Review Article

Skeletal pain induced by regional osteoporosis

Kousuke Iba, Takayuki Dohke, Megumi Hanaka, Kumiko Kanaya,
Yasuhisa Abe, and Toshihiko Yamashita

Department of Orthopaedic Surgery, Sapporo Medical University School of Medicine

Abstract

We have recently demonstrated that pathological changes leading to increased bone resorption by osteoclast activation are related to the induction of pain-like behavior in ovariectomized (OVX) mice. In addition, we have shown that the skeletal pain accompanying osteoporosis is possibly associated with the acidic microenvironment caused by osteoclast activation under a high bone turnover state. We, therefore, hypothesize that another osteoporosis model mouse might reveal the induction of pain-like behaviors in relation with osteoporotic changes. In this study, we demonstrated that regional osteoporosis of hind limbs induced pain-like behaviors using tail-suspended mice as another osteoporosis model.

The hind limbs of tail-suspended mice were unloaded for 2 weeks, during which time the mice revealed significant regional osteoporotic changes in their hind limbs accompanied by osteoclast activation. In addition, these changes were significantly recovered by the resumption of weight bearing on the hind limbs for 4 weeks. Consistent with the pathological changes in the hind limbs, pain-like behaviors in the mice were induced by tail suspension and recovered by the resumption of weight bearing. Moreover, treatment with bisphosphonate significantly prevented the triggering of the regional osteoporosis and pain-like behaviors, and antagonists of the acid-sensing nociceptors, such as transient receptor potential channel vanilloid subfamily member 1 and acid-sensing ion channels, significantly improved the pain-like behaviors in the tail-suspended mice.

We, therefore, believe that pathologic changes of osteoporosis due to osteoclast activation might be a trigger for the pain-like behaviors in osteoporosis patients.

Keywords

Skeletal pain; Regional osteoporosis; High bone turnover;
Osteoclast; Nociceptor

Received: 7 December 2016

局所性骨粗鬆化に伴う四肢疼痛

射場 浩介／道家 孝幸／花香 恵／金谷 久美子／阿部 恭久／山下 敏彦

札幌医科大学 整形外科

はじめに

骨粗鬆症に伴う疼痛の主な原因として「骨折による痛み」と「骨折後の骨格変形による痛み」が考えられてきた。一方、最近では「骨粗鬆症の病態自体による痛み」があることや薬物治療による骨粗鬆症の改善が疼痛改善につながることが報告されている^{6,17)}。また、閉経後骨粗鬆症モデルとして卵巣摘除 (OVX) マウスを用いた基礎的研究より、骨吸収亢進状態を認める骨粗鬆症の病態では、活性化した破骨細胞が産生する酸が骨組織内の酸受容体を刺激して疼痛を誘発することが報告されている²⁾。さらに、代表的な侵害受容体である transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1), acid-sensing ion channels (ASICs), P2X2/3 P2X などに加えて、IL-1, IL-6, TNF- α など炎症性サイトカインが閉経後骨粗鬆症に伴う疼痛発生に関与していることがわかってきた¹⁰⁾。一方、OVX マウスを用いた研究では、疼痛発生の原因として、エストロゲン減少による変化が骨代謝変化を介さず、直接、神経系に作用して疼痛を誘発する可能性がある。そこで、本稿では尾部吊り下げにより免荷した後肢にのみ限局した骨粗鬆症を認めるモデルマウスを用いて、局所性骨粗鬆化に伴う疼痛発生機序について検討した。

骨組織内の感覚神経と侵害受容器

感覚神経線維には有髄の A α / β / δ と、無髄の C 線維がある。A α / β 線維は主に触覚・振動覚・深部覚を伝え、A δ 線維は鋭い痛み、C 線維は鈍い痛みを伝える¹⁸⁾。また、感覚神経線維の末梢端は種々の感覚受容器の形態をとる。その中でも侵害受容器は“生体組織を損傷するか、あるいは損傷する可能性をもつ有害な刺激”である侵害刺激を感知する⁷⁾。この侵害受容器には機械的侵害刺激のみに反応する高閾値機械受容器と、機械的刺激のほか化学的刺激や熱刺激にも反応するポリモーダル受容器がある。とくにポリモーダル受容器は骨腫瘍や炎症疾患などで生じる骨組織への侵害受容に重要な役割をもつ¹²⁾。また、侵害受容体は骨膜以外に骨皮質や骨髓内など骨組織全体に広く分布することが明らかとなってきた¹⁴⁾。以上より、骨組織内では代謝異常や微小な骨折などを侵害刺激として感知することが可能であると考ええる。さらに最近の基礎的研究より、代表的な侵害受容体である transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1), acid-sensing ion channels (ASICs), P2X2/3 receptor が感覚神経線維以外に、骨の細胞にも発現していることが明らかとなった¹¹⁾。このことは、疼痛関連分子が骨代謝調節にも関係している可能性を示唆しており、興味深い結果と考える。

骨吸収亢進状態に伴う疼痛

癌の骨転移や骨 Paget 病では破骨細胞の活性化にともなう骨吸収亢進状態を呈している^{8,20)}。骨吸収亢進にともない、破骨細胞が産生する酸が増加して局所の pH が低下する。また、骨組織内には酸受容体である TRPV1 や ASIC が存在する³⁾。これらの受容体を介して骨に分布する侵害受容性神経を興奮させて痛みを引き起こすと考えられている¹⁶⁾。閉経後骨粗鬆症の病態においても、転移性骨腫瘍や骨 Paget 病と同様に破骨細胞の活性化による骨吸収亢進状態を呈している。以上より、閉経後骨粗鬆症に伴う疼痛発生機序の一つとして、破骨細胞により形成された酸性環境が酸受容体を介して侵害受容性神経の興奮を促進している可能性があげられる。

閉経後骨粗鬆症モデルとして OVX マウスを用いた筆者らの研究においても、骨吸収亢進状態が疼痛を誘発する原因となる可能性を示した。OVX マウスでは手術後より骨吸収マーカー値の上昇を認め、術後4週以降は偽手術 (sham) マウスと比較して有意に高値を示した。また、術後8週の骨密度検査では明らかな骨粗鬆症の病態を呈した。疼痛の行動学的評価では術後4週から OVX 群において有意な疼痛閾値の低下を認め、骨吸収マーカー値と疼痛閾値の間に有意な負の相関を認めた。さらに、免疫組織学的評価では痛み刺激の指標である脊髄後角ニューロンの c-Fos 発現が OVX マウスで有意に増強していた。興味深い結果として、これらの疼痛閾値の低下や c-Fos 発現の増強は、破骨細胞機能を抑制する骨吸収抑制剤のビスホスホネート (BP) や TRPV1 拮抗薬を投与することで有意に改善された。骨の組織学的検討においても OVX 群で破骨細胞の活性化と酸性環

Fig.1 Acidic microenvironment created by activated osteoclasts stimulates acid-sensing nociceptors. (Abe Y, et al., J Bone Miner Metab, 2015)

境の形成促進を認め、BP投与でこれらの変化が抑制された。以上より、破骨細胞活性化により骨吸収亢進状態を呈した骨粗鬆症においても、骨組織内に形成された酸性環境が侵害受容性神経に存在する酸受容体の活性化を介して疼痛を誘発したと考えられた²⁾ (Fig.1)。

最近では、強力な骨形成促進作用を有するテリパラチドが腰背部痛を有意に改善することが報告されている¹³⁾。その機序として、骨粗鬆症組織にみられる骨梁骨折などの微細損傷に対するテリパラチドの修復作用によるものと考えられている⁴⁾。しかし、投与後早期の疼痛改善効果と骨組織修復に要する時間との矛盾も指摘されている。

一方、エストロゲン欠乏状態ではC線維終末のセロトニン受容体数が減少するため、セロトニン神経系からの抑制効果が減弱することで痛覚過敏状態となることが報告されている⁹⁾。そのため、OVXマウスを用いた研究では疼痛閾値の低下が、骨代謝変化を介さず、エストロゲン欠乏状態が直接、神経系に作用する可能性について否定することができない。そこで、尾部吊り下げマウスを用いた後肢非荷重による局所

Fig.2 Hind limbs of a mouse are unloaded by tail-suspension.

Fig.3 Bone morphometry of the proximal tibia by μ CT analysis. The BS/BV [bone surface to bone volume ratio (1/mm)] was significantly increased and the Tb.Th [trabecular thickness (μ m)] was significantly decreased in the proximal tibial bone in tail-suspended mice compared with the values for the control mice.

Fig.4 There are a number of activated osteoclasts around bone trabecula in tail-suspended mouse (arrows).

性骨粗鬆症モデルマウスを作製して、骨粗鬆症の病態自体に伴う疼痛発生機序について検討を行った。

尾部吊り下げモデルマウスの局所性骨粗鬆化と疼痛行動

尾部吊り下げによるマウス後肢の非荷重状態 (Fig.2) を2週間継続すると、大腿骨・脛骨の骨量は吊り下げを行わないコントロール群と比較して有意な低下を認めた (Fig.3)。また、再

荷重により低下した骨量は、吊り下げ前の値まで有意に改善した。一方、尾部吊り下げ状態においても、荷重をしている前肢では有意な骨量変化を認めなかった。また、非荷重により骨組織内の破骨細胞の活性化を認め (Fig.4)、再荷重により改善した。以上より、尾部吊り下げマウスは、非荷重後肢の骨吸収亢進と骨粗鬆化を認め、これらの変化は再荷重により改善する可逆性の局所性骨粗鬆症モデルと考えられた。さらに、尾部吊り下げによる局所性骨粗鬆化に伴い疼痛行動が誘発され、再荷重による骨量増加で疼痛行動も改善した (Fig.5)。興味深い結果として、尾部吊り下げ中にBPを継続投与する

Fig.5 Pain-like behaviors in tail-suspended mice. Tail-suspended mice (unload) showed a significant increase in pain-like behaviors in the hind limb on the von Frey test in comparison with that in control mice (control). (Dohke T, et al., J Orthop Res, 2016)

Fig.6 Effects of BP on TRAP5b level of femur in tail-suspended mouse.

Increased tartrate-resistant acid-phosphatase 5b (TRAP5b) levels of femur in tail-suspended mice (unload) were inhibited to a significant degree by BP treatment for 2 weeks (unload + BP). (Dohke T, et al., J Orthop Res, 2016)

Fig.7 Effects of BP on bone morphometry in tail-suspended mice.

Treatment with BP for tail-suspended mice prevented the significant changes in BS/BV and Tb.Th (unload + BP) to the same level as those in the control mice (control). (Dohke T, et al., J Orthop Res, 2016)

と骨吸収亢進 (Fig.6) と局所性骨粗鬆化の誘発 (Fig.7) が有意に抑制されるとともに、疼痛行動の誘発も抑制された (Fig.8)。また、酸受容体の TRPV1 や ASIC に対する拮抗薬の投与においても疼痛行動の改善を認めた⁵⁾。これらの結果は、破骨細胞の活性化による骨吸収亢進状態が骨組織内の酸性環境を形成することが疼痛発生原因の1つであることを示した OVX マウスを用いた研究結果と同じであり、骨粗鬆症に伴う疼痛発生機序の1つとして考えられた。

慢性疼痛疾患における局所性骨粗鬆化と疼痛

Complex regional pain syndrome (CRPS) に代表される難治性の運動器慢性疼痛疾患では、多くの症例の X 線所見で患部の著しい骨粗鬆化を認める。また、外傷や術後の外固定後においても、ズデック骨萎縮のように患部の著しい骨粗鬆化と疼痛を呈する病態を認める。これは、

Fig.8 Effects of BP on pain-like behavior (von Frey test) in tail-suspended mice.

Treatment with BP for 2 weeks significantly prevented the induction of pain-like behavior (von Frey test) in tail-suspended mice (unload + BP) compared with those observed in the mice without the treatment (unload). (Dohke T, et al., J Orthop Res, 2016)

外固定や手術後、あるいは疼痛による患肢の不動化や非荷重状態が原因と考えられている^{15,19)}。一方、筆者らは尾部吊り下げマウスの下肢非荷重モデルを用いて、局所性の骨粗鬆化と骨吸収マーカーの亢進が疼痛行動の誘発に関係することや、これらの変化が再荷重により改善することを報告した⁵⁾。これまでは足関節周囲の著しい骨粗鬆化を認めるCRPS患者に対してビスホスホネートを投与することで、骨粗鬆化の改善とともに疼痛症状の著明な改善を認めたことを報告した¹⁾。以上より、局所性の骨粗鬆化を認める運動器疼痛疾患では、骨粗鬆化を改善することが疼痛改善につながる可能性を示唆していると考えられる。

マウスを用いた非荷重性の骨粗鬆症モデルでは、破骨細胞活性化に伴う骨吸収亢進状態が疼痛発生原因の一つであると考えられた。このことはOVXマウスを用いた閉経後骨粗鬆症モデルの研究結果と同じであり、骨粗鬆症自体の病態に伴う疼痛発生機序の1つと考えられる。また、尾部吊り下げマウスでは非荷重の後肢に局限した骨粗鬆症と疼痛行動の誘発を認める。そのため、患部に局限した骨粗鬆化を呈する四肢の慢性疼痛疾患モデルとしても使用可能であり、本疾患の病態解明や治療法の研究をすすめる上で有用と考えられる。

文 献

- 1) Abe, Y., Iba, K., Wada, T., Yamashita, T., Improvement of pain and regional osteoporotic changes in the foot and ankle by low-dose bisphosphonate therapy for complex regional pain syndrome type I: a case series, J. Med. Case Reports, 5 (2011) 349–354.
- 2) Abe, Y., Iba, K., Sasaki, K., Chiba, H., Kanaya, K., Oda, K., Amizuka, N., Sasaki, M., Yamashita, T., Inhibitory effect of bisphosphonate on osteoclast function contributes to improved skeletal pain in ovariectomized mice, J. Bone Miner. Metab., 33 (2015) 125–134.

おわりに

骨粗鬆症に伴う疼痛発生原因の1つに骨粗鬆症自体の病態によるものがある。しかし、その発生機序については不明である。尾部吊り下げ

- 3) Caterina, M.J., Schumacher, M.A., Tominaga, M., Rosen, T.A., Levine, J.D., Julius, D., The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway, *Nature*, 389 (1997) 816–824.
- 4) Dobnig, H., Stepan, J.J., Burr, D.B., Li, J., Michalská, D., Sipos, A., Petto, H., Fahrleitner-Pammer, A., Pavo, I., Teriparatide reduces bone microdamage accumulation in postmenopausal women previously treated alendronate, *J. Bone Miner. Res.*, 24 (2009) 1998–2006.
- 5) 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.
- 6) Fujita, T., Fujii, Y., Munezane, H., Ohue, M., Takagi, Y., Analgesic effect of raloxifene on back and knee pain in postmenopausal women with osteoporosis and/or osteoarthritis, *J. Bone Miner. Metab.*, 28 (2010) 477–484.
- 7) 花岡一雄, 橘直矢, 侵害受容器, わかりやすい神経系の話 “痛みの伝導系”を探る, 日本アクセル・シュプリングー, 東京, 1985, pp7–12.
- 8) Iba, K., Takada, J., Wada, K., Yamashita T., Five-year follow-up of Japanese patients with Paget's disease of bone after treatment with a dose of oral alendronate: a case series, *J. Med. Case Rep.*, 4 (2010) 166–171.
- 9) Ito, A., Kumamoto, E., Takeda, M., Shibata, K., Sagai, H., Yoshimura, M., Mechanisms for ovariectomy-induced hyperalgesia and its relief by calcitonin; participation of 5-HT1A-like receptor on C-afferent terminals in substantia gelatinosa of the rat spinal cord, *J. Neurosci.*, 20 (2000) 6302–6308.
- 10) 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.*, 34 (2016) 566–573.
- 11) 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. Musculoskelet. Neuronal Interact.*, 16 (2016) 145–151.
- 12) 熊澤孝朗, 関節からの痛覚伝導系, 関節外科, 16 (1997) 890–900.
- 13) Lyritis, G., Marin, F., Barker C., Pfeifer, M., Farrerons, J., Brixen, K., del Pino, J., Keen, R., Nickelsen, T.N., Back pain during different sequential treatment regimens of teriparatide; results from EUROFOR, *Curr. Med. Res. Opin.*, 26 (2010) 1799–1807.
- 14) Mach, D.B., Rogers, S.D., Sabino, M.C., Luger, N.M., Schwei, M.J., Pomonis, J.D., Keyser, C.P., Clohisy, D.R., Adams, D.J., O'Leary, P., Mantyh, P.W., Origins of skeletal pain: pain and sympathetic innervation of the mouse femur, *Neuroscience*, 113 (2002) 165–166.
- 15) Moriwaki, K., Yuge, O., Tanaka, H., Sasaki, H., Izumi, H., Kaneko, K., Neuropathic pain and prolonged regional inflammation as two distinct symptomatological components in complex regional pain syndrome with patchy osteoporosis—a pilot study, *Pain*, 72 (1997) 277–282.
- 16) Nagae, M., Hiraga, T., Wakabayashi, H., Wang, L., Iwata, K., Yoneda, T., Osteoclasts play a part in pain due to the inflammation adjacent to bone, *Bone*, 39 (2006) 1107–1115.
- 17) Ohtori, S., Akazawa, T., Murata, Y., Kinoshita, T., Yamashita, M., Nakagawa, K., Inoue, G., Nakamura, J., Orita, S., Ochiai, N., Kishida, S., Takaso, M., Eguchi, Y., Yamauchi, K., Suzuki, M., Aoki, Y., Takahashi, K., Risedronate decreases bone resorption and improves low back pain in postmenopausal osteoporosis patient without vertebral fractures, *J. Clin. Neurosci.*, 17 (2010) 209–213.
- 18) 小畑浩一, 野口光一, 痛みのメカニズム, 運動器の痛み 診療ハンドブック, 山下敏彦 (編), 南江堂, 東京, 2007, pp2–17.
- 19) Roig-Escofet, D., Rodriguez-Moreno, J., Ruiz-Martin, J.M., Concepts and limits of the reflex sympathetic dystrophy, *Clin. Rheumatol.*, 2 (1989) 104–108.
- 20) Yoneda, Y., Hata, K., Nakanishi, M., Nagae, M., Nagayama, T., Wakabayashi, H., Nishisho, T., Sakurai, T., Hiraga, T., Involvement of acidic microenvironment in the pathophysiology of cancer-associated bone pain, *Bone*, 48 (2011) 100–105.

Address for correspondence: Kousuke Iba
Department of Orthopaedic Surgery,
Sapporo Medical University School of Medicine
S1 W16, Chuo-ku, Sapporo, 060-8556, Japan

本稿は第38回日本疼痛学会 (2016年6月;札幌)『シンポジウム1:骨の痛み』の講演内容をまとめたものである。