



氏 名 關 聖 太 郎 (昭和45年 8月 8日生)
 本 籍 地 静 岡 県
 学 位 の 種 類 博士 (歯学)
 学 位 授 与 番 号 岩医大院歯博第189号
 学 位 授 与 の 日 付 平成15年 3月 25日
 学 位 授 与 の 条 件 学位規則第 4 条第 1 項該当者 (博士課程修了者)
 学 位 論 文 題 目 ① Three-dimensional changes in lymphatic architecture
 around VX 2 tongue cancer
 -Dynamics in growth of cancer -
 (VX 2 舌癌周囲リンパ管の三次元的な構築変化
 -癌の進展に伴う変化-)
 ② Three-dimensional changes in lymphatic architecture
 around VX 2 tongue cancer -Dynamic changes after adminis-
 tration of antiangiogenic agent -
 (VX 2 舌癌周囲リンパ管の三次元的な構築変化
 -血管新生阻害薬投与後の変化-)

論文内容の要旨

I. 研究目的

口腔扁平上皮癌などでは、所属リンパ節転移が比較的早期に生じる。そのため、腫瘍に対する治療に際しては、原発巣の制御のみならず所属リンパ節転移の抑制が重要である。近年、血管新生の抑制による抗腫瘍効果を期待する治療薬が開発され、この血管新生阻害薬が腫瘍の縮小のみでなくリンパ節転移を抑制することが報告されている。そこで、ウサギ VX 2 舌癌モデルを用いて、腫瘍の進展に伴う腫瘍周囲リンパ管の三次元的な構築変化に加えて、血管新生阻害薬投与によるリンパ節転移抑制下でのリンパ管の動態について検討した。

II. 研究方法

実験動物には日本白色種雄性ウサギ、実験腫瘍には VX 2 癌を用いた。本研究には、血管新生阻害薬の一つである TNP-470 を用いた。対照群は腫瘍移植後 3, 7, 10 日目のウサギ各 5 匹、投与群は TNP-470 (30mg/kg) を腫瘍移植後 3 日目よりウサギ耳静脈より隔日投与 (計 4 回投与) したウサギ各 5 匹とした。なお、対照群と投与群の比較は腫瘍移植後 10 日目において行った。ウサギは過麻酔にて屠殺後、舌および深頸リンパ節を摘出した。腫瘍の増殖状態は、肉眼的な大きさをノギスを用いて計測し、腫瘍体積を算出した。腫瘍のリンパ節転移の有無に関しては、摘出した深頸リンパ節を通常に従い H.E 染色を施し、病理組織学的に検索した。摘出した舌は浸漬固定後、冷ヘキサソ (-85°C) で凍結し、5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウムにて凍結包埋した。包埋後の舌の薄切は、川本の方法に準じて行ない、厚さ 10 μ m の連続凍結切片を作製した。リンパ管の同定は、加藤の方法に準じて 5'-nucleotidase (以下 5'-Nase) 染色を行った。染色した切片は光学顕微鏡に装着した冷却 3 CCD カメラにより撮影し、二次元画像としてコンピュータに入力した。入力した画像は閾値処理後、三次元構築ソフトを用いて volume rendering 法により 5'-Nase 反応陽性のリンパ管の三次元再構築像を作製した。次いで、回転像を作製し、腫瘍周囲のリンパ管構築を種々の方向から観察した。この回転像ならびに二次元画像から、腫瘍周囲 500 μ m 以内に分布する毛細リンパ管数および集合リンパ管口径を計測した。各群の平均値における有意差の検定には、統計処理ソフト (InStat 2.03) のノンパラメトリックによる Mann-Whitney 検定を用い、危険率 5% で検討した。

Ⅲ. 研究成績

1. 対照群では、腫瘍は経日的な増大を示したが、投与群では、TNP-470投与により腫瘍の増殖は抑制された。
2. 腫瘍の深頸リンパ節への病理組織学的転移は、対照群の全例において認められた。投与群では、転移が認められたものは5例中1例で、TNP-470投与により腫瘍のリンパ節転移は抑制された。
3. 対照群では、腫瘍増殖最先端部より100-300 μ m離れた部位の集合リンパ管に、長さが30-50 μ mで太さが15 μ m前後の盲端を形成する毛細リンパ管が多数合流していた。また、これらの毛細リンパ管はあらゆる方向から集合リンパ管に合流し、その形態は樹枝状を呈していた。
4. 投与群では、腫瘍近接部から集合リンパ管に合流する毛細リンパ管数は対照群に比べ有意 ($P < 0.05$) に少なく、対照群でみられた樹枝状のリンパ管はほとんど認められなかった。集合リンパ管の口径は、対照群に比べ有意 ($P < 0.05$) に小さかった。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 水 城 春 美 (口腔外科学第一講座)

副査 教授 野 坂 洋一郎 (口腔解剖学第一講座)

副査 教授 佐 藤 方 信 (口腔病理学講座)

口腔扁平上皮癌では所属リンパ節転移が比較的早期に生じる。また、リンパ節転移はしばしば被膜外に進展し、その結果、リンパ節転移巣の制御が困難となる場合もある。そのため、腫瘍の治療においては、原発巣の制御のみならず所属リンパ節転移の抑制および制御が治療成績の向上にとって重要である。近年、血管新生阻害薬が腫瘍の縮小のみでなく、リンパ節転移も抑制することが報告されている。

本研究は、ウサギ VX2 舌癌モデルを用いて、腫瘍の進展に伴う腫瘍周囲リンパ管の構築変化に加えて、血管新生阻害薬を投与した場合の腫瘍組織への影響ならびにリンパ管の動態について検討したものである。リンパ管の形態の観察においては、連続切片を作製することによって、酵素組織化学で同定したリンパ管の二次元画像を、コンピュータの三次元構築ソフトを用いて立体画像を再構築して観察した。

その結果、腫瘍周囲リンパ管は腫瘍増殖最先端部から100-300 μ m離れた部位の集合リンパ管に、長さが30-50 μ mで太さが15 μ m前後の盲端を形成する毛細リンパ管が多数合流し、その立体構造は樹枝状を呈することが判明した。また、腫瘍の進展に伴い既存の集合リンパ管から毛細リンパ管が新生されることを示唆する所見が得られた。さらに、血管新生阻害薬 TNP-470の投与により、腫瘍の増殖ならびにリンパ節転移が抑制され、リンパ管の構築に関しては、対照群に比較して毛細リンパ管の数が有意に少なく、集合リンパ管の口径が有意に小さく、樹枝状のリンパ管構造がほとんど認められなかった。このことから、血管新生阻害薬 TNP-470は腫瘍周囲の血管新生を阻害するのみならず、毛細リンパ管の新生も抑制することが示唆され、その結果、リンパ節転移が抑制されるのではないかと考えられた。

本研究の特徴ならびに新知見は、リンパ管の構築変化の検討にあたって、連続切片を作製し、酵素組織化学染色で同定したリンパ管の二次元画像から三次元の立体画像を再構築することによって、腫瘍周囲リンパ管の立体構造を解明した点と、血管新生阻害薬 TNP-470のリンパ管新生に及ぼす影響を解明した点にある。したがって、この研究は今後の口腔癌のリンパ節転移に関する研究ならびに治療において大きな示唆をあたえるものであると思われる。

試験・試問の結果の要旨

本論文の目的、概要について説明がなされ、研究方法、結果に対する考察などについて試問した結果、いずれにおいても適切な解答が得られた。学位に値する十分な知識を備えていることを認める。