



|                     |                                                                                                 |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | 液状飼料飼育によるラット口蓋腺発育への影響                                                                           |
| 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                                                                                      |
| DOI                 | <a href="https://doi.org/10.14943/doctoral.k13851">https://doi.org/10.14943/doctoral.k13851</a> |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/78478">https://hdl.handle.net/2115/78478</a>               |
| Type                | doctoral thesis                                                                                 |
| File Information    | Rui_Takebuchi.pdf                                                                               |



# 博士論文

---

## 液状飼料飼育によるラット口蓋腺発育への影響

---

令和2年3月申請

北海道大学

大学院歯学研究科口腔医学専攻

竹 渕 墨

## 緒言

現代社会では、柔らかいファストフードやコンビニ食が市中にあふれ、我々の食生活では柔らかい食物を摂る機会が多くなっている。このような食生活は咀嚼回数の減少を招き<sup>1)</sup>、身体、特に口腔関連組織に悪い影響を及ぼすのではないかと懸念されている。それゆえ、ソフトフードを動物に与え、口腔関連組織への影響を検討する実験的研究が数多く行われている<sup>2-10)</sup>が、その研究対象の1つとして唾液腺があげられる。それらの研究によると、液状飼料や粉末飼料などのソフトフードを与えられた動物では耳下腺の湿重量減少が認められる<sup>11-18)</sup>。組織学的には腺房細胞が萎縮し<sup>13,14,17-20)</sup>、腺房細胞の増殖活性低下<sup>17,18)</sup>やアポトーシスの増加<sup>17,18,21)</sup>が観察されている。それに対して顎下腺では、萎縮しない<sup>15,16,22,23)</sup>と述べている研究者が多く、舌下腺も顎下腺と同様に萎縮しない<sup>12,15,23)</sup>という意見が多くみられる。また、小唾液腺については口蓋腺を対象とした研究があり、液状飼料摂取の影響は全くみられなかったと報告している<sup>24)</sup>。以上のように、唾液腺に対するソフトフードの影響は唾液腺の種類により異なると考えられる。

柔らかい食物を好む傾向は小児において顕著であるといわれている<sup>25-27)</sup>が、上述した研究はすべて成体を実験対象としたものである。成長期におけるソフトフードの摂取が唾液腺にどのような影響を与えるのかを検索した研究は、これまでTakahashiらの報告<sup>28,29)</sup>があるのみである。Takahashiらは、耳下腺では湿重量の増加抑制、腺房細胞の成長抑制、増殖活性の抑制といった強い発育抑制がみられる<sup>28)</sup>一方、顎下腺では影響がなく<sup>29)</sup>、舌下腺でもほとんど影響はない<sup>29)</sup>と述べている。これらの実験結果から成長期においても、唾液腺の種類によりソフトフード摂取に対する反応が異なると考えられる。

小唾液腺の唾液分泌量は全唾液中の数%<sup>30)</sup>に過ぎないものの、唾液中のIgA

の約 1/3 が小唾液腺由来であり<sup>31,32)</sup>、分泌量や唾液の性状がう蝕リスクと関わりがある<sup>33)</sup>など、その果たす役割は大きいと考えられている。したがって、成長期におけるソフトフード摂取が小唾液腺にどのような影響を与えるのかは興味深いと思われるが、先行研究はなく不明のままである。

そこで、本研究では代表的な小唾液腺である口蓋腺を研究対象とし、ソフトフードがその発育にどのような影響を与えるのかを明らかにすることを目的とした。その目的のために成長期ラットを液状飼料で飼育し、その口蓋腺を組織学的、免疫組織化学的に検索した。

## 材料と方法

### 1. 動物実験

離乳した直後の生後 21 日齢 Wistar 系雄性ラット 36 匹を実験に用いた。対照群 (16 匹) には一般的に使用されている固形飼料 (CLEA Rodent Diet CA-1, 日本クレア) を与えた。一方実験群 (16 匹) 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た。これらを 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、健康状態を目視で確認した。飼育期間が終了した動物には、5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) (2.5mg/体重 100g) (SIGMA) 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。

本実験は、北海道大学動物実験委員会の承認を得て (動物実験計画書承認番

号: 15-0094), 「国立大学法人北海道大学動物実験に関する規程 (平成 19 年 4 月 1 日 海大達第 61 号)」に基づき実施した.

## 2. 組織学的, 組織計量学的検索

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  $\mu\text{m}$  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. 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  $\mu\text{m}$  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.

## 3. 免疫組織学的検索

脱パラフィン後の切片に 0.3% 過酸化水素加メタノールにて内因性ペルオキシダーゼ処理を行った. その後, 37°C にて前処理として 0.1% トリプシン処理を 20 分, 3N/HCl 処理を 10 分間行った. 1 次抗体には 50 倍希釈抗 BrdU マウスモノクローナル抗体 (M0744, Dako) を 120 分, 2 次抗体には 200 倍希釈ビオチン標識抗マウス・ウサギポリクローナル抗体 (E0413, Dako) を 60 分反応させた. さらにペルオキシダーゼ標識アビジン・ビオチン複合体 (ニチレイ) を 30 分反応させ, 3,3'-ジアミノベンチジン四塩酸塩にて陽性部位を発色させた. 各試薬の反応後には 0.01M リン酸緩衝食塩水 (PBS) にて切片を十分に洗浄した. 免疫染色後, 核染色をヘマトキシリンにて行った. 陰性コントロールは 1 次抗体の代わりに PBS を用いて染色した.

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（×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．

#### 4. 統計学的解析

1, 2, 4, 8 週における体重，高径，長径，幅径，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．

### 結果

#### 1. 実験動物

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対照群と実験群の間に有意差は認められなかった（図 1）．また，実験期間中，下痢，脱毛，その他体調変化を疑う兆候は認められず，健康状態は良好であった．

#### 2. 組織学的検索

0 週（生後 21 日齢）の口蓋腺は腺房のほとんどが粘液性細胞から成っていた（図 2a）．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（図 3a），AB 陽性（図 3b）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（図 2b），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（図

2b), PAS 強陽性 (図 3a), AB 弱陽性 (図 3b) 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 (図 2c, 3c, 3d). 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 (図 2d, 3e, 3f).

### 3. 組織計量学的検索

組織計量の結果を, 図 4 から図 6 に示す. 高径と長径に関しては 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, それ以外の週では有意差は認められなかった (図 4,5). 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 (図 6).

### 4. 免疫組織学的検索

0 週においては, 粘液性腺房細胞に多くの BrdU 陽性細胞が観察された (図 7a). 対照群の 1 週では BrdU 陽性を示す粘液性腺房細胞が 0 週に比べ減少し (図 7b), 散見される程度となり, 8 週では極めて少なくなった (図 7c). 実験群でも同じ週の対照群と同じような染色傾向を示していた (図 7d,7e).

1 次抗体の代わりに PBS を用いて染色した陰性コントロール標本には陽性反応は認められなかった.

図 8 は 1 視野あたりの BrdU 陽性腺房細胞の数を計測した結果である。実験群, 対照群ともに経時的にその数は減少傾向を示し, 各週において両群間に有意差は認められなかった。

### 考察

ソフトフードが口腔諸組織に及ぼす影響を検討する研究では, 種々のタイプの飼料を用いた動物実験が行われてきた<sup>3-9,13)</sup>。多くの研究ではこれらの飼料を与えられた動物の全身状態へ影響は認められないが, 一部には影響を与える場合も報告されている<sup>10)</sup>。このような場合, 実験結果が飼料摂取の直接的な影響によるものなのか, それとも全身的な変化が間接的に影響しているものなのかを判断するのが困難となる可能性がある。本研究では, 私たちが過去の研究で用いてきた液状飼料を使用した<sup>8,9,17,18,23,24,28,29)</sup>。その理由として, これまでの研究においてこの液状飼料は動物に全身的な影響を及ぼすことがなかったこと, および本研究の結果とこれまでの私たちの研究における他の唾液腺の結果との比較が可能になることが挙げられる。本研究で実際に動物を飼育したところ, 飼育期間を通じて実験群の動物に体重増加抑制や体調悪化などは観察されず, 対照群の動物と同様の健康状態を示していた。この事実は本実験においても使用した液状飼料の全身への影響はなく, 液状飼料が口蓋腺の発育に及ぼす直接的な影響を検索するのに適した実験条件であったと考えられる。

これまでの研究では, 液状飼料が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<sup>24)</sup>, 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, 4 週の高径, 長径を除いたすべての検索項目, 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。このような結

果から、液状飼料飼育がラット口蓋腺の発育に与える影響は極めて軽微であることが明らかとなった。唾液腺組織の大きさの変化には、腺房細胞の大きさの変化と腺房細胞数の変化が重要とされている<sup>14,17)</sup>。本研究では口蓋腺を光顕的に観察したところ、対照群と実験群の腺房細胞の大きさに違いは認められなかった。一方、腺房細胞数の変化に関しては細胞増殖活性が大きな要因であるため、先行研究において細胞増殖活性がしばしば検索されてきた<sup>17,18,23,24,28,29)</sup>。細胞増殖活性は光顕的観察のみではその解析が困難であるため種々の方法が応用される。本研究では DNA 複製期である S 期細胞の核内に取り込まれる BrdU<sup>34)</sup>を動物に投与し、それを免疫組織化学的に検出する方法を用いた。その結果、対照群と実験群の腺房細胞の増殖活性に違いはなく、液状飼料飼育による抑制的な影響は認められなかった。したがって、口蓋腺の大きさについて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腺房細胞数のいずれにも影響が及ばなかったことによると推察される。これに対して、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や腺房細胞の増殖活性抑制がみられることから、耳下腺における強い発育抑制は両者の相乗作用によるものと考えられている<sup>28)</sup>。

成長期のラット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<sup>28,29)</sup>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極めて軽度であり、顎下腺ではそのような影響は全く認められないと報告している。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<sup>11-14,17)</sup>、顎下腺<sup>15,16,23)</sup>や舌下腺<sup>12,15,23)</sup>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．液状飼料飼育により萎縮した耳下腺においてはアセチルコリン合成酵素であるコリンアセチルトランスフェラーゼの減少<sup>12)</sup>やアセチルコリン濃度の減少<sup>15)</sup>が認められることから，中村<sup>15)</sup>は耳下腺の萎縮が咀嚼刺激減少による副交感神経（舌咽神経）の活性低下に関連すると推察している．この考えは神経支配が異なる顎下腺や舌下腺（顔面神経）の反応が異なることについても符合すると思われる．一方，口蓋腺に関与する副交感神経は顎下腺や舌下腺と同じ顔面神経である<sup>35)</sup>ことから，成体のラットの口蓋腺は液状飼料による影響は認められないとする弓削の研究<sup>24)</sup>や，口蓋腺発育への影響は極めて軽微なものであった本研究の結果は上記の考えを支持すると考えられる．

本研究では 4 週の高径と長径において対照群と実験群の間に有意差が認められたが，液状飼料飼育の影響がこの週のこの項目のみ認められた詳細な理由は明らかではない．成長期の舌下腺を対象とした実験においては，8 週の腺房細胞の大きさと増殖活性にのみ対照群と実験群の間に有意差が認められている<sup>29)</sup>．これについて Takahashi ら<sup>29)</sup>は舌下腺実質の多くが粘液性腺房細胞から構成されていることが関係しているのではないかと推測している．口蓋腺の実質もほとんどが粘液性腺房細胞からなっていることから，Takahashi らの推測は本研究においてもあてはまっているのかもしれない．しかしながら，Takahashi らの研究や本研究だけでは推測の域を出ておらず，詳細な理由の解明にはさらなる研究が必要である．

## 結論

本研究により，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．

#### 参考文献

- 1) 齋藤滋：噛むことを忘れた現代人，よく噛んでよく噛んで食べる―忘れられた究極の健康法，15-30，日本放送出版協会，東京，2005.
- 2) Kitagawa Y, Mitera K, Ogasawara T, Nojyo Y, Miyauchi K, Sano K : Alterations in enzyme histochemical characteristics of the masseter muscle caused by long-term soft diet in growing rabbits. Oral Disease 10 : 271-276, 2004
- 3) 添野一樹：固形飼料ならびに粉末飼料飼育ラットの咀嚼筋機能および下顎枝の成長発育に関する研究．岩医大歯誌 17 : 1-15, 1992.
- 4) 相星順子：性状の異なる飼料で飼育したマウスの臼歯咬耗の形態．日矯歯誌 53 : 429-442, 1994.
- 5) 野田真：食物の物性がラット頭蓋底の成長に及ぼす影響．日矯歯誌 56 : 26-32, 1997.
- 6) Vaid LK, Pradhan P, Chakrabarti S : Effect of dietary consistency on the growth of the condylar cartilage of the mandible in rats. J Anat Soc India 51 : 229-231, 2002.
- 7) 瀧上啓志：飼料の形状，栄養量がラット諸器官の成長や発達におよぼす影響について．滋賀医大誌 17 : 29-41, 2002.
- 8) Kato T, Takahashi S, Domon T : Effects of a liquid diet on the temporomandibular joint of growing rats. Med Princ Pract 24 : 257-262, 2015.
- 9) Uekita H, Takahashi S, Domon T, Yamaguchi T : Changes in collagens and chondrocytes in the temporomandibular joint cartilage in growing rats fed a liquid diet. Ann Anat 202 : 78-87, 2015.

- 10) Clapp MJL, Bradbrook C : Growth and longevity of rats fed an agar-bound diet. *Lab Animals* 16 : 138-142, 1982.
- 11) Hall HD, Schneyer CA : Salivary gland atrophy in rat induced by liquid diet. *Proc Exp Biol Med* 117 : 789-793, 1964.
- 12) Ekstrom J : Choline acetyltransferase and secretory responses of the rat's salivary glands after liquid diet. *Q J Exp Physiol* 58 : 171-179, 1973.
- 13) Scott J, Berry MR, Gunn DL, Woods K : The effects of a liquid diet on initial and sustained, stimulated parotid salivary secretion and on parotid structure in the rat. *Arch Oral Biol* 35 : 509-514, 1990.
- 14) Scott J, Gunn DL : A comparative histological investigation of atrophic changes in the major salivary glands of liquid-fed rats. *Arch Oral Biol* 36 : 855-857, 1991.
- 15) 中村恵子 : マウス唾液腺神経伝達物質および唾液分泌反応に及ぼす短期間のバルク食あるいは液状食飼育の影響. *歯基礎誌* 39 : 655-664, 1997.
- 16) Kurahashi M, Inomata K : Effects of dietary consistency and water content on parotid amylase secretion and gastric starch digestion in rats. *Arch Oral Biol* 44 : 1013-1019, 1999.
- 17) Takahashi S, Uekita H, Kato T, Yuge F, Ushijima N, Inoue K, Domon T : Involvement of apoptosis and proliferation of acinar cells in atrophy of rat parotid glands induced by liquid diet. *J Mol Hist* 43 : 761-766, 2012.
- 18) Takahashi S, Takebuchi R, Taniwaki H, Domon T : Recovery of atrophic parotid glands in rats fed a liquid diet by switching to a pellet diet. *Arch Oral Biol* 96 : 39-45, 2018.
- 19) Wilborn WH, Schneyer CA : Ultrastructural changes of rat parotid glands

- induced by a diet of liquid metrecal. *Z Zellforsch* 103 : 1-11, 1970.
- 20) Hand AR, Ho B : Liquid-diet-induced alterations of rat parotid acinar cells studied by electron microscopy and enzyme cytochemistry. *Arch Oral Biol* 26 : 369-380, 1981.
- 21) ElGhamrawy TA : The effect of liquid diet on the parotid gland and the protective role of L-carnitine. *Folia Morphol* 74 : 42-49, 2015.
- 22) Mansson B, Ekman R, Hakanson R, Ekstrom J : Neuropeptides and disuse of the rat parotid gland. *Exp Physiol* 75 : 597-599, 1990.
- 23) Takahashi S, Uekita H, Kato T, Yuge F, Ushijima N, Inoue K, Domon T : Immunohistochemical and ultrastructural investigation of acinar cells in submandibular and sublingual glands of rats fed a liquid diet. *Tissue Cell* 46 : 136-143, 2014.
- 24) 弓削文彦, 高橋茂, 土門卓文, 大畑昇 : 液状食飼育がラット口蓋腺に与える影響に関する組織学的および免疫組織化学的研究. *北海道歯誌* 33 : 160-167, 2013.
- 25) 関千代子, 加藤栄子, 成田豊子, 幼児の食生活に関する研究. *淑徳短期大学研究紀要* 42 : 127-140, 2003.
- 26) Yamanaka R, Akther R, Furuta M, Koyama R, Tomofuji T, Ekuni D, Tamaki N, Azuma T, Yamamoto T, Kishimoto E : Relation of dietary preference to bite force and occlusal contact area in Japanese children. *J Oral Rehabil* 36 : 584-591, 2009.
- 27) Negishi S, Richards LC, Kasai K : Relation of dietary preference to masticatory movement and masticatory exercises in Japanese children. *Arch Oral Biol* 108 : 104540, 2019.

- 28) Takahashi S, Uekita H, Kato T, Inoue K, Domon T : Growth of rat parotid glands is inhibited by liquid diet feeding. *Tissue Cell* 47 : 336-341, 2015.
- 29) Takahashi S, Uekita H, Taniwaki H, Domon T : Acinar cell response to liquid diet during rats' growth period differs in submandibular and sublingual glands from that in parotid glands. *Tissue Cell* 49 : 275-284, 2017.
- 30) 芝燁彦, 芝紀代子 : 唾液の基礎知識. 日本唾液腺学会編, 徹底レクチャー 唾液・唾液腺, 1-36, 第1版, 金原出版, 東京, 2016.
- 31) Crawford JM, Taubman MA, Smith DJ : Minor salivary glands as a major source of secretory immunoglobulin A in the human oral cavity. *Science* 190 : 1206-1209, 1975.
- 32) Shern RJ, Fox PC, Cain JL, Li SH : A Method for Measuring the Flow of Saliva from the Minor Salivary Glands. *J Dent Res* 69 : 1146-1149, 1990.
- 33) Tandon A, Singh NN, Sreedhar G : Minor salivary glands and dental caries: Approach towards a new horizon. *J Nat Sci Biol Med* 4 : 364-368, 2013.
- 34) 和泉伸一, 伊藤仁, 梅村しのぶ, 長村義之, 鴨志田伸吾, 川合健司, 芹澤昭彦, 堤寛, 名倉宏 : 光顕的酵素抗体法染色の実際. 名倉宏, 長村義之, 堤寛編, 改訂四版 渡辺・中根 酵素抗体法, 123-190, 学際企画, 東京, 2005.
- 35) 毛利学, 島津薫 : 臨床に役立つ局所解剖 口蓋の血管・神経. *日耳鼻会報* 94 : 1202-1205, 1991.

## 付図説明

### 図 1 実験動物の体重

各飼育期間において、対照群と実験群の間に有意差は認められない。経時的に体重は増加傾向を示している。

(n=4, 平均値±SEM)

### 図 2 口蓋腺の組織像 (HE 染色)

0 週 (a,b) , 4 週対照群 (c) , 4 週実験群 (d) : 0 週では腺房はほとんどが粘液性細胞から成っているが (a), 一部には漿液性腺房 (➡) や漿液性半月 (▲) もわずかながらみられる (b). 4 週では腺腔の拡大した粘液性腺房が認められたが, 対照群 (c) と実験群 (d) の間に組織像の違いはみられない。

### 図 3 口蓋腺の PAS 染色像, AB 染色像

0 週 (a,b), 4 週対照群 (c,d) , 4 週実験群 (e,f) ; PAS (a,c,e) ,AB (b,d,f) : 0 週にみられる漿液性腺房 (→) は PAS 強陽性 (a), AB 弱陽性 (b) である。4 週では対照群 (c,d) と実験群 (e,f) の PAS と AB に対する染色性に差異は認められない。

### 図 4 口蓋腺の高径

4 週においてのみ実験群は対照群より有意に小さく (\* $p<0.05$ ), 他の期間に有意差は認められない。経時的に高径は弱いながら増加傾向を示す。

(n=4, 平均値±SEM)

### 図 5 口蓋腺の長径

4 週においてのみ実験群は対照群より有意に小さく (\* $p<0.05$ ), 他の期間に有意差は認められない. 飼育期間が長いほど長径はやや大きくなる傾向を示す.

( $n=4$ , 平均値 $\pm$ SEM)

#### 図 6 口蓋腺の幅径

各飼育期間において, 対照群と実験群の間に有意差は認められない. 飼育期間が長くなるにつれて幅径はわずかながら増大傾向を示す.

( $n=4$ , 平均値 $\pm$ SEM)

#### 図 7 BrdU 免疫染色像

0 週 (a) , 1 週 (b,d) , 8 週 (c,e) ; 対照群 (b,c) , 実験群 (d,e) : 0 週 (a) では多くの陽性腺房細胞 (→) が観察されるが, 対照群, 実験群ともに経時的にその数は減少している (b,c,d,e).

#### 図 8 1 視野あたりの BrdU 陽性腺房細胞数

各飼育期間において対照群と実験群の間に有意差は認められない. 両群とも経時的に陽性腺房細胞数は減少している.

( $n=4$ , 平均値 $\pm$ SEM)

図 1

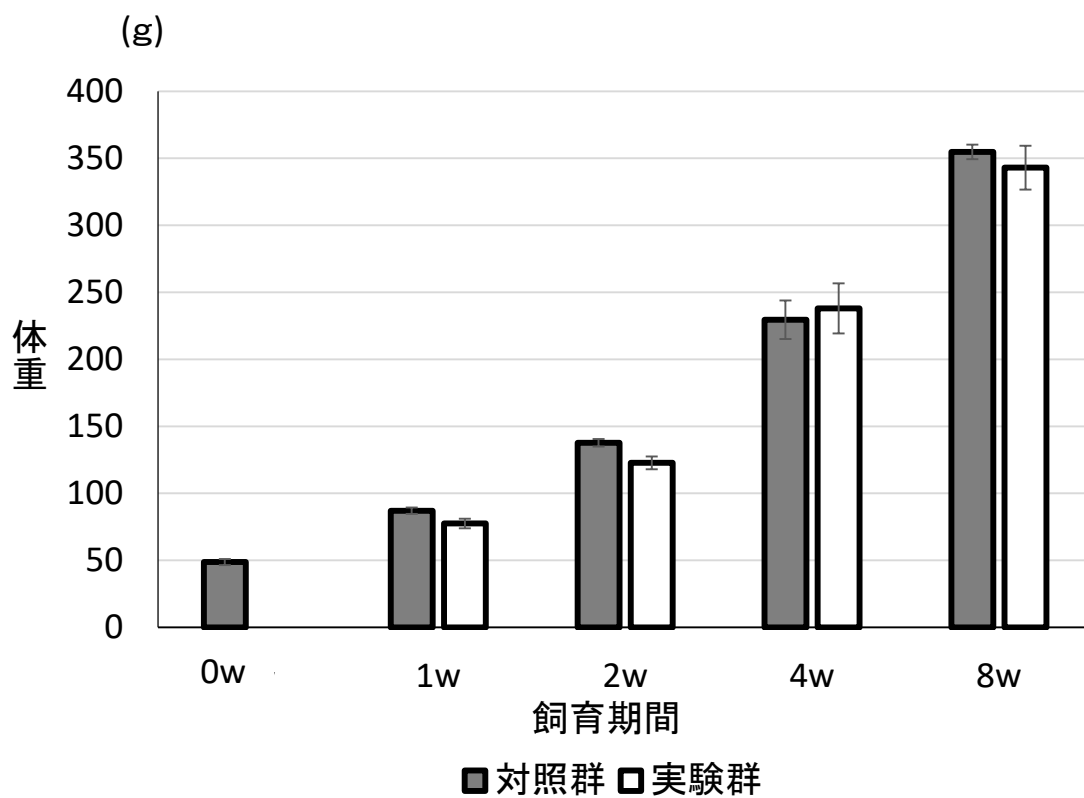
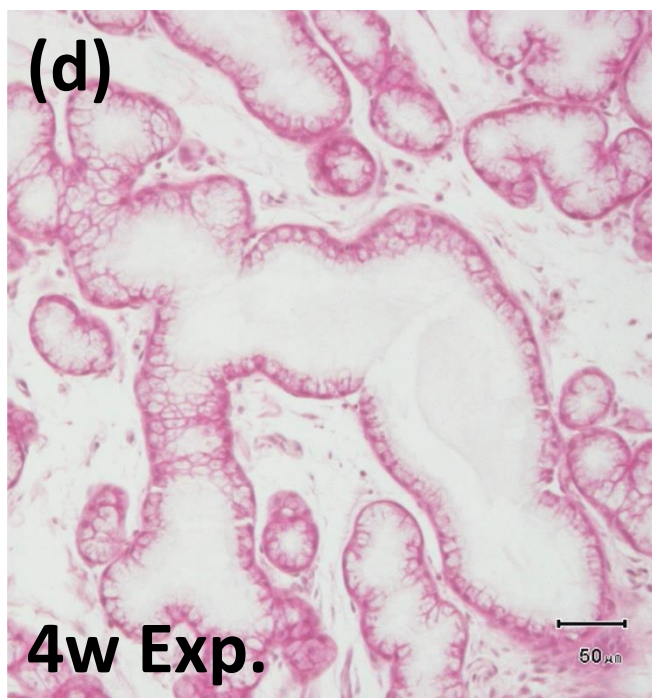
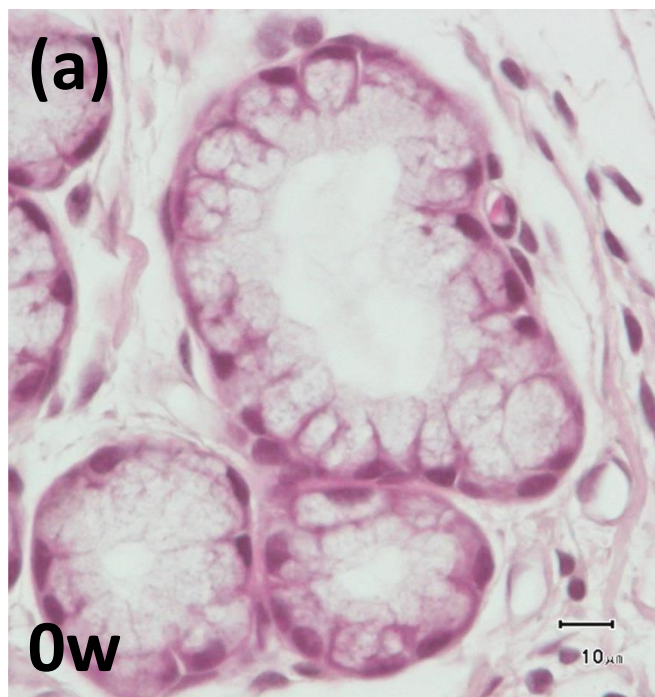


図2



# 図3

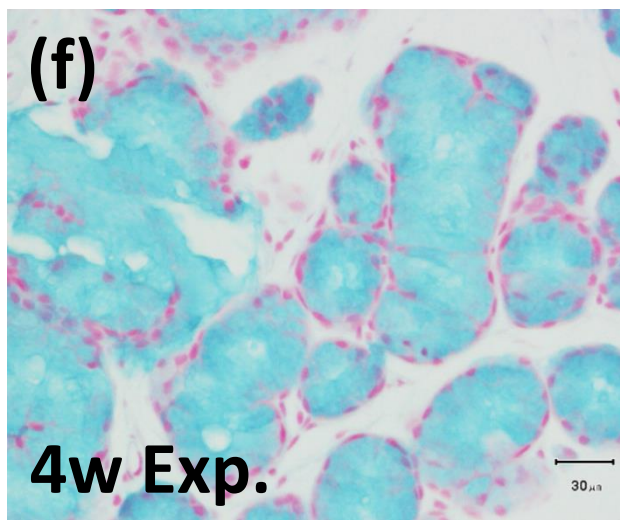
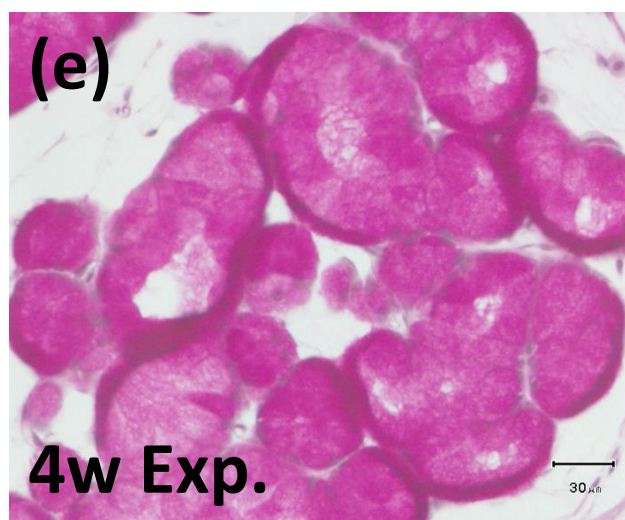
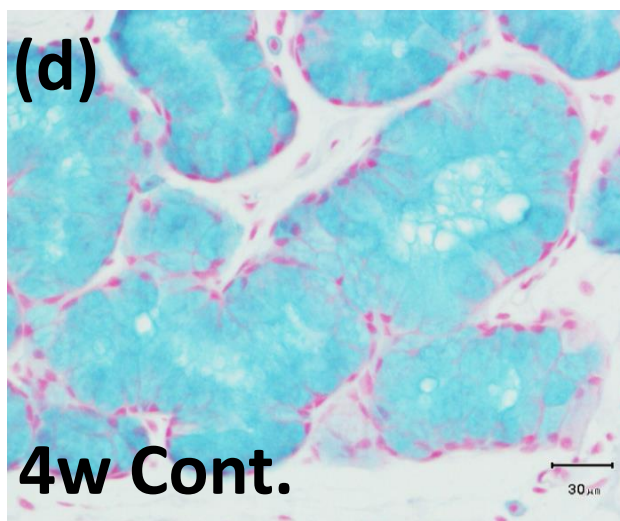
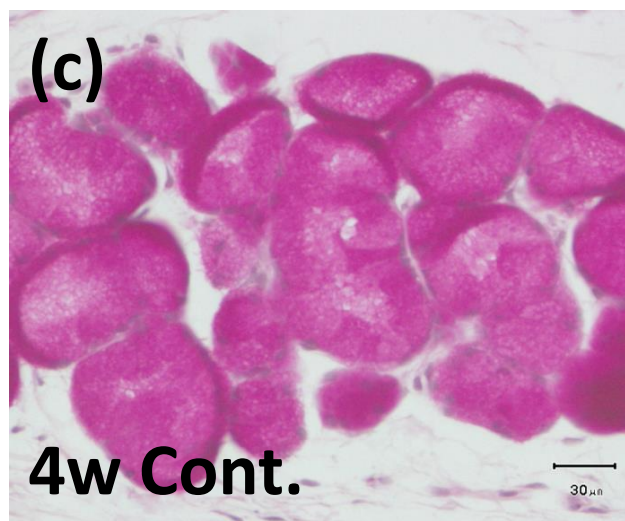
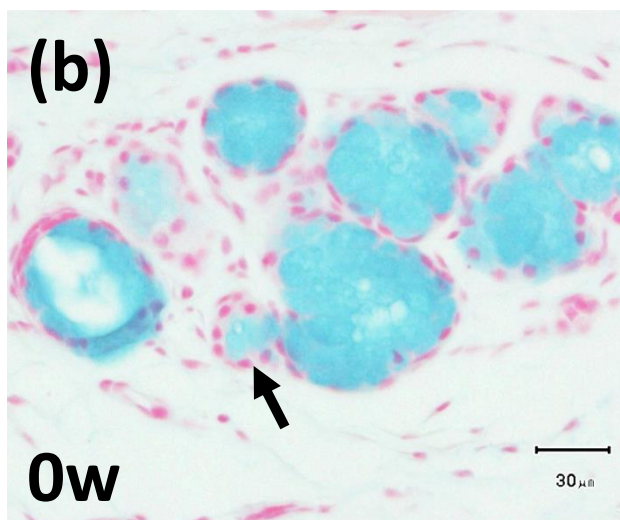
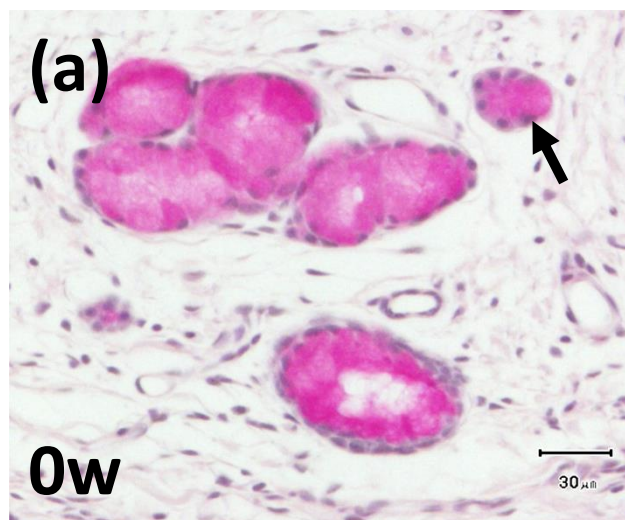


図4

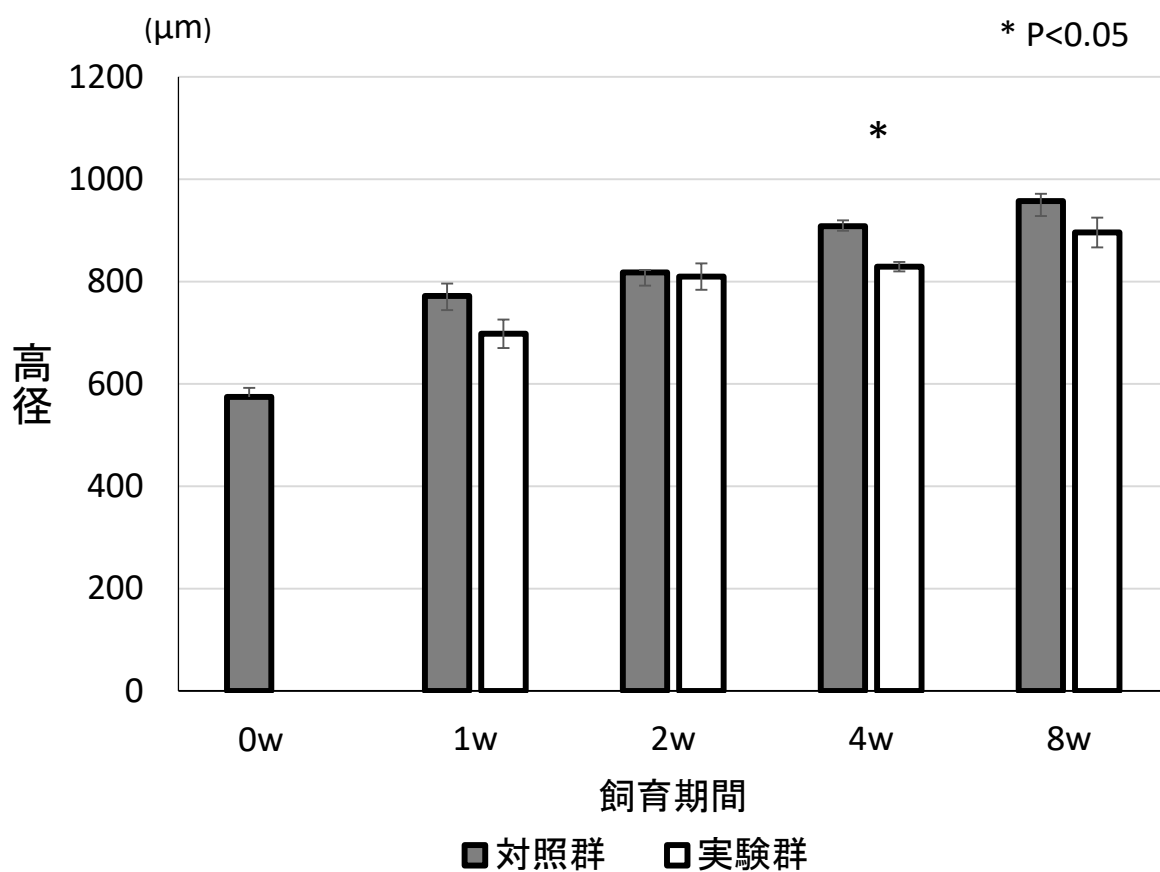


図5

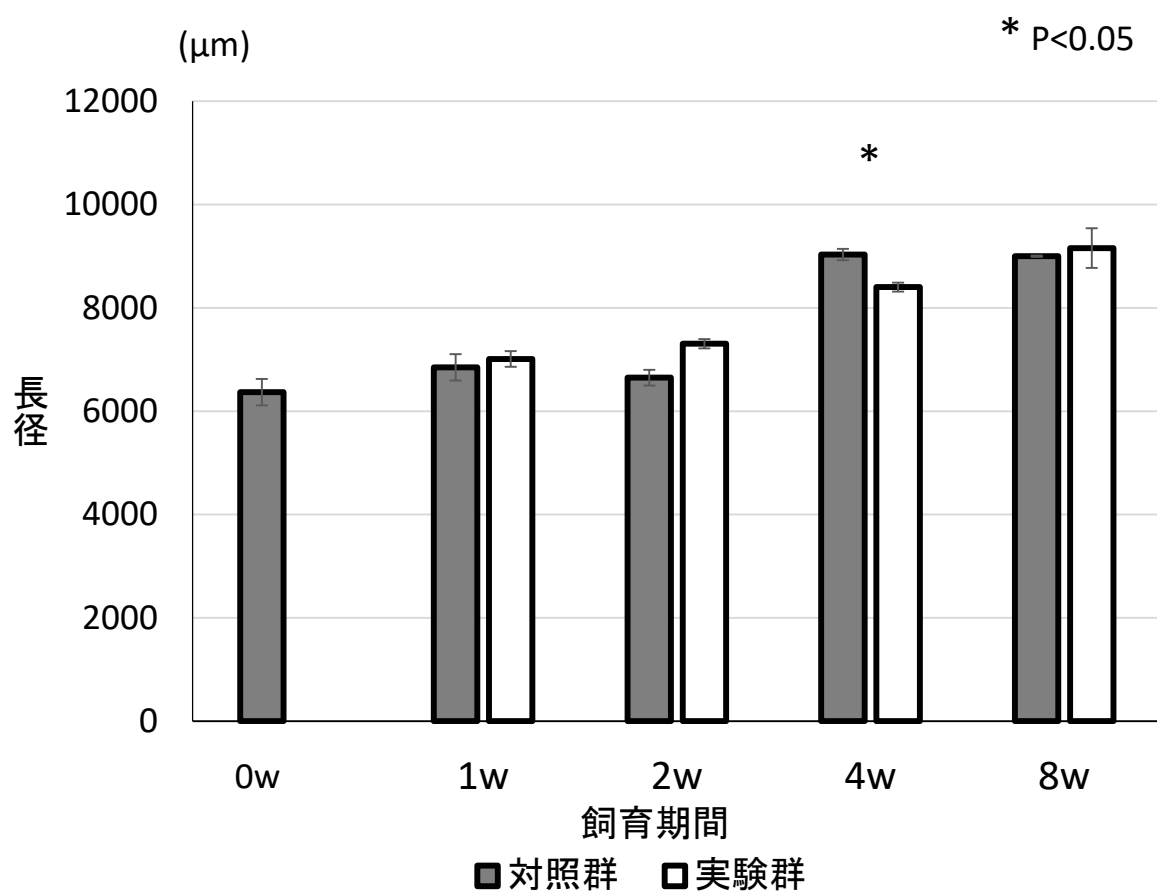
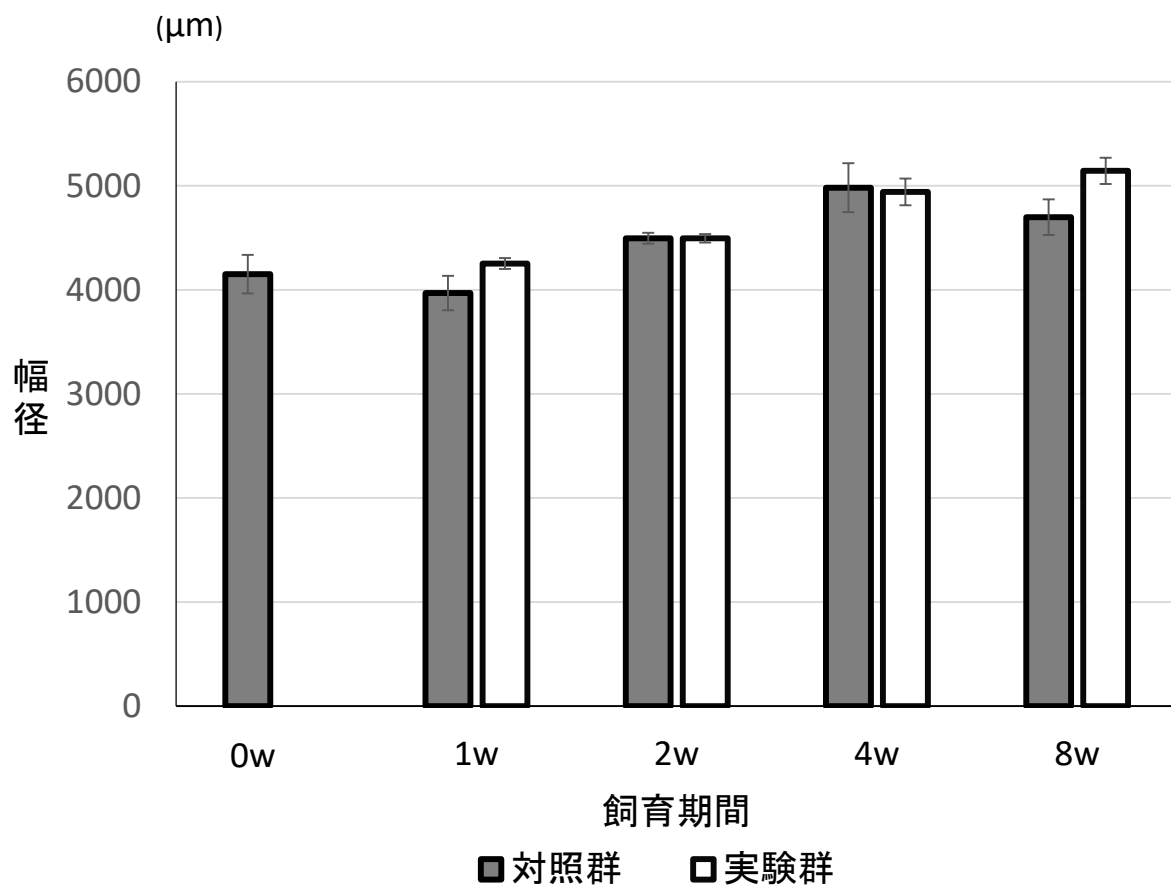


図6



# 図7

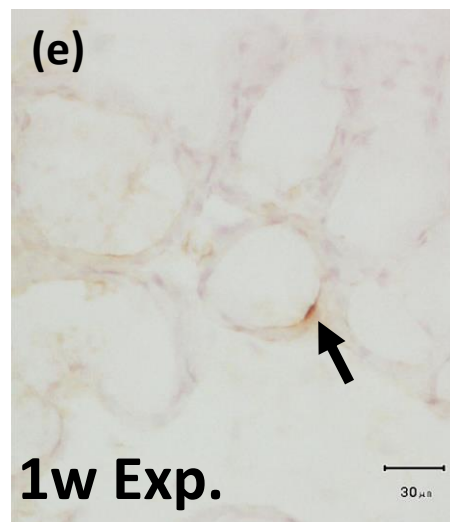
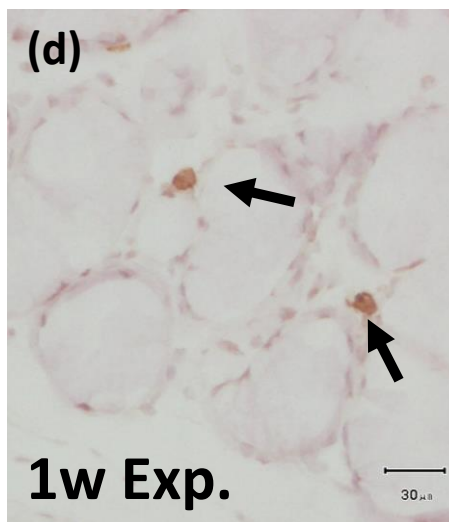
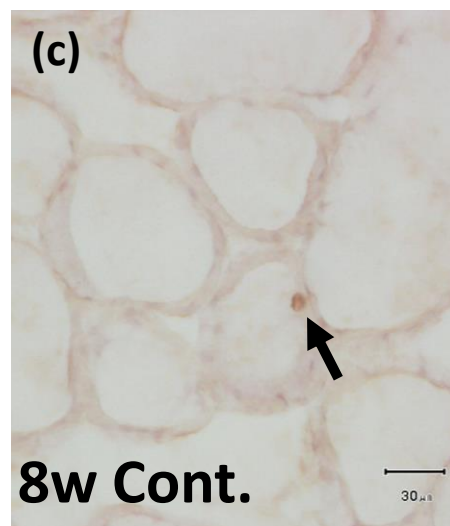
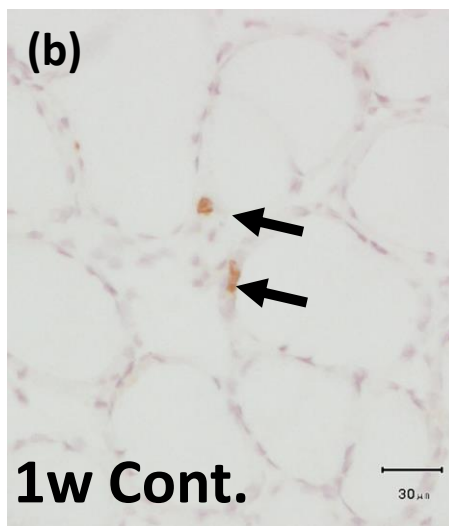
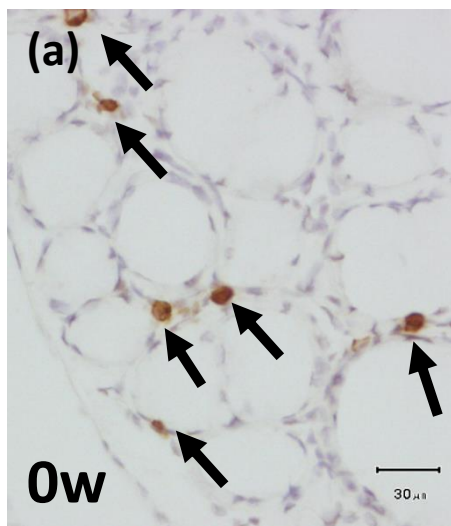


図8

