

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 3 月 18 日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2011～2014

課題番号：23390425

研究課題名(和文) In vivoイメージングによる唾液腺機能の可視化と神経制御システムの解明

研究課題名(英文) Intravital imaging study for the regulation of salivary gland functions

研究代表者

谷村 明彦 (Tanimura, Akihiko)

北海道医療大学・歯学部・教授

研究者番号：70217149

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,200,000円

研究成果の概要(和文)：ウイルスペクターを使って唾液腺にCa²⁺センサーを発現させ、生きたラットの唾液腺におけるCa²⁺応答の可視化に成功した。この技術により、アセチルコリン刺激で起こる唾液腺組織全体で同期したCa²⁺オシレーションや、舌神経刺激を介する反射的副交感神経刺激でおこる局所的Ca²⁺応答が明らかになった。また唾液分泌のリアルタイム解析と血流イメージングによって、唾液分泌の調節におけるCa²⁺シグナルと血流変化の関係が明らかになった。さらに従来のFRET型IP₃センサーの約5倍の大きなFRETシグナルが得られるCFLA法を開発し、これを利用したIP₃定量法を確立した。

研究成果の概要(英文)：We succeeded in the in vivo imaging of Ca²⁺ responses in salivary gland in live rats. This novel method allowed to demonstrate the tissue-wide synchronization of Ca²⁺ oscillations in acetylcholine-stimulated submandibular glands, and parasympathetic nerves mediated Ca²⁺ responses. In addition, new techniques for the real time monitoring of salivary secretions and blood flow imaging clarified the regulatory mechanisms for salivary secretions. We also developed a method, CFLA, for the measurement of IP₃ using fluorescent ligands and ligand binding domain of IP₃ receptors. In comparison with the LIBRA, a FRET based IP₃ sensor, the new methods provided 5-times larger FRET signal. This method was also applied for quantitative analysis of IP₃.

研究分野：歯科薬理学

キーワード：唾液腺 イメージング カルシウム in vivo イノシトール三リン酸

1. 研究開始当初の背景

唾液腺の水・電解質分泌は、主にムスカリン受容体を介する Ca^{2+} 応答によって調節されると考えられている。これまで我々は、唾液腺細胞を用いたイメージング解析によって Ca^{2+} 動態や水・イオン分泌を可視化し、唾液腺細胞における Ca^{2+} シグナルの発生機構や電解質輸送機構を明らかにしてきた。これらを含む *in vitro* 実験系を使った研究で、唾液腺腺房細胞における Ca^{2+} オシレーションや Ca^{2+} ウェーブ (Tojyo et al, Cell Calcium, 1997, Tanimura et al, Biochem J, 1998)、受容体を介する Ca^{2+} シグナルやイオン輸送分子 ($Na^+/K^+/2Cl^-$ 共輸送体) の増強 (Tanimura et al, J Biol Chem 1996; Am J Physiol, 1999)、唾液腺導管細胞における自発的 Ca^{2+} オシレーションと導管細胞の容積増大 (Shitara et al, Am J Physiol, 2009) などが明らかになっていった。

さらに蛍光タンパク質 GFP や FRET 型の IP_3 蛍光センサーを使ったイメージング解析であり、それらを使って Ca^{2+} シグナルの発生における IP_3 動態や Ca^{2+} シグナル関連分子 (IP_3 受容体, Stim1, PKC など) の細胞内動態を明らかにしてきた (Tanimura et al, J Biol Chem, 2002, 2004, 2009, Tojyo et al, J Pharmacol Sci, 2008, Morita et al, J. Cell Sci, 2009)。

しかし、これらの Ca^{2+} 応答と実際の唾液腺との機能との関連は明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

本研究は生きた動物を使った *in vivo* イメージング解析のよって、顎下腺の Ca^{2+} 応答を明らかにし、唾液分泌の調節における Ca^{2+} 応答の役割を明らかにする事である。我々は、顎下腺開口部から逆行性にウイルスベクターを導入することによって、唾液腺における *in vivo* 遺伝子導入に成功した。本研究では、この方法を発展させて、GECI (genetically encoded Ca^{2+} indicator) を唾液腺に発現させた動物を用いて、唾液分泌と Ca^{2+} 応答の関係を直接的に解析することが目的である。この研究では、受容体作動薬による唾液分泌と細胞応答に加えて、神経刺激による反応の解析を行う。また、唾液分泌は唾液腺腺房細胞の Ca^{2+} 応答に加えて、血流の影響が大きいと予想された。そこでレーザースペックル血流計を使った血流のイメージング解析を加えることによって、唾液分泌の調節機構を様々な方向から解明する。そして最終的には、口腔感覚や味覚刺激などによる、生きた動物の生理的な唾液分泌における唾液腺細胞のイメージング解析に発展させることを計画した。

3. 研究の方法

高感度 GECI である YC-Nano50 の遺伝子をアデノウイルスベクターに挿入し、

YC-Nano50 発現アデノウイルスベクターを作成した。同様にして様々なアデノウイルスベクターおよび YC-Nano50 を発現するアデノ随伴ウイルスベクターとレンチウイルスベクターを作成した。これらの作成したウイルスベクターを HEK293 細胞に感染させ、増殖したウイルス粒子を精製して実験に用いた。

培養細胞を唾液腺導管由来培養細胞 (HSY 細胞あるいは A5 細胞) へ導入し、遺伝子発現効率と細胞の反応性を確認した。さらにアデノ随伴ウイルスで遺伝子導入した細胞を長期培養し、安定発現細胞を作成した。

GECI 発現用ウイルスベクターを顎下腺開口部から注入して、唾液腺細胞へ遺伝子を導入した。またウイルスベクターの直接注入による遺伝子発現を試みた。

蛍光センサーを導入したラットをウレタンで麻酔し、パンクロニウムあるいはロクロニウムで自発呼吸を停止させて人工呼吸下で実験を行った。頸部皮膚を除去して顎下腺を露出させ、マクロズーム型顕微鏡 (ニコンインステック社製、AZ100) を用いて、425nm の励起光によって発生する蛍光を冷却 3CCD カメラ (浜松ホトニクス社製、ASHURA) を用いて記録し、蛍光の変化を解析ソフトウェア (浜松ホトニクス社製、AQUACOSMOS) で解析した。

また唾液腺開口部にカニキュレを挿入し、唾液分泌量モニター用微小圧力計を使って分泌量のリアルタイム測定を行った。さらにレーザースペックル血流計を用いて顎下腺の血流変化を測定した。

これらの実験では、薬物刺激用のカニキュレを大腿静脈に挿入し、シリンジポンプを使った薬液の注入によって唾液腺を刺激した。また、一部の実験では電気刺激装置を用いた舌神経の電気刺激による軸策反射を利用し、副交感神経刺激による顎下腺の Ca^{2+} 応答と唾液分泌を解析した。

4. 研究成果

(1) センサー発現ウイルスベクターの作成とその機能解析

本研究で作成したセンサー発現ウイルスベクターを表に示す。

測定対象	方式	センサー	ウイルスの種類
Ca^{2+}	蛍光 (FRET 型)	YC-Nano50,	AVV, AAV, LVV
		YC-Nano160	AVV
	蛍光 (単波長型)	G-GECO, R-GECO	AVV
	発光	Nano-lantern (Ca^{2+})	AVV
IP_3	蛍光 (FRET)	cyLIBRAvIIS	AVV
cAMP	発光	Nano-lantern (cAMP)	AVV

AVV: アデノウイルスベクター、
AAV: アデノ随伴ウイルスベクター、
LVV: レンチウイルスベクター

これらのセンサーを培養耳下腺細胞 (HSY 細胞あるいは A5 細胞) に発現させ、発現効率を確認し、反応性を新規購入した共焦点レー

ザー顕微鏡システムおよび落射蛍光顕微鏡システムを使って確認した。さらに、これらのウイルスをラット顎下腺の導管から注入し、顎下腺腺房細胞に発現させる事に成功した。一部の実験では、センサー遺伝を導入した顎下腺の酵素処理によって腺房細胞を単離し、その反応性を解析した。また、遺伝子導入したラットの顎下腺を麻酔下で露出させ、マクロズーム型蛍光顕微鏡を使ったイメージングシステムを使った intravital イメージング解析を試みた。

蛍光 Ca²⁺センサー

YC-Nano50 を発現させた細胞を ATP で刺激すると蛍光比 (535nm/480nm) が約 2 倍に増大した。このとき低濃度の ATP 刺激による Ca²⁺ オシレーションが観察されたが、強い刺激では持続的は蛍光比の上昇となった。

これは高感受性 Ca²⁺ センサーである YC-Nano50 は、小さな [Ca²⁺]_i の変化の検出に適していることを示す。培養細胞を用いた解析では、AVV が AAV の 100 倍以上の発現効率を示した。一方、AVV を用いて導入された YC-Nano50 の蛍光は 1 週間程度で消失したが、AAV を用いて導入された YC-Nano50 の蛍光は 6 ヶ月以上の培養でも維持された。これらのことから、AVV は一過性の反応解析に適しているが、AAV を用いる事によって長期間の解析が可能になることが示された。LVV は AAV よりも発現効率が高かった。LVV は長期間の発現に用いられるベクターであることから、長期間の解析に適していると考えられる。

顎下腺開口部からの AVV の導入によって、比較的的に腺房細胞に YC-Nano50 を発現させることができた。本研究の intravital Ca²⁺ イメージング解析の大部分はこの方法を使ったものである。また AVV を直接的に組織へ注入した場合は、腺房以外の様々な細胞に YC-Nano50 が発現した。今後、腺房細胞以外の機能解析に有効であると考えられる。

AAV を使った遺伝子導入では、10¹⁰ pfu で約 95% 細胞に YC-Nano50 の発現が認められた。またその発現量は、遺伝子導入 3 日後にピークとなり、時間経過と共に減少した。この YC-Nano50 遺伝子導入細胞を経代培養し、安定発現細胞を作製した。さらに顎下腺細胞に YC-Nano50 を安定発現させるために、AAV を使った唾液腺細胞への in vivo 遺伝子導入を試みた。しかし、顎下腺開口部からの遺伝子導入では YC-Nano50 の発現は認められなかった。

G-GECO および R-GECO を AVV を用いて培養細胞に導入すると、90% 以上の細胞に蛍光が認められ、ほぼ全ての細胞で ATP 刺激による蛍光の増大が観察された。これはリポフェクションによる遺伝子導入効率 (10-60%) よりも格段に高く、実験の効率を大きく向上させることが確認された。蛍光強度の増加率は 3 倍以上であり、YC-Nano50 と比較して Ca²⁺ に

対する親和性が低いため、比較的大きな Ca²⁺ 応答の検出に適している。また、共焦点レーザー顕微鏡による 2 波長測定にも利用が可能であり、その有用性が確認された。

顎下腺開口部からの AVV の導入によって、腺房細胞に G-GECO を発現させて、比較的強い刺激によって起こる Ca²⁺ 応答の解析が可能であった。

蛍光 IP₃ センサー

我々がすでに発表した細胞膜アンカー型 IP₃ センサーを細胞質型にしたものが cyLIBRAV11S である。cyLIBRAV11S は LIBRAV11S に比較して蛍光の変化率は小さいが、受容体刺激に反応する細胞が多く認められた。IP₃ は細胞膜近傍で作られるため、細胞質型では検出感度が低下する反面、細胞に対する毒性が少ないと考えられた。

顎下腺開口部からの AVV の導入によって、腺房細胞に cyLIBRAV11S を発現させることができたが、蛍光変化率が小さいため in vivo での IP₃ 濃度測定はできなかった。そこで新たな IP₃ 測定法の開発を試みた。

LIBRAV11S を発現させた細胞をサポニンで穿孔し、新規合成した蛍光リガンド (FADA と FLL) を作用させて CFP の励起光を照射すると、LIBRAV11S の CFP と蛍光リガンドの間の FRET による大きな蛍光変化が起こった。この蛍光リガンド (FLL) と LIBRAV11S の FRET シグナルは、IP₃ によって低下した。これは LIBRAV11S の IP₃ の結合によって FLL が遊離したことによると考えられ、従来の FRET 型 IP₃ センサーの約 5 倍の大きな FRET シグナルが得られることが示された。これを利用した IP₃ 定量法を確立し Competitive Fluorescent Ligand Assay for IP₃ (CFLA-IP₃) と名付けた。この方法は溶液中の IP₃ 濃度の測定に用いる事は可能である。現時点では生きた細胞あるいは動物を使った IP₃ のライブイメージングには応用できないが、この方法を発展させることによって新たな IP₃ センサー開発が可能になると考えられる。

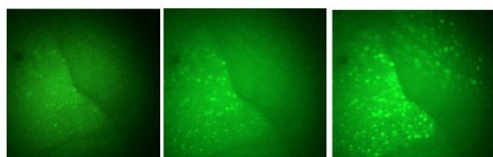
発光センサー

Nano-lantern (Ca²⁺) を培養細胞に発現させて、ATP 刺激による Ca²⁺ オシレーションが観察された。また Nano-lantern (cAMP) を発現させた細胞を 作動薬 (イソプレナリン) 刺激によって、発光の増大が観察された。さらに麻酔科のラットを用いて、Nano-lantern (Ca²⁺) を発現させた顎下腺の Ca²⁺ 応答の観察に成功した。発光センサーは励起光を必要としないため、皮膚の上から低侵襲的なイメージング解析を試みたが、ラットの皮膚を透過する程の発光強度は得られなかった。

(2) Intravital Ca²⁺ イメージング法の確立

G-GECO あるいは YC-Nano50 の遺伝子を挿入

したアデノウイルスベクター(AV)をラットの顎下腺開口部から注入し、ラット顎下腺にCa²⁺センサーを発現させた。落射蛍光顕微鏡を用いた蛍光イメージング装置あるいは共焦点レーザー顕微鏡を用い、490nm付近の励起光を用いてG-GECOを発現させた顎下腺を観察すると、弱い蛍光が観察された。この顎下腺にアセチルコリンを作用させると細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)の上昇による蛍光強度の増強が観察された。



YC-Nano50を発現させた顎下腺を425nmあるいは440nmの励起光で観察すると、YC-Nano50の蛍光タンパク質CFPとYFPの蛍光が観察された。この顎下腺をアセチルコリンで刺激すると[Ca²⁺]_iの上昇によるFRET反応によって、CFP蛍光の減弱とYFP蛍光の増加が認められた。YC-Nano50はG-GECOよりもCa²⁺に対する親和性が高いため、低濃度のアセチルコリンによるCa²⁺応答を検出できることが明らかになった。

(3) 口腔乾燥症治療薬ピロカルピンによる唾液腺のCa²⁺応答と唾液分泌

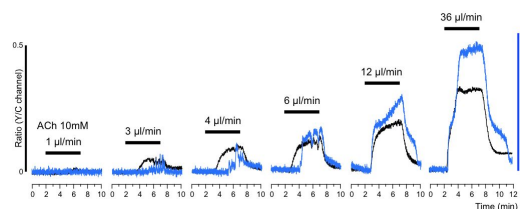
口腔乾燥症治療薬として用いられているピロカルピン(Pilo)はムスカリン受容体の部分アゴニストであり、唾液腺腺房細胞の[Ca²⁺]_iを上昇させることによって分泌を亢進すると考えられている。一方、単離腺房細胞を用いた研究では、Pilo刺激による[Ca²⁺]_i上昇が非常に小さいことが知られている。Fura-2を用いた研究によって、Piloによって起こる最大の[Ca²⁺]_i上昇はカルバコール(CCh)の約15%であり、CChやベタネコール(Bet)と併用すると、それらの作用を減弱させることが明らかになった。

ラットへのPiloの腹腔内投与による唾液分泌は3 mg/kgで最大となった。その作用はBetによる最大分泌(10 mg/kg)の約50%であった。また、PiloとBetを併用すると、Betによる唾液分泌が単独の約75%に減弱した。この唾液分泌に伴う腺房細胞の[Ca²⁺]_i変化を明らかにするために、YC-Nano50を使ったintravital Ca²⁺イメージングを行った。3 mg/kgのPilo投与あるいは10 mg/kgのBetによって、顎下腺のYC-Nano50の蛍光比が上昇した。無刺激時の顎下腺腺房細胞の[Ca²⁺]_iは36.6nMで、Pilo(3 mg/kg)あるいはBet(10mg/kg)による[Ca²⁺]_iの上昇は、各々7 nMあるいは31 nMと算定された。唾液分泌と同様にPiloは、Betの[Ca²⁺]_i上昇作用を約30%に低下させた。この研究によって、生きた動物における唾液腺腺房細胞の[Ca²⁺]_iとPiloやBetによる[Ca²⁺]_i変化が

初めて明らかになった。

(4) アセチルコリンによる唾液腺のCa²⁺応答と唾液分泌の同時解析

顎下腺腺房細胞のCa²⁺応答と唾液分泌の関係をより詳細に解析するために、静脈へのアセチルコリン(Ach)の持続注入による実験系を確立した。Achは体内のコリンエステラーゼによって速やかに分解されるため、注入速度を調節することによって循環するAch濃度を調節することが可能である。また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することによって、唾液の分泌速度をリアルタイムで測定することに成功した。Achの注入によって持続的な唾液腺の[Ca²⁺]_i上昇が起こり、注入停止によって速やかに[Ca²⁺]_iが低下した。また、この刺激を繰り返しても同じような[Ca²⁺]_i上昇が起こったことから、この条件では脱感作は起こらないことがわかった。図は、[Ca²⁺]_iと唾液分泌を同時測定した実験例である。[Ca²⁺]_iの上昇はAch投与速度の増加に伴って増大し、それと比例して唾液分泌量も増加した。



Achの投与速度が小さい場合には、[Ca²⁺]_i上昇から唾液分泌までに数分のタイムラグが認められ、Achの投与速度の増大([Ca²⁺]_i上昇の増大)に伴ってタイムラグが短くなった。このタイムラグは、[Ca²⁺]_iが唾液分泌に必要なレベルまで上昇するのに要する時間と考えられた。そこから算定された唾液分泌に必要な[Ca²⁺]_iは約50 nMであった。

交感神経から放出されるノルアドレナリンや交感神経系の活性化やストレスによって血中に放出されるアドレナリンは、1 アドレナリン受容体を介して唾液腺腺房細胞や血管の[Ca²⁺]_iを上昇させる。この腺房細胞の反応は唾液分泌に対して促進的に作用するのに対し、血管の[Ca²⁺]_i上昇は血管収縮による唾液分泌低下に作用することが予想される。そこでアドレナリンによる顎下腺腺房細胞のCa²⁺応答と唾液分泌をintravital Ca²⁺イメージングとリアルタイム唾液分泌測定によって解析した。

Achと異なりアドレナリンによるCa²⁺上昇反応は非常にゆっくりとした反応であった。これはおそらく血管収縮作用による血流低下のため、アドレナリンの腺房細胞への到達に時間がかかるための考えられた。また、アドレナリンでもCa²⁺応答の増大に伴って唾液分泌が起こったが、時間経過に伴って分泌量が低下した。血流イメージングによって、

アドレナリンでは唾液腺の血流量が低下することが確認されたことから、アドレナリンの血管収縮反応によって唾液分泌量が低下したことが示唆された。

低濃度 ACh ($3-9 \times 10^{-8}$ mol/min) 刺激で顎下腺全体に同期した Ca^{2+} オシレーションが惹起された。一方で、アドレナリン、サブスタンス P およびベタネコールでは、この Ca^{2+} オシレーションは観察されなかった。ACh による Ca^{2+} オシレーションは、アトロピンで完全に抑制され、ヘキサメトニウムおよびプラゾシンでは抑制されなかった。これらの結果は、 Ca^{2+} オシレーションの発生に交感神経系の関与がないことを示唆している。ACh による Ca^{2+} 応答と血流動態を同時に測定したところ、 Ca^{2+} 応答と同期した血流変動が観察された。さらに ACh による Ca^{2+} と血流のオシレーションは、 Ca^{2+} 拮抗薬の前投与により完全に抑制されたことから、顎下腺の血流動態が Ca^{2+} オシレーションの発生に大きく関与すると考えられた。顎下腺の血流調節に関わる受容体を同定するため、様々な受容体拮抗薬による影響を調べた。その結果、アンジオテンシン II (AT_1) とトロンボキサン A2 (TXA_2) 受容体拮抗薬が濃度依存的に血流のオシレーションを抑制し、さらにこれらの薬物は Ca^{2+} オシレーションを抑制した。一方、神経節遮断薬や α_1 アドレナリン受容体拮抗薬は ACh による Ca^{2+} オシレーションを抑制しなかった。

(5) 神経刺激によって惹起される唾液腺の Ca^{2+} 応答と唾液分泌

舌神経の電気刺激は、反射性に副交感神経を活性化することによって、口唇部の血流増加や唾液分泌を起こすことが知られている。この実験系を用いて、YC-Nano50 を発現させた顎下腺の Ca^{2+} 応答と唾液分泌を解析したところ、顎下腺の小さな領域で Ca^{2+} 応答が観察された。興味深いことに、神経刺激では ACh 投与と比較して非常に小さな Ca^{2+} 応答が起こったにもかかわらず、ACh 刺激に匹敵する唾液分泌が起こった。

神経刺激では刺激の種類によって反応する唾液腺の領域が異なる可能性がある。また、薬物刺激と異なって特定の細胞に大きな反応が起こっている可能性がある。

5. 主な発表論文等

(〔雑誌論文〕(計 14 件))

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. *Experimental Physiology*, (査読有), 100(6):640-651 (2015)

Nezu A, Morita T, Tanimura A. In vitro and in vivo imaging of intracellular Ca^{2+} responses in salivary gland cells. *Journal of Oral Biosciences*, (査読有), 57(2):69-75 (2015).

Tanimura A. Development and application of fluorescent protein-based indicators for live cell imaging. *Journal of Oral Biosciences*, (査読有), 57(2):54-60 (2015).

Kunimoto R, Jimbow K, Tanimura A, Sato M, Horimoto K, Hayashi T, Hisahara S, Sugino T, Hirobe T, Yamashita T, Horio Y. SIRT1 regulates lamellipodium extension and migration of melanoma cells. *Journal of Investigative Dermatology*, (査読有り), 34:1693-1700 (2014).

Tojyo Y, Morita T, Nezu A, Tanimura A. Key Components of Store-Operated Ca^{2+} Entry in Non-Excitable Cells. *Journal of Pharmacological Sciences*. (査読有り), 125(4):340-346 (2014).

Tojyo Y, Morita T, Nezu A, Tanimura A. Staurosporine maintains the activation of store-operated Ca^{2+} entry even after the refilling of Ca^{2+} stores. *Cell Calcium*. (査読有), 53(5-6):349-356 (2013).

谷村明彦、根津顕弘、森田貴雄
生体内の分子を観るバイオイメージング技術 - 蛍光タンパク質を使ったライブイメージング法 - 日本薬理学会誌, (査読有), 141: 262-267 (2013).

Morita T, Nezu A, Tojyo Y, Tanimura A. Increase in muscarinic stimulation-induced Ca^{2+} response by adenovirus-mediated Stim1-mK01 gene transfer to rat submandibular acinar cells in vivo. *Biochem Biophys Res Commun.*, (査読有), 39(4): 433-437 (2013).

Tanimura A, Mochizuki T, Morita T, Nezu A, Tojyo Y, Arisawa M, Shuto S. A fluorescence-based method for evaluating inositol 1,4,5-trisphosphate receptor ligands: Determination of subtype selectivity and partial agonist effects. *J Biotechnol.*, (査読有), 167(3):248-254 (2013).

根津顕弘 機械刺激による細胞内 IP3 動態の可視化: -唾液腺由来細胞における機械刺激による 2 つの異なる IP3 産生経路- 北医療大歯誌, (査読無) 31: 34 (2012).

谷村明彦、東城庸介 唾液腺機能のイメージング解析とシグナル分子を標的とした機能制御. *日本歯科評論*. (査読無), 826, 9-11 (2012).

Tanimura A. The development of FRET-based IP3 biosensors and their use for monitoring IP3 dynamics during Ca^{2+} oscillations and Ca^{2+} waves in non-excitable cells. *J Oral Biosci.* (査読有), 53: 109-121 (2011).

Morita T, Tanimura A, Shitara A, Suzuki Y, Nezu A, Takuma T, Tojyo Y. Expression of functional Stim1-mK01 in rat

submandibular acinar cells by retrograde ductal injection of adenoviral vector. Arch Oral Biol. (査読有), 56(11):1356-1365 (2011).

Tanimura A, Shitara A, Tojyo Y. Diversity and spatio-temporal properties of calcium responses in salivary ducts. J Oral Biosci., (査読有), 53:304-311 (2011).

〔学会発表〕(計 16 件)

森田貴雄、根津顕弘、東城庸介、谷村明彦 アデノウイルスの in vivo 遺伝子導入法を用いたラット顎下腺腺房細胞への Stim1-mK01 発現による Ca²⁺応答の増大および唾液分泌への影響. 第 59 回日本唾液腺学会学術集会, 2014 年 12 月 6 日, 東京都文京区

根津顕弘、森田貴雄、東城庸介、永井健治、谷村明彦 生きた動物の唾液腺におけるアセチルコリンによる組織全体で同期する Ca²⁺振動. 第 88 回日本薬理学会年会 2015 年 3 月 18 日~2015 年 3 月 20 日 名古屋市

根津顕弘、森田貴雄、東城庸介、永井健治、谷村明彦 生きた動物における薬物および神経刺激による顎下腺の Ca²⁺応答、唾液分泌および血流量の同時測定. 第 59 回日本唾液腺学会学術集会 2014 年 12 月 6 日 東京都文京区

谷村明彦、森田貴雄、根津顕弘 唾液腺細胞におけるカルシウムシグナルの時空間制御機構と機能連関. 生理研研究会「粘膜免疫学と膜輸送生理学の融合」 2014 年 10 月 27 日~2014 年 10 月 28 日、岡崎市

森田貴雄、根津顕弘、東城庸介、谷村明彦 アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを用いた Ca²⁺バイオセンサーの長期発現と唾液腺細胞の長時間 Ca²⁺イメージング. 第 56 回歯科基礎医学会学術大会 2014 年 9 月 25 日~2014 年 9 月 27 日 福岡市

森田貴雄、根津顕弘、東城庸介、谷村明彦 唾液分泌刺激薬による顎下腺の Ca²⁺応答の intravital イメージングと唾液分泌の同時測定. 第 56 回歯科基礎医学会学術大会 2014 年 9 月 25 日~2014 年 9 月 27 日 福岡市

谷村明彦、村田佳織、齊藤正人、森田貴雄、根津顕弘 競合的蛍光リガンド結合アッセイ法を活用した新規 IP 分子センサーの開発. 第 56 回歯科基礎医学会学術大会 2014 年 9 月 25 日~2014 年 9 月 27 日 福岡市

村田佳織、齊藤正人、森田貴雄、倉重圭史、高橋亜友美、谷村明彦 ビタミン D による分化誘導でおこる歯原性上皮細胞の Ca²⁺応答. 第 56 回歯科基礎医学会学術大会 2014 年 9 月 25 日~2014 年 9 月 27 日 福岡市

谷村明彦、根津顕弘、森田貴雄、東城庸介、佐藤寿哉、石井久淑 Intravital Ca²⁺イメージングによる唾液分泌制御機構の解析. H26 年度生理学研究所研究会「唾液腺形成研究会~機能解析から器官再生へ~」 2014 年 8 月 4 日~2014 年 8 月 5 日、岡崎市

森田貴雄、根津顕弘、東城庸介、谷村明彦

唾液腺の Ca²⁺応答と唾液分泌に対するピロカルピンの作用. 第 86 回日本薬理学会年会 2013 年 3 月 21 日~2013 年 3 月 23 日、福岡市

森田貴雄、根津顕弘、東城庸介、谷村明彦 口腔乾燥症状改善薬ピロカルピンによる唾液腺の Ca²⁺応答と唾液分泌. 第 31 回北海道医療大学歯学会 2013 年 3 月 9 日、札幌市

森田貴雄、根津顕弘、東城庸介、谷村明彦 唾液腺の Ca²⁺応答と唾液分泌に対するムスカリン受容体部分作動薬としてのピロカルピンの作用. 第 57 回日本唾液腺学会 2012 年 12 月 1 日、東京都

森田貴雄、根津顕弘、東城庸介、谷村明彦 ラット顎下腺腺房細胞への Stim1-mK01 発現による Ca²⁺ストアおよび Ca²⁺放出量の増大. 第 54 回歯科基礎医学会 2012 年 9 月 14 日~2012 年 9 月 16 日、郡山市

森田貴雄、根津顕弘、東城庸介、谷村明彦 唾液腺の Ca²⁺応答と唾液分泌に対するムスカリン受容体パーシャルアゴニストとしてのピロカルピンの作用. 第 54 回歯科基礎医学会 2012 年 9 月 14 日~2012 年 9 月 16 日、郡山市

村田佳織、森田貴雄、根津顕弘、齊藤正人、谷村明彦 IP₃ 受容体蛍光リガンドを用いた新しい蛍光センサーの開発; IP₃ 受容体蛍光リガンドとリガンド結合ドメインの結合による蛍光変化. 第 54 回歯科基礎医学会 2012 年 9 月 14 日~2012 年 9 月 16 日、郡山市

谷村明彦、大浦泰、村田佳織、森田貴雄、根津顕弘、周東智 新規蛍光アデノフォスチン誘導体の IP₃ センサー-LIBRA への作用と IP₃ 測定法への応用. 第 63 回日本薬理学会北部会 2012 年 9 月 14 日、新潟市

〔産業財産権〕

谷村明彦、周東智、森田貴雄、根津顕弘 被検物質測定 FRET 分子センサー
特願 2015-96991 (2015)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷村明彦 (TANIMURA, Akihiko)

北海道医療大学・歯学部薬理学分野・教授
研究者番号: 70217149

(2) 研究分担者

森田貴雄 (MORITA, Takao)

北海道医療大学・歯学部薬理学分野・講師
研究者番号: 20326549

根津顕弘 (NEZU, Akihiro)

北海道医療大学・歯学部薬理学分野・講師
研究者番号: 00305913