総 説

シェーグレン症候群における唾液腺組織障害の分子機構

小 川 法 良, 下山久美子, 河 南 崇 典

Molecular mechanisms of salivary gland destruction in patients with Sjögren's syndrome

Noriyoshi OGAWA, Kumiko SHIMOYAMA and Takafumi KAWANAMI

Department of Hematology and Immunology, Kanazawa Medical University

(Received December 28, 2004)

summary

IFN γ plays an important role to induce several functional molecules on salivary epithelial cells, including class II MHC, Fas and CD40 in salivary glands from patients with Sjögren's syndrome (SS). IFN γ also contributes to the development of lymphocytic infiltrates by inducing T cell attracting chemokines in SS salivary epithelial cells, such as IP-10 (CXCL10), Mig (CXCL9), and I-TAC (CXCL11). IFN γ dysregulation in SS salivary gland may attribute to the decreased production of TGF β from salivary epithelial cells in some patients. Expression of Fas and CD40 was significantly higher in SS salivary epithelial cells than in normal cells after IFN γ stimulation. Although neither anti-Fas (CH11) nor anti-CD40 mAb alone could induce typical apoptosis, the two together and preincubation with IFN γ efficiently induced apoptosis in SS salivary epithelial cells. This apoptosis was almost completely blocked by neutralizing anti-Fas mAb (ZB4). c-FLIP, an important inhibitory molecule in the Fas death pathway, was strongly expressed in SS salivary epithelial cells, but its expression was downregulated, at the protein level, by anti-CD40 mAb. CD40 signals promote Fas-dependent death of SS salivary epithelial cells by downregulating c-FLIP expression. The presence of c-FLIP in these cells may explain their resistance to undergo apoptosis in response to either anti-Fas or anti-CD40 mAb, despite their surface expression of both proteins. These findings suggest that SS salivary epithelial cell death requires the cooperation of Fas and CD40.

Key words—cytokine; chemokine; apoptosis; Fas; CD40

抄 録

シェーグレン症候群 (SS) 唾液腺において産生されるサイトカインでは浸潤リンパ球由来の IFN γ が重要であると考えられ, class II MHC, Fas, CD40 など様々な機能分子を上皮細胞に発現誘導する. 一部の患者では IFN γ の過剰産生の理由として上皮細胞から産生される TGF β の産生減少が関与していることが示唆された. また SS 唾液腺において産生される主な T 細胞遊走性ケモカインは IFN γ により唾液腺上皮細胞に誘導される IP-10 (CXCL10), Mig (CXCL9), I-TAC (CXCL11) であった. SS 唾液腺においては上皮細胞が Fas を発現し, 浸潤リンパ球の一部が FasL を発現している. SS 唾液腺培養上皮細胞は IFN γ 刺激により Fas 発現が増大するが, この状態で抗 Fas 抗体を作用させても細胞死は誘導されなかった. 同時に発現が増大する CD40 に対する抗体を抗 Fas 抗体とともに添加すると効率的に細胞死が誘導された. この細胞死はアポトーシスであり, 抗 Fas 中和抗体にて抑制されるため, 主に Fas 経路を介するものであると考えられた. CD40 からの刺激は恒常的に発現している細胞死抑制蛋白である c-FLIP 発現を抑制することにより, Fas の経路を促進していることが示唆された.

はじめに

シェーグレン症候群 (SS) は代表的自己免疫疾患の一つであり, ヒトのリウマチ性疾患の中では関節リウマチについて患者数が多く, まれな疾患ではない¹⁾. 臨床的には涙腺, 唾液腺における慢性炎症

によってドライアイ, ドライマウスを生じ, QOL の低下をきたす. 症例によっては, 胆汁性肝硬変, 腎尿細管性アシドーシスなど多彩な臓器病変を呈する²⁾. 他のリウマチ性疾患同様, 未だその病因, 病態は不明である.

病因, 病態に基づいた SS に対する特異的治療は今のところ存在しないが, 本症候群の主な症状である口腔乾燥症状に対しては副交感神経刺激薬である

塩酸セビメリンを主とする対症的治療がなされ^{3,4)}、一部の重篤な腺外症状に対しては副腎皮質ステロイド剤や免疫抑制剤が投与される⁵⁾。しかしながら腺機能がほとんど廃絶した乾燥症状に対する決定的な治療は存在せず、悪性リンパ腫の発症頻度が健常人にくらべて有意に高率であるため免疫抑制療法が施行しにくいなどの問題点を持っている⁶⁾。

SS 唾液腺における顕著な病理学的変化はリンパ球からなる細胞浸潤の存在である。これまでは慢性炎症、すなわち浸潤細胞が上皮細胞障害をもたらす唾液腺機能低下が進行するものと考えられてきた。しかしながら唾液腺機能障害のメカニズムは、従来考えられていたより複雑であり、また多因子による可能性が指摘されるようになってきている。代表的なものをあげるだけでも、炎症性細胞浸潤による機序のほか、サイトカインのバランス異常⁷⁾、M3 ムスカリン受容体に対する自己抗体の存在や受容体の反応性低下⁸⁾、アクアポリンの分布異常⁹⁾、matrix metalloproteinase (MMP) による腺構造の破壊などが指摘されている¹⁰⁾。

著者らは現在までに SS 唾液腺における病理学的変化を解明するために、サイトカイン、ケモカイン、アポトーシスについて解析を進めてきた。本稿では、自験結果を中心に現在までに判明している SS 唾液腺組織障害の分子機構を概説する。

1. サイトカイン

SS 唾液腺におけるサイトカイン産生についてはこれまでに多くの報告がなされているが^{11~18)}、見解の一致がみられていない。この理由として、国際的に通用する診断基準を欠くことによる対象患者の相違、対象臓器の相違（大唾液腺と小唾液腺）、サイトカインの検出手法の相違、またステロイド剤等の治療などが結果に影響を与えている可能性が示唆される。著者らの検討では¹³⁾、口唇小唾液腺を用いた RT-PCR 法による解析にて IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-10、IFN γ 、TGF β などの mRNA が発現しており、中でも IL-2、IL-6、IL-10 の発現率は focus score の増大に伴って増加していた。一方、TGF β は focus score の増大につれて mRNA 発現が低下する傾向が認められた。さらに ELISA 法を用いた唾液腺上皮細胞の培養上清中の蛋白レベルでの解析により、TGF β は focus score の高い例で産生が減少していた。TGF β は免疫組織染色において主に上皮細胞が産生していることが示され、同様に

図1 IFN γ 刺激培養唾液腺上皮細胞による IL-6 および TGF β の産生

SS 5 例、正常 3 例における検討結果を示す。SS および正常唾液腺上皮細胞を IFN γ (1000 U/ml) の存在下で 6 日間培養し、上清中のサイトカインレベルを ELISA 法にて測定した。SS において高 IL-6 産生を示す例を認め、そのような例では TGF β 産生が減少している傾向が認められた。

focus score の増大とともに同部位での発現が低下していた。近年、新たに開発した無血清培養法を用いて改めて培養唾液腺上皮細胞を検討した結果、SS 唾液腺上皮細胞は IFN γ 刺激により大量の IL-6 産生を示し、これとは逆に TGF β の産生が減少している傾向が認められた (図 1)。

SS 唾液腺における TGF β 発現低下の意義を検討するため、TGF β 1 ノックアウトマウスの解析を行った。TGF β 1 ノックアウトマウスは生後数週間唾液腺を含む全身の諸臓器に炎症を生じ、wasting syndrome を呈して死に至る¹⁹⁾。まず、TGF β 1 ノックアウトマウスにおいて、その血清中に抗 DNA 抗体等の自己抗体の産生が認められることを、ELISA 法およびウエスタンブロット法で確認した²⁰⁾。次に、このマウスの唾液腺において IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IFN γ などのサイトカインや ICAM-1、VCAM-1 などの接着因子、class II MHC 抗原の異常発現を見いだした²¹⁾。TGF β 1/class II MHC ダブルノックアウトマウスでは、これらのサイトカイン、接着因子の発現やリンパ球浸潤が認められない²¹⁾ことより、TGF β 1 の欠損が唾液腺における class II MHC 抗原の異常発現を惹起し、炎症性病変を引き起こす可能性が示唆された。

現在、著者らは SS 唾液腺において産生されるサイトカインとして浸潤リンパ球からの IFN γ が重要と考えている。IFN γ は唾液腺上皮細胞に class II

MHC²²⁾, Fas および CD40²³⁾, 副刺激分子²⁴⁾, iNOS²⁵⁾ など病態に関わる主要な分子の発現を増大させ、後述のごとく、上皮細胞のアポトーシス誘導にも密接に関連している。SS 唾液腺において IFN γ が異常発現する理由の一つに上皮細胞からの TGF β 産生減少が関与している可能性が考えられる。実際、TGF β 産生減少は IFN γ の細胞内伝達系を促進することが報告されており病因を考えるうえで興味深い²⁶⁾。TNF については阻害療法が効果を示さないことから²⁷⁾、少なくとも SS 唾液腺における役割は中心的なものではないと考えられる。

以上より、SS 唾液腺におけるサイトカインについては IFN γ 等の炎症性サイトカインと TGF β 等の抗炎症性サイトカインのバランスに異常を来している可能性が示唆される。すなわち SS においては自己抗原に反応したリンパ球が IFN γ 等の炎症性サイトカインを産生しやすく、一方、上皮細胞は TGF β 等の抗炎症性サイトカインを産生しにくいという背景の両方またはどちらか一方を持っていることが示唆される。これにより、自己抗原の class II MHC 上への抗原提示が促進されたり、炎症が終息せず持続してしまう可能性があるのではないかと推察している。

2. ケモカイン

SS 唾液腺に生じる細胞浸潤は初期には T 細胞優位であり、病期の進展とともに B 細胞が増加する。マクロファージや NK 細胞はまれである。SS 唾液腺における細胞浸潤の形成にはサイトカインや接着因子が関与していることが知られているが、その詳細なメカニズムは不明である。炎症性細胞浸潤形成にはケモカインが重要な役割を果たしている。SS の病変局所におけるケモカインに関する研究は既にいくつか報告されている^{28~32)}。著者らは 4 種類の T 細胞遊走性ケモカイン、IP-10 (CXCL10), Mig (CXCL9), SDF-1 (CXCL12), I-TAC (CXCL11) について検討した^{33~35)}。

口唇小唾液腺組織より RNA を分離し、RT-PCR 法にて上述のケモカイン mRNA の発現を解析したところ、SS 唾液腺において IP-10, Mig, I-TAC の強い発現が認められた^{34,35)}。一方、SDF-1 の発現は SS および正常唾液腺において同程度であった。

次に免疫組織染色法を用いて、SS 唾液腺におけるこれらケモカイン産生細胞の同定を行った (図 2a, b, c)。SS 唾液腺では導管上皮細胞が IP-10,

Mig, I-TAC を強く発現していた。これらのケモカインはとりわけ周囲に強い細胞浸潤を伴っている導管に強く発現していた。

同様に、IP-10, Mig, I-TAC に対するレセプターである CXCR3、および SDF-1 に対するレセプターである CXCR4 の SS 唾液腺における発現を免疫組織染色法により検討したところ、唾液腺浸潤細胞は細胞浸潤の強い部位 (dense foci) では大部分が CXCR3 陽性であり、比較的浸潤がまばらな部位では CXCR4 陽性細胞が多数を占めていた (図 2d, e)。CXCR3 陽性細胞はほとんどが CD3 陽性 T 細胞であった。

以上より、SS 唾液腺においては、導管上皮細胞が IP-10, Mig, I-TAC を産生し、これに対して CXCR3 を発現した活性化 T 細胞が集簇し、細胞浸潤を形成するメカニズムが示唆された。

周囲に細胞浸潤を伴う導管に強いケモカインの発現が認められたことより、導管周囲の浸潤細胞から何らかのケモカイン産生促進因子が分泌されている可能性が考えられた。これを調べるため、唾液腺上皮細胞を IFN γ 存在、非存在下で 12 時間培養し、RT-PCR 法にてケモカイン mRNA の発現を解析したところ、IFN γ は SS、正常唾液腺上皮細胞の両者に IP-10, Mig, I-TAC の発現を誘導した^{34,35)}。

また IFN γ 非存在下では SS、正常唾液腺上皮細胞ともにケモカイン (IP-10, Mig, I-TAC) の産生を認めなかったが、IFN γ を添加するとこれら 3 種類のケモカインの培養上清中への産生が認められた^{34,35)}。興味深いことに、IFN γ 誘導性ケモカインの mRNA 発現は SS、正常唾液腺上皮細胞間で差を認めなかったのにも拘わらず、上清中のケモカイン産生は SS 唾液腺上皮細胞において亢進していた。IFN γ 以外に SS 唾液腺上皮細胞にこれらのケモカインを誘導するサイトカインがあるかどうかを検討するために、SS 唾液腺における発現が報告されている IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF α および TGF β を用いて、IP-10, Mig, I-TAC 発現に与える影響を RT-PCR 法にて解析したが、IFN γ 以外では TNF α が IP-10 の発現を誘導したのみであり^{34,35)}、ここでも SS 唾液腺における IFN γ の重要性が示唆されている。

以上より、SS 唾液腺における IP-10, Mig, I-TAC などの T 細胞遊走性ケモカインの産生には IFN γ が重要な役割を果たしていることが示唆され、SS 唾液腺上皮細胞は IFN γ に対するケモカイン産

図2 SS唾液腺における(a) IP-10, (b) Mig, (c) I-TAC, (d) CXCR3, (e) CXCR4の発現
免疫組織染色法によりいずれのケモカインも周囲にリンパ球浸潤が著明な導管上皮細胞に発現が認められた。一方, dense fociでは主に CXCR3 陽性細胞が多く, まばらな部位では CXCR4 陽性細胞を多く認めた。

生反応が亢進しており, これは上皮細胞の活性化を反映する所見ではないかと推察している。

また著者らはリンパ球のケモカインレセプター発現に対する $\text{IFN}\gamma$ の影響について検討した³⁴⁾。分離した末梢血リンパ球を $\text{IFN}\gamma$ とともに 12 時間培養し, CXCR3 および CXCR4 発現を RT-PCR 法にて検討したところ, $\text{IFN}\gamma$ は CXCR3 の発現を増大させたが, CXCR4 の発現は誘導しなかった。この CXCR3 mRNA 発現の増大は細胞表面の CXCR3

発現の増大を引き起こした³⁴⁾。発現した CXCR3 は機能的であることが遊走能実験にて確認されている。すなわち, $\text{IFN}\gamma$ は T 細胞遊走性ケモカインを導管上皮細胞に誘導するだけでなく, リンパ球にこれらケモカインに対するレセプターである CXCR3 の発現を誘導することが判明した。

3. アポトーシス

アポトーシスは元来形態学的に定義された概念で

あり、細胞壊死（ネクローシス）と対照的な細胞死の様式である。アポトーシスに陥った細胞は収縮し、核が濃縮、断片化する。断片化した核は細胞膜に包まれ、アポトーシス小体を形成し、食細胞により処理される。この過程は一連の遺伝子により制御され、エネルギーを消費し能動的に遂行される。ネクローシスと異なり原則的に炎症を惹起しないという性質により、生体内の細胞環境のホメオスターシスを維持する重要なメカニズムである。胸腺における自己反応性 T 細胞の選択的除去（ネガティブセレクション）はアポトーシスによって行われる事実により示されるごとく、自己免疫疾患の病因、病態に深く関わっている^{36,37)}。

SS の病変局所および末梢血リンパ球におけるアポトーシスに関する研究は著者らを含め、数多く報告されている^{38~53)}。ここでは主に SS 唾液腺組織および上皮細胞におけるアポトーシスにつき、著者らの成績を中心に述べる。

SS 唾液腺組織におけるアポトーシスについて調べるために、アポトーシス細胞を Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) 法により検出した³⁸⁾。SS においては唾液腺浸潤リンパ球のうち、アポトーシスに陥った細胞は散在性の細胞浸潤部位で多く、細胞浸潤の強い部位（dense foci）では少なかった。腺細胞においては、導管上皮及び腺房細胞にアポトーシス細胞を認めた。正常唾液腺組織では、導管上皮にのみ少数のアポトーシス細胞を認め、これは正常の上皮細胞の turnover を反映する所見と考えられた。

免疫組織染色により Fas/FasL の発現を検討したところ³⁸⁾、浸潤リンパ球の大部分及び導管上皮、腺房細胞が Fas を発現していた。Fas の染色性は上皮より浸潤リンパ球の方が強く、また Fas 陽性の導管細胞は dense foci の近傍に認められる傾向があった。FasL は浸潤リンパ球の一部に発現を認めた。正常唾液腺組織では腺房細胞が Fas 陽性であり、FasL の発現は認めなかった。

また Bcl-2 の発現について免疫組織染色により解析を行った³⁹⁾。SS 唾液腺では大部分の浸潤リンパ球が Bcl-2 陽性であり、導管細胞にも Bcl-2 陽性細胞が認められた。正常唾液腺組織では組織中及び血管内に存在した少数の単核細胞が Bcl-2 陽性であった。

以上をまとめると、SS 唾液腺においては 1) 上皮細胞にアポトーシスが認められ、浸潤リンパ球で

(a) Fas expression

(b) CD40 expression

図3 培養唾液腺上皮細胞における IFN γ による (a) Fas および (b) CD40 発現の誘導

SS 15 例、正常 10 例にて検討した結果を示す。唾液腺上皮細胞を IFN γ (1000 U/ml) の存在および非存在下で 72 時間培養し、フローサイトメトリー法にて Fas および CD40 陽性細胞 (%) の検討を行った。IFN γ は SS および正常唾液腺上皮細胞において両者の発現を有意に増強した (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs IFN γ -群)。また Fas 発現は IFN γ の有無にかかわらず SS において正常と比べて増大しており (ともに # $P < 0.05$)、CD40 発現は IFN γ 刺激時において正常と比べて有意に増大していた (# $P < 0.05$)。Control: 一次抗体 (isotype-matched) を用いた陰性コントロール。

は特に dense foci の部位でアポトーシス細胞が少ないこと、2) 導管上皮、腺房細胞および浸潤リンパ球が Fas を発現しており、FasL は浸潤リンパ球の一部が発現していること、3) 大部分の浸潤リンパ球が Bcl-2 を発現していることが判明した。これらより SS 唾液腺上皮細胞障害の一因として Fas/FasL を介するアポトーシスが考えられること、ま

図4 抗 Fas 抗体および抗 CD40 抗体を用いた IFN γ 刺激唾液腺上皮細胞におけるアポトーシス誘導

SS 唾液腺培養上皮細胞を a) 培養液のみ, b) IFN γ (1000 U/ml) で 72 時間刺激後, 抗 Fas 抗体 (CH11, 1 μ g/ml) を添加し 24 時間, c) IFN γ (1000 U/ml) で 72 時間刺激後, 抗 Fas 抗体 (CH11, 1 μ g/ml) および抗 CD40 抗体 (5C3, 1 μ g/ml) を添加し 24 時間, d) IFN γ (1000 U/ml) で 72 時間刺激後, まず抗 Fas 中和抗体 (ZB4, 5 μ g/ml) を添加し, 1 時間後に抗 Fas 抗体 (CH11, 1 μ g/ml) および抗 CD40 抗体 (5C3, 1 μ g/ml) を添加し 24 時間培養, 細胞を May Grunwald Giemsa 染色して検鏡によりアポトーシス細胞の解析を施行した。

IFN γ 刺激 SS 唾液腺上皮細胞に抗 Fas 抗体 (CH11) と抗 CD40 抗体を同時添加した c) にのみアポトーシスが誘導されており, d) では抗 Fas 中和抗体の添加によりアポトーシスが抑制されている。

た Fas 陽性の活性化した唾液腺浸潤リンパ球が Bcl-2 によりアポトーシスを回避して生存し, 病態の形成, 進展に関与していることが示唆された。

以上の知見を踏まえ, SS 唾液腺上皮細胞のアポトーシス機構をさらに解析するために口唇小唾液腺生検組織より得た培養唾液腺上皮細胞を用いて in vitro における上皮細胞のアポトーシスの検討を行った²³⁾。

まず IFN γ を用いて培養上皮細胞を刺激し, 細胞死に関与する可能性のある細胞表面機能分子の発現を検討した。その結果, SS 唾液腺上皮細胞は無刺激の状態で Fas を発現しており, IFN γ 刺激は Fas 発現をさらに増強した。Fas 発現は IFN γ の刺激, 非刺激にかかわらず正常細胞より有意に増大していた ($P < 0.05$, 図 3a)。また細胞表面機能分子のうち, CD40 は IFN γ 刺激により発現が有意に増大し

た (図 3b)。結果は割愛するが, IFN γ 刺激により CD80 および CD86 発現は著変を認めなかった。

IFN γ 刺激により SS 唾液腺上皮細胞の Fas 発現が増大することが判明したため, この状態において抗 Fas 抗体 (CH11) を添加し, アポトーシスが誘導されるかどうか検討した (図 4, 5)。意外なことに細胞表面に充分量の Fas を発現しているにもかかわらず, この条件下では SS 唾液腺上皮細胞にアポトーシスは誘導されなかった (図 4b)。そこで SS 唾液腺上皮細胞のアポトーシスに Fas 以外の分子が関与している可能性を考慮し, IFN γ 刺激にて発現が増大する CD40 に対する抗体 (5C3) を抗 Fas 抗体と同時に IFN γ 刺激 SS 唾液腺上皮細胞に添加した。その結果, 多くの上皮細胞にアポトーシスが誘導された (図 4c)。IFN γ 非刺激の SS 唾液腺上皮細胞に抗 Fas 抗体と抗 CD40 抗体を同時に添

加してもアポトーシスは誘導されなかった。

CD40 は B リンパ球上に発現している細胞表面機能分子の一つであり、主に細胞死を抑制するシグナル伝達に関与している。CD40 は種々の上皮細胞にも発現が認められており、未だその機能は充分解明されていないが、例えば肝細胞では細胞死を誘導するシグナル伝達に関与すると報告されている⁵⁴⁾。

SS 唾液腺上皮細胞死に Fas または CD40 のどちらのシグナルがより重要であるかを決定するために Fas に対する中和抗体 (ZB4) を用いて検討した。その結果、ZB4 は IFN γ 刺激 SS 唾液腺上皮細胞に抗 Fas 抗体と抗 CD40 抗体を添加して誘導されるアポトーシスをほぼ完全に抑制した (図 4d)。この結果より SS 唾液腺上皮細胞に誘導される細胞死が主に Fas を介することおよび CD40 を介するシグナルは Fas のシグナルを促進することにより作用していることが示唆された。以上の結果は DNA fragmentation assay にても確認された (図 5)。

Fas を介した死の経路にはさまざまな細胞死調節分子が関与している。これら分子を検討したところ、IFN γ 刺激 SS 唾液腺上皮細胞に抗 CD40 抗体を作用させると細胞死抑制蛋白である cellular FLICE-inhibitory protein (c-FLIP) の発現が抑制されるこ

図 5 抗 Fas 抗体および抗 CD40 抗体を用いた IFN γ 刺激唾液腺上皮細胞におけるアポトーシス誘導 (DNA fragmentation assay)

図 4 と同様のサンプルを DNA fragmentation assay により検討した。IFN γ 刺激した SS 唾液腺上皮細胞を抗 Fas 抗体 (CH11, 1 μ g/ml) および抗 CD40 抗体 (5C3, 1 μ g/ml) にて処理した細胞のみに (lane 3) に明瞭な DNA ladder を認める。

とが判明した (図 6)。c-FLIP は dominant negative 効果により caspase-8 が death-inducing signaling complex (DISC) に結合することを阻害することにより Fas シグナルを抑制する。c-FLIP が唾液腺上皮細胞に構成的に発現していることは既に報告されており⁵⁵⁾、興味深い知見である。

SS 唾液腺上皮細胞と正常唾液腺上皮細胞は Fas および CD40 発現量の違いが認められたが、in vitro の系では同じ条件下においてアポトーシス誘導に顕著な違いは認められなかった。正常唾液腺にはリンパ球浸潤がなく、すなわち IFN γ 等のサイトカインや Fas, CD40 に対するリガンドを持った細胞が存在しないため上皮細胞のアポトーシスが誘導されないと考えられる。

おわりに

以上より、現時点における SS 唾液腺組織障害の分子機構の一つの仮説として以下が想定される (図 7a, b)。CXCR4 陽性のナイーブ T 細胞は血管内皮細胞などに発現する SDF-1 との相互作用を介して、唾液腺内を巡回し免疫学的監視を行っている。何らかの機序により唾液腺導管上皮細胞に自己抗原が発現され、これを自己反応性 T 細胞が認識することにより自己免疫反応が開始される。自己抗原認識により活性化した一部の T 細胞が IFN γ を分泌し、導管上皮細胞に HLA-DR 発現を誘導し、また IP-10, Mig, I-TAC を産生させる。同時に IFN γ は T 細胞自身に作用し、CXCR3 の発現を増強させる。

図 6 抗 CD40 抗体による IFN γ 刺激唾液腺上皮細胞における c-FLIP 発現抑制

SS 唾液腺培養上皮細胞を 1) 培養液のみ、2) IFN γ (1000 U/ml) で 72 時間刺激、3)–6) は IFN γ (1000 U/ml) で 72 時間刺激後、抗 CD40 抗体 (5C3, 1 μ g/ml) を 3) 12 時間、4) 24 時間、5) 48 時間、6) 72 時間培養しウエスタンブロット法にて c-FLIP, FADD および Bcl-xL 蛋白の発現を検討した。

抗 CD40 抗体刺激後、時間経過とともに c-FLIP の発現抑制が認められる。同時に解析した FADD および Bcl-xL 発現は著変を認めない。

図 7a, b SS 唾液腺組織障害の分子機構 (仮説)
説明は本文参照.

IFN γ の産生には上皮細胞からの TGF β の産生減少が関与しているものと考えられる. このようにしてサイトカインとケモカインの相互作用により, 細胞浸潤が持続的に形成される (図 7a).

一方, 浸潤リンパ球より分泌された IFN γ により上皮細胞は Fas および CD40 を細胞表面上に発現する. ここに FasL および CD40L を発現した活性化 T 細胞が結合すると CD40 からの刺激が c-FLIP 発現を抑制し, 上皮細胞に Fas を介するアポトー

シスが誘導される (図 7b). CD40 からのシグナルが c-FLIP 発現を抑制するメカニズムは今のところ不明である. 著者らの検討では, 上皮細胞にこれらのリガンドは発現しないことが示されており, 上皮細胞同士が相互作用することによってアポトーシスが誘導される可能性は低いと考えている.

将来的には上述の分子機構が解明され, 新しい SS に対する治療が開発されることが望ましい. 一方では唾液腺機能が廃絶した症例に対する対策が急

務であり、現在著者らは唾液腺の再生医療の可能性を模索している。

文 献

- 1) 小川法良, 菅井 進: リウマチ性疾患の疫学像, シェーグレン症候群. リウマチ科 **24**: 254-261, 2000.
- 2) 小川法良, 菅井 進: 膠原病と合併症, シェーグレン症候群. 総合臨床 **51**: 2149-2154, 2002.
- 3) 小川法良, 菅井 進: シェーグレン症候群の新治療薬, アセチルコリンレセプター刺激薬. リウマチ科 **24**: 451-453, 2000.
- 4) 小川法良, 下山久美子, 唐澤博美, 他: シェーグレン症候群患者の口腔乾燥症状に対する塩酸セビメリンの有用性の検討. 日本臨床免疫学会雑誌 **27**: 330-337, 2004.
- 5) 小川法良: シェーグレン症候群. —診断のポイントとベストの治療ガイドライン—. 内科 **93**: 254-258, 2004.
- 6) 小川法良: Sjögren 症候群の治療. 内科 **89**: 288-293, 2002.
- 7) Skopouli FN, Moutsopoulos HM: Cytokines in Sjögren's syndrome. *Arch Med Intern* **146**: 219-222, 1995.
- 8) Bacman S, Sterin-Borda L, Jose Camusso J, et al.: Circulating antibodies against rat parotid gland M3 muscarinic receptors in primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol* **104**: 454-459, 1996.
- 9) Tsubota K, Hirai S, King LS, et al.: Defective cellular trafficking of lacrimal gland aquaporin-5 in Sjögren's syndrome. *Lancet* **357**: 688-689, 2001.
- 10) Goicovich E, Molina C, Perez P, et al.: Enhanced degradation of proteins of the basal lamina and stroma by matrix metalloproteinases from the salivary glands of Sjögren's syndrome patients. *Arthritis Rheum* **48**: 2573-2584, 2003.
- 11) Oxholm P, Daniels TE, Bendtzen K: Cytokine expression in labial salivary glands from patients with primary Sjögren's syndrome. *Autoimmun* **12**: 185-191, 1992.
- 12) Fox RI, Kang HI, Ando D, et al.: Cytokine mRNA expression in salivary gland biopsies of Sjögren's syndrome. *J Immunol* **152**: 5532-5539, 1994.
- 13) Ogawa N, Dang H, Lazaridis K, et al.: Analysis of transforming growth factor β and other cytokines in autoimmune exocrinopathy (Sjögren's syndrome). *J Interferon Cytokine Research* **15**: 759-767, 1995.
- 14) Boumba D, Skopouli FN, Moutsopoulos HM: Cytokine mRNA expression in the labial salivary gland tissues from patients with primary Sjögren's syndrome. *Br J Rheumatol* **34**: 326-333, 1995.
- 15) Ohyama Y, Nakamura S, Matsuzaki G, et al.: Cytokine messenger RNA expression in the labial salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* **39**: 1376-1384, 1996.
- 16) Sun D, Emmert-Buck R, Fox PC: Differential cytokine mRNA expression in human labial minor salivary glands in primary Sjögren's syndrome. *Autoimmun* **28**: 125-137, 1998.
- 17) Konttinen YT, Kempainen P, Koski H, et al.: TH1 cytokines are produced in labial salivary glands in Sjögren's syndrome, but also in healthy individuals. *Scand J Rheumatol* **28**: 106-112, 1998.
- 18) Fox PC, Brennan M, Sun PD: Cytokine expression in human labial minor salivary gland epithelial cells in health and disease. *Arch Oral Biol* **44**: S49-S52, 1999.
- 19) Kulkarni AB, Ward JM, Yaswan L, et al.: Transforming growth factor-beta 1 null mice. An animal model for inflammatory disorders. *Am J Pathol* **146**: 264-275, 1995.
- 20) Dang H, Geiser AG, Letterio JJ, et al.: SLE-like autoantibodies and Sjögren's syndrome-like lymphoproliferation in TGF- β knockout mice. *J Immunol* **155**: 3205-3212, 1995.
- 21) Nakabayashi T, Letterio JJ, Geiser AG, et al.: Up-regulation of cytokine mRNA, adhesion molecule proteins, and MHC class II proteins in salivary glands of TGF β 1 knockout mice. *J Immunol* **158**: 5527-5535, 1997.
- 22) Brookes SM, Price EJ, Venables PJW, et al.: Interferon-gamma and epithelial cell activation in Sjögren's syndrome. *Br J Rheumatol* **34**: 226-231, 1995.
- 23) Ping L, Ogawa N, Sugai S.: Novel role of CD40 in Fas-dependent apoptosis of cultured salivary epithelial cells from patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*, in press, 2005.
- 24) Manoussakis MN, Dimitriou ID, Kapsogeorgou EK, et al.: Expression of B7 costimulatory molecules by salivary gland epithelial cells in patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis*

- Rheum* **42** : 229–239, 1999.
- 25) 下山久美子：シェーグレン症候群（SS）唾液腺上皮細胞における inducible nitric oxide synthase (iNOS) 発現と nitric oxide (NO) 産生。金沢医科大学雑誌 **28** : 224–230, 2003.
- 26) McCartney–Francis NL, Wahl SM. : Dysregulation of IFN- γ signaling pathways in the absence of TGF- β 1. *J Immunol* **169** : 5941–5947, 2002.
- 27) Sankar V, Brennan MT, Kok MR, et al. : Etanercept in Sjögren’s syndrome. A twelve-week randomized, double-blind, placebo-controlled pilot clinical trial. *Arthritis Rheum* **50** : 2240–2245, 2004.
- 28) Cuello C, Palladinetti P, Tedla N, et al. : Chemokine expression and leucocyte infiltration in Sjögren’s syndrome. *Br J Rheumatol* **37** : 779–783, 1998.
- 29) Amft N, Curnow J, Scheel-Toellner D, 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.
- 30) Xanthou G, Polihronis M, Tzioufas AG, et al. : Lymphoid chemokine messenger RNA expression by epithelial cells in the chronic inflammatory lesion of the salivary glands of Sjögren’s syndrome. *Arthritis Rheum* **44** : 408–418, 2001.
- 31) Amft N, Bowman SJ. : Chemokines and cell trafficking in Sjögren’s syndrome. *Scand J Immunol* **54** : 62–69, 2001.
- 32) Salomonsson S, Larsson P, Tengner P, et al. : Expression of the B cell-attracting chemokine CXCL13 in the target organ and autoantibody production in ectopic lymphoid tissue in the chronic inflammatory disease Sjögren’s syndrome. *Scand J Immunol* **55** : 336–342, 2002.
- 33) 小川法良：シェーグレン症候群とケモカイン。臨床免疫 **38** : 141–146, 2002.
- 34) Ogawa N, Ping L, Zhenjun L, et al. : Involvement of IFN γ -induced T cell-attracting chemokines, IFN γ -inducible protein of 10 kDa ; IP-10 (CXCL10) and monokine induced by IFN γ ; Mig (CXCL9) in the salivary gland lesions of Sjögren’s syndrome. *Arthritis Rheum* **46** : 2730–2741, 2002.
- 35) Ogawa N, Kawanami T, Shimoyama K, et al. : Expression of I-TAC (interferon-inducible T cell α chemoattractant, CXCL11) in the salivary glands of patients with Sjögren’s syndrome. *Clin Immunol* **112** : 235–238, 2004.
- 36) Ogawa N, Dang H, Talal N. : Apoptosis and autoimmunity. *J Autoimmun* **8** : 1–19, 1995.
- 37) 小川法良：アポトーシスと自己免疫。炎症と免疫 **5** : 462–469, 1996.
- 38) Kong L, Ogawa N, Nakabayashi T, et al. : Fas and Fas ligand expression in the salivary glands of patients with primary Sjögren’s syndrome. *Arthritis Rheum* **40** : 87–97, 1997.
- 39) Kong L, Ogawa N, McGuff HS, et al. : Bcl-2 family expression in salivary glands from patients with primary Sjögren’s syndrome. Involvement of Bax in salivary gland destruction. *Clin Immunol Immunopathol* **88** : 133–141, 1998.
- 40) Polihronis M, Tapinos NI, Theocharis SE, et al. : Modes of epithelial cell death and repair in Sjögren’s syndrome. *Clin Exp Immunol* **114** : 485–490, 1998.
- 41) Matsumura R, Umemiya K, Kagami M, et al. : Glandular and extraglandular expression of the Fas–Fas ligand and apoptosis in patients with Sjögren’s syndrome. *Clin Exp Rheumatol* **16** : 561–568, 1998.
- 42) Ogawa N, Dang H, Kong L, et al. : Lymphocyte apoptosis and apoptosis-associated gene expression in Sjögren’s syndrome. *Arthritis Rheum* **39** : 1875–1885, 1996.
- 43) Ogawa N, Karahashi T, Akamine N, et al. : Activation-induced cell death of peripheral blood T lymphocytes in patients with primary Sjögren’s syndrome. *Jpn J Rheumatol* **9** : 245–258, 1999.
- 44) Zeher M, Szodoray P, Gyimesi E, et al. : Correlation of increased susceptibility to apoptosis of CD4+ T cells with lymphocyte activation and activity of disease in patients with primary Sjögren’s syndrome. *Arthritis Rheum* **42** : 1673–1681, 1999.
- 45) Humphreys–Beher MG, Peck AB, Dang H, et al. : The role of apoptosis in the initiation of the autoimmune response in Sjögren’s syndrome. *Clin Exp Immunol* **116** : 383–387, 1999.
- 46) Patel YI, McHugh NJ. : Apoptosis–new clue to the pathogenesis of Sjögren’s syndrome. *Rheumatology (Oxford)* **39** : 119–121, 2000.
- 47) Manganelli, P., Fietta, P. : Apoptosis and Sjögren’s syndrome. *Seminars Arthritis Rheum* **33** : 49–65, 2003.
- 48) 大橋弘幸, 小川法良：シェーグレン症候群患

- 者リンパ球における Fas 抗原, bcl-2 の発現の検討. 日本臨床 **53** : 2451-2455, 1995.
- 49) 小川法良 : Sjögren 症候群におけるアポトーシス異常. 医学のあゆみ **178** : 401-404, 1996.
- 50) 小川法良 : Sjögren 症候群. 医学のあゆみ **182** : 693-697, 1997.
- 51) 小川法良, 大橋弘幸 : Sjögren 症候群におけるアポトーシス. 臨床病理 **45** : 643-648, 1997.
- 52) 小川法良 : 膠原病患者末梢血 T 細胞の活性化誘導細胞死 (AICD) の意義. 医学のあゆみ **190** : 838-839, 1999.
- 53) 小川法良 : 病態とアポトーシス, シェーグレン症候群. 臨床免疫 **38** 増刊, アポトーシスのすべて : 380-385, 2002.
- 54) Afford SC, Randhawa S, Elipoulos AG, et al. : CD40 activation induces apoptosis in cultured human hepatocytes via induction of cell surface Fas ligand expression and amplifies Fas-mediated hepatocyte death during allograft rejection. *J Exp Med* **189** : 441-446, 1999.
- 55) Abu-Helu RF, Dimitriou ID, Kapsogeorgou EK, et al. : Induction of salivary gland epithelial cell injury in Sjögren's syndrome : in vitro assessment of T cell-derived cytokines and Fas protein expression. *J Autoimmun* **17** : 141-153, 2001.