

令和 4 年 6 月 5 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16153

研究課題名(和文) 多発性筋炎/皮膚筋炎関連急速進行性間質性肺炎の病態におけるIL-15の役割の解明

研究課題名(英文) Role of IL-15 in the development of rapidly progressive interstitial lung disease complicated with polymyositis/dermatomyositis

研究代表者

清水 俊匡 (SHIMIZU, Toshimasa)

長崎大学・病院(医学系)・助教

研究者番号：40770467

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：多発性筋炎/皮膚筋炎はしばしば間質性肺炎を併発する。その中でも急性に呼吸不全が進行する急速進行性間質性肺炎は治療抵抗性であり特に予後不良である。今回多発性筋炎/皮膚筋炎合併間質性肺炎症例におけるバイオマーカーを測定したところ、急速進行性間質性肺炎の転帰を辿った症例と辿らなかった症例を識別する血清マーカーとして特にIL-15が重要であることが示唆された。IL-15は血清のみならず気管支肺胞洗浄液中でも急速進行性間質性肺炎例で高値であり、また肺組織中においても発現を認めた。以上から、本サイトカインは急速進行性間質性肺炎の病態に関与しており、その進行を予測するマーカーにもなりうるということが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多発性筋炎/皮膚筋炎は未だ原因不明の難病で、間質性肺炎を合併する場合、治療が奏功せず短期間で重症化し、生命を脅かす疾患である。そのため特に早期診断、治療が重要である。本研究で明らかとなったIL-15は疾患の重症度やその後の進行を早期に予測する指標として使用できる可能性があり、くわえて治療ターゲットとして創薬につなげられることも期待できる。

研究成果の概要(英文)：Polymyositis/dermatomyositis (PM/DM) is an autoimmune disease that is sometimes complicated with rapidly progressive interstitial lung disease (RPILD). The aim of this study is to determine potential serum and lung biomarkers that can predict RPILD development in patients with PM/DM-ILD. The RPILD group had significantly higher serum IL-15 levels than the non-RPILD group. The RPILD group had also significantly high IL-15 levels in bronchoalveolar lavage fluid. In addition, the lung tissues expressed IL-15. This study identified a combination of biomarkers predicting PM/DM-RPILD progression, and IL-15 is an important cytokine for predicting RPILD development and reflecting ILD severity.

研究分野：リウマチ・膠原病内科学

キーワード：多発性筋炎/皮膚筋炎 間質性肺炎 IL-15

1. 研究開始当初の背景

多発性筋炎/皮膚筋炎(PM/DM)は皮膚や筋肉に慢性炎症を来す自己免疫疾患であり、しばしば間質性肺炎(ILD)を合併する。その中には急速進行性間質性肺炎(RPILD)を来し、致死的な転帰を辿る症例も認められる。近年、筋炎関連特異抗体が複数同定され、その中で抗 MDA5 抗体陽性例は本邦において RPILD を来し予後不良な症例が多いことが明らかとなった。しかし抗 MDA5 抗体陽性例の中にも RPILD ではなく慢性経過を辿る ILD 症例も散見され、また他の抗体陽性例でも RPILD を来す症例も存在する。RPILD の経過をたどるか否かでおこなうべき治療の強度が異なるため、これら自己抗体のみでの判断では過剰治療、過少治療につながるリスクがある。そのため RPILD 発症をより高い正診度で予測するバイオマーカーを同定するため、PM/DM 関連 ILD 患者の血清[RPILD 例(N=20)、nonRPILD 例(N=26)]を用いてサイトカイン/ケモカインなどのバイオマーカーを解析したところ、血清インタロイキン(IL)-15 が RPILD と nonRPILD を識別する重要なバイオマーカーであることを同定した。そのため、PM/DM 関連 RPILD における IL-15 の役割を解明するため検証をおこなうこととした。

2. 研究の目的

PM/DM 関連 RPILD における IL-15 の血液および肺での機能を解明していくことを目的とした。本研究は PM/DM の中で特に ILD の重症度や病態の差異と IL-15 の関与を検討することで、未だ明らかとされていない RPILD の病態解明に迫ることができると考えた。

3. 研究の方法

背景記載の症例から症例数を増やし PM/DM-ILD の症例のうち経過中、RPILD の経過を辿った症例(RPILD 群)と辿らなかった症例(nonRPILD 群)における血清サイトカイン/ケモカインの比較をおこなった。RPILD 群のうち治療前後の血清を収集できた症例においては治療前後の血清中の IL-15 の測定もおこなった。

また気管支肺泡洗浄液(BALF)中のサイトカイン/ケモカインも測定し、RPILD 群、nonRPILD 群での比較をおこなった。

PM/DM-ILD の肺組織を用いて IL-15 また MDA5 の免疫染色をおこなった。

肺胞上皮細胞の cell line である A549 細胞と気管支上皮細胞の cell line である BEAS-2B 細胞を MDA5(抗 MDA5 抗体の対応抗原)のリガンドである Poly I:C や各種サイトカインで刺激し培養上清中の IL-15 値の推移を確認した。

これらサイトカイン/ケモカインはサイトカインマルチサスペンションアレイを用いて下記 41 項目を測定した。

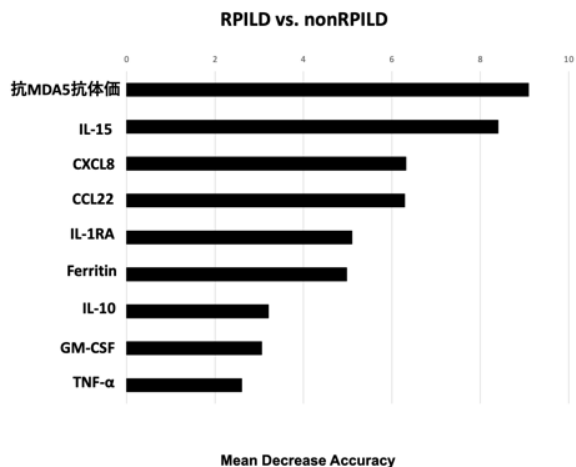
<測定項目>

EGF, CCL11, FGF-2, Flt-3L, CX3CL1, G-CSF, GM-CSF, CXCL1, IFN- α 2, IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, CXCL8, IL-9, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17, CXCL10, CCL2, CCL7, CCL22, CCL3, CCL4, CCL5, sCD40L, TGF α , TGF β , VEGF, IL-18, ICAM-1, VCAM-1

4. 研究成果

血清が採取できた PM/DM-ILD は 49 症例であり、内 RPILD 群は 23 例、nonRPILD 群は 26 例であった。血清中のサイトカイン等のバイオマーカーを比較したところ、RPILD 群で抗 MDA5 抗体価、フェリチン値、IL-15、IL-1RA、IL-6、CXCL10、VCAM-1 が高値であり、CCL22 が低値であった。ランダムフォレスト法を用いて、これらのバイオマーカーを RPILD の有無を識別する上で重要なマーカーの順位付けをおこなったところ、RPILD との関連が以前からいわれている抗 MDA5 抗体価が最も重要なマーカーであり、次いで IL-15 が重要なマーカーであることが判明した(図 1)。

図1. ランダムフォレスト法によるバイオマーカーの順位付け



そのため、抗 MDA5 抗体陽性例にしぼって重要なマーカーを解析した。抗 MDA5 抗体陽性例は 28 例であり内 RPILD 群は 20 例、非 RPILD 群は 8 例であった。その結果、血清 IL-15 は抗 MDA5 抗体陽性例に絞った場合でも RPILD 群で高値であり、ランダムフォレスト法の結果、両者を識別する最も重要なマーカーであることが判明した、ついで CCL22 が重要なマーカーであった(図 2)。

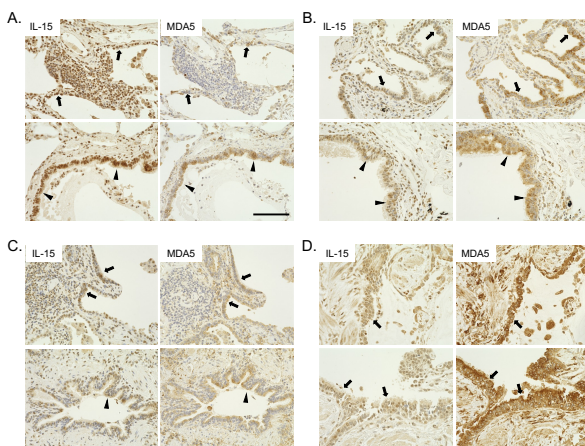
加えて、治療前後の血清を認めた RPILD 症例のうち治療後増悪した症例(N=6)は治療前と比較し増悪時に血清 IL-15 が有意に上昇していた。また RPILD 群で低値であった CCL22 の推移も確認したところ、CCL22 は治療後増悪過程でさらに低下していた(図 3)。

肺局所における IL-15 の関与を検討した。BALF を採取できた症例は RPILD 群が 5 例、非 RPILD 群が 7 例であった。両者を比較したところ BALF 中においても IL-15 は RPILD 群で有意に高値であった。肺組織においても IL-15 は気管支・肺胞上皮細胞および周囲の浸潤細胞に発現を認めた。また一部の上皮細胞においては MDA5 の共発現を認めた(図 4。矢印：肺胞上皮細胞、矢頭：気管支上皮細胞)。

肺組織中の上皮細胞においても IL-15 の発現を認め、さらに MDA5 との共発現も一部認めたことから、

In vitro の系で上皮細胞の cell line における IL-15 の産生を確認したところ、肺胞上皮細胞である A549 細胞において MDA5 のリガンドである Poly (I:C) 刺激では IL-15 の産生は促されなかったが、IL-1 β 、TNF- α の刺激後は濃度依存的に IL-15 の産生が上昇した、一方、気管支上皮細胞である BEAS-2B 細胞においてはいずれの刺激でも IL-15 の産生は上昇しなかった(図 5)。

図4. 肺組織におけるIL-15、MDA5の発現



以上の結果から、IL-15 は PM/DM-ILD において RPILD の進行を予測するマーカーになるのみならず、治療反応と関連するマーカーになりうることを、また血中のみならず肺局所における発現も認めたことから、肺病変における直接的な病態に関与している可能性が示唆された。

IL-15 は主に樹状細胞やマクロファージ、上皮細胞から産生され、Th1 細胞の分化や CD4 陽性メモリーT 細胞および CD8 陽性メモリーT 細胞の生存と分化、NK 細胞の成熟などに関わる重要なサイトカインである。そのため PM/DM-RPILD における主に獲得免疫系活性の挙動に関与しているものと考えられる。本結果からは RPILD 病態へのキーサイトカインであると考えられ、創

図2. 抗MDA5抗体陽性例におけるバイオマーカーの順位付け
RPILD vs. non-RPILD

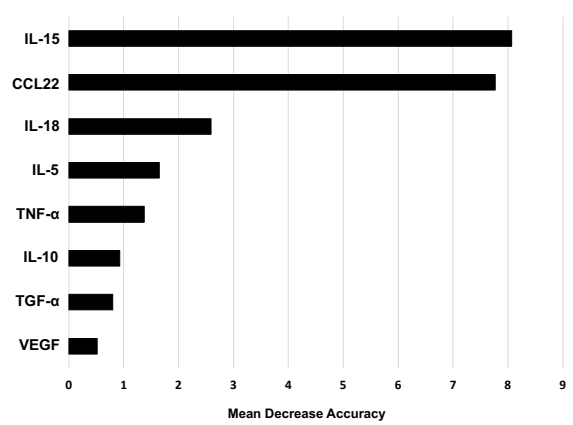
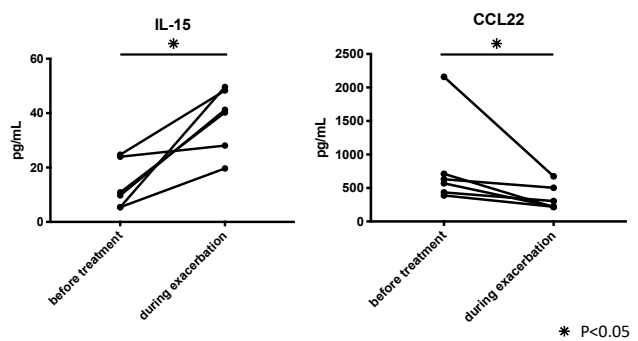
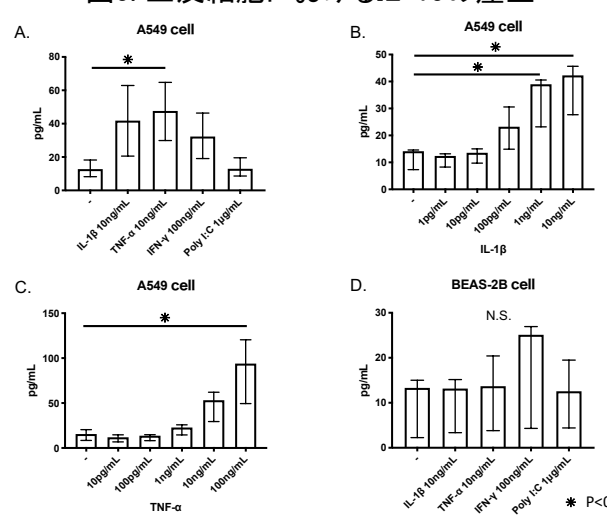


図3. 治療前後の血清IL-15、CCL22の推移



* P<0.05

図5. 上皮細胞におけるIL-15の産生



* P<0.05

薬ターゲットにもなる可能性がある、さらなる検討をすすめていきたい。
特にまだおこなえていない間質性肺疾患を誘発するモデルマウスを用いて、IL-15の欠損の有無でのその活動性や予後、免疫応答の挙動を確認し、本サイトカインの病態への関与をより立証していきたいと考えている。

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 Shimizu T., Koga T., Furukawa K., Horai Y., Fujikawa K., Okada A., Okamoto M., Endo Y., Tsuji S., Takatani A., Umeda M., Fukui S., Sumiyoshi R., Kawashiri S. y., Iwamoto N., Igawa T., Ichinose K., Tamai M., Sakamoto N., Nakamura H., Origuchi T., Mukae H., Kuwana M., Kawakami A.	4. 巻 289
2. 論文標題 IL 15 is a biomarker involved in the development of rapidly progressive interstitial lung disease complicated with polymyositis/dermatomyositis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 206 ~ 220
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/joim.13154	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 0件）

1. 発表者名 清水 俊匡
2. 発表標題 多発性筋炎/皮膚筋炎関連間質性肺炎におけるサイトカインネットワークと重症度に関する検討
3. 学会等名 第115回日本内科学会総会
4. 発表年 2018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
---------------------------	-----------------------	----

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