頭蓋咽頭腫における石灰化巣形成過程の電子顕微鏡的観察

佐藤 一史 久保田紀彦・林 実 山本信二郎*

Fine Structural Study of the Mineralization Process in Craniopharyngioma

Kazufumi SATO, Toshihiko KUBOTA, Minoru HAYASHI and Shinjiro YAMAMOTO*

Department of Neurosurgery, Fukui Medical School, Fukui; *Department of Neurosurgery, University of Kanazawa, Kanazawa

Abstract

The calcification process in eight cases of adamantinomatous craniopharyngioma was studied at the ultrastructural level. The neoplastic cells, which constituted the internal and intermediate zones of the tumor, frequently displayed abundant cytoplasmic tonofibrils and, occasionally, keratinization. In most of the degenerated keratinized cells, the intracytoplasmic organelles had disappeared. In these cells, membrane-bound vesicles measuring approximately 0.15 to 0.5 μm in diameter, were frequently seen among the numerous tonofibrils. Needle-like, mineralized crystals were precipitated some vesicles. Tiny, calcified vesicles were sometimes aggregated and had coalesced with the adjacent tonofibrils to form a large, calcified mass.

These findings suggest that membrane-bound vesicles are derived from degenerated keratinized cells and play an important role as initial nidi of calcification in craniopharyngioma. Remnants of tonofibrils of degenerated cells may also serve as foci of mineralized crystal deposition.

Key words: craniopharyngioma, calcification, electron microscopy

I はじめに

頭蓋咽頭腫は、全頭蓋内腫瘍の2.5~5.8%^{20,22,23)}を占め、日本人に比較的多い脳腫瘍である。本腫瘍は石灰化を伴い、やすい脳腫瘍として知られているが、その石灰化巣の超微細構造に関する記載は少ない^{10,12,17,18)}。生体組織の石灰化の機序に関して、Anderson¹⁾とBonucci⁶⁾は米国と伊国で別々に、正常発育動物の関節軟骨の石灰化巣内に、超微細構造上単位膜に包まれた直径0.03~1.0 μm の類円形の小体を初めて見出し、matrix vesicle¹⁾あるいはcalcifying globules⁶⁾と呼称した。そして、この小体に針状結晶の沈着物を観察し、この小体が石灰沈着の起こる最初の場合であるとした。この事実は、生理的・病的石灰化の一般的な初期像の一つとして現在広く認められている^{2,3)}。また、最

近では石灰化におけるミトコンドリアの機能が重視されており、実際にミトコンドリアに最初の石灰沈着が起こることが報告されている^{3,11,15)}。

今回我々は、手術的に摘出され電顕的に石灰化を認めえた頭蓋咽頭腫の石灰化巣の観察を行った。前述の類円形の石灰化小体は、本腫瘍の石灰化巣内にも観察しえた。これらの小体の形態を主眼に、本腫瘍の石灰化巣の形成過程を検討したので報告する。

II 対象および方法

頭蓋咽頭腫16例につき電顕的観察を行い、このうち石灰化像を捉ええた8例を対象とした。

手術により摘出した材料をただちに2.5%グルタルアルデヒド固定液(pH 7.4の0.1 M カコジル酸緩衝液)で約2

福井医科大学脳神経外科 *金沢大学脳神経外科

Address reprint requests to: K. Sato, M.D., Department of Neurosurgery, Fukui Medical School, 23 Shimoaizuki, Matsuoka-cho, Yoshida-gun, Fukui 910-11.

受稿 1986年9月8日 受理 1987年6月15日

時間固定し、1%オスミウム酸による後固定を約2時間行った。上昇エタノール系列で脱水後、エポン812-アラルダイト502混合樹脂で包埋した。超薄切片はダイヤモンドナイフで作製し、酢酸ウラールとクエン酸鉛で染色し、日立H-600型透過電顕で観察した。また、2例の超薄切片において、エネルギー分散型微小X線分析装置(KeveX)を用い近接スペクトルの定性分析を行った。

Ⅲ 結 果

1. 光学顕微鏡的観察

石灰化を認めた8例は、すべてエナメル上皮腫型の頭蓋咽頭腫であった(Fig. 1)。腫瘍実質細胞は基底層、中間層、および内層の3層構造を成し、後2者の細胞層内には角質細胞巣を認め、腫瘍細胞は数個が集合し島状に散在していた。これらの細胞の胞体はエオジン好性で微細線維状であり、核は円形あるいは楕円形であるが、核が消失した細胞も多く認められた。角質細胞巣内の石灰化は8例全例に認められ、HE染色で紫紅色に染まる顆粒状あるいは同心円状構造を示した。また、腫瘍の間質内および腫瘍周囲のグリオーシス内の石灰化を各1例に認めた。

2. 電子顕微鏡的観察

基底層を形成する細胞は一般に円柱形で、細胞内には径5~6 nmの微細線維(tonofilament)が集合して束状となり、0.1 μ m 前後の線維束を形成していた(Fig. 2)。線維は細胞の長軸にはほぼ平行に、あるいは不規則に走行しており、一

Fig. 1 Light photomicrograph of an adamantinomatous cranio-pharyngioma showing islands of keratinized cells associated with tiny calcified masses (arrow). HE stain, $\times 260$.

部の tonofilament は desmosome に結合し、いわゆる desmosome-tonofilament complex を形成していた。中間層において tonofilament はその数を増し、互いに癒合する傾向を示した。内層の細胞は一般に胞体が小さく星芒状であり、細胞間隙の拡大をみた。中間層および内層には胞体の大きな角質細胞が散在していた。これらの細胞には核の残存しているものと消失したものが存在した。核の残存して

Fig. 2 Electron photomicrograph of the neoplastic cells in a basal zone of the tumor. Prominent tonofilaments, as well as numerous desmosomes, are present. Bar=1 μ m.

Fig. 3 Large numbers of stout tonofibrils are seen in a keratinized cell located in the intermediate zone. Bar=1 μ m.

Fig. 4 Degenerated keratinized cells exhibiting many remnants of tonofibrils and cellular debris. An interrupted unit membrane is observed as well (arrows). Bar=1 μ m.

いる細胞では、核は切れ込みが多く不整形であり、胞体内には平常 tonofilament が多数集簇し、径 $0.2\sim0.7\mu\text{m}$ の電子密度の高い線維束 (tonofibril) を形成していた (Fig. 3). Tonofibril はほぼ核を取り囲むように走行し、線維間には遊離リボソーム、粗面小胞体、ミトコンドリア、ゴルジ装置が広く分布していた。一方、核の消失した角質細胞の胞体は、全体に明るいことが多かった (Fig. 4). これらの細胞の tonofibril の電子密度は、一般に低下していた。細胞膜は消失していることが多いが、角質細胞が互いに隣接する部分では不連続の単位膜を認めることがあった。これらの変性した角質細胞の tonofibril 間には、細胞内小器官の残屑に混じて直径 $0.15\sim0.5\mu\text{m}$ の多数の類円形小体の出現を見た (Fig. 5A). そして、一部の小体には長さ $0.05\sim0.15\mu\text{m}$ 、径約 10nm の針状結晶の集積が認められ、これは小体の膜上あるいは内部に放射状・同心円状に蓄積していた (Fig. 5B). これらの石灰化小体に針状結晶が多数付着した状態では、その膜構造は不明瞭であった。また、この石灰化巣の一部が tonofibril と癒着している部分も認められた (Fig. 6). 石灰沈着の大きな部位では針状結晶は多数の tonofibril 上に沈着し、その周囲にも石灰沈着を多数認めた (Fig. 7). Tonofibril 間に針状結晶の集積が及ぶと、1個の細胞全体を埋め尽くすほどの大きな石灰化巣となり (Fig. 8), その中心部にはいまだ針状結晶の付着を見ない tonofibril の一端を認めることがあった。

微小 X 線分析では、カルシウムと磷に大きなピークが認められた (Fig. 9). また、メッシュによる銅のピークも認めた。

Fig. 5 A: Membrane-bound vesicles (arrowhead) in a degenerated keratinized cell. Some of the vesicles contain needle-shaped crystals (arrow). Bar= $0.25\mu\text{m}$. B: A vesicle showing radial accumulation of needle-shaped crystals. Bar= $0.25\mu\text{m}$.

Fig. 6 Abundant calcified vesicles, some adherent to tonofibrils, are seen. Bar= $1\mu\text{m}$.

Fig. 7 A large, calcified conglomeration comprising numerous calcified tonofibrils. Bar= $1\mu\text{m}$.

Fig. 8 A huge, calcified mass consisting of coalesced fibrillar and vesicular calcified material. Bar= $1\mu\text{m}$.

Fig. 9 X-ray spectrum obtained from a sample of the mineralized material, showing peaks for calcium (CA) and phosphorus (P). The copper (CU) peak reflects the activity of the underlying copper support grid. Chloride (CL) may originate from the craniopharyngioma tissue.

IV 考 察

頭蓋咽頭腫の角質細胞巢内に石灰化が生じることは、光顕上古くから知られている⁸⁾。今回の検索においても、腫瘍実質の上皮細胞層内の石灰化のほとんどは角質細胞巢内に認められた。本腫瘍の石灰化の超微細構造に関する今までの記載のうち、Ghatak ら¹⁰⁾は keratin すなわち tonofibril を含んだ角質細胞由来の嚢胞内に小石灰化巣を認め、またこの嚢胞に隣接した大きな石灰沈着を観察した。高倍率の観察では、この大石灰化巣は針状結晶の集合体であるとしている。Landolt¹⁸⁾は、本腫瘍にみられる角化を皮膚における生理的な角化像⁷⁾と対比し、異常角化の一形態であるとしている。そして、homogeneous bundle (tonofibril) 間には細胞の残骸のみが存在したとし、その一部に tonofibril に付着した針状結晶の集塊を認めた。我々は初めて、超微細構造上変性に陥った角質細胞の tonofibril の間に単位膜に包まれた直径0.15~0.5 μm の類円形の小体を観察した。そして、一部の小体にはその膜上あるいは内部に針状結晶の沈着がみられた。これが超微細構造上、頭蓋咽頭腫の石灰化巣形成におけるもっとも初期の形態であると考えられる。

今回、頭蓋咽頭腫に認められた石灰化小体の本態については、以下の2つの可能性が考えられる。まず第1は、matrix vesicle である。Matrix vesicle は軟骨^{1,6)}、骨⁵⁾、歯

芽^{4,9)}などの生理的石灰化組織のみならず、aortic valve¹³⁾、meningioma^{14,16)}、osteogenic sarcoma¹⁹⁾などに生じる病的石灰化巣にもその存在が指摘されている。この matrix vesicle の成因に関して、Rabinovitch ら²¹⁾は、①細胞突起よりの出芽、②細胞内で形成された構造物の細胞外への突出、③細胞の変性、崩壊、④細胞より分泌された subunit の細胞外での集合、の4つの可能性を想定している。第2の可能性はミトコンドリアである。石灰化巣形成におけるミトコンドリアの機能は、特に生化学的また形態学的にも注目されているが、この点に関しては Anderson³⁾の総説に詳しい。ミトコンドリアに始まった石灰化の電顕像は、松果体部の胚芽腫³⁾、下垂体腺腫¹¹⁾、単純ヘルペス脳炎¹⁵⁾などにおいて報告されている。

微小X線分析では、カルシウムと磷に明らかなピークが認められており、石灰化巣は水酸化磷灰石 (hydroxyapatite) より形成されていることが示唆された。この hydroxyapatite は、生理的 病的石灰化巣におけるもっとも一般的な物質である³⁾。

我々は、本腫瘍の石灰化巣増大の機序について次のように推論した。まず初めに、膜に包まれた類円形小体への針状結晶の沈着が起こる。次に、これらの多数の小石灰化巣は互いに癒合し、またその一部は tonofibril に付着するが、いったん tonofibril に付着すると針状結晶はその付着部に沿って拡がる。そして、ついには針状結晶が各 tonofibril 間の空隙をも埋め尽くすように集積し、類円形小体内の石灰化と混在して大きな1つの石灰化巣を形成すると考えられた。

V 結 語

頭蓋咽頭腫8例につき、石灰化巣を中心に電顕により観察を行った。本腫瘍の大部分の石灰化は、変性した角質細胞に出現した多数の類円形小体内に針状結晶構造物が沈着することにより始まる。この小石灰化巣は隣接する多数の tonofibril にも波及し、1つの大きな石灰化巣を形成するものと推定された。

文 献

- 1) Anderson HC: Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage. *J Cell Biol* 41: 59-72, 1969
- 2) Anderson HC: Matrix vesicle calcification. *Fed Proc* 35: 105-108, 1976
- 3) Anderson HC: Calcification processes. *Pathol Annu* 15: 45-75, 1980
- 4) Bernard GW: Ultrastructural observations of initial calcification in dentine and enamel. *J Ultrastruct Res* 41: 1-17, 1972
- 5) Bernard GW, Pease DC: An electron microscopic study of ini-

- tial intramembranous osteogenesis. *Amer J Anat* 125: 271-290, 1969
- 6) Bonucci E: Fine structure and histochemistry of "calcifying globules" in epiphyseal cartilage. *Z Zellforsch* 103: 192-217, 1970
 - 7) Brody I: The ultrastructure of the tonofibrils in the keratinization process of normal human epidermis. *J Ultrastruct Res* 4: 264-297, 1960
 - 8) Critchley M, Ironside RN: The pituitary adamantinomatous. *Brain* 49: 437-481, 1926
 - 9) Eisenman DR, Glick PK: Ultrastructure of initial crystal formation in dentin. *J Ultrastruct Res* 41: 18-28, 1972
 - 10) Ghatak NR, Hirano A, Zimmerman HM: Ultrastructure of a craniopharyngioma. *Cancer* 27: 1465-1475, 1971
 - 11) Ilse BG, Ryan N, Kovacs K, Ilse D: Calcium deposition in human pituitary adenomas studied by histology, electron microscopy, electron diffraction and X-ray spectrometry. *Exp Pathol* 18: 377-381, 1980
 - 12) 石倉 彰: 頭蓋咽頭腫の組織学的研究 —光学顕微鏡的・電子顕微鏡的観察— 十全医会誌 83: 639-658, 1974
 - 13) Kim KM: Calcification of matrix vesicles in human aortic valve and aortic media. *Fed Proc* 35: 156-162, 1976
 - 14) Kubota T, Hirano A, Yamamoto S, Kajikawa K: The fine structure of psammoma bodies in meningocytic whorles. *J Neuropathol Exp Neurol* 43: 37-44, 1984
 - 15) Kubota T, Kusaka H, Hirano A, Llena J: Ultrastructural study of early stage of calcification in herpes simplex encephalitis. *Acta Neuropathol (Berl)* 68: 77-79, 1985
 - 16) Kubota T, Sato K, Yamamoto S, Hirano A: Ultrastructural study of the formation of psammoma bodies in fibroblastic meningioma. *J Neurosurg* 60: 512-517, 1984
 - 17) Landolt AM: Die Ultrastruktur des Kraniopharyngiomas. *Schweiz Arch Neurol Neurochir Psychiatr* 111: 313-329, 1972
 - 18) Landolt AM: Ultrastructure of human sella tumors. *Acta Neurochir (Wien)* 22 [Suppl]: 104-119, 1975
 - 19) Lee WR, Laurie J, Townsend AL: Fine structure of a radiation-induced osteogenic sarcoma. *Cancer* 36: 1414-1425, 1975
 - 20) 脳腫瘍全国統計委員会: 脳腫瘍全国集計調査報告, vol. 5. 1984, p 11
 - 21) Rabinovitch AL, Anderson HC: Biogenesis of matrix vesicle in cartilage growth plates. *Fed Proc* 35: 112-116, 1976
 - 22) Russell DS, Rubinstein LJ: *Pathology of Tumours of the Nervous System*, ed 4. London, Edward Arnold, 1977, pp 32-35
 - 23) Zülch K: *Brain Tumors*. New York, Springer, 1965, pp 228-233
- 〔別刷請求先: 〒910-11 福井県吉田郡松岡町下合月23, 福井医科大学脳神経外科, 佐藤一史〕