

慢性関節リウマチ (RA) の発症および 病態解明とその治療

新潟大学医学部整形外科学教室

羽 生 忠 正

Onset and Pathogenesis in Rheumatoid Arthritis
and its Treatment

Tadamasa HANYU

*Department of Orthopedic Surgery, Niigata
University School of Medicine*

To study joint destruction and osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis (RA), we investigated bone loss using histomorphometric analysis. We also examined the property of colony forming unit-fibroblastic (CFU-F) isolated from tibial bone marrow in rats with collagen-induced arthritis (CIA) and iliac bone marrow in human. Our findings showed decreases of parameters of bone formation and of the number of alkaline phosphatase-positive CFU-F during onset of arthritis. We speculated that reduced bone formation was the predominant mechanism of bone loss in the pathogenesis of RA. We also demonstrated that the lymphocytes in the joints of CIA comprised resident T cells that are extrathymically generated in situ. In vivo treatment with various monoclonal antibody, these $\gamma\delta$ T cells and CD8 $\alpha\alpha$ ⁺ cells were associated with suppression of the disease, especially after its onset. On the other hand, in patients with RA, CD57⁺T cells levels were elevated, especially high in joints and its adjacent bone marrow. CD57⁺T cells contained higher proportions of CD4⁻8⁻ cells and $\gamma\delta$ T cells than CD57⁻T cells. We suggested that CD57⁺T cells with NK cell marker probably were a counterpart of extrathymic T cells in human and had unique immuno-suppressive

Reprint requests to: Tadamasa HANYU,
Department of Orthopedic Surgery, Niigata
University School of Medicine, Niigata City
951-8510, JAPAN.

別刷請求先: 〒951-8510 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部整形外科学教室 羽生忠正

functions. In rats with CIA, great increase in number of granulocytes were also observed before the onset of arthritis. From these results, we are performing the evaluation of these treatment which makes it possible to decrease the granulocytes or to increase the CD57⁺T cells using previous analysis system of bone formation.

Key words: rheumatoid arthritis, histomorphometry, bone formation, extrathymic T cells, granulocytes

慢性関節リウマチ, 組織形態計測, 骨形成, 胸腺外分化T細胞, 顆粒球

はじめに

関節構成体のうちの骨の代謝を組織形態計測学的方法で比較研究を行い, 慢性関節リウマチ (RA) における骨吸収と骨形成のアンバランスを明らかにする。さらに, ヒトおよび動物の骨髓細胞中の骨原細胞の骨芽細胞への分化や骨髓あるいは関節液中の破骨細胞様細胞の関節炎による動態を明らかにするべく研究を進めてきた。

一方, RA の活動期の滑膜内には著しいリンパ球の浸潤を認めるが, このリンパ球の一部に胸腺外分化Tリンパ球が存在することをヒトあるいはコラーゲン関節炎モデルを用いて報告した。最近, コラーゲン関節炎発症前に顆粒球の一過性の増加がおこることに気づき, この顆粒球増多と胸腺外分化 T 細胞との関わり合い, そして骨代謝動態から, RA 発症および骨・関節破壊の病態解明とその制御の仕事を進めているので報告する。

組織形態計測学的検討

骨格では, つねに骨吸収と骨形成を繰り返している無数の小さなユニット (BMU) があり, 骨が吸収され新しい骨が形成されている¹⁾。2回骨標識を行うことで, 標本を非脱灰薄切片の状態で蛍光顕微鏡下に観察すると石灰化の進行状況を確認することが出来る。一次パラメータは面積, 長さ, 距離, 数であり, これらに基づいた2次パラメータで骨量, 類骨, 吸収 (吸収面, 破骨細胞数), 石灰化 (標識率, 骨形成率), 線維化骨髄量を把握することが出来る^{2,3)}。

女性 RA 患者の腸骨骨生検による検討

RA において, 関節の腫脹と同時に病気の初期から関節周囲にみられる骨萎縮は重要な臨床所見である。一方, RA 患者は全身性の骨粗鬆症にも悩まされている。そこで, 骨の組織形態計測学的方法で RA によって引き起こされている, あるいは薬剤によって修飾されている, 骨代謝動態の検討を行った⁴⁾。

対象は女性 RA 患者40例 (RA 群: 年齢45歳から74歳, 平均59歳) で, このうち21例はグルココルチコイド (ス剤) で治療中 (P 群) であり, 残り19例は非ス剤投与中 (N 群) である。この両群間では年齢, 罹病期間に有意差はなく, 対照群として Recker ら⁵⁾ の健康人34例 (年齢45~74歳) の値を用いた。

45~54歳, 55~64歳, 65~74歳の各年代で RA 群は健常群に比べ骨量 (BV/TV) の有意な減少と, 吸収面 (ES/BS) の増加を認めた (図 1)。骨のリモデリングは骨梁表面に破骨細胞を伴う吸収窩を認める吸収期, その吸収窩の破骨細胞が消失する逆転期, 類骨で覆われた形成期, そして休止期を経て再び活性化される。RA 骨動態は全体で見ると, 正常に近い骨回転であるが収支は negative balance であった。なお, 休業期間を14日間とつても2回標識されない骨形成速度ゼロの低回転例は4例に認められた。このうち3例は N 群であり, リウマチ本来の病態は骨形成抑制の方向へ働いている可能性が考えられた。一方, 骨形成速度 (BFR/BV³) が高く, 活性破骨細胞面 (Oc.S/ES) の増加を伴った高回転型は6例に認められた。このうち5例は P 群であった。ス剤による二次性の上皮小体機能亢進症の可能性も示唆されたが, 組織学的には骨梁内に線維組織を認めトンネル吸収像を伴っているものは1例のみだった。プレドニゾン換算で算出した総ス剤投与量と骨梁幅 (Tb.Th) との関係は非投与, 総投与量 20g 未満, 20g 以上の3群比較において有意差を認めた (分散分析 $p < 0.05$)。すなわち, ス剤投与群では1サイクルごとに骨梁幅が細くなる, あるいは途絶していくことがわかる

成長期と成熟期のラット・コラーゲン関節炎モデルによる検討

成長期と成熟期のラット・コラーゲン関節炎モデル⁶⁾を用い, 不動性の要素の少ない関節炎発症前後の脛骨近位部について組織形態学的検討を行った。脛骨近位部の関心領域は growth plate の下 1.3mm の2次海綿

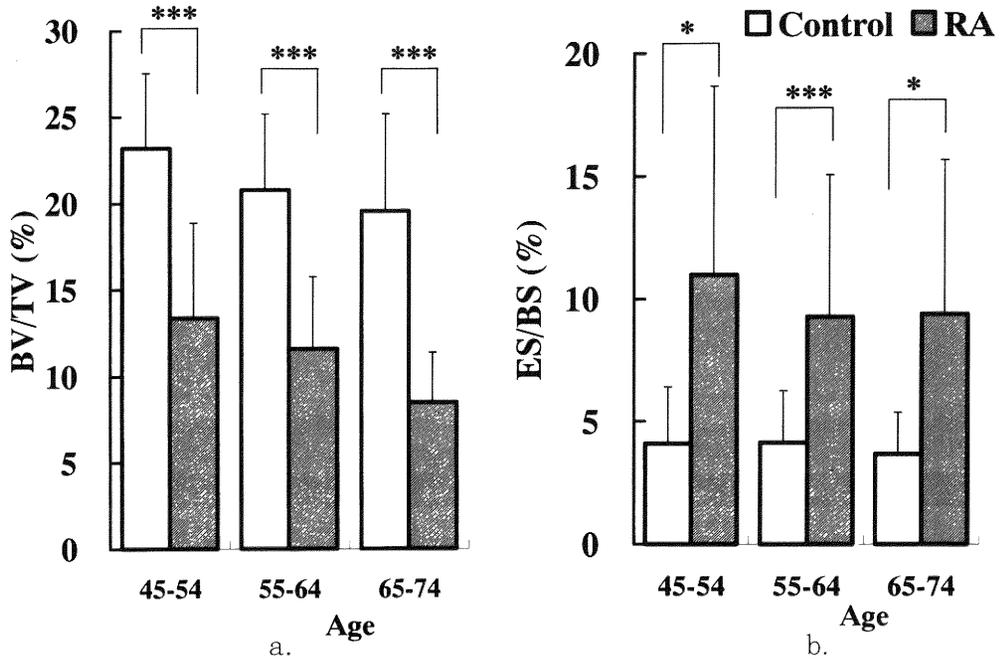


図1 各年齢群での腸骨組織形態計測値 (女性 RA 患者群と Recker らの健常群との比較)
 a. 骨量 (BV/TV), b. 吸収面 (ES/BS) *p<0.05 ***p<0.001

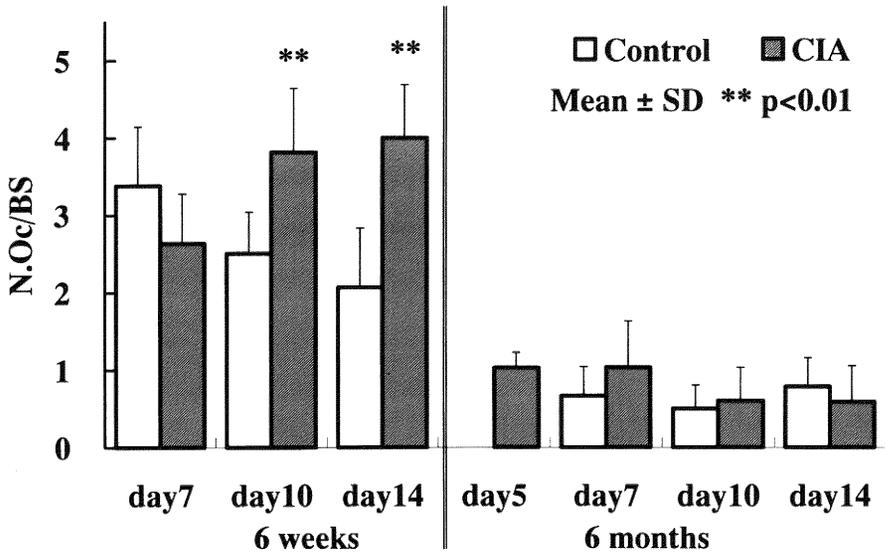


図2 ラット脛骨近位部の組織形態計測における破骨細胞数 (N.Oc/BS), 成長期と成熟期との比較

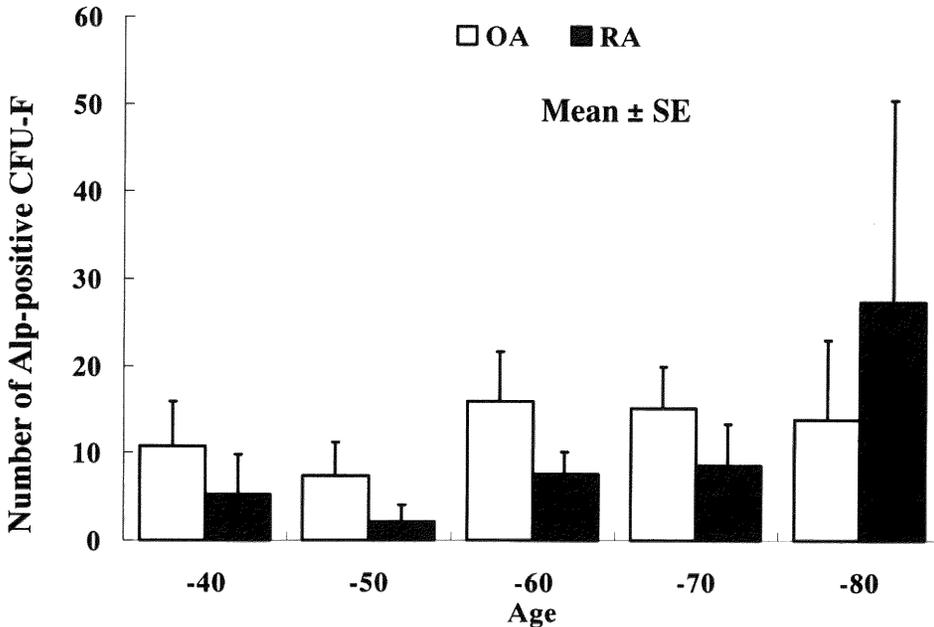


図3 RA患者群とOA患者群との比較(培養7日目のAlp陽性CFU-Fコロニー数)

骨領域とした。成長期(6週齢で感作)ラットCIAの骨量(BV/TV)は関節点数が増加し始める10日目から対照群に比べ有意な減少を認めた。ラットCIAの破骨細胞面(Oc.S/BS)は同じく10日目から有意な増加を認め(図2)、それが2週間以上にわたって持続していた⁷⁾。逆に2重標識面(dLS/BS)や骨形成速度(BFR/BS²)は初め低下したが、6週後では増加し、その後対照群より高値が持続した。

成熟期(6か月齢で感作)ラットの関節炎は全例発症した。しかし、成長期ラットCIAのそれと異なっていて、早期から骨形成の低下を認め、破骨細胞の有意な出現は認めなかった(図2)。

骨髓中の骨原細胞の検討

骨髓中には骨芽細胞の前駆細胞である骨原細胞が存在し、骨形成に重要な役割を果たしている。骨髄細胞(bone marrow stromal cells)は培養下で線維芽細胞様のコロニー(CFU-F, colony forming unit-fibroblastic)を形成する⁸⁻¹⁰⁾。前述のラットの左下肢を用い、大腿骨および脛骨骨髓をflush outし、10% FBS含有培養液に浮遊させ、 2×10^{-8} cell/wellで10日間培養しAlp陽性CFU-F数を計測した。

成熟期のラットCIAのAlp陽性CFU-F数は感作後7日目と10日目すなわち関節炎発症直前の時期のみ対照群に比べ有意な減少を認めた。

骨代謝疾患のない121例(3~88歳)の腸骨稜から骨髓血を採取して有核骨髓細胞を7日間培養し、Alp陽性CFU-F数を計測した。腸骨より採取した2ml中の有核骨髓細胞数は年齢とともに軽度減少傾向を示すものの、各年齢で大きな差は認めなかった。培養7日目のAlp陽性CFU-F数は10歳以降、急激に減少し、以後なだらかな減少を示した¹⁰⁾。

RA患者32例(32~75歳)を同じ方法で解析した。RA患者群は同年代の変形性股関節症患者群に比べてAlp陽性CFU-F数が少ない例が目立った(図3)。

骨髓細胞を培養し7日目にtotal RNAを抽出し、RT-PCRによりBMPmRNAの発現を検討した。

その結果、BMP-2から7の発現を認め、特にBMP-2の発現を強く認めた。さらにrBMP-2を培養骨髓細胞に添加し、分化、増殖への影響を調べた。その結果、細胞数には変化を及ぼさないもののAlp活性を濃度依存性に促進した。培養7日目の骨髓細胞がPGJ2、デキサメサゾンの添加で脂肪細胞への分化が認められた。

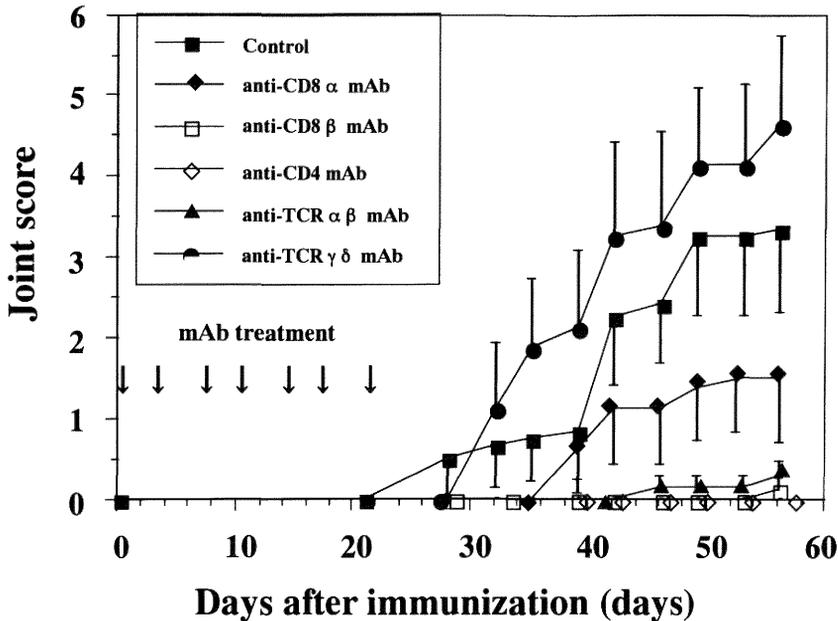


図4 各種抗体投与によるコラーゲン関節炎の推移

TCR $\gamma\delta$ 抗体の投与で関節炎は増悪し、CD 8β 抗体の投与 (CD 8α 細胞のみ残存) で関節炎は抑えられた (Arai K., et al.: J Immunol 157: 5170, 1996 [文献16] より)

RA の骨形成と骨吸収

RA の組織形態計測学検討で、病期の長い患者は種々の修飾を受けており、低回転型から高回転型までいろいろな病態を呈していた⁷⁾。発症比較的早期でステロイド薬を使用していない患者群の検討では、骨吸収の亢進ではなく骨形成の著明な低下を認めたと報告されている¹¹⁾。今回の私たちの CIA を用いた関節炎発症前後の骨動態の検討でも、成長期を過ぎている場合には反応が異なっていて、その病態は骨吸収の亢進ではなく骨形成の著明な低下だった。さらに、骨髄細胞の培養系でも骨形成能の抑制を示唆する結果を得た。成長期と成熟期の反応の違いはリモデリングを繰り返す骨単位 (ユニット) が少ないことと骨芽細胞から破骨細胞への uncoupling とが関与したためと考えている。一方、骨粗鬆症の強い RA 患者の腸骨の骨量および骨梁は著しく減少しており、培養系による検討ではあるが、関節炎を認めない健常群に比べて、Alp 陽性 CFU-F 数は少ない例が目立った。すなわち、RA 自体の病態は骨芽細胞数を減らすあるいは機能低下させる方向へ常に働いているものと推定した。

治療に対する展望として、RA 治療に強力な抗リウマチあるいは免疫抑制療法が行われつつあるが、絶えずつきまとう局所ならびに全身の骨粗鬆症の治療を同時に行う新たな戦略が必要である。幸い、今回検討した BM P-2 などの骨原細胞に対する分化調節能の検討から、骨髄細胞の選択的分離、適切な調整因子の活用および開発などにより、骨形成能が抑制されたこれらの疾病に対しても治療や予防の道が開けるものと期待している。また、吸収系の制御にサイトカインないしレセプター抗体を想定している。

胸腺外 T 細胞

RA の初期像は滑膜内におこる。その特徴は滑膜表層細胞の重層化、血管新生と滑膜内へのリンパ球の集簇である。しかし、その引き金は依然として不明であり、T リンパ球や B 細胞といった免疫応答の概念だけでは骨・関節破壊のメカニズムの解明はいきづまってしまう。T 細胞は胸腺で分化することがよく知られている。しかし、1990年マウスの肝類洞で T 細胞の分化が起こることを見いだされて以来、腸管、皮膚、子宮などでも分化し、そこで機能することが分かってきた¹²⁻¹⁴⁾。破壊

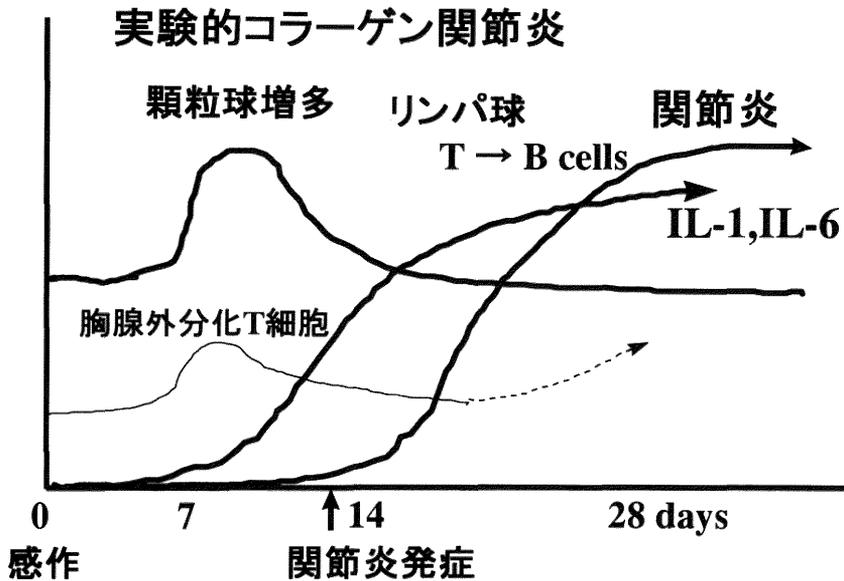


図5 コラーゲン関節炎発症前後の白血球の推移

関節部の関節腔内のリンパ球にも胸腺外で分化したものが流入しないのか？関節腔内で分化していないのか？あるとしたら、この胸腺外分化 T 細胞が関節炎の発症や骨関節破壊にどのように関与しているのか検討を行いたいと考えた。そこで、作業仮説をもとに関節内に特有な T リンパ球があり、刺激を受けて、増えているとした。

コラーゲン関節炎局所のリンパ球の解析

仮説を証明するために、RA の実験動物モデルの1つであるマウス II 型コラーゲン関節炎 (CIA) を用いた¹⁵⁾。DBA/1J マウスをウシ II 型コラーゲンと完全フロイントアジュバントとで免疫し、21日目に II 型コラーゲンで追加免疫すると、42日目頃に関節炎が発症する。このうち関節点数が高いマウスを選び、肝、脾臓、胸腺、リンパ節および関節部の各組織の単核球を分離して解析した¹⁶⁾。細胞数は CIA 発症マウスの関節部とリンパ節に増加していた。抗 CD3 と抗 IL-2R β (インターロイキン 2 レセプター β) の蛍光抗体で処理してフローサイトメトリーによって解析すると、CIA マウスの肝臓では、同じ T 細胞でもその表面の T 細胞レセプター (TCR) の数が胸腺由来の T 細胞に比べて少ない intermediate TCR (int-TCR) 細胞¹⁷⁾が増加する傾

向にあった。CIA の関節炎部では、この int-TCR 細胞の存在は明らかでなく high-TCR 細胞である。しかし、IL-2R β 陽性細胞や $\gamma\delta$ 細胞、CD8 $\alpha\alpha$ 細胞、CD44 陽性の T 細胞を多く混在し、肝臓の胸腺外分化 T 細胞の特徴に似ていた。また、対照群のマウスの関節部にもこの細胞は割合は少ないものの陽性だった。

関節炎部で増加した $\gamma\delta$ 細胞の使用している V γ V δ の usage は関節炎のあるなしに関わらずほぼ同じで、脾臓のものとは異なっていた。CIA マウスの関節部にはリンパ球の分化増殖の際に発現する recombination activating gene-1, 2 の mRNA の発現を認めた。分離した関節部のリンパ球に骨髓や末梢血のリンパ球の contamination の影響を否定するために、骨髓と末梢血の T 細胞中の $\gamma\delta$ 細胞や CD8 $\alpha\alpha$ 細胞の検討をしたが、先に示すような関節部のリンパ球の特徴は示さなかった。免疫組織学的染色で対照群、CIA 群ともに関節部に CD8 α 細胞が認められ、関節炎で増加していた。以上の点から、関節部には肝臓のように固有の T 細胞が考えられた。

これらの細胞の機能をみるために、コラーゲン感作時から各種抗体を投与して、関節炎の発症率や重症度の比較を行った。図 4 に示すように、抗体投与群のうち TCR $\gamma\delta$ 抗体の投与で関節炎は増悪し、CD8 β 抗体の

投与 (CD 8 $\alpha\alpha$ 細胞のみ残存) で関節炎は抑えられた。したがって、 $\gamma\delta$ 細胞や CD 8 $\alpha\alpha$ 細胞は関節炎 suppression, CD 4 細胞や $\alpha\beta$ 細胞は関節炎の effector cell で、しかも CD 4 と CD 8 の両方の interaction が発症に必要という結果を得た。

ヒトにおける胸腺外分化 T 細胞

ヒトの T 細胞の中にも NK 細胞マーカーである CD 56ないし CD 57 を有する細胞が存在し、胸腺に存在しないことや表面マーカーの検討からヒトにおける胸腺外分化 T 細胞と考えられている¹⁸⁾。そこで、当科で加療中の RA 患者45例で検討してみた¹⁹⁾。

RA 患者の CD 57 陽性 T 細胞は末梢血 18.2 \pm 2.0 %、関節液 25.6 \pm 3.2 %、関節近傍骨髄 36.8 \pm 8.5 % であり、健康人の末梢血と比べ特に関節液と関節近傍骨髄で高かった。CD 56 も NK 活性を持っているが、RA の場合は有意な増加を認めなかった。CD 57 陽性 T 細胞では有意に CD 8 が多く、CD 4⁻CD 8⁻の割合は末梢血中でも関節液中でも有意に高く、 $\gamma\delta$ 細胞の比率も高い。CD 57 陽性 T 細胞が増える白血病で RA の合併が多いという報告²¹⁾ や罹病期間と正の相関を認めたとする報告²⁰⁾ がある。今回の検討でも CD 57 陽性 T 細胞は罹病期間に相関して末梢血で増加していた。

また、興味深いことに RA 患者の関節液の T 細胞に対する CD 57 陽性 T 細胞の割合は炎症パラメータの一つである血沈と逆相関しており、破壊関節部に多く存在する CD 57 陽性 T 細胞は炎症を抑える働きをしていると考えられた。このことは臓器移植後でも生着例ではこの CD 57⁺細胞が増加しているとの報告²²⁾ やマウスのコラーゲン関節炎における胸腺外分化 T 細胞の検討結果¹⁶⁾ と一致した。

これらの機能は関節部の異常自己細胞を排除しようとしているものと思われる。したがって、関節炎発症後はこれらの細胞を増やす IL-2 療法などの補助療法も試みてみたい。

関節炎と顆粒球

最近、免疫学の領域で顆粒球の役割が再認識されている。RA においても活動期に関節液中にも末梢血中にも顆粒球の増多を認める。そこで、ラットの眼球結膜から経時的に採血してみたところ、CIA 発症前の感作後5ないし7日目の末梢血中に顆粒球を中心とした白血球の一過性の増加をとらえた。足関節を中心とする感作後3日目の病理組織所見でも関節周辺の骨髄に顆粒球

ないし前駆細胞の増加を認めた。関節炎発症後にはこれらの細胞は消失し、関節腔および軟骨面に滑膜の増殖がおこっていた。関節炎発症前から骨髄内に IL-1 や IL-6 が持続的に増加したとの報告²³⁾ から、これに反応して顆粒球が動員されている可能性もあるが、図 5 にまとめたように、IL-1 や IL-6 は関節炎後も持続しており、これだけでは説明できない。顆粒球の一過性の増加が関節炎発症に重要な役割を持っていると考えられた。

一方、C3H/He マウスの腹腔に過剰の NSAID を注射すると、4日後に骨髄および末梢血中に顆粒球の増多と、同時に肝臓の int-TCR 細胞の増加を認める。この肝臓のリンパ球は自己胸腺細胞に対する細胞障害活性が亢進しているとの結果を得た^{24, 25)}。

種々の刺激や免疫反応に引き続いておこる顆粒球の急激な増加と、関節部で分化する T 細胞とのかかわり合い、そしてサイトカインを介した骨代謝のアンバランス、ここに治療の糸口が見えてきたことを述べてきた。これら一連の動きを証明するために骨動態の解析にもマウスの系でということに照準を合わせて、発症および病態の把握とその制御の仕事を進めてる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、発表の機会を与えてくださった新潟医学会、座長の労をとっていただいた恩師高橋栄明教授に深謝致します。これらの仕事は医動物・免疫学の安保徹教授、渡部久実博士、整形外科の荒井勝光と山村倉一郎の両博士との共同研究によるものです。また、整形外科リウマチ班の星野賢一ならびに骨代謝研究班の諸先生方と研究補助員のご協力に深謝致します。なお、これらの研究の一部は平成6年、平成8年度文部省科学研究費、平成8・9年度厚生省慢性疾患総合研究事業リウマチ・病態研究班および平成7年度リウマチ財団リウマチ性疾患調査・研究助成に基づいて行われた。

参 考 文 献

- 1) Frost, H. M.: The physiology of cartilaginous, fibrous and bony tissue. Charles C Thomas, Springfield, Illinois, 1972.
- 2) Parfitt, A. M., Drezner, M. K., Glorieux, F. H., Kanis, J. A., Malluche, H., and Meunier, P. J.: Bone histomorphometry: Standardization of nomenclature, symbols and units. Report of

- the ASBMR histomorphometry nomenclature, symbols and units. Report of the ASBMR histomorphometry nomenclature committee. *J. Bone Miner. Res.* **2**: 596~610, 1987.
- 3) 乗松尋道, 中村利孝, 大野敦也: 骨の組織学的形態計測 (bone histomorphometry) における日本語用語の作成. *日骨形態誌* **3**: 1~6, 1993.
 - 4) 羽生忠正: 形態計測から見たリウマチの骨粗鬆症. *Clin. Calcium*, **8**: 437~444, 1998.
 - 5) Recker, R. R., Kimmel, D. B., Parfitt, A. M., Davies, M., Keshawarz, N., and Henders A.: Static and tetracycline-based bone histomorphometric data from 34 normal postmenopausal females. *J. Bone Miner. Res.*, **3**: 133~144, 1988.
 - 6) Trentham, D. E., Dynesius, R. A., and David, J. R.: Autoimmunity to type II collagen: An experimental model of arthritis. *J. Exp. Med.*, **146**: 857~868; 1977.
 - 7) Hanyu, T., Chotanaputi, T., Tanaka, T., Arai, K., Yamazaki, H., Ito, A., and Takahashi, H. E.: Bone loss of type II collagen-induced arthritis on bone histomorphometry. *Trans. Comb. ORS*, **2**: S352, 1995.
 - 8) Freidenstein, A. J., Chailakhyan, R. K., Gerasimov, U. V.: Bone marrow osteogenic stem cells: In vivo cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell Tissue Kinet.*, **20**: 263~272, 1987.
 - 9) Owen, M.: Marrow stromal stem cells. *J. Cell Sci.*, **10**: 63~76, 1988.
 - 10) Nishida, S., Yamaguchi, A., Tanizawa, T., Endo, N., Mashiba, T., Uchiyama, Y., Suda, T., Yoshiki, S., Takahashi, H. E.: Increased bone formation by intermitted parathyroid hormone administration is due to the stimulation of proliferation and differentiation of osteoprogenitor cells in bone marrow. *Bone*, **15**: 717~723, 1994.
 - 11) Compston, J. E., Vedi, S., Mellish, R. W. E., Croucher, P., and O'Sullivan, M. M.: Reduced bone formation in non-steroid treated patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, **48**: 483~487, 1989.
 - 12) Ohteki, T., Seki, S., Abo, T., and Kumagai, K.: Liver is a possible site for the proliferation of abnormal CD3⁺4⁻8⁻ double negative lymphocytes in autoimmune MRL-lpr/lpr mice. *J. Exp. Med.*, **172**: 7~12, 1990.
 - 13) Seki, S., Abo, T., Masuda, T., Ohteki, T., Kanno, A., Takeda, K., Rikiishi, H., Nagura, H., and Kumagai, K.: Identification of activated T cell receptor $\gamma\delta$ lymphocytes in the liver of tumor-bearing hosts. *J. Clin. Invest.*, **86**: 409~415, 1990.
 - 14) Bandeira, A., Itoharu, S., Bonneville, M., Burlen-Defranoux, O., Mota-Santos, T., Coutinho, A., and Tonegawa, S.: Extrathymic organ of intestinal intraepithelial lymphocytes bearing T-cell antigen receptor $\gamma\delta$. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**: 43~47, 1991.
 - 15) Holmdahl, R., Jonsson, R., Larsson, P., and Klareskog, L.: Early appearance of activated CD4⁺ T lymphocytes and class II antigen-expressing cells in joints of DBA/1 mice immunized with type II collagen. *Lab. Invest.*, **58**: 53~60, 1988.
 - 16) Arai, K., Yamamura, S., Hanyu, T., Takahashi, H. E., Umezu, H., Watanabe, H., and Abo, T.: Extrathymic differentiation of resident T cells in the joints of mice with collagen-induced arthritis. *J. Immunol.*, **157**: 5170~5177, 1996.
 - 17) Watanabe, H., Iiai, T., Kawachi, Y., Ohtsuka, K., Tanaka, T., Miyasaka, M., Tsuchida, M., Hanawa, H., and Abo, T.: Characterization of intermediate TCR cells in the liver of mice with receptor to their unique IL-2 expression. *Cell. Immunol.*, **149**: 331~342, 1993.
 - 18) Abo T., Cooper, M. D., Balch, C. M.: Characterization of HNK-1 (Leu-7) human lymphocyte. I. Two distinct phenotypes of human NK cells with different cytotoxic capability. *J. Immunol.*, **129**: 1752~1757, 1981.
 - 19) Arai, K., Yamamura, S., Seki, S., Hanyu, T., Takahashi, H. E., Abo, T.: Increase of CD57⁺ cells in knee joints and adjacent bone marrow of rheumatoid arthritis (RA) patients: implication for an anti-inflammatory role. *Clin. Exp. Immunol.*, **111**: 345~352, 1998.
 - 20) Loughran, T. P. Jr.: Clonal diseases of large granular lymphocytes. *Blood* **82**: 1~14, 1993.

- 21) d'Angeac, A. D., Monier, S., Jorgensen, C., Gao, O., Travaglio-Encinoza, A., Bologna, C., Combe, B., Sany, J., and Reme, T.: Increased percentage of CD3⁺, CD57⁺ lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis: correlation with duration of disease. *Arthritis Rheum.* **36**: 608~612, 1993.
- 22) Leroy, E., Calvo, C. F., Divine, M., Gourdin, M. F., Baujean, F., Ariba, H. M., Mishal, Z., Vernant, J. P., Farcet, J. P., and Senik, A.: Persistence of T8⁺/HNK1⁺ suppressor lymphocytes in the blood of long term surviving patients after allogeneic bone marrow transplantation. *J. Immunol.* **137**: 2180~2189, 1986.
- 23) Hayashida, K., Ochi, T., Fujimoto, M., Owaki, H., Shimaoka, Y., and Ono, K.: Bone marrow changes in adjuvant-induced and collagen-induced arthritis: Interleukin-1 and interleukin-6 activity and abnormal myelopoiesis. *Arthritis Rheum.*, **35**: 241~245; 1992.
- 24) Yamamura, S., Arai, K., Toyabe, S., Takahashi, H. E., and Abo, T.: Simultaneous activation of granulocytes and extrathymic T cells in number and function by excessive administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cell Immunol.*, **173**: 303-311, 1996.
- 25) Yamamura, S., Toyabe, S., Arai, K., Kawamura, T., Hanyu, T., Takahashi, H. E., and Abo, T.: Suppressing effects of rebamipide, a novel anti-ulcer agent, on the number and function of granulocytes and extrathymic T cells in mice. *Bio. Res.*, **18**: 103~112, 1997.
-