

整形外科

1 構成員

	平成20年3月31日現在
教授	1人
准教授	1人
講師（うち病院籍）	2人（2人）
助教（うち病院籍）	4人（2人）
助手（うち病院籍）	0人（0人）
特任教員（特任教授，特任准教授，特任助教を含む）	0人
医員	4人
研修医	1人
特任研究員	0人
大学院学生（うち他講座から）	8人（0人）
研究生	0人
外国人客員研究員	0人
技術職員（教務職員を含む）	0人
その他（技術補佐員等）	4人
合 計	25人

2 教員の異動状況

長野 昭（教授）	（H10. 5. 1～現職）
山崎 薫（准教授）	（H18. 5. 1～H19. 3. 31助教；H19. 4. 1～現職）
高橋 正哲（講師）	（H18. 4. 1～現職）
影山 康德（講師）	（H18. 6. 1～現職）
星野 裕信（助教）	（H 9. 4. 1～H19. 3. 31助手；H19. 4. 1～現職）
大村 威夫（助教）	（H18. 4. 1～H20. 3. 31）
西村 行秀（助教）	（H19. 7. 1～現職）
長谷川智彦（助教）	（H18. 7. 1～H19. 3. 31助手；H19. 4. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成19年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	19編（4編）
そのインパクトファクターの合計	18.96
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	0編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	6編（5編）
そのインパクトファクターの合計	0

(4) 著書数 (うち邦文のもの)	4編 (4編)
(5) 症例報告数 (うち邦文のもの)	9編 (7編)
そのインパクトファクターの合計	3.01

(1) 原著論文 (当該教室所属の者に下線)

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Kageyama Y., Takahashi M., Torikai E., Suzuki M., Ichikawa T., Nagafusa T., Koide Y., Nagano A. : Treatment with anti-TNF-alpha antibody infliximab reduces serum IL-15 levels in patients with rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol 26(4) : 505-509, 2007. [1.459]
2. Kageyama Y., Torikai E., Nagano A. : Anti-tumor necrosis factor-alpha antibody treatment reduces serum CXCL16 levels in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 27(5) : 467-472, 2007. [1.070]
3. Kageyama Y., Takahashi M., Nagafusa T., Torikai E., Nagano A. : Methotrexate reduces the levels of pentosidine and 8-hydroxy-deoxy guanosine in patients with rheumatoid arthritis. Mod Rheumatol 17(5) : 398-402, 2007.
4. Kageyama Y., Ichikawa T., Nagafusa T., Torikai E., Shimazu M., Nagano A. : Etanercept reduces the serum levels of interleukin-23 and macrophage inflammatory protein-3 alpha in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 28(2) : 137-143, 2007. [1.070]
5. Nagafusa T., Hoshino H., Sakurai T., Terakawa S., Nagano A. : Mechanical fragmentation and transportation of calcium phosphate substrate by filopodia and lamellipodia in a mature osteoclast. Cell Biol Int 31 : 1150-1159, 2007. [1.363]
6. Ohishi T., Oikawa M., Takahashi M., Nagano A., Ishigaki J. : Longitudinal changes of biochemical markers and bone mineral density in hyperthyroid patients during antithyroid drug therapy. J Rural Med 2(1) : 36-44, 2007.
7. Ohishi T., Takahashi M., Nagano A. : Vitamin K2 and etidronate therapy in the early period after hip fracture. J Rural Med 2(2) : 105-115, 2007.
8. Sawada T., Sano M., Omura T., Omura K., Hasegawa T., Funahashi S., Nagano A. : Spatiotemporal quantification of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 after crush injury in rat sciatic nerve utilizing immunohistochemistry. Neuroscience Letters 417(1) : 55-60, 2007. [2.092]
9. Torikai E., Kageyama Y., Suzuki M., Ichikawa T., Nagano A. : The effect of infliximab on chemokines in patients with rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol 26(7) : 1088-1093, 2007. [1.459]
10. 影山康德, 市川哲也, 鳥養栄治, 鈴木基裕, 長野 昭 : Infliximab投与によるRA患者の血清サイトカイン・ケモカインレベルの変動. 中部リウマチ38(1) : 10-11, 2007.
11. 影山康德, 永房鉄之, 鳥養栄治, 長野 昭 : 関節リウマチ患者に対するetanerceptの短期臨床成績. 中部整災誌 50(4) : 637-638, 2007.
12. 猿川潤一郎, 高橋正哲, 阿部雅志, 土井光人, 鈴木大介, 長野 昭 : 人工膝関節置換術における洗浄術中術後回収式自己血輸血と非洗浄術後回収式自己血輸血の比較. 膝31(1) : 101-104,

2006.

13. 鳥養栄治, 影山康德, 星野裕信, 市川哲也, 長野 昭: 股関節に生じた偽痛風発作の2例. 中部リウマチ38(1): 52-53, 2007.
14. Funahashi S., Hasegawa T., Nagano A., Sato K.: Differential expression patterns of messenger RNAs encoding Nogo receptors and their ligands in the rat central nervous system. J Comp Neurol 506: 141-160, 2008. [3.831]
15. Ohishi T., Takahashi M., Yamanashi A., Suzuki D., Nagano A.: Sequential changes of bone metabolism in normal and delayed union to the spine. Clin Orthop Relat Res 466 (2): 402-410, 2008. [2.161]
16. Suzuki D., Takahashi M., Abe M., Nagano A.: Biochemical study of collagen and its crosslinks in the anterior cruciate ligament and the tissues used as a graft for reconstruction of the anterior cruciate ligament. Connect Tissue Res 49: 42-47, 2008. [1.123]
17. Yamato Y., Matsukawa M., Yanagitani T., Yamazaki K., Mizukawa H., Nagano A.: Correlation between hydroxyapatite crystallite orientation and ultrasonic wave velocities in bovine cortical bone. Calcified Tissue Int 82(2): 162-169, 2008. [2.483]

インパクトファクターの小計 [18.111]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Kawano K., Nagano A., Ochiai N., Kondo T., Mikami Y., Tajiri Y.: Restoration of elbow function by intercostal nerve transfer for obstetrical paralysis with co-contraction of the biceps and the triceps. J Hand Surg 32E(4): 421-426, 2007. [0.844]
2. Sasso M., Haiat G., Yamato Y., Naili S., Matsukawa M.: Frequency dependence of ultrasonic attenuation in bovine cortical bone: an in vitro study. Ultrasound Med Biol 33(12): 1933-1942, 2007.

インパクトファクターの小計 [0.844]

(3) 総 説

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Takahashi M.: Pyridinoline, A Collagen Crosslink, As A Biochemical Marker for Arthritis. Current Rheumatology Reviews 3(4): 252-260, 2007.
2. 長野 昭: 末梢神経麻痺の外科的治療. Clinical Neuroscience 25(7): 822-825, 2007.
3. 山崎 薫: 骨粗鬆症診療におけるカルシトニン製剤. 日本医師会雑誌136(2): 276, 2007.
4. 山崎 薫: 腰背部痛を主訴とする骨粗鬆症患者に対する薬物療法. 新時代の骨粗鬆症学-骨折予防を見据えて- 65(Suppl 9): 577-580, 2007.
5. 山崎 薫: 大腿骨近位部の解剖. Osteoporosis Japan 15(3): 362-364, 2007.
6. 山崎 薫: 骨粗鬆症の疼痛治療. Medicament News 第1905号: 1-3, 2007.

インパクトファクターの小計 [0.00]

(4) 著 書

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 長野 昭：筋力検査の手順とコツ．金谷文則（編）手の外科の要点と盲点 文光堂：38-41, 2007.
2. 長野 昭：感覚機能検査の手順とコツ．金谷文則（編）手の外科の要点と盲点 文光堂：42-46, 2007.
3. 長野 昭：神経移植術のコツ．金谷文則（編）手の外科の要点と盲点 文光堂：230-231, 2007.
4. 長野 昭：末梢神経損傷のリハビリテーション．平澤泰介, 田島文博（編）リハビリテーション医療 金芳堂：237-241, 2007.

(5) 症例報告

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Funahashi S., Nagano A., Sano M., Ogihara H., Omura T. : Restoration of shoulder function and elbow flexion by nerve transfer for poliomyelitis-like paralysis caused by enterovirus 71 infection. J Bone Joint Surg(Br) 89 : 246-248, 2007. [1.79]
2. Irisawa H., Takahashi M., Hosokawa T., Nagano A. : Cyclops syndrome occurring after chronic partial rupture of the anterior cruciate ligament without surgical reconstruction. Knee Surg Sport Tr A 15 : 144-146, 2007. [1.216]
3. 土井光人, 清水聡志, 西田達也, 中島伸夫, 佐野倫生, 長野 昭 : 膝関節部に発生した傍関節粘液腫の1例. 整形外科 58(3) : 281-284, 2007.
4. 伊藤高規, 星野裕信, 山梨晃裕, 森本祥隆, 長野 昭 : 生後1年で化膿性股関節炎後の病的脱臼と診断した1例. 整形外科 58(6) : 677-680, 2007.
5. 神谷光太郎, 佐野倫生, 岡本庄造, 細川智弘, 西村行秀, 志賀克元, 三浦克敏, 長野 昭 : 右殿部軟部腫瘍の一例. 東海骨軟部腫瘍 19 : 35-36, 2007.
6. 西田達也, 清水聡志, 長野 昭 : 両側同時に膝蓋腱断裂を起こした1例. 整形外科 58(1) : 52-55, 2007.
7. 鈴木基裕, 西山真之, 伊藤高規, 小関孝夫, 井上哲郎 : 特発性距骨壊死に対してcore decompressionを行った1例. 東三医学会誌29 : 67-70, 2007.
8. 山本和史, 小出陽一, 長谷川智彦, 大和 雄, 西田達也, 長野 昭 : 小児化膿性肩峰下滑液包炎の1例. 整形外科 58(9) : 1209-1211, 2007.

インパクトファクターの小計 [3.006]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. 藤原達彦, 佐野倫生, 米野万人, 西村行秀, 堤 秀樹, 竹上謙次 : 頸髄硬膜内転移で発見された肺腺癌の1例. 整形外科 58(9) : 1206-1208, 2007.

インパクトファクターの小計 [0.00]

4 特許等の出願状況

	平成19年度
特許取得数（出願中含む）	0件

5 医学研究費取得状況

	平成19年度
(1) 文部科学省科学研究費	4件 (310万円)
(2) 厚生科学研究費	0件 (0万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 (0万円)
(4) 財団助成金	1件 (15万円)
(5) 受託研究または共同研究	4件 (142万円)
(6) 奨学寄附金その他（民間より）	13件 (720万円)

(1) 文部科学省科学研究費

長野 昭（代表者）基盤研究C「神経再生におけるTNF α , IL10の経時的・部位的变化の検討」
60万円（継続）

影山康德（代表者）基盤研究C「関節リウマチにおける光線力学的療法の応用のための基礎的研究」
60万円（継続）

星野裕信（代表者）基盤研究C「ビデオ強化型微分干渉顕微鏡による破骨細胞の動態機能解析」
100万円（継続）

鳥養栄治（代表者）特別研究員奨励費DC「関節リウマチ治療における光線力学（PDT）の応用」
90万円（継続）

(4) 財団助成金

日本学術振興会

山崎 薫（分担研究者）：学術フロンティア 超音波法構造の非破壊診断技術の開発と応用
分担15万円 代表者 片山傳生（同志社大学工学研究科）

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0件	1件
(2) シンポジウム発表数	0件	4件
(3) 学会座長回数	0件	4件
(4) 学会開催回数	0件	1件
(5) 学会役員等回数	0件	11件
(6) 一般演題発表数	0件	

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

ポスター発表

1. Yamato Y., Matsukawa M., Mizukawa H., Yanagitani T., Yamamoto K., Yamazaki K., Nagano A.: Effect of the preference of hydroxyapatite crystallites on longitudinal wave velocity at small ROIs in bovine cortical bone. 2007 The International Congress on Ultrasonics (2007. 4. 9～4. 12) Vienna, Austria

(2) 国内学会の開催・参加

1) 主催した学会名

1. 第22回日本整形外科学会基礎学術集会

2) 学会における特別講演・招待講演

1. 長野 昭：末梢神経麻痺の治療戦略。第109回中部日本整形外科災害外科学会学術集会（2007. 10. 5）奈良市

3) シンポジウム発表

1. 鳥養栄治, 影山康徳, 河野栄治, 平野 達, 寺川 進, 長野 昭：シンポジウム3 レザフィンを用いた光線力学療法（PDT）の関節リウマチへの応用。第22回日本整形外科学会基礎学術集会（2007. 10. 25～10. 26）浜松市
2. 森本祥隆, 永房鉄之, 星野裕信, 長野 昭, 櫻井孝司, 寺川 進：シンポジウム4 ビデオマイクロスコープによる破骨細胞の動態機能解析。第22回日本整形外科学会基礎学術集会（2007. 10. 25～10. 26）浜松市
3. 大和 雄, 山崎 薫, 長野 昭, 松川真美：シンポジウム6 超音波法による皮質骨評価の基礎的知見。第22回日本整形外科学会基礎学術集会（2007. 10. 25～10. 26）浜松市
4. 山崎 薫, 大和 雄, 山本和史, 長野 昭, 松川真美, 矢追佑一郎, 柳谷隆彦：シンポジウム1 骨粗鬆症における骨質 - 臨床と接点 - 2. 超音波による骨質の評価。第9回日本骨粗鬆症学会（2007. 11. 14～11. 16）東京都

4) 座長をした学会名

1. 長野 昭 第50回日本手の外科学会 2007年4月20日 山形市
2. 長野 昭 第18回日本末梢神経学会 2007年8月24日 弘前市
3. 長野 昭 第109回中部日本整形外科災害外科学会 2007年10月5日 奈良市
4. 長野 昭 第20回日本肘関節学会学術集会 2008年2月2日 東京都

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

1. 長野 昭：日本整形外科学会 基礎学術集会会長，代議員
2. 長野 昭：中部日本整形外科災害外科学会 評議員
3. 長野 昭：日本手の外科学会 評議員
4. 長野 昭：日本末梢神経学会 理事
5. 長野 昭：日本肘関節学会 理事長

6. 長野 昭：中部リウマチ学会 理事
7. 山崎 薫：中部日本整形外科災害外科学会 評議員
8. 山崎 薫：日本骨粗鬆症学会 評議員
9. 山崎 薫：日本骨形態計測学会 評議員
10. 山崎 薫：日本整形外科学会骨粗鬆症委員会 委員
11. 高橋正哲：日本軟骨代謝学会 評議員
12. 影山康德：日本リウマチ学会 評議員
13. 影山康德：中部リウマチ学会 評議員

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリー数は除く）	0件	0件

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

1. 高橋正哲：Clinical Orthopaedics and Related Research (U.S.A) 1回

9 共同研究の実施状況

	平成19年度
(1) 国際共同研究	1件
(2) 国内共同研究	3件
(3) 学内共同研究	1件

(1) 国際共同研究

1. テーマ：Development of quantitative ultrasound assessment of bone quality

日本側の主たる機関：同志社大学工学部 松川真美 教授

相手機関：University Paris 6・Researcher・Frederic PADILLA

期間：平成19～20年度

形式：フランスの研究機関のスタッフが2週間同志社大学で共同研究（19年度）

共同シンポジウムの開催及び発表（19年度：山本和史，発表）

(2) 国内共同研究

1. 田村 裕（関西大学化学生命工学部 化学・物質工学科 天然高分子化学研究室）：再生医用材料としての β -キチンを担体とした軟骨細胞及び靭帯細胞の培養，および生体への移植
2. 松川真美（同志社大学工学部）：超音波法による定量的な骨質評価技術の開発
3. 同志社大学：学術フロンティアプロジェクト「医工学研究の新展開」（5年計画）

(3) 学内共同研究

1. 堀内健太郎（生命科学）結合組織中の新規架橋物質の同定

10 産学共同研究

	平成19年度
産学共同研究	1件

1. 株式会社テイエフビー，OA発症マウスを用いた，関節マーカーとOA発症および進行との関連性の検討

11 受賞

(3) 国内での受賞

鳥養栄治：第28回日本レーザー医学会総会賞 2007. 9. 14

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 神経再生におけるTNF α ，IL10の経時的・部位的变化の検討

ラット坐骨神経圧挫モデルを用いて，末梢神経におけるWaller変性と引き続きおこる神経再生時におけるTNF α (Tumor necrosis factor-alpha)，IL-10 (Interleukin-10) の経時的・部位的变化の検討を行った。成熟ラットの坐骨神経を坐骨切痕の下で155g/mm²の血管クリップを用いて圧挫し，axonotmesisモデルを作製した。損傷後1，3，7，14，21，28，56日に坐骨神経を圧挫部から末梢45mmまで採取した。前年度までに施行した免疫染色の結果を確かめるためにELISAを用いて詳細に検討を行った。TNF α 蛋白量の変化では損傷後，全ての時期・部位において大きな変化はなかったが，IL-10の蛋白量の変化は，免疫染色による陽性細胞数の変化とほぼ同様の傾向，すなわち損傷後1日で減少，7日で増加を示した。我々の以前の血液神経関門 (BNB) の検討とあわせて考えると，免疫染色におけるTNF α 陽性細胞数の変化とBNBの変化が同時期・同部位に起きており，TNF α がBNBの変化に深く関わっていることが考えられた。また，IL10の変化はTNF α の変化に先立っておきており，IL-10はTNF α の変化の鍵になっていることが示唆された。以上の結果を論文発表した。

次に，macrophageをapoptosisに誘導するClodronate Liposomeを使用し，坐骨神経圧挫モデルにおけるmacrophageの神経再生への効果を検討した。上記と同様に坐骨神経圧挫モデルを作成，Clodronate Liposomesを神経損傷前日・損傷後2日・損傷後5日に腹腔内投与 (2ml/匹) を行い，損傷後7,14日に坐骨神経を採取，未固定凍結横断切片を作製し，免疫組織化学染色を行った。Macrophage数はcontrol群と比べ減少する傾向にあったが，全ての部位で有意差が得られなかった。

(澤田智一，大村威夫，船橋伸司，長野 昭)

2. 脊髄損傷におけるプレセニン-1の経時的・部位的变化の検討

Amyloid precursor protein (APP) は損傷軸索に集積し，病理学的に軸索損傷のマーカーとして有用であることが報告されている。またAPPは切断を受けamyloid β protein (A β) となるが，このA β には神経成長因子としての作用があると報告されている。APPはガンマーセクレターゼという複合体酵素によって切断されることがわかっている。プレセニン1 (PS1) はこの複合体酵素の活性中心を担っており，PS1のノックアウトマウスでは骨形成不全や神経系の形成不全，脳内

出血が出現することが明らかになっている。骨や神経の発生に関連するとされるPS1が成体の脊髄においてどのような役割を担い、どのような動態を示すのか十分な調査はされていない。そこで、脊髄損傷におけるPS1の機能、動態を明らかにするため、ラット脊髄半切モデルを用いてPS1の発現変化について経時的にウエスタンブロット法と免疫組織化学染色を用いて検討した。雄性Wistar系ラット（7週齢）の第8胸椎の椎弓切除を行い、脊髄の右側を半切した。切断後1日から4週まで各3匹のラット脊髄の切断部を採取し、切断部の水平断と冠状断面で抗PS1抗体、抗APP抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。PS1陽性細胞数、APP陽性細胞数について画像解析ソフトを用いて検討した。その結果、脊髄損傷部において、APPとPS1陽性細胞の数が共に増加した。また発現部位は1週の時点ではAPPとPS1は共局在を示した。今回の結果より、PS1がAPPと共に脊髄損傷部に発現していることは、PS1がガンマセクレターゼとしてAPPを切断しA β を産生することにより、脊髄再生に関連する可能性が示唆された。

(小林 祥, 片山泰一, 長谷川智彦, 佐藤康二, 長野 昭)

3. 神経再生過程におけるアクチン細胞骨格形成-CLP36とpalladinの結合

研究プロジェクト：アクチン細胞骨格の形成に関与するとされるCLP36とその結合蛋白に焦点をあて、両者の結合が神経再生において細胞骨格形成で果たす役割を検討する。具体的には、両者の末梢神経障害後の動態、培養細胞での細胞内動態、両蛋白および結合部位の欠損や、結合の阻害が末梢神経再生に与える影響を検討する。＜学術的背景＞細胞内にはその形態を変化、または維持させるために、細胞骨格が存在する。細胞骨格の形成にはアクチンの関与が知られている。一方、神経の再生過程において、神経突起の形成、軸索の伸長には細胞形態の変化が伴うため、アクチン関連の細胞骨格再構築が重要な役割を持つと考えられる。しかし、神経突起先端部でのアクチン骨格の形成、再構築については未だ不明な点が多い。現在、我々はCLP36の新規結合蛋白palladinを基礎実験において同定しており、両者の遺伝子発現が坐骨神経損傷後の支配領域の知覚神経、運動神経細胞において共に上昇する事を確かめている。H19までの基礎実験において、マウスE18 libraryでのyeast two-hybrid screeningを行い、CLP36に対する新規の結合蛋白palladinを同定した。さらに両者が神経再生過程において発現が変化するかどうかを検討するために、ラット坐骨神経切断モデルを作製し、坐骨神経切断後にその支配領域の後根神経節を採取、CLP36、palladinのoligo probeを用いたin situ hybridizationを行い、mRNA発現の上昇を確認した。H19年度は両者の結合について更に検討を行うため、ラット後根神経節培養細胞の単離、染色をめざし、基礎実験を行っている。

(長谷川智彦, 大野浩司, 船橋伸司, 佐藤康二, 長野 昭)

4. ラット中枢神経におけるNogo-receptor (homolog 1, 2, 3) 及びそのligand (Nogo-A, MAG, OMgp) のmRNA発現分布についての検討

中枢神経系において軸索再生が制限される要因の一つとしてNogo-A, Nogo-receptorの存在があげられている。Nogo-receptorには現在homolog 1, 2, 3 (NGR1, NGR2, NGR3) が同定されており、NGR1は軸索再生を阻害すると知られているが、NGR2, NGR3についてはその機能についての詳細は解明されていない。また、Nogo-Aと同様にNogo-receptorを介して神経軸索再生を阻害する蛋白

としてミエリン結合糖蛋白質 (myelin associated glycoprotein ; MAG), オリゴデンドロサイトミエリン糖蛋白質 (oligodendrocyte myelin glycoprotein ; OMgp) が知られている。そこで, ラット中枢神経系全体においてNogo-A, NgR1に加えてNgR2, 3およびMAG, OmgpのmRNAの発現分布を検討することとした。Wister種雄性ラットから脳, 脊髄を採取し, 凍結後200 μ mごとの冠状断面で切片を作成し, Nogo-A, MAG, Omgp, NgR1, NGgR2, NgR3を特異的に認識する35S標識した合成オリゴヌクレオチドプローブを用いてin situ hybridizationを行った。その結果, Nogo-AはCNS全域にわたりneuron, oligodendrocyte両者に豊富に発現し, MAG, OMgpはoligodendrocyteで豊富に発現していることがわかった。NgR1-3は終脳, 間脳, 大脳でそれぞれ異なる発現分布を示したが, 中脳, 橋, 延髄, 脊髄では発現が見られなかった。NgR1-3の発現はモノアミン作動性neuronや小脳核, reticular thalamic nucleus などの比較的神経可塑性を有する部位では欠如しており, NgR1-3を欠くneuronが高い再生能を持つ可能性が示唆された。また, Neuronにおいて, 発現するNogo-receptorのhomologの組み合わせによって, それぞれのligandに対して異なる反応を示す可能性が示唆された。さらに, P1, P7, P14, P21の検体で同様のinsitu hybridizationによるmRNA発現分布の検討を行い, これらの因子の発達過程での神経ネットワーク形成における関与についても調査を行っている。また, yeast-two hybrid法を用いた結合蛋白の同定による機能的解析も進めている。

(船橋伸司, 佐藤康二, 大野浩司, 長谷川智彦, 長野 昭)

5. 関節症・関節炎におけるバイオマーカーとしての架橋物質の有用性の研究

関節症・関節炎の治療においては, 疾患の進行を反映する客観的で確実なマーカーが重要となる。これらマーカーが臨床的に応用可能となれば, 関節症・関節炎の発症・進行を予防する根本的な薬剤の開発やその使用, また, 手術する時期, 手術法の選択が正確にされうる。マーカーは, バイオマーカーと画像マーカーとに分けられるが, 我々は, 以前より結合織の架橋物質を研究し, その関節症・関節炎におけるバイオマーカーとしての有用性を検討している。架橋物質としては, コラーゲンの成熟架橋であるピリジノリンと, 最終糖化産物 (advanced glycation endproducts, AGEs) の1つであるペントシジンの研究を行っている。

この期間中の研究成果

Takahashi M. : Pyridinoline, A Collagen Crosslink, As A Biochemical Marker for Arthritis. Current Rheumatology Reviews 3(4) : 252-260, 2007.

Kageyama Y., Takahashi M., Torikai E., Suzuki M., Ichikawa T., Nagafusa T., Koide Y., Nagano A. : Treatment with anti-TNF-alpha antibody infliximab reduces serum IL-15 levels in patients with rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol 26(4) : 505-509, 2007.

Kageyama Y., Takahashi M., Nagafusa T., Torikai E., Nagano A. : Methotrexate reduces the levels of pentosidine and 8-hydroxy-deoxy guanosine in patients with rheumatoid arthritis. Mod Rheumatol 17(5) : 398-402, 2007.

Ohishi T., Oikawa M., Takahashi M., Nagano A., Ishigaki J. : Longitudinal changes of biochemical markers and bone mineral density in hyperthyroid patients during antithyroid drug therapy. J Rural Med 2(1) : 36-44, 2007.

Ohishi T., Takahashi M., Nagano A. : Vitamin K2 and etidronate therapy in the early period after hip fracture. J Rural Med 2(2) : 105-115, 2007.

鈴木大介, 高橋正哲, 阿部雅志, 土井光人, 猿川潤一郎, 長野 昭. 膝周囲各靭帯の解剖学的部位別にみたコラーゲンおよびその架橋物質の生化学的検討. 第22回日本整形外科学会基礎学術集会 (2007. 10. 25~10. 26) 浜松市

高橋正哲. 臨床現場からみた変形性関節症のバイオマーカー. 変形性関節症における新薬・有効成分・治療の最新研究動向講習会 (2007. 9. 27) 東京都

(高橋正哲, 影山康徳, 大石 強, 土井光人, 鈴木大介, 猿川潤一郎, 長野 昭)

6. 自然発症変形性膝関節症モデルであるSTR/ortマウスを用いた, 骨・軟骨代謝マーカー及び骨密度と変形性膝関節症の発症・進行との関連性の検討

変形性関節症 (以下OA) の発症・進行度は, X線を用いて評価されるのが一般的であるが, 近年, 骨・軟骨代謝マーカーを用いて評価しようとする試みがなされている。しかし, 発症の予測や早期診断の可否について研究した報告は少ない。そのため, STR/ortマウスに対してOA発症前より経時的に, 骨・軟骨代謝マーカー (Pyr, Dpyr, CTX-II), 骨密度を測定する。それらの測定値とX線学的, 組織学的に評価したOAの発症や進行度との関連について検討した。

この期間中の研究成果

猿川潤一郎, 高橋正哲, 土井光人, 鈴木大介, 長野 昭: A longitudinal analysis of bone mineral density and knee osteoarthritic change in STR/ort mice; a model of spontaneous knee osteoarthritis. 第23回 日本軟骨代謝学会 (2008. 3. 19-20) 京都市

(猿川潤一郎, 高橋正哲, 土井光人, 鈴木大介, 長野 昭)

7. キトサンコートPLA繊維による腱・靭帯再生の試み

腱・靭帯の再建が必要な症例に対し, 現在最も広く行われている治療法は自家組織の移植であるが, 健全組織の犠牲, 採取量の制限, リモデリングに時間がかかるなどの問題点があるため, 近年組織工学的手法を用いた腱・靭帯再生の試みが注目されている。これまでに腱・靭帯組織再生のためのscaffold (鋳型) 材料としてさまざまな素材の有用性が報告されているが, 力学的強度や生体吸収性の問題などから理想的な腱・靭帯組織再生のためのscaffoldは開発されていないのが現状である。

理想的なscaffoldには, 十分な力学的強度に加え, 細胞がscaffoldへ良好に生着し成熟後は生体に吸収されるという, 相反する条件が求められる。そこで我々は従来用いられてきた吸収性素材としてポリ乳酸 (PLA) 及びキトサンに着目した。合成吸収性高分子であるPLAは, 一般に高い引張り抗張力と適度の生体内分解速度を有しているが, 疎水性であるために物質透過性が低く細胞接着には不利と考えられる。一方, 天然吸収性高分子であるキトサンは親水性で高い物質透過性を有している反面, 力学的強度が低く, 生体内の分解速度が早すぎるという欠点があった。そこで我々は両者の欠点を補うために, PLAにキトサンのコーティング処理を施した繊維より作成した紐状scaffoldを用い, 腱・靭帯再生のscaffoldとしての可能性について細胞接着性, 細胞増殖性, 基質産生能の面から検討する。

8. 関節リウマチにおける光線力学療法応用のための基礎的研究

本研究の目的は光線力学療法（フォトダイナミックセラピー）（PDT）を関節リウマチ（RA）患者治療へ臨床応用するための基礎的データを得ることである。

方法として光センシタイザーとしてATX-S10 (Na), フォトフリン, 5-ALA, レザフリンを使用し, in vitroの実験ではRAと変形性膝関節症患者の培養滑膜細胞を用い, in vivoの実験ではRAの関節炎モデル（マウス・ラットコラーゲン関節炎）におけるPDTの効果とその機序を検討した。

その結果,

- 1) 培養滑膜細胞にATX-S10 (Na), フォトフリン, 5-ALA, レザフリン使用でPDTを行った時にアクリジンオレンジとエチジウムプロマイド染色により, 核の形態の変化よりも染色性の変化が生じ, PDTが細胞のネクロシスを誘導する可能性が示された。
- 2) マウスコラーゲン関節炎モデルにおいてはATX-S10 (Na) の使用によるPDT後, 関節の腫脹の軽減がみられる場合と足指の壊死を生じる場合があり, PDTの照射条件の設定が重要であると考えられた。
- 3) 光センシタイザーのラット関節炎モデルでの関節内投与によるPDT実験ではレザフリン使用によるPDTが効果を示しており, 今後臨床応用の可能性が推測される。

(影山康徳, 鳥養栄治, 長野 昭) (光量子医学研究センター: 河野栄治, 平野 達)

9. 整形外科領域の悪性骨軟部腫瘍に対するレザフィリンを用いた光線力学療法の応用

悪性骨軟部腫瘍の治療は外科的な治療が主体であり, 術前の化学療法・放射線療法が治療効果を左右する。しかし, 術前の化学療法・放射線療法が無効な腫瘍が多く, 縮小手術により, 患肢機能を温存するためにはいかに有効な術前治療が行えるかが大きな鍵となる。今回, 各種悪性骨軟部腫瘍細胞株に対してレザフィリンを用いたPDTを施行し, 悪性骨軟部腫瘍の新たな治療法としてのPDTの可能性を検討した。

In vitro実験として, 整形外科領域の各種悪性骨軟部腫瘍培養細胞に対して光感受性物質であるレザフィリンを投与し, PDT効果を判定する。PDT前後で各種染色を行い, PDTにおける細胞障害機序を明らかにする。また, in vivo実験として, 各種悪性骨軟部腫瘍培養細胞をSCIDマウスに移植したモデルを用い, PDTの治療効果を組織学的, 分子生物学的に判定し, 至適治療条件を設定する。また, 照射量, 光感受性物質の濃度を変更してより有効な条件を確立する。

研究成果として

- 1) in vitroでは線維肉腫, 骨肉腫, 軟骨肉腫の細胞株に対するPDT効果が得られた。その効果は, 照射量, 光感受性物質濃度に依存して増加した。
- 2) in vitroでは各種腫瘍細胞に対するPDTによる殺細胞効果は, 高照射量, 高光感受性物質投与によるPDTではネクロシスが主であり, 低照射量, 低光感受性物質投与によるPDTではアポトーシスが主であった。
- 3) in vivo実験ではPDT後の抗腫瘍効果・肺転移抑制効果は照射量, 光感受性物質濃度に依存して増加した。

4) in vivo実験では組織学的検討では光源に近い部位よりネクローシス層, アポトーシス層, 腫瘍層を形成していた。これは光源より遠位になるにつれて照射エネルギーが減弱するためと考えられ, in vitro実験の結果を反映しているものと考えられた。

(鳥養栄治, 影山康徳, 長野 昭) (光量子医学研究センター: 河野栄治, 平野 達)

10. ビデオ強化型微分干渉顕微鏡による破骨細胞の動態機能解析

骨代謝分野の研究において, 細胞レベルの機能を解明することは, 骨代謝性疾患の病態解明や, 新しい治療への応用のための基礎を作るために重要である。今回の研究で用いる培養機能付き細胞タイムラプス装置 (BioStation IM) は, 細胞を培養しながら多数の定点を同時にイメージモニタリングできる画期的なシステムであり, 多数の破骨細胞の動態を最高感度でかつ高い信頼度で同時にリアルタイムな定量化が可能となる。この手法により骨吸収抑制作用を有するカルシトニンの存在下に破骨細胞の培養を行い, さらに破骨細胞の細胞内構造体の変化, 吸収窩形成速度に及ぼす影響を調べた。日本白色家兎の四肢長管骨より単離した破骨細胞と, マウス骨芽細胞と骨髓細胞の共存培養より得られた破骨細胞様細胞の2種類を用い, Biostation IM 位相差培養顕微鏡を用いてリン酸カルシウムコートカバースリップ上で培養を行い, コントロールメディウムとカルシトニン添加した後の破骨細胞の細胞内での形態的变化およびリン酸カルシウム基質吸収面積の計測をタイムラプス観察し, DVDメディアに記録後, 画像解析を行った。カルシトニン添加群はコントロール群と比較して, カルシトニン添加後に吸収窩形成速度が有意に遅くなった。さらにカルシトニンを添加することにより, 細胞内の液胞の形成が保たれているのにもかかわらず, 吸収窩を形成しなくなったことが観察できた。これは破骨細胞自体の活性があるにもかかわらず, リン酸カルシウム面との接着面で吸収が阻害されている可能性を示唆している。また破骨細胞と骨マトリックスの接着に関与するアクチンリングに蛍光能を有するファロイジンを用いて生細胞のまま破骨細胞のアクチンリングの蛍光染色が可能となった。この手法を用いてカルシトニンの破骨細胞の細胞内構造体に対する影響を調べるため, アクチンリングの崩壊過程の解析を行っている。さらに, より強力な骨吸収抑制剤であるビスフォスフォネート存在下に培養を行い, 破骨細胞の細胞内構造体の変化, 吸収窩形成速度に及ぼす影響を調べている。

研究成果:

Nagafusa T, Hoshino H, Sakurai T, Terakawa S, Nagano A. Mechanical fragmentation and transportation of calcium phosphate substrate by filopodia and lamellipodia in a mature osteoclast. *Cell Biology International* 31:1105-1159, 2007.

森本祥隆, 星野裕信, 櫻井孝司, 寺川 進, 長野 昭. ビデオマイクロスコープによる破骨細胞の動態機能解析. 第22回日本整形外科学会基礎学術集会 2007年10月25日 浜松市

(森本祥隆, 星野裕信, 長野 昭, 寺川 進)

11. 超音波による皮質骨高確度評価法の確立

現在骨粗鬆症の診断に用いられているX線法 (DXA) では骨質の評価は行うことができない。超音波法では骨質の評価を行うことができる可能性があり, 我々は特に皮質骨に着目し, 同志社大学工学部との共同研究により, 皮質骨の高確度評価法を確立しようとしている。これまでの研

究において、ウシ皮質骨の骨軸方向に音速異方性があり、またハイドロキシアパタイト (HAp) 結晶配向と高度に相関していることが判明した。現在はフランスパリ第6大学との共同研究において、ヒト皮質骨の評価を行っている。ヒト皮質骨においては骨軸方向の音速とHAp結晶配向の相関は見られず、骨密度との相関が軽度見られる結果となった。現在さらに詳細な実験系の確立及びin vivoでの装置開発を目指している。

この期間中の研究成果

Sasso M., Haiat G., Yamato Y., Naili S., Matsukawa M. : Frequency dependence of ultrasonic attenuation in bovine cortical bone:an in vitro study. *Ultrasound Med Biol* 33(12) : 1933-1942, 2007.

Yamato Y., Matsukawa M., Yanagitani T., Yamazaki K., Mizukawa H., Nagano A. : Correlation between Hydroxyapatite Crystallite Orientation and Ultrasonic Wave Velocities in sBovine Cortical Bone. *Calcified Tissue Int* 82(2) : 162-169, 2008.

(山本和史, 大和 雄, 山崎 薫, 松川真美¹, 長野 昭) ¹同志社大学工学部