

201322003A

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 免疫アレルギー研究分野)

**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 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 西 本 憲 弘

平成 26 (2014) 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 患者特異的 iPS 細胞の樹立と骨髄細胞分化異常の解析</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亜分画に関する研究 桑名 正隆	20
3. RA における骨髄造血幹細胞分化異常の解析に関する研究 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. 自然免疫系による Osteoprotegerin 産生誘導の解析 松尾 光一	31
6. 破骨細胞における Stat5 の機能に関する研究 田中 栄	33
7. 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	36

8. 関節リウマチの病態に対するアディポネクチンの作用—補体とアディポネクチンの関連 下村伊一郎·····	38
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 ·····	41

# I. 構 成 員 名 簿

平成 25 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 免疫アレルギー研究分野)  
 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	兼任教授
研究分担者 (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 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
	斉藤 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 健康スポーツ科学	教授
	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. 総括研究報告書

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 免疫アレルギー研究分野)  
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 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 iPS 細胞、遺伝子改変マウス等を用いて解析した。iPS 細胞から単球系細胞へ in vitro で分化させる系を用いて、RA 患者骨髄で見られた CD14+CD15+の「まるでがん細胞」が単球への分化の初期に一過性に出現することを明らかにした。しかもこの細胞群は RA 患者で多く出現したことから、RA の病態に関与する可能性がある。また三次元培養系を用いたヒト ES/iPS 細胞から単球系細胞への分化誘導系を確立した。三次元培養・力学負荷システムの構築により、力学的負荷という生理的な状況下での治療薬の反応性を調べることが可能になった。

RA 骨髄間葉系由来細胞間ネットワークの解析では、網羅的遺伝子発現解析により見出した Fkbp5 の骨細胞・骨芽細胞・破骨細胞ネットワーク制御における役割を明らかにした。Fkbp5 は糖質コルチコイド受容体と結合し、核移行を抑制することから、ステロイド性骨粗鬆症の病態解明と治療に応用できる可能性がある。また、自然免疫の賦活化は、肝細胞での OPG 発現を上げ、骨吸収を抑制する可能性が示された。OPG 産生シグナルは、AP-1 が転写因子として働く。AP-1 分子 c Fos は Smad と結合し、NfatC1 の転写調節に働いている可能性が示された。これらの分子では、互いに共局在することで、協調してゲノム上への結合、転写調節作用を持つと考えられる。また、脂肪組織由来のアディポネクチンが補体 C1 q に直接結合し、補体系を制御するが、アディポネクチンのマクロファージに対する作用は、炎症惹起と抑制の二面性を有することを示した。

臨床的検証では、RA 患者では健常人に比べて CD14+CD16+、CD14+CCR2+単球が増加し、CD14+単球における CXCR4 発現は低下、CCR2 発現は上昇しており、CD14+CCR2+は CRP や MMP3 と正の相関を、CD14+CD16+は MRI における骨びらん・骨髄浮腫ならびに 1 年後の関節破壊進行と相関したことから、新たなバイオマーカーとしての可能性が示された。

研究分担者 桑名 正隆 慶應義塾大学医学部リウマチ内科 准教授  
(五十音順) 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
	斉藤 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健康スポーツ科学	教授
	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が、いずれの治療も根治にはほど遠い。一方、これまで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、これらの細胞はすべて骨髄の造血幹細胞あるいは間葉系幹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。さらに、これらの細胞分化はネットワークで相互に制御されている。そこで、以下の研究を行った。

### 1) RA 患者特異的 iPS 細胞の樹立と骨髄細胞分化異常の解析

- ① 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 患者特異的ヒト人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells:iPS 細胞) を樹立する。(西本研究代表者、中畑班員、斎藤研究協力者)
- ② iPS 細胞から単球系細胞へ *in vitro* で分化させる系を用いて、RA 患者骨髄で見られた CD14+CD15+ の「まるでがん細胞」が出現するか否か、CD14+CD15+ 細胞の出現が RA 患者特異的か否かを検討する。(西本研究代表者)
- ③ 三次元培養系を用いたヒト ES/iPS 細胞から単球系細胞への分化誘導系を確立する。

(中畑班員、斎藤研究協力者)

- ④ CD14+細胞の亜分画の細胞機能の解析を行う (桑名班員)

### 2) RA 骨髄間葉系由来細胞間ネットワークの解析

- 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。網羅的遺伝子発現解析により見出した Fkbp5 の骨代謝における機能を、遺伝子改変マウスを用いて解析する。(小守班員)
- ② 自然免疫の賦活化時に起こる骨吸収抑制メカニズム、Osteoprotegerin (OPG) 産生誘導メカニズムを解析する。(松尾班員)
- ③ 次世代シーケンサーを用い、TGF- $\beta$  による RANKL 誘導性破骨細胞分化制御機構を解析する。(田中班員)
- ④ RA 患者罹患関節構成体 (骨・軟骨・滑膜) の *in vitro* 三次元培養組織を用い、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)
- ⑤ マクロファージ、補体に対するアディポネクチンの機能を解析する。(下村班員)

## B. 研究方法

### 1) RA 患者特異的 iPS 細胞の樹立と骨髄細胞分化異常の解析

- ① 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 患者と未発症同胞の血液単核球ならびに皮膚線維芽細胞を用いて、iPS 細胞の樹立を行った。
- ② ヒト iPS 細胞からの血球分化系 (Nawa et

al. PLOS one, 2011)を応用して、RA 特異的 iPS 細胞から単球へ分化させ、FACS 解析により各分化段階での細胞表面マーカーを健常人 (RA 特異的 iPS 細胞を樹立した患者の家族内未発症者) 由来の iPS 細胞と比較した。さらに iPS 細胞から単球に分化させた後、破骨細胞への分化誘導を検討した。

- ③ コラーゲンスポンジを用いて三次元でヒト ES/iPS 細胞から単球系細胞の分化誘導を行った。
- ④ 未治療 RA 患者の前向きコホート (SAKURA) データベースを用いて、診断時の末梢血 CD14+単球亜分画と疾患活動性やその後の関節破壊進展との関連を追究した。

## 2) RA 骨髓間葉系由来細胞間ネットワークの解析

- 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、尾部懸垂により後肢に非荷重状態を作り、非荷重時に骨芽細胞に誘導される遺伝子 Fkbp5 の KO マウスを作製し骨代謝における機能を解析した。
- ② LPS を、野生型マウス (C57BL/6J) の腹腔内に投与し、LPS 投与後の OPG を測定することで、産生臓器・細胞を特定した。さらに、抗 OPG 抗体による免疫染色を行い、OPG 産生細胞を検索した。
- ③ マウス骨髓細胞を M-CSF、と TGF- $\beta$  または TGF- $\beta$  I 型受容体阻害剤の存在下で培養し、クロマチン免疫沈降シーケンス (ChIPseq) と発現アレイを用いて、TGF- $\beta$  による発現誘導、ヒストン修飾の変化について解析した。さらに open chromatin 領域を調べるために FAIREseq (Formaldehyde-Assisted Isolation of Regulatory Elements sequence) を行った。
- ④ 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によるマトリ

ックス分解酵素、炎症性サイトカイン発現を、ステロイド、NSAIDs、ヒアルロン酸、抗 IL-6 阻害剤、抗 IL-1 阻害剤の存在下で解析した。

- ⑤ 組換えアディポネクチン蛋白をヒトマクロファージへ添加し、サイトカイン産生とアディポネクチン下流のシグナル伝達経路を解析した。

(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 患者特異的 iPS 細胞の樹立と骨髓細胞分化異常の解析

- ① トシリズマブ使用中の 2 例、MTX 使用中の 1 例ならびに健常人コントロールから iPS 細胞を作製した。
- ② RA 患者由来 iPS 細胞から単球への分化誘導 15 日目で、CD14+CD15+細胞が検出された。また RA 患者由来 iPS 細胞と未発症同胞ならびに他の健常人由来 iPS 細胞で CD14+CD15+細胞の割合を比較したところ RA が最も多かった。また、iPS 細胞から破骨細胞への分化誘導に成功した。さらに CD14+細胞内の亜分画のみが破骨細胞に分化した。

- ③ コラーゲンスポンジの内部でヒト ES/iPS 細胞から造血前駆細胞を経て単球・マクロファージ等の自然免疫細胞へ分化させることに成功した。
- ④ RA では健常人に比べて CD14+CD16+、CD14+CCR2+単球が増加し、CD14+単球における CXCR4 発現は低下、CCR2 発現は上昇していた ( $P < 0.05$ )。CD14+CCR2+は CRP や MMP3 と正の相関を示し、CD14+CD16+は MRI における骨びらん・骨髄浮腫と関連し、1年後の関節破壊進行および RRP と関連した ( $P < 0.05$ )。

## 2) RA 骨髄間葉系由来細胞間ネットワークの解析

- ① 野生型マウスの骨芽細胞で誘導され、BCL2tg マウスの骨芽細胞では誘導されない遺伝子として Fkbp5 を同定した。Fkbp5 KO マウスの雌で有意な骨量低下を認めた。尾部懸垂すると、Fkbp5 KO マウスでより強い骨量減少を認めた。Fkbp5 KO マウスに、糖質コルチコイドを投与すると、Fkbp5 KO マウスでより強い骨量減少を認めた。また、野生型マウスでは、糖質コルチコイド投与早期に Fkbp5 mRNA の上昇を認めた。Fkbp5 KO マウス由来の骨芽細胞は、野生型マウス由来の骨芽細胞と比較し、より低濃度の糖質コルチコイドで骨芽細胞分化が阻害された
- ② マウスに LPS 投与後、血中 OPG 濃度が上昇した。LPS 投与・非投与の OPG 比は肝臓で最も高く、主要な OPG 分泌臓器であると考えられた。OPG 質量/組織総タンパク質量が比較的高い肺や甲状腺では、LPS による明確で再現性のある発現上昇は観察されなかった。
- ③ Smad2/3 標的遺伝子は TGF- $\beta$ 刺激によって発現が誘導された。TGF- $\beta$ 刺激サンプルは SB431542 刺激サンプルに比べ、anti-H3K4me3 抗体の結合シグナル強度は高く、一方で anti-H3K27me3 抗体の結合シグナル強度は低かった。Smad2/3 シグナル

ピーク近傍に存在する結合モチーフを解析した結果、AP-1 分子が高頻度検出された。RANKL 下流シグナル分子である cFos と Smad は、TGF- $\beta$ と RANKL の刺激により共局在した。さらに RANKL 誘導性破骨細胞分化におけるマスター制御因子である *NfatC1* 遺伝子上への cFos や Smad の結合について、それらの抗体を用いて ChIPseq で調べたところ、FAIREseq における open chromatin 領域での 2 分子の局在性が一致し、SB431542 存在下では cFos の *NfatC1* 上への結合が阻害された。一方 cFos KO マウスでは、RANKL と TGF- $\beta$ 刺激による *NfatC1* 遺伝子上への Smad 結合量の上昇がみられなかった。

- ④ ヒト滑膜細胞由来三次元培養組織の繰り返し力学負荷により IL-6、IL-8、PGE2、COX-2 タンパクの発現を認めた。また、MMP-1、MMP-2、MMP-3、ADAMTS-4 の遺伝子発現が亢進した。ステロイド添加により PGE2、IL-6、IL-8 は発現が抑制され、COX2 選択的阻害剤では PGE2 の発現が抑制されたが、IL-6、IL-8 発現は不変であった。高分子ヒアルロン酸添加では PGE2 発現は変わらず、MMP-3 と ADAMTS4 遺伝子発現が抑制された。また、IL-6 阻害、IL-1 阻害により MMP-3 発現の部分低下を認めた。
- ⑤ アディポネクチン蛋白をヒトマクロファージに添加すると、炎症に関与する COX2 と IL-6 の mRNA 発現量が増加した。一方で MMP の阻害因子である TIMP1 の発現と、リンパ管新生因子である VEGFC の発現量も増加した。アディポネクチン下流のシグナル経路を解析したところ、アディポネクチンが Src ファミリーである Syk を活性化し、その下流で MAPK が活性化した。さらに、これらの阻害剤を用いることで、アディポネクチン経路が抑制された。

## D. 考察

### 1) RA 患者特異的 iPS 細胞の樹立と骨髄細胞分化異常の解析

RA 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、患者の疾患活動性の変化や使用薬剤の影響を受けず in vitro で細胞分化を検討することができる。昨年から本年度にかけて RA 患者特異的 iPS 細胞の樹立に成功した。また、中畑班員らの研究成果として、血清フリー、フィーダーフリーで単球、マクロファージ、樹状細胞へ効率よく分化させることができる系が確立された。そこで、RA 患者骨髄で見られた CD14+CD15+ の「まるでがん細胞」が単球系細胞への分化過程で出現するか否かを検討したところ、分化誘導刺激後 15 日目に一過性に現れた。この細胞群は健常人由来 iPS 細胞からも誘導することが可能であったが、健常人由来 iPS 細胞に比べて RA 患者由来 iPS 細胞で出現頻度が高かったことから、RA の病態に関与している可能性がある。現在さらに、別家系の 3 例の RA 患者から iPS 細胞を作製しており、その結果と比較したい。また、CD14+CD15+ の細胞の数と発現期間は、環境因子すなわち骨髄ストローマ細胞や越智らが同定した RA ナース細胞との接触、そこから産生されるサイトカインの影響を受ける可能性がある。今後、これらの細胞との共培養や種々のサイトカインによる影響の検討を行いたい。

中畑班員らは、血液系細胞と他の細胞との局所的な相互作用を検討するために、それらの共培養による試験管内モデル構築を念頭に、コラーゲンスポンジを用いて三次元で iPS 細胞から単球系細胞を効率的かつ安定に誘導する系を樹立した。吉川班員、中田研究協力者による三次元培養システムと力学負荷を組み合わせることで、iPS 細胞から骨・軟骨細胞など骨格支持細胞へのより生理的な状況下での細胞分化と細胞機能の研究が可能になると思われる。

また、iPS 細胞から破骨細胞への分化に成功した。iPS 細胞から分化した CD14+細胞のうち、破骨細胞へ分化誘導可能なものは一部分であ

り、今後どのようなフェノタイプを持つ細胞が破骨細胞に分化するかを検討したい。

桑名班員は、未治療 RA 患者で CD14+細胞の亜分画の割合とその後の疾患活動性や関節破壊との関連について報告した。CD14+CCR2+細胞は滑膜炎、CD14+CD16+細胞は関節破壊に関連が示唆されており、これら単球系細胞の亜分画の機能の検討が待たれる。CD16+ (Fc $\gamma$ RIII+) CD14+単球は、炎症性サイトカインの分泌や Th17 分化促進を介して RA 病態に関与することが報告されており興味深い。

## 2) RA 骨髄間葉系由来細胞間ネットワークの解析

免疫細胞ならびに骨格形成細胞のネットワーク制御のメカニズムの解析は極めて重要である。小守班員による、Fkbp5 の機能解析結果は、骨細胞・骨芽細胞・破骨細胞ネットワーク制御における Fkbp5 の役割を明らかにした。Fkbp5 は糖質コルチコイド受容体と結合し、糖質コルチコイド受容体の核移行を抑制することが報告されていることから、ステロイド性骨粗鬆症の病態解明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ることから、ステロイドミオパチーの研究と治療にも応用が期待される。

松尾班員は、自然免疫の賦活化により肝細胞での OPG 発現が増加し、骨吸収が抑制される可能性を示した。OPG 産生シグナルは AP-1 が転写因子として働くことから、田中班員の研究とも関連する。田中班員は、AP-1 分子 c Fos は Smad と結合し、NfatC1 の転写調節に働いている可能性を示した。これらの 2 分子では、互いに共局在することが必要で、協調してゲノム上への結合、転写調節作用を持つと考えられる。

吉川班員、中田研究協力者による in vitro 三次元培養・力学負荷システムは、生理的な状況下での治療薬の反応性を調べる有用な手段である。前述のごとく、iPS 細胞との組み合わせによりさらなる研究の発展が期待される。

下村班員は、アディポネクチンのマクロフ

アージュに対する作用は、炎症惹起と抑制の二面性を有することを示した。アディポネクチンはCIAモデルで関節破壊を抑制することから、そのメカニズムの解明が待たれる。

## E. 結論

RA患者の骨髄細胞の異常が示されるとともに、骨髄間葉系細胞のネットワーク制御機構が分子レベルで明らかになりつつある。今後、RA特異的iPS細胞を用い、骨髄異常を引き起こす遺伝的因子と環境因子を探求したい。

## 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. Nishimoto N, Amano K, Hirabayashi Y, Horiuchi T, Ishii T, Iwahashi M, Iwamoto M, Kohsaka H, Kondo M, Matsubara T, Mimura T, Miyahara H, Ohta S, Saeki Y, Saito K, Sano H, Takasugi K, Takeuchi T, Tohma S, Tsuru T, Ueki Y, Yamana J, Hashimoto J, Matsutani T, Murakami M, Takagi N. Drug free REmission/low disease activity after cessation of tocilizumab (Actemra) Monotherapy (DREAM) study. *Mod Rheumatol*. 24(1):17-25. 2014.
2. Nishimoto N, Amano K, Hirabayashi Y, Horiuchi T, Ishii T, Iwahashi M, Iwamoto M, Kohsaka H, Kondo M, Matsubara T, Mimura T, Miyahara H, Ohta S, Saeki Y, Saito K, Sano H, Takasugi K, Takeuchi T, Tohma S, Tsuru T, Ueki Y, Yamana J, Hashimoto J, Matsutani T, Murakami M, Takagi N. Retreatment efficacy and safety of tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis in recurrence (RESTORE) study. *Mod Rheumatol*. 24(1):26-32 2014.
3. Fujita R, Kawano F, Ohira T, Nakai N, Shibaguchi T, Nishimoto N, Ohira Y. Anti-interleukin-6 receptor antibody (MR16-1) promotes muscle regeneration via modulation of gene expressions in infiltrated macrophages. *Biochim Biophys Acta*. 15. pii: S0304-4165(14)00016-6. 2014.
4. 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*. 72(4):583-9. 2013
5. 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, Lanasa A, Martin-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*. 72(4):482-92. 2013.
6. 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*. 72(4):627-8. 2013.
7. Fiala M, Mizwicki MT, Weitzman R, Magpantay L, Nishimoto N. Tocilizumab infusion therapy normalizes inflammation in sporadic ALS patients. *Am J Neurodegener* 2(2):129-39. 2013.
8. Shimane K, Kochi Y, Suzuki A, Okada Y, Ishii T, Horita T, Saito K, Okamoto A, Nishimoto N, Myouzen K, Kubo M, Hirakata M, Sumida T, Takasaki Y, Yamada R, Nakamura Y, Kamatani N, Yamamoto K. An association analysis of HLA-DRB1 with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in a

- Japanese population: effects of \*09:01 allele on disease phenotypes. *Rheumatology (Oxford)*. 52(7):1172-82. 2013.
9. Chang Q, Bournazou E, Sansone P, Berishaj M, Gao SP, Daly L, Wels J, Theilen T, Granitto S, Zhang X, Cotari J, Alpaugh ML, de Stanchina E, Manova K, Li M, Bonafe M, Ceccarelli C, Taffurelli M, Santini D, Altan-Bonnet G, Kaplan R, Norton L, Nishimoto N, Huszar D, Lyden D, Bromberg J. The IL-6/JAK/Stat3 Feed-Forward Loop Drives Tumorigenesis and Metastasis. *Neoplasia*. 15(7):848-62 2013.
  10. 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. pp 297-309. 2013.
  11. 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
  12. 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
  13. 松谷隆治, 村上美帆, 西本憲弘. 水銀による自己抗体産生誘導. 臨床免疫・アレルギー科. 科学評論社. 2013 : 59 (5) : 611-613
  14. 西本憲弘, 村上美帆. 成人病発症 Still 病. 内科. 南江堂. 2013 : 112 (1) : 73-76
  15. 西本憲弘. 技術革新で既存の治療法の枠組みを変える可能性. *Medical ASAHI*. 朝日新聞社. 2013 : 42 (10) : 16-18
  16. 西本憲弘. キャッスルマン病と IL-6. 血液内科. 2013 : 67 (4) : 467-471
  17. 西本憲弘. リウマチ性疾患 10.1 総論 1) 免疫・炎症に関する細胞分子. 内科学第十版. (矢崎義雄編) 朝倉書店 : 東京 2013 : 1227-1231.
  18. 西本憲弘, 村上美帆. BMS945429(P274)・Brodalumab (P277)・Ixezumab (P314)・Sarilimab (P346)・Secukinumab (P348)・Siltuximab (P351)・Sirukumab (P352)・Tocilizumab (P358). 免疫・アレルギー疾患の分子標的と治療薬事典 生物学的製剤、低分子化合物のターゲット分子と作用機序、薬効のすべて. (田中良哉編) 羊土社:東京 2013.
  19. 西本憲弘, 村上美帆. 生物学的製剤使用時の WBC 減少. リウマチ病セミナーXXIV. (監修 七川歡次) 永井書店. 2013 : 217
  20. Mitsunaga S, Hosomichi K, Okudaira Y, Nakaoka H, Kunii N, Suzuki Y, Kuwana M, Sato S, Kaneko Y, Homma Y, Kashiwase K, Azuma F, Kulski JK, Inoue T, Inoko H. Exome-sequencing identifies novel rheumatoid arthritis-susceptible variants in the *BTNL2*. *J. Hum. Genet.* 2013; 58(4): 210-215.
  21. Seta N, Okazaki Y, Miyazaki H, Kato T, Kuwana M. Platelet-derived stromal cell-derived factor-1 is required for the transformation of circulating monocytes into multipotential cells. *PLoS One*. 2013; 8(9): e74246
  22. Morishima T, Watanabe KI, Niwa A, Hirai H, Saida S, Tanaka T, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Saito MK, Matsubara K, Adachi S, Kobayashi M, Nakahata T, Heike T.: Genetic correction of HAX1 in induced pluripotent stem cells from a patient with severe congenital neutropenia improves defective granulopoiesis. *Haematologica*. ; 99(1):19-27. 2014 Jan doi: 10.3324/haematol.2013.083873.
  23. Saida S, Watanabe KI, Sato-Otsubo A, Terui K, Yoshida K, Okuno Y, Toki T, Wang R, 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*.; 121(21):4377-87, 2013. May 23; doi: 10.1182/blood-2012-12-474387.
  24. Yanagimachi MD, Niwa A, Tanaka T, Ozaki F, Nishimoto S, Murata Y, Yasumi T,

- Ito J, Tomida S, Oshima K, Asaka I, Goto H, Heike T, Nakahata T, Saito MK: Robust and highly-efficient differentiation of functional monocytic cells from human pluripotent stem cells under serum- and feeder cell- free conditions. PLoS ONE. 4/3/ 2013; 8(4): e59243. doi:10.1371/journal.pone.0059243
25. Tomizawa D., Akio Tawa A., MD/PhD, Watanabe T., Saito A.M., Kudo K., Taga T., Iwamoto S., Shimada A., Terui K., Moritake H., Kinoshita A., Takahashi H., Nakayama H., Koh K., Kigasawa H., Kosaka Y., Miyachi H., Horibe K., Nakahata T., Adachi S.: Excess reduction of anthracyclines results in inferior event-free survival in core binding factor acute myeloid leukemia in children; a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). *Leukemia*. in press. doi:10.1038/leu.2013.153
  26. 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 a highly predictive factor for the development of Adv11-induced hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 48:737-739, 2013.
  27. Kodera Y, Yamamoto K, Harada M, Morishima Y, Dohy H, Asano S, Ikeda Y, Nakahata T, Imamura M, Kawa K, Kato S, Tanimoto M, Kanda Y, Tanosaki R, Shiobara S, Kim SW, Nagafuji K, Hino M, Miyamura K, Suzuki R, Hamajima N, Fukushima M, Tamakoshi A; for the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation, Halter J, Schmitz N, Niederwieser D, Gratwohl A.: PBSC collection from family donors in Japan: a prospective survey. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Sep 30. doi: 10.1038/bmt.2013.147. in press.
  28. 斎藤潤、中畑龍俊：疾患特異的 iPS 細胞。再生医療 12(1):19-29,2013.
  29. Moriishi T, Kawai Y, Komori H, Rokutanda S, Eguchi Y, Tsujimoto Y, Asahina I, Komori T. Bcl2 Deficiency Activates FoxO through Akt Inactivation and Accelerates Osteoblast Differentiation. *PLoS One*. 9(1) : e86629, 2014.
  30. Komori T. Functions of the osteocyte network in the regulation of bone mass. *Cell Tissue Res*. 352 :191-198, 2013.
  31. Hirose J, Masuda H, Tokuyama N, Omata Y, Matsumoto T, Yasui T, Kadono Y, Hennighausen L, Tanaka S. Bone resorption is regulated by cell-autonomous negative feedback loop of Stat5-Dusp axis in the osteoclast. *J Exp Med*. 211(1):153-63, 2014
  32. 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*. 28(5):1191-202, 2013
  33. Tanaka S Regulation of bone destruction in rheumatoid arthritis through RANKL-RANK pathways. *World J Orthop*. 18;4(1):1-6, 2013
  34. Matsuo T, Mae T, Kita K, Tachibana Y, Yoshikawa H, Nakata K. Bone Substitutes and Implantation Depths for Subchondral Bone Repair in Osteochondral Defects of Porcine Knee Joints *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2014 In press)
  35. 中田 研, 前 達雄, 米谷泰一, 松尾 知彦, 橘 優太, 金本 隆司, 北圭介, 吉川 秀樹 半月板バイオマテリアルの開発 *Clinical Calcium* 23;12 39-47, 2013
- ## 2. 学会発表
1. Y. Terasaki, S. Ikushima, Y. Ichimura, M. Ujita, Y. Matsuzawa, M. Arita, K. Tomii, Y. Komase, I. Ohwan, T. Kawamura, S. Izumi, M. Murakami, H. Ishimoto, H. Kimura, M. Bando, N. Hada, N. Nishimoto, S. Matsui, T. Ogura. Comparison Of Pathological Features Of The Lung Lesions Of Systemic IgG4-Related Disease And Multicentric Castleman's Disease. *American Thoracic*

- Society 2013. Philadelphia. 2013.5.17-22
2. T. Matsutani, M. Murakami, M. Sekiguchi, K. Matsui, M. Kitano, M. Namiki, K. Ohmura, Y. Imura, T. Fujii, T. Kuroiwa, H. Nakahara, S. Higa, K. Maeda, Y. Nozaki, M. Funauchi, K. Murakami, T. Ikawa, S. Irimajiri, A. Nampei, T. Azuma, T. Sasaki, A. Yokota, S. Morita, Y. Kawahito, T. Mimori, H. Sano, N. Nishimoto. Abatacept treatment suppresses T CELL activation in anti-cyclic citrullinated peptide antibody (ACPA) positive RA patients but not in acpa negative RA patients. EULAR 2013. Madrid. Spain. 2013.6.12-15.
  3. M. Murakami, T. Matsutani, M. Sekiguchi, K. Matsui, M. Kitano, M. Namiki, K. Ohmura, Y. Imura, T. Fujii, T. Kuroiwa, H. Nakahara, S. Higa, K. Maeda, Y. Nozaki, M. Funauchi, K. Murakami, T. Ikawa, S. Irimajiri, A. Nampei, T. Azuma, T. Sasaki, A. Yokota, S. Morita, Y. Kawahito, T. Mimori, H. Sano, N. Nishimoto. Changes in cytokine profiles in rheumatoid arthritis patients during abatacept treatment. EULAR 2013. Madrid. Spain. 2013.6.12-15.
  4. S. De Vita, L. Quartuccio, M. Isola, L. Corazza, M. Ramos-Casals, S. Retamozo, R.M. Gaafar, M.N. Zoheir, E.-M.M. Abdel-Moneim, M. Salem, D. Sansonno, V. Conteduca, G. Ferraccioli, E. Gremese, A. Tzioufas, M. Voulgarelis, D. Vassilopoulos, C. Koutsianas, A. L. Zignego, T. Urraro, N. Pipitone, C. Salvarani, A. Ghinoi, L. Guillevin, B. Terrier, P. Cacoub, D. Filippini, F. Saccardo, A. Gabrielli, P. Fraticelli, M. Tomsic, C. Ferri, M. Sebastiani, A. Tavoni, E. Catarsi, C. Mazzaro, P. Pioltelli, N. Nishimoto, P. Scaini, G. Monti, M. Pietrogrande, M. Galli, S. Bombardieri. Preliminary results of the classification criteria for cryoglobulinemic vasculitis validation study. EULAR 2013. Madrid. Spain. 2013.6.12-15.
  5. N. Nishimoto. Tocilizumab treatment in autoimmune diseases. 12th International Symposium on Sjogren's Syndrome. Luncheon Seminar 2. Kyoto Hotel Okura. Kyoto. 2013.10.9-12
  6. 西本憲弘. リウマチ性疾患におけるサイトカインの役割. 小児リウマチ研修会in OKINAWA イブニングセミナー. 沖縄市町村自治会館 2階. 沖縄. 2013.3.15
  7. 村上美帆、松谷隆治、李穎、關口昌弘、松井聖、北野将康、大村浩一郎、井村嘉孝、藤井隆夫、黒岩孝則、中原英子、前田恵治、村上孝作、森田智視、川人豊、三森経世、佐野統、西本憲弘. 抗環状シトルリン化ペプチド抗体陽性RA患者におけるT細胞の活性化. 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会. ポスター. 国立京都国際会館. 京都. 2013.4.18-20.
  8. 松谷隆治、李穎、村上美帆、關口昌弘、松井聖、北野将康、大村浩一郎、井村嘉孝、藤井隆夫、黒岩孝則、中原英子、前田恵治、村上孝作、川人豊、三森経世、佐野統、西本憲弘. 関節リウマチの治療 生物学的製剤(TNF阻害薬以外) アバタセプト治療は抗環状シトルリン化ペプチド抗体陽性RA患者の活性化T細胞を抑制する. 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会. 口頭発表. 国立京都国際会館. 京都. 2013.4.18-20.
  9. 藤井隆夫、關口昌弘、大村浩一郎、井村嘉孝、橋本求、前田恵治、中原英子、比嘉慎二、黒岩孝則、井川宣、三木健司、吉井一郎、波内俊三、村上孝作、尾本篤志、川人豊、西本憲弘、三森経世、佐野統、ABROAD研究グループ. 関節リウマチの治療 生物学的製剤(TNF阻害薬以外) アバタセプトによる生物学的製剤未治療関節リウマチ患者の寛解導入率とそれに影響を与える因子の検討(ABROAD試験). 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会. 国立京都国際会館. 京都. 2013.4.18-20.
  10. 吉川卓宏、松井聖、關口昌弘、北野将康、横田章、船内正憲、八田和大、東光久、新名直樹、樋上謙士、尾崎吉郎、日高利彦、竹内孝男、藤本隆、川人豊、藤井隆夫、西本憲弘、三森経世、佐野統、ABROAD

- 研究グループ. 関節リウマチの治療 生物学的製剤(TNF阻害薬以外) 生物学的製剤未治療RA患者に対するBody Mass Index(BMI)とアバタセプト(ABT)の臨床的効果との関連(ABROAD試験の中間解析). 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会. 国立京都国際会館. 京都. 2013.4.18-20.
11. 西本憲弘. IL-6阻害による関節リウマチの治療. 平成25年度日本内科学会生涯教育講演会. 大阪国際会議場. 大阪. 2013.5.19
  12. 西本憲弘. IL-6阻害による関節リウマチの治療. 平成25年度日本内科学会生涯教育講演会. 名古屋国際会議場. 愛知. 2013.9.29
  13. 仁科直、金子祐子、亀田秀人、桑名正隆、竹内勤: 初発関節リウマチ患者に対するメソトレキセート治療で血漿IL-6は低下し、治療後IL-6は関節破壊のバイオマーカーとなりうる. 第57回日本リウマチ学会総会(京都). 2013. 4.
  14. 中畑龍俊: 特別講演、iPS細胞研究が切り開く未来の医療. 日本学術会議公開学術講演会「未来社会を築く生命科学と医療のフロンティア」2013年8月3日 京都大学薬学部記念講堂
  15. 中畑龍俊: 特別講演、iPS細胞の小児医療への応用. 第38回東日本小児科学会2013年11月23日 大宮ソニックシティ(さいたま市)
  16. 中畑龍俊: 教育講演、iPS細胞の臨床応用. 第55回日本小児血液・がん学会学術集会. 2013年11月29日-12月1日(30日) ヒルトン福岡シーホーク
  17. 中畑龍俊: 基調講演、iPS細胞を用いた今後の医療の可能性. 日本製薬医学会第4回年次大会 2013年7月19日 エーザイ株式会社本社5階ホール(塩野義製薬)
  18. 中畑龍俊: 基調講演、iPS細胞を活用した医療の可能性と倫理. 第10回STSフォーラム「科学技術が拓く人間の未来」公開シンポジウム 2013年10月5日 京都商工会議所ビル講堂
  19. 横山宏司、西小森隆太、池谷真、那須輝、田中孝之、齋藤潤、梅田雄嗣、中畑龍俊、戸口田淳也、平家俊男: 罹患者由来iPS細胞を用いたCINCA症候群における関節病態の分子機構の解明. 第34回日本炎症・再生医学会 2013年7月2-3日(ポスター) 国立京都国際会館
  20. Hasegawa D., Hama A., Nozawa K., Salaguchi H., Yabe M., Ito E., Ito M., Kojima S., Nakahata T., Manabe A.: Hematological and morphological characteristics of inherited bone marrow failure syndromes(IBMFS). The 75<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology 2013年10月11-13日(12日) さっぽろ芸文館
  21. Suzuki N., Hira A., Niwa A., Matsuo K., Takata M., Yabe M., Nakahata T., Saito M.: Mesodermal development from reprogrammed Fanconi anemia cells is affected by ALDH2 enzymatic activity. 11<sup>th</sup> Annual Meeting of international Society for Stem Cell Research (ISSCR). 7/12-7/15, Boston, MA, USA.
  22. Honda Y., Tsuchida M., Masunaga A., Yoshimi A., Kojima S., Ito M., Kikuchi A., Nakahata T., Manabe A.: Clinical characteristics of 17 children with JMML who developed blast crisis. The 75<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology(第75回日本血液学会学術集会) 2013年10月11-13日(12日) 札幌市教育分化会館
  23. 中畑龍俊: iPS細胞による疾患モデル樹立と創薬への展望. 日経バイオテクプロフェッショナルセミナー「次の10年間iPS細胞実用化をリードするiPS細胞創薬の現状と課題」2013年6月19日 コクヨホール(東京) 日経BP
  24. Osteocyte network and mechanical stress. Komori T. 第22回国際リウマチシンポジウム /2013

25. Osteocytes, Coordinator of the Bone. Komori T. 2013 Seoul International Congress of Endocrinology and Metabolism /2013
26. 骨細胞ネットワークによるメカニカルストレス応答 小守壽文. 第55回歯科基礎医学会学術大会・総会 /2013
27. 金本 隆司, 前 達雄, 米谷 泰一, 松尾 知彦, 橘 優太, 宮本 諭, 金銅 真世, 矢谷 真也, 吉川 秀樹, 中田 研 ヒト半月板細胞の力学負荷応答の解析: 荷重負荷量と細胞骨格・遺伝子・蛋白発現の変化 第26回日本軟骨代謝学会 2013年3月大阪
28. 中田 研 骨・軟骨・半月板細胞のメカニカルストレスに対する応答メカニズム 第26回 骨を語る会 2013年4月 弘前
29. S. Miyamoto, Y. Yonetani, T Mae, H. Yoshikawa, K. Nakata Effects of Mechanical load on Bone/cartilage Development in Murine Long Bone Organ Culture Model IBMS 2013年5月 神戸

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

##### 1. 特許取得

桑名正隆、加藤尚志、瀬田範行、宮崎洋: 単球由来多能性細胞 (MOMC) の効率的な作製法、特許第5416895号、2013年11月22日。

##### 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

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）  
分担研究報告書

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

研究分担者： 西本 憲弘 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  
                  中畑 龍俊 京都大学 iPS 細胞研究所 副所長  
研究協力者： 齋藤 潤 京都大学 iPS 細胞研究所 准教授  
                  越智 健介 京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター 助教  
                  橋本 淳 国立病院機構大阪南医療センター 部長  
                  島岡 康則 浜脇整形外科病院 副院長  
                  行岡 正雄 行岡病院 院長

研究要旨

関節リウマチ(RA)の原因病巣は骨髄である可能性が示されている。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ために、RA 患者由来のヒト人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells : iPS 細胞) の樹立を行うとともに、単球系細胞への分化過程における異常の有無を検討した。さらに単球系細胞からの破骨細胞への分化能を検討した。インフォームドコンセントを得た、RA 患者の血液単核球ならびに皮膚線維芽細胞を用いて、iPS 細胞の樹立を行った。ヒト iPS 細胞からの血球分化系を応用して、RA 特異的 iPS 細胞から単球へ分化させ、FACS 解析により、各分化段階での細胞表面マーカーを検討した。また、RA 特異的 iPS 細胞から破骨細胞への分化誘導を検討した。RA 患者由来 iPS 細胞から単球への分化誘導 15 日目、一過性に CD14+CD15+細胞が検出された。未発症同胞ならびに他の健常人由来 iPS 細胞との比較で CD14+CD15+細胞の割合は RA で高かった。iPS 細胞から分化した浮遊 CD14 陽性細胞を M-CSF の存在下に RANKL のパルス刺激を行ったところ RANKL 濃度依存的な破骨細胞の形成が確認された。前述の CD14+CD15+細胞の分化能は低かった。RA 患者由来 iPS 細胞を単球系細胞へ分化誘導することにより CD14+CD15+細胞の出現を確認した。この細胞群は RA 病態への関与が示唆された。また、iPS 細胞から破骨細胞へ分化させることができた。

A. 研究目的

関節リウマチ(RA) の主病巣は骨髄である可能性が示唆されている。したがって、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。我々は平成 23-24 年度の研究で RA 患者の骨髄細胞の異常活性化と CD14+CD15+のフェノタイプを有する「まるでがん細胞」が存在することを確認したが、患者の骨髄検体の入手は非常に困難であるばかりでなく、患者の血液を直接用いた検討は、疾患活動性や治療薬による影響を受けや

すい。ましてやそのような異常が遺伝的要因によるのか環境因子によるのかを解析することは困難である。そこで RA における骨髄細胞の初期分化の異常を明らかにするために、RA 患者由来のヒト人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells : iPS 細胞) の樹立を行うとともに、単球系細胞への分化過程における異常の有無を検討した。さらに単球系細胞からの破骨細胞への分化能を検討した。