

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

### 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) 掲載予定  
DOI: 10.3389/fimmu.2023.1185322

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不明である。長鎖非コード RNA (long non-coding 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知られている。申請者らは、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 を同定し、神経炎症調節における役割を検討した。

雌雄の SD ラットに第 5 腰髄 (L5) 脊髄神経結紮 (spinal nerve ligation; SNL) を行い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活性化マーカーの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。

Neat1 は SNL14 日後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。これらのことから、Neat1 は、RNA-RNA 間の結合依存적および非依存적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。

第二次審査では、Neat1\_1 と Neat1\_2 の違い、Neat1 発現の細胞内での局在、Neat1 発現の DRG 内細胞間の差異、一次感覚神経以外での Neat1 の役割、SNL モデルでの慢性炎症の機序などに関して幅広い質疑が行われ、いずれに対しても的確な回答がなされた。

本論文は、一次感覚神経における Neat1 の機能を詳細に解析し、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から、有意義な論文であると考えられた。以上より、学位論文として価値あるものと認定した。