

# 特発性大腿骨頭壊死組織に特異的に発現する microRNA の骨再生効果

坂 英樹、庄司 剛士、大田 悠貴、安達 伸生（広島大学大学院医系科学研究科 整形外科学）  
山崎 琢磨（国立病院機構呉医療センター 中国がんセンター 整形外科）

ONFH患者の大腿骨頭骨組織に高発現するmicroRNA(miR)の骨再生効果を検討した。ステロイド関連ONFH患者の大腿骨頭骨組織から、マイクロアレー法によるmiRNAの網羅的発現解析を行い、in vitro実験系、またラット大腿骨偽関節骨折モデルを用いたin vivo実験系において血管/骨再生効果を検討した。網羅的発現解析ではmiR-31、-34a、-146、-210、-218の高発現を認め、in vitro実験系の結果からmiR-31、-210の混合群において高い血管/骨再生効果を認めた。また、In vivo実験系ではmiR-31、-210混合投与群において高い血管/骨再生効果を認めた。本検討から、ONFHの骨組織では血管/骨再生効果を有する特異的なmiRNAが高発現しており、miRを標的とした新たな治療法となる可能性が示唆された。

## 1. 研究目的

特発性大腿骨頭壊死症(ONFH)において壊死組織自体に対する骨修復を目的とした治療法は未だ確立されておらず、骨頭圧潰を予防しうる早期骨修復を目的とした新しい治療法の開発が望まれる。我々はmicroRNA(miRNA)に着目し、ONFH患者の大腿骨頭の骨組織に高発現するmiRNAの骨修復促進効果を検討した。

## 2. 研究方法

ステロイドONFH症例から採取した大腿骨頭の修復領域の骨組織を分離し、マイクロアレー法によるmiRNAの網羅的発現解析を行った。in vitro実験系では、ヒト骨髄由来間葉系細胞(hMSC)と骨芽細胞誘導培地を用いて、同定されたmiRNAの投与が骨分化に及ぼす影響を検討した。評価法として、collagen type 1、Runx2の発現についてreal-time PCRにより評価し、組織評価としてアリザリンレッド染色を行った。またヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用いて、同定されたmiRNAの投与が血管新生に及ぼす影響を検討した。次にin vivo実験系において、骨分化、血管新生促進効果を認めたmiRNAをラット大腿骨骨幹部偽関節骨折モデルの偽関節部に局所投与して骨修復促進効果を検討した。評価法として、投与後2、4、8週でレントゲン、micro-CT撮影を行った。

## 3. 研究結果

マイクロアレー法による解析からmiR-31、-34a、-146、-210、-218がONFHの大腿骨頭の修復領域に高発現していることを確認した。in vitro実験系では、hMSCの骨分化において、miR-210投与群が対照群に比しアリザリンレッド染色が濃染し、collagen type 1、Runx2の発現量が高値を示した。またHUVECの管腔形成においてmiR-31投与群が対照群に比し亢進していた。in vivo実験系では、miR-31、-210混合投与群が対照群に比し投与後4週で偽関節部の骨癒合傾向を認めた。

## 4. 考察

本検討から、ステロイド関連ONFHの骨組織では特異的なmiRNAの発現が亢進し、特にmiR-31、-210の局所投与は骨修復促進効果を有する可能性が示唆された。

## 5. 結論

ONFHの骨組織において、miR-31、miR-34a、miR-146、miR-210、miR-218の発現が亢進していた。miR-210、miR-31は骨分化、血管新生促進効果を認め、miR-210、miR-31を混合投与することで骨再生効果を認めた。

## 6. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表
  - 1) 坂 英樹、庄司剛士、大田悠貴、山崎琢磨、安達伸生：特発性大腿骨頭壊死組織に特異的に発現する microRNA の骨修復促進効果、第 34 日本整形外科学会基礎学術集会、横浜、2019.10.17

## 7. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし