

Title	Immunohistochemical Assesments and distribution of TRPs in salivary glands
Author(s)	Ubaidus, Sobhan; Takashi, Muramatsu; Masaki, Sato; Maki, Tsumura; Hideki, Ichikawa; Sadamitsu, Hashimoto; Takashi, Inoue; Masao, Yoshinari; Masakazu, Tazaki; Yoshiyuki, Shibukawa
Journal	歯科学報, 111(2): 231-231
URL	http://hdl.handle.net/10130/2394
Right	

No.15: マウス象牙芽細胞系細胞における浸透圧受容: TRPV4-NCX の機能関連

佐藤正樹¹⁾, 津村麻記¹⁾²⁾, Ubaidus Sobhan¹⁾, 市川秀樹²⁾⁵⁾, 吉成正雄¹⁾⁴⁾, 井上 孝¹⁾³⁾,
村松 敬¹⁾³⁾, 田崎雅和²⁾, 澁川義幸¹⁾²⁾ (東歯大・口科研・hrc 8)¹⁾ (東歯大・生理)²⁾
(東歯大・臨検病理)³⁾ (東歯大・口科研・インプラント)⁴⁾ (都立大塚病院・口腔)⁵⁾

目的: 象牙質への外的な刺激は, 象牙芽細胞による修復象牙質形成を誘導する。近年, 侵害性刺激(温度, 機械, 浸透圧など)を受容し, 陽イオンに対する透過性を上昇させる transient receptor potential (TRP) チャネルの局在が象牙芽細胞で報告されている。しかし, 浸透圧刺激に伴う象牙芽細胞の TRP チャネル活性については明らかになっていない。本研究はマウス由来象牙芽細胞系細胞 (odontoblast lineage cells: OLC) を用い, 細胞外浸透圧変化に伴う TRP チャネル活性と細胞外へのカルシウムイオン排出機構について検討した。

方法: OLC は α -MEM にて培養を行った。細胞内カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) は fura-2 の 2 波長蛍光比で計測した。標準細胞外液として Tyrode's 液 (310mOsm) を用い, Tyrode's 液から NaCl をマンニトールで置換することで, 300, 250, 200, 150mOsm の低浸透圧溶液, 370, 320mOsm の高浸透圧溶液を作成した。OLC からの細胞内カルシウムイオン排出は, Na^+ - Ca^{2+} 交換体 (NCX) の阻害剤を用いて検討した。

成績: OLC に対して低浸透圧刺激を行うと, 低浸透圧依存性の一過的 $[Ca^{2+}]_i$ 増加が生じた。320 mOsm の高浸透圧刺激では $[Ca^{2+}]_i$ は増加したが, 370mOsm ではその増加は見られなかった。また低浸透圧刺激 (200mOsm) による $[Ca^{2+}]_i$ 増加は, TRPV 4 antagonist (RN-1737, 10 μ M) により有意に抑制された。TRPV 4 agonist (RN-1747, 1 nM) 刺激を行うと, 一過性 $[Ca^{2+}]_i$ 増加がみられた。引き続き $[Ca^{2+}]_i$ の減少は, NCX 阻害剤 (KB-R7943, 10 μ M) によりその減衰時定数が増加した。

考察: 象牙細管への浸透圧刺激は, 象牙芽細胞を伸展することで TRPV 4 を活性化し, $[Ca^{2+}]_i$ 増加をもたらす。増加した細胞内カルシウムイオンは, NCX によって細胞外へ排出される。象牙芽細胞の TRPV4-NCX 機能関連は, 象牙質刺激に伴う反応性象牙質形成と関連すると考えられる。

会員外共同研究者(敬称略): 藤沢真里, 徳田雅行 (鹿児島大)

No.16: Immunohistochemical Assesments and distribution of TRPs in salivary glands

Ubaidus Sobhan¹⁾, Takashi Muramatsu¹⁾³⁾, Masaki Sato¹⁾, Maki Tsumura¹⁾²⁾,
Hideki Ichikawa²⁾, Sadamitsu Hashimoto⁴⁾, Takashi Inoue¹⁾³⁾, Masao Yoshinari¹⁾,
Masakazu Tazaki²⁾, Yoshiyuki Shibukawa¹⁾²⁾ (Oral Health Science Center hrc 8)¹⁾
(Department of Physiology)²⁾ (Department of Clinical Pathophysiology)³⁾
(Department of Biology)⁴⁾

Objectives: Transient receptor potential (TRP) channels are a family of loosely related ionic channels that are relatively non-selective permeability to cations, including sodium, calcium and magnesium. The purpose of this study was to clarify expression and their localisations of TRP channels (TRPA1, V1, V4 and M8) in rat salivary glands.

Materials and Method: Wistar rats weighing about 250g were used for these experiments. Salivary glands (parotid, submandibular and sublingual glands) were fixed in 4% paraformaldehyde solution and paraffin sections were prepared. Salivary glands were also embedded in OCT compounds and frozen sections were prepared. Immunohistochemistry or immunofluorescence staining for both paraffin and frozen sections were conducted following the double and single staining protocols.

Results and Discussion: Immunohistochemistry showed the localization of TRPM 8, TRPV 4 and TRPA 1 at the body and of myoepithelial cells in

the salivary glands whereas there is no expression of TRPV 1. Intense immunoreactivity of TRPs was seen in the sublingual gland. However, the localization of TRPs was not detected in the acinar cells of salivary glands.

Myoepithelial cells are contractile epithelial cells function like smooth muscle, which forcibly express the contents of a gland. Each myoepithelial cell has long cytoplasmic processes that wrap around a secretory unit. Hence, contraction of the myoepithelial processes can squeeze secretory product from the secretory unit into its duct. The result of this study gives the idea of the mechanism of action of myoepithelial cell in salivary secretion by the stimulation of TRPs. This is the first study to reveal that localization of TRP channels is involved not only in nociception and thermo-sensation in myoepithelial cells but might have the key role in the mechanism and function of salivary secretion.