

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 21 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592223

研究課題名(和文)骨粗鬆症にともなう慢性疼痛の病態解明

研究課題名(英文) Analysis for the mechanisms leading to osteoporosis-related bone pain

研究代表者

射場 浩介 (Iba, Kosuke)

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60363686

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：「閉経後骨粗鬆症モデルマウスを用いた骨粗鬆症の病態に伴う疼痛発生メカニズムの解析」の研究結果として、卵巣摘除(OVX)マウスでは骨粗鬆症の病態を呈し、疼痛行動が誘発されること。骨吸収抑制剤のビスフォスフォネート(BP)の使用で疼痛行動(Paw flick test, von Fray test, Rota rod test)が改善すること。疼痛行動が誘発されたOVXの骨組織では破骨細胞の活性化に伴い、酸性環境の形成が進み、これらの変化はBPにより抑制されること。酸受容体拮抗薬(TRPV1 antagonist)は、OVXにより誘発された疼痛行動を抑制することがあげられた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate skeletal pain associated with osteoporosis and to examine the inhibitory effect of bisphosphonate (BP) on the pain in ovariectomized (OVX) mice. We evaluated skeletal pain by examining pain-like behavior and immunohistochemical findings. Additionally, we assessed the effects of BP on those examinations. The OVX mice showed a decrease in pain threshold, and an increase in the number of c-Fos immunoreactive neurons in the spinal cord. BP caused an increase in pain threshold and inhibited c-Fos expression. Serum level of tartrate-resistant acid phosphatase 5b was significantly negative-correlated with pain threshold value. Furthermore, we found that an antagonist of transient receptor potential channel vanilloid subfamily member 1, an acid-sensing nociceptor, improved pain-like behavior in OVX mice. These results indicated that the inhibitory effect of BP on osteoclast function might contribute to improvement of skeletal pain in osteoporosis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：細胞・組織 病理学 骨・軟骨代謝学

## 1. 研究開始当初の背景

わが国における骨粗鬆症患者は 780 から 1100 万人と推定され、50 歳以上の男性では 230 万人、女性では 870 万人とされている。骨粗鬆症の最も重篤な臨床症状として骨脆弱性骨折の発生があげられる。また一方で、骨脆弱性骨折の有無に関わらず骨粗鬆症における骨代謝異常が直接、疼痛の原因となる可能性が指摘されている。最近の研究では、骨吸収抑制作用をもつカルシトニン製剤が中枢神経系を介して骨粗鬆症にともなう慢性疼痛を抑制することや癌の骨転移にともなう骨性疼痛が骨吸収亢進による高骨代謝回転状態と関係していることが報告されている (Ito et al., *J NeuroSci*, 2000; Nagae et al., *Bone*, 2006)。我々もこれまでに重症の骨粗鬆症症例において著しい骨性の疼痛をみとめたこと (Iba et al., 2003, *J Orthop Sci*)。さらに、臨床研究結果では骨粗鬆症患者の 81% に腰背部痛を認めた。痛みの指標として用いた visual analogue scale (VAS) は椎体変性の程度や椎体既存骨折の有無と有意な相関を認めなかった。また、骨密度 (BMD) と VAS の間に有意な相関を認めなかった。骨吸収抑制剤のビスフォスフォネート (BP) と痛みの関係については平均 VAS が BP 内服群で 2.17 であり、非内服群の 3.05 と比較して低かった。さらに BP 内服前後の比較では、腰背部痛が VAS で平均 4.64 から 1.41 に有意に低下し、骨吸収マーカーである尿中 I 型コラーゲン架橋 N テロペプチド (uNTX) も 31.1 から 19.7 に有意に低下した。QOL の指標として計測した SF-36 では、BP 内服群が非内服群と比較して活力 (VT) と心の健康 (MH) の項目で高値であった。以上より、骨折や変性変化に関係せず、骨粗鬆症における骨吸収亢進状態が疼痛発症の原因となる可能性があると考えられた。さらに、骨吸収亢進状態を呈する他の骨代謝疾患 (Iba et al., *J Orthopaedics*, 2009) や骨系統疾患 (Iba, et al., *J Bone Miner Metab* 2008) においても骨性の疼痛を呈することを報告した。また興味深い結果として、いずれの症例でも骨吸収抑制剤による骨代謝回転の正常化に伴い疼痛症状が改善した。以上の結果もあわせて考えると骨吸収亢進にともなう骨組織内病態が骨性の疼痛発症に関与している可能性が高いと考えられた。

## 2. 研究の目的

骨吸収亢進にともなう骨組織内病態が骨性の疼痛発症に関与している可能性が高いと考えられた。今回の研究では卵巣摘除マウスを用いて骨粗鬆症を含めて骨吸収亢進を呈する病態における疼痛発症のメカニズムを解析することを目的とした。

## 3. 研究の方法

卵巣摘除 (OVX) による閉経後骨粗鬆症モデルマウス群と偽手術 (Sham) 群を作製する。OVX 群と Sham 群間における疼痛評価を行動学的検討や脊髄組織や骨組織の免疫組織学的、分子生物学的検討を用いて行う。具体的には下肢への熱刺激や von Frey test による疼痛域値測定と、回転する棒の上を動くマウスが棒から落下するまでの時間を測定することで全身疼痛の指標を計測する Rota-rod test で疼痛評価を行った。また、マウス脊髄組織の免疫組織学的検討では、疼痛の信号入力指標となる c-fos の発現と活性化アストロサイトのマーカーである細胞骨格タンパクを認識する GFAP の発現変化を検討した。次に、骨粗鬆症治療薬であり強い骨吸収抑制効果をもつ BP を投与して、同様の評価をおこなう。

## 4. 研究成果

3 年間の研究結果では、OVX マウスでは骨粗鬆症の病態を呈し、疼痛行動 (Paw flick test, von Fray test, Rota rod test) が誘発されること。骨吸収抑制剤の BP の使用で疼痛行動が優位に改善することが明らかとなった (図 1)。

図 1 A

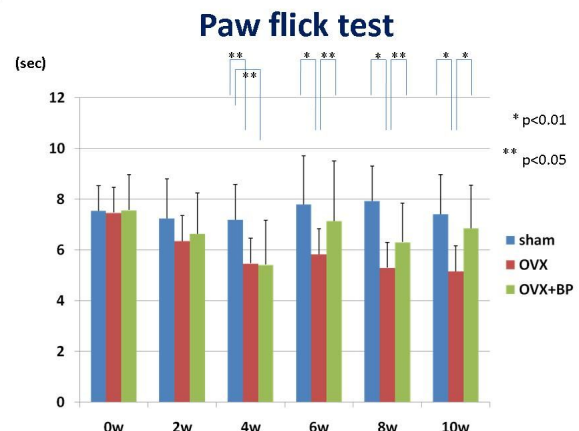


図1 B

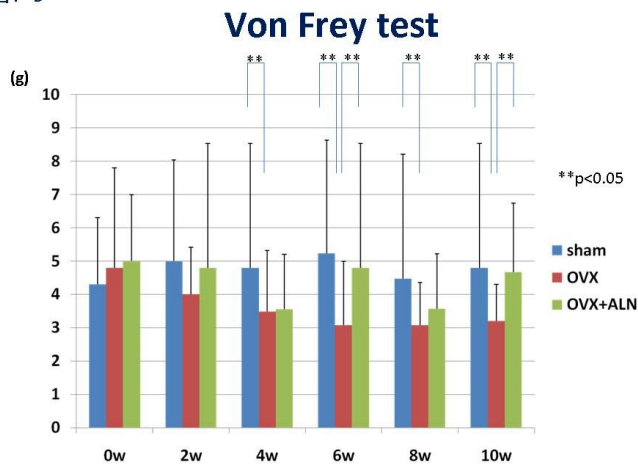
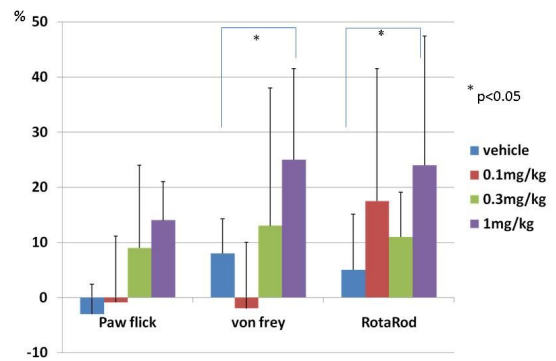


図2

### 疼痛改善度 (TRPV1 antagonist投与後30min)



## 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 12件)

Iba K, Abe Y, Chikenji T, Kanaya K, Chiba H, Dohke T, Wada T, Yamashita T. Delayed fracture healing in tetraectin-deficient mice. *J Bone Miner Metab* 31: 399-408 (2013). DOI 10.1007/s00776-010-0008-0 査読有

射場浩介, 阿部恭久, 山下敏彦. 骨粗鬆症の疼痛管理 疼痛発症メカニズム. *日本臨床* 71: 417-420 (2013) 査読無

射場浩介, 山下敏彦. 知っておきたい最新骨粗鬆症診療マニュアル 骨粗鬆症による疼痛 疼痛対策と管理 *Orthopaedics* 25: 117-122 (2012) 査読無

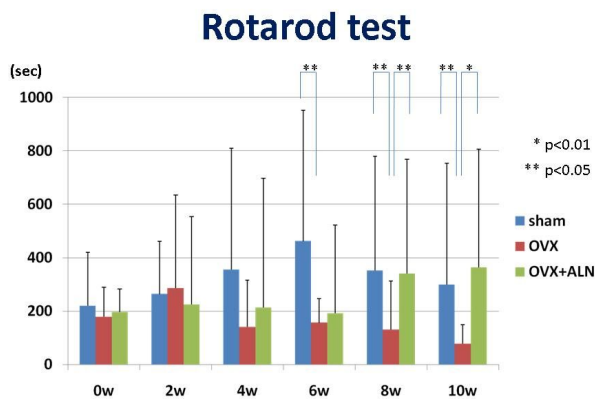
Iba K, Takada J, Sasaki K, Wada T, Yamashita T. Course of NTX changes under continuous bisphosphonate treatment in the cases of NTX over-reduction due to long-term treatment with bisphosphonate. *J Orthop Sci* 16: 71-76 (2011) DOI 10.1007/s00774-013-0436-y 査読有

[学会発表](計 7件)

道家孝幸, 射場浩介, 金谷久美子, 阿部恭久, 佐々木宗輝, 網塚憲生. 骨粗鬆症に伴う疼痛と骨組織の酸性環境変化. 第28回日本整形外科基礎学術集会, 2013年10月17日~18日, 千葉市

阿部恭久, 射場浩介, 佐々木浩一, 千葉弘規, 金谷久美子, 川股知之, 山下敏彦. 骨粗鬆症に伴

図1 C



これまで転移性骨腫瘍モデルマウスを用いた研究で、骨に分布する侵害受容性神経終末には酸受容体であるカプサイシン受容体 (TRPV1) が発現していること、破骨細胞は骨吸収の際に H<sup>+</sup>を放出して酸性環境を形成すること、活性化した破骨細胞が形成した酸性環境がカプサイシン受容体を介して侵害受容性神経を興奮させて骨性疼痛を誘発することが報告されている (Nagae, Bone 2006)。

骨粗鬆症においても同様の病態が生じていると考え、さらにそのメカニズムについても検討を行った。その結果、疼痛行動が誘発された OVX の骨組織では破骨細胞の活性化に伴い、酸性環境の形成が進み、これらの変化は BP により抑制されること。酸受容体拮抗薬 (TRPV1 antagonist) は OVX により誘発された疼痛行動を抑制すること (図2) を明らかにした。本研究結果はすでに英文雑誌報告をした (Abe, Iba et al., *J Bone Miner Metab*, in press)。

う疼痛と骨代謝回転状態との関係 .第 26 回日本整形外科基礎学術集会 2011 年 10 月 20 日～21 日 ,  
船橋市

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

出願なし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕なし

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

射場 浩介 (Kosuke Iba)

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号:

### (2) 研究分担者 60363686

山下 敏彦 (Toshihiko Yamashita)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号: 70244366

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: