

9 7 4 4 唾液分泌の塩類浸透圧負荷による変化とその中枢性調節

助成研究者：稲永 清敏 (九州歯科大学 生理学講座)

共同研究者：本田 栄子 (九州歯科大学 生理学講座)

唾液および粘液により、口腔内の湿潤状態が調節される。血漿浸透圧上昇は、唾液や粘液の分泌の減少をもたらす、これらの分泌減少により口渇感が発生すると考えられる。視床下部は、唾液分泌の高次調節中枢である。脳室周囲部の浸透圧受容体を刺激する手段として、脳室内に高張液を注入する方法があり、いくつかの報告がなされている。しかし、高張食塩水を注入すると唾液分泌速度が減少するという報告や逆に増加するという報告があり、まだ意見の一致をみていない。さらに、脳室内への高張食塩水と、高張のグルコースあるいはグリセロール注入では、反応が逆になるとされており、血漿浸透圧上昇による唾液分泌の減少が、浸透圧受容によるものなのか、Na受容によるものなのかも分かっていない。中枢における浸透圧受容機構は、齧歯類を用いた実験によりかなりあきらかになってきたが、体液調節機構と唾液分泌に関連する研究の多くは、ヒトをはじめ、牛・ヒツジ・ヤギ・イヌ等の大きな動物でなされてきた経緯がある。ラットでは、高温環境下での唾液分泌が、絶水や体液量減少あるいは高張液刺激によりどのように変化するか調べた研究が一例あるだけである。このように、浸透圧受容機構の解明が進んだラットを用いて、これらの機構が唾液分泌にどのように影響を与えるか調べることは意義があると考えられる。実験では、一定量の固形飼料を動物に与え、摂食に要する時間・その時に分泌される唾液量および唾液分泌速度を観察し、これらの値が(i) 24時間絶水した場合、(ii) 腹腔内に食塩水(0.9%および5%)を注入した場合、(iii) 側脳室内に高張液(1M NaClおよび0.9M マニトール、コントロールとして0.15 MのNaCl)を注入した場合に分けて調べた。唾液は、自由行動下のラットの耳下腺導管に装着したポリエチレンチューブより、採取した。ただし、測定期間中は、ラットは、水を自由に摂取できないような状態においた。5% NaCl腹腔内投与および1M NaCl および0.9 M マニトール脳室内投与により、1個の固形飼料を食べるのに要する時間は延長した。その間に分泌される反射唾液量は、変化がないか、わずかに増加した。唾液分泌速度は、投与直後に一過性に減少した。一方、絶水したラットでは、最初の数個の固形飼料の摂取時に、反射唾液量および唾液分泌速度の増加が観察された。以上のことから、高張液の急性投与により、中枢に存在する浸透圧受容器が活性化され、耳下腺からの反射唾液の分泌が減少することが示唆された。また、脱水時に反射唾液の分泌が亢進したことは、味覚や触覚等の要因が複雑に係わっていると考えられる。

9744 唾液分泌の塩類浸透圧負荷による変化とその中枢性調節

助成研究者：稲永 清敏 (九州歯科大学 生理学講座)

共同研究者：本田 栄子 (九州歯科大学 生理学講座)

1. 研究目的

喉が渇くと水が飲みたくなる。飲水行動の主要な誘因因子のひとつとして、血漿浸透圧の上昇があげられる。視床下部とくに脳室周囲部には、NaClだけではなくいわゆる浸透圧変化に応じる浸透圧受容体が存在し、飲水行動や抗利尿ホルモンの分泌調節を行っていることが明らかになってきた(1)。しかし、視床下部で浸透圧が受容されて、それが飲水行動とどのように結びつくのか、いまのところははっきり解っていない。

唾液および粘液により、口腔内の湿潤状態が調節される。血漿浸透圧上昇は、唾液や粘液の分泌の減少をもたらす。これらの分泌減少により口渇感が発生すると考えられる。視床下部は、唾液分泌の高次調節中枢である。脳室周囲部の浸透圧受容体を刺激する手段として、脳室内に高張液を注入する方法があり、いくつかの報告がなされている。しかし、高張食塩水を注入すると唾液分泌速度が減少するという報告や逆に増加するという報告があり、まだ意見の一致をみていない。さらに、脳室内への高張食塩水と、高張のグルコースあるいはグリセロール注入では、反応が逆になるとされており、血漿浸透圧上昇による唾液分泌の減少が、浸透圧受容によるものなのか、Na受容によるものなのかも分かっていない(5)。また、動物の種の違いによって、異なった反応が得られる可能性も否定できない。

中枢における浸透圧受容機構は、齧歯類を用いた実験によりかなりあきらかになってきたが(1, 3)、体液調節機構と唾液分泌に関連する研究の多くは、ヒトをはじめ、牛・ヒツジ・ヤギ・イヌ等の大きな動物でなされてきた経緯がある(6)。ラットでは、高温環境下での唾液分泌が、絶水や体液量減少あるいは高張液刺激によりどのように変化するか調べた研究が一例あるだけである(2)。このように、浸透圧受容機構の解明が進んだラットを用いて、これらの機構が唾液分泌にどのように影響を与えるか調べることは意義があると考えられる。

ラットの安静時の唾液は非常に少なく、現在の方法では測定することが困難である。そこで、一定量の固形飼料を動物に与え、摂食に要する時間・その時に分泌される唾液量および唾液分泌速度を観察し、これらの値が絶水や腹腔内および脳室内への高張液の投与によってどのように変化するかを調べた。

2. 研究方法

実験には雄性ウイスターラットを用いた。ラットは一匹ずつプラスチックケージに入れ、 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 5\%$ 、12/12時間明-暗サイクル(照明開始朝8時)で飼育した。通常、水道水および固形飼料を、ad libitumに与えたが、測定3日前から19時間の給餌制限を行った。また、必要な場合は24時間の絶水を行った。使用したラットは、九州歯科大学動物実験委員会の基準にしたがって、管理、飼育された。

ネンブタール60mg/kg腹腔内注射により麻酔を行った後、脳定位固定装置にラットを固定し、右側の側脳室に薬液注入用として、24Gのガイドカニューレを装着した。一週間後、再びネンブタール麻酔下に、Matsuoらの方法(4)に従って、耳下腺導管にポリエチレンチューブ(PE10)を装着した。ポリエチレンチューブは瞬間接着剤(アロン α)で導管や周りの結合組織に固定した。挿入した部位は、耳下腺導管が咬筋表面で顔面神経下顎縁枝と併走する部位であった。PE10の断端には内径0.8mm、外径1.1mmのポリエチレンチューブを取り付け、側脳室ガイドカニューレ用のステージにデンタルセメントで固定した。さらに、唾液採取時には、ポリエチレンチューブを介し、唾液を採取し、1mgの精度をもつ電子天秤にて測定した。測定結果は、mgを μl と読み換えて表した。

200あるいは400mgの固形飼料をラットに与え、唾液分泌を誘発させた。その時に分泌される反射唾液量・摂食時間を測定し、唾液分泌速度を算出した。測定開始3日前からの制限給餌を施した。ラットには一定重量の固形飼料(200 mgあるいは400 mg)を与えた。食べ終わった後、ラットの摂食行動に応じて、1分から5分の一定間隔で、次の飼料の給餌を行った。ラットが途中で1個の固形飼料の摂食を中断した場合は、それまで食べた量および時間で、1個の固形飼料を食べたときの反射唾液量・摂食時間・唾液分泌速度として表した。測定期間中は、ラットは自由に摂水できない状態にあった。また、長時間摂食行動を止め、水の探索行動を開始したラットには、給水を行い、その後の唾液分泌の経過を観察した。

固形飼料の摂食による反射唾液分泌量の変化を(i) 24時間絶水した場合、(ii) 腹腔内に食塩水(0.9%および5%)を注入した場合、(iii) 側脳室内に高張液(1M NaClおよび0.9Mマニトール、コントロールとして0.15 MのNaCl)を注入した場合に分けて実験を行った。腹腔内への食塩水の注入では、注入液にはリドカインを0.8 mg/ml混入した。脳室内高張液注入実験では、脳室内注入用カニューレを、測定開始10分前にガイドカニューレに挿入した。注入には、マイクロインフュージョンポンプを用いた。注入速度 $4 \mu\text{l}/\text{min}$ 、注入時間5分間で注入を行った。

3. 結果

3.1. 24時間絶水による反射唾液分泌の変化

固形飼料を摂食した時の反射唾液分泌が、24時間絶水することによりどのように変化するかを調べた。前日にコントロールとしての反射唾液分泌を測定し、24時間の絶水を行った後、再び反射唾液分泌を測定した。Fig-1にその結果を示す。コントロールに較べて、一定量の固形飼料を食べるのに約2倍の時間を要し、約2.3倍の唾液を分泌した。また、Fig-1Cに示しているように、絶水刺激により、唾液分泌速度の増加が観察された。絶水されたラットは、多くても数個の固形飼料を食べると、その後は水を探索する行動を開始し、摂食行動を起こさなかった。

Fig-2は、5例の24時間の絶水前後の反射唾液量・摂食時間・唾液分泌速度の変化を示している。各々の値は、最初に提示された固形飼料をラットが食べたときの唾液分泌反応で得られた値を示している。24時間の絶水後に、反射唾液分泌量は調べた全例で増加し、摂食時間および唾液分泌速度は5例中4例で増加した。

3.2. 腹腔内高張食塩水注入による反射唾液分泌の変化

腹腔内高張食塩水注入による反射唾液分泌の変化を調べた ($n=4$)。調べた全例において、腹腔内への5%NaCl注入後から、数分～十数分に蹲り、水の探索行動・グルーミングを経て、摂食行動を開始した。Fig-3は、200mgの固形飼料の摂食時における反射唾液量・摂食時間 (AおよびB) および唾液分泌速度の腹腔内への生理食塩水 (0.9%NaCl) および高張食塩水 (5%NaCl) の注入による変化を示している。この例のように、高張食塩水注入直後の最初の固形飼料の摂食に要する時間は、大幅に増加したが、唾液分泌量はほとんど変化がないか、あるいは、わずかな増加が認められたにすぎなかった。Fig-3Bでは、この時、一過性の唾液分泌速度の減少が起こっていることを示している。その後の固形飼料の摂食では、唾液分泌量の増加が観察された。また、生理食塩水注入では、何等変化が認められなかった (Fig-3, $n=3$)

3.3. 脳室内高張液注入による反射唾液分泌の変化

NaCl(1 M) およびマニトール(0.9 M)の脳室内注入 ($4\mu\text{l}/\text{分}$, 5分間) による反射唾液分泌の変化を調べた。NaClの脳室内注入によって、腹腔内にNaClを注入した場合と同じような結果が得られた ($n=4$)。注入直後の最初の固形飼料を摂食では、摂食に要する時間は大幅に増加したが、唾液分泌量はほとんど変化がないか、あるいは、わずかな増加が認められた (Fig-4)。その後の摂食においては、唾液分泌量の増加が観察された。唾液分泌速度は一過性に減少した。マニトールの脳室注入により、摂食時間および唾液分泌量の増加が観察された (Fig-5)。また、0.15 M食塩水注入では、何等変化が認められなかった。 (Fig-6, $n=2$)

4. 考察

われわれの結果は、24時間の絶水を負荷したラットに、固形飼料を与えた時の唾液

分泌速度が、正常飲水に較べ増加していることを示している。この結果は予想外であった。ヒトで24時間の絶水を負荷した場合、耳下腺から分泌される安静時および反射唾液の分泌速度が減少すること（6）、ラットで、温熱刺激を加えた時の耳下腺唾液の分泌速度が減少すること（2）が報告されている。また、われわれは、2日間の絶水を負荷したマウスにピロカルピン刺激を与え、誘発される唾液分泌量はコントロールに較べて有意に減少することを観察している。このことは、絶水負荷により、唾液腺に貯留する唾液量が減少していることを示している。さらに、通常われわれが脱水状態になると、喉がカラカラになるという実体験から考えると、絶水により唾液の分泌速度が減少することのほうが理解しやすい。絶水状態下では、安静時唾液や粘液分泌も減少していると考えられる。この時、味物質が味細胞に到達しやすくなり、容易に刺激されやすくなるなど、味覚や触覚に対する被刺激性の閾値は低下している可能性がある。われわれが本実験で観察した唾液は、反射唾液である。反射唾液分泌速度は刺激の種類や程度によって変化することはよく知られている。このように、絶水負荷にも係わらず、固形飼料を与えたときの唾液分泌速度が増加したということは、口腔内が口渴状態にありながら、尚かつ摂食をしようと努力するラットにとって、少ない唾液を摂食に有効に利用するための機構が備わっているのかもしれない。しかし、絶水負荷されたラットは、多くても数個の固形飼料を食べると、その後は水を探索する行動を開始した。つまり、全唾液量は、減少しており、唾液分泌速度は一時的に増加しても長く続かないことを示している。

一方、腹腔内や脳室への高張食塩水の注入により、一過性の唾液分泌速度の減少が観察された。これは、Olssonのヤギを用いた実験と符号する（5）。この場合においても、ラットは提示された固形飼料を咀嚼・嚥下しようと努力しており、その結果として、唾液分泌速度の減少を摂食時間を長くすることによって補い、一個の固形飼料に対する全唾液量は減少せずに摂食を行っていた。

飲水行動や抗利尿ホルモン分泌調節を含む中枢性体液調節系の浸透圧受容機構については、Na受容なのか、浸透圧受容なのかという基本的ではあるが重要な問題に対して多くの論争がなされてきた。研究の経緯を詳細に調べた最近のレビューによると（1）、中枢にある浸透圧受容体は、いわゆるNa濃度の変化ばかりでなくいわゆる浸透圧に応じる機械受容体の一種であるとされている。本実験でも、例数は少ないが、高張なマニトール液の脳室内投与によって、高張食塩水を脳室内に投与した時とほぼ同じ様な結果を得た。この結果は、唾液分泌に関する浸透圧受容機構も、中枢性体液調節系と同じ様な部位が関与している可能性を示唆している。

本実験は、飲水行動の発現機構を解明する目的の一つとして、唾液分泌に焦点をあて、浸透圧の変化によってどのように唾液分泌が変化するかを調べたものである。高張食塩水やアンギオテンシン等の負荷により飲水行動が誘発される。最近われわれは、唾液腺を摘出したラットでは、これらの因子の負荷により摂取される飲水量は、コン

トロールに較べ有意に少ないことを観察している。これらと本実験の結果とを考えあわせると、血漿浸透圧上昇により中枢に存在する浸透圧受容体が活性化され、唾液分泌の減少がおり、口渇感を覚え飲水行動が誘発される可能性が示唆される。

5. 今後の課題

腹腔内あるいは、脳室内への高張液の投与により一過性に唾液分泌速度は減少するが、摂食時間を長くすることによって唾液分泌量は減少することなく、固形飼料を摂食していることが明らかになった。これが、咀嚼とどのように関係しているのか咬筋活動を記録し、定量的に解析することによって調べる必要がある。また、今回は、耳下腺唾液について調べたが、他の唾液腺たとえば顎下腺からの唾液分泌と浸透圧変化との関連も調べてみる必要がある。

6. 文献

1. Bourque, C.W.; Oliet, S.H.R.; Richard, D. Osmoreceptors, osmoreception, and osmoregulation. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 15: 231-274; 1994.
2. Horowitz, M.; Meiri, U. Thermoregulatory activity in the rat: Effects of hypothdiation, hypovolemia and hypertonicity and their interaction with short-term heat acclimation. *Comp. Biochem. Physiol*, 82 A: 577-582; 1985.
3. Inenaga, K.; Cui, L.-N.; Nagatomo, T.; Honda, E.; Ueta, Y.; Yamashita, H. Osmotic modulation in glutamatergic excitatory synaptic inputs to neurons in the supraoptic nucleus of rat hypothalamus in vitro. *J. Neuroendocrinology*, 9: 63-68; 1997.
4. Matsuo, R.; Yamamoto, T.; Ikehara, A.; Nakamura, O. Effect of salivation on neural taste responses in freely moding rats: analyses of salivary secretion and taste responses of the chorda tympani nerve. *Brain Res.*, 649: 136-146; 1994.
5. Olsson, K. Influence of altered CSF solute composition on parotid salivary secretion in goats. *Acta Physiol. Scand.*, 97: 196-201; 1976.
6. Ship, J.A.; Fischer, D.J. The relationship between dehydration and parotid salivary gland function in young and older healthy adults. *J. Gerontol.*, 52: M310-M319; 1997.

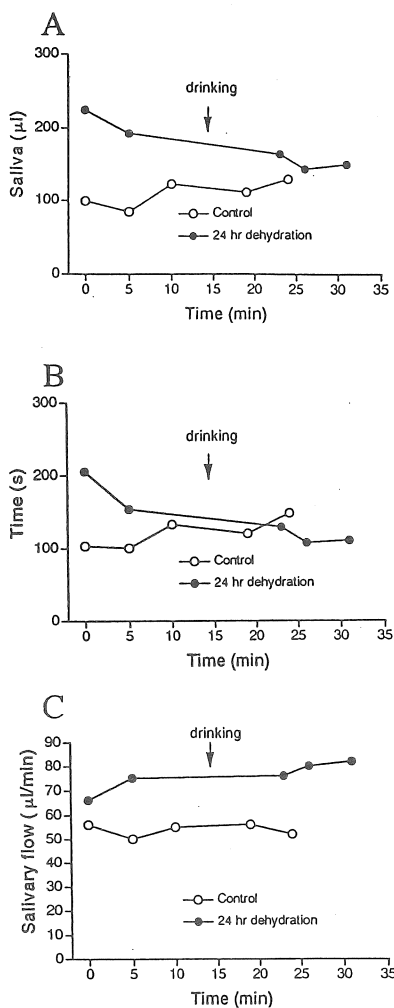


Fig. 1 Salivary secretion from the parotid gland in a rat, in control and after 24 hr dehydration. Each point shows event of salivary secretion from the parotid gland, in response to feeding of a 400 mg pellet. A shows volume of the stimulated saliva and B shows the time required, in eating a 400 mg pellet in control and 24 hr dehydration. C shows change of stimulated salivary flow rate estimated from A and B. Under 24 hr dehydrated condition, this rat stopped eating after two pellets and started to look for water. Then water was served for 3 and a half minutes (drinking).

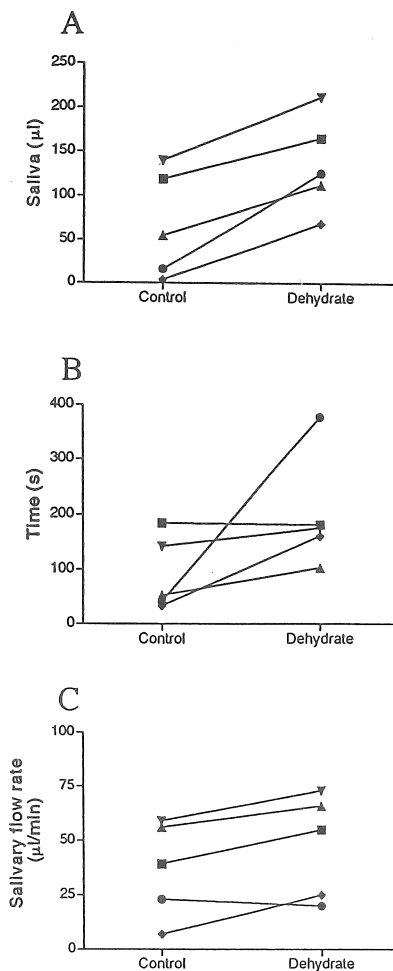


Fig. 2 Salivary secretion from the parotid gland of 5 rats, in control and after 24 hr dehydration. Saliva was secreted in response to feeding of a 400 mg pellet. In all cases tested, volume of the stimulated saliva increased after 24 hr dehydration (A). In four of five cases tested, time required to eat a pellet (B) and stimulated salivary flow rate (C) increased after 24 hr dehydration. The volume of stimulated saliva and the time required in all cases were indicated as that in eating 200 mg pellets.

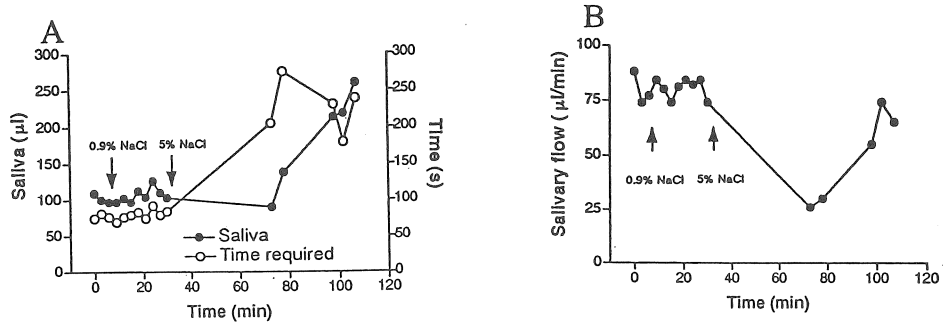


Fig. 3 Change of salivary secretion from the parotid gland in a rat with 5% NaCl i.p. injection. Each point shows event of salivary secretion from the parotid gland, in response to feeding of a 200 mg pellet. A shows change of stimulated saliva volume and the time required in eating a pellet with 0.9% and 5% NaCl injection. In eating the first pellet after 5% NaCl injection, the time required to eat the pellet increased three times but volume of the stimulated saliva did not change. Then, the volume of the stimulated saliva increased gradually. B shows a transient decrease of estimated salivary flow rate after 5% NaCl i.p. injection.

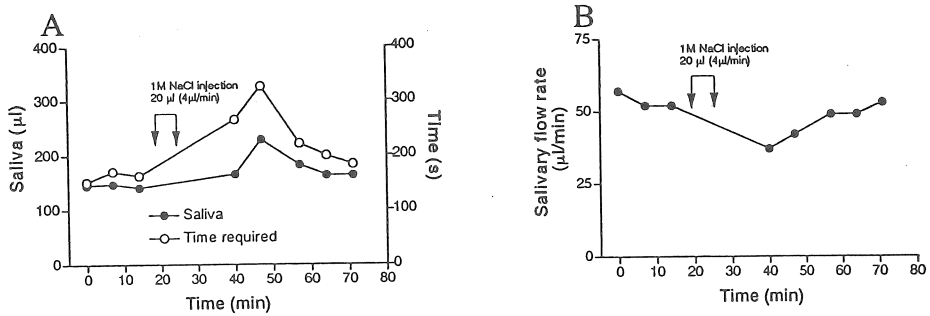


Fig. 4 Change of salivary secretion from the parotid gland in a rat with 1 M NaCl i.c.v. injection. Each point shows event of salivary secretion from the parotid gland, in response to feeding of a 200 mg pellet. A shows change of stimulated saliva volume and the time required in eating a pellet, with 1 M NaCl injection. In eating the first pellet after 1M NaCl injection, the time required to eat the pellet increased twice but volume of the stimulated saliva did not change. B shows a transient decrease of estimated salivary flow rate after 1 M i.c.v. injection.

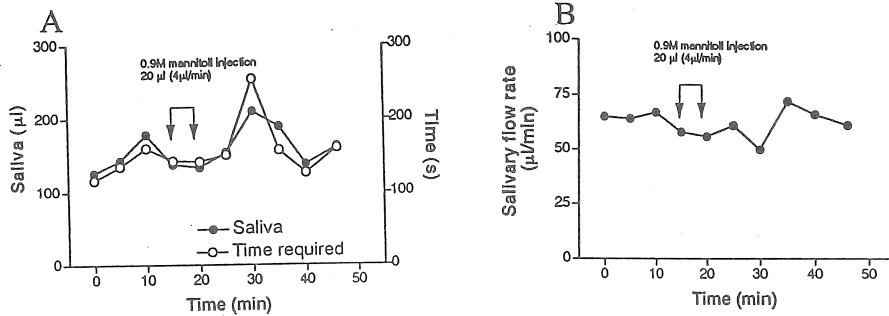


Fig. 5 Change of salivary secretion from the parotid gland in a rat with 0.9 M mannitol i.c.v. injection. Each point shows event of salivary secretion from the parotid gland, in response to feeding of a 200 mg pellet. A shows change of stimulated saliva volume and the time required in eating a pellet, with 0.9 M mannitol injection. B shows the estimated salivary flow rate.

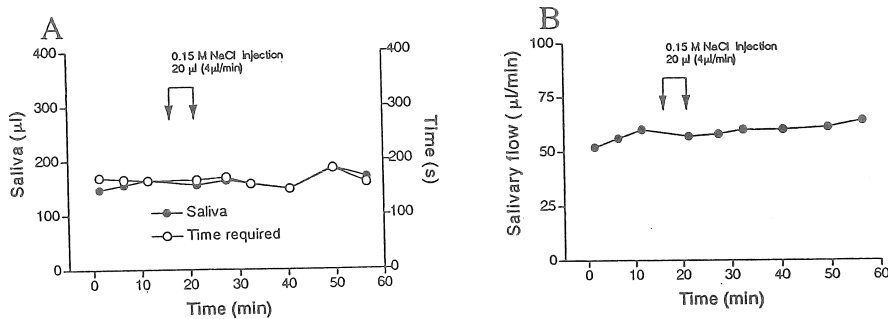


Fig. 6 No change of salivary secretion from the parotid gland in a rat with 0.15 M NaCl i.c.v. injection. Each point shows event of salivary secretion from the parotid gland, in response to feeding of a 200 mg pellet. A shows change of stimulated saliva volume and the time required in eating a pellet, with 0.15 M NaCl i.c.v. injection. B shows the estimated salivary flow rate.

Change of salivary secretion from the parotid gland of rat by hypertonic stimulation: central control of the secretion

Inenaga, K. and Honda, E.

Department of Physiology, Kyushu Dental College

Summary

Humidity in the oral cavity is influenced by saliva and mucus. Increase of plasma osmolarity decreases secretion of saliva and mucus. This induces oral dryness. The hypothalamus is a higher center of salivary secretion. The circumventricular organs in the hypothalamus have osmoreceptors which selectively respond to change of plasma osmolarity. Some studies show change of salivary secretion by intracerebroventricular injection of hypertonic solution. However, there was no consistency on the responses. Central mechanisms of body fluid balance including osmoreceptions and drinking behaviors have recently well understood by studies using rodents. To understand the central control of the salivary secretion in rats by hypertonic stimulation, the present study was designed. Salivary ducts of the parotid gland of Wistar rats were cannulated. Saliva was collected from freely moving rats. It was difficult to measure unstimulated saliva from the parotid gland of rat, because of the small secretion volume. Then we tested how stimulated saliva by feeding single pellets, the weights of which were 200 mg or 400 mg, was changed by hypertonic stimulation. As the hypertonic stimulation, 24 hr dehydration, intraperitoneal injection of 5 % NaCl solution and intracerebroventricular injection of 1M NaCl and 0.9 M mannitol solutions were used. As control of intraperitoneal and intracerebroventricular injections, 0.9 % and 0.15 M NaCl solutions were used, respectively. After intraperitoneal injection of 5 % NaCl solution and intracerebroventricular injection of 1M NaCl and 0.9 M mannitol solutions, time required to eat single pellets increased and saliva volume during the time did not decrease or rather increased in comparison to those in the control. Salivary flow transiently decreased after the injections. However, after dehydration, volume and secretory flow of stimulated saliva during eating single pellets increased compared to that in the control. From these results, it is suggested that acute hypertonic stimulation centrally decreases salivary flow from the parotid glands of rats and central osmoreceptions are involved in the control of the salivary secretion. In the chronic hypertonic stimulation like dehydration, there may underlie unknown mechanisms.