

令和元年6月26日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16685

研究課題名(和文) マスト細胞を標的とした新規腰痛治療方法の確立

研究課題名(英文) Establishment of a novel treatment for low back pain targeting mast cells

研究代表者

大場 哲郎(OHBA, Tetsuro)

山梨大学・大学院総合研究部・助教

研究者番号：70456490

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：マウス尾椎から採取した椎間板に、マスト細胞トリプターゼ刺激をしたところ、培養上澄にはTSLPやMCP-1といった炎症性サイトカインが発現していた。この発現はマスト細胞トリプターゼの濃度に依存せず、刺激した時間に依存した。次に、マスト細胞トリプターゼと同時にPAR-2シグナルの阻害剤を投与して培養したところ、炎症性サイトカインの発現は見られなかった。マスト細胞トリプターゼ刺激により椎間板の軟骨基質の発現が低下した。以上より、マスト細胞はトリプターゼ、PAR-2シグナルを介して炎症性サイトカインの発現誘導し、さらに軟骨基質の発現を低下させることで椎間板変性に関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

椎間板に局在するマスト細胞がMCTによりPAR-2シグナルを活性化し、椎間板からのサイトカイン発現を誘導することが変性や腰痛に関与する可能性がある。PAR-2はすでに多分野で疼痛の治療標的分子として研究が進んでおり、臨床への応用が大いに期待できる。腰痛に対する新規分子標的の発見は、高齢化の進む我が国において意義が大きい。

研究成果の概要(英文)：When the intervertebral disc collected from the mouse caudal vertebrae was stimulated with mast cell tryptase, the culture supernatant expressed inflammatory cytokines such as TSLP and MCP-1. This expression was independent of the concentration of mast cell tryptase and was dependent on the time of stimulation. Next, when cultured with administration of an inhibitor of PAR-2 signal simultaneously with mast cell tryptase, expression of inflammatory cytokines was not observed. Mast cell tryptase stimulation reduced the expression of the cartilage matrix of the intervertebral disc. From the above, it has been suggested that mast cells induce expression of inflammatory cytokines via tryptase and PAR-2 signals, and are further involved in intervertebral disc degeneration by reducing the expression of cartilage matrix.

研究分野：医歯薬学

キーワード：腰痛 炎症 マスト細胞

(1) . 研究開始当初の背景

国内・国外の研究動向及び位置づけ

2013 年厚生労働省国民生活基礎調査によると、腰痛の有訴率は男性 1 位 (9.2%)、女性 2 位 (11.8%) であり、通院者率は 4 位 (4.2%) に上る。また、要支援者の原因の最多は運動器障害 (20.7%) である。本邦は平均寿命男性 79.6 才、女性 86.3 才 (2010 年) の長寿国として知られるが、一方で日常生活に支障をきたす期間は男性 9.1 年、女性 12.7 年と高齢者の要介護の需要が増加している。腰痛による運動器障害を軽減し、健康格差を縮小して健康寿命を延伸することは大切な課題といえる。

椎間板変性に伴う炎症・知覚神経の侵入が腰痛の一因であり (Miyagi M: Spine 2014)、椎間板が腰痛治療のターゲットとして報告されている (Ohtori S: Spine 2009)。さらに変性した椎間板が脊柱管内に突出して、椎間板ヘルニアを発症すると、強い腰痛や下肢痛など神経症状がみられる。

これまでに、申請者らは椎間板の変性メカニズムの解明から椎間板ヘルニアの新規治療法の確立まで、基礎・臨床研究ともに成果をあげてきた。

(2) . 研究の目的

超高齢化社会に伴い、腰痛を原因とする要介護者が増加している。腰痛の原因に椎間板の炎症・変性がある。申請者はこれまでに、本来無血管臓器である椎間板への血管の侵入と免疫担当細胞の遊走・浸潤を起因とした椎間板の炎症・変性メカニズムを解明してきた。

椎間板に局在するマスト細胞由来のトリプターゼ (Mast cell tryptase : MCT) による炎症賦活メカニズムを解明、さらにこれを阻害することで椎間板の炎症・変性が抑制できるか検討する。

腰痛に対する新規治療のターゲットを確立し、運動器障害者並びに要介護者の減少を達成したい。

腰痛患者の椎間板におけるマスト細胞の発現

本来無血管臓器である椎間板への血管の侵入は、椎間板変性過程のひとつである。新生血管に伴って「マスト細胞」の椎間板内への浸潤が腰痛患者には多く見られ、腰痛治療の新規ターゲットとして報告されている (Freemont AJ: J Pathol 2002)。しかし、具体的なメカニズムは未解明である。

マスト細胞由来のトリプターゼ (Mast cell tryptase : MCT) の炎症性病態における役割

アレルギー性炎症に重要な役割を果たす MCT は、椎間板にの代表的なアゴニストである。MCT は PAR-2 シグナルの活性化により、炎症性サイトカインの産生を誘導し、肺や脳の炎症性疾患の原因となる (Gan X: Inflammation 2012)。

椎間板における PAR-2 の発現

椎間板内にも PAR-2 の発現がみられ、炎症性サイトカインの発現を誘導することが報告されている。(Iida R: Spine 2009)

予備実験で、PAR-2 刺激で椎間板から、これまで我々が椎間板変性における役割を研究してきた炎症性サイトカイン TSLP 及びケモカイン MCP-1 の発現が誘導された。

予想される結果と意義

椎間板に局在するマスト細胞が MCT により PAR-2 シグナルを活性化し、椎間板からのサイトカイン発現を誘導することが変性や腰痛に関与する可能性がある。PAR-2 はすでに多分野で疼痛の治療標的分子として研究が進んでおり、臨床への応用が大いに期待できる。腰痛に対する新規分子標的の発見は、高齢化の進む我が国において意義が大きい

(3) . 研究の方法

マスト細胞による PAR-2 シグナルの活性化が腰痛の病態に果たすメカニズムの解明と、その抑制効果を見るために以下のように研究計画する。

マウス椎間板の組織培養モデルを使用して、PAR-2 シグナルの刺激で発現誘導されるサイトカインを解析する。

マウス骨髄由来のマスト細胞と共培養し、椎間板の変性について組織学的、また軟骨成分 (プロテオグリカン、コラーゲン II) の発現を PCR で検討する。

In vivo マウスモデルで、MCT を椎間板内へ注入してマウスの椎間板変性について解析する。さらに、PAR-2 欠損マウスで同実験を行う。

(4) . 研究成果

マウス尾椎から採取した椎間板に、マスト細胞トリプターゼ刺激をしたところ、培養上澄には TSLP や MCP-1 といった炎症性サイトカインが発現していた。この発現はマスト細胞トリプターゼの濃度に依存せず、刺激した時間に依存した。次に、マスト細胞トリプターゼと同時に PAR-2 シグナルの阻害剤を投与して培養したところ、炎症性サイトカインの発現は見られなかった。マスト細胞トリプターゼ刺激により椎間板の軟骨基質の発現が低下した。以上より、マスト細胞はトリプターゼ、PAR-2 シグナルを介して炎症性サイトカインの発現誘導し、さらに軟骨基質の発現を低下させることで椎間板変性に関与していることが示唆された。

(5) . 主な発表論文等

今後予定
日本整形外科基礎学術集会 発表

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 件)

〔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：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

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

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。