Review Article

Osteoporotic pain–related neural pathway in rodent models

**Sumihisa Orita, Kazuhide Inage, Kazuki Fujimoto, Kazuyo Yamauchi,
Miyako Suzuki, and Seiji Ohtori**

Department of Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University

Abstract

Pain derived from musculoskeletal disorders play a major role in the health profile of the general population. Especially osteoporotic state itself can generate pain, called osteoporotic pain. One mechanism for that pain includes increased expression of an inflammatory pain–related biomarker, calcitonin gene–related peptide (CGRP), in the dorsal root ganglia (DRG) innervating osteoporotic vertebrae in ovariectomized (OVX) rats, that induces susceptibility to pain. Also the involvement of neuropathic pain was revealed using a mechanically compressed coccygeal vertebrae model in OVX rats to evaluate the effect of longitudinal gravity, which contains a factor of mechanical injury induced by the compression axial stress itself. These findings demonstrate that the osteoporotic state itself can generate pain under conditions susceptible to compression stress of axial loading in addition to the neural alteration in sensory innervation. Osteoporosis treatment predominantly aims to increase the bone mineral density (BMD) of patients in order to prevent possible fragile fractures, that sometimes leads to a critical condition or result in a poor quality of life. In addition to the enhancement in BMD, some basic researches have shown the evidences of pharmacological or non–pharmacological treatment strategies to relieve the osteoporotic pain. Physicians should always keep these matters in mind in treating osteoporotic pain patients.

Keywords

Osteoporotic pain; Mixed pain; Ovariectomized

Received: 7 September 2016

骨粗鬆性疼痛モデルにおける骨の痛みの伝達経路

折田 純久／稲毛 一秀／藤本 和輝／山内 かづ代／鈴木 都／大鳥 精司

千葉大学大学院医学研究院 整形外科

はじめに：骨粗鬆性疼痛の概念

超高齢社会の到来に伴い近年増加の一途をたどる骨粗鬆症患者では、骨脆弱性に伴う胸腰椎の圧迫骨折や大腿骨頸部骨折等の脆弱骨外傷が時にADL・QOL障害をきたす強い疼痛を与える。一方で日常診療の現場では明らかな外傷を伴わなくとも慢性的な疼痛を訴える骨粗鬆症患者も経験する。これらの症例ではMRI等の画像検査で有意な所見が得られないこともあり、骨粗鬆化そのものが疼痛をきたす可能性を示唆するものである。しかしながら実際に骨傷のない骨粗鬆状態が痛みの原因になり得るのか否かについては議論も多くあり一定の見解は得られていない。骨粗鬆性疼痛の機序の要素のひとつとしてまず考えられるのは現在の検査・モダリティでは検知できない微小骨折や変性変化が影響していると考えられるが、一方で閉経後女性の慢性腰痛に中枢神経系の変化が関与しているという報告¹⁶⁾や、転移性骨腫瘍痛の成因に破骨細胞の活性化が関与しているという報告もあり、骨粗鬆状態そのものが疼痛源となる可能性について検討する必要がある。我々はこのような疼痛を骨粗鬆性疼痛と称し、臨床的所見も含め「骨傷の明らかでない骨粗鬆症患者が訴え、時に慢性化し治療に難渋しうる腰背部痛」として定義している (Fig.1)^{12,15,22)}。本稿では骨粗鬆性疼痛の機序について特に基礎医学の観点から検討することで、腰痛の新たな機序と治療における考察を深めることを目的とする。

Fig.1 Concept of osteoporotic pain.

Fig.2 The distribution of sensory nerve fibers in a vertebral body.

- (a) A basivertebral foramen in the posterior wall of a human vertebral specimen⁷⁾.
- (b) Immunohistochemistry of nerve fibers inside the bone marrow of vertebral body²⁾.
- (c) Distribution of sensory nerve fibers innervating inside a vertebral body⁴⁾.
- (d) Density of the distribution is the highest around the center of a vertebral body³⁾.

椎体の神経支配と疼痛伝達機序

椎体の支配神経は脊髄神経の分枝である洞脊神経から分岐し椎体後面の椎体静脈孔から椎体内に進入し (Fig.2-a)⁷⁾、骨皮質内のハバース管やフォルクマン管を経由しながら椎体骨髓内

を走行 (Fig.2-b)²⁾, 上下終板方向に分岐しながら分布する (Fig.2-c)⁴⁾。神経線維の分布密度は骨膜が最も高いが、体積比では骨髓腔に分布する神経が最多であり、椎体内では特に椎体中央部付近に密集している (Fig.2-d)³⁾。このため、椎体由来の疼痛は骨膜のみならず椎体そのものに分布する支配神経への刺激により惹起される^{3,5,6)}。

骨粗鬆性疼痛の発生機序

動物による骨粗鬆症モデルは卵巣摘出 (ovarectomized: OVX) による動物モデルが標準的に用いられている。OVXモデルは閉経に伴う卵巣機能停止による高回転型骨粗鬆症のモデルとして広く用いられ、エストロゲン分泌低下による破骨細胞の活性化による骨吸収促進が基盤となり経時的な骨量低下を示す。骨粗鬆性疼痛は骨脆弱性に伴う物理的障害や破骨細胞による局所での微小酸性炎症環境とこれに伴う骨髓中の自由神経終末への機械的・化学的刺激や、後根神経節 (dorsal root ganglia: DRG) における知覚過敏、脊髄後角における疼痛伝達機能の可塑性変化や下行系抑制系の機能低下など、局所から中枢に至る疼痛経路での複数要因が関与していると考えられており、このような経路による変化は大きく3つに分類することができる。

1. 椎体局所における変化

閉経後骨粗鬆症ではエストロゲン欠乏によって破骨細胞の抑制作用が減弱し、これによって活性化した破骨細胞による骨吸収亢進は局所のpHを低下させることによる微小酸性炎症環境をもたらす。椎体内に分布する神経線維上には

Fig.3 Scheme of how activated osteoclasts induces pain (adopted from ref. 22).

Osteoporotic osteoclasts induce a micro-inflammation via acid condition, which stimulates the peripheral nerve fibers innervating the bone marrow.

カプサイシンや酸、熱刺激により活性化され疼痛伝達に関わるイオンチャネルであるTRPV1 (transient receptor potential channel-vanilloid subfamily member 1) や酸受容体であるASIC (acid-sensing ion channel) がC線維を中心に発現しており⁵⁾, 骨粗鬆状態ではこれらのタンパクを介して知覚神経自由終末上の侵害受容器が刺激され疼痛が惹起される^{1,21)}。このため上流のDRGでは、炎症性疼痛に関連する神経ペプチドであるCGRP (calcitonin gene-related peptide) が恒常的に増産していることが報告されている (後述)。また、椎体の長軸方向にかかる重力負荷 (軸圧) のシミュレーションとして、OVXラット尾椎の椎体長軸方向圧迫モデルを作成し、椎体の支配感覚神経の特性変化を免疫染色にて調べた結果、DRGにおけるCGRPおよび神経傷害のマーカーであるATF3 (activating transcription factor 3) はいずれも圧迫を加えることでSham (偽手術) 群に比し経時的に発現亢進した¹⁸⁾。神経障害を示唆するマーカーである

ATF3発現亢進は神経障害性疼痛惹起の可能性を示唆し、骨粗鬆性疼痛が侵害受容性疼痛と神経障害性疼痛の要素を併せ持つ混合性疼痛の要素を持ち、慢性疼痛を惹起しうることの科学的根拠となるものである。

2. DRGにおける変化

OVXモデル椎体を支配するDRG神経での変化が報告されている。逆行性神経トレーサーをL3椎体に封入し、支配神経をトレースしたところL1およびL2 DRGに有意なトレーサーの取り込みが確認された。すなわちL3椎体は上位腰椎DRGにより優位に支配されていることが確認された。次にL3椎体を支配するDRG細胞でのCGRP, TRPV1の発現を調べたところ、OVX群ではSham群と比較していずれも有意な発現亢進が観察された¹⁵⁾。他高位のDRGでも同様に発現が亢進しているものと考えられ、OVXモデルでは慢性的に炎症性疼痛が惹起されやすく、すなわち疼痛に対する閾値が慢性的に低下している可能性が示唆された。これを裏付けるように、OVXモデルマウスの行動学的評価ではvon Freyテストによる痛覚閾値の低下と遅発性かつ持続性の痛覚過敏を生じ、エストロゲン投与で改善することが報告されている¹⁷⁾。さらにビスフォスフォネート投与とトレッドミルによる運動負荷によってCGRPの発現亢進は抑制され、骨粗鬆症治療がもつ鎮痛効果が示された¹⁵⁾。TRPV1の発現亢進は骨粗鬆症における活性化した破骨細胞により、局所で広範にもたらされる微小酸性炎症環境によるものと考えられる。既にラット腰椎椎体は当該高位のほか交感神経幹を通じてL1-L2を中心とするDRGにより支配されていることが報告されているが¹³⁾、このことは腰椎椎体における変化が知覚分布として従来一般的に用いられてきた皮膚分節

Fig.4 Sclerotome: the locations of the reference sites in the periosteum (adopted from ref 19).

The sclerotome in the lumbosacral region is mainly innervated by L2 spinal nerve, which implies that the osteoporotic change in the upper lumbar spine can affect the most part of lumbosacral region.

(dermatome)に加え、骨硬組織に分布する知覚分節である骨分節 (sclerotome) が体性知覚に影響を与えうることを考慮すると (Fig.4)¹⁹⁾、骨粗鬆症に伴う椎体を含む全身骨硬組織での広範かつ不均一な骨粗鬆性変化が局所および支配DRGでの不均一な炎症性変化を惹起し、皮膚・骨分節に従いながら全身的かつ漠然とした局在性の低い疼痛をもたらしている可能性が示唆される。

Fig.5 Neuronal-microglial interactions.

Microglia activated from stimulation in peripheral nerve injury induces astrocyte activation, that activates NMDA receptor to lead to central sensitization, which result in neuropathic pain.

3. 脊髄後角における変化

近年の慢性疼痛研究において、脊髄後角におけるグリア細胞の活性化やA δ 線維からの信号が後角内で疼痛伝達線維に誤接続して異痛症（アロディニア）を惹起することが神経障害性疼痛を介した慢性疼痛惹起につながると報告されている²⁰⁾。さらに脊髄後角ではマクログリア細胞でのp38, アストロサイトでのJNKおよび神経細胞でのERK等のMAPキナーゼのリン酸化も疼痛刺激に反応・亢進し慢性疼痛の発生と持続に関与すると考えられ (Fig.5)⁸⁾、骨粗鬆症に伴う局所での慢性的かつ持続的な炎症性刺激が脊髄での変化を通じて慢性的疼痛を引き起こす可能性があり、ラットOVXモデル脊髄におけるマクログリア活性の変化が示唆される。さらにOVXモデルでは脊髄後角において神経刺激に反応するタンパクであるc-Fosの持続的な産生亢進が観察された¹¹⁾。また、カルシトニ

ン投与によって阻害される脊髄後角でのセロトニン受容体の産生低下も報告されており⁹⁾、骨粗鬆性疼痛での脊髄後角における少なからぬ変化が注目される。中枢神経系における痛みに対する変化について、さらなる今後の基礎研究による報告が待たれる。

骨粗鬆性疼痛と骨粗鬆症治療薬の関係

骨粗鬆性疼痛の治療薬と作用点についてFig.6にまとめる。骨粗鬆症治療薬の作用点は局所から脊髄まで多岐にわたり¹⁴⁾、骨粗鬆症治療薬は各々異なる機序により働いている可能性が考えられる。特に、臨床でも骨粗鬆性疼痛患者に対して鎮痛作用が報告されているビスフォスフォネートは、単離培養した感覚神経細胞の活性を抑制することで直接的に鎮痛効果をきたすこと

が確認され (Fig.7)¹⁵⁾, さらにミノドロン酸などの第三世代ビスフォスフォネートがプリン受容体であるP2X (2/3) 受容体に拮抗することで鎮痛効果をもたらすという知見もある¹⁰⁾。また, カルシトニン製剤は骨密度増強効果の他に, 脊髄後角におけるセロトニン受容体の産生に影響することで疼痛抑制に関与する⁹⁾。

最 後 に

骨粗鬆性疼痛は新規の疼痛概念であり, 臨床とも相互に関連しながら追究していくべき分野である。骨粗鬆性疼痛はそれ自体が単体で強い腰痛の原因となり得る病態ではないが臨床的にしばしば経験されるものであり, 複数ある腰痛の一因として検討されるべき機序であろう。また骨粗鬆症患者では骨を取り巻く筋肉の変性や筋肉量低下も痛みの大きな原因となっていると考えられ, 実際に骨粗鬆症とサルコペニアの合併も報告されつつありこのような複数要素が総合的に疼痛をきたしていると考えられる。このように骨粗鬆性疼痛の機序には物理的, 化学的機序が複合的に関与していると考えられ今後の更なる研究と報告が期待されるところである。

文 献

- 1) Abe, Y., Iba, K., Sasaki, K., Chiba, H., Kanaya, K., Kawamata, T., 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.
- 2) Ahmed, M., Bjurholm, A., Kreicbergs, A., Schultzberg, M., Neuropeptide Y, tyrosine hydroxylase and vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive nerve fibers in the vertebral bodies, discs, dura mater, and spinal ligaments of the rat lumbar spine, *Spine*, 18 (1993) 268-273.
- 3) Bailey, J.F., Liebenberg, E., Degmetich, S., Lotz, J.C., Innervation patterns of PGP 9.5-positive nerve fibers within the human lumbar vertebra, *J. Anat.*, 218 (2011) 263-270.
- 4) Bogduk, N., The innervation of the lumbar spine, *Spine*, 8 (1983) 286-293.
- 5) 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.
- 6) Fagan, A., Moore, R., Vernon Roberts, B., Blumbergs, P., Fraser, R., ISSLS prize winner: The innervation of the intervertebral disc: a quantitative analysis, *Spine*, 28 (2003) 2570-2576.
- 7) Fras, C., Kravetz, P., Mody, D.R., Heggeness, M.H., Substance P-containing nerves within the human vertebral body: an immunohistochemical study of the basivertebral nerve, *Spine* J., 3 (2003) 63-67.
- 8) Gao, Y.J., Ji, R.R., Chemokines, neuronal-glial interactions, and central processing of neuropathic pain, *Pharmacol. Ther.*, 126 (2010) 56-68.
- 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-HT_{1A}-like receptor on C-afferent terminals in substantia gelatinosa of the rat spinal cord, *J. Neurosci.*, 20 (2000) 6302-6308.
- 10) Kakimoto, S., Nagakura, Y., Tamura, S., Watabiki, T., Shibasaki, K., Tanaka, S., Mori, M., Sasamata, M., Okada, M., Minodronic acid, a third-generation bisphosphonate, antagonizes purinergic P2X(2/3) receptor function and exerts an analgesic effect in pain models, *Eur. J. Pharmacol.*, 589 (2008) 98-101.
- 11) Lu, Y., Li, Z., Li, H.J., Du, D., Wang, L.P., Yu, L.H., Burnstock, G., Chen, A., Ma, B., A comparative study of the effect of 17 β -estradiol and estrinol on peripheral pain behavior in rats, *Steroids*, 77 (2012) 241-249.
- 12) 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 patients without vertebral fractures, *J. Clin. Neurosci.*, 17 (2010) 209–213.
- 13) Ohtori, S., Inoue, G., Koshi, T., Ito, T., Yamashita, M., Yamauchi, K., Suzuki, M., Doya, H., Moriya, H., Takahashi, Y., Takahashi, K., Characteristics of sensory dorsal root ganglia neurons innervating the lumbar vertebral body in rats, *J. Pain*, 8 (2007) 483–488.
 - 14) Orita, S., Ohtori, S., Inoue, G., Takahashi, K., Osteoporotic Pain, In: Y. Dionyssiotis (Ed.), Osteoporosis, InTech, Rijeka, Croatia, 2012, pp521–554.
 - 15) Orita, S., Ohtori, S., Koshi, T., Yamashita, M., Yamauchi, K., Inoue, G., Suzuki, M., Eguchi, Y., Kamoda, H., Arai, G., Ishikawa, T., Miyagi, M., Ochiai, N., Kishida, S., Takaso, M., Aoki, Y., Toyone, T., Takahashi, K., The effects of risedronate and exercise on osteoporotic lumbar rat vertebrae and their sensory innervation, *Spine*, 35 (2010) 1974–1982.
 - 16) Papadokostakis, G., Damilakis, J., Mantzouranis, E., Katonis, P., Hadjipavlou, A., The effectiveness of calcitonin on chronic back pain and daily activities in postmenopausal women with osteoporosis, *Eur. Spine J.*, 15 (2006) 356–362.
 - 17) Sanoja, R., Cervero, F., Estrogen modulation of ovariectomy-induced hyperalgesia in adult mice, *Eur. J. Pain*, 12 (2008) 573–581.
 - 18) Suzuki, M., Orita, S., Miyagi, M., Ishikawa, T., Kamoda, H., Eguchi, Y., Arai, G., Yamauchi, K., Sakuma, Y., Oikawa, Y., Kubota, G., Inage, K., Sainoh, T., Kawarai, Y., Yoshino, K., Ozawa, T., Aoki, Y., Toyone, T., Takahashi, K., Kawakami, M., Ohtori, S., Inoue, G., Vertebral compression exacerbates osteoporotic pain in an ovariectomy-induced osteoporosis rat model, *Spine*, 38 (2013) 2085–2091.
 - 19) Takahashi, Y., Ohtori, S., Takahashi, K., Sclerotomes in the thoracic and lumbar spine, pelvis, and hindlimb bones of rats, *J. Pain*, 11 (2010) 652–662.
 - 20) Woolf, C.J., Shortland, P., Coggeshall, R.E., Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents, *Nature*, 355 (1992) 75–78.
 - 21) 平賀徹, がん骨転移における疼痛のメカニズム, *Clinical Calcium*, 24 (2014) 1185–1191.
 - 22) 平賀徹, 米田俊之, 骨痛のメカニズム, 松本俊夫, 福永仁夫, 米田俊之 (編), 癌と骨病変, メディカルレビュー社, 東京, 2004, pp39–48.

Address for correspondence: Sumihisa Orita
Department of Orthopaedic Surgery, Graduate
School of Medicine, Chiba University
1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba 260-8670, 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。