

Title	Intercellular signal communication among odontoblasts and trigeminal ganglion neurons via glutamate
Author(s)	西山, 明宏
Journal	歯科学報, 118(1): 52-53
URL	http://hdl.handle.net/10130/4450
Right	
Description	

氏名(本籍)	にし やま あき ひろ 西山明宏 (東京都)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第 2124 号(甲第 1329 号)
学位授与の日付	平成28年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Intercellular signal communication among odontoblasts and trigeminal ganglion neurons via glutamate
掲載雑誌名	Cell Calcium 第60巻 5号 341-355頁 2016年 doi : 10.1016/j.ceca.2016.07.003
論文審査委員	(主査) 東 俊文教授 (副査) 一戸 達也教授 片倉 朗教授 田崎 雅和教授 山本 仁教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

歯はエナメル質、象牙質、セメント質で構成され、内部に三叉神経節(歯髄)ニューロンが分布する歯髄が存在する。齲蝕によるエナメル質欠損や、歯周病による歯肉退縮で象牙質が露出することで加えられた象牙質刺激によって象牙質痛が発生する。一方象牙質刺激は防御反応として歯髄側象牙質に新たな象牙質形成を誘発する(反応性象牙質形成)。象牙質には、象牙細管内容液で満たされる象牙細管が貫いて存在している。象牙細管の歯髄側内部には、自由神経終末と象牙芽細胞突起が進入している。象牙質への様々な刺激は象牙細管内液の静水圧変化を誘発し象牙芽細胞膜を変形させ transient receptor potential チャネルを活性化する。その活性化が ATP 放出を誘発する事で歯髄ニューロンに ATP を介した神経伝達が生じ、象牙質痛が発生する。一方、象牙芽細胞には、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸(Glu)受容体(GluR)発現も報告されており、Glu が象牙芽細胞間あるいは歯髄ニューロンとの細胞間連情報伝達物質として働いている事が示唆される。本研究では、象牙芽細胞におけるイオンチャネル型・代謝型 GluR の機能的発現と、細胞外 Glu による細胞間情報伝達機構(象牙芽細胞-象牙芽細胞・象牙芽細胞-歯髄ニューロン間情報伝達)を明らかにし、歯痛の変調作用と象牙質形成機構の細胞生理学的基盤を明らかにする事を目的とした。

2. 研究方法

マウス由来象牙芽細胞系細胞、マウス急性単離三叉神経節(TG)細胞から fura-2 を用いて細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度($[Ca^{2+}]_i$)計測を行った。象牙芽細胞と TG 細胞の共培養系は、象牙芽細胞に蛍光トレーサー(DiOC₁₈)を取り込ませた後、TG 細胞が培養されているディッシュに播種する事で確立した。象牙質刺激に伴う細胞膜変形は、直接機械刺激を行う事で模倣した。細胞外液を充填した微小ガラス管を、標的細胞の直上から垂直方向へ 7.5 μ m (2.2 μ m/m) 押すことで直接機械刺激とした。標準細胞外液には Krebs 溶液を用いた。

3. 研究成績および結論

象牙芽細胞に代謝調節型・NMDA 型を含めた、全ての GluR サブタイプ(Glu 1 - 8)mRNA が発現していた。細胞外 Ca^{2+} 存在下で象牙芽細胞に GluR 選択的アゴニスト(group I・II・III代謝調節型・NMDA 型受容体アゴニスト)刺激を行うと $[Ca^{2+}]_i$ は増加した。単一象牙芽細胞に膜変形刺激を加えると、刺激された象牙芽細胞のみならず、周囲に存在する象牙芽細胞にも $[Ca^{2+}]_i$ 増加が観察された。GluR 選択的アンタゴニストを投

与すると、機械刺激された象牙芽細胞の $[Ca^{2+}]_i$ に影響しないが、周囲象牙芽細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 増加は消失した。周囲細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 増加は刺激細胞からの距離に対して一次指数関数で減少し、その空間時定数はGluR選択的アンタゴニスト投与時で減少した。象牙芽細胞における細胞間情報伝達は、拡散可能な細胞外Gluによって仲介される事が示された。近年、Gluを放出経路する Cl^- チャンネルが注目されている。同様の実験にてGlu放出 Cl^- チャンネルアンタゴニストを投与すると、刺激された象牙芽細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 増加に変化は見られないが、周囲象牙芽細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 増加は抑制された。象牙芽細胞-TG細胞共培養系で、単一象牙芽細胞に膜変形刺激を加えると、刺激された象牙芽細胞のみならず、周囲に存在するTG細胞にも一過性の $[Ca^{2+}]_i$ 増加が観察された。GluR選択的アンタゴニストは、機械刺激された象牙芽細胞の $[Ca^{2+}]_i$ に影響しなかったが、周囲TG細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 増加を抑制した。周囲TG細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 増加の空間時定数はGluR選択的アンタゴニスト投与時で減少した。

象牙質刺激に伴う象牙芽細胞の細胞膜変形は、 Cl^- チャンネルを介したGlu放出を誘発する。放出された細胞外Gluは、象牙芽細胞間・象牙芽細胞-TG細胞間の情報伝達を確立し、象牙芽細胞-TG細胞間における感覚情報の神経伝達物質として、象牙芽細胞間では傍分泌的な細胞機能変調因子として機能すると示唆された。象牙質痛シグナル変調、あるいは象牙質刺激に伴う反応性象牙質形成の細胞機能基盤が、細胞外Gluによって調節されると示唆される。

論文審査の要旨

象牙芽細胞に発現するグルタミン酸受容体の生理活性、この受容体を取り巻くメカニズムの詳細は不明である。本研究は、①象牙芽細胞に発現するグルタミン酸受容体の機能発現検索、②グルタミン酸の放出経路、③グルタミン酸による象牙芽細胞間での情報連絡機構の解明について検討した。

本審査委員会では、1) 形成される象牙質が反応性象牙質とした理由 2) グルタミン酸放出の証明、3) 4種の阻害剤の各々の痛みの連絡について検討されたか。4) グルタミン酸とATPとの相違、などについての質問がなされた。

これらの質問に対して、1) 本研究での機械刺激は象牙芽細胞死が起こらない低刺激を加えていることから、反応性象牙質形成が示唆される。2) Cl^- チャンネルの阻害剤を使用したことでグルタミン酸放出の抑制が示され、放出経路として示唆された。3) グルタミン酸受容体各サブタイプ役割までは検討していないため、今後の研究で痛みの制御における活性を検討課題とする。4) ATPは強い刺激、グルタミン酸は弱い刺激により象牙芽細胞より放出されることが示唆され、前者では主に象牙質痛、後者は象牙芽細胞の防御機構として反応性象牙質形成に関与が示唆される、との回答があり、その他の質問や口頭試問に対しても妥当な回答が得られた。また、論文タイトル、英文構成や表現、図表の表記・説明などに対して改善点が指摘され、それらについても訂正および追加を行い、論文を修正した。

以上の結果より、本研究で得られた知見は今後の歯学の進歩、発展に寄与するところ大であり、学位授与に値するものと判定した。