

顎下腺
neuropeptide Y
vasoactive intestinal polypeptide
serotonin

ラット顎下腺の腺房, 主導管, 導管周囲細動脈に分布する神経活性物質 およびシナプトフィジン免疫陽性神経終末に関する免疫組織化学的研究

大西宏祐¹⁾ 小口岳史²⁾ 平野航¹⁾
杉村太丈³⁾ 前田信吾¹⁾ 河田亮¹⁾
尾之上さくら⁴⁾ 東一善¹⁾ 高橋理^{*.1)}

¹⁾神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔科学講座神経組織発生学分野

²⁾神奈川歯科大学総合教育部

³⁾神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔統合医療学講座歯科矯正学分野

⁴⁾関東学院大学理工学部

(受付: 2019年8月28日, 受理: 2019年10月2日)

Immunohistochemical study of synaptophysin- immunopositive nerve endings in acinar portion, main excretory ducts and arteries surrounding duct of rat submandibular gland

Kosuke ONISHI¹⁾, Takeshi OGUCHI²⁾, Wataru HIRANO¹⁾, Takahiro SUGIMURA³⁾,
Shingo MAEDA¹⁾, Akira KAWATA¹⁾, Sakura ONOUE⁴⁾, Kazuyoshi HIGASHI¹⁾
and Osamu TAKAHASHI^{*.1)}

¹⁾Division of Histology, Embryology and Neuroanatomy, Department of Oral Science, Graduate School of Dentistry,
Kanagawa Dental University

²⁾Division of Curriculum Development, Kanagawa Dental University, 82 Inaoka-cho, Yokosuka, Kanagawa, Japan

³⁾Division of Orthodontics Department of Oral Interdisciplinary Medicine Graduate School of Dentistry,
Kanagawa Dental University

⁴⁾College of Science and Engineering, Kanto Gakuin University,
1-50-1 Mitsuura-higasi, Kanagawa-ku, Yokohama, Kanagawa, Japan

Abstract

Previous submandibular ganglion studies have reported the presence of neuropeptide Y (NPY) and vasoactive intestinal peptide (VIP)-immunopositive nerve fibers as well as 5-hydroxytryptamine (5-HT, serotonin)-immunopositive cells in epithelial cells of the main excretory duct. These studies have also demonstrated the association of these entities with secretion from the submandibular gland and modification of the saliva in the main excretory duct. However, a detailed investigation has yet to be conducted on the distribution of nerve endings that made contacts to submandibular gland acini or the main excretory duct. In this study, we therefore sought to determine the morphological characteristics and distribution of nerve endings in the submandibular gland acini, the main excretory duct, and arteries surrounding the duct. Immunostaining images observed under confocal laser microscopy showed that most nerve endings distributed to the main excretory duct and nearby arteries exhibited a VIP-immunopositive response. NPY-immunopositive nerve endings were common in the acinus. In addition, synaptophysin (SPN)-immunopositive nerve endings were most commonly observed in the acinus and arteries around the main excretory duct and the main excretory duct itself. Based on these results, it was concluded that the

type and number of nerve fibers projected in the main excretory duct and acini differ. In the future, the search for receptors expressed in the main excretory duct and acini cells and the changes in salivary secretion by VIP, NPY and 5-HT administration experiments will lead to the elucidation of the salivary secretion mechanism.

* 責任著者連絡先：〒 238-8580 神奈川県横須賀市稲岡町 82 番地
神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔科学講座神経組織発生学分野
高橋 理
TEL & FAX: 046-822-8846 e-mail: o.takahashi@kdu.ac.jp

緒 言

顎下腺は顎下三角に存在し、上面は下顎骨の顎下腺窩と顎舌骨筋に接し、下面は広頸筋に覆われる¹⁾。顎下神経節は顎下三角に位置し、ラットでは顎下腺主導管の長軸に沿う結合組織において、顎下腺の門より咬筋後縁まで柱状の形態を呈する²⁾。

過去の研究で、顎下神経節中においては多くの神経活性物質の存在が報告されている。免疫組織化学的研究では calcitonin gene-related peptide^{3,4)}, substance P⁴⁻⁶⁾, vasoactive intestinal polypeptide (VIP)^{7,8)}, neuropeptide-Y (NPY)^{9,10)}, enkephalin^{11,12)}, 5-hydroxytryptamine (5-HT, serotonin)¹³⁾ 等の神経活性物質の存在が明らかとなっている。われわれはこの中で、VIP, NPY, 5-HT に着目して、唾液腺の分泌、吸収への関与を調査してきた^{13,14)}。

VIP は消化管の分泌や運動を調節するペプチドホルモンであり¹⁵⁻¹⁷⁾、口腔領域においては顎下腺および口唇の血管拡張に関与する^{18,19)}。NPY はブタ脳から近縁ペプチドを分離・同定されたペプチドであり、末梢神経においては、ノルアドレナリンと協調して持続性の血管収縮を起こすことが知られる²⁰⁾。5-HT は、平滑筋の収縮（血管平滑筋は収縮と弛緩）、血液凝固作用のほか、中枢神経系の伝達物質として作用する²¹⁾。

顎下腺の組織学的研究は腺房や線条部導管の検索が主であり、主導管の構造の研究は限られていたが、Young らによって主導管は分泌唾液へ電解質の添加や吸収を行っていることが報告²²⁾されて以来、顎下腺主導管上皮についても種々の報告がなされている^{14,23,24)}。神経活性物質である VIP や 5-HT は、含有細胞の存在が主導管上皮中に報告され^{23,25)}、VIP と NPY についても、主導管およびそれを取り巻いている血管、腺房部にも観察される^{14,24)}。また、顎下神経節にも VIP と NPY, 5-HT の存在が報告されていることから主導管および主導管周囲の血管、それと腺房部に投射している神経線維は顎下神経節由来と考えられている^{13,14)}。

しかし、それらの神経活性物質が含有されている神

経終末の顎下腺における定量的評価による分布の報告は皆無である。

本研究ではまず、ラット顎下腺の正常構造を観察する目的で、腺房、導管、導管周囲細動脈の微細構造について検索した。さらに神経終末に発現する VIP や NPY, それと 5-HT の顎下腺における量的な分布を明らかにするために、特異的局在を免疫組織化学的に検索した。また、顎下腺各部位における神経終末の量的な局在を明らかにするために、各部位における神経終末の数を計測した。神経終末の確認には、シナプス小胞タンパクに特異的に発現することが知られているシナプトフィジン (SPN) を用いた。

実験材料および方法

1. 成体ラット顎下腺の正常構造の観察

1) 実験動物

実験動物には生後 8~15 週の成体 Wistar 系ラット（体重 260~350 g）10 匹を用い、計 20 の顎下腺を観察した。実験動物の飼育条件は室温 20℃、明暗周期 12 時間、給餌、給水については自由摂取とした。

本実験は、神奈川歯科大学動物倫理委員会の承認を受け、定められた動物実験指針を遵守して行われた（承認番号 18-022）。実験動物は「動物実験の飼育および保管等に関する基準」（昭和 55 年 3 月 27 日総理府広告 6 号）に基づいて、倫理的に取り扱った。

2) 試料作製と観察

実験動物に対してバルビタール酸ナトリウムを腹腔内投与（50 mg/kg）し麻酔を施した後に、左心室より生理食塩水を灌流し、2.5% グルタルアルデヒド溶液（0.1 M リン酸緩衝液（PBS, pH7.4）にて 20 分間灌流固定を行った。固定後、直ちに顎下腺と主導管を摘出した。摘出した試料はさらに同固定液にて 1 時間浸漬固定した後、1% オスミウム酸（PBS, pH7.4）で 1 時間固定した。その後、エタノール系列で脱水、酸化プロピレンを介して Quetol 651 樹脂（Polysciences; Warrington, USA）に包埋した。包埋した試料は MT-1 型ウルトラミクロトームを用いてガラスナイフにて厚さ約 1 μm の切片を作製し、1% ト

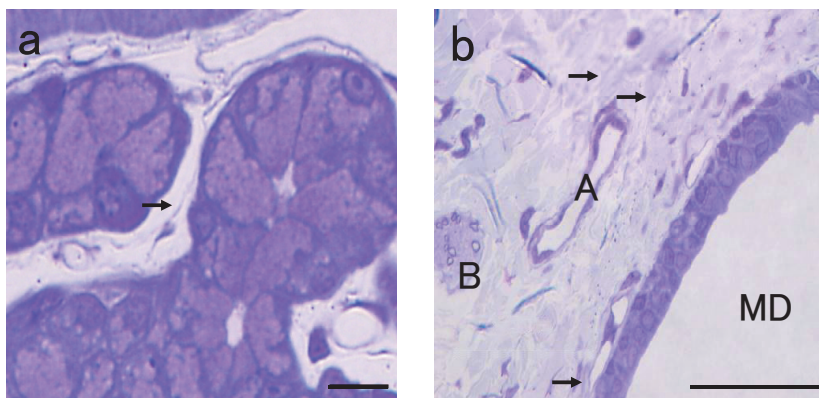


図1 ラット顎下腺のトルイジンブルー染色像

- a: 顎下腺腺房部の明視野顕微鏡像を示す。腺房細胞周囲に神経線維 (→) が観察される。scale bar=10 μ m
 b: 顎下腺主導管および主導管周囲血管の明視野顕微鏡像を示す。主導管および主導管周囲血管周囲に神経線維 (→) が観察される。scale bar=50 μ m, MD: 主導管, A: 細動脈, B: 神経線維束

ルイジンブルーで染色し、光学顕微鏡で観察した。

2. 成体ラット顎下腺の免疫組織化学

1) 実験動物

実験動物は生後8~15週の成体Wistar系ラット(体重260~350g)12匹を用い、計24の顎下腺を観察した。

2) 試料作製

実験動物はバルビタール酸ナトリウム (50 mg/kg) を腹腔内注射することにより麻酔し、左心室より4%パラホルムアルデヒドを含む0.1 M PBS (pH7.4) にて灌流固定を行った。灌流固定の後に顎下腺主導管と顎下腺組織を一塊として摘出し、直ちに0.1 M PBS (pH7.4) にて希釈した4%パラホルムアルデヒド溶液を用いて12時間、後固定した。その後、O.C.T. compound (Tisse-Tek, SAKURA, 大阪, 日本) を用いて凍結包埋し、凍結ミクロトームにて厚さ約20 μ mの凍結切片を作製した。

3) 免疫組織化学

試料を血清 (10% normal goat serum (NGS)/0.75% Triton X-100/0.05% NaN_3) を含有した0.1 M PBS中に1時間洗浄した。続いてウサギ抗SPNポリクロナール抗体 (abcam; Cambridge, UK, 1/500 in 0.1 M PBS containing 10% NGS/ 0.75% Triton X-100/ 0.05% NaN_3) とマウス抗NPYモノクロナール抗体 (abcam; Cambridge, UK, 1/100), マウス抗SPNモノクロナール抗体 (abcam; Cambridge, UK, 1/100) とウサギ抗VIPポリクロナール抗体 (abcam; Cambridge, UK, 1/500), マウス抗SPNモノクロナール抗体とウサギ抗5-HTポリクロナール抗体 (abcam; Cambridge, UK, 1/500) 中に、4°Cで一晩浸漬した。その後PBSにて洗浄し、ヤギビオチン化抗マウスIgG抗血

清 (DAKO; Glostrup, Denmark, 1/400 in 0.1 M PBS containing 10% NGS/ 0.05% NaN_3) とヤギAlexa488標識抗ウサギIgG抗血清 (Wako; Osaka, Japan, 1/50 in 0.1 M PBS containing 10% NGS/ 0.05% NaN_3) 混液中に室温で1時間浸漬した。その後にPBSにて洗浄し、さらにCy3-streptavidin (KPL; Guildford, UK, 1/1000 in 0.1 M PBS containing 10% NGS/ 0.05% NaN_3) に1時間浸した。免疫組織化学的に標識した試料は80% glycerin溶液で封入し、共焦点レーザー顕微鏡 (ECLIPSE E800, Nikon, 東京, 日本) にて観察した。また各一次抗体は陽性組織コントロールとして、ラット脳を用いてその発現を確認した。

4) 二重標識神経終末の解析

二重標識法によるラット12匹の切片の中から、腺房細胞、主導管上皮細胞、主導管に隣接する細動脈を明瞭に観察できる切片を各10枚抽出し、SPN免疫陽性神経終末に対する二重標識神経終末の割合をそれぞれ算出した。また腺房細胞、主導管上皮細胞、主導管に隣接する細動脈の2500 μm^2 の視野を、ラット12匹の切片の中から10視野抽出して、神経終末の数を計測し、各部位で比較した。得られた値はKruskal-Wallis検定を行った後、マンホイットニーのU検定を有意水準5%にボンフェロニーの補正 ($p < 0.0167$) を行い検定した。

結 果

1. ラット顎下腺の正常構造の観察

トルイジンブルー染色を施した、顎下腺各部位の光学顕微鏡像を図1に示す。顎下腺腺房部には多くの腺細胞や顆粒管が認められ、それらの間の結合組織中に

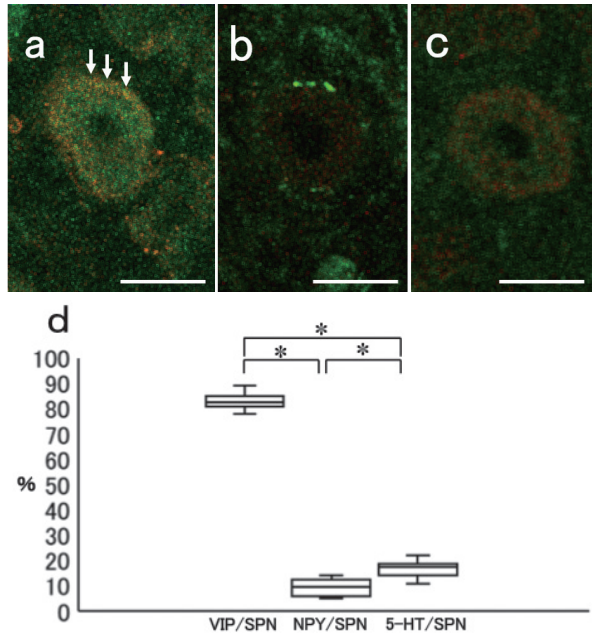


図 2 主導管の免疫染色像

a: 主導管周囲に SPN (赤) と VIP (緑) の二重標識像 (→) が観察される。

b: 主導管周囲に SPN (赤) NPY (緑) の二重標識像は観察されない。

c: 主導管周囲に SPN (赤) と 5-HT (緑) 二重標識像は観察されない。

scale bars=500 μ m

d: 主導管上皮細胞に対する各神経活性物質の二重標識の割合

主導管上皮周囲には VIP 免疫陽性神経終末が多数存在する。ボンフェローニ補正を用いたマン・ホイットニーの U 検定
*: $p < 0.0167$

は細動脈や細径の神経線維も観察された。また主導管の上皮は多列上皮より構成され、その直下に多くの毛細血管が存在、さらに主導管を囲む結合組織中には神経束および細径の神経線維が認められた。

2. SPN と各神経活性物質による二重免疫組織化学

1) 主導管上皮

主導管周囲の SPN 免疫陽性神経終末における各神経活性物質の二重標識の割合を図 2d に示す。SPN と VIP, NPY, 5-HT の二重標識の割合の中央値 (25 ~ 75 パーセンタイル値) はそれぞれ 82.5 (81.0 ~ 84.0)%, 9.5 (6.0 ~ 12.0)%, 17.5 (15.0 ~ 18.0)% であった。SPN と VIP の二重標識の割合は、NPY, 5-HT との二重標識の割合よりも有意に高かった。SPN と VIP では主導管とその周囲の結合組織中に両者に共陽性の構造物が点状に散在して認められた。さらに主導管上皮中にも共陽性の構造物が観察された。これに対して、SPN と NPY, SPN と 5-HT では二重標識された神経終末

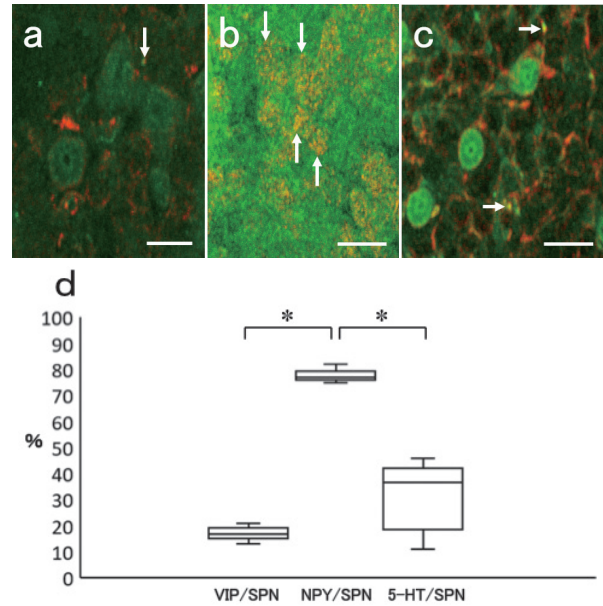


図 3 腺房の免疫染色像

a: 腺房細胞周囲に SPN (赤) と VIP (緑) の二重標識像 (→) が少数観察される。

b: 腺房細胞周囲に SPN (赤) と NPY (緑) の二重標識像 (→) が多数観察される。

c: 腺房細胞を取り囲むように SPN (赤) と 5-HT (緑) 二重標識像 (→) が観察される。

scale bars=50 μ m

d: 腺房に対する各神経活性物質の二重標識の割合

腺房周囲には NPY 免疫陽性神経終末が多数存在する。ボンフェローニ補正を用いたマン・ホイットニーの U 検定
*: $p < 0.0167$

はほとんど観察されなかった (図 2a, b, c)。

2) 腺房部

腺房の SPN 免疫陽性神経終末と各神経活性物質の二重標識の割合を図 3d に示す。SPN と VIP, NPY, 5-HT の二重標識の割合の中央値 (25 ~ 75 パーセンタイル値) はそれぞれ 17.0 (15.0 ~ 19.0)%, 77.0 (76.0 ~ 79.0)%, 36.5 (21.0 ~ 41.0)% であった。SPN と NPY の二重標識の割合は、VIP, 5-HT との二重標識の割合よりも有意に高かった。VIP と 5-HT の二重標識の割合は、両者の間に有意な差は認められなかった。SPN 免疫陽性構造は腺房細胞や導管基部に多数が認められた。しかし VIP との二重標識はわずかに腺房細胞間の結合組織中の血管周囲に観察された。一方、SPN と NPY の二重染色では両者に共陽性を示す神経終末が腺房間の結合組織中に多数認められた。さらに腺細胞の基部には両者に共陽性を示す点状構造が存在していた。SPN と 5-HT においても腺房間の結合組織中

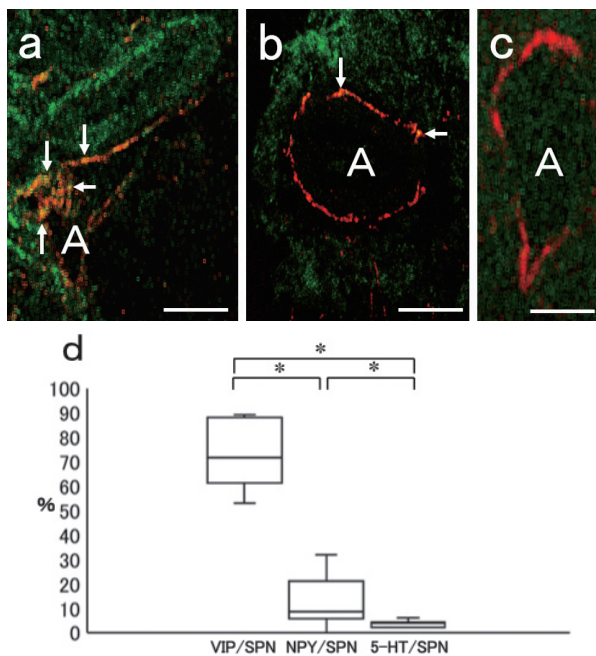


図4 主導管周囲細動脈の免疫染色像

a: 細動脈周囲を取り囲むようにSPN (赤) とVIP (緑) の二重標識像 (→) が多数観察される。
 b: 細動脈周囲にSPN (赤) とNPY (緑) の二重標識像 (→) が少数観察される。
 c: 細動脈周囲にSPN (赤) と5-HT (緑) 二重標識像はほとんど観察されない。
 A: 細動脈, scale bars=500 μm

d: 主導管周囲細動脈に対する各神経活性物質の二重標識の割合
 主導管周囲の細動脈にはVIP免疫陽性神経終末が多数存在する。
 ボンフェローニ補正を用いたマン・ホイットニーのU検定
 *: p<0.0167

に二重標識神経終末が散見された (図3a, b, c)。

3) 主導管周囲細動脈

主導管周囲細動脈のSPNと各神経活性物質の二重標識の割合を図4dに示す。免疫陽性神経終末のSPNとVIP, NPY, 5-HTの二重標識の割合の中央値 (25~75パーセントイル値) はそれぞれ71.5 (63.0~88.0)%, 8.5 (6.0~21.0)%, 4.0 (2.0~4.0)%であった。SPNとVIPの二重標識の割合は、NPY, 5-HTとの二重標識の割合よりも有意に高かった。SPNとVIPの二重免疫染色では細動脈内皮中に二重標識神経終末が多数観察された。一方SPNとNPY, 5-HTとの二重染色ではSPN免疫陽性神経終末は散見されたが、二重標識はわずかであった (図4a, b, c)。

4) 顎下腺各部位における神経終末数

腺房, 主導管, 主導管周囲細動脈の切片の中から, 2500 μm²の視野を10視野抽出し, SPN免疫陽性神経

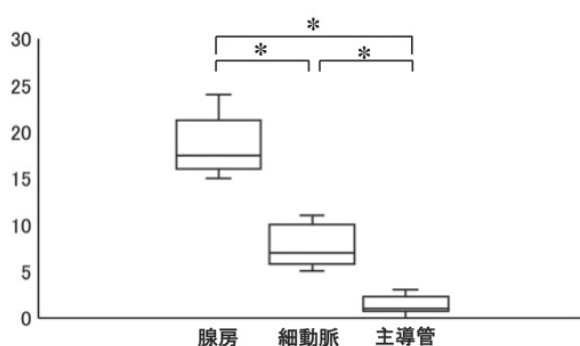


図5 顎下腺各部位における2500 μm²のSPN免疫陽性神経終末数の平均

神経終末は腺房, 主導管周囲血管 (細動脈), 主導管の順に多く存在する。
 ボンフェローニ補正を用いたマン・ホイットニーのU検定
 *: p<0.0167

終末の数を算出した結果を図5に示す。腺房, 主導管, 細動脈での中央値 (25~75パーセントイル値) はそれぞれ17.5 (16.0~21.0), 1.0 (1.0~2.0), 7.0 (6.0~10.0)であった。腺房と主導管, 主導管と細動脈, 腺房と細動脈の間で有意な差を認めた。

考 察

ラット顎下腺を光学顕微鏡にて観察した結果, 腺房部, 主導管, そして主導管周囲細動脈のいずれにおいても神経線維が観察された。小口らの報告においても主導管周囲結合組織や主導管周囲の細動脈に神経線維が確認されており¹⁴⁾, 本研究の結果と一致した。これらのことから, 顎下腺からの唾液分泌には, 腺房, 主導管, そして主導管周囲細動脈に投射する神経線維が関与するものと考えられる。

次に顎下腺におけるVIP, NPY, 5-HT, およびSPN免疫陽性神経終末の局在を観察した結果, SPN免疫陽性神経終末における各神経活性物質の二重標識を示す割合は, 腺房部ではSPNとNPYの組み合わせが多く, 主導管部および主導管周囲細動脈ではSPNとVIPの組み合わせが多い結果となった。また神経終末は腺房に最も多く分布し, ついで主導管周囲の細動脈, 主導管の順であった。小口らは主導管および主導管周囲細動脈にVIP免疫陽性神経線維の存在を報告し¹⁴⁾, 中村らは腺房部血管にNPY免疫陽性神経線維を報告しているが²⁶⁾, 各神経活性物質を定量的に評価することで, それらの分布が明確となったのは新知見である。これまでに, VIPは消化管粘膜に散在する内分泌細胞において産生され, 平滑筋弛緩, 膝重炭酸塩の分泌促進, インスリン分泌の促進などの機能を果たすことが報告

されている¹⁸⁾。また、顎下腺においては血管平滑筋に作用し、血管の拡張に関与するとされる¹⁹⁾。さらに顎下腺主導管は単に唾液の輸送にとどまらず、イオンの吸収、添加により修飾を受け、口腔内に分泌される²⁷⁾。このことから本研究で主導管部および主導管周囲血管にVIP免疫陽性神経終末が多く観察された事実により、唾液の成分が修飾される可能性が考えられる。

一方、腺房部においてはNPY免疫陽性神経終末が多く観察された。NPYは中枢神経系において、視床下部、大脳皮質、海馬に多く存在し、視床下部ホルモンの遊離調整、食欲、記憶、血圧調整に関与する²⁸⁻³⁰⁾。末梢神経系では、交感神経に広く分布し、特に血管周囲交感神経や副腎髄質細胞に豊富に存在し、ノルアドレナリンと協調して持続性の血管収縮を引き起こす^{29,31)}。志賀らの研究においても、NPY免疫陽性線維が腺房に分布していることが確認されており、本研究の結果と一致する²⁴⁾。NPYが各神経物質の中で腺房の神経終末に多く分布した事実は、唾液の分泌調整に関わると考えられる。

また秋本らは顎下腺を血液鋳型標本により、腺体内の導管から主導管周囲に存在する細動脈は網工状になっており、また有窓性毛細血管の小孔の数が多いいことを報告した³²⁾。このことから、主導管周囲に存在する細動脈が主導管の機能を補充していると仮定すると、本研究における、主導管よりも主導管周囲細動脈に神経終末が多く観察された事実は、この仮定を裏付ける結果となった。これまで小口や川邊らは、顎下神経節ニューロンにおけるVIP、NPY、5-HTの局在については報告したが、これらニューロンの神経終末の局在に関する報告は本研究が初めてである。

以上より、顎下腺主導管と腺房では投射する神経線維のタイプと数が異なるという結論が得られた。今後は主導管や腺房部の細胞が発現している受容体の検索や、VIP、NPY、5-HTなどの投与実験による唾液分泌量の変化などを検索することで、さらなる唾液分泌機構の解明につなげたいと考えている。

結 論

われわれは神経活性物質であるVIP、NPY、5-HTのラット顎下腺における局在について調査し以下の結論を得た。

1. 顎下腺腺房では各種神経活性物質においてNPY免疫陽性神経終末の割合が多く、主導管および主導管周囲細動脈ではVIP免疫陽性神経終末の割合が多かった。

2. 顎下腺各部位における神経終末の分布は、腺房、主導管周囲細動脈、主導管の順で多かった。

謝 辞

論文作成にあたり御校閲と有益な御教示をいただきました全身管理歯科学講座 森本佳成教授、口腔科学講座 梶木恵一教授、顎顔面病態診断治療学講座 小澤重幸講師、災害医療・社会歯科学講座 山本龍生教授に厚く御礼申し上げます。また、本研究を遂行するにあたり、終始多大なる御協力をいただいた本学口腔科学講座組織学分野の教室員各位に深く感謝を申し上げます。本論文の要旨は、神奈川歯科大学学会第53回総会（平成30年12月1日、横須賀）において発表した。

利益相反

申告すべき利益相反なし。

文 献

1. 脇田 稔：口腔解剖学；第1版，医歯薬出版，東京，121，2009。
2. Ng YK, Wong WC, Ling EA: A study on the submandibular ganglion of the monkey with special reference to ultrastructural changes after lingual nerve sectioning. *Arch Histol Cytol.* **56**: 371-383, 1993.
3. Ekstrom J: Neuropeptide and secretion. *J Dent Res.* **66**: 524-530, 1987.
4. Tobin G, Luts A, Sundler F *et al.*: Peptidergic innervation of major salivary glands of the ferret. *Peptides.* **11**: 863-867, 1990.
5. Turner JT, Bylund DB: Characterization of the vasoactive intestinal peptide receptor in rat submandibular gland: Radioligand binding assay in membrane preparations. *J Pharmacol Exp Ther.* **242**: 873-872, 1987.
6. Robinson SE, Schwartz JP, Costa E: Substance P in the superior cervical ganglion and the submaxillary gland of the rat. *Brain Res.* **182**: 11-17, 1980.
7. Lundberg JM, Fried G, Fahrenkrug J *et al.*: Subcellular fraction of cat submandibular gland: comparative studies on the distribution of acetylcholine and vasoactive intestinal polypeptide (VIP). *Neuroscience.* **6**: 1001-1010, 1981.
8. Inoue Y, Kaku K, Kaneko T *et al.*: Vasoactive intestinal peptide binding to specific receptors on rat parotid acinar cells induces amylase secretion accompanied by intracellular accumulation of cyclic adenosine 3'-5'-monophosphate. *Endocrinology.* **116**: 686-692, 1983.
9. Lundberg JM, Terenius L, Hokfelt T *et al.*: High levels of neuropeptide Y in peripheral noradrenergic neurons in various mammals including man. *Neurosci Lett.* **42**: 167-172, 1983.
10. Endo M, Praputpittaya C, Fujita K *et al.*: Effect of vasoactive intestinal polypeptide on acetylcholine stimulation of rat submandibular gland. *Endocrinol*

- Jpn.* **34**: 387-393, 1987.
11. Shida T, Ueda Y, Ishida-Yamamoto A *et al.*: Enkephalinergic sympathetic and parasympathetic innervation of the rat submandibular glands. *Brain Res.* **555**: 288-294, 1991.
 12. Kondo H, Yamamoto M, Yanaihara N *et al.*: Transient involvement of enkephalin in both the sympathetic and parasympathetic innervation of the submandibular gland of rats. *Cell Tissue Res.* **253**: 529-537, 1988.
 13. 川邊-石井裕美, 東 一善, 宮城 敦: 抗うつ薬投与がラット顎下神経節ニューロンのセロトニン発現に与える影響に関する免疫組織化学的研究. *神奈川歯学.* **44**: 117-127, 2009.
 14. 小口岳史, 東 一善, 河田 亮ほか: ラット顎下神経節におけるVIP陽性及びNPY陽性ニューロンの局在について. *神奈川歯学.* **51**: 82-90, 2016.
 15. Igarashi H, Fujimori N, Ito T *et al.*: Vasoactive intestinal peptide (VIP) and VIP receptors—elucidation of structure and function for therapeutic applications. *Int J Clin Med.* **2**: 500-508, 2011.
 16. Ekström J, Godoy T, Loy F *et al.*: Parasympathetic vasoactive intestinal peptide (VIP): a likely contributor to clozapine-induced sialorrhoea. *Oral Dis.* **20**: e90-e96, 2014.
 17. Del Fiacco M, Quartu M, Ekström J *et al.*: Effect of the neuropeptides vasoactive intestinal peptide, peptide histidine methionine and substance P on human major salivary gland secretion. *Oral Dis.* **21**: 216-223, 2015.
 18. 森本俊文: 基礎歯科生理学: 第6版, 医歯薬出版, 東京, 395-397, 2014.
 19. Anderson LC, Garrett JR, Zhang X *et al.*: Protein secretion from rat submandibular acini and granular ducts: effects of exogenous VIP and substance P during parasympathetic nerve stimulation. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* **119**: 327-331, 1998.
 20. 樋口宗史: 神経ペプチドY (NPY) の生理機能と遺伝子発現. *タンパク質・核酸・酵素.* **42**: 812-924, 1997.
 21. 石田 甫: 歯科薬理学; 第5版, 医歯薬出版, 東京, 69-72, 2005.
 22. Young JA: A micro-perfusion investigation of sodium- reabsorption and potassium secretion by the main excretory duct of the rat submaxillary gland. *Pflug Arch Ges Phys.* **295**: 157-172, 1967.
 23. Higashi K, Tsuzuki H, Hayashi H *et al.*: Serotonin-immunoreactive epithelial cells in the main excretory ducts of rat submandibular glands. *J Oral Biosci.* **46** (1): 20-26, 2004.
 24. 志賀久隆, 塩田清二, 中井康光: ラット顎下腺の神経支配に関する免疫組織化学的観察—特にVIP性神経支配について—. *昭和医学会誌.* **52**: 197-206, 1992.
 25. 加藤智弘, 河田 亮, 東 一善ほか: ラット顎下腺主導管における刷子細胞に関する免疫組織化学的研究. *神奈川歯学.* **49**(2): 101-110, 2014.
 26. 中村重治, 志田 享: ラット顎下腺における交感および副交感神経性neuropeptide Y陽性神経線維の分布. *口腔科誌.* **43**(4): 572-579, 1994.
 27. 和泉博之: ビジュアル口腔生理学; 第1版, 学建書院, 東京, 268-272, 2008.
 28. Adrian TE, Allen JM, Bloom SR *et al.*: Neuropeptide Y distribution in human brain. *Nature.* **306**: 584-586, 1983.
 29. de Quidt ME, Emson PC: Distribution of neuropeptide Y-like immunoreactivity in the rat central nervous system—II. Immunohistochemical analysis. *Neuroscience.* **18**: 545-618, 1986.
 30. 樋口宗史: Neuropeptide Y—ペプチド性神経伝達物質としての作用・生合成と神経特異的遺伝子発現調節について—. *日薬理誌.* **93**: 203-218, 1989.
 31. Walker P, Grouzmann E, Burnier M *et al.*: The role of neuropeptide Y in cardiovascular regulation. *Trends Pharmacol Sci.* **12**: 111-115, 1991.
 32. 秋本公美: ハムスター顎下腺主導管の形態学的研究. *神奈川歯学.* **29**: 161-182, 1994.
-