

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über das Vorkommen von Cilien in Meningeomen*

J. CERVÓS-NAVARRO und J. VÁZQUEZ

Institut für Neuropathologie der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. G. KERSTING)

Eingegangen am 10. Juni 1966

Die Elektronenmikroskopie hat für alle Cilien und Flagellen tierischer und pflanzlicher Zellen trotz einiger Unterschiede in den ciliaren Strukturen ein einheitliches Konstruktionsprinzip zur Darstellung gebracht. Darüber hinaus ist durch sie deutlich geworden, wie verbreitet die Cilien in den Körperorganen und in den Geweben sind. Einmal, weil das Elektronenmikroskop das Vorhandensein von Cilien in Zellen bestätigt hat, deren Vorkommen in der lichtmikroskopischen Ära trotz gelegentlicher Erwähnungen von vereinzelt Autoren nie sicher festgestellt wurde. Zum anderen konnte das Vorhandensein von Cilien in Zellarten gezeigt werden, in denen sie bis dahin unvermutet waren.

Obwohl die Anwesenheit von Cilien in den experimentellen Nephromen bei Hamstern schon früh elektronenmikroskopisch beschrieben wurde (MANNWEILER und BERNHARD, 1957), sind weitere Befunde über Cilien bei Tumorzellen bis heute spärlich geblieben. Im ZNS und seinen Häuten konnten wir in der Literatur mit Ausnahme eines Kleinhirnsarkoms (RAMSEY und KERNOHAN, 1964) keinen entsprechenden Befund finden.

In den verschiedenen elektronenmikroskopischen Arbeiten über Meningeome wird lediglich bei GUSEK (1962) erwähnt, daß im Golgi-Feld häufig ein oder zwei Centriolen gefunden wurden. Demgegenüber waren in den von uns untersuchten Meningeomen Cilien wiederholt zu erkennen. In der vorliegenden Arbeit wird über diese Befunde berichtet.

Material und Methoden

Untersucht wurden 3 angiomatöse, 3 fibromatöse und 14 endotheliomatöse Meningeome. Bei der Operation wurden Tumorstücke entnommen und bei einem Teil der Fälle sofort in isotonischer Lösung mit 1% Osmiumtetroxyd und 1% Kaliumbichromat (pH 7,2) für ca. 1—2 Std fixiert. Bei den übrigen Fällen wurden die Stücke vor der Fixierung in OsO_4 für 3 Std in eine gepufferte 5%ige Glutaraldehydlösung gelegt. Die Entwässerung erfolgte über die Acetonreihe. Ein Teil des Materials wurde einer Nachkontrastierung im Block mit 0,5%igem Uranylacetat und 1%iger Phosphorwolframsäure unterzogen. Die Einbettung erfolgte teils in Vestopal W, teils in Epon. Die Schnitte wurden meistens mit Bleihydroxyd nachkontrastiert. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden mit dem Siemens-Elmiskop I durchgeführt. Cilien, Basalkörper und Centriolen wurden nur in einigen Schnitten von einem Meningeom (Nr. 10) gezielt aufgenommen, und zwar nur dann, als ihr häufiges Vorkommen in diesem Tumor bereits aufgefallen war. Im übrigen wurden sie in Bildern gefunden, die in bezug auf Cilien ungezielt aufgenommen worden waren.

* Herrn Prof. GERD PETERS zum 8. 5. 66 in Verehrung gewidmet.

Beschreibung der Befunde

In der Tabelle wurde das Vorkommen von Cilien bei den untersuchten Meningeomen zahlenmäßig zusammengestellt und mit der Zahl der Zellabschnitte, die elektronenmikroskopisch untersucht wurden, und der darunter angetroffenen Zellkerne in Beziehung gebracht. Die Basalkörper und die mit den Cilien verwandten Strukturen wurden nur dann erfaßt, wenn sie allein gefunden wurden, d.h. daß ein Cilium mit Basalkörper oder ein Basalkörper mit dem zweiten Centriolus nur als Cilium bzw. als Basalkörper gezählt wurden. Gebilde, die sich im Schnitt nicht deutlich darstellten, auch wenn sie mit großer Wahrscheinlichkeit als Cilien oder diesen verwandte Strukturen gedeutet werden konnten, wurden in der Tabelle nicht erfaßt. Waren auf einem Ausschnitt Basalkörper nur sehr schwer, wohl aber ihre Wurzelfasern deutlich zu erkennen, so wurde hier eine Ausnahme gemacht. Aus diesem Grunde sollte die Zahl der tatsächlich vorhandenen Cilien in den untersuchten Zellabschnitten etwas höher liegen als diejenige, die tabellarisch erfaßt wurde.

Tabelle

Tumor Nr.	Zahl der angetroffenen Zell- anschnitte	Zellkerne	Zahl der				
			Cilien	Basal- körper	Diplo- somen	Centriolen	
1	778	214	1	1	1	4	endothelio- matös
2	1348	86	3	1	—	2	
3	453	68	—	—	—	2	
4	177	75	2	1	—	—	
5	1251	408	3	6	—	2	
6	348	87	—	—	1	1	
7	184	49	—	1	—	1	
8	1848	411	4	6	1	4	
9	1491	204	3	4	—	—	
10	1416	335	16	10	2	1	
11	204	41	4	—	—	3	
12	435	59	—	1	—	1	
13	748	130	2	7	—	2	
14	393	41	1	1	—	—	
15	766	283	—	2	—	1	fibromatös
16	1133	138	6	4	—	3	
17	596	105	3	2	—	—	
18	940	153	—	—	—	—	angiomatös
19	1352	167	—	—	1	1	
20	422	131	—	—	—	—	

Trotz dieser Einschränkung zeigen die tabellarisch dargestellten Ergebnisse, daß Cilien bei Meningeomen ein seltener Befund sind. Darüber hinaus fällt auf, daß die angiomatösen Meningeome im Gegensatz zu den endotheliomatösen und fibromatösen keine Cilien bilden. In der Zusammenstellung ist allerdings die Zahl der angiomatösen Meningeome geringer als die der beiden anderen Gruppen. Dies macht weitere Untersuchungen erforderlich, welche das Fehlen von Cilien bei diesen Tumoren bestätigen sollen. Bei dem in Nr. 19 dargestellten Diplosom waren mit Sicherheit Wurzelfasern zu erkennen. Ebenso waren in vier endothelio-

matösen und einem fibromatösen Meningeom keine Cilien zu erkennen; wohl aber zeigten sie mehrere Basalkörper bzw. Centriolen.

Während die Basalkörper als ein unmittelbarer Teil der Cilien anzusehen sind, sind die Centriolen selbständige Strukturen, die auch bei cilienlosen Zellen vorkommen können. Wir haben sie jedoch als verwandte Strukturen der Cilien aufgefaßt, weil sie an der Entwicklung derselben beteiligt sind. In einer Reihe von Bildern läßt sich eine solche Entwicklung ziemlich ununterbrochen rekonstruieren. Als erstes erkennt man zwei als Diplosomen angeordnete Centriolen.

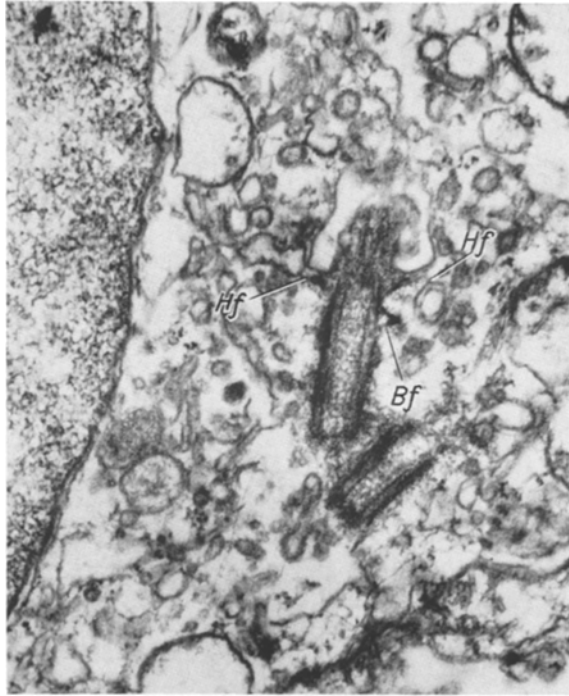


Abb. 1. Der Basalkörper und der Centriolus bilden einen Winkel von 35° . Basalfuß (Bf) und Haftfüße (Hf). Der ciliare Stumpf wächst in die ciliare Scheide hinein. $\times 25000$

Einer von diesen oder beide stehen meistens in unmittelbarer räumlicher Beziehung mit der Golgi-Zone. Diese Beziehung zur Golgi-Zone findet man auch bei der Mehrzahl der im Schnitt einzeln erscheinenden Centriolen. Wenn beide Elemente des Diplosoms von der Schnittebene in ihrer Längsrichtung getroffen werden, so erkennt man, daß ihre Achsen verschiedene Winkel von $30-90^\circ$ bilden (Abb. 1 und 3a, b, d).

In dem Anfangstadium der eigentlichen Cilienbildung findet man ein Vesikel, das an einem der beiden Centriolen liegt, und zwar auf dem Ende, das von dem anderen Element des Diplosoms am weitesten entfernt ist (Abb. 3a). Der Centriolus wächst weiter und stülpt sich in das Vesikel ein, das als fingerhutartige Zisterne ihr wachsendes Ende umgibt.

Gelegentlich liegen zahlreiche Bläschen an der äußeren Membran der Ciliumscheide, mit der sie z.T. verschmelzen (Abb. 3c). Die Mehrzahl der beobachteten Cilien zeigte sich in dieser Form, und die Annahme liegt nahe, daß sie meistens

in diesem Entwicklungsstadium intracellulär vorhanden bleiben und die Zelloberfläche nicht erreichen. Bei den wenigen Cilien, die die Zelloberfläche erreichen, geht die äußere Membran der ciliaren Scheide in die Plasmalemmen über. In der Mehrzahl der Fälle bleibt aber auch dann der ciliare Stumpf innerhalb der Zelle eingestülpt (Abb. 2); diese Einstülpung wird nur dann vermißt, wenn sich das Cilium in einem sehr schmalen Cytoplasmagebiet befindet (Abb. 3d).

Den Basalkörper selbst umgeben ganz verschiedene Strukturen. Im Schnitt erscheinen die basalen Füße einzeln (Abb. 1) oder aber auch doppelt (Abb. 3b, d)

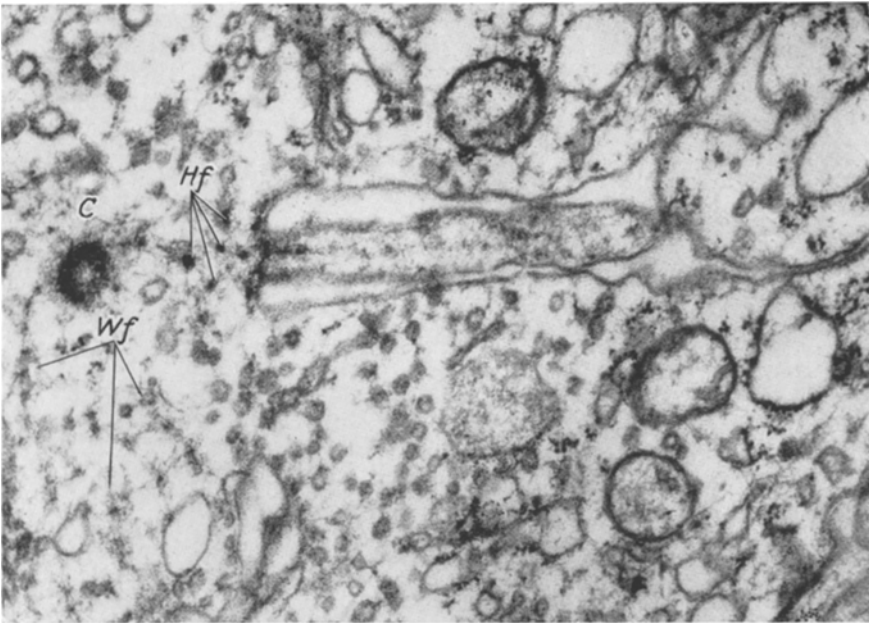


Abb. 2. Mehrere im Querschnitt und Schrägschnitt getroffene Haftfibrillen (*Hf*). Centriolus (*C*) und Wurzelfasern (*Wf*). $\times 39000$

und befinden sich meist auf beiden Seiten des Basalkörpers. In einem Fall waren auf einer einzigen Seite zwei Basalfüße zu sehen (Abb. 7). Sie sind von dreieckiger Form, und ihre Basis liegt dem Basalkörper an. An der Übergangsstelle zwischen Basalkörper und Cilium erkennt man Ansammlungen von osmiophilen Substanzen, die sich als eine Art Haftfuß von den Seiten des Basalkörpers bis zur Plasmamembran erstrecken. Diese Haftfüße kommen ganz unabhängig davon vor, ob es sich um die Plasmamembran der ciliaren Scheide oder der Zelloberfläche handelt. Werden die Haftfüße in einem ganz bestimmten Winkel getroffen, so lassen sie ein den basalen Füßen ähnliches Konstruktionsprinzip erkennen. Allerdings besteht ein Unterschied darin, daß eine der Pyramidenseiten der Plasmamembran unmittelbar anliegt (Abb. 1, 3d und 7). In der Mehrzahl der Fälle hebt sich aus der Verdichtung des Haftfußes eine Haftfibrille hervor (Abb. 4), die auch als einzelne Struktur vorhanden sein kann. Im Querschnitt zeigen die Haftfibrillen einen Durchmesser von etwa 50μ und eine besonders starke Osmiophilie (Abb. 2).

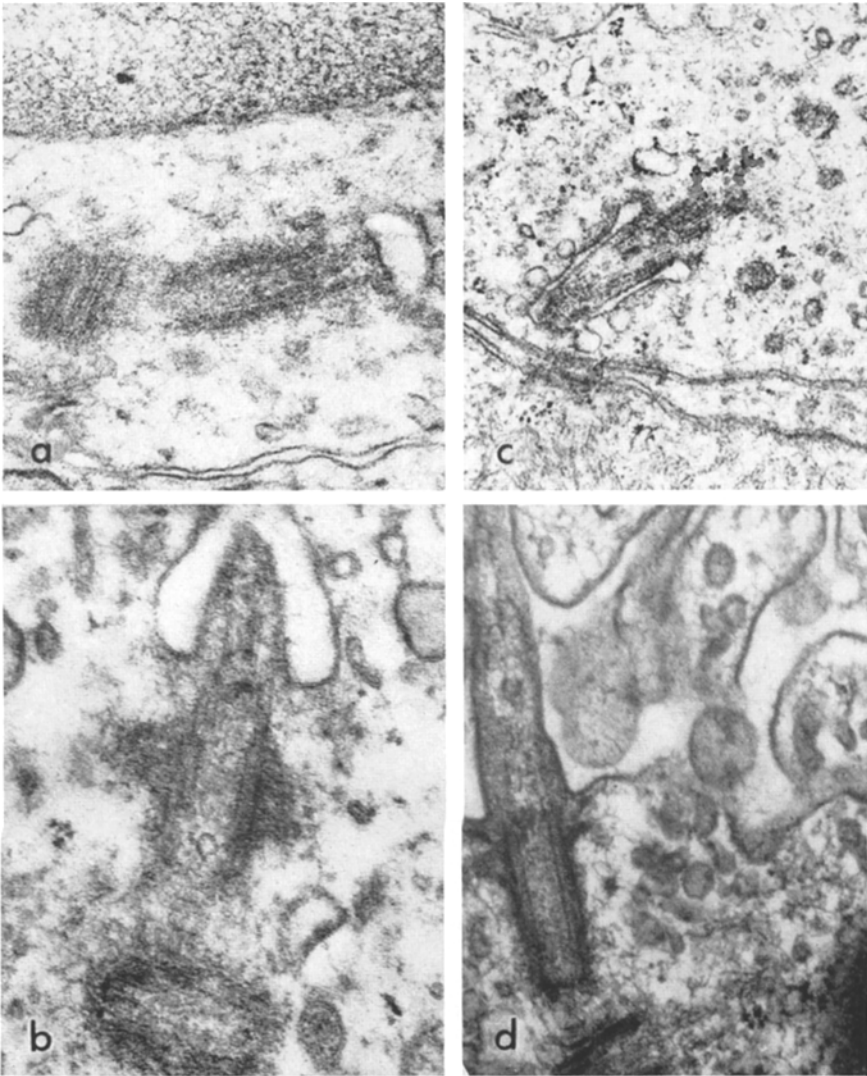


Abb. 3a—d. Verschiedene Stadien der Cilienbildung. a Anlegung der Vesikel am Ende eines der Diplosomen-elemente. $\times 48000$. b Der ciliale Stumpf stülpt sich in das Vesikel hinein. $\times 60000$. c An der äußeren Membran der Ciliumscheide liegen mehrere Bläschen. $\times 32000$. d Voll entwickeltes Cilium, das aus der Zelloberfläche hervorragt. $\times 45000$

An dem Ende des Basalkörpers, das dem Cilium gegenüberliegt, findet man sehr oft Wurzelfasern. Sie stellen sich im Schnitt wie Tubuli dar, die von dünnen Membranen umgeben werden, und weisen Verdichtungen auf, die ganz unregelmäßig in Abständen von $50\text{--}90\text{ m}\mu$ auftreten. Auch können sie von dem an der Ciliumbildung nicht unmittelbar beteiligten Centriolus eines Diplosoms ausgehen (Abb. 2). Die Zahl der Wurzelfasern ist variabel. Oft fehlen sie ganz, und manchmal werden mehrere in einem einzigen Schnitt erfaßt. Häufig zeigen sie einen rundbogigen Verlauf und richten sich nach einer Seite des Basalkörpers aus. In einigen Fällen ist der Verlauf bis in die benachbarte Golgi-Zone zu beobachten.



Abb. 4. Haftfuß mit Haftfibrille. Mehrere Wurzelfasern (Wf) mit rundbogigem Verlauf. Golgi-Zone (GZ).
× 50 000

Ein unmittelbarer Kontakt mit den Membranen der Golgi-Räume konnte jedoch nicht gesehen werden. Zwischen den Basalkörpern und den assoziierten Centriolen erkennt man gelegentlich eine den Wurzelfasern ähnliche Struktur, deren Verdichtungen jedoch nicht in den Tubuli, sondern dicht an deren Membranen liegen.

Was die innere Organisation der Cilien, Basalkörper und Centriolen anbelangt, so ist es nicht möglich, an Hand unserer Befunde ein lückenloses genaueres Bild zu geben, vor allem auf Grund der großen Unregelmäßigkeit, die der innere Aufbau der Cilien zeigt. Durch diese Unregelmäßigkeit waren die im Schnitt quer getroffenen Cilien nicht immer als solche zu identifizieren; sie ähnelten vielmehr einem multivesiculären Körper. Sowohl Centriolen als auch Basalkörper haben einen etwa 400 mμ breiten Durchmesser und bestehen aus neun Dreiergruppen von tubulären Fibrillen, angeordnet in Reihen, deren Achsen gegenüber dem vom

Centriolus gebildeten Kreis eine Neigung von etwa 40° haben (Abb. 1 b). Der innere Raum wird in der Regel von einer strukturlosen Matrix besetzt, deren Zentrum verhältnismäßig dielektronisch ist. In den Basalkörpern findet man gelegentlich im Innenraum vereinzelte Bläschen (Abb. 3 c), aber keinen kontinuierlichen Tubulus. In dem Übergang vom Basalkörper zum Cilium findet sich keine

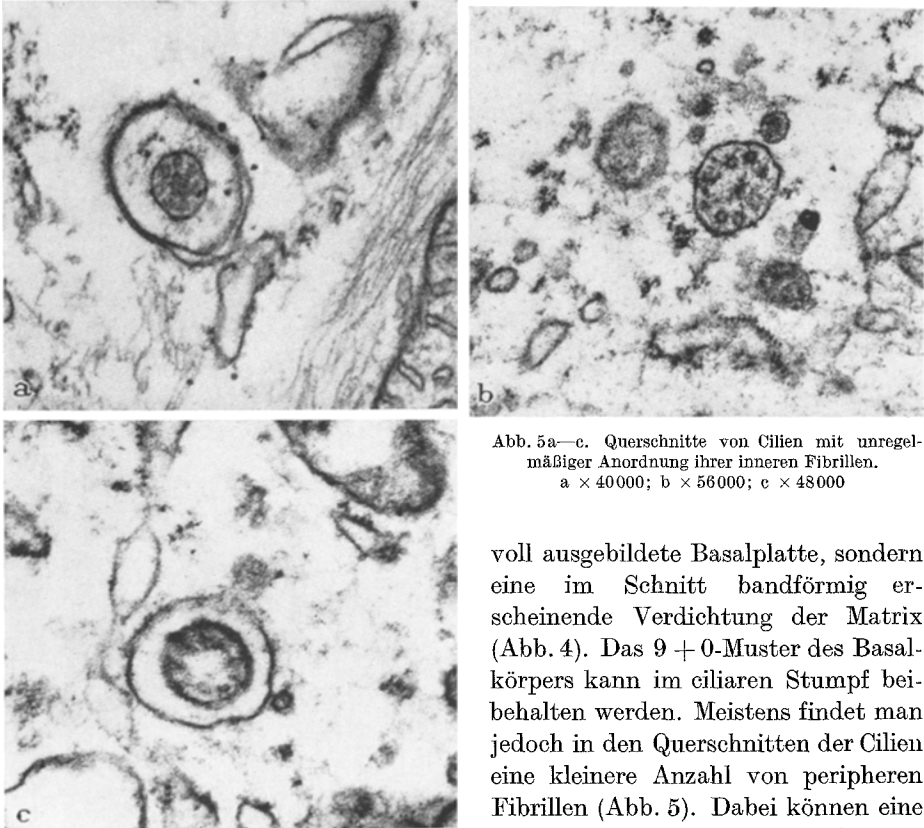


Abb. 5a—c. Querschnitte von Cilien mit unregelmäßiger Anordnung ihrer inneren Fibrillen.
a $\times 40000$; b $\times 56000$; c $\times 48000$

voll ausgebildete Basalplatte, sondern eine im Schnitt bandförmig erscheinende Verdichtung der Matrix (Abb. 4). Das $9 + 0$ -Muster des Basalkörpers kann im ciliaren Stumpf beibehalten werden. Meistens findet man jedoch in den Querschnitten der Cilien eine kleinere Anzahl von peripheren Fibrillen (Abb. 5). Dabei können eine oder mehrere periphere Fibrillen sich

innerhalb des zentralen Raumes verschieben. Ein zentrales Paar ist mit Deutlichkeit jedoch nie zu erkennen. Die wenigen Cilien, deren Hervorragen aus der Zelloberfläche im Längsschnitt beobachtet wurde, zeigten nur einen kurzen extracellulären Verlauf. Insbesondere fällt auf, daß Querschnitte von Cilien im intracellulären Raum nicht gefunden werden konnten.

Besprechung

Das seltene Vorkommen von Cilien in unseren Tumoren erklärt die Tatsache, daß sie bis jetzt in den verhältnismäßig zahlreichen elektronenmikroskopischen Arbeiten über Meningeome nicht beschrieben wurden. Andererseits macht es die Seltenheit der Befunde auch wahrscheinlich, daß bei den Fällen, in denen keine Cilien gefunden wurden, es bei einer weiteren Untersuchung von mehr Material gelingen könnte, ebenfalls Cilien nachzuweisen. Deshalb kann das Fehlen von Cilien in den angiomatösen Meningeomen kaum gegen die Ansicht eines Teiles der

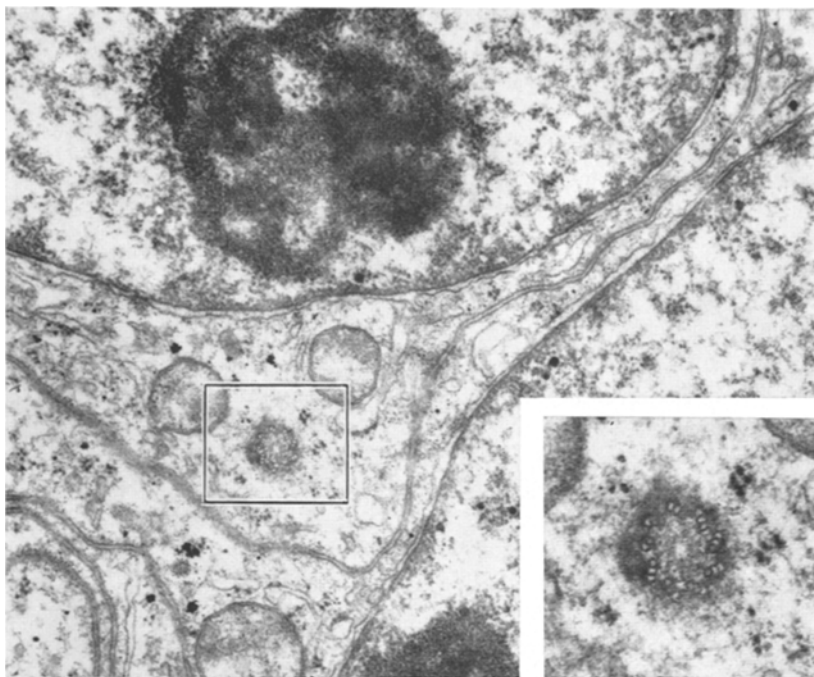


Abb. 6. Centriolus mit neun Dreiergruppen von tubulären Fibrillen. $\times 25\,000$, Einsatz $\times 30\,000$

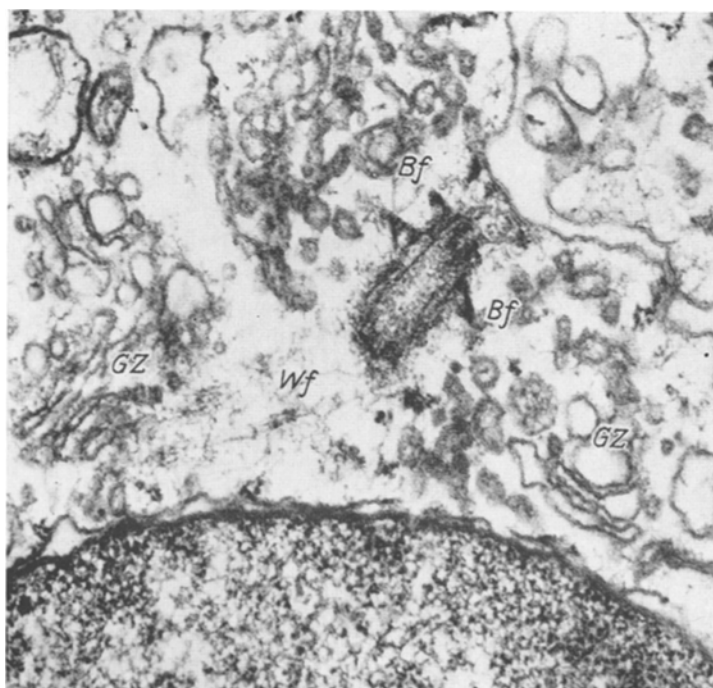


Abb. 7. Basalkörper mit drei Basalfüßen (Bf), Wurzelfasern (Wf) und Golgi-Zone (GZ). $\times 30\,000$

Autoren, die für die Tumorzellen aller Meningeomtypen eine gemeinsame Stammzelle annehmen (OBERLING, 1922), geltend gemacht werden. Noch weniger läßt das Vorhandensein von Cilien Rückschlüsse auf die Histogenese der Meningeomzellen zu, weil sie bei Herkömmlingen aller Keimblätter beschrieben worden sind.

Der Mechanismus der Cilienbildung bei Meningeomzellen entspricht dem, den SOROKIN (1962) für rudimentäre Cilien beschrieben hat. Jedoch wurde er auch bei voll entwickelten Flagellen gefunden (RENAUD und SWIFT, 1964). SOTELO und TRUJILLO CENOZ (1958) finden in der Entwicklung von Cilien des neuralen Epithels einen ähnlichen Mechanismus, jedoch mit einer bei uns nicht vorhandenen Annäherung des Centriolus zur Plasmamembran im Anfangsstadium sowie einer Einstülpung des Ciliums im Inneren des Cytoplasmas mit einer Rückwanderung zur Zelloberfläche am Ende der Cilienbildung.

Die interne Struktur der Cilien meningealer Tumorzellen scheint dem $9 + 0$ -Muster anzugehören, denn nur, wenn die Zahl der peripheren Fibrillen weniger als 9 betrug, wurden interne Fibrillen beobachtet, die jedoch nie die deutliche Anordnung des zentralen Fibrillenpaares zeigten. Diese unregelmäßige Anordnung der peripheren Fibrillen mit Verminderung ihrer Zahl ist ein geläufiger Befund in den distalen Segmenten der Cilien (GIBBONS und GRIMSTONE, 1960; BRIGHTMAN und PALAY, 1963; ROTH und SHIGENAKA, 1964; REESE, 1965; SATIR, 1965).

Mit der Zunahme der Befunde über Cilien verschiedener Zellarten ist die von BARNES (1961) angenommene Einteilung der Cilien in motorische und nicht-motorische fragwürdig geworden. Die Autorin findet als kennzeichnend für die nichtmotorischen Cilien ein $9 + 0$ -Fibrillenmuster und einen diplosomalen Basalkörper. Ausnahmen zu dieser Regel sind jedoch nicht selten: AFZELIUS (1962) beschreibt das Fehlen der zentralen Fibrillen in motorischen Cilien, während EAKIN und WESTFALL (1962) und SLIFFER und SEKHON (1963 und 1964) diese ebenfalls bei motorischen Cilien vermissen.

In den Cilien der Meningeomzellen wurde ein Diplosom so häufig gefunden, daß sein Vorhandensein als konstant für alle Basalkörper angenommen werden kann, auch dann, wenn im Schnitt ihre Darstellung nicht immer gelingt. Demgegenüber fällt das breite Spektrum von Möglichkeiten im Aufbau der basalen Körper und der übrigen ciliaren Strukturen auf. Dabei soll allerdings berücksichtigt werden, daß sowohl die basalen Füße als auch die Wurzelfasern außerordentlich labile Strukturen sind, deren Erhaltung und vor allem feine Erscheinung von der Präparationsgüte abhängen. In diesem Sinne dürften die Unterschiede, die zwischen den Cilien unserer Meningeome bestehen, zu erklären sein.

Die räumlichen Beziehungen zwischen Golgi-Zonen, Basalkörpern und vor allem Wurzelfasern waren in der Mehrzahl der von uns gefundenen Cilien festzustellen. Bei der Durchsicht der Literatur fällt auf, daß alle Cilien, deren Basalkörper in der Nachbarschaft der Golgizonen liegen, keine motorischen Funktionen haben. Allerdings werden diese Beziehungen nicht bei allen nichtmotorischen Cilien beschrieben. Das Vorhandensein dieser Beziehungen zwischen ciliaren Strukturen und Golgi-Zonen, die phylogenetisch spät in Erscheinung treten, legt die Annahme nahe, daß es sich bei den Cilien der Meningeomzellen um keine bloßen embryonal-rudimentären Strukturen handelt, die erst im Zuge der blastomatösen Anaplasie in Erscheinung treten. Eine mögliche funktionelle Deutung wird jedoch besonders erschwert durch das Fehlen entsprechender Befunde bei den Zellen der normalen Hirnhäute.

Zusammenfassung

An Hand der elektronenmikroskopischen Befunde bei 14 endotheliomatösen, 3 fibromatösen und 3 angiomatösen Meningeomen wird das Vorkommen von Cilien und verwandten Strukturen bei diesen Tumoren zusammengestellt. Während Centrioli auch in angiomatösen Meningeomen gesehen wurden, waren sowohl Cilien als auch die übrigen ciliaren Strukturen nur bei endotheliomatösen und fibromatösen Meningeomen zu finden. Die verschiedenen Stadien der Cilienbildung und ihrer feinen Struktur sowie die Bildung der Basalkörper und Centriolen wurden eingehend beschrieben. Bei der weiten Verbreitung der Cilien in den verschiedenen Zellarten läßt das Vorkommen dieser Organellen keine Rückschlüsse auf die Histogenese der Meningeomzellen zu, weil sie bei Herkömmlingen aller Keimblätter beschrieben worden sind.

Electron Microscopic Studies of the Occurrence of Cilia in Meningiomas

Summary

The occurrence of cilia and related structures were studied electron-microscopically in 14 endotheliomatous, 3 fibroblastic, and 3 angiomatous meningiomas. Centrioles were observed in angiomatous meningiomas, but cilia and other ciliary structures were found only in the endotheliomatous and fibroblastic meningiomas. The various stages of the formation of cilia and their fine structures could be described, as well as the formation of the basal corpuscle and the centrioles. Because cilia occur throughout the various cell types, no conclusions could be drawn as to the histogenesis of the meningioma cells, since they have been described in derivatives of all embryonic germ-cell layers.

Literatur

- AFZELIUS, B. A.: The contractile apparatus in some invertebrate muscles and spermatozoa. M-1. In: Proceedings of the fifth internat. Congr. for El. Micr., vol. 2. New York and London: Academic Press 1962.
- BARNES, B. G.: Ciliated secretory cells in the pars distalis of the mouse hypophysis. *J. Ultrastruct. Res.* **5**, 453 (1961).
- BRIGHTMAN, M. W., and S. L. PALAY: The fine structure of ependyma in the brain of the rat. *J. Cell Biol.* **19**, 415 (1963).
- EAKIN, R. M., and J. A. WESTFALL: Fine structure of Photoreceptors in the hydromedusan, *Polyorchis penicillatus*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **48**, 826 (1962).
- GIBBONS, T. R., and A. V. GRIMSTONE: On flagellar structure in certain flagellates. *J. biophys. biochem. Cytol.* **7**, 697 (1960).
- GUSEK, W.: Submikroskopische Untersuchungen als Beitrag zur Struktur und Ontologie der „Meningiome“. *Beitr. path. Anat.* **127**, 274 (1962).
- MANNWEILER, K., et W. BERNHARD: Recherches ultrastructurales sur une tumeur rénale expérimentale du Hamster. *J. Ultrastruct. Res.* **1**, 158 (1957/58).
- OBERLING, CH.: Les tumeurs des meninges. *Bull. Ass. franç. Cancer* **11**, 365 (1922).
- RAMSEY, A. J., and J. W. KERNOHAN: Circumscribed sarcoma of the cerebellum. An electron microscopic study. *J. Neuropath.* **23**, 703 (1964).
- REESE, T. S.: Olfactory cilia in the frog. *J. Cell Biol.* **25**, 209 (1965).
- RENAUD, F. L., and H. SWIFT: The development of basal bodies and flagella in *Allomyces arbusculus*. *J. Cell Biol.* **23**, 339 (1964).
- ROTH, L. E., and Y. SHIGENAKA: The structure and formation of cilia and filaments in rumen protozoa. *J. Cell. Biol.* **20**, 249 (1964).

- SATIR, P.: Studies on cilia; II. Examination of the distal region of the ciliary shaft and the role of the filaments in motility. *J. Cell Biol.* **12**, 181 (1962).
- SLIFFER, E. H., and S. S. SEKHON: Sense organs on the antennal flagellum of the mikweed bug, *Lygaeus, Kalmic, Stal.* (hemipters, Lygaeidae) *J. Morph.* **112**, 165 (1963).
- — Fine structure of the sense organs on the antennal flagellum of a flesh fly, *Sarcophagia argyrostoma* R. D. (Diptera, Sarcophagidae) *J. Morph.* **114**, 185 (1964).
- SOROKIN, S.: Centrioles and the formation of rudimentary cilia by fibroblasts and smooth muscle cells. *J. Cell Biol.* **15**, 363 (1962).
- SOTELO, J. R., and O. TRUJILLO-CENOZ: Electron microscope study on the developement of ciliary components of the neural epithelium of the chick embryo. *Z. Zellforsch.* **49**, 1 (1938).

Dozent Dr. J. CERVÓS-NAVARRO
Institut für Neuropathologie der Universität
53 Bonn, Wilhelmsplatz 7