

Das zentrale Riesenzellgranulom

Histochemische und ultrastrukturelle Untersuchungen zur Funktion und Aktivität der Riesenzellen*

A. Schulz, R. Maerker und G. Delling

Pathologisches Institut der Universität Hamburg
(Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. G. Seifert)
und

Nordwestdeutsche Kieferklinik der Universität Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Pfeifer)

Eingegangen am 3. Mai 1976

Central Giant Cell Granuloma

Histochemical and Ultrastructural Study on Giant Cell Function

Summary. Multinucleated giant cells in giant cell granuloma are formed by cell fusion of capillary pericytes. In our present study we tried to analyze cell function and activity by histologic, histochemical, and electronmicroscopic examination of giant cells. Lysosomal enzymes such as acid phosphatase and amino-peptidase were found in giant cells which is in agreement with former work. By their lysosomal system giant cells are proved phagocytic. In addition, giant cells being localized at trabecular surfaces of newly formed woven bone may develop osteoclastic functions. The enzymatic and functional resemblance of giant cells and multinucleated osteoclasts points to the possibility of a similar cytogenesis of both cell types.

Key words: Giant cell granuloma — Histochemistry — Ultrastructure — Cell function — Osteoclasts.

Zusammenfassung. Die mehrkernigen Riesenzellen des zentralen Riesenzellgranuloms entstehen durch Zellfusion aus den Pericyten der Kapillaren. In der vorliegenden Studie werden die Funktionsmerkmale der Riesenzellen durch Kombination histologischer, histochemischer und elektronenmikroskopischer Methoden untersucht. In den mehrkernigen Riesenzellen ließen sich in Übereinstimmung mit älteren Untersuchungen die lysosomalen Enzyme saure Phosphatase und Amino-peptidase nachweisen. Das lysosomale System der Riesenzellen befähigt diese zur aktiven Phagozytoseleistung. Darüber hinaus können sich die Riesenzellen neugebildeten Geflechtknochenbälkchen anlagern und osteoclastäre Funktionen übernehmen. Die enzymhistochemische und funktionelle Ähnlichkeit mit den mehrkernigen Osteoclasten wirft die Frage nach einer vergleichbaren Cytogenese beider Zellformen auf.

Einleitung

Die zentralen Riesenzellgranulome der Kieferknochen werden aufgrund ihres biologischen Verhaltens in die Gruppe der tumorähnlichen Gewebsneubildungen eingeordnet (Pindborg and Kramer, 1971). Ihr morphologisches Merkmal sind die mehrkernigen Riesenzellen. Die Entstehung des zentralen Riesenzellgranuloms ist mit verschiedenen morphologischen Methoden eingehend untersucht worden (Schajowicz, 1961; Bernier and Cahn, 1954; Adkins et al., 1969; Sapp, 1972; Wertheimer, 1967). Die Annahme einer cyto-genetischen Beziehung zwischen den

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft

vasculären Zellformen und den Riesenzellen (Ritter, 1900; Konjetzny, 1922; Mönkeberg, 1923; Johnson, 1930; Rather, 1951; Lichtenstein, 1955; Andersen et al., 1973) konnte durch eigene Untersuchungen an zentralen Riesenzellgranulomen bestätigt werden. Elektronenmikroskopisch ergab sich, daß die mehrkernigen Riesenzellen aus den Pericyten der Kapillaren durch Zellfusion entstehen (Schulz et al., 1976).

Die Bedeutung der Riesenzellen des Granuloms und ihre Zellfunktionen sind noch unklar. Bisherige morphologische Befunde an Riesenzellen haben zu unterschiedlichen Auffassungen geführt. Während in älteren lichtmikroskopischen Studien den Riesenzellen sowohl phagocytäre als auch osteoclastäre Eigenschaften zugeschrieben wurden (Ribbert, 1917; Stewart, 1922; Jaffe, 1953; Bernier and Cahn, 1954; Pepler, 1958), sind diese Zellfunktionen aufgrund neuerer elektronenmikroskopischer Arbeiten wiederholt in Frage gestellt worden (David und Korth, 1959; Drepper und Themann, 1961; Adkins et al., 1969; Soskolne, 1972).

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, die Funktionsmerkmale der Riesenzellen durch Kombination histologischer, histochemischer und elektronenmikroskopischer Methoden zu definieren.

Material und Methoden

Untersucht wurden 3 zuvor bioptisch gesicherte Riesenzellgranulome (s. Tabelle 1). Um eine bessere Gewebserhaltung für die lichtmikroskopische Untersuchung zu erzielen, wurde das Gewebe unentkalkt in Kunststoff eingebettet (Delling, 1972). Die Enzymaktivitäten der Riesenzellen wurden histochemisch an zwei Fällen untersucht. Die lichtmikroskopischen Nachweise der alkalischen und sauren Phosphatase, der Leucinaminopeptidase, der unspezifischen Esterase, und der β -Glucuronidase wurden an Kryostatschnitten nach den von Barka (1965) angegebenen Methoden durchgeführt.

Tabelle 1. Tumorlokalisation bei drei Patienten mit einem zentralen Riesenzellgranulom

| Patient | Tumorlokalisation |
|----------------------|-------------------|
| 1. E.T., ♀, 23 Jahre | Unterkiefer |
| 2. H.B., ♀, 28 Jahre | Oberkiefer |
| 3. M.B., ♀, 54 Jahre | Oberkiefer |

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurde das Gewebe sofort nach der Entnahme in 2,3%igem Glutaraldehyd-Cacodylatpuffergemisch fixiert (300 m osmol, pH 7,3), anschließend in 1%igem Osmium-S-Collidin-Puffer nachfixiert und danach unentkalkt in ein niederviscöses Epongemisch eingebettet (Schulz, 1975). Nach Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat wurden die Feinschnitte mit dem Elektronenmikroskop Zeiss EM 9a untersucht.

Ergebnisse

Die histochemische Untersuchung der Riesenzellen des zentralen Riesenzellgranuloms führte in beiden untersuchten Fällen zu gleichen Ergebnissen (Tabelle 2). Der saure Phosphatasegehalt war in den Riesenzellen unterschiedlich stark positiv. Außer der sauren Phosphatase ließen sich nur für die Leucinaminopeptidase eine schwach positive Reaktion in der Zellperipherie nachweisen. Alle

Tabelle 2. Histochemische Untersuchungen der Riesenzellen des zentralen Riesenzellgranuloms. Vergleich eigener Ergebnisse mit Angaben aus der Literatur

| Enzyme | Untersuchte Patienten | | Andersen et al. (1973) | Pepler (1958) | Schajowicz (1961) | Wertheimer (1967) |
|------------------------|-----------------------|------|------------------------|---------------|-------------------|-------------------|
| | E.T. | M.B. | | | | |
| Saure Phosphatase | + | + | + | + | + | + |
| Alkalische Phosphatase | Ø | Ø | — | Ø | Ø | Ø |
| Leucinaminopeptidase | + | + | + | — | — | + |
| Unspezifische Esterase | Ø | Ø | — | — | — | + |
| β -Glucuronidase | Ø | Ø | — | — | + | Ø |

+ positive Reaktion; Ø negative Reaktion; — nicht untersucht

übrigen untersuchten Enzyme konnten in den Riesenzellen lichtmikroskopisch nicht sicher nachgewiesen werden.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung der mehrkernigen Riesenzellen zeigt einen Aufbau aus drei wesentlichen Organellensystemen (Abb. 1). Das Bild der Riesenzelle wird geprägt durch hohen Gehalt an Mitochondrien, die sich im inneren Zellbereich und in der Umgebung der Zellkerne konzentrieren. Unmittelbar perinucleär findet sich ein Ring von Golgi-Lamellen, die jeden Zellkern umschließen und mit den im Cytoplasma verteilten Lysosomen das lysosomale System der Zelle bilden. Ausschließlich in der Zellperipherie angeordnet sind die Lamellen und Cisternen des rauen endoplasmatischen Reticulums.

Die drei Organellensysteme stehen untereinander in funktioneller Beziehung. Dies wird deutlich bei der Untersuchung zweier benachbarter Riesenzellen von unterschiedlicher metabolischer Aktivität (Abb. 2). Die eine der beiden Riesenzellen zeigt ein inaktives lysosomales System mit schmalen Golgi-Lamellen und kleinen primären und sekundären lysosomalen Vesikeln. Ihre Mitochondrien sind ebenfalls klein, die Matrix ist elektronendicht. Auffällig entwickelt ist das auf eine aktive Proteinsynthese hinweisende rauhe endoplasmatische Reticulum in der Zellperipherie. Die benachbarte Riesenzelle dagegen enthält besonders große phagolysosomale Vesikel und aufgeblähte perinucleäre Golgi-Felder. Der übrige Zelleib wird von dichtgelagerten und stark geschwollenen Mitochondrien ausgefüllt, die jedoch keine degenerativen Veränderungen, sondern gut entwickelte Cristae und eine Matrix von geringer Elektronendichte aufweisen.

Dieser unterschiedliche Aktivitätszustand der Zellen ist gekoppelt mit ihrer Phagocytoseleistung, die als die wesentliche Funktion der mehrkernigen Riesenzellen aufzufassen ist. Schon lichtmikroskopisch erkennt man in den zahlreichen Riesenzellen Vakuolen (Abb. 3, oben). Elektronenmikroskopisch handelt es sich dabei um phagolysosomale Vesikel, die in Auflösung befindliches Material enthalten, wie Residuen von Kern- oder Cytoplasmabestandteilen phagocytierte Zellen (Abb. 4, oben).

Die Riesenzellen sind außerdem zu einer spezialisierten Phagocytoseleistung fähig: Der osteoklastären Knochenresorption. Lichtmikroskopisch liegen die Riesenzellen häufig in Gruppen zusammen (Abb. 3 unten). Einzelne Riesenzellen wandern von dort zu den neugebildeten Knochenbälkchen, die zumeist in den

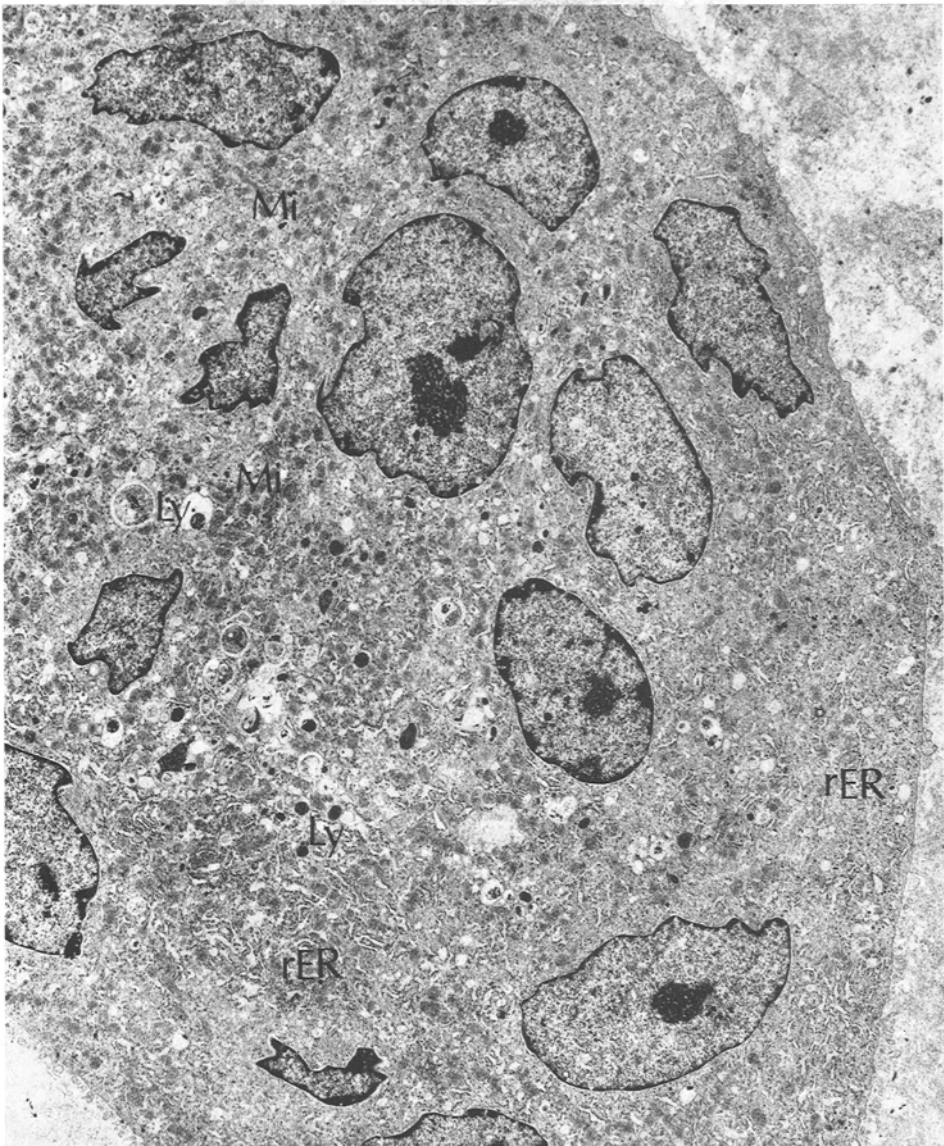


Abb. 1. Ultrastruktur einer mehrkernigen Riesenzelle mit zahlreichen Mitochondrien (*Mi*), primären und sekundären phagolysomalen Vesikeln (*Ly*) und einem in der Zellperipherie liegenden rauen endoplasmatischen Reticulum (*rER*). ($\times 6200$)

schmalen Bindegewebssepten der Granulome liegen und lagern sich diesen wie Osteoclasten an. Elektronenmikroskopisch zeigt sich (Abb. 4, unten), daß die Riesenzellen eine osteoclastäre Funktion übernommen haben. An der dem Knochen zugewandten Zellmembran bildet sich ein aus plumpen fingerförmigen

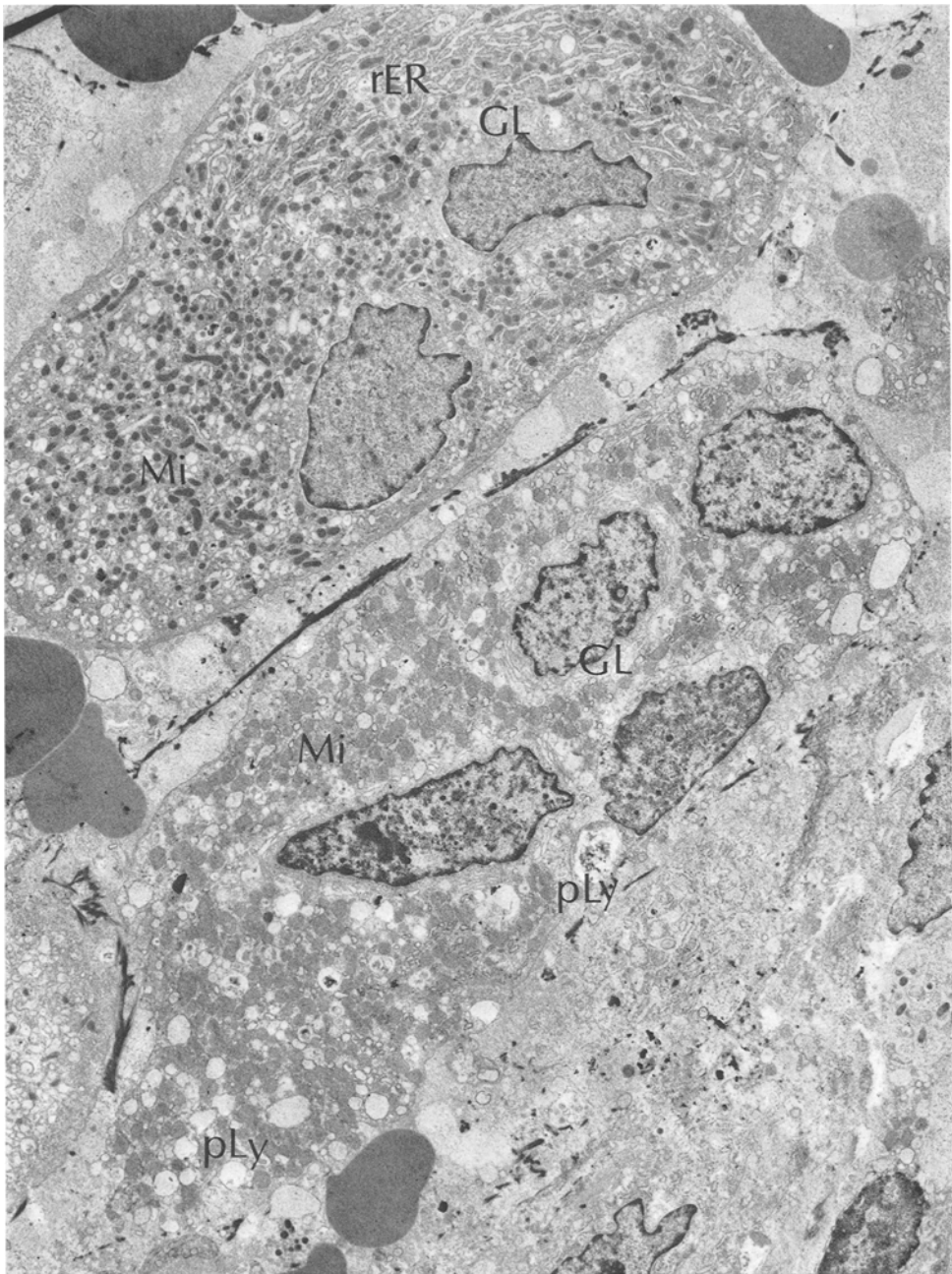


Abb. 2. Zwei Riesenzellen von unterschiedlicher metabolischer Aktivität nebeneinander liegend. Die obere Riesenzelle enthält ein gut entwickeltes rauhes endoplasmatisches Reticulum, das auf eine aktive Proteinsynthese hinweist (*rER*). Die untere Riesenzelle zeigt ein aktiviertes lysosomales System mit entfalteten perinukleären Golgi-Lamellen (*GL*), großen phagolysosomalen Vesikeln (*pLy*) und geschwollenen Mitochondrien (*Mi*). ($\times 5600$)

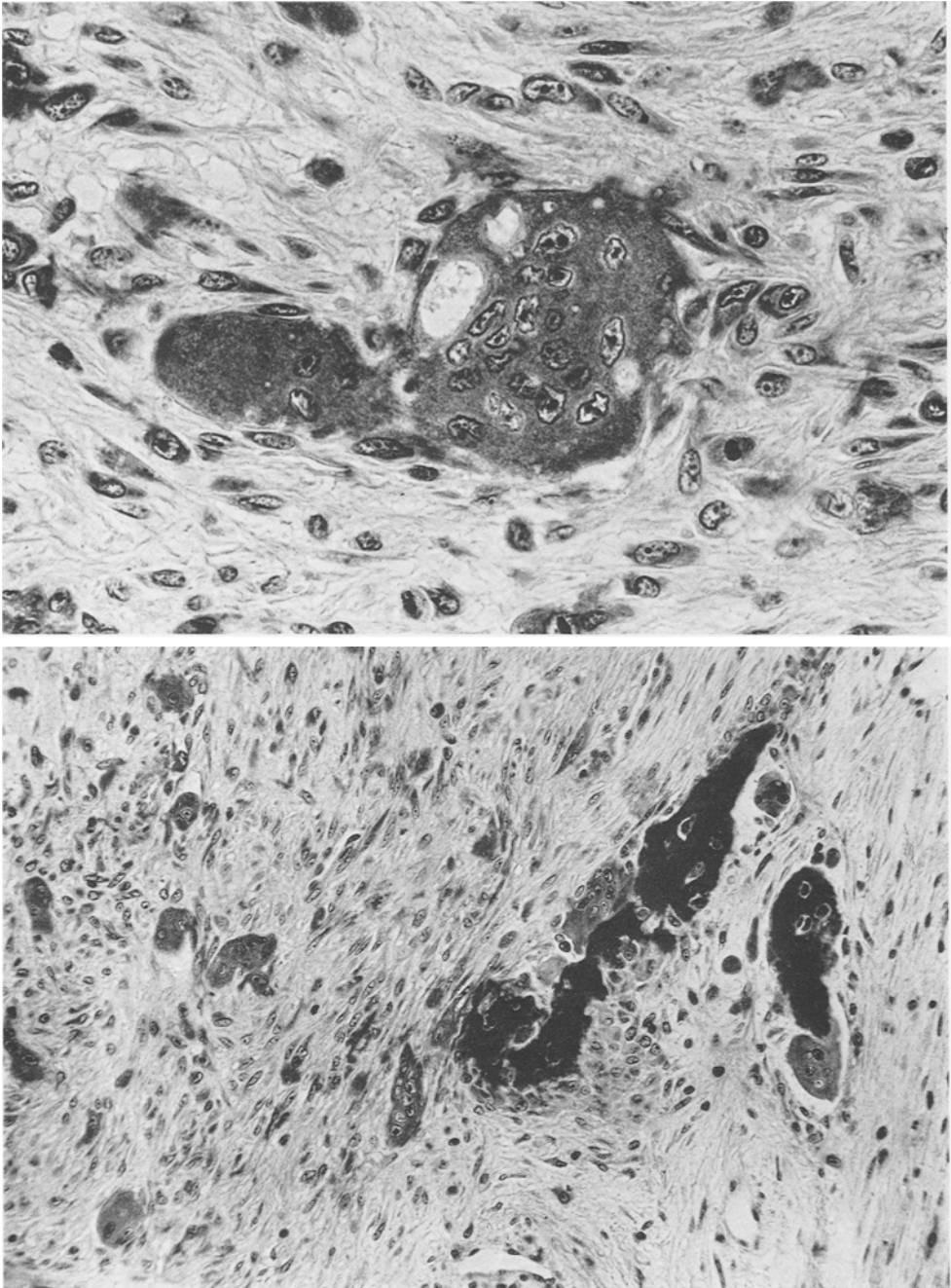


Abb. 3. Oben: mehrkernige Riesenzellen mit großen Phagocytosevesikeln. Unten: Gruppen von mehrkernigen Riesenzellen, die sich wie Osteoclasten neugebildeten Geflechtknochenbälkchen anlagern. (Unentkalkt, Methylmetacrylat, Trichrom-Goldner, $\times 400$, $\times 170$)

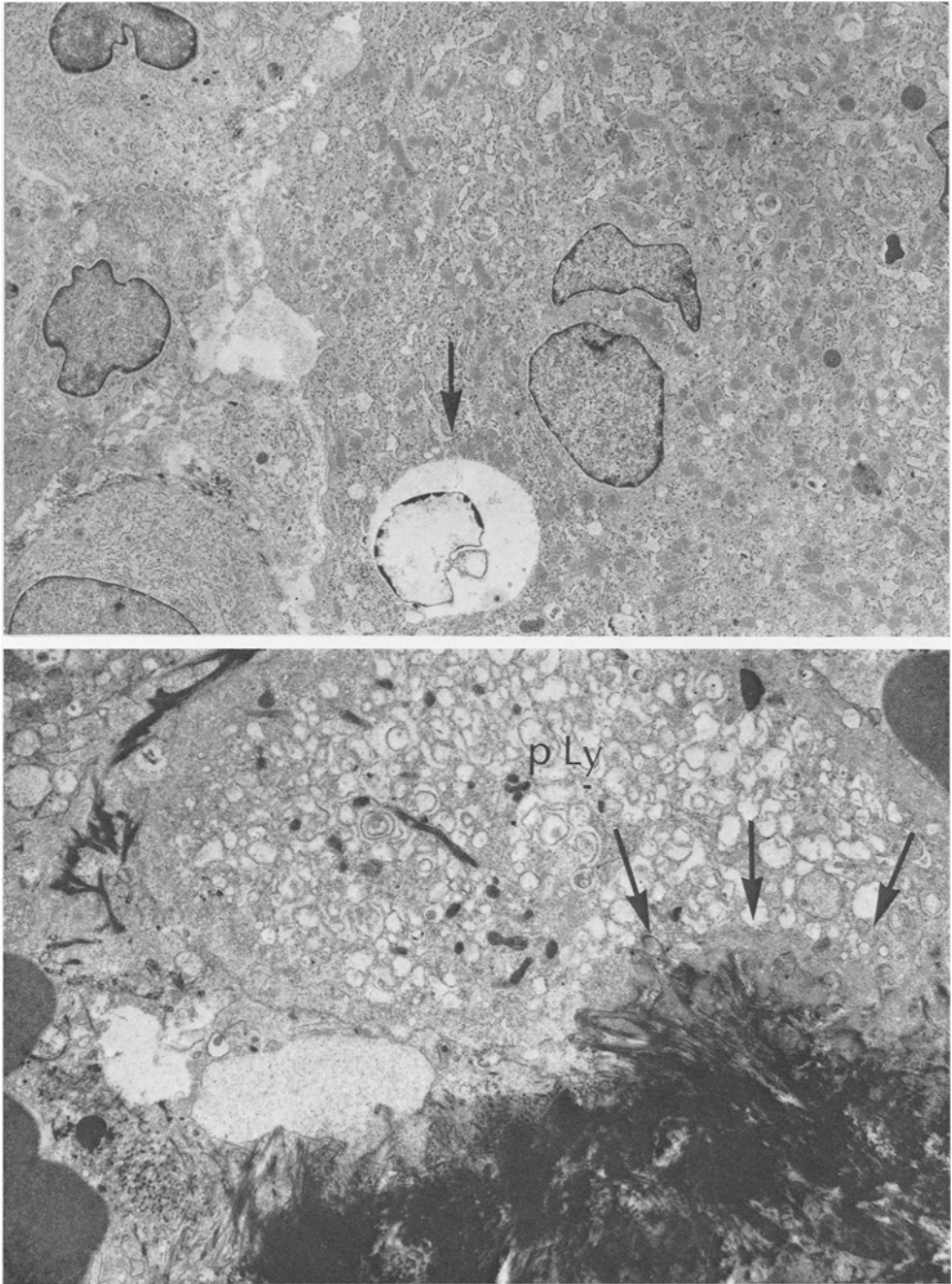


Abb. 4. Oben: Ausschnitt aus einer mehrkernigen Riesenzelle mit einem großen phagolysosomalen Vesikel (Pfeil), das Residuen eines Zellkernes enthält ($\times 6800$). Unten: Ausschnitt aus der Resorptionszone einer Riesenzelle mit osteoclastärer Funktion. Zahlreiche phagolysosomale Vesikel (*pLy*), plumpe Plasmalemmaausstülpungen des angedeutet entwickelten Bürstensaumes (Pfeil). Der mineralisierte Knochen erscheint schwarz. ($\times 10400$)

Cytoplasmafortsätzen bestehender Bürstensaum aus. Im Bereich der Resorptionszone finden sich demineralisierte Kollagenfasern mit erkennbarer Querstreifung. In der Zelle schließt sich an den Bürstensaum eine Schicht digestiver lysosomaler Vesikel an. Diese morphologischen Befunde zeigen damit deutliche Parallelen zum Vorgang der osteoclastären Knochenresorption.

Diskussion

Von den untersuchten 5 Enzymen ließen sich an den Riesenzellen histochemisch nur die saure Phosphatase und die Leucinaminopeptidase nachweisen. Der Vergleich mit früheren Untersuchungen (Tabelle 2) zeigt, daß für die saure Phosphatase regelmäßig eine positive histochemische Reaktion in den Riesenzellen gefunden wurde (Schajowicz, 1961; Pepler, 1958; Wertheimer, 1967; Andersen et al., 1973). Die Leucinaminopeptidase konnte dagegen nur von Wertheimer (1967) sowie Andersen et al. (1973) auch in der Zelleripherie der Riesenzellen beobachtet werden. Die Reaktion auf unspezifische Esterase war in unserem Material in den Riesenzellen negativ. Dieses Enzym konnte auch bei früheren Untersuchungen an Riesenzellgranulomen nur von Wertheimer (1967) nachgewiesen werden, wo hingegen Pepler (1958) eine positive Reaktion in Fremdkörperriesenzellen fand.

Saure Phosphatase und Amino-peptidase sind als lysosomale Enzyme an spezialisierte Zellen mit entsprechenden Organellen gebunden. Ultrastrukturell findet sich dieses lysosomale Organellensystem in den Riesenzellen. Es ist wechselnden Aktivitätsphasen unterworfen, die einer unterschiedlichen Größe und Verteilung der primären und sekundären Lysosomen und Entfaltung des perinucleären Golgi-Feldes entsprechen. Die häufig beobachteten aktiv-phagozytierenden Zellen enthalten als sekundäre Lysosomen große Phagozytosevesikel. An der Fähigkeit der Riesenzellen zur Phagozytose kann daher im Gegensatz zu früheren Vorstellungen (Adkins et al., 1969; Soskolne et al., 1972) nicht gezweifelt werden.

Eine spezialisierte Form der Phagozytose ist die osteoclastäre Knochenresorption. Auf die morphologische Ähnlichkeit und das gleichartige histochemische Verhalten der Riesenzellen des Riesenzellgranuloms und der Osteoclasten ist wiederholt hingewiesen worden (Ribbert, 1917; Cooke, 1962; Pepler, 1958; Schajowicz, 1961; Jeffree, 1972). Wie die Riesenzellen des Granuloms enthalten auch die Osteoclasten die Enzyme saure Phosphatase und Amino-peptidase, denen eine besondere Bedeutung für den Vorgang der Knochenresorption zugeschrieben wird (Göthlin and Ericson, 1971; Hancox, 1972). Neben der morphologischen und histochemischen Ähnlichkeit sind die Riesenzellen des Granuloms auch funktionell mit den mehrkernigen Osteoclasten vergleichbar. Die nur rudimentäre Ausbildung eines Bürstensaumes bei den Riesenzellen weist aber auf eine geringere Resorptionsleistung hin, die möglicherweise durch eine fehlende endokrine Stimulation oder eine verminderte hormonelle Ansprechbarkeit der Riesenzellen des Granuloms bedingt ist. Die funktionelle Ähnlichkeit der Riesenzellen mit den mehrkernigen Osteoclasten deutet auf die Möglichkeit einer vergleichbaren Cytogenese beider Zellformen hin.

Literatur

- Adkins, K. E., Martinez, M. G., Robinson, L. H.: Cellular morphology and relationships in giant-cell lesions of the jaws. *Oral. Surg.* **28**, 216—222 (1969)
- Andersen, L., Arwill, T., Fejerskov, O., Heyden, G., Philipsen, H. P.: Oral giant cell granulomas. An enzyme histochemical and ultrastructural study. *Acta path. microbiol. scand., Sect. A* **81**, 617—629 (1973)
- Barka, T., Anderson, P. J.: *Histochemistry*. New York, Evanston and London: Hoeber Medical Division 1965
- Bernier, J. L., Cahn, L. R.: Peripheral giant cell reparative granuloma. *J. Amer. dent. Ass.* **49**, 141—148 (1954)
- Cooke, B. E. D.: Giant-cell epulis: histogenesis and natural history. *Brit. dent. J.* **93**, 13—16 (1962)
- David, H., Korth, I.: Submikroskopische Untersuchungen zur Struktur und formalen Genese der Riesenzellen der Epulis gigantocellularis. *Frankfurt. Z. Path.* **70**, 89—97 (1959)
- Delling, G.: Über eine vereinfachte Knocheneinbettung für unentkalkte Knochenschnitte. *Beitr. path. Anat.* **145**, 100—105 (1972)
- Drepper, H., Themann, H.: Electron microscopic and histochemical research on human giant cell epulis. *Frankfurt. Z. Path.* **71**, 203—220 (1961)
- Göthlin, G., Ericsson, J. C. E.: Fine structural localization of acid phosphomonoesterase in the brush border region of osteoclasts. *Histochemistry* **28**, 337—344 (1971)
- Hancox, N. M.: The Osteoclast. In: *The biochemistry and physiology of bone* (G. H. Bourne, ed.), Vol. I. Chapter 5. New York, London: Academic Press 1972
- Jaffe, H. L.: Giant-cell reparative granuloma, traumatic bone cyst, and fibrous (fibro-osseous) dysplasia of the jawbones. *Oral Surg.* **6**, 159—175 (1953)
- Jeffree, G. M.: Enzymes in fibroblastic lesions: a histochemical and quantitative survey of alkaline and acid phosphatase, beta glucuronidase, non specific esterase and leucine aminopeptidase in benign and malignant fibroblastic lesions of bone and soft tissue. *J. Bone Jt Surg.* **54**, 535—546 (1972)
- Johnson, W. W.: The giant cells of benign giant cell tumors of bone. *Arch. Path.* **10**, 197—205 (1930)
- Konjetzny, G. E.: Die sogenannte „lokalisierte Ostitis fibrosa“. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **121**, 567—576 (1922)
- Lichtenstein, L.: Tumors of synovial joints, bursae and tendon sheaths. *Cancer (Philad.)* **8**, 816—830 (1955)
- Mönckeberg, I. G.: Zur Frage der sogenannten Riesenzellsarkome der Knochen. *Virchows Arch. path. Anat.* **245**, 106—116 (1923)
- Pepler, W. J.: The histochemistry of giant cell tumors (osteoclastomata and giant cell epulis). *J. Path. Bact.* **76**, 505—510 (1958)
- Pindborg, J. J., Kramer, I. R. H.: Histological typing of odontogenic tumours, jaw cysts and allied lesions. In: *International Histological Classification of Tumours*, WHO, Genf, 1971
- Rather, L. J.: A note on the origin of multinucleated giant cells from vascular channels in tumors—tumors arising in thyroid glands, bone and soft tissues. *Arch. Path.* **52**, 98—103 (1951)
- Ribbert, H.: Zur Kenntnis des Riesenzellsarkoms. *Frankfurt. Z. Path.* **20**, 29—36 (1917)
- Ritter, C.: Die Epulis und ihre Riesenzellen. *Dtsch. Z. Chir.* **54**, 1—40 (1900)
- Sapp, J. P.: Ultrastructure and histogenesis of peripheral giant cell reparative granuloma of the jaws. *Cancer (Philad.)* **30**, 1119—1129 (1972)
- Schajowicz, F.: Giant cell tumours of bone (osteoclastoma): A pathological and histochemical study. *J. Bone Jt Surg.* **43A**, 1—29 (1961)
- Schulz, A.: Einbettung mineralisierten Knochengewebes für die Elektronenmikroskopie. *Beitr. Path.* **156**, 280—288 (1975)
- Schulz, A., Maerker, R., Delling, G.: Das zentrale Riesenzellgranulom. Histochemische und ultrastrukturelle Untersuchungen zu Histogenese. *Virchows Arch. Abt. A* **370**, 163—175 (1976)

- Soskolinene, W. A.: Peripheral giant cell granulomas: an ultrastructural study of three lesions. J. oral Path. **1**, 133—143 (1972)
- Stewart, M. J.: The histogenesis of myeloid sarcoma with a criticism on the “chronic hemorrhagic osteomyelitis” theory. Lancet **1922II**, 1106—1108
- Wertheimer, F. W.: Enzyme histochemistry of giant-cell reparative granulomas. Oral Surg. **23**, 464—469 (1967)

Dr. A. Schulz
Pathologisches Institut
der Universität
Martinistr. 52
D-2000 Hamburg 20
Bundesrepublik Deutschland