ご校閲をたまわつた田中教授、緒方講師、標本の提供にご援助を下さつた西本教授をはじめ脳神経外科の先生方、終始ご鞭撻をいただいた河島先生、延藤先生に深謝する。また多くの技術的援助をいただいた大阪大学歯学部第2口腔外科の諸先生方に深い謝意を表する。

文

献

- 1) 植木ほか、本邦における脳腫瘍の統計的観察、脳と神経、16, 3, 199~200, 1964.
- 2) Manheimer, L. H. & Seligman, A. M., Improvement in the method for the histochemical demonstration of alkaline phosphatase and its use in a study of normal and neoplastic tissue, J. Nat. Cancer Inst., 9, 181~199, 1948.
- 3) 森昌彦, alkaline phosphatase の組織化学における固定と証明法に関する吟味, 阪大歯誌, 4, 145, 1952.
- 4) Landow, H., Kabat, E. A. and Newman, W., Distribution of alkaline phosphatase in normal and in neoplastic tissues of the nervous system, Arch. Neurol. psychiat., 48, 518~530, 1942.
- 5) Feigin I and Wolf, A., The alkaline phosphomonoesterase activities of brain tumors, A. M. A. Arch. Path., 67, 670~678, 1959.
- 6) O'Connor, J. S. and Laws, E. R., Histochemical survey of brain tumor enzymes, Arch. of Neurol., 9, 641~651, 1963.
- 7) Nasu, H., und Müller, W., Enzymhistochemische Untersuchungen an Gliomen, Deutsche Zeitschrift für Nervenheilkunde, 186, 67~86, 1964.
- 8) 近藤栄男, 乳腺腫瘍の酵素組織化学的研究, 岡山医学会雑誌, 77, 251~266, 267~286, 1965.
- 9) 田中早苗ほか, 胃癌の組織化学的研究IV, 日本癌学会記事, 23, 271, 1965.
- 10) 田中早苗ほか, 大腸腫瘍の組織化学的研究, 日本癌学会記事, 23, 271~272, 1965.
- 11) Wolf, A., Kabat, E. A. and Newman, W., Histochemical studies on tissue enzymes. III. a study of the distribution of acid phosphatase with special reference to the nervous system, Amer. J. Path., 19, 423~439, 1943.
- 12) Nesbit, Baum, Serum phosphatase determinations in diagnosis of prostatic cancer, J. A. M. A., 145, 1321, 1951.
- 13) M. N. Green, K. C. Tsou, R. Bressler, A. M. Seligman, The colorimetric determination of leucine aminopeptidase activity with 1-leucyl- β -naphthylamide hydrochloride, Arch. Biochem., 57, 458, 1955.
- 14) M. S. Burstone, Histochemical demonstration of proteolytic activity in human neoplasm, J. Nat. Cancer Inst., 16, 1149, 1956.
- 15) G. G. Glenner, a study of aminopeptidase activity in the stroma of neoplastic tissue with a comparison of histochemical techniques, J. Nat. Cancer Inst., 23, 857~873, 1959.
- 16) O. Braun-Falco, Histochemical demonstration of aminopeptidase in normal and pathological skin, J. Histochem. Cytochem., 5, 94~95, 1957.
- 17) B. Monis, M. M. Nachlas, A. M. Seligman, Study of leucine aminopeptidase in neoplastic and inflammatory tissues with a new histochemical method, cancer, 12, 601~608, 1959.
- 18) A. Norman, β -glucuronidase activities in tumors of the nervous system, Neurology, 11, 7, 578~596, 1961.
- 19) Ogawa, K., Zimmerman H. M., The activity of succinic dehydrogenase in the experimental ependymoma of C₃H mice, J. Histochem. Cytochem., 7, 5, 342, 1959.
- 20) Paxton, H. D., Quantitative histochemistry of

- brain tumors and analogous normal tissue, *Neurology*, **9**, 367, 1959.
- 21) Mossakowski, M. J., The activity of succinic dehydrogenase in glial tumors, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **11**, **3**, 137, 1961.
- 22) O'Connor, J. S. et al., Histochemical survey of brain tumor enzymes, *Arch. Neurol.*, **9**, 1963.
- 23) Potanos, J. N. Wolf, A. and Cowen, D., Cytochemical localization of oxidative enzymes in human nerve cells and neuroglia, *J. Neuropath. & Exper. Neurol.*, **18**, 627, 1959.
- 24) Friede, R. L., Histochemischer Nachweis von Succinodehydrogenase in Biopsien von menschlichem Hirngewebe, *Virchows Archiv. Path. Anat.*, **332**, 216, 1959.
- 25) Warburg, O., *Metabolism of Tumors*, New York, Smith, 1931.
- 26) Greenstein, J. D., Some biochemical characteristics of morphologically separable cancers, *Cancer Research.*, **16**, 641, 1956.
- 27) Starkweather, W. H., and Schoch, H. K., Some observations on the lactate dehydrogenase of human neoplastic tissue, *Bioch. Biophys. Acta*, **62**, 440, 1962.
- 28) Boxer, G. E., and Devlin, J., Pathways of intracellular hydrogen transport, *Science*, **134**, 1495~1501, 1961.
- 29) Corridori, F., Cremona, T. and Tagliabue, G., glutamic-oxalacetic transaminase and lactic dehydrogenase activities in brain tumor homogenates, *J. Neurochem.*, **6**, 142~145, 1960.
- 30) Green, J. B., Oldewurtel, H. A. and Forster, F. M., Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and lactic dehydrogenase (LDH) activities, *Neurology (Minneapolis)*, **9**, 540~544, 1959.
- 31) Lehrer, G. M., "The quantitative histochemistry of human glial tumors" in the biology and treatment of intracranial tumors, edited by W. S. Fields and P. C. Sharkey, Springfield, Ill, Charles C Thomas, Publisher, 1962, chap. 6, p. 140.
- 32) Büttger, H. W., G. Scariato, W. Müller und D. Kemali, Über das Vorkommen und die Verteilung der alkalischen und sauren Phosphatase in Meningiomen, *Deutsche Zeitschrift für Nervenheilkunde*, Bd. 176, 67~76, 1957.
- 33) W. J. Pepler, alkaline phosphatase in the meninges and in meningiomas, *Nature*, No. 4729, 979, 1960.
- 34) H. Nasu, Fermenthistochemische Untersuchungen an Meningiomen, *Acta Neuropathologica*, **3**, 627~637, 1964.
- 35) Müller, W., H. Nasu, Fermenthistochemische Untersuchungen an Neurinomen, *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie*, **70**, 417~422, 1960.
- 36) H. Nasu, Über den histochemischen Nachweis hydrolytischer Enzyme in Kraniopharyngiom, *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie*, **71**, 182~189, 1961.
- 37) H. Nasu, Histochemischer Fermentnachweis in Hypophysenadenomen, *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie*, **74**, 68~77, 1964.
- 38) Helmy, F. M., M. H. Hack, Histochemical and lipid studies on human choroid plexus, *proc. soc.*, n. 1, **2**, 361~362, 1963.

Histochemical Studies of Hydrolytic and Oxidative Enzymes in the Human Brains.

Part II On Brain Tumors.

By

Masato NAKAMURA

The First Department of Surgery, Okayama Univ. Medical School,
(Director; Prof. Sanae Tanaka)

A histochemical study on alkaline phosphatase, acid phosphatase, β -esterase, β -glucuronidase, lactic dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, succinic dehydrogenase, malic dehydrogenase, isocitric dehydrogenase, glutamic dehydrogenase, α -glycerophosphate dehydrogenase and β -hydroxybutyric dehydrogenase has been carried out to clarify the relationship between the clinical feature and the enzyme activities of brain tumors.

The materials used in this study were human brain tumors removed from 140 patients in our department from June 1962 to April, 1966. Two-thirds of these specimens were kept at 20°C. immediately after the removal, the rests were quickly frozen by ice acetone mixture, and serially cut at 20 μ thick in a -20°C. cryostat, then the sections were incubated in each histochemical reaction mixture. For the histochemical demonstration of hydrolytic enzymes, azo-coupling method was employed, and for the oxidative enzymes, the method described by Pearse was employed.

The following results were obtained ;

1) In gliomas the cells of astrocytoma grade I showed a marked reaction of alkaline phosphatase activity, but decreased in poorly differentiated gliomas.

2) In two-thirds of the cases with gliomas, the longer the duration of clinical symptoms and signs, the more benign were the histological pictures and the stronger in alkaline phosphatase activity.

3) Other enzymes activities in gliomas showed not any specific reaction with the tumors and the prognosis.

4) Alkaline phosphatase, leucine aminopeptidase and acid phosphatase activities are remarkable in fibroblastic meningioma, moderate or feeble in meningocytic meningioma, and negative in malignant meningioma.

Other enzyme activities in meningiomas showed no specific features.

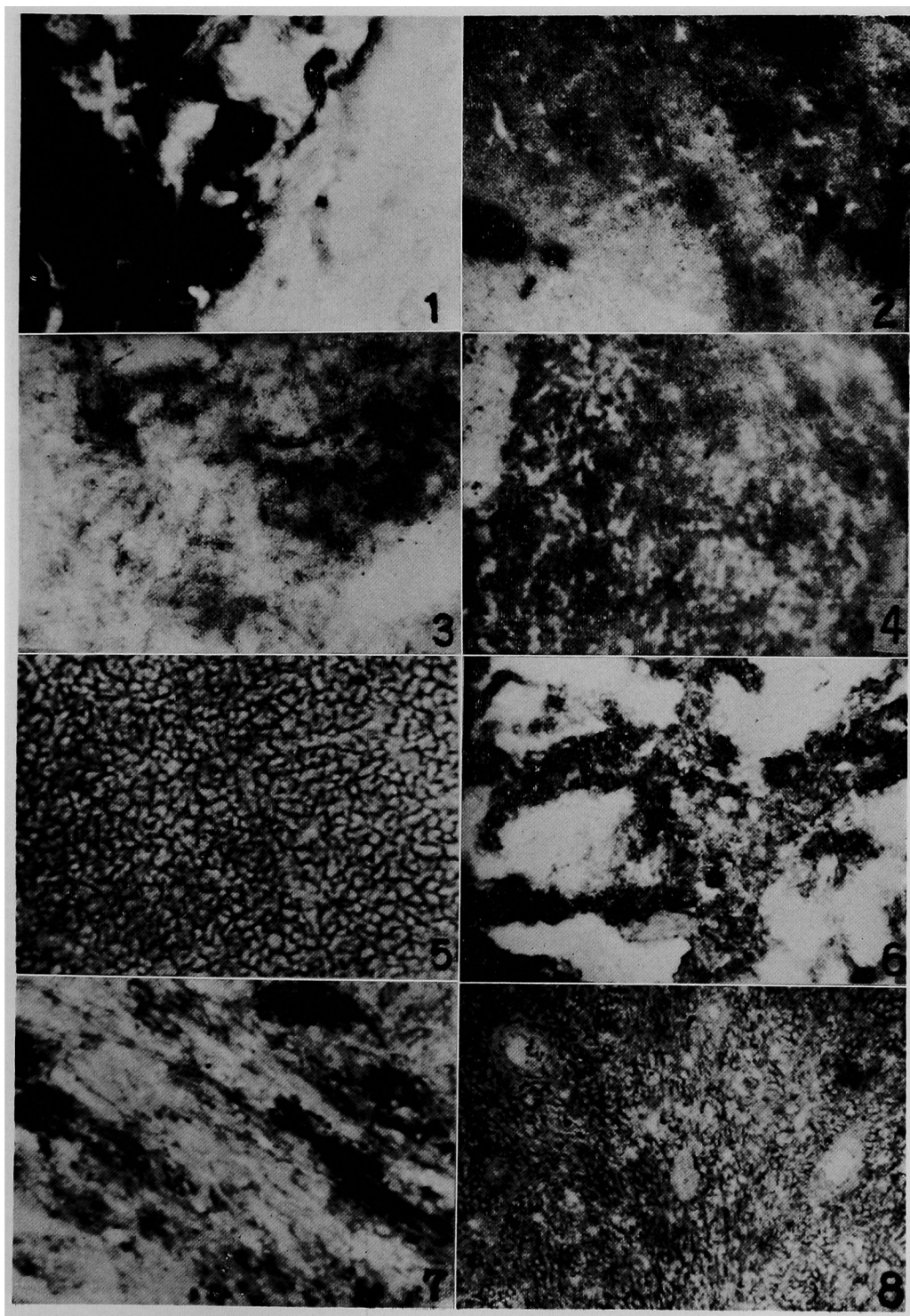
5) Acoustic neurinomas show moderate or lower activities of hydrolytic and oxydative enzymes, and there is no characteristic feature on histochemistry.

写 真 説 明

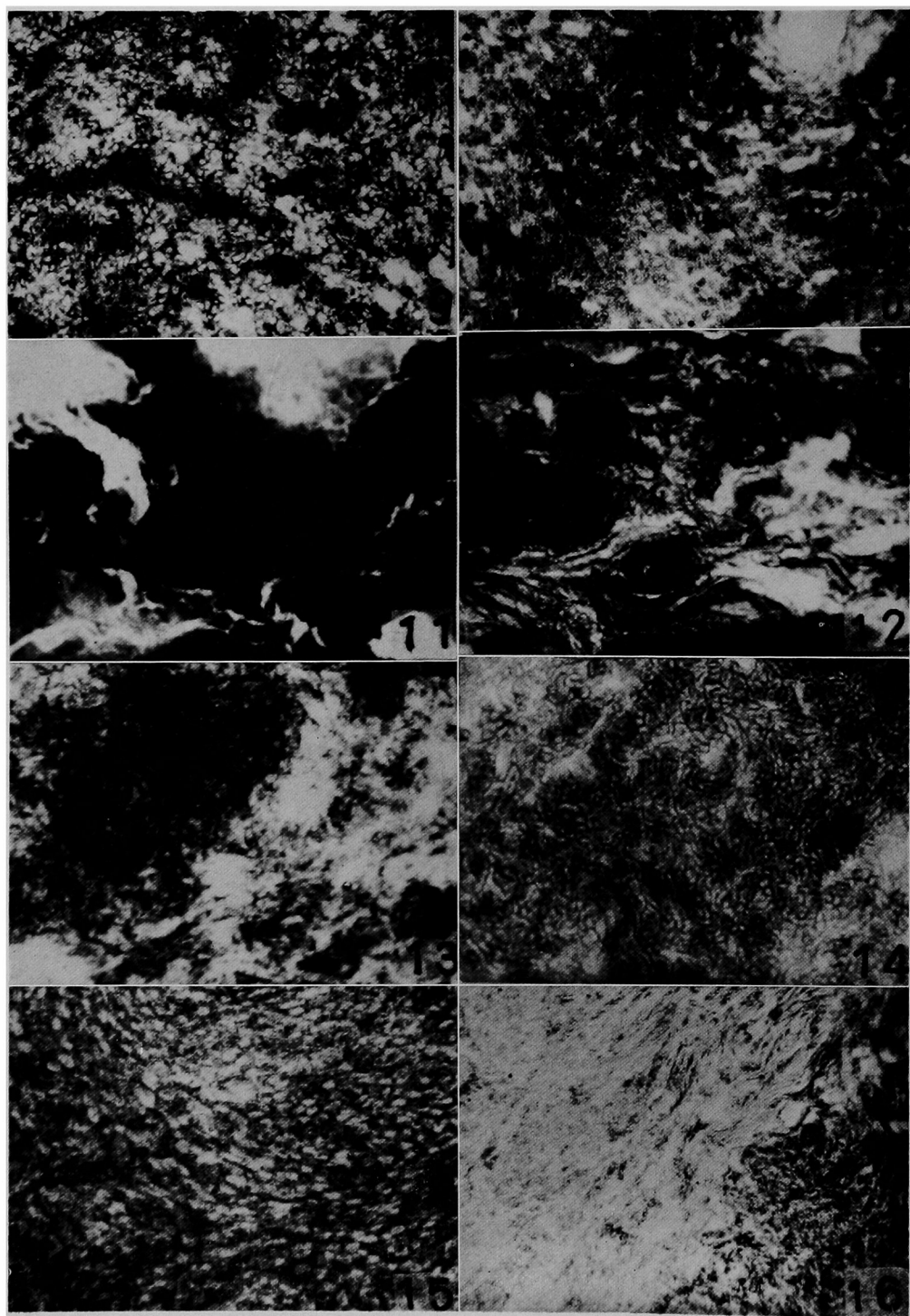
- 図 1) Alp ; 小脳虫部における Astrocytoma grade 1. 近接する正常小脳組織と比較. $\times 200$
- 図 2) Alp ; 右前頭葉における Oligodendroglioma. 毛細血管およびその周辺の腫瘍細胞に強い活性をみる. $\times 200$
- 図 3) Acp ; 小脳虫部における Astrocytoma grade 1. 図 1 と同じ腫瘍であるが活性は可成り低い. 毛細血管での活性はみられない. $\times 200$
- 図 4) Acp ; Astrocytoma grade 1. 図 3 とほぼ同様の所見をみる. $\times 200$
- 図 5) β -Gl ; 小脳における Astrocytoma grade 1, 活性は細胞質周辺に偏在する. $\times 200$
- 図 6) MDH ; 左側頭葉における Astrocytoma grade 1. やや強い活性が腫瘍細胞内に存在する. 壊死部, 出血巣の周辺では活性の増強をみる. $\times 200$
- 図 7) MDH ; 小脳右半球における Spongioblastoma polare, 腫瘍細胞の突起中に中等度の活性をみる. $\times 200$
- 図 8) SDH ; 左側頭葉における Ependymoma, rosette, cartwheel の周辺の腫瘍細胞にてやや活性の上昇をみるが中心部および suckerfeet の部分では活性陰性である. $\times 200$
- 図 9) MDH ; 左頭頂葉における Astrocytoma grade 4, 大型の腫瘍細胞での活性は可成りの上昇を示す. $\times 200$
- 図 10) LDH ; Astrocytoma grade 1, 中型血管および毛細血管とその周辺の腫瘍細胞に強い活性をみる. $\times 200$
- 図 11) Alp ; 右側 sphenoidal ridge における fibroblastic Meningioma, 腫瘍細胞内に最強の活性が存在し組織構造は全く不明である. $\times 200$
- 図 12) Alp ; 右前頭葉における meningocytic Meningioma, whorl formation, concentric arrangement の部分で活性の上昇をみるが psammoma 自身での活性は陰性である.
- 図 13) Acp ; 左大脳半球における fibroblastic Meningioma, Alp におけるほど強い活性をみないが腫瘍細胞内に活性が存在する.
- 図 14) Acp ; 右側頭葉における meningocytic Meningioma, fibroblastic Meningioma とほとんど同様の所見をみる. $\times 200$
- 図 15) β -Est ; 右前頭葉における fibroblastic Meningioma, 腫瘍細胞内に中等度の活性をみる. $\times 200$
- 図 16) Amp ; fibroblastic Meningioma, 腫瘍細胞の突起に活性をみるが concentric arrangement の様相を示す部でとくに強い活性を示す. $\times 200$
- 図 17) LDH ; fibroblastic Meningioma, whorl formation, concentric arrangement の部で活性の上昇をみる.
- 図 18) MDH ; 右側頭葉における meningocytic Meningioma, 一部の腫瘍細胞群で強い活性をみるがおそらく whorl formation および類似構造の部分と推定される. $\times 200$
- 図 19) LDH ; 右前頭葉における meningocytic Meningioma, 非常に強い活性をみるが腫瘍組織内での分布は他の脱水素酵素と類似する. $\times 200$
- 図 20) β -HSDH ; malignant Meningioma, 腫瘍組織の構造に対応し活性強度も不平均である. 細胞質に富む大型腫瘍細胞とくに巨細胞には最強の活性をみる. $\times 200$
- 図 21) Alp ; 左側の acoustic Neurinoma, 毛細血管には強い活性をみるが腫瘍細胞はほとんど活性を示さない. $\times 200$
- 図 22) LDH ; acoustic Neurinoma, Neurinoma での脱水素酵素中では最強の活性をみるが腫瘍細胞の核周辺にとくに著しい. $\times 200$
- 図 23) SDH ; Pinealoma, epitheloid cell での活性は lymphoid cell のそれよりも強い. $\times 200$
- 図 24) Alp ; Craniopharyngioma, 最外層の cylindric cell layer では微弱, epithel cell layer では外層に強く内層にやや強い活性をみる.
- 図 25) Alp ; Craniopharyngioma, 図 24 の強拡大. $\times 400$

- 図26) SDH ; Pituitary adenoma, 可成り強い活性が腫瘍細胞内に存在するがそれ以外の腫瘍組織成分での活性はみられない。×200
- 図27) G6PDH ; Pituitary adenoma, 図26に類似した所見を示すが可成り高い G6PDH 活性をみる。×200
- 図28) Alp ; Papillary ependymoma, 毛細血管およびその周辺に最強, 腫瘍細胞には可成り強い活性をみる。×200
- 図29) MDH ; Papillary ependymoma, 非常に強い活性が腫瘍細胞内に存在するがそれ以外の組織成分での活性は殆ど陰性である。×200
-

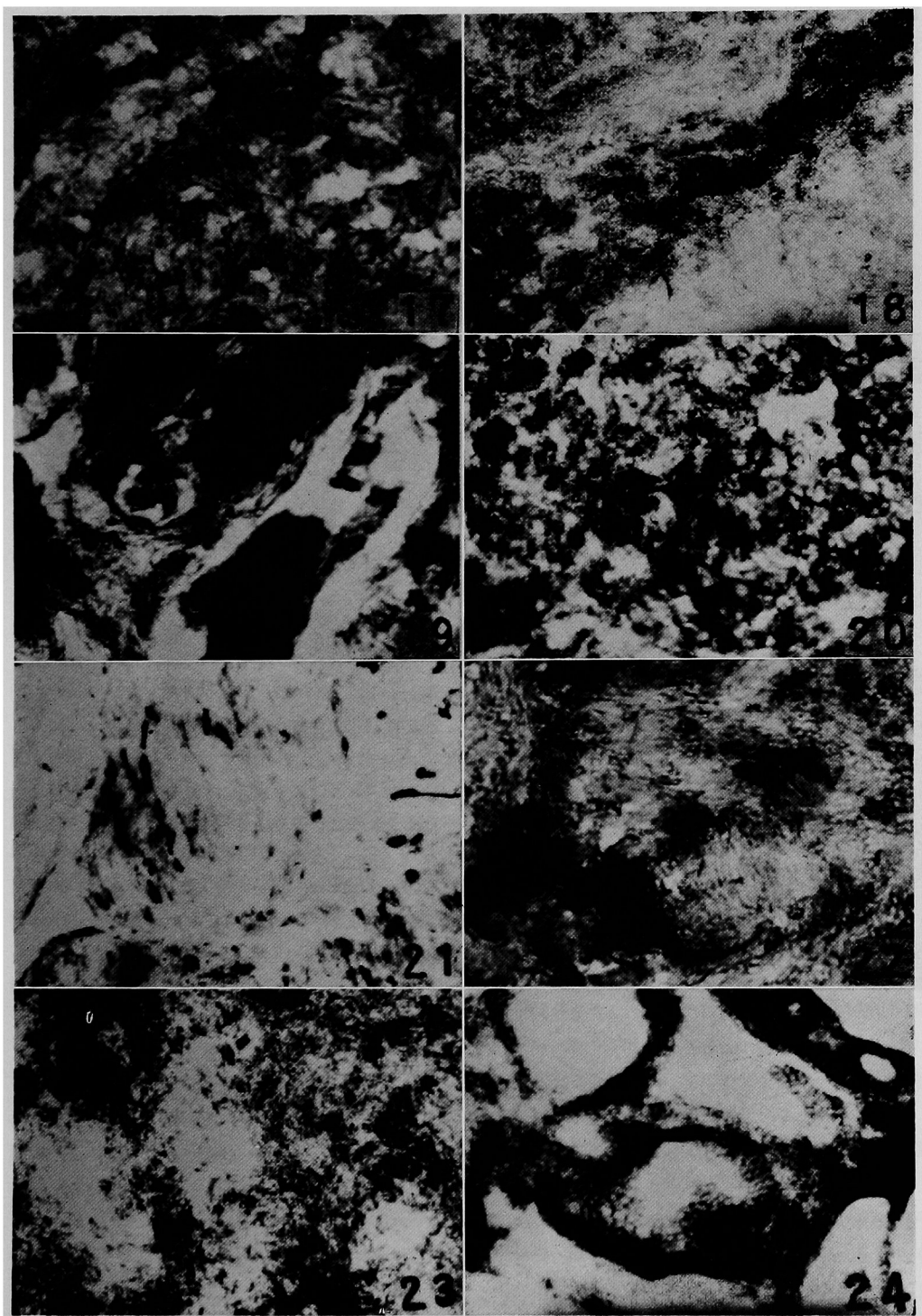
中 村 論 文 附 図



中 村 論 文 附 図



中 村 論 文 附 図



中 村 論 文 附 図

