

Title	11 : 象牙芽細胞におけるイオンチャンネル型ATP 受容体サブタイプ (P2X7) の機能的発現
Author(s)	塩崎, 雄大; 佐藤, 正樹; 木村, 麻記; 澁川, 義幸; 佐藤, 亨; 田崎, 雅和
Journal	歯科学報, 114(5): 507-507
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/3464">http://hdl.handle.net/10130/3464</a>
Right	

## No.11: 象牙芽細胞におけるイオンチャネル型 ATP 受容体サブタイプ (P2X7) の機能的発現

塩崎雄大<sup>2)</sup>, 佐藤正樹<sup>1)</sup>, 木村麻記<sup>1)</sup>, 澁川義幸<sup>1)</sup>, 佐藤 亨<sup>2)</sup>, 田崎雅和<sup>1)</sup> (東歯大・生理)<sup>1)</sup>  
(東歯大・クラウンブリッジ補綴)<sup>2)</sup>

**目的:** 細胞外ヌクレオチドは P2 受容体ファミリーを活性化する。P2 受容体にはイオンチャネル型 (P2X) と G タンパク質共役型 (P2Y) 受容体が存在し, P2X は ATP 受容体として機能している。P2X 受容体には P2X<sub>1</sub> から P2X<sub>7</sub> のサブタイプが存在し, 象牙芽細胞には P2X<sub>2</sub>, P2X<sub>4</sub>, P2X<sub>6</sub>, P2X<sub>7</sub> の免疫組織化学的発現が報告されているが, その機能や生物物理学的, 薬理学的特性については不明のまま残されている。本研究は P2X<sub>7</sub> サブタイプに着目し, 象牙芽細胞における機能的発現の検索を行った。

**方法:** 実験には継代培養したマウス由来象牙芽細胞系細胞を用いた。P2X<sub>7</sub> 受容体のイオンチャネル活動は, whole-cell patch-clamp 法で記録した。標準細胞外液として Krebs 液 (pH7.4) を用いた。電極内(細胞内)液組成は (mM), 140KCl, 10NaCl, 10HEPES (pH7.2) を用いた。ATP 受容体の刺激に

は adenosine 5'-triphosphate dipotassium salt (K<sup>+</sup>-ATP) を用いた。P2X<sub>7</sub> の選択的アゴニストとして 2'-(3')-O-(4-benzoylbenzoyl) adenosine 5'-triphosphate triethylammonium (BzATP), アンタゴニストとして KN62 を用いた。

**結果:** 保持電位 (V<sub>h</sub>) -70mV での細胞膜イオン電流連続記録 (gap-free mode) 下で, 10μM K<sup>+</sup>-ATP を象牙芽細胞に投与すると, 2.9±0.6nA (n=3) の内向き電流が記録された。K<sup>+</sup>-ATP を連続投与すると, この内向き電流振幅は投与毎に減少し, 脱感作現象が観察された。P2X<sub>7</sub> 選択的アゴニストである BzATP (300μM) は同様に内向き電流を誘発し (V<sub>h</sub> = -70mV), その電流は P2X<sub>7</sub> 選択的アンタゴニストである KN62 で有意に (81.9±9.7%, n=6, P<0.001) 抑制された。

**考察:** 象牙芽細胞に P2X<sub>7</sub> が機能的に発現していることが示された。

## No.12: 象牙芽細胞における酸感受性膜タンパク質の機能検索

倉澤 馨<sup>1)</sup>, 佐藤正樹<sup>2)</sup>, 木村麻記<sup>2)</sup>, 小島佑貴<sup>2)</sup>, 東川明日香<sup>2)</sup>, 小倉一宏<sup>2)</sup>, 望月浩幸<sup>2)</sup>,  
川口 綾<sup>3)</sup>, 西山明宏<sup>4)</sup>, 塩崎雄大<sup>5)</sup>, 佐藤涼一<sup>6)</sup>, 澁川義幸<sup>2)</sup>, 田崎雅和<sup>2)</sup> (東歯大・学生)<sup>1)</sup>  
(東歯大・生理)<sup>2)</sup> (東歯大・歯麻)<sup>3)</sup> (東歯大・オーラルメディシン科外)<sup>4)</sup>  
(東歯大・クラウンブリッジ補綴)<sup>5)</sup> (東歯大・衛生)<sup>6)</sup>

**目的:** 硬組織欠損で象牙質が露出すると, 象牙細管内液を介して象牙芽細胞に侵害刺激が加わる。一方で, 齶蝕病原菌は象牙細管に侵入・定着し, 酸を産生する。象牙芽細胞は我々が既に報告している酸感受性 transient receptor potential (TRP) チャネルの他に, acid sensing ion channels (ASICs) の発現が示唆されている。本研究は象牙芽細胞の酸受容と細胞応答の関係に着目し, 象牙芽細胞における酸受容機構と細胞内 Ca<sup>2+</sup> シグナリングを検討した。

**方法:** 実験には培養象牙芽細胞を用いた。酸刺激 (pH7-4) 溶液は標準細胞外液に HCl を加えることで調整した。細胞応答は細胞内遊離カルシウム濃度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) を Ca<sup>2+</sup> 蛍光色素を用いて記録した。**結果:** 細胞外 Ca<sup>2+</sup> 存在下で, 酸刺激 (pH7-4) は [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> を pH 低下依存性に増加させた (E<sub>pH50</sub> = 5.5)。細胞外 Ca<sup>2+</sup> を除去すると, pH5-4 刺激での [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 増加が増強した。細胞外 Ca<sup>2+</sup> 非存在下で sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase 阻害剤 (cy-

clopiazonic acid) と ryanodine 受容体 (RyR) 阻害剤 (dantrolene) を投与すると酸刺激で誘発される [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> の増加は抑制された。Phospholipase C 阻害剤 (U73122) は酸刺激誘発性 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 増加を抑制したが, adenylate cyclase 阻害剤 (SQ22536) は抑制しなかった。ASICs の非選択的阻害剤である amiloride は細胞外 Ca<sup>2+</sup> の有無に関わらず, 酸刺激誘発性 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 増加を抑制した。一方, TRPV1 チャネルの選択的アゴニスト (resiniferatoxin) 誘発性 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 増加は, amiloride 非感受性であった。**考察:** 細胞外酸刺激は, TRPV1 チャネルを介して [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 増加を誘導した。加えて酸刺激は G タンパク共役型酸感受性受容体を活性化し, phospholipase C を介した RyR からの Ca<sup>2+</sup> 放出を誘導した。酸刺激によって誘導される [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 増加は細胞外 Ca<sup>2+</sup> 濃度依存的であり, 象牙質脱灰による病理学的反応性象牙質形成を調整している可能性が示唆された。