

■アップデートシンポジウム 2 (US2)

日時：9月5日(金) 16:00～17:30

会場：C会場(会議場2階 国際会議室)

座長：渋川 義幸(東歯大 生理)

小野 堅太郎(九歯大 生理)

「細胞内外ATP-dynamicsが制御する口腔機能」

16:00～16:15

US2-1 「甘味受容と細胞内ATP」

吉田 竜介¹(¹岡大 院医歯薬 口腔生理)

甘味は糖、人工甘味料、アミノ酸、タンパク質など様々な物質により惹起される。これらはGタンパク質共役型受容体であるTAS1R2/TAS1R3により受容される。また、近年糖に特異的な受容体としてグルコーストランスporter (GT) が寄与することが示された。糖(グルコース)はGTを介し細胞内に流入し、その代謝によりATPが産生され、甘味細胞に発現するKATPチャンネルを閉口することで、細胞を脱分極させると考えられる。またKATPチャンネルはレプチンによる甘味抑制にも関わっている。近年我々は、味覚反射の1つと考えられる頭相インスリン分泌反応において、味細胞に発現するGTが重要な役割を果たすことを明らかとした。この実験では、非代謝型グルコースアナログであるメチ

ル- α -D-グルコピラノシドを口腔摂取した群ではグルコースを口腔摂取した群より頭相インスリン分泌反応が小さかったことから、細胞内でのグルコース代謝によるATP産生が糖受容に重要である可能性を示唆する。甘味受容に関して、KATPチャンネルの開口剤(ジアゾキシド)、閉口剤(グリベンクラミド)をマウスに投与した際の、各種味覚溶液に対する応答を調べると、開口剤では全ての甘味物質に対する行動応答が減少し、閉口剤ではグルコース応答のみ影響した。これは、甘味細胞におけるKATPチャンネルがこの細胞の応答性に大きく寄与することを示している。このように、甘味細胞内のATP濃度は甘味物質に対する応答性に多大な影響を及ぼすと考えられる。

16:15～16:30

US2-2 「糖代謝調節による歯の細胞分化制御」

依田 浩子¹(¹新潟大 院医歯 硬組織形態)

エネルギー代謝は生命を支える根源的な活動であり、細胞はその生理機能に応じた代謝機構を備えている。近年、細胞内糖代謝がエネルギー産生だけでなく、細胞分化や機能を制御する重要な要因であることが明らかになり、糖代謝の役割が再注目されている。

我々はこれまでに、歯の発育過程における細胞内糖代謝経路、その代謝調節に関わるオートファジーやAMP-activated protein kinase (AMPK) と歯の形態形成との関連性について研究を進めてきた。特にエナメル質形成では、エナメル上皮細胞のグルコース取り込み調節、その後の糖代謝調節による細胞内ATP産生が時期特異的に厳密に制御されており、さらに糖代謝異

常やオートファジー不全によりエナメル質形成異常が生じることを報告してきた。

一方、歯髄組織においては、象牙芽細胞は細胞内低ATPレベルの指標であるAMPKおよびクエン酸合成酵素を持続的に発現しており、TCA回路により象牙質形成に必要なエネルギーを継続的に産生していることを見出した。さらに、各種阻害剤を用いた糖代謝経路の調節により、象牙芽細胞や歯髄細胞の分化制御が可能であるという知見も得ている。

本講演では歯の形態形成過程において、細胞挙動を制御する糖代謝調節機構に加えて、エネルギー代謝異常と歯の発育への影響に関する知見もあわせて紹介したい。

16:30 ~ 16:45

US2-3 「ヒト歯根膜細胞からの機械刺激誘発 ATP 放出機構」

小野 堅太郎¹、堀江 成和^{1,2}、中富 千尋¹
(¹九歯大 生理、²九歯大 顎口腔機能矯正)

細胞外ATPによる情報伝達が骨リモデリングや疼痛発生に関与していることが近年明らかにされてきている。一方で、歯科矯正による歯の移動時は、歯根膜への機械刺激により歯槽骨リモデリングが引き起こされ、疼痛が発生する。我々は機械刺激により歯根膜細胞からATPが細胞外に放出されているのではないかと考え、ヒト歯根膜線維芽細胞 (HPdLF) に対する新規インビトロ実験系を確立して検証を行った。

機械受容分子として最有力候補であるPIEZ01とPIEZ02の遺伝子発現量を比較したところ、HPdLFではPIEZ01はPIEZ02より100倍以上発現量が高かった。PIEZ01は細胞全体に発現しており、PIEZ01アゴニストYoda1により濃度依存的に細胞内Caイオン濃度を増加させた。同じくYoda1により濃度依存的に細胞外ATP濃

度は上昇し、PIEZ0拮抗薬やATP放出ルート阻害薬により抑制された。96ウェルプレートにおいてウェル内に挿入可能な分銅 (2g) を用意し、浸漬させてHPdLFに2.4g/cm²の圧負荷をかける実験系を作製した。圧負荷24時間後の細胞外ATP濃度は有意に上昇し、Yoda1刺激と同様にPIEZ0拮抗薬やATP放出ルート阻害薬により抑制された。さらに、PIEZ01のsiRNA処理により圧負荷後の細胞外ATP濃度上昇は抑制された。

これらの結果より、ヒト歯根膜細胞は機械刺激をPIEZ01が受容し、細胞内Caイオン濃度上昇を介して細胞外へATPを放出することが示唆された。我々は、矯正治療において細胞外ATP放出が骨芽細胞や破骨細胞の分化を誘導して歯を移動させ、疼痛発症を引き起こしているのではないかと考えている。

16:45 ~ 17:00

US2-4 「ATP-dynamics による象牙芽細胞機能制御」

倉島 竜哉¹、黄地 健仁¹、木村 麻記¹、澁川 義幸¹
(¹東歯大 生理)

象牙芽細胞は、1) 象牙質を形成する硬組織形成細胞、2) 歯の痛み (象牙質痛) の発生を担う二次感覚細胞としての2つの機能を有するユニークな細胞である。我々はこれまでの研究で、象牙芽細胞の細胞膜Ca²⁺-ATPase (PMCA) が象牙質形成に重要な役割を担うことを示してきた。加えて象牙芽細胞への直接機械刺激が、機械感受性イオンチャネル (Piezo1-TRP channel coupling) の活性化を介して、ATP透過性イオンチャネルであるpannexin-1 (PANX1) チャネルを活性化し、細胞外へATPを放出する結果として象牙質痛が発生することを明らかにしてきた。

さらにPANX1チャネル活性化による細胞外へのATP放出 (象牙質痛の発生) の結果、象牙芽細胞内のATPが枯渇するためにPMCA活性が低下 (象牙質形成の抑

制) すること、すなわち、象牙芽細胞内ATP動態変動が象牙質痛発生と象牙質形成のスイッチング機構として機能していることを明らかにしつつある。また象牙芽細胞には、ATP感受性カリウムチャネル (KATPチャネル) やATP透過性イオンチャネルであるcalcium homeostasis modulator1 (CALHM1)、ATP受容体であるP2X受容体 (P2X4/7受容体) およびP2Y受容体 (P2Y1/12受容体) が機能的に発現している。このように、近年、象牙芽細胞内ATP動態変動がダイナミックにその細胞機能を制御している証拠が徐々に揃ってきた。

本シンポジウムでは、ATPによる象牙芽細胞機能制御についての新知見を紹介し、ATPを軸とした象牙芽細胞研究の今後の展望について議論したい。

17:00 ~ 17:15

US2-5 「ライブイメージングで明らかになってきた細胞内 ATP ダイナミクス」

今村 博臣¹

(¹ 山口大 大学研究推進機構 システム生物 RI)

ATPはエネルギー運搬体、RNAの原料、シグナル等の様々な重要な役割を担っている。一方で、生きた組織や細胞におけるATP濃度の挙動についての知見は少なく、ATPの時間的・空間的な変動と生命現象との関係についての理解は進んでいない。この課題を解決するため、私たちは遺伝子コード型の蛍光ATPバイオセンサーの開発を世界に先駆けて進めてきた。そのひとつであるATeamは、ATP結合タンパク質を介して2つの蛍光タンパク質を連結させたフェルスター共鳴エネルギー移動 (FRET) 型の蛍光バイオセンサーで、ATP濃度によって蛍光タンパク質間のFRET効率が変化する。

ATeamを細胞に導入して蛍光ライブイメージングを行うことで、生きた細胞内のATP濃度の時空間的なダイナミクスを解析することが可能である。この手法を用いることで、インスリン分泌細胞におけるATP濃度とカルシウムイオン濃度の関係や、細胞分裂におけるATP濃度のダイナミックな変化が明らかとなった。また、アポトーシスにおいて、細胞膜チャネルであるパネキシン1依存的に細胞内ATP濃度が枯渇することで細胞が適切に不活性な状態へと移行することが示された。本シンポジウムでは、ATPイメージング手法の原理と応用例そして将来展望まで、幅広く紹介したい。

17:15 ~ 17:30

総合討論

(座長席：2名、演題席：4名)