

# Fas誘導性アポトーシス細胞死における活性酸素の意義

著者	笠原 善仁
著者別表示	Kasahara Yoshihito
雑誌名	平成9(1997)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	1996-1997
ページ	12p.
発行年	1998-03
URL	<a href="http://doi.org/10.24517/00054993">http://doi.org/10.24517/00054993</a>



KAKEN
1997
32

金沢大学

# Fas 誘導性アポトーシス細胞死における 活性酸素の意義

課題番号 08670862

平成8年度—平成9年度科学研究費補助金（基盤研究C）  
研究成果報告書

平成10年3月

研究代表者 笠原善仁  
（金沢大学医学部助教授）

## は し が き

生理的細胞死はアポトーシス(apoptosis)と呼ばれ、細胞の核分解酵素の活性化に伴い形態学的に核クロマチンの濃縮、DNAの断片化を呈し、病的細胞死である壊死(necrosis)とは区別される。アポトーシスは生理的な生体の恒常性の維持に重要であると共に、免疫系においても免疫担当細胞の分化、発達に加え、免疫応答反応の制御、特に末梢での活性化され不要となった細胞の除去(clonal deletion)に強く関わっていると考えられる。免疫担当細胞のアポトーシスの低下や亢進は自己免疫疾患や後天性免疫不全症候群などの病態への関与が示唆され、また種々の生理的因子や化学物質が異なる系統の細胞のアポトーシスに関与している。Fas/Apo-1(CD95)抗原は腫瘍壊死因子(TNF)レセプターファミリーに属し、Fas陽性細胞はその抗体やリガンドによりクロマチンの凝縮、核DNAの断片化などの特徴を有するアポトーシス細胞死に至る。しかしながら、Fas誘導性の細胞死においてFas抗原発現の程度に差がみられないにも関わらず、抗Fas抗体に対し感受性の相違が認められる。Fas/APO-1抗原陽性である正常ヒト末梢血中のメモリー形質を持つT、B細胞は分離直後では抗Fas抗体の添加によってもアポトーシス細胞死は誘導されないのに対し、単球、顆粒球では構成的にFas/APO-1抗原発現が認められ、分離直後でもFas抗体の添加にて速やかにアポトーシスが誘導される。このようなアポトーシス細胞死におけるFas/APO-1抗原系を介した感受性の相違を左右する細胞自身の一つの条件としてアポトーシス抑制遺伝子*bcl-2*産物の発現の違いが挙げられるが、その他の生理的因子の関与の可能性も否定することはできない。アポトーシスを制御する因子の一つである活性酸素はそれ自身リンパ球細胞株においてアポトーシスを誘導し、紫外線照射、 $\gamma$ 線照射で誘導されるアポトーシスの過程で細胞内活性酸素の増加が観察される。逆に主たる活性酸素である過酸化水素を分解する酵素のカタラーゼはIL-3依存性細胞株のアポトーシスを抑制し、また抗酸化作用を持つとされる*bcl-2*の遺伝子をトランスジェニックされたマウス好中球のアポトーシスは明らかに抑制される。これらのことより活性酸素の生体内で主たる産生源である好中球のみならず種々の細胞のアポトーシス誘導機構への活性酸素の関与が示唆される。今回の研究ではNADPH oxidaseの先天性欠損による活性酸素の産生欠如を示す慢性肉芽腫症患児の好中球を用い、Fas誘導性アポトーシスにおける活性酸素の役割を解析し、肝脾腫、リンパ節腫大、溶血性貧血、血小板減少などの臨床症状を示し、Fas抗体に対しアポトーシス抵抗性を示す自己免疫性リンパ球増殖症候群の症例の細胞株及び慢性肉芽腫症患児由来細胞株を用い、Fas誘導性アポトーシスにおける活性酸素の影響を解析した。

## 研 究 組 織

研究代表者 笠原善仁 (金沢大学医学部・助教授)

研究分担者 なし



## 研究経費

平成8年年度	1,100千円
平成9年年度	1,200千円
計	2,300千円

## 研究発表

### 1) 学会誌等

1. K. Ohta, K. Iwai, Y. Kasahara, N. Taniguchi, S. Kraiewski, J. C. Reed, and T. Miyawaki.  
Immunoblot analysis of cellular expression of Bcl-2 family proteins, Bcl-2, Bax and Mcl-1, in human peripheral blood and lymphoid tissues.  
Int. Immunol. 7:1817-1825, 1995.
2. H. Kanegane, Y. Kasahara, Y. Niida, A. Yachie, S. Sugii, K. Takatsu, N. Taniguchi, and T. Miyawaki.  
Expression of L-selectin (CD62L) discriminates Th1- and Th2-like cytokine producing populations among human memory CD4<sup>+</sup> T cells.  
Immunology. 87:186-190, 1996.
3. Y. Kasahara, K. Iwai, A. Yachie, K. Ohta, A. Konno, H. Seki, T. Miyawaki, N. Taniguchi.  
Involvement of reactive oxygen intermediates in spontaneous and CD95(Fas/APO-1)-mediated apoptosis of neutrophils.  
Blood, 89(5): 1748-53, 1997.
4. Y. Kasahara, T. Wada, Y. Niida, K. Ohta, H. Seki, T. Hashimoto, T. Miyawaki, S. Koizumi, N. Taniguchi.  
Novel Fas(CD95/APO-1) mutations in infants with a lymphoproliferative disorder.  
Int. Immunol. 10(2): 195- 202, 1998.
5. 笠原善仁, 宮脇利男.  
アポトーシスにおける Fas/APO-1(CD95)抗原とそのリガンドの意義.  
医学のあゆみ, 173(10): 808-812, 1995.
6. 宮脇利男, 谷口 昂. 笠原善仁, 谷内江昭宏.  
慢性肉芽腫症顆粒球のアポトーシス抵抗性と病態形成.

厚生省特定疾患免疫不全症候群調査研究班平成6年度研究報告書, 93-96.

7. 金兼弘和, 笠原善仁, 宮脇利男.  
ヒト TH-1, TH-2 細胞と L セレクチン 発現.  
臨床免疫, 27(10): 1243-1248. 1995.
8. 谷口昂, 宮脇利男, 笠原善仁, 和田泰三, 新井田要, 谷内江昭宏, 関秀俊. リンパ球増殖症候群兄妹例における Fas(CD95)抗原変異.  
厚生省特定疾患免疫不全症候群調査研究班平成7年度研究報告書, 122-126.
9. 東馬智子, 今野昭宏, 笠原善仁, 和田泰三, 谷内江昭宏.  
アレルギー疾患にみられる好塩基球 IgE 結合状態のフローサイトメトリー法による評価.  
アレルギー, 45(7), 627-636, 1996.
10. 大野一郎, 和田泰三, 笠原善仁.  
Fas 異常とヒトリンパ球増殖症候群.  
臨床免疫, 29(5): 631-637. 1997
11. 笠原善仁, 宮脇利男.  
EBV 感染における T 細胞活性化と細胞死.  
血液・免疫・腫瘍. 2(4), 419-424, 1997.

## 2) 口頭発表等

1. 笠原善仁, 和田泰三, 新井田要, 谷内江昭宏, 関秀俊, 谷口昂, 宮脇利男.  
リンパ球増殖症候群兄妹例における Fas (CD95) 抗原変異.  
厚生省特定疾患原発性免疫不全症候群調査研究班平成第2回班会議. (1996, 1, 19)
2. Y. Kasahara, T. Wada, Y. Nnda, I. Ohno, A. Yhachie, H. Seki, T. Miyawaki, and N. Taniguchi.  
Human lymphoproliferative disease with Fas mutations.  
ASBMB/ASIP/AAI Joint Meeting (1996, 6, 3)
3. 和田泰三, 金田尚, 布上孝司, 新井田要, 大野一郎, 笠原善仁, 谷内江昭宏, 関秀俊, 谷口昂.  
EBV 感染が病態形成に関与した Fas 異常症の兄妹例.  
第6回 EB ウイルス感染症研究会 (1996, 6, 29)
4. 瀬野晶子, 太田和秀, 谷内江昭宏, 東馬智子, 和田泰三, 布上孝志, 笠原善仁, 関秀俊, 谷口昂, 小泉晶一.

- 経過中 IgA 腎症を合併した免疫グロブリン異常症の一例.  
第 32 回中部日本小児科学会 (1996, 8, 25)
5. 今野昭宏, 斎藤友治, 谷内江昭宏, 笠原善仁, 大野一郎, 太田和秀, 和田泰三, 布上孝司, 関秀俊, 谷口昂, 宮脇利男.  
小児急性感染症 (ウイルス, 細菌) にみられる末梢血単核細胞におけるインターフェロン誘導性 MxA 蛋白の動態.  
第 24 回日本臨床免疫学会総会 (1996, 9, 24)
6. 布上孝司, 太田和秀, 今野昭宏, 和田泰三, 谷内江昭宏, 笠原善仁, 関秀俊, 谷口昂.  
経過中に IgA 腎症を併発した免疫グロブリン異常症の一例.  
第 24 回日本臨床免疫学会総会 (1996, 9, 24)
7. 金田尚, 福田晃子, 布上孝志, 西村良成, 和田泰三, 新井田要, 金兼弘和, 大野一郎, 笠原善仁, 谷内江昭宏, 関秀俊, 小泉晶一, 谷口昂.  
CD7-CD4+ 丁細胞の異常増殖を認めた慢性活動性 EBV 感染症の一例.  
第 28 回日本小児感染症学会 (1996, 11, 8)
8. 笠原善仁, 和田泰三, 布上孝志, 大野一郎, 新井田要, 谷内江昭宏, 関秀俊, 宮脇利男, 谷口昂.  
ヒトリンパ球増殖症候群における Fas 抗原変異.  
第 26 回日本免疫学会 (1996, 11, 26)
9. 和田泰三, 谷内江昭宏, 東馬智子, 今野昭宏, 笠原善仁, 布上孝志, 関秀俊, 羅智靖.  
小児末梢血好塩基球表面の高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) 発現と IgE による発現増強.  
第 26 回日本免疫学会 (1996, 11, 26)
10. 齊藤剛克, 清水暢子, 犀川太, 笠原善仁, 山上正彦, 谷内江昭宏, 小泉晶一, 谷卓.  
巨大腹部腫瘤にて発見された Congenital Mesoblastic Nephroma の一例.  
第 257 回日本小児科学会北陸地方会 (1996, 12, 8)
11. 清水暢子, 太田和秀, 久藤美保, 和田泰三, 笠原善仁, 谷内江昭宏, 小泉晶一, 杉本圭子, 谷内克成, 坂井秀彰, 竹原和彦, 小川次郎, 大島茂人.  
全身の脂漏性湿疹様発疹と著明な好酸球増多および高 IgE 血症を呈した 1 新生児例.

- 第 257 回日本小児科学会北陸地方会 (1996, 12, 8)
12. T. Wada, Y. Kasahara, T. Tohma, A. Konno, H. Seki, Y. Niida, S. Koizumi, C. Ra, A. Yachie.  
IgE-dependent augmentation of surface FcεRIα expression on neonatal basophils.  
AAAI/AAI/CIS Joint Meeting (1997, 2, 26)
13. 笠原善仁, 和田泰三, 布上孝志, 大野一郎, 新井田要, 谷内江昭宏, 関秀俊, 宮脇利男, 谷口昂.  
ヒトリンパ球増殖症候群 3 例における Fas 抗原変異.  
第 59 回日本血液学会 (1997, 3, 26)
14. 高見明良, 笠原善仁, 中尾真二, 杉森尚美, 三浦裕次, 松田保, 谷内江昭宏.  
扁桃および腸管へのびまん性侵潤を呈した Epstein-Barr virus (EBV) 関連 natural killer(NK)細胞性白血病の 1 例  
第 7 回 EB ウイルス感染症研究会. (1997, 5, 10)
15. 布上孝志, 金田尚, 和田泰三, 笠原善仁, 山上正彦, 関秀俊, 谷内江昭宏, 小泉晶一.  
蚊アレルギーによる皮膚所見の増悪を繰り返した EBV genome 陽性 LGL(large granular lymphocyte)増多症の 1 例  
第 7 回 EB ウイルス感染症研究会. (1997, 5, 10)
16. 笠原善仁, 和田泰三, 新井田要, 布上孝志, 大野一郎, 谷内江昭宏, 関秀俊, 宮脇利男, 石田也寸志, 大藤圭子, 谷口昂, 小泉晶一  
Fas(CD95)遺伝子異常による自己免疫性リンパ球増殖症候群  
第 100 回日本小児科学会. (1997, 4, 18)
17. 太田和秀, 布上孝司, 今野昭宏, 和田泰三, 笠原善仁, 谷内江昭宏, 関秀俊, 谷口昂, 小泉晶一.  
経過中に IgA 腎症を併発した免疫グロブリン異常症の一例.  
第 100 回日本小児科学会. (1997, 4, 18)
18. 金田尚, 布上孝志, 太田和秀, 瀬野晶子, 笠原善仁, 谷内江昭宏, 関秀俊, 五十嵐登, 小泉晶一.  
凝固・線溶系の亢進, 持続的細胞破壊を認め, 幕リン脂質分布異常の関与が示唆された慢性乳児神経皮膚関節症候群(CINCA syndrome)類似症例.  
第 27 回北陸臨床免疫症例検討研究会. (1997, 5, 29)
19. 石田也寸志, 徳田桐子, 大藤圭子, 廣井一浩, 村上至孝, 貴田喜一, 笠原善仁,

- 小泉晶一.  
Fas 抗原欠損症にたいするプレドニンの臨床効果  
第 1 回細胞死研究会. (1997, 6, 21)
20. 久藤美保, 布上孝志, 金田尚, 笠原善仁, 新井田要, 太田和秀, 山上正彦, 小泉晶一, 関秀俊, 谷内江昭宏, 八田尚人, 小田恵夫.  
蚊過敏症に合併した EBV 関連リンパ増殖性疾患の 2 例  
第 33 回日本小児科学会中部地方会. (1997, 8, 24)
21. 丸箸圭子, 五十嵐登, 栗原真紀子, 榎木恵子, 林恵三, 畑崎喜芳, 笠原善仁, 谷内江昭宏, 金兼弘和.  
急性期の血漿交換, ステロイドパルス, サイクロスポリン併用療法が著効した EB ウイルス関連血球貪食症候群の幼児例  
第 33 回日本小児科学会中部地方会. (1997, 8, 24)
22. 笠原善仁, 久藤美保, 布上孝志, 金田尚, 谷内江昭宏, 小泉晶一, 丸箸圭子, 五十嵐登, 畑崎喜芳, 寺尾岳, 岩井和之.  
Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH) 2 例における EBV 感染様式の検討.  
第 5 回北陸ヘルペス感染症研究会. (1997, 9, 6)
23. 一前道子, 住田亮, 太田和秀, 笠原善仁, 小泉晶一.  
慢性肉芽腫症による食道狭窄の一例  
第 260 回日本小児科学会北陸地方会. (1997, 9, 7)
24. 布上孝志, 金田尚, 笠原善仁, 谷内江昭宏, 関秀俊, 小泉晶一.  
急性感染症におけるアポトーシス指向性リンパ球の増加とその臨床的意義  
第 25 回臨床免疫学会. (1997, 9, 18)
25. 野村恵子, 二谷武, 宮脇利男, 谷内江昭宏, 笠原善仁, 和田泰三, 布上孝司.  
生後早期より呼吸器感染症を反復する男児例-CD3 欠損症か?  
第 25 回臨床免疫学会. (1997, 9, 18)
26. 笠原善仁, 谷内江昭宏, 太田邦雄, 丸箸圭子, 犀川太, 小泉晶一, 野坂和彦.  
自己免疫性溶血性貧血, 高 IgE 血症, アトピー性皮膚炎を合併した CD4 T lymphopenia の男児例  
第 25 回臨床免疫学会. (1997, 9, 18)
27. 金田尚, 布上孝志, 太田和秀, 瀬野晶子, 笠原善仁, 谷内江昭宏, 関秀俊, 五十嵐登, 小泉晶一.  
凝固・線溶系の亢進, 持続的細胞破壊を認め, 幕リン脂質分布異常の関与が示



- 唆された慢性乳児神経皮膚関節症候群(CINCA syndrome)類似症例.  
第 25 回臨床免疫学会. (1997, 9, 18)
28. 金田尚, 太田和秀, 笠原善仁, 谷内江昭宏, 五十嵐登, 小泉晶一.  
原因不明の持続的な凝固・線溶系機構の亢進と溶血を認め, 漸進性の欠陥愛内皮障害が示唆された 1 例  
第 39 回日本小児血液学会. (1997, 9, 26)
29. 石田也寸志, 徳田桐子, 大藤圭子, 田内久道, 廣井一浩, 片山直子, 貴田喜一, 笠原善仁, 小泉晶一.  
Fas 抗原欠損症にたいするプレドニンの臨床効果  
第 39 回日本小児血液学会. (1997, 9, 26)
30. 高見明良, 上田幹夫, 河村洋一, 三浦裕次, 奥村廣和, 中尾真二, 松田保, 塩原信太郎, 笠原善仁, 谷内江昭宏.  
同種末梢血幹細胞移植を施行した Epstein-Barr virus (EBV)関連 natural killer(NK)細胞性白血病の 1 例  
第 1 回臨床血液学会. (1977, 10, 29)
31. 久藤美保, 笠原善仁, 布上孝志, 金田尚, 太田和秀, 和田泰三, 新井田要, 谷内江昭宏, 関秀俊.  
EBV 潜伏感染細胞における EBER-1 発現の定量的解析; フローサイトメトリー法を用いた検討.  
第 27 回日本免疫学会. (1997, 10, 29)
32. 布上孝志, 金田尚, 久藤美保, 太田邦雄, 笠原善仁, 谷内江昭宏, 関秀俊.  
急性感染症における末梢血 T 細胞のアポトーシス発現機序; Annexin V 結合を用いたフローサイトメトリー解析  
第 25 回日本免疫学会. (1997, 10, 30)
33. 金子新, 安川正貴, 大橋英樹, 薬師神芳洋, 笠原善仁, 西村康治, 藤田繁.  
急性骨髄性白血病関連染色体異常 t(6;9)によって産生される DEK/CAN 特異的 T 細胞クローンの HLA-DRB4\*0103 拘束性 Fas 非依存性細胞傷害.  
第 25 回日本免疫学会. (1997, 10, 30)
34. 越田理恵, 奥田則彦, 布上孝志, 金田尚, 久藤美保, 太田邦雄, 笠原善仁, 小泉晶一, 谷内江昭宏, 関秀俊.  
皮膚粘膜の難治性感染症を繰り返し種々の自己抗体高値を示している散在性 47phox 欠損型慢性肉芽腫症女児例.

- 第 28 回北陸臨床免疫症例検討研究会. (1997, 11, 8)
35. 太田邦雄, 布上孝志, 金田尚, 笠原善仁, 小泉晶一, 谷口昂, 谷内江昭宏, 関秀俊.  
小児呼吸器感染症起炎菌の薬剤耐性の検討; ペニシリン耐性肺炎球菌とインフルエンザ菌を中心に.  
第 29 回日本小児感染症学会. (1997, 11, 7)
36. 前馬秀明, 太田邦雄, 太田和秀, 犀川太, 笠原善仁, 小泉晶一, 谷内江昭宏, 関秀俊.  
小児呼吸器感染症におけるペニシリン耐性肺炎球菌の検討.  
第 261 回日本小児科学会北陸地方会. (1997, 12, 7)
37. 越田理恵, 奥田則彦, 布上孝志, 金田尚, 久藤美保, 太田邦雄, 笠原善仁, 小泉晶一, 谷内江昭宏, 関秀俊.  
表在性の皮膚・粘膜感染症を繰り返し, 種々の自己抗体高値を認めた p47phox 欠損症の一例.  
第 5 回食細胞機能異常症研究会. (1977, 12, 12)
38. 金兼弘和, 宮脇利男, 丸箆恵子, 五十嵐登, 笠原善仁.  
EB ウイルス関連疾患におけるインターロイキン 10.  
第 2 回血液疾患とサイトカイン研究会. (1998, 1, 31)
39. 笠原善仁, 久藤美保, 布上孝志, 小泉晶一, 谷内江昭宏, 関秀俊.  
EB ウイルス関連血液疾患における可溶性 Fas リガンド.  
第 2 回血液疾患とサイトカイン研究会. (1998, 1, 31)

## 研 究 成 果

学会誌等の 3, 4, 6, 8, 10, 11 の別冊を持って代える. その概要は以下のごとくである.

1) 形態学的観察や PI 染色による flow cytometry による解析から正常好中球は in vitro で 24 時間培養するのみで典型的なアポトーシスに陥り, アポトーシスに陥った培養正常好中球では培養早期よりアポトーシスに典型的な DNA 断片化が認められたのに対し, 過酸化水素 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 産生能を欠如する慢性肉芽腫症(CGD)患児由来の好中球は全くアポトーシス細胞死を示さなかった. 経時的に検討しても, CGD 好中球のアポトーシスは有意に低下していた. 抗 Fas 抗体の添加によるアポトーシスの増強効果を正常好中球と比較すると CGD 好中球では全く Fas 誘導性アポトーシスが明らかに低下していた. 正常好中球と C

- 第 28 回北陸臨床免疫症例検討研究会. (1997, 11, 8)
35. 太田邦雄, 布上孝志, 金田尚, 笠原善仁, 小泉晶一, 谷口昂, 谷内江昭宏, 関秀俊.  
小児呼吸器感染症起炎菌の薬剤耐性の検討; ペニシリン耐性肺炎球菌とインフルエンザ菌を中心に.  
第 29 回日本小児感染症学会. (1997, 11, 7)
36. 前馬秀明, 太田邦雄, 太田和秀, 犀川太, 笠原善仁, 小泉晶一, 谷内江昭宏, 関秀俊.  
小児呼吸器感染症におけるペニシリン耐性肺炎球菌の検討.  
第 261 回日本小児科学会北陸地方会. (1997, 12, 7)
37. 越田理恵, 奥田則彦, 布上孝志, 金田尚, 久藤美保, 太田邦雄, 笠原善仁, 小泉晶一, 谷内江昭宏, 関秀俊.  
表在性の皮膚・粘膜感染症を繰り返し, 種々の自己抗体高値を認めた p47phox 欠損症の一例.  
第 5 回食細胞機能異常症研究会. (1977, 12, 12)
38. 金兼弘和, 宮脇利男, 丸箆恵子, 五十嵐登, 笠原善仁.  
EB ウイルス関連疾患におけるインターロイキン 10.  
第 2 回血液疾患とサイトカイン研究会. (1998, 1, 31)
39. 笠原善仁, 久藤美保, 布上孝志, 小泉晶一, 谷内江昭宏, 関秀俊.  
EB ウイルス関連血液疾患における可溶性 Fas リガンド.  
第 2 回血液疾患とサイトカイン研究会. (1998, 1, 31)

## 研 究 成 果

学会誌等の 3, 4, 6, 8, 10, 11 の別冊を持って代える. その概要は以下のごとくである.

1) 形態学的観察や PI 染色による flow cytometry による解析から正常好中球は in vitro で 24 時間培養するのみで典型的なアポトーシスに陥り, アポトーシスに陥った培養正常好中球では培養早期よりアポトーシスに典型的な DNA 断片化が認められたのに対し, 過酸化水素 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 産生能を欠如する慢性肉芽腫症(CGD)患児由来の好中球は全くアポトーシス細胞死を示さなかった. 経時的に検討しても, CGD 好中球のアポトーシスは有意に低下していた. 抗 Fas 抗体の添加によるアポトーシスの増強効果を正常好中球と比較すると CGD 好中球では全く Fas 誘導性アポトーシスが明らかに低下していた. 正常好中球と C

GD好中球の根本的相違が活性酸素の産生の違いにあることから、CGD好中球アポトーシス抵抗性への活性酸素の関連を検討した。正常好中球より産生される過酸化水素をカタラーゼ添加により分解すると培養のみで起きるアポトーシスのみならず抗 Fas 抗体で誘導されたアポトーシスも添加したカタラーゼの濃度依存的に抑制され、一方、CGD好中球を H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> と共に培養すると濃度依存性にアポトーシスが誘導され、さらに抗 Fas 抗体に対する感受性も正常好中球と同程度まで増強された。DHR123 を用いて H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 産生の解析すると、正常好中球からは無刺激の培養においても培養 2-3 時間で明らかな H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 産生がみられ、カタラーゼ添加により H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 産生は抑制されたが、抗 Fas 抗体によっては増強されなかった。また、CGD好中球からの H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 産生は全く認められなかった。活性酸素産生を欠くCGD好中球がアポトーシス抵抗性を示すといった今回の結果から、好中球のアポトーシスにおいて活性酸素が主要な役割を果たしていると推測される。生体内では炎症部位に遊走し細菌を貪食殺菌した後、アポトーシスに陥った好中球は速やかにマクロファージに貪食除去され、生体にとっても有害な種々のサイトカインや酵素の産生および発生源である活性化された好中球の除去は炎症の速やかな修復、組織の不必要な破壊の回避に重要と考えられる。慢性肉芽腫症好中球のアポトーシス抵抗性は感染の遷延慢性化、肉芽腫の形成といった慢性肉芽腫症の病態形成に強く関与していると考えられる。Fas 抗原を介したアポトーシスにおいて酸化ストレスの意義は現在のところ不明であるが、今回の好中球における検討より、間接的にしる酸化ストレスは Fas 抗原を介したアポトーシス誘導機構に関与していると考えられる。

2) 自己免疫疾患モデル *lpr*, *gld* マウスにおけるリンパ球増殖、アポトーシス異常が Fas, Fas Ligand 遺伝子異常に起因する事より免疫制御機構における Fas-Fas L システムの重要性が示唆されている。肝脾腫、リンパ節腫大、自己免疫性汎血球減少、高γグロブリン血症、TCRab 陽性 CD4 陰性 CD8 陰性 T 細胞の増加等 *lpr*, *gld* マウス類似の臨床症状を示す自己免疫リンパ球増殖症候群の 2 家系 3 症例において Fas 誘導性アポトーシス異常と Fas 遺伝子変異を解析した。患児より活性化 T 細胞、EBV 誘導性樹立 B 細胞、好中球を分離・刺激培養し、各々の細胞群での Fas 抗原発現を間接蛍光抗体法にて、抗 Fas 抗体添加時のアポトーシス誘導を flowcytometry にて解析した。同時に患児由来の EBV 誘導性樹立 B 細胞より得た cDNA において Fas mRNA を 4 分割するように設定した primer を用いた RT-PCR 法にて解析を加え、さらにクローニングした PCR 産物より塩基配列を決定した。兄妹症例由来の細胞は正常と同様の Fas 抗原発現を示したが、Fas 誘導性アポトーシスが欠如していた。この 2 症例では intron 7 の splicing donor の点突然変異による exon 7-8 間に 4 bp の挿入が認められ、death domain を欠く異常 Fas 抗原による dominant effect と考えられた。他の 1 症例では Fas 抗原発現は全く欠如しその遺伝子異常は exon 4 欠失のホモ接合体であった。異常遺伝子は兄妹例では母親由来、他の 1 症例ではいとこ同士の両親由来であることが判明した。本邦初の Fas 抗原異常による自己免疫リンパ球増殖症候群を見出し Fas 抗原の免疫担当細胞のアポトーシスを介し免疫系の恒常性維持に重要な役割を果たすことが自己免疫性

リンパ球増殖症候群を呈する本症例から再認識された。