



Title	液状飼料飼育によるラット口蓋腺発育への影響 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	竹淵, 壘
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13851号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/77854
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Rui_Takebuchi_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 竹 淵 墨

学 位 論 文 題 名

液状飼料飼育によるラット口蓋腺発育への影響

キーワード（5つ） 口蓋腺 ， 発育 ， 液状飼料 ， 組織計量 ， BrdU

現代社会では軟らかい食物を摂る機会が増えており、特に小児ではその傾向が顕著であるといわれている。これらの影響を明らかにするため、ソフトフードを成長期の動物に与え、その影響を検討する種々の研究が行われてきた。しかし、唾液腺に関しては Takahashi らの報告があるのみで、それらによると液状飼料を与えられた成長期ラットの耳下腺は発育が顕著に抑制されるのに対して、顎下腺や舌下腺はほとんど影響を受けないという。これらの結果はソフトフード摂取が唾液腺の発育に与える影響はその種類によって異なることを示唆しているが、小唾液腺については先行研究がなく不明である。そこで本研究では成長期ラットに液状飼料を与え、代表的な小唾液腺である口蓋腺の発育がどのような影響を受けるのかを組織学的、免疫組織化学的に明らかにすることを目的とした。

実験には離乳した直後の生後 21 日齢 Wistar 系雄性ラット 36 匹を用いた。対照群には固形飼料、実験群には同飼料を粉末化し、水道水と 1 : 2 の重量比で混和した液状飼料を与え、1 週、2 週、4 週、8 週間飼育し、両群各週 4 匹ずつを 1 グループとした。また、飼育開始時の試料を得るため、4 匹は離乳後ただちに試料作製に供した(0 週)。飼育期間中、動物は毎日体重を計測し、健康状態を確認した。飼育期間が終了した動物には、5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与した。1 時間後にイソフルラン吸入と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の上、4%パラホルムアルデヒド溶液にて灌流固定した。上顎を摘出後、同固定液にて 24 時間浸漬固定を行い、10%EDTA 溶液にて約 4 か月間脱灰した。次に上顎を正中断し、右側を通法に従ってパラフィン包埋した。作製したブロックに対して正中から右側方に向かって矢状方向で、口蓋腺がなくなるまで厚さ 4 μm で連続切片を作製した。切片にはヘマトキシリン-エオジン(HE)染色、過ヨウ酸シッフ(PAS)染色、アルシアンブルー(AB)染色を行い、光学顕微鏡にて観察した。組織計量学的解析として、各切片において口蓋腺の上縁から下縁までの距離、前縁から後縁までの距離を計測し、それぞれの最

大値を高径、長径とした。また、切片の厚み $4\text{ }\mu\text{m}$ と、正中面から口蓋腺が観察されなくなるまでの切片の枚数との積の 2 倍を幅径とした。増殖活性の検索のために BrdU 免疫染色を行い、免疫染色が完了した切片を各動物あたり 2 枚ずつ用いて、BrdU 陽性腺房細胞の定量化を行った。各切片において光学顕微鏡下($\times 400$)で陽性腺房細胞数と口蓋腺全体の視野数を計数し、1 視野あたりの平均値を求めた上で、2 枚の切片の平均値をその動物の 1 視野あたりの陽性腺房細胞数とした。さらに、各グループ 4 匹の平均値をそのグループの陽性腺房細胞数とした。組織計量学的解析と、BrdU 陽性腺房細胞数について、対照群と実験群の間で統計学的解析を行った。有意差検定には Mann-Whitney U 検定 (ystat2008, 医学図書, 東京, 2010) を用い、 $p<0.05$ を有意差ありと判定した。

実験期間中の動物の健康状態は良好であり、対照群、実験群ともに体重は経時的に増加していた。各飼育期間において両群間に有意差は認められなかった。0 週の口蓋腺を光学顕微鏡にて観察すると、腺房のほとんどが粘液性細胞から成っており、粘液性細胞は円柱状～円錐状で、核は圧平され、基底側に配列していた。細胞質は明るく、PAS 陽性、AB 陽性を示していた。このような粘液性細胞は、管状腺構造を形成していた。また、少数ではあるが漿液性細胞も認められ、主として口蓋腺の後方部分に観察された。これらは、丸い核を細胞の中心に持つ多角形～扁平な細胞で、細胞質はエオジン好性、PAS 強陽性、AB 弱陽性であった。このような漿液性細胞は複数集合して塊状をなしていたり、粘液性腺房を帽子状に覆う漿液性半月となっていたりした。対照群の 1 週では、0 週と類似した組織像を呈していたが、腺房構造周囲の結合組織がやや減少し、腺房の配列がやや密になっていた。また、漿液性腺房細胞の数が少なくなっていた。2 週では、腺腔の拡大した粘液性腺房がやや多くみられるようになる一方で、漿液性腺房細胞は観察されなくなった。4 週以降の腺実質の組織構造や、PAS や AB に対する反応は 2 週の口蓋腺と同様であった。実験群の口蓋腺では各週において組織構造や PAS、AB の染色性は対照群のものと基本的に差異は認められなかった。組織計量学的解析では、長径と高径に関して、4 週において実験群が対照群に比べて有意に小さい値を示していたが、それ以外の検索項目では有意差は認められなかった。幅径に関しては検索したすべての週において両群間に有意差は認められなかった。免疫組織化学的には、0 週において多くの粘液性腺房細胞が BrdU 陽性を示していた。以後、対照群、実験群ともに BrdU 陽性腺房細胞は経時的に減少し、8 週では極めて少なくなった。1 視野あたりの BrdU 陽性腺房細胞数の計測結果では、各週において対照群と実験群の間に有意差は認められなかった。

これまでの研究では、液状飼料が唾液腺に与える影響を検討するためにしばしば湿重量が測定されてきた。しかし、本研究の検討対象である口蓋腺は湿重量

の測定が困難であるため、湿重量の代わりに 3 次元的な長さの測定を行った。その結果、一部を除いたほとんどの検索項目、検索期間において対照群と実験群の間に違いは認められず、ほぼ同様の発育傾向を示していた。これまでの研究によると、唾液腺組織全体の大きさの変化には腺房細胞の大きさと数の変化が重要であるとされている。液状飼料飼育により発育抑制される耳下腺では、個々の腺房細胞の増大抑制と腺房細胞の増殖活性抑制が認められることから、両者の相乗作用により発育が抑制されると考えられている。それに対して本研究では、対照群と実験群の腺房細胞の大きさには組織学的に明らかな違いは認められず、また、実験群における増殖活性抑制も認められなかった。したがって、液状飼料飼育によって口蓋腺の強い発育抑制が起こらなかったのは、腺房細胞の大きさと細胞数のいずれにも影響が及ばなかったことによると考えられた。成長期における液状飼料飼育が唾液腺に与える影響を検索した先行研究では、耳下腺には強い発育抑制が認められるが、舌下腺の発育抑制はほとんどなく、顎下腺ではそのような影響は全く認められないと報告されている。一方、液状飼料飼育した成熟動物への影響に関する研究では、その多くにおいて、液状飼料飼育された動物の耳下腺は萎縮するが、顎下腺や舌下腺は萎縮しない、あるいは極めて軽度の影響しか認められていない。以上のことから考えると、液状飼料の投与時期にかかわらず、唾液腺は液状飼料飼育により負の影響が強く起こる耳下腺と、ほとんどあるいは全く影響を受けない顎下腺、舌下腺の 2 タイプに分けられると考えられる。口蓋腺に関する先行研究によると、成体では液状飼料摂取の影響は全く認められていない。したがって、本研究の結果と考え合わせると口蓋腺は後者のタイプの唾液腺に該当すると思われた。

本研究の結論として、液状飼料飼育はラット口蓋腺の発育にほとんど影響を与えないことが明らかとなった。