

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 山下 理比路

主論文 1編

Dysregulation of p53 and parkin induce mitochondrial dysfunction and leads to the diabetic neuropathic pain.
Neuroscience 416; 9-19, 2019

審査結果の要旨

糖尿病患者の約 10-20%に発生する有痛性糖尿病性神経障害は、患者の生活の質を著しく悪化させるが、病態に関しては不明な点が多い。ミトコンドリアの品質管理はダメージを受けたミトコンドリアを処理するオートファゴソーム機構であるマイトファジーによってなされ、マイトファジーは parkin と p53 によって維持される。今回の研究の目的は、parkin と p53 によって制御されるミトコンドリア機能不全の糖尿病性神経障害への関与と、高血糖状態で誘導されることが知られるメチルグリオキサールの影響について明らかにすることである。

雄性 C57BL/6 マウスを用い、ストレプトゾトシン (STZ) を 100mg/kg 腹腔内投与して糖尿病性神経障害モデルマウスを作製し (STZ 群)、対照群には生理食塩水を腹腔内投与した (生食群)。p53 の阻害薬である pifithrin- α (pft) 2mg/kg を投与する群を作成した (STZ+pft 群)。3 群に対し、機械刺激と熱刺激、冷刺激に対する逃避行動を観察し、痛覚閾値を決定した。深麻酔下に第 5 腰髄後根神経節 (DRG) を採取し、parkin ならびに p53 発現量を qPCR で定量した。ミトコンドリア量の評価として、COX4 を免疫組織化学法で、ミトコンドリア DNA を qPCR で定量した。HNE の発現量をウェスタンブロッティングで評価した。ROS 産生量は MitoSOX を髄腔内に注入して観察した。さらにメチルグリオキサールをマウスの尾静脈から投与した後、痛覚閾値を評価し、DRG を採取して parkin と p53 発現量を qPCR で定量した。DRG 細胞メチルグリオキサールを添加した培養液で培養し、parkin と p53 の発現量を qPCR で定量し、さらにミトコンドリアの膜電位を比較した。

STZ 群の痛覚閾値は低下し、DRG では parkin 発現は減少、p53 の発現は増加した。STZ+pft 群では痛覚閾値は低下せず、parkin の減少も認めなかった。ミトコンドリア量は STZ 群で減少していたが、STZ+pft 群では減少を認めなかった。HNE 発現量と ROS 産生量は STZ 群で増加していたが、STZ+pft 群で増加を認めなかった。メチルグリオキサールを投与したマウスでは痛覚閾値低下と、parkin 発現の低下、p53 発現の増加を認めた。培養 DRG 細胞へのメチルグリオキサール投与後も同様に parkin 発現が低下、p53 発現が上昇しており、ミトコンドリア膜電位は低下していた。有痛性糖尿病性神経障害において、DRG における p53 の活性化と parkin 発現の低下がミトコンドリア機能不全を引き起こし、ROS 産生を導くことで痛覚過敏に関与しており、糖代謝異常により増加するメチルグリオキサールがこの病的変化の誘因となっていると考えられた。

以上が本論文の要旨であるが、ミトコンドリア機能不全が糖尿病性神経障害を引き起こす病態について解明し、マイトファジーの維持によって疼痛を緩和するという方法を提案したという点において、医学上価値ある研究と認める。

令和 元年 10 月 17 日

審査委員 教授 小野 勝彦 (印)

審査委員 教授 田中 雅樹 (印)

審査委員 教授 福井 道明 (印)