

論文内容の要旨

Neat1 lncRNA organizes the inflammatory gene expressions in the dorsal root ganglion in neuropathic pain caused by nerve injury

Neat1 lncRNA は神経損傷に伴う神経障害性疼痛において後根神経節での炎症性遺伝子発現を制御する

日本医科大学大学院医学研究科 薬理学分野

研究生 丸山 基世

Frontiers in Immunology (2023年 8月)

【背景】末梢神経障害は、一次感覚神経の細胞体が位置する後根神経節（dorsal root ganglion; DRG）において様々な炎症性メディエーターの産生を誘導し、脊髄ミクログリアを活性化することにより慢性の神経障害性疼痛を引き起こす。しかしながら、一次感覚神経による神経炎症誘導がどのように調節されているのかはほとんど明らかでない。長鎖非コード RNA (lncRNA) は、多様なメカニズムを介して遺伝子発現を調節することにより様々な細胞機能に関与することが認識されつつある。本研究では、神経障害性疼痛において一次感覚神経で発現変化する lncRNA として Neat1 を同定し、神経炎症の調節における役割を検討した。

【方法】雌雄の Sprague-Dawley ラットに第 5 腰髄 (L5) 脊髄神経結紮 (spinal nerve ligation; SNL) を施すことにより神経障害性疼痛モデルを作製した。疼痛は von Frey 繊維および Plantar test により評価した。神経障害性疼痛に寄与する lncRNA を同定するために SNL14 日後の L5 DRG における遺伝子発現変化を RNA シーケンスにより解析した。発現変化が認められた Neat1 の疼痛への関与を調べるため、Neat1 を発現するアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターまたは Neat1 に対する shRNA を発現する AAV ベクターを L5 DRG に注入した。Neat1-mRNA 間の結合は lncRNA-mRNA の相互作用予測ツールである RIBlast を用いて解析した。RNA プルダウンアッセイにより *in vivo* における Neat1 と mRNA との結合を、RNA decay アッセイにより mRNA の安定性の評価を行った。脊髄における神経炎症の評価はミクログリアの活性化マーカーに対する免疫染色および、定量的 PCR や ELISA 法による炎症性遺伝子発現の定量により行った。

【結果】Neat1 は神経損傷後 14 日目の一次感覚神経の主に核内において発現が増加していた。一次感覚神経における Neat1 の過剰発現は機械的痛覚過敏および熱性痛覚過敏を生じさせ、一方で Neat1 の発現抑制は SNL による神経障害性疼痛を減弱させた。Neat1 により発現が制御される遺伝子群は主に炎症反応に関与しており、その多くが Neat1 と結合することが推測された。また、Neat1 は炎症性遺伝子の mRNA の安定性を増加させることによって遺伝子発現を増加させた。一方で Neat1 は RNA-RNA 間の結合を介さない炎症性遺伝子の発現調節にも関与していた。さらに、一次感覚神経における Neat1 の発現抑制は脊髄後角におけるミクログリアの活性化および炎症性遺伝子の発現を抑制した。

【考察】Neat1 は一次感覚神経において様々な炎症性遺伝子の発現を増加させたが、これらの遺伝子は神経損傷に伴い一次感覚神経で誘導され、脊髄ミクログリアの活性化を介して神経障害性疼痛の発症に寄与することが報告されている。また、神経炎症を伴う神経変性疾患において Neat1 の調節不全が報告されており、Neat1 は他の様々な神経疾患においても神経炎症の重要な調節因子である可能性が考えられる。Neat1 は標的遺伝子との結合を介して安定性を高めることにより炎症性遺伝子の発現を増加させたが、lncRNA は RNA

duplex を形成することによって mRNA の安定性や分解に関わることが報告されている。一方で、Neat1 は mRNA との結合を介さないでも炎症性遺伝子の発現を制御したが、実際に Neat1 は scaffold lncRNA として作用することが報告されており、Neat1 は様々な調節性タンパク質との結合を介して炎症性遺伝子の発現を調節する可能性が示唆された。

【結語】 Neat1 は、RNA-RNA 間の結合依存のおよび非依存の多様なメカニズムを介して、神経損傷後における一次感覚神経の神経炎症誘導を制御することが明らかとなった。一次感覚神経における Neat1 の機能を詳細に解析することにより、神経障害性疼痛や慢性炎症性疾患を引き起こす神経炎症のさらなる理解に繋がることが期待される。