

〔原 著〕

## 摂食によるラットエブネル腺アミラーゼ分泌変化について

星 和明, 倉橋 昌司, 鈴木 光代,  
猪股孝四郎, 小原 伸子\*, 武田 正子\*

東日本学園大学歯学部口腔生理学講座  
\* 東日本学園大学歯学部口腔解剖学第二講座

(主任: 猪股孝四郎教授)  
\* (主任: 武田 正子教授)

## Amylase activity of von Ebner's glands during feeding in rats

Masaaki HOSHI, Masashi KURAHASHI, Mitsuyo SUZUKI,  
Koshiro INOMATA, Nobuko OBARA, and Masako TAKEDA

Department of Oral Physiology, School of Dentistry,  
HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY.  
Department of Oral Anatomy, School of Dentistry,  
HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY.

(Chief: Prof. Koshiro INOMATA)  
(Chief: Prof. Masako TAKEDA)

### Abstract

To evaluate the physiological role of von Ebner's glands, changes of amylase activity in the glands before and after feeding were compared with the amylase activity of parotid glands, submandibular glands, sublingual glands, the pancreas and plasma.

The amylase activity in von Ebner's glands was 1.25 % of that in the parotid glands in the fasted state, but markedly higher than that of the submandibular and sublingual glands.

After feeding, amylase activity in the submandibular and sublingual glands and in plasma increased greatly, but in von Ebner's glands, parotid glands and the pancreas it decreased. The ratio of reduction of amylase activity in von Ebner's glands by feeding was very similar to that in the parotid glands and the reduction was larger in rats fed for 4 hr than in rats fed for 1 hr.

These results suggest that von Ebner's glands responds to feeding stimuli and secretes saliva

into the oral cavity.

**Key words:** Amylase, von Ebner's gland, feeding

## 緒 言

ラット舌のエブネル腺は漿液性の腺房細胞を有し、有郭乳頭や葉状乳頭の溝に開口する<sup>1)</sup>。この分泌唾液が味覚機能と重要な関係があること<sup>2,3)</sup>、またエブネル腺にはアミラーゼやリパーゼが存在することが報告されている<sup>4,5)</sup>。Fieldら<sup>6)</sup>はエブネル腺よりアミラーゼを精製し、そのアミノ酸組成が耳下腺アミラーゼに類似していることを報告している。一方、種々の薬物投与や分泌神経への電気刺激などにより耳下腺と同様にエブネル腺よりアミラーゼが分泌される<sup>7,8)</sup>。しかしながら、生理的な摂食刺激に対するエブネル腺の応答を検討した研究は見られない。

そこで本研究は摂食刺激によるエブネル腺アミラーゼ分泌機序を明らかにする第一段階として、摂食前後のラットエブネル腺アミラーゼ活性変化を耳下腺、顎下腺、舌下腺、腭臓および血漿のアミラーゼ活性変化と比較検討した。

## 材料と方法

実験動物にはウィスター系雄ラット40匹を用いた。ラットは生後8週令、体重約220 gから260 gを、室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、人工照明下で午前8時から午後8時までを明、午後8時から翌朝午前8時までを暗とした条件で飼育した。

実験1では固形飼料（オリエンタルMF）を自由に摂食させ、飼育開始2週間後、体重約300 gから340 gにて、これらのラットを2群に分け、1群には24時間絶食、他の1群は24時間絶食後に1時間の自由摂食させた。

実験2では摂食刺激を実験1よりさらに強める目的で、生後8週令より給餌を午前10時から

午後2時までの4時間のみに制限する周期的制限給餌を2週間行った。体重約250 gから290 gにて、これらのラットも2群に分け、摂食前を対照群とし、他の1群は4時間の自由摂食をさせた。

ラットは頸椎脱臼後、頸動脈を切断し、採血した。血液は遠心分離し、血漿をアミラーゼ測定に供した。エブネル腺、耳下腺、顎下腺、舌下腺および腭臓はすばやく摘出した後、重量を測定した。特に、舌からのエブネル腺の分離は実体顕微鏡下で行い、この際、後方の粘液腺や糸状乳頭を剥離し、平均重量約200mgの筋層の一部を含むエブネル腺をすべて摘出しアミラーゼ測定に供した。なお予備実験において、舌の種々の部位におけるアミラーゼ活性を測定し、エブネル腺以外の部位のアミラーゼ活性は極めて低いことを確認した。これらの組織はアミラーゼ活性の測定までフリーザーに保存し、測定時、0.02M磷酸緩衝液(pH7.0)中でガラスホモジナイザーまたはテフロンホモジナイザーによりホモジナイズした。ホモジネートを $4^\circ\text{C}$ 、2,000 g、20分間遠心分離し、その上清についてCeskaら<sup>9)</sup>のBlue Starch法（Neo-Amylase Test, 第一化学薬品）によりアミラーゼ活性を測定した。また血漿についても同様に測定した。

組織標本はウィスター系雄ラット10週令2匹を24時間絶食後、頸椎脱臼、頸動脈切断し、舌を離断、ブアン液にて固定(室温, 24 h)、脱水後、6  $\mu\text{m}$ のパラフィン包埋切片を作成し、Hematoxylin-eosin染色を行った。

実験結果の統計学的有意差検定にはStudent t-testを用いた。

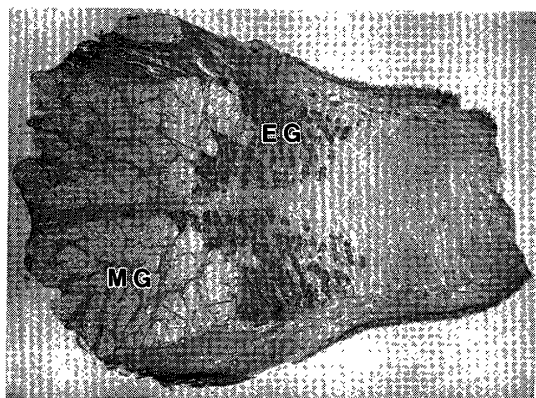


Fig.1 Horizontal section of posterior one third of a tongue. EG: von Ebner's glands, MG: mucous glands. (X6)

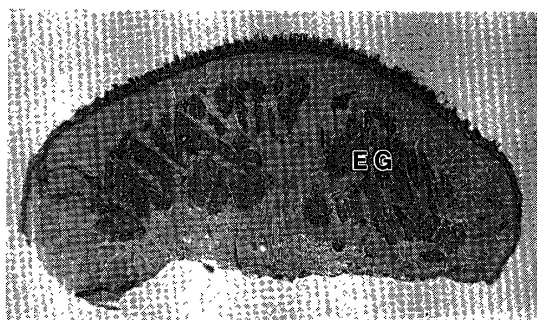


Fig.2 Frontal section through the foliate papillae of a tongue. EG: von Ebner's glands. (X10)

### 結果と考察

Fig. 1 は舌後方1/3での水平断面の光顕像である。粘液腺およびエブネル腺が認められる。アミラーゼ測定用の試料は粘液腺を含まないように摘出した。

Fig. 2 は葉状乳頭部の舌の前頭断像である。エブネル腺は舌筋の筋束間に存在している。糸状乳頭を剝離し、浅層の舌筋の一部をも含めて全て摘出し試料とした。

Fig. 3 は実験 1 および実験 2 における 8 週令より 10 週令までの体重と摂食量の変化を示す。実験 2 の周期的制限給餌ラットの摂食量は実験 1 の通常摂食下のラットに比較して初期に摂食時間の変化により減少した。これに伴い体重も減少したが、その後の摂食量の増加に伴い体重も徐々に回復した。10 週令の摂食量は実験 1 において 24 時間で約 23 g, 実験 2 では 4 時間

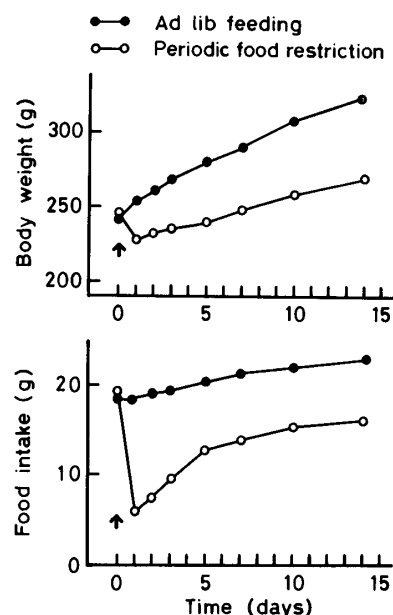


Fig.3 Body weight and food intake in rats fed ad libitum (n=20) and for 4 hr per day for 2 weeks (n=20). Arrows show the start of the periodic food restriction. Values are means.

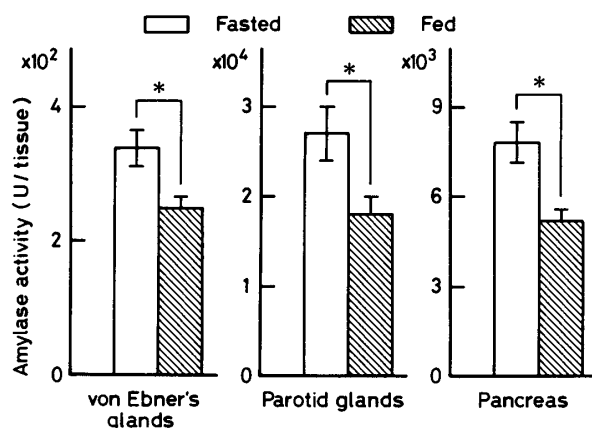


Fig.4 Amylase activity in von Ebner's glands, parotid glands and the pancreas before and after 1 hr of feeding after overnight fasting in rats fed ad libitum for 2 weeks. Values are means  $\pm$  SE. \* P < 0.05.

で約 17 g であった。

Fig. 4 は実験 1 における摂食前および 1 時間摂食後のエブネル腺、耳下腺および膵臓のアミラーゼ活性変化を示す。摂食前のエブネル腺アミラーゼ活性は約 340 U であり、耳下腺アミラーゼ活性の約 1.25% 存在していた。1 時間の摂食により約 4 g のペレットを摂食した結果、

Kurahashiら<sup>10)</sup>の報告と同様に耳下腺アミラーゼ活性は66%に、また膵アミラーゼ活性も67%に有意に減少した。エブネル腺アミラーゼ活性もまた摂食前の76%に有意に減少した。この結果は摂食刺激により、耳下腺アミラーゼと同様に<sup>11,12)</sup>エブネル腺アミラーゼも口腔内に分泌されることを示唆する。

Kurahashiら<sup>13)</sup>は摂食後の胃内容物中における還元糖の生成度合を測定し、耳下腺導管結紮を行ったラットにおいてもデンプンが消化されることを報告している。おそらくこのように耳下腺機能が低下した場合において、エブネル腺アミラーゼがデンプン消化に関与しているものと考えられる。

Fig. 5 は実験 1 における摂食前および 1 時間摂食後の血漿、顎下腺および舌下腺アミラーゼ活性の変化を示す。摂食前の血漿、顎下腺および舌下腺アミラーゼ活性はいずれもエブネル腺のアミラーゼ活性より著しく低かった。絶食時の血漿アミラーゼについてProctorら<sup>14)</sup>は耳下腺切除ラットにおいても活性が変化しないことから、耳下腺型のアイソザイムを示す肝アミラーゼであると報告しているが、Ikenoら<sup>15)</sup>はD-galactosamine投与で急性肝炎を発症させた実験などから、肝アミラーゼが血漿アミラーゼに関与する可能性は少ないことを報告している。我々が予備実験で行ったポリアクリルアミドゲル電気泳動で、エブネル腺アミラーゼのアイソザイムは耳下腺や肝と同様の耳下腺型を示したことから、また、エブネル腺には肝臓に比較して多量のアミラーゼ活性が存在することから、絶食時および摂食後の血漿アミラーゼ活性にエブネル腺由来のアミラーゼが関与しているか否か大変興味深い。

摂食後血漿アミラーゼ活性は摂食前の約2.7倍に増加したが、この結果はProctorら<sup>16)</sup>の報告と一致した。耳下腺切除を行ったラットにおいて、摂食後<sup>14)</sup>やピロカルピン投与後<sup>17)</sup>の血漿ア

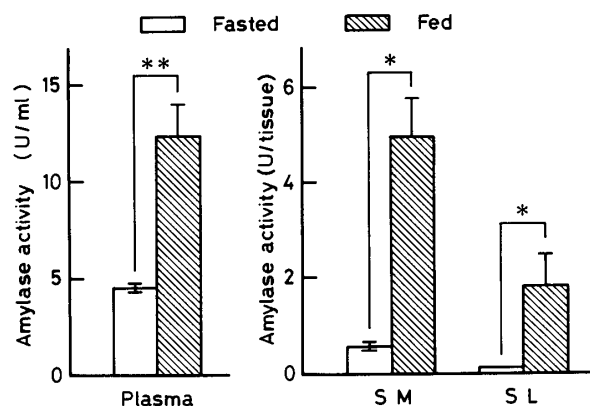


Fig.5 Amylase activity in plasma, submandibular (SM) and sublingual glands (SL) before and after 1 hr of feeding after overnight fasting in rats fed ad libitum for 2 weeks. Values are means  $\pm$  SE. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

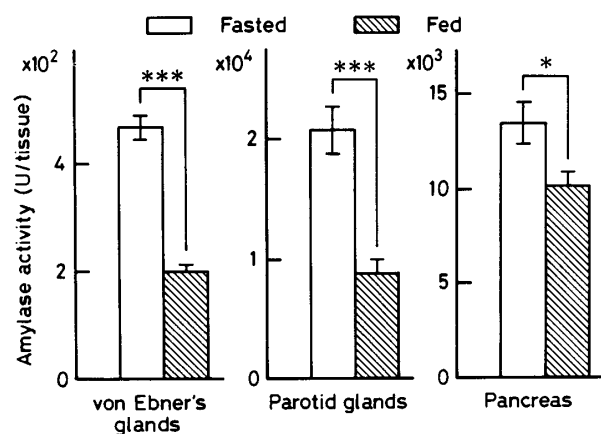


Fig.6 Amylase activity in von Ebner's glands, parotid glands and pancreas before and after 4 hr of feeding in rats fed 4 hr per day for 2 weeks. Values are means  $\pm$  SE. \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

ミラーゼ活性の増加が対照群に比較してわずかなことから、摂食刺激により耳下腺アミラーゼが血漿中に移行したものと考えられる。

顎下腺および舌下腺組織中のアミラーゼ活性は摂食後それぞれ摂食前の約9倍および20倍に増加し、エブネル腺とは異なったパターンを示した。これら組織中のアミラーゼ活性の増加は血漿アミラーゼが顎下腺および舌下腺組織に取り込まれたものと解釈されている<sup>17)-19)</sup>。

Fig. 6 は 4 時間の周期的制限給餌を行った実験 2 における摂食前および 4 時間摂食後のエブネル腺、耳下腺および膵臓のアミラーゼ活性

変化を示す。摂食後のエブネル腺アミラーゼ活性は摂食前の44%、耳下腺アミラーゼ活性は42%に有意に減少した。また、膵アミラーゼ活性も75%に減少した。しかしながら、この膵アミラーゼ活性の減少率はエブネル腺および耳下腺アミラーゼ活性に比較してわずかであった。短時間で多量に摂食した場合において、摂食量が多くなったほど胃内容物の小腸への排出速度は大きく増加せず、膵アミラーゼ分泌を刺激しなかったと考えられる。

実験2で見られたエブネル腺アミラーゼ活性の減少は実験1の減少よりも明らかに大きなものであった。これは実験1の1時間摂食量の約4gと比較して、実験2では4時間摂食量が約17gと非常に多かったことにより、摂食量の増加がより強い神経刺激となり、多量のエブネル腺アミラーゼ分泌が生じたと考えられる。さらに、実験1および実験2のいずれの場合においても、エブネル腺アミラーゼ活性の減少率と耳下腺アミラーゼ活性の減少率がほぼ一致したことは、エブネル腺と耳下腺アミラーゼ分泌の生理的な摂食刺激に対する類似の応答性を示唆する。

Takeda<sup>20)</sup>は組織学的な研究により、耳下腺の腺房細胞に分布する神経終末の約70%がアドレナリン作動性であるのに対し、エブネル腺の腺房細胞に分布する神経終末はすべてコリン作動性であることを報告している。また、Fieldら<sup>21)</sup>はin vitroおよびin vivoの実験から、耳下腺のアミラーゼ分泌とは異なり、アドレナリン作動薬よりコリン作動薬がエブネル腺組織中のアミラーゼ活性をより減少させることを報告している。さらに、Gurkanら<sup>22)</sup>はエブネル腺の電気刺激実験を行い、交感神経よりも副交感神経への刺激でエブネル腺腺房細胞の分泌顆粒の減少がより大きいことを報告している。これらのことから、摂食刺激によるエブネル腺アミラーゼ分泌においては、副交感神経性の刺激がより大

きく作用しているものと思われる。

## 総 括

2週間の通常飼育下のラットを24時間絶食させた後、1時間の自由摂食させ、この摂食前後、および2週間の周期的制限給餌を行ったラットにおける4時間の摂食前後のエブネル腺アミラーゼ活性の変化を耳下腺、顎下腺、舌下腺、膵および血漿のアミラーゼ活性の変化と比較検討し、以下の結果を得た。

摂食前のエブネル腺アミラーゼ活性は耳下腺アミラーゼ活性の約1.25%存在し、顎下腺および舌下腺のアミラーゼ活性より著しく高かった。

摂食により顎下腺、舌下腺、および血漿のアミラーゼ活性は上昇したが、エブネル腺、耳下腺および膵臓のアミラーゼ活性は低下した。エブネル腺アミラーゼ活性の減少は耳下腺の減少と非常によく類似し、1時間の自由摂食に比べ、4時間の周期的制限給餌による摂食量の増加でより大きく減少した。

これらの結果は、エブネル腺アミラーゼが生理的な摂食刺激の大きさに応答し、有郭乳頭や葉状乳頭の溝に開口する導管を経て口腔内に分泌されることを示唆する。

## 文 献

1. Hand, A. R.: The fine structure of von Ebner's gland of the rat. *J. Cell Biol.*, 44: 340-353, 1970.
2. Schmale, H., Holtgreve-Grez, H. and Christiansen, H.: Possible role for salivary gland protein in taste reception indicated by homology to lipophilic-ligand carrier proteins. *Nature.*, 343: 366-369, 1990.
3. Gurkan, S. and Bradley, R. M.: Secretion of von Ebner's glands influence responses from taste buds in rat circumvallate papilla. *Chem. Senses.*, 13: 655-661, 1988.
4. Tremblay, G. and Charest, J.: Modified starch film method for the histochemical localization of

- amylase activity. *J. Histochem. Cytochem.*, 16 : 147-148, 1968.
5. Hamosh, M.: Rat lingual lipase: factors affecting enzyme activity and secretion. *Am. J. Physiol.*, 235 : E416-421, 1978.
  6. Field, R. B., Spielman, A. I. and Hand, A. R.: Purification of lingual amylase from serous glands of rat tongue and characterization of rat lingual amylase and lingual lipase. *J. Dent. Res.*, 68 : 139-145, 1989.
  7. Garrett, J. R.: The proper role of nerves in salivary secretion: A review. *J. Dent. Res.*, 66 : 387-397, 1987.
  8. Field, R. B., Dromy, R. and Hand, A. R.: Regulation of secretion of enzymes from von Ebner's gland of rat tongue. *J. Dent. Res.*, 66 : 586-587, 1987.
  9. Ceska, M., Birath, K. and Brown, B.: A new and rapid method for the clinical determination of  $\alpha$ -amylase activities in human serum and urine. Optical conditions. *Clin. Chim. Acta.*, 26 : 437-444, 1969.
  10. Kurahashi, M. and Inomata, K.: Amylase secretion by parotid glands and pancreas of diabetic rats during feeding. *Am. J. Physiol.*, 254 : G878-882, 1988.
  11. Speirs, R. L. and Hodgson, C.: Control of amylase secretion in the rat parotid gland during feeding. *Archs. oral Biol.*, 21 : 539-544, 1976.
  12. Hector, M. P. and Tripathi, P.: The effect of the chewing side on parotid amylase secretion in conscious rabbits. *Archs. oral Biol.*, 35 : 71-73, 1990.
  13. Kurahashi, M. and Inomata, K.: Role of parotid amylase in starch digestion in the gastrointestinal tracts of diabetic rats. *J. Dent. Res.*, 68 : 1366-1369, 1989.
  14. Proctor, G. B., Asking, B. and Garrett, J. R.: Serum amylase of non-parotid and non-pancreatic origin increases on feeding in rats and may originate from the liver. *Archs. oral Biol.*, 98b : 631-635, 1991.
  15. Ikeno, K. and Ikeno, T.: Effects of prolonged parotid duct ligation, parotidectomy and acute hepatitis of rats on amylase activity. *Archs. oral Biol.*, 36 : 183-188, 1991.
  16. Proctor, G. B., Asking, B. and Garrett, J. R.: Effects of secretory nerve stimulation on the movement of rat parotid amylase into the circulation. *Archs. oral Biol.*, 34 : 609-613, 1989.
  17. Ikeno, T., Hashimoto, S. and Kuzuya, H.: Amylase released from the parotid gland by pilocarpine elevates the enzyme activity in the submandibular and sublingual glands of rats. *Experientia.*, 38 : 251-252, 1982.
  18. Ikeno, T., Nasu, J., Hashimoto, S. and Kuzuya, H.: Mechanisms of increase in amylase activity in rat submandibular and sublingual glands after administration of pilocarpine. *Archs. oral Biol.*, 27 : 597-601, 1982.
  19. Ikeno, T., Ikeno, K. and Uno, T.: Relationship between serum-amylase activity and intraductal pressures in the rat parotid and submandibular salivary glands after administration of pilocarpine or isoprenaline. *Archs. oral Biol.*, 33 : 403-406, 1988.
  20. Takeda, M.: Electron microscopy of the adrenergic and cholinergic nerve terminals in the mouse salivary glands. *Archs. oral Biol.*, 23 : 857-864, 1978.
  21. Field, R. B. and Hand, A. R.: Secretion of lingual lipase and amylase from rat lingual serous glands. *Am. J. Physiol.*, 253 : G217-225, 1987.
  22. Gurkan, S. and Bradley, R. M.: Effects of electrical stimulation of autonomic nervous system on degranulation of von Ebner's gland acini. *Brain Research.*, 473 : 127-133, 1988.