

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K19649

研究課題名（和文）口腔顔面骨格痛シグナルのトランス・オミクス探索と創薬分子情報基盤の構築

研究課題名（英文）Trans-omics study on orofacial and skeletal pain-related signaling and establishment of molecular molecular information for drug discovery

研究代表者

飯村 忠浩（Iimura, Tadahiro）

北海道大学・歯学研究院・教授

研究者番号：20282775

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：骨粗鬆症モデルラットにPTH製剤を投与し、疼痛軽減作用があることを検証した。さらに、疼痛を軽減する作用は、骨の量を増やす作用よりも早く現れることに気づき、痛みを伝える感覚神経に注目して詳細に調べた。その結果、感覚神経細胞にPTHの受容体があること、PTHが作用することにより、神経細胞から痛みを軽減するための分子が出てくることが明らかになった。PTHは、もともと体の中のカルシウム量を調節するホルモンであり、骨や腎臓に作用することはよく知られていたが、PTHが神経系にも作用することは、世界で初めての発見である。また、この研究では、痛みを脳に伝えるための脊髄神経にも変化が現れることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、これまで臨床的に報告されていたPTH製剤による疼痛軽減効果を、分子細胞生物学的に解明した。さらに、副甲状腺ホルモンであるPTHの標的細胞として神経細胞が同定されたことは、まさに教科書を書き換える発見である。本研究の発展により、ロコモティブシンドロームに対する治療選択肢の拡大や、新たな疼痛治療薬開発に繋がること期待される。

研究成果の概要（英文）： This study investigated the antinociceptive effect of TPTD mainly on primary sensory neurons in ovariectomized (OVX) rats. Osteoporosis-induced pain behavior was partially recovered by TPTD. Consistently, the number and size of spinal microglial cells were significantly increased in the OVX rats, while TPTD treatment significantly reduced the number but not size of these cells. RNA sequencing-based bioinformatics of the dorsal root ganglia (DRG) demonstrated that changes in neuro-protective and inflammatory genes were involved in the pharmacological effect of TPTD. Most neurons in the DRG expressed substantial levels of parathyroid hormone 1 receptor. TPTD treatment of the cultured DRG-derived neuronal cells reduced the cAMP level and augmented the intracellular calcium level as the concentration increased. These findings suggest that TPTD targets neuronal cells as well as bone cells to exert its pharmacological action.

研究分野：骨格系の生物医学

キーワード：骨粗鬆症 慢性疼痛 PTH 神経

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

創薬プロセスにおいて、基礎研究と臨床研究の橋渡しは極めて困難を伴い「創薬における死谷」と呼ばれる。ドラッグ・リポジショニングは、すでに市販された医薬品の新たな薬理効果を見出すことで本来と異なる治療法にも適用可能とする。このため、効率的に「死の谷」をブレイクスルーすることが期待される。研究代表者らは、ケモカイン受容体と骨代謝に関する一連の研究を発表してきた (Lee et al and Iimura, 2017 Nature Commun in Press, Hoshino et al, and Iimura 2013 J Cell Sci, Hoshino and Iimura et al, 2010 J Biol Chem.)。臨床統計から、HIV 治療薬でケモカイン受容体 CCR5 阻害剤である Maraviroc 投与患者や CCR5 遺伝子の機能喪失型変異をもつ人々は吸収性骨疾患に罹患しにくいという報告がある。そこで、研究代表者等は、最新の研究成果として、HIV 治療薬である Maraviroc が骨粗鬆症や関節リウマチを始めとする吸収性骨疾患の治療にも有益な薬剤となり得ることを実験生物医学的に示した (Lee et al and Iimura, 2017 Nature Commun in Press.)。また研究代表者らは、骨粗鬆症治療薬 PTH 製剤の投与頻度・投与リズムが、高次骨構造に与える影響を明らかにしてきた (Takakura et al. and Iimura 2017 Bone Res, Yamane et al. and Iimura 2017 PLOS ONE.)。一方、臨床データから、PTH は骨格性疼痛を軽減する作用があるという報告がある。そこで、研究代表者らは、感覚神経節での PTH 受容体の発現および既知の標的分子を検討したところ、感覚神経も PTH の標的であることを明らかにしている (未発表データ)。これら 2 つの一連の研究テーマは、臨床研究報告を実験医学的に裏付けるドラッグ・リポジショニング研究として展開している。このような経緯から、本研究提案では、PTH の神経系における作用機序とく三叉神経における疼痛発現・軽減機序の解明をめざす構想に至った。

2. 研究の目的

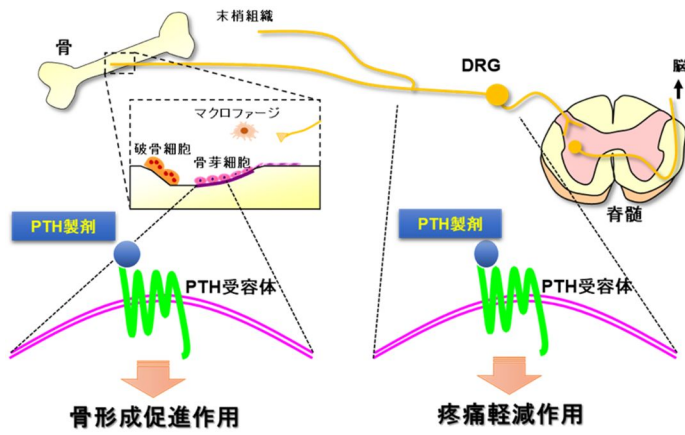
本研究では、口腔顔面領域の主要な感覚神経一次ニューロンである三叉神経節における慢性骨格痛および骨格痛軽減シグナルをトランス・オミクスにより探索する。慢性骨格痛による痛覚過敏モデルとして骨粗鬆症モデルラットを用い、骨粗鬆症治療薬である PTH 製剤による骨格痛軽減作用に注目する。三叉神経節および腰部脊髄後根神経節における遺伝子発現をトランスクリプトーム解析し、口腔顔面痛と腰痛のバイオシグナルの相違を比較解明する。また、ヒト・プロテインアレイのスクリーニングによる無細胞プロテオミクスや培養神経細胞からの有細胞プロテオミクスにより、PTH/受容体複合体の探索を行う。さらに、培養神経細胞における PTH 応答遺伝子の網羅的探索を進める。これら動物実験系に有細胞、無細胞オミクス解析を加えた統合的解析 (トランス・オミクス) を遂行し、PTH の新規薬理効果の分子背景を明らかにする。さらには、より特異性の高い創薬標的分子シグナル候補の同定を目指す。本研究独自のアプローチによってドラッグ・リポジショニングによる創薬分子情報基盤の探索法を構築し提案する。

3. 研究の方法

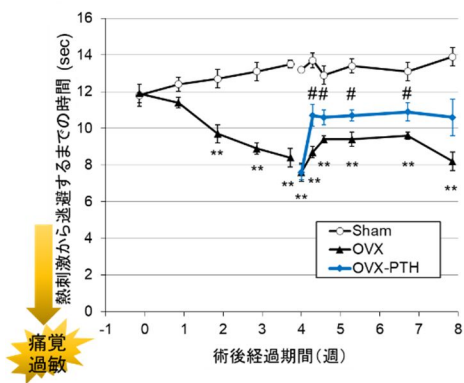
骨粗鬆症患者の 80%以上で認められる腰背部痛は、日常生活動作 (ADL) に影響を及ぼし、骨や筋肉の脆弱化の進行や生活の質 (QOL) の低下を引き起こす。臨床において、骨形成促進薬であるテリパラチド (TPTD) が骨粗鬆症患者の腰背部痛を改善したとの報告はあるが、作用機序など不明な点が多い。本研究では、ラット OVX による骨格痛モデルにおける PTH の効果を検討し、さらに分子細胞生物学的手法により PTH の作用機序の解明を試みた。

4. 研究成果

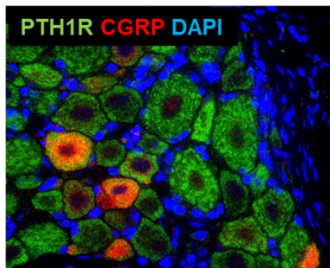
12 週齢の雌性 SD 系ラットに卵巣摘除 (OVX) あるいは偽手術 (Sham) を施し、手術 4 週間後から OVX ラットには TPTD 30 μ g/kg あるいは溶媒を、Sham ラットには溶媒を週 3 回、4 週間投与した。OVX を施したラットでは、Sham ラットと比較して熱刺激に対する逃避潜時が徐々に短縮し、痛覚過敏の発症が確認され、TPTD の投与により、初回投与日から投与開始 4 週まで、溶媒投与群と比較して有意な改善が認められた (Plantar test)。また、von Frey test においても、投与開始 4 週間後 (手術 8 週間後) OVX-TPTD 投与群では、溶媒投与群と比較して有意な改善が認められた。続いて、ラットから採取した骨組織および一次求心性神経の細胞体の集合である脊髄後根神経節 (DRG) を用いて、OVX ラットにおける痛覚過敏および痛覚閾値の低下のメカニズム、TPTD 投与による疼痛改善作用機序を検討した。これらの組織から RNA を抽出し RNA-Seq 解析および種々のインフォマティクスを統合したトランス・バイオインフォマティクス解析を行った結果、OVX による疼痛閾値の低下は、おもに一次求心性神経における疼痛関連受容体やシグナル分子の複合的な発現変動によるものであり、PTH はこれらの分子変動を機能的に回復させていることが明らかとなった。さらに、蛍光免疫組織学的観察から、PTH 受容体は DRG の神経細胞に発現することや、PTH が従来から知られている G- α -s を介した古典的経路ではなく、非古典的な経路を介して神経細胞内でのシグナルを活性化することを、in vitro の分子細胞生物学解析により明らかにした。これらの結果は、PTH による疼痛閾値改善効果は、骨へのアナボリックな作用とともに直接神経系に作用することを示しており、PTH の神経特異的なシグナル伝達機構を示唆するものであった。



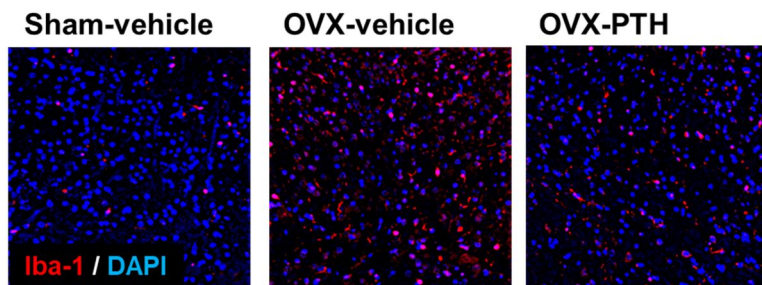
(図1): PTH 製剤は骨形成作用と疼痛軽減作用を示す。



(図2) PTH 製剤の投与 (青) により痛覚過敏が改善



(図3) 一次感覚神経節の神経細胞において PTH 受容体 (緑) の発現を確認



(図4) 脊髄後角において、PTH 製剤の投与によりマイクログリア (赤) が減少

(参考文献)

- Teriparatide relieves ovariectomy-induced hyperalgesia in rats, suggesting the involvement of functional regulation in primary sensory neurons by PTH-mediated signaling.
Tanaka T, Takao-Kawabata R, Takakura A, Shimazu Y, Nakatsugawa M, Ito A, Lee JW, Kawasaki K, Iimura T.
Sci Rep. 2020 Mar 24;10(1):5346. doi: 10.1038/s41598-020-62045-4.
- 北海道大学プレスリリース (2020年3月27日)
「骨粗鬆症治療薬 PTH 製剤による疼痛軽減作用の解明に成功～治療薬の適応拡大や新たな治療薬開発への貢献に期待～」

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Numano Rika, Goryu Akihiro, Kubota Yoshihiro, Sawahata Hirohito, Yamagiwa Shota, Matsuo Minako, Imura Tadahiro, Tei Hajime, Ishida Makoto, Kawano Takeshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Nanoscale tipped wire array injections transfer DNA directly into brain cells ex vivo and in vivo	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 835 ~ 851
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13377	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Xia Yuhan, Ikedo Aoi, Lee Ji-Won, Imura Tadahiro, Inoue Kazuki, Imai Yuuki	4. 巻 590
2. 論文標題 Histone H3K27 demethylase, Utx, regulates osteoblast-to-osteocyte differentiation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 132 ~ 138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.12.102	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sato Takanori, Takakura Aya, Lee Ji-Won, Tokunaga Kazuaki, Matsumori Haruka, Takao-Kawabata Ryoko, Imura Tadahiro	4. 巻 70
2. 論文標題 A quantitative analysis of bone lamellarity and bone collagen linearity induced by distinct dosing and frequencies of teriparatide administration in ovariectomized rats and monkeys	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 498 ~ 509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfab020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Lee Ji Won, Lee In Hee, Sato Takanori, Kong Sek Won, Imura Tadahiro	4. 巻 63
2. 論文標題 Genetic variation analyses indicate conserved SARS CoV 2-host interaction and varied genetic adaptation in immune response factors in modern human evolution	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 219 ~ 227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12717	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Lee Ji-Won, Lee In-Hee, Iimura Tadahiro, Kong Sek Won	4. 巻 9
2. 論文標題 Two macrophages, osteoclasts and microglia: from development to pleiotropy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bone Research	6. 最初と最後の頁 11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41413-020-00134-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Osumi Ryuta, Wang Ziyi, Ishihara Yoshihito, Odagaki Naoya, Iimura Tadahiro, Kamioka Hiroshi	4. 巻 39
2. 論文標題 Changes in the intra- and peri-cellular sclerostin distribution in lacuno-canalicular system induced by mechanical unloading	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 148 ~ 159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-020-01135-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Tomoya, Takao-Kawabata Ryoko, Takakura Aya, Shimazu Yukari, Nakatsugawa Momoko, Ito Akitoshi, Lee Ji-Won, Kawasaki Koh, Iimura Tadahiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Teriparatide relieves ovariectomy-induced hyperalgesia in rats, suggesting the involvement of functional regulation in primary sensory neurons by PTH-mediated signaling	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5346
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-62045-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yanagihara Y, Inoue K, Saeki N, Sawada Y, Yoshida S, Lee J, Iimura T, Imai Y.	4. 巻 122
2. 論文標題 Zscan10 suppresses osteoclast differentiation by regulating expression of Haptoglobin.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 93-100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2019.02.011.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishimaru Y, Oshima Y, Imai Y, Iimura T, Takanezawa S, Hino K, Miura H	4. 巻 23
2. 論文標題 Raman Spectroscopic Analysis to Detect Reduced Bone Quality after Sciatic Neurectomy in Mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 E3081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules23123081	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Morita Masayuki, Nagaoka Hikaru, Ntege Edward H., Kanoi Bernard N., Ito Daisuke, Nakata Takahiro, Lee Ji-Won, Tokunaga Kazuaki, Iimura Tadahiro, Torii Motomi, Tsuboi Takafumi, Takashima Eizo	4. 巻 8
2. 論文標題 PV1, a novel Plasmodium falciparum merozoite dense granule protein, interacts with exported protein in infected erythrocytes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3696
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-22026-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 飯村忠浩
2. 発表標題 PTHによる骨格性疼痛抑制効果と神経シグナル
3. 学会等名 Osteoporosis up to date seminar 2021 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯村忠浩
2. 発表標題 ケモカイン受容体CCR5 : HIV感染と骨代謝調節をつなぐ分子シグナル
3. 学会等名 第58回日本生化学会北海道支部例会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Lee Ji-Won, Iimura Tadahiro In-Hee Lee, Sek Won Kong
2. 発表標題 SARS-CoV-2の相互作用分子ACE2、TMPRSS2およびTLR3 / 7/8における人口集団の遺伝的変異調査
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤孝紀、戸井田侑、飯村忠浩
2. 発表標題 PTH製剤テリパラチドは骨コラーゲン線維の連続性を高め骨質を向上させる - 非線形蛍光イメージングとAI活用形態計測による新規解析法 -
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 戸井田 侑, 佐藤 孝紀, 飯村 忠浩
2. 発表標題 マクロファージの定量的蛍光イメージング解析による霊長類歯髄再生制御の評価
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯村忠浩
2. 発表標題 PTHの薬理作用アップデート - シグナル、投与頻度、微細構造 -
3. 学会等名 札幌骨粗鬆症アカデミー2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中智哉、高倉綾、高尾亮子、李智媛、飯村忠浩
2. 発表標題 ラット骨粗鬆症性痛覚過敏に対するテリパラチドの薬理作用の解明ー蛍光形態計測と分子オミクスによる解析ー
3. 学会等名 第40回 日本骨形態計測学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 飯村忠浩
2. 発表標題 骨代謝疾患とドラッグリポジショニング研究
3. 学会等名 第62回 歯科基礎医学会学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤孝紀、戸井田侑、飯村忠浩
2. 発表標題 PTH製剤は骨コラーゲン線維の連続性を高める - 非線形光学を応用した霊長類椎体骨コラーゲンの定量的トポロジー解析 -
3. 学会等名 第62回 歯科基礎医学会学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 戸井田 侑, 佐藤 孝紀, 飯村 忠浩
2. 発表標題 霊長類を用いた歯髄再生制御機構の定量的蛍光イメージング解析
3. 学会等名 第62回 歯科基礎医学会学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤孝紀、戸井田侑、飯村忠浩
2. 発表標題 非線形蛍光イメージング法による椎体骨コラーゲンの定量的トポロジー解析
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第62回シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 戸井田 侑, 佐藤 孝紀, 飯村 忠浩
2. 発表標題 蛍光免疫染色イメージング法による霊長類歯髄組織再生に関する定量的微細形態学解析
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第62回シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tadahiro Iimura
2. 発表標題 HIV-mediated cellular signaling and bone pathophysiology
3. 学会等名 Asian Rising Sun Symposium at Tokyo Dental College 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飯村忠浩
2. 発表標題 ケモカインCC受容体による骨代謝機能調節と分子進化医学的考察
3. 学会等名 第33回 骨代謝セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飯村忠浩
2. 発表標題 超生物学的階層イメージング解析 - 蛍光組織切片と生細胞機能の定量的イメージング -
3. 学会等名 2019 北海道大学イメージングブートキャンプ (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飯村忠浩
2. 発表標題 PTHの薬理作用アップデート - シグナル、投与頻度、微細構造 -
3. 学会等名 札幌骨粗鬆症アカデミー2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中智哉、高尾亮子、飯村忠浩
2. 発表標題 卵巣摘除ラットの痛覚過敏に対するテリパラチドの改善作用および神経特異的バイオシグナルの同定
3. 学会等名 第36回 日本骨代謝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 飯村忠浩
2. 発表標題 骨ontogenyの学際的理解の追求
3. 学会等名 第36回 日本骨代謝学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 飯村忠浩
2. 発表標題 骨組織・細胞の形態学的観察法
3. 学会等名 第36回 日本骨代謝学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tanaka T., Takao-Kawabata R., Iimura T.
2. 発表標題 Pharmacological effect of PTH against skeletal pain involves changes in neuronal gene transcription in ovariectomized rats
3. 学会等名 2018 Australia and New Zealand Bone and Mineral Society Conference（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 飯村忠浩、李智媛
2. 発表標題 CCケモカイン受容体のゲノム進化と骨代謝における病態機能解析
3. 学会等名 第189回 日仏生物学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>Bone Research誌に2021年2月10日付で発表しました。 https://www.den.hokudai.ac.jp 進化医学的考察を加えた総説論文を、2021年2月17日付で発表しました。 https://www.den.hokudai.ac.jp 研究成果が朝日新聞社発行週間誌「AERA」（11月16日号）にて紹介されました。 https://www.den.hokudai.ac.jp ウェブニュースサイトEurekaAlert や毎日新聞など30以上の外国ニュース誌に掲載されました。 https://www.den.hokudai.ac.jp 日本骨代謝学会ホームページ 1st Author のコーナーで紹介されました。 https://www.den.hokudai.ac.jp 骨粗鬆症治療薬PTH製剤による疼痛軽減作用の解明に成功 https://www.hokudai.ac.jp/news/2020/03/pth.html 薬理学教室 大学院生田中智哉さんと飯村忠浩教授らの研究がプレスリリースされました。 https://www.den.hokudai.ac.jp</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------