

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：32667

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09821

研究課題名（和文）唾液腺感受性亢進における アレスチンシグナル経路の関与とその分子機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of involvement of beta-arrestin signaling pathway in salivary gland sensitivity enhancement and its molecular mechanism

研究代表者

森田 貴雄（Morita, Takao）

日本歯科大学・新潟生命歯学部・教授

研究者番号：20326549

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、ピロカルピンの連続投与による唾液分泌量増加の分子メカニズムを明らかにすることを目的とする。ラットあるいは唾液腺由来培養細胞のHSY細胞において、ピロカルピン刺激により、MAPキナーゼ（ERK）のリン酸化およびCtgf遺伝子発現の亢進が観察された。これらの亢進作用は、ムスカリン受容体アンタゴニスト、Srcキナーゼ阻害剤、アレスチン阻害剤により抑制された。これらのことから、ピロカルピン刺激によるCtgf遺伝子の発現誘導は、ムスカリン受容体の活性化に続くアレスチン経路、SrcおよびMAPキナーゼシグナル経路を介していると示唆され、この経路が唾液分泌増加に関与する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果から、ピロカルピンが、従来考えられてきたCa²⁺シグナルを介した唾液分泌に加え、受容体刺激を介したアレスチン経路に続く遺伝子発現調節により、分泌機能を亢進させる可能性が考えられた。他のGPCRの研究ではアレスチン経路と薬物の副作用との関係が知られており、より副作用の少ない薬物の開発に結びつく期待される。また、遺伝子発現調節を介した唾液腺の機能的変化、すなわち「唾液の出やすい唾液腺」への誘導作用を持つ可能性が示された。

さらに、ムスカリン受容体活性化を介した細胞内シグナルメカニズムの一端が明らかになったことから、唾液腺以外の様々な分野の研究に応用されると期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to elucidate the molecular mechanism underlying the increase in salivary secretion induced by continuous administration of pilocarpine. We observed enhanced phosphorylation of MAP kinase (ERK) and Ctgf gene expression upon pilocarpine stimulation in rat submandibular gland and/or cultured salivary gland-derived cells (HSY). These enhancement effects were inhibited by muscarinic receptor antagonists, Src kinase inhibitors, and β -arrestin inhibitors. These findings suggest that the induction of Ctgf gene expression by pilocarpine stimulation is mediated by the β -arrestin pathway, Src, and MAP kinase signaling pathways following muscarinic receptor activation, which may be involved in the increased salivary secretion.

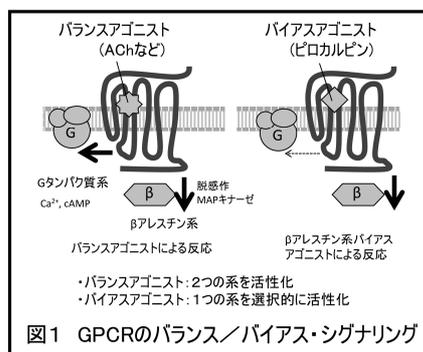
研究分野：口腔生化学

キーワード：ピロカルピン 唾液分泌 アレスチン MAPキナーゼ 遺伝子発現 ムスカリン受容体 唾液腺由来培養細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) これまでムスカリン受容体を含む G タンパク質共役型受容体 (GPCR) の機能の多くが G タンパク質を介する Ca^{2+} や cAMP 系で説明され、アレスチン (A) は活性化した GPCR に結合して脱感作させる機能抑制分子として知られてきた。しかし、近年、A がアダプター分子として MAP キナーゼ (MAPK) や転写因子を活性化し、遺伝子発現を調節することが明らかにされている (TIPS 35, 2014)。また、A 系を選択的に活性化するアゴニストが発見されたことから、「バイアスシグナル」という新たな概念が生まれ (図 1) G タンパク質系あるいは A 系の機能的選択性に着目した研究ツールや創薬が大きく注目されるようになった。



(2) 唾液分泌は、アセチルコリン (ACh) による腺房細胞のムスカリン受容体の活性化を介した細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇 (Ca^{2+} シグナル) により起こる。口腔乾燥症改善薬のピロカルピンは、ムスカリン受容体の Gq/11 タンパク質系の活性化を介した Ca^{2+} 応答による作用で唾液分泌を起こすと考えられてきた。しかし、我々のグループが開発した生きた動物の唾液腺の Ca^{2+} 応答の in vivo イメージングと唾液分泌のリアルタイム測定法を用いた実験では、ピロカルピン投与 1 週間後では低濃度の ACh 刺激による唾液分泌量と唾液腺の Ca^{2+} 応答に対する感受性が亢進していた (図 2)。この結果から、ピロカルピンが、従来考えられてきた Ca^{2+} シグナルを介した唾液分泌に加え、受容体刺激を介した唾液腺組織の器質的・機能的変化により分泌機能が亢進したこと、すなわち「唾液の出やすい唾液腺」への誘導作用を持つことが示された。

(3) そこで我々は、ピロカルピンによる「唾液の出やすい唾液腺」への誘導の分子機構を解明するために、次世代シーケンサーを使った網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、100 以上の遺伝子の顕著な発現変化が顎下腺と脳で見られ、この中には Ctgf, Sgk1, Wnt4, Vegfa など神経興奮や細胞増殖、血管新生に関与する分子が含まれていた。これらの遺伝子発現に A を介する MAPK 系の活性化が関与する可能性が強く示唆された。

2. 研究の目的

本研究は、「ピロカルピンの長期投与によって誘発される唾液分泌の感受性亢進」の分子メカニズムを明らかにし、「唾液が出やすい唾液腺」へ誘導させる新しい治療法開発の分子基盤を構築することを目的とする。

ピロカルピンの新たな作用として、A シグナル経路活性化のメカニズムを明らかにすることで、ムスカリン受容体活性化を介した細胞内シグナルメカニズムの全容が解明される。さらに、ピロカルピンやバイアスアゴニストによる、MAPK 系の活性化と A 系の関与と、遺伝子発現に対する A 系と MAPK 系の関与を明らかにすることによって A 経路活性化の分子機構を明らかにする。これらによってピロカルピンによる機能亢進機構を解明し、治療法開発の基盤を構築することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ラット顎下腺における遺伝子発現解析

Wistar ST 雄性ラット (9 週齢) にピロカルピン (1 mg/kg) を腹腔内投与し、1 週間後同ラット (10 週齢) に再度ピロカルピンを投与して 30 分後に顎下腺を摘出した。あるいは無刺激の 9 週齢ラットから顎下腺を摘出した。顎下腺からの total RNA 抽出は Trizol (Thermo Fisher Scientific) を用いてマニュアルに従った。

(2) 細胞培養および培養細胞からの total RNA 抽出

HSY 細胞は 10% 牛胎児血清 (FBS)、ペニシリン (100 U/ml) - ストレプトマイシン (100 μ g/ml) (Thermo Fisher Scientific) 含有 Dulbecco's Modified Eagle's Medium Nutrient Mixture F-12 HAM (Fujifilm Wako Pure Chemical) 培地を用いて 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下で培養し、35mm ディッシュに 3×10^5 個播種した。翌日、無血清培地に交換し、24 時間後にピロカルピン刺激を行った。HSY 細胞を無血清培地にピロカルピン塩酸塩 10 μ M あるいは 100 μ M で刺激し、24 時間後にプロトコールに従って miRNeasy kit (QIAGEN) を用いて total RNA 抽出を行った。

SH-SY5Y 細胞は 10% FBS、ペニシリン (100 U/ml) - ストレプトマイシン (100 μ g/ml) 含有 Dulbecco's Modified Eagle's Medium 培地を用いて 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下で培養し、35mm ディッシュに 3×10^5 個播種した。翌日、無血清培地に交換し、24 時間後にピロカルピン刺激を行った。ピロカルピン 100 μ M 刺激 3 日後、Trizol を用いて total RNA 抽出を行った。

(3) cDNA 作製およびリアルタイム定量 PCR

定量 PCR に用いた各プライマーは Primer 3 software を用いて設計した。1 µg total RNA から、Random Hexamer primer (1.25 µM, Invitrogen) Recombinant RNasin® (40 U/20 µl, PROMEGA) Rever Tra Ace™ (100 U/20 µl, TOYOBO) を用いて cDNA を作製した。リアルタイム定量 PCR はプロトコルに従い StepOnePlus Real Time PCR System と PowerTrack SYBR Green Master Mix (Applied biosystems) を用いて行った。それぞれの遺伝子の発現レベルは内部標準の GAPDH の発現レベルで補正し、 2^{-CT} 法により発現レベルを比較した。

(4) ウェスタンブロット

細胞を無血清培地下にピロカルピン塩酸塩 10 µM あるいは 100 µM で刺激し、10~15 分後に培地を除去して RIPA バッファー (Pierce) + cOmplete™ protease inhibitor tablet (Roche)、あるいは lysis buffer (50 mM Tris·HCl pH 7.4, 150 mM NaCl, 1% SDS, protease and phosphatase inhibitor cocktails (Nacalai tesque), Yanuar et al., JOB, 2024) を加えて細胞を溶解した。細胞溶解液を 4、12,000rpm で 5 分間遠心し、上清をタンパク質サンプルとした。タンパク質濃度の測定にはプロテインアッセイ BCA キット (Nacalai tesque or Pierce) を用いた。

各タンパク質を 10~25 µg/レーンで 10% NuPAGE Tris-acetate gels (Invitrogen) で電気泳動を行い、ゲルを PVDF 膜に iBlot Gel Transfer Stacks (Thermo Fisher Scientific) を用いて転写した。プロットした PVDF 膜は 5% skim milk/TBST を用いて室温で 1 時間ブロッキングを行った。ブロッキング後、一次抗体希釈バッファー (5% BSA/TBST) を用いて 4 で一晩、一次抗体反応を行った。一次抗体には、p44/42 MAPK Rabbit mAb (1/2000, Cell Signaling technology) および phospho-p44/42 MAPK Rabbit mAb (1/1000, Cell Signaling technology) を用いた。二次抗体反応は Anti-Rabbit IgG, Horseradish Peroxidase-Linked Whole Antibody from donkey (1/10000, Amersham) / 5% skim milk/TBST を用いて室温で 1 時間行った。バンドの検出には、SuperSignal™ West Dura Extended Duration Substrate (Pierce) と Image Quant LAS500 (GE Healthcare Technologies) を用いた。

(5) アレスチンアッセイ

アレスチンアッセイは PathHunter express -Arrestin assay kit (DiscoverX) を用いてマニュアルに従って行った。

(6) マウスにおける唾液分泌量変化の解析

マウス (C57BL/6 雄性, 9 週齢; ICR 雌性 16 週齢; NOD 雌性 16 週齢) に、ケタミン (100 mg/kg) + キシラジン (10 mg/kg) 混合麻酔下で、ピロカルピン (0.25 mg/kg) を腹腔内投与し、30 分間に口腔内に分泌された唾液をピペットで回収し、分泌量を測定した。その 1 週間後、同マウスに同量のピロカルピンを投与し、同様に分泌量を測定して変化量を解析した。

(7) 統計解析

実験データは Mann-Whitney U test もしくは Student's t-test を用いて統計解析を行った。結果は平均値 ± 標準誤差を示す。0.05 未満および 0.01 未満の P 値を有意とみなした。

4. 研究成果

(1) ラット顎下腺の遺伝子発現変化

ラットへのピロカルピンの 2 回刺激による唾液分泌量の増加に遺伝子発現の変化が関与していることが考えられたため、顎下腺の遺伝子発現をリアルタイム定量 PCR にて解析した。網羅的遺伝子発現解析で同定された Ctgf および Sgk1 遺伝子の発現変化を解析したところ、これらの mRNA 発現が無刺激群と比較して、有意に増加していた。(図 2)

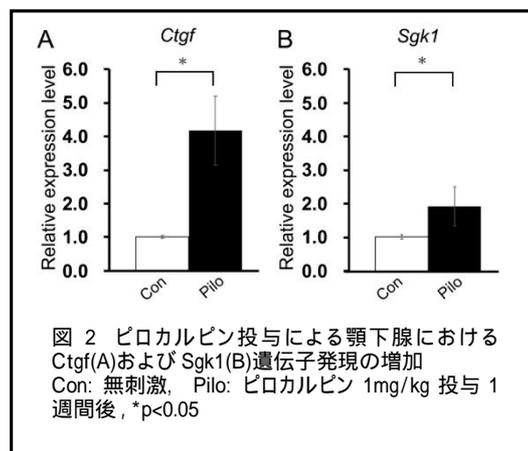


図 2 ピロカルピン投与による顎下腺における Ctgf(A) および Sgk1(B) 遺伝子発現の増加
Con: 無刺激, Pilo: ピロカルピン 1mg/kg 投与 1 週間後, *p<0.05

(2) HSY 細胞におけるピロカルピン刺激による MAPK リン酸化の亢進

ムスカリン受容体を含む G タンパク質共役型受容体 (GPCR) 刺激による遺伝子発現調節には MAPK 経路が関与しているとの報告があることから (Ma and Pei, JCS, 120, 2006)、ピロカルピン刺激による MAPK リン酸化の有無を解析した。HSY 細胞を無血清下でピロカルピン刺激を行うと、濃度依存的に MAPK のリン酸化亢進が観察された。(図 3)

(3) MAPK リン酸化における各種阻害剤の効果

ピロカルピン刺激による MAPK リン酸化亢進の細胞内シグナルメカニズムを検討するために、ムスカリン受容体アンタゴニストのアトロピン、Src キナーゼを阻害する PP2 を用いた。

HSY 細胞における 100 μ M ピロカルピン刺激による MAPK リン酸化の亢進は、1 μ M アトロピンおよび 1 μ M PP2 のいずれによっても阻害された(図 4)。このことから、ピロカルピン刺激による MAPK のリン酸化亢進はムスカリン受容体および Src キナーゼ活性化経路を介していることが示唆された。

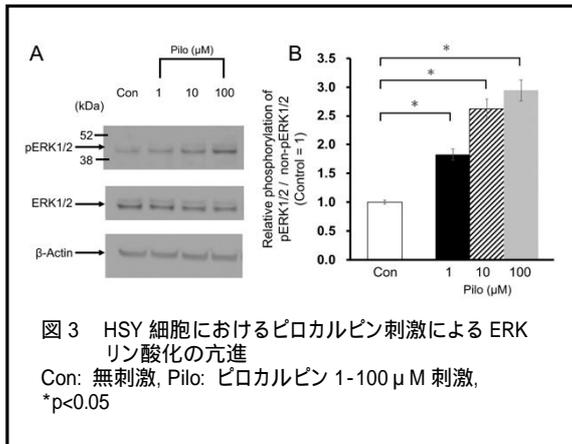


図 3 HSY 細胞におけるピロカルピン刺激による ERK リン酸化の亢進
Con: 無刺激, Pilo: ピロカルピン 1-100 μ M 刺激,
* p <0.05

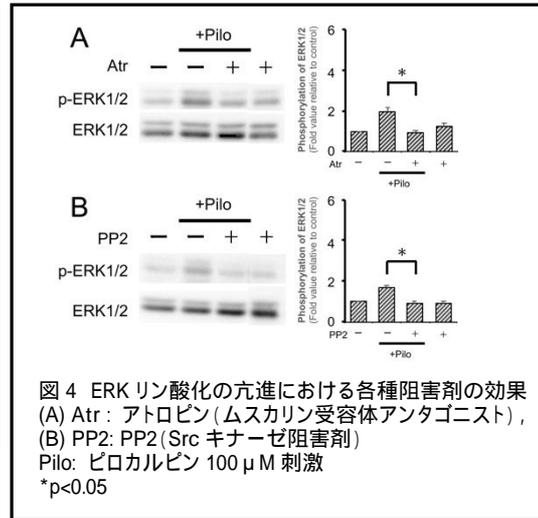


図 4 ERK リン酸化の亢進における各種阻害剤の効果
(A) Atr: アトロピン(ムスカリン受容体アンタゴニスト),
(B) PP2: PP2(Src キナーゼ阻害剤)
Pilo: ピロカルピン 100 μ M 刺激
* p <0.05

(4) HSY 細胞における Ctgf 遺伝子発現への各種阻害剤の効果

ピロカルピン刺激による Ctgf 遺伝子発現亢進の細胞内シグナルメカニズムを調べるため、唾液腺由来培養細胞の HSY 細胞を用いた。HSY 細胞でも、Ctgf 遺伝子はピロカルピン刺激により有意に増加した。(図 5A)

MAP キナーゼキナーゼである MEK 阻害剤の Trametinib の前処理により、ピロカルピン刺激による Ctgf 遺伝子発現亢進は抑制傾向にあった(図 5B)。Src 阻害剤である PP2(1 μ M)およびアトロピン(100 nM)によって Ctgf 遺伝子発現亢進は有意に抑制された。(図 5C,D) これらのことから、ピロカルピン刺激による Ctgf 遺伝子発現亢進は、ムスカリン受容体活性化に続く Src-MAPK 経路の活性化を介して起こることが示唆された。

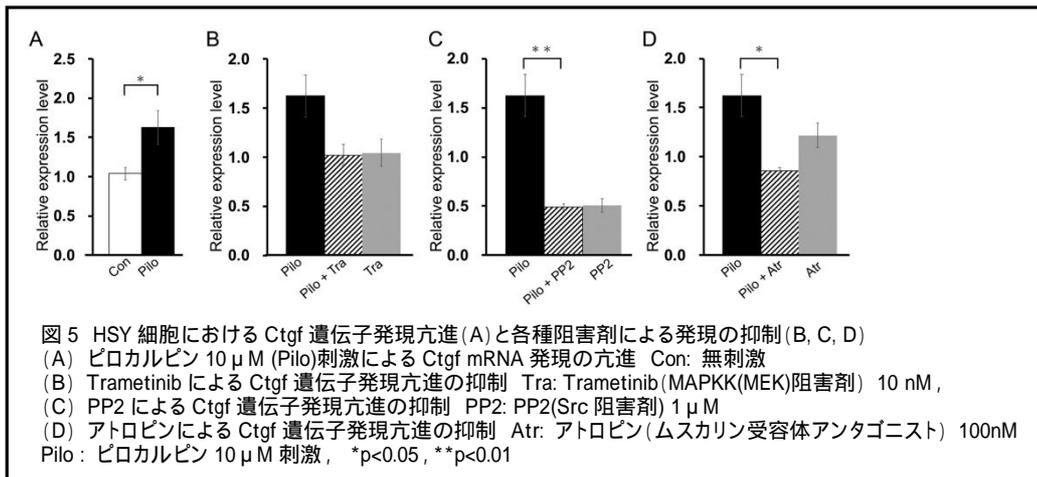


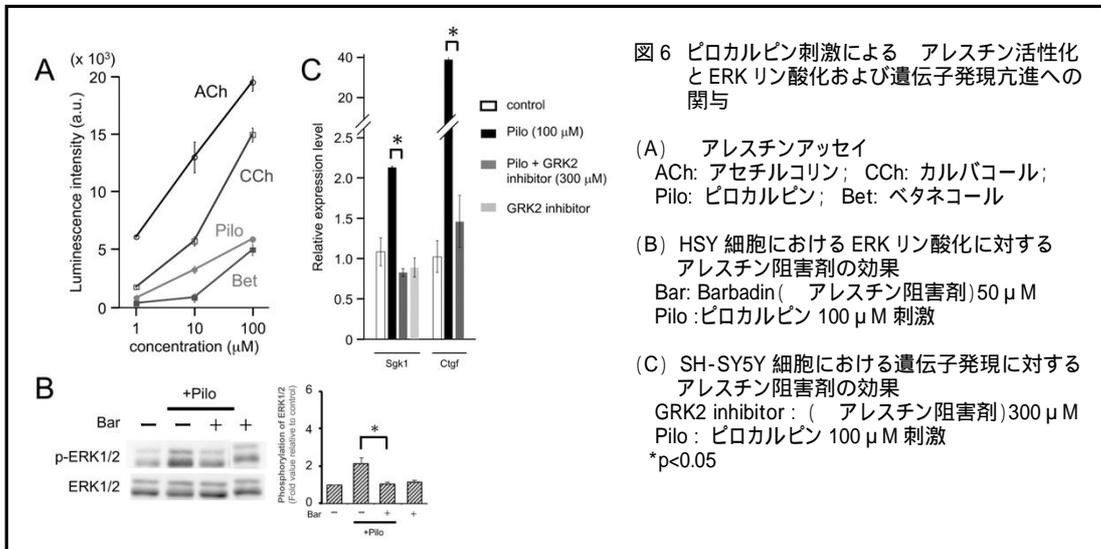
図 5 HSY 細胞における Ctgf 遺伝子発現亢進(A)と各種阻害剤による発現の抑制(B, C, D)
(A) ピロカルピン 10 μ M (Pilo)刺激による Ctgf mRNA 発現の亢進 Con: 無刺激
(B) Trametinib による Ctgf 遺伝子発現亢進の抑制 Tra: Trametinib (MAPKK(MEK)阻害剤) 10 nM,
(C) PP2 による Ctgf 遺伝子発現亢進の抑制 PP2: PP2(Src 阻害剤) 1 μ M
(D) アトロピンによる Ctgf 遺伝子発現亢進の抑制 Atr: アトロピン(ムスカリン受容体アンタゴニスト) 100nM
Pilo: ピロカルピン 10 μ M 刺激, * p <0.05, ** p <0.01

(5) 遺伝子発現亢進における アレスチンの関与

アレスチンが MAP キナーゼ(MAPK)や転写因子を活性化し、遺伝子発現を調節することが示唆されていることから(Ma and Pei, JCS, 120, 2006)、ピロカルピン刺激による遺伝子発現亢進に アレスチンが関与している可能性が考えられた。

ピロカルピンによる アレスチン活性化を検討したところ、他のムスカリン受容体アゴニストと同様に、ピロカルピンの濃度依存的な アレスチン活性化が観察された。(図 6A)

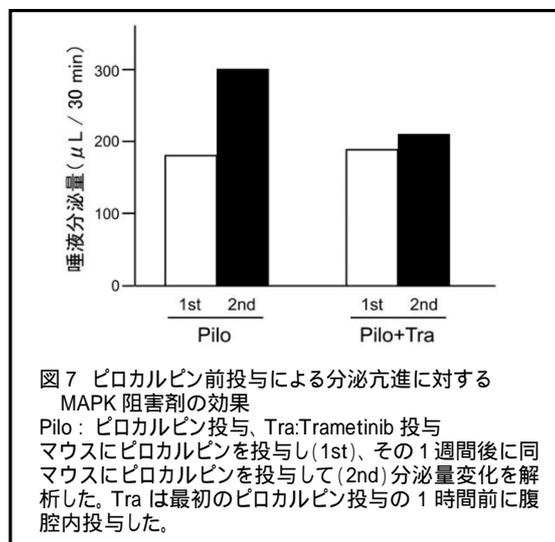
HSY 細胞および SH-SY5Y 細胞を用いて、アレスチン阻害剤の Barbadin および GRK2 inhibitor のピロカルピン刺激による ERK リン酸化および遺伝子発現に対する効果を検討した。ERK リン酸化は Barbadin により有意に抑制された(図 6B)。また、Sgk1 および Ctgf 遺伝子発現の亢進は GRK2 inhibitor により有意に抑制された(図 6C)。これらのことから、ピロカルピン刺激による MAPK リン酸化と遺伝子発現調節に アレスチンが関与していることが示唆された。



(6) マウスにおける唾液分泌への MAPK 阻害剤の効果

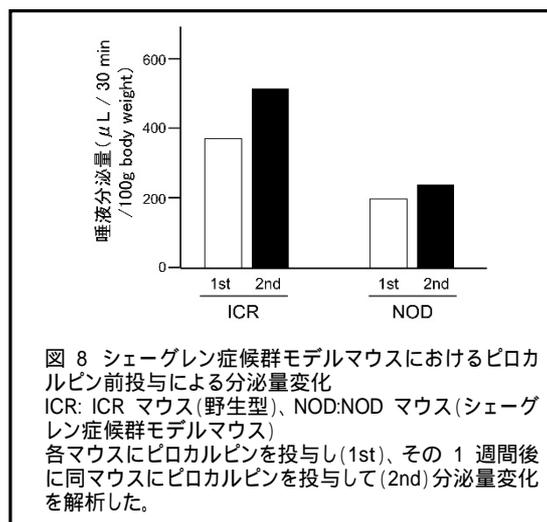
ピロカルピンの前投与による唾液分泌亢進に MAPK の活性化が関与していることが考えられたため、マウスへの MEK 阻害剤の投与により唾液分泌が変化するかを検討した。

C57BL/6 マウスに Trametinib (1 mg/kg) を投与し、その後ピロカルピンの 2 回投与による唾液分泌量変化を解析したところ、Trametinib 投与群では非投与群に比較して、唾液分泌亢進作用の減弱傾向が観察された (図7)。このことから、MAPK の活性化がピロカルピンの唾液分泌亢進作用に関与する可能性が考えられた。



(7) シェーグレン症候群モデルマウスにおける唾液分泌

シェーグレン症候群モデルマウス(NOD マウス)へのピロカルピンの 2 回投与により体重 100g 当たりの唾液分泌量が増加した。しかし、野生型マウスでは前投与により、体重 100g 当たりの唾液分泌量が約 1.4 倍増加したのに対し、NOD マウスでは約 1.2 倍程度の増加であった (図8)。このことから、シェーグレン症候群マウスでは、ピロカルピンの唾液分泌亢進作用が野生型に比較して低下している可能性が考えられた。



< 引用文献 >

- Violin et al., Biased ligands at G-protein-coupled receptors: promise and progress, Trends Pharmacol Sci, 35, 2014, 308-316
- Ma and Pei, -arrestin signaling and regulation of transcription, J Cell Sci, 120, 2006, 213-218
- Yanuar et al., Muscarinic acetylcholine receptor-mediated phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase in HSY salivary ductal cells involves distinct signaling pathways, J Oral Biosci, 2024

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 1. 著者名 Yamaguchi H, On J, Morita T, Suzuki T, Okada Y, Ono J, Evdokiou A | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Combination of Near-Infrared Photoimmunotherapy Using Trastuzumab and Small Protein Mimetic for HER2-Positive Breast Cancer | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci. | 6. 最初と最後の頁 12213 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms222212213 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |
| 1. 著者名 Ishida N, Murata K, Morita T, Semba S, Nezu A, Tanimura A | 4. 巻 42 |
| 2. 論文標題 Spontaneous calcium responses of SF2 rat dental epithelial cells stably expressing the calcium sensor G-GECO | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Biomed Res. | 6. 最初と最後の頁 193-201 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2220/biomedres.42.193 | 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 AKTER MST T, Nezu A, Akamatsu T, Tanimura A | 4. 巻 44 |
| 2. 論文標題 Role of aquaporin 5 and glandular blood flow in the acetylcholine-induced secretion of saliva in rats | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Biomed Res. | 6. 最初と最後の頁 51-63 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2220/biomedres.44.51. | 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 Yanuar R, Semba S, Nezu A, Tanimura A | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Muscarinic acetylcholine receptor-mediated phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase in HSY salivary ductal cells involves distinct signaling pathways | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 J Oral Biosci. | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.job.2024.02.002 | 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 Yamaguchi H, Suzuki T, Okada Y, Ono J, Sano H, Banba A, Sakata H, Ishikawa A, Morita T | 4. 巻 25 |
| 2. 論文標題 Near-Infrared Photoimmunotherapy using a Protein Mimetic for EGFR-positive Salivary Gland Cancer | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci. | 6. 最初と最後の頁 3233 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms25063233. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 Shimatani M, Morita T, Yanuar R, Nezu A, Tanimura A | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Local anesthetics inhibit muscarinic acetylcholine receptor-mediated calcium responses and the recruitment of β -arrestin in HSY human parotid cells | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 J Oral Biosci. | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2024.04.002. | 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31件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

| |
|----------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 坂詰博仁, 山口晴香, 佐藤律子, 板垣壮侑, 吉田織恵, 根津顕弘, 谷村明彦, 田中彰, 森田貴雄 |
| 2. 発表標題 ピロカルピンとベタネコール刺激による唾液分泌変化の違い |
| 3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会 |
| 4. 発表年 2022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 アセチルコリン刺激による顎下腺全体で起こるCa ²⁺ オシレーションと血流振動の制御メカニズム |
| 3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 山口晴香, 坂詰博仁, 板垣壮侑, 森田貴雄 |
| 2. 発表標題 EGFR過剰発現唾液腺癌に対する新しい光免疫療法 |
| 3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|----------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 坂詰博仁, 竹澤晴香, 佐藤律子, 板垣壮侑, 吉田織恵, 根津顕弘, 谷村明彦, 田中彰, 森田貴雄 |
| 2. 発表標題 ピロカルピンとベタネコール刺激によるシグナル伝達経路についての検討 |
| 3. 学会等名 第66回日本唾液腺学会学術集会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|----------------------------------------|
| 1. 発表者名 山口晴香, 岡田康男 |
| 2. 発表標題 EGFR過剰発現唾液腺がんに対する新規光免疫療法の開発 |
| 3. 学会等名 第41回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Haruka Yamaguchi-Takezawa, Takamasa Suzuki, Yasuo Okada, Junya Ono, Hiroto Sano, Akihiro Ishikawa, Hideyuki Sakata, Akiko Banba, Takao Morita |
| 2. 発表標題 Near-infrared photoimmunotherapy using a small protein mimetic for brain metastasis of HER2-overexpressing breast cancer |
| 3. 学会等名 第12回国際放射線神経生物学会大会 (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|-----------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 水橋 史, 小出 馨, 森田貴雄, 戸谷収二, 近藤敦子, 浅沼直樹, 佐藤利英, 渡會侑子 |
| 2. 発表標題 口腔乾燥症患者の唾液バイオマーカーの模索 |
| 3. 学会等名 公益社団法人日本補綴歯科学会第130回記念学術大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Yamaguchi H, On J, Morita T, Suzuki T, Okada Y, Ohno J, Evdokiou A |
| 2. 発表標題 Combination Near-Infrared Photoimmunotherapy Using Trastuzumab and Small Protein Mimetic for HER2 Overexpressing Breast Cancer |
| 3. 学会等名 World Molecular Imaging Congress 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---------------------------------------------|
| 1. 発表者名 森田貴雄, 根津顕弘, 山口晴香, 佐藤律子, 谷村明彦 |
| 2. 発表標題 ピロカルピン刺激による遺伝子発現変化における アレスチン系の関与 |
| 3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会 |
| 4. 発表年 2021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 アセチルコリン刺激によって生じる顎下腺のCa ²⁺ と血流オシレーションとその調節機構 |
| 3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 山口晴香, 森田貴雄 |
| 2. 発表標題 EGFR 過剰発現唾液腺癌に対する新しい光免疫療法 |
| 3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会 |
| 4. 発表年 2021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 アセチルコリン刺激により生じる顎下腺のCa ²⁺ オシレーションと血流振動の調節機構 |
| 3. 学会等名 第65回日本唾液腺学会学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Nezu A, Morita T, Ishii H, Nagai T, Tanimura A |
| 2. 発表標題 Relationship between synchronized tissue-wide Ca ²⁺ oscillations and blood flow fluctuations induced by acetylcholine in rat submandibular gland |
| 3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--------------------------------------------|
| 1. 発表者名 山口晴香 |
| 2. 発表標題 EGFR 過剰発現唾液腺癌に対する抗体小分子を用いた光免疫療法 |
| 3. 学会等名 第40回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|-----------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 森田貴雄, 坂詰博仁, 山口晴香, 板垣壮侑, 吉田織恵, 根津顕弘, 谷村明彦 |
| 2. 発表標題 ピロカルピン刺激による唾液分泌亢進と遺伝子発現における細胞内シグナル経路の探索 |
| 3. 学会等名 第63回新潟生化学懇話会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Yamaguchi-Takezawa H, Suzuki T, Okada Y, Ono J, Sano H, Ishikawa A, Sakata H, Banba A, Morita T |
| 2. 発表標題 Near-infrared Photoimmunotherapy Using Small Affinity Protein for EGFR Positive Salivary Gland Cancer |
| 3. 学会等名 World Molecular Imaging Congress 2023 (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|----------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 坂詰博仁, 森田貴雄, 山口晴香, 板垣壮侑, 吉田織恵, 根津顕弘, 谷村明彦, 田中彰 |
| 2. 発表標題 ピロカルピン刺激による遺伝子発現における細胞内経路の探索 |
| 3. 学会等名 第65回歯科基礎医学会学術大会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|------------------------------------------|
| 1. 発表者名 根津顕弘, 高橋茂, 加藤志織, 谷村明彦 |
| 2. 発表標題 口腔感覚刺激を介した唾液腺の自己回復のしくみの薬理学的解析 |
| 3. 学会等名 第65回歯科基礎医学会学術大会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Haruka Yamaguchi-Takezawa, Takamasa Suzuki, Yasuo Okada, Junya Ono, Hiroto Sano, Akiko Banba, Hideyuki Sakata, Akihiro Ishikawa, Takao Morita |
| 2. 発表標題 Near-infrared Photoimmunotherapy Using a Small Protein Mimetic for Brain Metastasis of HER2-Overexpressing Breast Cancer |
| 3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|-----------------------------------------------|
| 1. 発表者名 今井あかね, 煤賀美緒, 竹澤晴香, 岡 俊哉 |
| 2. 発表標題 青年期および熟年期健康成人女性の唾液エクソソームの特性と調製法の検討 |
| 3. 学会等名 第10回日本細胞外小胞学会学術集会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|----------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 森田貴雄, 坂詰博仁, 山口晴香, 板垣壮侑, 吉田織恵, 根津顕弘, 谷村明彦, 田中彰 |
| 2. 発表標題 ピロカルピン刺激による遺伝子発現におけるMAPK経路の関与と唾液分泌への影響 |
| 3. 学会等名 第96回日本生化学会大会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|-----------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 山口-竹澤晴香, 鈴木孝昌, 森田貴雄 |
| 2. 発表標題 多機能性リポソーム製剤による口腔癌に対する新たなドラッグデリバリーシステムの開発 |
| 3. 学会等名 第96回日本生化学会大会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 根津顕弘, 高橋茂, 加藤志織, 谷村明彦 |
| 2. 発表標題 口腔感覚刺激による唾液腺の自己回復機構の解析 |
| 3. 学会等名 第97回日本薬理学会年会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|----------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 坂詰博仁, 森田貴雄, 板垣壮侑, 山口晴香, 根津顕弘, 谷村明彦, 田中彰 |
| 2. 発表標題 ピロカルピン投与によるMAPK経路を介した遺伝子発現の亢進 |
| 3. 学会等名 第67回日本唾液腺学会総会・学術集会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 吉田織恵, 山口晴香, 森田貴雄, 板垣壮侑, 坂詰博仁, 下村-黒木淳子 |
| 2. 発表標題 スクロース有無による成長期ラット顎下腺の発育の違い |
| 3. 学会等名 第67回日本唾液腺学会総会・学術集会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 根津顕弘, 高橋茂, 加藤志織, 谷村明彦 |
| 2. 発表標題 口腔感覚刺激による唾液腺の自己回復メカニズムの解明 |
| 3. 学会等名 第67回日本唾液腺学会総会・学術集会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 板垣壮侑, 山口晴香, 坂詰博仁, 森田貴雄 |
| 2. 発表標題 シェーグレン症候群モデルマウスへのピロカルピン前投与による唾液分泌増加 |
| 3. 学会等名 令和5年度日本歯科大学歯学会第9回ウインターミーティング |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|-----------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 山口晴香, 鈴木孝昌, 岡田康男, 大野淳也, 佐野拓人, 石川亮宏, 坂田秀之, 馬場晶子, 森田貴雄 |
| 2. 発表標題 HER2陽性乳がん脳転移に対する近赤外光免疫療法 - 産学連携プロジェクト - |
| 3. 学会等名 令和5年度日本歯科大学歯学会第9回ウインターミーティング |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 今井あかね, 煤賀美緒, 竹澤晴香, 岡 俊哉 |
| 2. 発表標題 年齢差による唾液エクソソームを含む細胞外小胞の特性とエクソソーム精製法の検討 |
| 3. 学会等名 令和5年度日本歯科大学歯学会第9回ウインターミーティング |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 板垣壮侑, 山口-竹澤晴香, 坂詰博仁, 森田貴雄 |
| 2. 発表標題 シェーグレン症候群モデルマウスへのピロカルピン投与による唾液・唾液腺の変化 |
| 3. 学会等名 第55回歯科衛生研究会 |
| 4. 発表年 2024年 |

| |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Yamaguchi-Takezawa H, Suzuki T, Okada Y, Ono J, Sano H, Ishikawa A, Sakata H, Banba A, Morita T |
| 2. 発表標題 Combination of near-infrared photoimmunotherapy using trastuzumab and small protein mimetic for brain metastasis of HER2-positive breast cancer |
| 3. 学会等名 The 13th International Society of Radiation Neurobiology Conference (国際学会) |
| 4. 発表年 2024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 | 根津 顕弘 (Nezu Akihiro) (00305913) | 北海道医療大学・歯学部・准教授 (30110) | |
| 研究分担者 | 竹澤 晴香 (山口晴香) (Yamaguchi Haruka) (00756942) | 日本歯科大学・新潟生命歯学部・講師 (32667) | |

| | 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 |
|-------|------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 坂詰 博仁 (Sakazume Hirohito) | | |
| 研究協力者 | 板垣 壮侑 (Itagaki Takeyuki) | | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|