

博士論文（要約）

関節運動による関節恒常性維持機構における
滑膜の役割に関する研究

石倉 久年

関節を動かすことは関節の機能維持に重要であり、長期間関節を固定すると関節は拘縮し、軟骨は変性するが、そのメカニズムは未だ解明されていない。本研究では、廃用関節で関節変性が起きるメカニズムを検証した。

まず、生後 8 週の野生型マウスに対して尾部懸垂および膝関節固定を行い、膝関節を非荷重かつ不動とすることで力学的刺激を消失させた Minimized mechanical stress (MMS) モデルを作成し、経時的に組織学的評価を行った。また bulk RNA-seq での遺伝子発現をもとに Ingenuity Pathway Analysis (IPA) を用いて滑膜-軟骨間の cross-talk を解析した。続いて control および MMS モデル滑膜で scRNA-seq を行い、2 群の滑膜間の細胞組成および細胞動態の詳細な検討を行った。

MMS モデルでは 2 週で強い滑膜変性 (lining layer の肥厚、炎症細胞浸潤、線維化) が起こり、その後 6 週で強い軟骨変性が生じた。MMS モデル 2 週の時点で非荷重のまま関節固定を解除すると、滑膜は正常に近い状態に戻り、軟骨の変性も抑えられた。MMS モデル軟骨の遺伝子発現データをもとに IPA によって軟骨変性の上流因子を探索すると、Spp1 や IL-1 β など、MMS モデル滑膜で実際に発現が増加している液性因子が複数検出された。滑膜の scRNA-seq では、滑膜線維芽細胞およびマクロファージの中で力学的ストレス消失に応答して新規クラスターが出現し、これらが軟骨変性を促す液性因子を強く発現していた。また、蛍光多重免疫染色を用いて滑膜変化を経時的に追うと、MMS モデルでは早期にまずマクロファージが増殖し、その後線維芽細胞が増殖、活性化した。関節内に Clodronate liposome を投与し、マクロファージを枯渇すると、線維芽細胞の活性化は抑制され、軟骨変性も抑制された。

これらによって、MMS モデルではまず滑膜の炎症性マクロファージが増殖し、それらが線維芽細胞を増殖、活性化させることで、軟骨変性を引き起こすことが明らかとなった。一方、関節の運動を再開させ、滑膜を正常に近い状態に戻すと、軟骨変性が抑えられた。関節運動は滑膜を介した恒常性維持に不可欠であり、さらに軟骨を含めた関節全体の恒常性維持にも貢献することが示された。