

## 論 文 要 旨

氏 名	堀江 成和
タイトル (日英併記)	<b>PIEZO1 promotes ATP release from periodontal ligament cells following compression force</b> PIEZO1 は圧縮力に伴う歯根膜細胞からの ATP 放出を促進する

### 論文の要旨

過去の我々の研究において、ヒト歯根膜線維芽細胞 (HPdLF) に対し歯科矯正力を想定した圧縮力が加わると、細胞外アデノシン三リン酸 (ATP) の放出が誘導されることを報告した。しかし、HPdLF における歯科矯正力を受容する機械感受性分子の発現および機能は確認されていない。本研究では、HPdLF を用い、機械刺激による ATP 放出における機械感受性 PIEZO チャネルの関与を検討した。

HPdLF における PIEZO 発現を調べるため、定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-qPCR)、蛍光免疫染色、Ca<sup>2+</sup>イメージングを行った。HPdLF では、PIEZO1 mRNA が PIEZO2 mRNA よりも多く発現しており、HPdLF の細胞体は抗 PIEZO1 抗体に対して免疫反応性を示した。Yoda1 は用量依存的に細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度と細胞外 ATP 濃度を上昇させた。

48 ウェルプレートに HPdLF を播種し、上部から 2 g の分銅により圧力を加える、新規に開発した *in vitro* 加重負荷細胞モデル (IVWLC) や PIEZO1 アゴニストである Yoda1 添加後の培養液中で、ATP 濃度の測定を行った。また、機械感受性チャネル阻害剤 GsMTx4、ATP 放出経路阻害剤クロドロン酸、メクロフェナム酸、プロベネシドを用いた薬理的阻害実験、さらには PIEZO1 の発現を抑制するために、PIEZO1 遺伝子の短鎖干渉 RNA (siRNA) 処理を行った。ATP 放出は GsMTx4 および ATP 放出経路阻害剤によって阻害された。IVWLC では、HPdLF は圧縮力に反応して ATP を放出したが、同時に細胞に加えられた低酸素刺激には反応しなかった。機械的刺激による ATP 放出は、GsMTx4、ATP 放出経路の阻害剤、PIEZO1 の siRNA 処理によって阻害された。

本研究より、HPdLF の細胞膜上の PIEZO1 は圧縮力により活性化され、細胞内 Ca<sup>2+</sup>依存性のエキソサイトーシスと ATP 透過性チャネルを介した ATP 放出を誘導することが示唆された。