

令和 3 年 8 月 19 日現在

機関番号：82412

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07806

研究課題名(和文) 若年性皮膚筋炎における抗MDA5抗体の炎症制御機構と間質性肺炎発症の解明

研究課題名(英文) Interstitial lung inflammation with alveolar hemorrhage in mice

研究代表者

佐藤 智 (Sato, Satoshi)

埼玉県立小児医療センター (臨床研究部)・感染免疫科・医長

研究者番号：60385028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：急速進行性間質性肺炎を併発した若年性皮膚筋炎は、小児リウマチ性疾患の中で生命予後が悪い。方法；自己免疫性疾患マウスとしてMRL/MpJ lpr/lprを用いた。プリスタン、MDA5タンパクを使用。結果；プリスタン+rMDA5投与MRL/MpJ +/+マウスでは、肺胞内の出血が残存している。MRL/MpJ lpr/lprマウスでは、プリスタン+rMDA5投与では、炎症細胞も認めている。結語；MRL/MpJ lpr/lprマウスはコントロールマウスと比べ、プリスタン+rMDA5投与にて、肺胞内出血部において、肺胞隔壁の肥厚があり、炎症細胞浸潤が著明であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではMDA5が肺組織において炎症を惹起、増悪させる因子働くことが推察された。炎症細胞の浸潤とともに肺組織の破壊が起こっている。一方で自己免疫応答の機序の検討は本研究では充分に行うことができていない。今後の課題と考える。

現在も抗MDA5抗体関連お皮膚筋炎、間質性肺炎の病態は解明されていないため本研究のデータをもとに更なる検討を行うことで病態の解明がさらに進み、治療に結びつく可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Anti-MDA5 antibody is associated with interstitial lung disease (ILD) in patients with juvenile dermatomyositis (JDM). Methods: MRL/Mp-lpr/lpr mice. They received pristane IP. And recombinant human MDA5 protein (rMDA5) was instilled. Results: H&E staining of lung from WT mouse compared with lung from a MRL/lpr mouse treated with pristane + rMDA5 protein showing mild thickening of the alveolar septa despite the alveolar hemorrhage. And perivascular lymphocytes infiltrate in a MRL/lpr mouse rather than a WT mouse treated with pristane + rMDA5 protein. The Lymphocyte infiltrations around alveolar macrophages was more prominent in MRL/lpr mouse treated with pristane + rMDA5 protein than other mouse.

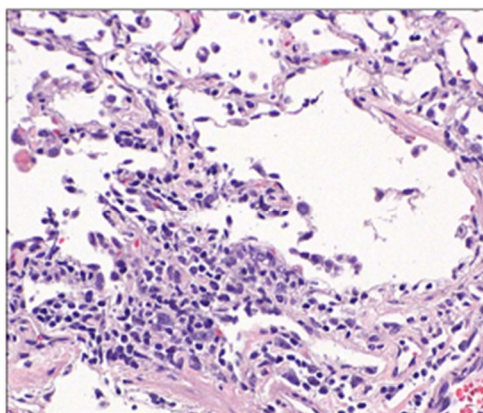
Conclusions: These results suggest that lung involvements such as the alveolar hemorrhage, are caused by pristane and rMDA5 protein in the pathogenesis of interstitial pneumonia.

研究分野：小児科

キーワード：皮膚筋炎 若年性皮膚筋炎 間質性肺炎 MDA5 抗MDA5抗体

### 1. 研究開始当初の背景

若年性皮膚筋炎(Juvenile Dermatomyositis: JDM)は16歳未満で発症し、近位筋有意の筋力低下と、ヘリオトロープ疹やゴットロン徴候といった特徴的皮疹を呈する慢性炎症性疾患である。全身ステロイドを中心とした免疫抑制治療により生命予後の改善が得られている。そうした中、近年行なわれた調査では小児リウマチ性疾患においてJDMの死亡者数が最も高かった。原因として挙げたのが、急速進行性間質性肺炎(Rapidly progressive-interstitial lung disease: RP-ILD)合併する抗MDA5 (Melanoma differentiation associated gene 5)抗体陽性JDM患者であった(Sato S et al. Arthritis Rheum:2005)。申請者らの報告でも、JDM29例中8例(27.6%)に間質性肺炎(ILD)合併を認めた。そのうち抗MDA5抗体陽性者を含む3例がRP-ILDを合併し全例死亡していた。肺病理の検討ではマクロファージの浸潤を認めた(図1)。



現在、抗MDA5抗体が実臨床の現場でも測定できるようになり早期診断・治療が可能となった。RP-ILD症例の肺病理ではびまん性肺胞障害(DAD)を呈しており、広範な肺胞上皮脱落と泡沫状のマクロファージを認めた。さらに、難治性RP-ILD合併JDM例では抗MDA5抗体価の高値とともに、マクロファージ活性化を反映する血清フェリチンやインターロイキン(IL)-18の上昇が報告されている。MDA5はこれまで細胞内においてウイルスセンサーとしてⅢ型インターフェロンの誘導に関わる機能が解明されている。

難治性病態形勢に抗MDA5抗体の存在とマクロファージ活性化が推察できる。しかし、抗MDA5抗体に関連する病態は未だ十分に解明されていない。

### 2. 研究の目的

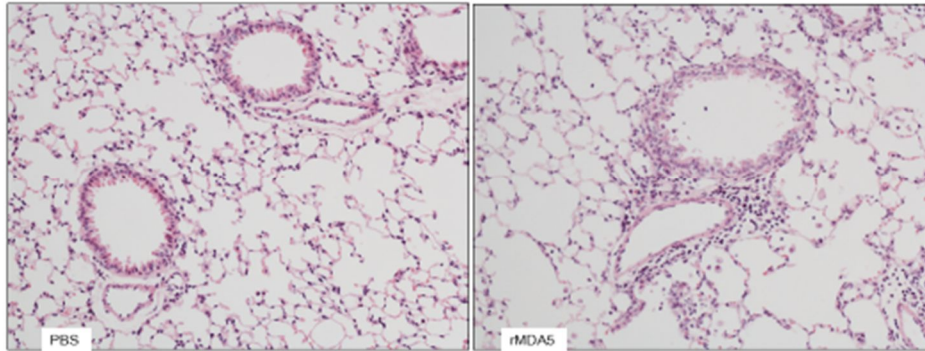
本研究は、MDA5を中心とした病態解析を「マウスモデルを用いた間質性肺炎発症機序の解明」にて明らかにする。

### 3. 研究の方法

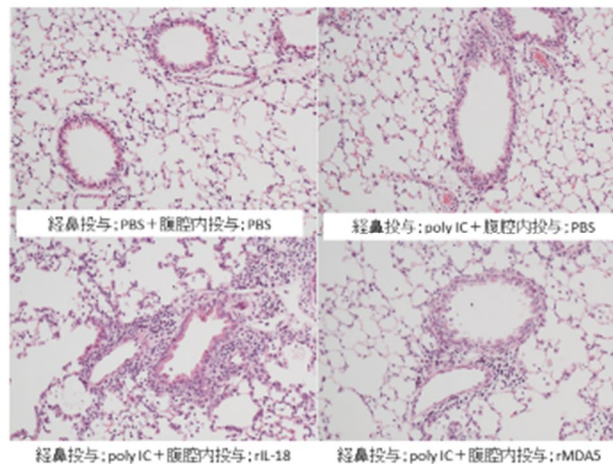
6-8週齢の野生株マウスとしてC57BL/6、Balb/cマウス、自己免疫性疾患モデルマウスとしてMRL/MpJ Jms Slc-lpr/lprマウス、MRL/MpJ Jms Slc-+/+マウスを用いた。PolyIC、プリスタン、human IFIH1(MDA5) (Recombinant)による刺激を行った。2ヶ月後に組織を評価した。

#### 4. 研究成果

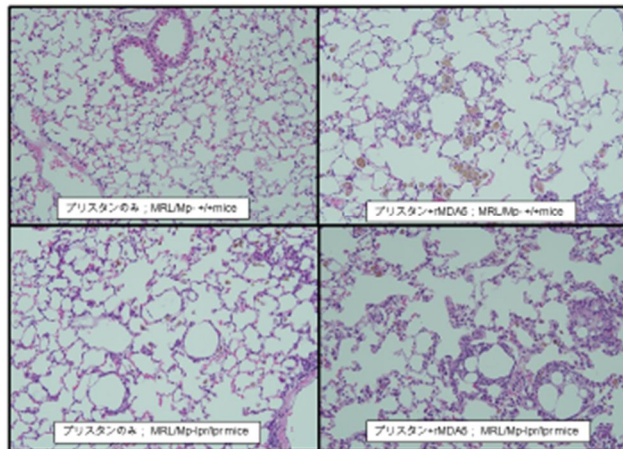
(1) Balb/c マウスに rMDA5 を腹腔内投与しても肺への炎症は惹起できなかった(図 2)。



(2) C57BL/6 マウスでは、poly IC 単独投与よりも、poly IC に加え rIL-18, rMDA5 を腹腔内投与したほうが、肺への炎症は強く発現した(図 3)。



(3) MRL/MpJ  $+/+$  マウスでは、プリスタン単独投与後 8 週後の肺病理では肺胞出血はほとんど認めない。プリスタン+rMDA5 投与 MRL/MpJ  $+/+$  マウスでは、肺胞内の出血が残存している。軽度の炎症細胞浸潤を認める。肺胞内出血部において、肺胞隔壁の肥厚はほとんど認めていない。MRL/MpJ  $lpr/lpr$  マウスでは、プリスタン単独投与後 8 週後の肺病理ではやや肺胞出血が残存する。プリスタン+rMDA5 投与 MRL/MpJ  $lpr/lpr$  マウスでは、プリスタン単独投与と比べ、肺胞内の出血が残存し、炎症細胞浸潤を認める。肺胞内出血部において、肺胞隔壁の肥厚があり、炎症細胞も認めている(図 4)。



これらの結果は、プリスタンおよび rMDA5 によって引き起こされる、肺胞出血を伴う肺胞中隔の肥厚などの肺の関与を示唆している。プリスタン+ rMDA5 タンパク質で処理された MRL / Mp-lpr / lpr マウスは、肺胞マクロファージによる肺胞中隔のより肥厚を示し、肺胞中隔にリンパ球浸潤が見られました。プリスタンによる肺胞出血後、MDA5 の抗原曝露は、肺胞病変のリンパ球およびマクロファージに対する継続的な炎症反応を誘発する可能性があります。MRL/MpJ lpr/lpr マウスはコントロールマウスと比べ、プリスタン+rMDA5 投与にて、肺胞内出血部において、肺胞隔壁の肥厚があり、炎症細胞浸潤が著明であった。MDA5 が炎症惹起に寄与している可能性が示唆された。今後、自己免疫誘導に関しても研究が必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 45.Sato S, Uejima Y, Arakawa Y, Furuichi M, Suganuma E, Fujinaga S, Nakazawa A, Kawano Y.	4. 巻 14
2. 論文標題 Clinical features of macrophage activation syndrome as the onset manifestation of juvenile systemic lupus erythematosus.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Rheumatol Adv Pract.	6. 最初と最後の頁 13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rap/rkz013.	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Sato Satoshi
2. 発表標題 Interstitial lung inflammation with alveolar hemorrhage in autoimmune MRL/Mp-lpr/lpr mice
3. 学会等名 EULAR 2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔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
研究分担者	菅沼 栄介 (Suganuma Eisuke) (60408010)	埼玉県立小児医療センター・感染免疫科・副部長 (82412)	

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
---------	---------