

学位審査結果報告書

学位申請者氏名 堀江 成和

学位論文題目 **PIEZO1 promotes ATP release from periodontal ligament cells following compression force.**

審査委員 (主査氏名) 竹内 弘 (署名) 竹内弘

(副査氏名) 古株 彰一郎 (署名) 古株彰一郎

(副査氏名) 臼井 通彦 (署名) 臼井通彦

学位審査結果の要旨

矯正歯科治療では、歯に加わった機械的な力によりアデノシン三リン酸 (ATP) が歯根膜細胞から細胞外に放出され、歯の移動に必要な骨リモデリングとともに疼痛誘発に関与するとされている。しかし、歯根膜細胞における歯科矯正力を受容する具体的な機械感受性分子の詳細は明らかとなっていない。申請者の堀江氏は、これまでの研究から歯根膜細胞からの ATP 放出経路が Ca^{2+} 依存性であることに着目し、本研究においてヒト歯根膜線維芽細胞 (HPdLF) の機械刺激により誘導される ATP 放出への機械感受性 PIEZO チャンネルの関与について検討した。

RT-qPCR、抗 PIEZO1 抗体を用いた蛍光免疫染色、および PIEZO1 アゴニスト Yoda1 を用いた Ca^{2+} イメージングにより、HPdLF において機能的な PIEZO1 分子が発現していることを確認した。Yoda1 は用量依存的に細胞外 ATP 濃度を上昇させ、各種阻害剤を用いた実験から HPdLF は PIEZO1 の活性化により ATP を細胞外に放出し、この放出には小胞型ヌクレオチドトランスポーター (VNUT)、Connexin 43、Pannexin 1 が関与することが示唆された。48 ウェルプレートに播種した HPdLF の上部から 2 g の分銅により圧力を加える *in vitro* 加重負荷細胞モデル (IVWLC) を新規に開発して機械刺激をおこなったところ、培地中の ATP 濃度が上昇した。IVWLC における HPdLF からの ATP 放出について Yoda1 刺激と同様に各種阻害剤で阻害されたこと、siRNA を用いた PIEZO1 発現抑制によっても阻害されたことから、IVWLC による ATP 放出には PIEZO1 が重要な役割を果たすことが示唆された。

本研究により、HPdLF の細胞膜上の PIEZO1 は機械的圧縮力により活性化され、細胞内 Ca^{2+} 依存性のエキソサイトーシスと ATP 透過性チャンネルを介した ATP 放出を誘導することが明らかとなった。

本研究内容について申請者の堀江氏に対し、実験の手技や結果の解釈、当該分野における意義と臨床応用への展望等について主査と 2 名の副査による諮問を行い、概ね適切な回答を得た。矯正歯科治療における歯の移動と疼痛発症への関与が示唆される ATP 放出の分子機構の一端を明らかにした本研究成果は、より効果的かつ患者にとって負担の少ない矯正歯科治療方法の開発に寄与することから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。