

頬粘膜下リンパ管の構築と分布量

佐藤 大, 藤村 朗*

岩手医科大学歯学部口腔外科学第一講座

(主任 : 水城 春美 教授)

*岩手医科大学歯学部口腔解剖学第一講座

(主任 : 野坂洋一郎 教授)

(受付 : 2008年12月12日)

(受理 : 2009年1月6日)

Abstract : The studies of lymphatic architecture and distribution are increasing in importance in the investigation of the routes of tumor metastasis, treatment of edema and the development of lymphaticovenular anastomosis. In this study, lymphatic architecture and distribution beneath the buccal mucosa of mice were investigated using enzymatic histochemical staining and analysis of the three-dimensional lymphatic architecture using a new 3D reconstruction method. Using the obtained histological image, buccal mucosa was vertically divided into three areas including the upper area from corresponding buccal mucosa to occlusal plane (U), corresponding buccal mucosa to occlusal plane (O) and lower area from corresponding buccal mucosa to occlusal plane (L) areas. Anteroposteriorly, buccal mucosa was divided into four areas comprising the corresponding buccal mucosa to incisor (I), corresponding buccal mucosa to edentulous area (E), corresponding buccal mucosa to molar (M) and fauces area of buccal mucosa (F) areas. Network formation of the lymphatic vessels was observed subepithelially at the buccal mucosa. The networks of the lymphatic vessels were finer than the blood vessels. The precollecting lymphatics heading to the suprafascial collecting lymphatics right below the mucosa was observed on O area. Entering short connective tissue papillae, blind-ends were observed most on LM and OM areas followed by LE and OF areas. It is suggested that the thickness of cornified layers in mucosal epithelium and the entire thickness of the epithelial layers has an effect on drug penetration. In addition to that, UM area is considered to be an effective area to place drugs that require instantaneous effects in terms of penetration. Our results also suggested that OM area is an effective place for drugs with high molecular weight.

Key words : lymphatic architecture, distribution, buccal mucosa

Lymphatic architecture and distribution beneath the buccal mucosa

Yutaka SATO

First Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Iwate Medical University

(Chief : Prof. Harumi MIZUKI)

Akira FUJIMURA

First Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Iwate Medical University

(Chief : Prof. Yohichiro NOZAKA)

1-3-27 Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

緒 言

リンパ管の研究は血管系に比べると非常に少なく、諸臓器における詳細なリンパ管構築は、ほとんど検索されてこなかった。その理由としては組織切片上でのリンパ管は、血管、特に細静脈との鑑別が困難であることが挙げられており、1959年 Gouldら¹⁾によるセンチネルノードコンセプトが提唱されてからもリンパ管の研究はなかなか進まなかった。近年、酵素組織化学的、免疫組織学的に微細なリンパ管の同定(LYVE-1, Prox-1, etc.)が可能となり²⁻⁵⁾、さらに腫瘍の転移経路の解明⁶⁾、浮腫の治療⁷⁻⁹⁾、リンパ管静脈吻合術¹⁰⁾の開発、リンパ管新生についての研究¹¹⁻¹³⁾などにより、改めてリンパ管構築及びその経路に注目が集まってきている。その結果、臓器組織内におけるリンパ管構築が少しずつ明らかにされてきている¹⁴⁻²¹⁾。

一方、腫瘍の化学療法に関しては、種々の抗癌薬や投与方法の開発のなかで、抗癌薬を腫瘍内もしくは腫瘍周囲に直接注射することで腫瘍の増殖を制御するのみならず、所属リンパ節に転移した腫瘍細胞の増殖を抑制することが腫瘍周囲のリンパ管からの薬剤吸収の観点から報告されている²²⁻²⁴⁾。この薬剤投与方法で重要な点は、投与部位のリンパ管構築及び分布状態を確実に把握していることである。我々は臨床で用いられているバツカル錠に注目し、頬粘膜から粘膜上皮下リンパ管に経粘膜的に薬剤を吸収させ、頬粘膜領域²⁵⁾の悪性腫瘍の化学療法及びその所属リンパ節への転移抑制の基礎的条件を確立することを目的に、マウスを用いて頬粘膜下リンパ管構築とその分布を酵素組織化学染色とコンピューターグラフィックを併用した三次元再構築法^{26, 27)}で検索した。

材 料 と 方 法

1. 実験動物

実験には生後10週齢雄性マウス(体重20-25g, C57BL/6, 日本クレア)7匹を用い、室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、という条件下で岩手

医科大学動物実験センターにて飼育管理されたものを用いた。飼育にあたっては、MF固形飼料(オリエンタル酵母工業社)と水は自由摂取させた。なお、本研究は、岩手医科大学動物実験委員会の承認(17-0039)を受け、文部科学省「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」に則った岩手医科大学動物実験規定に沿って行なった。

2. 組織学的検索法

マウス1匹をペントバルビタールナトリウム210mg/kg、腹腔内過麻酔下に頭部を離断し、4%パラフォルムアルデヒド固定液にて一週間固定(室温)後、Plank-Rychlo溶液にて一週間脱灰(室温)を行った。アルコール上昇系列にて脱水を行なった後、Glycol methacrylate(GMA)樹脂セミア(室温、一週間)に置換し、その後GMAモノマーに包埋し、 4°C にて一週間硬化させた。次いでミクロトーム(JUNG AUTOCUT2055[®], Leica, German)を用い $3\mu\text{m}$ 連続前額断組織切片を作製し、乾燥させた後、通法に従ってToluidine Blue(pH 7.4)に15分間浸漬し、流水洗浄後、乾燥し、封入した。切片の二次元画像(組織像)を冷却3CCDカメラ(C5810[®], 浜松ホトニクス)装着の光学顕微鏡(E1000M[®], Nikon)を用い観察した。得られた組織像の特徴から頬粘膜を12領域に区分し、これらの領域のリンパ管の特徴について比較検討した。

3. 血管構築の観察法

マウス1匹にペントバルビタールナトリウム50mg/kg、腹腔内麻酔を施し開胸後、下行大動脈を結紮し、上行大動脈にカニューレーションを行い頭頸部血管系のみを確保した。ヘパリン加生理食塩水にて瀉血し、5%ゼラチン加墨汁を手圧にて注入した。墨汁注入後、頭部を離断し4%パラフォルムアルデヒド固定液にて固定後、Plank-Rychlo溶液にて脱灰し、アルコール上昇系列にて脱水、キシレンで透徹し、パラフィン包埋した。次いで、ミクロトームにて $30\mu\text{m}$ 矢状断組織切片を作製し、脱パラフィンし、封入を行なった。二次元画像を冷却3CCDカメ

ラ装着の光学顕微鏡からコンピュータ (Mac G4, OS 9.1, Apple, USA) に直接入力し観察を行った。

4. リンパ管再構築法

過麻酔下のマウスから頬粘膜を採取し、直ちに液体窒素にて凍結し、クライオフィルトランスファーキットのステンレスコンテナに4% Carboxymethyl cellulose で、凍結包埋を施した。凍結包埋後の試料をクライオスタット (CM3050S[®], Leica, German) にて、フィルム・トランスファー法 (Cryofilm TYPE I-B[®], FINETEC 社) による凍結連続水平断組織切片 (10 μm) を作製した。これらの連続組織切片を2%塩化カルシウム加パラフォルムアルデヒドにて固定 (10分間) し、0.1M Tris-Maleate Buffer にて3回洗浄した。その後、リンパ管同定のために加藤の方法^{2, 20, 28)} に準じて、5'-Nucleotidase 染色を施した。なお、染色法は次のとおりである：基質液の成分は5'-adenisine monophosphate 25 mg, 0.1 M 硫酸マグネシウム 5 ml, 2%硝酸鉛 3 ml, レバミゾール 20 mg, 0.2 M トリス・マレイン酸緩衝液 20 ml, 蒸留水 22 ml とし、37℃にて30分間浸漬した。その後、マレイン酸緩衝液にて洗浄し、1%硫化アンモニウム液で2分間浸漬 (室温) し、発色させ、純水にて洗浄後、20%グリセリンを用いて封入した。リンパ管の二次元画像を冷却3CCD カメラ装着の光学顕微鏡からコンピュータに直接入力した。モニター上で茶褐色に発色したリンパ管のみの抽出を行ない、軸合わせ、閾値処理等の画像処理を施し (Photoshop[®] Ver.7.0.1, Adobe, USA), 三次元再構築ソフト (Zed-View[®] Ver.4.0, LEXI) を用いてリンパ管の三次元再構築像を作製した。完成した像をもとに、回転像を作製し、全方位からのリンパ管構築を検索した。この操作を合計5匹について行なった。

5. リンパ管および盲端の分布状態の観察法

リンパ管の三次元再構築像を全方位から分析し、全体的な分布状態、形態等を理解した上で、再度再構築ソフトを用い頬粘膜上皮下リンパ管網より立ち上がる盲端部のみを抽出した像を作

製し、粘膜面からその数を計測し、単位面積当たり (1mm²) の盲端数を算出した。この結果より組織像の特徴から区分した12領域の盲端の分布状態を検索した。盲端分布の測定した数の平均値ならびに統計処理にはANOVAを用い、有意差の検定は、Student-Newman-Keuls test にて行なった ($p < 0.05$)。

結 果

1. 組織所見

Toluidine blue 染色を施した連続前額断組織切片を上皮層の厚さ、上皮脚の長さ、固有層、粘膜下層の構造を基準にし、頬粘膜を12領域に区分し検索を行った (Fig. 1)。

口吻側より順次観察すると、前後的には、口角より後方で短い上皮脚を有する切歯相当領域の頬粘膜を(I)、上皮脚が消え、上皮層が薄くなった領域より後方で第一臼歯近心までを無歯部相当領域の頬粘膜(E)、第一臼歯から第三臼歯までを臼歯相当領域(M)、第三臼歯より後方で、喉頭蓋までを口峡領域(F)とし、上下的には、臼歯部で長い上皮脚を有する咬合平面相当領域の頬粘膜を(O)、それより上方の領域を(U)、下方の領域を(L)とした (Fig. 2)。

I領域において、上皮層はL領域では30~50 μm、U領域では50~100 μmであり、いずれにも太く短い上皮脚が確認できた (Fig. 1a)。E領域において、上皮層はU領域では20~30 μmであり薄く、L領域に向かうに従い30~60 μmと厚さを増していたが、上皮脚は殆ど確認できなかった (Fig. 1b)。M領域において、上皮層は全体的に他の部位より厚く、その中で、U領域で30~50 μmと薄く、下方に向かうに従い厚くなり、O領域では100~150 μmで、長い上皮脚が見られた (Fig. 1c)。この領域の粘膜上皮表面には、乳頭様構造も認められた。F領域においては、上皮層が50~80 μmの範囲で均一であり短い上皮脚が、等間隔で見られた (Fig. 1d)。

上皮下の固有層は、上下的にも前後的にも殆んど厚さに差はなく、約50 μmであったが、粘

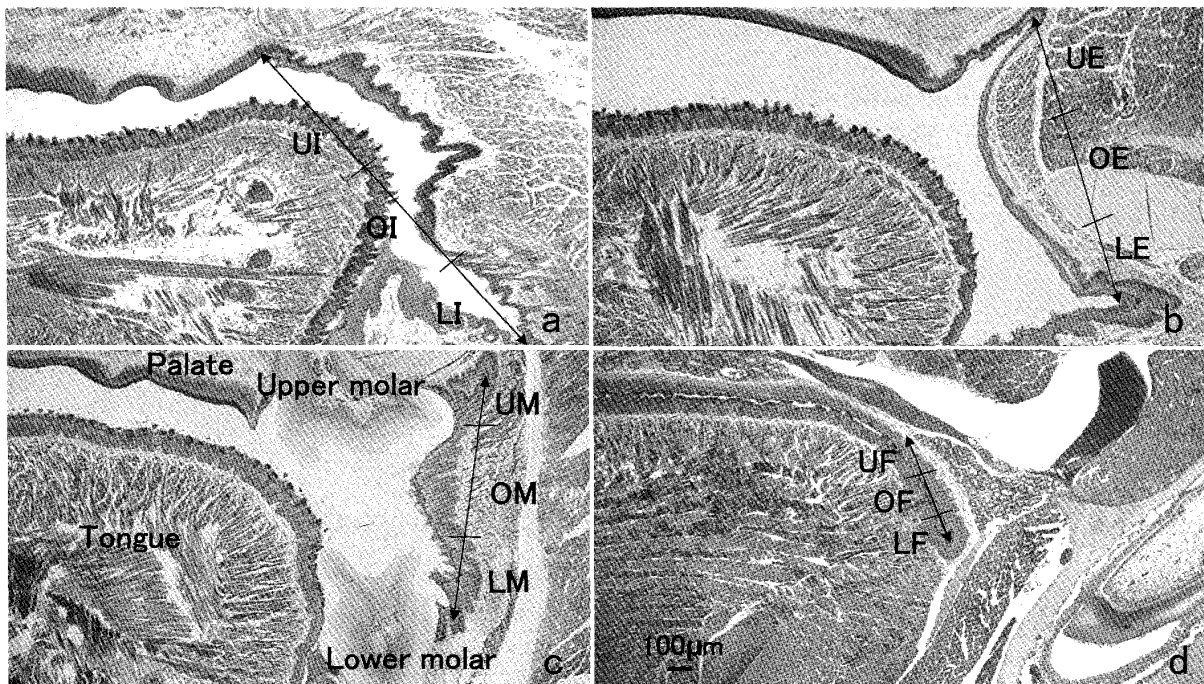


Fig. 1. Frontal section with toluidine-blue staining of mouse oral cavity.

- a: Corresponding buccal mucosa to incisor
- b: Corresponding buccal mucosa to edentulous area
- c: Corresponding buccal mucosa to molar
- d: Fauces area of buccal mucosa

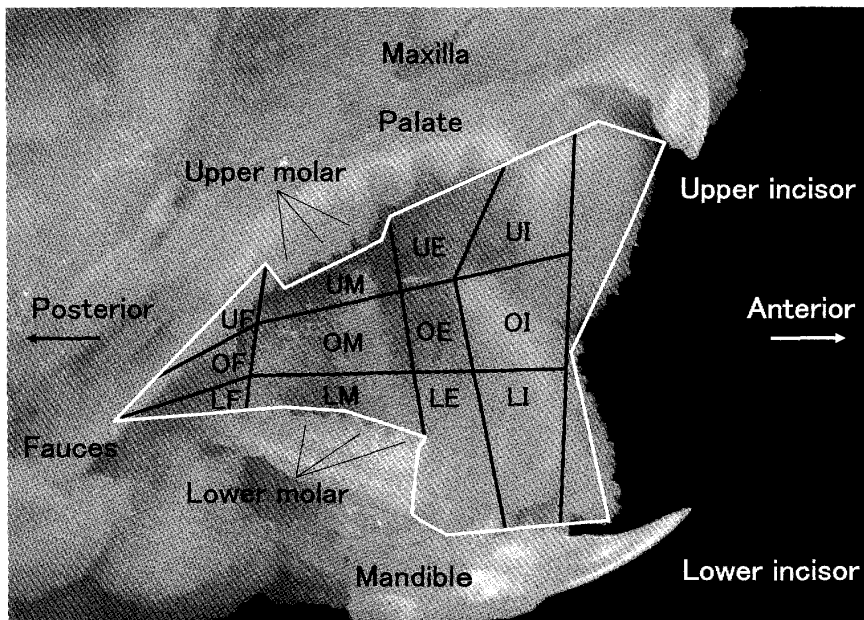


Fig. 2. The median sagittal section of a mouse with mouth opening (removal of the tongue). The extracted area (white line) and 12 areas divided by the results of histological observation on Fig. 1 are presented. Anteroposteriorly, buccal mucosa was divided into four areas comprising the corresponding buccal mucosa to incisor (I), corresponding buccal mucosa to edentulous area (E), corresponding buccal mucosa to molar (M) and fauces area of buccal mucosa (F). In vertical dividing, corresponding buccal mucosa to occlusal plane (O) was determined, and then the areas below and above O area were divided into the upper area from corresponding buccal mucosa to occlusal plane (U) and lower area from corresponding buccal mucosa to occlusal plane (L), respectively.

膜下層の厚さに違いが認められた。すなわち、I領域では、U領域で約100 μ mと厚く、E領域、M領域では下方に向かうに従って約150 μ mと厚くなり、F領域では約50 μ mと上下的な差が認められなかった。

2. 血管構築

血管墨汁注入標本より、上皮直下の微細血管の構築と分布状態の観察を行なった結果、I、E、M、Fそれぞれの領域において、網目構造が確認された (Fig.3, 4)。網目を構成している血管の太さ (内径) と網目の大きさは、I領域においては、太さが約10 μ mで、網目の大きさが短径50~80 μ m × 長径130~180 μ mであり、E領域においては、太さ10~20 μ m、網目の大きさが短径50~150 μ m × 長径80~120 μ mであった (Fig.3)。M領域においては、太さ5~20 μ m、網目の大きさが短径50~100 μ m × 長径100~150 μ m、F領域においては、太さ5~15 μ m、網目の大きさが短径30~100 μ m × 長径50~220 μ mであった (Fig. 4)。これらの網目

のうち、OM領域において、血管ループが結合組織乳頭に入り込んでいたが、その他の部位ではこのような所見は認められなかった。なお、OM領域において血管ループが入り込んでいたのは結合組織乳頭の高さが高い領域 (100 μ m以上) のみであった。

3. リンパ管再構築像

5'-Nucleotidase染色によって、茶褐色に発色している粘膜上皮下のリンパ管および筋層上を走行するリンパ管が観察された。粘膜上皮下のリンパ管からは、結合組織乳頭内に盲端が立ち上がっているのが観察された (Fig. 5)。粘膜上皮下のリンパ管の三次元再構築像よりL領域において細かい網目状構造が見られた (Fig. 6a)。I領域を除くO領域、U領域では、L領域に比べ網目の大きいネットワークが見られた。網目のサイズは、U領域、O領域で短径20~30 μ m × 長径120~150 μ m、L領域で短径20~30 μ m × 長径50~70 μ mであった。OM領域で粘膜上皮下リンパ管網から前後的に、粘膜下層

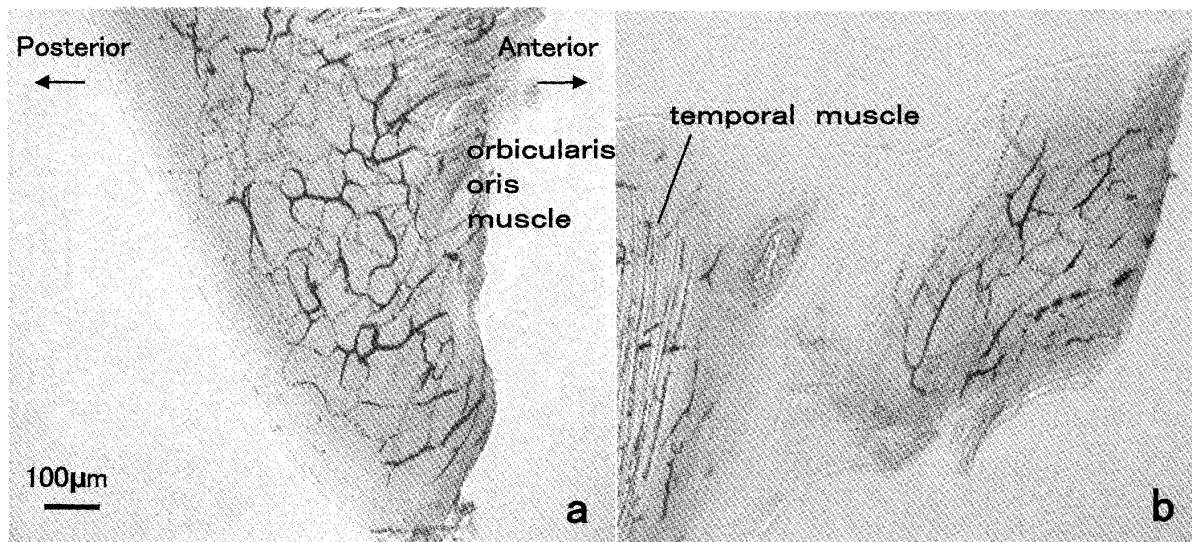


Fig. 3. Blood vessel images of the I area and E area beneath buccal mucosa with India ink injection (the section parallel to the surface of the buccal mucosa).

a: E area: Relatively fine networks were formed. The difference in the major and minor axes of the networks was not found.

b: I area: The network had a large ellipsoidal shape. The major axis was heading upward on a slant against the occlusal plane.

On the E and I areas, no standing of blood vessels from the submucosal blood vessel networks into the connective tissue papillae was found. The area of blood vessels with a small amount of India ink confirmed by a microscope was reproduced by dots.

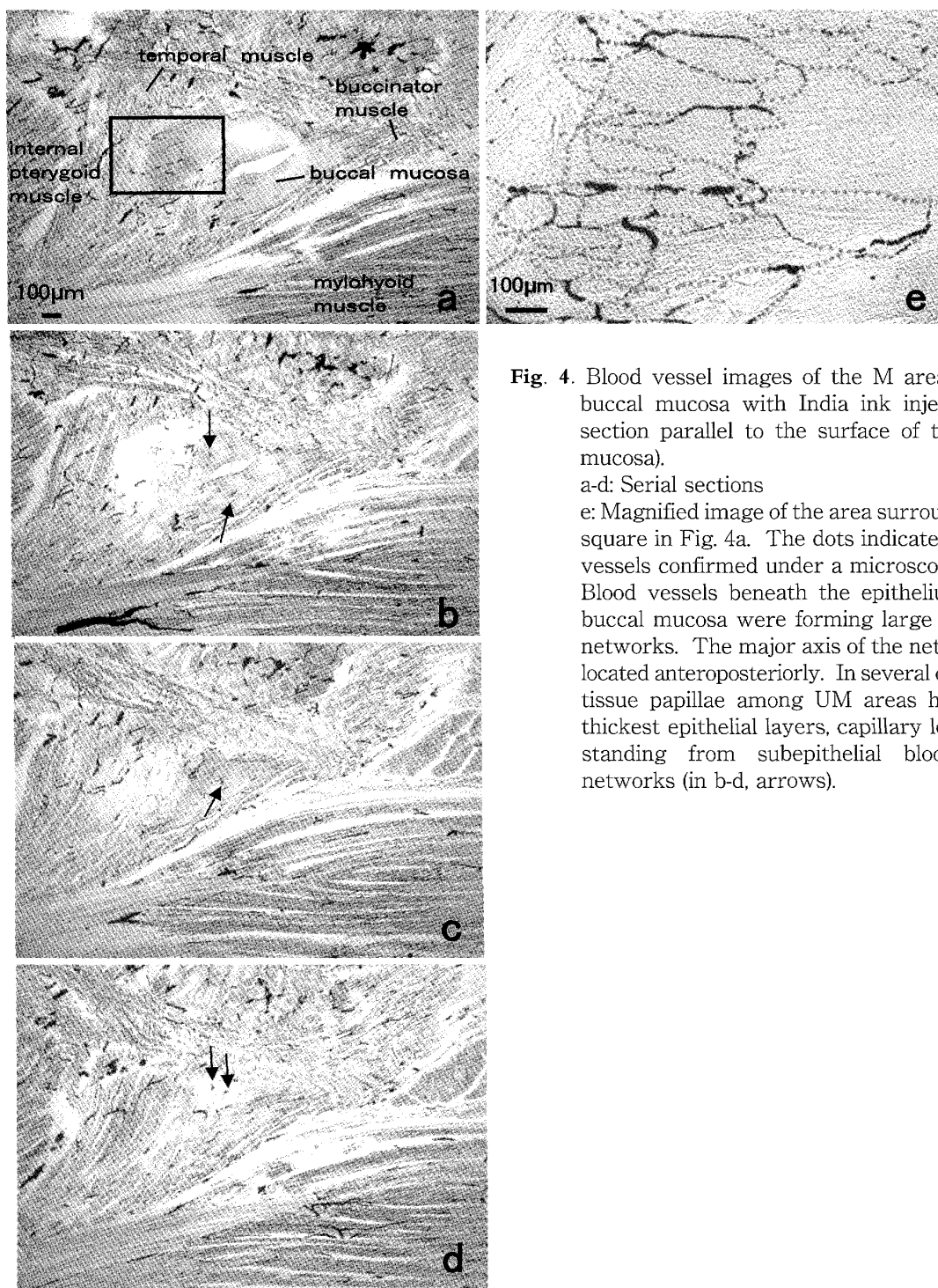


Fig. 4. Blood vessel images of the M area beneath buccal mucosa with India ink injection (the section parallel to the surface of the buccal mucosa).

a-d: Serial sections

e: Magnified image of the area surrounded by a square in Fig. 4a. The dots indicate the blood vessels confirmed under a microscope.

Blood vessels beneath the epithelium of the buccal mucosa were forming large and small networks. The major axis of the network was located anteroposteriorly. In several connective tissue papillae among UM areas having the thickest epithelial layers, capillary loops were standing from subepithelial blood vessel networks (in b-d, arrows).

を約 80~100 μm 間隔で貫いている前集合リンパ管は、筋層上を前後的に走行している集合リンパ管に移行していた (Fig. 6b)。

4. リンパ管および盲端の分布状態

粘膜上皮下リンパ管網から結合組織乳頭に入り込むように盲端が存在していた (Fig. 5)。そ

の数を先に区分した 12 領域 (Fig. 2) ごとに計測を行なうと、LM 領域が 152.0 ± 35.7 本と一番多く、次いで OM 領域で 149.0 ± 30.4 本であった。これらの 2 群は、他のどの群よりも有意に多く、次いで LE 領域が 95.0 ± 14.8 本、OF 領域が 72.6 ± 14.8 本でこれらは、先の 2 群

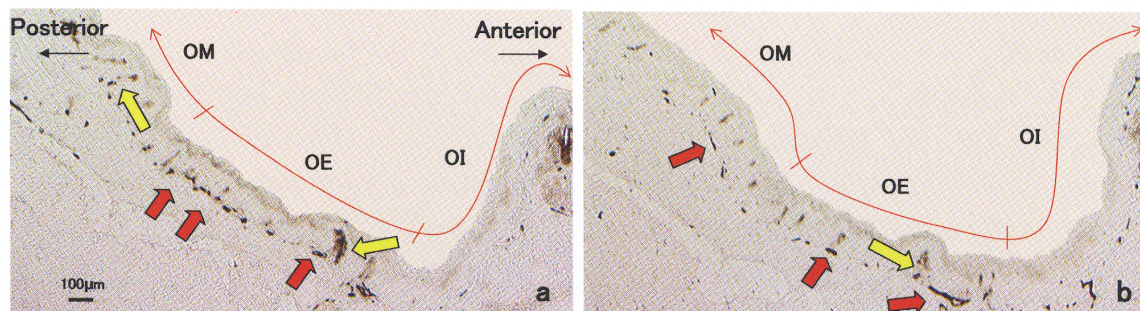


Fig. 5. Lymphatic vessels beneath the buccal mucosa with 5' - Nucleotidase staining.

Dark brown stained lymphatic vessels were found in the lamina propria of the thin mucosa. They were the vessels running parallel to the epithelial layer (red arrows) and blind-ends (yellow arrows) entering the connective tissue papillae from the former vessels. Very few blind-ends were observed on OI area. Blind-ends were entering the short connective tissue papillae on OE area. On the other hand, blind-ends were entering the high connective tissue papillae on OM area.

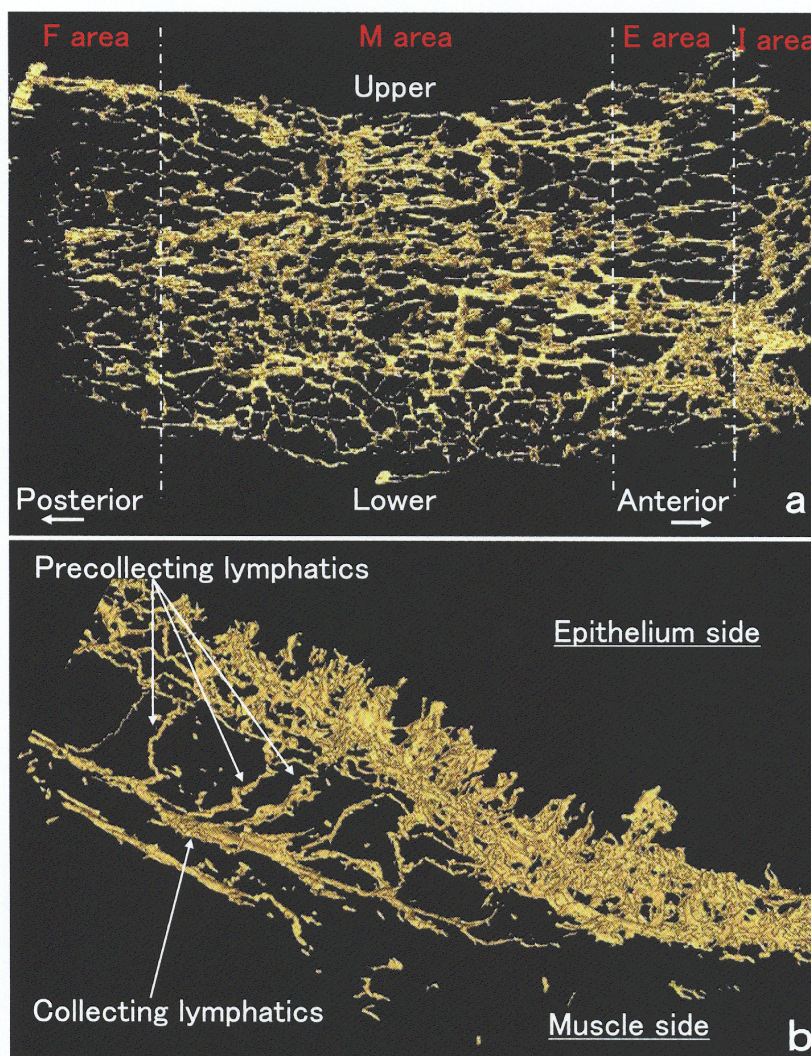


Fig. 6. a: 3-D images of lymphatic vessels beneath the buccal mucosa (Epithelium side).

b: 3-D images of lymphatic vessels on the O area (90 degree rotation from epithelium side).

Various forms of blind-ends were standing from the networks of submucosal lymphatic capillaries. On the other hand, from the lower level of the lymphatic capillary networks, the precollecting lymphatics drained to the collecting lymphatics above the muscle layer. The collecting lymphatic was heading to the pharynx.

よりは少ないが, その他の群よりは有意に多かった。LI 領域については他の領域より有意に少ないという結果であった (Fig. 7)。

形態としては, OE, OM 領域において先端が糸球体状構造や棒状構造を呈するものが混在し, OM, OF 領域には背の高いものが多く確認できた (Fig. 8)。他の領域では背の低い棒状のものが主であった。背の高いものでは, その高

さは 100~120 μm , 低いものでは 20~50 μm 。太さについては, 細いものでは 5~10 μm , 太いものでは 20~30 μm であった (Table 1)。

血管とリンパ管との分布状態を比較すると, 位置関係は, 粘膜上皮下に血管網があり, その下方にリンパ管網が位置していた。結合組織乳頭への侵入については, 血管では OM 領域で, 高さが約 100 μm 以上ある領域にのみ毛細血管

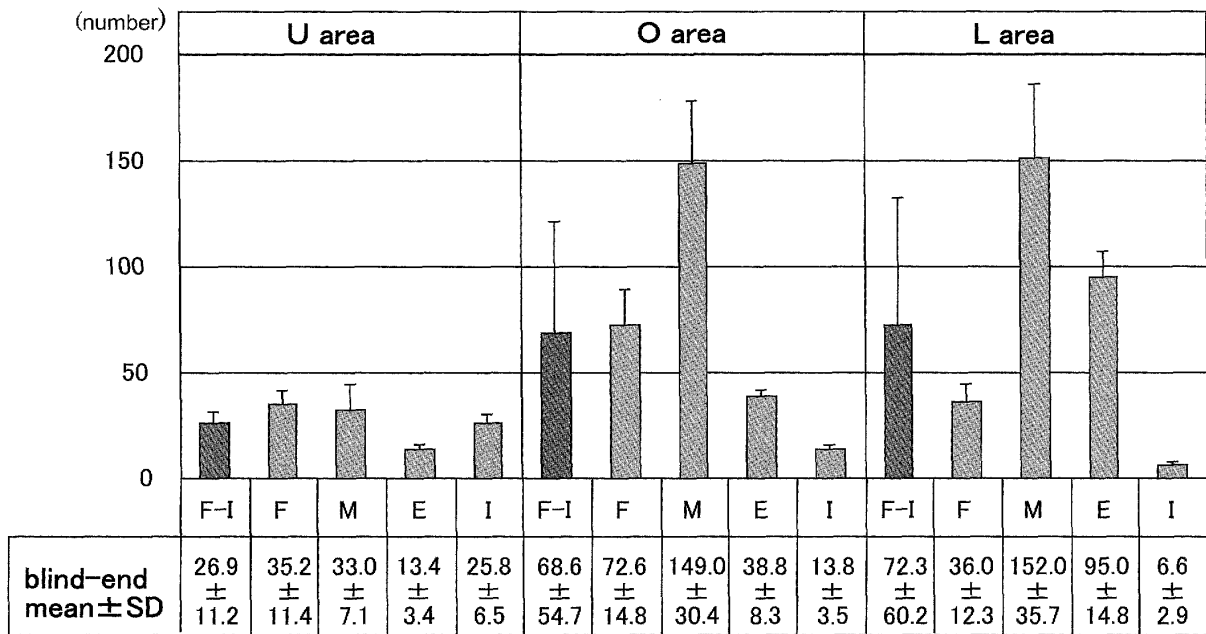


Fig. 7. The number of blind-ends on each area (n = 5).

Table 1. The morphology of lymphatic vessels and blind-ends beneath the mucosal epithelium.

	UF	UM	UE	UI	OF	OM	OE	OI	LF	LM	LE	LI
shape	S	S	S	S	G & S	G & S	G & S	S	S	S	S	S
length	short	short	short	short	long	long	short & long	short	short	short & long	short & long	short
thickness	thin	thin	thin	thin	thin	thick	thick	thin	thin	thin	thin	thin
network	small	large	large	large	large	large	large	small	small	small	small	large

S: Spindle head, G: Glomerulus head

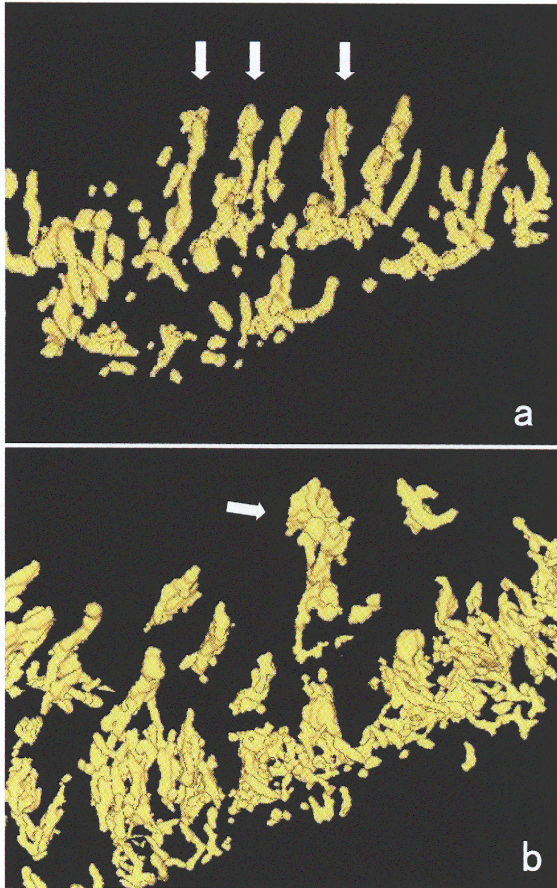


Fig. 8. a: Spindle heads of blind-end. Numerous tall rodlike blind-ends were observed on F area.
 b: Glomerulus heads of blind-end. Numerous blind-ends with glomerulus heads were observed on E and M areas near O area.

ループが入り込んでいた。一方、リンパ管では、高さが $100\ \mu\text{m}$ よりも低い領域にも粘膜上皮下リンパ管網から盲端が侵入していた。

考 察

1. 組織像

口腔内の被覆粘膜である頬粘膜は、咀嚼粘膜である口蓋や歯肉、特殊粘膜である舌背などに比べ、上皮層が薄く、角化傾向は弱く、粘膜下層は可動性で、筋肉とも強くは結合していないことから、組織液等の貯留容量が大きいと推測された。しかし、領域別に観察を行なうと粘膜上皮の厚さは、前後的にすべてのU領域で薄いが、O領域では角化層が厚く、L領域では上皮層全体が厚かった。角化層の厚さ、角化層を

含む上皮層全体の厚さは薬剤の浸透性に影響していることから、U領域粘膜からの薬剤吸収がO領域、L領域に比べ容易であると推測された。

2. 血管構築像

血管墨汁注入像より、頬粘膜上皮下の血管は、リンパ管の約半分の太さで、網目構造もリンパ管よりも細かった。また、U領域から、L領域に向かうに従い網目の大きさが細くなり、リンパ管の網目構造と同様の構築を呈していた。このことは、血管の分布状態がリンパ管の分布状態と関係が深いことを示唆している。また、Fig. 4で観察されたように、OM領域において、毛細血管ループが結合組織乳頭に入り込んでいたが、その他の領域ではこのような所見は認められなかった。すなわち、結合組織乳頭の高さが高い領域 ($100\ \mu\text{m}$ 以上) にのみ毛細血管ループが入り込んでおり、結合組織乳頭の高さが $100\ \mu\text{m}$ より低い場合には毛細血管ループが侵入せず、粘膜上皮血管網から直接の栄養供給でまかなわれていると考えられた。

3. リンパ管再構築像

全体的に、頬粘膜上皮下には網目状のネットワークが形成されていた。そのうち、O領域の粘膜上皮下リンパ管網から粘膜下層を前集合リンパ管が貫通し、筋膜上の太い集合リンパ管に向かっていった。この前集合リンパ管は集合リンパ管に向かうに従って太くなり、後方に傾斜していた。このことから、この前集合リンパ管の中のリンパの流れは前方から後方に向かっているものと推測できた¹⁵⁾。すなわち、O領域では前集合リンパ管が直下に存在しており、リンパの能動的な定常流が形成されている可能性があり、このことは、リンパの流れが滞ることなく流れていることが示唆された。一方、U領域、L領域では、吸収されたリンパが一度、粘膜上皮下の網目に貯留し、咀嚼時の筋ポンプ作用等によりO領域粘膜上皮下で筋膜上に存在する集合リンパ管へと受動的に押し込まれると考えられた。

粘膜上皮下リンパ管網より立ち上がる盲端は、形態学的に先端が糸球体状構造を呈してい

ることは、歯肉の炎症時、透過性が亢進した血管の形態変化¹⁶⁾からも、単純な棒状を呈しているリンパ管よりも吸収効率が高いと推測できた。すなわち、OM領域のリンパ管では、他の部位よりも吸収効率が高いことが推測できた。

口腔粘膜は、胃、腸管、肝臓の初回通過効果を回避することが可能な薬剤吸収部位であり、また経粘膜的にも注射に代わる薬剤投与経路として期待できるだけでなく、その注射を回避することによる患者へのQOL改善にも大いに役立つものと考えられる。舌粘膜下にアルブミンを注入すると、所属リンパ節に約5分で到達することは、既に報告されているが²⁹⁾、薬剤を経粘膜的に投与することにより、口腔領域の悪性腫瘍における所属リンパ節への転移予防、あるいは転移リンパ節の治療に応用することが可能と思われる²²⁻²⁴⁾。

現在臨床で使用されているバツカル錠は、基本的には血管による吸収を想定して使用されているが、今回の検索により実際にはリンパ管による吸収という観点からも頬粘膜は、有効な部位であることが示唆された。また、領域別による吸収能の差差を利用することによって使用する薬剤の使い分けも可能であることが推測できた。特に、粘膜上皮の角化層の厚さや上皮層全体の厚さは、薬剤浸透性に影響を及ぼすと考えられるが、即効性の必要な薬剤については、UM領域が浸透性の観点から有効であり、分子量の大きな薬剤に関しては、OM領域が有効であると推測できた。

小動物とヒトでは粘膜構造が異なる^{30,31)}ことより薬物浸透性の領域差については、今後も検索が必要であると考えられるが、口腔粘膜経由の観点からリンパ管に特異的に吸収される薬剤^{31,32)}の性状、形状の開発がなされることにより、感染や腫瘍のセンチネルリンパ節に対する超選択的薬剤投与経路として大いに期待できるものとする。またこの薬剤投与システムが可能になれば、現在臨床で行われている脈管系を用いた抗癌薬投与方法である、超選択的動脈内注入法との併用により口腔領域の悪性腫瘍に対す

る治療^{22,23,31)}が、多少なりとも向上するものと思われる。

結 論

マウス頬粘膜上皮リンパ管の構築と分布量を酵素組織化学染色とコンピューターグラフィックを併用した三次元再構築法により検索をし、以下の結果を得た。

1. 粘膜上皮には網目の密なリンパ管網が存在した。
2. 咬合平面相当領域には、他の領域よりも背の高い、結合組織乳頭が多く存在し、粘膜上皮リンパ管網から個々の乳頭に入り込む盲端が、存在した。
3. 咬合平面相当より上方の領域では、臼歯相当領域で、上皮層の厚さが薄く、この領域の粘膜直下のリンパ管は、咬合平面相当領域の臼歯相当領域に認められる前集合リンパ管を経由して集合リンパ管へ移行していた。
4. 咬合平面相当領域では、臼歯相当領域で、結合組織乳頭に入り込むリンパ管の盲端が、糸球体状を呈しているものが多く、粘膜下層の前集合リンパ管を経由して集合リンパ管へ移行していた。

以上の結果から、頬粘膜は、リンパ管の構築および分布量からも、リンパ管を利用した薬剤投与経路として有効な部位であることが推測された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御懇篤なる御指導、御高閲を賜りました口腔外科学第一講座 水城春美教授に心より深謝申し上げます。また、数々の御指導と御協力を頂きました口腔解剖学第一講座 野坂洋一郎教授ならびに口腔病理学講座 武田泰典教授に厚く御礼申し上げます。最後に、絶えず暖かい御支援、御協力、御助言を頂きました口腔外科学第一講座ならびに口腔解剖学第一講座の皆様へ感謝致します。

なお、本論文要旨は、第31回日本微小循環学会学術大会(2006, 東京都)、第33回日本微小

循環学会学術大会（2008, 東京都）において発表した。

本研究の一部は、文部省私立大学ハイテク・リサーチ・プロジェクト補助金、日本学術振興会科学研究費（基盤研究C：20592144）の援助を受けて行なった。

文 献

- 1) Gould, E. A., Winship, T., Philbin, P. H., and Kerr, H. H.: Observations on a 'sentinel node' in cancer the Parotid. *Cancer* 13: 77-78, 1960.
- 2) 加藤征治：酵素組織化学的方法によるリンパ管の確定法, *リンパ学*, 12: 13-21, 1989.
- 3) 畑中豊, 谷洋一：リンパ管の免疫組織化学的解析：病理研究および診断で利用可能な分子マーカー, *細胞*, 37: 200-203, 2005.
- 4) 加藤征治, 三浦真弘, 中村英次郎：毛細リンパ管と毛細血管の鑑別染色法「5'-Nucleotidase-Alkaline Phosphatase 二重染色法」の再検討 -特に組織差について-, *リンパ学*, 16: 9-17, 1993.
- 5) 加藤征治：リンパ管の組織化学, *病態生理*, 14: 660-667, 1995.
- 6) 伊古美文隆, 水野理介, 河合佳子, 大橋俊夫：リンパ行性癌転移とリンパ管の生理学, *細胞*, 37: 192-195, 2005.
- 7) Shimotoyodome, A., Meguro, S., Hase, T., Tokumitsu, I., Fujimura, A., and Nozaka, Y.: Improvement of macromolecular clearance via lymph flow in hamster gingival by topical warming and massage. *J. Periodont. Res.* 35: 310-317, 2000.
- 8) Shimotoyodome, A., Okajima, M., Kobayashi, H., Tokumitsu, I., and Fujimura, A.: Improvement of macromolecular clearance via lymph flow in hamster gingival by low-power carbon dioxide laser-irradiation. *Lasers Surg. Med.* 29: 442-447, 2001.
- 9) 光嶋勲：リンパ浮腫の外科的治療法, *リンパ学*, 31: 18-19, 2008.
- 10) 岩本拓, 鈴木収二, 多賀谷光, 奈良政敏, 星和彦, 光嶋勲：骨盤内リンパ嚢胞に対するリンパ管静脈吻合の応用, *日マイクロ会誌*, 22: 80-89, 2008.
- 11) 加藤征治：特集に寄せて -リンパ管新生の形態学, *細胞*, 37: 178-179, 2005.
- 12) 下田浩, 加藤征治：リンパ管新生と内皮細胞特異分子の発現, *細胞*, 37: 180-183, 2005.
- 13) 河野朋哉, 久保肇：ES細胞からのリンパ管内皮細胞分化, *細胞*, 37: 184-187, 2005.
- 14) Fujimura, A., Sato, Y., Shoji, M., Onodera, M., and Nozaka, Y.: Lymphatic architecture of the oral region -Palatum-, *Dent. Jpn.* 43: 7-11, 2007.
- 15) Fujimura, A., Sato, Y., Shoji, M., Onodera, M., and Nozaka, Y.: Lymphatic architecture of the oral region -beneath the buccal mucosa-, *MVRC*. 1: 9-11, 2007.
- 16) 藤村朗：ゴールデンハムスターの付着上皮下毛細血管に関する研究 第2編歯髄炎と毛細血管構築の関連性について, *歯科学報*, 87: 101-122, 1987.
- 17) 藤村朗：口腔領域における毛細リンパ管構築, *リンパ学*, 22: 21-26, 1999.
- 18) Fujimura, A., Onodera, M., and Nozaka, Y.: Lymphatic architecture of the mouse head and neck region by computer graphic 3-D imaging -Submandibular lymph node-, *Dent. Jpn.* 36: 3-8, 2000.
- 19) Fujimura, A., Seki, S., Liao, M-Y., Onodera, M., and Nozaka, Y.: Three dimension architecture of lymphatic vessels in the tongue. *Lymphology* 36: 120-127, 2003.
- 20) Kato, S., and Miyauchi, R.: Enzyme-histochemical visualization of lymphatic capillaries in the mouse tongue -Light and electron microscopic study-. *Okajimas Folia. Anat. Jpn.* 65: 391-404, 1989.
- 21) 梁榮洲, 藤村朗：舌粘膜上皮下毛細リンパ管構築 -酵素組織化学的検索-, *岩医大歯誌*, 25: 283-291, 2000.
- 22) Seki, S., and Fujimura, A.: Three-dimensional changes in lymphatic architecture around VX2 tongue cancer -Dynamics in growth of cancer-. *Lymphology* 36: 128-139, 2003.
- 23) Seki, S., and Fujimura, A.: Three-dimensional changes in Lymphatic architecture around VX2 tongue cancer -Dynamics by administering of antiangiogenic agent-. *Lymphology* 36: 199-208, 2003.
- 24) 藤村朗, 野坂洋一郎：口腔領域のリンパ管構築 -薬剤投与経路としての応用-, *リンパ学*, 31: 2-5, 2008.
- 25) Cancer registry committee, Japan society for head and neck cancer: Report of head and neck cancer registry of Japan clinical statistics of registered patients, 2003, *頭頸部癌*, 33-suppl: 1-34, 2007.
- 26) 藤村朗, 蓼敏熒, 野寺政雄, 坂洋一郎：コンピュータ・グラフィック三次元再構築法による髄膜とリンパ管構築の関係, *リンパ学*, 24: 1-6, 2001.
- 27) Fujimura, A., and Nozaka, Y.: Analysis of the three-dimensional lymphatic architecture of the periodontal tissue using a new 3D reconstruction method. *Microsc. Res. Tech.* 56: 60-65, 2002.
- 28) 加藤征治, 三浦真弘, 中村英次郎：漿膜下組織内リンパ管の酵素組織的描出 -伸展試料の二重染色法-, *リンパ学*, 16: 19-26, 1993.
- 29) 謝雪峻, 藤村朗：舌のリンパ管による巨大分子クリアランスに関する研究, *岩医大歯誌*, 25: 273-282, 2000.
- 30) Farbman, A.: Electron microscope study of a small cytoplasmic structure in rat oral epithelium. *J. Cell Biol.* 21: 491-495, 1964.
- 31) Squier, C., and Edie, J.: Localization of lanthanum tracer in oral epithelium using transmission electron microscopy and the electron microprobe. *Histochem. J.* 15: 1123-1130, 1983.
- 32) 藤村朗, 野坂洋一郎, 世良耕一郎：頬粘膜下および口蓋粘膜経由の抗癌剤投与リンパ管の薬剤吸収能, *NMCC 共同利用研究成果報文集*, 14: 印刷中