慢性関節リウマチの病態・治療とアポトーシス

川上 純・江口勝美*

review article

INFLAMMATION AND REGENERATION

Involvement of apoptotic cell death in rheumatoid arthritis: Implication for the pathogenesis and therapy

Apoptosis occurs in a variety of physiologic situations, including embryogenesis, and plays a crucial role in normal tissue homeostasis, however, a breakdown in the delicate balance between cell survival and apoptosis has been implicated in the pathogenesis of a number of rheumatic diseases. Recent studies have revealed that the signals leading to apoptotic cell death are regulated by the molecular interactions among a set of gene products, thus, it is possible to speculate that the expression of apoptosis-related molecules *in situ* is modulated by various humoral and/or cellular factors, which may contribute to the characteristic phenotype of each human autoimmune disease. Rheumatoid arthritis (RA) is a joint-affecting disease, which is characterized by the hyperplasia of synovial tissues with periarticular bone destruction (bone loss), thus, the impaired synovial cell apoptosis with the increased susceptibility toward osteoblast apoptosis have been speculated.

We are going to discuss in this review the apoptosis mechanisms involving in the synovial cell hyperplasia, as well as therapeutic implication of apoptosis induction, in patients with RA.

Rec. 14/23/2002, pp 179~185

Atsushi Kawakami・Katsumi Eguchi*

key words : rheumatoid arthritis, synovial cells, apoptosis, NF-kappaB, caspase

慢性関節リウマチ (RA) の病態の主座は関節滑膜組織の異常増殖であり、増殖滑膜組織による物理的および化学的侵襲により周囲の軟骨・骨組織が破壊・傷害される。滑膜組織を構成する主な細胞は滑膜細胞であり、数多くの研究が滑膜細胞機能と RA 病態との関連について報告されている。

アポトーシスは細胞質や核が凝縮、断片化し、この断片化した細胞が周りの食細胞に取り込まれて処理される“死の形態”であるが、アポトーシス現象は生体の恒常性を維持するうえで重要な役割を果たしていることが明らかにされ、その分子機構も次第に解明されてきた。最近では、アポト

シスシグナルと生存シグナルとがお互いに巧妙なバランスをとることによって、細胞の生死が決定されていることが明らかになってきた。生存シグナルとアポトーシスシグナルはお互いに抑制しあうことによって細胞の生死を制御しており、このバランスが崩れることにより種々の異常が起こってくるが、近年は、RA 滑膜細胞のアポトーシス抵抗性が滑膜細胞の増殖活性に重要という観点からの研究報告も多い。滑膜細胞のアポトーシス抵抗性はサイトカインにより制御され、また、抗サイトカイン療法の RA に対する臨床的有用性を考えると、滑膜組織を構成する細胞群のアポトーシス誘導機序の解析は、RA 病態および治療効果の理解に必須と思われる。

本稿では、筆者らのデータを含め、慢性関節リ

* The First Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine, 1-7-1 Sakamoto, Nagasaki 852-8501, Japan 長崎大学医学部第一内科教室

図 1 Death receptor およびミトコンドリアを介する caspase 活性化

ウマチの病態・治療とアポトーシスについて概説する。

Caspase 活性化の調節機序

アポトーシスの実行過程には caspase の活性化が不可欠である。また, caspase は線虫の細胞死遺伝子 ced-3 にホモロジーを持つ cysteine proteases であり, 正常の細胞では不活性な前駆体として存在しているが, Fas に代表される death receptor を介する系および cytochrome c を介する系により活性化される¹⁻³⁾。おのおのの系で“initiator caspases”による“effector caspases”の活性化カスケードが存在し, また Bcl-2 関連分子である Bid が death receptor を介する系の initiator caspase である caspase-8 の基質となることが明らかとなり, これら二つのカスケード間のクロストーク機序も解明されてきている⁴⁻⁶⁾。さらに death receptor には Fas, TNF receptor (TNFR), および death receptor 4 (DR 4)/DR 5 があげられ, おのおの Fas ligand (Fas L), TNF および tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) が ligand として結合し, 下流にある caspase cascade を活性化する。これら ligand が death receptor に結合すると, death receptor 内の death domain (DD) を介しアダプター蛋白質である Fas-associating protein

with death domain (FADD) が death receptor に会合し, その後 death effector domain (DED) を介し, initiator caspases である caspase-8 や caspase-10 が FADD に会合し, これら initiator caspases が活性化される。これら活性化された caspase-8 および caspase-10 が下流の effector caspases である caspase-3 や caspase-7 を活性化し, この活性化された caspase-3 や caspase-7 がさまざまな蛋白質の基質として分解しアポトーシスを引き起こす(図 1)。

もう一つのカスケードは, ミトコンドリアに起因する。抗がん剤や UV など death receptor 非依存性のアポトーシス刺激が細胞に加わるとミトコンドリアからアポトーシスを惹起する分子が細胞内に放出されるが, cytochrome c はその重要な分子の一つである。また, cytochrome c は deoxy ATP もしくは ATP とともに apoptotic protease activating factor-1 (Apaf-1) に結合し, cytochrome c を結合した Apaf-1 は initiator caspases である caspase-9 の重合を惹起し, caspase-9 は自己消化により活性化され下流の effector caspases である caspase-3 や caspase-7 を活性化する(図 1)。

これら二つのカスケードは, 先述のようにクロストークがあり, caspase-8 により切断された Bid がミトコンドリアからの cytochrome c 放出を促進することが報告され, ミトコンドリアを介

する系が death receptor を介する effector caspases 活性化経路を増幅することがわかっている。

Bcl-2 や Bcl-xL は、ミトコンドリアからの cytochrome c 放出を抑制することでアポトーシスを抑制するので、これらの分子はミトコンドリアを介するアポトーシス (caspase cascade) は抑制するが、純粋な death receptor 依存性の経路には抑制作用はないとされている。しかしながら、ミトコンドリアの下流で機能し、カスパーゼ活性化を直接抑制する分子群として inhibitor of apoptosis protein family (IAP family: XIAP, cIAP 1, cIAP 2, survivin など) が同定されている。

RA 滑膜組織に検出されるアポトーシスの意義

先述のように組織の恒常性は組織を構成する細胞の増殖とアポトーシスによる細胞死のバランスで保たれているが、抗 proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 抗体で増殖している滑膜細胞を、また terminal deoxy(d)-UTP nick end labeling (TUNEL) 法でアポトーシスに陥っている滑膜細胞を組織学的に検出すると、RA 滑膜組織では増殖している滑膜細胞率はアポトーシス陽性細胞率よりもきわめて高頻度である (図 2)⁷⁾。アポトーシスに陥った細胞は食細胞により速やかに処理されるので単純な比較は出来ないが、RA 滑膜組織の増殖機序の一つとして滑膜細胞のアポトーシスが増殖にくらべ相対的に抑制されていることが示唆され、これは種々の因子により制御されていることがわかってきた。

ほかの細胞と同様に、caspase 活性化は滑膜細胞のアポトーシス誘導に不可欠であり、Fas や TRAIL receptor などの death receptor 刺激およびエトポシドやセラミドなどの刺激 (ミトコンドリアを介する系) で滑膜細胞には caspase 活性化を伴うアポトーシスが惹起される⁸⁻¹¹⁾。それに加え、Bcl-2 関連蛋白や IAP ファミリー蛋白の滑膜細胞アポトーシス・caspase 活性化への関与も解析されている。抗アポトーシス作用がある Bcl-

図 2 RA 滑膜組織における PCNA 発現と TUNEL

上: PCNA, 下: TUNEL

PCNA 陽性滑膜細胞にくらべ、TUNEL 陽性の滑膜細胞はごく少数である。

2 は、変形性関節症 (OA) 滑膜組織にくらべ RA 滑膜組織で強い発現が検出され、培養滑膜細胞における抗アポトーシス作用も *in vitro* の実験系で確認されている¹²⁾。Bcl-2 と同様に、Bcl-xL の培養滑膜細胞における抗アポトーシス作用も証明されており¹²⁾、これら分子は *in vivo* の RA 滑膜組織でもミトコンドリアからの cytochrome c 放出を抑制し滑膜細胞をアポトーシスから回避させていると考えられる。Bcl-2/Bcl-xL に加え、IAP ファミリー分子である XIAP の培養滑膜細胞における抗アポトーシス作用も報告されている¹³⁾。

遺伝子発現は転写因子により正または負に制御されるが、これらアポトーシス関連蛋白の発現に重要な転写因子として NF- κ B があげられる¹⁴⁾。

NF- κ B 活性化は、RA を含む多くの疾患 (炎症性腸疾患や悪性腫瘍など) で病態の進展に関与していることが示唆されているが¹⁵⁾、アポトーシス

表 1 サイトカインによる滑膜細胞 Fas 依存性アポトーシスの制御

Cytokines	Expression of apoptosis-related molecules				Induction of Fas-mediated apoptosis in synovial cells
	Fas	pro-caspase-8/-3	FLIP	Bcl-2/Bcl-xL	
TGF- β_1	↓	→	NT	↑	↓
IL-1 β	↓	↓	NT	↑	↓
TNF- α	→	↑	↓	↑	↑
bFGF	→	→	↑	→	↓

NT : not tested

関連蛋白の発現制御は、その作用と密接に関連している。哺乳類では NF- κ B を構成するサブユニットとして p 50, p 65, p 52, c-Rel および RelB の 5 種類が存在し、これらサブユニットは N 末端側に約 300 アミノ酸の Rel ドメインとよばれる DNA 結合ドメインを持っている。これらサブユニット間でホモならびにヘテロ二量体が形成され、各二量体は特定の κ B 配列に対して結合能や転写活性を持つが、Rel ドメインは二量体形成に関与し、また、Rel ドメインの C 末端側には核移行シグナルが存在する¹⁶⁻¹⁸⁾。

NF- κ B は非刺激時には I κ B と複合体を形成し細胞質内で不活性型として存在するが、TNF- α や IL-1 β などサイトカイン刺激時には TKK 活性化を介し I κ B のリン酸化が惹起される。リン酸化された I κ B は、プロテアソームで分解され NF- κ B は核内に移行し特定の遺伝子発現を誘導する。

RA 滑膜組織の NF- κ B の発現や培養滑膜細胞における NF- κ B 活性化および抗アポトーシス蛋白発現のサイトカインによる制御も検討されている。RA 滑膜組織では、滑膜細胞で NF- κ B サブユニットの少なくとも p 65 と p 50 の活性化 (p 65 と p 50 の核内発現) が検出され、これは OA 滑膜組織より強く検出される^{7,19)}。RA 滑膜組織では NF- κ B 活性化を惹起する TNF- α や IL-1 β などサイトカインの強い発現があり、また、これらサイトカイン遺伝子発現も NF- κ B の制御下にある。それに加え、上述の Bcl-xL や IAP family proteins の発現も NF- κ B で正に制御されており²⁰⁻²²⁾、NF- κ B 活性化は滑膜細胞のアポトーシ

ス抵抗性を誘導し RA の病態に深く関与していると考えられる。

サイトカインは種々の細胞のアポトーシス感受性を修飾するが、滑膜細胞でもこれら作用は認められており、IL-1 β , TGF- β 1 および bFGF など (これらサイトカインは RA 滑膜組織で強い発現が認められる) の刺激により、培養滑膜細胞のアポトーシスは抑制される^{8,9,11,23-25)} (表 1)。表 1 に示すように、これらサイトカインは death receptor や抗アポトーシス蛋白発現を修飾し、滑膜細胞のアポトーシス機序を制御しているが、この発現調節にも NF- κ B は深く関与していると考えられる。しかしながら、遺伝子発現は NF- κ B 以外の転写因子でも調節されており、NF- κ B と同様に RA 滑膜組織や培養滑膜細胞 (TNF- α や IL-1 β などサイトカインで刺激された滑膜細胞) では、CREB や c-Jun の活性化が確認されている^{26,27)}。これら NF- κ B 以外の転写因子の活性化は滑膜細胞のサイトカイン産生も誘導することからも^{26,27)}、*in vivo* では NF- κ B を含む複数の転写因子が滑膜細胞のアポトーシス機序を修飾していると思われる。

滑膜細胞のアポトーシス抵抗性に加え、骨芽細胞のアポトーシスによる細胞死が RA の傍関節性骨粗鬆症・骨破壊と関連している可能性がある。筆者らの検討では、培養ヒト骨芽細胞には Fas 依存性アポトーシスが誘導され、滑膜細胞では Fas 依存性アポトーシスに対する抑制作用がある IL-1 β 刺激により骨芽細胞の Fas 発現および Fas 依存性アポトーシスは有意に増強された²⁸⁻³⁰⁾。TNF- α 刺激も IL-1 β 刺激と同様に骨芽細胞の

表 2 アポトーシス誘導による関節炎治療の試み

Methods	Arthritis models
Induction of Fas-mediated apoptosis	
with Anti-Fas mAb	HTLV-I transgenic mice, SCID-RA
FasL gene transfer	SCID-RA
FADD gene transfer	SCID-RA
Inhibition of NF-κB activity	
with NF- κ B decoy ODN	CIA rats
SrI κ B α gene transfer	SCW rats
ODN : oligonucleotides. CIA : collagen-induced arthritis. SCW : streptococcal cell wall SrI κ B α : super-repressor I κ B α	

Fas 依存性アポトーシスを増強するので³⁰⁾, 滑膜細胞にはアポトーシス抵抗性を惹起する“RA の炎症性病態”は, 骨芽細胞にはアポトーシス感受性を誘導し, RA 傍関節性骨粗鬆症・骨破壊の一要因になることが考えられる. これら細胞種特異的な“炎症性病態”の作用機序の詳細は不明だが, “アポトーシスによる細胞死”は RA の関節病変の進展に深く関与していることがこの実験結果からも示唆される.

アポトーシス誘導による関節炎治療の試み

アポトーシスの強制誘導による関節炎治療効果が動物関節炎モデルで検討されているが, これらは主に Fas 依存性アポトーシス誘導と NF- κ B 活性化抑制を中心に検討されている(表 2). 上述のように抗 Fas 抗体や NF- κ B 阻害剤により培養滑膜細胞にはアポトーシスが誘導される. 培養滑膜細胞のこれらアポトーシスは, TGF- β 1 や IL-1 β などサイトカイン刺激により抑制されるが, *in vivo* で関節炎モデル動物の関節内で滑膜組織構成細胞にアポトーシスを強制誘導すると関節炎が消退することが報告されている.

HTLV-I tax トランスジェニックマウスは, ヒト RA 類似の滑膜炎を発症するが, 抗 Fas 抗体をこれらマウスの関節内に注入すると, HTLV-I tax トランスジェニックマウスの関節炎は消退し, 同組織の滑膜細胞や単核球にはアポトーシスによる細胞死が誘導されていることが確認されて

いる³¹⁾. このマウス関節炎は抗 Fas 抗体投与後に再燃が認められるが, 再度の抗 Fas 抗体関節内注入により同様の治療効果が認められており, Fas 依存性アポトーシス強制誘導はヒト RA へ治療応用が可能であると思われる.

ヒト RA 症例から滑膜組織を切除し, この切除された滑膜組織を SCID マウス皮下に移植する(ヒト RA 滑膜組織は SCID マウス皮下に生着する: SCID-RA モデル)実験系でも同様の治療効果が検討されている. SCID-RA モデルでは, このマウスに抗 Fas 抗体を腹腔内投与することで移植された RA 滑膜組織構成細胞にはアポトーシスによる細胞死が惹起され滑膜組織は退縮する³²⁾. 関節炎退縮への Fas 依存性アポトーシス誘導の有効性は, 抗 Fas 抗体のみではなく, Fas の生理的リガンドである Fas ligand(FasL)や Fas を介するアポトーシス刺激シグナルのアダプター蛋白である FADD 遺伝子の強制発現により SCID-RA モデルで退縮効果が確認されている^{33,34)}. これら *ex vivo* の実験結果は, Fas シグナルの増強はヒト RA 滑膜組織増殖を負に制御し, Fas および Fas シグナル伝達に関与する分子群は RA の治療ターゲットになりうることを示唆する.

NF- κ B は副刺激分子やサイトカインなどの発現を介し, 炎症反応を惹起するに加え¹⁴⁾, 先述のように抗アポトーシス蛋白の発現誘導作用により RA 滑膜増殖を正に制御していると考えられる. 培養滑膜細胞の NF- κ B 活性化を抑制するとこれら細胞にはアポトーシスが誘導される⁷⁾. それに加え, 培養滑膜細胞の NF- κ B 活性化阻害によるアポトーシス感受性は, TNF- α で刺激された滑膜細胞では無刺激滑膜細胞より強くなるが, これは TNF receptor からの生存刺激(NF- κ B 活性化)がブロックされ, caspase cascade 活性化刺激優位にシグナルが伝達されるためと考えられる(TNF- α 刺激により培養滑膜細胞には IKK β 活性化を介し NF- κ B 活性化が誘導され³⁵⁾, これが caspase cascade 活性化を抑制する).

動物関節炎モデルでは, NF- κ B デコイオリゴ投与で collagen-induced arthritis 滑膜組織のサ

イトカイン産生, 滑膜組織増殖および骨・軟骨組織破壊が抑制されるとともに³⁶⁾, streptococcal-cell wall-induced arthritis でアデノウイルスを用いた super-repressor I κ B α 遺伝子導入で滑膜組織の NF- κ B 活性化を抑制すると, 滑膜組織構成細胞のアポトーシスが誘導され滑膜炎が消退する³⁷⁾. これらの実験結果より, 慢性炎症が持続している RA 滑膜組織では, 局所での NF- κ B 活性化を阻害すると効率よく滑膜細胞のアポトーシスが惹起され滑膜組織退縮が誘導されることが示唆される.

プロテアソーム阻害剤は, NF- κ B 活性化を抑制し種々の細胞にアポトーシスを誘導するが, 筆者らの検討では, 培養滑膜細胞のプロテアソーム阻害剤誘導性アポトーシスは, 無刺激滑膜細胞と比較し, TNF- α で前処置した滑膜細胞でより顕著に検出された¹¹⁾. 少なくとも EMSA などの検討では, 滑膜細胞の NF- κ B 活性化の状態は, 無刺激と TNF- α 前処置(TNF- α で 48 時間処理:すでに NF- κ B 活性化はベースラインに戻っている)で差異はなく, これら細胞のプロテアソーム阻害剤誘導性アポトーシスには, NF- κ B 非依存性経路の存在が示唆される. XIAP は NF- κ B 依存性に発現が誘導されるが, 培養滑膜細胞の XIAP 発現を抑制するとアポトーシスが誘導されることも報告されている¹³⁾.

おわりに

滑膜細胞の増殖は RA 滑膜炎の中心的病態であり, *in vivo* では増殖と比較し滑膜細胞のアポトーシスが抑制されていると考えられるが, *in vitro* では RA 培養滑膜細胞には種々の刺激でアポトーシスが誘導される. この実験結果は RA 滑膜組織という“炎症性環境”が滑膜細胞の“アポトーシス抵抗性”を惹起し滑膜増殖を誘導していると思われる. アポトーシス強制誘導が実験的関節炎モデルに有効であることもこれを示唆し, “アポトーシス誘導”は RA の有効な治療手段と考えられる. 代表的な抗リウマチ薬である MTX の作用機序の一つとしてアポトーシス誘導作用がある

ことも報告されている³⁸⁾.

今後は, 炎症性滑膜組織をターゲットとした簡便でかつ特異的な DDS が開発され, これが有効な RA 治療法の確立につながることを期待される.

文 献

- 1) Nagata S: Apoptosis by death factor. Cell 88: 355, 1997.
- 2) Green DR: Apoptotic pathways: The roads to ruin. Cell 94: 695, 1998.
- 3) Sun X-M, MacFarlane M, Zhuang J et al.: Distinct caspase cascades are initiated in receptor-mediated and chemical-induced apoptosis. J Biol Chem 274: 5053, 1999.
- 4) Luo X, Budihardjo I, Zou H et al.: Bid, a Bcl 2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptor. Cell 94: 481, 1998.
- 5) Li H, Zhu H, Xu CJ et al.: Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. Cell 94: 491, 1998.
- 6) Scaffidi C, Schmitz I, Zhu J et al.: Differential modulation of apoptosis sensitivity in CD 95 type I and type II cells. J Biol Chem 274: 22532, 1999.
- 7) Yamasaki S, Kawakami A, Nakashima T et al.: Importance of NF- κ B in rheumatoid synovial tissues: *in situ* NF- κ B expression and *in vitro* study using cultured synovial cells. Ann Rheum Dis 60: 678, 2001.
- 8) Kawakami A, Eguchi K, Matsuoka N et al.: Inhibition of Fas antigen-mediated apoptosis of rheumatoid synovial cells *in vitro* by transforming growth factor β 1. Arthritis Rheum 39: 1267, 1996.
- 9) Tsuboi M, Eguchi K, Kawakami A et al.: Fas antigen expression on synovial cells was down-regulated by interleukin 1 β . Biochem Biophys Res Commun 218: 280, 1996.
- 10) Migita K, Honda S, Yamasaki S et al.: Regulation of rheumatoid synovial cell growth by ceramide. Biochem Biophys Res Commun 269: 70, 2000.
- 11) Kawakami A, Nakashima T, Sakai H et al.: Regulation of synovial cell apoptosis by proteasome inhibitor. Arthritis Rheum 42: 2440, 1999.
- 12) Perlman H, Georganas C, Pagliari LJ et al.: Bcl-2 expression in synovial fibroblasts is essential for maintaining mitochondrial homeostasis and cell viability. J Immunol 164: 5227, 2000.
- 13) Zhang HG, Huang N, Liu D et al.: Gene therapy that inhibits nuclear transcription of nuclear factor kappaB results in tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis of human synovial fibroblasts. Arthritis Rheum 43: 1094, 2000.
- 14) 川上 純, 山崎聡士, 宮下賜一郎・他: NF- κ B と炎症, 炎症と免疫 9: 691, 2001.
- 15) Yamamoto Y, Gaynor RB: Therapeutic potential

- of inhibition of NF- κ B pathway in the treatment of inflammation and cancer. *J Clin Invest* 107 : 135, 2001.
- 16) Ghosh S, Gifford AM, Riviere L et al. : Cloning of the p50 DNA binding subunit of NF- κ B : homology to rel and dorsal. *Cell* 62 : 1019, 1990.
- 17) Baeuerle PA, Henkel T : Function and activation of NF- κ B in the immune system. *Annu Rev Immunol* 12 : 141, 1994.
- 18) Henkel T, Machleidt T, Alkalay I et al. : Rapid proteolysis of I κ B α is necessary for activation of transcription factor NF- κ B. *Nature* 365 : 182, 1993.
- 19) Handel ML, McMorroo LB, Gravalles EM : Nuclear factor-kappaB in rheumatoid synovium. Localization of p50 and p65. *Arthritis Rheum* 38 : 1762, 1995.
- 20) Wang C-Y, Mayo MW, Korneluk RG et al. : NF- κ B antiapoptosis : Induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science* 281 : 1680, 1998.
- 21) Stehlik C, Martin R, Kumabashiri I et al. : Nuclear factor(NF)- κ B-regulated X-chromosome-linked iap gene expression protects endothelial cells from tumor necrosis factor α -induced apoptosis. *J Exp Med* 188 : 211, 1998.
- 22) Tsukahara T, Kannagi M, Ohashi T et al. : Induction of Bcl-x(L) expression by human T-cell leukemia virus type1 Tax through NF-kappaB in apoptosis-resistant T-cell transfectants with Tax. *J Virol* 73 : 7981, 1999.
- 23) Kobayashi T, Okamoto K, Kobata T et al. : Tumor necrosis factor alpha regulation of the Fas-mediated apoptosis-signaling pathway in synovial cells. *Arthritis Rheum* 42 : 519, 1999.
- 24) Kobayashi T, Okamoto K, Kobata T et al. : Differential regulation of Fas-mediated apoptosis of rheumatoid synoviocytes by tumor necrosis factor alpha and basic fibroblast growth factor is associated with the expression of apoptosis-related molecules. *Arthritis Rheum* 43 : 1106, 2000.
- 25) Wakisaka S, Suzuki N, Takeba Y et al. : Modulation by proinflammatory cytokines of Fas/Fas ligand-mediated apoptotic cell death of synovial cells in patients with rheumatoid arthritis(RA). *Clin Exp Immunol* 114 : 119, 1998.
- 26) Wakisaka S, Suzuki N, Takeno M et al. : Involvement of simultaneous multiple transcriptional factor expression, including cAMP responsible element binding protein and OCT-1, for synovial cell outgrowth in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 57 : 487, 1998.
- 27) Takeba Y, Suzuki N, Wakisaka S et al. : Involvement of cAMP responsive element binding protein (CREB) in the synovial cell hyperfunction in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 18 : 47, 2000.
- 28) Kawakami A, Eguchi K, Matsuoka N et al. : Fas and Fas ligand interaction is necessary for human osteoblast apoptosis. *J Bone Miner Res* 12 : 1637, 1997.
- 29) Nakashima T, Sasaki C, Tsuboi M et al. : Inhibitory effect of glucocorticoid for osteoblast apoptosis induced by activated peripheral blood mononuclear cells. *Endocrinology* 139 : 2032, 1998.
- 30) Tsuboi M, Kawakami A, Nakashima T et al. : Tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β increase the Fas-mediated apoptosis of human osteoblasts. *J Lab Clin Med* 134 : 222, 1999.
- 31) Fujisawa K, Asahara H, Okamoto K et al. : Therapeutic effect of the anti-Fas antibody on arthritis in HTLV-1 tax transgenic mice. *J Clin Invest* 98 : 271, 1996.
- 32) Sakai K, Matsuno H, Morita I et al. : Potential with drawal of rheumatoid synovium by the induction of apoptosis using a novel *in vivo* model of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 41 : 1251, 1998.
- 33) Okamoto K, Asahara H, Kobayashi T et al. : Induction of apoptosis in the rheumatoid synovium by Fas ligand gene transfer. *Gene Ther* 5 : 331, 1998.
- 34) Kobayashi T, Okamoto K, Kobata T et al. : Novel gene therapy for rheumatoid arthritis by FADD gene transfer : induction of apoptosis of rheumatoid synoviocytes but not chondrocytes. *Gene Ther* 7 : 527, 2000.
- 35) Aupperle KR, Bennett BL, Boyle DL et al. : NF- κ B regulation by I κ B kinase in primary fibroblast-like synoviocytes. *J Immunol* 163 : 427, 1999.
- 36) Nakazawa F, Matsuno H, Yudoh K et al. : Methotrexate inhibits rheumatoid synovitis by inducing apoptosis. *J Rheumatol* 28 : 1800, 2001.