

Antagonists to TRPV1, ASICs and P2X have a potential role to prevent the triggering of regional bone metabolic disorder and pain-like behavior in tail-suspended mice

BONE. 2018; 110: 284-294. doi: 10.1016/j.bone.2018.02.006.

Hanaka M, Iba K, Dohke T, Kanaya K, Okazaki S, Yamashita T

要旨 尾部懸垂マウスにおける局所性骨代謝障害において TRPV1・ASICs・P2X 拮抗薬は疼痛行動の抑制と骨代謝マーカー発現増強の抑制を示した。これらの拮抗薬は疼痛の誘発と骨粗鬆化に対する予防効果を有する可能性がある。

1. 骨粗鬆症と疼痛

これまでの閉経性骨粗鬆症モデルである卵巣摘除マウスを用いた検討で、破骨細胞活性化による酸性環境形成や炎症性サイトカインの発現増強、ATP濃度の増加が、疼痛行動を誘発することを明らかにした。また、酸受容体である TRPV1 受容体や ASIC 受容体の拮抗薬が、疼痛行動の改善や骨代謝マーカーの発現増強を抑制することを報告している¹⁾。臨床においては、局所性の骨吸収亢進と強い慢性疼痛を呈する CRPS 症例に対して骨吸収抑制薬のビスホスホネートを投与することで、骨吸収亢進と疼痛の改善を認めた。さらに、マウスの尾部を懸垂することで後肢のみに骨粗鬆化が生じる尾部懸垂マウスを用いた検討においても、骨粗鬆化に伴う疼痛行動の誘発と、再荷重や骨粗鬆症治療薬により骨粗鬆化と疼痛の改善を認めることを報告している²⁾。本研究では、尾部懸垂マウスにおける骨代謝マーカーの発現、疼痛行動、疼痛関連炎症性サイトカインの発現、TRPV1・ASICs・P2X 受容体の発現を評価し、TRPV1・ASICs・P2X 受容体拮抗薬の疼痛誘発と骨代謝障害に対する予防作用を検討することを目的とした。

2. 尾部懸垂マウスにおける疼痛行動に対する TRPV1, ASIC3, P2X2/3 拮抗薬の作用

疼痛行動は、触覚刺激である von Frey test, 自発痛, 熱刺激の paw flick test を用いて評価した。Control 群と比較し尾部懸垂群の後肢において疼痛行動の増強を認めた。一方、TRPV1 拮抗薬 (SB366791), ASIC3 拮抗薬 (APETx2), P2X2/3 拮抗薬 (A317491) の各薬物投与群では有意に疼痛行動の改善を認めた。前肢では有意な効果を認めなかった。

3. IL-1 β , IL-6, TNF- α の発現

大腿骨より mRNA を採取し PCR 法を用いて評価した。

control 群と比較し尾部懸垂群の後肢で、IL-1 β , TNF α の発現が有意に増強していたが、前肢では発現に有意差を認めなかった。IL-6 の発現は前肢・後肢とも有意な変化を認めなかった。

4. IL-1 受容体拮抗薬の作用

尾部懸垂マウスにおいて、IL-1 受容体拮抗薬 (IL-1ra) 投与で von Frey test, 自発痛, paw flick test は有意に改善した。

5. 骨組織における TRPV1, ASICs, P2X2 の発現

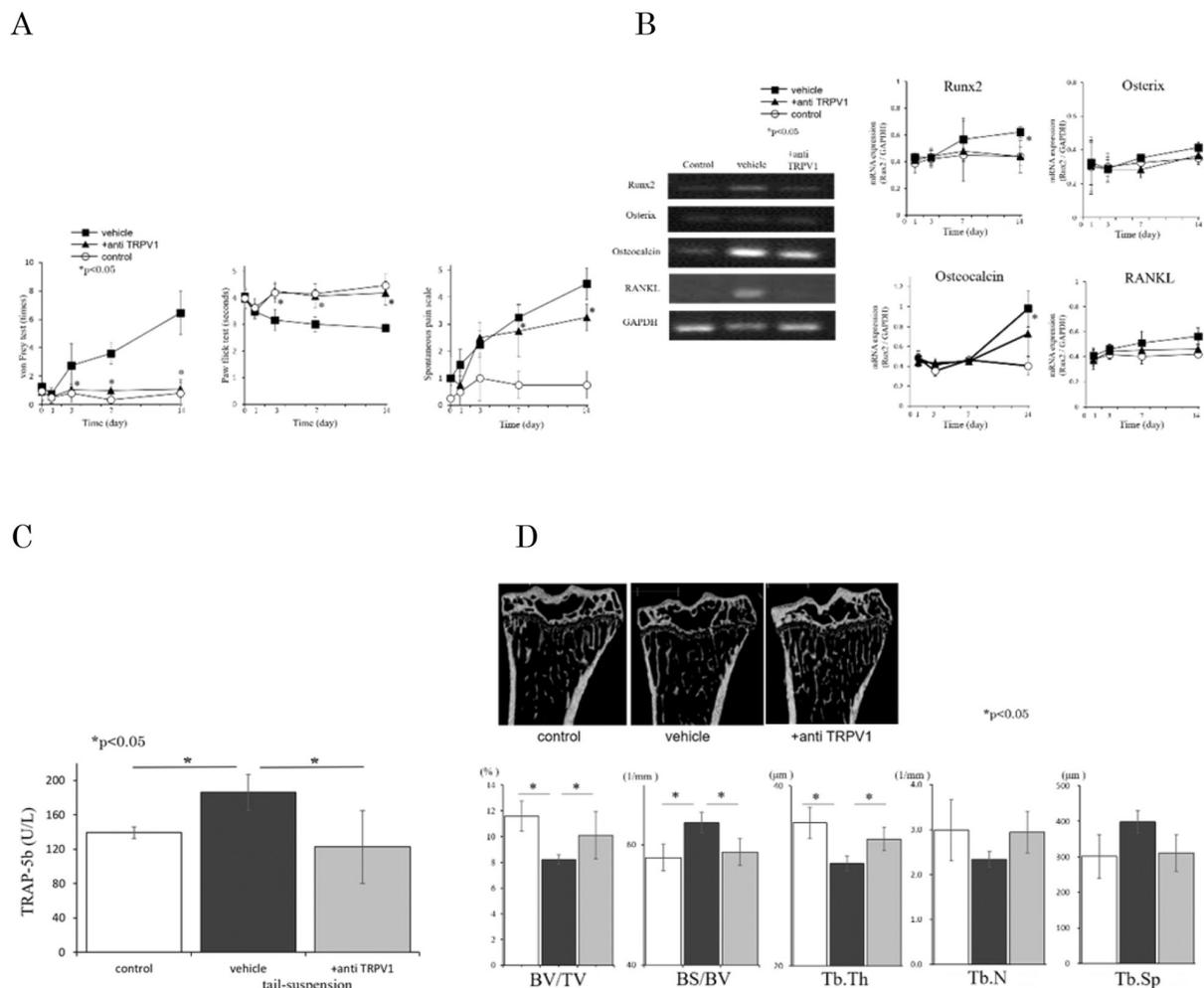
大腿骨より mRNA を採取し PCR 法を用いて評価した。control 群と尾部懸垂群において骨組織内に TRPV1; ASIC1,2,3; P2X2,3 受容体の発現を認めた。

6. TRPV1, ASIC3, P2X2/3 拮抗薬における骨代謝マーカーの発現変化

大腿骨より mRNA を採取し Runx2, Osterix, osteocalcin, RANKL の発現を尾部懸垂群 (vehicle 群) と拮抗薬投与群で PCR 法を用いて評価した。vehicle 群では Runx2, Osterix, osteocalcin, RANKL の発現が増強していたが、TRPV1 拮抗薬投与群では Osteocalcin, RANKL の発現増強が有意に抑制された。ASIC3 拮抗薬, P2X2/3 拮抗薬投与群では Runx2, RANKL の発現増強が有意に抑制された。

7. 尾部懸垂マウスにおける疼痛行動と骨代謝に対する TRPV1 拮抗薬連日投与による予防効果

尾部懸垂中の 14 日間に TRPV1 拮抗薬を継続投与し、疼痛行動、骨吸収マーカー (TRACP5b), 骨量の変化を評価した。vehicle 群では von Frey test, 自発痛, paw flick test の疼痛行動は、経時的に増強した。TRPV1 拮抗薬投与群では von Frey test, paw flick test の変化は control 群と同程度であり、自発痛においても



A: 尾部懸垂中の TRPV1 拮抗薬 14 日間継続投与における疼痛行動を von Frey test, 自発痛, paw flick test で評価した。尾部懸垂 (vehicle) 群と尾部懸垂 + TRPV1 拮抗薬 (+anti TRPV1) 群で比較した。

B: 尾部懸垂中の TRPV1 拮抗薬 14 日間継続投与における大腿骨での Runx2, Osterix, Osteocalcin, RANKL の mRNA 発現を PCR 法で評価した。vehicle 群と +anti TRPV1 群で比較した。

C: 尾部懸垂中の TRPV1 拮抗薬 14 日間継続投与における骨組織の TRAP5b レベルを評価した。

D: 尾部懸垂中の TRPV1 拮抗薬 14 日間継続投与における骨量変化を μ CT を用いて評価した。TRPV1 拮抗薬の骨量低下に対する予防効果を評価した。

vehicle 群と比較して有意に抑制されていた (図 A)。骨代謝マーカーの発現は, vehicle 群 (■, n=16) では Runx2, Osterix, osteocalcin, RANKL の経時的な発現増強を認めた。TRPV1 拮抗薬投与群 (▲, n=16) では, Runx2, osteocalcin, RANKL の発現増強が有意に抑制されていた (図 B)。Osterix の発現においては有意差を認めなかった。骨組織の TRAP5b レベルは, vehicle 群 (black bar, n=6) に比較して TRPV1 拮抗薬投与群 (gray bar, n=6) において, 有意に抑制されていた (図 C)。 μ CT 評価による骨量評価は, vehicle 群で BV/TV, Tb.Th の低下と BS/BV の増強を認めた。一方, TRPV1 拮抗薬投与群では, これらの変化が有意に抑制されており, 尾部懸垂による骨量低下が予防されていた (図 D)。Tb.N, Tb.Sp においては有意差を認めなかった。

8. 参考文献

- 1) 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: 566-573.
- 2) 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* 2017; 35: 1226-1236.

Megumi Hanaka

略歴

2008年 弘前大学医学部医学科 卒業

2010年 札幌医科大学整形外科 入局

2014年 札幌医科大学大学院 入学

2018年 札幌医科大学大学院 卒業