

Title	25 : 歯周疾患における炎症・疼痛に関与する P2X4・P2X7 受容体と , pannexin - 1 チャンネル間の相互作用の検討
Author(s)	井上, 博之; 黒田, 英孝; 石川, 昂; 大山, 定男; 木村, 麻記; 澁川, 義幸; 一戸, 達也
Journal	歯科学報, 120(2): 214-214
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/5187">http://hdl.handle.net/10130/5187</a>
Right	
Description	

## No.24: 機能性モチーフ修飾自己組織化ペプチドハイドロゲル応用がラット歯周組織欠損の治癒に及ぼす影響

松上大亮<sup>1)</sup>, 村上 侑<sup>1)</sup>, 吉田 航<sup>1)</sup>, 備前島崇浩<sup>2)</sup>, 今村健太郎<sup>1)</sup>, 勢島 典<sup>1)</sup>, 齋藤 淳<sup>1)3)</sup>  
(東歯大・歯周)<sup>1)</sup> (東歯大・千葉セ)<sup>2)</sup> (東歯大・口科研)<sup>3)</sup>

**目的:** 自己組織化ペプチド (SAP) ナノファイバーハイドロゲル (RADA16) の局所応用が, 外科的に作製したラット歯周組織欠損の治癒を促進することを報告した。RADA16は機能性モチーフを修飾し, 様々な機能を持たせることができる。細胞接着に関与している RGD 配列を修飾した RADA16 である PRG, ラミニン修飾の PDS は RADA16 単独より, ヒト歯根膜線維芽細胞のゲル内への遊走, 増殖を多く認めたと報告されている。しかし, これらを歯周組織欠損内に応用した際の効果は明らかにされていない。本研究の目的は, PRG および PDS をラット歯周組織欠損に応用し, 歯周組織の治癒への影響を検討することである。

**方法:** 走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて, PRG および PDS の微細構造を観察した。ラット歯根膜由来細胞を各ゲル上に播種後, Cell proliferation assay (WST-1) を行った。10週齢の Wistar 系雄性ラットの上顎第一臼歯近心に外科的に規格化歯周組織欠損を作製し, 根面のルートプレーニングを行った。欠損内に生理食塩水を応用した群 (Unfilled), RADA16, PRG または PDS を応用した群を設定し

た。術後 2, 4 週で  $\mu$ CT による骨梁構造解析, H-E 染色, 免疫組織化学染色 (PCNA, VEGF) を行い解析した。

**結果および考察:** SEM で観察した結果, PRG, PDS に微細な網目状構造が認められた。WST-1 の結果, 培養 72 時間後, PRG 群は RADA16 および PDS 群に比べて歯根膜由来細胞の増殖能が有意に高い値を示した。 $\mu$ CT による解析の結果, 術後 2 週において, Unfilled 群と比較し, PRG 群では骨体積率が有意に高い値を示した。術後 4 週では, PRG および PDS 群では RADA16 群に比べ約 1.2 倍高く, 有意差が認められた。H-E 染色では術後 4 週で, PRG および PDS 群は RADA16 群と比較し, より顕著に新生骨様構造が観察された。PCNA 陽性細胞率では歯根寄り, VEGF 陽性細胞率では中間部で, PRG 群は PDS, RADA16 および Unfilled 群と比較し有意に高い値を示した。

以上より, 機能性モチーフ修飾ハイドロゲル, 特に PRG は, 歯周組織の治癒を促進することが示唆された。

## No.25: 歯周疾患における炎症・疼痛に関与する $P2X_4$ ・ $P2X_7$ 受容体と, pannexin-1 チャネル間の相互作用の検討

井上博之<sup>1)</sup>, 黒田英孝<sup>2)</sup>, 石川 昂<sup>3)</sup>, 大山定男<sup>4)</sup>, 木村麻記<sup>4)</sup>, 澁川義幸<sup>4)</sup>, 一戸達也<sup>1)</sup>  
(東歯大・歯麻)<sup>1)</sup> (神歯大・全身管理歯科医学)<sup>2)</sup> (東歯大・法歯学・法人類学)<sup>3)</sup> (東歯大・生理)<sup>4)</sup>

**目的:** 細胞が炎症や障害にさらされると, 細胞外へ高濃度の ATP が放出される。このとき放出された細胞外 ATP は細胞膜上に発現する  $P2X$  受容体を活性化し, 疼痛や歯周疾患に関連することが報告されている。また pannexin-1 チャネルは ATP 放出チャネルであり,  $P2X$  受容体と相互作用を示すことが報告されている。細胞外 ATP と  $P2X$  受容体-pannexin-1 チャネルの相互作用を制御することができれば, 歯周疾患において炎症と疼痛を抑制することができる可能性がある。本研究は細胞外 ATP と  $P2X$  受容体-pannexin-1 チャネル相互作用について検討した。

**方法:** 初代培養した新生仔ラットの TG ニューロンに対して whole-cell patch-clamp 法を行った。試薬は  $P2X$  受容体アゴニスト (Bz-ATP),  $P2X_7$  受容体アンタゴニスト (A-740003/A-438079),  $P2X_4$  受容体アンタゴニスト (5-BDBD/PSB-12062), pannexin-1 チャネル阻害薬 (<sup>10</sup>Panx), ATP 分解酵素 (apyrase), 蛍光色素 (YO-PRO-1) を用いた。

**結果:** TG ニューロンに Bz-ATP を投与すると二相性の内向き電流が記録され, その電流は  $P2X_7$  受容体アンタゴニストに有意に抑制された。二相目の電流密度と活性化時間は,  $P2X_4$  受容体アンタゴニ

スト, pannexin-1 チャネル阻害薬, ATP 分解酵素により有意に抑制された。YO-PRO-1 存在下に Bz-ATP を投与すると, 細胞外  $Ca^{2+}$  イオンの存在下/非存在下両方で YO-PRO-1 は細胞内へ取り込まれた。

**考察:** 一相目の電流は  $P2X_7$  受容体アンタゴニストにより抑制され, 一方で二相目の電流は  $P2X_4$  受容体アンタゴニスト, pannexin-1 チャネル阻害薬及び ATP 分解酵素で抑制された。このことから  $P2X_7$  受容体活性化は pannexin-1 チャネルを活性化し, 活性化された pannexin-1 チャネルから放出された ATP が  $P2X_4$  受容体を活性化することで二相目の内向き電流を発生させることが示唆された。アポトーシス細胞を標的とする YO-PRO-1 色素は, Bz-ATP の投与により細胞内へ取り込まれた。Pannexin-1 チャネルを介して YO-PRO-1 は細胞内へ取り込まれるため, Bz-ATP による受容体-チャネルの活性化は細胞のアポトーシスを誘導することが分かった。

以上のことから,  $P2X$  受容体-pannexin-1 チャネル相互作用は細胞外 ATP により自己分泌性に活性化することで細胞のアポトーシスを誘導し, 炎症や疼痛の発生や調節に関与する可能性が示唆された。