

細胞 (HAB-1~4) のうち, HAB-1を除く3種は, 高いアルカリホスファターゼ活性, グルココルチコイドや活性型ビタミンD₃に対応する応答性, 副甲状腺ホルモン受容体の存在, および基質石灰化能の点で骨芽細胞様と称するに足る分化形質を有していた。さらに, 本細胞が成熟骨芽細胞としての十分な形質を発現するための培養条件として, L-アスコルビン酸とデキサメタゾンの存在が要求されることが明らかとされ, 申請者が正常ヒト下顎歯槽骨より分離・培養したHAB cellsはヒト歯槽骨研

究のための培養系研究モデルとして極めて有望であると思われた。

本研究により得られた知見は, 小児期の頸の成長発育の調節機構を解明するため, 今後さらに細胞生化学的な研究を推進するにあたって基礎をなす有益なものと考える。

以上のことから, 本論文は小児歯科学の進歩発展に寄与するところ大と考え, 審査の結果, 博士(歯学)の学位授与に値するものと判定した。

氏名・(本籍)	星 和 明 (東京都)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	乙 第17号
学位授与の日付	平成6年3月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(論文博士)
学位論文題目	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
論文審査委員	主査 教授 猪股 孝四郎 副査 教授 武田 正子 副査 教授 市田 篤郎 副査 教授 倉橋 昌司

論文内容の要旨

I 目的

ラットの舌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。この分泌唾液は味覚機能と密接な関係があると考えられており, またリパーゼやアミラーゼなどの消化酵素を多量に含んでいる。このエブネル腺アミラーゼは耳下腺機能が低下した場合に口腔および胃内におけるデンプン消化に生理的な役割を果たしていることが示唆されている。

しかしながら, 有郭乳頭に分泌されるエブネル腺唾液中のアミラーゼ活性を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, 同一条件で耳下腺および脾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フ自律神経性調節機序を明らかにすることとした。

II 実験材料および方法

実験動物には10週齢のウィスター系雄ラット150匹を用いた。

実験1ではラットを24時間絶食後, 5群に分け, 生理食塩水, β アドレナリン作動薬イソプロテロノール, β アドレナリン遮断薬プロプラノロールとイソプロテロノール, コリン作動薬ピロカルピンとプロプラノロール, コリン遮断薬アトロピンとピロカルピンとプロプラノロールをそれぞれ腹腔内投与1時間後, エブネル腺, 耳下腺, および脾臓を摘出し, アミラーゼ活性測定に供した。

実験2ではラットを24時間絶食後, ペントバルビタールで麻酔し, 仰臥位に固定した。気管カニューレを挿入

し、頸部の左右の頸下腺および舌下腺導管を切断した。左右の耳下腺導管に微小ポリエチレン管を挿入し、流出する唾液をスピッツ管に採取した。また、エブネル腺唾液はペーパーディスク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、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をそれぞれ腹腔内投与し、1時間にわたり経時に耳下腺およびエブネル腺唾液の採取を行った。採取した耳下腺およびエブネル腺唾液は重量を測定後、0.02M磷酸緩衝液で希釈または溶出し、アミラーゼ活性測定に供した。

実験3では摂食実験中、一定の摂食量を確保するためには、ラットは8週齢より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実験に供した。これらを4群に分け、第1群は絶食群、他の3群は生理食塩水、プロプラノロール、アトロピンをそれぞれ腹腔内投与後、自由摂食させた。摂食開始1時間後、エブネル腺、耳下腺、および脾臓を摘出した。

摘出した組織や唾液中のアミラーゼ活性はBlue Starch法により測定した。また、組織標本は1μmのエポン包埋切片を作成し、トルイジンブルー染色を行った。

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、Cochran t検定のいずれかで群間の有意差検定を行った。

III 実験結果および考察

実験1および2において、 β アドレナリン作動薬の場合、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、 β アドレナリン作動薬は耳下腺組織中のアミラーゼ総活性を著明に減少させた。コリン作動薬では多量の耳下腺唾液分泌が誘発され、それに伴う僅かなアミラーゼ分泌が生じたが、耳下腺組織中のアミラーゼ総活性の減少は少なかった。耳下腺唾液の水分泌機構はムスカリ受容体にアセチルコリンが結合することにより、耳下腺アミラーゼの分泌機構は β 受容体に β アドレナリン作動物質が結合することによるものであることが確認され

学位論文審査の要旨

エブネル腺アミラーゼ分泌における自律神経性調節機序に関しては、まだ不明な点が多く、その解明は口腔生物学上、意義のあることである。

そこで、申請者はエブネル腺アミラーゼ分泌における

た。一方、脾臓においては β アドレナリン作動薬で組織中のアミラーゼ総活性は変化しなかったが、コリン作動薬により著明に減少した。脾臓のアミラーゼ分泌は迷走神経中の副交感神経を介して調節されることが確認された。 β アドレナリン作動薬によるエブネル腺唾液分泌とアミラーゼ分泌はコリン作動薬に比較して少なく、これを反映して、エブネル腺組織中のアミラーゼ総活性の減少も僅かであった。一方、コリン作動薬は多量のエブネル腺唾液分泌とアミラーゼ分泌を誘発させ、エブネル腺組織中のアミラーゼ総活性も大きく減少した。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により抑制された。エブネル腺アミラーゼはコリンおよび β アドレナリン作動薬のいずれによっても分泌が刺激されるが、特にムスカリ受容体を介する刺激がエブネル腺からのアミラーゼ分泌に加え、水分泌をも調節していることが示唆された。

実験3では、摂食による耳下腺組織中のアミラーゼ総活性の減少はコリン遮断薬の前投与によって影響されなかったが、 β アドレナリン遮断薬の前投与により抑制され、摂食刺激による脾臓のアミラーゼ分泌は主としてムスカリ受容体を介していることが示唆された。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脾臓の場合と同様に、 β 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って抑制された。さらに、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 β 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。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のムスカリ受容体を介して調節されていることが示唆された。

IV 結 論

エブネル腺アミラーゼ分泌は、耳下腺と同様に生理的な摂食刺激により誘発されるが、耳下腺とは異なり脾臓と類似して、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。

自律神経性調節機序を明らかにする目的で、新たに耳下腺唾液とエブネル腺唾液の同時採取法、および一定の摂食量を確保できる周期的制限給餌法を用い、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

より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耳下腺および脾アミラーゼ分泌における場合と比較検討した。

その結果、エブネル腺アミラーゼ分泌は耳下腺および脾アミラーゼ分泌と同様に、生理的な摂食刺激により誘発されるが、耳下腺アミラーゼ分泌とは異なり、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を初めて明らかにした。

本研究において得られた知見は、今後、エブネル腺の唾液およびアミラーゼ分泌機構のさらなる研究・考察するうえで、有益な基礎を築いたものと考える。

以上より、本論文は口腔生理学の進歩発展に寄与するものであり、審査の結果、学位授与に値すると判定した。