

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

### Increased extracellular release of microRNAs from dorsal 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

掲載誌：PLoS ONE, 18(1):e0280425, 2023

DOI: 10.1371/journal.pone.0280425

体性感覚神経の障害は神経障害性疼痛を引き起こすが、現在の鎮痛薬の効果は限定的であり、しばしば慢性的な経過をたどる。また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困難である。そこで新規バイオマーカーを同定し、病態生理を明らかにすることは重要と考えられる。申請者ら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マイクロ RNA（miRNA）を探索し、また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。

5 週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットを用いて、神経障害性疼痛モデルとしての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 初代培養を作製した。DRG ニューロンの培養上清や血清中の miRNA 量は定量的 PCR にて測定した。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）を同定した。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みられ、神経損傷後 7 日から 28 日にかけて、長期的に増加していた。一方、炎症性疼痛モデルラットにおいては、DRG ニューロンからの放出および血清中含有量に miR-221 の変化は見られなかった。本研究で DRG での細胞内発現量が増加する miRNA の一部でのみ DRG からの放出の増加が認められたことは、放出増加が単に発現量で規定されるものでなく、miRNA 放出の制御機

構の存在が考えられる。また、上記の結果は、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を示唆した。

第二次審査においては、miR-221 放出メカニズム・経時変化について、抗うつ薬における鎮痛作用と共通メカニズムについて、miR-221 の想定される機能・治療への観点について、臨床応用への考え方について、バイオマーカーとしての miR-221 の特異度・測定の難易度について等、幅広い質疑が行われたが、いずれも的確な回答がなされた。

本研究は、miR-221 が慢性疼痛における神経障害を示唆するバイオマーカーとしての可能性を明らかにしたのみでなく、細胞内外の miRNA の機能的意義を解析する一助になり、新たな疼痛メカニズムの解析につながる有意義な研究であるという結論がなされた。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。