



Title	骨形成促進薬テリパラチドによる骨粗鬆症性神経炎症抑制機構に関する薬理学的研究〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	庵, 敬
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15499号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89630
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takashi_Iori_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 庵 敬

学 位 論 文 題 名

骨形成促進薬テリパラチドによる骨粗鬆症性神経炎症抑制機構に関する薬理学的研究

キーワード

Teriparatide, Skeletal pain, Osteoporosis, Neuroinflammation, Dorsal Horn

骨粗鬆症患者の 80%以上に認められる腰背部痛に代表されるような、骨・関節の障害に由来する慢性疼痛は、骨格痛と呼ばれており、骨格痛による身体活動の制限は日常生活動作（ADL）や生活の質（QOL）を著しく低下させることになる。この骨格痛は、椎体などの明らかな骨折の有無にかかわらず患者に発生する。骨格痛の原因機序として考えられるのは、エストロゲン欠乏による破骨細胞や単球、マクロファージの活性化により産生される酸や炎症性サイトカインによる骨膜内感覚神経系の慢性的な神経細胞の興奮であり、これが骨格痛に関与していると考えられている。このメカニズムは、骨転移を伴うがん関連骨痛患者にも関与していると考えられている。骨粗鬆症患者はまた、崩壊した椎体、変性した椎間板、および椎間関節に由来する痛みを経験することがある。骨粗鬆症性疼痛の慢性化には、セロトニン受容体の発現低下に伴う脊髄の上行性疼痛伝達を調節する下行性抑制神経系の低活性化が関与する。

脊髄後根神経節（DRG）は、一次求心性線維の神経細胞体が集合する感覚神経節であり、皮膚や骨・関節および筋の体性感覚を担う。頭蓋顎顔面部においては、三叉神経節が主要な一次感覚神経節である。神経損傷による神経障害性疼痛や炎症性疼痛モデルなどの様々な慢性疼痛モデルでは、DRG におけるマクロファージの増加が報告されており、マクロファージが神経障害性疼痛や炎症性疼痛をさまざまなレベルで制御していることが明らかになってきている。

テリパラチド（TPTD；ヒト副甲状腺ホルモン（PTH）の 1-34 フラグメント）は、骨芽細胞系細胞の PTH1 受容体（PTH1R）に作用し、骨形成性骨芽細胞の増殖、分化、生存を促進することで骨同化作用を発揮する、臨床的に有効な骨粗鬆症治療薬であり、その適用条件は「骨折の危険性の高い骨粗鬆症」となっている。蓄積された疫学研究により、TPTD 治療は骨粗鬆症患者における腰痛の発症や悪化を抑制することが報告されている。また、TPTD 治療は、BP 治療を受けている骨粗鬆症患者の椎体骨折後の疼痛や難治性腰痛に対しても有効であった。TPTD による腰痛の改善は、カルシトニン治療よりも治療の初期段階で観察されるようであった。しかし、上記のように複数の臨床報告があるにもかかわらず、TPTD の抗骨粗鬆症性疼痛効果の薬理学的機序は明らかにされていなかった。

当研究室の田中らは、薬理学的な研究およびトランスクリプトーム解析から、骨粗鬆症性の慢性疼痛には神経炎症が関与していることを世界で初めて明らかにした。本研究では、骨粗鬆症モデル動物である OVX ラットを用いて蛍光免疫染色による蛍光イメージング定量解析を行い、骨粗鬆症性の慢性疼痛の組織・細胞レベルでの発症機序を解

明することを目的とした。

12週齢の雌性SD系ラットを、OVX群とSham群の2群に無作為に割り付け、卵巢摘除術（OVX）または偽手術を行った。手術の4週間後、OVX群ラットをさらに2群に無作為化した：OVX-vehicle群およびOVX-TPTD群。8匹のラットをSham群から選択し、Sham-vehicle群と定義した。OVX-TPTD群にはTPTD（30μg/kg体重）を、Sham-vehicle群、OVX-vehicle群には溶媒である生理食塩水を、週3回の間隔で4週間に渡り皮下投与した。その後、第4および第5腰椎部DRG（L4-5DRG）および脊髄（SC）を採取し、固定後、組織切片を作成した。採取したDRGおよびSCを、抗NF200抗体、抗Iba-1抗体、抗CGRP抗体、抗GFAP抗体、および抗IL-11抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、Iba-1陽性細胞数、CGRP陽性細胞数、GFAP陽性細胞数、IL-11陽性細胞数の比較検討を行った。

活性化ミクログリアのマーカーである抗 Iba1 抗体を用いて、脊髄後角のミクログリア数を計測したところ、OVXによりミクログリアは活性化する傾向を示し、ミクログリアの活性は TPTD の投与により有意に低下した。次に、活性化アストロサイトのマーカーである抗 GFAP 抗体を用いて、脊髄後角のアストロサイト数を計測したところ、OVXによりアストロサイト数は有意に増加し、TPTD 投与により有意に減少した。また、抗 CGRP 抗体を用いて、DRG において慢性疼痛へ関与している可能性がある CGRP 陽性ニューロン数を計測したところ、CGRP 陽性ニューロン数は OVX により増加する傾向を示し、TPTD 投与により有意に減少した。さらに、抗 IL-11 抗体を用いて、DRG における IL-11 の組織発現の局在を解析した。その結果、IL-11 は、一部のニューロンの微小管で発現していた。そこで、IL-11 陽性微小管数を計測したところ、OVXにより IL-11 陽性微小管数は有意に減少し、TPTD 投与によりその減少は部分的に回復する傾向を示した。また、IL-11 は、NF200 での染色性が高いニューロンを取り囲む一部のサテライトグリア細胞 (SGC) でも発現していた。IL-11 陽性 SGC 数を計測すると、OVXにより IL-11 陽性 SGC 数は有意に減少し、TPTD 投与によりその減少は部分的に回復する傾向を示した。

我々の研究成果から、骨粗鬆症モデル動物において、脊髄後角ミクログリアの活性化、脊髄後角アストロサイトの活性化、DRG ニューロンの CGRP 発現亢進、DRG における IL-11 発現の低下が生じることが、骨粗鬆症性神経炎症の発症に関与していると考えられた。また、TPTD 投与により、脊髄後角ミクログリアの活性化抑制、脊髄後角アストロサイトの活性化抑制、DRG ニューロンの CGRP 発現抑制、DRG における IL-11 発現の部分的な回復が確認された。これらの結果は、閉経後骨粗鬆症誘導性の慢性疼痛の発症機序には、一次感覚神経節である DRG における CGRP 陽性ニューロンを介した脊髄後角での神経炎症誘導が関与することが考えられた。また、この病態には抗炎症性サイトカインである IL11 のニューロンおよび SGC における発現低下が関与することが示唆された。さらに、TPTD による疼痛軽減効果には、CGRP 陽性ニューロンの減少が神経炎症抑制効果の一端を担っている可能性が示唆された。