

II. 日本人の貢献

1. Fasと疾患

江口 勝美

Key words : Fas (CD95), Fas ligand (FasL), 抗Fasモノクローナル抗体, Bcl-2 ファミリー

1. アポトーシスとFas/Fas ligandの発見

アポトーシスとは1972年、Kerrら¹⁾により電子顕微鏡による観察から病理学的に定義された細胞死である。核・染色体や細胞質の凝縮、細胞膜上の微細構造の消失に始まり、核の断片から細胞そのものの断片化に至る細胞死がアポトーシスと定義された。

免疫系は進化に伴って多細胞生物が獲得してきた新しいシステムであり、アポトーシスを誘導する死の受容体のシステムは、線虫にはなく哺乳類に存在し、その概念は、FasとFasLの発見によって構築された。Fasの研究はItoh N, Yoshida Sら²⁾とOehm A, Krammer PH³⁾らが独立にFasに対するモノクローナル抗体を調整したことに端を発する。彼らが別の目的で調整したヒト細胞表面に対するモノクローナル抗体は、細胞をアポトーシスに誘導する機能を持つものであり、これらのモノクローナル抗体で認識される標的分子がFasであった。その後、ほどなくしてFasのリガンド (Fas ligand, FasL) がSuda T, Nagata Sら⁴⁾によりクローニングされた。FasL

は生体内でFasに結合し、アポトーシス誘導シグナルを導入する。アポトーシスのシグナル伝達のモデル系として、Fas/FasL経路の解析が進んでいる第一の理由として、抗Fas IgM抗体を用いてFasLと同等の働きをさせうということが大きいと考えられる。Tanaka M, Nagata S⁵⁾らは、FasLもまたFas抗原と同様に3量体を形成し、TNF- α (tumor necrosis factor- α) と同じくメタロプロテアーゼによって膜表面で切断され、その細胞外領域が可溶性蛋白質として存在することを明らかにしている。

2. アポトーシスの細胞内シグナル伝達機構 (図)

アポトーシスの細胞内シグナル伝達機構の解明が目覚ましく進んでいる。哺乳類では大きく2つの異なった伝達機構がある。1つは細胞膜表面の死の受容体 (death receptor) に刺激が入り、アダプター分子 (FADD, TRADD) から第一段階、第二段階のカスパーゼ経路を介してアポトーシスが誘導される。もう1つはBcl-2ファミリーに属するアポトーシスを引き起こす因子 (proapoptotic factor, Bid, Bax, Bak) と逆にそれを防ぐ因子 (antiapoptotic factor, Bcl-2, Bcl-xL)

えぐち かつみ：長崎大学第一内科

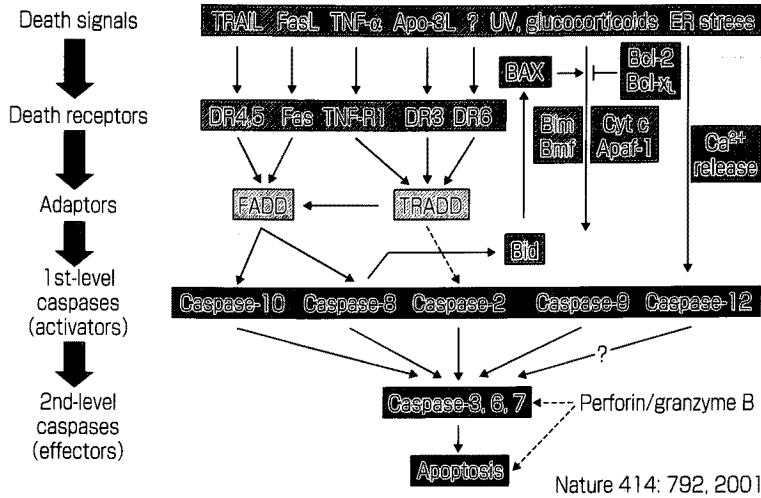


図. アポトーシスの経路

によって制御されている経路である⁶⁾。最も研究が進んでいるFasL/Fas経路では、FasLがFasと結合することにより、Fasは三量体を形成し、Fasの細胞内領域にあるdeath domain (DD) をアダプター分子であるFas-associated death domain protein (FADD) と会合し、さらにプロカスペーゼ8やプロカスペーゼ10分子と会合する。このFas, FADD, プロカスペーゼ8やプロカスペーゼ10はdeath-inducing signaling complex (DISC) “死の複合体” と呼ばれ、カスペーゼ8やカスペーゼ10を “不活性化” から “活性化” へと変換する。DISCの新たな構成分子としてFLICE-associated huge protein (FLASH) がImai Y, Yonehara Sら⁷⁾によりクローニングされた。FLASHは、Fasの刺激がない場合でもカスペーゼ8と会合しているが、Fasの刺激が入るとカスペーゼ8/FLASH複合体はFas, FADDと共にDISCを形成し、カスペーゼ8の活性化を促進する⁷⁾。細胞の生死は、生存シグナルとアポトーシスシグナルがお互いに抑制し合うことによって制御を受けている。これにはBcl-2ファミリーとIAPファミリーが知られ、Takahashi Rら^{8,9)}はXIAPがカスペーゼ3, 7, 9の活性を抑制し、アポトーシスを抑制することを報告している。

3. アポトーシスと自己免疫疾患

1) immune-privilege site (免疫特権部位) の破端

脳、角膜、精巣などは生体内で免疫応答が起こりにくい臓器であり、“immune-privilege site (免疫特権部位)” と呼称されている。その理由として、免疫系から隔離されていることが挙げられてきた。最近、FasL/Fasシステムが“immune-privilege”に関与していることが明らかにされている¹⁰⁾。FasLは活性化T細胞やnatural killer (NK) 細胞、マクロファージなどのリンパ球系細胞にのみ発現されていると考えられていたが、リンパ球系以外にも恒常的に好中球、ニューロン、網膜のstroma細胞、精巣のSertoli細胞、血管内皮細胞、甲状腺濾胞細胞、唾液腺濾胞細胞などにも発現することが明らかにされている。これらの正常細胞は恒常的にFasLを発現し、Fasを高発現した活性化T細胞をアポトーシスへ誘導することにより活性化T細胞からの攻撃を阻止していると考えられる。例えば、正常甲状腺の濾胞細胞は免疫組織学的にFasLを発現し、*in vitro* でFasを高発現した活性化T細胞をアポトーシス

へ誘導することができた。この理由から、正常甲状腺組織は“immune-privilege site”と見なすことができ、甲状腺濾胞細胞が活性化T細胞の侵入を阻止している。ウイルス感染、炎症性サイトカインなどにより、濾胞細胞のFasL発現が抑制されたり、Fas発現が亢進することにより、アポトーシスが起こり、自己免疫性甲状腺疾患が誘導されると考えられる¹¹⁾。

2) 細胞のアポトーシスによる自己抗原が修飾され、自己反応性T,B細胞を誘導する

ウイルス感染、紫外線やγ線により細胞にアポトーシスが誘導される。さらに、FasL/FasやTNF/TNF受容体を介しても細胞にアポトーシスが誘導される。特に、ウイルスの持続感染や紫外線の曝露により、アポトーシスが過剰にあるいは持続的に起こり、それにより生じたアポトーシス小体(ヌクレオゾーム)が自己抗原の源となる。アポトーシスの過程で、細胞の種類によっても異なるが、キナーゼあるいはカスパーゼが活性化され、自己抗原の主要構成成分がリン酸化されたり、カスパーゼにより断片化されたりする。このような修飾を受けた自己抗原が、抗原提示細胞、B細胞、T細胞と反応し、epitope spreadingを起こし、種々の細胞構成成分に反応する自己抗体が産生される。この機構は全身性エリテマトーデスやSjögren症候群を始め、多くの自己免疫疾患への関与が報告されている¹²⁾。

4. リンパ球系細胞のアポトーシス阻害と自己免疫

Nagata Sらは、FasやFasLの遺伝子異常を有するMRL/MP-lpr/lpr¹³⁾、C3H/HeJ-gld/gldマウス¹⁴⁾がヒトSLEやRA(関節リウマチ)に類似した自己免疫異常を自然発症することを報告している。さらに、ヒトにおいてもFasの遺伝子異常が見つけれ、自己免疫性リンパ増殖症候群(auto-immune lymphoproliferative syndrome)を来す¹⁵⁾。これらのマウスやヒトには活性化誘導型細

胞死(activation-induced cell death; AICD)に欠陥がある。末梢血T細胞は抗原刺激により活性化・増殖し、その後、細胞死を起こす。このAICDはFasL/FasやTNF/TNFR経路に依存した細胞死であり、この障害により活性化した自己反応性T細胞やB細胞が排除できず、残存する結果、自己免疫疾患が誘導されることが示唆される。

自己免疫疾患では病巣に浸潤したリンパ球は組織の間質細胞と反応・活性化し、アポトーシスが阻害される。その結果、自己反応性T細胞やB細胞が増加すると考えられている。この例として、関節リウマチ(RA)滑膜組織での浸潤リンパ球と滑膜細胞¹⁵⁾、Sjögren症候群の唾液腺組織での浸潤リンパ球と唾液腺濾胞細胞や導管細胞との相互作用¹⁶⁾が挙げられる。また、自己免疫疾患の病因の1つと考えられるウイルスがその蛋白を介してリンパ球にアポトーシス抵抗性を誘導し、これが自己免疫を惹起していることが示唆されている。これにはEpstein-Barrウイルス(EBウイルス)のBHRF1蛋白¹⁷⁾、LMP-1蛋白¹⁸⁾、成人T細胞白血病ウイルスI型(HTLV-I)のTax蛋白¹⁹⁾が挙げられる。

5. リンパ球系以外の細胞のアポトーシスと自己免疫疾患

体組織の恒常性は生のシグナルと死のシグナルのバランスによって保たれ、両シグナルは互いにクロストークして調節されている。RA滑膜組織の病理学的特徴の1つは、滑膜細胞の増殖である²⁰⁾。滑膜細胞はFasやTRAILのリガンドであるDR5を発現し、agonisticな抗Fas IgM抗体や、FasLあるいはTRAILによりアポトーシスを誘導できる²¹⁾。一方、滑膜細胞の増殖においては、塩基性線維芽細胞増殖因子(basic fibroblast growth factor; bFGF)、血小板由来増殖因子(platelet derived growth factor; PDGF)、トランスフォーミング成長因子(transforming growth factor; TGF)、インターロイキン1(interleukin-1; IL-

1), 腫瘍壊死因子 α (tumor necrosis factor α ; TNF α) などが関与している。bFGFやPDGFはERKの活性化, TGF- β はSmadの活性化, IL-1 β やTNF- α はNF- κ Bの活性化を誘導する。これらのサイトカインは滑膜線維芽細胞を増殖させると同時に, アポトーシスに対して抵抗性を示す。RA滑膜組織では滑膜細胞にNF- κ B (p50あるいはp65)の核内移行がみられ, これは滑膜細胞でのNF- κ Bの活性化を示している²⁰⁾。NF- κ Bの活性化はBcl-xL, XIAP, cIAP-1, TRAF1及びTRAF2などの蛋白発現を誘導し, アポトーシス抵抗性の一因となっていることが示唆される。

一方, 自己免疫疾患病巣への活性化リンパ球が浸潤すると, FasL/Fas, TNF/TNFR, TRAIL/TRAILR経路や, 細胞傷害性T細胞 (cytotoxic T cell) によるパーフォリンやグランザイムを介して上皮細胞のアポトーシスが誘導され, それらの機能不全を来す。これにはSS (Sjögren syndrome)の唾液腺濾胞細胞, 橋本病の甲状腺濾胞細胞, RAの関節周囲の骨芽細胞, 1型糖尿病の膵 β 細胞などが挙げられる^{6, 22, 23)}。

おわりに

RA滑膜組織では, 本来, 誘導されなければならないアポトーシスが抑制されて, 滑膜細胞の増殖やリンパ球浸潤が起こっていると考えられる。そこで, Fas誘導性アポトーシスを調節することによって, 自己免疫疾患や過剰な免疫反応によって引き起こされる疾患を治療することが検討されている。具体的には抗Fasモノクローナル抗体²⁴⁾やFasL発現細胞²⁵⁾を用いてアポトーシスを誘導することによって, 滑膜炎が消退することが報告されている。しかし, 抗Fasモノクローナル抗体を全身投与すると, 広範な肝細胞障害をきたす²⁶⁾。最近, 免疫反応を抑制し, 炎症性に増殖した滑膜細胞をアポトーシスへ誘導できる肝毒性のないヒト化抗Fas抗体が開発され²⁷⁾, 治

療薬として期待されている。

文 献

- 1) Kerr JFR, et al: Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26: 239-257, 1972.
- 2) Itoh N, et al: The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell* 66: 233-243, 1991.
- 3) Oehm A, et al: Purification and molecular cloning of the APO-1 cell surface antigen, a member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily: sequence identify with the Fas antigen. *J Biol Chem* 267: 10709-10715, 1992.
- 4) Suda T, et al: Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell* 75: 1169-1178, 1993.
- 5) Tanaka M, et al: Expression of the functional soluble form of human Fas ligand in activated lymphocytes. *EMBO J* 14: 1129-1135, 1995.
- 6) Mathis D, et al: β -cell death during progression to diabetes. *Nature* 414: 792-798, 2001.
- 7) Imai Y, et al: The CED-4-homologous protein FLASH is involved in Fas-mediated activation of caspase-8 during apoptosis. *Nature* 398: 777-785, 1999.
- 8) Takahashi R, et al: A signal BIR domain of XIAP sufficient for inhibiting caspases. *J Biol Chem* 273: 7787-7790, 1998.
- 9) Deveraux QL, et al: X-linked IAP is a direct inhibitor of cell-death proteases. *Nature* 388: 300-304, 1997.
- 10) Griffith TS, et al: Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* 1189-1192, 1995.
- 11) Sera N, et al: Fas/FasL mediated apoptosis of thyrocytes in Graves' disease. *Clin Exp Immunol* 124: 194-207, 2001.
- 12) Utz PJ, Anderson P: Posttranslational protein modifications, apoptosis and the bypass of tolerance to autoantigens. *Arthritis Rheum* 41: 1152-1160, 1998.
- 13) Watanabe-Fukunaga R, et al: Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis. *Nature* 356: 314-317, 1992.
- 14) Takahashi T, et al: Generalized lymphoproliferative disease in mice, caused by a potent mutation in the Fas ligand. *Cell* 76: 969-976, 1994.
- 15) Salmon M, et al: Inhibition of T cell apoptosis in the rheumatoid synovium. *J Clin Invest* 99: 439-446, 1997.
- 16) Nakamura H, et al: Expression of CD40/CD40 ligand and

- Bcl-2 family proteins in labial salivary glands of patients with Sjören's syndrome. *Lab Invest* 79 : 261-269, 1999.
- 17) Henderson S, et al : Epstein-Barr virus-coded BHRF1 protein, a viral homologue of Bcl-2, protect human B cells from programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 90 : 8479-8483, 1993.
 - 18) Laherty CD, et al : The Epstein-Barr virus LMP-1 gene product induces a 20 zinc finger protein expression by activating nuclear factor κ B. *J Biol Chem* 267 : 24157-24160, 1992.
 - 19) Kawakami A, et al : Inhibition of caspase cascade by HTLV-I Tax through induction of NF- κ B nuclear translocation. *Blood* 94 : 3847-3854, 1999.
 - 20) Yamasaki S, 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 : 678-384, 2001.
 - 21) Nakajima T, et al : Apoptosis and functional Fas antigen in rheumatoid arthritis synoviocytes. *Arthritis Rheum* 38 : 485-491, 1995.
 - 22) Eguchi K : Apoptosis in autoimmune diseases. *Int Med* 40 : 275-284, 2001.
 - 23) 江口勝美 : 自己免疫疾患におけるアポトーシスの意義. *Minophagen Medical Review* 40 : 309-330, 2001.
 - 24) Schirmer M, et al : Resistance to apoptosis and elevated expression of Bcl-2 in clonally expanded CD4⁺ CD28⁻ T cells from rheumatoid arthritis patients. *J Immunol* 161 : 1018-1025, 1998.
 - 24) Sakai K, et al : Potential withdrawal of rheumatoid synovium by the induction of apoptosis using a novel in vivo model of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 41 : 1251-1257, 1998.
 - 25) Okamoto K, et al : Induction of apoptosis in the rheumatoid synovium by Fas ligand gene transfer. *Gene Ther* 5 : 331-338, 1998.
 - 26) Ogasawara L, et al : Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature* 364 : 806-809, 1993.
 - 27) 芦澤伸紀 : 新しい抗Fasモノクローナル抗体による治療薬開発への試み. *最新医学* 54 : 917-924, 1999.
-