

症 例 報 告

石灰化歯原性嚢胞に出現する *ghost cell* の電子顕微鏡的検討

佐藤 泰生 阿部 洋司 佐藤 方信

岩手医科大学歯学部口腔病理学講座

(主任: 佐藤方信教授)

〔受付 1992 年 10 月 26 日〕

〔受理 1992 年 11 月 5 日〕

Abstract : A calcifying odontogenic cyst that occurred in the mandible of a 40-year-old man was ultrastructurally examined with special reference to the appearance of the peculiar ghost cells (GCs) that are characteristic of this cyst. The following results were obtained : The GCs were derived from odontogenic epithelial cells following the increase in the number and width of tonofilamentous bundles in the cytoplasm, and were formed by the disruption and disappearance of nucleus and plasma membrane of the epithelial cells. This process of GCs formation closely resembled the process of hard keratinization of the nail and the hair cortex. Many needle-like or radial structural calcifications were detected in the cytoplasm of the GCs. It was suggested that the yellowish-brown granules microscopically observed in the GCs were ultrastructurally lipid droplets.

Key words : calcifying odontogenic cyst, ghost cell, ultrastructure

結 言

石灰化歯原性嚢胞は歯原性上皮に由来し、裏装上皮は立方形あるいは円柱状の基底細胞層と、その内部は星状網に類似した構造からなる。石灰化歯原性嚢胞の組織学的特徴の一つは上皮層と基底細胞層に近接する結合組織中に好酸性の細胞質を有する膨大した *ghost cell* (以下 GC と略) が出現することである。GC は核が消失し、淡い輪郭を示し、一種の変性した角化細胞と考えられている¹⁾。また、GC は本病変以外に歯牙腫^{2,3)}やエナメル上皮腫⁴⁾にも出現し、皮膚の石灰化上皮腫(毛母細胞腫)⁵⁾や頭蓋咽頭

腫などで認められる *shadow cell* と同様のものであることも報告されている⁶⁾。

石灰化歯原性嚢胞は腫瘍の性格を持つことから 1971 年の WHO 分類以降、歯原性腫瘍として扱われているが⁷⁾、未だ統一された見解の得られていない疾患である。これまで本病変の超微構造についても多数の報告がある^{8,9)}。1972 年 Fejerskov と Krogh⁸⁾ は本病変に出現する GC の電顕的検索を行い、多数のトノフィラメント束が膨張した膜性小器官と混在していることを確認した。また、1979 年 Donath ら⁹⁾ は GC の形成過程は爪や毛皮質にみられるような硬い角化に類似していることを報告した。

An ultrastructural study of ghost cells appearing in calcifying odontogenic cyst.

Hiroataka SATO, Yoji ABE and Masanobu SATOH.

(Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Iwate Medical University, Uchimaru

19-1, Morioka, Iwate 020, Japan)

岩手県盛岡市内丸 19 番 1 号 (020)

Dent. J. Iwate Med. Univ. 17 : 178 - 187, 1992

今回、著者らは石灰化歯原性嚢胞に特徴的に出現するGCについて光顕的ならびに電顕的に観察し、その超微構造からGCの形成ないしは成長過程について検討を加えたので報告する。

材料と方法

材料は下顎左側犬歯部の腫脹を主訴に某医を訪れた40歳男性にみられた石灰化歯原性嚢胞で、下顎骨連続離断術により切除された下顎骨の一部である。

軟エックス線撮影：連続離断された下顎骨の一部は軟エックス線装置(Sofron SRO-M 50, TANAKA X-RAY MFG.CO., LTD.)を用い加圧電圧45.0 kVp, 管電流5.0 mA, 露出時間100秒, 焦点-フィルム間距離45.0 cmの条件にて撮影を行った。

組織学的標本作製：切除標本は、pH 7.4の10%中性緩衝ホルマリン液で固定した後、プランクリュクロ液にて脱灰を行い、通法に従って、パラフィン包埋し、薄切片をヘマトキシリン-エオジンにて染色し、検鏡した。

電顕標本作製：電顕標本作製のために、中性緩衝ホルマリンにて固定された標本の一部から組織を1mm³程度の立方形に切出し、2.5%グルタルアルデヒド燐酸緩衝液にて1時間、前固定し、8%ショ糖加0.1M燐酸溶液で一晩洗浄を行った。その後2%四酸化オスミウム固定液で1時間、後固定を行い、エタノール上昇濃度系列を経て、エポン812に包埋した。LKB 2088型超マイクロトームを用い、ガラスナイフおよびダイヤモンドナイフにより超薄切片を作成し、酢酸ウラニールとクエン酸鉛で二重染色を施し、透過型電子顕微鏡H-600A(日立製作所, 加速電圧100Kv)で観察した。

X線分析：二重染色を施さない超薄切片を用い、日立H6010A scan systemで分析部位を確認後、Keve microanalyzer 8000型エネルギー分散型エックス線分析装置にて点分析による元素分析を行った。

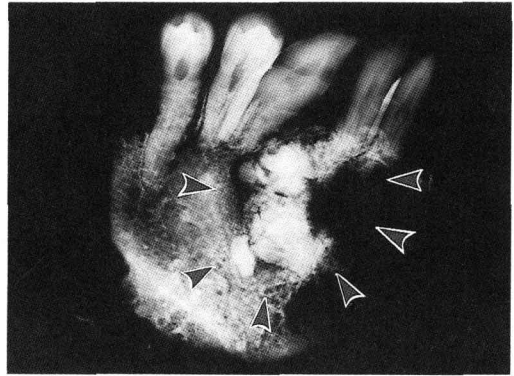


Fig. 1 Roentgenogram showing a radiolucent area associated with an odontoma-like radiopaque area.

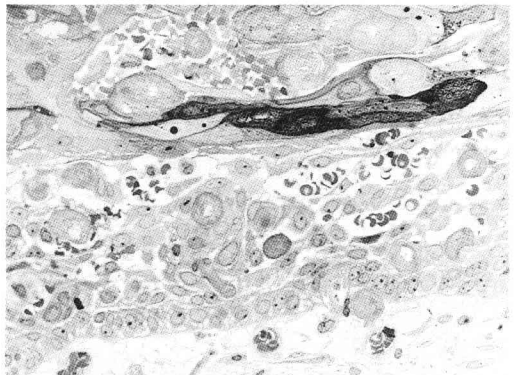


Fig. 2 Light photomicrograph of calcifying odontogenic cyst. (Toluidine blue stain, ×170)

結 果

1) 軟エックス線写真所見：

下顎犬歯部に境界不明瞭な透過性病変が認められ、その中には種々の不透過像が混在していた(Fig. 1)。

2) 組織学的所見：

石灰化歯原性嚢胞の嚢胞壁の上皮細胞層は円柱形あるいは立方形の細胞よりなる基底細胞層と、その内部の星状細胞層から構成されていた。そして、上皮細胞層内および基底細胞層に近接する結合組織中にGCをはじめとする角化傾向を示す細胞が散見された。これらのGCは好酸性の細顆粒状の細胞質を持ち、核が染色されずに抜けたような特徴を示す特異な細胞であった。GCの胞体には時に淡黄褐色の顆粒状

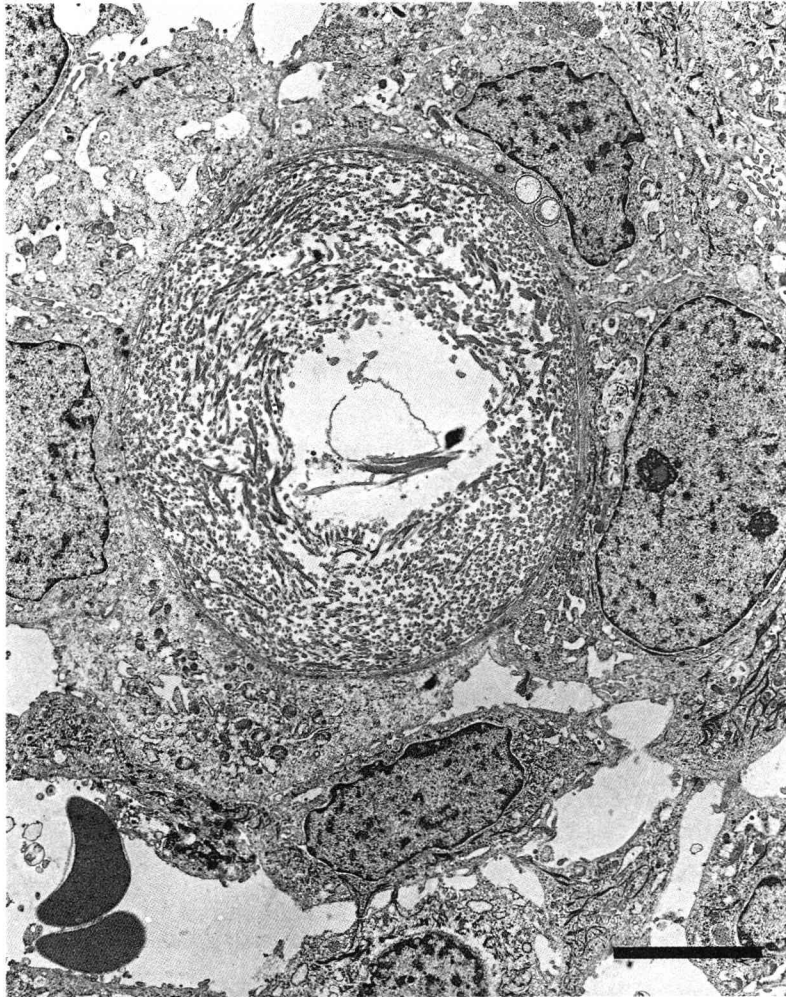


Fig. 3 Ultrastructure of a ghost cell, demonstrating an electron-lucent area with residues of chromatin and nuclear envelope.
Scale bar ; 5 μ m

物も認められた。また、GCや角化傾向を示す細胞はしばしば集塊を形成し、それが多数存在している部位も観察された (Fig. 2)。

3) 電顕的所見:

光顕的に核が染色されないGCは電顕的に核が消失し、その胞体には僅かに核膜やクロマチンの残遺などが認められた (Fig. 3)。また、このような細胞の胞体は膨化し、細胞膜の崩壊が所々にみられ、細胞膜のデスモゾーム結合は不明瞭で痕跡として認められるにすぎなかった。GCの細胞質は種々の太さのトノフィラメント束で満たされ、トノフィラメントの線維束間に

は膨化した膜性小器官がみられた。しかし、極稀に細胞質全体にわたりトノフィラメント束が著明に増加しているにもかかわらず核膜の崩壊や核周腔の拡大などはみられず、核の形態が比較的良好に保たれている細胞が観察された。(Fig. 4)。更にトノフィラメント束が非常に太く膨化し、しかも微細構造も不明瞭なものを多数みるGCも観察された (Fig. 5)。トノフィラメント束が太さを増すとともに、その電子密度が高まり、線維束の高拡大像ではいわゆる硬角化において認められる特有の指紋型が観察された (Fig. 6)。GCの胞体内のトノフィラメント

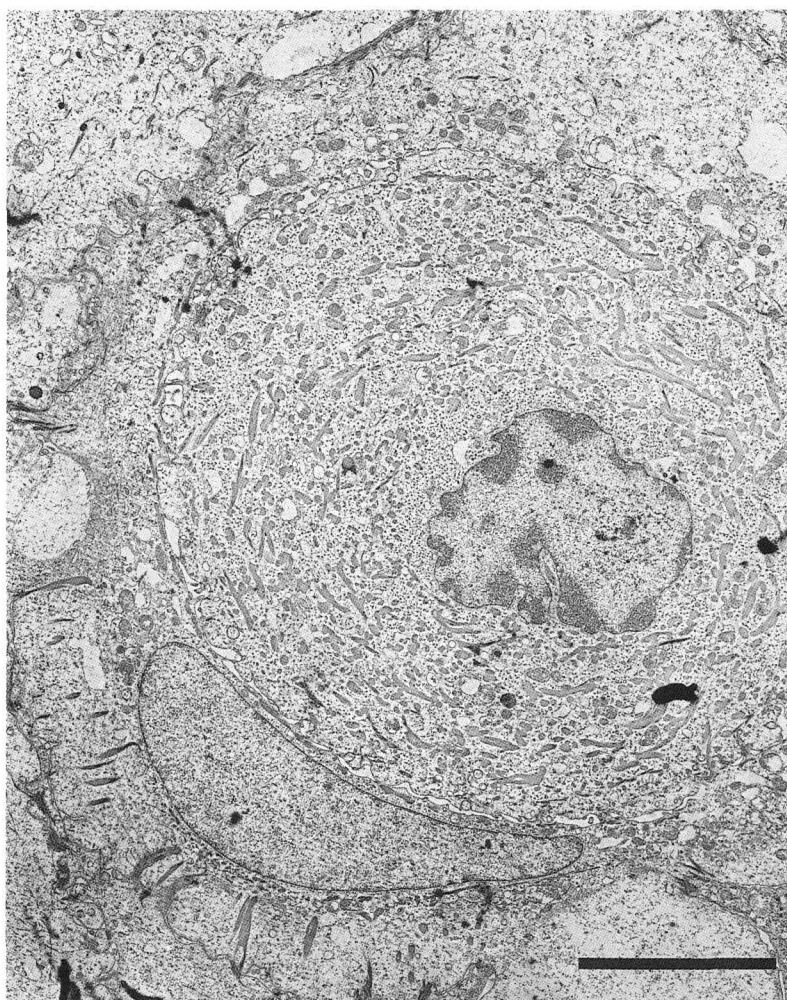


Fig.4 Ultrastructure of a ghost cell with a nucleus at its early stage, and small bundles of tonofilaments in the cytoplasm.
Scale bar ; 5 μ m

の線維束間には core をもった放射状の電子密度の高い針状結晶状 (Fig .7, 8), あるいは微細粒子状の石灰化像が観察された (Fig .9)。しかしながら, 上皮の角化に伴ってみられるケラトヒアリン顆粒は認められなかった。GC の胞体内に光顕的に認められた淡黄褐色の顆粒状物は電顕的には比較的電子密度で限界膜を持った顆粒状物であった (Fig .9)。また, トノフィラメントの線維束間隙にはしばしば電子密度の高い微細粒状の沈着物が認められた (Fig .4, 5, 6)。

4) 元素分析:

GC の胞体内の放射状, 針状の結晶様物 (Fig .7, 8) の元素分析において, カルシウムおよびリンが顕著に検出された (Fig .10 - A)。トノフィラメントの線維束間にみられる高電子密度の固形沈着物 (Fig .9) の元素分析においてもカルシウムおよびリンが検出された (Fig .10 - B)。また, GC 胞体内の光顕的に淡黄褐色を呈し, 電顕的に限界膜をもった顆粒状物 (Fig .9) の分析では硫黄が顕著に認められ, 珪素およびオスミウムも同時に検出された (Fig .10 - C)。

トノフィラメントの線維束間の高電子密度の

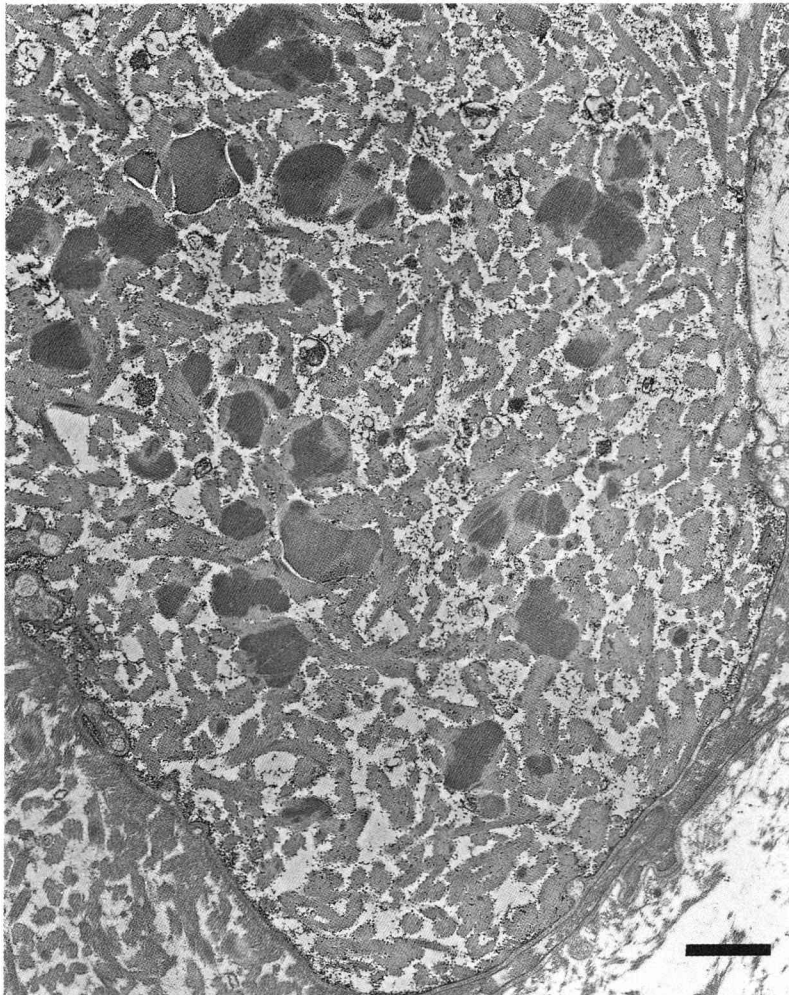


Fig. 5 Large bundles of tonofilaments in the cytoplasm of GC.
Scale bar ; 1 μ m

微細粒状の沈着物 (Fig. 4, 5, 6) および電子密度の高い硬角化をしめすトノフィラメント束 (Fig. 5) の分析ではカルシウムならびにリンは検出されなかった。

考 察

石灰化菌原性嚢胞は Gorlin ら¹⁰⁾ によって 1962 年に最初に記載された疾患で、組織学的に最も特徴的な所見は上皮層内に多数の GC が出現することである。このような GC はヘマトキシリン-エオジン染色で核が染色されず、細胞質は好酸性で膨化、腫大した細胞として、これ

までも種々の観点から検索されてきた。電顕的に GC の細胞質には多数のトノフィラメント束が膨張崩壊した膜性の小器官と混在し、核は崩壊して核膜やクロマチンの残遺がみられるにすぎない¹¹⁻¹⁴⁾。組織化学的には Bennett-Seligman の D. D. D. 反応により細胞質に S-S 基を持つことが明らかとなり、角化した細胞であるとされている¹⁵⁾。また、免疫組織化学的に GC にはフィラグリンの存在が確認されていないことから^{16,17)}、GC は一種の角化過程を経た死細胞であるが、表皮細胞の角化層の扁平細胞とは性質が異なると考えられている。

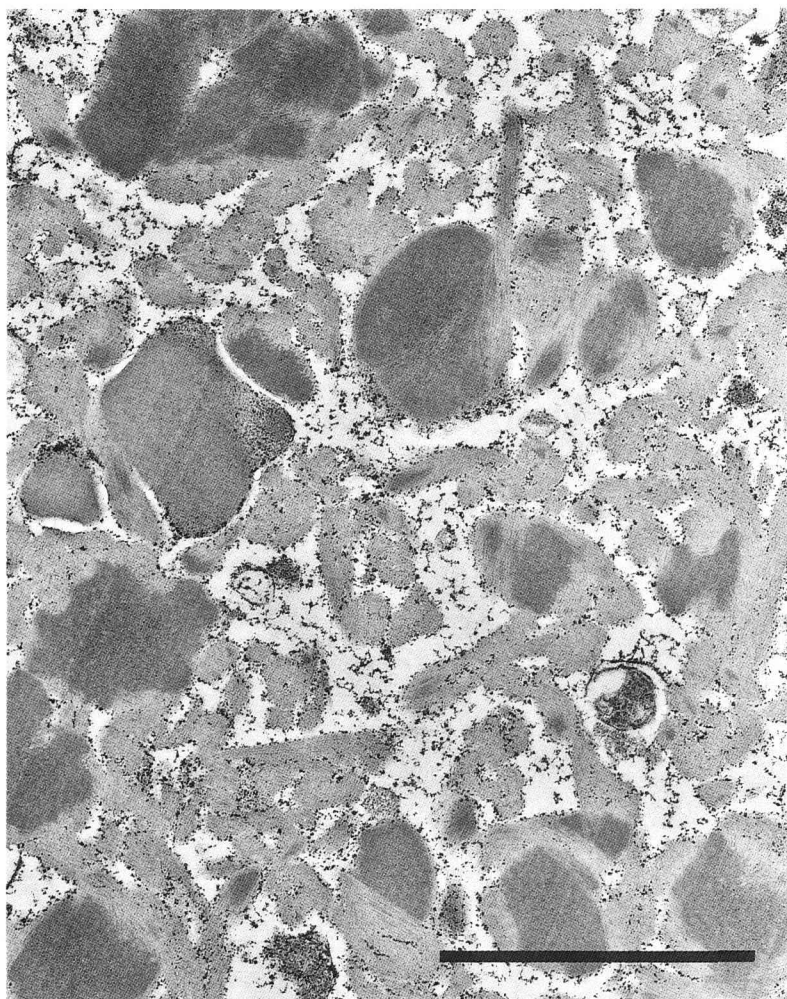


Fig. 6 The finger print pattern in large tonofilament bundles.
Scale bar ; 1 μ m

上皮細胞の角化には表皮細胞の角化のようなケラトヒアリン顆粒が関与するものと爪や毛皮質などにみられるケラトヒアリン顆粒の関与を受けない硬い角化（硬角化）がある⁹⁾。

著者らの今回の電顕的観察ではGCは上皮細胞層内にあって、胞体は膨化腫大し、そこにトノフィラメント束が顕著に出現し、核は崩壊消失し、核の存在した部位には核膜や核質の崩壊残遺物が散見され、細胞膜も崩壊していた。その上、細胞質に顕著なトノフィラメント束がみられるにもかかわらず、核が認められる細胞が上皮細胞層内に観察された。また、詳細に検索

してみるとトノフィラメント束の幅は個々のGCにより種々の変異を示していた。特にトノフィラメント束の幅径が著しく増大した所では硬角化に特有な指紋型¹⁸⁾が認められた。

以上の所見より細胞質に顕著に増生したトノフィラメント束を持ちながら、核が消失していない細胞はGCの初期像と推察され、次第にこのような細胞では核が消失していわゆるGCが形成される一連の角化過程が示唆された。また核の消失が、トノフィラメント束の成長の種々の段階で生じるため、個々のGCごとにトノフィラメント束の幅径が異なるものと考えられた。

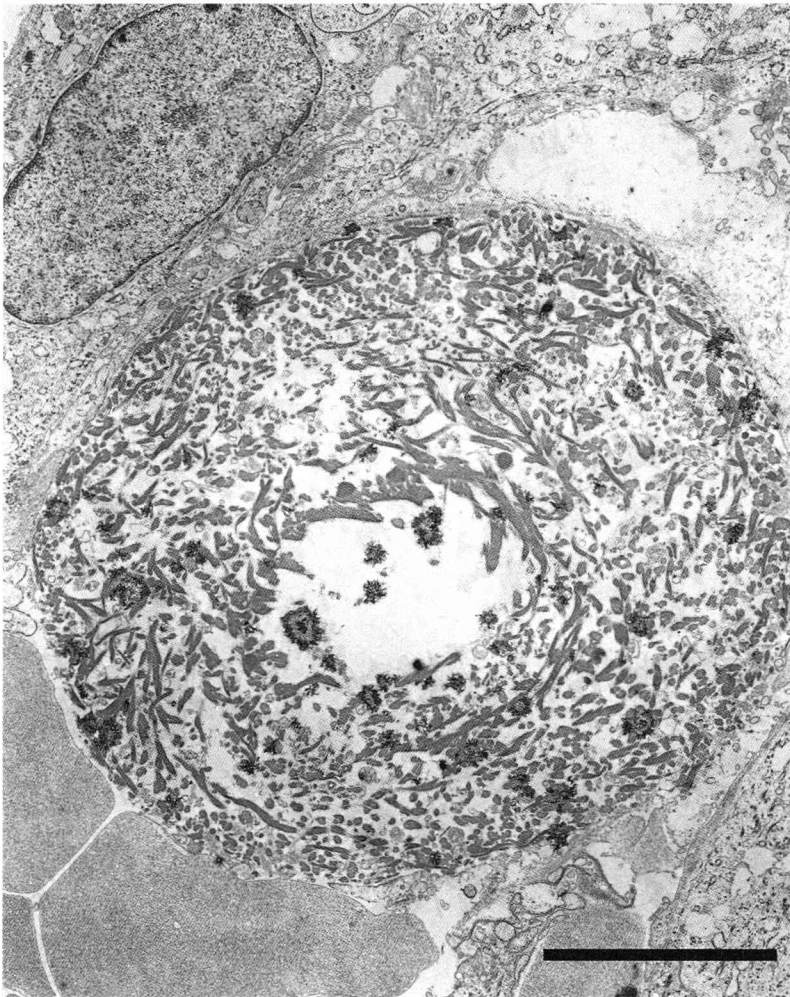


Fig. 7 Intracellular needle-like crystals in GC.
Scale bar ; 5 μ m

この様な細胞質や核の変化を見る細胞は上皮の基底層から表層に向って生じ上皮層のいたるところで散在性にみられ、層状に生ずる硬角化の過程とは多少異なるが、しかしながら電顕形態学的にはGCは基本的には硬角化の過程を経て形成されるものと考えられた。なおトノフィラメント束の幅径の増大はトノフィラメント細線維の凝集によるものか、蛋白成分の添加によるものか、あるいはその両者の結果なのかは明らかにはされていない¹⁵⁾。

GCには電顕的に針状結晶状あるいは高電子密度の沈着物として石灰化が認められた。GC

は生命活動を停止した死んだ細胞であり、その石灰化は異栄養性の石灰化と考えられている¹³⁾。その上、この石灰化は近在するコラーゲンにおける石灰化と同時に起こると報告されているが^{11,14)}著者らの今回の検索では近在のコラーゲンには石灰化は認められなかった。また、GCにおけるトノフィラメント束と石灰化巣については一定の位置的関連は明らかではなかった。

光顕的にGCの胞体内に認められた淡黄褐色の顆粒状物はその電顕的特徴に加えて元素分析で硫黄が顕著に検出されたことなどから脂肪の

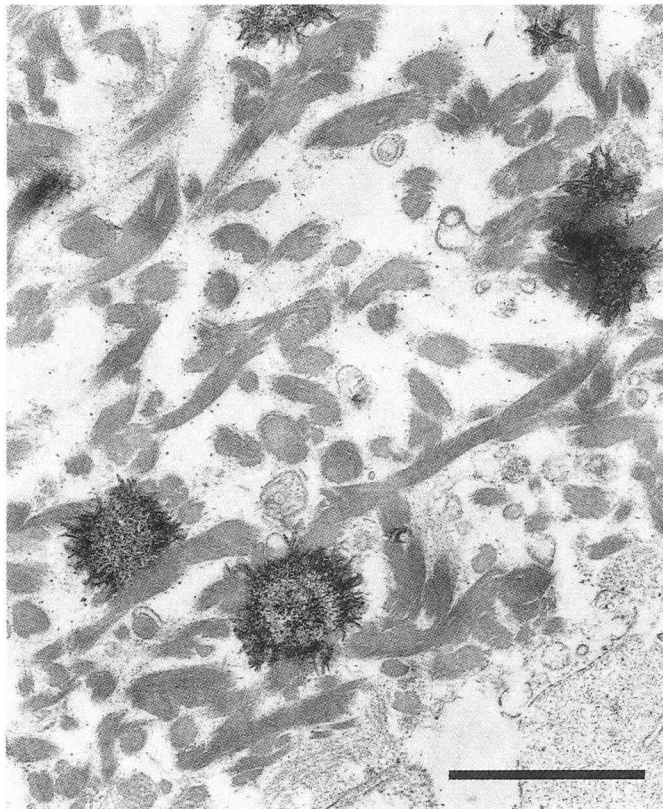


Fig. 8 High magnification of needle-like crystals.
Scale bar ; 1 μ m

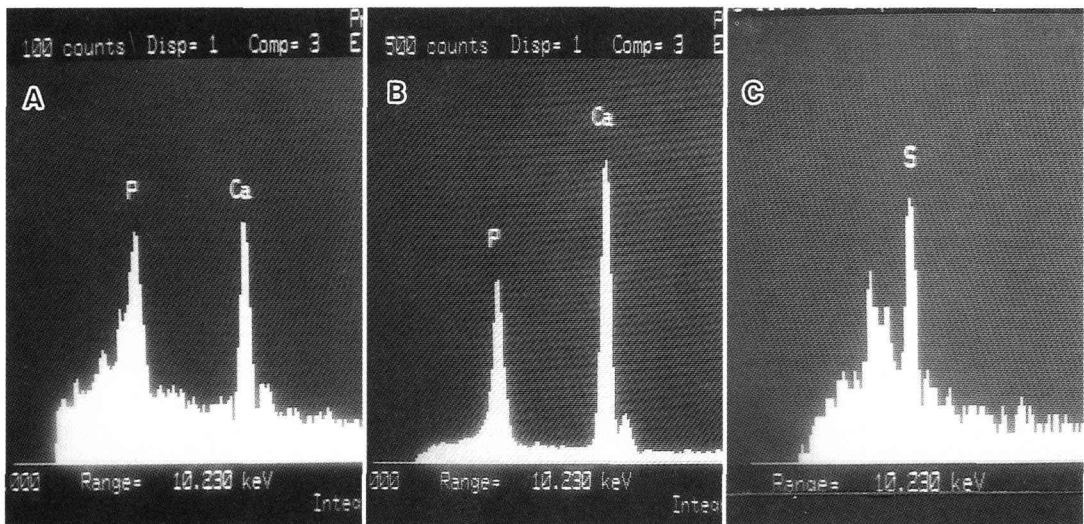


Fig. 10 Electron probe X-ray microanalysis of needle-like crystals (A) , electron-dense deposits (B) , and lipid droplets (C) ,
P (phosphorus) , Ca (calcium) , S (sulfur) .

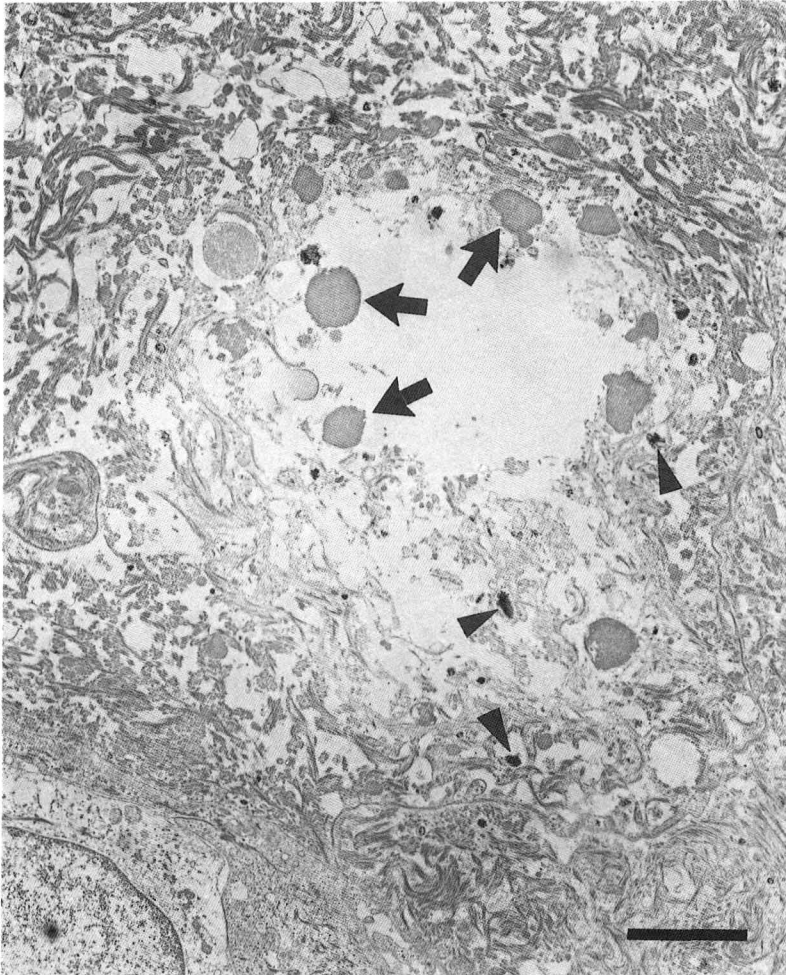


Fig. 9 Lipid droplets (arrows) and electron-dense deposits (arrowheads) in GC.
Scale bar ; 2 μ m

一種とみなされた。ある種の脂質が石灰化に何らかの作用を持つ可能性が示唆されているが¹⁵⁾、今回の検索ではこの点を明らかに出来なかった。GCの膨大は細胞内外の浸透圧の差によるものと考えられているが^{11,14)}、細胞質におけるトノフィラメント束や脂肪滴の増加などもその一因となつたと思われた。

結 論

石灰化菌原性嚢胞に特徴的に出現する ghost cell (GC) を電顕的に観察し、以下の結論をえた。

1. GCは上皮細胞の細胞質に多数のトノフィラメント束が出現し、その幅径を増大させながら核および細胞質の崩壊が生じることにより形成されるものと考えられた。
2. 電顕的にGCの形成過程は爪や毛皮質と同じ硬角化に類似していた。
3. GCに認められた針状結晶様あるいは微細粒子状の石灰化物の元素分析ではカルシウムおよびリンが顕著に認められた。
4. 光顕的に、GC内にみられる淡黄褐色の顆粒状物の元素分析では硫黄が検出され、脂肪の一種であることが示唆された。

謝 辞

電子顕微鏡写真の撮影等にご援助とご指導を頂いた電顕室の皆様に謝意を表します。

本論文の要旨は第81回日本病理学会総会(1992, 5, 16. 仙台)にて発表した。

文 献

- 1) 石川梧朗 : 口腔病理学Ⅱ, 改訂版, 永末書店, 京都, 384 - 386 頁, 1982.
- 2) Levy, B. A. : Ghost cells and odontomas. *Oral Surg., Oral Med. & Oral Path.* 36 : 851 - 855, 1973.
- 3) Sedano, H. E. and Pindborg, J. J. : Ghost cell epithelium in odontomas. *J. Oral Path.* 4 : 27 - 30, 1975.
- 4) Regezi, J. A., Courtney, R. M. and Kerr, D. A. : Keratinization in odontogenic tumors. *Oral Surg., Oral Med. & Oral Path.* 39 : 447 - 455, 1975.
- 5) Hashimoto, K., Nelson, R. G. and Lever, W. F. : Calcifying epithelioma of Malherbe : Histochemical and electronmicroscopic studies. *J. Invest. Dermatol.* 46 : 391 - 408, 1966.
- 6) Lucas, R. B. : Pathology of tumours of the oral tissues, 4th ed., Churchill Livingstone, New York. pp 72 - 76, 1984.
- 7) Pindborg, J. J., Kramer, I. R. H. and Torloni, H. : Histological typing of odontogenic tumours, Jaw cysts and allied Lesions. WHO, Geneva, pp 28, 1971.
- 8) Fejerskov, O. and Krogh, J. : The calcifying ghost cell odontogenic tumor or the calcifying odontogenic cyst. *J. Oral Path.* 1 : 273 - 287, 1972.
- 9) Donath, K., Kleinhans, V. und Gundlach, K. K. H. : Zur Pathogenese der calcifizierenden odontogenen Cyste. (Gorlin-Cyste) *Virchows Arch. A Path. Anat. and Histol.* 384 : 307 - 324, 1979.
- 10) Gorlin, R. J., Pindborg, J. J. and Vickers, R. A. : The calcifying odontogenic cyst-a possible analogue of the cutaneous calcifying epithelioma of Malherbe. *Oral Surg., Oral Med. & Oral Path.* 15 : 1235 - 1243, 1962.
- 11) Chen, S. Y. and Miller, A. S. : Ultrastructure of the keratinizing and calcifying odontogenic cyst. *Oral Surg., Oral Med. & Oral Path.* 39 : 769 - 780, 1975.
- 12) Eda, S., Yanagisawa, Y., Koike, H., Yamamura, T., Kato, T., Noma, H., Inagaki, K. and Kawashima, Y. : Two cases of calcifying odontogenic cyst associated with odontoma, with an electron microscopy observation. *Bull. Tokyo Dent. Coll.* 15 : 77 - 90, 1974.
- 13) Sapp, J. P. and Gardner, D. G. : An ultrastructural study of the calcifications in calcifying odontogenic cysts and odontomas. *Oral Surg., Oral Med. & Oral Path.* 44 : 754 - 766, 1977.
- 14) Otake, S., Ueno, S., Sakamoto, T. : Ultrastructural study of extraosseous calcifying odontogenic cyst. *J. Clin. Electron Microscopy.* 24 : 719 - 720, 1991.
- 15) 枝重夫, 山村武夫, 河内隆男, 渡辺皓司, 春原肇, 鈴木康夫, 江川郁夫, 金子弘, 小宮善昭, 須佐昭彦, 河内博 : Calcifying odontogenic cyst の組織化学的研究. 歯科学報, 67 : 107 - 115, 1967.
- 16) Kakudoh, K., Mushimoto, K., and Shirasu, R. : Calcifying odontogenic cysts : co-expression of intermediate filament proteins, and immunohistochemical distribution of keratins, involucrin, and filaggrin. *Path. Res. Pract.* 185 : 891 - 899, 1989.
- 17) A. R. Ten Cate. ; 平井五郎訳 口腔組織学, 第3版, 医歯薬出版, 東京, 426 - 440 頁, 1991.
- 18) 橋本健 : 皮膚の電顕のみかた, 第1版, 金原出版, 東京, 186 - 214 頁, 1979.