

原 著

珪肺症症例で認められた抗 Fas 自己抗体の機能解析

高田一友国晶子¹⁾ 植木 絢 子²⁾ 三 浦 由 恵¹⁾
草 加 勝 康³⁾ 勝 山 博 信⁴⁾ 大 槻 剛 巳¹⁾

1) 川崎医科大学衛生学

2) 川崎医療福祉大学医療福祉学部医療福祉環境デザイン学科

3) 草加病院内科

4) 川崎医科大学公衆衛生学

Functional analysis of anti-Fas autoantibody
detected in silicosis patients

Akiko Takata-Tomokuni¹⁾ Ayako Ueki²⁾ Yoshie Miura¹⁾
Masayasu Kusaka³⁾ Hironobu Katsuyama⁴⁾ Takemi Otsuki¹⁾

1) Department of Hygiene, Kawasaki Medical School

2) Department of Medical Welfare and Environmental Design,
School of Medical Welfare, Kawasaki University of Medical Welfare

3) Department of Internal Medicine, Kusaka Hospital

4) Department of Public Health, Kawasaki Medical School

要約

珪肺症症例における自己免疫異常の検討の一環として抗 Fas 自己抗体の検出を試みた。その結果、健常人に比し自己免疫症状を呈していない珪肺症症例においても、相対的高力価の抗 Fas 自己抗体を検出し、その頻度は23.1%であった。加えて、この抗 Fas 自己抗体が、膜 Fas を介してアポトーシスを誘導するように働くかどうかを検討する目的で、膜 Fas 発現の有無を認める同一症例由来ヒト骨髄腫姉妹細胞株 KMS-12PE および KMS-12BM を用いて検討した結果、膜 Fas 陽性の KMS-12PE のみにおいて抗 Fas 自己抗体陽性珪肺症血清にて増殖抑制が認められるのみならず、この増殖抑制は siRNA 法による *fas* の発現抑制によって解除された。自己認識 T 細胞の生存にかかわる Fas に対する自己抗体の出現は、珪肺症における自己寛容破綻の病態を考える上で非常に重要と思われ、今後の詳細な検討が必要であると考えられる。

(臨床環境13 : 102~109, 2004)

受付：平成16年9月17日 採用：平成16年11月26日

別刷請求宛先：大槻剛巳

〒701-0192 倉敷市松島577 川崎医科大学衛生学

Received: September 17, 2004 Accepted: November 26, 2004

Reprint Requests to Takemi Otsuki, Department of Hygiene, Kawasaki Medical School 577 Matsushima, Kurashiki, Okayama 701-0192 Japan

Abstract

To analyze the dysfunction of autoimmunity in silicosis, anti-Fas autoantibody (A-Fas Ab) was examined in serum from silicosis patients. Even silicosis patients without any autoimmune symptoms showed a relatively high-titer for A-Fas Abs compared with healthy volunteers. The KMS-12PE cell line which, is positive for membrane Fas, showed growth reduction when cultured with A-Fas Ab positive serum derived from silicosis patient. KMS-12BM, a sister line of KMS-12PE, which is negative for membrane Fas, did not. In addition, silencing of *fas* expression by the siRNA method in KMS-12PE induced growth recovery of the KMS-12PE line when cultured with A-Fas Ab positive serum. The appearance of A-Fas Abs, which is closely related to the survival of self-recognizing T cells, in serum of silicosis patients may be important in considering the pathophysiological status of dysregulation of autoimmunity found in silicosis patients. Further investigations are required to clarify the roles of this autoantibody.

(Jpn J Clin Ecol 13 : 102~109, 2004)

《Key words》 silicosis, Fas, autoantibody

I. 緒言

珪肺症症例では、呼吸器障害のみならず免疫系の異常、中でも、自己抗体の検出や自己免疫疾患の合併などの自己寛容の破綻が多く認められることが知られている^{1~3)}。我々はこれまでに、耐火煉瓦工場の従業員のうち、塵肺症と診断された症例の中で、何等、特異的な自己免疫疾患の症状を呈していない症例の検体を用いて、抗トポイソメラーゼ I 自己抗体や抗 caspase 8 自己抗体の検出を報告してきた^{4~9)}。また、同様の症例の中では、自己認識 T 細胞のアポトーシスに強く関連する Fas 分子についての検討も進めてきており、珪肺症症例血清中には、膜受容体型の Fas 分子とそのリガンドである Fas ligand の結合を細胞外で競合的に阻害する *fas* 遺伝子の選択的 splicing variant である可溶性 Fas 分子が高値を示すこと¹⁰⁾、これは末梢血単核球における遺伝子発現レベルにおいても健常人と比較して珪肺症症例では可溶性 *fas* 遺伝子発現が膜型 (wild type) *fas* 発現に比し優位となっていること¹¹⁾、可溶性 Fas 分子と同様の機能を有する *decoy receptor 3* (*DcR 3*) 遺伝子発現も同様に珪肺症症例で健常人に比し相対的に優位になっていること¹²⁾、あるいは、*fas* 遺伝子や *fas ligand* 遺伝子のアミノ酸置換を伴うような突然変異は生じていないけれども、可溶性 Fas 同様の Fas ligand との結合部位は有しながら膜貫通領域を欠いている、即ち、

タンパク質として形成された後には細胞外に出て、そこで Fas ligand と膜 Fas との結合を阻害するであろうその他の選択的 splicing variants も多く検出されること¹³⁾などを報告してきた。また、これら免疫異常の進行は、呼吸障害とは別の進行具合を呈する症例も少なからず存在する可能性があり¹⁴⁾、これらには個人的素因、例えば HLA なども関与する可能性を示唆してきた^{6, 8)}。

今回は、自己抗体検索の一環として、これまで Fas 媒介アポトーシスに関連する caspase 8 に対する自己抗体などを検討してきた⁴⁾ことに引き続き、Fas 自体に対する自己抗体の検出を試みるとともに、自己抗体価が相対的に高値であった症例の血清を用いて、その機能の検討を試みたので報告する。

II. 対象と方法

1. 対象

岡山県備前市草加病院で経過観察中のじん肺健診にて塵肺症の診断が付いている耐火煉瓦工場従業員のうち、インフォームドコンセントを得られた症例 (52名、男46名、女6名、平均年齢67.8歳)の末梢血より採血し、血清を分離した。血清は、分割して-70℃で保存し、必要時に融解して用いた。また、凍結融解は多くとも五度までに留めるようにした。

また、同様にインフォームドコンセントを得た

健常人 (10名、男4名、女6名、平均年齢50.4歳) よりの血清を対照とした。

2. Western blotting による抗 Fas 自己抗体の検出

Fas 分子の細胞内ドメイン (Calbiochem, La Jolla, CA, USA) を10%SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) にて展開し、polyvinylidene difluoride (PVDF) 膜 (Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK) に転写、適正なブロッキングの後、100倍希釈の血清にて1.5時間、室温にてハイブリダイズし、15,000倍希釈の horseradish peroxidase (HRP) - 結合ヒツジ抗ヒト免疫グロブリンG抗体にて反応させ、ECL plus Western Blotting Detection Reagent (Amersham Pharmacia Biotech.) にて化学発光の後、ポラロイドカメラにて撮影し⁴⁻⁹⁾、血清中の抗 Fas 自己抗体を検出した。また、検出されたバンドは、IBAS 2000 image analysis system (Zeiss, Germany) にて解析した。健常人10名のうちの1名を、常に標準血清として用いた。健常人は、常に、この標準血清の化学発光量の1.2倍以下であり、この値をカットオフ値として、珪肺症症例での陽性率を求めた。

3. 膜型 Fas 陽性ならびに陰性のヒト骨髓腫姉妹細胞株を用いた検討

検出された症例の抗 Fas 自己抗体の機能、即ち、この抗 Fas 自己抗体が、細胞の膜に存在する Fas 分子と結合し、Fas 媒介アポトーシスを誘導するかどうかを検討する目的で、我々の教室で樹立した2株のヒト骨髓腫姉妹株、KMS-12PE と KMS-12BM を用いて検討した。この2株は同一の症例の胸水 (KMS-12PE) および骨髓 (KMS-12BM) より樹立され、同一の免疫グロブリン重鎖再構成、特異的な染色体異常 (t(11;14)(q13;q34)) を有しながら、性状として幾つかの差異を呈することを報告している姉妹株で、その中でも、膜 Fas 分子は、KMS-12PE で高度に発現しているにもかかわらず、KMS-12BM では、ほとんど発現していない、また、この結果 KMS-12PE では、Fas 媒介アポト-

シスが容易に起こるにもかかわらず、KMS-12BM ではそうでないことも、既報に詳しい¹⁵⁻¹⁷⁾。

この両株を、RPMI1640培地に5%のウシ胎児血清 (Fetal bovine serum: FBS) を加えた培地にて、37°C、5%炭酸ガス下の孵卵器で培養するにあたって、Fas 媒介アポトーシス誘導性の抗体として知られる CH11 (MBL Co., Nagoya, Japan) 抗体¹⁸⁻²⁰⁾ の有無による増殖動態を WST-1 アッセイ (WST-1 proliferation Assay System, Takara Biochem., Tokyo, Japan)^{21,22)} にて検討した。また、ABO 型の血液型を合わせた健常人血清 (HV-6) と抗 Fas 自己抗体の相対的力価が高値であった (Western blotting でのバンドが非常に濃かった) 珪肺症症例の血清 (Sil-70) を5%含有する RPMI1640培地を用いて、HV-6血清での培養時における増殖の度合い (WST-1アッセイ) を対照として、Sil-70血清添加時の増殖を比較検討した。

4. fas 遺伝子に対する siRNA 法を用いた検討

Fas 発現 KMS-12PE 細胞でのみ、Sil-70血清を用いた場合に、HV-6血清に比し、増殖抑制が認められることに、Fas そのものが係っているかどうかを検証する目的で、siRNA 法^{23,24)} により fas 遺伝子をサイレンスした場合 (Si) と、siRNA を入れずに transfection のみを行った (Tf) KMS-12PE 細胞を用いて、Sil-70血清による増殖抑制がどのように変化するかを検討した。

ヒト fas 遺伝子に対する siRNA (GUGGAAA UAAACUGCAUUU(TT), TAKARA BIO Inc., Tokyo, Japan) および transfection 対照培地 (Trana IT-TKO transfection reagent, Mirus, Madison, WI) (これらの手技は製造元のインストラクションに従って行われた)、ならびに非 transfection 培養 (Cont) 処理を行った KMS-12PE 細胞を5%FBS添加 RPMI1640培地にて時間-24より時間0まで24時間培養し、その後、RNA-Bee 溶液 (Tel-Test Inc., Friendswood, TX) を用いて全 RNA を抽出、First strand cDNA synthesis kit (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania) を用いて cDNA を合成、その後、house keeping gene である β -actin と標

的遺伝子(今回は *fas*) を同一チューブ内で増幅し、その相対的発現度の差異を検討する multiplex-reverse transcriptase-polymerase chain reaction (MP-RT-PCR) 法^{21, 22, 25)}にてそれぞれの処理での *fas* 発現を検討した。

時間0の時点で、細胞をリン酸緩衝液にて2回洗い、改めて、5%健康人血清(HV-6)もしくは5%珪肺症血清(sil-70)添加RPMI1640培地で24ならびに48時間培養し、それぞれの時点でWST-1アッセイにより増殖動態を検討した。なお、増殖の有意差検定はFisher's PLSD testを用いた。

III. 結果

1. 自己抗体の検出

図1左パネルに示すように、健康人ならびに珪肺症血清を用いたWestern blottingにより約45 kDaのFas分子はよく検出された。そして、そのバンドの濃さは、珪肺症症例において、より濃い結果が得られた場合が多かった。この結果をま

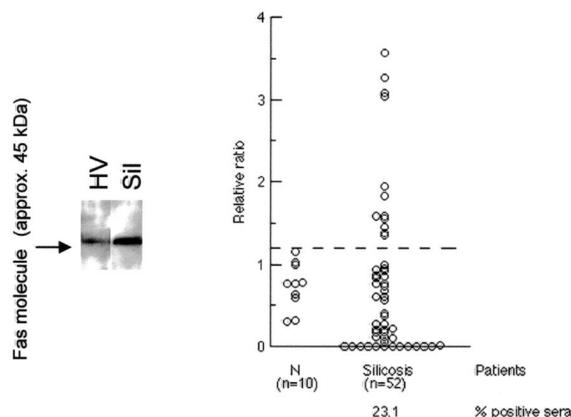


図1 抗Fas自己抗体の検出と珪肺症症例における頻度

(左) Western blottingによって抗Fas自己抗体の検出を行った。FasペプチドをSDS-PAGE法にて電気泳動後、100倍希釈の血清にて反応、化学発光にて検出した。標準血清として用いた健康人(HV)と一例の珪肺症血清(Sil)を示す。

(右) 標準として用いた健康人血清の1.2倍の化学発光量をカットオフ値として珪肺症症例52例での相対的な抗Fas自己抗体の値を示す。陽性率は23.1%であった。

とめたものが、図1右パネルであり、52人の珪肺症症例血清中、カットオフ値を用いて陽性と判断されたものは、12人(23.1%)であった。

2. KMS-12PE および KMS-12BM 細胞の増殖動態

図2左パネルに示すように、Fasを発現しているKMS-12PE細胞は、CH11抗体の添加培養によりその増殖が非常に強く抑えられ、加えて、健康人血清(HV-6)に比し、珪肺症血清(Sil-70)を用いた場合、その増殖はほぼ半分抑えられた。しかし、Fas分子を発現していないKMS-12BM細胞では、CH11添加培養にてもその増殖は変化が見られず、これは、健康人ならびに珪肺症血清を用いた場合でも同様であった(図2右パネル)。

3. siRNAの*fas*遺伝子抑制効果

図3に示すように、KMS-12PE細胞を5%FBS添加ROMI1640培地のみ(Cont)、siRNA無しのtransfection手技のみ(Tf)およびヒト*fas*遺伝子に対するsiRNA手技(siRNA)を加えて培養し、24時間後にその遺伝子発現を検討すると、

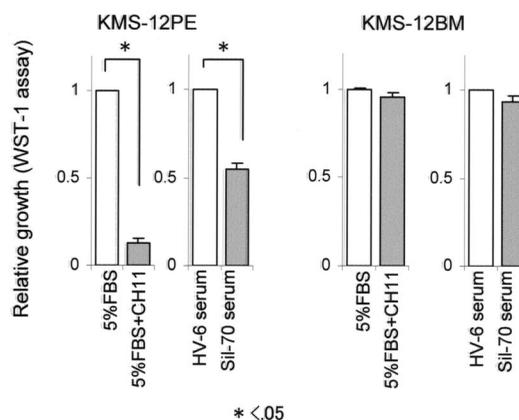


図2 膜型Fas陽性(KMS-12PE)ならびに陰性(KMS-12BM)のヒト骨髄腫姉妹株の増殖に及ぼすFas刺激性抗体CH11ならびに珪肺症血清の効果

(左) KMS-12PE細胞では、CH11抗体添加により非添加に比し、また珪肺症血清(Sil-70)の添加により健康人血清(HV-6)添加に比し、有意に増殖が抑えられた。

(右) KMS-12BM細胞では、同様の処理によっても増殖は変化なかった。

siRNA 手技によりほぼ *fas* 遺伝子発現を抑えることが出来た。よって、このような siRNA 手技を施した KMS-12PE 細胞を抗 Fas 自己抗体を含有する珪肺症血清で培養した場合、図 2 で認められた増殖抑制が Fas を介しているとする、siRNA の場合には、その増殖抑制が起こらない可能性がある。よって、この状態の細胞に Si もしくは Tf 処理を加えながら、健常人 (HV-6) ならびに珪肺症 (Sil-70) 血清にて培養し、その増殖動態を検討した。

4. siRNA 処理下での珪肺症血清添加培養時の KMS-12PE 細胞の増殖

図 4 に示すように、KMS-12PE 細胞は、Tf 処理の場合、珪肺症血清 (Sil-70) 培養 24 時間ならびに 48 時間後に、健常人血清 (HV-6) 添加培養を対照として有意な増殖抑制が認められた。しかし、siRNA 処理の場合、健常人血清 (HV-6) 添加培養を対照とした珪肺症血清 (Sil-70) 培養時の増殖は、軽度の増殖抑制が認められるのみで、Tf 時に比し、有意な相対的増殖の増加を認めた。

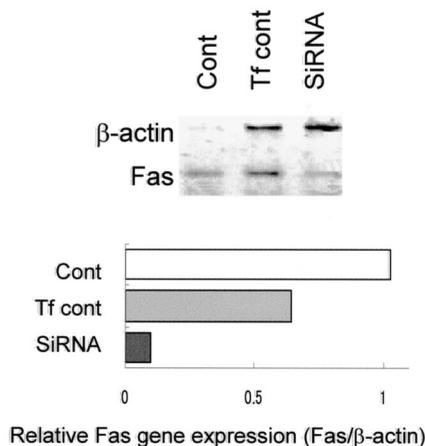


図 3 siRNA 法による KMS-12PE 細胞の *fas* 遺伝子発現の抑制

(上) 通常の培養 (5%FBS 添加 RPMI1640 培地使用) (Cont)、siRNA 無しの transfection のみの対照 (Tf cont) および siRNA 処理細胞、24 時間培養後の *fas* 遺伝子発現を観察したゲルイメージ
(下) 上記のゲルイメージにおける *fas* 遺伝子発現/ β -actin 発現により計算された相対的 *fas* 遺伝子発現度 (Cont を 1.0 として表示)

このことは、珪肺症血清添加培養時に認められた増殖抑制が Fas を介したものであることを示唆している。即ち、珪肺症血清中の抗 Fas 自己抗体は、細胞の膜に存在する Fas 分子に結合することにより、Fas 媒介アポトーシスを誘導し、細胞の増殖抑制、細胞死をもたらしていると考えられる。

IV. 考察

我々は、珪肺症に合併する自己免疫異常の病態解析を行ってきた^{4~14}。その中で自己認識 T 細胞の生死に深く関与する Fas 分子の異常については、全身性エリテマトーゼス (SLE) の症例などで報告されているように可溶性 Fas が血清中で高いことを中心とした結果が蓄積され^{10~14}、自己認識 T 細胞が安易に死滅せず体内に停滞延命することが、自己免疫症状の発端となる可能性が考えられる。特に、自己免疫症状のない珪肺症症例でこのような現象が捉えられたことは、珪酸や珪酸化合物への職業性慢性反復性低濃度曝露や体

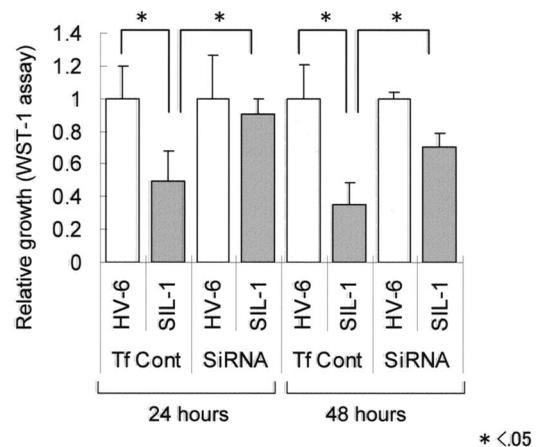


図 4 *fas* 遺伝子発現抑制 KMS-12PE 細胞における珪肺症血清による増殖抑制からの回復

図 3 の時点の細胞を 5%の健常人血清 (HV-6) もしくは珪肺症血清 (Sil-70) にてその後 24 (左) ないし 48 (右) 時間培養後の増殖を、WST-1 法により解析すると、Tf Cont 群では、両時間共に珪肺症血清では健常人血清に比し、増殖抑制が認められるが、siRNA 群では、その増殖抑制からの回復が認められた。

内繫留珪酸や珪酸塩とのリンパ球の邂逅が、何等かの自己寛容の破綻を来たすこと、また、それらが症状発現に先行するようであること、など、興味深い点も多いと考えている。

また、自己抗体の検出については、強皮症に特異的といわれる抗トポイソメラーゼ I 抗体が HLA 特異的に出現しているようであること^{6,8)}などは、珪肺症での強皮症の合併の頻度が高いことを考え合わせると興味深いところであり、また、caspase 8 に対する自己抗体が検出されたこと⁴⁾も Fas 媒介アポトーシスの調節という面において、今後詳細を検討すべき材料と考えている。

今回、報告した Fas に対する自己抗体の検出は、統合して考案すると、これらの自己抗体が、T リンパ球などの膜 Fas に対して、もし、刺激性に作用し、Fas 媒介アポトーシスを誘導するように働くとすると、これは、血清等で検出された可溶性 Fas とは異なる方向性の作用と考えられる。そこで、今回の検討では、珪肺症症例で検出された抗 Fas 自己抗体が、*in vitro* 実験系において、Fas 刺激性であるのか否かを、行った。その結果、珪肺症症例の血清によって膜 Fas 陽性の KMS-12PE 細胞は増殖抑制が認められ、姉妹株であるにもかかわらず、膜 Fas 陰性の KMS-12BM 細胞では、それは生じなかった。更に、KMS-12PE 細胞の *fas* 遺伝子を siRNA 法にてサイレンスすることにより、珪肺症血清で引き起こされた増殖抑制からの離脱が認められた。これらの結果により、珪肺症症例で検出された抗 Fas 自己抗体は、Fas 媒介アポトーシス誘導性に作用するであろうことが結論付けられた。

それでは、この作用を病態の中で、どのように考案すべきか。今回提示可能であった所見や我々のこれまでの知見のみでは、明瞭な結論には至らないが、今回の抗 Fas 自己抗体の検出は、あるいは、珪肺症における自己免疫異常の発症機転に係わるよりも、自己寛容の破綻後の現象の一つとして捉えることが出来るのかも知れない。確かに、SLE などの自己免疫疾患でも抗 Fas 自己抗体の検出は報告されている^{26~28)}が、その病態形成における役割の理解は乏しい。自己寛容破綻形成後に

このような自己抗体も出現するとすると、あるいは自己認識 T 細胞を減少させるべき自己防衛に近い作用と理解できる事象なのかも知れない。しかし、例えば、制御性 T 細胞などのように、その減少が自己認識クローンの拡大を惹起するような一群の T 細胞に対して、ある程度選択的に抗 Fas 自己抗体が作用する場合を想定すると、それは自己寛容破綻を加速化するようにも影響すると考えられる。

このように今回検出した抗 Fas 自己抗体の病態形成の中での役割の解析は、今後とも、詳細な検討を加えなければならぬと考えられる。また、今回、検討した症例の中で、抗 Fas 自己抗体が相対的に高力価で検出された症例の今後の経過観察によっても、何等かの知見が得られるかも知れない。

謝辞

川崎医科大学衛生学ならびに組織培養免疫センターの研究補助員であります坂口治子氏、幡山圭代氏および畑田聡美氏には研究において多大な技術的援助を受けました。また、川崎医科大学衛生学兵藤文則博士には、貴重なご助言を頂きました。ここに深謝いたします。なお、本論分の一部は、川崎医科大学プロジェクト研究費 (13-402) ならびに日本学術振興会研究費補助金 (11670355) のサポートを得て遂行されました。

文献

- 1) Shanklin DR, Smalley DL: The immunopathology of silicosis. History, clinical presentation, and relation to silicosis and the chemistry of silicon and silicone. *Immunol Res* 18: 125-173, 1998
- 2) Steenland K, Goldsmith DF: Silica exposure and autoimmune diseases. *Am J Ind Med* 28: 603-608, 1995
- 3) Uber CL, McReynolds RA: Immunotoxicology of silica. *Crit Rev Toxicol* 10: 303-319, 1982
- 4) Ueki A, Isozaki Y, et al: Tomokuni A, Hatayama T, Ueki H, Kusaka M, Shiwa M,

- Arikuni H, Takeshita T, Morimoto K, Intramolecular epitope spreading among anti-caspase-8 autoantibodies in patients with silicosis, systemic sclerosis and systemic lupus erythematosus, as well as in healthy individuals. *Clin Exp Immunol* 129: 556-561, 2002
- 5) Ueki A, Isozaki Y, et al: Different distribution of HLA class II alleles in anti-topoisomerase I autoantibody responders between silicosis and systemic sclerosis patients, with a common distinct amino acid sequence in the HLA-DQB1 domain. *Immunobiol* 204: 458-465, 2001
 - 6) Ueki A, Isozaki Y, et al: Autoantibodies detectable in the sera of silicosis patients. The relationship between the anti-topoisomerase I antibody response and HLA-DQB1 * 0402 allele in Japanese silicosis patients. *Sci Total Environ* 270: 141-148, 2001
 - 7) Ueki H, Kohda M, et al: Antidesmoglein autoantibodies in silicosis patients with no bullous diseases. *Dermatol* 202: 16-21, 2001
 - 8) Ueki A, Isozaki Y, et al: Is the anti-topoisomerase I autoantibody response associated with a distinct amino acid sequence in the HLA-DQbeta1 domain? *Arthritis Rheum* 44: 491-492, 2001
 - 9) Tomokuni A, Otsuki T, et al: Detection of anti-topoisomerase I autoantibody in patients with silicosis. *Environ. Health Prev Med* 7: 7-10, 2002
 - 10) Tomokuni A, Aikoh T, et al: Elevated soluble Fas/APO-1 (CD95) levels in silicosis patients without clinical symptoms of autoimmune diseases or malignant tumours. *Clin Exp Immunol* 110: 303-309, 1997
 - 11) Otsuki T, Sakaguchi H, et al: Soluble Fas mRNA is dominantly expressed in cases with silicosis. *Immunol* 94: 258-262, 1998
 - 12) Otsuki T, Tomokuni A, et al: Overexpression of the decoy receptor 3 (DcR3) gene in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) derived from silicosis patients. *Clin Exp Immunol* 119: 232-327, 2000
 - 13) Otsuki T, Sakaguchi H, et al: Detection of alternatively spliced variant messages of Fas gene and mutational screening of Fas and Fas ligand coding regions in peripheral blood mononuclear cells derived from silicosis patients. *Immunol Lett* 72: 137-143, 2000
 - 14) Otsuki T, Ichihara K, et al: Evaluation of cases with silicosis using the parameters related to Fas-mediated apoptosis. *Int J Mol Med* 4: 407-411, 1999
 - 15) Otsuki T, Yamada O, et al: Human myeloma cell apoptosis induced by interferon-alpha *Br J Haematol* 103: 518-529, 1998
 - 16) Otsuki T, Hata H, et al: Cellular biological differences between human myeloma cell lines KMS-12-PE and KMS-12-BM established from a single patient. *Int J Hematol* 72: 216-222, 2000
 - 17) Otsuki T, Yamada O, et al: Genetic and biological characterization of human myeloma cell lines: An overview of the lines established at Kawasaki Medical School. *Gene Funct Dis* 1: 48-56, 2000
 - 18) Kelly JD, Dai J, et al: Downregulation of Bcl-2 sensitises interferon-resistant renal cancer cells to Fas. *Br J Cancer* 91: 164-170, 2004
 - 19) Perchellet EM, Wang Y, et al: Synthetic 1,4-anthracenedione analogs induce cytochrome c release, caspase-9, -3, and -8 activities, poly(ADP-ribose) polymerase-1 cleavage and internucleosomal DNA fragmentation in HL-60 cells by a mechanism

- which involves caspase-2 activation but not Fas signaling. *Biochem Pharmacol* 67: 523-537, 2004
- 20) Meli M, D'Alessandro N, et al: NF-kappaB inhibition restores sensitivity to Fas-mediated apoptosis in lymphoma cell lines. *Ann NY Acad Sci* 1010: 232-236, 2003
- 21) Otsuki T, Yata K, et al: Interleukin 10 abolishes the growth inhibitory effects of all-trans retinoic acid on human myeloma cells. *Br J Haematol* 116: 787-795, 2002
- 22) Otsuki T, Kurebayashi J, et al: Expression of HER family receptors and effects of anti-HER2-antibody on human myeloma cell lines. *Int J Oncol* 23: 1135-1141, 2003
- 23) Nishikura K: A short primer on RNAi: RNA-directed RNA polymerase acts as a key catalyst. *Cell* 107: 415-418, 2001
- 24) Moss EG. RNA interference: it's a small RNA world. *Curr Biol* 11: R772-775, 2001
- 25) Otsuki T, Yamada O, et al: Estrogen receptors in human myeloma cells. *Cancer Res* 60: 1434-1441, 2000
- 26) Sengun IS, Appel SH: Serum anti-Fas antibody levels in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuroimmunol* 142: 137-140, 2003
- 27) Yi FH, Lautrette C, et al: In vitro induction of neuronal apoptosis by anti-Fas antibody-containing sera from amyotrophic lateral sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 109: 211-210, 2000
- 28) Mihara S, Suzuki N, et al: Combination of molecular mimicry and aberrant autoantigen expression is important for development of anti-Fas ligand autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 129: 359-369, 2002