

Ultrastructural and Immunohistochemical Analysis of Extracellular Matrix in Meningiomas

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	http://hdl.handle.net/2297/8004

髄膜腫における間質の光顕的、電顕的ならびに 免疫組織化学的研究

金沢大学医学部脳神経外科学講座 (主任: 山本信二郎教授)

新 多 寿

(昭和62年12月25日受付)

髄膜腫の細胞由来を知るために、その組織学的基本型をなす meningotheial type と fibroblastic type の間質について、光顕的、電顕的ならびに免疫組織化学的な比較検討を行った。対象は髄膜腫 23 例の手術材料で、その内訳は meningotheial type が 16 例、fibroblastic type が 7 例である。間質成分としては I, III, IV および V 型コラーゲンならびにラミニンに注目した。光顕的には、meningotheial type では、卵円形の核を持つ境界不明瞭な腫瘍細胞が大小の合胞体を形成し、これらは互いに線維性隔壁により区画されていた。間質は腫瘍細胞間には存在せず大部分は線維性隔壁にみられた。すなわち、I, III 型コラーゲンは線維性隔壁内に束状に分布しているのに対し、IV, V 型コラーゲンとラミニンは合胞体の周囲に線状に分布し線維性隔壁との境界をなしていた。IV, V 型コラーゲンとラミニンは線維性隔壁内の血管周囲にも年輪状にみられた。Fibroblastic type では、紡錘形の腫瘍細胞が柵状に流れるような配列を示し、その細胞間には間質線維がびまん性にみられた。すなわち、I, III 型コラーゲンは腫瘍細胞間に不連続な線維小束状の配列を示し、IV 型コラーゲンとラミニンは微細網状の、V 型コラーゲンは細線維状または細顆粒状の配列を示した。電顕的には、meningotheial type では、線維性隔壁は多数の膠原細線維と少数の microfibril, 弾性線維からなり、その中には硬膜とクモ膜の接合面にみられる dural border cell に似た細胞が散在していた。合胞体の周囲には連続した基底膜がみられた。Fibroblastic type では、腫瘍細胞突起間の細胞外腔には膠原細線維, microfibril, 弾性線維などがみられた。間質に面した腫瘍細胞の表層には基底膜がみられた。免疫電顕による検索では、IV 型コラーゲンとラミニンの分布は基底膜の局在に一致しており、腫瘍細胞の胞体内にはいずれも認められなかった。以上の結果を髄膜腫の発生母地であるクモ膜やクモ膜絨毛の超微形態と対比すると、meningotheial type の腫瘍細胞は arachnoid barrier layer ないし cap cell cluster に、fibroblastic type の腫瘍細胞は dural border layer ないし fibrous capsule, central core に由来するものと推定された。

Key words meningioma, collagen, laminin, immunohistochemistry, electron microscopy

髄膜腫は組織学的に十数種類に分類されているが¹⁾²⁾、その基本型をなすのは卵円形の核を持つ境界不明瞭な細胞が合胞体を作る meningotheial type と細長い核を持つ紡錘形の細胞が柵状に流れるような配列を示す fibroblastic type である。微細構造上は両者は共通の性状を示し、いずれの腫瘍細胞も胞体内に豊富な中間径フィラメントをもち、細胞突起は複雑な嵌合

を形成し互いに多数のデスモゾームにより接着している^{3)~6)}。しかし、間質に関しては meningotheial type と fibroblastic type はきわめて対照的な性状を示し、前者は間質が乏しいのに対し後者は間質に富んでいる^{9)~12)}。

髄膜腫の発生母地であるとされるクモ膜細胞は種々の病的状態において著明な線維増生反応を起こ

Abbreviations: EM, electron microscopy; FITC, fluorescein isothiocyanate; PBS, phosphate-buffered saline.

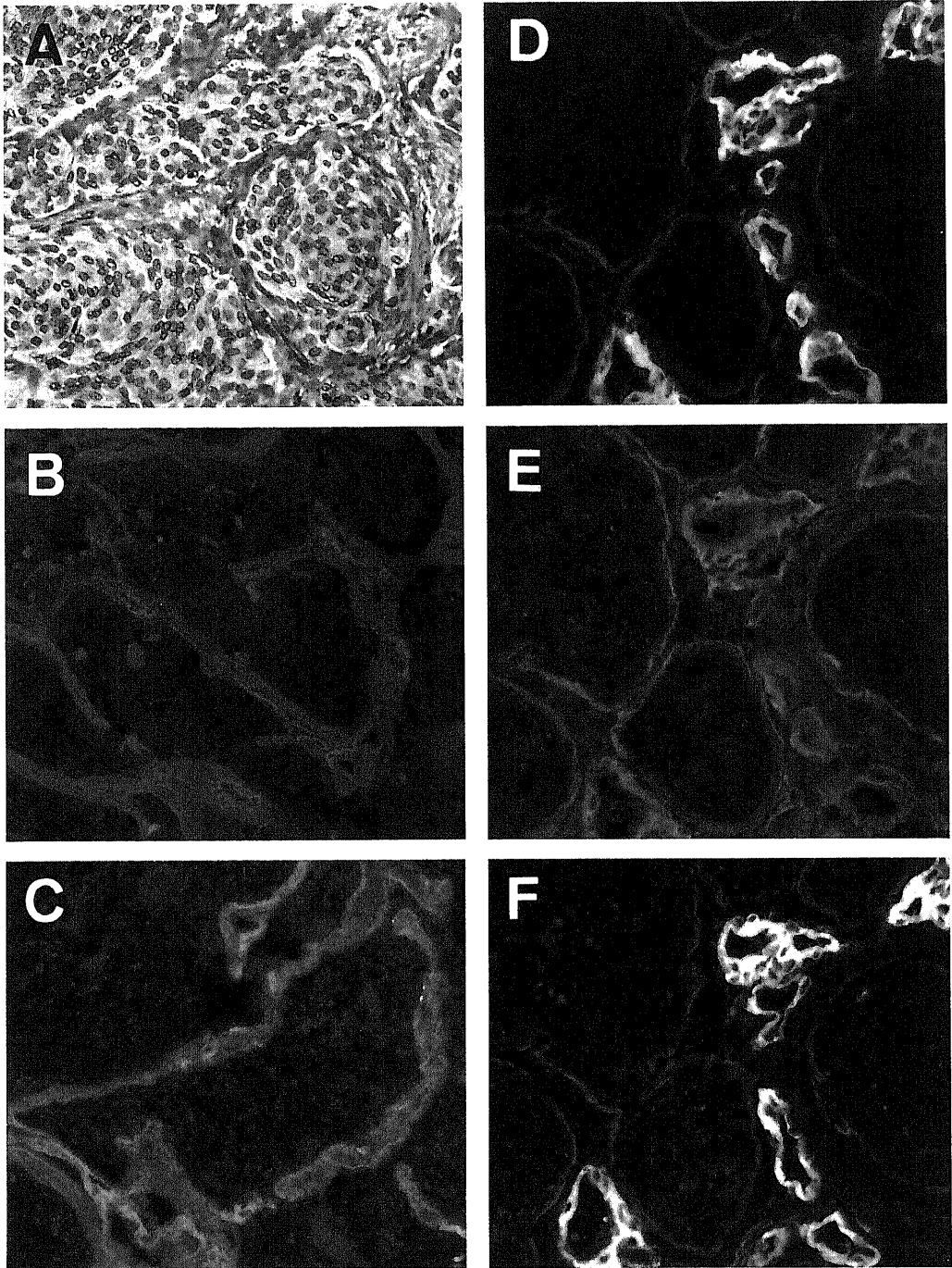


Fig.1. Hematoxylin & Eosin (A) and immunofluorescent stainings (B-F) of the meningothelial meningioma.

A : Vascularized fibrous septum separates the tumor into lobules. $\times 185$. B.C : Type I (B) and III (C) collagens are localized diffusely in the fibrous septum and within vessel walls. B, $\times 92$., C, $\times 185$. D.E.F : Type IV (D), V (E) collagens and laminin (F) are localized within vascular walls and around the syncytium. $\times 185$.

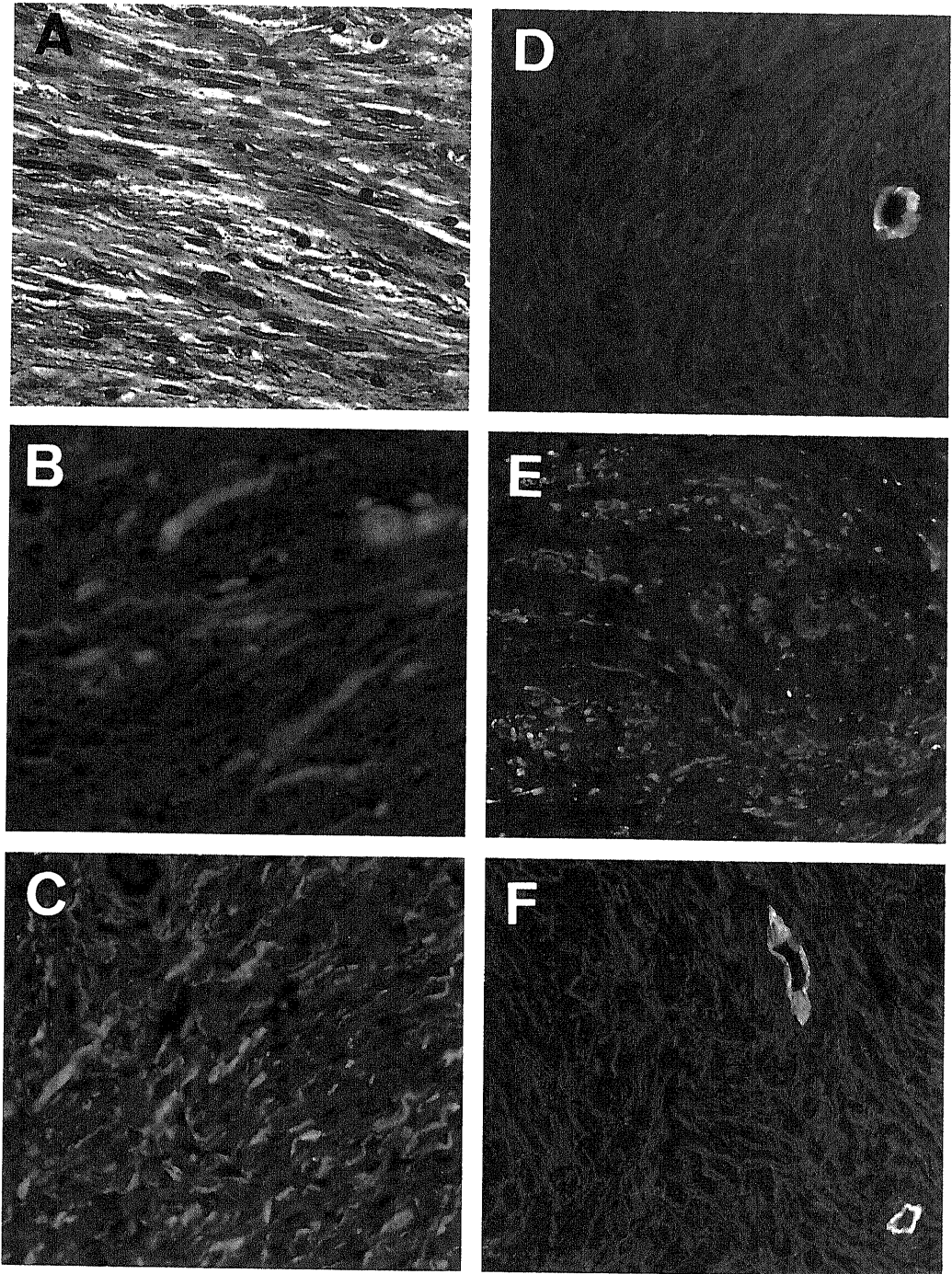


Fig. 2. Hematoxylin & Eosin (A) and immunofluorescent stainings (B-F) of the fibroblastic meningioma.

A : Fusiform tumor cells are arranged in a storiform pattern with intervening interstitial fibers. $\times 185$. B : Type I collagen shows diffuse fibrillar pattern. $\times 185$. C : Type III collagen shows thin fibrillar pattern. $\times 185$. D, F : Type IV collagen (D) and laminin (F) show diffuse fine fibrillar pattern. Vascular basement membrane is also stained. $\times 185$. E : Type V collagen shows granular or thin fibrillar pattern. $\times 185$.

し¹³⁾⁻¹⁶⁾, 培養系においてもクモ膜細胞はコラーゲンやラミニンなどの糖蛋白質を産生することが証明されている¹⁷⁾. コラーゲンは α 鎖と呼ばれるポリペプチド鎖3本が3重らせん構造(ヘリックス)をとっている蛋白質で, 結合組織の主要構成成分である. このコラーゲンは従来より単一種から成ると信じられてきたが, MillerとMatukas¹⁸⁾が軟骨と皮膚を構成するコラーゲンが互いに異なる分子種であることを発見して以来, コラーゲンには現在までにI型からXI型までの11種類が確認されている¹⁹⁾⁻²⁸⁾. I, III型コラーゲンは間質に広く分布し²⁹⁾³⁰⁾, IV型コラーゲンは基底膜に局在するとされている²⁹⁾⁻³²⁾. また, V型コラーゲンは間質と基底膜の間にあり両者の接着に関与することが示唆されている³³⁾. 一方, ラミニンは分子量約90万ダルトンの非コラーゲン性糖蛋白質で基底膜に特異的に存在するとされている³¹⁾³²⁾³⁴⁾⁻³⁶⁾.

本論文において, 著者は髄膜腫の細胞由来を知るために, その組織学的基本型をなすmeningothelial typeとfibroblastic typeの間質を光顕的, 電顕的に検索した. 同時にI, III, IVおよびV型コラーゲンならびにラミニンの組織内分布を免疫組織化学的に検索し, 両者を比較検討した. これらの結果をヒトのクモ膜やクモ膜絨毛の超微形態と対比することにより髄膜腫の細胞由来について考察した.

対象および方法

手術標本が採取されたmeningothelial type 16例およびfibroblastic type 7例の計23例の髄膜腫について, 光顕的, 電顕的ならびに免疫組織化学的な検索を行った.

I. 光顕的検索

腫瘍塊を10%中性緩衝ホルマリンにて固定後, 型通りパラフィンに包埋し薄切切片を作製した. ヘマトキシリン・エオジン染色, 鍍銀染色ならびにエラスチカ・ワン・ギーソン染色を施した後, 光学顕微鏡で観察した.

II. 免疫組織化学的検索

新鮮な標本の一部を, ただちに液体窒素で凍結した後, クライオスタット(Miles Laboratories Inc, Naperville, USA)にて厚さ4 μ mの凍結切片を作製した. 切片を風乾した後, 冷アセトンにて10分間固定し, 間接蛍光抗体法によりI, III, IVおよびV型コラーゲンならびにラミニンの局在を検索した. すなわち, 正常ヤギ血清(Dakopatts, Denmark)を切片上に室温で30分間作用させ非特異的染色を阻止した後, 型別抗コラーゲン抗体(Didets, Tokyo, Japan)ならびに抗ラミニン抗体(E-Y Lab. Inc., USA)を4°Cで一晩反応させた. 抗I, III, V型コラーゲン抗体は10倍に,

抗IV型コラーゲン抗体および抗ラミニン抗体は50倍に希釈して使用した. 次に, 冷リン酸緩衝食塩水(phosphate-buffered saline, PBS)で洗浄後, 10倍希釈したFluorescein isothiocyanate (FITC)標識ヤギ抗ウサギIgG抗体(Cooper Biomedical, Inc., Malvern, USA)を室温で2時間作用させた. 冷PBSで洗浄後, 10%グリセリン加PBSで封入し, 蛍光顕微鏡(Olympus model AH2-FL)で観察した.

III. 電顕的検索

標本を2mm大に細切し, 2.5%グルタルアルデヒドで2時間固定した後, さらに1%四酸化オスミウムにて1時間固定し型通りエポンに包埋した. LKBミクロトームを用いて超薄切片を作製し, 酢酸ウラニールと鉛の二重染色を施した後, 日立H-600型電子顕微鏡で観察した.

IV. 免疫電顕的検索

新鮮な小組織片をPeriodate-lysine paraformaldehyde³⁷⁾で4°C, 12時間固定し, ブドウ糖加PBSで洗浄後OCT compound(マイルス・三共株式会社, 東京)に凍結包埋した. クライオスタットで6 μ mの凍結切片を作製し, 酵素抗体間接法³⁸⁾にてIV型コラーゲンならびにラミニンの局在を検索した. すなわち, 正常ヤギ血清で非特異的染色を阻止した後, 抗IV型コラーゲン抗体ならびに抗ラミニン抗体を4°Cで一晩反応させた. 抗IV型コラーゲン抗体および抗ラミニン抗体は30倍に希釈して使用した. 冷PBSで洗浄後, horseradish peroxidase標識ヤギ抗ウサギIgG抗体(Cooper Biomedical, Inc., Malvern, USA)を6時間作用させ, 冷PBSで洗浄の後, 1%グルタルアルデヒドで10分間固定した. 次にincomplete Graham-Karnovsky solutionに30分間, complete Graham-Karnovsky solution³⁹⁾に10分間浸した後, 2%四酸化オスミウムを1時間作用させた. 最後に, アルコールにて脱水後, エポンに包埋し, 超薄切片は電子染色を施さず, そのまま電顕で観察した.

これら免疫組織化学的検索においては, 一次抗体を正常ウサギ血清に置換したものを対照群とした.

成 績

I. 光顕所見

Meningothelial typeにおいては, 卵円形ないし類円形の核を持つ境界不明瞭な細胞が密に増殖し大小の合胞体を形成していた. これらの合胞体は線維性結合組織から成る隔壁により互いに区画されていた(図1A). 線維性隔壁の中には線維芽細胞に似た紡錘形の細胞が散在しており, その一部は硬膜へ連続性に移行していた. Fibroblastic typeにおいては, 紡錘形の腫

瘍細胞が柵状に流れるような配列を示し、細胞間には多数の間質線維が見られた(図2A)。Fibroblastic typeの腫瘍細胞間およびmeningothelial typeの線維性隔壁内には少数の弾性線維が認められた。

II. 免疫組織化学的所見

1. Meningothelial type

I型およびIII型コラーゲンは線維性隔壁内にびまん性に分布していた(図1B, C)。IV型コラーゲンならびにラミニンは線維性隔壁内の血管基底膜領域に分布し(図1D, F)、V型コラーゲンは血管壁内に分布していた(図1E)。IV型、V型コラーゲンおよびラミニンは腫瘍細胞が作る合胞体の辺縁で線維性隔壁との境界部に線状に分布していた(図1D, E, F)。腫瘍細胞間にはコラーゲンやラミニンの分布はみられなかった。

2. Fibroblastic type

I型およびIII型コラーゲンは腫瘍細胞間においてびまん性に不連続的な線維小束の配列を示した(図2B, C)。III型コラーゲンはI型コラーゲンに比べて細線維状を呈した。V型コラーゲンは細胞間に顆粒状あるいは微細線維状に分布していた(図2E)。IV型コラーゲンならびにラミニンは血管や腫瘍細胞の周囲に微細網状の分布を示した(図2D, F)。

両型いずれにおいても腫瘍細胞自身は型別抗コラーゲン抗体や抗ラミニン抗体には陰性反応を示した。

III. 電顕所見

1. Meningothelial type

腫瘍細胞は一般に10~20 μm の大きさで、胞体内には多数のミトコンドリアがみられたが、粗面小胞体や

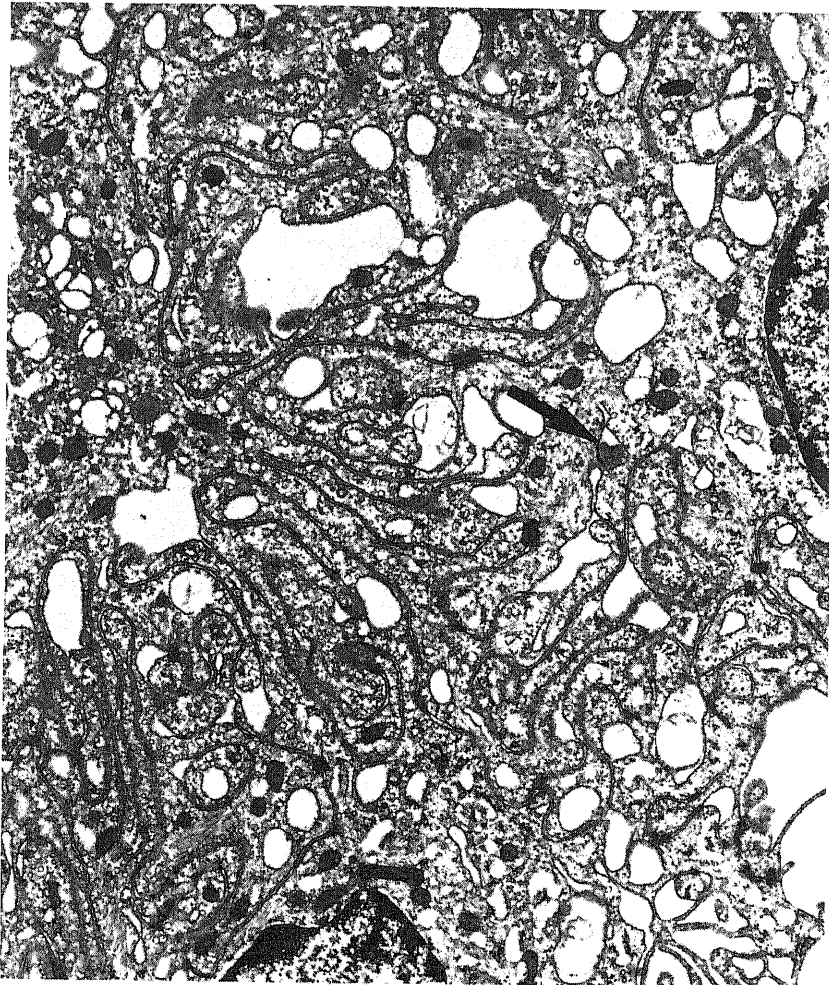


Fig. 3. Intercellular spaces in the meningothelial meningioma sometimes contain aggregates of basement membrane-like amorphous material (arrow). EM $\times 9,000$.



Fig. 4. Elongated cells in the fibrous septum are quite similar to dural border cells⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾ in the dura-arachnoid interface. EM $\times 7,500$.

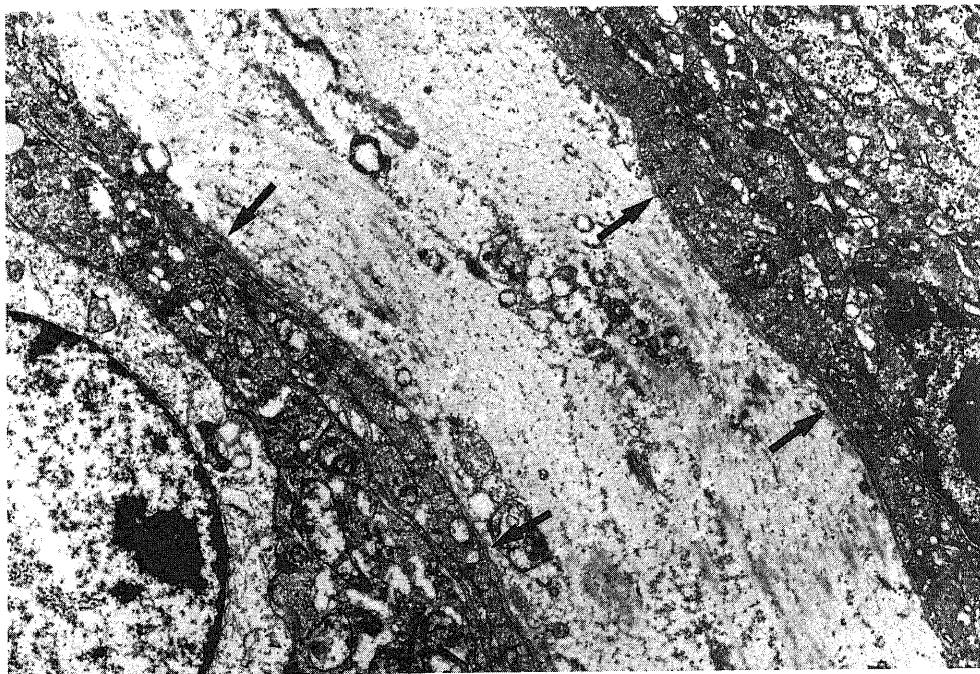


Fig. 5. Fibrous septum of the meningothelial meningioma contains a number of collagen fibrils, microfibrils and elastins. Basement membrane is seen between the fibrous septum and tumor cells (arrows). EM $\times 9,000$.

フリーリボソームは少なかった。胞体から放射状に伸びる細胞突起は互いに複雑な嵌合を形成し、細胞間にはときに小槽状の細胞間隙がみられた。これらの細胞間隙には膠原細線維や microfibril はみられなかったが、所により基底膜様の無定形物質がみられた(図3)。腫瘍細胞間には基底膜はみられなかった。線維性隔壁は膠原細線維が集束したもので、その中には少数の microfibril と弾性線維がみられた。これら間質線維の間隙には dural border cell⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾ に似た紡錘形の細胞が散在性に分布していた(図4)。合胞体の辺縁で線維性隔壁との境界部には、連続した基底膜が認められた(図5)。

2. Fibroblastic type

腫瘍細胞は一般に細長く、流線形の細胞突起が柵状に流れるような配列を示した。細胞突起はしばしば小さな細胞外腔を形成し、その中には膠原細線維や

microfibril, 弾性線維などがみられた(図6)。胞体内には粗面小胞体やフリーリボソームが発達しており、ときに拡張した粗面小胞体の内腔には多量の微細顆粒状ないしフィラメント状の物質がみられた(図7)。細胞外小腔に面する細胞膜の胞体側にはヘミデスモゾームがみられ、間質側には基底膜がみられた(図8)。

IV. 免疫電顕所見

Meningothelial type においては、IV型コラーゲンとラミニンは合胞体の周囲に線状に分布していたが、腫瘍細胞の胞体内や細胞間隙にはみられなかった(図9A, B)。一方、fibroblastic type においては、腫瘍細胞突起の表層にIV型コラーゲンとラミニンが線状に分布していた(図10A, B)。これらの分布は通常の見られた基底膜の領域に一致していた。また、IV型コラーゲンとラミニンは血管基底膜の領域においても強陽性を示した(図9B 挿入写真)。

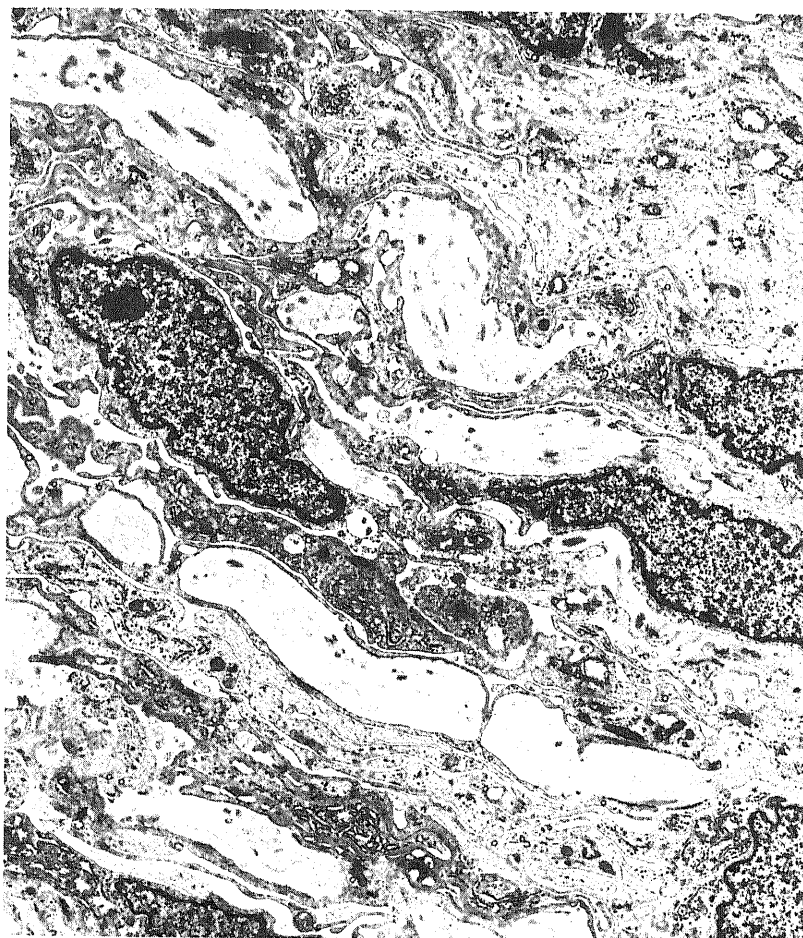


Fig. 6. Flattened cells are arranged in tiers and intermingled with connective tissue fibers in the fibroblastic meningioma. EM $\times 4,500$.



Fig. 7. Enlarged cisternae of rough endoplasmic reticulum sometimes contain aggregates of fine granular material in the fibroblastic meningioma. EM $\times 12,000$.

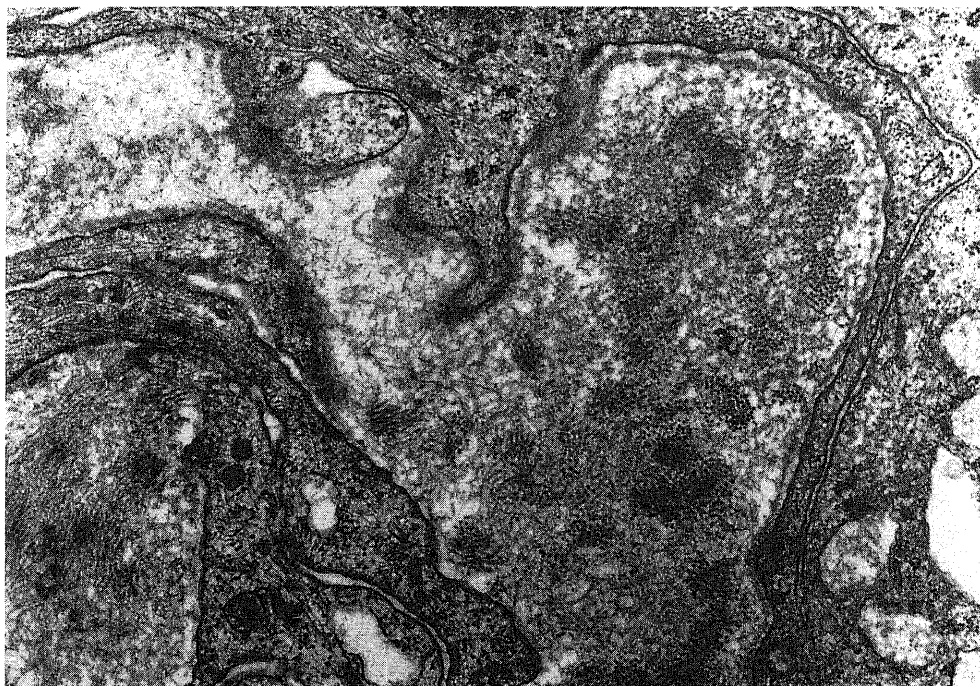


Fig. 8. Discontinuous basement membrane is seen at the surface of tumor cells facing the extracellular matrix. EM $\times 22,500$.

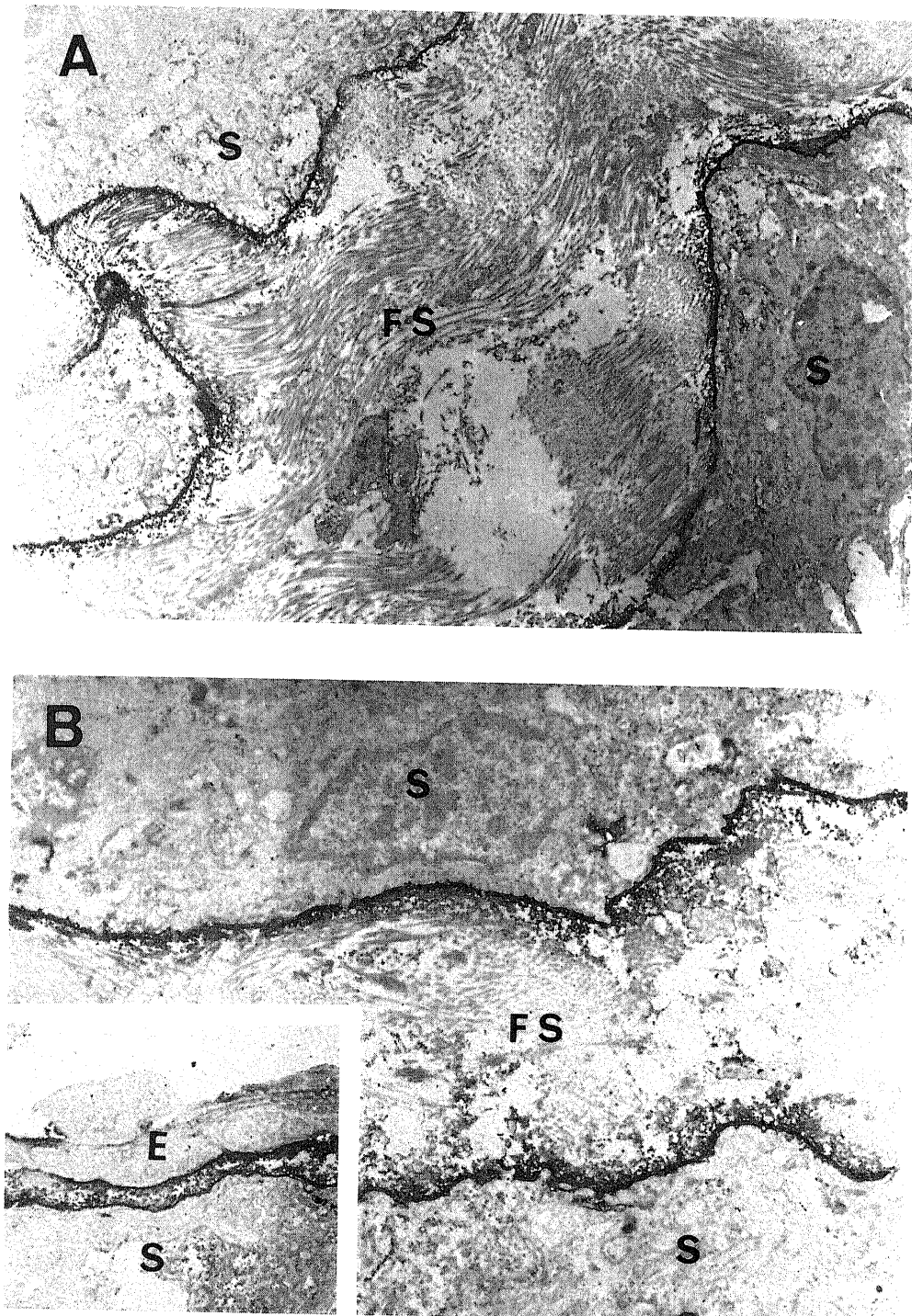


Fig. 9. Immunoelectron microscopy of the meningotheial meningioma. Type IV collagen (A) and laminin (B) are localized along the outermost portion of the syncytium being in contact with the fibrous septum. A, $\times 3,750$. B, $\times 6,000$ (Insert: Laminin is also present at the surface of endothelial and tumor cells. $\times 3,000$). S, syncytium; FS, fibrous septum; E, endothelial cells.

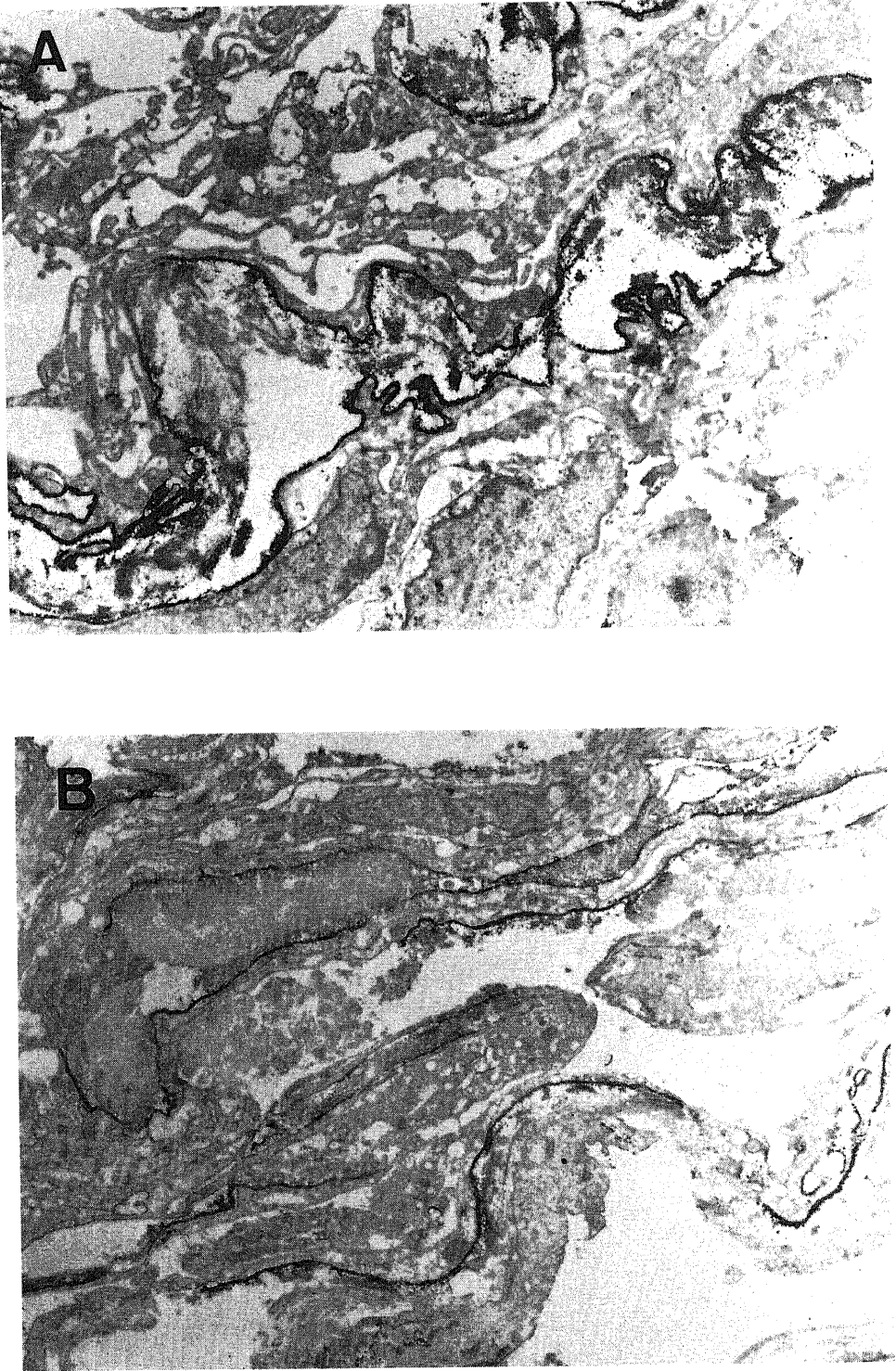


Fig. 10. Immunoelectron microscopy of the fibroblastic meningioma. Type IV collagen (A) and laminin (B) are localized at the surface of tumor cells. A, $\times 6,000$. B, $\times 5,250$.

なお、一次抗体の代わりに正常ウサギ血清を反応させた対照群はいずれも陰性所見を呈した。

考 察

髄膜腫は組織学的に十数種類に分類されているが¹²⁾、その基本型をなすのは meningotheial type と fibroblastic type である。両者は光顕的にはきわめて対照的な性状を示すが^{9)~12)}、電顕的には中間径フィラメント、嵌合、デスマゾームなどの共通の特徴を備えている^{9)~8)}。しかし、間質や基底膜の分布に関しては、本研究で示した如く meningotheial type と fibroblastic type は免疫組織化学的ならびに電顕的にきわめて対照的な性状を示した。すなわち、meningotheial type においては間質は腫瘍細胞間には少なく線維性隔壁内に多いのに対し、fibroblastic type では腫瘍細胞間に間質線維が豊富に存在していた。電顕的には、fibroblastic type の間質は膠原細線維、microfibril および弾性線維などで構成されていた。一方、meningotheial type においては細胞間隙は非常に狭く、基底膜様の無定形物質がわずかにみられるのみで間質線維はほとんど見られなかった。しかし、合胞体を区画している線維性隔壁内においては膠原細線維や microfibril、弾性線維などが密に配列し、その間隙には dural border cell⁴⁰⁾⁴¹⁾ に似た細胞が散在していた。さらに、基底膜は fibroblastic type においては腫瘍細胞の周囲に豊富に認められたが、meningotheial type においては細胞周囲にはほとんど認められず、合胞体の周囲にわずかにみられるにすぎなかった。

髄膜腫における型別コラーゲンやラミニンの分布に関しては、諸家の報告に著しい差異がみられる。すなわち、Bellon ら⁴²⁾は、meningotheial type と fibroblastic type の中間型である transitional type には少量の V 型コラーゲンが認められるが、それ以外の髄膜腫には I、III、IV 型および V 型コラーゲンは認められないと報告した。McComb ら⁴³⁾は、fibroblastic type および transitional type にはラミニンは微細線維状に存在しているが、meningotheial type にはラミニンは認められないとした。一方、Rutka ら¹⁷⁾は、髄膜腫の培養細胞はその組織型には関係なくラミニンや IV 型コラーゲンおよび I、III 型プロコラーゲンを産生することを証明した。本研究においては、コラーゲンやラミニンの分布に関しては meningotheial type と fibroblastic type とでは著しい差異がみられた。すなわち、fibroblastic type では I、III、IV および V 型コラーゲンならびにラミニンは腫瘍細胞間に豊富にみられたのに対し、meningotheial type では線維性隔壁内と合胞体の周囲にみられるのみであった。

従来、髄膜腫はその組織型に関係なく単一のクモ膜細胞から発生するとされている⁷⁾⁴⁴⁾。しかし、上述の如く、meningotheial type と fibroblastic type とでは間質の種類や分布に著しい差異がみられた事から、髄膜腫の細胞由来については再検討を要するものと思われる。

髄膜腫の発生母地がクモ膜ないしクモ膜絨毛であることは一般的に認められている^{45)~48)}。動物のクモ膜やクモ膜絨毛の超微構造については、Nabeshima ら⁴⁰⁾、Shabo および Maxwell⁴⁹⁾によりそれぞれ詳細な検索がなされている。また、近年 Schachenmayr と Friede⁴¹⁾、および山嶋と Friede⁴⁹⁾は剖検脳のクモ膜下腔にグルタルアルデヒドを注入し *in situ* の固定を行うことにより、硬膜とクモ膜の接合面を生体により近い状態で観察した。その結果、生体内ではいわゆる硬膜下腔は存在せず、線維芽細胞に似た数層の細胞すなわち dural border cell から成る dural border layer と扁平なクモ膜細胞が層状配列をなす arachnoid barrier layer が密に接着し、dura-arachnoid interface layer を形成しているとした。Dural border layer においては、その細胞間隙には少数ではあるが膠原細線維、弾性線維、microfibril などの結合組織線維がみられる。しかし、arachnoid barrier layer においては、細胞外腔には少量の微細柔毛状物質がみられるのみで膠原線維は存在しない。クモ膜下腔においては、星芒状の arachnoid trabecular cell が梁柱様配列を示し、梁柱の中芯部やその周囲には多数の膠原細線維や弾性線維が存在する。基底膜は arachnoid barrier layer の最内層の arachnoid barrier cell のクモ膜下腔面や arachnoid trabecular cell の細胞表面に不連続ながら見られる⁵⁰⁾。Dural border layer では一般に基底膜はみられないが、細胞外腔に基底膜様の無定形物質がみられることがある。

ヒトのクモ膜絨毛は動物のものとは対照的な形態を示すことが従来より指摘されている^{51)~55)}。先の論文において、木多⁵⁶⁾は死後早期に採取したヒトのクモ膜絨毛について光顕的、電顕的ならびに免疫組織化学的な検討を行った。その結果、ヒトのクモ膜絨毛は基本的に fibrous capsule と arachnoid cell layer, cap cell cluster および central core の 4 つの部分から構成されているとした。Central core はクモ膜下腔の延長であり、arachnoid trabecular cell に似た星芒状のクモ膜細胞が網状に分布し、その間隙には多数の膠原線維や膠原細線維、microfibril などがみられる。周辺髄膜の dura-arachnoid interface layer はクモ膜絨毛の部分で翻転し central core を覆う。その際、dural border layer は fibrous capsule へ、また arachnoid barrier

layerはarachnoid cell layerへと移行する。Arachnoid cell layerは部分的に集簇しcap cell clusterを形成する。Fibrous capsule内においては、膠原細線維や弾性線維、microfibrilなどが豊富にみられるが、arachnoid cell layerやcap cell clusterにおいてはmicrofibrilがごく少数みられるにすぎない。Core arachnoid cellやarachnoid cell layer最内層の細胞表面には基底膜がみられる。

髄膜腫の組織学的多様性はクモ膜やクモ膜絨毛を構成しているクモ膜細胞の形態学的多様性のみならず、クモ膜細胞周囲の間質の多様性なども密接に関連しているものと思われる。すなわち、meningothelial typeの髄膜腫は腫瘍細胞間に間質がきわめて乏しいという点でcap cell clusterやarachnoid barrier layerに類似し、fibroblastic typeの髄膜腫は間質に富むという点でfibrous capsuleやdural border layer, central coreに類似していた。また、meningothelial typeの髄膜腫内を索状に交錯する線維性隔壁の中に分布する紡錘形の細胞はdural border cell^(9,41)にきわめて似ていた。以上より、髄膜腫は従来指摘された様にクモ膜やクモ膜絨毛内に分布するクモ膜細胞と言う単一の名称でよばれる細胞から発生することは明らかである。しかし、発生母地であるクモ膜やクモ膜絨毛内に分布するクモ膜細胞には本来種々のものがあり、さらに発生母地としてfibrous capsuleやdural border layerなどの硬膜成分も一部関与するために、髄膜腫は組織学的に多彩な性状を示すものと推定される。

結 論

髄膜腫の組織学的基本型をなすmeningothelial typeおよびfibroblastic typeの間質について、光顕的、電顕的ならびに免疫組織化学的な比較検討を行い、それぞれの細胞由来について考察した。

1. Meningothelial typeでは、間質は主として線維性隔壁に存在し腫瘍細胞間にはみられなかった。線維性隔壁内にはI, III型コラーゲンがびまん性に分布しているのに対し、IV, V型コラーゲンとラミニンは腫瘍細胞が作る合胞体の周囲に線状に分布し、線維性隔壁との境界をなしていた。

2. Fibroblastic typeでは、間質は腫瘍細胞間にびまん性にみられた。I, III型コラーゲンは細胞間に不連続な線維小束の配列を示し、IV型コラーゲンとラミニンは腫瘍細胞間に微細網状に、さらにV型コラーゲンは細線維状ないし細顆粒状に分布していた。

3. いずれのタイプにおいても、間質は膠原細線維、microfibril, 弾性線維および微細顆粒状物質などから

成っていた。腫瘍細胞内には型別コラーゲンやラミニンは認められず、IV型コラーゲンとラミニンの分布は基底膜の領域に一致していた。

4. ヒトのクモ膜およびクモ膜絨毛との対比から、髄膜腫の細胞はmeningothelial typeはarachnoid barrier layerないしcap cell clusterに、fibroblastic typeはdural border layerないしfibrous capsule, central coreに由来するものと推定された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師山本信二郎教授に深甚の謝意を表します。また、直接御指導を頂きました脳神経外科学教室、山嶋哲盛講師に深謝いたします。さらに、本研究に御協力頂いた脳神経外科学教室と第一病理学教室の諸先生、および本学がん研究所外科、源利成博士に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Zülch, K. J.: Histological typing of tumours of the central nervous system, p21-22, International histological classification of tumours, No.21, WHO, Geneva, 1979.
- 2) Cushing, H. & Eisenhardt, L.: Meningiomas, Their Classification, Regional Behaviour, Life History, and Surgical End Results. Part 1, p30-55, Hafner publishing company, New York, 1962.
- 3) Kepes, J.: Electron microscopic studies of meningiomas. Am. J. Pathol., 39, 499-510 (1961).
- 4) Napolitano, L., Kyle, R. & Fisher, E. R.: Ultrastructure of meningiomas and the derivation and nature of their cellular components. Cancer, 17, 233-241 (1964).
- 5) Nyström, S. H. M.: A study on supratentorial meningiomas with special reference to gross and fine structure. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl., 176, 1-90 (1965).
- 6) Cervós-Navarro, J. & Vazquez, J. J.: An electron microscopic study of meningiomas. Acta neuropathol., 13, 301-323 (1969).
- 7) Schwechheimer, K., Kartenbeck, J., Moll, R. & Franke, W. W.: Vimentin filament-desmosome cytoskeleton of diverse types of human meningiomas. Lab. Invest., 51, 584-591 (1984).
- 8) Halliday, W. C., Yeager, H., Duwe, G. F. & Phillips, M. J.: Intermediate filaments in meningiomas. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 44, 617-623 (1985).
- 9) Russell, D. S. & Rubinstein, L. J.: Pathology

- of Tumours of the Nervous System. 4th ed., p72-79, Edward Arnold, London, 1977.
- 10) **Zülch, K. J.** : Brain Tumors. Their Biology and Pathology, 3rd ed., p367-370, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo, 1986.
- 11) **Kepes, J. J.** : Meningiomas. Biology, Pathology, and Their Differential Diagnosis, vol.4, p64-75, Masson publishing USA, Inc., New York, 1982.
- 12) 久保田紀彦 : 髄膜腫の光学顕微鏡的・電子顕微鏡的研究. 十全医会誌, 84, 438-462 (1975).
- 13) **Schultz, R. L. & Pease, D. C.** : Cicatrix formation in rat cerebral cortex as revealed by electron microscopy. Am. J. Pathol., 35, 1017-1041 (1959).
- 14) **Kibler, R. F., Couch, R. S. C. & Crompton, M. R.** : Hydrocephalus in the adult following spontaneous subarachnoid hemorrhage. Brain, 84, 45-61 (1961).
- 15) **Anderson, W. A. D. & Kissane, J. M.** : Pathology, 7th ed., vol.2, p2110, The C. V. Mosby company, Saint Louis, 1977.
- 16) 平野朝雄 : 神経病理を学ぶ人のために. 第2版, 295-296頁, 医学書院, 東京, 1986.
- 17) **Rutka, J. T., Giblin, J., Dougherty, D. V., McCulloch, J. R., DeArmond, S. J. & Rosenblum, M. L.** : An ultrastructural and immunocytochemical analysis of leptomenigeal and meningioma cultures. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 45, 285-303 (1986).
- 18) **Miller, E. J. & Matukas, V. J.** : Chick cartilage collagen, a new type of $\alpha 1$ chain not present in bone or skin of the species. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 64, 1264-1268 (1969).
- 19) **Bornstein, P. & Sage, H.** : Structurally distinct collagen types. Ann. Rev. Biochem., 49, 957-1003 (1980).
- 20) **Burgeson, R. E., ElAdli, F. A., Kaitila, I. I. & Hollister, D. W.** : Fetal membrane collagens : Identification of two new collagen alpha chains. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 73, 2579-2583 (1976).
- 21) **Sage, H. & Bornstein, P.** : Characterization of a novel collagen chain in human placenta and its relation to AB collagen. Biochemistry, 18, 3815-3822 (1979).
- 22) **Jander, R., Rauterberg, J. & Glanville, R. W.** : Further characterization of the three polypeptide chains of bovine and human short-chain collagen (intima collagen). Eur. J. Biochem., 133, 39-46 (1983).
- 23) **Bentz, H., Morris, N. P., Murray, L. W., Sakai, L. Y., Hollister, D. W. & Burgeson, R. E.** : Isolation and partial characterization of a new human collagen with an extended triple-helical structural domain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 80, 3168-3172 (1983).
- 24) **Sage, H., Trüeb, B. & Bornstein, P.** : Biosynthetic and structural properties of endothelial cell type VIII collagen. J. Biol. Chem., 258, 13391-13401 (1983).
- 25) **Ninomiya, Y. & Olsen, B. R.** : Synthesis and characterization of cDNA encoding a cartilage-specific short collagen. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 81, 3014-3018 (1984).
- 26) **Schmid, T. M. & Linsenmayer, T. F.** : Immunohistochemical localization of short chain cartilage collagen (Type X) in avian tissues. J. Cell Biol., 100, 598-605 (1985).
- 27) **Burgeson, R. E., Hebda, P. A., Morris, N. P. & Hollister, D. W.** : Human cartilage collagens. Comparison of cartilage collagens with human type V collagen. J. Biol. Chem., 257, 7852-7856 (1982).
- 28) **Kühn, K.** : The collagens-molecular and macromolecular structures. In H. Tschesche (ed.), Proteinases in Inflammation and Tumor Invasion, p107-143, Walter de Gruyter, Berlin-New York, 1986.
- 29) **von der Mark, K.** : Localization of collagen types in tissues. Int. Rev. Connect. Tissue Res., 9, 265-324 (1981).
- 30) **Furthmayr, H. & von der Mark, K.** : The use of antibodies to connective tissue proteins in studies on their localization in tissues. In H. Furthmayr (ed.), Immunochemistry of the Extracellular Matrix, 1st ed., vol.I, p89-117, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1982.
- 31) **Laurie, G. W., Leblond, C. P. & Martin, G. R.** : Localization of type IV collagen, laminin, heparan sulfate proteoglycan, and fibronectin to the basal lamina of basement membranes. J. Cell Biol., 95, 340-344 (1982).
- 32) **Timpl, R. & Martin, G. R.** : Components of basement membranes. In H. Furthmayr (ed.), Immunochemistry of the Extracellular Matrix, 1st ed., vol.I, p119-149, CRC Press, Inc., Boca Raton,

Florida, 1982.

- 33) **Konomi, H., Hayashi, T., Nakayasu, K. & Arima, M.**: Localization of type V collagen and type IV collagen in human cornea, lung and skin. Immunohistochemical evidence by anti-collagen antibodies characterized by immunoelectro blotting. *Am. J. Pathol.*, **116**, 417-426 (1984).
- 34) **Timpl, R., Rohde, H., Robey, P. G., Rennard, S. I., Foidart, J. M. & Martin, G. R.**: Laminin- a glycoprotein from basement membranes. *J. Biol. Chem.*, **254**, 9933-9937 (1979).
- 35) **Foidart, J. M., Bere, E. W., Yaar, M., Rennard, S. I., Gullino, M., Martin, G. R. & Katz, S. I.**: Distribution and immunoelectron microscopic localization of laminin, a noncollagenous basement membrane glycoprotein. *Lab. Invest.*, **42**, 336-342 (1980).
- 36) **Hay, E. D.**: Extracellular matrix. *J. Cell Biol.*, **91**, 205s-223s (1981).
- 37) **Nakane, P. K.**: Recent progress in the peroxidase-labeled antibody method. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **254**, 203-211 (1975).
- 38) **Nakane, P. K. & Pierce, G. B.**: Enzyme-labeled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens. *J. Cell Biol.*, **33**, 307-318 (1967).
- 39) **Graham, R. C. & Karnovsky, M. J.**: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.*, **14**, 291-302 (1966).
- 40) **Nabeshima, S., Reese, T. S., Landis, D. M. D. & Brightman, M. W.**: Junctions in the meninges and marginal glia. *J. Comp. Neurol.*, **164**, 127-170 (1975).
- 41) **Schachenmayr, W. & Friede, R. L.**: The origin of subdural neomembranes. I. Fine structure of the dura-arachnoid interface in man. *Am. J. Pathol.*, **92**, 53-68 (1978).
- 42) **Bellon, G., Caulet, T., Cam, Y., Pluot, M., Poulin, G., Pytlinska, M. & Bernard, M. H.**: Immunohistochemical localisation of macromolecules of the basement membrane and extracellular matrix of human gliomas and meningiomas. *Acta Neuropathol.*, **66**, 245-252 (1985).
- 43) **McComb, R. D. & Bigner, D. D.**: Immunolocalization of laminin in neoplasms of the central and peripheral nervous systems. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **44**, 242-253 (1985).
- 44) **Tani, E., Ikeda, K., Yamagata, S., Nishiura, M. & Higashi, N.**: Specialized junctional complexes in human meningioma. *Acta Neuropathol.*, **28**, 305-315 (1974).
- 45) **Cushing, H.**: The meningiomas (dural endotheliomas). Their source, and favoured seats of origin. *Brain*, **45**, 282-316 (1922).
- 46) **Bailey, P. & Bucy, P. C.**: The origin and nature of meningeal tumors. *Am. J. Cancer*, **15**, 15-54 (1931).
- 47) **Wolman, L.**: Role of the arachnoid granulation in the development of meningioma. *AMA Arch. Pathol.*, **53**, 70-77 (1952).
- 48) **Shabo, A. L. & Maxwell, D. S.**: The morphology of the arachnoid villi: A light and electron microscopic study in the monkey. *J. Neurosurg.*, **29**, 451-463 (1968).
- 49) **山嶋哲盛, Friede, R. L.**: 硬膜下腔とクモ膜下腔およびクモ膜の形態学的研究. *神経外科*, **24**, 737-746 (1984).
- 50) **Lopes, C. A. S. & Mair, W. G. P.**: Ultrastructure of the arachnoid membrane in man. *Acta Neuropathol.*, **28**, 167-173 (1974).
- 51) **Jarial, M. S.**: An electron microscopic study of human arachnoid granulations. *J. Am. Osteopath. Assoc.*, **70**, 1108 (1971).
- 52) **Wolpow, E. R. & Schaumburg, H. H.**: Structure of the human arachnoid granulation. *J. Neurosurg.*, **37**, 724-727 (1972).
- 53) **d'Avella, D., Baroni, A., Mingrino, S. & Scanarini, M.**: An electron microscope study of human arachnoid villi. *Surg. Neurol.*, **14**, 41-47 (1980).
- 54) **d'Avella, D., Ciccirello, R., Albiero, F. & Andrioli, G.**: Scanning electron microscope study of human arachnoid villi. *J. Neurosurg.*, **59**, 620-626 (1983).
- 55) **Upton, M. L. & Weller, R. O.**: The morphology of cerebrospinal fluid drainage pathways in human arachnoid granulations. *J. Neurosurg.*, **63**, 867-875 (1985).
- 56) **木多真也**: ヒト・クモ膜絨毛の光顕的, 電顕的ならびに免疫組織化学的研究. *十全医会誌*, **96**, 363-377 (1987).

Ultrastructural and Immunohistochemical Analysis of Extracellular Matrix in Meningiomas Hisashi Nitta, Department of Neurosurgery, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., **97**, 29—43 (1988)

Key words : meningioma, collagen, laminin, immunohistochemistry, electron microscopy

Abstract

The extracellular matrix of meningiomas was studied by light and electron microscopy with the aid of immunohistochemical techniques. Special attention was paid to the distribution of type I, III, IV and V collagens as well as laminin with a comparison between meningotheial and fibroblastic types. Connective tissue fibers and basement membrane were not found between tumor cells in the meningotheial type, but were found in the fibroblastic type. The immunolocalizations were consistently demonstrated extracellularly, but not within the cytoplasm. Type I, III and V collagens were usually demonstrated in the fibrous septum in the meningotheial type, while they were localized between tumor cells in the fibroblastic type. Furthermore, type IV collagen and laminin were demonstrated within the vessel walls or around the syncytium in the meningotheial type, while they were localized between tumor cells in the fibroblastic type. In both types the expression of type IV collagen and laminin was closely related to the distribution of basement membrane. A striking contrast of the distribution of extracellular matrix suggested different cellular derivation of two basic types of meningiomas, which was discussed with reference to the ultrastructure of arachnoid and arachnoid villi in man.