

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09534

研究課題名(和文)皮膚筋炎に併発する急速進行性間質性肺炎の病態解明と新規治療法開発の試み

研究課題名(英文)Clarification of pathogenesis in patients with dermatomyositis and rapidly progressive interstitial lung disease for new therapeutic approach

研究代表者

佐藤 慎二 (SATO, Shinji)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：90276238

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚筋炎(Dermatomyositis: DM)に見出された抗CADM-140/MDA5抗体(抗MDA-5抗体)は、治療抵抗性で予後不良の急速進行性間質性肺炎(rapidly progressive interstitial lung disease: RP-ILD)と密接に関連することがあきらかになっている。本研究での同病態における各種サイトカインレベルの検討でIL-6がより重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また、臨床的には抗MDA5抗体価がRP-ILDを併発したDMの短期的な予後予測や長期的な再発予測に有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Dermatomyositis (DM) is sometimes accompanied by rapidly progressive interstitial lung disease (RP-ILD) especially in patients with clinically amyopathic dermatomyositis (CADM), a clinical subtype of DM. It is known that RP-ILD with DM has a very poor prognosis despite of intensive treatment with high-dose corticosteroid and immunosuppressive agents. Anti-CADM-140/MDA5 (Melanoma Differentiation-Associated Gene 5) antibody (anti-MDA5 antibody) is one of DM-specific autoantibodies and is well known by its close association with RP-ILD. In this study, it was suspected that IL-6 might be involved in the pathogenesis of DM and RP-ILD according to the results of cytokine profile. Our findings also highlight the usefulness of this antibody not only in the prediction of RP-ILD but also in monitoring of the disease activity and prediction of disease outcome both in short-term and long-term follow up.

研究分野：医歯薬学

キーワード：抗MDA5抗体 皮膚筋炎 急速進行性間質性肺炎 抗体価 予後予測 再発予測

### 1. 研究開始当初の背景

皮膚筋炎 (Dermatomyositis:DM)は、骨格筋の炎症にともなう近位筋の筋力低下・筋痛を主症状とする炎症性筋疾患であり、ヘリオトロープ疹やゴットロン徴候などの典型的な皮膚症状を呈することが特徴である。本疾患は、自己免疫疾患のひとつで、これまでDMに特異的に出現する自己抗体の存在が知られている。これら特異自己抗体の対応抗原の多くは、生命現象に必須な酵素や調節因子であり、それらの追究は病因解明につながる事が期待される。

一方、DMのサブタイプである臨床的に筋炎症状に乏しいDM(Clinically amyopathic DM: CADM)では、自己抗体陰性がひとつの特徴とされ、特異的な自己抗体の存在は明らかではなかった。また、CADMは、治療抵抗性で予後不良の急速進行性間質性肺炎(Rapidly progressive Interstitial Lung Disease: RP-ILD)を合併することも知られている。RP-ILDの治療法はいまだ確立されておらず、早期から強力な治療を開始しなければ致死的となることが多く、かかる点で、RP-ILD併発ADMの病態解明は、有効な新規治療法開発の観点から臨床的に非常に重要である。

以上のような背景をふまえ、我々は、CADM 15例を含む膠原病および健常人 306例の血清を、白血病細胞由来 K562 細胞抽出物を用いた免疫沈降法で検討し、CADM患者血清が分子量約 140kDa の蛋白を免疫沈降することを見出し、この新たな自己抗体を抗 CADM-140 抗体と命名した(*Arthritis Rheum.* 50(9):S398, 2003)。抗 CADM-140 抗体は、CADMに認められたが、他の膠原病および健常人では認められなかった。非常に興味深いことに、抗 CADM-140 抗体陽性例は陰性例と比較して RP-ILD 併発が有意に高頻度であり、同抗体と RP-ILD との関連が示唆された(*Arthritis Rheum.* 52(5): 1571-76, 2005)。そこで、我々は、抗 CADM-140 抗体の対応抗原を追究するために、HeLa 細胞由来 cDNA ライブラリーを使用して、対応抗原遺伝子のクローニングをおこない、その発現蛋白について検討したところ、対応抗原が、自然免疫におけるウイルス感染防御で重要な役割を果たしている分子である MDA5 (melanoma differentiation-associated gene 5) であることが明らかになった(*Arthritis Rheum.* 60(7): 2193-200, 2009)。MDA5 は、Retinoic acid-inducible gene 1 (RIG-I)ファミリーに属する蛋白質で、細胞内ウイルス感染を認

識し、抗ウイルス作用を有する I 型インターフェロン (IFN) を誘導することで、自然免疫におけるウイルス感染防御に重要な役割を果たす。RIG-I, MDA5 とともに、ウイルス感染防御機構を促進し、MDA5 はピコルナウイルスを認識するために必要である。これまで、ピコルナウイルス科のкокサッキーウイルスの抗体価が小児 DM 患者では若年性関節リウマチやウイルス感染症患者と比較して高かったと報告されるなどウイルス感染が炎症性筋疾患の病因の一つと推測されている。この点で、CADM-140 抗原が、ウイルス感染防御に關与する MDA5 であることは、非常に重要な意味を持つ。なぜなら、MDA5 (CADM-140 抗原) が認識するピコルナウイルス感染が、予後不良の RP-ILD 併発 CADM の病因になっている可能性が考えられるからである。これまでも、筋炎特異自己抗原やその分解産物が、筋炎の発症に關与するとする仮説が提唱されている。Casciola-Rosen らは、セリンプロテアーゼのグランザイム B が、筋炎特異自己抗体の抗 Jo-1 抗体の対応抗原 (ヒスチジル tRNA 合成酵素) を通常とは異なる N 末端領域で分解し、産生された分解産物が自己免疫応答を引き起こすことを報告した。このような知見をふまえると、CADM-140 抗原 (MDA5) は、ウイルス感染により、感染細胞内で高発現され、引き続いておこるウイルス感染防御機構が、感染細胞のアポトーシスを引き起こし、多量の MDA5 あるいはその分解産物やウイルスとの複合体などが血中に流出する。それらが、組織への免疫担当細胞の遊走を促進あるいは抗原提示細胞によって自己抗原として処理され、MHC 分子とともに提示されることで、CADM-140 抗原特異的な自己免疫現象を引き起こす。また、それらに対する免疫応答の結果、MDA5 に対する自己抗体が産生され、さらに、MDA5 に対する自己免疫応答は自己抗体依存的・非依存的に組織障害を進展させる可能性がある。

### 2. 研究の目的

本研究では、RP-ILD 併発 DM 発症における抗 MDA5 抗体の臨床的意義、MDA5 の病原性ならびに同病態に対する新規治療法の追究を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### <急速進行性間質性肺炎を併発した皮膚筋炎患者血清中のサイトカインの検討>

RP-ILD 併発 DM 7 例 (生存例 2 例、死亡例 5 例) の血清について、様々なサイトカイン

(TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-17A, IL-23, IFN $\gamma$ , TGF- $\beta$ , M-CSF, VEGF-A, sRANKL, OPG)濃度を経時的に測定した。

#### <急速進行性間質性肺炎を併発した皮膚筋炎患者の死亡リスク因子の検討>

同病態 20 例(生存例 12 例および死亡例 8 例)をレトロスペクティブに生存群と死亡群に層別化して、その死亡リスク因子を検討した。生存群、死亡群の 2 群間の比率の比較は 2 検定、検査値の比較には対応のない t-test を用いて行った。

#### <抗 MDA5 抗体陽性 RP-ILD における治療後の短期的な抗体力価の推移>

抗 MDA5 抗体陽性の RP-ILD 併発 DM 患者 25 例(古典的 DM 3 例, CADM 22 例)を対象として、臨床症状ならびに診断時/治療開始前と治療開始後 12 週/死亡時までの抗 MDA5 抗体 ELISA による力価の推移をレトロスペクティブに生存群と死亡群に層別化して比較検討した。解析は 2 検定、対応のない t 検定でおこなった。

#### <抗 MDA5 抗体陽性 RP-ILD における治療後の長期的な抗体力価の推移>

これまで当科を受診した抗 MDA5 抗体陽性の RP-ILD 併発 DM 患者の中で、長期生存した 11 例を対象として、抗 MDA5 抗体 ELISA による力価の推移をレトロスペクティブに検討した。

#### 4. 研究成果

#### <急速進行性間質性肺炎を併発した皮膚筋炎患者血清中のサイトカインの検討>

IL-6 以外のサイトカインの推移に一定の傾向を認めなかった。血清 IL-6 値は、生存例で経過とともに検出限界以下になったのに対して、死亡例では全例で上昇あるいは、陽性になっていた。以上より、同病態に対して IL-6 産生を抑制する治療が有用である可能性が示唆された。

#### <急速進行性間質性肺炎を併発した皮膚筋炎患者の死亡リスク因子の検討>

死亡リスク因子の検討では、男性、高齢発症、胸部 CT にて下肺野を超えた浸潤影を認めた症例、縦隔気腫を併発した症例、多関節痛の併発が低頻度、血清 KL-6 値高値、血清フェリチン値高値、血清 SP-D 値高値、血清 CRP 高値が死亡群で有意に高率であった。特に死亡群の血清 SP-D 値高値は初診時の時点で既に高値であった症例が高頻度であった。

#### <抗 MDA5 抗体陽性 RP-ILD における治療後の短期的な抗体力価の推移>

抗 MDA5 抗体陽性の RP-ILD 併発 DM 患者 25 例中 14 例はステロイドパルス療法を含む

大量ステロイドに多剤免疫抑制薬併用・免疫グロブリン大量静注療法などの併用で改善を認めたが、死亡した 11 例中 9 例の RP-ILD は治療抵抗性で、全例呼吸不全により 12 週間までに死亡した。残り 2 例の RP-ILD は改善したが、脳血管障害・悪性腫瘍の進行によりそれぞれ死亡した。臨床症状については、生存群は死亡群と比較して有意に年齢が若く ( $50.7 \pm 8.1$  vs.  $60.6 \pm 6.3$ ,  $P = 0.012$ )、関節症状を併発していた ( $93\%$  vs.  $46\%$ ,  $P = 0.021$ )。診断時/治療開始前の抗 MDA5 抗体の抗体価に両群間に有意差を認めなかったが ( $156.5 \pm 230.2$  vs.  $101.4 \pm 57.5$ ,  $P = 0.42$ )、12 週あるいは死亡時の同抗体価は生存群で有意に低く ( $17.6 \pm 9.6$  vs.  $28.3 \pm 10.7$ ,  $P = 0.035$ )、抗体価減少率は生存群で有意に高かった ( $80.4 \pm 7.5$  vs.  $63.5 \pm 24.4$ ,  $P = 0.029$ )。以上より、抗 MDA5 抗体の力価減少率は RP-ILD 併発 DM の短期的な治療効果判定や予後推定に有用である可能性が示唆された。

#### <抗 MDA5 抗体陽性 RP-ILD における治療後の長期的な抗体力価の推移>

長期生存例 9 例および呼吸不全死以外の死亡例 2 例は最終観察時に抗 MDA5 抗体の抗体価は正常化していた。寛解後に再発した 1 症例を認めたが、再発時にはあきらかな臨床的再発に先駆けて同抗体力価の上昇傾向を認めた。再発した原因は自己判断による治療薬の中断であった。以上より、抗 MDA5 抗体力価は RP-ILD 併発 DM の長期生存例においては、その再発予測に有用であることが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 13 件)

1. Sato S, Masui K, Nishina N, Kawaguchi Y, Kawakami A, Tamura M, Ikeda K, Nunokawa T, Tanino Y, Asakawa K, Kaneko Y, Gono T, Ukichi T, Kaieda S, Naniwa T and Kuwana M; A Multicentre Retrospective Cohort of Japanese Patients with Myositis-associated ILD Investigators. Initial predictors of poor survival in myositis associated interstitial lung disease: a multicentre cohort of 497 patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2018 Mar 27. doi: 10.1093/rheumatology/key060. [Epub ahead of print] (査読有)
2. 佐藤慎二. 多発性筋炎・皮膚筋炎に伴う間質性肺炎の多様性 リウマチ科 59(1): 16-20, 2018.1 (査読無)
3. 佐藤慎二. 皮膚筋炎に伴う急速進行性間質性肺炎: MDA5 呼吸臨床 1(1): 1-7,

2017.10 ( 査読無 )

4. **佐藤慎二**. 皮膚筋炎における間質性肺炎  
リウマチ科 58(1): 7-11, 2017.1 ( 査読無 )
5. Chino H, Sekine A, Baba T, Iwasawa T, Okudela K, Takemura T, Itoh H, **Sato S**, Suzuki Y, Ogura T. Radiological and Pathological Correlation in Anti-MDA5 Antibody-positive Interstitial Lung Disease: Rapidly Progressive Perilobular Opacities and Diffuse Alveolar Damage. Intern Med. 2016;55(16):2241-6. doi: 10.2169/internalmedicine.55.5774. Epub 2016 Aug 15. PMID: 27523002 ( 査読有 )
6. Moghadam-Kia S, Oddis CV, **Sato S**, Kuwana M, Aggarwal R. Antimelanoma Differentiation-associated Gene 5 Antibody: Expanding the Clinical Spectrum in North American Patients with Dermatomyositis. J Rheumatol. 2017 Jan 15. pii: jrheum.160682. doi: 10.3899/jrheum.160682. ( 査読有 )
7. **佐藤慎二**. 自己抗体からみた炎症性筋疾患の臨床像 リウマチ科 56(4): 431-438, 2016.4 ( 査読無 )
8. **Sato S**, Murakami A, Kuwajima A, Takehara K, Mimori T, Kawakami A, Mishima M, Suda T, Seishima M, Fujimoto M, Kuwana M. Clinical Utility of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detecting Anti-Melanoma Differentiation-Associated Gene 5 Autoantibodies. PLoS One. 2016 Apr 26;11(4):e0154285. doi: 10.1371/journal.pone.0154285. eCollection 2016.4. ( 査読有 )
9. **佐藤慎二**. 抗 MDA5/CADM-140 抗体 医学のあゆみ 256(12): 1204-08, 2016.3 ( 査読無 )
10. **佐藤慎二**. 特発性炎症性筋疾患における自己抗体 リウマチ科 55(2): 227-233, 2016.2 ( 査読無 )
11. **佐藤慎二**. 抗 MDA5 抗体と無筋症性皮膚筋炎 感染 炎症 免疫 46(1): 52-54, 2016.1 ( 査読無 )
12. **Sato S**, Kuwana M. Utility of dermatomyositis-specific autoantibodies for diagnosis and clinical subsetting. International Journal of Clinical Rheumatology, 2015: 10(4), 257-271. ( 査読有 )
13. Moghadam-Kia S, Oddis CV, **Sato S**, Kuwana M, Aggarwal R. Anti-MDA5 is associated with rapidly progressive lung disease and poor survival in U.S. patients with amyopathic and myopathic dermatomyositis. Arthritis Care Res (Hoboken). 2015 Sep 28. doi: 10.1002/acr.22728. [Epub ahead of

print] ( 査読有 )

[学会発表](計 11 件)

1. **佐藤慎二**. 皮膚筋炎に合併する間質性肺炎の臨床的特徴 第 37 回 日本画像医学会・学術集会 (東京) 2018. 2
2. 山田千穂, **佐藤慎二**, 佐々木 翔, 倉林賢慶, 小山 泰, **佐々木則子**, 知念直史, 若林孝幸, 鈴木康夫. 急速進行性間質性肺炎を併発した皮膚筋炎における抗 MDA5 抗体力価の短期的推移の検討 第 38 回 日本炎症・再生医学会・学術集会 (大阪) 2017. 7
3. **佐藤慎二**, 仁科 直, 川口 鎮司, 川上 純, 田村 真麻, 池田 啓, 布川 貴博, 金子 祐子, 五野 貴久, 桑名 正隆. 間質性肺炎を併発した多発性筋炎・皮膚筋炎の予後不良予測因子の検討 第 61 回日本リウマチ学会総会・学術集会 (福岡) 2017. 4
4. **佐藤慎二**. 抗 MDA5 抗体陽性筋炎にともなう間質性肺炎 第 61 回日本リウマチ学会総会・学術集会 (福岡) 2017. 4
5. **Sato S**, Masui K, Nishina N, Kawaguchi Y, Kawakami A, Tamura M, Ikeda K, Nunokawa T, Tanino Y, Asakawa K, Kaneko Y, Gono T, Kuwana M. Initial Predictors of Short-term Poor Survival Rates in Patients with Polymyositis/Dermatomyositis-associated Interstitial Lung Disease. The 80th Annual scientific meeting of American College of Rheumatology (Washington, DC). 2016.11
6. **佐藤慎二**. 皮膚筋炎に合併する間質性肺炎の病態と鑑別 第 60 回日本リウマチ学会総会・学術集会 (横浜) 2016. 4
7. Moghadam-Kia S, Oddis CV, **Sato S**, Kuwana M, Aggarwal R. Clinical Characteristics of Anti-MDA5 (+) Dermatomyositis Patients in North America. The 79th Annual scientific meeting of American College of Rheumatology (San Francisco). 2015.11
8. **Sato S**, Kurabayashi T, Sasaki S, Koyama Y, Nogi S, Chinen N, Yamada C, Suzuki Y. Risk of Malignancy in Dermatomyositis with Anti-CADM-140/Melanoma Differentiation-Associated Gene 5 Autoantibody. The 79th Annual scientific meeting of American College of Rheumatology (San Francisco). 2015.11
9. **佐藤慎二**, 倉林賢慶, 佐々木 翔, 小山泰, 野木真一, **佐々木則子**, 知念直史, 本田 桐, 若林孝幸, 山田千穂, 鈴木康夫. 抗 CADM-140/MDA5 抗体陽性皮膚筋炎の悪性腫瘍発症リスクの検討 第 59 回日本リウマチ学会総会・学術集会 (名古屋) 2015. 4

10. Moghadam-Kia S, Oddis CV, **Sato S**,  
Kuwana M, Aggarwal R. Anti-MDA5  
autoantibody: Clinical significance  
in U.S. patients with amyopathic and  
myopathic dermatomyositis 第 59 回日本  
リウマチ学会総会・学術集会 (名古屋)  
2015. 4
11. **佐藤慎二**. Current treatment for  
interstitial lung disease associated  
with polymyositis/dermatomyositis  
第 59 回日本リウマチ学会総会・学術集会  
(名古屋) 2015. 4

〔図書〕(計 1 件)

1. **佐藤慎二**. リウマチ・膠原病診療ハイグ  
レード 分子標的/Bio 時代のリウマチ・  
膠原病治療ストラテジー(分), ゲスト編  
集: 松本 功, 安田 晋. 文光堂 医歯薬  
出版株式会社 pp181-194, 2015.10

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

佐藤 慎二 (SATO, Shinji)  
東海大学・医学部・教授  
研究者番号: 90276238

##### (3) 連携研究者

佐々木 則子 (SASAKI, Noriko)  
東海大学・医学部・助教  
研究者番号: 50734406

##### (4) 研究協力者

野木 真一 (NOGI, Shinichi)  
東海大学・医学部付属病院・非常勤医師