

令和 4 年 5 月 6 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02899

研究課題名（和文）Parkinとミトコンドリア機能不全に着目した慢性痛の新規治療戦略

研究課題名（英文）Novel pain control strategy focused on the Parkin and mitochondrial dysfunction.

研究代表者

天谷 文昌（Amaya, Fumimasa）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：60347466

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：糖尿病性神経障害モデルや末梢神経損傷モデルを作成し、一次知覚神経におけるミトコンドリア機能の評価と疼痛発症の関連性を検討した。

いずれのモデルにおいても、一次知覚神経におけるミトコンドリアDNA、ミトコンドリア呼吸鎖構成タンパクの発現が減少し、ミトコンドリア膜電位の低下が認められ、ミトコンドリア機能不全があきらかになった。ミトコンドリアの機能を維持するParkinの発現は減少し、Parkinの阻害因子であるp53の発現は増加していた。p53の阻害剤を投与することで、ミトコンドリア機能は改善すると共に、モデル動物で認められた痛覚過敏は減弱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性疼痛は難治性であり、あらたな治療法の探索が必要である。本研究において、知覚神経におけるp53の増加がParkinの働きを阻害し、ミトコンドリア機能を低下させること、ミトコンドリア機能の変調が慢性疼痛発症の鍵になることが示された。本研究の成果によって、ミトコンドリア機能改善薬が慢性疼痛治療薬として利用できる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：Diabetic neuropathy and peripheral nerve injury models were created to evaluate mitochondrial function in primary sensory nerves and to examine the relationship between mitochondrial function and the development of pain hypersensitivity.

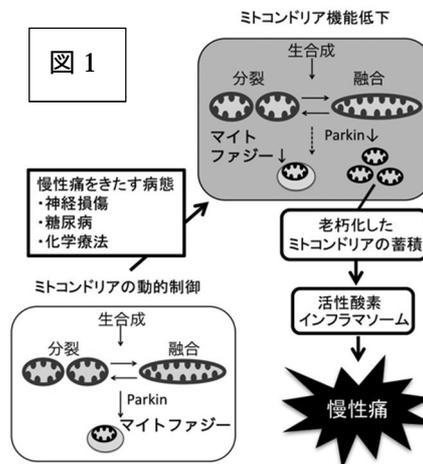
In both models, expression of mitochondrial DNA and mitochondrial respiratory chain component proteins in primary sensory neuron was decreased, and mitochondrial membrane potential was reduced, indicating mitochondrial dysfunction. The expression of Parkin, which maintains mitochondrial function, was decreased, and the expression of p53, an inhibitor of Parkin, was increased. p53 inhibitor treatment improved mitochondrial function and attenuated the hyperalgesia observed in the animal models.

研究分野：疼痛治療医学

キーワード：ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリア機能障害とそれに続く活性酸素(ROS)の蓄積は、さまざまな慢性疾患において認められる分子病理的变化である。糖尿病性神経障害や中枢神経損傷時など、慢性疼痛の原因となる神経疾患においても同様の変化が生じることが報告されているが、慢性疼痛の成立とミトコンドリア機能の関係については十分な知見がない。ミトコンドリアは細胞の機能維持に重要な小器官で、「融合」「分裂」「マイトファジー」「生合成」により機能が維持される。機能が低下したミトコンドリアはオートファジーにより処理される。ミトコンドリアに生じるオートファジーはマイトファジーと呼ばれ、細胞におけるミトコンドリアの質管理に重要な役割を果たしている。マイトファジーはParkinやp53などの分子により制御される。ユビキチンリガーゼParkinは機能低下をきたしたミトコンドリアをユビキチン化することでマイトファジーを媒介する働きがある。マイトファジー障害は老化したミトコンドリアを増加させ、ミトコンドリアの機能を低下させる。ミトコンドリアでは活性酸素が合成されるが、ミトコンドリア機能不全ではその処理が不完全となるため、細胞内に活性酸素が蓄積する。



2. 研究の目的

本研究は、Parkin/p53の発現が変化し、マイトファジーによるミトコンドリア機能維持機構の破綻が神経組織に生じる事で慢性疼痛が発症するという仮説の妥当性を検証し、疼痛治療の新たな標的を提案することを目的として実施した。

さまざまな慢性疼痛のモデルマウスを作成し、一次知覚神経を採取してミトコンドリア機能を評価するとともに、ミトコンドリア機能維持に関わるParkin/p53の発現を解析することで、慢性疼痛発症時のミトコンドリア機能の変化をあきらかにすることである。同時に、ミトコンドリア機能改善薬が慢性疼痛を軽減させるかを調査し、慢性疼痛治療薬としての妥当性を検証した。

3. 研究の方法

慢性疼痛モデルとして、膵ランゲルハンス島細胞を破壊しI型糖尿病に類似した病態を形成するストレプトゾトシン投与モデル、糖代謝異常による臓器障害の原因と考えられるメチルグリオキサール投与モデル、および、末梢神経の損傷により神経損傷後の疼痛に類似した病態となる末梢神経損傷モデルを用いた。ミトコンドリア機能の評価として、リアルタイムPCRによるミトコンドリアDNAの定量、ウェスタンブロッティング、免疫組織化学法によるミトコンドリア呼吸鎖

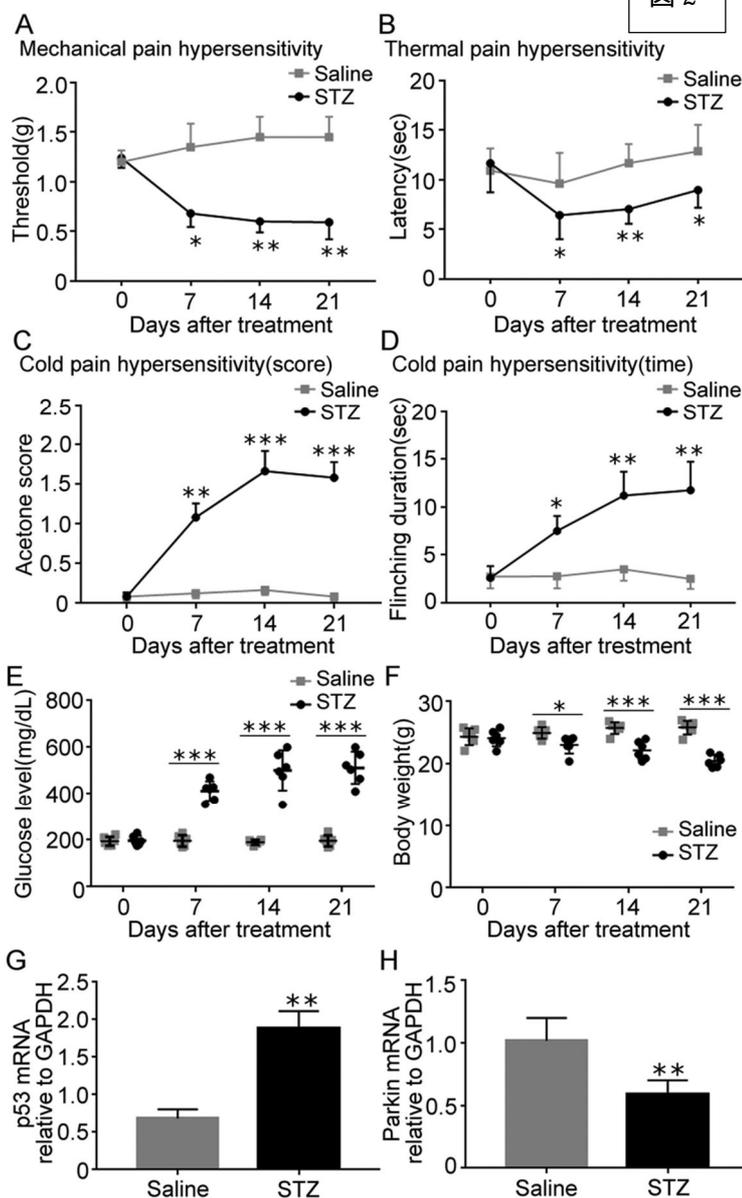


図 2

を構成するタンパク(COX2, COX4)の定量、ミトコンドリア膜電位の足底を行った。慢性痛発症時の痛覚過敏は von Frey フィラメントによる機械刺激に対する逃避閾値と radiant heat による熱刺激に対する逃避潜時の測定を含む行動解析により行った。

慢性疼痛モデルにおけるミトコンドリア機能の評価と痛覚過敏について、上記手法を用いて調査を行った。また、p53 が Parkin を抑制することでマイトファジー障害を引き起こすことから、p53 阻害剤であるピスフィリンを投与し、Parkin の発現に与える影響と痛覚過敏の程度を評価した。

4. 研究成果

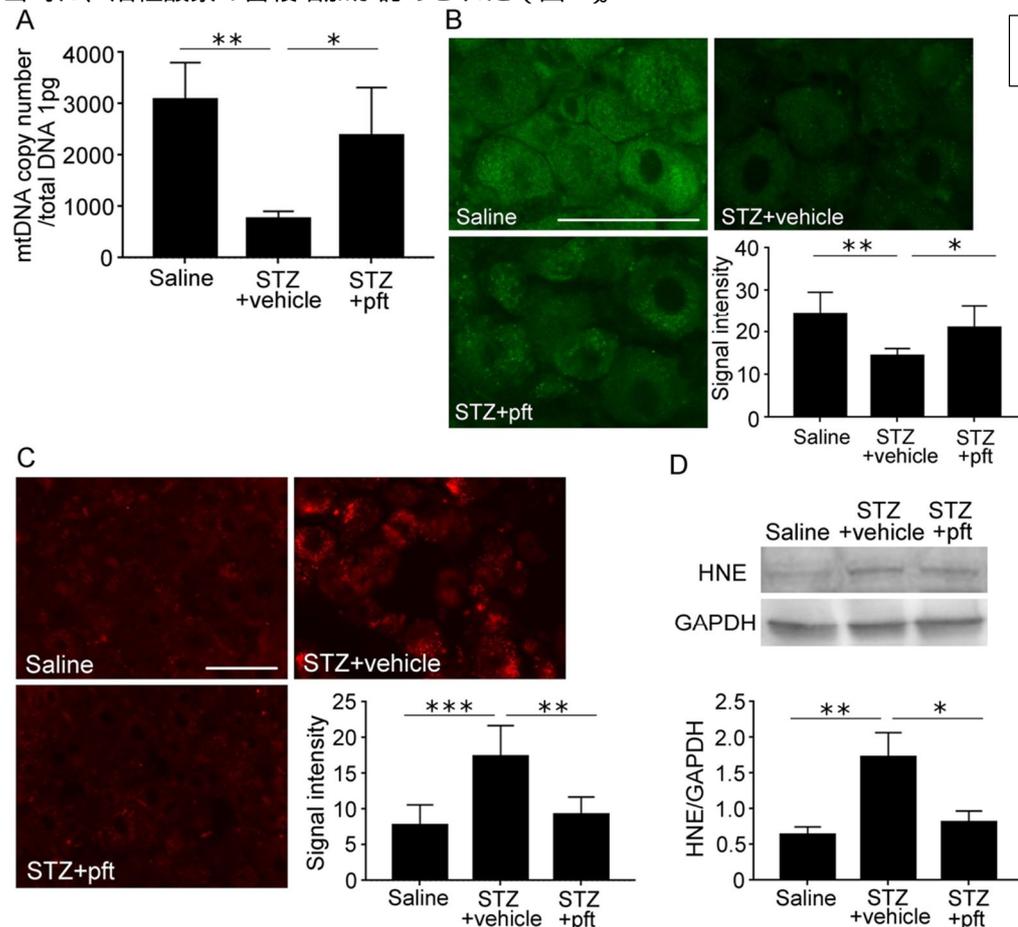
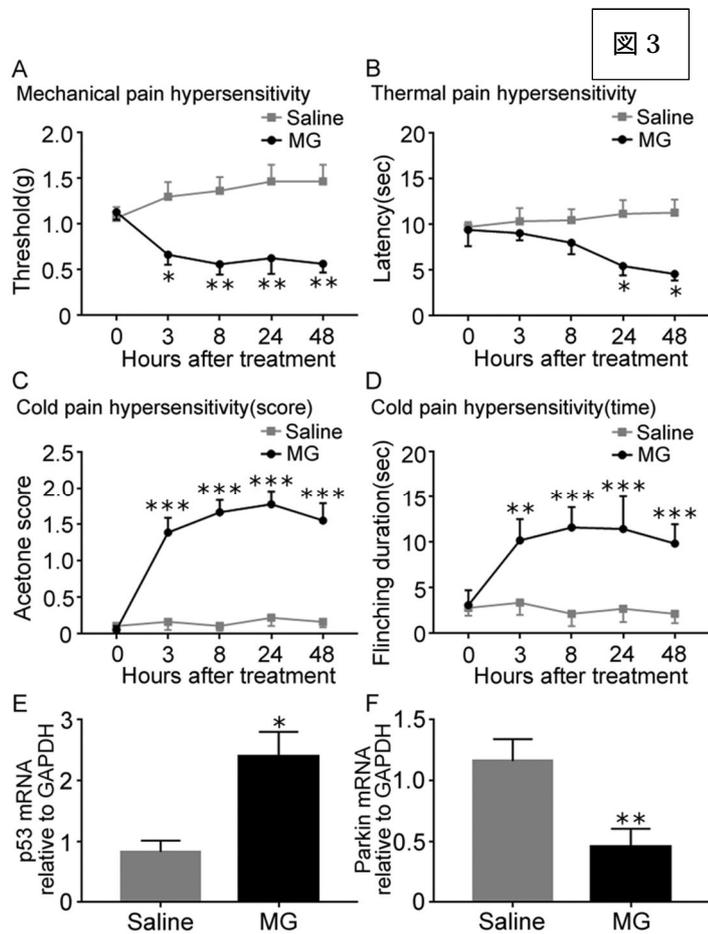
慢性疼痛モデルにおける痛覚過敏と Parkin/p53 の発現変化

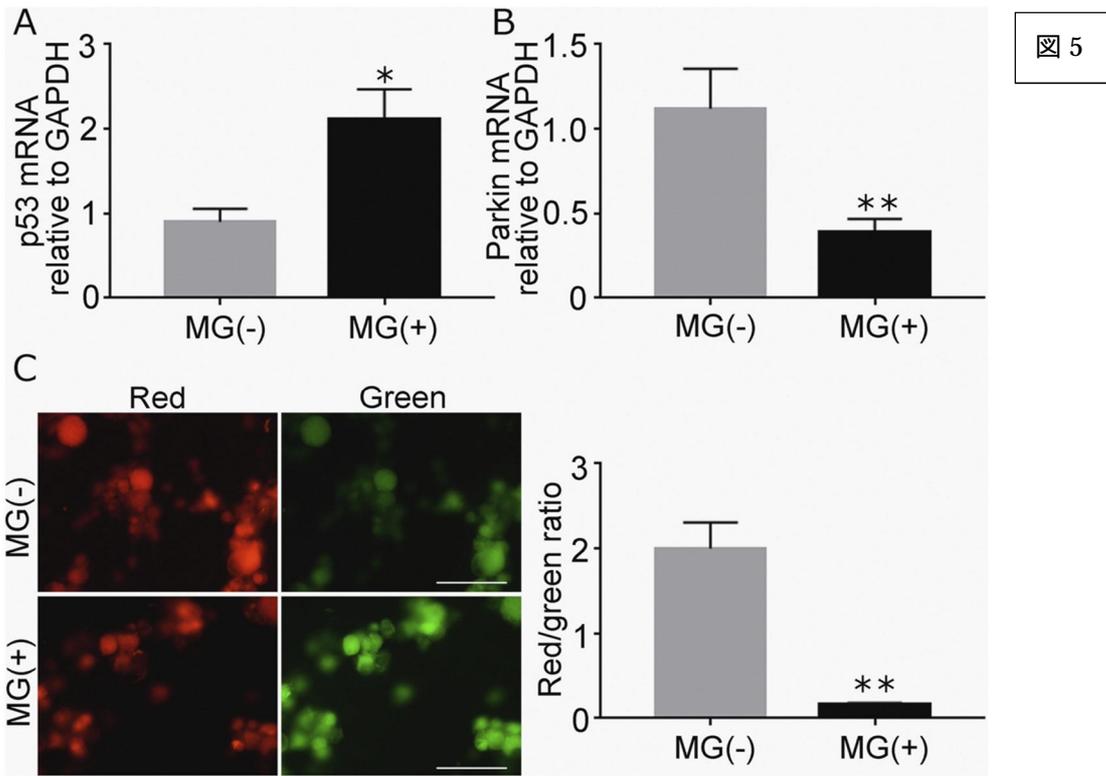
行動解析の結果から、STZ 投与モデルにおいて機械刺激および熱刺激に対する痛覚過敏が生じた。このとき、一次知覚神経において、p53 の発現増加と Parkin の発現現象が認められた (図 2)。

同様の痛覚過敏と p53/Parkin の発現変化がメチルグリオキサール投与モデル (図 3) や末梢神経損傷モデルにおいても観察された。

慢性疼痛モデルにおけるミトコンドリア機能と ROS

STZ モデルの一次知覚神経において、ミトコンドリア DNA、COX2、COX4 の発現低下が認められた。同時に、活性酸素の蓄積増加が認められた (図 4)。

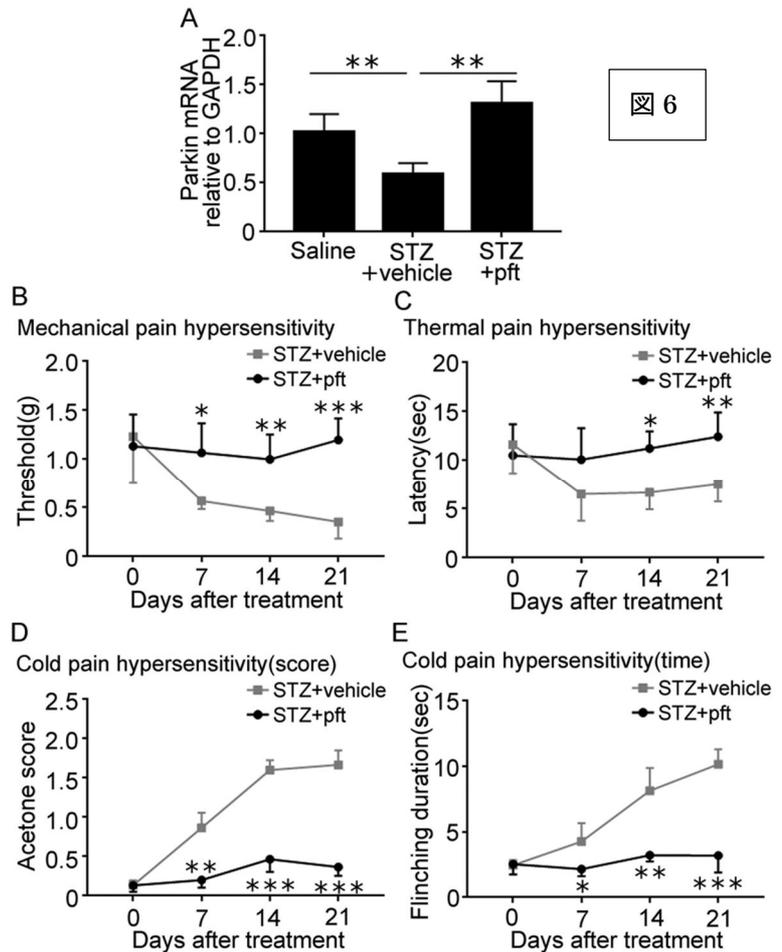




一次知覚神経を培養し、培養液にメチルグリオキサルを投与したところ、神経細胞の p53 が増加するとともに Parkin の発現が減少し、ミトコンドリア膜電位が低下した (図 5)。また、神経損傷により一次知覚神経で増加する炎症性サイトカイン TNF- α を培養液に投与したところ、同様の変化が観察された。

p53 阻害剤によるミトコンドリア機能の改善と疼痛抑制効果

p53 阻害剤ピスフィリンを STZ モデルに投与し、Parkin の発現変化を観察すると共に、行動解析で痛覚過敏の程度を評価した。ピスフィリン投与群では STZ 処置後の Parkin 発現減少と痛覚過敏の発症がともに抑制された (図 6)。神経損傷モデルにおいても、同様の効果が確認された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shimizu Masaru, Amaya Fumimasa, Kinoshita Mao, Yamasaki Masaki, Yokota Isao, Sawa Teiji	4. 巻 14
2. 論文標題 Reduction of the rocuronium-induced withdrawal reflex by MR13A10A, a generic rocuronium with a novel solution: A randomized, controlled study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0223947
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0223947	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Matsuoka Yutaka, Yamashita Ayahiro, Matsuda Megumi, Kawai Kenshiro, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 160
2. 論文標題 NLRP2 inflammasome in dorsal root ganglion as a novel molecular platform that produces inflammatory pain hypersensitivity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PAIN	6. 最初と最後の頁 2149 ~ 2160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/j.pain.0000000000001611	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamashita Ayahiro, Matsuoka Yutaka, Matsuda Megumi, Kawai Kenshiro, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 416
2. 論文標題 Dysregulation of p53 and Parkin Induce Mitochondrial Dysfunction and Leads to the Diabetic Neuropathic Pain	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 9 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2019.07.045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsuda Megumi, Takemura Hitomi, Yamashita Ayahiro, Matsuoka Yutaka, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 63
2. 論文標題 Post surgical chronic pain and quality of life in children operated for congenital heart disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Anaesthesiologica Scandinavica	6. 最初と最後の頁 745 ~ 750
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aas.13346	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamakita Shunsuke, Horii Yasuhiko, Takemura Hitomi, Matsuoka Yutaka, Yamashita Ayahiro, Yamaguchi Yosuke, Matsuda Megumi, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 14
2. 論文標題 Synergistic activation of ERK1/2 between A-fiber neurons and glial cells in the DRG contributes to pain hypersensitivity after tissue injury	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Pain	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1744806918767508	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugiyama Yoko, Iida Hiroki, Amaya Fumimasa, Matsuo Kanako, Matsuoka Yutaka, Kojima Keiko, Matsuno Fumitaka, Hamaguchi Takayuki, Iseki Masako, Yamaguchi Keisuke, Takahashi Yoshika, Hara Atsuko, Sugasawa Yusuke, Kawamata Mikito, Tanaka Satoshi, Inagaki Yoshimi, Otsuki Akihiro, Yamazaki Mitsuaki, Ito Hisakatsu	4. 巻 32
2. 論文標題 Prevalence of chronic postsurgical pain after thoracotomy and total knee arthroplasty: a retrospective multicenter study in Japan (Japanese Study Group of Subacute Postoperative Pain)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 434 ~ 438
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-018-2481-0	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Yosuke, Oh-hashii Kentaro, Matsuoka Yutaka, Takemura Hitomi, Yamakita Shunsuke, Matsuda Megumi, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 394
2. 論文標題 Endoplasmic Reticulum Stress in the Dorsal Root Ganglion Contributes to the Development of Pain Hypersensitivity after Nerve Injury	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 288 ~ 299
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2018.08.005	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Amaya Fumimasa	4. 巻 32
2. 論文標題 A good beginning makes a good ending: association between acute pain trajectory and chronic postsurgical pain	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 789 ~ 791
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-018-2570-0	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okamoto Akiko, Yamasaki Masaki, Yokota Isao, Mori Maiko, Matsuda Megumi, Yamaguchi Yosuke, Yamakita Shunsuke, Ueno Hiroshi, Sawa Teiji, Taguchi Tetsuya, Hosokawa Toyoshi, Amaya Fumimasa	4. 巻 Volume 11
2. 論文標題 Classification of acute pain trajectory after breast cancer surgery identifies patients at risk for persistent pain: a prospective observational study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Pain Research	6. 最初と最後の頁 2197 ~ 2206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/JPR.S171680	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Norisada Junpei, Fujimura Keito, Amaya Fumimasa, Kohno Hiroki, Hirata Yoko, Oh-hashii Kentaro	4. 巻 60
2. 論文標題 Application of NanoBiT for Monitoring Dimerization of the Null Hong Kong Variant of α -1-Antitrypsin, NHK, in Living Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Biotechnology	6. 最初と最後の頁 539 ~ 549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12033-018-0092-5	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Horii Yasuhiko, Matsuda Megumi, Takemura Hitomi, Ishikawa Daiki, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 446
2. 論文標題 Spinal and Peripheral Mechanisms Individually Lead to the Development of Remifentanyl-induced Hyperalgesia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 28 ~ 42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2020.08.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takemura Hitomi, Kushimoto Kohsuke, Horii Yasuhiko, Fujita Daisuke, Matsuda Megumi, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 177
2. 論文標題 IGF1-driven induction of GPCR kinase 2 in the primary afferent neuron promotes resolution of acute hyperalgesia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Research Bulletin	6. 最初と最後の頁 305 ~ 315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brainresbull.2021.10.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shiraishi Makoto, Sowa Yoshihiro, Kodama Takuya, Numajiri Toshiaki, Taguchi Tetsuya, Amaya Fumimasa	4. 巻 88
2. 論文標題 Localization of Chronic Pain in Postmastectomy Patients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Annals of Plastic Surgery	6. 最初と最後の頁 490 ~ 495
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SAP.00000000000003146	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 天谷文昌
2. 発表標題 痛みとミトコンドリア
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 天谷文昌
2. 発表標題 術後痛治療におけるシステムティックレビューの実践
3. 学会等名 日本区域麻酔学会第6回学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山北俊介 天谷文昌
2. 発表標題 若手研究者から痛み治療への提言 オピオイド痛覚過敏の末梢メカニズム(後根神経節)
3. 学会等名 日本ペインクリニック学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 天谷文昌
2. 発表標題 慢性痛の末梢神経における発生メカニズム
3. 学会等名 日本ペインクリニック学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐和 貞治 (Sawa Teiji) (10206013)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授 (24303)	
研究分担者	中川 貴之 (Nakagawa Takayuki) (30303845)	京都大学・医学研究科・准教授 (14301)	
研究分担者	大橋 憲太郎 (Oh-hashii Kentaro) (50332953)	岐阜大学・工学部・准教授 (13701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------