

201229015A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業
(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)

関節リウマチにおける骨髄・骨格形成細胞間
ネットワークの解明と根治療法の開発

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 西 本 憲 弘

平成 25 (2013) 年 3 月

目 次

I. 構成員名簿	1
II. 総括研究報告書	
1. 関節リウマチにおける骨髄・骨格形成細胞間ネットワークの解明と 根治療法の開発 西本 憲弘	3
III. 分担研究報告書	
<u>RA 患者の骨髄細胞の異常と骨髄造血細胞の分化異常の解析</u>	
1. 関節リウマチ (RA) 患者の骨髄細胞異常と RA 特異的 iPS 細胞の樹立 西本 憲弘	15
2. 関節リウマチの病態を制御する末梢血単球分画の解析 桑名 正隆	19
3. ヒト多能性幹細胞からの単球系細胞分化に関する研究 中畑 龍俊	24
<u>RA 骨髄間葉系由来細胞間ネットワーク異常の解析</u>	
4. 骨細胞ネットワークによる骨量調節機構に関する研究 小守 壽文	28
5. 炎症惹起による Osteoprotegerin 産生誘導の解析 松尾 光一	31
6. Stat5 による破骨細胞機能制御に関する研究 田中 栄	33
7. 損傷骨格筋の再生における interleukin-6 受容体阻害の検討 大平 充宣	36
8. 関節リウマチにおける軟骨・滑膜の病態と細胞間相互作用の解析 吉川 秀樹	38

9. 関節リウマチの病態に対するアディポネクチンの作用—補体に対するアディポネクチンの機能解析 下村伊一郎.....	41
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	43

I. 構 成 員 名 簿

平成 24 年度
 厚生労働科学研究費補助金
 難治性疾患等克服研究事業
 (免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)
 関節リウマチにおける骨髄・骨格形成細胞間ネット
 ワークの解明と根治療法の開発

構成員名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	西本憲弘	東京医科大学 医学総合研究所 難病分子制御学部門	教授
研究分担者 (五十音順)	大平充宣	大阪大学医学系研究科 生命機能研究科 適応生理学教室	教授
	桑名正隆	慶應義塾大学医学部リウマチ内科	准教授
	小守壽文	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 生命科学講座 細胞生物学分野	教授
	下村伊一郎	大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科学	教授
	田中 栄	東京大学大学院医学系研究科 整形外科	教授
	中畑龍俊	京都大学 iPS 細胞研究所	副所長
	松尾光一	慶應義塾大学医学部 共同利用研究室 細胞組織学	教授
	吉川秀樹	大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学	教授

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究協力者 (五十音順)	越智健介	東京女子医科大学膠原病リウマチ 痛風センター	助教
	島岡康則	浜脇整形外科病院	副院長
	中田 研	大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学	講師
	橋本 淳	国立病院機構大阪南医療センター	部長
	堀内行雄	川崎市立川崎病院	病院長
	行岡正雄	行岡病院	院長

II. 總 括 研 究 報 告 書

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）
総括研究報告書

関節リウマチにおける骨髄・骨格形成細胞間ネットワークの解明と根治療法の開発

研究代表者 西本憲弘 和歌山県立医科大学免疫制御学講座 教授
(12月1日より東京医科大学医学総合研究所難病分子制御部門兼任教授)

研究要旨

関節リウマチ(RA)の主病巣と考えられる骨髄の異常と骨髄間葉系細胞由来で骨格を形成・支持する骨細胞、軟骨細胞、筋細胞、脂肪細胞ならびに免疫細胞の増殖・分化に関わるネットワーク制御機構をバイオインフォマティクス、iPS細胞、遺伝子改変マウス等を用いて明かにし、病因研究・RA根治療法へ発展させることを目指した。RA骨髄において免疫機能の亢進に加え、アポトーシス機能の亢進と、骨格・筋形成、DNAパッケージング、細胞接着、細胞増殖、細胞移動に関する機能低下が再度確認された。また癌患者に見られるCD14+CD15+細胞がRA患者骨髄のみならず末梢血中にも存在することが確認された。iPS細胞から、単球、マクロファージ、樹状細胞へ高純度に分化させる系を確立したことから、今後RA特異的iPS細胞を用いて、CD14+CD15+細胞の発現解析や骨細胞や軟骨細胞などへの分化に異常があるか、その異常が、遺伝的因子によるのかそれとも骨髄環境因子に依存するのかが明かになると期待される。さらにRA発症機構や薬剤の反応性の研究に応用が可能である。

一方、間葉系由来細胞の*in vitro*三次元培養システムの樹立により、力学刺激環境下における細胞応答の研究が可能になった。また、遺伝子改変マウスの研究から、骨細胞が感知するメカニカルストレスによる骨芽細胞と破骨細胞分化の制御機構が解明された。さらに破骨細胞分化の複数の転写因子とその機能が明らかになり、これらは新たな治療標的分子候補でもある。次年度はRA患者由来iPS細胞を用いて、それらの転写因子の機能に異常があるか否かを検討したい。臨床的検証においては、昨年度に補体C1q値がRAの関節破壊の進行と関連することを明らかにしたが、脂肪組織由来のアディポネクチンがC1qに直接結合し、補体系を制御することが明らかになった。次年度の研究で、RA治療による骨髄異常の改善の有無の検討とあわせてC1qのRAのバイオマーカーとしての意義を検証したい。

研究分担者	大平 充宣	大阪大学医学系研究科生命機能研究科適応生理学教室	教授
(五十音順)	桑名 正隆	慶應義塾大学医学部リウマチ内科	准教授
	小守 壽文	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科	教授
	下村 伊一郎	大阪大学大学院医学系研究科内分泌・代謝内科学	教授
	田中 栄	東京大学医学部整形外科	教授
	中畑 龍俊	京都大学iPS細胞研究所	副所長
	松尾 光一	慶應義塾大学医学部細胞組織学	教授
	吉川 秀樹	大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学	教授

研究協力者：越智 健介	東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター 助教
齋藤 潤	京都大学 iPS 細胞研究所 准教授
島岡 康則	浜脇整形外科病院 副院長
中田 研	大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学 講師
橋本 淳	国立病院機構大阪南医療センター 部長
堀内 行雄	川崎市立川崎病院 病院長
行岡 正雄	行岡病院 院長

A. 研究目的

関節リウマチの治療は生物学的製剤の登場により長足の進歩をとげた。しかし、いずれの治療も根治にはほど遠い。一方、従来の厚生労働科学研究の成果として、RA の主病巣は骨髄である可能性が示された。RA 患者では、免疫担当細胞、骨芽細胞、破骨細胞、滑膜細胞の異常に加え、骨格を形成・支持する骨、軟骨、筋肉、脂肪組織に病変が見られ、これらの組織を形成する細胞はすべて骨髄の間葉系細胞から分化することから、根治療法に結びつけるには、RA の原因病巣と考えられる骨髄での初期分化異常の有無を明らかにする必要がある。また、これらの細胞は、ネットワークを形成して、その増殖・分化を相互に制御しあっていると考えられ、細胞間相互作用の研究は RA の病態・治療を考える上で不可欠である。そこで、以下の研究を行った。

1) RA 患者における骨髄細胞異常の解析

- ① RA 患者の骨髄細胞における網羅的遺伝子発現解析により、骨髄における細胞機能異常を確認する（西本研究代表者、越智、橋本、行岡研究協力者）。
- ② 昨年度の研究で存在が確認された RA 患者に特徴的な CD14+CD15+細胞の遺伝子発現プロフィールを CD14+CD15-細胞のそれと比較することにより、細胞機能を明らかにする（桑名班員）。

2) RA 骨髄造血細胞の分化異常の解析

- ① ヒト人工多能性幹細胞（induced pluripotent stem cells:iPS 細胞）から単球、マクロファージ、樹状細胞へ高純

度に分化させる系を確立する。さらに M1/M2 マクロファージへの分極を試みる（中畑班員、齋藤研究協力者）。

- ② 親子あるいは同胞内発症の RA 患者と未発症者の血液単核球ならびに皮膚線維芽細胞を用いて、RA 患者特異的 iPS 細胞を樹立する。（西本研究代表者、中畑班員、齋藤研究協力者）

3) RA 骨髄間葉系由来細胞間ネットワーク異常の解析

RA 患者特異的な iPS 細胞の確立後に、iPS 細胞を用いて骨髄間葉系由来細胞への分化制御の研究を行うために、マウスモデルを用いて増殖・分化を制御する転写因子と制御因子について、以下の研究を行った。

- ① 骨細胞ネットワークを破綻させた遺伝子改変マウスを用い、骨細胞による骨量調節機構を解析する。（小守班員）。
- ② 炎症惹起による Osteoprotegerin(OPG)産生誘導メカニズムを明らかにする（松尾班員）。
- ③ 破骨細胞特異的 Signal transducer and activator of transcription 5(Stat5)欠損マウスを作製し、破骨細胞分化・生存・機能における Stat5 の役割を明らかにする（田中班員）。
- ④ 筋再生促進メカニズムを明らかにする。（大平班員）。
- ⑤ RA 患者の罹患関節構成体（骨・軟骨・滑膜）の in vitro 三次元培養組織を作製し、力学負荷細胞応答と関節治療薬剤の効果を検討する（吉川班員、中田研究協力者）。
- ⑥ RA の病態におけるアディポネクチンによ

る抗炎症作用と補体経路に対する作用を解析する（下村班員）。

B. 研究方法

1) RA 患者における骨髄細胞異常の解析

- ① 28 例の RA 患者の腸骨から採取した骨髄細胞（全血）における遺伝子発現プロファイルを、DNA チップを用いて網羅的に解析し、11 例の健常人骨髄と比較した。異常発現遺伝子をバイオインフォマティクス・ツールで解析し、細胞機能の異常を検討した。
- ② RA 患者 16 例、健常人 14 例の末梢血を用いて CD14+単球における CD15 と C-X-C chemokine receptor type 4 (CXCR4) の発現をフローサイトメトリーで解析するとともに、CD14+CD15+CXCR4^{low} と CD14+CD15-CXCR4^{high} 間での遺伝子発現プロファイルを比較した。

2) RA 骨髄造血細胞分化異常の解析

- ① ヒト iPS 細胞から血液細胞に分化させる系を応用し、マクロファージ、樹状細胞へ分化させる血清フリー、フィーダーフリー培養系を確立し、マクロファージと樹状細胞の機能評価を行った。
- ② インフォームドコンセントを得た、親子あるいは同胞内発症の RA 患者ならびに健常同胞（未発症者）の血液単核球ならびに皮膚線維芽細胞を用いて、RA 患者特異的 iPS 細胞の樹立を行った。

3) RA 骨髄間葉系由来細胞間ネットワーク異常の解析

- ① 骨細胞ネットワークが破綻する骨芽細胞特異的 BCL2 トランスジェニック (tg) マウスを用いて、頭蓋冠由来細胞と骨芽細胞分化を比較した。また、頭蓋冠由来細胞と骨髄細胞を共培養し、破骨細胞分化を野生型マウスと比較した。尾部懸垂により後肢に非荷重状態を作り、骨量、骨形成、骨吸収を、マイクロ CT 等を用いて比較した。
- ② 炎症惹起による OPG 産生誘導メカニズムを

明らかにする目的で、lipopolysaccharide (LPS) 曝露の有無で、OPG mRNA やタンパク質の発現を比較した。免疫組織化学により、OPG 産生細胞を確認した。さらに、転写因子 fos-related antigen-1 (Fra-1) を高発現する tg マウスと c-FBJ osteosarcoma oncogene (c-Fos) ノックアウトマウスを用い、また activator protein-1 (AP-1) 阻害剤を用いて、LPS による OPG 産生誘導を解析した。

- ③ 破骨細胞分化・生存・機能における Stat5 の役割を明らかにするために、破骨細胞特異的 Stat5 欠損 (Stat5 Δ OC/ Δ OC) マウスを作成して表現型の解析を行った。
- ④ 損傷筋の再生時に浸潤する免疫担当細胞の同定と、筋再生メカニズムに係る分子のネットワークを検討した。筋再生を促進させる抗 interleukin (IL)-6 受容体抗体処理ならびに IL-6 ノックアウト (KO) マウスを用いて、筋再生に係る分子を検索した。
- ⑤ ヒト滑膜培養細胞からアテロコラーゲンゲルとコラーゲンスキャフォールドを用いて三次元培養組織を作製し、力学刺激培養システムにて力学刺激応答をマトリックス分解酵素、炎症性サイトカイン発現を、ステロイド、nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) またはヒアルロン酸添加下に解析した。
- ⑥ アディポネクチンの補体 complement component 1q (C1q) に対する直接的な結合と補体活性化に対する作用を解析した。

（倫理面への配慮）

患者検体の採取はヘルシンキ宣言を遵守し、各施設の倫理委員会の承認のもとに行った。患者情報に関しては、治療施設・氏名・生年月日・住所などの情報を削除し、匿名化した。

iPS 細胞の作製は、臨床研究に関する倫理指針、組み替え遺伝子指針、ヒト ES 指針に則って実験計画を提出し、それを遵守して研究を行った。

患者の遺伝子情報の取り扱いに際しては、

“ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針”、“疫学研究に関する倫理指針”“臨床研究に関する倫理指針”に沿って、人権の保護について、十分配慮しながら実験を行った。

DNA 組み換え実験、動物実験についても各施設の倫理指針、動物の愛護及び管理に関する法律などの倫理指針に法り、事前に許可を受けて行った。

C. 研究結果

1) RA 患者における骨髄細胞異常の解析

① RA 患者骨髄(全血)と健常骨髄の比較により、末梢血では見られない免疫担当細胞の活性化、アポトーシスの機能の亢進が確認された。一方、骨格形成、筋肉形成、DNA パッケージング機能は低下していた。免疫応答関連分子のネットワーク解析では、インターフェロン、tumor necrosis factor (TNF) などのサイトカインが制御の中心に位置した。

② CD14+CD15+CXCR4^{low} 細胞は関節を障害するが、CD14+CD15-CXCR4^{high} 細胞には多様な細胞に分化する能力を有する多能性細胞前駆細胞が含まれており、関節修復能をもつ。RA 患者では健常人に比べ、末梢血 CD14+CD15+CXCR4^{low} と CD14+CD15-CXCR4^{high} の比は有意に高く、CD14+CD15+CXCR4^{low} 単球では TNF の産生が亢進した。これらはケモカインにより制御されると考えられた。

2) RA 骨髄造血細胞分化異常の解析

① iPS 細胞株から単球系細胞へ安定して、かつ 80-90%の純度で分化誘導が可能であった。マクロファージは刺激に対して M1/M2 それぞれに一致するサイトカイン分泌能を示した。

② トシリズマブ使用中の 2 例、Methotrexate (MTX) 使用中の 1 例ならびに健常人コントロールから iPS 細胞の作製を試みた。末梢血単核球では、健常人コントロールからは 8 クローン、MTX 使用例から 5 クローンが樹立できたが、トシリズマブ使用例

からは 1 クローンしか樹立できなかった。現在、皮膚線維芽細胞からの作成を行っている。

3) RA 骨髄間葉系由来細胞間ネットワーク異常の解析

① 骨細胞ネットワークは、生理的条件下では骨芽細胞機能を低下させ、骨形成を抑制する一方で、破骨細胞分化を促進させ、骨吸収を増強することが明らかになった。非荷重時には骨細胞によるスクレロシン誘導による骨形成抑制および骨芽細胞での receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (Rankl) 発現誘導により破骨細胞分化が生じ骨量を減少させた。また、野生型マウスの骨芽細胞で誘導され、B-cell leukemia/lymphoma-2 gene (BCL2) tg マウスの骨芽細胞では誘導されない遺伝子として FK506 binding protein 5 (Fkbp5) を同定した。

② pathogen-associated molecular patterns (PAMPS) 投与後および微生物感染後に、血中 OPG 濃度が上昇した。樹状細胞、好中球、リンパ節の内皮細胞が LPS に応答して OPG を産生した。

③ 破骨細胞特異的 Stat5 欠損(Stat5 Δ OC/ Δ OC) マウスでは骨吸収が亢進した。破骨細胞数に差はないが、骨吸収能が亢進した。Stat5 の強制発現では骨吸収能は低下した。Stat5 KO 破骨細胞では、MAPK の脱リン酸化を担う dual specificity phosphatase1,2 の発現が低下し mitogen-activated protein kinase (MAPK)、特に extracellular signal-regulated kinase (Erk)1/2 の活性が亢進した。

④ 筋損傷後 3 日目に浸潤している炎症系細胞は殆どが CD68 陽性のマクロファージであった。この細胞を Laser capture Micro Dissection によって分離し、遺伝子発現を測定したところ、抗 IL-6R 抗体を投与されたマクロファージは線維化に関与する IL-10 や Arginase の発現が抑制された。IL-6KO マウスでも同様の結果が確認され

た。

- ⑤ RA 滑膜細胞由来三次元培養組織では、力学負荷により IL-6, IL-8, Prostaglandin E2 (PGE2)、cyclooxygenase-2 (COX-2)、マトリックス分解酵素の発現は亢進した。ステロイドはこれらの発現を抑制したが、COX2 阻害剤では IL-6, IL-8 発現は不変だが、PGE2 上昇は抑制された。Matrix metalloproteinase-3 (MMP-3), a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs (ADAMTS)4 の遺伝子発現は、高分子 (270 万 Da 以上) ヒアルロン酸にて抑制された。
- ⑥ アディポネクチンの過剰発現によって、コラーゲン誘導性関節炎が抑制された。アディポネクチンは補体 C1q とドメイン構造が類似しており、組換え蛋白を用いた結合実験では、C1q とアディポネクチンは結合した。

D. 考察

1) RA 患者における骨髄細胞異常の解析

網羅的遺伝子発現解析の結果、骨髄での免疫機能の亢進が再度確認され、骨髄が強い活性化状態にあると考えられる。特に細胞のアポトーシスの亢進が示され、死細胞を貪食するマクロファージの活性化とそれに続くインターフェロンの産生増強につながる可能性がある。この所見はマウス関節炎モデルでも確認されており、遺伝子発現パターンも類似していた。

桑名班員は、RA 骨髄に特徴的な CD14+CD15+ 細胞が、一部の患者末梢血中に存在することを昨年報告したが、この細胞は CXCR4^{low} で、関節修復能をもつ CD14+CD15-CXCR4^{high} 単球とは異なり、TNF 産生が亢進しており、RA 病態と矛盾しない。

2) RA 骨髄造血細胞分化異常の解析

患者骨髄検体を得るには限界があり、RA 骨髄細胞の分化異常を明らかにするには、患者由来の iPS 細胞が有用である。iPS 細胞は in vivo と異なり他の細胞が産生する様々なサイ

トカインや薬剤の影響を受けない条件で in vitro での分化が行える。中畑班員が血清フリー、フィーダーフリーで単球、マクロファージ、樹状細胞を分化させることに昨年成功し、今年度は純度の上昇と単球の分極化に成功した。破骨細胞は単球から分化誘導できることから、破骨細胞への分化とその機能の研究も興味深い。

さらに、今年度は、RA 患者特異的 iPS 細胞の樹立に成功した。この細胞も in vitro で CD14+単球への分化誘導が可能であり現在約 60%の純度が得られている。どのステージで CD14+CD15+が出現するのか、それとも CD14+CD15+の出現は骨髄環境に依存するのか興味深い。また、IL-6 が iPS 細胞樹立に影響する可能性が示唆された。

3) RA 骨髄間葉系由来細胞間ネットワーク異常の解析

免疫細胞ならびに骨格形成細胞のネットワーク解析は極めて重要である。小守班員による、骨細胞を中心とする骨芽細胞・破骨細胞ネットワークの研究は、骨細胞によるメカニカルストレスの感知と応答が骨代謝を制御することを証明した。Fkbp5 はステロイドのシグナル伝達に関わっておりステロイド性骨粗鬆症の病態解析と治療に応用できる可能性がある。また、Fkbp5 KO マウスでは筋萎縮を生じており、大平班員による筋再生研究との融合が期待される。

松尾班員によって炎症病態における骨量減少に OPG の関与が示された。また、OPG 産生は AP-1 が転写因子として働く。炎症時の OPG は脂肪組織が主たる源であることが示された。我々は Body Mass Index が低いことが骨粗鬆症のリスク因子であることを報告してきたが、松尾班員のデータはこれを支持する。さらに、田中班員は破骨細胞機能における Stat5 の重要性を示し、骨代謝に係る転写因子が明確になりつつある。これらの分子群が健常人と比べて差があるかどうかを、RA 特異的 iPS 細胞を用いて in vitro で検討したい。

吉川班員、中田研究協力者による間葉系由

来細胞の *in vitro* 三次元培養システムは、治療薬の反応性を調べる有用な手段である。RA 患者由来の iPS 細胞を三次元培養下で分化実験をすることで、より生理的な状況下での細胞機能の研究が可能になる。

下村班員は、島岡研究協力者が昨年度に発表した疾患活動性マーカーとしての C1q が、アディポネクチンの標的となっていることを示した。生物学的製剤の有効性が体脂肪量と逆相関するといわれており、今後の研究結果が待たれる。

RA 患者由来 iPS 細胞が樹立できつつあることから、来年度の研究では iPS を用いて、骨髄細胞異常がどの分化段階で出現するのか、異常なフェノタイプを有する細胞の発現が遺伝的因子に起因するのか、それとも RA 患者の骨髄環境因子に依存するのかを明らかにしたい。さらに骨格形成細胞への分化に異常があるのかを検討したい。In vitro での分化系が確立されれば、薬剤感受性の検討や、新規薬物のスクリーニングにも利用することができる。

E. 結論

RA 患者の骨髄細胞異常が明らかになるとともに、骨格形成細胞の分化制御機構が明らかになりつつある。骨髄異常がどの分化段階で生じているかを明らかにし、根治療法の研究へと結び付けたい。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hoshi D, Nakajima A, Inoue E, Shidara K, Sato E, Kitahama M, Seto Y, Tanaka E, Urano W, Ichikawa N, Koseki Y, Momohara S, Taniguchi A, Nishimoto N, Yamanaka H. Incidence of serious respiratory infections in patients with rheumatoid arthritis treated with tocilizumab. *Mod Rheumatol* Feb;22(1):122-7, 2012

2. Ozaki S, Atsumi T, Hayashi T, Ishizu A, Kobayashi S, Kumagai S, Kurihara Y, Kurokawa MS, Makino H, Nagafuchi H, Nakabayashi K, Nishimoto N, Suka M, Tomino Y, Yamada H, Yamagata K, Yoshida M, Yumura W. Severity-based treatment for Japanese patients with MPO-ANCA-associated vasculitis: the JMAAV study. *Mod Rheumatol* Jun;22(3):394-404, 2012. Epub 2011 Sep 18.
3. Yamamoto M, Tabeya T, Naishiro Y, Yajima H, Ishigami K, Shimizu Y, Obara M, Suzuki C, Yamashita K, Yamamoto H, Hayashi T, Sasaki S, Sugaya T, Ishida T, Takano KI, Himi T, Suzuki Y, Nishimoto N, Honda S, Takahashi H, Imai K, Shinomura Y. Value of serum IgG4 in the diagnosis of IgG4-related disease and in differentiation from rheumatic diseases and other diseases. *Mod Rheumatol* Jun;22(3):419-25, 2012. Epub 2011 Sep 28.
4. Mori S, Tokuda H, Sakai F, Johkoh T, Mimori A, Nishimoto N, Tasaka S, Hatta K, Matsushima H, Kaise S, Kaneko A, Makino S, Minota S, Yamada T, Akagawa S, Kurashima A; and the NTM-BIORA (NTM infection in Biologic-treated RA patients) Study Investigators. Radiological features and therapeutic responses of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease in rheumatoid arthritis patients receiving biological agents: a retrospective multicenter study in Japan. *Mod Rheumatol* Sep;22(5):727-37, 2012. Epub 2011 Dec 30.
5. Okada Y, Shimane K, Kochi Y, Tahira T, Suzuki A, Higasa K, Takahashi A, Horita T, Atsumi T, Ishii T, Okamoto A, Fujio K, Hirakata M, Amano H, Kondo Y, Ito S, Takada K, Mimori A, Saito K, Kamachi M, Kawaguchi Y, Ikari K, Mohammed OW, Matsuda K, Terao C, Ohmura K, Myouzen K, Hosono N, Tsunoda T, Nishimoto N, Mimori T, Matsuda F, Tanaka Y, Sumida T, Yamanaka H, Takasaki Y, Koike T, Horiuchi T, Hayashi K, Kubo M, Kamatani N, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K. A Genome-Wide Association Study Identified AFF1 as a Susceptibility Locus for Systemic Lupus Erythematosus in Japanese. *PLoS Genet.* 2012

- Jan;8(1):e1002455. Epub 2012 Jan 26.
6. Terada M, Kawano F, Ohira T, Nakai N, Nishimoto N, Ohira Y. Effects of Mechanical Over-loading on the Properties of Soleus Muscle Fibers, with or without Damage, in Wild Type and Mdx Mice. PLoS ONE 2012;7(4):e34557. Epub 2012 Apr 16.
 7. Hirao M, Hashimoto J, Nishimoto N. Anti-cytokine agents to combat oxidative stress. In: Alcaraz MJ, Gualillo D, Sánchez-Pernaute, O. Oxidative Stress in Advanced Basic Research and Clinical Practice. Studies on Arthritis and Joint Diseases. Springer (in press)
 8. Nishimoto N, Murakami M, Matsutani T. IL-6 blocker. In: Maurizio Cutolo eds. Addressing Unmet Medical Needs in RA. the Future Science Group E-Books.
 9. Murakami M, Tomiita M, Nishimoto N. Tocilizumab in the treatment of systemic juvenile idiopathic arthritis. Open Access Rheumatology: Research and Reviews. 2012;4
 10. Ogata T, Yamazaki H, Teshima T, Tsuchiya T, Nishimoto N, Matsuura N. Anti-IL-6 receptor antibody does not ameliorate radiation pneumonia in mice. Exp Ther Med. 2012 Aug;4(2):273-276. Epub 2012 May 18
 11. Schoels MM, van der Heijde D, Breedveld FC, Burmester GR, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Gabay C, Gibofsky A, Gomez-Reino JJ, Jones G, Kvien TK, Murakami M, Nishimoto N, Smolen JS. Blocking the effects of interleukin-6 in rheumatoid arthritis and other inflammatory rheumatic diseases: systematic literature review and meta-analysis informing a consensus statement. Ann Rheum Dis. 2012 Nov 10. [Epub ahead of print]
 12. Smolen JS, Schoels MM, Nishimoto N, Breedveld FC, Burmester GR, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Gabay C, Gibofsky A, Gomez-Reino JJ, Jones G, Kvien TK, Murakami M, Betteridge N, Bingham C 3rd, Bykerk V, Choy EH, Combe B, Cutolo M, Graninger W, Lanås A, Martín-Mola E, Montecucco C, Ostergaard M, Pavelka K, Rubbert-Roth A, Sattar N, Scholte-Voshaar M, Tanaka Y, Trauner M, Valentini G, Winthrop KL, de Wit M, van der Heijde D. Consensus statement on blocking the effects of interleukin-6 and in particular by interleukin-6 receptor inhibition in rheumatoid arthritis and other inflammatory conditions. Ann Rheum Dis. 2012 Nov 21. [Epub ahead of print]
 13. Yokota S, Imagawa T, Mori M, Miyamae T, Takei S, Iwata N, Umebayashi H, Murata T, Miyoshi M, Tomiita M, Nishimoto N, Kishimoto T. Long-term treatment of systemic juvenile idiopathic arthritis with tocilizumab: results of an open-label extension study in Japan. Ann Rheum Dis. 2012 Nov 30. [Epub ahead of print]
 14. 村上美帆, 西本憲弘. IL-6 阻害薬. 医薬ジャーナル. 医薬ジャーナル社. 2012;48(6):75-80
 15. 村上美帆, 西本憲弘. IL-6 を標的とした RA 関節破壊の制御. 医学のあゆみ. 医歯薬出版. 2012 : 242 (9) : 764-769
 16. 西本憲弘, 村上美帆. 抗体を用いた医療-血清療法から抗体医薬まで-「抗 IL-6 抗体」. 臨床と微生物. 2012 : 39(5):445-450
 17. 村上美帆, 西本憲弘. 炎症性サイトカインと関節リウマチ. CLINICAL CALCIUM. 医薬ジャーナル社. 2012 : 22(11) : 107-116
 18. 西本憲弘, 村上美帆. 炎症性自己免疫疾患における治療標的としての IL-6. 日本臨床増刊号「血管炎」. 日本臨床社. 2013 : 71 (増刊号 1) : 623-629
 19. 西本憲弘. IL-6 標的薬. 特集/関節リウマチ治療における分子標的薬の進歩. 臨床薬理. 三原医学社. 2013 : 44 (1) : 9-14
 20. Seta N, Okazaki Y, Izumi K, Miyazaki H, Kato T, and Kuwana M. Fibronectin binding is required for human circulating monocytes to acquire the mesenchymal/endothelial differentiation potential. Clin. Dev. Immunol. 2012; 2012: 820827.
 21. Yamaguchi Y, and Kuwana M. Proangiogenic hematopoietic cells of monocytic origin: roles in vascular regeneration and pathogenic

- processes of systemic sclerosis. *Histol. Histopathol.* 2013; 28(2): 175-183.
22. Sakai H., Okafuji I., Nishikomori R., Abe J., Izawa K., Kambe N., Yasumi T., Nakahata T., Heike T.: The CD40-CD40L axis and INF-g play critical roles in Langerhans giant cell formation. *Int. Immunol.* 24(1):5-15,2012.
 23. Izawa K., Hijikata A., Tanaka N., Kawai T., Saito M.K., Goldbach-Mansky R., Aksentijevich I., Yasumi T., Nakahata T., Heike T., Nishikomori R., Ohara O.: Detection of base substitution-type somatic mosaicism of the NLRP3 gene with >99.9% statistical confidence by massively parallel sequencing. *DNA Res.* 19(2):143-152,2012..
 24. Hiejima E., Komatsu H., Takeda Y., Sogo T., Inui A., Okafuji I., Nishikomori R., Nakahata T., Fujisawa T.: Acute liver failure in young children with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis without macrophage activation syndrome: Report of two cases. *J. Pediatr. Child Health* 48(3):E122-5,2012.
 25. Kawai T., Nishikomori R., Izawa K., Murata Y., Tanaka N., Sakai H., Saito M., Yasumi T., Takaoka Y., Nakahata T., Mizukami T., Nunoi H., Kiyohara Y., Yoden A., Mutara T., Sasaki S., Ito E., Akutagawa H., Kawai T., Imai C., Okada S., Kobayashi M., Heike T.: Frequent somatic mosaicism of NEMO in T cells of patients with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia and immunodeficiency. *Blood* 119(23):5458-66,2012.
 26. Tsumura M., Okada S., Sakai H., Yasunaga S., Ohtsubo M., Murata T., Obata H., Yasumi T., Kong X., Abhyankar A., Heike T., Nakahata T., Nishikomori R., Al-Muhsen S., Boisson-Dupuis S., Casanova J., AlZahrani M., Shehri MA., ElGhazali G., Takihara Y., Kobayashi M.: Dominant-negative STAT1 SH2 domain mutations in unrelated patients with Mendelian susceptibility to mycobacterial disease. *Human Mutation* 33(9):1377-87,2012.
 27. Tanaka T., Takahashi K., Yamane M., Tomida S., Nakamura S., Oshima K., Niwa A., Nishikomori R., Kambe N., Hara H., Mitsuyama M., Morone N., Heuse J.E., Yamamoto T., Watanabe A., Sato-Otsubo A., Ozawa S., Asaka I., Heike T., Yamanaka S., Nakahata T., Saito M.K.: Induced pluripotent stem cells from CINCA syndrome patients as a model for dissecting somatic mosaicism and drug discovery. *Blood* 120(6):1299-308,2012.
 28. Kawai T., Saito M., Nishikomori R., Yasumi T., Izawa K., Murakami T., Okamoto N., Mori Y., Nakagawa N., Imai K., Nonoyama S., Wada T., Yatie A., Oomori K., Nakahata T., Heike T.: Multiple reversions of an IL2RG mutation restore combined immunodeficiency patient. *J. Clin. Immunol.* 32(4):690-7, 2012.
 29. Morishima T., Nomura A., Saida S., Watanabe K., Yagi H., Matsumoto M., Fujimura Y., Heike T., Nakahata T., Adachi S.: Pediatric idiopathic TTP diagnosed with decreased ADAMTS13 activity. *Pediatr. Int.* 54(3):422-3, 2012.
 30. Nakazawa Y., Saito S., Yanagisawa R., Suzuki T., Toshiro Ito T., Ishida F., Muramatsu H., Matsumoto K., Kato K., Ishida H., Umeda K., Souichi Adachi S., Nakahata T., Koike K.: Recipient seropositivity for adenovirus type 11 is highly predictive of the development of hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* in press.
 31. Saida S., Watanabe K., Sato-Otsubo A., Terui K., Yoshida K., Okuno Y., Toki T., Wang RN., Shiraishi Y., Miyano S., Kato I., Morishima T., Fujino H., Umeda K., Hiramatsu H., Adachi S., Ito E., Ogawa S., Ito M., Nakahata T., Heike T.: Clonal selection in xenografted TAM recapitulates the evolutionary process of myeloid leukemia in Down syndrome. *Blood* in press.
 32. 斎藤潤、中畑龍俊：疾患特異的 iPS 細胞、再生医療 (Vol.12 No.1)、19-32、2013
 33. Komori T. Function of the osteocyte network in the regulation of bone mass. *Cell Tissue Res.* in press.
 34. Moriishi T, Fukuyama R, Ito M, Miyazaki T, Maeno T, Kawai Y, Komori H, Komori T. Osteocyte network; a negative regulatory

- system for bone mass augmented by the induction of Rankl in osteoblasts and Sost in osteocytes at unloading. *PLoS One*. 7(6): e40143, 2012.
35. Masuyama R, Mizuno A, Komori H, Kajiya H, Uekawa A, Kitaura H, Okabe K, Ohyama K, Komori T. Calcium/calmodulin-signaling supports TRPV4 activation in osteoclasts and regulates bone mass. *J Bone Miner Res*. 27(8): 1708-1721, 2012.
36. Oikawa T, Oyama M, Kozuka-Hata H, Uehara S, Udagawa N, Saya H, and Matsuo K. Tks5-dependent formation of circumferential podosomes/invadopodia mediates cell-cell fusion. *J Cell Biol*. 2012;197(4):553-568.
37. Kuroda Y, Hisatsune C, Mizutani A, Ogawa N, Matsuo K, Mikoshiba K. Cot Kinase promotes Ca²⁺ oscillation/calcineurin-independent osteoclastogenesis by stabilizing NFATc1 protein. *Mol Cell Biol*. 2012;32(14):2954-2963.
38. Valverde-Franco G, Pelletier JP, Fahmi H, Hum D, Matsuo K, Lussier B, Kapoor M, Martel-Pelletier J. In vivo bone-specific EphB4 overexpression in mice protects both subchondral bone and cartilage during osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2012;64(11):3614-3625.
39. (和文総説) 松尾光一. 骨免疫から見た老化制御 *Clin Calcium*. 2013;23(1):59-64.
40. Shinohara M, Nakamura M, Masuda H, Hirose J, Kadono Y, Iwasawa M, Nagase Y, Ueki K, Kadowaki T, Sasaki T, Kato S, Nakamura H, Tanaka S, Takayanagi H. Class IA phosphatidylinositol 3-kinase regulates osteoclastic bone resorption through Akt-mediated vesicle transport. *J Bone Miner Res*. 2012 Jul 13. doi: 10.1002/jbmr.1703. [Epub ahead of print]
41. Miyazaki T, Iwasawa M, Nakashima T, Mori S, Shigemoto K, Nakamura H, Katagiri H, Takayanagi H, Tanaka S. Intracellular and extracellular ATP coordinately regulate the inverse correlation between osteoclast survival and bone resorption. *J Biol Chem*. 2012 Sep 17. [Epub ahead of print]
42. Mochizuki A, Takami M, Miyamoto Y, Nakamaki T, Tomoyasu S, Kadono Y, Tanaka S, Inoue T, Kamijo R. Cell Adhesion Signaling Regulates RANK Expression in Osteoclast Precursors. *PLoS One*. 2012;7(11):e48795. doi: 10.1371/journal.pone.0048795. Epub 2012 Nov 6.
43. Matsumoto T, Nagase Y, Hirose J, Tokuyama N, Yasui T, Kadono Y, Ueki K, Kadowaki T, Nakamura K, Tanaka S. Regulation of bone-resorption and sealing zone formation in osteoclasts occurs through Akt-mediated microtubule stabilization. *J Bone Miner Res*. 2012 Dec 13. doi: 10.1002/jbmr.1844. [Epub ahead of print]
44. Tanaka S. Regulation of bone destruction in rheumatoid arthritis through RANKL-RANK pathways. *World J Orthop*. 2013 Jan 18;4(1):1-6. doi: 10.5312/wjo.v4.i1.1. PMID: 23362468 [PubMed - in process]
45. Akamine Y, Kakudo K, Kondo M, Ota K, Muroi Y, Yoshikawa H, Nakata K Prolonged matrix metalloproteinase-3 high expression after cyclic compressive load on human synovial cells in three-dimensional cultured tissue. *Int J Oral Maxillofac Surg* 41(7):874-81 2012

2.学会発表

1. Nishimoto N. Interleukin-6 as a therapeutic target in inflammatory autoimmune diseases. - From rheumatoid arthritis to vasculitis syndromes-. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop2012. Tokyo, conference center. Tokyo, Japan. 2012.3.29
2. Nishimoto N, Lee HM, Murakami M, Aoki C, Li Y, Matsutani T. Expressions of immune response related genes were normalised after Tocilizumab treatment in rheumatoid arthritis (RA) patients. EULAR 2012. Messe Berlin. Berlin. Germany. 2012.6.6-9.
3. 松谷隆治. 李 穎. 村上美帆. 李 慧敏. 青木千恵子. 西本憲弘. リンパ球サブセッ

- トの解析. 関西関節リウマチセミナー. ヒルトン大阪. 大阪. 2012.1.20
4. Lee HM, Aoki C, Murakami M, Matsutani T, Nishimoto N. Overexpressions of S100A4/A6/A9/A11/A12 in the patients with RA, SLE, and JIA and correlations of their expression levels with the local and systemic inflammatory biomarkers in RA patients. 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会・第21回国際リウマチシンポジウム. ポスター発表 1. グランドプリンスホテル新高輪. 東京. 2012.4.26-28
 5. Nishimoto N. Advanced therapeutic strategy using anti-IL6 receptor antibody, tocilizumab, in RA. 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会・第21回国際リウマチシンポジウム. 第21回国際リウマチシンポジウム 3. グランドプリンスホテル新高輪. 東京. 2012.4.26-28
 6. 西本憲弘. 免疫系におけるサイトカインの働きとリウマチ性疾患. 第22回日本小児リウマチ学会総会・学術集会 教育講演. ウィルあいち. 愛知. 2012.10.5-7
 7. Nishimoto N. Discovery of IL-6 and its clinical application - The journey from IL-6 to tocilizumab-第41回日本免疫学会学術集会 International Symposium 12 Translational Research in Immunology 第41回日本免疫学会学術集会 シンポジウム. 神戸国際会議場. 2012.12.5-7
 8. 桑名正隆: 強皮症における血管内皮前駆細胞異常とその是正を目指した新たな治療戦略. 第40回日本臨床免疫学会 (東京). 2012. 9. (ワークショップ 2: 免疫疾患における再生医学)
 9. 中畑龍俊; 特別講演: iPS 細胞研究の今、その可能性と将来展望. 第115回日本小児科学会学術集会 2012年4月20-22日 (20日) 福岡国際会議場
 10. 井澤和司、土方敦司、西小森隆太、小原収、田中尚子、河合朋樹、八角高裕、斎藤潤、中畑龍俊、平家俊男: 次世代シーケンサーによる NLRP3 体制モザイクの診断. 第115回日本小児科学会学術集会 2012年4月20-22日 (21日) 福岡国際会議場
 11. 石田宏之、今井耕輔、本間健一、田村真一、今村俊彦、斎藤潤、大嶋宏一、伊藤雅文、中畑龍俊、野々山恵章: 白血球減少、骨髓異形成とリンパ浮腫を呈する GATA-2 異常. 第115回日本小児科学会学術集会 2012年4月20-22日 (21日) 福岡国際会議場
 12. Yanagimachi M, Niwa A, Tanaka T Oshima K, Saito M Nakahata T: Differentiation of monocytic lineage cells from human iPS cells by using a serum and feeder free culture method. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
 13. Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Tanaka T, Saida S, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Matsubara K, Adachi S, Nakahata T, Heike T: Induced pluripotent stem cell model of severe congenital neutropenia with HAX1 gene deficiency. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
 14. Yokoyama K, Ikeya M, Nasu A, Tanaka T, Saito M, Umeda K, Nishikomori R, Nakahata T, Heike T, Toguchida J: Understanding the pathology of the arthropathy in chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome by using iPS cells technology. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
 15. Tanaka T, Saito MK., Takahashi K, Yamanaka S, Nakahata T: Induced pluripotent stem cells from CINCA syndrome patients as a model for dissecting somatic mosaicism and drug discovery. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
 16. Niwa, Akira, Saito, Megumu, Oshima, Koich,

- Yanagimachi, Masakatsu, Tanaka, Takayuki, Kato, Itaru, Nakahata, Tatsutoshi: Human ESC/IPSC-Derived mesenchymal stroma can support hematopoietic progenitors. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
17. Manabe A, Kikuchi A, Kojima S, Tsuchida M, Hayashi Y, Koike K, Ohara A, Ishii E, Komada Y, Nakahata T: Long-term follow-up of more than 545 children with myelodysplastic syndrome (MDS) and myeloproliferative neoplasms(MPN). VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, November 7-9, 2012, Prague
 18. Honda Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Kojima S, Ito M, Kikuchi A, Nakahata T, Manabe A: Clinic characteristics of 23 children with juvenile myelomonocytic leukemia who developed blast crisis: MDS Committee of LSPHO. VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, November 7-9, 2012, Prague
 19. Hasegawa D, Chen X-j, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A: Treatment outcome of 67 cases with refractory cytopenia of childhood(RCC): A Propective Registration Through The Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology(JSPHO). VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, November 7-9, 2012, Prague
 20. 中畑龍俊: iPS 細胞を用いた今後の医療の可能性、第23回小児科血液セミナー、2012年7月19日
 21. 中畑龍俊;特別講演: 小児患者におけるiPS 細胞の応用、第49回日本小児アレルギー学会 2012年9月15-16日(16日) 大阪国際会議場
 22. 中畑龍俊;特別講演: iPS 細胞研究の進展、第59回日本臨床検査医学会学術集会 2012年11月29日~12月2日(11/30) 国立京都国際会館
 23. 森石武史: 骨細胞ネットワークは骨形成を抑制し、骨芽細胞を介して骨吸収を促進する、第30回日本骨代謝学会学術集会、東京、2012.
 24. 第30回日本骨代謝学会 2012年7月21日 ASBMR annual meeting 2012 2012年10月1日
 25. 骨格筋再生におけるIL-6受容体阻害剤(MR16-1)及び温熱刺激効果の検討. 第55回日本宇宙航空環境医学会大会, 40, 岐阜, 2009年11月.
 26. Effects of IL-6 receptor inhibition and/or heat treatment on the regeneration of injured mouse skeletal muscle. Experimental Biology, BB-989.10, Anaheim, CA, USA, (April, 2010).
 27. 宮本 諭, 吉川秀樹, 中田研 器官培養モデルにおける力学刺激が骨・軟骨の成長に与える影響 日本結合組織学会 第44回日本結合組織学会 2012年6月 東京
 28. 中田研 関節の繰り返し力学負荷による生物学的応答と薬物効果: 関節炎, 関節破壊と薬効メカニズム 第32回日本歯科薬物療法学会 特別講演 2012年6月 大阪
 29. 金銅真世, 北圭介, 室井悠里, 太田啓, 赤峯勇哲, 中田研, 吉川秀樹, 覚道健治 繰り返し圧縮負荷によるヒト滑膜由来三次元培養組織滑膜炎モデルにおける各種NSAIDsのマトリックス破壊抑制および抗炎症効果 第32回日本歯科薬物療法学会 特別講演 2012年6月 大阪
 30. 太田啓介, 北圭介, 下村和範, 松尾知彦, 宮本諭, 金銅真世, 室井悠里, 前達雄, 覚道健治, 吉川秀樹, 中田研 至適な繰り返し圧縮負荷は、三次元培養組織における骨芽細胞分化を促進する 第30回日本骨代謝学会 2012年7月 東京

31. 中田研, 金銅真世, 北圭介, 松尾知彦, 橋優太, 米谷泰一, 前達雄, 吉川秀樹 ヒアルロン酸がヒト滑膜細胞三次元培養メカニカルストレス下に軟骨に対する catabolic & anabolic 効果 第3回ヒアルロン酸研究会 2012年10月 名古屋
32. 金銅真世, 室井悠里, 北圭介, 太田啓介, 赤峯勇哲, 中田研, 吉川秀樹, 覚道健治 ヒト滑膜三次元培養組織の繰返し圧迫力学刺激におけるヒアルロン酸のマトリックス破壊抑制および疼痛緩和機序の解析 第25回日本顎関節学会 2012年7月 札幌
33. 金銅真世, 室井悠里, 太田啓介, 赤峯勇哲, 中田研, 吉川秀樹, 覚道健治 第57回(公社)日本口腔外科学会総会・学術大会 2012年10月 横浜
34. Mayo Kondo Keisuke Kita, Yuri Muroi, Keisuke Ota, Yutetsu Akamine, Ken Nakata, Kenji Kakudo. Chondro-protective effects of NSAIDs on mechanical stress-induced arthritis by cyclic compressive loading on 3-D cultured human synovial cells Asia Oral Maxiofacial Surgery Society 2012年10月 バリ島 インドネシア

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

出願番号:特願 2008-515400

発明の名称:炎症性疾患の検出並びに炎症性疾患の予防又は治療用組成物

出願人:学校法人慶應義塾

オリエンタル酵母株式会社

欧州特許出願番号:06746349.7

米国特許出願番号:12/227.244

カナダ特許出願番号:2, 651, 597

2. 実用新案登録

特記すべきことなし。

3. その他

特記すべきことなし。

Ⅲ. 分 担 研 究 報 告 書