

# ラット顎下腺唾液採取のための特製固定装置の開発とその応用 —気管切開しないラットの反復使用の試み—

五日市 治

岩手医科大学歯学部歯科薬理学講座

(主任：伊藤 忠信 教授)

(受付：1997年10月16日)

(受理：1997年11月17日)

**Abstract** : The author has developed a new simple method with device for collecting the submandibular saliva in rats without taking tracheotomy which helps then breathe. The device makes it possible to use the identical rat, repeatedly.

1) To use special plate for fixing a non-tracheotomized rat was kept at an angle of 16.4 degrees, and the saliva was naturally dropped through a cannula inserted into a ductus of the submandibular gland in a urethane-anesthetized rat without taking tracheotomy. Furthermore, whether the identical rat are able to use repeatedly was examined by the comparison of amount of the submandibular saliva induced by sialogogues. The results are as follows.

The amounts of the saliva induced by pilocarpine (1.0~4.0 mg/kg, s. c.), phenylephrine (1.25~5.0 mg/kg, s. c.) and isoproterenol (0.156~2.5 mg/kg, s. c.) increased in the dose-dependent manner respectively, at the first and the second experiments. No significant fluctuation was shown between the amounts of the saliva and the patterns of the salivary response at the first experiment and the ones at the second experiments.

2) Wet weights of the submandibular and sublingual glands in the rats 90 min after the injection of pilocarpine showed both at the first and the second experiments no significant fluctuations.

These results indicate that it is possible to be used the identical rat repeatedly in the experiments of the response to the salivary secretion induced by sialogogues, by using the method with a special plate for fixing a rat.

**Key words** : special plate, non-tracheotomized rat, submandibular saliva, sialogogues

## 緒 言

唾液はう蝕<sup>1)</sup>や歯周疾患<sup>2)</sup>の発現などに影響を与えるが、粘膜防御作用、緩衝作用、抗菌作用、消化作用など多くの生理作用を有していることが知られている。唾液と口腔内環境との関係について、人での検討には限界があるため、

動物を用いた研究が行われている。従来、動物からの唾液採取法には、イヌやウサギを用いた瘻孔法<sup>3)</sup>、ラットを用いたカニューレ法<sup>4~7)</sup>、マウスを用いた吐き出し法<sup>8~11)</sup>などがあるが、いずれの場合も欠点がある。すなわち、瘻孔法は経済的に高価であること、カニューレ法は気管切開を必要とすること、吐き出し法は唾液の組

Development of a special fixing device for collecting rat submandibular saliva and its application. —A trial of repeated use in non-tracheotomized rats—

Osamu ITSUKAICHI

(Department of Pharmacology, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka, 020 Japan)

成や成分の変化を観察するには不都合であることなどである。

今回、著者はラットを用いたカニューレ法の欠点を補うため、気管切開など外科的侵襲を加えず、顎下腺唾液を採取する方法を、ラット固定装置を試作して検討した。さらに、催唾剤誘導によるラット顎下腺の全唾液分泌量と唾液分泌速度の検討から、同一ラットを反復して使用することが可能か否かについて比較検討した。

## 材料と方法

### (1) 動物

実験には9週齢のSD系雄性ラット（日本クレア）を1群6匹として用い、1週間一定の環境のもとに予備飼育した後、実験に使用した。すなわち、ラットは温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度50%から60%、明暗12時間サイクル（点灯7時、消灯19時）に維持した動物室で飼育し、水道水と固型飼料（日本クレア、CE-2）を自由に摂取させた。なお、実験は実験開始16時間前から絶食し、水道水のみを与えたラットを用いて行った。第1回目の実験に使用したラットは、再び予備飼育時と同様の条件のもとに2週間飼育し、第2回目の実験に供した。

### (2) 催唾剤

催唾剤としては、副交感神経ムスカリン性受容体作働薬のピロカルピン（関東化学）、交感神経 $\alpha_1$ -受容体作働薬のフェニレフリン（興和）、交感神経 $\beta$ -受容体作働薬のインプロテレンール（半井化学）を用いた。これらの薬物は、生理食塩水（扶桑薬品）に溶解し、体重100g当たり0.1mlの割合で皮下投与した。

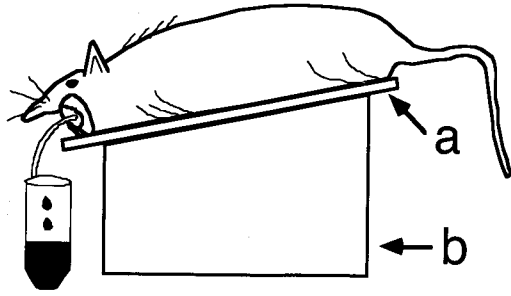
### (3) ラット固定用の特製固定装置の試作

ラット固定用の特製固定装置は、Fig. 1に示すように、ラットを固定する板（Fig. 1のa）とそれを支持する台（Fig. 1のb）とからなっている。固定板は、長さ30cm、幅20cmの矩形、厚さ1cmの板からなり、動物が落ちないように四肢を糸で固定するための切り込みと可動的に側頭部を押さえることのできる器具を備えている。固定されたラットの身体を傾斜させるため

の支持台は、幅20cm、両端の高さが6cmと12cmからなる台形の厚さ1cmの板2枚からなる。なお、固定板の前方の高さは、マイクロサンプリングチューブ（Treff社製、0.5ml）の高さとそれを水中に置くための自家製のラックの高さとを加えたものである。支持台は固定板の前方先端部から4cm、両側内側3cmの所に取り付けられている。固定板の傾斜角度は、実験中に発生する呼吸障害と耳下腺唾液のマイクロサンプリングチューブへの流出を指標にして検討した。すなわち、傾斜角度は、固定板の後方を1cmづつ上昇させて、それらの指標について測定した。

### (4) 唾液分泌量の測定

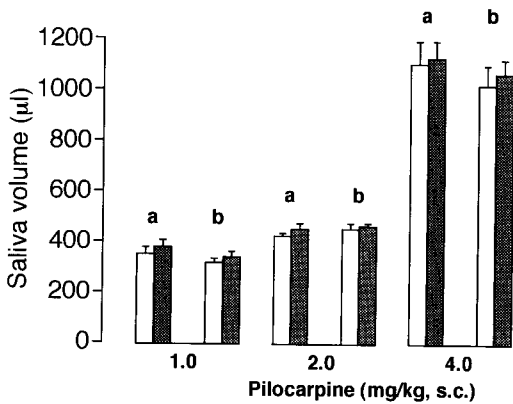
唾液分泌量の測定は、ラットの顎下腺から直接採取するYoshidaら<sup>4)</sup>の方法に準じて行った。使用したポリエチレン・チューブ（Clay Adams, PE10, 外径0.61mm）は長さ4cmに切断し、一方の先端の外径が0.4mmとなるように細工した。顎下腺導管の口腔内開口部へのポリエチレン・チューブの挿入は、ラットをウレタン（1.3g/kg, i.p.）で麻酔し、普通の固定板上に仰臥位に固定した後に、自家製の開口器でラットの口腔を十分に開口させて行った。次に、著者が作製したゾンデ（外径0.4mm）を用いて顎下腺導管の口腔内開口部を軽く広げ、準備しておいたポリエチレン・チューブを左側あるいは右側の顎下腺導管の口腔内開口部へ約4mmの深さまで挿入し、外科用瞬間接着剤（アロンアルファA「三共」）で固定した。以上のような操作の後に、ラットを仰臥位の固定から開放し、次の操作を行った。すなわち、Fig. 1に示すように、著者が作製した特製の固定装置の固定板上にラットを腹臥位に固定し、頭部を前下方に位置させて、気道を確保した。その後、各種の催唾剤を投与し、左側あるいは右側の顎下腺から分泌される唾液を、それぞれのマイクロサンプリングチューブに採取し、その重量を測定して唾液分泌量とした。なお、分泌された唾液量の重さは同量の水の重さとおおよそ比例することを確かめた。唾液分泌量の測定は、催唾剤投与直後から10分ごとに新しいマイクロサンプ



**Fig. 1.** A schematic diagram of special fixing apparatus.

An inclination angle of a special plate for fixing a non-tracheotomized rat was 16.4 degrees.

a : a fixing board (length ; 30 cm, width ; 20 cm and thickness ; 1 cm), b : a supporting stand ( height ; 6 and 12 cm, width ; 20 cm and thickness ; 1 cm).



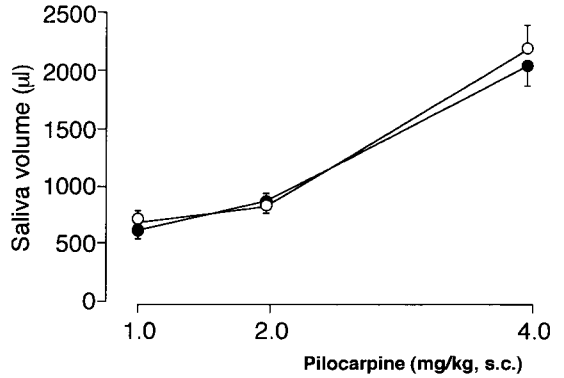
**Fig. 3.** Effects of the left and the right submandibular glands on pilocarpine-induced salivation in rats.

Each column and vertical bars are expressed as the mean  $\pm$  S. E. (n=6).

□ : right side    ■ : left side  
a : the first experiment    b : the second experiment

リングチューブと交換し、90分間にわたる測定値の合計を全唾液量とした。

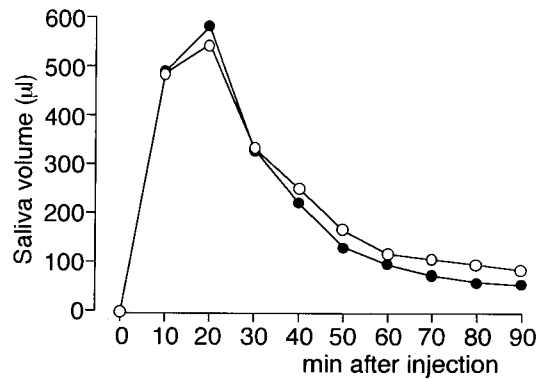
次に、2週間後に、同一のラットを用いて、上記と同様な方法で顎下腺唾液を採取し、第1回目の唾液分泌量と比較検討した。



**Fig. 2.** Dose-response curves of total saliva induced by pilocarpine in rats.

Each point and vertical bars are expressed as the mean  $\pm$  S. E. (n=6).

○ : the first experiment    ● : the second experiment



**Fig. 4.** Time course profiles of the first and second experiments on pilocarpine (4.0 mg/kg, s.c.)-induced salivation in rats.

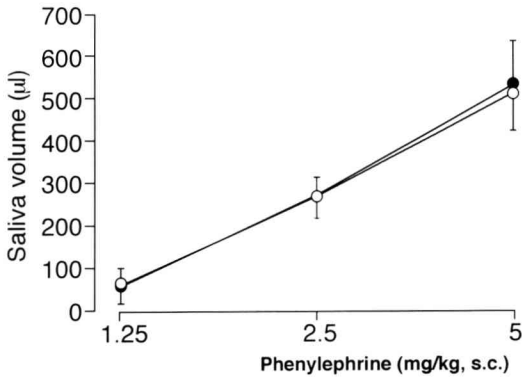
Each point is expressed as the mean (n=6).

○ : the first experiment    ● : the second experiment

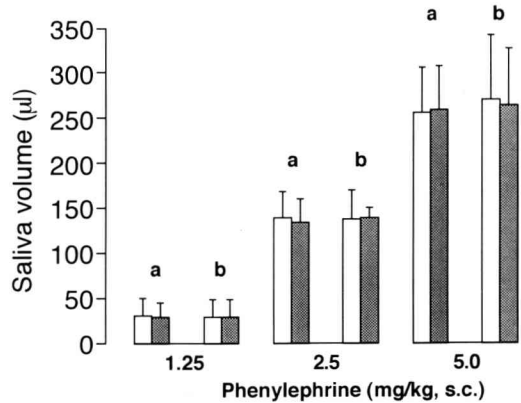
唾液採取の実験は、温度  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 50% から 60% に維持された実験室で午前 (10時から10時30分の間に唾液採取を開始) 1回行った。

(5) 顎下腺および舌下腺の湿重量の測定

顎下腺および舌下腺の湿重量の測定は、ピロ



**Fig. 5.** Dose-response curves of total saliva induced by phenylephrine in rats. Each point and vertical bars are expressed as the mean  $\pm$  S. E. (n=6).  
○ : the first experiment ● : the second experiment



**Fig. 6.** Effects of the left and the right submandibular glands on phenylephrine-induced salivation in rats. Each column and vertical bars are expressed as the mean  $\pm$  S. E. (n=6).  
□ : right side ▨ : left side.  
a : the first experiment b : the second experiment

カルピン投与前, 第1回目の実験時のピロカルピン投与90分後, および第2回目の実験時のピロカルピン投与90分後に行った。なお, 顎下腺および舌下腺の摘出は, 過量のウレタン投与により死亡を確認した後に行い, 直ちに両唾液腺を秤量した。

(6) 統計学的処理

得られた結果は, 平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。統計学的有意性の検定は, Duncan's new multiple range test および Student's t-test (paired) を用いて行い, 危険率5% ( $p < 0.05$ ) 以下の場合を有意とした。

実験結果

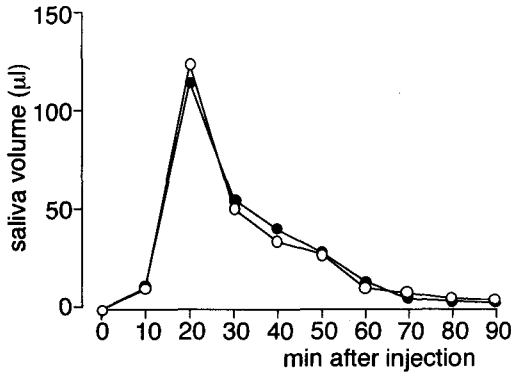
(1) 特製固定装置の固定板の傾斜角度の検討

ラット固定用の特製固定装置の傾斜角度は, 固定板の後方を1cmづつ上昇させて測定した。その結果, 4cmまでの上昇では分泌物により気道が閉塞し, 呼吸障害が発生した。また, 8cm以上の上昇では耳下腺唾液の流出が認められた。このようなことから5cmから7cmの高さの範囲が適当であることが認められ, 本研究においてはその中間の位置6cmの高さに設定した。なお, 固定板の後方6cmの上昇は, 傾斜角度に

換算すると16.4度である。以後の実験はこの傾斜角度で行った。この方法により, ラットの頭部を前下方に固定したとき, 気道は口腔内の分泌物によって閉塞されない状態に保たれ, 気管切開を必要としないで顎下腺唾液分泌量の測定が可能である。

(2) ピロカルピン誘導唾液分泌反応

副交感神経ムスカリン性受容体作動薬のピロカルピン (1.0, 2.0 および 4.0 mg/kg, s. c.) 誘導の顎下腺全唾液分泌量は, Fig. 2 に示すように, 用量に依存して増大を示した。しかも, いずれの投与量においても, 第1回目と第2回目の実験での顎下腺全唾液分泌量の間には有意差は認められなかった。その上, 左側と右側の全唾液分泌量にも有意差は認められなかった (Fig. 3)。Fig. 4 はピロカルピン 4.0 mg/kg によって誘導された顎下腺唾液分泌反応の経時変化を示したものである。第1回目と第2回目の実験での唾液分泌パターンは類似し, ピロカルピン投与20分後には唾液分泌量は最大となり, その後経時的に減少を示した。しかも, そのような経時的な唾液分泌パターンにも有意差は認



**Fig. 7.** Time course profiles of the first and the second experiments on phenylephrine (2.5 mg/kg, s. c.)-induced salivation in rats. Each point is expressed as the mean (n = 6).  
○ : the first experiment ● : the second experiment

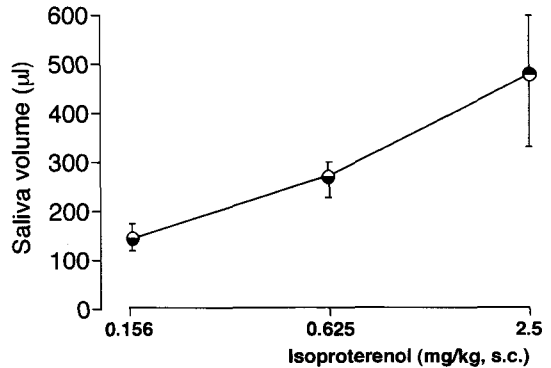
められなかった。

### (3) フェニレフリン誘導唾液分泌反応

交感神経 $\alpha_1$ -受容体作働薬のフェニレフリン (1.25, 2.5 および 5.0 mg/kg, s. c.) 誘導の顎下腺全唾液分泌量は, Fig. 5 に示すように, 用量に依存して増大を示した。第1回目と第2回目の実験での顎下腺全唾液分泌量は, いずれの投与量においても, 両者の間には有意差は認められなかった。その上, 左側と右側の全唾液分泌量にも有意差は認められなかった (Fig. 6)。Fig. 7 はフェニレフリン 2.5 mg/kg によって誘導された顎下腺唾液分泌反応の経時変化を示したものである。第1回目と第2回目の実験での経時的な唾液分泌パターンは類似し, 唾液分泌量にも有意差は認められなかった。

### (4) イソプロテレノール誘導唾液分泌反応

交感神経 $\beta$ -受容体作働薬のイソプロテレノール (0.156, 0.625 および 2.5 mg/kg, s. c.) 誘導の顎下腺全唾液分泌量は, Fig. 8 に示すように, 用量に依存して増大を示した。第1回目と第2回目の実験での顎下腺全唾液分泌量は, いずれの投与量においても, 両者の間には有意差は認められなかった。その上, 左側と右側の全



**Fig. 8.** Dose-response curves of total saliva induced by isoproterenol in rats. Each point and vertical bars are expressed as the mean  $\pm$  S. E. (n=6).  
○ : the first experiment ● : the second experiment

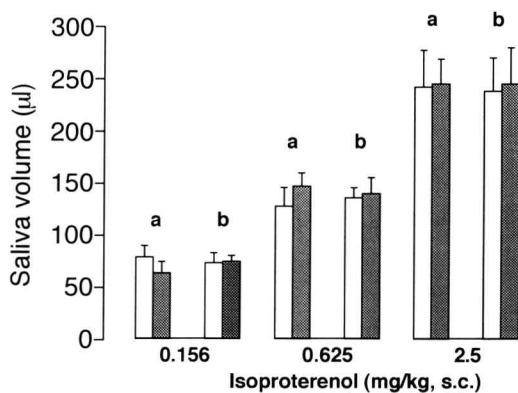
唾液分泌量にも有意差は認められなかった (Fig. 9)。Fig. 10 はイソプロテレノール 0.625 mg/kg によって誘導された顎下腺唾液分泌反応の経時変化を示したものである。第1回目と第2回目の実験での経時的な唾液分泌パターンは類似し, 唾液分泌量にも有意差は認められなかった。

### (5) 顎下腺および舌下腺の湿重量

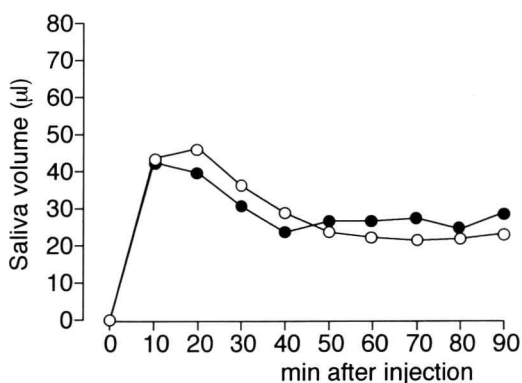
顎下腺および舌下腺の湿重量は体重 100 g 当りに換算し, ピロカルピン投与前 (対照群) を 100 % とし, それぞれについて比較検討した。ピロカルピンの各用量における顎下腺および舌下腺の湿重量は, 第1回目の実験でのピロカルピン投与 90 分後および第2回目の実験でのピロカルピン投与 90 分後では, 対照群と比較して有意差が認められず, また第1回目と第2回目の実験でも, それらの間には有意差は認められなかった (Figs. 11, 12)。

## 考 察

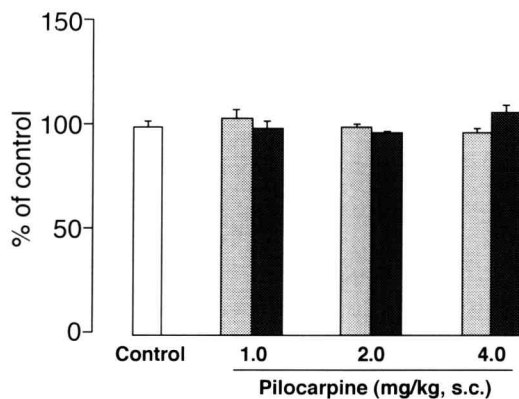
唾液は口腔内環境の恒常性維持に密接な関係を持つほか<sup>1,2)</sup>, 生体の機能維持, 特に全身の各臓器の機能に重要な役割を演じていることが知られている。従来, 唾液と口腔内環境との関係や薬物による唾液分泌の研究において, 人での



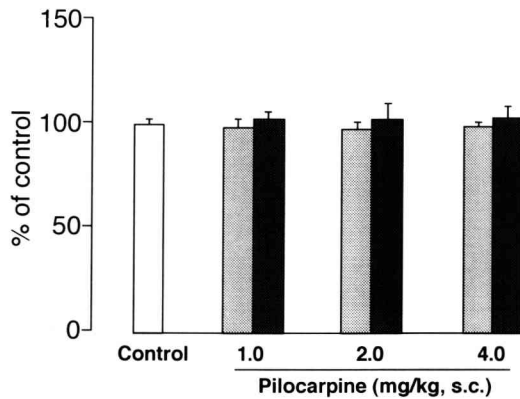
**Fig. 9.** Effects of the left and the right submandibular glands on isoproterenol-induced salivation in rats. Each column and vertical bars are expressed as the mean  $\pm$  S. E. (n=6).  
 □ : right side    ▨ : left side  
 a : the first experiment    b : the second experiment



**Fig. 10.** Time course profiles of the first and the second experiments on isoproterenol (0.625 mg/kg, s.c.)-induced salivation in rats. Each point is expressed as the mean (n=6).  
 ○ : the first experiment    ● : the second experiment



**Fig. 11.** The wet weights of the submandibular glands in rats. Wet weights were measured 90 min after administration of pilocarpine at the first and the second experiments. Each column is expressed as the percentage (the mean  $\pm$  S. E., n=6) of control (before pilocarpine administration).  
 ▨ : the first experiment  
 ■ : the second experiment



**Fig. 12.** The wet weights of the sublingual glands in rats. Wet weights were measured 90 min after administration of pilocarpine at the first and the second experiments. Each column is expressed as the percentage (the mean  $\pm$  S. E., n=6) of control (before pilocarpine administration).  
 ▨ : the first experiment  
 ■ : the second experiment

検討には限界があるため、動物を用いた研究が多く行われている。

動物から唾液を採取するにあたって、考慮しなければならないことは、実験動物の種類、性別、加齢差や飼育条件差<sup>12)</sup>および個体差<sup>13)</sup>；唾液を採取する際の唾液腺の種類；使用する催唾剤の種類；麻酔薬の種類と投与方法などである。

ラット顎下腺は、酵素蛋白を分泌する漿液腺細胞と、ムチンなどを分泌する粘液腺細胞から構成される混合腺である。このうち粘液腺細胞は高分子の糖蛋白（ムチン）を生合成し、それらは顆粒内に貯蔵されるが、その分泌機構は漿液腺細胞と同様に開口分泌である<sup>10)</sup>。また、顎下腺の唾液分泌については、ネコでは交感神経 $\alpha$ -受容体の機能が、イヌでは交感神経 $\beta$ -受容体の機能が主に関与し、ラットでは両受容体の機能が関係していることが知られている<sup>15)</sup>。ラット顎下腺の唾液分泌機構に関与する受容体の機能については、交感神経 $\beta$ -受容体作働薬によって粘液性の物質の放出が増加し、交感神経 $\alpha$ -受容体作働薬によって有機成分の低い唾液流出速度が促進する<sup>16)</sup>ことも確かめられている。このような分泌機構を持つラット顎下腺は、種々の催唾剤を用いて全唾液分泌量や唾液分泌速度を検討するのに適切な臓器であると考えられている。

著者が試作した特製の固定装置は、ラットを固定する板とそれを支持する台とからなり、固定板はラットの四肢を糸で固定するための切り込みと可動的に側頭部を押さえることのできる器具を備えている。Benardeら<sup>17)</sup>は固定板の傾斜角度8度において、ラットを腹臥位に固定するための装置（固定箱）を用いて全唾液を採取している。しかし、このBenardeら<sup>17)</sup>が示した角度の装置を用いて、Yoshidaら<sup>4)</sup>の方法に準じたカニューレ法でラットの唾液を採取するには、気管切開が必要である。その上、板の穴から頭部を外部に露出させているために首が締め付けられ、唾液腺を圧迫する可能性も考えられる。このような唾液採取法では単一唾液腺の唾

液組成について検討することは困難である。ラットの単一唾液腺からの唾液組成を研究するために、Yoshidaら<sup>4)</sup>が顎下腺導管の口腔内開口部にカニューレションを行い、直接唾液を採取する方法を開発した。さらに、このような方法を改良することによって、耳下腺および顎下腺からの唾液の同時採取法<sup>5, 6)</sup>や、舌下腺からの分泌唾液を同時に分離して採取する方法<sup>7)</sup>が確立された。しかし、これらの方法はいずれの場合も気管切開を必要とするものである。著者は気管切開を必要としないカニューレ法を確立するため、ラット固定装置の固定板の傾斜角度について検討し、20度以上の角度では耳下腺唾液が顎下腺唾液と共にマイクロサンプリングチューブに自然に落下すること、10度以下の角度では気管切開が必要であることを確認した。さらに種々の予備実験の結果から、傾斜角度が16.4度するとき、気管切開を必要としないで、良い状態において顎下腺唾液を採取することができた。しかも、同一ラットを反復して使用することが可能であることも確かめられた。

動物から唾液を採取するとき、動物を不動化するが、その不動化に必要な麻酔薬の種類や麻酔の深度が唾液分泌に影響を及ぼすことが知られている。山本ら<sup>18)</sup>は、 $\alpha$ -クロラロースやペントバルビタール投与ではミクロゾームのアミラーゼ合成能が低下し、ウレタン投与ではミクロゾームにおける合成能が低下しないことなどを報告している。また、バルビツール系には交感神経節遮断作用<sup>19)</sup>や副交感神経節遮断作用<sup>20)</sup>があることが報告されている。しかし、ラットを用いたカニューレ法の実験に使用される麻酔薬は、ペントバルビタールが頻用され、その用量も50 mg/kgから64.8 mg/kgである。しかし、この用量はラットに対する麻酔量の適用範囲を越えている。ペントバルビタールのラットに対する適用量は、腹腔内投与では30 mg/kgから40 mg/kgであり、その時の麻酔持続時間は約60分間であるとされている。今回の実験では、準備時間も含めて約2時間30分必要であり、ペントバルビタールの使用では、実験期間中の不

動化は不可能である。このような理由から、今回の実験では唾液腺自体や唾液分泌に対する影響が少ないウレタンを用いた。実験では、ウレタンの使用量は1.3 g/kgであり、この用量は実験期間中、つねに一定の麻酔深度が得られる最少の用量である。

次に、前記のように実験条件を設定した上で、同一ラットが反復して使用することができるか否かについて、顎下腺の全唾液分泌量と唾液分泌速度を指標にして、種々の催唾剤を投与して比較検討した。

本研究において、副交感神経ムスカリン性受容体作働薬のピロカルピン、交感神経 $\alpha_1$ -受容体作働薬のフェニレフリンおよび交感神経 $\beta$ -受容体作働薬のイソプロテレノールによって誘導された顎下腺全唾液分泌量は、いずれも用量に依存して増大した。しかも、いずれの投与量においても、第1回目と第2回目の実験での顎下腺全唾液分泌量の間には有意差は認められなかった。すなわち、このような結果は同一ラットの2週間飼育後の実験においても顎下腺全唾液分泌量には有意差は認められないことを示している。

同一ラットを反復使用する場合、単位時間当たりの唾液分泌量(唾液分泌速度)について考慮しなければならないことが報告されている<sup>2)</sup>。本研究において、3種類の催唾剤(ピロカルピン、フェニレフリンおよびイソプロテレノール)によって誘導された顎下腺唾液分泌反応の経時変化パターンは、第1回目と第2回目の実験ともそれぞれ類似していた。唾液腺の唾液分泌機能は投与された催唾剤の用量に応じて、しかも生体内における催唾剤の代謝や排泄に応じて微妙に変動することが考えられる。したがって、第1回目に投与された催唾剤は第2回目の実験前には生体内から完全に消失し、唾液腺の分泌機能も正常に保たれていると考えられる。また、今回使用した催唾剤の用量は唾液腺の障害を引き起こさない範囲である。このようなことは、顎下腺および舌下腺の湿重量が、第1回目と第2回目とも対照群に比較して有意

差が認められないという結果からも推察される。

本研究において、著者は気管切開を行わずに、ラット顎下腺導管の口腔内開口部から直接唾液を採取するための特製固定装置を試作した。さらに、この装置を用いて催唾剤による誘導唾液分泌量とその速度を比較検討した結果、同一ラットの反復使用による顎下腺唾液の採取が可能であることが認められた。なお、このような方法で唾液を採取することは、1) 経済的であること、2) 動物に対する侵襲が少ないこと、3) 操作が簡便であることなどの利点があると考えられる。今後、この方法を用いて唾液の組成などについても、検討を行う予定である。

## 結 語

著者は、ラット顎下腺導管の口腔内開口部から直接顎下腺唾液を採取する際に、気管切開を行わずに採取できる特製の固定装置を試作した。さらに、この装置を用いて、3種類の催唾剤誘導による顎下腺の全唾液分泌量と唾液分泌速度を測定し、同一ラットの反復使用が可能か否かについて検討した。

1. 特製固定装置の固定板の傾斜角度は、16.4度であった。この装置を使用した場合、気管切開せずにラットの顎下腺唾液分泌量を測定することができる。
2. ピロカルピン(1.0, 2.0および4.0 mg/kg, s. c.) フェニレフリン(1.25, 2.5および5.0 mg/kg, s. c.) およびイソプロテレノール(0.156, 0.625および2.5 mg/kg, s. c.) 誘導による顎下腺全唾液分泌量は、それぞれの用量に依存して増大した。しかも、第1回目と第2回目の実験での顎下腺全唾液分泌量や、唾液分泌パターンにはいずれも有意差は認められなかった。
3. ピロカルピンの各投与量の90分後におけるラット顎下腺および舌下腺の湿重量は、第1回目および第2回目とも対照群に比較して有意差は認められなかった。

以上の結果、今回試作したラット固定装置を用いた催唾剤による誘導唾液分泌量とその速度



の比較検討から、同一ラットの反復使用による顎下腺唾液の採取が可能であることが認められた。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、ご懇篤なるご指導、ご校閲を賜りました岩手医科大学歯学部歯科薬理学講座伊藤忠信教授に深く感謝の意を表します。さらに、本研究を進めるにあたり終始ご指導ご鞭撻をいただきました岩手医科大学歯学部歯科薬理学講座吉田 照講師に心より謝意を表します。また、種々ご協力いただきました普代村国民健康保険歯科診療所長藤原秀世博士ならびに岩手医科大学歯学部歯科薬理学講座村井繁夫助教をはじめ同講座の皆様深く感謝します。

## 文 献

- 1) Hyde, E. J. : Salivary flow rate of children and its relationship to dental caries. *J. Can. Dent. Assoc.* 38 : 186-189, 1972.
- 2) 中静 正, 大森 恒, 萩本増彦, 船川芳洋, 山田弘文, 横地 洋, 奥村和道 : 唾液および歯肉浸出液中の histamine 分離定量法について, 日歯周誌 17 : 59-66, 1975.
- 3) Houssay, B. A. : Human Physiology. pp335-345, in Houssay, B. A. (ed), The secretion of saliva, mastication and deglutition. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York, 1955.
- 4) Yoshida, H., Sprecher, R. L., Schneyer, C. A., and Schneyer, L. H. : Role of  $\beta$ -receptors in sympathetic regulation of electrolytes in rat submaxillary saliva. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 126 : 912-916, 1967.
- 5) 杉沢健司 : 耳下腺唾液および顎下腺唾液の同時採取法を用いたラットの唾液分泌機構の検討について, 歯科医学, 40 : 635-655, 1977.
- 6) 寺田康宏 : ラットの耳下腺および顎下腺唾液中へのサルファ薬の排泄能について, 歯科医学, 42 : 483-498, 1979.
- 7) Takai, N., Yoshida, Y., and Kakudo, Y. : Technique for collection of saliva from the three major salivary glands of individual rats. *J. Osaka Dent. Univ.* 16 : 17-23, 1982.
- 8) Richter, W. : Estimation of anticholinergic drug

- effect in mice by antagonism against pilocarpine-induced salivation. *Acta. Pharmacol. Toxicol.* 24 : 243-254, 1966.
- 9) Ohshika, H., Endo, J., Takemura, H., and Tanaka, M. : A possible role of alpha adrenergic receptors in salivation induced by isoproterenol in mice. *Jpn. J. Pharmacol.* 28 : 650-652, 1978.
- 10) Onodera, K. and Ogura, Y. : Estimation of anticholinergic effects of the atypical antidepressant, mianserin, by antagonism against pilocarpine-induced salivation. *Jpn. J. Oral. Biol.* 25 : 1148-1150, 1983.
- 11) Murai, S., Saito, H., Masuda, Y., Nakamura, K., Yoshida, H., and Itoh, T. : A modified method for quantitative measurements of cholinergic and adrenergic sialogogue-induced salivation in mice. *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 17 : 601-608, 1995.
- 12) Schneyer, C. A. and Hall, H. D. : Autonomic regulation of changes in rat parotid amylase during postnatal development. *Am. J. Physiol.* 223 : 172-175, 1972.
- 13) 吉田 洋 : 唾液分泌に関する生理学的実験方法論, 歯科ジャーナル, 16 : 569-579, 1982.
- 14) Quissell, D. O. : Secretory response of dispersed rat submandibular cells. I. Potassium release. *Am. J. Physiol.* 238 : C 90-C 98, 1980.
- 15) Emmelin, N. : Nervous control of mammalian salivary glands. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* B296 : 27-35, 1981.
- 16) Quissell, D. O. and Barzen, K. A. : Secretory response of dispersed rat submandibular cells. II. Mucin secretion. *Am. J. Physiol.* 238 : C 99-C 108, 1980.
- 17) Benarde, M. A., Fabian, F. W., Rosen, S., Hoppert, C. A., and Hunt, H. R. : A method for the collection of large quantities of rat saliva. *J. Dent. Res.* 35 : 326-327, 1956.
- 18) 山本 巖, 猪木令三, 小島碩蔵, 石田 甫, 溝口幸二. 唾液腺分泌活動に対する麻酔薬の影響, 日薬理誌. 62 : 213-219, 1966.
- 19) Exley, K. A. : Depression of autonomic ganglia by barbiturates. *Brit. J. Pharmacol.* 9 : 170-181, 1954.
- 20) Covian, M. R. and Cordero-Funes, J. R. : Role of anesthesia and frequency of stimulation in preganglionic and postganglionic fiber response. *J. Neurophysiol.* 18 : 353-361, 1955.
- 21) 岡 好甫 : ラット顎下腺における  $\alpha$ -amylase, 陽イオンおよび水分の分泌に関する唾液分泌刺激についての検討, 歯基礎誌, 13 : 515-538, 1971.