

論文内容の要旨

Increased extracellular release of microRNAs from dorsal root ganglion cells in a rat model of neuropathic pain caused by peripheral nerve injury

末梢神経損傷による神経障害性疼痛モデルラットにおける後根神経節細胞からのマイクロ RNA 細胞外放出の増加

日本医科大学大学院医学研究科 疼痛制御麻酔科学分野

大学院生 井熊 優香

PLoS ONE (掲載予定)

【背景】

体性感覚神経の障害は神経障害性疼痛を引き起こし、しばしば慢性的な経過を辿る。現在使用されている神経障害性疼痛に対する鎮痛薬の効果は限定的であり、有害作用の懸念も大きい。また、神経障害性疼痛は、組織の炎症によって引き起こされる侵害受容性疼痛と併発することがあるため、慢性疼痛における神経障害性の要因を評価することはしばしば困難である。そのため、末梢神経障害に対する低侵襲な新規バイオマーカーを同定し、慢性疼痛患者の背景にある病態生理を明らかにすることは重要となる。

マイクロ RNA (miRNA) は 22 ヌクレオチド程度の非コード RNA であり、細胞内において特定の遺伝子配列に結合することで、そのタンパク質発現を抑制することが知られている。一方で、miRNA は細胞外小胞 (EV) に包含されて細胞外へと放出されることで、他の細胞に取り込まれて、その機能を修飾することが知られている。実際に神経障害性疼痛においても、細胞外 miRNA が病態生理に関与することが報告されている。細胞外へ放出された miRNA は EV に内包されていることから細胞外においても安定して存在するため、各種体液に含まれる miRNA は、がんや関節炎などの幅広い疾患において、低侵襲なバイオマーカーとして期待されている。

従って本研究では、末梢神経損傷後において後根神経節 (DRG) ニューロンからの細胞外放出が変化する miRNA を探索した。さらに、末梢神経障害により DRG ニューロンからの放出が亢進していた miRNA が、血清中でも変化するかを解析し、神経障害性疼痛のバイオマーカーとしての有用性を検討した。

【方法】

雄性的 Sprague-Dawley ラット (5 週齢) を用いて、神経障害性疼痛モデルとして坐骨神経の絞扼性神経損傷 chronic constriction injury (CCI) モデルおよび、炎症性モデルとして完全フロイントアジュバント (CFA) モデルを作製した。疼痛閾値の評価は von Frey filament による機械的刺激への逃避閾値を指標に評価した。CCI モデルおよび CFA モデル作製後 7 日目に、DRG ニューロンの初代培養を作製した。DRG ニューロンの培養上清や血清中に含有される miRNA 量は、ポリマー沈殿法により EV を抽出した上で、定量的 PCR を行うことで測定した。

【結果】

神経障害性疼痛モデルにおいて DRG での発現上昇が報告されている miRNA 群について、DRG ニューロンからの放出も変化する miRNA を 6 種 (let-7d, miR-21, miR-142-3p, miR-146b, miR-203-3p, miR-221) 同定した。このうち、miR-221 のみが神経障害性疼痛モデルラットの血清中においても含有量の増加が見られた。血清中 miR-221 は神経損傷後 7 日目から 28 日目にかけて、長期的に増加していた。神経障害性疼痛を既に発症していた神経損傷後早期において増加は認めなかった。一方、炎症性疼痛モデルにおいては、miR-

221 の DRG ニューロンからの放出および血清中含有量いずれにおいても変化は見られなかった。

【考察】

本研究により、神経障害性疼痛において複数の miRNA で DRG ニューロンからの放出が増加することが明らかになった。DRG での細胞内発現量が増加する miRNA の一部でのみ放出の増加がみられたことから、miRNA の放出は単に発現量で決まるのではなく、特定の miRNA の放出を制御する機構が存在する可能性が考えられた。

血清 EV 中の miR-221 は神経障害性疼痛モデルにおいて増加したのとは対照的に、炎症性疼痛モデルでは変化が見られなかったことから、血清中の miR-221 が疼痛疾患における末梢神経障害を示唆するバイオマーカーとなる可能性が期待された。

一方で、DRG ニューロンから放出される miRNA の一部は神経障害疼痛の病態に寄与することが知られており、本研究で同定した細胞外放出が増加する miRNA 群についても疼痛病態へ関与している可能性が考えられる。実際に、miR-221 の阻害は神経障害性疼痛を緩和させることが報告されており、細胞内のみでなく細胞外の miR-221 も疼痛に関与している可能性がある。すなわち、今後、細胞外 miRNA の機能的意義を解析することが新規な疼痛メカニズムの解明につながることも期待される。

【結語】

血清中 miR-221 は疼痛疾患における末梢神経障害の関与を示すバイオマーカーとして、疼痛疾患の診断や治療選択の点で臨床的に有用となる可能性が示唆された。