



北海道公立大学法人
札幌医科大学
Sapporo Medical University

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title 論文題目	Hypersensitivity to cold stimulation associated with regional osteoporotic changes in tail-suspended mice. (尾部懸垂マウスにおける局所性の骨粗鬆症変化に伴う寒冷過敏)
Author(s) 著者	井部, 光滋
Degree number 学位記番号	甲第 3097 号
Degree name 学位の種類	博士 (医学)
Issue Date 学位取得年月日	2020-3-31
Original Article 原著論文	The Journal of Bone and Mineral Metabolism (JBMM)
Doc URL	
DOI	
Resource Version	Author Edition

学位論文の内容の要旨

報告番号	甲第 3097 号	氏名	井部 光 滋
論文題名			
Hypersensitivity to cold stimulation associated with regional osteoporotic changes in tail-suspended mice. (尾部懸垂マウスにおける局所性の骨粗鬆症変化に伴う寒冷過敏)			
研究目的			
<p>寒冷過敏とは外傷後の寒冷刺激に対する異常な痛みや不快感である。病態は不明であり、有用な治療法がないとされている。本症状は、寒冷地の慢性疼痛疾患患者においては仕事やADL、QOLに影響を与えており、問題となっている。一方、難治性の疼痛を伴う病的状態は、一過性大腿骨頭萎縮症や複合性局所疼痛症候群(CRPS)などのように局所性の骨粗鬆症変化を伴うことに特徴がある。我々はこれまでに尾部懸垂マウスを用い、高骨代謝回転を伴う局所的な骨粗鬆症変化が、非荷重化したマウスの後肢に疼痛様の行動を誘発することを報告した(Dohke, J Orthop Res, 2016)。また、骨吸収抑制剤が尾部懸垂マウスの疼痛行動を抑制することを明らかにした。</p> <p>本研究の目的は、局所性の骨粗鬆症化を呈する尾部懸垂マウスを用い、局所性の骨粗鬆症変化と寒冷過敏誘発との関連を検討することである。</p>			
研究方法			
<p>尾部懸垂マウスの作製は先行研究に準じ C57BL/6J 雄マウスを用い、後肢を 2 週間懸垂した後、再荷重を行った。まず局所性の骨粗鬆化に伴う、疼痛および寒冷過敏行動の影響を検討する目的で、行動評価を行った。行動評価は 3 種（機械刺激、熱刺激、寒冷刺激）の評価を行った。機械刺激は von Frey test を行い足底触覚刺激に対する逃避行動数を計測し、熱刺激は paw flick test を行い足底熱刺激に対する逃避時間を計測し、寒冷過敏の指標は cold plate test を行い、寒冷刺激に対する逃避行動数を計測した。これらの評価は無処置の control 群と尾部懸垂群の後肢に対して実施した。</p> <p>次に、疼痛および寒冷過敏行動の予防効果として、尾部懸垂中に骨吸収抑制剤であるビスホスホネートおよび酸受容体の一つである TRPV1 の拮抗薬を連続投与し、それぞれ cold plate test を行った。骨粗鬆症変化としては尾部懸垂終了後に大腿骨を採取し、骨代謝マーカー(Runx2, Osterix, Osteocalcin, RANKL)の変動を RT-PCR 法と μ CT を撮影し骨形態計測を実施した。また、寒冷受容体の一つである TRPA1 の拮抗</p>			

薬の投与による局所性の骨粗鬆症化と寒冷過敏に与える影響についても検討した。また、さらに、尾部懸垂群と control 群において尾部懸垂終了時に DRG を含む L4/5 レベルの脊髄および皮膚組織を採取し、温度受容体(TRPV1, TRPA1, TRPM8)の発現についても検討した。

研究成績及び考察

局所性の骨粗鬆化を伴う尾部懸垂マウスでは、control 群と比較し有意に疼痛様行動および寒冷過敏行動が誘発された。これらは骨代謝マーカーの発現増加に関連していた。さらに、寒冷過敏行動は再荷重によって改善され、ビスホスホネート投与によって予防された。これらのことは、高骨代謝回転状態が、機械および熱刺激に対する疼痛様行動と同様の機序で寒冷過敏行動の誘発に関与している可能性があることを示している。高骨代謝状態下では破骨細胞の活性化により、病的微小酸性環境が形成され、骨内の酸受容体である TRPV1 および ASIC を活性化する可能性がある。さらに、破骨細胞の活性化に伴い骨内の ATP レベルの増加により、P2X2/3 を刺激するため、疼痛様行動を誘発する要因になっている可能性がある。したがって、高骨代謝回転状態を伴う局所骨粗鬆症の変化に関連する病的状態が、寒冷刺激に対する過敏症の誘発に関与している可能性があると考えられる。

寒冷受容体の一つである TRPA1 の拮抗薬が寒冷過敏行動を大きく改善したが、骨代謝マーカーの発現に有意な影響を及ぼさなかった。一方、TRPV1 拮抗薬は寒冷過敏行動を改善したと同時に、骨代謝マーカーの発現増加を抑制した。したがって、TRPA1 拮抗薬は低温度受容体活性化の阻害により直接寒冷過敏行動を改善したのに対し、TRPV1 拮抗薬は寒冷過敏行動の誘導に関与する骨代謝マーカーの調節により間接的に改善したと考えられた。また、脊髄・DRG および足底皮膚組織における温度受容体の発現レベルは control 群と比較し、有意差は認められなかった。これらのことは、温度受容体の発現が尾部懸垂下の高骨代謝状態の影響を受けなかったことを示している。以上のことから、局所の骨代謝亢進を伴う慢性疼痛疾患患者においては寒冷過敏を誘発する可能性を示唆していると考えられた。

結論

高骨代謝回転状態に伴う局所的な骨粗鬆症の変化が、尾部懸垂マウスの寒冷刺激に対する過敏行動の誘発と関連していることを明らかにした。さらに、再荷重やビスホスホネートおよび TRPV1 拮抗薬による高骨代謝回転状態の改善は、尾部懸垂マウスの寒冷過敏行動の改善と関連していたことを実証した。

論文審査の要旨及び担当者

(令和2年3月31日授与)

報告番号	甲第 3097 号	氏 名	井 部 光 滋
論文審査 担 当 者	主査 教授 山下 敏彦	副査 教授 藤宮 峯子	
	副査 教授 長峯 隆	委員 教授 石合 純夫	

論文題名	Hypersensitivity to cold stimulation associated with regional osteoporotic changes in tail-suspended mice 尾部懸垂マウスにおける局所性の骨粗鬆症変化に伴う寒冷過敏
------	---

結果の要旨	<p>本研究では、尾部懸垂マウスを用い局所的な骨粗鬆症変化が寒冷刺激に対する過敏行動の誘発と関連していることを明らかにした。再荷重や骨粗鬆症治療薬、侵害受容体(TRPV1)拮抗薬による骨粗鬆化の改善は、寒冷過敏行動の改善と関連していたことを実証した。寒冷過敏の誘発機序としては、高骨代謝回転状態における骨内の酸性環境が TRPV1 などの侵害受容体を介した作用と脊髄後角における感作などが考えられた。また、破骨細胞や骨芽細胞に活性化に伴い、神経末端における低温受容体への何らかの調節因子の放出や低温受容体の閾値低下による影響も考えられた。本結果を踏まえ、四肢の局所における骨粗鬆性変化と、同部位に一致した寒冷過敏症状を呈する症例においては、骨粗鬆化に対する治療が寒冷過敏を緩和する可能性があり、寒冷過敏の新たな治療法の選択肢の一つになり得る可能性が考えられた。</p>
-------	--