

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462308

研究課題名(和文) 骨粗鬆症における骨組織内の骨代謝/疼痛関連分子の発現変化と疼痛発生機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation for a mechanism of skeletal pain induction related to expression changes of bone metabolic markers and pain-related molecules in osteoporosis

研究代表者

射場 浩介 (iba, kousuke)

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) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：「骨粗鬆症における骨組織内の骨代謝/疼痛関連分子の発現変化と疼痛発生メカニズムの解明」の研究結果として、閉経後骨粗鬆症モデル(OVX)マウスの疼痛行動は侵害受容体のTRPV1, ASICs, P2X拮抗薬で改善すること。TRPV1, ASICs, P2Xは骨組織においても発現すること。侵害受容体拮抗薬が骨代謝亢進状態を改善する作用を有すること。尾部吊り下げ後肢非荷重モデルマウスでは後肢に局所性骨粗鬆化をみとめ、疼痛行動が誘発されること。骨吸収抑制薬や再荷重による骨粗鬆化の改善が疼痛行動を改善すること。局所性骨粗鬆化に伴う疼痛発生機序はOVXによるものと同様であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)： We demonstrated that antagonists to TRPV1, ASIC and P2X2 improved the threshold value of pain-like behavior in OVX mice. These results suggest that the activation of these nociceptors by pathological conditions as acidic environment resulting from osteoclast activation cause skeletal pain in osteoporosis. We also demonstrated that an array of nociceptors, TRPV1, ASIC and P2X2/3, were simultaneously expressed in bone tissue under a high bone turnover state in OVX mice. In addition, the pain-like behaviors in tail-suspended mice were significantly increased in comparison with those in control mice. These mice showed regional osteoporotic changes in the hind limbs accompanied by an increase in bone resorption due to osteoclast activation. The pain-like behaviors accompanying the regional osteoporotic changes were significantly improved by the resumption of weight bearing, or treatment with bisphosphonate or acid-sensing nociceptor antagonists.

研究分野：整形外科

キーワード：疼痛 骨粗鬆症 骨代謝亢進 破骨細胞 ビスホスホネート

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会となったわが国における骨粗鬆症患者は約 1300 万人と推定される。骨粗鬆症の最も重篤な臨床症状は骨脆弱性骨折である。また、骨折後の日常生活レベル(ADL)や生活の質(QOL)の低下、生存率の低下は大きな問題となっている(骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン)。骨粗鬆症患者のADLやQOL低下の重要な因子として腰背部痛が上げられる(高田、射場ほか, 整形外科 2004)。また、骨粗鬆症に伴う運動器の疼痛発生原因としては骨折や骨折後の骨格変形が考えられるが、最近の研究では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。我々もこれまでに骨代謝異常を呈する患者が骨性の疼痛を呈すること(Iba et al., J Orthop Sci 2003; Takada, Iba, et al., J Bone Miner Metab 2008; Iba et al., J Orthopaedics, 2009; Iba, et al., J Med Case Repots 2010, 2011)、骨粗鬆症患者の腰背部痛と骨代謝マーカー値が相関することを報告してきた(阿部、射場、整・災外 2013)。また興味深い結果として、いずれの研究において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。以上の研究結果より「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の一つとなる」という仮説をたてた。

これまでの我々の研究結果では、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マウス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を

明らかとした(Abe, Iba et al., J Bone Miner Metab, 2015)。

2. 研究の目的

今回は骨粗鬆症に伴う疼痛発生機序について骨吸収時に起こる骨組織内の変化に注目して、その分子メカニズムを解明することを目的とする。さらに、OVXによる閉経後骨粗鬆症モデル以外に、非荷重骨粗鬆症モデルマウスを用いて、異なった原因により誘発された骨粗鬆症の病態と疼痛発生の関係についても検討する。

3. 研究の方法

これまでの研究と同様にOVXによる閉経後骨粗鬆症モデルマウス群と偽手術(sham)群を作製し、両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検討を行う。両群の大腿骨を採取して疼痛関連分子のmRNAレベルの発現を比較検討する。さらに、骨粗鬆症治療薬であり強い骨吸収抑制効果をもつBP以外に、侵害刺激受容体(TRPV1, ASICs, P2X)の拮抗薬を投与して、疼痛行動の変化を検討する。さらに、尾部懸垂による非荷重モデルマウスの実験系を確立して原因の異なった骨粗鬆症モデルマウスにおいてもOVXマウスと同様の検討を行い、骨粗鬆症と疼痛発生のメカニズムについてさらに詳しく検討する。

4. 研究成果

OVXマウスを用いた研究で、侵害受容体(TRPV1, ASICs, P2X)拮抗薬が疼痛行動を改善した(図1)。以上のことは、骨代謝亢進状態に伴う疼痛誘発の1つの原因として、骨組織内の酸性環境形成や疼痛関連分子の発現増強が受容体を活性化することが考えられた。(Kanaya, Iba et al., J Orthop Res, 2015)。さらに興味深い結果として、OVXマウスを用いた研究で、感覚神経以外に骨組織に

も酸受容体や P2X などの侵害受容体が発現しており (図 2) これらに対する拮抗薬が骨代謝亢進状態を改善する作用を有していた (Kanaya, Iba, et al., J Musculoskelet Neuronal Interact, 2016)。このことは、骨粗鬆症に伴い疼痛を誘発する骨内環境が骨代謝調節作用を有する可能性があることを示している。また、尾部吊り下げ後肢非荷重モデルマウスを用いて後肢に局所性の骨粗鬆化を呈する実験系を確立した。局所性骨粗鬆化においても OVX マウスと同様に破骨細胞の活性化にともなう骨吸収亢進状態が疼痛行動を誘導すること、骨吸収抑制薬 (BP) や再荷重による局所性骨粗鬆化の改善が疼痛行動を改善することを確認した (図 3) (Dohke T, Iba K, et al., J Orthop Res 2016)。以上の結果は、局所性の骨粗鬆化の病態自体が疼痛発生の原因になる可能性を示唆している。実際の臨床において、難治性疼痛疾患では、多くの症例で、疼痛部位に一致した局所の骨粗鬆化を認める。このことは、これらの慢性疼痛疾患においても局所性の骨粗鬆化が、疼痛症状を増強させる原因の一つと考えられた。

図 1A

TRPV1 拮抗薬投与

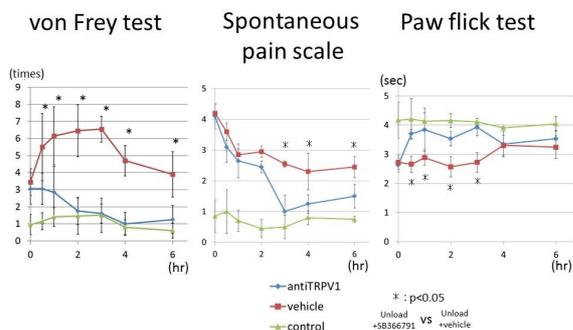


図 1B

P2X2/3 拮抗薬投与

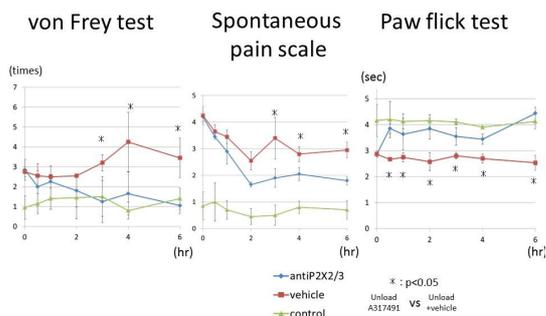


図 1C

ASIC3 拮抗薬投与

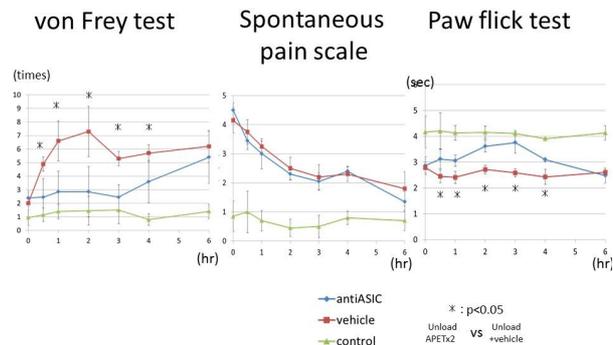


図 2

骨における TRPV1・ASIC・P2X2/3 の発現

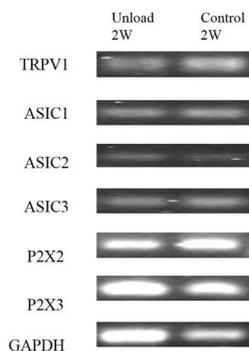
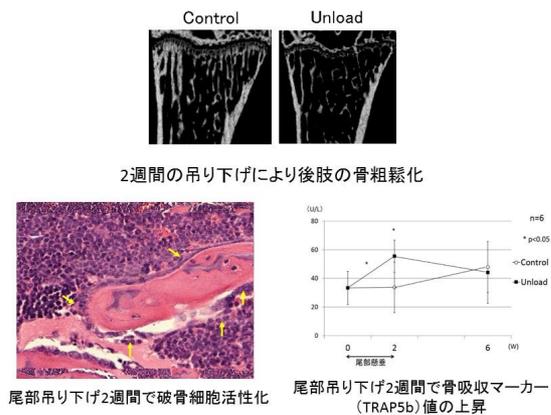


図 3 尾部吊り下げ局所骨粗鬆化モデルの確立



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](英文3件 邦5件 計8件)

Kanaya K, Iba K, Abe Y, Dohke T, Okazaki S, Matsumura T, Yamashita T. Acid sensing ion channel 3 or P2X2/3 is involved in the pain-like behavior under a high bone turnover state in ovariectomized mice. J Orthop Res, 2016;34(4):566-573. (査読有)

Kanaya K, Iba K, Dohke T, Okazaki S, Yamashita T TRPV1, ASICs and P2X2/3 expressed in bone cells simultaneously regulate bone metabolic markers in ovariectomized mice. J Musculoskeletal Neuronal Interact 2016;16(2):141-151. (査読有)

Dohke T, Iba K, Hanaka M, Kanaya K, Abe Y, Okazaki S, Yamashita T. Regional osteoporosis due to osteoclast activation as a trigger for the pain-like behaviors in tail-suspended mice. J Orthop Res 2016; Epub ahead of print (査読有)

射場浩介. 整形外科 知ってるつもり 骨粗鬆症に伴う疼痛. 臨整外 2016;51:948-951. (査読無)

射場浩介, 山下敏彦. 骨粗鬆症と椎体骨折の痛み・診断と治療. Geriat Med 2015;53:947-951. (査読無)

射場浩介, 高田潤一, 山下敏彦. 【骨粗鬆症と痛み】骨粗鬆症の病態と痛みの特徴(解説/特集) ペインクリニック 2014; 35:1471-1477. (査読無)

射場浩介, 金谷久美子, 山下敏彦: 高齢者脆弱性骨折の予防 高齢者の特徴と周術期管理疼痛管理 骨粗鬆症患者の疼痛発生機序と薬物治療

整形外科 65: 882-887, 2014. (査読無)

[学会発表](外国1、国内18件 計19件)

Dohke T, Iba K, Hanaka M, Kanaya K, Okazaki S, Abe Y, Yamashita T. Induction of skeletal pain related to regional osteoporotic change of lower limb in tail-suspension mouse model. 第61回 Orthopaedic Research Society Meeting 2016年3月5日~8日 Orlando, USA 射場浩介 道家孝幸 金谷久美子 花香恵 阿部恭久 山下敏彦. 局所性骨粗鬆化に伴う四肢疼痛(シンポジウム: 骨の痛み) 第38回日本疼痛学会. 2016年6月24日~25日北海道立道民活動センターかでの2・7(北海道札幌市)

射場浩介, 金谷久美子, 道家孝幸, 高田潤一, 山下敏彦. 骨粗鬆症に伴う痛みのメカニズム(シンポジウム: 骨粗鬆症と痛み) 第88回日本整形外科学会学術総会. 2015年5月21日~24日神戸ポートピアホテル他(兵庫県神戸市)

[図書](計1件)

Iba K, Yamashita T. Osteoclast-Mediated Pain in Osteoporosis. Yoichi Shimada and Naohisa Miyakoshi (Eds): Osteoporosis in Orthopedics. Tokyo: Springer Japan; 2015. pp23-34.

[産業財産権]

出願状況(計 件)

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〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

射場浩介（iba kousuke）

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60363686

(2)研究分担者

（ ）

研究者番号：

(3)連携研究者

（ ）

研究者番号：

(4)研究協力者

（ ）