

発生工学手法によるリウマチ治療薬の開発

岩倉洋一郎

東京大学医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター教授

研究要旨

われわれは独自に開発した2つの関節リウマチモデルを用いて関節炎の発症には IL-1 が重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。最近、IL-1 レセプターアンタゴニスト(IL-1Ra)を欠損させ、過剰の IL-1 シグナルが入るようにしたマウスで、IL-17 の産生が亢進することを見だし、IL-1 の下流で IL-17 が機能していることが示唆された。そこで IL-1Ra 欠損マウスの IL-17 を欠損させたところ、関節炎の発症が完全に阻止されることが分かった。同様の抑制効果はコラーゲン誘導関節炎に於いても認められた。これらの結果は、IL-17 の阻害剤が抗リウマチ薬の有力な候補となることを示すものである。

A. 研究目的

我々はこれまでに HTLV-I の *tax* 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス(HTLV+Tg マウス)、および IL-1Ra 欠損(KO)マウスを作製し、これらのマウスが共に自己免疫性の関節炎を自然発症することを見いだした。これまでの解析から、これらのマウスの関節炎の発症にはT細胞に依存した自己免疫が関与することを明らかにするとともに、HTLV+Tg の場合は IL-1 や IL-6 などのサイトカインを欠損させると発症が抑制され、一方、IL-1Ra-KO マウスの場合は TNF α を欠損させることにより、発症を抑制できることを示した。従って、サイトカインが病態形成に於いてどのような役割を果たしているかを知ることは、この病気を克服するうえできわめて重要である。ところで、IL-17 は活性化 CD4T細胞の産生する炎症性サイトカインの一つで、種々の炎症性サイトカインやケモカインの産生を誘導することが知られている。このサイトカインは関節リウマチ患者の関節で発現が亢進しており、発症との関連が疑われているが、これまでその役割は知られていなかった。我々はこのサイトカインの発現が IL-1RaKO マウスでも強く亢進していることを見だし、IL-17-KO マウスを作製し、関節炎発症に於ける役割を検討した。

B. 方法

IL-1Ra KO マウス:IL-1Ra-KO マウスは、エクソン 1-4 をネオマイシン耐性遺伝子で置換することにより作製し、BALB/cA マウスに 8 世代以上戻し交配し、実験に供した。また、IL-17-KO マウスはエクソン 1, 2 をネオマイシン耐性遺伝子と置換して作製した。コラーゲン誘導関節炎は chicken2型コラーゲンをフロイントの完全アジュバンドと共に尾の根本に免疫し、21 日後に再び免疫することにより誘導した。

C. 結果

1. IL-1RaKO マウスのT細胞を抗 CD3+CD28 抗体で刺激したところ、野生型の 10 倍程度の IL-17 を産生することがわかった。
2. IL-1RaKO マウスと IL-17-KO マウスとを掛け合わせ、IL-17 欠損 IL-1Ra-KO マウスを作製したところ、関節炎の発症が完全に抑制されることがわかった。この結果、IL-17 は自己免疫性関節炎の発症にきわめて重要な役割を果たしていることがわかった。
3. 2型コラーゲン誘導関節炎に於いても、IL-17 を欠損さ

せると発症が強く抑制された。このとき、コラーゲンに対する抗体産生、および CD4⁺T細胞の増殖応答を調べたところ、大きく低下しており、CD4⁺T 細胞の活性化に問題があることがわかった。

4. OVA 特異的T細胞受容体を持つD011.10トランスジェニックマウスの IL-17 を欠損させたところ、OVA に対する反応性が低下したため、T細胞の応答性の低下はプライミングの異常であることがわかった。

D. 考察・結論

関節炎発症に IL-17 が関与する可能性は指摘されていたが、これまではっきりとした証拠は示されていなかった。今回、我々は IL-17-KO マウスを作製し、IL-1Ra-KO 関節炎自然発症モデル、および2型コラーゲン誘導関節炎モデルを用いて、IL-17 が自己免疫の発症に深く関与しており、IL-17 を欠損させることによって、発症を阻止できることを示した。この結果は IL-17 が関節リウマチ治療のターゲットとして、きわめて有望であることを示している。

E. 研究発表

1. Nakae, S., Komiyama, K., Yokoyama, H., Nambu, A., Umeda, M., Iwase, M., Homma, I., Sudo, K., Horai, R., Asano, M. and Iwakura, Y. Interleukin-1 is required for allergen-specific Th2 cell activation and the development of airway hypersensitivity response. *Int. Immunol.*, (2003) in press.
2. Voronov, E., Shouval, D. S., Krelm, Y., Cagnano, E., Benharroch, D., Iwakura, Y., Dinarello, C. A., and Apte, R. N. Interleukin 1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, in press.
3. Sashinami, H., Nakane, A., Iwakura, Y., and Sasaki, M. Effective induction of acquired resistance to *Listeria monocytogenes* by immunizing mice with *in vivo*-infected dendritic cells. *Infect. Immun.*, (2003) 71, 117-125
4. Nakae, S., Horai, R., Komiyama, Y., Nambu, A., Asano, M., Nakane, A., and Iwakura, Y. The role of IL-1 in the immune system. In "Cytokine Knockouts", (ed. G. Fantuzzi), Humana Press, Totowa, NJ, (2003) in press.
5. Iwakura, Y. Autoimmune chronic inflammatory arthropathy in mice transgenic for the HTLV-I *tax* gene. *Gann Monograph*, (2003) in press.
6. Nakae, S., Komiyama, Y., Narumi, S., Sudo, K., Horai, R., Tagawa, Y., Sekikawa, K., Matsushima, K., Asano, M., and Iwakura, Y. IL-1-induced TNF α elicits inflammatory cell infiltration in the skin by inducing interferon- γ -inducible protein-10 in the elicitation phase of contact hypersensitivity response. *Int. Immunol.*, (2003) 15, 251-260.
7. Yokoyama, H., Yasuda, J., Okamoto, H., and Iwakura, Y. Pathological changes of renal epithelial cells in mice transgenic for the TT virus ORF1 gene. *J. Gen. Virol.*, (2002) 83, 141-150
8. Yano, A., Mun, H.S., Chin, M., Norose, K., Hata, K., Kobayashi, M., Aosai, F., and Iwakura, Y. Roles of IFN-gamma on stage conversion of an obligate intracellular protozoan parasite, *Toxoplasma gondii*. *Int. Rev. Immunol.*, (2002) 21, 405-421
9. Desaki, M., Sugawara, I., Iwakura, Y., Yamamoto, K., and Takizawa, H. Role of interferon-gamma in the development of murine bronchus-associated lymphoid tissues induced by silica *in vivo*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, (2002) 185, 1-7
10. Yoshida, M., Shirai, Y., Watanabe, T., Yamori, M., Iwakura, Y., Chiba T., Kita, T., and Wakatsuki, Y. Differential localization of colitogenic Th1 and Th2 cells monospecific to a microflora-associated antigen in mice. *Gastroenterology*. (2002) 123, 1949-1961
11. Oguri, S., Motegi, K., Iwakura, Y., and Endo, Y. Primary role of interleukin-1 α and Interleukin-1 β in lipopolysaccharide-induced hypoglycemia in mice. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, (2002) 9, 1307-1312
12. Kakuta, S., Shibata, S., and Iwakura, Y. Genomic structure of the mouse 2', 5'-oligoadenylate synthetase gene family. *J. Interferon Cytokine Res.*, (2002) 22, 981-993
13. Sakamaki, K., Inoue, T., Asano, M., Sudo, K., Kazama, H., Sakagami, J., Sakata, S., Ozaki, M., Nakamura, S., Toyokuni, S., Osumi, N., Iwakura, Y. and Yonehara, S. *Ex vivo* whole-embryo culture of caspase-8-deficient embryos normalize their aberrant phenotypes in the developing neural tube and heart. *Cell Death and Differentiation*, (2002) 11, 1196-1206.
14. Nakae, S., Komiyama, Y., Nambu, A., Sudo, K., Iwase, M., Homma, I., Sekikawa, K., Asano, M., and Iwakura, Y. Antigen-specific T cell sensitization is impaired in IL-17-deficient mice, resulting in the suppression of allergic cellular and humoral responses. *Immunity*, (2002) 17, 375-387
15. Yan, X., Kita, M., Minami, M., Yamamoto, T., Kuriyama, H., Ohno, T., Iwakura, Y., and Imanishi, J. Antibacterial effect of Kampo herbal formulation Hochu-ekki-to (Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang) on *Helicobacter pylori* infection in mice. *Microbiol. Immunol.*, (2002) 46, 475-482
16. Iwakura, Y. Roles of IL-1 in the development of rheumatoid arthritis: Consideration from mouse models. *Cytokine Growth Factor Rev.*, (2002) 13, 341-355
17. Mizuki, M., Nakane, A., Sekikawa, K., Tagawa, Y.-I., Iwakura, Y. Comparison of host resistance to primary and secondary *Listeria*

monocytogenes infections in mice by intranasal and intravenous routes. *Infect. Immun.*, (2002) **70**, 4805-4811

18. Minami, M., Kita, M., Yan, X.-Q., Yamamoto, T., Iida, T., Sekikawa, K., Iwakura, Y., and Imanishi, J. Role of IFN- γ and tumor necrosis factor- α in herpes simplex virus type I infection. *J. Interferon Cytokine Res.*, (2002) **22**, 671-676

19. Ishida, Y., Kondo, T., Ohshima, T., Fujiwara, H., Iwakura, Y., and Mukaida, N. A pivotal involvement of IFN- γ in the pathogenesis of acetaminophen-induced acute liver injury. *FASEB J.*, (2002) **16**, 1227-1236

20. Konishi, H., Tsutsui, H., Murakami, T., Yumikura-Futatsugi, S., Yamanaka, K., Tanaka, M., Iwakura, Y., Suzuki, N., Fuchs, E. V., Takeda, K., Akira, S., Nakanishi, K., and Mizutani, H. IL-18 contributes to the spontaneous development of atopic dermatitis-like inflammatory skin lesion independently of IgE/stat6 under specific pathogen-free conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (2002) **99**, 11340-11345

21. Sasaki, S., Omoe, K., Tagawa, Y., Iwakura, Y., Sekikawa, K., Shinagawa, K., and Nakane, A. Roles of gamma interferon and tumor necrosis factor-alpha in shiga toxin lethality. *Microb. Pathog.*, (2002) **33**, 43-47

22. Nagai, Y., Akashi, S., Nagafuku, M., Ogata, M., Iwakura, Y., Akira, S., Kitamura, T., Kosugi, A., Kimoto, M., and Miyake, K. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. *Nat. Immunol.*, (2002) **3**, 667-672

23. Yamamoto, S., Oka, S., Inoue, M., Shimuta, M., Manabe, T., Takahashi, H., Miyamoto, M., Asano, M., Sakagami, J., Sudo, K., Iwakura, Y., and Kawasaki, T. Mice deficient in nervous system-specific carbohydrate epitope HNK-1 exhibit impaired synaptic plasticity and spatial learning. *J. Biol. Chem.*, (2002) **277**, 27227-27231

24. Asada, H., Kishida, T., Hirai, H., Satoh, E., Ohashi, S., Takeuchi, M., Kubo, T., Kita, M., Iwakura, Y., Imanishi, J., and Mazda, O. Significant antitumor effects obtained by autologous tumor cell vaccine engineered to secrete interleukin (IL)-12 and IL-18 by means of the EBV/lipoplex. *Molec. Therapy*, (2002) **5**, 609-616,

25. Oguro, T., Takahashi, Y., Ashino, T., Takaki, A., Shioda, S., Horai, R., Asano, M., Sekikawa, K., Iwakura, Y., and Yoshida, T. Involvement of tumor necrosis factor α , rather than interleukin-1 or nitric oxides in the HEME Oxygenase-1 gene expression by lipopolysaccharide in the mouse liver. *FEBS Letters*, (2002) **516**, 63-66

26. Battsetseg, B., Mamiro, K., Inoue, N., Makala, L., Nagasanw, H., Iwakura, Y., Toyoda, Y., Mikami, T., Fujisaki, K. Immune responses of interferon gamma (IFN-gamma) knock out mice to repeated *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae) nymph infestations. *J. Med. Entomol.*,

(2002) **39**, 173-176

27. Asahi, Y., Yoshikawa, T., Watanabe, I., Iwasaki, T., Hasegawa, H., Sato, Y., Shimada, S., Nanno, M., Matsuoka, Y., Ohwaki, M., Iwakura, Y., Suzuki, Y., Aizawa, C., Sata, T., Kurata, T. and Tamura, S. Protection against influenza virus infection in polymeric Ig receptor knockout mice immunized intranasally with adjuvant-combined vaccines. *J. Immunol.*, (2002) **168**, 2930-2938

28. Shinozawa, Y., Matsumoto, T., Uchida, K., Tsujimoto, S., Iwakura, Y., and Yamaguchi, K. Role of interferon-gamma in inflammatory responses in murine respiratory infection with *Legionella pneumophila*. *J. Med. Microbiol.*, (2002) **51**, 225-230

29. Kyuwa, S., Shibata, S., Tagawa, Y., Iwakura, Y., Machii, K., and Urano, T. Acute hepatic failure in IFN- α -deficient BALB/c mice after murine coronavirus infection. *Virus Research*, (2002) **83**, 169-177

30. Nagai, Y., Shimazu, R., Ogata, H., Akashi, S., Sudo, K., Yamasaki, H., Hayashi, S., Iwakura, Y., Kimoto, M., and Miyake, K. Requirement for MD-1 in cell surface expression of RP105/CD180 and B-cell responsiveness to lipopolysaccharide. *Blood*. (2002) **99**, 1699-1705

31. Kakuta, S., Tagawa, Y., Shibata, S., Nanno, M., and Iwakura, Y. Inhibition of B16 melanoma experimental metastasis by interferon- α through direct inhibition of cell proliferation and activation of anti-tumor host mechanisms. *Immunology*, (2002) **105**, 92-100

32. Saijo, S., Asano, M., Horai, R., Yamamoto, H., and Iwakura, Y. Suppression of autoimmune arthritis in IL-1-deficient mice in which T cell activation is impaired due to low levels of CD40L and OX40 expression on T cells. *Arth. Rheum.*, (2002) **46**, 533-544

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金
(厚生労働省免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業)
関節リウマチの先端的医療に関する研究班
分担研究報告書

関節リウマチにおける生物製剤治療に関する研究

分担研究者 尾崎 承一

聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科 教授

研究協力者 岡 寛

聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科 講師

研究要旨:本邦で最も早く認可される予定の生物製剤であるインフリキシマブ(レミケード)の症例選択と副作用の管理のため、入院治療によるクリニカルパスを作成した。また、効果と副作用のマーカ―検索のため、治療前後の遺伝子発現と血清蛋白変動の網羅的解析を行った。

A. 研究目的

本邦における関節リウマチの次世代の治療として生物製剤による治療が注目されている。最も早く認可される予定のインフリキシマブ(レミケード)は、免疫抑制剤のメソトレキセートとの併用により、強力な抗リウマチ作用を有する。しかし、結核や敗血症を含む重篤な感染症の誘発や、本剤による過敏症などが危惧されている。さらに、本剤は極めて高価となることが予想されるため、症例の選択には十分な検討が必要である。本研究は、症例の選択や、副作用の厳密な管理、効果の予測等のために、入院治療によるクリニカルパスを作製することを目的とした。

B. 研究方法

文献的な検索によりレミケードの治療プロトコルを調査した。さらに、諸外国の先行するプログラムや既に発売されているクローン病の治療法も参考にして、本邦におけるレミケードの初回治療と2週および6週投与の治療に分けて、クリニカルパスを作成した。

(倫理面への配慮)

本治療における詳細な予診表と治療同意書を作成した。

C. 研究結果

レミケード治療に先立つ詳細な予診表(表1)と承諾書(表2)を作成した。予診表では、本剤の投与で特に問題となる結核の既往歴、家族歴、BCG接種歴、アレルギー歴を問診する。また、本剤投与の禁忌と考えられる脱髄疾患、心臓病、妊娠の有無などの項目も問診し、患者、医療機関双方の署名を課した。承諾書では、

本剤の効果だけでなく、副作用の詳細や、慎重投与と投与禁忌患者を明記し、症例を厳密に選択した上で、患者と医療機関の双方の署名を課した。さらに、治療の指標の1つとして、レミケード治療体系の流れ(図1)を作成した。この図内に、問診から、投与前検査、初回投与時、2週目投与時、6週投与時のそれぞれの段階のチェック項目をフローチャートで示した。

初回治療のパス(表3)は入院8日間とした。また、本邦で特に問題となる結核対策として、全例にツベルクリン反応、胸部X線検査、胸部CT検査を課した。さらに、アナフィラキシーショックの対策として、レミケード投与当日は2ルートを確保し、頻回のバイタルサインの点検を課した。2週および6週投与のパス(表4)は、4日間の入院管理とした。このパスでも再度、問診表と承諾書の作成を課した。特にレミケード投与後の遅発性過敏症の発見に重点をおいた。レミケード治療の効果と副作用出現を予見するマーカ―の発見のため、末梢血単核球における遺伝子発現と血清蛋白変動の網羅的解析を進めている。

D. 考察

初回治療から2週後の投与まで連続して入院管理する方法も考えられた。しかし、毎週の外来受診により副作用のチェックは可能であり、医療費のコストの削減にもなると考えられ、入院8日間とした。レミケードは、本邦で既にクローン病で使用されており、100mgバイアルが113,190円である。RAの適応は、3mg/kgのため、1回に2バイアル必要であり、合計では、6バイアルの679,140円の高価な治療となると考えられる。従って、図1のように、投与前のチェックによる症例の選択が不

可欠である。今後、他の生物製剤に対しても同様の検討を進める予定である。

E. 結論

レミケード治療の症例選択や副作用の嚴重管理のために、クリニカルパスを作製した。効果と副作用のマーカー検索を目的として、遺伝子発現と血清蛋白変動の網羅的解析を進めた。

F. 健康危険情報

米国の一般人口の結核の頻度は、10万人当たり年間 6.2 人であるが、レミケード治療群では、10万人当たり年間 24.4 人と約4倍に増加している。本邦の一般人口の結核の頻度は、10万人当たり年間 34 人と米国より高いため、症例の選択には、十分な注意が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

① 英文原著論文

1. Okazaki T., Ozaki S., Nagaoka T., Kozuki, M., Sumita S., Tanaka M., Osakada F., Kishimura M., Kakutani T. and Nakao K.: Antigen-specific Th1 cell as direct effectors of Propionibacterium acnes-primed lipopolysaccharide-induced hepatic injury. *Int. Immunol.* 13 (5): 607-613, 2001.
2. Akamizu T., Ozaki S., Hiratani H., Uesugi H., Sobagima J., Hataya Y., Kanamoto N., Saijo M., Hattori Y., Moriyama K., Ohmori K and Nakao K.: Drug-induced neutropenia associated with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies(ANCA): possible involvement of complement in granulocyte toxicity. *Clin Exp Immunol* 127: 92-98,2002.
3. Fujita Y., Murakami M., Ogawa Y., Masuzaki H., Tanaka M., Ozaki S., Nakao K and Mimori T.: Leptin inhibits stress-induced apoptosis of T lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 128: 21-26,2002
4. Fida S., Myers A.M., Whittingham S., Rowley J.M., Ozaki S., and Mackay R.I.: Autoantibodies to the Transcriptional Factor SOX13 in Primary Biliary Cirrhosis Compared with Other Diseases.

J.Autoimmunity. Journal of Autoimmunity 19:251-257,2002

5. Tanaka M., Ozaki S., Kawabata D., Kishimura M., Osakada F., Okubo M., Murakami M., Nakao K. and Mimori T.: Potential preventive effects of follistatin-related protein / TSC-36 on joint destruction and antagonistic modulation of its autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Int. Immunol* 15: 71-77, 2003.

② 邦文原著論文

1. Shibata T, Yamasaki E, Shimojo S, Mizoguchi M, Ozaki S: Heterogeneity of Central Nervous System Manifestation of Sweet's Syndrome: Contribution of Underlying Behcet's Disease. *聖マリアンナ医科大学雑誌* 29: 519-527, 2001.
2. 中野弘雅、岡寛、尾崎承一、松田隆秀、大岡正道、鈴木典子: ペーチェット病におけるレーザー散乱光法を用いた血小板自然凝集能の検討。 *臨床リウマチ* 14:205-210, 2002.
3. 中野弘雅、岡寛、松田隆秀、大岡正道、大久保道子、尾崎承一: 金チオリンゴ酸ナトリウム(シオゾール®)による間質性肺炎。 *リウマチ科* 28 (6):596-597,2002.

③ 邦文著書

1. 尾崎承一: 血管炎症候群の診断と病態把握: 免疫血清学的検査。「血管炎」(長澤俊彦監修・橋本博史編集)、朝倉書店(東京)、PP-113-118, 2001.
2. 尾崎承一: 慢性関節リウマチ。「知っておきたい骨・関節疾患の新たな診療」(西岡久寿樹監修) 真興交易(東京)、PP-46-73, 2001.
3. 尾崎承一: Behcet 病。「内科学」(小俣政男・金澤一郎・北原光夫、山口徹、総編集)、医学書院(東京)、(印刷中)
4. 尾崎承一: 結節性多発動脈炎。「新・膠原病 診断と治療の最新ポイント 皮膚から内臓へ」(竹原和彦、桑名正隆、宮地良樹編) 診断と治療社(東京)、PP-100-105, 2002.
5. 尾崎承一: ANCA と血管炎。「新・膠原病 診断と治療の最新ポイント 皮膚から内臓へ」(竹原和彦、桑名正隆、宮地良樹編) 診断と治療社(東京)、PP-100-105, 2002.

④ 邦文総説

1. 尾崎承一:可容型 gp130 と慢性関節リウマチ。免疫-Immunology Frontier 11(2):46-52, 2001.
2. 尾崎承一、傍島淳子:自己免疫性肝疾患と ANCA。Bio Clinica 16(5):90-95, 2001.
3. 尾崎承一:結節性多発動脈炎。毎日ライフ 6: 40-44, 2001.
4. 尾崎承一、田中真生:慢性関節リウマチの新規自己抗原のクローニング。組織培養工学 27 (5):20-23,2001.
5. 橋本博史、吉木敬、尾崎承一他 26 名:厚生労働省厚生科学特定疾患・難治性血管炎に関する調査研究報告。日本臨床免疫学会会誌 24 (6):336-346, 2001.
6. 大矢直子、尾崎承一:ループス腎炎および MPO-ANCA 関連腎炎。総合臨床 51(7): 2176-2181,2002.
7. 山本直弘、尾崎承一:混合性結合組織病。臨床医増刊号 28: 1556-1558,2002.
8. 池内俊三、尾崎承一:側頭動脈炎。リウマチ科 27 (Suppl. 1): 713-717,2002.
9. 山田秀裕、浜信昭、吉田智彦、尾崎承一:SLE 患者の妊娠、出産におけるリスクをどう回避するか。EBM 3(6):63-68,2002
10. 岡寛、尾崎承一:炎症性筋疾患。Current Therapy 21(3):34-37,2003.

2. 学会発表

① 国際学会(一般演題)

1. Akaogi J., Yamada H., Azuma K., Hama N., Kikukawa T., Mori T. and Ozaki S.: Suppression of pannus formation by 15-deoxy-delta(12,14)-prostaglandin J2 is mediated through induction of apoptosis of synovial vascular endothelial cells and fibroblast-like synoviocytes. The 65th National Scientific Meeting of the American College of Rheumatology. 2001, San Francisco, California, U.S.A.
2. Akaogi J., Yamada H., Hama N., Kikukawa T., Mori T., Kawai S. and Ozaki S.: Prostaglandin E2 receptor Subtype EP4 Mediated suppression of pannus formation in rheumatoid arthritis. The 65th National Scientific Meeting of the American College of Rheumatology. 2001, San

Francisco, California, U.S.A.

3. Yamasaki Y., Azuma K., Yamasaki M., Hama N., Yamada H. and Ozaki S.: Pulmonary fibrosis dose not progress during long-term follow-up in most of the patients with systemic sclerosis without cyclophosphamide treatment. The 65th National Scientific Meeting of the American College of Rheumatology. 2001, San Francisco, California, U.S.A.
4. Yamasaki Y., Azuma K., Yamasaki M., Hama N., Yamada H. and Ozaki S.: Small airway disease as an important complication of systemic sclerosis. The 65th National Scientific Meeting of the American College of Rheumatology. 2001, San Francisco, California, U.S.A.
5. Yamasaki Y., Azuma K., Yamasaki M., Hama N., Yamada H. and Ozaki S.: Lipidmicrosphere-incorporated prostaglandin E1 for the treatment of pulmonary fibrosis in patients with systemic sclerosis. The 65th National Scientific Meeting of the American College of Rheumatology. 2001, San Francisco, California, U.S.A.
6. Takahama H, Yamasaki E, Minami K, Hosaka E, Matsuoka A, Haga T, Kawase A, Shibata T, Shimojo S, Yamada H, Soma Y, Ozaki S and Mizoguchi M: Three Cases of sweet's syndrome with central nervous system manifestations. The 7th China-Japan Joint Meeting of Dermanology. 2002, Guangzhou, China,

② 国内学会(シンポジウム)

1. 三森経世、田中真生、村上雅朗、尾崎承一:慢性関節リウマチの病原的自己抗体と対応抗原。「シンポジウム 13:新しい自己抗体と臨床的意義」第 45 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2001 年 5 月 14-16 日。東京。

③ 国内学会(ワークショップ)

1. 藤田義正、村上雅朗、尾崎承一、中尾一和:肥満物質(レプチン)の免疫系における抗アポトーシス作用。「ワークショップ:リウマチ性疾患とアポトーシス」第 45 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2001 年 5 月 14 日-16 日。東京。
2. 加勢千容、山田秀裕、浜信昭、笹下薫、中島康雄、尾崎承一:慢性関節リウマチに合併する細

- 管支炎の臨床的意義とその治療。「ワークショップ:慢性関節リウマチ」第 29 回日本臨床免疫学会総会。2001 年 12 月 10 日-11 日。大阪。
3. 田中真生、尾崎承一、川端大介、村上雅朗、三森経世:慢性関節リウマチにおける抗ホリスチン関連蛋白抗体のエピトープ反応性および HLA-DQ 抗原との相関。「ワークショップ:慢性関節リウマチ」第 31 回日本免疫学会総会・学術集会。2001 年 12 月 11 日-13 日。大阪。
 4. 藤井琢磨、松井友吾、蓬田雅人、桐栄純一、黒沢大、小寺洋、松島瑞子、稲田祐二、尾崎承一、広瀬幸子、白井俊一、西村裕之:SLE モデルマウスにおける内在性レトロウイルスに対する自己免疫応答の遺伝支配。「ワークショップ:全身性自己免疫疾患」第 31 回日本免疫学会総会・学術集会。2001 年 12 月 11 日-13 日。大阪。
 5. 東浩平、山崎宜興、山前正臣、加勢 1 千容、浜信昭、山田秀裕、尾崎承一:強皮症の細気道病変の検討。「ワークショップ 31:強皮症」第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002 年 4 月 22 日-24 日。神戸。
 6. 尾崎承一、鈴木康夫、松田隆秀、山田秀裕:選択コースにおけるリウマチ学教育。「ワークショップ 41:リウマチ学の教育体制」第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002 年 4 月 22 日-24 日。神戸。
 7. 尾崎承一:血管炎の病因としての ANCA:モデルマウスにおける解析。「ワークショップ 42:血管炎と ANCA」第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002 年 4 月 22 日-24 日。神戸。
 8. 大矢直子、鈴木康夫、山田秀裕、浜信昭、藤野智弥、小池淳樹、尾崎承一:難治性ループス腎炎に対するシクロホスファミド静注療法(IV-CY)の短期及び長期治療効果。「ワークショップ 53:SLE の病態と臨床」第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002 年 4 月 22 日-24 日。神戸。
 9. 藤井琢磨、黒沢大、斉藤滋、桐栄純一、小寺洋、松島瑞子、稲田祐二、尾崎承一、広瀬幸子、白井俊一、西村裕之:New Zealand 系マウスにおける免疫寛容誘導能欠如を規定する遺伝子のゲノムマッピング「ワークショップ 31:全身性自己免疫疾患 T細胞・樹状細胞」第 32 回日本免疫学会総会・学術集会。2002 年 12 月 4 日-6 日。東京。
 10. Kawaba TA D, Tanaka M, Fujii T, Umehara H, Mimori T and Ozaki S:Ameliorative effects of follistatin-related protein on joint inflammation in arthritis model mice.「ワークショップ 47:慢性関節リウマチ I」第 32 回日本免疫学会総会・学術集会。2002 年 12 月 4 日-6 日。東京。
 11. 田中真生、小坂田史雄、藤井隆夫、梅原久範、三森経世、尾崎承一:関節リウマチにおける新規自己抗原:RBP1類似蛋白質のクローニング。「ワークショップ 47:慢性関節リウマチ I」第 32 回日本免疫学会総会・学術集会。2002 年 12 月 4 日-6 日。東京。
- ④ 国内学会(一般演題)
1. 田中真生、川端大介、岸村昌明、小坂田史雄、村上雅朗、尾崎承一、三森経世:慢性関節リウマチにおける抗ホリスチン関連蛋白(FRP)抗体のエピトープおよび HLA タイプによる抗体出現性の解析。第 45 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2001 年 5 月 14 日-16 日。東京。
 2. 川端大介、藤田義正、田中真生、村上雅朗、尾崎承一、三森経世:経過中に重症筋無力症を合併したオーバーラップ症候群の一例。第 45 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2001 年 5 月 14 日-16 日。東京。
 3. 岡寛、山田秀裕、山前正臣、山崎宜興、松田隆秀、尾崎承一:多発性筋炎(PM)/皮膚筋炎(DM)の悪性腫瘍の合併について。第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002 年 4 月 22 日-24 日。神戸。
 4. 山前正臣、山田秀裕、浜信昭、尾崎承一:多発性筋炎、皮膚筋炎に合併する間質性肺炎の再燃率に関する研究。第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002 年 4 月 22 日-24 日。神戸。
 5. 赤荻淳、山田秀裕、浜信昭、菊川忠裕、森俊二、尾崎承一:In vitro ヒト滑膜炎モデルを用いた 15 d-PGJ12 によるパンスス形成抑制効果とその機序の解明。第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002 年 4 月 22 日-24 日。神戸。
 6. 柴田朋彦、浜信昭、山田秀裕、山前恵美子、溝口昌子、尾崎承一:Sweet 症候群に合併する神経障害:Behcet 病合併例と非合併例の臨床像の相違。第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002 年 4 月 22 日-24 日。神戸。

7. 山崎宜興、山前正臣、東浩平、大久保道子、柴田朋彦、浜信昭、山田秀裕、尾崎承一：強皮症の肺線維症に対するlipo-PGE1の抑制効果についての検討。第46回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002年4月22日-24日。神戸。
8. 菅田文彦、東浩平、鈴木康夫、尾崎承一、高橋正知、千川晃弘：メソトレキセート(MXT)治療中に伝染性単核球症様の末梢血異型リンパ球の著名増多、巨大脾腫をきたした慢性関節リウマチ(RA)の一症例。第46回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002年4月22日-24日。神戸。
9. 大久保道子、柴田朋彦、鈴木康夫、尾崎承一、高濱英人、溝口昌子、小池淳樹、加藤雅之：多発性小腸潰瘍、皮疹に対してヨードカリウムが著効した骨髓異形成症候群合併スイート病の一例。第46回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002年4月22日-24日。神戸。
10. 中野弘雅、鈴木康夫、緋田めぐみ、渡部秀憲、溝口昌子、阿部光文、尾崎承一：筋炎局所にお多数の組織球様細胞の浸潤を認めた多中心性網状組織球症(Multicentric reticulo-histiocytosis)の1例。第46回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002年4月22日-24日。神戸。
11. 大久保道子、山田秀裕、浜信昭、尾崎承一：原発性シェーグレン症候群に伴う拡張型心筋症にアザチオプリンが有効だった二例。第46回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002年4月22日-24日。神戸。
12. 廣田浩一、加勢千容、菅田文彦、岡寛、山田秀裕、松田隆秀、尾崎承一：胸腺腫瘍を合併した皮膚筋炎の2例。第46回日本リウマチ学会総会・学術集会。2002年4月22日-24日。神戸。

図1:レミケード治療体系の流れ

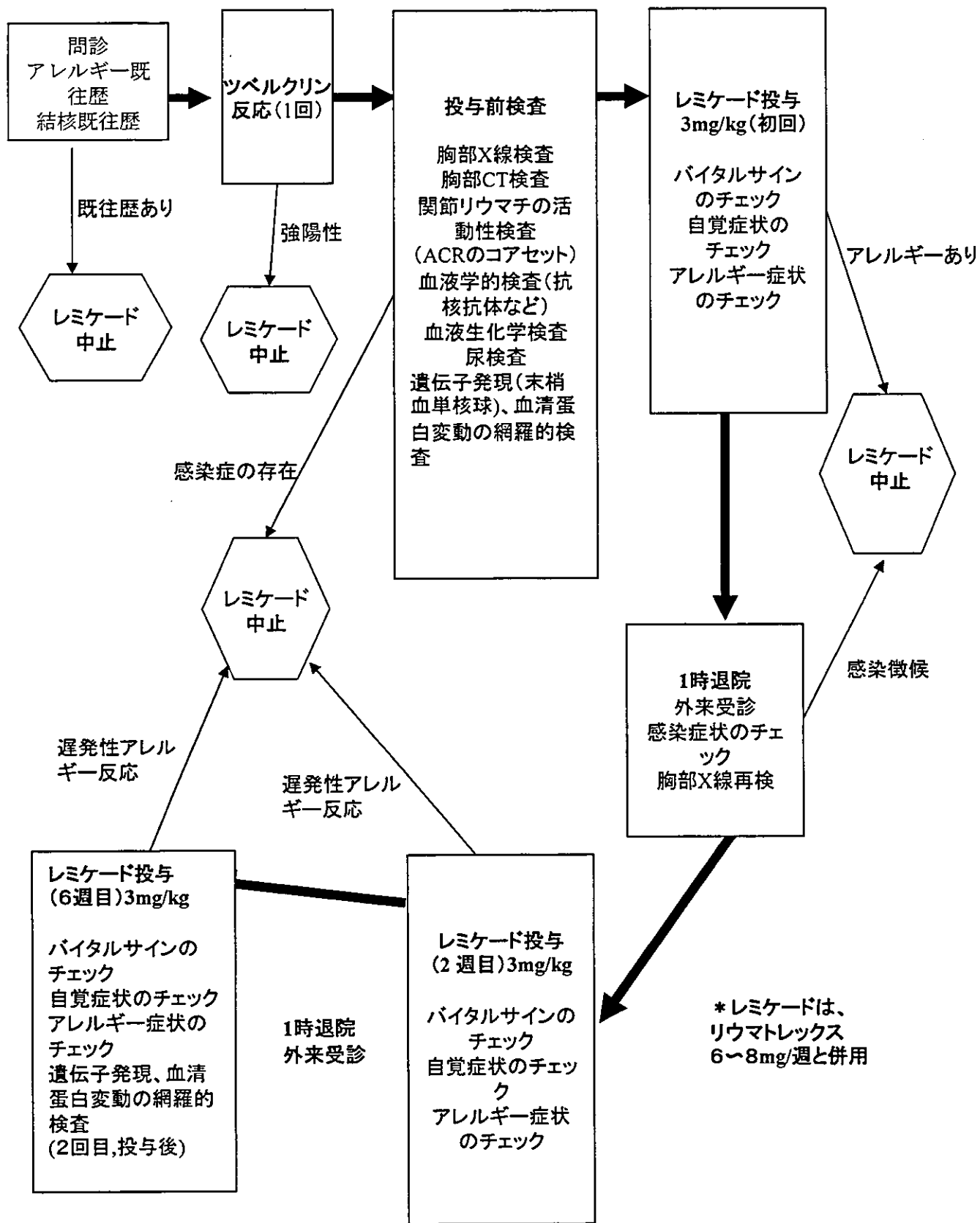


表1：レミケード投与 予診票

診察前の体温	度	分				
診察前の体重						kg
診察前の血圧	最高血圧	mmHg		最低血圧	mmHg	
住所						
受ける人の氏名				男	生年	年 月 日生
親権者または法定代理人				女	月日	(満 歳)

太枠内をご記入ください

質問事項 (あてはまる項目を○でかこんで下さい)	回答欄		医師記入欄
今日受けられるレミケード投与について説明文「関節リウマチでレミケード点滴静注用の投与を受けられる患者さんへ」を読んでいないあるいは理解が不十分である	はい	いいえ	
今日体に具合の悪いところがありますか あると回答された方は、その症状をご記入ください 症状 ()	はい	いいえ	
最近1ヶ月以内に病気にかかりましたか はいと回答された方は、その病名をご記入ください 症状 ()	はい	いいえ	
肺結核(肺浸潤)やその他の結核にかかったことがありますか あると回答された方は、何歳頃でしたか () 歳頃	はい	いいえ	
療養所に長期間入所し、化学療法をうけたことがありますか	はい	いいえ	
家族に結核を患った人はいますか	いる	いない	
結核を患った人との接触経験はありますか あると回答された方は、いつ頃でしたか () ヶ月前頃	はい	いいえ	
以前に行ったツベルクリン反応の結果はいかがでしたか	陽性	陰性	
BCGを接種したことがありますか あると回答された方は、何歳頃でしたか () 才頃	はい	いいえ	
10~20歳で肺炎が長引いたもしくは咳、痰が続いた経験がありますか	はい	いいえ	
過去に熱がでて、薬ですぐには治らなかったことがありますか	はい	いいえ	
これまでにレミケードの投与を受けたことがありますか あると回答された方は、いつ頃ですか () 年 () 月頃	はい	いいえ	
そのとき具合が悪くなりましたか あると回答された方は、その時の症状をご記入ください 症状 ()	はい	いいえ	
心臓病と診断されたことがありますか あると回答された方は、その診断名をご記入ください 診断名 ()	はい	いいえ	
今までに脱髄性神経疾患(多発性硬化症等)にかかり医師に診察を受けていますか	はい	いいえ	
家族の中に脱髄疾患(多発性硬化症等)と診断されている方はいますか	はい	いいえ	
1ヶ月以内に予防接種(ワクチン投与)を受けましたか はいと回答された方は、その予防接種名をご記入ください 予防接種名 ()	はい	いいえ	
今回のレミケード投与について何か質問がありますか	はい	いいえ	
これまでに薬の投与により皮膚に発疹やじんましん等が出たり、体の具合が悪くなったことはありますか?	はい	いいえ	
現在妊娠していますか	はい	いいえ	
現在授乳中ですか	はい	いいえ	
<医師の記入欄> 以上の問診及び診察の結果、今日のレミケード投与は(可能・見合わせる)			
平成 年 月 日	医師の署名		平成 年 月 日

予診の結果を聞いて今日のレミケードの投与を受けますか(はい・見合わせます)

<患者>

平成 年 月 日 氏名 _____

<親権者または法定代理人> : 患者が未成年の場合

平成 年 月 日 氏名 _____ (続柄: _____)

平成 年 月 日 氏名 _____ (続柄: _____)

投与量	実施場所・医師名
3(mg/kg) × 体重(kg)	医療機関名: _____
mg	医師名: _____

表2：レミケード治療承諾書

関節リウマチでレミケード点滴静注用 100 の投与を受けられる患者さんへ

<はじめに>

レミケードは「抗ヒト TNF α モノクローナル抗体製剤」で、関節リウマチの炎症のもとになっている作用を抑える新しい治療薬です。この薬は、海外では欧米を中心に既に 50 ヶ国以上で使用されている薬で、日本でも使用できるようになりました。この薬を使用するにあたり、最初に 3 つのお願いがあります。

1. レミケードの効果および副作用等をよく理解し、わからないことは、投与を受ける前に担当医に相談して下さい。また、手帳「レミケードを投与された患者さんへ」を必ず熟読し、投与後は毎日チェック表に記録してください。
2. 当日は体調をよく観察して、普段と変わったところのないことを確認してください。
3. 予診票は投与する担当医への大切な情報です。責任をもって正確に記入して下さい。

<予想されるレミケードの効果および副作用>

1. レミケードの使用によって期待される効果

レミケードの使用により、関節の腫脹や疼痛が軽減する等の効果が使用から 2 週間後には認められ、かつその効果が 8~12 週間程度持続することが報告されています。CRP などの炎症反応なども改善が認められています。また、レミケードはメソトレキセート（リウマトレックス）と併用する治療を行います。従って、使用中はメソトレキセートとレミケードの双方の副作用に注意を払う必要があります。以上のようにレミケードは、リウマトレックスとの併用にて関節リウマチの症状が総合的に改善することが認められています。

一方、これらの効果はすべての患者さんに認められるわけではなく、3~4 割程度の患者さんでは、効果が認められないと報告されています。さらに、レミケードは関節リウマチを根治させる薬剤ではありません。

2. レミケードの安全性に関する情報

(1) レミケード投与と副作用

a. 点滴中および点滴終了直後の副作用発現

レミケードの点滴時および点滴終了直後に呼吸困難、発熱、胸痛、頭痛、悪心、めまい、そう痒感、高血圧および低血圧等の症状が認められています。

b. 投与後の副作用

レミケードを使用した患者さんの約半数に副作用が報告されています。主な副作用は、頭痛、悪心、めまい、そう痒感、発熱、疲労感等でした。

c. 反復投与後の副作用（遅発性副作用）

海外において、レミケード投与後 2~4 年あけて再投与を行った場合、3 日以上経過後から筋肉痛、発疹、発熱、多関節痛、そう痒、手・顔面浮腫、嚥下障害、蕁麻疹、咽頭痛、頭痛等の症状が認められました。

これまでに、レミケードの投与を受けたことがある患者さんは必ず申し出てください。また、今回、使用される場合には、レミケードを使用されたことを覚えていただき、14 週以上の期間をあけて再び使用されることがありましたら、担当医に必ず申し出てください。

(2) 感染症の発現

これまでに、上気道感染症や尿路感染症等の発現が報告されています。また、重篤な感染症として、敗血症、肺炎、結核、日和見感染症等が認められています。感染症を発症した患者さんの中には、その後の経過にて死亡に至った方も報告されています。

これまでに結核を患った方、家族に結核を患った人がいる方や肺浸潤、その他の結核が認められた方は必ず申し出てください。また、レミケードの治療中に発熱、悪寒等、普段と違う症状が発現した場合は、すぐに担当医に申し出てください。

(3) ループス様症候群

海外において、レミケードを使用した際に、関節痛、筋肉痛、皮疹等の症状が数名の患者さんに認められ、ループス様症候群の疑いが報告されました。これらの患者さんは、副腎皮質ホルモン剤による治療が行われた結果、症状は改善しました。

(4) 脱髄性神経疾患および無菌性髄膜炎

海外において、レミケードと同様の作用を有する薬剤の使用により、多発性硬化症患者さんの症状が悪化したとの報告があります。海外において、レミケードの使用後に多発性硬化症の悪化などの脱髄性神経疾患が認められました。また、最近海外においてレミケードによる無菌性髄膜炎の例がありました。

現在、脱髄性神経疾患を治療中の方やこれまでに脱髄性神経疾患を患った方、または家族の人が脱髄性神経疾患を患ったことがある方は必ず申し出てください。

(5) 悪性腫瘍の発現の可能性

レミケードを使用した後3年間にわたって患者さんの経過を追跡調査した結果、悪性リンパ腫、甲状腺癌、前立腺癌、白血病、皮膚癌、乳癌などの発現が報告されています。

ただし、これらの患者さんはクローン病や関節リウマチの罹患期間も長く、また、悪性腫瘍が発生する可能性があるとして報告されている免疫抑制剤を長期にわたって治療に使用した経験がある患者さんも含まれており、レミケードの使用によるものかどうかは特定されていません。

<伝達性海綿状脳症 (TSE) への安全対策について>

レミケードは製造過程の培地中添加物として、ウシの脾臓および血液から精製されたアミノ酸やペプチドが使用されています。レミケードの培地添加物として使用されるウシは、米国農務省の厳しい管理下で、飼育、屠殺(とさつ)された健康なウシです。米国はBSEが発生していない国として、規制当局によって認められており、さらに、レミケードの製造過程においては、万一の、BSEの原因物質の潜在的混入を防ぐ目的で、除去処理工程が設けられています。しかし、理論的にはプリオン蛋白が存在する可能性は否定できません。

なお、レミケードを使用した患者さんからTSEが発症したとの報告は現在のところありません。

<合併症などを有する場合のレミケードの使用>

以下の事項に該当する患者さんは、レミケードを使用する際に担当医とよく相談する必要がありますので、必ず申し出てください。

1. レミケードの投与を受けることができない人

- (1) 重い感染症にかかっていることが明らかな人
- (2) 結核にかかっている人
- (3) 過去にレミケードの投与を受けて過敏症を起こしたことがある人
- (4) マウス由来蛋白質を含む他の医薬品の投与を受けて過敏症を起こしたことがある人
- (5) 脱髄性神経疾患(多発性硬化症等)にかかっている人、もしくは過去にかかったことのある人
- (6) 重いうっ血性心不全を患っている人
- (7) その他、医師がレミケード投与を受けることを不適当と判断した人

2. 投与を受けるに際し、医師とよく相談しなくてはならない人

- (1) 感染症にかかっていることが明らかな人
- (2) カゼなどのひきはじめと思われる人
- (3) これまでに結核(肺浸潤等)にかかったことのある人
- (4) 脱髄性神経疾患(多発性硬化症等)が疑われる徴候(腕、脚、体もしくは顔のヒリヒリ感やしびれ感、片目が痛い、目がみえにくい、視力の低下等)がある人
- (5) 家族に脱髄性神経疾患(多発性硬化症等)にかかっている方がいる人
- (6) うっ血性心不全を患っている人
- (7) 今までにレミケードの投与を受けたことのある人

<レミケード治療に要する費用>

レミケードは大変高価な薬剤です。レミケードによる関節リウマチの治療は標準的には0週、2週、6週の3回投与します。1回の治療額は、レミケードのみでおおよそ12〜13万円かかります。またその後も8週毎に追加投与する事があります。

<投与を受けた後の注意とお願い>

1. レミケード投与により症状が軽減されても、無理な生活はせず、睡眠を十分にとる等、健康の維持に努めてください。重篤な感染症も報告されていますので、うがいや手洗いを励行するとともに体を清潔に保ってください。また、人ごみの場所に行くことも避けてください。
さらに、せきやたんが続きたり、発熱、倦怠感、咯血、胸痛等の異常な症状が見られた場合や、かぜぎみだなどと思ったら決して無理をせず、すぐに担当医に相談してください。その際には、レミケードの投与を受けていることを必ず伝えてください。
2. レミケードの投与後は十分な経過観察をおこなう必要があります。このため、転院される場合は担当医に事前にご連絡いただくとともに、転院後の病院の担当医に『患者手帳』を提示していただき、レミケードの投与を受けたことを必ず伝えてください。
担当医は、転院される病院に対して、転院後にも適切な経過観察及び処置を行っていただけるように、あなたの病気や治療に関する情報の伝達を行います。また、レミケード販売会社(田辺製薬株式会社)にも、転院される病院へ本剤に関する必要な情報を提供する等、あなたの経過観察が適切に行われるよう協力していただく予定です。このため、担当医から会社にあなたの転院に関する情報を提供することをあらかじめご了承下さい。なお、会社は、入手した情報について、守秘義務の観点から厳重に管理致します。

私はレミケードを使用するにあたり、説明を受け、その内容を十分に理解しました。

<患者>

平成 年 月 日 氏名 _____

<親権者または法定代理人>:患者が未成年の場合

平成 年 月 日

氏名 _____ (続柄: _____)

平成 年 月 日

氏名 _____ (続柄: _____)

医療機関名・医師名

説明日: 平成 年 月 日

医療機関名: _____

医師名: _____

レミケード初回治療クリニカルパス

第1日目 / (月)	第2日目 / (火)	第3日目 / (水)	第4日目 / (木)	第5日目 / (金)	第6日目 / (土)	第7日目 / (日)	第8日目 / (月)
<input type="checkbox"/> 治療法を理解する	<input type="checkbox"/> 治療法を理解する	<input type="checkbox"/> 治療の不安がなくなる	<input type="checkbox"/> 治療の不安がなくなる	<input type="checkbox"/> 今回の治療を受けられる	<input type="checkbox"/> 今回の治療を受けられる	<input type="checkbox"/> 今回の治療を受けられる	<input type="checkbox"/> 今回の治療を受けられる
<input type="checkbox"/> 入院治療計画書 <input type="checkbox"/> 入院オリエンテーション <input type="checkbox"/> 患者パスオリエンテーション	<input type="checkbox"/> 服薬指導(薬剤師) <input type="checkbox"/> レミケード投与についての説明(医師)			<input type="checkbox"/> 次回レミケード投与についての説明			<input type="checkbox"/> 退院時計画書 <input type="checkbox"/> 退院時評価
<input type="checkbox"/> 採血/採尿 <input type="checkbox"/> ECG <input type="checkbox"/> X-P(胸部/関節) <input type="checkbox"/> ツベルクリン反応 <input type="checkbox"/> 体重測定(kg) <input type="checkbox"/> レミケード量(mg)	<input type="checkbox"/> 胸部CT検査(肺内病変の有無) <input type="checkbox"/> ACRコアセット	<input type="checkbox"/> ツベルクリン判定(X) 硬結 (+, -) 二重発赤 (+, -)	<input type="checkbox"/> 採血/採尿				<input type="checkbox"/> ACRコアセット
		<input type="checkbox"/> ルートの確保(両腕2ルート) ①レミケードルート②予備ルート ルート: 生食100ml点滴静注 ①ルート: 生食500ml 1本 レミケード()ml 注射用蒸留水()ml 液ポンプにて200ml/hで点滴静注する ②ルート: ソリタT3/500mlを100ml/hで点滴静注する					
<input type="checkbox"/> 持参薬 <input type="checkbox"/> 睡眠薬 <input type="checkbox"/> 毛用薬 <input type="checkbox"/> 視布							<input type="checkbox"/> 持参薬 <input type="checkbox"/> 睡眠薬 <input type="checkbox"/> 毛用薬 <input type="checkbox"/> 視布
<input type="checkbox"/> 説明の理解度 食事摂取量 入眠状況	<input type="checkbox"/> 説明の理解度 食事摂取量 入眠状況	<input type="checkbox"/> アナフィラキシー症状 頭痛、悪心、眩暈、掻痒感、倦怠感など <input type="checkbox"/> バイタルサイン測定(直後、30分後、60分後、120分後)	<input type="checkbox"/> バイタルサイン測定 頭痛、悪心、眩暈、掻痒感、倦怠感など <input type="checkbox"/> アレルギー症状(注射部位の変化)	<input type="checkbox"/> バイタルサイン測定 頭痛、悪心、眩暈、掻痒感、倦怠感など <input type="checkbox"/> アレルギー症状(注射部位の変化)	<input type="checkbox"/> バイタルサイン測定	<input type="checkbox"/> バイタルサイン測定	<input type="checkbox"/> バイタルサイン測定
<input type="checkbox"/> 院内フリー	<input type="checkbox"/> 院内フリー	<input type="checkbox"/> ベット上安静(トイレ歩行可)	<input type="checkbox"/> 病棟内安静	<input type="checkbox"/> 院内フリー	<input type="checkbox"/> 院内フリー	<input type="checkbox"/> 外出可 <input type="checkbox"/> 院内フリー	<input type="checkbox"/> 院内フリー
<input type="checkbox"/> 入浴可	<input type="checkbox"/> 入浴可	<input type="checkbox"/> 治療後シャワー可	<input type="checkbox"/> シャワー可	<input type="checkbox"/> 入浴可	<input type="checkbox"/> 入浴可	<input type="checkbox"/> 入浴可	<input type="checkbox"/> 入浴可
<input type="checkbox"/> 常食	<input type="checkbox"/> 常食	<input type="checkbox"/> 常食	<input type="checkbox"/> 常食	<input type="checkbox"/> 常食	<input type="checkbox"/> 常食	<input type="checkbox"/> 常食	<input type="checkbox"/> 常食
<input type="checkbox"/> 問診(結核歴、アレルギー歴)	<input type="checkbox"/> 薬局へのレミケード伝票の提出 <input type="checkbox"/> 輸液ポンプの準備(1台)	<input type="checkbox"/> 救急カートの準備 <input type="checkbox"/> 承諾書の確認 <input type="checkbox"/> 問診票の確認			<input type="checkbox"/> 次回外来予約(翌週)		
<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)
<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤	<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤	<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤	<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤	<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤	<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤	<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤	<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤

レミケードは、皮内反応、筋注とも不可。
レミケード投与後1週間以内に次回外来を受信する。

表4：レミケード2週、6週投与用クリニカルパス

	第1日 / (月)	第2日 / (火)	第3日 / (水)	第4日 / (木)
日時				
アウトカム (期待される結果)	<input type="checkbox"/> 治療法を理解する	<input type="checkbox"/> 治療法を理解する <input type="checkbox"/> 治療の不安がなくなる	<input type="checkbox"/> 次回の治療を受けられる	<input type="checkbox"/> 次回の治療を受けられる
説明/指導	<input type="checkbox"/> 入院治療計画書 <input type="checkbox"/> 入院オリエンテーション <input type="checkbox"/> 患者パスオリエンテーション	<input type="checkbox"/> 服薬指導 (薬剤師) <input type="checkbox"/> レミケード投与についての説明 (医師)	<input type="checkbox"/> 次回レミケード投与についての説明	<input type="checkbox"/> 退院時計画書 <input type="checkbox"/> 退院時評価
検査/処置	<input type="checkbox"/> 採血 (抗核抗体、抗DNA抗体含む) / 採尿 <input type="checkbox"/> ECG <input type="checkbox"/> X-P (胸部/関節) <input type="checkbox"/> 体重測定 (kg) レミケード量 (mg)	<input type="checkbox"/> ACRコアセット	<input type="checkbox"/> 採血/採尿	
点滴/注射		<input type="checkbox"/> ルートの確保 (両脇2ルート①レミケードルート②予備ルート) <input type="checkbox"/> ①ルート: 生食100ml点滴静注 <input type="checkbox"/> ②ルート: 生食500ml 1本レミケード () ml 注射用蒸留水 () ml 輸液ポンプにて200ml/hで点滴静注する <input type="checkbox"/> ③ルート: ソリタF3/500ml を100ml/hで点滴静注する		
内服	<input type="checkbox"/> 持参薬 <input type="checkbox"/> 睡眠薬 <input type="checkbox"/> 屯用薬 <input type="checkbox"/> 湿布			<input type="checkbox"/> 持参薬 <input type="checkbox"/> 睡眠薬 <input type="checkbox"/> 屯用薬 <input type="checkbox"/> 湿布
観察項目	<input type="checkbox"/> 説明の理解度 食事摂取量 眼状況	<input type="checkbox"/> 説明の理解度 <input type="checkbox"/> アナフィラキシー症状 <input type="checkbox"/> 頭痛、悪心、眩暈、掻痒感、倦怠感など <input type="checkbox"/> バイタルサイン測定 (直後、30分後、60分後、120分後) <input type="checkbox"/> 食事摂取量 <input type="checkbox"/> 入眠状況	<input type="checkbox"/> バイタルサイン測定 頭痛、悪心、眩暈、掻痒感、倦怠感など <input type="checkbox"/> アレルギー症状 (注射部位の変化)	<input type="checkbox"/> バイタルサイン測定 頭痛、悪心、眩暈、掻痒感、倦怠感など <input type="checkbox"/> アレルギー症状 (注射部位の変化)
安静	<input type="checkbox"/> 院内フリー	<input type="checkbox"/> ベッド上安静 (トイレ歩行可)	<input type="checkbox"/> 病棟内安静	<input type="checkbox"/> 院内フリー
清潔	<input type="checkbox"/> 入浴可	<input type="checkbox"/> 治療後シャワー可	<input type="checkbox"/> シャワー可	<input type="checkbox"/> 入浴可
食事	<input type="checkbox"/> 常食	<input type="checkbox"/> 常食	<input type="checkbox"/> 常食	<input type="checkbox"/> 常食
必要項目	<input type="checkbox"/> 問診 (前回治療時の副作用) <input type="checkbox"/> 薬局へのレミケード伝票の提出 <input type="checkbox"/> 輸液ポンプの準備 (1台)	<input type="checkbox"/> 救急カートの準備 <input type="checkbox"/> 承諾書の確認 <input type="checkbox"/> 問診票の確認		<input type="checkbox"/> 次回外来予約 (翌週)
バリエーション	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (A, B, C, D, E)
サイン	<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤	<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤	<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤	<input type="checkbox"/> Dr. <input type="checkbox"/> Ns. 日勤 <input type="checkbox"/> Ns. 夜勤

レミケードは、皮内反応、筋注とも不可

サイトカインによるリウマチ破骨細胞の制御に関する研究

分担研究者 高柳 広 東京大学大学院医学系研究科・助手

研究要旨

関節リウマチ (RA) 骨破壊においては、破骨細胞による骨吸収の亢進が重要な役割を果たす。TNF ファミリーのサイトカインである RANKL (破骨細胞分化因子) は、破骨細胞分化誘導において必須の因子であるが、その細胞内シグナル伝達機構は不明の点が多く、リウマチ破骨細胞を特異的に抑制する有効な治療法は知られていない。本研究では、RANKL 応答遺伝子の網羅的解析を行い、インターフェロン (IFN) β が RANKL によって誘導されることを見いだした。IFN- β シグナルの遺伝子欠損マウスは、破骨細胞の異常増殖を伴った骨粗鬆症を呈することから、IFN- β が過剰な破骨細胞分化を抑制し、正常な骨リモデリングを維持するために必須のサイトカインであることが明らかになった。IFN- β を炎症性骨破壊モデルに投与すると、破骨細胞形成と骨破壊が抑制されたことから、リウマチ骨破壊制御への新たな道を開く可能性が示唆された。さらに、RANKL 標的遺伝子の解析から、RANKL が破骨細胞前駆細胞において転写因子 NFATc1 (NFAT2) を特異的に誘導することを見いだした。NFATc1 を欠損した ES 細胞は、破骨細胞分化が完全に障害されていた。また、NFATc1 を過剰発現すると破骨細胞分化を誘導することが可能であったことから NFATc1 は RANKL シグナルの下流で破骨細胞分化を制御するマスターレギュレータと呼べる転写因子と考えることができた。RANKL による NFATc1 の増幅過程は、破骨細胞分化を決定する最重要なステップであることが示された。これらの結果は、破骨細胞分化の分子機構の理解に大きな進展をもたらしただけでなく、骨破壊性疾患の治療標的として臨床的にも高い意義をもつと考えられる。

A. 研究目的

従来のリウマチ治療薬は炎症や疼痛を抑制することを主眼にして開発されてきたため、炎症をコントロールすることに成功しても、長期的には骨破壊による関節機能障害を防止できないことが治療の最大の課題となっている。多くのリウマチ患者が今なお、人工関節手術をうけている現実を考えると、骨破壊を予防する治療の開発は急務である。

RA 骨破壊においては、破骨細胞性骨吸収の異常な亢進が重要な役割を果たす。その重要性は、Csk による Src の抑制や、OPG 投与などの破骨細胞を標的とした治療が実験的関節炎における骨破壊の抑制に奏効したことから明らかとなった。さらに近年では、破骨細胞が欠損したマウスにおいては、炎症がおきても骨破壊は起こらないことが報告されており、リウマチ骨破壊の治療標的としての破骨細胞の重要性が注目を集めている。われわれはこれまで研究により、リウマチ滑膜における破骨細胞形成には、TNF family サイトカインである破骨細胞分化因子 (RANKL) の過剰発現が重要な役割をもつことを解明してきた。しかし、RANKL による破骨細胞分化誘導のメカニズムの詳細は明らかでなく、破骨細胞を特異的に抑制する有効な治療法は存在しない。そこで、本研究では、RANKL によって誘

導される標的遺伝子を解析し、破骨細胞分化を特異的に誘導する分子を同定することで新たな治療法開発に結びつけることを目的とした。

B. 研究方法

RANKL によって刺激した骨髄マクロファージの中で誘導される mRNA 発現を、Affymetrix の GeneChip を用いて網羅的に解析を行った。この中で IFN- α/β によって誘導される遺伝子発現が多数上昇していたことに注目し、IFN- α/β の骨代謝制御における意義を、IFN- α/β 受容体の欠損マウス等を用いて生体レベルで解析した。さらに、RANKL でのみ高度に誘導される転写因子に着目して検索を行ったところ、活性化 T 細胞で重要と考えられてきた転写因子である NFATc1 が、RANKL によって非常に高度に誘導されることを見いだした。そこで、NFATc1 の破骨細胞分化における意義を、NFATc1 欠損 ES 細胞を用いた破骨細胞形成系やレトロウイルスを用いた過剰発現系を用いて詳細に検討した。

(倫理面への配慮)

マウスを用いた実験に関しては、東京大学動物実験委員会の承認を受けた実験計画に従い、東京大学医学部動物実験施設の定める倫理規定を遵守して、実験を遂行した。

C. 研究結果

I 型インターフェロン受容体のコンポーネント IFNAR1 の欠損マウスの破骨細胞前駆細胞では、可溶性 RANKL による破骨細胞形成が亢進しており、前駆細胞自身が RANKL 刺激により IFN- β を産生し、過剰な破骨細胞分化を抑制することが明らかになった。IFN- β は、破骨細胞分化の必須転写因子である c-Fos の発現をタンパクレベルで抑制したが、TRAF6 経路には影響を与えなかった。レトロウイルスを用いた c-Fos 過剰発現により、IFN- β の抑制作用が解除されたことから、IFN- β による抑制の標的が c-Fos であることが示された。RANKL による IFN- β 誘導が Fos 欠損マウスでは認められないことから、RANKL による IFN- β の誘導には c-Fos が必須であることが明らかになり、IFN- β プロモータに対し、c-Fos が直接結合して活性化することが判明した。即ち、c-Fos は自らの抑制因子である IFN- β を誘導し、「自己制御」と呼べるフィードバックループを形成していた。IFN- β 投与は卵巣摘出マウスや炎症性骨破壊モデルの破骨細胞形成と骨量減少を抑制し、生体レベルでの骨量維持効果が示された。

一方、RANKL によって誘導される転写因子 NFATc1 については、RANKL シグナルの下流で破骨細胞分化を制御するマスターレギュレータと呼べる転写因子であることを示唆するデータが得られている。結果は以下の通りである①RANKL は破骨細胞前駆細胞において転写因子 NFATc1 (NFAT2) を特異的に誘導し、その誘導の程度はあらゆる転写因子の中で最大レベルであり、20 倍を越えていた。②NFATc1 は破骨細胞分化の過程において活性化し、核に集積し転写活性化していた。③生体内においても NFATc1 は破骨細胞において強発現していた。④RANKL による NFATc1 の活性化は、カルシウム依存性の脱リン酸化酵素であるカルシニューリンを介しており、この抑制剤である FK506 やサイクロスポリン A は破骨細胞分化を協力に抑制した。⑤NFATc1 を欠損した ES 細胞は、破骨細胞分化が完全に障害されていた。⑥NFATc1 をレトロウイルスベクターで過剰発現すると破骨細胞分化を誘導することが可能であった。NFATc1 は破骨細胞特異遺伝子 TRAP および Calcitonin 受容体遺伝子のプロモータに直接結合し、活性化した。

D. 考察

IFN 系は、抗ウイルス作用と免疫制御という視点から主に解析がなされてきたが、IFN- β は破骨細胞分化の負のフィードバック制御において生理的に重要な役割をはたしていることが明らかになった。IFN- β を局所投与することで、生体レベルでも破骨細胞形成と骨破壊を著明に抑制することができたことから IFN- β はリウマチ骨破壊等の制御にも効果を持つ可能性が高い。IFN- β

投与は、局所での TNF- α 産生などを抑制する作用があることが知られており、関節リウマチ等の炎症性骨破壊疾患においては、抗炎症効果と破骨細胞分化抑制作用が相乗効果を生むことも期待され、現在、関節炎モデルにおいても検討を進めている。また、閉経後骨粗鬆症モデルである卵巣摘出マウスの系においても有用性を示すデータが得られており、骨粗鬆症に対しても有効性が期待できると考えている。IFN- β が投与されている患者における骨動態の検討や、骨量減少と IFN- β 血中濃度の相関の検討などが進めば、さらに IFN の骨疾患における意義が明らかになっていくと予想される。

一方、RANKL は、これまで考えられてきた TRAF6 や Fos/AP-1 経路以外に、カルシウム-カルシニューリン系を活性化することで、NFATc1 の過剰発現を導き、この増幅過程が、破骨細胞分化を決定する最重要な step であることが示された。この結果から、NFATc1 はリウマチ骨破壊の治療標的として非常に重要な位置を占めることが明らかになった。これまで NFAT を活性化するカルシニューリンの抑制剤 FK506 やサイクロスポリン A は免疫抑制剤として臨床応用されてきたが、破骨細胞特異的に作用させることができれば同様の作用機序で破骨細胞を抑制する新たな戦略に結びつく可能性がある。今後、NFATc1 を標的としたリウマチ骨破壊治療法の開発を試みる予定である。

E. 結論

破骨細胞分化因子 RANKL の下流シグナルの解析から、IFN- β が骨破壊の抑制因子であることを同定し、IFN- β を用いた新たな治療法への道を開いた。また、破骨細胞分化で最も重要な転写因子として NFATc1 を同定した。今後のリウマチ骨破壊の治療標的として重要な意義を持つと考えられる。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Takayanagi, H., Kim, S., Koga T., Nishina H., Isshiki, M., Yoshida, H., Saiura, A., Isobe, M., Yokochi, T., Inoue, J-I, Wagner, E. F., Mak T. W., , Kodama, T., and Taniguchi, T. Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling for terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell* 3, 889-901 (2002)

Takayanagi, H., Kim, S., Matsuo, K., Suzuki, H., Suzuki, T., Sato, K., Yokochi, T., Oda, H., Nakamura,

K., Ida, N., Wagner, E. F. & Taniguchi, T. RANKL maintains bone homeostasis through c-Fos-dependent induction of *IFN-β*. *Nature* 416, 744-49 (2002).

Takayanagi, H., Kim, S., and Taniguchi, T. (2002). Signaling crosstalk between RANKL and interferons in osteoclast differentiation. *Arthritis Res* 4, S227-232

Nakamura, I., Kadono, Y., Takayanagi, H., Jimi, E., Miyazaki, T., Oda, H., Nakamura, K., Tanaka, S., Rodan, G. A. & Duong le, T. IL-1 regulates cytoskeletal organization in osteoclasts via TNF receptor-associated factor 6/c-Src complex. *J Immunol* 168, 5103-9. (2002).

Yamamoto, A., Miyazaki, T., Kadono, Y., Takayanagi, H., Miura, T., Nishina, H., Katada, T., Wakabayashi, K., Oda, H., Nakamura, K. & Tanaka, S. Possible involvement of IκB kinase 2 and MKK7 in osteoclastogenesis induced by receptor activator of nuclear factor κB ligand. *J Bone Miner Res* 17, 612-21. (2002).

Ogasawara, K., Hida, S., Weng, Y., Saiura, A., Sato, K., Takayanagi, H., Sakaguchi, S., Yokochi, T., Kodama, T., Naitoh, M., De Martino, J. A. & Taniguchi, T. Requirement of the IFN-α/β-induced CXCR3 chemokine signalling for CD8+ T cell activation. *Genes Cells* 7, 309-320. (2002).

2. 学会発表

高柳 広、金 宣和、谷口 維紹 : Regulation of bone homeostasis by RANKL and IFNs

第 32 回日本免疫学会学術集会、シンポジウム (Homeostatic regulation and cytokines)、2002. 12. 5 東京

日本免疫学会総会・学術集会記録 32 15 (2002)

高柳 広 : 免疫細胞と破骨細胞分化の接点

第 44 回歯科基礎医学会学術大会、シンポジウム免疫の最前線、2002. 10. 4 東京

歯科基礎医学会雑誌 44 (5) 59 (2002)

高柳 広 : インターフェロン系による破骨細胞分化制御

第 75 回日本生化学会、シンポジウム 70 「骨格系細胞の分化制御機構」2002. 10. 16

生化学 74 (8) 659 (2002)

H. Takayanagi, K. Sunhwa, T. Taniguchi
RANKL signaling network in positive and negative regulation of osteoclastogenesis
Meeting on genetic and molecular biology of skeletal development, Lucca, Italy

2002. 10. 14

抄録掲載号の雑誌なし

研究要旨

骨・軟骨破壊過程に見られる種々の遺伝子の発現制御の破綻を解明するために、本年度はそれらを総合的に制御すると考えられる BMP シグナルの役割について解析を始めた。BMP シグナルをリガンドレベル、細胞内レベルで活性化あるいは不活化したトランスジェニックマウスを作製し、その形態異常とともに遺伝子発現について検討した。BMP シグナルは軟骨・骨の種々のマトリックス遺伝子の発現を制御し、組織分化や形態形成に関与することが判明した。

A. 研究目的

四肢や脊椎の骨格・関節では生涯にわたって機械的負荷がかかり、さらに炎症・加齢による変性が進む一方で、その正常な形と機能を保つべく種々の遺伝子の発現が調節されていると推測される。関節リウマチや変形性関節症において見られるこれらの負荷や変性に対して、遺伝子制御の対応がとれなくなることが、骨・軟骨が破壊されて支持性という骨格の最大の機能を失う理由のひとつだと理解できる。Bone morphogenetic protein (BMP) は内軟骨性骨化において種々の遺伝子発現を制御する重要な分子である。本年度よりまず、骨・軟骨の形成における BMP シグナルの役割を *in vivo* で解明するために、種々のトランスジェニックマウスの作製・解析を行っている。

B. 研究方法

組織特異的プロモーターを用い、軟骨あるいは骨特異的に BMP シグナルを活性化あるいは

不活化させたトランスジェニックマウスを作製した。シグナルの不活化にはアンタゴニストである Noggin を発現させた。また細胞内シ

グナル伝達の遮断を狙い、抑制型 Smad である Smad6 を強制発現させた。当動物実験については大阪大学医学部動物実験委員会の承認を受け、そのガイドラ

インに則って動物の苦痛軽減に努めている。

C. 研究結果と考察

BMP シグナルを不活化すると軟骨の形成が認められず、軟骨の発生には BMP が必須であることが判明した。そして BMP の過剰発現では軟骨が増大し、分化が亢進した。次に、細胞内の BMP シグナルを伝えるメカニズムを解明するために、抑制型 Smad である Smad6 を内軟骨性骨化の過程に強制発現させたトランスジェニックマウスを作製し、解析している。このマウスでは Smad シグナルの伝達が著しく障害されていると推測される。その結果、骨の形成・成長が遅れ、著しく骨量が減少して骨粗鬆症様の変化が認められた。しかしそれに比して軟骨の変化は極程度にとどまっており、BMP シグナルの伝達メカニズムが軟骨と骨とでは異なる可能性を考えている。また BMP の骨形成に対する作用を解析するために、骨芽細胞に特異的に BMP とそのアンタゴニストを過剰発現させたトランスジェニックマウスをそれぞれ作製し終えたところである。以後これらのマウスの解析も進めて行きたい。

D. 結論

内軟骨性骨化において BMP シグナルを操作することにより、骨・軟骨の形成をコントロールできることを示すことができた。今後、各種遺伝子発現の調節

メカニズムとその影響を解析したい。

E. 健康危惧情報

F. 研究発表

1. 論文発表

妻木範行, 木全弘治 “軟骨分化と軟骨細胞” 骨と軟骨のバイオロジー (金原出版) 91-99 2002

Tsumaki N, Nakase T, Miyaji T, Kakiuchi M, Kimura T, Ochi T, and Yoshikawa H “BMP signals are required for cartilage formation and differently regulate joint development during skeletogenesis” *J Bone Miner Res* 17: 898-906 2002

Tanaka K, Tsumaki N, Kozak CA, Matsumoto Y, Nakatani F, Iwamoto Y, and Yamada Y “A Kruppel-Associated Box-Zinc Finger Protein, NT2, Represses Cell-Type-Specific Promoter Activity of the $\alpha 2(XI)$ Collagen Gene” *Mol Cell Biol.* 22: 4256-4267 2002

Matsui Y, Chansky HA, Barahmand-Pour F, Zielinska-Kwiatkowska A, Tsumaki N, Myoui A, Yoshikawa H, Yang L, Eyre DR. “COL11A2 collagen gene transcription is differentially regulated by EWS/ERG sarcoma fusion protein and wild-type ERG” *J Biol Chem.* in press 2003

Matsui Y, Araki N, Tsuboi H, Tsumaki N, Nakata K, Kawabata H, Eyre DR, Yoshikawa H. “Differential expression of aggrecan mRNA isoforms by chondrosarcoma cells” *Anticancer Res* 22: 4169-4172 2002

妻木範行 『最新学際情報』XI型コラーゲン遺伝子 関節外科 21:1136-1137 2002

妻木範行, 中瀬尚長, 宮地高弘, 越智隆弘, 吉川秀

樹 軟骨形成における BMP の役割 骨・関節・靭帯 15: 255-260 2002

妻木範行, 最新基礎科学/知っておきたい 「トランスジェニックマウス」 臨床整形外科, 36: 778-780 2001

2. 学会発表

2nd International Workshop on the Genetics of Bone Metabolism and Disease

Feb. 2003

F. 知的財産の出願・登録状況

該当なし