

令和 5 年 3 月

石田孝次 学位論文審査要旨

主 査 大 槻 明 広
副主査 千 酌 浩 樹
同 永 島 英 樹

主論文

Comprehensive analysis of microRNA expression in lumbar facet joint capsules and synovium of patients with osteoarthritis: Comparison between early-stage and late-stage osteoarthritis samples from a single individual

(変形性関節症を伴う腰椎椎間関節の関節包に発現する microRNA の網羅的解析—単一個体から採取した検体による初期変形性関節症と後期変形性関節症の比較—)

(著者：石田孝次、谷島伸二、谷田敦、柳樂慶太、三原徳満、武田知加子、小川慎也、永島英樹)

令和 5 年 Journal of Orthopaedic Science doi.org/10.1016/j.jos.2023.01.008

参考論文

1. A simple method to reduce the incidence of cyclops lesion after anterior cruciate ligament reconstruction

(膝前十字靭帯再建術後にサイクロプス病変の発生を抑制する簡易的な方法)

(著者：柳樂慶太、榎田誠、林育太、石田孝次、金谷治尚、永島英樹)

令和 3 年 The Journal of Knee Surgery 34 巻 546 頁～551 頁

2. Rheumatoid arthritis onset from shoulder monoarthritis

(単発性肩関節炎で発症した関節リウマチの特徴)

(著者：石田孝次、柳樂慶太、萩野浩、榎田誠、林育太、林原雅子、武田知加子、永島英樹)

令和 3 年 Open Access Rheumatology: Research and Reviews 13 巻 103 頁～109 頁

3. Total knee arthroplasty in the past three decades: Trends in patient characteristics and implant survivorship

(過去 30 年間の全人工膝関節置換術患者の特徴とインプラント生存率)

(著者：柳樂慶太、萩野浩、榎田誠、榎田信平、石田孝次、林育太、永島英樹)

令和 4 年 Modern Rheumatology 32 巻 432 頁～437 頁

学位論文要旨

Comprehensive analysis of microRNA expression in lumbar facet joint capsules and synovium of patients with osteoarthritis: Comparison between early-stage and late-stage osteoarthritis samples from a single individual

(変形性関節症を伴う腰椎椎間関節の関節包に発現する microRNA の網羅的解析—単一個体から採取した検体による初期変形性関節症と後期変形性関節症の比較—)

近年、microRNA は様々な分野で注目され、変形性関節症 (Osteoarthritis, OA) に関する報告も多い。我々は腰椎椎間関節の関節包と滑膜に着目した。脊椎固定術をする際、両側または複数高位の椎間関節を切除する必要があり、同一個体から複数検体を採取できる。同一個体間の比較が可能で個体間差の影響を排除できる利点がある。本研究の目的は、OA を伴うヒト腰椎椎間関節の関節包・滑膜で高発現する microRNA を網羅的に解析することである。

方法

2018年5月～2019年12月に腰椎変性疾患に対し脊椎固定術を行った40名のうち、同一患者から早期・後期OAの関節包・滑膜を採取できた患者を対象とした。検体は液体窒素で瞬間凍結し、 -80°C で冷凍保存、RNeasy mini kit (Qiagen) でmicroRNAを抽出した。スクリーニング段階では、次世代シーケシングにより一患者の早期・後期OA検体を一対にしてmicroRNA発現量を比較した。後期OAで高発現するmicroRNAを識別し、75%以上の患者でfold change 2以上差があるmicroRNAを特定した。バリデーション段階では、スクリーニング段階で特定したmicroRNAについて、同検体を用いてリアルタイムPCRにより一患者の早期・後期OA検体を一対にしてmicroRNA発現量を比較した。62.5%以上の患者でfold change 2以上差があるmicroRNAを同定した。

結果

脊椎固定術40名のうち同一患者から早期・後期OAの関節包・滑膜を採取できた患者は8名で、この8名から採取した16検体を用いて解析を行った。スクリーニング段階では、2274種のmicroRNAのうち8種のmicroRNAが後期OAで高発現していた。2種のmicroRNA (miR-133a-5p、144-3p) が7患者で高発現し、6種のmicroRNA (miR-133a-3p、

133b、206、20a-5p、301a-3p、32-5p) が6患者で高発現していた。バリデーション段階では、後期OAでmiR-144-3pが有意に高発現していた (paired-t test)。他のmicroRNAの発現は有意差がなかったが、miR-133a-3p、133b、206は後期OA患者の62.5%以上で高発現していた。

考 察

椎間関節の関節包・滑膜とmicroRNAに関する報告はない。miR-144-3pは、心筋梗塞での心臓線維化への関与や、特発性肺線維症患者の線維芽細胞での高発現が報告されている。関節包・滑膜でのmiR-144-3p高発現は、線維芽細胞増殖を反映している可能性がある。miR-144-3pはinterleukin-1 β (IL-1 β)の転写抑制などの役割が報告されている。miR-144-3pがIL-1 β を抑制することを考えると、miR-144-3pが上昇した組織では炎症が抑制されるはずだが、本研究では後期OAの組織でmiR-144-3pが高発現していた。この結果は、今回採取した関節包・滑膜には炎症細胞よりも線維化組織が多く含まれていたためと考えられ、後期OAの関節包・滑膜が必ずしも強い炎症を有しているわけではないことが示唆された。miR-133とmiR-206は筋特異的なmicroRNAであり、これらのmicroRNAは心筋や骨格筋の発達や機能に重要で、miR-133は心筋のリプログラミングを促進に関与し、miR-206は骨格筋の筋肥大、線維タイプのスイッチングに関与している。miR-133とmiR-206の高発現は、miR-144-3pと同様に関節包・滑膜の線維化の影響を受けている可能性がある。

本研究で同定した4種のmicroRNAの標的として5つの遺伝子 (ANP32E、CAP1、FLI1、NEUROD1、RAR β) が予測された。ANP32EはOAの標的遺伝子の1つとして報告されている。CAP1はレジスチン受容体であり、関節リウマチの滑膜におけるケモカイン産生に関与している。滑膜炎という共通点を考慮するとCAP1はOAの滑膜でのケモカイン産生にも関与している可能性がある。レチノイン酸受容体 α はOAでは滑膜に発現し、RAR β (レチノイン酸受容体 β)も同様にOAの滑膜に発現している可能性がある。FLI-1、NEUROD1とOAの関連を示す報告はない。

結 論

OAを伴うヒト腰椎椎間関節の関節包・滑膜で高発現している4種のmicroRNA (miR-144-3p、miR-133a-3p、miR-133b、miR-206) を同定した。これらのmicroRNAは関節包の変性や滑膜炎に関与している可能性がある。