

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590713

研究課題名(和文) 酸感受性イオンチャネルをターゲットにした関節痛の新規治療法の開発

研究課題名(英文) Targeting acid sensing ion channels as a novel treatment for joint pain

研究代表者

池内 昌彦 (IKEUCHI, MASAHIKO)

高知大学・教育研究部医療学系・准教授

研究者番号：00372730

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)： 関節疾患において関節液は酸性化し、侵害受容器のプロトンブリゲートとするイオンチャネルを開く。動物関節痛モデルを用いてプロトン反応性イオンチャネルの選択的ブロッカーの有効性を検討した。ASIC1a, ASIC3, TRPV1のうちASIC3選択的阻害薬だけが、変形性関節症モデルおよび組織障害を伴わない繰り返し酸投与による関節痛モデルにおいて明らかな鎮痛効果を発揮した。また、ASIC3選択的阻害薬は、優れた鎮痛効果を有するだけでなく関節保護作用を併せ持ち、理想的な関節痛治療薬として有望であると考えられた。

研究成果の概要(英文)： Synovial fluid in inflamed or degenerated joint shows a drop in pH, which activates proton-gated ion channels in nociceptors. The purpose of this study was to clarify the roles of proton-gated ion channels in joint pain using selective antagonists for these ion channels in animal models. Among antagonists for ASIC1a, ASIC3, and TRPV1, only ASIC3 antagonist reduced hyperalgesia of the legs in osteoarthritis pain model and acid induced joint pain model. Furthermore, ASIC3 antagonist prevented cartilage damage in osteoarthritis model. ASIC3 antagonist is a novel and promising drug for joint pain.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・疼痛学

キーワード：関節痛 鎮痛薬 酸 イオンチャネル

1. 研究開始当初の背景

関節機能の障害は、日常生活動作を困難なものにし生活の質の低下を招く。関節疾患はそれぞれ異なった病態をもつが、関節機能の障害の主因は共通して関節痛であることが多い。変形性関節症や関節リウマチなどの病態解析により、疾患修飾作用をもつ薬剤の開発が進む一方で、関節痛の発生機序に関する研究は驚くほどに少ない。関節疾患において患者が望む医療は、究極的には痛みのある関節を痛みのない状態にすることである。しかし、関節痛の発生機序は未だ不明な点が多いため、既存の治療法は除痛を主目的にしているにも関わらず、効果が不十分で予測不能であり、思わぬ副作用を引き起こす問題点を有する。関節痛の発生機序の解明は、より効果的な治療法の開発につながることを期待される。

現在、関節リウマチを代表とした炎症性疼痛のコントロールは、非ステロイド性消炎鎮痛薬、ステロイドなどの古典的薬剤、あるいは炎症性サイトカインをターゲットとした近年の分子標的治療法の導入により、飛躍的に進歩しつつある。炎症の関与が少ないとされる変形性関節症にも炎症性サイトカインの分子標的治療法の応用が試みられつつある。しかし、単一の分子を標的とする方法では消炎効果に限界があり、また、たとえ末梢局所の炎症を制御できたとしても、神経自体の損傷、末梢神経の感作あるいは中枢神経系の可塑的变化などに由来する疼痛管理は不可能である。関節の痛みは、炎症性疼痛だけでなく上記のような神経系も深く関与しており、神経系をターゲットにした治療法の実現も重要と考えている。

ASIC (Acid sensing ion channel) は、プロトンによって開口するナトリウムイオンチャネルである。炎症、虚血、関節症などさまざまな病的状態において組織は酸性化するが、その pH の低下を感知する受容器である。これまでに6つのアイソフォームが確認されており、その中で ASIC1a および ASIC3 は末梢神経に豊富に存在し、炎症性疼痛や筋肉痛の発生に深く関係していることが報告されている。申請者は独自に、関節痛と ASIC3 の関係について解明することを目的に基礎実験を重ねてきた。これまでに、マウスの膝関節滑膜組織中に ASIC3 陽性の神経線維を免疫組織学的に確認した。この神経線維は、カラゲナン急性関節炎モデルにおいて疼痛関連ペプチドとして知られる CGRP (Calcitonin gene related peptide) と共存していた。関節痛の行動学的評価においては、ASIC3 ノックアウトマウスでは炎症部位を超えて広がる痛覚過敏 (secondary hyperalgesia) が欠落していた。これらの結果により、膝関節滑膜組織の ASIC3 陽性線維は、関節痛、特に炎症部位を超えて広がる疼痛の形成に重要であることを明らかにした (Ikeuchi M et al Pain 2008)。また、逆行性トレーサーを

用いた膝関節支配後根神経節 (DRG) 細胞の免疫組織学的解析により、関節炎発生後の ASIC3 のアップレギュレーションと陽性細胞の subpopulation の変化を確認し、急性関節炎における関節痛発生機序の一部を明らかにした (Ikeuchi M et al J Pain 2009)。さらに、炎症性関節疾患よりも common disease であり、炎症の関与が少ないとされる変形性関節症モデルにおいても、関節痛と ASIC3 の関連性を明らかにした (泉仁ほか 日整会誌 2010)。

2. 研究の目的

末梢神経酸感知機構をターゲットにした関節痛の革新的新規治療法の基盤を確立するために、動物関節痛モデルでその有効性と安全性を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) 関節痛モデルの作製と行動学的疼痛評価

関節痛モデルの作製：モノヨード酢酸関節内投与による変形性関節症 (OA) モデルおよび、関節組織の変化を伴わない酸繰り返し関節内投与モデルの2種類を作製した。

行動学的疼痛評価：モノヨード酢酸または酸注射後 28 日目まで定期的に (3, 7, 14, 21, 28 日目) 行動学的疼痛評価を行った。

なお、評価項目は以下のとおりとした。

- ・関節の痛覚過敏 (primary hyperalgesia)
膝関節の痛覚過敏は、tweezer で関節を圧迫した際の疼痛発生閾値を計測した。
- ・足底の痛覚過敏 (secondary hyperalgesia)
足底の痛覚過敏は、von Frey フィラメントの刺激でみられる足引っ込み動作を指標に疼痛閾値を測定した。
- ・荷重分布
荷重分布は、incapacitance meter を用いて計測し、患健比で表した。

(2) 末梢神経酸感知機構に対する antagonist 関節内投与

末梢神経酸感知機構として代表的なイオンチャネル ASIC1a, ASIC3, TRPV1 の antagonist を関節内に投与して鎮痛効果、脊髄後根神経節細胞 (DRG) における疼痛関連分子の発現変化、および関節内組織の変化について調査した。使用した末梢神経酸感知機構に対する antagonist は、ASIC1a 選択的ブロッカーである PcTx-1, ASIC3 選択的ブロッカーである APETx2、および TRPV1 選択的ブロッカーである BCTC とし、過去の報告を参考に2種類の用量設定を行い、投与回数は隔日投与と週1回投与の2種類を設定した。

4. 研究成果

(1) 変形性関節症モデル

OA モデルでは、モノヨード酢酸を投与した関節に関節軟骨の消失と関節破壊といった関節症性変化を認め、同側に primary ととも

に secondary hyperalgesia が発生した。同側 DRG 細胞において ASIC3、TrkA、CGRP といった痛覚関連分子の発現増加を認めた。

ASIC3 選択的ブロッカー APETX2 を病初期に連日関節内投与すると、痛覚過敏の発生は抑制された(図 1)。また、鎮痛効果だけでなく関節破壊抑制効果も認めた(図 2)。

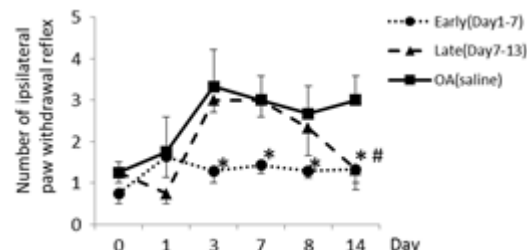


図 1. 変形性関節症モデルにおける ASIC3 選択的ブロッカー APETX2 の鎮痛効果。病初期に連日投与した群 (Early) において痛覚過敏 (足ひっこめ反射回数) の発生は抑制されている。

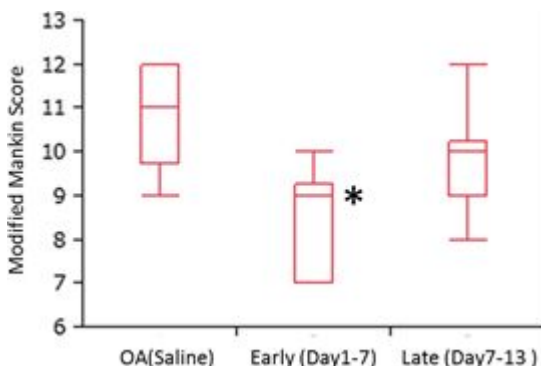


図 2. 変形性関節症モデルにおける ASIC3 選択的ブロッカー APETX2 の関節破壊抑制効果。スコア高値で組織学的な関節破壊は高度。病初期に連日投与した群 (Early) において関節破壊は軽度である。

(2) 酸繰り返し投与モデル

5 日間隔で pH4.0 の酸を関節内に注入すると、関節構成体に組織学的変化を伴わずに、長期間両側に広がる痛覚過敏を認めた(図 3)。酸感知機構 antagonist のうち、ASIC3 選択的ブロッカーである APETX2 を 2 回目の酸投与直前に投与すると痛覚過敏の発生をほぼ完全に抑制することが可能であった(図 4)。

以上の結果より、関節痛の発生に末梢神経に存在する ASIC3 が重要な役割を担っており、特に長期間広がりをもつ痛みの特性に関与している。ASIC3 選択的ブロッカーは優れた鎮痛効果を有するだけでなく関節保護作用を併せ持ち、理想的な関節痛治療薬として有望であると考えられた。

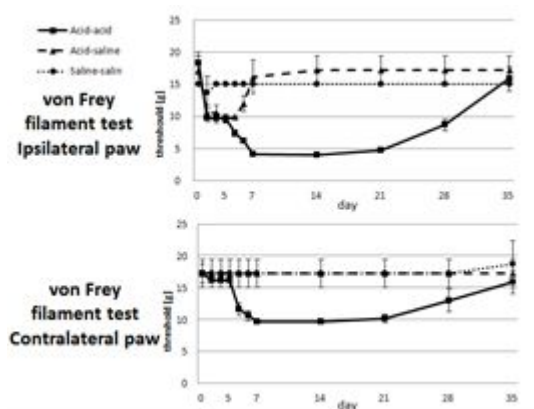


図 3. 繰り返し酸投与による両側性痛覚過敏。上段は同側、下段は対側の足ひっこめ反射閾値。

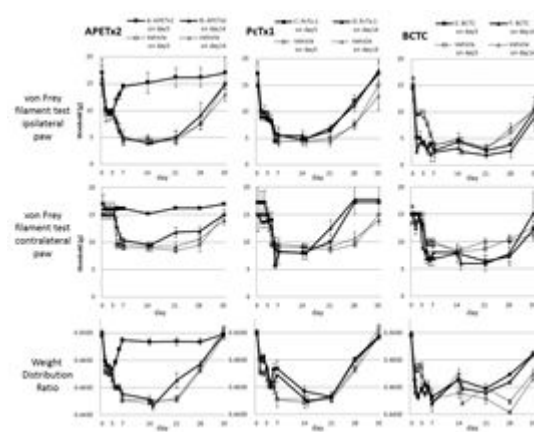


図 4. 繰り返し酸投与による痛覚過敏に対する各酸感知機構 antagonist 局所投与の効果。ASIC3 選択的阻害薬 APETX2 のみに痛覚過敏の発生抑制効果がみられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

池内昌彦. 酸感受性イオンチャンネル (ASIC) と痛み. *Locomotive Pain Frontier*, 査読なし, 3, 2014, 24-28

池内昌彦. 関節痛の発生機序. *ペインクリニック*, 査読なし, 34, 2013, 791-799.

Izumi M, Ikeuchi M, Ji Q, Tani T. Local ASIC3 modulates pain and disease progression in a rat model of osteoarthritis. *Journal of Biomedical Science*, 査読あり, 19, 2012, 77.

[学会発表](計 5 件)

杉村夏樹, 池内昌彦, 泉仁, 阿漕孝治, 加藤友也, 白石怜香. 酸投与による慢性関節痛モデルにおける痛覚過敏の一機序 同モデルにおける選択的酸受容体ブロッカーによる痛覚閾値変化. 第 28 回日本整形外科学会基礎学術集会 2013 年 10 月 17 日-18 日, 幕張メッセ, 千葉

加藤友也、池内昌彦、杉村夏樹、阿漕孝治、
谷俊一。変形性関節症モデルラットの疼痛
行動における関節内酸性化の影響。第 28 回
日本整形外科学会基礎学術集会 2013 年 10
月 17 日-18 日，幕張メッセ，千葉

Sugimura N, Ikeuchi M, Izumi M, Aso K,
Zahn J, Shiraishi R. Repeated intra-ar-
ticular injections of acid produce long
-lasting hyperalgesia in rat knee. Orth
opaedic Research Society annual meeting
2013, 2013 年 1 月 26 - 29 日，Henry B Gon
zalez Convention Center, San Antonio, Tex
as, USA

杉村夏樹、池内昌彦、泉仁、谷俊一。ラッ
ト膝関節内への酸投与は持続性の痛覚過敏
を惹起する。第 27 回日本整形外科学会基礎
学術集会 2012 年 10 月 26 日 - 27 日，名古
屋国際会議場 名古屋

Izumi M, Ikeuchi M, Tani T. Role of a
cid sensing ion channel 3 in an experim
ental model of osteoarthritis. 14th wor
ld congress of pain, 2012 年 8 月 27 日 - 31
日，Milano Convention Center, Milano, It
aly.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池内 昌彦 (IKEUCHI, Masahiko)
高知大学・教育研究部医療学系・准教授
研究者番号：00372730