

# 頭蓋内腫瘍の診断における遺伝学的解析の有用性と その臨床的意義 特に神経細胞腫と乏突起膠腫との 鑑別について

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/4545">http://hdl.handle.net/2297/4545</a>

## 頭蓋内腫瘍の診断における遺伝学的解析の有用性とその臨床的意義

—特に神経細胞腫と乏突起膠腫との鑑別について—

金沢大学大学院医学系研究科脳医学専攻脳機能制御学  
(旧講座：脳神経外科学)  
(主任：山下純宏教授)

丸 川 浩 平

神経細胞腫 (neurocytoma), 胚芽異形成性神経上皮腫瘍 (dysembryoplastic neuroepithelial tumor, DNT) は, 病理組織学的分類上, 神経細胞由来腫瘍および神経細胞-膠細胞混合腫瘍 (neuronal, mixed neuronal-glioma) に含まれる頭蓋内腫瘍である。しばしば核周囲透明像を持つ小型円形細胞が密に増生, 蜂巣状構造を示し, 同様の所見を有する乏突起膠腫 (oligodendroglioma, OL), 混合性腫瘍 (oligoastrocytoma, OA) との鑑別に難渋する。各々は治療法, 予後が異なるため, 臨床的に確実な鑑別を要する。神経マーカーであるシナプトフィジンの固定条件による染色性の不安定性や, OLにおける光学顕微鏡上, 電子顕微鏡上の神経分化所見から, 近年, 形態学的, 免疫組織学的診断の限界が叫ばれている。本研究では診断の確定した神経性腫瘍, すなわち脳室内神経細胞腫 (central neurocytoma, CN), 典型的DNTに対し, OL, OAで解析されている第1, 19染色体ヘテロ接合性の消失 (loss of heterozygosity, LOH), p53遺伝子変異を解析した。また, 脳実質発生神経細胞腫が疑われたが診断を確定し得なかった2例 (extraventricular tumor with neurocytoma features, ETNF) に対し遺伝学的解析を試みた。対象は, 当科で手術したCN 6例, DNT 2例, OL 7例, OA 4例, ETNF 2例, 計21例。LOH解析は, OLにおける1p, 19qの共通欠失領域をカバーするマイクロサテライトを用いた。p53遺伝子変異は, 1本鎖DNA高次構造多型 (PCR-single-strand conformation polymorphism, PCR-SSCP) 法によるスクリーニング後, 異常のあるサンプルについて塩基配列を決定した。全例に抗シナプトフィジンモノクローナル抗体による免疫染色を行い, CNとETNFの計8例には電子顕微鏡学的検査を追加した。LOH 1p, 19qは, OL 7例中6例 (86%), OA 4例中3例 (75%) に認め, p53変異はLOHを認めなかったOA 1例に点突然変異 (codon161 GCC→ACC, Ala→Thr) を認めた。CN, DNTでは遺伝学的変異を全く認めなかった。シナプトフィジン陽性所見は, CN, DNTの全例, OL 7例中3例 (43%), OA 4例中3例 (75%) に検出した。またCN全例で神経細胞由来を示唆する超微構造を認めた。ETNFの1例は, シナプトフィジン陽性かつ神経細胞由来を示唆する超微構造を認めたがLOHはなく, 他の1例は, LOH 1p, 19qを示すがシナプトフィジン陰性, 神経細胞由来を示唆する超微構造は認めなかった。前者は脳実質発生神経細胞腫が強く疑われ, 後者は星細胞系への分化がなくOLと診断した。CN, DNTは遺伝学的にOL, OAと異なりLOH 1p, 19qおよびp53遺伝子変異を示さない。これら遺伝学的変異の解析は両者の鑑別に有用である。

**Key words** neuronal and mixed neuronal-glioma tumor, synaptophysin, loss of heterozygosity, chromosome 1p and 19q, p53 gene mutation

神経細胞腫 (neurocytoma) や胚芽異形成性神経上皮腫瘍 (dysembryoplastic neuroepithelial tumor, DNT) は1980年代に提唱された神経由来腫瘍であり, WHO脳腫瘍分類では神経細胞由来腫瘍および神経細胞-膠細胞混合腫瘍 (neuronal and mixed neuronal-glioma) に分類される<sup>1)</sup>。神経細胞腫は1982年にHassounら<sup>2)</sup>によって提唱された良性腫瘍で主にテント上の側脳室およびその近傍に発生するが (脳室内神経細胞腫, central neurocytoma, CN), 脳実質内に発生する例も散見される<sup>3)~9)</sup>。病理組織学的には線維性基質の中に核周囲透明像を伴った円形の核を有する均一な細胞がび慢性に増殖し, 乏突起膠腫 (oligodendroglioma, OL) に酷似する<sup>2)10)</sup>。一方, DNTは1988年

にDumas-Duportら<sup>11)</sup>が難治性てんかん患者の脳表異常部に見出した腫瘍型で, 大脳皮質に発生する。病理組織学的には, 結節内に乏突起膠細胞と考えられる小型の星細胞が集族し, 基質の中に神経細胞が存在する (specific glioneuronal element, SGE) が特徴的であるが, 一部にOL, 星細胞腫 (astrocytoma) あるいはその混合型 (oligoastrocytoma, OA) に類似した構造を有する<sup>12)13)</sup>。これらの確定診断には一般に神経分化の指標であるシナプトフィジン染色と<sup>14)15)</sup>、電子顕微鏡学的検討がなされて来た<sup>14)16)17)</sup>。しかしながら, 固定条件によるシナプトフィジン染色の不安定性<sup>16)17)</sup>や, OLが部分的なシナプトフィジン陽性像を示し, かつ電子顕微鏡で同部位に神経超微構造が確認さ

平成13年11月27日受付, 平成14年1月18日受理

Abbreviations: Abbreviations: CN, central neurocytoma; DNT, dysembryoplastic neuroepithelial tumor; ETNF, extraventricular tumor with neurocytoma features; LOH, loss of heterozygosity; OA, oligoastrocytoma; OL,

れること<sup>18)~21)</sup>、また、OLに対する特異的マーカーが存在しないこと等より、形態学的、免疫組織化学的診断には限界がある。従って、脳実質発生神経細胞腫や、SGEのはっきりしないDNTとOL、OAとの鑑別は困難である。神経細胞腫を提唱したVallat-Decouvelaereら<sup>22)</sup>は、脳実質発生神経細胞腫と診断した腫瘍が、後にOLと判明した症例を報告し、神経細胞腫をシナプトフィジン陽性所見のみで診断することの危険性を唱っている。神経細胞腫、DNTとOL、OAは治療方針および予後が異なり、確実な診断が望まれる。

近年、OLでは分子生物学的に1番染色体短腕(1p)および19番染色体長腕(19q)のヘテロ接合性の消失(loss of heterozygosity, LOH)が高頻度(~80%)で示され<sup>23)~25)</sup>、LOHのない症例にはp53遺伝子変異が報告されている<sup>24)</sup>。一方、神経細胞腫、DNTにおける分子生物学的検索に関する報告はほとんどない。本研究では、これまでの病理診断学的手法により確定したCN、DNT、OL、OAにおいてLOH 1p, 19q, p53遺伝子異常を検索し、診断を保留した脳実質内腫瘍2例に対し遺伝学的解析を試みた。

#### 対象および方法

##### I. 対象

金沢大学脳神経外科学教室で過去25年間に外科的切除されたテント上腫瘍を対象とした。摘出標本は3.7%ホルムアルデヒドまたは4%パラホルムアルデヒドにて固定、パラフィンにて包埋後、HEにて染色した。病理組織学的診断については、WHOの脳腫瘍分類に従い<sup>1)</sup>、金沢大学附属病院中央診療施設病理部と当教室において独立して検討、診断が一致したものを解析した。CNは脳室内発生と核周囲透明像を示す均一な円形細胞の密な増生による蜂巣状構造から、DNTは腫瘍が表在性かつ特徴的SGEを持つことから診断した。OLは蜂巣状構造に星細胞系分化を伴うが前者が優位なものを診断し、OAは蜂巣状構造とは独立して分化した星細胞腫(astrocytoma)を合わせ持つものとした。標本番号3279は右側頭葉に発生し、手術で一塊として摘出された。HE染色で細胞密度は低いが、線維性基質の中に核周囲透明像を示す比較的均一な円形細胞の増生を認めた。標本番号3668は左前頭葉に発生し手術で部分摘出されたが、全標本において均一な蜂巣状構造を示し、星細胞系分化は見られなかった。これら2例は神経細胞腫様の特徴を持つが確定所見を欠く大脳実質腫瘍(extraventricular tumor with neurocytoma features, ETNF)<sup>7)</sup>として診断を保留した。最終的にCN 6例、DNT 2例、OL 7例、OA 4例、ETNF 2例、計21例を解析した。

##### II. 免疫組織化学

###### 1. 抗体

抗シナプトフィジン抗体として、モノクローナル抗体(clone SY38; Boehringer Mannheim, Indianapolis, USA)を用いた。

###### 2. 免疫組織化学染色

厚さ4 $\mu$ mのパラフィン切片を作製し、poly-L-lysine (Sigma)処理スライドガラス上に張り付け乾燥させた。キシレン(和光純薬)を用いて脱パラフィンし、0.1M PBS (pH 7.4)で洗浄後、0.3%過酸化水素水加メタノールで処理し内因性ペルオキシダ

ーゼを失活させた。以下LSABキット(DAKO)を用いた。0.1M PBS (pH 7.4)で洗浄後、非特異的反応抑制のためブロッキング抗体(正常ウサギ血清)を室温で20分間反応させた。次にモノクローナル抗体を緩衝液で20倍に希釈し、一次抗体として4 $^{\circ}$ Cで一晩反応させた。対応する二次抗体を室温で15分間反応させ、標識したストレプトアビジン・ビオチンにて室温中で10分間反応を行い、0.005%過酸化水素0.02%ジアミノベンチジン(Sigma)処理により発色させ、ヘマトキシリンで核染色を行った。陽性コントロールとして正常脳組織(症例19, 表4)を用い、陰性コントロールには、一次抗体を抜いたものとした。

##### III. 電子顕微鏡

腫瘍採取後、標本を2.5%グルタルアルデヒド溶液で数日間固定し、続いてカコジル酸溶液で溶解した10%シュクロース溶液に置換した。オスミウム酸で後固定ののち、エポキシに包埋した。この組織より超薄切片を作製し、ウラニル酢酸とクエン酸鉛で二重染色後、日立H-600型電子顕微鏡(東京)で観察した<sup>26)</sup>。

##### IV. 1番染色体短腕(1p)、19番染色体長腕(19q)のLOH解析およびp53遺伝子の1本鎖DNA高次構造多型(PCR-single-strand conformation polymorphism, PCR-SSCP)法、直接シーケンス法による変異解析

###### 1. DNA抽出

腫瘍標本からのDNAの抽出は、Brustleら<sup>27)</sup>の方法に従った。厚さ4 $\mu$ mのパラフィン連続切片の1枚をHE染色し、光学顕微鏡下に乏突起膠腫様の部分をマーキングし、未染プレパラートより切片を剥がし、キシレンにて脱パラフィンをした。上清を捨てた後99.5%エタノール(和光純薬)で再浮遊させ洗浄、微量高速冷却遠心器(トミー精工, 東京)にて14,000 rpm, 5分間室温にて2回遠心分離を行った。上清を捨てた後99.8%アセトン(和光純薬)を加え14,000 rpm, 2分間室温で遠心分離した。上清を可及的に除去後、風乾した。プロテアーゼK(QIAGEN)を加え、55 $^{\circ}$ Cで3時間振盪、98 $^{\circ}$ C, 10分でプロテアーゼKを失活させた。対照DNAは、患者血液200 $\mu$ lよりQIAamp DNA Blood Mini Kit(QIAGEN)を用いて抽出、または摘出標本上の正常脳組織より抽出した。存命中の患者には事前に研究の主旨を説明し、インフォームドコンセントを得た。

###### 2. LOH 1p, LOH 19q解析

LOHはマイクロサテライトを用いて解析した。使用したマイクロサテライトはOLにおける共通欠失領域をカバーする1p上のD1S508, D1S2734, 19qのD19S209, D19S412, D19S596<sup>28)~30)</sup>で(図1)、Research Genetics社(Huntsville, AL)より購入した。PCRには抽出したDNA溶液のうち1 $\mu$ lを一回の反応の鋳型として用いた。反応液は6pmolのプライマー1セット, 10 $\times$ PCR反応緩衝液(Perkin-Elmer Applied Biosystem Division) 1 $\mu$ l, 最終濃度200 $\mu$ Mの各デオキシリボヌクレオチド(dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0.25単位のTaq DNAポリメラーゼ(Perkin-Elmer Applied Biosystem Division), 1.5mMのMgCl<sub>2</sub>に滅菌蒸留水を加え全量10 $\mu$ lに調整した。これにミネラルオイル(Perkin-Elmer Applied Biosystem Division)を重ねし、核酸増幅装置Takara PCR Thermal Cycler 480(Takara biomedical)でPCRを行った。94 $^{\circ}$ Cで3分間の熱変性後、各プライマーに

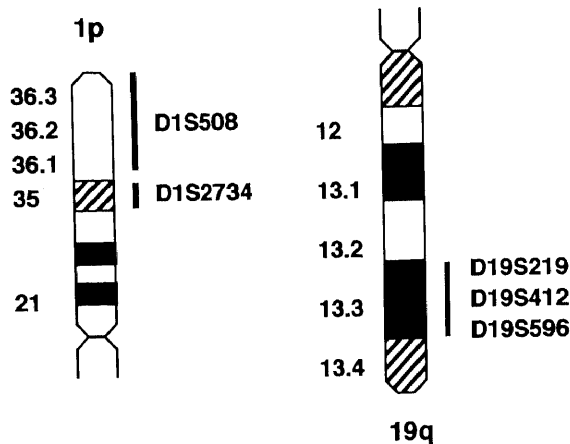


Fig. 1. Schematic drawings of chromosome arms 1p and 19q. Positions of the microsatellite markers used are indicated on the right of the common deletions in oligodendrogliomas (bars).

じたサイクルプログラムを行い、最後に72℃10分間の伸長反応を行った。表1に各マイクロサテライトマーカーに対するPCR条件を示す。PCR反応後、増幅産物に反応停止液(95%ホルムアルデヒド, 20mM EDTA, 0.05%キシレンシアノール, 0.05%プロモフェノールブルー)を加え、95℃10分間の熱変性後、氷水にて急速冷却し、反応液4 $\mu$ lを6%ポリアクリルアミド/7M尿素シークエンスゲルを用い1 $\times$ TBE緩衝液にて電気泳動を行った。70W, 2~4時間泳動後、ゲルをDNA Silver Staining Kit (Amersham Pharmacia Biotech)を用いて発色した。一方のアレルが明らかに欠失するものは直ちにLOHと判定し、信号の減少を示すものは発色したゲルをスキャナーで取り込み、マッキントッシュコンピュータ上でパブリックドメインソフトのNIH Imageを用いて分析した(NIH, USA, <http://rsb.info.nih.gov/nih-image/>)。腫瘍DNAと対照DNAとの信号強度を比較し、対照DNAの50%以下に低下している例をLOHと判定した。

Table 1. Microsatellite markers and PCR conditions

Locus	Type	Annealing (°C)	Cycle	Heterogeneity	Size (bp)
D1S508	DI	56	35	0.81	73-85
D1S2734	DI	59	35	0.84	108-134
D19S219	DI	59	40	0.77	160-190
D19S412	DI	58	35	0.81	89-113
D19S596	DI	57	35	0.54	213-221

Table 2. Oligonucleotide primers used in the analysis for p53 gene mutation

Exon	Sense (5'-3')	Anti-sense (5'-3')	Size (bp)
5a	TCAACTCTGTCTCCTTCCTC	CTGTGACTGCTTGTAGATGG	155
5b	GTGGGTGATTCCACACCCC	AACCAGCCCTGTCGTCTCTC	162
6	AGGCCTCTGATTCCTCACTG	AGAGACCCAGTTGCAAACC	168
7	GGGCCTCATCTTGGGCCTGTG	AGAGGCTGGGGCACAGCAGGCCAGTG	191
8	AAATGGGACAGGTAGGACCTG	ACCGCTTCTTGTCTCTGCTTG	225

### 3. PCR-SSCP法によるp53遺伝子の変異解析

p53遺伝子の変異解析はIwatoら<sup>31)</sup>の方法に従い、変異の集中するエクソン5~8を解析した。プライマーの合成はAmersham Pharmacia Biotech (東京)に委託した。塩基配列はデータベース(The Genome Database, <http://gdbwww.gdb.org/>)から引用した。PCRには、抽出したDNAのうち1 $\mu$ lを1回の反応の鋳型として用いた。反応液は6pmolのプライマー1セット, 200 $\mu$ Mの各デオキシリボヌクレオチド(dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0.25単位のTaq DNAポリメラーゼ(Perkin-Elmer Applied Biosystem Division), 10 $\times$ PCR反応緩衝液(Perkin-Elmer Applied Biosystem Division) 1 $\mu$ l, 1.5mMのMgCl<sub>2</sub>に滅菌蒸留水を加え全量10 $\mu$ lに調整した。これにミネラルオイル(Perkin-Elmer Applied Biosystem Division)を重層し、核酸増幅装置Takara PCR Thermal Cycler 480 (Takara biomedical)でPCRを行った。94℃で3分間の熱変性後、各プライマーに応じたサイクルプログラムを行い、最後に72℃10分間の伸長反応を行った。表2に各プライマーの塩基配列、表3にそのPCR条件を示す。PCR後、増幅産物に反応停止液(95%ホルムアルデヒド, 20mM EDTA, 0.05%キシレンシアノール, 0.05%プロモフェノールブルー)を加え、95℃10分間の熱変性後、氷水にて急速冷却し、反応液4 $\mu$ lを6%グリセロール含有5%ポリアクリルアミドゲルを用い1 $\times$ TBE緩衝液にて電気泳動を行った。40W, 4時間、扇風機で冷却しながら泳動し、ゲルをDNA Silver Staining Kit (Amersham Pharmacia Biotech)を用いて染色した。

### 4. 直接シークエンス法による塩基配列の決定

PCR-SSCP法でバンドの異常を示した症例に対して、PCR直接シークエンス法により塩基配列を決定した。DNAサイクルシークエンスキット(Perkin-Elmer Applied Biosystems Division)を用いてサンプルを調製し、DNAシークエンスプライマー(Perkin-Elmer Applied Biosystems Division, California, USA)にて解析した。シークエンスプライマーにはPCR増幅用プライマーを使用し、鋳型にはマイクロコン-100(宝酒造, 東京)で過剰なプライマーや塩を除去したPCR反応液を使用した。反応は核酸増幅装置Takara PCR Thermal Cycler 480 (Takara biomedical)を使用し、95℃で3分間の熱変性後、変性95℃30秒、アニーリング50℃40秒、伸長反応72℃40秒のプログラムで30サイクル行った後、最後に72℃10分間の伸長反応をおこなった。シークエンスゲルはLongRanger(AT Biochem, 東洋紡, 東京)を用いて1 $\times$ TBE緩衝液にて40W定電圧で泳動した。

### 成 績

表4に症例の免疫組織化学、電子顕微鏡所見、p53遺伝子変

異, LOH 1p, LOH 19q解析の結果を示す.

### I. 免疫組織化学

シナプトフィジン陽性所見はCN 6例中5例 (83%) に認めた. しかしその発現様式は様々で, 3例ではび慢性, 2例では部分的であった. 1例 (標本番号3765) において発現が認められなかったが, 再発時の標本ではび慢性に強く発現が認められた (図2 A, B, C, D). DNTの2例はいずれもび慢性に発現を認めた. 一方OLでは7例中3例 (43%) に部分的に発現を認めた (図2 E, F). OAでは4例中3例 (75%) に発現を認め, うち2例は部分的に, 残る1例 (標本番号3667) はび慢性に認めたが, CN,

DNTと比べて全体的に染まりは弱かった. 2例のETNFの一方 (標本番号3279) はび慢性に強陽性であり (図2 G, H), 他方 (標本番号3668) では全く認めなかった (図2 I, J).

### II. p53 遺伝子変異の検出

全21例に対しPCR-SSCP法を用いてp53遺伝子変異をスクリーニングした. OAの1例 (標本番号3387) においてバンドの異常を認め, 直接シーケンス法でアラニンをコードする161番目のコドンGCCがスレオニンをコードするACCに変異していた (図3).

### III. LOH 1p, LOH 19q解析

全21例に対し1pで42座, 19qで63座の解析を行った. アレル情報は1pで36座 (36/42, 86%), 19qで46座 (46/63, 73%) 得られた. LOH 1p, 19qはOLで7症例中6例 (86%), OAで4症例中3例 (75%) 認めたが, CN, DNTでは認めなかった. ETNFのうち, 標本番号3279ではLOHは認めず, 標本番号3668では1p, 19q共にLOHを認めた (図4).

### IV. 電子顕微鏡による神経超微構造の検出

適切なサンプルの得られたCN 6症例, ETNF 2症例の計8症例について電子顕微鏡学的検討を行った. 全てのCNで神経分化所見である神経分泌顆粒やシナプス構造を認めた. また, 同

Table 3. PCR conditions for p53 gene exons

Exon	Denaturation (°C/sec)	Annealing (°C/sec)	Extension (°C/sec)	Cycle
5a	94/30	61/40	72/40	35
5b	94/30	63/40	72/40	35
6	94/30	61/40	72/40	35
7	94/30	61/40	72/40	35
8	94/30	61/40	72/40	35

Table 4. Summary of immunohistochemical, ultrastructural and genetic studies

Case No.	Sample No.	Age (y) /Sex	WHO grade	Tumor location	Synaptophysin	Neural ultrastructure	p53 mutation	1p		19q		
								508	2734	219	412	596
<i>Central neurocytomas</i>												
1	707	25/M	II	Bil-LV	Focal	+#	-	-	-	-	-	N
2	1158	28/M	II	R-LV	Diffuse	+#	-	NI	-	-	NI	NI
3	2506	23/M	II	L-LV	Diffuse	+	-	-	-	-	-	-
4	3547	18/M	II	L-LV	Diffuse	+	-	-	-	-	-	-
5	3765	20/F	II	L-LV	-	+	-	-	-	-	-	-
					(Diffuse at recurrence)							
6	3306	60/M	Atypical	R-LV	Focal	+	-	-	-	NI	-	-
<i>DNTs</i>												
7	2987	28/F	I	L-P	Diffuse		-	-	NI	NI	-	NI-
8	3819	17/M	I	L-P	Diffuse		-	-	-	-	-	NI
<i>Oligodendrogliomas</i>												
9	630	38/F	II	R-F	-		-	-	NI	-	NI	-
10	1628	51/M	II	L-F	-		-	LOH	-	NI	LOH	LOH
11	2416	54/F	II	R-F	Focal		-	-	LOH	LOH	LOH	NI
12	2664	42/F	II	R-T	Focal		-	LOH	LOH	LOH	LOH	NI
13	2904	57/M	II	R-F	-		-	LOH	LOH	LOH	LOH	LOH
14	3032	27/M	II	L-T	-		-	LOH	LOH	LOH	LOH	LOH
15	3595	56/F	II	R-F	Focal		-	LOH	LOH	LOH	LOH	LOH
<i>Oligoastrocytomas</i>												
16	3387	39/M	II	R-FT	-		161 GCC->ACC, Ala->Thr	-	-	NI	-	NI
17	3497	32/M	II	L-P	Focal		-	NI	LOH	LOH	LOH	LOH
18	3667	42/M	II	R-F	Diffuse		-	NI	LOH	NI	LOH	NI
19	3726	32/M	II	R-FT	Focal		-	LOH	LOH	LOH	LOH	LOH
<i>ETNFs</i>												
20	3279	16/F		R-T	Diffuse	+	-	-	NI	NI	-	-
21	3668	35/M		L-F	-	-	-	LOH	LOH	LOH	LOH	NI

R, right; left; Bil, bilateral; F, frontal; T, temporal; P, parietal; LV, lateral ventricle; #, previously reported (Kubota et al., Acta Neuropathol 81:418-427, 1991)<sup>(16)</sup>

LOH, loss of heterozygosity; -, no LOH; NI, not informative; blank, data not available.

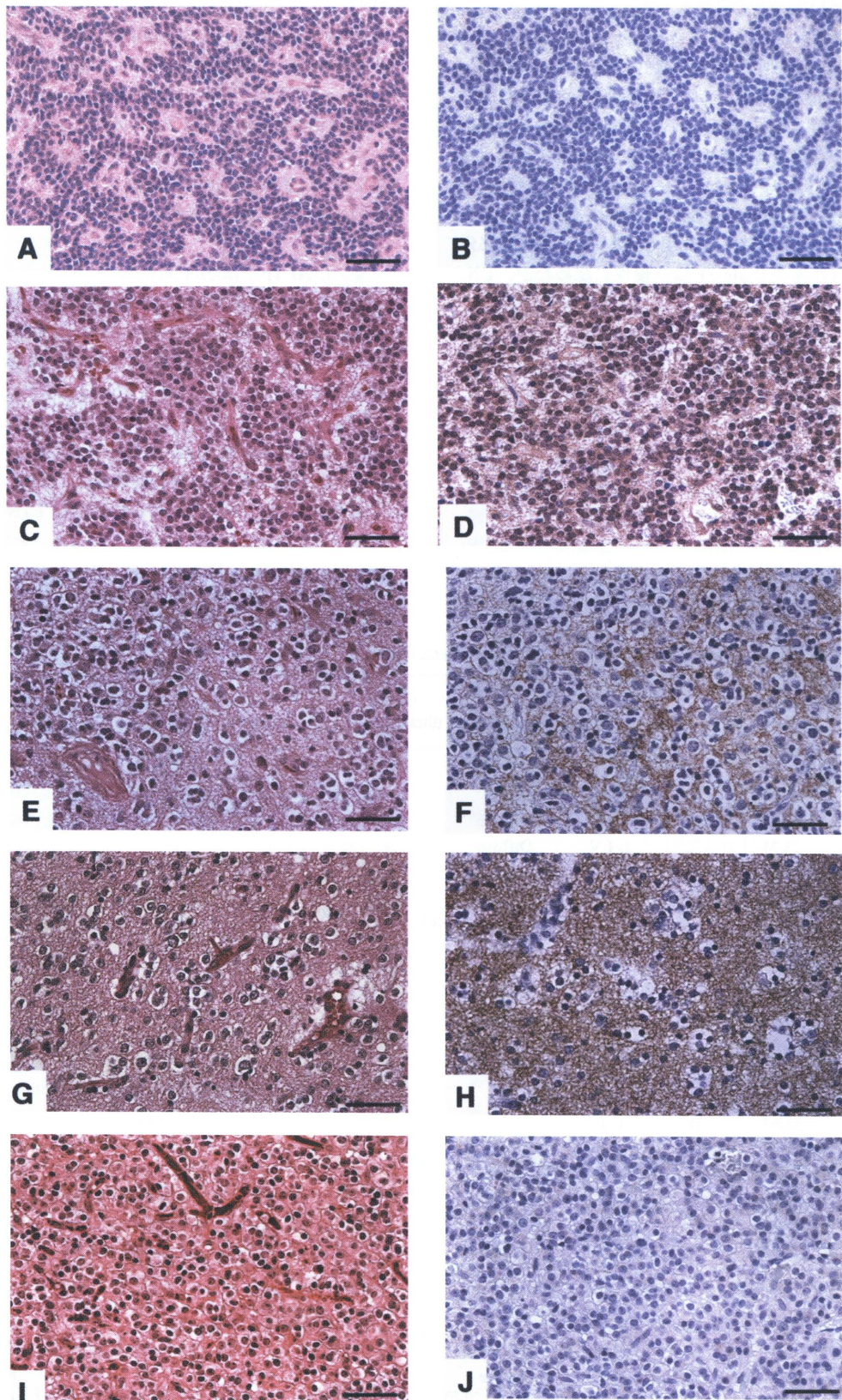


Fig. 2. Light microscopic photographs stained with hematoxylin and eosin (left panel) and synaptophysin (right panel). At the initial biopsy, sample No. 3765 (CN) contained many perivascular pseudoresettes and looked like an ependymoma (A), and was negative with synaptophysin (B). However, at recurrence, the tumor showed honeycomb pattern with branching capillaries (C) and was stained with synaptophysin diffusely (D). Sample No. 3595 (OL) contained honeycomb pattern (left half) and a fibrillary area (right half), (E). In the latter, synaptophysin was positive (F). One ETNF, sample No. 3279, contained monomorphous round cells sparsely distributed in the fibrillary background with branching capillaries (G) and was stained diffusely with synaptophysin (H). Another ETNF, sample No. 3668, showed honeycomb pattern with rich capillaries (I) and was negative with synaptophysin (J). The scale bars at the bottom indicate 20  $\mu$ m.

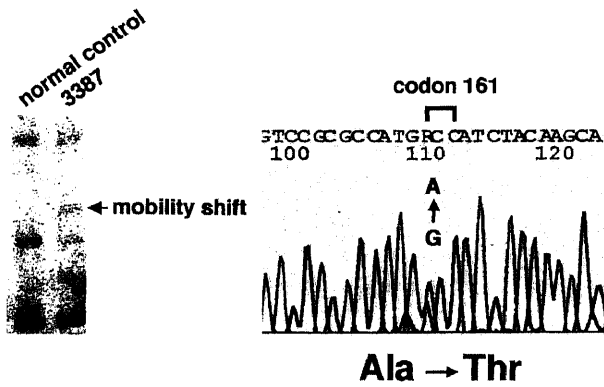


Fig. 3. PCR-SSCP (left panel) and direct sequencing (right panel) for p53 exon 5a of an oligoastrocytoma, sample No. 3387 (case 16). Mobility shift is demonstrated in the tumor (arrow). At codon 161, a missense mutation, GCC-> ACC (predicted amino acid change, Ala-> Thr) was detected.

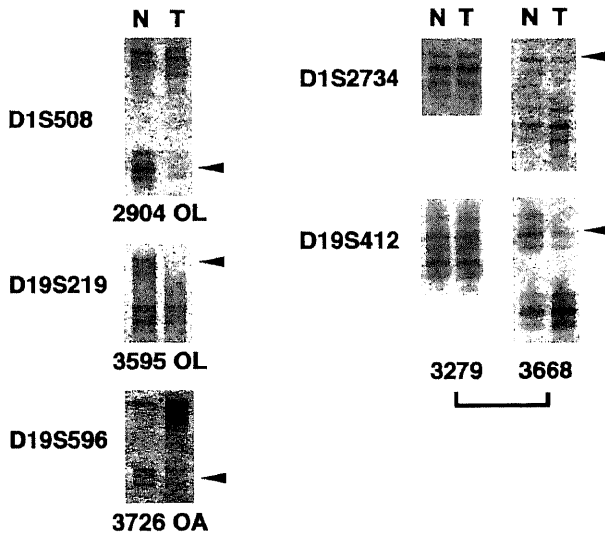


Fig. 4. Results of microsatellite analysis. Microsatellite markers are indicated on the left, and sample No. on the bottom of each panel. LOH is demonstrated by arrowheads. N: normal tissue (blood or normal brain), T: tumor



Fig. 5. An electron microscopic photograph of sample No. 3279 (case 20). Abundant coated vesicles and microtubules are seen.

様の所見はETNFの標本番号3279に認めた(図5)。

考 察

CNは、性差なく20歳代に好発し、全頭蓋内腫瘍の0.25～0.5%を占める比較的まれな腫瘍である。しかし、成人に限ると脳室内腫瘍の約半数を占め、臨床上その意義は大きい<sup>10)</sup>。細胞由来、部位については依然議論の多いところではあるが、モンロー孔近傍の神経細胞由来と考えられ、緩徐な発育を示す良性腫瘍である。治療は外科的全摘出が最善であり、仮に全摘出ができなくても、その低い分裂係数や播種率から<sup>32)</sup>、長期生存が可能である。残存腫瘍に対しては放射線治療が一般的であり、化学療法は無効である。一方DNTは、10～20歳代に好発し、やや男性での頻度が高い。全頭蓋内腫瘍における頻度は、約1%と比較的まれであるが、てんかん外科における頻度は、SGEを認める典型的DNTは0.8～5%、非典型的DNTも含めると19～87%となり臨床上重要である<sup>13)</sup>。側頭葉に好発するが、それ以外的大脑、深部にも発生し得る。過誤腫の性格が強く、Hammondら<sup>33)</sup>の1例を除き、部分摘出に終わった場合でも腫瘍の再増大はなく、補助療法を必要としない。OLはいずれの年代にも発生し得るが、一般には青～壮年期に好発する。欧米における全頭蓋内腫瘍に対する頻度は5～19%と高いが<sup>34)</sup>、日本におけるそれは1.6%、全グリオーマにおける頻度も約5%と開きがある<sup>35)</sup>。これは日本において本腫瘍が比較的厳しい診断基準を用いられて来たことによると思われる。治療はこれまで腫瘍摘出後、残存腫瘍に対して放射線治療を追加するのが一般的であったが、近年Cairncrossら<sup>36)37)</sup>は退形成性乏突起膠腫(anaplastic oligodendroglioma)の約3分の2の症例で化学療法のPCV(P: procarbazine, C: CCNU, V: vincristine)療法が有効で、さらにその奏効性が腫瘍のLOH 1pの有無に相関すると報告した<sup>23)</sup>。またSmithら<sup>38)</sup>はOLであれば悪性度に関係なくPCV療法が奏効すると報告した。上記の3つの腫瘍はいずれもび慢性または一部に、核周囲透明像を持つ均一な円形細胞の増生による蜂巣状構造を示し、形態学的に酷似するが、組織由来ならびに治療方針が異なるので、最終診断の確定が極めて重要である。

鑑別には従来、神経分化の最も良き指標であるシナプトフィジン染色が用いられ、その重要性が強調されて来た<sup>14)15)</sup>。本染色で確定出来ない場合にはさらに電子顕微鏡学的検討が加えられた<sup>14)16)17)</sup>。しかし後者は、適切な標本採取が必要で、限られた施設においてのみ可能であり、古い症例には使えず、比較的時間と労力を要する等の欠点がある。またシナプトフィジン染色には最近以下のような問題点が指摘されている。シナプトフィジン染色はモノクローナル抗体を用いた場合でも、固定時間、固定液の種類等で陰性から強陽性まで様々な染色性をとること<sup>16)17)</sup>。さらに、部分的(～10%)<sup>18)</sup>ではあるにせよOLもシナプトフィジン陽性を示し(～54%)、同部の電子顕微鏡所見で神経超微構造が確認され(62.5%)、OLにおける神経系への分化が示されている<sup>18)</sup>。本研究のCNの症例5は、初発時標本(標本番号3765)ではシナプトフィジンの発現を全く認めないが、再発時にはび慢性に強陽性であった(図2、表4)。固定時間が前者は偶発的に7日間であり、後者は通常とほぼ同じ2日間であった。またOLにおける神経分化については、適切なサンプルがないため電子顕微鏡学的検討は出来なかったが、シナプトフィジン陽性所見を高率(43～75%)に認めている。Ngら<sup>18)</sup>、

Vallat-Decouvelaereら<sup>22)</sup>によればOLにおけるシナプトフィジン反応産物はほとんど細胞質に見られるとしているが、本研究では細胞質および細胞外基質に見られた。以上のデータはいずれも近年のシナプトフィジン染色性の不安定性とOLにおける神経分化所見を支持する重要な所見と思われる。

近年、脳室外、実質発生の神経細胞腫や病理組織学的に非典型的な神経細胞腫の報告が散見され<sup>3)~9)</sup>、脳室内発生のものに比べて再発しやすく予後が比較的悪いことが1つの特徴とされて来た<sup>22)</sup>。しかしそのほとんどは電子顕微鏡学的検討なしに、シナプトフィジン染色陽性所見のみで診断されており、真に神経細胞腫か否かは定かでない。神経細胞腫の概念を確立したVallat-Decouvelaereら<sup>22)</sup>は脳実質発生神経細胞腫と誤診したOLを報告し、シナプトフィジン陽性所見のみで神経細胞腫を診断することの危険性を強調している<sup>22)</sup>。Nishioら<sup>3)</sup>が報告した脳実質発生神経細胞腫も今日ではDNTである可能性が強く示唆されており<sup>7)10)22)</sup>、脳実質に発生する神経細胞腫の存在そのものが危ぶまれている。

近年の分子生物学的解析からOLでは、LOH 1pおよびLOH 19qが高頻度で(～80%)で見られることが知られている<sup>23)~25)</sup>。ヒト腫瘍において、LOH 19qはOLに比較的特異的に見い出され<sup>39)40)</sup>、またLOH 1pがPCV療法の奏効性に関係することから、各々のLOHがOLの遺伝学的、ならびに化学療法奏効性の良き指標となっている<sup>23)25)</sup>。LOH 1pと19qはほとんど同一症例に見い出されるが、LOH 1pを示すがLOH 19qのない症例よりもLOH 19qを示すがLOH 1pのない症例の方が多いため、1pの欠失は19qの欠失より遅れて生ずると考えられている<sup>34)</sup>。星細胞系腫瘍でしばしば見られるp53変異は少ないが(～15%)<sup>23)24)41)</sup>、LOH 1p, 19qとp53遺伝子変異はほとんど互いに相補的で、LOHのない症例にp53遺伝子変異が見い出され、またp53遺伝子変異のある症例では通常LOHが見い出されない<sup>24)</sup>。一方CNにおける遺伝学的解析は症例報告を入れても数編に過ぎず、DNTに至っては知り得る限り遺伝学的解析に関する報告が見当たらない。Cerde-Nicolasら<sup>42)</sup>はCNの1例において17番染色体の欠失を報告したが、17番染色体短腕に位置するp53遺伝子の変異はこれまで解析された15例中いずれにおいても検出されていない<sup>43)44)</sup>。Taruscioら<sup>45)</sup>はCN 9例中3例(33%)に7番染色体の増幅があったと報告した。しかし、Tongら<sup>46)</sup>が調べたCN 9例中には、7番染色体短腕に位置するEGFR遺伝子の増幅は見い出されなかった。ごく最近、CNにおいてLOH 1p, 19qの解析が相次いで2報、報告された。Yinら<sup>47)</sup>はCNの10例中全例でLOH 1p, 19qが見い出されず、逆に1例で19番染色体全長の増幅があったと報告している。また、Tongら<sup>46)</sup>はマイクロサテライト解析を用い、CNの9例中6例(67%)でLOH 1p, 5例(56%)でLOH 19qを認めたが、欠失はランダムで共通欠失領域は見出せなかったと報告している。後者が高頻度にLOHを認めるのは、彼等が本研究よりも緩い判定基準(腫瘍DNAで30%以上の減少)を用いていることによると思われる。本研究では、OL 7例中6例(86%)でLOH 1p, 19qを認め、p53遺伝子変異は認めなかった。またOA 4例中3例(75%)でLOH 1p, 19qを認め、LOHを認めなかった1例でp53の遺伝子変異を認めた。これらの所見は従来の報告とほぼ一致し、OLの遺伝子診断におけるLOH 1p, 19qの重要性があらためて確認された。一方、CN 6例、DNT 2例では、LOH 1p, 19q, p53遺伝子変異はいずれも検出されず、本研究からはこれら2つの代表的

神経性腫瘍が遺伝学的にOL, OAと異なることが判明した。

本研究では形態学的に神経細胞腫の特徴を持つが確定所見を欠いた大脳実質性腫瘍2症例に対してもLOH 1p, 19q, p53遺伝子変異を解析した。標本番号3279では遺伝学的変異を見出せなかったが、シナプトフィジンはび慢性に強陽性であり、電子顕微鏡で神経超微構造が確認された。細胞密度がやや低いことを除けば脳実質発生神経細胞腫が最も疑われる。一方、標本番号3668はLOH 1p, 19qを示し、シナプトフィジン染色が陰性で、星細胞系への分化なく、電子顕微鏡で神経超微構造がないことからOLと診断された。脳実質発生神経細胞腫が真に存在するか否かという問題については、今後のCNにおける分子生物学的解析の蓄積を待たねばならないが、LOH 1p, 19q, p53遺伝子変異の解析は神経細胞腫、DNTとOL, OAとの鑑別ならびに予後判定において、極めて有効な手段となり得るものと考えられる。

## 結 論

CN 6例、DNT 2例、OL 7例、OA 4例に対し、従来の免疫組織化学的、電子顕微鏡学的検討に加え、LOH 1p, 19q, p53遺伝子変異を解析した。また、それらのデータをもとに形態学的に確定し得なかった大脳実質性腫瘍2例に対し遺伝学的解析を試みた。得られた知見は以下のごとくである。

1. 乏突起膠腫および混合性腫瘍ではLOH 1p, 19qが高頻度に認められたが、p53遺伝子変異は比較的稀であった。
2. 神経細胞腫、DNTにおいては、LOH 1p, 19q, p53遺伝子変異はいずれも検出されず、遺伝学的に乏突起膠腫、混合性腫瘍とは異なる腫瘍であると考えられた。
3. 病理組織学的に鑑別が困難であった症例の診断確定に、遺伝学的解析が有用であった。
4. 乏突起膠腫には化学療法(PCV療法)が特異的に奏功するため、腫瘍の鑑別、予後判定、治療法の選択において遺伝学的解析が極めて重要と思われた。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました恩師山下純宏教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究の遂行に際し、終始直接の御指導を賜りました同教室の長谷川光広助教授、藤沢弘範助手、ならびに病理標本の作製に御協力を頂いた今村明子文部技官に心から感謝の意を捧げます。さらに、御支援と御協力を頂きました金沢大学大学院医学系研究科脳医科学専攻脳病態医学講座脳機能制御学(脳神経外科学講座)の皆様へ深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW. The new WHO classification of brain tumours. *Brain Pathol* 3: 255-268, 1993
- 2) Hassoun J, Gambarelli D, Grisoli F, Pellet W, Salamon G, Pellissier JF, Toga M. Central neurocytoma. An electron-microscopic study of two cases. *Acta Neuropathol (Berl)* 56: 151-156, 1982
- 3) Nishio S, Takeshita I, Kaneko Y, Fukui M. Cerebral neurocytoma. A new subset of benign neuronal tumors of the cerebrum. *Cancer* 70: 529-537, 1992
- 4) Sgouros S, Jackowski A, Carey MP. Central neurocytoma without intraventricular extension. *Surg Neurol* 42: 335-339, 1994
- 5) Sgouros S, Walsh AR, Barber P. Central neurocytoma of thalamic origin. *Br J Neurosurg* 8: 373-376, 1994



- 6) Cheung YK. Central neurocytoma occurring in the thalamus: CT and MRI findings. *Australas Radiol* 40: 182-184, 1996
- 7) Giangaspero F, Cenacchi G, Losi L, Cerasoli S, Bisceglia M, Burger PC. Extraventricular neoplasms with neurocytoma features. A clinicopathological study of 11 cases. *Am J Surg Pathol* 21: 206-212, 1997
- 8) Kim DH, Suh YL. Pseudopapillary neurocytoma of temporal lobe with glial differentiation. *Acta Neuropathol (Berl)* 94: 187-191, 1997
- 9) Liebert W, Szymas J, Majewski T, Paprzycki W. Central neurocytoma of the right parietal and occipital lobe. *Neurol Neurochir Pol* 32: 191-199, 1998
- 10) Hassoun J, Soylemezoglu F, Gambarelli D, Figarella-Branger D, von Ammon K, Kleihues P. Central neurocytoma: a synopsis of clinical and histological features. *Brain Pathol* 3: 297-306, 1993
- 11) Dumas-Duport C, Scheithauer BW, Chodkiewicz JP, Laws ER Jr, Vedrenne C. Dysembryoplastic neuroepithelial tumor: a surgically curable tumor of young patients with intractable partial seizures. Report of thirty-nine cases. *Neurosurgery* 23: 545-556, 1988
- 12) Dumas-Duport C. Dysembryoplastic neuroepithelial tumours. *Brain Pathol* 3: 283-95, 1993
- 13) Dumas-Duport C, Pietsch T, Lantos PL. Dysembryoplastic neuroepithelial tumour. In P Kleihues, WK Cavenee (eds), *Pathology & Genetics. Tumours of the Nervous System*, 2nd. p103-106, IARC Press, Lyon, 2000
- 14) von Deimling A, Janzer R, Kleihues P, Wiestler OD. Patterns of differentiation in central neurocytoma. An immunohistochemical study of eleven cases. *Acta Neuropathol (Berl)* 79: 473-479, 1990
- 15) Soylemezoglu F, Scheithauer BW, Esteve J, Kleihues P. Atypical central neurocytoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 56: 551-556, 1997
- 16) Kubota T, Hayashi M, Kawano H, Kabuto M, Sato K, Ishise J, Kawamoto K, Shirataki K, Iizuka H, Tsunoda S, Katsuyama J. Central neurocytoma: immunohistochemical and ultrastructural study. *Acta Neuropathol (Berl)* 81: 418-427, 1991
- 17) Figarella-Branger D, Pellissier JF, Dumas-Duport C, Delisle MB, Pasquier B, Parent M, Gambarelli D, Rougon G, Hassoun J. Central neurocytomas. Critical evaluation of a small-cell neuronal tumor. *Am J Surg Pathol* 16: 97-109, 1992
- 18) Ng HK, Ko HCW, Tse CCH: Immunohistochemical and ultrastructural studies of oligodendrogliomas revealed features of neuronal differentiation. *Int J Surg Pathol* 2: 47- 56, 1994
- 19) Wolf HK, Buslei R, Blumcke I, Wiestler OD, Pietsch T. Neural antigens in oligodendrogliomas and dysembryoplastic neuroepithelial tumors. *Acta Neuropathol* 94: 436-443, 1997
- 20) Dehghani F, Schachenmayr W, Laun A, Korf HW. Prognostic implication of histopathological, immunohistochemical and clinical features of oligodendrogliomas: a study of 89 cases. *Acta Neuropathol (Berl)* 95: 493-504, 1998
- 21) Wharton SB, Chan KK, Hamilton FA, Anderson JR. Expression of neuronal markers in oligodendrogliomas: an immunohistochemical study. *Neuropathol Appl Neurobiol* 24: 302-308, 1998
- 22) Vallat-Decouvelaere AV, Gauchez P, Varlet P, Delisle MB, Popovic M, Boissonnet H, Gigaud M, Mikol J, Hassoun J. So-called malignant and extra-ventricular neurocytomas: reality or wrong diagnosis? A critical review about two overdiagnosed cases. *J Neurooncol* 48: 161-172, 2000
- 23) Cairncross JG, Ueki K, Zlatescu MC, Lisle DK, Finkelstein DM, Hammond RR, Silver JS, Stark PC, Macdonald DR, Ino Y, Ramsay DA, Louis DN. Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas. *J Natl Cancer Inst* 90: 1473-1479, 1998
- 24) Bigner SH, Matthews MR, Rasheed BK, Wiltshire RN, Friedman HS, Friedman AH, Stenzel TT, Dawes DM, McLendon RE, Bigner DD. Molecular genetic aspects of oligodendrogliomas including analysis by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol* 155: 375-386, 1999
- 25) Smith JS, Alderete B, Minn Y, Borell TJ, Perry A, Mohapatra G, Hosek SM, Kimmel D, O'Fallon J, Yates A, Feuerstein BG, Burger PC, Scheithauer BW, Jenkins RB. Localization of common deletion regions on 1p and 19q in human gliomas and their association with histological subtype. *Oncogene* 18: 4144-4152, 1999
- 26) Hasegawa M, Yamashita T, Kida S, Yamashita J. Membranous ultrastructure of human arachnoid cells. *J Neuropathol Exp Neurol* 56: 1217-1227, 1997
- 27) Brustle O, Ohgaki H, Schmitt HP, Walter GF, Ostertag H, Kleihues P. Primitive neuroectodermal tumors after prophylactic central nervous system irradiation in children. Association with an activated K-ras gene. *Cancer* 69: 2385-2392, 1992
- 28) Rosenberg JE, Lisle DK, Burwick JA, Ueki K, von Deimling A, Mhrenweiser HW, Louis D. Refined deletion mapping of the chromosome 19q glioma tumor suppressor gene to the D19S412-STD interval. *Oncogene* 13: 2483-2485, 1996
- 29) Fujisawa H, Kurrer M, Reis RM, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Acquisition of the glioblastoma phenotype during astrocytoma progression is associated with loss of heterozygosity on 10q25-qter. *Am J Pathol* 155: 387-394, 1999
- 30) Nakamura M, Yang F, Fujisawa H, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Loss of heterozygosity on chromosome 19 in secondary glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 59: 539-543, 2000
- 31) Iwato M, Tachibana O, Tohma Y, Nitta H, Hayashi Y, Yamashita J. Molecular analysis for p53 and mdm2 in intracranial germ cell tumors. *Acta Neuropathol (Berl)* 99: 21-25, 2000
- 32) Eng DY, DeMonte F, Ginsberg L, Fuller GN, Jaeckle K. Craniospinal dissemination of central neurocytoma. Report of two cases. *J Neurosurg* 86: 547-552, 1997
- 33) Hammond RR, Duggal N, Woulfe JM, Girvin JP. Malignant transformation of a dysembryoplastic neuroepithelial tumor. *J Neurosurg* 92: 722-725, 2000

- 34) Reifenberger G, Kros JM, Burger PC, Louis DN, Collins VP. Oligodendroglioma. In P Kleihues, WK Cavenee (eds), Pathology & Genetics. Tumours of the Nervous System, 2nd. 56-61, IARC Press, Lyon, 2000
- 35) The Committee of Brain Tumor Registration of Japan. Special report of brain tumor registry of Japan (1969-1990). *Neurol Med Chir (Tokyo)* 39: 59-107, 1999
- 36) Cairncross JG. Aggressive oligodendroglioma: a chemosensitive tumor. *Recent Results Cancer Res* 135: 127-133, 1994
- 37) Cairncross JG, Eisenhauer EA. Response and control: lessons from oligodendroglioma. *J Clin Oncol* 13: 2475-2476, 1995
- 38) Smith JS, Perry A, Borell TJ, Lee HK, O'Fallon J, Hosek SM, Kimmel D, Yates A, Burger PC, Scheithauer BW, Jenkins RB. Alterations of chromosome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas, and mixed oligoastrocytomas. *J Clin Oncol* 18: 636-645, 2000
- 39) Seizinger BR, Klinger HP, Junien C, Nakamura Y, Le Beau M, Cavenee W, Emanuel B, Ponder B, Naylor S, Mitelman F, Louis D, Menon A, Newsham I, Decker J, Kaelbling M, Henry I, von Deimling A. Report of the committee on chromosome and gene loss in human neoplasia. *Cytogenet Cell Genet* 58: 1080-1096, 1991
- 40) von Deimling A, Nagel J, Bender B, Lenartz D, Schramm J, Louis DN, Weistler OD. Deletion mapping of chromosome 19 in human gliomas. *Int J Cancer* 57: 676-80, 1994
- 41) Ohgaki H, Eibl RH, Wiestler OD, Yasargil MG, Newcomb EW, Kleihues P. p53 mutations in nonastrocytic human brain tumors. *Res* 51: 602-605, 1991
- 42) Cerda-Nicolas M, Lopez-Gines C, Peydro-Olaya A, Llombart-Bosch A. Central neurocytoma: a cytogenetic case study. *Cancer Genet Cytogenet* 65: 173-174, 1993
- 43) Ohgaki H, Eibl RH, Schwab M, Reichel MB, Mariani L, Gehring M, Petersen I, Holl T, Wiestler OD, Kleihues P. Mutations of the p53 tumor suppressor gene in neoplasms of the human nervous system. *Mol Carcinog* 8: 74-80, 1993
- 44) Nozaki M, Tada M, Matsumoto R, Sawamura Y, Abe H, Iggo RD. Rare occurrence of inactivating p53 gene mutations in primary non-astrocytic tumors of the central nervous system: reappraisal by yeast functional assay. *Acta Neuropathol (Berl)* 95: 291-296, 1998
- 45) Taruscio D, Danesi R, Montaldi A, Cerasoli S, Cenacchi G, Giangaspero F. Nonrandom gain of chromosome 7 in central neurocytoma: a chromosomal analysis and fluorescence in situ hybridization study. *Virchows Arch* 430: 47-51, 1997
- 46) Tong CY, Ng HK, Pang JC, Hu J, Hui AB, Poon WS. Central neurocytomas are genetically distinct from oligodendrogliomas and neuroblastomas. *Histopathology* 37: 160-165, 2000
- 47) Yin XL, Pang JC, Hui AB, Ng HK. Detection of chromosomal imbalances in central neurocytomas by using comparative genomic hybridization. *J Neurosurg* 93: 77-81, 2000

**Genetic Analysis in Intracranial Tumors and Its Clinical Significance** Kohei Marukawa, Department of Neurosurgery, Division of Neuroscience, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 – J. Juzen Med Soc., **111**, 44 – 53 (2002)

**Key words** neuronal and mixed neuronal-glial tumor, synaptophysin, loss of heterozygosity, chromosome 1p and 19q, p53 gene mutation

#### Abstract

Neurocytoma and dysembryoplastic neuroepithelial tumor (DNT) are histopathologically classified into neuronal and mixed neuronal-glial tumors under the WHO classification. They occasionally show a honeycomb pattern consisting of small round cells with perinuclear halos, which is also one of the characteristic features of oligodendroglioma (OL) and oligoastrocytoma (OA). Although difficult, histological distinction between them is necessary since treatment protocol and prognosis is different for each tumor type. It has been claimed that there are morphological and immunohistochemical limitations because of the unstableness of immunoreactivity to synaptophysin and recent evidence of neuronal differentiation in oligodendrogliomas on both light and electron microscopy. The aim of this study was to investigate allelic losses on chromosomes 1p and 19q, and a p53 gene mutations which are frequently detected in OL and OA, in characteristic, intraventricular neurocytoma (central neurocytoma, CN) and DNT, and additionally to perform molecular diagnosis in two extraventricular tumors with neurocytoma features (ETNFs). This study included a total of 21 supratentorial tumors of 6 CNs, 2 DNTs, 7 OLs, 4 OAs and 2 ETNFs. Allelic loss was examined with microsatellite markers that cover the common deletions on chromosomes 1p and 19q in OL. p53 gene mutation was screened for by polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism, and a sample with mobility shift was directly sequenced. Immunohistochemistry with a monoclonal antibody to synaptophysin was performed in all tumors. Ultrastructural study was added to CNs and DNTs.

Allelic loss on 1p and 19q was detected in 6 of 7 OLs (86%), 3 of 4 OAs (75%) but in neither of CN or DNT. A missense mutation of the p53 gene was detected at codon 161 (GCC->ACC, Ala->Thr) only in the remaining OA without allelic loss. Immunoreactivity to synaptophysin was demonstrated in all of CNs and DNTs, 3 of 7 OLs (43%) and 3 of 4 OAs (75%). Of ETNFs, one was positive to synaptophysin and showed neural ultrastructures, but lacked allelic loss. Another showed allelic loss on both 1p and 19q, but lacked synaptophysin staining and neural ultrastructures. The former was most probably an intraparenchymal neurocytoma and the latter was diagnosed as OL because of the absence of astrocytic differentiation. In conclusion, CN and DNT are genetically distinct from OL and OA. Genetic analysis is extremely important in the differential diagnosis of OL and OA from CN and DNT, because the treatment plan is completely different between them. Studies of allelic loss on 1p and 19q, and p53 gene mutations can be a significant diagnostic tool to differentiate between the two groups.