

Abstract 10

Urethrale chemosensorische cholinerge Zellen weisen Syntheseproteine für Leukotriene und Prostaglandine auf

Autor(en):

Herr Moritz Nikolaus Gröper / Institut für Anatomie und Zellbiologie Justus-Liebig-Universität Gießen
Frau Dr. Maryam Keshavarz / Institut für Anatomie und Zellbiologie Justus-Liebig-Universität Gießen
Herr Alexander Perniss / Institut für Anatomie und Zellbiologie Justus-Liebig-Universität Gießen
Herr Prof. Dr. Wolfgang Kummer / Institut für Anatomie und Zellbiologie Justus-Liebig-Universität Gießen
Herr Dr. Klaus Deckmann / Institut für Anatomie und Zellbiologie Justus-Liebig-Universität Gießen

Einleitung:

Urethrale cholinerge chemosensorische Zellen (UCCC) fungieren als Wächter am Eingang des Urogenitaltraktes und initiieren bei Wahrnehmung potenziell schädlicher Substanzen mittels der kanonischen Geschmackskaskade (u.a. α -Gust, PLC β 2 und TRPM5) Schutzmaßnahmen. Für die Entwicklung von UCCC ist der Transkriptionsfaktor POU-Class-2 Homeobox-3 (Pou2f3) essenziell. Cholinerge chemosensorische Zellen der Trachea und im gastrointestinalen Trakt weisen die Synthesewege für Prostaglandine und Leukotriene auf. Relevante Proteine sind hierbei das 5-Lipoxygenase-aktivierende-Protein (FLAP, Cysteinyl-Leukotriensynthese) und die Cyclooxygenase-1 (COX-1, Prostaglandinsynthese). Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob auch UCCC diese Proteine aufweisen.

Material und Methodik:

Next Generation Sequencing-Daten (NGS) einzelner UCCC der Maus wurden auf die Expression der für die Prostaglandin- und Leukotriensynthese relevanten Proteine analysiert (n=6 Zellen (Z)). Die (Ko-)expression von FLAP mit ChAT, PLC β 2, TRPM5 (jeweils n=7) α -Gust (n=5) sowie COX-1 mit ChAT (n=6) und FLAP (n=5) in UCCC wurde immunhistochemisch an C57BL/6- und ChAT-eGFP-Mäusen untersucht. In Überständen explantierter Urethren von Pou2f3 $^{-/-}$ und C57BL/6-Mäusen (n=4) wurde mittels LC-MS/MS (Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie) die basale Prostaglandinkonzentration verglichen, bei Pou2f3 $^{-/-}$ (n=14) und Pou2f3 $+/+$ -Mäusen (n=9) mittels Cysteinyl-Leukotrien-ELISA (Cys-LT-ELISA) die Cys-LT-Konzentration nach Stimulation mit dem Bitterstoff Denatonium untersucht.

Ergebnisse:

UCCC zeigten in den NGS-Daten mRNA-Expression von für die Prostaglandin- und Leukotriensynthese relevanten Proteinen wie FLAP und COX-1. Immunhistochemisch ließen sich im urethralen Epithel und Lamina propria von ChAT-eGFP-Tieren FLAP $+$ -Zellen finden. Letztere, ChAT-/FLAP $+$ -Zellen, zeigten keine typische UCCC-Morphologie. Serotonin-immunreaktive neuroendokrine Zellen zeigten in Pou2f3 $^{-/-}$ und C57BL/6-Tieren keine FLAP-Markierung. FLAP $+$ -Zellen in Pou2f3 $^{-/-}$ -Tieren zeigten keine typische UCCC-Morphologie. In ChAT-eGFP-Tieren waren bei Männchen (m) ChAT und FLAP zu 49,3% bei typischer UCCC-Morphologie kolokalisiert (n=54 Z), bei Weibchen (w) zu 64,7% (n=30 Z). 53,9% der α -Gust $+$ -Zellen (m+w, n=48 Z), 74,4% (m, n=136 Z) bzw. 68,9% (w, n=486 Z) der PLC β 2 $+$ -Zellen und 69,3% (m, n=101 Z) bzw. 49,1% (w, n=358 Z) der TRPM5 $+$ -Zellen waren in C57BL/6-Tieren FLAP $+$. ChAT und COX-1 waren zu 62,5% (m, n=63 Z) bzw. 74,8% (w, n=39 Z), COX-1 und FLAP in 63% (m, n=39 Z) bzw. 68,9% (w, n=54 Z) kolokalisiert. In Pou2f3 $^{-/-}$ -Tieren waren FLAP $+$ -Zellen COX-1 $^{-}$. Stimulation mit Denatonium ergab von einem Basiswert von 5120,7 pg/ml ausgehend keinen signifikanten Anstieg der Cys-LT-Konzentration im Überstand der Urethren (p=0,85, Mann-Whitney-U-Test). In der LC-MS/MS ergab sich kein signifikanter Unterschied der Prostaglandinkonzentrationen zwischen Pou2f3 $^{-/-}$ und C57BL/6-Mäusen.

Schluss:

Eine Subpopulation der UCCC weist sowohl expressionsanalytisch als auch immunhistochemisch elementare Bestandteile der Prostaglandin- und Leukotriensynthese auf. Es handelt sich hierbei nicht um neuroendokrine Zellen. Die Stimulation der Urethra mittels Denatonium löst keine messbar vermehrte Leukotrienfreisetzung aus. Die Baseline der gemessenen Leukotriene war dabei initial so hoch, dass eine Überdeckung UCCC-vermittelter Leukotrienfreisetzung durch Cys-LT's aus anderen Quellen, z.B. Immunzellen, denkbar wäre. Die spezifische Funktion von aus UCCC freigesetzten Prostaglandinen bzw. Leukotrienen ist weiterhin unklar und bedarf weiterer Untersuchungen.