

Title	2 : セメント芽細胞におけるCa ²⁺ + 活性化K ⁺ チャンネルおよび電位依存性Na ⁺ チャンネル発現
Author(s)	鎌田, 聡仁; 木村, 麻記; 大山, 定男; 澁川, 義幸; 山下, 秀一郎
Journal	歯科学報, 120(4): 497-497
URL	http://hdl.handle.net/10130/5386
Right	
Description	

口 演

No.1 : 象牙質形成制御の新規メカニズムの解明

中里晴香¹⁾, 小野寺晶子²⁾, 木村基善³⁾, 間 奈津子²⁾, 古澤成博¹⁾, 東 俊文²⁾ (東歯大・歯内)¹⁾
(東歯大・生化)²⁾ (東歯大・小児歯)³⁾

目的: 歯の器官発生は、上皮・間葉相互情報伝達が重要であり、これを遮断すると直ちに象牙芽細胞は分化と機能を喪失する。この時、象牙質特異的タンパク質である象牙質シアロリントタンパク質 (*Dspp*) をマーカーとして、喪失する情報伝達シグナルを明らかにし、象牙芽細胞分化機序を解明することを目的とした。

方法: 生後1日齢のC57BL/6Jマウスの上下顎第一臼歯部歯胚 (M1) を回収後上皮から間葉を単離し、Collagenase I および Trypsin-EDTA を用いて歯胚間葉系細胞の初代培養を8日間行った。サンプルは0日, 2日, 4日, 6日, 8日各々のRNAを抽出し、qRT-PCR法によって遺伝子発現を解析した。また、次世代シーケンシング (RNA-seq) により、0日目と2日目の遺伝子発現のプロファイルを比較しTPM (Transcripts Per Million) 15以上発現した遺伝子で、2日目に著しく発現を低下させた遺伝子を同定した。

結果および考察: 培養2日目以降に *Dspp* mRNA の顕著な発現量低下を認めた。RNA-seq データでは、ピアソン分析、階層的クラスタリング解析で得られた培養開始前後の2群が全く異なる細胞集団と考えられた。両群の上位1000の遺伝子に対し Gene Ontology 解析を行った。0日目では「protein kinase C binding」, 「Notch binding」や「transcription factor AP-1 complex」で有意に集積したが、2日目ではそれらの集積は認められなかった。2日目に発現が低下する遺伝子をRNA-seqで同定した24532遺伝子中、培養前後で発現が5倍以上低下し、培養前の発現がTPM15以上の遺伝子は265個であった。これらの遺伝子には最初期遺伝子、Hedgehog, Notch 関連遺伝子が含まれていた。

以上より間葉系細胞は神経堤、神経に由来し、これらは最初期遺伝子、Hedgehog, Notch 関連遺伝子の制御を受けている可能性が示唆された。

No.2 : セメント芽細胞における Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネルおよび電位依存性 Na^+ チャネル発現

鎌田聡仁¹⁾²⁾, 木村麻記²⁾, 大山定男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: セメント質は歯肉、歯根膜、歯槽骨などとともに歯周組織の一部であり、コラーゲン線維である歯根膜で歯槽骨と結合することで歯の支持機能を果たす。歯根膜を介した咀嚼に伴う咬合圧は、機能的刺激としてセメント質の吸収や添加を引き起こす。しかし、セメント質形成の分子細胞学的詳細は明らかにされてはいない。そこで、ヒトセメント芽細胞 (HCEM) から細胞膜イオン電流記録を行い、イオンチャネル発現を検討した。

方法: HCEM に whole-cell patch-clamp 法を用いてイオンチャネル電流を計測した。標準細胞外液 (標準 ECS) は Krebs 溶液とした。標準細胞内液 (標準 ICS) として 140 mM KCl, 10 mM NaCl, 10 mM HEPES の溶液を用いた。標準 ICS の K^+ を等モル濃度で Cs^+ に置換した細胞内液 (Cs-ICS), および標準 ECS/ICS の Cl^- を等モル濃度で gluconate⁻ に置換した溶液 (gluc-ECS/ICS), また標準 ECS/ICS から K^+ と Cl^- を等モル濃度で Cs^+ と gluconate⁻ にそれぞれ置換した溶液 (Cs-gluc-ECS/ICS) を作成した。また、標準 ECS と gluc-

-ECS の K^+ 濃度を等モル濃度で 5, 10, 50, 100 mM に変えた溶液を作成した。試薬として非選択的 K^+ チャネルブロッカーである TEA, IbTX, Apamin, TRAM-34 を使用した。

結果: 標準 ECS/ICS 下で脱分極刺激を行ったところ、外向き電流と内向き電流が記録された。Cs-ICS 下で同様の刺激を行うと、外向き電流はほぼ消失した。標準 ECS/ICS 下で TEA および IbTX を投与すると、外向き電流の電流密度が可逆的に減少した。Tail 電流の記録で反転電位を測定し Goldman-Hodgkin-Katz の方程式から外向き電流には K^+ と Na^+ 透過性が示唆された。記録した細胞の30%で内向き電流が記録できた。

考察: 外向き電流は Na^+ , K^+ 透過性であることが示された。また IbTX 感受性を示したことから、Large-conductance を示す Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネルの発現が示唆された。内向き電流は、保持電位 -80mV で出現しないことから、電位依存性 Na^+ チャネルと考えられた。