口腔再建皮弁の組織学的研究

石原 修・又賀 泉・加藤 譲治

Histological study of reconstructed flaps in the oral cavity

Osamu ISHIHARA · Izumi MATAGA · Joji KATO

Abstract: Various cutaneous flaps have been used to reconstruct intraoral defects created by tumor resection. Transplanted cutaneous flaps clinically show changes such as color changes and scaling. To better understand the biological conditions of reconstructed flaps that survive in the intraoral environment, patients in whom various periods had passed since reconstruction operations were clinically observed, and biopsy specimens taken from their flaps were examined histologically, histochemically and immunohistochemically.

Seventeen major flaps, including delto-pectoral flaps, pectoral major myocutaneous flaps and forearm flaps, were used to reconstruct intraoral defects remaining after the resection of oral cancer. Irradiated flaps were excluded. Biopsy specimens were taken from both the mid-portion of each flap and the junction between the flap and the surrounding oral mucosa. Histological, histochemical and immunohistochemical examinations were performed as follows. A formalin-fixed specimen was dehydrated and embedded in paraffin. Hematoxylin-eosin, periodic acid-Schiff with and without diastase digestion, and alcian-blue were used to stain the deparaffinized sections of the specimens. The deparaffinized sections also underwent N- (7-dimethylamine-4-methyl-3-coumarinyl) maleimide (DACM) staining to examine the distribution patterns of SH groups and SS linkages of cellular proteins in the epidermis. Immunohistochemically, frozen sections were first cut in a cryostat and stained with monoclonal antibodies. Anti-hair keratin monoclonal antibodies (HKN-2,4,5,6,7), anti-basal cell epithelioma keratin monoclonal antibodies (BKN-1), K92, and RKSE60 were used.

The clinical features of cutaneous flaps seemed to depend on their location in the oral cavity rather than the period since operation or the kind of flap. Although the horny layer of the epidermis of the flaps showed thinning histologically, the epidermis showed a normal pattern of SH to SS conversion by DACM staining histochemically, as well as normal keratin expression by keratin staining immunohistochemically. The tongue epithelium adjacent to the flaps often showed flattening. Some specific keratins of the tongue epithelium were still recognized but hard keratin was not. Although cutaneous flaps may be influenced by environmental factors in the oral cavity, the flap tissues seem to retain their original cell differentiation.

Key words: reconstructed flap (再建皮弁), DACM stain (ダクム染色), anti-hair keratin monoclonal antibodies (抗毛ケラチン単クローン抗体)

緒 言

口腔癌切除後の組織欠損に対して、各種皮弁が用いられている。皮弁を用いた口腔再建は、組織学的には口腔粘膜を弁とした再建法と異なり、外表を覆っている皮膚組織が口腔という特殊な環境に移植されることが特徴である。

口腔を再建した皮弁の粘膜様色調変化や落屑などについて組織学的に検討した症例報告^{1~4)}は散見されるが、皮弁の変化を組織化学法や免疫組織化学法を用いて十分に検討した報告はみられない。また最近では、再建皮弁表皮から発生した二次癌と思われる報告^{5, 6)}もあり、再建後の皮弁における組織学的変化について検討の必要性が増大している。

今回再建後の皮弁の変化について臨床的ならびに組織学的、組織化学的、免疫組織化学的に検討した。

対象、研究材料および研究方法

1. 対象症例

対象は口腔悪性腫瘍の診断にて、腫瘍切除後即時再建された17症例である。性別は全例男性で、年齢は 50.6 ± 12.8 歳(平均 $\pm$ 標準偏差)である。

原発部位は、舌6例、口底5例、下顎歯肉4例、頬粘膜、下顎骨中心性がそれぞれ1例である。再建に用いた皮弁の種類と例数は、大胸筋皮弁9例、D-P皮弁4例、前腕皮弁4例で、原発部位でみると、舌は大胸筋皮弁3例、D-P皮弁2例、前腕皮弁1例、口底は大胸筋皮弁3例、前腕皮弁2例、下顎歯肉は大胸筋皮弁1例、D-P皮弁2例、下顎骨中心性線維肉腫の1例は前腕皮弁を用いた。いずれも再建後皮弁領域に術後放射線外照射を受けていないもので、生検に対し協力の得られたものを対象とした。再建から生検までの経過期間は、最短116日最長2841日で、平均 1011.1 ± 926.1 日であった。

2. 研究材料

生検材料の採取は、皮弁の中央部および皮弁と周囲粘膜の接合部より行った。得られた生検組織材料は2分割し、一片は通法に従い10%ホルマリン固定後、パラフィン包埋し、4 μ m脱パラフィン切片を作製して後述する方法により組織学的および組織化学的検討に用いた。さらに残りの一片は、急速凍結後、4 μ mの凍結切片を作製し免疫組織化学的検討に用いた。

3. 研究方法

1) 再建皮弁の肉眼的観察

皮弁の肉眼的所見として表面色調および皮野、落屑などの状態を観察し、これらの変化を臨床的に検討した。

2) 組織学的および組織化学的検討

組織学的検討としてヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を行い、また組織化学的検討として多糖類染色の過沃素酸・シッフ(PAS)、ジアスターゼ消化PAS、アルシアンブルー染色を脱パラフィン切片に対し通法に従って行った後、光学顕微鏡で観察した。

3) N-(7-dimethylamine-4-methyl-3-coumarinyl) maleimide (DACM) 染色による皮弁表皮と周囲粘膜上皮の組織化学的検討

表皮の分化および角化の検討に有用なSH基、SS結合の組織化学的同定法であるDACM染色を行った。DACM染色の試薬は、DACM、N-ethymaleide (NEM), dithiothreitol (DTT), ethylene-diaminetetraacetate (EDTA) を和光純薬工業株式会社(大阪)より購入した。DACMは4mM DACM-aceton溶液をとして -20°C に保存し、染色直前に0.85%NaCl-Tris acetate buffer (pH 6.8) (TAS) を用いてDACMの濃度が0.01mMになるように希釈した。染色は、すでに報告した方法^{7~9)}に準じて行い、詳細を以下に要約する。

SH基染色: 脱パラフィン切片を 4°C TASで洗浄後、0.01mM DACM/TAS中で、室温、3分間反応させた。続いて、再びTASで洗浄、グリセリンで封入後、蛍光顕微鏡(Zeiss Standard 18FL)下で、励起フィルターとしてBP λ 405/6nmとchromatic beam splitter FT λ 510nm、吸収フィルターとしてLP λ 520nmを使用して観察した。

SS結合染色: 脱パラフィン切片を 4°C TASで洗浄後、0.15M NEM/TAS溶液中で 37°C 45分間反応させて組織中の遊離SH基をブロックした。その後 4°C のTASで2分間、3回洗浄後、40nm DTT $\cdot$ 0.5mM EDTA/TAS溶液中で 37°C で3分間反応させ、組織中のSS結合をSH基に還元した。さらに、 4°C のTASで2分間、3回洗浄後、前述のSH基染色を行って観察した。また、SH基、SS結合染色観察後、HE染色を同一切片で行い比較検討した。

SH、SS染色のコントロールとしては、前述のNEMによる遊離SH基のブロックの後、SH染色を行い観察した。

4) ケラチン染色による皮弁表皮と周囲粘膜上皮の免疫組織学的検討

伊藤らが開発した抗毛ケラチン単クローン抗体(HKN-2, 4, 5, 6, 7)^{10~13)}および抗基底細胞腫ケラチンクローン抗体(BKN-1)¹⁴⁾と市販の抗ケラチン単クローン抗体のRKSE60 (Bioscience Products, Swiss)¹⁵⁾およびK92 (Dakopatts, ダコジャパン東京)¹⁶⁾を用いたケラチン染色で上皮および表皮の組織特異性を検討した。

染色法は、間接蛍光抗体を利用し、一次抗体として、上記の単クローン抗体を使用した。二次抗体はFITC標識ヤギ抗マウスIgG抗体(Cappel, U.S.A.)を

0.1M リン酸緩衝生理食塩水 (pH7.2, PBS) で希釈して使用した。

染色は 4 μ m の未固定凍結切片に一次抗体、二次抗体をそれぞれ室温で 30 分ずつ反応させ、PBS で洗浄後 glycerine-PBS-containing paraphenylene-diamine (Sigma Chemical Co.) で封入して蛍光顕微鏡 (Zeiss Standard 18FL) で観察した。コントロールは、未固定凍結切片に二次抗体を反応させ観察した。なお、正常皮膚表皮および口腔粘膜上皮における DACM 染色、ケラチン染色の結果は稿を変え報告する予定である。

結 果

1. 再建皮弁の肉眼的観察

皮弁の肉眼的変化は、その色調および表面正常の特徴より次の 3 群に分けられた。すなわち、皮弁が皮膚色で皮野を認める群 (以下 G1, 写真 1), 部分的に皮弁が粘膜色を呈し皮野の消失落屑がみられる群 (以下 G2, 写真 2), 皮弁全体が粘膜色を呈し、皮野の消失落屑を認める群 (以下 G3, 写真 3) に分けられた。

各群における皮弁数は G1 が 8 例, G2 が 5 例, G3 が 4 例であった。17 皮弁中 9 皮弁 (G2+G3, 52.9%) が本来の皮膚の外観を失った事になる。各群の再建から生検までの経過期間は G1 では最短 284 日, 最長 2758 日, 平均 1168 ± 847 日, G2 では最短 202 日, 最長 2441 日, 平均 816 ± 922 日, G3 では最短 116 日, 最長 2841 日, 平均 938 ± 1276 日でばらつきを示した。G2 に属した症例のうち、大胸筋皮弁により再建を行った最長経過例の経時的な皮弁の変化をみると、術後 10 日では皮弁は bulky で色調は全体にやや桃色調を示したが (写真 4), 24 日目には皮弁の組織量は僅かに縮小し、ほぼ正常な皮膚色を呈した (写真 5)。さらに 55 日目では皮弁の組織量は明らかに減少し、皮弁辺縁に色調の変化がみられたが (写真 6), 術後 1 年 1 か月, 2 年と経過するにつれて皮弁の縮小は認められるものの、その色調は一定を保っていた (写真 7)。G2 および G3 の粘膜様に変化した部位においては、体毛は観察されず秕糠疹様であった。またこれらの部位は、唾液により湿潤している傾向がみられた。これら皮弁の粘膜様変化と再建部位との関係についてみると、G1 は舌、口底および歯槽といずれの再建部位も認められるが、G2 は 5 例中 4 例が歯槽部を含む舌半側再建例で、G3 の 4 例はいずれも口底を中心とした再建例であった (表 1)。

皮弁と周囲粘膜との接合部では、いずれの群においても皮弁と舌の接合部は V 字状に陥凹し、他の残存粘膜と皮弁の接合部はほぼ平坦であった。とくに接合部における舌粘膜の多くは乳頭が消失し平滑となり、頬粘膜に変化した上皮が連続して認められた。また G3 では皮弁と接合部粘膜の色調の差がなく、識別が困難

であった症例もみられた。

2. 皮弁と周囲粘膜の組織学的および組織化学的所見

1) 皮弁中央部

G1 および G2 において、正常と思われる皮膚色を呈する皮弁の組織所見についてみると、HE 染色では表皮は正角化で、その角層は皮弁の donor site より採取した表皮の角層と同様もしくはやや菲薄な厚さを保ち、網籠状 (basket-weave) の形態を呈していた。各層の肥厚所見は認められなかった。真皮上層では少数の細胞浸潤と軽度な浮腫を認めた (写真 8)。この部における PAS 染色は陰性で、アルシアンブルー染色では真皮上層の膠原線維がやや濃染する陽性所見を呈した (写真 9)。G2 および G3 の粘膜様に変化した部位では、HE 染色で表皮は肥厚し、角層は比較的菲薄で錯角化を呈し、真皮上層には中程度から高度な細胞浸潤がみられ、高度なものでは表皮内にも細胞浸潤を認めた (写真 10)。PAS およびジアスターゼ消化 PAS 染色では、真皮における細胞浸潤の程度と一致し表皮の有棘細胞にグリコーゲン陽性を認めた (写真 11)。また G2 と G3 の 9 例中 3 例 (G2 2 例, G3 1 例) に表皮上層に局限した少数の PAS 陽性真菌要素を認めた (写真 12)。アルシアンブルー染色では、真皮に軽度陽性をみるが、それは正常範囲であった。G1, G2, G3 の各群の最長観察例においては、やや萎縮性であるが汗腺、脂腺および毛包のいずれもが散見された (写真 13)。

2) 皮弁と周囲粘膜接合部

すべての症例で、皮弁表皮と周囲粘膜上皮の接合部の境界は線状で明瞭に移行していた。接合部の皮弁の組織変化は、前述した皮弁中央部における所見と同様であった。一方、接合部における粘膜のうち、舌粘膜との接合部ではとくにその粘膜上皮の変化が特徴的であった。すなわち、舌粘膜側の上皮では、糸状乳頭の形態を示さず頬粘膜様に変化していたが、接合部よりやや離れた舌粘膜上皮では正常の糸状乳頭を保っていた。この頬粘膜様部では PAS およびジアスターゼ消化 PAS 染色で、中層上部の空胞化した細胞にグリコーゲン陽性細胞を認めた (写真 14)。一方、口唇や頬粘膜と皮弁の接合部ではいずれも、その粘膜部分に形態的变化や、組織化学的变化を認めず、それぞれの正常粘膜と同様の反応がみられた。

3. DACM 染色による皮弁と周囲粘膜の組織化学的所見

1) 皮弁中央

G1 および G2 において、正常と思われる皮膚色を呈する皮弁の SH 染色では、表皮基底層から顆粒層までび慢性に蛍光を認め、その蛍光は顆粒層直上で最強となって角層最外層では消失していた (写真 15, 16)。

SS 染色では living layer に反応はみられず、角層

で反応が突然出現し最外層まで維持されていた(写真17, 18). ケラトヒアリン顆粒はSH, SSともに陰性であった。以上の所見は正常皮膚表皮の所見と一致していた。G2およびG3の粘膜様に変化した部位では, SH染色で表皮基底層から上層まで細胞質陽性蛍光をみるが, 一部上層において均一に蛍光を失っている細胞と膜パターンを呈する細胞が散在性にみられ, 表皮上層から最外層でやや不規則な帯状消失部分を認めた。同一切片のHE染色と対比すると, 均一なSH蛍光消失は浸潤細胞で, 帯状蛍光消失は核を有する角質層に一致していた(写真19, 20)。SS染色では, 表皮上層で僅かに周囲より早期に蛍光を認める細胞が存在し, 早期に角化した細胞と思われた。角層には膜パターンのSS蛍光を認めた(写真21, 22)。

2) 皮弁と周囲粘膜接合部

皮弁表皮と周囲粘膜上皮の接合部の境界は, SHおよびSS染色においても線状でその反応の違いは明瞭に移行していた(写真23, 24)。頬粘膜様に変化した舌上皮のSH染色では, 上層に行くに従ってしだいに蛍光が減弱し, SS染色では上層にやや不規則に膜パターンが出現し, 最外層まで維持されていた。SHあるいはSS陽性の顆粒は全く認められなかった。同一切片のHE染色所見と対比すると, SS陽性部はエオジンに好染している細胞に一致し, 軽度角化していると思われた(写真27, 28, 29, 30)。一方, 口唇や頬粘膜と皮弁の接合部ではSH, SSいずれもそれぞれの正常粘膜と同様の反応がみられた。

4. ケラチン染色による皮弁表皮と周囲粘膜の上皮の免疫組織学的所見

1) 皮弁中央

G1およびG2の皮膚色部のケラチン染色では, BKN-1は表皮基底層のみに反応し(写真31), HKN-2(写真32), RKSE60およびK92(写真33)はいずれも基底層を除く表皮全層に反応し, 角層では反応がやや減弱する傾向を示した。HKN-4は表皮全層に反応がみられるが(写真34), HKN-5, 6, 7は表皮には全く反応しなかった。

G2およびG3の粘膜様部のケラチン染色では, BKN-1は表皮肥厚部で不規則に基底層およびその上方2~3層で反応を認めた(写真35)。HKN-2は基底層を除く表皮全層に反応を示し, その蛍光は正常表皮における様に角層で減弱することなく維持されていた(写真36)。HKN-4は表皮全層と反応を示した(写真37)。HKN-5, 6, 7は陰性であった。

RKSE60, K92は基本的には正常表皮での反応パターンを示したが, RKSE60では真皮乳頭直上の表皮には反応がみられず(写真38), K92では表皮肥厚部上層に, 正常と比べるとやや弱い反応を示す傾向にあった。

2) 皮弁と周囲粘膜接合部

ケラチン染色においても, すべての症例で皮弁表皮

と周囲粘膜上皮の接合部境界は明瞭に移行していた。接合部のケラチン染色所見は, 前述した皮弁中央部における所見と同様であった。一方, 接合部における粘膜のうち舌上皮では, BKN-1は基底層とその直上2~3層に反応せず(写真39, 40), HKN-2は基底層を除く表皮全層と, さらにHKN-4は全層に反応した。K92は反応を認めず(写真41), RKSE60の反応は上層で不規則に認める症例が散見され一定ではなかった。HKN-5は上層で部分的に陽性所見を示した(写真42)。HKN-6, 7の反応は陰性であった。口唇や頬粘膜の接合部ではいずれも, それぞれの正常粘膜におけるケラチン染色所見と同様で変化はみられなかった。

考 察

口腔腫瘍切除後の再建法(皮弁の種類)と術後の機能の関係などについての報告は多くみられ, 当科においても開設以来, 口腔癌切除後の組織欠損に対し各種皮弁を応用し, その適応, 術後機能について報告¹⁷⁻¹⁹⁾してきた。

Ariyan³⁾, 鳥居ら⁴⁾は, 胸鎖乳突筋皮弁による口底再建例で表層が壊死し, その後粘膜様に治癒した症例を報告しているが, 臨床的には皮弁表層の壊死を認めない症例においても表皮の粘膜様変化を経験する。一方, 再建後皮弁表皮の色調変化を認めず, 発毛, 角質の脱落を認める症例をしばしば経験する。そこで再建後の皮弁の変化を組織学的, 臨床的に検討した。

1. 再建皮弁の肉眼的および組織学(組織学, 組織化学, 免疫組織化学)的变化について

皮弁は口腔内移植後その肉眼的な特徴的变化により3群に分けられ, 組織学的変化もほぼ共通した傾向がみられた。すなわちG1およびG2の皮膚色を呈する部位では, 組織学的にわずかな炎症所見が真皮上層にみられるが, 皮膚表皮および付属器はほぼ正常構造を呈している。G2およびG3の粘膜様変化を呈する部位では, 真皮上層に著明な炎症性細胞浸潤を認め, 表皮は肥厚と角層が菲薄な錯角化を呈し真皮には毛包, 汗腺も散見された。この表皮肥厚は真皮乳頭の表面への突出を伴い, 有棘層はPAS陽性であった。皮膚の色調は, それ自身のもっているメラニン色素に, 角質や真皮の毛細血管の色などが混じり合って構成される²⁰⁾ことから, 皮弁の粘膜様色調は, 組織学的所見から炎症性変化の結果と考えられる。しかし, Wei²⁾らは, 大胸筋皮弁による再建後の組織学的変化を観察し皮弁の粘膜様変化は表皮における萎縮の結果であると報告している。一般に表皮萎縮は, 瘢痕部の表皮でみられる皮膚付属器を欠くものと炎症に続発してみられるものがある。口腔再建皮弁表皮において, 炎症性変化の結果, 肥厚と萎縮という相反する組織反応が生じる可能性もあるが, 少なくとも今回の組織学的検討では表

皮萎縮は1例も見られなかった。炎症性変化の原因としては、再建後の皮弁に与える環境的要因が大きく関与すると推測される。この要因には、唾液による湿潤、細菌叢の変化、食物摂取による機械的、化学的刺激およびカンジダ感染などが考えられる。

皮弁表皮における角層の非薄化は全例に共通してみられ、皮弁の色調を決定する因子としては考えにくい。角層の非薄化は、唾液により皮弁が常に湿潤されることで角層が剥離しやすい状態になり、非薄化したものと考えられる。一方、皮弁における毛器官について観察すると、G1の最長経過観察例においても、また粘膜様変化の強いG3症例においても、組織学的に毛包が観察され、肉眼的にはG1のすべてに毛が観察された。再建後の皮弁における毛の成長を肉眼的に観察している報告は比較的多く、特に再建後の皮弁の問題点として表皮の角化、毛の成長およびこれに伴う悪臭、感染をとりあげている²¹⁻²³⁾。皮弁の毛の成長は皮弁に十分な血液供給機能がある場合にみられ、Eliachar²⁴⁾は、犬を用いた実験で、体毛を剃毛しさらに化学的に脱毛させた胸骨舌骨筋皮弁と、de-epidermalizationを行って真皮筋弁 (myodermal flap) とした二つの皮弁で喉頭気管を再建し組織学的に比較検討した結果、前者では表皮の角化様式に変化なく毛器官も残存し毛の再生を認めたが、後者では表皮は非角化となり毛器官が消失し表皮下の線維化が前者より明らかに強く観察され、この線維化が毛器官の排除に関与していると推測している。Ueda ら²⁵⁾は犬の動物実験において、口腔内へ全層植皮移植、真皮移植、反転真皮移植の結果、全層移植、真皮移植で表皮の角化と発毛が観察されたことより、表皮の形態的特殊性はそれに接する真皮によって決定、維持される上皮間葉相互作用説^{26, 27)} (epithelio-mesenchymal interaction theory) を支持している。

Kawasima ら²⁸⁾は17/1,000inchでde-epithelializedした前腕皮弁で口腔内を再建し、術後1か月では表皮は粘膜様に変化し錯角化を呈するが、6か月後には残存した毛包から上皮化が起こりさらに顆粒層、角質層が観察され、色調も皮膚色に回復したと報告している。これらの報告と今回われわれが観察した結果を照らし合わせると、皮弁に炎症状態がなければ正常の表皮分化や毛の成長が維持され、一方炎症を伴い粘膜様に変化した皮弁においては、肉眼的に毛は認めないが組織学的には毛包が確認されることより、皮弁組織内の毛器官を取り巻く環境が十分でなく毛を産生することが出来ないと推測される。

G3およびG2の錯角化部でのSH、SSの出現態度は、ほぼ正常表皮パターンを示すが、turn overの亢進によりSHの膜パターンは正常表皮のように突然出現せず中層上方で徐々にみられ、最外層では消失し、SSは上層でやや早期に出現しているものと考えられ

た。ケラチン染色のうち、BKN-1は正常表皮では基底層のみと反応し、舌を除く口腔粘膜では中層以上に反応することが明らかになった。しかし、たとえ粘膜様に変化した皮弁でも基底層がBKN-1陽性を示しケラチン線維構成は、表皮の性格を維持しているといえる。また、他の抗体の反応からみてもケラチン表現は変化していない。ただし衛藤²⁹⁾やWeiss³⁰⁾は、皮膚に炎症性変化が生じれば表皮のケラチン表現は変化するがその理由と意義は不明であると報告している。ケラチンモノクローナル抗体を用いた炎症性病変の解析は今後の課題である。

2. 接合部における粘膜上皮の変化

皮弁粘膜接合部は、臨床的には経年的に皮弁組織の萎縮に伴ってV字形に陥凹する。組織学的にはその境界は明瞭で、皮弁表皮と粘膜上皮細胞が混在することはない。特に興味あることは、接合部においては組織学的には皮弁表皮にも被移植側である粘膜にも変化がみられることであり、とくに舌粘膜の場合その変化が著明である。すなわち接合部に接する舌上皮は形態学的には糸状乳頭の構造化を失い頬粘膜上皮様に変化し、ケラトヒアリン顆粒も消失した。DACM染色ではSHからSSの変換を認めるが、その変換所見では角化傾向の減弱も明らかであった。今回検討した対象例には、皮弁粘膜接合部の生着過程で辺縁部に壊死を生じたものは除外してある。接合部に間隙が存在せず、通常の創傷治癒過程における上皮細胞の遊走が生じていないと考えるならば、この舌上皮の頬粘膜様変化は皮弁と接合されたために生じた化生の結果と考えられる。しかし顕微鏡的には、接合部で間隙が生じていることは容易に想像でき、接合部では皮弁表皮細胞とおよび粘膜上皮細胞の双方が遊走増殖し、分化した再生表皮、再生上皮によって移行していると考えるのが妥当である。

従って舌上皮は、再生上皮の分化の際には、従来の形態学的な舌上皮の性格が失われ、分化の単調な上皮に変化する可能性がある。この上皮におけるケラチン染色の結果では、糸状乳頭を構成する一部のケラチンは保存されているが、ハードケラチンは消失していた。そこで再生舌上皮における分化過程は、ハードケラチンを欠落するために単調な分化が起こり頬粘膜様上皮に変化するものと考えられる。一方、頬粘膜接合部において、頬粘膜側では形態的变化はみられない。細胞レベルでは接合部に間隙が存在しないとは考えられないことから、上皮の再生は欠損部の連続性の回復が第一で、それには複雑な分化は必要とされず、分化の複雑でない再生上皮により早急に回復されると推測される。従って、頬粘膜を含めた口腔非角化上皮では、舌粘膜と異なり接合部における再生時に角化様式には大きな変化がみられなかったものと考えられる。

結 語

口腔再建に用いられた 17 皮弁について臨床的、組織学的（組織学、組織化学、免疫組織化学）変化を中心に検討し以下の結論を得た。

- 1) 皮弁は肉眼の特徴により 3 群に分けられ、9/17 皮弁に粘膜様変化を認めた。
- 2) 臨床的にこの変化は、舌および口底再建例に共通してみられ、唾液が停滞しやすい部位であった。また経過期間、皮弁の種類との関係はみられなかった。
- 3) 組織学的には、皮弁の粘膜様変化は炎症性変化によるもので、組織化学および免疫組織化学的には、皮膚表皮の性格は口腔内においても維持されていた。
- 4) 粘膜様に变化した皮弁においては、組織学的には毛包が残存するが肉眼的には毛を認めないことより、皮弁組織内の毛器官を取り巻く環境が十分でなく毛を産生することができないものと推測された。
- 5) DACM 染色、ケラチン染色による検討では、いずれの皮弁表皮も正常皮膚とほぼ同じ所見を示した。
- 6) 接合部舌上皮は、頬粘膜様に变化し糸状乳頭を構成する一部のケラチンは存在するが、ハードケラチンは消失した。
- 7) 舌再生上皮は、ハードケラチンが消失することにより頬粘膜様の単調な粘膜に変化するものと推測された。

稿を終えるに当たり、終始研究中染色法および結果に対して御助言、御指導頂いた新潟大学医学部皮膚科学教室伊藤雅章教授および藤原浩博士に深謝致します。また組織生検に御協力頂いた本学新潟歯学部口腔外科学教室第二講座医局員一同に感謝致します。

本論文の要旨は、第 35 回日本口腔外科学会総会（平成 2 年 10 月 25 日、岡山）第 15 回日本頭頸部腫瘍学会（平成 3 年 6 月 28 日、東京）、273 回および 280 回日本皮膚科学会新潟地方会（平成元年 2 月 26 日、平成 2 年 12 月 8 日、新潟）において発表した。

引 用 文 献

- 1) 木村進, 川辺良一, 他: 口腔内移植筋皮弁の角化様式の変化に関する組織学的検討 (抄) 日口外誌 34 : 2954-2955 1988.
- 2) Wei, W.I., Lam, K.H., et al: Fate of skin element of pectoralis major flap in intraoral reconstruction. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 115 : 360-363 1989.
- 3) Ariyan, S: One-stage reconstruction for defect of the mouth using a sternomastoid myocutaneous flap. Plast Reconstr Surg 63 : 618-625 1979.
- 4) 鳥居修平, 上田実, 他: 皮弁による口腔再建

- (抄) 日形会誌 3 : 655-656 1983.
- 5) 武田直広, 石田恭子, 他: 筋皮弁に出現した二次癌の 1 例 (抄) 第 14 回日本頭頸部腫瘍学会予稿集 244, 1990.
- 6) 吉野邦俊, 佐藤武男, 他: 下咽頭癌切除後の再建皮膚より発癌したと思われる症例. 耳喉頭頸 61 : 1127-1130 1989.
- 7) 小川秀興, 種田明生: DACM 染色法. 皮膚臨床 28 : 997-1007 1986.
- 8) 種田明生: 皮膚, 特に真皮, 付属器における SH 基, S-S 結合の分布, 挙動について—DACM を用いた新しい組織化学染色法. 日皮会誌 90 : 665-667 1980.
- 9) Tanizawa, M., Ito, M., et al: Distribution of-SH and S-S in epidermis and eccrine glands: comparison of the findings based on the routine and N-(7-dimethylamino-4-methyl-3-coumarinyl) maleimide (DACM) staining. Biomedical Research 4 : 41-50 1983.
- 10) Ito, M., Tazawa, T., et al: Cell differentiation in human antigen hair and hair follicles studied with anti-hair keratin monoclonal antibodies. J Invest Dermatol 86 : 563-569 1986.
- 11) Ito, M., Tazawa, T., et al: Immunological characteristics and histological distribution of human hair fibrous proteins studied with anti-hair keratin monoclonal antibodies HKN-2, HKN-4, and HKN-6. J Histochem Cytochem 34 : 269-275 1986.
- 12) 田沢敏男: 抗毛ケラチン単クローン抗体 (HKN-2) による正常ヒト皮膚の免疫組織化学的研究. 日皮会誌 95 : 157-165 1985.
- 13) 田沢敏男, 伊藤雅章, 他: 抗毛ケラチン抗体 (HKN-5, HKN-6, HKN-7, および HKN-8) による正常ヒト成長期毛組織の免疫組織化学的研究. 日皮会誌 95 : 1153-1157 1985.
- 14) 清水直也: 抗ケラチン単クローン抗体による基底細胞腫の免疫組織化学的研究. 日皮会誌 97 : 691-697 1987.
- 15) Shabana, A.H.M., Ouhayoun, J.P. et al: A Comparative biochemical and immunological analysis of cytokeratin patterns in the oral epithelium the miniature pig and man. Archs Oral Biol 34 : 249-259 1989.
- 16) Pulford, K.A.F., Gatter, K.C., et al: The characterization of two monoclonal anti-keratin antibodies and their use in study of epithelial disorders. Histopathology 9 : 825-849 1985.
- 17) 加藤譲治, 岡野篤夫, 他: Myocutaneous flap の使用経験 (抄) 日口外誌 27 : 1917 1981.
- 18) 又賀泉, 加藤譲治, 他: 口腔癌切除後広背筋皮弁による口腔再建. 口科誌 38 : 711-719 1989.

19) 又賀泉, 岡野篤夫, 他: 顎骨再建症例に対する TM インプラントの応用. 日口外誌 35: 713-717 1989.

20) 塚田貞夫: 図説・遊離植皮術テキスト (荻野洋一監修). 第1版, 克誠堂出版, 東京, 1984, 129-141 頁.

21) 工藤敬吾, 加納良, 他: 口腔・顔面欠損に対する D-P 皮弁による再建の検討—特に長期観察成績を中心に—. 日口外誌 36: 101-105 1990.

22) 上田 実: 口腔粘膜の再構成に関する研究. 口科誌 38: 1123-1144 1989.

23) 上田 実, 粕谷政代, 他: 舌口底再建に用いられた大胸筋皮弁の臨床的検討—手術術式と術後機能の関連について—. 日口外誌 34: 1066-1073 1988.

24) Eliachar, I., Sebek, B.A., et al: Histological changes in skin implanted into the larynx and trachea by myo-cutaneous flap reconstruction. Otolaryngol Head Neck Surg 93: 754-758 1985.

25) Ueda, M., Kaneda, T., et al: Experimental study of dermal graft for reconstruction of oral mucosa. J Oral Maxillofac Surg 42: 213-223 1984.

26) Fleishmajor, M.R. and Billigham R.E.: Epitheliomesenchymal interactions. 1st Ed, Williams and Wilkins Co. Ltd., Baltimore, 252-266 1968.

27) 奏順一: 上皮化と Epithelial Mesenchymal Interactions. 最新医学 37: 247-251 1982.

28) Kawashima, T., Harii, K., et al: Intraoral and oropharyngeal reconstruction using a de-epithelialized forearm flap. Head & Neck 11: 358-363 1989.

29) 衛藤光: ケラチン. 皮膚臨床 28: 985-995 1986.

30) Weiss, R.A., Guillet, G.Y.A., et al: The use of monoclonal antibody to keratin in human epidermal disease: alteration in immunohistochemical staining pattern. J Invest Dermatol 81: 224-230 1983.

表1 肉眼的変化と再建部位, 再建方法および経過期間

再建部位	G-1	G-2	G-3
舌半側	1○		
舌半側～歯槽部	2●●	4○□□□	
口底～歯槽部	1□	1□	4○□□□
歯槽部	2●□		
歯槽部～頬部	2●□		
平均経過期間	1168	816	937
±標準偏差(日)	±847	±922	±1276

○: 前腕皮弁 ●: D-P 皮弁 □: 大胸筋皮弁

写真2 G2皮弁は部分的に粘膜色を呈し, 皮野の消失, 落屑を認める.

写真1 G1皮弁は皮膚色を呈し, 皮野を認める.

写真3 G3皮弁全体が粘膜色を呈し, 皮野の消失, 落屑を認める (ミラー使用).

写真4 再建後10日, 皮弁の色調は全体にやや桃色調を呈す.

写真7 再建後1年1か月, 皮弁辺縁が粘膜色を呈す.

写真5 再建後24日, 皮弁は皮膚色を呈し, 組織量は縮小している.

写真8 G1 HE染色(×120). 角層が菲薄な正角化で, 真皮上層に少数の細胞浸潤を認める.

写真6 再建後55日, 皮弁辺縁が粘膜色に変化している.

写真9 G1 Alcian-blue染色(×120). 真皮上層がやや濃染している.

写真10 G3 HE染色(×90). 真皮上層に著明な細胞浸潤を認め、表皮は肥厚し、角層は菲薄で錯角化を呈している。

写真12 G3 PAS染色(×90). 有棘細胞にPAS陽性を認め、少数の真菌要素が上層に局限している。

写真11 G2 PAS染色(×90). 有棘細胞に軽度PAS陽性を認める。

写真13 G3 HE染色(×100). やや萎縮性であるが汗腺を認める。

写真14 G1 皮弁舌粘膜接合部PAS染色(×90). 頬粘膜様に変化した舌上皮の中層上部はPAS陽性を認めるが、皮弁表皮は正角化を呈しグリコーゲン陰性である。

写真15 G1 SH染色(×120). 有棘層から顆粒層の細胞質に瀰漫性蛍光を認める. 顆粒層直上の角層で蛍光は最強となり, その上方では消失している.

写真16 写真15のHE染色(×100).

写真17 G1 SS染色(×120). 角層に一致した蛍光を認める.

写真18 写真17のHE染色(×100).

写真19 G3 SH染色(×220). 上層で均一に蛍光消失している細胞は浸潤細胞で, 帯状の蛍光消失は, 錯角化層に一致している.

写真20 写真19のHE染色(×220).

写真 21 G3 SS 染色 (×220). 上層でわずかに周囲より早期に蛍光を認める細胞は、エオジン好染細胞に一致している。

写真 22 写真 21 の HE 染色 (×220).

写真 23 G1 皮弁舌粘膜接合部の SH 染色 (×100). 接合部の境界は線状. 上層での反応の違いが明瞭である。

写真 24 写真 23 の HE 染色 (×80).

写真 25 G1 皮弁舌粘膜接合部の SS 染色 (×100). 上層の蛍光部はエオジンに好染細胞に一致する。

写真 26 写真 25 の HE 染色 (×80).

写真 27 G1 頬粘膜様に変化した舌上皮 SH 染色 (×180). 上層に行くに従って蛍光が減弱している.

写真 29 G1 頬粘膜様に変化した舌上皮 SS 染色 (×180). 上層でやや不規則に膜パターンが出現し, 最外層まで維持されている. SS 陽性部はエオジン好染細胞に一致している.

写真 28 写真 27 の HE 染色 (×180).

写真 30 写真 29 の HE 染色 (×180).

写真 31 G1 BKN-1 (×160). 基底層に反応を認める.

写真 34 G1 HKN-4 (×100). 表皮全層に反応を認める.

写真 32 G1 HKN-2 (×160). 基底層を除く表皮全層に反応を認める.

写真 35 G3 BKN-1 (×120). やや不規則に基底層に反応を認める.

写真 33 G1 K92 (×100). 基底層を除く表皮全層に反応を認める.

写真 36 G3 HKN-2 (×120). 基底層を除く表皮全層に反応を認める.

写真 37 G3 HKN-4 (×120). 表皮全層に反応を認める.

写真 38 G3 RKSE60 (×120). 表皮肥厚を示す G3 では, 乳頭部上方の表皮には反応を認めず, 表皮突起部は有棘層から反応を認める.

写真 39 G1 皮弁舌粘膜接合部 BKN-1 (×135). 皮弁表皮では基底層に反応を認め, 舌上皮では中層から反応を認める.

写真 40 G1 皮弁舌粘膜接合部 BKN-1 (×260). 写真 39 の拡大.

写真 41 G1 皮弁舌粘膜接合部 K92 (×100). 皮弁表皮では有棘層から反応を認め, 舌上皮では反応を認めずその境界は明瞭である.

写真 42 G1 頬粘膜様に変化した舌上皮の HKN-5 (×260). 部分的に上皮中層上部に反応を認める.