

201018004A

厚生労働科学研究費補助金

成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

成育疾患における診断技術、治療法開発を目的とした

ポストゲノムプラットフォームの構築と応用

—小児リウマチ性疾患、自己免疫疾患におけるマイク

ロ RNA の機能解析と診断、治療への応用—

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 浅原弘嗣

平成23（2011）年3月

厚生労働科学研究費補助金

成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

成育疾患における診断技術、治療法開発を目的とした

ポストゲノムプラットフォームの構築と応用

—小児リウマチ性疾患、自己免疫疾患におけるマイク

ロ RNA の機能解析と診断、治療への応用—

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 浅原弘嗣

平成 23 (2011) 年 3 月

目次

I. 総括研究報告

成育疾患における診断技術、治療法開発を目的としたポストゲノムプラットフォームの構築と応用ー小児リウマチ性疾患、自己免疫疾患におけるマイクロ RNA の機能解析と診断、治療への応用ー

マイクロ RNA を標的とした疾患診断、治療応用に関する研究----- 1

研究代表者 浅原弘嗣

研究分担者 柳谷隆宏、関敦仁、伊藤秀一、蓮沼智子、川合眞一、加藤義雄、伊藤義晃

研究協力者 井上敦

II. 分担研究報告書

リウマチ性関節炎に関連したマイクロ RNA を利用した関節炎治療に関する研究----- 7

柳谷隆宏

III. 研究成果の刊行に関する一覧表----- 1 1

IV. 研究発表一覧表----- 1 9

V. 研究成果の刊行物・別刷----- 2 3

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）

総括研究報告書

成育疾患における診断技術、治療法開発を目的としたポストゲノムプラットフォームの構築と応用—小児リウマチ性疾患、自己免疫疾患におけるマイクロ RNA の機能解析と診断、治療への応用—
「マイクロ RNA を標的とした疾患診断、治療応用」に関する研究

研究代表者 浅原弘嗣 国立成育医療研究センター研究所
システム発生・再生医学研究部部長

研究要旨

リウマチ性関節炎とそれに伴う関節破壊には、現在の生物製剤治療では治癒できない症例も多く、既存の医薬品とは異なった作用機序による新しい治療法の開発が期待される。

従来の抗リウマチ生物製剤は、炎症反応に関与するサイトカインの機能を阻害して炎症反応を緩和することを目的とした抗体医薬であった。一方、我々が見出したリウマチ性関節炎に関連したマイクロ RNA はリウマチ性関節炎の発症において重要な役割を果たしていると考えており、このマイクロ RNA の機能を阻害したり、または、高めたりすることによって、リウマチ性関節炎の治療に応用する可能性が考えられた。そこで、本研究では、マイクロ RNA を分子標的とした新しい治療法を開発するための基盤研究を推進するため、関節炎モデルマウスを使った予備検討と本実験のための実験系の構築を行った。

研究分担者

柳谷隆宏 国立成育医療研究センター研究所
研究員
関 敦仁 国立成育医療研究センター
医長
伊藤秀一 国立成育医療研究センター
医長
蓮沼智子 北里大学臨床薬理研究所
部長
川合眞一 東邦大学医学部
教授
加藤義雄 産業技術総合研究所
研究員
伊藤義晃 国立成育医療研究センター研究所
研究員

研究協力者

井上 敦 国立成育医療研究センター研究所
共同研究員

A. 研究目的

リウマチ性関節炎に対する生物製剤は、炎症反応に関与する TNF- α や IL6 などのサイトカインやサイトカインレセプターに対する抗体を用いて、サイトカインの機能を阻害することにより炎症反応を緩和するものであった。しかし、これらの医薬品では治癒できない症例もあり、また、抗体医薬自体が非常に高価なものであることから、新しい作用機序に基づく、安価で安全な医薬品の開発が望まれている。一方、我々は、リウマチ性疾患に関連したマイクロ RNA を見出すことに成功しており、このマイクロ RNA を分子標的とした新規治療法へ応用することが期待された。そこで、疾患関連マイクロ RNA の疾患発症における役割について明らかにするため、また、新規治療ターゲットとしての可能性について探るため、関節炎モデルマウスにマイクロ RNA のアンチセンスオリゴや過剰発現用アデノ

ウイルスベクターを導入した時の効果についての検討を行うための基盤研究を行った。

B. 研究方法

マイクロ RNA のアンチセンスオリゴ導入による関節炎への影響

6週齢の雄性 DBA/1 マウスに抗 II 型コラーゲン抗体カクテル (chondrex) を 200 μ l 尾静脈投与し、2 日後に腹腔内に LPS 投与を行うことで関節炎モデルを作製した。この 2 日後、アパーチン麻酔下にて膝の皮切開を行い、目視下で確認した関節包内に LNA 付加した miR-146a の相補配列、antisense-miR-146a を 10 μ g インジェクションして、炎症状態における miR-146a の抑制作用を検討した。なお、対照群には miR-146a の seed 配列に変異を加えたアンチセンス鎖を同様に作成して関節内投与を行った。1 週後、マウスを頸椎脱臼により安楽死させて膝関節を採取した。4%パラホルムアルデヒドにて固定して、45%ギ酸と 20%クエン酸ナトリウム液を等量混合した脱灰液で脱灰を行い、脱水・透徹後、パラフィン包埋して膝関節矢状断の組織切片を作製した。ヘマトキシリン・エオジン染色、サフラニン O 染色により滑膜を中心とした関節構成体への影響を検討した。

コラーゲン惹起関節炎モデル作製

6週齢の雄性 DBA/1J 系マウスを使用し、II 型コラーゲン誘導関節炎モデルを作製した。ウシ II 型コラーゲン (chondrex) を 0.05M 酢酸に溶解し (2mg/ml)、等量のフロイント完全アジュバント (SIGMA) で乳化したエマルジョンを 100 μ l 尾根部皮内に注射して初回免疫を行った。3 週後、同様に調整したウシ II 型コラーゲンをフロイント不完全アジュバントで乳化し腹腔内に投与することで追加免疫を行った^{1),2)}。初回免疫から約 4 週後で関節炎症状が見られ、7 週から 8 週後に症状はピークとなる。

1) 安倍 千之: 1. 関節炎モデル. VI. 炎症の実験動物モデル. 炎症と抗炎症戦略 (室

田 誠逸, 柏崎 禎夫 編) 医薬ジャーナル社. 東京. 1997. p469-482

2) Hirano S., Wakazono K. et al: Effects of cytogenin, a novel anti-arthritic agent, on type II collagen-induced arthritis in DBA/1J mice and adjuvant arthritis in Lewis rats. Int. J. Tiss. Reac. 16: 155-162, 199

アデノウイルスベクターの作製

ViraPower™ アデノウイルス発現システム (Invitrogen) により、miR-146a 発現アデノウイルスを構築した。なお、miR-146a の seed 配列に変異を加えた配列を対照として同様に作製する。ベクター pAd/CMV/V5-DEST™ は CMV プロモーターを有しており、増殖細胞および非増殖細胞のいずれにも感染して目的遺伝子を高レベルで一過性に発現させることが可能である。pAd/CMV/V5-DEST™ に LR recombination 反応にて目的配列の挿入を行った後、293A 細胞に遺伝子導入して数回増幅を行う。得られたウイルス液は塩化セシウムによる密度勾配法にて精製を行った後、感染価の確認を行った上で以降の接種実験に用いた。

ベクター接種・解析

アパーチン麻酔下にてマウス膝関節を皮切開し、目視で確認した関節包内に miR-146a 発現アデノウイルスベクターをインジェクションして遺伝子導入を行った。1 週後、マウスを頸椎脱臼により安楽死させて膝関節を採取した。4%パラホルムアルデヒドにて固定し、45%ギ酸と 20%クエン酸ナトリウム液を等量混合した脱灰液で脱灰を行った。脱水・透徹の後、パラフィン包埋して膝関節矢状断の組織切片を作製した。ヘマトキシリン・エオジン染色、サフラニン O 染色により miR-146a の関節内強制発現が滑膜や軟骨に及ぼす影響について検討した。また *in situ* hybridization や炎症性細胞の免疫染色により、miR-146a の発現部位の

確認を行った。

C. 研究結果

今回、行ったアンチセンスオリゴを用いた **miR-146a** の機能阻害によるリウマチ性関節炎に対する影響を調べた検討では、安定した結果が得られず、最終的な結論を得ることは出来なかった。一方、**miR-146a** 過剰発現実験のためのアデノウイルス発現ベクター、およびコントロールベクターはすでに構築が完了しており（図1）、現在、II型コラーゲン誘導関節炎モデルマウスを用いた検討を開始している。今年度中での結論は得られなかったものの、来年度における研究計画での最重点課題として位置づけ、研究を進める。

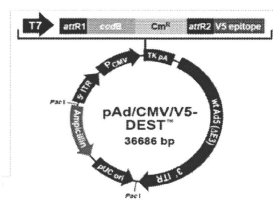
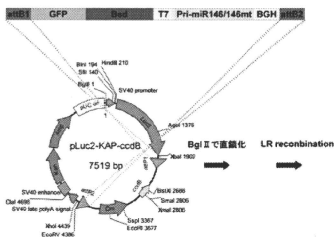


図1 miR-146aの過剰発現実験用のアデノウイルスベクター。同様の方法でmiR-424の発現ベクターも構築した。

D. 考察

miR-146a のアンチセンスオリゴを抗II型コラーゲン抗体カクテル惹起マウスの関

節に導入した実験では、安定した結果が得られず結論を得ることは出来なかった。その理由として、1) 抗II型コラーゲン抗体カクテル誘導による関節炎は体内でのT細胞・B細胞の免疫反応をスキップしているため、関節リウマチに見られるような免疫反応の関与が少ない炎症反応のみが主体のモデルであり、2) 関節炎症状もピークを過ぎると急激に低下することから、急性炎症を反映するモデルであったためであると考えられる。そこで、以後、より関節リウマチに発生機序の近いコラーゲン惹起関節炎モデルを用いて実験を進めることとした。

また、今後の研究では、慢性炎症状態だけでなく正常滑膜を始めとする関節構成体への **miR-146a** の作用を検討するため、**miR-146a** を発現するアデノウイルスベクターを用いた関節内での強制発現実験を進める。また、**miR-424** についても、同様の実験を進める予定である。**miR-424** の過剰発現用アデノウイルスベクターおよびコントロールベクター (**miR-424** の seed 配列部分に変異をいれたもの) の構築は完了しており、来年度中に一定の成果を得ることを目標としている。

E. 結論

今回の検討では、疾患モデルマウスの作成方法に欠点があったため、**miR-146a** のアンチセンスオリゴによる機能阻害と関節炎への影響については、結論を見出すことが出来なかった。今後は、コラーゲン惹起関節炎モデルマウスを作成して、このマウスに対する **miR-146a** の過剰発現実験やアンチセンスオリゴの導入実験を行い、**miR-146a** の疾患発症における役割についての解析や治療ターゲットとしての可能性についての検討を行う。また、同様の検討を、**miR-424** に関しても行う。

F. 健康危機情報

(総括研究報告書に記載)

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

II. 分担研究報告書

「リウマチ性疾患・自己免疫疾患に関連したマイクロ RNA の同定と機能解析」
に関する研究

研究分担者 柳谷隆宏 国立成育医療研究センター研究所 研究員

研究要旨

我々は、リウマチ性疾患に関連したマイクロ RNA、miR-146a を見出し、miR-146a に着目した関節炎治療への応用が期待された。そこで、疾患関連マイクロ RNA の疾患発症における役割について明らかにするため、また、新規治療法の確立におけるターゲットとしての可能性について探るため、関節炎モデルマウスに miR-146a の過剰発現用アデノウイルスベクターを導入した時の効果について検討を進めた。

研究分担者

柳谷隆宏 国立成育医療研究センター研究所
研究員

A. 研究目的

従来、リウマチ性関節炎の薬物治療において、NSAIDs や DMARDs、ステロイド、免疫抑制剤などが個々の症状に併せて適応されてきた。近年においては、リウマチ性関節炎に対する生物製剤が開発され、炎症反応に関与する TNF- α や IL6 などのサイトカインやサイトカインレセプターに対する抗体を用いて、サイトカインの機能を阻害することにより炎症反応を緩和する治療が試みられている。しかし、これらの医薬品では治療できない症例もあり、また、抗体医薬自体が非常に高価なものであることから、新しい作用機序に基づく、安価で安全な医薬品の開発が望まれている。一方、我々は、リウマチ性疾患に関連したマイクロ RNA、miR-146a を見出し、miR-146a に着目した関節炎治療への応用が期待された。リウマチ性関節炎の滑膜組織においては、miR-146a の過剰発現状態が観察される。miR-146a は、TNF- α によるシグナル伝達を抑制する役割が考えられており、関節リウマチのような慢性的な炎症状態において

は、TNF- α の作用が上回って、ブレーキとなる miR-146a の効果が不十分となっており、それを補償するために結果的に過剰発現状態を惹起するものと考えられている。そのため、関節炎患部において miR-146a を過剰発現させることにより、TNF- α の作用を減弱させ慢性化した局所炎症を緩和する可能性が考えられた。そこで、疾患関連マイクロ RNA の疾患発症における役割について明らかにするため、また、新規治療法の確立におけるターゲットとしての可能性について探るため、関節炎モデルマウスに miR-146a の過剰発現用アデノウイルスベクターを導入した時の効果について検討を進めた。

B. 研究目的

コラーゲン惹起関節炎モデル作製 6 週齢の雌性 DBA/1J 系マウスを使用し、II 型コラーゲン誘導関節炎モデルを作製した。ウシ II 型コラーゲン (chondrex) を 0.05M 酢酸に溶解し (2mg/ml)、等量のフロイント完全アジュバント (4mg/ml M. tuberculosis strain H37Ra, chondrex) で乳化したエマルジョンを 100 μ l 尾根部皮内に注射して初回免疫を行った。21 日後、同様に調整したウシ II 型コラーゲン

(2mg/ml) をフロイント不完全アジュバント (chondrex) で乳化し腹腔内に 100 μ l 投与することで追加免疫を行った^{1,2}。初回免疫から約 4 週後で関節炎症状が見られ、7 週から 8 週後に症状はピークとなる。

1) 安倍 千之 : 1. 関節炎モデル。VI. 炎症の実験動物モデル。炎症と抗炎症戦略 (室田 誠逸, 柏崎 禎夫 編) 医薬ジャーナル社。東京。1997. p469-482

2) Hirano S., Wakazono K. et al : Effects of cytogenin, a novel anti-arthritis agent, on type II collagen-induced arthritis in DBA/1J mice and

adjuvant arthritis in Lewis rats. *Int. J. Tiss. React.* 16: 155-162, 1999

関節炎の評価 初回免疫より 28 日目より関節炎による関節部の腫脹や皮膚などの赤変についてスコア一化して記録した。スコアは、四肢の腫脹・炎症を 0 から 4 までの 5 段階で評価した。0 点は全く変化が見られない場合、4 点は赤く大きく腫れた状態の場合に用いた (Brand DD. et al., *Nat Protoc* 2007;2(5))。1 個体当たり最高 16 点を関節炎の評価のスコアとした。

アデノウイルスベクターの作製

ViraPower™ アデノウイルス発現システム (Invitrogen) により、miR-146a 発現アデノウイルスを構築した。なお、miR-146a の seed 配列に変異を加えた配列を対照として同様に作製する。同時に、LacZ 遺伝子を導入したベクターも準備した。ベクター pAd/CMV/V5-DEST™ は CMV プロモーターを有しており、増殖細胞および非増殖細胞のいずれにも感染して目的遺伝子を高レベルで一過性に発現させることが可能である。pAd/CMV/V5-DEST™ に LR recombination 反応にて目的配列の挿入を行った後、HEK293 細胞に遺伝子導入して数回増幅を行う。得られたウイルス液は塩化セシウムによる密度勾配法にて精製を行った後、感染価の確認を行った上で以降の接種実験に用いた。

ベクター接種・解析 各群 (146a wild type

群、146a mutant 群、lacZ 群) のマウスの関節炎症状のスコアが 6 点前後になったところで (初回免疫より 35 日目)、アデノウイルスベクターの導入を行った。イソフルラン吸入麻酔下にてマウス膝関節を皮切開し、目視で確認した関節包内に miR-146a 発現アデノウイルスベクターを 10 μ l (1.0E+8 PFU) インジェクションして遺伝子導入を行った (両膝関節包内)。さらに、踵周辺の皮下と前肢にもそれぞれ 10 μ l (1.0E+8 PFU) インジェクションした。本実験に際して、PBS 投与群も作成して、膝関節、踵・前肢に PBS を各 10 μ l づつ投与した。初回免疫より 55 日目までスコアを記録したあと、マウスを頸椎脱臼により安楽死させて膝関節、および踵部を採取した。4%パラホルムアルデヒドにて固定し、45%ギ酸と 20%クエン酸ナトリウム液を等量混合した脱灰液で脱灰を行った。脱水・透徹の後、パラフィン包埋して膝関節矢状断の組織切片を作製した。ヘマトキシリン・エオジン染色、サフラニン O 染色により miR-146a の関節内強制発現が滑膜や軟骨に及ぼす影響について検討した。

C. 研究結果

昨年度までに構築を終わらせている miR-146a 過剰発現実験のためのアデノウイルス発現ベクター、およびコントロールベクターを用いて実験を行った。II 型コラーゲン誘導関節炎モデルマウスを作製したところ、初回免疫から 5 週間後までには明らかな関節炎症状が認められた (図 1)。本計画は、miR-146a によるリウマチ性関節炎の「予防効果」を見出すことに主眼を置いた研究ではなく、関節炎発症後の「治療効果」に注目したものであるため、明らかな関節炎症状が発症したのちにアデノウイルスベクターの接種を行う必要があった。そこで、関節炎症状を評価するときのスコアの最大値の 1/3 の値に達した時点で各種アデノウイルスベクターの接種を行い、その後の症状の変化について追跡することと

した。また、治療効果の評価はスコアの値を用いて行うため、スコア化の対象となる四肢にアデノウイルスベクターを接種する必要があった。そこで我々は、前肢(手~首)、後肢(踵、膝)にアデノウイルスを接種した。

その結果、miR-146a の wild type を過剰発現させた群は、その他の群に比べて有意にスコアの値が低くなった(図2)。なお、LacZ 群に関しては、実験の後半で不慮の事故のため最終日までの検討を行う事が出来なかったが、途中経過について解析すると、やはり wild type 群の方が LacZ 群よりもスコアの値が有意に低くなる事が分かった。これらの結果は、miR-146a が炎症の慢性化を抑制することによって関節炎症状を悪化させない働きがあることを示唆している。

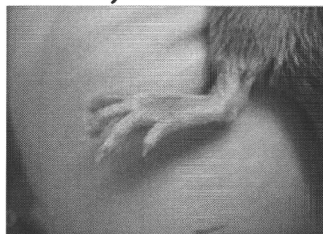
D. 考察

マイクロ RNA (miR) は、遺伝子発現を転写後調節する機能性 RNA 分子であり、発生や細胞分化などの重要な細胞プロセスに関与している。これまでに我々は、リウマチ性関節炎の滑膜組織において発現上昇する疾患関連マイクロ RNA として miR-146a を同定している。miR-146a は、炎症性サイトカインである TNF- α のシグナル伝達に関わる分子 (IRAK1, TRAF6) の発現を抑制する。

一方で、TNF- α は、リウマチ性関節炎における病態の進行や増悪に関わる分子であり、患者においては何らかの理由で発現制御が破綻して過剰発現していることが知られている。そこで、我々は、リウマチ性関節炎のモデルマウスを作成し、関節炎の病態形成において miR-146a がどのような影響を及ぼすのかについて検討した。本課題は、miR-146a を利用したリウマチ性関節炎の治療を目指した研究である。

関節炎モデルマウスは、DBA1/J にウシ II 型コラーゲンとフロイント完全アジュバントを投与して作成した。初回免疫から 2 1

A) normal



B) CIA (day 35)



図2 II型コラーゲン誘導関節炎モデル。II型コラーゲン非投与群。B) II型コラーゲン投与群(初回免疫より5週間経過)

日後にウシ II 型コラーゲンとフロイント不完全アジュバントを投与して、マウスの四肢の浮腫を指標にスコア化(最大16点)して観察を行った。スコアが6点(最大値の約1/3)を超えた頃(初回免疫から32日目)、マウス miR-146a の過剰発現システムとしてアデノウイルスベクターを両手、両足首、膝関節に投与した。これは、本計画が miR-146a によるリウマチ性関節炎の「予防効果」を見出すことに主眼を置いた研究ではなく、関節炎発症後の「治療効果」に注目したものであるためであった。

その結果、miR-146a を過剰発現させた群は、他の3群に比べて有意にスコアが低下していた。この結果は、1) 初期の段階で関節炎はすべての群で同様に発症したが、

2) miR-146a を過剰発現させた群では TNF- α によるシグナル伝達、または TNF- α による自身の発現ループを遮断することにより関節炎が慢性化・増悪化しなかったものと考えられる。一方、3) 他の3群では TNF- α による炎症反応が増悪してしまったのではないかと考えられる。現在、上記の研究について切片の解析を行うとともに、再現性の確認、および、miR-146a を過剰発現させるタイミングを変えた場合の効果について調べている。

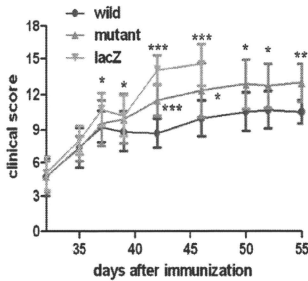


図3 関節炎モデルマウスにおける miR-146a の過剰発現による関節炎症状の緩和. miR-146a wild type を過剰発現させた群では、他の群 (146a mutant, lacZ) に比べて関節炎症状のスコアの値が有意に低下していた. *:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001, Mann-Whitney U test

E. 結論

今回の検討によって、miR-146a を過剰発

現させることにより、関節炎の慢性化・増悪化を抑制することが示された。今後、同様の実験によって再現性を得る必要があるものの、他の炎症指標や炎症性サイトカインの発現レベルなども併せて調べ、miR-146a の過剰発現による炎症局所での変化の本質を明らかにしなければならない。

F. 健康危機情報

(総括研究報告書に記載)

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

1. 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
関敦仁, 十字琢夫	母指変形再建のコツ	木村友厚	リウマチ診療の要点と盲点	文光堂	東京	2010	190-195
関敦仁, 十字琢夫	リウマチ性手指変形	井植栄二	アトラス骨・関節画像診断 1. 関節-上肢-	中外医学社	東京	2010	78-80
関敦仁, 日下部浩	斜頸	里見昭	小児外来で役立つ外科的処置 小児科臨床ピクシス 21	中山書店	東京	2010	92-94

2. 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
Higashiyama R, Miyaki S, Yamashita S, Yoshitaka T, Lindman G, Ito Y, Sasho T, Takahashi K, Lotz M, Asahara H	Correlation between MMP-13 and HDAC7 expression in human knee osteoarthritis	Mod Rheumatol	20(1)	11-17	2010
Miyaki S, Sato T, Inoue A, Otsuki S, Ito Y, Yokoyama S, Kato Y, Takemoto F, Nakasa T, Yamashita S, Takada S, Lotz MK, Ueno-Kudo H, Asahara H	MicroRNA-140 plays dual roles in both cartilage development and homeostasis	Genes Dev	24(11)	1173-1185	2010
Ito Y, Toriuchi N, Yoshitaka T, Ueno-Kudo H, Sato T, Yokoyama S, Nishida K, Akimoto T, Takahashi M, Miyaki S, Asahara H	The Mohawk homeobox gene is a critical regulator of tendon differentiation	Proc Natl Acad Sci U S A	107(23)	10538-10542	2010
池上博泰, 丹治敦, 堀内行雄, 高山真一郎, 関敦仁, 中村俊康, 桃原茂樹, 戸山芳昭	肘関節 K-NOW人工肘関節の特徴と臨床成績	関節外科	29(3)	281-289	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
重松由紀子, 新聞寛徳, 野崎誠, 佐々木りか子, 堀川玲子, 関敦仁, 中川温子, 土居博美, 梶島健治	肥厚性皮膚骨膜症の1例	臨床皮膚科	64(10)	751-754	2010
森澤妥, 高山真一郎, 関敦仁, 日下部浩	先天性母指屈曲内転拘縮に対する機能再建	日本手の外科学会雑誌	26(2)	7-10	2010
Machida H, Ito S, Hirose T, Takeshita F, Oshiro H, Nakamura T, Mori M, Inayama Y, Yan K, Kobayashi N, Yokota S	Expression of Toll-like receptor 9 in renal podocytes in childhood-onset active and inactive lupus nephritis	Nephrol Dial Transplant	25(8)	2530-2537	2010
Ito S, Machida H, Harada T, Teranishi J, Aihara Y, Yokota S	Extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria and vesicoureteral reflux in children.	Pediatr Int	52(1)	134-137	2010
Iijima K, Nozu K, Kamei K, Nakayama M, Ito S, Matsuoka K, Ogata T, Kaito H, Nakanishi K, Matsuo M	Severe Alport syndrome in a young woman caused by a t(X;1)(q22.3;p36.32) balanced translocation	Pediatr Nephrol	25(10)	2165-2170	2010
Nakayama M, Nozu K, Goto Y, Kamei K, Ito S, Sato H, Emi M, Nakanishi K, Tsuchiya S, Iijima K	HNF1B alterations associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract	Pediatr Nephrol	25(6)	1073-1079	2010
Ito S, Tsutsumi A, Harada T, Inaba A, Fujinaga S, Kamei K	Long-term remission of nephritic syndrome with etanercept for concomitant juvenile idiopathic arthritis	Periatr Nephrol	25(10)	2175-2177	2010
Ito S, Kamei K, Ikoma M	Primary Sjögren syndrome that developed after IgA nephropathy	Pediatr Nephrol	25(8)	1579-1580	2010
Kikuchi E, Kubota M, Kamei K, Ito S	Critical illness polyneuropathy after septic peritonitis in a boy with nephritic syndrome	Pediatr Nephrol	25(9)	1771-1772	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fujinaga S, Hirano D, Nishizaki N, Kamei K, Ito S, Ohtomo Y, Shimizu T, Kaneko K	Single infusion of rituximab for persistent steroid-dependent minimal-change nephritic syndrome after long-term cyclosporine	Pediatr Nephrol	25(3)	539-544	2010
Ogura M, Kikuchi E, Kaito H, Kamei K, Matsuoka K, Tanaka H, Kuroda T, Sekine T, Ito S	ABO-incompatible renal transplantation in Epstein syndrome	Clin Transplant	Suppl 22	31-34	2010
小椋雅夫, 亀井宏一, 宇田川智宏, 堤晶子, 野田俊輔, 伊藤秀一	当センターにおける急性血液浄化療法の特色と問題点	日本小児腎不全学会雑誌	30	309-310	2010
堤晶子, 小椋雅夫, 宇田川智宏, 野田俊輔, 亀井宏一, 唐木千晶, 中川聡, 福田晃也, 笠原群生, 中川温子, 伊藤秀一	当院における小児劇症肝不全24症例に対する人工肝補助の経験	日本小児腎不全学会雑誌	30	304-306	2010
緒方志徳, 林和美, 宮本圭奈美, 村山由里子, 玉城久美子, 西海真理, 伊藤秀一, 伊藤龍子	血液透析を受ける子供と家族への支援 乳幼児期の成長発達に合わせた環境への配慮	日本小児腎不全学会雑誌	30	237-238	2010
貝藤裕史, 亀井宏一, 小椋雅夫, 菊池絵梨子, 星野英紀, 中川聡, 松岡健太郎, 阿部淳, 伊藤秀一	急性脳症と急性腎不全をもなったYersinia pseudotuberculosis感染症の1例	日本小児腎不全学会雑誌	30	117-118	2010
宇田川智宏, 小椋雅夫, 堤晶子, 野田俊輔, 大塚泰史, 寺町昌史, 亀井宏一, 飯島一誠, 伊藤秀一	高血圧で発症した高安静脈炎の三小児例	小児高血圧研究会誌	7(1)	49-55	2010
松倉節子, 國見裕子, 井上雄介, 松木美和, 蒲原毅, 稲葉彩, 伊藤秀一, 佐々木毅, 相原雄幸, 相原道子, 池澤善郎	マイコプラズマ肺炎およびフェノバルビタール投与後に発症した小児Stevens-Johnson症候群の1例	皮膚科の臨床	52(7)	963-967	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
篠原真史, 六車崇, 中川聡, 亀井宏一, <u>伊藤秀一</u>	先天性代謝異常症による高アンモニア血症に対する急性血液浄化療法	ICUとCCU	34(7)	547-554	2010
<u>伊藤秀一</u>	ケースから診るCKD診療法 (vol.14) (完) 小児CKD 学校検尿では発見できなかった先天性腎疾患の症例	日本医事新報	4500	54-57	2010
Kikkawa H, Maruyama N, Fujimoto Y, <u>Hasunuma T</u>	Single- and multiple-dose pharmacokinetics of the selective nicotinic receptor partial agonist, varenicline, in healthy Japanese adult smokers	J Clin Pharmacol	51(4)	527-537	2011
Yoshino T, Kusunoki N, Tanaka N, Kaneko K, Kusunoki Y, Endo H, <u>Hasunuma T, Kawai S</u>	Elevated serum levels of resistin, leptin, and adiponectin are associated with C-reactive protein and also other clinical conditions in rheumatoid arthritis	Intern Med	50(4)	269-275	2010
Kaneko K, Kaburaki M, Muraoka S, Tanaka N, Yamamoto T, Kusunoki Y, Abe H, Endo H, <u>Kawai S</u>	Exacerbation of adult-onset Still's disease, possibly related to elevation of serum tumor necrosis factor- α after etanercept administration	Int J Rheum Dis	13(4)	e67-e69	2010
<u>Kawai S</u> , Uchida E, Kondo M, Ohno S, Obata J, Nawata Y, Sugimoto K, Oribe M, Nagaya I	Efficacy and safety of ketoprofen patch in patients with rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study	J Clin Pharmacol	50(10)	1171-1179	2010
Tanaka N, Kusunoki Y, Kaneko K, Yamamoto T, Kaburaki M, Muraoka S, Abe H, Endo H, Sato D, Homma S, Shibuya K, <u>Kawai S</u>	Systemic lupus erythematosus complicated by recurrent pneumothorax: case report and literature review	Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi (Jpn J Clin Immunol)	33(3)	162-168	2010
Kusunoki N, Kitahara K, Kojima F, Tanaka N, Kaneko K, Endo H, Suguro T, <u>Kawai S</u>	Adiponectin stimulates prostaglandin E2 production in rheumatoid synovial fibroblasts	Arthritis Rheum	62(6)	1641-1649	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ichikawa Y, Saito T, Yamanaka H, Akizuki M, Kondo H, Kobayashi S, Oshima H, <u>Kawai S</u> , Hama N, Yamada H, Mimori T, Amano K, Tanaka Y, Matsuoka Y, Yamamoto S, Matsubara T, Murata N, Asai T, Suzuki Y, Study Group for Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare's "Research for establishment of therapeutic guidelines in early rheumatoid arthritis"	Clinical activities after 12 weeks of treatment with non-biologics in early rheumatoid arthritis may predict the articular destruction 2 years later	J Rheumatol	37(4)	723-729	2010

3. 知的財産権の出願・登録状況

なし

IV. 研究發表一覽表