

〔原 著〕

成熟ラット唾液腺アミラーゼ活性に 及ぼす粉末食摂取の影響

倉橋 昌司, 猪股孝四郎*

北海道医療大学看護福祉学部生命基礎科学講座
*北海道医療大学歯学部口腔生理学講座

(主任：倉橋 昌司教授)

*(主任：猪股孝四郎教授)

The effect of a powdered diet on the amylase activity in salivary glands of adult rats

Masashi KURAHASHI and Koshiro INOMATA*

Department of Medical Sciences, School of Nursing & Social Services,
*Department of Oral Physiology, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido

(Chief : Prof. Masashi KURAHASHI)

*(Chief : Prof. Koshiro INOMATA)

Abstract

The effect of powdered diet on salivary glands was investigated in adult rats. The wet weight of the parotid glands were determined after overnight fasting at 12 weeks of age. It was not different for rats fed a powdered diet for 2 or 4 weeks and of for rats fed a pelleted control diet for 4 weeks. The submandibular and sublingual glands were significantly heavier in rats fed the powdered diet than in rats fed the pelleted control diet. The amylase activity of both parotid and von Ebner's glands were similar in rats fed the powdered and the pelleted control diet. These results suggest that the stimulus accompanying the powdered diet induces hypertrophy of both submandibular and sublingual glands and maintains the amylase activity in both parotid and von Ebner's glands at a normal level in adult rats.

Key words : Adult rats, Powdered diet, Salivary amylase

緒 言

ラットでは、離乳期に固形食を与えた場合に比較し、授乳を持続させた場合に耳下腺アミラーゼ活性は明らかに低下する¹⁾。成熟ラットでも、固形食にかわって液体食を与えると耳下腺アミラーゼ活性は著しく低下し、再び固形食に戻すと酵素活性は固形食を続けた場合の水準にまで回復する²⁾。これらの観察から、正常の耳下腺アミラーゼ活性を維持するには固形食の粉碎のための咀嚼運動に伴う種々の刺激が必要であると考えられている。このような考えが正しいとすると、液体食と同様に粉碎を必要としない粉末食の持続的摂取の場合も耳下腺アミラーゼ活性は低下することが予想される。事実、成長期のラットでは、成長に伴う耳下腺アミラーゼ活性の増加の程度は固形食摂取に比較し粉末食摂取の場合に低い³⁾。一方、成熟ラットでは、耳下腺アミラーゼ活性は粉末食摂取群と固形食摂取群の間で有意の差は見られない⁴⁾。

ラットにおいて耳下腺アミラーゼ活性に及ぼす異なった食餌内容の影響を観察する場合、摂食行動に伴う耳下腺アミラーゼ活性の日内変動の存在を考慮しなければならない。夜行性であるラットの場合、耳下腺アミラーゼ活性は摂食量の少ない明期の終わり、暗期の直前に最も高く、摂食量の多い暗期の終わり、明期の始めに最も低い⁵⁾。そこで耳下腺アミラーゼ活性に及ぼす長期間の異なった食餌内容の影響を見るには、酵素活性の最も高い明期の終わりか、または一昼夜絶食の条件で測定しなければならない。しかしながら、これまで行われた粉末食摂取の耳下腺アミラーゼ活性に及ぼす影響を見た研究のうち、成長期の実験では酵素活性の測定時期が不明であり³⁾、また成熟期の実験では酵素活性の最も低い明期の始め（午前8～10時）に活性を測定している⁴⁾。従って、これらの実験結果から耳下腺アミラーゼ活性に及ぼす粉末食

の真の影響を知ることはできない。

そこで、本研究では、成熟ラットにおける唾液腺アミラーゼ活性に及ぼす粉末食摂取の影響を知る目的で、2および4週間にわたって粉末食を摂取したラットを一昼夜絶食後、その耳下腺アミラーゼ活性などを測定し、固形食摂取の場合と比較検討した。

材料および方法

全ての動物実験は北海道医療大学動物実験の指針に従って行った。

1. 実験動物

実験動物は、Wistar系雄ラット（静岡県実験動物農業組合産）を用いた。ラットは生後6週令、体重約160g～180gから室温22°C、人工照明下、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、個別ケージ内で水および固形飼料（オリエンタルMF：水分7.0%、粗蛋白質24.0%、粗脂肪分5.1%、粗灰分6.2%、粗繊維3.2%、可溶性無窒素物54.5%、カロリー359.9Cal/100g、オリエンタル酵母）を自由に摂取させ飼育した。飼育開始2週間後、8週令、体重約240g～280gにて摂食実験に供した。

2. 摂食実験

ラットを3群に分け、1群は対照固形食群とし、8週令から引き続き4週間固形食（オリエンタルMF）を摂取させた。他の1群は8週令から2週間引き続き固形食を摂取させ、その後10週令から2週間、固形食と同組成の粉末食（オリエンタルMF粉末）を摂取させた。残る1群は8週令から4週間粉末食を摂取させた。いずれの場合も水は自由に摂取させた。摂食開始から4週間経過後、ラットを一昼夜絶食（ただし飲水は自由）とし、翌日午前10時から12時の間に頸椎脱臼、頸動脈切断により屠殺採血し、速や

かに両側の耳下腺，顎下腺，舌下腺，膵および小腸全体を摘出した。小腸は0.9%生理的食塩水にて内容物を洗浄し，ろ紙によって余分の水分を取り除いた後，耳下腺，顎下腺，舌下腺，膵とともにその湿重量を測定した。エブネル腺は星らの方法⁶⁾に従い，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。耳下腺，エブネル腺，膵，小腸は，血液の遠心分離によって得た血漿とともにアミラーゼ活性測定まで凍結保存した。

3. アミラーゼ活性測定

凍結保存した耳下腺，膵，小腸はその組織全体を適量のリン酸緩衝液（20mMリン酸カリウム，50mM塩化ナトリウム，pH7.0）とともにテフロンホモジナイザーにより粉碎し，またエブネル腺はリン酸緩衝液とともにポリトロンホモジナイザーにて粉碎し，それらのホモジネートを4°C，2,000g，20分間遠心分離し，それらの上清および血漿についてアミラーゼ活性を青色澱粉法⁷⁾（ネオアミラーゼテスト第一，第一化学薬品）により測定した。

4. 統計処理

実験結果の統計処理は統計ソフトStatViewを用い，3群の結果について一元配置分散分析で検定後，各2群の組み合わせについては多重

比較検定（Scheffe's F検定）を行った。

結 果

1. 体重および唾液腺重量（表1）

2および4週間の粉末食摂取期間における体重増加は固形食摂取群の場合と有意な差はなく，4週間の摂取期間終了後，一昼夜絶食後の体重も固形食摂取群と粉末食摂取群の間で有意な差はなかった。

耳下腺重量は，固形食摂取群に比較し，粉末食摂取群において減少する傾向が見られたが有意な差ではなかった。顎下腺および舌下腺重量は，固形食摂取群に比較し粉末食摂取群で有意に増加した。粉末食4週間摂取時の両腺における体重当たりの腺重量の増加の程度は，顎下腺で17%，舌下腺で62%であった。なお膵および小腸重量はともに固形食摂取群と粉末食摂取群の間で有意な差はなかった。

2. アミラーゼ活性（表2）

4週間の摂食期間終了後，一昼夜絶食後の耳下腺，エブネル腺，小腸，血漿のいずれにおいても，アミラーゼ活性は固形食摂取群と粉末食摂取群の間で有意な差はなかった。膵アミラーゼ活性は，固形食摂取群に比較し粉末食摂取群で有意に低下した。

表1 体重および唾液腺重量

	固形食 4 週間	粉末食 2 週間	粉末食 4 週間	分散分析
使用ラット数	6	6	6	
体重 (g)	350 ± 7	345 ± 6	352 ± 6	NS
耳下腺重量 (mg)	416 ± 19	392 ± 17	380 ± 15	NS
腺重量 / 体重 (mg / 100 g)	119 ± 5	114 ± 4	108 ± 3	NS
顎下腺重量 (mg)	452 ± 14	492 ± 12	533 ± 20 *	p < 0.05
腺重量 / 体重 (mg / 100 g)	129 ± 3	143 ± 2 *	151 ± 5 **	p < 0.01
舌下腺重量 (mg)	71 ± 2	104 ± 4 ***	117 ± 5 ***	p < 0.001
腺重量 / 体重 (mg / 100 g)	20 ± 1	30 ± 1 ***	33 ± 1 ***	p < 0.001

各値は平均 ± 標準誤差。NSは有意差なし。*，**，***は固形食4週間に対してそれぞれp < 0.05，0.01，0.001で有意差あり。粉末食2週間と粉末食4週間の間にはいずれの項目についても有意差なし。

表2 アミラーゼ活性

	固形食 4 週間	粉末食 2 週間	粉末食 4 週間	分散分析
使用ラット数	6	6	6	
耳下腺全活性(U)	35400±4000	26600±3000	27400±2100	NS
活性/重量(U/g)	84400±7000	67600±6700	72000±4900	NS
エブネル腺全活性(U)	395±25	351±17	377±34	NS
膵全活性(U)	20700±1300	14500±2300*	13600±2100*	p<0.05
活性/重量(U/g)	19400±1000	14000±1700**	12300±1700**	p<0.02
小腸全活性(U)	322±105	256±36	448±87	NS
活性/重量(U/g)	56±18	46±7	72±16	NS
血漿(U/mL)	5.90±0.26	5.30±0.67	4.80±0.47	NS

各値は平均±標準誤差。NSは有意差なし。*、**は固形食 4 週間に対してそれぞれp<0.05, 0.01で有意差あり。粉末食 2 週間と粉末食 4 週間の間ではいずれの項目についても有意差なし。

考 察

従来の報告³⁾と同様、2および4週間の粉末食摂取期間の体重増加は、固形食の場合と差はなく、粉末食からも十分な栄養が摂取されることが確認された。液体食実験の場合、液体食摂取期間終了後、一昼夜絶食の条件では、耳下腺、顎下腺、舌下腺のいずれの腺重量も固形食に比較して減少し、特に耳下腺でその萎縮の程度が最も顕著である²⁾。粉末食の場合、液体食とは異なり、耳下腺重量の有意な減少が見られなかったばかりでなく、顎下腺および舌下腺の重量は明らかに増加し、特に舌下腺で顕著であった。液体食の場合、その嚥下のために口腔内における粉碎の必要も、また一定の嚥下水分量の確保の必要もない。液体食摂取による口腔内刺激は主に食餌に含まれる種々の栄養素による味覚刺激であり、ラットの場合、液体食摂取に見られる唾液腺の萎縮から考えると味覚刺激は唾液水分分泌にとってさほど重要ではないと推察される。事実、ラットに味溶液を与えただけではほとんど唾液水分分泌は増加しない⁸⁾。一方、粉末食の場合、液体食と同様、その嚥下のために粉碎を必要としないが、乾燥しており水分含量は固形食と同じく低く、嚥下のために相当の水分が必要であり、この水分の確保に唾液水分分泌の促進が要求される。また固形食と異なり、その粉

砕のために下顎運動の必要は少ないが、粉末食と唾液水分とをよく混和するためにより多くの舌運動が必要になってくるであろう。粉末食の場合、舌運動に伴う口腔内刺激と乾燥刺激が強力な唾液分泌刺激として働き、耳下腺に比較して、より強力に顎下腺および舌下腺に作用し、腺重量の増加を起したものと推察される。我々の知る範囲では粉末食による顎下腺および舌下腺の肥大を観察したという報告はない。肥大に伴って当然唾液分泌機能も変化しているはずであり、この点も興味深い問題である。

ラットの場合、唾液腺アミラーゼ活性の98~99%が耳下腺に、残りの1~2%がエブネル腺に存在し、ともに固形食の摂食刺激によって分泌が促進する⁹⁾。液体食の場合、耳下腺重量の減少だけでなく、アミラーゼ活性の低下も観察されている¹⁻²⁾。さらに腺レベルの研究から、摂食に伴うアミラーゼ分泌も低下していることが示唆されている¹⁰⁾。粉末食の場合、液体食で観察される耳下腺アミラーゼ活性の低下はなかった。腺重量に対してと同様、粉末食摂取時の舌運動に伴う刺激および乾燥刺激が耳下腺アミラーゼ活性を固形食摂取の水準に維持していることが考えられる。耳下腺アミラーゼ分泌に及ぼす粉末摂取の影響を観察した報告はなく、この点は現在検討中である。

粉末食摂取では、耳下腺だけでなく、エブネ

ル腺アミラーゼ活性も固形食摂取の場合と差がなかった。この結果は粉末食摂取が固形食摂取と同程度の唾液腺刺激作用を持つという考えを支持する。エブネル腺に及ぼす液体食の影響を見た研究はほとんどなく、エブネル腺に及ぼす液体食と粉末食の比較研究は今後の興味ある課題である。

唾液腺アミラーゼと並んで、膵アミラーゼおよび小腸アミラーゼ（そのほとんどが膵由来である）は食餌中のデンプン消化において生理的に重要な役割を果している。そこで本研究では唾液腺との比較の意味で、膵および小腸アミラーゼ活性に及ぼす粉末食の影響を検討した。膵アミラーゼ活性は唾液腺アミラーゼ活性とは異なり、固形食摂取に比較し粉末摂取において有意に低下していた。しかしながら、糖尿病などの場合¹¹⁾とは異なり、膵アミラーゼ活性の低下は小腸アミラーゼの低下を起こすほどのものではなかった。唾液腺アミラーゼ活性とその分泌が自律神経系¹⁰⁾によって調節されているのに対して、膵アミラーゼ活性とその分泌はインスリン¹¹⁾やCCK¹²⁾などの内分泌因子によって調節されていると考えられている。従って、粉末食はこれらの内分泌因子に影響を与えていることが推定されるが、液体食の場合を含め、内分泌因子の関与についての検討も今後の課題である。

結 論

粉末食摂取ラットの耳下腺重量、耳下腺およびエブネル腺アミラーゼ活性は、固形食摂取ラットの場合と差がなかった。一方、粉末食摂取ラットの顎下腺および舌下腺重量は、固形食摂取ラットに比較し、明らかに増加した。粉末食摂取は、液体食摂取とは異なり、固形食摂取の場合と同程度の唾液腺刺激作用を示す。

謝 辞

エブネル腺アミラーゼ活性測定にご協力頂いた星 和明博士に感謝致します。

文 献

1. Kumegawa M, Maeda N, Yajima T et al.: L-Thyroxine, cortisol and diet affect the level of amylase in the parotid glands of developing rats, *J Endocr*, 87: 65-71, 1980.
2. Hall HD, Schneyer CA: Salivary gland atrophy in rat induced liquid diet, *Pro Soc Exp Biol Med*, 117: 789-793, 1964.
3. Johnson DA, Sreebny LM, Enwonwu CO: Effect of protein-energy malnutrition and of a powdered diet on the parotid gland and pancreas of young rats, *J Nutr*, 107: 1235-1243, 1977.
4. Johnson DA: Effect of a ground versus a pelleted bulk diet on the parotid gland, *Archs Oral Biol*, 26: 1091-1093, 1981.
5. Sreebny LM, Johnson DA: Diurnal variation in secretory components of the rat parotid gland, *Archs Oral Biol*, 14: 397-405, 1969.
6. 星 和明, 倉橋昌司, 鈴木光代, 他: 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, *東日本歯誌*, 11: 17-22, 1992.
7. Ceska M, Birath K, Brown B: A New and rapid method for the clinical determination of α -amylase activities in human serum and urine. Optimal conditions, *Clin Chim Acta*, 26: 437-444, 1969.
8. Matsuo R, Yamamoto T, Ikehara A, et al.: Effect of salivation on neural taste responses in freely moving rats, analyses of salivary secretion and taste responses of the chorda tympani nerve, *Brain Res*, 649: 136-146, 1994.
9. Hoshi M, Kurahashi M, Inomata K, et al.: Autonomic regulation of amylase secretion from von Ebner's glands in rats during feeding, *Dentistry in Japan*, 30: 40-43, 1993.
10. Schneyer CA: Role of sympathetic pathway in secretory activity induced in rat parotid by feeding, *Proc Soc Exp Biol Med*, 147: 314-317, 1974.
11. Kurahashi M, Inomata K: Amylase secretion by parotid glands and pancreas of diabetic rats

during feeding, *Am J Physiol*, 254 : G878-G882, 1988.

12. Williams JA, Blevins Jr GT : Cholecystokinin and regulation of pancreatic acinar cell function, *Physiol Rev*, 73 : 701-723, 1993.