

研究課題： 関節リウマチ・骨粗鬆症の重症化防止治療法開発に関する研究

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

主任研究者：越智隆弘 大阪大学医学系研究科 招聘教授

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：我々は脂肪細胞分泌因子であるアディポネクチンが、マウス前駆骨芽細胞の分化・増殖を促進し、マウス骨髄マクロファージからの破骨細胞の分化を抑制することを報告した。次いでアディポネクチンがヒトRA患者特異的破骨細胞においても分化を抑制することを示した。コラーゲン誘導性関節炎モデルマウスの肝臓でアディポネクチンを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ることが明らかとなった。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明らかとなった。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 マウス前駆骨芽細胞MC3T3-E1の分化誘導時およびマウス骨髄マクロファージにRANKLとM-CSFを添加した破骨細胞分化誘導時にアディポネクチンを添加しその効果を検討した。
- ② RA患者の末梢血CD14陽性単球を、RA患者関節滑膜由来マース細胞と共培養した後M-CSFを添加してRA特異的破骨細胞を誘導した。この過程でのアディポネクチン添加時の効果を検討した。
- ③ 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。
- ④ 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。
- ⑤ 2005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 アディポネクチンはマウス前駆骨芽細胞MC3T3-E1の分化および増殖を促進した。また、マウス破骨細胞の分化を抑制した。
- ② アディポネクチンはRA特異的破骨細胞の分化を抑制した。
- ③ 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。免疫染色にて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。
- ④ 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。
- ⑤ 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

アディポネクチンは骨芽細胞の分化を促進し、破骨細胞の分化を抑制することより骨量保存的に作用する可能性が示された。またRA特異的破骨細胞の分化を抑制すること、および関節炎モデルマウスにおいて過剰発現で発症・重症化を抑制することよりRAの病態に抑制的に作用していることが示唆された。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では破骨細胞分化抑制およびClq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。

F 研究発表

1. 論文発表

- ① Adiponectin increases bone mass by suppressing osteoclast and activating osteoblast K.Oshima, A.Nampe, M.Matsuda, M.Iwaki, A.Fukuhara, J.Hashimoto, H.Yoshikawa, I.Shimomura B.B.R.C. 331(2005) 520-526
- ② The effects of visceral fat accumulation by diabetes mellitus on bone metabolism K.Oshima, I.Shimomura, H.Iwahashi Clin Calcium(2006)volumel6, issue8, page72-82
- ③ Adiponectin increases bone mass by suppressing osteoclast and activating osteoblast K.Oshima, A.Nampe, M.Matsuda, M.Iwaki, A.Fukuhara, J.Hashimoto, H.Yoshikawa, I.Shimomura Bone Volume 38, Issue 3, Supplement 1, March 2006, Page 29
- ④ Serum adiponectin levels are positively associated with the disease severity of rheumatoid arthritis evaluated with the extent of overall joint destruction K.Ebina, J.Hashimoto, W.Ando, M.Hirao, K.Oshima, M.Matsuda, I.Shimomura, H.Yoshikawa Calcified Tissue International Volume80, Supplement1, 2007, Page106

2. 学会発表

- ① ADIPONECTIN INCREASES BONE MASS IN MICE BY SUPPRESSING OSTEOCLASTOGENESIS AND ACTIVATING OSTEOBLASTOGENESIS K.Oshima, I.Shimomura, H.Yoshikawa, J.Hashimoto, A.Fukuhara, M.Iwaki, M.Matsuda, A.Nampe The 2nd Joint Meeting of the European Calcified Tissue Society and the International Bone and Mineral Society (Young Investigator Award)
- ② 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1「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
- ③ 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
- ④ 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 K.Ebina

G 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

主任研究者 越智 隆弘 大阪大学医学系研究科 招聘教授

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。

分担研究者氏名：長田 重一
所属機関名：京都大学大学院医学研究科
職名：教授

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

平成 19 年度

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。

Biology, Symposium, Beaver Run Resort,
Colorado, USA

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. 健康危険情報

本研究はマウスを使った動物実験であり、研究者の健康への直接の影響はないと考えられる。いずれにしろ、この実験による研究者の健康への影響はない。

G. 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. *Feb 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) Polyarthrititis 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

H. 知的所有権の出願・取得状況

- 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
RA 骨髄細胞由来病因遺伝子解明と治療法開発に関する研究

主任研究者 越智 隆弘 大阪大学医学系研究科 招聘教授

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。RA に特徴的に発現し、OA では発現が無い、もしくは少なく、さらに、細胞膜上または分泌蛋白をコードする遺伝子として LIGHT/TNFSF14 を選択し、RA における破骨細胞の形成と RA 滑膜の増殖に重要に関与している事を明らかにした。同時に選択された Granulin については、機能解析を目的にモノクロー抗体の作成を行い、ELISA 系の作成を行った。また、RA 病巣に特徴的に存在する Nurse 細胞に選択的に発現が予想される遺伝子については、subtractuion 法で hu-sulf-1 を選択しが、その機能と RA 病態形成への関与は解明されていない。近年、単球(Mφ)・樹上細胞(DC)に発現し CD47 のレセプターでありリガンドでもある Src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase substrate 1 (SHPS-1) が破骨細胞形成と炎症に関わる事が明らかになりつつある。本研究では抗マウス SHPS-1 モノクロー抗体(anti-mouse SHPS-1mAb)を用いたコラーゲン誘発関節炎マウスモデルで評価した結果、本抗体の投与により、関節炎に対して治療的効果があることが確認された。野島らが RA 骨髄と OA 骨髄間で行った段階的 subtraction 法で RA に特異的に発現が確認された Amphiregulin(AREG)は、RA 滑膜細胞の増殖と血管新生に関与することが明らかとなった。

分担研究者 所属期間 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

A. 研究目的

「リウマチの主病巣が骨髄」であるという主任研究者の提唱した考え方に従って、RA および OA 患者の骨髄液を用いた網羅的遺伝子解析を行い、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について選択した。また、RA 病巣に特徴的に存在する Nurse 細胞に選択に発現する遺伝子については、Subtraction 法も併用した。さらに、単球・Mφ・DC に発現し CD47 と相互作用を示す SHPS-1 は破骨細胞の融合と多核化の過程に関連することや、T 細胞の活性化や制御にも関連すると言う報告があることに注目し、抗マウス SHPS-1 モノクロー抗体のマウス CIA モデルに対する治療効果の有無を検討した。これらの検討から選択された分子については、RA の主病巣・二次的病

巣の病態形成への関与を解明し、最終的には新規診断・治療法の開発研究に資することを目的としている。

B. 研究方法

- 1) GeneChip による網羅的解析：
RA および OA 患者骨髄液：RA 患者の腸骨骨髄液は行岡病院、OA 患者の腸骨骨髄液は共和会病院でそれぞれ 10 例採取したサンプルを用いた。GeneChip は Affymetrix 社の GeneChip Genome U133 Plus 2.0 Array(搭載されている Probe set 数：54,675/array)を使用し、RA および OA 骨髄細胞から抽出した total RNA 3ug を解析に用いた。目的とする解析は、群間比較検定、フィルタリング、クラスタリング解析を行い、抽出遺伝子の特徴解析として、FoldChange 解析、GeneOntology 解析、Pathway 解析、GSEA(GeneSet Enrichment Analysis)解析を行った。最終的には、細胞膜上もしくは分泌蛋白であるという基準で遺伝子の選定を行った。
- 2) Subtraction による探索：
Nurse 細胞株と非 Nurse 細胞株で発現遺伝子について、また、RA と OA 骨髄液間で

Subtraction を行い、最も特徴的に発現が観察された遺伝子を選択した。

3) SHPS-1 の選択：

抗マウス SHPS-1 モノクロー抗体を用いて、マウス CIA モデルに対する効果を検討した。また、*in vitro* で、破骨細胞形成、サイトカイン産生誘導に対する効果を検討した。

(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). GeneChip 解析より：

(1). RA および OA 患者骨髄液を使用し、GeneChip 解析を行い、RA 患者で発現強度の高い遺伝子の抽出に成功した。

(2). LIGHT/TNFSF14 の選択と RA 病態への関与：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 LT β R 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 siLT β R で抑制された。LIGHT による RA 滑膜細胞増殖と機能は NF- κ B 阻害剤の PDCT で阻害された。LIGHT 存在下に NF- κ B の核移行と I κ B α 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 β R-NF- κ B の経路であることが明らかとなった。さらに、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。

(3). また、RA に関する既報は無いが、炎症時に epithelial および hematopoietic cell が産生し、epithelial および mesenchymal cell の増殖を調整する emerging family of growth factors である Granulin が検出された。RA における Granulin の病態への関与を行うために、抗 Granulin モノクロー抗体を作成し、RA 患者における発現量を蛋白レベルで検討するために ELISA 系を作成した。

(4). 抽出された高発現遺伝子中の細胞外分泌蛋白をコードする遺伝子群には、越智主任研究者が見出した骨髄異常を強く補佐する遺伝子が多く存在していた。① IL-8, CEACAM8: Myeloid 系細胞の機能に強く影響をする分子。② PTX3: 炎症時に IL-1 β により誘導される炎症性蛋白で、最近、炎症疾患で FGF-2 (angiogenic fibroblast growth factor 2) と共に検出され、FGF-2 による血管新生機能調節に重要に関与。③ Gelsolin: 破骨細胞の Actin Ring 形成に重要に作用する分子。④ CHI3L1 (Chitinase 3-like protein human cartilage glycoprotein 39): RA の炎症時および Matrix 破壊時に検出され、MMP-1, -3, -13 および IL-8 産生誘導を抑制。などが検出されている。

2). Subtraction 解析より：

(1). RA 骨髄液と OA 骨髄液間での検討から選択された Amphiregulin (AREG) に関して、ヒト組換え AREG により刺激した滑膜細胞の増殖促進について 3H-TdR 取り込みにより検討した。その結果、組換え AREG の用量依存的に滑膜細胞における de novo DNA 合成が促進され、AREG に滑膜細胞増殖促進活性があることが確認された。次に同様に組換え AREG により刺激された滑膜細胞の炎症性サイトカイン発現について定量 PCR により検討した。炎症性サイトカイン 7 種 (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8, GM-CSF, MCP-1, VEGF) のうち IL-6, IL-8, GM-CSF, VEGF の発現が AREG 用量依存的に誘導されていた。

(2). Nurse 細胞に選択的に発現が確認された hu-sulf-1 については、腫瘍細胞増殖抑制効果を有すると言う報告から RA 滑膜増殖に negative に関与している可能性があると共に、抗体作成が順調に行っていないため機能解析が進んでいない。

3). SHPS-1 に関して：

Anti-SHPS-1mAb の投与は、CIA マウスで観察される関節部の炎症、骨と軟骨の破壊を有意に減少させた。この効果は、CIA マウスの関節炎発症後からの anti-SHPS-1mAb 投与によっても観察された。anti-SHPS-1mAb 投与によっても CIA マウスにおける anti-CⅡ Ab 濃度には何ら影響は無かった。in vitro 実験系で、Anti-SHPS-1mAb はマウス骨髄細胞の破骨細胞形成を有意に抑制し、マウス脾細胞を ConA 刺激で誘導される IL-1 β , IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF- α を有意に抑制したが、IL-4, IL-10 は抑制しなかった。

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、LIGHT、Granulin、SHPS-1、Amphireglin、hu-sulf-1 を選択した。

1). LIGHT に関しては、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 LIGHT が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 β 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。

2). SHPS-1 に関しては、今回の結果から Anti-SHPS-1mAb の投与により、CIA マウスの関節炎を抑制することが示された。Anti-SHPS-1mAb の投与は、CIA マウス血中の anti-CⅡ Ab 濃度には何ら影響を与えることが無かったことから、液性免疫系への抑制効果は有していない。さらに、マウス脾細胞からの IL-1 β ,

IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF- α 産生抑制と IL-4, IL-10 産生誘導に対する無影響から Anti-SHPS-1mAb は Th1 からのサイトカイン誘導を抑制し、液性免疫より細胞性免疫に影響を与えていることが示唆された。RA に臨床で anti-TNF- α 治療が行われており、また、CIA マウスに IL-4, IL-10 を投与することにより関節炎の severity が減少することから、ある部分では Th1/Th2 バランスの修飾により症状の改善に影響すると考えられ、SHPS-1 はそれを調節分子であることが示された。Anti-SHPS-1mAb は破骨細胞形成を抑制した。これは SHPS-1 と CD47 の直接的細胞相互作用による可能性が高いが、SHPS-1 分子が破骨細胞形成に関与する TNF- α や M-CSF, IL-1 β の産生抑制による間接的な効果による可能性もある。

3). Amphireglin(AREG) に関しては、AREG には滑膜細胞増殖促進活性の他、炎症性サイトカイン、血管新生促進活性もあることが示唆された。RA 患者においては全身性に AREG 発現亢進が起こっており、これが罹患関節組織における AREG 発現亢進につながり、滑膜細胞を刺激して滑膜増生を惹き起こしている可能性が示唆された。

4). Granulin に関しては、RA での報告が無いことから、初めに患者サンプル中での蛋白定量を行い、その結果と臨床情報を合わせて観ることから始めている。既に、分担研究者の島岡らが、C1q を測定して、患者重症度との相関性を示唆する結果を報告しているが、その際に使用したサンプルと同一のものについて検討を予定している。

5). Hu-sulf-1 に関しては、Nurse 細胞に対する特異性は高いが、機能的には不明な点が多い。また、論文上の報告では、細胞増殖抑制作用が示唆されている。現在までに、抗体作成も順調ではない。

上記したこれら遺伝子は、RA 病態形成に重要に関与するとして我々が報告してきた RA 特有な線維芽細胞である RA ナース細胞の過剰増殖に直接の原因と成る可能性がある。また、RA に特徴的な破骨細胞の誘導に関与する分子、免疫バランスを調整する分子も含まれ、今後の精査により、新規診断および治療開発に迫れる可能性がある。

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については、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。

F. 研究発表

1). 論文発表

(1). 海外 6 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.* 2007. in press. 査読有

Isolation and expression profiling of genes upregulated in bone marrow-derived mononuclear cells of rheumatoid arthritis patients. Nakamura N, Suzuki R. (17 人中 14 番目), *DNA Res* ;13(4):169-83,2006. 査読有

Src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase substrate 1 regulates the induction of Langerhans cell maturation. Fukunaga A, Suzuki R. (11 人中 7 番目), *Eur J Immunol* ; 36(12):3216-26,2006. 査読有

Limited VH gene usage in B-cell clones established with nurse-like cells from patients with rheumatoid arthritis. Nakamura S, Suzuki R.(18 人中 17 番目), *Rheumatol* ; 45(5): 549-57,2005. 査読有

Pro-inflammatory cytokine tumor necrosis factor-alpha induces bone morphogenetic protein-2 in chondrocytes via mRNA stabilization and transcriptional up-regulation. Fukui N, Suzuki R. (9 人中 7 番目), *J Biol Chem* ; 281(37): 27229-241, 2006. 査読有

Production of interleukin-6 and interleukin-8 by nurse-like cells from rheumatoid arthritis patients after stimulation with monocytes. Tanaka K,

Suzuki R.(11 人中 10 番目), *Mol Rheumatol* ; 5(6): 415-22,2005. 査読有

(2). 国内 2 件

鈴木隆二

リウマチの破骨細胞

臨床整形外科(2006) 41(3):260-263.

鈴木隆二、越智隆弘

関節リウマチにみられる特異な破骨細胞分化機序

Rheumatology Clinical Update(2006) 13:15-18.

2). 学会発表

未

3). 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

Patent No.: US6,861,257 B1

Date of Patent: Mar.1 2005.

METHODS FOR ISOLATION OF OSTEOCLAST PRECURSOR CELLS AND INDUCING THEIR DIFFERENTIATION INTO OSTEOCLASTS

Tomoko Maeda, Ryuji Suzuki, Takahiro Ochi

4). 実用新案登録

なし

5). その他

なし

(別添4)

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
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編集委員会 (垣内史堂編集委員長) 編	免疫学ハンドブック (Immunology handbook)	オーム社	東京	2005	394-398.
広畑俊成	14. 膠原病及び類縁疾患 ベーチェット病(内科).	山口徹、北原光夫、福井次矢 総編集	今日の治療指針 2006(ポケット版)	医学書院	東京	2006	608-610
広畑俊成	6. 抗リウマチ薬各論一本邦既承認薬 6-2免疫抑制薬 4. タクロリムス. 7. 抗リウマチ薬各論一本邦未承認薬 7-2免疫抑制薬 1. アザチオプリン、 2. シクロホスファミド、3. シクロスポリン.	川合真一 編集	抗リウマチ薬の選び方と使い方	南江堂	東京	2006	52-54 81-89
広畑俊成	III. 骨・関節疾患 1. 骨粗鬆症、 2. 関節リウマチ、 3. 変形性関節症.	石崎高志 鎌滝哲也 望月真弓 編集	薬物療法学	南江堂	東京	2006	205-219
広畑俊成	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
広畑俊成	10. リウマチ性疾患およびアレルギー性疾患 1. リウマチ性疾患 10-11. Behcet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.	Nurse-like cells reside in the synovial tissue and bone marrow in rheumatoid arthritis.	Arthritis Research & Therapy	9	201-206	2007

山田真介, 稲葉雅章, 後藤仁志, 田中一匡, 酒井真礼, 白川久美, 今西康雄, 西沢良記	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	Osteoporosis Japan	14,	39-41	2006
田中一匡, 稲葉雅章, 櫻井真由美, 山田真介, 酒井真礼, 後藤仁志, 西沢良記.	関節リウマチ患者では傍関節性骨粗鬆症の進展が末梢の動脈硬化進展に関与する	Osteoporosis Japan	14,	291-293,	2006
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,	188,	pp196-202,	2006.
Tanaka, K. Inaba, M. Goto, H. Nagata-Sakurai, M. Sakai, S. Yamada, S. Ueda, M. Ishimura, E. Nishizawa, Y.	Paraarticular trabecular bone loss at the ultradistal radius and increased arterial stiffening in postmenopausal patients with rheumatoid arthritis. Independent association of	J Rheumatol,	33	652-8,	2006
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
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, 高橋康一郎, 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・人工関節の開発と課題	人体にやさしい医療材料, クバプロ		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		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
Kaito, T., Myoui, A., Takaoka, K., Saito, N., Nishikawa, M., Tamai, N., Ohgushi, H., Yoshikawa, H.	Potential 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., <u>Yoshikawa, H.</u> , 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., <u>Yoshikawa, H.</u>	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., <u>Yoshikawa, H.</u> , 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
<u>Yoshikawa, H.</u> , Myoui, A.	Bone tissue engineering with porous hydroxyapatite ceramics	J Art Org	8	131-136	2005
妻木範行、村井純子、岩井貴男、岡本美奈、 <u>吉川秀樹</u>	BMPシグナルと骨形成・骨吸収	The Bone	20	343-348	2006
名井陽、玉井宣行、荒木信人、藤井昌一、富田哲也、古野雅彦、 <u>吉川秀樹</u>	連通気孔構造を有するハイドロキシアパタイト人工骨の臨床応用、物理学的特性・臨床的特徴・問題点	日整会誌	80	262-269	2006
坪井秀規、 <u>吉川秀樹</u>	関節リウマチにみられる骨粗鬆症の臨床病態	Rheumatology	13	22-25	2006
向井克容、細野昇、坂浦博伸、藤原桂樹、富士武史、 <u>吉川秀樹</u>	関節リウマチ中下位頸椎病変に対する椎弓形成術	別冊整形外科	50	108-112	2006
Ando, W., Hashimoto, J., Nampei, A., Tsuboi, H., Tateishi, K., Ono, T., Nakamura, N., Ochi, T., <u>Yoshikawa, H.</u>	Imatinib mesylate inhibits osteoclastogenesis and joint destruction in rats with collagen-induced arthritis	Journal of Bone Mineral Metabolism	24(CI A)	274-282	2006
Hirao, M., Tamai, N., Tsumaki, N., <u>Yoshikawa, H.</u> , Myoui, A	Oxygen tension regulates chondrocyte differentiation and function during endochondral ossification.,:	Journal of Biological Chemistry	281	3179-3192	2006
Hirohata, S., Miura, Y., Tomita, T., <u>Yoshikawa, H.</u> , Ochi, T., Chiorazzi, N	.Enhanced expression of mRNA for nuclear factor kB1(p50) in CD34+ cells of the bone marrow in rheumatoid arthritis	Arthritis Research & Therapy	8	R54	2006
Kaito, T., Mukai, Y., Nishikawa, M., Ando, W., <u>Yoshikawa, H.</u> , Myoui, A	Dual hydroxyapatite composite with porous and solid parts: Experimental study using canine lumbar interbody fusion model	J Biomed Mater Res B Appl Biomater	78	378-84	2006
Kawane, K., Ohtani, M., Miwa, K., Kizawa, T., Kanbara, Y., Yoshioka, Y., <u>Yoshikawa, H.</u> , Nagata, S	Chronic polyarthritis caused by mammalian DNA that escapes from degradation in macrophages	Nature	443	998-1002	2006
Kunugiza, Y., Tomita, T., Tomita, N., Morishita, R., <u>Yoshikawa, H.</u>	Inhibitory effect of ribbon-type NFkB decoy oligodeoxynucleotides on osteoclast induction and activity in vitro and in vivo	Arthritis Research & Therapy	8	R103	2006
Matsubara, T., Myoui, A., Ikeda, F., <u>Yoshikawa, H.</u> , Yoneda, T	Critical role of cortactin in actin ring formation and osteoclastic bone resorption	Journal of Bone Miner Metabolism	24	368-372	2006
Nakase, T., <u>Yoshikawa, H.</u>	Potential roles of bone morphogenetic proteins (BMPs) in skeletal repair and regeneration	Journal of Bone and Mineral Metabolism	24	425-433	2006

Okamoto, M., Murai, J., <u>Yoshikawa, H.</u> , Tsumaki, N	Bone morphogenetic proteins in bone stimulate osteoclasts and osteoblasts during bone development.	Journal of Bone Mineral Research	21	1022-1033	2006
Sakaura, H., Hosono, N., Mukai, Y., Fujii, R., <u>Yoshikawa, H</u>	Paraparesis due to exacerbation of preexisting spinal pseudoarthrosis following infliximab therapy for advanced ankylosing spondylitis.	Spine Journal	6	325-329	2006
Shi, K., Hayashida, K., Hashimoto, J., Sugamoto, K., Kawai, H., <u>Yoshikawa, H</u>	Hydroxyapatite augmentation for bone atrophy in total ankle replacement in rheumatoid arthritis.	Journal of Foot and Ankle Surgery	45	316-321	2006
Tomita, T., Kunugiza, Y., Tomita, N., Takano, H., Morishita, R., Kaneda, Y., <u>Yoshikawa, H</u>	E2F decoy oligodeoxynucleotide ameliorates cartilage invasion by infiltrating synovium derived from rheumatoid arthritis. International	Journal of Molecular Medicine	18	257-265	2006
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., <u>Yoshikawa, H.</u>	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., <u>Yoshikawa, H.</u>	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., Itohar, T., Tomita, T., Hashimoto, J., <u>Yoshikawa, H.</u>	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, <u>Yoshikawa, H.</u> , 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., <u>Yoshikawa, H.</u> , 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, <u>Shimaoka Y.</u> 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, <u>Shimaoka Y.</u> 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, <u>Shimaoka Y</u> 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

<u>Shimaoka Y</u> , 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, <u>Shimaoka Y</u> , 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, <u>Shimaoka Y</u> , 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, <u>Shimaoka Y</u> , 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, <u>Shimaoka Y</u> , 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, <u>Shimaoka Y</u> , 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, <u>Shimaoka Y</u> , 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, <u>Shimaoka Y</u> , 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, <u>Uzuki M</u> , Masuda I	Osteopontin promotes pathologic mineralization in articular cartilage	Matrix Biol	26	96-105	2007
Miki Y, Suzuki T, Hatori M, Igarashi K, Aisaki KI, Kanno J, Nakamura Y, <u>Uzuki M</u> , 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
Yoshimura F, Kanno H, <u>Uzuki M</u> , Tajima K, Shimamura T, Sawai T	Downregulation of inhibitor of apoptosis proteins in apoptotic human chondrocytes treated with tumor necrosis factor-alpha and actinomycin D	Osteoarthritis Cartilage	14	435-441	2006
Matsushita I, <u>Uzuki M</u> , Matsuno H, Sugiyama E, Kimura T	Rheumatoid nodulosis during methotrexate therapy in a patient with rheumatoid arthritis	Mod Rheumatol	16	401-403	2006
宇月美和、徳永勢二、佐藤克巳、澤井高志	関節病変の病理	臨床リウマチ	18	103-113	2006
Miyazaki T, Bub JD, <u>Uzuki M</u> , Iwamoto Y	Adiponectin activates c-Jun NH2-terminal kinase and inhibits signal transducer and activator of transcription 3.	Biochemical & Biophysical Research Communications	333	79-87	2005
宇月美和、大内修二、貝山潤、澤井高志	関節リウマチにおけるヒアルロン酸の動態 - 高分子ヒアルロン酸による治療の有効性を示す基礎的研究 -	Clin Rheumatol	17	126-134	2005
Yukioka, M., Komatsubara, Y., Yukioka, K., <u>Toyosaki-Maeda T.</u> , Yonenobu, K., Ochi, T.	Adrenocorticotrophic hormone and dehydroepiandrosterone sulfate levels of rheumatoid arthritis patients treated with glucocorticoids.	Mod Rheumatol	16(1)	30-35	2006

Nagai T, Arinuma Y, Yanagida T, Yamamoto K, <u>Hirohata S</u>	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
Kumagai S, Kawano S, Atsumi T, Inokuma S, Okada Y, Kanai Y, Kaburaki J, Kameda H, Suwa A, Hagiyaama H, <u>Hirohata S</u> , Makino H, Hashimoto H	Vertebral fracture and bone mineral density in women receiving high dose glucocorticoids for treatment of autoimmune diseases.	J Rheumatol	32	863-869	2005
Yajima N, Kasama T, Isozaki T, Odai T, Matsunawa M, Negishi M, Ide H, Kameoka Y, <u>Hirohata S</u> , 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, <u>Hirohata S</u>	Differential effects of IFN- α 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, <u>Hirohata S</u> , Kohsaka H, Miyasaka N	Inhibition of CX3CL1 (Fractalkine) improves experimental autoimmune myositis in SJL/J mice.	J Immunol	175	6987-6996	2005
<u>広畑俊成</u>	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
<u>広畑俊成</u>	特集・抗リウマチ薬の使い方 プシラミン.	クリニカ	32	93-97	2005
<u>広畑俊成</u>	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
<u>広畑俊成</u>	今月の主題:内科医が診る関節リウマチ 関節リウマチの治療—薬物療法. 抗リウマチ薬と副作用.	Medicina	42	796-799	2005
<u>広畑俊成</u>	標準治療と最新治療—メリット・デメリット 神経Behcet病.	CLINICAL NEUROSCIENCE	23	706-707	2005
<u>広畑俊成</u>	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(企画). はじめに.	医学のあゆみ	215	1-2	2005
<u>広畑俊成</u>	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
<u>広畑俊成</u>	中枢神経病変.	臨床リウマチ	17	278-282	2005
Karassa FB, Afeltra A, AmbrozeicA, Chang D-M, Keyser F D, Doria A, Galeazzi M, <u>Hirohata S</u> , HoffmanEA, Inanc M, Massardol, Mathieu A, Mok CC, Morozzi G, Sanna G, Spindler AJ, YzioufasAG, Yoshio T, Ioannidis JPA	Accuracy of anti-ribosomal P protein antibody testing for the diagnosis of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. An international meta-analysis.	Arthritis Rheum	54	312-324	2006
<u>Hirohata S</u>	Role of bone marrow in the pathogenesis of rheumatoid arthritis.	Curr Rheum Rev	2	47-54	2006
<u>Hirohata S</u> , Miura Y, Tomita T, Yoshikawa H, Ochi T, Chiorazzi N	Enhanced expression of mRNA for nuclear factor kB1 (p50) in CD34+ cells of the bone marrow in rheumatoid arthritis.	Arthritis Res Ther	8	R54	2006
<u>Hirohata S</u>	Is the long-term use of systemic corticosteroids beneficial in the management of Behcet's syndrome.	Nature Clin Practice Rheum	2	358-359	2006

広畑俊成	膠原病・セミナー/膠原病の特異病変における診療のポイント. 中枢神経病変.	Medical Practice	23	634-638	2006
広畑俊成	特集 自己免疫疾患の新しい治療法—生物学的製剤を中心に— エファリズマブ(LFA抗体)とナタリズマブ(VLA-4抗体).	最新医学	61	993-999	2006
広畑俊成	「関節リウマチ —積極的な治療へのパラダイム転換」Suggestion: 関節リウマチの病態形成における骨髄異常について.	治療学	40	732-733	2006
廣畑俊成	整形外科医が誤りやすい膠原病.	臨床整形外科	41	962-969	2006
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
Hirohata S.	Correct citation regarding interleukin-6 levels in cerebrospinal fluid from patients with neuropsychiatric lupus: comment on the article by Fragoso-Loyo et al.	Arthritis Rheum	56	3509	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, Tamer 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、ブシラミン、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] ブシラミン—まだまだ存在価値がある traditional DMARD—	骨・関節・靭帯	20	1109-1114	2007
Taniwaki, T. Yamamura, K. et al.	Characterization of an exchangeable gene trap using pU-17 carrying a stop codon-beta geo cassette.	Dev. Growth Differ.	47	163-172	2005

Alex S. Nord. <u>Yamamura, K.</u> et al.	The international gene trap consortium web site: a portal to all publicly available gene trap cell lines and mouse.	Nucleic Acids Res.	34	D642- D648	2006
Araki, K. Araki, M. and <u>Yamamura, K.</u>	Negative Selection with the Diphtheria toxin A fragment Gene Improves Frequency of Cre-Mediated Cassette Exchange in ES Cells.	J. Biochem.	140	793-798	2006
<u>Yamamura, K.</u> Araki, K.	Gene trap mutagenesis in mice: New perspectives and tools in cancer research.	Cancer Science	99	1-6	2008
<u>Tanaka S.</u> Takahashi N, Nakamura K, Suda T	Role of RANKL in physiological and pathological bone resorption and therapeutics targeting RANKL-RANK signaling system.	Immunological Review	108	30-49	2005
Fukuda A. <u>Tanaka S.</u> et al.	Regulation of osteoclast apoptosis and motility by small GTPase binding protein Rac1.	J Bone Miner Res	20	2245- 2253	2005
Hikita A, <u>Tanaka S</u> et al.	Identification of an alternatively spliced variant of CAPRI as a possible regulator of RANKL shedding.	J Biol chem	280	41700- 41706	2005
Hikita A, <u>Tanaka S.</u> et al.	Negative Regulation of Osteoclastogenesis by Ectodomain Shedding of Receptor Activator of NF- κ B Ligand.	J Biol. Chem	281	36846- 36855	2006
Sato K, <u>Tanaka S.</u> et al.	Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction.	J Exp Med	203	2673- 2682	2006
Sawada Y, <u>Tanaka S.</u> et al.	Force Sensing by Mechanical Extension of the Src Family Kinase Substrate p130Cas.	Cell	127	1015- 1026	2006
<u>Tanaka S.</u> et al.	Molecular mechanism of the life and death of the osteoclast.	Ann N Y Acad Sci	1068	180-186	2006
Miyazaki T, <u>Tanaka S.</u> et al.	The role of c-Src kinase in the regulation of osteoclast function.	Mod Rheumatol	16	68-74	2006
Yang CS, <u>Tanaka S.</u> 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, <u>Tanaka S.</u> 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

大島和也、 下村伊一郎	最新用語解説 基礎 アディポサイトカイン	骨粗鬆症治療	4巻	340-347	2005
大島和也、下村伊一郎、船橋徹	肥満とカルシウム骨代謝	内分泌・糖尿病	23巻	108-116	2006
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
Tanaka K, <u>Suzuki R.</u> (11人中10番目)	Production of interleukin-6 and interleukin-8 by nurse-like cells from rheumatoid arthritis patients after stimulation with monocytes.	Mol Rheumatol	5(6)	415-22	2005
Nakamura N, <u>Suzuki R.</u> (17人中14番目)	Isolation and expression profiling of genes upregulated in bone marrow-derived mononuclear cells of rheumatoid arthritis patients.	DNA Res	13(4)	169-83	2006
Fukunaga A, <u>Suzuki R.</u> (11人中7番目)	Src homology 2 domain-containing protein in tyrosine phosphatase substrate 1 regulates the induction of Langerhans cell maturation.	Eur J Immunol	36(12)	3216-26	2006
Nakamura S, <u>Toyosaki-Maeda, T.</u> (18人中4番目) <u>Suzuki R.</u> (18人中17番目)	Limited VH gene usage in B-cell clones established with nurse-like cells from patients with rheumatoid arthritis.	Rheumatol	45(5)	549-57	2006
鈴木隆二	リウマチの破骨因子	臨床整形外科	41(3)	260-63	2006
鈴木隆二、 越智隆弘	関節リウマチにみられる特異な破骨細胞分化機序	Rheumatology Clinical Update	13	15-8	2006
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

Ⅲ. 研究成果の刊行物・別刷

■ 第3章 自己免疫疾患

一致率が二卵性双生児のそれと比べて高いこと、特定の標識遺伝子陽性者の頻度が健康対照集団と比較して患者集団で増加していること、遺伝的に規定された動物モデルの存在などが遺伝的要因の関与を示唆している。家族集積性に関与する因子には、感染の要素、貧富、環境要因などの影響もあり得るが、これらを考慮に入れても遺伝的要因の関与は確実であると考えられている。一卵性双生児の疾患一致率は、各自己免疫疾患でだいたい15～30%程度であり、これらがそれほど高くない理由としては、遺伝要因が弱いという解釈よりも、非遺伝的要因も疾患の表現に大きく関与すると解釈したほうがよいと考えられている。

このように遺伝要因の重要性はわかっているが、従来から研究されている主要組織適合遺伝子複合体(MHC, ヒトではHLA)クラスII遺伝子との相関があることは確実であるが、それ以外の特定の遺伝子の同定が進んでいなかった。遺伝子の解析が進まない理由として、以下の問題点をあげることができる。①自己免疫疾患では候補遺伝子が明確でなく、検索すべき遺伝子が特定できない。②メンデルの遺伝形式(優性か劣性か)がわからない、さらに多くの自己免疫疾患は単純なメンデルの法則に従って遺伝せず、複雑または不明の様式で遺伝する。③一卵性双生児の罹患一致率に比べ、同胞罹患一致率が極端に低下するので、多因子遺伝であることが想像される。④病態は多くの遺伝子座の多様性が複雑に影響しあって決定されていると考えられ、エピスタシスな遺伝子の相互作用(epistatic interaction)もあると考えられる。⑤それぞれの遺伝子の浸透率が低く、検出感度が落ちる、すなわち疾患関連遺伝子と病気との関係は遺伝子と表現系が1対1対応するという事はまずない。⑥環境の影響、確率的影響が大きい。⑦RAなどの比較的高齢発症の疾患では、診断確定時に両親の遺伝子型が決定できない、などである。

3.2 病態・診断および治療

本節においては、代表的自己免疫疾患である全身性エリテマトーデスの病態、および各種疾患の治療において用いられる免疫抑制薬について概説するとともに、近年進歩の著しい生物学的製剤についても触れる。

1) 全身性エリテマトーデスの病態および診断

全身性エリテマトーデス(SLE)と関節リウマチ(RA)は自己免疫疾患を代表する二大疾患であり、何れの疾患においても種々の免疫異常が病態形成上重要な役割を果たすと考えられている。RAにおいてはリウマトイド因子や抗CCP抗体が特異的に上昇し、主たる病変が関節滑膜に集中する。これに対して、SLEでは多彩な自己抗体が出現するとともに、全身の多臓器に病変が及ぶことが一つの特徴である。このようなSLEにおける多臓器病変の起こる理由として、かつては免疫複合体の形成と各臓器への沈着があげられていた。しかし、近年になり、特定の自己抗体が特定の病変を惹起することが明らかとなってきている¹⁾。

SLE血清中に検出される多彩な自己抗体のうち、主なものを表3.1に示した。

表 3.1 SLE で見られる主な自己抗体

自己抗体	対応抗原	備考
抗 ds-DNA 抗体	2 本鎖 DNA	ループス腎炎
抗 ss-DNA 抗体	1 本鎖 DNA	
抗ヒストン抗体	ヒストン	薬剤性ループス
抗 nRNP 抗体	U1-RNA タンパク	MCTD の疾患標識抗体
抗 Sm 抗体	U1, 2, 4, 5, 6RNA タンパク	
抗 SS-A/Ro 抗体	RNA タンパク	先天性心ブロック
抗 PCNA 抗体	DNA ポリメラーゼ δ 補助因子	
抗赤血球抗体 (クームス抗体)	赤血球抗原	溶血性貧血
抗リンパ球抗体	CD45 など	
抗カルジオリピン抗体	β 2-グリコプロテイン I	抗リン脂質抗体症候群
抗リボソーム P 抗体	リボソーム P タンパクの C 末端 22 アミノ酸	ループス精神病

これらのうち抗 dsDNA 抗体と抗 Sm 抗体は SLE に特異性の高いものであり、疾患標識抗体として診断的価値がある。さらに、抗カルジオリピン抗体も比較的 SLE に特異性が高いことから、新たに診断基準に加えられている。表 3.1 に示した自己抗体のうちには特定の臓器病変との関連が証明されているものが多い。例えば、抗 dsDNA 抗体とループス腎炎、抗リボソーム P 抗体とループス精神病はおおの密接な関係を有する。このように、SLE における多様な臓器病変は出現する自己抗体の種類によって規定されていると考えられる。

こうした自己抗体の産生機序として、かつては多クローン性 B 細胞活性化が考えられてきたが、近年は、こうした自己抗体の遺伝子に体細胞突然変異 (somatic mutation) が見られることなどから、抗原刺激による誘導 (antigen-driven) の機序の関与も示唆されている。こうして産生された各種自己抗体が種々の臓器病変を惹起するにあたっては、従来より指摘されているような免疫複合体の形成・沈着とは異なる機序が働いていることが考えられるが、不明な点も多く、今後の検討が必要である。

2] 各種免疫抑制薬の作用機序

a) 副腎皮質ステロイド²⁾

ステロイドはフォスホリパーゼ A2 (phospholipase A2) およびシクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase) 阻害によるプロスタグランジンおよびロイコトリエンの産生抑制を介して抗炎症作用を発揮するが、今一つの重要な作用機序は免疫抑制作用である。これは、一般的に抗炎症作用よりも大量の抑制薬を必要とする。免疫抑制作用のうち重要であるのがサイトカイン産生抑制作用である。この作用は、各種サイトカイン遺伝子の転写を調節する転写因子 (AP-1 や NF- κ B など) のおおの DNA モチーフとの結合をステロイドが阻害することにより生じることが近年明らかにされている。一般的に T リンパ球の機能はステロイドにより著明に抑制されるが、B リンパ球の機能を抑制するためにはより高濃度のステロイドが必要と考えられている。