



研究成果 象牙芽細胞内 cyclic AMP シグナルが、Ca²⁺シグナルを調節する

新たな細胞信号

2025年2月28日

ヒト培養象牙芽細胞で、細胞内 cyclic AMP シグナルが calcium homeostasis modulator 1 (CALHM1) を介する細胞内 Ca²⁺シグナル応答を調節することを明らかにしました。

【ポイント】

- ・象牙芽細胞の新しい細胞内シグナルを見出した。
- ・象牙芽細胞の G_s タンパク質共役型受容体活性化を介した細胞内 cAMP シグナルが CALHM1 から Ca²⁺流入を誘発することが明らかになった。
- ・象牙芽細胞内 cAMP シグナル誘発性 Ca²⁺シグナルは象牙質石灰化や象牙質痛発生などの象牙芽細胞機能調節に関与することが示唆された。

【概要】

東京歯科大学・生理学講座の澁川義幸らの研究グループは、象牙芽細胞の細胞内 cyclic AMP シグナルが calcium homeostasis modulator 1 (CALHM1) を介する細胞内 Ca²⁺シグナル応答を調節することを明らかにしました。象牙芽細胞*¹の細胞内 Ca²⁺シグナルは反応象牙質形成と象牙質痛の発生において重要な役割を果たします。象牙芽細胞には、アデニル酸シクラーゼの活性化を介して cyclic AMP (cAMP) の産生を促進する G_s タンパク質共役型受容体*²が発現しています。しかし、象牙芽細胞機能に対する cAMP の役割や細胞内 cAMP シグナル*³と Ca²⁺シグナルのクロストークは不明でした。本研究では、ヒト培養象牙芽細胞を用いてアデニル酸シクラーゼまたは cAMP 合成を促進する G_s タンパク質共役型受容体である β₂ 受容体の活性化で生じる細胞内 cAMP シグナルとクロストークする Ca²⁺シグナルとその機能を検討しました。その結果、象牙芽細胞のアデニル酸シクラーゼ活性化は細胞内 cAMP レベル増加とプロテインキナーゼ A を介した細胞外からの Ca²⁺流入を誘発することが明らかになりました。その Ca²⁺流入は calcium homeostasis modulator 1 (CALHM1) によって調節されることも明らかになりました。さらに、象牙芽細胞における細胞内 cAMP シグナル経路は象牙質形成を負に調節することが示唆されました。したがって、象牙芽細胞の G_s タンパク質共役型受容体活性化と cAMP-プロテインキナーゼ A シグナル、CALHM1 を介する cAMP 誘発性 Ca²⁺流入は象牙質石灰化や象牙質痛発生などの象牙芽細胞機能調節に関与することが示唆されました。これらのことから、私たちは象牙芽細胞の細胞内 ATP 代謝 (ATP が分解され cAMP となる) が象牙質形成、歯痛発生に重要な役割を演じているだろうと考えています。

* 1 : 象牙質と歯髄の境界に位置し、象牙質形成や象牙質感覚を担う感覚受容細胞。

* 2 : 7 回膜貫通型受容体である G タンパク質共役型受容体の 1 つ。活性化でアデニル酸シクラーゼという酵素を活性化し cAMP 合成を促進する。G タンパク質共役型受容体は、リガンドの結合で、G タンパク質 (GTP との結合により活性化される) が活性化されセカンドメッセンジャーを介し様々な細胞内シグナルに関与する。

* 3 : アデニル酸シクラーゼにより ATP から産生されるセカンドメッセンジャーの cAMP を介した細胞内シグナル。

本成果は、2024年11月12日付で、国際ジャーナル誌『Pflügers Archiv – European Journal of Physiology』にて発表されました。

【研究の背景と経緯】

象牙芽細胞の細胞内 Ca^{2+} シグナルは、象牙質表面に刺激が加わった際の象牙質形成（反応象牙質形成）や歯痛（象牙質痛）の発生に重要な役割を果たします。私達は、象牙芽細胞が歯への刺激を受け取ることで、歯痛の1つである象牙質痛が発生することを報告してきました。象牙質表面に刺激が加わると、象牙芽細胞の機械感受性イオンチャネル*⁴活性化で生じる細胞内 Ca^{2+} 濃度増加により pannexin-1 チャネル*⁵から ATP が、グルタミン酸透過性陰イオンチャネルからグルタミン酸が放出されます。これら伝達物質が近傍の三叉神経節ニューロンの P2X_3 受容体*⁶と代謝調節型グルタミン酸受容体に作用することで象牙質痛が生じます。一方、増加した細胞内 Ca^{2+} は Ca^{2+} 排出系*⁷である Na^+ - Ca^{2+} 交換体と細胞膜 Ca^{2+} -ATPase により細胞外の石灰化前線に排出されることで反応象牙質が形成されます。これまでに、私達は cAMP 合成を促進する G_s タンパク質共役型受容体が象牙芽細胞に発現することを報告してきました。しかし、詳細な象牙芽細胞内 cAMP シグナル経路、cAMP の細胞機能に対する役割、細胞内 Ca^{2+} シグナルと cAMP シグナルの機能連関は不明でした。そこで、ヒト培養象牙芽細胞を用いて cAMP を合成する酵素であるアデニル酸シクラーゼ、または G_s タンパク質共役型受容体である β_2 受容体の活性化で生じる細胞内 cAMP シグナル、細胞内 Ca^{2+} シグナル、両者の関連を検討しました。加えて、細胞内 cAMP の石灰化に対する影響も検討しました。

* 4 : 機械刺激により活性化する非選択的陽イオンチャネル。象牙芽細胞には Piezo1 チャネルや機械感受性 transient receptor potential チャネルが発現する。

* 5 : ATP 放出チャネルである pannexin ファミリーの1つ。

* 6 : イオンチャネル型 ATP 受容体である P2X 受容体の1つ。

* 7 : 細胞内の Ca^{2+} を細胞外へ排出する細胞膜タンパク質。 Na^+ - Ca^{2+} 交換体と細胞膜 Ca^{2+} -ATPase がある。

【研究成果】

細胞外 Ca^{2+} 存在下で、アデニル酸シクラーゼの活性化薬（forskolin）または β_2 受容体アゴニスト（isoproterenol）を投与すると細胞内 cAMP レベルは増加し、その増加はアデニル酸シクラーゼ阻害薬の投与で抑制されました。Forskolin または isoproterenol の投与は細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) も増加しました。この増加は細胞外 Ca^{2+} の除去により消失しました。Forskolin 誘発性 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加はプロテインキナーゼ A 阻害薬または CALHM1 の阻害薬 (Gd^{3+} 、2APB、 Zn^{2+}) の投与で抑制されました。 Gd^{3+} は L 型・T 型電位依存性 Ca^{2+} チャネル (VGCC) や複数の transient receptor potential (TRP) チャネルも阻害するため、選択的 L 型 VGCC 阻害薬または選択的 T 型 VGCC 阻害薬、非選択的な VGCC と TRP チャネルの阻害薬を投与しましたが、forskolin 誘発性 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加は抑制されませんでした。CALHM1 は Ca^{2+} 透過性チャネルですが ATP 放出チャネルでもあります。そこで、免疫蛍光染色を行ったところ、ヒト培養象牙芽細胞は抗 CALHM1 抗体とミトコンドリアマーカである抗 Tom20 抗体に免疫陽性反応を示しました。マウス臼歯組織切片では、象牙芽細胞の抗 CALHM1 抗体陽性部位の近傍に三叉神経節ニューロンの抗 P2X_3 受容体抗体陽性部位がみられました。Short hairpin RNA (shRNA) を用いて CALHM1 をノックダウンすると forskolin 誘発性 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加は抑制されました。ヒト培養象牙芽細胞を用い alizarin red 染色と von Kossa 染色を行った石灰化試験で、培地に forskolin を添加した群は添加しなかった群と比べ石灰化が抑制されました。これらの結果から、象牙芽細胞のアデニル酸シクラーゼの活性化は細胞内 cAMP レベルを増加すること、 β_2 受容体の活性化はアデニル酸シクラーゼを活性化することで細胞内 cAMP レベルを増加することが示唆されました。象牙芽細胞のアデニル酸シクラーゼの活性化はプロテインキナーゼ A 活性化を介した CALHM1 からの Ca^{2+} 流入を誘発することが示唆されました。また、象牙芽細胞の CALHM1 と三叉神経節ニューロンの P2X_3

受容体は近接して発現することが示唆されました。加えて、アデニル酸シクラーゼの活性化は象牙芽細胞による石灰化を抑制することが示唆されました。

以上のことから、象牙芽細胞の G_s タンパク質共役型受容体活性化と cAMP-プロテインキナーゼ A シグナルが CALHM1 を介する cAMP 誘発性 Ca²⁺ 流入を活性化し、象牙質石灰化や象牙質痛発生などの象牙芽細胞機能調節に関与することが示唆されました。

本研究は、象牙芽細胞の G_s タンパク質共役型受容体活性化を介した細胞内 cAMP シグナルが CALHM1 から Ca²⁺ 流入を誘発することを明らかにしましたが、cAMP により調節される象牙芽細胞機能に対する CALHM1 の役割は不明です。加えて、CALHM1 が三叉神経節ニューロンへの ATP 放出経路として機能することで、象牙質痛が発生するかも不明です。今後、引き続き CALHM1 の象牙芽細胞機能への関与について研究を進めていくことで、反応象牙質形成や象牙質痛発生機序のさらなる解明が期待されます。

【論文情報】

論文タイトル : Intracellular cAMP signaling-induced Ca²⁺ influx mediated by calcium homeostasis modulator 1 (CALHM1) in human odontoblasts

著者 : Maki Kimura, Sachie Nomura, Takehito Ouchi, Ryuya Kurashima, Rei Nakano, Hinako Sekiya, Hidetaka Kuroda, Kyosuke Kono, Yoshiyuki Shibukawa

雑誌名 : Pflügers Archiv – European Journal of Physiology

2025;477(2):273–290

DOI: 10.1007/s00424-024-03038-4

【研究者プロフィール】

氏 名 : 澁川 義幸 (しぶかわ よしゆき) Yoshiyuki Shibukawa

所属・職名 : 東京歯科大学 生理学講座・教授

氏 名 : 木村 麻記 (きむら まき) Maki Kimura

所属・職名 : 東京歯科大学 生理学講座・講師

【お問い合わせ先】

所 属 : 東京歯科大学 生理学講座

職名・氏名 : 教授・澁川 義幸

電 話 : 03-6380-9560

E - m a i l : yshibuka@tdc.ac.jp