

令和 3 年 5 月 24 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02829

研究課題名(和文) 皮膚筋炎特異的自己抗原に対する免疫応答が皮膚筋炎の病態を形成する分子機序の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms by which the immune response to dermatomyositis-specific self-antigens forms the pathology of dermatomyositis

研究代表者

藤本 学 (FUJIMOTO, MANABU)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：90272591

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,400,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚筋炎は膠原病の一つであり、本邦では指定難病にも含まれている。本症はこれまで適切なマウスモデルが少なく、その病態解明や治療法開発の障壁となっていた。皮膚筋炎では近年疾患特異的な自己抗体が同定され、この免疫反応が発症のカギとなっている可能性も考えられている。本研究では、このような自己抗体の主要な標的であるヒトTIF1 蛋白を免疫して実験的筋炎を誘導するマウスモデルを確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗TIF1 抗体は皮膚筋炎の代表的な自己抗体であり、本抗体陽性の皮膚筋炎患者は、小児であれば顕著な筋力低下、成人であれば内臓悪性腫瘍の合併も高率であり、現在のところ、非特異的な免疫抑制療法のみである。本研究で樹立したマウスモデルは、患者の体内で起こっている自己免疫機序を忠実に模していると考えられ、より特異的な筋炎治療法の開発に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Dermatomyositis is one of the connective tissue diseases and is included in the designated intractable diseases in Japan. Until now, there have been few suitable mouse models for this disease, which has been a barrier to elucidation of its pathophysiology and development of treatment methods. In recent years, disease-specific autoantibodies have been identified in dermatomyositis, and it is considered that this immune response may be the key to clarify the molecular mechanisms of the disease. In this study, we have established a mouse model that induces experimental myositis by immunizing the human TIF1 protein, which is a major target of such autoantibodies.

研究分野：皮膚科学

キーワード：膠原病 自己免疫 T細胞

1. 研究開始当初の背景

皮膚筋炎は、皮膚および筋の炎症性変化を主徴とする自己免疫疾患で、その病因や病態はいまだに不明の点が多い。皮膚筋炎は、内臓悪性腫瘍や間質性肺炎をしばしば合併し、その生命予後は他の膠原病と比べても悪く、発症機序や病態の解明とそれに立脚した治療法の開発は喫緊の課題である。

皮膚筋炎は過去約 10 年の間に臨床的な面の理解が大きく進歩した。すなわち、主要な皮膚筋炎特異抗体が新しく同定され、それにともなって、皮膚筋炎の臨床的病型や合併症が自己抗体の種類にきわめて強く相関することが明らかになってきた。これらの自己抗体は、互いに排他的に出現し、抗体価は疾患活動性にしばしば一致する。これらは、自己抗原の認識とそれに続く自己免疫応答が病因・病態と密接に関わっていることを示唆している。このような新しい皮膚筋炎特異的自己抗体の代表的なものとして、抗 TIF1 (transcriptional intermediary factor 1) 抗体と抗 MDA5 (melanoma differentiation antigen 5) 抗体がある。両者ともに皮膚筋炎患者の約 20-30%を占め、皮膚筋炎においてもっとも高頻度に陽性になる抗体であるのみでなく、抗 TIF1 抗体は内臓悪性腫瘍を、抗 MDA5 抗体は急速進行性間質性肺炎を、それぞれ高率に合併するという皮膚筋炎の 2 大臨床型を示す抗体である。すなわち、「この 2 つの分子に対する免疫応答がいかに皮膚筋炎の病態に関わっているか?」という問いに対する答えを明らかにできれば、皮膚筋炎の発症・病態に関する主要な分子メカニズムを明らかにできることになる。しかしながら、これらの分子は通常は核内または細胞内に発現しているため、どのようにして免疫応答が惹起されるのかは、細胞表面分子のようにシンプルな理論では説明できず、これまで明らかになっていない。また、「これらの 2 つの病態 (特に抗 MDA5 抗体陽性急速進行性間質性肺炎) に対する有効な治療法は何か?」という問いは、きわめて予後不良な本症の予後を改善するために臨床的に重要である。

これまで皮膚筋炎の基礎研究が停滞していた大きな理由は、病態に即した適切な疾患動物モデルがなかったためである。ミオシンや C 蛋白など筋特異的に高発現する分子を免疫するマウスモデルは存在するが、実際の疾患で認められる自己抗体の標的とは異なる蛋白の免疫により強制的に筋炎を誘導するため、本来の多発性筋炎/皮膚筋炎とは病態が異なる人工的な系であり、発症機序の研究には適しておらず、自己抗原の観点から本来の病態により近いマウスモデルが望まれていた。筋炎モデルマウスで、ヒト疾患における本来の自己抗原に対する免疫反応を惹起させることは、Jo-1 (ヒスチジル tRNA 合成酵素) を用いた研究は報告されているものの、マウス系統の特殊性や再現性の問題から広く用いられるに至っていない。また、抗 Jo-1 抗体に代表されるいわゆる抗 ARS 抗体症候群は、抗 TIF1 抗体や抗 MDA5 抗体が陽性となる典型的な皮膚筋炎とは病像がかなり異なっており、異なる疾患とすべきとする考え方もある。

2. 研究の目的

本研究は、自己抗原で誘導する筋炎マウスモデルを樹立して、皮膚筋炎の発症機序から病態までの一連の流れを包括的に分子レベルで明らかにするとともに、治療法の探索を行うようにできることを目的とした。抗 TIF1 抗体は、皮膚筋炎にもっとも高率に見いだされる抗核抗体の一つであり、疾患特異性が高く、2016 年には保険適用が認められるようになっていて日常診療でも広く用いられているため、その病態・治療法が解明されれば、臨床の現場に直接的に大きな貢献をすることが可能であることから、TIF1 で誘導される皮膚筋炎モデルの樹立とその病態メカニズムの解明を行った。

3. 研究の方法

バキュロウイルスの系で作成したヒト TIF1 リコンビナント蛋白を、C57BL/6 の野生型マウスに完全 Freund アジュバントおよび百日咳トキシンとともに繰り返し免疫し、大腿筋に実験的筋炎を惹起した。これらのマウスから採取した免疫細胞分画や血清をナイーブマウスに投与する系により、発症機序を解析した。

病理組織学的検討および免疫組織化学的検討により、実験的筋炎組織を評価した。また、各種遺伝子改変マウスや、ヤヌスキナーゼ (JAK) 阻害薬や種々の薬剤を投与する系を用いて、筋炎の病態と治療効果を検討した。

4. 研究成果

TIF1 蛋白の免疫により野生型マウス的大腿筋に誘導された筋炎は、病理組織学的に筋線維周囲への炎症細胞浸潤と筋壊死像、線維束周囲性萎縮を呈し、ヒト皮膚筋炎の病理組織像に類似していた。また、免疫組織学的検討では、主要組織適合複合体クラス I や I 型インターフェロンにより誘導される myxovirus resistance protein 1 (MxA) が発現している点もヒト皮膚筋炎の筋病理組織像と一致していた。また、これらのマウスの血中では抗 TIF1 抗体の存在も確認された。

筋組織に浸潤している炎症細胞は、T 細胞が中心であり、特に CD8 陽性 T 細胞が主体をなしてい

た。TIF1 誘導性筋炎を誘導したマウスから CD8 陽性 T 細胞をナイーブマウスに移植すると筋炎の発症が認められたことから、CD8 陽性 T 細胞が発症の中心的役割を担っていると考えられた。一方、血中の抗 TIF1 抗体のみの移入では、筋炎は惹起されなかった。次に、I 型インターフェロン受容体を欠損したマウスに TIF1 蛋白を免疫したところ、野生型マウスに比べて惹起される筋炎は有意に軽症であった。さらに、野生型マウスにおいて JAK キナーゼ阻害薬であるトファシチニブを投与したところ、用量依存的に筋炎の発症が抑制された。この際に、TIF1 特異的 T 細胞や抗 TIF1 抗体の誘導は抑制されなかったことから、JAK 阻害薬は抗原特異的自己免疫反応ではなく、それに続く筋の炎症のみを抑制していると考えられた。これらの結果は、本モデルがヒト皮膚筋炎の病態モデルとして有用であり、I 型インターフェロンや JAK/STAT 経路をはじめとする炎症のメカニズムと治療標的を考えていく上で有用であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Okiyama N, Yamaguchi Y, Koderu M, Hamaguchi Y, Yokozeki H, Ishiguro N, Fujimoto M.	4. 巻 155
2. 論文標題 Distinct Histopathologic Patterns of Finger Eruptions in Dermatomyositis Based on Myositis-Specific Autoantibody Profiles.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JAMA Dermatol	6. 最初と最後の頁 1081-1082
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1001/jamadermatol.2019.1668	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanboon J, Inoue M, Hirakawa S, Tachimori H, Hayashi S, Noguchi S, Suzuki S, Okiyama N, Fujimoto M, Nishino I.	4. 巻 96
2. 論文標題 Pathologic Features of Anti-Mi-2 Dermatomyositis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurology	6. 最初と最後の頁 e448-e449
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1212/WNL.0000000000011269.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kume M, Arase N, Okiyama N, Koguchi-Yoshioka H, Tada T, Saruban H, Fujimoto M.	4. 巻 60
2. 論文標題 Unilateral heliotrope rash: a warning sign for anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody-positive dermatomyositis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 e134-e135
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rheumatology/keaa574.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Okiyama N, Ichimura Y, Shobo M, Tanaka R, Kubota N, Saito A, Ishitsuka Y, Watanabe R, Fujisawa Y, Nakamura Y, Murakami A, Kayama H, Takeda K, Fujimoto M.	4. 巻 NA
2. 論文標題 Immune response to dermatomyositis-specific autoantigen, transcriptional intermediary factor 1 can result in experimental myositis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ann Rheum Dis	6. 最初と最後の頁 NA
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/annrheumdis-2020-218661	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inoue M, Tanboon J, Hirakawa S, Komaki H, Fukushima T, Awano H, Tajima T, Yamazaki K, Hayashi R, Mori T, Shibuya K, Yamanoi T, Yoshimura H, Ogawa T, Katayama A, Sugai F, Nakayama Y, Yamaguchi S, Hayashi S, Noguchi S, Tachimori H, Okiyama N, Fujimoto M, Nishino I.	4. 巻 77
2. 論文標題 Association of Dermatomyositis Sine Dermatitis With Anti-Nuclear Matrix Protein 2 Autoantibodies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JAMA Neurol	6. 最初と最後の頁 822-827
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1001/jamaneurol.2020.0673.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kotobuki Y, Tonomura K, Fujimoto M.	4. 巻 44
2. 論文標題 Transcriptional intermediary factor 1 (TIF1) and anti-TIF1 antibody-positive dermatomyositis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Immunol Med	6. 最初と最後の頁 23-29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/25785826.2020.1791402.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oya K, Inoue S, Saito A, Nakamura Y, Ishitsuka Y, Fujisawa Y, Watanabe R, Taguchi S, Fujimoto M, Okiyama N.	4. 巻 59
2. 論文標題 Pregnancy triggers the onset of anti-transcriptional intermediary factor 1 antibody-positive dermatomyositis: a case series	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 1450-1451
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatology/kez527.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okiyama N, Fujimoto M.	4. 巻 8
2. 論文標題 Cutaneous manifestations of dermatomyositis characterized by myositis-specific autoantibodies	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 F1000Res.	6. 最初と最後の頁 Rev-1951
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12688/f1000research.20646.1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okiyama N, Inoue S, Saito A, Nakamura Y, Ishitsuka Y, Fujisawa Y, Watanabe R, Fujimoto M.	4. 巻 180
2. 論文標題 Antihelix/helix violaceous macules in Japanese patients with anti-melanoma differentiation-associated protein 5 (MDA5) antibody-associated dermatomyositis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Br J Dermatol	6. 最初と最後の頁 1226-1227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bjd.17431.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------