

ラットならびにイヌの横隔膜からのリンパ排導に
関する研究

2007

柴田 真治

博士論文

ラットならびにイヌの横隔膜からのリンパ排導に
関する研究

Studies on the lymph drainage from the diaphragm in rats and
dogs

関動物病院

柴田 真治

(指導：浅利昌男 解剖学第一研究室教授)

目次

要約	1
緒言	8
第一章 横隔膜腹膜面における stomata の表面形態について	
THE SUPERFICIAL SURFACE OF THE STOMATA OF THE PERITONEAL ASPECT ON THE DIAPHRAGM	11
序文	12
材料と方法	13
結果	15
考察	17
小括	21
第二章 ラットの横隔膜におけるリンパ排導について	
THE TIME COURSE OF LYMPHATIC ROUTES EMANATING FROM THE DIAPHRAGM IN RATS	22
序文	23
材料と方法	24
結果	26
考察	31
小括	35
第三章 イヌの横隔膜におけるリンパ排導について	
THE TIME COURSE OF LYMPH DRAINAGE FROM THE DIAPHRAGM IN BEAGLE	36
序文	37
材料と方法	38
結果	39
考察	42
小括	46
第四章総括 CONCLUSION	47
英文要約	51
図表	54
参考文献	83
謝辞	89

要 約

リンパ循環は、リンパ液のみならず、ある種の免疫担当細胞、あるいは腫瘍細胞までも含有して、この経路を通過して、全身血液循環へと運ぶ第二の循環である。本研究はラットならびにイヌなど四足歩行動物の腹膜腔内の腹水・リンパあるいはその含有物が、腹膜腔から、腹腔内最大の吸収器官である横隔膜を介して吸収された後、体内をどのように通過し、血液循環系に還流するかという腹水・リンパの排導路を明らかにする目的で、マウス、ラットおよびイヌを用いて解剖学的検討を行った。

本研究では、はじめにリンパの吸収の場となる横隔膜の腹膜表面形態、特に「取り込み口」といわれる stomata について、その形態、大きさおよび分布について観察するとともに、吸収活性の部位的相違から吸収活性の高い領域における吸収機構について検討した（第一章）。次に、横隔膜吸収後のリンパの排導路を検討するため、ラットおよびイヌを用いて、実験的に腹膜腔内に注入された物質が、横隔膜を経て胸膜側に至った後、どのような排導路を辿って血液循環系に戻るかについて、時系列的に検討した（第二章・第三章）。

第一章では横隔膜腹膜面にあり、腹膜腔からのリンパ、およびその含有物の吸収の場、即ち「取り込み口」であるリンパ管前通液路（stomata）の形態、大きさおよび分布を調べる目的で、イヌを用いて stomata の表面形態を走査型電子顕微鏡（Scanning electron microscope; SEM）で、また、ラットおよびマウスを用いて実験的にラテックス微粒子を腹腔内に注入した後の stomata の大きさの変化につ

いて SEM および凍結切断標本を用いて検討した。横隔膜腹膜表面を SEM で観察すると横隔膜腹膜中皮は大型扁平上皮であり、細胞表面には散在的な微絨毛が、さらには細胞間接合部には微絨毛が重なり密在しており、細胞の境界を明瞭にしていた。Stomata は各上皮細胞間の開口部として見られ、stomata の大きさ（直径）は無処置ラットで平均 $5.81 \mu\text{m}$ （範囲： $2.5-10 \mu\text{m}$ ）であったものが、ラテックス粒子を腹膜腔内に注入したラットではその刺激で stomata は大きく開口し、平均 $8.9 \mu\text{m}$ （範囲： $2.8-20 \mu\text{m}$ ）になっていた。また、マウスを用いて同様に腹膜腔内にラテックス粒子を注入して、3 分経過後、横隔膜を背腹側ならびに左右側に四分割して、筋部および腱中心を含む横隔膜全表面の stomata の数を SEM で観察し、写真上で計測した結果、stomata は横隔膜腹膜側の左側部に比べ右側部に有意に多く見られ、中でも右腹側部（筋部）に最も多く見られた。このことから横隔膜腹膜面における stomata の分布は横隔膜全体に一様ではなく、明らかな部位差があることが認められた。横隔膜の凍結切断標本では腹膜中皮と、より深層の横隔膜筋線維との間に横隔膜リンパ管を認めた。横隔膜リンパ管は豊富な走行から横隔膜中皮リンパ腔を構成し、腹腔内圧の上昇に比例して拡大することが知られているが、これは腹腔内液の吸収量を増加させるための恒常性維持反応と考えられる。横隔膜中皮下リンパ腔は、その位置から横隔膜筋線維の緊張と弛緩でリンパ腔の内皮細胞間に間隙の差が生じ、腹膜腔内から stomata を通じて横隔膜リンパ系へリンパが吸収されることが考えられた。横隔膜の stomata はその機能から、臨床的には、腹膜腔内注入物質の全身循環への吸収口となることや腹水中に含有する腫瘍細胞の播種性転移との関連が考えられる。胃や肝臓は横隔膜に近接していることから、漿膜に浸潤した腫瘍細胞

が腹膜腔内に脱落すると、それが刺激になり、容易に横隔膜の stomata が拡大し、そこから腫瘍細胞が侵入し、横隔膜リンパ管内に進展する可能性が示唆された。

第二章ではラットの腹膜腔からのリンパ排導について、腹膜腔に分泌されたリンパあるいはその含有物質が横隔膜を通過した後、どのような経路で排導されていくかを明らかにするためマーカ（India ink）注入後、時系列的に解剖学的な観察を進めた。本実験に先立って、予備的実験として腹膜腔内に注入される India ink の有用性に関する検討を行った。すなわち、生理的食塩水の中に India ink を溶かしたもの、腹膜還流液 EL-3 号に India ink を溶かしたもの、及び蒸留水に India ink を溶かしたものの 3 種の溶液を別々の個体の腹膜腔内に注入して、それぞれの排導の速さや排導路について時系列的に観察し、リンパ排導路検索に最も適した注入剤・排導路探索に適した経過時間について予備的に検討した。その結果、生理的食塩水と EL-3 号を溶媒とした India ink の両者ともに吸収と排泄状態のいずれとも均一性が確認された。本実験ではラットの腹膜腔内に生理的食塩水に溶かした India ink を注入して、その排導の様子について 3 分後～4 時間後まで時系列的に観察した。各排導路の時系列的な排導状況を比較すると、最も早期に排導がみられたのが横隔膜や肋間から起こり、胸壁腹側の内胸動脈・静脈に沿って走る内胸リンパ幹管や、横隔神経や後大静脈に沿って胸郭前口に向かって進むリンパ管で、ともに上前縦隔リンパ節内側群に還流する経路であり、左右両側ともほぼ同量の India ink の流入が実験開始直後（3 分後）から見られた。胸腔背側にある胸椎側リンパ幹管に還流する経路では、左右差がみられ、右側では India

ink の安定した流入が見られたが、左側では India ink の出現は注入後の時間経過とは関係なく不定であった。一方、胸大動脈右側を併走する胸管に還流する経路では注入後 1 時間経過後に 1 個体のみ India ink が確認されたが、2 時間経過後には 3 個体全てに確認され、この経路は排導路としては遅れて作用することが判明した。また、India ink の還流を受ける胸腔内の上縦隔リンパ節内側リンパ節群は、腹膜腔内注入直後から、4 時間経過後まで、左右いずれも全ての個体で India ink の取り込みが確認されたが、同外側リンパ節群では、注入直後における India ink の流入は不定で、1 時間後以降になり安定的な India ink の流入が観察された。上前縦隔リンパ節では右側が、左側より India ink の流入量が多いことが観察された。また、一部の個体では、左右の内胸動脈に沿う内胸リンパ幹管、横隔神経に沿うリンパ管、より背側の右側胸椎側リンパ幹管から、頸部の浅頸リンパ節および腋窩リンパ節に India ink の漏出が観察された。この研究は排導の速さに、排導路間で差が見られることを実験的に明らかにした最初の報告となる。リンパ排導路での流入時間の違いや、その左右差について考察した。

第三章では、ラットと同様にイヌの腹膜腔からのリンパ排導並びに骨盤腔からのリンパ排導を観察する目的で、リンパの排導経路を時系列的に観察し、その経路を明らかにした。腹膜腔内注入後 30 分ではラットと同様に、India ink は胸腔底部(腹側)を走行する内胸動・静脈に沿った内胸リンパ幹管のみが描出された。この経路では India ink は胸骨リンパ節を中継し、最終的には左右側とも前縦隔リンパ節に流入していた。また左右のリンパ管で描出の濃淡差がみられ、右側の内胸リンパ幹管が極めて濃く描出され、多量の India ink の取り込みが

認められた。腹膜腔内注入後 1 時間では、左右の内胸リンパ幹管に加え、新たに食道表面の左迷走神経に沿って走行するリンパ管の経路も観察された。この経路はその途上、気管分岐下リンパ節や左気管気管支リンパ節を経由し、最終的に左右の前縦隔リンパ節に続いていた。腹膜腔内注入後 2 時間 30 分および骨盤腔内注入 1 時間では、左右の内胸リンパ幹管、迷走神経に沿うリンパ管に加え、胸椎側リンパ幹管、胸管の経路が観察された。さらに胸椎側リンパ幹管からは肋間リンパ管への漏出と見られる所見も得られた。骨盤腔内注入後 2 時間 30 分では、腹膜腔内注入で得られた経路と同様に内胸リンパ幹管、迷走神経に沿うリンパ管、胸椎側リンパ幹管、胸管の描出が見られ、そのうち胸椎側リンパ幹管は第六肋骨の位置で胸管に流入していた。また、この標本では浅頸リンパ節への India ink の流入が見られ、胸骨リンパ節からの漏出があったものと考えられる。また、腹膜腔内注入後 2 時間 30 分の標本において、胸管よりも内胸リンパ幹管が強く描出されていたのに対し、骨盤腔内注入後 2 時間 30 分のものでは胸管がより強く描出されていた。これらをまとめると、イヌでの腹膜腔からのリンパ排導の時系列的な観察結果をラットの結果と比較するとほぼ一致していた。この一致はイヌとラットが共に四足歩行動物であり、四足歩行動物では個体にかかる重力が体幹腹側方向へかかるため、注入された India ink が腹腔の腹側に集まる傾向があることや第一章で示したように横隔膜腹膜の stomata の分布が関係していると考えられる。また、リンパ管内での India ink の移動が、基本的には重力や筋肉運動、呼吸運動などの受動的な圧力によって促進されることも理由であると思われる。最も遅くリンパの排導が開始されるのは胸管と胸椎側リンパ幹管であったが、India ink の骨盤腔内注入では実験開始後 1 時間よ

り胸腔最背側に位置する胸管や胸椎側リンパ幹管において、すでにそれが描出され、2 時間半ではさらに強くなっていた。これは腹膜腔後半および骨盤腔内のリンパ排導が胸椎側リンパ幹管や胸管によることを示唆するものである。このように今回の実験では第二章のラットにおける観察と同様、イヌでも腹膜腔からの主排導路は、腹膜腔内の含有物質の滞在時間が長いほど、あるいは腹膜腔内の含有物質が腹膜腔内のどこに存在するかという位置によって変わることが明らかになった。イヌの場合、従来から腹膜腔からのリンパの排導には胸管はほとんど関与していないという考え方が支配的であり、実際、今回の実験例でも、そのような結果が見られた。しかし、その場合は India ink の注入が腹膜腔内に限定され、観察も注入後 1 時間以内の短時間に行われた場合のものであり、比較的長い時間の腹膜腔内および骨盤腔内注入などを行った実験の結果では、むしろ胸管が主要な排導路であった。本実験では、数個体で腹膜腔からの India ink の逆流による漏出が見られた。このことから腹膜腔から吸収された細胞はリンパ行性に末梢リンパ節に向かうことが明らかになり、これらの経路が腹膜腔からの腫瘍細胞などの転移経路のひとつになりうる可能性を示した。

以上、本研究により腹膜腔内からのリンパ排導を精査した結果、リンパの「取り込み口」となる横隔膜腹膜上に開く stomata は、腹膜腔内への粒子注入で stomata の拡大が見られたこと、およびその分布には明らかな部位差が見られ、横隔膜右半に多いことが明らかになった。また、腹膜腔内に India ink を注入した場合、ラットおよびイヌで比較的早い時間から胸腔腹側を走る内胸リンパ幹管を経て、胸骨リンパ節および前縦隔リンパ節に還流する経路が観察されたが、時間を経る

にしたがい胸腔内の中位構造である食道に併走するリンパ管、横隔神経に併走するリンパ管、後大静脈に併走するリンパ管から、胸腔背部を走る胸椎側リンパ幹管や胸管などに還流経路が広がることが明らかになった。しかし、体腔の後方である骨盤腔内の注入では、早い時間から胸腔背部を走る胸管が主要な還流経路になり、排導される物質が体腔内のどこにあるかによって排導経路が異なることも明らかになった。以上の結果、一般的に四足歩行動物では腹膜腔内からのリンパおよびその含有物質の排導には、胸腔底部にあるリンパ管が主要な還流路として考えられていたが、同時に胸腔背部を走る胸管も重要な役割を果たしていることが明らかになった。

緒 言

腹膜腔内には常に数十～百数十 ml の腹水が存在し、これらは断続的に循環している。この腹水は内臓の動きをスムーズにするための潤滑油としての働きや、炎症が生じた時の炎症性細胞の腹膜腔内移動、また、腫瘍細胞の腹膜播種性転移の際に重要な働きを示すと云われている（米村、他 1999）。この腹膜腔からの液体や細胞、あるいは実験的に注入された粒子等のリンパ管への排導に関する研究は、腹膜腔内に特有の、腫瘍の転移形式である腹膜播種性転移の解明に関する実験として注目され、腫瘍原発巣から腹膜腔内に遊離した腫瘍細胞が腹膜面に着床・増殖してどのような経路をたどるかについて報告されている（下間および高橋、1993）。腫瘍の多くは腹水中に集塊を形成して存在し、腹膜腔内で播種状に分布するが、腹膜腔内異物の吸収能力の高い腹膜面と播種性転移形成部位とは相関すると言われている（米村、1996）。また、腹膜面の占有面積は広く、横隔膜表面や大網あるいは腹壁表面など、その構造が異なるだけでなく、吸収機能についても部位により大きく異なっている。例えば、大網には特有のリンパ系組織（omentum-associated lymphoid tissue; OALT）が存在して、腹膜腔内にマクロファージを供給し、刺激に応じて抗体を産生するなど腹膜腔内で第一線の生体防御機能を発揮している（下間および高橋、1992）。しかし、OALT は一般に横隔膜リンパ系に比べて腹膜腔内リンパの排導に果たす役割は小さいと考えられており、腹膜腔内のリンパや異物・粒子は、まず初めに横隔膜の呼吸運動や腹腔内圧の変化などにより生じたリンパ流により、その殆どが横隔膜腹膜面に吸収されるといわれる（Yoffey and Courtice, 1970）。

吸収に際して、腹膜腔内のリンパは横隔膜腹膜面にある stomata と呼ばれる「取り込み口」から入り、リンパ管前通液路を介し、横隔膜リンパ管に進むといわれている (von Recklinghausen, 1863、大宅宗治、1992、壺内みよ, 1950 Leak, et al., 1978, Bettendorf, 1978)。従来から横隔膜腹膜面におけるリンパ吸収機構の解明については、stomata およびリンパ管への通液路の解明を目的として多くの研究がなされている。しかしながら、腹膜腔内の物質が初めに吸収される構造である stomata の横隔膜表面における形態、大きさ、および分布に関しての情報は十分ではない。横隔膜は胸腔と腹腔を隔て、中心部の腱中心と周辺部の筋部に分けられる横紋筋性呼吸筋である。一般に横紋筋で構成される骨格筋にはリンパ管が乏しいといわれているが (Korneliussen, 1975)、横隔膜の光学顕微鏡観察あるいは透過型電子顕微鏡観察では、筋性部の筋線維間や胸膜下組織に、密なリンパ管の存在が認められている (Wang, 1975、Pinchon, et al, 1980、Mariassy, and Wheeldon, 1983)。従って、腹膜腔内に存在するリンパなどの物質は、表在する stomata を介して、横隔膜腹膜下組織、横隔膜筋性部筋線維間、横隔膜胸膜下組織に密に存在する横隔膜リンパ管に吸収されることになる。横隔膜リンパ管内に取り込まれた腹膜腔内の物質が、どのような経路で腹膜腔内から排導され、血液循環系に還流していくかについては、未だ十分な解明がなされていない。特に、時系列的な観察は殆ど行われていない。これまでの漿膜系からのリンパ排導路に関する数少ない知見では、腹膜腔内からの排導は胸腔腹側を走行する左右2本の内胸リンパ幹管が主要経路であり、加えて、腹腔内に広がる大網上に存在する乳斑 (milky spot) から吸収されて、体腔背壁の胸管を流れる経路の存在も知られているが、後者の経路はほ

とんど腹膜腔からのリンパの排導路としての意義を持たないと考えられている (Yoffey and Courtice, 1970)。また、腹膜腔内に注入した赤血球が前胸壁部 (retrosternal region) に流れ出すという報告もあり (Levine and Saltzman, 1988)、腹膜腔からのリンパ排導の多様性が伺われる。

本研究は四足歩行動物の腹膜腔内からのリンパの流れ方、すなわち、ラットおよびイヌについて、リンパなどの腹膜腔内に分泌されたさまざまな物質が、どのような経路で吸収され、血液循環系に還流されていくかというリンパ排導路について明らかにする目的で、はじめに、リンパ吸収の場となる横隔膜の腹膜表面形態を精査し、特に吸収機構の主役となる横隔膜の stomata の形態、大きさおよび分布などについて観察した (第一章)。また、腹膜腔内に実験的に注入された India ink が、横隔膜中皮細胞間の stomata を経て、漿膜下のリンパ管網に吸収され胸膜側に至った後、どのような排導路を辿って血液循環系に戻るかについて、ラットおよびイヌを用いて経時的に観察した (第二章・第三章)。

第一章

横隔膜腹膜面における stomata の表面形態について

The superficial surface of the stomata of the peritoneal aspect
on the diaphragm

序 文

腹膜腔内に特有な、腫瘍の転移形式である腹膜播種性転移は、一般に、腫瘍原発巣から腹膜腔内に遊離した腫瘍細胞が腹膜面に着床・増殖して形成されると考えられている。また、腫瘍性腹水の成因には主要な排泄ルートである横隔膜腹膜面からの腹水の吸収障害によると考えられており、その根拠に腫瘍細胞による横隔膜リンパ管の閉塞が挙げられる (Holm-Nilsson, 1953)。一般に横隔膜、大網、腹壁を覆う腹膜面の面積は広く、例えば、ヒトで 1.5 ~ 4.0 m²あり、その構造と機能は、各部位により大きく異なっている。即ち、大網には乳斑 milky spot と呼ばれるリンパ系組織があり、腹膜腔内にマクロファージを供給し、刺激に応じて抗体を産生するなど腹膜腔内での生体防御機能を発揮している (下間および高橋 1992)。横隔膜の腹膜面には stomata と呼ばれる腹膜中皮細胞間隙があり、これはリンパの「取り込み口」でリンパ管前通路といわれ、この間隙から腹水・リンパや異物などが横隔膜のリンパ管へ吸収される (Allen, 1936, Yoffey, and Courtice, 1970)。骨盤腔や前腹壁の漿膜中皮細胞には stomata は認められないといわれている (Li & Yu 1991)。

本章では、腹膜腔からのリンパ排導に関して、腹膜腔からのリンパの「取り込み口」として横隔膜腹膜面上の stomata に焦点を当て、肉眼観察ならびに走査型電子顕微鏡 (Scanning electron microscope: SEM) を用いた観察により、

ラテックス注入刺激時における stomata の大きさの変化 (ラット)
stomata の微細構造の観察 (ラットおよびイヌ)

横隔膜の部位による stomata 数の分布の違い（マウス）

横隔膜断面の観察による stomata とリンパ管の関係（ラット）

について検討した。

材料と方法

ラテックス注入刺激時における stomata の大きさの変化、stomata の微細構造の観察および横隔膜断面の観察による stomata とリンパ管の関係

生後 8 週齢の Wister 系雄ラット 15 個体を用い、5 個体は無処置群（コントロール群）とし、10 個体はラテックス注入群とした。腹膜腔内にラテックス微粒子を体重 100g 当り 2.5ml の割合で穿刺注入し、穿刺後 3 分間後に、ジエチルエーテルにて麻酔し、頸椎脱臼にて安楽死させた。その後、腹膜腔内および胸膜腔内に 1.5% Glutaraldehyde phosphate buffer solution (pH7.4) を注入し、室温にて 2 時間固定したのち、無処置群とラテックス注入群ともにラットより横隔膜を摘出し、同固定液で再固定した。再固定終了後、臍中心を中心に腹腔側から見て横隔膜を、それぞれ右背側 (DRC)、右腹側 (VRC)、左背側 (DLC) および左腹側 (VLC) に 4 分割した。4 分割した各部位における細胞表面を観察するために、SEM 標本を作製した。SEM 標本は、定法どおりエタノール系列による脱水、酢酸イソアミル置換後、液体炭酸による臨界点乾燥、炭素・金の二重蒸着を施し、TSM-35 型走査電子顕微鏡を用いて観察した。観察により得られた写真上での stomata の大きさの計

測と、形態の観察を行った。無処置群とラテックス注入群における stomata の大きさの有意差の検討は次の様に行った。各群 1 個体の標本において、4 分割した各部位において、stomata が観察される部分を高倍率 ($\times 3000$) で撮影し、得られた写真から stomata を無作為に 10 個選び、写真のスケールバーを基準に stomata の長径を測定した。得られたデータはスチューデントの t 検定により有意差の有無を検討した。

また、標本の一部は横隔膜断面を観察する目的で、液体窒素を用いて急速に凍結させ、割断装置で割断した標本（凍結割断標本）を作製し SEM で観察した。

4 分割した各部における stomata 数の分布

雄マウス (DHS) 2 個体を用い、無処置の個体 (コントロール個体) と腹腔内にラテックス微粒子を注入する個体 (ラテックス注入個体) に分けた。ラットと同様に横隔膜を採材し、SEM 標本を作製した。ラテックス注入個体の横隔膜を、4 分割した各部位において、10 箇所を無作為に撮影し、得られた写真から視認できる stomata の数を計測した。得られたデータを一元配置分散分析法にて検討後、 q 検定にて 4 分割された各部位間の有意差について検討した。

Stomata の微細形態の観察

本論文第三章で供試した雄ビーグル犬 1 頭（体重 11kg）を用いた。India ink を腹腔腔内に注入後、横隔膜の大静脈孔付近の組織を採材し、SEM 標本を作製し、横隔膜の stomata の微細形態を観察した。

結 果

ラテックス注入刺激時における stomata の大きさの変化

stomata の開口部径はコントロール群では $5\mu\text{m}$ 前後であった。各部位の平均をみると、VR で $6.27\mu\text{m}$ 、DR で $5.70\mu\text{m}$ 、VL で $6.35\mu\text{m}$ 、DL で $4.95\mu\text{m}$ であった。横隔膜全体では平均 $5.81\mu\text{m}$ であった。一方、ラテックス注入群ではラテックス粒子による刺激によって間隙が広まり、大きく開口した空隙状を呈し、開口部径が $10\mu\text{m}$ 以上になるものが多数認められた。各部位の平均は VR で $10.20\mu\text{m}$ 、DR で $9.44\mu\text{m}$ 、VL で $7.48\mu\text{m}$ 、DL で $8.48\mu\text{m}$ であった。全体では平均 $8.90\mu\text{m}$ であった（表 1）。

stomata の微細構造の観察

横隔膜腹膜表面を走査型電子顕微鏡で観察すると、横隔膜腹膜中皮は大型扁平上皮であり、上皮細胞は密着して存在していた。細胞表面には微絨毛が散在しているが、細胞間接合部では微絨毛が重なり合い、密着して認められ、細胞の境界を明瞭にしていた（図 1—図 3）。

横隔膜断面の観察による stomata とリンパ管の関係

凍結切断標本では腹膜面表層の扁平上皮の直下に密な結合組織層が見られ、結合組織層とその下の横隔膜筋線維との間に漿膜（中皮）下リンパ管（横隔膜毛細リンパ管）を認めた（図 4）。また、横隔膜深層の横隔膜筋線維に平行して走る横隔膜リンパ管も多数認められた（図 5）。

4 分割した各部における stomata 数の分布

Stomata は各上皮細胞に囲まれた間隙状の開口部として見られた（図 6）。ラテックス注入後の stomata の分布は平均して一視野あたり 10.1 個が認められ、横隔膜全体では 405 個が観察された。stomata の分布は、観察例を平均すると、右腹側部 139 個、右背側部 113 個、左腹側部 85 個、左背側部 68 個であり、横隔膜腹膜側の右半に最も多く見られた。四区分中 stomata の分布が最も少ない箇所は左背側部であり、横隔膜腹膜面での stomata の分布差が明らかだった（図 7）（表 2、3、

4)。

Stomata の微細形態の観察

Stomata は中皮細胞間に開口する円形～楕円形の口として見られ、中には開口部を仕切るように、架橋部をもつものも見られる（図 8—図 10）。

考 察

腹膜腔内から横隔膜リンパ管につながる経路は translymphatic circulation といい、リンパが横隔膜腹膜上の stomata をつたい、リンパ管に流入する経路で、腹水や巨大分子の吸収、あるいは腹膜腔内炎症細胞の移動にも関係するといわれる (Yoffey and Courtice 1970)。横隔膜表面にある腹膜中皮の間隙である stomata から吸収された液体や粒子は、stomata 直下にある独特の構造をしている間隙を通り、さらにその直下にある毛細リンパ管に流れ込むことは従来から知られている (Bettendorf 1978)。この stomata と同様の構造は、Allen (1936)、木原 (1963) により「脈管外通液路系」の概念のもとに横隔膜の篩状斑と呼ばれ、それについては詳細に研究されている。それによると篩状斑は膠原線維を枠として、網状線維を網目とする特殊な構造で、これが横隔膜腹膜中皮から毛細リンパ管までの脈管外通液路を形成し、異物や粒子の移動路となっているという (図 11 および図 12)。

Stomata は横隔膜腹膜の中皮細胞、横隔膜腹膜直下の毛細リンパ管

内皮細胞および両者間に介在する結合組織の 3 層で構成され、腹膜と横隔膜リンパ系とを連絡する機能的な構造を作っている。

今回、ラットおよびマウスの横隔膜を SEM で観察すると、細胞表面に多数の微絨毛を有する腹膜中皮細胞が腹膜表面を覆っているのが観察され、腹膜中皮自身は互いに密着していた。この形態は、ゴールデンハムスターと同様であった (Shinohara, et al 1989)。今回の観察では腹膜表面を覆う中皮細胞は扁平で、漿膜下結合組織の層が密で、切断標本では、その結合組織中に横隔膜毛細リンパ管が認められた。

Leak (1978) は横隔膜腹膜の透過型電子顕微鏡による観察から stomata の部位では、リンパ管の内皮細胞は腹膜表面に伸びだして、表面の中皮細胞と細胞間結合していると報告している。また、その細胞間には開口径 $5\sim 10\mu\text{m}$ の stomata が多数みられ、これらは直下に存在するリンパ管に連絡し、胸腔内の吸気による陰圧で物理的に腹腔内液を吸収する可能性を示す像を認めている。

ヒトの横隔膜 stomata を調べた Li & Yu (1991) によると、stomata は横隔膜の筋部と腱部の両方に分布し、大きい stomata はその面積が $25\mu\text{m}^2$ 以上もあると報告している。また、ラットとマウスについては筋部にその分布が多いことが知られている (Leak 1978 Tsilibary 1987)。今回のラットでの観察では横隔膜腹膜面の stomata が横隔膜筋部、腱中心にまたがって広く分布すること、また、その大きさもヒトのそれよりも小型で、長径で $5\sim 10\mu\text{m}$ のものであることが判明した。しかし、その分布は横隔膜全面に一様ではなく、部位によって差が見られ、とくに横隔膜の右腹側(筋部)に多く分布することが明らかになった。これは四足動物においては、立位時に腹膜腔腹側に腹水が貯留すること、また、左側は大型の肝外側左葉・胃底部・脾臓と面するこ

とに対して、右側は、小型の肝右葉や細い胃の幽門部などの腹腔内諸臓器と面することを考慮すると、この分布は腹水の吸収においては効率的なものと考えられた。

横隔膜 stomata はその機能から、臨床的に腫瘍の転移との関連が考えられている。胃や肝臓は横隔膜に近接していることから、漿膜に浸潤した腫瘍細胞が腹腔内に脱落すると容易に横隔膜の stomata より侵入し、横隔膜リンパ管内におよんでいくものと考えられる。たとえば、腫瘍性腹膜炎など腹膜にかかる刺激ではこの stomata は拡大し、腫瘍細胞が stomata から横隔膜リンパ管に侵入することにより、腹膜播種性転移が形成されることは知られている(難波, 1989、梅谷, 1990)。今回の走査型電子顕微鏡下での微細構造の観察結果では、コントロール群に比べ、ラテックス注入群では stomata の有意な拡大・拡張が認められ、ラテックス注入群では大きなもので数 $10\mu\text{m}$ に達するものも認められた。呼吸筋や胸壁を構成する筋などの運動により横隔膜がリンパを吸収する機構以外に、刺激性に stomata の内腔が拡張することがリンパを吸収する機構に関与していることが示唆され、前述の腫瘍細胞や異物の吸収に stomata が反応することが十分に考えられる。

横隔膜の電子顕微鏡観察では筋部及び腱中心の腹膜下及び筋線維間に毛細リンパ管の存在がウサギ、ラット、マウスで証明されており(Kotani, et al. 1962、 Bettendorf, 1978、 Poggi, et al. 1991)、毛細リンパ管が腹水の排水路として関与することが考えられている。今回の切断標本の観察では横隔膜は、腹膜表面から扁平中皮細胞層、漿膜下結合組織層、筋線維層の三層で構築され、最表層の扁平中皮細胞間には stomata が存在し、stomata が下層の漿膜下結合組織内のリ

ンパ管や更に深部の横隔膜筋線維間のリンパ管に連結していることが想像された。この際、リンパ管は漿膜下組織と横隔膜筋線維間あるいはその深層で横隔膜筋線維間を走ることから、横隔膜筋線維の緊張と弛緩で腹膜中皮細胞間や横隔膜リンパ管の内皮細胞間に間隙の差が生じ、吸気時（横隔膜筋の収縮）では stomata が開放し、腹膜腔内から横隔膜リンパ系へリンパが吸収され、呼気時はこの逆で、stomata の部位で互いに隣接する細胞同士が弁状に重なりあって、stomata は閉鎖状態となり、その結果、リンパの腹膜腔内への逆流が防止され、リンパは横隔膜胸膜側に流れるといわれている（Yoffey and Courtice, 1970）。また、横隔膜中皮下のリンパ腔は腹腔内圧の上昇に比例して拡大することが知られており（米村ら、1999）、このメカニズムも腹腔内液の吸収をあげるための恒常性維持反応と考えられている。

小 括

腹膜腔内にラテックス粒子を注入して、右背側、左背側、右腹側および左腹側に4分割したラットの横隔膜を、走査型電子顕微鏡で、特に、腹膜面の表面構造および stomata の大きさについて調べた。その結果、stomata の大きさはコントロール群では小型で、径が $5\mu\text{m}$ 以下であったが、ラテックス粒子で刺激した後の stomata の大きさは数 $10\mu\text{m}$ に達するものが見られ、腹膜腔内への微粒子の注入刺激により、stomata の大きさに変化が見られ、リンパの吸収能が変化する可能性が示唆された。凍結切断標本を観察すると、腹膜表面を覆う中皮細胞下の結合組織層は数層からなり、結合組織層と横隔膜筋線維との間に横隔膜毛細リンパ管が認められた。したがって、腹膜腔内に分泌されたリンパあるいは細胞塊が、横隔膜腹膜を刺激し、腹膜面にある stomata を拡張させて、吸収しやすくなること、ならびに吸収されたリンパは中皮下のリンパ管から横隔膜筋層間にひろがる深層のリンパ管に流れることが示唆された。また、stomata の分布についてマウスで検討した結果、横隔膜の部位により stomata の密度が異なり、最も密度が低いのは左背側領域であり、最も高いのは右腹側領域であることが明らかになった。四足動物の腹水貯留を考慮すると効率的な分布であるものと想定された。

第二章

ラットの横隔膜におけるリンパ排導路について

The time course of lymphatic routes emanating from the diaphragm
in rats

序 文

第二の循環系と呼ばれるリンパ系は、リンパばかりでなく、脂質滴、免疫担当細胞あるいは腫瘍細胞の転送を行いながら、一定の還流路を経て最終的には血液循環系に流入するリンパ循環を成立させている（小谷, 1970）。この機構は漿膜腔に漏出した胸水、腹水の場合でも基本的には同様であると考えられるが、腹膜腔に分泌されたリンパあるいはその含有物質が横隔膜リンパ管を通過後、どのような経路で排導されていくかについては未だ十分に解明されていない。腹膜腔に分泌され横隔膜リンパ管に取り込まれたリンパは主に内胸リンパ幹管および胸管を経て静脈内に排導されることが考えられているが、腹膜腔内に注入した赤血球が胸壁腹側部（retrosternal region）に流れ出るという報告もある（Levine, and Saltzman, 1998）。ラットにおけるリンパ管走行については、妹尾（1981）の詳細な報告がある。従って、本章では、妹尾が分類したリンパ節の名称を用いることとした。まず、予備的実験として腹膜腔内に注入される India ink 注入剤の tracer としての有用性に関する検討を行った。すなわち、腹膜腔内に生理的食塩水を溶媒とした India ink および EL-3 号を溶媒とした India ink、そして蒸留水を溶媒とした India ink の 3 種の液体を注入して、リンパの排導路検索のために最も適した注入剤を検討するとともに、各溶媒による India ink の排導の速さ、その経路について時系列的に観察し、排導路検索のための至適観察時間の検討を行った（実験 1）。

次いで、実験 1 で選択した注入剤を用い、また、適切な時系列的な観察ポイントをトレースすることにより腹膜腔内に注入された微粒子が、第一章で観察を行った横隔膜中皮細胞間の stomata を経て、漿膜

下のリンパ管網に吸収され胸膜側に至った後、どのようなルートを辿って血液循環系に戻るかについて観察した（実験 2）。

材料と方法

実験 1：腹膜腔内に注入される India ink 注入剤の有用性に関する検討

成熟雄ラット(Wistar-Imamichi) 27 個体(平均体重 222 g)を使用した。ラットを

市販生理的食塩水「以下 NSS と称す」で溶かした研磨墨汁を注入する(NSS/研磨墨汁)群、

腹膜還流液 EL-3 号「以下 EL-3 と称す」で溶かした研磨墨汁を注入する(EL-3/研磨墨汁)群

蒸留水「以下 DW と称す」で溶かした研磨墨汁を注入する(DW/研磨墨汁)群

の 3 群にわけ、体重 100 g あたり 2.5ml の割合で各溶液を腹膜腔内に穿刺注入した。研磨墨汁は、各溶媒を用いて市販の高級墨(India ink)を磨り、一定濃度に至るまで自動墨磨り機(呉竹製)にて作製した(図 14)。使用前に粒子を均一安定させるため、各溶液を超音波洗浄機で 2 時間以上攪拌処理した後、体温程度にまで加温して、穿刺注入した。ラットを、各溶液注入直後(0 分)、15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間、6 時間後に、ジエチルエーテルを用いて麻酔後、頸椎脱臼にて安

楽死させた。その後、直ちに腹膜腔内および胸膜腔内に 1.5% Glutaraldehyde phosphate buffer solution (pH7.4) を注入し、動物体を腹腔部分および胸腔部分に分断して、同液で再固定した。固定終了後、各溶液の吸収の様子や排導路の走行について、肉眼あるいは実体顕微鏡下で観察した。

実験 2：各排導路への注入 India ink の出現成績および胸腔内リンパ節への流入成績

成熟雄ラット(Wistar-Imamichi)12 個体(平均体重 118 g)を墨汁注入後、時系列に 4 群 (3 分後、1 時間後、2 時間後、4 時間後)、各群 3 個体に分け、実験 1 と同様に India ink を、体重 100 g あたり 2.5ml の割合で腹膜腔内に注入した。使用した India ink は、実験 1 の結果から①の NSS/研磨墨汁を選択し、市販の高級墨 (India ink) に NSS (生理食塩水) を用いて磨り、作製した。India ink は使用前には粒子を均一安定させるため超音波洗浄機を用いて 2 時間以上攪拌処理した後、体温程度にまで加温して用いた。各群は India ink を腹膜腔に穿刺注入し、3 分後、1 時間後、2 時間後、4 時間後にジエチルエーテルにて麻酔下で、頸椎脱臼にて安楽死を行い、胸郭部分を採材した。標本は 1.5% Glutaraldehyde phosphate buffer solution (pH7.4) あるいは 10% 中性緩衝ホルマリン (組織学的観察用) にて固定後、水洗を行い、70% アルコールに浸漬し、肉眼観察および実体顕微鏡下で観察を行った。さらに、リンパ節の組織学的観察のために摘出した標本は固定液で再固定のあと、定法どおり、組織標本作成プロセスを経て、組織切

片を作成した。組織切片はヘマトキシリン・エオシン（HE）染色を施し、鏡検した。

結 果

実験 1：腹膜腔内に注入される India ink 注入剤の有用性に関する検討

今回の India ink の排導に関する実験に先立ち、予備的に、実験に有用な tracer となりうる India ink 溶媒を検討した結果、生理的食塩水を溶媒とした India ink および腹膜還流液である EL-3 号を溶媒とした India ink の両者ともリンパ管への移動状態で均一性が確認された。また、排導時間は 3 分後～6 時間後の範囲で広範に検討した結果、India ink 注入後 3 分、1, 2, 4 時間が適当と判断された。

India ink の排導が確認された主要な胸腔内ルートには、①横隔膜腹膜面から内胸動脈・静脈に沿って前方に走る内胸リンパ幹管路（腹側路）②横隔神経・後大静脈に沿って前方に走るリンパ管路（背側路）③胸管④胸椎に沿って前方に走るリンパ管路 paravertebral collecting vessel（PCV 路）が観察された。

1) 腹側路の観察

India ink で充満したリンパ管は筋横隔動・静脈あるいは前腹壁動静脈に伴走するリンパ管につながり、その後、内胸動・静脈に沿う内胸リンパ幹管となって最終的には上前縦隔リンパ節内側群に注ぎ、最

終的にはその輸出管から上前縦隔リンパ節外側群を経て、直接静脈に開く経路であった。India ink を指標としてリンパの移動を時系列的に観察した場合、NSS/研磨墨汁、EL-3/研磨墨汁共、注入後より 90 分後では、まれに漏出を見るが、リンパ管には India ink が充満していた。2 時間後の漏出の程度は時間の経過とともに強くなるようであった。一方、DW/研磨墨汁では 90 分を経過した例でも、リンパ管に充満していない個体もあり、結果が不定であった。

2) 背側路と胸管の観察

India ink で充満したリンパ管は横隔膜の腰椎部および肋骨部の背側から大部分が左右両側の横核走行し、その後、第三～第五胸椎の高さで胸大動脈と奇静脈の間に位置する胸管に流入していた。胸管は第四～第五胸椎の高さで左方に転じて大動脈弓の背側を通り、左総頸動脈と鎖骨下動脈の間を更に前走し、左椎骨静脈の背側を通り、内頸・外頸静脈合流角部付近に開口していた。胸管内墨汁が、全経過にわたって管外に漏出する部位は認められなかった。

3) 胸椎側リンパ幹管 (PCV) と後胸壁の観察

India ink で充満したリンパ管は横隔膜の腰椎部および肋骨部の背側から一部胸部交感神経幹の外側で、各肋間からのリンパのうち背側方向に流れるリンパを受け、縦に連なる胸椎側リンパ幹管 (PCV) に流入していた (図 15 および図 16)。PCV と後胸壁を時系列的に観察した結果、NSS/研磨墨汁群及び EL-3/研磨墨汁群ではどの時間においても PCV がそれぞれ NSS、EL-3 にて研磨した India ink 有形粒子を含んで認められた。DW/研磨墨汁ではこの経路の排導は不定で、注入後早い時

期では充満した India ink が観察されるのは個体間で異なっていた。これらの PCV の経過観察中において、注入直後より 2 時間後までではリンパ循環外への墨汁の漏出を認めなかったが、4 時間後では NSS/研磨墨汁群及び EL-3/研磨墨汁群において墨汁漏出は殆ど認められず、注入後 6 時間を経過した場合に、初めて漏出が認められる個体があった。

4) その他の排導路

腹膜腔からの India ink の排出経路として、横隔膜の取り込み口「stomata」を介さず、直接、腹腔内リンパ節から腹大動脈と後大動脈の間にある乳び槽に流入し、そこを介して大動脈右側に併走する胸管に注ぐ経路が観察された。

実験 2 : 各排導路への注入 India ink の出現成績および胸腔内リンパ節への流入成績

腹膜腔内に注入した India ink の、各排導路別の時系列的な出現成績は、胸管では India ink の注入 1 時間経過後に 3 個体中 - (India ink が入っていない)、+ (India ink が連続して確認できる)、± (India ink が連続し確認できない) を示すものが各々 1 個体で、2 時間後では 3 個体中全てが + (図 15)、4 時間後では 3 個体中 2 個体が + だった。

胸椎側リンパ幹管では時系列とは無関係に 3 分後から 4 時間後にわたって出現し、左側胸椎側リンパ幹管では 12 個体中 7 個体で India ink が確認されたが、そのうち 2 個体のみが + であった。一方、右側胸椎

側リンパ幹管では 12 個体中 11 個体で India ink が確認され、そのうち 10 個体が+であった（図 16）。横隔神経に沿うリンパ管では時系列的に認められ、左側では 3 分後において 3 個体中 1 個体が+であったが、1 時間後、2 時間後では 3 個体全例で+、4 時間後は、1 個体に India ink が入っていなかったが、2 個体で+であった（図 17）。右側では 3 分後において-、+、±が各々1 個体、1 時間後では全ての個体が+であったが、2 時間後、4 時間後ではそれぞれ 1 個体において India ink の確認にいたらず、2 個体ずつが+であった。内胸動・静脈に沿う内胸リンパ幹管では India ink の流れの連続、不連続はあるものの全個体で+が確認された（図 18）。以上の研磨墨汁の時系列的観察から、胸管へのリンパの排導は注入後 1 時間以後に認められた。また、横隔神経に伴うリンパ管では注入後速やかに排導が開始されるものの、左右差は認められなかった。胸椎側リンパ幹管においても排導は速やかに開始する一方、右側の排導が優位である傾向が認められた。

腹膜腔内への India ink の注入後の胸腔内リンパ節への流入成績では、上前縦隔リンパ節内側群に属するリンパ節は左右何れも全て黒染していた（図 19）。また、上前縦隔リンパ節外側群に属するリンパ節は左側では 3 分後では 3 個体中 1 個体に±（リンパ節の一部のみが黒染している）が確認されたのみであったが、1 時間以降では 9 個体中 8 個体が±であった。右側では 1 時間後までは 6 個体中 3 個体で±であり、2 時間以降では 6 個体中 5 個体で+であった（図 20）。

リンパ漏出に関しては No. 9 では左右の内胸動・静脈に沿う内胸リンパ幹管に漏出が確認された。漏出の程度は左側の方が大きかった（図 21）。

また、同個体では右側胸椎側リンパ幹管にも著しい漏出が認められ

た(図 22)。

No. 11 においては、右側胸椎側リンパ幹管、右側の内胸動・静脈に沿う内胸リンパ幹管より漏出が認められた。また、胸腺漿膜下及び横隔神経に伴うリンパ管において漏出が確認された。同例では左腋窩リンパ節の一部に India ink による黒染部位が認められた(図 23、図 24)。

No. 12 においては、内胸リンパ幹管、右胸椎側リンパ幹管、胸腺漿膜下に漏出が認められた。同例では左腋窩リンパ節に一部黒染が確認された。

腹膜腔からのリンパ排導路について

実験 1 及び実験 2 の結果をまとめると図 25 に示すように、ラットでは腹膜腔からのリンパ排導路は四系統が観察された。一つは横隔膜、肋間から起こり、胸壁を内胸動脈に沿って上前縦隔リンパ節内側群に還流する内胸リンパ幹管を経由する経路で、もう一つは横隔神経あるいは後大静脈に沿って胸郭前口に進み、上前縦隔リンパ節内側群に還流する経路、さらに胸腔背側で胸椎側リンパ幹管から胸管に還流する経路、また、それらに加えて乳び槽リンパ節(腹腔リンパ節)を介して大動脈右側に併走する胸管に還流する経路であった。

時系列的な India ink の排導状況について

実験 1 及び実験 2 の結果から各排導路の時系列的な排導状況をまとめると最も早期に排導がみられたのが内胸動脈に沿う内胸リンパ幹管および横隔神経に伴うリンパ管で、両側ともほぼ同じ量の India ink の流入が実験開始直後 3 分後から見られた (図 26)。胸椎側リンパ幹管では右側ではほぼ全時間において India ink の安定した流入が見られたが (図 26, 27, 28, 29)、左側での India ink の出現は注入後、時間を経過しても不定であった。一方、胸管では注入後 1 時間経過しても India ink が確認されたのは 1 個体に過ぎなかったが、2 時間後では 3 個体全てに確認された (図 28)。また、上前縦隔リンパ節内側群に属するリンパ節は、腹膜腔注入直後の個体から、4 時間経過した個体まで、左右いずれも全て India ink の取り込みが確認された (図 29)。一方、同外側群では注入直後では India ink の流入は不定であったが、1 時間を経て安定的なマーカの流入が観察された。また、上前縦隔リンパ節でも右側にあるものの方が、左側にあるものより India ink の流入が多いことが観察された。

考 察

ラットの腹膜腔からのリンパ排導について、腹膜腔に分泌された腹水・リンパあるいはその含有物質が横隔膜を経て、どのような経路で排導されていくかを明らかにするためマーカとして India ink を腹膜腔内に注入し、時系列的に肉眼的レベルで観察した。本実験に先立ち、予備的実験として腹膜腔内にマーカとして注入される India ink

の有用性に関する検討を行った。腹膜腔内には生理的食塩水を溶媒とした India ink (NSS/研磨墨汁) および、腹膜還流液である EL-3 を溶かしたもの (EL-3/研磨墨汁)、そして蒸留水に溶かしたもの (DW/研磨墨汁) の 3 種の液体を注入して、それぞれの排導の速さ、経路について時系列的に観察し、本実験でリンパ排導路検索のためにもっとも適した注入剤を検討した結果、NSS/研磨墨汁及び EL-3/研磨墨汁の両者ともそれぞれの排導の速さ、その経路での状態の均一性が確認された。この結果を踏まえて本実験では、NSS/研磨墨汁を用いて、India ink をラットの腹膜腔内に穿刺注入し、時系列的に腹膜腔からのリンパ排導路について観察した。実験の結果、今回観察されたリンパ排導路は四系統七本のリンパ管から構成されていた。即ち、一つは胸腔の腹側にあつて、胸壁底部を内胸動・静脈に沿って走る左右の内胸リンパ幹管が、胸骨リンパ節を経て、上前縦隔リンパ節内側群に注ぎ、その輸出管から上前縦隔リンパ節外側群を経て直接静脈に開く経路と、胸骨リンパ節を經由し上前縦隔リンパ節内側群に注ぎ、直接右リンパ本幹に開く経路であり、もう一つは、胸腔の背側にあつて、横隔神経あるいは後大静脈に沿って胸郭前方に進み、上前縦隔リンパ節内側群に注ぐ経路、三つ目は胸腔背側で胸椎側リンパ幹管に還流する経路、及び、腹腔リンパ節を經由して腹大動脈と後大静脈の間にある乳び槽を介して大動脈右側に併走する胸管に注ぐ経路である。今回の実験で、上前縦隔リンパ節の外側群に比べ、内側群に黒染したリンパ節が数多く見られたが、外側群のリンパ節は内側群のそれより上位のリンパ節といわれており、順路通りであれば、還流してきた India ink は、まず内側群に入り、そこから輸出リンパ管を介して外側群に進んでいく。今回黒染したリンパ節数が時系列的な観察で異なって認められたことは、

黒染する内側群と外側群のリンパ節数の差は、排導経過時間の差を反映していると思われ、また、下位リンパ節から上位リンパ節と順行性に India ink が移送されたことを示すものであった。

正常時には、吸気時に横隔膜腹膜面が広がることにより、腹膜中皮細胞間や横隔膜リンパ管の中皮細胞間に間隙が生じ、stomata が開放し横隔膜リンパ管へ吸収されていく。逆に吸気時は stomata を形成する細胞同士が弁状に重なり合い stomata が閉鎖することにより腹腔内への逆流が防止され、取り込まれた物質は胸膜腔リンパ管へ排導していくと考えられている（下間ら, 1993）。また、炎症性物質や遊離細胞の刺激で、stomata が拡大することも知られており（米村ら, 1999）、本研究の第一章でもそれを明らかにしている。本実験結果より、腹膜腔内に注入された India ink の刺激は横隔膜腹膜面に分布する stomata を拡大させ、注入直後から India ink は横隔膜漿膜中皮細胞間に空いた stomata 内に盛んに吸収されはじめ、脈管外通液路（木原, 1963）を通過して横隔膜内のリンパ管に流入したものと考えられる。その後、India ink は、胸腔腹側の内胸動脈に併走する内胸リンパ幹管から胸骨リンパ節を経て、上前縦隔リンパ節への排導が進むと同時に、胸腔中央部にある横隔神経に沿うリンパ管、後大静脈に沿うリンパ管に進み、気管・気管支リンパ節など周辺のリンパ節を経由しながら、あるいは直接、上前縦隔リンパ節に注ぐ。それらのリンパ管内での India ink の充満度が高くなると、さらには India ink は体腔背側の胸椎側リンパ幹管に取り込まれ、最後には胸管からの排導が増加していくことが明らかになった。また、India ink 注入後のどの時間においても、胸椎側リンパ幹管（PCV）にはそれぞれ India ink が充満して認められたことから、横隔膜から吸収された India ink の一部は、この PCV を

経て静脈へと排泄されることが明らかとなった。前胸壁の内胸動脈に沿う内胸リンパ幹管や横隔神経に沿うリンパ管からの India ink の排導が他のどの経路よりも早く見られたのは、この部分のリンパ管内での India ink の移動が基本的には重力によること、筋肉運動や呼吸運動などの受動的な圧力によって促進されること (Yoffey and Courtice, 1970、Bettendorf 1978)、また四足歩行動物では個体にかかる重力は体幹腹側方向へかかるために、注入された India ink が腹腔の腹側に集まる傾向があること、加えて解剖学的な胸郭構造で肋骨肋軟骨関節部が横隔膜の収縮の際に最も運動が広範囲に起こる部位であることから (Dyce, 2003)、この部位に貯留した India ink の排導が内胸リンパ幹管や横隔神経に沿うリンパ管から直ちに始まると思われる。また、時間の経過にともない、背側の胸椎側リンパ幹管にも排導が見られるようになり、最終的には大動脈裂孔を貫通してきた胸管内にも India ink が見られるようになった。このことは、後述のごとく (第三章 考察参照)、胸腔底部のリンパ管内の India ink が時間経過とともに飽和状態になることで、胸腔の最背側にある胸管あるいは胸椎側リンパ幹管に排導される可能性が示唆される。

またラットの腹膜腔からのリンパ排導能に左右のリンパ管、とくに内胸リンパ幹管で差が見られた。これは横隔膜と腹腔内の臓器の相互位置的关系により、横隔膜右側に広い接触面をもつ肝臓の圧力が呼吸運動などにより横隔膜に常にかかることに起因すると思われる。さらに第一章での結果、即ち、腹腔側横隔膜面の stomata が右側に多く分布していることも、リンパ排出能の左右差に関係があるものと推論された。

リンパ管には弁が存在し、逆流が起こりにくいことが知られている

が(小谷 1970)、腹膜腔内に注入された India ink の排導を時系列的に観察した結果、数個体で腹膜腔からの India ink の逆流現象である浅頸リンパ節や腋窩リンパ節への漏出などが見られた。このことは、India ink の排導時間が経過するほど、またリンパ節が飽和状態になり、逆流による漏出が生じたことが原因と思われる。

小 括

有用性が確認された生理的食塩水を溶媒とした India ink をラットの腹膜腔に注入し、腹膜腔からのリンパ排導路について時系列的に観察した。India ink は、はじめ内胸動脈に沿う左右の内胸リンパ幹管から、それぞれ同側の胸骨リンパ節に、あるいはほとんど同時に横隔神経に沿うリンパ管と後大静脈に沿うリンパ管を経て、上前縦隔リンパ節に進み、さらに時間の経過とともに、より背側にある胸椎側リンパ管さらには胸管へ排導していくことが示唆された。また、横隔膜右半側に India ink の強い描出が認められ、横隔膜リンパ管の分布には左右差があることが判明した。

第三章

イヌの横隔膜におけるリンパ排導について

The time course of lymph drainage from the diaphragm in beagle

序 文

リンパ系はリンパ液・組織液の排導、脂質滴や免疫系細胞の転送としての役割を担い、また、腫瘍性細胞の転移経路として臨床的に極めて重要な意義をもつ。そのためヒトを含め動物体でのリンパの排導路、とくに体幹表層、臓器や四肢などのリンパ管走行については数多くの知見が得られている (Dyce, 2003、Evans, 1985、Tortora, 2006.)。

しかしながら、イヌにおける胸膜腔や腹膜腔などの体腔漿膜から吸収されるリンパの排導路については、その経路の観察が十分になされていない。ヒトを含めた多くの動物において、腹膜腔からの排導路として腹水・リンパの排導は横隔膜・内胸リンパ幹管系と、大網・乳び槽・胸管経路が考えられるが、排導路としての重要度は前者の方が高いことが知られており (Courtice and Stinbeck 1950)、もう一方の排導路である胸管ルートはあまり排導路としての意義を持たないと考えられている (Courtice and Stinbeck 1950, Higgins, and Graham, 1918 Evans, 1985)。本章ではイヌにおける漿膜系からのリンパ排導路を確定する目的で、第二章で行ったラットを用いた実験と同様に、腹膜腔に India ink を穿刺注入する実験に加え、骨盤腔にも India ink を穿刺注入し、それぞれの India ink の移動経路を時系列的に観察し、イヌにおけるリンパ排導路を明らかにした。

材料と方法

実験にはイヌ（成齢ビーグル犬）のオス 2 頭、メス 4 頭（平均体重 9.87kg）を用い、各々に 25ml/kg BW の割合で India ink を腹腔内および骨盤腔内に注入した。India ink は第二章と同様、市販の高級墨を市販生理食塩水に混和しながら、一定濃度に至るまで自動墨磨り機（呉竹製）にて磨り、粒子を均一安定させるため、使用前に超音波洗浄機を用いて 2 時間以上攪拌処理した後、吸収をよくするために体温程度にまで加温したものを腹腔内および骨盤腔内に穿刺注入した。

まず、オス 1 頭とメス 3 頭を用いて、16 G 留置針を臍部から下方 5 cm 付近に穿刺し、延長チューブをつないだシリンジを用いて India ink を腹腔内に注入し、それぞれ注入後 30 分間、1 時間、2 時間、2 時間 30 分パドック内で自由運動させた後に、通常麻酔時に用いる 4 倍量のネンブタールを静脈内投与 (0.8 ml/kg i.v) して安楽死を行い、直ちに腹腔内に 10% 中性緩衝ホルマリンを注入して固定を行った。その後、同固定液にて全身還流固定を行い、観察標本とした。また、オス 1 頭はメデトミジンで軽度沈静処置をした後、India ink を恥骨結合部付近から経皮的に骨盤腔内に注入した。麻酔から覚醒後、犬をパドック内で 1 時間自由運動させた。メス 1 頭には、経直腸的に骨盤腔内に India ink を注入し、パドック内で 2 時間 30 分自由運動させた。これらの動物は、それぞれ前述の方法で安楽死させ、同様に固定し観察標本の作製を行った。標本は冷凍室にて保存し、順次観察を行った。

結 果

India ink を腹膜腔内注入したイヌの観察結果を、以下に示す模式図に要約した。なお、この模式図では胸腔内及び第一肋骨部分で胸壁を頭側方向に反転させた状態での胸壁腹側を示している。

India ink の注入後 30 分の所見では、India ink は横隔膜を越え前方に向かい、胸腔底部を走行する内胸動・静脈に沿った内胸リンパ幹管を描出していた (図 30)。India ink はさらに、胸骨リンパ管の延長上にある胸骨リンパ節を經由して、最終的には左右側とも前縦隔リンパ節に流入していた。また、左右のリンパ管の描出には濃淡差があり、右側胸骨リンパ幹管が極めて濃く現れ、右側リンパ管内での多量の India ink 取り込みが認められた (図 31)。

横隔膜側からの観察においても、食道裂孔を中心として横隔膜右側での横隔膜リンパ管内への India ink 取り込みが強く認められた (図 32, 33 および 34)。

これらの観察結果を模式図にすると図 35 となる。

注入後 1 時間の所見では、注入後 30 分の所見で既に観察されている左右の内胸リンパ幹管に加え、新たに食道表面の左迷走神経に沿って走行するリンパ管の経路も描出されていた。この左迷走神経 (食道) に沿う経路はその途上、気管分岐下リンパ節、気管気管支リンパ節および気管傍リンパ節を經由し、最終的に左右の前縦隔リンパ節に注いでいた (図 36 および図 37)。これらの観察結果を模式図にすると図 38 となる。

また、ここを流れる India ink の一部は大動脈弓リンパ節にも流入していたが、この先への India ink の排導は認めなかった。注入後 1 時間の標本におけるリンパ管の描出の左右差については、注入 30 分後と同様に、内胸リンパ幹管で右側リンパ管が強く現れ、横隔膜についても右側が強く描出されていた。

注入後 2 時間の所見でも (図 39)、注入後 30 分の標本で観察された左右の内胸リンパ幹管と、その延長にある胸骨リンパ節に India ink 取り込みが観察された。しかし最終的に前縦隔リンパ節に流入する直前でリンパ経路の描出は止まっており、この経路上では、それ以上の India ink の取り込みはなかった。リンパ管の描出の左右差については、注入後 30 分・1 時間で得られた所見と同様、内胸リンパ幹管と横隔膜において右側が強く描出されていた。

注入後 2 時間 30 分の所見では、注入後 1 時間の所見で観察された左右の胸骨リンパ管、左迷走神経 (食道) に沿うリンパ管に加え、胸椎側リンパ幹管、胸管の経路が観察された (図 40)。さらに胸椎側リンパ幹管からは肋間リンパ管への漏出と見られる所見が得られた。リンパ管の描出の左右差については、これまでの標本の所見と同様、右側内胸リンパ幹管と横隔膜右半分において India ink が強く描出された。これらの観察結果を模式図でまとめる図 41 となる

India ink の骨盤腔内への穿刺注入後 1 時間（図 42、43、44）と 2 時間 30 分（図 45）の所見では、注入 1 時間後では、腹腔内注入 1 時間後で見られた経路と同様に内胸リンパ幹管、左迷走神経（食道）に沿うリンパ管に加え、胸椎側リンパ幹管、胸管に India ink の描出が見られた。このケースでは腹側の内胸動脈に沿って左右の内胸リンパ幹管と胸骨リンパ節は、黒染していたが、それより上位のリンパ管および還流先の前縦隔リンパ節は右側のみに India ink が流入しており、左側のリンパ管・前縦隔リンパ節には India ink は認められなかった（図 44）。横隔膜リンパ管は右側で強く描出されていた。骨盤腔内注入 2 時間 30 分後の所見では、腹腔内注入で得られた経路と同様に胸骨リンパ管、左迷走神経に沿うリンパ管、胸椎側リンパ幹管、胸管のすべての経路で India ink の描出が見られ、胸椎側リンパ幹管は第六肋骨の位置で胸管に流入していた。このケースでもリンパ管の描出の左右差については横隔膜において右側が強く描出された。また、浅頸リンパ節への India ink の流入が見られ、胸骨リンパ節からの漏出があったものと考えられる。また、腹膜腔内注入では胸管よりも胸骨リンパ管が強く描出されていたのに対して、骨盤腔内注入では胸管がより強く描出される傾向が見られた。

考 察

本研究ではイヌの腹膜腔および骨盤腔からのリンパ排導路を観察する目的で、India ink を腹膜腔内および骨盤腔内に注入し、その流れを時系列的に観察して、腹水・リンパの排導路を明らかにした。腹膜腔内注入において最も早く India ink の排導が開始されたのは、胸腔腹側に位置し内胸動脈に併走する内胸リンパ幹管（本幹管）であり、腹膜腔内注入後 30 分では India ink は胸腔底部を走行する本幹管が胸骨リンパ節に注ぎ、そこを中継して、左側・右側とも前縦隔リンパ節に注いでいた。また、左右の本幹管の描出の濃淡差では右側が極めて濃く描出され、右側リンパ管内で多量の India ink の取り込みが認められた。腹腔内注入後 1 時間では、左右の内胸リンパ幹管に加え、新たに食道表面の左迷走神経に沿って走行するリンパ管の経路も観察された。この経路はその途上、気管分岐下リンパ節や気管気管支リンパ節を経由し、最終的に左右の前縦隔リンパ節に続いていた。腹膜腔内注入後 2 時間 30 分および骨盤腔内注入後 1 時間では、左右の内胸リンパ幹管、食道表面の左迷走神経に沿うリンパ管に加え、新たに胸椎側リンパ幹管、胸管の経路が観察された。さらに胸椎側リンパ幹管からは肋間リンパ管への漏出と考えられる所見が得られた。この所見は、腹膜腔注入後の 2 時間 30 分に見られた排導の様相に類似していた。骨盤腔内注入後 2 時間 30 分では、同じ経過後の腹膜腔内注入で得られた経路と同様にすべての経路が出現していた。

本章でのイヌにおける腹膜腔からの腹水・リンパの排導経路とそれらの進展状況は、第二章で得られたラットにおける結果と非常に類似していた。つまり、腹膜腔内に注入された一定量の India ink が横隔

膜腹膜面にある stomata から呼吸運動、歩行などの筋肉運動の受動的な能力によって徐々に吸収され、横隔膜内をリンパ管に沿って移動し、胸腔漿膜下のリンパ管に入って、それぞれの所属リンパ節に還流していくことが明らかになった。胸腔底部のリンパ管に最初に排導が確認される理由は、ラットと同様、イヌのような四足歩行動物では個体にかかる重力が体幹腹側方向へかかるために、注入された India ink が腹腔の腹側に集まる傾向があることや、さらには解剖学的な胸郭構造で肋骨肋軟骨関節部が横隔膜の収縮の際に最も運動が広範囲に起こる部位であり、横隔膜腹側にある stomata が呼気時に開大し、この部位に貯留した India ink の排導が、最初に始まることによるものと考えられる (Yoffey and Courtice, 1970、Bettendorf, 1978)。

一方、最も遅くリンパの排導が開始されるのは胸管と胸椎側リンパ幹管であった。胸管および胸椎側リンパ幹管を通る排導が最も遅い理由として、腹膜腔にある腹水・リンパおよびそれらの含有物質は、前述したように、最初、体腔最大の吸収器官である横隔膜腹側を経て、胸腔底部(腹側面)を走行するリンパ管に流入するが、その経路が飽和状態になるにつれて、横隔膜に吸収されたリンパおよびそれらの含有物質は横隔膜背側に流れ、そこから胸椎側リンパ幹管、および輸出リンパ管を経て胸管に排導されることが考えられる。また、横隔膜経由の排導路に加え、腹膜腔内にある腹水・リンパおよびそれらの含有物質は、大網乳斑および腸間膜乳斑からも吸収され胸管に還流していくことも示唆されるので、それらの腹膜腔内での貯留時間が長いほど、あるいは量が多いほど、体腔背側にあるリンパ管が活用されるようになることが考えられる。胸管には本来、乳び槽を経て主に腹部内臓由来のリンパが流入してくるが、大網や腸間膜には腹膜腔内の含有物の

受け入れ機構も存在し、その吸収部位は乳斑として知られている（下間および高橋、1992）。乳斑は糸球状になった毛細血管の周囲にマクロファージやリンパ球などが集積して構成されるもので、大網特有のリンパ系組織（omentum-associated lymphoid tissue: OVLТ）（Shimotsuma, et al 1990）を形成し、腹腔内の生体防御組織としての役割が主なものとなる。従って、横隔膜のリンパ排導能に比べて、乳斑経由の大網や腸間膜がリンパ排導に果たす役割は小さいことも知られている（Yoffey and Courtice, 1970）。

骨盤腔内注入においては腹膜腔内注入と異なり、比較的早い時間でリンパの排導が胸椎側リンパ幹管や胸管で見られた。この結果は骨盤腔内に注入された India ink が骨盤腔背壁にある腹膜後隙に吸収され、そこから始まるリンパ管に入るか、あるいは横隔膜リンパ管に入り、前者では乳び槽を経た胸管での排導が始まり、後者では通常の横隔膜からの排導が始まり、一部は内胸リンパ幹管、さらに背側に伸びた横隔膜リンパ管から胸椎側リンパ幹管へと還流が進んだためだと思われる。これらのことから腹膜腔内のリンパの排導には胸管があまり関与しないというこれまでの報告（Yoffey and Courtice, 1970）とは異なり、腹膜腔内の腹水・リンパおよびその含有物質の貯留時間が長い場合や、骨盤腔など体腔後部に体腔液・リンパやその含有物が貯留した場合は、乳び槽から胸管に至る経路もリンパの排導に強くかかわっていることが明らかになった。実際に、本実験における骨盤腔内注入の解剖所見において India ink の腹膜後隙への貯留が観察されたことから、特に骨盤腔内のリンパ排導には、腹膜腔背側面から吸収が関わる可能性が強く示唆された。

また、ラットと同様に横隔膜胸腔側のリンパ管の描出と胸骨リンパ

管の描出に左右差が認められ、右側が左側より強く描出された。このことは第一章で得られたラテックス粒子で刺激したときのほうが横隔膜 stomata の径は大きくなったという事実から類推すると、イヌでも India ink が腹膜腔内に注入された刺激によって、stomata の開口が顕著になったものと思われ、同時に、同じく第一章で得られたマウスでは右側横隔膜の腹側漿膜面においてリンパ吸収の入り口となる stomata の分布が多いという観察結果から類推して、イヌでもそのような分布差があることも考えられる。

注入後 2 時間 30 分になると、注入後 1・2 時間で観察された内胸リンパ幹管、食道表面の迷走神経に沿って走るリンパ管への流入に加え、胸腔背側の胸椎側リンパ幹管から胸管への流入が認められ、さらには肋骨リンパ節への漏出や浅頸リンパ節への逆流も認められた。このことは時間の経過とともに飽和状態になるとリンパ管からの漏出や逆流現象が起ることを示唆している。

本実験で得られた結果は、臨床面での腫瘍の腹膜播種性やリンパ行性転移（鈴木）における機構解析やリンパ行性転移の治療指針の組み立てに有用な情報になると思われる。

小 括

India ink をイヌの腹膜腔内に注入し、腹膜腔からのリンパ排導路について時系列的に観察した。India ink は、ラットと同様に胸腔底部を走る内胸動静脈に沿う左右の内胸リンパ幹管から左右の胸骨リンパ管に注ぎ、胸骨リンパ節、前縦隔リンパ節へ続く排導路、迷走神経に沿うリンパ管から分岐下リンパ節、気管気管支リンパ節、大動脈弓リンパ節から前縦隔リンパ節へ続く排導路、胸腔背側の胸椎側リンパ管さらには胸管へ続く排導路の存在が認められた。また、イヌの横隔膜からの排導には、ラットと同様に横隔膜胸膜面のリンパ管の左右差が認められ、右側が強く描出されることが認められた。

骨盤腔内に注入した場合は、1 時間後、2 時間半後においても胸椎側リンパ幹管から胸管の流入が強く認められた。また、腹膜後隙での体液貯留が確認された。このことから、骨盤腔内注入に関しては、体腔背側に位置する乳び槽の排導路や、腹腔背壁を経て、胸腔背側の胸椎側リンパ幹管から胸管へ至るルートもリンパの排導に重要な役割を担っていることが示唆された。

第四章

総括

腹膜腔内にラテックス粒子を注入し、右背側、左背側、右腹側および左腹側と4分割したラットの横隔膜を走査型電子顕微鏡で、横隔膜腹膜表面構造および stomata の大きさ、分布、中皮下リンパ管へのつながりについて調べた。その結果、ラテックス粒子で刺激した後の stomata は横隔膜右腹側面に顕著に多く、その大きさも粒子で刺激していないコントロール群では stomata は小型で径が $5\mu\text{m}$ 以下であったが、刺激後の実験群では数十 μm に達するものが見られ、大きさに差が見られた。凍結切断標本を観察すると、腹膜表面を覆う中皮細胞下の結合組織層は数層からなり、結合組織間に stomata とリンパ管が認められた。そうしたことから腹膜腔内に分泌されたリンパあるいは細胞塊は、横隔膜腹膜を刺激し、そこにある stomata を拡大させ、それらを吸収させやすくし、吸収されたリンパおよび含有物質は中皮直下のリンパ管から横隔膜筋層間にひろがる深層のリンパ管に流れることが示唆された。

この stomata の分布は横隔膜の位置によって密度が異なり、最も密度が低いのは横隔膜左右背側領域であり、最も高いのは右腹側領域であることが明らかになった。

腹膜腔からのリンパ排導路について検討するために、India ink をラットの腹膜腔内に注入し、横隔膜からのリンパ排導路について時系列的に観察した。ラットのリンパ排導路は四系統七本のリンパ管から構成されており、主なものは胸腔底部(腹側)にあって内胸動脈に沿う左右の内胸リンパ幹管から左右の胸骨リンパ管に注ぐもの、背方にあって横隔神経に沿うリンパ管と後大静脈に沿うリンパ管を経るもの、胸腔背壁にあって胸椎側リンパ管さらには胸管へ排導していくもの、4

つ目は腹腔リンパ節を經由し乳び槽から胸管へ排導する経路で、India ink はこれらの経路を描出した。

また、ラットの横隔膜からの排導には、横隔膜胸膜面のリンパ管の左右差が認められ、右側が強く描出されることがわかった。

イヌにおいても India ink を腹膜腔内に注入し、横隔膜からのリンパ排導路について時系列的に観察した。India ink は、ラットと同様に胸腔底部を走る内胸動静脈に沿う左右の内胸リンパ幹管から左右の胸骨リンパ管に注ぎ胸骨リンパ節、前縦隔リンパ節へ排導するルート、迷走神経に沿うリンパ管から分岐下リンパ節、気管気管支リンパ節、大動脈弓リンパ節を経て前縦隔リンパ節へ排導するルート、また、胸腔背側の胸椎側リンパ管を経て胸管へ排導するルートが存在することが示唆された。

また、イヌの横隔膜からの排導には、ラットと同様に横隔膜胸膜面のリンパ管の左右差が認められ、右側が強く描出されることが認められた。

イヌで骨盤腔内に注入した場合は、1 時間後、2 時間半後においても胸椎側リンパ幹管から胸管の流入が強く認められた。このことから骨盤腔内注入に関しては、胸腔背側の胸椎側リンパ幹管から胸管へのルートもリンパの排導に重要な役割を担っていることが示唆された。また、腹膜腔から骨盤腔の腹膜後隙に体腔液が残存したことから、乳斑経由の大網・腸間膜ルートの排導路も示唆された

ラット、イヌでのリンパ排導の時間経過とともに、リンパ管やリンパ節からのリンパの漏出が認められた。こうしたことから、リンパの排導に伴いこれらのリンパ経路が腫瘍細胞の排出のみならず、細胞漏

出浸潤を招き、臨床的には腹膜腔からの腫瘍のリンパ行性転移や腹膜播種性転移などの転移に深く関与する可能性を示唆した。

Studies on the lymph drainage from diaphragm in rats and dogs.

Summary

The lymphatic system has been called the second circulatory system since it transports lymph, as well as lipid droplets, immunocomponent cells, and even tumor cells. The lymphatic system has an established circulation, as it ultimately flows into the systemic circulation through fixed return routes. The mechanism involved in lymphatic circulation is considered to be essentially the same as the mechanism that handles lymph leakage into the serous cavities. Currently, lymph secreted into the peritoneal cavity is primarily thought to be drained into the veins via the diaphragma stomata through the mediastinal lymph nodes. The study consists of three chapters. Chapter one is done to be clear the form, size and distribution of diaphragmatic stomata by scanning electron microscopy (SEM). Chapter two and three are done to be clear the time-series of chasing tracer routes of lymph drainages from the peritoneal cavity in rats and dogs by macro and micrograph.

Chapter one : SEM revealed that the peritoneal surface of the diaphragm was lined with flattened cells. The cells were polygonal in shape and continuously lined the surface. The cells were interconnected with numerous cytoplasmic extensions. These cells often formed circular gullies, in which lymphatic stomata opened. The orifice of the stomata was formed by microvillus-free

lymphatic endothelial cells. Some orifices were circular, while others were irregular in shape. The circular orifices were more than a few micrometers and less than $15\mu\text{m}$ in diameter. The open stomata was seen a lot in the ventro-right region of mice diaphragm after injecting particles.

Chapter two: After checking the usefulness of India ink, the lymph drainage routes from the abdominal cavity in rats were observed at 3 min, 1 h, 2 h, and 4 h after India ink was administered intraperitoneally. Four systems of lymph drainage routes from the peritoneal cavity were observed. Three minutes after injection, the drainage route traveled via the intrathoracic lymph vessels located along the internal thoracic artery and returned to the anterior mediastinal lymph nodes. One hour after injection, the drainage route traveled via the lymph vessel located along the left phrenic nerve in addition to the drainage route observed at 3 minutes. Two and four hours after injection, in addition to the above-mentioned routes, the drainage that had traveled via the thoracic duct continued along the right side of the aorta and was also observed in the lateral lymph vessel located on the vertebra. These findings suggest that lymph or cells absorbed into the peritoneal cavity at first travel toward the anterior mediastinal lymph nodes in the thorax via the ventral lymphatic channels, and then gradually course through the dorsal lymphatic channels.

Chapter three: The lymph drainage routes from abdominal and pelvic cavity in dogs were observed in the time-series of chasing

tracer of India ink administered intraperitoneally. Four systems of lymph drainage routes from the peritoneal cavity were observed in this study as seen in rats. Three minutes after injection, the earliest drainage returned to the cranial mediastinal lymph nodes via sternal lymph vessels and to sternal lymph nodes along the internal thoracic artery. Following drainage route via lymph vessel along the left vagus nerve was observed at 30 minutes after injection. The latest following drainage route was a route through the thoracic duct at two and half hours after injection. Therefore, Indian ink absorbed from the peritoneal cavity drained mainly toward the cranial mediastinal lymph nodes through the ventral lymphatic channels. The time-series of chasing tracer in the lymph drainage route was suggested change over time from ventral abdomen to dorsal lymphatic channels in a thorax. Moreover, the route through the thoracic duct was seen at one and, two and half hours after injection into the pelvic cavity in this study. These routes may serve as a route for transporting cancer cells and other cells from the peritoneal and pelvic cavity.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均
VR3	10	13.3	3.3	10	9.7	20	8	8	10	9.7	10.2
DR3	14	8	8	7.2	9.2	15.2	2.8	8	14.8	7.2	9.44
VL3	6	6.4	6.4	6	10	10	8	8.4	8	5.6	7.48
DL3	8	10	8	10.4	7.6	7.2	12.8	8	6.8	6	8.48
VRC	2.5	2.5	10	3.4	3.4	3.4	10	10	7.5	10	6.27
DRC	7.5	5	2.5	3.5	7.5	7.5	9	7.5	3.5	3.5	5.70
VLC	7.5	7.5	5	5	7.5	5	8	5	5	8	6.35
DLC	6.5	10	5	5	4	5	3	3.5	2.5	5	4.95

表 1

ラットの横隔膜の stomata の大きさ (μm)

VR : 右腹側部 DR : 右背側部 VL : 左腹側部 DL : 左背側部

3 はラテックス投与後 3 分後のラットを表す

C はコントロールラット (ラテックス無投与) を表す

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均
VR	10	14	10	18	12	16	15	11	16	17	13.9
DR	15	5	10	11	9	14	9	17	12	11	11.3
VL	12	12	4	3	12	6	9	6	7	14	8.5
DL	6	4	7	3	6	3	9	9	7	14	6.8

表 2

1 視野 (1000 倍) でのマウス横隔膜腹側面での stomata の数 (個)

VR : 右腹側部 DR : 右背側部 VL : 左腹側部 DL : 左背側部

VR				
2.6	DR			
5.4	2.8	VL		
7.1	4.5	1.7	DL	

表 3

q 検定に用いた平均値の絶対値の差

分散分析により誤差変動の平均平方が 11.5861 と求められた。

これと q 表から求められる q の値により q 検定の結果に用いる数値 q' 5 が 4.1065 となった。

上図の平均値の絶対値の差が 4.1065 よりも大きければその 2 群間には有意差がある。

VR				
×	DR			
○	×	VL		
○	○	×	DL	

表 4

q 検定の結果

○は有意差有り

×は有意差なし

個体番号(経時時間)	体重	胸管	胸椎側 リンパ幹管		横隔神経に伴う リンパ管		内胸動・静脈に 沿うリンパ管	
			左	右	左	右	左	右
No. 1(3min)	122 g	-	±	+	-	+	+	+
No. 2(3min)	116 g	-	±	±	-	-	+	+
No. 3(3min)	122 g	-	-	+	+	±	+	+
No. 4(1 h)	124 g	+	-	-	+	+	+	+
No. 5(1 h)	120 g	-	-	+	+	+	+	+
No. 6(1 h)	120 g	±	±	+	+	+	+	±
No. 7(2 h)	110 g	+	-	+	+	-	+	+
No. 8(2 h)	120 g	+	±	+	+	+	+	+
No. 9(2 h)	112 g	+	+	+	+	+	+	+
No. 10(4 h)	114 g	-	-	+	-	-	±	±
No. 11(4 h)	122 g	+	+	+	+	+	+	+
No. 12(4 h)	124 g	+	±	+	+	+	+	+

-は India ink が入っていない

±は India ink が連続して確認できない

+は India ink が連続して確認できる

表 5

腹腔内注入の India-ink の各排導路別の出現成績一覧

個体番号(経時時間)	体重	内側群	外側群	内側群	外側群
		左		右	
No. 1 (3min)	122 g	+ (2)	± (1)	+ (3)	-(1)
No. 2 (3min)	116 g	+ (1)	-(1)	+ (2)	+ , -(2)
No. 3 (3min)	122 g	+ (2)	-(1)	+ (2)	± , -(2)
No. 4 (1 h)	124 g	+ (2)	-(1)	+ (3)	-(1)
No. 5 (1 h)	120 g	+ (2)	± (1)	+ (2)	+ , ± (2)
No. 6 (1 h)	120 g	+ (1)	+ (1)	+ (3)	-(2)
No. 7 (2 h)	110 g	+ (2)	+ (1)	+ (2)	+ (2)
No. 8 (2 h)	120 g	+ (2)	+ , ± (2)	+ (3)	+ (1)
No. 9 (2 h)	112 g	+ (2)	+ (1)	+ (2)	+ (2)
No. 10 (4 h)	114 g	+ (2)	+ (1)	+ (2)	+ (2)
No. 11 (4 h)	122 g	+ (3)	+ (1)	+ (4)	+ (3)
No. 12 (4 h)	124 g	+ (1)	+ (1)	+ (2)	+ , -(2)

- はリンパ節に India ink が入っていない

± はリンパ節の一部のみが黒染している

+ はリンパ節が India ink で黒染している

() 内の数は確認できたリンパ節数

表 6

腹腔内注入 Indian-ink の胸腔内リンパ節への流入成績一覧



図1
ラット横隔膜腹膜面（臍中心部）

上皮細胞の輪郭が明瞭で、敷石状に細胞表面の微絨毛が、細胞間に並んでいる。（倍率 500 倍）

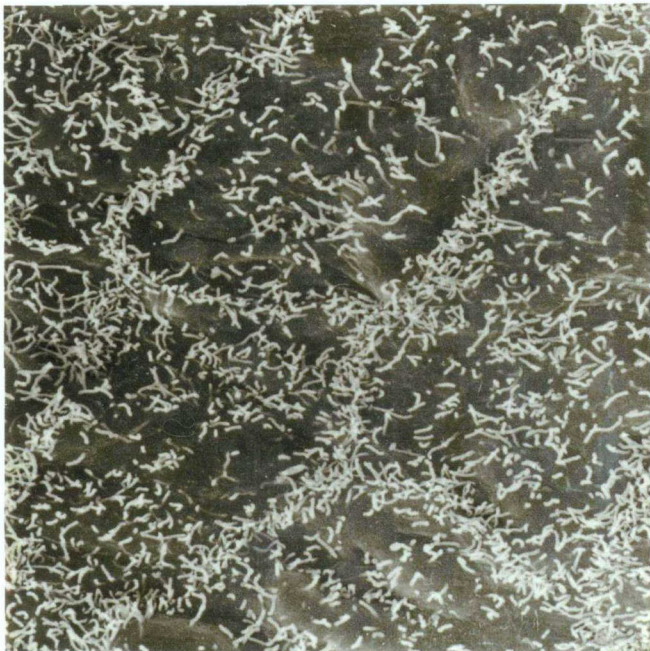


図2
ラット横隔膜腹膜面（臍中心部）
の走査型電子顕微鏡像。

細胞表面の微絨毛が、細胞間に密集して、細胞境界を明瞭にしている。（倍率 1000 倍）

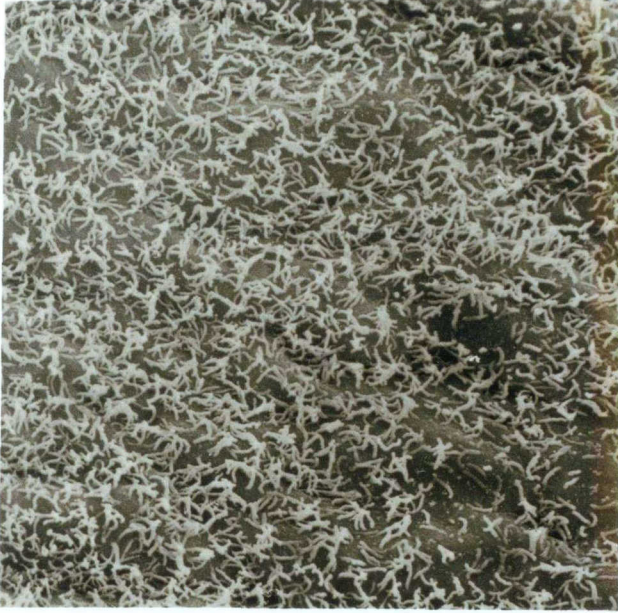


図3
ラット横隔膜腹膜面（筋部）の走査型電子顕微鏡像。

扁平細胞表面には均等に微絨毛が密在していた。（倍率 1000 倍）

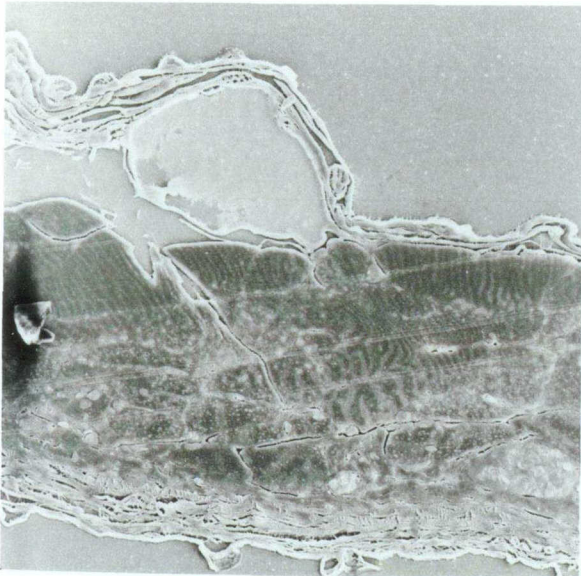


図4
ラット横隔膜筋部の凍結切断標本

中皮下に漿膜下リンパ管が見られる。
写真下側が胸膜側。（倍率 1000 倍）

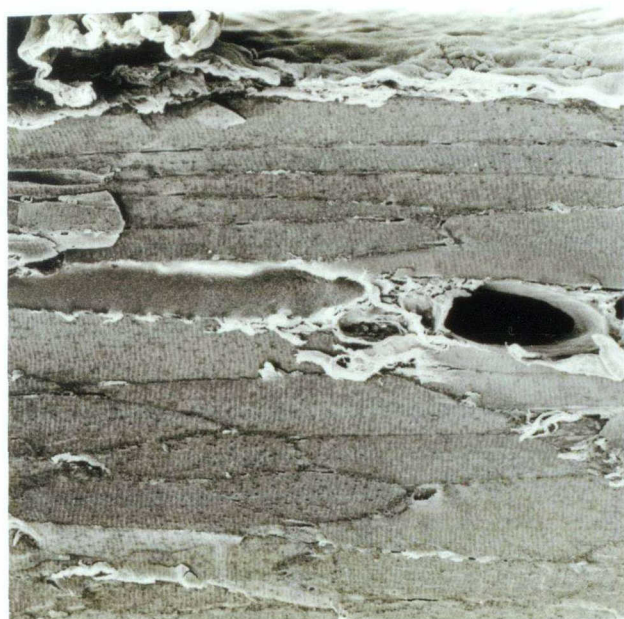


図5
ラット横隔膜筋部の凍結切断標本
横隔膜筋層間に認められるリンパ管。
写真上側が腹膜側。(倍率 500 倍)

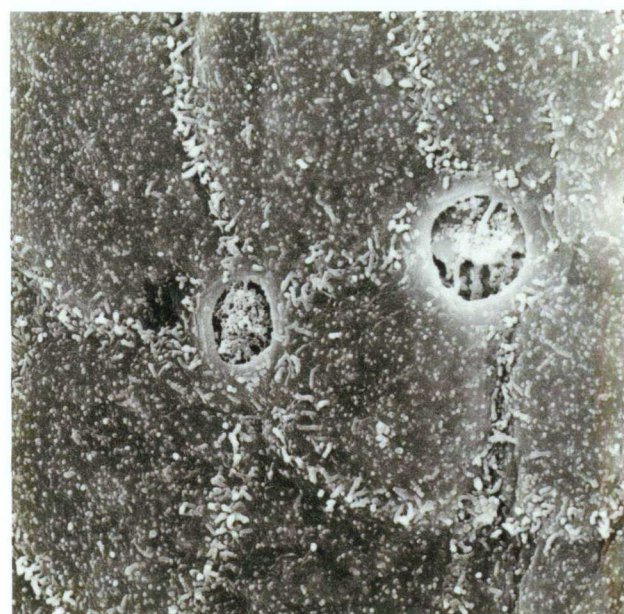


図6
ラットの横隔膜腹膜面(腱中心部)
の走査型電子顕微鏡像。
中皮細胞間に stomata が開口して
いる。(倍率 2000 倍)

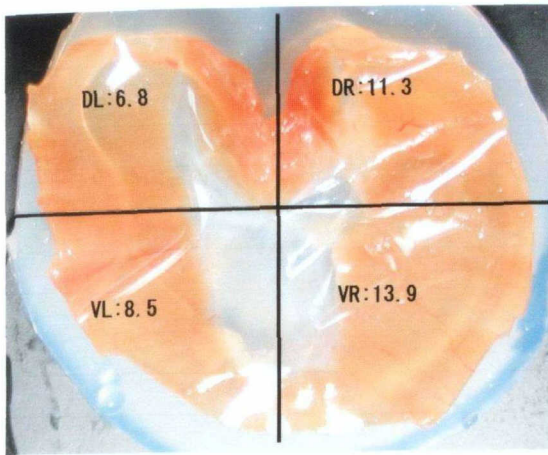


図 7

マウスの横隔膜（全体）の新鮮標本。腹腔側から見る。DR：右背側部、VR：右腹側部、DL：左背側部、VL：左腹側部。この標本を図のように4分割して、それぞれをSEM標本用に処理し、写真撮影後、計測した。写真上に示されている数字は1枚のSEM写真（横隔膜4分の1分画で10枚のSEM写真がある）に見られたstomataの平均個数。平均して横隔膜右側に分布が多いことがわかる。

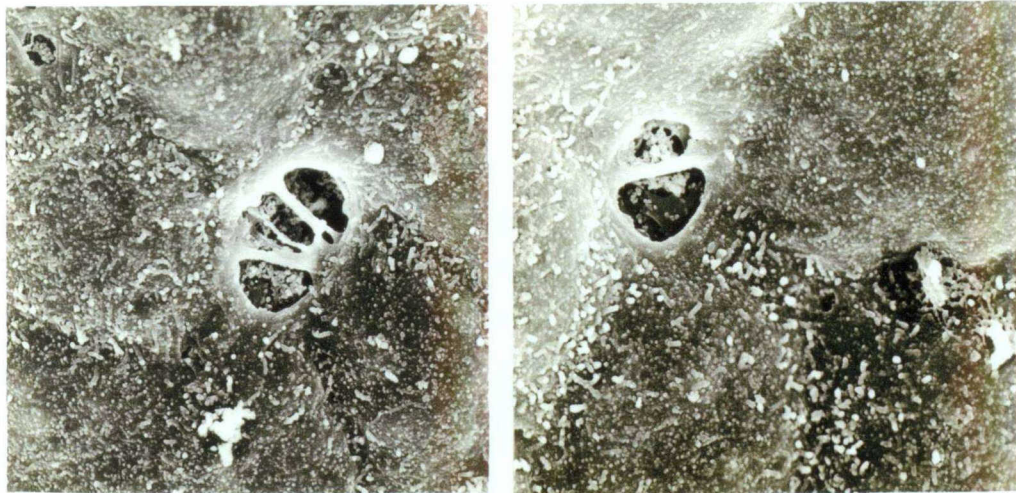


図8（左）および 図9（右）

ラット横隔膜腹膜面の走査型電子顕微鏡像。細胞間に開口するstomataが見られる。開口部を横断するように架橋がある。（ラテックス粒子の腹膜腔内投与後の標本）（倍率3000倍）

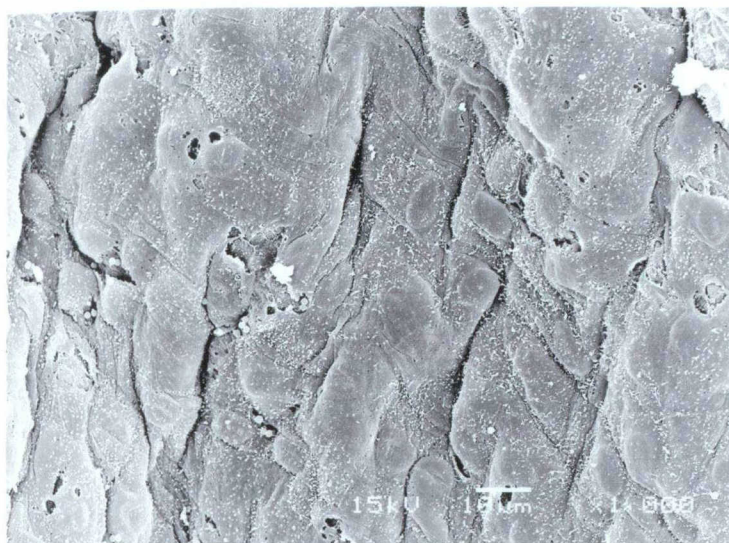


図 10
イヌの横隔膜腹膜表面（筋部）の走査型電子顕微鏡像

表面は畝状に隆起しており、stomata も散在性に見られる。（倍率1000倍）

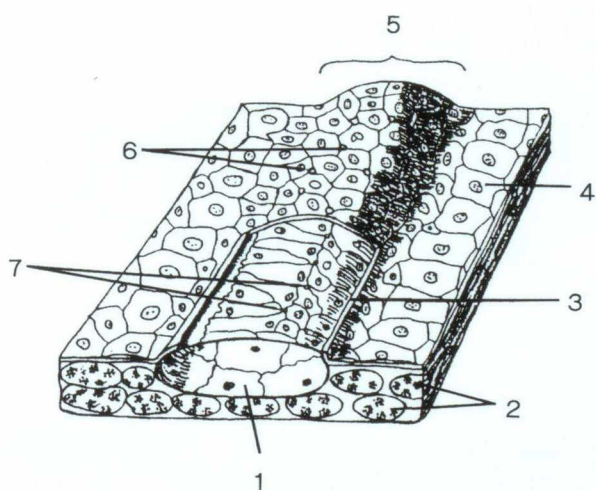


図 11
横隔膜の腹膜 stomata 模式図

- 1 : リンパ内皮 2 : 横隔膜筋層
- 3 : 有窓基底膜 4 : 腹膜中皮
- 5 : 稜 6 : 腹膜 stomata
- 7 : 内皮 stomata

The Peritoneal Stomata
(Lane Allen, 1936)

Stomataについて

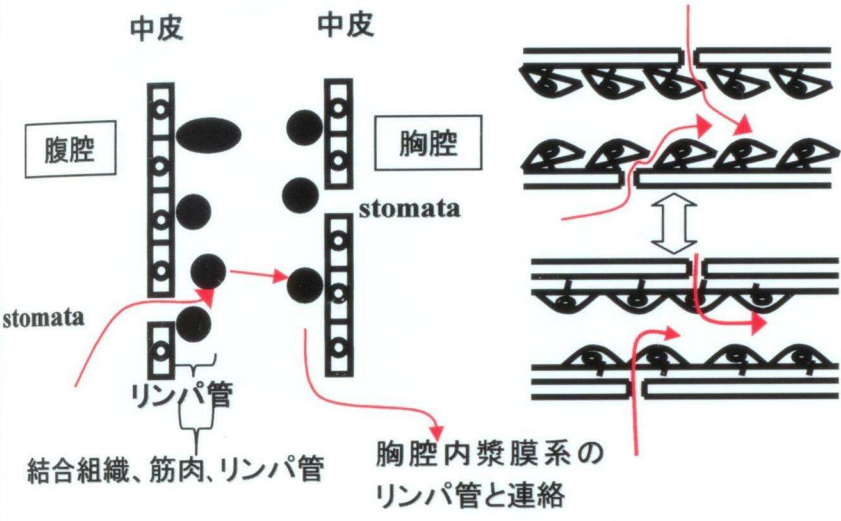


図 12

Stomata から吸収された物質が、漿膜下リンパ管に入り、筋間にある横隔膜リンパ管を経て胸腔内漿膜系のリンパ管とに連絡する（脈管外通路系）ことをあらわす模式図

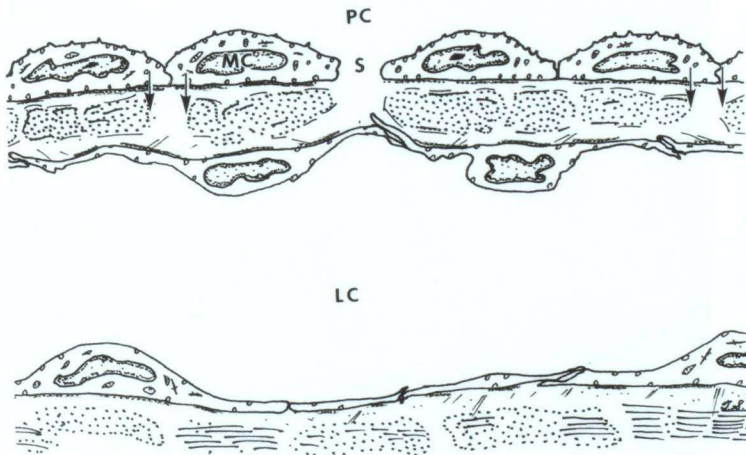


図 13

篩状斑の模式図（脈管外通路系の模式図）

島田論文より転載

LC : リンパ管 S : stomata MC: 中皮細胞 PC : 腹膜腔



図 14

自動墨磨り機(呉竹製)

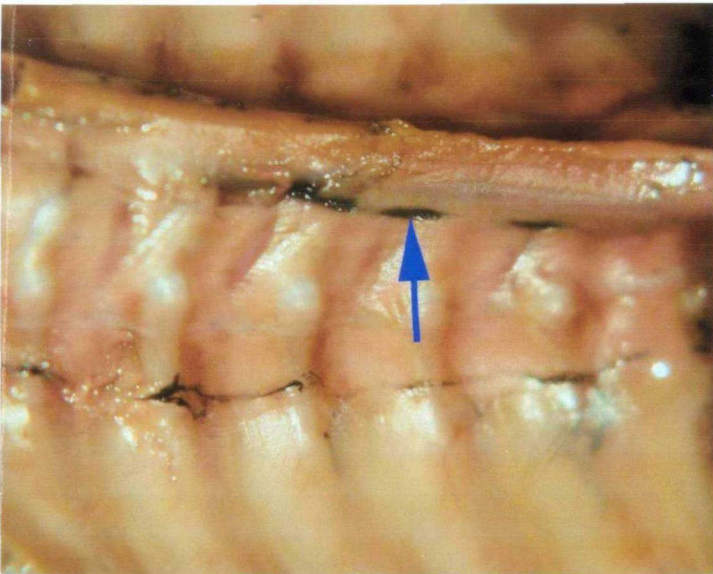


図 15

ラット胸腔背部のマクロ写真

胸大動脈に沿って走る胸管に India ink が充満しているのが見える。写真下方を走る India ink の線は胸椎側リンパ幹管。(PCV)

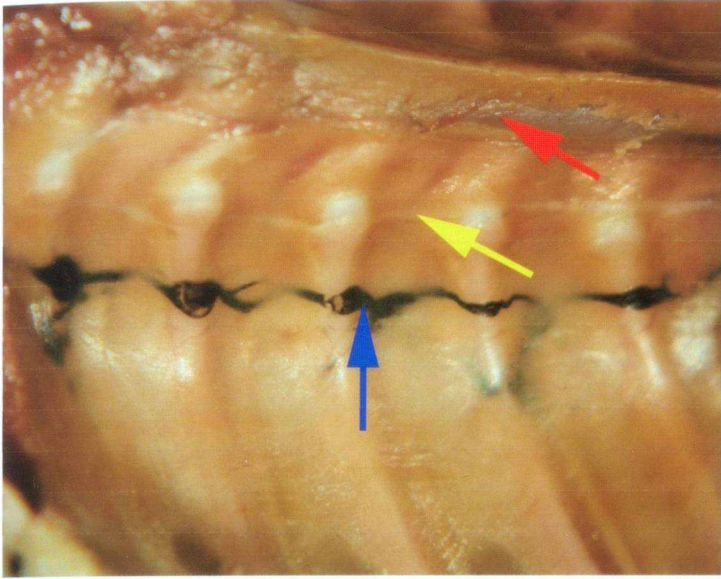


図 16

ラット右側胸椎側リンパ幹管（青色矢印）に India ink が充満して視認される。黄色矢印は交感神経幹、赤色矢印は胸大動脈に沿う胸管。わずかに India ink が入っている。

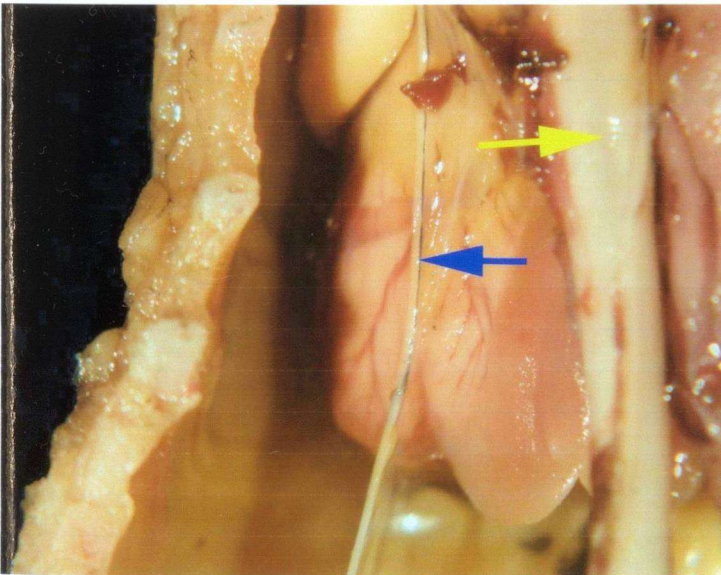


図 17

ラットの横隔神経に沿うリンパ管（青色矢印）に India ink が視認される。黄色矢印は食道をさす。

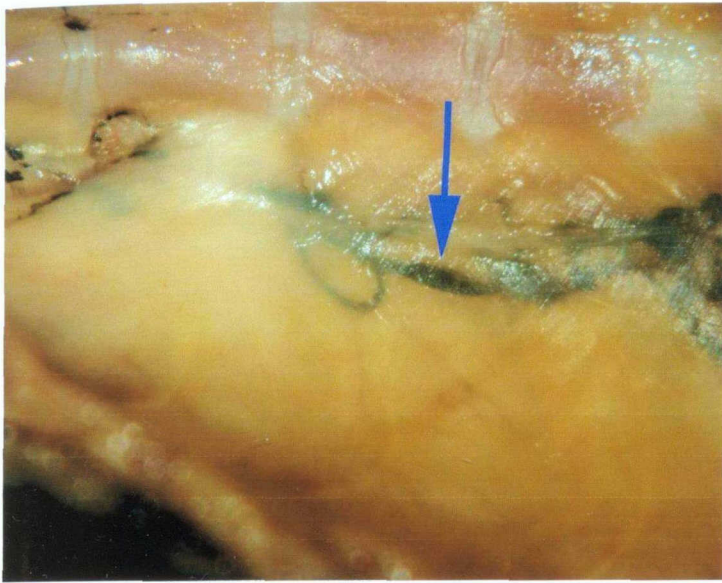


図 18

ラットの右側内胸リンパ幹管（青色矢印）。写真上に胸骨が見える。

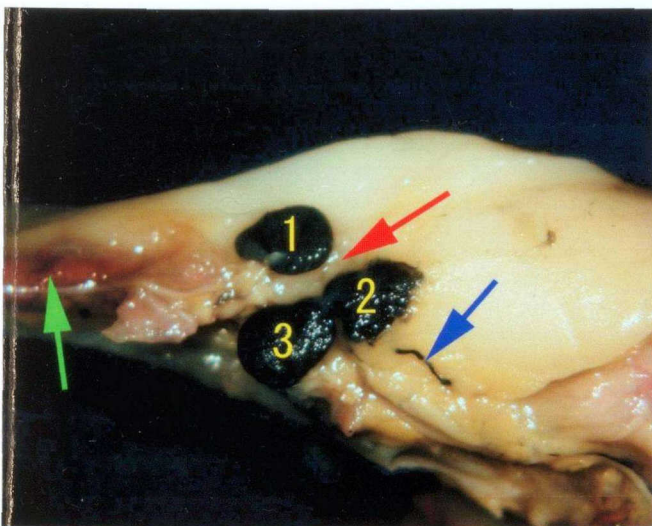


図 19

ラット上前縦隔リンパ節への India ink の流入が認められる。

1：右上前縦隔リンパ節内側群

2：同上

3：右上前縦隔リンパ節外側群

青色矢印：気管リンパ管

赤色矢印：縦隔内の脂肪組織

緑色矢印：胸腺の一部

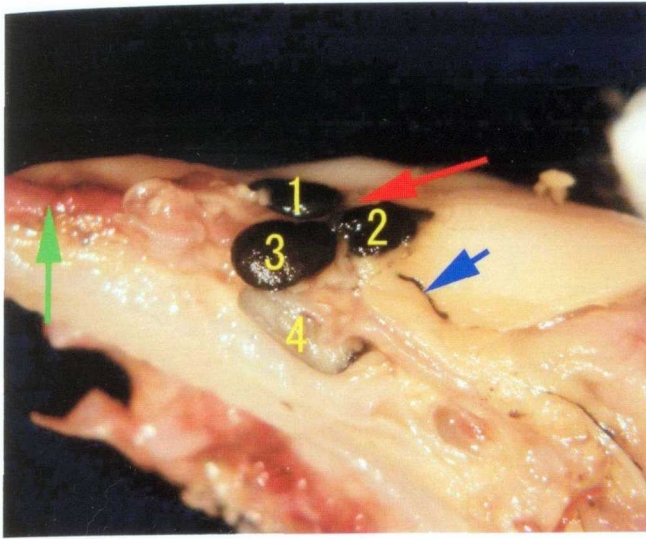


図 20

ラット上前縦隔リンパ節への India ink の流入が認められる。

1 : 右上前縦隔リンパ節内側群

2 : 同上

3 : 右上前縦隔リンパ節外側群

4 : 同上

青色矢印 : 気管リンパ管

赤色矢印 : 縦隔内の脂肪組織

緑色矢印 : 胸腺の一部

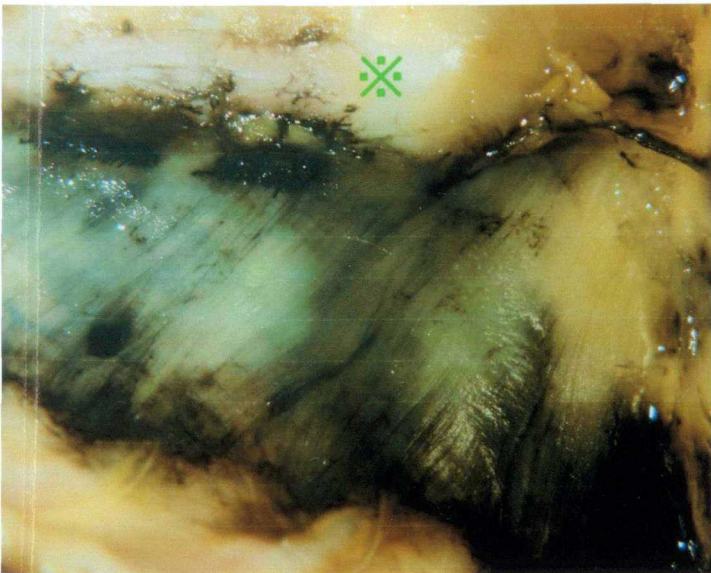


図 21

ラット内胸リンパ幹管から漏出した India ink。漿膜下に India ink が広がっている。

緑米印 : 胸骨

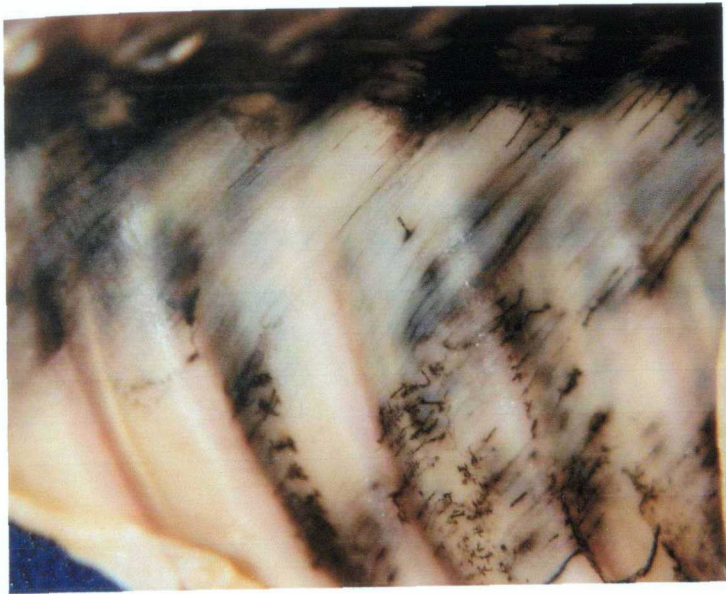


図 22

ラット右側胸椎側リンパ幹管から漏出した India ink。肋骨胸膜下に India ink が線状に広がる。

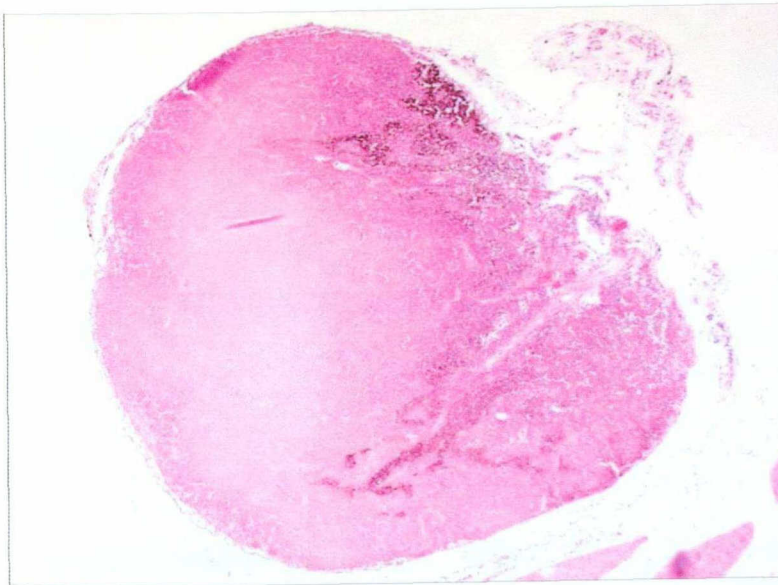


図 23

ラット左側腋窩リンパ節。組織の一部に India ink のために黒染している箇所が見られる。
(倍率 40 倍)

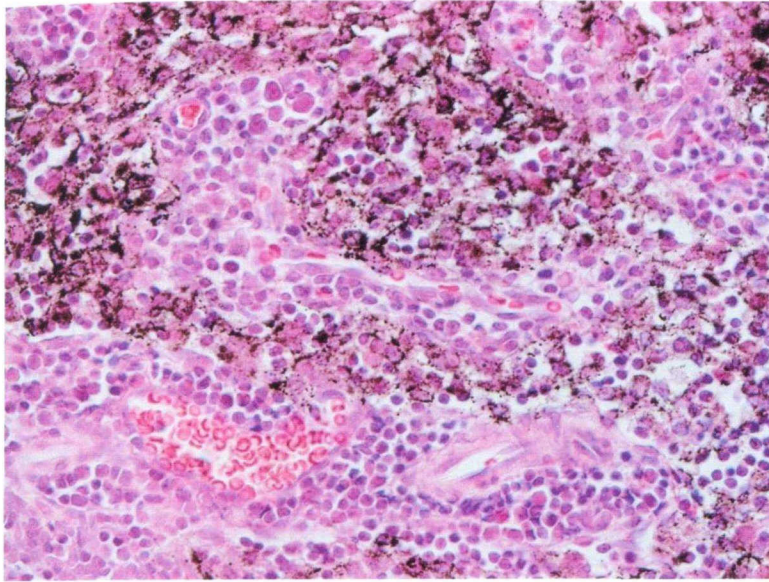
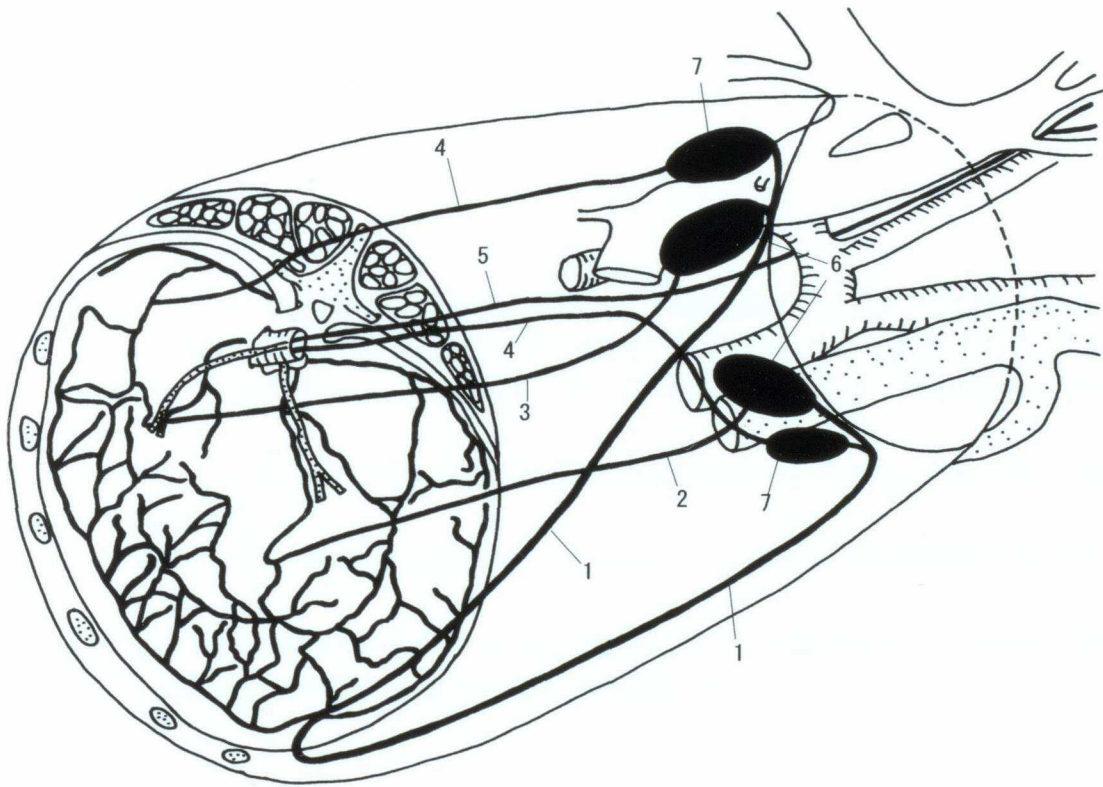


図 24
 ラット左側腋窩リンパ節。図 22 の一部拡大。
 組織内に India ink の浸潤箇所が見られる。
 (倍率 400 倍)

図 25 腹膜腔からのリンパ排導路



- 1: 横隔膜腹膜面から内胸動脈・静脈に沿って前方に走る内胸リンパ幹管
- 2: 横隔神経に沿って前方に走るリンパ管 3: 後大静脈に沿うリンパ管
- 4: 胸椎側リンパ幹管 (PCV 路) 5: 胸管
- 6: 上前縦隔リンパ節内側群 7: 上前縦隔リンパ節外側群

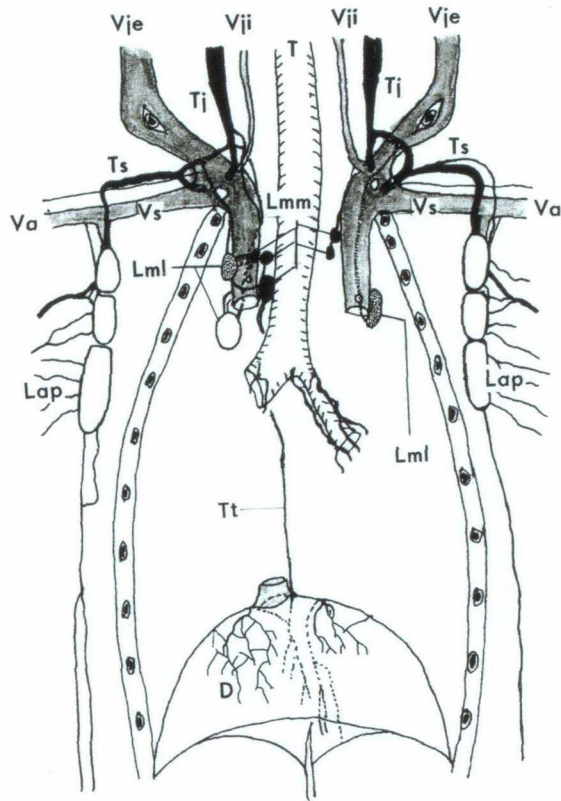


図 26 注入後 3 分

D : 横隔膜 Lap : 固有腋窩リンパ節 Lml : 上前縦隔リンパ節外側群 Lmm : 上前縦隔リンパ節内側群 T : 気管 Tj : 頸リンパ本幹 Ts : 鎖骨下リンパ本幹 Tt : 胸椎側リンパ幹管 Va : 腋窩静脈 Vs : 鎖骨下静脈 Vje : 外頸静脈 Vji : 内頸静脈

図では省略しているが、内胸リンパ幹管と横隔神経に沿うリンパ管には India ink がすでに充満。

胸管には India ink が入っておらず、胸椎側リンパ幹管には右側のみ入っていた。

上前縦隔リンパ節内側群は右側に 3 つ、左側には 2 つ黒染されていたが、外側群にはリンパ節の一部黒染されているのみであった。

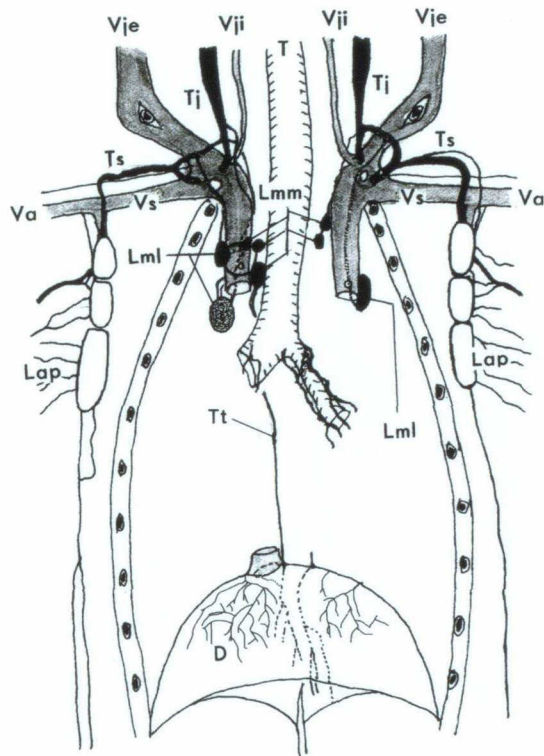


図 27 注入後 1 時間

D : 横隔膜 Lap : 固有腋窩リンパ節 Lml : 上前縦隔リンパ節外側群 Lmm : 上前縦隔リンパ節内側群 T : 気管 Tj : 頸リンパ本幹 Ts : 鎖骨下リンパ本幹 Tt : 胸椎側リンパ幹管 Va : 腋窩静脈 Vs : 鎖骨下静脈 Vje : 外頸静脈 Vji : 内頸静脈

図では省略しているが、内胸リンパ幹管と横隔神経に沿うリンパ管には India ink がすでに充満。胸管には India ink が入っておらず、胸椎側リンパ幹管には右側が入っていて左側はわずかに入っているのみだった。

上前縦隔リンパ節内側群は注入後 3 分と同様に右側に 3 つ、左側には 2 つ黒染されており、外側群には左右に黒染されているものがみられ、右側のリンパ節は一部黒染されているものもあった。

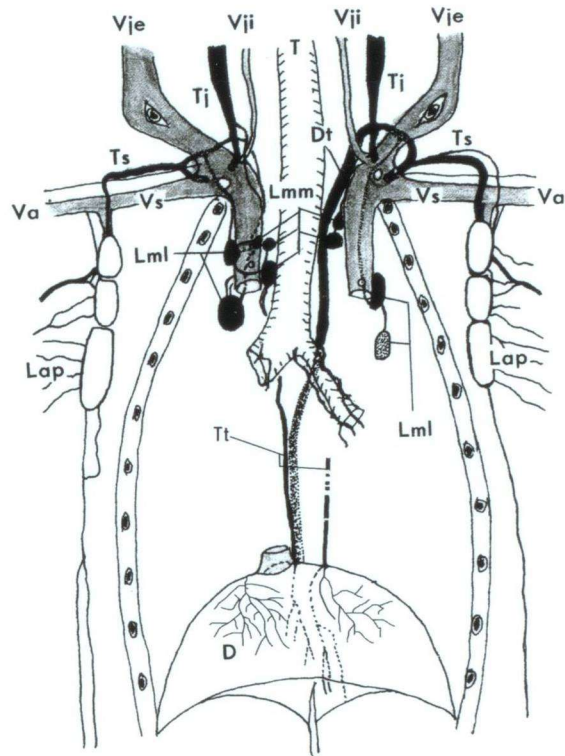


図 28 注入後 2 時間

D: 横隔膜 Dt: 胸管 Lap: 固有腋窩リンパ節 Lml: 上前縦隔リンパ節外側群
 Lmm: 上前縦隔リンパ節内側群 T: 気管 Tj: 頸リンパ本幹 Ts: 鎖骨下リン
 パ本幹 Tt: 胸椎側リンパ幹管 Va: 腋窩静脈 Vs: 鎖骨下静脈 Vje: 外頸静脈
 Vji: 内頸静脈

図では省略しているが、内胸リンパ幹管と横隔神経に沿うリンパ管には India ink がすでに充満。胸管にも墨が充満されており、胸側椎リンパ幹管も左右とも注入後 1 時間よりも India ink が入っていたが右側に比べて左側は India ink の入り方が不定だった。上前縦隔リンパ節内側群は注入後 3 分、1 時間と同様に右側に 3 つ、左側には 2 つ黒染されており、外側群には右側 2 つ、左側に 1 つ黒染されているのがみられ、左側のリンパ節は一部黒染されているものもあった。

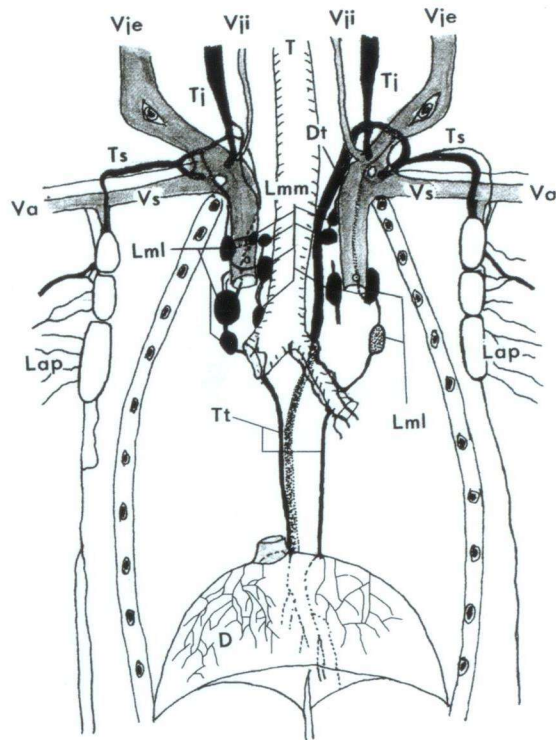


図 29 注入後 4 時間

D : 横隔膜 Dt : 胸管 Lap : 固有腋窩リンパ節 Lml : 上前縦隔リンパ節外側群
 Lmm : 上前縦隔リンパ節内側群 T : 気管 Tj : 頸リンパ本幹 Ts : 鎖骨下リン
 パ本幹 Tt : 胸椎側リンパ幹管 Va : 腋窩静脈 Vs : 鎖骨下静脈 Vje : 外頸
 静脈 Vji : 内頸静脈

図では省略しているが、内胸リンパ幹管と横隔神経に沿うリンパ管には India ink がすでに充満。胸管にも India ink が充満されており、胸側椎リンパ幹管も左右とも India ink がほぼ充満していた。右側に比べると左側の India ink の入り方がわずかに不定だった。上前縦隔リンパ節内側群は右側に 4 つ、左側には 3 つ黒染されており、外側群には右側 3 つ、左側に 1 つ黒染されているものがみられ、左側のリンパ節は一部黒染されているものもあった。

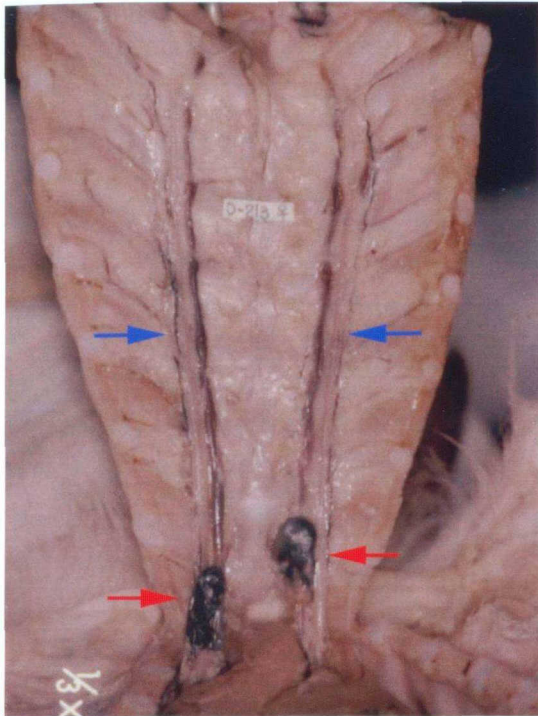


図 30

イヌの India ink 腹膜腔内注入後 30 分の例。両肋骨を縦断して横隔膜からはずし、頭方に反転して、胸腔内面底部を見たもの。両サイドに縦に走る黒染箇所が内胸リンパ幹管。写真下方にあるリンパ節が胸骨リンパ節。

(赤矢印：胸骨リンパ節 青矢印：内胸リンパ幹管)

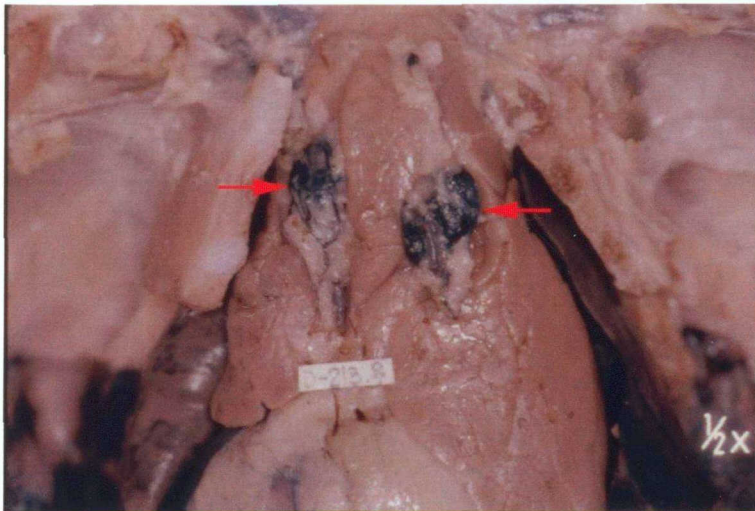


図 31

イヌの India ink 腹膜腔内注入後 30 分の例。胸椎および肋骨上半部をはずして、胸腔内を背方から見る。胸腺に囲まれて、黒染した前縦隔リンパ節が見える。

(赤矢印：前縦隔リンパ節)

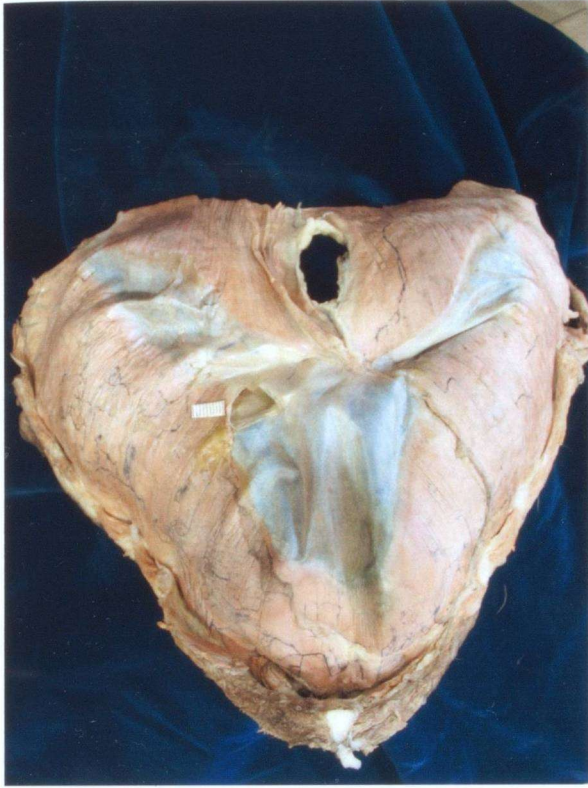


図 32

胸腔側から見たイヌの横隔膜
イヌの India ink 腹膜腔内注入後 30 分の例。胸腔内のリンパ管観察後、横隔膜を摘出したもの。胸腔側から見る。右側横隔膜筋部に黒染した、細いすじ（横隔膜リンパ管）が見え、すじは左側に比べ、右側に明らかに多いのがわかる。

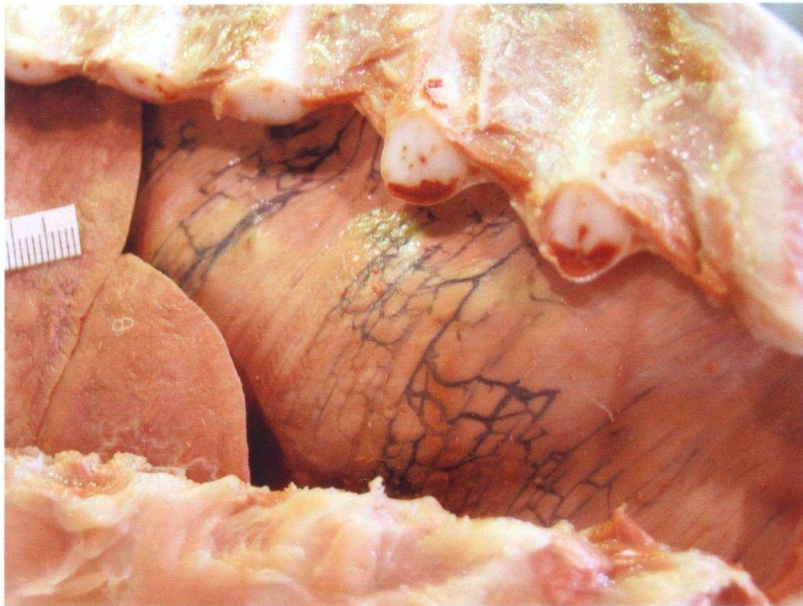


図 33

横隔膜右側
イヌの India ink 腹膜腔内注入後 30 分の例。右側横隔膜腹膜面を見る。黒染色した網の目上のすじは横隔膜リンパ管。

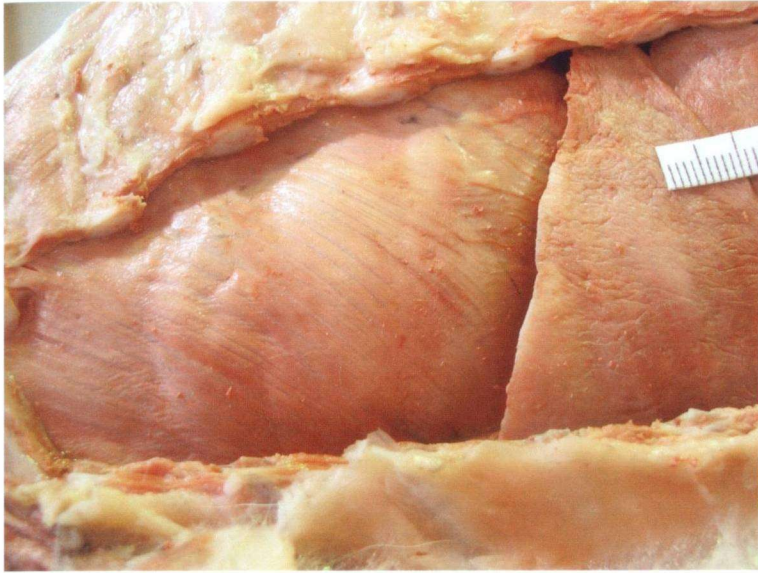


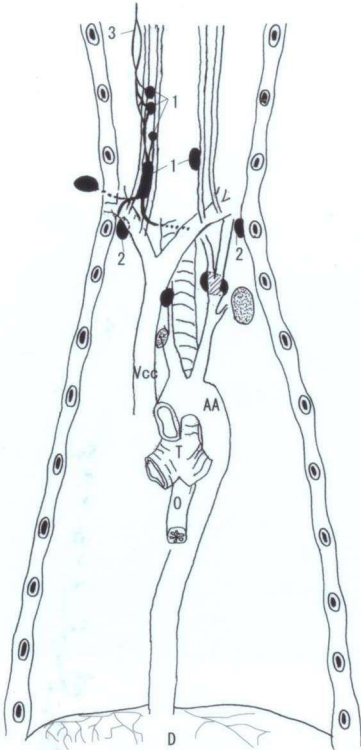
図 34

横隔膜左側

イヌの India ink 腹膜腔内注入後 30 分の例。図 31 の横隔膜の左側部分。図 31 に比べ、黒染部位が少なく、横隔膜リンパ管は殆んど描出されてない。

図 35

腹膜腔内注入後 30 分の胸腔内リンパ管およびリンパ節（仰臥位にした標本。胸骨を横隔膜からはずし、頭側に反転。）



D : 横隔膜 T : 気管 O : 食道 Vcc : 前大静脈 AA : 大動脈弓

1 : 胸骨リンパ節 2 : 前縦隔リンパ節 3 : 内胸リンパ幹管

右側の内胸リンパ幹管と、その延長上にある胸骨リンパ節・前縦隔リンパ節の描出している。横隔膜は右側が強く描出された。

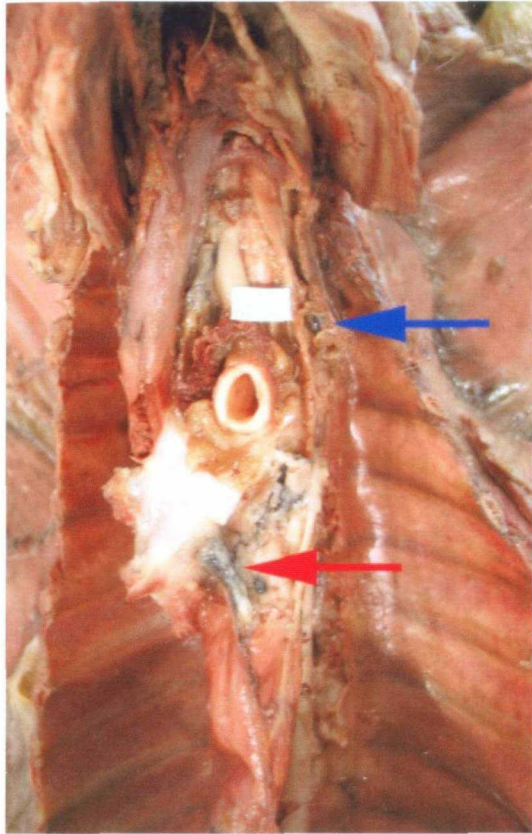


図 36

イヌの India ink 腹膜腔内注入後1時間の例。胸腔底部を心臓とともに分離し、腹方から見る。写真中心の白い円形構造は心臓から立ち上がる大動脈の横断面。その下方の黒染リンパ節が分岐下リンパ節。この例では内胸リンパ幹管の他に食道表面を走る迷走神経に沿うリンパ管に India ink の進入が見られる。
 (赤矢印：分岐下リンパ節 青矢印：大動脈弓リンパ節 黄矢印：迷走神経に沿うリンパ管)

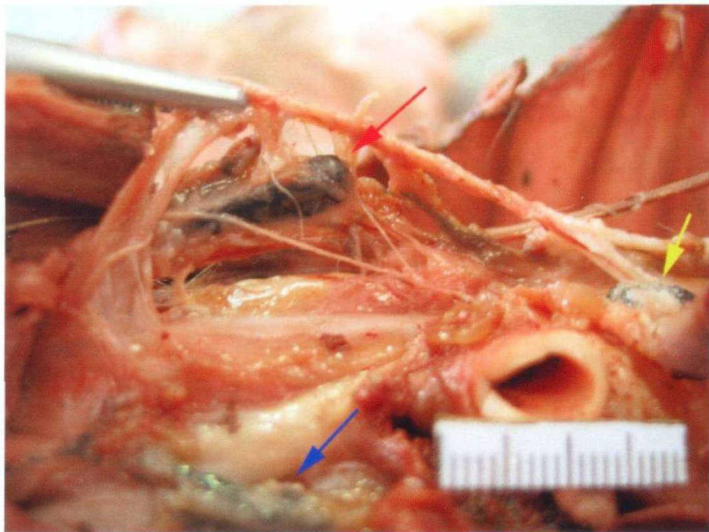


図 37

イヌの India ink 腹膜腔内注入後1時間の例。India ink で黒染した前縦隔リンパ節（写真やや左）および分岐下リンパ節、手前には胸骨リンパ節が見られる。
 (赤矢印：前縦隔リンパ節 青矢印：分岐下リンパ節 黄矢印：大動脈弓リンパ節)

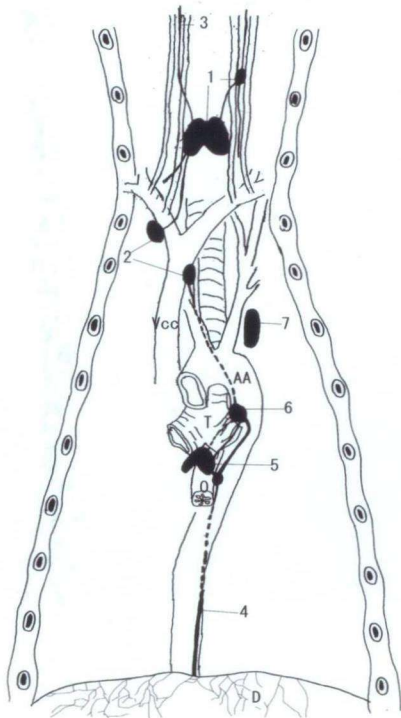


図 38

腹膜腔内注入後 1 時間の胸腔内リンパ管およびリンパ節（仰臥位にした標本。胸骨を横隔膜からはずし、頭側に反転。）

D : 横隔膜 T : 気管 O : 食道 Vcc : 前大静脈 AA : 大動脈弓

1 : 胸骨リンパ節 2 : 前縦隔リンパ節 3 : 内胸リンパ幹管 4 : 左迷走神経に沿うリンパ管 5 : 分岐下リンパ節 6 : 左前気管気管支リンパ節 7 : 大動脈弓リンパ節

左右の内胸リンパ幹管とその延長上の胸骨リンパ節に加え、食道上の左迷走神経に沿うリンパ管とその延長上の分岐下リンパ

節・気管気管支リンパ節・大動脈弓リンパ節・前縦隔リンパ節の描出。
横隔膜は右側が強く描出。

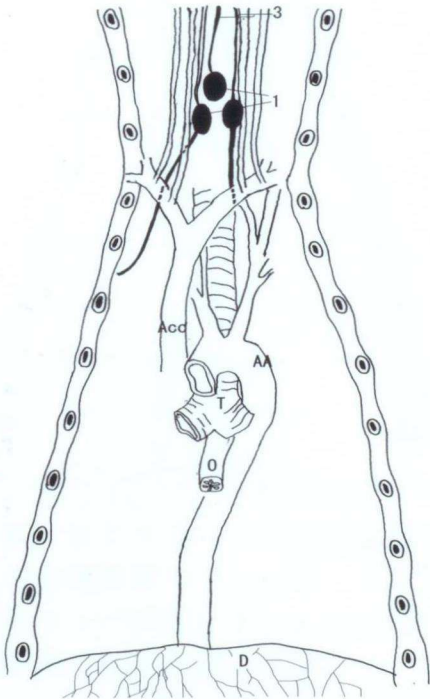


図 39

腹膜腔内注入後 2 時間の胸腔内リンパ管およびリンパ節（仰臥位にした標本。胸骨を横隔膜からはずし、頭側に反転。）

D : 横隔膜 T : 気管 O : 食道 Vcc : 前大静脈 AA : 大動脈弓

1 : 胸骨リンパ節 3 : 内胸リンパ幹管

左右の内胸リンパ幹管とその延長上の胸骨リンパ節が描出。

横隔膜は右側が強く描出。

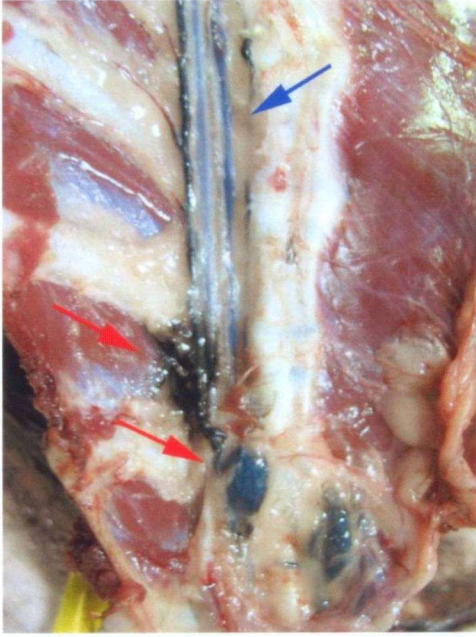


図 40

イヌの India ink 腹膜腔内注入後 2 時間 30 分の例。
 胸腔底部を走る内胸リンパ幹管とその延長線上の胸骨リンパ節、前縦隔リンパ節が黒染している。また大静脈および食道を併走するリンパ管や、胸椎側リンパ幹管や胸管にも India ink が充満している。(赤矢印：胸骨リンパ節 青矢印：内胸リンパ幹管)

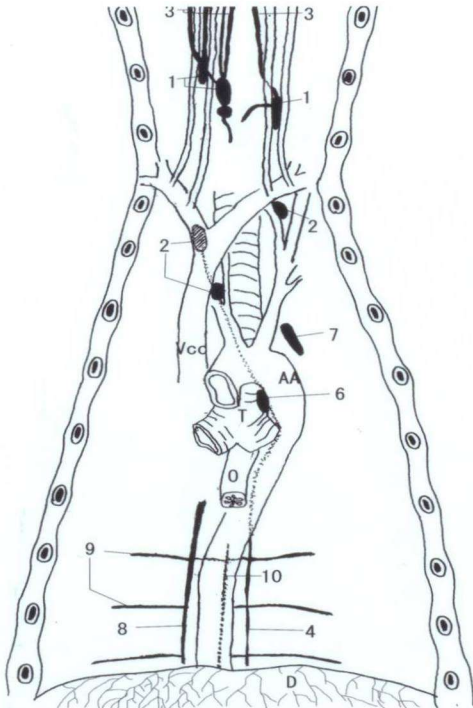


図 41

腹膜腔内注入後 2 時間 30 分の胸腔内リンパ管およびリンパ節（仰臥位にした標本。胸骨を横隔膜からはずし、頭側に反転。）

D：横隔膜 T：気管 O：食道 Vcc：前大静脈 AA：大動脈弓
 1：胸骨リンパ節 2：前縦隔リンパ節 3：内胸リンパ幹管 4：左迷走神経に沿うリンパ管 5：分岐下リンパ節 6：左前気管気管支リンパ節 7：大動脈弓リンパ節 8：胸管 9：肋間リンパ管 10：胸椎側リンパ管

左右の内胸リンパ幹管とその延長上の胸骨リンパ節・前縦隔リンパ節の描出に加え、大静脈に併走するリンパ管および食道上の左迷走神経に沿うリンパ管とその延長上の気管気管支リンパ節・大動脈弓リンパ節・前縦隔リンパ節の描出、更に胸椎側リンパ幹管とそこからの漏出と思われる肋間リンパ管、そして胸管の描出。横隔膜は右側が強く描出。

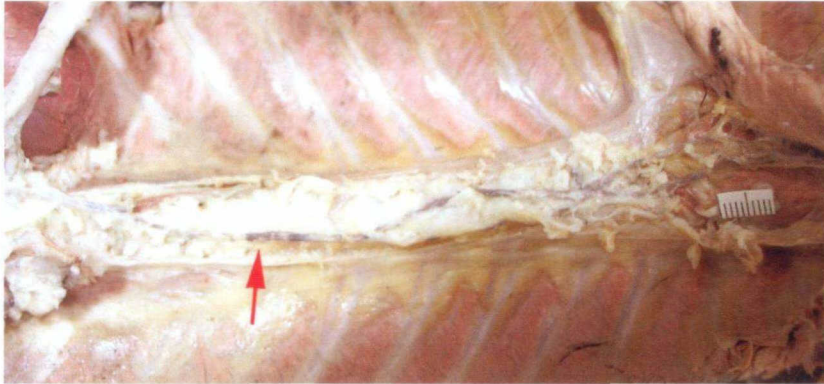
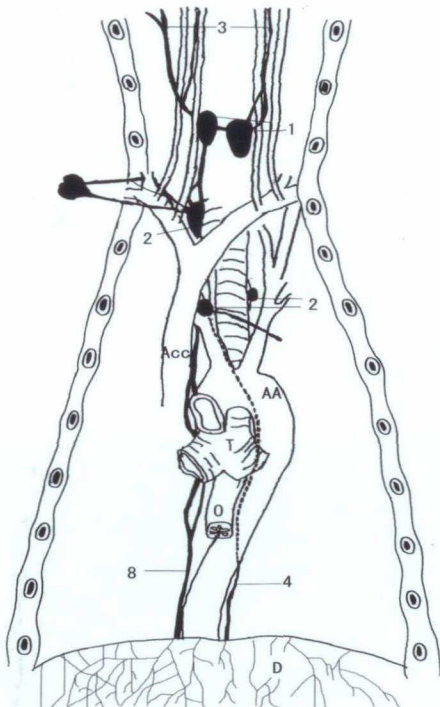


図 42

イヌの India ink 骨盤腔内注入後1時間の例。
 右側横隔膜胸膜側に広い黒染部位が見られ、そこから続いて大静脈に沿うリンパ管とそれに続く、胸管に India ink が充満しているのが見られる。
 (赤矢印：胸管)

図 43

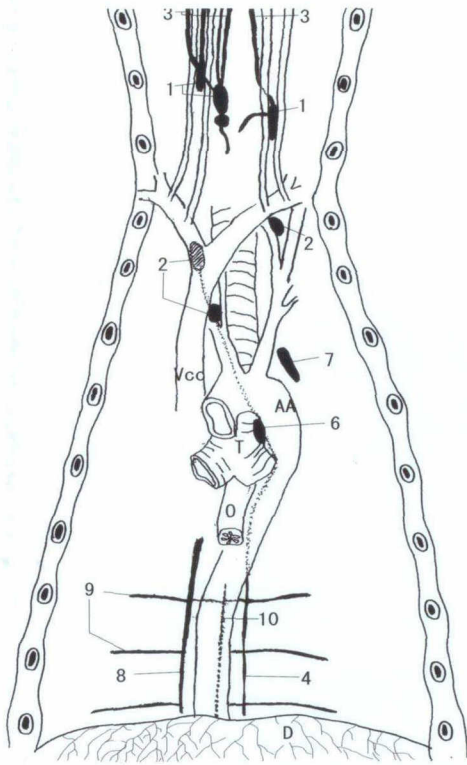
骨盤腔内注入後1時間の胸腔内リンパ管およびリンパ節（仰臥位にした標本。胸骨を横隔膜からはずし、頭側に反転。）



D：横隔膜 T：気管 O：食道 Vcc：前大静脈 AA：大動脈弓
 1：胸骨リンパ節 2：前縦隔リンパ節 3：内胸リンパ幹管 4：左迷走神経に沿うリンパ管
 8：胸管

腹膜腔内注入1時間後で見られた経路と同様に内胸リンパ幹管、左迷走神経（食道）に沿うリンパ管に加え、胸椎側リンパ幹管、胸管に India ink の描出が見られた。

図 45



骨盤腔内注入後 2 時間 30 分の胸腔内リンパ管およびリンパ節（仰臥位にした標本。胸骨を横隔膜からはずし、頭側に反転。）

D : 横隔膜 T : 気管 O : 食道 Vcc : 前大静脈 AA : 大動脈弓

1 : 胸骨リンパ節 2 : 前縦隔リンパ節 3 : 内胸リンパ幹管 4 : 左迷走神経に沿うリンパ管 6 : 左前気管気管支リンパ節 7 : 大動脈弓リンパ節 8 : 胸管 9 : 肋間リンパ管 10 : 胸椎側リンパ管

腹膜腔内注入で得られた経路と同様に胸骨リンパ管、左迷走神経に沿うリンパ管、胸椎側リンパ幹管、胸管のすべての経路で India ink の描出が見られ、胸椎側リンパ幹管は第六肋骨の位置で胸管に流入していた。また胸骨リンパ節から浅頸リンパ節への India ink

の漏出が見られた。



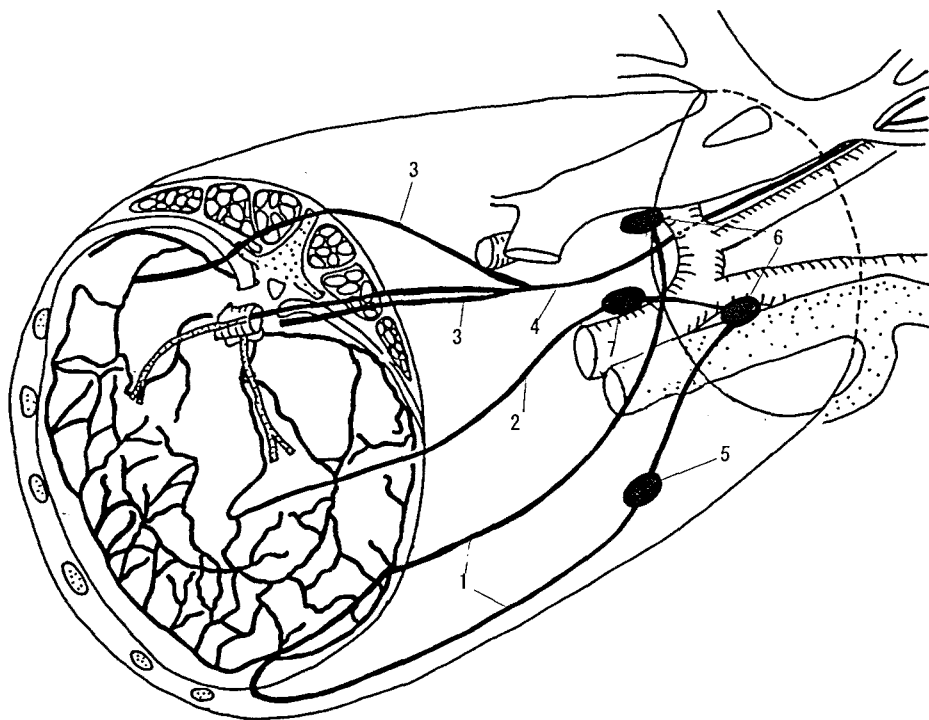
図 46

イヌの India ink 骨盤腔内注入後 2 時間 30 分の例。

腹膜腔内注入後 2 時間 30 分と同様に大静脈および食道を併走するリンパ管や、胸椎側リンパ幹管や胸管にも India ink が充満している。（黄矢印：胸椎側リンパ幹管 緑矢印：胸管）

図 47

腹膜腔、骨盤腔からのリンパ排導路



- 1: 内胸リンパ幹管 2 迷走神経に沿うリンパ管 3: 胸椎側リンパ幹管 4 胸管
5: 胸骨リンパ節 6: 前縦隔リンパ節 7: 気管気管支リンパ節

参考文献

- ・ Allen, L. 1936. The peritoneal stomata. *Anat. Rec.* 67 : 89 - 103.
- ・ Bettendorf, U. 1978. Lymph flow mechanism of the subperitoneal diaphragmatic lymphatics. *Lymphology.* 11: 111-116.
- ・ Courtice, F. G. and Steinbeck, A. W. 1950. The lymphatic drainage of plasma from the peritoneal cavity of the cat. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 28: 161-169.
- ・ Dyce, K. M. 2003. 獣医解剖学 第2版. pp.44-49 近代出版. 東京.
- ・ Evans. E. E. 1985. 新版 犬の解剖学. p641. pp.627-659 学窓社. 東京.
- ・ Higgins, G. M., and A. S. Graham. 1929. Lymphatic drainage from the peritoneal cavity in the dog. *Arch. Surg.* 19: 453-465.
- ・ Holm-Nilsson, P. 1953. Pathogenesis of ascites in peritoneal carcinomatosis. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 33: 10-21.
- ・ 木原卓三郎. 1961. 脈管外通液路系について. 米子医学雑誌 12:1-3.

- ・ 木原卓三郎. 1963. リンパ系、リンパ組織系および脈管外通液路系調節機構. 日本血液学全集 2:415-434.

- ・ Korneliussen, H. 1975. Fenestrated blood capillaries and lymphatic capillaries in rat skeletal muscle. *Cell Tissue Res.* 163: 169-174.

- ・ 小谷正彦. 1970. リンパ管の構造と機能. 血と脈管 1:1325-1329

- ・ Kotani, M. Rai, M. and Nakao, S. 1962. Observations with the electron microscope on the absorption of India ink from the peritoneal cavity of the rabbit. *Okajimas Folia Anat. Jpn.* 38: 149-173.

- ・ Leak, L. V., and Rahil, K. 1978. Permeability of the diaphragmatic mesothelium : The ultrastructural basis for stomata. *Am. J. Anat.* 157: 557-593.

- ・ Levine, S. and Saltzman, A. 1988. Retrosternal Hemorrhage: an experimental model for study of lymphatic leakage. *Lymphology.* 21: 105-109.

- ・ Li, J.C. and Yu, S. M. 1991. Study on the ultrastructure of the peritoneal stomata in humans. *Acta. Anat.* 141: 26-30.

- ・ Mariassy, A. T. and Wheeldon, E. B. 1983. The pleura: a combined light microscopic, scanning, and transmission electron microscopic study in the sheep. I. normal pleura. *Exp. Lung Res.* 4: 293-314.

- ・ 三浦真弘、加藤征治. 2000. 腹膜・間膜のリンパ管系の分布とその構築. *リンパ学.* 23: 23-32.

- ・ 難波雄一郎. 1989. Vx2 腫瘍細胞の横隔膜播種性進展に関する電子顕微鏡的研究. *日外会誌.* 90: 1915-1921.

- ・ 大宅宗治. 1992. 横隔膜リンパ管の分布と構築. *リンパ学.* 15: 13-19.

- ・ Pinchon, M. C., Bernaudin, J. F. and Bignon, J. 1980. Pleural permeability in the rat. I. Ultrastructural basis. *Biologie cellulaire* 37: 269-272.

- ・ Poggi, P., Marchetti, C., Calligaro, A., Casasco, A. and Scelsi, R. 1991. Lymphatic vessels in the developing diaphragm of the rat. *Acta Anat.* 142: 111-117.

- ・ 妹尾清一. 1981. ラットリンパ系の解剖学的研究. *慈医誌.* 96. 642-662.

- ・ 島田達生. 1995. 脈管外液路の構造と機能－腹腔と横隔膜リンパ管の交通－. リンパ学. 18: 1-13.

- ・ Shimada, T., Zhang, L., et al. 1995. Architecture and function of the extravascular fluid pathway : special reference to the Macula cribriiformis in the diaphragm. *Acta Anat. Nippon.* 70: 140-155.

- ・ 下間正隆、佐久山山陽ほか. 1993. 腹膜播種性転移と体網・横隔膜のリンパ系. リンパ学. 16: 1-11.

- ・ 下間正隆、高橋俊雄. 1992. 乳斑－体網リンパ組織としての構造と機能的意義. リンパ学. 15: 1-10.

- ・ Shimotsuma, et al 1990, Surface structure and cell zonation in human omental milky sots. *Lymphology*, 23: 207-208

- ・ Shinohara, H., Fukuo, Y. and Matsuda, T. 1989. On the presence and function of closed lymphatic stomata in the diaphragm of the golden hamster. *Okajimas Folia Anat. Jpn.* 66: 69-80.

- ・ 鈴木義孝. 1985. 猫腹膜中皮種 1 例のリンパ管転移. 日本獣医学雑誌. 47: 511 - 516

- ・ Tsilibary, E, C, Wissig, S. L 1987 Light and electron microscope observations of the lymphatic drainage units of the peritoneal

cavity of rodents. *Am J. Anat.*, 180:195-207

- ・ Tortora, G. J. 2006. トートラ解剖学. pp.515-533. 丸善株式会社、東京.

- ・ 壺内みよ. 1950. 人及び哺乳類の胸膜並びに腹膜の内皮下結締織に見出したる篩状構造（篩状斑 *Macula cribriformis*、篩状膜 *Membrana cribriformis*）及びその意義に就いて. *解剖誌*. 25: 6-9.

- ・ 梅谷博史. 1990. 胃上部、噴門部癌の横隔膜進展に関する実験的臨床的研究. *日外会誌*. 91: 1567-1573.

- ・ von Recklinghausen, F. D. 1863. Zur Fettresorption. *Virchows Arch.* 26: 172-208.

- ・ Wang, N. S. 1975. The preformed stomas connecting the pleural cavity and the lymphatics in the parietal pleura. *Am. Rev. Respir. Dis.* 111: 12-20.

- ・ Yoffey, J. M. and Courtice, F. C. 1970. Lymph flow from the regional lymphatics. The peritoneal and pleural cavities. pp.295-305. In: *Lymphatics, lymph and the lymphomyeloid complex*. Academic Press, London

- ・ 米村豊. 1996. 腹膜播種. pp3-65 へるす出版. 東京.

- ・ 米村豊ほか. 1999. 腹腔内のリンパ源流について. リンパ学. 22: 33-42.

謝 辞

本論文の作成に当たり、本テーマに関し終始、研究指導頂いた麻布大学獣医学部解剖学第一研究室教授 浅利昌男先生に心より感謝申し上げます。また、論文の校正等に多大なるご援助頂いた、麻布大学獣医学部解剖学第一研究室講師 市原伸恒先生に感謝致します。論文作成のもととなる実験指導、実験補助を頂いた東京慈恵会医科大学 解剖学講座第一 早川敏之先生並びに解剖学第一研究室の学生諸氏には本当にお世話になりお礼申し上げます。最後に、3年間にわたるこの研究を陰ながら支え、応援してくれた家族に心から感謝します。