

## 細胞周期関連遺伝子を用いた関節炎の遺伝子治療に関する研究

宮坂 信之（東京医科歯科大学大学院生体応答調節学、膠原病・リウマチ内科）

### 研究要旨

慢性関節リウマチ(RA)における遺伝子治療を開発する目的で、サイクリン依存性キナーゼインヒビター(CDKI) 遺伝子 p16INK4a 及び p21Cip1 をアデノウイルスベクターを用いてマウスコラーゲン関節炎の系に導入し、その効果を検討した。その結果、p16INK4a 及び p21Cip1 とも同様に関節炎発症を有意に抑制したことから、関節選択的に CDKI 遺伝子を発現させることは RA の有効な治療法となる可能性が示唆された。

### A.研究目的

本研究の目的は、慢性関節リウマチ(RA)における滑膜細胞の増殖機構を、細胞周期に関与する分子（特にサイクリン依存性キナーゼ(CDK)とそのインヒビター(CDKI)の面より多角的に検討し、CDKI 遺伝子を滑膜細胞に導入することにより、RA において骨関節破壊を防止しうる遺伝子治療法を開発することである。

### B.研究方法

1) サイクリン依存性キナーゼインヒビター(CDKI) 遺伝子のクローニング：まず遺伝子療法に用いるための CDKI 遺伝子をクローン化するために、CDKI 遺伝子 p16INK4a, p21Cip1 cDNA を PCR 増幅してサブクローニングした遺伝子を得る。コントロールとして LacZ 遺伝子を用いる。2) ベクターへのサブクローニング：p16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子を E1A, E2B 領域を欠損するカセットコスミド(pAdex1 コスミド)にクローニングする。そして不活性化アデノウイルスと組み換えコスミドを 293 細胞へトランスフェクトして組み換えウイルスを作成する。また、insertion のないアデノウイルスとして Ax1w1 を用いる。3) 滑膜細胞への in vitro 遺伝子導入：RA 患者より得られた滑膜細胞と、前述の遺伝子を組み込んだアデノウイルスとを混合培養することにより遺伝子導入を行う。そして、IL-1, TNF $\alpha$ , PDGF などの炎症性サイトカインと滑膜細胞の培養系において滑膜細胞の増殖が抑制されるか否かを検討する。4) 8 週令の DBA/1J マウスに II 型コラーゲンと CFA で免疫することにより関節炎を発症させる系を用いる。遺伝子治療は II 型コラーゲンによる 2 度目の免疫時とその 10 日後、ないし 10 日後のみに p16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子を持つ組み換えアデノウイルスの関節内投与により行う。

### C.研究結果

まず、In vitro においては、RA 由来滑膜細胞に p16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子を導入した際には、10%FCS 刺激下における滑膜細胞の増殖は用量依存的に抑制された。しかし LacZ 遺伝子導入ではこのような作用はみられなかった。また、p16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子導入滑膜細胞につきアポトーシスの有無を Hoechst 33258 染色を用いて検討したところ、両者にアポトーシス誘導細胞数において有意差を認めなかった。同様の結果は NIH3T3 線維芽細胞株を用いた場合にも得られた。

次に in vivo における遺伝子導入を行ったところ、p16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子導入関節において、LacZ 遺伝子導入関節と比較して腫脹は著しく抑制されていた。また、遺伝子導入の治療効果を検討する目的で、II 型コラーゲンの 2 度目の免疫の 10 日後のみの 1 回投与を行った場合でも LacZ 遺伝子導入に比較して関節炎の進行を有意に遅延させることが判明した。組織学的検討では、p16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子関節において滑膜増殖、単核球浸潤、骨びらん、軟骨破壊のいずれもが抑制されていた。さらに X 線写真を用いた解析においても、p16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子導入関節において著明な骨びらんの抑制がみられることが確認された。

次に、RT-PCR 法を用いて炎症性サイトカイン発現を検討したところ、LacZ 遺伝子導入関節滑膜組織では著明な IL-1, IL-6, TNF $\alpha$  mRNA 発現が認められたのに対して、p16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子導入滑膜組織においてはこれらの炎症性サイトカイン mRNA 発現の著明な抑制がみられた。また、これらの結果は免疫組織染色においても確認された。

#### D.考察

In vitro においては、p16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子導入により RA 由来滑膜細胞において用量依存的に増殖抑制がみられ、in vivo においても両遺伝子を組み込んだアデノウイルスを関節内に投与することによってマウスコラーゲン関節炎の発症を抑制することが可能であった。さらに、本遺伝子療法は関節炎発症阻止効果があるのみならず、関節炎の治療効果をも有していたことから、ヒトへの臨床応用の可能性も示唆された。

しかし、本遺伝子療法の作用機序については未だ不明の点が少なくない。まず、p16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子導入滑膜細胞においてアポトーシス誘導は確認されなかったことから、今回の治療効果はアポトーシス誘導を介するものではないことが推測された。さらに、p16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子導入関節滑膜での炎症性サイトカインの発現が著明に抑制されていたが、CDKI 遺伝子導入の直接効果なのかあるいは関節効果なのかは不明である。現在、CDKI 遺伝子導入によりどのような遺伝子発現が誘導されているのかについて DNA アレイなどを用いて検討中である。

また、今回の検討では、p16INK4a のみならず p21Cip1 遺伝子の導入によってもほぼ同等の関節炎発症抑制効果がみられることが明らかとなり、滑膜細胞の細胞周期の制御により RA の新たな治療法が開発される可能性が示唆された。さらに、今回の知見から、生体内で CDKI 遺伝子発現を誘導できる化合物を発見できれば、これらも新たな RA の治療薬剤となる可能性も考慮されるところである。現在、我々は in vitro における CDKI 遺伝子発現誘導系を確立し、新規合成化合物の検索をも同時に行っている。

#### E.結論

P16INK4a 及び p21Cip1 遺伝子をアデノウイルスベクターを用いて関節内に導入することにより、マウスコラーゲン関節炎の発症を阻止し、関節の軟骨・骨破壊を防止することができた。以上より、関節特異的な CDKI 遺伝子導入は骨・関節破壊防止において有効な治療法となりうることが示された。

#### F.健康危険情報

特になし

#### G.研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Nasu,K, Kohsaka,H, Nonomura,Y, Terada,Y, Ito,H, Hirokawa,K, Miyasaka,N: Adenoviral transfer of cyclin-dependent kinase inhibitor genes suppresses collagen-induced arthritis in mice. J.Immunol, 165:7246-7252, 2000.

Nonomura,Y, Kohsaka,H, Nasu,K, Terada,Y, Ikeda,M, Miyasaka,N: Suppression of arthritis by forced expression of cyclin-dependent kinase p21Cip1 gene into the joints. Int.Immunol, in press.

##### 2. 学会発表

- 1) 上阪 等、野々村美紀、長坂憲治、川嶋道子、那須公雄、宮坂信之：サイクリン依存性キナーゼインヒビター遺伝子発現の滑膜細胞へ及ぼす影響。第30回日本免疫学会総会
- 2) 野々村美紀、上阪 等、長坂憲治、宮坂信之：サイクリン依存性キナーゼインヒビター遺伝子 p21Cip1 遺伝子導入による RA 由来滑膜線維芽細胞の遺伝子発現の変化。第30回日本免疫学会総会
- 3) 長坂憲治、上阪 等、野々村美紀、宮坂信之：サイクリン依存性キナーゼインヒビター遺伝子 p16INK4a 遺伝子導入による慢性関節リウマチ滑膜細胞の遺伝子発現への影響。第30回日本免疫学会総会

#### H.知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし

I.研究協力者：上阪 等、野々村美紀、那須公雄

(分担) 研究者 森下 竜一 大阪大学医学部遺伝子治療学

リウマチ性疾患克服のため、非ウイルスベクターで安全性と有効性の高い新規遺伝子導入法の開発を検討した。超音波とマイクロバブルを組み合わせることにより、培養細胞及び生体で高い遺伝子導入効率をもたらすことが明らかになった。また、NFκBデコイの関節内投与がリウマチの骨破壊を抑制することから、非ウイルスベクターと組み合わせた治療が今後期待される。

#### A、研究目的

慢性関節リウマチによる骨破壊や炎症の新規治療法としてNFκBデコイによる治療が期待されている。しかし、その導入効率の向上は潜在的毒性の軽減やコスト削減の観点から望まれる。本研究では、安全で副作用の少ない治療を目指した非ウイルス遺伝子導入法の開発を行う。

#### B、研究方法

まずは、安全で副作用の少ない治療を目指した非ウイルス遺伝子導入法を確立するために、培養細胞を用いて、遺伝子導入法としてプラスミド単独投与法に加え、超音波とマイクロバブルを利用したプラスミドDNAの投与も行い、発現効率を検討した。更に、生体骨格筋への遺伝子導入を同様の手法にて行い、発現効率を比較した。

#### C、研究結果

安全で効率の高い遺伝子導入法としてプラスミドDNAを基盤とした新規手法の開発を目的として、マイクロバブルと超音波に注目した。電顕での検討の結果、マイクロバブル（オプチゾン）にプラスミドDNAを封入し、超音波をあてることにより膜表面に一過性の穴が形成され、遺伝子が高効率に導入できることが明らかになった。実際に、ヒト骨格筋細胞を用いた検討では、プラスミド単独に比較して50-100倍以上の遺伝子導入効率をもたらされた。更に、ラット及びウサギ下肢筋肉においてルシフェラーゼ遺伝子導入により効率を検討した結果、培養細胞同様プラスミド単独に比較して50-100倍以上の遺伝子導入効率をもたらされた。また、血管再生を誘導するヒトHGF遺伝子導入において、血流

を指標とした検討の結果、血管再生が同じプラスミド量にもかかわらず、増強されることが、ウサギ閉塞性動脈硬化症モデルで確認された。

#### D、考察

超音波とマイクロバブルを利用した遺伝子導入法は、副作用の少ない非ウイルス遺伝子導入法として慢性関節リウマチのようなQOL改善型の遺伝子治療の臨床応用に期待される。今後、NFκBデコイと併用することで、作用効果の増強や使用量の減少などが見られるかを検討する。

#### E、結論

超音波とマイクロバブルを利用した遺伝子導入法は、副作用の少ない非ウイルス遺伝子導入法として遺伝子治療の臨床応用に期待される。

#### F、健康危険情報 特になし

#### G、研究発表

##### 1、論文発表

1) Tomita T, Takano H, Tomita N, Morishita R, Kaneko M, Shi K, Takahi K, Nakase T, Kaneda Y, Yoshikawa H, Ochi T. Transcription factor decoy for nuclear factor kappaB inhibits cytokine and adhesion molecule expressions in synovial cells derived from rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2000;39:749-757

#### H、知的所有権の取得情況

##### 1. 特許取得

森下竜一他。「インビゴ遺伝子導入組成物」、特願500520905

## 厚生科学研究費補助金

(感覚器障害及び免疫・アレルギー等研究事業 リウマチ性疾患の克服に関する研究班)

### 分担研究報告書

#### GD3 分子の T 細胞遊走及び慢性関節リウマチにおける役割

分担研究者：森本 幾夫 東京大学医科学研究所・教授

研究要旨：慢性関節リウマチの病態をさらに解析するため、CD45RO メモリー T 細胞サブセットと選択的に反応する抗 6C2 抗体を開発し、その対応抗原である 6C2 分子の性格及び 6C2 陽性 T 細胞の機能及びこの T 細胞サブセットが慢性関節リウマチの免疫病態における役割を検討した。

(1)ヒト T 細胞において抗 6C2 抗体は 0-acetyl-GD3 である CDw60 への抗体の反応性とほぼ同様の反応パターンをとった。(2)慢性関節リウマチ患者からの滑液 T 細胞はほとんど 6C2 陽性 (>70%) であり、6C2 陽性 T 細胞は、単層血管内皮細胞上で強い細胞遊走能を示し、またこの遊走は抗 6C2 抗体前処置により抑制された。(3)抗 6C2 抗体は、0-acetyl-GD3 とは反応せず、GD3 と特異的に反応した。(4)抗 6C2 抗体の反応性は、GD3 合成酵素の cDNA を KJM-1 細胞にトランスフェクトした時のみ誘導できた。

6C2 分子はデシアロガングリオシドの GD3 分子であることを同定した。6C2/GD3 分子は慢性関節リウマチ患者からの滑液 T 細胞に強発現し、抗 6C2 抗体前処置により遊走能も抑制されることから、GD3 分子及び GD3 陽性 T 細胞は T 細胞遊走のみならず慢性関節リウマチの炎症にも重要な役割を演じていることが明らかにした。

#### A 研究目的

慢性関節リウマチなどの慢性炎症疾患では、局所炎症部位で CD45RO メモリー T 細胞が増加し、また in vitro のシステムでも単層血管内皮細胞間を遊走する T 細胞はメモリー T 細胞であり、炎症のエフェクター T 細胞としても重要である。慢性関節リウマチの病態をさらに解析するため、CD45RO メモリー T 細胞サブセットと選択的に反応する抗 6C2 抗体を開発した。その対応抗原である 6C2 分子の性格及び 6C2 陽性 T 細胞の機能及びこの T 細胞サブセットの慢性関節リウマチの病態における役割を検討することを目的とした。

細胞サブセットの慢性関節リウマチの病態における役割を検討することを目的とした。

#### B 研究方法

##### 1) リンパ球の分離

ヒト末梢血単核細胞は Fcoll-Hypaque 法にて健康人及び RA 患者から分離した。同様に滑液中単核細胞は 8名の RA 患者を用いてヘパリン含有滑液から分離した。マクロファージは 1 時間プラスティックディッシュに培養した後、ディッシュに接着させて除き、T 細胞は羊赤血球とのロゼット法にて分離

した。

## 2) 単クローン抗体の産生

抗 6C2 抗体は IgM 型で以前に確立した。CDw60 抗体の UM4D4 抗体は 9-O-acetyl-GD3 と反応し、DFox 氏 (ミシガン大学) から供与された。

## 3) ヒト細胞株

遺伝的白血球接着欠損症患者から確立した EBV-転換 B 細胞株は峰岸博士 (東北大学) より供与された。さらにコントロールの EBV-転換 B 細胞株は健常人より確立した。

## 4) フローサイトメトリーによるリンパ球集団の解析

リンパ球集団のフローサイトメトリーによる解析は EPICS-XL にて行った。

## 5) 細胞増殖アッセイ

末梢血リンパ球は 96 穴丸底プレートにて様々な濃度の単クローン抗体の組合わせや、PHA により刺激し 10%FCS-RPMI1640 メディアにて CO2 インキュベーターで培養した。培養 3 日後に、1 $\mu$ Ci の 3H.thymidine を培養液に加え 18 時間後にリンパ球を回収し、ベーターカウンターにて 3H.thymidine を測定した。

## 6) 薄層クロマトグラフィー(ILC)にて分離されたガングリオシドの解析

抗 6C2 抗体及び抗 UM4D4 抗体のガングリオシドへの反応性は薄層クロマトグラフィー(ILC)により展開されたガングリオシドへのウエスタンブロット法により行なった。

## 7) sialyl 及び fucosyl トランスフェラーゼ cDNA のトランスフェクション及びその発現

ヒトバーキットリンパ腫 Namalwa 株の亜株である KJM-1 細胞に発現ベクターの pAMo のみあるいは GD3 synthase, ST3, ST4, fucosyl トランスフェラーゼの FT3, 4, 6, 7 の cDNA を含む pAMo ベクターをトランスフェクトした。

## 8) Transendothelial 細胞遊走及び内皮細胞への接着アッセイ

血管内皮細胞での細胞遊走は 2-チャンバーカルチャープレートを用いて行った。ヒト臍帯血管内皮細胞(HUVEC)は I 型コラーゲンを coat したプレート

で E-STIM 内皮細胞培養メディアにて維持した。コンフルエントになった HUVEC は 0.6%BSA を含む RPMI1640 メディアに浮遊した T 細胞とさまざまな時間培養した。遊走及び非遊走 T 細胞は血球計算器にて数え、さらにこれらの T 細胞のフェノタイプはフローサイトメーターにて解析した。T 細胞の内皮細胞への接着は T 細胞をゲラチンをひいたプレート上に接着させた単層 HUVEC への接着により調べた。接着 T 細胞は EDTA にて剥がし、血球計算器でカウントした。

## 9) 倫理面での配慮

血液、関節液を含む生体サンプルの実験について患者には研究目的や趣旨を十分説明し、インフォームドコンセントを得た上で行った。さらに患者のプライバシーに関する情報の守秘義務を徹底するため個々の研究者は検体と ID 番号のみを用いて解析し、患者のプライバシーに関する情報が守られるようにした。

## C 研究結果

### 1) 抗 6C2 抗体の LFA-1 欠損細胞との反応性

6C2 抗体はかつてユニークな LFA-1 のエピトープと反応する抗体ではないかと言われていた。コントロールの LFA-1 抗体は LFA-1 欠損 B 細胞とは反応しないが EBV でトランスフォームした正常人からの B 細胞のみに反応したが 6C2 抗体は LFA-1 欠損及び正常人 B 細胞ともに反応した。この結果から 6C2 抗体は LFA-1 以外の分子と反応することが強く示唆された。

### 2) 6C2 分子と CDw60 分子との比較

対応分子が LFA-1 分子でない可能性が強いことから 6C2 分子は非蛋白分子であることが示唆された。非蛋白分子である CD 分子は糖脂質が多くその中で、CDw60 分子がヒト T 細胞に発現している。そこで CDw60 と 6C2 分子の T 細胞上での発現を検討した。抗 6C2 は約 28%の T 細胞と反応したが CDw60 への抗体である UM4D4 抗体は約 39%の T 細胞と反応した。さらに 6C2 陽性 T 細胞の 2/3 は CDw60 T 細胞に含まれていた。次に CDw60 抗体は T 細胞へマイトジェンとして働くことが言われてい

る。抗 UM4D4 抗体は報告のように T 細胞に対してマイトジェニックであったがしかし、抗 6C2 抗体にはマイトジェニックな作用はなく、6C2 は CDw60 と異なる分子かあるいは UM4D4 抗体が反応するエピトープとは異なる可能性が示唆された。

### 3) 6C2+T 細胞の RA 患者滑液への蓄積

抗 6C2 抗体は CD4 メモリー T 細胞と選択的に反応し、また CDw60 は RA 患者からの滑液 T 細胞に多く発現していることから、6C2 陽性 T 細胞は RA の慢性炎症に関与しているかどうか検討した。正常人末梢血 T 細胞では 30% が 6C2 陽性であったが 8 例の RA 患者末梢血 T 細胞では 31% が 6C2 陽性であった。一方、RA 患者からの滑液 T 細胞の 78% は 6C2 陽性であった。このように 6C2+T 細胞は RA 患者滑液に蓄積する可能性が強くと示唆された。

### 4) 6C2 分子と関連する Transendothelial 細胞遊走能

6C2 陽性 T 細胞の *in vitro* での *transendothelial migration* 能について検討した。6C2 陽性 T 細胞は HUVEC への非接着及び接着細胞ともに検出されなかったが、HUVEC 中を遊走した T 細胞の 95% 以上は 6C2 陽性であることから 6C2 陰性 T 細胞と比較して 6C2 陽性 T 細胞は非常に *transendothelial migration* 能が高いことが明らかになった。ニューラミニダーゼは *sialic acid* を除くことで知られているがこの酵素で T 細胞を処理したところ、LFA-1 の発現は変わらないが 6C2 分子の発現は消失した。このことから 6C2 分子はニューラミニダーゼに感度が高いことが明らかになった。さらに抗 6C2 抗体処理により T 細胞の *transendothelial migration* は減少し、またニューラミニダーゼ処理によっても T 細胞 *migration* は減少した。これらの結果から *transendothelial migration* には 6C2 分子が重要であることが示唆された。

### 5) 6C2 抗体の gangliosides との反応性について

次に 6C2 抗体の TLC により分離された gangliosides の反応性を免疫プロットで解析した。サル脳の脳から得た gangliosides 中で 6C2 抗体は GD3 とのみ反応した。一方 UM4D4 抗体はサルの脳からの gangliosides とは反応せず、O-acetylated GD3 とのみ反応した。このことから 6C2 抗体は GD3 を特異的

に認識する抗体であることが示唆された。

### 6) 6C2 抗体の細胞表面に発現させた GD3 の反応性について

Namalwa 株の KJM-1 細胞に *sialyl transferase*(ST3, ST4, GD3 synthase) の cDNA 及び 4 つの *fucosyl transferases*(FT3, FT4, FT6 及び FT7) の cDNA をトランスフェクトして各分子を発現させた。6C2 抗体は GD3 synthase 活性を誘導したときのみ反応したことから 6C2 抗体が認識する細胞表面分子は GD3 であることが明らかとなった。

## D. 考察

今回の研究で我々は 6C2 抗体が認識する細胞表面分子は *disialoganglioside* の GD3 であり、さらに 6C2/GD3 分子は単層血管内皮細胞間の遊走及び慢性関節リウマチ(RA)の炎症に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

6C2 分子は CDw60 分子と T 細胞の反応性が似通っていたが、CDw60 抗体はマイトジェニックな作用が存在していたが 6C2 抗体にはこの作用が存在していないことから 6C2 は CDw60 のユニークなエピトープか CDw60 とは異なる分子である可能性が示唆された。

TLC で分離した gangliosides の免疫プロットによる解析により 6C2 分子は O-acetylated gangliosides に関連しているものの異なっていることが明らかになった。O-acetylated GD3 を含む 12 種類の gangliosides 中、6C2 抗体は *disialoganglioside* の GD3 とのみ反応したが CDw60 抗体である UM4D4 抗体は従来報告されているように O-acetylated GD3 とのみ反応した。さらに *sialyltransferase* 及び *fucosyltransferase* の cDNA を Namalwa KJM-1 にトランスフェクションした実験により 6C2 抗体の反応性は GD3 synthase をトランスフェクトしたときのみ得られ、6C2 抗体と反応する分子は GD3 であることを証明した。

6C2/GD3 を発現している T 細胞は血管内皮細胞間を非常に遊走しやすい細胞で、血管内皮細胞に強く接着している細胞は 6C2/GD3 陰性であることから 6C2/GD3 陽性 T 細胞は血管内皮細胞にはあまり

接着しないが、血管内皮細胞からより有効に遊走する可能性が強く示唆された。

6C2 抗体処理や neuraminidase 処理で 6C2 の発現を減少させると細胞遊走が減少することから 6C2/GD3 分子そのものが遊走に関与していることが明らかになった。また末梢血 T 細胞と比較して RA 患者滑液中の T 細胞のほとんどが 6C2/GD3 を発現していることから、6C2/GD3+T 細胞が炎症部位に遊走しやすい細胞集団であることを強く示唆した。

GD3 分子の構造と機能をさらに研究することにより、T 細胞遊走の詳細なメカニズムや RA の病態を一層理解することにつながり、またこのことは RA の新しい治療法の開発にもつながることが示唆された。

#### E. 結論

6C2 分子はデシアロガングリオシドの GD3 分子であることを同定し、transendothelial migration assay にて細胞遊走能をもつ T 細胞サブセット上に有意に存在することが明らかとなった。本研究から 6C2/GD3 分子及び GD3 陽性 T 細胞は T 細胞遊走のみならず慢性関節リウマチの炎症にも重要な役割を演じていることが明らかになった。

#### F. 健康危険情報 特になし

#### G. 研究発表

1. Ohtsuki T, Tsuda H, Morimoto C. Good or evil: CD26 and HIV infection. *J Dermatol Sci* 2000, 22:152-60
2. Sato K, Kawasaki H, Nagayama H, Enomoto M, Morimoto C, Tadokoro K, Juji T, Takahashi TA. TGF-beta 1 reciprocally controls chemotaxis of human peripheral blood monocyte-derived dendritic cells via chemokine receptors. *J Immunol.* 2000, 164:2285-95.
3. Morimoto S, Kanno Y, Tanaka Y, Tokano Y,

Hashimoto H, Jacquot S, Morimoto C, Schlossman SF, Yagita H, Okumura K, Kobata T. CD134L engagement enhances human B cell Ig production: CD154/CD40, CD70/CD27, and CD134/CD134L interactions coordinately regulate T cell-dependent B cell responses. *J Immunol.* 2000,164:4097-104.

4. Iwata S, Ohashi Y, Kamiguchi K, Morimoto C. Related Articles. Beta 1-integrin-mediated cell signaling in T lymphocytes. *J Dermatol Sci.* 2000,23:75-86.
5. Nagayama H, Sato K, Kawasaki H, Enomoto M, Morimoto C, Tadokoro K, Juji T, Asano S, Takahashi TA. IL-12 responsiveness and expression of IL-12 receptor in human peripheral blood monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol.* 2000,165:59-66.
6. Qing Y-W, Kitagawa M, Higashi M, Ishii G, Morimoto C, Harigaya K, Activation of mitogen-activated protein kinases through  $\alpha 5 \beta 1$  integrin is required for the cell cycle progression of B progenitor cell line, Reh, on human marrow stromal cells. *Exp. Hematol.* 28:1147-1157, 2000.
7. Munakata Y, Iwata S, Dobers J, Ishii T, Nori M, Tanaka H, Morimoto C, Novel in Vitro effects of bucillamine: Inhibitory effects on proinflammatory cytokine production and transendothelial migration of T Cell. *Arthr. and Rheum.* 43:1616-1623, 2000.
8. Ikushima H, Munakata Y, Ishii T, Iwata S, Terashima M, Tanaka H, Schlossman SF, Morimoto C. Internalization of CD26 by mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor contributes to T cell

activation. Proc. Natl. Acad. Sci. 97:8439-8444, 2000.

9. Sato K, Kawasaki H, Nagayama H, Enomoto M, Morimoto C, Tadokoro K, Juji T, Takahashi TA. Chemokine Receptor Expressions and Responsiveness of Cord Blood T Cells. J Immunol. 2001;166:1659-1666.
10. Sato K, Kawasaki H, Nagayama H, Enomoto M, Morimoto C, Tadokoro K, Juji T, Takahashi TA. Signaling events following chemokine receptor ligation in human dendritic cells at different developmental stages. Int Immunol. 13:167-179, 2001.
11. Homma T, Hosono O, Iwata S, Ando S, Sasaki K, Nishi T, Kawasaki H, Tanaka H, Morimoto C. Recognition of cell surface GD3 by monoclonal antibody anti-6C2 in rheumatoid arthritis synovial fluid. Arthr. & Rheum. In press.

H. 知的財産権の出願登録状況  
特になし



慢性関節リウマチ（RA）の新しい治療法（生物製剤等）の評価

分担研究者 山本 一彦 東京大学大学院医学系研究科内科学専攻 教授

研究概要 現在、欧米を中心にRAに対する生物製剤を中心とした新しい治療法の開発がすすめられている。これらには、新規抗リウマチ薬、サイトカインに対するモノクローナル抗体や可溶性レセプター、レセプターアンタゴニスト、細胞表面抗原に対するモノクローナル抗体、細胞内シグナル伝達阻害薬、自己末梢血幹細胞移植などが含まれる。一部は実際に治験として国内でも投与が行われている。本研究では、それらの新しい治療法（生物製剤等）の評価を行うことで、RAのどのような病態に対してこのような製剤が実際に効果があるのか、これらはRAの根本の治療となりうるのか、より良い治療の方向性はあるのか、などを検討した。

A.研究目的

RAに対する新しい治療法（生物製剤等）の開発が、欧米を中心にすすめられているが、この中には短期的には効果が期待できるであろうが、根本的な治療薬とはなり得ないと予想されるものなども含まれている。しかし、製薬企業からの情報や今までに発表されている研究論文ではこれらのことが必ずしも明らかにされていない。そこで、これらの新しい生物製剤等の薬理作用、病態に対する作用機序、副作用等を明確に評価することで、これらの新しい治療法の有用性に対する解答を見出すことを目的とする。現在のパラメーター以外にRAの病態・病因と結びつくと考えられるT細胞についての解析も行い、疾患での意義を確立すると同時に、これに対する治療の効果も検討する。

B.方法

TNFに対するモノクローナル抗体や可溶性レセプターなど、現在我が国で治験が進行中または準備中の製剤については、これを実際のRA患者に投与した際の各種免疫パラメーターを詳細に検討し、どの病態に効果があり、どの病態には効かないか、生じる副次的な作用はないか、などの検討を行う。これらのパラメーターとしては、T細胞、B細胞、マクロファージ、滑膜細胞などでの、サイトカインやケモカイン、種々の転写因子関連遺伝子の発現やリ

ンパ球集団で集積しているT細胞、B細胞のクロナリティーの推移などがある。また、現在治験が進行していない製剤については、試験管内での反応について上記のパラメーターを検討する。さらにRAの病態をより反映させる因子についての研究を、患者およびマウスモデルを用いた解析を通じて行う。

C.結果 D.考察 E.結論

抗TNF $\alpha$ モノクローナル抗体について現在長期オープン試験の治験中であり、定期的に採取した末梢血リンパ球の細胞表面マーカーの推移を検討している。CD4陽性、CD8陽性のT細胞の推移、これらの細胞のHLA/DR陽性細胞の変化、CD45RO陽性のメモリータイプ、TCR $\alpha\beta$ 陽性細胞と $\gamma\delta$ 陽性細胞数、CD4陽性細胞でのインターフェロン $\gamma$ とIL4産生細胞の比率、CD57、CD16のNK細胞マーカー、CD5陽性B細胞数などを測定している。しかし、先行して施行された二重盲検試験のキーオープンがまだなされておらず、今回の抗TNF $\alpha$ モノクローナル抗体の投与とRAの臨床所見および各種免疫パラメーターとの比較検討は行われておらず、今回報告することが出来ない。

一方、上記の臨床研究と併行してRAの病態形成におけるT細胞の役割を研究し、今後の追跡パラメーターとしての評価を行った。以前より、我々はRA患者の関節滑膜組織には、複数の関節病変に共

通な T 細胞クローンが集積していること、これらの一部は末梢血リンパ球にも検出できることを報告している。ただしこれらの T 細胞クローンと病態との関係は良く分かっていない。そこで今回、この集積している T 細胞クローンの役割を自然発症の関節炎モデルで検討した。

東大医科学研究所の岩倉教授の樹立した HILV-1/Tax トランスジェニックマウスの自然発症関節病変について、関節に集積している T 細胞レセプターのクロノタイプを検討した。このトランスジェニックマウスは週令を重ねるに従い関節炎の程度は進行するので、各時期毎に前後左右の四肢の関節病変に集積している T 細胞クローンを検討した。比較的早期の 5~10 週では、各関節に集積している T 細胞クローンはそれぞれ異なり、4つの関節での共通クローンは約 14%であった。中期の 16~20 週では、各関節共通クローンの割合は上昇し 24%に、後期の 28~32 週では約 52%の集積クローンが各関節に共通であった。さらに集積クローンの全体の数はむしろ減少傾向であった。これらのそれぞれのクローンが病変の形成に重要な役割を果たしていることを厳密に証明するのは難しいが、少なくとも細胞移入の実験で、これらの共通クローンのいくつかは関節にアフィニティのある T 細胞であることを示すことが出来た。今後、RA に対する生物製剤の効果について検討していく上で、これらの T 細胞クローンにどのような影響を及ぼすかを検討する必要があると考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Dohi M. Hasegawa T. Yamamoto K. and Marshall C. Hepatocyte growth factor attenuates collagen accumulation in a murine model of pulmonary fibrosis. *Am.J.Respir.Crit.Care.Med.* 162:2302-2307, 2000
- Setoguchi K. Misaki Y. Araki Y. Fujio K. Kawahata K. Kitamura T. and Yamamoto K. Antigen-specific T cells transduced with IL-10 ameliorate experimentally induced arthritis without impairing the systemic

immune response to the antigen. *J. Immunol.* 165: 5980-5986, 2000

- Fujio K. Misaki Y. Setoguchi K. Morita S. Kawahata K. Kato I. Nosaka T. Yamamoto K. and Kitamura T. Functional reconstitution of class II MHC-restricted T cell immunity mediated by retroviral transfer of the  $\alpha\beta$ TCR complex. *J.Immunol.* 165:528-532, 2000
- Sekiya T. Miyamasu M. Imanishi M. Yamada H. Nakajima T. Yamaguchi M. Fujisawa T. Pawankar R. Sano Y. Ohta K. Ishii A. Morita Y. Yamamoto K. Matsushi K. Yoshie O. and Hirai K. Inducible expression of a Th2-type CC chemokine thymus-and activation-regulated chemokine (TARC) by human bronchial epithelial cells. *J.Immunol.* 165: 2205-2213, 2000
- Fujio K. Nosaka T. Kojima T. Kawashima T. Yahata T. Copeland NG. Gilbert DJ. Jenkins NA. Yamamoto K. Nishimura T. and Kitamura T. Molecular cloning of a novel type 1 cytokine receptor similar to the common gamma chain. *Blood.* 95:2204-2210, 2000
- Honda A. Suzuki T. Kono H. Okada M. Yamamoto T. Ra C. Morita Y. and Yamamoto K. Sequential requirements of N-terminal palmitoylation site and SH2 domain of Src family kinases in the initiation and progression of Fc $\epsilon$ RI signaling. *Mol.Cell.Biol.* 20: 1759-1771, 2000
- Nagase H. Miyamasu M. Yamaguchi M. Fujisawa T. Ohta K. Yamamoto K. Morita Y. and Hirai K. Expression of CXCR4 in eosinophils : Functional analyses and cytokine- mediated regulation. *J Immunol.* 164:5935-43, 2000
- Desaki M. Takizawa H. Ohtoshi T. Kasama T. Kobayashi K. Sunazuka T. Omura S. Yamamoto K. and Ito K. Erythromycin suppresses nuclear factor- $\kappa$   $\beta$  and activator protein-1 activation in human bronchial epithelial cells. *Biochem.Bioph.Res.Co.* 267: 124-128, 2000

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし

分担研究者氏名 吉川 秀樹

大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学（整形外科）教授

研究要旨

良好な骨形成能を有する自家骨に代わる新規人工骨の開発を試みた。細胞侵入、血管新生に必要な、連通構造を有するハイドロキシアパタイトを新規に開発した。ウサギ大腿骨骨髓内に移植したところ、早期の血管侵入、間葉系細胞の侵入、その結果として良好な骨形成を認めた。この多孔体ハイドロキシアパタイトは全て気孔間連通孔でつながっているため、容易に中心部まで骨組織が侵入すること、今後の増殖因子や細胞の導入にも有用であることから、優れた人工骨と考えられた。

吉川 秀樹

大阪大学整形外科教授

A. 研究目的

慢性関節リウマチや変形性関節症に対して人工関節置換術が普及したが、長期経過後や関節近傍の骨粗鬆症化により、人工関節のゆるみや、母床骨の吸収などの合併症をしばしば惹起する。また、骨の感染や骨腫瘍に対する病巣切除や外傷などにより生じた大きな骨欠損の補填にも生体材料が必要である。従って、良好な骨形成能を有する自家骨に代わる新規人工骨の開発が急務である。細胞侵入、血管新生に必要な、連通構造を有するハイドロキシアパタイトを新規に開発し、これに骨髓幹細胞や骨形成因子などをハイブリッドし、任意の部位・大きさの骨欠損を補填できる生物活性を有する人工骨の開発を目的とする。

B. 研究方法

- 1) 発泡スラリーの凍結・成形、あるいは温度グラディエント法により多孔体ハイドロキシアパタイトの気孔サイズ、気孔率、気孔間連通孔径を制御し、人工骨として至適立体構造、強度を有する連通型ハイドロキシアパタイトを開発する。
- 2) 新規に開発した各種人工骨(6x6x15 mm)をウサギ大腿骨遠位骨幹端に移植し、局所での骨形成を6週まで、経時的にX線及び組織学的に観察する。

C. 研究結果

- 1) 150 $\mu$ m, 300 $\mu$ m, 600 $\mu$ m の気孔サイズのハイドロキシアパタイトの力学的強度は、気孔サイズ150 $\mu$ m が圧縮強度12Mpaで、最も良好であった。300 $\mu$ m, 600 $\mu$ m では、圧縮強度8Mpa以下であり、人工骨としては脆弱であった。
- 2) 気孔サイズ150 $\mu$ m の新規ハイドロキシアパタイトでは、気孔の連通率は72%、一方、既存のハイドロキシアパタイトでは、連通率は5%以下であった。
- 3) ウサギ大腿骨移植後2週で、周辺からの約3mmまで旺盛な新生骨の形成を認め、また人工骨中央部までの新生血管の侵入を認めた。移植後3週では、人工骨中央部まで、良好な骨形成を認め、移植後6週では、成熟した骨・骨髓組織がすべての気孔内に形成された。X線上也ハイドロキシアパタイトと母床骨との境界は不明瞭となり、周辺にも反応性の良好な骨形成を示した。一方、対照として用いた既存のハイドロキシアパタイトでは、人工骨の周辺のみ骨形成を認め、気孔の内部には新生骨は認めなかった。

D. 考察

生物活性を有する人工骨の担体として要求される条件としては、毒性が無く、骨基質と直接結合でき、初期強度が強く、かつ増殖因子や骨形成細胞を導入できる気孔を有する、といった点が挙げられる。近年、臨床使用されているハイドロキシアパタイトは気孔間の連通が不完全で、数年間生体骨内に移植しても気孔内に数ミリしか新生骨組織が侵入しないこと、盲端の気孔のため力学的強度が低下する。一方、

われわれの開発した新規多孔体ハイドロキシアパタイトは全て気孔間連通孔でつながっているため、容易に中心部まで骨組織が侵入すること、今後の増殖因子や細胞の導入にも有用であることから、優れた人工骨と考えられる。

#### E. 結論

生物活性を有する人工骨の開発の第一段階として、完全な連通孔を有する新規ハイドロキシアパタイトの合成に成功し、ウサギ骨髄内において、早期の良好な骨形成を認めた。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Tomita, T., Takano, H., Tomita, N., Morishita, R., Kaneko, M., Shi, K., Takahi, K., Nakase, T., Kaneda, Y., Yoshikawa, H., Ochi, T.: Transcription factor decoy for NfκappaB inhibits cytokine and adhesion molecule expressions in synovial cells derived from rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 39:749-757, 2000.

2. Nakase, T., Kaneko, M., Tomita, T., Myoui, A., Ariga, K., Sugamoto, K., Uchiyama, Y., Ochi, T., Yoshikawa, H.: Immunohistochemical detection of cathepsin D, K, and L in the process of endochondral ossification in the human. *Histochemistry and Cell Biology* 114:21-7, 2000.

3. Nakase, T., Takeuchi, E., Sugamoto, K., Kaneko, M., Tomita, T., Myoui, A., Uchiyama, Y., Ochi, T., Yoshikawa, H.: Involvement of multinucleated giant cells synthesizing cathepsin K in calcified tendinitis of the rotator cuff tendons. *Rheumatology (Oxford)*. 39:1074-1077, 2000.

4. Kawagoe, K., Saito, M., Shibuya, T., Nakashima, T., Hino, K., Yoshikawa, H.: Augmentation of cancellous screw fixation with hydroxyapatite composite resin (CAP) in vivo. *Journal of Biomedical Material Research* 53:678-684, 2000.

5. Shi, K., Hayashida, K., Kaneko, M., Hashimoto, J., Tomita, T., Lipsky, P.E., Yoshikawa, H., Ochi, T.: Lymphoid chemokine B cell-attracting chemokine-1 (CXCL13) is expressed in germinal center of ectopic

lymphoid follicles within the synovium of chronic arthritis patients. *Journal of Immunology*, 166:650-655, 2001.

6. Nakase, T., Ariga, K., Miyamoto, S., Okuda, S., Tomita, T., Iwasaki, M., Yonenobu, K., Yoshikawa, H.: Distribution of genes for bone morphogenetic protein-4, -6, growth differentiation factor-5, and bone morphogenetic protein receptors in the process of experimental spondylosis in mice. *Journal of Neurosurgery*, 94:68-75, 2001.

##### 2. 学会発表

1. 第15回日本整形外科学会基礎学術集会：(平成12年9月、京都) BMP4の軟骨分化に対する作用－軟骨強制発現トランスジェニックマウスを用いた解析－：妻木範行、中瀬尚長、富田哲也、垣内雅明、木村友厚、越智隆弘、吉川秀樹：日整会誌 74(8) 2000, S1358

2. 第15回日本整形外科学会基礎学術集会：(平成12年9月、京都) 骨折仮骨形成前の骨膜細胞における Ptc/Gli-BMP signaling：中瀬尚長、岩崎幹季、金子元春、名井陽、富田哲也、妻木範行、越智隆弘、吉川秀樹：日整会誌 74(8) 2000, S1725

3. 第18回日本骨代謝学会(平成12年7月、広島) 軟骨の形成と分化に対する BMP シグナルの作用－軟骨強制発現トランスジェニックマウスを用いた解析－：妻木範行、中瀬尚長、富田哲也、垣内雅明、木村友厚、越智隆弘、吉川秀樹：日本骨代謝学会雑誌 18(2) 2000, 0-003

4. 第18回日本骨代謝学会(平成12年7月、広島) メカニカルストレスにより誘導される BMP family/BMP receptors および Ptc/Gli signaling －マウス脊椎不安定性モデルを用いた解析－：中瀬尚長、有賀健太、岩崎幹季、宮本紳平、富田哲也、名井陽、妻木範行、米延策雄、越智隆弘、吉川秀樹

5. 第18回日本骨代謝学会(平成12年7月、広島) 骨折治癒過程における Smad の発現：栗山幸治、野村慎太郎、中瀬尚長、佐藤宗彦、川畑浩久、廣田誠一、安井夏生、越智隆弘、北村幸彦、吉川秀樹

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきことなし

厚生科学研究補助金  
分担研究報告書

疾病負担と判断分析による慢性関節リウマチの研究戦略

分担研究者 吉田勝美 聖マリアンナ医科大学予防医学教室 教授  
杉森裕樹 聖マリアンナ医科大学予防医学教室 講師  
須賀万智 聖マリアンナ医科大学予防医学教室 助手  
川口浩人 聖マリアンナ医科大学総合診療内科学教室 大学院

研究要旨：慢性関節リウマチは生命予後の観点よりも日常生活のQOLを低下させ、わが国では人口千対 3.3 から 4.9 という有病率から国民全体での疾病負担が大きい。本研究では疾病負担が時代的に推移した状況を明らかにすることおよび医療経済的な評価を行うことで慢性関節リウマチの戦略を構築するとともに、cost-effectiveness 分析による治療法選択のモデルを構築することにある。

#### A. 研究目的

わが国では、悪性新生物、心血管疾患など致死性のある疾患について大きな関心が寄せられ、これら疾患を中心とした対策が推進されてきた。しかし、近年、生活の質(QOL)の重要性が認識されるにいたり、単なる寿命の延長ではなく、QOLを維持向上させる医療が求められている。

慢性関節リウマチは、生命予後の比較的よい疾患であるが、完治させる治療方法が開発されておらず、日常生活機能の大きな損失をもたらさうる疾患である。厚生省リウマチ研究班調査によれば、全国の慢性関節リウマチ患者数は70万人にのぼり、高齢患者の増加傾向が明らかにされた。医療費の増加、労働能力喪失など社会的、経済的負担の点からも、慢性関節リウマチ対策は重要である。

本研究は、専門家意見をもとにした慢性関節リウマチの疾病負担を明らかにすることと種々の治療法のcost-effectiveness(CE)分析手法を明らかにすることにより慢性関節リウマチ研究戦略を支援することにある。

#### B. 研究方法

1. 専門家意見をもとにした疾病負担増の把握

(1) 臨床専門医を対象としたアンケート調査の結果から、慢性関節リウマチの一般

的患者像を明らかにし、(2)慢性関節リウマチ患者の診療報酬記録をもとに医療経済的負担を検討することで、慢性関節リウマチの疾病負担の評価を試みるものである。本研究の結果から、慢性関節リウマチ対策の指針を提示しうるものと期待される。本年度は、従来の慢性関節リウマチのアンケート調査票を作成することにある。

2. 治療法選択に関するCE分析法の検討

CE分析を行うことにより、治療法間で有効性を比較することが可能である。特に慢性関節リウマチのようなQOL、日常生活に影響する疾患については治療法の客観的情報を提供することにより、より高度な治療選択が可能になる。本年度は従来の研究成績をもとに、CE分析モデルを構築することにある。

(倫理面への配慮)

本研究では、患者個人を特定するデータを扱うことはなく、また個人のプライバシーを侵害することがないことを確認した。

#### C. 研究結果

疾病負担を計算する際に有病率と病態別の疾病負担が必要である。表1に現在までに発表された慢性関節リウマチの有病率をまとめた。表2には日常生活自立度別のリウマチ患者の割合をまとめた。これらの成績をもとに疾病負担を調査する質問

厚生科学研究補助金  
分担研究報告書

表を作成した。この質問表は、医療提供者を対象として調査できるように計画した。

治療法選択に関する CE 分析には図 1 に示すような判断樹モデルと効果 (ACR20/ACR70)、副作用、直接医療費 (治療費と検査費用、手術費用(6ヶ月))、間接費用 (就業可能年齢における収入) を結果指標として選択した。

D. 考察

本研究では慢性関節リウマチの研究戦略を疾病負担の観点から検討するための評価法を開発することにある。疾病負担を他の疾患と比較する観点と慢性関節リウマチの治療法の比較をする観点の両面から捉えることを目的としている。

他の疾患と比較する点については、パーキンソン病を対照として、患者の日常生活の負担を医療専門家から評価することを計画している。また、この調査表では慢性関節リウマチを通院治療、入院維持療法、入

院積極治療の3段階に分けて調査することでより実態に近い疾病負担を把握できることが期待できる。

治療に関する CE 分析では、今後開発される治療法について、治療効果および医療経済的な負担について検証できる変数を選択している。

E. 結論

慢性関節リウマチの疾病負担に関して、疾患比較による方法と治療法選択の観点から治療研究戦略を支援する質問表ならびにモデルを構築した。

F. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

G. 知的所有権の取得など

1. 特許許可
2. 実用新案登録
3. その他

表 1 有病率

1. 有病率 (千人対)		調査年 (報告年)		地域	対象数	対象年齢	診断基準	出典	著者
3.3	4.1	5.4	1996-1997	東北~九州5県6地区	51470	全年齢	1987 AFA	平成 研究業績	古野ら
4.9	-	-	1990-1993	鹿児島県内4町村・ ポーツ地区2町	27626	≥16	1987 AFA	平成6年度厚生省リウマチ病 実態調査報告書	松田ら
3.3	1.3	5.1	1981-1992	Chiev. n	3294	≥16	1987 AFA	Ann Rheumatic Disease 1998	Cimmino A
1.8	0.9	2.9	1990-1991	Belgrade, Yugoslavia	2184	≥19	1987 AFA	Br J Rheumatology 1998	Stojanovic R et al
4.4	-	-	1997)	Osla, Norway	356486	20-79		Scand J Rheumatol 1997	Kvien TK et al
7.5	-	-	1993)	New Delhi, India	44551	≥16	1987 AFA	Rheumatol Int 1993	Mishra AN et al
3.6	-	-	1991)	Sultanate of Oman	1925	≥16	1987 AFA	Br J Rheumatol 1991	Poun et al
10.7	7.4	13.7	1985	Rochester, Minnesota, US	1878	≥35	1987 AFA	Arthritis & Rheumatism 1999	Shrine F, Gabriel et al
7.3	4.0	10.0	1975	Rochester, Minnesota, US	54794	≥15	1958 AFA (p)	Am J Epidemiol 19 80	Athanas L, Ions et al
-	-	0.12	1993)	London, United Kingdom	1003	45-64	1958 AFA	Ann Rheum Dis	Spector TD et al
53.0	32.3	69.5	1984	Arizona (Pima and Papago India, U	1740	≥20	1983 AFA (def)	Am J Epidemiol 1989	Del Puente A et al
1.2	-	-	1975)	South Africa (black)	801	>15	Rhema cr	Ann Rheum Dis 19 75	Reighton P et al
0.03	-	-	1984	Nanda, South Africa	543	>18	1958 AFA (def)	J Rheumatol 1988	Reighton SW et al
2.6	1.3	3.8	1970)	New England to U	4552	>15	1963 AFA (pm, def)	N Eng J Med 1970	Calkins ES et al
3.5	1.9	4.5	1966	Hiroshima and Nagasaki, Jpn	16269	>15	1958 AFA (def)	Arthritis Rheum 1967	Wood J, Wet et al
3.3	1.6	4.9	1964	Gujarat, Pa	990	>18	1958 AFA (def)	Arthritis Rheu 4	m Mendez
1.7	-	-	1983	Arizona (Pima and Papago India, U	16269	>30	1958 AFA (def)	Arthritis Rheu 3	m Burch et al
8.0	5.0	10.7	1980	Siouka, Jpn	2592	All Ages	1958 AFA (def)	Jap Soc Intern Med 1980	Osoma et al

表 2 日常生活自立度別のリウマチ患者の割合

自立度	ランク	概要	割合
生活自立	J	障害を有するが日常生活は自立し独力で外出	71.00%
部分自立	A	屋内では自立、外出は介助が必要	18.20%
寝たきり	B	屋内で要介助、主にベッド上、座位保持可能	6.30%
	C	1日中ベッド上、排泄・食事・着替えに要介助	4.50%

図1 判断樹分析



