

与すると考えられる MMP-11 や MMP-17 が TNF 刺激 6 時間後に RA 滑膜細胞のみ亢進し、細胞周期制御因子である Cyclin B1, Cdk1 および Wee1 の発現も 24 時間後に亢進していた。

2. RA 滑膜細胞における TNF 刺激による Notch-Jagged 系の活性化

そこで、我々は特に RA 滑膜細胞で Notch-Jagged 系の活性化が起こっているか否かを検証した。その結果、RA 滑膜細胞では TNF 刺激後に Notch1 の細胞質領域(NICD)が核に移行していることが確認された。このことは、RA 滑膜細胞では確かに Notch シグナルが生じていることを示している。さらに、実際に、RA 患者の滑膜組織でも Notch1, Notch4, Jagged2 の蛋白レベルでの発現を確認することができた。対照として用いた OA 患者の滑膜組織ではこれらの発現はみられなかった。

3. 関節発生に伴う Notch および Jagged の発現

次に RA 滑膜細胞における Notch および Jagged の発現の生物学的意義を検索する目的で、関節発生時期のマウス胎児の関節局所での Notch および Jagged の発現の有無を検索した。関節形成は発生の後期に起こるが、胎生 15 日(E15)マウスの関節の滑膜組織と軟骨形成予定領域の両者に Notch1, Notch4, Jagged2 の発現が見られた。しかしながら、関節が完成している生後 1 日目の関節では、これらの蛋白の発現は滑膜組織に限局して認められその量も減少していた。

(倫理面への配慮)

RA 患者および対照疾患の患者よりの滑膜細胞採取については、あらかじめ研究目的についての十分な説明のもとにインフォームドコンセントを取得した。

C. 研究結果

Notch は、膜結合型の特異な転写因子であり、リガンドである Jagged/Delta な

どと結合することにより、furin などによる切断を受け、NICD となり、核に行き、転写制御因子として働き、NFkB2 (p100/p52)などの遺伝子発現を誘導する。RelB/p52 型の NF- κ B は、通常の p65(RelA)/p50 からなる NF- κ B とは DNA 認識配列をわずかに異にし、別の遺伝子群の転写をも活性化すると考えられる。つまり、RA の滑膜細胞では、Notch シグナルが惹起されるため、TNF/IL-1 シグナルに加えて、より広い範囲の NF- κ B トランスクリプトームを活性化している可能性がある。このことが RA の滑膜細胞の特殊な作用を説明するか否かは今後の検証をまたねばならない。

さらに生物学的に重要なことは、Notch-Jagged (Delta) シグナルは元来細胞間相互作用を仲介し、発生期において隣接する細胞に対して細胞分化・増殖・アポトーシスなどの指令を送ることによって臓器形成や形態形成を制御する作用を持つが、本研究結果より、関節形成においてはおそらく滑膜前駆細胞から軟骨細胞が分化する際にこのシグナルが働いていることが示唆される。RA では、すでに分化していたはずの滑膜細胞が分化の逆行現象を無秩序に起こし、そのために細胞増殖と関節破壊があたかも発生期の状況を再現するように積極的に起こっているように見える。

D. 考察

RA における滑膜細胞の遺伝子発現プロファイル解析を実施した結果、RA における滑膜細胞の異常は免疫炎症応答に付随・続発するものではなく、それ自体で内在的な異常を持つものであることが遺伝子レベルで明らかにされた。また、この結果は、RA 滑膜細胞が独自に保有する破壊をとともなう増殖特性と自己永続性の炎症応答を説明するものと考えられた。これらの特徴的な変化が何に起因するのかは不明であるが、

エフェクターレベルでの対症療法にとどまっている従来の RA 治療体系に代わるさらに有効な治療戦略を構築するための研究対象が提示されたものと考えられる。

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) Jiang X, Takahashi N, Matsui N, Tetsuka T, Okamoto T. The NF- κ B activation in the lymphotoxin beta receptor signaling depends on the phosphorylation of p65 at serine 536. *J Biol Chem* 278: 919-926, 2003.
 - 2) Jiang X, Takahashi N, Ando K, Otsuka T, Tetsuka T, Okamoto T. NF- κ B p65 transactivation domain is involved in the NF- κ B-inducing kinase (NIK) pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 301: 583-590, 2003.
 - 3) Matsumura T, Degawa T, Takii T, Hayashi H, Okamoto T, Inoue J, Onozaki K. TRAF6-NF- κ B pathway is essential for IL-1-induced TLR2 expression and its functional response to TLR2 ligand in murine hepatocytes. *Immunology* 109: 127-136, 2003.
 - 4) Okano A, Usuda N, Furihata K, Nakayama K, Tian QB, Okamoto T, Suzuki T. Huntingtin-interacting protein-1-related protein of rat (rHIP1R) is localized in the postsynaptic regions. *Brain Res* 967: 210-225, 2003.
 - 5) Ohata H, Tetsuka T, Hayashi H, Onozaki K, Okamoto T. 3-Methylcholanthrene activates human immunodeficiency virus type 1 replication via aryl hydrocarbon receptor. *Microbiol Immunol* 45: 363-370, 2003.
 - 6) Teranishi F, Liu Z-Q, Kunimatsu M, Imai K, Takeyama H, Manabe T, Sasaki M, Okamoto T. Calpain is involved in the HIV replication from the latently-infected OM10.1 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 303: 940-949, 2003.
 - 7) Asamitsu K, Kanazawa S, Tetsuka T, Okamoto T. RING finger protein AO7 supports the NF- κ B-mediated transcription by interacting with the transactivation domain of p65 subunit. *J Biol Chem* 278: 26879-26887, 2003.
 - 8) Kanazawa S, Soucek L, Evan G, Okamoto T, Peterlin BM. c-Myc recruits P-TEFb for transcription, cellular proliferation and apoptosis. *Oncogene* 22: 5707-5711, 2003.
 - 9) Torigoe T, Izumi H, Yoshida Y, Ishiguchi H, Okamoto T, Itoh H, Kohno K. Low pH enhances Sp1 DNA binding activity and interaction with TBP. *Nucleic Acids Res* 31: 1-8, 2003.
 - 10) Ando K, Kanazawa S, Tetsuka T, Ohta S, Jiang X, Tada T, Kobayashi M, Matsui N, Okamoto T. Induction of Notch signaling by tumor necrosis factor in rheumatoid synovial fibroblasts. *Oncogene* 22: 7796-7803, 2003.
 - 11) Tozawa K, Kawai N, Hayashi Y, Sasaki S, Kohri K, Okamoto T. Gold compounds inhibit adhesion of human cancer cells to vascular endothelial cells. *Cancer Lett* 196: 93-100, 2003.
 - 12) Takahashi N, Kobayashi S, Jiang X, Kitagori K, Imai K, Hibi Y, Okamoto T. Expression of 53BP2 and ASPP2 proteins from TP53BP2 gene by alternative splicing. *Biochem Biophys Res Commun* 315: 434-438, 2004.
- ### 2. 学会発表
- 1) 岡本 尚, 手塚俊文, 浦西宏明, 朝光 かおり, 小林真哉, 金澤 智. NF- κ B による転写制御とがん化促進機構. 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 2003.9.25-27.
 - 2) 林 秀敏, 塩谷和昭, 瀧井猛将, 岡本 尚, 小野寄菊夫. ヒトメラノーマ細胞からの構成的 IL-1 α 発現機序の解析-GC rich 領域の関与. 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 2003.9.25-27.
 - 3) 朝光 かおり, 本田三男, 岡本 尚. Tat 分子内でより保存されている領域の特定とその意義. 日本ウイルス学会第 51 回学術集会・総会, 京都,

2003.10.27-29.

- 4) 今井健一, 岡本尚. HIV-1・Tat による OGG1 遺伝子のフィードフォワード活性化. 日本ウイルス学会第 51 回学術集会・総会, 京都, 2003.10.27-29.
- 5) 今井健一, 岡本 尚. HIV・Tat による OGG1 遺伝子のフィードフォワード活性化. 第 17 回日本エイズ学会学術集会, 神戸, 2003.11.27-29.
- 6) Imai K, Okamoto T. Feedforward Activation of 8-oxoguanine DNA Glycosylase 1 by HIV-1 Tat. 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2003.12.10-13.
- 7) Asamitsu K, Nakata K, Tetsuka T, Okamoto T. RING finger protein AO7 supports the NF- κ B-mediated transcription by interacting with the transactivation domain of p65 subunit. 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2003.12.10-13.
- 8) Okamoto T, Takahashi N, Kobayashi S, Uranishi H. 53BP2/ASPP2 and RAI as novel interacting proteins of NF- κ B p65. 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2003.12.10-13.
- 9) 金澤 智, Matija Peterlin, 岡本 尚. 転写制御機構における転写活性化因子と転写伸長因子 (P-TEFb) の相互作用. 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2003.12.10-13.

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
・特許番号 2004-3727、2004-3728 : NF- κ B 活性化抑制剤
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

ゲノム解析に基づく、関節リウマチ病因・病態解析

分担研究者：土屋尚之
(東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野 助教授)

研究要旨

昨年度までに、転写制御因子 Id1, Id3 が関節リウマチ(RA)滑膜組織内の血管内皮細胞に強発現すること、また、Id1, Id3 の強制発現により、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)の増殖、活性化、血管新生を誘導しうることを報告した。今回、RNAiを用いてHUVECのId1, Id3発現を抑制したところ、VEGF誘導性のHUVEC増殖、活性化、血管新生がほぼ完全に抑制された。このことから、IdがVEGF誘導性HUVEC活性化、血管新生に必須の因子であることが示され、将来的な抗血管新生療法の標的となりうることが示唆された。また、昨年度、HLA-DRB1 shared epitope 陰性RAとの関連を報告した *LILRB1(LIR1, ILT2)* に隣接する *LILRB4(LIR5, ILT3)* プロモーター領域のSNPにRAとの関連を見出した。また、BLyS(BAFF)とその抑制型受容体であるTACI多型との組み合わせがRAに関連することを見出した。

A. 研究目的

ゲノム解析のアプローチを利用して、関節リウマチ(RA)の発症あるいは病態に関連する遺伝子を見出し、予防、診断、治療上有益な知見を得ることを目的とする。本年度は、前年度までの成果を発展させるため、以下の2つの課題について検討した。

- (1) 遺伝子発現解析に基づき、前年度までにRA滑膜組織内の血管内皮における過剰発現と、培養血管内皮細胞増殖・活性化誘導能を見出した転写制御因子Idにつき、血管新生との関連をさらに検討した。また、RNAiによるId発現抑制により、血管新生活性が抑制されるか否かを検討した。
- (2) 候補遺伝子アプローチを用いたRAの疾患感受性遺伝子探索を継続した。本年度は、前年度に関連を見出した

LILRB1(LIR1, ILT2) の関連の一義性を検討する目的で、隣接する *LILRB4(LIR5, ILT3)* の検討を行うとともに、新たな候補遺伝子として、*TNFRSF13B(TACI)* 多型とRAとの関連を解析した。

B. 研究方法

- (1) 培養ヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞(HUVEC)にId3遺伝子を過剰発現させた際の血管新生活性を、走化性、MMP2, MMP9産生、管腔形成の測定により検討した。また、Id1およびId3に対するshRNAをHUVECに導入してId1, Id3の発現を抑制したときの、増殖、活性化(ICAM-1, E-selectin発現)、走化性、MMP産生、管腔形成を検討した。
- (2) 各遺伝子の多型スクリーニングを行い、見いだされた多型部位につき、RA, 対照群の関連研究を行った。 *LILRB1, B4*

については、連鎖不平衡の検討により、RA との関連の一義性を検討した。

(倫理面への配慮)

ゲノム多型解析研究は、平成13年3月に公布された遺伝子研究倫理に関するガイドラインに即した形で、平成13年12月26日に東京大学大学院医学系研究科・医学部研究倫理審査委員会の承認が得られた研究計画に則って行われた。

C. 研究結果

(1) 遺伝子導入により Id3 を過剰発現させた HUVEC では、VEGF、IL-1 β に対する走化性、MMP2、MMP9 産生、管腔形成のいずれもが有意に亢進した。一方、Id1 および Id3 に対する shRNA 導入によりこれらの遺伝子の発現を抑制した HUVEC においては、VEGF 刺激に対する増殖、ICAM-1、E-selectin、 α_v integrin 発現、走化性、MMP2、MMP9 産生、管腔形成のいずれもが、ほぼ完全に抑制された。

(2) *LILRB4* に15個所の多型・変異を検出し、うち、プロモーター領域の SNP に、RA との有意な関連を見出した (OR=1.60, P=0.0005)。この対立遺伝子と昨年度に関連を報告した *LILRB1* ハプロタイプとの間には連鎖不平衡が存在したが、二座位解析の結果、これらは独立の感受性遺伝子であると考えられた。*TNFRSF13B(TACI)* に8個所の多型・変異が見出された。これらは、単独では RA との関連は検出されなかったが、*TNFRSF13B(BLyS)* のプロモーター領域と *TNFRSF13B* の3'非翻訳領域の SNP の組み合わせに、RA との有意な負の関連が検出された (OR=0.51, P=0.01)。

D. 考察

本研究により、Id は HUVEC における VEGF 誘導性血管新生における必須の因子であることが見出され、RA をはじめとする血管新生関連疾患治療上、ター

ゲット分子となりうる可能性が示された。また、前年度の *LILRB1* の結果とあわせ、*LILR* 遺伝子ファミリーは、きわめて多型に富み、免疫疾患の感受性に深い関連を有する可能性が示唆され、今後、残る10遺伝子の解析が必要であると考えられた。また、*BLyS* と *TACI* はリガンド・受容体の関係にあり、両方の制御領域多型の組み合わせが、遺伝子間相互作用を介して、RA 感受性に関連するものと思われ、今後の機能解析が必要と考えられた。

E. 結論

VEGF 誘導性血管新生において、Id は必須の分子であり、その制御が新たな RA 治療に結びつく可能性がある。*LILRB1*、*LILRB4* 多型がそれぞれ独立に、*TNFRSF13B*、*TNFRSF13B* 制御領域 SNP は組み合わせで、それぞれ RA 感受性と関連する。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

- 論文発表
- Hikami K, Tsuchiya N, Yabe T, Tokunaga K. Variations of human killer cell lectin-like receptors: common occurrence of *NKG2-C* deletion in the general population. *Genes Immun* 4: 160-167, 2003.
- Siriboonrit U, Tsuchiya N, Sirikong M, Kyogoku C, Bejrachandra S, Suthipinittharm P, Luangtrakool K, Srinak D, Thongpradit R, Fujiwara K, Chandanayingyong D, Tokunaga K. Association of Fc γ receptor IIB, IIIA and IIIB polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thais. *Tissue Antigens* 61: 374-383, 2003.
- Tsuchiya N, Kobayashi S, Kawasaki A, Kyogoku C, Arimura Y, Yoshida M, Tokunaga K, Hashimoto H. Genetic background of Japanese patients with ANCA-associated vasculitis: Association

- of *HLA-DRB1*0901* with microscopic polyangiitis. *J Rheumatol* 30: 1534-1540, 2003.
- 4) Karassa FB, Bijl M, Davies KA, Kallenberg CGM, Khamashta MA, Manger K, Michel M, Piette J-C, Salmon JE, Song YW, Tsuchiya N, Yoo D-H, Ioannidis JPA. The role of the FcγRIIA polymorphism in the antiphospholipid syndrome. An international meta-analysis. *Arthritis Rheum* 48: 1930-1938, 2003.
 - 5) Chu ZT, Tsuchiya N, Kyogoku C, Ohashi J, Qian YP, Xu SB, Mao CZ, Chu JY, Tokunaga K. Association of Fcγ receptor IIb polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Chinese: a common susceptibility gene in the Asian populations. *Tissue Antigens* 63: 21-27, 2004.
 - 6) Miyashita R, Tsuchiya N, Hikami K, Kuroki K, Fukazawa T, Bijl M, Kallenberg CGM, Hashimoto H, Yabe T, Tokunaga K. Molecular genetic analyses of human *NKG2C (KLRC2)* gene deletion. *Int Immunol* 16: 163-168, 2004.
 - 7) Kyogoku C, Tsuchiya N, Wu H, Tsao BP, Tokunaga K. Association of Fcγ receptor IIA, but not of IIB and IIIA, polymorphisms with systemic lupus erythematosus: A family-based association study in Caucasians. *Arthritis Rheum* 50: 671-673, 2004.
 - 8) Hase H, Kanno Y, Kojima M, Hasegawa K, Sakurai D, Kojima H, Tsuchiya N, Tokunaga K, Masawa N, Azuma M, Okumura K, Kobata T. BAFF/BLyS can potentiate B-cell selection with the B-cell co-receptor complex. *Blood*, in press.
2. 学会発表
 - 1) 徳永勝士, 橋本博史, 土屋尚之. 膠原病感受性遺伝子の探索. 第26回日本医学会総会, 福岡, 2003.4.
 - 2) Sakurai D, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Tokunaga K. Induction of proliferation of activation of endothelial cells by overexpression of *ID3* gene. *リウマチ* 43: 252, 2003.
 - 3) Kuroki K, Tsuchiya N, Matsuta K, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K. Association of Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor 1 (LIR1, ILT2, LILRB1) polymorphism with susceptibility to RA and SLE in Japanese. *リウマチ* 43: 254, 2003.
 - 4) 京極千恵子, 河野肇, 土屋尚之, 鈴木毅, 山本一彦, 徳永勝士, 本田善一郎. SLEに関連するFcγRIIB多型のB細胞受容体シグナル抑制機能の検討. *リウマチ* 43: 304, 2003.
 - 5) 川崎綾, 土屋尚之, 松多邦雄, 深沢徹, 橋本博史, 徳永勝士. BAFF-R, TACI 遺伝子の多型解析とSLEおよびRAとの関連の検討. *リウマチ* 43: 307, 2003.
 - 6) 宮下リサ, 土屋尚之, 氷上光輝, 黒木喜美子, 徳永勝士. ヒトNKG2C遺伝子欠失の分子遺伝学的解析. *リウマチ* 43: 319, 2003.
 - 7) 櫻井大祐, 土屋尚之, 大槻祐頼, 津野寛和, 高橋孝喜, 徳永勝士. 血管内皮細胞活性化および血管新生誘導におけるId遺伝子の役割. 第62回日本癌学会総会, 名古屋, 2003.9.
 - 8) 櫻井大祐, 土屋尚之, 山口晃弘, 大槻祐頼, 津野寛和, 高橋孝喜, 徳永勝士. Crucial role for Id in the induction of activation and angiogenic property of endothelial cells. 日本人類遺伝学会第48回大会, 長崎, 2003.10.
 - 9) 人見祐基, 土屋尚之, 川崎綾, 深沢徹, 松多邦雄, Betty Tsao, 橋本博史, 徳永勝士. ヒトCD72遺伝子の多型解析と、全身性エリテマトーデスおよび関節リウマチとの関連の検討. 日本人類遺伝学会第48回大会, 長崎, 2003.10.
 - 10) 江原幸和, 土屋尚之, 櫻井大祐, 山口晃弘, 徳永勝士. ヒトfollistatin-related protein (FRP)遺伝子多型の関節リウマチとの関連の検討. 日本人類遺伝学会第48回大会, 長崎, 2003.10.
 - 11) 宮下リサ, 土屋尚之, 屋部登志雄,

- 徳永勝士. 関節リウマチにおける KIR 遺伝子プロファイルの解析. 日本人類遺伝学会第 48 回大会, 長崎, 2003.10.
- 12) 黒木喜美子, 土屋尚之, 前仲勝実, Linda Rasubala, 白石充典, 山下由美, 松多邦雄, 深沢徹, 神田大輔, 小池隆夫, 十字猛夫, 橋本博史, 徳永勝士. Leukocyte immunoglobulin-like receptor (LIR) 遺伝子群多型と日本人 RA, SLE との関連. 日本人類遺伝学会第 48 回大会, 長崎, 2003.10.
- 13) Kusaoi M, Fukazawa T, Hirashima M, Morita Y, Morita T, Okamoto K, Ikuta T, Tamiya G, Tsuchiya N, Tokunaga K, Inoko H, Hashimoto H. Genome-wide association study of systemic lupus erythematosus on chromosome 1. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl): S226, 2003.
- 14) Kuroki K, Tsuchiya N, Maenaka K, Rasubala L, Shiroishi M, Yamashita Y, Matsuta K, Fukazawa T, Kohda D, Koike T, Juji T, Hashimoto H, Tokunaga K. Distinct associations of the leukocyte immunoglobulin-like receptor (*LIR*)1 and *LIR6* polymorphisms with susceptibility to rheumatoid arthritis (RA) and systemic lupus erythematosus (SLE). *Arthritis Rheum* 48 (Suppl): S197, 2003.
- 15) Chu ZT, Tsuchiya N, Kyogoku C, Qian YP, Xu SB, Mao CZ, Chu JY, Tokunaga K. Association of Fc gamma receptor IIb polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Chinese: a common susceptibility gene in the Asian populations? *Arthritis Rheum* 48 (Suppl): S380, 2003.
- 16) Kyogoku C, Tsuchiya N, Wu H, Tsao BP, Tokunaga K. Association of Fcγ receptor IIA, but not of IIB and IIIA, polymorphisms with systemic lupus erythematosus in Caucasians: a family-based association study. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl): S380, 2003.
- 17) Sakurai D, Tsuchiya N, Yamaguchi A, Tsuno NH, Okaji Y, Tokunaga K, Takahashi K. Crucial role for Id in the induction of activation and angiogenic property of endothelial cells. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl): S340, 2003.
- 18) Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Matsuta K, Hase H, Kobata T, Hashimoto H, Tokunaga K. Association of *TACI* polymorphisms with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl): S383, 2003.
- 19) Miyashita R, Tsuchiya N, Hikami K, Kuroki K, Fukazawa T, Bijl M, Kallenberg CGM, Hashimoto H, Yabe T, Tokunaga K. Molecular genetic analyses of human *NKG2C* gene deletion. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl): S473, 2003.
- 20) Kyogoku C, Kono H, Tsuchiya N, Suzuki T, Yamamoto K, Tokunaga K, Honda Z-I. SLE-associated polymorphism of FcγRIIB Ile232Thr affects localization at lipid rafts and attenuation of BCR signaling. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl): S647, 2003.
- 21) 人見祐基, 土屋尚之, 川崎綾, 深沢徹, 松多邦雄, Betty Tsao, 橋本博史, 徳永勝士. ヒト CD72 遺伝子の多型解析と、全身性エリテマトーデスおよび関節リウマチとの関連の検討. 日本免疫学会総会学術集会記録 33: 196, 2003.
- 22) 川崎綾, 土屋尚之, 深沢徹, 松多邦雄, 長谷英徳, 小端哲二, 橋本博史, 徳永勝士. TACI, APRIL 遺伝子多型と RA および SLE 疾患感受性の関連. 日本免疫学会総会学術集会記録 33: 196, 2003.
- 23) 河野肇, 京極千恵子, 鈴木毅, 土屋尚之, 山本一彦, 徳永勝士, 本田善一郎. SLE に関連するヒト FcγRIIB 多型の脂質ラフト会合および B 細胞受容体信号伝達抑制への影響. 日本免疫学会総会学術集会記録 33: 197, 2003.
- 24) 宮下リサ, 土屋尚之, 松多邦雄, 屋部登志雄, 徳永勝士. 日本人関節リウマチと KIR 遺伝子多型との関連の検討. 日本免疫学会総会学術集会記録 33: 213, 2003.

- 25) Kuroki K, Tsuchiya N, Maenaka K, Rasubala L, Shiroishi M, Yamashita Y, Matsuta K, Fukazawa T, Kohda D, Koike T, Juji T, Hashimoto H, Tokunaga K. Distinct associations of the leukocyte immunoglobulin-like receptor (LIR)1 and *LIR6* polymorphisms with susceptibility to RA and SLE. 日本免疫学会総会学術集会記録 33: 214, 2003.
- 26) 江原幸和, 土屋尚之, 櫻井大祐, 山口晃弘, 松多邦雄, 徳永勝士. ヒト follistatin-related protein (FRP)遺伝子多型の関節リウマチとの関連の検討. 日本免疫学会総会学術集会記録 33: 214, 2003.
- 27) Sakurai D, Tsuchiya N, Yamaguchi A, Okaji Y, Tsuno NH, Takahashi K, Tokunaga K. Induction of proliferation and activation of endothelial cells by overexpression of ID gene. 日本免疫学会総会学術集会記録 33: 224, 2003.
- 28) 申栄吉, 土屋尚之, 櫻井大祐, 川崎綾, 長谷英徳, 大槻祐頼, 津野寛和, 高橋孝喜, 小端哲二, 徳永勝士. ヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞 (HUVEC)における BlyS の発現. 日本免疫学会総会学術集会記録 33:319, 2003.

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
 - ・出願番号 2003-331089 : ヒト血管内皮細胞のVEGF誘導性活性化及び血管新生におけるIdの役割 (平成15年9月24日)
2. 実用新案登録
 - なし
3. その他
 - なし

厚生労働科学研究費補助金 (免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業)
分担研究報告書

疾患遺伝子 *DR3* からみた早期診断と臨床経過の予知

分担研究者：塩澤俊一

(神戸大学医学部保健学科膠原病学講座・大学院医学系研究科病態解析学・附属病院免疫内科 教授)

研究要旨

関節リウマチ(RA)の疾患遺伝子について、私どもは *DR3* 遺伝子上に nt564(A to G);Asp159Gly, nt630+622(del14), nt631-538 (C to T), nt631-391(A to T), nt631-243(A to G)の SNP 4箇所および核酸欠損1箇所の変異を見出した。この変異に起因する変異型 *DR3* 分子(デスドメインを持たない)が正常 *DR3* 分子とヘテロ三量体を形成し、変異 *DR3* 分子は正常型 *DR3* によるアポトーシス誘導をドミナントネガティブに抑制した。変異は多発 RA 家系の 10%に見出され RA 家系に遺伝的に集積していた。そこで本研究では、*DR3* 変異が実際に関節炎の誘導に寄与していることを、一方で動物実験レベルでマウスのコラーゲン誘導関節炎の、発症時期ではなく、関節炎の程度を抗 *DR3* 抗体が抑制することから示した。また他方、ヒトにおいて *DR3* 遺伝子変異陽性例(n=31)の臨床所見を対照例(n=684)に比較して調査することによって、発症年齢には差が見出せなかったが、初発から20年後までの関節置換術の頻度(p<0.033)および2回以上関節置換術を受けた者の頻度(p<0.036)が *DR3* 変異保有者において有意に多いことから、*DR3* 遺伝子変異が疾患の発症ではなく増悪に関わる疾患遺伝子であることを証明した。さらに、FISH および fiber FISH 法を用いて、*DR3* 遺伝子が近傍に重複して存在し、遺伝子重複の頻度が RA 患者で健常者よりもより高頻度であることを見出した。この知見は、*DR3* 遺伝子変異の疾患の発症と増悪に及ぼす効果を知る上で重要と思われる。

A. 研究目的

私どもはこれまで、全染色体にわたるマイクロサテライトマーカー解析により、RA の疾患遺伝子座として第1染色体 D1S214/253、第8染色体 D8S556、X染色体 DXS1232/984 の3カ所を同定し、これを踏まえて、第1染色体に位置する RA の疾患遺伝子としてアポトーシスシグナル受容体 *DR3* の遺伝子変異を DNA レベルで確定した。すなわち、

シーケンシングの結果、細胞死を司る death receptor ファミリーの一つ *DR3* 遺伝子変異が RA の疾患遺伝子であり、*DR3* のゲノム DNA 上に4箇所の SNP と1箇所の核酸リピート部位のあることを見出した。この遺伝的多型性は家族発症の RA 家系に有意に多く集積していたが、今回、*DR3* 分子が関節炎に関わることの証拠を求めて、マウスのコラーゲン誘導関節炎およびヒトにおけ

る DR3 遺伝子変異例の臨床所見を検討した。

B. 研究方法

当該遺伝子をプラスミドに組み換えて発現させて、抗体による免疫沈降法、ウエスタンブロットを用いて細胞内相互作用を検討した。臨床検体の扱いは神戸大学医学部遺伝子倫理委員会の承認の上その認可基準に従って遺伝子解析を行い臨床経過は病歴記録に基づいて調べた。

(倫理面への配慮)

神戸大学医学部遺伝子倫理委員会におけるゲノムに関する3省庁合同指針に準拠した承諾を得た上で研究を開始している。

C. 研究結果

DR3 遺伝子上に nt564(A to G); Asp159Gly, nt630+622(del14), nt631-538 (C to T), nt631-391(A to T), nt631-243(A to G)の SNP 4箇所および核酸欠損1箇所の変異に起因する変異型 DR3 分子(デスドメインを持たない)が正常 DR3 分子とヘテロ三量体を形成し、変異 DR3 分子は正常型 DR3 によるアポトーシス誘導をドミナントネガティブに抑制した。変異は多発 RA 家系の 10%に見出され RA 家系に遺伝的に集積していた。そこで本研究では、DR3 変異が実際に関節炎の誘導に寄与していることを、一方で動物実験レベルでマウスのコラーゲン誘導関節炎の、発症時期ではなく、関節炎の程度を抗 DR3 抗体が抑制することから示した。また他方、ヒトにおいて DR3 遺伝子変異陽性例(n=31)の臨床所見を対照例(n=684)に比較して調査することによって、発症年齢には差が見出せなかったが、初発から20年後までの関節置換術の頻度(p<0.033)および2回以上関節置換術を受けた者の頻度(p<0.036)が DR3 変異保有者において有意に多いことから、DR3 遺伝子

変異が疾患の発症ではなく増悪に関わる疾患遺伝子であることを証明した。さらに、FISH および fiber FISH 法を用いて、DR3 遺伝子が近傍に重複して存在し、遺伝子重複の頻度が RA 患者で健常者よりもより高頻度であることを見出した。この知見は、DR3 遺伝子変異の疾患の発症と増悪に及ぼす効果を知る上で重要であり、今後さらに検討が必要と考えている。

D. 考察

さらに FISH および fiber FISH 法を用いて研究すると、DR3 遺伝子が元の遺伝子の近傍に重複して存在し、遺伝子重複の頻度が RA 患者で健常者より高頻度であることを見出した。この知見は、DR3 遺伝子変異の疾患の発症と増悪に及ぼす効果を知る上で重要でさらに検討を要すると考えている。

E. 結論

DR3 分子が関節炎に関わることの証拠として、(1) マウスのコラーゲン誘導関節炎に対して抗 DR3 抗体治療が有効であることを示した。また、(2) ヒトにおける DR3 遺伝子変異例の臨床所見を対照と比較すると、発症年齢は差がなかったものの、DR3 変異例には関節置換術が高頻度(p<0.033)に見出されたことから、DR3 遺伝子変異が疾患の発症にではなく増悪に関わる疾患遺伝子であると結論した。以上より、DR3 は RA の増悪に関わる疾患遺伝子で、DR3 遺伝子変異の同定は RA の早期診断と予後予測に寄与すると考えられた。

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) Sakaki T, Sawada N, Abe D, Komai K, Shiozawa S, Nonaka Y, Nakagawa K, Okano T, Ohta M, Inouye K.

- Metabolism of 26, 26, 26, 27, 27-F6-1a, 25-dihydroxyvitamin D3 by CYP24: Species-based difference between humans and rats. *Biochem Pharmacol* 65: 1957-1965, 2003.
- 2) Hikasa M, Yamamoto E, Kawasaki H, Komai K, Shiozawa K, Hashiramoto A, Miura Y, Shiozawa S. p21 is down-regulated in conjunction with up-regulation of c-Fos in the lymphocytes of rheumatoid arthritis patients. *Biochem Biophys Res Commun* 304: 143-147, 2003.
 - 3) Muto M, Ohmura A, Hamamoto Y, Konishi Y, Shiozawa S, Youn JI, Tanifuji J, Furuya K, Sasazuki T, Ogawa H. Generalized pustular psoriasis: strategy for identification of psoriasis susceptibility gene. *Arch Dermatol Res* 295: S60-S62, 2003.
 - 4) Kawasaki H, Komai K, Nakamura M, Yamamoto E, OuYang Z, Nakashima T, Hashiramoto A, Shiozawa K, Ishikawa H, Kurosaka M, Shiozawa S. Human wee 1 Kinase is directly transactivated by and increased in association with c-Fos/AP-1: Rheumatoid synovial cells overexpressing these genes go into aberrant mitosis. *Oncogene* 22: 6839-6844, 2003.
 - 5) Matsuno H, Yodoh k, Hanyu T, Kano S, Komatsubara Y, Matsubara T, Murata N, Nakai H, Nakamura H, Ozaki S, Shimuzu M, Shiozawa S, Takasugi K, Goto M. Quantitative Assessment of hand radiographs of rheumatoid arthritis: interobserver variation in a Multicenter radiographic study. *J Orthop Sci* 8: 467-473, 2003.
 - 6) Komai K, Mukae-Sakairi N, Kitagawa M, Shiozawa S. Characterization of novel Alternative splicing variants of the mouse MCF-2 (DBL) proto-oncogene. *Biochem Biophys Res Commun* 309: 906-909, 2003.
2. 学会発表
- 1) 高見 希, 大澤佳代, 村山公一, 塩沢和子, 塩沢俊一. RA の疾患遺伝子 DR3 の定量 PCR による SNP s 解析. *リウマチ* 43: 266, 2003.
 - 2) 大澤佳代, 小西良武, 高見 希, 塩沢和子, 塩沢俊一. 関節リウマチ(RA)の疾患遺伝子 DR3 の遺伝子重複と SNPs について. *リウマチ* 43: 266, 2003.
 - 3) 塩沢和子, 田中泰史, 吉原良祐, 山根隆志, 木村 浩, 三枝康宏, 中川夏子, 阿部修治, 富岡正雄, 香山幸造, 寺島康宏, 高林千尋, 村田美紀, 柱本 照, 三浦泰史, 石川 斎, 黒坂昌弘, 佐藤雅江, 村山公一, 塩沢俊一. 関節リウマチ(RA)の疾患遺伝子 DR 3 変異陽性例の臨床像の特徴. *リウマチ* 43: 266, 2003.
 - 4) 中務美紀子, 駒井浩一郎, 酒井千菜, 塩沢俊一. 関節リウマチの疾患遺伝子 3 塩基挿入型 *ANG-1* による血管内皮細胞の遊走促進. *リウマチ* 43: 267, 2003.
 - 5) 佐藤優江, 小西良武, 村山公一, 塩沢和子, 田中泰史, 木村友厚, 塩沢俊一. 関節リウマチ(RA)の疾患遺伝子 Death receptor3(DR3)変異のヒト滑膜細胞における頻度解析について. *リウマチ* 43, 296: 2003.
 - 6) 荒川 歩, 駒井浩一郎, 高林千尋, 塩沢俊一. リウマチ疾患遺伝素因としての Dbl プロトオンコジーンスプライシング異常の分子機構. *リウマチ* 43: 302, 2003.
 - 7) 岡山理恵, 駒井浩一郎, 平の恵子, 中嶋淑絵, 柱本 照, 塩沢俊一. 関節リウマチ(RA)の疾患遺伝子 Dbl proto-oncogene 下流のシグナル伝達異常. *リウマチ* 43: 302, 2003.
 - 8) 酒井千菜, 中務美紀子, 駒井浩一郎, 塩沢俊一. 関節リウマチ(RA)の疾患遺伝子候補 Angiopoietin(Ang-1)の機能解析. *リウマチ* 43: 302, 2003.
 - 9) 北村仁美, 村尾英俊, 佐藤優江, 塩沢俊一. 関節リウマチ(RA)の疾患遺伝子 Death receptor3(DR3)の変異集積部位に結合する因子の探索. *リウマチ* 43: 302, 2003.
 - 10) 村田美紀, 高林千尋, 柱本 照, 三

- 浦泰史, 田中泰史, 吉原良祐, 塩沢和子, 木村 浩, 黒木康雄, 佐浦隆一, 黒坂昌弘, 塩沢俊一. 関節リウマチに対する MTX の治療効果. リウマチ 43: 316, 2003.
- 11) 川崎博樹, 佐浦隆一, 三浦泰史, 塩沢和子, 黒坂昌弘, 石川 斉, 塩沢俊一. 関節リウマチ(RA)の滑膜進展におけるインテグリンの役割. リウマチ 43: 322, 2003.
- 12) 黒木康夫, 高林千尋, 塩沢俊一. 眠前の少量 Prednisolone 投与は視床下部-下垂体系機能を改善し、関節リウマチ患者の症状緩和に寄与する. リウマチ 43: 328, 2003.
- 13) 塚本康夫, 中嶋淑絵, 松山浩子, 塩沢俊一. 数理モデルを用いた Th 細胞系免疫応答のシミュレーション. リウマチ 43: 402, 2003.
- 14) 村尾英俊, 中嶋淑絵, 川崎博樹, 塩沢俊一. マウス II 型コラーゲン誘導関節炎に対する抗 DR3 抗体(SS)の効果. リウマチ 43: 410, 2003.
- 15) 松山浩子, 中嶋淑絵, 塩沢俊一. 遷延感作による自己免疫発生過程における NKT 細胞の重要性. リウマチ 43: 413, 2003.
- 16) 中嶋淑絵, 松山浩子, 川崎博樹, 塩沢俊一. 遷延感作による自己免疫発生機序の解析. リウマチ 43: 413, 2003.

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

・出願番号：PCT/JP01/09313 (TLOP1-2/PCT)：慢性関節リウマチに関与するゲノムの診断方法、その発症可能性の判定方法、それらの検出用診断キットおよび、慢性関節リウマチの治療方法ならびに治療薬剤

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

RA に続発するアミロイドーシスの遺伝要因の解析

分担研究者：中野正明

(新潟大学医学部保健学科 教授)

研究要旨

反応性 AA アミロイドーシスは RA における重篤な合併症として知られている。その合併要因が解明されれば、早期発見・早期治療の面からもきわめて有用であり、今回は合併要因の解明並びにそれが RA アミロイドーシスの臨床経過や予後と関連するか否かについて検討した。発症要因については、アポリポ蛋白 E(ApoE)の表現型について、アミロイドーシス合併 68 例、非合併 144 例を対象に解析した。その結果、合併群、非合併群の順に、ApoE4 陽性例の割合は 26.5%、14.6%と合併群で有意に高く、RA アミロイドーシスの発症要因として ApoE4 の重要性が確認された。アミロイドーシス合併例の臨床経過や予後との関連では、ApoE4 陽性群でより短期間で合併する傾向や透析導入例の割合が多い傾向を認めた。さらに、ApoE4 陽性群で陰性群より RA 発症後の生命予後が有意に不良の結果が得られ、ApoE4 陽性群では最終時点での死亡例の割合が有意に多かった。すなわち、ApoE4 の存在は、RA におけるアミロイドーシスの合併、さらには合併例では生命予後にも影響する遺伝要因であることが確認された。

A. 研究目的

アミロイドーシスは RA の代表的合併症であり、何らかの死因による剖検例での合併率は 20~25%と高率である。腎障害や消化管障害、循環器障害などをきたす重篤な合併症であり、昨年度の研究において、合併例の生命予後がきわめて不良であることを報告した。

RA におけるアミロイドーシスの合併要因の解明は、早期発見・早期治療の観点からもきわめて重要と考えられる。これについては、昨年度は脳アミロイドーシスの一種であるアルツハイマー痴呆や透析アミロイドーシスで関連が報告されているアポリポ蛋白 E(ApoE)4

との関連性の有無を検討し、有意の関連性を報告した。

しかしながら、我々の昨年度の報告も含めて、これまでの RA アミロイドーシスと ApoE4 との関連性を検討した報告はいずれも全体の症例数が 100 例程度と比較的少ない研究であった。これまでの報告で ApoE4 との関連性に一致した結果が得られていないのは、症例数の少なさが一因とも考えられるため、今回は全体の症例数を約二倍に増やして検討するとともに、ApoE4 の存在が RA アミロイドーシスの臨床経過や予後に影響するか否かについても検討した。

B. 研究方法

対象は新潟大学第二内科及び関連施設で加療した RA212 例であり、アミロイドーシス合併例が 68 例、非合併例が 144 例である。合併要因に関しては、患者血清を等電点電気泳動法にて分画後、アルカリホスファターゼ標識した抗 ApoE を用いてイムノブロッキングし、ApoE 表現型を検出した。

アミロイドーシス合併例では、ApoE4 陽性群、陰性群に分けて RA 発症からアミロイドーシス合併までの期間、アミロイドーシス合併以後の累積生存率、RA 発症以後の累積生存率を Kaplan-Meier 法により解析して比較した。

(倫理面への配慮)

ApoE の表現型の解析によるアミロイドーシス合併の遺伝要因の検討においては、十分な説明と同意の下に血清採取を行った。

C. 研究結果

(1) ApoE の検討結果

① ApoE 表現型の検討

アミロイドーシス合併 68 例と非合併 144 例を対象として ApoE4 陽性例の割合を比較した結果、合併群で 26.5%、非合併群で 14.6%であり、合併群で有意に高頻度であった($p=0.037$) (図 1)。

② 今回の結果と 1998 年の Korpela らの報告、1999 年の奥田らの報告、2001 年の Maury らの報告を集積してメタアナリシスを行った結果でも、RA におけるアミロイドーシスの合併と ApoE4 との関連性が確認された。

(2) アミロイドーシス合併例での ApoE4 陽性群と陰性群での臨床比較

以下の検討においては、詳細な臨床経過が把握可能であった新潟大学の 58 例のみを対象とした。アミロイドーシス合併をエンドポイントとして RA 発症からの罹病期間を ApoE4 陽性群と陰性群とで比較した結果、前者においてより短期間でアミロイドーシスを合併す

る傾向を認めた($p=0.0675$)。ちなみに、ApoE4 陽性群、陰性群のアミロイドーシス合併までの平均罹病期間はそれぞれ 11.9 年、15.4 年であり、E4 陽性群で短い傾向を認めた($p=0.097$)。なお、罹病期間 8 年以内でアミロイドーシスを合併した症例の割合は、E4 陽性群で 43.8%(7/16)、陰性群で 23.8% (10/42)であった。

次に、透析導入例の割合を ApoE4 陽性群と陰性群で比較した結果、前者で 69%(11/16)、後者で 40%(17/42)であり、ApoE4 陽性群で透析導入例が多い傾向であった($p=0.054$) (図 2)。さらに、RA 発症以後の累積生存率を ApoE4 陽性群と陰性群とで比較し、前者で有意に予後不良の結果が得られた($p=0.040$)。最終時点での死亡例の割合は ApoE4 陽性群で 75%(12/16)であったのに対して、E4 陰性群で 45%(19/42)であり、前者で有意に高かった($p=0.042$) (図 3)。

D. 考 察

RA アミロイドーシスの予後は、アミロイドーシス合併の認識の広まり、上部消化管粘膜生検による早期発見例の増加、合併例へのステロイドや免疫抑制薬の積極的使用などにより改善傾向にあることは昨年度報告した。メトトレキサートの使用拡大や各種生物製剤の導入による改善も期待される。加えて、RA におけるアミロイドーシスの合併要因が解明されれば、さらなる予後の改善が期待されるため、この方面の研究はきわめて重要と思われる。

これまでに、脳アミロイドーシスであるアルツハイマー痴呆において、アミロイドーシス発症と ApoE4 との密接な関連性が明らかにされている。ApoE4 は前駆蛋白の凝集促進やアミロイド物質の線維化促進と関連すると考えられており、ApoE4 はアルツハイマー痴呆発病の危険因子あるいは促進因子と考えられている。同様に、透析アミロイドーシスと ApoE4 との関連も明らかに

されており、ApoE4 はこれらのアミロイドーシスの発症要因として重要と考えられている。

RA におけるアミロイドーシスの合併要因に関して、我々は 1996 年に等電点電気泳動法により ApoE について検討し、ApoE4 との関連を報告し、昨年度も ELISA 法で再検討して同様の結果を得た。しかし、これまでの検討の症例数が少ないため、今回はより多数例で検討しメタアナリシスも行ったが、RA におけるアミロイドーシスの合併に ApoE4 の存在がやはり重要と考えられた。

今回の検討ではアミロイドーシス合併例の臨床経過との関連性も検討し、ApoE4 の存在がより短い罹病期間でのアミロイドーシス合併と関連することが明らかにされた。さらに ApoE4 陽性群で陰性群に比べて透析導入例が多い傾向を認めたことは、ApoE4 の存在により腎障害が重症化しやすいことを示唆している。RA 発症後早期にアミロイドーシスを合併しやすく、合併後の腎障害の重症化例が多いことが加味され、結局のところ ApoE4 の存在は RA 発症後の累積生存率にまで影響することが明らかにされたことはきわめて意義深いと思われる。

RA アミロイドーシスの発症要因としては、他に前駆蛋白である血清アミロイド A 蛋白(SAA)の主たるサブタイプである SAA1 のプロモーター領域-13T アリルの重要性が報告されていることは前年度も述べた。奥田らは-13T の存在は重篤な消化管障害と関連して予後不良の要因であると報告しており、今回の ApoE4 が重篤な腎障害と関連する結果が得られたことと対比してきわめて興味深い。

E. 結論

RA におけるアミロイドーシス合併の遺伝的要因として ApoE4 が重要と考えられた。ApoE4 はより短期間でのアミロ

イドーシス合併に関係し、合併後の腎障害の重症化にも関連する傾向が示唆された。それらを総合して、ApoE4 陽性例は陰性例に比べて、RA 発症後の生命予後が有意に不良であることが解明された。

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) 黒田 毅, 原田 隆, 村上修一, 伊藤 聡, 下条文武, 中野正明. アミロイドーシス合併 RA の治療と予後の対策. 新潟医学会誌 117 (9): 502-508, 2003.
- 2) 長谷川尚, 中野正明, 下条文武. RA アミロイドーシスとアポリポ蛋白 E. リウマチ科 30 (3): 258-263, 2003.
- 3) 中野正明, 長谷川尚, 黒田 毅, 下条文武. 続発性アミロイドーシス. リウマチ科, in press.

2. 学会発表

- 1) 黒田 毅, 原田 隆, 村上修一, 伊藤 聡, 中野正明, 下条文武. 関節リウマチによる反応性アミロイドーシス合併例の予後の解析. 第 100 回日本内科学会講演会発表, 2003.4.
- 2) 黒田 毅, 原田 隆, 村上修一, 伊藤 聡, 下条文武, 中野正明. 関節リウマチによる反応性アミロイドーシス合併例の予後の解析. 第 47 回日本リウマチ学会総会発表, 2003.4.

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

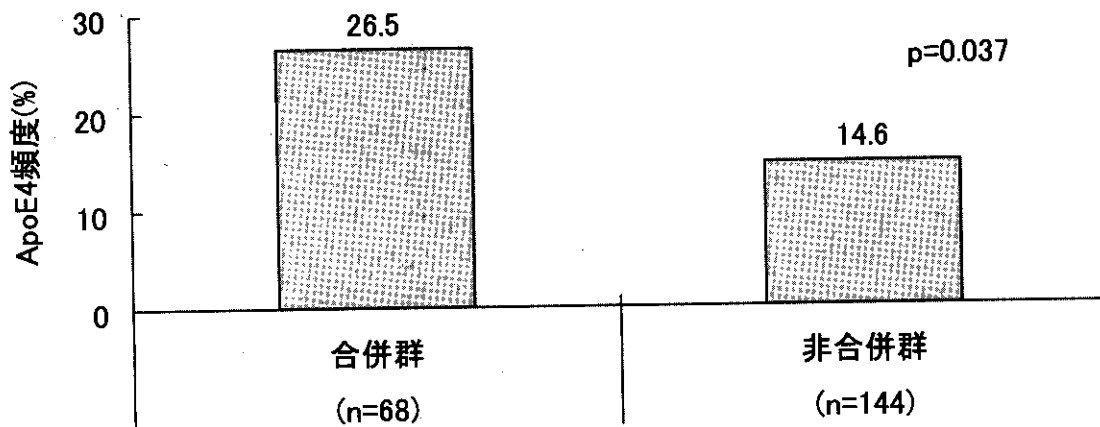


図1. アミロイドーシス合併の有無とApoE4陽性率

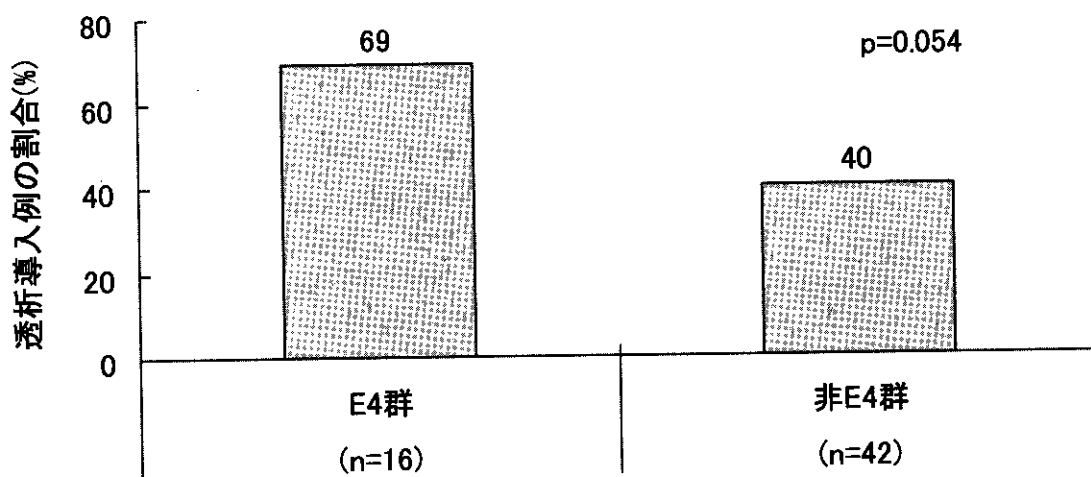


図2. ApoE4の有無と透析導入例の割合

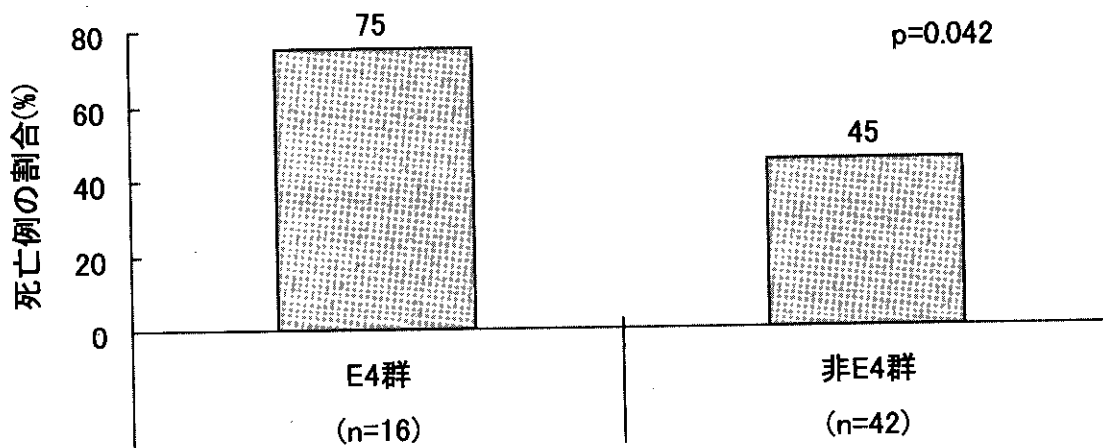


図3. ApoE4の有無による死亡例の比較

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

(書籍)

主任研究者氏名：江口勝美

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
江口勝美	シェーグレン症候群	山口徹, 北原光夫	医学書院	2004
		今日の治療指針	東京都	575-577
江口勝美	関節リウマチ	三森経世	文光堂	2004
		リウマチ・膠原病診療 チェックリスト	東京都	180-187
江口勝美, 折口智樹	感染性関節炎		朝倉書店	2003
		内科学総集編	東京都	1270-1272
江口勝美	関節リウマチ (病態・診断・治療)	宮坂信之他	朝倉書店	2003
		骨・関節疾患	東京都	221-227
江口勝美	全身性硬化症 (強皮症)	山口徹, 北原光夫	医学書院	2003
		今日の治療指針	東京都	9-10
江口勝美	関節リウマチ	上平憲, 田代隆良	医学芸術社	2003
		看護アセスメントに 役立つ検査の読み方	東京都	413-419
江口勝美	リウマチ・膠原病	古山正史	大道学館	2003
		日常診療にすぐ役立つ -各科常用最新処方-	福岡市	355-374
江口勝美	シェーグレン症候群の病型分 類と疫学	片山一朗	医薬ジャーナル社	2003
		シェーグレン症候群の 基礎と臨床	大阪市	12-21

分担研究者氏名：三森経世

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
三森経世	関節リウマチ		(株) 情報機構	2003
		新薬開発・申請のポイン トと疾病別ガイドライン	東京	209-222

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
三森経世	膠原病・リウマチ性疾患における自己抗体	狩野庄吾, 中川武正他	最先端医療技術研究所	2003
		アレルギー・リウマチ・ 膠原病の最新医療	東京	242-247

分担研究者氏名：上谷雅孝

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
上谷雅孝	II. 画像診断 2. CT	長野昭, 岩本幸英	南江堂	2003
		ゴールドスタンダード 整形外科 診察・検査・ 画像診断	東京	375-384
上谷雅孝	骨関節	上谷雅孝	メディカルビュー	2003
		単純X線写真読影の ためのキーワード	東京	1-421

分担研究者氏名：岡本 尚

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
Tetsuka, T., Okamoto, T.	Oxidative stress and signal transduction pathway of redox sensor proteins.:Clinical applications and novel therapeutics.	R. G. Cutler and H. Rodriguez	World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.	2003
		Critical Reviews of Oxidative Stress and Aging.	U. S. A.	112-127
岡本 尚	ウイルス性出血熱	山口 徹, 北原光夫	医学書院	2003
		今日の治療指針 2003 年版	東京	130-131

分担研究者氏名：土屋尚之

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
土屋尚之	血清反応陰性脊椎関節症	伊賀立二, 森田寛, 永倉俊和, 廣畑俊成	メディカルレビュー社	2003
		喘息・アレルギー・リウ マチ治療薬ハンドブック	東京	106-113
土屋尚之	血清反応陰性脊椎関節症	黒川 清, 松澤佑次	文光堂	2003
		内科学 (第2版)	東京	2197-2198

分担研究者氏名：塩澤俊一

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
塩澤俊一他	関節リウマチの疾患遺伝子	有井滋樹他	メディカルドゥ	2003
		これだけは知っておきた い遺伝子医学の基礎知識		254-259
塩澤俊一他	関節リウマチのゲノム解析	狩野庄吾	先端医療技術研究所	2003
		アレルギー・リウマチ膠 原病の最新医療		225-227
塩澤俊一	膠原病学	塩澤俊一	丸善株式会社	2003
		膠原病学		1-582
塩澤俊一他	膠原病	分子予防環境医学会	本の泉社	2003
		分子予防環境医学		462-474
塩澤俊一	ヘモクロマトーシス	七川敏次	永井書店	2003
		リウマチ病セミナーXIV		9-15