

氏名 佐藤大  
学位の種類 博士(歯学)  
学位授与番号 岩医大院歯博第245号  
学位授与の日付 平成21年3月11日  
学位論文題目 頬粘膜下リンパ管の構築と分布量

## 論文内容の要旨

### I 研究目的

近年、腫瘍転移機構解明やセンチネル・ナビゲーション・サージェリーの開発でリンパ管に注目が集まっているが、形態的に細静脈との鑑別が困難なためリンパ管の研究は少ない。現在のリンパ管構築の検索は、酵素組織化学、免疫組織化学的染色を応用しているため、硬組織に囲まれており脱灰操作を必須とする口腔領域については、リンパ管構築はほとんど検索されていない。リンパ管構築はセンチネルリンパ節の同定やリンパ行性薬剤投与経路として応用が検討されている。本研究では頬粘膜下リンパ管の構築を検索し、頬粘膜のリンパ管を利用した薬剤投与経路について検討した。

### II 研究方法

#### 1. 実験動物

実験には、体重 20-25g, 10 週齢雄性マウス (C57BL/6), 7 匹を検索に用いた。

#### 2. 組織学的検索法

マウス 1 匹の頭部 3 μm 前額断連続樹脂切片を作成し、通法に従って Toluidine Blue (pH 7.4) 染色を行ない、冷却 3CCD カメラ装着光学顕微鏡を用い頬粘膜組織像の観察を行い、得られた特徴から頬粘膜を 12 領域に区分した。

#### 3. 血管構築の観察法

頬粘膜下血管構築の観察のため、マウス 1 匹を用い、墨汁を注入したモデルを作成し、パラフィン包埋した試料をミクロトームにて 30 μm 矢状断連続切片を作成し、光学顕微鏡を用い血管の観察を行った。

#### 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、凍結包埋後の試料をクライオスタットにて、10 μm 水平断連続凍結切片を作成し、リンパ管同定のために 5'-Nucleotidase 染色を施した。その後、二次元画像を光学顕微鏡からコンピュータに入力し、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、三次元再構築ソフトを用いリンパ管の再構築像を作成した。完成した像をもとに、回転像を作成し、全方位からのリンパ管構築を 5 匹について検索した。

### III 研究成績

頬粘膜を上下的には、咬合平面相当領域、咬合平面相当領域より上方、咬合平面相当領域より下方、前後的には、切歯相当領域、無歯部相当領域、臼歯相当領域、口峽領域の 12 群に区分した。咬合平面相当領域より上方では、上皮層が最も薄く、薬剤吸収に適した部位であることが推測できた。リンパ管の盲端数は咬合平面相当領域より下方の臼歯相当領域で最も多く、部位当りで  $152.0 \pm 35.7$  本であった。次いで咬合平面相当領域の臼歯相当領域で多く、これらの 2 群は、他の群よりも有意に多かった。

### IV 考察及び結論

頬粘膜は、口腔粘膜の分類では保護粘膜に分類され、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。また咬合平面相当領域より上方の臼歯相当領域頬粘膜では上皮が薄く薬剤投与

経路としては有効な部位であると考えられた。

咬合平面相当領域で臼歯相当領域頬粘膜下リンパ管の盲端形態は、糸球体状を呈しているものが多く、薬剤吸収効率が低い部位であることが推測された。固有層のリンパ管網から粘膜下層を貫通する前集合リンパ管を経由して筋層上を前後的に走行する集合リンパ管へ移行することによりこの部位では薬剤吸収後の移行性が良好な部位であることが推測された。

小動物とヒトとでは粘膜構造が異なることより薬物透過性の部位差については、今後も検索が必要であると考えられるが、頬粘膜は、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考えられる。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抗癌薬の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が多少なりとも向上するものと推察された。

## 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 武 田 泰 典 (口腔病理学講座)

副査 教授 野 坂 洋 一 郎 (口腔解剖学第一講座)

口腔癌ではしばしば頸部リンパ節転移がみられ、リンパ節転移巣の制御の成否は治療成績に大きく影響する。近年、センチネルリンパ節の考え方に基づいたセンチネル・ナビゲーション・サージェリーの開発などで、口腔癌とリンパ管との関連が一層注目されている。一方、頸部リンパ節転移に対する治療は、現在、郭清術が主体であるが、口腔癌に対する選択的動注化学療法の実現と普及により、転移リンパ節に対する化学療法も可能になりつつある。しかし、粘膜下に存在するリンパ管を抗がん薬の投与経路として利用できるならば、転移リンパ節に対する直接的な治療の可能もあることから、薬剤投与経路としてのリンパ管の研究は臨床的に大いに意義のあることである。しかし、今まで口腔領域におけるリンパ管の構造はほとんど検索されていない。本研究は薬剤投与経路としてのリンパ管構築に着目して、マウスの頬粘膜におけるリンパ管の構築について検索した。

リンパ管の検索に先立ち、マウス頭部の前額断連続樹脂切片を作製、トルイジンブルー染色し、頬粘膜を12の領域に区分し、各領域の上皮層の形態を観察した。また、血管墨汁注入法により頬粘膜上皮直下の微細血管構築と分布状態を観察した。粘膜下のリンパ管構築の観察は、区分した領域ごとにその特徴、相違を検索した。

リンパ管構築の検索は、過麻酔下のマウスから採取した頬粘膜を材料とし、その凍結連続切片(厚さ10 $\mu$ m)を作製して、酵素組織化学にてリンパ管を染色した。染色した標本を光学顕微鏡で観察し、撮影した二次元画像をコンピュータに入力して、リンパ管のみ抽出した。さらにコンピュータにて、抽出したリンパ管の三次元立体画像を作製し、三次元的にリンパ管構築について検索した。

その結果、リンパ管構築では、粘膜上皮下に網目状の密なリンパ管網が存在していたが、部位によって網目の大きさに多少の差がみられた。また、リンパ管の盲端形態は棍棒状と糸球体状の2種類に分けられ、これら盲端の数は細分した領域によって異なっていた。さらに、頬粘膜の上皮層の厚さも領域によって違いがみられた。以上の検索結果から、頬粘膜がリンパ管を介しての薬剤投与部位となりうることが示唆された。

本研究はマウスを用いているため、この結果を直ちにヒトに適用することはできないが、はじめてマウスの頬粘膜のリンパ管の三次元的構築を明らかにした意義は大きいと思われる。さらに、頬粘膜を1部位として観察せずに、12の領域に区分して、それぞれの領域におけるリンパ管の構築を詳細に観察し、部位による特徴を明らかにした点はきわめて意義あることであり、学位論文に十分に値すると判断した。

## 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、結果に対する考察について試問した結果、適切な解答が得られた。また、今後の研究にも意欲を示すとともに後輩への指導能力も備えていると判定した。