

# 今日の 整形外科 治療指針 第5版

編集

二ノ宮節夫

埼玉医科大学教授

富士川恭輔

防衛医科大学校教授

越智 隆弘

国立相模原病院院長

国分 正一

東北大学大学院教授

岩谷 力

国立身体障害者リハビリテーションセンター  
更正訓練所所長

医学書院

表5-4 関節リウマチに対する生物学的製剤使用に際して提唱されているガイドライン(日本リウマチ学会, 2003年)

<p>MTX 6 mg/週を3カ月以上投与持続してもコントロール不良のRA患者</p> <p>加えて以下の3項目を満たす者</p> <p>①疼痛関節6個以上</p> <p>②腫脹関節6個以上</p> <p>③CRP 2.0 mg/dl あるいは ESR 28 mm/h 以上</p> <p>・禁忌事項 結核などの感染症, カリニ肺炎, うつ血性心不全, 悪性腫瘍, 多発性硬化症などの脱髄疾患</p> <p>・医師・医療施設への条件 即日の胸部X線撮影, および読影し日和見感染の治療が可能なこと. 注射によるアナフィラキシー症状に緊急対応が可能なこと.</p>
---

ついて同意を得ること。

DMARDsは遅効性で、無効例、副作用例もあるが、RA関節破壊の防止にはDMARDsのみが有用で、DMARDsなしではRA症状の寛解が期待できないことを説明する。

②抗リウマチ剤副作用への恐怖心を和らげること。

副作用の説明は薬への恐怖心をかえってあおるが、副作用への予備知識こそが、副作用の早期発見、早期対応に結びつくことを説明する。

③患者に対する心のケアを忘れないこと。

RA患者の苦痛や心の悩みに耳を傾け、一緒に対応策を考える姿勢をとり、将来のRA治療に希望を失わせないことが大切である。決して、「リウマチは治らない」、「リウマチだからしかたない」に類する言葉は言ってはならない。

#### ■ 看護ケアとリハビリ上の注意

①RA患者の心理(ときにうつ状態, 医療への不信心, 依存心が強いなど)を理解すること。

②関節拘縮の強いRA患者への介助, リハビリでは、まず自動運動をさせて、動かせる関節可動域の範囲で痛みの様子をみながら行うこと。決して急に他動運動を行ってはならない。

③RA患者学的者では皮膚の萎縮, 毛細血管の脆弱性があるので、かかえたり, 手足をつかむときには手掌または上肢全体を使ってやさしく行うこと。

## 関節リウマチ合併症の治療

Treatment of complications of rheumatoid arthritis

広畑俊成 帝京大学・助教授(内科学)

【疾患概念】 関節リウマチは関節滑膜に主座を持つ、

慢性進行性の非化膿性炎症である。その治療経過中にさまざまな合併症を生じる。その中には関節リウマチの関節外病変として生じるものもあるが、治療薬(抗リウマチ薬, 非ステロイド性抗炎症薬; NSAIDs)による副作用である場合も少なくない。

#### 〔臨床症状〕

(1)貧血: 関節リウマチの活動期には小球性低色素性の貧血がみられる。これは鉄の利用障害に基づくものであり、通常血清鉄は低下するが、フェリチンは正常もしくは増加する。フェリチンが低下している場合は、消化管出血などの合併に注意する必要がある。

(2)腎障害: 活動性の持続する関節リウマチ患者においては、血清アミロイドA蛋白(SAA)が持続的に上昇し、このSAA由来のアミロイドが全身の臓器に沈着しアミロイドーシスを生じる。アミロイドーシスにおいて最も高頻度に見られるのが蛋白尿で、ネフローゼ症候群に至ることも少なくない。一方、抗リウマチ薬の中で注射金製剤やSH化合物(プシラミン, D-ペニシラミン)の副作用としても蛋白尿を来す。

(3)間質性肺炎: 関節リウマチの関節外病変として間質性肺炎(いわゆるリウマチ肺)を合併することがある。無症状の場合も多いが、進行すると呼吸困難を来す。一方、抗リウマチ薬の中で注射金製剤, SH化合物, サラゾスルファピリジン, メトトレキサートが間質性肺炎を来す。とくにメトトレキサートによる間質性肺炎は、発熱を伴い進行も急速であり、気づかずに放置すると致命的となるので注意が必要である。

(4)消化性潰瘍: ほとんどがNSAIDsに起因するものである。約半数が無症状であり、穿孔してはじめて気づかれることも少なくない。

#### ■ 診断のポイント

(1)貧血: 血清鉄の低下を伴う小球性色素性貧血をみた場合、必ず体内の鉄の貯蔵量を反映する血清フェリチンの測定も合わせて行うことが重要である。フェリチンの低下を伴う場合は、消化管出血などの出血性疾患の有無を検索する必要がある。

(2)腎障害: 活動性の関節リウマチ患者で血清アミロイドA蛋白が高値であり、かつ蛋白尿を認める場合は、アミロイドーシスが疑われる。確定診断のためには腎生検や胃・十二指腸粘膜生検を行い、アミロイドの沈着を証明する必要がある。一方、抗リウマチ薬による腎障害においては、腎生検で膜性腎症の組織所見を呈することが多い。

(3)間質性肺炎: 間質性肺炎の診断にあたっては、胸部CTスキャンによる画像診断と血清KL-6やSP-Dなどのマーカーの上昇が役に立つ。しかし、リウマチ肺と薬剤性の間質性肺炎を鑑別する有用な手立てはな

い。したがって、ある薬剤を投与している間に間質性肺炎を発症した場合は、直ちにその薬剤は中止すべきである。

(4)消化性潰瘍：胃腸障害を思わせるような自覚症状のある場合は勿論、それが無い場合でも、NSAIDs投与中の患者には定期的な便潜血検査を行う。便潜血陽性の場合、また陰性でも自覚症状のある場合は胃・十二指腸内視鏡検査を施行して消化性潰瘍の有無をチェックする。

## 治療方針

### ① 貧血

①血清フェリチンの低下を認めない場合は関節リウマチの活動性の抑制に努めることが重要で、鉄剤の投与は行わない。

②消化性潰瘍などの出血性病変の存在する場合には、その治療を行うことは言うまでもない。また、この場合は鉄剤の投与を行う。

### ② 腎障害

①生検でアミロイドーシスが確定した場合は、関節リウマチの活動性を低下させて、血清アミロイドA蛋白の低下をはかる。

②腎障害に対しては、食事療法（塩分制限、蛋白制限）や利尿剤などの対症療法で対応し、必要な場合は血液透析へ移行する。

③薬剤性腎障害と診断された場合は、その薬剤を直ちに中止し、副腎皮質ステロイドの全身投与を行う（プレドニゾロン30～50 mg/日）。蛋白尿が消失したらプレドニゾロンを徐々に減量する（2週で2.5～5 mg 程度ずつ）。

### ③ 間質性肺炎

①リウマチ肺で無症状の場合はとくに治療の必要はない。

②リウマチ肺および薬剤性間質性肺炎で、呼吸困難の進行するものに対しては、副腎皮質ステロイドの全身投与（プレドニゾロン30～60 mg/日）を行う。必要に応じて酸素投与を行う。

③上記の治療によってもなお症状が進行する場合は、ステロイドパルス療法、免疫抑制剤の投与（シクロホスファミドパルス療法やシクロスポリンなど）を行う。この段階では必要に応じて、気管内挿管を行いレスピレーター管理とする。

### ④ 消化性潰瘍

①薬物療法（プロトンポンプ阻害薬やヒスタミン<sub>2</sub>受容体拮抗薬に加えて、NSAIDsを用いている場合にはミソプロストールを併用する）。

②ヘリコバクター・ピロリ感染症を合併している場

合には、積極的に除菌を行う。

## 患者説明のポイント

①アミロイドーシスや間質性肺炎については、予後不良となる場合も少なくないので、家族に対しては十分な説明を行っておく必要がある。

②出現しうる薬剤の副作用については、投与前に患者に説明しておくべきであろう。

## 関節リウマチの機能訓練、装具療法とリハビリテーション

### *The therapeutic exercise, brace therapy and rehabilitation in rheumatoid arthritis*

上好昭孝 関西鍼灸大学・教授[大阪府熊取町]

〔概説〕 関節リウマチ (RA) は関節を中心に緩解と再燃を繰り返しながら、疾患と障害が共存する全身疾患である。多くの罹患者は関節機能障害を伴い日常生活活動 (ADL) が低下し、障害者となる疾患といえる。関節痛と周囲筋・筋膜性の反射性スパズムから四肢屈曲拘縮が起こる。機能障害を少なくすることでADL能力が維持可能なため、機能訓練、装具療法を中心としたリハビリテーション医療が不可欠である。そのため医療だけでなく患者の社会生活、家族関係や心理的側面も理解しなければならない。

### 〔発症機序〕

関節炎による痛みで安静位が強いられ、ROM制限が起こるとともに筋力低下を伴う。そのため全身的にも廃用症候群を起こす。

### 〔好発部位〕

両手関節、手指 (PIP)、両足趾 (MP)、膝関節、肘関節に好発する。ムチランスタイプではC1-2亜脱臼が伴いやすい。

### 問診で聞くべきこと

①どのような障害 (機能障害、能力障害、社会的不利) があるのか。

②現在の痛みと腫脹の強い関節は。

③疲労感など全身症状は。

④高血圧や心肺疾患などはないか (高血圧症では等尺運動は禁忌)。

### 必要な検査とその所見

#### ①上肢機能障害の評価

機能障害：手指 (PIP)、手、肘、肩関節

能力障害：ピンチ、つかむ、にぎる、リーチ、ADL制限など

疼痛：VAS (Visual Analog Scale)。左端からの

疾患・症状別

# 今日の 治療と看護

改訂第2版

ナース・看護学生へ贈る専門医からのメッセージ

南江堂

◆治療◆  
重症の臓器障害を伴うような関節外症状に対しては、結節性多発性動脈炎と同様の大量ステロイドおよび免疫抑制剤の投与を行う。

③ 治療・看護の指針

RAの治療法の基本は、患者および家族に対し、この疾患の性質および治療法に対して十分な理解を得ることにある。患者や家族は、RAと診断されると、聞きかじりの情報や辞書などの内容の間違った解釈から、とんでもない誤解をしている場合が少なくない。そこで、ナースは患者の種々の疑問に対し、医師とともになるべく正確な情報を提供するようにはしたい。

患者には、この疾患の予後に対する不安がもっとも大きい。RAには、自然寛解が約15～35%認められるものの、慢性に関節炎が持続し、徐々に関節破壊および変形などをきたし、身体障害を呈する例があることは説明しなければならぬ。それに関連して、以下に述べる種々の治療法の必要性も十分に理解させる必要がある。

前述のように、薬物療法の基本は抗炎症薬と抗リウマチ薬である。これらは併用されることが多いが、疾患活動性が抗リウマチ薬によって十分に抑えられれば、抗炎症薬の投与が不要なる場合もある。

RAに対するステロイド療法は全身性エリテマトーデスなどとは異なり、低用量(プレドニゾンで5～10mg/日)のことが多い。しかし、いったんステロイドが投与開始された場合、急に中止するかえって増悪することがある。一般にステロイドの副作用が強調されすぎていたため、患者が自己判断でこれを中止するところがある。その場合、疾患活動性が増悪するばかりでなく、症例によっては副腎不全によるシヨックなどの重篤な症状をきたす例もある。

非ステロイド性抗炎症薬は種類が多いが、共通した副作用として潰瘍などの胃障害や肝・腎障害などがある。

抗リウマチ薬には、副作用として皮疹、肝障害、腎障害、さらに関節性肺炎などが報告されている。これらの合併を投与前に予想することは困難ではあるが、高齢者や投与前にこれららの症状を合併している患者では危険性が高い。

④ リハビリテーション

リハビリテーションにより関節に一定の負担をかけることは、一見矛盾するようにみえるが、RAの治療には大切である。もちろん炎症所見が高度なときにむりやり関節を動かすことは、炎症を増すことになる。しかし、関節はいったん完全に安静を保つと、可動域が狭くなる。さらに筋力も低下し、関節病変は全体としてむしろ進行すると考えてよい。そこで、前述した運動療法が必要となる。

病院におけるリハビリテーションは、物理療法と組み合わせで行うことが多い。すなわち、温熱療法あるいは超低温療法などにより関節の疼痛を和らげ、そのかんに十分な運動療法を行うわけである。

これらのリハビリテーションには、家庭内のもも含め、患者のやる気ももっとも重要である。したがって、看護のポイントのひとつは、患者にリハビリテーションの意義を十分に納得させ、日課としてそれを行うように指導することにある。

⑤ RAの活動性

RAの活動性は、関節の疼痛や腫脹などの臨床症状に加え、赤沈値、CRP(C反応性蛋白)濃度なども参考にして評価する。抗リウマチ薬などが非常に有効な場合、これらのいずれの指標でも改善が認められる。また、朝のこわばり持続時間や握力は、疾患活動性と並行して変化することが多い。しかし、一方で患者の主観的な評価も大切である。すなわち患者が機能障害や疼痛度が全般的に改善したと評価すれば、それは大変重要な改善の指標となる。

これは疾患活動性のデータとともに重要なものは、副作用の評価である。たとえば、軽度の蛋白尿、血尿、肝機能障害などは、自覚症状がない。したがって、定期的な血液、尿の検査を

要する。また、間質性肺炎を合併すると、咳の持続や呼吸困難などを訴える。感冒が重症化したときとの鑑別がつきにくいときもあり、ときに重篤となる。そこで、抗リウマチ薬が投与されている患者がいつともとは違う症状を訴えた場合、すみやかに医師の診察を受けさせることが大切である。

⑥ 看護のポイント

1) 患者にとつての最大の関心事は、RAの予後である。発症早期で悲観的になっている患者に対しては、完全寛解または治癒にいたる例もあることなども含め、十分に説明する必要がある。

2) 運動療法は前述のように治療の一環だが、翌日に関節の疼痛や腫脹が増すとしたら、運動のしすぎである。

3) 図3の運動療法については、外来や病棟で患者を集めて指導するのよりよい方法である。継続が大切であり、患者のやる気を持続させる。

4) 一般にRAの症状をわくくするような食べ物はないが、バランスのよい食事を心がける。ただし、臓器病変を合併している場合は、それ

その合併症の指導に準じる。

6) 過労やつよイストレスは増悪因子であり、避けなければならない。

6) 重篤な副作用の初期の患者からの情報は、病棟では直接、また外来では電話などからナースが受けることも少なくない。そのさいは、すみやかに医師の診察を受けるように勧める。

RAのような慢性疾患では、医療は患者の日常機能と満足感、すなわちQOLの向上を目指すべきである。そのため、RAの治療には医師(リウマチ科、内科、整形外科、リハビリテーション科、ときに精神科など)、ナース、理学療法士、ケースワーカー、ボランティヤなどがさまざまなかたちでかかわっている。なかでもナースは、患者にもっとも近い立場にあり、患者のよき理解者または相談相手となることが多い。さらにナースは、他の医療関係者との接点となることも多く、患者の訴えを伝えることも必要となる。いずれの場合も、RAに関する十分な知識をもつことが、ナースには期待されている。

(川合 眞一)



⑦ 概念と発症機序

若年性関節リウマチ(JRA)は、16歳未満の小児に発症する原因不明の慢性の滑膜炎の炎症である。本症は小児期のどの年齢でも発症し、女児に多くみられるが、性差や発症年齢は病型によって異なる。米国リウマチ協会の分類に基づくところ、JRAは全身発症型(SuII(ステイル)病)、多関節発症型、少関節発症型の3型に分類される(表1)。それぞれの病型は、異なった原因に由来するものか、あるいは同じ原因に由来するものが反応の違いに由来するものかはいまだに不明である。「リウマチ」という表現が誤解を与えらるという点で、この用語については目下見直

表1 若年性関節リウマチの発症型

A. 全身発症型(SuII病)
持続する間欠熱(99.5℃以上)発作-JRA
多関節発症型
発症6ヶ月以内に関節数が5関節以上
C. 少関節発症型
発症6ヶ月以内に関節数が4関節以下
*全身発症型のものは、Cから除外する。

【米国リウマチ学会, 1982】

されており、国際リウマチ学会では特発性小児慢性関節炎(idiopathic chronic arthritis in children)、また欧州リウマチ学会では若年性特発性関節炎(juvenile idiopathic arthritis :

JIA)という語が提唱されている。

② 診断基準と臨床症状・検査所見

JRAの症状は多彩で、リウマトイド因子の陰性率も低く、特異的な症状・検査所見に乏しいので早期診断は決して容易ではない。十分に他の疾患(とくに感染性と血液系の悪性腫瘍)を除外したうえで、厚生省(当時)研究班の診断の手引きを基にして診断する(表2)。

◆全身発症型(Still病)◆

JRAの約20%を占め、男女比はほぼ同等で、小児期のあらゆる年齢で発症する。成人でも発症する例があり、成人発症Still病として区別される(後述)。

おもな症状は、日に1~2回出現する弛張熱、一過性に出現するサーモンピンクと呼ばれる色調の径数mmの円形状の紅斑、全身性リンパ節腫脹、肝脾腫、心膜炎、心筋炎、胸膜炎などである。健常部の皮膚をつよくこすると、その部分に発疹が出現することがある(Kobner

(ケプネル)現象)。関節炎は病初期に発熱に伴って出現する程度であるが、徳性の多発性関節炎が持続する場合がある。検査では、白血球の増多、貧血、赤沈促進、CRP(C反応性蛋白)陽性などがみられるが、リウマトイド因子および抗核抗体は陰性である。本症の経過中に、まれに血球貪食症候群(hemophagocytic syndrome)を合併することがあり、この場合重篤な経過をとる。

◆多関節発症型◆

JRA全体の約40%で、男女比は1:2と女児に多く、小児期のあらゆる年齢で発症する。おもな症状は多発性の関節炎で、成人の関節リウマチ(RA)の症状と類似している。また、頸椎C<sub>2</sub>~C<sub>3</sub>の椎骨突起部関節の病変もよくみられる。全身発症型や多関節発症型で、炎症が遷延すると全身の成長障害をきたす。

検査所見では、貧血、赤沈促進、CRP陽性に加えて、リウマトイド因子、抗核抗体が陽性となる例がみられる。リウマトイド因子が陽性の例では、成人型のRA(破壊性関節炎を示す)へ移行する例が多くみられる。

◆少関節発症型◆

JRA全体の約40%を占める。このタイプでは、発症から6ヵ月以内に罹患した関節は4つ以下である。年少期(6歳未満)に発症し、膝・足・肘・手関節に徳性の滑膜炎を生じる女児に多い亜型と、年長期に発症し、股関節、仙腸関節が侵される男児に多い亜型とがある。この後者の亜型の半数以上でHLA-B27が陽性であるが、リウマトイド因子は陰性である。少関節発症型の10~50%に虹彩毛様体炎が合併し、徐々に進行し視力低下をきたすことがある。

検査所見では、赤沈促進、CRP陽性などの炎症反応がみられるが、リウマトイド因子は多くの場合陰性である。虹彩毛様体炎を合併した年少女児型で抗核抗体のみみられることがある。

◆成人(発症)Still病◆

JRAの全身型が成人で発症したものをいう。20~30歳代の発症が多いが、高齢発症もとき々にみられる。症状、検査所見などはJRAの

Still病とはほぼ同様であるが、近年、血清フェリチン値の上昇が特徴的にみられることが指摘されている。診断は容易でない場合も多く、1992年に提唱された厚生省(当時)研究班の診断基準に基づいて行う(表3)。まれに間質性肺炎や血球貪食症候群を合併し、予後不良となることがある。

③ 治療・看護の指針

◆治療◆

基本的な治療薬は、非ステロイド性抗炎症薬(nonsteroidal anti-inflammatory drugs: NSAIDs)である。従来は、アスピリン80~100mg/kg/日を分割投与し、有効血中濃度18~25μg/mlに保つようによりモニターする方法がとられてきた。副作用として、胃腸障害、肝障害、出血傾向、Reye(ライ)症候群(ウイルス感染症時にしばしば発症する肝臓障害)に注意する。アスピリンが使えない場合や無効の場合他のNSAIDsが用いられるが、14歳未満の児では使用できるものが限られている(イブプロフェン、フェノプロフェン、ナプロキセンなど)。

金製剤(経口、注射)、ペニシラミンなどの抗リウマチ薬は関節炎の持続する例に用いられ

表3 成人Still病の分類基準

大項目	1. 発熱(≧39℃, 1週間以上持続)
2.	関節痛(2週間以上持続)
3.	定型的多発
4.	80%以上の好中球増加を含む白血球増加(≧1.5万/mm <sup>3</sup> )
小項目	1. 咽頭痛
2.	リンパ節腫脹あるいは脾腫
3.	肝機能異常
4.	リウマトイド因子陰性および抗核抗体陰性
除外項目	1. 感染症(とくに敗血症、伝染性単核球症)
2.	悪性腫瘍(とくに悪性リンパ腫)
3.	膠原病(とくに結節性多発性動脈炎、悪性関節リウマチ)
注	2項目以上の大項目を含む総項目数5項目以上で成人Still病と分類される。ただし除外項目は除く。

〔成人Still病研究班, 1992〕

る。近年では、メトトレキサートが広く使用されるようになってい

る。一般に、JRAに対するステロイドの全身投与は禁忌とされている。しかし、重症の多関節炎、心膜炎などの重篤な全身症状、さらに虹彩毛様体炎に対しては、慎重にステロイドの全身投与を行う。重症難治性のJRAに対しては、大量のステロイドやシクロホスファミド、アザチオプリンなどの免疫抑制剤の投与も行われ

る。成人Still病の薬物治療も上記のJRAの治療に準じて行われる。

JRAの治療上もっとも大切なポイントは、関節痛、運動障害などの症状の正確な記載と評価である。とくに10歳未満や経過の長い患児の多くは、自分の動作を制限しているために、明らかな関節炎があっても関節痛を訴えることは少ない。日常の行動状態、歩行状態をよく観察することが大切である。たとえば、朝のこわばりにしても、小児は自ら言葉で表現しないが、朝起床すささいの動作や各関節の肢位を観察することにより朝のこわばりの存在を知ることができる。

各種薬剤の副作用にも十分注意する。とくにアスピリン・NSAIDs投与時の胃腸障害、ステロイド・免疫抑制剤投与時の感染症などを絶えずチェックしておくことが大切である。

疾患の予後を知ることには、患児の看護上も重要なことである。JRAの約20%は、1回の活動性が寛解して再燃しない単関節型である。そのほかは再燃・寛解を繰り返す多関節型である。このようにJRAの多くは慢性的経過をとるが、少なくとも患児の75%は最終的にほとんど機能障害を残さずに長期寛解に入る。しかしながら、成人型RAに移行した例では、小児期よりの長期の罹患および日常生活活動の障害のために、成人したあとも社会的に適応できなくなってしまう患者がみられる。したがって次項「看護のポイント」の6)で述べるような患児に対する心理的ケアを含めたきめ細かいサポート

の重要性が改めて強調される。

成人発症 Still 病では、全身的予後は一般に良好とされており、破壊性関節炎をきたす例もわが国ではまれである。間質性肺炎や血球貪食症候群を合併した場合は予後不良となる。

### 看護のポイント

1) JRA による関節の変形や機能障害を最小限にとどめることが、看護上の 1 つの重要な目標である。そのために、病初期には関節の良好な位置を保ち、筋肉の機能や筋力を維持することが必要である。このさい、前項の「観察点」で述べたように、幼小児の関節症状を的確に把握することが大切である。

2) 患児では、日常生活動作 (ADL) が障害されていることが多い。その障害を的確に評価し、たうえて、患児の心理的・社会的にも配慮しつつ、必要な範囲内で援助を行う。それとともにリハ

にもかわかず、臨床症状がない。

心炎のなかでは、僧帽弁閉鎖不全がもっとも多し、心尖部の全収縮期雑音を認める。心尖部低調性拡張中期雑音は、リウマチ熱の初期に聴取されるが軽快することが多く、必ずしも器質的な僧帽弁狭窄を意味しない。頻度は少ないが、心基部高調性拡張期雑音は大動脈閉鎖不全を考慮する。

### 小舞踏病

情緒不安定を伴う大きな不随意運動で、溶連菌感染後、数週から数ヶ月にはほかの急性期症状がない時期に起こる。一定のポーズをとることができず、字を書くのが下手になったり、衣服が上手に着られなくなったりする。片側の四肢に起こることが多く、睡眠中は消失する。

### 輪状紅斑

かゆみのない不整形の紅斑で、顔面を除く四肢、体幹部にみられる。2～3日で消失することが多く、見逃されやすい。

### 皮下結節

5%ほどの症例で、肘、前腕の伸側部に痛みのない皮下結節がみられる。1cmほどの大きさで、1ヵ月くらいで消失する。

### 心炎

心疾患の既往の 3 つである。発熱、関節痛、リウマチ熱またはリウマチ性心炎の既往の 3 つである。

### 診断

上記の主症状 2 項目あるいは主症状 1 項目と副症状 2 項目があり、先行する溶連菌感染が培養検査あるいは血清検査で証明されれば、診断が確定される。

### 治療・看護の指針

#### 溶連菌感染

リウマチ熱では、溶連菌感染症のコントロールがもっとも重要となる。急性期には安静を保たせ、これとともに、溶連菌感染に対する治療を開始する。体重 30kg 未満の小児には 1 日 60 万単位のペニシリン G を分 3 で内服させるか、1 回の筋注を行う。30kg 以上では、ペニシリンを 120 万単位とする。この治療を 10 日行う。

ビリテーションの訓練の成果をふまえて、ADL の回復に向けて患児自ら訓練していくよう支援することが大切である。

3) 関節外症状、とくに発熱、貧血などが問題となっている場合には、おのおの症状に対する看護が必要です。

4) NSAID<sub>s</sub>、ステロイド、免疫抑制剤などの副作用に対する認識と、その早期発見に努める。

5) 成人 Still 病では薬剤アレルギーが起りやすいので、薬剤過敏の既往などに十分注意するとともに、必要以上の薬剤を服用しないよう指導する。

6) 障害による患児の心理状態の変化を十分に理解し、年齢に応じて励まし、社会復帰を目指した看護を行うことが、患児の心身の成長のうえでも重要である。(廣畑 俊成)



### 1) 概念と発症機序

溶血性連鎖球菌 (溶連菌) の先行感染 2～5 週後に、発熱などの炎症症状とともに、関節炎、心炎など特徴的な全身症状をきたす疾患である。溶連菌に対する一種のアレルギー反応の結果、関節、心臓、皮膚、中枢神経、結合組織に炎症が起こるものと考えられている。このような病態の解明に基づいて、溶血性連鎖球菌感染の早期発見、予防、抗生物質による治療がなされ、戦後リウマチ熱は激減した。しかしまったく消失したわけではなく、本疾患に対する理解が必要である。一方、発展途上国ではいまだ増加している。

乳児を除くすべての年齢に発症するが、溶連菌感染にかかりやすい 5～15 歳に多い。男女差、人種差は認められない。

### 2) 臨床症状と診断

上気道感染症にかかった 2～3 週後、倦怠感、体重減少などの全身症状を伴った多関節炎

で発症することが多い。

### 多関節炎

90%以上の症例に認められ、急性に発症し、自覚症状がよよいという特徴がある。一般に、関節炎は移動性で、膝・肘・手・足関節などの大関節を次々に侵す。1 つの関節炎が 2～3 日続いたあと、次の関節に新たな関節炎が起こることが多い。全経過は 2～4 週間続くが、アスピリンなどの非ステロイド性抗炎症剤が有効である。しかし、成人例ではしばしば治療抵抗性で、慢性化する MP (中手指節) 関節に尺偏位置を起し、Jaccoud (ジャコウ) 型変形と呼ばれるようになる。

### 心炎

50%の症例にみられ、心内膜炎、心筋炎、心外膜炎のいずれも起きる可能性がある。臨床症状として、頻脈、心雑音、心拡大、不整脈などがみられるが、心炎をもつ 50%の症例においてのみ認められ、残りの 50%は心炎がある

### 多関節炎

アスピリンなどの非ステロイド性抗炎症剤を投与する。

### 心拡大を伴う心炎あるいは心不全

ブレドニゾン 2～3mg/kg/日 の投与を行う。

### 溶連菌の再感染

溶連菌の再感染はリウマチ熱を再発させるのを、これを予防するためペニシリン G の経口投与を行う。20～40 万単位/日を成人になるまで連日服用する。

### 溶連菌感染症に引き続き

溶連菌感染症に引き続き、溶連菌に対して起こった免疫反応が、関連して自分自身の身体と反応してしまうために起こる病態であることと理解してもらおう。したがって、溶連菌感染が重ければ、これを治療し、また予防することが重要であることを理解してもらおう。しかし、一度病気が発症すると、溶連菌感染を治療しても、免疫反応によって引き起こされる関節炎などの症状はコントロールできない。これを抑えるための薬物療法の意義について説明を加える。

### 慢性期のポイント

1) 急性期は安静を守らせる。

2) 関節炎は理学的所見に比べて痛みの程度がよよい。このため患者は、痛みに対する訴えがよよく、また将来不自由な生活を強いられるのではないかと不安がつよよい。薬剤が関節炎に有効なことを理解させ、不安を取り除くよう努める。

3) 心炎の重篤な病態に心不全、心拡大などがあり、適切なタイミングでステロイド投与をする必要がある。この点、心不全徴候、安静時・睡眠時の頻脈など、重要な所見のチェックを怠らない。

4) 輪状紅斑は注意しないと見逃すことが多い。患者にもこの点を理解させ、皮疹について協力して観察するよう心がける。

5) 上気道炎がどうしてリウマチ熱にわるいのかを患者に理解させ、ペニシリンの予防投与、感染の予防がスムーズに行われるよう指導する。(竹内 勤)

## 2

## 全身性エリテマトーデス

広畑 俊成\*

## ■サマリー

全身性エリテマトーデス(SLE)は、Bリンパ球の異常活性化により産生された自己抗体が引き起こす慢性炎症性疾患である。特に青年期の女性に多く、男女比は1:10である。本邦での患者数は約3万~4万人と推定される。多臓器が侵されるため臨床所見も多彩で、関節症状・皮疹(蝶形紅斑、円板状紅斑)・中枢神経病変・腎障害・心肺病変・血液異常などがみられる。

診断は1982年のアメリカリウマチ協会の「改定基準」によるが、常にSLEの可能性を念頭におき、疑わしい場合には抗核抗体の検査を行うことが重要である。本症の病態形成には免疫の異常、特にTリンパ球による調節不全に起因すると考えられるBリンパ球の異常活性化により産生された自己抗体が重要な役割を果たすと考えられている。本症に特異的に出現する抗体として、抗Sm抗体・抗2本鎖DNA抗体・抗カルシオリピン抗体などがあるが、抗2本鎖DNA抗体による免疫複合体形成と補体の活性化がループス腎炎の発症に関与することは明らかにされている。

腎症・中枢神経症状はSLEの2大難治性病態とされるが、その直接死因はむしろ大量の副腎皮質ステロイド使用による感染症であることが多い。その他の特殊な病態としては、習慣性流産・血栓症・血小板減少を主徴とする抗リン脂質抗体症候群がある。SLEの治療の主体は副腎皮質ステロイドであるが、副作用としては、前述した感染症以外に、骨粗鬆症、大腿骨頭無腐性壊死、糖尿病に留意する必要がある。難治性のSLEに対しては、免疫抑制剤が併用されるが、近年シクロフォスファミドのパルス療法(大量静注療法)が注目を集めている。

全身性エリテマトーデス(SLE)は、Bリンパ球の異常活性化により産生された自己抗体が引き起こす慢性炎症性疾患である。特に青年期の女性に多く、男女比は1:10である。本邦での患者数は約3万~4万人と推定される。多臓器が侵されるため臨床所見も多彩である。本稿では、SLEの臨床症状、検査所見、診断、治療につき概説したい。

## I 臨床症状

## 1. 全身症状

発熱の程度はさまざまで、しばしば感染症との鑑別の困難な場合もある。また、薬剤アレルギー(発熱、皮疹)、妊娠、分娩を契機にして発症することがある。

## 2. 皮膚・粘膜症状

SLEでは紅斑、特に顔面の蝶形紅斑がよくみられる。紅斑はその他にも、手掌、爪周囲、頸部、前胸部、足底部など全身にみられる。日光被曝により増悪する傾向があり(日光過敏)、通常痛みや痒みはない。円板状紅斑(ディスクイデオ疹)は、濾胞状角栓化を伴った鱗屑状紅斑で顔面、四肢(図1)にみられる。その他、脱毛、口腔・鼻咽腔内潰瘍(通常無痛性)、四肢壊疽や皮膚潰瘍(血管炎に起因)をみることがある。レイノー(Raynaud)現象は全身性硬化症、多発性筋炎、混合性結合組織病でもみられることから、本症に特異性は高くない。

\* Shunsei HIROHATA 帝京大学内科、助教授



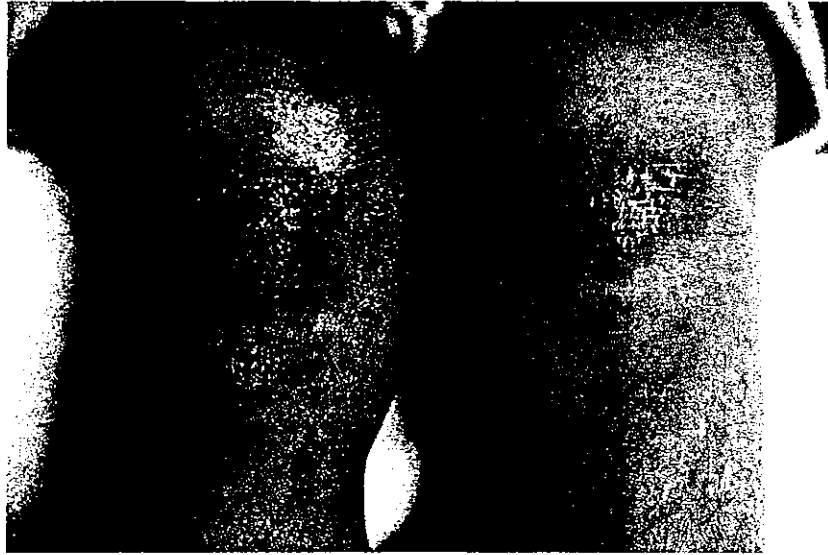


図 1. SLE の患者のディスクロイド疹

### 3. 関節・筋肉症状

多発性関節炎は最も多くみられ、関節リウマチとは異なり骨のびらんや破壊を伴うことはない。一部、関節軟部組織の障害で変形をきたすことがあり、Jaccoud 関節炎と呼ばれる。SLE でも多発性筋炎と類似した筋肉痛、筋力低下が出現することがある。

### 4. 腎症状(ループス腎炎)

SLE の重要な合併症の一つで患者の予後を左右する。尿蛋白、尿沈渣の異常(白血球、赤血球、各種円柱)を認め、進行すると血清 BUN、クレアチニンの上昇をきたす。ネフローゼ症候群を示すことも多い。

### 5. 精神神経症状(CNS ループス)<sup>1)</sup>

腎症状と並ぶ SLE の重篤な合併症であり、比較的高頻度に発症する(20~50%)。多彩な症状がみられるが、中でも痙攣発作と精神症状が圧倒的に多い。

### 6. 心症状

SLE では高頻度に心嚢炎がみられる。心筋炎、心内膜炎(Libman-Sachs)を合併することもあるが、一般的に自覚症状に乏しい。

### 7. 肺症状

胸膜炎(胸水)が高頻度に認められる。その他、肺臓炎、肺線維症を伴うことも多いが、自覚症状に乏しい。肺高血圧症、肺梗塞を合併したり、稀ではあるが急性肺泡出血をきたすこともある。肺泡出血は致命率が非常に高く、高熱・血液ヘモグロビン値の急激な低下、低補体血症、腎症状の合併などが有力な手がかりとなる<sup>2)</sup>。

### 8. その他の症候

稀に腸管の血管炎・痔炎・腹膜炎・膀胱炎(ループス膀胱炎)などがみられる。眼症状としては、網膜病変(出血・浮腫・綿花様白斑 cytooid body)・シェーグレン(Sjögren)症候群の合併などがみられる。抗リン脂質抗体症候群を合併した場合は、習慣性流産・動静脈血栓・血小板減少がみられる。

## II. 検査所見

### 1. 一般検査

一般の血液・尿検査だけでも SLE の診断に重要な情報を提供してくれる。白血球減少はしばしばみ

られ、特にリンパ球数の減少は疾患活動性とよく相関する。従って、白血球数だけではなく、少なくとも白血球の分画までは必ず検査することが重要である。血沈は一般に促進する。CRPはSLEの急性期に陽性となることがあるが、上昇は軽度であり、陰性であることも少なくない。CRP強陽性の場合にはまずは感染の合併を疑う。

## 2. 免疫血清学的検査

### a. 抗核抗体(FANA)

ヒトまたは動物細胞を用いた蛍光抗体法による抗核抗体検査は診断上重要で、peripheral型(周辺型)、speckled型(斑紋型)、homogeneous型(均質型)、nucleolar型(核小型)の4型に分類される。特にperipheral型は抗DNA抗体を反映し、SLEに特異性が高い。Speckled型は抗ENA(extractable nuclear antigen; 可溶性核抗原)抗体を反映し、SLEで高力価となる。

### b. 各種自己抗体

ゲル内沈降法あるいはELISA法による抗ENA抗体精密検査では、抗Sm抗体・抗RNP抗体が検出される。中でも抗Sm抗体はSLEに特異性が高い。抗DNA抗体のうち抗2本鎖DNA抗体はSLEに特異性が高いが、抗1本鎖DNA抗体は他疾患でも高頻度に検出される。梅毒反応生物学的偽陽性(BFP)もSLEでしばしばみられるが、BFPを示す患者では抗リン脂質抗体(抗カルジオリピン抗体、抗カルジオリピン/ $\beta$ 2グリコプロテインI複合体抗体)やループス抗凝血素を認めることが多い。1997年のACRの診断基準改訂で、抗カルジオリピン抗体(IgMあるいはIgG)とループス抗凝固血素の陽性が10項に組み入れられ、かわりにLE細胞が削除された(表1)。

### c. 補体・免疫複合体

血清補体価(CH50あるいはC3・C4)は、特に腎症合併例で低値を示すことが多いが、必ずしもSLEに特異的でない。血中の免疫複合体も腎症合併例で高値を示すことが多い。

## 3. 中枢神経症状に対する検査

SLEによる中枢神経障害(CNSループス)の疾患活動性は全身の疾患活動性と平行しない場合があり、診断が困難な場合も多い。この際、中枢神経内の免疫グロブリン産生の指標であるCSF Ig index( $[\text{CSF Ig} \times \text{血清アルブミン}] / [\text{CSF アルブミン} \times \text{血清 Ig}]$ )やCSF IL-6活性はCNSループスで上昇し診断的価値がある<sup>1)</sup>。脳波では基礎波の徐波化(精神症状)、spikeの出現(痙攣)を認める。CTスキャン・MRIではSLEに特異的な異常所見はない。

## 4. 腎生検

腎生検による病理組織検査は、SLEの診断のみならずループス腎炎(6つの型に分類される)の予後判定・治療方針の決定上も有用である。蛍光抗体法では腎糸球体への免疫グロブリン・補体の沈着を認める。

## 5. 皮膚生検

皮膚生検では、光顕では基底層の液状変性が特異的で、蛍光抗体法では真皮表皮境界部に免疫グロブリン・補体の沈着が証明される(lupus band test)。

## III 診断

### 1. 診断基準

病歴・経過と現症よりSLEの可能性を常に念頭に置くことが診断のためには重要で、必要な検査(特に免疫血清学的検査)を行ったうえで、アメリカリウマチ協会(ACR)の1982年の改訂診断基準に照らして総合的に判断を下す(表1)<sup>3)</sup>。

### 2. 鑑別診断

#### (1) 関節リウマチ

X線像で骨破壊の認められる進行性の関節炎で、リンパ球数の減少を伴うことは少ない。

#### (2) 薬剤誘発性ループス

原因薬剤の服用歴(ヒドララジン、プロカインアミ

### [3] 膠原病

表 1. 全身性エリテマトーデスのアメリカリウマチ協会 1982 年改訂診断基準

(下線部は 1997 年の追改訂)

(1) 蝶形紅斑
(2) 円板状紅斑(ディスクイド疹)
(3) 光線過敏症
(4) 口腔内潰瘍
(5) 関節炎
(6) 漿膜炎(胸膜炎または心嚢炎)
(7) 腎病変(持続性蛋白尿[0.5 g/日以上]または細胞性円柱)
(8) 神経症状(痙攣または精神症状)
(9) 血液学的異常(溶血性貧血, 白血球減少[4000/mm <sup>3</sup> 以下], リンパ球減少[1500/mm <sup>3</sup> 以下], 血小板減少[10 万/mm <sup>3</sup> 以下])
(10) 免疫学的異常(抗二本鎖 DNA 抗体, 抗 Sm 抗体, 梅毒反応生物学的偽陽性[BFP] または抗カルジオリビン抗体(IgG または IgM) またはループス抗凝血素)
(11) 抗核抗体(免疫蛍光法またはそれと等価の測定法)

(以上 11 項目のうち 4 項目以上陽性ならば SLE)

ド, ジフェニルヒダントインなど)があり, 腎症や中枢神経障害は通常みられない。抗ヒストン抗体が陽性となることが報告されている。

#### (3) 混合性結合組織病

強皮症や筋炎の症状を合わせもつ。一般に, 自己抗体では抗 RNP 抗体が単独陽性である。

#### (4) 感染症

#### (5) 悪性腫瘍

## IV. 治療

### 1. 治療の基本方針

#### a. 基本方針

SLE の治療は炎症を抑える(消炎)とともに根底にある免疫異常を是正する(免疫調節)ことが主眼となる。治療の主体は副腎皮質ステロイドである。SLE が疑われた場合には, 軽症の場合を除いて原則として入院させる。SLE は慢性に経過して寛解・増悪を繰り返すことが多いので, 患者に病気の正しい

知識を十分に教育することが大切である。

#### b. 治療の効果を示す活動性の指標

発熱, 関節痛, 皮疹, 胸水, 心嚢水などの諸症状はいずれも疾患活動性の指標となる。腎症では, ネフローゼ症候群による浮腫以外は無症状で, その活動性は蛋白尿の程度, クレアチンクリアランス, 血清クレアチニン値などで評価される。また, 抗 2 本鎖 DNA 抗体価・血清補体価は, 一般に腎症を含めて SLE のよい疾患活動性の指標となる。また, 白血球数(特にリンパ球数)も SLE の疾患活動性とよく相関する。しかし, 中枢神経系の疾患活動性は上記のいずれの指標とも相関せず, CSF Ig index や髄液 IL-6 濃度などが有用な指標となる。

## 2. 治療の実際

### a. 副腎皮質ステロイド

#### 1) 初期投与量

初期投与量としては, プレドニソロンにして 0.5~1.0 mg/kg/日程度より開始する。重症度に応じて適宜増減するが, 一般的にネフローゼ症候群, 溶血性貧血, 中枢神経病変などを合併している例では 60 mg/日より, それ以外の中等度~軽症の例では 30 mg/日より開始する。

#### 2) ステロイドパルス療法

初回投与量が不十分であった場合, または減量途中に再燃した場合は, 副腎皮質ステロイドの投与量を約 50~100%程度増量する。あるいは, 大量のステロイドを一挙に投与する方法(メチルプレドニソロン 1g/日を 3 日間続けて点滴静注する方法: パルス療法)が行われる。ステロイドパルス療法は, 高血圧, 脳卒中, 感染症, 突然死などの重篤な副作用も報告されているので, 適応は慎重に決定すべきである。

#### 3) ステロイドの減量・維持量

症状が軽快し, ほとんど無症状な状態が 2 週間以上続き, 検査データも改善傾向が認められたなら, ステロイドの減量を開始する。減量の基準に一定のものはないが, 急激な減量は再燃を招く恐れが大きい。一般的には, 2~4 週間毎に投与量の 10%を越え

ない範囲で減量する。特に投与量がプレドニソロン 15 mg/日以下になると、ステロイドの副作用も少なくなり、また逆に減量により再燃をきたしやすいので、さらに減量のペースを落すほうが無難である。最終的な維持量は、長期連用による副作用に配慮すると、プレドニソロン 5~10 mg/日程度を目標とするのが無難である。

#### 4) 副作用

表 2 に副腎皮質ステロイドの副作用を示す。SLE の治療中には感染を合併しやすいが、この易感染性の原因としては、SLE そのものに加えてステロイド・免疫抑制剤が挙げられる。細菌感染では黄色ブドウ球菌感染に特に注意する。日和見感染(特にカリニ肺炎)ではときに致命的となることがあるので十分な注意と対策が必要である。大腿骨頭壊死はステロイド剤の投与総量と関係するとされているので、ステロイド剤の投与量が少なくなっても発生する危険がある。クッシング様の顔貌変化(moon face)のために患者が服薬を嫌うことがあるが、減量により回復することを十分に説明すべきである。その他、ステロイドそのものでも血栓症を生ずることがあるので注意が必要である。

#### b. 免疫抑制剤

副腎皮質ステロイドに抵抗性の症例、あるいは副作用のために副腎皮質ステロイドの増量を避けたい症例に対しては、免疫抑制剤のシクロフォスファミド(商品名: エンドキサン 50~100 mg/日)、アザチオプリン(商品名: イムラン 50~100 mg/日)を併用する。内服では効果発現までに 2~4 週間を要する。WHO class IV のループス腎炎(びまん性増殖型)に対しては、副腎皮質ステロイド内服に加えて、シクロフォスファミド 750~1,000 mg の点滴静注を 1 カ月に 1 回を最初の 6 カ月間、さらに 3 カ月に 1 回をその後の 2 年間にわたって行う方法(シクロフォスファミドパルス療法)が長期予後の面からも有用性が高いことが証明された<sup>4)</sup>。ミゾリビン(商品名: プレディニン)もループス腎炎に対してステロイドと併用で使用される。

各種免疫抑制剤に共通してみられる副作用は、骨

表 2. 副腎皮質ステロイドホルモンのしばしばみられる副作用

<ul style="list-style-type: none"> <li>・感染誘発・増悪</li> <li>・消化性潰瘍</li> <li>・糖尿病・高血糖</li> <li>・動脈硬化・血栓症</li> <li>・精神症状</li> <li>・骨折・骨粗鬆症</li> <li>・大腿骨頭壊死</li> <li>・満月様顔貌</li> <li>・瘡瘍様発疹</li> <li>・月経異常</li> <li>・血圧上昇</li> <li>・筋脱力・筋萎縮</li> <li>・不眠・興奮</li> <li>・体重増加</li> </ul>
--

髄抑制、肝障害、感染症などである。長期連用例では、悪性腫瘍の発生にも留意する(特にシクロフォスファミドとアザチオプリン)。シクロフォスファミドでは、出血性膀胱炎、生殖器障害にも注意が必要である。シクロフォスファミドの大量静注療法では前者の発現は少ないとされるが、後者に関しては経口と同様に注意が必要である。尿酸合成阻害剤のアロプリノールはアザチオプリンの代謝を阻害するので、併用する時はアザチオプリンの投与量を減量することを忘れてはならない。

#### c. 血漿交換療法

免疫複合体・抗 DNA 抗体・抗リン脂質抗体などの血漿成分が病態に関与していると考えられ、かつステロイド・免疫抑制剤のみではコントロールの困難な症例に対しては血漿交換療法を考慮する。ただし、これはあくまで対症療法であり、後療法としてステロイド・免疫抑制剤の継続投与は不可欠である。

#### d. その他の薬剤

非ステロイド系消炎鎮痛薬、抗凝固薬、血管拡張薬、抗痙攣薬が症状に応じて併用される。

### 3. 特殊な患者の治療上の注意

#### a. 妊娠

ある程度疾患活動性がコントロールされていれば妊娠・出産は可能である。妊娠中は内因性グルココルチコイドの分泌増加により、症状はむしろ改善傾向を示す。しかし、分娩後に増悪することが多いので、分娩時よりステロイドを20~30%程度増量する。分娩後1~2週間後より、検査データをみながら徐々に減量する。

#### b. 手術

手術に際しても、分娩と同様にステロイドの増量を行う(症例に応じて20~50%程度)。術後2週間後より、検査データをみながら徐々に減量する。

#### c. 感染

SLEの治療経過中に各種の感染症を併発することは多く経験する。ステロイド治療開始後1年以内に最もよくみられる感染症は、黄色ブドウ球菌感染症である。この場合ステロイドは減量するのではなく、むしろ一時的に20%くらい増量するほうがよい。これは感染に際して、長期間にわたるステロイドの内服のために副腎皮質のストレス反応が十分に起こらないのを補うためである。その他の感染(日和見感染・結核)に際しても、ステロイドの急激な減量はむしろ原病の悪化をもたらしかねないので、経過をみながら慎重に減量を行う。カリニ肺炎を合併した例では、治癒後も再発予防として、ST合剤の内服やペンタミジンの吸入を継続する。結核の既往のある患者に対してステロイドを投与する際には、INH

(イソニアジド)を予防的に併用する。

## V 予後

腎障害の有無と程度がSLEの予後を決定する。特にWHO IV型(びまん性増殖型)を合併した場合の予後が最も悪い。ただ、直接の死因としてはむしろステロイド増量に伴う感染であることが多い。

### おわりに

以上、SLEの臨床症状、検査所見、診断、治療につき概説した。日常の診療で最も重要なことは、常にSLEの可能性を念頭に置いて、疑いがもたれたらすみやかに抗核抗体検査を行うことである。また、SLEの診断基準の中には、問診のみで確認できる事項が含まれていることも忘れてはならない。

## 文献

- 1) 広畑俊成：膠原病の神経・血管病変とその対応，1. CNS ループス. 日内会誌, 85:1816-1821, 1996.
- 2) Hirohata S, Hayakawa K: An autopsy case of acute pulmonary hemorrhage in systemic lupus erythematosus. Jap J Rheumatol, 1:291-299, 1988.
- 3) Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al: The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum, 25:1271-1277, 1982.
- 4) Austin HA, Klippel JH, Balow JE, et al: Therapy of lupus nephritis: controlled trial of prednisolone and cytotoxic drugs. N Engl J Med, 314:614-619, 1986.

# 今日の臨床検査

監修 忠裕  
編集主幹 河合 水島 櫻林 郁之介 正子  
編集 中川 星 広畑 矢富 藤石 要厚

# 2005 2006



南江堂

## Osteopontin as a positive regulator in the osteoclastogenesis of arthritis

Taeko Ishii,<sup>a</sup> Shiro Ohshima,<sup>a</sup> Tetsushi Ishida,<sup>a</sup> Toru Mima,<sup>a,b</sup> Youichiro Tabunoki,<sup>a,c</sup>  
Hideyuki Kobayashi,<sup>a,c</sup> Masahiro Maeda,<sup>d</sup> Toshimitsu Uede,<sup>e</sup> Lucy Liaw,<sup>f</sup>  
Naokazu Kinoshita,<sup>g</sup> Ichiro Kawase,<sup>a</sup> and Yukihiko Saeki<sup>a,b,h,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Molecular Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, Suita, Japan

<sup>b</sup> Department of Rheumatology, National Hospital, Kawachinagano, Japan

<sup>c</sup> Tokyo Research Laboratories, Kowa Co. Ltd., Tokyo, Japan

<sup>d</sup> Immuno-Biological Laboratories, Gunma, Japan

<sup>e</sup> Division of Molecular Immunology, Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan

<sup>f</sup> Center for Molecular Medicine, Maine Medical Center Research Institute, Portland, ME, USA

<sup>g</sup> Osaka-Minami, National Hospital, Kawachinagano, Japan

<sup>h</sup> Department of Clinical Research, National Hospital, Kawachinagano, Japan

Received 26 January 2004

### Abstract

We examined the role of osteopontin (OPN) in the osteoclastogenesis of arthritis using collagen-induced arthritis (CIA). Cells from arthritic joints of wild-type (OPN +/+) mice spontaneously developed bone-resorbing osteoclast-like cells (OCLs). The cultured cells showed an enhanced expression of receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand (RANKL) and a decreased expression of osteoprotegerin (OPG). The addition of OPG reduced the number of OCLs, indicating that the osteoclastogenesis depends on the RANK/RANKL/OPG system. The cells also produced OPN abundantly and anti-OPN neutralizing antibodies suppressed the development of OCLs. Moreover, the addition of OPN increased the expression of RANKL and augmented differentiation of OCLs from OPN-deficient (OPN -/-) cells. OPN, like the combination of  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and dexamethasone, also enhanced the RANKL expression and decreased OPG expression in a stromal cell line, ST2. These results suggest that OPN acts as a positive regulator in the osteoclastogenesis of arthritis through the RANK/RANKL/OPG system.

© 2004 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** Osteopontin; RANKL; Osteoprotegerin; Collagen-induced arthritis; Stromal cell; Osteoclast

Rheumatoid arthritis (RA) is a major systemic autoimmune disease. Although its pathogenesis is unknown, RA is characterized by chronic inflammation in multiple joints, which develops into erosion of marginal bone and cartilage, juxta-articular bone loss, and a general reduction in bone mass [1]. It is widely accepted that inflammatory cells, especially lymphocytes and macrophages, are crucial players in the pathogenesis of RA, and that cytokines, such as tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1 (IL-1), and IL-6, are also involved [2]. In addition, recent findings have shown that osteoclasts play a key role in joint destruction and osteoporosis in RA [3–7].

Osteoclasts are bone-resorbing multinucleated cells derived from macrophage–monocyte lineage progenitors [8]. In RA patients and in animal models of arthritis, increased numbers of osteoclasts have been detected in pannus and in inflammatory regions of arthritic joints [5–7]. Differentiation of osteoclasts is regulated by receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand (RANKL), its receptor RANK, and osteoprotegerin (OPG), which is a non-signaling decoy receptor for RANKL. The ligand and receptors have recently been identified as new members of the TNF ligand-receptor family [9–12]. RANKL is essential for osteoclastogenesis and is also important in the development of lymph nodes and in the activation of dendritic cells [10,11]. A possible relationship between the RANK/RANKL/OPG system and RA has recently received considerable

\* Corresponding author. Fax: +81-721-53-8904.  
E-mail address: [saekiy@ommc-hp.jp](mailto:saekiy@ommc-hp.jp) (Y. Saeki).

attention. RANKL is expressed in cultured synovial cells of RA patients [13], and an increase in messenger RNA (mRNA) transcripts of RANKL has been detected in synovial lymphocytes of RA patients and in murine arthritis models [14]. RANK, along with RANKL, is also reported to have enhanced expression in arthritic mice [3,4,15]. According to other reports, RANKL-deficient mice are resistant to arthritis [16] and OPG prevents arthritis in animal models [14,17,18].

On the other hand, other than collagen, OPN is the major extracellular bone matrix protein, and it is believed to contribute to the balance between osteoblasts and osteoclasts in bone metabolism [19,20]. OPN is also able to regulate certain inflammatory reactions as a T helper 1 (Th1) cytokine [21]. RA is a typical bone-resorbing inflammatory disease, the pathogenesis of which is thought to stem from Th1 hyperactivation. We have previously reported that OPN increases in arthritic joints of both RA patients and collagen-induced arthritis (CIA) mice [22,23]. In addition, it has been reported that OPN-deficient (OPN  $-/-$ ) mice resist postmenopausal osteoporosis [24], disuse bone atrophy [25], and anti-type II collagen antibody-transfer induced arthritis (CAIA) [26]. From the prospect of suppressing osteoclasts and regulating inflammation, osteopontin (OPN) is a possible therapeutic target in RA patients.

In this study, we examined the role of OPN in the osteoclastogenesis of arthritis using an *in vitro* osteoclast differential model of CIA [6].

## Materials and methods

**Mice.** The animal experiments in this study were performed according to the guidelines of the Animal Experimentation Committee of Osaka University. OPN  $-/-$  mice were generated elsewhere [27]. We backcrossed these mice with DBA/1J mice (Nippon Charles River, Kanagawa, Japan) for six generations to introduce CIA susceptibility. After the sixth backcrossing, loss of OPN mRNA was confirmed in OPN  $-/-$  mice by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). Additionally, the absence of OPN protein in the serum of OPN  $-/-$  mice was demonstrated using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as described below. Six-week-old OPN  $-/-$  mice and their wild-type (OPN  $+/+$ ) littermates were used. The mice were bred in filter-top cages under standard pathogen-free conditions.

**Cell line.** A murine bone marrow stromal cell line, ST2, was obtained from RIKEN Cell Bank (Ibaragi, Japan). ST2 cells were maintained in RPMI-1640 (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) containing 10% heat-inactivated fetal calf serum (FCS; HyClone, Logan, UT) with  $2 \times 10^5$  U/ml penicillin (PC) and 200  $\mu$ g/ml streptomycin (SM) as previously described [28].

**Induction of CIA.** CIA was induced by established methods, as previously described [29]. Briefly, 18 male mice (10 OPN  $+/+$  and 8 OPN  $-/-$ ) were immunized by intradermal injection of 100  $\mu$ g bovine collagen type II (MCK, Tokyo, Japan) in 0.1 M acetic acid, emulsified with an equal proportion of Freund's complete adjuvant (Difco, Detroit, MI). After a 3-week period, the mice were boosted using the same method. Six littermate OPN  $+/+$  male mice without immunization were used as controls. At one time, two to four mice from each group were used and these experiments were repeated three times.

**Preparation of cells from CIA mice.** Cells from arthritic joints of CIA mice were prepared as previously described [6]. Briefly, 35 days after the first immunization, the immunized mice were anesthetized with pentobarbital and sacrificed. After removal of skin, entirely swollen arthritic paws were minced up including bone. Normal paws of the non-immunized mice were used as controls. The minced tissues were digested with 500 U/ml dispase (Godo Shusei, Tokyo, Japan) and 1 mg/ml collagenase S1 (Nitta Gelatine, Osaka, Japan) for 6 h at 37 °C in complete medium (10% FCS in  $\alpha$ -minimal essential medium ( $\alpha$  MEM; Nacalai Tesque, Kyoto, Japan), with  $2 \times 10^5$  U/ml PC and 200  $\mu$ g/ml SM). After the enzymatic reaction, the dispersed cells were harvested. By this method,  $1-5 \times 10^6$  live cells were obtained per mouse.

**Cell culture.** The harvested cells were diluted to  $1.5 \times 10^5$ /ml and cultured in 100  $\mu$ l of complete medium in 96-well plastic plates in octuplicate at 37 °C in a humidified 5% CO<sub>2</sub> incubator from day 0 to day 7. The same experiments were repeated three times. Every 2 to 3 days the culture medium was totally replaced. On day 7, the cells were fixed in citrate acetone fixative and stained for tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) with a staining kit (Sigma, St. Louis, MO). TRAP-positive osteoclast-like cells (OCLs) per well, defined as dark red cells with 3 or more nuclei, were counted under a microscope. In order to determine the capacity of generated OCLs to resorb bone, the harvested cells from arthritic joints were cultured on BD BioCoat Osteologic (BD Biosciences, San Jose, CA). After a 10-day cultivation period, the cells were removed by washing with hypochlorous acid, according to the manufacturer's protocol. Pits were determined as bright spots on slides using a microscope (Axioscop 2, Zeiss, Baden-Wuerttemberg, Germany).

**Measurement of OPN produced by the cultured cells.** The concentrations of OPN in the culture supernatants of OPN  $+/+$  cells were measured using an OPN-ELISA kit (IBL, Gunma, Japan). The supernatants were prepared and stored at -80 °C until used. Color reaction was detected by an Immunoreader NJ-2300 (Nihon InterMed, Tokyo, Japan).

**Treatment of the cells with OPG or anti-OPN neutralizing antibodies.** Recombinant human OPG (PeproTech, London, England), polyclonal rabbit anti-OPN neutralizing antibodies, control normal rabbit IgG (Sigma, St. Louis, MO), or phosphate buffered saline (PBS) was applied to the culture medium of OPN  $+/+$  cells at the following concentration ranges: OPG; 1.5–100 ng/ml, anti-OPN antibodies; 10–300  $\mu$ g/ml, and control IgG; 300  $\mu$ g/ml. The cells were cultured in octuplicate for 7 days. On day 7, TRAP staining was performed. TRAP-positive OCLs were counted in a similar manner to that described above. The anti-OPN neutralizing antibodies were generated in our laboratory [30].

**Quantitative RT-PCR for RANKL and OPG in the cultured cells.** Quantitative real-time PCR was performed using the ABI Prism 7700 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, CA) to measure the levels of mRNA for RANKL and OPG. As an internal standard,  $\beta$ -actin was used. Briefly, using an RNeasy kit (Qiagen, Hilden, Germany) with DNase treatment, RNA was extracted from the harvested cells incubated in complete medium with or without control antibody, anti-OPN neutralizing antibodies, or PBS for 24 h. One milligram of total RNA was transcribed to synthesize cDNA using SuperScript II reverse transcriptase and poly(T) primer (Invitrogen, Carlsbad, CA). Primers and TaqMan probes for real-time PCR were designed using primer design software.

The sequences of the primers and probes were as follows:  $\beta$ -actin, forward (5'-GCTCTGGCTCCTAGCCACCAT), reverse (5'-CTGCTTCTGATCCACATCTG), and probe (5'-AAGATCATTGCTCCTCCTGAGCGCAA); RANKL, forward (5'-GCTCCGAGCTGGTGAAGAAAT), reverse (5'-CCCAAAGTACGTCGCATCTTG), and probe (5'-ATTCAGGTGTCCAACCCCTTCCTGCT); and OPG, forward (5'-ATCTCGGCCACTCGAACCT), reverse (5'-CTGCTCGCTCGATTTGCA), and probe (5'-CTTCTGCTTGATGGAGAGCCTGCCT).



All PCRs were performed in triplicate and repeated three times. Quantitation was achieved using the comparative threshold cycle ( $C_t$ ) method according to the manufacturer's protocol.

**Treatment of the cells from OPN  $-/-$  mice with OPN.** Recombinant murine OPN was added to the culture medium of OPN  $-/-$  cells at a concentration range of 2.5–30  $\mu\text{g/ml}$ . The cells were cultured in octuplicate for 7 days. On day 7, TRAP staining was performed. TRAP-positive OCLs were counted in a similar manner to that described above. The recombinant mouse OPN was generated in our laboratory [30].

Quantitative real-time PCR was performed to measure the levels of mRNA for RANKL and OPG in the harvested OPN  $-/-$  cells incubated with or without OPN as described above.

**Murine stromal cell line, ST2, was treated with OPN,  $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$  and/or dexamethasone.** ST2 cells were incubated for 24 h in complete medium with or without 30  $\mu\text{g/ml}$  of recombinant OPN,  $10^{-8}$  M  $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$  ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ), and/or  $10^{-7}$  M of dexamethasone (Dex; Sigma, St. Louis, MO). Similarly, the levels of mRNA for RANKL and OPG from the cells of each group were quantified.

**Statistical analysis.** Values are given as means  $\pm$  SD. Significant differences were determined using an unpaired Student's  $t$  test. A  $p$  value  $<0.05$  was considered to be significant.

## Results

### Cells isolated from arthritic joints developed activated OCLs

Cells from entirely swollen arthritic paws were harvested after the enzymatic reaction and cultured for 7 days. Cells from normal paws of non-immunized mice were used as controls. On day 7, TRAP staining was performed.

The cells from arthritic joints differentiated into TRAP-positive OCLs, while the cells from non-immunized mice did not as previously reported [6] (Figs. 1A and B). The numbers of OCLs from the arthritic joints and from the normal joints were  $96.9 \pm 21.7/\text{well}$  and  $0/\text{well}$ , respectively. The bone resorption activity of the generated OCLs was confirmed by a pit formation assay (Fig. 1C).

### Osteoclastogenesis of arthritic joints was dependent on the RANK/RANKL/OPG system

After 24-h cultivation, mRNA was extracted from the harvested OPN  $+/+$  cells. Quantitative real-time PCR was performed to measure the RANKL and OPG mRNA levels. In the cells from arthritic joints, RANKL mRNA levels increased, while OPG mRNA levels decreased compared to those in the cells from normal joints (Fig. 2,  $p < 0.01$ ). In addition, to confirm that OPG inhibits the differentiation of osteoclasts, we applied OPG at a concentration range of 1.5–100 ng/ml to the culture medium of the arthritic cells and incubated them for 7 days. Application of OPG significantly reduced the numbers of OCLs in a concentration-dependent manner (Fig. 3,  $p < 0.01$ ).

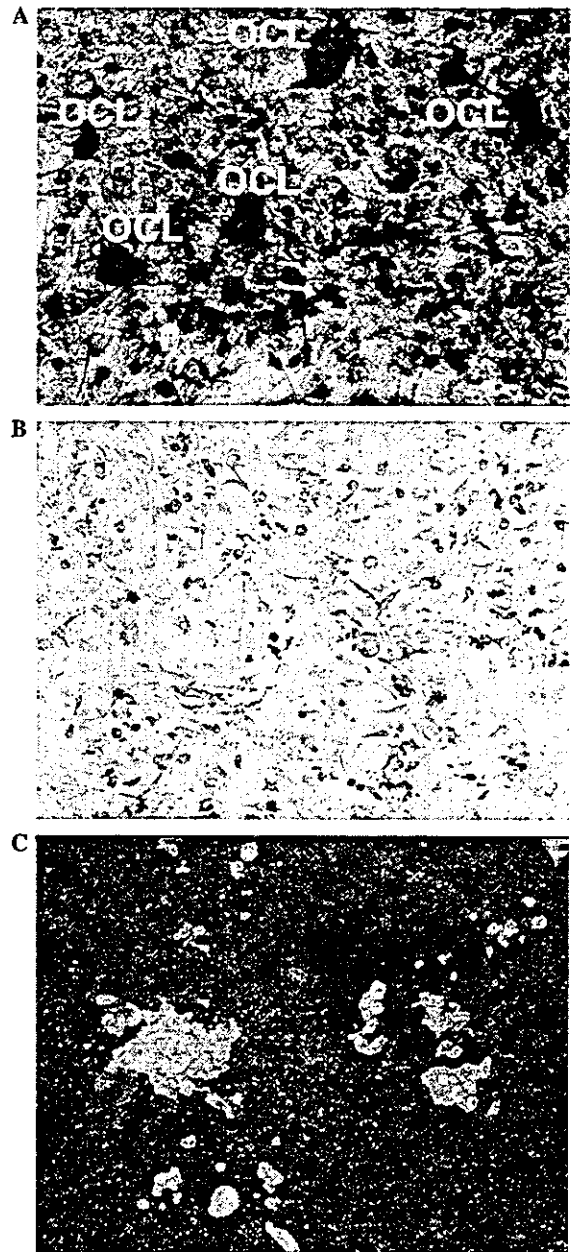


Fig. 1. Cells from the joints of OPN  $+/+$  mice were harvested and incubated in complete medium ( $1.5 \times 10^4$  cells/ $0.1$  ml/well) for 7 (A,B) or 10 days (C). To evaluate the development of OCLs, TRAP staining of the cultured cells was performed as described in the Materials and methods. Cells from the arthritic joints of immunized mice (i.e., CIA mice) developed into OCLs, but those from the normal joints of non-immunized mice failed to. (A) Cells from the arthritic joints of CIA mice. (B) Cells from the normal joints of mice without immunization. (C) Pits formed by OCLs derived from cells of arthritic mice. The 'OCL' labels identify TRAP-positive osteoclast-like cells. (Original magnification;  $100\times$ .)

### Cells isolated from arthritic joints produced OPN

The levels of OPN in the culture supernatants of the cells from arthritic joints increased during incubation, in contrast to the cells from normal joints. As for the arthritic cells, OPN levels were  $1.50 \pm 0.43$  at day 3 versus  $7.35 \pm 1.84$  at day 6,  $p = 0.0008$  (Fig. 4). These results

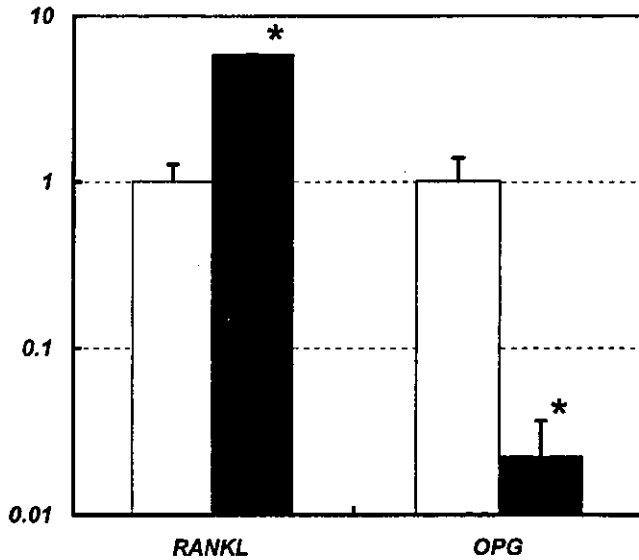


Fig. 2. By real-time PCR, mRNA for RANKL and OPG in the cells from joints of OPN  $+/+$  mice was quantified. Quantitation was achieved from the  $C_t$  ratios of the mRNA either for RANKL or OPG to that for  $\beta$ -actin, an internal standard. The values were compared to the levels of mRNA from cells of the non-immunized normal joints. In the cells from the arthritic joints, expression of RANKL mRNA was enhanced while that of OPG mRNA decreased. White bar; in cells from the normal joints, and black bar; in cells from the arthritic joints. \* $p < 0.01$ .

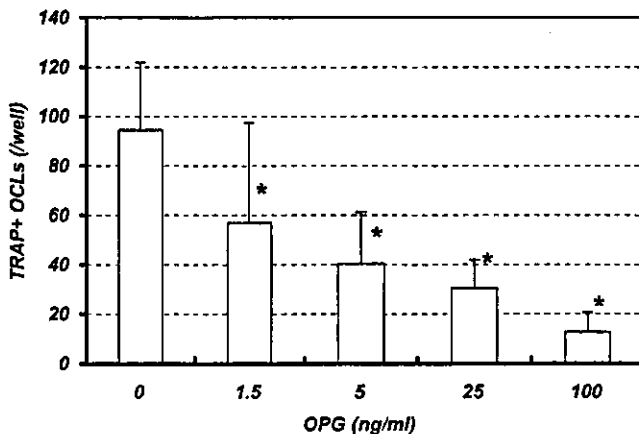


Fig. 3. Numbers of OCLs in the presence or absence of OPG. Cells from arthritic joints of OPN  $+/+$  mice were harvested and incubated in complete medium ( $1.5 \times 10^4$  cells/0.1 ml/well) in octuplicate for 7 days with or without OPG applied to the culture medium. After TRAP staining, TRAP-positive multinucleated cells in each well of a 96-well culture plate were counted. Adding OPG prevents the development of OCLs in a concentration-dependent manner. \* $p < 0.01$ .

are consistent with our previous report that the serum concentration of OPN is enhanced in CIA mice during development of arthritis and that activated osteoclasts in bone erosive lesion express OPN [22].

#### Neutralization of OPN suppressed osteoclastogenesis

In order to investigate whether OPN is involved in the differentiation of osteoclasts, we added anti-OPN

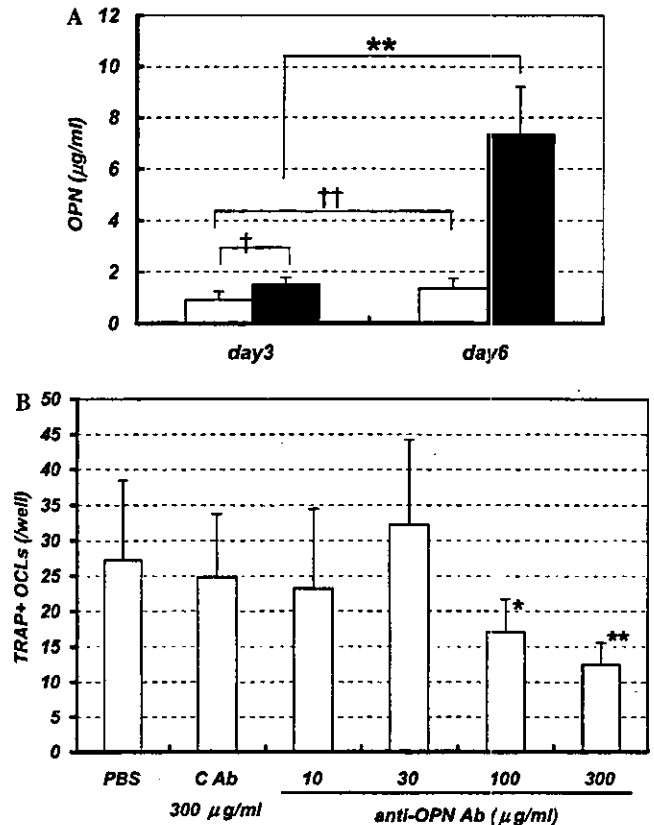


Fig. 4. (A) The concentration of OPN in the culture supernatant of OPN  $+/+$  cells. Each measurement was performed three times in quadruplicate by ELISA. The levels of OPN secreted from cells from arthritic joints of CIA mice increased during incubation. White bar; the values of normal joints from non-immunized mice, black bar; the values of arthritic joints from CIA mice. <sup>††</sup>Day 3 OPN levels in the supernatant of cells from non-immunized versus immunized mice,  $p > 0.05$ . <sup>\*</sup>OPN levels in the supernatant of cells from immunized mice, day 3 versus day 6,  $p = 0.0008$ . (B) Numbers of OCLs in the presence or absence of anti-OPN neutralizing antibodies. Cells from arthritic joints of OPN  $+/+$  mice were harvested and incubated in complete medium ( $1.5 \times 10^4$  cells/0.1 ml/well) in octuplicate for 7 days with polyclonal anti-OPN neutralizing antibodies, control antibody, or PBS applied to the culture medium. After TRAP staining, TRAP-positive multinucleated cells in each well of a 96-well culture plate were counted. Anti-OPN antibodies prevent development of OCLs from OPN  $+/+$  cells. \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$ .

neutralizing antibodies to the culture medium of arthritic cells and incubated them for 7 days. The numbers of OCLs decreased in a concentration-dependent manner in the presence of the anti-OPN antibodies, whereas the control antibody had no effect (Fig. 4B).

#### Addition of OPN enhanced the osteoclastogenesis of OPN $-/-$ cells

We examined the effect of recombinant OPN on OPN  $-/-$  cells. We added OPN to the culture medium of arthritic OPN  $-/-$  cells and incubated them for 7 days. In

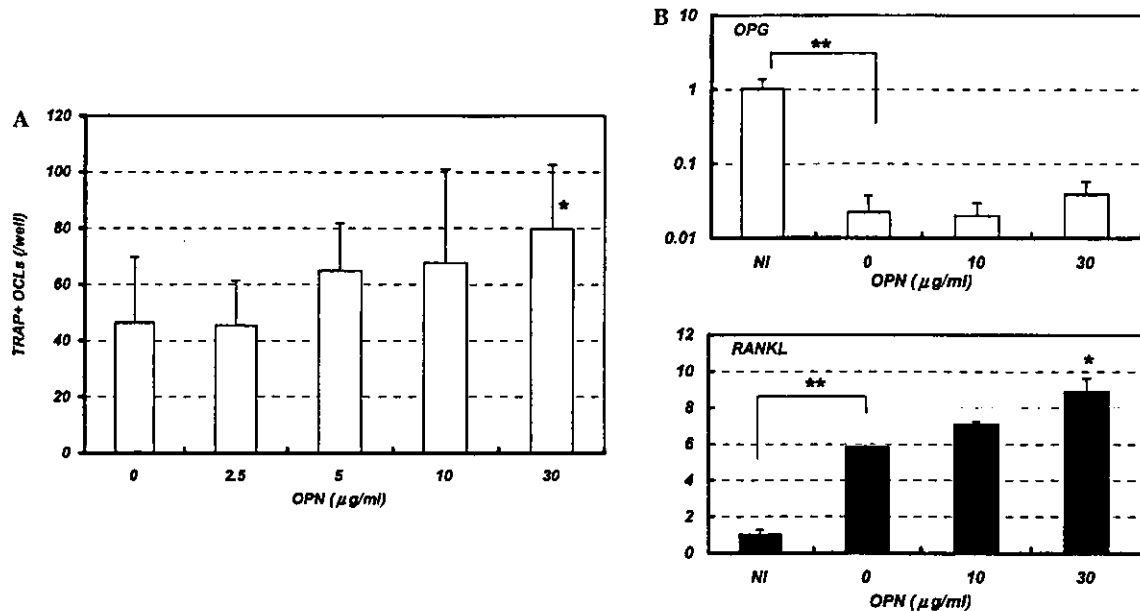


Fig. 5. (A) Numbers of OCLs in the presence or absence of recombinant OPN in OPN<sup>-/-</sup> cells. Cells from arthritic joints of OPN<sup>-/-</sup> mice were harvested and incubated in complete medium ( $1.5 \times 10^4$  cells/0.1 ml/well) in octuplicate for 7 days with OPN applied to the culture medium. After TRAP staining, TRAP-positive multinucleated cells in each well of a 96-well culture plate were counted. OPN enhances the development of OCLs while their development from OPN<sup>-/-</sup> cells.  $**p < 0.01$ . (B) Quantitation of mRNA for RANKL and OPG of OPN<sup>-/-</sup> cells in the presence of OPN. We investigated whether OPN has a role in regulating expression of mRNA for RANKL and OPG. Using real-time PCR, mRNA from OPN<sup>-/-</sup> cells was quantified. Quantitation was achieved from the  $C_t$  ratios of the mRNA for RANKL and OPG to that for  $\beta$ -actin, an internal standard. The values were compared to the levels of mRNA from cells of the non-immunized normal joints. Upper panel: addition of OPN to OPN<sup>-/-</sup> cells did not reduce the expression of OPG mRNA. Bottom panel: Addition of OPN to OPN<sup>-/-</sup> cells slightly enhanced the expression of RANKL mRNA. NI means values of cells from non-immunized mice without reagents.  $**p < 0.01$ . \*Addition of 0  $\mu$ g/ml OPN versus 30  $\mu$ g/ml,  $p < 0.05$ .

the presence of 30  $\mu$ g/ml OPN, the number of developed OCLs was significantly increased (Fig. 5A).

To demonstrate whether OPN is involved in the enhanced expression of RANKL in arthritis, the levels of mRNA for RANKL and OPG were quantified in OPN<sup>-/-</sup> cells incubated with or without OPN. As is the case with OPN<sup>+/+</sup> mice shown in Fig. 2, in OPN<sup>-/-</sup> mice the expression of RANKL mRNA was enhanced and that of OPG mRNA was reduced in arthritic joints compared to non-immunized normal joints (NI). Addition of 30  $\mu$ g/ml OPN to OPN<sup>-/-</sup> cells increased the expression of RANKL mRNA, although not significantly affecting that of OPG mRNA (Fig. 5B).

#### OPN enhances the RANKL expression and suppresses the OPG expression on stromal cells

Because the harvested cells from joints were a heterogeneous mixture of cells derived from multiple sources, such as stromal cells, osteoclast precursors, and lymphocytes, etc., there are limitations in evaluating mRNA expression. To clarify the effect of OPN on the expression of RANKL and OPG, we used a murine stromal cell line, ST2. As positive control, we used 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and Dex, which are well-known agents that induce stromal cells to express RANKL and reduce their expression of OPG [3,4,8,12,19]. While the combination of

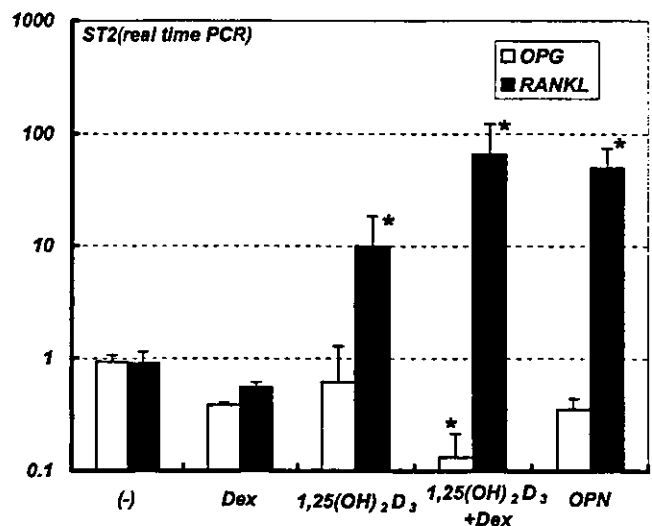


Fig. 6. Quantitation of mRNA for RANKL and OPG of a stromal cell line, ST2, in the presence of several reagents. We investigated whether OPN has a role in regulating expression of mRNA for RANKL and OPG by comparison with other reagents. ST2 cells were incubated with or without OPN, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, and/or Dex. After 24-h cultivation, mRNA was extracted from ST2 cells and the mRNA levels of both RANKL and OPG were quantified by real-time PCR. OPN and 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> increased the level of RANKL mRNA and reduced the level of OPG mRNA. The values were compared to the levels of mRNA from ST2 without any reagent. OPN, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, and Dex represent 30  $\mu$ g/ml of recombinant OPN,  $10^{-8}$  M of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, and  $10^{-7}$  M of Dex, each.  $*p < 0.01$ .

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and Dex most effectively induced RANKL mRNA and reduced OPG mRNA, OPN also increased the expression of RANKL mRNA over 10-fold (Fig. 6).

## Discussion

In this study, we used an *in vitro* osteoclast differentiation model of CIA as previously reported [6]. In this model, we confirmed that OCLs are inducible without additional agents or exogenous cytokines and that the generated OCLs have the ability to resorb hydroxyapatite. On the grounds that the cells from non-arthritic joints fail to differentiate into OCLs, we speculate that the factors induced or enhanced during the progression of arthritis are crucial. As expected from previous reports [3,13,15–17], the expression of RANKL mRNA was enhanced and that of OPG mRNA was reduced in arthritic joints. In addition, *in vitro* osteoclastogenesis from arthritic joints was inhibited by OPG in a concentration-dependent manner. Putting these observations together, we conclude that the RANK/RANKL/OPG system is the major contributor to the activation of osteoclasts in CIA.

On the other hand, we have previously reported that the expression of OPN is enhanced locally in arthritic joints [22], and in this study, we confirmed that cells from arthritic joints secrete OPN. Hence, we investigated if OPN could augment osteoclastogenesis. Although *in vivo* we did not discern any significant differences in either the incidence or severity of CIA induced in OPN *-/-* and OPN *+/+* mice [31], *in vitro* application of the anti-OPN neutralizing antibodies to OPN *+/+* cells prevented the development of OCLs in a concentration-dependent fashion. Moreover, the addition of OPN to OPN *-/-* cells increased the number of OCLs as a function of OPN concentration. Because of the facilitatory effect of OPN on the generation of OCLs, and the inhibitory effect of anti-OPN neutralizing antibodies akin to that of OPG, we suspected that OPN might play a role in regulating the RANK/RANKL/OPG system in arthritis. Real-time quantitative PCR showed that the presence of OPN increases the level of RANKL mRNA in OPN *-/-* cells. Besides, adding OPN to the culture medium of a stromal cell line, ST2, which is a typical cellular source of RANKL, enhanced expression of RANKL mRNA much more clearly. These results suggest that OPN affected stromal cells in arthritic joints and enhanced the expression of RANKL. This effect of OPN can contribute to activation of osteoclasts that ultimately results in the joint destruction seen in arthritis.

It has been reported that OPN activates osteoclasts through integrin- $\alpha$ v $\beta$ 3 by regulating cell adhesion and controlling cytoskeleton [32]. In addition, several studies, including ours, have already suggested that OPN

plays an important role in the bone destruction of arthritis by promoting osteoclastogenesis through acting on osteoclast precursor cells stimulated by RANKL [22,23,26,30]. This study raises the possibility that OPN could act not only on the osteoclast precursor cells but also on the stromal cells and directly induced RANKL and suppress OPG, although to confirm this further experiments are needed.

OPN *-/-* mice have been reported to be resistant to experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) [33] and CAIA [26]. However, a conflicting report suggests that EAE, CIA, and CAIA are fully inducible without OPN in strain with B10Q allele, which is susceptible to CIA [34]. And we have reported that CIA can be fully induced with DBA/1J OPN *-/-* mice, which is highly susceptible to CIA [31]. As previous reports of IL-1 $\beta$  and IL-1 receptor antagonist, susceptibility to cytokines differs among strains. The efficacy of OPN deletion can be decided by genetic backgrounds. Additionally, in knockout mice, it is understood that the influence of the deleted gene can sometimes be compensated or substituted for by other similar genes.

OPN may not be an essential factor in the development of osteoclasts, considering that the effects of OPN deletion were not clear on CIA *in vivo*. However, inhibition of OPN may be an effective treatment for bone destruction, not only from the prospect of inhibiting the activation of osteoclasts, but also in prevention of osteoclast differentiation.

## References

- [1] E.D. Harris Jr., Rheumatoid arthritis. Pathophysiology and implications for therapy, *N. Engl. J. Med.* 322 (1990) 1277–1289.
- [2] M. Feldmann, F.M. Brennan, R.N. Maini, Role of cytokines in rheumatoid arthritis, *Annu. Rev. Immunol.* 14 (1996) 397–440.
- [3] E. Romas, M.T. Gillespie, T.J. Martin, Involvement of receptor activator of NF $\kappa$ B ligand and tumor necrosis factor- $\alpha$  in bone destruction in rheumatoid arthritis, *Bone* 30 (2002) 340–346.
- [4] L.E. Theill, W.J. Boyle, J.M. Penninger, RANK-L and RANK: T cells, bone loss, and mammalian evolution, *Annu. Rev. Immunol.* 20 (2002) 795–823.
- [5] M. Bromley, H. Bertfield, J.M. Evanson, D.E. Woolley, Bidirectional erosion of cartilage in rheumatoid knee joint, *Ann. Rheum. Dis.* 44 (1985) 676–681.
- [6] Y. Suzuki, F. Nishikaku, M. Nakatuka, Y. Koga, Osteoclast-like cells in murine collagen induced arthritis, *J. Rheumatol.* 25 (1998) 1154–1160.
- [7] T. Kuratani, K. Nagata, T. Kukita, T. Hotokebuchi, A. Nakasima, T. Iijima, Induction of abundant osteoclast-like multinucleated giant cells in adjuvant arthritic rats with accompanying disordered high bone turnover, *Histol. Histopathol.* 13 (1998) 751–759.
- [8] S.L. Teitelbaum, Bone resorption by osteoclasts, *Science* 289 (2000) 1504–1508.
- [9] D.L. Lacey, E. Timms, H.L. Tan, M.J. Kelly, C.R. Dunstan, T. Burgess, R. Elliott, A. Colombero, G. Elliott, S. Scully, H. Hsu, J. Sullivan, N. Hawkins, E. Davy, C. Capparelli, A. Eli, Y.X. Qian, S. Kaufman, I. Sarosi, V. Shalhoub, G. Senaldi, J. Guo, J.