

## 学位研究紹介

## ラット切歯歯根膜の終末シュワン細胞および機械受容器ルフィニ神経終末におけるカベオリン-1とカルシウムATPaseの細胞特異的な局在に関する研究

### Differential cell-specific location of Cav-1 and Ca<sup>2+</sup>-ATPase in terminal Schwann cells and mechanoreceptive Ruffini ending in the periodontal ligament of the rat incisor

新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔生命科学専攻 歯学分野  
飯塚直之

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics,  
Department of Oral Health Sciences, Niigata University  
Graduate School of Medical and Dental Sciences  
Naoyuki Iizuka

#### 【緒 言】

細胞膜の陥凹であるカベオラは、シグナル伝達や細胞内外の物質輸送に関与する膜マイクロドメインの1つであり、その構成タンパクとしてカベオリン-1, -2, -3 (Cav1, 2, 3) が同定されている。Cav1はカベオラ構造を持つ多くの細胞で発現しているが、Cav3は筋細胞に限局して発現することが報告されている。歯根膜の重要な機械受容器であるルフィニ神経終末は、樹枝状に広がる軸索終末とそれに付随する類円形を呈する終末シュワン細胞からなり、これらの細胞膜にはカベオラ様構造が発達している。軸索と軸索を被覆するシュワン細胞の細胞質突起であるシュワン鞘の間で行われる情報伝達や物質の移動にカベオラ様構造が関与していると考えられている。しかしながら、カベオラ様構造の機能的意義や役割については不明な点が多い。末梢神経の機械受容器の興奮には、カルシウムイオンの軸索内への流入が必要であると言われている。これまでの研究によりルフィニ神経終末には、さまざまなカルシウム結合性タンパクやカルシウムイオン調節タンパクの存在が確認されており、カベオラ様構造との関係も示唆されている。本研究では、カルシウムイオン濃度調節に重要な役割を持つCa<sup>2+</sup>-ATPaseの1種であるカルシウムポンプ (PMCA) とカベオラ構成タンパクであるカベオリンのラット歯根

膜ルフィニ神経終末における局在を、免疫組織化学的に検討した。

#### 【材料と方法】

試料として8週齢雄性ウイスター系ラットを用いた。灌流固定後EDTAにて脱灰を行い、上顎切歯部の矢状断凍結切片 (30 μm) および三叉神経節の凍結切片 (10 μm) を作製した。Cav1, 3およびPMCAの局在をそれぞれに対する抗体を用いた免疫組織化学と電子顕微鏡観察にて検討した。さらに上顎切歯部において、Cav1については終末シュワン細胞マーカーである非特異的コリンエステラーゼ反応と、PMCAについては軸索マーカーの抗PGP9.5抗体またはシュワン細胞マーカーの抗S100タンパク抗体との二重染色を行い、それぞれの局在を検討した。ウェスタンブロット法には、三叉神経節の新鮮試料を用いた。

#### 【結 果】

ウェスタンブロット法と免疫染色により、三叉神経節ではCav1の免疫反応が神経細胞を取り囲む衛星細胞と軸索周囲のシュワン細胞および毛細血管内皮細胞に局在していた。歯根膜においては、太い樹枝状と類円形を呈する強いCav1免疫陽性反応が歯槽骨側に認められた。類円形のCav1陽性を示す細胞は非特異的コリンエステラーゼ反応を示し、これら陽性反応は終末シュワン細胞とその細胞質突起であるシュワン鞘に存在することが確認された。電子顕微鏡下では、シュワン細胞の細胞体の陽性反応は細胞膜の陥凹部に沿って存在し、シュワン鞘に存在する陽性反応は基底膜側と軸索側の両側に観察され、これによりルフィニ神経終末に発達する膜の陥凹がカベオラであることが明らかとなった。(図1) また

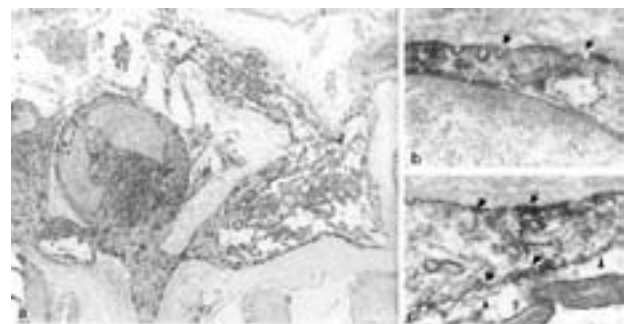


図1 カベオリン1免疫電子顕微鏡像

Cav3 陽性反応は、切歯歯根膜、三叉神経節ともにいずれの部位でも認められなかった。

b. 矢印で示す終末シュワン細胞の細胞体に沿って存在するカベオラ様構造に免疫陽性反応の集積が認められる(矢印)。拡大像 c, シュワン鞘においてカベオリン 1 免疫陽性反応を示すカベオラ構造が軸索側と基底膜側両面に認められる。さらに矢尻で示される軸索の細胞膜の陥凹では、わずかに陽性反応が確認される。(矢尻)

PMCA の三叉神経節における局在は、中型から大型の神経細胞体の細胞膜に沿って認められ、特に膜が指状に折れ込む部位に集積していたが、周囲の衛星細胞には陽性反応は認められなかった。歯根膜においては、PGP9.5 陽性反応を示す樹枝状に広がる軸索と共存していたが、S100 タンパク陽性の終末シュワン細胞やシュワン鞘とは免疫共陽性反応を示さなかった。PMCA 免疫陽性反応は、シュワン鞘との境界部の軸索の細胞膜に沿って存在していたが、終末シュワン細胞の細胞体やシュワン鞘に発達するカベオラ様構造には明らかな陽性反応が観察されなかった。(図 2)

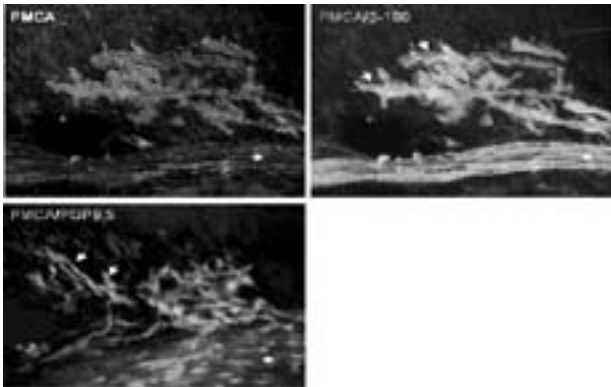


図 2 歯根膜ルフィニ神経終末における PMCA 免疫陽性反応像

赤色で示される強い PMCA 陽性反応が認められる。緑色で示される S100 タンパク陽性の終末シュワン細胞は、PMCA 陽性反応を示さないが、そこから伸びる樹枝状に発達する S100 タンパク陽性の軸索の外形に沿って、点状に強い陽性反応が存在する(矢印)。また、PGP9.5 陽性の軸索突起は PMCA と共陽性反応を示すが、歯槽骨に沿って走る太い神経束では PGP9.5 および S100 タンパクのみが陽性反応を示し、PMCA 陽性反応は認められない。

### 【考 察】

本研究結果から、歯根膜ルフィニ神経終末の終末シュワン細胞に発達するカベオラでは、Cav1 を介した細胞内への情報伝達や細胞内外への物質輸送のコントロールが行われている可能性が示唆された。また軸索の細胞膜におけるカルシウムポンプの存在は、神経興奮時に一過性に細胞内に流入するカルシウムイオンを細胞外へ速やかに排出することによって、興奮の消退と細胞の恒常性の維持に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

### 【参考文献】

Iizuka N, Suzuki A, Nozawa-Inoue K, Kawano Y, Nandasena BGTL, Okiji T, Maeda T: Differential cell-specific location of Cav-1 and  $Ca^{2+}$ -ATPase in terminal Schwann cells and mechanoreceptive Ruffini endings in the periodontal ligament of the rat incisor. *J Anat.* 214 (2) :267-274,2009.

(図は全て参考文献より改変して引用)