部分灌流法を用いたラット顎下腺の唾液分泌機構 についての研究

とくに部分灌流条件の検討とその設定について

新 谷 衛

大阪歯科大学 生理学教室*(主任 覚道幸男教授)

〔受付: 昭和48年11月1日〕

抄録: Sprecher, R. L. et al. (1967) は、唾液の分泌機能を比較的長時間にわたって、in situ に近い状態に維持させることができる、ラット顎下腺部分灌流法を開発した。しかし、この灌流法を用いて、唾液分泌機構を詳細に検討する場合には、その灌流条件によって分泌機能が影響を受ける。したがって、その灌流条件を解明しなければ、部分灌流法を用いても、唾液腺の正常分泌機構を究明することはできない。

そこで著者は、非灌流時を対照として、灌流時の灌流速度を種々変化させたときの顎下腺の血流速度とヘマトクリット値とを観察し、ついで、各種の分泌刺激を与えた場合の非灌流時および灌流時における顎下腺の血流速度、ヘマトクリット値および唾液分泌速度を測定し、分泌刺激の種類の差異に基く各測定値の変動を互いに比較検討した。

そして、以上の実験結果の総合的な分析から、ラットの顎下腺部分灌流法において、正常な唾液分泌が得られる灌流条件を設定した。

生体の臓器の機能を検討する手段として、臓器灌流法がよく利用される。ところが、腺に灌流法を応用するときには、腺組織の分泌機構がきわめて複雑かつ緻密であるため、腺の灌流条件を設定するうえに、多くの困難が伴うことは当然予測される。

唾液腺の灌流法については、すでに1900年代の初期に、Demor, J. (1912)¹⁾, Quagliariello, G. (1920)²⁾, Nikolajev, O. (1929)³⁾, Pak, H. (1930)⁴⁾および Guimaraes, A. (1930)⁵⁾らによって報告されているが、これらの各灌流法はすべて唾液腺灌流法として確立された方法であると認められるほどのものではなかった。

Amberson, W. R. and Höber, R. (1932)⁶⁾がネコの顎下腺を対象として、初めて灌流法と呼ぶ

ことができる術式を発表して以来、今日まで40年も経過していることを考えれば、その間に報告された各種動物の三大唾液腺を対象とした灌流実験に関する論文⁶⁻³⁴⁾の数は、必ずしも多いとはいえない。このことは、唾液腺の灌流法の術式が複雑であるために、それを用いることがむずかしかったことに基因しているのではなくて、むしろ唾液腺に灌流法を用いても、はたして腺の機能が正常に保たれていたかどうか疑問であったから、灌流法を応用しにくかったためであると思われる。

ところで、ラットは実験操作が容易であり、またその顎下腺も他の体組織からたやすく単離できる。Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾はこのラット顎下腺を用いて比較的長時間にわたって、安定した唾液分泌機能を維持することができる長所を

Studies on the rat submaxillary gland subjected to partial perfusion with special reference to the experimental conditions.

Mamoru SHINTANI (Department of Physiology, Osaka Dental University, Kyobashi 1-47, Higashi-ku, Osaka)

* 大阪市東区京橋 1-47 (〒 540)

Jap. J. oral Biol., 16: 72-93, 1974.

もっている部分灌流法を開発した。この方法は、ラットの顎下腺に出入する血管の一部と神経とを in situ に保存しながら、しかも全身血の一部と注入した人工液とが一定の比率で完全に混合されて、顎下腺内を灌流するというたくみな術式である。

しかし、彼らの部分灌流法においても、これを用いて唾液腺の複雑な分泌機構を詳細に検討しようとする場合には、まだいくつかの解決しなければならない問題が残されている。

そこで、著者はこの点を解明する必要があると考え、

- 1) ラット顎下腺の非灌流時（人工液で灌流しないときには、顎下腺内の血流は正常状態にある。この状態を非灌流時と称する）を対照として、灌流時（灌流時とは、非灌流時の顎下腺の血流に、一定の速度で人工液を注入附加した場合をいう。以後、この状態を灌流時と称する）の灌流速度を種々変化させたときの顎下腺の血流速度およびヘマトクリット値を観察し、つづいて、
- 2) 顎下腺を各種の分泌刺激、すなわち鼓索神経電気刺激（以下 Chorda 刺激と省略する）、Pilocarpine 刺激および Isoproterenol 刺激を与えた場合の非灌流時および灌流時における顎下腺の血流速度、ヘマトクリット値および唾液分泌速度を測定し、分泌刺激の種類の差異に基く各測定値の変動を互いに比較検討した。そして、
- 3) 以上の各実験結果を総合的に分析し、ラットの顎下腺部分灌流時の実験条件（以下灌流条件と省略）を設定した。

この論文では、その実験結果を報告する。

実験材料と実験方法

1. 実験に使用したラット

実験に用いたラットは、普通飼料（オリエンタル固形飼料：MF）で飼育した Wistar 系成熟雄ラット（体重：300～400 g）である。

2. 人工注入液

顎下腺を部分灌流するための人工注入液として、4 % Bovine serum albumin を加えた Krebs-

表 1 人工液の組成（4 % Bovine serum albumin を含む Krebs-Henseleit Ringer 重炭酸塩溶液, pH 7.2）

		ml
0.90 % NaCl	(0.154 M)	100
1.50 % KCl	(0.154 M)	4
1.22 % CaCl ₂	(0.11 M)	3
2.11 % KH ₂ PO ₄	(0.154 M)	1
3.82 % MgSO ₄ ·7H ₂ O	(0.154 M)	1
1.3 % NaHCO ₃		21

Henseleit Ringer 液を用いた(表 1)。

3. ラットの麻醉方法

Sodium pentobarbital (Nembutal: Abbott, U.S.A.) を、50 mg/kg の割合で、ラットの腹腔内に注射して麻醉し、ラットを仰臥位に固定した。

4. カニューレーション(図 1)

1) 唾液採取用腺外導管カニューレ

一側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, 外径約 0.6 mm) を挿入した。

図 1 部分灌流のためのカニューレーション

2) 人工液注入用動脈カニューレ(図 2)

顎部の皮膚を切開して、実験側の顎下腺および舌下腺を露出させ、顎下腺と舌下腺とを分離したのち、舌下腺の外導管を腺門部の位置で結紮した。

つづいて、同側の咬筋と顎二腹筋前腹との間を

図2 人工液の注入および血液の採取方法

AC: 灌流用動脈カニューレ, VC: 灌流用静脈カニューレ, AFV: 前顔面静脈, EGD: 腺外導管, FA: 顔面動脈, GB: 腺枝, PMB: 前咬筋枝, SMA: オトガイ下動脈, SL: 舌下腺, SM: 顎下腺

走行し、咬筋の表面を前上方に通過している顔面動脈を注意深く露出し、顔面動脈から分枝している顎下腺枝ならびにその末梢位で多くの個体で分枝を示している前咬筋枝および顔面動脈の続きであるオトガイ下動脈の一部を、それぞれ確認したのち、前咬筋枝の分岐部附近で、オトガイ下動脈の末梢側から、顎下腺枝の分岐部に向けて、逆行性に腺外導管カニューレと同じポリエチレンチューブ (Clay Adams: PE 10) を動脈内に挿入した。そして、挿入したポリエチレンチューブの先端が顎下腺枝の分岐部の1~2mm手前に達したときに、挿入をやめ、カニューレを血管に固定するために結紮した。

また、前咬筋枝も必要に応じて結紮した。

3) 灌流用静脈カニューレ (図2)

前顔面静脈とそれに流入する顎下腺枝の合流部附近とを露出し、この部位で心臓側から末梢側に向けて、ポリエチレンチューブ (Clay Adams; PE 50, 外径約1.0mm) を静脈内に挿入し、ポリ

エチレンチューブの先端が両静脈の合流部位の1~2mm手前に達したところで挿入をやめて、チューブと血管とを結紮した。

また、顎下腺枝に流入している扁桃枝ならびに前顔面静脈に流入している耳下腺枝の一部および筋枝の一部をすべて結紮して、顎下腺を通過した血液以外の血液がこの静脈カニューレ中に混入しないようにした。

4) 大腿静脈カニューレ

一侧の鼠径部の皮膚を切開して、大腿静脈を露出させ、ポリエチレンチューブ (Clay Adams; PE 50) を大腿静脈内に挿入し、結紮した。そして、必要に応じて、このカニューレから全身血の採取や補給を行ない、また薬物を投与した。

5) 気管カニューレ

気管を切開し、ポリエチレンチューブ (Igashi; No. 40, 外径約2.5mm) を気管内に挿入結紮して、実験中にみられる呼吸障害を防止した。

5. 血液凝固の防止

灌流用カニューレ内で、血液が凝固するのを防ぐために、ヘパリンソーダ液 (ヘパリンナトリウム注射液, 武田薬品工業) を、灌流開始前に大腿静脈カニューレから注入した。なお、投与量はラット1個体あたり500 I.U. である。

6. 顎下腺部分灌流

顔面動脈の顎下腺枝に挿入結紮した動脈カニューレの一侧に、注射針をつけたポリエチレン製の人工液注入筒 (Jintan Disposable Syringe, 5ml および2.5ml; Jintan Terumo) を接続し、注入筒を人工液注入ポンプ (KN 式自動注入装置, 1時間型: 夏目製作所) にセットして、人工液を注入した。

なお、人工液注入速度は、注入ポンプの歯車と注入筒との組合せから、0.048 ml/min, 0.094 ml/min, 0.108 ml/min および0.188 ml/min の4種類とした。また、注入速度が所定の値になっているかどうかを毎実験の開始直前に確認した。

7. 唾液分泌刺激法

1) Pilocarpine 刺激

塩酸 Pilocarpine (半井化学) の1%水溶液を8 mg/kg の割合で、腹腔内に注射した。

2) Isoproterenol 刺激

塩酸 Isoproterenol (Aldrich, U.S.A.) の 1% 水溶液を 10 mg/kg の割合で、腹腔内に注射した。

3) Chorda 刺激

Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾, 向井(1969)³⁵⁾, 内尾(1969)³⁶⁾ および岡(1971)³⁷⁾ と同一の方法で行なった。

すなわち、顎下腺外導管全体を露出させ、その外導管上を走る鼓索神経を電子管刺激装置(MSE-3型; 日本光電工業)と双極性白金針状電極とを用いて刺激した。刺激条件は、頻度; 20 Hz, 持続時間; 5 msec, 電圧; 2.0~3.5 V の矩形波である。

なお、以下分泌刺激を与えたときを刺激時と、また与えないときを非刺激時と略称した。

8. 血液の補給

灌流用静脈カニューレから流出する血液の採取に伴う全身血の減少を補うために、カニューレから自然滴下する非灌流時静脈血(自家血)をガラス容器に集め、大腿静脈カニューレから人工液注入ポンプを使用して、適宜血液の補給を行なった。

また、自家血を用いられない場合(たとえば、非灌流時および灌流時の静脈血中に投与薬物の一部が残留している恐れのあるとき)には、同種同系のラットの他家血を用いた。

なお、補給血液の注入速度は、非灌流時の腺内血流速度にほぼ等しくした。

9. 顎下腺の血流速度、腺内血液のヘマトクリット値および唾液分泌速度の測定

1) 顎下腺の血流速度

前顔面静脈に挿入したカニューレから、自然滴下する血液をピペット(0.1 ml: ヤマイチ製作所)で採取し、非灌流時および灌流時について、単位時間あたりの血流速度(ml/min)を測定した。

2) 腺内血液のヘマトクリット値

非灌流時および灌流時のヘマトクリット値を、刺激時および非刺激時について測定した。すなわち、灌流用静脈カニューレにマイクロヘマトクリット管(Jintan Terno)を密接させて、ヘマトクリット管の $\frac{2}{3}$ まで血液を満したのち、一側をアルコールランプで加熱溶封し、ついで遠心分離器(Kubota HEMATOCRIT: KH-120型, 久保田製作所)で遠心沈澱(12,000 rpm, 5分間)したの

ち、附属の Hematocrit Reader によってヘマトクリット値を求めた。

3) 唾液分泌速度

各分泌刺激(Chorda 刺激, Pilocarpine 刺激および Isoproterenol 刺激)時に流出する顎下腺唾液を、腺外導管カニューレに密接させたマイクロピペット(10 μ l, 20 μ l: Pyrex; Kirk 型, Scientific Products)によって、非灌流時および灌流時についてそれぞれ採取し、その分泌量と分泌に要した時間とを測定した。

また、顎下腺の単位重量あたりの唾液分泌速度(μ l/min/mg)を求めるために、実験終了後被検側の顎下腺を摘出して、その湿重量を計量した。

10. 全身血圧および人工液注入圧の測定

大腿動脈を露出し、ポリエチレンチューブ(Clay Adams; PE 50)を挿入し、血管に固定するために結紮した。そのカニューレを電気血圧計トランスジューサー(MP-4 T; 日本光電工業)に接続し、ひずみ圧力計用前置増幅器(RP-2; 日本光電工業)を介して、多用途監視記録装置(RM-150; 日本光電工業)のインク書きオシログラフで、全身血圧を記録した。

なお、部分灌流時の人工液の注入圧を測定するときには、人工液注入ポンプの先端に接続した三方括栓の一侧にテフロンチューブを介した電気血圧計のトランスジューサーを置き、他側には顔面動脈の腺枝に逆行性に挿入した注入用動脈カニ

図3 大腿動脈血圧および人工液注入圧の測定法

ーレを接続した(図3)。

実験成績

A. 非刺激時

1. 顎下腺の血流速度の変動について

非灌流時と灌流時との腺内血流速度には、明らかな差異が認められた。

すなわち、各実験個体の非灌流時の腺内血流速度値には、0.100 ml/min, 0.130 ml/min および 0.160 ml/min のそれぞれに近い値が多かった。そこで、全実測値をこの3つの群(それぞれをA群, B群およびC群とする)に分け、各群について、0.108 ml/min の注入速度で部分灌流を行なったところ、どの群においても、灌流時の血流速度は、非灌流時の血流速度に人工液の注入速度を加えた値に一致していた(図4)。

図4 非灌流時および灌流時における腺内血流速度と灌流時の注入速度との関係(人工液の注入速度; 0.108 ml/min)

さらに、注入速度を変えたときの灌流時の血流速度の変動を観察するため、0.048 ml/min, 0.094 ml/min および 0.188 ml/min の3種類の注入速度について、同様に、部分灌流を行なったところ、0.048 ml/min および 0.094 ml/min のときには、注入速度が 0.108 ml/min の場合と同様の結果を示した。

したがって、注入速度が一定の範囲内であれば、灌流時の血流速度は、非灌流時の血流速度に

図5 非灌流時および灌流時における腺内血流速度と灌流時の注入速度との関係

表2 高い注入速度で注入したときの腺内血流速度とヘマトクリット値との変動

腺内血流速度 (ml/min)		ヘマトクリット値 (%)
非灌流時	灌流時	灌流時
0.113	0.090	20.0
0.115	0.088	16.0
0.111	0.088	42.0
0.088	0.109	22.5
0.133	0.103	18.0
0.085	0.103	19.5
0.145	0.105	10.0
0.135	0.110	9.5
0.120	0.098	5.0

注: 人工液注入速度; 0.188 ml/min
非灌流時のヘマトクリット値; 50%

人工液の注入速度を加えた値となることを確認することができた(図5)。

ただ、注入速度が 0.188 ml/min においては、静脈カニューレからの流出液の流出速度は、必ずしも一定値を示さなかった(表2)。

2. ヘマトクリット値の変動について

顎下腺を循環したのち、前顔面静脈カニューレに流出してきた血液のヘマトクリット値(以下 Ht 値と省略する)を、非灌流時および灌流時について測定すると、

- 1) 非灌流時においては、Ht 値は約 50% である。ところが、
- 2) 灌流時には、人工液の注入速度によって、

Ht 値は影響を受ける。すなわち、

- a) 注入速度が0.048 ml/min の場合は、Ht 値は約31%を示すのに対して、0.094 ml/min では約25%，そして0.108 ml/min の場合には約27%であった(図6)。しかし、

図6 非灌流時および灌流時におけるヘマトクリット値の変動(非刺激時)

- b) 注入速度が0.188 ml/min のときには、値はきわめてまちまちであった。すなわち、この注入速度の場合には、人工液と全身血液とがうまく混合されていないことが推測される(表2)。そして、このような注入速度が大きい場合には、顎下腺組織には明らかに浮腫が認められた。

B. 刺激時

1. 顎下腺の血流速度の変動について

分泌刺激を与えると、非刺激時に比べて、腺内血流速度は非灌流時でも、また灌流時でも、明らかに増加を示した。

すなわち、部分灌流をしないとき、あるいは一定(0.048 ml/min)の注入速度で部分灌流をしたときの Chorda 刺激、Pilocarpine 刺激および Isoproterenol 刺激時の腺内血流速度を測定したところ、顎下腺内血流速度は、どの場合でも増加を示したが、その増加の比率は、どの場合も同じ値を示すとは限らなかった。

すなわち、非灌流時には、Chorda 刺激では132%、Pilocarpine 刺激では62%、そして Isoproterenol 刺激では57%の血流速度の増加が見られた(図7)。

そして、灌流時には、Chorda 刺激、Pilocarpine

図7 非灌流時における腺内血流速度に対する分泌刺激の影響

図8 灌流時における腺内血流速度に対する分泌刺激の影響(人工液の注入速度; 0.048 ml/min)

刺激および Isoproterenol 刺激によって、血流速度はそれぞれ65%、64%および36%の増加を認めた(図8)。

2. Ht 値の変動について

注入速度が一定(0.048 ml/min)である灌流時に

図9 非灌流時および灌流時におけるヘマトクリット値の変動(刺激時)(人工液の注入速度; 0.048 ml/min)

おける刺激時の Ht 値は, Chorda 刺激時には 43%, Pilocarpine 刺激では 40%, そして Isoproterenol 刺激では 42% であった。

すなわち, 部分灌流における注入速度が同一ならば, 分泌刺激の種類の相違に基づく Ht 値の変動はあまり認められなかった。しかし, 刺激時(40~43%)と非刺激時(31%)の間には, Ht 値に大幅な差異が認められた(図9)。

C. 唾液分泌速度について

分泌刺激が異なると, 非灌流時でも, また灌流時でも, 唾液分泌速度には分泌刺激の差異に基因する差が明らかに認められる。

しかし, 分泌刺激が同じならば, 非灌流時でも, 灌流時でも, 唾液分泌速度にはまったく差が認められないことを確認することができた(図10, 図11)。すなわち, 注入速度が 0.048 ml/min の場合(表3)でも, また 0.108 ml/min の場合(表4)においても, 非灌流時と灌流時との唾液分泌速度の値は, 統計的(有意水準: 95%)にもまったく差異は認められなかった。

D. 全身血圧と人工液の注入圧について

Nembutal による麻酔の手術期の全身血圧は, 表5に示したように, きわめて一定で, しかも安定しており, 実験に用いた注入速度(人工液の注入圧を測定するために, 0.048 ml/min, 0.094 ml/min, 0.108 ml/min および 0.188 ml/min の各注

図10 非灌流時および灌流時における唾液分泌速度(人工液の注入速度; 0.048 ml/min)

図11 非灌流時および灌流時における唾液分泌速度(人工液の注入速度; 0.108 ml/min)

表 3 非灌流時および灌流時における唾液分泌速度
(平均値±標準誤差)

	Chorda 刺激	Pilocarpine 刺激	Isoproterenol 刺激
非 灌 流 時	0.108±0.009	0.040±0.002	0.009±0.002
灌 流 時	0.108±0.008	0.035±0.005	0.008±0.002

注：人工液の注入速度；0.048 ml/min

表 4 非灌流時および灌流時における唾液分泌速度
(平均値±標準誤差)

	Chorda 刺激	Pilocarpine 刺激	Isoproterenol 刺激
非 灌 流 時	0.097±0.003	0.054±0.005	0.006±0.001
灌 流 時	0.093±0.002	0.048±0.003	0.005±0.001

注：人工液の注入速度；0.108 ml/min

表 5 部分灌流時のラット全身血圧

	麻酔手術期	覚 醒 期	
		弱い疼痛反応	強い疼痛反応
大腿動脈血圧 (mmHg)	50	70	90~

表 6)。

考 察

A. 従来の唾液腺灌流法の問題点について

緒言で述べたように、1900年代の初期にすでに唾液腺灌流実験について数編の報告が認められる。しかし、それらの報告は、灌流液として Ringer Locke 液を用いて、唾液腺を灌流して、分泌刺激を与えると、唾液の分泌が認められたという事実を記載したものにすぎない。

したがって、それらの灌流実験では、果して唾液腺が生理的な状態に保たれていたか、あるいはまた正常な分泌活動を行っていたかどうかを判定する基準についてはもちろん、唾液腺の酸素需要度あるいは膠質浸透圧のような灌流液の性状に密接に関係している因子や、唾液腺の灌流状態の良否を決定すると考えられる唾液分泌速度（唾液分泌量）についてもまったく触れていないので、著者の実験結果と比較考察することは不可能であ

図 12 ラットの大腿動脈血圧の記録波形

表 6 人工液の注入速度と注入圧との関係

注 入 速 度 (ml/min)	注 入 圧 (mmHg)
0.048	12
0.094	25
0.108	30
0.188	45

入速度を用いた)では、人工液の注入の開始や停止によっても、まったく影響されなかった。

しかし、麻酔の手術期がすぎて、覚醒時の弱いあるいは強い反応が認められる時期になると、全身血圧は徐々に上昇する。また、各注入速度に相当する注入圧は 12~45 mmHg であった (図 12,

る。

1. 灌流液の酵素運搬能について

一般に、腺組織では、その分泌活動時には、きわめて多量の酸素が消費されることが認められていることは、周知の事実である。そして、このことは唾液腺組織においても、まったく例外でないことも、すでに詳細に報告されている³⁸⁾。

ところで、唾液腺の分泌活動時にみられるこのような酸素消費の急激な増加に対して、腺内循環血流量の増大という機能的変化^{8-10,17,18,28,30-34,39,40)}が起こることは、当然の反応過程であるとしても、灌流実験時に腺内を循環する灌流液が酸素の運搬能力のきわめて乏しい、完全に人工的な液で

あるときには、腺の正常な分泌活動が著しく低下する危険性のあることを否定することができないことは、想像にかたくない。

ネコの顎下腺における酸素需要量が、腺の安静時には $36 \mu\text{l}/\text{min}$ 、また腺の活動時には $200 \mu\text{l}/\text{min}$ であるか、あるいはそれ以上であると報告している Strömblad, B. C. R. (1959)⁴¹⁾の実験結果は、著者のこの推測の根拠と軌を一にしたものであろう。

従来から報告されている各唾液腺灌流法を酸素の運搬能の面から分類すると、それには、およそつぎの3つの様式がある。

すなわち、

- 1) 血液か、血球かあるいは Hemoglobin のどれかを含む灌流液を用いた灌流法^{6,7,13-16,29)}、
- 2) 血液、血球および Hemoglobin をまったく含まない、すなわち灌流液だけを用いた灌流法^{11,19,21-27,42)}、および
- 3) 血液、血球および Hemoglobin をまったく含まない灌流液を用いてはいるが、必要に応じて体循環をしている血液が腺内に流入するような方法をとっている灌流法^{8-10,12,17,18,28,30-33)}にまとめることができる。

1)の方法では、血液を非凝固性に保つために、脱線維素血を使用したり、あるいは Heparin を加えたりして用いている。また、唾液腺を完全に生体の循環系から分離して灌流を行なう場合には、酸素を附加した灌流液を用いてはいるが、どの場合にも、赤血球成分を含む灌流液であるので、灌流液自体の酸素運搬能力については、まず問題がないのではないかと考えられる。

しかしながら、Amberson, W. R. and Höber, R. (1932)⁶⁾の方法のように、必要量の Hemoglobin を灌流液中に溶解させて用いた場合には、その酸素運搬能は正常血の $1/3$ であるといっているが、おそらく灌流液の粘度は非常に増大していると思われるので、この灌流液で腺組織を循環させても、その循環能に疑問があることは否定することができない。

2)の方法の場合については、Peterson, O. H. (1972)⁴²⁾は、人工灌流法を用いてネコ顎下腺の灌流実験を行なう場合、分泌刺激を与えないとき

には、用いる灌流液は酸素を附加した Ringer Locke 液だけで十分であるが、分泌刺激(Acetylcholine 溶液を灌流液中に附加して刺激)を与えたときには、もし非常に制限された灌流実験条件で満足しないならば、正常な生理機能を保持した唾液腺灌流を行なうことは不可能であると述べている。すなわち、分泌刺激時間を絶対に1分間以内に止めるべきであるし、またその刺激後には必ず9分間の安静時間を用意することを厳守すべきであるといっている。

このことは、唾液分泌速度(量)の測定や唾液中の分泌物質の定量などの実験において、分泌刺激後の唾液量あるいは唾液組成の変動を、一定時間 time course を追って連続的に検討してゆかなければならないときには、この灌流法はまったく用いることができないことを意味していると考えられる。だから、酸素運搬能のある血液成分をまったく含有していない人工液は、唾液腺における分泌時の酸素の急激な消費に対して、どの程度まで対処できるかということが問題になるにすぎない。

3)の灌流法の場合には、どの方法においても、主として舌動脈からの正常血液を腺内に流入させている。

しかしながら、この方法では、灌流液の注入時間が長くなれば、当然腺の機能は容易に低下する危険性があることや、腺内での灌流液と正常血液との置換や相互の液の wash out する操作が煩雑であること、またそれに要する時間にロスが多いことなどを考えると、この方法も問題のない灌流法であるとは断言できない。

2. 灌流液の膠質浸透圧について

灌流圧が異常に強い場合には、毛細血管から漏出する灌流液成分が、直ちに唾液腺組織内に蓄溜して、浮腫を生じさせることは容易に観察されるところであるが、灌流液の膠質浸透圧が正常血液の値以下である場合にも、まったく同様に、腺組織の膨化が認められ、腺の生理機能は著しく障害される。

この事実は、唾液腺の灌流において用いる灌流液組成が血液、血漿または血清である場合には問題はないが、少しでも人工液が混在するときには

注意しなければならないことを意味している。

正常な血液の膠質浸透圧は、そのほとんどが血漿 Albumin に依存しているが、腺灌流時の膠質浸透圧の維持という点だけについて考えると、膠質浸透圧の保持のためには血漿 Albumin だけしか用いられないという根拠はまったくないと思われる。すなわち、Hilton, S. M. and Lewis, G. P. (1955)⁸⁾は Dextran を、Lundberg, A. (1957)¹¹⁾は 6% Macrodex を、また今井(1965)¹⁶⁾は 2.5% Polyvinyl pyrrolidone を、そして Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾, Gautvik, K. (1970)³⁰⁾および Gautvik, K. et al. (1972)³³⁾は 4% Bovine albumin を、というように、それぞれがさまざまな粘性保持物質を用いて、灌流時に腺が浮腫によって機能失調を起こすのを防止することに成功している。また、Amberson, W. R. and Höber, R. (1932)⁶⁾は、彼らが用いた Hemoglobin 溶液の膠質浸透圧は血清とほとんど差がなく、また腺の膨化は認められなかったと報告している。

しかし、後藤(1966)¹⁹⁾ならびに Peterson, O. H. and Poulsen, J. H. (1967)²¹⁾および Peterson, O. H. (1970)²³⁻²⁵⁾(1971)^{26,27)}らの実験では、人工灌流液中に膠質浸透圧を保つ物質をまったく溶解させないで灌流を行なっているにもかかわらず、膠質浸透圧の欠如による唾液腺の形態および機能の変化についてはまったく記載していないので、著者の実験結果と比較討論することはできない。

3. 灌流時の唾液分泌機能について

唾液腺をどのような方法によって灌流するときでも、灌流された唾液腺の諸機能が、intact な、しかも正常な唾液腺における生理機能に類似していなければ、それを灌流法として用いることができないのは明白なことである。

しかし、唾液腺の諸機能を、すべての面について互いに比較検討することは、非常に煩雑であるため、それに困難を伴うものであることも、当然のことであろう。

そこで、唾液の分泌という過程は、唾液腺の各生理機能のすべてが総合された結果、発現する現象であると解釈して、同じ分泌刺激条件下で、灌流唾液腺と intact な唾液腺との唾液分泌機能(すなわち、唾液分泌速度または単位時間あたりの唾

液分泌量)を比較すれば、その灌流法の適否を比較的容易に判定することができると考えられる。

Amberson, W. R. and Höber, R. (1932)⁶⁾は、1～数時間灌流を続けても、唾液腺の分泌機能は非常に良好であったといっているが、分泌能を灌流時と非灌流時とについて比較していない。

Emmelin, N. and Muren, A. (1950)⁷⁾は、灌流唾液腺の唾液分泌能は非灌流時の $\frac{1}{2}$ しか発揮できないと述べている。

また、井上(1958)¹³⁾は、イヌ顎下腺の灌流時には、その唾液分泌速度は intact な腺における分泌速度の20～30%の減少を示したという。この現象の原因は不明であるが、あるいは他家血を用いた結果ではないかと思われる。

そして、後藤(1966)¹⁹⁾は、剔出灌流(唾液腺を完全に体組織から摘出したときの灌流)時および体内灌流(唾液腺の支配神経を切断せず、体内に唾液腺を残存させたときの灌流)時の唾液分泌量は、分泌時間が30分では、剔出灌流の場合はきわめてわずかの分泌しか認められず、また体内灌流では非灌流時の $\frac{1}{2}$ 以下であることを示している。

さらに、Peterson, O. H. が関係している一連のネコ顎下腺の灌流実験^{21-27,42)}では、非灌流実験との比較はしていないが、彼の特殊な灌流操作(1分間の唾液分泌刺激を与えたのちに9分間の安静期において、そののち再び同様の実験操作をくりかえす方法)を用いても、唾液分泌速度は全灌流期間にわたって、徐々に減少してゆくと報告している。すなわち、後藤および Peterson, O. H. らの灌流実験の場合には、灌流液の性状そのものに基因した実験結果が当然現われたものであらうと考えられる。

以上のような、灌流時には唾液分泌量あるいは分泌速度が減少するという報告に対して、ラット顎下腺における Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾の部分灌流法においては、灌流時と非灌流時との唾液分泌速度にはほとんど差異が認められなかった(表7)。

著者は、Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾の灌流法をさらにそれに改良を加えて実験したが、著者の実験成績(表3および表4)においても、たとえ異なる分泌刺激を与えた場合でも、唾液分泌速度

表 7 非灌流時および灌流時における唾液分泌速度
(Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾ から引用)

	唾液分泌速度 ($\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$)
非 灌 流 時	0.14 ± 0.02
灌 流 時	0.12 ± 0.02

注: 人工液の注入速度; $0.11 \text{ ml}/\text{min}$

は、非灌流時と灌流時とでまったく差異を示さないことが証明された。

4. ま と め

以上の考察から明かなように、intact な唾液腺の生理機能を正常に近い状態で再現できるものほど、より完全な灌流法といえる。

この意味において、Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾の開発した部分灌流法は、上記のきびしい条件をほぼ満足させた卓越した灌流法であると考えられる。

著者は、この部分灌流法を用いてラット顎下腺を灌流したが、分泌刺激を与える場合には、それが Chorda 刺激であれば、1時間以上も連続して刺激しても、そのときの唾液分泌速度は正常であり、intact な腺の場合と少しも変らないことを認めた(図13)。

図 13 非灌流時および灌流時における唾液分泌速度に対する Chorda 刺激の影響

さらに、1) 小動物(ラット)の唾液腺(顎下腺)を対象としているので、動物の取扱いが便利である、2) 支配神経および血管が in situ に保たれているので、それによる唾液腺機能の調節は intact の場合とまったく変らない、3) 全身血の一部が唾液腺内を灌流しているので、酸素運搬能および膠質浸透圧に基因する灌流唾液腺機能の低下はまったくなく、酸素附加装置およびバイパスによる体循環血の置換のための諸操作^{8-10, 12, 17, 18, 28, 30-33)}が不必要なこと、などの利点をあげることができる。

したがって、現在では、この術式は唾液腺の分泌機構を究明するうえにおいて、もっとも効果的な灌流であると結論できる。

B. ラット顎下腺の部分灌流に関係する因子について

Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾によって開発された部分灌流法は、従来から用いられている唾液腺灌流法に比べて、数多くの利点をもった、すぐれた術式であることが確認された。しかし、この部分灌流法を用いて、唾液腺の生理機能をより詳細に解明しようとする場合には、まだ解決しなければならないいくつかの問題が残されている。そこで、著者は、

- 1) 非灌流時および灌流時の腺内血流速度の変動範囲
- 2) 人工液注入速度(逆行性に注入される人工液量)の適応範囲
- 3) 腺内血流速度および唾液分泌速度に対する各種唾液分泌刺激の影響
- 4) すべての実験条件下における人工液と血液との混合状態

などについて、検討を加えらるとともに、ラット顎下腺において、著者が新たに確立した灌流条件を設定するための諸要因について考察した。

1. 顎下腺の血流速度について

1) 非灌流時(非刺激時)の血流速度

Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾は非灌流時(非刺激時)のラット顎下腺内血流速度の平均値(実験例数: 4匹)は $0.14 \text{ ml}/\text{min}$ であるといっているが、同じ条件下(非刺激、非灌流時)の顎下腺内血流速度には、かなりの個体差 ($0.083 \sim 0.200 \text{ ml}/\text{min}$) のあることが著者の実験で認められた(しかし、 $0.100 \text{ ml}/\text{min}$, $0.130 \text{ ml}/\text{min}$ および $0.160 \text{ ml}/\text{min}$ のそれぞれに近い値が多かった)。

しかし、腺重量(mg)および体重(g)あたりの血流速度に換算すると、各計算値はきわめて一致した値を示した(表8)。

この結果から、非灌流時(非刺激時)のラット顎下腺内血流速度は顎下腺重量および体重に正比例し、各実験個体が示す血流速度の差は、その個体の腺重量すなわち体重の差であることを裏付けていることが判明した。

表 8 唾液腺重量および体重量当りの顎下
腺内血流速度

群	例 数	腺重量(ml/min/mg) 平均値±標準誤差	体重(ml/min/g) 平均値±標準誤差
A	41	0.0004±0.00002	0.0003±0.00001
B	32	0.0005±0.00002	0.0004±0.00001
C	32	0.0005±0.00002	0.0004±0.00001

そして、この非灌流時(非刺激時)の腺内血流速度は、各実験個体においては非常に安定した値であって、血流量に変動がみられるのは、失血多量のために全血量が明らかに低下をきたす場合や、全血量の低下を補うために大腿静脈から血液を補給した直後に血管反射によって、わずかな、そして一過性の(1~2分以内に消失する)血流量の増加が認められる場合だけにすぎない。

さらに、著者は人工液の注入を停止したときや非灌流時で分泌刺激の腺刺激作用が消失したときには、腺内血流速度が非灌流時、非刺激時の血流速度のレベルにまで、直ちに復帰することも観察しているので、各個体に特有なこの安静時の血流速度の観察は、唾液腺の機能状態を監視するための一つのチェックポイントであると考えられる。

2) 灌流時の血流速度

Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾の成績によると、人工液を0.11 ml/minの注入速度で部分灌流すると、非灌流時の血流速度は0.14 ml/minから0.32 ml/minになったという(表9)。この現象は、灌流処置そのものの操作に基づく反応の結果であると思われるが、灌流時の血流速度が、非灌流時と比較して、28%も増加を示したことになる。

表 9 非灌流時および灌流時における腺内血流速度
およびヘマトクリット値 (Sprecher, R. L.
et al. (1967)²⁰⁾から引用)

	腺内血流速度 (ml/min)	ヘマトクリット値 (%)
非 灌 流 時	0.14	50
灌 流 時	0.32	33

注：人工液の注入速度；0.11 ml/min

著者は、この実験成績を再検討するために、彼らの注入速度にもっとも近い注入速度0.108 ml/minで灌流時の血流速度を測定したところ(図4)、灌流時の血流速度は、非灌流時の血流速度

と人工液の注入速度との和にほぼ一致するという結果を得たが、人工液の注入速度の影響をさらに詳細に検討するために、人工液の注入速度をいろいろ変えた場合について、灌流時の血流速度を測定した。そして、非灌流時の血流速度が0.100 ml/min前後であるラット顎下腺を用いて、0.048 ml/min, 0.094 ml/min および0.188 ml/minの注入速度で灌流実験を行なったところ、注入速度の小さい0.048 ml/min および0.094 ml/minの場合には、灌流時の血流速度は、非灌流時の血流速度と人工液の注入速度との和に一致することを確認した(図5)。しかしながら、注入速度の大きい0.188 ml/minでは、静脈カニューレからの流出液の色調から、人工液と全身血との混合状態が十分でないことがわかったし、また静脈カニューレからの流出速度もつねに変動していた。このような状態で、さらにそのまま人工液の注入液を続けると、腺組織はまもなく浮腫をひきおこし、腺の各小葉間が漏出した液体で満されるためか、やがては腺組織は非常に透明度の高い光沢のある膨化物に変化することが観察される。この現象は、人工液の注入速度が異常に大きくなった場合には、腺内の毛細血管壁の正常機能が障害されるために、腺の灌流実験が不可能となることを示すものである。

以上のことから、著者が行なった部分灌流法の実験条件下では、腺内血管系の機能、ひいては灌流顎下腺の血液の正常な循環能に障害を与えない人工液の注入量は、非灌流時の血流量の $\frac{1}{2}$ 量から少なくとも同量までの量であると結論できる。

また、著者の実験では、灌流時の血流速度の増加はきわめてわずかであり、とても Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾が認めた、増加率が28%というような灌流時の血流速度の増加を観察できなかったことはもちろん、ときにはまったく増加が認められないこともあった。

3) 灌流圧について

唾液腺の灌流における灌流圧については、至適の大きさの灌流圧以外の圧では、その過不足によって、前述したように腺の分泌機能が著しく影響を受けることが考えられるので、検討しなければならない要因の一つである。

イヌ、ネコおよびウサギの唾液腺灌流実験における灌流圧についての報告^{6,8,13,14,16,17,19,27,29)}によると、イヌでは75~125 mmHgであるが、約90~100 mmHgの値を示す場合が多く、ネコについては55~160 mmHgで、80~90 mmHgの灌流圧を示すものがおもであった。しかし、ウサギについては、その至適灌流圧は30 mmHgであった。以上の各実験では、人工液の灌流圧を測定しているにすぎない。

ところが、著者の用いた部分灌流法では、Nembutal 麻酔下におけるラットの全身血の血圧は、麻酔の手術期を過ぎて、覚醒時の弱いあるいは強い反応が認められるようになると、徐々に上昇するけれども、手術期ではきわめて一定で、しかも安定しており、人工液の注入の開始および停止によって影響を受けなかった。

そして、実験に用いた注入速度の範囲内では注入速度と注入圧とは比例するが、注入速度を変化させても、全身血の血圧はまったく影響は認められなかったので、注入速度および注入圧は、全身血圧には直接影響を与えなかった。

だから、顎下腺に流入する全身血の血圧と人工液の注入圧(灌流圧ではない)との和を、灌流圧とみなすことができる。

そして、著者の実験結果では、人工液の注入圧は12~30 mmHg(0.188 ml/minに相当する45 mmHgは除く)であったので、Nembutal 麻酔下で正常な部分灌流を行なっている限りは、ラット顎下腺の灌流圧は62~80 mmHgである(表5、表6)。

この灌流圧の値は、イヌの顎下腺を用いた今井(1965)¹⁶⁾の実験における灌流圧75~88 mmHgおよびHilton, S. M. and Lewis, G. P. (1955)^{8,9)}, (1956)¹⁰⁾が求めた60~70 mmHg,あるいはPeterson, O. H. (1970)²²⁻²⁴⁾が報告しているネコの顎下腺における灌流圧80 mmHgと一致する値である。

そして、少なくとも体循環が関与するラット顎下腺の部分灌流の場合には、たとえ麻酔薬の投与によって全身血圧の上限がラットの非麻酔時の正常な最高血圧値(90~120 mmHg)⁴³⁻⁴⁶⁾以下であるならば、このときの灌流圧は至適の灌流圧であるといえる。

4) 分泌刺激の影響

a) 血流速度の変動機序について

唾液分泌刺激が唾液腺の腺内血流速度を変動させることは、古くから知られている事実⁴⁸⁾であるが、部分灌流時のラット顎下腺内血流速度に対する各種の分泌刺激の影響を観察する目的で、非灌流時および灌流時について、Chorda 刺激、Pilocarpine 刺激およびIsoproterenol 刺激時の血流速度を測定した(図7および図8)。そして、非灌流時でも、また灌流時においても、またどの分泌刺激時にも、腺内血流速度は明らかに増加することが認められた。

さて、Chorda 刺激によって、顎下腺内血流速度が著しく増大する現象は、すでにBernard, C. (1858)⁴⁷⁾以来確認されている事実であるが、この現象の機序に関しては諸説が唱えられていて、いまだに定説がみられない状態である。すなわち、Chorda 刺激によって血流速度が増大する機序は、顎下腺に分布する鼓索神経の神経線維中には分泌神経線維以外に、直接血管運動を支配している血管拡張神経が存在しているので、その神経線維の興奮によって血管が拡張し、その結果血流速度が増大するという説⁴⁸⁾や、Chorda 刺激により顎下腺から特異な血管拡張物質が遊離されて、それが分泌活動中の血管に働いて、血流速度を亢進させるという仮説(Hilton, S. M. とその共同研究者とによるKallikrein-Kinin系の機能的血管拡張説^{8-10, 30-34, 39)})が考えられている。

一方、Schachter, M. 一門の研究^{17,18,28,40,49)}ではHilton, S. M. らのKallikrein-Kinin系の学説に対してまったく批判的であって、顎下腺で認められるKallikreinは顎下腺では血管拡張をひき起こすが、これはChorda刺激による血管拡張とは関係はなく、したがって顎下腺の機能的血管拡張反応はKallikreinの作用とは無関係であるという立場をとっている。

しかし、いずれの場合についてみても、結果としてはChorda刺激によって血流速度が著しく増加することには違いはないから、著者の得た実験成績とは矛盾しない。

つぎに、Pilocarpineの投与によって認められる血流速度の上昇の機序は、Pilocarpineの薬理作

用として報告されている副交感神経終末からの酢酸フェニル型の Acetylcholine の遊離効果⁵⁰⁾に基づいていると解釈すべきであろう。すなわち、Pilocarpine の muscarine 様作用は、唾液腺細胞に対して唾液分泌をひきおこすと同時に、腺内の血管の平滑筋壁に多数存在していると考えられる Acetylcholine の受容体(とくに、muscarine 受容体)を刺激して、血管平滑筋の拡張に基因する血流速度の亢進をもたらすものと解釈すべきである。

一方、もし Pilocarpine が腺細胞だけに働くものであるとすると、Pilocarpine によって唾液分泌が促進され、つづいて古典的な解釈ではあるが、腺細胞の分泌活動が促進されて、それに従って腺の血管拡張が起こり、血流速度の二次的な増加が発現するのであるという Barcroft, J. and Piper, H. (1912)⁵¹⁾などの実験結果を引用することができる。しかし、彼らの説では分泌活動と血流速度との間には完全な因果関係が認められないので、この考え方はしだいに支持を失っているのが現況であるから、妥当性のある解釈としてはとりあげられない。

さらに、腺細胞の分泌活動と腺内血流との関係については、唾液腺の血管平滑筋の機能を究明する目的で、ネコ顎下腺の局所血流と分泌活動との相互関係を検討している西山(1972)⁵²⁾の報告がある。すなわち、彼は Barcroft, J. and Piper, H. (1912)⁵¹⁾の考えとはまったく逆に、神経刺激による Acetylcholine の遊離あるいは少量の Acetylcholine の動脈内注入による刺激は、血管平滑筋の拡張に基づく腺内血流速度の増大を起こし、その結果二次的に分泌活動の亢進がもたらされるものであるといっている。

しかし、以上のどの考え方に準拠するとしても、Pilocarpine の投与によって Acetylcholine が遊離されることは間違いのない事実であると考えれば、Pilocarpine 刺激によって当然血流速度は増大すると考えられるので、この点に関しては著者の実験結果とは矛盾しない。

つぎに、血管系に対する交感神経作働薬の影響は、きわめて複雑である。たとえば、血管に分布している α -receptor および β -receptor が同時に

刺激されたとすると、一般に α -receptor の刺激作用が優位をとる⁵³⁾ので、血管の収縮に伴う血流速度の低下が認められるのであると考えられがちである。しかし、現在ではたとえまったく同じ強さの α -および β -receptor 刺激効果をもつ薬物が投与されたとしても、血管壁に分布する両受容体の含有比率の差⁵⁴⁾によって、血管の収縮と拡張との両反応様式が完全に逆転することが確かめられているといわれている。

しかしながら、この機序は著者の実験ではきわめて明快に説明できると思われる。なぜならば、ほとんどすべての血管には、 α -receptor と平滑筋拡張性受容体すなわち β -receptor とが存在しているといわれているが、著者の実験においてはおそらく交感性 β -receptor 刺激効果だけを有していると考えられている Isoproterenol を用いているので、この薬物の投与によって交感性の血管拡張作用に付随した血流速度の上昇は、当然前もって期待せられた結果であると考えられるからである。

また、ネコの顎下腺では交感神経を刺激すると、一過性の血管収縮に続いて、血管の拡張現象(after vasodilatation)が観察されること⁵⁵⁾や腺の血流増加現象に対して adrenergic fiber が関与していることを考慮した研究^{33, 56, 57)}なども散見されるので、これらの研究も著者のラット顎下腺についての以上の考察を一部支持するものであろう。

b) 非灌流時と灌流時における血流速度増加反応の差異について

図7および図8で明らかなように、平均値によって血流増加の程度を比較すると、非灌流時には Chorda 刺激では132%、Pilocarpine 刺激では62%、そして Isoproterenol 刺激においては57%の血流増加を示している。また、灌流時には Chorda 刺激では65%、Pilocarpine 刺激で64%、そして Isoproterenol 刺激においては36%の増加である。

以上の結果は、分泌刺激の種類の差異によって、あるいはまた非灌流時であるか灌流時であるかの違いによって、ひきおこされる血流速度の増加反応にはかなりの相違が認められることを示している。

まず、非灌流時における血流増加反応を検討す

ると, Chorda 刺激による血流増加はきわめて大きいのが特徴であるが, これは腺血管系に分布している副交感性の血管拡張神経線維を直接刺激したのであるから容易に理解できる。

Pilocarpine 刺激あるいは Isoproterenol 刺激による血流増加率が Chorda 刺激の場合の $\frac{1}{2}$ 以下である理由は, ほとんど生理的な状態で神経刺激されたときの反応と, 薬物投与による反応との差であるという根拠に依存したい。すなわち, Pilocarpine および Isoproterenol を腹腔内に投与したのであるから, 両薬物の血中移行については当然腹膜の吸収率が関与するであろうし, また両薬物は体内で分解されるが, そのときの不活性化の速度が問題になるし, さらに両薬物の投与量については, 著者は至適の投与量を用いているものと理解してはいるけれども, その濃度は厳密には両薬物がそれぞれの受容体に完全に反応するための至適濃度であるかどうかについては明らかでないなどの理由によって, Chorda 刺激と両薬物刺激とで, 血流増加反応に差異が生じたものと考察できる。

なお, 血流増加反応が Pilocarpine 刺激と Isoproterenol 刺激とによって, ほぼ同じ増加率を示した理由については不明である。

一般的には, 血流増加に関しては, aminergic response よりも cholinergic response のほうが強力であるといわれているが, この事実がラット顎下腺の血管系に対する Pilocarpine 刺激と Isoproterenol 刺激との効果の場合にも成り立つかどうかは確かではない。

しかし, 最近ウサギの交感神経節に muscarine receptor と考えられる受容体の存在が証明されたこと⁵⁸⁾および, Muscarine および Pilocarpine を初めとする一連の化合物がこの神経節内のわずかな muscarine receptor と反応して, 弱い交感神経類似の刺激作用を示すことが判明したこと⁶⁰⁻⁶²⁾などを考えあわせると, Pilocarpine の Acetylcholine 遊離に基づく血管の本来の拡張作用は, これと同時に作用する交感神経節における α -receptor を介する血管収縮作用によって, その一部が打消された結果であると想像できないこともないと考えられる。

つぎに, 同一の分泌刺激下における非灌流時と灌流時との血流速度の増加率を比較すると, Pilocarpine 刺激においては両増加率に差は認められないが, Chorda 刺激および Isoproterenol 刺激では非灌流時よりも, 灌流時のほうが増加率は低い。ことに, Chorda 刺激では増加率の低下の程度が著しく, 灌流時の増加率は非灌流時の約 $\frac{1}{2}$ にすぎない。

この現象は, 単純に考察するならば, Hilton, S. M. らの一連の業績^{8-10, 34)}に基づいて, まとめられた総説³⁹⁾で述べられている Kallikrein-Kinin 仮説によって説明することができると思われる。すなわち, 腺組織中や血漿中には Kinin 生成酵素 (Kallikreinogen) が存在しており, これが Chorda 刺激によって活性化されると, Plasmakinin を生じ, この Kinin が血管に働いて血管を拡張させるわけである。しかし, 灌流時の血液は附加された人工液により希釈されているので, 単位時間当りに流れる腺内血液中で生成される Plasmakinin 量は減少し, したがって Plasmakinin による血管拡張の程度も弱く, その結果, 血流速度の増加率が灌流時には非灌流時に比べて, 少なくなるのであると説明することができる。

しかしながら, 本実験においては, 著者は非灌流時および灌流時に Chorda 刺激によって活性化された Kinin 生成酵素の力価や Plasmakinin の量を定量しておらず, また Kinin 生成酵素の活性化の機構や産生された Plasmakinin を直ちに不活性化作用をもっている Kinin 分解酵素 (Kininase) が関与するメカニズムなどについてはまだ不明であり, かつ Kinin 生成酵素および分解酵素は, Plasmakinin の生成と分解とに関してきわめて複雑な系を形成していること^{63, 64)}から考察すると, 著者の実験結果に Kallikrein-Kinin 仮説を単純に適用できると考えることは現時点では尚早であろう。

また, Isoproterenol 刺激時に認められた血流速度が非灌流時と灌流時とで差が生じた理由については, 説明することはできない。

結局は, 正常血液に附加する人工液の注入操作そのものに, Isoproterenol の血流速度の増加作用をある程度減弱させる因子が含まれているため

であろうと考えられる。

2. ヘマトクリット値について

血液を構成する血球と血漿との容積比（血球の容積百分率），すなわち Ht 値を，ラット顎下腺における部分灌流時と非灌流時とについて比べながら，注入速度を変えて測定すると，注入された人工液と全身血との混合比を知ることができる。また，たとえ注入液量が一定であったとしても，いろいろな機序によって全身血の腺内流入量が促進されたり，あるいは逆に抑制されたりする場合には，その結果は必ず Ht 値に反映するであろうと考えられる。

表 10 齧歯類のヘマトクリット値

モ ル モ ッ ト	42.0%
ハ ム ス タ ー	47.4%
ラ ッ ト	50.0%
マ ウ ス	51.7%

さて，成熟した齧歯類の正常 Ht 値には，かなりの変動が認められ（表 10）⁶⁵⁾，また，同種の動物でも系によっては無視できぬ程度の値のばらつきを示すようである。また，性差もいくらか認められる⁶⁶⁾。しかし，使用動物の系と性とを一定にすると，非灌流時のラットの Ht 値は，たえず50%を示すことを確認することができる（図 6 および図 9）。

しかしながら，部分灌流法を開始して，人工液を全身血に附加すると，当然のことながら Ht 値は50%よりも低くなる。そして，一般に，注入する人工液量の増大に伴って，Ht 値は減少するものと考えられるが，必ずしもこれに一致しない結果も認められた。

すなわち，図 6 で明らかなように，Ht 値は小さい注入速度（0.094 ml/min）では25%であるが，中等度の注入速度（0.108 ml/min）のときには27%を示している。また，分泌刺激の種類が異なると，たとえ人工液の注入速度が一定で，しかも非灌流時の血流速度がほぼ同一値を示す場合でも，Ht 値は相違することが観察される（図 9）。

以上の実験結果は，正常な部分灌流の実験においても，その得られた灌流時の Ht 値は，いろいろな要因，すなわち 1) 非灌流時の血流速度の大

小，2) 人工液の注入速度の大小，3) 分泌刺激の種類の違いによる全身血の腺内流入量の変動および 4) 全身的あるいは局所的な反応に基づく灌流時の血流速度の微妙な生理的変動などによって影響を受けるので，Ht 値の変動範囲の大きさはまちまちである。

一方，ある限度以上の大きい注入速度（たとえば 0.188 ml/min）で，灌流実験を行なった場合には，すでに述べたように，静脈カニューレからの流出速度が非常に不規則になったり，灌流液中に血液がまったく含まれていなかったり，あるいは灌流時に腺が膨化して静脈カニューレからの灌流液の流出が停止したりして，Ht 値を正確に測定することが不可能になることもあった。しかし，灌流用静脈カニューレから灌流液の流出が一見正常であると思われる灌流液について測定したときでも，その Ht 値にはきわめて大幅なばらつきが認められた（表 2）。

したがって，Ht 値の測定結果から，この部分灌流法は，注入速度が非常に大きい場合（少なくとも 0.188 ml/min 以上）には用いることができないことがわかる。また，たとえ低い注入速度で灌流しているときでも，あるいは同じ分泌刺激を与えて実験しているときでも，各サンプルの Ht 値にあまりにも大幅なばらつきが認められる場合には，何かの原因によって人工液と全身血とが十分に混合していないのであるから，このようなときには部分灌流は正常に行なわれていないのであるということが確認できる。したがって，実測した Ht 値だけで部分灌流の成否の簡単な判定が可能である。

3. 唾液分泌速度について

同一の実験条件下で，intact な唾液腺の正常な分泌機能と灌流時の唾液腺の分泌機能とを比較することは，両唾液腺が営んでいる複雑な生理機能をすべて総合的に比較することであると解釈できるであろう。

この考えのもとに，「灌流唾液腺における唾液分泌速度を観察すると，intact な唾液腺における唾液分泌速度と同じ分泌速度を示さないものほど，その灌流操作がより不適當であった唾液腺であると考えることができる。

そして、具体的な実験条件としては、1) 各分泌刺激を one shot で与えたときだけで唾液分泌速度を比較するのではなく、2) 連続して与えた分泌刺激による分泌速度の時間的消長についても、比較検討すべきであろう。

以上の2点について、著者は Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾の部分灌流法を用いて実験したが、分泌刺激が同じであれば、たとえ人工液の注入速度をある範囲内で変えた場合でも、あるいはまた注入速度が一定のときでも、唾液分泌速度は非灌流時と変わらなかった(図10および図11)。また、灌流時間が長時間にわたっても、少なくとも Chorda 刺激時であれば、そのときの分泌速度には非灌流時と差が認められなかった(図13)。

C. 部分灌流条件の設定について

これまで述べてきたことから明らかなように、Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾によって開発されたラット顎下腺の部分灌流法は、体循環血の一部と一定の速度で注入された人工液とを混合させて、唾液腺内を灌流させる方法であるということが、従来から一般に実施されている唾液腺の灌流術式と異なるところである。だから、

1) 部分灌流法では、循環血と人工液とが完全に混和しているかどうかを確認することが、部分灌流法を成功させる第1の必須条件である。

2) つぎに、注入速度が異常に大きいと、正常な灌流はされないから、注入速度がどの範囲であれば、正常な灌流状態を保つことができるかということを確認しなければならない。

3) そして、このときの唾液腺内の血流やうすめられた血液の性状を絶えず監視することが必要である。

4) さらに、諸種の薬物、ことに唾液の分泌刺激薬に止まらず、腺内血管系の運動に関与する薬物(たとえば、各種の受容体の作動薬あるいは遮断薬など)が直接または間接的に血管系に作用して腺内血流速度を促進したり、あるいは抑制したりする場合には、たとえ灌流唾液腺中に注入された人工液の量が一定であっても、それと混和する全身血の腺内流入量が微妙に変動することが考えられるので、この変動状態もつねに把握しておくことがたいせつである。

5) また、この部分灌流法は、ラットの顎下腺というきわめて小さい被灌流臓器を実験の対象として用いているので、その実験手技もかなり高度なテクニックを必要とする。

したがって、まれには灌流操作をあやまることもある(たとえば、灌流用カニューレの挿入失敗など)が、このようなときには、それをいち早く処理して、灌流操作を完成させなければ、実験成績の正確さはとうてい期待できない。

以上の理由に基いて、著者は Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾の部分灌流を実施するためにも、またこの灌流法を応用して、さらに唾液腺の複雑な分泌機構を検討するための有効な灌流法を完成させる意味においても、部分灌流条件(条件式)の設定を試みたのである。

1. 部分灌流条件式の設定について

この条件式は、つぎの5つの因子から成り立っている。すなわち、

1) 非灌流時の血流速度、2) 人工液の注入速度、3) 灌流時の血流速度、4) 非灌流時の Ht 値および 5) 灌流時の Ht 値である。そして、これらの各因子はすべて実測することができる(表11)。

表 11 ラット顎下腺部分灌流条件式

	腺内血流速度	ヘマトクリット値
非 灌 流 時	A	H _a
人工液注入速度	B	
灌 流 時	C _E	H _E
計 算 値	C _c	H _c

例: 1. $C_c = A + B \cdots$

$$\cdots H_c = \frac{A \cdot H_a / 100}{C_E}$$

2. $C_c > A + B \cdots$

$$\cdots H_c = \frac{(A \cdot H_a / 100) + (d \cdot H_a / 100)}{C_E}$$

3. $C_c < A + B \cdots$

$$\cdots H_c = \frac{(A \cdot H_a / 100) - (d \cdot H_a / 100)}{C_E}$$

注: $d = |C_c - (A + B)|$

そして、以上の実測値と灌流時の血流速度の計算値とから、部分灌流時に認められる血流速度および Ht 値の複雑な変動状態は、3つにまとめることができた条件式によって、容易に計算すること

が可能となった(表11)。

そして、Ht 値の実測値と計算値とが一致するときに、部分灌流の正常な状態であると定めることによって、すべての部分灌流操作の適否をたえず監視することができるものであると考察した。

計算例

1. 実測値：

ある部分灌流実験において、非灌流時の腺内血流速度：0.101 ml/min，注入速度：0.094 ml/min のときに、灌流時の血流速度は、0.196 ml/min を示した。

これに Chorda 刺激を与えると、灌流時の血流速度は、0.320 ml/min に上昇した。

また、Ht 値は非刺激時には 26%であったが、刺激時には35%に増加した。

2. 計算値：

1) 灌流時で、非刺激時には、

$$C_c = A + B \cdots H_c = \frac{A \cdot H_a / 100}{C_E}$$
から、

灌流時の Ht 値(計算値) H_c は、

$$H_c = \frac{0.101 \cdot \frac{50}{100}}{0.195} = 0.259$$
となる。

この計算値(25.9%)は、その実測値(26%)とほぼ一致している。

2) Chorda 刺激時には、

$$C_c > A + B \cdots H_c = \frac{(A \cdot H_a / 100) + (d \cdot H_a / 100)}{C_E}$$

および $d = |C_c - (A + B)|$ から、

灌流時の Ht 値は、

$$H_c = \frac{0.101 \cdot \frac{50}{100} + 0.124 \cdot \frac{50}{100}}{0.320} = 0.352$$
(すな

わち35.2%)となり、これも実測値と一致する。

もちろん、灌流時のヘマトクリットの実測値および計算値は、ともに非灌流時の血流速度が、それぞれ変動することによって変化することは当然のことである。

しかも、人工液の注入速度が大きすぎる場合や、また部分灌流術式の操作上にミスがあった場合などには、部分灌流状態がたとえ良好であると見えていても、そのときのヘマトクリットの各実測値と各計算値とは一致を示さない(表12)ことが理解できる。

表 12 高い注入速度で注入したときのヘマトクリット値の実測値と計算値との比較

実 測 値	計 算 値
20.0	33.1
16.0	33.1
42.0	33.6
22.5	66.4
18.0	20.2
19.5	59.9
10.0	14.8
9.5	19.6
5.0	26.2

注：人工液の注入速度；0.188 ml/min

2. 部分灌流実験時のヘマトクリットの実測値と計算値との比較

非刺激時において、人工液の注入速度を変えたときの Ht 値(実測値)、あるいは注入速度は一定であるが、与えた分泌刺激がそれぞれ異なるときの Ht 値(実測値および計算値)を統計処理し、その値を同一グラフ上にプロットして比較した(図14および図15)ところ、どの灌流条件の場合でも、得られた実測値と計算値とはまったく一致していることを確認することができた。

したがって、部分灌流法を応用するにあたっては、前記した5つの因子をチェックポイントとして、実験中にたえずチェックする必要があることが、著者の実験結果から示唆されると同時に、ラット顎下腺の部分灌流実験において、著者が設定した条件式が完全に成り立つことが実験的に、か

図 14 非刺激時におけるヘマトクリット値の実測値と計算値との比較(平均値±標準誤差)

図 15 刺激時におけるヘマトクリット値の実測値と計算値との比較 (平均値±標準誤差) (人工液の注入速度; 0.048 ml/min)

つまた、理論的に証明されたものと考えられる。

結 論

Sprecher, R. L. et al. (1967)²⁰⁾は、唾液の分泌機能を比較的長時間にわたって、in situ に近い状態に維持させることができる、唾液腺部分灌流法を、取り扱いがきわめて容易である小動物(ラット)を用いて開発している。

しかし、この部分灌流法によって、唾液分泌機構を詳細に検討する場合には、灌流条件あるいはその他の実験条件、たとえば分泌刺激などによって、分泌機能が影響を受けることは当然予想されるにもかかわらず、未解決のままである。

そこで、著者はこの点を究明するために、灌流時の腺内血流速度ならびに唾液分泌速度に対する人工液の注入速度および各種分泌刺激の影響などについて分析し、その実験結果から、各実験条件下における部分灌流の灌流状態の良否をたえず観察できる、部分灌流条件(条件式)を設定した。そして、つぎの結論を得た。

1. 一定範囲の大きさの注入速度で人工液を注入するときには、灌流時の血流速度は、非灌流時の血流速度に人工液の注入速度を加えた値に一致した。

すなわち、注入速度が0.048 ml/min, 0.094 ml/min および 0.108 ml/min のときには、この関係は成立する。しかし、注入速度が0.188 ml/min では成立しなかった。

2. 非灌流時でも、また灌流時でも、Chorda 刺激、Pilocarpine 刺激および Isoproterenol 刺激によって、血流速度はいずれも明らかに増大した。

そして、その増加率は、分泌刺激の種類によって異なり、Chorda 刺激>Pilocarpine 刺激>Isoproterenol 刺激の順である。

また、増加率を非灌流時と灌流時とについて比較すると、Chorda 刺激および Isoproterenol 刺激においては、灌流時よりも非灌流時のほうが増加率は大きい、Pilocarpine 刺激では両者間に差を認めることはできなかった。

3. 灌流時に、各分泌刺激を与えたときの値から、少なくとも本実験で用いた分泌刺激についていえば、刺激に伴う血流速度の増大は、体循環血の腺内流入量の増加に基因するということが推定された。

4. 非灌流時のヘマトクリット値(Ht 値)は、50%である。

5. 灌流時の Ht 値は、非灌流時の体循環血の血流速度が一定であるときには、人工液の注入速度がある範囲内で増加すれば、低下する。しかし、注入速度が一定であれば、非灌流時の血流速度が高いほど Ht 値は増加する。

また、灌流時に、分泌刺激を与えたときの Ht 値は、分泌刺激による体循環血の腺内流入量の変動によって影響をうける。

6. 唾液分泌速度を、非灌流時と灌流時とについて比較すると、分泌刺激の種類に関係なく、同一値を示した。また、長時間連続的に刺激を与えても、分泌速度にはほとんど差は認められなかった。

以上の実験結果の検討から、部分灌流法を応用するにあたって、部分灌流の成否を決定することができる灌流条件(条件式)を確立した。

稿を終るにあたり、ご指導と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、本研究の一部は、文部省科学研究費(課題No. C 387157; 1968~1970)の補助によって行なった。

また、本論文の要旨は、第168回大阪歯科学会例会(昭和44年6月14日)、第15回中部第40回近畿合同生理学談話会(昭和44年9月14日)、第14回日本唾液腺シンポジウム(昭和44年10月19日)、Japanese division of IADR-The eighteenth annual meeting(昭和45年11月29日)および第210回大阪歯科学会例会(昭和48年10月13日)において発表した。

文 献

- 1) DEMOR, J.: A propos du mecanisme de la secretion salivaire. *Arch. int. Physiol.*, 12: 52, 1912. Cited from AMBERSON, W. R. and HÖBER, R.: *J. cell. comp. Physiol.*, 2: 201-221, 1932.
- 2) QUAGLIARIELLO, G.: Sull'attivita secretiva della ghiandola sottomaxillare del cane irrovata artificialmente. *Atti Accad. med.-chir. Napoli*, 74: 7, 1920. Cited from AMBERSON, W. R. and HÖBER, R.: *J. cell. comp. Physiol.*, 2: 201-221, 1932.
- 3) NIKOLAJEV, O.: Die Rolle der Ionen und Elektrolyte in Prozesse der Speichelsekretion. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.*, 223: 95-103, 1929.
- 4) PAK, H.: Pharmakologische Studien über die Sekretion der Speicheldrüsen. *Jap. J. med. Sci., Pharmacol.*, 5: 49-51, 1930.
- 5) GUIMARAIS, A.: Influence de sang et de la salive sur la secretion salivaire. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 104: 804, 1930. Cited from AMBERSON, W. R. and HÖBER, R.: *J. cell. comp. Physiol.*, 2: 201-221, 1932.
- 6) AMBERSON, W. R. and HÖBER, R.: The permeability of mammalian salivary glands for organic non-electrolytes. *J. cell. comp. Physiol.*, 2: 201-221, 1932.
- 7) EMMELIN, N. and MUREN, A.: Acetylcholine release at parasympathetic synapses. *Acta physiol. scand.*, 20: 13-32, 1950.
- 8) HILTON, S. M. and LEWIS, G. P.: The cause of the vasodilatation accompanying activity in the submandibular salivary gland. *J. Physiol.*, 128: 235-248, 1955.
- 9) HILTON, S. M. and LEWIS, G. P.: The mechanism of the functional hyperaemia in the submandibular salivary gland. *J. Physiol.*, 129: 253-271, 1955.
- 10) HILTON, S. M. and LEWIS, G. P.: The relationship between glandular activity, Bradykinin formation and functional vasodilatation in the submandibular salivary gland. *J. Physiol.*, 134: 471-483, 1956.
- 11) LUNDBERG, A.: Anionic dependence of secretion and secretory potentials in the perfused sublingual gland. *Acta physiol. scand.*, 40: 101-112, 1957.
- 12) BURGEN, A. S. V. and SEEMAN, P.: The role of the salivary duct system in the formation of the saliva. *Canad. J. Biochem.*, 36: 119-143, 1958.
- 13) 井上太郎: 唾液腺灌流による唾液分泌機転に関する研究。(第1報) 唾液腺の灌流法について。日本生理誌, 20: 403-443, 1958.
- 14) 吉村寿人, 井上太郎, 藤本富次郎, 松本 敏: 犬唾液腺灌流法の改良。日本生理誌, 24: 111-117, 1962.
- 15) 藤本富次郎: 唾液腺塩分分泌の神経支配。日本生理誌, 24: 95-105, 1962.
- 16) 今井雄介: 犬顎下腺分泌に関する研究(第2報) 唾液分泌及び分泌電位に及ぼす灌流液イオン交換の影響と分泌時の腺組織のイオン出納について。日本生理誌, 27: 313-324, 1965.
- 17) BHOOLA, K. D., MORLEY, J., SCHACHTER, M. and SMAJE, L. H.: Vasodilatation in the submaxillary gland of the cat. *J. Physiol.*, 179: 172-148, 1965.
- 18) MORLEY, J., SCHACHTER, M. and SMAJE, L. H.: Vasodilatation in the submaxillary gland of the rabbit. *J. Physiol.*, 187: 595-602, 1966.
- 19) 後藤隆文: 家兎耳下腺灌流時の唾液量に関する研究。日大歯学, 40: 409-420, 1966.
- 20) SPRECHER, R. L., YOSHIDA, Y. and SCHNE-YER, L. H.: Partial isolation and perfusion of rat submaxillary gland. *Proc. Soc. exp. Biol., N. Y.*, 125: 1227-1229, 1967.
- 21) PETERSON, O. H. and POULSEN, J. H.: The effects of varying the extracellular potassium concentration on the secretory rate and on resting and secretory potentials in the perfused cat submandibular gland. *Acta physiol. scand.*, 70: 293-298, 1967.
- 22) PETERSON, O. H.: Some factors influencing stimulation-induced release of potassium from the cat submandibular gland to fluid perfused through the gland. *J. Physiol.*, 208: 431-447, 1970.
- 23) PETERSON, O. H.: The effect of dinitrophenol on secretory potentials, secretion and potassium accumulation in the perfused cat submandibular gland. *Acta physiol. scand.*, 80: 117-121, 1970.
- 24) PETERSON, O. H.: The dependence of the transmembrane salivary secretory potential on the external potassium and sodium concentration. *J. Physiol.*, 210: 205-215, 1970.
- 25) PETERSON, O. H.: The importance of extra-

- cellular sodium and potassium for acetylcholine-evoked salivary secretion. *Experientia*, **26** : 1103-1104, 1970.
- 26) PETERSON, O. H. : Secretory transmembrane potentials in acinar cells from the cat submandibular gland during perfusion with a chloride-free sucrose solution. *Pflügers Arch.*, **323** : 91-95, 1971.
 - 27) PETERSON, O. H. : Formation of saliva and potassium transport in the perfused cat submandibular gland. *J. Physiol.*, **216** : 129-142, 1971.
 - 28) BEILENSON, S., SCHACHTER, M. and SMAJE, L. H. : Secretion of kallikrein and its role in vasodilatation in the submaxillary gland. *J. Physiol.*, **199** : 303-317, 1968.
 - 29) 末木 守 : イヌ耳下腺唾液の水分塩分分泌に対する神経作用. 日本生理誌, **32** : 141-151, 1970.
 - 30) GAUTIVIK, K. : Studies on kinin formation in functional vasodilatation of the submandibular salivary gland in cats. *Acta physiol. scand.*, **79** : 174-187, 1970.
 - 31) GAUTIVIK, K. : The interaction of two different vasodilator mechanisms in the chorda-tympani activated submandibular salivary gland. *Acta physiol. scand.*, **79** : 188-203, 1970.
 - 32) GAUTIVIK, K. : Parasympathetic neuro-effector transmission and functional vasodilatation in the submandibular salivary gland of cats. *Acta physiol. scand.*, **79** : 204-215, 1970.
 - 33) GAUTIVIK, K., KRIZ, M. and LUND-LARSEN, K. : Plasma-kinins and adrenergic vasodilatation in the submandibular salivary gland of the cat. *Acta physiol. scand.*, **86** : 419-426, 1972.
 - 34) HILTON, S. M. and TORRES, S. H. : Selective hypersensitivity to bradykinin in salivary glands with ligated ducts. *J. Physiol.*, **211** : 37-48, 1970.
 - 35) 向井 浄 : 炭酸脱水酵素阻害からみた唾液陽イオン転送機構の検討. 歯基礎誌, **11** : 65-81, 1969.
 - 36) 内尾政信 : 分泌刺激の種類と唾液中への Sulfanilamide の分泌様式からみた唾液分泌機構の検討. 歯科医学, **32** : 405-431, 1969.
 - 37) 岡 好甫 : ラット顎下腺における α -Amylase, 陽イオンおよび水分に関与する唾液分泌刺激についての検討. 歯基礎誌, **13** : 515-538, 1971.
 - 38) BURGEN, A. S. V. and EMMELIN, N. G. : *Physiology of the Salivary Gland.*, 1st ed., 229-232, Edward Arnord, London, 1961.
 - 39) HILTON, S. M. : The Physiological role of glandular kallikreins. *Handbuch der experimentellen Pharmakologie* (edited by HEFFTER, A.). **25** : 389-399, Springer Verlag, Berlin, 1970.
 - 40) SCHACHTER, M. : Vasodilatation in the submaxillary gland of the cat, rabbit, and sheep. *Handbuch der experimentellen Pharmakologie* (edited by HEFFTER, A.). Springer Verlag, Berlin, 1970.
 - 41) STRÖMBLAD, B. C. R. : Gaseous metabolism of the normal and denervated submaxillary gland of the cat. *J. Physiol.*, **145** : 551-561, 1959. Cited from *Physiology of the Salivary Glands* (edited by BURGEN, A. S. V. and EMMELIN, N. G.), 1st ed., 231, Edward Arnord, London, 1961.
 - 42) PETERSON, O. H. : Acetylcholine-induced ion transports involved in the formation of saliva. *Acta physiol. scand.*, *Suppl.*, **381** : 38-39, 1972.
 - 43) DURANT, R. R. : Blood pressure in the rat. *Amer. J. Physiol.*, **81** : 679-685, 1927.
 - 44) GRIFFITH, J. Q. and JEFFERS, W. A. : The circulatory system. *The Rat in Laboratory Investigation* (edited by FARRIS, E. J. and GRIFFITH, J. Q.). 2nd ed., 278, J. B. Lippincott Co., Philadelphia, 1967.
 - 45) DIAZ, J. T. and LEVY, S. E. : An indirect method for repeated determinations of blood pressure of rats. *Proc. Soc. exp. Biol., N. Y.*, **40** : 402-407, 1939.
 - 46) 梅沢秀雄 : 無麻酔白鼠間接血圧測定法. 慈医誌, **66** : 193-199, 1952.
 - 47) BERNARD, C. : De l'influence de deux ordres de nerfs qui déterminent les variations de couleur du sang veineux les organes glandulaires. *C. R. Acad. Sci., Paris*, **47** : 245-253, 1858. Cited from *Physiology of the Salivary Glands* (BURGEN, A. S. V. and EMMELIN, N. G.), 1st ed., 122, Edward Arnord, London, 1961.
 - 48) DALE, H. H. and GADDUM, J. H. : Reactions of denervated voluntary muscle, and their bearing on the mode of action of parasympathetic and related nerves. *J. Physiol.*, **70** : 109-144, 1930.
 - 49) BHOOLA, K. D., MAY MAY YI, R., MORLEY, J. and SCHACHTER, M. : Release of kinin by an enzyme in the accessory sex glands of the guinea-pig. *J. Physiol.*, **163** : 269-280, 1962.
 - 50) TAKAGI, K., TAKAYANAGI, I. and SHIH, C. K. : A new view on the site of action on pilocarpine and arecoline in the isolated guinea pig ileum. *Chem. Pharm. Bull.*, **15** : 1744-1748, 1967.
 - 51) BARCROFT, J. and PIPER, H. : The gaseous metabolism of the submaxillary gland with reference especially to the effect of adrenaline and the time relation of the stimulus

- to the oxidation process *J. Physiol.*, **44** : 359-370, 1912.
- 52) 西山明德 : 顎下腺血管床平滑筋の生理学的性質とそれの分泌機能の相互作用. 日平滑筋誌, **8** : 251-252, 1972.
- 53) DALE, H. H. : On some physiological action of ergot. *J. Physiol.*, **34** : 163-206, 1907.
- 54) 吉田 博, 田中正三編 : 生化学的薬理学, 第2部, 1版, 190, 朝倉書店, 東京, 1971.
- 55) SCHACHTER, M. and BEILENSEN, S. : Mediator of vasodilatation in the submaxillary gland. *Fed. Proc.*, **27** : 73-75, 1968.
- 56) WEBSTER, M. E. : The physiological and pathological role of the kallikrein-kallidin system. *International Hypotensive Peptides* (ERDÖS, E. G. et al.). 263-274, Springer Verlag, Berlin, 1966.
- 57) SKINNER, N. S., JR. and WEBSTER, M. E. : Submaxillary gland blood flow. The role of kinins and beta-adrenergic receptors. *Fed. Proc.*, **27** : 76-79, 1968.
- 58) ECCLES, R. M. and LIBET, B. : Origin and blockade of the synaptic responses of curarised sympathetic ganglia. *J. Physiol.*, **157** : 484-503, 1961.
- 59) ROSZKOWSKI, A. P. : An unusual type of sympathetic ganglionic stimulant. *J. Pharmac.*, **132** : 156-170, 1961.
- 60) MURAYAMA, S. and UNNA, K. R. : Stimulant action of 4-(m-chlorophenylcarbamoyloxy)-2-butynyltrimethylammonium chloride (McN-A-343) on sympathetic ganglia. *J. Pharmac.*, **140** : 183-192, 1963.
- 61) FRANKO, B. V., WARD, J. W. and ALPHIN, R. S. : Pharmacologic studies of N-benzyl-3-Pyrrolidyl acetate methobromide (AHR-602), A ganglion stimulating agent. *J. Pharmac.*, **139** : 25-30, 1963.
- 62) DEGROAT, W. C. and VOLLE, R. L. : Ganglionic actions of oxotremorine. *Life Sci.*, **8** : 618-623, 1963.
- 63) 鹿取 信 : キニンの薬理とその生体における意義(中篇). 生体の科学, **22** : 21-55, 1971.
- 64) 松本昌世 : 消炎剤の薬理. 日歯医師会誌, **24** : 469-482, 1971.
- 65) GRESKOFF, A. J., FITZ-HUGH, T. and FARRIS, E. J. : Hematology of the rat-methods and standard. *The Rat in Laboratory Investigation* (edited by FARRIS, E. J. and GRIFFITH, J. Q.), 2nd ed., 46, J. B. Lippincott Co., Philadelphia, 1967.
- 66) 安東洪次, 田嶋嘉雄編 : 医学研究動物 実験法, 初版, 103-167, 朝倉書店, 東京, 1956.