

特発性大腿骨頭壊死組織に組織特異的に発現する microRNA の骨/血管再生効果

坂 英樹、安達 伸生
庄司 剛士
山崎 琢磨

(広島大学大学院 整形外科学)
(広島大学大学院 人工関節・生体材料学)
(国立病院機構 呉医療センター中国がんセンター)

特発性大腿骨頭壊死症 (ONFH) 患者の大腿骨頭の骨組織に高発現する miRNA の骨/血管再生効果を検討した。マイクロアレイ法による解析から 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。ラット大腿骨骨幹部偽関節モデルの偽関節部に miR-31、-210 を混合局所投与したところ、対象群で見られなかった偽関節部の骨癒合を認め、miR-31、-210 は骨/血管再生効果を有す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 を同定し、その骨/血管再生効果を検討した。

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、マイクロアレイ法による 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。投与後 2、4、8 週で組織学的評価およびレントゲン、 μ CT による画像評価、偽関節部周囲組織の real time PCR による評価を行った。

3. 研究結果

マイクロアレイ法による解析から 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 投与群及び miR-31、210 混合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 の発現上昇を認めた。また HUVEC の管腔形成においては 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、8 週で組織学的にも画像評価においても偽関節部の骨癒合傾向を認めた。局所投与 2 週での周囲組織の real time PCR では、miR-31、210 投与群で対照群に比し type 1 collagen、Runx2、vegf の発現上昇を認めた。

4. 考察

Mizuno ら¹⁾は、miR-210 が activin A receptor type 1B を標的遺伝子としており、TGF- β /activin signaling pathway を介して骨分化促進能を持つと報告している。Qiu ら²⁾は、miR-210 がエフリン-A3 を標的遺伝子としており、血管形成促進能を有していると述べている。Kang ら³⁾は、miR-31 が factor-inhibiting HIF-1 を標的遺伝子としており、これを downregulate することで血管形成促進能を持つと述べている。本検討から ONFH の修復領域で高発現している

miRNA のなかに骨分化や血管新生を惹起するものが存在する可能性があり、これらの miRNA 発現を up regulate することで骨/血管再生を促進させる可能性がある。miRNA は壊死骨修復を目的とした ONFH の新たな治療法となる可能性があると考える。

5. 結論

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

6. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
 - 1) 第 93 回日本整形外科学会学術総会. オンライン、2020.6.11-8.31
 - 2) 第 35 回日本整形外科学会基礎学術集会.オンライン、2020.10.15-10.16

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

8. 参考文献

- 1) Mizuno Y, Tokuzawa Y, Ninomiya Y, Yagi K, Yatsuka-Kanesaki Y, Suda T, et al. miR-210 promotes osteoblastic differentiation through inhibition of AcvR1b. FEBS Lett 2009;583(13):2263-8. Abe H, Sakai T, Ando W, Takao M, Nishii T, Nakamura N, Hamasaki T, Yoshikawa H, Sugano N. Synovial joint fluid cytokine levels in hip disease. Rheumatology (Oxford). 2014Jan;53(1):165-172
- 2) Qiu Y, Chen Y, Zeng T, Guo W, Zhou W, Yang X. EGCG ameliorates the hypoxia-induced apoptosis and osteogenic differentiation reduction of mesenchymal stem cells via upregulating miR-210. Mol Biol Rep

2016;43(3):183-93.

- 3) Ting Kang, Tia M. Jones, Clayton Naddell, Methode Bacanamwo, John W. Calvert, Winston E. Thompson, Vincent C. Bond, Y. Eugene Chen, Dong Liu. Adipose-derived stem cells induce angiogenesis via microvesicle transport of miRNA-31. Stem Cells Transl Med. 2016 Apr; 5(4): 440-450.