



족삼리 양릉천 전침 자극 후 흰쥐 통증 모델에서 microRNA의 차등 발현

김소희¹ · 비슈누몰라칼라 신드후리² · 구성태^{2,3}

¹부산대학교 건강노화한의학연구소센터, ²부산대학교 한의학전문대학원 한의학과, ³부산대학교 한의학전문대학원 경락구조의학교실

Differential Expression of microRNAs Following Electroacupuncture Applied to ST36 and GB34 in Rat Models of Chronic Pain

So-Hee Kim¹, Vishnumolakala Sindhuri², Sungtae Koo^{2,3}

¹Korean Medicine Research Center for Healthy Aging, Pusan National University,

²Department of Korean Medical Science, School of Korean Medicine, Pusan National University,

³Division of Meridian and Structural Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University

Objectives : Some acupoints are commonly utilized to treat a variety of diseases. The acupoints appear to have a wide range of effects caused by several mechanisms. The purpose of this study is to investigate into the potential role of microRNAs (miRNAs) in the multipotent effects of individual acupoint stimulation. **Methods :** We examined the miRNA expressions in the dorsal root ganglia (DRG) of neuropathic or inflammatory pain rats following ST36 and GB34 electroacupuncture (EA) stimulation. Neuropathic pain was induced by L5 spinal nerve ligation. Inflammatory pain was induced by knee joint injection of Complete Freund's adjuvant (CFA). EA was given under gaseous anesthesia with the same parameters (1mA, 2Hz, 30 min) in 5 consecutive days. Pain behaviors and miRNA expressions were analyzed. **Results :** In rats with neuropathic and inflammatory pain, EA treatments significantly enhanced the paw withdrawal threshold and weight-bearing force. After nerve injury, 36 miRNAs were upregulated in the DRG of neuropathic rats, while EA downregulated 10 of them. Furthermore, 14 miRNAs were downregulated following nerve damage, while one was increased by EA. 15 miRNAs were increased in the DRG of inflammatory rats following CFA injection, while 5 were downregulated by EA. Furthermore, 17 miRNAs were downregulated following CFA injection, while 7 were increased by EA. The miRNAs rno-miR-335, rno-miR-381-5p, rno-miR-1306-3p, and rno-miR-1839-3p were regulated by EA in both models. **Conclusions :** In two pain models, EA applied to ST36 and GB34 regulated miRNA expression differently. There appeared to be both acupoint-specific and non-specific miRNAs, and miRNA regulation of differential protein expression may modulate a variety of EA mechanisms.

Key words : acupuncture, analgesic effect, neuropathic pain, inflammatory pain

Received November 17, 2022, Revised November 30, 2022, Accepted November 30, 2022

Corresponding author: **Sungtae Koo**

Department of Korean Medical Science, School of Korean Medicine, Pusan National University, 49 Busandaehak-ro, Mulgeum, Yangsan 50612, Korea

Tel: +82-51-510-8474, Fax: +82-51-510-8420, E-mail: stkoo@pusan.ac.kr

This work was supported by a 2-Year Research Grant of Pusan National University.

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

동아시아 문화권 나라에서는 2천년 이상 다양한 질환의 치료에 침구 치료를 사용하고 있다. 특히 임상에서 많이 활용되고 있는 족삼리, 양릉천 같은 경혈은 임상 연구에서 다양한 질환에 효과가 있다는 것이 보고¹⁻³⁾된 바 있다. 족삼리는 독비와 해계를 연결하는 선위, 독비에서 아래쪽으로 3촌에 위치하는 경혈로서 사총혈 중 하나이며, 위의 하합혈, 회양구침혈, 중풍침혈, 각기팔치혈에 속하는 경혈이다. 제반 관절염 통증 조절 뿐만 아니라 소화기계 질환, 양생혈로서 성인병 예방 효과, 피로회복, 면역력 증강, 강장작용, 상초혈 특히 두면부 제반 열증을 다스리는 데 사용하는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 양릉천은 종아리뼈머리에서 앞 면쪽 오목한 곳에 위치하는 경혈로서, 팔회혈 중 근회이며 담의 하합혈이다. 주로 근질환 및 하지병, 기기울체한 질환에 사용하기 때문에 근육, 건, 인대의 이완 강직으로 인한 여러 병증을 다스리는데 사용한다. 무릎관절 통을 비롯해서 경근이상으로 인한 흉협통, 협륵통, 편두통 같은 통증 조절 뿐만 아니라 요실금, 유노, 간양상항으로 인한 고혈압, 만성간염 치료에 사용하고, 장출혈, 자궁출혈, 월경과다에 지혈작용이 우수한 것으로 알려져 있다⁵⁾.

족삼리를 사용한 침의 항염증 작용 기전 연구에서 침의 항염증 효과는 체액, 소화기계, 신경계 및 다른 조직과 기관에서 염증 관련 유전자를 조절함으로써 나타나게 되고, 구체적인 족삼리 자침의 항염증 작용 기전으로 MAPK signaling pathway⁶⁾, TLR4/NF- κ B signaling⁷⁾, NGF/TrkA/TRPV1 peripheral afferent pathway⁸⁾, CX3CL1 signaling pathway⁹⁾, inhibition of miR-155¹⁰⁾ 같은 다양한 기전이 관여하는 연구결과가 보고되었다²⁾. 양릉천을 사용한 침 치료 효과는 Glucose transporter 3 발현 조절¹¹⁾, 장내 미생물 불균형 조절¹²⁾, 비만 관련 만성 염증 조절¹³⁾, alpha-synuclein 발현 조절¹⁴⁾ 같은 기전이 매개하는 것으로 알려져 있다.

이와 같은 한 경혈의 다양한 효과를 설명하기 위해서는 경혈 자극에 의해 여러 단백질 발현 조절이 가능한 microRNA (miRNA)의 역할이 중요할 것으로 보인다. miRNA는 약 22개의 핵산 (nucleotide)으로 이루어진 비 암호화(non-coding) 및 내인성 (endogenous) RNA로 전사 후 조절(post-transcriptional modification) 단계에서 타겟 유전자 mRNA의 3'UTR영역 내의 타겟 인식 부위에 결합하여 mRNA를 분해시키거나 유전자 침묵(gene silencing)을 통해 단백질 발현 억제를 조절 하는 것으로 알려져 있다¹⁵⁾. 만성 통증의 발생과 유지에는 신경 자체의 기능뿐만 아니라 유전자 발현의 변화에 기인하게 되며, miRNA는 유전자 조절에 중요한 기능을 가지고 있기 때문에 만성 통증 기전에서 miRNA의

역할에 대한 연구¹⁶⁻¹⁸⁾는 점차 증가하고 있다.

이 연구에서는 단일 경혈의 다양한 치료 효과 기전을 설명하기 위해 두 종류의 만성 통증 모델에서 족삼리, 양릉천에 동일한 조건으로 전침 처치한 후 말초 신경의 세포핵에 해당하는 배근 신경절에서 miRNA의 발현을 비교하여 경혈 자극에 의해서 공통적으로 조절되는 miRNA와 모델 특이적으로 조절되는 miRNA를 조사해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

Sprague Dawley계 수컷 백서(체중: 180~200 g)를 효창 사이언스(대구, 한국)에서 구입하였다. 동물은 온도(22±1°C)와 상대 습도(55°C±10%)가 조절되며, 주야 12시간(낮: 08:00~20:00, 밤: 20:00~08:00)이 교체가 되는 랫 전용 동물실에서 사육하였다. 깔짚을 충분히 넣은 플라스틱 케이지에 백서를 2~3마리씩 넣었다. 물과 고형사료는 충분히 제공하고 자유로이 먹고 거닐도록 하여 스트레스를 최소화하였다. 동물은 사육 환경에서 최소 일주일 동안 적응기간을 거친 후 실험에 사용하였다.

본 연구의 모든 동물 실험은 부산대학교 동물실험윤리위원회의 승인 후 실시하였다(승인번호: PNU-2021-2886). 미국 국립보건원(National Institute of Health)에서 발행된 실험동물 관리와 사육에 대한 가이드라인에 준수하여 수행되었다.

2. 실험군 분류

총 36마리의 쥐를 실험에 사용하였다. 사육실에서 일주일간 적응 기간을 거친 후, 신경병증성 통증(neuropathic pain) 모델은 L5 척수신경 결찰(spinal nerve ligation; SNL)로 통증을 유발시킨 후 전침 자극 없이 마취만 한 Ane 군(n=6), SNL 수술 후 전침을 처치한 Acu 군(n=6), L5 척수신경 부위의 등 근육을 정중선 절개한 후 근육과 피부를 봉합한 Sham surgery (Sham) 군(n=6)으로 쥐를 무작위로 배정하였다.

염증성 통증 모델은 관절강에 생리식염수를 주입한 Sham injection (Sham) 군(n=6), 관절강에 CFA를 주입하여 무릎관절염을 유발 후 침 자극 없이 마취만 한 Ane 군(n=6), 및 전침을 처치한 Acu 군(n=6)으로 나누었다.

3. 통증 모델 유발

1) **신경병증성 통증 모델:** 신경병증성 통증은 L5 척수신경을 결

찰하는 방법으로 유도하였다¹⁹⁾. O₂가 혼합된 3% Isoflurane (Piramal Critical Care, Inc., PA, U.S.A)을 이용하여 흡입 마취한 후 1.5% 농도에서 마취를 유지하였다. 쥐의 옆드린 자세에서 등의 하부 면도 후, 후장골능선 근처 2 cm 피부 절개 후, 좌측 요부 척수 신경을 찾고, 현미경하에서 좌측 제 6요추부 횡돌기와 천추부를 잘 노출시킨 후, 제 6요추부 횡돌기 일부를 제거하고 척추간공을 통해 나와 비스듬히 외하부로 함께 진행하는 제 4, 5 요부척수신경을 찾아 유리봉으로 조심스럽게 분리한 후, 제 5 요부 척수신경을 후근신경절(dorsal root ganglia, DRG) 원위부에서 6-0호 명주실로 두 번 단단히 결찰하였다. 수술부위를 지혈하고 4-0호 명주실로 근육과 피부를 봉합하였다.

2) 염증성 통증 모델: 염증성 통증 모델은 실험동물을 위에 기술한 방법과 같이 마취한 후, 실험동물의 오른쪽 무릎 주위의 털을 깎은 후 스크류 너들 29G (WJN001, (주)필텍, 군산)와 1 mL/cc 주사기를 이용하여 오른쪽 무릎 관절강 내에 CFA (Completed Freund's Adjuvant; SIGMA F5881-10ML, St. Louis, Mo, U.S.A.) 125 μ l를 주입하여 유발하였다.

4. 전침 자극

위에서 기술한 방법으로 세 군 모두 가스 마취한 후, 전침군(Acu 군)에서 건측 족삼리(ST36)과 양릉천(GB34)에 0.25 mm 직경 40 mm 길이의 호침을 5 mm 깊이로 자침 한 후 전극을 연결하여 2 Hz, 1 mA의 세기로 30분, 5일 동안 전침 자극을 실시하였다. Sham 군과 Ane 군은 전침군과 동일한 시간 마취를 유지하였다. 실험동물에서 족삼리는 앞정강근 중점에서 정강뼈 거친면의 기쪽에서 취혈하였고²⁰⁾, 양릉천은 종아리뼈 머리의 앞면쪽 모퉁한 곳 취혈하였다²⁰⁾. 신경병증성 통증 모델에서는 통증이 충분히 발생한 수술후 3일째에 행동검사를 후 전침 자극을 시작하였고, 염증성 통증 모델에서는 통증이 제일 심한 시기인 CFA 주입 후 2일 째에 행동검사를 후 전침 자극을 시작하였다.

5. 통증 행동 검사

신경병증성 통증 모델의 통증 행동검사는 기계적 이질통(mechanical allodynia)을 측정하여 분석하였다. 기계적 이질통은 Dynamic Plantar Anesthesiometer (Ugo Basile, Italy)를 사용하여 뒷발 회피 역치(paw withdrawal threshold)를 측정하였다. 뒷발 회피 역치 검사를 위해 격자가 3 mm인 철망 위에 아래와 위가 없는 투명한 아크릴 사각통(길이 20 cm, 높이 10 cm, 폭 10 cm)에 실험동물을 넣어 놓고 30분간 적응시킨다. 철망 격자 사이로 발가락 3번과 4번 사이의 도톰한 부위에 Von Frey filament 자극을

준 후 발을 회피하거나 움찔(flinching)거리는 반응을 보일 때 양성 반응으로 간주하였다. 5분 간격으로 총 3회 실시하였다.

염증성 통증 모델의 통증성 행동 검사는 자연스럽게 걸을 때 뒷발이 딛는 힘(weight bearing force)을 측정하였다. 동물이 불투명한 아크릴로 된 좁은 통로(길이 80 cm, 높이 10 cm, 폭 10 cm)를 자유롭게 보행하는 동안 중앙에 위치한 전자 저울에 발이 딛는 압력을 측정하였다. 저울에서 측정된 압력의 변화는 strain gauge를 통하여 전압의 변화로 변환된 전기신호를 AD convertor (CED 1401 Cambridge Electronic Design Ltd, UK)와 Spike 2 버전 6.18프로그램(Cambridge Electronic Design Ltd, UK)을 통해 측정하였다.

통증 행동 검사는 실험 모델을 유도하기 전과 전침 처치 전에 측정하였고, 2회, 5회차 전침 처치 후 다음날 오전에 측정하였다.

6. 척수 후근 신경절(dorsal root ganglia, DRG) 조직 채취

마지막 통증 행동 검사를 한 후, Pentobarbital sodium (50 mg/kg) (Sigma, St. Louis, Mo, U.S.A)을 복강 내 투여하여 쥐를 마취시킨 후 좌심실을 통하여 400 ml의 phosphate buffered saline (pH7.4)로 관류하여 혈액을 제거한 후 동측 L5 DRG를 재발리 적출하였다. 그룹 별로 DRG시료를 한 E-tube에 모은 후 액체 질소에 급냉하여 -80°C 초저온냉동고에 보관하였다.

7. miRNA 마이크로 어레이

miRNA 추출은 동측 L5 DRG 조직에서 mirVana™ miRNA isolation kit (ThermoFisher, PA, U.S.A)를 이용하였다. 130 ng의 miRNA를 FlashTag™ Biotin RNA Labeling Kit (Genisphere, Hatfield, PA, USA)를 이용하여 biotin 표지 한 후, 99°C에서 5분 45°C에서 5분 열처리하였다. 그리고 나서, Affymetrix Hybridization오븐에서 48°C 온도에서 16시간 동안 유전자 하이브리다이제이션(hybridization)하였다. 칩을 세척 후 Genechip Fluidics Station 450 (Affymetrix, Santa Clara, California, U.S.A)을 이용하여 염색하고, Affymetrix GCS 3000 scanner (Affymetrix, Santa Clara, California, United States)으로 스캔하였다. 형광신호의 크기는 Affymetrix® GeneChip™ Command Console software를 이용하여 정량화하였다. 유의미한 miRNA 발현을 조사하기 위하여 1.5배 증가 또는 감소한 것을 대상으로 비교 분석하였다.

8. 통계분석

통증 행동 측정 결과는 평균±표준오차(S.E.M)로 표시하였고,

각 구간 행동 실험 결과는 GraphPad Prism 9을 사용하여 이원분산분석(Two Way ANOVA) 후 사후 검정은 Dunnett's multiple comparison test를 사용하였다. p 값이 0.05보다 작은 경우 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. 족삼리, 양릉천 전침의 2종류 만성통증 모델에서 진통 효과

흰쥐 L5 척수신경을 결찰하여 신경병증성 통증을 유발한 후, 수술 3일째부터 족삼리와 양릉천에 5일간 전침을 처치하였다. Von Frey filament로 발바닥 회피 반응 역치를 조사한 결과, 신경 손상 후 3일째 대조군(Ane) 및 전침군(Acu)의 회피 반응 역치는 각각 14.93 ± 0.80 및 16.42 ± 0.97 이었으나, 2회 전침 처치후에는 회피 반응 역치의 유의미한 증가($p < 0.0002$)가 관찰되었다. (Ane: 14.25 ± 0.65 및 Acu: 20.68 ± 0.75) 전침 처치 회수가 누적될 수록 회피 반응 역치는 계속적으로 유의적으로 증가($p < 0.0001$)하여 5회 전침 처치 후인 수술 8일째 Ane 군은 15.84 ± 0.51 , Acu군은 26.75 ± 0.84 를 나타내었다. Sham 군에서는 측정 기간 동안 의미 있는 변화는 나타나지 않았다(Fig. 1).

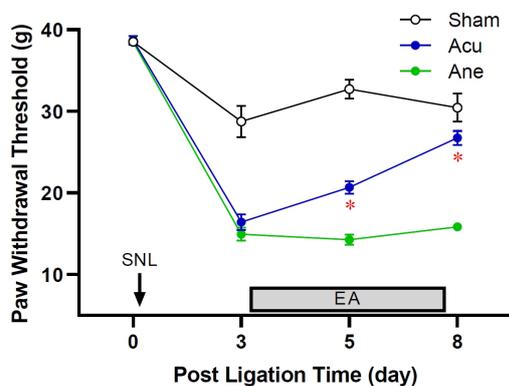


Fig. 1. Effects of EA applied to ST36 and GB34 on paw withdrawal threshold in the rat model of neuropathic pain.

It shows the average values (\pm SEM) of paw withdrawal threshold. Neuropathic pain was induced by tight ligation of L5 spinal nerve. The same procedure without spinal nerve ligation (SNL) was performed into the Sham group. SNL rats were randomly assigned to one of two groups: Acu or Ane. For five days, rats in the Acu group were given EA daily from day 3 to day 7 following ligation. Both the Sham and Ane groups were given gaseous anesthesia with the same time as the Acu group. The paw withdrawal threshold of the Acu animals increased significantly after day five. Symbols indicate values significantly different ($p < 0.05$) from the Ane value by the two-way ANOVA followed by the Dunnett's multiple comparison test. All group are each of 6 animals.

족삼리 양릉천 전침의 염증성 통증 모델에서 진통 효과를 알아보기 위해, CFA를 흰쥐의 무릎 관절강에 주입하여 통증을 유발한 후, 통증이 가장 심하게 발생하는 CFA주입 후 2일째부터 족삼리와 양릉천에 5일간 전침을 처치하였다. 통증 행동은 체중 대비 관절염이 유발된 뒷발이 딛는 압력을 측정하여 백분율로 표시하여 측정값(weight bearing ratio; WBR)으로 사용하였다. Sham 군에서는 유의미한 WBR 변화가 관찰되지 않았다. CFA 주입 2일째, 대조군(Ane) 및 전침군(Acu)은 WBR이 각각 14.05 ± 3.03 및 16.73 ± 4.69 이었다. 전침군은 2회 전침 처치 후 대조군(23.81 ± 4.20)과 비교하였을 때 WBR이 유의하게 증가(44.38 ± 4.7 , $p = 0.0222$)하였다. 반복적인 전침 처치 후 계속적으로 WBR이 증가하여 5회 전침 처치 후인 CFA 주입 7일째 Ane군은 28.38 ± 2.9 인 반면에 Acu군은 58.41 ± 5.79 로 유의하게 증가($p = 0.0052$)하였다(Fig. 2).

2. 통증 모델별 miRNA 발현 변화

신경병증성 통증 및 염증성 통증 모델에서 5회차 전침 자극 효과를 확인하기 위한 행동 측정을 한 이후에 L5 DRG조직을 채취하여 miRNA microarray를 실시하였다. 신경병증성 통증 모델에서는 Sham 군 대비 발현이 1.5배 이상 증가한 miRNA는 36개이고, 이 중 10개 miRNA가 전침 자극에 의해 발현이 감소하였다. 전침 자극에 의해서 Ane 군 대비 발현이 감소한 miRNA는 19개였다

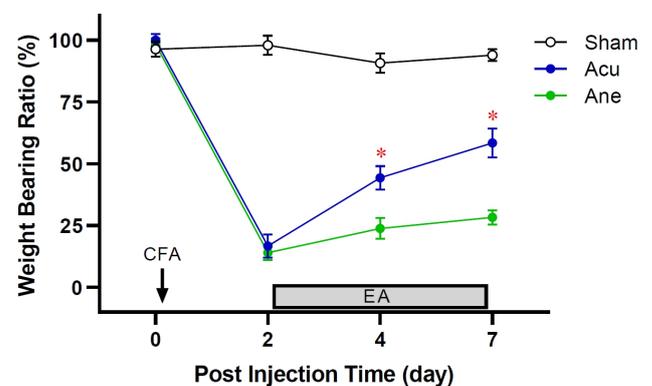


Fig. 2. Effects of EA applied to ST36 and GB34 on weight bearing ratio in the rat model of inflammatory pain.

It shows the average values (\pm SEM) of weight bearing ratio. Inflammatory pain was induced by CFA injection into knee joint. The identical volume of normal saline was administered into the Sham group. CFA-injected rats were randomly assigned to one of two groups: Acu or Ane. For five days, rats in the Acu group were given EA daily from day 2 to day 6 following injection. Both the Sham and Ane groups were given gaseous anesthesia with the same time as the Acu group. The weight bearing ratio of the Acu animals increased significantly after day four. Symbols indicate values significantly different ($p < 0.05$) from the Ane value by the two-way ANOVA followed by the Dunnett's multiple comparison test. All group are each of 6 animals.

(Fig. 3A, Table 1). 반면 Sham 군 대비 발현이 1.5 배 이상 감소한 miRNA는 14개이고, 이 중 1개 miRNA가 전침 자극에 의해 발현이 증가하였다. 전침 자극에 의해서 Ane 군 대비 발현이 증가한 miRNA는 5개였다(Table 2, Fig. 3B).

이 중 신경손상 후 발현이 2배 이상 증가한 miRNA는 rno-miR-10b-3p, rno-miR-212-5p, rno-miR-381-5p, rno-miR-455-5p, rno-miR-146b-3p 총 5개이었다. 이들은 모두 전침 처치 후 발현이 1.62~2.09배 감소하였다. 반면, rno-miR-335는 신경손상 후 발현이 2.95배 감소하였으나, 전침 처치 후 1.69배 증가하였다(Table 1, 2).

염증성 통증 모델에서는 Sham 군 대비 발현이 1.5배 이상 증가한 miRNA는 15개이고, 이 중 5개 miRNA가 전침 자극에 의해 발현이 감소하였다. 전침 자극에 의해서 Ane 군 대비 발현이 감소한 miRNA는 10개였다(Fig. 3C, Table 1). 반면 Sham 군 대비 발현이 1.5배 이상 감소한 miRNA는 17개이고, 이 중 7개 miRNA가 전침 자극에 의해 발현이 증가하였다. 전침 자극에 의해서 Ane 군 대비 발현이 증가한 miRNA는 20개였다(Fig. 3D, Table 2).

CFA 주입 후 발현이 증가한 miRNA 중 rno-miR-212-3p, rno-miR-335, rno-miR-381-5p, rno-miR-1306-3p, rno-miR-3562 5개 모두 전침 처치에 의해 발현이 감소하였다(Table 1). 반면, CFA 주입 후 발현이 감소한 miRNA 중 rno-miR-7a-5p,

rno-miR-29c-5p, rno-miR-223-3p, rno-miR-329-5p, rno-miR-337-3p, rno-miR-380-3p, rno-miR-1839-3p 7개의 miRNA가 전침 처치 후 발현이 1.58~2.40배 증가하였다(Table 2). 흥미롭게도 rno-miR-381-5p는 두 통증모델에서 모두 증가한 반면 전침 처치 후 발현이 감소하였다. rno-miR-335는 신경병증성 통증 모델에서는 발현이 감소하고 전침 자극군에서는 발현이 증가하였고, 염증성 통증모델에서는 발현이 증가하고 전침 자극군에서는 발현이 감소하였다.

고찰

대표적인 만성 통증 모델인 L5 척수신경을 결찰하여 유도한 신경병증성 통증 모델과 CFA를 관절강에 주입하여 유도한 염증성 통증 모델에서 족삼리, 양릉천 전침의 진통효과를 확인하였다. 족삼리, 양릉천에 자침하여 동일한 조건(1 mA, 2 Hz, 30분/1회, 5일 연속)으로 전침 자극을 주었기 때문에 두 모델에서 동일한 진통 기전이 작동했을 수도 있지만, 일반적으로 신경병증성 통증과 염증성 통증은 병태생리가 서로 다르기 때문에 족삼리 양릉천 전침의 진통 효과 또한 서로 다른 기전이 매개할 가능성이 있다. 실제 족삼리와 양릉천은 임상에서도 다양한 질환에 사용^{1,3)}되고 있으며, 족삼

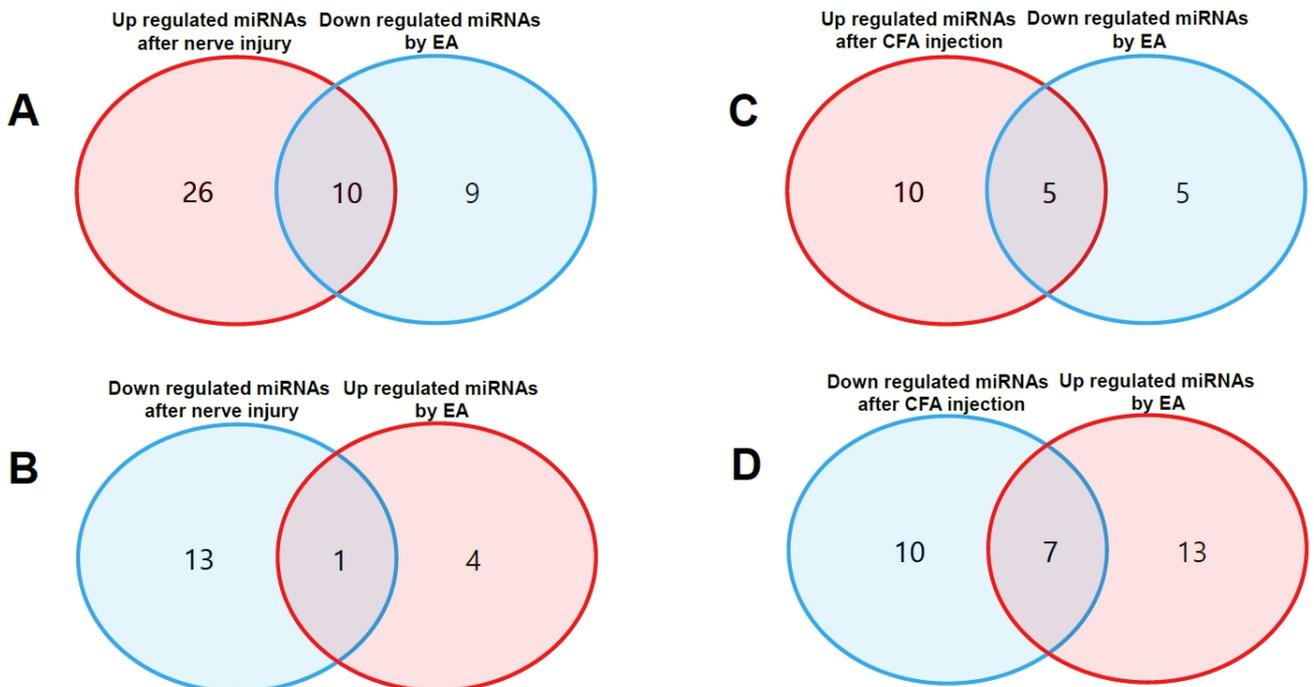


Fig. 3. Number of miRNAs regulated by EA in neuropathic pain (A, B) and in inflammatory pain (C, D).

Table 1. Down-regulated miRNAs by EA treatment in the rat dorsal root ganglia with neuropathic pain and inflammatory pain (cut-off fold change > 1.5)

	Up regulated miRNAs following pain induction	Down regulated miRNAs by EA
Neuropathic pain	rno-let-7d-3p	rno-miR-7a-2-3p
	rno-miR-10b-3p*	rno-miR-9a-5p
	rno-mir-17-1-3p	rno-miR-10b-3p*
	rno-mir-17-1-5p	rno-miR-20b-3p
	rno-miR-21-5p	rno-miR-146b-3p*
	rno-miR-23a-5p	rno-miR-155-5p*
	rno-miR-32-3p	rno-miR-181c-5p*
	rno-miR-34b-3p	rno-miR-211-3p
	rno-miR-101a-5p	rno-miR-212-5p*
	rno-miR-146b-3p*	rno-miR-218a-5p
	rno-miR-146b-5p	rno-miR-299b-5p
	rno-miR-155-5p*	rno-miR-344b-1-3p
	rno-miR-181c-3p	rno-miR-381-5p*
	rno-miR-181c-5p*	rno-miR-411-3p
	rno-miR-188-5p	rno-miR-425-3p*
	rno-miR-210-5p	rno-miR-455-5p*
	rno-miR-212-5p*	rno-miR-1306-3p*
	rno-miR-221-3p	rno-miR-1839-3p*
	rno-miR-222-3p	rno-miR-3102
	rno-miR-224-5p	
	rno-miR-296-3p	
	rno-miR-341	
	rno-miR-370-3p	
	rno-miR-376b-3p	
	rno-miR-380-3p	
	rno-miR-381-5p*	
	rno-miR-425-3p*	
	rno-miR-455-5p*	
	rno-miR-485-3p	
	rno-mir-494	
	rno-miR-666-5p	
	rno-miR-675-3p	
	rno-miR-770-3p	
rno-miR-872-3p		
rno-miR-1306-3p*		
rno-miR-1839-3p*		
Inflammatory pain	rno-miR-1-3p	rno-miR-7a-1-3p
	rno-let-7d-3p	rno-miR-181c-3p
	rno-miR-21-5p	rno-miR-124-5p
	rno-miR-199a-3p	rno-miR-212-3p*
	rno-miR-199a-5p	rno-miR-335*
	rno-miR-205	rno-miR-381-5p*
	rno-miR-206-3p	rno-miR-671
	rno-miR-212-3p*	rno-miR-673-5p
	rno-miR-214-3p	rno-miR-1306-3p*
	rno-miR-298-5p	rno-miR-3562*
	rno-miR-299b-5p	
	rno-miR-335*	
	rno-miR-381-5p*	
	rno-miR-1306-3p*	
	rno-miR-3562*	

Symbol (*) indicates overlapped miRNA.

Table 2. Up-regulated miRNAs by EA treatment in the rat dorsal root ganglia with neuropathic pain and inflammatory pain (cut-off fold change > 1.5)

	Down regulated miRNAs following pain induction	Up regulated miRNAs by EA
Neuropathic pain	rno-miR-7a-5p	rno-miR-299a-3p
	rno-miR-7a-2-3p	rno-miR-335*
	rno-miR-29c-5p	rno-miR-376a-3p
	rno-miR-96-5p	rno-miR-412-3p
	rno-miR-98-5p	rno-miR-496-3p
	rno-miR-133a-5p	
	rno-miR-137-3p	
	rno-miR-196c-5p	
	rno-miR-216b-5p	
	rno-miR-217-5p	
	rno-miR-335*	
	rno-miR-362-3p	
	rno-miR-365-5p	
	rno-miR-6215	
	Inflammatory pain	rno-miR-7a-5p*
rno-miR-29c-5p*		rno-miR-9a-5p
rno-miR-93-3p		rno-miR-21-5p
rno-miR-106b-5p		rno-miR-29c-5p*
rno-miR-124-5p		rno-miR-196c-5p
rno-miR-216a-5p		rno-miR-218a-5p
rno-miR-223-3p*		rno-miR-223-3p*
rno-miR-301a-3p		rno-miR-297
rno-miR-329-5p*		rno-miR-325-3p
rno-miR-337-3p*		rno-miR-328b-3p
rno-miR-380-3p*		rno-miR-329-5p*
rno-miR-410-3p		rno-miR-337-3p*
rno-miR-665		rno-miR-380-3p*
rno-miR-673-5p		rno-miR-352
rno-miR-1839-3p*		rno-miR-344g
rno-miR-3068-5p	rno-miR-493-5p	
rno-miR-3594-5p	rno-miR-598-3p	
	rno-miR-702-5p	
	rno-miR-1839-3p*	
	rno-miR-1843-3p	

Symbol (*) indicates overlapped miRNA.

리 또는 양릉천을 사용한 실험 연구에서도 다양한 치료 기전^{28,9,11,12}이 보고된 바 있다. 이 연구에서는 한 경혈이 가진 다양한 효과를 설명하기 위하여 miRNA가 중요한 역할을 할 수 있다는 가능성을 확인하였다.

miRNA는 mRNA를 분해하거나 유전자 침묵(gene silencing)에 의해 단백질 발현을 조절하는 것으로 알려져 있다. miRNA에 의한 단백질 발현 억제 기전은 miRNA와 miRNA 사이의 네트워크 복합체에 의한 상호작용의 결과로 나타난다. 실제로, 하나의 단일 miRNA는 여러 유전자를 표적으로 할 수 있지만 동시에 하나의 유전자는 여러 miRNA에 의해 표적이 될 수 있다²¹. 이러한 상호

작용은 miRNA 서열과 표적 mRNA의 3' 비번역 영역(untranslated region: UTR)에 있는 특정 서열 사이의 결합에 의해 가능해진다. miRNA가 표적 mRNA에 결합함으로써 대부분 번역 억제 또는 mRNA 분해에 의해 세포질에서 유전자 발현의 post-transcriptional 조절이 시작한다. 실제로 miRNA-RISC 매개 유전자 억제는 부위 특이적 절단, mRNA 붕괴의 증가, 번역 억제와 같은 3가지 기전을 통하여 발생한다¹⁵⁾.

miRNA는 특히 중추신경계에 풍부하며, miRNA의 생산과 작용은 신경 활동에 의해 조절²²⁾되며, 뉴런에서의 miRNA 생합성은 신경 활성에 의존적이다. 따라서, 신경 활성은 miRNA의 생합성과 관련된 단백질의 번역 후 변형/분해를 유도할 수 있다. 만성 통증은 지속적인 침해 수용성 과민반응으로 특정할 수 있으며, 만성 통증의 발생과 유지에는 신경 기능과 유전자 발현의 변화에 기인하게 된다. microRNA는 유전자 조절에 중요한 기능을 가지고 있기 때문에 다양한 동물 모델에서 만성 통증 기전에서 이들의 역할에 대한 연구는 점차 증가하고 있다. 2010년 Zhao 등에 의해 통증 기전에 miRNA가 관여한다는 연구¹⁶⁾가 발표되었다. 이 연구에서 그들은 염증성 통증 모델에서 후근 신경절의 침해수용성 뉴런에서 Dicer 효소 제거한 실험을 통하여 miRNA의 중요성을 보여주었다. Dicer가 없으면 침해수용성 뉴런에서 miRNA가 만들어 지지 않게 되고, 결과적으로 염증성 통증이 완화되었다. 또한 miRNA 마이크로레이와 침침 시퀀싱을 사용하여 마우스 Nav1.8+통각 수용체에서 nociceptor 유전자 조절에 관여할 가능성이 있는 새로운 miRNA를 확인하였다.

통증 모델에서 miRNA의 발현을 보고한 최초의 연구는 CFA를 흰쥐의 저작근에 주입하여 유도한 염증성 통증 모델에서 수행한 연구¹⁷⁾이다. 이 연구에서 저자들은 삼차 신경절에서의 발현과 뉴런 가소성에 대한 관련성에 기반하여 10개의 miRNA를 선택하였다. qRT-PCR 분석에 의해, 그들은 염증이 있는 동물의 삼차신경절에서 성숙한 miR-10a, miR-29a, miR-98, miR-99a, miR-124a, miR-134 및 miR-183의 하향 조절을 보여주었다.

신경병증성 통증 모델에서 miRNA 발현에 대한 연구도 활발히 진행되었다. 신경병성 통증의 가장 일반적인 모델인 척수신경절찰(spinal nerve ligation: SNL) 모델에서 miRNA에 대해 스크리닝을 최초로 시도하였다. Aldrich 등은 miR-96, miR-182 및 miR-183을 포함하는 miRNA의 감각 기관 특이적 클러스터에 대한 분석하였다. qRT-PCR을 통하여 Aldrich 등은 이 miRNA 클러스터가 성체 쥐의 DRG에서 높게 발현된다는 것을 확인하였다. 그들은 수술 2주 후에 이 miRNA가 신경병증성 통증 쥐 모델의 DRG에서 하향 조절된다는 것을 보여주었다²³⁾. 나중에 Kusuda 등은 마우스 엑손

절제 모델에서 배근 신경절과 척수에서 선택된 miRNA의 발현을 조사하였다. 그들은 신경계에서의 발현과 예측된 통증 관련 표적 유전자를 기반으로 miR-1, miR-16, miR-122a 및 miR-206의 4가지 miRNA를 선택하였다. 흥미롭게도 miR-1은 DRG와 척추의 후각에서 차등 발현을 보였다. 따라서 miR-1은 수술 후 1일, 3일 및 7일 후에 DRG에서 유의하게 상향 조절되는 반면, 1일부터 7일까지는 척추의 후각에서 하향 조절되었다¹⁸⁾. 이 연구는 통증 경로의 다양한 수준에서 miRNA 발현이 만성 통증 상태에서 서로 반대되는 조절 작용을 할 수 있음을 보여주며, 이는 뉴런 유형에 따라 동일한 miRNA가 다른 역할을 한다는 것을 시사한다.

신경병증성 통증 모델에서 신경 손상 후 DRG에서 발현이 증가한 miRNA 중 족삼리 양릉천 전침 군에서는 발현이 감소(down-regulation)한 miRNA에는 rno-miR-10b-3p, rno-miR-212-5p, rno-miR-381-5p, rno-miR-455-5p, rno-miR-455-5p, rno-miR-146b-3p가 있었다. 그 중 rno-miR-10b-3p는 뇌허혈/재관류 모델에서 뇌신경보호 효과 기전에 관여²⁴⁾하고, rno-miR-212-5p는 연골세포 파괴를 억제²⁵⁾하는 효과가 보고되었다. 또한 rno-miR-381-5p는 근육 성장과 발육에 중요한 역할²⁶⁾을 하는 것으로 밝혀졌다. rno-miR-455-5p는 척수 손상 모델에서 오토파지를 향상시키고 뉴런의 세포 사멸을 억제함으로써 신경보호 효과가 있음²⁷⁾이 보고되었다. rno-miR-146b-3p는 체장암 세포의 분화를 억제하고 세포사멸을 유도²⁸⁾한다.

반면, 신경병증성 통증 모델에서 신경 손상 후 DRG에서 발현이 감소한 miRNA 중 족삼리, 양릉천 전침 군에서는 발현이 증가(up-regulation)한 miRNA인 rno-miR-335는 골관절염과 깊은 연관이 있으며^{29,30)} 타겟 유전자인 neurexin 1은 신경병증성 통증 조절에 관여하는 것으로 알려져 있다³¹⁾.

염증성 통증 모델에서 통증 유발 후 DRG에서 발현이 증가한 miRNA 중 족삼리, 양릉천 전침 군에서는 발현이 감소(down-regulation)한 miRNA에는 rno-miR-212-3p, rno-miR-335, rno-miR-381-5p, rno-miR-1306-3p, rno-miR-3562 등이 있었다. rno-miR-212-3p는 비교적 연구가 활발히 진행된 miRNA로서 다양한 기능이 알려져 있다. miR-212-3p/GDF5/SMAD pathway를 통하여 neuroinflammation을 조절³²⁾하기도 하고, 실제 류마티드 관절염 환자에서 발현이 증가해 있으며, miR-212-3p를 감소 발현시켜 활막 세포의 세포사멸을 억제하는 효과가 있음이 보고³³⁾되었다. rno-miR-335, rno-miR-381-5p는 신경병증성 통증 모델에서 전침에 의해 각각 증가 또는 감소 발현한 miRNA로서 족삼리, 양릉천의 다중효과(multi-potent) 작용과 관련이 있을 것으로 보인다. 한편, rno-miR-1306-3p와 rno-miR-3562는 통증 조절

에 대한 연구가 아직 알려져 있지 않다.

염증성 통증 모델에서 통증 유발 후 DRG에서 발현이 감소한 miRNA 중 족삼리, 양릉천 전침 군에서는 발현이 증가(up-regulation)한 miRNA에는 rno-miR-7a-5p, rno-miR-29c-5p, rno-miR-223-3p, rno-miR-329-5p, rno-miR-337-3p, rno-miR-380-3p, rno-miR-1839-3p 등 7개가 있었다.

rno-miR-7a-5p를 과발현시켰을 때 교세포 활성을 감소시켰으며³⁴⁾, rno-miR-29c-5p는 허혈성 뇌졸중 환자의 임상 샘플에서 매우 높게 발현되어 있으며, 성상세포에서 lipoprotein receptor-related protein 6 (LRP6)의 발현을 조절하기도 한다³⁵⁾. rno-miR-223-3p를 과발현시키면 삼차신경 신경병증성 통증을 감소시키며, pro-inflammatory cytokine 레벨을 감소시킨다³⁶⁾. rno-miR-337-3p는 요추의 후관절 골관절염 환자의 활막 조직에서 낮게 발현되는 것이 보고되었고, miR-337-3p를 증가 발현시키면 활막 fibroblast의 염증 반응을 억제함으로써 골관절염을 보호하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다³⁷⁾. HIF-1alpha가 miR-380-3p/NLRP3의 상호작용에 의해 척수 손상 모델의 염증 감소시킨다는 연구가 보고되었다³⁸⁾. 한편, rno-miR-329-5p와 rno-miR-1839-3p에 대한 연구는 확인되지 않았다.

이론상으로는 하나의 miRNA가 다수의 유전자 발현을 조절할 수 있기 때문에 경혈 자극에 의해 증가 발현 또는 감소 발현되는 miRNA가 경혈의 다중 효과에 중요한 역할을 할 것으로 사료된다. 이 연구는 경혈의 다중 효과를 설명하는데 miRNA 발현 조절이 중요한 역할을 할 수 있다는 가능성을 확인하는 최초의 연구로서 조금 더 명확한 역할을 밝히기 위해 향후 추가적인 연구를 통하여 전침에 의해 발현이 조절되는 miRNA의 표적 단백질을 찾고 족삼리, 양릉천 전침의 진통 기전을 매개하는지 확인하는 연구가 필요할 것으로 사료된다. 또한 전침 자극에 의해 발현이 증가하는 miRNA의 경우 해당 miRNA 발현을 억제했을 때 전침의 효과가 차단되는지 여부 등을 확인하는 연구도 필요할 것이다.

결 론

경혈의 다양한 치료 효과 기전을 설명하기 위해 두 종류의 만성 통증 모델에서 족삼리, 양릉천에 동일한 조건으로 전침 처치 후 진통 효과를 확인하였고, 후근 신경절에서 조절되는 miRNA를 확인하였다. 아울러 족삼리, 양릉천 전침에 의해 두 모델에서 공통으로 조절되는 miRNA와 각 모델에서 특이적으로 조절되는 miRNA가 있음을 확인하였다. 이와 같은 결과는 한 경혈 자극이 특정

miRNA 발현을 조절함으로써 다양한 치료효과 기전에 관여할 수 있음을 시사한다.

Acknowledgement

None.

Funding

This work was supported by a 2-Year Research Grant of Pusan National University.

Data availability

The authors can provide upon reasonable request.

Conflicts of interest

저자들은 아무런 이해 상충이 없음을 밝힌다.

References

1. Scharf HP, Mansmann U, Streitberger K, Witte S, Kramer J, Maier C, et al. Acupuncture and knee osteoarthritis: a three-armed randomized trial. *Ann Intern Med.* 2006 ; 145(1) : 12-20. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-145-1-200607040-00005>
2. Oh JE, Kim SN. Anti-inflammatory effects of acupuncture at ST36 point: a literature review in animal studies. *Front Immunol.* 2021 ; 12 : 813748. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.813748>
3. Li L, Zhu W, Lin G, Chen C, Tang D, Lin S, et al. Effects of acupuncture in ischemic stroke rehabilitation: a randomized controlled trial. *Front Neurol.* 2022 ; 13 : 897078. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.897078>
4. Meridians and Acupoints Compilation Committee of Korean Medical Colleges. *Acupuncture points.* Seoul: Jungdam Publishing.

- 2020 : 245-251.
5. Meridians and Acupoints Compilation Committee of Korean Medical Colleges. *Acupuncture points*. Seoul: Jungdam Publishing. 2020 : 346-360.
 6. Wang Z, Yi T, Long M, Gao Y, Cao C, Huang C, et al. Electroacupuncture at Zusanli Acupoint (ST36) suppresses inflammation in allergic contact dermatitis via triggering local IL-10 production and inhibiting p38 MAPK activation. *Inflammation*. 2017 ; 40(4) : 1351-64. <https://doi.org/10.1007/s10753-017-0578-5>
 7. Zhao YX, Yao MJ, Liu Q, Xin JJ, Gao JH, Yu XC. Electroacupuncture treatment attenuates paclitaxel-induced neuropathic pain in rats via inhibiting spinal glia and the TLR4/NF- κ B pathway. *J Pain Res*. 2020 ; 13 : 239-50. <https://doi.org/10.2147/JPR.S241101>
 8. Chen Y, Cheng J, Zhang Y, Chen JDZ, Seralu FM. Electroacupuncture at ST36 relieves visceral hypersensitivity via the NGF/TrkA/TRPV1 peripheral afferent pathway in a rodent model of post-inflammation rectal hypersensitivity. *J Inflamm Res*. 2021 ; 14 : 325-39. <https://doi.org/10.2147/JIR.S285146>
 9. Li Y, Fang Z, Gu N, Bai F, Ma Y, Dong H, et al. Inhibition of chemokine CX3CL1 in spinal cord mediates the electroacupuncture-induced suppression of inflammatory pain. *J Pain Res*. 2019 ; 12 : 2663-72. <https://doi.org/10.2147/JPR.S205987>
 10. Zhao P, Chen X, Han X, Wang Y, Shi Y, Ji J, et al. Involvement of microRNA-155 in the mechanism of electroacupuncture treatment effects on experimental autoimmune encephalomyelitis. *Int Immunopharmacol*. 2021 ; 97: 107811. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107811>
 11. Jiang M, Chen X, Zhang L, Liu W, Yu X, Wang Z, et al. Electroacupuncture suppresses glucose metabolism and GLUT-3 expression in medial prefrontal cortical in rats with neuropathic pain. *Biol Res*. 2021 ; 54(1) : 24. <https://doi.org/10.1186/s40659-021-00348-0>
 12. Jang JH, Yeom MJ, Ahn S, Oh JY, Ji S, Kim TH, et al. Acupuncture inhibits neuroinflammation and gut microbial dysbiosis in a mouse model of Parkinson's disease. *Brain Behav Immun*. 2020 ; 89 : 641-55. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.08.015>
 13. Xie LL, Zhao YL, Yang J, Cheng H, Zhong ZD, Liu YR, et al. Electroacupuncture prevents osteoarthritis of high-fat diet-induced obese rats. *Biomed Res Int*. 2020 ; 2020 : 9380965. <https://doi.org/10.1155/2020/9380965>
 14. Yeo S, Song J, Lim S. Acupuncture Inhibits the Increase in Alpha-synuclein in substantia nigra in an MPTP- induced parkinsonism mouse model. *Adv Exp Med Biol*. 2020 ; 1232 : 401-8. https://doi.org/10.1007/978-3-030-34461-0_51
 15. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004 ; 116(2) : 281-97. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00045-5)
 16. Zhao J, Lee MC, Momin A, Cendan CM, Shepherd ST, Baker MD, et al. Small RNAs control sodium channel expression, nociceptor excitability, and pain thresholds. *J Neurosci*. 2010 ; 30(32) : 10860-71. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1980-10.2010>
 17. Bai G, Ambalavanar R, Wei D, Dessem D. Downregulation of selective microRNAs in trigeminal ganglion neurons following inflammatory muscle pain. *Mol Pain*. 2007 ; 3 : 15. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-3-15>
 18. Kusuda R, Cadetti F, Ravanelli MI, Sousa TA, Zanon S, De Lucca FL, et al. Differential expression of microRNAs in mouse pain models. *Mol Pain*. 2011 ; 7 : 17. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-7-17>
 19. Chung JM, Kim HK, Chung K. Segmental spinal nerve ligation model of neuropathic pain. *Methods Mol Med*. 2004 ; 99 : 35-45. <https://doi.org/10.1385/1-59259-770-X:035>
 20. Koo ST, Kim SK, Kim EH, Kim JH, Youn DH, Lee BH, et al. Acupuncture point locations for experimental animal studies in rats and mice. *Korean J Acupunct*. 2010 ; 27(3) : 67-78.
 21. Peter ME. Targeting of mRNAs by multiple miRNAs: the next step. *Oncogene*. 2010 ; 29(15) : 2161-4. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.59>
 22. Siegel G, Saba R, Schrott G. microRNAs in neurons: manifold regulatory roles at the synapse. *Curr Opin Genet Dev*. 2011 ; 21(4) : 491-7. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2011.04.008>
 23. Aldrich BT, Frakes EP, Kasuya J, Hammond DL, Kitamoto T. Changes in expression of sensory organ-specific microRNAs in rat dorsal root ganglia in association with mechanical hypersensitivity induced by spinal nerve ligation. *Neuroscience*. 2009 ; 164 (2): 711-23. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.08.033>
 24. Sun K, Zhang J, Yang Q, Zhu J, Zhang X, Wu K, et al. MiR-10b-3p alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by targeting

- Krüppel-like factor 5 (KLF5). *Pflugers Arch.* 2022 ; 474(3) : 343-53. <https://doi.org/10.1007/s00424-021-02645-9>
25. Zheng T, Li Y, Zhang X, Xu J, Luo M. Exosomes derived from miR-212-5p overexpressed human synovial mesenchymal stem cells suppress chondrocyte degeneration and inflammation by targeting ELF3. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022 ; 10 : 816209. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.816209>
 26. Sun L, Lu S, Bai M, Xiang L, Li J, Jia C, et al. Integrative microRNA-mRNA analysis of muscle tissues in qianhua mutton merino and small tail han sheep reveals key roles for oar-miR-655-3p and oar-miR-381-5p. *DNA Cell Biol.* 2019 ; 38(5) : 423-35. <https://doi.org/10.1089/dna.2018.4408>
 27. Liu B, Zheng W, Dai L, Fu S, Shi E. Bone marrow mesenchymal stem cell derived exosomal miR-455-5p protects against spinal cord ischemia reperfusion injury. *Tissue Cell.* 2022 ; 74 : 101678. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101678>
 28. Zhou M, Gao Y, Wang M, Guo X, Li X, Zhu F, et al. MiR-146b-3p regulates proliferation of pancreatic cancer cells with stem cell-like properties by targeting MAP3K10. *J Cancer.* 2021 ; 12(12) : 3726-40. <https://doi.org/10.7150/jca.48418>
 29. Lu X, Li Y, Chen H, Pan Y, Lin R, Chen S. miR-335-5P contributes to human osteoarthritis by targeting HBPI. *Exp Ther Med.* 2021 ; 21(2) : 109. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9541>
 30. Tornero-Esteban P, Rodriguez-Rodriguez L, Abasolo L, Tome M, Lopez-Romero P, Herranz E, et al. Signature of microRNA expression during osteogenic differentiation of bone marrow MSCs reveals a putative role of miR-335-5p in osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2015 ; 16 : 182. <https://doi.org/10.1186/s12891-015-0652-9>
 31. Lin TB, Lai CY, Hsieh MC, Jiang JL, Cheng JK, Chau YP, et al. Neuropathic allodynia involves spinal Neurexin-1 β -dependent Neuroligin-1/Postsynaptic Density-95/NR2B cascade in rats. *Anesthesiology.* 2015 ; 123(4) : 909-26. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000000809>
 32. Nong W, Bao C, Chen Y, Wei Z. miR-212-3p attenuates neuroinflammation of rats with Alzheimer's disease via regulating the SP1/BACE1/NLRP3/Caspase-1 signaling pathway. *Bosn J Basic Med Sci.* 2022 ; 22(4) : 540-52. <https://doi.org/10.17305/bjbm.2021.6723>
 33. Lv Z, Ye S, Wang Z, Xin P, Chen Y, Tan Z, et al. Long non-coding RNA TSPEAR antisense RNA 2 is downregulated in rheumatoid arthritis and inhibits the apoptosis of fibroblast-like synovio-cytes by downregulating microRNA-212-3p (miR-212-3p). *Bioengineered.* 2022 ; 13(2) : 4166-72. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2021347>
 34. Meng J, Ding T, Chen Y, Long T, Xu Q, Lian W, et al. LncRNA-Meg3 promotes Nlrp3-mediated microglial inflammation by targeting miR-7a-5p. *Int Immunopharmacol.* 2021; 90: 107141. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107141>
 35. Dai Q, Sun J, Dai T, Xu Q, Ding Y. miR-29c-5p knockdown reduces inflammation and blood-brain barrier disruption by upregulating LRP6. *Open Med (Wars).* 2022 ; 17(1) : 353-64. <https://doi.org/10.1515/med-2022-0438>
 36. Huang B, Guo S, Zhang Y, Lin P, Lin C, Chen M, et al. MiR-223-3p alleviates trigeminal neuropathic pain in the male mouse by targeting MKNK2 and MAPK/ERK signaling. *Brain Behav.* 2022 ; 12(7) : e2634. <https://doi.org/10.1002/brb3.2634>
 37. Jian S, Luo D, Wang Y, Xu W, Zhang H, Zhang L, et al. MiR-337-3p confers protective effect on facet joint osteoarthritis by targeting SKP2 to inhibit DUSP1 ubiquitination and inactivate MAPK pathway. *Cell Biol Toxicol.* 2021. <https://doi.org/10.1007/s10565-021-09665-2>
 38. Li X, Lou X, Xu S, Du J, Wu J. Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1 α) reduced inflammation in spinal cord injury via miR-380-3p/NLRP3 by Circ 0001723. *Biol Res.* 2020 ; 53(1) : 35. <https://doi.org/10.1186/s40659-020-00302-6>