MicroRNA and long non-coding RNA in neuropathic pain

Atsushi Sakai ¹, Motoyo Maruyama ^{1,2}, and Hidenori Suzuki ¹

¹ Department of Pharmacology, Nippon Medical School

² Division of Laboratory Animal Science, Nippon Medical School

Abstract

Non-coding RNAs affect various cellular processes through interaction with DNA, RNA and protein. Accordingly, non-coding RNAs, microRNAs and more recently long non-coding RNAs, have been shown to be involved in pain disorders, including neuropathic pain. MicroRNAs inhibit translational step of gene expression and dysregulation of microRNAs underlies the neuropathic pain. On the other hand, lncRNAs regulate diverse steps of gene expression, including epigenetic modulation, transcription, alternative splicing and translation, although a role of lncRNAs in the pain disorders remain poorly understood. Interestingly, a part of non-coding RNAs are released to extracellular space and mediate a cell-cell communication. Extracellular microRNAs are shown to modulate nociceptive transmission. Furthermore, extracellular non-coding RNAs are expected as a specific biomarker for neuronal damage or pain in the blood. In this review, we summarize current insights into non-coding RNA significance in the neuropathic pain.

Keywords

Biomarker; Circular RNA; Long non-coding RNA; microRNA; Neuropathic pain

Received: 10 December 2018

Accepted: 13 March 2019

神経障害性疼痛におけるマイクロ RNA と長鎖非コード RNA

坂井 敦 ¹ / 丸山 基世 ^{1,2} / 鈴木 秀典 ¹

¹ 日本医科大学 薬理学分野

² 日本医科大学 実験動物管理室

はじめに

非コード RNA はタンパク質をコードしない一群の RNA 分子である。ヒトゲノムのうち約 70% が転写を受けるのに対し、約 2~3% しかタンパク質をコードする mRNA へと転写されていないことから、転写されるゲノムの大部分は非コード RNA を生みだすと考えられている⁴⁾。トランスファー RNA やリボソーム RNA のようなタンパク質をコードせずに機能する RNA 分子は古くから知られていたが、ほとんどの非コード RNA は転写に伴う noise として考えられていた。しかしながら、短い非コード RNA による遺伝子発現の調節機構、いわゆる RNA 干渉が明らかにされることで、非コード RNA の機能的重要性が広く認識されるようになった。これまでに、多くの種類の非コード RNA が同定されており、200 塩基以下の低分子 RNA としては microRNA や small nuclear RNA (snRNA), small nucleolar RNA (snoRNA), piwi-interacting RNA (piRNA) などの多くの機能性 RNA が明らかにされている。また、200 塩基以上の長さを持つ長鎖非コード RNA (long non-coding RNA; lncRNA) には 100 kb 程にまで達するものも存在し、タンパク質をコードする mRNA と同等もしくはそれ以上に多くの種類が存在すると考えられている。このような非コード RNA はあらゆる生命機能に重要な役割を担い、その異常はがんや免疫疾患、神経疾患など多くの疾患に寄与している。疼痛疾患の病態基盤においても、非コード RNA の重要性が明らかにされてきており、最近の知見を紹介したい。

microRNA の産生と作動様式

microRNA は 22 塩基前後の短い RNA であ

Fig.1 Modes of action of microRNA (A) and lncRNA (B).

り、ヒトやげっ歯類においては、これまでに数千種もの microRNA が同定されている。microRNA は一般的に塩基対形成により特定の mRNA の 3' 非翻訳領域へ結合することで翻訳抑制や mRNA の分解促進を引き起こし、遺伝子発現を負に調節する (Fig.1-A)。特に、microRNA の 5' 末端側の 2~7 番目の塩基 (シード配列) が標的 mRNA の認識に不可欠であることが知られている。

microRNA の産生は通常、RNA ポリメラーゼ II によりゲノムからキャップ構造とポリ A 鎖を有する前駆体である primary microRNA が転写されることにより始まる¹²⁾ (Fig.2-A)。一方で、一部の microRNA はコード遺伝子のイントロン領域に存在しており、ホストの mRNA 前駆体からスプライシングにより切り出されることがや、独自のプロモーターにより転写されることで前駆体が産生される。興味深いことに、約 40% の primary microRNA は 3 kb の範囲内に複数 (通常 2~3) の microRNA を含むクラスターを形成していることが知られてお

Fig.2 Biogenesis of microRNA (A) and lncRNA (B).

り、クラスターとして一括して機能することで細胞機能に強い影響を及ぼしうる¹⁾。これらの primary microRNA は核内において RNase III 様酵素である Drosha や DiGeorge syndrome chromosomal region 8 (DGCR8) を含むマイクロプロセッサ複合体により切断されることで、70 塩基前後のステムループ構造を有する precursor microRNA となる。その後、precursor microRNA は低分子量 GTPase である Ran 依存的に Exportin-5 により核外へと輸送される。細胞質において、RNase III 様酵素である Dicer により更に切断されて、3' 突出末端を有する 22 塩基前後の二本鎖 RNA となる。この二本鎖 RNA は Argonaute (AGO) を含む RNA 誘導サイレンシング複合体 (RNA-induced silencing complex; RISC) に取り込まれたのちに、より不安定な鎖が除かれて、成熟した一本鎖 microRNA となる。

lncRNA の産生と作動様式

lncRNA はタンパク質をコードしない RNA であるが、現状ではタンパク質へと翻訳されていないことを証明することは困難であり、100

アミノ酸以上の open reading frame (ORF) を有さないことが 1 つの大きな基準となっている。そのため、lncRNA とみなされていた RNA の一部でタンパク質に翻訳されることが明らかになったものもあるが⁸⁾、現状ではヒトにおいて何万種類もの lncRNA が存在すると考えられている。これらのうち、20,000 種近くの lncRNA が機能を有している可能性が、FANTOM5 プロジェクトで得られたデータから生物種間保存性や eQTL との関連などを基に示されている¹³⁾。また、lncRNA の塩基配列は mRNA に比較して生物種差が大きく、種間保存性が乏しいことが多いが、塩基配列の相同性が低くとも高次構造が保存されており機能自体は保存されていると考えられている⁹⁾。さらに、lncRNA の発現は細胞種や発達時期における特異性が高いことが多いため、特定の機能に特異的に関与している可能性が予測される。特に、神経系に豊富に存在すると言われているが³⁶⁾、一般に lncRNA の発現量は低いことが多く、機能的意義も未だごく一部の lncRNA でしか検討されていない。

lncRNA は mRNA と同様に RNA ポリメラーゼ II により転写されて、スプライシングや 5' キャップ構造の付加、ポリアデニル化を受け

る¹⁰⁾。一方で、これらのプロセッシングを受けない lncRNA も多く存在し、一般に細胞内における安定性が低く、半減期が非常に早いことが多い。Neat1_2 や Malat1 のように 3'末端がポリアデニル化されずに 3 重らせん構造を形成することにより RNA 分解から保護されている lncRNA も一部に存在している^{5,6)}。何れの lncRNA も核内で産生された後、そのまま核内に留まるか細胞質へと運搬される。核内の lncRNA は核スペckルやパラスペckルなどのような核内構造体を構成していることもある。さらに、神経細胞においては神経突起内へ輸送されるものも報告されている^{39,44,47)}。

lncRNA はしばしば、存在する遺伝子座に基づいて分類されている^{10,22)} (Fig.2-B)。タンパク質をコードする遺伝子座において、mRNA とは逆方向に転写されて産生される lncRNA はアンチセンス RNA (natural antisense transcripts; NATs) としばしば呼称される。一部の NATs は対となる mRNA (sense transcript) とシナプトソームに共発現しており、シナプス伝達における関与が示唆される³⁹⁾。また、mRNA のイントロン領域から、mRNA とは別に転写されて作られる intronic lncRNA も存在する。さらに、既知のコード遺伝子とは重ならない、すなわち遺伝子間のゲノム領域から産生される lncRNA はしばしば long intergenic non-coding RNA (lincRNA) と呼称される。一般的に、lincRNA の塩基配列保存性は低いが、プロモーター領域の塩基配列は保存されていることが多いことから、lincRNA の機能的な重要性が示唆される^{9,10)}。コード遺伝子の上流もしくは下流にあるエンハンサーからしばしば lncRNA が産生されており、enhancer RNA (eRNA) と呼ばれている。エンハンサーからは単方向性もしくは双方向性に転写が行われており、単方向性に転写される

eRNA (1d-eRNA) はポリアデニル化を受けるのに対し、双方向性に転写される 2d-eRNA は長さが比較的短く、ポリアデニル化を受けないとされている²⁴⁾。

lncRNA の分子機能に関しては、様々な作動様式がこれまでに報告されている。RNase P の様な触媒活性を有する RNA 分子 (リボザイム) も見つかっているが、基本的に lncRNA は塩基配列相補性に基づいた DNA や RNA との塩基対形成による結合もしくは、lncRNA 分子内での塩基対形成による可動性に富む立体構造を介したタンパク質との結合により機能している。lncRNA がコードされている近傍のゲノム領域 (cis-acting) もしくは遠位の領域 (trans-acting) に働くかによって区別されることがあるが、作動機構を大きく 4 つに分けた分類が提案されている⁴¹⁾ (Fig.1-B)。第 1 に、lncRNA は細胞種・時期特異的な発現を示すことが多く、特定の細胞状況や刺激環境に応じた転写活性を現す分子シグナルとして機能することが考えられている。第 2 に、lncRNA は RNA やタンパク質と結合することにより、結合分子の機能を阻害するデコイとして機能することが知られている。特に、microRNA と結合して本来の microRNA の標的 mRNA との結合を競合的に阻害する RNA は competing endogenous RNA (ceRNA) と呼ばれている。特定の microRNA に対する結合部位を数多く有するものは microRNA スポンジと呼ばれることもある。第 3 に、lncRNA に結合する分子を特定の領域に局在させるガイドとして機能する。例えば、結合タンパク質を塩基配列の相補性に基づいて局在させることで、特定のゲノム領域におけるエピジェネティック修飾を調節していることが報告されている²⁹⁾。第 4 に、複数のタンパク質分子と結合し、集合させる足場 (scaffold) として機能す

る。タンパク質の scaffold と同様に結合タンパク質間における相互作用を仲介することが可能である。以上のような作動機構を介して、lncRNA はエピジェネティック修飾や転写、(選択的) スプライシング、mRNA 安定性制御、RNA 修飾、翻訳のような遺伝子発現のあらゆる段階を調節しうる能力を備えている。

環状 RNA (circular RNA; circRNA) の一部は翻訳されることが報告されているが²⁵⁾、多くは非コード RNA と考えられている。circRNA は主にバックスプライシングにより形成される環状 RNA であり、末端が存在しないために直鎖状の RNA に比べて安定性が非常に高い。ヒトにおいて数千種類同定されているが、特に哺乳類の脳に豊富に存在しており、神経突起内にも存在することが報告されている^{31,44,47)}。circRNA の機能としては、ceRNA として microRNA による標的遺伝子の翻訳抑制を阻害することが良く知られている。特に、cerebellar degeneration-related protein 1 (CDR1) のアンチセンス鎖から産生される circRNA である ciRS-7 は miR-7 に対する結合部位を 70 ヶ所近くも有し、強力に miR-7 の機能を調節していることが知られている²³⁾。

microRNA と痛み

多くの microRNA が一次感覚神経や脊髄から大脳皮質に至るまでの感覚伝導路の各神経領域で神経障害性疼痛下において発現変化し、実際に疼痛に関与することが明らかにされてきた^{20,34)}。例えば、一次感覚神経においては、筆者らは miR-7a の重要性を明らかにしている³²⁾。miR-7a は一次感覚神経において神経傷害により発現が低下するが、miR-7a の遺伝子導入は電位依存性ナトリウムチャネル $\beta 2$ サブユニッ

トの発現抑制を介して、C 線維の興奮性を抑えることにより神経障害性疼痛を緩和することを見出している。さらに、一次感覚神経においては上述した microRNA クラスターの重要性が示されている。筆者らは 6 種もの microRNA を含有する miR-17-92 クラスターが神経傷害により発現上昇し、複数の電位依存性カリウムチャネルサブユニットの発現抑制を通して神経障害性疼痛に寄与することを明らかにしている³⁵⁾。また、別の microRNA クラスターである miR-183-96-182 は神経傷害により発現が低下することで、電位依存性カルシウムチャネルの副サブユニットである $\alpha 2\delta-1$ と $\alpha 2\delta-2$ の発現が上昇することが報告されている²⁷⁾。 $\alpha 2\delta$ サブユニットは臨床で有効な神経障害性疼痛治療薬であるプレガバリンの標的分子であることから、microRNA クラスターによる遺伝子発現調節が実際にヒトにおいても重要であることが示唆される。

中枢神経系においても神経障害性疼痛における microRNA の関与が報告されている。特に Favereaux らが疼痛疾患における microRNA の関与を初めて明確に示しており、脊髄における miR-103 の発現低下が L 型電位依存性カルシウムチャネルである $\text{Ca}_v1.2$ の発現上昇を介して神経障害性疼痛に寄与することを報告している¹¹⁾。脳内においても、成田らが側坐核において miR-200b と miR-429 の発現が減少し、これらの標的遺伝子である DNA methyltransferase 3a の発現が上昇することで痛みに伴う負の情動に関与する可能性を示唆している¹⁵⁾。

lncRNA と痛み

多くの lncRNA が神経障害性疼痛において後根神経節や脊髄で発現変化することがマイクロ

アレイや RNA シーケンスにより明らかにされている^{3,19,37,45,50,51})。また、モルヒネ耐性においても、複数の lncRNA が脊髄で発現変化することが認められており、ceRNA として機能している可能性が示唆されている³⁷)。circRNA も神経障害性疼痛において脊髄で数多く発現変化することが報告されている^{7,51})。また、これまでに、いくつかの lncRNA が実際に疼痛に関連することが示されているが、その基盤にある lncRNA の作動分子機構に関してはほとんど明らかになっていない。

神経障害性疼痛における lncRNA の重要性は電位依存性カリウムチャネルサブユニット Kv1.2 の NATs である Kcna2 アンチセンス RNA において初めて明確に示された⁴⁸)。Kcna2 アンチセンス RNA は神経傷害により、主に大型の一次感覚神経において発現が上昇し、Kv1.2 の発現を抑制することにより神経障害性疼痛に寄与していることが報告されている。また、X 染色体不活性化に不可欠な lncRNA である X-inactive specific transcript (Xist) が末梢神経傷害により脊髄ミクログリアで発現上昇し、様々な miRNA に対する ceRNA として作用することで神経障害性疼痛に関わることが報告されている^{16,43,46,49})。circRNA の 1 種である circHIPK3 も streptozotocin 誘発性糖尿病ラットにおいて後根神経節で発現上昇し、miR-124 に対する ceRNA として働くことで神経障害性疼痛に関与することが示されている⁴²)。lncRNA である NONRATT021972 も streptozotocin 誘発性糖尿病モデルラットや 2 型糖尿病モデルである ZDF-*Lepr^{fa}* ラットにおいて、後根神経節で発現上昇することが報告されている^{18,28})。機序は不明だが、様々な痛み関連分子の調節に関わっており、神経障害性疼痛に寄与することが示されている。

lncRNA の先天異常により、痛覚異常が生じる可能性も示されている。GDNF-AS は非ペプチド作動性 C 線維に対する神経栄養因子である GDNF 遺伝子の 90 kb 上流に位置しているが、その点突然変異が無痛症を呈する犬において同定されており、GDNF に対する eRNA として機能している可能性が考えられている³⁰)。

細胞外 RNA と痛み

一部の非コード RNA はエクソソームのような膜性の小胞に包まれるなどして細胞外へと放出されて、近傍もしくは遠隔の細胞に働くことで細胞外コミュニケーションの手段として機能することが明らかとされてきている⁴⁰)。実際に、一次感覚神経から放出された microRNA が疼痛の調節に関わっていることが報告されている。microRNA の 1 種である let-7b は一次感覚神経の活性化により細胞外へと放出される。細胞外の let-7b は細胞膜に存在する toll-like receptor-7 (TLR7) に結合し、TLR7 と共役している TRPA1 チャネルを活性化することで活動電位を誘発し、痛みを惹起することが示されている²⁶)。また、miR-21 は一次感覚神経で神経損傷により発現上昇し神経障害性疼痛に関与するが³³)、エクソソームに内包された形で一次感覚神経の細胞体から放出され、マクロファージに貪食されることで炎症性の表現型を誘導することが報告されている³⁸)。また、microRNA は細胞の状況依存的に細胞外へ放出されうることから、がんなどの様々な疾患においてバイオマーカーとしての有用性が検討されている。疼痛疾患においても、血中における microRNA の含有量がモデル動物およびヒト患者で変動することが認められている^{2,14,21})。同様に、lncRNA も細胞外へ放出され、ヒト患者血中における発現

変動が報告されているが、生理的意義は明らかになっていない^{17,42)}。

おわりに

神経障害性疼痛における非コード RNA の関与は、これまで microRNA を中心に明らかにされてきた。一方で、lncRNA と疼痛の関連性はほとんど報告されておらず、今後急速に検討がなされていくと予想される。特に、lncRNA は細胞種・発達時期特異的に発現し、細胞環境の変化により発現変化することで様々な形で遺伝子発現の制御に関与しうることから、痛覚においても重要な役割を担っている可能性が高いと考えられる。このような lncRNA の機能解析が、これまで不明であった痛みの生理・病態メカニズムの解明や、痛みに関連するバイオマーカーや治療標的の開発に繋がることが期待される。

文 献

- Altuvia, Y., Landgraf, P., Lithwick, G., Elefant, N., Pfeffer, S., Aravin, A., Brownstein, M.J., Tuschl, T., Margalit, H., Clustering and conservation patterns of human microRNAs, *Nucleic Acids Res.*, 33 (2005) 2697–2706.
- Andersen, H.H., Duroux, M., Gazerani, P., Serum microRNA signatures in migraineurs during attacks and in pain-free periods, *Mol. Neurobiol.*, 53 (2016) 1494–1500.
- Baskozos, G., Dawes, J.M., Austin, J.S., Antunes-Martins, A., McDermott, L., Clark, A.J., Trendafilova, T., Lees, J.G., McMahon, S.B., Mogil, J.S., Orengo, C., Bennett, D.L., Comprehensive analysis of long non-coding RNA expression in dorsal root ganglion reveals cell type specificity and dysregulation following nerve injury, *Pain*, 160 (2019) 463–485.
- Boon, R.A., Jaé, N., Holdt, L., Dimmeler, S., Long noncoding RNAs: from clinical genetics to therapeutic targets?, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 67 (2016) 1214–1226.
- Brown, J.A., Valenstein, M.L., Yario, T.A., Tycowski, K.T., Steitz, J.A., Formation of triple-helical structures by the 3'-end sequences of MALAT1 and MEN β noncoding RNAs, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109 (2012) 19202–19207.
- Brown, J.A., Bulkley, D., Wang, J., Valenstein, M.L., Yario, T.A., Steitz, T.A., Steitz, J.A., Structural insights into the stabilization of MALAT1 noncoding RNA by a bipartite triple helix, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 21 (2014) 633–640.
- Cao, S., Deng, W., Li, Y., Qin, B., Zhang, L., Yu, S., Xie, P., Xiao, Z., Yu, T., Chronic constriction injury of sciatic nerve changes circular RNA expression in rat spinal dorsal horn, *J. Pain Res.*, 10 (2017) 1687–1696.
- Couso, J.P., Patraquim, P., Classification and function of small open reading frames, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 18 (2017) 575–589.
- Derrien, T., Johnson, R., Bussotti, G., Tanzer, A., Djebali, S., Tilgner, H., Guernec, G., Martin, D., Merkel, A., Knowles, D.G., Lagarde, J., Veeravalli, L., Ruan, X., Ruan, Y., Lassmann, T., Carninci, P., Brown, J.B., Lipovich, L., Gonzalez, J.M., Thomas, M., Davis, C.A., Shiekhata, R., Gingeras, T.R., Hubbard, T.J., Notredame, C., Harrow, J., Guigó, R., The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression, *Genome Res.*, 22 (2012) 1775–1789.
- Dhanoa, J.K., Sethi, R.S., Verma, R., Arora, J.S., Mukhopadhyay, C.S., Long non-coding RNA: its evolutionary relics and biological implications in mammals: a review, *J. Anim. Sci. Technol.*, 60 (2018) 25.
- Favereaux, A., Thoumine, O., Bouali-Benazzouz, R., Roques, V., Papon, M.A., Salam, S.A., Drutel, G., Léger, C., Calas, A., Nagy, F., Landry, M., Bidirectional integrative regulation of Cav1.2 calcium channel by microRNA miR-103: role in pain, *EMBO J.*, 30 (2011) 3830–3841.
- Herrera-Carrillo, E., Berkhout, B., Dicer-independent processing of small RNA duplexes: mechanistic insights and applications, *Nucleic Acids Res.*, 45 (2017) 10369–10379.
- Hon, C.C., Ramiłowski, J.A., Harshbarger, J., Bertin, N., Rackham, O.J., Gough, J., Denisenko, E., Schmeier, S., Poulsen, T.M., Severin, J., Lizio, M., Kawaji, H., Kasukawa, T., Itoh, M., Burroughs, A.M., Noma, S., Djebali, S., Alam, T., Medvedeva, Y.A., Testa, A.C., Lipovich, L., Yip, C.W., Abugessaisa, I., Mendez, M., Hasegawa, A., Tang, D., Lassmann, T., Heutink, P., Babina, M., Wells, C.A., Kojima, S., Nakamura, Y., Suzuki, H., Daub, C.O., de Hoon, M.J.L., Arner, E., Hayashizaki, Y., Carninci, P., Forrest, A.R.R., An atlas of human long non-coding RNAs with

- accurate 5' ends, *Nature*, 543 (2017) 199–204.
- 14) Hori, N., Narita, M., Yamashita, A., Horiuchi, H., Hamada, Y., Kondo, T., Watanabe, M., Igarashi, K., Kawata, M., Shibasaki, M., Yamazaki, M., Kuzumaki, N., Inada, E., Ochiya, T., Iseki, M., Mori, T., Narita, M., Changes in the expression of IL-6-Mediated MicroRNAs in the dorsal root ganglion under neuropathic pain in mice, *Synapse*, 70 (2016) 317–324.
- 15) Imai, S., Saeki, M., Yanase, M., Horiuchi, H., Abe, M., Narita, M., Kuzumaki, N., Suzuki, T., Narita, M., Change in microRNAs associated with neuronal adaptive responses in the nucleus accumbens under neuropathic pain, *J. Neurosci.*, 31 (2011) 15294–15299.
- 16) Jin, H., Du, X.J., Zhao, Y., Xia, D.L., XIST/miR-544 axis induces neuropathic pain by activating STAT3 in a rat model, *J. Cell. Physiol.*, 233 (2018) 5847–5855.
- 17) Li, G., Jiang, H., Zheng, C., Zhu, G., Xu, Y., Sheng, X., Wu, B., Guo, J., Zhu, S., Zhan, Y., Lin, W., Ding, R., Zhang, C., Liu, S., Zou, L., Yi, Z., Liang, S., Long noncoding RNA MRAK009713 is a novel regulator of neuropathic pain in rats, *Pain*, 158 (2017) 2042–2052.
- 18) Liu, S., Zou, L., Xie, J., Xie, W., Wen, S., Xie, Q., Gao, Y., Li, G., Zhang, C., Xu, C., Xu, H., Wu, B., Lv, Q., Zhang, X., Wang, S., Xue, Y., Liang, S., LncRNA NONRATT021972 siRNA regulates neuropathic pain behaviors in type 2 diabetic rats through the P2X₇ receptor in dorsal root ganglia, *Mol. Brain*, 9 (2016) 44.
- 19) Liu, Z., Liang, Y., Wang, H., Lu, Z., Chen, J., Huang, Q., Sheng, L., Ma, Y., Du, H., Gong, Q., LncRNA expression in the spinal cord modulated by minocycline in a mouse model of spared nerve injury, *J. Pain Res.*, 10 (2017) 2503–2514.
- 20) López-González, M.J., Landry, M., Favereaux, A., MicroRNA and chronic pain: From mechanisms to therapeutic potential, *Pharmacol. Ther.*, 180 (2017) 1–15.
- 21) Masotti, A., Baldassarre, A., Guzzo, M.P., Iannuccelli, C., Barbato, C., Di Franco, M., Circulating microRNA profiles as liquid biopsies for the characterization and diagnosis of fibromyalgia syndrome, *Mol. Neurobiol.*, 54 (2017) 7129–7136.
- 22) Mathy, N.W., Chen, X.M., Long non-coding RNAs (lncRNAs) and their transcriptional control of inflammatory responses, *J. Biol. Chem.*, 292 (2017) 12375–12382.
- 23) Memczak, S., Jens, M., Elefsinioti, A., Torti, F., Krueger, J., Rybak, A., Maier, L., Mackowiak, S.D., Gregersen, L.H., Munschauer, M., Loewer, A., Ziebold, U., Landthaler, M., Kocks, C., le Noble, F., Rajewsky, N., Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency, *Nature*, 495 (2013) 333–338.
- 24) Natoli, G., Andrau, J.C., Noncoding transcription at enhancers: general principles and functional models, *Annu. Rev. Genet.*, 46 (2012) 1–19.
- 25) Pamudurti, N.R., Bartok, O., Jens, M., Ashwal-Fluss, R., Stottmeister, C., Ruhe, L., Hanan, M., Wyler, E., Perez-Hernandez, D., Ramberger, E., Shenzen, S., Samson, M., Dittmar, G., Landthaler, M., Chekulaeva, M., Rajewsky, N., Kadener, S., Translation of circRNAs, *Mol. Cell*, 66 (2017) 9–21 e27.
- 26) Park, C.K., Xu, Z.Z., Berta, T., Han, Q., Chen, G., Liu, X.J., Ji, R.R., Extracellular microRNAs activate nociceptor neurons to elicit pain via TLR7 and TRPA1, *Neuron*, 82 (2014) 47–54.
- 27) Peng, C., Li, L., Zhang, M.D., Bengtsson Gonzales, C., Parisien, M., Belfer, I., Usoskin, D., Abdo, H., Furlan, A., Häring, M., Lallemand, F., Harkany, T., Diatchenko, L., Hökfelt, T., Hjerling-Leffler, J., Ernfors, P., miR-183 cluster scales mechanical pain sensitivity by regulating basal and neuropathic pain genes, *Science*, 356 (2017) 1168–1171.
- 28) Peng, H., Zou, L., Xie, J., Wu, H., Wu, B., Zhu, G., Lv, Q., Zhang, X., Liu, S., Li, G., Xu, H., Gao, Y., Xu, C., Zhang, C., Wang, S., Xue, Y., Liang, S., LncRNA NONRATT021972 siRNA decreases diabetic neuropathic pain mediated by the P2X₃ receptor in dorsal root ganglia, *Mol. Neurobiol.*, 54 (2017) 511–523.
- 29) Peschansky, V.J., Wahlestedt, C., Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation, *Epigenetics*, 9 (2014) 3–12.
- 30) Plassais, J., Lagoutte, L., Correard, S., Paradis, M., Guaguère, E., Hédan, B., Pommier, A., Botharel, N., Cadiergues, M.C., Pilorge, P., Silversides, D., Bizot, M., Samuels, M., Arnan, C., Johnson, R., Hitte, C., Salbert, G., Méreau, A., Quignon, P., Derrien, T., André, C., A point mutation in a lincRNA upstream of GDNF is associated to a canine insensitivity to pain: a spontaneous model for human sensory neuropathies, *PLoS Genet.*, 12 (2016) e1006482.
- 31) Rybak-Wolf, A., Stottmeister, C., Glažar, P., Jens, M., Pino, N., Giusti, S., Hanan, M., Behm, M., Bartok, O., Ashwal-Fluss, R., Herzog, M., Schreyer, L., Papavasileiou, P., Ivanov, A., Ohman, M., Refojo, D., Kadener, S., Rajewsky, N., Circular RNAs in the mammalian brain are highly abundant, conserved, and dynamically expressed, *Mol. Cell*, 58 (2015) 870–885.
- 32) Sakai, A., Saitow, F., Miyake, N., Miyake, K.,

- Shimada, T., Suzuki, H., miR-7a alleviates the maintenance of neuropathic pain through regulation of neuronal excitability, *Brain*, 136 (2013) 2738–2750.
- 33) Sakai, A., Suzuki, H., Nerve injury-induced upregulation of miR-21 in the primary sensory neurons contributes to neuropathic pain in rats, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 435 (2013) 176–181.
 - 34) Sakai, A., Suzuki, H., microRNA and pain, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 888 (2015) 17–39.
 - 35) Sakai, A., Saitow, F., Maruyama, M., Miyake, N., Miyake, K., Shimada, T., Okada, T., Suzuki, H., MicroRNA cluster miR-17–92 regulates multiple functionally related voltage-gated potassium channels in chronic neuropathic pain, *Nat. Commun.*, 8 (2017) 16079.
 - 36) Salta, E., De Strooper, B., Noncoding RNAs in neurodegeneration, *Nat. Rev. Neurosci.*, 18 (2017) 627–640.
 - 37) Shao, J., Wang, J., Huang, J., Liu, C., Pan, Y., Guo, Q., Zou, W., Identification of lncRNA expression profiles and ceRNA analysis in the spinal cord of morphine-tolerant rats, *Mol. Brain*, 11 (2018) 21.
 - 38) Simeoli, R., Montague, K., Jones, H.R., Castaldi, L., Chambers, D., Kelleher, J.H., Vacca, V., Pitcher, T., Grist, J., Al-Ahdal, H., Wong, L.F., Perretti, M., Lai, J., Mouritzen, P., Heppenstall, P., Malcangio, M., Exosomal cargo including microRNA regulates sensory neuron to macrophage communication after nerve trauma, *Nat. Commun.*, 8 (2017) 1778.
 - 39) Smalheiser, N.R., Lugli, G., Torvik, V.I., Mise, N., Ikeda, R., Abe, K., Natural antisense transcripts are co-expressed with sense mRNAs in synaptoneurosomes of adult mouse forebrain, *Neurosci. Res.*, 62 (2008) 236–239.
 - 40) van Niel, G., D'Angelo, G., Raposo, G., Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 19 (2018) 213–228.
 - 41) Wang, K.C., Chang, H.Y., Molecular mechanisms of long noncoding RNAs, *Mol. Cell*, 43 (2011) 904–914.
 - 42) Wang, L., Luo, T., Bao, Z., Li, Y., Bu, W., Intrathecal circHIPK3 shRNA alleviates neuropathic pain in diabetic rats, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 505 (2018) 644–650.
 - 43) Wei, M., Li, L., Zhang, Y., Zhang, Z.J., Liu, H.L., Bao, H.G., LncRNA X inactive specific transcript contributes to neuropathic pain development by sponging miR-154–5p via inducing toll-like receptor 5 in CCI rat models, *J. Cell. Biochem.*, (2018) doi: 10.1002/jcb.27088.
 - 44) Weiß, K., Antoniou, A., Schratz, G., Non-coding mechanisms of local mRNA translation in neuronal dendrites, *Eur. J. Cell Biol.*, 94 (2015) 363–367.
 - 45) Wu, S., Marie Lutz, B., Miao, X., Liang, L., Mo, K., Chang, Y.J., Du, P., Soteropoulos, P., Tian, B., Kaufman, A.G., Bekker, A., Hu, Y., Tao, Y.X., Dorsal root ganglion transcriptome analysis following peripheral nerve injury in mice, *Mol. Pain*, 12 (2016) doi: 10.1177/1744806916629048.
 - 46) Yan, X.T., Lu, J.M., Wang, Y., Cheng, X.L., He, X.H., Zheng, W.Z., Chen, H., Wang, Y.L., XIST accelerates neuropathic pain progression through regulation of miR-150 and ZEB1 in CCI rat models, *J. Cell. Physiol.*, 233 (2018) 6098–6106.
 - 47) Zappulo, A., van den Bruck, D., Ciolli Mattioli, C., Franke, V., Imami, K., McShane, E., Moreno-Estelles, M., Calviello, L., Filipchuk, A., Peguero-Sanchez, E., Müller, T., Woehler, A., Birchmeier, C., Merino, E., Rajewsky, N., Ohler, U., Mazzoni, E.O., Selbach, M., Akalin, A., Chekulaeva, M., RNA localization is a key determinant of neurite-enriched proteome, *Nat. Commun.*, 8 (2017) 583.
 - 48) Zhao, X., Tang, Z., Zhang, H., Atianjoh, F.E., Zhao, J.Y., Liang, L., Wang, W., Guan, X., Kao, S.C., Tiwari, V., Gao, Y.J., Hoffman, P.N., Cui, H., Li, M., Dong, X., Tao, Y.X., A long noncoding RNA contributes to neuropathic pain by silencing Kcna2 in primary afferent neurons, *Nat. Neurosci.*, 16 (2013) 1024–1031.
 - 49) Zhao, Y., Li, S., Xia, N., Shi, Y., Zhao, C.M., Effects of XIST/miR-137 axis on neuropathic pain by targeting TNFAIP1 in a rat model, *J. Cell. Physiol.*, 233 (2018) 4307–4316.
 - 50) Zhou, J., Fan, Y., Chen, H., Analyses of long non-coding RNA and mRNA profiles in the spinal cord of rats using RNA sequencing during the progression of neuropathic pain in an SNI model, *RNA Biol.*, 14 (2017) 1810–1826.
 - 51) Zhou, J., Xiong, Q., Chen, H., Yang, C., Fan, Y., Identification of the spinal expression profile of non-coding RNAs involved in neuropathic pain following spared nerve injury by sequence analysis, *Front. Mol. Neurosci.*, 10 (2017) 91.

Address for correspondence: Atsushi Sakai
Department of Pharmacology,
Nippon Medical School
1–1–5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113–8602, Japan