

論文内容の要旨

Increased H19 long non-coding RNA expression in Schwann cells
in the peripheral neuropathic pain

末梢性神経障害性疼痛におけるシュワン細胞での
H19 長鎖非コード RNA の発現増加

日本医科大学大学院医学研究科 外科系 疼痛制御麻酔科学分野

大学院生 岩崎 宏俊

Journal of Nippon Medical School 第 86 卷 第 4 号 (2019) 掲載予定

【背景】

神経障害性疼痛は体性感覚系の障害により引き起こされる耐え難い慢性疼痛である。一次感覚ニューロンが障害を受けると、興奮性が高まると共に、自発的に脊髄へ侵害受容の情報を伝達するようになる。また、損傷を受けた神経周囲のシュワン細胞も表現型が変化し、サイトカインや神経栄養因子のような様々なシグナル分子を分泌することで神経炎症を誘導し、一次感覚ニューロンの感作を引き起こすようになる。

タンパク質をコードしないが機能を有する非コード RNA は正常ないし病的な状態における侵害受容の重要な調節因子として近年注目されている。とりわけ疼痛制御に関わるマイクロ RNA は数多く知られているが、長鎖非コード RNA (long non-coding RNA; lncRNA) は哺乳類で数万種類もの存在が知られているにも関わらずその疼痛制御における関わりはあまり知られていない。

【方法】

全ての動物実験は日本医科大学実験動物倫理委員会の審査の下、日本医科大学学長の承認を得ておこなった(承認番号 27-037)。5～6 週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットを用いて、イソフルラン吸入濃度 2～3%での深麻酔下で脊髄神経結紮 (spinal nerve ligation; SNL) による神経障害性疼痛モデルを作製した。SNL モデルは第 5 腰髄 (fifth lumbar; L5) 神経を露出した上で 1mm 程度の間隔を空けて 4-0 絹糸で二か所結紮することによって作製した。神経障害性疼痛の評価として、von Frey filament を用いた機械的アロディニアと Plantar test を用いた熱痛覚過敏の検査をおこなった。SNL 後 14 日の後根神経節 (dorsal root ganglion; DRG) を用いて、lncRNA の可能性がある遺伝子群の発現をマイクロアレイにより解析した。DRG および前根、後根、結紮部位から近位および遠位の末梢神経線維を採取し、SYBR green 法による定量的 PCR により H19 の発現を調べた。DRG や結紮近位部の末梢神経線維において *in situ* hybridization をおこない、H19 の発現分布を検討した。SNL 後 14 日の末梢神経線維から線維芽細胞を Thy1.1 抗体を用いた補体反応で除去することでシュワン細胞を分離し、H19 の発現を調べた。

【結果】

SNL により、機械的刺激および熱刺激による痛覚閾値の低下が有意に引き起こされた。SNL 後 14 日においてマイクロアレイによる lncRNA の網羅的な発現解析から、H19 lncRNA が最も大きく発現上昇していた。定量的 PCR により H19 が SNL 後 4 日から SNL 後 14 日まで継続的に発現増加し続けることが明らかになった。*In situ* hybridization により、L5 DRG において H19 は一次感覚神経ではほとんど検出されず、神経線維に沿った非神経細胞で発現が上昇していた。そこで神経線維における H19 の発現解析を調べたところ、末梢神経結紮近位部および遠位部で H19 は顕著に発現増加していたが、前根および後根で発現変化はみられなかった。この結果と一致するように、結紮部近位の神経線維における *in situ*

hybridization により、H19 は非神経細胞で顕著に発現増加していた。また、SNL を施した末梢神経線維から単離したシュワン細胞においても H19 の発現は有意に増加していた。

【考察】

シュワン細胞は IL-1 β や IL-6 のような炎症性サイトカインの産生を介して神経障害性疼痛を引き起こすことやシュワン細胞における TRPA1 の活性化が神経障害性疼痛を惹起することなどがこれまでに報告されている。H19 は免疫細胞において炎症性サイトカインの発現調節に関与することが知られていることから、シュワン細胞においても神経炎症を誘発することで神経障害性疼痛の引き金となっている可能性がある。また、神経損傷後、神経再生の過程でシュワン細胞から分泌される神経成長因子やグリア細胞株由来神経栄養因子のような神経栄養因子は一次感覚ニューロンの侵害受容を修飾することが知られており、神経障害性疼痛の惹起に寄与している可能性がある。H19 のシュワン細胞における発現増加がどのような病態生理学的意義をもつかは今後の研究課題である。

【結論】

神経障害性疼痛モデルにおいて、損傷を受けた末梢神経結紮近位部および遠位部のシュワン細胞で H19 の発現が持続的に増加することを示した。このシュワン細胞での H19 発現増加が神経障害性疼痛に関与する可能性がある。