

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：37116

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2023

課題番号：21K20980

研究課題名(和文) CRPS類似モデル動物の骨代謝動態におけるTRPV1の関与の検討

研究課題名(英文) The involvement of TRPV1 in bone metabolism in a CRPS model mouse

研究代表者

馬場 一彦 (Baba, Kazuhiko)

産業医科大学・医学部・診療助教

研究者番号：90910183

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：複合性局所疼痛症候群(Complex regional pain syndrome: CRPS) モデルマウスを用いて、CRPSによる痛覚過敏および骨量減少に対して、TRPV1およびTRPV4がどのように関与するのかを検討した。その結果、野生型マウスおよびTRPV1ノックアウトマウスにおいて、CRPSモデルの患側の大腿骨骨量、骨梁数および骨梁幅は対照群と比較し有意に低下し、骨梁間隙は有意に増加したが、TRPV4ノックアウトマウスにおいては有意な変化を認めなかった。CRPSによる骨量減少に対して、TRPV4が治療ターゲットとなる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CRPSの痛覚過敏および骨量減少の病的状態下において、TRPV1およびTRPV4がどのように関与しているのかについては不明な点が多い。本研究課題では、TRPV1ノックアウトマウスおよびTRPV4ノックアウトマウスを用いてCRPSモデルマウスを作成し、TRPV4ノックアウトマウスにおいて、CRPSに伴う骨量減少を認めなかった。今後TRPV4がCRPSの骨量減少に対する治療選択肢の一つとなる可能性があり、これらの知見に社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We investigated the involvement of TRPV1 and TRPV4 in CRPS-induced hyperalgesia and bone loss in a mouse model of complex regional pain syndrome (CRPS). The results showed that in wild-type and TRPV1-knockout mice, femur trabecular bone volume, trabecular number, and trabecular thickness on the affected side of the CRPS model were significantly reduced and the trabecular separation was significantly increased compared to each sham-operation group, while no significant changes were observed in the TRPV4-knockout mice. The results suggest that TRPV4 may be a potential therapeutic target for CRPS-induced bone loss.

研究分野：整形外科

キーワード：CRPS 骨粗鬆症 TRPV1 TRPV4 ノックアウトマウス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

複合性局所疼痛症候群 (Complex regional pain syndrome: CRPS)は、骨折などの外傷や神経損傷の後に疼痛が遷延する症候群であり、感覚障害(アロディニア、痛覚過敏)、浮腫、発汗異常、関節拘縮、運動障害などの多彩な症状を呈する。CRPSの有病率は10万人あたり5.4から26.2人といわれている(Peterson et al., 2018)が、CRPSの病態生理は解明されておらず、現時点では根本的な治療法がない。また、CRPS患者では骨萎縮や骨密度低下が生じる(Bickerstaff, 1993; Karacan, 2004)。動物実験においてビスフォスフォネート製剤がCRPSによって生じる痛覚過敏および骨量減少に対して有用である可能性が報告されたが(Wang et al., 2016)、未だその作用機序は不明瞭な点が多い。一方でTRPV1拮抗薬によって、痛覚過敏が改善する(Hu et al., 2019)ことから、CRPSの痛覚過敏発症にはTRPV1が関与していることが推測される。興味深いことに、雌性TRPV1ノックアウト(KO)マウスの卵巣摘出による骨粗鬆症モデルでは、野生型マウスと比較して骨量減少が有意に少ないことが報告されている(Rossi et al., 2014)。また、TRPV4 KOマウスで免荷による骨量減少を抑制することが報告されている(Mizoguchi et al., 2008)。これらの報告により、TRPV1およびTRPV4が骨粗鬆症治療のターゲットとして注目されている。以上より、申請者はCRPS類似モデルにおける痛覚過敏および骨量減少においてTRPV1およびTRPV4が関与する病態を明らかにし、TRPV1拮抗薬およびTRPV4拮抗薬による鎮痛効果および骨量改善効果について検討することが、CRPSにおける疼痛および骨量減少の治療法の発展に寄与すると考え、本研究を計画した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、TRPV1 KOマウスおよびTRPV4 KOマウスを使用してCRPSによる痛覚過敏および骨量減少の病態にTRPV1およびTRPV4がどのように関与しているかを明らかにすることである。

TRPV1 KOマウスおよびTRPV4 KOマウスを使用してCRPSの痛覚過敏および骨量減少について同時に検討した報告は過去になく、TRPV1ならびにTRPV4が、CRPSの症状である痛覚過敏や骨量減少に対する新たな治療ターゲットになりうるのかについて検討した。

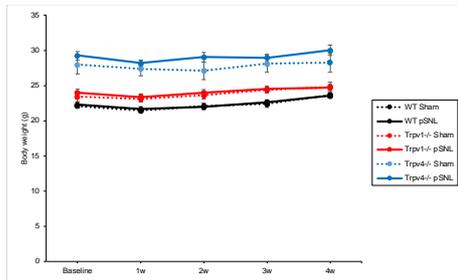
### 3. 研究の方法

(1) 野生型マウス(C57BL/6J, WT)、TRPV1 KO(Trpv1<sup>-/-</sup>)マウスおよびTRPV4 KOマウス(Trpv4<sup>-/-</sup>)を実験に使用した。CRPS類似モデルの作成:雄性8週齢のC57BL/6J系マウスとTRPV1 KOマウスを使用し、右坐骨神経部分結紮(partial sciatic nerve ligation; pSNL)をSeltzerらの手法に倣い(Seltzer et al., 1990)、右側坐骨神経の周径の1/2で結紮し、CRPS類似モデルを作成した。対照群として、皮膚・筋膜切開後に坐骨神経の露出のみを行う偽手術群(Sham)を設け、合計6群で実験を行なった。処置前、処置後7日および14日に体重を計測した。また、処置前、処置後7日および14日にvon Frey testおよびHot plate testを行い、機械刺激および熱刺激に対する痛覚閾値の評価を行った。

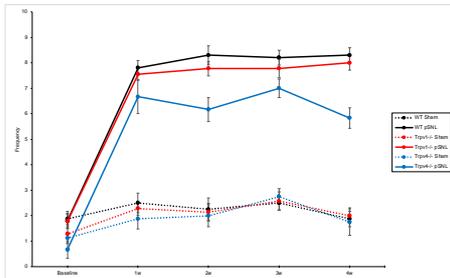
(2) 処置前、処置後7日および14日に右大腿骨のマイクロCTの撮影を行った。処置後14日で屠殺した。両側大腿骨を摘出し、マイクロCT撮影およびDual-energy X-ray absorptiometry (DEXA)による骨密度測定を行った。

#### 4. 研究成果

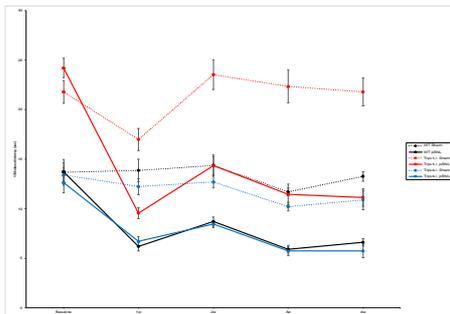
体重はいずれの系統の pSNL 群および Sham 群の間には有意差を認めず、Trpv4-/- 群は WT 群および Trpv1-/- 群と比較し体重が有意に高値であった。



機械刺激に対する痛覚閾値は、一定の刺激に対する疼痛逃避行動を示す頻度を計測し、評価を行い、それぞれの系統において、Sham 群と比較し、pSNL 群で有意に頻度の増加を認めた。

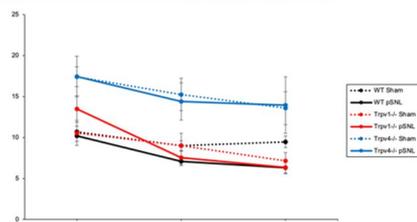


系統間の比較においては、明らかな有意差を認めなかった。熱刺激に対する痛覚閾値は、疼痛逃避行動を示すまでの潜時を計測し評価した。各系統において、Sham 群と比較し、pSNL 群において潜時の有意な延長を認めた。また、TRPV1 KO 群は WT 群および TRPV4 KO 群と比較し、有意に潜時が延長した。

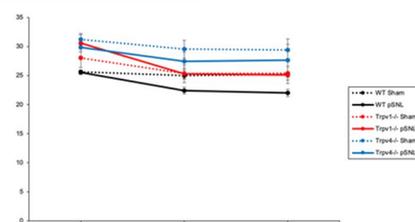


DEXA 法を用いて計測した WT、Trpv1-/- および Trpv4-/- のいずれの系統における pSNL 群の大腿骨骨密度は、Sham 群と比較し有意に低下した。一方、処置後 2 週および 4 週における micro CT を用いて計測した pSNL 群の大腿骨骨量、骨梁数および骨梁幅は、WT および Trpv1-/- においては Sham 群と比較し、有意に低下したが、Trpv4-/- では pSNL 群と Sham 群の間に有意差を認めなかった。pSNL 群の骨梁間隙は WT および Trpv1-/- においては Sham 群と比較し有意に増加したが、Trpv4-/- では pSNL 群と Sham 群との間に有意差を認めなかった。

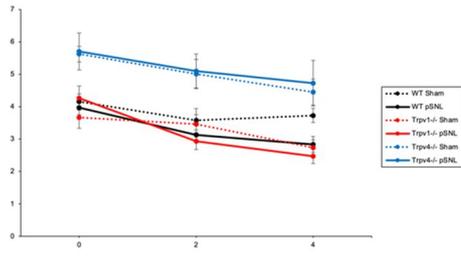
#### BV / TV : 骨組織容積比



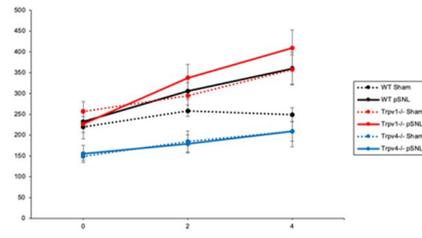
#### Tb Th : 骨梁幅



## Tb N : 骨梁数



## Tb Sp : 骨梁間隙



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Baba Kazuhiko, Kawasaki Makoto, Nishimura Haruki, Suzuki Hitoshi, Matsuura Takanori, Ikeda Naofumi, Fujitani Teruaki, Yamanaka Yoshiaki, Tsukamoto Manabu, Ohnishi Hideo, Yoshimura Mitsuhiro, Maruyama Takashi, Sanada Kenya, Sonoda Satomi, Nishimura Kazuaki, Tanaka Kentaro, Onaka Tatsushi, Ueta Yoichi, Sakai Akinori	4. 巻 12
2. 論文標題 Upregulation of the hypothalamo-neurohypophysial system and activation of vasopressin neurones attenuates hyperalgesia in a neuropathic pain model rat	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-17477-5	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 Nishimura H, Yoshimura M, Shimizu M, Sanada K, Sonoda S, Nishimura K, Baba K, Ikeda N, Motojima Y, Maruyama T, Nonaka Y, Baba R, Onaka T, Horishita T, Morimoto H, Yoshida Y, Kawasaki M, Sakai A, Muratani M, Conway-Campbell B, Lightman S, Ueta Y	4. 巻 5
2. 論文標題 Endogenous oxytocin exerts anti-nociceptive and anti-inflammatory effects in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03879-8	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 Sanada Kenya, Yoshimura Mitsuhiro, Ikeda Naofumi, Baba Kazuhiko, Nishimura Haruki, Nishimura Kazuaki, Nonaka Yuki, Maruyama Takashi, Miyamoto Tetsu, Mori Masatomo, Conway-Campbell Becky, Lightman Stafford, Kataoka Masaharu, Ueta Yoichi	4. 巻 71
2. 論文標題 Chemogenetic activation of endogenous arginine vasopressin exerts anorexigenic effects via central nesfatin-1/NucB2 pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12576-021-00802-4	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Nishimura H, Yoshimura M, Sanada K, Sonoda S, Nishimura K, Baba K, Ikeda N, Maruyama T, Nonaka Y, Baba R, Onaka T, Horishita T, Morimoto H, Yoshida Y, Kawasaki M, Sakai A, Conway-Campbell B, Lightman S, Ueta Y
2. 発表標題 内因性オキシトシンは神経性および液性調節を介して鎮痛効果と抗炎症効果を発揮する
3. 学会等名 第95回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬場一彦、川崎展、西村春来、藤谷晃亮、松浦孝紀、山中芳亮、鈴木仁士、大西英生、上田陽一、酒井昭典
2. 発表標題 神経障害性疼痛モデルラットにおけるバゾプレッシンの発現動態および鎮痛への関与の検討
3. 学会等名 第37回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazuhiko Baba, Kawasaki M, Ikeda N, Shimizu M, Suzuki H, Yoshimura M, Maruyama T, Ueta Y, Sakai A
2. 発表標題 神経障害性疼痛モデルラットにおけるバゾプレッシンの発現動態および鎮痛への関与の検討
3. 学会等名 日本生理学会第100回記念大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬場一彦、川崎展、池田直史、鈴木仁士、清水真喜子、眞田賢哉、吉村充弘、丸山崇、上田陽一、酒井昭典
2. 発表標題 神経障害性疼痛モデルラットにおけるバゾプレッシンの発現動態および鎮痛への関与
3. 学会等名 第47回神経内分泌学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 馬場一彦, 川崎展, 鈴木仁士, 松浦孝紀, 山中芳亮, 大西英生, 上田陽一
2. 発表標題 TRPV1ノックアウトマウスを用いた神経障害性疼痛における疼痛逃避行動と脊椎後角の神経/グリアの活性の変化
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 池田直史, 川崎展, 清水真喜子, 馬場一彦, 西村春来, 眞田賢哉, 西村和朗, 鈴木仁士, 吉村充弘, 丸山崇, 上田陽一, 酒井昭典
2. 発表標題 レセルピン反復投与誘発線維筋痛症モデルラットにおける痛覚反応・うつ状態の評価及びオキシトシン系活性化
3. 学会等名 第72回西日本生理学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 松浦孝紀, 川崎展, 鈴木仁士, 藤谷晃亮, 池田直史, 馬場一彦, 山中芳亮, 大西英生, 上田陽一, 酒井昭典
2. 発表標題 一酸化窒素はラット視床下部オキシトシン作動性ニューロンでの長期増強の維持に関与する
3. 学会等名 第43回日本疼痛学会
4. 発表年 2021年～2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------