

星細胞腫を対象とした術中迅速診断における GFAP 免疫染色の役割

東京医科大学分子病理学分野¹⁾, 戸田中央総合病院病理部²⁾

藤田 浩司¹⁾, 木下 雅史²⁾

はじめに

脳腫瘍の画像診断機器による診断能力は非常に精度が高く、発生部位や年齢を加味することで、術前診断は概ね決定されている。それでも星細胞腫を代表とする神経膠腫は、悪性 (High grade glioma) か良性 (Low grade glioma) かにより術式や治療法が異なることから、外科的治療を的確に行うため術中迅速診断が脳外科医には必要とされている^{1,2)}。しかしながら脳実質腫瘍を対象とした凍結組織切片作製法では、神経基質中の水分が氷結を起し鏡検時のアーチファクトになることがある³⁾。このため現在では、組織材料の一部を取り分け圧挫 (摺合せ) 法による細胞診 (パパニコロウ染色・HE 染色) を併用している施設が増え、術中迅速診断の精度を向上させている。

通常、星細胞腫の病理組織診断の判定基準は、細胞密度や核異型度、新生血管、出血、壊死の有無が中心となり病理診断が決定され、星細胞腫本来の特徴である細胞突起やグリア線維はあまり評価の対象になっていない。その理由としてパパニコロウ染色や HE 染色では、星細胞腫の細胞突起やグリア線維は、ライトグリーンに淡く染色されて背景の神経基質に紛れてしまい、脳腫瘍病理を熟知した者でないと診断基準を満たす有用な所見を得られにくいことによる。そこで、抗 GFAP 抗体を用いた迅速免疫染色 (方法は最終頁参照) を併用し、星膠細胞の特有の細胞突起、グリア線維の形状を明らかにすることで Grade 分類を反映した細胞所見が得られる。但し、神経膠腫であっても乏突起細胞腫は、抗 GFAP 抗体に非反応性であることから、神経膠腫が疑われながら抗 GFAP 抗体に低反応性のときは、乏突起膠腫系腫瘍を念頭に入れて判断すべきである。

1. 正常脳実質に見られる細胞の所見 -パパニコロウ染色- (Photo. 1)

1. 神経細胞：豊富な細胞質を有し、多極性の細胞突起を認める。核は大型類円形で中心部に位置し通常明瞭な核小体 1 個有する。
2. 星膠細胞：淡く微細顆粒状クロマチンの類円形核と細胞質縁不明瞭なライトグリーン好染性の細胞質を有する。
3. 乏突起膠細胞：核はリンパ球様の大きさと核周囲の胞体が明るくぬけて見える。また、しばしば裸核状に見える。
4. 背景 (神経基質)：リン脂質を主体とする基質成分は全体としてライトグリーンに淡く染まり、神経線維やグリア線維が混在する微細な網状構造を呈する。

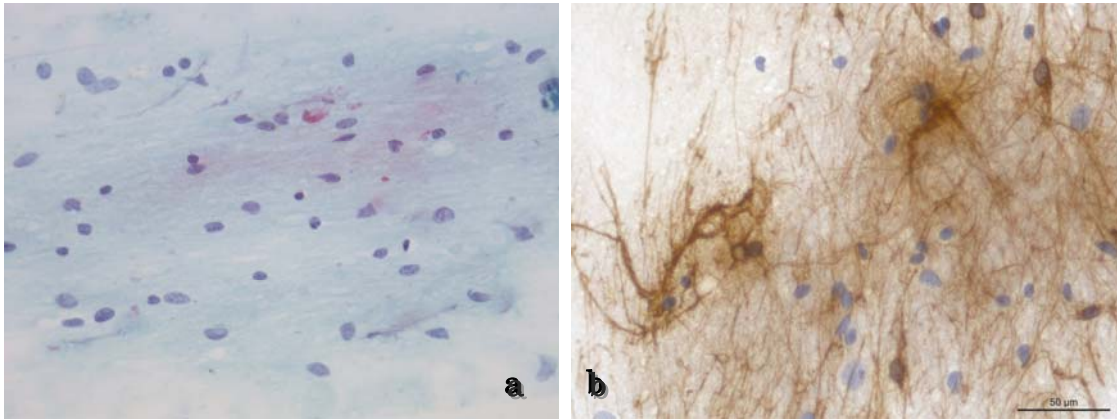


Photo. 1 大脳皮質/圧挫標本

a) パパニコロウ染色 (Pap, 対物×40) 正常組織では、神経細胞, 星膠細胞, 乏突起膠細胞がバランスよく出現しているが, 胞体や突起, 線維とも不明瞭である. 神経基質は微細な網目状構造として認める.

b) GFAP 免疫染色 (GFAP, 対物×40) では, 細くしなやかなグリア線維と梅樹枝様突起の反応性星膠細胞*が確認できる. 梗塞や出血巣・腫瘍境界部など脳内の環境や修復の程度により様々な形態をとる. 通常, 核は類円形で小型核小体を有するが, 核の膨隆感は認めない.

*反応性星膠細胞: 環境変化に敏感に反応し, しなやかなで密集したグリア線維や大きく剛性感のある梅樹枝様の細胞突起が出現する. 核は類円形で小型の核小体を認める. 炎症が強いと神経基質の網状所見は, 浮腫状変化を伴いやや粗となる.

II. 星細胞腫分類と細胞所見

星細胞腫の分類基準^{1,5)}

星細胞腫の悪性度を Grading で表現している.

その指標は, i. 核の異型性, ii. 核分裂像, iii. 細胞密度, iv. 壊死, v. 新生血管の増殖である.

Grading は悪性度が増すごとに Grade I・II・III・IV とする. 临床上, Grade I・II の Low grade と Grade III・IV の High grade に分ける.

High grade は退形成を伴う膠腫, 膠芽腫を総括したもので, 腫瘍中心部では細胞密度や核異型が高く, パパニコロウ染色に於いても診断は容易である. しかし, 腫瘍境界の浸潤部においては正常神経基質に埋もれてしまい判定に苦慮することも少なくない.

<星細胞腫の Grade とそれに該当する組織型>

Grade \ 分類	星細胞腫系
I	毛様細胞性星細胞腫
II	びまん性星細胞腫
III	退形成性星細胞腫
IV	(多形)膠芽腫

➤ Low grade glioma の細胞所見 (Photo. 2)

1. 単調でユニフォームな細胞形態
2. 核径は正常星膠細胞と同等～軽度の核肥大
3. 核形は円形～楕円形, 一部, 椀状核
4. 核の立体感・重厚感
5. 核の均等分布
6. 神経基質は, すだれ状から網目状

➤ High grade glioma の細胞所見 (Photo. 3)

1. 細胞密度が非常に高い
2. 核形は不整形で膨隆感
3. 奇怪な大型核や多核巨細胞の混在
4. 核の圧排像や重積
5. 血管周囲のロゼット様細胞集積
6. 微小血管の捻じれ状増殖や内皮細胞肥厚
7. 壊死, 出血性

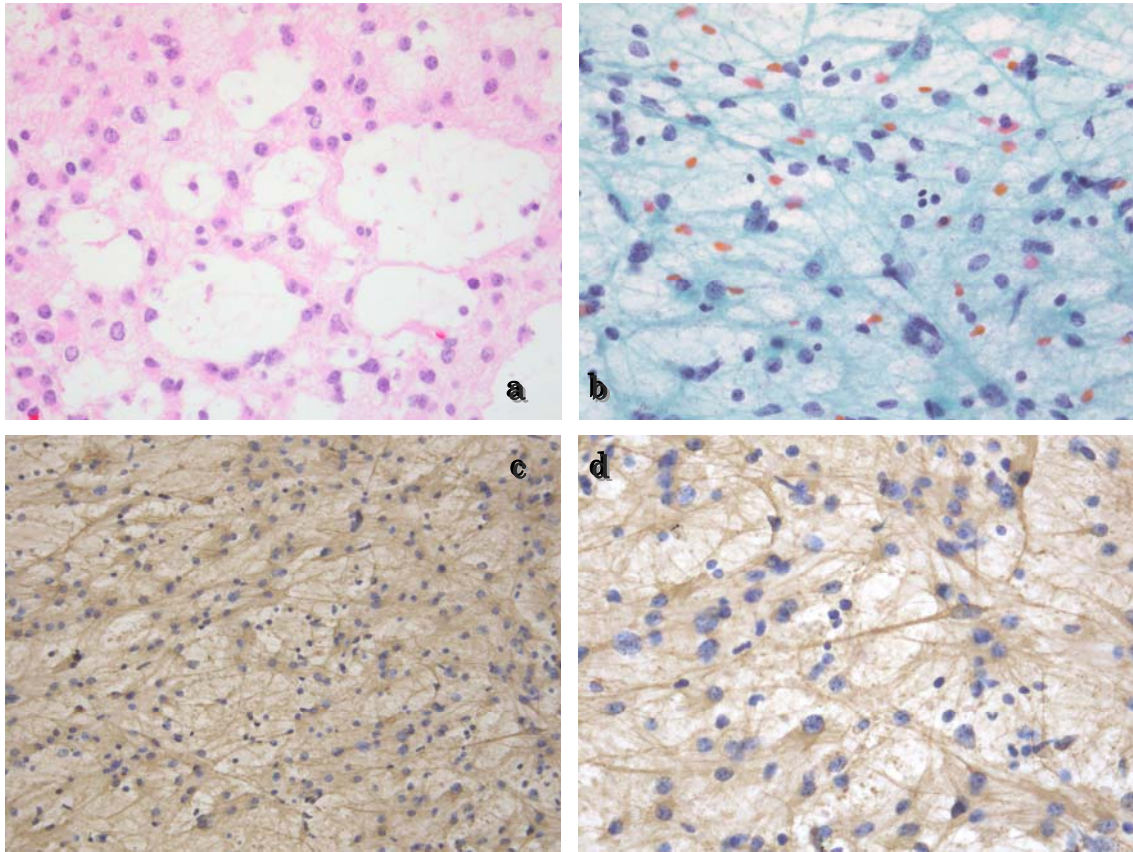


Photo. 2 びまん性星細胞腫

- a) HE 染色 (HE, 対物×40, 凍結切片)
- b) Pap. (対物×40, 圧挫法) 細胞密度がやや高く, 核の重厚性とお椀状核を認める.
- c) GFAP (対物×20, 圧挫法)
- d) GFAP (対物×40, 圧挫法)では, 双極に伸びる星細胞突起と細く柔らかいグリア線維が折り重なる. Low grade glioma

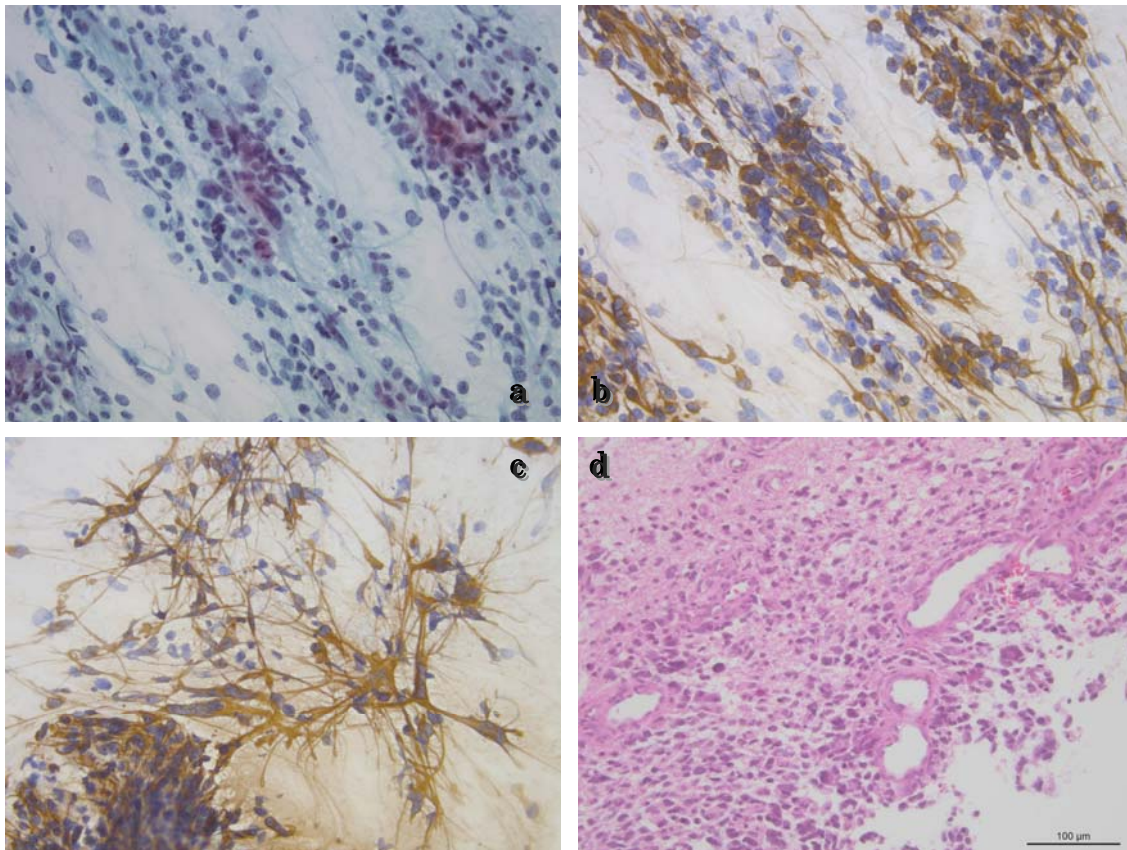


Photo. 3 膠芽腫

- a) Pap. (圧挫法, 対物×40)
- b,c) GFAP (圧挫法, 対物×40) GFAP では重厚で奇怪な細胞突起とそこから伸びる馬尾状のグリア線維が如実に現れる.
- d) HE (パラフィン切片, 対物×20) 膠芽腫では, 連続性の腫瘍塊においても組織の採取部位がわずかに異なるだけで, 高い細胞密度, 細胞の多形性と核異型, 退形成像, 壊死, 出血, 血管増殖など多彩である. High grade glioma

III. 星細胞腫における抗 GFAP 抗体の染色性(Photo. 3)

A. 圧挫標本

1. 星細胞腫の胞体や細胞突起の形状やグリア線維が如実に現れ診断が容易になる.
2. 膠細胞は変幻自在なため腫瘍においても様々な形態が見られる.
3. 星細胞腫の細胞質形態や突起, グリア線維の形状により以下に分類される.

➤ Low grade glioma の形態的特徴

1. 繊細な長いグリア線維
 - ✚ 幾重にも折り重なる蜘蛛の巣様構造
2. 偏在核に伴う
 - ✚ 流星様胞体
 - ✚ 有尾状突起
3. 金平糖様な棘状突起

➤ High grade glioma の形態的特徴

1. 胞体の重厚化や大型化
2. 棍棒状や羽ペン様の双極胞体
3. ヒドラ様胞体・突起
4. 馬尾状のグリア線維
5. 多形性

B. 凍結組織切片, パラフィン切片 (Photo.4, 5)

1. 連続切片により HE 染色と免疫染色の対比が容易である.
2. 切除断端などロケーションが失われずに観察が可能である.
3. 凍結により生じたアーチファクトのある凍結組織切片であっても膠細胞の形態が観察できる.
4. 正常組織と腫瘍との境界部において, わずかな浸潤でも見つけ易くなる.

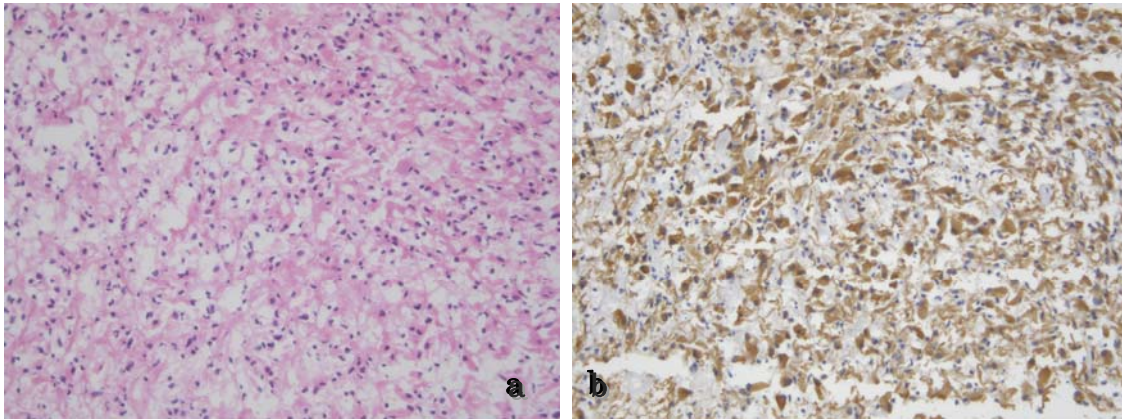


Photo. 4 毛様細胞性星細胞腫

- a) **HE** (対物×20) 凍結によるアーチファクトで細胞間がルーズな接合となり網目状になっている。小型の核がほぼ均等間隔で配置しているが、細胞種は不明である。
- b) **GFAP** (対物×20) 乏しいグリア線維と偏在核で流星様の細胞突起～金平糖様細胞突起を有する腫瘍細胞に介在する小膠細胞を均等間隔で認める。Low grade glioma

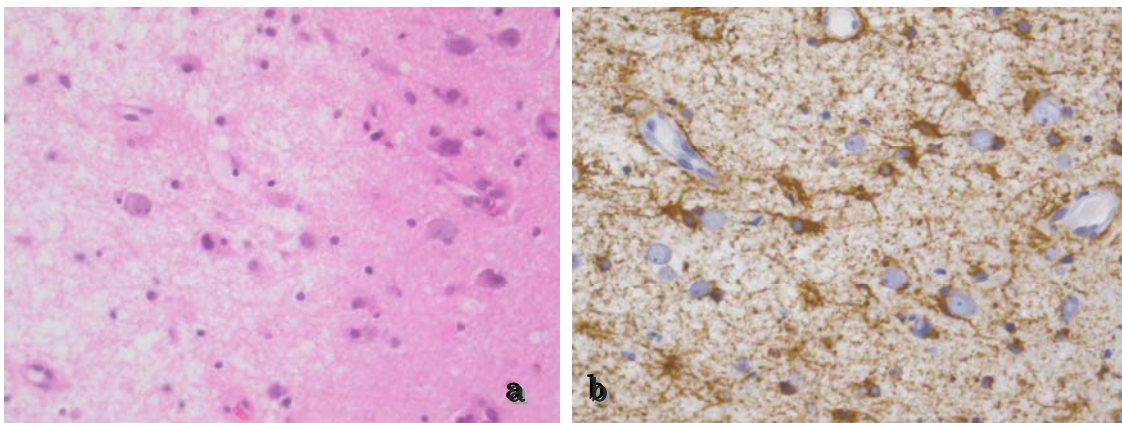


Photo. 5 びまん性星細胞腫の術後再発例

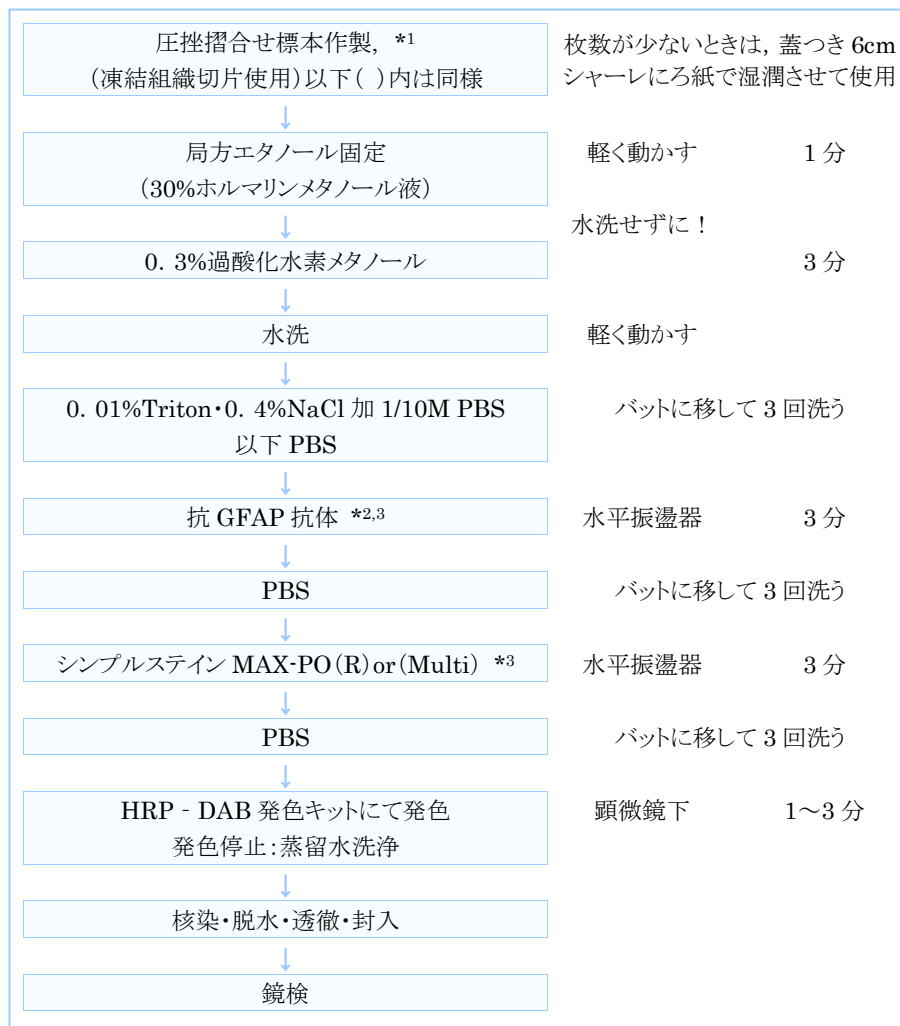
- a) **HE** (対物×40) HE 染色では正常皮質に浸潤性に増殖する星膠腫細胞の判定は極めて困難である。
- b) **GFAP** (対物×40) 重厚性で偏在核を有する異型星膠細胞を容易に捉えることができる。羽ペン様ないし馬尾様突起を認め退形成変化は悪性転化の可能性が高い。High grade glioma

まとめ

GFAP 免疫染色は短時間で安定した染色性を示し、汎用性の高い染色法であった。パパニコロウ染色や HE 染色でおぼろげだったグリア線維や細胞突起を、GFAP 免疫染色によって、鮮明に浮き上がらせることで星細胞腫の Grade 分類を容易にした。とくに組織採取部位によっては、単調で核異型の乏しい High grade glioma 例において、悪性度を反映した優れた染色性を示し、さらに正常脳組織への少数個の腫瘍細胞の浸潤像も容易に捉えることを可能にした。

<抗 GFAP 迅速免疫染色の実際>

**抗 GFAP 抗体を用いた迅速免疫染色法



*1 パンパニコロウ染色と対になるようにする

*2 抗 GFAP ポリクローナル抗体(ニチレイバイオサイエンス 422251)

*3 反応前にあらかじめ必要量を 1~1.5ml チューブに分けてから, 30~33℃程度に
加温しておく

文献

- 1) 工藤玄恵: 中枢神経系の術中迅速診断. 病理と臨床, 19(1): 21~26. 2001.
- 2) 平戸淳子: 脳・脊髄腫瘍の術中迅速診断におけるポイント. 病理と臨床, 25(10): 964~969. 2007
- 3) 吉野裕子: 脳・脊髄病変における迅速診断. Medical Technology, 39(11):1209~1215
- 4) 前田正太郎, 他: 脳腫瘍の脳細胞診 - 標本作製法(捺印・圧挫法・合わせ法). 検査と技術. 38(6): 429~432, 2010.
- 5) 清水秀樹: 脳腫瘍の画像と細胞診. クリエイティブサイトロジー3. 1~24, 2009