

## 2) 予想される研究結果

関節リウマチに伴う骨・関節破壊、高度な骨粗鬆症の原因が解明されて画期的治療薬開発が期待されます。

## 3) 研究責任者の氏名、職名及び所属名

病院名・役職名

氏名

## 4: 試料等を提供した人にとって予想される結果と、危険、利益及び不利益について

提供いただいた病的組織は、治療の一環として行われる外科手術の時に摘出した組織を用いますので、この研究によって提供者に負担が掛かることは一切ありません。血液は血管から、尿は排泄時に、骨髄血は手術時に腸骨穿刺させて戴きますので痛みも危険もありません。

この研究では、多くの方々の協力を得て、関節リウマチなどの病的組織、血液、骨髄液、滑液、尿などを総合的に調べるものです。この結果、なんらかの結果が見出されたとしてもその意義を明らかにし、実際に応用するには、更に多くの研究の積み重ねが必要です。したがって、あなたからの試料の解析結果だけからでは、あなたの治療などに有益な結果が出る可能性は極めて低いので、あなた御自身には利益はありません。

この研究では、研究者が誰の試料を解析してるのか分からないように、6の項で述べる匿名化などを行って、個人情報厳重に管理します。万一、試料解析の結果によって将来の就職・結婚・保険への加入などに関して、思いがけない不利益が生じる可能性がないように厳密な注意を払う為です。

## 5: あなたが研究計画などを見ることができます

あなたが希望すれば、個人情報の保護や研究の独創性の確保に支障を来さない範囲内で、この研究計画の内容を見ることができます。

## 6: あなたの個人情報は保護されています

試料解析の結果は、他人に漏れないように取扱いを厳重にしています。解析の開始前に、あなたの検査結果や診療情報からは住所、名前等が削られ、代わりに新しい符号がつけられます。これを暗号化といいます。新しい符号とあなたを結びつける対応表は、当院の研究責任者が厳重に管理します。これを連結可能匿名化といいます。こうすることによって、あなたの試料解析を行う者には符号しか分からず、誰の試料を解析しているのか分かりません。ただし、結果を本人に説明する場合には、研究責任者がこの符号を元に戻します。

また採取した組織を他施設で解析する場合には、一旦独立行政法人国立病院機構相模原病院臨床研究センターに集め、本研究班全体としての匿名登録した上で必要な研究機関に送り共同研究を進めることとなります。その過程でも一貫して、あなたの試料の解析を行

う者には符号しか分からず、誰の試料を解析しているのかわかりません。

#### 7: あなたに試料の解析結果を御伝えする場合もあり得ます

この研究では、4. で申していますように、個人試料の解析結果だけからでは、各人の治療などに有益な結果が出る可能性は極めて低いので、試料提供者に解析結果を開示することはありません。ただし、偶然に重大な病気との関係が見つかり、あなたやあなたの家族又は血縁者がその結果を知ることが有益であると判断され、当院の生命倫理委員会等も同様に考えた場合に限り、担当医師からあなたやあなたの家族又は血縁者に、その結果の説明を受けるかどうかについて問い合わせることがあります。

#### 8: 研究結果から特許権などが生じたとき

患者さんからの試料解析の結果として特許権などが生じる可能性があります。その権利は、国または該当研究を行った研究者あるいは研究施設に属し、試料提供者には属しません。また、その特許権などにより経済的利益が生じる可能性があります。資料提供者にはこれについても権利がありません。

#### 9: 研究結果の公表

多くの方々のご協力によって得られた試料の解析結果は、誰のものであるか分からないようにした上で、学会や学術雑誌、データベース上などで公に公表されることがあります。

#### 10: 試料等の保存、使用及び破棄の方法

ご提供いただいた試料は、当院または独立行政法人国立病院機構相模原病院臨床研究センターにおいて厳重に保管し、本研究のために使用されます。しかし、もし、あなたが同意していただければ、将来の研究のための貴重な資源として研究終了後も保管させていただきます。この場合も、6の項で説明した方法により、誰の試料か分からないようにしたまま、試料を使い切るまで保管します。資料を破棄する場合は、匿名のまま密封容器に破棄するか又は焼却処分します。将来、試料を医学研究に用いる場合には、改めて研究計画書を提出し、当院の生命倫理委員会等の承認を受けます。

#### 11: 試料等の提供は無償・無報酬

試料の解析研究は研究費によって行われますので、あなたが費用を負担することはありません。また、この研究への協力に対して、あなたへの報酬は支払われません。

#### 12: 担当医師及び連絡先

施設研究者氏名：

連絡先：

## 個人試料解析研究 説明・同意

病院長 殿

患者氏名 \_\_\_\_\_ 印

患者試料解析研究名：関節リウマチ・骨粗鬆症患の重症化防止治療開発研究

説明内容：

- あなたの試料解析研究の目的と方法
- 予想される結果と危険性
- 試料提供に同意しない場合でも不利益を受けないこと
- 同意した後でも随時これを撤回できること
- 個人情報の保護のためにとられる措置
- 現状に応じた変更の可能性(医学上の立場)
- その他

提供を合意した試料：

手術時切除組織( )・骨髓液(5 - 10m l)( )・滑液(5 - 10m l)( )・血液(5 - 10m l)( )・尿(5 - 10m l)( )

上記の患者試料解析研究について担当医師から説明を受け理解しましたので、その実施に同意します。

患者署名： \_\_\_\_\_

署名年月日： 平成 年 月 日

生年月日： 明・大・昭・平 年 月 日生 ( 才)

現住所：

親族署名： \_\_\_\_\_ (続柄 \_\_\_\_\_)

署名年月日： 平成 年 月 日

生年月日： 明・大・昭・平 年 月 日生 ( 才)

現住所：

私は、今回の患者試料解析研究について上記項目を説明し同意が得られたことを認めます。

担当医師署名： \_\_\_\_\_

署名年月日： 平成 年 月 日

## 個人試料解析研究 説明・同意書

病院長 殿

患者氏名 \_\_\_\_\_ 印

患者試料解析研究名：関節リウマチの薬物治療法再検に関する研究

説明内容：

- あなたの試料解析研究の目的と方法
- 予想される結果と危険性
- 試料提供に同意しない場合でも不利益を受けないこと
- 同意した後でも随時これを撤回できること
- 個人情報の保護のためにとられる措置
- 現状に応じた変更の可能性(医学上の立場)
- その他

解析研究を合意した試料：血液(5 - 10ml) ( )・尿(5 - 10ml) ( )

上記の患者試料解析研究について担当医師から説明を受け理解しましたので、その実施に同意します。

患者署名： \_\_\_\_\_

署名年月日： 平成 年 月 日

生年月日： 明・大・昭・平 年 月 日生 ( 才)

現住所：

親族署名： \_\_\_\_\_ (続柄 \_\_\_\_\_)

署名年月日： 平成 年 月 日

生年月日： 明・大・昭・平 年 月 日生 ( 才)

現住所：

私は、今回の患者試料解析研究について上記項目を説明し同意が得られたことを認めます。

担当医師署名： \_\_\_\_\_

署名年月日： 平成 年 月 日

- 注1) A3版の両面印刷をし、書類を一体化すること。
- 注2) 本書は2部作成し、担当医師1部・患者さん1部を保有するものとするこ  
と。
- 注3) 書類がA3版の両面以上にわたる場合は割印で一体化すること。
- 注4) 全項目について記載すること。

# 独立行政法人国立病院機構相模原病院倫理委員会申請書

## 1: 課題名

関節リウマチ・骨粗鬆症患の重症化防止治療開発研究

## 2: 代表者名

越智 隆弘 独立行政法人国立病院機構相模原病院 病院長

## 3: 共同研究者

### 分担研究者

吉川 秀樹	大阪大学大学院医学系研究科 教授
西沢 良記	大阪市立大学大学院医学系研究科 教授
野島 博	大阪大学微生物病研究所難治疾患バイオ分析部門 教授
下村 伊一郎	大阪大学大学院生命機能研究科 教授
広畑 俊成	帝京大学医学部内科学膠原病リウマチ科 助教授
田中 栄	東京大学医学部附属病院整形外科・脊椎外科 助手
鈴木 隆二	国立相模原病院臨床研究センター診断治療室 室長
松井 好人	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部感覚運動系病態医学講座 助手
龍 順之助	日本大学医学部整形外科 教授
山村 研一	熊本大学発生医学研究センター 教授
前田 朋子	塩野義製薬株式会社医薬研究開発本部創薬研究所 主任研究員

### 研究協力者

行岡 正雄	行岡病院 病院長
島岡 康則	行岡病院 副院長
林田 賢治	星ヶ丘厚生年金病院 整形外科 部長
中村 宣雄	協和会病院 整形外科 部長
中山 久徳	国立相模原病院リウマチ科 医員

## 4: 概要

### 1) 目的

本研究では、関節リウマチ・骨粗鬆症の臨床免疫学の実態調査に始まり、腸骨骨髓細胞を用いての関節リウマチの病因、病態解明および変形性関節症など対照疾患との比較検討の上で遺伝要素解析を含む組織破壊機序解明と、その結果に基づく根本的治療法開発を急ぐことである。

### 2) 対照及び方法

(1) 免疫学の実態調査研究：加療中の関節リウマチ患者の骨量減少の実態調査。(2) 骨形成・吸収の分子生物学的研究：関節リウマチ患者に起きる骨粗鬆症の原因である骨形成・吸収の分子生物学的研究を行う。手術時採取の患者試料解析予定。(3) 骨髓病態研究：関節リウマチ患者の骨髓病態研究を行う。手術時切除の組織片、骨髓血、抹消血などを研究試料とする。(4) 関節リウマチの病因解明研究：関節リウマチ病因研究としてEBウイルスに的を絞った研究をする。手術時切除組織片、抹消血などの遺伝要素検索を含む解析研究を行う。(5) 骨・関節破壊発生の力学的機序の研究：バイオメカニクス解析を進める。(6) 治療法開発の研究：根治療法として破骨細胞あるいは間葉系細胞を抑える新薬開発を進める。また骨粗鬆症に対する人口骨関節・使用研究を進める。この目的には、手術時の組織片、骨髓血、抹消血などを研究試料とするとともに、本研究班で確保した検体、細胞、蛋白、遺伝要素を集約し、供給する必要がある。

### 3) 実施場所及び研究機関

- (1) 免学的実態調査研究：国立病院機構相模原病院、大阪市立大学第二内科、東京大学整形外科教室、大阪大学整形外科教室など。
- (2) 骨形成・吸収の分子生物学的研究：国立病院機構相模原病院、東京大学整形外科、大阪大学整形外科、愛媛大学など。
- (3) 骨髄病態研究：国立病院機構相模原病院、大阪大学整形外科教室、大阪大学生命機能研究科、米国国立研究所(NIH)、塩野義製薬研究所など。この目的の試料確保は国立病院機構相模原病院、大阪大学整形外科教室、行岡病院、協和会病院などである。
- (4) 関節リウマチの病因解明の研究：国立病院機構相模原病院、帝京大学内科、日本大学、大阪大学微生物研究所など。
- (5) 骨・関節破壊発生の力学的機序の研究：大阪大学整形外科など。
- (6) 治療法開発の研究：塩野義製薬株式会社研究所で新薬開発を進める。また、大阪大学整形外科で人口骨関節・使用研究を進める。

#### 4) 審査を希望する理由

免学研究から出発するが、病因。病態。治療法開発研究の中で患者試料(手術時切除組織片、骨髄血、末梢血、滑液、尿など)を研究対象にすること、また病因研究の中で遺伝要素を解析すること、そして共同研究施設間で患者試料(連結可能匿名化)を共有して解析研究をすすめるなどのため、研究内容の妥当性の承認を得ることが必要である。

## 5: 倫理的配慮

### 1) 人権擁護

- (1) 十分なインフォームドコンセント：関節リウマチおよび骨粗鬆症、変形性関節症などの対照疾患であることが臨床的に診断され、機能再建目的などで手術を受ける患者のうち、手術時切除標本、骨髄液、血液などの試料を採取し研究目的で用いることに関して、同意書で承諾が得られた症例から試料を得る。
- (2) 症例の匿名登録：研究試料を得た時点で該当施設にて試料の名前を暗号化(連結可能匿名化)し、個人情報流出を防ぐ。その後、本研究総括事務局である国立病院機構相模原病院に匿名登録、保存した後に、適切な共同研究施設へ必要分のみ送られる。本研究では試料と提供者との対応付けは出来ない。
- (3) 試料提供の自由：この研究への試料提供は自由で、提供に承諾しなくても不利益を受けないこと試料提供に同意した場合でも随時これを撤回できること、その他のプライバシーや医療記録が守秘されることなどを明確に文書で示し了承を得ること。
- (4) 研究結果発表：研究成績は共同研究者全員のものとし、本研究に参加した研究者の合意のもとに公表するが、全ての研究課題において患者さん個人を特定するような発表は行わない。

### 2) 個人への利益・不利益

この研究では、多くの方々の御協力を得て関節リウマチなどの病的組織、骨髄液、血液などを総合的に調べるもので、患者さん個人試料の解析結果から有益な結果が得られる可能性は低く、患者さん自身には利益は無い。また、試料は手術時に摘出・採取されたものを用いるか、通常の処置時に採取される髄液・血液・尿を使用するため、危険性および不利益は無い。

### 3) 医学的貢献度

本研究は関節リウマチ病態、特に加齢により顕著な骨粗鬆症に陥った患者病態、病因を解明し根治療法開発に役立つもので、医学上・医療上貢献度は大きい。

### 4) 同意を求める方法

研究内容に関して、その概要、意義、必要性、利益および不利益を十分に説明した上で、同意を得る。特に遺伝子関連研究においては、厳格に文書で説明を行い、署名でもって同意を求める。

## 6: その他の参照事項

本研究は平成2年以來の厚生科学研究、平成8年以來の医薬品機構研究の結果に基づき、続けられる企画の研究である。

## Ⅱ 平成17年度 分担研究報告書



## A) RA・骨粗鬆症の臨床的研究

- 1) RA 重症化の早期診断マーカー開発研究
- 2) 薬物治療法確立研究
- 3) 人工骨開発適用研究

関節リウマチにおける骨粗鬆化の病態解明と重症化防止治療法の開発

分担研究者 吉川 秀樹

所属機関名・職名 大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学（整形外科）・教授

研究要旨

関節リウマチの病態に深く関与するNurse細胞やMMP-12陽性細胞の起源や病巣における所在を明らかにし、その病態生物学的解明を行った。ヒトRA滑膜中には多数のCD68陽性細胞が存在し、Nurse細胞との関連が示唆された。またヒト関節リウマチ骨吸収部では、TRAP陰性、MMP-12陽性の多核巨細胞が存在し、骨吸収に関与することを明らかにした。また、関節リウマチにおける骨粗鬆症の重症化防止の新規治療法として、連通多孔体人工骨に、骨再生物質を導入し、脆弱化した骨の再生と骨粗鬆症の重症化防止を試みた。さらに、関節リウマチの重症化を予測し、正確な予後診断を可能とするため、血中Clq値の新規定量システムの開発を試みた。

A. 研究目的

関節リウマチ（RA）では、関節滑膜や骨髄中に存在する間質系細胞（Nurse細胞）や、MMP-12陽性の多核巨細胞が骨破壊病態に関与していることが示唆されている。本研究では、ヒト滑膜組織やヒト骨髄組織における、Nurse細胞、MMP-12陽性細胞の起源や病巣における所在を明らかにし、その病態生物学的解明を行う。また、関節リウマチにおける骨粗鬆症の重症化防止の新規治療法として、連通多孔体人工骨に、骨再生物質や破骨細胞阻害物質を導入し、脆弱化した骨の再生と骨粗鬆症の重症化防止を試みる。さらに、関節リウマチの重症化を予測し、正確な予後診断を可能とするため、血中Clq値の新規定量システムの開発を試みる。

B. 方法

1) Nurse細胞の起源の可能性として、まず組織球を候補と考え、そのマーカーであるCD68（KP1）抗体などの関連モ

ノクロ抗体を用いて、ヒト関節滑膜、骨髄に対し免疫組織化学染色を行った。

- 2) ヒト関節リウマチ組織のMMP-12免疫染色、TRAP染色を行った。
- 3) 連通多孔体人工骨(NEOBONE)をウサギ膝関節近傍に移植し、骨の再生を検討した。さらに、人工骨内に骨形成蛋白(BMP)を導入し、骨再生の促進を試みた。
- 4) 5例の関節リウマチ患者の関節近傍の嚢腫様病変部に、病的骨折の予防のため、人工骨移植を施行した。
- 5) 血中Clq値の高感度測定系の開発のため、新規モノクロ抗体の作成を行っている。マウス4匹を用いた融合実験より最終的に12クローンを選択した。

（倫理面への配慮）

患者本人への組織学的検討の意義と有用性について十分なインフォームドコンセントを得ている。人工骨移植による骨移植は、厚生労働省の認可を受けており、保険診療として行っており、倫理的問題はないと考える。

C. 結果

1) RA患者組織では滑膜表層細胞のみならず、

深層の細胞に於いて高頻度に、やや好塩基性の胞体を有する細胞がCD68陽性であった。また、滑膜新生血管周囲の紡錘形細胞群の一部にCD68陽性細胞の存在を認めた。対照のOA組織では滑膜表層細胞に限定されていた。

- 2) RA患者の関節近傍の骨吸収部では、TRAP陽性・MMP-12 陽性の多核巨細胞、TRAP陽性・MMP-12 陰性の多核巨細胞、TRAP陰性、MMP-12 陽性の3種の多核巨細胞が存在し、それぞれ骨吸収に関与することを明らかにした。
- 3) 移植後4週で、人工骨中央部まで、良好な骨形成を認め、BMP含有人工骨では、さらに旺盛な骨再生を認めた。骨髄幹細胞含有人工骨では、筋肉内に移植後4週で、マイクロCT評価により、全ての気孔内に豊富な骨形成を観察することができた。
- 4) 人工骨移植を行った5例の関節リウマチ患者では、平均1年、病的骨折を生じず、重症化を予防できた。
- 5) 血中C1q値測定系開発の1次選択として71クローンを選択した。2次選択として12クローンを確立できた。

#### D. 考察

滑膜内の新生血管周辺にはCD68陽性細胞が存在し、骨髄由来細胞である可能性が示唆された。骨吸収部では、TRAP陰性、MMP-12 陽性の多核巨細胞が存在し、関節リウマチの病態への関与が示唆された。人工骨移植は、関節リウマチ・重症化の予防に有用な骨再生治療となる可能性が示された。血中C1q値測定系の開発により、リウマチ重症化の予後予測に貢献できるものと考えられる。

#### E. 結論

ヒトRA滑膜組織にはCD68陽性細胞が存在すること、関節リウマチの病態に重要な役割を果たすNurse細胞や、MMP-12陽性が含まれていることが示

された。人工骨を用いた骨再生は、関節リウマチの重症化防止の新規治療法として期待できる。

#### F. 健康危険情報 特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kaito, T., Myoui, A., Takaoka, K., Saito, N., Nishikawa, M., Tamai, N., Ohgushi, H., Yoshikawa, H.: Potentiation of the activity of bone morphogenetic protein-2 in bone regeneration by a PLA-PEG/hydroxyapatite composite. *Biomaterials*, 26:73-79, 2005.

Kishida, Y., Hirao, M., Tamai, N., Nampei, A., Fujimoto, T., Nakase, T., Shimizu, N., Yoshikawa, H., Myoui, A.: Leptin regulates chondrocyte differentiation and matrix maturation during endochondral ossification. *Bone*, 307:607-621, 2005.

Nakaya, H., Shimizu, T., Isobe, K.I., Tensho, K., Okabe, T., Nakamura, Y., Nawata, M., Yoshikawa, H., Takaoka, K., Wakitani, S.: Microbubble-enhanced ultrasound exposure promotes uptake of methotrexate into synovial cells and enhanced antiinflammatory effects in the knees of rabbits with antigen-induced arthritis. *Arth Rheum*, 52:2559-2566, 2005.

Oshima, K., Nampei, A., Matsuda, M., Iwaki, M., Fukuhara, A., Hashimoto, J., Yoshikawa, H., Shimomura I.: Adiponectin increases bone mass by suppressing osteoclast and activating osteoblast. *Biochem Biophys Res Commun*, 331:520-526, 2005.

Tamai, N., Myoui, A., Hirao, M., Kaito, T., Ochi, T., Tanaka, J., Takaoka, K., Yoshikawa, H.: A new biotechnology for articular cartilage repair: subchondral implantation of a composite of interconnected porous hydroxyapatite, synthetic polymer (PLA-PEG), and bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). *Osteoarthr Cartilage*, 13: 405-417, 2005.

Tsuboi, H., Udagawa, N., Hashimoto, J.,

Yoshikawa, H., Takahashi, N., Ochi, T.: Nurse-like cells from patients with rheumatoid arthritis support the survival of osteoclast precursors via macrophage colony-stimulating factor production. *Arth Rheum*, 52:3819-3828, 2005.

Yoshikawa, H., Myoui, A.: Bone tissue engineering with porous hydroxyapatite ceramics. *J Art Org*, 8:131-136, 2005.

西川昌孝、名井陽、大串始、池内正子、玉井宣行、吉川秀樹：連通多孔体ハイドロキシアパタイトと骨髄間葉系細胞を用いた骨再生、別冊整形外科、47:7-11, 2005.

富田哲也、橋本英雄、梶座康夫、吉川秀樹：NFκB 阻害による関節破壊制御、分子リウマチ、2: 95-102, 2005.

中村憲正、吉川秀樹：骨・軟骨の再生医療、臨床と研究、82:983-986, 2005.

西川昌孝、名井陽、富田哲也、高樋康一郎、南平昭豪、吉川秀樹：MAPK 阻害薬による関節炎の治療、分子リウマチ、2:182-187, 2005.

吉川秀樹：人工骨・人工関節の開発と問題点、人体にやさしい医療材料、クバプロ、p. 143-152, 2005.

海渡貴司、名井陽、吉川秀樹：骨を生まれ変わらせる—人工骨による骨組織再生、*Biophilia*, 1:28-34, 2005.

吉川秀樹、名井陽：人工骨による骨の組織工学と再生医療、人工臓器・再生医療の最先端、先端医療技術研究所、p.230-234, 2005.

吉川秀樹：運動器の再生医療の現状と展望、理学療法学、32:441-444, 2005.

## 2. 学会発表

1. 大阪大学臨床医工学融合研究教育センター開設記念シンポジウム：医工連携による新規人工骨、人工関節の開発、平成 17 年 2 月（大阪）

2. 第 4 回日本再生医療学会総会（市民公開講座）：再生医療への期待、骨、平成 17 年 2 月（大阪）

3. 第 4 回日本再生医療学会総会（ランチョンセミナー）：骨再生、基礎研究から臨床応用へ、平成 17 年 3 月（大阪）

4. 21 世紀 COE 国際シンポジウム『新たな再生医療に向けた革新的な総合拠点形成を目指して』：Bone tissue engineering by interconnected porous hydroxyapatite ceramics、平成 17 年 3 月（大阪）

5. 第 78 回日本整形外科学会学術総会シンポジウム『わが国の再生医療の現状と展望』：運動器の再生医療の現状と展望：骨、平成 17 年 5 月（横浜）

6. 第 40 回日本理学療法学術大会（特別講演）：運動器の再生医療の現状と展望、平成 17 年 5 月（大阪）

7. 第 12 回 NPO 法人再生医療推進センター市民公開講座：骨の病気と老化；夢の治療を目指して、骨はどこまで再生できるか、平成 17 年 6 月（高知）

8. 第 15 回日本リウマチ学会近畿支部学術集会（特別講演）：関節リウマチに対する新しい治療戦略—人工骨による骨軟骨再生、平成 17 年 9 月（大阪）

9. 第 5 回福岡骨代謝研究会：人工骨による骨再生骨粗鬆症の局所治療への応用、平成 17 年 10 月（福岡）

10. 第 50 回日本口腔外科学会総会（教育講演）：人工骨による骨再生—基礎研究から臨床応用へ、平成 17 年 10 月（大阪）

11. 大阪大学 21 世紀 COE プログラム合同シンポジウム：新たな運動器再生技術の開発と臨床応用、平成 17 年 12 月（大阪）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

### 1. 特許取得

「徐放用容器」出願者：(株) エムエムティー、吉川秀樹、越智隆弘、発明者：吉川秀樹、越智隆弘

平成 17 年 4 月 22 日 特許第 3671132 号

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

特になし

関節リウマチにおける骨粗鬆症に関する研究

分担研究者 西沢良記 所属機関名・職名 大阪市立大学大学院医学研究科・教授

研究要旨

関節リウマチ(RA)による続発性骨粗鬆症は発症部位により全身性と局所性に大別されその中でも傍関節性骨粗鬆症が特徴的とされる。昨年度は RA に特徴的な傍関節性骨粗鬆症と全身性骨粗鬆症の発症時期の相違や、関連因子の相違について報告した。特に荷重のかかる大腿骨頸部では、腰椎の骨密度に比してその低下の程度が大きいことを示した。今回は、ビスホスホネート薬であるアレンドロネートに対する治療効果を、全身性骨粗鬆症と考えられる腰椎と大腿骨頸部とに分けて検討した。尿中 NTX/Cre 値は、アレンドロネート投与群では有意に低下した(P=0.0009)が、非投与群では有意に上昇(P=0.0028)した。腰椎 BMD は有意に増加(P=0.0014)し、大腿骨 BMD は増加傾向(P=0.0837)を認めたが、非投与群では両者ともほとんど変化しなかった。すなわち、薬剤効果は腰椎でより顕著であることが示された。また、統計学的に有意ではなかったが、PWV は、投与群では約 8% 低下し、非投与群では約 4% 増加した。腰椎 BMD の変化率と PWV の変化率は有意な負の相関(P=0.0337)を示し、RA 患者での骨量増加が動脈硬化の進展を抑制し得る可能性が示唆された。

A. 研究目的

関節リウマチ(RA)は続発性骨粗鬆症の主たる原因疾患の一つである。発症部位により全身性と局所性に大別され後者の中で傍関節性骨粗鬆症が特徴的とされている。昨年度は、これらの発現時期、発症機序は異なること示してきた。すなわち、傍関節性骨粗鬆症は関節炎症に主に起因し、早期に発症すること、全身性骨粗鬆症は身体活動性の低下が主たる関与示す点などである。従って RA 患者に対して、異なった機序の骨粗鬆症治療薬を用いることで、各々の部位での骨粗鬆症発症関連因子の関与の重要性を確認することが可能となる。また、RA 治療薬であるステロイドの影響も検討すべき重要な項目である。それ故、今回は、RA 患者に対してビスホスホネート製剤や選択的女性ホルモン受容体調節薬(SERM)に対する各部位の骨量増加効果の相違について検証を試みた。

B. 研究方法

(1) 外来通院中の炎症コントロール良好(CRP<1.0mg/dl)な女性リウマチ患者

41例(年齢 57.2 ± 10.7 歳)において腰椎(L-BMD)、橈骨遠位 1/3 (R1/3-BMD) 及び大腿骨頸部(N-BMD)をQDR-4500にて測定した。傍関節性骨粗鬆症の指標として、遠位 4 % 部を Stratec peripheral quantitative computed tomography (pQCT) を皮質骨部と海綿骨部とに分けて定量した。さらに、踵骨 osteo-sono index (OSI) を AOS-100 にて定量した。動脈壁硬化度の指標として pulse wave velocity (PWV) を Colin 社製 BP-203 RPE により定量した。それらの年間変化率との比較や各々の相関につき検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は大阪市立大学附属病院の倫理委員会に諮問し承認を受けた。本研究についての目的、意義、方法、予測される有用性または危険性について文書および口頭で十分な説明を行い、自由意志により参加に同意した者を被験者とした。同意は文書により得た。実施責任者および分担者は被験者情報を責任を持って管理し、ハッキングに対処しネットワークとは独立したコンピューターにて情報管理し、また、他機関や他人よりいかなる要請があっても、倫理委

員会の許可なく被験者の個人情報を開示せず、その取り扱いには細心の注意を払った。患者に実施事項（本研究の意義、目的、方法、患者が被り得る不利益および危険性）についての説明文書を作成し、実施責任者あるいは分担者が文書と口頭にて十分に説明をした後、その内容を理解してもらった上で同意書への記載を依頼した。以上より、倫理面の問題は無いと判断した。

### C. 研究結果

(1) RA 患者の BMD は健常者に比し著明に減少していた。腰椎 BMD では、47 名の女性 RA 患者群  $0.820 \pm 0.154 \text{ g/cm}^2$  に対して年齢・BMI・収縮期血圧をマッチさせた一般の閉経後女性 47 名  $0.874 \pm 0.100 \text{ g/cm}^2$  と、RA 患者群で有意な低下を示した。踵骨 OSI ( $\times 10^6$ ) も RA 患者群  $2.196 \pm 0.266$  に対し、健常群  $2.495 \pm 0.269$  と RA 患者群で有意に低下していた。逆に brachial-ankle (ba)PWV (cm/sec) は RA 患者群  $1573.0 \pm 381.9$  に対し、健常群  $1301.1 \pm 214.6$  と RA 患者群で有意な上昇が認められた。RA 患者での腰椎 BMD と baPWV との相関を検討すると、両者間で有意な負の相関 ( $r = -0.299$ ,  $P = 0.046$ ) を認め、この関係は踵骨 OSI と baPWV との間にも認められた ( $r = -0.309$ ,  $P = 0.044$ )。RA 患者にアレンドロネート 1 日量 5 mg を 1 年間投与し、その前後での骨代謝マーカー、骨密度、および baPWV の変化を検討した。アレンドロネート非投与群では、尿中 NTX/Cre 比 (nmol BCE/mmol Cr) は  $64.2 \pm 23.6$  から  $90.9 \pm 24.9$  に却って上昇したのに対し、投与群では、 $60.2 \pm 17.2$  から  $35.4 \pm 22.8$  まで有意に低下した ( $p < 0.003$ )。Bone alkaline phosphatase (BAP) (IU/L) についても、非投与群で  $22.8 \pm 8.3$  から  $32.3 \pm 9.4$  と上昇したのに対して、投与群では  $22.8 \pm 5.1$  から  $22.7 \pm 16.3$  へと変化は認められなかった。投与群で、腰椎 BMD は  $0.846 \pm 0.205$  から  $0.884 \pm 0.203$  ( $p < 0.002$ ) へ、大腿骨頸部 BMD は  $0.707 \pm 0.193$  から  $0.736 \pm 0.168$  ( $p = 0.084$ ) へ上昇を認めたが、非投与群では両部位で変化は認めなかった。この治療期間中の baPWV の変化は、投与群で  $1652 \pm 538$  から  $1479 \pm 306$  へ低下を認めたが、非投与群では  $1637 \pm 257$  から

$1690 \pm 341$  へと却って増加した。

### D. 考察

進行した閉経後女性 RA 患者では、腰椎 BMD の有意な低下が認められた。早期 RA と異なり、この結果は早期での荷重部位での選択的な骨密度低下とは異なっていた。また、動脈壁硬化度はこれら RA 患者で促進していた。これら患者に対して強力な骨吸収抑制薬であるアレンドロネートを投与すると、骨マーカーの有意な低下で示される骨代謝回転の抑制とそれに伴う BMD の上昇が示された。この BMD 上昇作用は腰椎でより顕著であり、ビスホスホネートによる骨吸収抑制が海綿骨で顕著であることを示していると考えられた。また、大腿骨頸部や踵骨での BMD 低下に身体活動性の低下が関与していることも一因として考えられる。

RA での動脈硬化病変の進行による心血管死亡率が健常人に比して高いことが知られているが、動脈壁硬化度の検討でも確認された。この動脈壁硬化度の進行がビスホスホネートにより改善すること、およびその改善効果がビスホスホネートによる骨密度上昇効果と有意に関連していることが示された。

### E. 結論

閉経後女性 RA 患者では、進行すると腰椎 BMD も低下することが明らかとなった。ビスホスホネートの BMD 上昇効果は腰椎でより顕著で、その効果と動脈硬化の改善効果は関連したことから、RA 患者での骨粗鬆症抑制が、RA 患者での動脈硬化の予防につながるということが想定される。

### F. 健康危険情報

特記事項無し

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

Kumeda, Y., Inaba, M., Goto, H., Nagata, M., Henmi, Y., Furumitsu, Y., Ishimura, E., Inui, K., Yutani, Y., Miki, T., Shoji, T., Nishizawa, Y. Increased thickness of the arterial intima-media detected by ultrasonography in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 46(6): 1489-97, 2002

Nagata-Sakurai, M., Inaba, M., Goto, H., Kumeda, Y., Furumitsu, Y., Inui, K., Koyama, H., Emoto, M., Ishimura, E., Shoji, T., Nishizawa, Y. Inflammation and bone resorption as independent factors of accelerated arterial wall thickening in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 48(11): 3061-7, 2003

Yamada, S., Inaba, M., Goto, H., Nagata, M., Ueda, M., Nakatuka, K., Tahara, H., Yokoyama, H., Emoto, M., Shoji, T., Nishizawa, Y. Significance of intima-media thickness in femoral artery in the determination of calcaneus osteo-sono index but not of lumbar spine bone mass in healthy Japanese people. *Osteoporos Int* 16:64-70, 2005.

Yamada, S., Inaba, M., Goto, H., Nagata, M., Kumeda Y., Imanishi Y., Emoto, M., Ishimura E., Nishizawa, Y. Associations between physical activity, peripheral atherosclerosis and one status in healthy Japanese women. *Atherosclerosis* in press, 2005.

## 2. 学会発表

関節リウマチ患者の動脈硬化と骨粗鬆症  
第7回日本骨粗鬆症学会  
2005年10月14日 大阪市

アレンドロネート投与後の骨量改善に伴う動脈硬化進展に及ぼす影響について  
第23回日本骨代謝学会  
2005年7月24日 大阪市

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

### 1. 特許取得

該当無し

### 2. 実用新案登録

該当無し

### 3. その他

特記事項無し

## B) 重症化機序解明と治療法開発研究

- 1) ナース細胞（線維芽細胞様細胞）病態解析研究
  - ①未分化骨髄からのナース細胞分化機序解明研究
  - ②滑膜（ナース）細胞特定目的の病理学的解析研究
- 2) 破骨細胞解析研究
  - ①破骨細胞に特異的に発現する MMP12
  - ②遺伝子改変マウスによる MMP12 遺伝子の病態解析研究
  - ③RANKL 依存性破骨細胞における RANKL 切断活性の意義
  - ④脂肪組織による RA 特異的破骨細胞抑制効果



関節リウマチの病態形成における骨髄異常の役割について：  
骨髄 CD34+細胞の NF $\kappa$ B mRNA の発現の異常に関する研究

分担研究者 広畑 俊成 帝京大学医学部内科・助教授

研究要旨

関節リウマチ(RA)の病態形成において骨髄の異常が重要な役割を果たす。これまでに我々は、RA 骨髄 CD34+細胞は (SCM+GM-CSF)+TNF- $\alpha$  の存在下において、線維芽細胞様細胞への分化が亢進していることを示してきた。今回我々は、RA 骨髄 CD34+細胞の TNF- $\alpha$  に対する異常反応性のメカニズムを解析するために、NF $\kappa$ B 関連遺伝子の発現を検討した。RA 患者骨髄 CD34+細胞においては NF $\kappa$ B1(p50) mRNA の発現が OA 患者に比して有意に亢進していたが、NF $\kappa$ B2(p52)および RelA(p65)の mRNA については有意な差は認められなかった。MTX やステロイドの投与の有無により骨髄 CD34+細胞の NF $\kappa$ B1 mRNA の発現に差を認めなかった。また骨髄 CD34+細胞 NF $\kappa$ B mRNA の発現と血清 CRP の間には有意な相関は認められなかった。従って、RA 骨髄 CD34+細胞における NF $\kappa$ B1(p50) mRNA の選択的発現増強が RA の病因と関係していることが示唆された。

A.研究目的

関節リウマチ(RA)は関節滑膜の増殖による骨破壊を主徴とする原因不明の炎症性疾患である。関節滑膜を構成する主要な細胞として、マクロファージ様の A 型滑膜細胞と線維芽細胞様の B 型滑膜細胞が存在することが知られている。A 型滑膜細胞は骨髄に由来することが明らかにされているが、B 型滑膜細胞の由来についてはよく知られていなかった。我々は、RA 骨髄 CD34+細胞は(SCF+GM)+TNF- $\alpha$  の存在下において、OA 骨髄 CD34+細胞に比し効率的に線維芽細胞様細胞に分化することを明らかにした。この線維芽細胞様細胞は MMP-1 を産生することから、B 型滑膜細胞と同じ性質を有するものと考えられる。一方、NF $\kappa$ B は TNF- $\alpha$  のシグナル伝達において重要な役割を果たすことが明らかにされている。今回我々は、RA 骨髄 CD34+細胞の TNF- $\alpha$  に対する異常反応性のメカニズムを解析するため、NF $\kappa$ B 関連分子の mRNA の発現について検討した。

B.研究方法

RA 患者 45 例、OA 患者 28 例の腸骨骨髓液より magnetic beads を用いて CD34+細胞を精製した。精製 CD34+細胞より mRNA を抽出し、オリゴ dT プライマー法により cDNA を合成し、Realtime PCR により NF $\kappa$ B1(p50)、NF $\kappa$ B2(p52)、RelA(p65)の mRNA を定量した。データは  $\beta$ -actin の mRNA の copy 数に対する比として求めた。

(倫理面への配慮)

患者には研究内容及び検体採取の方法・危険性を説明し、インフォームドコンセントを文書で取得した上で検体の提供を受けた。検体については連結匿名化にてプライバシーの保護をはかった。

C.研究結果

RA 患者骨髄 CD34+細胞においては NF $\kappa$ B1(p50) mRNA の発現が OA 患者に比して有意に亢進していたが、NF $\kappa$ B2(p52)および RelA(p65)の mRNA については有意な差は認められなかった(図 1)。メトトレキサート(MTX)あるいはステロイドの投与の有無により、RA 患者骨髄 CD34+細胞の NF $\kappa$ B1(p50)に対する mRNA の発現に差を認めなかった(図 2)。また RA 患者骨髄 CD34+細胞 NF $\kappa$ B1 mRNA の発現と血清 CRP 値の間に有意な相関はなかった(図 3)。

D.考察

以上の結果より、RA 骨髄 CD34+細胞の NF $\kappa$ B1(p50) mRNA の亢進がその TNF- $\alpha$  に対する反応性の異常に関与する可能性が示唆された。RelA(p65)や NF $\kappa$ B2(p52)の mRNA 発現は RA と OA の間では差がなく、NF $\kappa$ B1(p50) mRNA の選択的発現増強が重要であると考えられる。さらにこうした異常は治療薬や全身の炎症反応による二次的な異常ではなく、RA 固有の異常であると考えられる。このような骨髄 CD34+レベルでの NF $\kappa$ B1 mRNA の発現異常が TNF- $\alpha$  に対する反応性の異常をきたし、これにより B 型滑膜細胞様細胞の分化が亢進し、関節破壊につながってゆくものと考えられる。

今後、骨髄 CD34+細胞の NF $\kappa$ B1(p50) mRNA の発現の亢進が、実際に TNF- $\alpha$  に対する反応性の異常を引き起こすかについて検討してゆく必要がある。

E.結論

RA 骨髄 CD34+細胞における NF $\kappa$ B1(p50) mRNA の選択的発現増強が RA の病因と関連していることが考えられる。

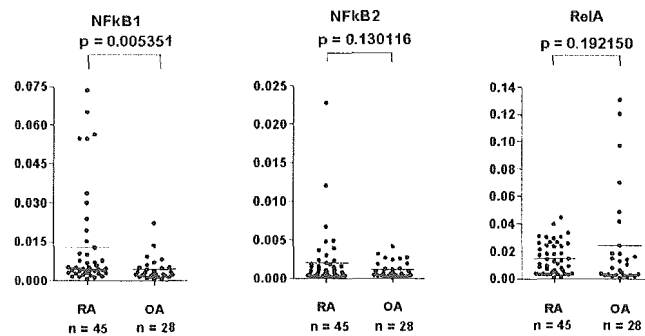


図1 RAおよびOAにおける骨髄CD34+細胞中のNFκB関連分子のmRNAの発現：データはβ-actin mRNAコピー数に対する比で示す

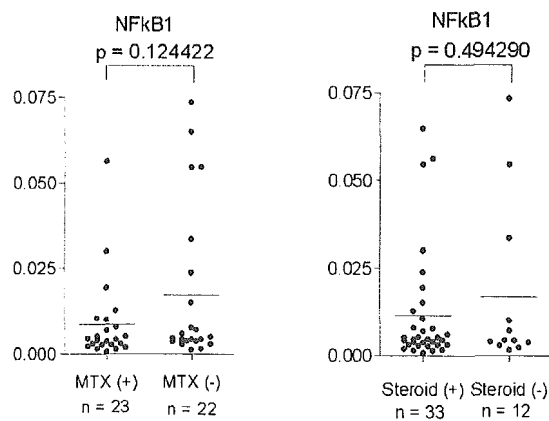


図2 RAの治療薬剤と骨髄CD34+細胞NFκB1 mRNAの発現：データはNFκB1/β-actin mRNA比を示す

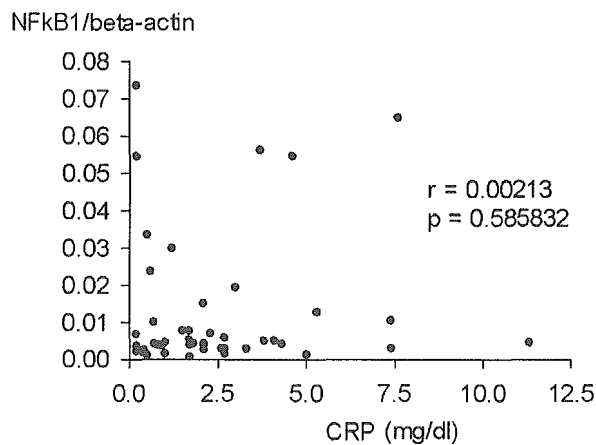


図3 RA骨髄CD34+細胞のNFκB1 mRNAの発現と血清CRPレベルの関係

G.研究発表

1. 論文発表

•Yajima N, Kasama T, Isozaki T, Odai T, Matsunawa M, Negishi M, Ide H, Kameoka Y, Hirohata S, Adachi M:

Elevated levels of soluble fractalkine in active systemic lupus erythematosus. Potential involvement in neuropsychiatric manifestations. Arthritis Rheum, 52: 1670-1675, 2005.

- Shibuya H, Hirohata S: Differential effects of IFN- $\gamma$  on the expression of various Th2 cytokines in human CD4+ T cells. *J Allergy Clin Immunol*, 116: 205-212, 2005.
- Suzuki F, Nanki T, Imai T, Kikuchi H, Hirohata S, Kohsaka H, Miyasaka N: Inhibition of CX3CL1 (Fractalkine) improves experimental autoimmune myositis in SJL/J mice. *J Immunol*, 175: 6987-6996, 2005.
- Nagai T, Arinuma Y, Yanagida T, Yamamoto K, Hirohata S: Anti-ribosomal P protein antibody in human systemic lupus erythematosus up-regulates the expression of proinflammatory cytokines by human peripheral blood monocytes. *Arthritis Rheum*, 52: 847-855, 2005.
- 広畑俊成: 第6回 Latest Orthopedics 研究会の記録. 関節リウマチの病態形成における骨髄異常について. *骨・関節・靭帯*, 18: 257-264, 2005.
- 広畑俊成: 特集・抗リウマチ薬の使い方 ブシラミン. *クニカ*, 32: 93-97, 2005.
- 広畑俊成: 特集: 痴呆症の最新情報—治せる痴呆を見逃さないために <内科疾患に伴う treatable dementia> 膠原病による痴呆. *内科*, 95: 857-862, 2005.
- 広畑俊成: 第1土曜特集 Behcet 病—病因の解明と難治性病態の克服に向けて. *神経 Behcet 病の臨床*. *医学のあゆみ*, 215: 61-66, 2005.
- 広畑俊成: 中枢神経病変. *臨床リウマチ*, 17: 278-282, 2005.
- 広畑俊成: 「今日の臨床検査 2005-6」, 河合 忠、水島裕 監修、櫻林郁之介、中川武正 編集主幹、星恵子、広畑俊成、矢富裕、伊藤要一、石黒厚至 編集、南江堂、東京、2005.
- 広畑俊成: 8. リウマチ・アレルギー性疾患 高安動脈炎. 「改訂第4版 疾患別最新処方」, 矢崎義雄、菅野健太郎 監修、Medical View 社、東京、p.522-523, 2005.
- 広畑俊成: 8. リウマチ・アレルギー性疾患 Behcet 病. 「改訂第4版 疾患別最新処方」, 矢崎義雄、菅野健太郎 監修、Medical View 社、東京、p.524-525, 2005
- 広畑俊成: 第3部生体防御および病態解析・治療の免疫機構 第3章自己免疫疾患 3.2 病態・診断および治療 [1]全身性エリテマトーデスの病態および診断 [2]各種免疫抑制薬の作用機序 [3]抗体療法を中心とした生物学的製薬. 「免疫学ハンドブック(Immunology handbook)」, 免疫学ハンドブック編集委員会(垣内史堂、編集委員長) 編、オーム社、東京、p.394-398, p.403, 2005.
- 2. 学会発表
  - Hirohata S, Yanagida T, Hashimoto H, Tomita T, Yoshikawa H, Ochi T. Differential influences of bucillamine and methotrexate on the generation of fibroblast-like cells from bone marrow CD34+ cells of rheumatoid arthritis patients. *EULAR 2005, Vienna, Ann Rheum Dis*, 64 (suppl III): 447, 2005.
  - Aramaki K, Kikuchi H, Haraola H, Nagai T, Takeuchi A, Hashimoto T, Hirohata S. Preliminary criteria for the evaluation of the severity of Behcet's disease. *EULAR 2005, Vienna, Ann Rheum Dis*, 64 (suppl III): 543, 2005.
  - Hirohata S, Arinuma Y: Association of diffuse psychiatric/neuropsychological syndromes with cerebrospinal fluid anti-ribosomal P protein antibodies in systemic lupus erythematosus. 69th Annual Scientific Meeting, American College of Rheumatology, San Diego, *Arthritis Rheum* 52(Suppl.): S477, 2005.
  - Hirohata S, Yamagida T, Miura Y, Tomita T, Yoshikawa H, Ochi T: Enhanced expression of mRNA for nuclear factor  $\kappa$ B1 (p50) in CD34+ cells of the bone marrow in rheumatoid arthritis. 69th Annual Scientific Meeting, American College of Rheumatology, San Diego, *Arthritis Rheum* 52(Suppl.): S1186, 2005.
  - Arinuma Y, Yamagida T, Hirohata S: Association of serum autoantibodies against an epitope other than C-terminal 22 amino-acids of ribosomal P protein with diffuse psychiatric/neuropsychological syndromes of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. 69th Annual Scientific Meeting, American College of Rheumatology, San Diego, *Arthritis Rheum* 52(Suppl.): S1658, 2005.
  - Hirohata S: Symposium 4: Basic science of rheumatic diseases— Molecular mechanism and signaling; Abnormalities of bone marrow CD34+ cells in rheumatoid arthritis. The 49th Annual Scientific Meeting (Yokohama) S111, 2005.
  - Nagai T, Arinuma Y, Yanagida T, Yamamoto K, Hirohata S: The upregulation of the expression of TNF- $\alpha$  and IL-6 in human peripheral blood monocytes by anti-ribosomal P protein antibody does not involve Fc $\gamma$  receptor cross-linking. The 49th Annual Scientific Meeting (Yokohama) S210, 2005.
  - Aramaki K, Arinuma Y, Kikuchi H, Nagai T, Suda H, Takeuchi A, Hirohata S: Severity of Behcet's disease: its relevance with smoking and HLA-B51. The 49th Annual Scientific Meeting (Yokohama) S238, 2005.
  - Kikuchi H, Hirohata S: Immunohistological analysis of intestinal involvement in Behcet's disease. The 49th Annual Scientific Meeting (Yokohama) S266, 2005.
- H.知的財産権の出願・登録状況
  1. 特許取得  
骨髄液の再生方法(出願中)
  2. 実用新案登録  
該当なし
  3. その他  
該当なし

関節リウマチにおける骨粗鬆化の病態解明と重症化防止治療法の開発

分担研究者 吉川 秀樹

所属機関名・職名 大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学（整形外科）・教授

研究要旨

関節リウマチの病態に深く関与するNurse細胞やMMP-12陽性細胞の起源や病巣における所在を明らかにし、その病態生物学的解明を行った。ヒトRA滑膜中には多数のCD68陽性細胞が存在し、Nurse細胞との関連が示唆された。またヒト関節リウマチ骨吸収部では、TRAP陰性、MMP-12陽性の多核巨細胞が存在し、骨吸収に関与することを明らかにした。また、関節リウマチにおける骨粗鬆症の重症化防止の新規治療法として、連通多孔体人工骨に、骨再生物質を導入し、脆弱化した骨の再生と骨粗鬆症の重症化防止を試みた。さらに、関節リウマチの重症化を予測し、正確な予後診断を可能とするため、血中Clq値の新規定量システムの開発を試みた。

A. 研究目的

関節リウマチ（RA）では、関節滑膜や骨髄中に存在する間質系細胞（Nurse細胞）や、MMP-12陽性の多核巨細胞が骨破壊病態に関与していることが示唆されている。本研究では、ヒト滑膜組織やヒト骨髄組織における、Nurse細胞、MMP-12陽性細胞の起源や病巣における所在を明らかにし、その病態生物学的解明を行う。また、関節リウマチにおける骨粗鬆症の重症化防止の新規治療法として、連通多孔体人工骨に、骨再生物質や破骨細胞阻害物質を導入し、脆弱化した骨の再生と骨粗鬆症の重症化防止を試みる。さらに、関節リウマチの重症化を予測し、正確な予後診断を可能とするため、血中Clq値の新規定量システムの開発を試みる。

B. 方法

1) Nurse細胞の起源の可能性として、まず組織球を候補と考え、そのマーカーであるCD68（KP1）抗体などの関連モ

ノクロ抗体を用いて、ヒト関節滑膜、骨髄に対し免疫組織化学染色を行った。

- 2) ヒト関節リウマチ組織のMMP-12免疫染色、TRAP染色を行った。
- 3) 連通多孔体人工骨（NEOBONE）をウサギ膝関節近傍に移植し、骨の再生を検討した。さらに、人工骨内に骨形成蛋白（BMP）を導入し、骨再生の促進を試みた。
- 4) 5例の関節リウマチ患者の関節近傍の嚢腫様病変部に、病的骨折の予防のため、人工骨移植を施行した。
- 5) 血中Clq値の高感度測定系の開発のため、新規モノクロ抗体の作成を行っている。マウス4匹を用いた融合実験より最終的に12クローンを選択した。

（倫理面への配慮）

患者本人への組織学的検討の意義と有用性について十分なインフォームドコンセントを得ている。人工骨移植による骨移植は、厚生労働省の認可を受けており、保険診療として行っており、倫理的問題はないと考える。

C. 結果

1) RA患者組織では滑膜表層細胞のみならず、