

研究成果の刊行に関する一覧表(平成22年度)

研究分担者氏名: 澤井 高志

書籍

	著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
			書籍名	出版地	ページ
1	菅野祐幸	第3章 全身におよぶ病態 2. 免疫・アレルギー疾患. 症例351 発熱、リンパ節腫脹、紅斑	鈴木利光、山川光徳、吉野 正	西村書店	2010
			ダイナミック病理学-365症例からのアプローチ	東京	1004-1005
2	澤井高志	第3章 全身におよぶ病態 2. 免疫・アレルギー疾患. 症例352 下肢の痛みおよび腫脹	鈴木利光、山川光徳、吉野 正	西村書店	2010
			ダイナミック病理学-365症例からのアプローチ	東京	1006-1007
3	菅野祐幸	第3章 全身におよぶ病態 2. 免疫・アレルギー疾患. 症例353 倦怠感および両手指の腫脹	鈴木利光、山川光徳、吉野 正	西村書店	2010
			ダイナミック病理学-365症例からのアプローチ	東京	1008-1009
4	澤井高志	第3章 全身におよぶ病態 2. 免疫・アレルギー疾患. 症例354 全身筋痛	鈴木利光、山川光徳、吉野 正	西村書店	2010
			ダイナミック病理学-365症例からのアプローチ	東京	1010-1011
5	澤井高志	第3章 全身におよぶ病態 2. 免疫・アレルギー疾患. 症例355 関節の痛みと変形	鈴木利光、山川光徳、吉野 正	西村書店	2010
			ダイナミック病理学-365症例からのアプローチ	東京	1012-1013
6	菅野祐幸	第3章 全身におよぶ病態 2. 免疫・アレルギー疾患. 症例356 発熱、末梢神経障害、血行障害	鈴木利光、山川光徳、吉野 正	西村書店	2010
			ダイナミック病理学-365症例からのアプローチ	東京	1014-1015
7	澤井高志	第3章 全身におよぶ病態 2. 免疫・アレルギー疾患. BOX2-1 薬剤アレルギー	鈴木利光、山川光徳、吉野 正	西村書店	2010
			ダイナミック病理学-365症例からのアプローチ	東京	1016-1017
8	澤井高志	第3章 全身におよぶ病態 2. 免疫・アレルギー疾患. 症例357 Raynaud現象	鈴木利光、山川光徳、吉野 正	西村書店	2010
			ダイナミック病理学-365症例からのアプローチ	東京	1018-1019
9	菅野祐幸	第3章 全身におよぶ病態 2. 免疫・アレルギー疾患. 症例358 発熱、多彩な全身症状	鈴木利光、山川光徳、吉野 正	西村書店	2010
			ダイナミック病理学-365症例からのアプローチ	東京	1020-1023
10	菅野祐幸	第3章 全身におよぶ病態 2. 免疫・アレルギー疾患. 症例359 口腔粘膜アフタ性潰瘍、皮疹、下血	鈴木利光、山川光徳、吉野 正	西村書店	2010
			ダイナミック病理学-365症例からのアプローチ	東京	1024-1025
11	菅野祐幸	第3章 全身におよぶ病態 2. 免疫・アレルギー疾患. 症例360 発熱、発疹、粘膜の発赤、頸部リンパ節腫脹	鈴木利光、山川光徳、吉野 正	西村書店	2010
			ダイナミック病理学-365症例からのアプローチ	東京	1026-1027

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

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
長田重一	IFN- α のクローニング	宇野賀津子 他	サイトカイン ハンディング	京都大学学 術出版会	日本	2010	32-34 頁

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
Suzuki, J. et al.	Calcium-dependent phospholipid scrambling by TMEM16F	Nature	468 (7325)	834 -838	2010
Kawane, K. et al.	Cytokine-dependent but acquired immunity-independent arthritis caused by DNA escaped from degradation.	Proc. Natl. Acad. Sci. USA	107 (45)	19432 -19437	2010
Nagata, S. et al.	Autoimmunity and the Clearance of Dead Cells.	Cell	140 (5)	619 -630	2010
Yamaguchi, H. et al.	Aberrant splicing of milk fat globule EGF factor 8(MFG-E8) gene in human systemic lupus erythematosus.	Eur J Immunol.	40 (6)	1778 -1785	2010
Östberg, T. et al.	Protective targeting of high mobility group box chromosomal protein 1 in a spontaneous arthritis model.	Arthritis Rheum.	62 (10)	2963 -2972	2010
Nagata, S.	Apoptosis and Autoimmune Diseases.	Ann NY Acad Sci.	1209	10 -16	2010
Kitahara, Y. et al.	Interferon-induced TRAIL-independent cell death in <i>DNase II</i> ^{-/-} embryos.	Eur J Immunol.	40 (9)	2590 -2598	2010
Fujii, T. et al.	Essential role of p400/mDomino chromatin-remodeling ATPase in bone marrow hematopoiesis and cell-cycle progression.	J Biol Chem	285 (39)	30214 -30223	2010
Nagasaka, A. et al.	Apaf-1-independent programmed cell death in mouse development.	Cell Death Differ.	17 (6)	931 -941	2010

研究成果の刊行に関する一覧表

		課題番号	H20-免疫-一般-002
		氏名	吉川 秀樹
刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名、 巻号数、論文名)	刊行年月日	刊行書店名	執筆者氏名
1. The fixed herbal drug composition "Saikokaryukotsu-boreito" prevents bone loss with an association of serum IL-6 reductions in ovariectomized mice model. <i>Phytomedicine</i> , 17:170-177	2010		Hattori, T, Fei, W., Kizawa, T., Nishida, S., Yoshikawa, H., Kishida, Y.
2. TP53 mutations coincide with the ectopic expression of activation-induced cytidine deaminase in the fibroblast-like synoviocytes derived from a fraction of patients with rheumatoid arthritis. <i>Clinical and Experimental Immunology</i> , 161:71-80	2010		Igarashi, H., Hashimoto, J., Tomita, T., Yoshikawa, H., Ishihara, K. Goto A, Murase T, Hashimoto J, Oka K, Yoshikawa, H., Sugamoto K.
3. Humanized anti-interleukin-6-receptor antibody (tocilizumab) monotherapy is more effective in slowing radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis at high baseline risk for structural damage evaluated with levels of biomarkers, radiography, and BMI: data from the SAMURAI study. <i>Modern Rheumatology</i> , 21:10-15	2010		Hashimoto, J., Garnero, P., van der Heijde, D., Miyasaka, N., Yamamoto, K., Kawai, S., Takeuchi, T., Yoshikawa, H., Nishimoto, N.
4. PKC α suppresses osteoblastic differentiation. <i>Bone</i> , 48:476-484	2010		Nakura, A., Higuchi, C., Yoshida, K., Yoshikawa, H.

作成上の留意事項

- 1 この表に記入した書籍又は雑誌は、その刊行物又は別刷り一部を添付すること。
- 2 日本工業規格A列4番の用紙を用いること。各項目の記入量に応じて、適宜、欄を引き伸ばして差し支えない。
- 3 当該事業に関する研究成果を記載することとし、該当がない場合も、「該当なし」と記入して提出すること。
- 4 主任研究者及び分担研究者全員は、それぞれ自分の分を作成すること。

研究成果の刊行に関する一覧表

		課題番号	H20-免疫-一般-002
		氏名	吉川 秀樹
刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名、 巻号数、論文名)	刊行年月日	刊行書店名	執筆者氏名
21. Humanized anti-interleukin-6-receptor antibody (tocilizumab) monotherapy is more effective in slowing radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis at high baseline risk for structural damage evaluated with levels of biomarkers, radiography, and BMI: data from the SAMURAI study. Modern Rheumatology, 21:10-15	2010		Hashimoto, J., Garnero, P., van der Heijde, D., Miyasaka, N., Yamamoto, K., Kawai, S., Takeuchi, T., Yoshikawa, H., Nishimoto, N.
22. PKC α suppresses osteoblastic differentiation. Bone, 48:476-484	2010		Nakura, A., Higuchi, C., Yoshida, K., Yoshikawa, H.

作成上の留意事項

- 1 この表に記入した書籍又は雑誌は、その刊行物又は別刷り一部を添付すること。
- 2 日本工業規格A列4番の用紙を用いること。各項目の記入量に応じて、適宜、欄を引き伸ばして差し支えない。
- 3 当該事業に関する研究成果を記載することとし、該当がない場合も、「該当なし」と記入して提出すること。
- 4 主任研究者及び分担研究者全員は、それぞれ自分の分を作成すること。

IV.研究成果の刊行物・別刷

関節リウマチの病因に迫る：

腸骨骨髓の場で、

ナース様細胞と CD14 (+) 細胞を焦点にあてて。

厚生労働科学研究 報告書
(平成 22 年度まで)

関節リウマチ骨髓血中の疾患誘導因子解明と根治療法開発研究班
主任研究者 越智隆弘 大阪警察病院 院長
国立病院機構相模原病院 名誉院長
大阪大学 名誉教授

サマリー

現在も多くの未解明部分を残す関節リウマチ(RA)の病因・病態に関して、我々は従来の免疫亢進機序解明研究から視点を変えて、RAによる関節破壊機序解明を主課題に研究を進めた。造血組織である腸骨骨髄での白血球全体の機能亢進の中で特に CD14(+)細胞(単球・マクロファージ系細胞)を焦点に当てて RA 病態解明研究を進め、病因にも迫ってきた。多くの研究結果から、我々は RA の最重要病巣は腸骨骨髄と考えるに至った。主病巣と考えられてきた関節滑膜は局所病態の重症化(増悪)に重要な役割を担うが、腸骨骨髄の異常活性化に引き続いて造られる(二次的な)局所病巣と考えている。

RA 患者の腸骨骨髄では、白血球細胞が一様に増殖・活性化し病的細胞が造られている。病的細胞は末梢血を経て関節部骨髄にも集まり、関節内に入り滑膜病巣を形成する。例えば異常な CD14(+)CD15(+)骨髄球系細胞を追跡すると、腸骨骨髄内で分化・形成されて末梢の関節部骨髄に現れていた。活性因子も腸骨骨髄中には関節内より著しい亢進を認めた。我々が RA 病巣に見出した“ナース様細胞”は RA の免疫機能亢進や骨・軟骨破壊機能亢進を導く白血球系細胞個々の維持・活性化の鍵をにぎる細胞であり、RA の腸骨骨髄で造られ関節部骨髄を経て滑膜組織に加わるようだ。多様な滑膜細胞機能を説明できる。このような RA 腸骨骨髄病態の重要性を示す研究結果に加えて、RA 骨髄細胞遺伝子の帰納法的解析結果から免疫亢進は腸骨骨髄からの発進らしいという研究結果が示された。「RA の原因病巣は腸骨骨髄にある」という仮説がより強くなった。

RA による骨・軟骨破壊の面から考えるときに、CD14(+)細胞が根幹的な“悪玉細胞”のようだ。通常の骨代謝として骨吸収に働く破骨細胞と別個に、RA 特異的に分化・機能して高度な骨吸収を導く“破骨細胞様細胞”を見出した。これは RA のナース様細胞との接触によって CD14(+)細胞から誘導される細胞で高度な骨破壊や骨粗鬆症の原因になっている。本報告書の最終項に記載した臨床的研究、RA 患者の全身関節破壊の長期経過観察から判別される重症 RA における重篤な骨・関節破壊機序が本研究で説明できる。CD14(+)細胞は更に T 細胞や B 細胞のつくる微小環境に影響を受けながら、それらの細胞に働き自己抗体産生やリウマチ因子産生などの RA 特異的な免疫反応亢進を誘導することも分かった。CD14(+)細胞を“悪玉細胞”に誘導する“ナース様細胞”は RA だけでなく白血病患者の血中にも見出されたと米国の研究グループにより報告された。RA を血液疾患と同じ場(腸骨骨髄)の疾患として広い視野で考えるべきことを教えられた。彼らは“ナース様細胞”の出現には CD14(+)細胞が関連すると発表し研究を進めているが、これは RA の病因に直結するものとして我々も解明に迫っている。

2010年11月

主任研究者 越智隆弘

目次	
I) 関節リウマチの原因を求めての流れ・・・行政からの支援	3頁
II) 滑膜より更に重要な原因病巣が在るのではないか?・・・臨床現場からの疑問	3頁
III) 骨髄病巣を示唆した関節炎モデル動物	4頁
1、思いがけず遭遇した多発関節炎マウス・・・原因病巣は骨髄?	4頁
2、多発関節炎モデル動物骨髄中の活性因子の変化	8頁
IV) RA 患者特異的な骨髄細胞の変化	11頁
1、重症 RA 特異的な CD14(+)骨髄球系細胞	11頁
A) RA 罹患関節部骨髄中の CD14(+)骨髄球系細胞	11頁
B) RA 患者腸骨骨髄における特異的な CD14(+)骨髄球の分化	13頁
2、RA 腸骨骨髄中に認められる白血球細胞 (単核細胞) の変化	14頁
3、RA 腸骨骨髄中の活性因子	16頁
V) RA の骨髄および滑膜に見出されたナース様細胞	17頁
1、ナース様細胞の存在	17頁
2、ナース様細胞による B 細胞の活性化・・・免疫反応亢進機序	18頁
3、ナース様細胞機能の仕組み	19頁
4、ナース様細胞は血液疾患にも関連する細胞か (他研究グループの報告)	21頁
VI) RA 特異的な“破骨細胞様細胞” (ナース様細胞と CD14(+)細胞との反応)	22頁
1、ナース様細胞による TRAP 陽性単球(NCD14+細胞)への分化	22頁
2、NCD14(+)細胞から“破骨細胞様細胞”へ	23頁
3、RA 病巣の破骨細胞と破骨細胞様細胞の実態	24頁
4、ナース細胞機能発現を修飾する物質	26頁
VII) RA 滑膜様細胞分化誘導の試み	26頁
1、CD34(+)細胞からの分化の試み	26頁
2、CD14(+)細胞への分化と活性化	27頁
VIII) 腸骨骨髄細胞はどのような経路で滑膜組織へ移動するか	28頁
1、腸骨骨髄から関節部 (骨端部) 骨髄へ	28頁
2、関節部 (骨端部) 骨髄から関節腔へ	29頁
IX) 滑膜組織形成に関わる因子	30頁
1、関節液中の可溶性 Fas リガンドによる滑膜細胞のアポトーシス抑制	30頁
2、リンパ濾胞形成因子	31頁
X) RA 骨髄白血球の遺伝子解析	31頁
1、選択的トランスクリプトーム解析	31頁
2、マイクロアレイを用いた網羅的新規遺伝子解析	31頁
A) クラスタリング解析などによる高発現遺伝子の絞込み	31頁
B) 異常発現する分子群の帰納法的病態解析・・・RA 病態発信は腸骨骨髄?	32頁
XI) RA 患者の関節破壊の進行・・・長期臨床経過の解析	32頁
本報告書に引用した発表論文	35頁

I) 関節リウマチの原因を求めての流れ・・・行政からの支援

厚生省が政策的に RA 撲滅を目指して研究費を予算化し“リウマチ調査・研究事業”を開始したのは平成 2 年(1990 年)度のことであった。当時の評価委員会(塩川優一委員長)による審議をもとに初回は主任研究者指名の形で病因解明、病態解明、早期診断法開発、内科的治療開発、外科的治療開発、QOL 向上などを課題とする研究班体制が決められ、全国規模の本格的なリウマチ調査・研究事業が始まった。以後、厚生(労働)行政の変遷や、リウマチ研究の進捗の中で基本構成が変えられながら、全国組織によるリウマチ研究は引き継がれてきた。筆者は平成 2 年(1990 年)に病態研究班の主任研究者に指名され、評価委員会から「これまで多くの研究者によって、“どのようにして RA 患者に進行性の関節破壊が起きるのか”の解明を目指して色々な角度から研究が進められてきた。先入観を捨てて、種々の考え方をもう一度広く網羅して調べ直して解明へと進めて欲しい。」という御指示を頂いた。その方針に従って、平成 2 年に病態解明研究班開始時点での分担研究者は、諸説を代表する研究者諸氏に御願いで多角的な解析を進めた。研究内容は毎年の評価を頂き軌道修正しながら、そして研究班構成は 3 年毎の公募をもとに研究者も主課題も改組されてきた。そのような過程で引き続き研究が続けられた課題の一つは筆者自身が主体的に追いつけた RA 骨髄病態解明研究であった。

II) 滑膜より更に重要なリウマチの原因病巣が在るのではないか?・・・ 臨床現場からの疑問

少し昔の話になるが、「RA の原因は関節内の滑膜(図 1)に在る」という定説のもとに、RA の主要な治療手技であった滑膜切除術は RA の疾患予後を改善する治療法として長年にわたって広く行われていた。筆者らも活動性の続く RA 患者には滑膜切除術を推奨して、多くの関節に増殖する滑膜塊を次々と徹底的に切除した。滑膜切除術後の関節局所の炎症は鎮静化して脹れや痛みは軽減した。しかし、滑膜切除手術後経過を詳細に観察すると、手術をしていない対側関節と同じように破壊が進むことも判明した(9)。また、多くの罹患関節に滑膜切除術を行った患者にも全身的な RA 炎症は依然として続き、滑膜を切除した関節内にも再び滑膜増殖が認められるようになった。**滑膜が RA の重要病巣であることは事実であるが、他に更に重要な原因病巣があるに違いないと考えた。**

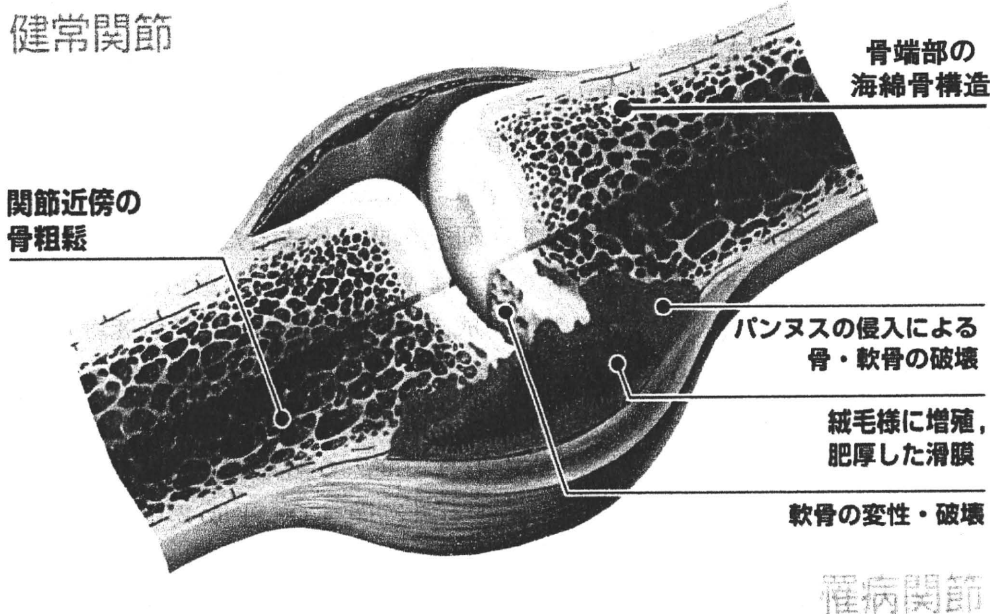


図1、関節部の断面像 上半分は健常人関節の、そして下半分は関節リウマチ(RA)患者の関節の断面像；健常人関節では骨端部（骨の端）の関節面は軟骨に包まれている。関節内（関節腔）で軟骨以外の部分は光沢のある薄い膜（滑膜）で覆われている。関節部の（骨端部の）骨の中は骨梁で区切られた海綿骨になっている。この海綿骨の区画の中に小血管が縦横に走り関節部（骨端部）骨髄を形成している。RA 患者の関節（下半分）では滑膜が増殖して表面は絨毛様と表現されるひだ状の肉芽組織（パニヌス）を形成し、軟骨や骨を侵蝕（骨びらん；erosion）して骨・軟骨破壊が進んでゆく。骨端部の骨内部の骨梁は薄く海綿骨の区画は粗になり、骨粗鬆症の状態に陥る。（図は参天製薬の御協力を頂いた）

Ⅲ）骨髄病巣を示唆した関節炎モデル動物

1、思いがけず遭遇した多発関節炎マウス・・・原因病巣は骨髄？

「RA 患者には滑膜以外に重要な病巣があるのではないか。他の部位に病巣があるとすれば、どこだろう。」そんなことを考えていた筆者は、1975年頃に思いがけず大阪大学医学部細菌学教室の田辺鎮雄博士から声をかけられた。「おい越智よ、俺のところに面白いマウスが居るよ、おもしろいぞ。〇〇君が骨肉腫の C3H/He マウスに対して、BALB/c マウスの胸腺リンパ球を移植すれば延命効果があるかを調べたいというので譲った純系マウスだ。彼が来ないので、わしがマウスに水や餌をやりながら見ていると足が腫れてきているよ。〇〇君に何をしたらのか尋ねたら、わしが譲った BALB/c マウスの胸腺細胞を C3H/He マウスの腹腔内に注入しただけらしい。〇〇君自身はマウスの関節炎には興味が無いと言っているが、お前、調べてみないか？」 第一線病院に勤務中なので研究に長時間を割くことは出来ないが、動物実験の病理学的解析なら病院業務を終えてからでもできると思い、このマウスの関節炎の原因を調べることにした。この C3H/He と BALB/c の二種のマウスはともに、1970年頃に田辺博士が海外から得た純

系マウスを大阪大学微生物病研究所の動物舎で兄妹交配によって維持し、既に 50 代以上経ているという動物であった。これらのマウスを用いて、確かに多発関節炎が起きることを確認して (1)、田辺博士の御力を得て動物実験を行った。

BALB/c マウスの胸腺細胞をアイソトープ (^3H - thymidine) で標識して *C3H/He* マウス腹腔内に注入 (同種胸腺細胞移植) して注意深く観察したが、標識のある細胞は関節内の滑膜や軟骨表面には見出せなかった。標識のある細胞は数時間以内に骨髓内に集まり、骨髓内の未分化細胞の分化が始まった。意外なことに、骨髓内の未分化細胞は先ず骨髓球系細胞様に変化した (図 2 右)。観察を続けると 5 日後には、驚いたことに骨髓内に充満した細胞は関節軟骨端と関節包付着部の間に露出した骨 (ベアゾーン) にある小孔を通して関節腔内へ入り始めた (図 3-A の円内矢印を中心にした拡大が図 3-B)。そして、3 週間後には RA の関節病変そっくりの炎症性滑膜組織が出来上がった (図 4)。

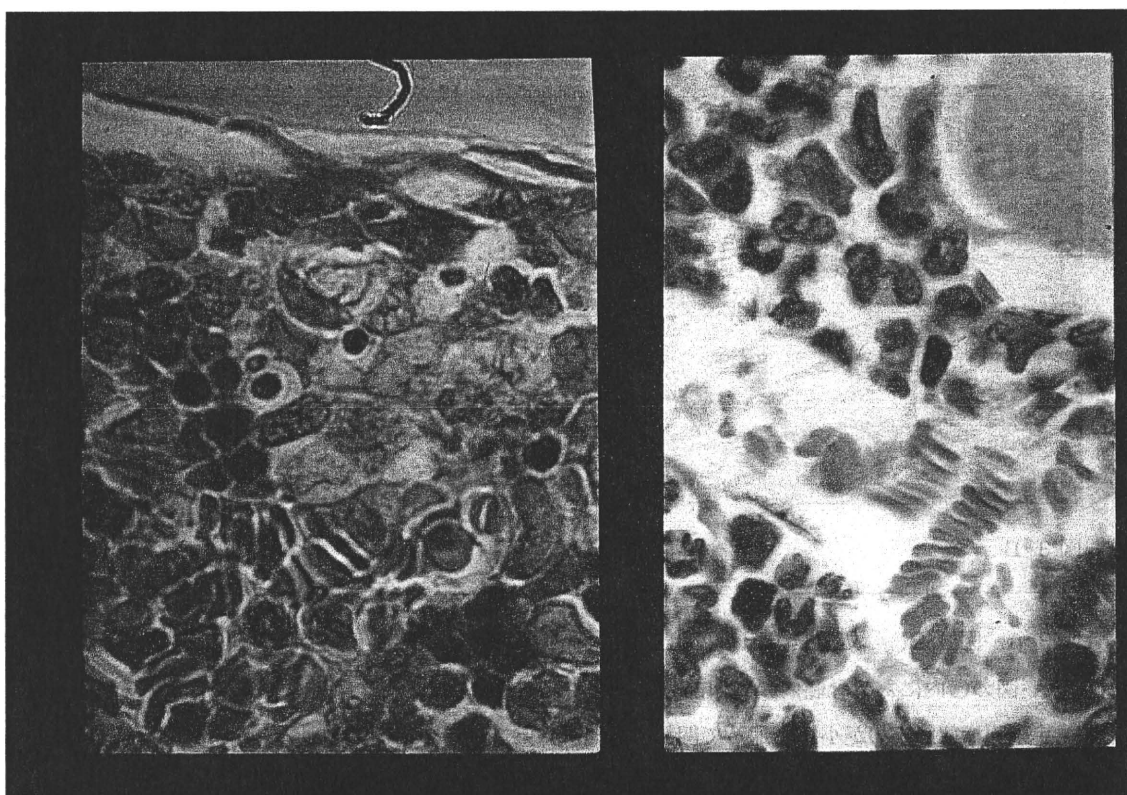


図 2、*C3H/He* マウスの骨髓病理像； 左は処置前の正常骨髓病理像、右は関節炎発症処置後数時間の骨髓病理像で小血管周辺は骨髓球系細胞で満たされた。

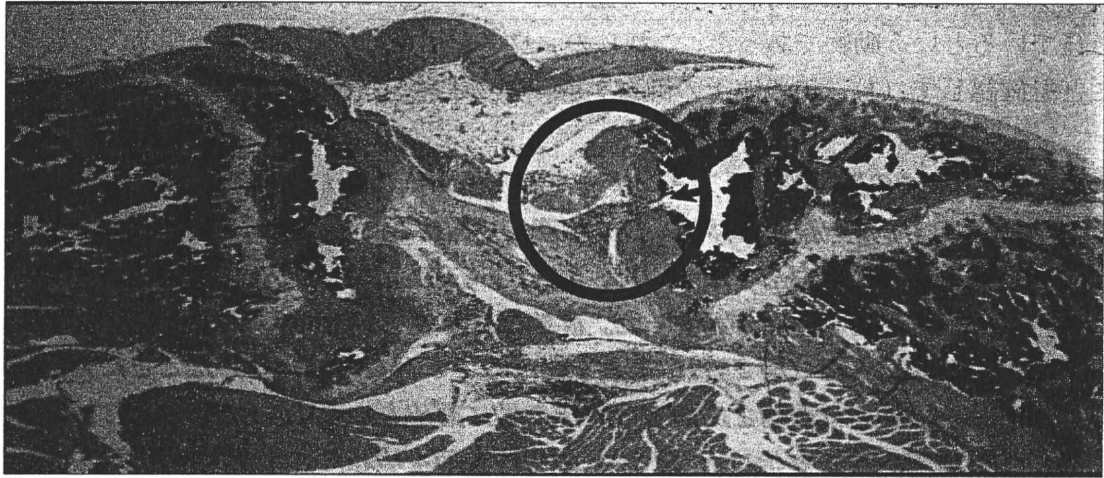


図 3-A



図 3-B

図 3-A、図 3-B、 処置後 5 日の C3H/He マウス関節部骨髓像； 関節腔内はほとんど正常であるが、図 3-A 図の○内にある骨髓内の矢印部分の拡大である図 3-B では、骨髓内の矢印部分から小血管を伴う線維芽細胞様組織(Sy)が小孔を通して関節内(JS)に入っているのが認められる。 BM; 骨髓、 B; 骨、 Sy; 滑膜、 JS; 関節腔、 T; 腱

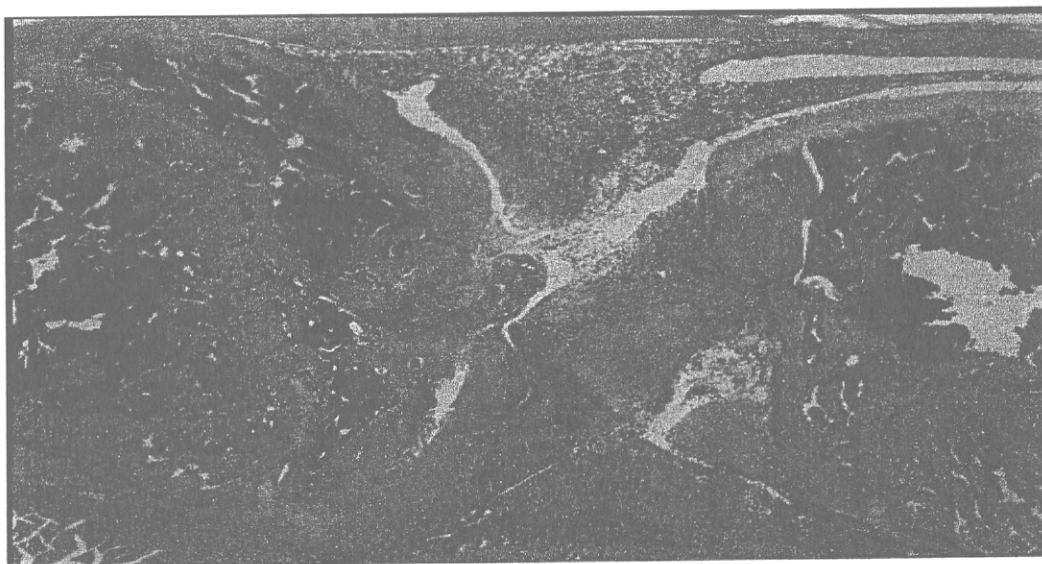


図4、処置後3週間のC3H/Heマウス関節部骨髄像； 関節腔内には滑膜増殖、炎症細胞浸潤、滑膜による骨・軟骨浸蝕が認められ、骨髄内には単核細胞の増殖を認める。RAの関節と類似の病理像である。

ここまでの経過では、このマウスにおける関節炎発症は骨髄での病態変化によるものといえた。次に関節炎を重症化（増悪）させてみようと考え、関節炎を発症しているC3H/Heマウスの腹腔に再び、アイソトープで標識したBALB/cマウスの胸腺細胞を注入した。正常のC3H/Heマウスの腹腔に注入した時には標識細胞を関節腔内に認め得なかったが、関節炎発症マウスの腹腔に注入した時には骨髄内はもとより、関節滑膜の小血管周辺にも標識細胞が多数集積した。そして引き続き、細胞浸潤と細胞増殖が誘発されて病巣が拡大し、関節炎が重症化して骨・関節破壊が急速に進んだ（図5）。関節軟骨表面からの滑膜侵蝕（図5黒矢印）に加えて、骨髄内からの骨破壊（図5白矢印）も認められた。C3H/Heマウスに引き起こされた反応は強い移植免疫反応であり、標識のある細胞は腹腔内に注入された胸腺細胞そのものではなく、標識された胸腺細胞の核をとりこんだ貪食細胞と考えている。以上の病態から、このマウスの関節炎発症は骨髄の病態変化によって引き起こされ、そして関節炎重症化には骨髄のみでなく関節滑膜も重要な病態変化の場となっていた。

このマウスの関節炎病態をRA患者のものと同視できないが、少なくとも「RA患者に滑膜以外の重要病巣があるとすれば骨髄であろう」というヒントを得ることができた。

予想もしなかった結果で興奮したが、兄妹交配で50代以上経たマウスは繁殖力が乏しく、研究用のマウスが得られなくなった。実験動物販売会社からBALB/cとC3H/Heともに購入して同様の処置(1)を試みたが関節炎は発症しなかった。なぜ田辺博士に頂いたマウスに関節炎が発症したかは不明である。他の研究者に動物を譲渡し追試をお願いすることが出来ないと分かって論文発表を諦めたので、ここで詳しくご紹介した。

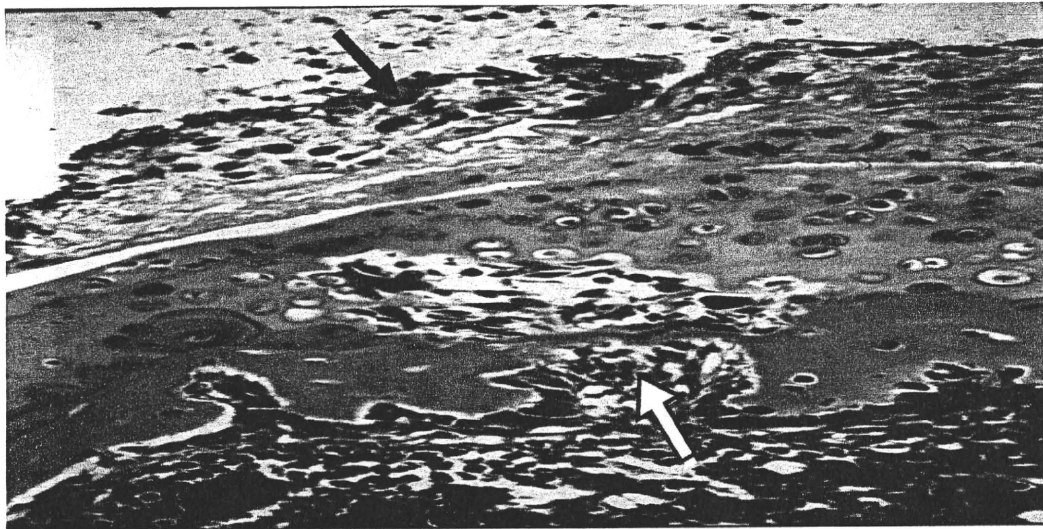


図5、関節炎が重症化したマウスの関節部骨内； 関節軟骨表面からの滑膜浸蝕（黒色矢印）に加えて、骨髄内からの骨・軟骨破壊（白色矢印）も認められる。

2、多発関節炎モデル動物骨髄中の活性因子の変化

筆者が大阪大学に勤め、臨床業務の傍らで研究に携わることが可能になったので、「RA患者に滑膜以外の重要病巣があるとすれば骨髄であろう」というヒントについて調べはじめた。一般的な関節炎モデルラット（コラーゲン関節炎やアジュバンド関節炎など）を用いて関節炎発症に伴う骨髄血の変化を末梢血と比較検討した(6,10,12)。関節炎誘導処置を施すと、先ず骨髄細胞の分化・増殖が始まった(図6)。これは前記の関節炎マウスと同様であった。数日後には炎症性活性因子（サイトカイン）の活性上昇が骨髄血で認められ、比較的軽度になるが末梢血にも認められ始めた。

RAの炎症と密接な関係が報告されているインターロイキン-1 (IL-1) とインターロイキン-6 (IL-6)の活性の変化を調べた。骨髄血中ではIL-1の活性は、コラーゲン関節炎誘導処置後7日目から上昇が始まり、関節炎を認めなくなった8ヶ月後には検出できなかった。この経過中、末梢血中にはIL-1活性を検出出来なかった(図7)(6,12)。骨髄血中のIL-6活性は関節炎誘導処置4日後より上昇が認められ、処置後14から21日にピーク値に達し、関節炎を認めなくなった8ヶ月後には検出できなくなっていた。末梢血中のIL-6活性は骨髄中と同傾向の変化であったが、比較的低い活性であった(図8)。アジュバンド関節炎の骨髄血でも、コラーゲン関節炎と同傾向の変化を認めた(図9)(10)。いずれも関節炎発症と骨髄との関連が強く示唆される結果であった。そのようなラットの関節炎発症研究からも骨髄病巣が重要な役割を果たしているとの結果を得て、RA患者を対象にした骨髄研究を模索し始めた。尚、臨床的な軽症または重症RAの分類は最終項(XI)に記した内容に基づいた。

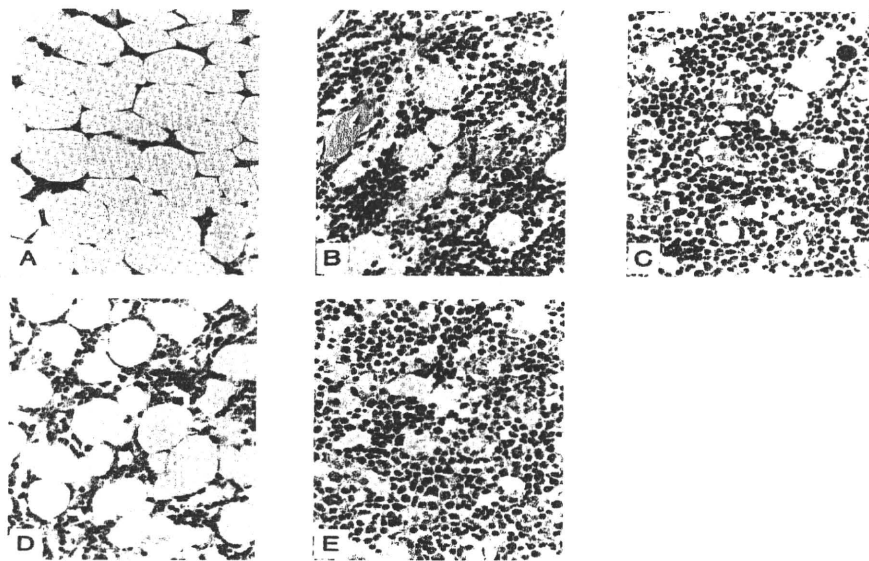


図 6、関節炎ラットの関節部骨髓内； A；未処置ラット骨端部骨髓内には脂肪組織の間隙に少数の骨髓細胞が散在する。B；アジュバンド関節炎誘発処置 4 日後、C；アジュバンド関節炎誘発処置 21 日後、D；コラーゲン関節炎誘発処置 4 日後、E；コラーゲン関節炎誘発処置 21 日後夫々の骨髓内。(10)より。

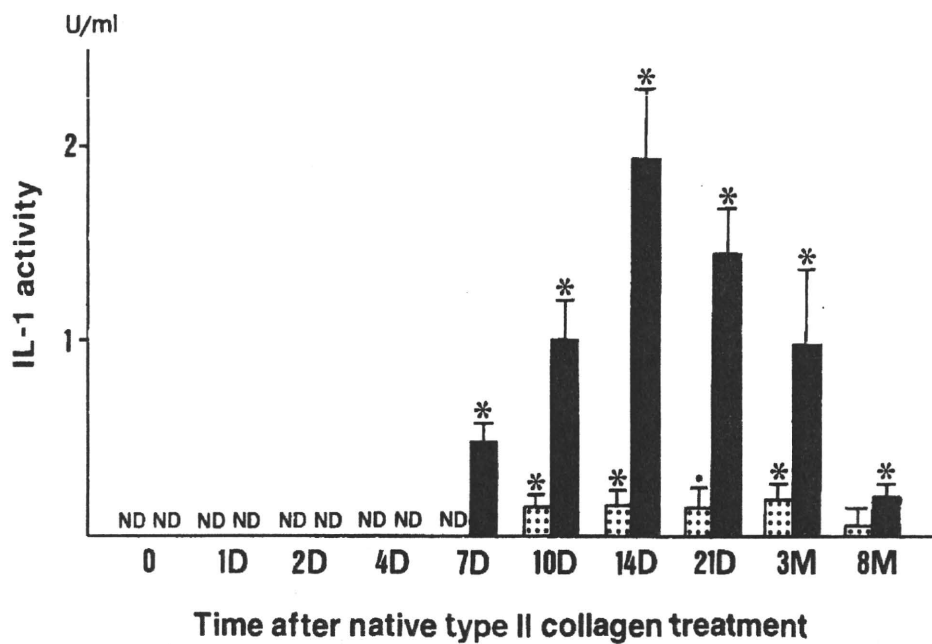


図 7、コラーゲン関節炎ラットの末梢血中と骨髓血中の IL-1 活性の変化； 縦軸は IL-1 活性(U/ml)、横軸はコラーゲン関節炎誘発処置後の日数(D)または月数(M)を示す。■は骨髓血、▨は末梢血。(12)より。

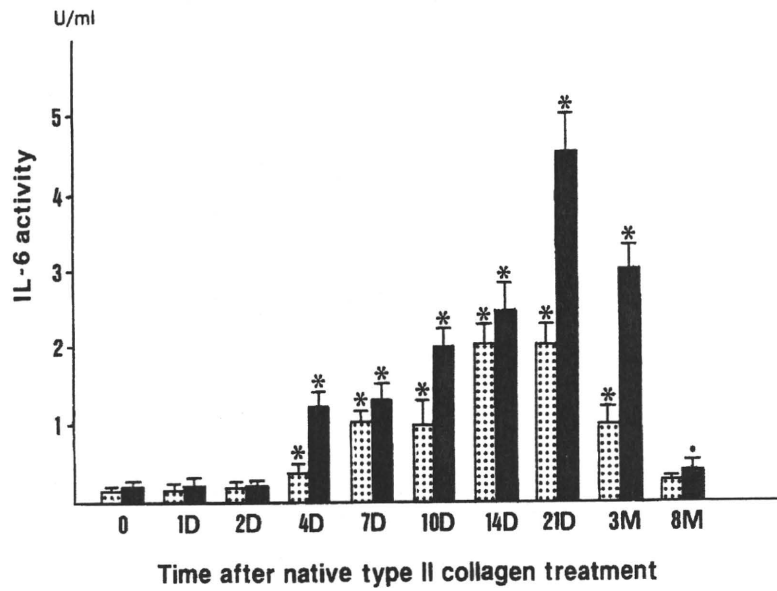


図 8、コラーゲン関節炎ラットの末梢血中と骨髄血中の IL-6 活性の変化； 縦軸は IL-6 活性(U/ml)、横軸はコラーゲン関節炎誘発処置後の日数(D)または月数(M)を示す。■は骨髄血、▨は末梢血。(12)より。

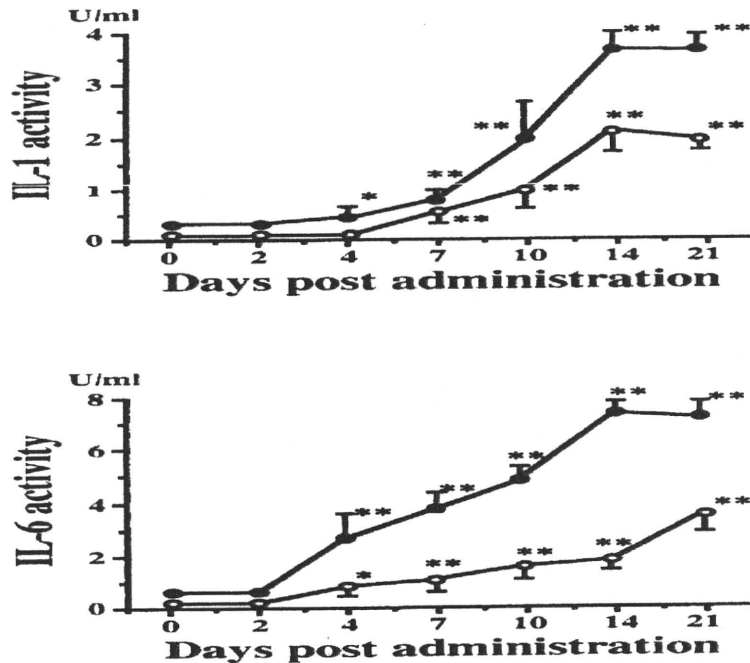


図 9、アジュバンド関節炎ラット(●)とコラーゲン関節炎ラット(○)の骨髄血中の IL-1 活性(U/ml) (上図)と IL-6 活性(U/ml) (下図) の変化； 縦軸は活性(U/ml)、横軸は関節炎誘発処置後の日数を示す。(10)より。

IV) RA 患者特異的な骨髓細胞の変化

RA 患者の骨髓を重要病巣と考え得るだろうか。骨髓は多種の血液細胞成分が混在する場所なので、仮に RA の病的な細胞があったとしてもそれを識別する適切なマーカーが要る。そんなマーカーがあるのだろうかと思いながら、開き直って素人っぽく考えた。「RA は色々な薬物治療によって抑えきれず進行し続ける、まるで癌のような疾病だ。骨髓に混在する多様な細胞のなかから“まるで癌細胞”という細胞を探してみよう」

1、重症 RA 特異的な CD14 (+) 骨髓球系細胞

A) RA 罹患関節部骨髓中の CD14 (+) 骨髓球系細胞

米国ワシントン州立大学の箱守教授から“まるで癌細胞”という細胞に反応する抗体、即ちヒトの胃癌や大腸癌(腺癌)細胞表面の癌特異的糖鎖構造に反応する2種の抗体(FH2 と FH4)を頂いた。抗体を標識して、RA 患者(軽症 RA、重症活動性 RA、重症燃え尽き[burned out] RA)と非 RA 対照として変形性関節症(OA; osteoarthritis)患者、感染性関節炎患者の膝関節手術時に関節部(骨端部)骨髓血を調べた(図 10)。活動期の重症 RA の骨髓血中には FH2 および FH4 抗体に細胞膜が反応する“まるで癌細胞”が見出されたが、軽症 RA および非 RA 対照には見出せなかった。

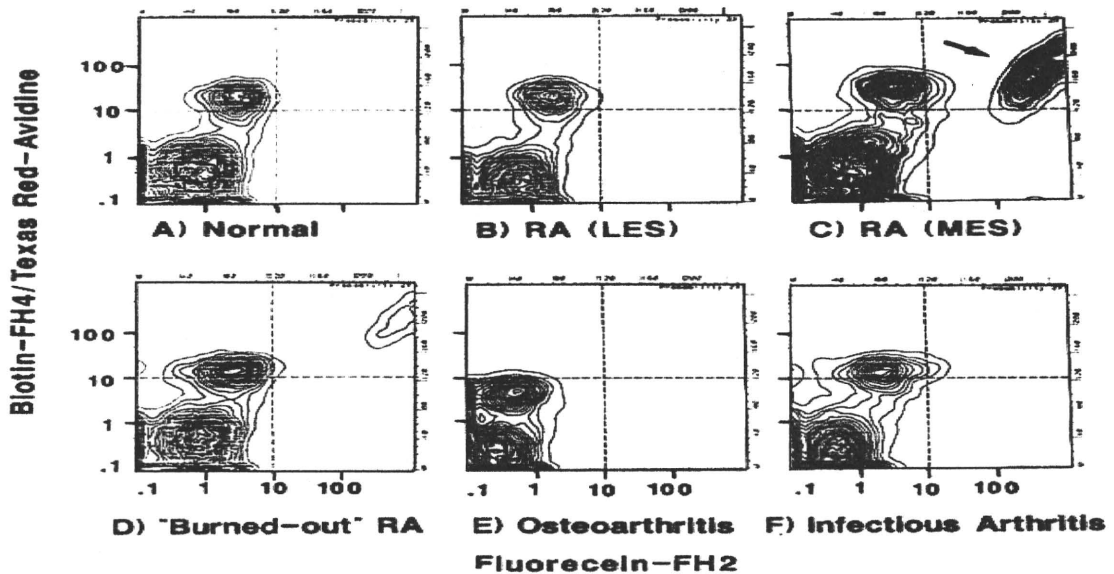


図 10、癌特異的糖鎖構造保有の (FH2 と FH4 抗体と反応する) 関節部骨髓中の細胞。A) 正常対照 (疾患を持たない外傷患者)、B) 軽症 RA (LES)、C) 重症 RA (MES)、D) 燃え尽き RA (burned out)、E) 変形性関節症 (OA)、F) 感染性関節炎 (infectious arthritis)、横軸は FH2 抗体との反応強度を、縦軸は FH4 抗体との反応強度を示す。C) の矢印に FH2 抗体と FH4 抗体と共に強く反応する細胞を示す。(4)より。

抗体をペルオキシダーゼラベルして免疫電顕で検討した。重症 RA 骨髓に特異的に認められる“まるで癌細胞”は細胞表面に CD14 構造と癌特異的糖鎖構造をもつ骨髓球系細胞で(図 11) (4)、この糖鎖構造が病態に関連しているらしいこと(13)も判明した。

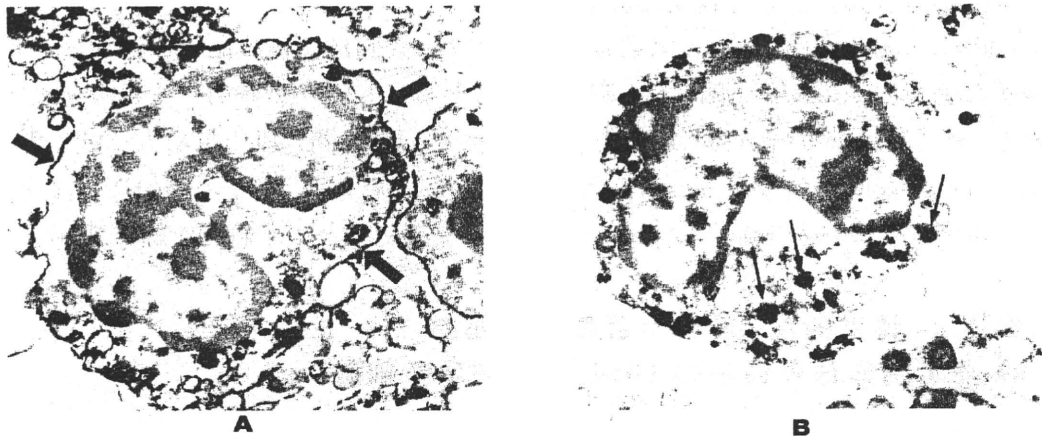


図 11、腸骨髄白血球中の“まるで癌”細胞の免疫電顕写真で形態的に骨髄球系細胞である。AはFH4抗体を反応させたもので、矢印はFH4抗原を保有する細胞膜を示している。Bは抗体なしのもので、矢印はペルオキシダーゼ陽性顆粒を示している。(16)より。

この話に関連する細胞マーカーを簡単に確認したい。腸骨髄にある白血球を構成する細胞の中で、骨髄球系細胞はCD15陽性、即ちCD15(+)で、これは成熟すると多形核白血球(PMN; polymorphonuclear neutrophyle)に分化する。単球・マクロファージはCD14陽性、即ちCD14(+)で表される。両者を区別する時は、正常の骨髄球系細胞はCD14(-)CD15(+)と表現し、単球・マクロファージはCD14(+)CD15(-)と表現する。

重症RA患者特異的と言えるこのFH2とFH4を保有する、“まるで癌細胞”の骨髄球が一般的な細胞マーカーで表現できないかと検討した。この骨髄球系細胞はCD14(+)も保有し、骨髄球系細胞としては異常であるがCD14(+)CD15(+)細胞と表現された。CD14(+)CD15(+)細胞が見出された関節部骨髄には、やや未分化な細胞(8)も増殖因子も見出された(7)こともあり、“まるで癌細胞”骨髄球の存在は関節部骨髄局所での異常と考えていた。

この異常な骨髄球系細胞がRA病態としてどのような役割を果たしているのか。骨髄球は多形核白血球に分化する細胞なので、“まるで癌細胞”が存在する膝関節部骨髄の多形核白血球を調べた(5,17)。重症RA患者の末梢血中の単核細胞中や多形核白血球中に、RAに伴う組織破壊活性に重要と知られるIL-1 α 、 β が異常に高濃度に認められ(17)、高度の組織破壊機能亢進が示唆された。特にムチランス型といわれる最重症RA患者の関節部骨髄の多形核白血球中には際立って高濃度のIL-1 α 、 β を認めた。重症RA関節部骨髄における骨髄球系細胞の異常な活性化が示唆された。

B) RA 患者腸骨骨髄における特異的な CD14 (+) 骨髄球系細胞の分化

骨髄球系細胞の存在を認めた RA 患者関節部骨髄に対する対照という考えで、同じ患者の造血器官である腸骨骨髄も併せて調べた(16)。RA 患者の腸骨骨髄中には一見正常の CD14 (-) CD15 (+) 骨髄球系細胞とともに、“まるで癌細胞”の CD14 (+) CD15 (+) 骨髄球系細胞 (矢印に示した細胞群) が多数存在していた (図 12 左下矢印)。

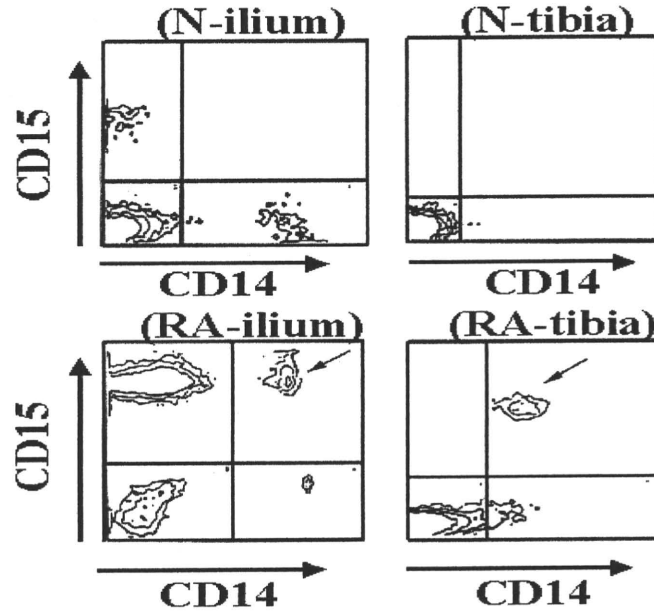


図 12、非 RA 対照(上段)と RA 患者(下段)の腸骨骨髄と膝関節部骨髄白血球のフローサイトメトリーで骨髄球系細胞[CD15(+)]を解析したもの。縦軸は CD15 抗体に対する反応、横軸は CD14 抗体に対する反応。右側上図は非 RA 対照の膝関節部骨髄血で、骨髄球系細胞を認めない。左側上図は非 RA 対照の腸骨骨髄血で正常[CD14(-)CD15(+)]の骨髄球系細胞のみ。右側下図は重症 RA 膝関節部骨髄血で、“まるで癌”骨髄球系細胞 (→) のみが認められる。左側下図は重症 RA 腸骨骨髄血で正常骨髄球系細胞とともに “まるで癌” 骨髄球系細胞 (→) が認められる。

重症 RA 患者腸骨骨髄中の一見正常の CD14(-)CD15(+)-骨髄球系細胞を採取して培養すると、“まるで癌細胞”の CD14(+)-CD15(+)-細胞へと分化し、培養中に活性因子 (IL-1 β または、GM-CSF) を加えると顕著な促進活性を認めた(25)。前項 A)に述べたように同部の (骨髄球系細胞が成熟した) 多形核白血球が異常に多量の IL-1 を産生していることから、この作用により更に“まるで癌細胞”が増してゆく増悪サイクルがあると考えられた。一方、このような重症 RA 患者の細胞培養液中から T 細胞(CD2 細胞)を除けば “まるで癌細胞”である CD14(+)-CD15(+)-細胞数が明らかに(P=0.0133)増加した。即ち、この細胞の分化に T 細胞が抑制機能をもつことが示された。**重症 RA 関節部骨髄には CD14 (+) CD15 (+) 細胞 (図 13 右下矢印) のみで前駆細胞の CD14 (-) CD15 (+) 細胞が認められないことから、“まるで癌細胞”は前駆細胞である CD14 (-) CD15 (+) 細胞が在る腸骨骨髄で造られ末梢に移動したと考えられた (図 13)。**

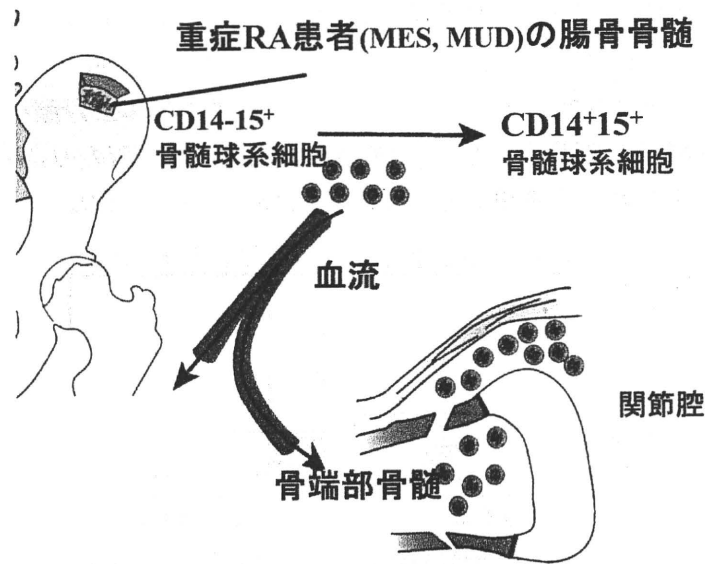


図 13、“まるで癌細胞”と表現できる重症 RA 患者に特異的な CD14(+)⁺骨髓球系細胞は造血器官である腸骨骨髓で造られ、末梢に移動し関節部骨髓に集積していることが考えられた。

2、RA 腸骨骨髓中に認められる白血球細胞（単核細胞）の変化

重症 RA の腸骨骨髓には“まるで癌細胞”も集積して骨吸収機能が亢進していることが示されたが、現実には腸骨内の骨梁は骨粗鬆症状態で非常に薄くなっている（図 14）。

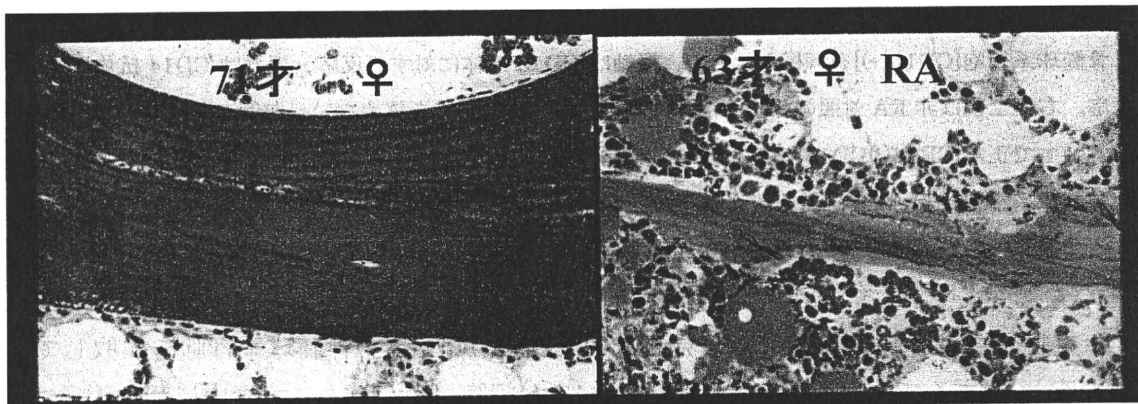


図 14、腸骨骨梁と周辺の骨髓細胞。左図は非 RA 対照とした高齢[71 歳] 婦人の骨梁、右図は重症 RA[63 歳]の骨梁；病理標本は旧東北大学医学部第 3 解剖学教室 伊藤恒敏教授により作成されたもの。

このような腸骨骨髓の白血球細胞の中で RA 患者に異常所見が認められるのは前述の骨髓球系細胞だけであろうか。もう一度研究を見直す気持ちで、腸骨骨髓血、膝関節部（骨端部）骨髓血そして末梢血を対象にして白血球（単核細胞; MNC; mononuclear cell）全体の構成を調べた(16) (表 1)。末梢血中の白血球(MNC)数を比べると RA 患者と非 RA 対照との間に明瞭な差を認めなかったが、**腸骨骨髓血中の白血球細胞総数を比べると RA 患者では非 RA 対照に比べて約 3 倍近くに増加しており、腸骨骨髓白血球に**