



HOKKAIDO UNIVERSITY

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; 高橋, 茂; 八若, 保孝
Citation	北海道歯学雑誌, 41(1), 38-45
Issue Date	2020-09-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/79380
Type	journal article
File Information	41_01_06.pdf



原 著

液状飼料飼育によるラット口蓋腺発育への影響

竹 淵 壘^{1,2)} 高橋 茂²⁾ 八若 保孝¹⁾

抄 録: 成長期のラットを液状飼料で飼育すると、耳下腺の発育は阻害される。一方、顎下腺や舌下腺に対する影響はないか、あっても軽微であり、唾液腺の種類により液状飼料飼育による影響は異なると考えられている。そこで本研究では、液状飼料飼育が口蓋腺の発育にどのような影響を与えるのかを、組織学的に明らかにすることを目的とした。

生後21日齢で離乳したWistar系雄性ラットを対照群と実験群に分けた。離乳後、対照群には固形飼料、実験群には液状飼料を与え、0～8週間飼育した。飼育期間が終了した動物の上顎を正中断し、通法に従ってパラフィンブロックを作製した。正中から側方に向かって矢状方向で連続切片を作製した。切片にはHE染色、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。口蓋腺の高径、長径、幅径を組織計量学的に計測した。また、BrdU免疫染色を行い、光学顕微鏡にて1視野当たりの陽性腺房細胞数を計数した。

0週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が、少数の漿液性細胞も認められた。粘液性細胞、漿液性細胞ともにPAS陽性、AB陽性であった。対照群の各週の口蓋腺は0週のものと同様の構造は類似していたが、特に2週以降腺腔拡大を示す粘液性腺房が多くみられるようになった。一方、漿液性細胞は経時的に減少傾向がみられた。実験群の口蓋腺はいずれの期間においても対照群とほぼ同様の組織像を呈しており、組織化学的にも染色性に大きな差異は認められなかった。組織計量学的には、4週の高径、長径のみ対照群が実験群より有意に大きかったが、それ以外の飼育期間、計測項目において有意差はなかった。1視野あたりのBrdU陽性腺房細胞数は経時的に減少し、各飼育期間において両群の間に有意差はなかった。

液状飼料飼育がラット口蓋腺の発育に与える影響は、極めて軽度であることが明らかとなった。

キーワード: 口蓋腺、発育、液状食、組織計量、BrdU

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¹⁾、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²⁻¹⁰⁾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¹¹⁻¹⁸⁾。組織学的には腺房細胞が萎縮し^{13, 14, 17-20)}、腺房細胞の増殖活性低下^{17, 18)}やアポトーシスの増加^{17, 18, 21)}が観察されている。それに対して顎下腺で

は、萎縮しない^{15, 16, 22, 23)}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^{12, 15, 23)}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²⁴⁾。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²⁵⁻²⁷⁾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^{28, 29)}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²⁸⁾一方、顎下腺では影響がなく²⁹⁾、舌下腺でもほとん

¹⁾ 〒060-8586 札幌市北区北13条西7丁目
北海道大学大学院歯学研究院口腔機能学講座小児・障害者歯科学教室（主任：八若 保孝 教授）

²⁾ 〒060-8586 札幌市北区北13条西7丁目
北海道大学大学院歯学研究院口腔機能学講座口腔機能解剖学教室（主任：高橋 茂 准教授）

ど影響はない²⁹⁾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%³⁰⁾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^{31, 32)}、分泌量や唾液の性状がう蝕リスクと関わりがある³³⁾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、先行研究は全く不明のままである。

そこで、本研究では代表的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) (2.5 mg/体重100 g) (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 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。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 μm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℃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0.01 M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

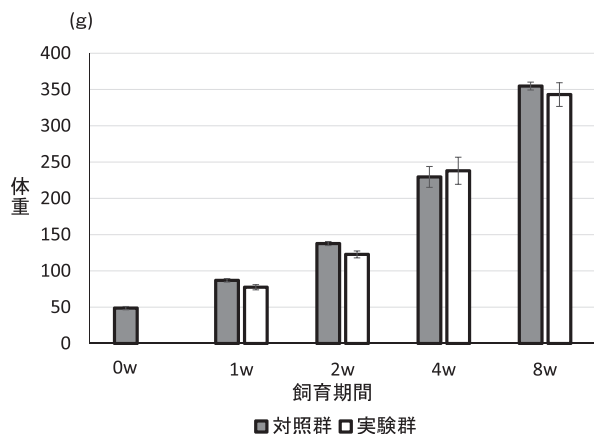


図1 実験動物の体重

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)

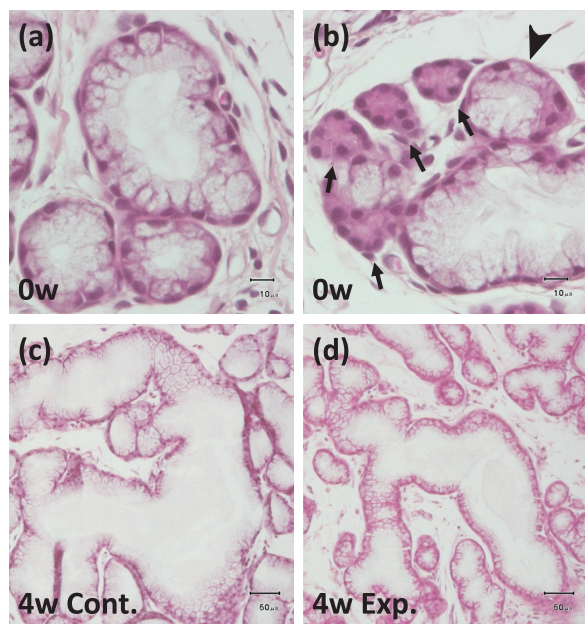


図2 口蓋腺の組織像 (HE染色)

0週 (a, b), 4週対照群 (c, d), 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。

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)。

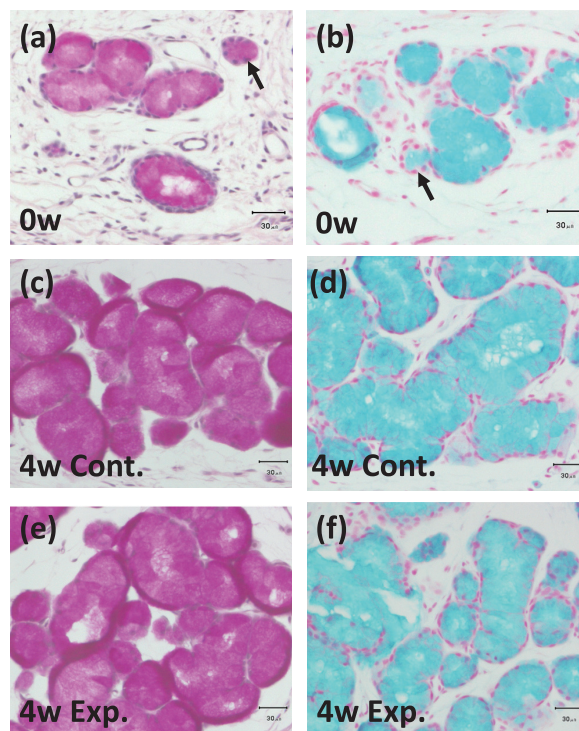


図3 口蓋腺のPAS染色像, AB染色像

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。

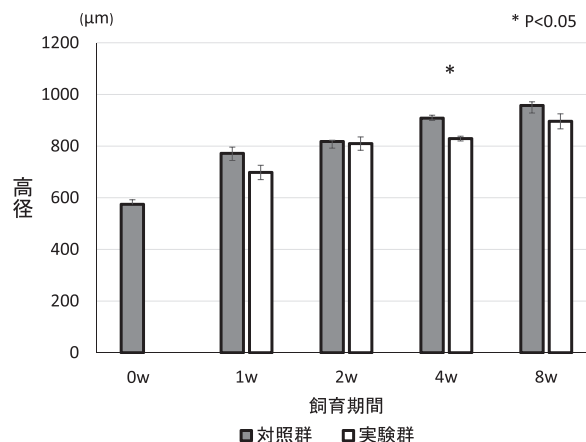


図4 口蓋腺の高径

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)

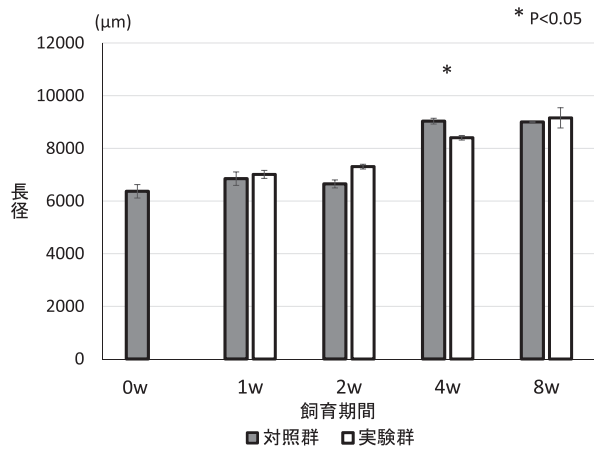


図5 口蓋腺の長径

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±SEM)

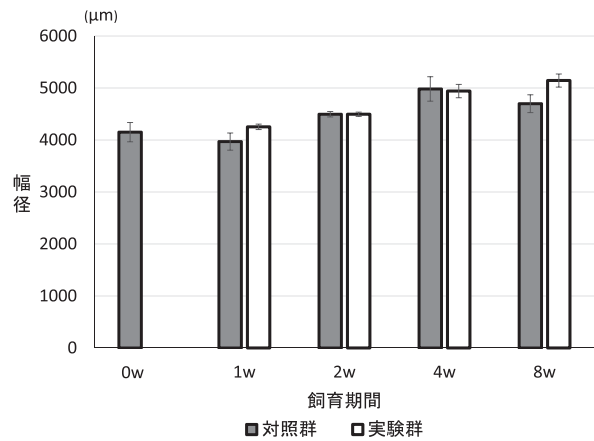


図6 口蓋腺の幅径

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±SEM)

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)。

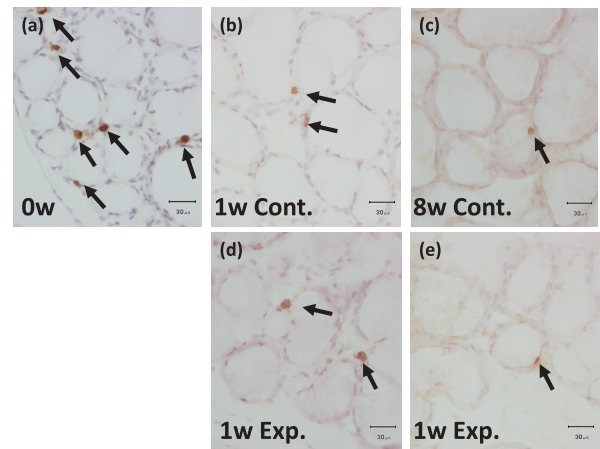


図7 BrdU免疫染色像

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)。

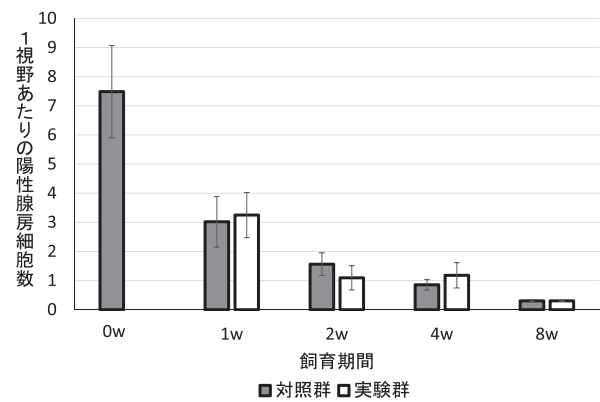


図8 1視野あたりのBrdU陽性腺房細胞数

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±SEM)

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^{3-9, 13)}。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¹⁰⁾。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^{8, 9, 17, 18, 23, 24, 28, 29)}、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²⁴⁾、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^{14, 17)}。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^{17, 18, 23, 24, 28, 29)}。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BrdU³⁴⁾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²⁸⁾。

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^{28, 29)}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^{11-14, 17)}、顎下腺^{15, 16, 23)}や舌下

腺^{12, 15, 23)}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¹²⁾やアセチルコリン濃度の減少¹⁵⁾が認められることから、中村¹⁵⁾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、口蓋腺に関連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³⁵⁾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²⁴⁾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。成長期ラットの顎下腺、舌下腺を対象とした同様の実験では、純漿液腺である顎下腺では液状飼料飼育の影響は全くなく、粘液性腺房細胞が優位な混合腺である舌下腺では8週の腺房細胞の大きさと増殖活性にのみ、液状飼料飼育の影響が認められている²⁹⁾。これについてTakahashiら²⁹⁾は液状飼料飼育に対する顎下腺と舌下腺の反応の違いは、主たる腺房細胞の種類の違いに関係しているのではないかと推測している。なぜならば、種々の病理的実験条件に対して、漿液性腺房細胞と粘液性腺房細胞は異なる反応を示す場合があるということが報告されている³⁶⁻³⁹⁾からである。口蓋腺の実質も、舌下腺と同じく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) 斎藤滋：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, 島津黛 : 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.
 - 36) Abok K, Brunk U, Jung B, Ericsson J : Morphologic and histochemical studies on the differing radiosensitivity of ductular and acinar cells of the rat submandibular gland. *Virchows Arch Cell Pathol* 45, 443-460, 1984.
 - 37) Seifert G, Miehlike A, Haubrick J, Chilla R : Sialadenitis, 12th Chap. *Diseases of the Salivary Glands*, 1st ed. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp. 110-170, 1986.
 - 38) Takahashi S, Nakamura S, Suzuki R, Islam N, Domon T, Yamamoto T, Wakita M : Apoptosis and mitosis of parenchymal cells in duct-ligated rat submandibular gland. *Tissue Cell* 32, 457-463, 2000.
 - 39) Takahashi S, Shinzato K, Nakamura S, Domon T, Yamamoto T, Wakita M : The roles of apoptosis and mitosis in atrophy of the rat sublingual gland. *Tissue Cell* 34, 297-304, 2002.

ORIGINAL

Effects of Liquid-Diet Feeding on the Growth of Rat Palatine Glands

Rui Takebuchi^{1, 2)}, Shigeru Takahashi²⁾ and Yasutaka Yawaka¹⁾

ABSTRACT : Previous studies showed that the growth of rat parotid glands was inhibited by a liquid-diet feeding, whereas that of sublingual and submandibular glands is hardly affected. However, it is unclear whether the growth of minor salivary glands is inhibited by a liquid diet. The purpose of this study was to clarify the effects of liquid-diet feeding on the growth of rat palatine glands, histologically and immunohistochemically. Male Wistar rats aged 21 days were used. The control and experimental rats were fed a pellet diet and a liquid diet, respectively, for 0–8 weeks. After getting injected with 5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU), the rats were perfused under general anesthesia, and their upper jaws were removed. Serial sections of the right half of the palatine glands were stained with hematoxylin and eosin (HE), periodic acid Schiff (PAS), alcian blue (AB), and BrdU. The height, length, and width of the palatine glands were measured. The number of BrdU-positive acinar cells were counted under a light microscope. At week 0, the palatine glands were mainly composed of mucous cells. However, a few serous cells were also seen. After week 2, in the controls, some lumina of mucous acini were dilated, and no serous cells were observed. The acinar cells tested positive for PAS and AB at all test points in the controls. The palatine glands in the experimental group were histologically and histochemically similar to those of the control groups. There was no significant difference between the two groups in terms of histomorphometric data, except for the height and length of the palatine glands at week 4. Many BrdU-positive acinar cells were observed in both groups at week 0. The number of these cells decreased over time. There was no significant difference between the two groups at any point in time in the number of BrdU-positive cells. These findings prove that liquid-diet feeding has little effect on the growth of rat palatine glands.

Key Words : Palatine glands, Growth, Liquid diet, Histomorphometry, BrdU

¹⁾ Dentistry for Children and Disabled Persons, Department of Oral Functional Science, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University (Chief: Prof. Yasutaka Yawaka), North 13, West 7, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido, 060-8586, Japan.

²⁾ Oral Functional Anatomy, Department of Oral Functional Science, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University (Chief: Assoc.Prof. Shigeru Takahashi), North 13, West 7, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido, 060-8586, Japan.