骨巨細胞腫の組織起源に関する考察

——組織化学, 組織培養を中心に——

久留米大学整形外科

小 宮 節 郎

A Study on the Histogenesis of Giant Cell Tumor of Bone

——Histochemical and Tissue Culture Studies——

by

S. Komiya

Department of Orthopedic Surgery, Kurume
University School of Medicine

Giant cell tumor of bone was studied with histochemical and tissue culture techniques, in reference to its histogenesis. Mononuclear stromal cells were mainly composed of histiocytic cells, and addingly the various cells on a fibroblastic line of differentiation, i. e. giant cell tumor of bone was considered to originate from undifferentiated mesenchymal cells showing the bimodal but predominantly histiocytic differentiation. Depending on the circumstances, fibroblastic differentiation might be dominant or metaplasia of histiocytic cells to fibroblastic cells might occur. As to multinucleated giant cells, they could not be clarified neoplastic or reactive. However, there was no relation of nuclear atypism between the multinucleated giant cells and stromal cells, and therefore it is proper to consider that mononuclear cells are the principal tumor cells and histological grading should be based on their atypism.

はじめに

近年, 骨巨細胞腫と骨肉腫が免疫学的交叉反応を示すことから両者は同一範疇のものではないかという考えや, 骨巨細胞腫と悪性線維性組織球腫が細胞構成上類似していることから前者の悪性型が後者ではないかという考え方がでてきている¹⁾。また Jaffe-Lichtenstein の病理組織学的分類は多核巨細胞と基質細胞の両方の形態像に基づくが, その診断基準が人によりまちまちで, そのためか予後との相関関係については意見の一致をみない。こうした諸問題は骨巨細胞腫の本態と組織起源が明確にされていないためによるものである。今回, 組織化学, 組織培養により骨巨細胞の機能, 動態を観察し, これらの諸問題点について考えてみた。

方 法

4例の骨巨細胞腫(GCT)の組織培養を行ない光顕

レベルでの経時的な観察を行なった。さらに培養細胞を透過電顕, 走査電顕にて観察した。培養細胞の食能は horseradish peroxidase の取り込みによりみた。培養技術の詳細については著者の別記論文を参照されたい²⁾。10例に凍結切片を作成し α -naphthyl acetate esterase (α -NAE) 染色, acid-phosphatase (AcP) 染色, alkaline-phosphatase (AIP) 染色を行ない, うち1例は電顕レベルで観察した。また GCTと診断された34例の HE 標本を詳細に検討した。

結 果

α -NAE 染色では殆どどの細胞に陽性所見を認め一部の紡錘形細胞では陰性であった。単核の多角形細胞が(++)、多核巨細胞が(+)であり、単球あるいは組織球性格を有していた。

Lysosome マーカーとなる AcP 染色は多核巨細胞が(++), 単核の多角形細胞が(++)、紡錘形細胞が(+)であった。一方, AIP 染色では一部の紡錘形

細胞が光顕・電顕レベルでも確認できた (Fig. 1). 以上より, GCT は組織球性格をもつ多核巨細胞・多角形単核細胞と, 線維芽細胞系列群の性格をもつ細胞群から構成されていることがわかった.

2. 光顕所見

症例により多様性があるが, 病理形態像を多核巨細胞の数・大きさ・核数, 基質細胞の形態・細胞密度・細胞分裂像・核/細胞質比・核異型・間質の状態 (sinusoidと膠原線維のどちらが dominant か) 等に分けて検討すると予後と最も関係しているのは基質細胞の異型像であった. 基質細胞が異型を示す症例の一部には多数巨細胞の核にも巨大核の出現をみることがあった. しかし, 殆んど全ての基質細胞に異型を認め

Fig. 1 AlPase reaction at a electron microscopic level. The enzyme was present along the cytoplasmic membrane of some of the fibroblastic cells.

Fig. 2 Scanning electron micrograph of cultured multinucleated giant cells showing the process of degeneration; nearly the normal cell having a lot of microvilli (left), degenerating cell having scant microvilli and many pores or fissures (center), and dead cell (right).

る症例においても多核巨細胞の核には全く異型を認めない場合もあり, 基質細胞と多核巨細胞の間には異型性という点に関してははっきりした相関はなかった.

3. 組織培養所見

(1) 光顕所見

倒立顕微鏡下での経時的な観察を行った. 培養開始後, 多核巨細胞がまづシャーレの底面に定着し始め, 次いで多角形の単核細胞の定着をみた. 単核細胞はその後活発な増殖を認めるが, 多核巨細胞は増殖傾向なく短期で (多くが3週間以内) 変性消滅してしまった. その後もしばらくはその根拠を認めるがやがては増殖した単核細胞に覆いかくされていった. 短期に継代を行なったものでも3回目以降には殆んど多核巨細胞を認めることはなかった. このように培養系での増殖能という点からは単核細胞が主たる腫瘍細胞と考えられた.

(2) 走査電顕所見

経時的な走査電顕標本を作成し, 多核巨細胞の形態変化を表面構造の変化として超微視的にとらえた (Fig. 2). 多核巨細胞は中央部の盛りあがりとは特になくやや扁平な形にてシャーレの底面に緊密に定着していた. 表面には辺縁を除いて一面に規則正しく多数の microvilli をみるが, シャーレに接触している部分は長くそれ以外の部分では短かった. 辺縁では殆んど microvilli をみなかった. 軽度の変性像と思われるものでは microvilli の密度・大きさも不規則で断裂像も多くをみた. 細胞表面に種々の小孔や亀裂を認め,

またシャーレ面から detach し始めている像もみた. 完全に変性したものでは細胞像の破壊をみとめた.

(3) 透過電顕所見

培養初期では, 多数の microvilli, 電子密度の高い小型のミトコンドリア, 脂肪滴, 空胞等に特徴づけられる多核巨細胞と単核細胞の混在をみた. 単核細胞では microvilli の発達が著明で多数の脂肪滴, ライソゾーム, 比較的大きいミトコンドリア等の特徴をもつ組織球様細胞が大半を占め, ごく一部に細胞内小器官の乏しい未分化細胞と, やや紡錘形で microvilli が少なく粗面小胞体の発達をみる線維芽細胞様の細胞を認めた. いづれの細胞も

Fig. 3 Electron micrograph of cultured mononuclear cells. They were mainly composed of histiocytic cells and addingly, fibroblastic cells. Undifferentiated cells were also seen, though in a small number.

外科切除標本での電顕像に近似する所見を示すが、培養状況下のためか核の陥入像が目立った (Fig. 3)。

継代を重ねた細胞では線維芽細胞様細胞の占有率が高くなっていた。

(4) 貪食能

各細胞の horseradish peroxidase の貪食像を透過電顕にて観察した。多核巨細胞は中等度、組織球様細胞は高度の貪食像を認めた。一方、線維芽細胞様細胞ではごく軽度の貪食能しかみなかった。

考 察

著者の今回の α -NAE 染色, AcP 染色, AIP 染色の結果から、骨巨細胞腫の基質細胞は組織球様性格を有するものが主体で一部に線維芽細胞系列の細胞が混在していることが証明された。Yoshida⁶⁾ は AcP 染色, AIP 染色, ATP 染色, 5'-nucleotidase 染色の4つの hydrolytic enzyme の活性により多核巨細胞と多角形の単核細胞が組織球に類似していたと述べている。さらに AIP を悪性例での spindle cell の細胞膜に認め、これは熱耐性で type IV であったが、type IV の AIP はある種の腫瘍で認められ悪性化と何らかの関係があると云われており、骨巨細胞腫でもそれがあてはまるのではないかと述べている。

一方、笠原²⁾ は細胞表面マーカーの検索から明らかに macrophage が存在するが、腫瘍関連抗原の検索からこの macrophage と多核巨細胞はともに反応性で真の腫瘍細胞は紡錘形の単細胞であると結論してい

Table 1 Scheme of differentiation of mesenchymal cells.

る。

著者は以前、電顕観察から histiocytic cell, fibroblastic cell とそれらより未分化な細胞群を認め、2相性分化を示す未分化間葉系細胞がその組織起源ではないかと考えた³⁾。今回の結果も併せ考えると histiocytic cell への分化が dominant であるが、細胞のおかれた環境により fibroblastic cell への分化、もしくは histiocytic cell から fibroblastic cell への化生が促進化される可能性が強いことが示唆された (Table 1)。

さて、多核巨細胞についてであるが、tissue culture では変性消滅して長期生存ができなかったが、このことは2つの可能性を秘めていると思われる。即ち、

1. 多核巨細胞は増殖能に乏しいことから true neoplastic cell でなく reactive のものである。
2. neoplastic cell であるが、ミトコンドリアに富んだ細胞であり tissue culture という嫌気性条件下では生存が不利であるに過ぎない。

今回、このことを直接、証明するまでには致らなかったが、著者の光顕レベルでの画像解析処理による研究によると⁵⁾、各症例の基質細胞の核はその大きさのヒストグラムのパターンから I~III 群の3つに大別されるが多核巨細胞の核はどの症例でも I 群に属し、多形性・異型性を示すことはなかった。即ち、主たる腫瘍細胞としての性格は単核基質細胞にあった。

従って、多核細胞が neoplastic か reactive は別としても組織学的悪性度の判定に際しては基質細胞の異型性に着目することが肝要と思われる。

ま と め

1. 骨巨細胞腫の組織培養、組織化学的染色をおこなった。
2. 骨巨細胞腫は histiocytic cell を主体とし、他 fibroblastic line 上の細胞から成っていた。

3. 未分化間葉系の細胞から発生するが、主体は histiocytic cell であり、この細胞が細胞環境の変化により fibroblastic line 上の細胞へ分化すると思われた。
4. 主たる腫瘍細胞は単核基質細胞であり、組織学的悪性度はその異型性に基づくべきものと考えられた。

参 考 文 献

- 1) Hashimoto, K., Morimoto, K., Akeho, M., Yamamoto, T.: Electron microscopic observation of the primary malignant fibrous histiocytoma; comparison with the giant cell tumor of bone and the giant cell tumor of tendon sheath. *J. Clin. Electron Microscopy*, 12: 730-731, 1979.
- 2) 笠原勝幸, 他: 骨巨細胞腫組織中の宿主由来細胞について, 臨整外, 15: 1016-1023, 1980.
- 3) Komiya, S.: Electron microscopy of bone tumors-osteosarcoma, chondrosarcoma, and giant cell tumor of bone. *Jpn. Orthop. Ass.* 56: 635-657, 1982.
- 4) 小宮節郎, 宮城成圭: 骨軟部腫瘍の組織培養, 整形外科と災害外科 31: 622-628, 1983.
- 5) Komiya, S.: Prognostic factors in giant cell tumor of bone. (unpublished)
- 6) Yoshida, H., Akeho, M., and Yumoto, T.: Giant cell tumor of bone. Enzyme histochemical, biochemical and tissue culture studies. *Virchows Arch. [Pathol. Anat.]* 395: 319-330, 1982.

質 問

熊本大学 北川 敏夫

検索したすべての症例にアルカリフォスファターゼ陽性の部位があったでしょうか。アルカリフォスファターゼ陽性のみで Osteoblastic origin の細胞とするのは不安のような気がします。

解 答

久留米大学 小宮 節郎

ごく一部の細胞に AIPase 染色陽性の細胞をみた。この細胞は endothel とは異なり osteoblast と考えられる。講演中にも述べたが、本腫瘍はあくまでも組織球様細胞が主体で、線維芽細胞がこれに次ぎ、さらに上述の如く一部に osteoblast を認めることから 2 相性の分化傾向を示すと考えることができる。