

令和 2 年 6 月 26 日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11651

研究課題名(和文) 生体イメージングと網羅的遺伝子解析による唾液腺の代償性肥大機序と分子基盤の解明

研究課題名(英文) Elucidation of mechanism and molecular basis of compensatory hypertrophy in salivary gland using the intravital imaging and comprehensive gene analysis

研究代表者

根津 顕弘 (NEZU, Akihiro)

北海道医療大学・歯学部・准教授

研究者番号：00305913

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、片側障害によって起こる反対側の分泌機能亢進を誘導する生体内シグナルや分子を解析し、そのしくみを明らかにすることを目的とする。誘導された肥大顎下腺で、アセチルコリンによる唾液分泌に加え、Ca²⁺応答の感受性が亢進することを明らかにした。また遺伝子発現の網羅的解析により、機能亢進腺で発現量が変化する6遺伝子を同定した。これらをマーカー遺伝子とし機能亢進誘導にかかる時間を調べたところ、比較的早期に腺房細胞の増殖が起こることが明らかとなった。さらにアトロピン投与後の遺伝子変化量の解析により、誘導シグナルには副交感神経のアセチルコリンだけでなく他の因子が関わることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

唾液腺の代償性肥大による分泌増加のしくみは単に組織肥大により起こると考えられていた。本研究によって、腺肥大だけでなく分泌刺激に対する唾液腺細胞の感受性の亢進が起こっていることが初めて明らかになった。そこで機能亢進を誘導するシグナルの分子基盤を明らかにするため、網羅的遺伝子解析を行ったところ、肥大腺で変化する6つに遺伝子の同定に成功した。これらをマーカーとし誘導シグナルを調べたところ、副交感神経からのアセチルコリンだけでなく、他の因子が関わることを明らかとなった。本研究結果を基に薬物投与や標的遺伝子の導入によって機能亢進を人為的に誘導できれば、新たな口腔乾燥症治療法の創生につながると期待できる。

研究成果の概要(英文)：Dysfunction of unilateral salivary glands causes compensatory hypertrophy of the contralateral gland. We developed a method for real-time imaging of Ca²⁺ responses with simultaneous monitoring of salivary secretion *in vivo*, and found that ligation of main excretory duct (MED) of unilateral submandibular gland (SMG) induced compensatory hypertrophy in association with enhancement of low doses of acetylcholine-induced salivation and Ca²⁺ response. To clarify the mechanism of the compensatory hyperfunctional SMG, we examined changes in gene expression in SMG which are induced by MED ligation. Using the comprehensive analyses of mRNA expression, we found that 6 genes were significantly changed in contralateral SMG. We then examined immunohistochemical analysis using anti-PCNA antibodies, and found that the number of PCNA positive cells was increased in acinar cells in 3 days. These results suggest that disorder of unilateral SMG causes acinar cell proliferation at a relatively early stage.

研究分野：歯科薬理学

キーワード：代償性肥大 唾液分泌機能亢進 *In vivo* Ca²⁺ imaging 遺伝子発現

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

三大唾液腺である耳下腺、顎下腺、舌下腺は左右一対存在し、これらは唾石などにより片側の分泌機能が失われても、反対側の代償性肥大によって十分な唾液が維持される。代償性肥大は精巣、卵巣および腎臓などで古くから知られる生体现象であり、腎臓では肥大誘導に多くの成長ホルモン (IGF1、VEGF、TGF- β) とその下流のエフェクター (mTOR) の関与が明らかにされている。一方で、唾液腺の代償性肥大に関しては細胞形態や分泌機能の変化について報告されているだけで、片側唾液腺の障害が反対側の肥大を誘導するシグナル、腺肥大あるいは分泌機能亢進に直接関わる分子については全くわかっていない。

唾液腺の水・電解質分泌において、腺房細胞の Ca^{2+} 応答が重要な役割を果たしている。我々は遺伝子発現ウイルスベクターを用いた方法により、蛍光 Ca^{2+} センサー (YC-Nano50) を腺房細胞へ発現させ、「生きた動物」の唾液腺全体の Ca^{2+} 応答を可視化する *in vivo* Ca^{2+} イメージング法を確立した。また微小圧力センサーによる唾液分泌のリアルタイム測定システムを確立した (文献)。これらを用いた Ca^{2+} 応答と唾液分泌の同時測定により、唾液分泌に必要な細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) の閾値や (文献)、唾液分泌と Ca^{2+} 応答が薬物刺激と神経刺激で異なるパターンを示すことを報告した。また薬物刺激により顎下腺全体で Ca^{2+} 応答が上昇と下降を繰り返す Ca^{2+} オシレーションが起こることを見出し、この発生に受容体の活性化を介した血管収縮が関与することを報告した。この新しい実験系を用いて代償性肥大を誘導した顎下腺の機能を解析したところ、肥大腺では薬物刺激による唾液分泌が亢進し、さらに $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇も増大する可能性が示唆された。この結果は、代償性肥大による分泌亢進には腺実質の肥大だけでなく、唾液腺細胞の Ca^{2+} 応答に関わる分子 (ムスカリン受容体、 IP_3 受容体、Stim1 や Orai1 等) の発現量変化が関与することを示唆する。

肥大唾液腺では様々な分子の発現変化により腺肥大と機能亢進を起こすと考えられるが、そのしくみを明らかにするには膨大な種類の遺伝子を調べる必要があった。最近我々は、*in vivo* イメージング実験系により、口腔乾燥症状改善薬 (ピロカルピン) が唾液腺のムスカリン受容体刺激に対する感受性を増大させること明らかにし、さらに次世代シーケンシング法 (RNA-seq) による約 10000 種類の遺伝子発現の解析結果から、ピロカルピン投与によって唾液腺や脳で発現量が変化する遺伝子を発見した。

2. 研究の目的

唾液腺は片側が機能不全に陥ると反対側の唾液腺が機能を補う代償性肥大が生じ、唾液分泌機能の亢進が起こる。本研究では「唾液腺で誘導される代償性肥大とその機能亢進はどのようなシグナルにより誘導されるのか？ また肥大や機能亢進にどのような分子が関わるのか？」を明らかにすることを目的とする。本目的を達成するため、代償性肥大を起こした唾液腺における Ca^{2+} 応答や血流動態 *in vivo* イメージングと唾液分泌のリアルタイム測定を用いて、受容体拮抗薬や神経切断による影響について解析を行った。さらに 遺伝子発現量の網羅的解析により、代償性肥大の誘導、細胞の分化・増殖さらに分泌機能亢進に関わる遺伝子を同定し、その分子基盤を明らかにしようと考えた。

3. 研究の方法

(1) 顎下腺 Ca^{2+} 応答と血流動態の *in vivo* イメージングと唾液分泌の機能解析

蛍光 Ca^{2+} センサーの導入

Ca^{2+} イメージングは YC-Nano50 発現ウイルスベクターをラット顎下腺開口部から逆行性に注入し、36 時間後に実験に用いた。

In vivo Ca^{2+} イメージングによる顎下腺の Ca^{2+} 応答のリアルタイム測定

YC-Nano50 の発現した顎下腺におけるアセチルコリン (ACh) による Ca^{2+} 応答を、3CCD カメラを装着したマルチズーム蛍光顕微鏡 (NIKON AZ100) を用いてイメージングシステム (AQUACOSMOS/ASHURA) で測定し解析した。

血流イメージングによる顎下腺血流のリアルタイム測定

二次元レーザースペックル血流計 (OMEGAZONE) を用いて顎下腺の血流量変化を測定した。

唾液分泌のリアルタイム測定:

顎下腺開口部に挿入したカニューレに微小圧力センサーを挿入し、ACh 刺激により生じた唾液分泌による圧力変化を測定した。

薬物投与: 唾液分泌刺激は、大腿静脈に挿入したカニューレにより ACh を持続的に注入することで行った。また受容体拮抗薬や阻害剤は腹腔内、皮下あるいは静脈内投与により行った。

(2) 代償性肥大誘導顎下腺の Ca^{2+} 応答および唾液分泌機能の解析

ラットを麻酔し、片側顎下腺の導管を絹糸で結紮し (0 日)、3、7 および 21 日後に反対側の顎下腺の機能解析を行った。コントロール群としてシャム手術を行い、同じ期間飼育したものを使用した。ACh 持続投与による Ca^{2+} 応答と唾液分泌を同時に測定し、コントロール群と反応性を比較した。

(3) 代償性肥大における顎下腺の遺伝子発現量の網羅的解析

代償性肥大顎下腺の遺伝子発現の網羅的解析: 導管結紮後の反対側顎下腺を摘出し、その一部から total RNA を抽出した。調製した RNA サンプルを使って次世代シーケンシング法 (RNA-Seq: アプロサイエンス社) による網羅的解析により肥大腺で変化する遺伝子発現の定量的発現プロ

ファイリングを実施した。

代償性肥大によって変化する遺伝子の定量的解析
網羅的解析によって発現量に変化が見られた遺伝子の発現量をリアルタイム PCR (qRT-PCR) により定量解析した。

顎下腺の代償性肥大の誘導シグナルの解析

片側顎下腺の導管結紮手術後、副交感神経遮断薬 (アトロピン) や神経節遮断薬などの各種遮断薬を投与した。薬物投与群および非投与群における反対側顎下腺の遺伝子発現量変化を qRT-PCR で解析した。

(4) 顎下腺の代償性肥大に関わる分子の発現量および局在解析

肥大関連タンパク質発現の定量的解析

肥大顎下腺における AQP5 発現量を解析するため、抗 AQP5 抗体を用いたウエスタンブロット法により解析した。

肥大腺における細胞増殖活性の検出

顎下腺あるいは耳下腺における細胞増殖活性の検索のために抗 PCNA 抗体を用いた免疫染色を行い、腺房細胞と導管細胞の陽性率を算出した。

4. 研究成果

(1) 片側障害によって惹起される反対側顎下腺の重量変化

片側顎下腺導管を結紮後、3、7 および 21 日の顎下腺重量を測定した。コントロール群と比べて3日から反対側顎下腺重量の増加が見られ、7 および 21 日で約 10% の有意な増加が認められた (図 1B および C)。このときの結紮側顎下腺の重量は結紮後の日数とともに減少し、21 日ではコントロール群の約 30% まで萎縮した (図 1)。この結果は、導管結紮が正しく行われていることを示している。

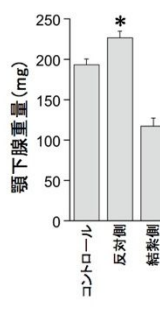
(2) 片側障害によって惹起される反対側顎下腺の唾液分泌亢進

片側顎下腺導管を結紮後、7 および 21 日の反対側顎下腺からの唾液分泌速度を調べた。ACh の持続的な静脈内投与によって、濃度 (10~720 nmol/min) に依存した唾液分泌速度の上昇が見られた。高濃度 ACh (360 nmol/min) による最大の唾液分泌速度はコントロール群と反対側顎下腺群において、いずれも 230 (μl/10 min) となり両群間に差は認められなかった。また ACh に対する反応性を比較したところ、21 日の顎下腺では ACh による唾液分泌の 50% 有効量 (ED₅₀) は反対側群とコントロール群でそれぞれ 80 および 140 (nmol/min) となり、反対側の顎下腺では ACh に対する感受性は 1.5 倍亢進していることが明らかとなった (図 2)。一方、7 日では反対側群とコントロール群で唾液分泌速度に違いは認められなかった。

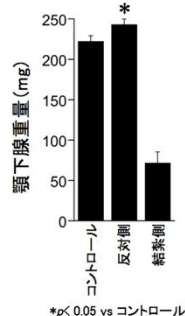
A



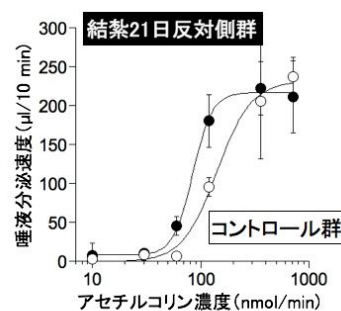
B 結紮後7日



C 結紮後21日



(図1)片側主導管結紮による反対側顎下腺の重量変化

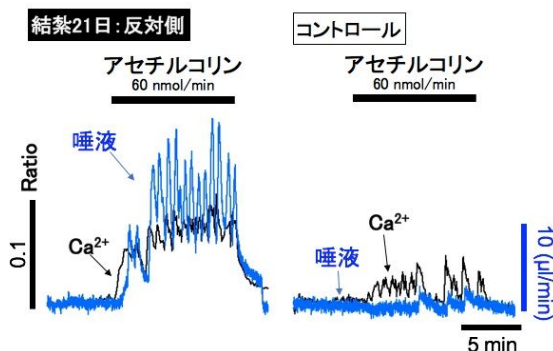


(図2)AChによる唾液分泌機能解析

(3) 反対側顎下腺における細胞内 Ca²⁺応答と唾液分泌の同時測定

結紮後 21 日の反対側顎下腺の Ca²⁺応答と唾液分泌を同時に測定した。低濃度の ACh (60 nmol/min) でコントロール群の Ca²⁺応答は低く、唾液分泌もほとんど観察されなかった。一方で反対側では Ca²⁺応答の増強が認められ、さらにそれに伴う唾液分泌が観察された (図 3)。

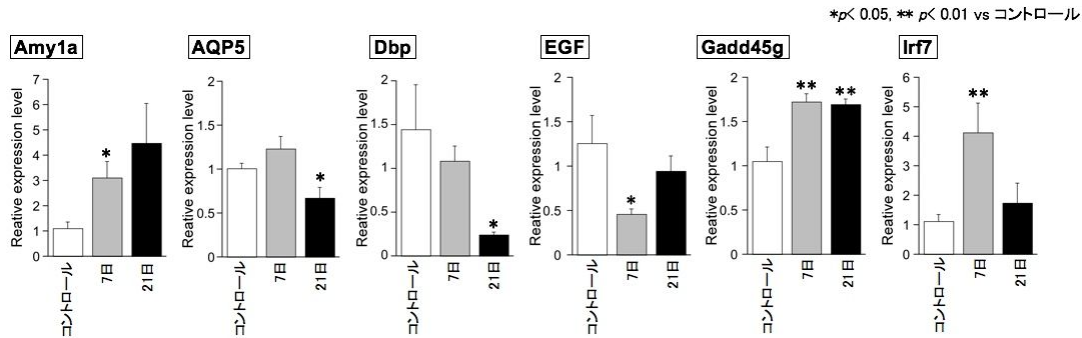
(1)~(3)の結果をまとめると、片側障害によって反対側の顎下腺の肥大が誘導されるが、その重量増加は僅かであった。興味深いことに、反対側顎下腺では ACh による Ca²⁺応答に対する感受性が亢進しており、片側障害によって誘導された肥大腺は分泌刺激に対する腺房細胞の Ca²⁺応答性が増加した機能亢進腺となっていることが明らかとなった。



(図3)AChによる細胞内Ca²⁺応答と唾液分泌の同時測定

(4) 反対側顎下腺における遺伝子変化の解析

反対側顎下腺でどのような遺伝子が変化しているのかを明らかにするため、次世代シーケンズによる網羅的な遺伝子発現解析を行った。その結果、検出できた 9852 遺伝子のうち結紮 7 日以降で変化する 57 個の遺伝子を同定した。これらの遺伝子発現量を定量的に解析するため qRT-PCR を行った。まず変化率の大きな 12 個の遺伝子について定量解析を行ったところ、Amy1a、AQP5、Dbp、EGF、Gadd45g および Irf7 の 6 遺伝子が 7 日以降で有意に変化することが明らかとなった(図 4)。これらのうち、Amy1a、EGF、Gadd45g および Irf7 は 7 日で変化することから、機能亢進誘導の早期マーカーとして有用であると考えられた。また結紮後 3 日において、Amy1a (腺房細胞マーカー) の発現上昇と EGF (導管細胞マーカー) の発現低下が観察された。

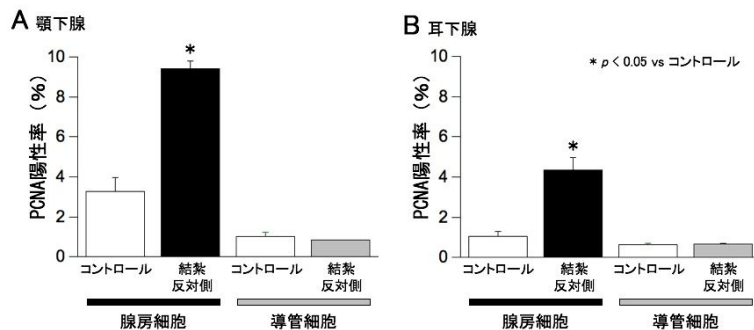


(図4) 網羅的遺伝子解析とqRT-PCRによる結紮反対側顎下腺で変化する遺伝子の同定

(5) 片側顎下腺結紮による腺房細胞と導管細胞における細胞増殖因子の変動

細胞増殖活性の検索のため、結紮後 3 および 7 日の反対側顎下腺における PCNA 陽性細胞の算出を試みた。3 日の顎下腺の腺房細胞に加え、耳下腺の腺房細胞で PCNA 陽性細胞の増加が認められた(図 5)。また導管細胞では陽性率の変化は認められなかった。

これら(4)と(5)の結果は、片側障害のシグナルは比較的早期から残った唾液腺の導管から腺房細胞への変化や腺房細胞の増殖が起こっていることを示唆している。また、誘導シグナルは残った全ての唾液腺に影響を与えている可能性が示された。



(図5) 片側顎下腺結紮後3日の腺房細胞と導管細胞における細胞増殖因子の変化

(6) 機能亢進腺誘導シグナルの検索

これまでの検討により得られた 6 つの遺伝子のうち 4 つの早期マーカー遺伝子 (Amy1a、EGF、Gadd45g および Irf7) を用いて、片側障害による機能亢進誘導シグナルの解析を行った。導管結紮後に副交感神経遮断薬 (アトロピン) を 1 日 1 回 (10 mg/kg) に皮下投与したのち、マーカー遺伝子発現量を qRT-PCR により定量的に解析した。アトロピン投与後の反対側顎下腺において、Gadd45g 発現量を抑制した。一方で、アトロピンでは 3 つマーカー遺伝子 (Amy1a、EGF および Irf7) の発現量変化を有意に抑制しなかった。またアトロピン投与は 7 日における反対側の顎下腺重量増加を抑制した。

以上の結果から、機能亢進誘導シグナルとして副交感神経終末から放出される ACh が関与することが明らかとなった。一方で、マーカー遺伝子の発現量変化に対するアトロピンを用いた実験から、ACh 以外の他の因子がこの機能亢進に関与する可能性が強く示唆された。

(まとめ)

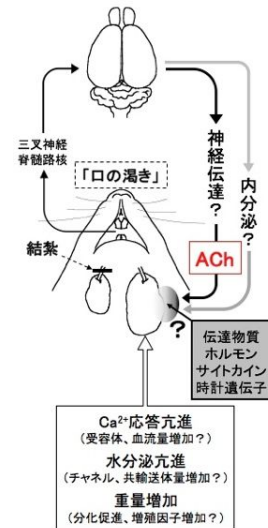
本研究では、片側障害によって惹起される反対側顎下腺の肥大を伴った機能亢進誘導のメカニズムとその分子基盤を明らかにするため、*in vivo* Ca²⁺イメージングと唾液分泌の同時測定による機能解析法と次世代シーケンシングを用いた網羅的遺伝子解析により解析を行った。

片側顎下腺の障害は残った反対側顎下腺の重量増加を起こすが、その変化は僅かであった。また *in vivo* 機能解析結果から、片側障害は残った顎下腺の ACh に対する Ca²⁺応答に対する感受性を亢進させ、より弱い刺激で十分な分泌を起こす「機能亢進腺」に変化させることを初めて明らか

となった。遺伝子発現解析により、機能亢進腺で変化する少なくとも6つの遺伝子が同定され、うち3つは腺房細胞マーカー（Amy1a および AQP5）と導管細胞マーカー（EGF）であった。またうち1つが時計遺伝子（Dbp）であり、この結果から時計遺伝子の変動が機能亢進に関わっている可能性が考えられるが、現在のところその関連は不明である。本研究課題において網羅的遺伝子解析により57遺伝子が同定されたが、現在までに発現量が定量解析されたのは12個で、未解析の45個に関連するものがまだ含まれている可能性が高い。

本研究期間で得られた6遺伝子をマーカーとして、機能亢進シグナルの時間的変動とその因子を調べた実験では、結紮後わずか3日で腺房細胞と導管マーカーに有意な変化が認められた。この結果は、片側障害は速やかに残った唾液腺に作用し、機能亢進を誘導していることを示している。また Amy1a の上昇と EGF の減少が認められたこと、PCNA 陽性細胞数が顎下腺だけでなく耳下腺の腺房細胞でも増加していることから、導管から腺房細胞への変化と腺房細胞の増殖が残った唾液腺で起こっていることが明らかとなった。

またアトロピン投与は Gadd45g の発現を抑制したことから、その誘導シグナルの一つとして少なくとも ACh が関与することが明らかとなった。一方で、アトロピンが発現量変化に影響しない3つのマーカー遺伝子が存在した。この結果は、シグナル因子として他の物質が関わっている可能性を強く示唆している。これが神経終末から分泌された他の伝達物質（ノルアドレナリン、VIP およびサブスタンス P など）なのか、それとも血漿中の因子（エンドセリン、トロンボキサン A2 およびアンジオテンシン など）なのかは現在のところ確かめられていない（図6）。今後、神経節遮断薬や各種受容体遮断薬を用いることで、ACh 以外の因子が同定されることが期待される。



(図6)機能亢進腺への誘導

<引用文献>

Nezu A, Morita T, Tojyo Y, Nagai T, Tanimura A. Partial agonistic effects of pilocarpine on Ca^{2+} responses and salivary secretion in the submandibular glands of live animals. *Exp Physiol* 100: 640-651, 2015.

Nezu A, Morita T, Nagai T, Tanimura A. Simultaneous monitoring of Ca^{2+} responses and salivary secretion in live animals reveals a threshold intracellular Ca^{2+} concentration for salivation. *Exp Physiol* 104: 61-69, 2019.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nezu A, Morita T, Nagai T, Tanimura A	4. 巻 104
2. 論文標題 Simultaneous monitoring of Ca ²⁺ responses and salivary secretion in live animals reveals a threshold intracellular Ca ²⁺ concentration for salivation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Experimental physiology	6. 最初と最後の頁 61 ~ 69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/EP086868	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 谷村明彦, 根津顕弘, 森田貴雄, 村田佳織	4. 巻 152
2. 論文標題 IP3シグナル解析法の進歩と細胞内カルシウム研究への応用	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Folia pharmacologica Japonica	6. 最初と最後の頁 21 ~ 27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1254/fpj.152.21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計22件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 根津顕弘, 森田貴雄, 谷村明彦.
2. 発表標題 Intravital Ca ²⁺ イメージングと遺伝子の網羅的解析を用いた唾液腺代償性機能亢進の分子メカニズムの解明
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tahmina Akter, Akihiro Nezu, Akihiko Tanimura.
2. 発表標題 Comparison of acetylcholine-induced salivary secretion in rat strains with different AQP5 expression.
3. 学会等名 北海道医療大学歯学会第38回学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 根津顕弘, 森田貴雄, 石井久淑, 谷村明彦
2. 発表標題 アセチルコリンによって生じる顎下腺の組織レベルで同調するCa ²⁺ オシレーションとその発生機構
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会・総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akihiro Nezu, Takao Morita, Akihiko Tanimura
2. 発表標題 Analysis of acetylcholine-induced tissue-widely synchronized Ca ²⁺ oscillations in rat submandibular gland using intravital imaging
3. 学会等名 Resonance Bio International Symposium (RBIS) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 根津顕弘, 森田貴雄, 永井健治, 石井久淑, 谷村明彦
2. 発表標題 アセチルコリンによって生じる顎下腺の組織レベルで同調するCa ²⁺ オシレーションと血流動態
3. 学会等名 第70回日本薬理学会北部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 根津顕弘, 森田貴雄, 永井健治, 谷村明彦
2. 発表標題 In vivo Ca ²⁺ イメージングと遺伝子発現の網羅的解析による唾液腺の代償性機能亢進機序の解明
3. 学会等名 第63回日本唾液腺学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 根津顕弘, 森田貴雄, 谷村明彦.
2. 発表標題 In vivo Ca ²⁺ イメージングと遺伝子の網羅的解析による唾液腺代償性機能亢進の分子メカニズムの解析
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森田貴雄, 根津顕弘, 梨田智子, 谷村明彦
2. 発表標題 唾液腺培養細胞におけるムスカリン受容体刺激による遺伝子発現変化
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 根津顕弘, 森田貴雄, 谷村明彦
2. 発表標題 In vivo Ca ²⁺ イメージングと遺伝子の網羅的解析による唾液腺代償性機能亢進の分子メカニズムの解析
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akihiro Nezu, Takao Morita, Akihiko Tanimura.
2. 発表標題 Simultaneous monitoring of Ca ²⁺ response and salivary secretion in rat submandibular gland in live animals.
3. 学会等名 WCP2018 KYOTO 18th world congress of basic and clinical pharmacology_ (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 根津顕弘、森田貴雄、石井久淑、永井健治、谷村明彦
2. 発表標題 アセチルコリンによって惹起される顎下腺全体で同期するCa ²⁺ オシレーションとその発生機構
3. 学会等名 新学術領域「レゾナンスバイオ」班会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 根津顕弘、森田貴雄、谷村明彦
2. 発表標題 アセチルコリンによるラット顎下腺の唾液分泌における細胞内Ca ²⁺ 濃度の閾値の算定
3. 学会等名 第59回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 谷村明彦、根津顕弘、森田貴雄
2. 発表標題 受容体刺激による唾液分泌と機能亢進:Ca ²⁺ 応答と遺伝子発現制御
3. 学会等名 第59回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森田 貴雄、根津 顕弘、梨田 智子、谷村 明彦
2. 発表標題 ピロカルピン刺激を介した顎下腺及び脳における遺伝子発現の亢進
3. 学会等名 第59回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	森田 貴雄 (MORITA Takao) (20326549)	日本歯科大学・新潟生命歯学部・教授 (32667)	
研究 分担者	谷村 明彦 (TANIMURA Akihiko) (70217149)	北海道医療大学・歯学部・教授 (30110)	
連携 研究者	赤松 徹也 (AKAMATSU Tetsuya) (80294700)	徳島大学・大学院生物資源産業学研究部・准教授 (16101)	