

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月17日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09050

研究課題名(和文)骨粗鬆症マウスの疼痛とサルコペニアへの抗NGF抗体治療と運動療法による予防効果

研究課題名(英文) Preventive effect of anti-Nerve Growth Factor (NGF) antibody and exercise therapy on pain hypersensitivity and sarcopenia in osteoporosis mice

研究代表者

鈴木 都 (Suzuki, Miyako)

千葉大学・大学院医学研究院・特任助教

研究者番号：70734242

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：1. 骨粗鬆症マウスモデルが有する疼痛過敏性に対し抗NGF抗体を投与することで、有意な疼痛行動および末梢神経感作の改善を認めた。骨粗鬆症性疼痛の遷延、および慢性化にNGFが関与することを示唆しており、抗NGF治療が骨粗鬆症患者が有する疼痛にとって有用な治療法であることを示唆している。

2. 骨粗鬆症に対する運動療法は、有意に骨密度を改善する効果はあるが、疼痛過敏性、筋量、運動量の改善には至らないことが示唆された。今後は薬物療法との併用などを考慮する必要があると思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨粗鬆症状態となると骨折の前段階で疼痛を自覚することがあり、これを骨粗鬆症由来疼痛と定義し、疼痛伝達機序や治療及び予防について動物モデルを用い研究を行なった。骨粗鬆症はサルコペニア(筋減少症)関連があること、疼痛過敏性があること、そして時にその痛みは慢性化することを学会、論文により広く発信することができた。骨粗鬆症由来疼痛の機序、適正な治療、予防法を確立することは、骨粗鬆症患者の健康寿命の改善やQOLを向上させるだけではなく、本邦の医療費削減に繋がる。

研究成果の概要(英文)：1. Significant pain behavior and peripheral nerve sensitization were improved by administering anti-NGF antibody to the pain hypersensitivity possessed by the ovariectomy-induced osteoporosis mouse. It suggests that NGF could cause chronic osteoporosis-related pain, and also suggests that anti-NGF treatment is a useful treatment for pain possessed by osteoporosis patients.

2. It was confirmed that exercise therapy for osteoporosis state has significantly improved bone density, but we confirmed that it does not lead to improvement of pain sensitivity in osteoporosis mice. In the future, it may be necessary to consider, for example, concomitant use with pharmacological treatment.

研究分野：整形外科、予防医学、疼痛

キーワード：骨粗鬆症由来疼痛 サルコペニア 卵巣摘出骨粗鬆症マウス 運動療法 抗NGF療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨粗鬆症と疼痛：臨床の場合において、骨粗鬆症患者が骨折の明らかでない場合でも疼痛（主に腰痛）を訴え、しばしば治療に難渋するという経験をもとに、骨粗鬆症に発現する痛み（骨粗鬆症由来疼痛）の存在に着目した。しかし、この痛みについての報告は非常に少なく、骨髄内には痛み感覚受容器や痛覚伝達の神経線維が存在し（Mach DB, et al., 2002）粗鬆骨では、破骨細胞の形成する酸性環境がこれらの痛み感覚受容器を活性化し疼痛伝達に關与すること（Nagae M, et al., 2006）などの報告が散見されるのみで、我々が研究する以前の骨粗鬆症由来疼痛の発生メカニズムについては全く不明であった。

骨粗鬆症とサルコペニア：これまで独立した疾患と考えられてきた骨粗鬆症とサルコペニアの関連性が近年報告されている。サルコペニアの女性は非サルコペニアの女性に比較し、骨粗鬆症が驚くべき事に 13 倍も高く、さらには骨折が 3 倍多く、転倒が 2 倍多い。（Sjöblom S, et al., 2013）この原因として、骨粗鬆症状態ではビタミン D が低下しているが、このビタミン D 受容体は筋にも存在しており、欠乏により筋繊維の萎縮から結果的に筋量の低下をもたらすためと報告された。（Ceglia, L, et al., 2013）また閉経後骨粗鬆症患者においては低ビタミン D 血症、低骨量、低筋量、腰痛の頻度が高く、また種々の因子が相関するとの報告もある。（Silva AV, et al., 2013）一方、骨粗鬆症の痛みとサルコペニアの関連、相関性について総合的に評価した基礎研究はほぼ皆無である。実際高齢者の転倒や寝たきりへのリスク、健康寿命への悪影響があることから、発現メカニズム、及び治療、予防法の解明が喫緊の課題であり、注目が集まっている。

2. 研究の目的

- (1) 骨粗鬆症に発現する疼痛（骨粗鬆症由来疼痛）とサルコペニアの発現メカニズムの解明
- (2) 骨粗鬆症マウスの疼痛、サルコペニアに対する抗NGF抗体による新規治療法の検討
- (3) 運動療法の骨粗鬆症由来疼痛とサルコペニアに対する予防効果の検討

3. 研究の方法

- (1) 骨粗鬆症に発現する疼痛（骨粗鬆症由来疼痛）とサルコペニアの発現メカニズムの解明
卵巣摘出した骨粗鬆症マウスを用いた骨粗鬆症群とコントロール群における骨密度、筋量及び運動機能を測定し、さらに疼痛行動評価、免疫組織化学染色の結果を統計学的に解析し、骨粗鬆症と骨粗鬆性疼痛、さらにはサルコペニアとの関連について検討を行う。（平成 28 年度）
- (2) 骨粗鬆症マウスの疼痛、サルコペニアに対する抗 NGF 抗体による新規治療法の検討
両群に抗 NGF 抗体を投与し、疼痛行動評価及び免疫組織化学染色を施行し比較検討を行う。（平成 28 年度）
- (3) 運動療法の骨粗鬆症由来疼痛とサルコペニアに対する予防効果の検討
両群に運動負荷を加えた後、疼痛行動評価、及び免疫組織化学染色を施行し、比較検討し（平成 29 年度）、運動療法に抗 NGF 抗体を含む薬物療法を併用した場合の結果についても検討を行なう。（平成 30 年度）

4. 研究成果

H28 年度までに卵巣摘出骨粗鬆症モデルマウスは有意な骨密度低下（図 1）、疼痛閾値の低下に加え、筋量も有意に低下しており、骨粗鬆症マウスは疼痛閾値の低下とサルコペニア（筋減少症）も伴っていることが示唆された（図 2）。さらに抗 NGF 抗体を投与すると、有害事象なく疼痛行動の有意な改善を呈した。一方骨密度や筋量には影響を及ぼさなかった（図 1, 3）。

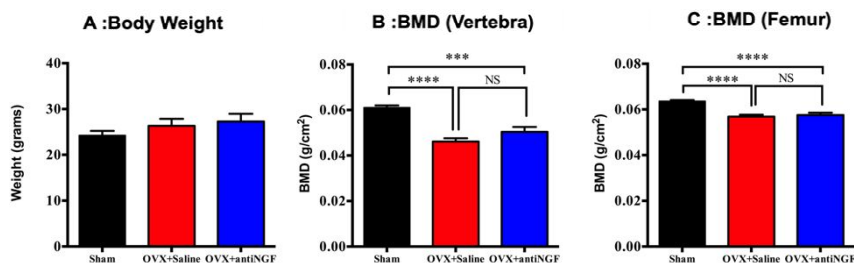


図 1. 卵巣摘出骨粗鬆症マウス(OVX)と Sham マウスの体重(A), 骨密度: 腰椎(B), 大腿骨(C)

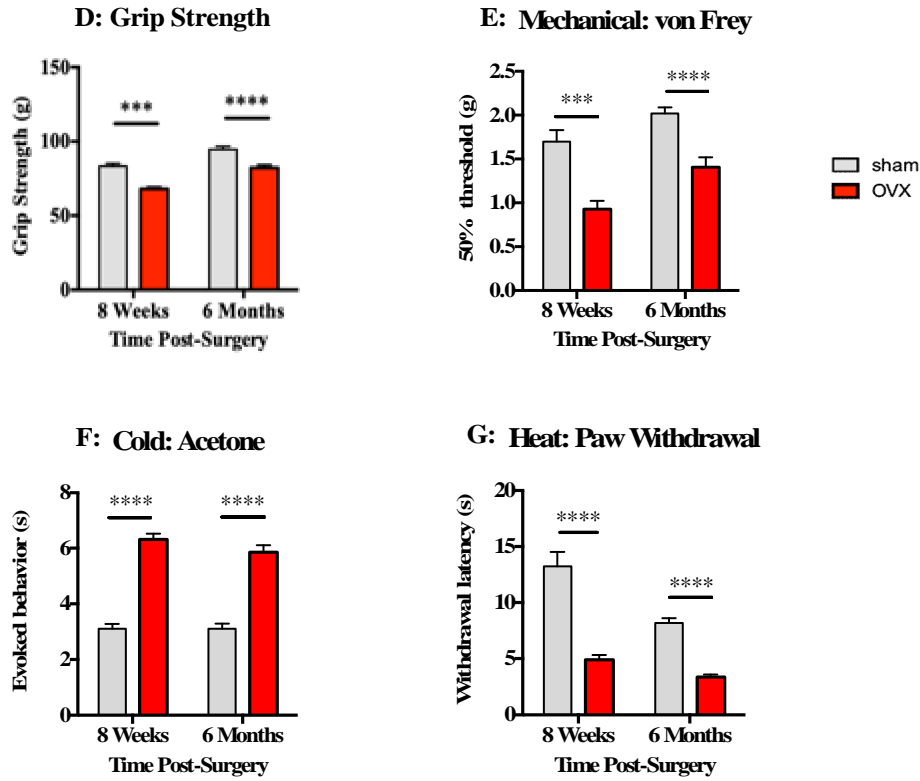


図 2. 卵巣摘出骨粗鬆症マウス(OVX)と Sham マウスの疼痛行動評価
握力(D), 機械的刺激(E), 冷刺激(F), 熱刺激(G)

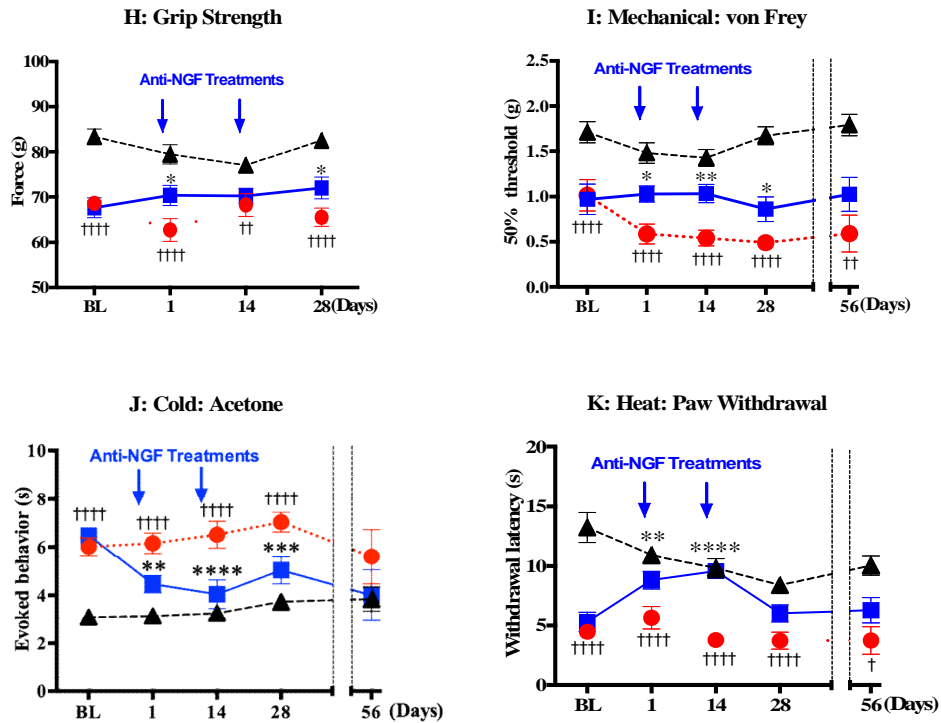


図 3. 卵巣摘出骨粗鬆症マウス(OVX)と Sham マウスの疼痛行動における抗 NGF 療法の効果
握力(H), 機械的刺激(I), 冷刺激(J), 熱刺激(K)

H29 年度は運動療法の骨粗鬆症由来疼痛とサルコペニアに対する予防効果について検討した。卵巣摘出前に 3 ヶ月間運動負荷を加えた運動群, 未運動群を作成し, その後卵巣摘出術と sham 手術に分け, 術後 2 ヶ月後に骨密度測定, 筋肉量, 運動量を施行した。術前のベースラインでは, 運動群と非運動群とでは骨密度, 疼痛行動, 筋量に有意差は認められなかったが, 運動量のみで運動群が非運動群に比し有意に勝っていた。骨粗鬆症マウスの骨密度は, 運動群で非運動群に比し有意な改善を認め, かつ sham 群に比し有意差を認めなかった。しかし疼痛行動, 筋量, 運動量に関して, 骨粗鬆症マウスが非運動群に比し運動群で有意な改善を認めた項目はな

かった。H30年度はH28年度に施行できなかった抗NGF投与における免疫組織化学染色を施行した。H28年度と同モデルを使用し、抗NGF投与は、OVXマウスにおいて観察された炎症性疼痛ペプチドであるCGRP陽性後根神経節ニューロンの増加を軽減した(図4)。

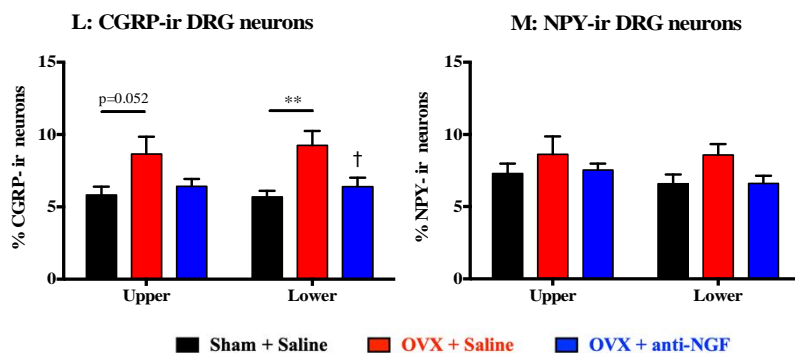


図4. 抗NGF療法におけるCGRP及びNPY陽性細胞の割合
CGRP陽性DRG細胞(L), NPY陽性DRG細胞(M)

結論

- 骨粗鬆症マウスモデルが有する疼痛過敏性に対し抗NGF抗体を投与することで、有意な疼痛行動および末梢神経感作の改善を認めた。骨粗鬆症性疼痛の遷延、および慢性化にNGFが関与することを示唆しており、抗NGF治療は骨粗鬆症患者が有する疼痛にとって有用な治療法であることを示唆している。
- 骨粗鬆症に対する運動療法は、有意に骨密度を改善する効果はあるが、疼痛過敏性、筋量、運動量の改善には至らないことが示唆された。今後は薬物療法との併用などを考慮する必要があると思われる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

- Suzuki Miyako, Millicamps Magali, Ohtori Seiji, Mori Chisato, Stone Laura S. Anti-nerve growth factor therapy attenuates cutaneous hypersensitivity and musculoskeletal discomfort in mice with osteoporosis (査読あり) PAIN Reports 2018 (3) e652 ~ e652
- Suzuki Miyako, Millicamps Magali, Ohtori Seiji, Mori Chisato, Stone Laura S. Chronic Osteoporotic Pain in Mice: Cutaneous and Deep Musculoskeletal Pain Are Partially Independent of Bone Resorption and Differentially Sensitive to Pharmacological Interventions. (査読あり) Journal of Osteoporosis 2017:15

[学会発表](計7件)

- Miyako Suzuki, Magali Millicamps, Seiji Ohtori, Laura S. Stone Anti-Nerve Growth Factor Therapy Attenuates Osteoporosis-related Cutaneous and Deep Musculoskeletal Pain Following Ovariectomy in Mice The American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) Annual Meeting 2018
- Miyako Suzuki, Magali Millicamps, Seiji Ohtori, Chisato Mori, Laura S. Stone Anti-Nerve Growth Factor Therapy Attenuates Osteoporosis-related Cutaneous and Deep Musculoskeletal Pain Following Ovariectomy in Mice The 45th Annual Meeting of the International Society for the Study of the Lumbar Spine 2018
- 鈴木都 TRPV1 Reporter Mouse(TdTomato Mouse)を用いた卵巣摘出骨粗鬆症モデルにおける疼痛行動評価と疼痛伝達感覚神経支配に関する検討 第10回日本運動器疼痛学会 2017
- 鈴木都 卵巣摘出骨粗鬆症マウスに発現する疼痛の特性と薬理的介入による疼痛行動の変化についての検討 第32回日本整形外科学会基礎学術集会 2017
- 鈴木都 卵巣摘出骨粗鬆症マウスに発現する疼痛の特性と薬理的介入による疼痛行動の変化についての検討 第19回日本骨粗鬆症学会 2017
- 鈴木都 卵巣摘出骨粗鬆症マウスに発現する疼痛の特性と薬物療法の効果についての検討 第39回日本疼痛学会 2017
- 鈴木都 卵巣摘出骨粗鬆症モデルマウスに発現する慢性疼痛に対する薬物療法の効果 第46回日本脊椎脊髄病学会学術集会 2017

[図書](計1件)

- 鈴木都 Monthly Book Orthopaedics -特集:保存療法で治せる腰痛症の見極めと治療- 全日本病院出版会 2017年 p98 (p17-23)

〔産業財産権〕
出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：森 千里
ローマ字氏名：Mori Chisato
所属研究機関名：千葉大学
部局名：大学院医学研究院
職名：教授
研究者番号（8桁）：90174375

研究分担者氏名：大鳥 精司
ローマ字氏名：Ohtori Seiji
所属研究機関名：千葉大学
部局名：大学院医学研究院
職名：教授
研究者番号（8桁）：40361430

(2)研究協力者

研究協力者氏名：Laura S. Stone
ローマ字氏名：Laura S. Stone

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。