

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：30110

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861557

研究課題名(和文) 唾液腺血流動態解析による2型糖尿病の唾液分泌障害機序の解明

研究課題名(英文) The examination of mechanisms underlying the xerostomia in type 2 diabetes mellitus by analysis of salivary gland hemodynamics.

研究代表者

佐藤 寿哉 (SATO, TOSHIYA)

北海道医療大学・歯学部・助教

研究者番号：30709241

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は2型糖尿病が唾液腺で生じる副交感神経性血管拡張反応に与える影響について検討した。2型糖尿病を発症したOLETFラットおよびコントロールラットとしてLETOラットを用いて検討した結果、糖尿病ラットの耳下腺で誘発される副交感神経性血管拡張反応はコントロールラットと比較して有意に低いことが明らかとなった。顎下腺および舌下腺で誘発される副交感神経性血管拡張反応には糖尿病ラットとコントロールラットの間に有意な差は認められなかった。したがって2型糖尿病に伴う唾液分泌障害の発症に関与するメカニズムの1つとして耳下腺における副交感神経性血管拡張反応の障害が重要である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The present study examined the effects of type 2 diabetes mellitus on parasympathetic vasodilation in salivary glands using spontaneously-developed type 2 diabetic rats (OLETF rat) and nondiabetic control rats (LETO rat). The magnitude of the parasympathetic vasodilation in the parotid gland of diabetic rats was significantly lower than that of nondiabetic rats, but this was not the case in the submandibular and sublingual glands. Our results suggest that the disturbance of parasympathetic vasodilation in the parotid gland may play an important role in xerostomia in diabetes mellitus.

研究分野：口腔生理学

キーワード：糖尿病 唾液腺 血流動態

### 1. 研究開始当初の背景

我が国では糖尿病患者の約9割を2型糖尿病が占め、その約75%で口渇の症状が認められている。糖尿病患者の唾液分泌量を測定した報告が数多くあるが、概して糖尿病患者における唾液分泌量は健常者と比較して低いと捉えられている(Watanabe et al., *Folia Pharmacol Jpn*, 2006)。唾液分泌障害は口渇感のみならず口腔内環境を悪化させ歯周病などの口腔内疾患を助長するリスク要因になり得る。

我々は口腔顔面領域の神経性血流調節機序に関する一連の研究から、唾液腺では副交感神経性血管拡張反応が生じることを明らかにした(Mizuta et al., *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000)。この反応は口腔顔面領域の知覚神経の求心性刺激により反射的に誘発され、急峻な血流増加反応を引き起こすことから口腔顔面領域の血流調節に重要な役割を果たしていると考えられる。唾液の水成分は血管内の血漿に由来し、分泌は自律神経系により調節されている。糖尿病では唾液腺の機能的変化や器質的変化による唾液分泌量の減少が考えられており、自律神経系を介した唾液腺血流動態の変調は唾液分泌に重大な影響を与えることが想定される。このため糖尿病が唾液腺血流調節に重要な副交感神経性血管拡張反応に与える影響を検討することは唾液分泌障害の発症機序の解明と効果的な治療方法の提示に寄与するものと考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究計画は2型糖尿病に伴う唾液分泌障害の発症機序を明らかにすることを目的とし、糖尿病モデル動物を用いて2型糖尿病が唾液腺の副交感神経性血管拡張反応に与える影響について生理学および薬理学的手法を用いて検討した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 実験動物および実験準備

実験には自然発症型の糖尿病ラット(雄性OLETFラット:45-50週齢)およびコントロールラット(雄性LETOラット:45-50週齢)を用いた。ラットはウレタンおよびパンクロニウムを投与して麻酔・非動化し、人工呼吸器を用いて管理した。体幹血圧の測定および薬剤の投与のために大腿動静脈にカテーテルを挿入した。実験終了後、すべての動物はペントバルビタールの過量投与(100 mg)により安楽死させた。

#### (2) 血流量と血糖値の測定

唾液腺の血流量はレーザースペックルイメージング血流計(LSI)を用いて測定し、口唇の血流量はレーザードップラー血流計を用いて経時的に記録した(図1)。血流動態は血圧変動による影響を除外するために血管コンダクタンス(=血流量/血圧)を算出

して評価した。血糖値は尾部から採血した血液をアントセンス Duo (HORIBA)を用いて測定した。

#### (3) 副交感神経性血管拡張反応の誘発

三叉神経の第3枝の側枝である舌神経を求心性に電気刺激(1-30 V, 1-30 Hz, 20 sec)した。迷走神経や口腔顔面領域に分布する交感神経の作用を除外するために実験に先立って両側の迷走神経と交感神経幹を頸部で切断した(図1)。

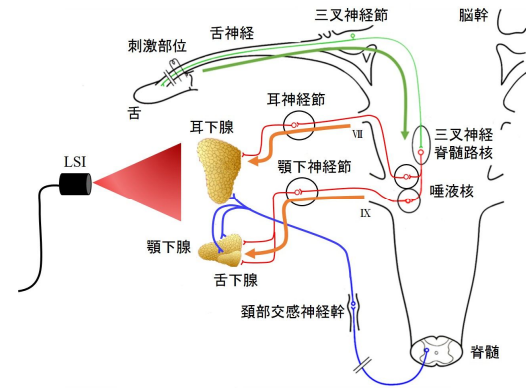


図1. 唾液腺血流調節に關与する副交感神経性血管拡張線維と中枢の模式図

#### (4) 使用薬物

舌神経刺激で生じる唾液腺の血管拡張反応の末梢性神経機構について検討するため自律神経節遮断薬(ヘキサメソニウム)、ムスカリン受容体遮断薬(アトロピン)、ムスカリン受容体作動薬(アセチルコリン)の静脈内投与を行い血管拡張に与える影響について検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 糖尿病ラットとコントロールラットにおける体重、血糖値、唾液腺重量および基礎血流量の比較

糖尿病ラットの空腹時血糖はコントロールラットと比較して有意に高く糖尿病の発症が確認された(表1)。体重および唾液腺重量(耳下腺・顎下腺・舌下腺)は糖尿病ラットとコントロールラットの間で有意な差は認められなかった(表1)。糖尿病ラット唾液腺の基礎血流量は顎下腺、舌下腺、耳下腺いずれにおいてもコントロールラットよりも有意に低かったが、口唇では有意な差は認められなかった(図2)。したがって基礎血流量の低下は上皮組織にはみられない唾液腺に特徴的な現象であることが示唆された。

表1 体重、血糖値および唾液腺重量の比較

	体重 (g)	血糖値 (mg/dl)	耳下腺 (g)	顎下腺 (g)	舌下腺 (g)
コントロールラット	554.4±15.7	52.5±4.4	459.1±39.8	332.5±14.4	53.8±7.2
糖尿病ラット	537.5±82.9	165.7±11.1*	425±18.6	327.4±12.5	43.8±5.3

Mean±SE, \*p<0.01, コントロールラット vs 糖尿病ラット group.

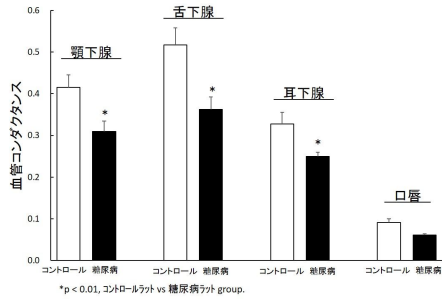


図 2. 唾液腺および口唇の基礎血流量

(2) 糖尿病が唾液腺で誘発される副交感神経性血管拡張反応に与える影響

舌神経刺激は唾液腺に刺激頻度と強度依存性の血管拡張反応を誘発させたが、糖尿病ラットの耳下腺で誘発された血管拡張反応はコントロールラットと比較して有意に低かった(図 3-A, B)。唾液腺で誘発された血管拡張は自律神経節遮断薬(ヘキサメソニウム)およびムスカリン受容体遮断薬(アトロピン)の静脈内投与により有意に抑制されたことから、この反応の大部分が副交感神経性コリン作動性線維を介していることが示唆された(図 4-A, B)。舌下腺で誘発される血管拡張については我々の先行研究によりムスカリン受容体阻害時にコリン作動性から非コリン作動性(VIP 作動性)線維を介した反応に移行する機序の存在が示唆されている(Sato et al., *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2015)。したがって唾液腺で誘発される副交感神経性血管拡張反応ではコリン作動性線維が重要な役割を果たしている。ムスカリン受容体作動薬(アセチルコリン)の静脈内投与で生じる血管拡張は糖尿病ラットとコントロールラットの間に有意な差は認められなかった(図 4-C)。これは糖尿病ラット耳下腺における副交感神経性血管拡張反応の抑制機序がムスカリン受容体の発現レベルに基づくものではなく自律神経系に何らかの影響が及んでいることを示唆している。

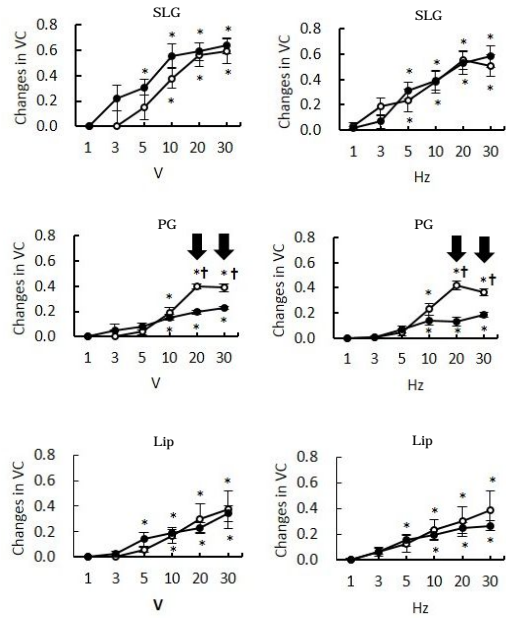
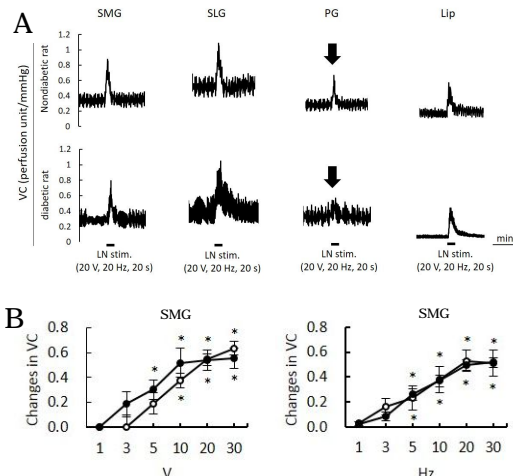


図 3. 唾液腺に誘発された副交感神経性血管拡張反応

(A) 舌神経刺激(LN stim.)により顎下腺(SMG) 舌下腺(SLG) 耳下腺(PG)および口唇(Lip)で誘発された血管コンダクタンス(VC)の変化。(B) 各種刺激強度(1-30 V)および刺激頻度(1-30 Hz)で誘発された血管コンダクタンス(VC)の変化。□: コントロールラット、■: 糖尿病ラット \* $p < 0.05$ , vs basal value (刺激強度 1 V および 刺激頻度 1 Hz), † $p < 0.05$ , コントロールラット vs 糖尿病ラット group.

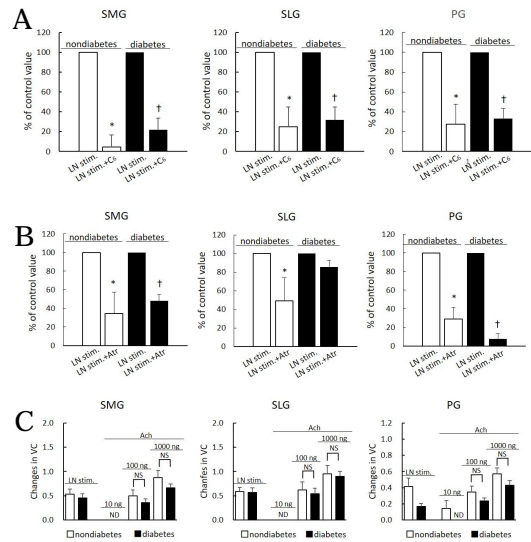


図 4. (A) 糖尿病ラット(diabetes)とコントロールラット(nondiabetes)の顎下腺(SMG) 舌下腺(SLG) 耳下腺(PG)および口唇(Lip)で生じた副交感神経性血管拡張に対するヘキサメソニウム( $C_6$ )の効果。(B) 唾液腺の副交感神経性血管拡張に対するアトロピン(Atr)の効果 (C) 10-1000 ng/kg

のアセチルコリン (Ach) の静脈内投与により唾液腺で生じた血管拡張。

### (3) 高血糖が唾液腺の副交感神経性血管拡張反応に与える影響

ウレタン麻酔の影響により糖尿病ラットとコントロールラットでは著しく血糖値が上昇した(表2)。インスリン投与を併用したウレタン麻酔では血糖値の上昇を有意に抑えることができたが糖尿病ラットではインスリン抵抗性が認められた(表2)。唾液腺で誘発された副交感神経性血管拡張反応にインスリン投与と未投与の間で有意な差は認められなかったことから(図5)糖尿病ラット耳下腺で認められた血管拡張反応の抑制は一過性の血糖値の上昇ではなく高血糖状態が長期間に渡り持続することに起因することが示唆された。

表2 ウレタン麻酔による血糖値の変化

	血糖値(mg/dl)		
	空腹時	ウレタン(1 g/kg)	ウレタン(1 g/kg)+インスリン(5 units)
コントロールラット	52.5±4.4	265.9±29.8 †	23.7±1.7 *
糖尿病ラット	165.7±11.1	588.7±77.5 †	191.0±39.1 *

Mean±SE, †p<0.01, non vs ウレタン group, \*p<0.01, ウレタン vs ウレタン+インスリン group.

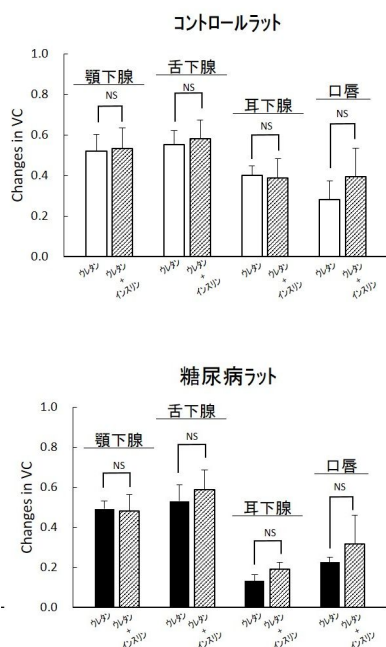


図5 高血糖が副交感神経性血管拡張に与える影響

### (4) 今後の展望

本研究により得られた一連の研究成果は2型糖尿病では唾液腺基礎血流量の低下および唾液腺血流調節に重要な副交感神経性血管拡張反応の障害が耳下腺で認められ、口腔乾燥症の発症に關与するメカニズムの1つとして重要であることが示唆された。また糖尿病を発症したラットに5週間ダイエット食を与えた場合の実験では血糖値の改善は認

められたが耳下腺における副交感神経性血管拡張反応の阻害には改善が認められず、糖尿病の病態改善によって容易に回復するものではないことを示唆する結果が得られた。

糖尿病患者における唾液分泌量については顎下腺および耳下腺由来の唾液の減少が報告されており我々の研究結果の重要性を暗示している。しかしながら唾液腺で誘発される副交感神経性血管拡張反応の障害が唾液分泌量の低下に与える影響の度合いについては十分な研究結果が得られていない。今後は各唾液腺由来の唾液分泌量の測定を実験系に組み入れ、糖尿病による唾液腺血流障害が唾液分泌量の低下に与える影響について詳細な検討を行いたいと考えている。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計1件)

Sato T, Ishii H. Differences in control of parasympathetic vasodilation between submandibular and sublingual glands in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 309:R1432-R1438, 2015. DOI:10.1152/ajpregu.00306.2015. 査読あり

(学会発表)(計6件)

Sato T, Ishii H. Parasympathetic vasodilation in major salivary glands in type 2 diabetic rats. 第93回日本生理学会大会. 2016年3月23日. 札幌コンベンションセンター(北海道札幌市).

Sato T, Ishii H. Regulation of hemodynamics in major salivary glands by the autonomic nervous system. 第93回日本生理学会大会. 2016年3月22日. 札幌コンベンションセンター(北海道札幌市).

佐藤寿哉、石井久淑. ラット3大唾液腺における副交感神経性血流増加反応機序の相違. 第57回歯科基礎医学会学術大会. 2015年9月11日. 新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ(新潟県新潟市).

Sato T, Ishii H. The interaction between Ach and VIP on parasympathetic blood flow increase in rat sublingual gland. 第92回日本生理学会大会. 2015年3月21日. 神戸国際会議場(兵庫県神戸市).

佐藤寿哉、石井久淑. ラット舌下腺における副交感神経性血流増加反応に關与するAchとVIPの相互作用. 第56回歯科基礎医学会学術大会. 2014年9月25日. 福岡国

際会議場（福岡県福岡市）。

佐藤寿哉、石井久淑．ラット顎下腺と舌下腺の異なる副交感神経性血流増加反応機序．第 92 回日本生理学会北海道地方会．2014 年 8 月 30 日．北海道大学（北海道札幌市）。

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.hoku-iryo-u.ac.jp/~physiol/>

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

佐藤 寿哉 (SATO TOSHIYA)

北海道医療大学・歯学部・助教

研究者番号：30709241