Mitomycin C 投与ラットの顎下腺における Sulfanilamide の分泌様式について

鈴木 康 夫
すず き やす お

大阪歯科大学生理学教室 (主任 覚道幸男教授)*

[受付: 昭和45年12月16日]

生体の臓器あるいは組織においてはもちろん、細胞あるいは分子のレベルにおいてさえも、その形態と機能とが互いに不可分の関係にあることは、よく知られていることである。たとえば、腺細胞の分泌機能についていえば、腺細胞内への分泌物質の吸収、腺細胞における分泌物の合成および腺細胞からの分泌物の放出など、それぞれの過程に対応して機能的変化と微細な形態的变化とが緊密に関連していることが明らかにされている¹⁾。

しかし、機能的変化に伴伴して変動する形態的变化を完全に把握するために、たとえ短い時間間隔で各変化を追求したとしても、それには非常な困難を伴うことも、現在ではすでに自明のことである。

かりに、機能的変化と形態的变化とを同時に検討できたとしても、具体的にどの程度まで機能的変化を形態的变化に、あるいは形態的变化を機能的変化に一致させて、実験あるいは観察できたかということを証明することもきわめてむずかしいことである。

この点に関して、著者は、薬物によって臓器および組織が明らかに病的な形態的变化をひきおこしたラットに、トレーサーとしての物質を投与して、臓器・組織の機能的変化を分析するという実験方法を駆使して、唾液腺の形態と機能との関係を解明しようと考えた。

ところが、著者 (1971)²⁾ の実験結果によると、ラットの顎下腺の腺房部細胞は、Mitomycin C の投与により著明な萎縮像を示すが、線条部細胞 (顆粒管を含めた線条構造をもつ細胞をさす) にはほとんど変化が認められないことが明らかにされている。また、トレーサーとして投与したスルファ葉がラットの顎下腺から分泌するときには、腺内の duct system (分泌管部、とくに線条部細胞) を選択的に通過すること^{3,4)} が判明している。

そこで、著者は Mitomycin C を投与したラット顎下腺における形態的变化の究明の場合とまったく同一の実験条件下で、顎下腺における sulfanilamide の分泌様式を検討した。そして、Mitomycin C 投与によるラット顎下腺の線条部細胞における形態的变化と、sulfanilamide の分泌様式を指標とした機能的な変化とが、完全に一致することを確認し、ラット顎下腺の分泌機構における形態と機能との関連性について明らかにした。

実験材料と実験方法

1. 実験材料

1) 実験動物

オリエンタル固型飼料 (M.F) で飼育した Wistar 系ラットの雌 (体重250~300g) を使用した。

2) 投与薬物

a) Mitomycin C

注射用結晶 マイトマイシン C (マイトマイシン

Studies on the secretion of sulfanilamide in rat submaxillary gland following Mitomycin C injection
Y. SUZUKI (Department of Physiology, Osaka Dental University (formerly, Osaka Dental College),
Kyobashi, Higashi-ku, Osaka)

* 大阪市東区京橋 1-47 (〒540)

Jap. J. Oral Biol. 13: 14-24, 1971.

協和S：協和酸酵)を40mg%の水溶液とした。

b) sulfanilamide

5% Gerison 注射液(山之内製薬)を用いた。

2. 実験方法

1) Pair fed

実験群(Mitomycin C 投与群)ラットには飼料を自由に摂取させた。しかし、対照群のラットには実験群ラットにおけるその日の摂取量(厳密には餌箱中の食餌の減少量)に相当する量だけの食餌を与えた。

すなわち、pair fed をして、対照群と実験群とにおける食餌の摂取量の増減による体重の変化に基因する種々の実験誤差を除去した。

なお、水は両群とも自由に摂取させた。

2) Mitomycin C の投与法

実験群には、1mg/kg の Mitomycin C を1日おきに約3週間腹腔内に注射し、その体重および食餌摂取量を毎日計測した。そして、ラットの体重が Mitomycin C 投与前の体重の約70%に減少を示した時期に、Mitomycin C の投与をやめて、つぎの実験操作に移った。

3) Fasting

Mitomycin C の投与終了直後から、その翌日 sulfanilamide を投与して実験を始めるまでの間、実験群のラットを fasting 状態においた。なお、対照群のラットも sulfanilamide を投与して実験を開始するまで、実験群ラットの場合と同じ時間だけ fasting 状態においた。

4) 麻酔

両群のラットに、Sodium pentobarbital(Nembutal, Abbott)を腹腔内に投与して(投与量: 50mg/kg)麻酔し、仰臥位に固定した。

5) カニューレーション

麻酔後、各目的に応じて、つぎのカニューレーションを行なった。

a) 唾液採取用腺外導管カニューレーション

一侧の顎下腺外導管の口腔内開口部に、細いポリエチレンチューブ(Clay Adams: PE 10, 外径: 0.7mm)を挿入し、結紮した。

b) 薬物投与用股静脈カニューレーション

一侧の大腿静脈を露出させ、ポリエチレンチュ

ーブ(Clay Adams: PE 50, 外径: 1.0mm)を挿入結紮した。

c) 気管カニューレーション

気管を切開し、ポリエチレンチューブ(Igarashi: No 35, 外径: 約2.0mm)を挿入結紮して、実験中に起こる呼吸障害を防止した。

6) sulfanilamide の投与

両群のラットに、股静脈カニューレから、sulfanilamide を投与した(投与量: 125mg/kg)。

7) 唾液の採取

唾液分泌を催起させるために、両群のラットに1% pilocarpine 水溶液(半井化学)の8mg/kgを腹腔内に注射した。

そして、0.05 ml 唾液採取用ピペットの先端を腺外導管カニューレの先端に密着させて、分泌する唾液を分泌時間(すなわち、採取時間)をチェックしながら採取した。

なお、1サンプルの採取唾液量は、0.05 ml である。

8) 唾液腺の計量

唾液採取終了後直ちに、唾液採取側の顎下腺を摘出して、その湿重量(mg)を計量し、唾液腺の単位重量あたりの唾液分泌速度($\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$)を求めた。

9) 唾液中の sulfanilamide の定量

内尾(1969)⁴⁾の方法で、唾液中の sulfanilamide を比色定量(mg/dl)した(分光光電比色計: Spectronic 20, 島津製作所製, 波長: 530m μ)。

実験成績

1. 対照群における sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度との関係

唾液分泌速度が小さい($0.02\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$)ときには、sulfanilamide の唾液中濃度は非常に高いが、分泌速度が増加するにつれてその唾液中濃度は急激に減少する。ところが、唾液分泌速度が $0.05\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$ 以上に増加すると、sulfanilamide の唾液中濃度の減少率は小さくなり、10mg/dl 前後の濃度に漸減してゆく(表1, 図1)。

2. 実験群における sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度との関係

表 1 対照群 (Mitomycin C 非投与群) における
sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度

唾液中濃度 (mg/dl)	唾液分泌速度 (μ l/min/mg)
9.08	0.079
8.12	0.097
8.84	0.085
8.84	0.068
11.83	0.046
10.56	0.030
12.62	0.020
15.65	0.010
8.48	0.076
9.69	0.050
16.97	0.011
18.02	0.017
15.08	0.021
13.02	0.023
12.88	0.020
13.83	0.019
21.03	0.006
10.25	0.084
9.65	0.100
10.86	0.098
13.83	0.043
15.62	0.027
15.62	0.020
17.35	0.012
23.60	0.005
8.12	0.120
9.32	0.090
9.81	0.054
13.42	0.025
19.74	0.004
9.03	0.044
9.04	0.048
10.88	0.025
12.30	0.013
11.39	0.102
13.22	0.036
16.88	0.020
15.86	0.020
16.29	0.016

実験群における sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度との増減関係は、対照群とほとんど同じである。ただし、唾液分泌速度が $0.05 \mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$ 前後を示すときには、sulfanilamide の唾液中

図 1 対照群における sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度との関係

濃度は対照群よりもやや低い値 ($7 \sim 8 \text{ mg/dl}$) をとる。したがって、唾液の分泌速度が $0.05 \mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$ 以上に増加すると、唾液中濃度が 6 mg/dl 前後の値に漸減する (表 2, 図 2)。

3. 回帰曲線の設定

対照群および実験群における sulfanilamide の唾液中濃度 ($Y, \text{mg/dl}$) と唾液分泌速度 ($X, \mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$) との関係を、最小自乗法によって回帰を行なうと、

$$\text{対照群では, } Y_c = \frac{0.062}{X} + 9.68$$

$$\text{実験群では, } Y_e = \frac{0.087}{X} + 5.90$$

で示される回帰曲線方程式が得られる。

この両曲線は、対照群では、 Y 軸と、 X 軸に平行でしかも Y 切片が 9.68 である直線とを、また実験群では、 Y 軸と、 X 軸に平行でしかも Y 切片が 5.90 である直線とを、それぞれ漸近線とした直角双曲線であることが容易に理解できる (図 3)。

考 察

1. 実験目的および実験方法について

唾液腺から分泌される唾液成分は、唾液腺腺細胞内で合成されたもの、および血液、組織液あるいはリンパ中の成分がそのまま唾液中に移行したものであると考えられている。

しかし、たとえ唾液腺腺細胞内で合成された物質であっても、少なくともそれらの物質を構成している素材は、唾液腺腺細胞の細胞外液から供給

表 2 実験群(Mitomycin C 投与群)における
sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度

唾液中濃度 (mg/dl)	唾液分泌速度 (μ l/min/mg)
7.04	0.065
7.82	0.032
14.52	0.007
4.88	0.140
11.12	0.018
5.72	0.136
5.40	0.138
7.81	0.066
14.27	0.005
6.89	0.104
9.92	0.081
10.86	0.056
13.22	0.026
17.00	0.010
6.35	0.200
7.74	0.103
13.61	0.015
19.31	0.004
8.02	0.067
11.04	0.044
18.79	0.009
5.77	0.080
6.23	0.068
8.46	0.035
12.43	0.014
8.91	0.051
12.23	0.023
6.61	0.089
6.50	0.085
9.14	0.046
12.37	0.017
14.92	0.010
16.41	0.022
25.00	0.004
3.63	0.054
13.59	0.009

されたものであることには間違いはない。

また、唾液腺において、腺細胞と細胞外液とくに血液との間で、物質の活発な交換が行なわれている部位は、腺房部細胞と分泌管部細胞とである⁵⁻¹⁰⁾ ことも周知のことである。

ことに最近、分泌管部細胞のうちとくに線条部

図 2 実験群における sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度との関係

図 3 対照群および実験群における sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度との関係をしめす回帰曲線

細胞では、物質の通過がきわめて容易であり、多量の水分あるいは電解質の移動が可能であることが十分想像される研究報告^{4,11-13)} が散見されるようになってきた。

また、生体に投与された、異物と考えられるスルファ薬は血液中では臨時成分として存在するが、その一部は直ちに唾液腺から唾液中に分泌(排泄)されることが、著者の教室の一連の研究^{3,4,11,14-40)} によって解明されている。

とくに、笹井(1967)³⁾ は、³H でラベルした sulfanilamide および sulfisoxazole がラット顎下腺細胞から唾液中へ移行する径路を、オートラジオグラフィーを用いて形態学的に検討した結果、どちらのスルファ薬においても、その移行径

路が腺房部細胞ではなくて、分泌管部とくに線条部（一部、介在部細胞）であることを指摘している。

そして、線条部細胞内に分泌顆粒が充満している腺の安静時（fasting 時）よりも、分泌刺激が与えられた腺の分泌活動時のほうが、腺細胞内あるいは腺細胞周辺に多数の radioisotope の grain が存在するのを見出ししている。

また、教室の内尾 (1968)⁴¹⁾ は、スルファ薬を投与したラットの顎下腺について、スルファ薬の分泌様式を詳細に検討し、顎下腺の duct system には唾液中へのスルファ薬の分泌に関与する active transport または carrier system が存在することを裏付ける成績を得ている。

このように、duct system においては水あるいは電解質だけではなく、高分子物質をも活発に能動輸送する機構が存在する可能性があることは、電子顕微鏡を用いた唾液腺の形態学的な観察結果⁴¹⁾、すなわち線条部細胞ではその basal cell membrane の basal infolding は、細胞実質中に大きくひだ状をなして入り組んでおり、しかも腺房部細胞における場合とは異なり、mitochondria が infolding に沿って多数存在していること、および ATP-ase の活性が著明に認められていること^{7,8,41)}からも十分に理解できる。

一方、BURGEN, A. S. V. (1956)⁵⁾ および BURGEN, A. S. V. and SEEMAN, P. (1958)⁴²⁾ は、唾液腺からの非電解質の分泌には duct system が大きな役割を果していることを観察している。

以上の各実験結果は、スルファ薬が唾液腺から分泌される場合には、腺内の分泌管部 (duct system) 細胞、ことに線条部細胞だけを選択的に通過することを強力に支持するものである。

著者²⁾ は、Mitomycin C を投与したラット唾液腺の形態的変化に関する実験において、Mitomycin C の影響は、腺房部細胞には著明に現われるけれども、線条部細胞にはほとんど認められないことを観察したが、線条部細胞の形態的変化においてほとんど認められなかった Mitomycin C の影響が、duct system の機能的な活動能においてもまったく認められないものかどうかを解明す

ることは、単に唾液腺の分泌機能に対する Mitomycin C の影響を究明するという目的だけにとどまらず、腺細胞の形態と機能との関連性を検討するうえにも、重大な一つの指針となるものであると考えられる。

以上の観点から、著者は本実験で、ラット顎下腺からの sulfanilamide の分泌様式の差異を、Mitomycin C 投与群および非投与群について比較検討して、線条部の機能に与える Mitomycin C の影響を分析するとともに、ラット顎下腺において認められた形態的な観察結果と機能的な実験結果とが、互いにどの程度関連性があるかを追究したのである。

2. sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度とから求めた回帰曲線について

教室の内尾 (1969)⁴⁾ の報告によると、ラット顎下腺における sulfanilamide の分泌様式、すなわち sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度との関係は、回帰曲線方程式 $Y = \frac{a}{X} + b$ ($b=0$) で表わされ、X 軸と Y 軸とを漸近線とする直角双曲線である (図 4)。

図 4 無処置ラットにおける sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度との関係をしめす回帰曲線〔内尾 (1969)⁴⁾から引用〕

しかし、著者の実験では、対照群における sulfanilamide の分泌様式 ($Y = \frac{a}{X} + b$, $b \neq 0$) は、Y 軸と、Y 切片が b である X 軸に平行な直線とを漸近線とする直角双曲線であった。

両者の実験方法がほとんど同じであるにもかかわらず、その実験結果に相違、すなわちそれぞれの双曲線の漸近線の位置にずれが生じた理由は、両実験において用いたラットの体重の差異（内尾の実験では平均 325 g であり、著者の実験においては平均 275 g である。ただし、飼育飼料および飼育条件は同一である）、すなわちラットの成熟の程度あるいは増齢度の差異によるものと考えられる。すなわち、ラットの成熟の程度の差異は、唾液腺の分泌機能にかなり大きな影響を及ぼすのではないかと想像される。たとえば、肉眼で観察した老齢肥大ラット（600g 以上）とそれよりも若齢のラット（250g 前後）との顎下腺の形態を互いに比較すると、前者の顎下腺は脂肪層に富んでおり、しかも腺の形態は非常に分葉していて、スムーズな楕円形を示しておらず、また分泌刺激を与えても一時的には唾液分泌は起こるが、一定の唾液分泌速度を持続しにくいことが観察される。したがって、体重の大きい、成熟の程度の著しい老齢ラットの顎下腺では、若齢ラットの顎下腺に比べて、少なくとも唾液中への sulfanilamide と水分との分泌機構のバランスがくずれており、水分の分泌に比べて sulfanilamide の分泌のほう疲労しやすいのであろうと考えられる。

なお、内尾と著者との実験結果における両者間の相違の原因についての著者の解釈は、sulfanilamide と水分との分泌機構がそれぞれ独立した機構として唾液腺内に存在しているという見解に対しては、まったく矛盾していない。

3. 回帰曲線方程式で表わした対照群 および実験群における sulfanilamide の分泌様式の差異の有意性の検討

対照群 および 実験群 のラット顎下腺唾液中の sulfanilamide 濃度と唾液分泌速度との関係については、普通方眼紙上ではほとんど差異が認められないようにみえる（図 1, 2）。しかし、両群について、sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度との回帰曲線方程式を求め（図 3, 対照群: $Y_c = \frac{0.062}{X} + 9.68$, 実験群: $Y_e = \frac{0.087}{X} + 5.90$ ）、両方程式を比較すると、その第 2 項の数値には、

かなり差があるように思われる。

そこで、以下に示すように、さらに統計処理をして、両群における分泌様式に差異があるかどうかを検討した。

1) 測定値の直線回帰処理

対照群と実験群とにおける sulfanilamide の濃度と唾液分泌速度との測定値の対数を普通方眼紙上にプロットして、直線回帰が可能であることを確かめる。

そして、唾液分泌速度（対数）を X 軸、sulfanilamide の唾液中濃度（対数）を Y 軸にとると、その回帰直線は、 $Y - \bar{Y} = a(X - \bar{X})$ で示される（ただし、 $\bar{X}$, $\bar{Y}$: それぞれ唾液分泌速度および sulfanilamide の唾液中濃度の対数の平均値、 a : 方程式の方向係数）。

そこで、対照群および実験群について、唾液分泌速度および唾液中濃度の対数のそれぞれの平均値 $\bar{X}$, $\bar{Y}$ を求め、つぎに、 $\bar{X}$ および $\bar{Y}$ を通る回帰直線の方向係数を決定するために、X 座標を等間隔にとったときの Y 座標を選ぶという一次補間法を用いて測定値（対数）を計算し、 $Y - \bar{Y} = a(X - \bar{X})$ に代入すると、対照群の回帰直線方程式 $Y_c = -0.31X + 0.62$ および実験群の回帰直線方程式 $Y_e = -0.35X + 0.47$ が求められる（図 5）。

図 5 sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度との測定値から求めた回帰直線

2) 対照群および実験群の測定値から求めた回帰直線の信頼区間の決定

前項で求めた対照群および実験群における回帰

直線に対して、信頼度99%でそれぞれの信頼区間を決定した。

a) 理論⁴³⁻⁴⁶⁾

変数 x が与えられたとき、 Y が次式で定められたとする。

$$Y = \alpha + \beta x + \mathcal{E}$$

ここで、 x は確定変数であり、任意に定めることができ、 $\mathcal{E}$ は誤差項であって、平均値 0、分散 σ^2 の正規分布をする確率変数とする。

また、 x の値 $x_1, x_2, \dots, x_n$ に対して、 Y_i の値が $(x_1, Y_1), (x_2, Y_2), \dots, (x_n, Y_n)$ であるとする。

そして、この n 組の観察値から、回帰母数 α , β および分散 σ^2 の推定値を求める。

推定方程式 $Y = \hat{\alpha} + \hat{\beta}x$ で、 x が与えられたときの Y の条件付分布は、つぎの密度関数で定められる。

$$f(y|x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} e^{-\frac{1}{2}\left[\frac{y - (\alpha + \beta x)}{\sigma}\right]^2} \quad 1)$$

$$\begin{aligned} L &= \prod_{i=1}^n f(y_i|x_i) \quad (\text{尤度関数}) \\ &= \left(\frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma}\right)^n \exp\left[-\sum_{i=1}^n \left\{Y_i - (\alpha + \beta x_i)\right\}^2 / 2\sigma^2\right] \quad 2) \end{aligned}$$

式 2) の両辺の対数をとって、

$$\log L = -\frac{n}{2} \log 2\pi - \frac{n}{2} \log \sigma^2 - \frac{1}{2\sigma^2} \cdot$$

$$\sum \left[Y_i - (\alpha + \beta x_i) \right]^2$$

α , β および σ^2 で、それぞれ偏微分すると、

$$-\frac{1}{\sigma^2} \sum \left[Y_i - (\alpha + \beta x_i) \right] = 0 \quad 3)$$

$$-\frac{1}{\sigma^2} \sum x_i \left[Y_i - (\alpha + \beta x_i) \right] = 0 \quad 4)$$

$$-\frac{n}{\sigma^2} + \frac{1}{\sigma^4} \sum \left[Y_i - (\alpha + \beta x_i) \right]^2 = 0 \quad 5)$$

式 3), 4) から、

$$\sum Y = n\alpha + \beta \sum x$$

$$\sum xY = \alpha \sum x + \beta \sum x^2$$

これを、 α および β について解いて、最尤推

$$\text{定量 } \hat{\alpha} = \frac{\sum x^2 \sum Y - \sum x \sum xY}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \text{ および}$$

$$\hat{\beta} = \frac{n \sum xY - \sum x \sum Y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \text{ が求められる。}$$

実際の計算にあたっては、 $\hat{\beta}$ を先に計算して、そののちに、

$$\hat{\alpha} = \frac{\sum Y - \hat{\beta} \sum x}{n} = \bar{Y} - \hat{\beta} \bar{x} \text{ を求める。}$$

σ^2 の最尤推定量は、式 5) から、

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{n} \sum \left[Y - (\hat{\alpha} + \hat{\beta}x) \right]^2$$

ここで、回帰母数の推定値 $\hat{\alpha}$ および $\hat{\beta}$ の信頼度を知るためには、 $\hat{\alpha}$ および $\hat{\beta}$ の標本分布を知ることが必要であるので、 $\hat{\alpha}$ および $\hat{\beta}$ を変形して、

$$\hat{\alpha} = \sum \left[\frac{1}{n} - \frac{(x - \bar{x}) \bar{x}}{\sum (x - \bar{x})^2} \right] Y,$$

$$\hat{\beta} = \sum \left[\frac{x - \bar{x}}{\sum (x - \bar{x})^2} \right] Y \text{ となる。}$$

$\hat{\alpha}$ および $\hat{\beta}$ は、正規確率変数 Y_i の一次結合であるから、正規確率変数である。

つぎに、 Y_0 の信頼区間は、

$$\hat{Y}_0 - t_r \hat{\sigma} \sqrt{\frac{n}{n-2} \left[1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{\sum (x - \bar{x})^2} \right]} < Y_0 <$$

$$\hat{Y}_0 + t_r \hat{\sigma} \sqrt{\frac{n}{n-2} \left[1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{\sum (x - \bar{x})^2} \right]} \text{ で表わさ}$$

れる。

この信頼区間の幅、

$$2 t_r \hat{\sigma} \sqrt{\frac{n}{n-2} \left[1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{\sum (x - \bar{x})^2} \right]} \quad (t_r \text{ は自由}$$

度 $n-2$ の t 分布において、信頼度を r としたときの値) は、 n が一定のとき x_0 の関数であるから、 x_0 に与えられる値によって変化し、 $x_0 = \bar{x}$ のときが最小、 x_0 が $\bar{x}$ を離れるにしたがって大きくなる。

b) 計算と作図

i) 対照群: $\sum x = -59.50$, $\sum Y = 42.76$,

$\sum x \cdot Y = -66.83$, $\sum x^2 = 96.33$, $n = 39$ から、

$$\begin{aligned} \hat{\beta} &= \frac{n \sum x \cdot Y - \sum x \cdot \sum Y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \\ &= \frac{39 \times (-66.83) - (-59.50) \times 42.76}{39 \times 96.33 - (-59.50)^2} \\ &= -0.29 \end{aligned}$$

$$\hat{\alpha} = Y - \hat{\beta} \bar{x} = \frac{\sum Y - \hat{\beta} \sum x}{n} \\ = \frac{42.76 - (-0.29)(-59.50)}{39} = 0.65 \text{ が,}$$

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{n} \sum \left[Y - (\hat{\alpha} + \hat{\beta}x) \right]^2 \text{ から, } \hat{\sigma} = 0.058 \text{ が,}$$

それぞれ得られる。

したがって、信頼区間の幅は、

$$2t_r \hat{\sigma} \sqrt{\frac{n}{n-2} \left[1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{\sum (x - \bar{x})^2} \right]}$$

に、信頼度 99 % における t 分布の値 ($t_r = 2.73$) やその他の数値 ($\hat{\sigma} = 0.058$) を代入して、

$$0.011 \sqrt{202.8 + 39(x_0 + 1.53)^2} \text{ が得られる。}$$

このとき、 x_0 の値を $-0.5 \sim -2.5$ の範囲で変化させたときの計算値から、グラフ上で信頼区間を設定した (図 6)。

ii) 実験群: $\sum x = -53.07$, $\sum Y = 35.49$, $\sum x \cdot Y = -55.12$, $\sum x^2 = 86.11$, $n = 36$, から

$$\hat{\beta} = \frac{n \sum x \cdot Y - \sum x \sum Y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \\ = \frac{36 \times (-55.12) - (-53.07) \times 35.49}{36 \times 86.11 - (-53.07)^2} \\ = -0.36$$

$$\hat{\alpha} = Y - \hat{\beta} \bar{x} = \frac{\sum Y - \hat{\beta} \sum x}{n} \\ = \frac{35.49 - (-0.36) \times (-53.07)}{36} = 0.46 \text{ が,}$$

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{n} \sum \left[Y - (\hat{\alpha} + \hat{\beta}x) \right]^2 \text{ から, } \hat{\sigma} = 0.10 \text{ が}$$

それぞれ求められる。

したがって、信頼区間の幅は、

$$2t_r \hat{\sigma} \sqrt{\frac{n}{n-2} \left[1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{\sum (x - \bar{x})^2} \right]}$$

に、信頼度 99 % における t 分布の値 ($t_r = 2.73$) やその他の数値 ($\hat{\sigma} = 0.10$) を代入して、

$$0.016 \sqrt{309 + 36(x_0 + 1.47)^2} \text{ が得られる。}$$

つぎに、上式の x_0 の値を $-0.5 \sim -2.5$ の範囲で変化させたときの計算値から、信頼区間の作図を行なった (図 6)。

c) 判定

図 6 において、同一グラフ上に作図した対照群および実験群の回帰直線の信頼区間を観察する

図 6 対照群および実験群における回帰直線の信頼区間 (信頼度 99%)

と、両群のほとんどすべての測定値は、両直線の信頼区間の重なり合った部分に含まれてしまう。

このことは、sulfanilamide の唾液中濃度と唾液分泌速度との関係が、対照群と実験群とで同じであることをきわめて高い確率で断定できることを支持する理論的な証拠を示すものである。

すなわち、この統計処理によって、ラット顎下腺の duct system (とくに線条部細胞) からの sulfanilamide の分泌は、Mitomycin C の投与によって機能的にもまったく影響を受けず、したがって、Mitomycin C 投与群においても、sulfanilamide は対照群とまったく同じ分泌様式によって分泌することが立証されたといえる。

4. まとめ

形態と機能との間には、不可分の密接な関係がある。そして、動的な生命現象の現われである細胞あるいは臓器・組織の緻密な機能的変化に追従して起こるにちがいない、微細な形態的变化を、生理的な正常状態で完全に把握することはきわめて意義のあることである。しかしながら、それにもかかわらず、このことは現在でもなお不可能であると結論せざるを得ない。

そこで、著者は臓器あるいは組織における機能と形態との関連性を追究するという初期の目的を失わずに、実験を継続する方法を考案した。すなわち、唾液腺 (ラット顎下腺) の分泌機構に対する代謝阻害薬、Mitomycin C の影響を腺の形態の面からまず分析し、ついで、この形態的变化

に随伴して起こる機能的変化を、唾液腺の duct system だけを通過することが知られているスルファ薬 (sulfanilamide) をトレーサーとして、唾液腺の分泌様式を検討した。

そして、Mitomycin C の投与によって、ラットの顎下腺の腺房部細胞には著明な萎縮が認められるが、それとは対照的に、duct system (とくに線条部細胞) にはほとんどその影響が認められないという形態的变化と、Mitomycin C の投与は duct system (とくに線条部細胞) からの sulfanilamide の分泌に対してはまったく影響を与えないという機能的変化とが、完全に一致しているという結果を得た。

以上、本実験において、ラット顎下腺の分泌機構における形態と機能との関連性について、その一部を明らかにすることができたといえる。

結 論

Mitomycin C 投与によるラット顎下腺における形態的变化は腺房部には著明に認められるが、duct system とくに線条部細胞においてはほとんど認められなかったという著者の実験成績と、スルファ薬がラット顎下腺から唾液中に分泌する場合には、腺内の duct system だけを選択的に通過するという笹井ら^{3,4)}の実験結果とを考察すれば、Mitomycin C がラットの顎下腺に形態的变化を与えたと同様に、顎下腺からの sulfanilamide の分泌様式に対しても、影響を及ぼすかどうかを解明する必要があることがわかる。

そこで、著者はこの点を明らかにするために、本実験を計画し、ラット顎下腺における分泌機構を、形態と機能との両面から比較検討した。そして、つぎの結果を得た。

1) 実験群 (Mitomycin C 投与群) および対照群 (Mitomycin C 非投与群) の sulfanilamide の唾液中濃度 (対数) と唾液分泌速度 (対数) とを普通 (正) 方眼紙上にプロットして、回帰を行なうと、対照群では

$$Y_c = \frac{0.062}{X} + 9.68 \text{ の, また実験群では}$$

$$Y_e = \frac{0.087}{X} + 5.90 \text{ の回帰曲線が得られた。}$$

2) ラット顎下腺における sulfanilamide の分泌様式が、内尾の成績 $(Y = \frac{a}{X} + b, b=0)$ と著者の実験結果 $(Y = \frac{a}{X} + b, b \neq 0)$ とでは異なる。

それは、両実験における被検ラットの成熟の程度あるいは増齢度の差異が唾液腺の分泌能に影響を及ぼし、その結果、sulfanilamide の分泌様式が変わることが原因であると考えられる。

3) 対照群および実験群における sulfanilamide の唾液中濃度 (対数) と唾液分泌速度 (対数) との回帰直線の信頼区間 (信頼度: 99%) は互いに重なり合う。そして、両群の各測定値のほとんどすべてがこの信頼区間の重なり合った部分内に含まれていることを確認した。すなわち、対照群と実験群とにおいて認められたラット顎下腺における sulfanilamide の分泌様式は、統計的に同じ様式であることが確認できた。

このことは、少なくとも、スルファ薬の分泌に関与するラット顎下腺の duct system の機能は、Mitomycin C の長期投与によっては、まったく障害を受けないことを意味するものである。

4) したがって、唾液腺中もっとも活発な分泌活動を示すと考えられている duct system とくに線条部細胞における分泌機構は、Mitomycin C によって形態的にも、また機能的にもまったく影響を受けないことが確認された。

すなわち、本実験によって、ラット顎下腺の唾液分泌機構における形態と機能との関連性について、その一部を明らかにすることができた。

実験成績の統計処理についてご指導を賜った宮森康雄教授、ならびに実験のご指導および論文のご校閲をいただいた覚道幸男教授および吉田洋助教授に感謝いたします。

なお、この論文の要旨は、The Seventeenth Annual Session of Japanese Division of the International Association for Dental Research (昭和44年11月22日、東京)、第172回大阪歯科学会例会 (昭和45年2月14日、大阪) および第47回日本生理学会総会 (昭和45年4月2

日、東京)で発表した。

文 献

- 1) 黒住一昌：分泌の形態学に関する電子顕微鏡的研究。 *J. Electron Microscopy*, **14** : 12-26, 1965.
- 2) 鈴木康夫：唾液腺の分泌活動に対する核酸代謝阻害物質の影響、とくに Mitomycin C の影響について。 *歯科医学*, **34**(2) : 1971 掲載予定。
- 3) 笹井正彦：唾液腺におけるスルファミン剤の排泄像について。 *日本口腔科学会雑誌*, **16** : 227-237, 1967.
- 4) 内尾政信：分泌刺激の種類と唾液中への Sulfanilamide の分泌様式との関係からみた唾液分泌機構の検討。 *歯科医学*, **32** : 405-431, 1969.
- 5) BURGEN, A. S. V. : The secretion of non-electrolytes in the parotid saliva. *J. cell. Comp. Physiol.*, **48** : 113-138, 1956.
- 6) BURGEN, A. S. V. : The secretion of potassium in saliva. *J. Physiol.*, **132** : 20-39, 1956.
- 7) 浜広信：人顎下腺（主に終末部）の電子顕微鏡的研究。 *日本耳鼻咽喉科学会会報*, **70** : 1575-1593, 1967.
- 8) 藤田尚男, 町野満夫, 中上和義, 今井雄介, 山本豊：犬の顎下腺の電子顕微鏡的研究, (1) 静止時および副交感線維短時間刺激時の終末部の微細構造。 *解剖学雑誌*, **39** : 269-293, 1964.
- 9) JACOBY, F. and LEESON, C. R. : The post-natal development of the rat submaxillary gland. *J. Anat., London*, **93** : 201-216, 1959.
- 10) 覚道要蔵：マウス顎下腺分泌細胞の分泌顆粒形成過程に関する電子顕微鏡的研究。 *大阪市立大学医学雑誌*, **9**(補7) : 5125-5132, 1960.
- 11) 向井浄：炭酸脱水酵素阻害からみた唾液腺陽イオン転送機構の検討。 *歯科基礎医学会雑誌*, **11** : 63-79, 1969.
- 12) MCGEE, J. O'D., MASON, D. K. and DUGUID, W. P. : The site of iodide concentration in hamster salivary glands as demonstrated by autoradiography. *Arch. oral Biol.*, **12** : 1189-1193, 1967.
- 13) BURGEN, A. S. V. and EMMELIN, N. G. : *Physiology of the Salivary Glands*, 1st. ed., pp. 157-158, pp. 214-218, Edward Arnold (Pub.) Ltd., London, 1961.
- 14) SEKINE, M. and KAKUDO, Y. : Abstracts of papers of oral physiological studies from the Department of Physiology of the Osaka Dental College. **1** : 7-100, Osaka Dental College, Osaka, Japan, 1962.
- 15) 覚道鉄之助：Sulfisomidine の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **20** : 186-191, 1957.
— : Sulfapyridine の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **20** : 311-318, 1957.
— : Sulfisoxazole の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **20** : 453-460, 1957.
— : Sulfadiazine の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **20** : 547-555, 1957.
— : Sulfamerazine の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **21** : 10-19, 1958.
— : スルファミン剤の唾液中への排泄について(総括)。 *歯科医学*, **21** : 231-233, 1958.
- 16) 三原博直：Sulfanilamide の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **21** : 20-26, 1958.
— : Sulfaguanidine の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **21** : 27-32, 1958.
— : Sulfanilylxylamide の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **21** : 234-242, 1958.
— : Sulfamethazine の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **21** : 450-456, 1958.
— : スルファミン剤の唾液中への排泄について(総括)。 *歯科医学*, **21** : 457-461, 1958.
- 17) 厚味庄平：Sulfathiazole の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **21** : 243-253, 1958.
— : Phthalylsulfathiazole の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **21** : 462-466, 1958.
— : Sulfacetamide の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **21** : 711-720, 1958.
— : Disulfanilamide の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **21** : 1000-1009, 1958.
— : Sulfamethylthiazole の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **22** : 62-70, 1959.
— : スルファミン剤の唾液中への排泄について(総括)。 *歯科医学*, **22** : 367-373, 1959.
- 18) 原作造：Acetylsulfanilamide の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **22** : 869-875, 1959.
— : Sulfamethylthiadiazole の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **22** : 1537-1543, 1959.
— : Sulfamethoxypyridazine の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **22** : 1544-1550, 1959.
— : Sulfadimethoxine の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **22** : 1551-1558, 1959.
— : スルファミン剤の唾液中への排泄について(総括)。 *歯科医学*, **22** : 1563-1568, 1959.
- 19) 吉田洋：Rontirin (*p*-Aminophenylsulfonamide methane sulfonic acid sodium) の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **21** : 1010-1015, 1958.
— : Sulfamethyloxypyrimidine の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **22** : 374-380, 1959.
— : 5-methyl-3-Sulfisoxazole の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **22** : 876-882, 1959.
— : Sulfaphenazol の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **22** : 2381-2387, 1959.
— : Homosulfanilamide の唾液中への排泄について。 *歯科医学*, **23** : 795-801, 1960.
— : Sulfaphenazol の唾液中への排泄について(補遺)。 *歯科医学*, **27** : 89-94, 1964.
- 20) 覚道幸男, 吉田洋, 厚味庄平, 芦田昭二, 坂口利幸：Sulfanilamide の唾液中排泄関について。

- 歯科医学, 22: 187-189, 1959.
- 21) 覚道幸男, 上羽隆夫, 厚味庄平, 坂口利幸, 芦田昭二: Sulfacetamide の唾液中排泄関について. 歯科医学, 22: 190-192, 1959.
 - 22) 吉田洋, 上羽隆夫, 芦田昭二, 坂口利幸, 原作造, 上領清範: Sulfanilamide の唾液中への排泄について (補遺). 歯科医学, 22: 1409-1414, 1959.
 - 23) 吉田洋, 上羽隆夫, 佐野寛一, 土居嘉憲: Sulfamethoxypyridazine の唾液中排泄関について. 歯科医学, 22: 2702-2704, 1959.
 - 24) 吉田洋, 上羽隆夫, 佐野寛一, 土居嘉憲: 5-methyl-3-Sulfisoxazole の唾液中排泄関について. 歯科医学, 22: 2705-2707, 1959.
 - 25) 木村慎一郎, 後藤基成, 伊東敏昭, 飯利健: Sulfamethomidine の唾液中への排泄について. 歯科医学, 25: 403-410, 1962.
 - 26) 木村慎一郎, 後藤基成, 伊東敏昭, 飯利健, 笹井正彦: Sulfisomezole の唾液中への排泄について (補遺). 歯科医学, 26: 77-80, 1963.
 - 27) 木村慎一郎, 後藤基成, 伊東敏昭, 吉井昌平, 向井浄: Sulfadimethoxine の唾液中への排泄について (補遺). 歯科基礎医学会会誌, 4: 61-66, 1963.
 - 28) 飯利健, 伊東敏昭, 笹井正彦, 吉井昌平, 向井浄: Sulfamonomethoxine の唾液中への排泄について. 歯科医学, 26: 396-400, 1963.
 - 29) 木村慎一郎, 後藤基成, 笹井正彦, 吉井昌平, 向井浄, 酒井仁一: Sulfamethomidine の唾液中への排泄について (補遺). 歯科医学, 26: 411-414, 1963.
 - 30) 飯利健, 笹井正彦, 吉井昌平, 向井浄, 酒井仁一: Sulfamonomethoxine の唾液中への排泄について (補遺). 歯科医学, 26: 481-484, 1963.
 - 31) 木村慎一郎, 後藤基成, 伊東敏昭, 吉井昌平, 向井浄: Sulfadimethoxine の唾液中への排泄に対する *p*-Dipropylsulfamyl benzoic acid (Probenecid) の影響について. 歯科基礎医学会会誌, 5: 6-9, 1963.
 - 32) 吉田洋: スルファミン剤の唾液中への排泄に対する *p*-(di-Propylsulfamyl)-benzoic acid (Probenecid) の影響について. 歯科医学, 27: 95-105, 1964.
 - 33) 木村慎一郎, 後藤基成, 伊東敏昭, 飯利健, 笹井正彦: Sulfisomezole の唾液中への排泄に対する Acetazolamide (Diamox) の影響について. 歯科医学, 26: 304-307, 1963.
 - 34) 飯利健: 唾液中へのスルファ薬の排泄能と無機イオンの分泌との関係について. 歯科医学, 31: 96-125, 1968.
 - 35) 吉田洋: スルファミン剤の唾液中への排泄率と分子量との相関性について. 歯科医学, 25: 44-50, 1962.
 - 36) 吉田洋: スルファミン剤の唾液中への排泄を左右する要因について. 歯科医学, 27: 106-115, 1964.
 - 37) 木村慎一郎: 唾液腺からのスルファミン剤の排泄機構における血漿・唾液蛋白質とスルファミン剤との結合能の意義について. 日本口腔科学会雑誌, 17: 124-152, 1968.
 - 38) 酒井仁一: 唾液中へのスルファ薬の排泄能とスルファ薬と血漿蛋白質の結合能との関係について. 歯科基礎医学会雑誌, 9: 43-65, 1967.
 - 39) 伊東敏昭: 唾液腺からのスルファ薬の排泄能におよぼすスルファ薬の物理化学的性状の影響について. 歯科医学, 31: 145-173, 1968.
 - 40) 藤田実雄: 耳下腺の組織呼吸に対する 2, 3 薬物の影響について (付: 組織呼吸の阻害効果と唾液中への排泄の難易との関係). 歯科医学, 23: 1847-1852, 1960.
 - 41) TANDLER, B.: Ultrastructure of the human submaxillary gland, II. The base of the striated duct cells. *J. Ultrastruct. Res.*, 9: 65-75, 1963.
 - 42) BURGEN, A. S. V. and SEEMAN, P.: The role of the salivary duct system in the formation of the saliva. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 36: 119-143, 1958.
 - 43) DRAPER, N. R. and SMITH, H.: *Applied Regression Analysis*, 1st. ed., John Wiley and Sons, New York, 1966.
 - 44) WILKS, S. S.: *Mathematical Statistics*, 1st. ed., pp. 283-297, John Wiley and Sons, New York, 1962.
 - 45) 森田優三: 統計数理入門, 初版, 327-332頁, 日本評論社, 東京, 1968.
 - 46) 竹内啓: 数理統計学, 初版, 310-318頁, 東洋経済新報社, 東京, 1963.