

抗サイトケラチンモノクローナル抗体を用いた 脳腫瘍の髄液診断に関する研究

新潟大学脳研究所脳神経外科学部門（主任：田中隆一教授）

河野 充夫

Cytokeratin in Cerebrospinal Fluid of
Patients with Intracranial Tumors

Mitsuo KOUNO

*Department of Neurosurgery,
Brain Research Institute, Niigata University
(Director: Prof. Ryuichi TANAKA)*

A new assay system for cytokeratin (CK) in cerebrospinal fluid (CSF) of patients with intracranial tumors was established.

Antibody KWS-1 was a murine monoclonal immunoglobulin generated from a fusion of a mouse myeloma cell line with lymphocytes from a mouse immunised with the cytoskeleton from established human large cell carcinoma cell line. KWS-1 was of IgG₁ subclass.

KWS-1 antibody as characterized by immunoblotting identified CK subunit molecular weight at 56, 54, 52.5, 46, 45 and 40 Kd and did not cross react with other intermediate sized filament proteins.

Extensive assesment by immunoperoxidase staining on formalin or ethanol fixed paraffin embedded human tissue sections showed wide reactivity in varieties of epithelial cells and tumors.

An amplified sandwich assay was developed for the measurment of CK. Lower limit of antigen detection of this assay was at 50 ng/ml.

CK in CSF of 57 patients with intracranial tumors and 14 non-neoplastic intracranial diseases were measured. CK levels were elevated in metastatic carcinoma (5/20), epidermoid (1/3), epidermoid carcinoma (1/1) and germ cell tumor (1/4), but under lower limit in other primary brain tumors and non-nepolastic intracranial diseases.

Reprint requests to: Mitsuo KOUNO,
Department of Neurosurgery, Brain
Research Institute, Niigata
University, 1 Asahimachi-dori,
Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学脳研究所脳神経外科学部門
河野 充夫

These findings suggested that the measurement of CK in CSF may be a useful tumor marker in patients with metastatic carcinoma and some primary intracranial epithelial tumors.

Key words: Cytokeratin, Monoclonal antibody, Intermediate filament, Brain tumor
 サイトケラチン, モノクロナール抗体, 中間径フィラメント, 脳腫瘍

はじめに

Radioimmunoassay (RIA), Enzyme immunoassay (EIA) による免疫生化学的定量法の進歩やモノクロナール抗体法の応用等により, 悪性腫瘍の診断や治療効果の判定における腫瘍マーカーの有用性は著しく高まり, 日常臨床の場において不可欠のものとなりつつある。しかし, 頭蓋内腫瘍においてはいまだ用いられるマーカーの数も少ない事に加え, 特異性や検出頻度の点で必ずしも充分とは言えず, より多くの新たな腫瘍マーカーが望まれてきた。

サイトケラチン (CK) は, 細胞骨格の一種である中

間径フィラメントを構成する蛋白で, 表皮, 消化管, 気管支, 肝臓等全身諸臓器の全ての上皮性細胞及びそれら由来の腫瘍に極めて特異的に発現する¹⁾。一方中枢神経系においては, 脈絡叢上皮細胞²⁾ や下垂体前葉細胞³⁾ 等少数の上皮性細胞に発現するものの, 主要な構成要素であるニューロンやグリア細胞には全く発現しない。さらに原発性脳腫瘍においては, 脈絡叢乳頭腫²⁾, 胚細胞性腫瘍⁴⁾ 等一部の上皮性腫瘍を除けば, その発現は希と考えられている。従って, 髄液中での CK の測定が可能となれば, 転移性脳腫瘍および一部の頭蓋内原発上皮性腫瘍の診断や治療効果判定に極めて有用と考えられる。しかし現在まで CK 測定に関する報告はほとんど

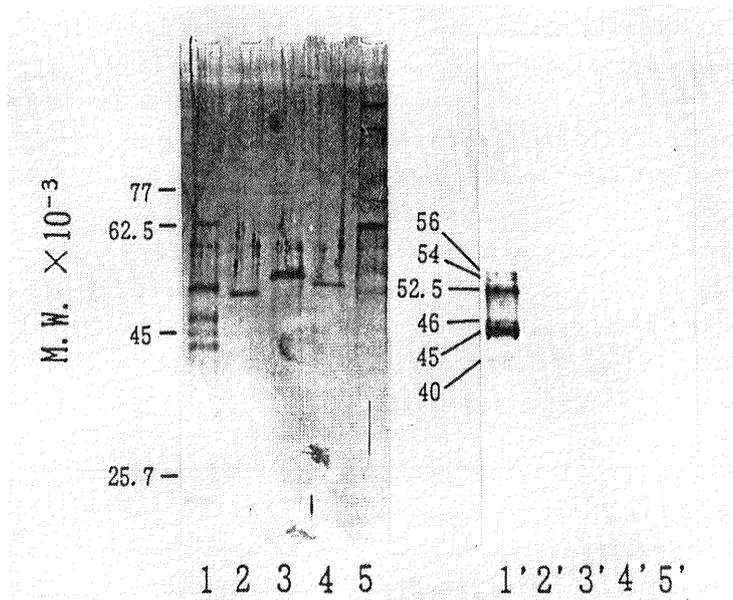


Fig. 1 Immunoblot analysis of KWS-1 antibody. Cytoskeletal extract of large cell carcinoma cell line (lanes 1 and 1'), GFAP (lanes 2 and 2'), vimentin (lanes 3 and 3'), desmin (lanes 4 and 4'), and neurofilament triplet (lanes 5 and 5'), were subjected to electrophoresis, transferred to nitrocellulose paper and stained with (lanes 1-5) Gold-Blot (ISS) and (lanes 1'-5') KWS-1 antibody.

無く、僅かに1983年にMadriら⁵⁾が担癌患者の血中にCKが検出される事をEIA法を用いて初めて報告したのみであり、頭蓋内腫瘍を対象とした測定は全くなされていない。

本研究では、抗CKモノクローナル抗体を作成し、EIA法を用いて担癌腫瘍患者髄液中のCK定量を行い腫瘍マーカーとしての有用性について検討したので報告する。

材料及び方法

1) モノクローナル抗体の作成

当科で樹立したヒト肺原脳転移大細胞癌由来培養細胞株(KI-8264)よりRegauerら⁶⁾の方法を用いて細胞骨格蛋白を抽出した。単層培養下の培養細胞をPBSで洗浄後、lysis buffer (140 mM NaCl, 1% Triton X-100, 5 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, pH 7.6) を

加え5分間静置。次いでhigh salt buffer (1.5 M KCl, 0.5% Triton X-100, other components as in lysis buffer, pH 7.4) に置換し30分間静置。PBSで洗浄した後培養壺より剝離、3,500 g 10分間の遠心を行いペレットを作製し、PBSによる洗浄と遠心を3回繰り返して不溶性分画より細胞骨格蛋白を得た。この細胞骨格蛋白をBalb/cマウスの皮下に注射し免疫を行なった。腹腔内投与による2回の追加免疫の後、脾細胞を取出しポリエチレングリコールの存在下にマウスミエロマ細胞と細胞融合を行った。抗体産生細胞のスクリーニングは、各種正常組織を用いた酵素抗体法にて行った。限界希釈法にてクローニングを行った後、抗体産生クローンをマウス腹腔内に注射し腹水型として濃縮抗体を得た。抗体のサブクラスはマウスタイパーキット(Bio-Rad)を用いて決定した。

2) 特異性の検索

イムノブロットング及び免疫組織化学により抗体の特異性を検討した。イムノブロットングに際しては、抽出した細胞骨格蛋白及び精製 Vimentin, Desmin, Neurofilament (NF) 蛋白, Glial fibrillary acidic protein (GFAP) (Boehringer Mannheim) を12.5%均一ゲルにてスラブゲル電気泳動を行った後、ニトロセルロース膜に転写し免疫染色を行った。蛋白染色にはGold-Blot (ISS) を用いた。免疫組織化学に際しては、ホルマリンあるいはエタノール固定後パラフィン包埋した各種正常及び腫瘍組織から6 μ 切片を作製し、ホルマリン固定標本の場合にはトリプシンによる前処理を加え、labelled biotin-streptavidin 法にて検索した。

3) 測定系の作製

マウス腹水より得た濃縮抗体をAffi-Prep Protein A MAPS II Kit (Bio-Rad) を用いて精製した後、Morganら⁷⁾のAmplified EIA法を一部改変しFig. 2の手順で反応を行い、405 nmでの吸光度を測定した。Step 1と2との間には1%牛血清アルブミンによるブロッキングを行い、各々の反応の間にはTTBS (20 mM Tris-HCl, 500 mM NaCl, 0.1%, Tween 20 and 1% BSA pH 7.5) による洗浄を行った。標準抗原としては、表皮由来のCK (Sigma) を用い、標準曲線の作製に際しては、同一濃度の抗原を5つのwellで測定しその平均値を用いた。標準曲線は測定の都度作製した。

4) 脳腫瘍群及び対照群髄液中におけるCKの定量

原発性脳腫瘍37例、転移性脳腫瘍20例、対照14例の計71例で髄液中CKを測定した。原発性脳腫瘍の内訳は、

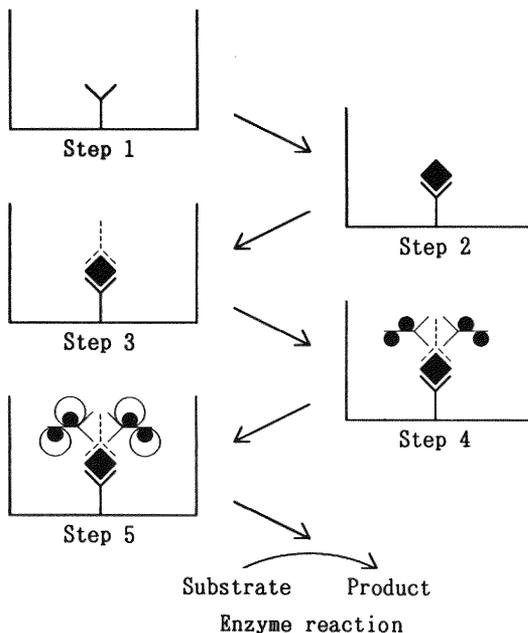


Fig. 2 Format of amplified sandwich assay for detection of CK

Y; KWS-1 antibody, 10 μ g/well, immobilized on polyvinyl microtiter wells, 4°C for 24hrs. ◆; antigen (CSF), 37°C for 2hrs. Y; rabbit anti-CK polyclonal antibody (DAKO), 37°C for 2hrs. Y; biotinylated donkey anti-rabbit Ig (Amersham), 37°C for 30min. O; streptavidin-alkaline phosphatase (Amersham), 37°C for 30min.

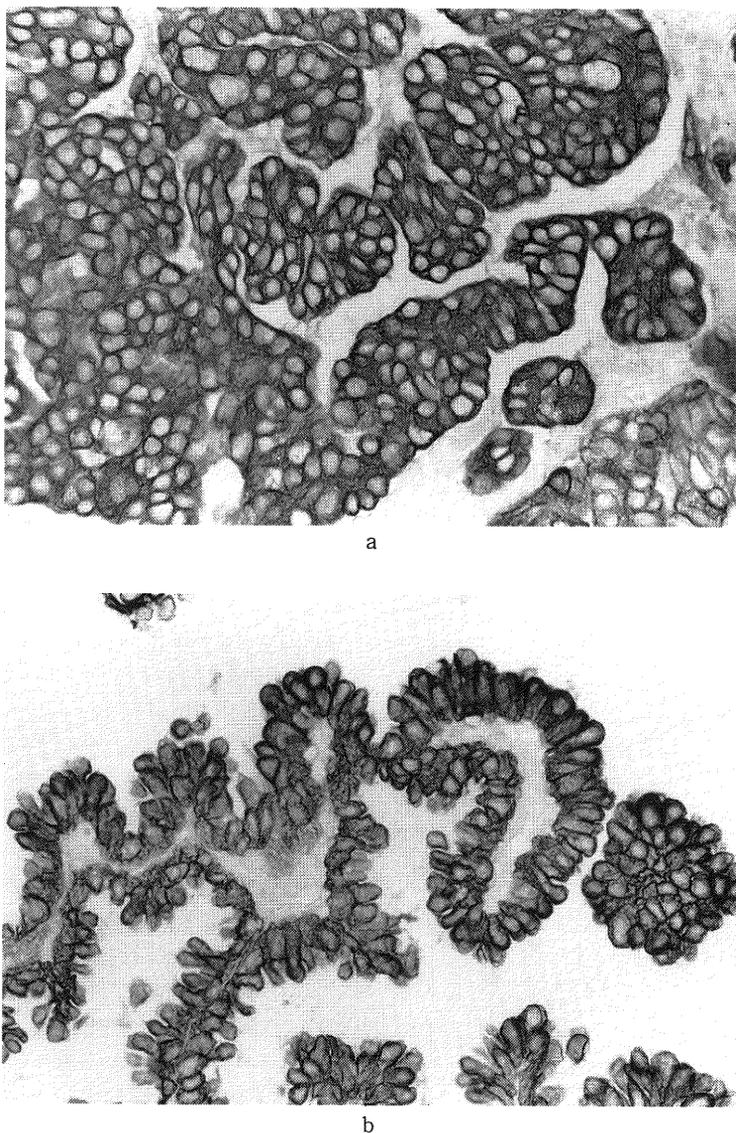


Fig. 3 a, b: Immunostaining with KWS-1 antibody on formalin fixed paraffin embedded tissues. a-metastatic squamous cell carcinoma. b-metastatic papillary adenocarcinoma. no counter stain; $\times 350$.

神経膠腫13例 (glioblastoma 10例, astrocytoma 1例, oligodendroglioma 1例, ependymoma 1例), 悪性リンパ腫5例, 髄芽腫2例, 髄膜腫3例, 神経鞘腫2例, 血管芽細胞腫1例, 類上皮腫3例, 類上皮癌1例, 頭蓋咽頭腫3例, 胚細胞性腫瘍4例 (embryonal carcinoma 2例, choriocarcinoma 1例, mature teratoma 1例)

である。転移性脳腫瘍の内訳は, 肺癌13例 (adenocarcinoma 6例, squamous cell carcinoma 1例, large cell carcinoma 1例, undifferentiated carcinoma 1例, small cell carcinoma 1例, not verified 3例), 胃癌2例 (adenocarcinoma), 乳癌2例 (scirrhous carcinoma 1例, solid tubular carcinoma 1例), 皮膚

癌2例 (squamous cell carcinoma), 子宮癌1例 (choriocarcinoma) で, 内, 肺癌2例, 胃癌1例, 乳癌1例は癌性髄膜炎を呈していた. 対照群は全例非腫瘍性疾病で, その内訳は脳挫傷2例, 正常圧水頭症3例, 脳内血腫3例, 髄膜炎3例, 頭痛3例である.

結 果

1) 抗体産生クローンの樹立と特異性の検索

3株の抗体産生クローン株が得られた. その内, 組織切片上での反応性の最も良好であったクローン株 (以下 KWS-1) を以後の実験に用いた. KWS-1 抗体のサブ

クラスは IgG₁ であった. イムノブロッティングによる検索では, 大細胞癌由来株培養細胞より抽出した細胞骨格蛋白のうち, KWS-1 抗体は 56 Kd, 54 Kd, 52.5 Kd, 46 Kd, 45 Kd, 40 Kd のバンドと反応した. 等電点の異なる一部の subunit の判定は行っていないが, 各々 Moll No. 6 あるいは11, 7あるいは13, 8, 17, 18, 19 に相当するものと思われた. 他の中間径フィラメント蛋白との反応は認めなかった (Fig. 1). 免疫組織化学による正常組織の検索では, 表皮, 気管支上皮, 消化管上皮, 肝細胞等種々の上皮性細胞に陽性染色を認めたが, ニューロン, グリア細胞, 筋細胞, 血管内皮細胞, 線維

Table 1 Reactions of the normal tissues with KWS-1 antibody.

Tissues	Fixatives	
	10% Formalin	70% Ethanol
Brain		
Gray matter	—	—
White matter	—	—
Ependym	—	—
Choroid plexus	+	+
Anterior pituitary gland	+	+
Skin		
Epidermis	+	+
Sweat gland	+	+
Sebaceous gland	+	+
Gastrointestinal tract		
Esophagus	±	+
Colon	+	+
Liver		
Hepatocytes	+	+
Bile ducts	+	+
Pancreas		
Acini	+	+
Islets	—	—
Ducts	+	+
Kidney		
Tubules	±	+
Urinary bladder	+	+
Lung		
Bronchus	+	+
Peribronchial gland	+	+
Alveolus	+	+

+: positive, —: negative, ±: positive but weak

芽細胞及びリンパ系細胞には、全く陽性染色を認めなかった (Table 1). 腫瘍組織の検索でも、転移性脳腫瘍に加え、頭蓋咽頭腫、脈絡叢乳頭腫等一部の頭蓋内原発上皮性腫瘍に陽性染色を認めたが (Fig. 3a, b), 神経膠腫、神経鞘腫及び血管芽細胞腫では、全例陰性で、髄膜腫でも髄膜細胞型髄膜腫 1 例のエタノール固定標本における染色で、極少数の細胞に陽性染色を認めた以外全例陰性であった (Table 2).

2) 髄液中 CK の定量

Fig. 4 に示した標準曲線を作製し、50 ng/ml から 800 ng/ml を測定範囲とした。各々の濃度における吸光度の幅は±10%以内であった。髄液中 CK 測定の結果、転移性脳腫瘍20例中5例、類上皮腫3例中1例、類上皮癌1例中1例、胚細胞性腫瘍4例中1例で検出可能であった (Fig. 5). 転移性脳腫瘍での CK 検出症例の内訳は、肺癌13例中3例 (adenocarcinoma 1例, undifferentiated carcinoma 1例, not verified 1例)、皮膚癌2例中1例、乳癌2例中1例 (solid tubular carcinoma) で、肺癌は全例脳実質内転移、皮膚癌は頭皮偏平上皮癌の頭蓋内浸潤、乳癌は癌性髄膜炎であった。胚細胞性腫瘍での CK 検出症例は choriocarcinoma

であった。一方、神経膠腫13例、髄膜腫3例、髄芽腫2例、悪性リンパ腫5例、血管芽細胞腫1例、頭蓋咽頭腫3例、神経鞘腫2例、及び非腫瘍性頭蓋内疾患14例では全例測定感度以下であった。

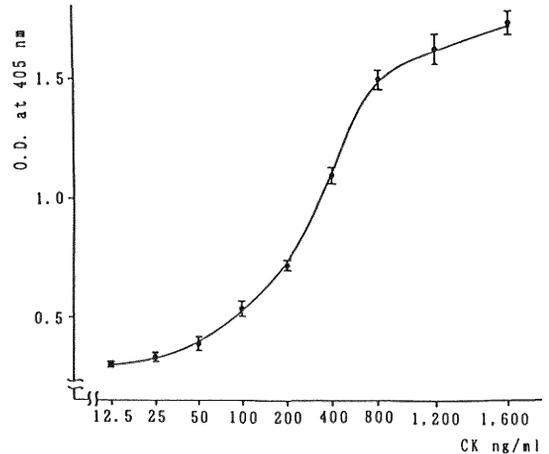


Fig. 4 Standard curve of CK as assessed by the amplified sandwich assay

Table 2 Reactions of the intracranial tumors with KWS-1 antibody.

Diagnosis	Fixatives	
	10% Formalin	70% Ethanol
Primary brain tumors		
Glioma	0/16	0/16
Meningioma	0/14	1/12
Hemangioblastoma	0/2	0/1
Neurinoma	0/4	0/2
Plexus papilloma	4/5	1/1
Pituitary adenoma	6/6	
Craniopharyngioma	4/4	
Germ cell tumor	4/6	
Epidermoid	2/2	1/1
Metastatic carcinomas		
Squamous cell carcinoma	5/5	3/3
Adenocarcinoma	9/9	4/4
Undifferentiated carcinoma	1/1	
Small cell carcinoma	1/1	1/1
Large cell carcinoma	1/1	
Clear cell carcinoma	1/1	

positive/number of examined

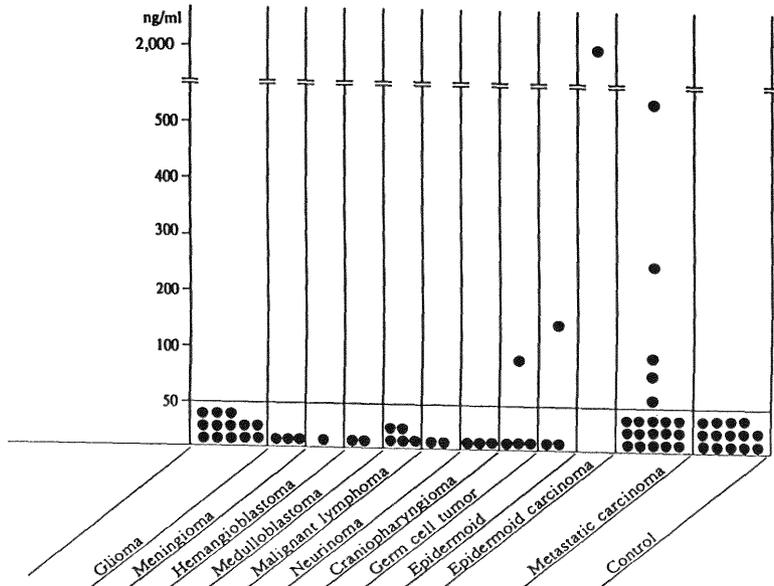


Fig. 5 CK in cerebrospinal fluid in 57 intracranial tumors and 14 non-neoplastic intracranial diseases

考 察

IF は、マイクロフィラメントやマイクロチューブスとともに細胞骨格を形成する繊維状構造物で、直径が 10 nm 前後と他 2 者の間である事はその呼称を由来している。IF を構成する蛋白には CK, GFAP, NF protein, Vimentin, Desmin の 5 種類が知られており、各々上皮性細胞、星状膠細胞、神経細胞、筋細胞、間葉系細胞に特異的に発現している。この組織特異性が vimentin を除き腫瘍化した場合にも良く保たれる事から、病理組織診断上 IF 蛋白に対する抗体を用いた免疫組織化学の意義は極めて大きいとされている⁸⁾⁹⁾。

頭蓋内腫瘍患者に対する IF 蛋白測定の臨床的な応用については、Hayakawa ら¹⁰⁾により既に報告されている。彼らは、RIA 法で髄液中 GFAP の定量を行い、正常値を 25 ng/ml 以下に設定した上で、神経膠腫患者の 44.3% が 25 ng/ml 以上の高値を示したとしている。しかし、神経膠腫の中でも astrocytoma に比しより GFAP 発現の乏しい glioblastoma での陽性率が高い事、神経膠腫以外の頭蓋内腫瘍でも 15.8% に陽性で非腫瘍性頭蓋内疾患でも 21.2% に陽性となる事等から、髄液中の GFAP 値は腫瘍細胞のみでなく、正常中枢神経系の主要な構成要素である星状膠細胞の崩壊に伴う

GFAP の髄液中漏出をも反映したものと推測しており、腫瘍組織特異性は高いとは言えない。

CK には 19 種類の subunit (分子量 40,000~68,000) が存在し、そのうちの数個の subunit が、細胞の種類や分化度に応じて種々の組み合わせを示しつつ、全ての上皮性細胞および各々の癌に普遍的に発現している事が、一般臓器における Moll ら¹⁾の詳細な研究により明らかとなりつつある。頭蓋内腫瘍においては、脈絡叢乳頭腫²⁾、下垂体腺腫³⁾、胚細胞性腫瘍⁴⁾、頭蓋咽頭腫¹¹⁾などの上皮性腫瘍での発現が免疫組織化学的に確認されているが、他の多くの原発性脳腫瘍での発現は希で、わずかに髄膜腫¹²⁾や神経膠腫¹³⁾の一部において時に少数の細胞に CK が陽性となるとする報告はあるものの、大部分の症例では陰性と考えられている。KWS-1 抗体による免疫染色の結果も、他施設での種々の抗 CK 抗体を用いた従来の報告とほぼ一致していた。従って KWS-1 抗体は、転移性脳腫瘍および一部の頭蓋内原発上皮性腫瘍の病理診断に有用であり、更に髄液診断への応用に際しても特異性の面からの問題は無いと考えられた。

転移性脳腫瘍の臨床的腫瘍マーカーとしては、これまで Carcinoembryonic antigen (CEA)¹⁴⁾ や Tissue polypeptide antigen (TPA)¹⁵⁾ 等が用いられ有用性が確認されている。しかし CEA は腺癌での陽性率は高

いものの、他の組織型の癌における陽性率は必ずしも高くはない。また TPA は、低分子の CK とも共通の抗原性を有する上皮性腫瘍に比較的特異性の高いマーカーだが¹⁶⁾、悪性リンパ腫、神経膠腫、髄芽腫等でも陽性となる¹⁵⁾等その腫瘍組織特異性は必ずしも高くなく、頭蓋内腫瘍での応用には慎重でなくてはならない。それらに比して CK は、大部分の癌に発現するが原発性脳腫瘍での発現は限られ、更に正常中枢神経系での発現も極一部の細胞に限られる等腫瘍組織特異性が極めて高く、病理組織学的には優れた転移性脳腫瘍のマーカーとして既に利用されており⁸⁾、臨床的応用が実現した場合の有用性についても十分に期待し得るものと考えられていた。

CKの測定系を作製する場合留意すべき点として、CK subunitの数の多さと他のIF蛋白との構造上の類似性がある。用いる抗体が一部の subunit 即ち一部の癌しか認識しなければ、転移性脳腫瘍診断におけるCKの利点である大部分の癌に対する普遍性が生かされず、また他のIF蛋白と交差反応を示す抗体であれば、腫瘍組織特異性が失われてしまう。本研究において、CKの全ての subunit に対する反応性を確認した訳ではないが、イムノブロットングの結果に加え免疫組織化学的検索結果から、KWS-1抗体は極めて広範囲の正常上皮性細胞及び上皮性腫瘍を認識する抗体と考えられた。また他のIF蛋白との交差反応を認めないことから、転移性脳腫瘍の診断には極めて有利な抗体と思われた。

今回の髄液中CK測定の結果、転移性脳腫瘍での陽性率は20例中5例と必ずしも高くはなかったが、特異性は良好で転移性脳腫瘍と神経膠腫や悪性リンパ腫等との鑑別には有用であった。

尚、結果には示さなかったが、20例の転移性脳腫瘍中16例でCKと同時にCEAも測定した。CK陽性は5例、CEA陽性は7例であり、そのうちCKのみ陽性は3例、CEAのみ陽性は5例、CKとCEAともに陽性は2例であった。これらの陽性例をあわせると16例中10例に達し、CK測定による転移性脳腫瘍での腫瘍マーカー検出率の向上が認められた。

さらに髄液中CKが胚細胞性腫瘍や、従来臨床的マーカーを全く持たなかった類上皮腫及び類上皮癌でも陽性を示したことは極めて興味深く、一部の頭蓋内原発上皮性腫瘍に対する有用性も推測された。

今回作製した測定系において、特異性は高いものの検出率が必ずしも高くない理由としては、CKが構造蛋白である為細胞の崩壊が無ければ髄液中に流出し難い事も考えられるが、測定系の感度の問題も考えられる。より

高感度のCK測定系の開発が検出率の向上につながることを期待したい。

結 語

1. ヒト肺癌由来株化培養細胞より抽出した細胞骨格蛋白を免疫源とし、広範囲の上皮性細胞を認識する抗ヒトサイトケラチンモノクローナル抗体 KWS-1 が得られた。

2. KWS-1抗体を用いて酵素免疫測定法の系を作製した。測定感度の下限は50 ng/mlであった。

3. 脳腫瘍57例、非腫瘍性頭蓋内疾患14例、計71例の髄液中CKを測定した結果、転移性脳腫瘍20例中5例、類上皮腫3例中1例、類上皮癌1例中1例、胚細胞性腫瘍4例中1例に陽性であったが、その他の原発性脳腫瘍及び対照群では全例陰性で、転移性脳腫瘍及び一部の頭蓋内原発上皮性腫瘍の臨床的な腫瘍マーカーとしての髄液中CK測定の有用性が示唆された。

本研究の一部は、文部省科学研究費補助金一般研究B(課題番号63480327)の助成による。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った田中隆一教授に深謝致します。また多大な協力を頂いた本学神経病理熊西敏郎教授、鷲山和雄助教授ならびに教室諸氏に感謝します。

参 考 文 献

- 1) Moll, R., Franke, W.W., Schiller, D.L., Geiger, B. and Krepler, R.: The catalogue of human cytokeratin polypeptides: patterns of expression of cytokeratins in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*, **31**: 11~24, 1982.
- 2) Kouno, M., Kumanishi, T., Washiyama, K., Saito, T. and Tanaka, R.: An immunohistochemical study of cytokeratin and glial fibrillary acidic protein in choroid plexus papilloma. *Acta Neuropathol (Berl)*, **75**: 317~320, 1988.
- 3) Höfler, H., Denk, H. and Walter, G.F.: Immunohistochemical demonstration of cytokeratins in endocrine cells of the human pituitary gland and in pituitary adenomas. *Virchows Arch [Pathol Anat]*, **404**: 359~368, 1984.
- 4) 鷲山和雄, 田中隆一, 河野充夫, 斉藤隆史, 関口賢太郎, 山崎一徳, 熊西敏郎, 小宅 洋: Germ cell

- tumor における腫瘍マーカー検出の意義. 第4回日本脳腫瘍病理研究会講演集: 105~109, 1987.
- 5) **Madri, J.A. and Barwick, K.W.:** Methods in laboratory investigation. Use of avidin biotin complex in an ELISA system: A quantitative comparison with two other immunoperoxidase detection systems using keratin antisera. *Lab Invest*, **48**: 98~107, 1983.
 - 6) **Regauer, S., Franke, W.W. and Virtanen, I.:** Intermediate filament cytoskeleton of amnion epithelium and cultured amnion epithelial cells: Expression of epidermal cytokeratins in cells of a simple epithelium. *J Cell Biol*, **100**: 997~1009, 1985.
 - 7) **Morgan, A.C. and McIntyre, R.F.:** Monoclonal antibodies to human melanoma-associated antigens: An amplified enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antigen, antibody, and immune complexes. *Cancer Research*, **43**: 3155~3159, 1983.
 - 8) **Coakham, H.B., Garson, J.A., Allan, P.M., Harper, E.I., Brownell, B., Kemshead, J.T. and Lane, E.B.:** Immunohistological diagnosis of central nervous system tumors using a monoclonal antibody panel. *J Clin Pathol*, **38**: 165~173, 1985.
 - 9) **Osborn, M. and Weber, K.:** Biology of disease. Tumor diagnosis by intermediate filament typing: A novel tool for surgical pathology. *Lab Invest*, **48**: 372~394, 1983.
 - 10) **Hayakawa, T., Morimoto, K., Ushio, Y., Mori, T., Yoshimine, T., Myoga, A. and Mogami, H.:** Levels of astroprotein (an astrocyte-specific cerebroprotein) in cerebrospinal fluid of patients with brain tumors: An attempt at immunochemical diagnosis of gliomas. *J Neurosurg*, **52**: 229~233, 1980.
 - 11) **Asa, S.L., Kovacs, K., Bilbao, J.M. and Penz, G.:** An immunohistochemical localization of keratin in craniopharyngiomas and squamous cell nests of the human pituitary. *Acta Neuropathol (Berl)*, **54**: 257~260, 1981.
 - 12) **Theaker, J.M., Gatter, K.C., Esili, M.M. and Fleming, K.A.:** Epithelial membrane antigen and cytokeratin expression by meningiomas: an immunohistological study. *J Clin Pathol*, **39**: 435~439, 1986.
 - 13) **Mork, S., Rubinstein, L.J., Kepes, J.J., Perentes, E. and Uphoff, D.F.:** Patterns of epithelial metaplasia in malignant gliomas II. Squamous differentiation of epithelial-like formations in gliosarcomas and glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol*, **47**: 101~118, 1988.
 - 14) **Suzuki, Y. and Tanaka, R.:** Carcinoembryonic antigen in patients with intracranial tumors. *J Neurosurg*, **53**: 355~360, 1980.
 - 15) **園田 寛, 松角康彦, 植村正三郎, 賀来素之:** Tissue polypeptide antigen (TPA) と脳腫瘍—腫瘍マーカーとしての意義—. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, **24**: 655~662, 1984.
 - 16) **Moll, R.:** Epithelial tumor markers: Cytokeratin and tissue polypeptide antigen (TPA). *Curr Top Pathol*, **77**: 71~101, 1987.

(平成4年1月9日受付)