

バイオマテリアルを用いたマウス膝関節液 miRNA の新規採取・解析法確立： 急性滑膜炎と持続的なメカニカルストレスが及ぼす変形性膝関節症の発症機序探索

1. 発表のポイント

- 硬度を自在に制御できるバイオマテリアルを用いてマウス膝関節液の解析法を新規開発し、急性滑膜炎と持続的なメカニカルストレスがもたらす変形性膝関節症（膝 OA）発症メカニズムについて調査した。
- 急性滑膜炎は滑膜に存在する M1 マクロファージを介して二次的な軟骨変性を膝 OA 早期に惹起するが、抗炎症性 / 軟骨保護的に機能する miR145-5p, miR149-5p が膝関節液にて高発現したことから、関節液レベルでは軟骨変性を抑制しようと働く可能性が示唆された。
- 膝 OA 中期-末期においては、滑膜炎ではなく、持続的なメカニカルストレスが軟骨変性の支配的要因になることが示唆された。

2. 発表概要

埼玉県立大学大学院 博士研究員の高畠啓さん（現在、大阪大学大学院 基礎工学研究科 特任研究員）（第一著者）、同学の国分貴徳 准教授（責任著者）のグループは、北海道大学大学院 先端生命科学研究院の安田傑 助教、東京大学大学院 工学系研究科の片島拓弥 講師、酒井崇匡 教授らとの共同研究により、硬度を自在に制御できるバイオマテリアル: Tetra-Slime を用いたマウス膝関節液の採取-解析法を新規確立しました。また、本手法を用いて、急性滑膜炎と持続的なメカニカルストレスがもたらす変形性膝関節症（膝 OA）発症メカニズムの一端を明らかにしました。

本研究成果は、2026 年 6 月 22 日に米国実験生物学会連合が発行する、生物学および生物医学分野を網羅する国際的な学術雑誌『The FASEB Journal』誌に掲載されました。本研究は、科学研究費助成事業の支援を受け実施されました。

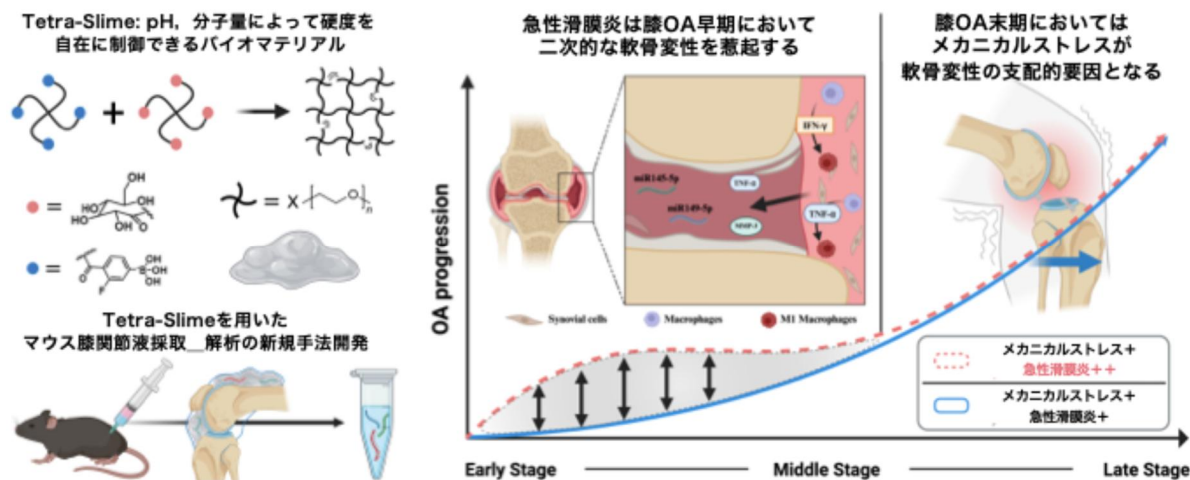


図1 研究概要

前駆体濃度や pH 調整によって硬度を自在に制御できるバイオマテリアル【Tetra-Slime】を用いたマウス膝関節液の採取__解析法を確立させ、膝 OA 発症メカニズムを調査した。膝 OA 発症早期では急性滑膜炎が二次的な軟骨変性を惹起するが、この過程において M1 マクロファージを介した MatrixMetalloproteinase (MMP-3)や Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α)といった OA 誘導因子の分泌が関与していることが示唆された。一方で、関節液レベルでは抗炎症性/軟骨保護的に機能する miR145-5p, miR149-5p が高発現し、軟骨変性を抑制しようと働く可能性が示唆された。また、膝 OA 末期では急性滑膜炎の影響が薄れ、関節不安定に伴うメカニカルストレスが長期的な軟骨変性の支配的要因になることが明らかとなった。

3. 研究内容

〈背景〉

“変形性膝関節症（膝 OA）”は関節軟骨の変性を主な特徴とする代表的な運動器疾患であり、膝関節の痛みや可動域制限を引き起こし患者の生活の質を大きく低下させます。関節軟骨は無血管組織であり、一度損傷すると治癒することが難しいことから膝 OA は不可逆的に変性するため、発症早期の病態を理解することが強く求められます。膝 OA の主たる発症要因として以下の二つが挙げられます：①関節を覆っている組織（滑膜）を基盤とした関節内炎症『急性滑膜炎』、②靱帯損傷や伴う筋力低下、可動域制限などによって生じた関節不安定性が引き起こす『持続的なメカニカルストレス』。しかしながら、急性滑膜炎と持続的なメカニカルストレスがそれぞれの時期にどの程度 OA 進行へ寄与するのかは十分に解明されていないため、本研究ではマウスモデルを用いて、双方が膝 OA 発症に与える影響を明らかにすることを目的としました。また、滑膜炎と軟骨変性のクロストークを調整する“関節液”に着目し、バイオマテリアルである Tetra-Slime を用いて、これまで困難とされてきたマウス膝関節液の採取_解析法を確立させることも目的としました。Tetra-Slime は前駆体濃度と pH を調整することで硬度を自在に調整できるため、膝関節に

注入した Tetra-Slime が関節液と混合した後にゲル化することで、関節液の効率的な採取・解析を可能にします。

〈方法・結果〉

マウスを以下の3群に分類しました。①Control 群。②ACL-T 群：モデル作製時に関節包切開を伴い前十字靭帯（ACL）を切除することで、重度な急性滑膜炎と持続的なメカニカルストレスを誘発。③ACL-R 群：ACL を非侵襲的に破断させることで、軽度の急性滑膜炎と持続的なメカニカルストレスを誘発。モデル作製後 2,6,10 週時点で膝関節を採取し、滑膜炎と軟骨変性の重症度を評価しました。その結果 2 週時点で、ACL-T 群では内側コンパートメントにおける重度な急性滑膜炎が観察され、外側コンパートメントにおける軟骨変性も認められました。通常、ACL 損傷に伴う持続的なメカニカルストレスによって誘発される軟骨変性は内側コンパートメントに生じますが、本実験では外側コンパートメントに軟骨変性が生じたことから、急性滑膜炎によって関節液を介して二次的に惹起された病態であることが示唆されます。

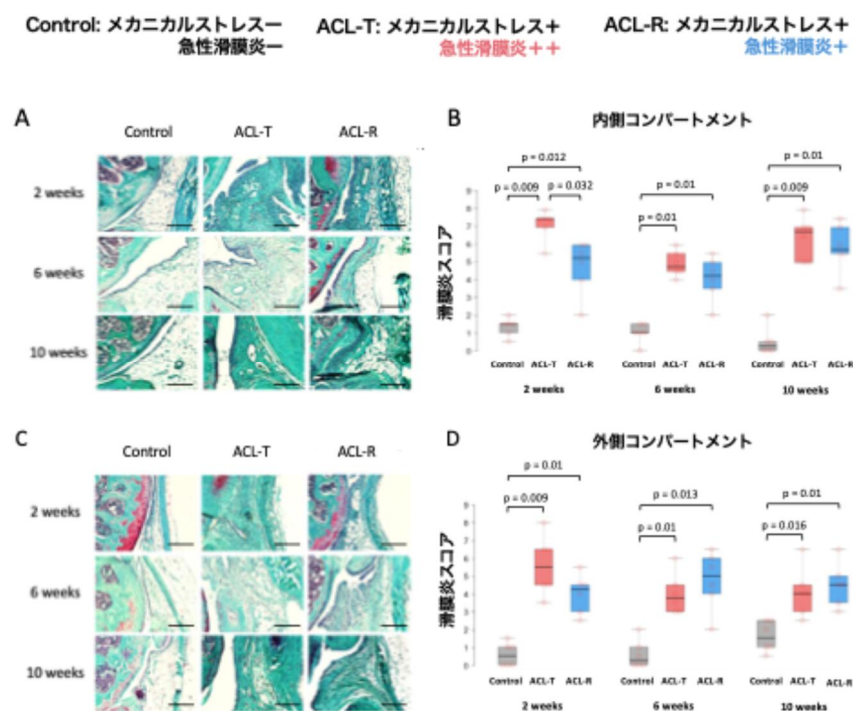


図2 滑膜炎の評価

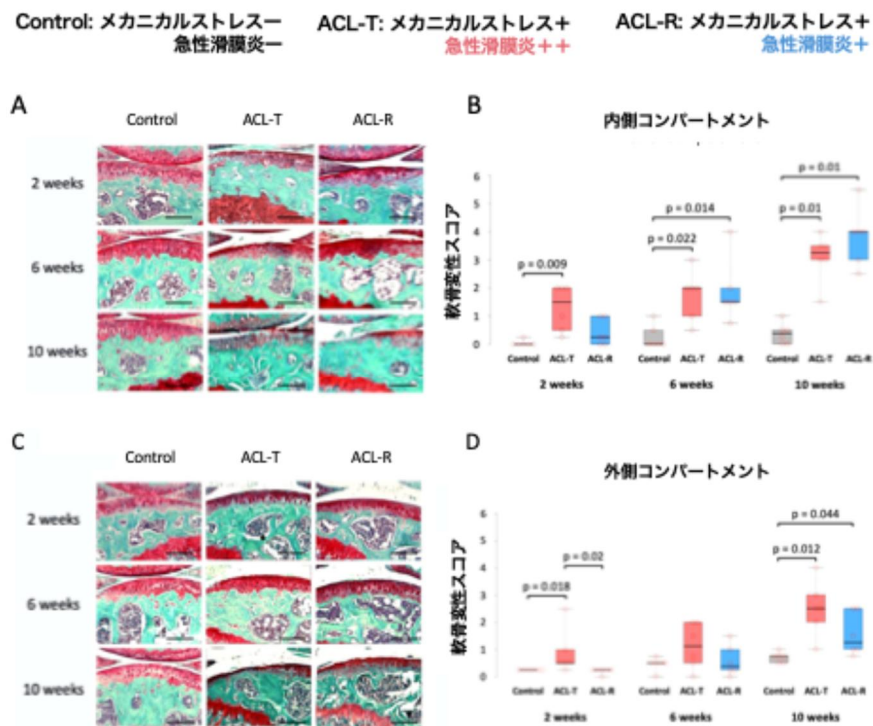


図3 関節軟骨変性の評価

次に滑膜を対象に real time PCR を実施し、急性滑膜炎が二次的な軟骨変性を惹起するメカニズムの探索を行いました。ACL-T 群では軟骨変性因子：MMP-13、炎症性サイトカイン：TNF- α 、M1 マクロファージマーカー：iNOS、M1 分極因子：IFN- γ が高発現しており、これら因子がメカニズムに関与していることが示唆されました。

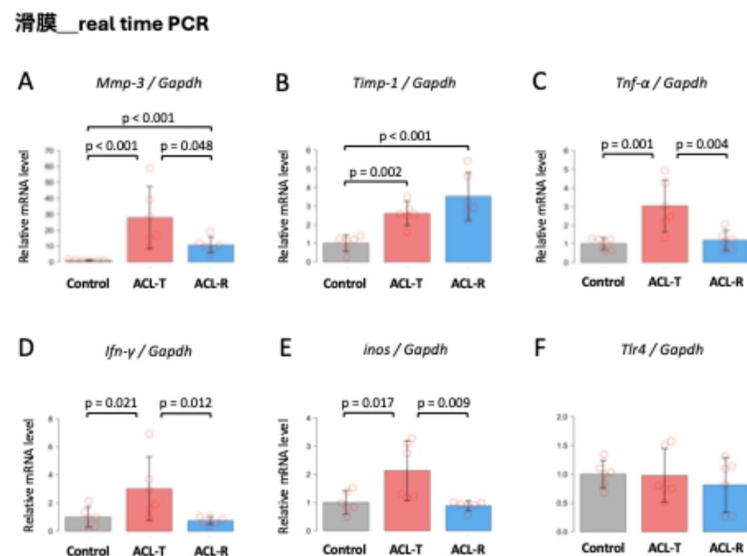


図4 real time PCR による滑膜の遺伝子発現解析

最後に Tetra-Slime を用いた膝関節液解析を実施しました。Tetra-Slime はフェニルボロン酸とジオール基の間の可逆的なボロン酸エステル結合から構成されており、前駆体濃度と pH を調整

することで硬度を変化させることができます。また、糖がフェニルボロン酸に結合してエステル結合を切断することで、ゲル化した Tetra-Slime を溶解し液体に戻すこともできます。実際にマウス膝関節に液体状の Tetra-Slime を $50\mu\text{L}$ 注射し、3分後にマウスを屠殺し関節内を露出させゲル化した Tetra-Slime を採取しました。しかしながら、採取した Tetra-Slime には筋などの関節内組織が付着しているため、ソルビトール溶液 $100\mu\text{L}$ を加え液体状に戻すことで関節液成分のみを抽出することができます。その後、digital PCR を用いて、軟骨保護作用を持つ miR-145-5p および miR-149-5p 発現量を解析したところ、有意な差は認められないものの ACL-T 群においてこれら miRNA の発現量が增大していました。

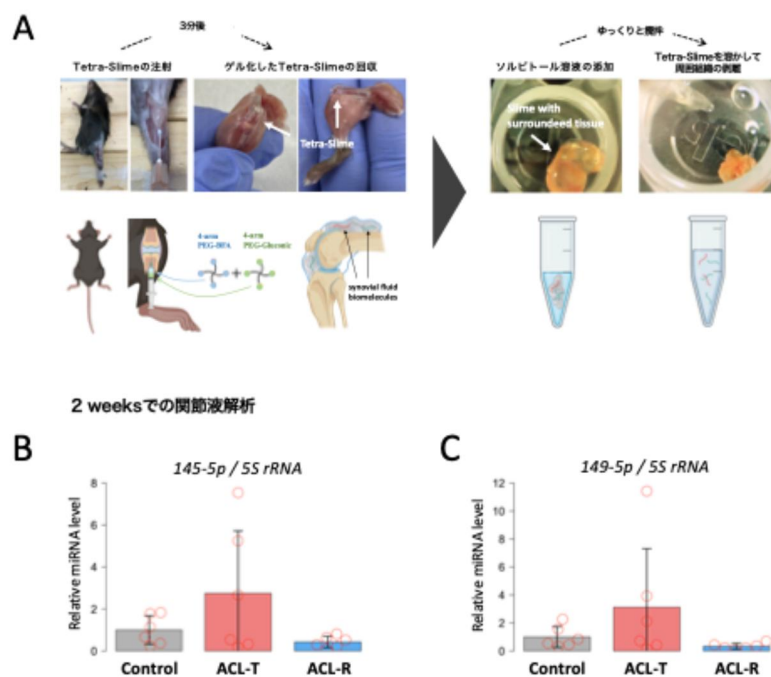


図5 Tetra-Slime を用いたマウス膝関節液における miRNA 解析

〈考察〉

本研究により、膝 OA 発症早期から生じる急性滑膜炎は二次的な軟骨変性を惹起し、滑膜に位置する M1 マクロファージや MMP-3, TNF- α といった OA 誘導因子の分泌が関与していることが明らかとなりました。また、Tetra-Slime を用いたマウス膝関節液の採取__解析法の確立に成功し、本解析により miR145-5p, miR149-5p が関節液で発現することが解明され、関節軟骨を保護しようと働いている可能性が示唆されました。一方で、急性滑膜炎は二次的な軟骨変性は膝 OA 早期における一時的な病態であり、膝 OA 末期では関節不安定に伴う持続的なメカニカルストレスが軟骨変性を誘発することが明らかとなりました。以上の結果は、膝 OA 進行過程における適切な治療選択（早期：炎症処置、後期：関節不安定性の修正）の指標となるだけでなく、膝 OA 早期検知などを目的とした関節液解析の提唱にも繋がる可能性があります。

4. 支援を受けた研究助成金

本研究は、日本学術振興会 特別研究員奨励費（22J23384, 研究代表者：高畠啓）、日本学術振興会 挑戦的研究(萌芽)（21K19724, 研究代表者：国分貴徳）の助成を受け、実施されました。

5. 論文情報

雑誌名：The FASEB Journal

題名：Novel Biomaterial-Based Synovial Fluid Analysis Reveals Protective microRNA Signatures in a Mouse Model of Acute Synovitis-Driven Osteoarthritis

著者：Kei Takahata, Kohei Arakawa, Takashi Yasuda, Saaya Enomoto, Takuya Katashima, Takamasa Sakai, Takanori Kokubun*

DOI：<https://doi.org/10.1096/fj.202505006R>

6. 問い合わせ先

埼玉県立大学大学院 保健医療福祉学研究科/保健医療福祉学部 理学療法学科
准教授 国分 貴徳

E-mail：kokubun-takanori@spu.ac.jp