

〔原 著〕

## エブネル腺アミラーゼ分泌における自律神経性調節に関する研究

星 和 明

北海道医療大学歯学部口腔生理学講座

(指導：猪股孝四郎教授)

(指導：倉橋昌司教授)

(指導：武田正子教授)

## Autonomic Regulation of Amylase Secretion from Von Ebner's Glands in Rats.

Masaaki HOSHI

Department of Oral Physiology, School of Dentistry,

HEALTH SCIENCES UNIVERSITY OF HOKKAIDO

(Director : Prof. Koshiro INOMATA)

(Director : Prof. Masashi KURAHASHI)

(Director : Prof. Masako TAKEDA)

### Abstract

To evaluate the role of autonomic regulation of von Ebner's glands, the effects of autonomic agents on the amylase activity and on the amylase secretion of von Ebner's glands, and the effects of autonomic blocking agents on the amylase activity of von Ebner's glands after feeding were compared with the effects on the parotid glands and pancreas in the same rats.

By the administration of the  $\beta$ -adrenergic agonist, isoproterenol, the amylase activity greatly decreased in parotid glands, while it decreased slightly in von Ebner's glands and pancreas. The administration of the muscarinic cholinergic agonist, pilocarpine did not change the amylase activity in parotid glands, while it greatly decreased the amylase activity in both von Ebner's gland and pancreas.

Under anesthesia with sodium pentobarbital, von Ebner's glands constantly secreted saliva during resting, and both the salivary flow rate and amylase secretion of von

---

受付：平成6年3月31日

本論文は東日本学園大学審査学位論文であり、本研究の一部は、第34回ならびに第35回歯科基礎医学会総会（1992年10月，1993年10月），および第72回ならびに第73回北海道医学大会生理系分科会（1992年9月，1993年9月）において発表した。また、本研究の一部は、平成3年度本学特別研究補助金ならびに平成4年度文部省科学研究費補助金（奨励研究A04771459）により行った。

Ebner's gland by pilocarpine administration were larger than those by isoproterenol administration.

The reduction in the amylase activity of parotid glands after feeding was reversed by prior administration of the  $\beta$ -adrenergic antagonist, propranolol. However, propranolol administration did not change the effect of feeding on amylase activity in von Ebner's glands and pancreas. Prior administration of the muscarinic cholinergic antagonist, atropine did not affect the reduction of amylase activity in parotid glands after 1 hr feeding, while it completely inhibited the effect of feeding on the amylase activity in both von Ebner's gland and pancreas. In morphologic observation, feeding reduced the secretory granules in the acini of von Ebner's glands, and the reduction of granules was blocked by prior administration of atropine, and not by propranolol. The change in number of secretory granules was similar to the change in the amylase activity.

These results suggest that the amylase secretion from von Ebner's glands during feeding was mainly regulated by a muscarinic cholinergic rather than a  $\beta$ -adrenergic mechanism, and that von Ebner's glands secrete saliva into the groove of the circumvallate and foliate papillae.

**Key words :** Von Ebner's glands, Parotid glands, Pancreas, Amylase, Autonomic nervous system.

## 緒 言

口腔内に広く分布している小唾液腺の中で、舌の筋線維層および固有層に存在するエブネル腺は耳下腺と同様に、その腺房細胞は漿液性細胞のみから構成されており、その分泌導管は舌乳頭の中で最大である有郭乳頭と舌後方外側縁部に存在している葉状乳頭の溝に開口する<sup>1),2),3)</sup>。GurkanとBradley<sup>4)</sup>はラットの有郭乳頭に種々の味覚刺激とエブネル腺への遠心性電気刺激を行い、舌咽神経の求心性応答を記録した結果から味覚の発言にエブネル腺唾液が関与している事を示唆している。またエブネル腺唾液には疎水性物質を味細胞表面まで運ぶ分子量18,000の蛋白質<sup>5)</sup>や苦味感受性の機能に関与する高プロリン蛋白質などが含まれ、エブネル腺導管開口部の近傍に在る味蕾による味覚発言と重要な関係があることが示唆されている<sup>6)</sup>。さ

らにエブネル腺唾液にはペルオキシターゼ<sup>7)</sup>、エステラーゼ<sup>8)</sup>、リパーゼ<sup>9)</sup>、アミラーゼ<sup>10),11)</sup>、などが含まれており、リパーゼは膵臓の機能が不十分な新生児の脂肪消化に重要な役割を果しうることが知られている<sup>12)</sup>。最近、我々は生理的な摂食刺激によって顎下腺や舌下腺とは異なり、耳下腺や膵と同様に、エブネル腺組織中のアミラーゼ総活性が減少することを明らかにした<sup>13)</sup>。KurahashiとInomata<sup>14)</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なったラットにおいてもかなりのデンプンが消化されることを報告しているが、耳下腺機能が低下した場合においては、エブネル腺アミラーゼが口腔および胃内におけるデンプン消化において生理的な役割を果たしていることが考えられる。

エブネル腺からのアミラーゼ分泌の調節機序については、FieldとHand<sup>15)</sup>がin vivoにおける

$\alpha$ および $\beta$ アドレナリン作動薬やコリン作動薬投与実験, またin vitroの組織片を用いた薬物実験から, コリン作動性神経による分泌調節が重要であると述べている。GurkanとBradley<sup>16),17)</sup>はin vivoの薬物投与や自律神経の電気刺激によるエブネル腺の分泌顆粒の変化から, 副交感神経の重要性を示唆している。

しかしながら, エブネル腺唾液中のアミラーゼ活性を直接検討した研究や摂食などの生理的刺激によるエブネル腺アミラーゼ分泌における自律神経系の役割を検討した報告は見られない。

そこで本研究はラットにおける自律神経作動薬投与によるエブネル腺組織中のアミラーゼ総活性およびエブネル腺唾液中のアミラーゼ活性の変化, 摂食によるエブネル腺アミラーゼ分泌に対する自律神経遮断薬投与の効果を同一個体, 同一条件の耳下腺および膵アミラーゼ分泌における場合と比較検討することにより, in vivoにおけるエブネル腺唾液アミラーゼ分泌の自律神経性調節機序を明らかにすることを目的とした。

## 実験材料および方法

### 1. 実験動物

実験動物にはウィスター系ST雄ラット150匹を用いた。ラットは固形飼料(オリエンタルMF)を自由に摂食および飲水させ, 室温23±2°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下で飼育した。

### 2. 薬物投与量の決定法

実験1および2の薬物投与において, ピロカルピンは副交感神経性受容体刺激作用に加えて, 上頸神経節を介しての交感神経刺激作用があるため<sup>18)</sup>, コリン作動薬としてはピロカルピンと $\beta$ アドレナリン遮断薬プロプラノロールの組み合わせを用い, その投与量は摂食刺激による

膵組織中のアミラーゼ総活性の減少の程度を参考にした。 $\beta$ アドレナリン作動薬としてはイソプロテレノールを用い, その投与量は摂食刺激による耳下腺組織中のアミラーゼ総活性の減少の程度を参考にした<sup>13)</sup>。また実験3におけるコリン遮断薬としてアトロピン,  $\beta$ アドレナリン遮断薬としてプロプラノロールを用い, その投与量は実験1を参考にして決定した。本実験で用いた自律神経作動薬の投与量は従来の報告とほぼ類似していた<sup>19),20)</sup>。

### 3. 実験方法

#### 1) 無麻酔動物における薬物投与および組織採取法

実験1では10週令のラットを24時間絶食後, 体重約270gから310gとなったものを5群に分け, 第1群は対照群として生理食塩水1 ml/kgを, 第2群はイソプロテレノール1 mg/kgを, 第3群はプロプラノロール5 mg/kgと10分後にイソプロテレノール1 mg/kgを, 第4群はピロカルピン30mg/kgとプロプラノロール5 mg/kgを, 第5群はアトロピン1.25mg/kgと10分後にピロカルピン30mg/kgとプロプラノロール5 mg/kgを, それぞれ腹腔内投与した。薬物投与1時間後, これらのラットを頸椎脱臼脱血後, 速やかにエブネル腺, 耳下腺, および膵臓を摘出し, 組織重量を測定した。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た。

#### 2) 麻酔動物における薬物投与および唾液採取法

実験2では10週令のラットを24時間絶食後, 体重約270gから310gとなったものを用い, これらのラットをペントバルビタールナトリウム(Nembutal sodium solution, Abbott laboratories) 50mg/kgを腹腔内投与にて麻酔を

した後、仰臥位に固定した。呼吸を確保するために気管カニューレを挿入し、頸部の左右の顎下腺および舌下腺導管を切断し両唾液腺からの唾液を口腔外に排出させた。左右の耳下腺導管を眼窩下部で露出させ、耳下腺導管に微小ポリエチレン管 (Clay Adams : PE10) を挿入し、流出する唾液を水中のスπιツ管に採取した。ラットのエブネル腺排泄導管は1個の有郭乳頭と有郭乳頭よりやや前方の両外側の葉状乳頭に開口するが、葉状乳頭からの唾液採取はその存在部位により非常に困難な為、エブネル腺唾液はペーパーディスク ( $\phi 6\text{mm}$ , Advantec Toyo) にて有郭乳頭より採取した。このようにして安静時唾液を10分間採取した後、ラットを3群に分け、第1群は対照群として生理食塩水 1 ml/kg を、第2群はイソプロテレノール 1 mg/kg を、第3群はピロカルピン 30 mg/kg とプロプラノロール 5 mg/kg をそれぞれ腹腔内投与し、その後10分毎に、1時間にわたって経時的に耳下腺およびエブネル腺唾液の採取を行った。採取終了直後にこれらのラットを頸椎脱臼脱血後、エブネル腺および耳下腺を摘出し、組織重量を測定後、アミラーゼ活性の測定までフリーザーに保存した。また採取した耳下腺およびエブネル腺唾液は重量を測定後、速やかに0.02M 磷酸緩衝液 (pH 7.0) で希釈または溶出し、アミラーゼ活性測定に供した。唾液分泌量は比重を1として唾液重量より算出した。

### 3) 摂食実験法

実験3では摂食実験中、一定の摂食量を確保するために、ラットは8週令より2週間、給餌を毎日午前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行い、体重約220gから270gとなったものを実験に供した。これらのラットを5群に分け、第1群は絶食群、他の4群は生理食塩水 1 ml/kg、プロプラノロール 5 mg/kg、アトロピン 0.75 mg/kg および 0.4 mg/kg をそれぞれ腹腔内投与後、自由摂食させた。絶食

状態および摂食開始1時間後、これらのラットを頸椎脱臼脱血後、エブネル腺、耳下腺、および膵臓を摘出し、組織重量を測定後、アミラーゼ活性の測定までフリーザーに保存した。

### 4. 組織および唾液アミラーゼ活性の測定法

摘出保存したエブネル腺、耳下腺および膵臓の各組織は0.02M 磷酸緩衝液 (pH 7.0) 中でポリトロンにて30秒間、ホモジナイズを行い、ホモジネートは4°C、2,000g、20分間遠心分離し、上清を採取し、唾液と同様に適宜希釈した後、そのアミラーゼ活性をCeskaら<sup>21)</sup>のBlue Starch法 (Neo-Amylase test, Daiichi Pure Chemical) により測定した。

### 5. 組織標本の作成法

舌におけるエブネル腺の局在部位を確認するため、ウイスター系ST雄ラット10週令5匹を24時間絶食後、頸椎脱臼脱血後、離断したものをブアン液にて固定、脱水後、6  $\mu\text{m}$  のパラフィン包埋切片を作成し、ヘマトキシリンエオシン染色を行った。

実験3におけるエブネル腺の組織学的な観察を行うため、実験3と同様の各群ラット計15匹は舌を離断後、1  $\mu\text{m}$  のエボン包埋切片を作成し、トルイジンブルー染色を行った。

### 6. 統計処理

実験結果は分散分析を行った後、Bonferroniの多重比較検定、Student t検定、Chchran t検定のいずれかで群間の有意差検定を行った。

## 結 果

### 1. 自律神経作動薬および遮断薬投与による組織中アミラーゼ総活性変化

エブネル腺は舌筋の筋束間や後方の粘液腺に近接して広く分布している。このため、舌からのエブネル腺の正確な分離は不可能である。そこでヘマトキシリンエオシン染色を行った舌組織標本を観察し、エブネル腺組織を確認した。また実体顕微鏡下で舌の種々なる部位を分離

し、それらのアミラーゼ活性を測定し、エブネル腺相当部以外の筋や粘液腺のアミラーゼ活性は極めて低いことを確認した後、実験では筋層の一部とすべてのエブネル腺 (Fig. 1 の点線内) を含む部分を摘出し、測定サンプルとした。



Fig.1. Horizontal section of the posterior one third of a tongue. The von Ebner's glands surrounded by dotted lines were dissected. EG: von Ebner's glands, MG: mucous glands.  $\times 6$ .

Fig. 2 は実験 1 における生理食塩水、イソプロテレンール、プロプラノロールとイソプロテレンールの各投与群の投与 1 時間後のエブネル腺、耳下腺および膵臓組織中のアミラーゼ総活性変化を示す。イソプロテレンール投与群の耳

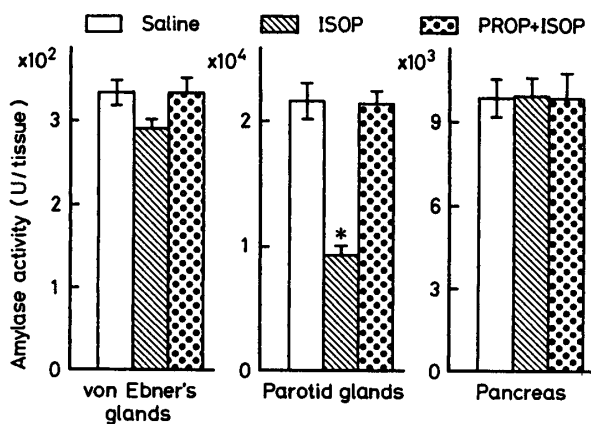


Fig. 2. Amylase activity in von Ebner's Glands, parotid glands and pancreas after administration of saline, or isoproterenol (ISOP), or propranolol and isoproterenol (PROP+ISOP). The amylase activity of von Ebner's glands did not change by the administration of isoproterenol. Values are means  $\pm$  S.E. \*  $P < 0.01$  vs Saline.

下腺組織中のアミラーゼ総活性は生理食塩水投与群に比較して有意に減少したが、エブネル腺組織中のアミラーゼ総活性の減少は僅かであった。また、イソプロテレンール投与により膵臓組織中のアミラーゼ総活性の減少は見られなかった。プロプラノロール前投与により、イソプロテレンール投与による耳下腺組織中のアミラーゼ総活性の減少は抑制された。

Fig. 3 は実験 1 における生理食塩水、ピロカルピンとプロプラノロール、アトロピンおよびピロカルピンとプロプラノロールの各投与群の投与 1 時間後のエブネル腺、耳下腺および膵臓組織中のアミラーゼ総活性変化を示す。ピロカルピンとプロプラノロール投与群の耳下腺組織中のアミラーゼ総活性は対照群との間に差はなかったが、エブネル腺組織中のアミラーゼ総活性および膵臓組織中のアミラーゼ総活性はともに有意に減少した。また、これらの減少はアトロピン前投与により完全に抑制された。

## 2. 自律神経作動薬投与による唾液中アミラーゼ活性変化

Fig. 4 は実験 2 におけるイソプロテレンー

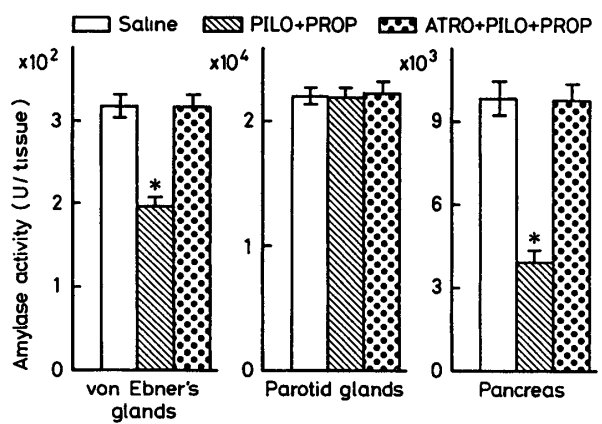


Fig. 3. Amylase activity in von Ebner's glands, parotid glands, and pancreas after administration of saline, or pilocarpine and propranolol (PILO+PROP), or atropine, pilocarpine and propranolol (ATRO+PILO+PROP). The amylase activity of von Ebner's glands was reduced by the administration of pilocarpine and propranolol. Values are means  $\pm$  S.E. \*  $P < 0.01$  vs Saline.

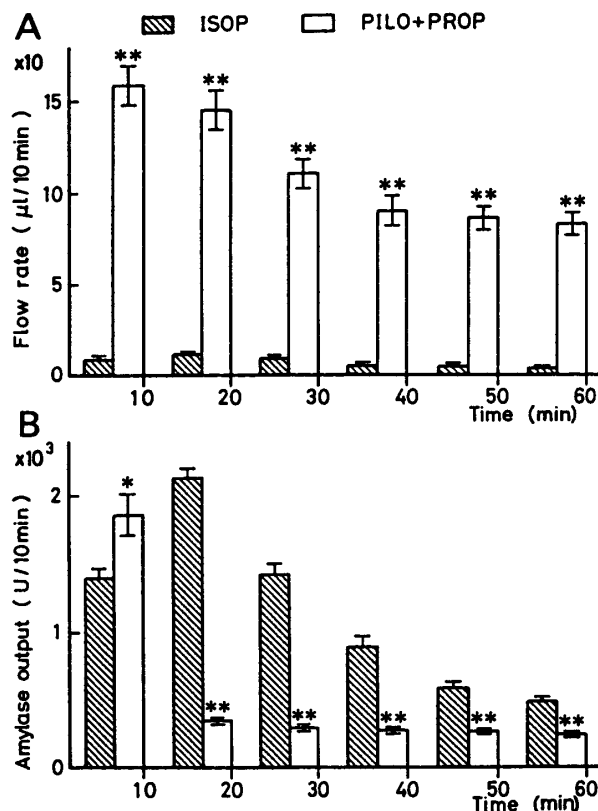


Fig.4. Changes in salivary flow rate (A) and amylase output (B) of parotid glands after administration of isoproterenol (ISOP), or pilocarpine and propranolol (PILO+PROP). The salivary flow rate of parotid glands increased by the administration of pilocarpine and propranolol, and the amylase output of parotid glands increased by the administration of isoproterenol. Values are means  $\pm$  S.E. \*  $P < 0.05$  vs isoproterenol. \*\*  $P < 0.01$  vs isoproterenol.

ル、ピロカルピンとプロプラノロールの各投与群の1時間にわたる耳下腺唾液分泌量とアミラーゼ分泌量の10分毎の経時的変化を示す。生理食塩水投与群においては、実験中に耳下腺唾液分泌は全く見られなかった。また、耳下腺唾液分泌量は作動薬投与後60分間のいずれの時期もピロカルピンとプロプラノロール投与群がイソプロテレンール投与群に比較し著明に高く、ピロカルピンとプロプラノロールおよびイソプロテレンール投与群の60分間耳下腺唾液分泌量はそれぞれ  $670 \pm 35$ ,  $38 \pm 2 \mu\text{l}$  (平均  $\pm$  標準誤差) であり、両群の間では著明な差が認められた ( $P < 0.001$ )。

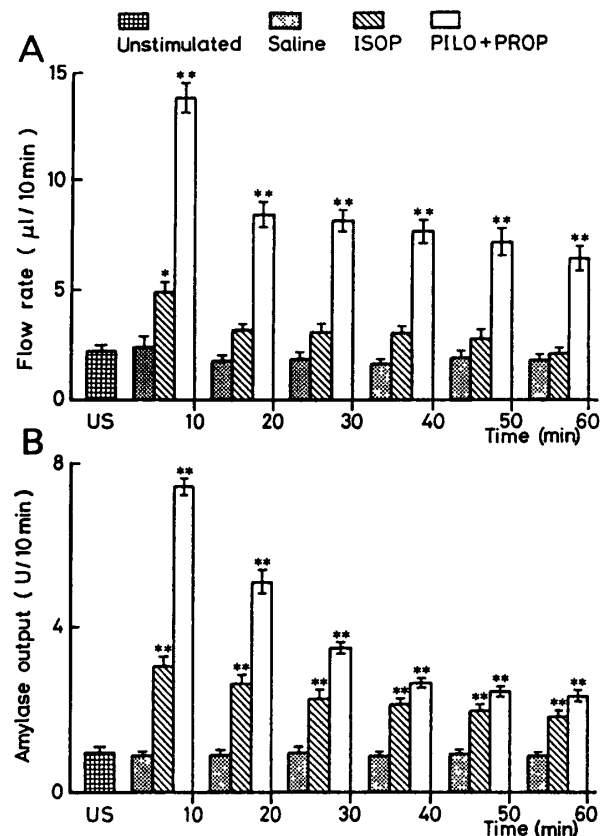


Fig.5. Changes in salivary flow rate (A) and amylase output (B) of von Ebner's glands after administration of saline, or isoproterenol (ISOP), or pilocarpine and propranolol (PILO+PROP). Both the salivary flow rate and amylase output of von Ebner's glands increased by the administration of pilocarpine and propranolol. Values are means  $\pm$  S.E. \*  $P < 0.05$  vs saline. \*\*  $P < 0.01$  vs saline.

ピロカルピンとプロプラノロール投与群における耳下腺アミラーゼ分泌量は投与後10分までは高値を示したが、その後いずれの時期もイソプロテレンール投与群の値を下まわった。その結果ピロカルピンとプロプラノロール投与群およびイソプロテレンール投与群の60分間の耳下腺アミラーゼ総分泌量はそれぞれ  $3240 \pm 190$  および  $6860 \pm 130\text{U}$  (平均  $\pm$  標準誤差) であり、両群の間には有意差が認められた ( $P < 0.001$ )。また、1時間後の耳下腺組織中のアミラーゼ総活性は生理食塩水投与群 ( $21100 \pm 780\text{U}$ , 平均  $\pm$  標準誤差) に比較して、その減少の程度はイソプロテレンール投与群 ( $11100 \pm 490\text{U}$ , 平均  $\pm$  標準

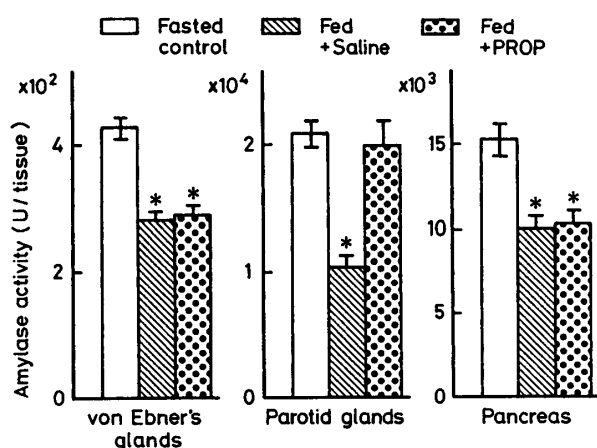


Fig. 6. Effect of propranolol on amylase activity in von Ebner's glands, parotid glands, and pancreas after 1 hr of feeding. The propranolol administration did not affect the decrease in amylase activity of von Ebner's glands induced by feeding. Values are means  $\pm$  S.E. \*  $P < 0.01$  vs Fasted control.

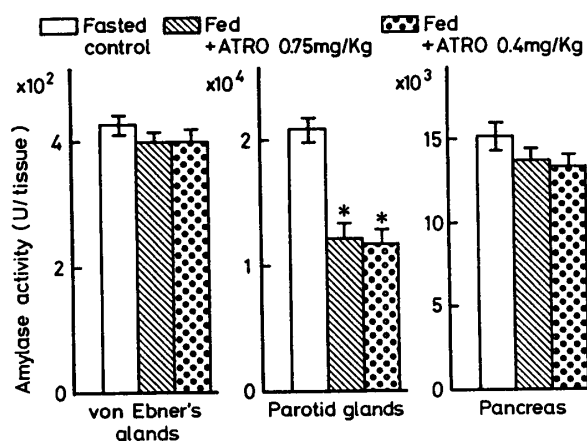


Fig. 7. Effect of atropine on amylase activity in von Ebner's glands, parotid glands, and pancreas after 1 hr of feeding. The atropine administration inhibited the decrease in amylase activity of von Ebner's glands induced by feeding. Values are means  $\pm$  S.E. \*  $P < 0.01$  vs Fasted control.

誤差)においてピロカルピンとプロプラノロール投与群 ( $18100 \pm 820U$ , 平均  $\pm$  標準誤差) より有意に大きかった ( $P < 0.01$ )。

Fig. 5 は実験 2 における生理食塩水, イソプロテレノール, ピロカルピンとプロプラノロールの各投与群の 1 時間にわたるエブネル腺唾液分泌量とアミラーゼ分泌量の 10 分毎の経時的変化を示す。生理食塩水投与群における実験中のエブネル腺唾液分泌量は  $0.2 \pm 0.03 \mu\text{l}/\text{min}$  (平均  $\pm$  標準誤差) であった。イソプロテレノール投与群のエブネル腺唾液分泌量は 60 分間のいずれの時期も生理食塩水投与群との間に差はなかったが, ピロカルピンとプロプラノロール投与群のエブネル腺唾液分泌量は生理食塩水投与群に比較して著明に増加した。その結果, ピロカルピンとプロプラノロールおよびイソプロテレノール投与群の 60 分間エブネル腺唾液分泌量はそれぞれ  $52 \pm 1.7$ ,  $18 \pm 1.5 \mu\text{l}$  (平均  $\pm$  標準誤差) であり, 両者の間には有意差が認められた ( $P < 0.01$ )。

いずれの薬物投与群におけるエブネル腺のアミラーゼ分泌量は生理食塩水投与群に比較して, 60 分間のどの時期においても増加したが,

イソプロテレノール投与群よりピロカルピンとプロプラノロール投与群の方が有意に多かった。また, 60 分間のエブネル腺総アミラーゼ分泌量もイソプロテレノール投与群 ( $14 \pm 0.7U$ , 平均  $\pm$  標準誤差) よりピロカルピンとプロプラノロール投与群 ( $23 \pm 0.6U$ , 平均  $\pm$  標準誤差) の方が有意に大きかった ( $P < 0.01$ )。1 時間後のエブネル腺組織中のアミラーゼ総活性は生理食塩水投与群 ( $340 \pm 13U$ , 平均  $\pm$  標準誤差) に比較して, その減少の程度はピロカルピンとプロプラノロール投与群 ( $235 \pm 8U$ , 平均  $\pm$  標準誤差) においてイソプロテレノール投与群 ( $305 \pm 16U$ , 平均  $\pm$  標準誤差) より有意に大きかった ( $P < 0.01$ )。

### 3. 自律神経遮断薬投与後の摂食による組織中のアミラーゼ総活性およびエブネル腺腺房細胞の分泌顆粒の変化

Fig. 6 は実験 3 における絶食群と, 生理食塩水およびプロプラノロール前投与後 1 時間摂食群におけるエブネル腺, 耳下腺および膵臓組織中のアミラーゼ総活性変化を示す。生理食塩水前投与群の 1 時間摂食量は  $9.6 \pm 0.6g$  (平均  $\pm$  標準誤差), またプロプラノロール前投与群の摂

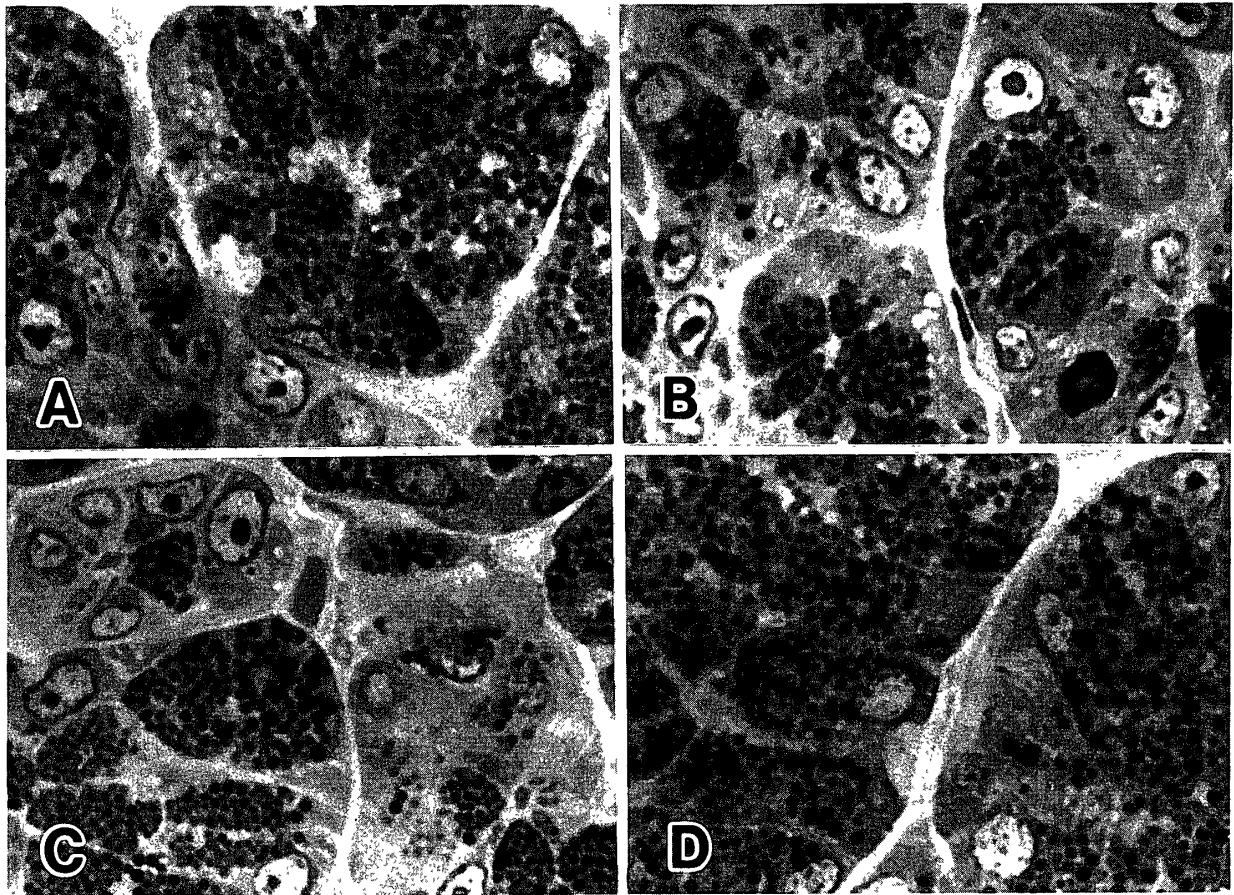


Fig. 8. Light micrographs of acinar cells of von Ebner's glands. A, fasting; B, 1 hr feeding after saline administration; C, 1 hr feeding after propranolol administration; D, 1 hr feeding after atropine administration (0.75mg/Kg). The atropine administration blocked the reduction of secretory granules in von Ebner's glands induced by feeding.  $\times 1250$ .

食量は $8.8 \pm 0.6$ g (平均 $\pm$ 標準誤差)と両群の間に有意差はなかった。絶食群と比較して生理食塩水前投与群はエブネル腺、耳下腺および膵臓組織中のアミラーゼ総活性はいずれも有意に減少した。摂食による耳下腺組織中のアミラーゼ総活性の減少はプロプラノロール前投与によりほぼ完全に抑制された。一方、摂食によるエブネル腺および膵臓組織中のアミラーゼ総活性の減少に対して、プロプラノロール前投与の効果はなく、生理食塩水前投与摂食群とほぼ同様に減少した。

Fig. 7は実験3における絶食群と、アトロピン0.75mg/kgおよび0.4mg/kg前投与後1時間摂食群におけるエブネル腺、耳下腺および膵臓組織中のアミラーゼ総活性変化を示す。1時間摂

食量はアトロピン0.75mg/kg前投与群では $3.3 \pm 0.5$ g (平均 $\pm$ 標準誤差)、アトロピン0.4mg/kg前投与群で $3.9 \pm 0.5$ g (平均 $\pm$ 標準誤差)であった。耳下腺組織中のアミラーゼ総活性はいずれのアトロピン前投与の場合も摂食により有意に減少した。一方、摂食によるエブネル腺組織中のアミラーゼ総活性の低下は膵臓組織中のアミラーゼ総活性と同様に、アトロピン前投与によりほぼ完全に抑制された。

Fig. 8は実験3における絶食群と、生理食塩水、プロプラノロール前投与およびアトロピン0.75mg/kg前投与後1時間摂食群におけるエブネル腺組織の光学顕微鏡像を示す。絶食群の腺房細胞内には多数の分泌顆粒が存在しているが、生理食塩水前投与摂食群は絶食群と比較し



て分泌顆粒の減少が観察された。プロプラノロール前投与摂食群は生理食塩水前投与摂食群とほぼ同様に分泌顆粒が減少していたが、アトロピン0.75mg/kg前投与摂食群は絶食群と同様に細胞内に分泌顆粒が満たされているのが観察された。

## 考 察

本研究はin vivoにおけるラットのエブネル腺アミラーゼ分泌の自律神経性調節機序を明らかにすることを目的として行われた。

エブネル腺唾液は安静時に微量ながら常に分泌されており、それは唾液中のアミラーゼ活性からも確認された。また、コリン作動薬ピロカルピンおよびプロプラノロールと $\beta$ アドレナリン作動薬イソプロテレノール投与のいずれの刺激の場合も、有郭乳頭よりの1時間の総アミラーゼ分泌量はエブネル腺組織中アミラーゼ総活性の減少量の約30%であり、ペーパーディスクにより有郭乳頭から採取したエブネル腺唾液は全エブネル腺唾液の少なくとも3分の1以上であることが推察された。

$\beta$ アドレナリン作動薬イソプロテレノールの投与の場合、耳下腺唾液分泌量が少ないにもかかわらず、そのアミラーゼ活性は非常に高く、多量のアミラーゼが分泌されていた。この耳下腺からの総アミラーゼ分泌量を反映して、 $\beta$ アドレナリン作動薬イソプロテレノールの投与は耳下腺組織中のアミラーゼ総活性を著明に減少させ、またその減少は $\beta$ アドレナリン遮断薬プロプラノロールの前投与で完全に抑制された。一方、コリン作動薬ピロカルピンとプロプラノロールの投与では多量の耳下腺唾液分泌が誘発されたが、アミラーゼ分泌は僅かであり、耳下腺組織中のアミラーゼ総活性の減少も $\beta$ アドレナリン作動薬イソプロテレノールほどではなかった。この自律神経作動薬による耳下腺からの唾液分泌やアミラーゼ分泌変化はin vivoにお

ける薬物投与<sup>22),23)</sup>や耳介側頭神経や交感神経幹への電気刺激の結果<sup>24),25)</sup>と類似しており、耳下腺唾液の水分泌機構はアセチルコリンがムスカリン受容体と、あるいは $\alpha$ アドレナリン作動物質が $\alpha$ 受容体と結合することにより、また耳下腺アミラーゼの分泌機構は主に $\beta$ アドレナリン作動物質が $\beta$ 受容体と結合することによるものであることが確認された<sup>26),27)</sup>。

耳下腺アミラーゼ分泌とは異なり、脾臓においては $\beta$ アドレナリン作動薬イソプロテレノールで組織中のアミラーゼ総活性の減少は起こらなかったが、コリン作動薬ピロカルピンとプロプラノロールにより著明に減少し、このコリン作動薬ピロカルピンとプロプラノロールによる減少はコリン遮断薬アトロピンの前投与により抑制された。これらの結果は脾臓のアミラーゼ分泌が迷走神経中の副交感神経を介して調節されるとする報告を支持した<sup>28),29)</sup>。

$\beta$ アドレナリン作動薬イソプロテレノールによるエブネル腺組織中のアミラーゼ総活性の減少は僅かであった。これを反映して、エブネル腺のアミラーゼ分泌もコリン作動薬ピロカルピンとプロプラノロールに比較して少なく、エブネル腺唾液分泌変化も同様であった。一方、コリン作動薬ピロカルピンとプロプラノロールは多量のエブネル腺唾液分泌を誘発させ、またエブネル腺からアミラーゼ分泌を刺激し、この結果としてエブネル腺組織中のアミラーゼ総活性は大きく減少した。また、このエブネル腺組織中のアミラーゼ総活性の減少はコリン遮断薬アトロピンにより抑制された。これらのエブネル腺アミラーゼ分泌に関する結果はin vitroで、 $\beta$ アドレナリン作動薬イソプロテレノール刺激よりコリン作動薬カルバコール刺激によってエブネル腺からのリパーゼおよびアミラーゼがより分泌されるとするFieldとHand<sup>15)</sup>の報告と一致した。エブネル腺アミラーゼはコリンおよび $\beta$ アドレナリン作動薬イソプロテレノールのいず

れによっても分泌が刺激されるが、特にムスカリン受容体を介する刺激がエブネル腺の有郭乳頭開口部からのアミラーゼ分泌に加え、水分分泌をも調節していることが示唆された。

周期的制限給餌を2週間行ったラットでは期待通り、摂食実験中の摂食量は自由摂食させたラットに比較して多く、しかも一定していた。また、摂食量の増加を反映して、周期的制限給餌ラットのエブネル腺、耳下腺および膵臓のアミラーゼ活性は自由摂食ラットに比較してより大きく減少した<sup>13)</sup>。

摂食による耳下腺組織中のアミラーゼ総活性の低下はコリン遮断薬アトロピンの前投与によって抑制されず、 $\beta$ アドレナリン遮断薬プロプラノロールにより抑制され、Schneyer<sup>30)</sup>やJensenら<sup>31)</sup>の同様の実験、また交感神経節切除を行ったGjorstrup<sup>32)</sup>の結果と一致した。摂食刺激においても耳下腺アミラーゼ分泌が主として $\beta$ 受容体を介していることが示唆された。一方、摂食による膵臓組織中のアミラーゼ総活性の減少は $\beta$ アドレナリン遮断薬プロプラノロールの前投与に影響されず、コリン遮断薬アトロピンによって抑制され、O'Rourkeら<sup>33)</sup>の結果と一致した。摂食刺激による膵臓のアミラーゼ分泌は主としてムスカリン受容体を介していることが示唆される。また、摂食によるエブネル腺組織中のアミラーゼ総活性の減少は膵臓の場合と同様に、 $\beta$ アドレナリン遮断薬プロプラノロールの前投与に影響されず、コリン遮断アトロピンの前投与によって抑制された。

GurkanとBradley<sup>17)</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において、またFieldら<sup>34)</sup>は $\beta$ アドレナリン作動薬よりもコリン作動薬において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。摂食実験におけるエブネル腺組織の光学顕微鏡観察においても、摂食によるエブネル腺腺房細胞の分泌顆粒の減少は $\beta$ アドレ

ナリン遮断薬プロプラノロールの前投与に影響されず、コリン遮断薬アトロピンの前投与によって抑制され、この分泌顆粒の変化はアミラーゼ活性の変化と平行していた。

Takeda<sup>2),35)</sup>はラットおよびマウスの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。これらの報告と本実験結果を合わせて考えると、摂食によるエブネル腺アミラーゼ分泌は主として副交感神経系のムスカリン受容体を介して調節されていることが示唆される。

成長過程におけるエブネル腺リパーゼの調節は交感神経が関与していると考えられており<sup>36)</sup>、またエブネル腺リパーゼ分泌には腸管ホルモンであるコレシストキニンの関与が報告されている<sup>37)</sup>。従ってエブネル腺アミラーゼ分泌における交感神経系やホルモンの関与についてはさらに詳細な検討が必要と考える。

## 結 論

ラットのエブネル腺の自律神経性調節機序を明らかにする目的で、自律神経作動薬投与によるエブネル腺組織中のアミラーゼ総活性とアミラーゼ分泌の変化、および摂食によるアミラーゼ分泌に対する自律神経遮断薬投与の効果を耳下腺および膵アミラーゼの場合と比較検討した。

1.  $\beta$ アドレナリン作動薬投与群の耳下腺組織中のアミラーゼ総活性は対照群に比較して著しく減少したが、エブネル腺組織中のアミラーゼ総活性の減少は膵臓と同様に僅かであった。コリン作動薬投与群の耳下腺組織中のアミラーゼ総活性は対照群との間に差はなかったが、エブネル腺および膵臓組織中のアミラーゼ総活性は著しく減少した。

2. 耳下腺唾液分泌量はコリン作動薬投与群

が $\beta$ アドレナリン作動薬投与群より、また耳下腺アミラーゼ分泌量は $\beta$ アドレナリン作動薬投与群がコリン作動薬投与群より著明に多かった。一方、 $\beta$ アドレナリン作動薬投与群のエブネル腺唾液分泌量は生理食塩水投与群との間に差はなかったが、コリン作動薬投与群では生理食塩水投与群に比較して、エブネル腺唾液分泌量は著明に増加した。また、エブネル腺のアミラーゼ分泌量は生理食塩水投与群に比較して、いずれの薬物投与群においても増加していたが、 $\beta$ アドレナリン作動薬投与群よりコリン作動薬投与群の方が著明に多かった。

3.  $\beta$ アドレナリン遮断薬の前投与により、摂食による耳下腺組織中のアミラーゼ総活性の減少は抑制されたが、エブネル腺および膵臓組織中のアミラーゼ総活性の減少は影響を受けなかった。一方、コリン遮断薬の前投与により、摂食による耳下腺組織中のアミラーゼ総活性の減少はほとんど影響を受けなかったが、エブネル腺組織中のアミラーゼ総活性の減少は膵臓組織中のアミラーゼ総活性と同様に抑制された。また、エブネル腺組織の光学顕微鏡観察においても、摂食によるエブネル腺腺房細胞の分泌顆粒の減少は $\beta$ アドレナリン遮断薬の前投与に影響されず、コリン遮断薬の前投与により抑制され、この分泌顆粒の変化はアミラーゼ活性の変化と平行していた。

これらの結果からエブネル腺アミラーゼ分泌は生理的な摂食刺激により誘発され、主としてコリン作動性副交感神経の調節により有郭乳頭や葉状乳頭の溝に分泌されることが示唆された。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を賜りました本学口腔生理学講座猪股孝四郎教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究の遂行に際し、終始懇切丁寧なご教授とご校閲を賜りました本学看護福祉学部生命基礎科学講座倉橋昌司教授ならびに本学解剖学第二講座武田正子

教授に心から感謝いたします。

また、本論文の作成にあたりご教示ならびにご校閲を賜りました本学口腔生化学講座市田篤郎教授に深く感謝いたします。

さらに、本研究を行うにあたり、ご助言とご支援をいただきました本学口腔生理学講座太田 勲助教授ならびに本学口腔解剖学第二講座小原伸子講師に深く感謝いたしますとともに、ご協力をいただきました本学口腔生理学講座鈴木光代助手ならびに本学電顕室伊藤亜男氏に厚く御礼申し上げます。

## 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) 武田正子 : エブネル腺腺房細胞および導管細胞分泌顆粒の電子顕微鏡的研究, 歯基礎誌, 18:60-74, 1976.
- 3) Azzali, G., Bucci, G., Gatti, R., Orlandini, G. and Ferrari, G. : Fine structure of the excretory system of the deep posterior (Ebner's) salivary glands of the human tongue. *Acta. Anat.*, 136:257-268, 1989.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Azen, E. A., Hellekant, G., Sabatini, L. M. and Warner, T. F. : mRNAs for PRPs, statherin, and histatins in von Ebner's gland tissues. *J. Dent. Res.*, 69:1724-1730, 1990.
- 7) Taylor, T. and Erlandsen, S. L. : Peroxidase localization in von Ebner's gland of man. *J. Dent. Res.*, 52:635, 1973.
- 8) Burstone, M. S. : Esterase of the salivary glands. *J. Histochem Cytochem.*, 4:130-139, 1956.
- 9) Hamosh, M., Ganot, D. and Hamosh, P. : Rat lingual lipase. *J. Biol. Chem.*, 254:12121-12125, 1979.
- 10) Tremblay, G. and Charest, J. : Modified starch film method for the histochemical localization of amylase activity. *J. Histochem. Cytochem.*, 16:147-148, 1968.

- 11) 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.
- 12) Hamosh, M. : Lingual Lipase. in: *Lipases*, Borgstrom, B. and Brockman, H. L., Eds., Amsterdam: Elsevier, pp. 49-81, 1984.
- 13) 星 和明, 倉橋昌司, 鈴木光代, 猪股孝四郎, 小原伸子, 武田正子. : 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, *東日歯誌*, 11:17-22, 1992.
- 14) Kurahashi, M. and Inomata, K. : Role of parotid amylase in starch digestion in the gastro-intestinal tracts of diabetic rats. *J. Dent. Res.*, 68:1366-1369, 1989.
- 15) 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.
- 16) Gurkan, S. and Bradley, R. M. : Autonomic control of von Ebner's lingual salivary glands and implications for taste sensation. *Brain Research.*, 419:287-293, 1987.
- 17) 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.
- 18) Schneyer, C. A. and Hall, H. D. : Autonomic pathways involved in a sympathetic-like action of pilocarpine on salivary composition. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 121:96-100, 1966.
- 19) 阿部公生, 村田篤彦, 及川 将, 阿部成生, 横田 豊 : ラット耳下腺と顎下腺の唾液蛋白質の分泌に及ぼす各種の自律神経性受容体遮断薬の影響, *岐歯学誌*, 6:150-168, 1978.
- 20) Ikeno, T., Nasu, J. and Kuzuya, H. : Quantitative changes in amylase activity in the salivary glands, pancreas, saliva, and serum after administration of isoproterenol, pilocarpine, and acetylcholine. *J. Dent. Res.*, 62:56-57, 1983.
- 21) 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.
- 22) 杉沢健司 : 耳下腺唾液および顎下腺唾液の同時採取法を用いたラットの唾液分泌機構の検討について, *歯科医学*, 40:635-655, 1977.
- 23) 阿部公生, 藤田良治, 横田 豊 : ラット耳下腺と顎下腺の唾液蛋白質の分泌に及ぼす電気刺激および薬物刺激の影響, *歯基礎誌*, 20:114-125, 1978.
- 24) Garrett, J. R. and Thulin, A. : Changes in parotid acinar cells accompanying salivary secretion in rats on sympathetic or parasympathetic nerve stimulation. *Cell. Tiss. Res.*, 159:179-193, 1975.
- 25) 横田 豊, 阿部公生, 勝川秀夫, 内藤幸雄, 加藤啓子 : 唾液採取条件と唾液蛋白の変動, *歯基礎誌*, 16:55-64, 1974.
- 26) Garrett, J. R. : The proper role of nerves in salivary secretion: A review. *J. Dent. Res.*, 66:387-397, 1987.
- 27) Baum, B. J. : Neurotransmitter control of secretion. *J. Dent. Res.*, 66:628-632, 1987.
- 28) Adler, G., Gerhards, G., Schick, J., Rohr, G. and Kern, H. F. : Effects of in vivo cholinergic stimulation of rat exocrine pancreas. *Am. J. Physiol.*, 244:G623-629, 1983.
- 29) 竹内 正. : 腺外分泌. *日本臨床.*, 44:56-61, 1986.
- 30) Schneyer, C. A. : Role of sympathetic pathway in secretory activity induced in rat parotid by feeding. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 147:314-317, 1974.
- 31) Jensen, J. L., Brodin, P., Berg, T. and Aars, H. : Parotid secretion of fluid, amylase and kallikrein during reflex stimulation under normal conditions and after acute administration of autonomic blocking agents in man. *Acta. Physiol. Scand.*, 143:321-329, 1991.
- 32) Gjorstrup, P. : Parotid secretion of fluid and amylase in rabbits during feeding. *J. Physiol.*, 309:101-116, 1980.
- 33) O'rourke, M. F., Reidelberger, R. D. and Solomon, T. E. : Effects of atropine on pancreatic response to bethanechol, cholecystokinin, and food intake in rats. *Am. J. Physiol.*, 261:G735-741, 1991.
- 34) 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.
- 35) Takeda, M. : Electron microscopy of the adrenergic and cholinergic nerve terminals in the mouse salivary glands. *Archs. Oral. Biol.*, 23:857

- 864, 1978.
- 36) Lee, P., Purcell, E.S., Borysewicz, R., Klein, R. M. and Werlin, S.L. : Developmental delay of lingual lipase expression after guanethidine-induced sympathectomy. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 199:192-198, 1992.
- 37) Ruellan, C., Moreau, J., Bouisson, M. and Ribet, A. : The Ebner glands: a pancreatic-like gland secreting an acid lipase. Secretory regulation in vitro. Int. J. Pancreatol., 3:293-300, 1988.