

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K11022

研究課題名(和文) 精神活動が唾液分泌に影響する脳のしくみに関する研究

研究課題名(英文) A study on brain mechanisms in which mental activity influences salivary secretion

研究代表者

美藤 純弘 (Mitoh, Yoshihiro)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：20240872

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ラット顎下腺・舌下腺の副交感の中枢である上唾液核神経において、ドパミン(DA)、セロトニン(5HT)、ノルアドレナリン(NA)に対する影響をスライスパッチクランプ法により検討した。DAと5HTは内向き電流を発生したが、NAは発生しなかった。またDAは外向き電流を発生するニューロンがあった。5HTやNAは微小興奮性シナプス後電流の頻度を促進するものがあったが、DAはほとんど影響しなかった。DA受容体について、興奮性に関与するD1様受容体と抑制性に関与するD2様受容体に対する免疫活性が検出された。これらの結果から、精神活動に伴って唾液分泌が調節されている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ストレスにより口が渇くことや(唾液の減少)、おいしいものを見たり想像したとき唾液が出るように、精神活動により唾液分泌が変化することが知られる。しかしそのメカニズムは全く知られていない。本研究は、精神活動に関わる神経伝達物質のドパミン、セロトニンおよびノルアドレナリンが唾液分泌の副交感神経の中枢に影響することを示した。ストレスを減らした生活はおいしく味わって食べることにつながり、延いては健康な生活を送ることにつながるということを本研究は示唆しているかもしれない。

研究成果の概要(英文)：The effects of dopamine (DA), serotonin (5HT), and noradrenaline (NA) on the rat superior salivary nucleus neurons, which is the parasympathetic center of the submandibular and sublingual salivary glands, were investigated using slice patch clamp method. DA and 5HT generated inward currents, but not NA. DA also generated outward currents. 5HT and NA increased the frequency of miniature excitatory postsynaptic currents, but not DA. Immunohistochemical studies for DA receptors demonstrated that the neurons had immunoreactivities for D1-like receptors involved in excitatory effects, and those for D2-like receptors involved in inhibitory effects. These results suggest that salivary secretion may change with mental condition.

研究分野：口腔生理学

キーワード：顎下腺・舌下腺 上唾液核ニューロン パッチクランプ法 免疫組織科学 ドパミン セロトニン ノルアドレナリン

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

味物質は唾液に溶解することにより味細胞に到達し味受容器を刺激するので、おいしく味わうためには唾液は不可欠である。しかし、その分泌量は情動（精神活動）の影響を受けて変動することが知られている。例えば、1. おいしいものを想像し、それを獲得しようとするときドパミン（DA）が放出されるが（報酬系の起点になる）、このとき唾液分泌がしばしば観察される。2. ストレスを受けるとノルアドレナリン（NA）により室傍核ニューロンが刺激され、副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン（CRH）の分泌が促され、このとき口渴が起こることがある。3. 抗うつ薬のSNRI（セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬）は流涎を起こすことが問題となっているが、この薬剤は血液脳関門を通過し脳に作用するので、上唾液核ニューロンにも作用する可能性がある。よってドパミン、セロトニン（5HT）およびノルアドレナリンは精神活動に関与すると同時に唾液分泌にも影響することが考えられる。しかしこれらの神経伝達物質の唾液分泌に対する中枢メカニズムは知られていない。

2. 研究の目的

上唾液核は顎下腺・舌下腺の副交感性の一次中枢で節前神経の細胞体が存在する。そこで本研究は、新鮮脳スライス標本の上唾液核ニューロンの興奮性に対して、DA、5HT および NA がどのように影響するか分析する。そして免疫組織化学的に発現する受容体を分析することを目的とした。

3. 研究の方法

上唾液核ニューロンの標識

上唾液核は複数の標的組織に対する節前神経の細胞体が混在している。そこで顎下腺・舌下腺支配のニューロンをについて特異的に分析するために、実験を行う2日前に蛍光色素を鼓索-舌神経（唾液腺支配ニューロンの軸索が通過する）に投与することにより、逆行性に細胞体を標識した。

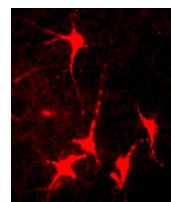


図1 蛍光標識された唾液腺支配ニューロン

電気生理学

Wistar系ラット(6-17日齢)を用いた。ニューロンの標識には、5-10%のDextran-Texas Red-lysine (MW 3000、0.1-0.2 μ l)を用いた。新鮮脳スライス切片を作製し、標識された上唾液核ニューロンからホールセルパッチクランプ法により記録を行った。電圧固定下で膜電位を-70 mVに固定しテトロドトキシン存在下にて種々の薬物をバス投与した。

免疫組織科学

Wistar系雄性ラット(体重290-300g)を用いた。ニューロンの標識には、2%のFluorogold (2 μ l)を用いた。4%パラホルムアルデヒドで灌流固定し厚さ8 μ mの連続横断切片を作製し、DAのD1-D5受容体に対する一次抗体および二次抗体を反応させ、Fluorogold標識された上

唾液核ニューロンについて解析した。

4. 研究成果

電気生理学的実験

上唾液核ニューロンの DA、5HT および NA に対する反応性を検討したところ、以下の3種類のタイプが存在した。

- 1) DA と 5HT に応答するが NA にはほとんど応答しない、
- 2) 5HT に応答するが DA および NA にはほとんど応答しない、
- 3) どの伝達物質にも応答しない。

電流固定法で静止膜電位において DA および 5HT のバス投与により、上唾液核ニューロンは脱分極し、しばしば活動電位を発生した。図1は DA が活動電位を用量依存的に発生した例を示す。

電圧固定法で、保持電位-70 mV、テトロドトキシン存在下において、DA および 5HT (図2) は内向き電流 (興奮性を意味する) を発生したが、NA は発生しなかった。

また DA は外向き電流 (抑制性を意味する) を示すニューロンも存在した (図3)。NA については、さらにランプ電位を与えた時の膜コンダクタンスに対する影響を検証した。

ランプ電位は、保持電位を-130~-30 mV (10mV/s) のように変化させた。その結果、NA の投与前後で膜コンダクタンスに変化は観察されなかった (図4)。

微小興奮性シナプス後電流 (mEPSC) に対する影響を NA 投与前後で検討したところ、NA は優位に mEPSCs の発生頻度を増加させた。

以上の結果から、DA および 5HT の受容体は主に上唾液核ニューロンのシナプス後膜に存在することが示唆された。

DA 受容体には、Gs/o1f に共役してアデニル酸シクラーゼを活性化する D1 様受容体と、Gi/o に共役してアデニル酸シクラーゼを抑制する D2 様受容体に分類される。D1 様受容体はサブタイプの D1、D5 受容体があり、興奮

応答に関係するといわれる。D2 様受容体は D2、D3、D4 受容体があり、抑制性応答に関係するといわれる。

上唾液核ニューロンで内向き電流に関与したのは、D1 様受容体であると考えられるが、薬理的に D1 と D5 受容体を区別することはできない。

また、DA 投与により、外向き電流を発生したことから (図3) D2 様受容体も発現する可能性がある。そこで、免疫組織科学的に上唾液核ニューロンに発現する DA 受容体サブタイプを染色した。

図6は D1 様受容体 (A-C)、D5 受容体 (D-E) の染色例を示した。A と D は Fluorogold により標識された上唾液核ニューロン (唾液腺支配) を示し、B と E はそれぞれ D1 および D5 受容体の免疫活性を示し、C と F はそれぞれ A と B、D と E の重ね合わせの写真である。

その結果、上唾液核ニューロンは多くの D1 受容体の免疫活性を示したが (図6C)、D5 受容体は少なかった (図6F)。

一方、D2 様受容体について、上唾液核ニューロンは D3 受容体の免疫活性を示したが、

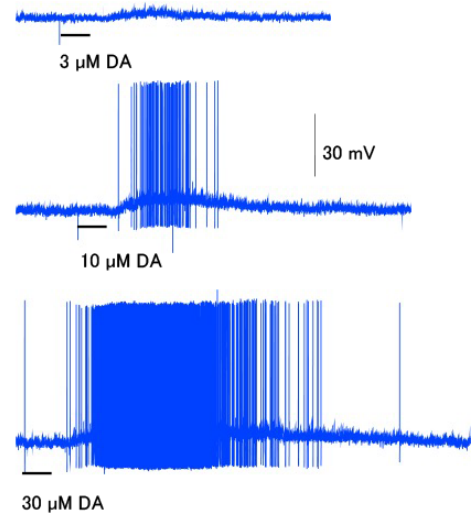


図1 DAにより活動電位が誘発された例

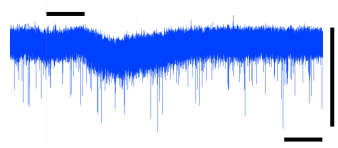


図2 5HTにより内向き電流が発生した例

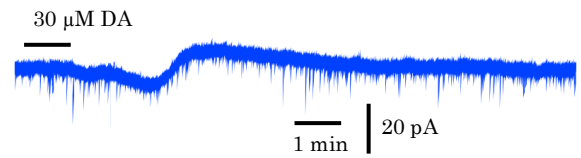


図3 DAにより内向き電流と外向き電流が発生した例

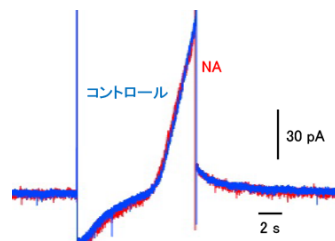


図4 NAの膜コンダクタンスに対する影響

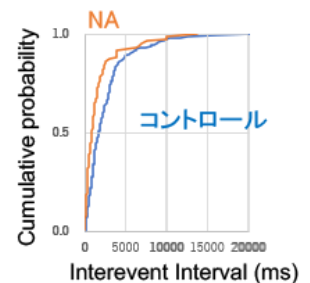


図5 mEPSCに対するNAの影響

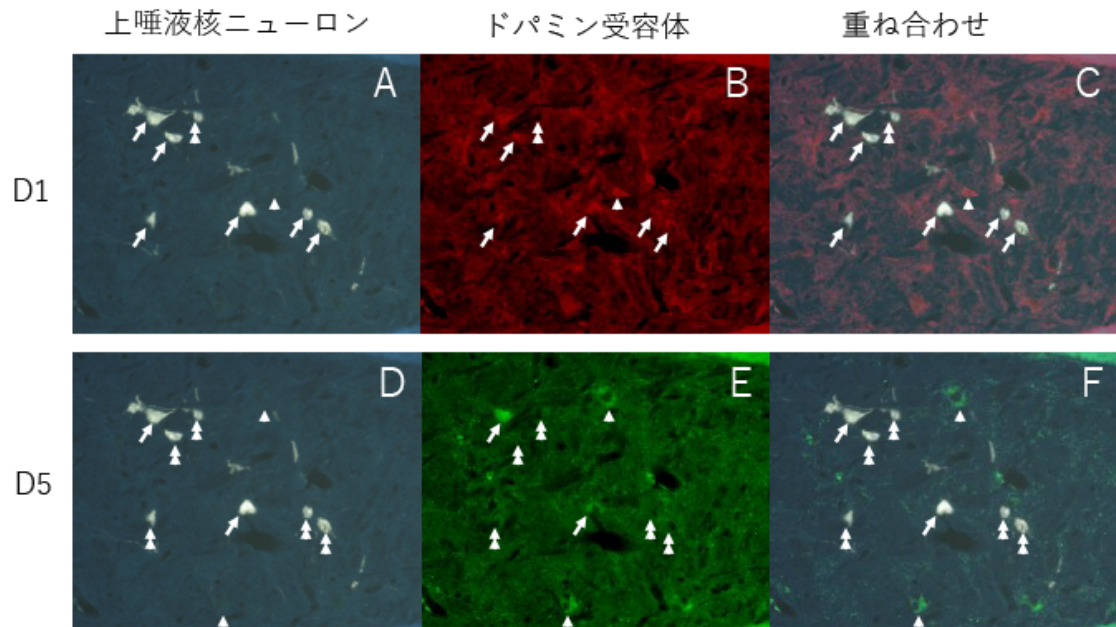


図6 上唾液核ニューロンのD1様受容体に対する免疫活性

D2 および D4 受容体の免疫活性はほとんど示さなかった。よって、上唾液核ニューロンの外向き電流発生に関与したのはD3受容体であることが示唆される。上唾液核ニューロンの5HTによる内向き電流発生、NAによるmEPSCの発生頻度の増加に関する受容体については、さらに電気生理学および免疫組織科学的実験により検討しているところである。近年、オプトジェネティクス（光遺伝学）を用いた研究により特定神経細胞の活動を制御することが可能になった。DA、5HT および NA の受容体を発現する上唾液核ニューロンを特異的に刺激することにより神経活動がどのように変化するか、また *in vivo* 実験により唾液分泌にどのように影響するか検討することができるかもしれない。

まとめ

上唾液核ニューロンはDA、5HT および NA に対して興奮性および抑制性応答を示したことから、顎下腺・舌下腺分泌に促進的あるいは抑制的な影響を与えていることが考えられる。つまり、精神状態により唾液分泌が変化する可能性を、我々の研究は神経生理学的に示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|----------------------|
| 1. 著者名 Sato T, Yajima T, Fujita M, Kobashi M, Ichikawa H, Yoshida R, Mitoh Y. | 4. 巻 228 |
| 2. 論文標題 Orexin A and B in the rat superior salivatory nucleus. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Autonomic Neuroscience | 6. 最初と最後の頁 102712 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.autneu.2020.102712. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|----------------------|
| 1. 著者名 Masamoto M, Mitoh Y, Kobashi M, Shigemura N, Yoshida R. | 4. 巻 730 |
| 2. 論文標題 Effects of bitter receptor antagonists on behavioral lick responses of mice. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Neuroscience letters | 6. 最初と最後の頁 135041 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2020.135041. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Mitoh Y, Satoh T, Fujita M, Kobashi M, Ichikawa H, Yoshida R |
| 2. 発表標題 Effects of appetite-boosting peptides on the superior salivatory nucleus neurons innervating the salivary glands in rats. |
| 3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Mitoh Y, Satoh T, Fujita M, Kobashi M, Ichikawa H, Yoshida R |
| 2. 発表標題 Effects of appetite-boosting peptides on parasympathetic preganglionic neurons innervating the submandibular and sublingual salivary glands in rats. |
| 3. 学会等名 日本味と匂学会第53回大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yoshihiro Mitoh, Tadasu Sato, Masako Fujita, Hiroyuki Ichikawa, Motoi Kobashi, Ryusuke Yoshida |
| 2. 発表標題 Effects of peptides promoting food intake on the superior salivatory nucleus neurons innervating the submandibular and sublingual salivary glands. |
| 3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yoshihiro Mitoh, Tadasu Sato, Masako Fujita, Hiroyuki Ichikawa, Motoi Kobashi, Ryusuke Yoshida |
| 2. 発表標題 Effects of feeding-promoting peptides on excitability of the superior salivatory nucleus neurons |
| 3. 学会等名 The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--|--|----|
| 研究分担者 | 藤田 雅子 (Fujita Masako) (40156881) | 岡山大学・医歯薬学総合研究科・助手 (15301) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| | |
|---------|---------|
| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|