

Title	ハムスター口腔粘膜の単離メルケル細胞におけるTRP チャンネル発現の検討
Author(s)	征矢, 学; 黒田, 英孝; 川口, 綾; Sobhan Ubaidus; 佐藤, 正樹; 山本, 仁; 田崎, 雅和; 一戸, 達也; 澁川, 義幸
Journal	歯科学報, 112(4): 542-542
URL	http://hdl.handle.net/10130/2886
Right	

No.11: ハムスター口腔粘膜の単離メルケル細胞における TRP チャネル発現の検討

征矢 学¹⁾²⁾, 黒田英孝¹⁾²⁾, 川口 綾¹⁾²⁾, Sobhan Ubaidus¹⁾, 佐藤正樹¹⁾, 山本 仁¹⁾⁴⁾,
田崎雅和³⁾, 一戸達也²⁾, 澁川義幸¹⁾³⁾ (東歯大・口科研・hrc8)¹⁾ (東歯大・歯麻)²⁾
(東歯大・生理)³⁾ (東歯大・超微)⁴⁾

目的: 口腔粘膜上皮で圧受容に関与しているメルケル細胞は自由神経終末と複合体を形成している。しかし、その圧受容のメカニズムについては明らかにされていない。近年、機械刺激や浸透圧、痛み等の侵害受容膜タンパク質、TRP channel が広く研究されている。そこで、メルケル細胞における圧受容メカニズムを明らかにするため、浸透圧刺激に伴うメルケル細胞の TRP channel 活性を検討した。

方法: ゴールデンハムスター (4 週齢) にメルケル細胞マーカーのキナクリンを腹腔内投与し、頬粘膜触小体に存在するメルケル細胞を急性単離した。単離メルケル細胞の細胞内カルシウム濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 変化を計測した。標準細胞外液は等張性低ナトリウム液 (328mOsm/L) を使用し、NaCl をマンニトールで置換し低浸透圧溶液を作製した。細胞外 Ca^{2+} 存在下で低浸透圧刺激を与えた場合と、TRP V1, V2, V4, A1, M8 antagonist を併用し同刺激を与

えた場合の $[Ca^{2+}]_i$ 変化について検討した。また、細胞外 Ca^{2+} 存在下、非存在下での TRP V1, V2, V4, A1, M8 agonist で刺激を与えた場合の $[Ca^{2+}]_i$ 変化についても検討した。

成績および考察: 細胞外 Ca^{2+} 存在下でメルケル細胞に低浸透圧刺激を行うと、低浸透圧依存性に一過性の $[Ca^{2+}]_i$ 増加を認めた。また、低浸透圧刺激による $[Ca^{2+}]_i$ 増加は、TRP V1, V2, V4, A1 antagonist により有意に抑制されたが、細胞外 Ca^{2+} 存在下で TRP V1, V2, V4, A1 agonist 刺激を行うと、一過性の $[Ca^{2+}]_i$ 増加を認めたが、細胞外 Ca^{2+} 非存在下では認めなかった。細胞外 Ca^{2+} 存在下、非存在下での TRP M8 agonist 刺激は一過性の $[Ca^{2+}]_i$ 増加を認めなかった。単離メルケル細胞における低浸透圧刺激による細胞膜伸展には TRPV1, V2, V4, A1 が関与していることが示唆された。

No.12: 象牙芽細胞系細胞におけるグルタミン酸受容体の機能検索

西山明宏¹⁾, 佐藤正樹²⁾, 津村麻記²⁾³⁾, 田崎雅和³⁾, 片倉 朗¹⁾, 澁川義幸²⁾³⁾
(東歯大・オーラルメディシン口外)¹⁾ (東歯大・口科研・hrc8)²⁾ (東歯大・生理)³⁾

目的: 象牙芽細胞には侵害刺激を受容するポリマーダル受容器、電位依存性 Na^+ チャネルやヌクレオチド作動性チャネルの発現が報告されている。同様にグルタミン酸受容体 (GluR) の発現も報告されているが、その詳細については明らかにされていない。そこで象牙芽細胞に発現する GluR の機能検索を行った。

方法: 実験にはマウス由来象牙芽細胞系細胞 (odontoblast lineage cells, OLC) を用いた。OLC は 10% fetal bovine serum, 1% Penicillin-streptomycin, 1% fungizone を含む α -MEM 培地で 72 時間の経代培養とした (5% CO_2 , 37°C)。OLC の活性は、細胞内カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の変化を指標とし、 Ca^{2+} 蛍光試薬 (Fura2) を用いたカルシウムイメージング法により評価した。標準細胞外液には krebs 溶液 (323mOsm/L, pH=7.4) を用い、全ての試薬は krebs 溶液に溶解して投与した。GluR の刺激には mono-sodium glutamate (MSG) を用いた。

成績および考察: OLC は MSG (100nM-1 mM) に対し、濃度依存的に $[Ca^{2+}]_i$ を増加した。この $[Ca^{2+}]_i$ の増加は、細胞外 Ca^{2+} 非存在下では見られなかった。次に代謝調節型 GluR (mGluR) の antagonist である 0.1mM DL-AP4, イオン型 GluR の一つで、 Ca^{2+} 透過性のある N-methyl-D-aspartate 受容体 (NMDA-R) の antagonist である 0.1mM (\pm)-CPP は 1mM MSG 刺激による $[Ca^{2+}]_i$ 増加を抑制した。さらに NMDA-R の agonist である 0.1mM NMDA 刺激は $[Ca^{2+}]_i$ を増加した。このことから OLC には mGluR および NMDA-R が発現することが示された。

一方、 Ca^{2+} 透過性が無いとされる AMPA/KA の発現検索はできなかった。象牙芽細胞がグルタミン酸に対して感受性を持つことが明らかになる一方、グルタミン酸放出細胞がまだ明らかではない。今後の研究において象牙芽細胞自身によるオートレセプター、三叉神経節細胞からのフィードバックの可能性を検討する必要がある。