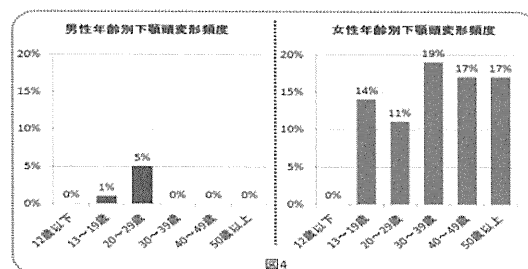
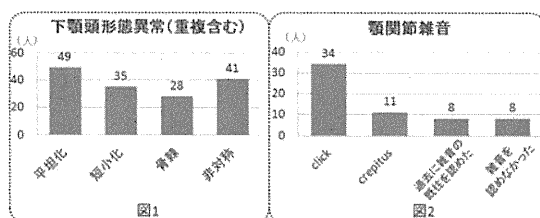


無、非対称性を評価した。さらに性別、初診時年齢、不正咬合の分類、治療法についても検討を行った。なお先天異常を伴う症例は本研究から除外した。

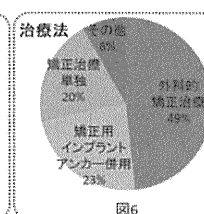
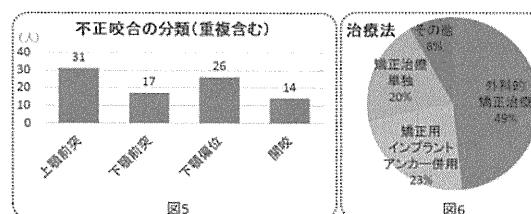
C:研究結果

下顎頭形態の異常として、平坦化が最も高頻度に見られ、次いで非対称、短小化、骨棘の順であった。非対称は片側のみ変形を認めるものや、両側に変形を認めるが程度の異なるものなど多様性を示していた。顎関節雑音は過去に既往を認めたものを含めると 87%で認められた(図 1, 2)。

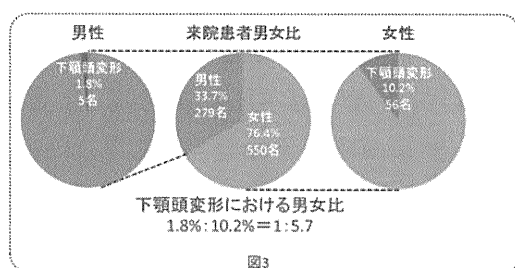


不正咬合の分類別では上顎前突、下顎偏位が多く認められた。下顎前突のうち 65%で下顎偏位と重複していた(図 5)。

治療法としては外科的矯正治療が最も多く、次いで矯正用インプラントアンカーを併用した矯正治療、矯正治療単独の順であった。その他としては当院顎関節治療部への紹介が最も多かった(図 6)。



当分野において男性来院患者の 1.8%に、女性来院患者の 10.2%に形態異常を認めた。男女比は男性：女性=1:5.7で女性が多かった(図 3)。下顎頭変形は男性では 13~29歳でわずかに認めたのみであったが、女性では 13歳以上の各年齢層で高い頻度を示していた(図 4)。



D:考察

1. 下顎頭変形患者は男性においては 13~29歳でのみわずかに認める一方、女性では 13歳以上の各年齢層で一定して高い割合で認められることから、女性特有の発症要因の存在が示唆された。
2. 下顎頭変形は平坦化、短小化、骨棘、対称性の 4項目はそれぞれ重複し、多様な変形所見を認めた。
3. 下顎頭変形を認めた症例ではその多くに顎関節雑音が認められた。
4. 外傷の既往や全身疾患の影響が疑われる症例はわずかに認められたが、

その関連性は今後さらなる検討が必要である。

5. 不正咬合の分類において、上顎前突を呈した症例が多かった要因として、下顎頭の変形（特に短小化）が下顎の clockwise rotation を誘発したと推察された。
6. 治療法として外科的矯正治療の施行や矯正用インプラントアンカーを用いた症例が多かった要因として、下顎頭変形による骨格的不調和が大きく関与している可能性が考えられた。

E: 下顎頭吸収を伴う不正咬合患者に対する矯正歯科外来での対応

矯正歯科初診時の基本検査(X線診査、模型診査、アンケート等)から、下顎頭に問題を認めた患者に対して CT、MRI、顎機能検査などの顎関節の精査を行う。顎関節痛、開口障害等の臨床症状を認めた場合は、口腔外科外来や顎関節治療部と連携して臨床症状の軽減を優先する。また、リウマチなどの全身疾患が疑われる場合は、医学部への対診を行っている。下顎頭吸収が進行性であると疑われる場合は、その進行状態の確認のために経過観察を行う。下顎頭吸収が進行性でないと判断した場合は、矯正治療計画を立案していくことになる。

F: 症例

東京医科歯科大学歯学部附属病院矯正歯科外来を受診し、初診時に下顎頭の変形を認めた 7 症例のうち、下顎頭吸収の進行が疑われた 4 症例（経過観察した 3 症例、5 年の経過観察後に外科的矯正治療

を行った 1 症例）と下顎頭吸収の進行はないと判断した 3 症例（外科的矯正治療を行った 2 症例、歯科矯正治療を行った 1 症例）を検討する。

症例 1

初診時年齢 18 歳 2 か月、Overjet +3.5mm、Overbite -3.0mm、Angle Class II の女性症例。正貌は左右対称、側貌は Convex type。CT により下顎頭形態を確認したところ、皮質骨の断裂は認められなかったが両側下顎頭の軽度の変形が認められた。また中学生頃から前歯が開いてきたとのことで、下顎頭の進行性吸収が疑われたため、経過観察を行った。

症例 2

初診時年齢 25 歳 3 か月、Overjet +5.0mm、Overbite +1.0mm、Angle Class II の女性症例。正貌は左右対称、側貌は Convex type。CT により下顎頭形態を確認したところ、両側下顎頭上方に皮質骨の断裂、著しい吸収像が認められたため、経過観察を行った。

症例 3

初診時年齢 26 歳 8 か月、Overjet +12.0mm、Overbite +3.5mm、Angle Class II の女性症例。正貌よりオトガイ部の左方偏位を認め、側貌は Convex type。CT により下顎頭形態を確認したところ、皮質骨の断裂、粗造な皮質骨表面像が認められ、また顎位が不安定であるため Splint を併用し経過観察を行った。1 年後、左側下顎頭に進行性の吸収とともに、わずかな下顎の後方移動を認めた。

症例 4

初診時年齢 15 歳 6 か月、Overjet +15.0mm、Overbite -2.5mm、Angle

Class IIの男性症例。正貌でオトガイ筋の緊張を認め、側貌は Convex type。CTにより両側下顎頭の著明な短小化と表面性状の問題を認めた。進行性の下顎頭吸収と判断し経過観察を行った。観察4年目から5年目にかけて、下顎頭吸収の進行がとまると判断し、外科的矯正治療を前提とした術前矯正治療を開始した。なお、観察5年経過時のCTより下顎頭の構造物はほぼ失われていた。下顎には下顎歯槽部骨切り術と骨延長法を併用し、上顎は小白歯の抜歯を併用した外科的矯正治療により、咬合状態は改善した。現在保定観察中である。

症例5

初診時年齢 17 歳 11 か月、Overjet +10.5mm、Overbite -3.0mm、Angle Class IIの女性症例。正貌は左右対称、側貌は Convex type。X線写真より両側下顎頭変形が疑われたが進行性の吸収はないと判断し、術前矯正治療後に下顎枝矢状分割術による下顎の前方移動を施行し、下顎の後退感の解消、咬合状態の改善が認められた。しかし保定開始後3年経過時に咬合状態の悪化を認め、X線写真から、術後の下顎頭吸収の関与が推測された。

症例6

初診時年齢 52 歳 9 か月、Overjet +11.0mm、Overbite +5.5mm、Angle Class IIの女性症例。正貌で閉口時にオトガイ筋の緊張を認め、側貌は Convex type。X線写真にて左側下顎頭の平坦化を認めたが、進行性ではないと判断し、外科的矯正治療による術前矯正治療を開始した。下顎頭への負担軽減のために、

上顎前歯部歯槽骨切り術とオトガイ形成術を選択し良好な咬合状態を獲得した。保定開始後2年経過時においても顎関節に変化を認めず安定した咬合を保持していた。

症例7

初診時年齢 23 歳 2 か月、Overjet +11.0mm、Overbite 0mm、Angle Class IIの女性症例。正貌でオトガイ筋の緊張を認め、側貌は Convex type。CTより両側下顎頭の著しい吸収像を認めたが、皮質骨の連続性を認めたため、積極的に矯正用インプラントを用いた上顎大白歯の圧下を用い、下顎の反時計方向への回転を図る治療を行った。保定開始時に下顎頭の吸収による若干の下顎の後退を認めたものの、良好な咬合が確立された。

過去の報告と同様、当分野でも下顎頭の吸収、変形を認める症例では、開咬を伴う下顎後退症が多かった。これらの顎態に対する矯正治療では、骨格的な不調和を改善するために外科的矯正治療を用いることも多いが、術後の安定性を図ることが難しい症例もみられる。治療計画の立案には、下顎頭の再吸収のリスクも考慮し、顎関節に対して負担の少ない術式を選択する必要がある。

一方、近年では矯正用インプラントアンカーを用いることで、積極的に臼歯部を圧下し、下顎の反時計方向の回転による下顎の後退感、開咬の改善を図る治療も行われ、良好な結果を得ている。長期的な予後をみる必要があるが、現時点では有効なオプションの一つと思われる。

G: 結論

過去の報告と同様に、当分野を受診した患者では下顎頭変形が女性に比較的多く認められたため、矯正治療計画立案においては慎重な対応が必要と考えられた。

さらに進行性の下顎頭吸収が疑われる場合には、その進行が止まるまで経過観察を余儀なくされることが多く、歯科矯正治療の開始時期の遅延により治療が長期化する。また、外科的矯正治療を行う際には、外科処置や後戻りのリスクに関して患者の同意が必要となるとともに、慎重な術式の選択が求められる。

今後、長期的な安定性を考慮した、下顎頭に対して負担の少ない治療方法の確立を行っていきたい。

2. 実用新案登録
なし
3. その他
特記事項なし

H: 健康危機情報

なし

I: 研究発表

1. 学会発表

茂木和久、川元龍夫、東堀紀尚、森山啓司 「東京医科歯科大学歯学部附属病院顎顔面矯正学分野を受診し下顎頭変形を認めた不正咬合患者に関する臨床統計学的検討」 日本顎関節学会2011年7月、広島

2. その他の業績

書籍等

なし

J: 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）総合分担研究報告書

（平成 22・23 年度）

進行性下顎頭吸収の診断基準策定とその治療に関する研究

(H22-難治-一般-157)

基礎班：炎症性骨代謝異常の機序解明

分担研究者：松島網治 東京大学大学院医学系研究科・分子予防医学 教授

分担研究者：上羽悟史 東京大学大学院医学系研究科・分子予防医学 助教

研究要旨

進行性下顎頭吸収 (Progressive Condylar Resorption : PCR) の病態形成には、物理的な要因に加え、骨および軟骨の代謝異常の関与も示唆されているが、その発症機序ならびに診断マーカーは確立していない。我々は最近、臨床的に骨粗鬆症と相関が報告されている同種造血幹細胞移植 (allo-HSCT) 後の移植片対宿主病 (GVHD) のモデルマウスでは、CD4 T 細胞依存的に骨形成を司る骨芽細胞が重度に障害されることを見出した。免疫系による骨代謝制御の分子機序が明らかになれば、PCR における免疫系の関与を検証する分子マーカーならびに治療法の確立につながる可能性がある。本研究では、まず X 線非照射 GVHD モデルを作成し、CD4 T 細胞依存的な骨芽細胞障害の発症過程を詳細に解析した。X 線照射モデルと同様に、GVHD 誘導群では CD4 T 細胞が骨髄に浸潤する移植後 10 日目に骨芽細胞マーカーである ALP 活性の低下を認めた。また RT-PCR 解析により、骨芽細胞分化の中期以降に発現する *Osterix*, *Osteocalcin* の発現低下を認めたが、骨芽細胞分化の初期から発現する *Runx2* の発現は亢進していた。また X 線照射 GVHD モデルにおいて、経時的に骨芽細胞障害を解析したところ、GVHD の有無に関わらず移植後 4 日目に骨芽細胞の著明な減少を認めた。GVHD 非存在下では 7 日目にかけて骨芽細胞の回復を認めたが、GVHD 誘導群では観察期間を通じて回復を認めず、*Osterix*, *Osteocalcin* 発現も BMT 群に比較し抑制されていた。さらに、*in vitro* における T 細胞と前骨芽細胞株との共培養実験により、GVHD マウス由来 T 細胞が骨芽細胞分化を直接抑制する事が明らかになった。一方、骨髄キメラマウスを用いた実験により、TCR - MHC II を介した CD4 T 細胞による骨芽細胞の認識は、骨芽細胞障害に関与しないことも明らかになった。今後 CD4 T 細胞による骨芽細胞に対す

る分化抑制の分子機序における関与と治療・診断標的としての可能性を検討することで、PCRにおける免疫系の関与を検討できるものと期待している。

A:研究目的

進行性下顎頭吸収(Progressive Condylar Resorption : PCR)は、進行性の下顎頭の形態吸収変化とそれに伴う著明な同部の体積の減少と定義される。その病態形成には物理的な要因に加え、骨および軟骨の代謝異常の関与も示唆されている。近年、炎症に伴う骨代謝異常、特に骨吸収を司る破骨細胞の増加、活性化による骨病変の分子機序が明らかにされ、これを標的とした分子標的薬が臨床応用されつつある。

一方、最近我々は、同種造血幹細胞移植(allogenic hematopoietic stem cell transplantation: allo-HSCT)の合併症である移植片対宿主病 (Graft-versus-Host disease: GVHD) のモデルマウスを解析し、活性化ドナーCD4 T細胞が、骨形成を司る骨芽細胞の前駆細胞からの分化・成熟または増殖を抑制することを見出し、免疫学的な機序によって骨形成が抑制されうることを明らかにした。

本研究では、初年度に CD4 T細胞依存的な骨形成不全の発症機序解明の基礎を築くことを目的として、X線非照射 GVHD モデルにおける骨芽細胞障害の発症過程を詳細に解析し、2年次に移植の前処置として行う X線照射の骨芽細胞障害への関与を検証するとともに、CD4 T細胞と前骨芽細胞株

との in vitro 共培養系を用いた抑制機序の検討を行った。

B:研究方法

(1). GVHD モデル: 11Gy または 3Gy の X線 を移植前日に照射した (C57BL/6 x DBA2) F1 マウス (BDF1: H2^{b x d}) に、C57BL/6 マウス (B6: H2^b) から調整した T細胞除去骨髄 (TCD BM) のみ (BMT 群) または TCD BM とともに脾臓 T細胞を移入し、X線照射 GVHD モデルを作成した。また、未処置 BDF1 マウスに B6 脾臓細胞を移植し、X線非照射 GVHD モデルを作成した。

(2). 骨髄キメラマウス: 致死量 X線照射を施した B6 または bm12 に B6 由来 T細胞除去骨髄細胞 (TCD BM) を 5×10^6 個/マウス移植した。移植 2ヶ月後、同骨髄キメラマウスに再度 X線照射を施した後、bm12 マウス由来 TCD BM のみ、または TCD BM + T細胞を移植し、GVHD を誘導した (bm12→[B6→bm12] モデル)。

(3). フローサイトメトリー: レシピエントのリンパ節、末梢血、骨髄より細胞懸濁液を調整し、蛍光標識した抗マウス CD4, CD8, CD44, CD62L, CD45.1, CD45.2 抗体で染色した後、ドナー T細胞の増殖および骨髄浸潤を LSR II フローサイトメーターを用いて解析した。

(4). 病理学的解析：allo-HSCT 後経時的に GVHD マウスまたはコントロールマウスの骨サンプルを採取し、HE 染色および酵素発色法による alkaline phosphatase (ALP) 陽性骨芽細胞の検出を行った。

(5). RT-PCR：凍結破砕した骨サンプルより RNA を抽出し、cDNA へ逆転写後、骨芽細胞の分化に関わる遺伝子 (*Runx2*, *Osterix*, *Osteocalcin*) 発現を RT-PCR により解析した。

(6). In vitro 共培養系：X 線非照射 GVHD モデルにおいて、脾臓細胞移植後 7 日目のレシピエント脾臓からドナー T 細胞を磁気分離法により純化し、種々の比率で前骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞と骨芽細胞誘導培養条件下で共培養した。また、共培養の際に transwell を使う事で、細胞間接触依存性を検討した。

本研究で行った全ての動物実験は、各種法令および指針を遵守し、動物愛護を十分に配慮した上で遂行した。

C:研究結果

X 線非照射 GVHD モデルにおいて、ドナー T 細胞の骨髄浸潤と骨芽細胞障害を経時的に解析した。フローサイトメトリーにより、リンパ節では移植後 2 日目から CD45.1⁺ ドナー CD4 および CD8 T 細胞の増加を認め、10 日目をピークとして減少した。骨髄では 7 日目から 10 日目にかけてドナー T 細胞が増加し、14 日目をピークとして減少した(図

1)。骨髄の組織学的解析により、移植後 10 日目に ALP 陽性骨芽細胞の減少を認めたが、14 日目以降では回復していた(図 2)

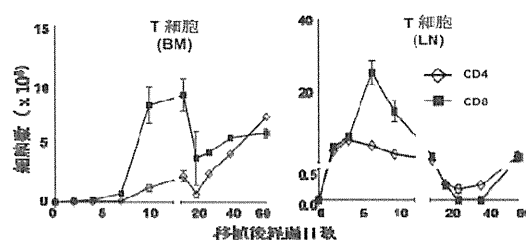


図 1. ドナー T 細胞の動態

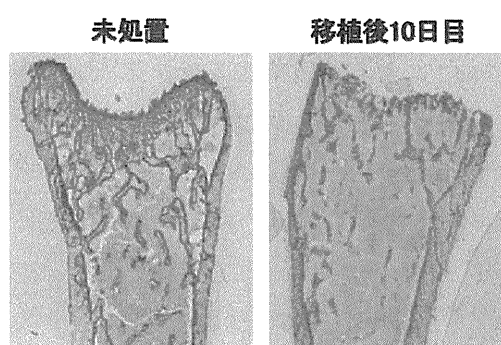


図 2. 移植に伴う骨芽細胞障害

Real-time RT-PCR により骨芽細胞マーカーを解析したところ、骨芽細胞の分化過程(前駆細胞 -> 未成熟 -> 成熟)において、未成熟以降に発現する *Osterix*, 成熟骨芽細胞に発現する *Osteocalcin* の発現は減少していたが、前駆細胞以降に発現する *Runx2* の発現は亢進していた(図 3)。これらの結果から、T 細胞依存的な骨芽細胞障害は、骨芽細胞前駆細胞から未成熟骨芽細胞への分化を抑制することが示唆された。

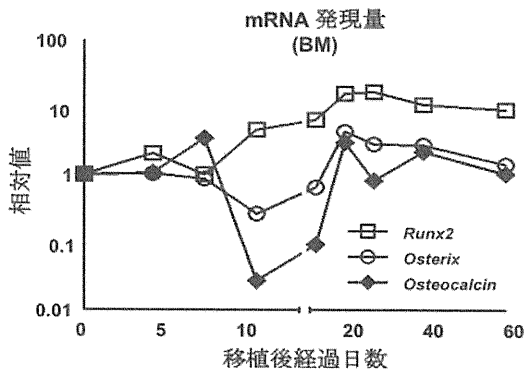


図 3. 骨芽細胞マーカーの動態

bm12→[B6→bm12]モデルを作成し、ドナーT細胞にとって骨芽細胞などの組織細胞が syngenic になる移植条件下で骨芽細胞障害が発症するかを検討した。本モデルでは、ドナーT細胞はレシピエントの BDF1 由来血球系細胞を認識し、エフェクターT細胞へと増殖、分化する。フローサイトメトリーにより脾臓および骨髄における細胞数を解析したところ、X線照射 B6→BDF1 モデルと同様に GVHD 誘導群において脾臓、骨髄におけるドナーT細胞の増加を認めた。また、同時に骨髄GVHDの指標となるB細胞の回復を解析したところ、GVHD 誘導群ではB細胞の回復が完全に抑制されていた(図4)。

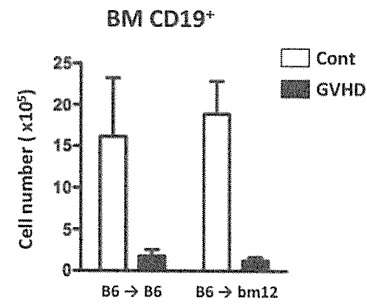


図 4. bm12→[B6→bm12]GVHD モデルにおけるドナーT細胞の増殖、骨髄浸潤とB細胞の回復

X線照射GVHDモデルにおいて、ドナーT細胞の骨髄浸潤と骨芽細胞障害を経時的に解析した。フローサイトメトリーにより、GVHD群ではドナーCD4 T細胞の骨髄浸潤は移植後4日目から認められ、その後14日目にかけて増加した(図示せず)。骨髄の組織学的解析では、BMT群、GVHD群、いずれも移植後4日目にかけてALP陽性骨芽細胞の著減を認めたが、BMT群では7日目にかけて回復する一方、GVHD群では観察期間を通じてALP陽性細胞の回復を認めなかった(図5)。

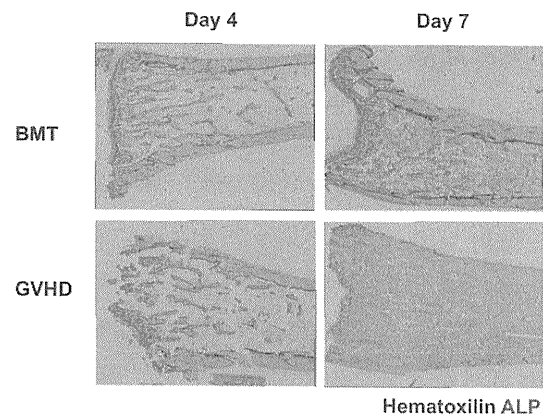
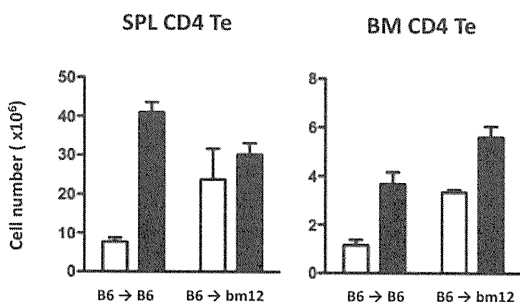


図 5. 移植後早期の骨芽細胞障害

Real-time RT-PCRにより移植後14日目における骨芽細胞マーカーの遺伝子発現を解析したところ、GVHD群では特に骨芽細胞の分化過程(前駆細胞 → 未成熟 → 成熟)において、未成熟以降に発現する *Osterix*, 成熟骨芽細胞に発現する *Osteocalcin* の発現が減少している一方、前駆細胞以降に発現する *Runx2* の発現はBMT群と同程度であった。また、X線照射線量の骨芽細胞マーカーへの影響を検討したところ、*Runx2* の発現はGVHDの有無に関わらず、X線照射線量が多いほど抑制されていたが、*Osterix*, *Osteocalcin* についてはGVHD群において著明な減少を認めた(図6)。これらの結果から、T細胞依存的な骨芽細胞障害は、骨芽細胞前駆細胞から未成熟骨芽細胞への分化を抑制することが示唆された。



図6. X線照射依存的な骨芽細胞抑制の重症化

GVHD発症マウスにおけるT細胞依存的な骨芽細胞の分化抑制をin vitroで検証するため、X線非照射GVHDモデルにおいて誘導されたドナーT細胞または未処置T細胞を前骨芽細胞株MC3T3-E1と種々の細胞比率で共培養した。T細胞:MC3T3-E1=60:1の比率において、骨芽細胞分化マーカーの発現がドナーT細胞の添加により未処置T細胞に比較し有意に抑制されていた。この分化抑制はtranswellを使用した条件下では解除されていた(図7)。

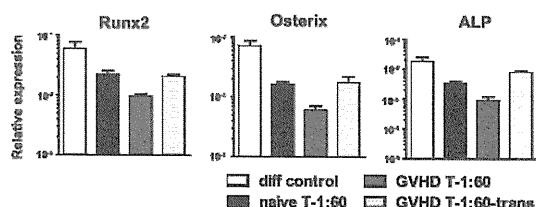


図7. Allo-T細胞による骨芽細胞分化抑制

D:考察

これまでに炎症性の骨代謝異常を呈するGVHDマウスモデルを解析し、活性化CD4 T細胞が骨芽細胞の分化過程を抑制することで、骨形成が抑制される事を明らかにしてきた。この骨芽細胞障害にはX線照射とCD4 T細胞による骨芽細胞の分化抑制という、2つの機序が関与する。今回、X線照射GVHDモデルにおける骨芽細胞障害を経時的に解析する事で、allo-HSCTの前処置として行う放射線照射が、Runx2陽性骨芽細胞前駆細胞を重度に障害していることが明らかになった。X線非照射GVHDモデルでは骨芽細胞の減少が一過性であるのに対し、X線照射GVHDモデルでは骨芽細胞の減少は不可逆的であり、X線照射による非特異的な間葉系細胞の傷害が骨芽細胞障害の重症化に重要なステップとなっていることが明らかになった。

CD4 T細胞依存的な骨芽細胞障害を再現すべく、in vitro共培養系を検討したところ、GVHDマウスから調整したドナーT細胞が骨芽細胞分化を抑制する一方、ナイーブタイプを主体とする未処置T細胞ではこの抑制は認めなかった。In vitro共培養系におけるドナーT細胞による骨芽細胞分化抑制は

細胞間接触依存的であることから、これまで骨髄 GVHD への関与が示唆されている FasL が主体となっている可能性がある。一方、FasL を T 細胞から機能的に欠損させても骨髄 GVHD は完全には回避出来ないことから、FasL 非依存的な骨芽細胞障害経路が存在することが示唆されており、今後その分子実態を明らかにする必要がある。骨系前駆細胞から未成熟骨芽細胞への分化に関わる分子機序として、BMP ファミリーおよび Wnt ファミリーの関与が考えられる。今後、各ファミリーおよびそれらの受容体の発現と意義を詳細に検討する必要がある。

骨髄キメラマウスを用いた実験により、CD4 T 細胞による骨芽細胞障害には、骨髄間質系細胞に発現する MHC II は必要でない、すなわちエフェクター期には抗原特異性が無いことが示唆された。これらの結果は、感染症や自己免疫疾患などでエフェクター・メモリー CD4 T 細胞が誘導され、骨髄に集積した場合に、同様の骨芽細胞障害が発症する可能性を示唆するものである。今後、PCR とエフェクター・メモリー CD4 T 細胞の形成に関わる感染症、自己免疫疾患との関連を解析する必要がある。

CD4 T 細胞依存的な骨形成不全の分子機序の全容を明らかにすることで、免疫異常に起因する骨代謝異常の診断および治療法を確立し、PCR の機序解明および克服に貢献出来ると期待している。

E:結論

活性化 CD4 T 細胞が、骨前駆細胞から未成熟骨芽細胞への分化を細胞間接触依存的に抑制することで、骨形成を抑制する可能性を明らかにした。

F:健康危機情報

なし

G:研究発表

1. 論文発表

1. Abe J, Ueha S, Yoneyama H, Shono Y, Kurachi M, Goto A, Fukayama M, Tomura M, Kakimi K and Matsushima K, B cells regulate antibody responses through the medullary remodeling of inflamed lymph nodes. *Int Immunol.* 2011. In press
2. Kurachi M, Kurachi J, Suenaga F, Tsukui T, Abe J, Ueha S, Tomura M, Sugihara K, Takamura S, Kakimi K, Matsushima K. Chemokine receptor CXCR3 facilitates CD8(+) T cell differentiation into short-lived effector cells leading to memory degeneration. *J Exp Med.* 2011. 208(8):1605-20.
3. Ueha S, Shand FH, Matsushima K. Myeloid cell population dynamics in healthy and tumor-bearing mice. *Int Immunopharmacol.* 2011. 11(7):783-8.

4. Shono Y, Ueha S, Wang Y, Abe J, Kurachi M, Matsuno Y, Sugiyama T, Nagasawa T, Imamura M, Matsushima K. Bone marrow graft-versus-host disease: early destruction of hematopoietic niche after MHC-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 115(26):5401-11, 2010.
2. 学会発表
1. UEHA Satoshi, SHONO Yusuke, WANG Yong, MATSUSHIMA Kouji. Bone marrow graft-versus-host disease: immune attack to osteoblastic hematopoietic niche after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. 19th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages. May 25, 2011. Osaka
 2. Yong Wang, Satoshi Ueha, Akihiro Yokoyama, Yusuke Shono, Fumiko Suenaga, Jun Abe, Makoto Kurachi and Kouji Matsushima. Pre-conditioning and the Immune Response Cooperatively Impair the Osteoblastic Hematopoietic Niche in Murine Bone Marrow Graft-versus-host Disease. 第 32 回炎症・再生医学会. 6 月 2 日、東京
 3. MATSUSHIMA Kouji. Delayed and aberrant immune reconstitution due to destruction of hematological and immunological niches in the acute and chronic phases of GVHD. 40th *The annual Meeting of the Japanese Society for Immunology. Nov 27 Chiba, Japan.*
 4. Yong Wang, Satoshi Ueha, Akihiro Yokoyama, Yusuke Shono, Fumiko Suenaga, Jun Abe, Makoto Kurachi and Kouji Matsushima. Pre-conditioning and the Immune Response Cooperatively Impair the Osteoblastic Hematopoietic Niche in Murine Bone Marrow Graft-versus-host Disease. *The annual Meeting of the Japanese Society for Immunology. Nov 27 Chiba, Japan.*
 5. UEHA Satoshi, SHONO Yusuke, MATSUSHIMA Kouji. Destruction of Bone Marrow Osteoblastic Niche for Hematopoiesis Mediated by Donor CD4 T Cells after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 3rd International Conference on Osteoimmunology. Jun 20, 2010. Santorini, Greece.
 6. 庄野雄介、上羽 悟史、松島 綱治、同種造血幹細胞移植における CD4 T 細胞の除去は骨髄造血幹細胞ニッチを保護し移植片対腫瘍効果を保存する. 第 19 回日本癌病態治療研究会. 2010 年 6 月 30 日、東京
 7. UEHA Satoshi, SHONO Yusuke, MATSUSHIMA Kouji. Depletion of allo-CD4 T cells protects hematopoietic niche while preserves graft-versus-tumor effects after allo-HSCT. 14th Annual Meeting of Japanese Association of Cancer Immunology. Jul 22, 2010. Kumamoto Japan.
 8. Y. Wang, S. Ueha, Y. Shono, J. Abe, M. Kurachi, K. Matsushima. Bone

<p>marrow graft-versus-host disease does not require allogeneic MHC class II expression on host bone marrow stroma. <i>14th International Congress of Immunology</i>. Aug 26, 2010. Kobe Japan.</p>	なし	H:知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)
<p>9. UEHA Satoshi, Yusuke Shono, Makoto Kurachi, MATSUSHIMA Kouji. Depletion of allo-CD4 T cells protects hematopoietic niche while preserves graft-versus-tumor effects after allo-HSCT. <i>The 69th Annual meeting of the Japanese Cancer Association</i>. Sep 22, 2010. Osaka Japan.</p>	1. 特許取得	なし
<p>3. その他の業績 書籍等</p>	2. 実用新案登録	なし
	3. その他	なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）総合分担研究報告書

（平成 22・23 年度）

進行性下顎頭吸収の診断基準策定とその治療に関する研究

（H22-難治-一般-157）

進行性下顎頭吸収の発症・進展のメカニズム解明に関する研究

分担研究者：馬目佳信・東京慈恵会医科大学・教授

藤岡宏樹・東京慈恵会医科大学・助教

研究要旨

進行性下顎頭吸収（Progressive Condylar Resorption: PCR）は下顎頭に進行性の骨吸収変化を認める原因不明の疾患である。本疾患では病態があまり知られておらず、診断が曖昧のままに放置されている患者も多いと考えられるため、診断基準を正しく策定して有効な治療法を開発していく必要がある。病態は骨吸収変化が主体であるが、骨での代謝は骨芽細胞による骨形成と骨組織のマクロファージである破骨細胞の骨吸収のバランスで調整されている。両者の細胞はケモカインとそのレセプターを介して相互に刺激し合っているため、本病態でもケモカインレセプターCCR5との関連性などが疑われてきた。一方この受容体はHIVの感染やAIDS発症とも密接に関連しており、レセプターの異常は中枢神経へのHIV感染や痴呆、AIDS脳症の発症と関連している。従って骨以外にも中枢神経系への影響を調べる必要性があろう。本研究ではマウスの中枢神経系細胞を分画して破骨細胞と同じ組織マクロファージに属する脳のミクログリアを単離し、Th1へ免疫系をシフトさせ炎症に対する反応性を調査した。Th1への刺激は結核菌を用いミクログリアを刺激してRNAを解析し反応性に上昇してくる遺伝子転写物を同定した。その結果、中枢神経系では感染によって発現する遺伝子の量は上昇したがケモカインに特徴的なものは認められず、CCR5ノックアウトマウスについても特徴的なケモカイン・ケモカインレセプター系の発現は認められなかった。一方、下顎頭では咀嚼による関節運動が絶えず行われており炎症の引き金となる機転が中枢神経系と異なる可能性も高い。特に顎関節の関節面には咀嚼や噛み合わせなどで直接外力が荷重される軟骨細胞が存在する。そこで外力による刺激を軟骨細胞に負荷して転写される遺伝子産物の解析を行った。刺激は繰り返し関節に荷重される圧力を想定し、軟骨細胞を培養下に加圧、RNAを単離してcDNAを合成し解析したところ、圧力の負荷のみで遺伝子転写量が3倍程度増加することが判明した。また得られた配列には成長因子受容体やタンパク輸送関連の遺伝子、転写因子や転写因子制御因子、リン酸化関連遺伝子などが含まれていた。以上のことから顎関節では咀嚼などによる関節軟骨への日常的な刺激が軟骨細胞の遺伝子転写を亢進させ、細胞応答が骨組織マクロファージである破骨細胞の活動に影響を与えている可能性が示唆された。

A:研究目的

進行性下顎頭吸収 (Progressive Condylar Resorption: PCR) は下顎頭に進行性の骨吸収変化がおきる原因不明の疾患である。患者は顎関節の不調を訴えて来院することも多く、下顎の後退など骨代謝や維持に異常を来していても気付かれないうままでの可能性がある。この疾患については RANTES や CCR5 など炎症を組織に引き起こすケモカインの関与が疑われており下顎頭での局所的な炎症が発症に関与している可能性がある。一般に骨代謝には骨芽細胞による骨の形成と骨組織マクロファージである破骨細胞による骨の吸収が関与することが知られており両者の活動のバランスによって骨量の平衡が維持されている。この両者の細胞はケモカインやケモカインレセプターによって相互にシグナルを伝達して刺激しあっている。CCR5 に限らず炎症反応に関与するケモカインレセプターは骨を含む全身の組織マクロファージで発現が認められるが、CCR5 については中枢神経系にある脳組織マクロファージであるミクログリアにも発現しており後天性免疫不全症候群の原因である HIV ウイルスが感染する際の補助シグナルとしての機能も有している。後天性免疫不全症候群の発症が遅延する患者の解析から、CCR5 に関しては一分欠失や発現が低下している人達の存在が明らかになっていて、分子の遺伝子変異では致死となることはなく CCR5 遺伝子に変異や部分欠損を持つ健常人も数多く存在する。これらの人達は炎症に対して組織マクロファージの活動が制限されたり過剰に反応したりする可能性がある。脳では CCR5 の発現が HIV による脳症の発症

を遅延させることに直接関与するため、我々は進行性下顎頭吸収のような顎の退縮や頭蓋や顔面骨の形成に影響する病態が、脳に対してどのような作用を及ぼすのかについてミクログリアを対象に解析することとした。次に、本疾患での下顎頭での骨吸収に関与する破骨細胞へのシグナルとして顎関節への機械的刺激に着目した。顎関節では咀嚼や噛み合わせなどで日常数えきれない程の運動が繰り返されている。これらの反復刺激が周囲の細胞に影響を与えている可能性があり、特に刺激が関節面を形成する軟骨細胞に直接加わった場合、影響を受けた軟骨細胞が炎症のシグナルなどを関節直下の破骨細胞へ伝えていることは十分に考えられる。特に咀嚼による下顎頭への機械的刺激は慢性的・日常的に繰り返し加わっている。進行性下顎頭吸収の病態を調べるのにこの刺激については無視することができないと考えたため、関節内面に存在している軟骨細胞に圧力負荷を行いどのような反応が起きるのかを調査した。

B:研究方法

最初に中枢神経系に存在する脳組織マクロファージを対象に炎症性変化と CCR5 の関与する解析を行うこととした。CCR5 は Th1 リンパ球に特徴的なケモカインである。そこで免疫系、特に T リンパ球細胞を Th1 へシフトさせる代表的な刺激である結核菌を用いて感染によるミクログリアへの影響を調査した。生体内で組織マクロファージが活性化されると 2 次的に様々なサイトカインが次々に産生されてしまいサイトカインストームを引き起こして一義的な活性化と

区別できなくなるため、生体外でミクログリアに結核菌を作用させることとした。また CCR 分子の異常が Th1 シフトに直接関わっているかどうか調べるため野生型および CCR5 ノックアウトマウスを用いた。

13 週 C57BL 野生型および CCR5 ノックアウトマウス（東京大学上羽・松島両先生より提供）をリン酸緩衝液で灌流し脳内血管に存在する血球系細胞を除去した後、氷冷下に脳を摘出して無菌的に細胞を遊離・回収、脳実質から単離細胞を得た後マグネットビーズによりミクログリア細胞を濃縮した。この方法で得られた生細胞の殆どが CD45 陽性、CD11b 陽性の細胞であり、全体の 90% 以上が Ly-6C^{lo}、Gr-1^{lo} のミクログリアの比較的均一な集団であった。これらの細胞に *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (ATCC 25618) (1.7×10^8 CFU/ml (原液)) を MOI=10 で感染、24 時間培養、ミクログリア内に結核菌が感染していることを位相差顕微鏡にて確認した後、細胞から酸性グアニジン-フェノールクロロホルム法

(AGPC 法) で RNA を抽出、相補鎖 DNA を合成、増幅して得られた配列の塩基配列を決定した（結核予防会結核研究所山田博之、御手洗潔先生との研究成果）。またそれぞれ非感染群を対照に転写されている RNA を同定し、得られた RNA からそれぞれのケモカイン・ケモカイン受容体の転写量について cDNA の半定量 PCR 法で測定を行った。

次に関節面に存在する軟骨細胞に圧力刺激を負荷する培養装置についてはこれまでに報告したシステムを一部改変して用いた

(Manome Y, Saeki N, Yoshinaga H, Watanabe M, Mizuno S. A culture device demonstrates that hydrostatic pressure

increases mRNA of RGS5 in neuroblastoma and CHC1-L in lymphocytic cells. *Cells Tissues Organs*, 174, 155-161, 2003.)。すなわち、この装置は細胞が入った培養チャンバーに培養液をポンプで送出して培養を行ういわゆる灌流培養を利用したものであり、灌流出口に圧制御弁を設置することで培養しながらチャンバー内に圧力を負荷した。軟骨細胞はモデルとして入手が容易な膝関節軟骨を使用、手術時に摘出し廃棄されるべき硝子軟骨部分を無菌的に摘出、関節面に接する部位を選択してチャンバー内で予備培養した後、システムの圧力負荷培養装置の中で 6 時間加圧した（ハーバード医科大学整形外科学水野秀一先生との共同研究）。細胞を並行してそれぞれ加圧群、非加圧群に分けて培養、後培養を行った後、試料から AGPC 法を用いて RNA を抽出した。得られた RNA から相補鎖 DNA を合成、さらに 2nd 鎖 DNA 鎖を合成し DNA/RNA ハイブリドプライマーを使用して RNA 分解酵素の存在下で cDNA を増幅した。いずれの実験も得られた配列をロシユ 454 ジュニア型シーケンサーで同定し付属のマッパーを用いて染色体遺伝子へのマッピングを行った。

（倫理面への配慮）本研究ではノックアウト動物による実験を行うため国立国際医療センターおよび東京慈恵会医科大学での動物実験委員会の認可を受けて行った。また結核菌の感染実験は結核予防会結核研究所の山田博之先生らが所定の手続きを経て行った。

軟骨細胞の採取および培養に関しては共同研究者の水野秀一らがハーバード医科大学の治験審査委員会で承認を受けたものを使

用しており、遺伝子について組み換え等の実験は行っていない。

いるRNAをcDNAの形で配列を決定、シーケンスが明らかとなった遺伝子の解析を行った結果の一部を以下に示す。(データベース、遺伝子名、スコア、E値 (expected value))

C:研究結果

野生型マウスのミクログリアが転写して

gb BC043013.1	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1beta subcomp...	285	6e-76
dbj AK131579.1	Cytochrome oxidase sununit 3 (EC 1.9.3.1)	115	8e-25
dbj AK151059.1	translationally-controlled 1, full insert seq...	268	6e-71
gb BC086648.1	Mus musculus peroxiredoxin 1, mRNA (cDNA clone...	56.5	5e-07
gb BC158040.1	Mus musculus lipoprotein lipase, mRNA (cDNA cl...	54.7	2e-06
dbj AK131578.1	NADH dehydrogenase subunit 1(NADH-ubiquinone ...	135	6e-31
gb BC037026.1	Mus musculus ribosomal protein S27, mRNA (cDNA...	110	4e-23
gb GU332589.1	Strain BALB/c clone 1 antisense RNA, mitochond...	172	5e-42
gb BC026791.1	Mus musculus cytochrome b-245, alpha polypepti...	148	8e-35
dbj AK129401.1	Mus musculus premature mRNA for mKIAA1590 pro...	289	4e-77
gb BC080837.1	Mus musculus basic transcription factor 3, mRN...	590	1e-167
gb BC085171.1	Mus musculus prothymosin alpha, mRNA (cDNA clo...	542	3e-153
gb BC040206.1	Mus musculus cAMP-regulated phosphoprotein 19,...	145	1e-33
gb BC050124.1	eukaryotic translation elongation factor 1 all...	641	0.0
dbj AK136262.1	Cytochrome oxidase subunit 1 (Cytochrome c o...	219	6e-56
dbj AK131579.1	Cytochrome oxidase sununit 3 (EC 1.9.3.1) (Cy...	359	3e-98
gb BC028779.1	Mus musculus GTPase, IMAP family member 6, mRN...	195	1e-48
gb GU332588.1	Mus musculus strain BALB/c clone 3 antisense R...	158	1e-37
gb BC100603.1	Mus musculus ribosomal protein S23, mRNA (cDNA...	268	6e-71
gb BC036990.1	Mus musculus metallothionein 1, mRNA (cDNA clo...	163	3e-39
gb BC002095.1	Mus musculus topoisomerase (DNA) I, mRNA (cDNA...	351	5e-96
dbj AK004673.1	Mus musculus calmodulin 1, mRNA, RIKEN full-1...	148	8e-35
gb BC008093.1	eukaryotic translation initiation factor 5A, m...	228	1e-58
gb BC099377.1	Mus musculus ribosomal protein S12, mRNA (cDNA...	137	2e-31
gb BC024339.1	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F...	291	1e-77
dbj AK131579.1	Cytochrome oxidase sununit 3 (EC 1.9.3.1)	518	5e-146
gb BC012020.1	Mus musculus Cytochrome oxidase sununit 3 (EC ...	614	6e-175
gb BC125642.1	Mus musculus ribosomal protein L23a, mRNA (cDN...	470	1e-131
dbj AK136262.1	Mus musculus Cytochrome oxidase subunit 1 (E...	340	1e-92
gb BC031824.1	Mus musculus FK506 binding protein 2, mRNA (cd...	91.6	1e-17

gb BC004627.1	Mus musculus ras homolog gene family, member C...	172	5e-42
dbj AK136262.1	Mus musculus Cytochrome oxidase subunit 1 (EC...	193	3e-48
gb BC011078.1	RNA-binding protein FUS (Pigpen protein), full...	303	2e-81
gb GU332589.1	Mus musculus strain BALB/c clone 1 antisense R...	99.0	8e-20
gb BC012314.1	Mus musculus ferritin heavy chain 1, mRNA (cDN...	387	1e-106
gb BC114997.1	phosphoribosylformylglycinamide synthase (FG...	246	3e-64
gb BC016557.1	Mus musculus apolipoprotein O, mRNA (cDNA clon...	196	3e-49
gb BC046801.1	A kinase (PRKA) anchor protein 8-like, mRNA co...	379	2e-10
gb BC050124.1	eukaryotic translation elongation factor 1 alp...	785	0.0
gb GU332589.1	Mus musculus strain BALB/c clone 1 antisense R...	499	2e-140
gb BC054463.1	Mus musculus lysozyme 2, mRNA (cDNA clone MGC:...	305	4e-82
dbj AK131587.1	ATPase subunit 6 (Atpase6) mRNA, mitochondria...	222	4e-57
dbj AK131578.1	NADH dehydrogenase subunit 1 (EC 1.6.5.3) (NA...	405	4e-112
dbj AK160244.1	Mus musculus immune-associated nucleotide 6 mR...	351	5e-96
dbj AK156621.1	Mus musculus cyclin T2 full insert sequence	265	7e-70
gb GU332589.1	Mus musculus strain BALB/c clone 1 antisense R...	215	7e-55
gb BC032069.1	Mus musculus transthyretin, mRNA (cDNA clone I...	307	1e-82
gb BC027010.1	Mus musculus proteolipid protein (myelin) 1, m...	130	3e-29
dbj AK154498.1	Mus musculus Protein FAM3C precursor, full in...	213	3e-54
dbj AK136262.1	Cytochrome oxidase subunit 1 (EC 1.9.3.1) (Cy...	204	2e-51
gb BC096656.1	eukaryotic translation initiation factor 1, mR...	99.0	8e-20
gb BC065806.1	Biogenesis of lysosome-related organelles compl...	228	1e-58
gb BC046754.1	Mus musculus I-kappa B alpha chain mRNA, compl...	324	1e-87
gb BC054473.1	insulin-like growth factor binding protein 2, ...	137	2e-31
gb BC055952.1	similar to ATP-binding cassette, sub-family C ...	248	7e-65
gb BC031781.1	SIMILAR TO D.MELANOGASTER CG5986 PROTEIN (FRAG...	673	0.0
gb BC106146.1	Mus musculus ferritin light chain 1, mRNA (cDN...	573	1e-162
dbj AK141672.1	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3 homolo...	95.3	1e-18
gb AY248756.1	Mus musculus 18S ribosomal RNA-like mRNA, part...	73.1	5e-12
gb BC056922.1	sterol regulatory element binding factor 1, fu...	363	3e-99
gb BC021748.1	cDNA 2900010J23 gene, mRNA hypothetical protei...	534	5e-151
gb BC094437.1	alpha glucosidase 2 alpha neutral subunit, mRN...	248	7e-65
dbj AK009703.1	mitochondrial ribosomal protein S21, full ins...	267	2e-70
gb BC025600.1	Mus musculus transmembrane protein 119, mRNA (...	689	0.0
dbj AK138272.1	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 6 (EC 1...	374	1e-102
dbj AK136262.1	Cytochrome oxidase subunit 1 (EC 1.9.3.1) (C...	436	1e-121

dbj AK131579.1	Cytochrome oxidase sununit 3 (EC 1.9.3.1) (Cy...	340	1e-92
gb BC086926.1	Mus musculus transthyretin, mRNA (cDNA clone M...	566	2e-160
gb BC023812.1	Mus musculus ubiquitin specific peptdiase 1, m...	82.4	8e-15
dbj AK131578.1	NADH dehydrogenase subunit 1 (EC 1.6.5.3) (N...	497	7e-140
dbj AK131579.1	Cytochrome oxidase sununit 3 (EC 1.9.3.1) (C...	377	9e-104
gb BC012020.1	Cytochrome oxidase sununit 3 (EC 1.9.3.1) (Cyt...	737	0.0
gb GU332589.1	Mus musculus strain BALB/c clone 1 antisense R...	459	3e-128
gb U93864.1 MMU93864	Mus musculus ribosomal protein S11 mRNA,...	154	2e-36
gb BC085157.1	G protein-coupled receptor associated sorting...	390	1e-107
gb BC086786.1	Mus musculus ribosomal protein L7, mRNA (cDNA ...	739	0.0
dbj AK136262.1	Cytochrome oxidase subunit 1 (EC 1.9.3.1) (Cy...	313	3e-84
dbj AK168952.1	tumor rejection antigen gp96, full insert seq...	335	5e-91
dbj AK131592.1	cytochrome b, mitochondrial, full insert sequen...	671	0.0
gb BC058726.1	Mus musculus cofilin 1, non-muscle, mRNA (cDNA...	453	1e-126
dbj AK146198.1	RNA-binding protein FUS (Pigpen protein), fu...	374	1e-102
dbj AK136262.1	Cytochrome oxidase subunit 1 (EC 1.9.3.1) (Cy...	292	3e-78
gb GU332589.1	Mus musculus strain BALB/c clone 1 antisense R...	267	2e-70
dbj AK205579.1	Mus musculus thymosin, beta 4, X chromosome, m...	440	1e-122
gb BC053451.1	Mus musculus leucine zipper protein 1, mRNA (c...	701	0.0
gb BC024938.1	kelch repeat and BTB (POZ) domain containing 3...	551	5e-156
dbj AK131586.1	cytochrome c oxidase subunit II (Cox2) mRNA, co...	715	0.0
dbj AK148733.1	neonate sympathetic gangl hypothetical gene...	852	0.0
gb BC054463.1	Mus musculus lysozyme 2, mRNA (cDNA clone MGC:...	656	0.0
gb BC012314.1	Mus musculus ferritin heavy chain 1, mRNA (cDN...	505	4e-142
gb BC010468.1	Mus musculus pyrophosphatase (inorganic) 1, mR...	676	0.0
dbj AK082072.1	neonate cerebellum cDNA, unclassifiable produ...	457	1e-127
gb AF362574.1	Mus musculus ribosomal protein L31, mRNA (cDNA	553	1e-156
gb BC069918.1	Mus musculus BCL2-associated athanogene 1, mRN...	697	0.0
gb BC106146.1	Mus musculus ferritin light chain 1, mRNA (cDN...	206	4e-52
dbj AK136519.1	Mus musculusbeta-glucuronidase, full insert s...	686	0.0
gb BC054435.1	Mus musculus ribosomal protein S23, mRNA (cDNA...	372	4e-102
gb BC055952.1	cytochrome b, mitochondrial, full insert seque...	634	0.0
dbj AK082928.1	MICROSOMAL SIGNAL PEPTIDASE 12 KDA SUBUNIT ...	606	1e-172
gb AY101177.1	Mus musculus extracellular sulfatase SULF-2 mR...	392	3e-108
gb GU332589.1	Mus musculus strain BALB/c clone 1 antisense R...	540	1e-152
gb BC012314.1	Mus musculus ferritin heavy chain 1, mRNA (cDN...	747	0.0

dbj AK131579.1	Cytochrome oxidase sununit 3 (Cytochrome c oxi...	835	0.0
gb BC054805.1	Mus musculus calmodulin 1, mRNA (cDNA clone MG...	507	1e-142
dbj AK159630.1	Mus musculus glutathione synthetase, type A1mRN...	604	4e-172
gb BC044779.2	actin related protein 2/3 complex, subunit 1B...	593	8e-169
gb BC085171.1	Mus musculus prothymosin alpha, mRNA (cDNA clo...	110	4e-23
gb BC049967.1	Mus musculus exocyst complex component 5, mRNA...	163	3e-39
gb BC018286.1	Mus musculus thymosin, beta 4, X chromosome, m...	542	3e-153
gb BC004671.1	Mus musculus FK506 binding protein 1a, mRNA (c...	529	2e-149
gb AF093677.1	AF093677 Mus musculus ATPase subunit 6 (Atpase6...	191	1e-47
gb BC083340.1	nascent polypeptide-associated complex alpha p...	470	1e-13
gb BC011154.1	Mus musculus SLAM family member 7, mRNA (cDNA ...	507	1e-142
dbj AK141672.1	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3 (EC 1...	401	5e-111
gb BC125656.1	Mus musculus ribosomal protein L35, mRNA (cDNA...	292	3e-78
gb BC002072.1	Mus musculus cystatin C, mRNA (cDNA clone MGC:...	270	2e-71
gb BC018286.1	Mus musculus thymosin, beta 4, X chromosome, m...	172	5e-42
gb BC026454.1	Mus musculus DAZ associated protein 1, mRNA (c...	819	0.0
gb BC055952.1	cytochrome b, mitochondrial, full insert seque...	326	3e-88
dbj AK133489.1	Generic methyl-transferase/SAM binding motif/...	392	3e-108
gb BC126942.1	iroquois homeobox protein 4 (Irx4) mRNA, comple...	200	2e-50
dbj AK012993.1	cDNA product:unclassifiable, full insert seque...	787	0.0
gb BC106146.1	Mus musculus ferritin light chain 1, mRNA (cDN...	150	2e-35
dbj AK136262.1	Cytochrome oxidase subunit 1 (Cytochrome c ox...	593	8e-169
gb BC020459.1	RNA for labial-like homeobox-containing gene H...	394	9e-109
gb BC022674.1	HYPOTHETICAL 8.2 KDA PROTEIN homolog [Homo sap...	505	4e-142
dbj AK131587.1	ATP synthase 6, mitochondrial, full insert seq...	182	8e-45
dbj AK173067.1	Mus musculus mRNA for mKIAA0935 protein	791	0.0
gb BC019725.1	Mus musculus ribosomal protein S10, mRNA (cDNA...	577	8e-164
dbj AK131579.1	Cytochrome oxidase sununit 3 (Cytochrome c oxi...	719	0.0
gb BC086882.1	Mus musculus ribosomal protein S24, mRNA (cDNA...	778	0.0
dbj AK131579.1	Cytochrome oxidase sununit 3 (Cytochrome c oxi...	719	0.0
gb BC034787.1	Mus musculus NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1...	568	5e-161
dbj AK144509.1	clone:G630085E17 product:hypothetical protein...	121	2e-26
dbj AK205579.1	Mus musculus thymosin, beta 4, X chromosome, m...	582	2e-165
dbj AK159630.1	glutathione synthetase type A1 mRNA, complete...	588	4e-167
gb BC058795.1	eukaryotic translation elongation factor 2, mRNA...	769	0.0
dbj AK131579.1	Cytochrome oxidase sununit 3 (Cytochrome c oxi...	728	0.0

dbj AK152414.1	cytochrome b-245, alpha polypeptide, full ins...	580	6e-165
emb AJ566113.1	Mus musculus mRNA for ISG12a protein (ISG12a ...	726	0.0
gb BC026454.1	Mus musculus DAZ associated protein 1, mRNA (c...	438	4e-122
dbj AK139376.1	purine rich element binding protein B, full i...	484	5e-136
gb BC003419.1	Mus musculus splicing factor 3b, subunit 1, mR...	523	1e-147
gb BC018286.1	Mus musculus thymosin, beta 4, X chromosome, m...	219	6e-56
gb GU332589.1	BALB/c clone 1 antisense RNA, complete sequenc...	604	4e-172
dbj AK131579.1	Cytochrome oxidase sununit 3 (EC 1.9.3.1) (Cy...	673	0.0
gb BC065173.1	solute carrier family 3 member 2 (activators o...	741	0.0
gb BC062180.1	Mus musculus thioredoxin domain containing 15,...	588	4e-167
dbj AK136262.1	Cytochrome oxidase subunit 1 (EC 1.9.3.1) (Cy...	712	0.0
gb BC003902.1	glycerophosphodiester phosphodiesterase 1, mRN...	508	3e-143
gb BC096392.1	Mus musculus ribosomal protein S27A, mRNA (cDN...	580	6e-165
dbj AK131578.1	NADH dehydrogenase subunit 1 (EC 1.6.5.3) (NA...	276	3e-73
dbj AK168550.1	ribosomal protein L37, full insert sequence	95.3	1e-18
gb BC010755.1	Mus musculus hexosaminidase A, mRNA (cDNA clon...	680	0.0
dbj AK077259.1	avian erythroblastosis virus E-26 (v-ets) rel...	418	5e-116
gb BC081465.1	Mus musculus ribosomal protein S8, mRNA (cDNA ...	569	1e-161
gb BC042939.1	polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide J...	676	0.0
gb BC086685.1	proteasome subunit, alpha type 6, mRNA (cDNA c...	678	0.0
dbj AK053973.1	GNF expression: similar to JG0193 G protein-c...	708	0.0
gb BC096656.1	eukaryotic translation initiation factor 1, mR...	782	0.0
gb BC012314.1	Mus musculus ferritin heavy chain 1, mRNA (cDN...	671	0.0
gb BC086926.1	Mus musculus transthyretin, mRNA (cDNA clone M...	715	0.0
dbj AK078119.1	2,3-bisphosphoglycerate mutase, full insert s...	695	0.0
gb BC010604.1	Mus musculus ribosomal protein S6, mRNA (cDNA ...	135	6e-31
gb BC054758.1	Mus musculus cathepsin D, mRNA (cDNA clone MGC...	172	5e-42
gb BC055013.1	Mus musculus RAD52 motif 1, mRNA (cDNA clone M...	475	3e-133
dbj AK132140.1	Mus musculus transcription factor 4, mRNA (cDN...	246	3e-64
gb BC053395.1	Mus musculus TBC1 domain family, member 15, mR...	795	0.0
gb BC106146.1	Mus musculus ferritin light chain 1, mRNA (cDN...	267	2e-70
gb BC026454.1	Mus musculus DAZ associated protein 1, mRNA (c...	582	2e-165
gb GU332589.1	Mus musculus strain BALB/c clone 1 antisense R...	335	5e-91
gb BC060636.1	DiGeorge syndrome critical region gene 2, mRNA...	647	0.0
gb BC058685.1	Mus musculus ribosomal protein, large, P1, mRN...	763	0.0
gb BC106146.1	Mus musculus ferritin light chain 1, mRNA (cDN...	573	1e-162