

Title	4 : 筋の骨への付着部形成過程におけるSox-9の局在に関する免疫組織化学的検索
Author(s)	富田, 尚充; 永倉, 遼太郎; 山本, 将仁; 松永, 智; 四ツ谷, 護; 大平, 真理子; 菅野, 亜紀; 大久保, 真衣; 佐藤, 正樹; 比嘉, 一成; 阿部, 伸一
Journal	歯科学報, 118(3): 239-239
URL	http://hdl.handle.net/10130/4610
Right	
Description	

No. 3 : ヒト由来セメント芽細胞の電位依存性イオンチャネル発現

鎌田聡仁¹⁾, 東川明日香²⁾, 木村麻記²⁾, 澁川義幸²⁾, 山下秀一郎¹⁾
 (東歯大・パーシャルデンチャー補綴)¹⁾ (東歯大・生理)²⁾

目的: セメント芽細胞は硬組織形成細胞であり, 根部セメント質を形成する。セメント質には歯根膜線維が侵入し, 歯槽骨と連結することで歯根膜機能が構成される。根尖病巣治療過程には, セメント質による根尖閉鎖が重要である。一方で細胞膜を介するイオン移動に伴う細胞膜シグナル伝達は, 細胞の生理学および病理学的な多くの細胞過程を調節しているにもかかわらず, ヒトセメント芽細胞のイオンチャネル発現についての報告はない。そこで, ヒト由来セメント芽細胞から細胞膜イオン電流記録を行い, 電位依存性イオンチャネル発現を検討した。

方法: ヒト由来セメント芽細胞 (HCEM) に whole-cell patch-clamp 法を用いて, 全細胞膜イオンチャネル電流を計測した。標準細胞外液 (標準 ECS) として Krebs 溶液 (pH7.4) を用い, 標準細胞内液 (標準 ICS) として 140mMKCl, 10mMNaCl, 10mMHEPES (pH7.2) を用いた。標準 ECS/ICS から K^+ と Cl^- を等濃度で Cs^+ と $gluconate^-$ に置換した溶液 (Cs-gluc-ECS/ICS) を作製した。

結果: 標準 ECS/ICS 下で保持電位 (Vh) $-70mV$ から $10mV$ ステップの脱分極刺激を行なったところ, 外向き電流と内向き電流が記録された。膜電位 $+80mV$ で外向き電流は $51.9 \pm 7.7pA/pF$ ($N=4$) であった。内向き電流は膜電位 $0mV$ で $-30.4 \pm 15.4pA/pF$ ($N=3$) であった。Cs-gluc-ECS/ICS 下で, Vh を $-100mV$ として脱分極刺激を与えると, 外向き電流は減少し, 内向き電流が出現した。その電流は膜電位 $0mV$ で $-46.2 \pm 6.2pA/pF$ ($N=4$) であった。内向き電流は Vh = $-80mV$ では出現しなかった。

考察: HCEM に脱分極で活性化される電位依存性イオンチャネル発現が示された。標準 ECS/ICS から Cs-gluc-ECS/ICS に置換すると, 外向き電流がほぼ消失することから, 外向き電流は K^+ 電流 (電位依存性 K^+ チャネル) と考えられた。また, 内向き電流は Vh = $-80mV$ では出現しないことから, 本電流は Na^+ 電流 (電位依存性 Na^+ チャネル) と考えられた。

No. 4 : 筋の骨への付着部形成過程における Sox-9 の局在に関する免疫組織化学的検索

富田尚充¹⁾, 永倉遼太郎¹⁾, 山本将仁¹⁾, 松永 智¹⁾, 四ツ谷 護²⁾, 大平真理子³⁾, 菅野亜紀⁴⁾,
 大久保真衣⁵⁾, 佐藤正樹⁶⁾, 比嘉一成⁷⁾, 阿部伸一¹⁾ (東歯大・解剖)¹⁾
 (東歯大・クラウンブリッジ補綴)²⁾ (東歯大・パーシャルデンチャー補綴)³⁾ (東歯大・短大)⁴⁾
 (東歯大・口健・摂食嚥下)⁵⁾ (東歯大・生物学)⁶⁾ (東歯大・市病・角膜センター)⁷⁾

目的: Sox-9 は性決定システム, 軟骨細胞の発生分化および機能に必須な転写因子である。近年 Sox-9 が, 腱組織の発生にも関与している可能性が報告された。我々はこれまで, 起源の異なる筋組織, 腱組織, 骨組織が, 筋の付着部においてどのような相互関係があって構造を獲得していくのかについて様々な観点から報告をしてきた。今回はマウス咬筋停止部を観察対象とし, 筋付着部の発生過程における Sox-9 と Scleraxis (Scx) の局在について検索を行い, 『筋・腱・骨 複合体』という1つの機能的な単位の形成過程における Sox-9 の役割について考察を試みた。

方法: 試料は ICR 系マウス (胎生 13.5~16.5日) を用い, 観察対象部位を咬筋付着部と下顎枝外面とした。東京歯科大学動物実験指針に基づき各日齢でマウスを屠殺後, 観察対象部位を試料として摘出した。通法に従いパラフィン包埋後, 連続薄切切片を作製し, 各種染色を施した。すなわち, 筋の付着形態を観察する為に Masson trichrome 染色, 筋組織の発育を観察するための抗 Desmin 抗体と筋付着部の発生過程における局在を検索する為の抗 sox-9 抗

体を用いた免疫組織化学的染色, さらには Alkaline phosphatase を用いた酵素組織化学的染色を行った。また万能写真顕微鏡 (UPM Axiophot 2) で観察を行った。

結果および考察: 胎生 13.5日において咬筋原基と下顎骨原基の間には一層の未分化な間葉細胞が認められた。胎生 14.5日になるとこの未分化な間葉細胞が咬筋内に陥入し, 胎生 15.5日, 16.5日と経時的に伸長していった。胎生 14.5日~16.5日において, 咬筋内へ陥入した間葉細胞には常に Scx が発現していたことから, この間葉細胞は将来の腱であることが確認できた。この Scx 陽性の将来の腱は, desmin が集積する咬筋の筋腱接合部と接していた。Sox-9 は胎生 13.5~16.5日まで咬筋と下顎骨の間に発現しており, 咬筋に陥入した将来の腱の骨腱接合部 (エンテシス) にもその発現は常に認められたが, それ以外の腱においては Sox-9 の発現は認められなかった。したがって本研究結果より, 胎生 13.5日において Sox-9 と Scx が共発現している領域から発生した腱が咬筋内へ陥入し, 咬筋内で経時的に筋腱接合部を形成することが示唆された。