類表皮嚢胞の嚢胞壁細胞の変性過程に関する研究

梁川 哲雄・佐藤 光信・白砂 兼光・吉田 秀夫
前田 憲昭・杉 政和・宮崎 正

Cytological study on degeneration process of the cells in the epidemoid cyst well

Tetsuo YANAGAWA・Mitsunobu SATO・Kanemitsu SHIRASUNA・Hideo YOSHIDA
Noriaki MAEDA・Masakazu SUGI・Tadashi MIYASAKI

緒 言

類表皮嚢胞は外胚葉組織の嵌入によって生ずる嚢胞で口腔領域では主として口腔底にみられる。臨床的に本嚢胞は弾力性のある柔らかい腫瘤として触れ、波動や圧痛を欠くのを特徴とするが、穿刺試験により黄白色の粥状の物質を採取できることが鑑別診断上、重要な手段となっている。すなわち、嚢胞内容液には嚢胞壁を構成している細胞からの分泌物ならびに細胞の変性物が含まれていると考えられる。しかし、どのような機序により嚢胞壁細胞が変性過程を経て嚢胞腔内に移行していくかという点については非常に興味をもたれているが明らかにされていない。

われわれは最近、口腔底に生じた類表皮嚢胞を経験したので、嚢胞壁細胞の変性過程について考えるため、嚢胞壁組織ならびに内容液中に存在する細胞について組織培養法を用いて検索した。

症 例

患 者：■■■■ 36歳 男性。

初 診：昭和52年12月■■日。

主 訴：口腔底の腫脹。

既往歴：特記すべき事項はなかった。

現病歴：約4年前より、患者は口腔底の無痛性腫脹に気づいていたが放置していたところ、腫脹は徐々に増大傾向を示した。昭和52年9月ころより舌の運動障害に伴

図1 実験に使用した類表皮嚢胞の臨床像
口腔底の巨大なる腫瘍により舌が挙上されている。

い発音障害および嚥下障害を自覚するようになったため、某歯科医院を受診したところ、本院当科を紹介されて来院した。

現 症：舌下口腔底中央部に小児手拳大の腫脹があり(図1)、そのため、舌は後上方へ挙上され、舌の運動障害、軽度の発音障害が認められた。腫脹の表面はやや赤味を帯びた正常粘膜でおおわれていた。硬度は弾性硬、可動性であり、圧痛はなかった。試験穿刺により、灰黄白色の粥状物を吸引した。オートガイ下部に軽度の腫脹が認められたが、圧痛はなかった。レントゲン検査の結果、腫瘍の顎骨への侵襲像は全く認められなかった。術前の臨床検査値に特記すべき異常はなかった。

処置および経過：類表皮嚢胞の診断のもとに、嚢胞の摘出は全身麻酔下にて口腔内より行った。腫瘍が喉頭蓋付近にまで拡大していたため、retrograde methodにより経鼻挿管を行った。舌下口腔底正中に縦切を加え、口腔粘膜を剝離後、嚢胞を摘出した。嚢胞の範囲は前方で下顎骨下縁、下方で顎舌骨筋上、後方は茎突舌筋の間にまで及んでいた。嚢胞が巨大であったため嚢胞内容液を吸引、減圧することにより嚢胞壁を一塊として摘出し得

大阪大学歯学部口腔外科学第1講座(主任：宮崎正教授)

The First Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Osaka University, Dental School (Chief: Prof. Tadashi Miyasaki)

受付日：昭和53年7月18日

図 2 嚢胞壁の病理組織像

嚢胞壁内層は重層扁平上皮からなり、最内層の一部には角質化層が観察された。周囲組織には皮膚付属器は認めない。×100

図 3 巨細胞の出現せる嚢胞壁の病理組織像

嚢胞内層は上皮の欠落せる部位があり、それに近隣して巨細胞（矢印）の出現をみる。炎症性細胞浸潤はほとんど認めない。

た。

術後経過は局所的に、また全身的にも良好であり、術前にみられた舌の運動障害は著明に改善し、発音も正常に復した。

摘出材料の検索法

手術によって摘出された材料を以下のように検索した。

組織学的観察法：摘出された嚢胞壁の数か所を10%ホルマリン溶液にて固定後、エタノールにて脱水したのちパラフィン包埋した。切片をヘマトキシリン-エオジン染色したのち、観察した。

電子顕微鏡学的観察法：嚢胞壁の1部を磷酸緩衝4%

図 4 嚢胞壁変性細胞の電子顕微鏡所見

核の濃縮が著明で不均一な電子密度の高い顆粒を有する変性細胞に近隣して肥満細胞（矢印）が存在する。×4,000

グルタルアルデヒド溶液（pH 7.3）中で2時間固定したのち、2%四酸化オスmium溶液で2時間の固定を行い、エタノール系で脱水後、Luft 法¹⁾によりエポキシ樹脂包埋した。超薄切片を4%酢酸ウラニールならびに水酸化鉛の2重染色を施し、日立電子顕微鏡 Hu-12A 型にて観察した。

組織培養法：嚢胞壁組織および嚢胞内容物を無菌的に採取し、以下の方法で培養した。壁組織をハサミで約1 mm 立方の大きさに細切し、その組織片を60 mm 径ペトリ皿に入れ、組織片がペトリ皿底面に十分に付着したのち、増殖培養液を入れ、5%炭酸ガス培養器中で37°Cにて培養した。増殖培養液には Eagle²⁾ の MEM 培地に10%仔牛血清を加えたものを使用した。なお培養液の交換は約4日目ごとに行った。約3週間後、組織片辺縁より増殖してきた細胞を最終濃度0.08%トリフシンおよび1.4%エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (EDTA) を含む脱 Ca^{++} , Mg^{++} リン酸緩衝液 (pH 7.2) にて細胞を採取したのち、同様の増殖培養液にて培養した。

嚢胞内容液約1 ml を6 ml の増殖培養液にて混和したものを60 mm 径ペトリ皿に入れ、上記と同様の方法で培養した。5日間の培養後、約10数個の細胞がペトリ皿上に生着していることを確認したので、内容液中に含まれている生細胞以外の物質を取り除くために MEM で4回単層培養を洗ったのち、同様に増殖培養液中にて培養した。継代培養は組織片より分離した細胞と同様に行った。

結 果

病理組織標本で嚢胞壁をみたとき、嚢胞壁内層は重層扁平上皮によりおおわれ、最内層の一部には角質化層が観察された（図2）。また内層上皮の一部には著明な巨細胞形成部がみられ、巨細胞には2～5核を有する多核細胞も存在していた（図3）。さらに巨細胞形成部に移

図5 嚢胞壁培養細胞2代目

単一核を有する紡錘形の細胞で細胞内に塩基性の顆粒を含む。×100

図6 嚢胞壁培養細胞3代目

細胞は巨細胞となり、核も2核あるいは多核の細胞(矢印)が認められる。×100

行して上皮細胞の欠落像がみられたが、その周囲組織に炎症性細胞浸潤は認められなかった。外層は鬆粗な結合組織からなり、一部に出血巣が認められた。なお、この層に汗腺、皮脂腺、毛嚢などの皮膚付属器はみられなかった。

変性細胞付近を電子顕微鏡にて観察すると、嚢胞壁に存在する変性細胞に著明な核濃縮像がみられた(図4)。変性細胞の細胞質に糸粒体と不均一な電子密度の低い顆粒の存在が認められた。しかし、この細胞に典型的なリソゾーム顆粒を認めることはできなかった。変性細胞に近位して肥満細胞を観察することが多かった(図4)。

嚢胞内容物を試験穿刺により採取し、塗抹標本を作製し、ギムザ染色を施したのちの観察結果は以下のごとくである。内容物は好塩基性の不定形物よりなり、コレステリン結晶を含んでいた。また少数の核のない角質細胞や剝離細胞残渣の存在も認められた。

嚢胞壁細胞および内容液中に存在する生細胞の性質について検索するため、組織培養法により壁組織および内容液からの細胞の分離を試みた。壁組織片をベトリ皿に静置したのち、約3週間の培養後、組織片辺縁からほとんど変性像を示さない細胞の増殖がみられた。

この細胞をギムザ染色したのち観察すると、多数の細胞の細胞質あるいは細胞周辺に塩基性物質の存在がみられた。この細胞を EDTA-トリプシンにて採取し継代培養を行った。初代のものではほとんど変性像を示さなかった(図5)。これに対し、細胞継代数3代目の培養細胞では核周辺の細胞質に著明な顆粒および空胞形成がみられるとともに細胞は巨細胞となった。また培養細胞の一部に多核細胞あるいは核分裂像を示す細胞もみられた(図6)。なお、これらの細胞は多核巨細胞の出現とともに細胞増殖速度が低下し、細胞継代数5代目で死滅した。

嚢胞内容液より分離した細胞も壁組織片からの細胞と同様の所見を示した。すなわち、内容液1mlを増殖培

養液に混和したものを60mm径ベトリ皿に入れ、5日間培養したとき、約10数個の細胞がベトリ皿上に生着していることを確認したので、生細胞以外の他の物質を取り除くためにMEMで4回単層培養を洗ったのち、細胞を観察していたところ、培養初期では全く変性像を示さない紡錘形の細胞であったが、継代培養すると核周囲に空胞形成を示す多核巨細胞となった。なお、この細胞は継代数3代目で死滅した。

考 察

類表皮嚢胞は病理組織学的に嚢胞壁の構造から皮膚付属器官を有する狭義の類表皮嚢胞と表皮構造のみの類表皮嚢胞さらに外胚葉、中胚葉、内胚葉の胚葉が混在している奇形性嚢胞に大別される³⁾。さて、これらの嚢胞内容液中には嚢胞壁を構成する組織の変性産物が含まれていることが強く示唆される。ゆえに、嚢胞内容液と嚢胞壁構造との間に何らかの関係を見出し、これを臨床上診断に応用するために内容液を生化学的に分析しようとする試みがすでになされている⁴⁾。しかし、どのような機序で壁細胞が変性という過程を経て嚢胞内腔へ遊離されるのかという点については異論のあるところである。

われわれは最近、口腔底に生じた典型的な類表皮嚢胞に遭遇した。その組織像をみると嚢胞壁の最内層の一部には著明な角化層がみられた。さらに一部の内層組織に著明な巨細胞形成部がみられ、この部から移行して上皮細胞層の欠落像がみられた。上記の所見は壁細胞が変性し嚢胞内に移行する過程には通常の皮膚組織にみられる角質化変性という道のほかに嚢胞壁内層組織での巨細胞変性も重要な過程であることを示唆している。

上記の巨細胞変性はコレステリン結晶のような異物に対する貪食作用によって生ずると、一般的に考えられている⁵⁾。事実すでに示されている所見、すなわち関節腔内で、尿酸塩をmacrophageが取り込む像⁶⁾、あるいは

破骨細胞⁷⁾の超微構造は貪食作用によって巨細胞変性が生じることを示唆している。この考え方は修復性肉芽腫や巨細胞腫瘍においてもほぼ認められているようである。しかしそれらの細胞の超微構造をみる⁸⁻¹⁰⁾といわゆる食細胞の構造とは異なり lysosome もみられず、細胞小器官はむしろ発達しているように思える。

本症例をみると、変性細胞に近接して多数の肥満細胞が観察された。肥満細胞が有している顆粒にはヒスタミン、セロトニン¹¹⁾に加えて lysosome 内の酵素に類似した水解酵素¹²⁾を保有していることがよく知られている。ゆえに、肥満細胞が壁細胞の変性過程に関与していると考えた。しかし組織像において巨細胞変性が存在する部位に通常の炎症像ならびに異物らしき変性細胞に超微構造においてもいわゆる lysosomal 変性像を示さなかった。以上の結果より巨細胞変性の機序として単なる貪食作用を考えることはできなかった。

われわれは囊胞壁を構成している細胞ならびに囊胞内容液中に剝離されている細胞の性質を検索するためにそれぞれから細胞を in vitro に分離した。分離された細胞はともに培養初期においては変性像を示さない細胞であったが、継代培養すると細胞は徐々に巨大化し、多核細胞ならびに核分裂像を示すものも出現した。その後、細胞増殖速度は著明に低下し、壁組織由来の細胞は継代数 5 代目で、内容液からの細胞は継代数 3 代目で死滅した。すなわち、囊胞を構成している細胞からはかの因子を取り除くため、in vitro に分離された細胞が上記の所見を示したことは、囊胞を構成している細胞自体に多核巨細胞変性を起こし死滅していく、なにか運命的な機構が働いていることを示唆しているかもしれない。上記の細胞がいかなる機序により多核巨細胞が出現したのかは現在不明である。多核巨細胞の成因として、一般的に細胞の融合によって生ずると考えられている。すでにある種のウイルス¹³⁾、ポリエチレングリコールあるいはレゾレンチン¹⁴⁾などが細胞融合能を有することが明らかとなっている。しかし、われわれが観察した培養細胞において、たしかに細胞融合が生じたと思われる所見は得られなかった。むしろ、囊胞由来の培養細胞は著明な核分裂像を示したにもかかわらず細胞の増殖能が著明に低下したことから、細胞は核分裂を通常に行う能力を保有するにもかかわらず細胞分裂をなにかの因子によって抑えられていたように思えた。たとえばカビから抽出されるサイトカラシン B¹⁵⁾という物質は細胞の核分裂を阻止しないけれども細胞分裂を完全に抑えることが知られている。また低濃度のコルセマイドの長期処理によっても同様の現象が起こるといわれている¹⁶⁾。

われわれは現在、囊胞壁を構成している細胞あるいは内容液中に上記の現象を引き起こす要因について検索を行っている。

結 論

口腔底に生じた類表皮囊胞の囊胞壁細胞の変性過程について検索を行い、以下の結果を得た。

1. 囊胞壁内層細胞の変性過程に角質化変性と巨細胞変性の2つの過程がみられた。
2. 巨細胞変化をうけている細胞は lysosomal 変性像を示さず、その周囲組織に炎症反応像は全く認められなかった。
3. 囊胞壁および囊胞内容液より in vitro に分離された細胞は、培養初期において変性像を示さなかったにもかかわらず、継代培養されていく過程において核分裂像あるいは多核を有する巨細胞に変化し、死滅した。

一般的に囊胞壁に生ずる巨細胞出現の機序として異物などに対する貪食作用によって生ずると考えられてきたが、以上の結果は囊胞壁を構成している細胞自体が自発的に多核巨細胞へと変化し死滅していく運命的な機構を保有していることを示唆していると思われる。詳細な機構については現在、われわれの教室で検索を行いつつある。

引用文献

- 1) Luft, J.H.: Improvements in eponxy resin embedding methods. *J Biophy Bioshem Cytol* 9: 409 1961.
- 2) Eagle, H.: Amino acid metabolism in mammalian cell cultures. *Science* 130: 432 1959.
- 3) Meyer, I.: Dermoid cysts (dermids) of the floor of the mouth. *OS OM OP* 8: 1149 1955.
- 4) 鈴木 貢, 他: 口腔底の類皮様囊胞の1例, その病理像と内容液の性状について. *口科誌* 19: 683 1970.
- 5) 新藤潤一, 小沢英浩: 囊胞壁の微細構造第一報, 囊胞壁中の cholesterol 結晶と多核巨細胞について. *口科誌* 23: 431 1974.
- 6) McCarthy, D.J.: Phagocytosis of urate crystals in gouty synovial fluid. *Am J Med Sci* 243: 288 1962.
- 7) Hancox, N.M., and Boothroyd, B.: Ultrastructure of bone formation and resorption. In Clark, J.M. (editor): *Modern Trends in Orthopaedics*, vol. 4, Science of Fractures, London, 1963, Butterworth & Co, Ltd, p 26.
- 8) Sapp, J.P.: An ultrastructural study of Nuclear and Centriolar Configurations in Multinucleated Giant cell lesion. *OS OM OP* 28: 713.
- 9) Einsenstein, R.: Giant cell tumor of Tendon sheath. *J Bone & Joint Surg* 50: 476 1968.
- 10) Hagen, P., Barnnett, R.J. and Lee, F.L.:

- Biochemical and electronmicroscopic study of particles isolated from mastocytoma cells. *J Pharmacol Exp Ther* 126: 91 1959.
- 11) Von orden, L.S. III, Vugman, I.m, Bensch, K.G., and Giarmann, N.J.: Biochemical, histochemical and electron-microscopic studies of 5-hydroxytryptamine in neoplastic mast cells. *J Pharmacol Exp Ther* 158: 195 1967.
- 12) Okada, Y.: Analysis of giant polynuclear cell formation caused by HVJ virus from Ehrlich's ascites tumor cells. Microscopic observation of giant polynuclear cell formation. *Exp Cell Res* 26: 98 1962.
- 13) Poole, A.R., Howell, J.I. and Lucy, J.A.: Lysolecithin and cell fusion. *Nature* 227: 810 1970.
- 14) Carters. B.: Effects of cytochalasins of Mammalian cells. *Nature* 213: 261 1967.
- 15) Stubbefield, E.: Cytogenetics of cells in culture. (ed RJC Harris) Academic Press, New York 1964, p 223.
-