



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                     |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | ラット口蓋腺の加齢変化に関する組織学的研究 [論文内容及び審査の要旨]                                                                                 |
| Author(s)           | 谷脇, 裕人                                                                                                              |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                               |
| Degree Name         | 博士(歯学)                                                                                                              |
| Dissertation Number | 甲第13484号                                                                                                            |
| Issue Date          | 2019-03-25                                                                                                          |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/74028">https://hdl.handle.net/2115/74028</a>                                   |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a> |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                     |
| File Information    | Hiroto_Taniwaki_abstract.pdf, 論文内容の要旨                                                                               |



# 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称      博士（歯学）      氏 名 谷 脇 裕 人

## 学 位 論 文 題 名

ラット口蓋腺の加齢変化に関する組織学的研究

唾液はほぼ水分で構成され、タンパク質や電解質を含み、口腔環境や機能を維持する上で重要な役割を果たしている。そのため、唾液が減少することで口腔内にさまざまな障害が起こることが知られている。唾液分泌量の減少は唾液腺の機能が低下することによって生じ、また、高齢者によく認められることから、唾液腺の加齢変化に関して研究が行われてきた。

唾液腺の加齢変化に関する組織学的研究は主に大唾液腺を対象として行われてきた。それらによると、腺実質に関しては、腺房細胞の萎縮や増殖活性の低下、アポトーシスによる腺房細胞の消失、小葉内導管の管腔拡張などが報告されている。一方、間質においては、脂肪組織の増加、結合組織の増生などが認められている。これらの所見はすべての報告で一致したものではなく、少数ながら一部の変化については認められないとしている報告もある。しかしながら、大唾液腺の加齢変化に関しては以上のように比較的多くの研究がなされており、組織学的知見はある程度得られていると思われる。

これに対して、小唾液腺を対象とした組織学的研究は大唾液腺のそれに比較すると少ない。初めて小唾液腺の加齢変化を検索した報告によると、ヒト口唇腺では腺房細胞の萎縮、導管の拡張、結合組織の増生と炎症性細胞浸潤、軽度の脂肪組織の増生が認められるという。以後、これらの所見を確認している報告が見られる一方、脂肪組織の増生は認められないという報告もある。以上の報告はすべてヒトを対象とし、検索方法は光顕的観察を主体としている。ヒトを対象として加齢変化を観察する方法はそれ自身意義のあることではあるが、その結果には症例ごとに異なる背景が影響していることを考慮しなければならない。この点を補うためには、個体条件や飼育環境を統一した動物実験を実施する必要がある。さらに、ヒト口唇腺以外の小唾液腺の加齢変化についてはヒト口蓋腺に関する研究が2つあるのみで、データの蓄積がまだ不十分と考えられる。また、これらの研究は光顕的な検索に限られていたため、大唾液腺の加齢変化で検索されているような細胞増殖活性やアポトーシスの発生状況については未だに明らかではない。

以上のような背景から、本研究では口蓋腺の加齢変化を明らかにするため、ラットを対象として組織学的検索、免疫組織化学的検索および電顕的検索を行った。

5～100週齢のWistar系雄性ラットを各週齢8匹、計32匹用いて実験を行った。組織学的検索のため各週齢6匹ずつのラットを用いた。ラットには安楽死3時間前より5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)を1時間ごとに腹腔内投与した。ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与による全身麻酔下で0.2 Mリン酸緩衝液(pH 7.4)で調整した4%パラホルムアルデヒド溶液にて灌流固定を行った。次に口蓋腺を含む軟口蓋を摘出し、同溶液に24時間浸漬した。その後、軟口蓋を正中断し、通法に従って矢状方向からパラフィン切片を作製した。切片には、ヘマトキシリン・エオジン染色、過ヨウ素酸シッフ(PAS)染色、アルシアンブルー(AB)染色、アザン(Azan)染色を施し、光学顕微鏡にて観察した。

また、細胞増殖活性の検索のために抗 BrdU 抗体、アポトーシスの検索のために抗 cleaved caspase 3 (Casp-3) 抗体を用いた免疫染色を行った。BrdU 免疫染色では腺房細胞の陽性率を調べた。各動物につき 3 枚の標本を対象とした。1 枚の標本あたり 1,000 個の腺房細胞を光学顕微鏡下で無作為に観察し陽性細胞数を計測後、それぞれの標本の陽性率を算出し、3 枚の標本の平均値を各動物の代表値とした。BrdU 陽性率の各週齢間における有意差を調べるため、クラスカル・ウォリス検定で多重検定を行った後に、ボンフェローニ補正したウィルコクソンの順位和検定で多重比較を行った。有意水準は 5 %とした。

電顕的検索では、各週齢 2 匹ずつのラットを用いた。同様の全身麻酔下で 0.1 M カコジル酸緩衝液 (pH7.4) で調整した 2 %パラホルムアルデヒド-1.25 %グルタルアルデヒド溶液にて灌流固定を行った。固定後、軟口蓋を摘出し、通法に従って作製したエポンブロックより超薄切片を薄切した。切片には酢酸ウラン・クエン酸鉛で電子染色を施し、透過型電子顕微鏡で観察した。

実験期間を通じて口蓋腺は軟口蓋粘膜下にあり、口腔とは複数の導管によって連絡していた。腺実質は基本的に管状構造を呈する腺房からなり、導管は認められなかった。5 週及び 10 週では、ほとんどの腺房は粘液性腺房細胞からなっていた。これらは低円柱状で、基底側に位置する扁平な核を有していた。細胞質は明るく、PAS 及び AB に陽性を示していた。このような腺房細胞には少数ながら分裂像が認められた。粘液性腺房細胞に加えて、口蓋腺の後方部には漿液半月が散見された。漿液性腺房細胞は PAS 強陽性を示していた。間質には Azan でアニリン青に弱く染色される疎な結合組織がまばらに認められた。50 週以降では腺腔の拡張した腺房がしばしば認められ、腺腔内には PAS や AB に陽性を示す絮状の物質が認められるようになった。粘液性腺房細胞の形態や AB に対する染色性に変化は認められなかったが、PAS に対しては強陽性を示していた。粘液性腺房細胞の分裂像や漿液半月は観察されなかった。間質にはアニリン青にやや強く染まる密な結合組織が増生した。一方、すべての週齢において間質に脂肪組織は認められなかった。

BrdU 免疫染色では、5 週において腺房細胞に多くの陽性細胞が観察されたが、10 週になると BrdU 陽性腺房細胞は急減し、50 週及び 100 週ではほとんど観察されなかった。腺房細胞の BrdU 陽性率を算出したところ、各週の中央値は、5 週が 2.85 %、10 週が 0.70 %、50 週が 0.10 %、100 週が 0.00 %であり、50 週と 100 週の間を除くすべての週齢間において統計学的に有意差が認められた。一方、Casp-3 陽性腺房細胞は検索したいずれの週においても認められなかった。

電顕的検索では、5 週及び 10 週には漿液半月が少数ながらみられた。複数の粘液性腺房細胞からなる集団の基底側に三日月状を呈する 1~2 個の漿液性腺房細胞が位置していた。漿液性腺房細胞は楕円形の核を持ち、その周囲には発達した粗面小胞体がみられた。細胞質内には電子密度の高い分泌顆粒がみられ、その近くにゴルジ装置が認められた。5 週にみられる粘液性腺房細胞は基底側に扁平な核を持ち、その周囲には粗面小胞体が観察された。細胞質の大部分は電子密度の低い分泌顆粒で占められていた。このような電顕的特徴は他の週齢にみられる粘液性腺房細胞でも同様であり、100 週においても大きな差異は認められなかった。一方、5、10 週の間質には、膠原細線維が散在していたが、50 週以降では密集し束状をなす多くの膠原細線維で間質は占められていた。

以上のことから、ラット口蓋腺では加齢に伴い、粘液性腺房細胞の増殖活性低下やその分泌顆粒の性状変化および漿液性腺房細胞の消失、腺腔の拡張といった実質の変化と間質における結合組織の増生が起こることが本研究において明らかとなった。