

原 著

ベーチェット病患者リンパ球における Fas/Fas リガンドシステムの発現に関する検討

東京女子医科大学 附属第二病院 眼科 (指導: 宮永嘉隆教授)

小 笠 原 勝 則

(受付 平成 10 年 9 月 16 日)

The Fas/Fas Ligand System of Lymphocytes in Patients with Behçet Disease

Katsunori OGASAWARA

Department of Ophthalmology (Director : Prof. Yoshitaka MIYANAGA)

Tokyo Women's Medical University Daini Hospital

The expression of Fas antigen, Fas sensitivity, soluble Fas (sFas) and soluble Fas ligand (sFasL) levels were examined to investigate the role of the Fas/Fas ligand system in the pathogenesis of Behçet Disease (BD). The expression of Fas antigen was examined by flow cytometry, and the Fas-positive rate of peripheral blood mononuclear cells in BD patients (n=12) was significantly higher than that in normal controls (NCs; n=8, p<0.05). Furthermore, the Fas-positive rate was significantly suppressed in BD patients who used immunosuppressants (n=10, p<0.05). The Fas sensitivities of peripheral T cells to anti-Fas monoclonal antibody were evaluated by cell counting and trypan blue exclusion. The sensitivities in BD patients (n=12) was significantly increased compared to those in NCs (n=12, p<0.005). Quantification of sFas and sFasL was performed by the sandwich ELISA method. The sFas level of BD patients in the inactive stage (3.74 ng/ml, n=38) was significantly increased compared to the early-active stage (2.14 ng/ml, n=17) and to NCs (1.93 ng/ml, n=15). No significant difference in sFasL levels was found between the stages of BD and NCs. Some disorders of Fas/Fas ligand system in BD were revealed in this study, which may pertain to the inflammatory mechanism in BD.

緒 言

ベーチェット病(B病)は口腔内アフタ, 眼炎症, 結節性紅斑, 陰部潰瘍を主症状とし, 他, 全身の諸臓器(関節, 血管, 腸管, 神経系)に急性炎症を繰り返す, その結果, 慢性に病変が進行していく疾患である。病態的には細胞性, 液性免疫系の異常が存在することは明らかであり, 免疫グロブリンの増加, 口腔粘膜に対する抗体の出現, T細

胞の機能異常などが報告されている¹⁾。これらの存在に加え, 近年, 熱ショックタンパク質に対する高い反応性が認められることからB病の成立には自己免疫に類似した機序が働くことが考えられている²⁾³⁾。

Systemic lupus erythematosus (SLE) のモデルである lpr (lymphoproliferation) マウスにおいて Fas 抗原の遺伝子異常が報告されたこと⁴⁾⁵⁾を機に

Fas/Fas リガンドシステムは注目を浴び、その後、Fas/Fas リガンドは、生体内で自己反応性 T 細胞の除去⁶⁾、細胞障害性 T 細胞 (CTL) のエフェクターとして作用していることも明らかになっている⁷⁾。今日まで、膠原病^{8,9)}、肝疾患¹⁰⁾、その他多くの疾患に対し Fas/Fas リガンドシステムを介したアポトーシス異常の関与が示唆されているが、これまで B 病での検討は充分にはなされていない。そこで今回は、B 病の Fas/Fas リガンドシステムにおける末梢血の Fas 発現、末梢 T 細胞の Fas 感受性、血清可溶性 Fas (sFas)、血清可溶性 Fas リガンド (sFas リガンド) レベルについて検討したので報告する。

対象および方法

1. 対象

東京女子医大附属第二病院眼科外来通院中の B 病患者 53 例 (男性 28 例, 女性 25 例, 平均年齢 41.0 歳), 健康人 21 例 (男性 9 例, 女性 12 例, 平均年齢 36.8 歳) を対象とした。Fas 発現解析および抗 Fas 抗体に対する生細胞率の測定は完全型 B 病のみを対象とし、B 病の活動期は厚生省ベッチェット病研究班疾患活動性基準 (B 病活動性基準) に準拠した¹¹⁾。sFas, sFas リガンド測定は眼炎症から活動期を判定し、結節性紅斑、陰部潰瘍の活動性所見を認める例を除外した。被検者については事前に実験内容に関する説明を行い、同意を得た上で行った。

2. 細胞分離法および培養法

末梢血単核球 (PBMC) は、B 病 12 例 (活動期 5 例, 非活動期 7 例) および健康人 8 例より静脈血をヘパリン加採血し、比重遠心法で分離した。分離した PBMC 2×10^6 cells を 10% ウシ胎児血清 (FCS) 添加 RPMI-1640 培地 (日研, 多治見) において、抗 CD 3 モノクローナル抗体 (1 μ g/ml, 日本 Becton, 東京) 刺激下で 48 時間培養した。

末梢 T 細胞は B 病 12 例および健康人 12 例より静脈血をヘパリン加採血し、nylon wool column 法 (和光純薬, 大阪) で分離採取した。PBS で洗浄後、10% FCS 加 RPMI-1640 に concanavalin A (ConA, Pharmacia, Uppsala, Sweden) 5 μ g/ml を加えて 1×10^7 cells/ml に調整し、48 時間培養し

た。洗浄後、 1×10^8 cells/ml に調整し、抗ヒト Fas モノクローナル抗体 (CH 11, COSMO BIO, 東京) を 5 μ g/ml となるように添加した (コントロールは goat IgM 5 μ g/ml)。培養開始直後、6, 12, 18, 24 時間後の培養細胞を採取し、trypan blue (0.2%) 排除法で生細胞の比率を算定した (培養開始直後の値に対するパーセントで表示した)。

対象とした B 病患者の主症状の活動性は B 病活動性基準の活動性指数¹¹⁾によって評価した。

3. フローサイトメトリー

1) PBMC の抗 CD 3 抗体刺激効果

前項において分離、培養した PBMC を 5×10^7 cells/ml に調整し、FITC 標識抗ヒト Fas モノクローナル抗体 (30 μ g/ml, UB 2, Coulter, Miami, Florida) を 30 分反応させた。1 検体あたり 1×10^5 cells に調整し、フローサイトメーター (FACS-scan[®], Becton and Dickinson, Mountain View, Okla.) で解析した。健康人の PBMC およびその活性化された細胞において、左右を区別できる細胞数が最小となる強度指示部は、全例ほぼ共通していたため、本研究では、それ以上の蛍光強度を示すものを、病態生理的な意味を持つ Fas 発現細胞と判定した。

2) 末梢血リンパ球、顆粒球の Fas 抗原

B 病非活動期 21 例 [免疫抑制剤 (サイクロスポリン A, FK 506) 使用 10 例, 免疫抑制剤非使用 11 例] および健康人 11 例から静脈血をヘパリン加採血した。10 倍量の溶血剤 (155 mM NH_4Cl , 10 mM KHCO_3 , 1 mM Na_2EDTA) で溶血後、100 μ l を採取し、抗ヒト Fas マウスモノクローナル抗体 100 μ l (20 μ g/ml, CH-11, MBL, 名古屋) を 30 分反応させた。洗浄後、100 μ l とし、FITC 標識抗マウス IgM goat IgG 100 μ l (50 μ g/ml, Becton and Dickinson) を氷水中で 30 分反応させた。次にフローサイトメーターを用い、まずサイトグラムで各細胞亜群 (リンパ球, 顆粒球) を表示した。ついで各細胞亜群にゲーティングをかけ、これをヒストグラムで表示して、Fas 陽性細胞を検索した。陽性、陰性を識別するマーカーは、コントロールの測定曲線の右下端の屈曲点にセットした。抗 Fas 抗体刺激後の Fas 陽性細胞の割合が、全体の細胞数の

30% を越える場合を陽性例とした。コントロールとしては一次抗体にマウス IgM (ZYMED, San Francisco, Calif.) を使用した。

4. sFas, sFas リガンドの測定

sFas は、B 病患者 47 例 [活動期 (発作期 17 例, 活動後期 11 例), 非活動期 38 例] (発作期: 眼急性炎症が起こった時点より 2 週間以内, 活動後期: 2 週間以降 4 週間以内) および健康人 15 例を, sFas リガンドは、B 病患者 33 例 (活動期 10 例, 非活動期 25 例) および健康人 21 例を対象とし, 静脈血をヘパリン加採血した。血清を分離し, 測定にはサンドイッチ ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法を用いた (可溶性 Fas kit, 可溶性 Fas リガンド kit, MBL)。

sFas の一次反応はマイクロプレートに固相化した細胞内領域を認識する抗 sFas ポリクローナル抗体 (エピトープ a. a. No. 305-319) を用い, sFas リガンドは抗 sFas リガンドモノクローナル抗体 (4H9) を用いた。sFas の二次反応はペルオキシダーゼ標識抗 sFas モノクローナル抗体 (エピトープ a. a. No. 110-120) により, sFas リガンドは同標識抗 sFas リガンドモノクローナル抗体 (4A5) を用いた。テトラメチルベンチジンを基質とし呈色反応停止後, 分光光度計にて吸光度を測定し, 標準曲線から濃度を検出した。

5. 統計学的処理

リンパ球, 顆粒球の Fas 陽性頻度に対しては Fisher の直接確率検定を用いた。PBMC の Fas 発現頻度, 抗 Fas 抗体に対する末梢 T 細胞の生細胞率の平均値の比較には unpaired t-test を用いた。sFas, sFas リガンドの群間比較には ANOVA を用いた。

結 果

1. B 病における Fas 発現およびその変化

図 1 に B 病患者および健康人の PBMC の Fas 発現解析例を示す。B 病患者の PBMC の非活動期における Fas 発現頻度は $51.41 \pm 6.72\%$ (平均 \pm 標準偏差; $n=7$) で, 健康人の PBMC の Fas 発現頻度 $24.58 \pm 7.21\%$ ($n=8$) に比較して有意に増加していた ($p<0.05$)。健康人の PBMC の抗 CD 3 抗体刺激後の Fas 発現頻度 $52.98 \pm 6.01\%$ ($n=8$) と B

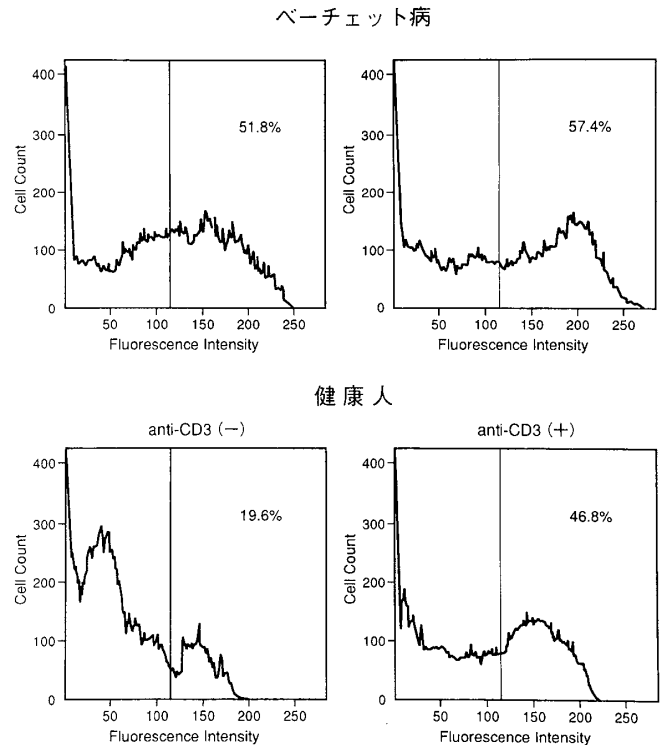


図 1 B 病患者 (上), 健康人 (下) の PBMC の Fas 発現解析例

健康人の PBMC に対する測定曲線において左右を区別できる細胞数が最小になる強度指示部 (測定曲線の谷) の蛍光強度を基準とし, それ以上の蛍光強度を示すものを病態生理的な意味を持つ Fas 発現細胞と判定した。

病非活動期, 活動期 $48.96 \pm 5.98\%$ ($n=5$) の PBMC の Fas 発現頻度との間には有意差は認めなかった (図 2)。

図 3 に B 病患者および健康人のリンパ球の Fas 陽性細胞の解析例を示す。B 病免疫抑制剤非使用患者のリンパ球は 11 例中 8 例陽性, 顆粒球では 11 例中 6 例陽性であった。Fas 陽性頻度は健康人に比較しそれぞれ (リンパ球 $p<0.01$, 顆粒球 $p<0.05$) 有意に増加していた。健康人 11 例はすべてリンパ球, 顆粒球とも陰性であった。免疫抑制剤使用患者のリンパ球は 10 例中 2 例陽性, 顆粒球では 10 例すべて陰性であり, その Fas 陽性頻度は免疫抑制剤非使用患者に比較し有意に低下していた ($p<0.05$) (表)。

2. 末梢 T 細胞の抗 Fas 抗体に対する感受性

コントロールの生細胞率は B 病患者, 健康人ともに全経過を通じ 100% であった。末梢 T 細胞の

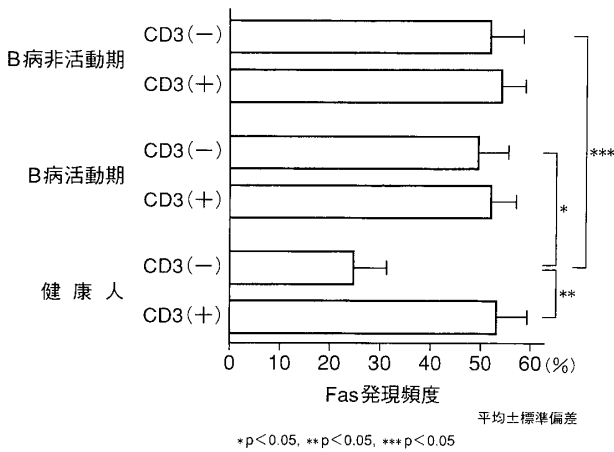


図2 B病患者のPBMCのFas発現頻度と抗CD3抗体刺激効果

B病非活動期 (n=7) および活動期 (n=5) のPBMCのFas発現頻度は、健康人 (n=8) におけるFas発現頻度に比較してそれぞれ有意に高い (*p<0.05, **p<0.05). 抗CD3抗体刺激により健康人PBMCのFas発現頻度は有意に増加し (**p<0.05), それはB病(非活動期, 活動期)におけるPBMCのFas発現頻度と有意差を認めない; unpaired t-test.

表 B病患者のFas抗原陽性頻度

	リンパ球	顆粒球
B病免疫抑制剤非使用	8/11 ^{***}	6/11 ^{****}
B病免疫抑制剤使用	2/10 ^{***}	0/10 ^{****}
健康人	0/11 [*]	0/11 ^{**}

* p < 0.01, ** p < 0.05, *** p < 0.05, **** p < 0.05; Fisherの直接確率検定.

生細胞率はともに抗Fas抗体添加後、経時的に低下した。B病患者T細胞のConA刺激が無(-)の場合の生細胞率(%)は開始直後=100であり、以降、6時間=86.2±5.8(平均±標準偏差), 12時間=77.6±6.0, 18時間=73.2±7.3, 24時間=67.3±9.1であった。健康人T細胞のConA(-)の生細胞率(%)は開始直後=100であり、以降、6時間=90.2±4.0, 12時間=88.5±3.2, 18時間=87.6±4.4, 24時間=87.9±4.9であり、同時間の比較ではB病患者の生細胞率は有意に低下していた。またConAによる活性化によって、生細胞率の低下傾向がB病患者、健康人ともに認められた(図4)。

B病ConA(-)群における24時間後生細胞率と活動性指数の総和との間には有意の負の相関が

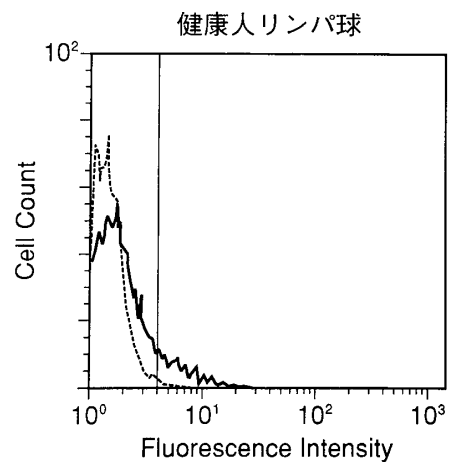
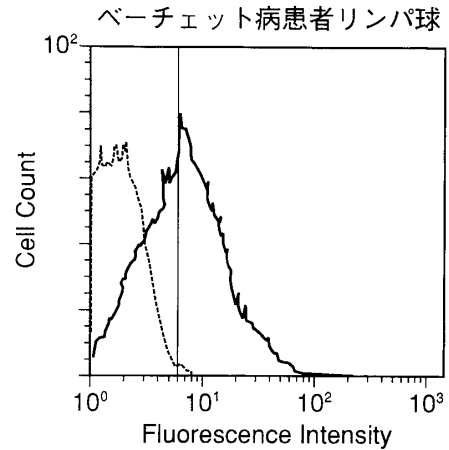


図3 B病患者(上), 健康人(下)のリンパ球のFas陽性細胞の解析例

測定曲線の右下端の屈曲点を陽性基準とし抗Fas抗体刺激後のFas陽性細胞(基準線より蛍光光度が高い)の割合が全体の細胞数の30%を越える場合を陽性例とした。……:コントロール(IgM抗体), —:抗Fas抗体.

認められた(図5)(相関係数r=-0.77, p<0.005, Spearmanの順位相関係数).

3. sFas, sFasリガンドの測定

1) sFas

B病非活動期では3.74±1.64 ng/ml(平均±標準偏差)であり、以下、発作期は2.14±0.87 ng/ml, 活動後期は3.24±1.69 ng/ml, 健康人においては1.93±0.69 ng/mlであった。B病非活動期と健康人(p<0.001), およびB病非活動期とB病発作期との間(p<0.01)に有意差が認められた。他はどの群間においても有意差は認められなかった(図6)。

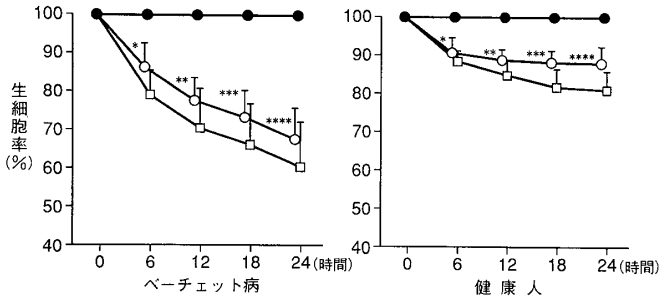


図4 抗 Fas 抗体による末梢 T 細胞の生細胞率の変化
 生細胞率は平均±標準偏差 (%) で示す。B 病 12 例, 健康人 12 例。●: コントロール, ○: ConA (-), □: ConA (+)。B 病 ConA (-) 群における生細胞率は健康人 ConA (-) 群に比較し各時間において有意に低下している。* $p < 0.005$, ** $p < 0.005$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.001$; unpaired t-test.

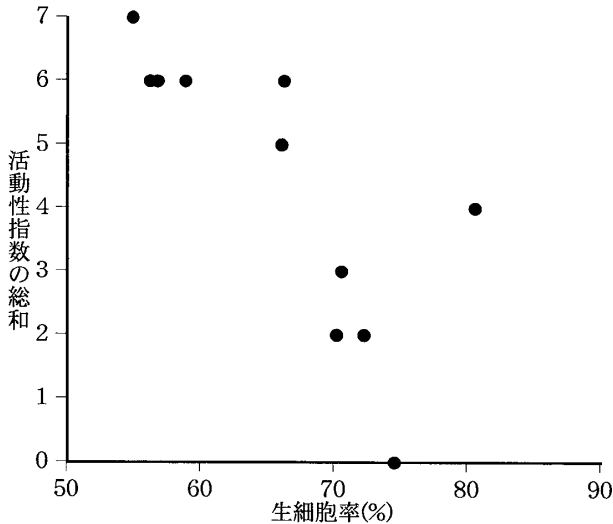


図5 抗 Fas 抗体による B 病末梢 T 細胞の生細胞率と活動性指数の総和の相関図
 B 病 12 例. 有意の負の相関が認められる。 $r = -0.77$, $p < 0.005$, Spearman の順位相関係数.

2) sFas リガンド

B 病非活動期 0.140 ± 0.088 ng/ml, 活動期 0.132 ± 0.100 ng/ml, 健康人 0.110 ± 0.066 ng/ml においては, どの群間においても有意差は認められなかった。

考 察

Fas 抗原は 319 アミノ酸から成り, 糖鎖を有する分子量 45 kDa の I 型膜蛋白であり, Fas リガンドと結合することで細胞にアポトーシスを誘導する¹²⁾。また, 健康人のリンパ球を抗原刺激で活性

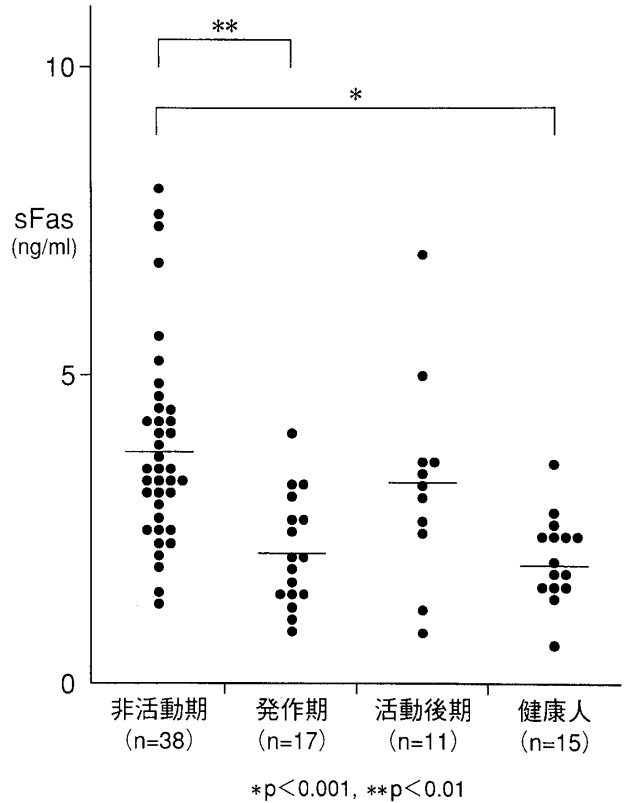


図6 B 病の血清 sFas 値
 B 病非活動期と健康人 (* $p < 0.001$), B 病非活動期と発作期 (** $p < 0.01$) に有意差が認められる。ANOVA (一元配置分散分析法)。

化した場合, その発現が亢進することから活性化抗原とも考えられている¹³⁾。

B 病患者のリンパ球は活動期において活性化状態にあると考えられている¹⁴⁾¹⁵⁾が, 非活動期に関しては現在のところ明らかではない。また B 病患者のリンパ球の Fas 発現に関する報告はこれまで Nakamura ら¹⁶⁾の報告のみであるが, その中の活動期分類は独自のもので, かつ免疫抑制剤の影響に関する検討はなされていない。そこで, まず B 病活動性基準で分類した B 病患者の PBMC を分離し, その Fas 発現を検討した。その結果, B 病非活動期の PBMC は, 活動期と同様に Fas 発現が亢進していることが明らかとなった。またそれは, 健康人の PBMC の抗 CD 3 抗体刺激後の Fas 発現頻度と有意差を認めないことから, B 病患者の PBMC は, 活性化された状態にあると考えられた。

次に Fas 抗原の蛍光強度を増加させる目的で,

間接法（一次抗体に精製抗体，二次抗体に蛍光標識抗体を用いる）により解析を行った。その結果，B病非活動期におけるリンパ球，顆粒球のFas発現亢進が確認されるとともに，免疫抑制剤によりそれらのFas発現が抑制されることが明らかとなった。免疫抑制剤のFas発現に対する作用は肝細胞，CTLでは抑制するという報告¹⁷⁾がある一方で，FC γ RIIIによるFas発現には作用しないという報告があり¹⁸⁾，その詳細は現時点では不明である。今回の結果は，B病における免疫抑制剤の作用機序に，Fas発現機構が関わっていることを示唆するものと考えられる。

次に抗Fas抗体による細胞死の実行について検討した。今回はアポトーシスに影響する抗原提示細胞を除外し，T細胞を対象とする目的で，nylon wool column法によりT細胞を分離した。また，その選択的活性を行うためConAを用いた。抗Fas抗体に対するB病患者の末梢T細胞の感受性は，健康人の末梢T細胞に比較し，有意に亢進していた。そのことよりB病患者のT細胞のFas抗原は，lprマウスとは異なり正常に機能していると考えられた。またConA刺激後のT細胞のFas感受性はB病，健康人ともに増強し，その反応に相違は認められなかった。

B病は主症状のほか全身の臓器に炎症を繰り返すが，活動性指数の総和は，B病の臓器障害の広がり示す一つの指標と考えられる¹¹⁾。活動性指数と生細胞率との間の負の相関よりFas感受性の高いT細胞が，B病の多臓器障害に関与することが考えられた。

一方，中村ら¹⁹⁾はB病の活動性が高い患者におけるCD4⁺，CD8⁺T細胞は抗Fas抗体によるアポトーシスに抵抗性であると報告している。その検討は対象が3例と少数でありまた，患者が免疫抑制剤治療を受けている点などが今回の報告との相違に影響している可能性があるが，今後の検討すべき課題と考えられる。

Fas，Fasリガンドは膜抗原であるが，近年その可溶性抗原（sFas，sFasリガンド）の存在が明らかになり，その働きが次第に解明されている。sFasは競合的にFasリガンドや抗Fas抗体と結合す

ることによりFasを介したアポトーシスを抑制すると考えられ²⁰⁾，またCTLの細胞障害系においてもsFasが抑制的に作用することが示されている²¹⁾。

SLEに対してはsFasレベルと活動性との関連を示す報告²²⁾²³⁾，無関係とする報告²⁴⁾²⁵⁾などが認められるが，B病ではこれまで活動性が高い患者における増加を示す1報告のみ¹⁹⁾で，充分には検討されていない。

B病活動早期にはリンパ球混合培養反応および末梢T細胞のpokeweed mitogen反応が，著しく低下し，免疫系の大きな変動が生じることが考えられている²⁶⁾。そのため本研究ではB病活動性基準の活動期をさらに活動早期（発作期）と活動後期に分けてsFasを検討した。その結果，sFasはB病非活動期において健康人に比較し有意に高く，また非活動期のsFasは発作期において有意に低下していた。sFasの上昇は，活性化されたリンパ球のアポトーシス抑制に，また発作期のsFasの変動が眼急性炎症に関与する可能性が考えられた。

sFasリガンドは膜Fasリガンドに比較し，その殺細胞作用は極めて弱だけでなく²⁷⁾²⁸⁾，Fas受容体を脱感作し，CTLによる正常細胞のアポトーシスを抑制する働きがあると考えられている²⁹⁾。これまで大顆粒性リンパ腫やNKリンパ腫において高値を示すこと³⁰⁾，シェーグレン症候群や膠原病で増加傾向を認めたことが報告されている³¹⁾が，B病での検討は行われていない。

今回のsFasリガンド測定では健康人とB病患者において有意差はなく，B病の活動性による変動も認められなかった。しかし，眼組織は精巣と共にFasリガンド発現が高いことが知られ³²⁾，頭部外傷では病態局所のみsFasリガンドの増加を認めたという報告もある³³⁾。そのため，眼前房水についての検討を行ったが有意な増加は，認められなかった（未発表データ）。

Fas/FasリガンドシステムのB病における位置付けはまだ不明な点が多く，その証明も容易ではない。しかし，その詳細を明らかにすることはB病の病態，病因の解明に結び付く可能性がある

ものと考えている。

結 論

1) B病患者のPBMCは非活動期においても Fas 発現が亢進し, そのことより活性化された状態にあると考えられた. B病患者のリンパ球, 顆粒球の Fas 発現は免疫抑制剤により有意に抑制された.

2) B病患者の末梢 T 細胞は抗 Fas 抗体に対する感受性が有意に亢進した状態にあった. Fas 感受性が亢進した T 細胞の B 病の臓器障害への関与が示唆された.

3) 血清 sFas は, B 病非活動期において健康人に比較し有意に高く, また活動早期 (発作期) において非活動期に比較し, 有意に低下した. その変動の B 病の炎症機構への関与が考えられた.

4) 血清 sFas リガンドの有意な変動は, B 病では病期を通じ認めなかった.

稿を終えるにあたり, 終始ご指導下さいました宮永嘉隆教授に感謝申し上げます. また貴重な御助言を賜りました氏原弘客員教授, 稲葉午朗博士に深謝致します.

なお, 本研究の一部は, 平成 9 年度東京都特殊疾病 (難病) に関する研究費の支援を受けた.

文 献

- 1) 坂根 剛: ベーチェット病における免疫異常. 最新医 43: 312-320, 1988
- 2) Pervin K, Childerstone A, Shinnick T et al: T cell epitope expression of mycobacterial and homologous human 65-kilodalton heat shock protein peptides in short term cell lines from patients with Behçet's disease. J Immunol 151: 2273-2282, 1993
- 3) Kaneko S, Suzuki N, Yamashita N et al: Characterization of T cells specific for an epitope of human 60-kD heat shock protein (hsp) in patients with Behçet's disease (BD) in Japan. Clin Exp Immunol 108: 204-212, 1997
- 4) Watanabe FR, Brannan CI, Copeland NG et al: Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis. Nature 356: 314-317, 1992
- 5) Drappa J, Brot N, Elkon BK et al: The Fas protein is expressed at high levels on CD4⁺CD8⁺ thymocytes and activated mature lymphocytes

- in normal mice but not in the lupus-prone strain, MRL lpr/lpr. Proc Natl Acad Sci USA 90: 10340-10344, 1993
- 6) Nishimura Y, Ishii A, Kobayashi Y et al: Expression and function of mouse Fas antigen on immature and mature T cells. J Immunol 154: 4395-4403, 1995
- 7) Kagi D, Vignaux F, Ledermann B et al: Fas and perforin pathway as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. Science 265: 528-530, 1994
- 8) Mysler E, Bin P, Drappa J et al: The apoptosis-1/Fas protein in human systemic lupus erythematosus. J Clin Invest 93: 1029-1034, 1994
- 9) Ohsako S, Hara M, Harigai M et al: Expression and function of Fas antigen and bcl-2 in human systemic lupus erythematosus lymphocytes. Clin Immunol Immunopathol 73: 109-114, 1994
- 10) Hiramatsu N, Hayashi N, Katayama K et al: Immunohistochemical detection of Fas antigen in liver tissue of patients with chronic hepatitis C. Hepatology 19: 1354-1359, 1991
- 11) 橋本喬史: ベーチェット病における疾患活動性の評価. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班平成 5 年度研究業績: 58-61, 1994
- 12) Yonehara S, Ishii A, Yonehara M et al: A cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen co-downregulated with the receptor of tumor necrosis factor. J Exp Med 169: 1747-1756, 1989
- 13) Miyawaki T, Uehara T, Nibu R et al: Differential expression of apoptosis-related Fas antigen on lymphocyte subpopulations in human peripheral blood. J Immunol 149: 3753-3758, 1992
- 14) Suzuki N, Sakane T, Ueda Y et al: Abnormal B cell function in patients with Behçet's disease. Arthritis Rheum 29: 212-219, 1986
- 15) Feron EJ, Calder VL, Lightman SL: Distribution of IL-2 R and CD45 Ro expression on CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocytes in the peripheral blood of patients with posterior uveitis. Cur Eye Res 11 (Suppl): 167-172, 1992
- 16) Nakamura S, Sugita M, Matoba H et al: Insufficient expression of Fas antigen on helper T cells in Behçet disease. Br J Ophthalmol 80: 174-176, 1996
- 17) Yokoyama I, Hayakawa A, Hayashi S et al: Fas antigen expression of hepatocytes and its modification by immunosuppressants. Dig Dis Sci 42: 2471-2475, 1997
- 18) Yoshikawa H, Sakihama T, Nakajima Y et al: FcγRIII-mediated regulation of hematopoiesis

- in murine bone marrow cells by interleukin-3 and CD 95 (Fas/Apo-1). *Blood* **90** : 1911-1919, 1997
- 19) **中村 聡** : ぶどう膜炎の細胞生物学. *日眼会誌* **101** : 975-986, 1997
 - 20) **Cheng J, Zhou T, Liu C et al** : Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* **263** : 1759-1762, 1994
 - 21) **Hanabuchi S, Koyanagi M, Kawasaki A et al** : Fas and its ligand in a general mechanism of T-cell-mediated cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* **91** : 4930-4934, 1994
 - 22) **Jodo S, Kobayashi S, Kayagaki N et al** : Serum levels of soluble Fas/APO-1 (CD 95) and its molecular structure in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and other autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol* **107** : 89-95, 1997
 - 23) **Tokano Y, Miyake S, Kayagaki N et al** : Soluble Fas molecule in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Immunol* **16** : 261-265, 1996
 - 24) **Knipping E, Krammer P, Onel K et al** : Levels of soluble Fas/APO-1/CD 95 in systemic lupus erythematosus and juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **12** : 1735-1737, 1995
 - 25) **Goel N, Ulrich D, Clair W et al** : Lack of correlation between serum soluble Fas/APO-1 levels and autoimmune disease. *Arthritis Rheum* **12** : 1738-1743, 1995
 - 26) **Sakane T, Kotani H, Takada S et al** : Functional aberration of T cell subsets in patients with Behçet disease. *Arthritis Rheum* **25** : 1343-1351, 1982
 - 27) **Oyaizu N, Kayagaki N, Yagita H et al** : Requirement of cell-cell contact in the induction of Jurkat T cell apoptosis : The membrane-anchored but not soluble form of FasL can trigger anti-CD 3-induced apoptosis in Jurkat cells. *Biochem Biophys Res Commun* **238** : 670-675, 1995
 - 28) **Schneider P, Hollar N, Bodmer J et al** : Conversion of membrane-bound Fas (CD 95) ligand to its soluble form is associated with downregulation of its proapoptotic activity and loss of liver toxicity. *J Exp Med* **187** : 1205-1213, 1998
 - 29) **Tanaka M, Itai T, Adachi M et al** : Downregulation of Fas ligand by shedding. *Nat Med* **4** : 31-37, 1998
 - 30) **Tanaka M, Suda T, Haze K et al** : Fas ligand in human serum. *Nat Med* **2** : 317-322, 1996
 - 31) **Nozawa K, Kayagaki N, Tokano Y et al** : Soluble Fas (APO-1, CD 95) and soluble Fas ligand in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* **40** : 1126-1129, 1997
 - 32) **Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM et al** : Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* **270** : 1189-1192, 1995
 - 33) **Ertel W, Keel M, Stocker R et al** : Detectable concentrations of Fas ligand in cerebrospinal fluid after severe head injury. *J Neuroimmunol* **80** : 93-96, 1997