

Title	Functional role of thermosensitive TRP channels in salivary gland during salivary secretion.
Author(s)	Sobhan, Ubaidus; Masaki, Sato; Takashi, Shinomiya; Migiwa, Okubo; Maki, Tsumura; Masao, Yoshinari; Takashi, Inoue; Masakazu, Tazaki; Mitsuru, Kawaguchi; Yoshiyuki, Shibukawa
Journal	歯科学報, 112(4): 541-541
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/2896">http://hdl.handle.net/10130/2896</a>
Right	

No.9 : グアヤコールは象牙芽細胞の  $\text{Ca}^{2+}$ チャネルに直接作用する

陽田みゆき<sup>1)</sup>, 津村麻記<sup>2)3)</sup>, 佐藤正樹<sup>2)</sup>, Sobhan Ubaidus<sup>2)</sup>, 山下秀一郎<sup>4)</sup>, 田崎雅和<sup>3)</sup>,  
 澁川義幸<sup>2)3)</sup> (東歯大・口健・小児歯)<sup>1)</sup> (東歯大・口科研・hrc8)<sup>2)</sup> (東歯大・生理)<sup>3)</sup>  
 (東歯大・口健・総歯)<sup>4)</sup>

**目的** : グアヤコールは, 優れた鎮痛・鎮静作用を有し, 歯内療法薬として広く臨床応用されている。グアヤコールと同様のフェノール骨格を有するユージノールは, 象牙芽細胞に発現する侵害受容分子センサーである transient receptor potential vanilloid subfamily member1 (TRPV1) チャネルに直接作用し, 細胞内カルシウムイオン濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) を増加させる。ユージノールを象牙芽細胞に頻回投与すると, TRPV1 チャネルの脱感作が生じると報告されており, これが, ユージノールの歯髄に対する鎮痛・鎮静効果の作用機序である可能性が示唆されている。しかしながら, グアヤコールの細胞膜  $\text{Ca}^{2+}$  流入と  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  に対する作用に関する研究報告は少なく, 象牙芽細胞に対するグアヤコールの作用についても, 未だ不明な点が多い。そこで本研究では, マウス由来象牙芽細胞系細胞 (odontoblast lineage cells, OLC) の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  に対するグアヤコールの応答を記録, 解析した。

**方法** : グアヤコールはエタノールで溶解後, 標準細胞外液 (Krebs 液) (136mM NaCl, 5 mM KCl, 2.5 mM  $\text{CaCl}_2$ , 0.5mM  $\text{MgCl}_2$ , 10mM HEPES, 10mM

glucose, 12mM  $\text{NaHCO}_3$ ) で希釈し, 0.8mM 溶液として細胞に投与した。OLC は37°C で2~3日間培養し, カルシウム蛍光指示薬 (fura-2) を用いた二波長励起の蛍光比として  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  を測定した。

**成績** : 細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  存在下において, OLC に0.8mM グアヤコールを投与すると  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  が増加した。また, 同一濃度のグアヤコール頻回投与を行うと,  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の増加は徐々に脱感作した。標準細胞外液から  $\text{Ca}^{2+}$  を除去し, 細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  非存在下で OLC にグアヤコールを投与すると  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の増加はみられなかったことから, グアヤコールにより誘発される  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  増加は, 細胞外からの  $\text{Ca}^{2+}$  流入であることが示された。

**考察** : グアヤコールは, OLC の  $\text{Ca}^{2+}$  流入チャネルを活性化し, 細胞外からの  $\text{Ca}^{2+}$  流入による  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  増加を誘発することが示された。また, グアヤコール頻回投与は  $\text{Ca}^{2+}$  流入チャネルの脱感作を誘発した。グアヤコールは  $\text{Ca}^{2+}$  流入チャネルに直接作用し,  $\text{Ca}^{2+}$  流入チャネルが脱感作することで, 象牙芽細胞からの感覚情報が減弱し, 歯髄鎮痛・鎮静作用がもたらされる可能性が示唆された。

## No.10 : Functional role of thermosensitive TRP channels in salivary gland during salivary secretion.

Ubaidus Sobhan<sup>1)</sup>, Masaki Sato<sup>1)</sup>, Takashi Shinomiya<sup>1)2)</sup>, Migiwa Okubo<sup>1)2)</sup>,  
 Maki Tsumura<sup>1)3)</sup>, Masao Yoshinari<sup>1)4)</sup>, Takashi Inoue<sup>1)5)</sup>, Masakazu Tazaki<sup>3)</sup>,  
 Mitsuru Kawaguchi<sup>2)</sup>, Yoshiyuki Shibukawa<sup>1)3)</sup>

<sup>1)</sup>Oral Health Science Center hrc8, Tokyo Dental College

<sup>2)</sup>Department of Pharmacology, Tokyo Dental College

<sup>3)</sup>Department of Physiology, Tokyo Dental College

<sup>4)</sup>Division of Oral Implants Research, Oral Health Science Center, Tokyo Dental College

<sup>5)</sup>Department of Clinical Pathophysiology, Tokyo Dental College

**1. Purpose** : The function and the mechanism of transient receptor potential (TRP) channels in salivary secretion are essentially unknown. In order to define the role of TRP channels in secretory mechanism and/or the function of salivary glands, we demonstrated the expression and distribution of temperature sensitive-TRP channels in salivary (submandibular, sublingual and parotid) glands.

**2. Methods** : For this study we did the immunohistochemical and quantitative RT-PCR analyses. We also examined effects of various TRP channel agonists on charbacol (CCh)-induced salivary secretion from submandibular gland.

**3. Results** : Immunohistochemistry showed expression of TRP-melastatin subfamily member 8 (TRPM8) and ankyrin subfamily member 1

(TRPA1) in myoepithelial, acinar and ductal cells of submandibular, sublingual and parotid glands. In addition, the TRP-vanilloid subfamily member 1 (TRPV1), 3 (TRPV3), and 4 (TRPV4) were also expressed in myoepithelial, acinar and ductal cells in all the three salivary glands. Results from quantitative RT-PCR also demonstrated mRNA expression of TRPV1, TRPV3, TRPV4, TRPM8 and TRPA1 on acinar and ductal cells in these salivary glands, which expression patterns are consistent with results of immunofluorescence.

**4. Conclusion** : Our results indicate that temperature sensitive TRP channels localized and distributed on the cells in salivary glands, and play the functional role in regulation and/or modulation of salivary secretion.