

ウサギ VX2 移植頬粘膜癌の増殖に伴うリンパ管の構築と 所属リンパ節への転移経路に関する組織学的研究

大内 治

岩手医科大学歯学部口腔外科学第一講座

(主任：工藤 啓吾 教授)

岩手医科大学歯学部口腔解剖学第一講座

(指導：野坂 洋一郎 教授)

(受付：1997年2月17日)

(受理：1997年4月11日)

Abstract : Carcinoma of the buccal mucosa is likely to metastasize to cervical lymph nodes if it has developed to surrounding tissues, and prognosis is poor. In the VX2 carcinoma transplanted to the buccal mucosa in the rabbit, lymphatic architecture due to proliferation of the tumor, the routes to regional lymph nodes and metastatic lymph nodes were examined. VX2 carcinoma, subcultured in the rabbit femoral region, was transplanted to the right buccal mucosa near the occlusal line.

The architecture of collecting lymphatic vessels in the surrounding tissues of the tumor and metastasis to the regional lymph nodes were histologically examined by intravascular injection of India ink and impregnation with silver nitrate solution, 3, 7 and 14 days after the tumor transplantation, and routes to the regional lymph nodes were traced by the stick injection of India ink.

At 3 days after tumor transplantation, diameters of collecting lymphatic vessels were markedly dilated in the nearby carcinomatous area, and lymphatic vessels showed a tendency of tortuousness 7 days after tumor transplantation. At 14 days after tumor transplantation, formation of new lymphatic vessels was noted in the pericarcinomatous area, and these lymphatic vessels running adjacent to each other formed a network. The routes to the regional lymph nodes in the tumor transplanted side were clearly detected, and no lymphatic routes to the opposite side were seen. Fourteen days after tumor transplantation, the metastasis in cervical lymph nodes was observed in peripheral sinuses near afferent lymphatic vessels.

Thus, it was suggested in this study that there were changes of lymphatic architectures, due to proliferation of the VX2 carcinoma transplanted into the buccal mucosa, and metastatic routes to the regional lymph nodes in rabbits.

Key words : carcinoma of the buccal mucosa, VX2 carcinoma, architecture of lymphatic vessels, route of lymph node metastasis

A histological study on the architecture of lymphatic vessels and metastatic routes of the regional lymph nodes due to rabbit VX2 carcinoma transplanted to the buccal mucosa.

Osamu ONUCHI

(First Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka, 020 Japan)

緒 言

ヒト頬粘膜癌の所属リンパ節への転移の有無は予後を左右する重要な因子ではあるけれども、臨床的に検討した報告は少ない^{1, 2)}。しかし、頬粘膜癌の所属リンパ節への転移は、他部位の口腔癌とはやや経路の異なった一面があり、その解明にはリンパ管の構築と所属リンパ節への転移経路を詳細に追究する必要がある。

ウサギ VX2 癌はヒト口腔扁平上皮癌に類似した組織型を有し、しかも可移植性の腫瘍であることから、口腔領域では舌癌における基礎的研究の実験モデルとして広く利用されてきた^{3~12)}。さらに、ハムスター DMBA 誘発舌癌^{13, 14)}に比べ、比較的早期に所属リンパ節へ転移することが報告されている^{3, 4)}。しかし、頬粘膜癌の増殖に伴う頬部リンパ管の構築と所属リンパ節への転移の様相を追究した報告はみられない。

これらのリンパ行性転移の様相を組織学的に追究するためには、リンパ管の同定法が重要である。墨汁穿刺注入法^{15~18)}は穿刺部位の所属リンパ節とリンパ節間の集合リンパ管の走行を肉眼的に同定することはできるが、末梢リンパ管の組織学的な分布を観察するためには必ずしも充分ではない。その上、末梢組織におけるリンパ管の観察にはリンパ管と毛細血管の鑑別が重要である。酵素組織化学的手法である 5'-nucleotidase 染色^{3, 13, 14, 19, 20)}は、使用する動物種や組織によってリンパ管壁の 5'-Nase 反応の陽性像が必ずしも一定しないため、組織片の固定条件の設定が困難である。これに対し加墨汁硝酸銀水局所動脈内注入法は、従来よりこれらの領域の研究に広く用いられ、しかも連続切片を用いて血管とリンパ管走行の再構築を観察するにはすぐれた方法である^{13, 15, 20~22)}。

そこで著者は VX2 癌をウサギの頬粘膜下へ移植し、腫瘍周囲のリンパ管構築と所属リンパ節への転移を加墨汁硝酸銀水局所動脈内注入法によって組織学的に検索した。また、所属リンパ節へのリンパ経路は墨汁穿刺注入法によって

観察した。

材 料 と 方 法

1. 使用動物

体重 3 kg 前後の日本白色種雄性ウサギ 40 羽 (三瓶養兎場) を実験に用いた。ウサギは購入後、岩手医科大学歯学部動物舎 (温度: 23 ± 2 °C, 湿度 55 ± 5 %) にて 1 週間飼育を行い、全身状態および口腔内に異常のないことを確認した後、実験に使用した。また、飼育用固形飼料 (オリエンタル社製) と水は自由に摂取させた。

2. 実験腫瘍

使用した VX2 癌は鹿児島大学歯学部口腔外科学第一講座より分与され、1992 年より岩手医科大学歯学部口腔外科学第一講座においてウサギ大腿部筋肉内で継代移植により維持されてきたものである。

3. 方法

(1) 実験腫瘍モデルの作製

実験腫瘍群として 30 羽のウサギに、ネブタール (0.5 ml/kg) による耳静脈内麻酔を施し、VX2 癌細胞浮遊液 (体積比 50 %) ¹²⁾ を口腔内の右側上下顎第一前臼歯相当の咬合線上の頬粘膜上皮下に約 1.0 mm の深さで 0.1 ml (VX2 癌細胞数 5×10^5 個) 移植した (Fig.1)。対照群には無処置の健常ウサギ 10 羽を用いた。

(2) 観察方法

観察時期は屠殺時期を VX2 癌移植後 3 日、7 日および 14 日の 3 群に分け、各群 10 羽を用い、さらに各群を 5 羽ずつに分けた。

a) 加墨汁硝酸銀水局所動脈内注入法: 心尖部よりサーフローチューブ® (テルモ社製) を挿入し、遠藤¹³⁾および奈良¹⁵⁾の方法に準じて 3.3 % 硫酸ナトリウム (4 ml/min) にて 2 時間、瀉血、灌流を行った。これらの薬液注入の操作は薬液ビンの位置を実験台の上方 50 cm に設定し、一定の圧力下で行った。次に 0.7 % 硝酸銀溶液 (4 ml/min) を 30 分間注入し、上半身収斂、舌腫大、頭部浮腫、舌および右心耳切開部周囲が白濁することを確認した後、銀イオンが血管から組織内へ浸透してリンパ管へ到達するまで約

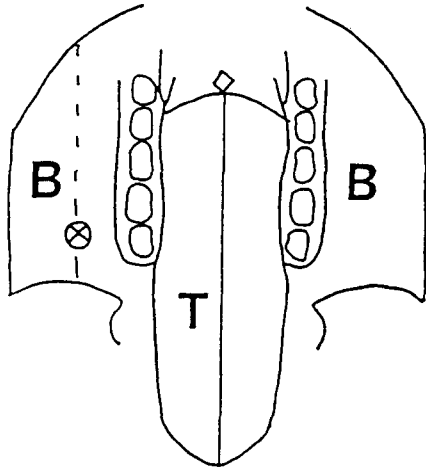


Fig.1. Diagram illustrating the VX2 carcinoma transplantation site to the right buccal mucosa. ⊗: Transplantation site of VX2 carcinoma cells. T: Tongue, B: Buccal mucosa, ----: Occlusal line.

3時間放置した。

その後、リンパ管と血管を鑑別する目的で、濾紙（東洋，No. 2）にて2回濾過した墨汁（開明社）300 mlを上行大動脈へ注入した。次いで、頸部リンパ節であるオトガイ下リンパ節，顎下リンパ節，耳下腺内リンパ節，上浅頸リンパ節，下浅頸リンパ節，深頸リンパ節をそれぞれ摘出し断頭した。これら頸部リンパ節は約1週間，10%中性ホルマリン液にて浸漬固定した後，前方は口角部，後方は臼後三角部，さらに上下歯槽粘膜を含んだ範囲の頬粘膜は顎骨から骨膜を含めて切離し，アルコール系列にて脱水してパラフィン包埋した。

これら一連の過程を経た試料はリンパ管の観察のために矢状断で厚さ50 μmの連続切片を作製し，切片をスライドガラスに貼付した。さらに紫外線灯（東芝社製，H-400-P）に48時間暴露し，黄土色になるまで発色させた後，脱パラフィン操作を行いケルンエヒトロート液にて核染色を行った。これらの連続切片を用いてリンパ管と血管の走行をトレースし，再構築の模式図を作成した。また，薄切の途中，組織診断のために厚さ5 μmの切片を随時切り出し，ヘマト

キシリン・エオジン（H-E）染色を施した。

b) 墨汁穿刺注入法：奈良¹⁵⁾の方法に準じて使用墨汁は生理的食塩水を用いて固形墨（呉竹墨汁社）を擦り，濾紙（東洋，No. 2）で2回濾過したものをを用いた。ネブタール（0.5 ml/kg）麻酔下でウサギのVX2癌細胞移植部位に相当する右側頬粘膜下，約1.0 mmの深さのところへ墨汁を穿刺注入した。穿刺に際しては，先端が1/8 mmの極細針と1 mlのツベルクリン用注射器を使用した。なお，先端から約1 mmの部位にストッパー付き刺入針を用い，頬粘膜表面に対し約45度の角度から穿刺した。

墨汁刺入30分後にウサギを開胸し，次いで心尖部よりサーフローチューブ®（テルモ社製）を挿入し，さらに上行大動脈内に挿入して結紮固定した。右心房に瀉血用の切開を加え，主として頭頸部に注入液が灌流されるように下行大動脈を結紮した。次に血液の色が透明になるまでヘパリン含有の生理的食塩水にて灌流した後，墨汁穿刺注入法によって黒染した集合リンパ管と血管とを鑑別する目的で0.3%オレンジGを注入し，静脈側にまで到達することを確認した。

その後，断頭して10%リン酸緩衝ホルマリン液で1週間，浸漬固定した後に水洗し，実体顕微鏡下で墨汁穿刺注入法によって黒染した所属リンパ節，およびこれに至る集合リンパ管を剖出した。

c) 所属リンパ節の組織学的観察：摘出したリンパ節は，組織学的観察のために脱水後，パラフィン包埋し，厚さ5 μmに薄切して，H-E染色を施し光学顕微鏡を用いて観察した。

(3) 頬部のリンパ管の観察部位およびリンパ管径の計測方法

加墨汁硝酸銀水局所動脈内注入法によるリンパ管の組織学的観察にあたっては，癌巣に密接している間質の約150 μm幅の帯状域（癌組織近接部）と，その外周側を圍繞する間質の約350 μm幅の帯状域（癌組織周囲部）の二つの観察部位を設定した。

本注入法を施行し，対照群および実験群

Table 1-a. Diameters of lymphatic vessels in the control and experimental groups in various periods.

Group and portion		Diameter (μm)	
		Lamina propria mucosae	Muscle layer
Control group		42.4 \pm 8.7	63.4 \pm 12.9
Experimental group			
3D	NCA	60.9 \pm 13.8	142.3 \pm 35.5
	PCA	48.9 \pm 6.7	91.2 \pm 8.9
7D	PCA	57.9 \pm 12.0	114.2 \pm 19.7
	NCA	44.6 \pm 5.2	86.5 \pm 7.9
14D	NCA	37.9 \pm 4.4	71.6 \pm 13.2
	PCA	64.4 \pm 6.1	78.1 \pm 10.4

Abbreviations : 3D, 3 days after the VX2 carcinoma transplantation ; 7D, 7 days after the VX2 carcinoma transplantation ; 14D, 14 days after the VX2 carcinoma transplantation ; NCA, nearby carcinomatous area ; PCA, pericarcinomatous area.

Table 1-b. Comparison of the diameter of lymphatic vessels between the control and experimental groups at various sites.

Group and portion		Lamina propria mucosae							
		Control group	3D		7D		14D		
			NCA	PCA	NCA	PCA	NCA	PCA	
Control group		*	+	+	+	-	-	+	
Experimental group									
Muscle layer	3D	NCA	+	*	-	-	-	+	-
		PCA	+	-	*	-	-	-	-
	7D	NCA	+	-	-	*	-	+	-
		PCA	+	-	-	-	*	-	+
	14D	NCA	+	+	-	+	-	*	+
		PCA	+	+	-	-	-	-	*

Abbreviations : 3D, 3 days after the VX2 carcinoma transplantation ; 7D, 7 days after the VX2 carcinoma transplantation ; 14D, 14 days after the VX2 carcinoma transplantation ; NCA, nearby carcinomatous area ; PCA, pericarcinomatous area ; +, signification ; -, no signification.

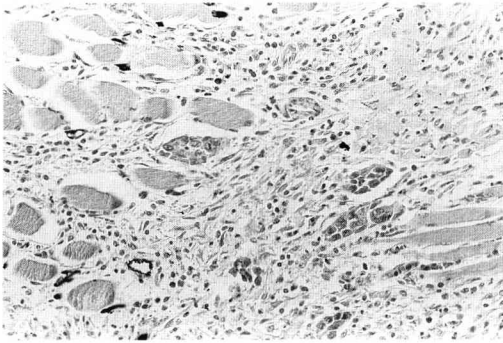


Fig.2. A histopathologic profile of VX2 carcinoma 3 days after transplantation (H-E stain ; ×50). The transplanted carcinoma cells were well implanted in part of the muscle layer.

(VX 2 癌移植後 3 日, 7 日, 14 日) の癌組織近接部ならびに癌組織周囲部におけるリンパ管の管腔の直径を計測してその平均値と標準偏差値を算出した。各群間の有意差の判定には, Dunn の多重比較検定法を用い, 1 % の危険率にて検定した (Table 1-a, b)。

実験成績

1. VX 2 移植ウサギ頬粘膜癌

(1) VX 2 癌移植後 3 日目

a) 肉眼的所見: VX 2 癌を移植したウサギの右側頬粘膜では粘膜の表面に形態的な変化は認められず, 硬結も触知しなかった。

b) 組織学的所見: 移植された癌細胞は筋層内の一部によく着床していた。しかし, 癌組織周囲には被膜の形成は認められず, 着床部位の筋束間をび漫性に浸潤, 増殖していた。大小不同の多角形を呈する癌細胞の核は, 類円形で比較的大きく, ヘマトキシリンに好染し, 核/細胞質 (N/C) 比は大で, 核分裂像も散見された (Fig.2)。

(2) VX 2 癌移植後 7 日目

a) 肉眼的所見: 移植部位を中心とした右側頬粘膜部では帽針頭大の硬結を触知した。しかし, 粘膜の表面には変化が認められなかった。

b) 組織学的所見: 癌組織塊は移植後 3 日目に比べてさらに増大し, 一部では粘膜固有層に

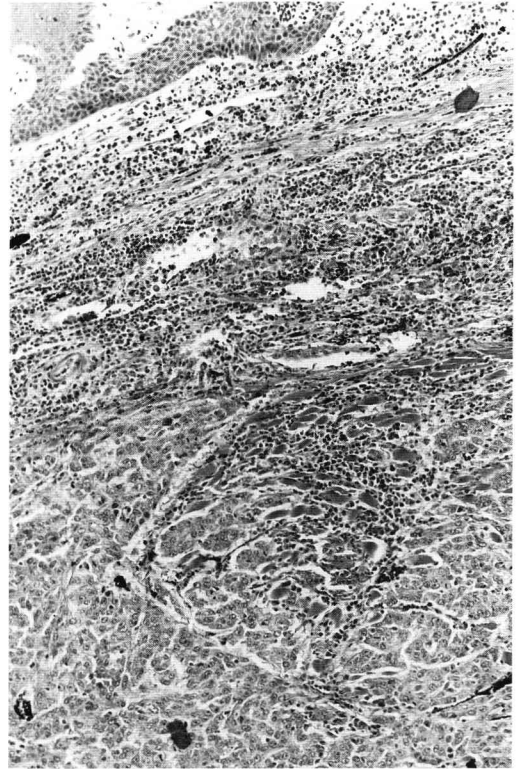


Fig.3. A histopathologic profile of VX2 carcinoma 14 days after transplantation (H-E stain ; ×20). The cancer tissue was enlarged as compared with 7 days after transplantation and infiltrated to immediately below the epithelial layer. Also, the border between the cancer tissue and normal tissue was relatively distinct.

まで浸潤, 増殖していた。さらに筋層では筋束間に限局した小胞巣を形成しながらび漫性に浸潤, 増殖していたが, 腫瘍周囲に被膜の形成はみられず, 境界は不明瞭であった。

(3) VX 2 癌移植後 14 日目

a) 肉眼的所見: 移植部位を中心をび漫性の腫脹が認められ, 拇指頭大の硬結を触知したが, 粘膜表面には変化が認められなかった。

b) 組織学的所見: 癌組織塊は VX 2 癌移植後 7 日目に比べ, さらに増大し, 粘膜固有層にまで浸潤, 増殖していた。筋層では個々の胞巣を形成しながら筋束間を筋線維の走行に沿ってさらに浸潤, 増殖していた。とくに癌組織境界

部では小胞巣状または索状に周囲組織間へ浸潤，増殖していた。また，VX2 癌移植後3日目，7日目に比べて腫瘍塊の周囲には若干の線維性増生による被膜様の形成がみられ，周囲組織との境界は比較的明瞭であった (Fig.3)。

2. リンパ管の光学顕微鏡的観察

VX2 癌組織近接部および癌組織周囲部におけるリンパ管の分布と構築を観察した。

(1) 対照群

加墨汁硝酸銀水局所動脈内注入法を行ったウサギの右側頬粘膜部では，粘膜固有層の毛細血管および筋束間の細静脈の管腔内に墨汁粒子が認められた。これに対し粘膜固有層および筋層内の集合リンパ管は円形ないし長円形の核を有する内皮細胞の外形がいわゆる柏の葉状の形態を呈しており，また，管壁がきわめて薄く内皮細胞の核が管腔側に突出していた。そして管腔内には墨汁粒子は認められず，血管とは容易に鑑別できた。これらの集合リンパ管は血管の近傍に散在していた (Fig.4)。

リンパ管の叢構造は Fig.5 の模式図に示すように血管の叢構造と一致してみられ，集合リンパ管は細動静脈と伴行していた。これらの集合リンパ管の口径は粘膜固有層では $42.4 \pm 8.7 \mu\text{m}$ ，筋層では $63.4 \pm 12.9 \mu\text{m}$ であった (Table 1-a,b)。また，これらの集合リンパ管の走行は頬筋筋束と平行に口角部から臼後部に向かっていた。

(2) 実験群

a) VX2 癌移植後3日目：粘膜固有層および筋層の一部では癌組織近接部の毛細血管は蛇行しながら伸展していた。これに対し集合リンパ管は対照群の集合リンパ管とほぼ同様の走行を呈していた (Fig.6)。その口径は粘膜固有層の癌組織近接部では $60.9 \pm 13.8 \mu\text{m}$ ，癌組織周囲部では $48.9 \pm 6.7 \mu\text{m}$ ，また，筋層の癌組織近接部では $142.3 \pm 35.5 \mu\text{m}$ ，癌組織周囲部では $91.2 \pm 8.9 \mu\text{m}$ であり，対照群に比べて有意 ($P < 0.01$) にその口径が増大していた (Table 1-a, b)。

b) VX2 癌移植後7日目：毛細血管とリンパ

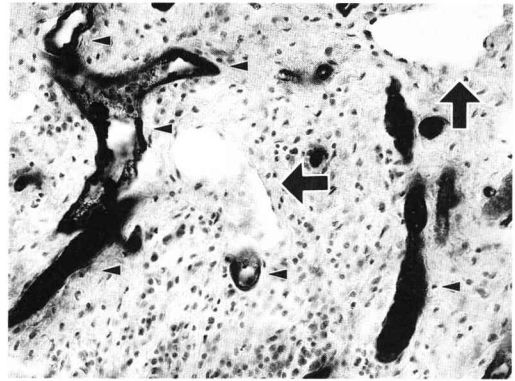


Fig.4. In the control group, collecting lymphatic vessels (arrows) in the lamina propria mucosae were scattered near blood vessels (arrow heads) (Intravascular injection of India ink and impregnation with silver nitrate solution, $\times 50$).

管の蛇行は Fig.7 の模式図に示すように，VX2 癌移植後3日目に比べて増殖した癌組織の近接部においてはさらに強くなっていた。また，この周辺部には癌組織をとり囲む血管叢が形成されていた。これに対しリンパ管は新生血管叢に盲端を侵入させ，癌組織周囲を圍繞する血管網の間に新たに数層のリンパ管網が形成されていた。筋層直上の集合リンパ管の走行は，対照群および VX2 癌移植後3日目と同様であった (Fig.7)。

リンパ管の口径は粘膜固有層内の集合リンパ管が癌組織近接部では $57.9 \pm 12.0 \mu\text{m}$ であり，対照群に比べて有意 ($P < 0.01$) に口径が増大していた。しかし VX2 癌移植後3日目に比較すると有意差は認められなかった。また，癌組織周囲部では $44.6 \pm 5.2 \mu\text{m}$ であり，対照群および VX2 癌移植後3日目に比べて有意差は認められなかった。筋層内における集合リンパ管の口径は癌組織近接部では $114.2 \pm 19.7 \mu\text{m}$ で，対照群の集合リンパ管に比べて有意 ($P < 0.01$) に口径が増していた。しかし VX2 癌移植後3日目に比べて有意差は認められなかった。また，癌組織周囲部では $86.5 \pm 7.9 \mu\text{m}$ であり，対照群に比べて有意 ($P < 0.01$) に口径が増大していた (Table 1-a,b)。

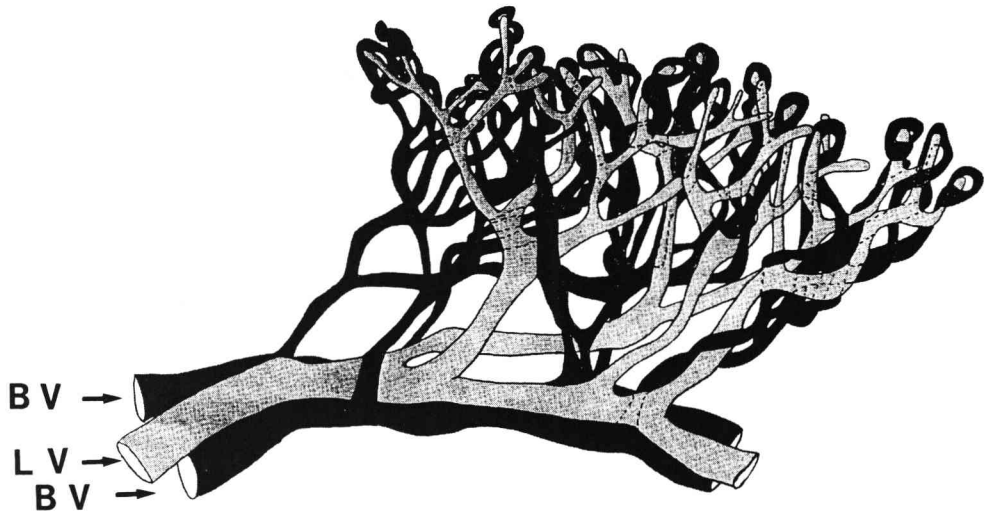


Fig. 5. In the control group, a schema of the plexal architecture of lymphatic vessels corresponded to that of blood vessels, and collecting lymphatic vessels ran along arterioles and venules. BV : Arterioles and venules. LV : Lymphatic vessels.

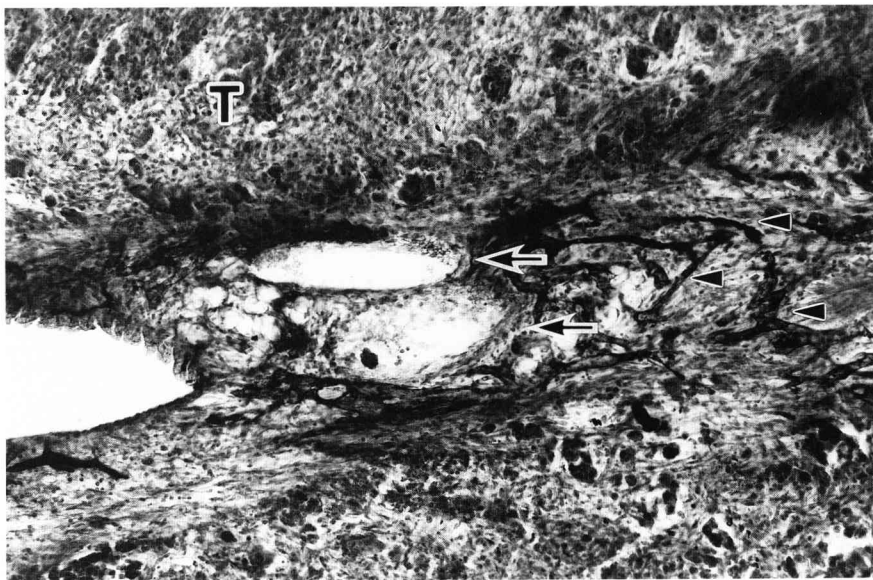


Fig. 6. At 3 days after transplantation, tortuous capillaries extended to nearby carcinomatous tissue, showing marked angiogenesis (arrow heads). Lymphatic vessels (arrows) were markedly dilated as compared with the control group (Intravascular injection of India ink and impregnation with silver nitrate solution : $\times 20$, sagittal sections).
T : Carcinomatous tissue.

c) VX 2 癌移植後 14 日目
VX 2 癌移植後 3 日目および 7 日目に比べ、癌組織と健常組織の境界はさらに明瞭であった。また、これら境界部では線維性組織の増生

がみられ、癌組織とは平均 $148.1 \mu\text{m}$ の間隔を保ち、リンパ管は受皿のごとく癌組織を取り囲むようにして存在していた (Fig. 8-a)。これらの集合リンパ管は癌組織近接部から癌組織周囲部

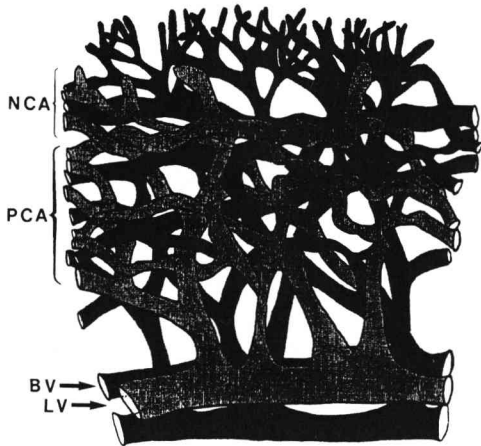


Fig. 7. Seven days after transplantation, tortuous capillaries extended to areas near the site of proliferation of the transplanted carcinoma as compared with the findings after 3 days, indicating marked angiogenesis. Outside this area, a plexus of blood vessels surrounding the carcinomatous tissue was formed.

Blind-ended lymphatic vessels penetrated into the plexus of newly formed blood vessels and formed several layers of lymphatic vessel networks between networks of blood vessels surrounding this site.

BV : Arterioles and venules.

LV : Lymphatic vessels.

NCA : Nearby carcinomatous area.

PCA : Pericarcinomatous area.

に移行するにしがたい、走行が著しい蛇行傾向を示していた (Fig. 8-b)。

VX2 癌移植後 3 日目および 7 日目に新生毛細血管巣に侵入していたリンパ管の盲端は、Fig. 9 の模式図に示すように VX2 癌移植後 14 日目には消失していた。さらに癌組織を取り囲んでいる線維性組織内のリンパ管網は VX2 癌移植後 7 日目に比べて蛇行や錯走がより著明で、6~7 層のリンパ管網を形成していた (Fig. 9)。また、集合リンパ管の口径は癌組織近接部においては $37.9 \pm 4.4 \mu\text{m}$ であり、対照群に比べて細くなっていたが有意差は認められなかった。さらに癌組織近接部の集合リンパ管の口径は VX2 癌移植後 3 日目および 7 日目の癌

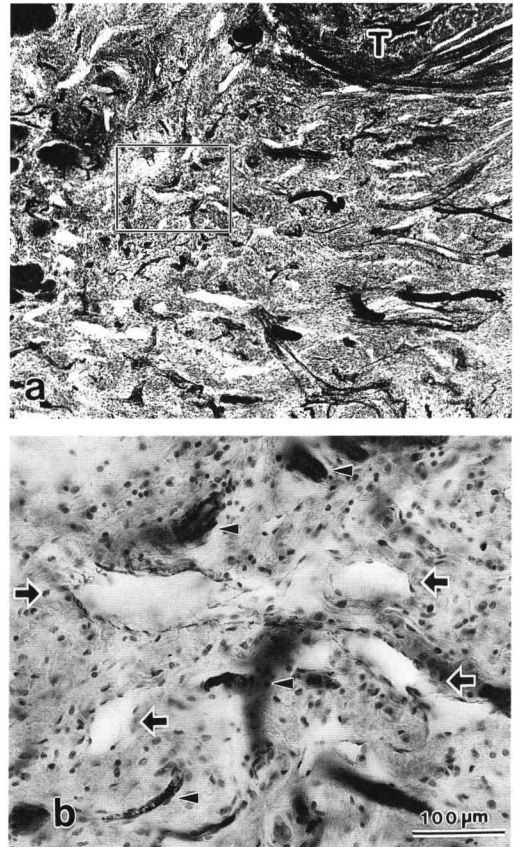


Fig. 8-a, b. At 14 days after transplantation, lymphatic vessels (arrows) surrounded the carcinomatous tissue. These collecting lymphatic vessels showed a greater tortuous tendency of meandering as they entered the pericarcinomatous area from the nearby carcinomatous area (Intravascular injection of India ink and impregnation with silver nitrate solution : a, $\times 10$; b, $\times 50$; sagittal sections). b : An enlargement of the boxed area in a. T : Carcinomatous tissue. Arrow heads : Capillaries.

組織近接部に比べて有意 ($P < 0.01$) に細くなっていた。

一方、癌組織周囲部での集合リンパ管の口径は $64.4 \pm 6.1 \mu\text{m}$ と、対照群および VX2 癌移植後 7 日目の癌組織周囲部および移植後 14 日目の癌組織近接部に比べて有意 ($P < 0.01$) に口径が増大していた。筋層では癌組織近接部に

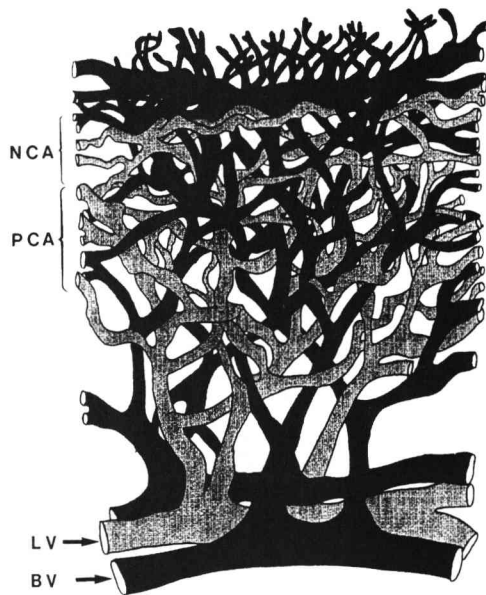


Fig. 9. After 14 days, blind-ended lymphatic vessels, which penetrated into the layer of newly formed capillaries after 3 and 7 days, had disappeared. The lymphatic vessels surrounding the carcinomatous tissue showed more notable tortuousness and reticulation than after 7 days, and 6 to 7 layers of lymphatic vessel networks were formed.

BV : Arterioles and venules.

LV : Lymphatic vessels.

NCA : Nearby carcinomatous area.

PCA : Pericarcinomatous area.

いては集合リンパ管の口径が $71.6 \pm 13.2 \mu\text{m}$ と、対照群に比べて有意 ($P < 0.01$) に口径が増大していたが、VX 2 癌移植後 3 日目および 7 日目の癌組織近接部に比較すると有意 ($P < 0.01$) に細くなっていた。癌組織周囲部での口径は $78.1 \pm 10.4 \mu\text{m}$ であり、対照群に比べて有意 ($P < 0.01$) に口径が増大していたが、VX 2 癌移植後 3 日目の癌組織近接部の集合リンパ管の口径に比べると有意 ($P < 0.01$) に細くなっていた (Table 1-a, b)。

3. リンパ管経路の観察

(1) 一般的所見

墨汁穿刺注入法を行った対照群および実験群の 20 羽のウサギでは、VX 2 癌移植部位に相当

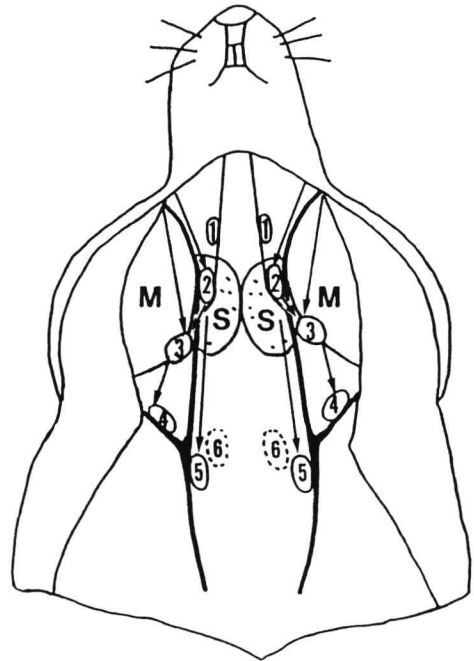


Fig. 10. Diagram illustrating lymphatic routes from the buccal mucosa in the rabbit (Arrows indicate the lymph flow).

1: Submental lymph nodes, 2: Submandibular lymph nodes, 3: Intraparotid lymph nodes, 4: Superior superficial cervical lymph nodes, 5: Inferior superficial cervical lymph nodes, 6: Deep cervical lymph nodes,

S: Submandibular glands,

M: Masticatory muscles.

する右側頬粘膜から所属リンパ節に至る集合リンパ管および所属リンパ節が実体顕微鏡下に剖出された。すなわち、集合リンパ管は墨汁により黒染され、念珠状の形態を呈していた。また、所属リンパ節は輸入リンパ管より墨汁が入り込み黒染されていた。一方、血管はオレンジ G によってオレンジ色を呈し、集合リンパ管とは明確に区別することができた。全例において反対側へのリンパ管経路は観察されなかった (Fig. 10)。

(2) 所属リンパ節までのリンパ管経路

本実験の対照群と実験群間におけるリンパ管経路は、ほとんど差異が認められなかったので対照群の所見を中心に述べる。

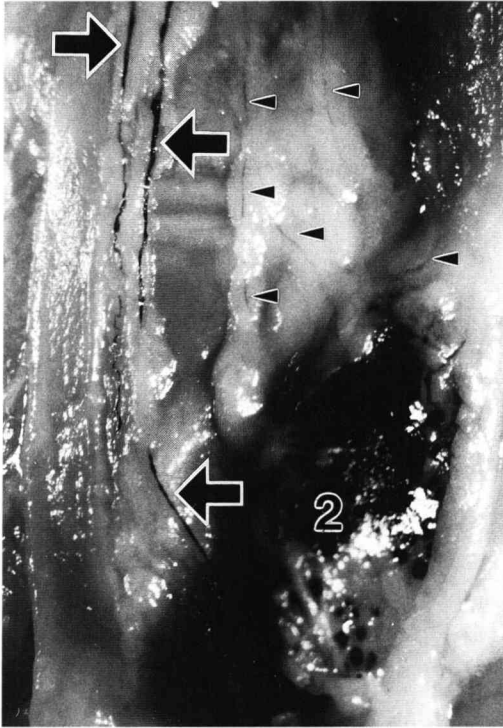


Fig.11. Superficial (arrow heads) and deep (arrows) collecting lymphatic vessels from the right buccal mucosa descended in the adipose tissue toward the ipsilateral submandibular lymph node (2) (Stick injection of India ink method).

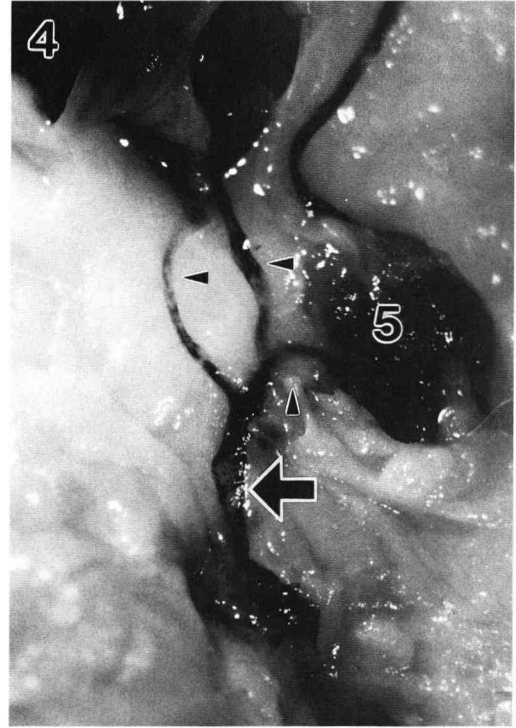


Fig.12. Efferent lymphatic vessels (arrow heads) leaving the superior superficial (4) and inferior superficial (5) cervical lymph nodes formed a relatively large confluent vessel (arrow) and descended toward the venous angle (Stick injection of India ink method).

a) 顎下リンパ節：前顔面静脈とオトガイ下静脈合流部付近に存在していた。輸入リンパ管は右側頬粘膜の臼後三角部から出た集合リンパ管であり、咬筋前縁部より脂肪組織内を前顔面静脈に沿って下行していた。すなわち、浅頸筋膜上を走行する数条の浅層部集合リンパ管および浅頸筋膜下の脂肪組織内を走行する数条の深層部集合リンパ管が観察された。これらのリンパ管は同側の顎下リンパ節の浅層および後方にそれぞれ入り込んでいた (Fig.11)。

b) 耳下腺内リンパ節：前顔面静脈に接する付近の耳下腺内部に埋没して存在していた。顎下リンパ節と同様に1条ないし2条の輸入リンパ管が右側頬粘膜の臼後三角部から出て、咬筋前縁部より脂肪組織内を前顔面静脈に沿って下行して入り込んでいた。また、同側の顎下リン

パ節からの1条の輸出リンパ管が直接入り込んでいた。

c) 上浅頸リンパ節：胸鎖乳突筋上で耳下腺後縁と後顔面静脈に接した部位に存在していた。このリンパ節には耳下腺内リンパ節からの1条のリンパ管が直接入り込んでいた (Fig.12)。

d) 下浅頸リンパ節：胸鎖乳突筋上で前、後顔面静脈の合流部付近よりやや下方の外頸静脈の前壁に沿って存在していた。このリンパ節には顎下リンパ節からの輸出リンパ管が直接入り込んでいた。また、輸出リンパ管は前、後顔面静脈の合流部付近で上浅頸リンパ節からの輸出リンパ管と比較的太い共同管を形成し、外頸静脈に沿って下行していた (Fig.12)。

e) オトガイ下および深頸リンパ節：オトガ

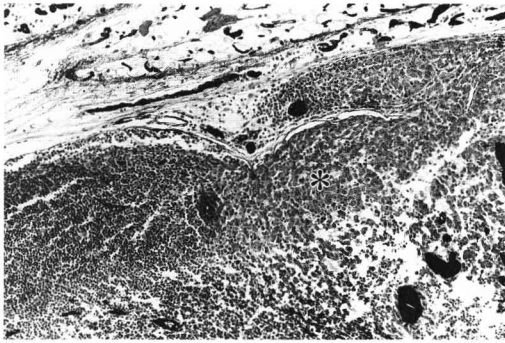


Fig.13. In ipsilateral submandibular lymph nodes at 14 days after transplantation, metastatic tumor (*) was localized in the peripheral sinuses near afferent lymphatic vessels (H-E stain, $\times 20$).

イ下リンパ節は顎下リンパ節より前方で、オトガイ下静脈と顎二腹筋にはさまれた部位に存在していた。また、深頸リンパ節は喉頭気管移行部で、胸鎖乳突筋と総頸静脈にはさまれた部位に存在していた。しかし全例においてこれらのリンパ節への VX 2 癌移植部位に相当する右側頬粘膜からのリンパ管経路は観察できなかった。

4. 所属リンパ節の病理組織学的観察

摘出した頸部リンパ節の各々について組織学的に検索を行なった結果、VX 2 癌移植後 3 日目ではいずれにも転移が認められなかった。これに対し VX 2 癌移植後 7 日目では 5 例中 1 例 (20%) に同側顎下リンパ節に転移が観察された。癌の転移は輸入リンパ管の近傍にみられる辺縁洞に局限していた。

VX 2 癌移植後 14 日目では 5 例中 5 例 (100%) に同側顎下リンパ節への転移が観察された (Fig.13)。これらの 5 例では転移腫瘍が輸入リンパ管の近傍に一致した辺縁洞および中間洞に局限して存在していた。また、5 例中 1 例 (20%) ではさらに同側の耳下腺内リンパ節への転移も観察された。しかし、これら全例において反対側リンパ節への転移は観察されなかった。

考 察

1. ウサギ VX 2 癌移植頬粘膜癌について

ウサギ VX 2 癌を用いた口腔癌の実験モデルは移植着床率がほぼ 100% であることや、その組織型が扁平上皮癌、とくに低分化型に類似している。さらに癌の浸潤、増殖の期間が比較的短く、早期に所属リンパ節へ転移をきたし、これらの短期観察が可能であることなどから、これまでも数多くの報告がなされてきた³⁻¹²⁾。

頬部組織はリンパ管に富むことから、頬粘膜癌は所属リンパ節への転移を起こしやすいことが報告されている²³⁾。UICC の TNM 分類²⁴⁾においては頬粘膜癌は発生部位により、(1)上唇および下唇粘膜、(2)頬粘膜、(3)臼後部、(4)上下頬歯槽溝の 4 部位に亜分類されている。これらの中では、とくに狭義の頬粘膜に最も発生頻度が高い²⁾。また、原発巣が増大することに伴い病理組織学的転移陽性率が上昇する傾向にある。その上、表在型の場合にはリンパ節転移は少ないが、内向型を示す腫瘍では転移頻度が高く、所属リンパ節転移の有無が頬粘膜癌の予後因子として最も重要であるとされている^{1, 2, 23, 25)}。とくに加墨汁硝酸銀水局所動脈内注入法による癌組織近接部および癌組織周囲部におけるリンパ管の詳細な分布状態と墨汁穿刺注入法を行った所属リンパ節へのリンパ節転移経路の観察は、ヒトの頸部郭清術を実施する上で貴重な示唆を与える。

本実験で使用したウサギ VX 2 癌は、易転移性であり、組織学的にもヒトの扁平上皮癌に類似している。ウサギでは VX 2 癌移植後 3 日目にはすでに右側頬粘膜部に着床していることが組織学的に確認された。また、VX 2 癌移植後 7 日目および 14 日目ではそれぞれ内向性に浸潤、増殖し、所属リンパ節への転移も組織学的に観察された。このことよりウサギ VX 2 移植頬粘膜癌は癌細胞の着床、増殖、転移形成などの時期がヒト頬粘膜扁平上皮癌に類似した性状を呈しており、実験モデルとして有用性があるものと考えられる。すなわち、本実験では VX 2 癌移植後 3 日目が着床期、移植後 7 日目が増殖期、移植後 14 日目が転移形成期に相当していた。

2. 癌組織近接部および癌組織周囲部におけるリンパ管の構築について

発生学的にリンパ管は静脈から分化し血管の近傍に散在して、血管と伴走するといわれている¹⁵⁾。リンパ系はこれまでの報告^{13-16, 19, 26-28)}によると、上皮直下の結合組織乳頭内において盲端で始まり、毛細リンパ管は粘膜固有層内で毛細リンパ管網、次いで筋層内の筋束間で集合リンパ管へと合流し、結合組織に沿って走行するものと考えられている。加墨汁硝酸銀水局所動脈内注入法を行って観察した対照群の集合リンパ管は、粘膜固有層内のリンパ管網から走行して深層に入り、筋層内で集合リンパ管と合流し、さらに頰筋筋束と平行に口角部から臼後部へと走行していた。

一方、VX2 癌移植後 3 日目から 7 日目には癌組織近接部や癌組織周囲部の集合リンパ管の口径は著しく増大する。これは VX2 癌移植後 3 日目は癌の着床期であり、癌組織近接部における腫瘍血管の新生に伴って既存のリンパ管が物質代謝や異物排泄などの役割を果たすため、リンパ管の口径が著しく増大する^{13, 14)}ものと考えられる。VX2 癌移植 7 日目になると Fig.7 の模式図のように癌組織近接部の集合リンパ管は新生血管叢に盲端を侵入させ、その走行は蛇行し、また、癌組織周囲部の一部にはリンパ管網が形成される。このような癌の増殖期には腫瘍血管増殖因子²⁹⁻³²⁾によって血管の新生が促進され、癌組織内の血流量が著明に増加する^{14, 33)}ものと思われる。また、リンパ管は癌の増殖に伴って生じる大量の組織液をさらに効果的に吸収し、リンパ管自体の表面積を増大させる^{13, 14, 31, 34, 35)}。したがって、VX2 癌移植後 7 日目では癌組織周囲部のリンパ管は癌組織近接部のリンパ管の機能を補足しているものと考えられる。

VX2 癌移植後 14 日目になると、Fig.9 の模式図のように、他の実験群で観察された癌組織近接部におけるリンパ管の盲端は消失し、新しく形成された集合リンパ管は癌組織と一定の間隔を保ちつつ、その口径は減少する。このよう

な変化は癌組織の急激な浸潤、増殖によって癌組織近接部では既存のリンパ管が癌組織内に取り込まれ、口径が縮小し、その数が減少するものと推測される。これに対し癌組織周囲部では血管の新生に伴ってリンパ管も新生し、隣接するリンパ管は互いに network を形成するようになる。したがって、VX2 癌移植後 14 日目のような転移形成期になると、腫瘍増殖の最も旺盛な癌組織周囲部のリンパ管が前述の機能¹⁴⁾を担うようになるものと考えられる。

3. リンパ管経路について

墨汁穿刺注入法ではヒト頬粘膜からの集合リンパ管は細静脈とともに頰筋筋束をつらぬいて顔面静脈に沿って下行し、同側の中顎下リンパ節へ流入し、また、輸出リンパ管は深頸リンパ節へ合流する³⁶⁾。とくに顔面静脈が直接外頸静脈に注ぐときは浅頸リンパ節または耳下腺リンパ節に流入する場合もあり、さらにその輸出リンパ管は深頸リンパ節へ合流するが、反対側へのリンパ管経路は認められない³⁵⁻³⁷⁾。

一方、ウサギの頭頸部における所属リンパ節へのリンパ管経路は西田³⁸⁾により詳細に記載されている。すなわち、墨汁穿刺注入法を行った結果、顔面からの集合リンパ管は頰リンパ節およびオトガイ下リンパ節を経た後、顎下リンパ節、さらに浅頸および耳下腺内リンパ節へ流入し、耳下腺内リンパ節からの輸出リンパ管は浅頸リンパ節へ流入する。また、西田³⁸⁾はこれらの反対側へのリンパ管経路は認められないと述べている。

本実験の墨汁穿刺注入法では、右側頬粘膜からのリンパ管経路は直接、顎下および耳下腺内リンパ節へ墨汁が流入していた。顎下リンパ節は耳下腺内リンパ節に比べて、とくに黒染度が強く、さらに耳下腺内リンパ節は顎下リンパ節からの輸出リンパ管に対応した部位において黒染度の強いことが観察された。これらの集合リンパ管内はいずれも弁の存在によって墨粒子の逆流は認められず、順行性に流れるものと考えられる。これらのことより顎下リンパ節は頰粘膜の一次リンパ節であり、耳下腺内リンパ節は

二次リンパ節であると考えられる。また、上下浅頸リンパ節から深頸リンパ節への墨汁の流入経路は観察できなかった。

癌の反対側へのリンパ節転移は輸入リンパ管の交叉や、リンパ流の側副路^{19, 35, 39)}によるものと推測されている。しかし、臨床的に舌癌と比較した場合、頬粘膜癌では反対側へのリンパ節転移はきわめて少ない^{2, 40)}。本研究においても墨汁穿刺注入法を行った全例において輸入リンパ管の交叉は認められず、反対側へのリンパ管経路は観察されなかった。一般に集合リンパ管の走行は筋束の走行に一致していることが報告されている⁴¹⁾。輸入リンパ管の交叉は筋束の走行があって始めて起こるものと推測される。本研究の集合リンパ管が関連する筋肉は頬筋であり、左右の頬筋どうしの交叉は解剖学的にも認められない。したがって癌の反対側への転移は考えられない。しかし、頬粘膜癌が口峡部へ進展した場合は筋肉の走行から当然ながらリンパ管の交叉を考える必要があるが、本実験期間内に腫瘍が口峡部へ拡大することはなかった。

4. リンパ節転移について

ヒトのリンパ節における最も一般的な腫瘍の浸潤様式は辺縁洞への腫瘍細胞の着床、次いで中間洞、髄洞、リンパ髄への浸潤、増殖、腫瘍細胞によるリンパ節全体の置換、さらにはリンパ節被膜を破壊して被膜外への節外浸潤をきたし、周囲隣接組織に拡大するものと考えられている^{10, 33, 42-46)}。また、Toker⁴⁶⁾は辺縁洞に腫瘍細胞が限局しているにもかかわらず、少数例では早期にリンパ節被膜の破壊や節外浸潤を認めたと報告している。さらに食道癌⁴⁷⁾や胃癌⁴⁸⁾では頸部リンパ節転移における原発巣、あるいは主病巣の転移領域からの非連続的で変則的な転移がみられる。すなわち、(1)原発巣と転移領域との間の所属リンパ節には転移が認められない、(2)二つの転移領域の間の所属リンパ節に転移が認められない、(3)一次リンパ節に転移が認められず、二次リンパ節に転移が認められるなどの飛石転移が注目されている。とくに頭頸部領域では舌癌や口底癌などの両側頸部転移例や反対

側頸部転移例では飛石転移が多く⁴⁰⁾、また、原発腫瘍が内向性に浸潤、増殖するときにはリンパ節への転移率が高くなることが報告されている^{1, 2, 25, 42, 44)}。

本研究では VX 2 癌移植後 7 日目で 20 %、移植後 14 日目で 100 % に同側リンパ節転移が認められたにもかかわらず、いずれも辺縁洞および中間洞へ限局した早期のリンパ節転移であった。また、反対側のリンパ節への交叉経路は認められず、さらに飛石転移も観察されなかった。本実験に用いたウサギ VX 2 移植頬粘膜癌は内向性の浸潤、増殖を示し、ヒト頬粘膜癌のリンパ節浸潤様式と類似した結果を示すものと考えられる。臨床的にリンパ節転移が確認される時期には、すでに癌細胞によるリンパ節全体の置換や被膜外へのリンパ節外浸潤など、末期のリンパ節転移が多い。しかし、臨床的に転移が疑われないリンパ節においても病理組織学的には転移の認められることが多い⁴⁵⁾。すなわち、辺縁洞や中間洞に限局した早期のリンパ節転移は比較的早い時期に起こるにもかかわらず、転移時期を臨床的に確認することは困難である。

本実験では所属リンパ節への早期のリンパ節転移が VX 2 癌移植後 7 日目および 14 日目で比較的早い時期に認められた。また、これらのリンパ節転移巣を有する個体では、いずれも移植巣におけるリンパ管の走行の変化や、著しいリンパ管の新生、あるいは隣接するリンパ管が互いに network を形成するなどの形態的变化を示しており、これらはリンパ節転移と関連性のあることが示唆された。

結 論

ウサギ VX 2 移植頬粘膜癌におけるリンパ管の構築、所属リンパ節へのリンパ管経路および転移について加墨汁硝酸銀水局所動脈内注入法、墨汁穿刺注入法および H-E 染色にて組織学的に観察した結果、以下の結論を得た。

1. 加墨汁硝酸銀水局所動脈内注入法によると、VX 2 癌移植後 3 日目では対照群に比べて

リンパ管の走行に変化が認められないが、癌組織近接部では既存のリンパ管の口径が著しく増大した。その後の VX2 癌移植後 7 日目ではリンパ管の走行が蛇行する傾向を示した。

2. VX2 癌移植後 14 日目では癌組織近接部のリンパ管数および口径が減少した。一方、癌組織周囲部のリンパ管は新生され、また、リンパ管の走行が蛇行傾向を示し、隣接リンパ管は互いに network を形成した。

3. ウサギの同側における VX2 移植頬粘膜癌の転移経路は顎下リンパ節が一次リンパ節であり、耳下腺内リンパ節は二次リンパ節であった。これに対し、反対側へのリンパ管経路は認められなかった。

4. 頸部リンパ節転移は VX2 癌移植後 7 日目では 1 例 (20%) の同側顎下リンパ節に、VX2 癌移植後 14 日目では 5 例 (100%) の同側顎下リンパ節および 1 例 (20%) の耳下腺内リンパ節にも認められた。

稿を終えるにあたり、ご懇篤なるご指導、ご校閲を賜った岩手医科大学歯学部口腔外科学第一講座 工藤啓吾 教授に深甚なる謝意を表します。併せて本研究の遂行にあたり、終始ご指導、ご教示を賜りました同口腔解剖学第一講座 野坂洋一郎 教授ならびに同口腔病理学講座 佐藤方信 教授に厚く謝意を表します。また、数々のご教示、ご助言を頂いた同口腔解剖学第一講座 藤村 朗 助教授に感謝の意を表します。さらに、ご協力頂きました関連講座の諸先生方ならびに教室員各位に厚く御礼申し上げます。

なお、本論文の要旨の一部は、第 39 回日本口腔外科学会総会 (1994 年 11 月 9 日、名古屋市) および岩手医科大学歯学会第 40 回例会 (1995 年 6 月 24 日、盛岡市) において発表した。

文 献

- 1) 奈良栄介, 笹原健児, 瀬川 清, 福田喜安, 大屋高德, 工藤啓吾: 頬粘膜扁平上皮癌の治療成績に関する検討, 日口外誌, 41: 70-72, 1995.
- 2) 藤林孝司, 佐藤貴世, 和氣不二夫, 植村順一, 高橋雄三, 東みゆき, 森 良之, 富塚清二, 榎本昭二: 頬粘膜癌 43 例の臨床的検討, 日口外誌, 36: 2835-2848, 1990.
- 3) 北原朋広: VX2 舌癌の 5'-Nase 染色によるリンパ管の観察, 岩医大歯誌, 20: 270-283, 1995.
- 4) 松浦政彦: ウサギ VX2 舌癌モデルにおける頸部リンパ節転移ならびにリンパ節の細胞反応, 日口外誌, 42: 29-41, 1996.
- 5) 石神哲郎: 家兎 VX2 癌に及ぼす抗癌剤の影響に関する電子顕微鏡学的研究 - 腫瘍血管の変化を中心に - , 日口外誌, 36: 1-20, 1990.
- 6) 本田武司: 家兎舌癌 (VX2 癌) の増殖過程における栄養動脈の変化に関する実験的研究, 九州歯会誌, 35: 221-238, 1981.
- 7) 辻本守孝: VX2 腫瘍内血管における外因性 peroxidase および ferritin の透過性に関する電顕的・細胞化学的研究, 日口外誌, 28: 341-359, 1982.
- 8) 福武洋二: 家兎 VX2 癌の微細血管系に及ぼすトランネキサム酸の影響に関する研究, 日口外誌, 40: 55-70, 1994.
- 9) 右田信行: 家兎上顎癌に及ぼす制癌剤動注の影響に関する光顕的および電顕的研究, 九州歯会誌, 25: 309-333, 1971.
- 10) 小西稔尉: VX2 舌癌の領域リンパ節転移に関する実験的研究, 九州歯会誌, 47: 122-134, 1993.
- 11) 畑 毅: 実験的口腔癌における転移リンパ節の血管構築の変化 - 放射線学的ならびに病理組織学的検討 -, 口科誌, 43: 386-400, 1994.
- 12) 外山勤吾: VX2 癌移植による家兎舌癌の病理組織学的研究, 九州歯会誌, 32: 340-356, 1978.
- 13) 遠藤光宏: 舌の誘発癌下組織における毛細リンパ管の分布と構築に関する実験的研究, 岩医大歯誌, 18: 36-50, 1993.
- 14) 中山温史: 誘発舌癌における毛細リンパ管の酵素組織化学的観察, 日口外誌, 41: 104-113, 1995.
- 15) 奈良栄介: ゴールデンハムスター舌におけるリンパ管経路の研究, 岩医大歯誌, 16: 95-108, 1991.
- 16) 忽那将愛: リンパ本幹の解剖学的研究, 熊本医会誌, 39: 675-699, 1965.
- 17) 愛甲 孝, 中野静雄, 野口靖彦, 夏越祥次, 四本紘一, 島津久明, 田端雅士, 杉原一正, 山下佐英: リンパ指向性物質としてのイカ墨汁の有用性に関する実験的研究, リンパ学, 12: 41-45, 1989.
- 18) 森 堅志: リンパ管の研究手法, 脈管学, 14: 481-484, 1974.
- 19) 陳 寛宏, 藤村 朗: ゴールデンハムスターの舌におけるリンパ管の走行, 岩医大歯誌, 19: 91-102, 1994.

- 20) 遠藤光宏, 中山温史, 福田喜安, 斎藤恒夫, 瀬川清, 横田光正, 大屋高德, 工藤啓吾, 佐藤方信: 口腔癌における毛細リンパ管の酵素組織化学的染色法 - 5'-Nase-ALPase 二重染色法の標本作製条件について -, 頭頸部腫瘍, 20: 44-49, 1994.
- 21) 西丸和義: リンパ管の研究について, リンパ学, 5: 137-138, 1982.
- 22) 里村紀作, 谷川允彦: リンパ管観察法, リンパ学, 5: 1-6, 1982.
- 23) 宮川 明, 小浜源郁, 山本悦秀, 砂川 元, 安達弘高, 平塚博義: 口腔癌の頸部リンパ節転移に関する病理組織学的検討 - 特に腫瘍の浸潤様式との関連について -, 日口外誌, 29: 1555-1561, 1983.
- 24) Hermanek, P., and Sobin, L. H.: TNM Classification of Malignant Tumors by UICC. 4th, Fully Revised Edition. Corrected Reprint, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, pp 13-35, 1987.
- 25) 大内 治, 福田喜安, 奈良栄介, 八木正篤, 大屋高德, 工藤啓吾: 口腔多発癌 4 例の臨床経過に関する検討, 日口外誌, 40: 762-769, 1994.
- 26) Sabin, F. R.: The lymphatic system in human embryos with a consideration of the morphology of the system as a whole. *A. J. Anat.* 9: 43-91, 1910.
- 27) 藤村 朗: ゴールデンハムスターの附着上皮下毛細血管に関する研究, 第 1 編 ゴールデンハムスターとラット, マウスとの比較, 歯科学報, 87: 463-484, 1987.
- 28) 大谷 修: 腸の血流とリンパ管, 医学のあゆみ, 147: 336-340, 1988.
- 29) Folkman, J.: What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J. Natl. Cancer Inst.* 82: 4-6, 1990.
- 30) Kotani, M.: The lymphatic and lymphoreticular tissues in relation to the action of sex hormones. *Arch. Histol. Cytol.* 53 (suppl.): 1-76, 1990.
- 31) Leak, L. V., and Burke, J. F.: Fine structure of the lymphatic capillary and the adjoining connective tissue area. *Am. J. Anat.* 118: 785-810, 1966.
- 32) Blood, C. H., and Zetter, B. R.: Tumor interactions with the vasculature: angiogenesis and tumor metastasis. *Biochem. Biophys. Acta.* 1032: 89-118, 1990.
- 33) 大竹克也: 口腔癌のリンパ節転移に関する実験的研究, 日口外誌, 35: 290-302, 1989.
- 34) Lindberg, R.: Distribution of cervical lymph-node metastases from squamous cell carcinoma of upper respiratory and digestive tracts. *Cancer* 29: 1446-1449, 1972.
- 35) Spiro, R. H., and Alfonso, A. E.: Cervical node metastasis from epidermoid carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Am. J. Surg.* 128: 562-567, 1974.
- 36) 金子末義: 日本人胎児頭頸部のリンパ管系の研究 3. 顎下リンパ節, オトガイ下リンパ節, 歯科学報, 68: 691-714, 1968.
- 37) 上條雍彦: 口腔解剖学「脈管学」1 版, アナトーム社, 東京, 付 15-29 ページ, 1974.
- 38) 西田邦彦: 家兎のリンパ管系に就いて, 熊本医会誌, 28: 295-318, 1954.
- 39) Feind, C. R. and Cole, R. M.: Contralateral spread of head and neck cancer. *Am. J. Surg.* 118: 660-665, 1969.
- 40) 立花忠夫: 口腔領域扁平上皮癌の頸部リンパ節転移に関する臨床的ならびに病理組織学的研究, 口病誌, 52: 521-544, 1985.
- 41) 藤村 朗, 阿部真裕, 野坂洋一郎: ゴールデンハムスター舌におけるリンパ管の走行と筋束との関係 (抄), 解剖誌, 70: S101, 1995.
- 42) 篠原正徳, 嶋田 誠, 原田 猛, 竹之下康治, 岡増一郎: 口腔癌の頸部リンパ節転移に関する臨床的・病理組織学的検討, 頭頸部腫瘍, 16: 113-117, 1990.
- 43) 堀越 勝, 草間幹夫, 岸 豊子, 小野富昭, 藤林孝司, 名倉英明, 榎本昭二, 岡田憲彦: 下顎歯肉扁平上皮癌の臨床的研究 - III 所属リンパ節転移症例の原発巣の臨床像および病理組織像について -, 頭頸部腫瘍, 16: 119-125, 1990.
- 44) 本間義郎: 口腔癌の頸部リンパ節に関する研究, 日口外誌, 28: 1667-1683, 1982.
- 45) 新垣 晋: 口腔領域悪性腫瘍の頸部リンパ節転移に関する病理組織学的研究, 日口外誌, 25: 784-797, 1979.
- 46) Toker, C.: Some observations on the deposition of metastatic carcinoma within cervical lymph nodes. *Cancer* 16: 364-374, 1963.
- 47) 渡辺 寛, 飯塚紀文, 平田克治: 壁内飛石転移を有する食道癌の検討, 外科診療, 21: 64-68, 1979.
- 48) 榊原 宣: 胃癌のリンパ節転移, 東女医大誌, 43: 171-181, 1973.