

## 大腸壁内リンパ管系の起始形態について

—組織化学・電顕的観察—

三浦真弘 紀 瑞 成 加藤征治

大分医科大学学生体分子構造機能制御講座・分子構造解析分野

### 目 的

近年、大腸内視鏡的ポリペクトミーの普及に伴い、癌腫等のリンパ行性転移と関連して、特に粘膜固有層内 (Lamina propria mucosae, LPM) のリンパ管の微細分布とその系統的構築に関する詳細な知識が必要とされてきている<sup>1)</sup>。そこで、本研究ではこれまで未解決とされてきた大腸 LPM 内におけるリンパ管の微細分布とその起始形態について、我々がこれまで開発・応用してきた 5'-nucleotidase (5'-Nase) をリンパ管の同定指標とする酵素組織化学法<sup>1)</sup>を用いて検索したので報告する。

### 材料と方法

本研究では成熟ニホンザル (*Macaca fuscata*) を10匹、またヒト手術標本から得た正常大腸組織を6例用いた。実験はすべて大分医科大学動物実験指針に従って行った。摘出した大腸組織はビニール板 (応研) 上にマップピンにて固定して、2% paraformaldehyde 溶液で4°C 60分浸漬した。固定後、0.1 M カコシル酸緩衝液にて洗浄した後、LPM、粘膜下層 (Tunica submucosae, TSm) を剥離した。剥離組織は上皮側を上方にしてビニール板上に再度固定することで剥離伸展標本 (whole mount preparation) を作製した。リンパ管の起始形態については、剥離伸展標本と凍結連続切片に酵素組織化学法 (5'-Nase-alkaline phosphatase; ALPase 染色) を用いて光顕・走査電顕下で調べた。また、摘出した大腸の一部は上皮下結合組織の微細構築を観察する目的で、組織片を2N NaOHにて37°C約8時間浸軟させて粘膜上皮、プロテオグリカン等の化学消化を行った後、試料を走査電顕にて観察した。

### 結 果

ヒト及びサルにおいて大腸 LPM 内に 5'-Nase 反応陽性リンパ管網が ALPase 陽性毛細血管と染別されて描出された。LPM 内のリンパ管網は、検索全例で基底膜に接する LPM 浅層領域 (LPMs) から、小囊

状の単一盲端から起始した (Fig. 1)。回盲・直腸-S 状結腸領域では、個体間で共通して起始リンパ管が LPMs 領域において水平方向に広がるリンパ管網を形成した。しかし、同リンパ管網は隣接する同リンパ管網との交通は比較的疎であった。LPM 内のリンパ管は、LPMs における起始形態の態度に拘わらず、LPM 内を単一枝としてほぼ垂直に下行して粘膜筋板 (LMM) 直上に形成される細いリンパ管網に合一するか、一部は直接 LMM を貫通してその直下に密着する管径の大きなリンパ管網と交通した (Fig. 2a, b) (Fig. 3)。

化学消化した電顕試料において、LPMs に接する陰窩間の膠原線維板上に5~12  $\mu\text{m}$  の類円形状の小孔が多数観察された。回盲・直腸-S 状結腸領域ではそれが他の領域と比較して顕著に現れた。

### 考 察

著者らは、これまでサル大腸壁内リンパ管系の形態学的特徴を組織化学的手法を用いて検索してきた<sup>3)</sup>。今回はヒト大腸の検索をあらたに加え、特に LPM 内でのリンパ管の起始形態に着目してそれらを組織化学・電顕的に調べた。

大腸壁内リンパ管は、サルでは大腸部位間において起始形態や分布密度に顕著な差を示したものの、リンパ管の起始部についてはサルのみならずヒトにおいても共通して LPMs 領域から起始した (Fig. 2b)。また、起始リンパ管は単一、分枝状ともに先端が小囊状の盲端 (*blind endings*) (Fig. 1, *arrows*) を呈し、LPMs 領域の何れのリンパ管も上皮下結合組織 (膠原線維板) に密着した状態から起発することが明らかとなった (Fig. 3)。

一方、SEM 観察において観察された多数の小孔は、上皮と LPM 間のリンパ球の通路と考えられ、同構造を脈管外通路 (*prelymphatic channel*) と見做すことで LPM 内の組織液、リンパ球、マクロファージ、さらには癌細胞の LPM 内の流れをある程度規定

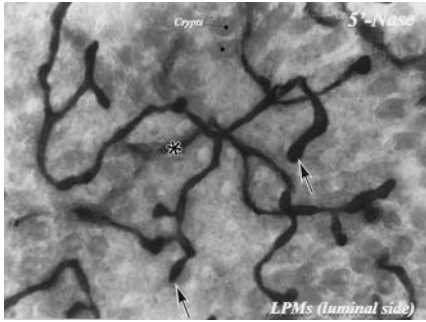


Fig. 1 Light micrograph of the whole-mount preparation of the lamina propria mucosae (LPM) in the recto-sigmoid colon region with 5'-Nase staining. The luminal surface of LPM faces upward. The apical parts of 5'-Nase-positive initial lymphatics reveal numerous marked knob-like blind endings (arrows). The asterisk indicates a slender lymphatic running vertically in the intercryptal region. C: crypt,  $\times 70$

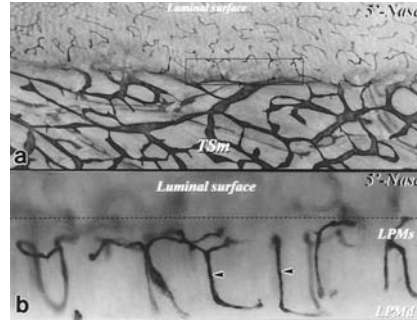


Fig. 2 Light micrographs of 5'-Nase-positive lymphatic networks in the whole-mount preparation of the mucous membrane in the sigmoid colon region. a: Well-developed lymphatics are seen in the lamina propria mucosae (LPM) and tunica submucosae (TSM). Open square indicates transverse plane between LPMs and LPMd.  $\times 15$  b: Higher magnification of the open square in Fig. 2a. Some slender lymphatics (arrowheads) without anastomosis are seen running vertically in the intercryptal regions.  $\times 40$

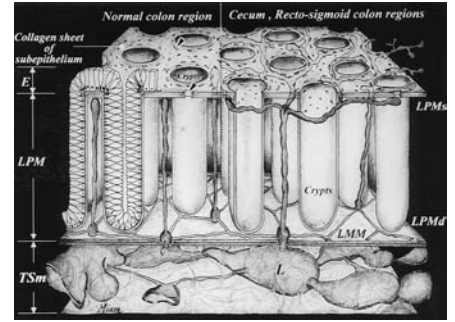


Fig. 3 A schematic presentation of the intramural lymphatic system in the monkey colonic wall based on the present enzyme-histochemical study. Note the differences in distribution pattern of the initial lymphatics among the cecum, recto-sigmoid colon and other colon regions. Arrowheads indicate small pores on the collagen sheet of subepithelium.

E: Epithelium, LPM: Lamina propria mucosae, LPMs: superficial layer of LPM, LPMd: deep layer of LPM, TSm: Tunica submucosae, LMM: Lamina muscularis mucosae, L: lymphatic vessels

する特殊な構造物であると推察される (Fig. 3, arrowheads). また、これらの小孔は LPMs 領域から起始するリンパ管網の発達状況にほぼ一致してその数が増加することから、同部位における上皮・LPM間の物質移動や LPM 内の経リンパ吸収能、さらには癌細胞などのリンパ管浸潤との関連性を考える上において大変興味深い現象といえる。

#### 文献

- 1) 平島忠久: 大腸壁内リンパ管の形態学的研究—とくに壁内リンパ管の分布並びに電子顕微鏡的微小構造について—. 医学研究 54: 28-46, 1984
- 2) Miura M, Kato S. and von Lüdinghausen M: Lymphatic drainage of the cerebrospinal fluid from monkey spinal meninges with special reference to the distribution of the epidural lymphatics. Arch Histol Cytol 61: 277-286, 1998
- 3) 三浦真弘, 加藤征治: 大腸壁内リンパ管の微細分布とリンパ流—組織化学・電顕的観察. 早期大腸癌 5: 423-432, 2001

### Morphological features of the initial portion of the intramural lymphatic vessels in the large intestines: An enzyme-histochemical and electron microscopic observation

Masahiro MIURA, Rui-Cheng JI, Seiji KATO

Department of Anatomy, Biology and Medicine, Division of Morphological Analysis, Oita Medical University

Fine distribution and structure of intramucosal lymphatic networks were studied in the colon of the human and monkey (*Macaca fasciata*) by an enzyme-histochemical method with light and electron microscopy. Whole-mount preparations of each tissue layer peeled from the colonic wall, and cryostat sections, were processed using 5'-Nase-ALPase double staining. 5'-Nase-positive lymphatics appeared to have an extensive network in the lamina propria mucosae (LPM) and tunica submucosae (TSM) layers, respectively. Double-layered lymphatic networks were locally observed on the luminal and submucosal surfaces of the lamina muscularis mucosae (LMM). Numerous thin lymphatics without valve-like structures were seen running vertically in the intercryptal region. Almost all of the lymphatics originated from horizontal networks in the deep LPM (LPMd). In general, colonic lymphatics had scarcely any communicating branches in the superficial LPM (LPMs) which is located just beneath the basement membrane. In the cecum and recto-sigmoid colon, fine and dense lymphatic networks locally appeared in the most superficial layer of LPM. All networks originated from wide distributed knob-like endings at the apical parts. On the other hand, lymphatics networks in LPMd were characterized by a regular mesh-like network on the basis of the penetrating point on LMM.

The present study demonstrated enzyme-histochemically the precise distribution of 5'-Nase-positive initial lymphatics in whole mount preparations of the human and monkey colonic mucosa. Our findings suggest that well-developed initial lymphatics in LPMs may play an important role in the absorption of tissue fluids and various free cells in the subepithelial region.

**Key words:** enzyme-histochemical staining, 5'-nucleotidase (5'-Nase), lymphatic vessels, colonic mucosa