

総 説

シェーグレン症候群唾液腺細胞死と HTLV-I の関与

中村 英樹

Cell death of salivary gland epithelial cells and involvement of HTLV-I in Sjögren's syndrome

Hideki NAKAMURA

*Unit of Translational Medicine, Department of Immunology and Rheumatology,
Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences*

(Accepted March 13, 2014)

summary

Chronic sialadenitis in Sjögren's syndrome (SS) is associated with cell death induced by Fas or cytotoxic granules. Furthermore, tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand or toll-like receptor3 are known to induce apoptosis in the salivary gland epithelial cells (SGECs) derived from patients with SS. Anti-apoptotic molecules that are closely related to epidermal growth factor are known to inhibit apoptosis. Epidemiologically, high prevalence of HTLV-I in primary Sjögren's syndrome (SS) patients has been found in an endemic area. However, by comparison of radiographic imaging with mononuclear cells (MNCs) infiltration of LSGs, we have found that there are significantly fewer abnormalities determined by sialography in HTLV-I-seropositive SS patients in comparison with HTLV-I-seronegative SS patients irrespective of similar grade of MNCs infiltration. In HTLV-I-seropositive SS patients, low frequency of salivary gland destruction was observed and this phenomenon was associated with frequency of the ectopic germinal center (GC). Then, we show cytokine profile in culture supernatant of salivary gland epithelial cells co-cultured with HCT-5 established from spinal fluid of patients with HAM. Up-regulation of adhesion molecule or migration factor was observed in culture supernatant. On the other hand, co-cultured cell lysate showed apoptotic and anti-apoptotic molecules without increase of apoptosis. Detailed molecular mechanisms in these processes are under study.

Key words—Sjögren's syndrome; apoptosis; HTLV-I; germinal center

抄 録

シェーグレン症候群 (SS) 唾液腺慢性炎症の原因として、唾液腺上皮細胞の細胞死が挙げられる。Fas/Fas ligand や細胞障害性顆粒の関与が知られているが、TRAIL によるミトコンドリア経路を介したアポトーシスの関与もみられ、自然免疫系では、TLR3 リガンド刺激によりアポトーシス誘導がおこる。また抗アポトーシス分子発現と唾液腺より分泌される epidermal growth factor が密接に関与していることも明らかとなった。一方、ウイルス感染と SS との関与も以前より示唆されているが、疫学的には HTLV-I と SS との関連が明らかとなっており、HTLV-I 関連脊髄症 (HAM) においては SS 合併が高頻度である。また、抗 HTLV-I 陽性 SS 群では唾液腺破壊が生じにくく、これに異所性二次濾胞 (GC) の陽性率が関与していた。HTLV-I 感染細胞株 HCT-5 と、SS 患者由来の唾液腺上皮細胞の共培養を行った。共培養上清のサイトカインアレイでは、細胞接着・遊走に関わる分子の経時的増加が観察された。また、共培養時のライセートのアポトーシスアレイでは、Fas やチトクローム C など細胞死を誘導する分子と共に HSP27 など抗アポトーシス分子の発現亢進も観察されたが、この間アポトーシス増加は観察されなかった。現在これら vitro の系で HTLV-I と SS 唾液腺の関連を検討中である。

はじめに

シェーグレン症候群 (SS) における唾液腺炎発症においては、浸潤単核球とそのターゲットとなる唾液腺上皮細胞の関係と共に環境因子の関与が示唆されている¹⁾。近年の genome-wide association study

(GWAS) 解析の結果²⁾ では、55 万以上の一塩基多型解析から SS に関連する遺伝子多型が報告され今後の遺伝的背景についての研究が期待されるが、唾液腺局所での詳細な唾液腺破壊における分子機序解明においては、同部位における蛋白レベルでの機能解析の重要性は変わらない。これまでに、唾液腺局所における細胞死関連蛋白については、浸潤単核球側および唾液腺上皮側双方において幾つかの報告が

ある。唾液腺浸潤単核球は、細胞障害性を有する CD4 および CD8 陽性 T リンパ球があり、近年では制御性 T 細胞や Th17 細胞の役割も明らかとなってきた^{3,4)}。CD4 陽性 T リンパ球については幾つかの候補が挙げられている自己抗原あるいは自己抗原ペプチドに対して増殖した自己反応性 T 細胞が炎症惹起の中心となっている。一方、唾液腺への浸潤が進むと B 細胞浸潤拡大、形質細胞浸潤が起こり抗 Ro/SS-A, La/SS-B 抗体などの自己抗体産生が起こる。また、唾液腺上皮細胞側から見ると、唾液腺細胞のアポトーシスを誘導しうるものとしては、浸潤単核球に発現する Fas ligand や細胞障害性顆粒、サイトカインおよび自然免疫など多岐に亘る。本稿の前半では、浸潤単核球および唾液腺上皮細胞における細胞死関連蛋白発現について言及する。

一方、SS 発症に関わる環境因子としては、Epstein-Barr ウイルス (EBV)^{5,6)}、HTLV-I、サイトメガロウイルス⁷⁾、C 型肝炎ウイルス⁸⁾ などが以前より報告されている。EBV については、潜伏感染後再活性化することにより、SS 特異的な自己抗原発現を惹起⁵⁾ することが知られており、近年 EBV 導入マウスモデルにより、SS に酷似した唾液腺を誘導することも明らかにされている⁶⁾。HTLV-I については陽性率の高い長崎県での検討において、SS との関連が統計的に示されている。本稿では、疫学的に示された HTLV-I 感染と SS との関連を病態学的な側面から概説したい。

SS 唾液腺上皮細胞死における Fas/Fas ligand の役割

SS 唾液腺における Fas/Fas ligand 系によるアポトーシスについては幾つかの報告があるが、筆者らの報告では SS 唾液腺には浸潤単核球と腺組織両者に nick end labelling 法 (TUNEL 法) によるアポトーシスが観察された⁹⁾。唾液腺上皮細胞におけるアポトーシスは正常コントロール群では殆ど観察されなかったが、アポトーシス像の見られる導管は視野内の 15% 程度であり、以外に少ないものであった。アポトーシスを誘導する Fas の発現は腺房上皮や導管の管腔側に観察され、Fas ligand は主に浸潤単核球に見られたが、腺組織管腔側にも観察された。これらの結果から予想されたことは、浸潤単核球に発現した Fas ligand が腺組織に発現している Fas を標的として Fas と Fas ligand が結合することにより唾液腺上皮細胞内での death シグナルが活性化され、アポ

トーシスに陥るであろうというものであった。これらは後に Ohlsson ら¹⁰⁾ が、SS における Fas 誘導性アポトーシスは多くないことを報告し、前述のデータを支持するものとなった。一方、Fas および Fas ligand は膜型のみでなく可溶性型分子も存在するため、SS 患者唾液腺および血清中の可溶性 Fas および Fas ligand の検出を enzyme-linked immunosorbent assay で行った¹¹⁾。この結果、血清中では、正常コントロールとの比較では可溶性 Fas の増加は見られなかったが、可溶性 Fas ligand は有意に増加していた。また唾液中では可溶性 Fas および Fas ligand いずれも正常コントロールより増加していた。

さらに、唾液中の可溶性 Fas/Fas ligand 濃度と Rubin-Holt 分類で見た唾液腺破壊の程度を比較したところ、唾液腺破壊が進行した群では弱いながら Fas ligand が有意に高いことが示された。この結果から可溶性 Fas ligand が直接的に唾液腺を障害しているかどうかまでは言及できないが、幾つかの可能性が示唆された。Kayagaki ら¹²⁾ は膜型 Fas ligand が tumor necrosis factor 様のメタロプロテイナーゼ (MMP) によって切り出され可溶性となることを報告しているが、SS 唾液腺では MMP-3 や MMP-9 などの発現が増強していることが報告されている^{13,14)}。このことから、膜型 Fas ligand とともに MMP によって切り出された可溶性 Fas ligand が唾液腺上皮細胞死に関与している可能性がある。

SS 唾液腺浸潤単核球におけるアポトーシス関連分子発現

SS 唾液腺アポトーシスにおいては、浸潤単核球のうち唾液腺上皮細胞を標的とできる CD4 および CD8 陽性 T 細胞とともに、自己抗体産生に関わる B 細胞活性化および形質細胞双方の役割が重視される。B 細胞の活性化に重要なシグナルとして B 細胞上の CD40 と T 細胞上の CD40 ligand の働きが B 細胞活性化という意味合いから重要である¹⁵⁾。著者らは唾液腺局所での浸潤単核球の役割を検討するため、同一患者の末梢血の CD40/CD40 ligand と唾液腺局所での CD40/CD40 ligand および Bcl-2 family 蛋白発現を検討した¹⁶⁾。末梢血 CD3 陽性 T 細胞には CD40 の発現はなかったが、CD20 陽性 B 細胞の 90% 以上に CD40 が発現していた。また末梢血単核球上での CD40 ligand の発現は正常人と変わらず殆ど発現していなかった。これに対して、唾液腺組織では、大多数の浸潤単核球が CD40 を発現しており、

末梢血ではみられなかった CD40 ligand の発現も観察された。このことは、末梢血でなく唾液腺局所において、B 細胞の活性化が強く起こっていることを示唆している。さらに、CD40 陽性細胞は、Bcl-2 や Bcl-x と共発現しており、CD40-CD40 ligand 刺激により活性化された B 細胞はアポトーシス抑制因子の共発現により恒常性を維持し、抗体産生を促す可能性が示唆された。さらに、SS 浸潤単核球に発現している CD40 陽性細胞の恒常性を検討するため、MAP キナーゼの発現を検討した¹⁷⁾ が、多くの CD40 陽性細胞が c-Jun N-terminal kinase (JNK) と p38 を発現していることが明らかとなった。CD40 陽性細胞が B 細胞のみならず T 細胞にも観察されたことから、CD4 陽性 T 細胞と CD8 陽性 T 細胞に分けて唾液腺局所での JNK 関連分子発現も検討した¹⁸⁾。その結果、SS 浸潤単核球には MAP キナーゼ

キナーゼ 4 (MKK4), JNK, c-Jun が発現しており、リン酸化 JNK は CD4/CD8 陽性 T 細胞両者に発現していることが明らかとなった。SS 唾液腺浸潤細胞には Fas/Fas ligand の発現もあるが、大多数の浸潤細胞は CD40 や Bcl-2 を強く発現しており、細胞内の MAP キナーゼ経路を介して唾液腺局所に長く留まれるようにアポトーシスを免れ恒常性を維持している可能性が明らかとなった。

SS 唾液腺上皮細胞における細胞死調節機構について

これまでは主に浸潤単核球側から見た細胞死調節機構を述べてきたが、次に SS 唾液腺上皮側からの観点で以下の 3 つに分けて述べる。アポトーシス誘導分子および抗アポトーシス分子についての報告をそれぞれ表 1 および表 2 に示した。

表 1 SS 唾液腺組織・唾液腺細胞における代表的なアポトーシス誘導分子の報告

分子名	報告者	報告年	組織・細胞の別	使用細胞
IFN- γ	Wu AJ et al	1996	細胞	HSG
Fas/Fas ligand	Kong L et al	1997	ヒト組織	N/A
Bax	Kong L et al	1998	ヒト組織	N/A
Fas/Fas ligand	Nakamura H et al	1998	ヒト組織	N/A
Fas/Fas ligand	Matsumura R et al	1998	ヒト組織	N/A
Perforin/granzyme B	Polihronis M et al	1998	ヒト組織	N/A
Fas/Fas ligand	Elkon KB	1998	マウス組織	N/A
CD8+ α E β 7+T cell	Fujihara T et al	1999	ヒト組織	N/A
IFN- γ /TNF- α	Matsumura R et al	2000	細胞	HSG
Fas/Fas ligand	Shibata Y et al	2002	ヒト組織	N/A
抗 Ro/La 抗体	Sisto M et al	2007	細胞	A-253
TRAIL	Nakamura H et al	2008	細胞	SGEC
TLR3	Nakamura H et al	2013	細胞	SGEC

IFN- γ : interferon- γ , TRAIL: tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand, TLR: toll-like receptor, SGEC: salivary gland epithelial cell, N/A: not applicable

表 2 SS 唾液腺組織・唾液腺細胞における代表的な抗アポトーシス分子の報告

分子名	報告者	報告年	組織・細胞の別	使用細胞
Bcl-2	Manganelli P et al	1997	ヒト組織	N/A
CD40/Bcl-2	Nakamura H et al	1999	ヒト組織	N/A
Estrogen	Ishimaru N et al	1999	マウス組織	N/A
XIAP	Nakamura H et al	2000	ヒト組織・細胞	HSG
P53/p21	Mariette X et al	2002	ヒト組織	N/A
Caspase 阻害剤	Saegusa K et al	2002	マウス組織	N/A
CD40/Bcl-2	Ohlsson M et al	2002	ヒト組織	N/A
BAFF	Szodoray P et al	2003	ヒト組織	N/A
Cepharanthin	Azuma M et al	2006	マウス組織	N/A
Thioredoxin	Kurimoto C et al	2007	ヒト組織・細胞	HSG
EGF	Nakamura H et al	2007	細胞	SGEC
PI3K/Akt, NF-kB	Nakamura H et al	2007	ヒト組織・細胞	SGEC
Adiponectin	Katsiogiannis S et al	2010	細胞	SGEC

BAFF: B-cell activating factor, EGF: epidermal growth factor, PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase, XIAP: X-linked inhibitor of apoptosis protein, SGEC: salivary gland epithelial cell, N/A: not applicable

1) Fas 誘導性アポトーシスとその制御

前述の唾液腺組織での Fas 発現は、これが Fas ligand のターゲットとなり Fas を発現している唾液腺上皮細胞を破壊する機序が想定されたが、実際のアポトーシスはそれほど目立たず、唾液腺恒常性を維持するシステムが推察された。著者らは SS 患者の口唇生検組織より唾液腺上皮細胞の初代培養を行い、抗 Fas 抗体でアポトーシスが誘導できるか検討した¹⁹⁾。この結果、抗 Fas 抗体のみ添加し 48 時間観察しても核の断片化は検出されなかった。同様に、SS 唾液腺に発現しており、かつアポトーシス抑制に働く phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt や NF-kappa B²⁰⁾ のインヒビターである LY294002/Wortmannin や Bay11-7082 で SS 唾液腺上皮細胞を刺激しても核の断片化は観察されなかった。ところが、抗 Fas 抗体と LY294002 または Bay11-7082 を同時に投与すると、12 時間後には明らかな核の断片化が観察され、TUNEL 染色にて核の断片化がアポトーシスであることが証明された。さらに、このアポトーシスは epidermal growth factor (EGF) の添加により濃度依存的に抑制された。これらの結果からわかったことは、SS 患者唾液腺上皮細胞には、少なくとも *in vitro* では抗 Fas 抗体のみでは容易にアポトーシスは誘導されず抗アポトーシス分子によって、細胞死を免れるよう守られている可能性であった。その上流物質として、唾液腺から分泌されている EGF が候補と考えられた。

2) TRAIL 誘導性アポトーシス

次に上述の Fas 誘導性アポトーシスの実行分子を検討するために、tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) 誘導性アポトーシスと比較検討を行った²¹⁾。因みに tumor necrosis factor α (TNF- α) のみで唾液腺上皮細胞を刺激しても核の断片化を起こさず、この比較として TRAIL を使用した。抗 Fas 抗体と PI3K インヒビター同時添加により唾液腺上皮細胞死を 12 時間で誘導した場合は、caspase 3 および caspase 8 の cleavage が観察されたが、caspase 9 の cleavage は観察されなかった。一方唾液腺上皮細胞を TRAIL で刺激するとわずか 3 時間で核の断片化が起こり、TUNEL 染色にてアポトーシスであることが確認できた。このときの caspase cleavage を見てみると、caspase 8 だけでなく、caspase 9 の cleavage も観察され、ミトコンドリア経路を介したアポトーシスが起きていること

が推察された。さらに TRAIL 刺激で核の断片化を起こした細胞は、caspase 9 cleavage とともに Apaf 1 やチトクローム C の発現も増強していた。但し、TRAIL 誘導性アポトーシスと caspase 8/9 cleavage は正常コントロール由来の唾液腺上皮細胞でも観察され、SS に特異的な現象では無いと思われる。これらの結果から TRAIL 誘導性アポトーシスが短時間で起こる理由の一つとして、Fas 誘導性アポトーシスと異なりミトコンドリア経路を介することが示唆された。

3) TLR3 を介したアポトーシス

以前著者らは SS 患者唾液腺組織における toll-like receptor (TLR) 2-4 の発現を免疫組織学的に検討した²²⁾。TLR3 と PI3K/Akt 経路との関連細胞内シグナル伝達についての検討していた際、唾液腺上皮細胞を、TLR2-4 のリガンドであるペプチドグリカン、poly I:C、リポポリサッカライドで刺激した際、偶然に TLR3 の ligand である poly I:C で唾液腺上皮細胞を刺激したときだけ核の断片化が増加することに気付いた²³⁾。この核の断片化は TUNEL 染色でアポトーシスであることが確認されたが、画像解析により正常コントロールにおける poly I:C 誘導性アポトーシスよりも SS におけるアポトーシスが高頻度であることが明らかとなった。さらに poly I:C による SS 唾液腺上皮細胞刺激により TLR3 発現が増強するだけでなく、Akt, stress-activated protein kinase/Jun-terminal kinase (SAPK/JNK), p44/42 MAP キナーゼのリン酸化を伴うことも明らかとなった。TLR3 による細胞死誘導は肝細胞癌株でも知られており²⁴⁾、現在 TLR3 リガンド刺激後の細胞内会合分子 toll/IL-1 R domain-containing adapter-inducing IFN β (TRIF) や細胞死に至る下流分子発現について、唾液腺組織での発現および機能解析を行っている。

HTLV-I と SS の疫学的な関連について

次に環境因子としての感染症との関連から、ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-I) と SS の関係について述べる。HTLV-I を導入したマウスやラットの系では、関節リウマチに似た関節炎のみならず、唾液腺炎を生じることが報告されてきた。1989 年 Green ら²⁵⁾ が報告した HTLV-I tax transgenic マウスでは、組織学的に唾液腺炎が証明されており、唾液腺および筋組織において Tax 蛋白の発現が観察されている (図 1)。また、Tax をコードする pX 領域

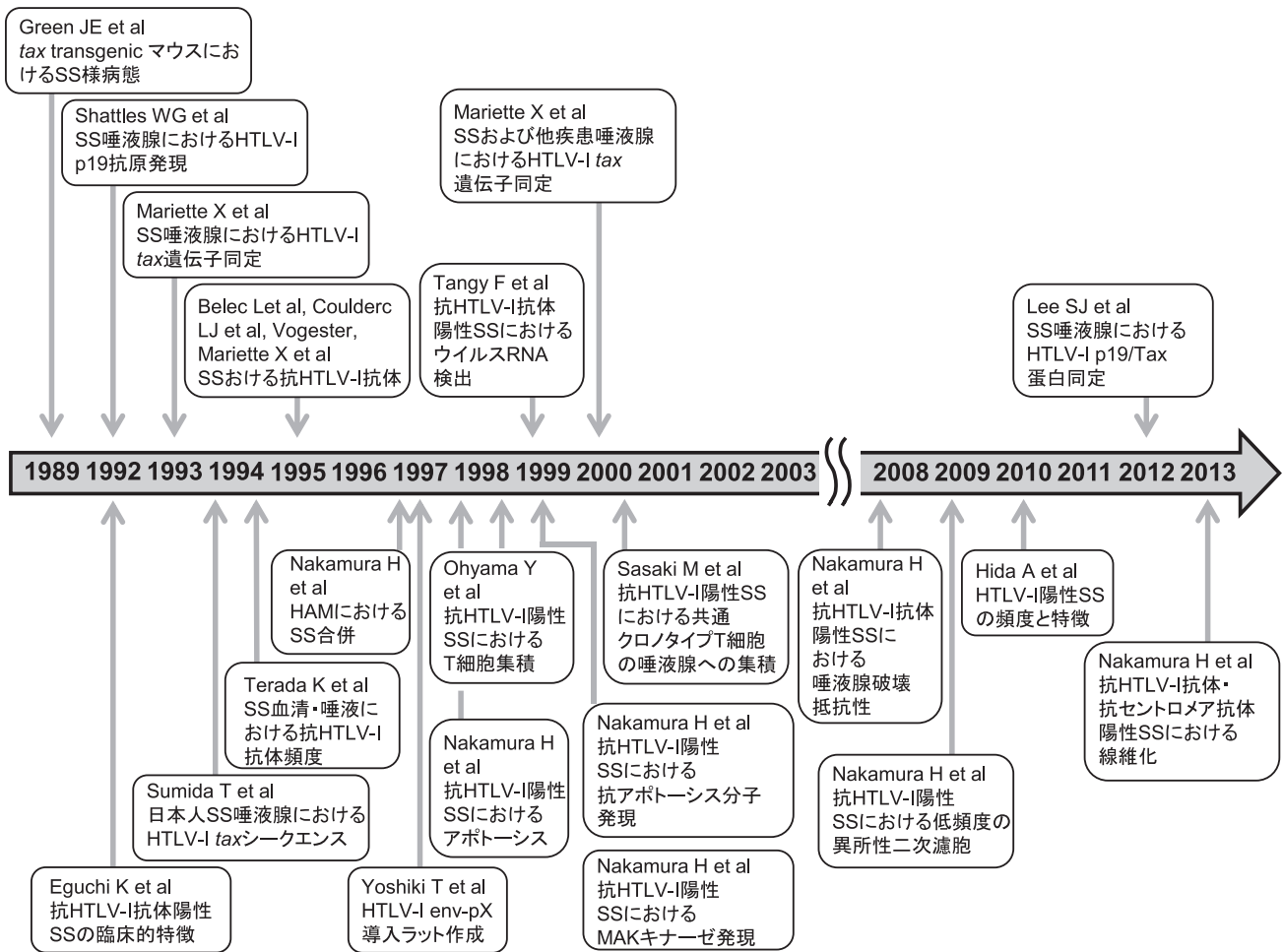


図1 HTLV-I 関連 SS に関する年表

1989年のGreenらの報告以降、多数のHTLV-IとSSとの関連が90年代を中心になされたが、2000年以降の報告は減少してきている。

を含む遺伝子を導入したHTLV-I LTR-env-pX導入ラット²⁶⁾においても、SS類似の唾液腺炎や抗核抗体、自己抗体の出現が報告されHTLV-IとSSの動物モデルでの関連が広く知られるようになった。抗HTLV-I抗体陽性SS患者の臨床的特徴として、ぶどう膜炎や筋症状などの腺外症状が多いことが報告されている²⁷⁾が、疫学的な検討がHTLV-Iの高浸淫地域である長崎市でされた。献血者27,284人中3%にあたる916人が、抗HTLV-I抗体陽性であったのに対し、SS74名中23%にあたる17名が抗HTLV-I抗体陽性であり、統計学的に有意差を認めた²⁸⁾。のちに原子爆弾被爆者血清を用いた同様の検討において、18名のSS患者のうち27.8%が抗HTLV-I抗体陽性であり、非SS群より有意に多い結果となった²⁹⁾。これら二つの疫学調査は、患者背景やサンプリングには違いがあるものの近似したデータが得られており、長崎市地区においてはSSとHTLV-Iの関連が深いことが示された。また、1993年のEuropean Communityによる予備分類基準を用いた検討

では、HTLV-I関連脊髄症(HAM)において高頻度にSSを合併することを報告した³⁰⁾。HTLV-IキャリアとHAMにおいてはプロウイルス量の差異もあり、SSの病態に関与していることも考慮されるが、同時にSS分類基準の変遷もあり、今後、診断基準毎のSS合併頻度のvalidationも行う必要があると思われる。

抗HTLV-I抗体陽性SSの病理学的特徴

前述のアポトーシス関連蛋白については、抗HTLV-I抗体の有無でもその発現を検討しているが、浸潤単核球についてはCD40, Bcl-2ファミリー蛋白、MAPキナーゼまた腺組織においてはX chromosome-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP)発現について検討した³¹⁾が、抗HTLV-I抗体の有無で組織学的な発現に明らかな差異を認めたものは無かった。しかし、病理学的に抗HTLV-I抗体陽性群では単核球浸潤は強いが、唾液腺造影との比較を行うと唾液腺破壊のグレードが有意差を持って低いことが

示され、抗 HTLV-I 抗体陽性 SS の新たな病態と思われた³²⁾。2001 年に Amft ら³³⁾ は SS においては異所性二次濾胞形成が観察され、その形成に B cell-attracting chemokine: BCA-1 (CXCL13) が深く関与していることを示し、同様の報告が相次いだ。異所性二次濾胞が存在する場所は T 細胞および B 細胞に大変富み、唾液腺構造破壊が著明であるため、唾液腺破壊と異所性二次濾胞との関連について検討した。抗 HTLV-I 抗体陰性 SS では 18.8% (6/32 人) に二次濾胞形成があり、従来の報告と変わらないものであったが、抗 HTLV-I 抗体陽性群においては 3.1% (1/32 人) のみに異所性二次濾胞形成が認められ、さらに HAM 合併 SS において二次濾胞は一例も観察されなかった³⁴⁾。これらの結果から示唆されることは、HTLV-I ウイルス量の差が二次濾胞陽性率に関与している可能性があり、抗 HTLV-I 抗体陰性 SS より HTLV-I キャリア SS 唾液腺破壊が少なく、さらに HTLV-I キャリア SS よりも HAM 合併 SS ではさらに唾液腺破壊が少ない可能性がある。これらの推察を証明するためには、今後 HTLV-I 感染が

二次濾胞形成にどのように関与しているか病理組織およびウイルス学的な検討が必要である (図 2)。一方、抗 HTLV-I 抗体と抗セントロメア抗体両者陽性 SS における臨床像および組織学的差異についても検討を行った³⁵⁾。HTLV-I キャリア SS と HAM 合併 SS において、血清の transforming growth factor beta (TGF- β)、TNF- α 、HTLV-I プロウイルス量および唾液腺組織での線維化の程度は HAM 合併 SS 群で有意に高値であった。また HTLV-I 関連蛋白や NF-kappa B の発現も HAM 合併 SS 群で多い傾向を示した。抗 HTLV-I 抗体単陽性群および抗セントロメア抗体単陽性群と比較して両者陽性群では TGF- β 染色の程度が強いことも示され、両者陽性による相乗効果の可能性も示唆された。HAM における制御性 T 細胞の関与は以前より指摘されているが、制御性 T 細胞の分化における TGF- β の役割は重要であり、HAM 合併 SS における線維化や TGF- β の関与の解明については今後の研究が必要である。また近年、成人 T 細胞白血病患者においても SS に類似した強い唾液腺炎を生じる症例が存在³⁶⁾

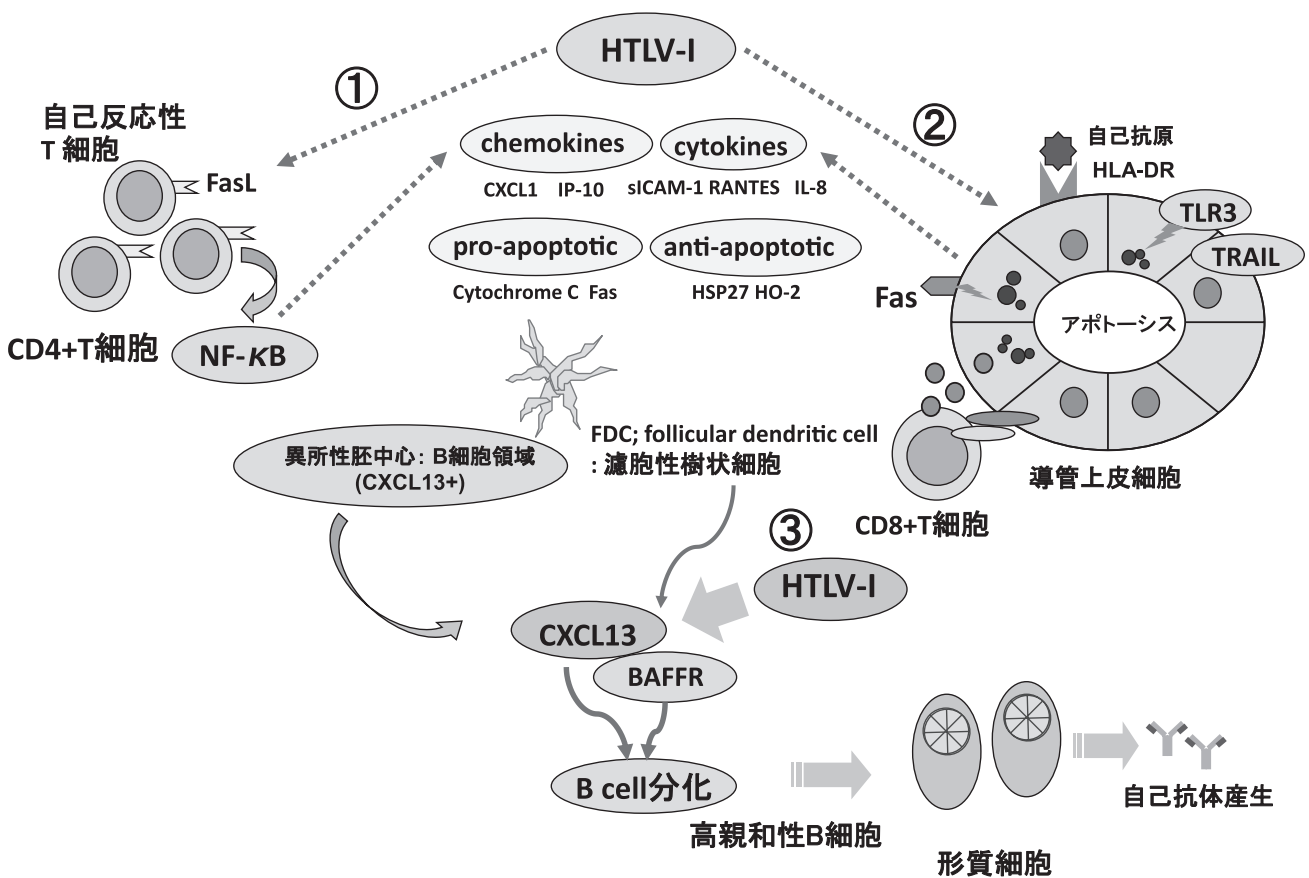


図 2 HTLV-I 関連 SS の発症機序に関する仮説

① HTLV-I に感染した主に CD4 陽性 T リンパ球による間接的な影響と、② HTLV-I が唾液腺上皮細胞に直接感染してサイトカインなどの液性因子に影響を与える、という二つの可能性が *in vitro* においては想定される。また、③ HTLV-I が濾胞性樹状細胞や CXCL13 に影響して二次濾胞形成の頻度に関与している可能性も残る。

することも明らかとなり、今後の症例蓄積が必要である。

SS 唾液腺上皮細胞に対する *in vitro* での HTLV-I の役割

HTLV-I 感染が唾液腺に直接的に感染するのかあるいは、HTLV-I に感染した CD4 陽性 T 細胞から分泌される液性因子の影響を間接的に受けるだけなのか HTLV-I 関連 SS 病態の大きな命題である。この影響を検討するため HAM 患者唾液から樹立された HTLV-I 感染細胞株 HCT-5 と SS 患者より口唇生検にて得られた唾液腺組織から発育した初代培養唾液腺細胞との共培養を行い、培養上清中での液性因子発現の変化について抗体アレイを用いて検討した。共培養 0-96 時間の上清では、経時的に可溶性 intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), interleukin-8, interferon g-induced protein 10kDa; IP-10 (別名 CXCL 10), regulated upon activation および normal T-cell expressed, and secreted (RANTES) などの発現増加がみられた。一方、0-96 時間共培養した唾液腺上皮細胞ライセートにおける抗体アレイでは、チトクローム C, Fas などのアポトーシスを誘導する分子と共に HO-2, HSP-27 など抗アポトーシス蛋白も発現していたが、実際のアポトーシス自体は増加がみられなかった。現在これら HTLV-I 感染による唾液腺の影響について検討を行っている。

おわりに

稿の前半では SS 唾液腺における細胞死調節機構について概説した。しかし、これまで検討してきたアポトーシス誘導分子およびアポトーシス拮抗分子あるいは自然免疫のリガンド等は、SS 唾液腺上皮細胞調節機構の中の一部に過ぎない。SS 唾液腺上皮細胞の生存に関わる分子調節には、遺伝子多型、感染症、エストロゲン等の女性ホルモンの影響も大きく関与していると推察され、さらに様々な自己抗原や制御性 T 細胞, Th17 細胞などの免疫担当細胞とのクロストークが深く関与していると思われる。後半はこれまで当科で検討を継続している HTLV-I 感染と SS の関連について概説および現在行っている研究内容について述べた。SS 全体からすれば HTLV-I が関与する割合は低いと思われるが、ウイルスの持続感染により免疫異常が成立・持続することを考えると、自己抗原と自己反応性 T 細胞を中核とした獲得免疫のみならず自然免疫の関与も無視

できないと思われる。今後はレトロウイルス感染などの環境因子を背景に獲得免疫および自然免疫がどのようにかかわって SS 発症に影響を与えるか広く検討してゆく予定である。

文 献

- 1) Nakamura, H., et al.: Mechanisms of autoantibody production and the relationship between autoantibodies and the clinical manifestations in Sjögren's syndrome. *Transl Res.* **148**: 281-288, 2006.
- 2) Li, Y., et al.: A genome-wide association study in Han Chinese identifies a susceptibility locus for primary Sjögren's syndrome at 7q11.23. *Nat Genet.* **45**: 1361-1365, 2013.
- 3) Sarigul, M., et al.: The numbers of Foxp3+ Treg cells are positively correlated with higher grade of infiltration at the salivary glands in primary Sjögren's syndrome. *Lupus.* **19**: 138-145, 2010.
- 4) Lin, X., et al.: Th17 cells play a critical role in the development of experimental Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2014. Epub ahead of print.
- 5) Inoue, H., et al.: Possible involvement of EBV-mediated alpha-fodrin cleavage for organ-specific autoantigen in Sjogren's syndrome. *J Immunol.* **166**: 5801-5809, 2001.
- 6) Lucchesi, D., et al.: EBV and other viruses as triggers of tertiary lymphoid structures in primary Sjögren's syndrome. *Expert Rev Clin Immunol.* 2014. Epub ahead of print.
- 7) Fleck, M., et al.: Murine cytomegalovirus induces a Sjögren's syndrome-like disease in C57Bl/6-lpr/lpr mice. *Arthritis Rheum.* **41**: 2175-2184, 1998.
- 8) García-Carrasco, M., et al.: Hepatitis C virus infection in 'primary' Sjögren's syndrome: prevalence and clinical significance in a series of 90 patients. *Ann Rheum Dis.* **56**: 173-175, 1997.
- 9) Nakamura, H., et al.: Apoptosis in labial salivary glands from Sjögren's syndrome (SS) patients: comparison with human T lymphotropic virus-I (HTLV-I)-seronegative and -seropositive SS patients. *Clin Exp Immunol.* **114**: 106-112, 1998.
- 10) Ohlsson, M., et al.: Fas-induced apoptosis is a rare event in Sjögren's syndrome. *Lab Invest.* **81**: 95-105, 2001.
- 11) Nakamura, H., et al.: Detection of soluble form of Fas ligand (sFasL) and sFas in the saliva from patients with Sjögren's syndrome: Positive correlation between sFas ligand concentration in the saliva and radiographic salivary gland destruction. *Clin Exp Rheumatol.* **23**: 915, 2005.

- 12) Kayagaki, N., et al.: Metalloproteinase-mediated release of human Fas ligand. *J Exp Med.* **182**: 1777–1783, 1995.
- 13) Pérez, P., et al.: Increased acinar damage of salivary glands of patients with Sjögren's syndrome is paralleled by simultaneous imbalance of matrix metalloproteinase 3/tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and matrix metalloproteinase 9/tissue inhibitor of metalloproteinases 1 ratios. *Arthritis Rheum.* **52**: 2751–2760, 2005.
- 14) Asatsuma, M., et al.: Increase in the ratio of matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in saliva from patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Chim Acta.* **345**: 99–104, 2004.
- 15) Tsubata, T., et al.: B-cell apoptosis induced by antigen receptor crosslinking is blocked by a T-cell signal through CD40. *Nature.* **364**: 645–648, 1993.
- 16) Nakamura, H., et al.: Expression of CD40/CD40 ligand and Bcl-2 family proteins in labial salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *Lab Invest.* **79**: 261–269, 1999.
- 17) Nakamura, H., et al.: Expression of mitogen activated protein kinases in labial salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* **58**: 382–385, 1999.
- 18) Soejima, K., et al.: Activation of MKK4 (SEK1), JNK, and c-Jun in labial salivary infiltrating T cells in patients with Sjögren's syndrome. *Rheumatol Int.* **27**: 329–333, 2007.
- 19) Nakamura, H., et al.: Epidermal growth factor inhibits Fas-mediated apoptosis in salivary epithelial cells of patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* **25**: 831–837, 2007.
- 20) Nakamura, H., et al.: EGF activates PI3K-Akt and NF- κ B via distinct pathways in salivary epithelial cells in Sjögren's syndrome. *Rheumatol Int.* **28**: 127–136, 2007.
- 21) Nakamura, H., et al.: Rapid and significant induction of TRAIL-mediated type II cells in apoptosis of primary salivary epithelial cells in primary Sjögren's syndrome. *Apoptosis.* **13**: 1322–1330, 2008.
- 22) Kawakami, A., et al.: Toll-like receptor in salivary glands from patients with Sjögren's syndrome: functional analysis by human salivary gland cell line. *J Rheumatol.* **34**: 1019–1026, 2007.
- 23) Nakamura, H., et al.: TLR3-mediated apoptosis and activation of phosphorylated Akt in the salivary gland epithelial cells of primary Sjögren's syndrome patients. *Rheumatol Int.* **33**: 441–450, 2013
- 24) Khvalevsky, E., et al.: TLR3 signaling in a hepatoma cell line is skewed towards apoptosis. *J Cell Biochem.* **100**: 1301–1312, 2007.
- 25) Green, J.E., et al.: Exocrinopathy resembling Sjögren's syndrome in HTLV-1 tax transgenic mice. *Nature.* **341**: 72–74, 1989.
- 26) Yamada, S., et al.: Cytokine-producing mammary carcinomas in transgenic rats carrying the pX gene of human T-lymphotropic virus type I. *Cancer Res.* **55**: 2524–2527, 1995.
- 27) Eguchi, K., et al.: Primary Sjögren's syndrome with antibodies to HTLV-I: clinical and laboratory features. *Ann Rheum Dis.* **51**: 769–776, 1992.
- 28) Terada, K., et al.: Prevalence of serum and salivary antibodies to HTLV-1 in Sjögren's syndrome. *Lancet.* **344**: 1116–1119, 1994.
- 29) Hida, A., et al.: Association of human T lymphotropic virus type I with Sjögren syndrome. *Ann Rheum Dis.* **69**: 2056–2057, 2010.
- 30) Nakamura, H., et al.: High prevalence of Sjögren's syndrome in patients with HTLV-I associated myelopathy. *Ann Rheum Dis.* **56**: 167–172, 1997.
- 31) Nakamura, H., et al.: Expression and function of X chromosome-linked inhibitor of apoptosis protein in Sjögren's syndrome. *Lab Invest.* **80**: 1421–1427, 2000.
- 32) Nakamura, H., et al.: HTLV-I infection results in resistance toward salivary gland destruction of Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* **26**: 653–655, 2008.
- 33) Amft, N., et al.: Ectopic expression of the B cell-attracting chemokine BCA-1 (CXCL13) on endothelial cells and within lymphoid follicles contributes to the establishment of germinal center-like structures in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* **44**: 2633–2641, 2001.
- 34) Nakamura, H., et al.: Low prevalence of ectopic germinal centre formation in patients with HTLV-I-associated Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford).* **48**: 854–855, 2009.
- 35) Nakamura, H., et al.: HTLV-I virological and histopathological analysis in two cases of anti-centromere-antibody-seropositive Sjögren's syndrome. *Mod Rheumatol.* **23**: 133–139, 2013.
- 36) Nakamura, H., et al.: A case of adult T-cell leukemia presenting primary Sjögren's syndrome like symptoms. *Int J Rheum Dis.* **16**: 489–492, 2013.