

導管結紮によって萎縮した耳下腺の回復における催唾剤投与の影響

増 田 渉

九州女子大学家政学部栄養学科 北九州市八幡西区自由ヶ丘1-1 (〒807-8586)

(2023年11月6日受付、2024年1月11日受理)

要 旨

ムスカリン受容体作動薬であるピロカルピンやセビメリンは催唾剤として広く使用されており、口腔乾燥症やシェーグレン症候群の患者に処方されてきた。催唾剤を長期にわたって使用することにより、無刺激唾液分泌量の改善だけでなく、口腔健康度スコアの改善も認められたとの報告もある。一方、催唾剤では唾液腺機能を回復させることはできないという報告もある。そこで、ラット耳下腺萎縮モデルを用いて、唾液腺組織の再生と唾液分泌機能の回復に対する催唾剤投与の効果について検討した。ラット耳下腺主導管を金属クリップにより2週間結紮することで、耳下腺重量が著しく減少するとともに、腺房細胞の消失と導管・導管様構造物や繊維性細胞が増加するという顕著な萎縮組織像が認められた。結紮を解除し、ピロカルピンまたはセビメリンを1週間投与することにより、生理食塩水を投与した場合に比べ明らかに腺房構造が回復した。さらに、セビメリンを投与した場合、生理食塩水を投与した場合に比べ唾液分泌機能が有意に回復し、耳下腺重量も有意に増加した。これらの結果は、催唾剤の連続投与が萎縮した唾液腺組織の再生を促進すること、そして唾液腺機能の回復にはセビメリンがピロカルピンよりも有効であることが示唆された。

1. 緒言

唾液はその約99.5%が水であるが、口腔内における潤滑・保護作用、抗菌作用、消化作用、緩衝作用といった多様な重要な機能を果たしている¹⁾。何らかの理由、例えば、口腔/頭頸部癌のX線照射治療、シェーグレン症候群・唾石・唾液腺炎等の疾患、ストレス、投薬による副作用、などにより唾液腺がダメージを受けると、唾液分泌量が低下することで口腔乾燥をきたし、健全な口腔内環境の維持が難しくなる¹⁾。このような唾液は、安静時には顎下腺から、また食事中は耳下腺と顎下腺から主に分泌される¹⁾。

唾液腺は非常に可塑性が高い。げっ歯類を通常の固形食から粉末食、あるいは液状食に変えて飼育するだけで、唾液腺重量の低下がおこる。そして再び通常食に戻す事により、唾液腺重量が回復する^{2,3)}。より病的な萎縮状態を反映させるモデル実験系として、腺房部で産生された唾液を口腔内へと運ぶ主導管をクリップ等で結紮し、そのまま数週間放置することにより、萎縮唾液腺を作成することができる。このモデル系でも、結紮を解除することにより、唾液腺重量・機能の回復がゆっくりとおこり、これは唾液腺組織再生の実験系として用いられている^{4~13)}。

導管結紮による萎縮唾液腺の作成、および、そこからの再生実験には、顎下腺、耳下腺が頻繁に用いられてきた。萎縮唾液腺の組織学的特徴として、腺房構造の大部分が消失し、それに変わって、管腔が大きく開いた導管あるいは導管様構造が大きな領域を占めるようになる。さらに導管・導管様構造と血管の周囲に間質細胞(繊維性細胞やリンパ球など)も多数出現する。一方、結紮を解除すると約1ヶ月程度で、再び正常な形態へ近づく^{5,7,8,11~13)}。これまでの研究で、副交感神経を切断すると、唾液腺の正常な再生が起らない事から、この再生過程において、自律神経、特に副交感神経による唾液腺の神経支配が重要である事が報告されている^{14,15)}。これらの現象は、多少の違いはあるものの、基本的には顎下腺・耳下腺の両方で共通していると考えられる。

唾液腺は自律神経支配を受け、交感神経、副交感神経の両刺激に対して、唾液成分は異なるが、唾液分泌速度が上昇する¹⁾。口腔乾燥やシェーグレン症候群では、唾液分泌の低下により、著しく健全な口腔環境が損なわれるだけでなく、咀嚼・嚥下機能にまで影響を及ぼし、QOLを低下させる。その対症療法として催唾剤(ピロカルピンとセビメリン)が処方されている^{1,16)}。一般的に催唾剤は、副交感神経刺激薬であり、唾液腺腺房細胞基底膜に局在するムスカリン受容体を刺激することにより腺房細胞内のCa²⁺濃度を上昇させ、結果として、水、電解質に富む唾液の分泌を促進させる^{1,16)}。実際に、催唾剤を投与する事により、そ

の直後から一定時間唾液分泌量が増加するが、副交感神経遮断薬によりこの効果はキャンセルされる¹⁷⁾。しかしこれらの催唾剤は、長期間服用することによる安静時唾液および刺激唾液の分泌促進効果も報告されている^{18~20)}。このような状況より、催唾剤を長期間投与することにより、唾液腺組織の再生から唾液分泌機能の回復が起っている可能性が考えられた。

そこで今回の実験では、導管結紮により誘導した萎縮耳下腺を用い、結紮解除後からの耳下腺の再生に対する催唾剤(ピロカルピンとセビメリン)投与の影響について検討した。ピロカルピン投与群ではコントロール(生理食塩水投与)群に比べ、腺房細胞が有為に増加したにもかかわらず、腺重量と唾液分泌能に有意な回復は認められなかった。一方、セビメリン投与群では、腺重量、腺房細胞、唾液分泌能の全てにおいて有意な回復が認められた。以上の結果より、催唾剤の投与が、萎縮状態からの再生を促す効果がある事が示された。

2. 方法

2.1 実験動物

7週齢Wistar系雄ラットは株式会社九動(福岡)から購入し、12時間明期・12時間暗期(朝8時点灯)の一定サイクルで飼育し、餌(CE2、日本クレア)と水道水を自由摂取できる室温 23 ± 1 °Cの環境下で飼育した。全てのラットは実験動物舎で飼育され、本実験は九州女子大学実験倫理委員会の承認を得た。

2.2 耳下腺導管結紮と結紮解除

ラットをペントバルビタールナトリウム(50 mg/kg BW、腹腔内投与)で麻酔した。右側耳下腺の主導管を咬筋中央部から約10 mm程度剥がし、その位置で金属クリップ(Ligaclip LT100、Johnson & Johnson社)を用いて結紮し、その状態で2週間放置した。その後、金属クリップを取り外すことで結紮を解除した。左側耳下腺は、主導管を咬筋中央部から約10 mm程度剥がしただけの偽手術を行なった。結紮期間または結紮解除後の回復期間の後、ラットをペントバルビタールナトリウムの過剰投与により屠殺し、体重を測定した。そして、耳下腺を注意深く摘出し、腺重量を測定した。

2.3 催唾剤投与方法

耳下腺の結紮解除後、ラットを無作為に3つの実験群に分けた。コントロールとして、毎日500 μ Lの生理食塩水を1週間、腹腔内に投与した(生理食塩水群)。ピロカルピン群には、毎日3 μ mol/kg BWのピロカルピン(和光純薬株式会社、大阪)を1週間、腹腔内に投与した。セビメリン群には、毎日30 μ mol/kg BWのセビメリン(日本化薬株式会社、東京)を1週間、腹腔内に投与した。

2.4 組織学的分析

ペントバルビタールナトリウム(50 mg/kg BW、腹腔内投与)で麻酔したラットを生理食塩水で1~2分間左心室より灌流し、その後固定液(4%パラホルムアルデヒド(PFA))で灌流固定した後、耳下腺を摘出した。摘出した耳下腺はさらに4% PFAで4°C、一晩後固定し、通法を用いてパラフィンワックスに包埋した。切片は6 μ mの厚さで切り、ヘマトキシリン・エオシン(HE)で染色した。Image Jソフトウェアを用いて、腺房面積(エオシン染色腺房面積/全腺房面積 $\times 100$ %)を算出した。また一部の切片を、取扱説明書にしたがってアポトーシスを検出した(ApoMarkアポトーシス検出キット、Exalpa Biologicals Inc.)。

2.5 ウェスタンブロッティング法

ペントバルビタールナトリウム麻酔(50 mg/kg BW、腹腔内投与)下、生理食塩水(0.9% NaCl溶液)でラットを左心室より灌流した後、直ちに耳下腺を摘出し、剃刀でミンチし、1 mM EDTA、プロテアーゼ阻害剤カクテル(Roche)を含む40 mM PIPES/NaOH緩衝液(pH 7.0)中で、ポリトロンホモジナイザーを用いてホモジナイズした。これを遠心分離(5,000 x g、10分、4°C)により粗抽出物を上清として得、タンパク質定量²¹⁾に供した。粗抽出物の一部(20 μ gタンパク質)をLaemmli法²²⁾に従って10%ポリアク

リルアミドゲルで分離した後、Immobilon-P膜 (Millipore, CA, USA) に転写した。膜は5 %スキムミルクと0.1 % Tween 20でブロックし、抗体 (抗Na⁺/K⁺ ATPaseマウスモノクローナル抗体 (Millipore, CA, USA)、抗AQP5ウサギポリクローナル抗体 (Alpha Diagnostic International, TX, USA)、抗アミラーゼヤギポリクローナル抗体 (Santa Cruz Biotechnology, CA, USA)、抗増殖細胞核抗原 (PCNA) マウスモノクローナル抗体 (Dako, デンマーク)、抗β-アクチンマウスモノクローナル抗体 (Sigma-Aldrich, MO, USA)、抗α-チューブリンマウスモノクローナル抗体 (Santa Cruz Biotechnology, CA, USA)) に4 °Cで一晩振盪浸漬した。その後、膜を0.1 % Tween 20を含むTBSで洗浄し、西洋ワサビペルオキシダーゼ標識二次抗体 (Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) で1時間、室温で振盪浸漬した。最後に膜を0.1 % Tween 20を含むTBSで洗浄し、ECL (Amersham, NJ, USA) を用いて陽性バンドを検出した。

2.6 唾液分泌量の測定

結紮期間または結紮解除期間終了後、ラットをペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg BW、腹腔内投与) で麻酔した。両側耳下腺の主導管を露出させ、切断し、マイクロガラスキャピラリーに挿入した。10 mg/kg BWのピロカルピンを腹腔内投与後1時間、マイクロガラスキャピラリー先端より滴下してくる唾液を氷冷した1.5 mLマイクロチューブに採取した。

2.7 統計解析

データは平均値±SEMで示した。萎縮耳下腺からの再生に対する催唾剤投与の効果は、スチューデントのt検定で分析した。統計学的有意性は $p < 0.05$ とした。

3. 結果

生理食塩水、ピロカルピン、セビメリンを結紮解除後1週間投与した結果、各群の平均体重はそれぞれ、361.5±6.5 g、373.8±5.1 g、355.6±12.6 gであり、3群間に有意な差は認められなかった。

図1に結紮前後の耳下腺の湿重量を示す。結紮側の腺重量は非結紮側の約40 %にまで減少した (図1B)。結紮解除後、腺重量は生理食塩水もしくはピロカルピンの投与で結紮前重量の約60 %にまで回復し、両者に有意な差は認められなかった (図1A,B)。セビメリン投与では、生理食塩水投与に比べ有意な回復を示した (図1A,B)。偽手術した非結紮側の腺重量は、生理食塩水投与、ピロカルピン投与、セビメリン投与、いずれの処置においても有意な差は認められなかった (図1A)。

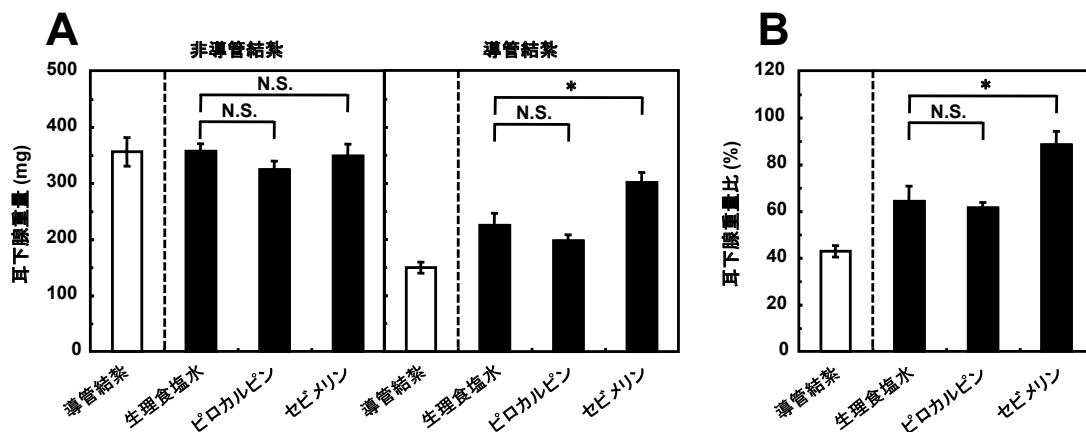


図1. 導管結紮前後の耳下腺重量変化

A. 左図: 耳下腺導管を偽手術し、生理食塩水、ピロカルピン、セビメリンのいずれかを1週間投与した後の耳下腺重量。右図: 耳下腺導管の結紮を解除し、生理食塩水、ピロカルピン、セビメリンのいずれかを1週間投与した後の耳下腺重量。B. 非導管結紮側の耳下腺重量に対する導管結紮側の耳下腺重量の比。各群n=5。N.S.: 有意差なし。*: $p < 0.05$ 。

耳下腺の組織切片を作成し、HE染色後、導管結紮と結紮解除によって耳下腺組織がどのように変化するかについて調べた (図2A)。HE染色した組織切片は、導管結紮による耳下腺の退行性変化を明瞭に示した。すなわち、ほとんど全ての腺房細胞が腺組織から消失し、その代わりに腺組織の広い領域が導管・導管様構造と繊維性細胞で占められていた。血管及び導管・導管様構造の管腔面積は、通常の状態よりも広がった。導管結紮解除後、生理食塩水投与の効果はわずかであった。エオシン染色陽性の腺房・腺房様構造がわずかに出現したが、導管・導管様構造と繊維性細胞は依然として大部分の領域を占めていた。しかし、導管・導管様構造の管腔面積は小さくなっていった。一方、ピロカルピンあるいはセビメリンの投与は、導管結紮によって萎縮した耳下腺の再生を明らかに促進した。組織切片中の腺房構造の面積が著しく増加し、それに伴って繊維性細胞の数と面積が減少した (図2B)。

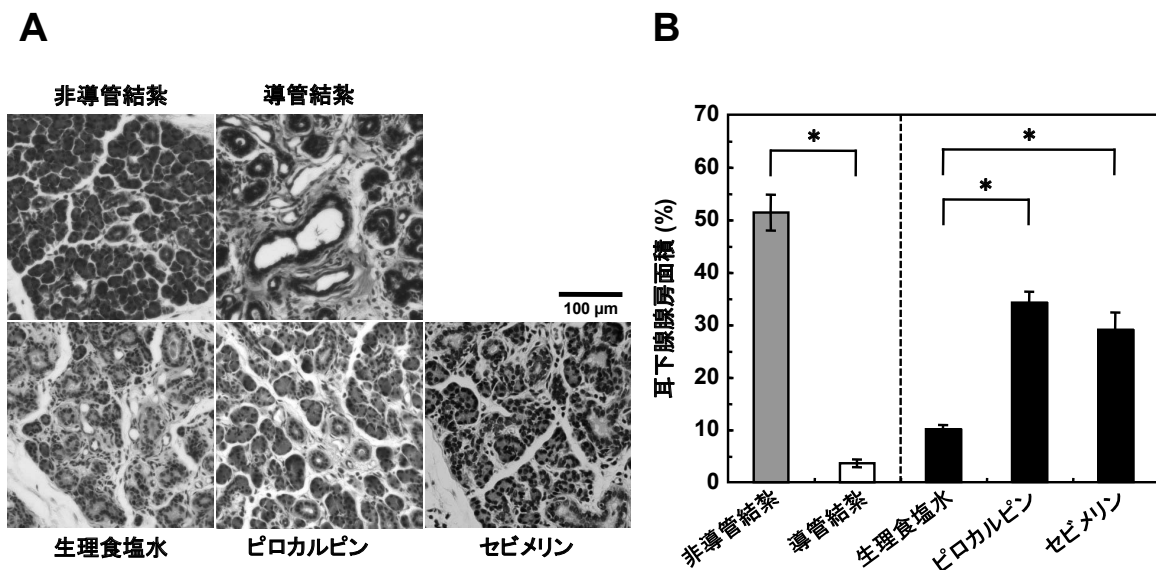


図2. 導管結紮前後の耳下腺組織変化

A. 耳下腺導管を偽手術、あるいは耳下腺導管の結紮を解除し、生理食塩水、ピロカルピン、セビメリンのいずれかを1週間投与した後の耳下腺HE染色組織像。B. 耳下腺HE染色組織像から腺房面積(エオシン染色腺房面積/全腺房面積×100(%))を算出した。各群n=5。*: $p < 0.05$ 。

Na^+/K^+ ATPaseとAQP5は唾液分泌に非常に重要な役割を果たしており、またアミラーゼは糖質を消化する耳下腺由来の唾液に含まれる主要成分の一つである¹⁾。そこで次に、 Na^+/K^+ ATPase、AQP5、アミラーゼの発現について調べた (図3A)。これら3分子の発現は導管結紮により萎縮した耳下腺では消失し、結紮解除後1週間の生理食塩水投与ではほとんど回復しなかった。 Na^+/K^+ ATPaseとAQP5の発現は、結紮解除後1週間のピロカルピン投与により少し回復したが、アミラーゼの発現は非結紮耳下腺における発現よりもはるかに強かった。一方、セビメリンを投与すると、 Na^+/K^+ ATPase、AQP5、アミラーゼの発現が顕著に回復した。

唾液腺再生時には、細胞増殖とプログラム細胞死が同時に起こることが必要である^{3,7,9,10,12,13)}。そこで、耳下腺導管の結紮前後で細胞増殖とアポトーシスの検出を試みた (図3)。細胞増殖を検出するために用いた増殖細胞核抗原(PCNA)は、導管結紮していない腺ではごく僅かなレベルであった。しかし、2週間の導管結紮によりPCNAの強い発現が誘導され、結紮解除後も高いレベルを維持した。PCNAの発現は、結紮解除後1週間の3つの異なる処置で顕著な差は認められなかった (図3A)。図3Bは、正常または萎縮耳下腺の組織切片におけるアポトーシス陽性細胞を示す。アポトーシス陽性細胞は正常な導管でいくつか観察され、導管結紮2週間後には消失した。導管結紮解除後、生理食塩水あるいはセビメリンを投与した萎縮耳下腺では非結紮腺と同様に、アポトーシス陽性が弱く認められた。一方、導管結紮解除後にピロカルピンを投与した萎縮耳下腺では、導管細胞、腺房細胞、繊維性細胞など様々なタイプの細胞が強いアポトーシス陽性となった。

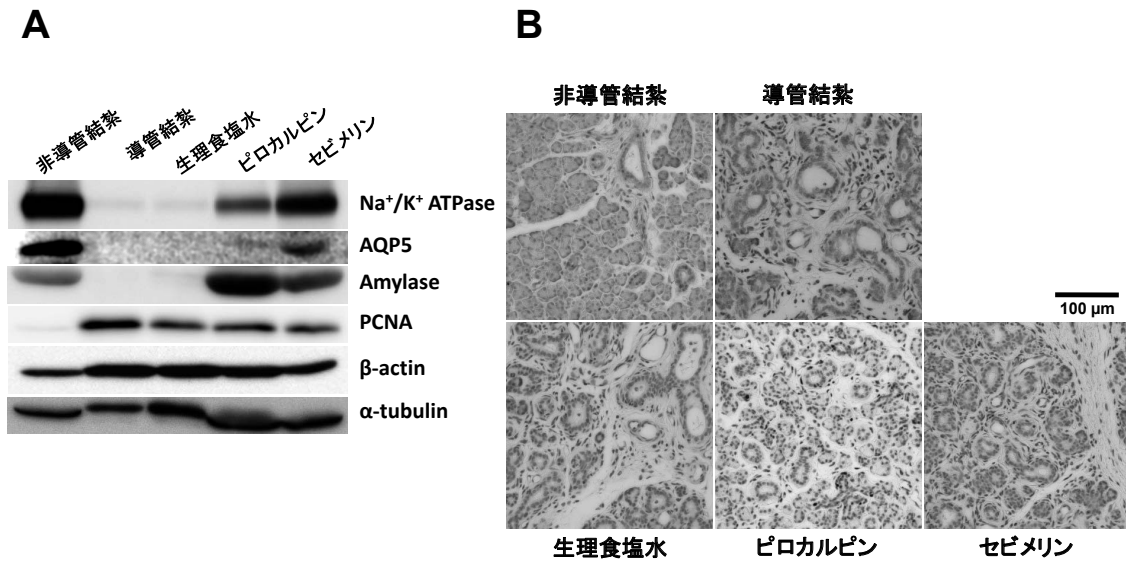


図3. 導管結紮前後の耳下腺におけるタンパク質発現

A. 導管結紮前後の耳下腺における Na^+/K^+ ATPase、AQP5、アミラーゼ、PCNA発現。 β -アクチンと α -チューブリンは内部標準タンパク質。B. 各処置群の耳下腺におけるアポトーシス陽性細胞の検出。

最後に、結紮解除後の催唾剤投与が萎縮耳下腺の機能回復を促進するかどうかについて検討した。麻酔下でピロカルピン (10 mg/kg BW) の腹腔内投与によって誘導された左右の唾液腺からの刺激唾液をそれぞれ採取し、その分泌量を比較した。偽手術した非結紮耳下腺からの唾液分泌量は、生理食塩水群、ピロカルピン群、セビメリン群のいずれにおいても同等であった (図4A)。図4Bに示すように、結紮解除後1週間のピロカルピン投与は、萎縮唾液腺に機能的な回復効果を示さなかったが、セビメリン投与は唾液分泌機能の有意な回復効果を示した。

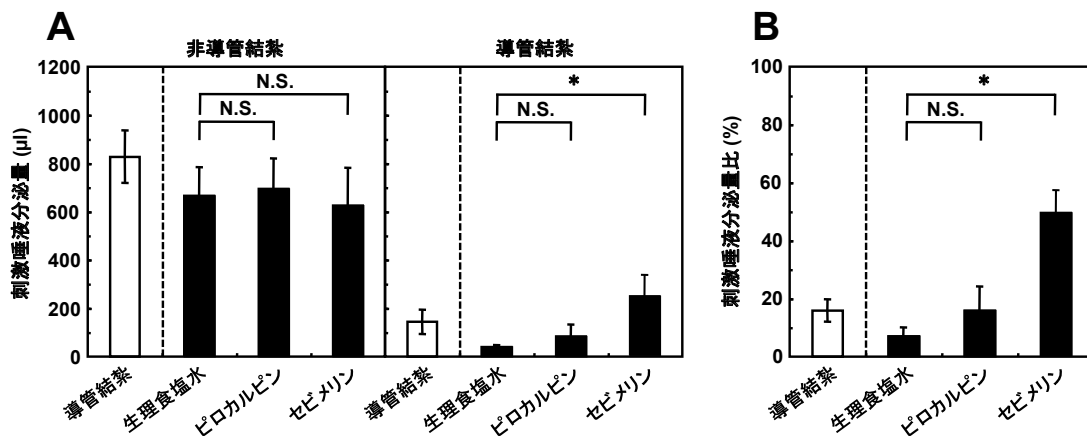


図4. 導管結紮前後の耳下腺からの刺激唾液分泌

A. 各処置群の耳下腺からピロカルピン (10 mg/kg) 投与によって誘導された刺激唾液分泌量。B. 非導管結紮側耳下腺からの刺激唾液分泌量に対する導管結紮側耳下腺からの刺激唾液分泌量の比。各群 $n=5$ 。N.S.: 有意差なし。*: $p < 0.05$ 。

4. 考察

唾液腺は非常に可塑性に富む臓器であり、導管結紮や粉状・液状食の投与により萎縮させることが可能である。そして萎縮した唾液腺は導管結紮の解除や固形食に戻すことで組織構造と唾液分泌機能が回復する。この系を用いて、シェーグレン症候群や口腔・頭頸部癌の放射線治療、投薬の副作用などによる口腔乾燥症

の予防・治療に向けた研究が数多く報告されている^{2~13)}。今回の実験では、ラット耳下腺導管を結紮して萎縮耳下腺を作成し、結紮解除時から催唾剤として用いられているピロカルピンあるいはセビメリンを継続的に投与することで、耳下腺の再生にどのような影響を及ぼすのかについて検討した。

2週間の耳下腺導管結紮により耳下腺組織に萎縮を導入できた。腺重量は結紮を行わない偽手術側の約40%にまで減少した(図1)。腺房細胞の占める割合は10%を下回り、そのかわりに導管・導管様組織や繊維性細胞が大きな面積を占め、免疫細胞の浸潤も確認できた(図2)。そして、ピロカルピンによる刺激唾液分泌量は非結紮側の約1/8にまで低下した(図4)。以上のような形態学的・機能的な特徴は、これまでに報告されている萎縮耳下腺の特徴と一致した^{7,8,11)}。

このような萎縮耳下腺に生理食塩水を1週間投与することで、耳下腺重量と腺房組織面積が僅かに増加した(図1,2)。生理食塩水のかわりにピロカルピンを投与した場合、耳下腺重量の増加は変わらなかったが(図1)、腺房組織面積は有意に増加し(図2)、アミラーゼも強く発現していた(図3A)。唾液腺の自律神経支配、特に副交感神経が腺の発生、分化、増殖、再生に重要である¹⁴⁾ことから、ピロカルピンによる副交感神経刺激が萎縮唾液腺の再生を促したと考えられた。しかしこの時、唾液分泌に重要な分子であるAQP5やNa⁺/K⁺ ATPaseの発現はとても十分とは言えないレベルであったため(図3A)、唾液分泌はほとんど回復しなかったと考えられた。それに対してセビメリン投与では、生理食塩水投与に比べて耳下腺重量(図1)、腺房組織面積(図2)は有意に増加し、アミラーゼも強く発現していた(図3A)。さらに、刺激唾液分泌能も非結紮耳下腺の約50%程度にまで有意に回復していた(図4)。これは、セビメリンによる持続的な副交感神経刺激と、AQP5やNa⁺/K⁺ ATPaseの発現も正常な耳下腺に近いレベルにまで回復していた(図3A)ことによるものと考えられた。このようなピロカルピンとセビメリンの結紮耳下腺における唾液腺組織の再生と唾液分泌機能の回復に対する効果の違いはどこにあるのか。セビメリンはピロカルピンに比べて、投与時における腺房細胞内Ca²⁺濃度振動が長く持続し、AQP5を長時間にわたって管腔膜に局在させることが報告されている²³⁾。また、投与後の血漿濃度もセビメリンの方がピロカルピンよりも長く残存し、セビメリンはピロカルピンよりも唾液分泌促進作用が長く安定して持続する^{24,25)}。さらに副交感神経を切断すると、ラット顎下腺におけるAQP5の発現が顕著に減少するが、セビメリンの投与でAQP5の発現が回復した²⁶⁾。この回復はピロカルピン投与では起こらなかった。シェーグレン症候群モデルマウスに長期間セビメリンを投与すると、AQP5の管腔側への局在と唾液分泌が維持されたという報告^{27,28)}がある。セビメリンを放射線処理する前にマウスに投与すると、放射線照射による口腔乾燥を防ぎ、顎下腺におけるAQP5発現の低下も抑えられた²⁹⁾。これらの報告から、セビメリンはピロカルピンに比べて副交感神経刺激が持続し、これが萎縮耳下腺の腺組織再生と、特にAQP5の発現促進による唾液分泌能回復を促したと考えられる。

そして、唾液腺におけるAQP5の発現は、健康状態に関わらず唾液分泌能と関連していることから、唾液腺におけるAQP5の発現レベルを唾液分泌能の指標として使うことが可能かもしれないという考え方もある³⁰⁾。今回の実験結果においても、導管結紮の有無に関わらず、耳下腺におけるAQP5の発現と刺激唾液分泌量はほぼ比例関係にあった(図3A、図4)ことから、この考え方を支持する。

以上、今回の実験結果より、萎縮した唾液腺に催唾剤を持続的に投与することで、唾液腺組織の再生と唾液分泌能の回復が促進される可能性が示唆された。催唾剤を長期間服用することによる安静時唾液および刺激唾液の分泌促進効果が報告されている^{18~20)}ことや、セビメリン投与によりシェーグレン症候群モデルマウスにおける組織の形態的変性が回復したという報告³¹⁾も、この考えを支持するものとする。しかし、一方で、長期にわたってピロカルピンを投与しても、唾液腺の大きさに変化は認められなかったという報告³¹⁾、放射線治療による口腔乾燥患者にセビメリンを投与しても、口腔乾燥の症状は良くならなかったという報告³²⁾、唾液分泌低下に対する催唾剤の投与は一時的な介抱にしかならないという報告³³⁾もある。これらの疑問を解決するには、さらに詳細な唾液腺組織の再生と唾液分泌能の回復メカニズムについて検討する必要がある。

引用・参考文献

1) 相山 誉夫、赤松 徹也、天野 修、他、口腔生物学各論 唾液腺(天野 修、草間 薫編)、(2006) 学建書院

- pp.34-111.
- 2)Hand, A.R. and Ho, B., Liquid-diet-induced alterations of rat parotid acinar cells studied by electron microscopy and enzyme cytochemistry, *Arch. Oral Biol.*, 26 (1981) 369-380.
 - 3)Takahashi, S., Uekita, H., Kato, T., Yuge, F., Ushijima, N., Inoue, K. and Domon, T., Involvement of apoptosis and proliferation of acinar cells in atrophy of rat parotid glands induced by liquid diet, *J. Mol. Hist.*, 43 (2012) 761-766.
 - 4)Ohlin, P. and Percec, C., Secretory responses and choline acetylase of the rat's submaxillary gland after duct ligation, *Experientia*, 23 (1967) 248-249.
 - 5)Tamarin, A., Submaxillary gland recovery from obstruction.I.Overall changes and electron microscopic alterations of granular duct cells, *J. Ultrastruct. Res.*, 34 (1971) 276-287.
 - 6)Tamarin, A., The leukocytic response in ligated rat submandibular glands, *J. Oral Pathol.*, 8 (1979) 293-304.
 - 7)Takahashi, S., Schoch, E. and Walker, N.I., Origin of acinar cell regeneration after atrophy of the rat parotid induced by duct obstruction, *Int. J. Exp. Pathol.*, 79 (1998) 293-301.
 - 8)Scott, J., Liu, P. and Smith, P.M., Morphological and functional characteristics of acinar atrophy and recovery in the duct-ligated parotid gland of the rat, *J. Dent. Res.*, 78 (1999) 1711-1719.
 - 9)Takahashi, S., Nakamura, S., Suzuki, R., Islam, N., Domon, T., Yamamoto, T. and Wakita, M., Apoptosis and mitosis of parenchymal cells in the duct-ligated rat submandibular gland, *Tissue Cell*, 32 (2000) 457-463.
 - 10)Harrison, J.D., Fouad, H.M. and Garrett, J.R., The effects of ductal obstruction on the acinar cells of the parotid of cat, *Arch. Oral Biol.*, 45 (2000) 945-949.
 - 11)Carpenter, G.H., Osailan, S.M., Correia, P., Paterson, K.P. and Proctor, G.B., Rat salivary gland ligation causes reversible secretory hypofunction, *Acta Physiol. (Oxf)*, 189 (2007) 241-249.
 - 12)Aure, M.H., Arany, S. and Ovitt, C.E., Salivary glands: Stem cells, self-duplication, or both, *J. Dent. Res.*, 94 (2015) 1502-1507.
 - 13)Weng, P.L., Aure, M.H., Maruyama, T. and Ovitt, C.E., Limited regeneration of adult salivary glands after severe injury involves cellular plasticity, *Cell Rep.*, 24 (2018) 1464-1470.
 - 14)Proctor, G.B. and Carpenter, G.H., Regulation of salivary function by autonomic nerves, *Auton Neurosci.*, 133 (2007) 3-18.
 - 15)Knox, S.M., Lombaert, I.M.A., Reed, X., Vitale-Cross, L., Gutkind, J.S. and Hoffman, M.P., Parasympathetic innervation maintains epithelial progenitor cells during salivary organogenesis, *Science*, 329 (2010) 1645-1647.
 - 16) 齋藤一朗、ドライマウスの臨床 (齋藤一郎、篠原正徳、他編)、(2007) 医歯薬出版株式会社 pp.122-163.
 - 17)Iwabuchi, Y. and Masuhara, T., Sialogic activities of SNI-2011 compared with those of pilocarpine and McN-A-343 in rat salivary glands: Identification of a potential therapeutic agent for treatment of Sjögren's syndrome, *Gen. Pharmac.*, 25 (1994) 123-129.
 - 18)小川法良、下山久美子、唐澤博美、福島俊洋、正木康史、和野雅治、廣瀬優子、菅井 進、シェーグレン症候群患者の口腔乾燥症状に対する塩酸セビメリンの有用性の検討、*Jpn. J. Clin. Immunol.*, 27 (2004) 330-337.
 - 19)岩淵博史、岩淵絵美、内山公男、藤林孝司、シェーグレン症候群に伴う口腔乾燥症に対する塩酸セビメリン長期投与例の検討、*日口粘膜誌*, 13 (2007) 34-42.
 - 20)Chambers, M.S., Posner, M., Jones, C.U., Biel, M.A., Hodge, K.M., Vitti, R., Armstrong, I., Yen, C. and Weber, R.S., Cevimeline for the treatment of postirradiation xerostomia in patients with head and neck cancer, *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 68 (2007) 1102-1109.

- 21)Bradford, M.M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, 72 (1976) 248-254.
- 22)Laemmli, U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, 227 (1970) 680-685.
- 23)Ishikawa, Y., Skowronski, M.T. and Ishida, H., Persistent increase in the amount of aquaporin-5 in the apical plasma membrane of rat parotid acinar cells induced by a muscarinic agonist SNI-2011, *FEBS Lett.*, 477 (2000) 253-257.
- 24)Masunaga, H., Ogawa, H., Uematsu, Y., Tomizuka, T., Yasuda, H. and Takeshita, Y., Long-lasting salivation induced by a novel muscarinic receptor agonist SNI-2011 in rats and dogs, *Eur. J. Pharm.*, 339 (1997) 1-9.
- 25)Braga, M.A., Tarzia, O., Bergamaschi, C.C., Santos, F.A., Andrade, E.D. and Groppo, F.C., Comparison of the effects of pilocarpine and cevimeline on salivary flow, *Int. J. Dent. Hygiene.*, 7 (2009) 126-130.
- 26)Li, X., Azlina, A., Karabasil, M.R., Purwanti, N., Hasegawa, T., Yao, C., Akamatsu, T. and Hosoi, K., Degradation of submandibular gland AQP5 by parasympathetic denervation of chorda tympani and its recovery by cevimeline, an M3 muscarinic receptor agonist, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 295 (2008) G112-G123.
- 27)Nishimura, H., Yakeishi, A., Saga, T. and Yamaki, K., Effects of cevimeline on the immunolocalization of aquaporin-5 and the ultrastructure of salivary glands in Sjögren's syndrome model mice, *Kurume Med. J.*, 56 (2009) 39-47.
- 28)Nakamura, M., Saga, T., Watanabe, K., Takahashi, N., Tabira, Y., Kusukawa, J. and Yamaki, K., An immunohistochemistry-based study on aquaporin (AQP)-1,3,4,5 and 8 in the parotid glands, submandibular glands and sublingual glands of Sjögren's syndrome mouse models chronically administered cevimeline *Kurume Med J.*, 60 (2013) 7-19.
- 29)Takakura, K., Takaki, S., Takeda, I., Hanaue, N., Kizu, Y., Tonogi, M. and Yamane, G., Effect of cevimeline on radiation-induced salivary gland dysfunction and AQP5 in submandibular gland in mice, *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, 48 (2007) 47-56.
- 30)Wang, D., Iwata, F., Muraguchi, M., Ooga, K., Ohmoto, Y., Takai, M., Mori, T. and Ishikawa, Y., Correlation between salivary secretion and salivary AQP5 levels in health and disease, *J. Med. Invest.*, 56(suppl.) (2009) 350-353.
- 31)Müller, R.M., Kuijpers, G.A., Bardon, A., Ceder, O. and Roomans, G.M., The chronically pilocarpine-treated rat in the study of cystic fibrosis: investigations on submandibular gland and pancreas, *Exp. Mol. Pathol.*, 43 (1985) 97-106.
- 32)Witsell, D.L., Stinnett, S. and Chambers, M.S., Effectiveness of cevimeline to improve oral health in patients with postradiation xerostomia, *Head Neck*, 34 (2012) 1136-1142.
- 33)Villa, A., Connell, C.L. and Abati, S., Diagnosis and management of xerostomia and hyposalivation, *Ther. Clin. Risk Manag.*, 11 (2014) 45-51.

Effect of Sialogogues on Regeneration of Atrophic Rat Parotid Gland Induced by Duct-ligation

Wataru MASUDA

Department of Nutrition, Faculty of Home Economics, Kyushu Women's University,
1-1 Jiyugaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyushu-shi, 807-8586, Japan

Abstract

The muscarinic receptor agonists, pilocarpine and cevimeline, are widely used as sialogogues and have been prescribed to the patients who suffered from xerostomia and Sjögren syndrome. Several reports have been indicated that chronic prescription of sialogogues improved not only unstimulated salivary flow rate but also oral healthness score. While it has been reported that sialogogues cannot restore salivary gland function. Here, I examined the effect of sialogogue absorption against the regeneration and the saliva-secretory function in the atrophy model of rat parotid gland. As well as the severe loss of the gland weight, histological section of duct-ligated gland clearly showed the symptom of atrophy; disappearance of acinar cells and increase of duct/duct-like structure and fibrous cells. De-ligation and following administration of pilocarpine or cevimeline for 1-week developed significant recovery of acinous structure compared to physiological saline administration. Furthermore, the parotid gland from cevimeline-administrated rat secreted comparable volume of saliva together with significant gain of the gland weight. These results support the idea that repetitive sialogogues absorption might accelerate the recovery of the salivary gland function from atrophied gland and that cevimeline is more effective than pilocarpine.

Key Words : cevimeline, pilocarpine, atrophy, rat parotid gland