

る詳細な解析が RA 発症・病態形成機構の解明の一助となると考えられる。

また、健常人 B 細胞が RA ナース細胞により増殖すること自体は島岡ら (J. Clin. Invest., 1998) をはじめとしてすでに報告があるが、今回のレパトア解析を通じ、RA ナース細胞が骨髄・滑膜病変部において B 細胞の再分化と自己反応性の獲得にも関与している可能性が考えられた。これを示すためには、オリゴクローナル化した B 細胞の表面抗原の解析や、B 細胞レパトアが RA ナース細胞によりオリゴクローナル化する機序の解明等が必要である。

E. 結論

RA ナース細胞由来抗原に反応する T 細胞が末梢血中に高頻度に存在する可能性が示唆された。また、RA ナース細胞が特定の B 細胞を選択的に増殖・活性化する可能性が強まった。

G. 研究発表

1. 論文発表

Nurse-like cells reside in the synovial tissue and bone marrow in rheumatoid arthritis. Takahiro Ochi, Hideki Yoshikawa, Tomoko Toyosaki-Maeda and Peter E Lipsky. Arthritis Res Ther 9:201, 2007.

Arthritis and pneumonitis produced by the same T cell clones from mice with spontaneous autoimmune arthritis.

Chiaki Wakasa-Morimoto, Tomoko Toyosaki-Maeda, Ryuji Suzuki et al. J. Immunology, in press.

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:
骨髄細胞の B 型滑膜細胞様細胞への分化能に関する研究

分担研究者 広畑 俊成 北里大学医学部膠原病・感染内科学 教授

研究要旨

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のマクロファージであるが、B 型滑膜細胞の由来についても、RA 骨髄 CD34+細胞が(SCF+GM+)TNF- α 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が明らかになっている。本年は、この分化の過程のどの段階において異常が存在するかを明らかにするために、骨髄 CD34+細胞より誘導した CD15+細胞および骨髄中に存在する形質細胞様樹状細胞(pDC)について、線維芽細胞様細胞への分化能を検討した。RA 患者骨髄 CD34+細胞からの線維芽細胞様細胞への分化能は OA 患者に比して有意に亢進していた。RA 患者骨髄 CD34+細胞より誘導した CD15+細胞と CD15-細胞の線維芽細胞様細胞への分化能には有意差はなかった。RA 骨髄および OA 骨髄由来の pDC は TNF- α あるいは GM-CSF+TNF- α の存在下で線維芽細胞様細胞へ分化し、両者の分化能には有意差がなく、また両者の VEGF 産生能にも有意差はなかった。以上の結果より、RA 骨髄 CD34+細胞の線維芽細胞様細胞への分化の促進には、CD34+細胞から pDC への分化の亢進が関与する可能性が示唆された。

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- α の存在下において、OA 骨髄 CD34+細胞に比し効率的に MMP-1 を産生する線維芽細胞様細胞に分化すること、さらにこの TNF- α に対する異常反応性の 1 つの機序として RA 骨髄 CD34+細胞の NF κ B1(p50) mRNA の発現の亢進が関与することを明らかにした。本年は、この分化の過程のどの段階において異常が存在するかを明らかにするために、骨髄 CD34+細胞より誘導した CD15+細胞および骨髄中に存在する形質細胞様樹状細胞(pDC)について、線維芽細胞様細胞への分化能を検討した。

B. 研究方法

RA14 例、OA12 例の腸骨骨髄液より CD34+細胞および CD304+細胞(pDC)を精製した。一部の実験では、精製 CD34+細胞を SCF+GM+TNF- α で 1 週間刺激し、MACS で CD15+細胞と CD15-細胞に分離した。これらの細胞を、GM-CSF・TNF- α の存在・非存在下に 3~4 週培養し、その形態変化を観察し、線維芽細胞様細胞への分化能を半定量的に評価した。また培養上清中の VEGF および MMP-1 の産生能の検討を ELISA を用いて行った。

(倫理面への配慮)

患者には研究内容及び検体採取の方法・危険性等を説明し、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+細胞からの線維芽細胞様細胞への分化能は OA 患者に比して有意に亢進していた。RA 患者骨髄 CD34+細胞より誘導した CD15+細胞と CD15-細胞の線維芽細胞様細胞への分化能には有意差はなかった(図 1)。RA 骨髄および OA 骨髄由来の pDC は TNF- α あるいは GM-CSF+TNF- α の存在下で線維芽細胞様細胞へ分化した。しかし、両者の分化能には有意差がなく(図 2)、また両者の VEGF と MMP-1 の産生能にも有意差はなかった(図 3)。

D. 考察

以上の結果より、骨髄由来の pDC は線維芽細胞様の B 型滑膜細胞の前駆細胞であることが示唆された。さらにこうした骨髄の pDC から線維芽細胞様細胞への分化は RA と OA の間には有意差がなかった。従って、RA 骨髄 CD34+細胞からの pDC への分化能の異常亢進が、RA 骨髄 CD34+細胞の線維芽細胞様細胞への分化の亢進に寄与していると考えられる。

今後、骨髄 CD34+細胞のこうした pDC への分化能の異常亢進の機序を解明してゆくことが RA の病因の解明の上で重要と思われる。

E. 結論

RA 骨髄 CD34+細胞の線維芽細胞様細胞への分化の促

進には、CD34+細胞から pDC への分化の亢進が関与する可能性が示唆された

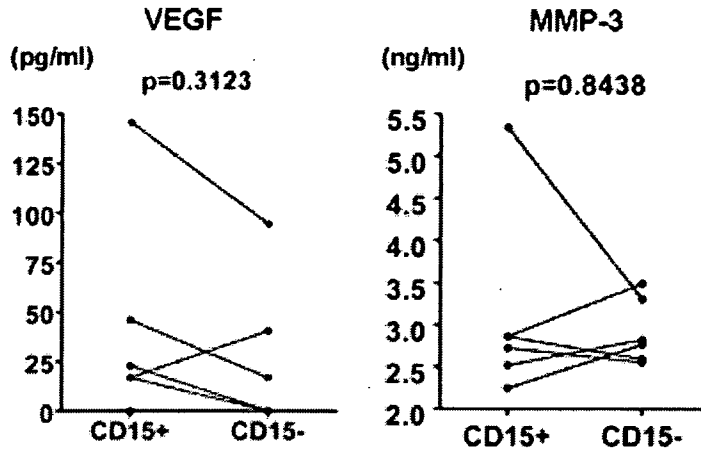
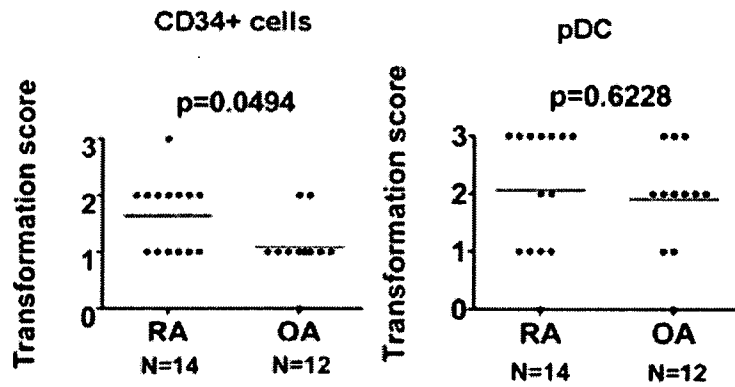


図1 RA 患者骨髄 CD34+細胞より誘導した CD15+細胞と CD15-細胞の線維芽細胞様細胞への分化能. 線維芽細胞様細胞は VEGF と MMP-1 を産生するので、その産生能を比較した。



0: 0%, 1: 0-30%, 2: 30-60%, 3: 60-100% of the area of each well

図2 RA 骨髄および OA 骨髄由来の pDC は TNF- α あるいは GM-CSF+ TNF- α の存在下で線維芽細胞様細胞へ分化した。しかし、両者の分化能には有意差がなかった。しかし、RA 患者骨髄 CD34+細胞からの線維芽細胞様細胞への分化能は OA 患者に比して有意に亢進していた (左図)。

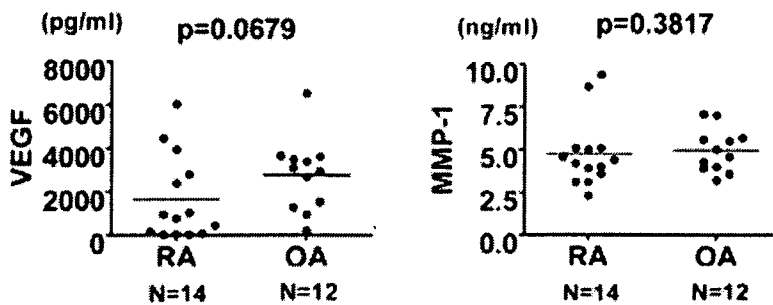


図3 RA 骨髄および OA 骨髄由来の pDC は TNF- α あるいは GM-CSF+ TNF- α の存在下で線維芽細胞様細胞へ分化したが、両者の VEGF および MMP-1 の産生能には有意差はなかった。

G.研究発表

1. 論文発表

- ・ Hirohata S, Arinuma Y, Yanagida T: Specificity of enzyme-linked immunosorbent assay for IgG anti-NR2 glutamate receptor antibodies: Comment on the concise communication by Yoshio et al. *Arthritis Rheum*, 56: 386-387, 2007.
- ・ Aramaki K, Kikuchi H, Hirohata S: HLA-B51 and cigarette smoking as risk factors for chronic progressive neurological manifestations in Behcet's disease. *Mod Rheumatol*, 17:81-2, 2007.
- ・ Hirohata S, Arinuma Y, Takayama M, Yoshio T: Association of cerebrospinal fluid anti-ribosomal P protein antibodies with diffuse psychiatric/neuropsychological syndromes in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*, 9:R44, 2007.
- ・ Hashimoto A, Hayashi I, Murakami Y, Sato Y, Kitasato H, Matsushita R, Iizuka N, Urabe K, Itoman M, Hirohata S, Endo H. Antiinflammatory mediator lipoxin A4 and its receptor in synovitis of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 34 :2144-53, 2007
- ・ Hirohata S. Histopathology of central nervous system lesions in Behcet's disease. *J Neurol Sci*, 2007 [E-pub]
- ・ Kimura M, Tanaka S, Ishikawa A, Endo H, Hirohata S, Kondo H. Comparison of trimethoprim-sulfamethoxazole and aerosolized pentamidine for primary prophylaxis of *Pneumocystis jiroveci* pneumonia in immunocompromised patients with connective tissue disease. *Rheumatol Int*, 2007 [E-pub]
- ・ Hashimoto A, Matsui T, Tanaka S, Ishikawa A, Endo H, Hirohata S, Kondo H, Neumann E, Tarner IH, Muller-Ladner U: Laser-mediated microdissection for analysis of gene expression in synovial tissue. *Mod Rheumatol*, 17:185-90, 2007.
- ・ 廣畑俊成: プライマリ・ケア医のための関節リウマチの診かた。関節リウマチの治療: そのほかの抗リウマチ薬の使い方と副作用(金製剤、D-ペニシラミン、ブシラミン、サラゾスルファピリジン)。治療, 89: 292-296, 2007.
- ・ 菊地弘敏、廣畑俊成: 膠原病診療の A to Z. 膠原病のプライマリ・ケア- 早期診断と治療指針。全身性エリテマトーデス。総合臨床, 56: 491-496, 2007.
- ・ 廣畑俊成: 特集: 生物学的製剤の免疫薬理と臨床完全ヒト化抗 TNF- α 抗体(アダリムマブ、ゴリムマブ)。日本臨床, 65: 1202-1208, 2007.
- ・ 廣畑俊成: 特集 膠原病: 診断と治療の進歩 II. 診断と治療の実際 10. Behcet 病. 日内会誌, 96:2220-2225, 2007.
- ・ 廣畑俊成: 免疫抑制薬の臨床応用実践論 第13回 ベーチェット病. 炎症と免疫 16:93-96, 2007.
- ・ 廣畑俊成: 抗リボソーム P 抗体・・・その細胞機能への影響。自己抗体と自己免疫 2007. 第14回自己抗体と自己免疫シンポジウム講演抄録集 pp.52-58, 2007.
- ・ 廣畑俊成: リウマチ・膠原病のすべて Part2 リウマチ・膠原病のいろいろ: ベーチェット病. からだの科学 256:85-89, 2007.
- ・ 廣畑俊成: [整形外科医のための標準薬物治療の基礎知識] プシラミン-まだまだ存在価値がある traditional DMARD-骨・関節・靭帯 20: 1109-1114, 2007
- ・ 菊地弘敏、廣畑俊成: 膠原病の診断、治療開始とフォローの実際-Behcet 病. *Medicina* 45: 116-119, 2008

2. 学会発表

- ・ Hirohata S, Miura Y, Tomita T, Yoshikawa H: Enhanced expression of mRNA for Kruppel-Like Factor 5 in CD34+ cells of the bone marrow in rheumatoid arthritis. EAGOR 2007, Seoul, p.41.
- ・ Kikuchi H, Takayama M, Arinuma Y, Aramaki K, Komagata Y, Takeuchi A, Hirohata S: Differential effects of infliximab on cerebrospinal fluid IL-6 and TNF-alpha in progressive neuro-Behcet's syndrome. EULAR 2007, Baecellona, THU0396, 2007.
- ・ Tanaka S, Iizuka N, Kimura M, Hashimoto A, Endo H, Hirohata S: Oral beraprost sodium, a prostacyclin analogue improves long-term prognosis of pulmonary hypertension in patients with connective tissue diseases other than scleroderma. EULAR 2007, Baecellona, THU0323, 2007.
- ・ Tanaka J, Endo H, Hashimoto A, Yoshida H, Iizuka N, Tanaka S, Hirohata S, Kondo H: Quantitative analysis of intestinal involvement by carbon-13 labeled fatty acid absorption breath test in patients with systemic sclerosis. EULAR 2007, Baecellona,

- THU0324, 2007.
- Kikuchi H, Hirohata S: Histopathological analysis of intestinal involvement in Behcet's syndrome. EULAR 2007, Baecellona, FRI0330, 2007.
 - Endo H, Urabe K, Itoman M, Hirohata S, Kondo H, Ohnishi Y: Suppressive effects of LT β 4 receptor subtype BLT2 antagonist of carbolic metabolism of osteoarthritic chondrocytes. EULAR 2007, Baecellona, FRI0005, 2007.
 - Hashimoto A, Endo H, Tanaka J, Matsui T, Tanaka S, Ishikawa A, Hirohata S: Anti-inflammatory mediator lipoxin A4(LXA4) and LXA4 receptor(ALX) in synovial joints of patients with rheumatoid arthritis. EULAR 2007, Baecellona, FRI0029, 2007.
 - Hirohata S, Yoshio T. Association of diffuse psychiatric/neuropsychological syndromes with cerebrospinal fluid antibodies against the epitopes other than C-terminal 22 amino acids of ribosomal P0 protein in systemic lupus erythematosus. 71st Annual Scientific Meeting, American College of Rheumatology, Boston, Arthritis Rheum 54(Suppl.9): , 2007.
 - Tanaka S, Nishi K, Iizuka N, Kondo H, Hirohata S. Cardiac involvement in systemic sclerosis: the strongest predictive factor of prognosis in patients with scleroderma. 71st Annual Scientific Meeting, American College of Rheumatology, Boston, Arthritis Rheum 54(Suppl.9): , 2007., Washington D.C., Arthritis Rheum 53(Suppl.), 2006.
 - 廣畑俊成: シンポジウム S05-4: 細胞接着分子への介入療法 第 51 回日本リウマチ学会総会・学術集会(横浜)p.168、2007.
 - 廣畑俊成: ランチョンセミナー2「ブシラミンの作用機序」第 51 回日本リウマチ学会総会・学術集会(横浜)、2007.
 - 廣畑俊成: 教育講演5 「CNS ループスの病態と診断・治療」第 17 回日本リウマチ学会近畿支部学術集会(大阪), p.18, 2007
 - 廣畑俊成: ランチョンセミナーI 「抗リウマチ剤の基礎と臨床-作用機序から使い方まで」第 17 回日本小児リウマチ学会(横浜), p.67, 2007
 - 廣畑俊成: ランチョン教育講演3 「ベーチェット病- 今日までに分かった免疫異常と病態およびこれからの展開」第 3 5 回日本臨床免疫学会総会(大阪), p.293, 2007

H.知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

研究要旨

慢性関節リウマチの発症におけるMmp12の役割を解析すること、Mmp12遺伝子内の機能ドメインの解析も行うこと、ヒト遺伝子と入れ替えて、詳細に機能を解析することを計画し、第2エクソンの上流及び下流にlox71とloxPを配置した相同組換え用のベクターをデザインした。これを用いて相同組換えESクローンを樹立し、キメラマウスを作製した。また、elongation factor (EEF1a), granulin, Sirpa (signal regulatory protein alpha), Sulfatase 1, Tfnsf14 (tumor necrosis factor superfamily, member 14) 遺伝子についても、トランスジェニックマウス作製を開始した。

A. 研究目的

関節リウマチや骨粗しょう症に関係することが推定されるMmp12遺伝子等に関して、遺伝子破壊マウスを作製する。また、elongation factor (EEF1a), granulin, Sirpa (signal regulatory protein alpha), Sulfatase 1, Tfnsf14 (tumor necrosis factor superfamily, member 14) 遺伝子についても、トランスジェニックマウスを作製する。作製したこれらのモデルマウスを解析することにより、これらの遺伝子が関節リウマチや骨粗しょう症と関連するのかどうか、関連するとすれば発症過程のどの時期に関与するのか、そしてその分子機構が何であるのかを明らかにするのが、本研究の目的である。

B. 研究方法

1. 遺伝子の完全破壊、条件的遺伝子破壊、遺伝子挿入が可能となるように、lox71およびloxPをあらかじめ挿入した相同組換えベクターを用いてtargeted cloneを単離し、キメラマウスを作製する。
2. トランスジェニックマウス作製においては、まず全身で強く発現させ病気が発症するかどうかを検討するため、すべてCAGGSプロモータを用いることとした。何らかの症状が出現すれば、より特異的なプロモーターを使用する。

(倫理面への配慮)

実験計画に応じた動物実験計画書および遺伝子組換え実験申請を行い、動物実験指針および法律を遵守して、実験を行っている。

C. 研究結果

1. Mmp12の相同組換えベクターとして、「5' arm (第1イントロンの配列) -lox71-第2

エクソン-逆向きの PGK-neo-loxP-3' arm (第2イントロンから第5イントロンの一部まで) -逆向きの tk-DT-AJ を構築し、C57BL/6 由来の ES 細胞を用いて相同組換えクローンを単離した。そして、キメラマウスを得て、交配中である。

2. EEF1a, granulin, Sirpa, Sulfatase 1, Tfnsf14 の各遺伝子に CAG プロモーターを接続したトランスジーンを構築し、トランスジェニックマウスの作製を開始した。EEF1a については、すでに 1 系統樹立した。

D. 考察

免疫アレルギー疾患の病因・病態解析の解明には、in vivoの解析系が重要で、トランスジェニックマウスや遺伝子破壊マウスを自在に駆使する必要がある。ただ、時間が必要であるが、これまでのところ、ベクターの構造の変更したため計画が遅れたが、それ以外は順調に推移している。

E. 結論

ヒト疾患を忠実に反映するモデルマウスの作製は重要で、これにより始めて病因・病態解析が可能で、それに立脚した新しい治療法の開発を目指すことが求められる。

F. なし

G. 研究発表

1. 論文発表
(1) Yamamura, K. and Araki, K. Gene trap mutagenesis in mice; New perspectives and tools in cancer research. Cancer Science 99: 1-6, 2008.

2. 学会発表

- (1) Ken-ichi Yamamura: Exchangeable gene trap as a tool in the mouse knockout project(symposium), The 12th International Symposium for Mouse Genomics The BK21 International Symposium of Veterinary Science, Seoul National University, 2007.5.15, Korea
- (2) 山村研一：なぜ今ノックアウトマウスプロジェクトかWhy should we start knockout mouse project?, DBELS WORKSHOP in UNZEN, 2007. 7. 27-29, 長崎
- (3) 山村研一：世界のノックアウトプロジェクト(シンポジウム), 第24回日本疾患モデル学会総会, 2007. 8. 31-9. 1, つくば
- (4) 山村研一：ヒト疾患研究における動物モデルの有用性と世界の現状(教育講演2), 第52回大会日本人類遺伝学会 ゲノム解析から臨床応用へのロードマップ, 2007. 9. 12-15, 東京
- (5) 山村研一：遺伝子破壊マウス・抗体を基盤とした技術プラットフォーム, 新産業を創る先端科学技術フォーラム2007, 2007.10.18, 大阪
- (6) Ken-ichi Yamamura: Autophagy, Spink3 and Pancreatitis., The 4th China-Japan Cooperative Life Science Symposium, 2007.Oct.15, China
- (7) Kimi Araki, Naoki Takeda, Atsushi Yoshiki, Gen Yamada, Naomi Nakagata, Toshihiko Shiroishi, Kazuo Moriwaki and Ken-ichi Yamamura: Establishment of embryonic stem cell lines derived from MSM/Ms strain originated from Mus musculus molossinus., 21st International Mammalian Genome Conference IMGC2007, 2007.Oct.28-Nov.1, 京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

RANKL 依存性破骨細胞分化における TGF- β の役割に関する研究

分担研究者 田中 栄

所属機関名・職名 東京大学医学部附属病院整形外科 講師

研究要旨 破骨細胞分化促進因子である receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)は骨芽細胞表面に発現し、破骨細胞前駆細胞表面に発現した RANK に結合することにより破骨細胞の分化およびその機能発現に促進的に働く。ヒト CD14 陽性細胞を RANKL およびマクロファージコロニー刺激因子で刺激することによって破骨細胞様多核細胞が形成されるが、このときに発現が変化する遺伝子として Rab13 を同定した。

A. 研究目的

関節リウマチ(rheumatoid arthritis, RA)は全身性の関節炎を特徴とする疾患であるが、病期が進むと著明な骨関節破壊をきたす。RAにおける骨破壊には破骨細胞による骨吸収が重要な役割を果たしており、破骨細胞の分化・活性化には receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)を介するメカニズムと介さないメカニズムの両方が関与することが知られている。RANKLは tumor necrosis factor (TNF)スーパーファミリーに所属する膜結合性サイトカインであり、破骨細胞前駆細胞に発現する受容体 RANK と結合することによって破骨細胞の分化・活性化を促進する。本研究では RANKL 依存性破骨細胞分化経路における TGF- β シグナルの役割について検討した。

B. 研究方法

マウス脛骨および大腿骨から採取した骨髄細胞を可溶性 RANKL および macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)で刺激することによって破骨細胞の分化を誘導した。この分化系を用いて TGF- β の特異的阻害薬である SB431542 の作用を検討した。また破骨細胞前駆細胞にレトロウイルスベクターによって dominant negative TGF- β receptor type II (T β RII^{DN})を導入し、TGF- β シグナル抑制の効果を検討した。マウス頭蓋骨表面に RANKL とともに SB431542 を局注することによってこの阻害薬の in vivo 骨吸収に対する効果を検討した。TGF- β が破骨細胞分化を促進する細胞内シグナルを明らかにするために T β RII^{DN}を導入した破骨細胞前駆細胞と無刺激の細胞、TGF- β で刺激した細胞における遺伝子発現を DNA microarray によって比較することによって、

TGF- β 刺激によって特異的に発現誘導される遺伝子の検討を行った。発現が変化した分子の中でケモカイン受容体である CX3CR1 について、強制発現および RNAi による発現抑制の破骨細胞分化に及ぼす作用を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究はヒトサンプルを用いるものではないが、候補遺伝子が得られた場合、そのヒト細胞での作用を確認する必要がある。その際、個人情報、その外部への持ち出しを厳重に禁止し、遺伝子解析に使用する検体、試料はコード化し匿名とする。また、生命倫理に関してはこの研究の趣旨を充分説明し提供者の自由意思によるインフォームド・コンセントを取得するものとする。

C. 研究結果

- ① マウス骨髄細胞を用いた破骨細胞分化系において SB431542 および T β RII^{DN}の導入は強力に破骨細胞分化を抑制した(図 1)。
- ② マウス頭蓋骨表面にリコンビナントヒト RANKL を投与すると局所において著明な骨吸収が認められるが、これは SB431542 の同時投与によってほぼ完全に抑制された。
- ③ DNA microarray によっていくつかの遺伝子の発現が TGF- β の投与で誘導され、T β RII^{DN}の発現によって抑制されることが明らかになった。このうちケモカイン受容体である CX3CR1 の発現抑制によって TGF- β による破骨細胞分化促進作用がキャンセルされることが明らかになった。

D. 考察

TGF- β は RANKL および M-CSF による破骨細胞分化を促進するのみならず、その阻害薬が分化を抑制することから、破骨細胞分化に必須であることが明らかになった。TGF- β によって発現誘導されるケモカイン受容体 CX3CR1 は fractalkine 受容体として同定されたケモカイン受容体であり、fractalkine は関節リウマチ関節液に高濃度に存在することが知られている。今後 fractalkine および CX3CR1 の破骨細胞分化における役割をさらに詳細に明らかにする予定である。

E. 結論

RANKL および M-CSF による破骨細胞分化において TGF- β シグナルは必須である。TGF- β シグナルの下流でケモカインである fractalkine-CX3CR1 シグナルが関与している可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文原著・総説

1. Yang CS, Lee JS, Song CH, Hur GM, Lee SJ, Tanaka S, Akira S, Paik TH, Jo EK. Protein kinase C zeta plays an essential role for Mycobacterium tuberculosis-induced extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation in monocytes/macrophages via Toll-like receptor 2. *Cell Microbiol.* 2007, 9:382-396.
2. Kono SJ, Oshima Y, Hoshi K, Bonewald LF, Oda H, Nakamura K, Kawaguchi H, Tanaka S. Erk pathways negatively regulate matrix mineralization. *Bone.* 2007, 40:68-74.
3. Suematsu A, Tajiri Y, Nakashima T, Taka J, Ochi S, Oda H, Nakamura K, Tanaka S, Takayanagi H. Scientific basis for the efficacy of combined use of antirheumatic drugs against bone destruction in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 2007, 17:17-23.
4. Hiramatsu K, Asaba Y, Takeshita S, Nimura Y, Tatsumi S, Katagiri N, Niida S, Nakajima T, Tanaka S, Ito M, Karsenty G,

Ikeda K. γ -glutamyltransferase as a pathogenic factor of bone and joint disease. *Endocrinology* 2007, 48:2708-2715.

5. Kawamura N, Kugimiya F, Oshima Y, Ohba S, Ikeda T, Saito T, Shinoda Y, Kawasaki Y, Ogata N, Hoshi K, Akiyama T, Chen WS, Hay N, Tobe K, Kadowaki T, Azuma Y, Tanaka S, Nakamura K, Chung UI, Kawaguchi H. 2007. Akt1 in osteoblasts and osteoclasts controls bone remodeling. *PLoS ONE* 2:e1058.
6. Wakeyama H, Akiyama T, Takahashi K, Amano H, Kadono Y, Nakamura M, Oshima Y, Itabe H, Nakayama KI, Nakayama K, Nakamura K, Tanaka S. 2007. Negative feedback loop in the Bim-caspase-3

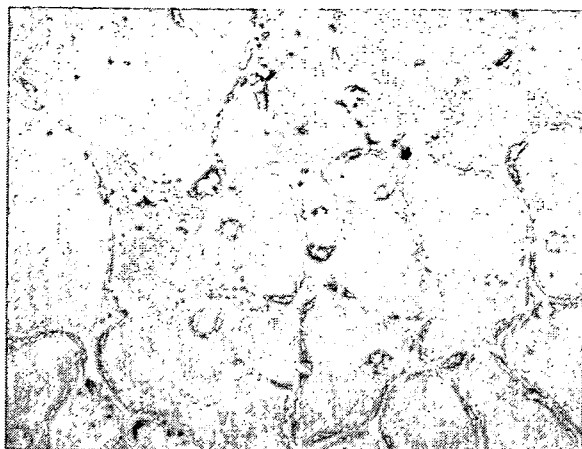
和文原著・総説

- 1) 田中 栄「OSTEO-Illustrated 破骨細胞分化・活性化の分子メカニズムと骨吸収抑制薬の作用機序」*BONE CARE* 3:2-4, 2007.
- 2) 田中 栄「関節破壊抑制療法の標的分子としての RANKL」*Clinical Calcium* 17:586-592, 2007.
- 3) 田中 栄「人工膝関節術後感染」*リウマチ科* 37:559-565, 2007
- 4) 田中 栄「完全ヒト型抗 RANKL 抗体デノスマブ」*骨粗鬆症治療* 6:270-274, 2007.
- 5) 田中 栄「完全ヒト型抗 RANKL 抗体 denosumab」*炎症と免疫* 15:575-579, 2007.
- 6) 田中 栄「炎症性骨破壊と破骨細胞」*生体の科学* 58:205-210, 2007.
- 7) 田中 栄「RANKL をターゲットにした骨関節疾患治療戦略」*臨床薬理* 38:79S-80S, 2007.

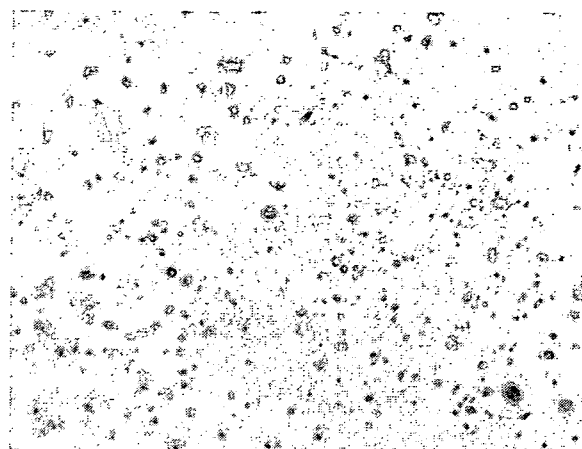
国際会議招待講演

1. A New York Academy of Sciences Meeting “Skeletal development and remodeling in health, disease & aging” (2007.5.18-21) New York: Session I, BONE CELL FORMATION AND FATE “Regulation of the life and death of the osteoclast”
2. 25th Annual Meeting of the Japanese Society for Bone and Mineral Research

- ANZBMS-JSBMR, Joint Symposium 1-4(2007.7.20) “Role of Bcl-2 Family on Skeletal Integrity”
3. 第 80 回日本整形外科学会学術集会 (2007.5.24) 教育研修講演「骨関節破壊を標的にした関節リウマチ治療戦略」
 4. 第 80 回日本整形外科学会学術集会 (2007.5.24) パネルディスカッション7:生物学的製剤の功罪と外科療法「生物学的製剤時代の関節破壊と骨破壊制御」
 5. 文京区医師会セミナー(2007.6.15)「骨質からみた骨粗鬆症治療薬の使い分け」
 6. 第 8 回印旛市郡整形外科医会研修会 (2007.6.27) 「骨粗鬆症治療 up-to-date」
 7. 小石川医師会学術講演会 (2007.7.4) 「骨粗鬆症治療薬の使い分け」
 8. 田中 栄、大熊千晶 厚生労働省難治性疾患研究事業 骨・関節系調査研究班 特発性大腿骨頭壊死症調査研究分科会平成 19 年度 第 1 回会議 研究成果報告会(2007.7.7)京都 「マウス骨壊死モデルの解析」
 9. 第 1 回秋田県骨粗鬆症フォーラム (2007.7.12) 「骨粗鬆症治療 up-to-date」
 10. 日本内分泌学会サマーセミナー (2007.7.17) ”Molecular biology of the skeletal development” Overview
 11. 第 33 回リウマチ中央教育研修会 (2007.7.28)「関節リウマチの骨・軟骨破壊」
 12. エピスタ3周年記念講演会(2007.7.28)札幌「骨質からみた骨粗鬆症治療薬の使い分け」
 13. 第28回 日本炎症・再生医学会 (2007.8.3)ワークショップ15「新規分子を標的とした炎症制御」
 14. 第 2 回 グルコサミン研究会研修会 (2007.8.23)「軟骨分化の分子メカニズム」
 15. 川崎講演会(2007.9.7)「骨吸収抑制薬による新しい骨粗鬆症治療」
 16. Mucosta Symposium for Orthopedic Surgeons & Gastroenterologists (2007.9.8)「膝痛の診断と治療」
 17. フォサマック錠 35 mg 発売 1 周年記念講演会(2007.9.11)「骨粗鬆症の診断と治療のポイントー整形外科の立場からー」
 18. Bone & Joint Research Club～第4回 骨と関節の代謝調節を考える基礎の会～ (2007.9.29-30)かづさ 特別セッション:【神経と運動器】「ミエリン分化の分子メカニズム」
 19. 運動器疾患/骨・関節フォーラム (2007.10.20)高松 「骨粗鬆症の診断と薬物治療の実際」
 20. 第 22 回 日本整形外科学会基礎学術集会(2007.10.25)浜松 シンポジウム2 骨免疫学「関節リウマチにおける骨破壊の機序」
 21. 秋田県臨床整形外科医会学術講演会 (2007.10.25)秋田 特別講演「骨質からみた骨粗鬆症治療薬の使い分け」
 22. 茨城県骨粗鬆症学術講演会 (2007.10.30)水戸 特別講演「骨吸収抑制薬による新しい骨粗鬆症治療法」
 23. 長野県 SERM 講演会(2007.11.1)松本 特別講演「骨質からみた骨粗鬆症治療薬の使い分け」
 24. 平成 19 年度 リウマチ・アレルギー相談員養成研修会(2006.11.7)新宿 「リウマチの外科治療・リハビリ」
 25. 第 35 回日本リウマチ・関節外科学会 (2007.11.9)シンポジウム1 人工膝関節の機種選択と限界「コンピューターナビゲーションシステムの関節リウマチ患者 TKA における有用性とその問題点」
 26. SERM 学術講演会 (2007.11.22)川越 特別講演「骨質からみた骨粗鬆症治療薬の使い分け」
 27. 第 8 回日本整形外科学会認定リウマチ医研修会(2007.11.25)東京 「関節リウマチ骨破壊の制御」
 28. 第 1 回骨・軟骨フロンティア(2007.12.1)東京 一般演題3 「骨軟骨における細胞死の制御」
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
特になし



SB431542 (-)



SB431542 3 μ M

(SB431542: TGF- β 受容体阻害剤)

図1 : TGF- β 受容体阻害剤による RANKL 依存性破骨細胞形成の阻害

RAに対する脂肪細胞分泌因子（アディポネクチン）の抗炎症・骨吸収抑制作用検討と治療薬開発に関する研究

分担研究者：前田和久 大阪大学内分泌代謝内科学教室

研究要旨：脂肪細胞分泌因子であるアディポネクチンは、コラーゲン誘導性関節炎モデルマウスの肝臓で過剰発現させると関節炎の発症および重症化が抑制された。免疫染色よりこのモデルにおいては関節軟骨での免疫複合体が形成されているにも関わらず、免疫複合体への補体C1qの沈着が有意に抑制されていた。In vitroでの検討よりアディポネクチンは至適条件下で免疫複合体と補体C1qの結合を阻害することが示された。またRA患者においては重症群では軽症群と比較して有意に血中アディポネクチン濃度が上昇していることが明らかとなり、炎症に対する生理的防御反応である可能性が考えられる。

A 研究目的

RAに伴う骨髄の脂肪化は広く知られている。また、脂肪組織分泌因子であるアディポネクチンは様々な細胞に対して抗炎症作用を発揮することが報告されている。本研究の目的はアディポネクチンと、RAおよびそれに伴う骨粗鬆症の病態との関係を解明し、RAの重症化防止治療薬開発に役立てることである。

B 研究方法

①コラーゲン誘導性関節炎モデルマウスに対してアデノウイルスを用いて肝臓でアディポネクチンを過剰発現させ、抗炎症・骨吸収抑制作用を検討した。

②コラーゲン誘導性関節炎モデルマウスの関節軟骨で形成される免疫複合体をプレート上に固層化し、C1qとの結合を検出するELISAの系を構築し、アディポネクチンによる結合阻害効果を検討した。

③2005年に大阪大学医学部付属病院にて加療中であった罹病期間5年以上のRA女性患者106人の血中アディポネクチン濃度を測定し、RA重症度や各種パラメーターとの相関を検討した。

C 研究結果

①コラーゲン誘導性関節炎モデルマウスにアディポネクチンを過剰発現させると関節炎の発症及び重症化が有意に抑制された。また、関節炎に伴う傍関節の骨吸収も抑制された。組織学上は関節炎発症群で認められる関節軟骨へのC1q沈着がアディポネクチン過剰発現群で有意に抑制されていた。

②アディポネクチンは至適条件下で濃度依存的に免疫複合体とC1qの結合を阻害することが明らかとなった。

③関節リウマチ患者では、破壊関節数より分類し

た重症度は血中アディポネクチン濃度と有意な正の相関を示した。

D 考察

アディポネクチンによる補体C1qと免疫複合体の結合阻害効果は至適条件下で発揮されることが明らかとなった。重症関節リウマチ患者での血中アディポネクチン濃度の上昇は、炎症に対する生理的防御反応である可能性が考えられる。

E 結論

アディポネクチンはin vivoではマウス関節炎の発症抑制効果を、in vitroではC1qと免疫複合体の結合阻害効果を発揮することより、RAとそれに伴う骨粗鬆症に対して有効な治療方策となり得る可能性が示唆された。

G 研究発表

学会発表
2007年7月19日 第25回日本骨代謝学会学術集会シンポジウム]

「脂肪細胞分泌因子（アディポネクチン）の骨代謝における役割」

蛭名耕介

2007年10月25-26日 第22回日本整形外科学会基礎学術集会

「血中アディポネクチン濃度は関節リウマチの重症度と相関する」

蛭名耕介

34th European Symposium on Calcified Tissues
5-9 May 2007 Copenhagen, Denmark

「Serum adiponectin levels are positively associated with the disease severity of rheumatoid arthritis evaluated with the extent of overall joint destruction」
Kosuke Ebina

H 知的所有権の出願・所得状況（予定を含む） 特記事項なし

DNase II 遺伝子欠損による関節炎発症機序の解明に関する研究

分担研究者 長田 重一 京都大学大学院医学研究科

研究要旨 アポトーシス細胞や赤血球前駆細胞の核はマクロファージによって貪食され、DNase II によって分解される。この DNA 分解が効率よく進行しないマウスはヒトのリューマチに似た関節炎を発症することが示された。また、アポトーシス細胞のリセプターとして作用する分子を同定した。

A. 研究目的

アポトーシスは細胞の凝縮と断片化、染色体 DNA の分解を伴う過程であり、カススペースと呼ばれるタンパク質分解酵素によって進行する。アポトーシス細胞はその最終段階で、マクロファージや樹状細胞によって速やかに貪食され、分解される。マクロファージで死細胞の DNA を分解する酵素はリソソームに存在する DNase II と呼ばれる酵素である。赤血球の分化過程で核が排出されるがこの核もマクロファージによって貪食され、DNase II によって分解される。DNase II 遺伝子を欠損したマクロファージはアポトーシス細胞や赤血球からの核を貪食するがその DNA を分解できないことから、大量の未分解 DNA を蓄積する。そのためマクロファージは IFN β を産生、この因子の作用により、マウスは発症途上、死滅する。平成 18 年、私達は DNase II 遺伝子と IFN タイプ I 受容体遺伝子をともに欠損するマウスを樹立し、このマウスは一見、正常に誕生するが年とともに慢性関節炎を発症することを見出した。同じような関節炎は DNase II 遺伝子をマウスの生後、誘導的に欠損させても観察された。以上の結果はアポトーシス細胞や赤血球の核がマクロファージによって貪食された後、その DNA が効率よく分解されなければ関節炎へと導くことを示している。本研究はこの関節炎発症の分子機構、特に本年はマクロファージによるアポトーシス細胞の貪食に関与している分子の同定を試みた。

B. 研究方法

マウスの腹腔マクロファージは効率よくアポトーシス細胞を貪食する。そこで、腹腔マクロファージを抗原として、ハムスターを免疫し、ハイブリドーマのライブラリーを作成した。この中から、アポトーシス細胞の貪食を阻害するモノクローナル抗体を同定、この抗体が認識するたんぱく質を発現クローニング法で同定した。

本研究はマウスを用いた研究であり、その研究計画は京都大学医学部動物実験委員会により承

認された。

C. 研究結果

マウス腹腔マクロファージに対する 1200 個のモノクローナル抗体からアポトーシス細胞の貪食を阻害する抗体 (Kat5-18) を見出した。この抗体が認識する分子をレトロウイルスを用いて作成した cDNA ライブラリーから発現クローニング法で同定したところ、Tim4 と呼ばれる膜たんぱく質であった。Tim4 をマウス L 細胞に発現させたところ、この細胞はアポトーシスを盛んに貪食した。また、Tim4 の細胞外領域は phosphatidylserine に高い親和性を持って結合した。

D. 考察

アポトーシス細胞を認識し、その貪食に関与する分子として数多くの分子が同定されており、混沌としている。特に、2000 年に phosphatidylserine receptor (PSR) として同定された分子は最近、核に存在するヒストン demethylase であることが報告された (Chang et al. *Science* 318:444, 2007)。今回、同定した Tim4 が phosphatidylserine receptor としてアポトーシス細胞の貪食に関与していると考えられるが、この分子がどのようなマクロファージに発現しているか、DNase II 遺伝子の欠損によっておこる関節炎にどのように関与しているかなど今後検討する必要がある。

E. 結論

マクロファージが発現する Tim-4 をアポトーシス細胞の貪食に関与する phosphatidylserine 受容体として同定した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Miyanishi, M., K. Tada, M. Koike, Y. Uchiyama, T. Kitamura, and S. Nagata. Identification of Tim4 as a phosphatidylserine receptor. *Nature* 450:435-439, 2007

2. Nagata, S. Autoimmune diseases caused by defects in clearing dead cells and nuclei expelled from erythroid precursors. *Immunological Reviews* 220:237-250, 2007
3. Nakahara, M., A. Nagasaka, M. Koike, K. Uchida, K. Kawane, Y. Uchiyama, and S. Nagata. Degradation of nuclear DNA by DNase II-like acid DNase in cortical fiber cells of mouse eye lens. *Febs J* 274:3055-3064, 2007

2. 学会発表

1) 国内 15 件

そのうち主なもの

学会発表

1. 長田 重一(平成 19 年 4 月 6 日)「細胞の死と死細胞の貪食」第 27 回日本医学会総会 シンポジウム 座長 大阪国際会議場 大阪
2. 長田 重一(平成 19 年 10 月 4 日)「Polyarthrititis developed by mammalian DNA that escaped from apoptotic DNA degradation.」第 66 回日本癌学会学術総会 モーニングレクチャー パシフィコ横浜 横浜

2) 海外 12 件

そのうち主なもの

学会発表

1. Nagata, S. (June 19, 2007) Polyarthritie caused by the failure in digesting DNA of corpses, The Gordon Conference on "Apoptotic Cell Recognition & Clearance", Symposium, Bates college, Maine, U.S.A.
2. Nagata, S.(September 26-30, 2007) Autoimmune diseases caused by defects in apoptotic cell death and clearing dead cells, The 2007 Cold Spring Harbor meeting on "Cell Death", Session chair, The Cold Spring Harbor Laboratory, New York, U.S.A.
3. Nagata, S. (February 9, 2008) Phosphatidylserine Receptor for Engulfment of Apoptotic Cells, Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Symposium, Beaver Run Resort, Colorado, USA

G. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)

1 特許取得

なし

2 実用新案登録

なし

3 その他

新聞、テレビ等での報道

1. 平成 19 年 6 月 21 日
京都新聞 生命科学は今「細胞の自殺」
2. 平成 19 年 11 月 15 日
読売新聞 他 体内の廃棄物処理 -スイッチ役たんぱく質解明-

関節リウマチ・骨粗鬆症の重症化防止治療開発研究
関節リウマチの炎症性骨破壊および滑膜異常における LIGHT の役割に関する研究

分担研究者 鈴木 隆二（独）国立病院機構 相模原病院 臨床研究センター 室長

研究要旨 RA の病因を骨髄に求める研究方針に従い、RA および OA 患者の骨髄液について網羅的遺伝子解析を行った結果、LIGHT/TNFSF14 を選択した。RA は炎症性骨破壊と滑膜組織の異常な活性化を病態とする慢性炎症疾患である。関節滑膜が病変の主体であるが、滑膜細胞の活性化がどのようなメカニズムで起こるのかは不明なところが多い。LIGHT は TNF superfamily に属するサイトカインで、RA 病態への関与が示唆されている。そこで本研究では、LIGHT の滑膜細胞に与える影響について検討した。その結果、LIGHT は RA における炎症性破骨細胞の形成と RA 滑膜の増殖に重要に関与している事を明らかにした。

A. 研究目的

関節リウマチ (RA) は炎症性骨破壊と滑膜組織の異常な活性化を病態とする慢性炎症疾患で、実際に骨破壊部には破骨細胞 (OC) が多く認められる。RA に特異的に発現し OA では発現の無い遺伝子群を GeneChip を用いて解析し、細胞膜上および分泌蛋白をコードする遺伝子として選択された LIGHT/TNFSF14 について RA 病態形成への関与を検討した。

B. 研究方法

1) LIGHT/TNFSF14 の滑膜活性化への関与：RA 患者および OA 患者の滑液と滑膜組織中の LIGHT の定量を ELISA および real-TimePCR を用いて検討した。また、滑膜組織中の HVEM と LTβR についても real-TimePCR を用いて検討した。RA 由来滑膜細胞株について LIGHT、EGF と PDGF 存在下での増殖活性を比較検討した。LIGHT による RA 患者由来滑膜細胞株の増殖が HVEM と LTβR のシグナルを介して惹起されるかについては、siHVEM, siLTβR を用いた *in vitro* で検討した。LIGHT 存在下で RA 由来滑膜細胞株を培養し上清中に産生される IL-8、MCP-1 を ELISA で、ICAM-1 の発現は real-TimePCR 測定し、その産生および発現が siHVEM, siLTβR のいずれかに影響されるか検討した。RA 滑膜細胞に対するシグナルに NF-κB の関与の有無を検討した。

2) LIGHT/TNFSF14 の炎症性破骨細胞誘導への関与：末梢血単球を M-CSF と RANKL で誘導される破骨細胞と、我々が報告した RA-Nurse 細胞上で分化する破骨細胞前駆細胞 (p-OC) について、LIGHT の関与を検討した。また、RA 罹患部に観察される破骨細胞は特徴的に MMP-12 を発現していることから、MMP-12 の発現の有無を検討した。

(倫理面への配慮)

本実験に給した臨床サンプルは、全て説明と同意の上入手した。本研究に使用したマウスは、動物愛護の精神に基づき適正に使用した。

C. 研究結果

1) LIGHT/TNFSF14 と滑膜活性化：RA 滑液および滑膜組織は OA のそれと比較して有意に LIGHT の発現が高いことが確認された。LIGHT 存在下に細胞増殖が確認され、その活性は EGF および PDGF と同程度であった。RA 滑膜上には LIGHT の受容体である HVEM と LTβR が共に発現していたが、LIGHT 依存性増殖および IL-8 と MCP-1 の産生誘導、ICAM-1 の発現誘導は共に siLTβR で抑制された。LIGHT による RA 滑膜細胞増殖と機能は NF-κB 阻害剤の PDCT で阻害された。LIGHT 存在下に NF-κB の核移行と IκBα の degradation が確認された。以上から、RA では LIGHT が高く存在し、RA 滑膜細胞は LIGHT により増殖する。LIGHT により炎症性サイトカイン、ケモカイン、接着因子

の発現が亢進され、これらは RA 滑膜上に存在する $LT\beta R-NF-\kappa B$ の経路であることが明らかとなった。

2). LIGHT/TNFSF14 と RA 炎症性破骨細胞誘導: LIGHT は RA に特徴的に存在する破骨細胞の分化・成熟に関与している。LIGHT は、末梢血単球 (PBMC) を RA 滑膜 Nurse 細胞と共培養することで得られた OC 前駆細胞 (pOC) に対しては OC 分化誘導作用を示し、その作用は RANKL により亢進したが、PBMC に対しては OC 誘導作用が認められなかった。LIGHT 誘導性 OC は、骨吸収能、TRAP、CTSK、MMP-9 などの破骨細胞マーカー遺伝子の発現、アクチンリングの形成などの OC 特徴的なプロファイルを示し、さらに、PBM 由来の OC には発現が認められない MMP-12 を発現していた。RA 罹患部関節の免疫染色により、MMP-12 陽性の TRAP 陽性 OC が認められたが、OA 関節では認められなかった。

D. 考察

上記の研究展開から、RA に関連すると考えられる分子として選択した、LIGHT/TNFSF14、RA 滑膜の増生と炎症性の液性因子および接着因子の発現亢進に関連することが示唆された。LIGHT のレセプターの中でこれらに関与するのは $LT\beta R$ であることを明らかにした。また、既に LIGHT による破骨細胞の誘導には HVEM が関与することを見出している。RA における滑膜増生とそれに伴う炎症性破骨細胞誘導は今回の検討から共に LIGHT が関係し、それぞれ、異なる 2 種類のレセプターを使用している。炎症と関節破壊の両方に関与する LIGHT の誘導機構は未だ不明のままであるが、RA 滑膜浸潤細胞が産生している可能性が高い。

E. 結論

今回の解析による RA 患者特異的遺伝子群の網羅的解析により抽出された遺伝子群の一つである LIGHT/TNFSF14 に付いては、RA 病態解明研究に新たな方向性を開く可能性が高いと結論した。

G. 研究発表

1). 論文発表

(1). 海外 7 件

LIGHT induces cell proliferation and inflammatory response of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts via lymphotoxin β receptor. Ishida S, Suzuki R.(9人中9番目) *Rheumatol*, 2007in press.
査読有

2). 学会発表

未

3). 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

4). 実用新案登録

なし

5). その他

なし

(別添5)

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
廣畑俊成	4章 関節リウマチ 鑑別すべき膠原病	越智隆弘 総編集	最新整形外科学 大系 No.19 関節リウマチ と類縁疾患	中山書店	東京	2007	238-245
廣畑俊成	10.リウマチ性疾患および アレルギー性疾患 I.リウマチ性疾患 10-11. Behçet病.	杉本恒明 矢崎義雄 総編集	内科学 (第9版)	朝倉書店	東京	2007	1093-1096
川根公樹 長田重一	DNAの分解異常による関 節炎		「実験医学」 Vol. 25, No. 4	羊土社	日本	2007	507-510

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ochi, T., Yoshikawa, H., Tososaki-maeda, T., Lipsky, P.E.	Mesenchymal stromal cells. Nurse-like cells reside in the synovial tissue and bone marrow in rheumatoid arthritis.	Arthritis Research & Therapy	9	201	2007
Inaba, M., Tanaka, K., Goto, H., Sakai, S., Yamada, S., Naka, H., Imanishi, Y., Nishizawa, Y.	Independent association of increased trunk fat with increased arterial stiffening in postmenopausal patients with rheumatoid arthritis.	J Rheumatol.	34	pp290-5.	2007
柏井将文、橋本淳、吉川秀樹	関節リウマチ	The Bone	21	123-128	2007
富田哲也、吉川秀樹	NFκBをターゲットとした変形性関節症に対する治療法の開発	整形・災害外科	50	950-951	2007
吉川秀樹	医工連携による次世代人工骨・人工関節の開発	生産と技術	59	86-88	2007
Tsuboi, H., Nampei, A., Matsui, Y., Hashimoto, J., Kawai, S., Ochi, T., Yoshikawa, H.	Celecoxib prevents juxta-articular osteopenia and growth plate destruction adjacent to inflamed joints in rats with collagen-induced arthritis.	Modern Rheumatology	17	115-122	2007
Tanaka, H., Sugamoto, K., Sahara, W., Ono, T., Tomita, T., Hashimoto, J., Yoshikawa, H.	The mode of destruction in shoulders with rheumatoid arthritis based on radiographic findings.	Journal of Shoulder and Elbow Surgery	16	539-543	2007
Liu, H., Sugamoto, K., Itohara, T., Tomita, T., Hashimoto, J., Yoshikawa, H.	In vivo three-dimensional skeletal alignment analysis of the hindfoot valgus deformity in patients with rheumatoid arthritis.	Journal of Orthopaedic Research	25	330-339	2007
Kitamura T, Hashimoto J, Murase T, Tomita T, Hattori T, Yoshikawa H., Sugamoto K.	Radiographic study of joint destruction patterns in the rheumatoid elbow.	Clinical Rheumatology	26	515-519	2007

Arimitsu, S., Murase, T., Hashimoto, J., Oka, K., Sugamoto, K., Yoshikawa, H., Moritomo, H.	A three-dimensional quantitative analysis of carpal deformity in rheumatoid wrists.	Journal of Bone and Joint Surgery	89B	490-494	2007
Nakamura N, Shimaoka Y. et al. (16人中2番目)	Isolation and expression profiling of genes upregulated in bone marrow-derived mononuclear cells of rheumatoid arthritis patients.	DNA Res.	31:13(4)	169-83	2006
Toyosaki-Maeda T, Shimaoka Y. et al. (10人中6人目)	Differentiation of monocytes into multinucleated giant bone-resorbing cells: two-step differentiation induced by nurse-like cells and cytokines.	Arthritis Res.	3(5)	306-10	2001
Hayashida K, Shimaoka Y, Ochi T, Lipsky PE.	Rheumatoid arthritis synovial stromal cells inhibit apoptosis and up-regulate Bcl-xL expression by B cells in a CD49/CD29-CD106 dependent mechanism.	J Immunol.	15:164(2)	1110-6	2000
Shimaoka Y, Attrep JF, Hirano T, Ishihara K, Suzuki R, Toyosaki T, Ochi T, Lipsky PE.	Nurse-like cells from bone marrow and synovium of patients with rheumatoid arthritis promote survival and enhance function of human B cells.	J Clin Invest.	1:102(3)	606-18	1998
Miyashita T, Shimaoka Y. et al. (7人中6人目)	Bidirectional regulation of human B cell responses by CD40-CD40 ligand interactions.	J Immunol.	15:158(10)	4620-33	1997
Imanaka T, Shichikawa K, Inoue K, Shimaoka Y, Takenaka Y, Wakitani S.	Increase in age at onset of rheumatoid arthritis in Japan over a 30 year period.	Ann Rheum Dis.	56(5)	313-6	1997
Tomita T, Shimaoka Y, et al. (10人中2番目)	Enhanced expression of CD14 antigen on myeloid lineage cells derived from the bone marrow of patients with severe rheumatoid arthritis.	J Rheumatol.	24(3)	465-9	1997
Tomita T, Shimaoka Y, et al. (10人中3番目)	Phenotypic characteristics of bone marrow cells in patients with rheumatoid arthritis.	J Rheumatol.	21(9)	1608-14	1994
Tanabe M, Shimaoka Y. et al. (8人中6人目)	Remarkable elevation of interleukin 6 and interleukin 8 levels in the bone marrow serum of patients with rheumatoid arthritis.	J Rheumatol.	21(5)	830-5	1994
Ochi T, Shimaoka Y, et al. (8人中7番目)	A concept to make schedules of therapies based on the natural courses of patients with rheumatoid arthritis.	Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi.	68(1)	50-61	1994
Owaki H, Yukawa K, Ochi T, Shimaoka Y, Ono K.	Facs analysis of myeloid differentiation stages in epiphyseal bone marrow, adjacent to joints affected with rheumatoid arthritis.	Scand J Rheumatol.	20(2)	91-7	1991
Rosenthal AK, Gohr CM, Uzuki M, Masuda I	Osteopontin promotes pathologic mineralization in articular cartilage	Matrix Biology	26	96-105	2007
Miki Y, Suzuki T, Hatori M, Igarashi K, Aisaki KI, Kanno J, Nakamura Y, Uzuki M, Sawai T, Sasano H	Effects of aromatase inhibitors on human osteoblast and osteoblast-like cells: A possible androgenic bone protective effects induced by exemestane	Bone	40	876-887	2007
宇月美和、佐々木喜子、澤井高志	関節リウマチ(RA)における軟骨・骨破壊の病理学的特徴	Clinical Calcium	17	474-483	2007

字月美和、佐々木喜子、 澤井高志	関節疾患の病理学的基礎	臨床画像	23	1346- 1361	2007
徳永勢二、字月美和、鎌 滝章央、貝山 潤、嶋村 正	関節リウマチ患者の関節内でのヒアルロン酸分解酵 素 (hyaluronidase) の発現と分布について	岩手医誌	59	89-98	2007
Hirohata S, Arinuma Y, Yanagida T	Specificity of enzyme-linked immunosorbent assay for IgG anti-NR2 glutamate receptor antibodies: Comment on the concise communication by Yoshio et al.	Arthritis Rheum	56	386- 387	2007
Hirohata S, Arinuma Y, Takayama M, Yoshio T	Association of cerebrospinal fluid anti-ribosomal P protein antibodies with diffuse psychiatric/neuropsychological syndromes in systemic lupus erythematosus.	Arthritis Res Ther	9	R44	2007
Hashimoto A, Hayashi I, Murakami Y, Sato Y, Kitasato H, Matsushita R, Iizuka N, Urabe K, Itoman M, Hirohata S, Endo H.	Antiinflammatory mediator lipoxin A4 and its receptor in synovitis of patients with rheumatoid arthritis.	J Rheumatol	34	2144- 53	2007
Hirohata S.	Histopathology of central nervous system lesions in Behçet's disease.	J Neurol Sci	[E-pub]		2007
Hashimoto A, Matsui T, Tanaka S, Ishikawa A, Endo H, Hirohata S, Kondo H, Neumann E, Turner IH, Muller-Ladner U	Laser-mediated microdissection for analysis of gene expression in synovial tissue.	Mod Rheumatol	17	185-90	2007
Hirohata S	Potential new therapeutic options for involvement of central nervous system in Behçet's disease (Neuro- Behçet's syndrome).	Curr Rheumatol Rev	3	297- 303	2007
廣畑俊成	プライマリ・ケア医のための関節リウマチの診かた。関節 リウマチの治療: そのほかの抗リウマチ薬の使い方と副 作用(金製剤、D-ペニシラミン、プシラミン、サラソスル ファピリジン)。	治療	89	292- 296	2007
廣畑俊成	特集: 生物学的製剤の免疫薬理と臨床 完全ヒト化抗 TNF- α 抗体(アダリムマブ、ゴリムマブ)。	日本臨床	65	1202- 1208	2007
廣畑俊成	特集 膠原病: 診断と治療の進歩 II. 診断と治療の実 際 10. Behçet病。	日内会誌	96	2220- 2225	2007
廣畑俊成	免疫抑制薬の臨床応用実践論 第13回 ベーチェット 病。	炎症と免疫	16	93-96	2007
廣畑俊成	リウマチ・膠原病のすべて Part2 リウマチ・膠原病のい ろいろ: ベーチェット病。	からだの科学	256	85-89	2007
廣畑俊成	[整形外科医のための標準薬物治療の基礎知識] プシ ラミン-まだまだ存在価値があるtraditional DMARD-	骨・関節・靭 帯	20	1109- 1114	2007
Yamamura, K. Araki, K.	Gene trap mutagenesis in mice: New perspectives and tools in cancer research.	Cancer Science	99	1-6	2008
Yang CS, Tanaka S et al.	Protein kinase C zeta plays an essential role for Mycobacterium tuberculosis-induced extracellular signal- regulated kinase 1/2 activation in monocytes/macrophages via Toll-like receptor 2.	Cell Microbiol	9	382- 396	2007
Kono SJ, Tanaka S et al.	Erk pathways negatively regulate matrix mineralization.	Bone	40	68-74	2007

Suematsu A. <u>Tanaka S</u> et al.	Scientific basis for the efficacy of combined use of antirheumatic drugs against bone destruction in rheumatoid arthritis.	Mod Rheumatol	17	17-23	2007
Hiramatsu K. <u>Tanaka S.</u> et al.	Overexpression of γ -Glutamyltransferase in Transgenic Mice Accelerates Bone Resorption and Causes Osteoporosis	Endocrinology	148	2708-2715	2007
Kawamura N. <u>Tanaka S</u> et al.	Akt1 in osteoblasts and osteoclasts controls bone remodeling.	PLoS ONE	2	e1058	2007
Wakeyama H. <u>Tanaka S</u> et al.	Negative feedback loop in the Bim-caspase-3 axis regulating apoptosis and activity of osteoclasts.	J Bone Miner Res	22	1631-1639	2007
Miyanishi, M., <u>Nagata, S.</u> et al.	Identification of Tim-4 as a phosphatidylserine receptor.	Nature	450 (7168)	435-439	2007
<u>Nagata, S.</u>	Autoimmune diseases caused by defects in clearing dead cells and nuclei expelled from erythroid precursors.	Immunol. Rev.	220 (1)	237-250	2007
Nakahara, M. <u>Nagata, S.</u> et al.	Degradation of nuclear DNA by DNase II-like acid DNase in cortical fiber cells of mouse eye lens.	FEBS J.	274 (12)	3055-3064	2007
Ueda, T., <u>Nagata, S.</u> et al.	Critical role of the p400/mDomino chromatin-remodeling ATPase in embryonic hematopoiesis.	Genes Cells	12(5)	581-592	2007
Witasp, E. <u>Nagata, S.</u> et al.	Bridge over troubled water: milk fat globule epidermal growth factor 8 promotes human monocyte-derived macrophage clearance of non-blebbing phosphatidylserine-positive target cells.	Cell Death Differ	14(5)	1063-1065	2007
Ishida S, <u>Suzuki R.</u> (9人中9番目)	LIGHT induces cell proliferation and inflammatory response of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts via lymphotoxin β receptor.	Rheumatol	In press		2007