

原著

BK channels in human periodontal ligament fibroblasts

白鳥香理^{1,2)}, 小林武志²⁾, 深尾充宏²⁾, 出張裕也¹⁾,
宮崎晃亘¹⁾, 平塚博義¹⁾, 當瀬規嗣²⁾

¹⁾札幌医科大学医学部口腔外科学講座

²⁾札幌医科大学医学部細胞生理学講座

Kaori SHIRATORI^{1,2)}, Takeshi KOBAYASHI²⁾, Mitsuhiro FUKAO²⁾, Hironari DEHARI¹⁾,
Akihiro MIYAZAKI¹⁾, Hiroyoshi HIRATSUKA¹⁾, Noritsugu TOHSE²⁾

¹⁾Department of Oral Surgery, Sapporo Medical University School of Medicine

²⁾Department of Cellular Physiology and Signal Transduction, Sapporo Medical University School of Medicine

ABSTRACT

The periodontal ligament (PDL) is the fibrous connective tissue which connects the cementum to the alveolar bone and consists predominantly of PDL fibroblasts as the main cellular component. PDL fibroblasts respond to mechanical stress via a specific signaling system with surrounding cells which in turn, results in the regulation of bone-matrix resorption and formation. Mechanical compression force is known to induce a reduction in the number of PDL fibroblasts. However, the precise mechanisms by which applied forces produce reactive changes in PDL fibroblasts remain poorly understood. Previous studies have reported that certain stretch-activated ion channels are able to convert extracellular mechanical stress into intracellular signals. In the present study, we evaluated stretch-activated ion channels in cultured human PDL fibroblasts. Patch clamp experiments revealed that cultured human PDL fibroblasts exhibit a stretch-activated potassium current with a single channel conductance of 275.4 pS. This potassium current is activated by membrane stretch and by an increase in the concentration of intracellular calcium. Our electrophysiological experiments indicated that the channel responsible for this current is likely to be a large conductance, calcium- and voltage-activated potassium channel (BK channel). Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) revealed the existence of BK channel mRNA in cultured human PDL fibroblasts. In summary, our results reveal that cultured human PDL fibroblasts exhibit functional BK channels.

(Received June 24, 2016 and Accepted July 19, 2016)

Key words: periodontal ligament fibroblast, BK channel, potassium current, patch clamp

1 緒 言

歯根膜（歯周靱帯）は歯の周囲の歯根膜腔をみたしている線維性結合組織で、歯のセメント質と歯槽骨を結びつけている組織である。歯根膜は主にコラーゲン線維から成っており、歯の植立だけでなく咬合力の緩圧にも役立っている。歯根膜の細胞成分としては、線維芽細胞・セメント芽細胞・骨芽細胞・破骨細胞・マクロファージ・未分化間葉細胞・マラッセ上皮遺残などを認める。そのうち線維芽細胞は数も多く、歯根膜の線維形成も担っているため歯根膜細胞とも呼ばれている¹⁻³⁾。

歯科矯正学的治療のため歯に矯正力を作用させると、歯根膜・歯槽骨・歯根・歯肉にそれぞれ変化が生じた結果、圧迫側の歯槽骨の吸収と牽引側の歯槽骨の新生が生じ、最終的に歯は力の作用方向へ移動していく。

歯根膜においては矯正力を作用させるとまもなく圧迫側の歯根膜の体積の減少が認められるが、この体積の減少に歯根膜細胞のアポトーシスが関与しているとの報告がある。また、矯正中の牽引側歯根膜細胞からは骨芽細胞分化関連因子である Runt-related gene 2 (Runx2) や muscle segment homeobox homolog 2 (Msx2) の発現上昇も報告されている^{4,7)}。このように、歯根膜に力が加わることで、歯根膜細胞に変化が生じることは多く報告されているが、歯根膜が力をどのように感知し、それを歯根膜細胞の細胞内情報伝達系へのシグナルに変換しているかについては明確には解明されていない³⁾。

細胞膜には種々の分子が存在し、細胞外と細胞内の情報伝達を仲介している。その一つとしてイオンチャネルがある。イオンチャネルの活性化は膜電位に依存

する場合、アセチルコリンなどのリガンドの結合に依存する場合、細胞膜の伸展に依存する場合などが確認されている。特に、イオンチャネルの活性化が細胞膜の伸展に依存する stretch-activated 型は細胞に加わった力を細胞内情報伝達系に変換する特性を有していると考えられており、Large conductance, calcium- and voltage-activated potassium channel (BK チャネル) や TRP (Transient receptor potential) ファミリー、Acid-sensing ion channels, Piezo proteins 等が報告されている⁸⁻¹⁰。

そこで今回我々は歯根膜細胞に発現している stretch-activated 型イオンチャネルについて電気生理学および生化学的な検討を行い、その結果 BK チャネルが歯根膜細胞に発現していることを確認したので報告する。

2 実験方法

2・1 細胞と培養

細胞は Clonetics® Human Periodontal Ligament Fibroblast Cell Systems (Cambrex) のヒト歯根膜細胞を使用。細胞の播種は基本培地である Clonetics® SCBM™ Stromal Cell Basal Medium に添加因子セットである Clonetics® SCGM™ SingleQuots® を添加した培養液で行い、37°C、5% CO₂ の条件下で細胞を培養した。継代はダルベッコ改変イーグル培地 (SIGMA) にペニシリン (Life technologies)、ストレプトマイシン (Life technologies)、熱処理をした Collect® Fetal Bovine Serum (MP Biomedicals) を最終濃度がそれぞれ 30 μg/ml, 30unit/ml, 10% になるように添加した培養液で行った。実験には、継代 3 代以降の細胞を用いた。実験を行う直前の継代は、培養皿の底に小さく割ったカバーガラスを敷き詰め、その上に細胞を播種した。

2・2 チャネル電流測定法

K⁺ 電流の単一チャネル電流は patch-clamp 用増幅器 Axopatch 200B amplifier (Axon Instruments Inc) を用いて記録した。電流データは 10kHz でサンプリングを行い、次いで 2kHz でローパスフィルタリング処理を行った。Na⁺ rich 液の組成は 140mM NaCl, 5mM KCl, 1mM MgCl₂, 1.8mM CaCl₂, 10mM HEPES (pH 7.4) とした。K⁺ rich 液の組成は 140mM KCl, 1mM MgCl₂, 1.8mM CaCl₂, 10mM HEPES (pH 7.4) とした。カバーガラスに付着したヒト歯根膜細胞を灌流槽に固定し、37°C の Na⁺ rich 灌流液で灌流した。K⁺ rich 液で内腔を満たしたガラス製パッチ電極を細胞表面に接触させ電極内を陰圧にすることで細胞表面を吸引し、細胞と電極間の抵抗が 1 G Ω 以上のギガシールを形成する。ギガシール形成後に電極内の陰圧をゼロに戻し、次いで灌流液を K⁺ rich 液に変更し、cell-attached patch-clamp 法にて電流を測定した。ガラス製パッチ

電極内の吸引圧は水柱圧測定装置にて計測した。

細胞内 Ca²⁺ 濃度と K⁺ 電流との相関関係は、inside-out patch-clamp 法にて測定した。上述と同様にギガシールを形成した後、灌流液を遊離 Ca²⁺ 濃度がゼロである K⁺ rich-Ca²⁺ free 液に置換する。電極を細胞から離れる方向に移動させると inside-out 形成となる。その後、遊離 Ca²⁺ 濃度が 1 × 10⁻⁸M である K⁺ rich-pCa8 液、および 1 × 10⁻⁴M である K⁺ rich-pCa4 液を灌流し電流を測定した。K⁺ rich-Ca²⁺ free 液の組成は 140mM KCl, 1mM MgCl₂, 5mM EGTA, 10mM HEPES (pH 7.4)。K⁺ rich-pCa8 液の組成は 140mM KCl, 1mM MgCl₂, 0.156mM CaCl₂, 1mM EGTA, 10mM HEPES (pH 7.4)。K⁺ rich-pCa4 液の組成は 140mM KCl, 1mM MgCl₂, 1.06mM CaCl₂, 1mM EGTA, 10mM HEPES (pH 7.4)。

電流データの解析は pCLAMP9 (Axon Instruments Inc) にて行った。データは平均値 ± 標準誤差で示した。

2・3 RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction) 法

ヒト歯根膜細胞での BK チャネル発現は RT-PCR 法にて確認した。ヒト BK チャネルの塩基配列として NM_001014797 と NM_002247 が Pubmed に登録されている。その為、両配列に共通の部分が増幅されるプライマー (forward primer: 5'-ATG TTT GCC AGC TAC GTC CCT-3'; reverse primer: 5'-TCG CCA AAG ATG CAG ACC A-3') を設計した。トータル RNA は TRIzol® reagent (Invitrogen) にてヒト歯根膜細胞より抽出した。逆転写 (RT) は Superscript III reverse transcriptase (Invitrogen) を用い行った。PCR は Platinum® Pfx DNA Polymerase を使い、three-step cycle 法 (熱変性 94°C 15 秒, アニリング 55°C 30 秒, 伸張反応 68°C 75 秒, 35 サイクル) にて施行した。PCR 産物は 1% アガロースゲル電気泳動をかけた後、エチジウムブロマイドで染色を行いデジタルカメラにて記録した。

3 結果

3・1 細胞膜伸展によるシングルチャネル電流の変化の測定

cell-attached patch-clamp 法にて培養ヒト歯根膜細胞に発現している電流を測定すると、様々なコンダクタンスの電流が観察された。また、patch-clamp 電極内をより陰圧にすると電極に接着している細胞膜がより伸展され、結果として開口確率が上昇する “stretch-activated 型イオンチャネル” の電流が観察された。特に今回は図 1-A の様に膜電位が +40mV で約 10pA という大きなコンダクタンスを持ち、しかも、図 1-A の様に細胞膜伸展によって開口確率が大きく上昇する

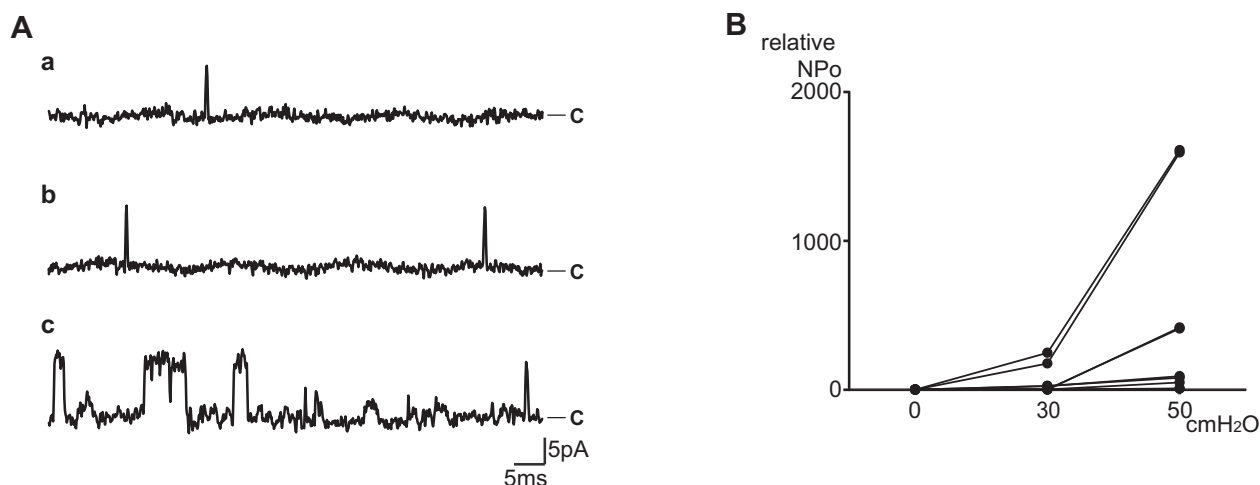


図1. 培養ヒト歯根膜細胞で観察されるシングルチャネル電流の細胞膜伸展による変化. cell-attached patch-clamp 法によって観察を行った. patch-clamp 電極を水柱圧測定器付き吸引ポンプに接続し, 電極内を陰圧にした状態で電流を測定した. 膜電位は +40mV. A: 吸引圧が a) 0cmH₂O, b) 30cmH₂O, c) 50cmH₂O におけるシングルチャネル電流の代表例. B: 開口確率 (NPo) - 陰圧 (cmH₂O) 特性. 開口確率は各陰圧での開時間 / (開時間 + 閉時間) にて算出. 0cmH₂O での開口確率を 1 とし, 30cmH₂O および 50cmH₂O の開口確率を相対値として算出 (relative NPo). 各々の折れ線は同一パッチの結果を表す (n=9).

電流がよく観察された. そこで本研究ではこの大きなコンダクタンスを持った電流について検討することとした. 図1はこの電流の細胞膜伸展に対する反応を示した結果である. 細胞膜を伸展する前 (0 cmH₂O) の開口確率を 1 とすると, 相対的開口確率 (relative NPo) は 30cmH₂O では 54.1 ± 30.7 (n=9), 50cmH₂O では 474.2 ± 219.4 (n=9) と大きくなる特性を示した. ただし各電極内に存在するイオンチャネルは複数であり, その結果各パッチでの開口確率のばらつきが大きくなる. その為, 開口確率の結果に関しては, 同一パッチに由来する各陰圧での開口確率を結んだ折れ線グラフを用い示すこととした (図1-B). このグラフからも, 陰圧が大きくなるに従い開口確率が大きくなる特性が示された.

3・2 シングルチャネル電流の膜電位依存性の測定

次に, シングルチャネル電流の膜電位依存性に関して検討を行った. +40mV, +60mV, +80mV と膜電位を大きくしていくと, コンダクタンスはそれぞれ 10.6 ± 0.5 pA (n=4), 16.0 ± 0.3 pA (n=4), 21.6 ± 0.2 pA (n=3) と大きくなっていった (図2-A, B). 各膜電位でのコンダクタンスの平均値を用いて回帰直線を算出した結果, この電流のシングルチャネルコンダクタンスは 275.4 pS で, 逆転電位は $+1.72$ mV であると判明した (図2-B). 次に膜電位と開口確率の関係を検討した. +40mV での開口確率を 1 とすると, 相対的開口確率 (relative NPo) は +60mV では 4.1 ± 1.1 (n=4), +80mV では 32.0 ± 8.7 (n=3) と大きくなる特性を示した (図2-A, C). 前述の通り, 各電極内に存在するイオンチャネルは複数であり, その結果各パッチ

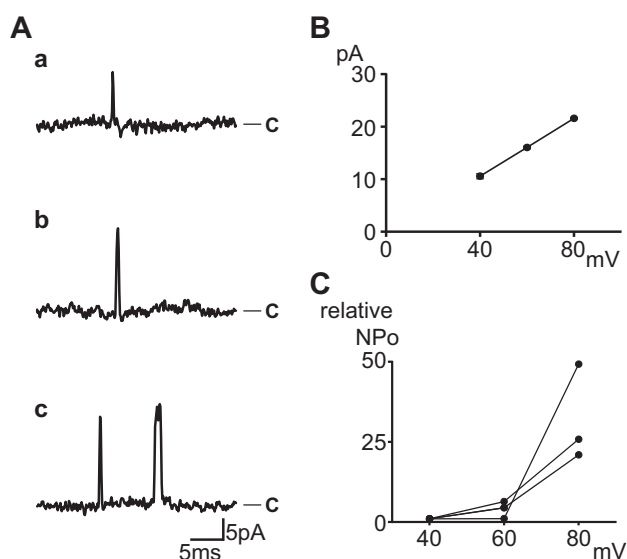


図2. シングルチャネル電流の膜電位依存性. cell-attached patch-clamp 法によって観察した. A: 膜電位が a) +40mV, b) +60mV, c) +80mV におけるシングルチャネル電流の代表例. B: 電流 - 電圧特性. +40mV (n=4), +60mV (n=4), +80mV (n=3) での平均電流量. 直線は各電圧での平均電流量を用い最小二乗法によって求めた回帰直線であり, 式は電流量 (pA) = $0.2754 \times$ 膜電位 (mV) - 0.4739 . シングルチャネルコンダクタンスは 275.4 pS. C: 開口確率 (NPo) - 電圧 (mV) 特性. 開口確率は各電位での開時間 / (開時間 + 閉時間) にて算出. +40mV での開口確率を 1 とし, +60mV および +80mV の開口確率を相対値として算出 (relative NPo). 各々の折れ線は同一パッチの結果を表す (n=4).

での開口確率のばらつきが大きくなる. その為, 開口確率の結果に関しては, 同一パッチに由来する膜電位での開口確率を結んだ折れ線グラフを用い示すことと

した (図2-C). このグラフからも, 膜電位が大きくなるに従い開口確率が大きくなる特性が示された.

3・3 細胞内 Ca^{2+} 濃度とシングルチャンネル電流の関連

stretch-activated 型イオンチャンネルで大きなシングルチャンネルコンダクタンスを持つものとしては, BK チャンネルがある. BK チャンネルの特徴としては上記以外に細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が開口確率の増大をもたらすことが報告されている¹¹⁾. そのため次に, 細胞内 Ca^{2+} 濃度とシングルチャンネル電流の関連を検討した (図3). 細胞内 Ca^{2+} 濃度を任意の濃度に調整し電流を測定するために, inside-out patch-clamp 法を選択した. 細胞内 Ca^{2+} 濃度が pCa8 ($1 \times 10^{-8}\text{M}$) と低い場合 (図3-A-a), および pCa4 ($1 \times 10^{-4}\text{M}$) と高い場合 (図3-A-b) での開口確率を観察した. pCa8 での開口確率を1とすると, pCa4での相対的開口確率 (relative NPo) は 233.0 ± 163.7 ($n=4$) と大きくなる特性を示した (図3). 前述の通り, 各電極内に存在するイオンチャンネルは複数であり, その結果各パッチでの開口確率のばらつきが大きくなる. その為, 開口確率の

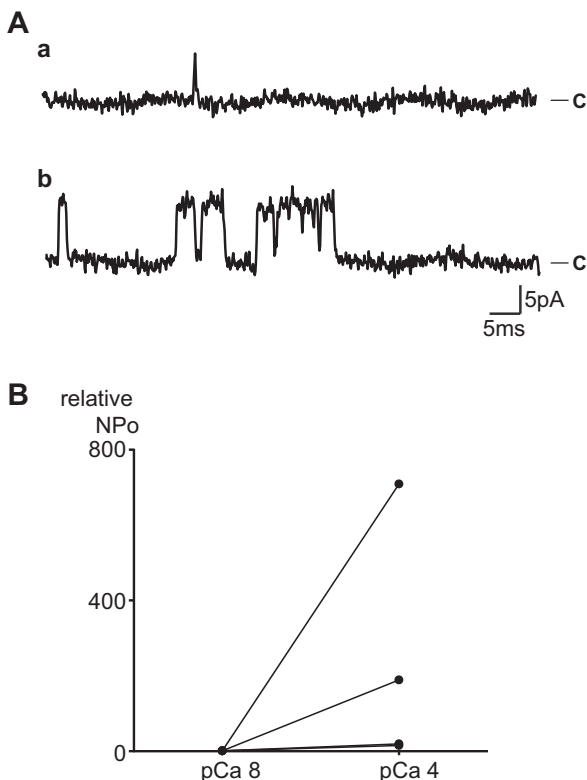


図3. 細胞内 Ca^{2+} 濃度とシングルチャンネル電流の関連. inside-out patch-clamp 法によって観察を行った. 膜電位は +40mV. A: 細胞内 Ca^{2+} 濃度が a) pCa8 (K^+ rich-pCa8 液を使用), b) pCa4 (K^+ rich-pCa4 液を使用) におけるシングルチャンネル電流の代表例. B: 開口確率 (NPo) - 細胞内 Ca^{2+} 濃度 (pCa) 特性. 開口確率は各陰圧での開閉時間 / (開閉時間 + 閉時間) にて算出. pCa8 での開口確率を1とし, pCa4の開口確率を相対値として算出 (relative NPo). 各々の折れ線は同一パッチの結果を表す ($n=4$).

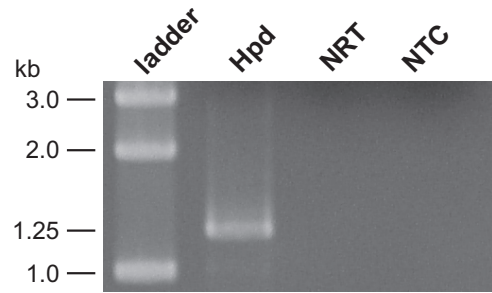


図4. RT-PCR 法による培養ヒト歯根膜細胞での BK チャンネルの発現の確認. Hpd: 培養ヒト歯根膜細胞から抽出した mRNA を逆転写し, その後に PCR を行ったレーン. NRT (Non RT control): 培養ヒト歯根膜細胞から抽出した mRNA を逆転写せずにそのまま PCR を行ったレーン. NTC (Non Template Control): mRNA は使用せず, 逆転写と PCR を行ったレーン. PCR 用のプライマーは PCR 産物が 1.25kbp になるように設計した物を使用した.

結果に関しては, 同一パッチに由来する膜電位での開口確率を結んだ折れ線グラフを用い示すこととした (図3-B). このグラフからも, 細胞内 Ca^{2+} 濃度が高くなるに従い開口確率が大きくなる特性が示された.

3・4 BK チャンネルの遺伝子発現の確認

BK チャンネルが培養ヒト歯根膜細胞に発現しているかどうかを RT-PCR 法にて確認を行ったところ (図4), 予想通りの大きさ (1.25kbp) のバンドが確認することができた. よって, 培養ヒト歯根膜細胞には BK チャンネルが発現していることが判明した.

4 考 察

cell-attached patch-clamp 法によって測定したシングルチャンネル電流がどのイオンに由来するかを同定するためには, 細胞内のイオン組成の情報が必要になる. 過去の細胞内イオン組成を測定した報告を調べたところ, 細胞内 K^+ 濃度は 120 ~ 171mM, 細胞内 Cl^- 濃度は 3 ~ 80mM との報告がなされている¹²⁻¹⁵⁾. これらの報告と, 今回使用した K^+ rich 液の組成を元に Nernst の式 (イオン A の場合)

$$E_{\text{rev}} = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[A]_o}{[A]_i} \right) \quad R: \text{ガス定数}, T: \text{絶対温度}, z: \text{イオンの価数}, F: \text{ファラデー定数}$$

を用い平衡電位を算出すると, E_{K} : -4.48 ~ +4.98mV, E_{Cl} : -103.8 ~ -16.0mV となる. よって, 今回観察された電流の逆転電位は +1.72mV (図2-B) より K^+ 電流であると推測される.

K^+ を通すチャンネルで, しかも大きなコンダクタンスを示すものとしては BK チャンネルが想起される. 37°C における BK チャンネルのシングルチャンネルコンダクタンスは約 300pS との報告があり, 今回の実験結果の 275.4pS (図2-B) にほぼ合致する¹¹⁾. また, 膜電位を脱分極させるほど, 開口確率が増大しており

(図2-C), この特徴も過去のBKチャネルの報告と合致する¹⁰⁾. BKチャネルは細胞内Ca²⁺濃度上昇や脱分極により活性化するK⁺チャネルのうち最も大きな(Big)シングルチャネルコンダクタンスを持つものを指し, Large conductance, calcium- and voltage-activated potassium channelとも呼ばれる^{16, 17)}. よって本研究で観察された電流がBKチャネル由来であれば細胞内Ca²⁺濃度が上昇するほど開口確率が増大する特徴を示す事が予想され, 事実その特徴は図3にて示したように観察された. また, BKチャネルは上記の特徴の他, 細胞膜の伸展によってチャネルの開口確率が増大する特徴(stretch-activated)も報告されている¹⁰⁾. 本研究でも電極内の陰圧が大きくなるほど開口確率が増大することを認めた事から, 本研究で観察された電流はBKチャネル由来の電流と推定される(図1).

本研究ではpatch-clamp法という電気生理学的手法の他に, RT-PCR法という生化学的手法によってもBKチャネルの存在を示した(図4). これまで神経細胞や骨格筋細胞, 各種平滑筋細胞等にBKチャネルが発現しており, また, チャネル異常は運動失調や難聴, 失禁などの病態をもたらすことも報告されている. しかし, 線維芽細胞での発現は皮膚や心臓での報告が散見されるのみで, 歯根膜の線維芽細胞である歯根膜細胞での報告は無かった. その為, 本研究が歯根膜細胞のBKチャネルに関しての初めての報告であると思われる^{10, 16, 18-20)}.

一般的にK⁺チャネルの開口確率が増大すると, 膜電位は過分極方向にシフトすることになる. この結果, 他のイオンチャネルや細胞内情報伝達系に影響が及び, 最終的に細胞増殖やアポトーシスといった細胞数の変化がもたらされることが予想される. その為, これまで種々の細胞でK⁺チャネルと増殖能・アポトーシスの関係性の研究がされてきた. K⁺チャネルの開口確率が増大すると血管平滑筋・リンパ球・皮膚線維芽細胞ではアポトーシスが増大し, 内皮細胞・星状細胞腫細胞ではアポトーシスは減少し, 神経細胞は研究によってはアポトーシスは増大も減少も認められた^{18, 21, 22)}. Yunら¹⁸⁾は皮膚の線維芽細胞にBKチャネル開口薬を投与することで, アポトーシスが増加したとの報告を行っている. 歯科矯正学的治療においては, 矯正力を作用させるとまもなく圧迫側歯根膜細胞のアポトーシスが確認される^{6, 7)}. 本研究で歯根膜細胞にはBKチャネルが存在していることが明らかになった事より, 矯正力により歯根膜細胞の細胞膜の変形がもたらされ, BKチャネルの開口確率が増大しアポトーシスが誘導されている事が示唆された. ただし, BKチャネルの開口確率の変化がどのようなセカンドメッセンジャー系を介してアポトーシスをもたらすのかに関しては, 報告は無い. 通常イオンチャネルはイオンを通すことが主な役割なのだが, その例外として骨格筋のL型Ca²⁺チャネルが知られて

いる. 細胞膜の興奮によってL型Ca²⁺チャネルは変形する. その結果, L型Ca²⁺チャネルに物理的に接着している筋小体のCa²⁺チャネル(ryanodine receptor: RyR)も変形する. この変形はRyRのカルシウム通過孔が開く変化であるので, 結果筋小体からのカルシウム放出がもたらされる. つまり, 骨格筋ではL型Ca²⁺チャネルは直接Ca²⁺イオンを使うこと無く上位の情報(細胞膜)を下位(筋小体膜)に伝達する分子であると見なされている^{23, 24)}. 以上のような知見より, BKチャネルが『細胞膜の変形』というインプットを『開口確率の変化=チャネル分子の変形』を介して『細胞膜のK⁺透過性亢進』及び『BKチャネル接着分子の変形』というアウトプットに変換する装置であるとも見なせる. 『細胞膜のK⁺透過性亢進』又は『BKチャネル接着分子の変形』から『アポトーシス』までの道のりの解明は端緒についたばかりであり, 今後のさらなる検討が期待される. また, 歯科矯正学的治療時の矯正力の他に, 歯根膜細胞に加わる力としては咀嚼時の咬合力があげられる. 外傷による対合歯の欠損や意識障害に伴う経口摂取不能状態では歯根膜の厚みの減少などが認められることより, 咀嚼時の咬合力は歯根膜細胞の維持に重要であると考えられている^{2, 25)}. 咀嚼時の咬合力の歯根膜細胞に対する作用もBKチャネルを介している可能性があり, 今後の研究が期待される.

歯根膜細胞は歯根膜を形成する主要な細胞であり, 前述したアポトーシスなどによるそれ自身の変化が歯根膜自体の機能に影響を及ぼす. それと同時に, 歯根膜細胞からは様々な物質が分泌され, 歯根膜細胞以外の歯根膜の細胞に影響を及ぼしていることが判明している. 歯科矯正学的治療を再現した研究では, 圧迫側歯根膜細胞から炎症性サイトカインであるinterleukin-1 β (IL-1 β)やtumor necrosis factor- α (TNF- α)などが, 牽引側歯根膜細胞からはinterleukin-10 (IL-10)等が放出され局所の炎症反応を引き起こす原因となることが報告されている^{26, 27)}. また, 圧迫側歯根膜細胞からは破骨細胞分化誘導因子のreceptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)が, 牽引側歯根膜細胞からは破骨細胞抑制因子のosteoprotegerin (OPG)や骨芽細胞分化因子のRunx2やMsx2が分泌されるとの報告があり, 歯科矯正学的治療に伴う歯槽骨の造骨・破骨に寄与していると考えられている^{5, 27)}. これらの物質の分泌時に, 歯根膜細胞がどのように圧迫力や牽引力を感知するかについての報告はまだ無いが, 本研究で確認したBKチャネルが関与している可能性は高いと想定される. 今後の研究による解明が期待される.

5 利益相反の開示

利益相反はない.

参考文献

1. 春日井 昇平. 歯根膜組織の特性と歯周組織の再生. 炎症・再生 2003; 23: 34-38.
2. Marchesan JT, Scanlon CS, Soehren S, Matsuo M, Kapila YL. Implications of cultured periodontal ligament cells for the clinical and experimental setting: a review. Arch Oral Biol 2011; 56: 933-943.
3. Beertsen W, McCulloch CA, Sodek J. The periodontal ligament: a unique, multifunctional connective tissue. Periodontol 2000 1997; 13: 20-40.
4. Masella RS, Meister M. Current concepts in the biology of orthodontic tooth movement. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2006; 129: 458-468.
5. 渡邊 武寛, 中野 敬介, 清水 貴子, 岡藤 範正, 栗原 三郎, 山田 一尋, 川上 敏行. 歯科矯正学的牽引側における歯根膜線維芽細胞の免疫組織化学. Journal of Hard Tissue Biology 2009; 18: 175-180.
6. 山本 尚. ラット臼歯の矯正学的傾斜移動時の歯根膜における組織学的変化と地域差. 鶴見歯学 2009; 35: 21-30.
7. Funakoshi M, Yamaguchi M, Asano M, Fujita S, Kasai K. Effect of Compression Force on Apoptosis in Human Periodontal Ligament Cells. Journal of Hard Tissue Biology 2013; 22: 41-49.
8. Roudaut Y, Lonigro A, Coste B, Hao J, Delmas P, Crest M. Touch sense: functional organization and molecular determinants of mechanosensitive receptors. Channels (Austin) 2012; 6: 234-245.
9. 岸上 明生, 曾我部 正博. 【イオンチャネル最前線 update】細胞膜イオンチャネル 機械刺激を感知するイオンチャネル TRP チャネルを中心に. 医学のあゆみ 2005; 別冊 (イオンチャネル最前線 update) : 162-167.
10. Hammami S, Willumsen NJ, Olsen HL, Morera FJ, Latorre R, Klaerke DA. Cell volume and membrane stretch independently control K⁺ channel activity. J Physiol 2009; 587: 2225-2231.
11. Barrett JN, Magleby KL, Pallotta BS. Properties of single calcium-activated potassium channels in cultured rat muscle. J Physiol 1982; 331: 211-230.
12. Lamb JF, MacKinnon MG. The membrane potential and permeabilities of the L cell membrane to Na, K and chloride. J Physiol 1971; 213: 683-689.
13. Leeves MA, McDonald F. The effect of mechanical deformation on the distribution of ions in fibroblasts. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1995; 107: 625-632.
14. Bregestovski P, Waseem T, Mukhtarov M. Genetically encoded optical sensors for monitoring of intracellular chloride and chloride-selective channel activity. Frontiers in molecular neuroscience 2009; 2: 15.
15. Ueda S, Oiki S, Okada Y. Oscillations of cytoplasmic concentrations of Ca²⁺ and K⁺ in fused L cells. The Journal of membrane biology 1986; 91: 65-72.
16. Wei AD, Gutman GA, Aldrich R, Chandy KG, Grissmer S, Wulff H. International Union of Pharmacology. LII. Nomenclature and molecular relationships of calcium-activated potassium channels. Pharmacol Rev 2005; 57: 463-472.
17. Cui J, Yang H, Lee US. Molecular mechanisms of BK channel activation. Cell Mol Life Sci 2009; 66: 852-875.
18. Yun J, Park H, Ko JH, Lee W, Kim K, Kim T, Shin J, Song JH, Noh YH, Bang H, Lim I. Expression of Ca²⁺-activated K⁺ channels in human dermal fibroblasts and their roles in apoptosis. Skin Pharmacol Physiol 2010; 23: 91-104.
19. Lu R, Alioua A, Kumar Y, Eghbali M, Stefani E, Toro L. MaxiK channel partners: physiological impact. J Physiol 2006; 570: 65-72.
20. Sheng J, Shim W, Wei H, Lim SY, Liew R, Lim TS, Ong BH, Chua YL, Wong P. Hydrogen sulphide suppresses human atrial fibroblast proliferation and transformation to myofibroblasts. Journal of cellular and molecular medicine 2013; 17: 1345-1354.
21. Blackiston DJ, McLaughlin KA, Levin M. Bioelectric controls of cell proliferation: ion channels, membrane voltage and the cell cycle. Cell Cycle 2009; 8: 3527-3536.
22. Wang Z. Roles of K⁺ channels in regulating tumour cell proliferation and apoptosis. Pflugers Arch 2004; 448: 274-286.
23. Inui M, Saito A, Fleischer S. Purification of the ryanodine receptor and identity with feet structures of junctional terminal cisternae of sarcoplasmic reticulum from fast skeletal muscle. J Biol Chem 1987; 262: 1740-1747.
24. Lai FA, Erickson HP, Rousseau E, Liu QY, Meissner G. Purification and reconstitution of the calcium release channel from skeletal muscle. Nature 1988; 331: 315-319.
25. 川島 博行. 【骨形成・骨吸収のメカニズムと再生医療への展開】歯根膜細胞の多様性と機能. 実験医学 2001; 19: 1219-1224.
26. Kanjanamekanant K, Luckprom P, Pavasant P. Mechanical stress-induced interleukin-1beta expression through adenosine triphosphate/P2X7 receptor activation in human periodontal ligament cells. J Periodontal Res 2013; 48: 169-176.
27. Garlet TP, Coelho U, Silva JS, Garlet GP. Cytokine expression pattern in compression and tension sides of the periodontal ligament during orthodontic tooth movement in humans. Eur J Oral Sci 2007; 115: 355-362.

別刷請求先：白鳥 香理

E-mail : kaori.shiratori@gmail.com